



T.C.

**BARTIN ÜNİVERSİTESİ**  
**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BEŞ ÜYELİ HETEROSİKLİK AKTİF METİLEN BİLEŞİKLERİNİN**  
**METABOLİK ENZİMLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**ZEYNEP KARAOĞLAN**

**DANIŞMAN**

**DOÇ. DR. PARHAM TASLIMI**

**BARTIN-2025**





**T.C.**

**BARTIN ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**BEŞ ÜYELİ HETEROSİKLİK AKTİF METİLEN BİLEŞİKLERİNİN  
METABOLİK ENZİMLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Zeynep KARAOĞLAN**

**JÜRİ ÜYELERİ**

Danışman : Doç. Dr. Paham TASLIMI  
Üye : Doç. Dr. Burak TÜZÜN  
Üye : Dr. Ör. Üyesi Ahmet KARAKUŞ

**BARTIN-2025**

## KABUL VE ONAY

Zeynep KARAOĞLAN tarafından hazırlanan “BEŞ ÜYELİ HETEROSİKLİK AKTİF METİLEN BİLEŞİKLERİNİN METABOLİK ENZİMLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ” başlıklı bu çalışma, 29.12.2025 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak jürimiz tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. Burak TÜZÜN .....

Üye : Doç. Dr. Parham TASLIMI .....

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ahmet KARAKUŞ .....

Bu tezin kabulü Lisansüstü Eğitimi Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun ....../...../20... tarih ve 20...../.....-..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zafer CEYLAN  
Enstitü Müdürü

## BEYANNAME

Bartın Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre Doç. Dr. Parham TASLIMI danışmanlığında hazırlamış olduğum “BEŞ ÜYELİ HETEROSİKLİK AKTİF METİLEN BİLEŞİKLERİNİN METABOLİK ENZİMLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ” başlıklı yüksek lisans tezimin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

29.12.2025

Zeynep KARAOĞLAN

## YAPAY ZEKÂ KULLANIMINA İLİŞKİN BEYAN

☐ Tez yazım sürecinde yapay zekâ tabanlı araçlardan **faydalanmadım**.

☒ Tez yazım sürecinde yapay zekâ tabanlı araçlardan **faydalandım**. Bu kapsamda, yapay zekâ destekli araçların kullanımına ilişkin aşağıdaki hususları beyan ederim:

1. Bu çalışmada, yalnızca bilimsel üretim sürecini desteklemek amacıyla yapay zekâ tabanlı araçlardan yararlanılmış olup; kullanılan araçların işlevi, katkı düzeyi ve sınırları açık biçimde eklerde belirtilmiştir. Bu kapsamda kullanılan yapay zekânın kapsamı hipotez geliştirme, teorik tartışma ve yorumlama gibi üst düzey beceri, deneyim ve uzmanlık gerektiren aşamaları içermemektedir.
2. Yapay zekâ kullanımı, çalışmanın özgünlüğüne, bilimsel etik kurallarına ve ilgili mevzuata aykırı olmayacak biçimde gerçekleştirilmiştir.
3. Usulsüz yapay zekâ kullanımı (örneğin: kaynak göstermeksizin metin üretimi, otomatik içerik üretiminin özgün eser gibi sunulması, yanıltıcı kaynak gösterimi vb.) tarafımdan kesinlikle yapılmamıştır.
4. Çalışmanın hazırlanmasında kullanılan yapay zekâ araçları ve işlevleri ekte sunulan tabloda ayrıntılı olarak belirtilmiş olup bu kullanım danışman öğretim üyesinin bilgisi dahilinde gerçekleştirilmiştir.
5. Yukarıda yer alan beyanımın gerçeğe aykırı olduğunun tespiti hâlinde, yükseköğretim mevzuatı, ilgili etik kurallar ve Bartın Üniversitesi disiplin mevzuatı çerçevesinde hakkımda yaptırım uygulanabileceğini bildiğimi ve bu sonuçları kabul ettiğimi taahhüt ederim.

29.12.2025

Zeynep KARAOĞLAN

## ÖN SÖZ

Bu tez çalışmasının yürütülmesi sürecinde bilgi birikimi, rehberliği ve sürekli desteğiyle çalışmama önemli katkılar sağlayan danışmanım Doç. Dr. Parham TASLIMI'ya içten teşekkürlerimi sunarım. Çalışma boyunca gösterdiği yol gösterici yaklaşım ve yapıcı geri bildirimler, tezimin şekillenmesinde büyük katkı sağlamıştır. Tez sürecinde bilgi ve deneyimleriyle destek olan Dr. Öğr. Üyesi Nastaran SADEGHIAN'a; akademik yaklaşımı ve desteğiyle her zaman yanımda olan bölüm başkanımız Doç. Dr. Hasan Ufuk ÇELEBİOĞLU'na ve değerli katkıları için Doç. Dr. Burak Tüzün'e teşekkür ederim. Ayrıca bölümümüze sunduğu katkılar ve sağladığı imkânlar için dekanımız Prof. Dr. Ömer KİŞİ'ye şükranlarımı sunarım. Bu süreçte bilimsel ve akademik destek veren tüm hocalarıma da teşekkür ederim. Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, destekleriyle bu çalışmayı mümkün kılan annem Gülfıdan KARAOĞLAN'a ve babam Mustafa KARAOĞLAN'a minnettarlığımı özellikle belirtmek isterim. Onların sabrı ve desteği benim için her zaman en büyük motivasyon kaynağı olmuştur. Bu tez çalışması, Bartın Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimi tarafından desteklenmiştir.

Zeynep KARAOĞLAN

## ÖZET

### Yüksek Lisans Tezi

## BEŞ ÜYELİ HETEROSİKLİK AKTİF METİLEN BİLEŞİKLERİNİN METABOLİK ENZİMLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Zeynep KARAOĞLAN

Bartın Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Parham TASLİMİ

Bartın-2025, sayfa: 174

Thiazolidin-2,4-dion, rhodanine, hydantoin, 2-thiohydantoin, 3-aminorhodanine ve creatinine türevlerinin çeşitli enzimler üzerindeki inhibitör etkileri deneysel ve hesaplamalı yöntemlerle değerlendirilmiştir. Bileşiklerin asetilkolinesteraz (AChE), bütirikolinesteraz (BChE),  $\alpha$ -glukozidaz, karbonik anhidraz izoenzimleri (hCA I ve hCA II), kollajenaz ve elastaz enzimleri üzerindeki aktiviteleri ile metal şelatlama kapasiteleri belirlenmiştir. AChE inhibisyonunda hydantoin bileşiği 352,1 nM  $IC_{50}$  değeri ile en güçlü inhibitör olarak belirlenmiştir; BChE enzimi için creatinine (830,3 nM) ve hydantoin (846,1 nM) bileşikleri referans inhibitör takrine yakın etki göstermiştir.  $\alpha$ -glukozidaz enzimi üzerinde thiazolidin-2,4-dion bileşiği 0,53  $\mu$ M  $IC_{50}$  değeri ile akarboza en yakın aktiviteyi sergilemiş, karbonik anhidraz (hCA II) enzimi için creatinine (144,9 nM) ve thiazolidin-2,4-dion (277,1 nM) bileşikleri asetazolamide göre daha güçlü inhibitörler olarak öne çıkmıştır. Elastaz inhibisyonunda ise thiazolidin-2,4-dion bileşiği 5,38  $\mu$ M  $IC_{50}$  değeri ile standart inhibitör EGCG'ye en yakın etkiyi göstermiştir. Moleküler docking sonuçları, özellikle hydantoin ve thiazolidin-2,4-dion iskeletine sahip bileşiklerin hedef proteinlerin aktif bölgelerine daha kararlı şekilde bağlandığını göstermiştir. Bu sonuçlar, söz konusu yapıların ilaç geliştirme açısından umut vadettiğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Aktif metilen bileşikleri, enzim inhibisyonu, metabolik enzimler, metal şelatlama.



## **ABSTRACT**

**M.Sc. Thesis**

### **EXAMINATION OF THE EFFECTS OF FIVE-MEMBERED HETEROCYCLIC ACTIVE METHYLENE COMPOUNDS ON METABOLIC ENZYMES**

**Zeynep KARAOGLAN**

**Bartın University**

**Graduate School**

**Department of Biotechnology**

**Thesis Advisor: Assoc. Prof. Dr. Parham TASLIMI**

**Bartın- 2025, pp: 174**

The inhibitory effects of thiazolidin-2,4-dione, rhodanine, hydantoin, 2-thiohydantoin, 3-aminorhodanine, and creatinine derivatives on various enzymes were evaluated using experimental and computational approaches. The activities of these compounds against acetylcholinesterase (AChE), butyrylcholinesterase (BChE),  $\alpha$ -glucosidase, carbonic anhydrase isoenzymes (hCA I and hCA II), collagenase, and elastase were determined, together with their metal chelating capacities. In AChE inhibition studies, hydantoin was identified as the most potent inhibitor with an  $IC_{50}$  value of 352.1 nM, while creatinine (830.3 nM) and hydantoin (846.1 nM) exhibited inhibitory effects comparable to the reference inhibitor tacrine against BChE. For  $\alpha$ -glucosidase, thiazolidin-2,4-dione showed the closest activity to acarbose with an  $IC_{50}$  value of 0.53  $\mu$ M. Regarding carbonic anhydrase hCA II, creatinine (144.9 nM) and thiazolidin-2,4-dione (277.1 nM) emerged as more potent inhibitors than the reference compound acetazolamide. In elastase inhibition assays, thiazolidin-2,4-dione demonstrated the closest activity to the standard inhibitor EGCG with an  $IC_{50}$  value of 5.38  $\mu$ M. Molecular docking results revealed that compounds bearing hydantoin and thiazolidin-2,4-dione scaffolds bind more stably to the active sites of the target proteins. Overall, these findings indicate that the investigated structures hold promise for drug development applications.

**Keywords:** Active methylene compounds, enzyme inhibition, metabolic enzymes, metal chelation.



## İÇİNDEKİLER

|                                                           |      |
|-----------------------------------------------------------|------|
| KABUL VE ONAY.....                                        | ii   |
| BEYANNAME .....                                           | iii  |
| YAPAY ZEKÂ KULLANIMINA İLİŞKİN BEYAN .....                | iv   |
| ÖN SÖZ .....                                              | v    |
| ÖZET .....                                                | vi   |
| ABSTRACT .....                                            | viii |
| İÇİNDEKİLER.....                                          | x    |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                      | xvi  |
| TABLolar DİZİNİ.....                                      | xxii |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....                       | xxvi |
| KISALTMALAR.....                                          | xxvi |
| 1. GİRİŞ .....                                            | 1    |
| 1.1 Enzimler.....                                         | 2    |
| 1.1.2 Enzimlerin yapısal özellikleri.....                 | 4    |
| 1.2 Enzim kinetiği .....                                  | 5    |
| 1.2.1 Enzim aktivitesini belirleyen faktörler.....        | 7    |
| 1.2.1.1 Sıcaklık .....                                    | 7    |
| 1.2.1.2 pH.....                                           | 7    |
| 1.2.1.3 Substrat ve Enzim Konsantrasyonu .....            | 8    |
| 1.2.1.4 İnhibitör Varlığı .....                           | 8    |
| 1.3 Enzim inhibisyonu .....                               | 8    |
| 1.3.1 Geri Dönüşümsüz İnhibisyon.....                     | 9    |
| 1.3.2 Geri Dönüşümlü İnhibisyon .....                     | 9    |
| 1.3.2.1 Yarışmalı inhibisyon .....                        | 9    |
| 1.3.2.2 Yarışmalı Tip I (Nonkompetitif) inhibisyon .....  | 9    |
| 1.3.2.3 Yarışmasız Tip II (Unkompetitif) İnhibisyon ..... | 10   |
| 1.3.2.4 Karışık inhibisyon .....                          | 10   |
| 1.4 Kollajenaz .....                                      | 10   |
| 1.5 Elastaz .....                                         | 11   |
| 1.6 Hyalüronidaz.....                                     | 12   |
| 1.7 Asetilkolinesteraz .....                              | 13   |

|                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.8 Bütirilkolinesteraz .....                                                                       | 13 |
| 1.9 Karbonik Anhidraz I .....                                                                       | 14 |
| 1.10 Karbonik Anhidraz II .....                                                                     | 15 |
| 1.11 Alfa Glikozidaz.....                                                                           | 16 |
| 1.12 Antioksidanlar.....                                                                            | 17 |
| 1.12.1 Antioksidan Etkinliği Üzerinde Etkili Olan Faktörler .....                                   | 17 |
| 1.12.2 Sık Kullanılan Antioksidan Analiz Yöntemleri.....                                            | 18 |
| 1.13 İnhibitörler .....                                                                             | 18 |
| 1.13.1 Beş Üyeli Heterosiklik Bileşikler.....                                                       | 19 |
| 1.13.1.1 Thiazolidin-2,4-dione.....                                                                 | 19 |
| 1.13.1.2 Rhodanine.....                                                                             | 20 |
| 1.13.1.3 Hydantoin .....                                                                            | 21 |
| 1.13.1.4 2-Thiohydantoin.....                                                                       | 22 |
| 1.13.1.5 3-Aminorhodanine .....                                                                     | 23 |
| 1.13.1.6 Creatinine .....                                                                           | 24 |
| 1.14 Moleküler Docking .....                                                                        | 25 |
| 1.15 Çalışmanın amacı ve önemi .....                                                                | 25 |
| 2. LİTERATÜR ÖZETİ .....                                                                            | 27 |
| 3. MATERYAL VE METOT .....                                                                          | 29 |
| 3.1 Materyal.....                                                                                   | 29 |
| 3.1.1 Kullanılan Cihazlar.....                                                                      | 29 |
| 3.1.2 Kullanılan Kimyasallar .....                                                                  | 29 |
| 3.2 Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması .....                                                      | 30 |
| 3.2.1 Metal Şelatlama Aktivitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Çözeltiler .....                     | 31 |
| 3.2.2 Asetilkolinesteraz Enzimi Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltiler .....                      | 31 |
| 3.2.3 Bütirilkolinesteraz (BChE) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesinde<br>Kullanılan Çözeltiler ..... | 31 |
| 3.2.4 $\alpha$ -Glikozidaz Enzim Aktivitesinin Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler .....                | 32 |
| 3.2.5 Karbonik Anhidraz I ve II Enzimi Aktivite Ölçümlerinde Kullanılan<br>Çözeltiler .....         | 32 |
| 3.2.6 Kollajenaz Enzimi Aktivite Ölçümlerinde Kullanılan Çözeltiler .....                           | 32 |
| 3.2.7 Elastaz Enzimi Aktivite Ölçümlerinde Kullanılan Çözeltiler .....                              | 33 |
| 3.2.8 Hyalüronidaz Enzimi Aktivite Ölçümlerinde Kullanılan Çözeltiler.....                          | 33 |

|                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.2.9 Beş Üyeli Heterosiklik Aktif Metilen Bileşikler Çözeltilerinin Hazırlanması.....                         | 33 |
| 3.3 Metot .....                                                                                                | 34 |
| 3.3.1 Enzim İnhibisyon Çalışmaları .....                                                                       | 34 |
| 3.3.1.1 Beş Üyeli Aktif Metilen Bileşiklerinin Asetilkolinesteraz Aktivitesi Üzerindeki İnhibitör Etkisi.....  | 34 |
| 3.3.1.2 Beş Üyeli Aktif Metilen Bileşiklerinin Bütirilkolinesteraz Aktivitesi Üzerindeki İnhibitör Etkisi..... | 35 |
| 3.3.1.3 $\alpha$ -Glikozidaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi .....                                            | 35 |
| 3.3.1.4 Karbonik Anhidraz Esteraz Aktivitesinin Belirlenmesi.....                                              | 36 |
| 3.3.1.5 Kollajenaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....                                                       | 37 |
| 3.3.1.6 Elastaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi .....                                                         | 37 |
| 3.3.1.7 Hyalüronidaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....                                                     | 38 |
| 3.3.2 Metal Şelatlama Kapasitesinin Belirlenmesi .....                                                         | 39 |
| 3.3.3 Moleküler Kenetlenme (Docking) Yöntemi.....                                                              | 40 |
| 4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....                                                                                  | 41 |
| 4.1 Asetilkolinesteraz enzimi inhibisyon sonuçları .....                                                       | 41 |
| 4.1.1 Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin AChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                        | 41 |
| 4.1.2 Rhodanine bileşiğinin AChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                                    | 43 |
| 4.1.3 Hydantoin bileşiğinin AChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....                                     | 45 |
| 4.1.4 2-Thiohydantoin bileşiğinin AChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .                                  | 47 |
| 4.1.5 3- Aminorhodanine bileşiğinin AChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                            | 49 |
| 4.1.6 Creatinine bileşiğinin AChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....                                    | 50 |
| 4.1.7 Takrin bileşiğinin AChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi (Standart inhibitör).....                   | 52 |
| 4.2 Alfa Glikozidaz enzimi inhibisyon sonuçları.....                                                           | 55 |
| 4.2.1 Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin alfa glikozidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....             | 55 |
| 4.2.2 Rhodanine bileşiğinin $\alpha$ -Glikozidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi                          | 57 |
| 4.2.3 Hydantoin bileşiğinin $\alpha$ -Glikozidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi                          | 59 |

|                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.2.4 2-Thiohydantoin bileşiğinin $\alpha$ -Glikozidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                 | 60 |
| 4.2.5 3-Aminorhodanine bileşiğinin $\alpha$ -Glikozidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                | 62 |
| 4.2.6 Creatinine bileşiğinin $\alpha$ -Glikozidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi                            | 64 |
| 4.2.7 Akarboz bileşiğinin $\alpha$ -Glikozidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi (Standart inhibitör) .....    | 65 |
| 4.3 Bütirilkolinesteraz enzimi inhibisyon sonuçları.....                                                          | 68 |
| 4.3.1Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                            | 68 |
| 4.3.2 Rhodanine bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....                                        | 70 |
| 4.3.3 Hydantoin bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                                       | 72 |
| 4.3.4 2-Thiohydantoin bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi..                                     | 73 |
| 4.3.5 3-Aminorhodanine bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                                | 75 |
| 4.3.6 Creatinine bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                                      | 77 |
| 4.3.7 Takrin bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi (Standart inhibitör).....                      | 78 |
| 4.4 Karbonik anhidraz I enzim inhibisyon sonuçları .....                                                          | 81 |
| 4.4.1 Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin Karbonik Anhidraz I (hCA I) enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....    | 81 |
| 4.4.2 Rhodanine bileşiğinin Karbonik Anhidraz I (hCA I) enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....                 | 83 |
| 4.4.3 Hydantoin bileşiğinin Karbonik Anhidraz I (hCA I) enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....                 | 85 |
| 4.4.4 2-Thiohydantoin bileşiğinin Karbonik Anhidraz I (hCA I) enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....           | 87 |
| 4.4.5 3-Aminorhodanine bileşiğinin Karbonik Anhidraz I (hCA I) enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....          | 89 |
| 4.4.6 Creatinine bileşiğinin Karbonik Anhidraz I (hCA I) enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....                | 91 |
| 4.4.7 Acetazolamide Creatinine bileşiğinin Karbonik Anhidraz I (hCA I) enzimi üzerine etkisinin incelenmesi ..... | 93 |

|                                                                                                                              |            |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>4.5 Karbonik anhidraz II enzim inhibisyon sonuçları.....</b>                                                              | <b>95</b>  |
| 4.5.1 Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin Karbonik Anhidraz II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....                       | 96         |
| 4.5.2 Rhodanine bileşiğinin Karbonik Anhidraz II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                                  | 97         |
| 4.5.3 Hydantoin bileşiğinin Karbonik Anhidraz II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                                  | 99         |
| 4.5.4 2-Thiohydantoin bileşiğinin Karbonik Anhidraz II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                            | 101        |
| 4.5.5 3-Aminorhodanine bileşiğinin Karbonik Anhidraz II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....                            | 103        |
| 4.5.6 Creatinine bileşiğinin Karbonik Anhidraz II (hCA II) enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....                         | 105        |
| 4.5.7 Acetazolamide bileşiğinin Karbonik Anhidraz II (hCA II) enzimi üzerine etkisinin incelenmesi (Standart inhibitör)..... | 107        |
| <b>4.6 Kollajenaz enzimi inhibisyon sonuçları .....</b>                                                                      | <b>110</b> |
| 4.6.1 Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin Kollajenaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                                | 110        |
| 4.6.2 Rhodanine bileşiğinin Kollajenaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi..                                                | 112        |
| 4.6.3 Hydantoin bileşiğinin kollajenaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi...                                               | 114        |
| 4.6.4 2-Thiohydantoin bileşiğinin kollajenaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                                      | 116        |
| 4.6.5 3-Aminorhodanine bileşiğinin kollajenaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                                     | 117        |
| 4.6.6 Creatinine bileşiğinin kollajenaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi ...                                             | 119        |
| 4.6.7 Epigallocatechin gallate bileşiğinin kollajenaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi (Standart inhibitör) .....        | 121        |
| <b>4.7 Elastaz enzimi inhibisyon sonuçları .....</b>                                                                         | <b>124</b> |
| 4.7.1 Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin elastaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                                   | 124        |
| 4.7.2 Rhodanine bileşiğinin elastaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                                               | 126        |
| 4.7.3 Hydantoin bileşiğinin elastaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                                               | 128        |

|                                                                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.7.4 2-Thiohydantoin bileşiğinin elastaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                               | 129 |
| 4.7.5 3-Aminorhodanine bileşiğinin elastaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                              | 131 |
| 4.7.6 Creatinine bileşiğinin elastaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                                    | 133 |
| 4.7.7 Epigallocatechin gallate bileşiğinin elastaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi (Standart inhibitör) ..... | 135 |
| 4.8 Hyaluronidaz enzim inhibisyon sonuçları .....                                                                  | 138 |
| 4.8.1 Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin hyalüronidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                    | 138 |
| 4.8.2 Rhodanine bileşiğinin hyalüronidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                                | 140 |
| 4.8.3 Hydantoin bileşiğinin hyalüronidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                                | 142 |
| 4.8.4 2-Thiohydantoin bileşiğinin hyalüronidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                          | 143 |
| 4.8.5 3-Aminorhodanine bileşiğinin hyalüronidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                         | 145 |
| 4.8.6 Creatinine bileşiğinin hyalüronidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                               | 147 |
| 4.9 Metal Şelatlama Deney Sonuçları .....                                                                          | 149 |
| 4.10 Moleküler Docking Sonuçları .....                                                                             | 151 |
| 5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....                                                                                          | 160 |
| KAYNAKLAR.....                                                                                                     | 163 |
| EKLER .....                                                                                                        | 173 |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                                                                                     | 174 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

| Şekil                                                                          | Sayfa |
|--------------------------------------------------------------------------------|-------|
| No                                                                             | No    |
| 1.1: Enzim-substrat ilişkisi (Savaş, 2024) .....                               | 5     |
| 1.2: Michaelis–Menten kinetiğinde enzim–substrat reaksiyon şeması .....        | 6     |
| 1.3: BChE aracılı butirilkolin hidroliz reaksiyonu. (Taslimi, 2017) .....      | 14    |
| 1.4: Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin temel yapısı.....                       | 20    |
| 1.5: Rhodanine bileşiğinin temel yapısı. ....                                  | 21    |
| 1.6: Hydantoin bileşiğinin temel yapısı.....                                   | 22    |
| 1.7: 2-Thiohydantoin bileşiğinin temel yapısı.....                             | 23    |
| 1.8: 3-Aminorhodanine bileşiğinin temel yapısı. ....                           | 24    |
| 1.9: Creatinine bileşiğinin temel yapısı. ....                                 | 24    |
| 4.1: AChE inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (1. tekrar) .....          | 42    |
| 4.2: AChE inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (2. tekrar) .....          | 42    |
| 4.3: AChE inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (2. tekrar) .....          | 43    |
| 4.4: AChE inhibisyon eğrisi – Rhodanine (1. Tekrar) .....                      | 44    |
| 4.5: AChE inhibisyon eğrisi – Rhodanine (2. Tekrar) .....                      | 44    |
| 4.6: AChE inhibisyon eğrisi – Rhodanine (3. Tekrar) .....                      | 45    |
| 4.7: AChE inhibisyon eğrisi – Hydantoin (1. Tekrar).....                       | 46    |
| 4.8: AChE inhibisyon eğrisi – Hydantoin (2. Tekrar).....                       | 46    |
| 4.9: AChE inhibisyon eğrisi – Hydantoin (3. Tekrar).....                       | 47    |
| 4.10: AChE inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (1. Tekrar).....                | 48    |
| 4.11: AChE inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (2. Tekrar).....                | 48    |
| 4.12: AChE inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (3. Tekrar).....                | 48    |
| 4.13: AChE inhibisyon eğrisi –3- Aminorhodanine (1. Tekrar).....               | 50    |
| 4.14: AChE inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (2. Tekrar) .....              | 50    |
| 4.15: AChE inhibisyon eğrisi – 3- Aminorhodanine (3. Tekrar) .....             | 50    |
| 4.16: AChE inhibisyon eğrisi – Creatinine (1. Tekrar) .....                    | 52    |
| 4.17: AChE inhibisyon eğrisi – Creatinine (2. Tekrar) .....                    | 52    |
| 4.19: AChE inhibisyon eğrisi – Takrin (1. Tekrar) .....                        | 54    |
| 4.20: AChE inhibisyon eğrisi – Takrin (2. Tekrar) .....                        | 54    |
| 4.21: AChE inhibisyon eğrisi – Takrin (3. Tekrar) .....                        | 54    |
| 4.22: $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (1.Tekrar) ..... | 56    |

|                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.23: $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi –Thiazolidin-2,4-dione (2. Tekrar) .....  | 56 |
| 4.24: $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (3. Tekrar) ..... | 57 |
| 4.25: $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi – Rhodanine (1.Tekrar) .....              | 58 |
| 4.26: $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi – Rhodanine (2.Tekrar) .....              | 58 |
| 4.27: $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi – Rhodanine 3.Tekrar) .....               | 58 |
| 4.28: $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi – Hydantoin (1.Tekrar) .....              | 60 |
| 4.29: $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi – Hydantoin (2.Tekrar) .....              | 60 |
| 4.30: $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi – Hydantoin (3.Tekrar) .....              | 60 |
| 4.31: $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi – 2-Thioydantoin (1.Tekrar) .....         | 61 |
| 4.32: $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi – 2-Thioydantoin (2.Tekrar) .....         | 61 |
| 4.33: $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi – 2-Thioydantoin (3.Tekrar) .....         | 62 |
| 4.34: $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi – 3- Aminorhodanine (1.Tekrar).....       | 63 |
| 4.35: $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (2.Tekrar).....        | 63 |
| 4.36: $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (3.Tekrar).....        | 63 |
| 4.37: $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi –Creatinine (1.Tekrar).....               | 65 |
| 4.38: $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi –Creatinine (2.Tekrar).....               | 65 |
| 4.39: $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi –Creatinine (3.Tekrar).....               | 65 |
| 4.40: $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi –Akarboz (1.Tekrar) .....                 | 67 |
| 4.41: $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi –Akarboz (2.Tekrar) .....                 | 67 |
| 4.42: $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi –Akarboz (3.Tekrar) .....                 | 67 |
| 4.43: BChE inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (1.Tekrar) .....           | 69 |
| 4.44: BChE inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (2.Tekrar) .....           | 69 |
| 4.45: BChE inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (3.Tekrar) .....           | 70 |
| 4.46: BChE inhibisyon eğrisi – Rhodanine (1.Tekrar).....                        | 71 |
| 4.47: BChE inhibisyon eğrisi – Rhodanine (2.Tekrar).....                        | 71 |
| 4.48: BChE inhibisyon eğrisi – Rhodanine (3.Tekrar).....                        | 71 |
| 4.49: BChE inhibisyon eğrisi – Hydantoin (1.Tekrar) .....                       | 73 |
| 4.50: BChE inhibisyon eğrisi – Hydantoin (2.Tekrar) .....                       | 73 |
| 4.51: BChE inhibisyon eğrisi – Hydantoin (3.Tekrar) .....                       | 73 |
| 4.52: BChE inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (1.Tekrar) .....                 | 74 |
| 4.53: BChE inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (2.Tekrar) .....                 | 74 |
| 4.54: BChE inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (3.Tekrar) .....                 | 75 |
| 4.55: BChE inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (1.Tekrar).....                 | 76 |

|                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>4.56:</b> BChE inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (2.Tekrar).....        | 76 |
| <b>4.57:</b> BChE inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (3.Tekrar).....        | 76 |
| <b>4.58:</b> BChE inhibisyon eğrisi – Creatinine (1.Tekrar) .....             | 78 |
| <b>4.59:</b> BChE inhibisyon eğrisi – Creatinine (2.Tekrar) .....             | 78 |
| <b>4.60:</b> BChE inhibisyon eğrisi – Creatinine (3.Tekrar) .....             | 78 |
| <b>4.61:</b> BChE inhibisyon eğrisi – Takrin (1.Tekrar) .....                 | 80 |
| <b>4.62:</b> BChE inhibisyon eğrisi – Takrin (2.Tekrar) .....                 | 80 |
| <b>4.63:</b> BChE inhibisyon eğrisi – Takrin (3.Tekrar) .....                 | 80 |
| <b>4.64:</b> hCA I inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (1.Tekrar).....  | 82 |
| <b>4.65:</b> hCA I inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (2.Tekrar).....  | 82 |
| <b>4.66:</b> hCA I inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (3.Tekrar).....  | 83 |
| <b>4.67:</b> hCA I inhibisyon eğrisi – Rhodanine (1.Tekrar).....              | 84 |
| <b>4.68:</b> hCA I inhibisyon eğrisi – Rhodanine (2.Tekrar).....              | 84 |
| <b>4.69:</b> hCA I inhibisyon eğrisi – Rhodanine (3.Tekrar).....              | 85 |
| <b>4.70:</b> hCA I inhibisyon eğrisi – Hydantoin (1.Tekrar) .....             | 86 |
| <b>4.71:</b> hCA I inhibisyon eğrisi – Hydantoin (2.Tekrar) .....             | 86 |
| <b>4.72:</b> hCA I inhibisyon eğrisi – Hydantoin (3.Tekrar).....              | 87 |
| <b>4.73:</b> hCA I inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (1.Tekrar).....        | 88 |
| <b>4.74:</b> hCA I inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (2.Tekrar).....        | 88 |
| <b>4.75:</b> hCA I inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (3.Tekrar).....        | 89 |
| <b>4.76:</b> hCA I inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (1.Tekrar) .....      | 90 |
| <b>4.77:</b> hCA I inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (2.Tekrar) .....      | 90 |
| <b>4.78:</b> hCA I inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (3.Tekrar) .....      | 91 |
| <b>4.79:</b> hCA I inhibisyon eğrisi – Creatinine (1.Tekrar) .....            | 92 |
| <b>4.80:</b> hCA I inhibisyon eğrisi – Creatinine (2.Tekrar) .....            | 92 |
| <b>4.81:</b> hCA I inhibisyon eğrisi – Creatinine (3.Tekrar) .....            | 92 |
| <b>4.82:</b> hCA I inhibisyon eğrisi – Acetazolamide (1.Tekrar).....          | 94 |
| <b>4.83:</b> hCA I inhibisyon eğrisi – Acetazolamide (2.Tekrar).....          | 94 |
| <b>4.84:</b> hCA I inhibisyon eğrisi – Acetazolamide (3.Tekrar).....          | 94 |
| <b>4.85:</b> hCA II inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (1.Tekrar)..... | 97 |
| <b>4.86:</b> hCA II inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (2.Tekrar)..... | 97 |
| <b>4.87:</b> hCA II inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (3.Tekrar)..... | 97 |
| <b>4.88:</b> hCA II inhibisyon eğrisi – Rhodanine (1.Tekrar) .....            | 99 |

|                                                                             |     |
|-----------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>4.89:</b> hCA II inhibisyon eğrisi – Rhodanine (2.Tekrar) .....          | 99  |
| <b>4.90:</b> hCA II inhibisyon eğrisi – Rhodanine (3.Tekrar) .....          | 99  |
| <b>4.91:</b> hCA II inhibisyon eğrisi – Hydantoin (1.Tekrar).....           | 101 |
| <b>4.92:</b> hCA II inhibisyon eğrisi – Hydantoin (2.Tekrar).....           | 101 |
| <b>4.93:</b> hCA II inhibisyon eğrisi – Hydantoin (3.Tekrar).....           | 101 |
| <b>4.94:</b> hCA II inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (1.Tekrar).....     | 103 |
| <b>4.95:</b> hCA II inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (2.Tekrar).....     | 103 |
| <b>4.96:</b> hCA II inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (3.Tekrar).....     | 103 |
| <b>4.97:</b> hCA II inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (1.Tekrar) .....   | 105 |
| <b>4.98:</b> hCA II inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (2.Tekrar) .....   | 105 |
| <b>4.99:</b> hCA II inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (3.Tekrar) .....   | 105 |
| <b>4.100:</b> hCA II inhibisyon eğrisi – Creatinine (1.Tekrar) .....        | 107 |
| <b>4.101:</b> hCA II inhibisyon eğrisi – Creatinine (2.Tekrar).....         | 107 |
| <b>4.102:</b> hCA II inhibisyon eğrisi – Creatinine (3.Tekrar).....         | 107 |
| <b>4.103:</b> hCA II inhibisyon eğrisi – Acetazolamide (1.Tekrar).....      | 109 |
| <b>4.104:</b> hCA II inhibisyon eğrisi – Acetazolamide (2.Tekrar).....      | 109 |
| <b>4.105:</b> hCA II inhibisyon eğrisi – Acetazolamide (3.Tekrar).....      | 109 |
| <b>4.106:</b> COL inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (1.Tekrar)..... | 112 |
| <b>4.107:</b> COL inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (2.Tekrar)..... | 112 |
| <b>4.108:</b> COL inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (3.Tekrar)..... | 112 |
| <b>4.109:</b> COL inhibisyon eğrisi – Rhodanine (1.Tekrar) .....            | 113 |
| <b>4.110:</b> COL inhibisyon eğrisi – Rhodanine (2.Tekrar) .....            | 113 |
| <b>4.111:</b> COL inhibisyon eğrisi – Rhodanine (3.Tekrar) .....            | 114 |
| <b>4.112:</b> COL inhibisyon eğrisi – Hydantoin (1.Tekrar).....             | 115 |
| <b>4.113:</b> COL inhibisyon eğrisi – Hydantoin (2.Tekrar).....             | 115 |
| <b>4.114:</b> COL inhibisyon eğrisi – Hydantoin (3.Tekrar).....             | 115 |
| <b>4.115:</b> COL inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (1.Tekrar).....       | 117 |
| <b>4.116:</b> COL inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (2.Tekrar).....       | 117 |
| <b>4.117:</b> COL inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (3.Tekrar).....       | 117 |
| <b>4.118:</b> COL inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (1.Tekrar) .....     | 119 |
| <b>4.119:</b> COL inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (2.Tekrar).....      | 119 |
| <b>4.120:</b> COL inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (3.Tekrar) .....     | 119 |
| <b>4.121:</b> COL inhibisyon eğrisi – Creatinine (1.Tekrar) .....           | 121 |

|                                                                               |     |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>4.122:</b> COL inhibisyon eğrisi – Creatinine (2.Tekrar) .....             | 121 |
| <b>4.123:</b> COL inhibisyon eğrisi – Creatinine (3.Tekrar) .....             | 121 |
| <b>4.124:</b> COL inhibisyon eğrisi –EGCG (1.Tekrar) .....                    | 123 |
| <b>4.125:</b> COL inhibisyon eğrisi –EGCG (2.Tekrar) .....                    | 123 |
| <b>4.126:</b> COL inhibisyon eğrisi –EGCG (3.Tekrar) .....                    | 123 |
| <b>4.127:</b> ELA inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dion (1.Tekrar) .....   | 125 |
| <b>4.128:</b> ELA inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dion (2.Tekrar) .....   | 125 |
| <b>4.129:</b> ELA inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dion (3.Tekrar) .....   | 126 |
| <b>4.130:</b> ELA inhibisyon eğrisi – Rhodanine (1.Tekrar) .....              | 127 |
| <b>4.131:</b> ELA inhibisyon eğrisi – Rhodanine (2.Tekrar) .....              | 127 |
| <b>4.132:</b> ELA inhibisyon eğrisi – Rhodanine (3.Tekrar) .....              | 127 |
| <b>4.133:</b> ELA inhibisyon eğrisi – Hydantoin (1.Tekrar) .....              | 129 |
| <b>4.134:</b> ELA inhibisyon eğrisi – Hydantoin (2.Tekrar) .....              | 129 |
| <b>4.135:</b> ELA inhibisyon eğrisi – Hydantoin (3.Tekrar) .....              | 129 |
| <b>4.136:</b> ELA inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (1.Tekrar) .....        | 131 |
| <b>4.137:</b> ELA inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (2.Tekrar) .....        | 131 |
| <b>4.138:</b> ELA inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (3.Tekrar) .....        | 131 |
| <b>4.139:</b> ELA inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (1.Tekrar) .....       | 133 |
| <b>4.140:</b> ELA inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (2.Tekrar) .....       | 133 |
| <b>4.141:</b> ELA inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (3.Tekrar) .....       | 133 |
| <b>4.142:</b> ELA inhibisyon eğrisi – Creatinine (1.Tekrar) .....             | 135 |
| <b>4.143:</b> ELA inhibisyon eğrisi – Creatinine (2.Tekrar) .....             | 135 |
| <b>4.144:</b> ELA inhibisyon eğrisi – Creatinine (3.Tekrar) .....             | 135 |
| <b>4.145:</b> ELA inhibisyon eğrisi – EGCG (1.Tekrar) .....                   | 137 |
| <b>4.146:</b> ELA inhibisyon eğrisi – EGCG (2.Tekrar) .....                   | 137 |
| <b>4.147:</b> ELA inhibisyon eğrisi – EGCG (3.Tekrar) .....                   | 137 |
| <b>4.148:</b> HYAL inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (1.Tekrar) ..... | 139 |
| <b>4.149:</b> HYAL inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (2.Tekrar) ..... | 139 |
| <b>4.150:</b> HYAL inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (3.Tekrar) ..... | 140 |
| <b>4.151:</b> HYAL inhibisyon eğrisi – Rhodanine (1.Tekrar) .....             | 141 |
| <b>4.152:</b> HYAL inhibisyon eğrisi – Rhodanine (2.Tekrar) .....             | 141 |
| <b>4.153:</b> HYAL inhibisyon eğrisi – Rhodanine (3.Tekrar) .....             | 141 |
| <b>4.154:</b> HYAL inhibisyon eğrisi – Hydantoin (1.Tekrar) .....             | 143 |

|                                                                                               |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>4.155:</b> HYAL inhibisyon eğrisi – Hydantoin (2.Tekrar).....                              | 143 |
| <b>4.156:</b> HYAL inhibisyon eğrisi – Hydantoin (3.Tekrar).....                              | 143 |
| <b>4.157:</b> HYAL inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (1.Tekrar).....                        | 144 |
| <b>4.158:</b> HYAL inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (2.Tekrar).....                        | 144 |
| <b>4.159:</b> HYAL inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (3.Tekrar).....                        | 145 |
| <b>4.160:</b> HYAL inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (1.Tekrar) .....                      | 146 |
| <b>4.161:</b> HYAL inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (2.Tekrar) .....                      | 146 |
| <b>4.162:</b> HYAL inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (3.Tekrar) .....                      | 146 |
| <b>4.163:</b> HYAL inhibisyon eğrisi – Creatinine (1.Tekrar) .....                            | 148 |
| <b>4.164:</b> HYAL inhibisyon eğrisi – Creatinine (2.Tekrar) .....                            | 148 |
| <b>4.165:</b> HYAL inhibisyon eğrisi – Creatinine (3.Tekrar) .....                            | 148 |
| <b>4.166:</b> Metal şelatma değerleri grafik şeklinde verilmiştir.....                        | 151 |
| <b>4.167:</b> 3-Aminorhodanine molekülünün AChE proteini ile etkileşimlerinin gösterimi...    | 157 |
| <b>4.168:</b> 3-Aminorhodanine molekülünün BChE proteini ile etkileşimlerinin gösterimi...    | 157 |
| <b>4.169:</b> 2-Thiohydantoin molekülünün hCA I enzimi ile etkileşimlerinin gösterimi.....    | 157 |
| <b>4.170:</b> Hydantoin molekülünün hCA II enzimi ile etkileşimlerinin gösterimi.....         | 158 |
| <b>4.171:</b> Rhodanine molekülünün Kollajenaz enzimi ile etkileşimlerinin gösterimi .....    | 158 |
| <b>4.172:</b> Rhodanine molekülünün Hyalüronidaz enzimi ile etkileşimlerinin gösterimi.....   | 158 |
| <b>4.173:</b> Hydantoin molekülünün alfa-Gli enzimi ile etkileşimlerinin gösterimi .....      | 159 |
| <b>4.174:</b> 2-Thiohydantoin molekülünün Elastaz enzimi ile etkileşimlerinin gösterimi ..... | 159 |

## TABLÖLER DİZİNİ

| Tablo No                                                                                                                                            | Sayfa No |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| 1.1: Enzimlerin Katalizlenen Reaksiyon Türüne Göre Sınıflandırılması.....                                                                           | 3        |
| 3.1.: Kullanılan cihazlar .....                                                                                                                     | 29       |
| 3.2: Kullanılan Kimyasallar .....                                                                                                                   | 30       |
| 3.3: AChE inhibisyon testi için hazırlanan reaksiyon karışımı bileşenleri. ....                                                                     | 34       |
| 3.4: BChE inhibisyon testi için hazırlanan reaksiyon karışımı bileşenleri.....                                                                      | 35       |
| 3.5: $\alpha$ -Gli inhibisyon testi için hazırlanan reaksiyon karışımı bileşenleri.....                                                             | 36       |
| 3.6: Karbonik Anhidraz Esteraz inhibisyon testi için hazırlanan reaksiyon karışımı bileşenleri .....                                                | 36       |
| 3.7: Kollajenaz inhibisyon testi için hazırlanan reaksiyon karışımı bileşenleri .....                                                               | 37       |
| 3.8: Elastaz inhibisyon testi için hazırlanan reaksiyon karışımı bileşenleri.....                                                                   | 38       |
| 3.9: Hyalüronidaz inhibisyon testi için hazırlanan reaksiyon karışımı bileşenleri.....                                                              | 39       |
| 4.1: Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin farklı inhibitör konsantrasyonlarında AChE enzim aktivitesi üzerine etkisi (üç tekrar) .....                 | 42       |
| 4.2: Rhodanine bileşiğinin farklı inhibitör konsantrasyonlarında AChE enzim aktivitesi üzerine etkisi (üç tekrar).....                              | 43       |
| 4.3: Hydantoin bileşiğinin farklı inhibitör konsantrasyonlarında AChE enzim aktivitesi üzerine etkisi (üç tekrar).....                              | 46       |
| 4.4: 2-Thiohydantoin bileşiğinin farklı inhibitör konsantrasyonlarında AChE enzim aktivitesi üzerine etkisi (üç tekrar).....                        | 47       |
| 4.5: 3-Aminorhodanine bileşiğinin farklı inhibitör konsantrasyonlarında AChE enzim aktivitesi üzerine etkisi (üç tekrar).....                       | 49       |
| 4.6: Creatinine bileşiğinin farklı inhibitör konsantrasyonlarında AChE enzim aktivitesi üzerine etkisi (üç tekrar).....                             | 51       |
| 4.7: Takrin bileşiğinin farklı inhibitör konsantrasyonlarında AChE enzim aktivitesi üzerine etkisi (üç tekrar).....                                 | 53       |
| 4.8: Bileşiklerin AChE inhibisyonuna ait $IC_{50}$ ve $R^2$ değerleri .....                                                                         | 55       |
| 4.9: Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin farklı inhibitör konsantrasyonlarında $\alpha$ -glikozidaz enzim aktivitesi üzerine etkisi (üç tekrar) ..... | 56       |
| 4.10: Rhodanine bileşiğinin farklı inhibitör konsantrasyonlarında $\alpha$ -glikozidaz enzim aktivitesi üzerine etkisi (üç tekrar).....             | 57       |

|                                                                                                                                                          |            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>4.11: Hydantoin bileşiğinin farklı inhibitör konsantrasyonlarında <math>\alpha</math>-glikozidaz enzim aktivitesi üzerine etkisi (üç tekrar).....</b> | <b>59</b>  |
| <b>4.12: 2-Thiohydantoin <math>\alpha</math>-Glikozidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....</b>                                                   | <b>61</b>  |
| <b>4.13: 3-Aminorhodanine <math>\alpha</math>-Glikozidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....</b>                                                   | <b>62</b>  |
| <b>4.14: Creatinine <math>\alpha</math>-Glikozidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....</b>                                                        | <b>64</b>  |
| <b>4.15: Akarboz bileşiğinin <math>\alpha</math>-Glikozidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....</b>                                               | <b>66</b>  |
| <b>4.16: Bileşiklerin <math>\alpha</math>-glikozidaz inhibisyonuna ait <math>IC_{50}</math> ve <math>R^2</math> değerleri .....</b>                      | <b>68</b>  |
| <b>4.17: Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....</b>                                                            | <b>69</b>  |
| <b>4.18: Rhodanine bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....</b>                                                                       | <b>70</b>  |
| <b>4.19: Hydantoin bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....</b>                                                                        | <b>72</b>  |
| <b>4.20: 2-Thiohydantoin bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....</b>                                                                  | <b>74</b>  |
| <b>4.21: 3-Aminorhodanine bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....</b>                                                                | <b>75</b>  |
| <b>4.22: Creatinine bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....</b>                                                                      | <b>77</b>  |
| <b>4.23: Takrin bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....</b>                                                                          | <b>79</b>  |
| <b>4.24: Bileşiklerin BChE inhibisyonuna ait <math>IC_{50}</math> ve <math>R^2</math> değerleri .....</b>                                                | <b>81</b>  |
| <b>4.25: Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin hCA I enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....</b>                                                           | <b>82</b>  |
| <b>4.26: Rhodanine bileşiğinin hCA I enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....</b>                                                                      | <b>83</b>  |
| <b>4.27: Hydantoin bileşiğinin hCA I enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....</b>                                                                       | <b>85</b>  |
| <b>4.28: 2-Thiohydantoin bileşiğinin hCA I enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....</b>                                                                 | <b>87</b>  |
| <b>4.29: 3-Aminorhodanine bileşiğinin hCA I enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....</b>                                                               | <b>89</b>  |
| <b>4.30: Creatinine bileşiğinin hCA I enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....</b>                                                                     | <b>91</b>  |
| <b>4.31: Acetazolamide bileşiğinin hCA I enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....</b>                                                                   | <b>93</b>  |
| <b>4.32: Bileşiklerin hCA I inhibisyonuna ait <math>IC_{50}</math> ve <math>R^2</math> değerleri.....</b>                                                | <b>95</b>  |
| <b>4.33: Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin hCA II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....</b>                                                         | <b>96</b>  |
| <b>4.34: Rhodanine bileşiğinin hCA II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....</b>                                                                     | <b>98</b>  |
| <b>4.35: Hydantoin bileşiğinin hCA II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....</b>                                                                     | <b>100</b> |
| <b>4.36: 2-Thiohydantoin bileşiğinin hCA II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....</b>                                                               | <b>102</b> |
| <b>4.37: 3-Aminorhodanine bileşiğinin hCA II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....</b>                                                               | <b>104</b> |
| <b>4.38: Creatinine bileşiğinin hCA II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....</b>                                                                     | <b>106</b> |
| <b>4.39: Acetazolamide bileşiğinin hCA II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....</b>                                                                 | <b>108</b> |
| <b>4.40: Bileşiklerin hCA II inhibisyonuna ait <math>IC_{50}</math> ve <math>R^2</math> değerleri .....</b>                                              | <b>110</b> |
| <b>4.41: Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin COL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....</b>                                                            | <b>111</b> |
| <b>4.42: Rhodanine bileşiğinin COL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....</b>                                                                        | <b>113</b> |

|                                                                                                                                                   |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.43: Hydantoin bileşiğinin COL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....                                                                         | 114 |
| 4.44: 2-Thiohydantoin bileşiğinin COL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....                                                                   | 116 |
| 4.45: 3-Aminorhodanine bileşiğinin COL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                                                                 | 118 |
| 4.46: Creatinine bileşiğinin COL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....                                                                        | 120 |
| 4.47: EGCG bileşiğinin COL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....                                                                              | 122 |
| 4.48: Bileşiklerin COL inhibisyonuna ait IC <sub>50</sub> ve R <sup>2</sup> değerleri .....                                                       | 124 |
| 4.49: Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin ELA enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....                                                             | 125 |
| 4.50: Rhodanine bileşiğinin ELA enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                                                                        | 126 |
| 4.51: Hydantoin bileşiğinin ELA enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....                                                                         | 128 |
| 4.52: 2-Thiohydantoin bileşiğinin ELA enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....                                                                   | 130 |
| 4.53: 3-Aminorhodanine bileşiğinin ELA enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                                                                 | 132 |
| 4.54: Creatinine bileşiğinin ELA enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                                                                       | 134 |
| 4.55: EGCG bileşiğinin ELA enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....                                                                              | 136 |
| 4.56: Bileşiklerin ELA inhibisyonuna ait IC <sub>50</sub> ve R <sup>2</sup> değerleri .....                                                       | 138 |
| 4.57: Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin HYAL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi ....                                                            | 139 |
| 4.58: Rhodanine bileşiğinin HYAL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                                                                       | 140 |
| 4.59: Hydantoin bileşiğinin HYAL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                                                                       | 142 |
| 4.60: 2-Thiohydantoin bileşiğinin HYAL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi .....                                                                 | 144 |
| 4.61: 3-Aminorhodanine bileşiğinin HYAL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....                                                                 | 145 |
| 4.62: Creatinine bileşiğinin HYAL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi.....                                                                       | 147 |
| 4.63: Bileşiklerin HYAL inhibisyonuna ait IC <sub>50</sub> ve R <sup>2</sup> değerleri .....                                                      | 149 |
| 4.64: Metal şelatımla için birinci konsantrasyon değerleri.....                                                                                   | 149 |
| 4.65: Metal şelatımla için ikinci konsantrasyon değerleri .....                                                                                   | 150 |
| 4.66: Metal şelatımla için üçüncü konsantrasyon değerleri.....                                                                                    | 150 |
| 4.67: Bileşiklerin metal şelatımla değerlerinin ortalamaları.....                                                                                 | 150 |
| 4.68: Seçili proteinler karşısında test bileşiklerinin bağlanma davranışları .....                                                                | 151 |
| 4.69: Molekülün proteinlere karşı docking parametrelerine ait sayısal değerler .....                                                              | 154 |
| 5.1: İncelenen bileşiklerin farklı enzimler üzerindeki inhibitör aktiviteleri (IC <sub>50</sub> ) ve regresyon katsayıları (R <sup>2</sup> )..... | 162 |

## EKLER DİZİNİ

| Ek                                     | Sayfa |
|----------------------------------------|-------|
| No                                     | No    |
| Ek 1. Yapay zekâ kullanım tablosu..... | 173   |



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|                  |                                                                        |
|------------------|------------------------------------------------------------------------|
| IC <sub>50</sub> | : Enzim aktivitesini %50 oranında inhibe eden inhibitör konsantrasyonu |
| R <sup>2</sup>   | : Determinasyon katsayısı                                              |
| μM               | : Mikromolar                                                           |
| nM               | : Nanomolar                                                            |
| mM               | : Milimolar                                                            |
| μL               | : Mikrolitre                                                           |
| mL               | : Mililitre                                                            |
| nm               | : Nanometre                                                            |

## KISALTMALAR

|        |                                                                              |
|--------|------------------------------------------------------------------------------|
| AChE   | : Asetilkolinesteraz                                                         |
| BChE   | : Bütilkolinesteraz                                                          |
| α-Gli  | : Alfa-glikozidaz                                                            |
| CA     | : Karbonik anhidraz                                                          |
| hCA I  | : İnsan karbonik anhidraz I                                                  |
| hCA II | : İnsan karbonik anhidraz II                                                 |
| COL    | : Kollajenaz                                                                 |
| ELA    | : Elastaz                                                                    |
| HYAL   | : Hyalüronidaz                                                               |
| EGCG   | : Epigallokateşin gallat                                                     |
| EC     | : Enzyme Commission (Enzim sınıflandırma numarası)                           |
| NISE   | : Homolog olmayan eş işlevli enzimler (Non-Homologous Isofunctional Enzymes) |
| ATP    | : Adenozin trifosfat                                                         |
| ADP    | : Adenozin difosfat                                                          |
| AMP    | : Adenozin monofosfat                                                        |
| NTP    | : Nükleozit trifosfat                                                        |
| DMSO   | : Dimetil sülfoksit                                                          |
| EDTA   | : Etilendiamintetraasetik asit                                               |
| BHA    | : Bütilhidroksianisol                                                        |

# 1. GİRİŞ

Enzimler, canlı organizmalarda gerçekleşen biyokimyasal reaksiyonların hızını artırarak metabolik süreçlerin düzenli bir şekilde ilerlemesini sağlayan biyolojik katalizörlerdir. Enzim aktivitelerindeki değişimlerin metabolik dengenin bozulması ve çeşitli hastalıkların ortaya çıkışıyla ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu nedenle enzimlerin fonksiyonlarının ve inhibisyon mekanizmalarının aydınlatılması, biyokimya ve ilaç geliştirme alanlarında temel araştırma konuları arasında yer almaktadır (Nelson ve Cox, 2017; Berg vd., 2019).

Kolinerjik sistemde görev yapan asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) enzimleri ile sindirim sisteminde rol alan  $\alpha$ -glukozidaz enzimi, Alzheimer hastalığı ve tip 2 diyabet gibi yaygın hastalıkların tedavisinde hedeflenen başlıca enzimler arasında yer almaktadır (Lane vd., 2006; Colović vd., 2013; Lebovitz, 1997; van de Laar vd., 2005). Benzer şekilde karbonik anhidraz izoenzimleri (hCA I ve hCA II) ile kollajenaz ve elastaz gibi proteolitik enzimler de, çeşitli metabolik, nörolojik ve dermatolojik hastalıkların tedavisinde farmakolojik hedefler olarak önem taşımaktadır (Supuran, 2008; Supuran, 2016; Chung vd., 2001).

Bu bağlamda, thiazolidin-2,4-dion, hydantoin, rhodanine ve benzeri heterosiklik çekirdek yapılar, farklı biyolojik hedefler üzerinde aktivite gösterebilmeleri nedeniyle ilaç keşfi çalışmalarında sıklıkla incelenmektedir (Verma ve Saraf, 2008; Tomašić ve Mašić, 2009). Deneysel enzim inhibisyon çalışmalarını desteklemek amacıyla kullanılan moleküler docking analizleri, ligand-protein etkileşimlerinin moleküler düzeyde değerlendirilmesine olanak tanıyan tamamlayıcı hesaplamalı yöntemlerdir (Morris ve Lim-Wilby, 2008). Ayrıca metal iyonlarının oksidatif stres mekanizmalarındaki rolleri göz önünde bulundurulduğunda, metal şelatlama kapasitesine sahip bileşiklerin dolaylı antioksidan etki gösterebileceği bildirilmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 2015).

Bu kapsamda, bu çalışmada thiazolidin-2,4-dion, hydantoin, 2-thiohydantoin, rhodanine, 3-aminorhodanine ve kreatinin türevlerinin biyolojik etkileri; enzim inhibisyon deneyleri, moleküler docking analizleri ve metal şelatlama sonuçları birlikte değerlendirilmiştir.

## 1.1 Enzimler

Enzimler, canlı organizmalarda metabolik süreçlerin düzenlenmesinde görev alan ve kimyasal reaksiyonların hızını artırarak aktivasyon enerjisini düşüren biyolojik katalizörlerdir. Biyolojik kataliz kavramı, ilk kez 18. yüzyılın sonlarına doğru, mide salgılarının etin parçalanmasındaki rolünü inceleyen çalışmalarla bilimsel olarak dikkat çekmiştir. Bu ön bulgular, 19. yüzyıl boyunca özellikle tükürük ve bitki özütlerinin nişasta üzerinde dönüştürücü etkileri üzerine yapılan deneylerle daha da derinleştirilmiştir. 1850’li yıllarda Louis Pasteur, şekerin maya aracılığıyla alkole dönüşmesinin, canlı hücrelerin ayrılmaz bir parçası olarak gördüğü "ferment" adı verilen maddeler tarafından gerçekleştiğini öne sürmüştür (Nelson ve Cox, 2005). Bu yaklaşım, yaşamın yalnızca canlı organizmalara özgü bir “yaşamsal kuvvet” le sürdürülebileceğini savunan vitalizm anlayışını uzun süre desteklemiştir. Ancak 1897’de Eduard Buchner’in yürüttüğü çalışmalar, bu görüşe önemli bir itiraz getirmiştir. Buchner, hücrelerden arındırılmış maya özütlerinin de fermantasyon sürecini sürdürebildiğini göstererek, katalitik etkinin hücre bütünlüğü olmadan da gerçekleşebileceğini deneysel olarak ortaya koymuştur. Bu süreçte rol alan işlevsel moleküller, ilerleyen dönemde Frederick W. Kühne tarafından “enzim” olarak adlandırılmıştır (Heckmann ve Paradisi, 2020).

### 1.1.1 Enzimlerin adlandırılması ve sınıflandırılması

Enzimler, gerçekleştirdikleri kimyasal tepkimelere göre sınıflandırılır ve her biri bir EC numarası ile tanımlanır. Bu sınıflandırma, yalnızca belirli bir enzim proteinini tanımlamakla kalmaz; aynı işlevi yerine getiren ancak yapısal olarak farklı proteinleri de kapsayabilir. Bazen birbirinden tamamen farklı yapıya sahip proteinlerin, aynı reaksiyonu katalizleyebildiği görülür. Bu tür proteinler "homolog olmayan eş işlevli enzimler" (Nonhomologous Isofunctional Enzymes- NISE) olarak adlandırılır (Vandenberghe vd., 2020).

Başlangıçta enzimler altı ana gruba ayrılmıştır: oksidoredüktazlar, transferazlar, hidrolazlar, liyazlar, izomerazlar ve ligazlar. Ancak 2018 yılında bu sınıflandırmaya bir yedinci sınıf daha eklenmiş ve translokazlar (EC 7) olarak adlandırılan yeni bir kategori tanımlanmıştır (Vandenberghe vd., 2020). Enzimlerin dizilerinin ve üç boyutlu yapılarının sınıflandırılmasında, evrimsel ilişkiler ve biyofiziksel özellikler dikkate alınarak yapılan

analizler, enzimler arasındaki benzerliklerin daha net anlaşılmasına olanak sağlamıştır. Enzim sınıflandırmasında kullanılan EC numarası dört haneli bir yapıdan oluşmakta olup, bu yapıdaki rakamlar sırasıyla enzimin genel sınıfını, alt sınıfını, daha alt sınıfını ve ilgili gruptaki sıra numarasını ifade etmektedir (McDonald ve Tipton, 2023). Enzimlerin katalizledikleri reaksiyon türlerine göre yapılan bu sınıflandırma, Tablo 1.1’de özetlenmiştir.

Tablo 1.1: Enzimlerin katalizlenen reaksiyon türüne göre sınıflandırılması.

| Enzim Sınıfı | İsim              | Genel Reaksiyon Tipi                                       |
|--------------|-------------------|------------------------------------------------------------|
| EC 1         | Oksidoredüktazlar | $AH_2 + B \rightarrow A + BH_2$                            |
| EC 2         | Transferazlar     | $AX + B \rightarrow BX + A$                                |
| EC 3         | Hidrolazlar       | $A-B + H_2O \rightarrow AH + BOH$                          |
| EC 4         | Liyazlar          | $A-B + X-Y \rightarrow A-B \mid \mid X \quad Y$            |
| EC 5         | İzomerazlar       | $A \rightarrow B$                                          |
| EC 6         | Ligazlar          | $A + B + NTP \rightarrow A-B + NDP + P$ (veya $NMP + PP$ ) |
| EC 7         | Translokazlar     | $AX + B_1 \rightarrow A + X + B_2$                         |

**EC 1. Oksidoredüktazlar:** Elektron transferine dayalı redoks tepkimelerini katalizleyen enzimlerdir. Genellikle hidrojen veya elektronların bir molekülden diğerine aktarılmasını sağlarlar.

**EC 2. Transferazlar:** Hidrojen dışındaki kimyasal grupların bir molekülden diğerine aktarılmasında görev alırlar.

**EC 3. Hidrolazlar:** Su molekülü kullanarak kimyasal bağların kırılmasını sağlayan enzimlerdir.

**EC 4. Liyazlar:** Molekül içinden belirli grupların ayrılmasını, bu sırada çift bağ oluşumunu sağlayarak gerçekleştiren enzimlerdir; mekanizmaları hidrolazlardan farklıdır.

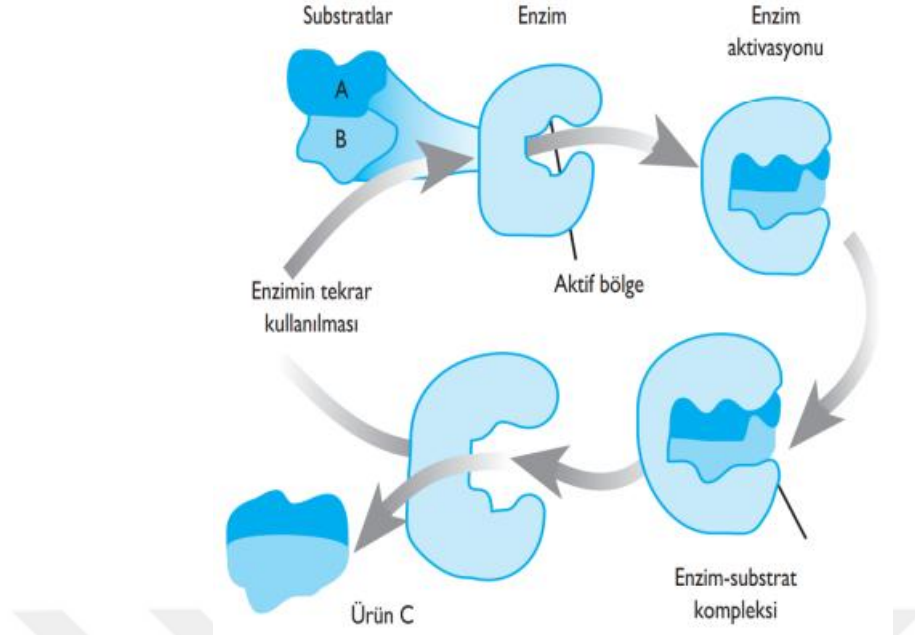
**EC 5. İzomerazlar:** Moleküllerin izomerleri arasında dönüşüm gerçekleştirir; geometrik, konumsal veya optik izomerleri birbirine çevirirler.

**EC 6. Ligazlar:** İki molekülün kovalent bağlarla birleşmesini sağlar. Bu tepkimeler genellikle ATP gibi yüksek enerjili bileşiklerin yıkımı ile elde edilen enerjiyle gerçekleşir (Gökalp, 2002).

**EC 7. Translokazlar:** İyon ve moleküllerin hücre zarından taşınmasını veya zar içinde yer değiştirmesini sağlayan enzimlerdir (Karaytuğ, 2024).

### 1.1.2 Enzimlerin yapısal özellikleri

Enzimler temel olarak iki ana yapıdan meydana gelir: bir protein bölümü ve buna eşlik eden yardımcı birim. Protein yapısındaki bu kısma apoenzim adı verilir ve apoenzim, enzimin yalnızca belirli bir kimyasal tepkimeyi katalizleyebilmesini sağlayan özgüllüğü belirler. Apoenzimler, ısı ve pH gibi çevresel faktörlere karşı hassas olup, yüksek sıcaklıklarda yapısal bütünlüklerini kaybederek denatüre olabilirler (Nelson ve Cox, 2017; Hasanzade, 2023). Enzimlerin yardımcı kısımları ise genellikle koenzim veya kofaktör olarak adlandırılır. Koenzimler çoğunlukla vitamin kökenli organik moleküllerden oluşurken, kofaktörler demir (Fe), magnezyum (Mg) ve çinko (Zn) gibi metal iyonlarıdır. Bu yardımcı gruplar, enzimin katalitik olarak aktif hâle gelmesini sağlar; ancak tek başlarına katalitik etkinlik gösteremezler ve mutlaka apoenzim ile birlikte bulunmaları gerekir (Berg vd., 2019; Hasanzade, 2023). Bazı enzimler yalnızca apoenzimden oluşur ve ek bir yardımcı yapıya ihtiyaç duymazlar. Koenzim apoenzime zayıf biçimde bağlanıyorsa kolaylıkla ayrılabilir; buna karşılık sıkı ve kalıcı bir bağ ile birleşmiş olan koenzimler prostetik grup olarak adlandırılır. Apoenzim ile yardımcı grubun birleşmesiyle oluşan aktif enzim kompleksi ise holoenzim olarak tanımlanır (Nelson ve Cox, 2017). Apoenzim, enzimin substrata özgülüğünü belirleyen ve hangi substratla etkileşime gireceğini tayin eden temel bölümdür. Enzim–substrat etkileşimi sırasında enzimler geçici yapısal değişiklikler gösterebilmekle birlikte, reaksiyon tamamlandıktan sonra özgün yapılarına geri dönerler ve ürün oluşumunu sağlarlar (Şekil 1.1). Bununla birlikte, protein yapısında olmaları nedeniyle bazı fiziksel ve kimyasal etkenler enzimlerin üç boyutlu yapısını bozarak denatürasyona yol açabilmektedir (Kalaycıoğlu vd., 2006; Berg vd., 2019).



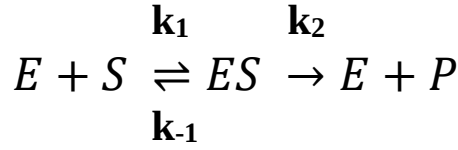
Şekil 1.1: Enzim-substrat ilişkisi (Savaş, 2024)

## 1.2 Enzim kinetiği

Enzimatik reaksiyonlarda, enzimler substratlarıyla etkileşime girerek belirli ürünlerin oluşumunu sağlar. Bu süreçte, enzim, substrat ve ürünün derişimleri zamanla değışim gösterir. Enzim ile substrat arasında gerçekleşen tersinir bir reaksiyon sonucunda, enzim-substrat (E-S) kompleksi meydana gelir. Bu kompleks, devamında gerçekleşen ve çoğunlukla geri dönüşsüz olan bir adım ile ürüne dönüşür. Bu reaksiyonlar sırasıyla  $k_{-1}$ ,  $k_1$  ve  $k_2$  hız sabitleriyle tanımlanır. Bu reaksiyon mekanizması Şekil 1.2’de şematik olarak gösterilmiştir. Söz konusu tepkimeler, belirli bir kinetik model çerçevesinde ilerler. Enzim kinetiği, enzimin substratla her etkileşim aşamasındaki davranışlarını anlamaya yardımcı olur. Bu kinetik analizler sayesinde, enzimin substrat üzerindeki etkisiyle ilgili çeşitli bilgiler elde edilebilir. Özellikle  $K_m$  (Michaelis sabiti) ve  $V_{max}$  (maksimum hız) gibi enzim kinetiğine özgü parametreler, bu sürecin sonunda elde edilen en kritik veriler arasında yer alır (Nelson ve Cox, 2017).

Enzimlerin büyük bir bölümü, kinetik davranışları açısından Michaelis-Menten modeliyle açıklanır. Michaelis ve Menten, enzimlerin katalizlediği reaksiyonların temel özelliklerini ortaya koyan genel bir kuramsal yaklaşım geliştirmiştir. Bu modele göre, enzim önce substratla geri dönüşümlü bir şekilde etkileşime girerek bir enzim-substrat kompleksi oluşturur. Ardından bu geçici kompleks, kimyasal dönüşüm geçirerek nihai ürünü meydana

getirir (Taslimi, 2017). Bu süreç Şekil 1.2’de gösterilen reaksiyon şeması ile ifade edilmektedir.



Şekil 1.2: Michaelis–Menten kinetiğinde enzim–substrat reaksiyon şeması

Burada S substratı, E enzimi, ES ise enzim-substrat kompleksini temsil etmektedir.  $k_1$  ve  $k_2$  ise bu sistemdeki reaksiyonun hız sabitleridir. Enzimlerin katalizlediği reaksiyonların hızları, hem substratın hem de enzimin derişimlerine bağlıdır. Michaelis-Menten modeli, reaksiyon hızı ile substrat yoğunluğu arasındaki matematiksel ilişkiyi tanımlar. Substrat konsantrasyonuna karşı reaksiyon hızının grafiği çizildiğinde, eğri genellikle hiperbolik bir şekil alır. Bu ilişkiyi ilk kez tanımlayan Leonor Michaelis ve Maud Menten, enzim kinetiği kapsamında bu durumu ifade eden ve kendi adlarını taşıyan denklemi geliştirmişlerdir (Taslimi, 2017).

$$V_0 = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]} \quad (1)$$

Denklem (1)’de Michaelis-Menten kinetiği ifade edilmektedir. Michaelis-Menten denkleminde;  $V_0$  başlangıç hızını,  $V_{max}$  reaksiyonun ulaşabileceği en yüksek hızı,  $[S]$  substratın derişimini ve  $K_m$  ise Michaelis sabitini temsil eder.  $K_m$  değeri, enzimin substrata olan bağlanma eğilimini gösterir.  $K_m$ ’nin değeri, reaksiyon hızının yarısına ulaşıldığı noktadaki substrat derişimine karşılık gelir ve bu değer enzim miktarından bağımsızdır. Küçük bir  $K_m$  değeri, enzimin substrata yüksek afinite gösterdiğini, büyük bir  $K_m$  değeri ise bu ilginin daha düşük olduğunu ifade eder. Michaelis-Menten denklemi,  $K_m$  ve  $V_{max}$  değerlerinin daha rahat belirlenebilmesi için farklı bir biçime dönüştürülebilir. Bu amaçla,  $1/V_0$  değerleri  $1/[S]$ ’ye karşı çizildiğinde doğrusal bir grafik elde edilir. Bu doğrusal grafik, Lineweaver-Burk grafiği ya da diğer adıyla çift ters grafik olarak adlandırılır (Taslimi, 2017).

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}} \quad (2)$$

Denklem (2) Lineweaver-Burk yaklaşımını ifade etmektedir.

### **1.2.1 Enzim aktivitesini belirleyen faktörler**

Enzimler, bulundukları ortamda mevcut olan substratlarla etkileşime girerek bu maddeleri ürünlere dönüştürürler. Enzimlerin etkinliği, substrat miktarındaki azalma ya da oluşan ürün miktarındaki artışla ölçülebilir. Enzim aktivitesini ifade eden birim, 25°C’de ve optimum koşullar altında, bir dakikada 1 mikromol substratın ürüne dönüşmesini sağlayan enzim miktarıdır (Nelson ve Cox, 2005). Enzim aktivitesi bu birim (enzim ünitesi) kullanılarak belirlenir. Enzimlerin görev aldığı reaksiyonlarda hızı etkileyen çeşitli faktörler vardır. Bunlar arasında sıcaklık, enzim miktarı, ışık, süre, substrat derişimi, ortamın pH değeri ve diğer fiziksel koşullar yer alır (Seçgin, 2013).

#### **1.2.1.1 Sıcaklık**

Enzimlerin maksimum etkinlik gösterdiği sıcaklık değerine optimum sıcaklık denir ve bu değer, enzimin türüne göre değişiklik gösterebilir. Özellikle memeli organizmalardan elde edilen enzimler, genellikle 37°C gibi fizyolojik sıcaklıklarda en yüksek aktiviteyi sergiler. Sıcaklık değişimleri, enzimlerin üç boyutlu yapısını etkileyerek aktivitenin azalmasına veya protein yapısının bozulmasına, yani denatürasyona neden olabilir (Daniel vd., 2008).

#### **1.2.1.2 pH**

Enzimlerin en verimli şekilde çalıştığı pH düzeyine optimum pH denir ve bu değer, her enzim için farklılık gösterebilir. Enzim, bu ideal pH aralığından uzaklaştıkça etkinliğinde azalma görülür. pH değerinin aşırı yükselmesi veya düşmesi, enzimlerin iyonik etkileşimlerini ve üç boyutlu yapılarını bozarak denatürasyona yol açabilir; bu durumda enzim aktivitesi büyük ölçüde azalır veya tamamen kaybolur (Nelson ve Cox, 2017).

### **1.2.1.3 Substrat ve Enzim Konsantrasyonu**

Enzim miktarı sabit tutulduğunda, substrat yoğunluğundaki artış genellikle reaksiyon hızının da artmasına neden olur. Ancak, substrat miktarı belirli bir düzeyi aştığında ve enzimlerin tüm aktif bölgeleri dolduğunda, hız artışı durur ve reaksiyon sabit bir seviyeye ulaşır (Sousa vd., 2015).

### **1.2.1.4 İnhibitör Varlığı**

İnhibitörler, enzimlere bağlanarak katalitik etkinliği baskılayan ve bu etkiyi geri dönüşümlü ya da geri dönüşümsüz biçimde gösterebilen bileşiklerdir. (Berg vd., 2019).

## **1.3 Enzim inhibisyonu**

Bazı bileşikler, enzimin yapısına bağlanabildikleri hâlde gerçek substratlar gibi reaksiyona girmez ve ürün oluşumunu gerçekleştirmezler. Bu tür bileşikler, enzim aktivitesini engelledikleri için "enzim inhibitörleri" olarak adlandırılır (Bingöl, 1977). Enzim inhibisyonu ise, reaksiyon hızının belirli kimyasal maddeler, yani inhibitörler tarafından yavaşlatılması ya da tamamen durdurulması anlamına gelir (Savaş, 2024). Bu süreçteki temel amaç, enzimin katalizlediği biyokimyasal reaksiyonu kesintiye uğratarak hastalığın tedavisine katkı sağlamaktır. Nitekim birçok ilaç bu ilkeye dayanarak işlev görür; hedef enzimlerin faaliyetini baskılayarak tedavi edici etkiler oluşturur (Ak, 2020). Genellikle düşük moleküler ağırlığa sahip olan enzim inhibitörleri, enzimlerin katalitik etkinliğini azaltarak biyokimyasal tepkimelerin yavaşlamasına neden olurlar (Çakmak vd., 2017).

Enzimatik aktivitenin baskılanması, biyolojik sistemlerde önemli bir düzenleyici mekanizmadır ve birçok ilacın ya da toksik bileşiğin etkisi bu mekanizma üzerinden açıklanmaktadır. İnhibitörler, enzimlerin çalışma prensiplerinin anlaşılmasında temel bir yere sahiptir. Enzimlerin hem canlı organizmalarda (in vivo) hem de laboratuvar koşullarında (in vitro) belirli maddeler tarafından yavaşlatılması veya tamamen durdurulması "inhibisyon" olarak tanımlanır ve bu etkiye neden olan maddeler "inhibitör" olarak adlandırılır.

Enzim inhibisyonu genel olarak geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz olmak üzere iki ana sınıfta ele alınmaktadır (Nelson vd., 2021; Berg vd., 2019; Voet ve Voet, 2016).

### **1.3.1 Geri Dönüşümsüz İnhibisyon**

İnhibitör, enzim ya da enzim-substrat kompleksi ile kovalent bir bağ oluşturarak etkileşir. Bu durum, substratın enzime bağlanmasını önler. Oluşan Enzim-İnhibitör (EI) kompleksi ise geri dönüşü olmayan bir yapıdadır (Nelson vd., 2021; Berg vd., 2019; Voet ve Voet, 2016).

### **1.3.2 Geri Dönüşümlü İnhibisyon**

İnhibitör, enzime kovalent olmayan bağ türleriyle örneğin hidrofobik etkileşimler, iyonik bağlar ve van der Waals kuvvetleriyle geçici olarak tutunur. Ortamdan inhibitör kaldırıldığında, enzim eski işlevini yeniden kazanabilir (Nelson vd., 2021; Berg vd., 2019; Voet ve Voet, 2016).

#### **1.3.2.1 Yarışmalı inhibisyon**

İnhibitör, yapısal olarak substrata benzediği için enzimle bağlanma konusunda substratla rekabet eder. Aktif bölgeye inhibitör bağlandığında, substrat enzime tutunamaz ve tepkime gerçekleşemez. Bu durum maksimum hız ( $V_{max}$ ) üzerinde etkili olmazken, Michaelis sabiti ( $K_m$ ) yükselir (Saboury, 2009).

#### **1.3.2.2 Yarışmalı Tip I (Nonkompetitif) inhibisyon**

İnhibitör, enzimin aktif bölgesi dışında yer alan allosterik bir bölgeye bağlanarak enzimin üç boyutlu yapısında değişikliğe neden olur. Bu yapısal değişim, aktif merkezin substrata olan özgün uyumunu bozar ve substratın işlenmesini engeller. Bu tür bir etkileşimde Michaelis-Menten sabiti ( $K_m$ ) sabit kalırken, enzimatik reaksiyonun ulaşabileceği maksimum hız ( $V_{max}$ ) düşer (Ring vd., 2014).

### 1.3.2.3 Yarışmasız Tip II (Unkompetetif) İnhibisyon

İnhibisyon, enzimin yapısal (konformasyonel) özelliklerinde değişikliklerle ortaya çıksa da, esas olarak enzim-substrat kompleksi ile inhibitörün etkileşimi sonucu meydana gelir. Bu etkileşim sonucunda enzim-substrat-inhibitör (ESI) kompleksi oluşur ve ürün meydana gelmesi engellenir. Bu tür inhibisyonda, hem Michaelis sabiti ( $K_m$ ) hem de maksimum reaksiyon hızı ( $V_{max}$ ) düşüş gösterir (A. Amine vd., 2016).

### 1.3.2.4 Karışık inhibisyon

Bu inhibisyon türünde inhibitör, yarışmasız inhibisyondan farklı olarak serbest enzim ile enzim-substrat kompleksine eşit olmayan afinitelerle bağlanır. Substrat derişiminin artırılması inhibitörün bağlanma etkisini kısmen azaltabilse de, bu etki tamamen ortadan kaldırılamaz. Bu nedenle sistemde  $K_m$  değerinde artış ya da azalış gözlenebilirken,  $V_{max}$  değeri her durumda azalır. (Ochs, 2000).

## 1.4 Kollajenaz

Kollajen, memelilerde diş, kemik ve kornea gibi dokuların organik yapısını oluşturan temel bir bileşen olmanın yanı sıra; deri, tendon ve kıkırdak gibi bağ dokularında da yoğun olarak bulunur. Özellikle cildin dermis tabakasında yüksek oranlarda (%80'e kadar) yer alır ve toplam vücut proteinlerinin %25 ila %33'lük bir kısmını oluşturur (Calleja-Agius vd., 2013; Harrington, 1996).

Kollajenazlar, özellikle bağ dokularının yapısal bütünlüğünü bozan süreçlerde aktif rol oynarlar. Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği (IUBMB) tarafından tanımlanan kollajenaz enzimi, EC 3.4.24.3 numarasını taşır. Bu sınıflandırmaya göre; ilk basamak olan “3” enzimin hidrolaz grubuna ait olduğunu, “4” sayısı proteaz özellik taşıdığını, “24” ise metalloproteaz alt sınıfına dâhil olduğunu ve “3” numarası da spesifik olarak kollajenazı ifade eder (Çağlar, 2022).

Matriks metalloproteinazlar (MMP'ler), hücreler arası matriksin çeşitli bileşenlerini parçalayan çinko veya kalsiyum bağımlı endoproteinazlardır (Cawston ve Wilson, 2006; vd., 2007). MMP'ler yalnızca kollajen yapısını yıkmakla sınırlı kalmaz; yara iyileşmesi, kemik

ve doku yenilenmesi, meme ve rahim dokularının düzenlenmesi, ovülasyon, embriyo yerleşimi ve süt üretimi gibi birçok fizyolojik süreçte de rol alırlar. Bununla birlikte, patolojik durumlarda, özellikle artrit, kanser hücrelerinin yayılması (invazyon) ve metastaz süreçlerinde etkin olduklarına dair çeşitli bulgular mevcuttur. Bu sebeple MMP'ler, pek çok farmakolojik araştırmada antiinflamatuvar, antikanser ve antiartrit tedaviler için potansiyel hedefler arasında yer almaktadır (Apakkan Aksun vd., 2001; Gupta ve Kumaran, 2003).

Kollajenaz (özellikle MMP-8, MMP-1 gibi matriks metalloproteinazlar) periodontal dokularda ekstraselüler matriksin yıkımında merkezi bir rol oynar; bu enzimlerin aktivitesi periodontal cep sıvısı ve dokularında artış göstererek diş eti hastalıklarının ilerlemesiyle pozitif korelasyon taşımaktadır (Checchi vd., 2020; Radzki vd., 2024). İleri evre artrit vakalarında, kollajenaz ve diğer MMP'lerin kırık ile kemik dokularındaki kollajen ve ekstraselüler matriks bileşenlerini parçalayarak eklem yapılarında geri dönüşsüz tahribata ve fonksiyon kaybına yol açtığı gösterilmiştir. Yapılan derlemeler ve in vitro çalışmalarda, MMP inhibitörleri içeren kombinasyon tedavilerinin bu yıkım sürecini yavaşlatabileceğine dair umut verici veriler elde edilmiştir (Pulik vd., 2023; Mixon vd., 2021).

## **1.5 Elastaz**

Elastazlar, elastin adlı temel bağ doku proteinini parçalayan serin proteaz enzim grubuna dahildir. Bu enzimler, başta deri, akciğer, lenf ve damar sistemleri olmak üzere çeşitli dokularda yaygın şekilde bulunur. Bulundukları bölgelerde, özellikle enflamatuvar süreçlerde meydana gelen doku hasarında önemli rol oynadıkları bilinmektedir (Ceylan, 2022). Elastazlar, serin proteazlar içerisinde elastin fibrillerini parçalama yeteneği ile öne çıkan enzimlerdir. Elastin; akciğer, damar duvarı, deri ve bağ dokusunda bulunan ve bu yapılara esneklik kazandıran temel bir ekstraselüler matriks proteindir. Güncel çalışmalar, elastazların yalnızca elastini değil; tip I, II, III, IV ve XI kollajenleri, fibronectin, laminin ve çeşitli proteoglikanları da parçalayabildiğini göstermektedir. Bu geniş substrat yelpazesi nedeniyle elastaz aktivitesindeki artış, bağ dokusunun yapısal bütünlüğünü bozarak doku hasarı ve inflamasyon süreçlerinde kritik bir rol oynamaktadır (Korkmaz vd., 2010; de Oliveira ve Saldanha, 2020; Guyot ve Wehrle-Haller, 2021). Normal fizyolojik koşullar altında, vücutta bulunan endojen inhibitörler sağlıklı dokuların zarar görmesini önleyici bir rol üstlenir. Ancak bu biyolojik denge bozulduğunda; başta kanser, ateroskleroz, solunum

sistemi hastalıkları ve kalp-damar rahatsızlıkları olmak üzere çeşitli sağlık sorunları ortaya çıkabilmektedir (Sahasrabudhe ve Deodhar, 2010).

Elastaz enziminin kontrol edilemeyen aktivitesi, pek çok kronik inflamatuvar hastalığın ortaya çıkmasında merkezi bir rol oynamaktadır. Özellikle nötrofil elastazın aşırı aktivitesi; KOAH, pulmoner amfizem, kistik fibrozis, şiddetli astım, akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS), romatoid artrit ve kronik iyileşmeyen yaralarda doku yıkımını hızlandıran temel biyokimyasal mekanizmalardan biri olarak tanımlanmaktadır. Güncel çalışmalar, elastazın elastin, kollajen ve diğer ekstraselüler matriks bileşenlerini parçalayarak yapısal bütünlüğü bozduğunu ve bu süreçte inflamatuvar döngüyü daha da şiddetlendirdiğini göstermektedir (Korkmaz vd., 2010; Guyot ve Wehrle-Haller, 2021).

## **1.6 Hyalüronidaz**

Hyalüronidaz, hyalüronik asidi düşük molekül ağırlıklı fragmanlara ayıran ve ekstraselüler matriksin yapısal bütünlüğünü düzenleyen anahtar endo-glikozidaz enzimlerinden biridir. Bu enzim, doku geçirgenliğini artırması, inflamatuvar süreçleri etkilemesi ve tümör hücrelerinin invazyonunda rol oynaması nedeniyle fizyolojik ve patolojik birçok mekanizmada önemli bir yer tutar. Güncel çalışmalar, hyalüronidazların yalnızca matriksin yeniden şekillenmesinde değil, aynı zamanda yara iyileşmesi, alerjik reaksiyonlar ve kanser metastazı gibi süreçlerde de kritik işlevlere sahip olduğunu göstermektedir (Stern, 2003; Girish ve Kemparaju, 2007; Triggs ve Mitchell, 2020). Hyalüronik asit ve metabolizma enzimleri, tümör biyolojisinden başka; yaşlanma, hidrasyon, fertilizasyon, embriyonik gelişim, hücre bölünmesi, farklılaşma ve yara iyileşmesi gibi pek çok fizyolojik ve patolojik süreçte aktif rol oynar (Kaul vd., 2021). Tümör invazyonu ve metastaz süreçlerinde, hyalüronidazlar da dahil olmak üzere birçok faktörün etkili olduğu belirlenmiştir. Hyalüronan düzeyinin, tümör hücrelerinin gelişimi ve olumsuz klinik sonuçlarla ilişkili olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, aşırı hyalüronan üretiminin, hücrelerin bağımsız şekilde büyüme yeteneğini artırdığı bulunmuştur (Csokaa vd., 2001). Tümör hücrelerinde hyalüronidaz enzim aktivitelerinin yüksek seviyelerde olduğu gözlemlenmiştir. Özellikle, nekrotik tümör hücrelerinde ve metastatik meme ile prostat kanserlerinde, hyalüronidaz aktivitesinin normal hücrelere kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra, çeşitli araştırmalar hyalüronidazın endometriyum, ovaryum ve meme kanserlerinin ilerlemesini desteklediğini ve tümör hücrelerinde in vivo anjiyogenezi teşvik ettiğini rapor

etmiştir. Ayrıca, kanser hastalarının serumlarında, karaciğer hastalıklarında ve bazı dermatolojik bozukluklarda hyaluronidaz inhibitör aktivitesinin arttığı gözlemlenmiştir (Özmen, 2015).

### **1.7 Asetilkolinesteraz**

Asetilkolin esteraz (E.C. 3.1.1.7) enzimi; merkezi ve periferik sinir sistemleri, kolinerjik ve adrenerjik dokular, kas hücreleri, eritrositler ve plasenta gibi birçok dokuda bulunmaktadır. Bu enzim, sinaptik boşluklardaki asetilkolini asetat ve koline parçalayarak inaktive eder. Asetilkolin ise sinir hücreleri arasındaki iletişimi sağlayan ve sinapslarda sinir impulslarının iletimini kolaylaştıran bir nörotransmitterdir. Asetilkolinesteraz, özellikle böceklerin merkezi sinir sistemindeki kolinerjik sinapslarda asetilkolinin hidrolizini gerçekleştirir. Sinaptik bölgelerde asetilkolinin inaktivasyonu aşırı derecede arttığında, sinirsel iletim bozulur ve bu durum insanlarda Alzheimer hastalığının gelişiminde etkili olabilir (Taslimi, 2017). Özellikle beyin korteksindeki kolinerjik sistemlerin bozulmasının; zeka, hafıza ve bellek gibi bilişsel işlevlerde gerilemeye neden olduğu, ayrıca AChE'nin Alzheimer hastalığının çeşitli semptomlarıyla ilişkili olduğu yönündeki bulgular dikkate alındığında, AChE inhibitörleri ve antikolinesterazlar günümüzde Alzheimer tedavisinde en etkili ilaç grupları arasında yer almaktadır (Timur, 2023).

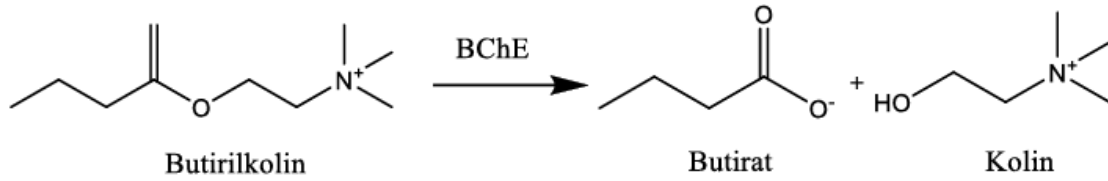
### **1.8 Bütirilkolinesteraz**

Bütirilkolinesteraz (BChE, E.C.3.1.1.8), kolinesteraz enzim ailesinin bir üyesi olup, başlıca karaciğerde sentezlenerek sistemik dolaşıma salınmaktadır (Chatonnet ve Lockridge, 1989). Bütirilkolinesteraz (BChE), merkezi sinir sistemi (MSS) içerisinde sınırlı bir şekilde belirli nöronal bölgelerde bulunan bir kolinesteraz enzimidir (Khan vd., 2018). Bütirilkolinesteraz (BChE) enzimi, yalnızca bütirilkolini değil, aynı zamanda asetilkolini de hidrolize edebilen bir enzimdir. Bunun yanı sıra, bu enzim kolin yapısına sahip olmayan çeşitli ester bileşiklerini de parçalama yeteneğine sahiptir (Layer vd., 2005).

BChE, AChE'den farklı olarak canlı organizma koşullarında AChE'ye benzer şekilde işlev görebilmektedir. Yapı olarak oldukça çeşitli olan bu enzim, çeşitli kolinler, asil tiokolinler, asil kolinler, süksinil kolinler, asetanilidler ve organofosfatları hidrolize etme yeteneğine sahiptir. BChE ve benzeri enzimler, nöronlar arası iletişim ve hücreler arası farklılaşma

süreçlerinde fizikokimyasal özellikleri bakımından çeşitlilik gösterebilir. Bu özellikleri sayesinde, birçok organik toksik maddeyi tanıyabilen ve etkisiz hale getirebilen biyosensörler ve biyolojik arındırıcılar olarak potansiyel uygulama alanlarına sahiptirler. Ayrıca, Down sendromu, glokom, Parkinson hastalığı, travmatik beyin hasarı ve hafıza kaybı gibi merkezi sinir sistemi bozukluklarının tedavisinde de kullanımları araştırılmıştır (Taslimi vd., 2017).

Alzheimer hastalığının erken evrelerinde bütirilkolinesteraz (BChE) enziminin aktivitesinde artış gözlemlenmektedir; ancak tedavi süreci ilerledikçe bu enzimin aktivitesi azalma eğilimi gösterir. Bu nedenle, BChE enziminin düzeyleri hastalığın seyri açısından potansiyel bir biyobelirteç olarak değerlendirilebilir (Das vd., 2012). Öte yandan, hastalığın ileri aşamalarında beyindeki bazı bölgelerde asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesinde belirgin bir azalma meydana gelirken, BChE aktivitesinde artış görülmektedir (Greig vd., 2001). BChE aracılı bütirilkolin hidroliz reaksiyonu gösterilmiştir Şekil 1.3’de gösterilmiştir.



Şekil 1.3: BChE aracılı bütirilkolin hidroliz reaksiyonu. (Taslimi, 2017)

## 1.9 Karbonik Anhidraz I

Karbonik anhidrazlar (CA’lar, EC 4.2.1.1), yapılarında koordineli bir metal iyonu içeren ve karbon dioksit (CO<sub>2</sub>) ile suyun bikarbonat ve protona dönüşümünü çift yönlü olarak katalizleyen, yaygın bulunan metalloenzimler grubuna dahildir (Hasanova, 2024). Bu katalitik dönüşüm şu şekilde gerçekleşir ve Denklem (3)’te gösterilmektedir:



Bu enzim sınıfı, erken dönem biyokimyasal araştırmalarda tanımlanmış olsa da, modern çalışmalar enzimlerin yapısı, katalitik mekanizmaları ve biyolojik dağılımlarıyla ilgili çok daha ayrıntılı bilgiler sunmaktadır. Günümüzde yapılan araştırmalar, bu enzimlerin yalnızca

eritrositlerde değil, birçok dokuda ve hücre tipinde kritik işlevler üstlendiğini, ayrıca metabolik süreçlerde ve hücresel düzenlemede önemli roller oynadığını göstermektedir (Nelson, Cox ve Hoskins, 2021; Berg vd., 2019).

Karbonik anhidraz (hCA I) enzimi, eritrositlerin de dahil olduğu çeşitli dokularda pH dengesini düzenleyen bir enzim olarak tanımlanmıştır. Bu enzim, özellikle asit-baz dengesinin korunması gibi birçok metabolik süreçte önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca, doku ve organlar ile akciğerler arasındaki  $\text{CO}_2$  /  $\text{HCO}_3^-$  değişimi ve taşınmasıyla ilgili kritik fizyolojik süreçlerde yer alır. CA enzimleri, pH ve  $\text{CO}_2$  homeostazının sağlanmasında, elektrolit sekresyonunda, biyosentetik reaksiyonlarda (örneğin, glukoneogenez, lipogenez ve üre sentezi), kemik resorpsiyonu, kalsifikasyon, tümör oluşumu ve diğer birçok fizyolojik ve patolojik olayda da aktif olarak rol oynamaktadır (Hasanova, 2024).

Karbonik anhidraz (hCA I), pek çok düzenleyici dokuda bulunan ve özellikle tümörlerde ekspresyonu belirgin şekilde artan bir enzim ailesidir. CA izoenzimlerinin, özellikle CA IX ve CA XII'nin, hücre dışı ortamı asitleştirme yeteneği sayesinde tümör mikroçevresinde düşük pH oluşturduğu ve bunun kanser hücrelerine normal dokulara kıyasla büyüme avantajı sağladığı gösterilmiştir (Lee vd., 2020).

### **1.10 Karbonik Anhidraz II**

Karbonik anhidraz II (hCA II),  $\alpha$  sınıfı karbonik anhidraz ailesinin en yüksek katalitik hızı sahip üyelerinden biridir ve  $\text{CO}_2$  ile suyun bikarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ) ve protonlara ( $\text{H}^+$ ) dönüşümünü son derece hızlı bir şekilde katalizler. Bu yüksek etkinlik, solunum, asit-baz dengesi ve iyon transportu gibi temel fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde hCA II'yi kritik bir enzim hâline getirmektedir. Güncel çalışmalar, hCA II'nin hem normal dokularda hem de çeşitli patolojik koşullarda metabolik düzenlemede merkezi bir rol oynadığını göstermektedir (Supuran, 2016). hCA II, insan vücudunda en yaygın ifade edilen karbonik anhidraz izoenzimlerinden biridir ve toplam karbonik anhidraz aktivitesinin büyük bir bölümünden sorumludur. Sitozolde lokalize olan bu enzim, eritrositler, böbrek tübülleri, karaciğer, beyin, pankreas kanalları, mide mukozası, endotel hücreleri, göz dokuları ve erkek üreme sistemi gibi birçok dokuda yüksek düzeyde bulunur (Imtaiyaz Hassan vd., 2013). Güncel çalışmalar, hCA II'nin özellikle aköz hümeür üretimi üzerinde düzenleyici bir etkisi

olduğunu ve göz içi basıncının kontrolünde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Occhipinti ve Boron, 2019).

İnsan vücudunda 12 hCA izoformu bulunmakla birlikte, özellikle hCA I ve hCA II, epilepsi tedavisinin yanı sıra, solunum, pH dengesi, elektrolit salgılanması, patofizyoloji, diyabetle ilişkili görme kaybının ilerlemesi ve glokom gibi hayati fizyolojik süreçlerde de önemli bir işlev üstlenmektedir (Durgun vd., 2024; Doğan vd., 2023). Bu hayati süreçlere yapılan en küçük bir müdahale, izoenzimlerin aşırı ekspresyonuna yol açabilir ve bunun sonucunda çeşitli metabolik bozukluklar ile hastalıklar ortaya çıkabilir. Bu nedenle, CA izoenzimleri, özellikle kanser gibi önemli hastalıkların tanı ve tedavisinde biyobelirteç olarak sıklıkla kullanılmaktadır (Lionetto, 2023).

### **1.11 Alfa Glikozidaz**

Alfa-glikozidaz ( $\alpha$ -glikozidaz, EC 3.2.1.20), ince bağırsağın fırçamsı kenarında bulunan ve diyetle alınan oligo- ve disakkaritlerin terminal  $\alpha$ -1,4-glikozidik bağlarını hidrolize ederek glikoz açığa çıkmasını sağlayan bir hidrolaz enzimidir. Bu enzim, karbonhidrat sindiriminin son basamağında görev almakta ve postprandiyal kan glikoz düzeylerinin belirlenmesinde kritik rol oynamaktadır (Nelson vd., 2021).

$\alpha$ -Glikozidaz aktivitesinin artması, postprandiyal hiperglisemiye yol açarak tip 2 diyabet mellitusun patogenezinde önemli bir faktör olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle,  $\alpha$ -glikozidaz enziminin inhibisyonu, karbonhidratların glikoza dönüşümünü geciktirerek glisemik dalgalanmaların azaltılmasını hedefleyen etkili bir tedavi stratejisi olarak değerlendirilmektedir. Klinik uygulamada kullanılan akarboz, vogliboz ve miglitol gibi  $\alpha$ -glikozidaz inhibitörleri bu mekanizma üzerinden etki göstermektedir (Derosa ve Maffioli, 2012).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, sentetik ve doğal kökenli yeni  $\alpha$ -glikozidaz inhibitörlerinin geliştirilmesine yönelik araştırmaların arttığını ve bu süreçte enzim kinetiği ile moleküler docking analizlerinin inhibitör-enzim etkileşimlerinin aydınlatılmasında yaygın olarak kullanıldığını göstermektedir (van de Laar, 2008).

## 1.12 Antioksidanlar

Oksijenli yaşamın başlamasıyla birlikte, oksijeni kullanan canlılar serbest radikal üretimine de başlamıştır. Buna bağlı olarak, organizmalarda bu zararlı moleküllerin olumsuz etkilerini önlemek, azaltmak ya da yok etmek üzere antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir (Çelikdemir Yıldırım, 2025). Bu yapılara, serbest radikallerin zararlarını azaltan veya engelleyen sistemler olarak antioksidan savunma mekanizmaları ya da kısaca antioksidanlar adı verilmektedir. Antioksidanlar, serbest oksijen radikalleriyle etkileşime girerek onların hücrelere zarar vermesini engelleyen kimyasal maddelerdir. Bu bileşikler, oksidasyonu durdurabilen moleküller olup, kendileri serbest radikale dönüşmeden elektron vererek radikal zincir reaksiyonlarını sonlandırabilir (Aslankoç vd., 2019). Günümüzde serbest radikallerin neden olduğu oksidatif stresin, farklı canlı türlerinde moleküler düzeyde değişikliklere ve genetik mutasyonlara yol açarak çeşitli hastalıkların gelişiminde rol oynadığı anlaşılmıştır. Bu doğrultuda, hücreler üzerindeki olumsuz etkileri azaltmak ya da önlemek amacıyla, birçok araştırmacı doğal kaynaklı biyolojik olarak etkili bileşenlerin keşfi üzerine çalışmalar yürütmektedir (Yılmaz, 2025).

Antioksidanlar kökenlerine göre “doğal antioksidanlar” ve “sentetik antioksidanlar” olarak iki gruba ayrılır. Doğal antioksidan bileşikler, mikroorganizmalar, mantarlar ve hayvan dokuları da dahil olmak üzere birçok canlı türünde yaygın olarak bulunur. Özellikle fenolik bileşikler, bitkilerin ikincil metabolitleri arasında yer almakta olup, neredeyse tüm bitkisel kaynaklı besinlerde doğal halde yer alırlar. Bu bileşiklerin, hem insan hem de hayvan organizmalarında fizyolojik süreçlerin ayrılmaz bir parçası oldukları düşünülmektedir. Fenolik yapılı doğal antioksidanlar arasında en çok dikkat çeken gruplar tokoferoller, flavonoidler ve fenolik asitlerdir (Gülçin vd., 2011; Gülçin, 2012). Sentetik antioksidanların büyük çoğunluğu fenolik yapıya sahip olup, bu bileşiklerin etkinlikleri, kimyasal yapılarına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Bu yapılar, aynı zamanda bileşiklerin uçuculuk, çözünürlük ve termal stabilite gibi fiziksel özelliklerini de etkileyebilir (Solak, 2025).

### 1.12.1 Antioksidan Etkinliği Üzerinde Etkili Olan Faktörler

Antioksidanların biyolojik sistemlerdeki önemi, serbest radikallerle etkileşime girerek hücresel hasarı azaltma kapasitelerinden kaynaklanmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 2015; Pham-Huy vd., 2008). Bir bileşiğin antioksidan etkinliği, doğrudan kimyasal özellikleriyle

ilişkilidir. Özellikle serbest radikallere hidrojen ya da elektron verebilme yeteneği, yani indirgeme gücü, antioksidan etkiyi belirleyen temel unsurlardan biridir (Apak vd., 2016). Bunun yanı sıra, antioksidanın reaksiyon sonrası oluşan radikal formunun kararlılığı ve çevresiyle kurduğu etkileşimler de bileşiğin biyolojik etkinliğini şekillendirmektedir (Prior vd., 2005). Ayrıca antioksidan moleküllerin birbirleriyle etkileşim potansiyeli ve geçiş metalleriyle kompleks oluşturarak onları etkisiz hâle getirme (şelatlama) yeteneği, toplam antioksidan kapasiteyi destekleyen önemli mekanizmalar arasında yer almaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 2015; Nimse ve Pal, 2015).

### 1.12.2 Sık Kullanılan Antioksidan Analiz Yöntemleri

Literatürde yaygın olarak tercih edilen antioksidan aktivite analizleri arasında çeşitli indirgeme ve radikal giderme testleri yer almaktadır (Munteanu ve Apetrei, 2021; Mendonça vd., 2022). Bu yöntemler arasında; demir ( $\text{Fe}^{3+}$ ) iyonlarının demir ( $\text{Fe}^{2+}$ ) iyonlarına indirgenme kapasitesinin belirlenmesi, kuprak yöntemiyle bakır ( $\text{Cu}^{2+}$ ) iyonlarının indirgenmesi, FRAP (ferrik indirgeme antioksidan gücü) testi, süperoksit anyonlarının ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) uzaklaştırılması, ABTS $^{\cdot+}$  radikaliyle yapılan nötralizasyon testleri, DPPH $^{\cdot}$  serbest radikalının giderilmesi ve DMPD $^{\cdot+}$  radikalının etkisizleştirilmesi gibi analizler bulunmaktadır (Munteanu ve Apetrei, 2021; Apak vd., 2016). Ayrıca, ferrozin ve bipiridil reaktifleri kullanılarak  $\text{Fe}^{2+}$  iyonlarının şelatlama kapasitesinin belirlenmesi ve ferrik tiyosiyanat yöntemiyle toplam antioksidan kapasite ölçümleri de sıklıkla başvurulmuş teknikler arasında yer almaktadır (Taslimi, 2017; Mendonça vd., 2022).

### 1.13 İnhibitörler

Enzim inhibisyonu, ilaç geliştirme süreçlerinde oldukça kritik bir role sahiptir. Günümüzde kullanılan pek çok ilacın etki mekanizması, belirli enzimlerin aktivitelerinin seçici olarak baskılanmasına dayanmaktadır (Copeland, 2016). Özellikle çeşitli hastalıkların tedavisinde, hedef enzimin işlevini engelleyen inhibitör moleküller temel farmakolojik ajanlar olarak kullanılmaktadır. Bu kapsamda, HIV enfeksiyonuna karşı geliştirilen bazı ilaçlar, virüsün çoğalmasında kilit rol oynayan HIV proteaz enziminin aktivitesini inhibe etmeyi amaçlamakta ve bu yaklaşım antiviral tedavilerin temelini oluşturmaktadır (Wensing vd., 2019). Bununla birlikte, enzim inhibisyonu yalnızca farmasötik alanla sınırlı kalmayıp,

toksikoloji, pestisit formülasyonu ve zehirlenme mekanizmalarının anlaşılması gibi çeşitli uygulama alanlarında da önemli bir yer tutmaktadır (Çelik, 2024; Liu vd., 2022).

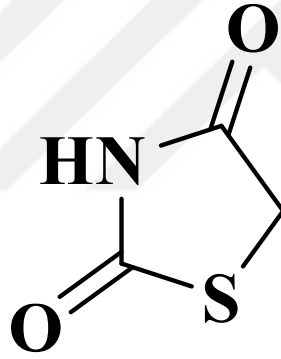
### 1.13.1 Beş Üyeli Heterosiklik Bileşikler

Beş üyeli heterosiklik bileşikler, yapılarında azot, oksijen veya kükürt gibi heteroatomlar içeren ve hem doğal ürünlerde hem de sentetik bileşiklerde yaygın olarak bulunan önemli bir molekül sınıfını oluşturmaktadır. Bu yapı sınıfı, biyolojik sistemlerde yer alan birçok temel molekülün iskeletini oluşturmasının yanı sıra, farmasötik kimya açısından da geniş bir uygulama alanına sahiptir. Özellikle beş üyeli heterosiklik halkaların yüksek yapısal çeşitlilik sunması ve farklı pozisyonlardan kimyasal olarak modifiye edilebilmesi, bu bileşikler ilaç tasarımı çalışmalarında cazip hâle getirmiştir. Güncel literatürde, beş üyeli heterosiklik bileşiklerin antimikrobiyal, antienflamatuvar, antikanser ve enzim inhibitör aktiviteleri gibi çeşitli biyolojik etkiler sergilediği bildirilmektedir (Kabir, 2022; Galeev ve Nugmanov, 2021).

#### 1.13.1.1 Thiazolidin-2,4-dione

Azot ve kükürt elementlerini içeren küçük yapıli heterosiklik bileşikler, sahip oldukları terapötik potansiyeller nedeniyle uzun yıllardır bilimsel araştırmalara konu olmaktadır (Kumar vd., 2023). Bu bileşikler yalnızca yapısal çeşitlilikleriyle değil, aynı zamanda farklı farmakolojik etkiler göstermeleriyle de dikkat çekmektedir. Özellikle ilaç keşfi ve geliştirme çalışmalarında, biyolojik açıdan etkili moleküllerin tasarımında ve sentezinde çok sayıda heterosiklik iskelet değerlendirilmiştir (Gupta vd., 2024). Bu yapılar arasında, thiazolidin-2,4-dion (TZD) halkası önemli bir yer edinmiş ve tıbbi kimyada temel farmakofor iskeletlerinden biri olarak kabul edilmiştir (Kumar vd., 2022). Thiazolidin-2,4-dion, literatürde glitazon çekirdeği olarak da tanımlanmakta olup, beş üyeli doymuş bir thiazolidin halkası yapısına sahiptir. Şekil 1.4'te gösterildiği üzere, bu halkada birinci konumda kükürt, üçüncü konumda azot atomu yer almakta; ikinci ve dördüncü pozisyonlarda ise iki adet karbonil grubu bulunmaktadır. TZD çekirdek yapısında gerçekleştirilen yapısal modifikasyonlar esas olarak üçüncü ve beşinci pozisyonlarla sınırlıdır. Bu pozisyonların fonksiyonel gruplarla modifiye edilebilmesi, TZD türevlerine geniş bir kimyasal çeşitlilik kazandırmakta ve farklı biyolojik hedeflere yönelik aktivite profillerinin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır (Ahsan vd., 2022). Bu bağlamda TZD türevlerinin antidiyabetik,

analjezik, antienflamatuvar, yara iyileştirici, antiproliferatif, antimalaryal, antitüberküloz, hipolipidemik, antiviral, antimikrobiyal, antifungal ve antioksidan aktiviteler sergilediği çeşitli çalışmalarla rapor edilmiştir (Gupta., 2024). TZD bileşiklerinin biyolojik etkinlikleri, birden fazla biyokimyasal mekanizma üzerinden gerçekleşmektedir. Antidiyabetik etkilerinin temelinde peroksizom proliferatör-aktif edici reseptör gama (PPAR $\gamma$ ) aktivasyonu yer alırken, antimikrobiyal aktivitelerinin Mur ligaz gibi hücre duvarı biyosentezinde görev alan enzimlerin inhibisyonu yoluyla ortaya çıktığı bildirilmektedir (Kumar vd., 2022). Buna ek olarak, TZD türevlerinin antioksidan etkilerinin reaktif oksijen türlerinin (ROS) süpürülmesi ve oksidatif stresin baskılanmasıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Gupta vd., 2024). Bu çok yönlü biyolojik etki mekanizmaları, thiazolidin-2,4-dion türevlerini güncel farmasötik ve biyoteknolojik araştırmalarda dikkat çeken ve potansiyel terapötik ajan adayları arasında yer alan önemli heterosiklik yapılar hâline getirmektedir.

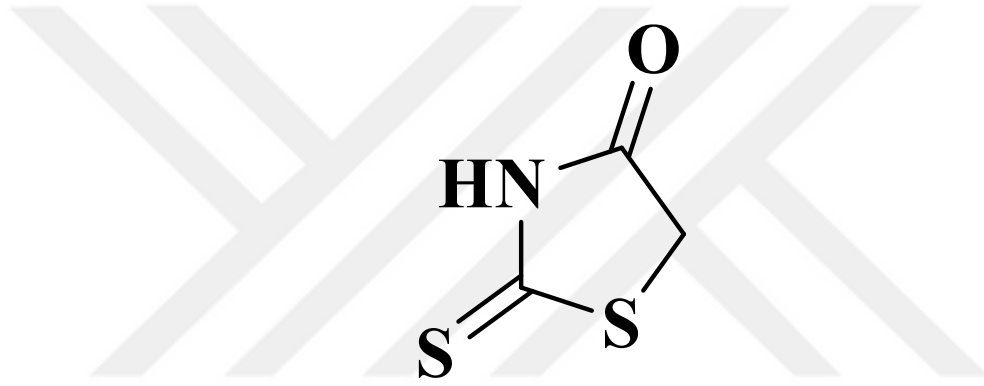


Şekil 1.4: Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin temel yapısı.

#### 1.13.1.2 Rhodanine

Tiyazol halkası içeren bileşikler, organik ve farmasötik kimya alanlarında önemli bir yere sahiptir. Bu sınıfa dâhil olan (5Z)-5-benziliden-2-tiyokso-1,3-tiyazolidin-4-on türevleri, literatürde rodaninler (rhodanines) olarak adlandırılmakta olup (Şekil 1.5), bu yapıların çeşitli biyolojik aktiviteler sergilediği bilinmektedir (Chaurasyia vd., 2023). Rodanin türevleri, yapılarında bulunan N=C=S fonksiyonel grubu sayesinde farklı biyolojik hedeflerle etkileşime girebilmekte ve bu durum, antidiyabetik ve antimikrobiyal etkiler gibi çeşitli farmakolojik özelliklerle ilişkilendirilmektedir (Tomasic ve Mašič, 2009). Tip II diyabet ve buna bağlı komplikasyonların tedavisinde kullanılan bazı ilaçlarda rodanin ve

benzeri heterosiklik yapılara rastlanması, bu iskeletlere olan ilgiyi artırmıştır. Özellikle rodanin ve thiazolidin-2,4-dion çekirdeğini içeren bileşikler, çeşitli biyolojik hedefler üzerinde etki gösterebilen moleküller olarak değerlendirilmektedir (Kamar vd., 2022). Bunun yanı sıra, son yıllarda yapılan çalışmalar rodanin türevlerinin yalnızca metabolik hastalıklarla sınırlı kalmayıp, farklı enzimlerin inhibisyonu açısından da araştırıldığını göstermektedir. Bu kapsamda, nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili bazı enzimler üzerinde potansiyel etki gösteren rodanin türevleri rapor edilmiştir (Guerraoui vd., 2023). Ayrıca, rodanin türevlerinin antimikrobiyal aktiviteleri uzun süredir bilinmekte olup, güncel araştırmalarda bu yapıların yeni antibakteriyel ajanların geliştirilmesinde başlangıç molekülü olarak değerlendirilebileceği bildirilmektedir (Chaurasya vd., 2023).



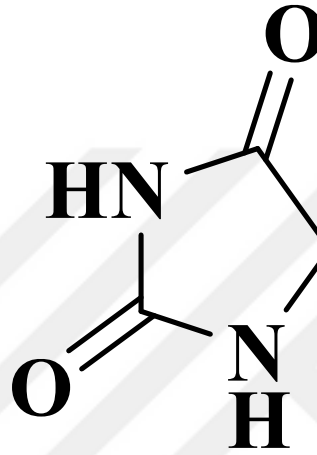
Şekil 1.5: Rhodanine bileşiğinin temel yapısı.

#### 1.13.1.3 Hydantoin

Hydantoin (imidazolidin-2,4-dion), beş üyeli ve non-aromatik bir heterosiklik halka yapısına sahip olup, ilaç keşfi ve medikal kimya çalışmalarında önemli bir molekül iskeleti olarak değerlendirilmektedir (Şekil 1.6). Bu çekirdek yapıyı içeren bileşikler imidazolidin türevleri arasında yer almakta; hidrojen bağı verici ve alıcı gruplar içermeleri ve farklı pozisyonlardan kimyasal olarak değiştirilebilmeleri nedeniyle yapısal çeşitliliğe olanak sağlamaktadır. Bu özellikler, hydantoinin yanı sıra izoelektronik analogları olan 2-thiohydantoin ve 2-selenohydantoin için de geçerlidir (Cho vd., 2019; Gupta vd., 2025).

Hydantoin türevlerinin antikonvülsan, antimikrobiyal, antienflamatuvar, antikanser ve antidiyabetik gibi çeşitli biyolojik etkilere sahip olduğu bildirilmiştir. Özellikle bu çekirdek yapının farklı biyolojik aktiviteler sergilemesi, ilaç tasarım çalışmalarında yapı-etkinlik

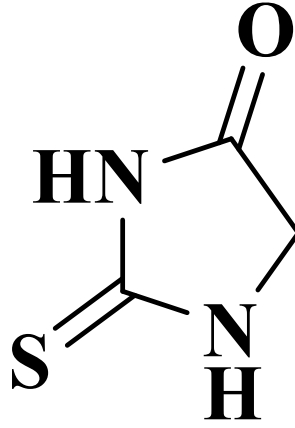
ilişkisi (SAR) analizlerine olan ilgiyi artırmıştır (Gupta vd., 2025). Klinik uygulamada, fenitoin benzeri hydantoin türevleri epilepsi gibi nörolojik hastalıkların tedavisinde kullanılırken, nitrofurantoin antimikrobiyal bir ajan ve enzalutamid gibi bazı bileşikler hormonal kanser tedavisinde yer almaktadır (Cho vd., 2019). Ayrıca hydantoin ve thiohydantoin halkalarının sunduğu yapısal esneklik sayesinde, yeni sentezlenen türevlerin farklı hedeflere yönelik enzim inhibitör aktiviteleri açısından incelenmesine yönelik çalışmalar sürmektedir (Cho vd., 2019; Khirallah vd., 2022).



Şekil 1.6: Hydantoin bileşiğinin temel yapısı.

#### 1.13.1.4 2-Thiohydantoin

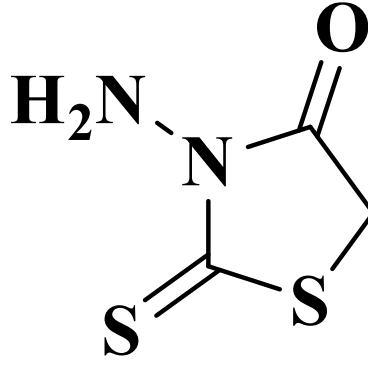
Thiohydantoinler, karbonil gruplarından birinin ya da her ikisinin tiokarbonil gruplarıyla yer değiştirmesiyle oluşan (Şekil 1.7), hydantoinlerin kükürt analoglarıdır. Özellikle 2-tiyohidantoin türevlerinin antikanser, antiviral, antitüberküloz, antimikrobiyal, anti-inflamatuar ve antioksidan etkiler gibi geniş bir biyolojik aktivite yelpazesine sahip olduğu, son yıllarda yapılan deneysel ve derleme çalışmalarda rapor edilmiştir (Cho., 2019).



Şekil 1.7: 2-Thiohydantoin bileşiğinin temel yapısı.

#### 1.13.1.5 3-Aminorhodanine

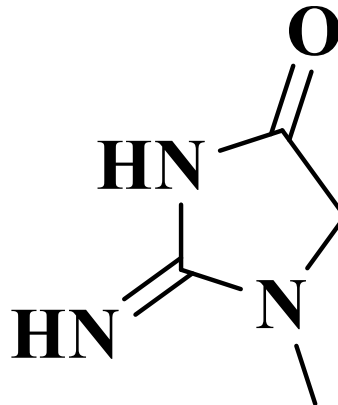
3-Aminorhodanine, moleküler formülü  $C_3H_4N_2OS_2$  olan beş üyeli heterosiklik bir bileşiktir. Şekil 1.8’de görüldüğü gibi, yapısında 1,3-tiyazolidin-4-on çekirdeği, bir amino grubu ( $-NH_2$ ) ve bir tiyokarbonil birimi ( $C=S$ ) bulunmaktadır. Bu yapısal özellikler, molekülün hidrazin ve tiyol tautomerik formları arasında denge kurmasına olanak sağlamaktadır (Tomasic ve Mašič, 2009). Tautomerizm nedeniyle 3-aminorhodanine, farklı çözücü ve reaksiyon koşullarında farklı kondensasyon ürünleri oluşturabilmektedir. Örneğin, aromatik aldehitlerle etanol ortamında 3-ariliden türevleri, amonyak içeren ortamlarda ise tiyol formu üzerinden 5-ariliden türevleri elde edilebilmektedir (Havrylyuk vd., 2016). 3-Aminorhodanine ve türevlerinin antikanser, antimikrobiyal, antiviral ve antiparazitik aktiviteler sergilediği çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir. Bu özellikleri nedeniyle söz konusu bileşikler, farmasötik araştırmalarda biyolojik açıdan dikkat çeken yapılar arasında yer almaktadır (Havrylyuk vd., 2016).



Şekil 1.8: 3-Aminorhodanine bileşiğinin temel yapısı.

#### 1.13.1.6 Creatinine

Creatinine, memelilerde kreatin fosfat metabolizmasının son ürünü olarak oluşan ve kimyasal açıdan 2-amino-1-metil-2-imidazolin-4-on yapısına sahip bir moleküldür (Şekil 1.9). Kas dokusunda enerji döngüsünün doğal bir yan ürünü olarak sentezlenen kreatininin vücutta üretim hızı büyük ölçüde sabit olup, başlıca böbrekler aracılığıyla glomerüler filtrasyon yoluyla atılmaktadır. Bu özellikleri nedeniyle serum kreatinin düzeyleri, özellikle böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan temel biyobelirteçler arasında yer almaktadır. Güncel klinik çalışmalar, kreatininin yalnızca böbrek hastalıklarının tanı ve takibinde değil, aynı zamanda kas hasarı durumlarının değerlendirilmesinde ve tiroit fonksiyon bozukluklarının belirlenmesinde de önemli tanısal değer taşıdığını göstermektedir (Chincholkar vd., 2023; Delanaye vd., 2021).



Şekil 1.9: Creatinine bileşiğinin temel yapısı.

### 1.14 Moleküler Docking

Moleküler yerleştirme, küçük moleküller ile biyomoleküller arasındaki etkileşimleri modelleyen bir hesaplamalı yöntemdir. Bu teknik; ilaç tasarımı, moleküler biyoloji ve biyoteknoloji gibi pek çok bilimsel alanda yoğun biçimde kullanılmaktadır (Skariyachan ve Garka, 2018). Temel amacı, bir hedef protein ya da enzimin, ligand olarak adlandırılan küçük moleküllerle nasıl bir etkileşim içine girdiğini öngörmektir. İlaç geliştirme çalışmalarında kritik bir rol oynayan bu yöntem, potansiyel ilaç adaylarının hedef proteinlere ve onların bağlanma bölgelerine nasıl bağlandığını tahmin etmeye yardımcı olur. Böylece, yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine katkı sağlar (Meng vd., 2011). Bu simülasyonlar, hedef protein (reseptör) ile ona bağlanabilen küçük moleküller (ligandlar) arasındaki etkileşimleri değerlendirmek üzere çeşitli hesaplamalı teknikler kullanır. Genellikle biyolojik olarak aktif proteinler bu analizlerde hedef yapı olarak seçilir (Agu vd., 2023). Bu proteinler, organizmada önemli biyolojik işlevlere sahip olan ve belirli ligandlarla etkileşime girerek çeşitli biyolojik tepkiler oluşturabilen makromoleküllerdir. Ligandlar ise bu proteinlerle etkileşim kurarak biyolojik aktivite gösterebilen küçük moleküllerdir ve çoğunlukla ilaç adayları olarak değerlendirilir (Grinter ve Zou, 2014). Moleküler yerleştirme işlemi, bu küçük molekülün hedef proteine bağlanma şeklini ve bu bağlanmanın olası biyolojik sonuçlarını tahmin etmeye yöneliktir. Moleküler yerleştirme, enzim inhibitörleri ve ajan tasarımı gibi daha özel alanlarda da önemli bir rol oynamaktadır. Enzim inhibisyonuna dair yapılan araştırmalar, kanser tedavisi, bulaşıcı hastalıklar ve nörolojik hastalıklar gibi çeşitli sağlık alanlarında yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine katkı sağlayabilir. Ayrıca, viral ve bakteriyel enzimler üzerinde gerçekleştirilen incelemeler, bu patojenlere karşı etkili tedavi yöntemlerinin oluşturulmasına yardımcı olabilir (Arjamand vd., 2022).

### 1.15 Çalışmanın amacı ve önemi

Bu çalışma kapsamında; Thiazolidin-2,4-dione, Rhodanine, Hydantoin, 2-Thiohydantoin, 3-Aminorhodanine ve Creatinine gibi farmakolojik açıdan önemli altı farklı bileşik seçilerek bu bileşiklerin çeşitli metabolik enzimler üzerindeki etkileri sistematik olarak değerlendirilmiştir. İlk aşamada, bileşiklerin Kollagenaz, Elastaz, Hyaluronidaz, Alfa Glikozidaz, Asetilkolinesteraz, Bütilkolinesteraz ile Karbonik anhidraz I ve II enzimleri

üzerindeki inhibitör kapasiteleri in vitro olarak analiz edilmiş ve elde edilen veriler bileşik–enzim etkileşimlerine ilişkin temel biyokimyasal sonuçları ortaya koymuştur.

Deneysel sonuçların ardından, bileşiklerin ilgili enzimlerin aktif bölgeleriyle etkileşim mekanizmaları in silico yöntemlerle ayrıntılı biçimde incelenmiştir. Moleküler yerleştirme (docking) analizleri aracılığıyla, her bir bileşiğin hedef enzimlere bağlanma biçimleri, etkileşim motifleri ve bağlanma skorları belirlenmiş; bu değerler bileşiklerin inhibitör potansiyellerinin karşılaştırılmasında temel ölçüt olarak kullanılmıştır. Elde edilen bulgular, söz konusu bileşiklerin yapısal özelliklerinin enzimlerle kurdukları etkileşimleri nasıl şekillendirdiğini ortaya koymakta ve bu bileşiklerin gelecekte terapötik amaçlı kullanım potansiyelleri hakkında yol gösterici bilgiler sunmaktadır.



## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

Enzimler, canlı organizmalardaki biyokimyasal reaksiyonları katalizleyen, protein yapısında biyomoleküllerdir. Bu biyolojik katalizörler, aktivasyon enerjisini düşürerek reaksiyon hızlarını artırır ve metabolik süreçlerin düzenli işlemlerini sağlar (Bingöl, 2016). Enzimlerin yüksek özgüllük ve etkinliğe sahip olmaları, ilaç, gıda, kimya ve kozmetik gibi pek çok endüstride geniş uygulama alanı bulmalarına olanak tanımaktadır. Bununla birlikte, bazı enzimlerin organizma içinde aşırı aktivite göstermesi çeşitli sağlık problemleriyle ilişkilendirilmiştir. Örneğin, asetilkolinesteraz (AChE) enziminin aşırı aktivitesi Alzheimer hastalığının ortaya çıkmasında önemli bir rol oynamaktadır (Timur, 2023). Benzer şekilde, butirilkolinesteraz (BChE) enziminin artan aktivitesi, lipid metabolizması ve nörolojik bozukluklarla bağlantılı süreçlerde etkili olabilmektedir (Bingöl, 2016). Bu tür patolojik durumlarda enzim inhibitörleri terapötik ajanlar olarak önem kazanmakta ve belirli enzimlerin aktivitesini modüle ederek hastalıkların ilerleyişini yavaşlatmayı amaçlamaktadır.

Son yıllarda özellikle heterosiklik bileşiklerin geniş biyolojik etki yelpazesi nedeniyle enzim inhibisyonu çalışmalarında ön plana çıktığı görülmektedir. Rodanin ve 2,4-tiyazolidindion gibi beş üyeli halkalar içeren bileşikler, sahip oldukları farmakofor özellikler sayesinde antidiyabetik, antioksidan ve antikanser aktivitelerinin yanı sıra çeşitli enzimler üzerinde güçlü inhibisyon gösterebilmektedir (Günay, 2014). Bu bağlamda, Chinchilli ve çalışma arkadaşları tarafından yürütülen güncel bir araştırmada, çeşitli rodanin türevlerinin karbonik anhidraz (CA) izoformları üzerindeki etkileri değerlendirilmiş ve özellikle CA II ile tümör ilişkili CA IX üzerinde belirgin inhibisyon gösterdikleri rapor edilmiştir (Chinchilli vd., 2023). Bu bulgular, rodanin yapıları bileşiklerin antikanser ilaç geliştirme çalışmalarında değerlendirilebileceğini ortaya koymaktadır. Hydantoin ve türevleri üzerine yapılan çalışmalar da dikkat çekicidir. Camargo ve ekibi, sentezledikleri hydantoin ve thiohydantoin türevlerinin Canavalia ensiformis üreaz (CEU) enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerini incelemiş ve thiohydantoinlerin referans inhibitör tiyüre kıyasla daha güçlü aktivite gösterdiğini bildirmiştir (Camargo vd., 2022). Benzer şekilde, Wu ve arkadaşları tarafından mutant IDH1 enzimi üzerine geliştirilen 2-thiohydantoin türevleri, hem kristalografik hem de biyokimyasal analizlerle yüksek seçici inhibisyon göstermiş ve IDH1 mutasyonlu tümör modellerinde biyolojik etkinlik doğrulanmıştır (Wu vd., 2015).

Son yıllarda literatüre eklenen bazı çalışmalar heterosiklik bileşiklerin farklı enzim sınıfları üzerindeki potansiyelini daha da güçlendirmektedir. Örneğin, Wang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, çeşitli rhodanine türevlerinin akarboza kıyasla çok daha güçlü  $\alpha$ -glucosidase inhibitör aktivitesi gösterdiği ve moleküler docking ile bu bileşiklerin enzimin aktif bölgesindeki kritik etkileşimleri ortaya koyduğu bildirilmiştir (Wang vd., 2017). Thiazolidindion yapısının da enzim inhibisyonunda önemli bir araştırma alanı olduğu görülmektedir. Zheng ve arkadaşlarının 2023 çalışmasında, thiazolidin-2,4-dion türevlerinin özellikle tümör mikro çevresinin asidifikasyonundan sorumlu CA IX ve CA XII izoformlarına karşı seçici inhibisyon gösterdiği belirlenmiştir (Zheng., 2023). Bu sonuçlar, thiazolidindion iskeletinin antikanser ajan tasarımı umut vadeden bir yapı olduğunu ortaya koymaktadır.

Mezoughi ve arkadaşlarının 2021 derlemesinde, thiohydantoin türevlerinin antikanser, antimikrobiyal ve çeşitli enzimler üzerine inhibitör etkiler dâhil olmak üzere çok geniş bir biyolojik aktivite yelpazesine sahip olduğu vurgulanmıştır (Mezoughi vd., 2021). Benzer şekilde Bayındır ve arkadaşları, yeşil sentezle elde edilen N-süstitüe rodanin türevlerinin hem karbonik anhidraz hem de asetilkolinesteraz için güçlü inhibitörler olabileceğini göstermiştir (Bayındır vd., 2019). Daha yakın tarihli bir çalışmada Abdoli ve arkadaşları, ftalimid–hydantoin hibritlerinin çeşitli insan karbonik anhidraz izoenzimleri (hCA VI, VII ve IX) üzerinde anlamlı inhibisyon sağladığını ve bu hibrit yapıların yeni CA inhibitörleri için umut verici bir başlangıç noktası olduğunu bildirmiştir (Abdoli vd., 2024). Ayrıca Khirallah ve çalışma arkadaşları, 1,3-disüstitüe 2-thiohydantoin analoglarının güçlü antiinflamatuvar aktivite gösterdiğini ve bu iskeletin enzim hedefli ilaç tasarımı önemli bir farmakofor olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymuştur (Khirallah vd., 2022). Bu bulgular, rodanin, hydantoin ve thiohydantoin türevlerinin farklı enzim sistemlerinde terapötik potansiyel taşıyan çok yönlü inhibitörler olduğunu ve bu tez kapsamında incelenen bileşiklerin seçimini literatür açısından desteklediğini göstermektedir. Genel olarak değerlendirildiğinde, heterosiklik bileşiklerin sahip olduğu kimyasal esneklik, metal iyonlarıyla etkileşim kapasiteleri ve protein aktif bölgeleriyle uyumlu farmakofor özellikleri, bu molekül sınıflarını enzim inhibisyonu araştırmaları için ideal adaylar haline getirmektedir. Bu nedenle Thiazolidin-2,4-dion, rhodanine, hydantoin, 2-thiohydantoin, 3-aminorhodanine ve creatinine, yeni nesil inhibitör tasarımı önemli bir potansiyel sunmaktadır.

### 3. MATERYAL VE METOT

Çalışmanın yürütülmesinde kullanılan tüm kimyasal maddeler, ekipmanlar, deneysel prosedürler ve analiz süreçlerine ilişkin bilgiler verilmiştir.

#### 3.1 Materyal

Bu çalışmada kullanılan tüm materyaller, deneylerin güvenilir ve tekrarlanabilir şekilde yürütülmesini sağlayacak biçimde seçilmiştir. Kullanılan cihazlar ve kimyasal maddelere ilişkin bilgiler aşağıda alt başlıklar hâlinde sunulmuştur.

##### 3.1.1 Kullanılan Cihazlar

Deneysel çalışmalarda kullanılan cihazlar, ölçüm ve analiz işlemlerinin gerçekleştirilmesinde kullanılmış olup cihazlara ait bilgiler Tablo 3.1’de sunulmuştur.

Tablo 3.1: Kullanılan cihazlar

|                      |                                                           |
|----------------------|-----------------------------------------------------------|
| Terazi               | Mikropipet uçları                                         |
| pH Metre             | Analitik terazi                                           |
| Vorteks              | Derin dondurucu (-20 °C / -80 °C)                         |
| Manyetik Karıştırıcı | Moleküler docking yazılımı (Schrödinger Glide / AutoDock) |
| Saf Su Cihazı        | Yüksek işlem kapasiteli bilgisayar (modelleme için)       |
| Spektrofotometre     | Ultrasonik Banyo                                          |
| Otomatik Pipetler    | Cam malzemeler                                            |

##### 3.1.2 Kullanılan Kimyasallar

Bu çalışmada kullanılan kimyasallar analitik saflıkta olup test ve kontrol amaçlı deneylerde kullanılmıştır. Kimyasal maddelere ait bilgiler Tablo 3.2’de sunulmuştur.

Tablo 3.2: Kullanılan kimyasallar

| <b>Kimyasal Adı</b>                  | <b>Kullanım Amacı</b>                                | <b>CAS No</b> |
|--------------------------------------|------------------------------------------------------|---------------|
| Thiazolidin-2,4-dione                | Test bileşigi                                        | 288-46-6      |
| Rhodanine                            | Test bileşigi                                        | 1763-91-1     |
| Hydantoin (Imidazolidine-2,4-dione)  | Test bileşigi                                        | 141-87-5      |
| 2-Thiohydantoin                      | Test bileşigi                                        | 121-39-9      |
| 3-Aminorhodanine                     | Test bileşigi                                        | 2230-16-4     |
| Creatinine                           | Test bileşigi                                        | 60-27-5       |
| BHA (Butylated hydroxyanisole)       | Metal şelatlama standart antioksidan                 | 25013-16-5    |
| BHT (Butylated hydroxytoluene)       | Metal şelatlama standart antioksidan                 | 128-37-0      |
| EDTA (Disodyum edetat)               | Metal şelatlama pozitif kontrol                      | 6381-92-6     |
| Tacrine (Takrin)                     | AChE/BChE standart inhibitör                         | 123-52-4      |
| Acarbose                             | $\alpha$ -Glukozidaz standart inhibitör              | 56180-94-0    |
| Acetazolamide                        | hCA I–II standart inhibitör                          | 59-66-5       |
| Epigallocatechin gallate (EGCG)      | Elastaz, Kollajenaz, Hyalüronidaz standart inhibitör | 989-51-5      |
| Sodyum hiyalüronat                   | Hyalüronidaz substratı                               | 9067-32-7     |
| Kalsiyum klorür (CaCl <sub>2</sub> ) | Hyalüronidaz aktivatörü                              | 10035-04-8    |
| Sodyum hidroksit (NaOH)              | Renk geliştirme reaktifi                             | 1310-73-2     |
| Potasyum borat                       | Renk geliştirme reaktifi                             | 1303-96-4     |
| p-Dimetilaminobenzaldehit (DMAB)     | Renk indikatörü                                      | 100-10-7      |
| Asetik asit (glacial)                | Reaktif çözeltisi hazırlama                          | 64-19-7       |
| Hidroklorik asit (HCl, 10 M)         | Reaktif hazırlama                                    | 7647-01-0     |
| DMSO (Dimetil sülfoksit)             | Bileşik çözücü                                       | 67-68-5       |
| Asetat tamponu                       | Enzim deneylerinde tampon                            | —             |
| Fosfat tamponu (PBS)                 | Enzim deneylerinde tampon                            | —             |
| Saf su / distile su                  | Çözücü                                               | —             |

### 3.2 Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

Deneylerde kullanılan çözeltiler, ilgili analizlerin gerekliliklerine uygun olarak belirlenen konsantrasyonlarda hazırlanmış ve deneyler süresince uygun koşullarda muhafaza edilmiştir.

### 3.2.1 Metal Şelatlama Aktivitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Çözeltiler

1. **2 mM FeCl<sub>2</sub> çözeltisi:** Metal şelatlama deneylerinde kullanılmak üzere 0,028 g FeCl<sub>2</sub>·3/4H<sub>2</sub>O tartılarak 100 mL etanol içinde tamamen çözülünceye kadar karıştırılmıştır.
2. **5 mM ferrozin çözeltisi:** Şelatlama reaksiyonlarında ligand ajanı olarak kullanılan ferrozin için, 12 mg madde 50 mL saf etanol içerisinde çözülerek homojen bir çözelti elde edilmiştir.

### 3.2.2 Asetilkolinesteraz Enzimi Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltiler

1. **1 M Tris-HCl Tamponu:** 30,27 g Tris bazı ve 0,370 g (5 mM) EDTA, 200 mL distile su içinde çözülmüştür. pH değeri, pH-metre yardımıyla 8,0 olarak ayarlandıktan sonra toplam hacim distile su eklenerek 250 mL'ye tamamlanmıştır.
2. **10 mM Asetilkolin İyodür Çözeltisi:** 0,290 g asetilkolin iyodür, 100 mL distile su içinde çözülerek çözelti hazırlanmıştır.
3. **10 mM DTNB (5,5'-Ditiyo-bis(2-nitrobenzoik asit)) Çözeltisi:** 0,02 g DTNB ile 1 g sodyum sitrat, 100 mL distile suda çözündürülerek kullanıma hazır hale getirilmiştir.

### 3.2.3 Bütirilkolinesteraz (BChE) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Çözeltiler

1. **1 M Tris-HCl Tamponu:** 30,27 g Tris bazı ve 0,370 g EDTA (5 mM) 200 mL distile su içinde çözülmüş, pH değeri pH-metre yardımıyla 8,0 olarak ayarlandıktan sonra toplam hacim distile su ile 250 mL'ye tamamlanmıştır.
2. **5 mM Bütirilkolin İyodür Çözeltisi:** 0,14 g bütirilkolin iyodür, 100 mL distile su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.
3. **10 mM DTNB (5,5'-Ditiyo-bis(2-nitrobenzoik asit)) Çözeltisi:** 3,4 mg DTNB, 25 mL distile suda çözündürülerek kullanıma hazır hale getirilmiştir.

### 3.2.4 $\alpha$ -Glikozidaz Enzim Aktivitesinin Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler

1. **0,1 mM Sodyum Fosfat Tamponu (Enzimin Seyreltilmesi İçin):** 6 mg sodyum fosfat, 450 mL saf suya eklenerek çözülmüş, pH değeri 6,9 olarak ayarlandıktan sonra hacim saf suyla 500 mL'ye tamamlanmıştır.
2. **0,1 M Sodyum Fosfat Tamponu (Enzim Aktivitesi İçin):** 5,99 g sodyum fosfat, 450 mL saf su içerisinde çözülerek hazırlanmış; pH değeri 6,9'a ayarlandıktan sonra çözelti hacmi 500 mL'ye tamamlanmıştır.
3. **5 mM 4-Nitrophenyl  $\beta$ -D-glucopyranoside Substrat Çözeltisi:** 0,0376 g substrat madde, 25 mL 0,1 M sodyum fosfat tampon çözeltisinde çözülerek kullanılmaya hazır hale getirilmiştir.

### 3.2.5 Karbonik Anhidraz I ve II Enzimi Aktivite Ölçümlerinde Kullanılan Çözeltiler

1. **p-Nitrofenilasetat Substrat Çözeltisi:** 27,2 mg p-nitrofenilasetat, 1 mL aseton içerisinde çözülmüş ve ardından bu çözelti, manyetik karıştırıcı yardımıyla sürekli karıştırılan 49 mL distile suya yavaşça ilave edilerek günlük olarak hazırlanmıştır.
2. **0,05 M Tris-SO<sub>4</sub> Tampon Çözeltisi (pH 7,4):** 6,055 g Tris bazı, 950 mL distile su içerisinde çözülmüştür. pH değeri 1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> kullanılarak 7,4'e ayarlandıktan sonra, hacim distile su ile 1000 mL'ye tamamlanarak tampon çözelti hazırlanmıştır.

### 3.2.6 Kollajenaz Enzimi Aktivite Ölçümlerinde Kullanılan Çözeltiler

1. **Trisin Tamponu (50 mM, pH 7.5):** 0.302 g Trisin, 40 mL saf suya eklenerek çözülmüş, pH değeri 7.5'e ayarlandıktan sonra hacim 50 mL'ye tamamlanmıştır.
2. **FALGPA Substrat Çözeltisi:** N-(3-[2-furil]akriloil)-Leu-Gly-Pro-Ala substratı, kullanılacak derişime göre Trisin tamponu içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.
3. **Kollajenaz Enzim Çözeltisi (0.8 U/mL):** Kollajenaz enzimi Trisin tamponunda seyreltilerek çalışma çözeltisi elde edilmiştir.
4. **Pozitif Kontrol Çözeltisi (EGCG, 250  $\mu$ M):** EGCG, uygun çözücünde çözülerek Trisin tamponu ile 250  $\mu$ M olacak şekilde hazırlanmıştır.

### 3.2.7 Elastaz Enzimi Aktivite Ölçümlerinde Kullanılan Çözeltiler

1. **HEPES Tamponu (0.1 M, pH 7.5):** 2.38 g HEPES, 80 mL saf suda çözölmüş, pH 7.5'e ayarlanarak hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır.
2. **Elastaz Enzim Çözeltisi (1 µg/mL):** Elastaz enzimi, HEPES tamponu ile seyreltilerek çalışma çözeltisi hazırlanmıştır.
3. **Pozitif Kontrol Çözeltisi:** N-methoxysuccinyl-Ala-Ala-Pro-Chloro substratı, 10 µg/mL olacak şekilde hazırlanmıştır.
4. **Substrat Çözeltisi:** N-methoxysuccinyl-Ala-Ala-Pro-Val p-nitroanilid, HEPES tamponunda 1 mM olacak şekilde çözölmüştür

### 3.2.8 Hyalüronidaz Enzimi Aktivite Ölçümlerinde Kullanılan Çözeltiler

1. **Sodyum Fosfat Tamponu (20 mM, pH 7.0):** 0.24 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 80 mL saf suda çözölmüş, pH 7.0'a ayarlanarak hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır. Çözelti %0.01 BSA ve 77 mM sodyum klorür içerir.
2. **Hyalüronik Asit Çözeltisi:** 300 mM sodyum fosfat tamponunda %0.03 hyalüronik asit çözölerek hazırlanmıştır.
3. **Asit Albümin Çöktürme Çözeltisi:** 24 mM sodyum asetat + 79 mM asetik asit içinde %0.1 BSA çözölerek hazırlanmıştır (pH 3.75).
4. **Hyalüronidaz Enzim Çözeltisi:** 100 µL'de 1.50 U olacak şekilde tampon içerisinde seyreltilmiştir.
5. **Pozitif Kontrol:** Standard inhibitör: EGCG

### 3.2.9 Beş Üyeli Heterosiklik Aktif Metilen Bileşikleri Çözeltilerinin Hazırlanması

Thiazolidin-2,4-dione, Rhodanine, Hydantoin, 2-Thiohydantoin, 3-Aminorhodanine ve Creatinine antioksidan kapasite belirleme testlerinde 1:1 DMSO ile hazırlandı. Enzim Aktivite Testlerinde ise 1:100, 1:1000 oranlarında hazırlandı.

### 3.3 Metot

Bu bölümde, çalışma kapsamında gerçekleştirilen deneysel ve hesaplamalı analizlerde izlenen yöntemler genel hatlarıyla açıklanmıştır.

#### 3.3.1 Enzim İnhibisyon Çalışmaları

Enzim inhibisyon deneyleri, ilgili enzimlerin aktivitesini değerlendirmeye yönelik olarak uygun deneysel koşullar altında gerçekleştirilmiştir

##### 3.3.1.1 Beş Üyeli Aktif Metilen Bileşiklerinin Asetilkolinesteraz Aktivitesi Üzerindeki İnhibitör Etkisi

Beş üyeli aktif metilen bileşiklerinin asetilkolinesteraz (AChE) enzimi üzerindeki etkisi, Ellman metoduna dayanarak detaylı bir şekilde incelenmiştir. AChE inhibisyon testi için hazırlanan reaksiyon karışımının bileşenleri Tablo 3.3'te verilmiştir. Bu çalışmada bileşiklerin enzim inhibisyon gücünü değerlendirmek amacıyla yarı maksimum inhibitör konsantrasyonu ( $IC_{50}$ ) değerleri hesaplanmış ve inhibisyon dereceleri belirlenmiştir. Ellman metodunun temel prensibine göre, kolinesteraz enzimleri asetilkolin molekülünü tiyokolin ve asetat bileşenlerine hidrolize eder. Reaksiyon sonucu açığa çıkan tiyokolin, DTNB (5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoik asit)) ile reaksiyona girerek sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit oluşumuna neden olur. Oluşan rengin şiddeti, spektrofotometrik olarak 412 nm dalga boyunda ölçülmüştür (Ellman vd., 1961). Deney süresince örnek ve kontrol kuvvetlerinin absorbans değerleri 412 nm'de 5 dakika boyunca kaydedilmiş ve bu ölçümler kullanılarak enzim aktivitesi ile inhibisyon oranları belirlenmiştir.

Tablo 3.3: AChE inhibisyon testi için hazırlanan reaksiyon karışımı bileşenleri.

| Kullanılan Maddeler | Kontrol Tüpü (µL) | Numune Tüpü (µL) |
|---------------------|-------------------|------------------|
| Tris-HCl            | 100               | 100              |
| Saf Su              | 790               | 780              |
| Örnek               | -                 | 10               |
| DTNB                | 50                | 50               |
| Enzim çözeltisi     | 10                | 10               |
| Asetilkolin İyodür  | 50                | 50               |

### 3.3.1.2 Beş Üyeli Aktif Metilen Bileşiklerinin Bütirilkolinesteraz Aktivitesi Üzerindeki İnhibitör Etkisi

Bileşiklerin bütirilkolinesteraz (BChE) enzimi üzerindeki inhibitör etkileri kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiştir. Bu amaçla, bileşiklerin inhibisyon potansiyeli yarı maksimum inhibitör konsantrasyonu ( $IC_{50}$ ) değerleri hesaplanarak belirlenmiştir. Çalışmada Ellman metodu kullanılmış olup, bu yöntem kolinesteraz enzimlerinin asetilkolin substratını tiyokolin ve asetata hidroliz etmesi prensibine dayanmaktadır. Hidroliz sonucu oluşan tiyokolin, 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ile reaksiyona girerek, spektrofotometrik olarak 412 nm dalga boyunda ölçülebilen sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonunu oluşturur (Ellman ve ark., 1961). Deneyler sırasında enzim-substrat karışımı ve inhibitör içeren örnek çözeltilerin absorbans değişimleri 412 nm'de 3 dakika boyunca izlenmiş ve elde edilen veriler kullanılarak BChE aktivitesi ile inhibisyon dereceleri belirlenmiştir. Bu yöntem sayesinde bileşiklerin BChE aktivitesi üzerindeki etkileri niceliksel olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 3.4: BChE inhibisyon testi için hazırlanan reaksiyon karışımı bileşenleri

| Kullanılan Maddeler | Kontrol Tüpü (µL) | Numune Tüpü (µL) |
|---------------------|-------------------|------------------|
| Tris-HCl            | 100               | 100              |
| Saf Su              | 790               | 780              |
| Örnek               | -                 | 10               |
| DTNB                | 50                | 50               |
| Enzim çözeltisi     | 10                | 10               |
| Bütirilkolin İyodür | 50                | 50               |

### 3.3.1.3 $\alpha$ -Glikozidaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

$\alpha$ -Glikozidaz enziminin aktivitesi, Tao ve arkadaşları tarafından geliştirilen yöntem esas alınarak, substrat olarak p-NPG (para-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranozit) kullanılarak analiz edilmiştir. Bileşiklerin analizinde kullanılmak üzere her bir numune, EtOH:H<sub>2</sub>O karışımı içerisinde 20 mg/2 mL olacak şekilde hazırlanmıştır. Enzim inhibisyonunun değerlendirilmesi amacıyla fosfat tamponu içerisinde çeşitli çözeltiler hazırlanmış olup reaksiyon karışımının bileşenleri Tablo 3.5'te verilmiştir. Reaksiyon sonucunda elde edilen veriler kullanılarak bileşiklerin inhibitör etkileri yarı maksimum inhibitör konsantrasyonu ( $IC_{50}$ ) değerleri üzerinden belirlenmiş ve karşılaştırmalarda pozitif kontrol olarak akarbose kullanılmıştır. Ölçümler spektrofotometrik olarak 405 nm dalga boyunda

gerçekleştirilmiştir. Bir birim  $\alpha$ -glikozidaz enzimi, pH 7.4 koşullarında dakikada 1.0 mol substratı hidrolize edebilen enzim miktarı olarak tanımlanmıştır.

Tablo 3.5:  $\alpha$ -Gli inhibisyon testi için hazırlanan reaksiyon karışımı bileşenleri

| Kullanılan Maddeler | Kontrol Tüpü ( $\mu$ L) | Numune Tüpü ( $\mu$ L) |
|---------------------|-------------------------|------------------------|
| Tris-HCl            | 700                     | 700                    |
| Saf Su              | 240                     | 230                    |
| Örnek               | -                       | 10                     |
| Enzim çözeltisi     | 10                      | 10                     |
| p-NPG               | 50                      | 50                     |

### 3.3.1.4 Karbonik Anhidraz Esteraz Aktivitesinin Belirlenmesi

Bu yöntemin temelini, karbonik anhidraz enziminin esteraz aktivitesine sahip olması oluşturmaktadır. Yöntemin prensibi, karbonik anhidrazın substrat olarak kullanılan p-nitrofenilasetat bileşiğini, 348 nm dalga boyunda absorpsiyon gösteren p-nitrofenol veya p-nitrofenolat formlarına hidroliz etmesine dayanmaktadır. Bu dalga boyunda hem p-nitrofenol hem de p-nitrofenolat aynı absorpsiyonu verdiği için, fenol grubundaki protonun ayrışıp ayrışmaması ölçümleri etkilememektedir (Göçer ve Gülçin, 2013). Spektrofotometrik ölçümler 1 mL hacmindeki kuvarz küvetlerde gerçekleştirilmiştir. Tablo 3.6’da görüldüğü gibi aktivite ölçümleri için, reaksiyon karışımında yer alan bileşenler belirli bir sırayla ortama eklenmiş ve hazırlanan karışımın 3 dakikalık inkübasyonu sonrasında, 25°C’de 348 nm’deki absorbans değeri okunmuştur. Ölçümler sırasında, spektrofotometre enzim yerine saf su içeren karışımın aynı süre sonunda verdiği absorbans değeri ile sıfırlanmıştır. Tüm kinetik analizler, karbonik anhidrazın esteraz aktivitesi temel alınarak yürütülmüştür.

Tablo 3.6: Karbonik anhidraz esteraz inhibisyon testi için hazırlanan reaksiyon karışımı bileşenleri

| Kullanılan Maddeler                   | Kontrol Tüpü ( $\mu$ L) | Numune Tüpü ( $\mu$ L) |
|---------------------------------------|-------------------------|------------------------|
| Tris-SO <sub>4</sub> (pH:7.4, 0.05 M) | 400                     | 400                    |
| p-Nitrofenol asetat (PNA)             | 360                     | 360                    |
| Saf su                                | 240                     | 210                    |
| Enzim çözeltisi                       | -                       | 30                     |
| Toplam hacim                          | 1000                    | 1000                   |

### 3.3.1.5 Kollajenaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Kollajenaz enzimi inhibisyonu, Wart ve Steinbrink'in yönteminde yapılan küçük değişiklikler esas alınarak gerçekleştirilmiştir. Deneyde kullanılan numune, kontrol ve pozitif kontrol kuyucuklarının içerikleri Tablo 3.7'de gösterildiği şekilde hazırlanmıştır. Buna göre 96 kuyucuklu plakanın her ilgili kuyucuğuna ilk olarak 25 µL kollajenaz enzimi (0.8 U/mL) ve 50 mM Trisin tamponu (pH 7.5) eklenmiştir. Ardından numune kuyucuklarına 25 µL test bileşiği, kontrol kuyucuklarına 25 µL DMSO ve pozitif kontrol kuyucuklarına 25 µL 250 µM EGCG çözeltisi ilave edilmiştir. Karışımlar 15 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra her kuyucuğa 50 µL FALGPA substratı eklenerek reaksiyon başlatılmıştır. Reaksiyon tamamlandıktan sonra absorbans değerleri 340 nm'de ölçülmüş ve bu veriler kullanılarak kollajenaz enzim aktivitesi ile test bileşiklerinin inhibitör etkileri değerlendirilmiştir.

Tablo 3.7: Kollajenaz inhibisyon testi için hazırlanan reaksiyon karışımı bileşenleri

| Kullanılan Maddeler            | Numune Kuyucuğu (µL) | Kontrol Kuyucuğu (DMSO) (µL) | Pozitif Kontrol (EGCG, 250 µM) (µL) |
|--------------------------------|----------------------|------------------------------|-------------------------------------|
| Kollajenaz enzimi (0.8 U/mL)   | 25                   | 25                           | 25                                  |
| Trisin tamponu (50 mM, pH 7.5) | 25*                  | 25*                          | 25*                                 |
| Test bileşiği                  | 25                   | —                            | —                                   |
| DMSO (çözücü kontrolü)         | —                    | 25                           | —                                   |
| EGCG (250 µM)                  | —                    | —                            | 25                                  |
| FALGPA substratı               | 50                   | 50                           | 50                                  |
| Toplam hacim                   | 125                  | 125                          | 125                                 |

### 3.3.1.6 Elastaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Elastaz enzimi inhibisyonu, Kraunsae ve arkadaşlarının bildirdiği metotta yapılan uyarlamalarla belirlenmiştir. Deney düzeneğinde, her kuyucuğa sırasıyla 25 µL 0.1 M HEPES tamponu (pH 7.5), 25 µL test bileşiği ve 25 µL elastaz enzimi (1 µg/mL) eklenmiştir. Kör için yalnızca 75 µL HEPES tamponu kullanılmış; negatif kontrolde elastaz enzimi ile tampon birlikte değerlendirilmiştir. Pozitif kontrolde ise test bileşiği yerine 10 µg/mL N-methoxysuccinyl-Ala-Ala-Pro-Chloro çözeltisi eklenmiştir. Hazırlanan karışımlar oda

sıcaklığında 20 dakika inkübe edilmiş, sürenin sonunda her kuyucuğa 100 µL 1 mM N-methoxysuccinyl-Ala-Ala-Pro-Val p-nitroanilid substratı ilave edilmiştir. Reaksiyon 25 °C’de 40 dakika sürdürüldükten sonra absorbans ölçümleri 405 nm’de gerçekleştirilerek elastaz inhibisyonu hesaplanmıştır.

Tablo 3.8: Elastaz inhibisyon testi için hazırlanan reaksiyon karışımı bileşenleri

| <b>Kullanılan Maddeler</b>                                             | <b>Numune Kuyucuğu (µL)</b> | <b>Kör (Blank) Kuyucuğu (µL)</b> | <b>Negatif Kontrol (Enzim + Tampon) (µL)</b> | <b>Pozitif Kontrol (10 µg/mL N-Methoxysuccinyl-Ala-Ala-Pro-Chloro) (µL)</b> |
|------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| <b>HEPES tamponu (0.1 M, pH 7.5)</b>                                   | 25                          | 75                               | 50                                           | 25                                                                          |
| <b>Test bileşiği</b>                                                   | 25                          | —                                | —                                            | —                                                                           |
| <b>Elastaz enzimi (1 µg/mL)</b>                                        | 25                          | —                                | 25                                           | 25                                                                          |
| <b>Pozitif kontrol bileşiği (N Methoxysuccinyl-Ala-Ala-Pro-Chloro)</b> | —                           | —                                | —                                            | 25                                                                          |
| <b>Substrat (1 mM N-Methoxysuccinyl-Ala-Ala-Pro-Val p-nitroanilid)</b> | 100                         | 100                              | 100                                          | 100                                                                         |
| <b>Toplam hacim</b>                                                    | 150                         | 175                              | 175                                          | 175                                                                         |

### 3.3.1.7 Hyalüronidaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Hyalüronidaz enzimi inhibisyonu, Oh ve arkadaşlarının bildirdiği yöntem temel alınarak yürütülmüştür. Deneyde kullanılan numune, kontrol ve pozitif kontrol tüpleri Tablo 3.9’da belirtilen bileşenlere göre hazırlanmıştır. Bu kapsamda, test bileşiklerinin DMSO içerisinde hazırlanan çözeltilerinden 5 µL alınarak hyalüronidaz enzimi (100 µL’de 1.50 U) ve %0.01 BSA içeren sodyum fosfat tamponu ile bir araya getirilmiş ve karışım 37 °C’de 10 dakika ön inkübasyona bırakılmıştır. Reaksiyonun başlatılması amacıyla her tüpe %0.03 hyalüronik asit içeren substrat çözeltisinden 100 µL ilave edilmiş ve karışımlar 37 °C’de 45 dakika inkübe edilmiştir. Reaksiyon tamamlandıktan sonra sindirilmemiş hyalüronik asidin çöktürülmesi için 1 mL asit albümin çözeltisi eklenmiş ve tüpler oda sıcaklığında 10 dakika

bekletilmiştir. Son olarak absorbans değerleri 600 nm’de ölçülmüş ve elde edilen veriler doğrultusunda enzim aktivitesi ile test bileşiklerinin inhibitör etkileri değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak EGCG aynı koşullarda işleme tabi tutulmuş olup, sindirilmemiş hyalüronik asidin absorbansı %100 aktivite kabul edilmiştir.

Tablo 3.9: Hyalüronidaz inhibisyon testi için hazırlanan reaksiyon karışımı bileşenleri

| Kullanılan Maddeler                                    | Numune (µL) | Tüpü | Kontrol Tüpü (µL) | Pozitif Kontrol (EGCG) (µL) |
|--------------------------------------------------------|-------------|------|-------------------|-----------------------------|
| Test bileşiği (1.56–50 µg/mL, DMSO içinde hazırlanmış) | 5           |      | –                 | –                           |
| Hyalüronidaz enzimi (100 µL’de 1.50 U)                 | 100         |      | 100               | 100                         |
| Sodyum fosfat tamponu (%0.01 BSA içerir)               | 95*         |      | 100*              | 95*                         |
| Substrat çözeltisi (%0.03 hyalüronik asit)             | 100         |      | 100               | 100                         |
| EGCG (pozitif kontrol)                                 | –           |      | –                 | 5                           |
| Asit albümin çözeltisi                                 | 1000        |      | 1000              | 1000                        |
| Toplam hacim                                           | 200         |      | 200               | 200                         |

### 3.3.2 Metal Şelatlama Kapasitesinin Belirlenmesi

Ferrozine reaktifi kullanılarak gerçekleştirilen metal şelatlama deneyi,  $Fe^{2+}$  iyonlarının ferrozine ile oluşturduğu renkli kompleksin oluşumuna dayanan spektrofotometrik bir yöntemdir. Bu yöntem, metal iyonlarının örnek bileşikler tarafından bağlanma yeteneğinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ferrozine– $Fe^{2+}$  kompleksleşmesine dayalı metal şelatlama testinin temel prensipleri ve deneysel uygulamaları literatürde ayrıntılı olarak tanımlanmıştır (Gülçin ve Alwasel, 2022). Deneysel uygulamada, farklı konsantrasyonlardaki örnek ve standart bileşikler 0,05 mL  $FeCl_2$  çözeltisi (2 mM) ile karıştırılarak örnek ile  $Fe^{2+}$  iyonları arasında etkileşim sağlanmıştır. Bu aşamada,  $Fe^{2+}$  iyonlarının örnek bileşikler tarafından şelatlanması gerçekleşmiştir. Reaksiyon, 0,2 mL ferrozine reaktifi (5 mM) ilave edilerek başlatılmış ve karışım 25 °C’de 10 dakika süreyle

inkübe edilmiştir. Süre sonunda oluşan ferrozine-Fe<sup>2+</sup> kompleksine ait absorbands değerleri spektrofotometrik olarak 562 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Elde edilen absorbands değerlerindeki azalma, örneklerin metal şelatlama kapasitesinin bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir (Gülçin ve Alwasel, 2022).

### 3.3.3 Moleküler Kenetlenme (Docking) Yöntemi

Moleküler kenetlenme (docking), ligand-protein etkileşimlerinin teorik olarak incelenmesinde yaygın olarak kullanılan bir hesaplamalı yöntemdir ve biyolojik aktivite sonuçlarının moleküler düzeyde yorumlanmasına olanak sağlar (Tüzün, 2020). Bu çalışmada docking analizleri, Maestro Moleküler Modelleme Platformu'nun 12.8 sürümü kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Schrödinger, 2023). Docking analizleri öncesinde hedef protein yapıları Protein Preparation Wizard modülü yardımıyla hazırlanmıştır. Bu aşamada protein yapılarındaki eksik atomlar tamamlanmış, hidrojen atomları eklenmiş, bağ türleri düzenlenmiş ve uygun protonasyon durumları belirlenmiştir. Ayrıca sterik çakışmaları gidermek amacıyla enerji minimizasyonu uygulanmıştır (Schrödinger, 2023). Ligand yapılarının hazırlanmasında LigPrep modülü kullanılmıştır. Ligandların üç boyutlu yapıları oluşturulmuş, olası stereoizomerleri ve iyonizasyon durumları hesaplanarak düşük enerjili ve kararlı konformasyonlar elde edilmiştir (Schrödinger, 2023). Hazırlanan protein ve ligand yapıları Glide Ligand Docking modülüne aktarılmıştır. Docking hesaplamaları standart hassasiyetli (SP) ve yüksek hassasiyetli (XP) modlarda gerçekleştirilmiştir.

Ligand-protein etkileşimlerinin değerlendirilmesinde hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler,  $\pi$ - $\pi$  etkileşimleri ve elektrostatik etkileşimler dikkate alınmış; bağlanma afiniteleri Glide score ve emodel enerji değerleri üzerinden karşılaştırılmıştır (Friesner ve ark., 2004). Elde edilen docking sonuçları, ligandların aktif bölge içerisindeki bağlanma konumları ve etkileşim profilleri dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Docking sonuçlarının bu şekilde yorumlanması, literatürde yaygın olarak kullanılan yaklaşımla uyumludur (Tüzün, 2020)

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu bölümde, çalışmadaki bileşiklerin enzimler üzerindeki etkileri, moleküler docking ve metal şelatlama analizleri ile birlikte sunulmuştur.

### 4.1 Asetilkolinesteraz enzimi inhibisyon sonuçları

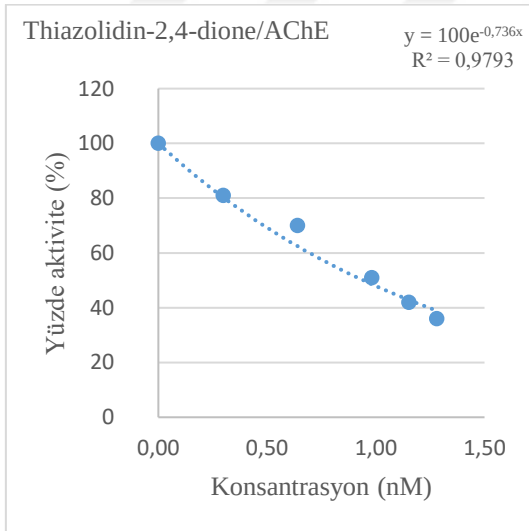
Bu bölümde, çalışmada incelenen bileşiklerin asetilkolinesteraz (AChE) enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerine ait sonuçlar sunulmuş ve elde edilen bulgular referans madde ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

#### 4.1.1 Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin AChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

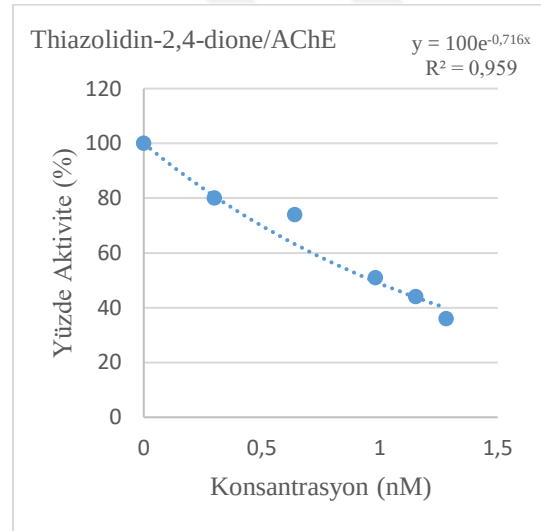
Asetilkolinesteraz (AChE) enzimi üzerinde Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada, reaksiyon sistemine 15 µL enzim eklenmiş ve kontrol grubunun enzim aktivitesi 100 olarak kabul edilmiştir. Bileşik deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilerek kullanılmış olup, hesaplamalarda Thiazolidin-2,4-dione'nin 117.12 g/mol olan moleküler ağırlığı temel alınmıştır. Üç tekrar halinde gerçekleştirilen deneylerin sonuçları Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Bulgular, inhibitör miktarı arttıkça enzim aktivitesinin kademeli olarak azaldığını göstermektedir. İlk tekrar sonuçları (Şekil 4.1), 35 µL konsantrasyonda aktivitenin 81 olduğunu; miktarın 75 µL'ye çıkarılmasının aktiviteyi 70'e, 150 µL'ye çıkarılmasının ise 36'ya düşürdüğünü ortaya koymuştur. İkinci tekrar (Şekil 4.2) benzer bir eğilim göstermiş; aktivite 35 µL'de 80 iken 150 µL'de 36'ya gerilemiştir. Üçüncü tekrarda elde edilen değerler (Şekil 4.3) de aynı inhibisyon profilini desteklemiş; artan inhibitör hacmine paralel olarak enzim aktivitesinin düzenli biçimde azaldığı gözlenmiştir. Tüm tekrarların birlikte değerlendirilmesi, Thiazolidin-2,4-dione'nin AChE üzerinde belirgin ve doz-bağımlı bir inhibisyon göstermiştir.

Tablo 4.1: Thiazolidin-2,4-dione bileşığının farklı inhibitör konsantrasyonlarında AChE enzim aktivitesi üzerine etkisi (üç tekrar)

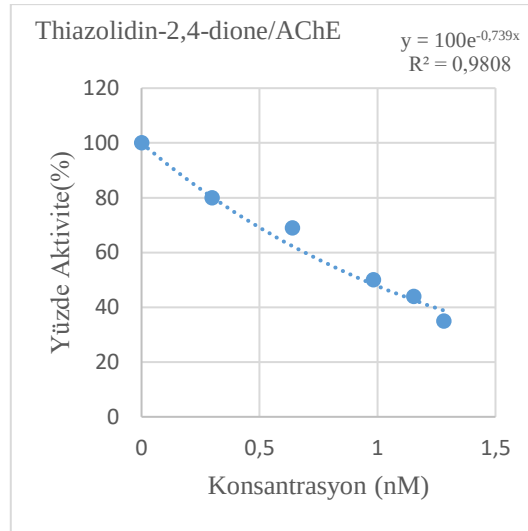
| 1.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|-------------------------------------|----------|
| 35 µL                               | 81       |
| 75 µL                               | 70       |
| 115 µL                              | 51       |
| 135 µL                              | 42       |
| 150 µL                              | 36       |
| 2.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 35 µL                               | 80       |
| 75 µL                               | 74       |
| 115 µL                              | 51       |
| 135 µL                              | 44       |
| 150 µL                              | 36       |
| 3.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 35 µL                               | 80       |
| 75 µL                               | 69       |
| 115 µL                              | 50       |
| 135 µL                              | 44       |
| 150 µL                              | 35       |



Şekil 4.1: AChE inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (1. tekrar)



Şekil 4.2: AChE inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (2. tekrar)



Şekil 4.3: AChE inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (2. tekrar)

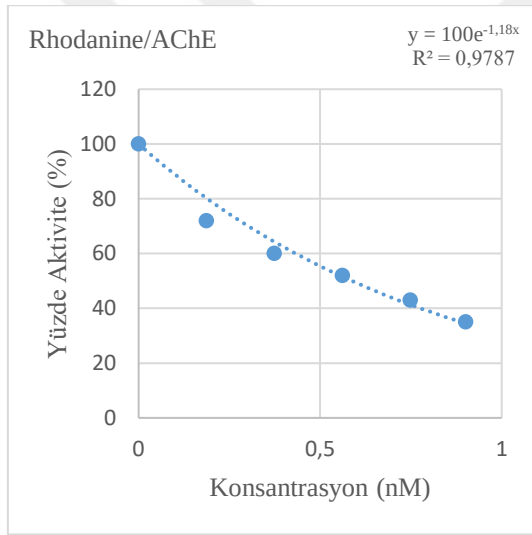
#### 4.1.2 Rhodanine bileşiğinin AChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Rhodanine bileşiğinin Asetilkolinesteraz (AChE) enzimi üzerindeki inhibitör etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 15 µL enzim eklenmiş ve kontrol grubunun enzim aktivitesi 100 olarak kaydedilmiştir. Rhodanine deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş formda kullanılmış olup hesaplamalarda bileşiğin 133.18 g/mol olan moleküler ağırlığı temel alınmıştır. Üç tekrar halinde elde edilen sonuçlar Tablo 4.2’de gösterilmiştir. İnhibitör hacmi arttıkça enzim aktivitesinin düzenli olarak azaldığı görülmüştür. İlk tekrarda (Şekil 4.4) aktivite 25 µL’de 72 iken 120 µL’de 35’e kadar gerilemiştir. İkinci tekrarda (Şekil 4.5) benzer bir eğilim izlenmiş; aktivite 25 µL’de 72’den 120 µL’de 35’e düşmüştür. Üçüncü tekrarda (Şekil 4.6) ise aktivitenin 25 µL’de 70 olduğu, artan inhibitör miktarıyla birlikte 120 µL’de 35’e kadar azaldığı belirlenmiştir. Üç tekrardan elde edilen veriler birlikte değerlendirildiğinde Rhodanine’in AChE enzimi üzerinde belirgin ve doz-bağımlı bir inhibitör etki göstermiştir.

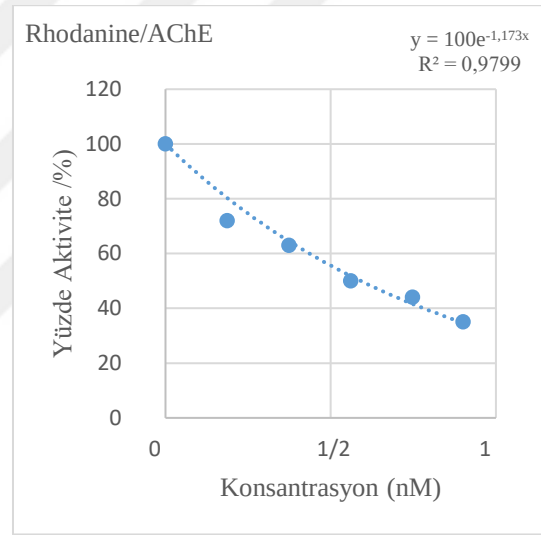
Tablo 4.2: Rhodanine bileşiğinin farklı inhibitör konsantrasyonlarında AChE enzim aktivitesi üzerine etkisi (üç tekrar)

| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 25 µL                                | 72       |
| 50 µL                                | 60       |
| 75 µL                                | 52       |
| 100 µL                               | 43       |

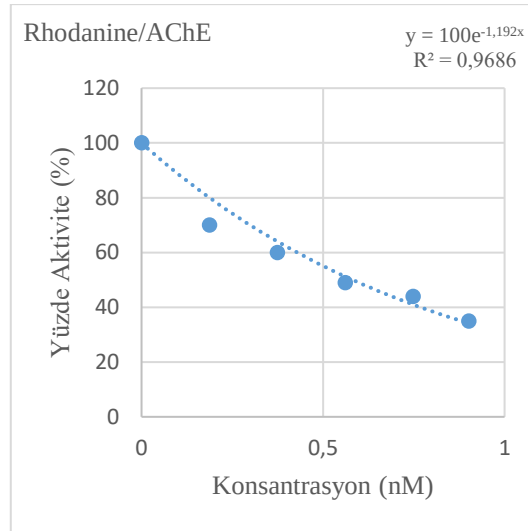
|                                      |          |
|--------------------------------------|----------|
| 120 µL                               | 35       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 25 µL                                | 72       |
| 50 µL                                | 63       |
| 75 µL                                | 50       |
| 100 µL                               | 44       |
| 120 µL                               | 35       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 25 µL                                | 70       |
| 50 µL                                | 60       |
| 75 µL                                | 49       |
| 100 µL                               | 44       |
| 120 µL                               | 35       |



Şekil 4.4: AChE inhibisyon eğrisi – Rhodanine (1. Tekrar)



Şekil 4.5: AChE inhibisyon eğrisi – Rhodanine (2. Tekrar)



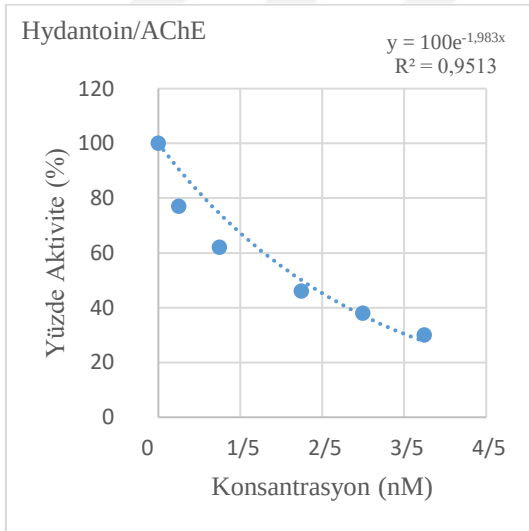
Şekil 4.6: AChE inhibisyon eğrisi – Rhodanine (3. Tekrar)

#### 4.1.3 Hydantoin bileşiğinin AChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

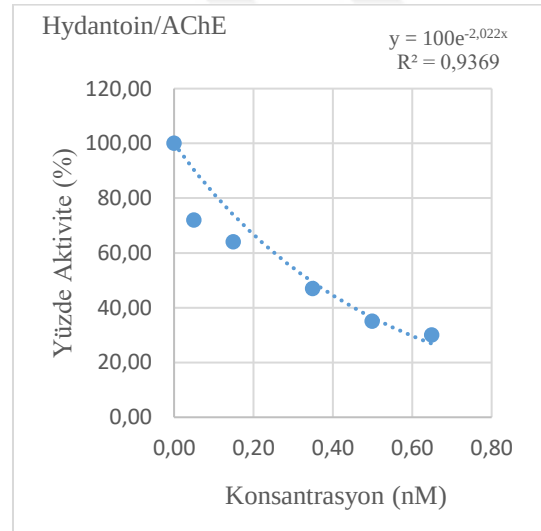
Hydantoin bileşiğinin Asetilkolinesteraz (AChE) enzimi üzerindeki inhibitör etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 15 µL enzim eklenmiş ve kontrol grubunun enzim aktivitesi 100 olarak kabul edilmiştir. Deneyler boyunca hydantoin çözütüsünde 1000 kat seyreltilmiş formda kullanılmış olup, hesaplamalarda bileşiğin 100.08 g/mol olan moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar halinde elde edilen sonuçlar Tablo 4.3'te sunulmuştur. İnhibitör hacminin artmasıyla birlikte AChE aktivitesinin düzenli ve konsantrasyona bağlı olarak azaldığı gözlenmiştir. İlk tekrarda (Şekil 4.7) enzim aktivitesinin 5 µL'de %77 olduğu, inhibitör miktarının artmasıyla birlikte 65 µL'de %30'a kadar gerilediği belirlenmiştir. İkinci tekrarda (Şekil 4.8) benzer bir eğilim izlenmiş; aktivitenin 5 µL'de %72'den 65 µL'de %30'a düştüğü görülmüştür. Üçüncü tekrarda ise aktivitenin 5 µL'de %76 olduğu, artan inhibitör miktarıyla birlikte 65 µL'de %33'e kadar azaldığı tespit edilmiştir. Üç tekrardan elde edilen veriler birlikte değerlendirildiğinde, hydantoin bileşiğinin AChE enzimi üzerinde belirgin ve doz-bağımlı bir inhibitör etki göstermiştir.

Tablo 4.3: Hydantoin bileşiminin farklı inhibitör konsantrasyonlarında AChE enzim aktivitesi üzerine etkisi (üç tekrar)

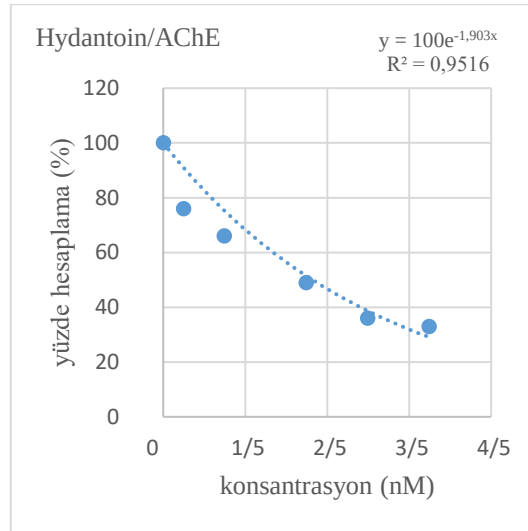
| 1 | 1.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|---|-------------------------------------|----------|
|   | 5 µL                                | 77       |
|   | 15 µL                               | 62       |
|   | 35 µL                               | 46       |
|   | 50 µL                               | 38       |
|   | 65 µL                               | 30       |
| 2 | 2.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|   | 5 µL                                | 72       |
|   | 15 µL                               | 64       |
|   | 35 µL                               | 47       |
|   | 50 µL                               | 35       |
|   | 65 µL                               | 30       |
| 3 | 3.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|   | 5 µL                                | 76       |
|   | 15 µL                               | 66       |
|   | 35 µL                               | 49       |
|   | 50 µL                               | 36       |
|   | 65 µL                               | 33       |



Şekil 4.7: AChE inhibisyon eğrisi – Hydantoin (1. Tekrar)



Şekil 4.8: AChE inhibisyon eğrisi – Hydantoin (2. Tekrar)



Şekil 4.9: AChE inhibisyon eğrisi – Hydantoin (3. Tekrar)

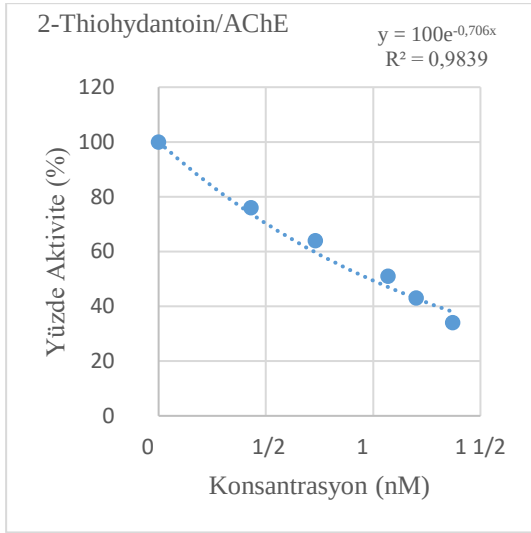
#### 4.1.4 2-Thiohydantoin bileşiğinin AChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

2-Thiohydantoin bileşiğinin Asetilkolinesteraz (AChE) enzimi üzerindeki etkisini değerlendirmek için yapılan deneyde reaksiyon karışımına 15 µL enzim eklenmiş ve kontrol grubunun aktivitesi 100 olarak kabul edilmiştir. Bileşik deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş şekilde kullanılmış olup, hesaplamalarda 2-Thiohydantoin'in 116.14 g/mol moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrardan elde edilen sonuçlar Tablo 4.4'te gösterilmektedir. Tablodan da görülebileceği gibi inhibitör hacmi arttıkça enzim aktivitesi düzenli biçimde azalmıştır. İlk tekrar (Şekil 4.10), ikinci tekrar (Şekil 4.11) ve üçüncü tekrar (Şekil 4.12) benzer bir eğilim göstermiş; her üç tekrarda da düşük inhibitör hacimlerinde daha yüksek, yüksek inhibitör hacimlerinde ise daha düşük aktivite değerleri elde edilmiştir. Bu bulgular, 2-Thiohydantoin'in AChE enzimi üzerinde belirgin bir inhibisyon etki göstermiştir.

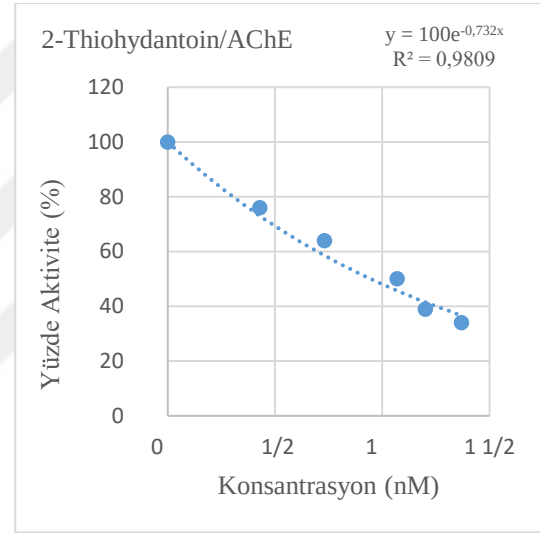
Tablo 4.4: 2-Thiohydantoin bileşiğinin farklı inhibitör konsantrasyonlarında AChE enzim aktivitesi üzerine etkisi (üç tekrar)

| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 50 µL                                | 76       |
| 85 µL                                | 64       |
| 125 µL                               | 51       |
| 140 µL                               | 43       |
| 160 µL                               | 34       |

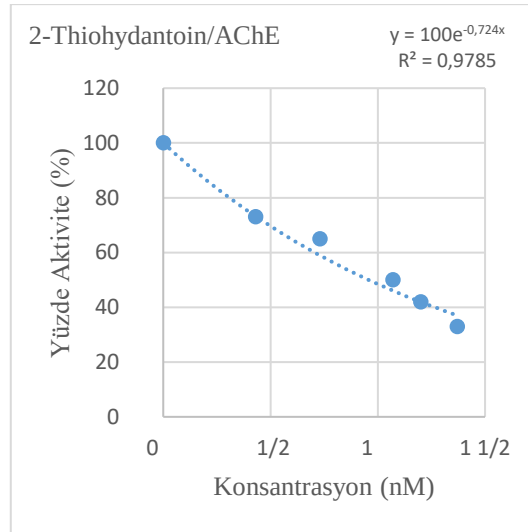
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 50 µL                                | 76       |
| 85 µL                                | 64       |
| 125 µL                               | 50       |
| 140 µL                               | 39       |
| 160 µL                               | 34       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 50 µL                                | 73       |
| 85 µL                                | 65       |
| 125 µL                               | 50       |
| 140 µL                               | 42       |
| 160 µL                               | 33       |



Şekil 4.10: AChE inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (1. Tekrar)



Şekil 4.11: AChE inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (2. Tekrar)



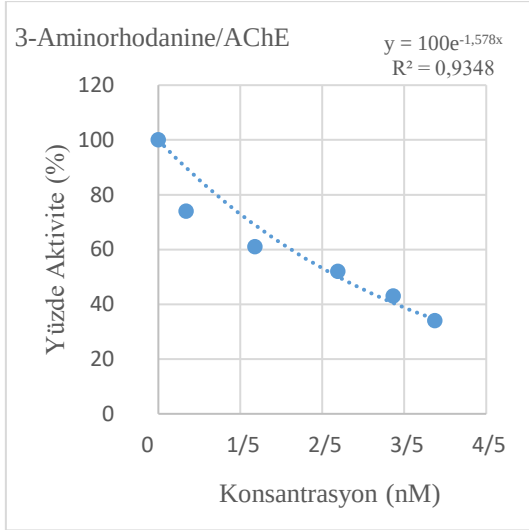
Şekil 4.12: AChE inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (3. Tekrar)

#### 4.1.5 3- Aminorhodanine bileşiğinin AChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

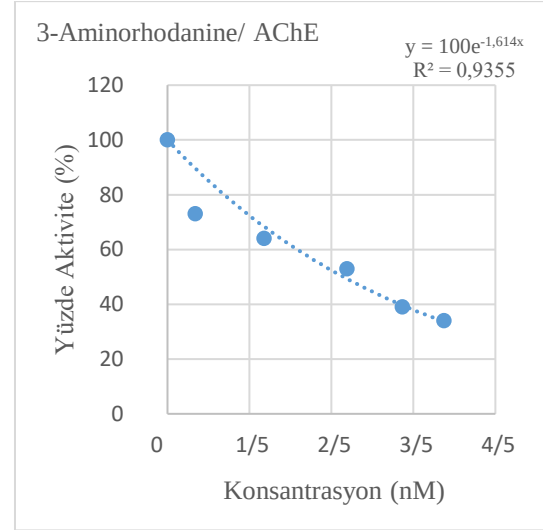
3-Aminorhodanine bileşiğinin Asetilkolinesteraz (AChE) enzimi üzerindeki etkisini incelemek üzere yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 15 µL enzim eklenmiş ve kontrol grubunun aktivitesi 100 olarak kabul edilmiştir. Bileşik deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş şekilde kullanılmış olup hesaplamalarda 3-Aminorhodanine'in 148.20 g/mol olan moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrardan elde edilen sonuçlar Tablo 4.4'te verilmiştir. Tablodan da görüldüğü üzere, inhibitör miktarı arttıkça enzim aktivitesi düzenli şekilde azalmıştır. İlk tekrar (Şekil 4.13), ikinci tekrar (Şekil 4.14) ve üçüncü tekrar (Şekil 4.15) benzer bir eğilim göstermiş; düşük inhibitör hacimlerinde aktivite daha yüksek, yüksek inhibitör hacimlerinde ise belirgin şekilde daha düşük bulunmuştur. Üç tekrarın uyumlu sonuçlar vermesi, 3-Aminorhodanine'in AChE enzimi üzerinde güçlü ve konsantrasyona bağlı bir inhibitör etki göstermiştir.

Tablo 4.5: 3-Aminorhodanine bileşiğinin farklı inhibitör konsantrasyonlarında AChE enzim aktivitesi üzerine etkisi (üç tekrar)

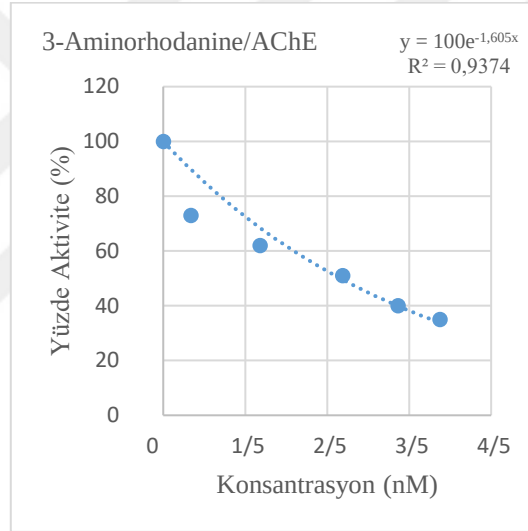
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 10 µL                                | 74       |
| 35 µL                                | 61       |
| 65 µL                                | 52       |
| 85 µL                                | 43       |
| 100 µL                               | 34       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 10 µL                                | 73       |
| 35 µL                                | 64       |
| 65 µL                                | 53       |
| 85 µL                                | 39       |
| 100 µL                               | 34       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 10 µL                                | 73       |
| 35 µL                                | 62       |
| 65 µL                                | 51       |
| 85 µL                                | 40       |
| 100 µL                               | 35       |



Şekil 4.13: AChE inhibisyon eğrisi –3- Aminorhodanine (1. Tekrar)



Şekil 4.14: AChE inhibisyon eğrisi –3- Aminorhodanine (2. Tekrar)



Şekil 4.15: AChE inhibisyon eğrisi –3- Aminorhodanine (3. Tekrar)

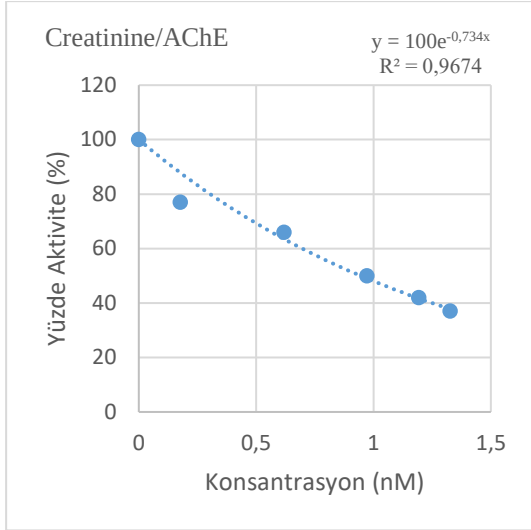
#### 4.1.6 Creatinine bileşiğinin AChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Creatinine bileşiğinin Asetilkolinesteraz (AChE) enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon ortamına 15  $\mu$ L enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 olarak kabul edilmiştir. Bileşik deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş şekilde kullanılmış olup hesaplamalarda Creatinine'in 113.12 g/mol olan moleküler ağırlığı temel alınmıştır. Üç tekrardan elde edilen sonuçlar Tablo 4.5'te görülmektedir. Tablodan anlaşıldığı üzere, inhibitör miktarı arttıkça enzim aktivitesi düzenli bir şekilde azalmıştır. İlk tekrar (Şekil 4.16), ikinci tekrar (Şekil 4.17) ve üçüncü tekrar (Şekil

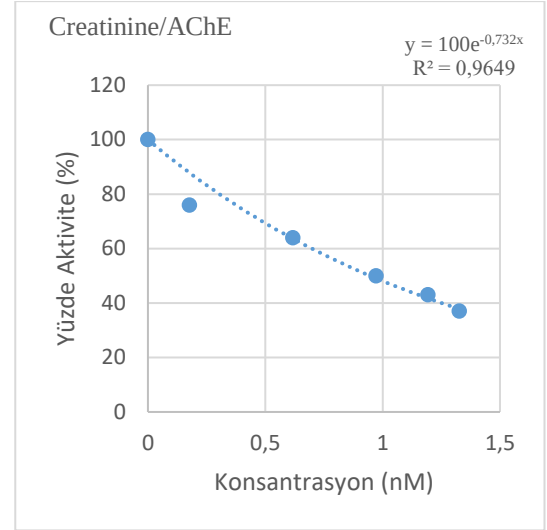
4.18) benzer bir eğilim göstermiş; düşük inhibitör hacimlerinde aktivite daha yüksek, yüksek inhibitör hacimlerinde ise belirgin biçimde daha düşük bulunmuştur. Üç tekrarın birbirini destekleyen sonuçları, Creatinine'in AChE üzerinde belirgin ve doz-bağımlı bir inhibitör etki göstermiştir.

Tablo 4.6: Creatinine bileşiğinin farklı inhibitör konsantrasyonlarında AChE enzim aktivitesi üzerine etkisi (üç tekrar)

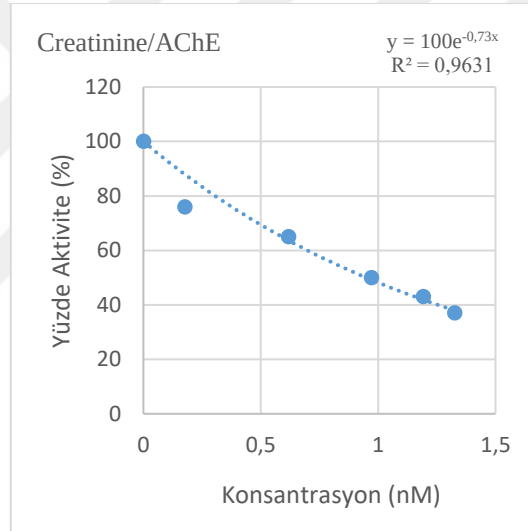
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 20 µL                                | 77       |
| 70 µL                                | 66       |
| 110 µL                               | 50       |
| 135 µL                               | 42       |
| 150 µL                               | 37       |
| 2.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu  | Aktivite |
| 20 µL                                | 76       |
| 70 µL                                | 64       |
| 110 µL                               | 50       |
| 135 µL                               | 43       |
| 150 µL                               | 37       |
| 3.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu  | Aktivite |
| 20 µL                                | 76       |
| 70 µL                                | 65       |
| 110 µL                               | 50       |
| 135 µL                               | 43       |
| 150 µL                               | 37       |



Şekil 4.16: AChE inhibisyon eğrisi – Creatinine (1. Tekrar)



Şekil 4.17: AChE inhibisyon eğrisi – Creatinine (2. Tekrar)



Şekil 4.18: AChE inhibisyon eğrisi – Creatinine (3. Tekrar)

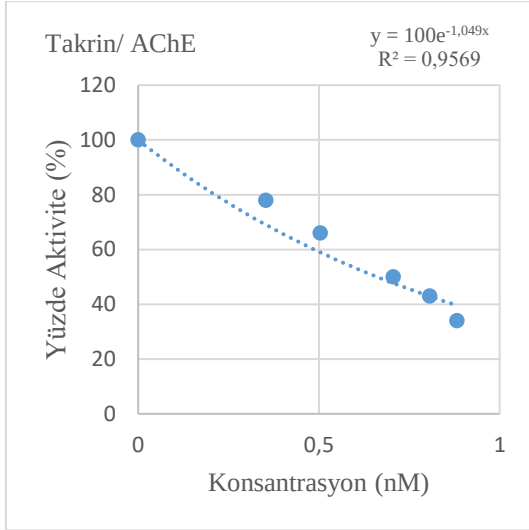
#### 4.1.7 Takrin bileşiğinin AChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi (Standart inhibitör)

Asetilkolinesteraz enzimi için standart inhibitör olarak kullanılan Takrin, çalışmada 15 µL enzim ile değerlendirilmiş ve kontrol aktivitesi 100 olarak kabul edilmiştir. Bileşik tüm deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş olarak uygulanmış; hesaplamalarda ise Takrin'in 198.27 g/mol'lük moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrardan elde edilen veriler Tablo 4.6'da sunulmakta olup, inhibitör konsantrasyonundaki artışın enzim aktivitesini belirgin ve düzenli şekilde azalttığı görülmektedir. İlk tekrar sonuçları (Şekil

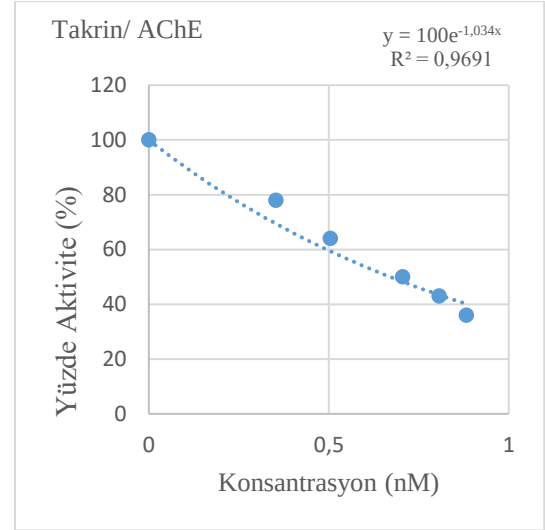
4.19), aktivitenin 70  $\mu\text{L}$ 'de 78 iken 175  $\mu\text{L}$ 'de 34'e kadar düştüğünü göstermektedir. İkinci (Şekil 4.20) ve üçüncü tekrarlar (Şekil 4.21) da aynı inhibisyon profilini ortaya koymuş; her iki tekrarda da düşük konsantrasyonlarda daha yüksek, artan konsantrasyonlarda ise belirgin biçimde düşük aktivite değerleri elde edilmiştir. Üç tekrardan elde edilen bu yüksek tutarlılık, Takrin'in AChE üzerinde güçlü, kararlı ve açık şekilde doz-bağımlı bir inhibitör etki göstermiştir.

Tablo 4.7: Takrin bileşiğinin farklı inhibitör konsantrasyonlarında AChE enzim aktivitesi üzerine etkisi (üç tekrar)

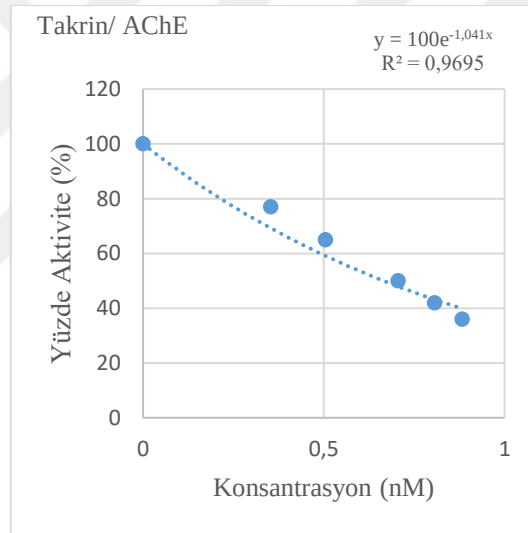
| <b>1.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu</b> | <b>Aktivite</b> |
|--------------------------------------------|-----------------|
| <b>70 <math>\mu\text{L}</math></b>         | <b>78</b>       |
| <b>100 <math>\mu\text{L}</math></b>        | <b>66</b>       |
| <b>140 <math>\mu\text{L}</math></b>        | <b>50</b>       |
| <b>160 <math>\mu\text{L}</math></b>        | <b>43</b>       |
| <b>175<math>\mu\text{L}</math></b>         | <b>34</b>       |
| <b>2.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu</b> | <b>Aktivite</b> |
| <b>70 <math>\mu\text{L}</math></b>         | <b>78</b>       |
| <b>100 <math>\mu\text{L}</math></b>        | <b>64</b>       |
| <b>140 <math>\mu\text{L}</math></b>        | <b>50</b>       |
| <b>160 <math>\mu\text{L}</math></b>        | <b>43</b>       |
| <b>175 <math>\mu\text{L}</math></b>        | <b>36</b>       |
| <b>2.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu</b> | <b>Aktivite</b> |
| <b>70 <math>\mu\text{L}</math></b>         | <b>77</b>       |
| <b>100 <math>\mu\text{L}</math></b>        | <b>65</b>       |
| <b>140 <math>\mu\text{L}</math></b>        | <b>50</b>       |
| <b>160 <math>\mu\text{L}</math></b>        | <b>42</b>       |



Şekil 4.18: AChE inhibisyon eğrisi – Takrin (1. Tekrar)



Şekil 4.19: AChE inhibisyon eğrisi – Takrin (2. Tekrar)



Şekil 4.20: AChE inhibisyon eğrisi – Takrin (3. Tekrar)

Bu çalışmada asetilkolinesteraz (AChE) enzimi için referans inhibitör olarak Takrin kullanılmış ve diğer bileşiklerin etkinlikleri Tablo 4.7’de verilen  $IC_{50}$  değerleri üzerinden karşılaştırılmıştır. Tablo 4.7’ye göre Takrin’in  $IC_{50}$  değerinin 660,6 nM olması, enzimi orta düzeyde bir güçle baskılayan uygun bir standart inhibitör olduğunu göstermektedir. Veriler incelendiğinde set içerisindeki en güçlü inhibitörün Hydantoin olduğu görülmektedir; bu bileşiğin  $IC_{50}$  değeri 352,1 nM olup Takrin’den yaklaşık yarı konsantrasyonda aynı inhibisyon düzeyine ulaşabilmektedir. Hydantoin’i sırasıyla 3-Aminorhodanine (433,4 nM) ve Rhodanine (585,9 nM) takip etmektedir; her iki bileşiğin de Takrin’e yakın bir inhibisyon profili sergilediği anlaşılmaktadır. Buna karşılık Thiazolidin-2,4-dione (948,3 nM),

Creatinine (946,7 nM) ve 2-Thiohydantoin (961,8 nM) daha yüksek IC<sub>50</sub> değerleri ile daha zayıf inhibitörler olarak değerlendirilmiştir. Genel olarak Tablo 4.7’de sunulan sonuçlar, tüm bileşiklerin AChE üzerinde belirli bir inhibisyon potansiyeli taşıdığını, ancak Hydantoin’ın en güçlü inhibitör olduğu görülmüştür.

Tablo 4.8: Bileşiklerin AChE inhibisyonuna ait IC<sub>50</sub> ve R<sup>2</sup> değerleri

| Bileşikler/Enzimler          | AChE                     |                |
|------------------------------|--------------------------|----------------|
|                              | IC <sub>50</sub><br>(nM) | R <sup>2</sup> |
| <b>Thiazolidin-2,4-dione</b> | 948,3±20                 | 0,9730         |
| <b>Rhodanine</b>             | 585,9±5                  | 0,9757         |
| <b>Hydantoin</b>             | 352,1±11                 | 0,9466         |
| <b>2-Thiohydantoin</b>       | 961,8±18                 | 0,974          |
| <b>3-Aminorhodanine</b>      | 433,4±5                  | 0,9359         |
| <b>Creatinine</b>            | 946,7±30                 | 0,9651         |
| <b>Takrin</b>                | 660,6±4                  | 0,9652         |

## 4.2 Alfa Glikozidaz enzimi inhibisyon sonuçları

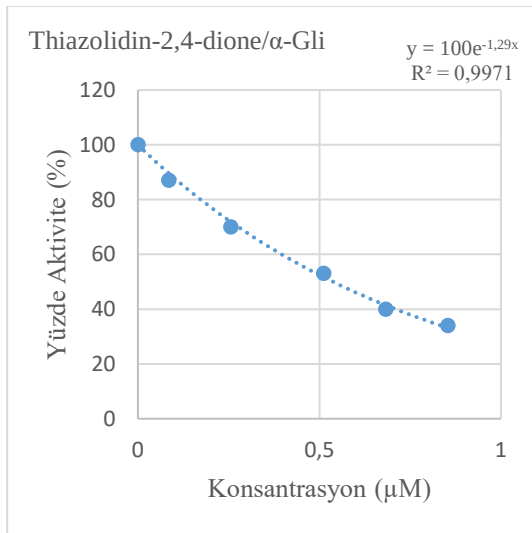
Bu bölümde, test edilen bileşiklerin alfa-glikozidaz enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerine ait sonuçlar sunulmuş ve elde edilen bulgular standart inhibitör ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

### 4.2.1 Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin alfa glikozidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

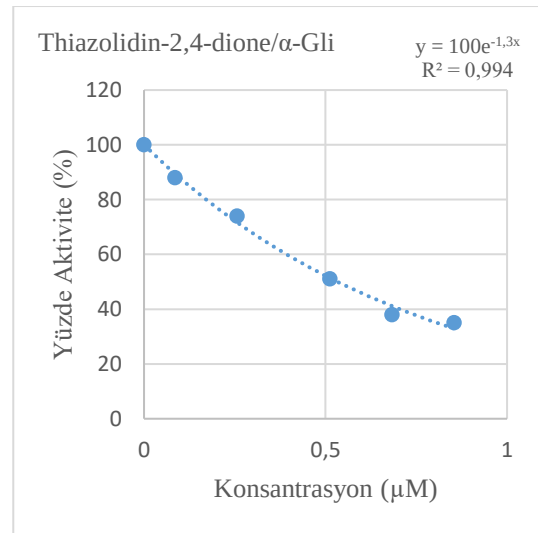
Thiazolidin-2,4-dione’nin  $\alpha$ -glikozidaz enzim aktivitesi üzerindeki etkisini belirlemek için yapılan deneyde kontrol aktivitesi 100 birim olarak kabul edilmiştir. Bileşik çözücüsünde 1000 kat seyreltilerek kullanılmıştır ve hesaplamalarda 117.12 g/mol moleküler ağırlık dikkate alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör miktarı arttıkça enzim aktivitesinde düzenli bir azalma gözlenmiştir. İlk tekrarda aktivite 10  $\mu$ L’de 87 birim iken, 100  $\mu$ L’de 34 birime kadar düşmüştür. Benzer eğilim ikinci ve üçüncü tekrarlar da görülmüştür (Tablo 4.8). Bu ilişkiyi gösteren inhibisyon eğrileri sırasıyla Şekil 4.22, Şekil 4.23 ve Şekil 4.24’de verilmiştir. Grafikler tüm tekrarlar da konsantrasyon arttıkça aktivitenin azaldığını açıkça göstermektedir.

Tablo 4.9: Thiazolidin-2,4-dione bileşığının farklı inhibitör konsantrasyonlarında  $\alpha$ -glikozidaz enzim aktivitesi üzerine etkisi (üç tekrar)

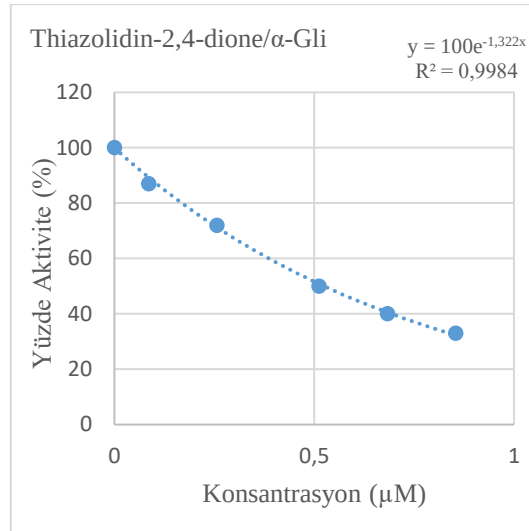
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 10 $\mu$ L                           | 87       |
| 30 $\mu$ L                           | 70       |
| 60 $\mu$ L                           | 53       |
| 80 $\mu$ L                           | 40       |
| 100 $\mu$ L                          | 34       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 10 $\mu$ L                           | 88       |
| 30 $\mu$ L                           | 74       |
| 60 $\mu$ L                           | 51       |
| 80 $\mu$ L                           | 38       |
| 100 $\mu$ L                          | 35       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 10 $\mu$ L                           | 87       |
| 30 $\mu$ L                           | 72       |
| 60 $\mu$ L                           | 50       |
| 80 $\mu$ L                           | 40       |
| 100 $\mu$ L                          | 33       |



Şekil 4.21:  $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (1.Tekrar)



Şekil 4.22:  $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (2. Tekrar)



Şekil 4.23: α-Gli inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (3. Tekrar)

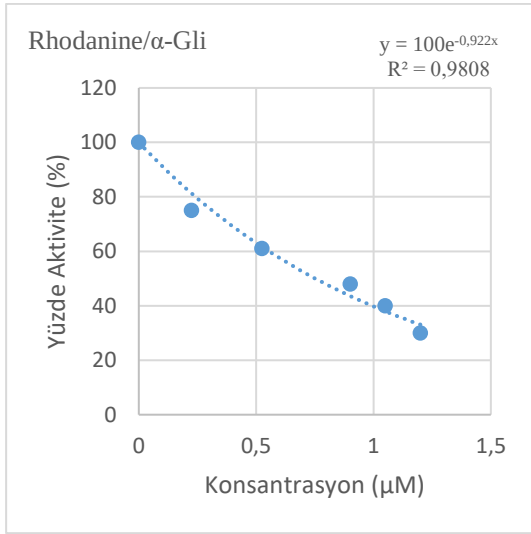
#### 4.2.2 Rhodanine bileşiğinin α-Glikozidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Rhodanine bileşiğinin α-glikozidaz enzimi üzerindeki inhibitör etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 10 μL enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 birim olarak kabul edilmiştir. Bileşik deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş olarak kullanılmıştır. Hesaplamalarda Rhodanine'in moleküler ağırlığı olan 133.18 g/mol esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli biçimde azaldığı görülmüştür. İlk tekrarda aktivite 30 μL'de 75 birim iken, en yüksek hacim olan 160 μL'de 30 birime kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da benzer sonuçlar vermiştir (Tablo 4.10). Bu sonuçlara ait inhibisyon eğrileri sırasıyla Şekil 4.25, Şekil 4.26 ve Şekil 4.27'de gösterilmiştir. Grafikler, Rhodanine'in α-glikozidaz üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir inhibitör etki oluşturduğunu açıkça ortaya koymaktadır.

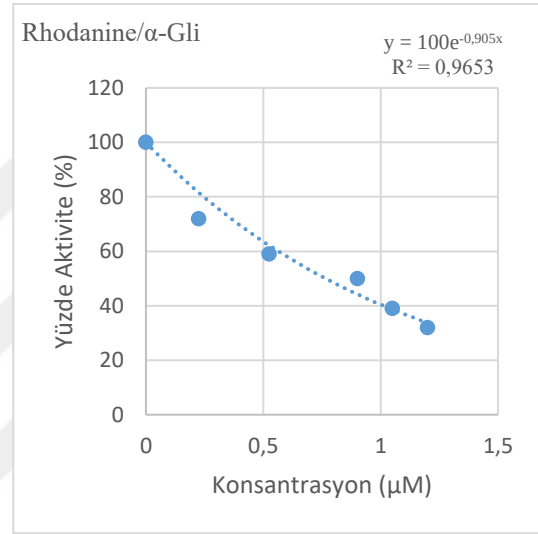
Tablo 4.10: Rhodanine bileşiğinin farklı inhibitör konsantrasyonlarında α-glikozidaz enzim aktivitesi üzerine etkisi (üç tekrar)

| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 30 μL                                | 75       |
| 70 μL                                | 61       |
| 120 μL                               | 48       |
| 140 μL                               | 40       |
| 160 μL                               | 30       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |

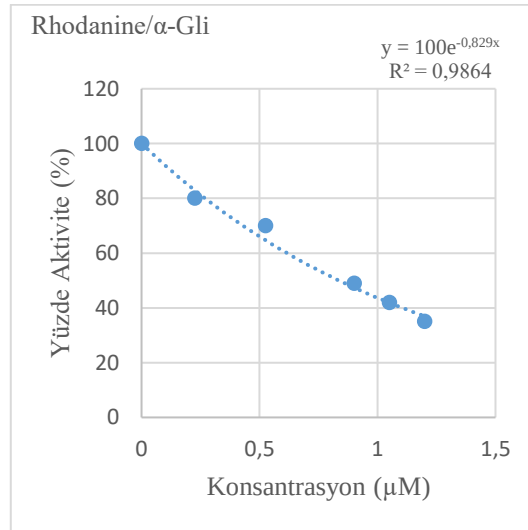
|                                      |          |
|--------------------------------------|----------|
| 30 µL                                | 72       |
| 70 µL                                | 59       |
| 120 µL                               | 50       |
| 140 µL                               | 39       |
| 160 µL                               | 32       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 30 µL                                | 80       |
| 70 µL                                | 70       |
| 120 µL                               | 49       |
| 140 µL                               | 42       |
| 160 µL                               | 35       |



Şekil 4.24: α-Gli inhibisyon eğrisi – Rhodanine (1.Tekrar)



Şekil 4.25: α-Gli inhibisyon eğrisi – Rhodanine (2.Tekrar)



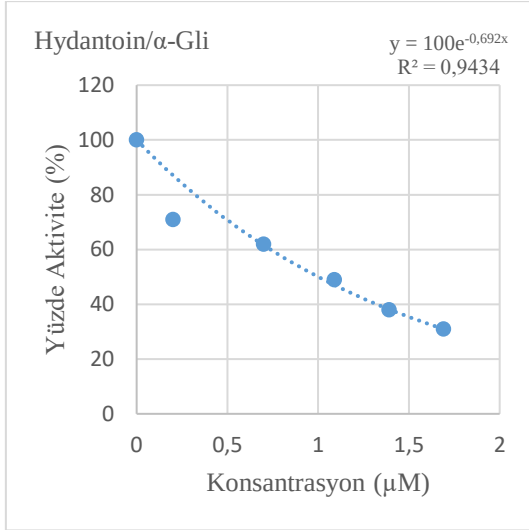
Şekil 4.26: α-Gli inhibisyon eğrisi – Rhodanine 3.Tekrar)

#### 4.2.3 Hydantoin bileşiğinin $\alpha$ -Glikozidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

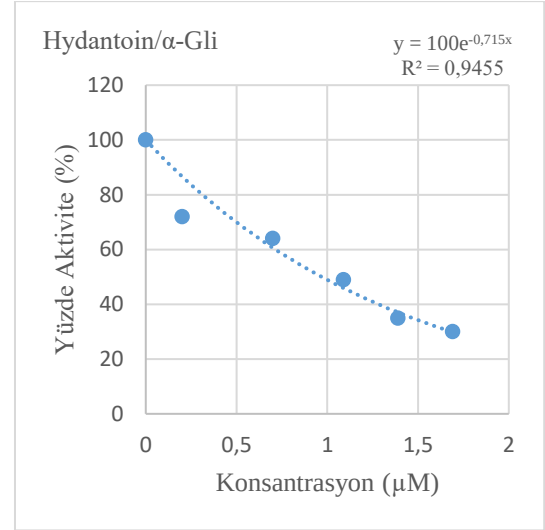
Hydantoin bileşiğinin  $\alpha$ -glikozidaz enzimi üzerindeki inhibitör etkisini incelemek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 10  $\mu$ L enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 birim olarak belirlenmiştir. Bileşik deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş olarak kullanılmıştır. Hesaplamalarda Hydantoin'in moleküler ağırlığı olan 100.08 g/mol temel alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonunun artmasıyla enzim aktivitesinde düzenli bir azalma gözlenmiştir. İlk tekrarda aktivite 20  $\mu$ L'de 71 birim iken, en yüksek hacim olan 170  $\mu$ L'de 31 birime kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlarda da benzer azalma eğrileri elde edilmiştir (Tablo 4.11). Bu konsantrasyon–aktivite ilişkisini gösteren inhibisyon eğrileri sırasıyla Şekil 4.28, Şekil 4.29 ve Şekil 4.30'da sunulmuştur. Grafikler, Hydantoin'in  $\alpha$ -glikozidaz üzerinde konsantrasyona bağlı güçlü bir inhibitör etki gösterdiğini açık biçimde ortaya koymaktadır.

Tablo 4.11: Hydantoin bileşiğinin farklı inhibitör konsantrasyonlarında  $\alpha$ -glikozidaz enzim aktivitesi üzerine etkisi (üç tekrar)

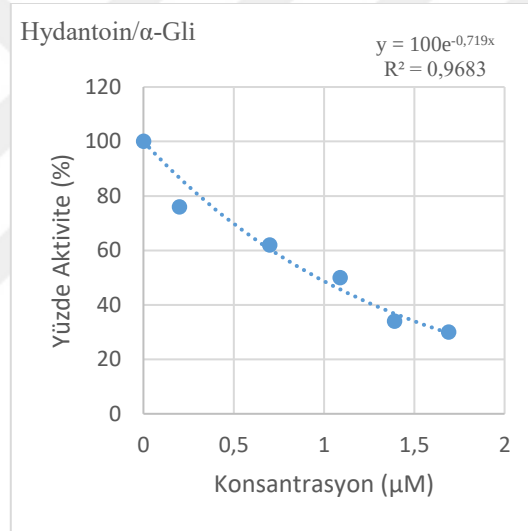
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 20 $\mu$ L                           | 71       |
| 70 $\mu$ L                           | 62       |
| 110 $\mu$ L                          | 49       |
| 140 $\mu$ L                          | 38       |
| 170 $\mu$ L                          | 31       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 20 $\mu$ L                           | 72       |
| 70 $\mu$ L                           | 64       |
| 110 $\mu$ L                          | 49       |
| 140 $\mu$ L                          | 35       |
| 170 $\mu$ L                          | 30       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 20 $\mu$ L                           | 76       |
| 70 $\mu$ L                           | 62       |
| 110 $\mu$ L                          | 50       |
| 140 $\mu$ L                          | 34       |
| 170 $\mu$ L                          | 30       |



Şekil 4.27: α-Gli inhibisyon eğrisi – Hydantoin (1.Tekrar)



Şekil 4.28: α-Gli inhibisyon eğrisi – Hydantoin (2.Tekrar)



Şekil 4.29: α-Gli inhibisyon eğrisi – Hydantoin (3.Tekrar)

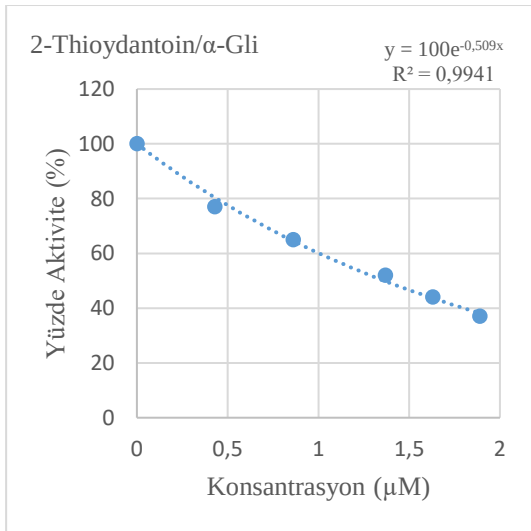
#### 4.2.4 2-Thiohydantoin bileşiğinin α-Glikozidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

2-Thiohydantoin bileşiğinin α-glikozidaz enzimi üzerindeki inhibitör etkisini incelemek amacıyla yürütülen çalışmada reaksiyon ortamına 10 μL enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 birim olarak belirlenmiştir. Bileşik deney süresince çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş şekilde kullanılmıştır. Hesaplamalarda 2-Thiohydantoin'in moleküler ağırlığı olan 116.14 g/mol esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli biçimde azaldığı görülmüştür. İlk tekrarda aktivite 50 μL'de 77 birim iken, en yüksek hacim olan 220 μL'de 37 birime kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü

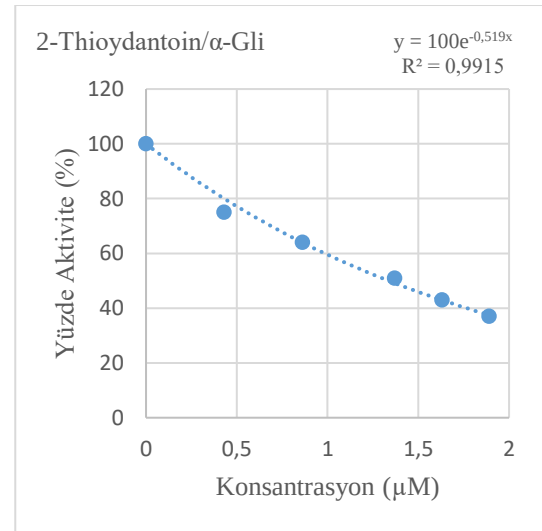
tekrarlar da bu düşüşü destekleyen benzer sonuçlar vermiştir (Tablo 4.12). Bu verilere ait inhibisyon eğrileri sırasıyla Şekil 4.31, Şekil 4.32 ve Şekil 4.33’de gösterilmiştir. Grafikler, 2-Thiohydantoin’in  $\alpha$ -glukozidaz üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir inhibitör etki oluşturduğunu ortaya koymaktadır.

Tablo 4.12: 2-Thiohydantoin  $\alpha$ -glukozidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

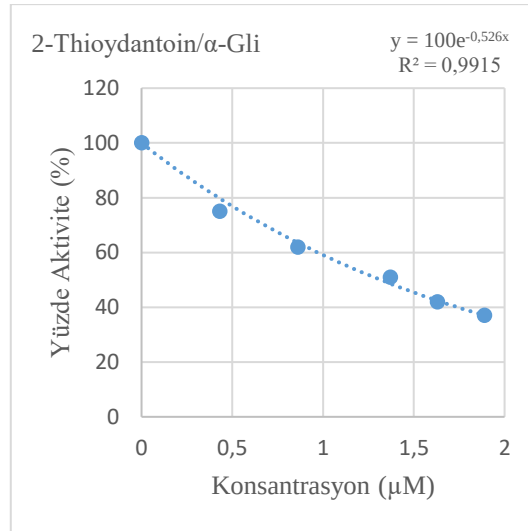
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 50 $\mu$ L                           | 77       |
| 100 $\mu$ L                          | 65       |
| 160 $\mu$ L                          | 52       |
| 190 $\mu$ L                          | 44       |
| 220 $\mu$ L                          | 37       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 50 $\mu$ L                           | 75       |
| 100 $\mu$ L                          | 64       |
| 160 $\mu$ L                          | 51       |
| 190 $\mu$ L                          | 43       |
| 220 $\mu$ L                          | 37       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 50 $\mu$ L                           | 75       |
| 100 $\mu$ L                          | 62       |
| 160 $\mu$ L                          | 51       |
| 190 $\mu$ L                          | 42       |
| 220 $\mu$ L                          | 37       |



Şekil 4.30:  $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (1.Tekrar)



Şekil 4.31:  $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (2.Tekrar)



Şekil 4.32: α-Gli inhibisyon eğrisi – 2-Thioydantoin (3.Tekrar)

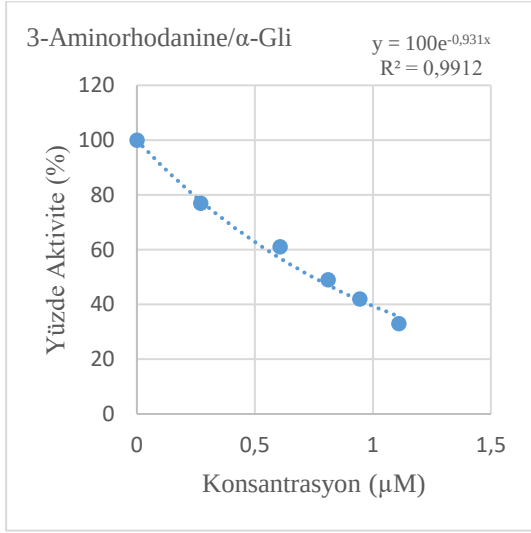
#### 4.2.5 3-Aminorhodanine bileşiğinin α-Glikozidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

3-Aminorhodanine bileşiğinin α-glikozidaz enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 10 μL enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 birim olarak belirlenmiştir. Bileşik deney süresince çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş şekilde kullanılmış, hesaplamalarda ise 3-Aminorhodanine'in moleküler ağırlığı olan 148.20 g/mol temel alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak enzim aktivitesinde düzenli bir azalma gözlenmiştir. İlk tekrarda aktivite 40 μL'de 77 birim iken, en yüksek hacim olan 165 μL'de 33 birime kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlarında da benzer azalma eğilimleri kaydedilmiştir (Tablo 4.13). Bu verilere karşılık gelen inhibisyon eğrileri Şekil 4.34, Şekil 4.35 ve Şekil 4.36'da sunulmuştur. Grafikler, 3-Aminorhodanine'in α-glikozidaz enzimi üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir inhibitör etki gösterdiğini açıkça ortaya koymaktadır.

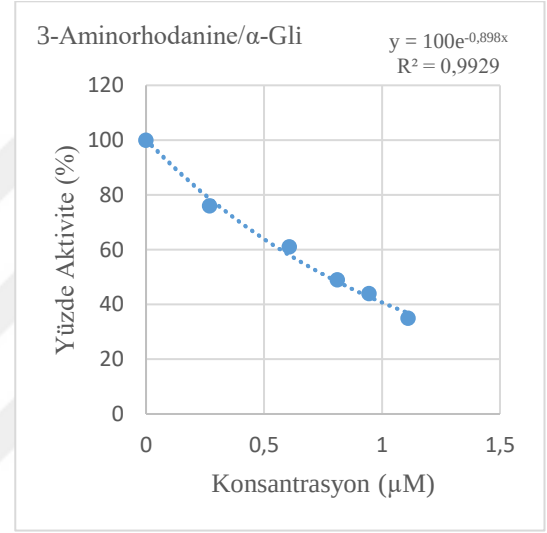
Tablo 4.13: 3-Aminorhodanine α-Glikozidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 40 μL                                | 77       |
| 90 μL                                | 61       |
| 120 μL                               | 49       |
| 140 μL                               | 42       |
| 165 μL                               | 33       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |

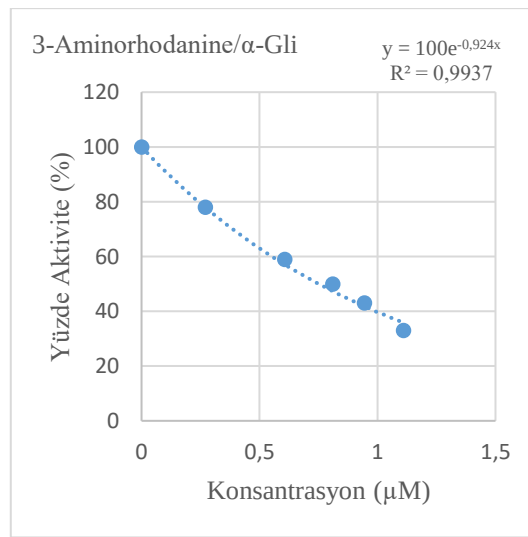
|                                      |          |
|--------------------------------------|----------|
| 40 µL                                | 76       |
| 90 µL                                | 61       |
| 120 µL                               | 49       |
| 140 µL                               | 44       |
| 165 µL                               | 35       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 40 µL                                | 78       |
| 90 µL                                | 59       |
| 120 µL                               | 50       |
| 140 µL                               | 43       |
| 165 µL                               | 33       |



Şekil 4.33:  $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (1.Tekrar)



Şekil 4.34:  $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (2.Tekrar)



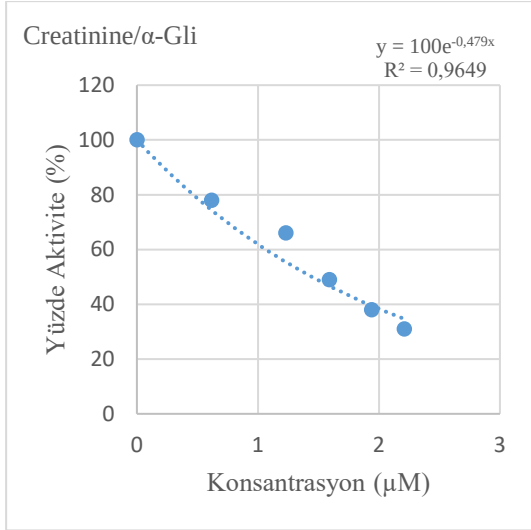
Şekil 4.35:  $\alpha$ -Gli inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (3.Tekrar)

#### 4.2.6 Creatinine bileşiğinin $\alpha$ -Glikozidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

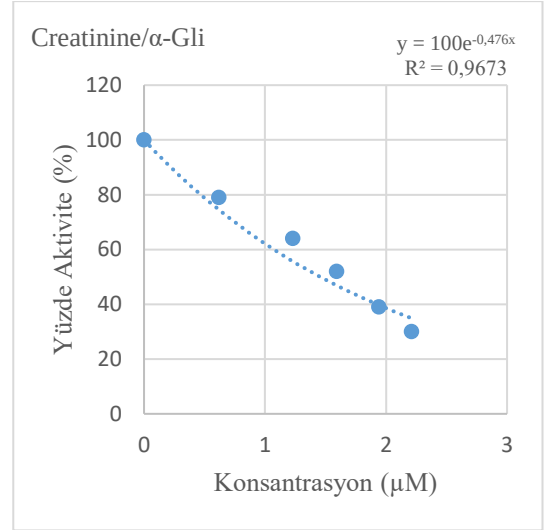
Creatinine bileşiğinin  $\alpha$ -glikozidaz enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon ortamına 10  $\mu$ L enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 birim olarak belirlenmiştir. Bileşik deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş şekilde kullanılmış; hesaplamalarda Creatinine'in moleküler ağırlığı olan 113.12 g/mol esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinde düzenli bir azalma meydana gelmiştir. İlk tekrarda aktivite 70  $\mu$ L'de 78 birim iken, en yüksek hacim olan 250  $\mu$ L'de 31 birime kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlarda da benzer bir azalma eğilimi gözlenmiştir (Tablo 4.14). Bu verilere ait inhibisyon eğrileri Şekil 4.37, Şekil 4.38 ve Şekil 4.39'da sunulmuştur. Grafikler, Creatinine'in  $\alpha$ -glikozidaz üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir inhibitör etki gösterdiğini açıkça ortaya koymaktadır.

Tablo 4.14: Creatinine  $\alpha$ -glikozidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

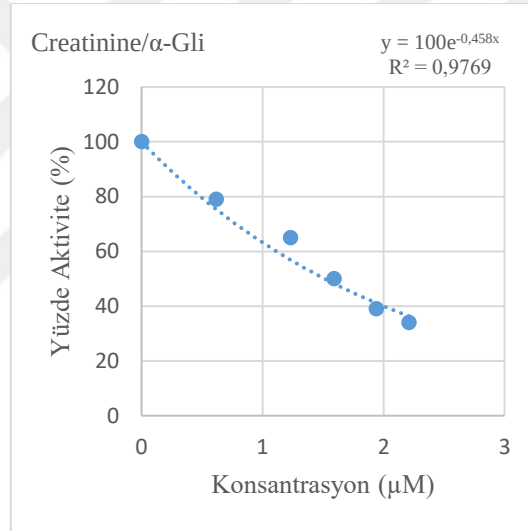
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 70 $\mu$ L                           | 78       |
| 140 $\mu$ L                          | 66       |
| 180 $\mu$ L                          | 49       |
| 220 $\mu$ L                          | 38       |
| 250 $\mu$ L                          | 31       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 70 $\mu$ L                           | 79       |
| 140 $\mu$ L                          | 64       |
| 180 $\mu$ L                          | 52       |
| 220 $\mu$ L                          | 39       |
| 250 $\mu$ L                          | 30       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 70 $\mu$ L                           | 79       |
| 140 $\mu$ L                          | 65       |
| 180 $\mu$ L                          | 50       |
| 220 $\mu$ L                          | 39       |
| 250 $\mu$ L                          | 34       |



Şekil 4.36: α-Gli inhibisyon eğrisi – Creatinine (1.Tekrar)



Şekil 4.37: α-Gli inhibisyon eğrisi – Creatinine (2.Tekrar)



Şekil 4.38: α-Gli inhibisyon eğrisi –Creatinine (3.Tekrar)

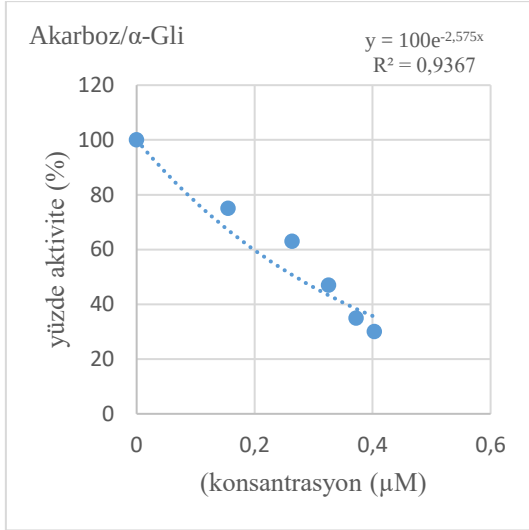
#### 4.2.7 Akarboz bileşiğinin α-Glikozidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi (Standart inhibitör)

Akarboz bu çalışmada α-glikozidaz enzimi için standart inhibitör olarak kullanılmış ve diğer bileşiklerin etkileri bu referans madde üzerinden değerlendirilmiştir. Reaksiyon karışımına 10 μL enzim eklenmiş, kontrol aktivitesi ise 100 birim olarak belirlenmiştir. Akarboz deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş formda kullanılmış olup hesaplamalarda bileşiğin 645.60 g/mol olan moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli bir şekilde azaldığı gözlenmiştir. İlk

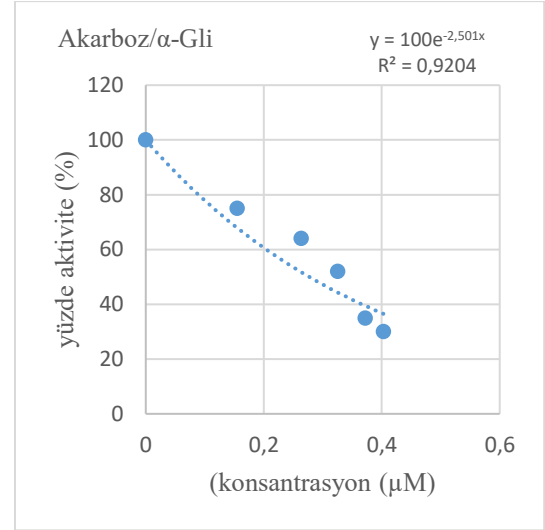
tekrarda aktivite 100  $\mu\text{L}$ 'de 75 birim iken, en yüksek hacim olan 260  $\mu\text{L}$ 'de 30 birime kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlarda da aynı eğilim korunmuştur (Tablo 4.15). Bu verilere ait inhibisyon eğrileri sırasıyla Şekil 4.40, Şekil 4.41 ve Şekil 4.42'de sunulmuştur. Grafikler, Akarboz'un  $\alpha$ -glikozidaz üzerinde konsantrasyona bağlı güçlü ve kararlı bir inhibitör etki gösterdiğini açıkça ortaya koymaktadır. Bu nedenle Akarboz, çalışmadaki diğer bileşiklerin inhibitör aktivitelerinin karşılaştırılması için uygun bir standart madde olarak doğrulanmıştır.

Tablo 4.15: Akarboz bileşiğinin  $\alpha$ -glikozidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

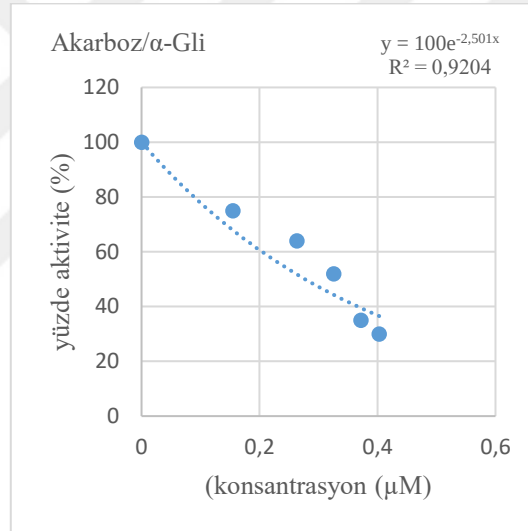
| 1.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|-------------------------------------|----------|
| 100 $\mu\text{L}$                   | 75       |
| 170 $\mu\text{L}$                   | 63       |
| 210 $\mu\text{L}$                   | 47       |
| 240 $\mu\text{L}$                   | 35       |
| 260 $\mu\text{L}$                   | 30       |
| 2.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 100 $\mu\text{L}$                   | 75       |
| 170 $\mu\text{L}$                   | 64       |
| 210 $\mu\text{L}$                   | 52       |
| 240 $\mu\text{L}$                   | 35       |
| 260 $\mu\text{L}$                   | 30       |
| 3.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 100 $\mu\text{L}$                   | 76       |
| 170 $\mu\text{L}$                   | 65       |
| 210 $\mu\text{L}$                   | 50       |
| 240 $\mu\text{L}$                   | 36       |
| 260 $\mu\text{L}$                   | 29       |



Şekil 4.39: α-Gli inhibisyon eğrisi – Akarboz (1.Tekrar)



Şekil 4.40: α-Gli inhibisyon eğrisi – Akarboz (2.Tekrar)



Şekil 4.41: α-Gli inhibisyon eğrisi – Akarboz (3.Tekrar)

Bu çalışmada bileşiklerin α-glikozidaz enzimi üzerindeki inhibitör etkileri IC<sub>50</sub> değerleri üzerinden değerlendirilmiş olup sonuçlar Tablo 4.15'te sunulmuştur. Standart inhibitör olarak kullanılan Akarboz, 0,27 μM IC<sub>50</sub> değeri ile set içerisindeki en yüksek inhibitör etkiyi göstermiştir. Diğer bileşikler bu referans değerle karşılaştırıldığında, Thiazolidin-2,4-dione'nin 0,53 μM IC<sub>50</sub> değeriyle standarta en çok yaklaşan bileşik olduğu görülmektedir. 3-Aminorhodanine (0,76 μM) ve Rhodanine (0,78 μM) birbirine yakın değerler göstererek orta düzeyde bir inhibisyon sağlamıştır. Hydantoin için belirlenen 0,98 μM IC<sub>50</sub> değeri etkinliğin bir miktar daha zayıf olduğunu göstermektedir. Setin sonunda yer alan 2-Thiohydantoin (1,34 μM) ve Creatinine (1,47 μM) ise enzimi daha düşük düzeyde inhibe etmiştir. Genel

olarak bu çalışma, değerlendirilen tüm bileşiklerin  $\alpha$ -glikozidaz üzerinde belirli bir inhibitör etki sergilediğini, ancak Akarboz'un açık ara en güçlü inhibitör olduğunu; Thiazolidin-2,4-dione ile 3-Aminorhodanine'in ise standart inhibitöre en yakın adaylar olarak öne çıktığını göstermektedir.

Tablo 4.16: Bileşiklerin  $\alpha$ -glikozidaz inhibisyonuna ait IC<sub>50</sub> ve R<sup>2</sup> değerleri

| Bileşikler/Enzimler          | $\alpha$ -Gli               |                |
|------------------------------|-----------------------------|----------------|
|                              | IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M) | R <sup>2</sup> |
| <b>Thiazolidin-2,4-dione</b> | 0,53 $\pm$ 0,007            | 0,9965         |
| <b>Rhodanine</b>             | 0,78 $\pm$ 0,005            | 0,9775         |
| <b>Hydantoin</b>             | 0,98 $\pm$ 0,002            | 0,9524         |
| <b>2-Thiohydantoin</b>       | 1,34 $\pm$ 0,002            | 0,9924         |
| <b>3-Aminorhodanine</b>      | 0,76 $\pm$ 0,001            | 0,9926         |
| <b>Creatinine</b>            | 1,47 $\pm$ 0,04             | 0,9697         |
| <b>Akarboz</b>               | 0,27 $\pm$ 0,006            | 0,9368         |

### 4.3 Bütirilkolinesteraz enzimi inhibisyon sonuçları

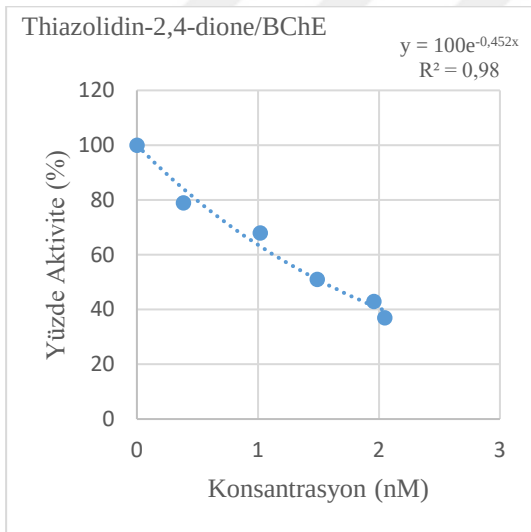
Bu bölümde, çalışmada incelenen bileşiklerin bütirilkolinesteraz (BChE) enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerine ait sonuçlar sunulmuş ve elde edilen bulgular referans madde ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

#### 4.3.1 Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

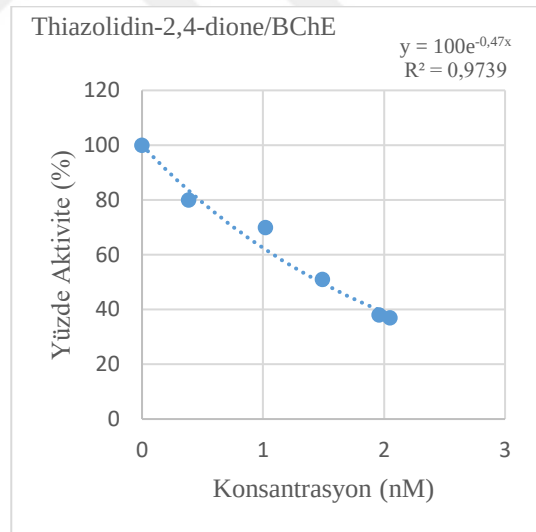
Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin BChE enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 40  $\mu$ L enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 birim olarak belirlenmiştir. Bileşik deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş olarak kullanılmış; hesaplamalarda ise Thiazolidin-2,4-dione'nin 117.12 g/mol moleküler ağırlığı temel alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli biçimde azaldığı görülmüştür. İlk tekrarda aktivite 45  $\mu$ L'de 79 birim iken, en yüksek hacim olan 240  $\mu$ L'de 37 birime kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da bu eğilimle uyumlu olup benzer azalma profilleri göstermiştir (Tablo 4.17). Bu sonuçlara karşılık gelen inhibisyon eğrileri sırasıyla Şekil 4.43, Şekil 4.44 ve Şekil 4.45'de verilmiştir. Grafikler, Thiazolidin-2,4-dione'nin BChE üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir inhibitör etki göstermektedir.

Tablo 4.17: Thiazolidin-2,4-dione bileşiminin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

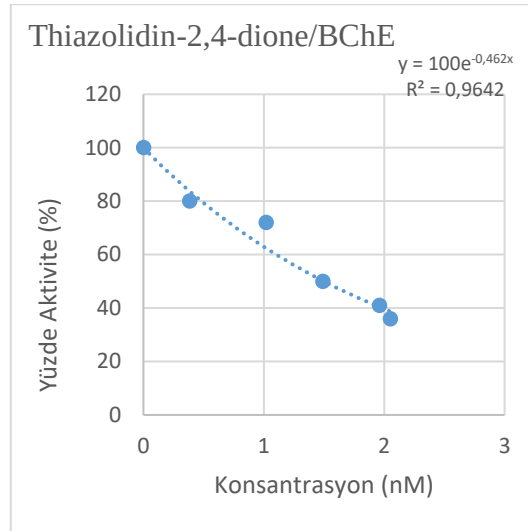
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 45 µL                                | 79       |
| 120 µL                               | 68       |
| 175 µL                               | 51       |
| 230 µL                               | 43       |
| 240 µL                               | 37       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 45 µL                                | 80       |
| 120 µL                               | 70       |
| 175 µL                               | 51       |
| 230 µL                               | 38       |
| 240 µL                               | 37       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 45 µL                                | 80       |
| 120 µL                               | 72       |
| 175 µL                               | 50       |
| 230 µL                               | 41       |
| 240 µL                               | 36       |



Şekil 4.42: BChE inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (1.Tekrar)



Şekil 4.43: BChE inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (2.Tekrar)



Şekil 4.44: BChE inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (3.Tekrar)

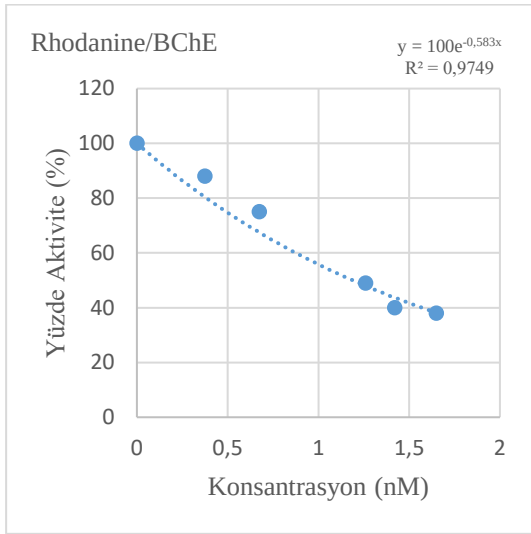
#### 4.3.2 Rhodanine bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Rhodanine bileşiğinin BChE enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon ortamına 40  $\mu\text{L}$  enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 birim olarak belirlenmiştir. Bileşik deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş olarak kullanılmış, hesaplamalarda Rhodanine'in 133.18 g/mol moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli biçimde azaldığı görülmüştür. İlk tekrarda aktivite 50  $\mu\text{L}$ 'de 88 birim iken en yüksek hacim olan 220  $\mu\text{L}$ 'de 38 birime kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da bu eğilimle uyumlu değerler göstermiştir (Tablo 4.18). Bu verilere karşılık gelen inhibisyon eğrileri sırasıyla Şekil 4.46, Şekil 4.47 ve Şekil 4.48'de sunulmuştur. Grafikler, Rhodanine'in BChE üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir inhibitör etki oluşturduğunu göstermektedir.

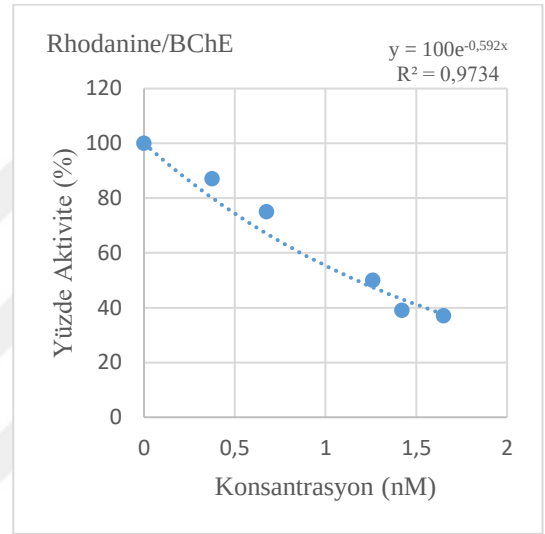
Tablo 4.18: Rhodanine bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 50 $\mu\text{L}$                     | 88       |
| 90 $\mu\text{L}$                     | 75       |
| 150 $\mu\text{L}$                    | 49       |
| 190 $\mu\text{L}$                    | 40       |
| 220 $\mu\text{L}$                    | 38       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 50 $\mu\text{L}$                     | 87       |

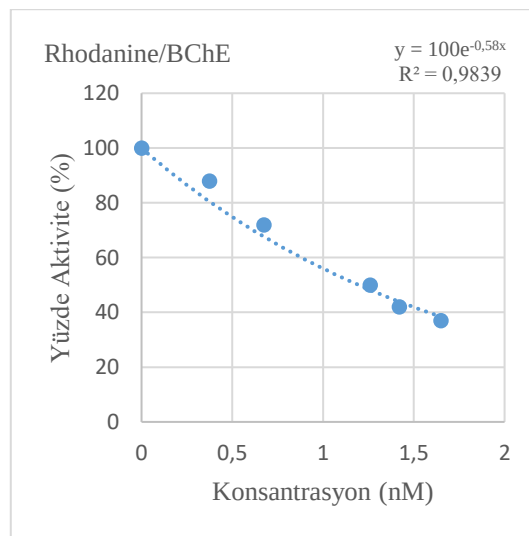
|                                      |          |
|--------------------------------------|----------|
| 90 µL                                | 75       |
| 150 µL                               | 50       |
| 190 µL                               | 39       |
| 220 µL                               | 37       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 50 µL                                | 88       |
| 90 µL                                | 72       |
| 150 µL                               | 50       |
| 190 µL                               | 42       |
| 220 µL                               | 37       |



Şekil 4.45: BChE inhibisyon eğrisi – Rhodanine (1.Tekrar)



Şekil 4.46: BChE inhibisyon eğrisi – Rhodanine (2.Tekrar)



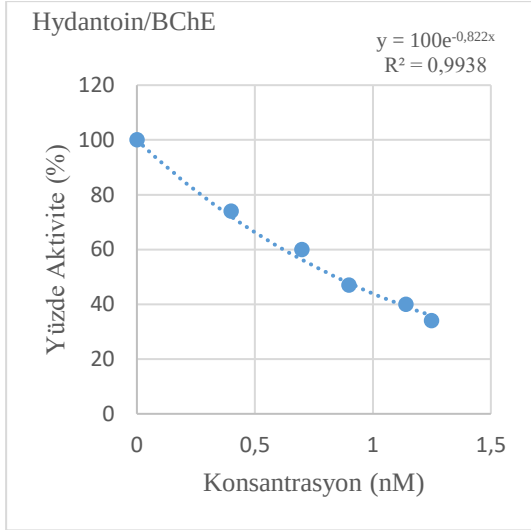
Şekil 4.47: BChE inhibisyon eğrisi – Rhodanine (3.Tekrar)

#### 4.3.3 Hydantoin bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

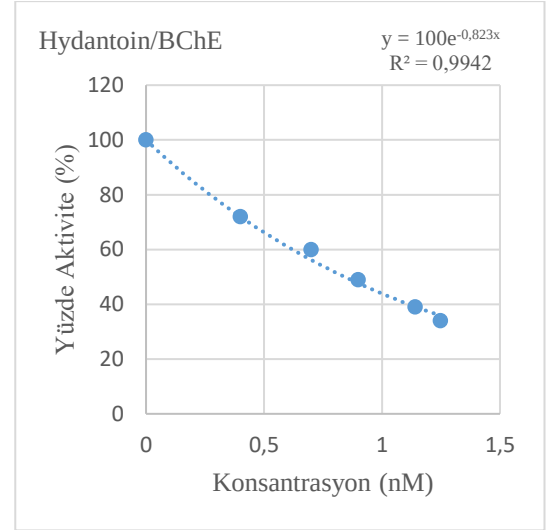
Hydantoin bileşiğinin BChE enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon ortamına 40 µL enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 birim olarak belirlenmiştir. Bileşik deney süresince çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş şekilde kullanılmış; hesaplamalarda Hydantoin'in 100.08 g/mol moleküler ağırlığı temel alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli biçimde azaldığı görülmüştür. İlk tekrarda aktivite 40 µL'de 74 birim iken, en yüksek hacim olan 125 µL'de 34 birime kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da benzer sonuçlar vermiş olup aktivite değerleri aynı azalma eğrisini takip etmiştir (Tablo 4.19). Bu verilere karşılık gelen inhibisyon eğrileri sırasıyla Şekil 4.49, Şekil 4.50 ve Şekil 4.51'de sunulmuştur. Grafikler, Hydantoin'in BChE üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin ve istikrarlı bir inhibitör etki gösterdiği görülmektedir.

Tablo 4.19: Hydantoin bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

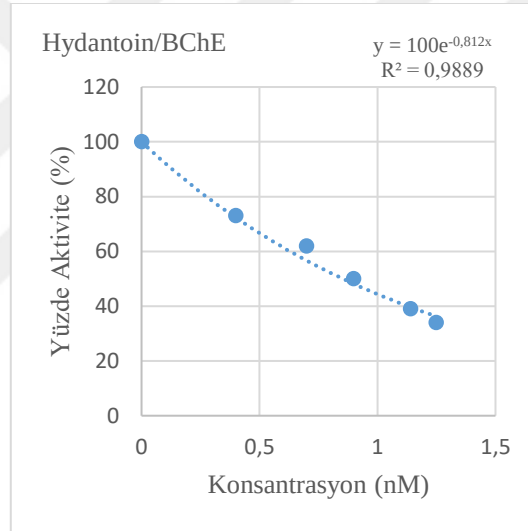
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 40 µL                                | 74       |
| 70 µL                                | 60       |
| 90 µL                                | 47       |
| 115 µL                               | 40       |
| 125 µL                               | 34       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 40 µL                                | 72       |
| 70 µL                                | 60       |
| 90 µL                                | 49       |
| 115 µL                               | 39       |
| 125 µL                               | 34       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 40 µL                                | 73       |
| 70 µL                                | 62       |
| 90 µL                                | 50       |
| 115 µL                               | 39       |
| 125 µL                               | 34       |



Şekil 4.48: BChE inhibisyon eğrisi – Hydantoin (1.Tekrar)



Şekil 4.49: BChE inhibisyon eğrisi – Hydantoin (2.Tekrar)



Şekil 4.50: BChE inhibisyon eğrisi – Hydantoin (3.Tekrar)

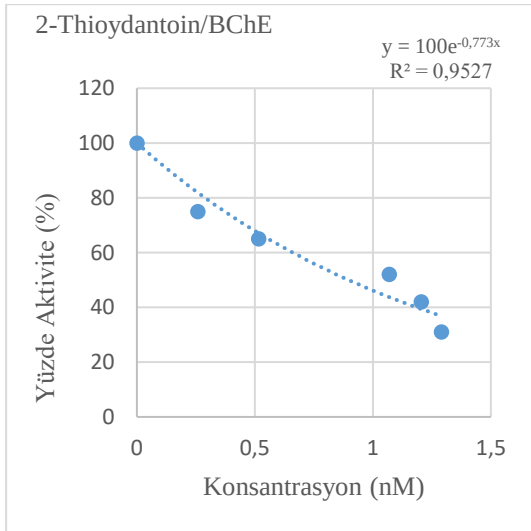
#### 4.3.4 2-Thiohydantoin bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

2-Thiohydantoin bileşiğinin BChE enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon ortamına 40 µL enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 birim olarak belirlenmiştir. Bileşik deney süresince çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş şekilde kullanılmış; hesaplamalarda 2-Thiohydantoin'in 116.14 g/mol moleküler ağırlığı temel alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesi düzenli olarak azalmıştır. İlk tekrarda aktivite 30 µL'de 75 birim iken, en yüksek hacim olan 150 µL'de 31 birime kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlarında da benzer değerler elde

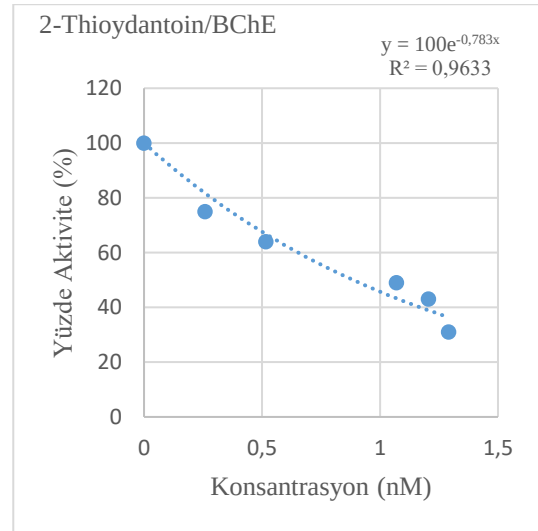
edilmiştir (Tablo 4.20). Bu sonuçlara ait inhibisyon eğrileri Şekil 4.52, Şekil 4.53 ve Şekil 4.54’de yer almaktadır. Grafikler, 2-Thiohydantoin’in BChE üzerinde konsantrasyona bağlı bir inhibitör etki oluşturduğunu göstermektedir.

Tablo 4.20: 2-Thiohydantoin bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

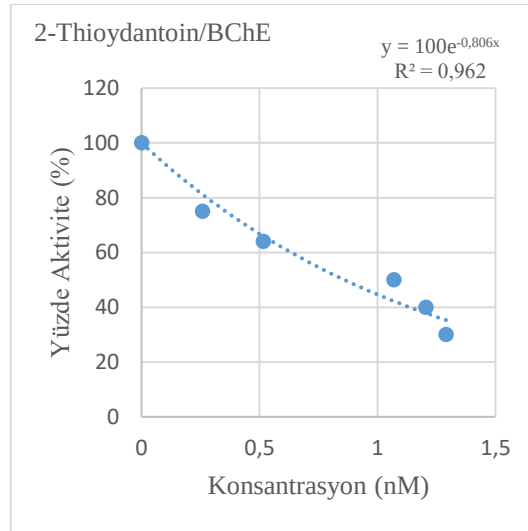
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 30 µL                                | 75       |
| 60 µL                                | 65       |
| 125 µL                               | 52       |
| 140 µL                               | 42       |
| 150 µL                               | 31       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 30 µL                                | 75       |
| 60 µL                                | 64       |
| 125 µL                               | 49       |
| 140 µL                               | 43       |
| 150 µL                               | 31       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 30 µL                                | 75       |
| 60 µL                                | 64       |
| 125 µL                               | 50       |
| 140 µL                               | 40       |
| 150 µL                               | 30       |



Şekil 4.51: BChE inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (1.Tekrar)



Şekil 4.52: BChE inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (2.Tekrar)



Şekil 4.53: BChE inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (3.Tekrar)

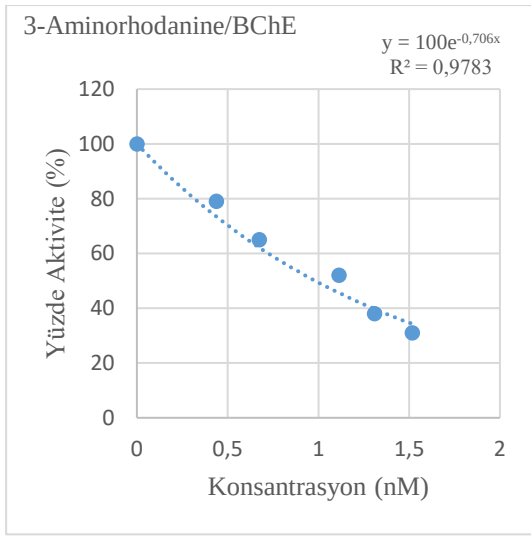
#### 4.3.5 3-Aminorhodanine bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

3-Aminorhodanine bileşiğinin BChE enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 40 µL enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 birim olarak belirlenmiştir. Bileşik deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş şekilde kullanılmış; hesaplamalarda 3-Aminorhodanine'in 148.20 g/mol moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli biçimde azaldığı gözlenmiştir. İlk tekrarda aktivite 65 µL'de 79 birim iken, en yüksek hacim olan 225 µL'de 31 birime kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da benzer sonuçlar vererek bu eğilimi doğrulamıştır (Tablo 4.21). Bu verilere karşılık gelen inhibisyon eğrileri Şekil 4.55, Şekil 4.56 ve Şekil 4.57'de sunulmuştur. Grafikler, 3-Aminorhodanine'in BChE üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir inhibitör etki oluşturduğunu göstermektedir.

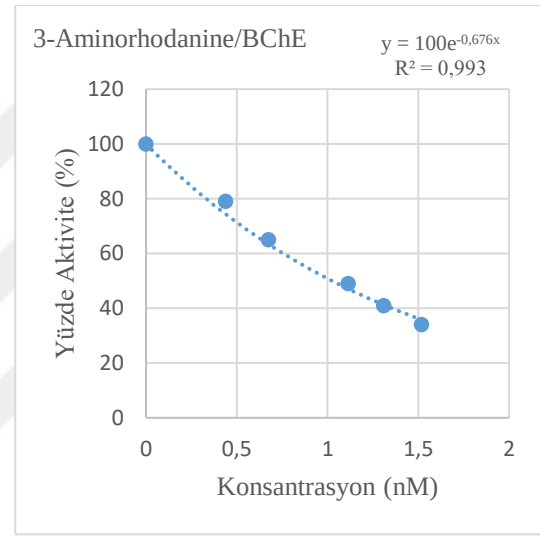
Tablo 4.21: 3-Aminorhodanine bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 65 µL                                | 79       |
| 100 µL                               | 65       |
| 165 µL                               | 52       |
| 195 µL                               | 38       |
| 225 µL                               | 31       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |

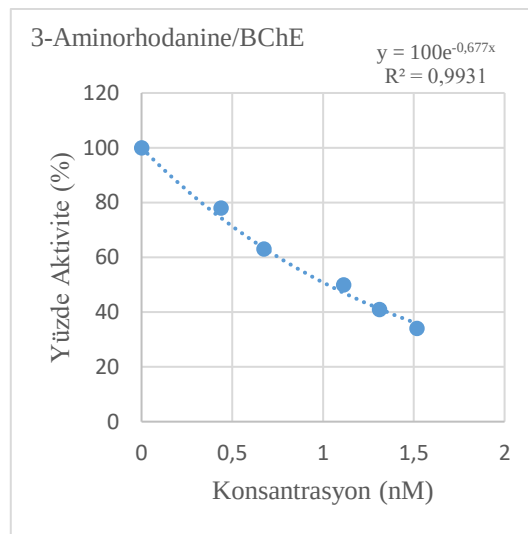
|                                      |          |
|--------------------------------------|----------|
| 65 µL                                | 79       |
| 100 µL                               | 65       |
| 165 µL                               | 49       |
| 195 µL                               | 41       |
| 225 µL                               | 34       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 65 µL                                | 78       |
| 100 µL                               | 63       |
| 165 µL                               | 50       |
| 195 µL                               | 41       |
| 225 µL                               | 34       |



Şekil 4.54: BChE inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (1.Tekrar)



Şekil 4.55: BChE inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (2.Tekrar)



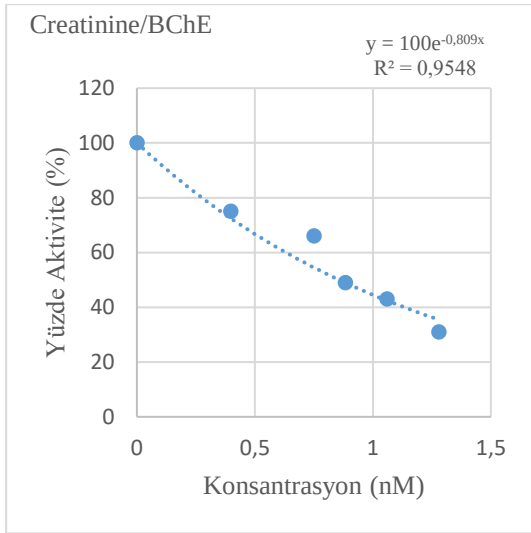
Şekil 4.56: BChE inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (3.Tekrar)

#### 4.3.6 Creatinine bileşiminin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

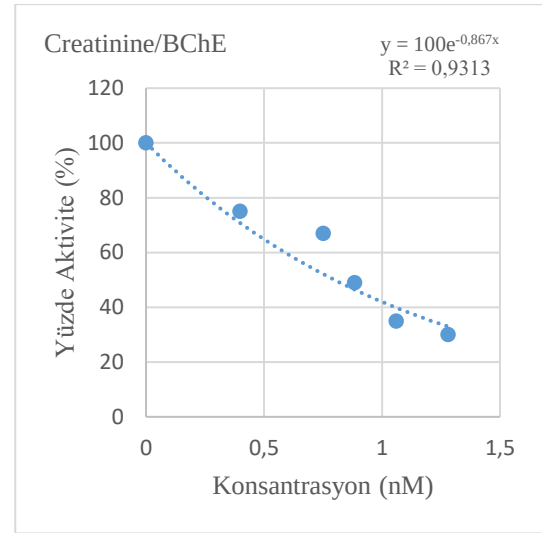
Creatinine'in BChE enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon ortamına 40 µL enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 birim olarak belirlenmiştir. Bileşik deney süresince çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş hâlde kullanılmış; hesaplamalarda Creatinine'in 113.12 g/mol moleküler ağırlığı temel alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli biçimde azaldığı gözlenmiştir. İlk tekrarda aktivite 45 µL'de 75 birim iken, en yüksek hacim olan 145 µL'de 31 birime kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da bu eğilimi destekleyen benzer sonuçlar vermiştir (Tablo 4.22). Bu verilere karşılık gelen inhibisyon eğrileri Şekil 4.58, Şekil 4.59 ve Şekil 4.60'da sunulmuştur. Grafikler, Creatinine'in BChE üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir inhibitör etki oluşturduğunu göstermektedir.

Tablo 4.22: Creatinine bileşiminin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

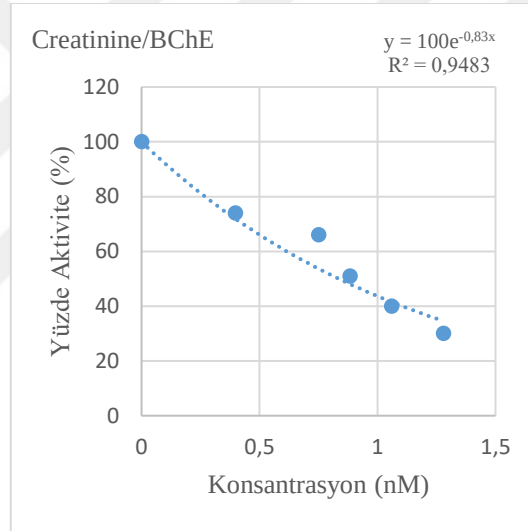
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 45 µL                                | 75       |
| 85 µL                                | 66       |
| 100 µL                               | 49       |
| 120 µL                               | 43       |
| 145 µL                               | 31       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 45 µL                                | 75       |
| 85 µL                                | 67       |
| 100 µL                               | 49       |
| 120 µL                               | 35       |
| 145 µL                               | 30       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 45 µL                                | 74       |
| 85 µL                                | 66       |
| 100 µL                               | 51       |
| 120 µL                               | 40       |
| 145 µL                               | 30       |



Şekil 4.57: BChE inhibisyon eğrisi – Creatinine (1.Tekrar)



Şekil 4.58: BChE inhibisyon eğrisi – Creatinine (2.Tekrar)



Şekil 4.59: BChE inhibisyon eğrisi – Creatinine (3.Tekrar)

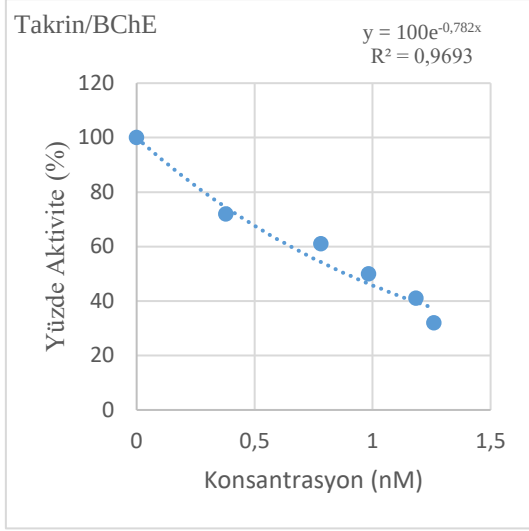
#### 4.3.7 Takrin bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi (Standart inhibitör)

Takrin bileşiğinin BChE enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 40 µL enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 birim olarak belirlenmiştir. Takrin, deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş hâlde uygulanmış; hesaplamalarda bileşiğin 198.27 g/mol moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesi düzenli bir şekilde azalmıştır. İlk tekrarda aktivite 75 µL’de 72 birim iken, en yüksek hacim olan 250 µL’de 32

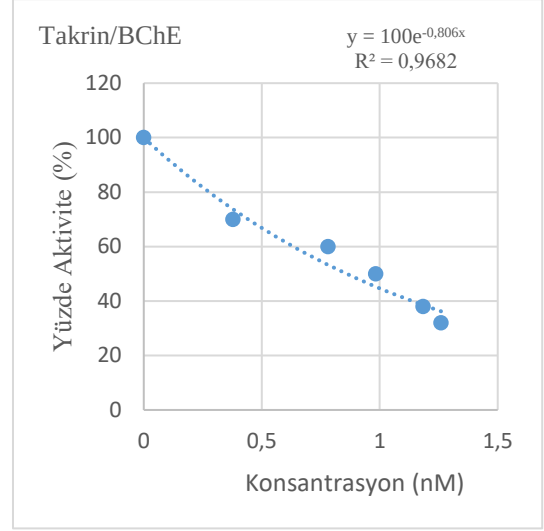
birime kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da bu azalma eğrisini destekleyen benzer değerler vermiştir (Tablo 4.23). Bu sonuçlara karşılık gelen inhibisyon eğrileri Şekil 4.61, Şekil 4.62 ve Şekil 4.63’de sunulmuştur. Grafikler, Takrin’in BChE üzerinde güçlü ve konsantrasyona bağlı bir inhibitör etki oluşturduğunu göstermektedir. Ayrıca bu özellikleri, çalışmada kullanılan diğer bileşiklerin değerlendirilmesinde Takrin’i güvenilir bir standart inhibitör hâline getirdiğini ortaya koymaktadır.

Tablo 4.23: Takrin bileşiğinin BChE enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

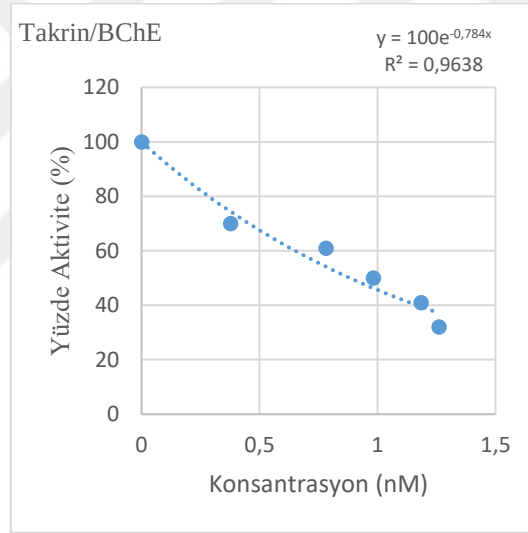
| <b>1.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu</b> | <b>Aktivite</b> |
|--------------------------------------------|-----------------|
| <b>75 µL</b>                               | <b>72</b>       |
| <b>155 µL</b>                              | <b>61</b>       |
| <b>195 µL</b>                              | <b>50</b>       |
| <b>235 µL</b>                              | <b>41</b>       |
| <b>250 µL</b>                              | <b>32</b>       |
| <b>2.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu</b> | <b>Aktivite</b> |
| <b>75 µL</b>                               | <b>70</b>       |
| <b>155 µL</b>                              | <b>60</b>       |
| <b>195 µL</b>                              | <b>50</b>       |
| <b>235 µL</b>                              | <b>38</b>       |
| <b>250 µL</b>                              | <b>32</b>       |
| <b>3.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu</b> | <b>Aktivite</b> |
| <b>75 µL</b>                               | <b>70</b>       |
| <b>155 µL</b>                              | <b>61</b>       |
| <b>195 µL</b>                              | <b>50</b>       |
| <b>235 µL</b>                              | <b>41</b>       |
| <b>250 µL</b>                              | <b>32</b>       |



Şekil 4.60: BChE inhibisyon eğrisi – Takrin (1.Tekrar)



Şekil 4.61: BChE inhibisyon eğrisi – Takrin (2.Tekrar)



Şekil 4.62: BChE inhibisyon eğrisi – Takrin (3.Tekrar)

Bu çalışmada BChE enzimi için standart inhibitör olarak Takrin kullanılmıştır. Bileşiklerin  $IC_{50}$  ve  $R^2$  değerleri Tablo 4.24'te verilmiş olup değerlendirmeler bu tablo üzerinden yapılmıştır. Takrin'in  $IC_{50}$  değeri 876,6 nM olup diğer bileşiklerin karşılaştırılmasında bir referans noktası oluşturmuştur. Tablo incelendiğinde, Creatinine (830,3 nM) ve Hydantoin (846,1 nM) değerlerinin Takrin'e en yakın sonuçları verdiği görülmektedir. 2-Thiohydantoin (880,4 nM) de Takrin'e oldukça yakın bir etki göstermektedir. Buna karşılık 3-Aminorhodanine (1010 nM) ve Rhodanine (1184,7 nM) daha zayıf bir inhibitör etki

sunmaktadır. Setin en yüksek  $IC_{50}$  değerine sahip olan Thiazolidin-2,4-dione (1502,5 nM) ise en düşük aktiviteyi göstermiştir. Genel olarak Tablo 4.23, bileşiklerin çoğunun Takrin'e yakın bir inhibisyon gücü sergilediğini, en etkili adayların ise Creatinine, Hydantoin ve 2-Thiohydantoin olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.24: Bileşiklerin BChE inhibisyonuna ait  $IC_{50}$  ve  $R^2$  değerleri

| Bileşikler/Enzimler          | BChE           |        |
|------------------------------|----------------|--------|
|                              | $IC_{50}$ (nM) | $R^2$  |
| <b>Thiazolidin-2,4-dione</b> | 1502,5±30      | 0,9727 |
| <b>Rhodanine</b>             | 1184,7±10      | 0,9774 |
| <b>Hydantoin</b>             | 846,1±6        | 0,9923 |
| <b>2-Thiohydantoin</b>       | 880,4±6        | 0,9593 |
| <b>3-Aminorhodanine</b>      | 1010±2         | 0,9881 |
| <b>Creatinine</b>            | 830,3±30       | 0,9448 |
| <b>Takrin</b>                | 876,6±14,6     | 0,9671 |

#### 4.4 Karbonik anhidraz I enzim inhibisyon sonuçları

Bu bölümde, test edilen bileşiklerin karbonik anhidraz I (hCA I) enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerine ait sonuçlar sunulmuş ve elde edilen bulgular standart inhibitör ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

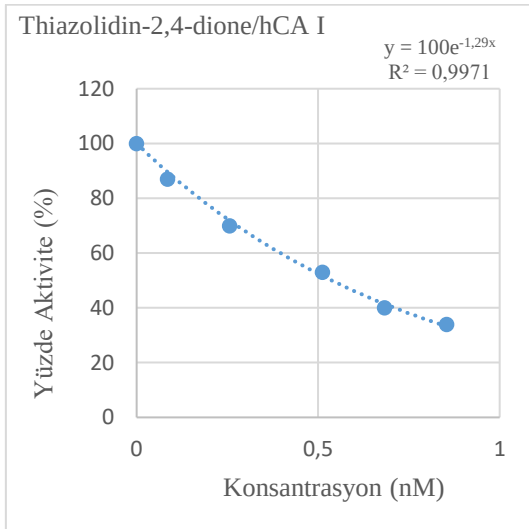
##### 4.4.1 Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin Karbonik Anhidraz I (hCA I) enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin hCA I enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 10  $\mu$ L enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 birim olarak belirlenmiştir. Bileşik deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş hâlde kullanılmış, hesaplamalarda ise 117.12 g/mol olan moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör miktarı arttıkça enzim aktivitesinin düzenli biçimde azaldığı görülmüştür. İlk tekrarda aktivite 10  $\mu$ L'de 87 birim iken, 100  $\mu$ L'de 34 birime kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da benzer bir azalma eğilimi göstermiş ve ölçülen değerler birbirine oldukça yakın çıkmıştır (Tablo 4.25). Bu sonuçlara karşılık gelen inhibisyon eğrileri Şekil 4.64, Şekil 4.65 ve Şekil 4.66'da sunulmuştur. Grafikler,

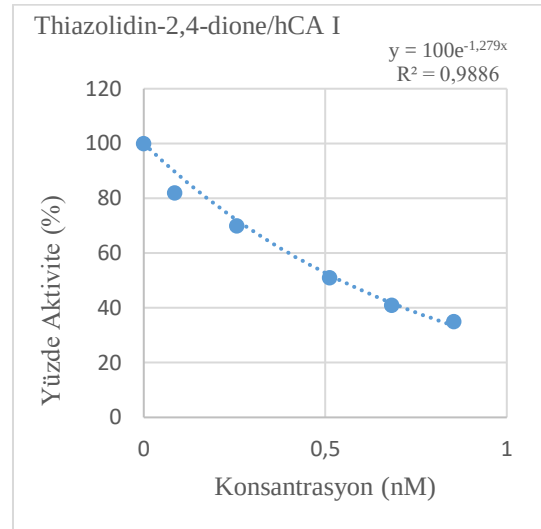
Thiazolidin-2,4-dione'un hCA I üzerinde konsantrasyona bağılı belirgin bir inhibitör etki oluşturduğunu göstermektedir.

Tablo 4.25: Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin hCA I enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

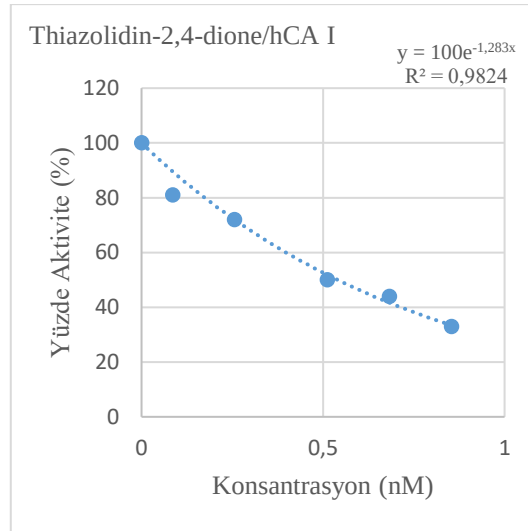
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 10 µL                                | 87       |
| 30 µL                                | 70       |
| 60 µL                                | 53       |
| 80 µL                                | 40       |
| 100 µL                               | 34       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 10 µL                                | 82       |
| 30 µL                                | 70       |
| 60 µL                                | 51       |
| 80 µL                                | 41       |
| 100 µL                               | 35       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 10 µL                                | 81       |
| 30 µL                                | 72       |
| 60 µL                                | 50       |
| 80 µL                                | 44       |
| 100 µL                               | 33       |



Şekil 4.63: hCA I inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (1.Tekrar)



Şekil 4.64: hCA I inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (2.Tekrar)



Şekil 4.65: hCA I inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (3.Tekrar)

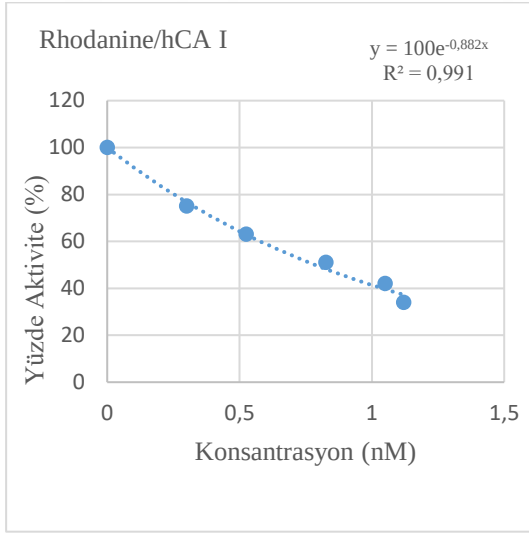
#### 4.4.2 Rhodanine bileşiğinin Karbonik Anhidraz I (hCA I) enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Rhodanine bileşiğinin hCA I enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 10 µL enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 birim olarak belirlenmiştir. Bileşik deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş hâlde kullanılmış olup hesaplamalarda Rhodanine'in 133.18 g/mol moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli biçimde azaldığı gözlenmiştir. İlk tekrarda aktivite 40 µL'de 75 birim iken, en yüksek hacim olan 150 µL'de 34 birime kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da benzer bir azalma eğilimi göstermiş ve ölçülen değerler birbirine oldukça yakın çıkmıştır (Tablo 4.26). Bu sonuçlara ait inhibisyon eğrileri Şekil 4.67, Şekil 4.68 ve Şekil 4.69'da sunulmuştur. Grafikler, Rhodanine'in hCA I üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir inhibitör etki oluşturduğunu göstermektedir.

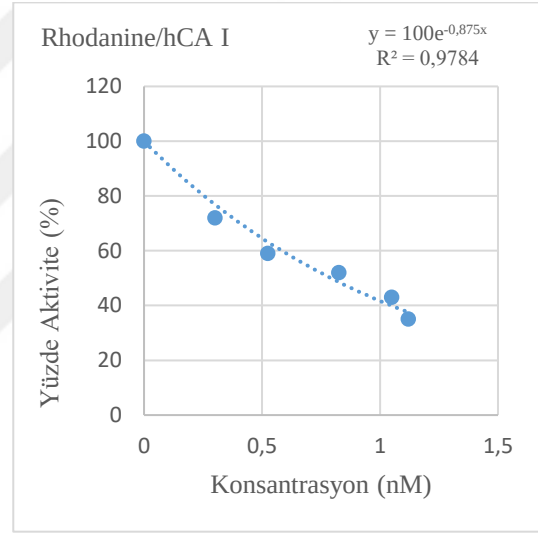
Tablo 4.26: Rhodanine bileşiğinin hCA I enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 40 µL                                | 75       |
| 70 µL                                | 63       |
| 110 µL                               | 51       |
| 140 µL                               | 42       |
| 150 µL                               | 34       |

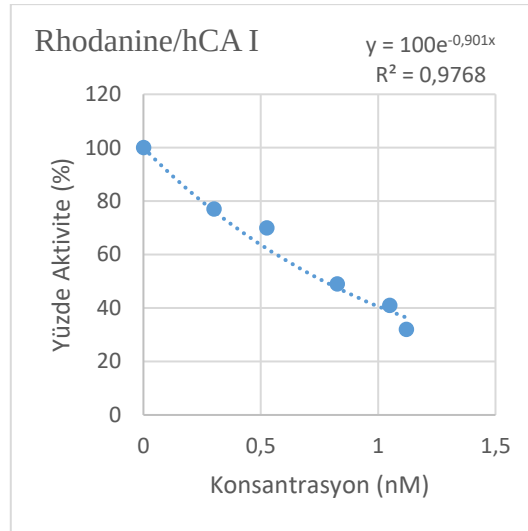
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 40 µL                                | 72       |
| 70 µL                                | 59       |
| 110 µL                               | 52       |
| 140 µL                               | 43       |
| 150 µL                               | 35       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 40 µL                                | 77       |
| 70 µL                                | 70       |
| 110 µL                               | 49       |
| 140 µL                               | 41       |
| 150 µL                               | 32       |



Şekil 4.66: hCA I inhibisyon eğrisi – Rhodanine (1.Tekrar)



Şekil 4.67: hCA I inhibisyon eğrisi – Rhodanine (2.Tekrar)



Şekil 4.68: hCA I inhibisyon eğrisi – Rhodanine (3.Tekrar)

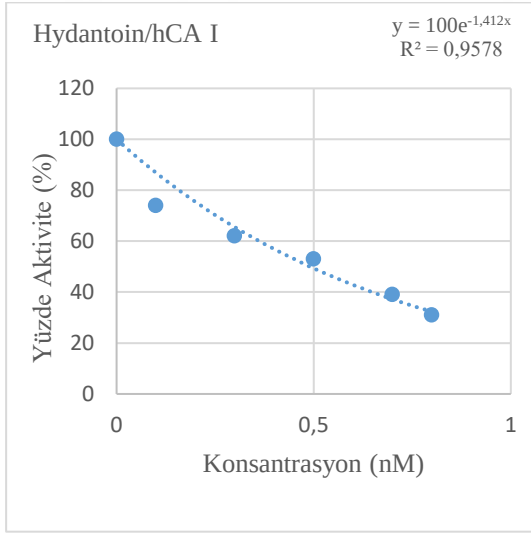
#### 4.4.3 Hydantoin bileşiğinin Karbonik Anhidraz I (hCA I) enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Hydantoin bileşiğinin hCA I enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 10 µL enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 olarak belirlenmiştir. Bileşik deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş hâlde uygulanmış olup hesaplamalarda Hydantoin'in 100.08 g/mol moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli biçimde azaldığı gözlenmiştir. İlk tekrarda aktivite 10 µL'de iken, 80 µL'de 31'e kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da benzer bir azalma eğilimi göstermiş ve ölçülen değerler birbirine oldukça yakın çıkmıştır (Tablo 4.27). Bu sonuçlara ait inhibisyon eğrileri Şekil 4.70, Şekil 4.71 ve Şekil 4.72'de sunulmuştur. Grafikler, Hydantoin'in hCA I üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir inhibitör etki oluşturduğunu göstermektedir.

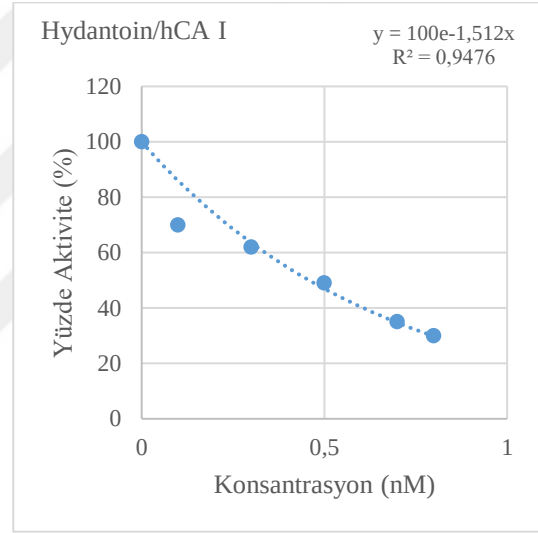
Tablo 4.27: Hydantoin bileşiğinin hCA I enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 10 µL                                | 74       |
| 30 µL                                | 62       |
| 50 µL                                | 53       |
| 70 µL                                | 39       |
| 80 µL                                | 31       |

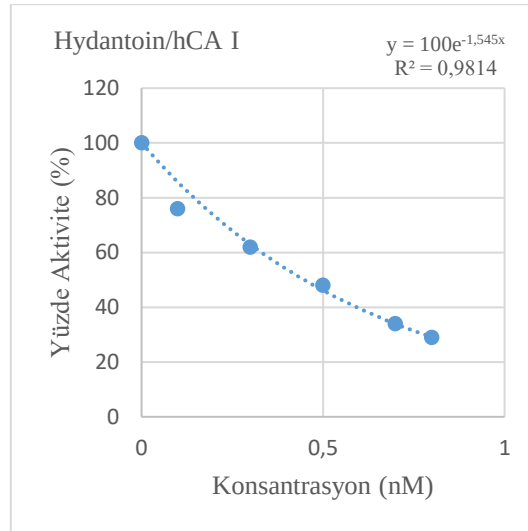
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 10 µL                                | 70       |
| 30 µL                                | 62       |
| 50 µL                                | 49       |
| 70 µL                                | 35       |
| 80 µL                                | 30       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 10 µL                                | 76       |
| 30 µL                                | 62       |
| 50 µL                                | 48       |
| 70 µL                                | 34       |
| 80 µL                                | 29       |



Şekil 4.69: hCA I inhibisyon eğrisi – Hydantoin (1.Tekrar)



Şekil 4.70: hCA I inhibisyon eğrisi – Hydantoin (2.Tekrar)



Şekil 4.71: hCA I inhibisyon eğrisi – Hydantoin (3.Tekrar)

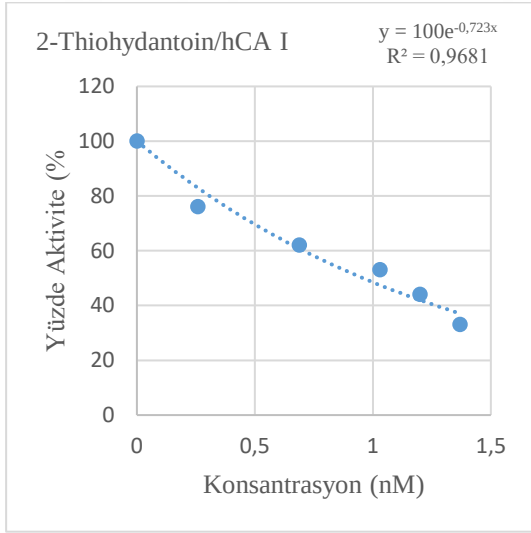
#### 4.4.4 2-Thiohydantoin bileşiğinin Karbonik Anhidraz I (hCA I) enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

2-Thiohydantoin bileşiğinin hCA I enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon ortamına 10 µL enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 olarak belirlenmiştir. Bileşik deney süresince çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş hâlde uygulanmış olup hesaplamalarda 2-Thiohydantoin'in 116.14 g/mol moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli biçimde azaldığı gözlenmiştir. İlk tekrarda aktivite 30 µL'de 76 iken, en yüksek hacim olan 160 µL'de 33'e kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da benzer bir azalma eğilimi göstermiş ve ölçülen değerler birbirine oldukça yakın çıkmıştır (Tablo 4.28). Bu sonuçlara karşılık gelen inhibisyon eğrileri Şekil 4.73, Şekil 4.74 ve Şekil 4.75'de sunulmuştur. Grafikler, 2-Thiohydantoin'in hCA I üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir inhibitör etki oluşturduğunu göstermektedir.

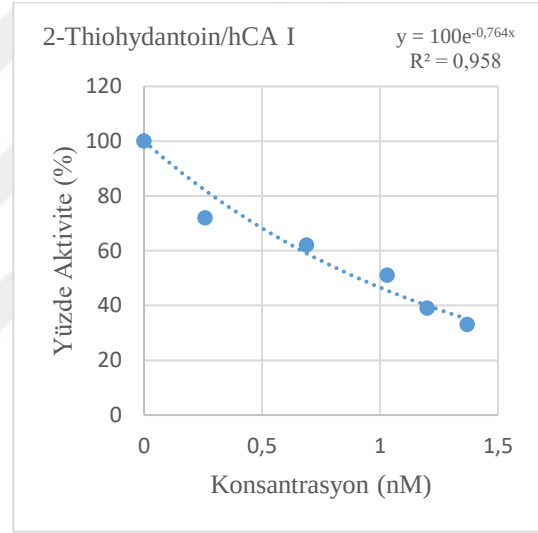
Tablo 4.28: 2-Thiohydantoin bileşiğinin hCA I enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 30 µL                                | 76       |
| 80 µL                                | 62       |
| 120 µL                               | 53       |
| 140 µL                               | 44       |
| 160 µL                               | 33       |

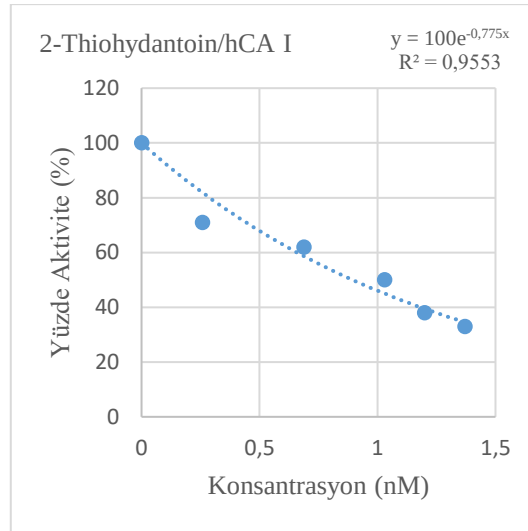
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 30 µL                                | 72       |
| 80 µL                                | 62       |
| 120 µL                               | 51       |
| 140 µL                               | 39       |
| 160 µL                               | 33       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 30 µL                                | 71       |
| 80 µL                                | 62       |
| 120 µL                               | 50       |
| 140 µL                               | 38       |
| 160 µL                               | 33       |



Şekil 4.72: hCA I inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (1.Tekrar)



Şekil 4.73: hCA I inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (2.Tekrar)



Şekil 4.74: hCA I inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (3.Tekrar)

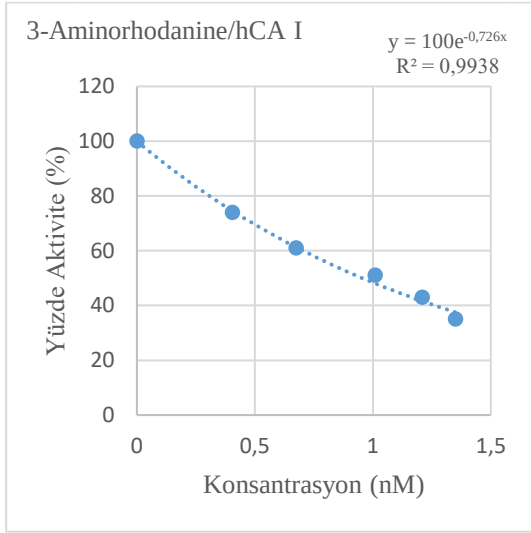
#### 4.4.5 3-Aminorhodanine bileşiğinin Karbonik Anhidraz I (hCA I) enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

3-Aminorhodanine bileşiğinin hCA I enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 10 µL enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 olarak belirlenmiştir. Bileşik deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş hâlde kullanılmış, hesaplamalarda 3-Aminorhodanine'in 148.20 g/mol moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli biçimde azaldığı gözlenmiştir. İlk tekrarda aktivite 60 µL'de 74 iken, en yüksek hacim olan 200 µL'de 35'e kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da benzer bir azalma eğilimi göstermiş ve ölçülen değerler birbirine oldukça yakın çıkmıştır (Tablo 4.29). Bu verilere ait inhibisyon eğrileri Şekil 4.76, Şekil 4.77 ve Şekil 4.78'de sunulmuştur. Grafikler, 3-Aminorhodanine'in hCA I üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir inhibitör etki oluşturduğunu göstermektedir.

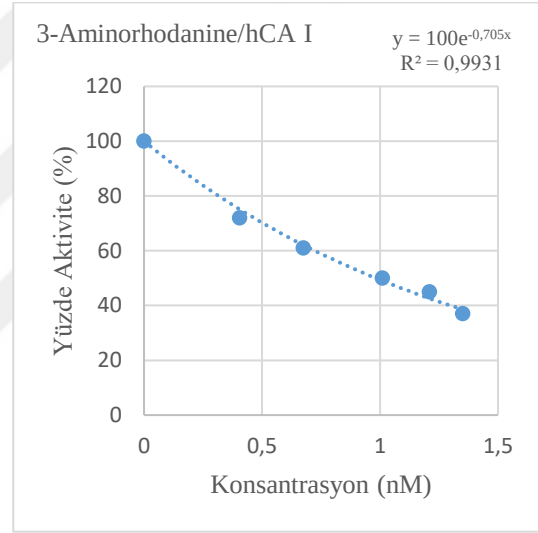
Tablo 4.29: 3-Aminorhodanine bileşiğinin hCA I enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 60 µL                                | 74       |
| 100 µL                               | 61       |
| 150 µL                               | 51       |
| 180 µL                               | 43       |
| 200 µL                               | 35       |

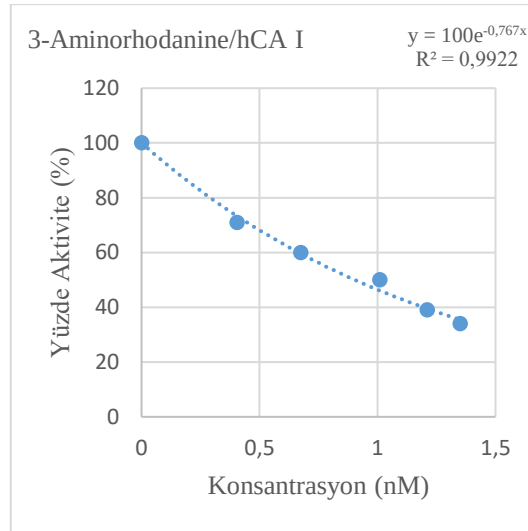
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 60 µL                                | 72       |
| 100 µL                               | 61       |
| 150 µL                               | 50       |
| 180 µL                               | 45       |
| 200 µL                               | 37       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 60 µL                                | 71       |
| 100 µL                               | 60       |
| 150 µL                               | 50       |
| 180 µL                               | 39       |
| 200 µL                               | 34       |



Şekil 4.75: hCA I inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (1.Tekrar)



Şekil 4.76: hCA I inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (2.Tekrar)



Şekil 4.77: hCA I inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (3.Tekrar)

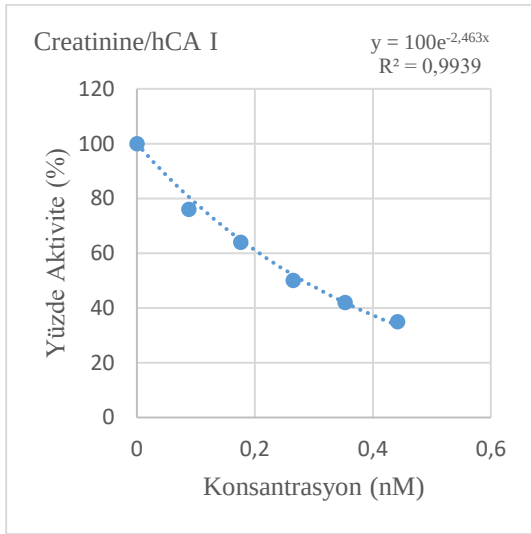
#### 4.4.6 Creatinine bileşiğinin Karbonik Anhidraz I (hCA I) enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Creatinine bileşiğinin hCA I enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımında 10 µL enzim kullanılmış ve kontrol aktivitesi 100 olarak belirlenmiştir. Bileşik deney süresince çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş hâlde uygulanmış, hesaplamalarda Creatinine'in 113.12 g/mol moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesi düzenli olarak azalmıştır. İlk tekrarda aktivite 10 µL'de 76 iken, 50 µL'de 35'e kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da benzer değerler vermiş ve aynı azalma eğilimini sürdürmüştür (Tablo 4.30). Bu sonuçlara karşılık gelen inhibisyon eğrileri Şekil 4.79, Şekil 4.80 ve Şekil 4.81'de sunulmuştur. Grafikler, Creatinine'in hCA I üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir inhibitör etki oluşturduğunu göstermektedir.

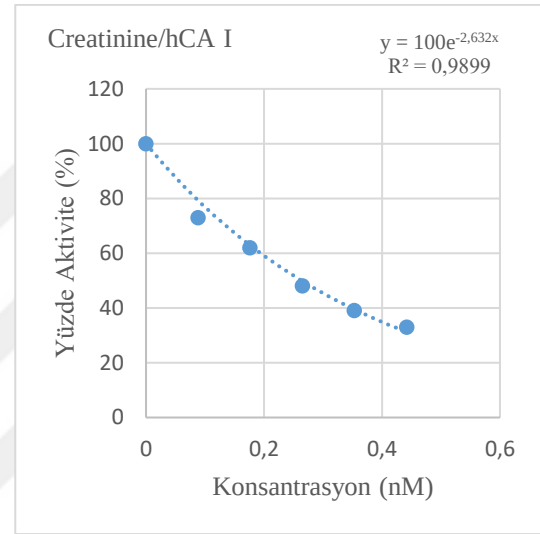
Tablo 4.30: Creatinine bileşiğinin hCA I enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 10 µL                                | 76       |
| 20 µL                                | 64       |
| 30 µL                                | 50       |
| 40 µL                                | 42       |
| 50 µL                                | 35       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 10 µL                                | 73       |

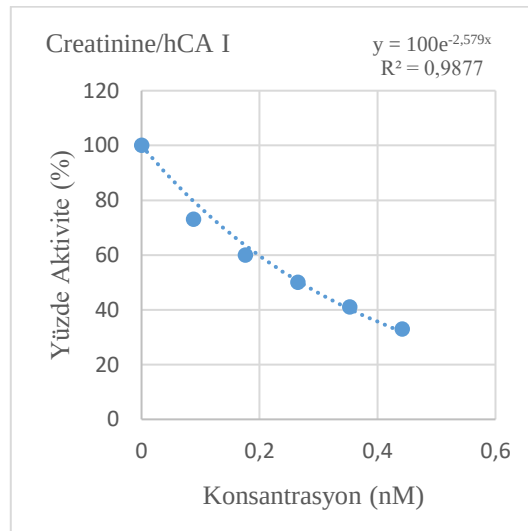
|                                      |          |
|--------------------------------------|----------|
| 20 µL                                | 62       |
| 30 µL                                | 48       |
| 40 µL                                | 39       |
| 50 µL                                | 33       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 10 µL                                | 73       |
| 20 µL                                | 60       |
| 30 µL                                | 50       |
| 40 µL                                | 41       |
| 50 µL                                | 33       |



Şekil 4.78: hCA I inhibisyon eğrisi – Creatinine (1.Tekrar)



Şekil 4.79: hCA I inhibisyon eğrisi – Creatinine (2.Tekrar)



Şekil 4.80: hCA I inhibisyon eğrisi – Creatinine (3.Tekrar)

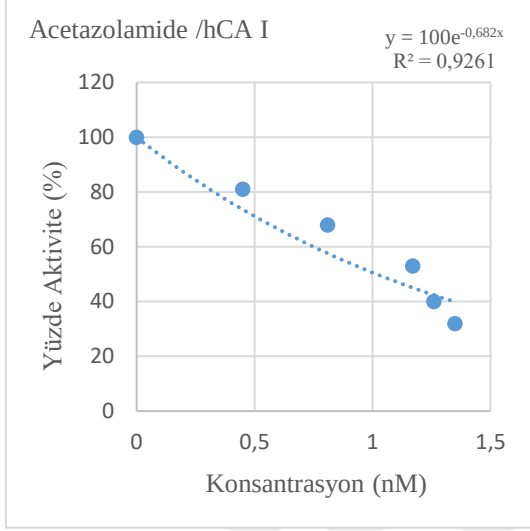
#### 4.4.7 Acetazolamide Creatinine bileşiğinin Karbonik Anhidraz I (hCA I) enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Acetazolamide bileşiğinin Karbonik Anhidraz I (hCA I) enzimi üzerindeki inhibitör etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 10 µL enzim eklenmiş ve kontrol grubunun enzim aktivitesi 100 olarak kabul edilmiştir. Deneyler boyunca Acetazolamide çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş formda kullanılmış olup, hesaplamalarda bileşiğin 222.25 g/mol olan moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar halinde elde edilen deneysel sonuçlar Tablo 4.31’de sunulmuştur. Tablo 4.31 incelendiğinde, inhibitör konsantrasyonunun artmasıyla birlikte hCA I enzim aktivitesinin düzenli ve konsantrasyona bağlı olarak azaldığı açıkça görülmektedir. İlk tekrarda enzim aktivitesinin 100 µL’de %81 olduğu, artan inhibitör miktarıyla birlikte 300 µL’de %32’ye kadar gerilediği belirlenmiştir. İkinci tekrarda (Şekil 4.82) benzer bir eğilim izlenmiş; aktivitenin 100 µL’de %81’den 300 µL’de %32’ye düştüğü gözlenmiştir. Üçüncü tekrarda ise (Şekil 4.83 ve Şekil 4.84) enzim aktivitesinin 100 µL’de %80 olduğu, inhibitör konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak 300 µL’de %31’e kadar azaldığı tespit edilmiştir. Üç tekrardan elde edilen sonuçların birbirine oldukça yakın olması, deneylerin tekrarlanabilir ve güvenilir olduğunu göstermektedir. Elde edilen veriler birlikte değerlendirildiğinde, Acetazolamide bileşiğinin hCA I enzimi üzerinde belirgin ve doz-bağımlı bir inhibitör etki gösterdiği açıkça ortaya konmuştur.

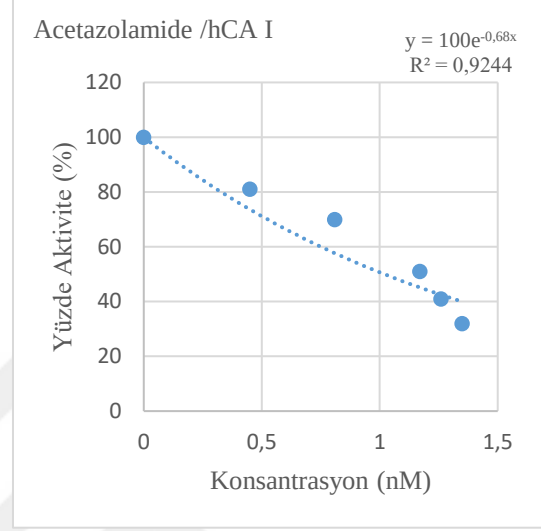
Tablo 4.31: Acetazolamide bileşiğinin hCA I enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

| Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|-----------------------------------|----------|
| 100 µL                            | 81       |
| 180 µL                            | 68       |
| 260 µL                            | 53       |
| 280 µL                            | 40       |
| 300 µL                            | 32       |
| Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 100 µL                            | 81       |
| 180 µL                            | 70       |
| 260 µL                            | 51       |
| 280 µL                            | 41       |
| 300 µL                            | 32       |
| Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |

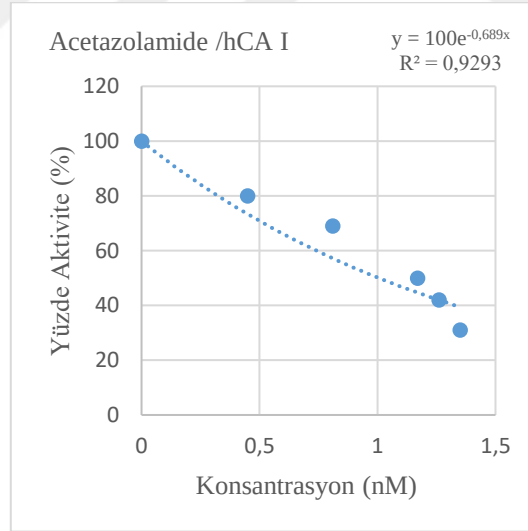
|               |           |
|---------------|-----------|
| <b>100 µL</b> | <b>80</b> |
| <b>180 µL</b> | <b>69</b> |
| <b>260 µL</b> | <b>50</b> |
| <b>280 µL</b> | <b>42</b> |
| <b>300 µL</b> | <b>31</b> |



Şekil 4.81: hCA I inhibisyon eğrisi – Acetazolamide (1.Tekrar)



Şekil 4.82: hCA I inhibisyon eğrisi – Acetazolamide (2.Tekrar)



Şekil 4.83: hCA I inhibisyon eğrisi – Acetazolamide (3.Tekrar)

CA I enzimi için yapılan  $IC_{50}$  değerlendirmesinde, Acetazolamide standart inhibitör olarak kullanılmıştır. Bileşiklere ait  $IC_{50}$  ve  $R^2$  değerleri Tablo 4.32’de verilmiştir. Standart inhibitörün  $IC_{50}$  değerinin  $1010 \pm 10$  nM olması, hCA I için etkili olmakla birlikte belirli bir konsantrasyon gerektiren bir profil ortaya koymaktadır. Tablo incelendiğinde, test edilen bileşiklerin çoğunun Acetazolamide’den daha düşük  $IC_{50}$  değerlerine sahip olduğu görülmektedir. Creatinine ( $271,1 \pm 10$  nM) ve Hydantoin ( $465,8 \pm 20$  nM) en düşük  $IC_{50}$  değerlerine sahip bileşikler olup, hCA I üzerinde en güçlü inhibitör etkiyi gösteren adaylardır. Thiazolidin-2,4-dione ( $539,7 \pm 2$  nM) de bu iki bileşiği takip ederek daha yüksek bir inhibisyon potansiyeli sergilemektedir. Rhodanine ( $782,3 \pm 10$  nM) ve 2-Thiohydantoin ( $919,9 \pm 30$  nM) değerleri standart inhibitörden daha düşük olup etkili inhibitörler arasında yer almaktadır, ancak güçleri önceki bileşiklere kıyasla daha orta düzeydedir. 3-Aminorhodanine ( $947 \pm 40$  nM) ise Acetazolamide’e oldukça yakın bir  $IC_{50}$  değeri vermiştir. Genel olarak Tablo 4.32, bileşiklerin büyük çoğunluğunun hCA I üzerinde Acetazolamide’den daha güçlü inhibitör etki gösterdiğini; özellikle Creatinine ve Hydantoin’in en yüksek potansiyele sahip bileşikler olduğunu ortaya koymaktadır.

Tablo 4.32: Bileşiklerin hCA I inhibisyonuna ait  $IC_{50}$  ve  $R^2$  değerleri

| Bileşikler/Enzimler          | hCA I             |        |
|------------------------------|-------------------|--------|
|                              | $IC_{50}$<br>(nM) | $R^2$  |
| <b>Thiazolidin-2,4-dione</b> | $539,7 \pm 2$     | 0,9894 |
| <b>Rhodanine</b>             | $782,3 \pm 10$    | 0,9821 |
| <b>Hydantoin</b>             | $465,8 \pm 20$    | 0,9623 |
| <b>2-Thiohydantoin</b>       | $919,9 \pm 30$    | 0,9605 |
| <b>3-Aminorhodanine</b>      | $947 \pm 40$      | 0,993  |
| <b>Creatinine</b>            | $271,1 \pm 10$    | 0,9905 |
| <b>Acetazolamide</b>         | $1010 \pm 10$     | 0,9266 |

#### 4.5 Karbonik anhidraz II enzim inhibisyon sonuçları

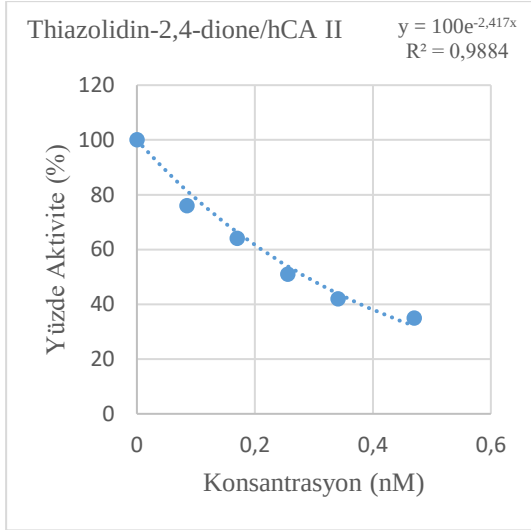
Bu bölümde, çalışmada incelenen bileşiklerin karbonik anhidraz II (hCA II) enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerine ait sonuçlar sunulmuş ve elde edilen bulgular standart inhibitör ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

#### 4.5.1 Thiazolidin-2,4-dione bileşiminin Karbonik Anhidraz II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

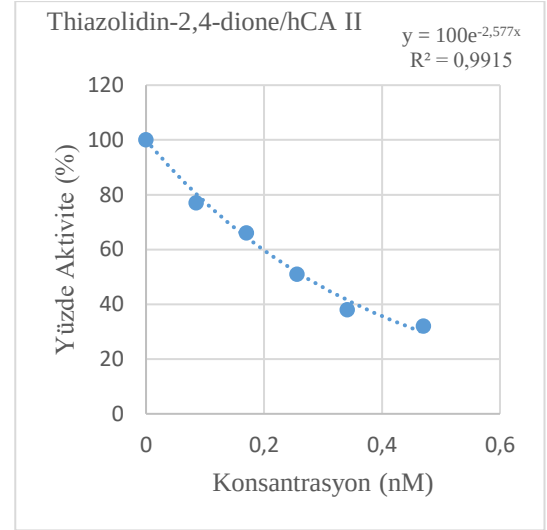
Thiazolidin-2,4-dione bileşiminin hCA II enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 5 µL enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 olarak belirlenmiştir. Bileşik deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş hâlde kullanılmış, hesaplamalarda Thiazolidin-2,4-dione'nin 117.12 g/mol moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli olarak azaldığı görülmüştür. İlk tekrarda aktivite 10 µL'de 76 iken, 55 µL'de 35'e kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da benzer değerler üretmiş ve aynı azalma eğilimini sürdürmüştür (Tablo 4.33). Bu verilere karşılık gelen inhibisyon eğrileri Şekil 4.85, Şekil 4.86 ve Şekil 4.87'de sunulmuştur. Grafikler, Thiazolidin-2,4-dione'nin hCA II üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir inhibitör etki oluşturduğunu göstermektedir.

Tablo 4.33: Thiazolidin-2,4-dione bileşiminin hCA II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

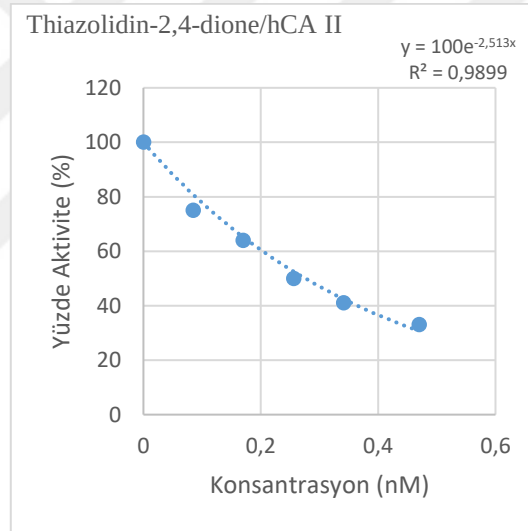
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 10 µL                                | 76       |
| 20 µL                                | 64       |
| 30 µL                                | 51       |
| 40 µL                                | 42       |
| 55 µL                                | 35       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 10 µL                                | 77       |
| 20 µL                                | 66       |
| 30 µL                                | 51       |
| 40 µL                                | 38       |
| 55 µL                                | 32       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 10 µL                                | 75       |
| 20 µL                                | 64       |
| 30 µL                                | 50       |
| 40 µL                                | 41       |
| 55 µL                                | 33       |



Şekil 4.84: hCA II inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (1.Tekrar)



Şekil 4.85: hCA II inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (2.Tekrar)



Şekil 4.86: hCA II inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (3.Tekrar)

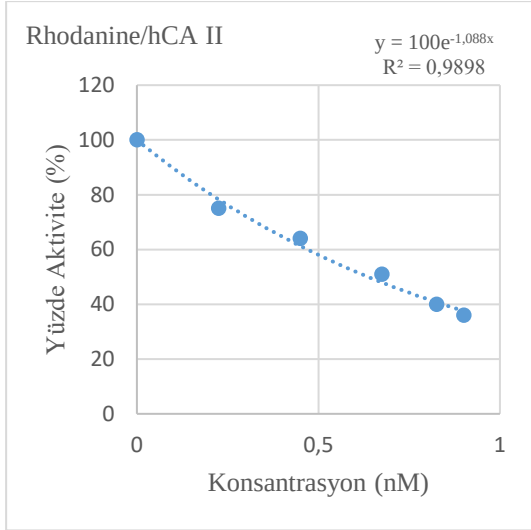
#### 4.5.2 Rhodanine bileşiğinin Karbonik Anhidraz II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Rhodanine bileşiğinin hCA II enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 5 µL enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 olarak belirlenmiştir. Bileşik deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş hâlde uygulanmış, hesaplamalarda Rhodanine'in 133.18 g/mol moleküler ağırlığı esas alınmıştır Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli olarak azaldığı

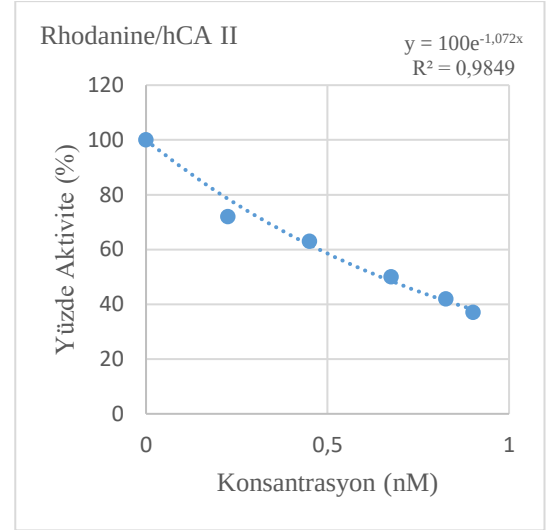
gözlenmiştir. İlk tekrarda aktivite 30  $\mu\text{L}$ 'de 75 iken, en yüksek hacim olan 120  $\mu\text{L}$ 'de 36'ya düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da benzer bir azalma eğilimi göstermiş ve ölçülen değerler birbirine oldukça yakın çıkmıştır (Tablo 4.34). Bu verilere ilişkin inhibisyon eğrileri Şekil 4.88, Şekil 4.89 ve Şekil 4.90'da sunulmuştur. Grafikler, Rhodanine'in hCA II üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir inhibitör etki oluşturduğunu göstermektedir.

Tablo 4.34: Rhodanine bileşiğinin hCA II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

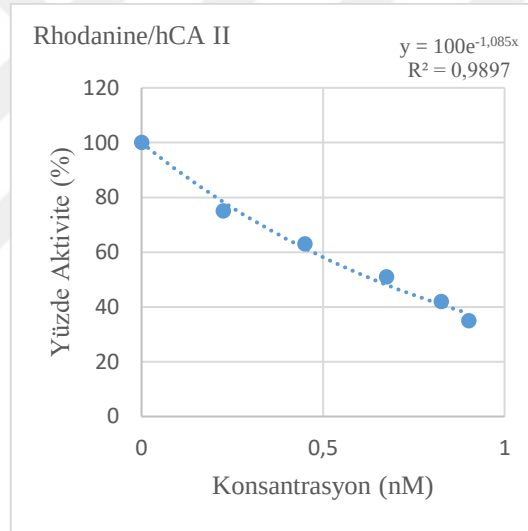
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 30 $\mu\text{L}$                     | 75       |
| 60 $\mu\text{L}$                     | 64       |
| 90 $\mu\text{L}$                     | 51       |
| 110 $\mu\text{L}$                    | 40       |
| 120 $\mu\text{L}$                    | 36       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 30 $\mu\text{L}$                     | 72       |
| 60 $\mu\text{L}$                     | 63       |
| 90 $\mu\text{L}$                     | 50       |
| 110 $\mu\text{L}$                    | 42       |
| 120 $\mu\text{L}$                    | 37       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 30 $\mu\text{L}$                     | 75       |
| 60 $\mu\text{L}$                     | 63       |
| 90 $\mu\text{L}$                     | 51       |
| 110 $\mu\text{L}$                    | 42       |
| 120 $\mu\text{L}$                    | 35       |



Şekil 4.87: hCA II inhibisyon eğrisi – Rhodanine (1.Tekrar)



Şekil 4.88: hCA II inhibisyon eğrisi – Rhodanine (2.Tekrar)



Şekil 4.89: hCA II inhibisyon eğrisi – Rhodanine (3.Tekrar)

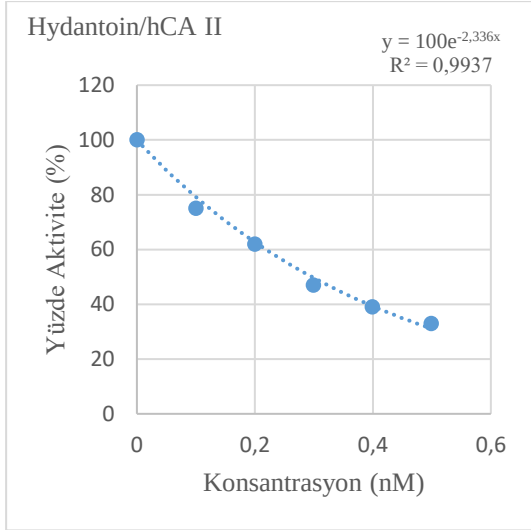
#### 4.5.3 Hydantoin bileşiğinin Karbonik Anhidraz II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Hydantoin bileşiğinin hCA II enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 5 µL enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 olarak belirlenmiştir. Bileşik tüm ölçümlerde çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş hâlde kullanılmış, hesaplamalarda Hydantoin'in 100,08 g/mol moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli olarak azaldığı

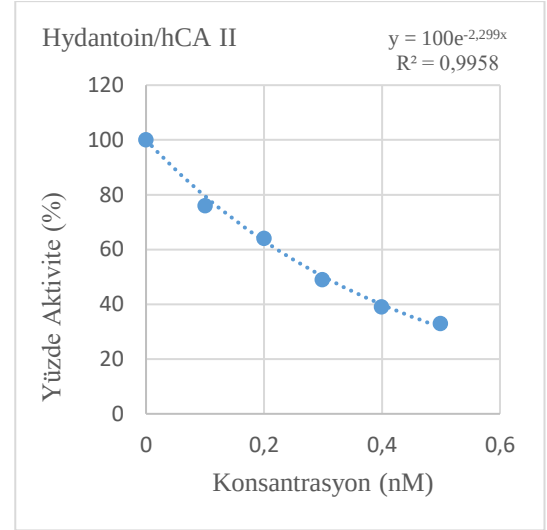
görülmüştür. İlk tekrarda aktivite 10  $\mu\text{L}$ 'de 75 iken, 50  $\mu\text{L}$ 'de 33'e kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da aynı eğilimi göstermiş ve ölçülen değerler birbirine oldukça yakın çıkmıştır (Tablo 4.35). Bu verilere karşılık gelen inhibisyon eğrileri Şekil 4.91, Şekil 4.92 ve Şekil 4.93'de sunulmuştur. Grafikler, Hydantoin'in hCA II üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir inhibitör etki oluşturduğunu göstermektedir.

Tablo 4.35: Hydantoin bileşiğinin hCA II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

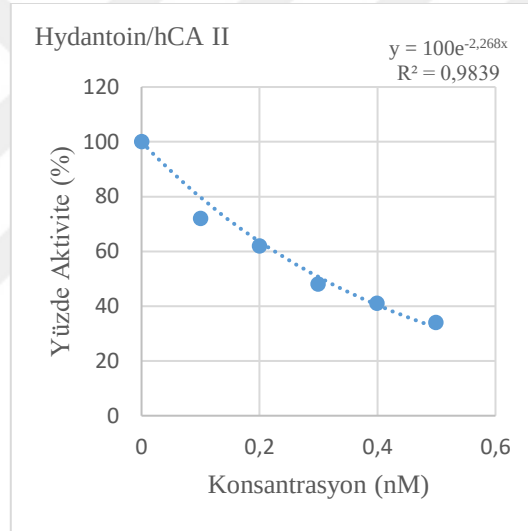
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 10 $\mu\text{L}$                     | 75       |
| 20 $\mu\text{L}$                     | 62       |
| 30 $\mu\text{L}$                     | 47       |
| 40 $\mu\text{L}$                     | 39       |
| 50 $\mu\text{L}$                     | 33       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 10 $\mu\text{L}$                     | 76       |
| 20 $\mu\text{L}$                     | 64       |
| 30 $\mu\text{L}$                     | 49       |
| 40 $\mu\text{L}$                     | 39       |
| 50 $\mu\text{L}$                     | 33       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 10 $\mu\text{L}$                     | 72       |
| 20 $\mu\text{L}$                     | 62       |
| 30 $\mu\text{L}$                     | 48       |
| 40 $\mu\text{L}$                     | 41       |
| 50 $\mu\text{L}$                     | 34       |



Şekil 4.90: hCA II inhibisyon eğrisi – Hydantoin (1.Tekrar)



Şekil 4.91: hCA II inhibisyon eğrisi – Hydantoin (2.Tekrar)



Şekil 4.92: hCA II inhibisyon eğrisi – Hydantoin (3.Tekrar)

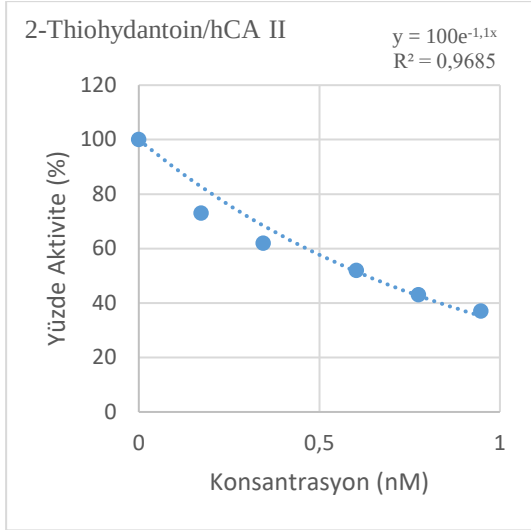
#### 4.5.4 2-Thiohydantoin bileşiğinin Karbonik Anhidraz II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

2-Thiohydantoin bileşiğinin hCA II enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon ortamına 5 µL enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 olarak belirlenmiştir. Bileşik deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş hâlde uygulanmış, hesaplamalarda 2-Thiohydantoin'in 116.14 g/mol moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli olarak azaldığı görülmüştür. İlk tekrarda aktivite 20 µL'de 73 iken, en yüksek hacim olan

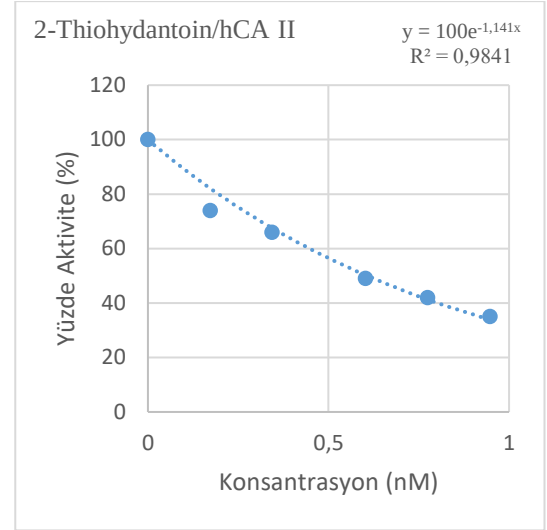
110  $\mu\text{L}$ 'de 37'ye düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da benzer bir azalma eğilimi göstermiş ve ölçülen değerler birbirine oldukça yakın çıkmıştır (Tablo 4.36). Bu verilere karşılık gelen inhibisyon eğrileri Şekil 4.94, Şekil 4.95 ve Şekil 4.96'da sunulmuştur. Grafikler, 2-Thiohydantoin'in hCA II üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir inhibitör etki oluşturduğunu göstermektedir.

Tablo 4.36: 2-Thiohydantoin bileşiğinin hCA II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

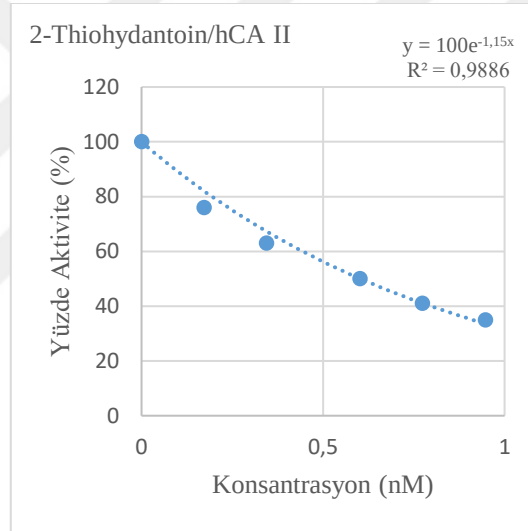
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 20 $\mu\text{L}$                     | 73       |
| 40 $\mu\text{L}$                     | 62       |
| 70 $\mu\text{L}$                     | 52       |
| 90 $\mu\text{L}$                     | 43       |
| 110 $\mu\text{L}$                    | 37       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 20 $\mu\text{L}$                     | 74       |
| 40 $\mu\text{L}$                     | 66       |
| 70 $\mu\text{L}$                     | 49       |
| 90 $\mu\text{L}$                     | 42       |
| 110 $\mu\text{L}$                    | 35       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 20 $\mu\text{L}$                     | 76       |
| 40 $\mu\text{L}$                     | 63       |
| 70 $\mu\text{L}$                     | 50       |
| 90 $\mu\text{L}$                     | 41       |
| 110 $\mu\text{L}$                    | 35       |



Şekil 4.93: hCA II inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (1.Tekrar)



Şekil 4.94: hCA II inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (2.Tekrar)



Şekil 4.95: hCA II inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (3.Tekrar)

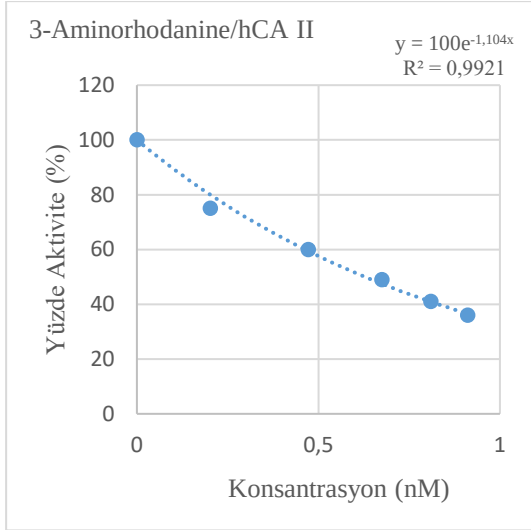
#### 4.5.5 3-Aminorhodanine bileşiğinin Karbonik Anhidraz II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

3-Aminorhodanine bileşiğinin hCA II enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 5 µL enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 olarak belirlenmiştir. Bileşik deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş hâlde kullanılmış, hesaplamalarda 3-Aminorhodanine'in 148.20 g/mol moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli olarak azaldığı görülmüştür. İlk tekrarda aktivite 30 µL'de 75 iken, en yüksek hacim olan

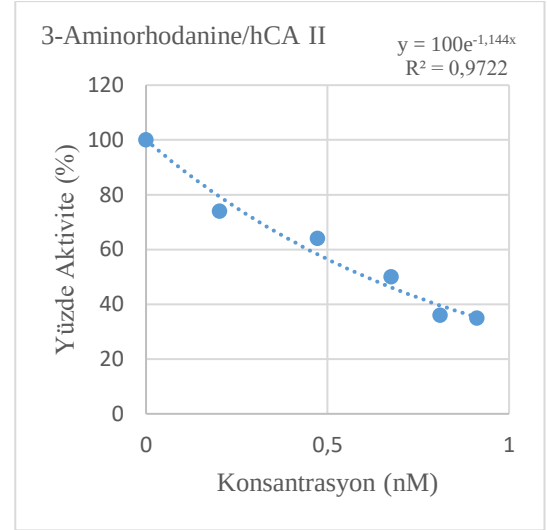
135  $\mu\text{L}$ 'de 36'ya kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da benzer azalma eğilimleri göstermiş ve elde edilen değerler birbirine oldukça yakın çıkmıştır (Tablo 4.37). Bu verilere karşılık gelen inhibisyon eğrileri Şekil 4.97, Şekil 4.98 ve Şekil 4.99'da sunulmuştur. Grafikler, 3-Aminorhodanine'in hCA II üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir inhibitör etki oluşturduğunu göstermektedir.

Tablo 4.37: 3-Aminorhodanine bileşiğinin hCA II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

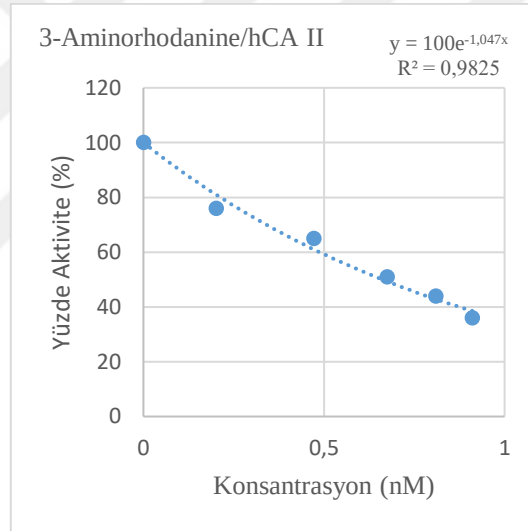
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 30 $\mu\text{L}$                     | 75       |
| 70 $\mu\text{L}$                     | 60       |
| 100 $\mu\text{L}$                    | 49       |
| 120 $\mu\text{L}$                    | 41       |
| 135 $\mu\text{L}$                    | 36       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 30 $\mu\text{L}$                     | 74       |
| 70 $\mu\text{L}$                     | 64       |
| 100 $\mu\text{L}$                    | 50       |
| 120 $\mu\text{L}$                    | 35       |
| 135 $\mu\text{L}$                    | 36       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 30 $\mu\text{L}$                     | 76       |
| 70 $\mu\text{L}$                     | 65       |
| 100 $\mu\text{L}$                    | 51       |
| 120 $\mu\text{L}$                    | 44       |
| 135 $\mu\text{L}$                    | 36       |



Şekil 4.96: hCA II inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (1.Tekrar)



Şekil 4.97: hCA II inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (2.Tekrar)



Şekil 4.98: hCA II inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (3.Tekrar)

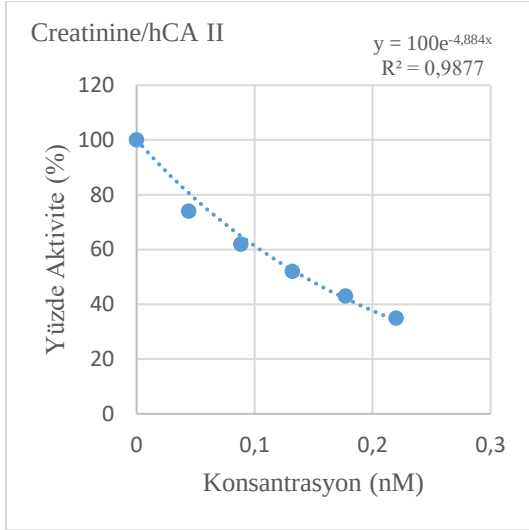
#### 4.5.6 Creatinine bileşiğinin Karbonik Anhidraz II (hCA II) enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Creatinine bileşiğinin hCA II enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 5 µL enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 olarak belirlenmiştir. Bileşik deney süresince çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş hâlde kullanılmış, hesaplamalarda Creatinine'in 113.12 g/mol moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör hacmi arttıkça enzim aktivitesinin düzenli olarak azaldığı görülmüştür. İlk

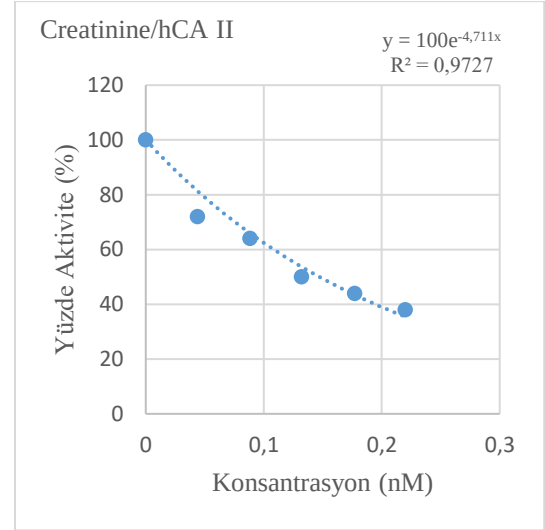
tekrarda aktivite 5  $\mu\text{L}$ 'de 74 iken 25  $\mu\text{L}$ 'de 35'e kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da aynı trendi göstermiş ve ölçülen değerler birbirine oldukça yakın çıkmıştır (Tablo 4.38). Bu verilere karşılık gelen inhibisyon eğrileri Şekil 4.100, Şekil 4.101 ve Şekil 4.102'de sunulmuştur. Grafikler, Creatinine'in hCA II üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir inhibitör etki oluşturduğunu göstermektedir.

Tablo 4.38: Creatinine bileşiğinin hCA II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

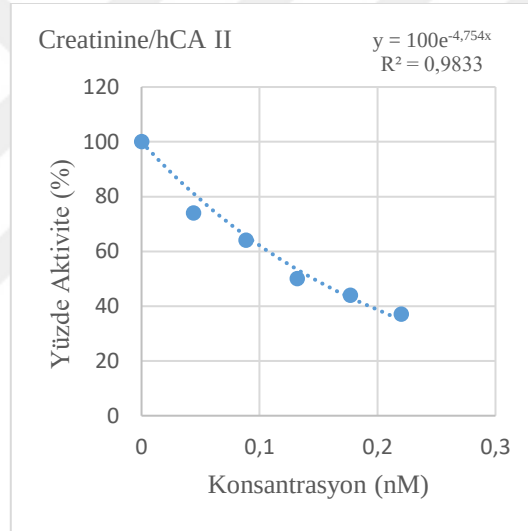
| 1.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|-------------------------------------|----------|
| 5 $\mu\text{L}$                     | 74       |
| 10 $\mu\text{L}$                    | 62       |
| 16 $\mu\text{L}$                    | 52       |
| 20 $\mu\text{L}$                    | 43       |
| 25 $\mu\text{L}$                    | 35       |
| 2.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 5 $\mu\text{L}$                     | 72       |
| 10 $\mu\text{L}$                    | 64       |
| 16 $\mu\text{L}$                    | 50       |
| 20 $\mu\text{L}$                    | 44       |
| 25 $\mu\text{L}$                    | 38       |
| 3.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 5 $\mu\text{L}$                     | 74       |
| 10 $\mu\text{L}$                    | 64       |
| 16 $\mu\text{L}$                    | 50       |
| 20 $\mu\text{L}$                    | 44       |
| 25 $\mu\text{L}$                    | 37       |



Şekil 4.99: hCA II inhibisyon eğrisi – Creatinine (1.Tekrar)



Şekil 4.100: hCA II inhibisyon eğrisi – Creatinine (2.Tekrar)



Şekil 4.101: hCA II inhibisyon eğrisi – Creatinine (3.Tekrar)

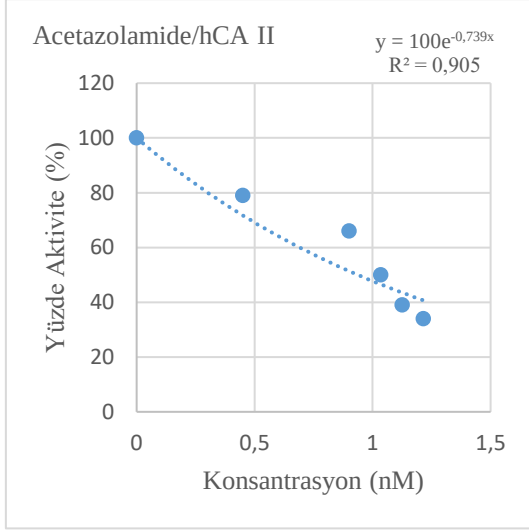
#### 4.5.7 Acetazolamide bileşiğinin Karbonik Anhidraz II (hCA II) enzimi üzerine etkisinin incelenmesi (Standart inhibitör)

Acetazolamide bileşiğinin hCA II enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 10 µL enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 olarak belirlenmiştir. Bileşik deney boyunca çözücüsünde 1000 kat seyreltilmiş hâlde uygulanmış, hesaplamalarda Acetazolamide'in 222.25 g/mol moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli bir şekilde azaldığı görülmüştür. İlk tekrarda aktivite 100 µL'de 79 iken, 270 µL'de 35'e

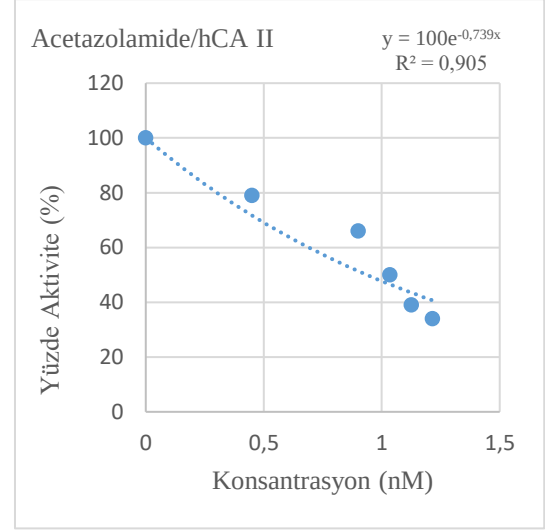
kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da benzer bir azalma eğilimi göstermiş ve ölçülen değerler birbirine oldukça yakın çıkmıştır (Tablo 4.39). Bu verilere karşılık gelen inhibisyon eğrileri Şekil 4.103, Şekil 4.104 ve Şekil 4.105’de sunulmuştur. Grafikler, Acetazolamide’in hCA II üzerinde konsantrasyona bağlı güçlü ve kararlı bir inhibitör etki oluşturduğunu göstermektedir.

Tablo 4.39: Acetazolamide bileşiğinin hCA II enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

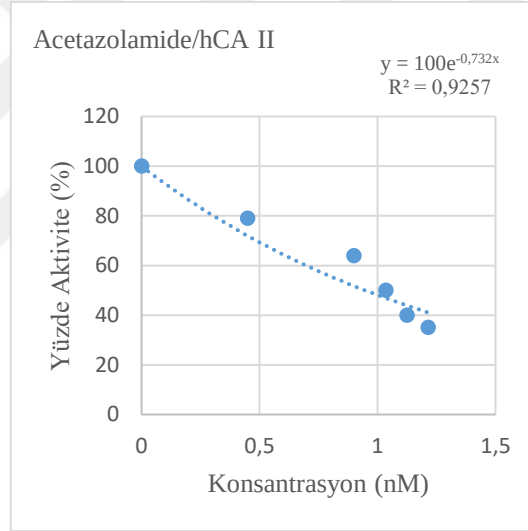
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 100 µL                               | 79       |
| 200 µL                               | 64       |
| 230 µL                               | 50       |
| 250 µL                               | 40       |
| 270 µL                               | 35       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 100 µL                               | 79       |
| 200 µL                               | 66       |
| 230 µL                               | 50       |
| 250 µL                               | 39       |
| 270 µL                               | 34       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 100 µL                               | 79       |
| 200 µL                               | 64       |
| 230 µL                               | 49       |
| 250 µL                               | 40       |
| 270 µL                               | 36       |



Şekil 4.102: hCA II inhibisyon eğrisi – Acetazolamide (1.Tekrar)



Şekil 4.103: hCA II inhibisyon eğrisi – Acetazolamide (2.Tekrar)



Şekil 4.104: hCA II inhibisyon eğrisi – Acetazolamide (3.Tekrar)

hCA II enzimi için hesaplanan  $IC_{50}$  ve  $R^2$  değerleri Tablo 4.38’de sunulmuştur. Bu değerlendirmede Acetazolamide standart inhibitör olarak kullanılmış ve  $IC_{50}$  değerinin 945 nM olması, diğer bileşiklerin karşılaştırılması için temel referans noktası oluşturmıştır. Tablo incelendiğinde, test edilen bileşiklerin büyük çoğunluğunun Acetazolamide’den daha düşük  $IC_{50}$  değerleri sergilediği görülmektedir. Özellikle Creatinine (144.9 nM) en düşük  $IC_{50}$  değerine sahip bileşik olup, hCA II inhibisyonunda en yüksek etkiyi göstermiştir. Bunun ardından Thiazolidin-2,4-dione (277.1 nM) ve Hydantoin (301.2 nM) gelmekte olup, her iki bileşik de standart inhibitörden belirgin şekilde daha güçlü bir inhibitör etki sunmaktadır. 2-

Thiohydantoin (613.3 nM), 3-Aminorhodanine (631.7 nM) ve Rhodanine (640.7 nM) değerleri ise Acetazolamide'den daha düşük olmakla birlikte önceki bileşiklere kıyasla orta düzeyde bir inhibisyon potansiyeli ortaya koymaktadır. Tüm bileşikler için  $R^2$  değerlerinin 0.98'e yakın olması, doz-yanıt eğrilerinin güvenilir ve tekrarların tutarlı olduğunu göstermektedir. Genel olarak Tablo 4.40, bileşiklerin çoğunun hCA II üzerinde Acetazolamide'den daha güçlü inhibitör özellik sergilediğini; özellikle Creatinine, Thiazolidin-2,4-dione ve Hydantoinin en yüksek potansiyele sahip adaylar olduğunu ortaya koymaktadır.

Tablo 4.40: Bileşiklerin hCA II inhibisyonuna ait  $IC_{50}$  ve  $R^2$  değerleri

| Bileşikler/Enzimler          | hCA II         |        |
|------------------------------|----------------|--------|
|                              | $IC_{50}$ (nM) | $R^2$  |
| <b>Thiazolidin-2,4-dione</b> | 277,1 $\pm$ 10 | 0,9899 |
| <b>Rhodanine</b>             | 640,7 $\pm$ 5  | 0,9881 |
| <b>Hydantoin</b>             | 301,2 $\pm$ 4  | 0,9911 |
| <b>2-Thiohydantoin</b>       | 613,3 $\pm$ 10 | 0,9804 |
| <b>3-Aminorhodanine</b>      | 631,7 $\pm$ 30 | 0,9823 |
| <b>Creatinine</b>            | 144,9 $\pm$ 3  | 0,9812 |
| <b>Acetazolamide</b>         | 945 $\pm$ 6,6  | 0,9204 |

#### 4.6 Kollajenaz enzimi inhibisyon sonuçları

Bu bölümde, test edilen bileşiklerin kollajenaz enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerine ait sonuçlar sunulmuş ve elde edilen bulgular standart inhibitör ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

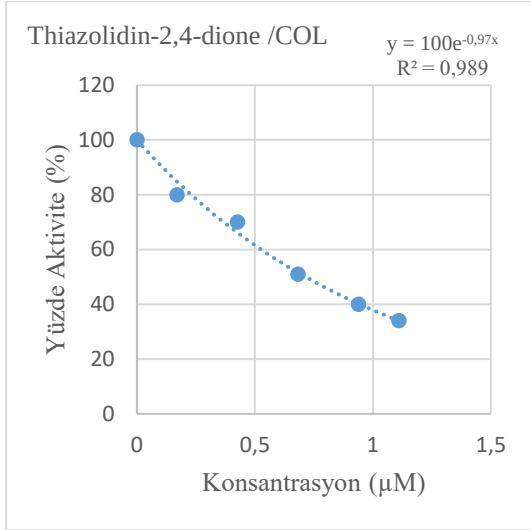
##### 4.6.1 Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin Kollajenaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin kollajenaz enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 50  $\mu$ L enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 olarak belirlenmiştir. Bileşik deney boyunca çözücüsünde 100 kat seyreltilmiş hâlde uygulanmış, hesaplamalarda Thiazolidin-2,4-dione'nin 117.12 g/mol moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör hacmi arttıkça enzim aktivitesinin düzenli bir şekilde azaldığı görülmüştür. İlk tekrarda aktivite 2  $\mu$ L'de 80 iken,

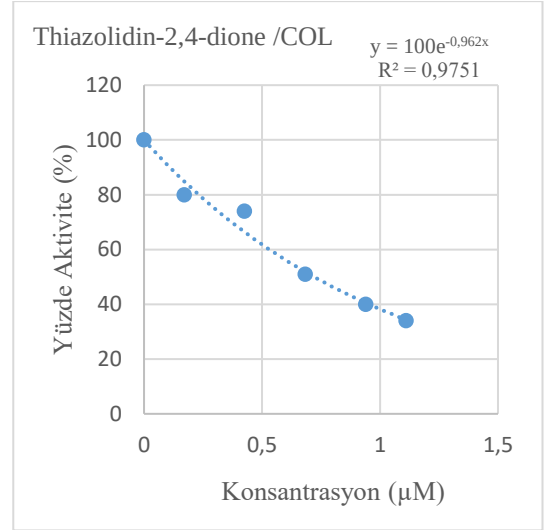
13 µL’de 34’e kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da benzer bir azalma eğilimi göstermiş ve ölçülen değerler birbirine oldukça yakın çıkmıştır (Tablo 4.41). Bu verilere karşılık gelen inhibisyon eğrileri Şekil 4.106, Şekil 4.107 ve Şekil 4.108’de sunulmuştur. Grafikler, Thiazolidin-2,4-dione’nin kollajenaz üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir inhibitör etki oluşturduğunu göstermektedir.

Tablo 4.41: Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin COL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

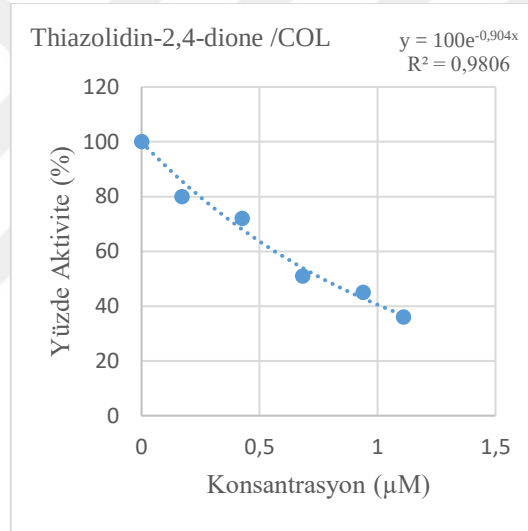
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 2 µL                                 | 80       |
| 5 µL                                 | 70       |
| 8 µL                                 | 51       |
| 11 µL                                | 40       |
| 13 µL                                | 34       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 2 µL                                 | 80       |
| 5 µL                                 | 74       |
| 8 µL                                 | 51       |
| 11 µL                                | 39       |
| 13 µL                                | 35       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 2 µL                                 | 80       |
| 5 µL                                 | 72       |
| 8 µL                                 | 51       |
| 11 µL                                | 41       |
| 13 µL                                | 35       |



Şekil 4.105: COL inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (1.Tekrar)



Şekil 4.106: COL inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (2.Tekrar)



Şekil 4.107: COL inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (3.Tekrar)

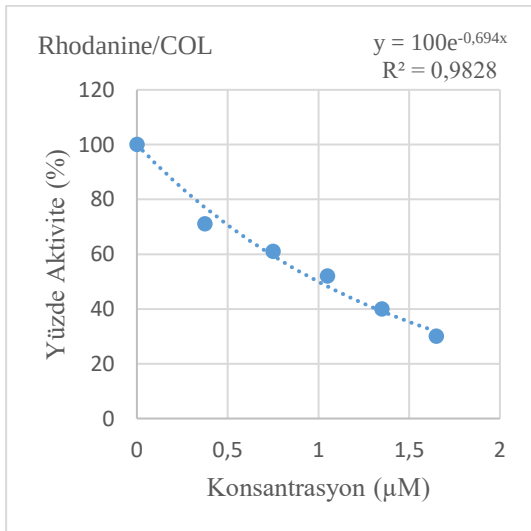
#### 4.6.2 Rhodanine bileşiğinin Kollajenaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Rhodanine bileşiğinin kollajenaz enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 50 µL enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 olarak belirlenmiştir. Bileşik deney süresince çözücüsünde 100 kat seyreltilmiş hâlde uygulanmış, hesaplamalarda Rhodanine'in 133.18 g/mol moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör hacmi arttıkça enzim aktivitesinin düzenli olarak azaldığı görülmüştür. İlk tekrarda aktivite 5 µL'de 71 iken, 22 µL'de 30'a kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da benzer bir eğilim sergilemiş ve ölçülen değerler birbirine oldukça

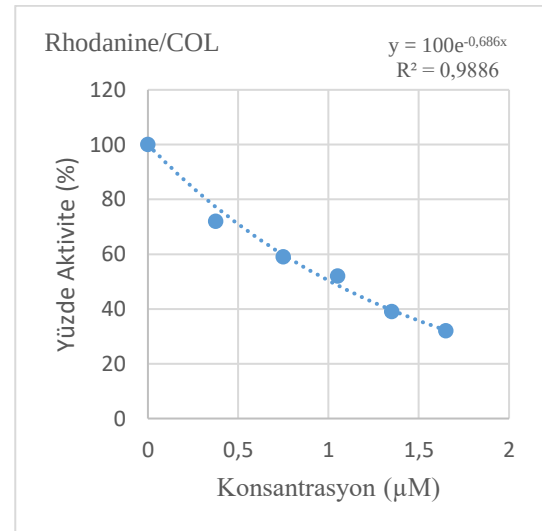
yakın çıkmıştır (Tablo 4.42). Bu sonuçlara ilişkin inhibisyon eğrileri Şekil 4.109, Şekil 4.110 ve Şekil 4.111’de sunulmuştur. Grafikler, Rhodanine’in kollajenaz üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir inhibitör etki oluşturduğunu göstermektedir.

Tablo 4.42: Rhodanine bileşiğinin COL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

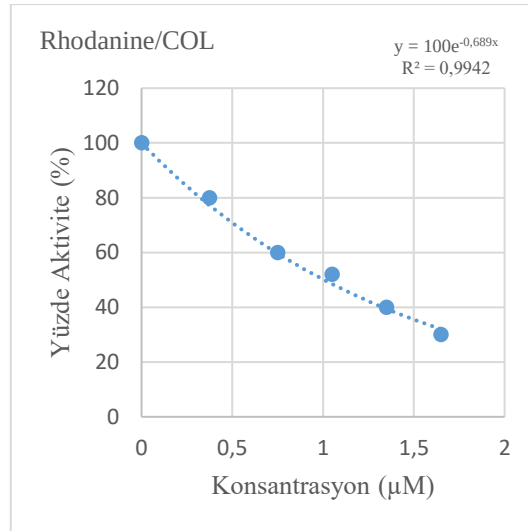
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 5 µL                                 | 71       |
| 10 µL                                | 61       |
| 14 µL                                | 52       |
| 18 µL                                | 40       |
| 22 µL                                | 30       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 5 µL                                 | 72       |
| 10 µL                                | 59       |
| 14 µL                                | 52       |
| 18 µL                                | 39       |
| 22 µL                                | 32       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 5 µL                                 | 80       |
| 10 µL                                | 60       |
| 14 µL                                | 52       |
| 18 µL                                | 40       |
| 22 µL                                | 30       |



Şekil 4.108: COL inhibisyon eğrisi – Rhodanine (1.Tekrar)



Şekil 4.109: COL inhibisyon eğrisi – Rhodanine (2.Tekrar)



Şekil 4.110: COL inhibisyon eğrisi – Rhodanine (3.Tekrar)

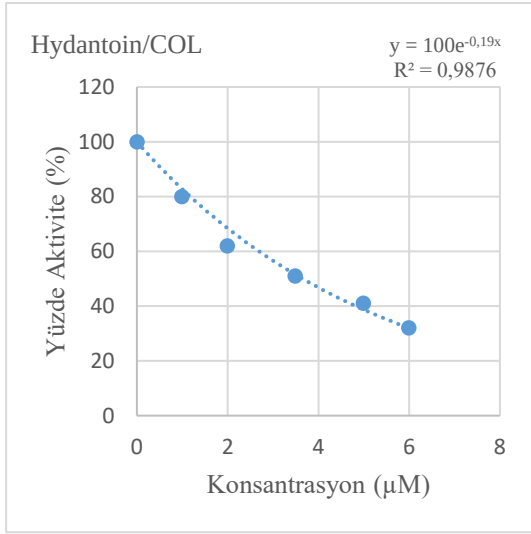
#### 4.6.3 Hydantoin bileşiğinin kollajenaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Hydantoin bileşiğinin kollajenaz enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 50 µL enzim eklenmiş ve kontrol aktivitesi 100 olarak belirlenmiştir. Bileşik deney süresince çözücüsünde 100 kat seyreltilmiş hâlde uygulanmış, hesaplamalarda Hydantoin'in 100.08 g/mol moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca inhibitör hacmi arttıkça enzim aktivitesinin düzenli olarak azaldığı görülmüştür. İlk tekrarda aktivite 10 µL'de 80 iken, 60 µL'de 32'ye kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da benzer azalma eğilimi göstermiş ve ölçülen değerler birbirine oldukça yakın çıkmıştır (Tablo 4.43). Bu sonuçlara karşılık gelen inhibisyon eğrileri Şekil 4.112, Şekil 4.113 ve Şekil 4.114'de sunulmuştur. Grafikler, Hydantoin'in kollajenaz üzerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir inhibitör etki oluşturduğunu göstermektedir.

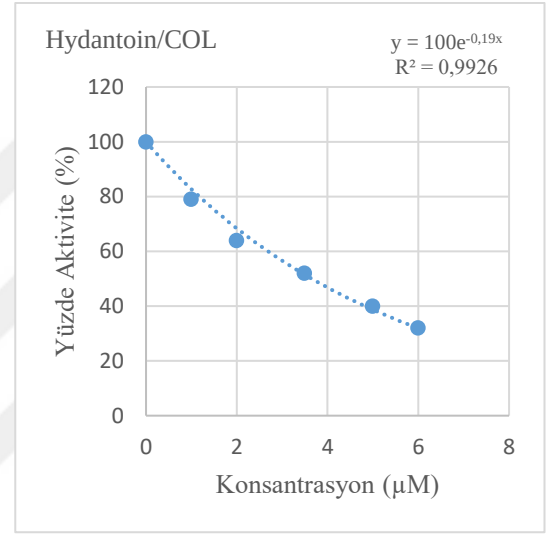
Tablo 4.43: Hydantoin bileşiğinin COL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 10 µL                                | 80       |
| 20 µL                                | 62       |
| 35 µL                                | 51       |
| 50 µL                                | 41       |
| 60 µL                                | 32       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 10 µL                                | 79       |

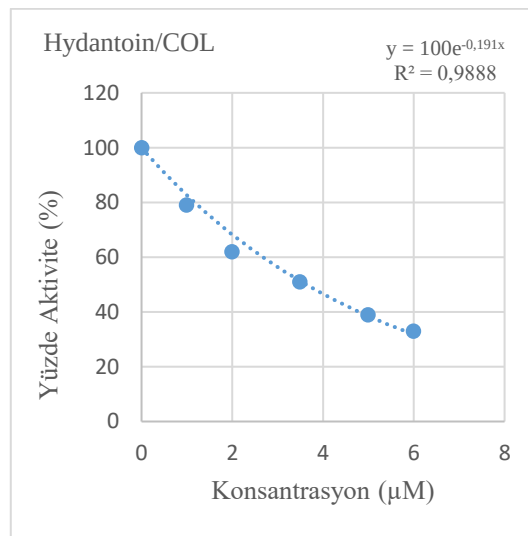
|                                      |          |
|--------------------------------------|----------|
| 20 µL                                | 64       |
| 35 µL                                | 52       |
| 50 µL                                | 40       |
| 60 µL                                | 32       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 10 µL                                | 79       |
| 20 µL                                | 62       |
| 35 µL                                | 51       |
| 50 µL                                | 39       |
| 60 µL                                | 33       |



Şekil 4.111: COL inhibisyon eğrisi – Hydantoin (1.Tekrar)



Şekil 4.112: COL inhibisyon eğrisi – Hydantoin (2.Tekrar)



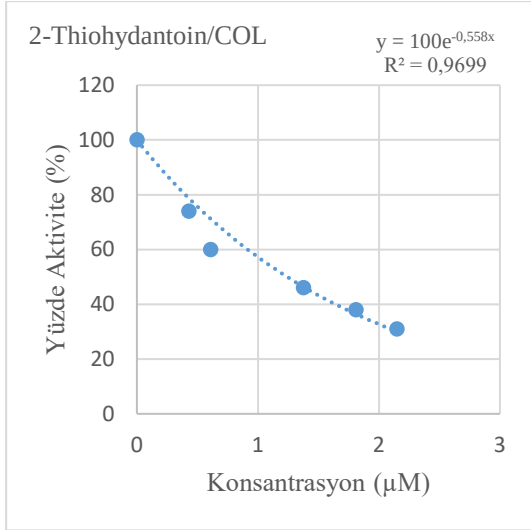
Şekil 4.113: COL inhibisyon eğrisi – Hydantoin (3.Tekrar)

#### 4.6.4 2-Thiohydantoin bileşiğinin kollajenaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

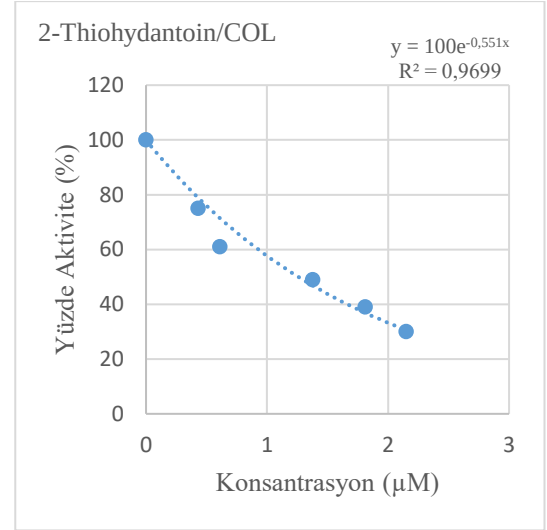
2-Thiohydantoin bileşiğinin kollajenaz enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan deneylerde reaksiyon karışımına 50 µL enzim eklenmiş, kontrol aktivitesi 100 olarak belirlenmiştir. Bileşik deney süresince çözücüsünde 100 kat seyreltilmiş hâlde uygulanmış olup hesaplamalarda 116.14 g/mol olan moleküler ağırlığı temel alınmıştır. Üç tekrar boyunca elde edilen sonuçlar, inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli biçimde azaldığını göstermektedir. İlk tekrarda aktivite 5 µL’de 74 iken 25 µL’de 31’e kadar gerilemiştir. İkinci ve üçüncü tekrarlar da benzer bir düşüş profili sunmuş ve aktivitenin 5 µL’de 75 düzeyinden başlayarak 25 µL’de 30 seviyesine indiği görülmüştür. Tüm tekrarların birbirine oldukça yakın değerler üretmesi, 2-Thiohydantoin’in kollajenaz üzerinde doz artışıyla uyumlu, düzenli ve kararlı bir inhibitör etki oluşturduğunu ortaya koymaktadır (Tablo 4.44). Bu bulgulara karşılık gelen inhibisyon eğrileri Şekil 4.115, Şekil 4.116 ve Şekil 4.117’de verilmiştir. Grafikler, 2-Thiohydantoin’in kollajenaz enzimi üzerinde belirgin bir inhibisyon sağladığını göstermektedir.

Tablo 4.44: 2-Thiohydantoin bileşiğinin COL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

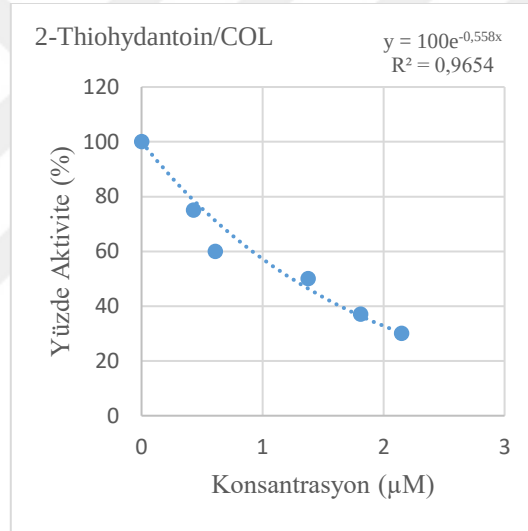
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 5 µL                                 | 74       |
| 10 µL                                | 60       |
| 16 µL                                | 46       |
| 21 µL                                | 38       |
| 25 µL                                | 31       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 5 µL                                 | 75       |
| 10 µL                                | 61       |
| 16 µL                                | 49       |
| 21 µL                                | 39       |
| 25 µL                                | 30       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 5 µL                                 | 75       |
| 10 µL                                | 60       |
| 16 µL                                | 50       |
| 21 µL                                | 37       |
| 25 µL                                | 30       |



Şekil 4.114: COL inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (1.Tekrar)



Şekil 4.115: COL inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (2.Tekrar)



Şekil 4.116: COL inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (3.Tekrar)

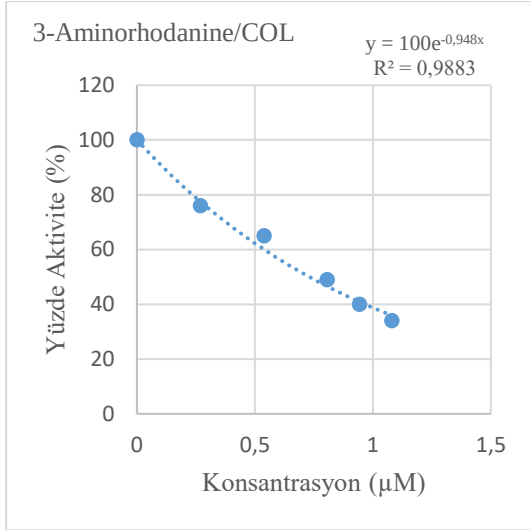
#### 4.6.5 3-Aminorhodanine bileşiğinin kollajenaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

3-Aminorhodanine bileşiğinin kollajenaz enzimi üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan deneylerde reaksiyon karışımına 50 μL enzim eklenmiş, kontrol aktivitesi 100 olarak belirlenmiş ve bileşik çözücüsünde 100 kat seyreltilmiş şekilde uygulanmıştır. Hesaplamalarda bileşiğin 148.20 g/mol olan moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca elde edilen veriler, inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli biçimde azaldığını göstermektedir. İlk tekrarda aktivite 4 μL’de 76 iken 16 μL’de 34’e kadar gerilemiştir. İkinci ve üçüncü tekrarlar da benzer bir eğilim sergilemiş;

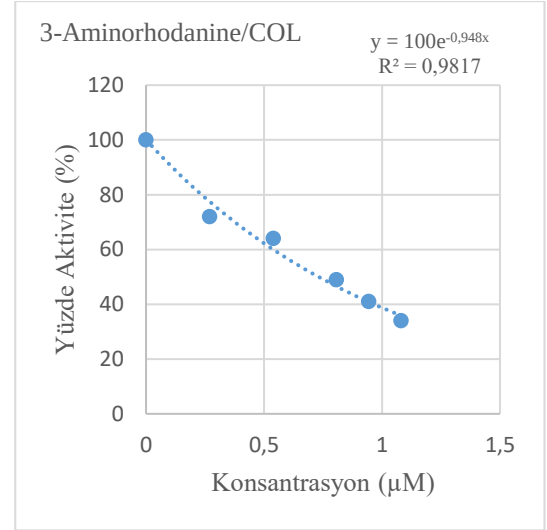
her iki tekrarda da aktivitenin düşük konsantrasyonlarda daha yüksek seyredip 16  $\mu$ L’de 34–35 düzeyine indiği görülmüştür. Bu uyumlu sonuçlar, 3-Aminorhodanine’in kollajenaz enzimi üzerinde doz artışıyla paralel, düzenli ve kararlı bir inhibisyon etkisi oluşturduğunu ortaya koymaktadır (Tablo 4.45). Bu sonuçlara ait inhibisyon eğrileri Şekil 4.118, Şekil 4.119 ve Şekil 4.120’de verilmiştir. Grafikler, 3-Aminorhodanine’in kollajenaz üzerinde belirgin bir inhibisyon sağladığını göstermektedir.

Tablo 4.45: 3-Aminorhodanine bileşiğinin COL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

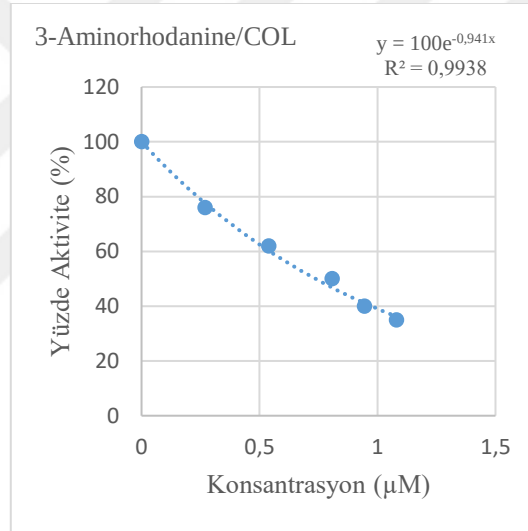
| <b>1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu</b> | <b>Aktivite</b> |
|---------------------------------------------|-----------------|
| <b>4 <math>\mu</math>L</b>                  | <b>76</b>       |
| <b>8 <math>\mu</math>L</b>                  | <b>65</b>       |
| <b>12 <math>\mu</math>L</b>                 | <b>49</b>       |
| <b>14 <math>\mu</math>L</b>                 | <b>40</b>       |
| <b>16 <math>\mu</math>L</b>                 | <b>34</b>       |
| <b>2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu</b> | <b>Aktivite</b> |
| <b>4 <math>\mu</math>L</b>                  | <b>72</b>       |
| <b>8 <math>\mu</math>L</b>                  | <b>64</b>       |
| <b>12 <math>\mu</math>L</b>                 | <b>49</b>       |
| <b>14 <math>\mu</math>L</b>                 | <b>41</b>       |
| <b>16 <math>\mu</math>L</b>                 | <b>34</b>       |
| <b>3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu</b> | <b>Aktivite</b> |
| <b>4 <math>\mu</math>L</b>                  | <b>76</b>       |
| <b>8 <math>\mu</math>L</b>                  | <b>62</b>       |
| <b>12 <math>\mu</math>L</b>                 | <b>50</b>       |
| <b>14 <math>\mu</math>L</b>                 | <b>40</b>       |
| <b>16 <math>\mu</math>L</b>                 | <b>35</b>       |



Şekil 4.117: COL inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (1.Tekrar)



Şekil 4.118: COL inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (2.Tekrar)



Şekil 4.119: COL inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (3.Tekrar)

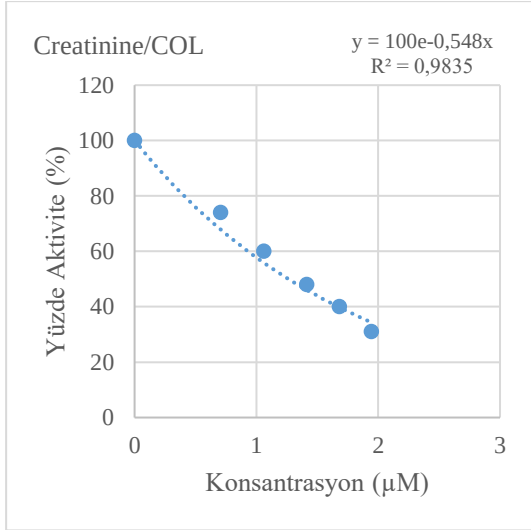
#### 4.6.6 Creatinine bileşiğinin kollajenaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Creatinine bileşiğinin kollajenaz enzimi üzerindeki inhibitör etkisini incelemek amacıyla yapılan çalışmada reaksiyon karışımına 50 µL enzim eklenmiş, kontrol aktivitesi 100 olarak belirlenmiş ve bileşik çözücüsünde 100 kat seyreltilmiş şekilde uygulanmıştır. Hesaplamalarda Creatinine'in 113.12 g/mol olan moleküler ağırlığı esas alınmıştır. Üç tekrar boyunca elde edilen sonuçlar, inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli biçimde azaldığını göstermektedir. İlk tekrarda aktivite 8 µL'de 74 iken 22 µL'de 31'e kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da benzer bir eğilim sergilemiş; her iki tekrarda da

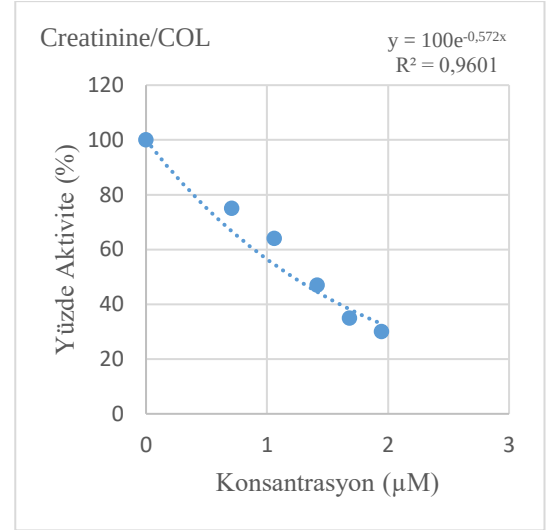
başlangıç değerlerinin yüksek olduğu, konsantrasyon arttıkça aktivitenin 30 düzeyine kadar gerilediği görülmüştür. Bu uyumlu sonuçlar, Creatinine'in kollajenaz enzimi üzerinde doz artışına duyarlı, düzenli ve kararlı bir inhibisyon oluşturduğunu ortaya koymaktadır (Tablo 4.46). Bu sonuçlara ilişkin inhibisyon eğrileri Şekil 4.121, Şekil 4.122 ve Şekil 4.123'de sunulmuş olup, Creatinine'in kollajenaz üzerindeki belirgin inhibitör etkisini açık şekilde göstermektedir.

Tablo 4.46: Creatinine bileşiğinin COL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

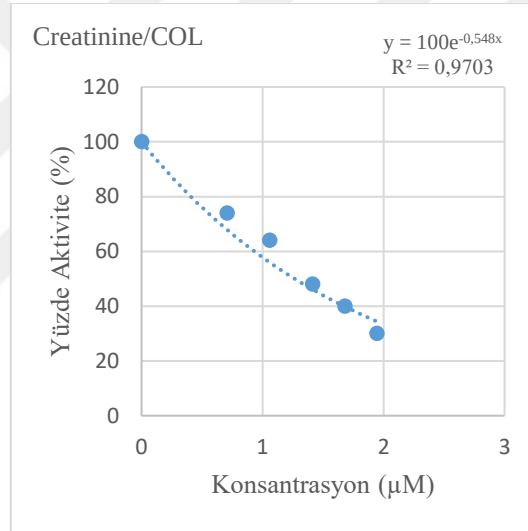
| <b>1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu</b> | <b>Aktivite</b> |
|---------------------------------------------|-----------------|
| <b>8 µL</b>                                 | <b>74</b>       |
| <b>12 µL</b>                                | <b>60</b>       |
| <b>16 µL</b>                                | <b>48</b>       |
| <b>19 µL</b>                                | <b>40</b>       |
| <b>22 µL</b>                                | <b>31</b>       |
| <b>2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu</b> | <b>Aktivite</b> |
| <b>8 µL</b>                                 | <b>75</b>       |
| <b>12 µL</b>                                | <b>64</b>       |
| <b>16 µL</b>                                | <b>47</b>       |
| <b>19 µL</b>                                | <b>35</b>       |
| <b>22 µL</b>                                | <b>30</b>       |
| <b>3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu</b> | <b>Aktivite</b> |
| <b>8 µL</b>                                 | <b>74</b>       |
| <b>12 µL</b>                                | <b>64</b>       |
| <b>16 µL</b>                                | <b>48</b>       |
| <b>19 µL</b>                                | <b>40</b>       |
| <b>22 µL</b>                                | <b>30</b>       |



Şekil 4.120: COL inhibisyon eğrisi – Creatinine (1.Tekrar)



Şekil 4.121: COL inhibisyon eğrisi – Creatinine (2.Tekrar)



Şekil 4.122: COL inhibisyon eğrisi – Creatinine (3.Tekrar)

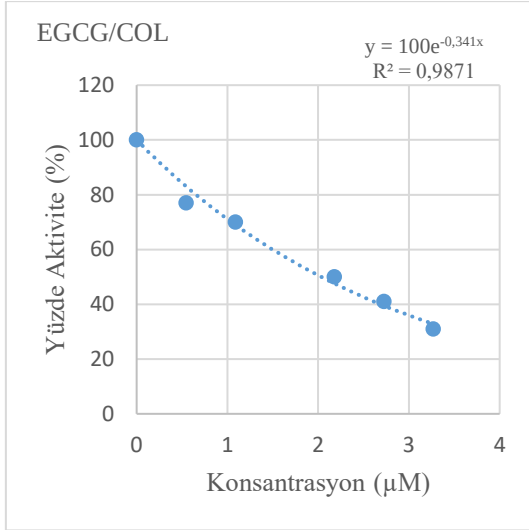
#### 4.6.7 Epigallocatechin gallate bileşiğinin kollajenaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi (Standart inhibitör)

Epigallocatechin gallate (EGCG), bu çalışmada kollajenaz enzimi için standart inhibitör olarak kullanılmıştır. Deneylerde reaksiyon karışımında 40 µL enzim bulunmakta olup kontrol aktivitesi 100 olarak kabul edilmiştir. Bileşik çözücüsünde 100 kat seyreltilmiş şekilde uygulanmıştır. Üç tekrar boyunca elde edilen veriler, inhibitör konsantrasyonu arttıkça kollajenaz aktivitesinin düzenli biçimde azaldığını göstermektedir. İlk tekrarda aktivite 25 µL’de 77 iken, 50 µL’de 70’e, 100 µL’de 50’ye düşmüş; daha yüksek inhibitör

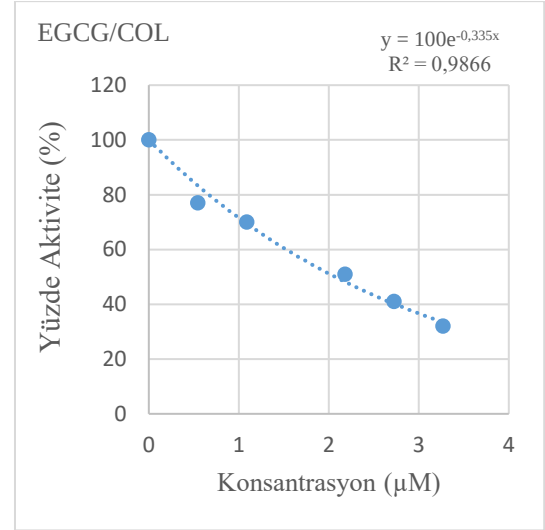
hacimlerinde 125  $\mu\text{L}$ 'de 41'e ve 150  $\mu\text{L}$ 'de 31'e kadar gerilemiştir. İkinci ve üçüncü tekrarlar da aynı eğilimi doğrulamış; her iki tekrarda da en yüksek konsantrasyonda aktivite yaklaşık 31–32 düzeyine kadar azalmıştır. Üç tekrarın birbirine oldukça yakın değerler vermesi, EGCG'nin kollajenaz enzimi için güvenilir bir standart inhibitör olduğunu ve artan konsantrasyonla birlikte enzim aktivitesini düzenli şekilde azalttığını ortaya koymaktadır (Tablo 4.47). Bu ilişki Şekil 4.124, Şekil 4.125 ve Şekil 4.136'da sunulan inhibisyon eğrilerinde de açıkça gösterilmektedir.

Tablo 4.47: EGCG bileşiğinin COL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

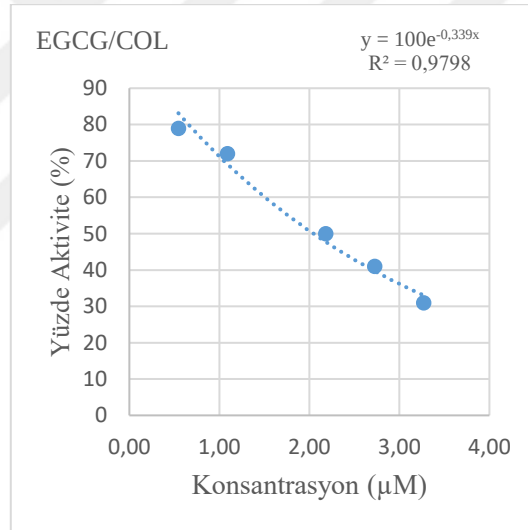
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 25 $\mu\text{L}$                     | 77       |
| 50 $\mu\text{L}$                     | 70       |
| 100 $\mu\text{L}$                    | 50       |
| 125 $\mu\text{L}$                    | 41       |
| 150 $\mu\text{L}$                    | 31       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 25 $\mu\text{L}$                     | 77       |
| 50 $\mu\text{L}$                     | 70       |
| 100 $\mu\text{L}$                    | 51       |
| 125 $\mu\text{L}$                    | 41       |
| 150 $\mu\text{L}$                    | 32       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 25 $\mu\text{L}$                     | 79       |
| 50 $\mu\text{L}$                     | 72       |
| 100 $\mu\text{L}$                    | 50       |
| 125 $\mu\text{L}$                    | 41       |
| 150 $\mu\text{L}$                    | 31       |



Şekil 4.123: COL inhibisyon eğrisi – EGCG (1.Tekrar)



Şekil 4.124: COL inhibisyon eğrisi – EGCG (2.Tekrar)



Şekil 4.125: COL inhibisyon eğrisi –EGCG (3.Tekrar)

Bu çalışmada elde edilen IC<sub>50</sub> değerleri, kollajenaz enzimi üzerinde test edilen bileşiklerin inhibitör güçlerini karşılaştırmalı olarak değerlendirmeye olanak sağlamaktadır. Tablo 4.48 incelendiğinde, standart inhibitör olarak kullanılan Epigallocatechin gallate'in (EGCG) IC<sub>50</sub> değerinin 2.05 µM olduğu görülmektedir. Tablodaki verilere göre Thiazolidin-2,4-dione (0.73 µM), 3-Aminorhodanine (0.73 µM), Rhodanine (1.00 µM), 2-Thiohydantoin (1.25 µM) ve Creatinine (1.25 µM) EGCG'den daha düşük IC<sub>50</sub> değerlerine sahiptir. Bu bulgu, söz konusu bileşiklerin kollajenazı EGCG'ye kıyasla daha düşük konsantrasyonlarda inhibe

edebildiğini ve dolayısıyla daha güçlü inhibitörler olduğunu göstermektedir. Buna karşılık Hydantoin'in  $IC_{50}$  değeri 3.64  $\mu M$  olup EGCG'nin üzerinde bir değerdir; bu da Hydantoin'in kollajenaz inhibisyonu açısından standart inhibitöre göre daha zayıf bir etki sergilediğini ortaya koymaktadır. Tüm bileşiklerde  $R^2$  değerlerinin 0.96–0.99 aralığında bulunması, elde edilen doz–yanıt eğrilerinin güvenilir ve tekrarlanabilir olduğunu göstermektedir. Genel olarak değerlendirildiğinde, çalışmada incelenen bileşiklerin büyük bölümünün kollajenaz üzerinde EGCG'den daha güçlü inhibitör etkiye sahip olduğu, özellikle Thiazolidin-2,4-dione ve 3-Aminorhodanine'in en yüksek potansiyeli ortaya koyduğu anlaşılmaktadır.

Tablo 4.48: Bileşiklerin COL inhibisyonuna ait  $IC_{50}$  ve  $R^2$  değerleri

| Bileşikler/Enzimler             | COL                   |        |
|---------------------------------|-----------------------|--------|
|                                 | $IC_{50}$ ( $\mu M$ ) | $R^2$  |
| <b>Thiazolidin-2,4-dione</b>    | 0,73±0,3              | 0,9816 |
| <b>Rhodanine</b>                | 1,00±0,009            | 0,984  |
| <b>Hydantoin</b>                | 3,64±0,01             | 0,9896 |
| <b>2-Thiohydantoin</b>          | 1,25±0,008            | 0,9684 |
| <b>3-Aminorhodanine</b>         | 0,73±0,003            | 0,9879 |
| <b>Creatinine</b>               | 1,25±0,03             | 0,9713 |
| <b>Epigallocatechin gallate</b> | 2,048±0,02            | 0,9845 |

#### 4.7 Elastaz enzimi inhibisyon sonuçları

Bu bölümde, çalışmada incelenen bileşiklerin elastaz enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerine ait sonuçlar sunulmuş ve elde edilen bulgular standart inhibitör ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

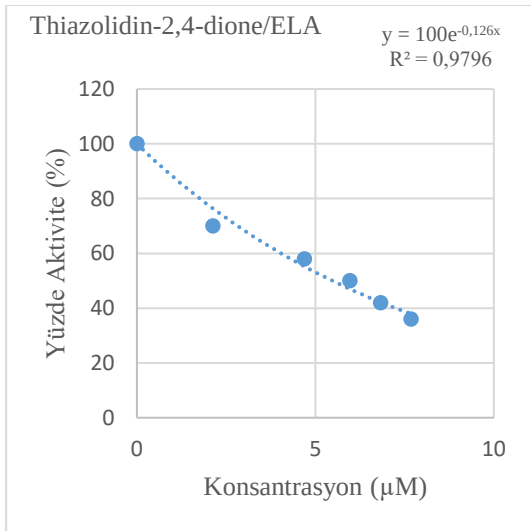
##### 4.7.1 Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin elastaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Bu çalışmada Thiazolidin-2,4-dione'nin elastaz üzerindeki etkisi incelenmiştir. Deneylerde 40  $\mu L$  enzim kullanılmış, kontrol aktivitesi 100 olarak alınmış ve bileşik çözücüsünde 100 kat seyreltilerek uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.49'da gösterilmekte olup, inhibitör miktarı arttıkça elastaz aktivitesinin düzenli bir şekilde azaldığı görülmektedir. İlk tekrarda aktivite 25  $\mu L$ 'de 70'e, 55  $\mu L$ 'de 58'e, 70  $\mu L$ 'de 50'ye gerilemiş; en yüksek konsantrasyon olan 90  $\mu L$ 'de aktivite 36'ya düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da aynı eğilimi göstermiştir. Bu düşüşü ortaya koyan inhibisyon eğrileri Şekil 4.127–4.129'da yer

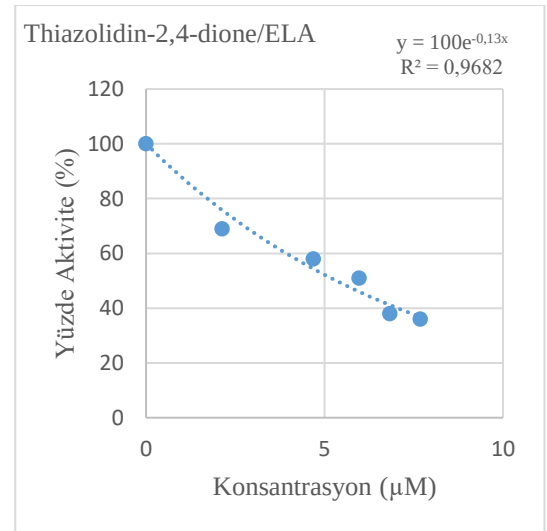
almaktadır. Üç tekrarın birbiriyle uyumlu olması, Thiazolidin-2,4-dione'nin elastaz üzerinde konsantrasyona bağlı bir inhibisyon oluşturduğunu açıkça göstermektedir.

Tablo 4.49: Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin ELA enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

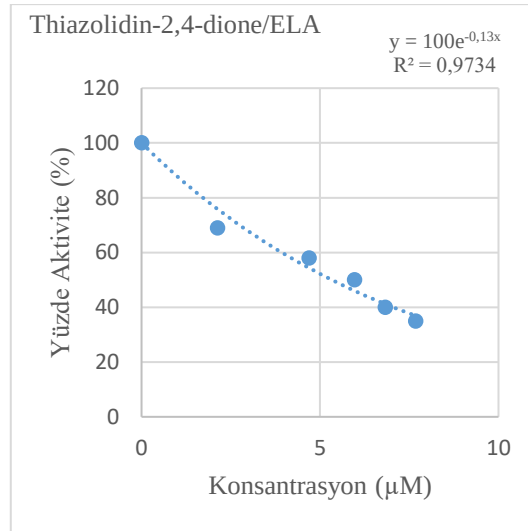
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 25 µL                                | 70       |
| 55 µL                                | 58       |
| 70 µL                                | 50       |
| 80 µL                                | 42       |
| 90 µL                                | 36       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 25 µL                                | 69       |
| 55 µL                                | 58       |
| 70 µL                                | 51       |
| 80 µL                                | 38       |
| 90 µL                                | 36       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 25 µL                                | 69       |
| 55 µL                                | 58       |
| 70 µL                                | 50       |
| 80 µL                                | 40       |
| 90 µL                                | 35       |



Şekil 4.126: ELA inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dion (1.Tekrar)



Şekil 4.127: ELA inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dion (2.Tekrar)



Şekil 4.128: ELA inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dion (3.Tekrar)

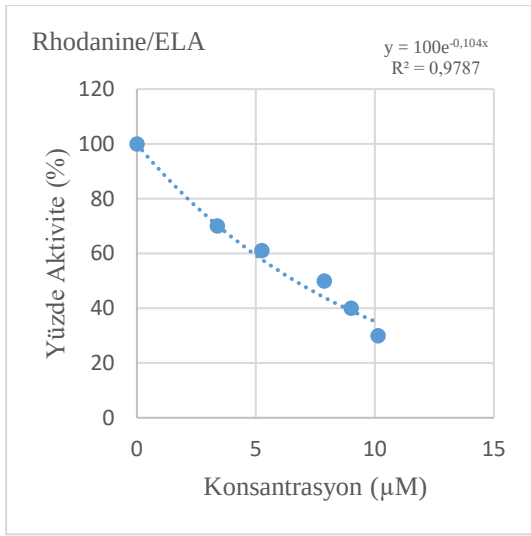
#### 4.7.2 Rhodanine bileşiğinin elastaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Bu çalışmada Rhodanine'in elastaz enzimi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Deneylerde karışıma 40 µL enzim eklenmiş, kontrol aktivitesi 100 olarak belirlenmiş ve bileşik çözücüsünde 100 kat seyreltilmiş şekilde uygulanmıştır. Elde edilen veriler Tablo 4.50'de gösterilmekte olup, inhibitör konsantrasyonu artırıldıkça elastaz aktivitesinin düzenli biçimde azaldığı görülmektedir. İlk tekrarda aktivite 45 µL'de 70'e, 70 µL'de 61'e ve 105 µL'de 50'ye düşmüştür. Daha yüksek inhibitör hacimlerinde aktivite 120 µL'de 40'a, 135 µL'de ise 30'a kadar gerilemiştir. İkinci ve üçüncü tekrarlar da benzer bir azalma göstermiştir. Bu konsantrasyona bağlı aktivite düşüşü Şekil 4.130–4.132'de verilen inhibisyon eğrilerinde açıkça izlenmektedir. Üç tekrarın uyumlu sonuçlar vermesi, Rhodanine'in elastaz aktivitesini artırılan konsantrasyonla birlikte düzenli bir şekilde azalttığını göstermektedir.

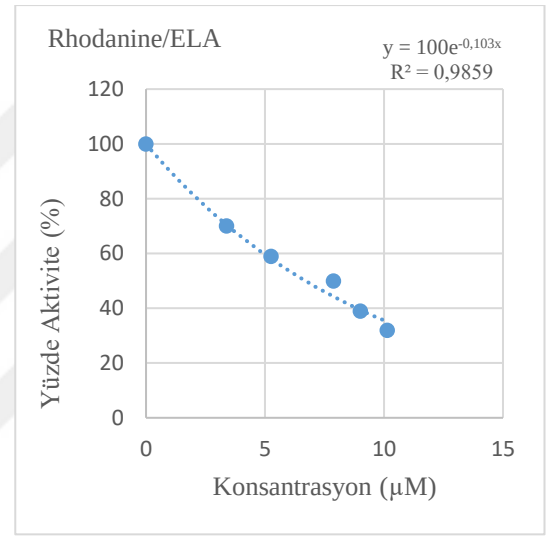
Tablo 4.50: Rhodanine bileşiğinin ELA enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 45 µL                                | 70       |
| 70 µL                                | 61       |
| 105 µL                               | 50       |
| 120 µL                               | 40       |
| 135 µL                               | 30       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |

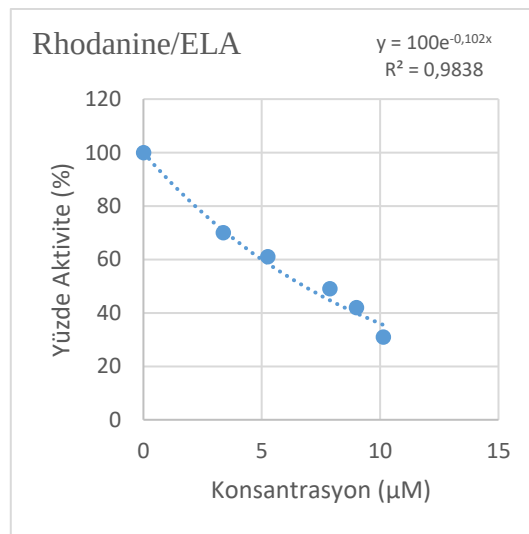
|                                      |          |
|--------------------------------------|----------|
| 45 µL                                | 70       |
| 70 µL                                | 59       |
| 105 µL                               | 50       |
| 120 µL                               | 39       |
| 135 µL                               | 32       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 45 µL                                | 70       |
| 70 µL                                | 61       |
| 105 µL                               | 49       |
| 120 µL                               | 42       |
| 135 µL                               | 31       |



Şekil 4.129: ELA inhibisyon eğrisi – Rhodanine (1.Tekrar)



Şekil 4.130: ELA inhibisyon eğrisi – Rhodanine (2.Tekrar)



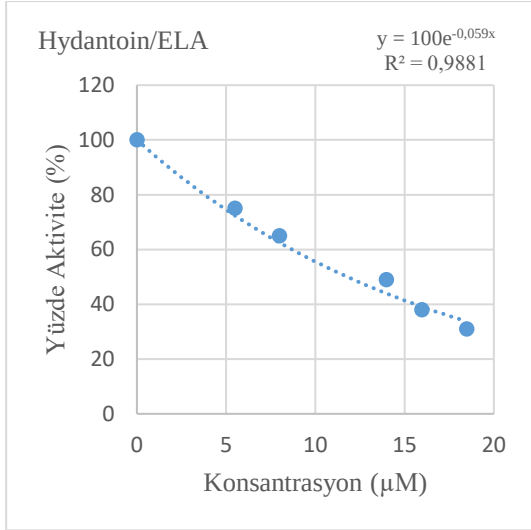
Şekil 4.131: ELA inhibisyon eğrisi – Rhodanine (3.Tekrar)

#### 4.7.3 Hydantoin bileşiminin elastaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

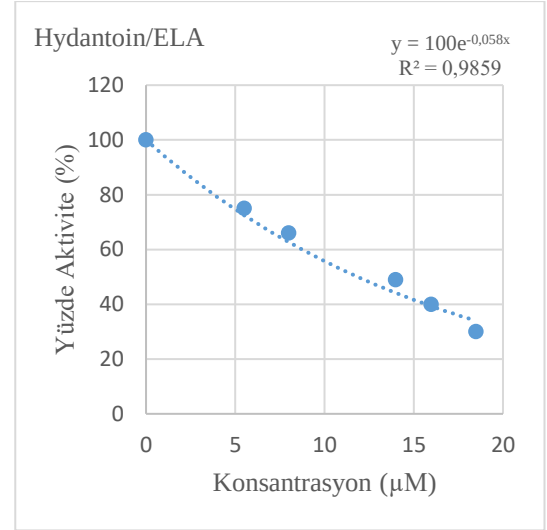
Bu çalışmada Hydantoin'in elastaz enzimi üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Deneylerde karışıma 40 µL enzim eklenmiş, kontrol aktivitesi 100 olarak belirlenmiş ve bileşik çözücüsünde 100 kat seyreltilmiş şekilde uygulanmıştır. Elde edilen veriler Tablo 4.51'de verilmiş olup inhibitör konsantrasyonu arttıkça elastaz aktivitesinin düzenli bir azalma gösterdiği görülmektedir. İlk tekrarda aktivite 55 µL'de 75'e, 80 µL'de 65'e ve 140 µL'de 49'a gerilemiştir. Daha yüksek hacimlerde aktivite 160 µL'de 38'e, 185 µL'de ise 31'e kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da aynı eğilimi sürdürmüştür; her iki tekrarda da aktivite 55 µL'de yaklaşık 75 düzeyinden başlayarak 185 µL'de 30–32 aralığına kadar azalmıştır. Bu doz–yanıt ilişkisi, Şekil 4.133–4.135'de yer alan inhibisyon eğrilerinde açık şekilde izlenmektedir. Üç tekrarın uyumlu sonuçlar vermesi, Hydantoin'in elastaz aktivitesini artan konsantrasyonla birlikte düzenli ve tutarlı bir biçimde azalttığını göstermektedir.

Tablo 4.51: Hydantoin bileşiminin ELA enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

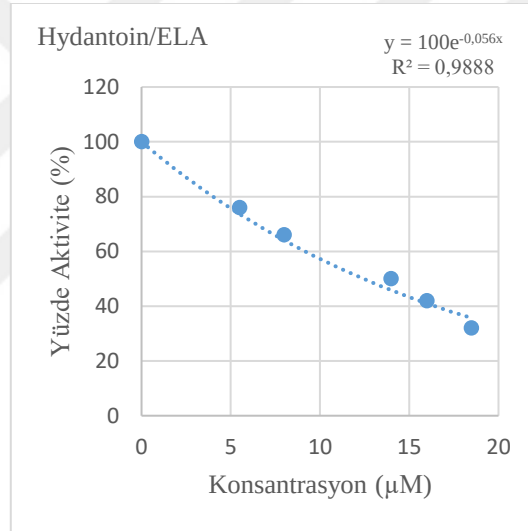
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 55 µL                                | 75       |
| 80 µL                                | 65       |
| 140 µL                               | 49       |
| 160 µL                               | 38       |
| 185 µL                               | 31       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 55 µL                                | 75       |
| 80 µL                                | 66       |
| 140 µL                               | 49       |
| 160 µL                               | 40       |
| 185 µL                               | 30       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 55 µL                                | 76       |
| 80 µL                                | 66       |
| 140 µL                               | 50       |
| 160 µL                               | 42       |
| 185 µL                               | 32       |



Şekil 4.132: ELA inhibisyon eğrisi – Hydantoin (1.Tekrar)



Şekil 4.133: ELA inhibisyon eğrisi – Hydantoin (2.Tekrar)



Şekil 4.134: ELA inhibisyon eğrisi – Hydantoin (3.Tekrar)

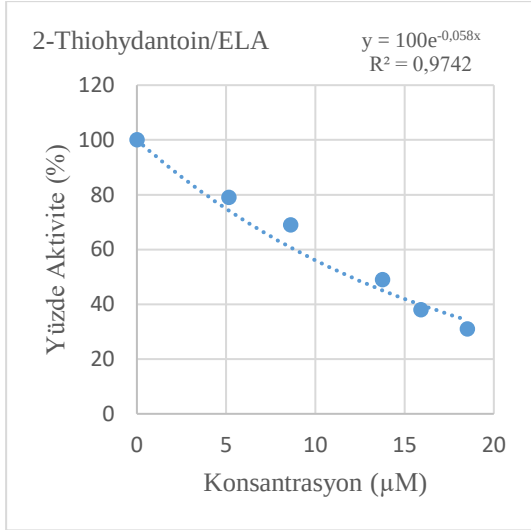
#### 4.7.4 2-Thiohydantoin bileşiğinin elastaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Bu çalışmada 2-Thiohydantoin'in elastaz enzimi üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Deneylerde karışıma 40 µL enzim eklenmiş, kontrol aktivitesi 100 olarak kabul edilmiş ve bileşik çözücüsünde 100 kat seyreltilmiş şekilde uygulanmıştır. Elde edilen veriler Tablo 4.52'de gösterilmekte olup inhibitör konsantrasyonu arttıkça elastaz aktivitesinin düzenli bir biçimde azaldığı açıkça görülmektedir. İlk tekrarda aktivite 60 µL'de 79 olarak ölçülmüş; 100 µL'de 69'a, 160 µL'de 49'a düşmüş ve en yüksek inhibitör miktarında (215 µL) aktivite 31 seviyesine gerilemiştir. İkinci tekrarda da aynı eğilim korunmuş; aktivite 60 µL'de

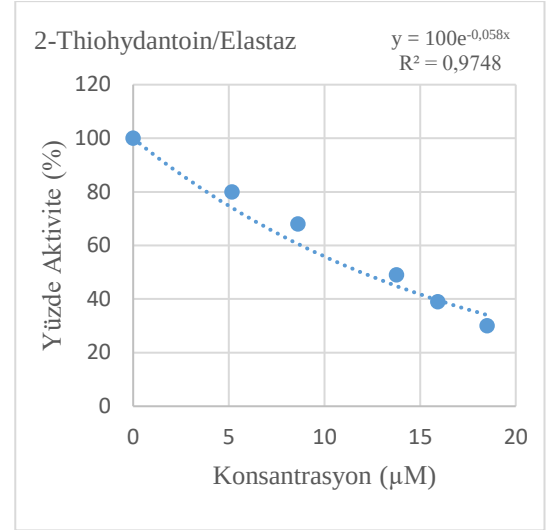
80'den başlayarak 215  $\mu\text{L}$ 'de 30'a kadar inmiştir. Üçüncü tekrar sonuçları da bu düzeni doğrulamış ve aktivite 60  $\mu\text{L}$ 'de 80 iken 215  $\mu\text{L}$ 'de 34 düzeyine kadar düşmüştür. Bu doz–yanıt ilişkisi Şekil 4.136–4.138'deki inhibisyon eğrilerinde net biçimde izlenmektedir. Üç tekrarın birbiriyle uyumlu sonuçlar vermesi, 2-Thiohydantoin'in elastaz aktivitesini artan konsantrasyonla birlikte düzenli ve tutarlı şekilde azalttığını göstermektedir.

Tablo 4.52: 2-Thiohydantoin bileşiğinin ELA enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

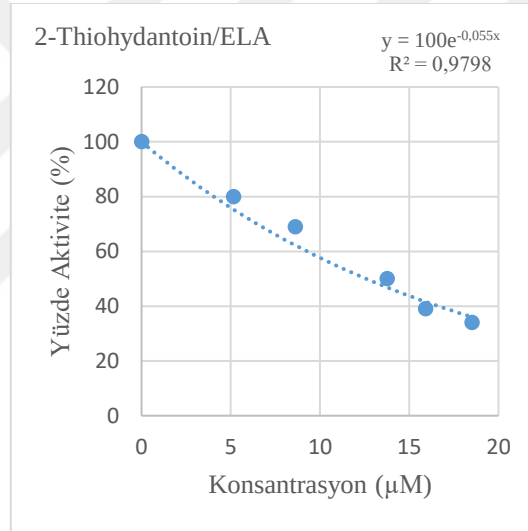
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 60 $\mu\text{L}$                     | 79       |
| 100 $\mu\text{L}$                    | 69       |
| 160 $\mu\text{L}$                    | 49       |
| 185 $\mu\text{L}$                    | 38       |
| 215 $\mu\text{L}$                    | 31       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 60 $\mu\text{L}$                     | 80       |
| 100 $\mu\text{L}$                    | 68       |
| 160 $\mu\text{L}$                    | 49       |
| 185 $\mu\text{L}$                    | 39       |
| 215 $\mu\text{L}$                    | 30       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 60 $\mu\text{L}$                     | 80       |
| 100 $\mu\text{L}$                    | 69       |
| 160 $\mu\text{L}$                    | 50       |
| 185 $\mu\text{L}$                    | 39       |
| 215 $\mu\text{L}$                    | 34       |



Şekil 4.135: ELA inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (1.Tekrar)



Şekil 4.136: ELA inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (2.Tekrar)



Şekil 4.137: ELA inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (3.Tekrar)

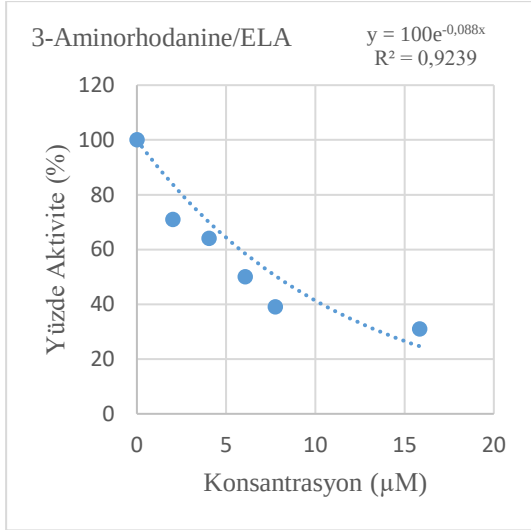
#### 4.7.5 3-Aminorhodanine bileşiğinin elastaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Bu çalışmada 3-Aminorhodanine'in elastaz enzimi üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Deneylerde karışıma 40 μL enzim eklenmiş, kontrol aktivitesi 100 olarak kabul edilmiş ve bileşik çözücüsünde 100 kat seyreltilmiş şekilde uygulanmıştır. Elde edilen veriler Tablo 4.53'de sunulmakta olup inhibitör konsantrasyonu arttıkça elastaz aktivitesinin düzenli bir şekilde azaldığı açıkça görülmektedir. İlk tekrarda aktivite 30 μL'de 71 olarak ölçülmüş, 60 μL'de 64'e, 90 μL'de 50'ye, 115 μL'de 39'a ve en yüksek inhibitör miktarı olan 235 μL'de 31'e düşmüştür. İkinci tekrar da benzer değerler üretmiş; aktivite aynı konsantrasyonlarda

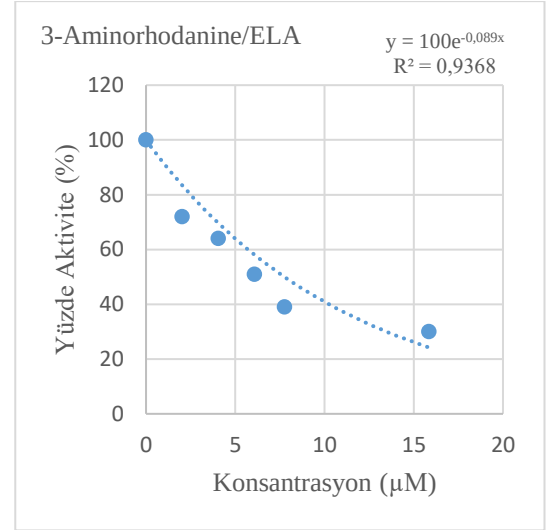
sırasıyla 72, 64, 51, 39 ve 30 olarak kaydedilmiştir. Üçüncü tekrarda aktivite 30  $\mu\text{L}$ 'de 76 iken 235  $\mu\text{L}$ 'de 28'e kadar gerilemiştir. Bu doz–yanıt ilişkisi Şekil 4.139–4.141'te gösterilen inhibisyon eğrilerinde de net biçimde izlenmektedir. Üç tekrarın birbirine oldukça yakın sonuçlar vermesi, 3-Aminorhodanine'in elastaz aktivitesini artan konsantrasyonla birlikte düzenli ve tekrarlanabilir şekilde azalttığını göstermektedir.

Tablo 4.53: 3-Aminorhodanine bileşiğinin ELA enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

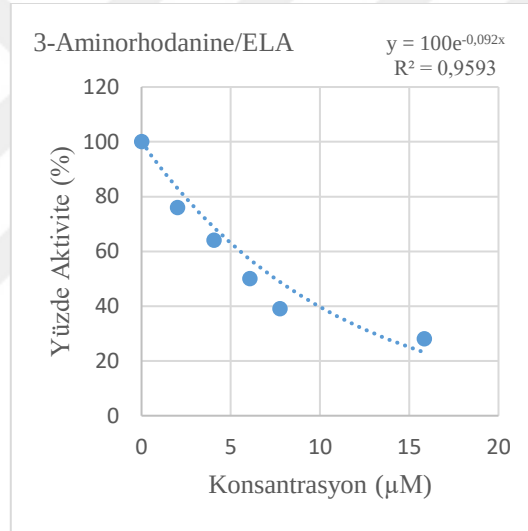
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 30 $\mu\text{L}$                     | 71       |
| 60 $\mu\text{L}$                     | 64       |
| 90 $\mu\text{L}$                     | 50       |
| 115 $\mu\text{L}$                    | 39       |
| 235 $\mu\text{L}$                    | 31       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 30 $\mu\text{L}$                     | 72       |
| 60 $\mu\text{L}$                     | 64       |
| 90 $\mu\text{L}$                     | 51       |
| 115 $\mu\text{L}$                    | 39       |
| 235 $\mu\text{L}$                    | 30       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 30 $\mu\text{L}$                     | 76       |
| 60 $\mu\text{L}$                     | 64       |
| 90 $\mu\text{L}$                     | 50       |
| 115 $\mu\text{L}$                    | 39       |
| 235 $\mu\text{L}$                    | 28       |



Şekil 4.138: ELA inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (1.Tekrar)



Şekil 4.139: ELA inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (2.Tekrar)



Şekil 4.140: ELA inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (3.Tekrar)

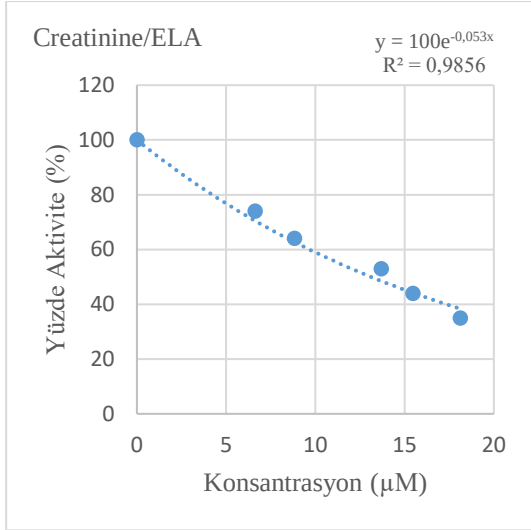
#### 4.7.6 Creatinine bileşiğinin elastaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Bu çalışmada Creatinine'in elastaz enzimi üzerindeki inhibitör etkisi değerlendirilmiştir. Deneylerde karışıma 40 µL elastaz enzimi eklenmiş, kontrol aktivitesi 100 olarak kabul edilmiş ve bileşik çözücüsünde 100 kat seyreltilmiş şekilde uygulanmıştır. Elde edilen veriler Tablo 4.54'de sunulmakta olup inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinde düzenli bir azalma meydana geldiği görülmektedir. İlk tekrarda aktivite 75 µL'de 74'e düşmüş; 100 µL'de 64, 155 µL'de 53, 175 µL'de 44 ve en yüksek inhibitör miktarı olan 205

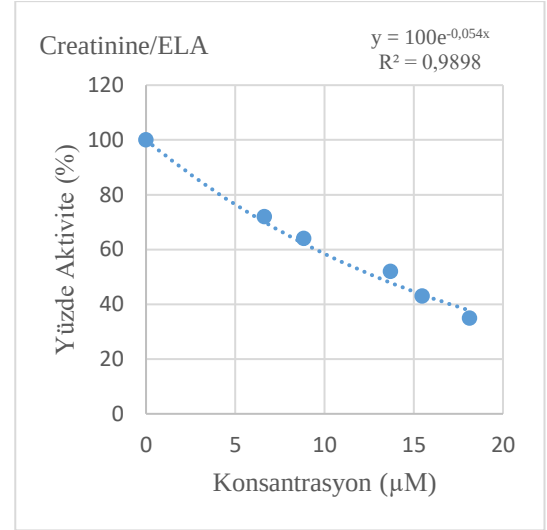
$\mu\text{L}$ 'de 35 olarak ölçülmüştür. İkinci tekrar da benzer bir eğilim göstermiş ve aktivite aynı konsantrasyonlarda sırasıyla 72, 64, 52, 43 ve 35 olarak kaydedilmiştir. Üçüncü tekrarda da aynı düzen korunmuş; aktivite 75  $\mu\text{L}$ 'de 76'dan başlayarak 205  $\mu\text{L}$ 'de 35'e kadar gerilemiştir. Bu doz-yanıt ilişkisi, Şekil 4.142–4.144'de yer alan inhibisyon eğrilerinde de açık bir şekilde izlenmektedir. Üç tekrarın birbiriyle uyumlu sonuçlar vermesi, Creatinine'in elastaz aktivitesini artan konsantrasyonla birlikte düzenli biçimde azalttığını göstermektedir.

Tablo 4.54: Creatinine bileşiğinin ELA enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

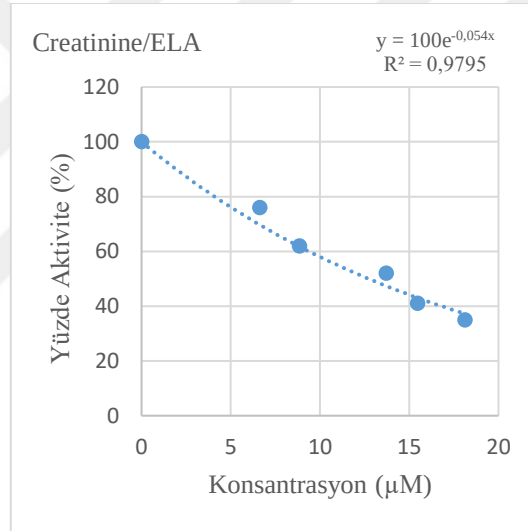
| <b>1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu</b> | <b>Aktivite</b> |
|---------------------------------------------|-----------------|
| <b>75 <math>\mu\text{L}</math></b>          | <b>74</b>       |
| <b>100 <math>\mu\text{L}</math></b>         | <b>64</b>       |
| <b>155 <math>\mu\text{L}</math></b>         | <b>53</b>       |
| <b>175 <math>\mu\text{L}</math></b>         | <b>44</b>       |
| <b>205 <math>\mu\text{L}</math></b>         | <b>35</b>       |
| <b>2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu</b> | <b>Aktivite</b> |
| <b>75 <math>\mu\text{L}</math></b>          | <b>72</b>       |
| <b>100 <math>\mu\text{L}</math></b>         | <b>64</b>       |
| <b>155 <math>\mu\text{L}</math></b>         | <b>52</b>       |
| <b>175 <math>\mu\text{L}</math></b>         | <b>43</b>       |
| <b>205 <math>\mu\text{L}</math></b>         | <b>35</b>       |
| <b>3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu</b> | <b>Aktivite</b> |
| <b>75 <math>\mu\text{L}</math></b>          | <b>76</b>       |
| <b>100 <math>\mu\text{L}</math></b>         | <b>62</b>       |
| <b>155 <math>\mu\text{L}</math></b>         | <b>52</b>       |
| <b>175 <math>\mu\text{L}</math></b>         | <b>41</b>       |
| <b>205 <math>\mu\text{L}</math></b>         | <b>35</b>       |



Şekil 4.141: ELA inhibisyon eğrisi – Creatinine (1.Tekrar)



Şekil 4.142: ELA inhibisyon eğrisi – Creatinine (2.Tekrar)



Şekil 4.143: ELA inhibisyon eğrisi – Creatinine (3.Tekrar)

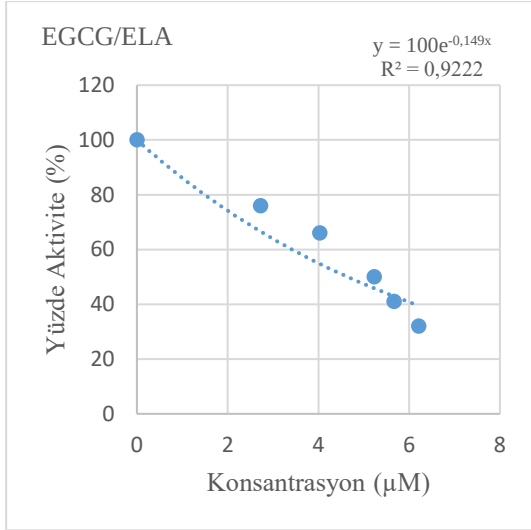
#### 4.7.7 Epigallocatechin gallate bileşiğinin elastaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi (Standart inhibitör)

Bu çalışmada Epigallocatechin gallate (EGCG), elastaz enzimi için standart inhibitör olarak kullanılmıştır. Deneylerde karışıma 40 µL enzim eklenmiş, kontrol aktivitesi 100 olarak belirlenmiş ve bileşik çözücüsünde 100 kat seyreltilmiş şekilde uygulanmıştır. Elde edilen ölçümler Tablo 4.55’de sunulmakta olup inhibitör konsantrasyonu arttıkça elastaz aktivitesinin düzenli bir şekilde azaldığı görülmektedir. İlk tekrarda aktivite 125 µL’de

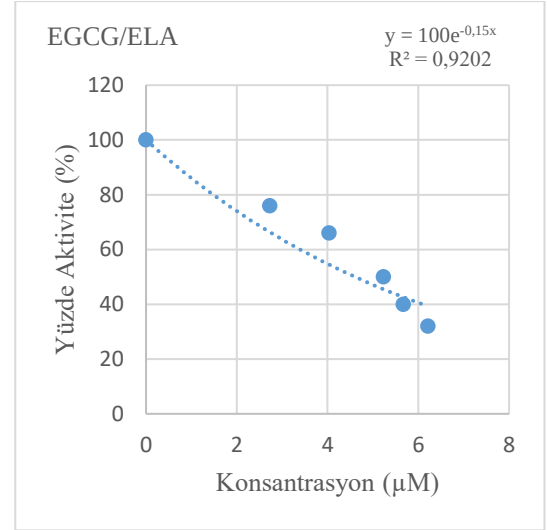
76'ya, 185  $\mu$ L'de 66'ya ve 240  $\mu$ L'de 50'ye düşmüş; daha yüksek konsantrasyonlarda 260  $\mu$ L'de 41'e ve 285  $\mu$ L'de 32'ye kadar gerilemiştir. İkinci ve üçüncü tekrarlar da benzer değerler üretmiş ve tüm ölçümler artan konsantrasyon ile birlikte aktivitenin düzenli biçimde azaldığını göstermiştir. Bu doz–yanıt eğilimi, Şekil 4.145–4.147'de gösterilen inhibisyon eğrilerinde de açıkça izlenmektedir. Üç tekrarın birbiriyle uyumlu sonuçlar vermesi, EGCG'nin elastaz üzerinde kararlı ve tekrarlanabilir bir inhibisyon etkisi oluşturduğunu göstermektedir.

Tablo 4.55: EGCG bileşiğinin ELA enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

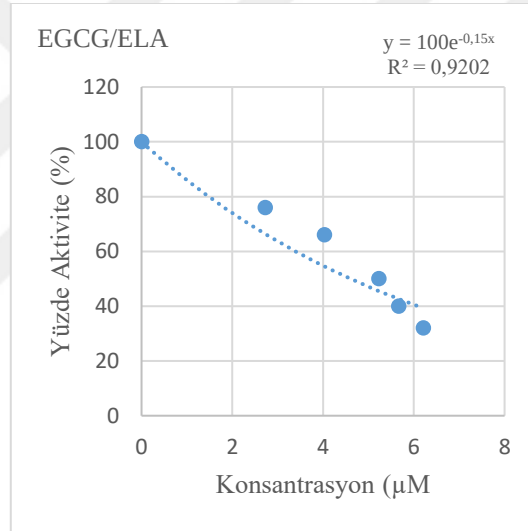
| 1.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|-------------------------------------|----------|
| 125 $\mu$ L                         | 76       |
| 185 $\mu$ L                         | 66       |
| 240 $\mu$ L                         | 50       |
| 260 $\mu$ L                         | 41       |
| 285 $\mu$ L                         | 32       |
| 2.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 125 $\mu$ L                         | 77       |
| 185 $\mu$ L                         | 66       |
| 240 $\mu$ L                         | 51       |
| 260 $\mu$ L                         | 39       |
| 285 $\mu$ L                         | 31       |
| 3.Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 125 $\mu$ L                         | 76       |
| 185 $\mu$ L                         | 66       |
| 240 $\mu$ L                         | 50       |
| 260 $\mu$ L                         | 40       |
| 285 $\mu$ L                         | 32       |



Şekil 4.144: ELA inhibisyon eğrisi – EGCG (1.Tekrar)



Şekil 4.145: ELA inhibisyon eğrisi – EGCG (2.Tekrar)



Şekil 4.146: ELA inhibisyon eğrisi – EGCG (3.Tekrar)

Elastaz enzimi için hesaplanan  $IC_{50}$  değerleri Tablo 4.56’da verilmiştir. Standart inhibitör olan EGCG’nin  $IC_{50}$  değeri  $4.61 \mu M$ ’dir ve diğer bileşiklerin karşılaştırılması bu değer üzerinden yapılmıştır. Tabloya göre, yalnızca Thiazolidin-2,4-dione ( $5.38 \mu M$ ) EGCG’ye yakın bir etki göstermektedir. Bu bileşiğin elastazı inhibe etme gücünün EGCG’ye en yakın aday olduğu anlaşılmaktadır. Diğer bileşiklerin  $IC_{50}$  değerleri EGCG’den daha yüksektir. Rhodanine ( $6.73 \mu M$ ) ve 3-Aminorhodanine ( $7.73 \mu M$ ) orta düzeyde etki göstermektedir. Hydantoin ( $12.03 \mu M$ ), 2-Thiohydantoin ( $12.16 \mu M$ ) ve Creatinine ( $12.9 \mu M$ ) ise en zayıf inhibitörlerdir.  $R^2$  değerlerinin 0.94–0.98 aralığında olması, elde edilen doz–yanıt eğrilerinin

güvenilir olduğunu göstermektedir. Genel olarak değerlendirildiğinde, elastaz üzerinde en güçlü etkinin EGCG'ye ait olduğu; yalnızca Thiazolidin-2,4-dione'nin bu etkiye yakın bir inhibisyon oluşturduğu görülmektedir.

Tablo 4.56: Bileşiklerin ELA inhibisyonuna ait IC<sub>50</sub> ve R<sup>2</sup> değerleri

| Bileşikler/Enzimler             | ELA                            |                |
|---------------------------------|--------------------------------|----------------|
|                                 | IC <sub>50</sub><br>( $\mu$ M) | R <sup>2</sup> |
| <b>Thiazolidin-2,4-dione</b>    | 5,38 $\pm$ 0,1                 | 0,9737         |
| <b>Rhodanine</b>                | 6,73 $\pm$ 0,07                | 0,9828         |
| <b>Hydantoin</b>                | 12,03 $\pm$ 0,3                | 0,9876         |
| <b>2-Thiohydantoin</b>          | 12,16 $\pm$ 0,4                | 0,9763         |
| <b>3-Aminorhodanine</b>         | 7,73 $\pm$ 0,2                 | 0,94           |
| <b>Creatinine</b>               | 12,9 $\pm$ 0,1                 | 0,985          |
| <b>Epigallocatechin Gallate</b> | 4,61 $\pm$ 0,05                | 0,9166         |

#### 4.8 Hyaluronidaz enzim inhibisyon sonuçları

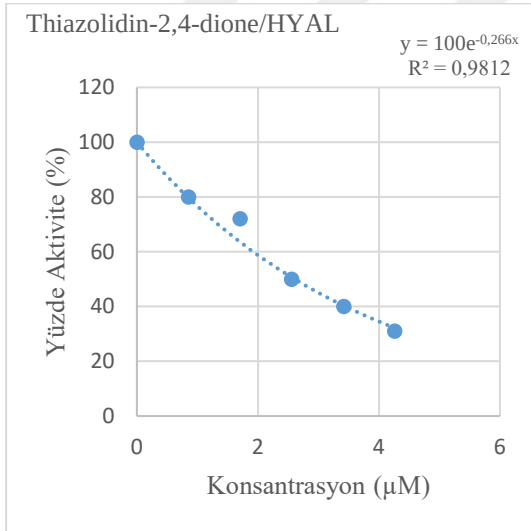
Bu bölümde, test edilen bileşiklerin hyalüronidaz enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerine ait sonuçlar sunulmuş ve elde edilen bulgular standart inhibitör ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

##### 4.8.1 Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin hyalüronidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

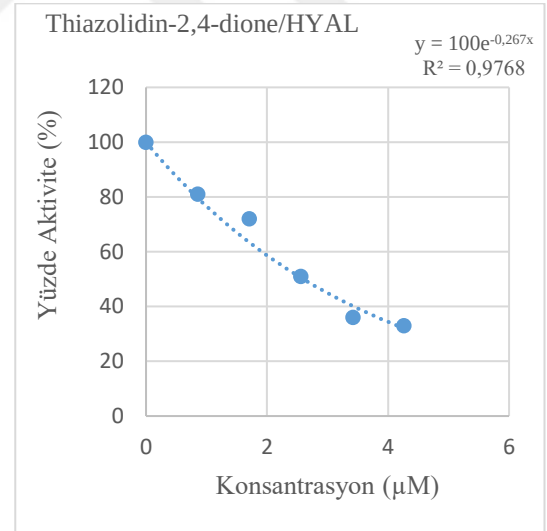
Bu çalışmada Thiazolidin-2,4-dione'nin hyalüronidaz enzimi üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Deneylerde karışıma 40  $\mu$ L enzim eklenmiş, kontrol aktivitesi 100 olarak kabul edilmiştir. Bileşik çözütüsünde 100 kat seyreltilerek uygulanmıştır. Tablo 4.57'te görüldüğü üzere, inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesi düzenli olarak azalmıştır. İlk tekrarda aktivite 10  $\mu$ L'de 80 iken, 50  $\mu$ L'de 31'e kadar düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da aynı eğilimi göstermiş ve en yüksek inhibitör miktarında aktivite 33 birim düzeyine gerilemiştir. Şekil 4.148–4.150'de verilen inhibisyon eğrileri de bu azalmayı doğrulamakta olup, Thiazolidin-2,4-dione'nin hyalüronidaz aktivitesini konsantrasyona bağlı olarak düzenli şekilde azalttığı açıkça görülmektedir.

Tablo 4.57: Thiazolidin-2,4-dione bileşiğinin HYAL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

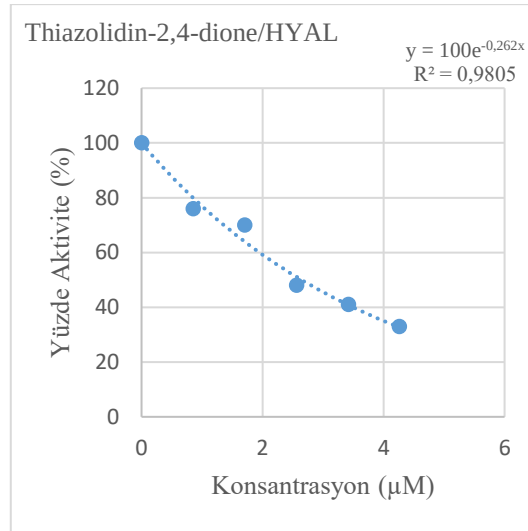
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 10 µL                                | 80       |
| 20 µL                                | 72       |
| 30 µL                                | 50       |
| 40 µL                                | 40       |
| 50 µL                                | 31       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 10 µL                                | 81       |
| 20 µL                                | 72       |
| 30 µL                                | 51       |
| 40 µL                                | 36       |
| 50 µL                                | 33       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 10 µL                                | 76       |
| 20 µL                                | 70       |
| 30 µL                                | 48       |
| 40 µL                                | 41       |
| 50 µL                                | 33       |



Şekil 4.147: HYAL inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (1.Tekrar)



Şekil 4.148: HYAL inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (2.Tekrar)



Şekil 4.149: HYAL inhibisyon eğrisi – Thiazolidin-2,4-dione (3.Tekrar)

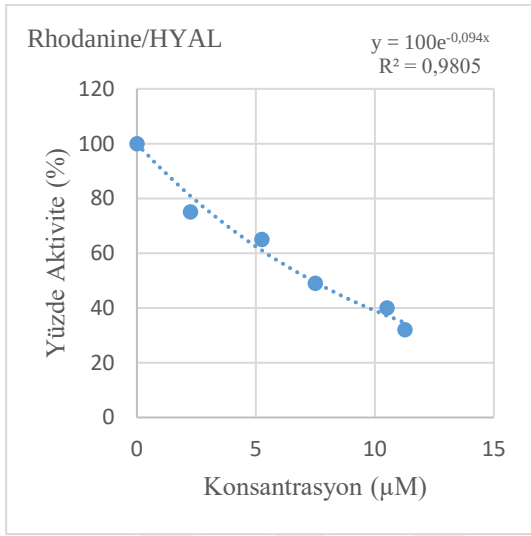
#### 4.8.2 Rhodanine bileşiğinin hyalüronidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Bu çalışmada Rhodanine'in hyalüronidaz enzimi üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Deneylerde karışıma 40 µL enzim eklenmiş, kontrol aktivitesi 100 olarak kabul edilmiştir ve bileşik 100 kat seyreltilerek uygulanmıştır. Tablo 4.58'de görüldüğü üzere, inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesi düzenli bir şekilde azalmıştır. İlk tekrarda aktivite 30 µL'de 75 iken, en yüksek konsantrasyon olan 160 µL'de 32'ye düşmüştür. İkinci ve üçüncü tekrarlar da aynı eğilimi göstermiş; her iki tekrarda da aktivite 160 µL'de yaklaşık 30–34 birim seviyesine kadar gerilemiştir. Şekil 4.151–4.153'de yer alan inhibisyon eğrileri de bu düşüşü açık biçimde doğrulamakta olup, Rhodanine'in hyalüronidaz aktivitesini konsantrasyon arttıkça düzenli şekilde azalttığı görülmektedir.

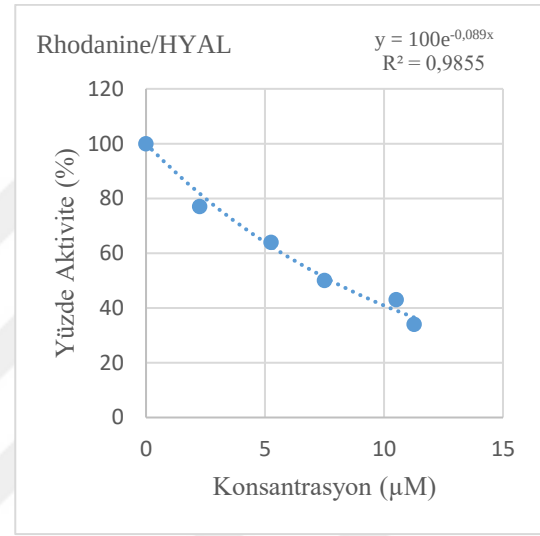
Tablo 4.58: Rhodanine bileşiğinin HYAL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 30 µL                                | 75       |
| 70 µL                                | 65       |
| 100 µL                               | 49       |
| 140 µL                               | 40       |
| 160 µL                               | 32       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 30 µL                                | 77       |
| 70 µL                                | 64       |

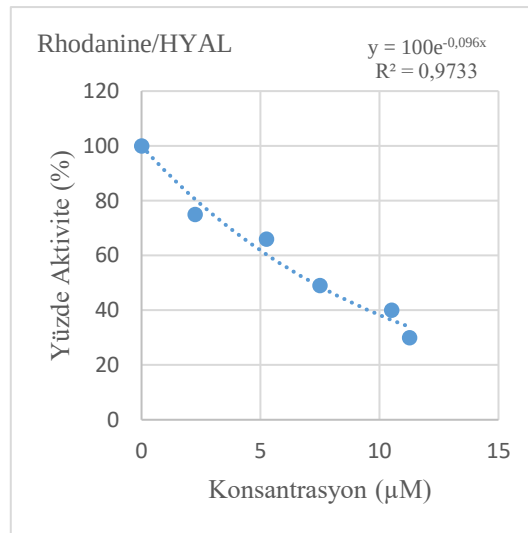
|                                      |          |
|--------------------------------------|----------|
| 120 µL                               | 50       |
| 140 µL                               | 43       |
| 160 µL                               | 34       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 30 µL                                | 75       |
| 70 µL                                | 66       |
| 120 µL                               | 49       |
| 140 µL                               | 40       |
| 160 µL                               | 30       |



Şekil 4.150: HYAL inhibisyon eğrisi – Rhodanine (1.Tekrar)



Şekil 4.151: HYAL inhibisyon eğrisi – Rhodanine (2.Tekrar)



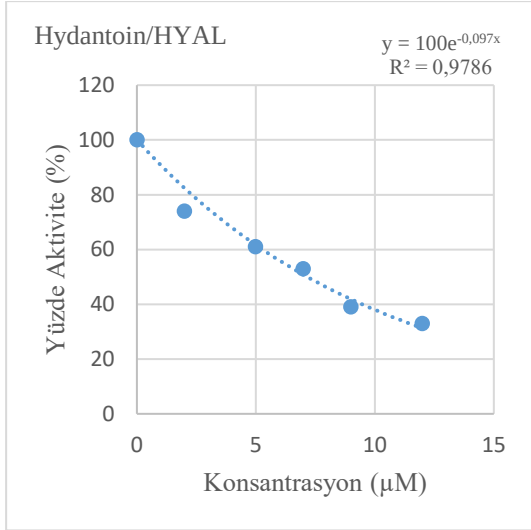
Şekil 4.152: HYAL inhibisyon eğrisi – Rhodanine (3.Tekrar)

#### 4.8.3 Hydantoin bileşiğinin hyalüronidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

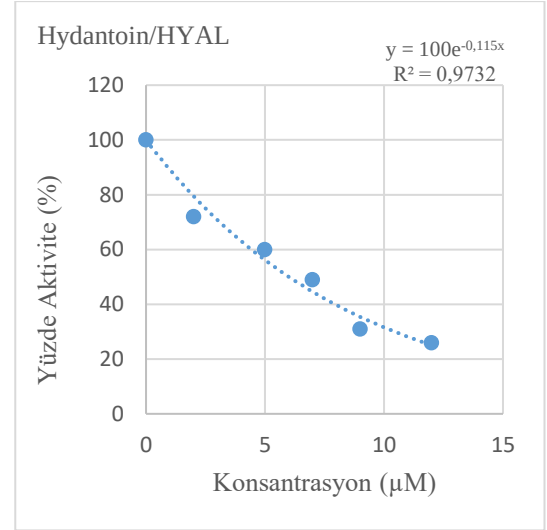
Bu çalışmada Hydantoin'in hyalüronidaz enzimi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Deneylerde karışıma 40 µL enzim eklenmiş, kontrol aktivitesi 100 olarak kabul edilmiş ve bileşik 100 kat seyreltilmiş şekilde uygulanmıştır. Tablo 4.59 incelendiğinde, inhibitör konsantrasyonu yükseldikçe enzim aktivitesinin düzenli bir şekilde azaldığı görülmektedir. İlk tekrarda aktivite 20 µL'de 74 iken, en yüksek konsantrasyon olan 120 µL'de 33'e düşmüştür. İkinci tekrarda aktivite 20 µL'de 72'den başlayarak 120 µL'de 26'ya kadar gerilemiş, üçüncü tekrarda ise 20 µL'de 70 olan aktivite aynı konsantrasyonda 28'e kadar azalmıştır. Şekil 4.154–4.156'de verilen inhibisyon eğrileri de bu eğilimi desteklemekte olup Hydantoin'in artan konsantrasyonla birlikte hyalüronidaz aktivitesini düzenli bir şekilde azalttığı açıkça görülmektedir.

Tablo 4.59: Hydantoin bileşiğinin HYAL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

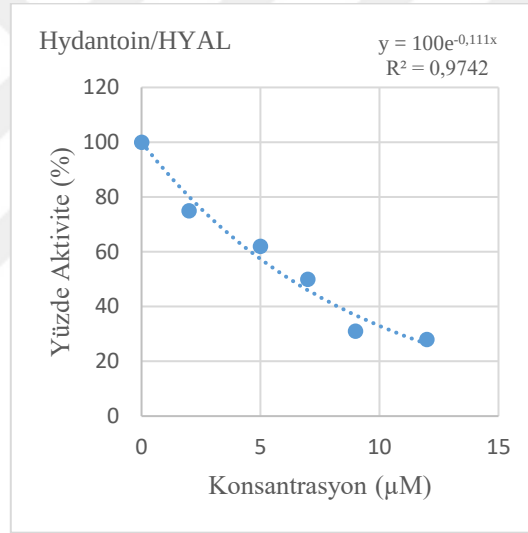
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 20 µL                                | 74       |
| 50 µL                                | 61       |
| 70 µL                                | 53       |
| 90 µL                                | 39       |
| 120 µL                               | 33       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 20 µL                                | 72       |
| 50 µL                                | 60       |
| 70 µL                                | 49       |
| 90 µL                                | 31       |
| 120 µL                               | 26       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 20 µL                                | 70       |
| 50 µL                                | 62       |
| 70 µL                                | 50       |
| 90 µL                                | 31       |
| 120 µL                               | 28       |



Şekil 4.153: HYAL inhibisyon eğrisi – Hydantoin (1.Tekrar)



Şekil 4.154: HYAL inhibisyon eğrisi – Hydantoin (2.Tekrar)



Şekil 4.155: HYAL inhibisyon eğrisi – Hydantoin (3.Tekrar)

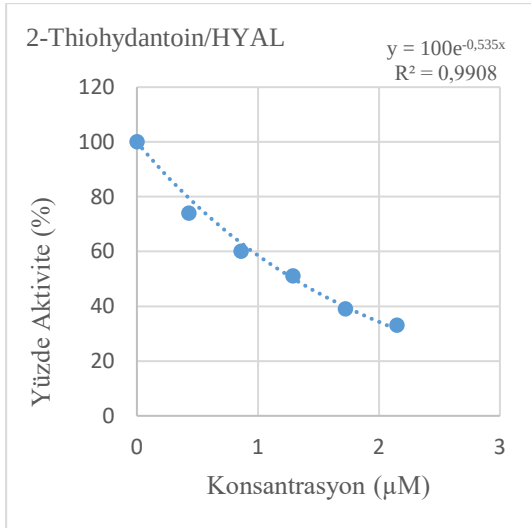
#### 4.8.4 2-Thiohydantoin bileşiğinin hyalüronidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Bu çalışmada 2-Thiohydantoin'in hyalüronidaz enzimi üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Deneylerde karışıma 40 µL enzim eklenmiş, kontrol aktivitesi 100 olarak kabul edilmiş ve bileşik 100 kat seyreltilmiş şekilde uygulanmıştır. Tablo 4.60'de görüldüğü üzere, inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesi düzenli bir şekilde azalmıştır. İlk tekrarda aktivite 5 µL'de 74 iken, en yüksek konsantrasyon olan 25 µL'de 33'e kadar düşmüştür. İkinci tekrar da aynı eğilimi sürdürmüştür; aktivite 5 µL'de 70'ten başlayıp 25 µL'de yine 33'e gerilemiştir. Üçüncü tekrarda ise aktivite 5 µL'de 76 iken 25 µL'de 28'e kadar azalmıştır. Şekil 4.157–

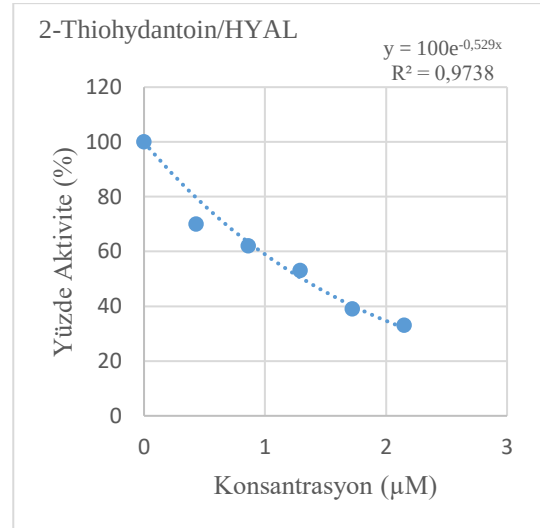
4.159’da verilen inhibisyon eğrileri de bu düşüşü açık biçimde göstermekte olup, 2-Thiohydantoin’in artan konsantrasyonla birlikte hyalüronidaz aktivitesini düzenli şekilde azalttığı görülmektedir.

Tablo 4.60: 2-Thiohydantoin bileşiğinin HYAL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

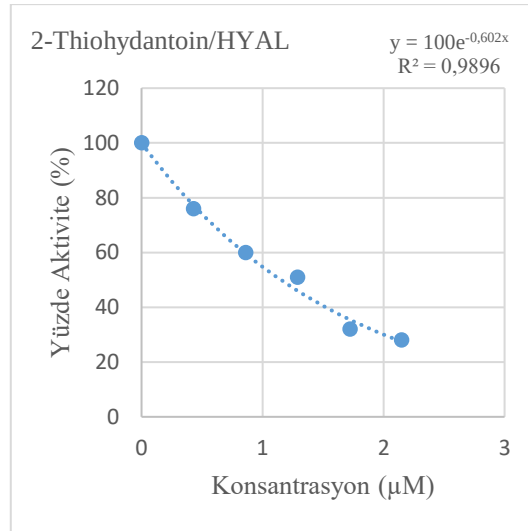
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 5 µL                                 | 74       |
| 10 µL                                | 60       |
| 15 µL                                | 51       |
| 20 µL                                | 39       |
| 25 µL                                | 33       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 5 µL                                 | 70       |
| 10 µL                                | 62       |
| 15 µL                                | 53       |
| 20 µL                                | 39       |
| 25 µL                                | 33       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 5 µL                                 | 76       |
| 10 µL                                | 60       |
| 15 µL                                | 51       |
| 20 µL                                | 32       |
| 25 µL                                | 28       |



Şekil 4.156: HYAL inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (1.Tekrar)



Şekil 4.157: HYAL inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (2.Tekrar)



Şekil 4.158: HYAL inhibisyon eğrisi – 2-Thiohydantoin (3.Tekrar)

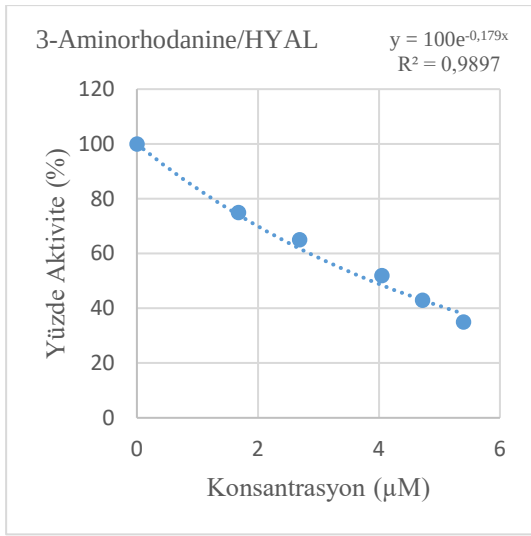
#### 4.8.5 3-Aminorhodanine bileşiğinin hyalüronidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

Bu çalışmada 3-Aminorhodanine'in hyalüronidaz enzimi üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Deneylerde karışıma 40 µL enzim eklenmiş, kontrol aktivitesi 100 olarak kabul edilmiş ve bileşik 100 kat seyreltilerek uygulanmıştır. Tablo 4.61 incelendiğinde inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli biçimde azaldığı görülmektedir. İlk tekrarda aktivite 25 µL'de 75 iken en yüksek konsantrasyon olan 80 µL'de 35'e düşmüştür. İkinci tekrarda aktivite 25 µL'de 72'den 80 µL'de 33'e gerilemiş; üçüncü tekrarda ise 25 µL'de 76 olan aktivite 80 µL'de 31'e kadar düşmüştür. Bu eğilim, Şekil 4.160–4.162'de verilen inhibisyon eğrilerinde de açık şekilde görülmekte olup 3-Aminorhodanine'in artan konsantrasyonla birlikte hyalüronidaz aktivitesini düzenli bir şekilde azalttığı anlaşılmaktadır.

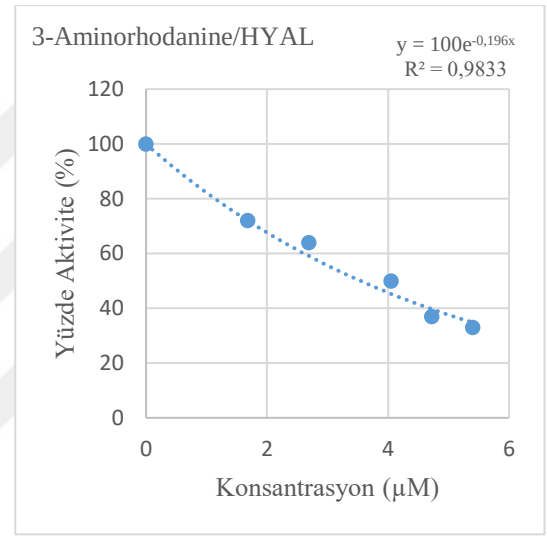
Tablo 4.61: 3-Aminorhodanine bileşiğinin HYAL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 25 µL                                | 75       |
| 40 µL                                | 65       |
| 60 µL                                | 52       |
| 70 µL                                | 43       |
| 80 µL                                | 35       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |

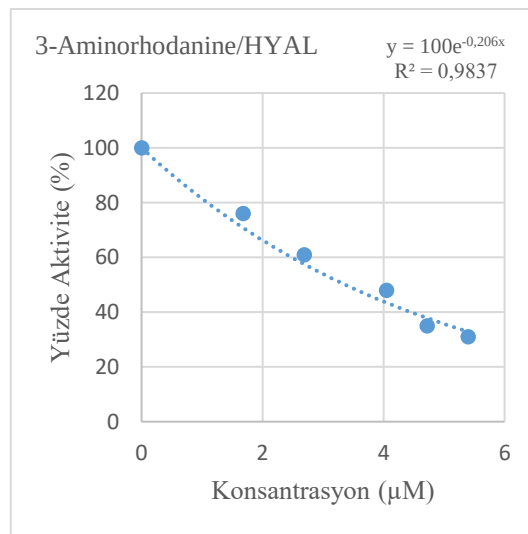
|                                      |          |
|--------------------------------------|----------|
| 25 µL                                | 72       |
| 40 µL                                | 64       |
| 60 µL                                | 50       |
| 70 µL                                | 37       |
| 80 µL                                | 33       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 25 µL                                | 76       |
| 40 µL                                | 61       |
| 60 µL                                | 48       |
| 70 µL                                | 35       |
| 80 µL                                | 31       |



Şekil 4.159: HYAL inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (1.Tekrar)



Şekil 4.160: HYAL inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (2.Tekrar)



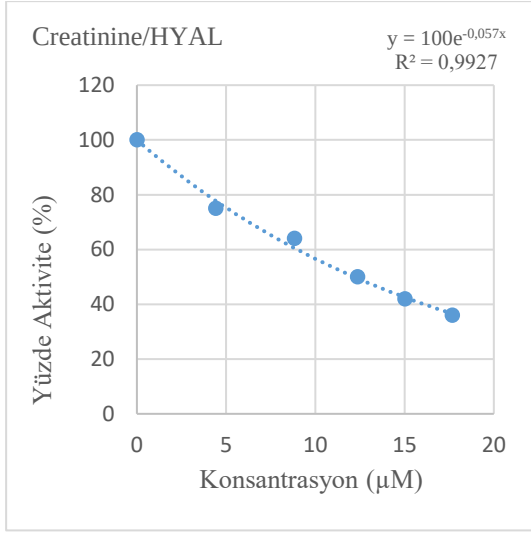
Şekil 4.161: HYAL inhibisyon eğrisi – 3-Aminorhodanine (3.Tekrar)

#### 4.8.6 Creatinine bileşiğinin hyalüronidaz enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

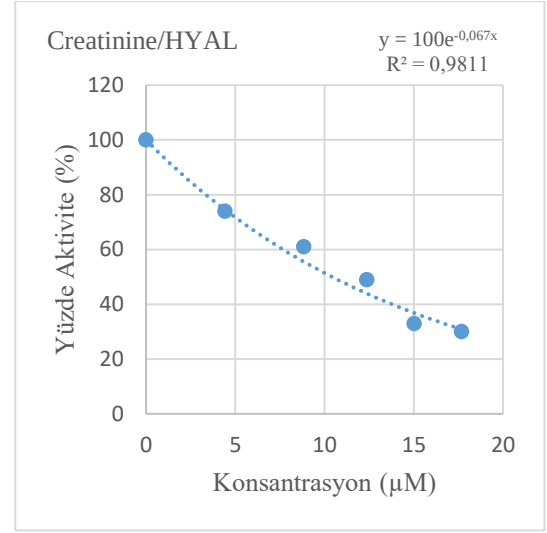
Bu çalışmada Creatinine'in hyalüronidaz enzimi üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Deneylerde karışıma 40 µL enzim eklenmiş, kontrol aktivitesi 100 olarak kabul edilmiş ve bileşik 100 kat seyreltilerek uygulanmıştır. Tablo 4.62 incelendiğinde inhibitör konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinin düzenli biçimde azaldığı görülmektedir. İlk tekrarda aktivite 50 µL'de 75 iken konsantrasyon 200 µL'ye yükseltildiğinde 36'ya düşmüştür. İkinci tekrar da aynı eğilimi göstermiş; aktivite 50 µL'de 74'ten başlayarak 200 µL'de 30'a gerilemiştir. Üçüncü tekrarda ise aktivite 50 µL'de 72 iken 200 µL'de 34'e kadar azalmıştır. Şekil 4.163–4.165'de verilen inhibisyon eğrileri, bu düşüşü açık biçimde göstermekte olup Creatinine'in artan konsantrasyonla birlikte hyalüronidaz aktivitesini düzenli şekilde azalttığı görülmektedir.

Tablo 4.62: Creatinine bileşiğinin HYAL enzimi üzerine etkisinin incelenmesi

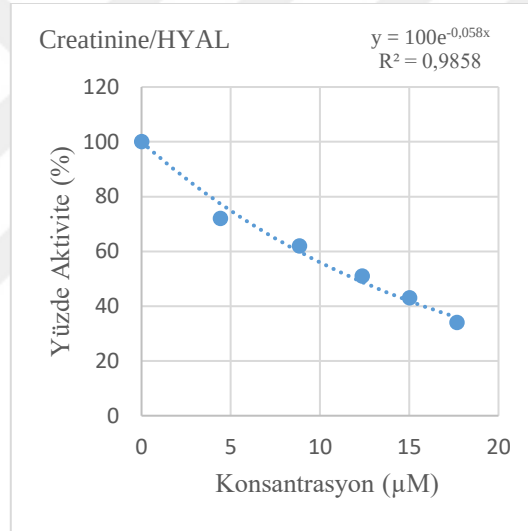
| 1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
|--------------------------------------|----------|
| 50 µL                                | 75       |
| 100 µL                               | 64       |
| 140 µL                               | 50       |
| 170 µL                               | 42       |
| 200 µL                               | 36       |
| 2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 50 µL                                | 74       |
| 100 µL                               | 61       |
| 140 µL                               | 49       |
| 170 µL                               | 33       |
| 200 µL                               | 30       |
| 3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu | Aktivite |
| 50 µL                                | 72       |
| 100 µL                               | 62       |
| 140 µL                               | 51       |
| 170 µL                               | 43       |
| 200 µL                               | 34       |



Şekil 4.162: HYAL inhibisyon eğrisi – Creatinine (1.Tekrar)



Şekil 4.163: HYAL inhibisyon eğrisi – Creatinine (2.Tekrar)



Şekil 4.164: HYAL inhibisyon eğrisi – Creatinine (3.Tekrar)

Hyalüronidaz için elde edilen  $IC_{50}$  değerleri Tablo 4.63’de gösterilmektedir. Standart inhibitör EGCG, 0.20  $\mu M$  ile en düşük  $IC_{50}$  değerine sahip olup en güçlü inhibisyonu sağlamıştır. Bileşikler arasında en etkili ikinci inhibitör, 1.25  $\mu M$   $IC_{50}$  değeriyle 2-Thiohydantoin’dir. Thiazolidin-2,4-dione ve 3-Aminorhodanine orta düzeyde inhibisyon oluştururken; Rhodanine, Hydantoin ve Creatinine daha yüksek  $IC_{50}$  değerleriyle daha zayıf etki göstermiştir. Tablo 4.63’deki  $R^2$  değerleri, doz–yanıt eğrilerinin güvenilir olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.63: Bileşiklerin HYAL inhibisyonuna ait IC<sub>50</sub> ve R<sup>2</sup> değerleri

| Bileşikler/Enzimler              | HYAL                  |                |
|----------------------------------|-----------------------|----------------|
|                                  | IC <sub>50</sub> (μM) | R <sup>2</sup> |
| <b>Thiazolidin-2,4-dione</b>     | 2,62±0,03             | 0,9795         |
| <b>Rhodanine</b>                 | 7,45±0,3              | 0,9798         |
| <b>Hydantoin</b>                 | 7,15±0,6              | 0,9753         |
| <b>2-Thiohydantoin</b>           | 1,25±0,09             | 0,9847         |
| <b>3-Aminorhodanine</b>          | 3,6±0,3               | 0,9856         |
| <b>Creatinine</b>                | 11,48±0,99            | 0,9865         |
| <b>Epigallocatechin Gallate*</b> | 0.20 ± 0.00           | 0,93           |

\* Epigallocatechin gallate'a (EGCG) ait IC<sub>50</sub> ve R<sup>2</sup> değerleri literatürden alınmıştır (Wanigasekera vd., 2014).

#### 4.9 Metal Şelatlama Deney Sonuçları

Bu çalışmada metal şelatlama kapasitesini belirlemek için üç farklı konsantrasyonda absorbands ölçümleri yapılmıştır (Tablo 4.64–4.66). Her konsantrasyon için ortalama değerler hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 4.67’te gösterilmiştir. Bu ortalamalar kullanılarak metal şelatlama grafiği oluşturulmuştur (Şekil 4.166). Grafik 4.160 Bileşiklerin metal şelatlama kapasitelerinin BHA ve BHT’ye yakın olduğu, ancak EDTA’ya göre daha düşük kaldığı görülmüştür. Buna rağmen, tüm bileşiklerde metal şelatlama aktivitesinin bulunduğu belirlenmiştir.

Tablo 4.64: Metal şelatmalara için birinci konsantrasyon değerleri

|                              | 1     | 2     | 3     | ORT   | STSP  | TOPLAM      |
|------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|
| <b>KONTROL</b>               | 0,43  | 0,43  | 0,43  | 0,43  | 0     | 0,43±0      |
| <b>BHA</b>                   | 0,33  | 0,37  | 0,352 | 0,350 | 0,028 | 0,35±0,028  |
| <b>BHT</b>                   | 0,36  | 0,36  | 0,374 | 0,360 | 0,000 | 0,36±0      |
| <b>EDTA</b>                  | 0,245 | 0,256 | 0,223 | 0,251 | 0,008 | 0,250±0,007 |
| <b>Thiazolidin-2,4-dione</b> | 0,358 | 0,361 | 0,356 | 0,360 | 0,002 | 0,359±0,002 |
| <b>Rhodanine</b>             | 0,352 | 0,351 | 0,344 | 0,352 | 0,001 | 0,351±0,000 |
| <b>Hydantoin</b>             | 0,364 | 0,355 | 0,358 | 0,360 | 0,006 | 0,359±0,006 |
| <b>2-Thiohydantoin</b>       | 0,401 | 0,403 | 0,401 | 0,402 | 0,001 | 0,402±0,001 |
| <b>3- Aminorhodanine</b>     | 0,241 | 0,244 | 0,248 | 0,243 | 0,002 | 0,242±0,002 |
| <b>Creatinine</b>            | 0,302 | 0,311 | 0,304 | 0,307 | 0,006 | 0,306±0,006 |

Tablo 4.65: Metal şelatmla için ikinci konsantrasyon değlerleri

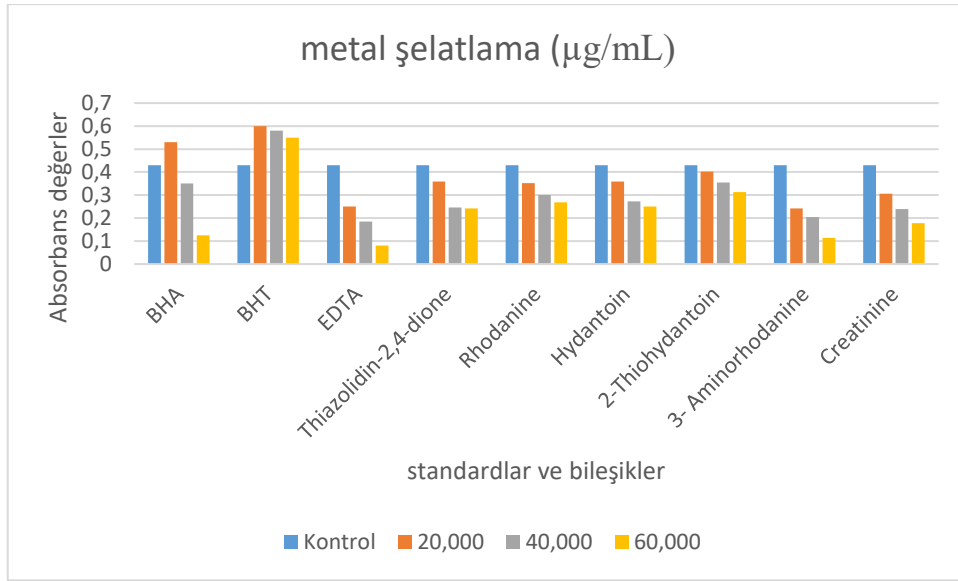
|                              | 1     | 2     | 3     | ORT    | STSP  | TOPLAM      |
|------------------------------|-------|-------|-------|--------|-------|-------------|
| <b>KONTROL</b>               | 0,43  | 0,43  | 0,43  | 0,43   | 0     | 0,43±0      |
| <b>BHA</b>                   | 0,246 | 0,26  | 0,288 | 0,253  | 0,010 | 0,253±0,009 |
| <b>BHT</b>                   | 0,35  | 0,345 | 0,33  | 0,3475 | 0,004 | 0,347±0,003 |
| <b>EDTA</b>                  | 0,18  | 0,19  | 0,157 | 0,185  | 0,007 | 0,185±0,007 |
| <b>Thiazolidin-2,4-dione</b> | 0,247 | 0,246 | 0,262 | 0,2465 | 0,001 | 0,246±0,000 |
| <b>Rhodanine</b>             | 0,3   | 0,3   | 0,298 | 0,3    | 0,000 | 0,3±0       |
| <b>Hydantoin</b>             | 0,277 | 0,267 | 0,284 | 0,272  | 0,007 | 0,272±0,007 |
| <b>2-Thiohydantoin</b>       | 0,354 | 0,356 | 0,355 | 0,355  | 0,001 | 0,355±0,001 |
| <b>3-Aminorhodanine</b>      | 0,203 | 0,206 | 0,203 | 0,2045 | 0,002 | 0,204±0,002 |
| <b>Creatinine</b>            | 0,243 | 0,234 | 0,245 | 0,2385 | 0,006 | 0,238±0,006 |

Tablo 4.66: Metal şelatmla için üçüncü konsantrasyon değlerleri

|                              | 1     | 2     | 3     | ORT    | STSP     | TOPLAM      |
|------------------------------|-------|-------|-------|--------|----------|-------------|
| <b>KONTROL</b>               | 0,43  | 0,43  | 0,43  | 0,43   | 0        | 0,43±0      |
| <b>BHA</b>                   | 0,245 | 0,24  | 0,233 | 0,2425 | 0,003536 | 0,242±0,003 |
| <b>BHT</b>                   | 0,31  | 0,314 | 0,311 | 0,312  | 0,002828 | 0,312±0,002 |
| <b>EDTA</b>                  | 0,09  | 0,07  | 0,08  | 0,08   | 0,014142 | 0,08±0,014  |
| <b>Thiazolidin-2,4-dione</b> | 0,244 | 0,24  | 0,235 | 0,242  | 0,002828 | 0,242±0,002 |
| <b>Rhodanine</b>             | 0,266 | 0,27  | 0,259 | 0,268  | 0,002828 | 0,268±0,002 |
| <b>Hydantoin</b>             | 0,255 | 0,246 | 0,255 | 0,2505 | 0,006364 | 0,250±0,006 |
| <b>2-Thiohydantoin</b>       | 0,311 | 0,314 | 0,317 | 0,3125 | 0,002121 | 0,312±0,002 |
| <b>3-Aminorhodanine</b>      | 0,101 | 0,128 | 0,123 | 0,1145 | 0,019092 | 0,114±0,019 |
| <b>Creatinine</b>            | 0,188 | 0,167 | 0,19  | 0,1775 | 0,014849 | 0,177±0,014 |

Tablo 4.67: Bileşiklerin metal şelatmla değlerinin ortalamaları

|                              | Kontrol | 20,000 | 40,000 | 60,000 |
|------------------------------|---------|--------|--------|--------|
| <b>BHA</b>                   | 0,43    | 0,530  | 0,350  | 0,125  |
| <b>BHT</b>                   | 0,43    | 0,600  | 0,580  | 0,550  |
| <b>EDTA</b>                  | 0,43    | 0,251  | 0,185  | 0,080  |
| <b>Thiazolidin-2,4-dione</b> | 0,43    | 0,360  | 0,247  | 0,242  |
| <b>Rhodanine</b>             | 0,43    | 0,352  | 0,300  | 0,268  |
| <b>Hydantoin</b>             | 0,43    | 0,360  | 0,272  | 0,251  |
| <b>2-Thiohydantoin</b>       | 0,43    | 0,402  | 0,355  | 0,313  |
| <b>3-Aminorhodanine</b>      | 0,43    | 0,243  | 0,205  | 0,115  |
| <b>Creatinine</b>            | 0,43    | 0,307  | 0,239  | 0,178  |



Şekil 4.165: Metal şelatma değerleri grafik şeklinde verilmiştir.

#### 4.10 Moleküler Docking Sonuçları

40ME, 1OCE, 1R47, 2CAB, 3DC3, 2TCL, 4YM9 ve 2PE4 proteinleri karşısında thiazolidin-2,4-dion, rhodanine, hydantoin, 2-thiohydantoin, 3-aminorhodanine ve creatinine bileşiklerinin bağlanma davranışları Tablo 4.68’de sunulmuştur. Bu tabloda, moleküler docking çalışması kapsamında incelenen protein–ligand eşleşmeleri ve değerlendirilen molekül grupları özetlenmiştir.

Tablo 4.68: Seçili proteinler karşısında test bileşiklerinin bağlanma davranışları.

|      |                      |
|------|----------------------|
| 40ME | Asetilkolinesteraz   |
| 1OCE | Bütirilkolinesteraz  |
| 1R47 | $\alpha$ -GLİ        |
| 2CAB | Karbonik Anhidraz I  |
| 3DC3 | Karbonik Anhidraz II |
| 2TCL | Kolajenaz            |
| 4YM9 | Elastaz              |
| 2PE4 | Hyaluronidase        |

Bağlanma etkileşimlerine ait sayısal docking parametreleri Tablo 4.69’da verilmiştir. Docking skorları incelendiğinde, hydantoin, 2-thiohydantoin ve thiazolidin-2,4-dion türevlerinin çoğu hedef protein karşısında daha düşük (daha negatif) docking skorları sergilediği görülmektedir. Buna karşılık creatinine türevinin birçok protein için daha yüksek

docking skorları göstermesi, bu molekülün bağlanma gücünün görece daha sınırlı olduğunu düşündürmektedir.

Glide ligand verimliliği (ligand efficiency) değerleri değerlendirildiğinde, hydantoin ve 2-thiohydantoin türevlerinin küçük ve kompakt yapıları sayesinde daha avantajlı değerler sunduğu görülmektedir. Rhodanine ve creatinine gibi daha büyük veya daha polar gruplar içeren moleküllerde ise ligand verimliliği değerlerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu durum, hydantoin iskeletinin kompakt yapısı ile birlikte hidrojen bağı verici ve alıcı gruplar içermesiyle ilişkilendirilmektedir.

Glide hbond skorları açısından yapılan değerlendirmede, hydantoin ve 2-thiohydantoin türevlerinin proteinlerin aktif bölgelerinde daha güçlü hidrojen bağları kurabildiği görülmektedir. 3-aminorhodanine ve creatinine türevlerinde ise hidrojen bağı katkılarının daha sınırlı olduğu belirlenmiştir. Bu bulgu, söz konusu moleküllerde aktif bölge ile etkileşime giren hidrojen bağı ağının daha düşük etkinlikle oluştuğunu göstermektedir.

Van der Waals ve elektrostatik etkileşimleri temsil eden Glide evdw ve Glide ecoul değerleri incelendiğinde, birçok protein için van der Waals katkısının hydantoin ve thiazolidin-2,4-dion türevlerinde daha belirgin olduğu görülmektedir. Elektrostatik etkileşimler açısından ise özellikle 2-thiohydantoin türevlerinin öne çıktığı anlaşılmaktadır. Sülfür atomunun yüksek polarize edilebilirliği, bu moleküllerin özellikle yüklü amino asit kalıntılarıyla daha güçlü elektrostatik etkileşimler kurabilmesine olanak sağlamaktadır.

Bağlanma komplekslerinin genel stabilitesini yansıtan Glide emodel değerleri değerlendirildiğinde, hydantoin türevlerinin özellikle bütirilkolinesteraz (1OCE) ve karbonik anhidraz I (2CAB) proteinlerinde daha kararlı kompleksler oluşturduğu görülmektedir. Creatinine türevinin ise çoğu protein için daha yüksek emodel değerleri sergileyerek bağlanma kararlılığı açısından zayıf bir profil ortaya koyduğu anlaşılmaktadır. Benzer şekilde Glide energy parametreleri de hydantoin ve 2-thiohydantoin türevlerinin çoğu protein karşısında daha düşük toplam bağlanma enerjilerine sahip olduğunu göstermektedir.

Protein–ligand etkileşimlerinin üç boyutlu gösterimleri Şekil 4.167–Şekil 4.174’te sunulmuştur. Bu şekillerde, farklı molekül sınıflarının asetilkolinesteraz, bütirilkolinesteraz,

$\alpha$ -glikozidaz, karbonik anhidraz izoenzimleri, kolajenaz, elastaz ve hyaluronidaz enzimlerinin aktif bölgeleriyle kurdukları hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler ve bağlanma konformasyonları görsel olarak gösterilmiştir. Görsel analizler, Tablo 4.69’da sunulan sayısal docking sonuçlarıyla uyumlu biçimde, hydantoin, 2-thiohydantoin ve thiazolidin-2,4-dion türevlerinin aktif bölgelerde daha etkin bağlanabildiğini ortaya koymaktadır.

Glide internal enerji değerleri incelendiğinde, hydantoin ve thiazolidin-2,4-dion türevlerinin rijit halka yapıları sayesinde daha düşük deformasyon enerjilerine sahip olduğu, creatinine türevinin ise bağlanma sırasında daha yüksek yapısal deformasyon maliyeti gösterdiği belirlenmiştir. Glide posenum değerleri, bazı moleküllerin bağlanma cebine uyum sağlayabilecek birden fazla stabil konformasyon sunabildiğini, creatinine türevinin ise daha sınırlı sayıda bağlanma pozisyonu sergilediğini göstermektedir.

Genel olarak Tablo 4.69 ve Şekil 4.167–Şekil 4.174 birlikte değerlendirildiğinde; hydantoin, 2-thiohydantoin ve thiazolidin-2,4-dion türevlerinin asetilkolinesteraz, bütirikolinesteraz,  $\alpha$ -glikozidaz, karbonik anhidraz izoenzimleri, kolajenaz ve elastaz gibi farklı hedef proteinler karşısında daha güçlü ve daha kararlı bağlanma profilleri sergilediği; rhodanine ve 3-aminorhodanine türevlerinin orta düzeyde etkileşim gösterdiği; creatinine türevinin ise tüm docking parametreleri açısından daha zayıf bir bağlanma profiline sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Bu bulgular, özellikle hydantoin ve thiazolidinedion iskeletlerinin inhibitör tasarımı açısından güçlü farmakofor adayları olduğunu desteklemektedir.

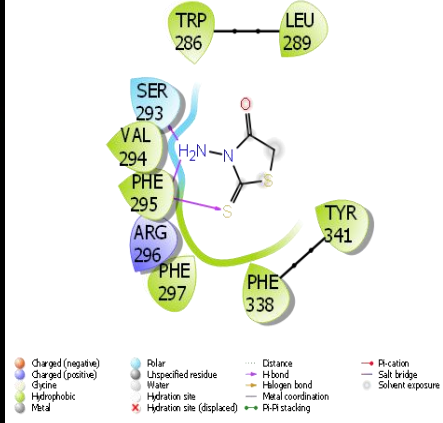
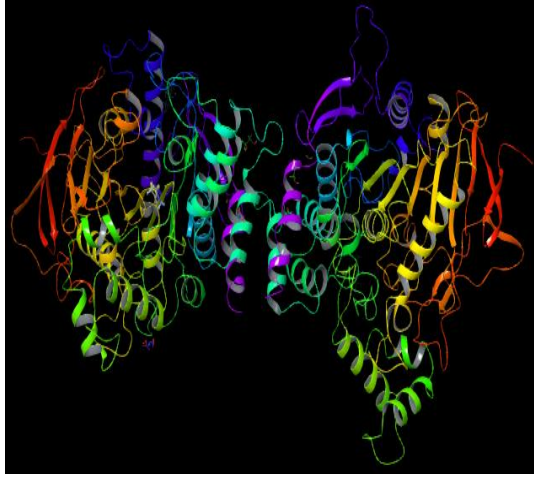
Moleküler docking analizleri ile deneysel enzim inhibisyon sonuçları genel eğilimler açısından uyumlu olmakla birlikte, bazı protein–ligand eşleşmelerinde birebir bir örtüşme gözlenmemiştir. Bu durum, moleküler docking çalışmalarının protein ve ligandları statik yapılar üzerinden değerlendirmesinden kaynaklanabilmektedir. Enzim inhibisyon deneyleri ise biyolojik ortamın dinamik koşullarını yansıttığından, bileşiklerin gerçek inhibisyon potansiyelini daha kapsamlı şekilde ortaya koymaktadır. Özellikle aktif bölge esnekliği yüksek olan  $\alpha$ -glikozidaz ve elastaz gibi enzimlerde, protein konformasyonundaki değişimler ve çözelti etkileri docking skorları ile deneysel veriler arasında farklılıklara yol açabilmektedir. Bu nedenle moleküler docking sonuçları, deneysel verileri destekleyen ve açıklayan tamamlayıcı bir yöntem olarak değerlendirilmelidir.

Tablo 4.69: Molekülün proteinlere karşı docking parametrelerine ait sayısal değerler

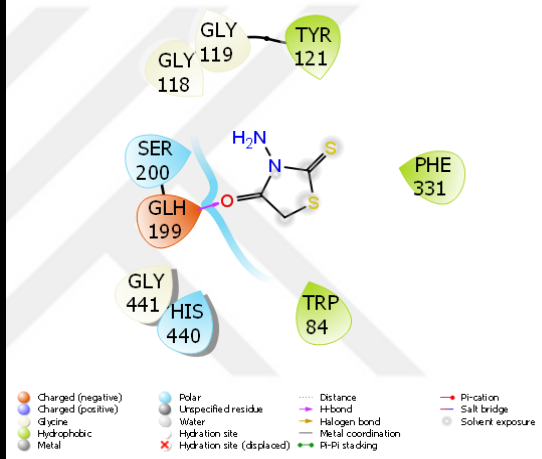
| 40ME                  | Docking Score | Glide ligand efficiency | Glide hbond | Glide evdw | Glide ecoul | Glide emodel | Glide energy | Glide einternal | Glide posenum |
|-----------------------|---------------|-------------------------|-------------|------------|-------------|--------------|--------------|-----------------|---------------|
| Thiazolidin-2,4-dione | -5.39         | -0.77                   | -0.59       | -14.39     | -6.79       | -28.62       | -21.17       | 0.00            | 93            |
| Rhodanine             | -6.35         | -0.91                   | -0.46       | -19.49     | -4.36       | -33.05       | -23.85       | 0.00            | 253           |
| Hydantoin             | -5.87         | -0.84                   | -0.60       | -15.83     | -7.45       | -31.63       | -23.29       | 0.00            | 62            |
| 2-Thiohydantoin       | -6.25         | -0.89                   | -0.54       | -17.97     | -5.10       | -31.97       | -23.07       | 0.00            | 378           |
| 3-Aminorhodanine      | -6.73         | -0.84                   | -0.59       | -20.52     | -7.03       | -38.63       | -27.55       | 0.00            | 381           |
| Creatinine            | -6.12         | -0.77                   | -0.32       | -17.90     | -8.52       | -36.71       | -26.42       | 0.00            | 374           |
| 1OCE                  | Docking Score | Glide ligand efficiency | Glide hbond | Glide evdw | Glide ecoul | Glide emodel | Glide energy | Glide einternal | Glide posenum |
| Thiazolidin-2,4-dione | -5.90         | -0.84                   | -0.61       | -10.08     | -13.87      | -34.14       | -23.96       | 0.00            | 59            |
| Rhodanine             | -5.44         | -0.78                   | -0.32       | -21.91     | -2.81       | -32.77       | -24.72       | 0.00            | 31            |
| Hydantoin             | -6.00         | -0.86                   | -0.61       | -11.85     | -11.95      | -32.40       | -23.79       | 0.00            | 122           |
| 2-Thiohydantoin       | -5.86         | -0.84                   | -0.61       | -19.16     | -5.15       | -32.80       | -24.31       | 0.00            | 2             |
| 3-Aminorhodanine      | -6.07         | -0.76                   | -0.37       | -20.07     | -7.23       | -37.08       | -27.30       | 0.00            | 147           |
| Creatinine            | -6.06         | -0.76                   | -0.47       | -17.34     | -9.43       | -36.67       | -26.78       | 0.00            | 341           |
| 2CAB                  | Docking Score | Glide ligand efficiency | Glide hbond | Glide evdw | Glide ecoul | Glide emodel | Glide energy | Glide einternal | Glide posenum |
| Thiazolidin-2,4-dione | -4.57         | -0.65                   | -0.44       | -7.66      | -6.90       | -20.91       | -14.57       | 0.00            | 24            |
| Rhodanine             | -4.54         | -0.65                   | -0.32       | -15.02     | -5.16       | -25.62       | -20.18       | 0.00            | 156           |
| Hydantoin             | -4.66         | -0.67                   | -0.33       | -12.62     | -6.17       | -24.02       | -18.80       | 0.00            | 127           |
| 2-Thiohydantoin       | -5.56         | -0.79                   | -0.51       | -14.91     | -6.73       | -28.73       | -21.64       | 0.00            | 314           |
| 3-Aminorhodanine      | -4.88         | -0.61                   | -0.32       | -17.67     | -4.92       | -29.21       | -22.59       | 0.00            | 319           |
| Creatinine            | -4.77         | -0.60                   | -0.25       | -16.23     | -7.28       | -32.96       | -23.51       | 0.00            | 247           |

| <b>1R47</b>                  | <b>Docking Score</b> | <b>Glide ligand efficiency</b> | <b>Glide hbond</b> | <b>Glide evdw</b> | <b>Glide ecoul</b> | <b>Glide emodel</b> | <b>Glide energy</b> | <b>Glide einternal</b> | <b>Glide posenum</b> |
|------------------------------|----------------------|--------------------------------|--------------------|-------------------|--------------------|---------------------|---------------------|------------------------|----------------------|
| <b>Thiazolidin-2,4-dione</b> | -4.73                | -0.68                          | -0.3               | -19.48            | -6.51              | -35.98              | -26                 | 0                      | 26                   |
| <b>Rhodanine</b>             | -5.42                | -0.77                          | -0.54              | -20.28            | -6.21              | -37.43              | -26.49              | 0                      | 134                  |
| <b>Hydantoin</b>             | -6.29                | -0.9                           | -0.39              | -17.04            | -8.76              | -38.95              | -25.8               | 0                      | 51                   |
| <b>2-Thiohydantoin</b>       | -4.99                | -0.71                          | -0.37              | -18.46            | -6.8               | -35.03              | -25.26              | 0                      | 279                  |
| <b>3-Aminorhodanine</b>      | -6.28                | -0.78                          | -0.7               | -18.25            | -10.72             | -41.58              | -28.97              | 0                      | 71                   |
| <b>Creatinine</b>            | -5.19                | -0.65                          | -0.29              | -17.86            | -7.62              | -35.47              | -25.49              | 0                      | 56                   |
| <b>3DC3</b>                  | <b>Docking Score</b> | <b>Glide ligand efficiency</b> | <b>Glide hbond</b> | <b>Glide evdw</b> | <b>Glide ecoul</b> | <b>Glide emodel</b> | <b>Glide energy</b> | <b>Glide einternal</b> | <b>Glide posenum</b> |
| <b>Thiazolidin-2,4-dione</b> | -7.12                | -1.02                          | -0.61              | -10.02            | -7.16              | -37.27              | -17.18              | 0.00                   | 250                  |
| <b>Rhodanine</b>             | -4.47                | -0.64                          | -0.13              | -16.76            | -5.76              | -30.11              | -22.51              | 0.00                   | 111                  |
| <b>Hydantoin</b>             | -7.15                | -1.02                          | -0.61              | -8.49             | -10.07             | -43.26              | -18.56              | 0.00                   | 366                  |
| <b>2-Thiohydantoin</b>       | -4.52                | -0.65                          | -0.09              | -16.69            | -7.99              | -33.31              | -24.68              | 0.00                   | 355                  |
| <b>3-Aminorhodanine</b>      | -5.25                | -0.66                          | -0.32              | -20.07            | -7.13              | -37.01              | -27.21              | 0.00                   | 215                  |
| <b>Creatinine</b>            | -5.55                | -0.69                          | -0.56              | -14.35            | -11.56             | -37.54              | -25.92              | 0.00                   | 254                  |
| <b>2TCL</b>                  | <b>Docking Score</b> | <b>Glide ligand efficiency</b> | <b>Glide hbond</b> | <b>Glide evdw</b> | <b>Glide ecoul</b> | <b>Glide emodel</b> | <b>Glide energy</b> | <b>Glide einternal</b> | <b>Glide posenum</b> |
| <b>Thiazolidin-2,4-dione</b> | -5.28                | -0.75                          | -0.32              | -9.33             | -15.66             | -41.14              | -24.99              | 0.00                   | 277                  |
| <b>Rhodanine</b>             | -6.10                | -0.87                          | -0.54              | -22.42            | -3.79              | -39.98              | -26.21              | 0.00                   | 338                  |
| <b>Hydantoin</b>             | -5.04                | -0.72                          | -0.56              | -11.23            | -10.06             | -31.04              | -21.29              | 0.00                   | 77                   |
| <b>2-Thiohydantoin</b>       | -5.65                | -0.81                          | -0.37              | -23.76            | -2.78              | -37.66              | -26.53              | 0.00                   | 292                  |
| <b>3-Aminorhodanine</b>      | -5.25                | -0.66                          | -0.44              | -17.13            | -9.48              | -37.07              | -26.61              | 0.00                   | 18                   |
| <b>Creatinine</b>            | -5.55                | -0.69                          | -0.41              | -18.03            | -8.75              | -37.51              | -26.78              | 0.00                   | 340                  |
|                              |                      |                                |                    |                   |                    |                     |                     |                        |                      |

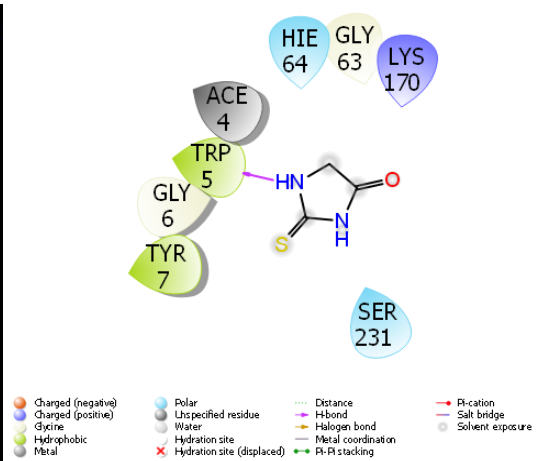
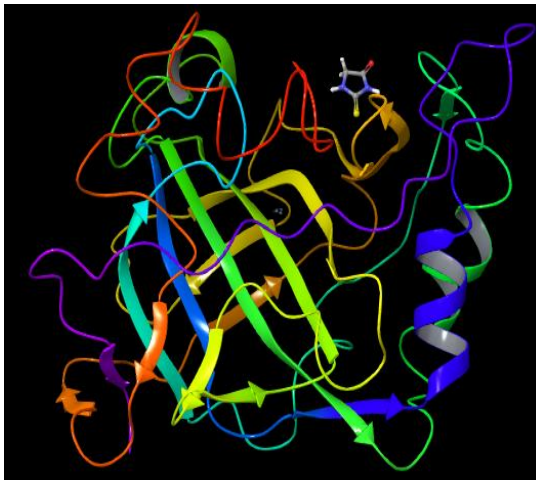
| <b>4YM9</b>                  | <b>Docking Score</b> | <b>Glide ligand efficiency</b> | <b>Glide hbond</b> | <b>Glide evdw</b> | <b>Glide ecoul</b> | <b>Glide emodel</b> | <b>Glide energy</b> | <b>Glide einternal</b> | <b>Glide posenum</b> |
|------------------------------|----------------------|--------------------------------|--------------------|-------------------|--------------------|---------------------|---------------------|------------------------|----------------------|
| <b>Thiazolidin-2,4-dione</b> | -3.97                | -0.57                          | -0.32              | -15.60            | -5.51              | -26.79              | -21.11              | 0.00                   | 294                  |
| <b>Rhodanine</b>             | -4.57                | -0.65                          | -0.24              | -16.97            | -3.48              | -26.20              | -20.46              | 0.00                   | 9                    |
| <b>Hydantoin</b>             | -4.31                | -0.62                          | -0.15              | -16.56            | -5.52              | -27.96              | -22.08              | 0.00                   | 309                  |
| <b>2-Thiohydantoin</b>       | -5.34                | -0.76                          | -0.55              | -14.99            | -6.47              | -28.85              | -21.46              | 0.00                   | 260                  |
| <b>3-Aminorhodanine</b>      | -4.04                | -0.51                          | 0.00               | -16.60            | -1.60              | -22.70              | -18.20              | 0.00                   | 261                  |
| <b>Creatinine</b>            | -5.00                | -0.63                          | -0.12              | -18.57            | -6.49              | -32.93              | -25.06              | 0.00                   | 347                  |
| <b>2PE4</b>                  | <b>Docking Score</b> | <b>Glide ligand efficiency</b> | <b>Glide hbond</b> | <b>Glide evdw</b> | <b>Glide ecoul</b> | <b>Glide emodel</b> | <b>Glide energy</b> | <b>Glide einternal</b> | <b>Glide posenum</b> |
| <b>Thiazolidin-2,4-dione</b> | -2.36                | -0.34                          | -0.05              | -2.25             | -11.81             | -0.05               | -11.34              | -9.52                  | 0.00                 |
| <b>Rhodanine</b>             | -                    | -                              | -                  | -                 | -                  | -                   | -                   | -                      | -                    |
| <b>Hydantoin</b>             | -                    | -                              | -                  | -                 | -                  | -                   | -                   | -                      | -                    |
| <b>2-Thiohydantoin</b>       | -0.79                | -0.11                          | -0.09              | -2.43             | -12.99             | -0.07               | -11.11              | -9.35                  | 0.00                 |
| <b>3-Aminorhodanine</b>      | -                    | -                              | -                  | -                 | -                  | -                   | -                   | -                      | -                    |
| <b>Creatinine</b>            | -3.81                | -0.48                          | -0.08              | -2.30             | -12.54             | -0.16               | -19.79              | -15.98                 | 0.00                 |



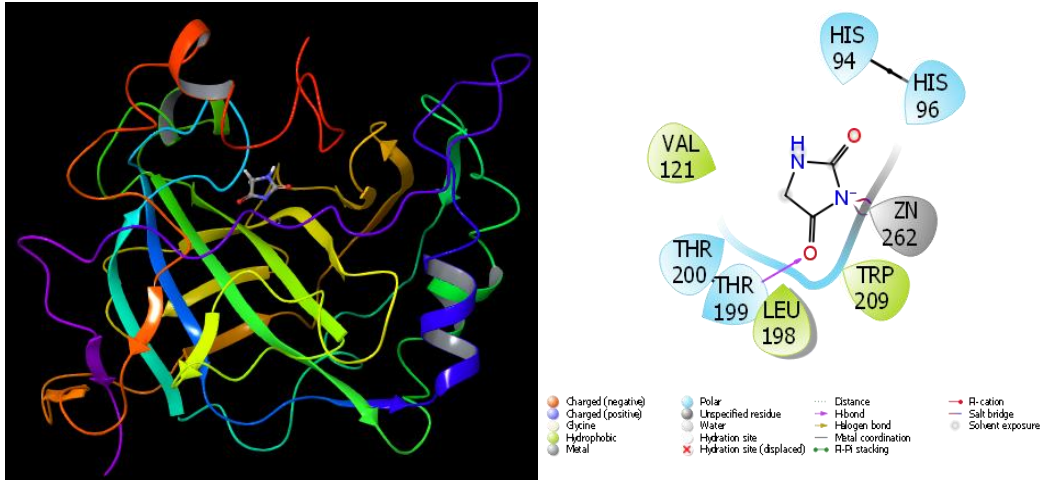
Şekil 4.166: 3-Aminorhodanine molekülünün AChE proteini ile etkileşimlerinin gösterimi



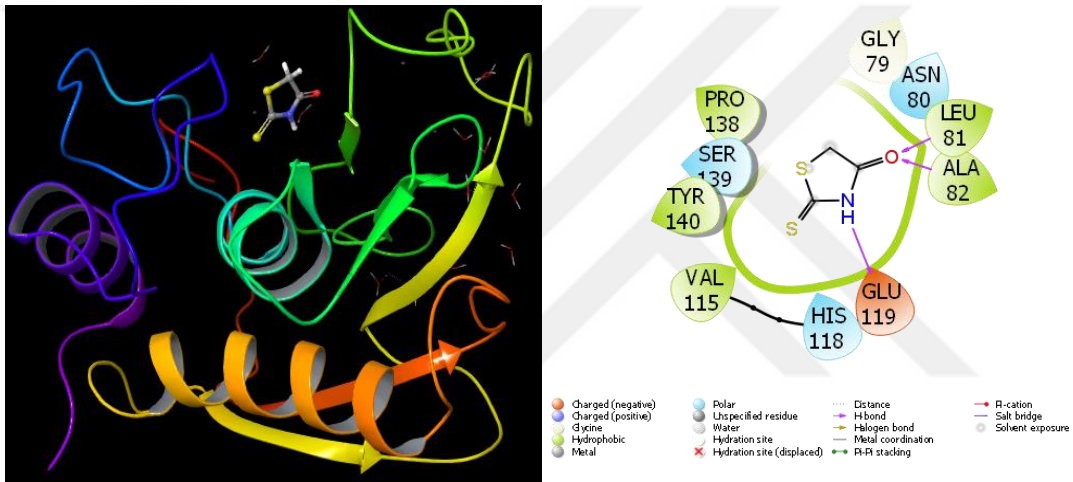
Şekil 4.167: 3-Aminorhodanine molekülünün BChE proteini ile etkileşimlerinin gösterimi



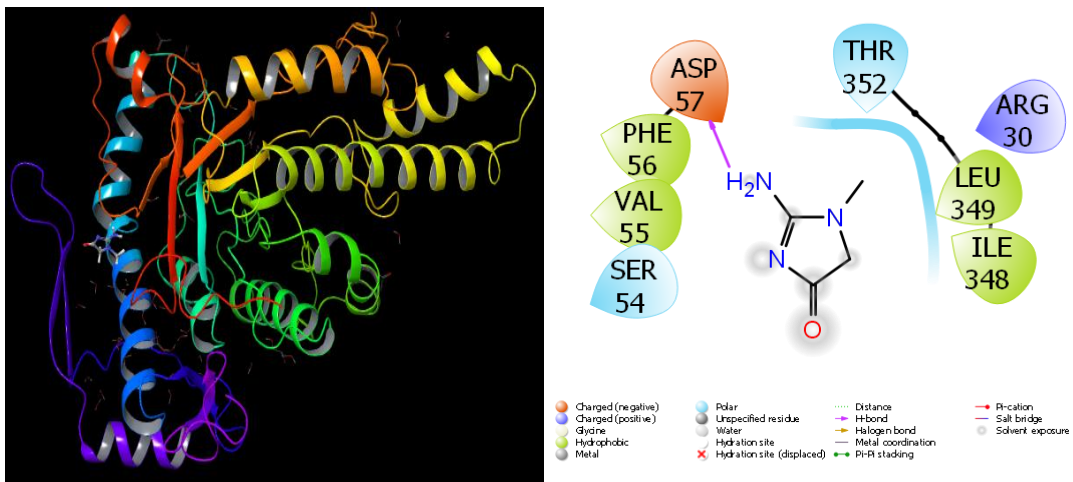
Şekil 4.168: 2-Thiohydantoin molekülünün hCA I enzimi ile etkileşimlerinin gösterimi



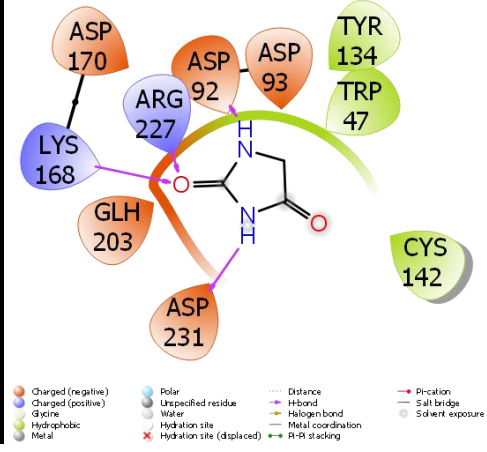
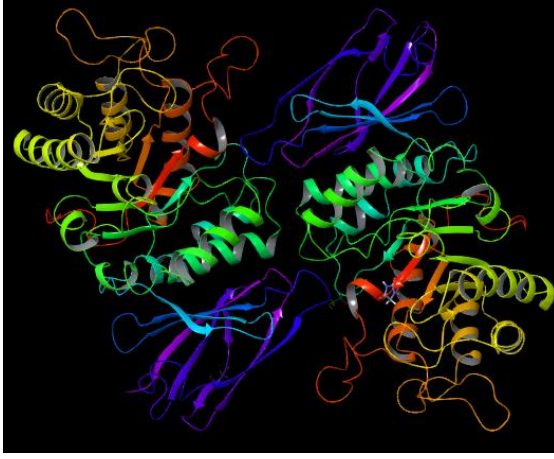
Şekil 4.169: Hydantoin molekülünün hCA II enzimi ile etkileşimlerinin gösterimi



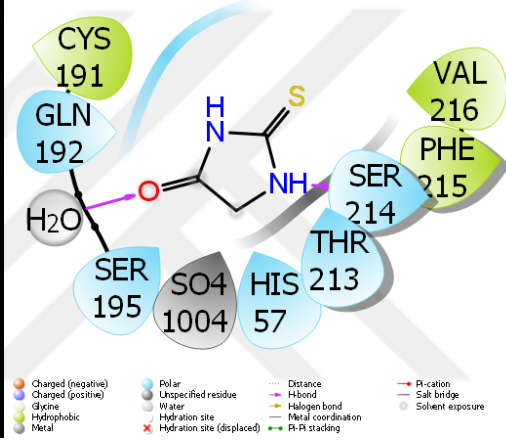
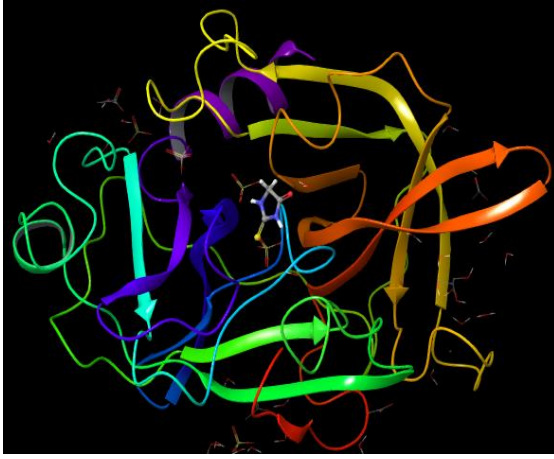
Şekil 4.170: Rhodanine molekülünün Kollajenaz enzimi ile etkileşimlerinin gösterimi



Şekil 4.171: Rhodanine molekülünün Hyaluronidaz enzimi ile etkileşimlerinin gösterimi



Şekil 4.172: Hydantoin molekülünün alfa-Gli enzimi ile etkileşimlerinin gösterimi



Şekil 4.173: 2-Thiohydantoin molekülünün Elastaz enzimi ile etkileşimlerinin gösterimi

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada thiazolidin-2,4-dion, hydantoin, 2-thiohydantoin, rhodanine, 3-aminorhodanine ve kreatinin türevlerinin biyolojik etkileri; enzim inhibisyon deneyleri, moleküler docking analizleri ve metal şelatlama sonuçları birlikte değerlendirilmiştir. Enzim inhibisyon deneylerinden elde edilen  $IC_{50}$  ve  $R^2$  değerleri Tablo 5.1’de sunulmuş olup, incelenen tüm bileşiklerin AChE, BChE,  $\alpha$ -glikozidaz, hCA I–II, kollajenaz, elastaz ve hiyalüronidaz enzimleri üzerinde inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir. Özellikle hydantoin ve thiazolidin-2,4-dion türevlerinin birçok enzim için daha düşük  $IC_{50}$  değerleri sergilediği ve diğer bileşiklere kıyasla daha dengeli ve güçlü bir biyolojik profil sunduğu görülmüştür. Bu durum, söz konusu bileşiklerin hem sinir sistemiyle ilişkili enzimler hem de metabolik ve inflamatuvar süreçlerde rol alan hedefler üzerinde belirgin bir inhibitör potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.

Moleküler docking analizleri, hydantoin ve thiazolidin-2,4-dion iskeletine sahip bileşiklerin asetilkolinesteraz, bütirilkolinesteraz,  $\alpha$ -glikozidaz, karbonik anhidraz izoenzimleri, kollajenaz ve elastaz proteinlerinin aktif bölgelerine uygun şekilde yerleştiğini ve kararlı etkileşimler oluşturduğunu ortaya koymuştur. Docking skorları, ligand verimliliği ve bağlanma enerjileri birlikte değerlendirildiğinde, bu bileşiklerin hedef proteinlerle daha avantajlı etkileşim profilleri sergilediği anlaşılmıştır. Bununla birlikte, özellikle aktif bölge esnekliği yüksek olan  $\alpha$ -glikozidaz ve elastaz enzimlerinde, docking sonuçları ile deneysel enzim inhibisyon verileri arasında birebir örtüşme her durumda gözlenmemiştir. Bu farklılıkların, moleküler docking çalışmalarının statik protein yapıları üzerinden yürütülmesinden ve biyolojik ortamın dinamik koşullarını tam olarak yansıtamamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu bağlamda, docking sonuçları deneysel verileri destekleyen ve açıklayan tamamlayıcı bir araç olarak değerlendirilmelidir.

Metal şelatlama deneyleri sonucunda, incelenen bileşiklerin tamamının metal iyonlarını bağlama kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bulgular, bileşiklerin metal şelatlama aktivitelerinin BHA ve BHT gibi standart antioksidanlara yakın, ancak güçlü bir şelatlayıcı olan EDTA’ya kıyasla daha düşük olduğunu göstermiştir. Buna rağmen, gözlenen metal şelatlama kapasitesinin, bileşiklerin antioksidan özelliklerini desteklediği ve enzim inhibisyon aktivitelerine katkı sağlayabilecek nitelikte olduğu değerlendirilmiştir.

Tüm sonuçlar birlikte ele alındığında, özellikle hydantoin ve thiazolidin-2,4-dion çekirdek yapılarını içeren bileşiklerin; sinir sistemi hastalıkları, diyabetle ilişkili enzimler ve inflamatuvar süreçler açısından ilaç geliştirme çalışmaları için güçlü adaylar olduğu sonucuna varılmıştır. Bu bileşiklerin gelecekte hücre kültürü ve hayvan modellerinde biyolojik etkilerinin araştırılması, güvenlik profillerinin ayrıntılı olarak incelenmesi ve yapısal optimizasyon çalışmalarının yapılması, daha etkili ve seçici yeni ilaç adaylarının geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.



Tablo 5.1: İncelenen bileşiklerin farklı enzimler üzerindeki inhibitör aktiviteleri (IC<sub>50</sub>) ve regresyon katsayıları (R<sup>2</sup>)

| Bileşik                      | AChE<br>IC <sub>50</sub> (nM)<br>/ R <sup>2</sup> | BChE<br>IC <sub>50</sub> (nM) /<br>R <sup>2</sup> | $\alpha$ -Gli<br>IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M) /<br>R <sup>2</sup> | hCA I<br>IC <sub>50</sub> (nM) / R <sup>2</sup> | hCA II<br>IC <sub>50</sub> (nM) / R <sup>2</sup> | Col<br>IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M) /<br>R <sup>2</sup> | ELA<br>IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M) /<br>R <sup>2</sup> | Hyal<br>IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M) /<br>R <sup>2</sup> |
|------------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| <b>Thiazolidin-2,4-dione</b> | 948,3±20<br>/ 0,9730                              | 1502,5±30 /<br>0,9727                             | 0,53±0,007<br>/ 0,9965                                           | 539,7±2 / 0,9894                                | 277,1±10 /<br>0,9899                             | 0,73±0,30 /<br>0,9816                                  | 5,38±0,10 /<br>0,9737                                  | 2,62±0,03 /<br>0,9795                                   |
| <b>Rhodanine</b>             | 585,9±5 /<br>0,9757                               | 1184,7±10 /<br>0,9774                             | 0,78±0,005<br>/ 0,9775                                           | 782,3±10 /<br>0,9821                            | 640,7±5 / 0,9881                                 | 1,00±0,009<br>/ 0,9840                                 | 6,73±0,07 /<br>0,9828                                  | 7,45±0,30 /<br>0,9798                                   |
| <b>Hydantoin</b>             | 352,1±11<br>/ 0,9466                              | 846,1±6 /<br>0,9923                               | 0,98±0,002<br>/ 0,9524                                           | 465,8±20 /<br>0,9623                            | 301,2±4 / 0,9911                                 | 3,64±0,01 /<br>0,9896                                  | 12,03±0,30<br>/ 0,9876                                 | 7,15±0,60 /<br>0,9753                                   |
| <b>2-Thiohydantoin</b>       | 961,8±18<br>/ 0,9740                              | 880,4±6 /<br>0,9593                               | 1,34±0,002<br>/ 0,9924                                           | 919,9±30 /<br>0,9605                            | 613,3±10 /<br>0,9804                             | 1,25±0,008<br>/ 0,9684                                 | 12,16±0,40<br>/ 0,9763                                 | 1,25±0,09 /<br>0,9847                                   |
| <b>3-Aminorhodanine</b>      | 433,4±5 /<br>0,9359                               | 1010±2 /<br>0,9881                                | 0,76±0,001<br>/ 0,9926                                           | 947±40 / 0,9930                                 | 631,7±30 /<br>0,9823                             | 0,73±0,003<br>/ 0,9879                                 | 7,73±0,20 /<br>0,9400                                  | 3,60±0,30 /<br>0,9856                                   |
| <b>Creatinine</b>            | 946,7±30<br>/ 0,9651                              | 830,3±30 /<br>0,9448                              | 1,47±0,04 /<br>0,9697                                            | 271,1±10 /<br>0,9905                            | 144,9±3 / 0,9812                                 | 1,25±0,03 /<br>0,9713                                  | 12,90±0,10<br>/ 0,9850                                 | 11,48±0,99<br>/ 0,9865                                  |
| <b>Referans</b>              | <b>Takrin:</b><br>660,6±4 /<br>0,965              | <b>Takrin:</b><br>876,6±14,6<br>/0,967            | <b>Akarboz:</b><br>0,27±0,006<br>/0,936                          | <b>Acetazolamide:</b><br>1010±10 / 0,9266       | <b>Acetazolamide:</b><br>945±6,6 / 0,9204        | <b>EGCG:</b><br>2,048±0,02<br>/0,984                   | <b>EGCG:</b><br>4,61±0,05<br>/0,916                    | <b>EGCG:</b><br>0,20±0,00 /<br>0,93                     |

## KAYNAKLAR

- Abdoli, M., Bonardi, A., Gratter, P., Supuran, C. T., ve Žalubovskis, R. (2024). Synthesis, carbonic anhydrase inhibition studies and modelling investigations of phthalimide–hydantoin hybrids. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 39(1), 2335927. <https://doi.org/10.1080/14756366.2024.2335927>.
- Agu, P. C., Afiukwa, C. A., Orji, O. U., Ezech, E. M., Ofoke, I. H., Ogbu, C. O., Ugwuja, E. I., ve Aja, P. M. (2023). Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management. *Scientific Reports*, 13(1), 13398.
- Ahsan, M. J., Azam, F., ve Bakht, M. A. (2022). Thiazolidin-2,4-dione scaffold: An insight into recent advances as antimicrobial, antioxidant, and hypoglycemic agents. *Molecules*, 27(19), 6763. <https://doi.org/10.3390/molecules27196763>.
- Akbulut, M. (2023). Manyetik özellikli ikili enzim-inorganik hibrit nano çiçeklerin sentezi, karakterizasyonu ve enzim aktivitesinin incelenmesi. Yüksek lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Amine, A., Arduini, F., Moscone, D., ve Palleschi, G. (2016). Recent advances in biosensors based on enzyme inhibition. *Biosensors and Bioelectronics*, 76, 180-194. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.07.010>.
- Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., ve Çapanoğlu, E. (2016). Antioxidant activity/capacity measurement. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(5), 997–1027. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04739>.
- Apakkan Aksun, S., Özmen, D., ve Bayındır, O. (2001). Metalloproteinazlar, inhibitörleri ve ilişkili fizyolojik ve patolojik durumlar. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 21(4), 332–342.
- Arjmand, B., Hamidpour, S. K., Alavi-Moghadam, S., Yavari, H., Shahbazbadr, A., Tavirani, M. R., Gilany, K., ve Larijani, B. (2022). Molecular docking as a therapeutic approach for targeting cancer stem cell metabolic processes. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 768556. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.768556>.
- Bayındır, S., Caglayan, C., Karaman, M., ve Gülçin, İ. (2019). The green synthesis and molecular docking of novel N-substituted rhodanines as effective inhibitors for carbonic anhydrase and acetylcholinesterase enzymes. *Bioorganic Chemistry*, 90, 103096. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103096>.
- Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Gatto, G. J., ve Stryer, L. (2019). *Biochemistry* (9th ed.). W. H. Freeman.
- Bingöl, G. (1977). Vitaminler ve enzimler. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi.
- Bingöl, Z. (2016). 1, 1, 2, 2-tetrakis (p-hidroksifenil) etan: İnsan karbonik anhidraz izoenzimleri I ve II, asetilkolinesteraz, bütirikolinesteraz, glutatyon S-transferaz

enzimleri üzerine inhibisyon etkisi ve antioksidan kapasitesinin incelenmesi. Yüksek lisans tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Calleja-Agius, J., Brincat, M., ve Borg, M. (2013). Skin connective tissue and ageing. *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 27(5), 727-740.
- Camargo, P. G., Fabris, M., Nakamae, M. Y. T., de Freitas Oliveira, B. G., da Silva Lima, C. H., de Fátima, Â., ve Macedo Jr, F. (2022). Thiohydantoin and hydantoin derived from amino acids as potent urease inhibitors: Inhibitory activity and ligand-target interactions. *Chemico-Biological Interactions*, 365, 110045.
- Cawston, T. E., ve Wilson, A. J. (2006). Understanding the role of tissue degrading enzymes and their inhibitors in development and disease. *Best Practice ve Research Clinical Rheumatology*, 20(5), 983-1002.
- Ceylan, R. (2022). Yeni bir seri 1,3-benzoksazol türevlerinin anti-elastaz aktivitelerinin incelenmesi. Yüksek lisans tezi, Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Cho, S., Kim, S. H., ve Shin, D. (2019). Recent applications of hydantoin and thiohydantoin in medicinal chemistry. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 164, 517-545.
- Chung, J. H., Seo, J. Y., Lee, M. K., Eun, H. C., Lee, J. H., Kang, S., Fisher, G. J., ve Voorhees, J. J. (2001). Ultraviolet modulation of human macrophage metalloelastase in human skin in vivo. *Journal of Investigative Dermatology*, 116(6), 915–919. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.2001.01352.x>.
- Csokaa, A. B., Frostb, G. I., ve Stern, R. (2001). The six hyaluronidase-like genes in the human and mouse genomes. *Matrix Biology*, 499-508.
- Colović, M. B., Krstić, D. Z., Lazarević-Pašti, T. D., Bondžić, A. M., ve Vasić, V. M. (2013). Acetylcholinesterase inhibitors: Pharmacology and toxicology. *Current Neuropharmacology*, 11(3), 315–335. <https://doi.org/10.2174/1570159X11311030006>.
- Copeland, R. A. (2016). *Evaluation of enzyme inhibitors in drug discovery: A guide for medicinal chemists and pharmacologists* (2nd ed.). Wiley.
- Çakmak, Y. S., Zengin, G., Eskin, B., Yıldırım, K., Topal, M., Aydın, G. H., Unlu, E., Baydemir, M., ve Erten, K. (2017). Medicago rigidula (L.) ALL.'nın antioksidan ve enzim inhibisyon aktiviteleri ve fenolik bileşiminin incelenmesi. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21(3), 522-529.
- Çağlar, N. (2022). Geobacillus kaustophilus'a (HTA426) ait hücre içi kollajenaz'ın (GK2549) klonlanması ve heterolog ifadesi. Yüksek lisans tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü.
- Çelik, M. (2024). Enzim inhibitörü pestisitlerin tayinine yönelik elektrokimyasal nanosensörlerin geliştirilmesi. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

- Çelikdemir Yıldırım, N. (2025). Deneyisel polikistik over sendromu (PKOS) oluşturulan ratlarda Maca kökü (*Lepidium meyenii*)'nün bazı biyokimyasal ve antioksidan parametreler üzerine etkisi. Yüksek lisans tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Chatonnet, A., ve Lockridge, O. (1989). Comparison of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase. *Biochemical Journal*, 260(3), 625-634.
- Checchi, V., Montebugnoli, L., Tarquini, B., ve Bruschi, S. (2020). The role of matrix metalloproteinases in periodontal disease. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(14), 4923. MDPI.
- Chincholkar, L., Ng, J. K. C., Acharya, R., ve Rokadia, H. (2023). Clinical relevance of serum creatinine in kidney function assessment: Current perspectives. *Journal of Clinical Nephrology and Renal Care*, 10(1), 1–9. <https://doi.org/10.23937/2572-3286.1510059>.
- Daniel, R. M., Danson, M. J., Eiseenthal, R., Lee, C. K., ve Peterson, M. E. (2008). The effect of temperature on enzyme activity: New insights and their implications. *Extremophiles*, 12(1), 51–59. <https://doi.org/10.1007/s00792-007-0089-7>.
- Das, U. N. (2012). Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as markers of low-grade systemic inflammation. *Annals of Hepatology*, 11(3), 409-411.
- Delanaye, P., Björk, J., Christensson, A., ve Grubb, A. (2021). Creatinine or cystatin C: What to use as estimation of glomerular filtration rate. *Clinical Chemistry*, 67(3), 441–450.
- de Oliveira, S., ve Saldanha, C. (2020). Neutrophil extracellular traps and their multiple roles in inflammatory disorders. *Clinical Biochemistry*, 79, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2020.02.010>.
- Derosa, G., ve Maffioli, P. (2012).  $\alpha$ -Glucosidase inhibitors and their use in clinical practice. *Archives of Medical Science*, 8(5), 899–906. <https://doi.org/10.5114/aoms.2012.31622>.
- Doğan, M., Koçyiğit, Ü. M., Çetin, F. N., Yılmaz, B. N., ve Taşkın, T. (2023). Composition characterization and biological activity study of *Achillea vermicularis* extract and extract-loaded nanoparticles. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 70(3), 1270-1278.
- Durgun, M., Akocak, S., Lolak, N., Topal, F., Koçyiğit, Ü. M., Türkeş, C., vd. (2024). Design and synthesis of pyrazole carboxamide derivatives as selective cholinesterase and carbonic anhydrase inhibitors: Molecular docking and biological evaluation. *ChemBioChem*, e202301824.
- Eydemir, H. (2010). Biyolojik aktif bazı maddelerin teorik olarak incelenmesi. Yüksek lisans tezi, Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Friesner, R. A., vd. (2004). Glide: A new approach for rapid, accurate docking and scoring. *Journal of Medicinal Chemistry*, 47, 1739–1749.
- Galeev, T. R., ve Nugmanov, R. I. (2021). Heterocyclic compounds: Structure, reactivity and biological significance. *Journal of Molecular Structure*, 1240, 130556. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130556>.
- Gökalp, Y. H., Nas, S., ve Certel, M. (2002). *Biyokimya-1, Temel yapıları ve kavramları* (3. baskı). Denizli.
- Greig, N. H., Utsuki, T., Yu, Q., Zhu, X., Holloway, H. W., Perry, T., Lee, B., Ingram, D. K., ve Lahiri, D. K. (2001). A New Therapeutic Target in Alzheimer's Disease Treatment: Attention to Butyrylcholinesterase. *Current Medical Research and Opinion*, 17(3), 159-165.
- Grinter, S. Z., ve Zou, X. (2014). Challenges, applications, and recent advances of protein-ligand docking in structure-based drug design. *Molecules*, 19(7), 10150-10176.
- Gupta, S., Jha, S., Rani, S., Arora, P., ve Kumar, S. (2024). Medicinal perspective of 2,4-thiazolidinediones derivatives: An insight into recent advancements. *ChemistryOpen*, 13(11), e202400147. <https://doi.org/10.1002/open.202400147>.
- Gupta, A., Sharma, R., ve Verma, P. (2025). Hydantoin-based privileged scaffolds in medicinal chemistry: Recent progress and future perspectives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 262, 115987. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2024.115987>.
- Guyot, N., ve Wehrle-Haller, B. (2021). Elastin and elastases: Biological functions and roles in diseases. *Matrix Biology Plus*, 12, 100079. <https://doi.org/10.1016/j.mbplus.2021.100079>.
- Gülçin, İ. (2012). Antioxidant activity of food constituents-An overview. *Archives of Toxicology*, 86(3), 345-391.
- Gülçin, İ., Topal, F., Çakmakçı, R., Gören, A. C., Bilsel, M., ve Erdoğan, U. (2011). Pomological features, nutritional quality, polyphenol content analysis and antioxidant properties of domesticated and three wild ecotype forms of raspberries (*Rubus idaeus* L.). *Journal of Food Science*, 76(4), C585-C593.
- Gülçin, İ., ve Alwasel, S. H. (2022). Metal ions, metal chelators and metal chelating assays as antioxidant methods. *Processes*, 10(1), 132. <https://doi.org/10.3390/pr10010132>.
- Günay, A. (2014). Yeni rodanin bileşiklerinin tiyazol-4, 5-dionlardan Wittig reaksiyonu ile sentezi. Yüksek lisans tezi, Bozok Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Güven, O. C. (2022). Bakır (Cu) nanoçiçeklerinin yeşil sentez yöntemi kullanılarak sentezlenmesi, karakterizasyonu, fotokatalitik, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Halliwell, B., ve Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free radicals in biology and medicine* (5th ed.). Oxford University Press.
- Hasanova, N. (2024). Fibromiyalji hastalarında karbonik anhidraz II otoantikorunun varlığının araştırılması. Yüksek lisans tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü.
- Hasanzade, S. (2023). Toprakta izole edilen mikroorganizmalardan lipaz enzimi izolasyonu ve karakterizasyonu. Yüksek lisans tezi, Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü.
- Havrylyuk, D., Zimenkovsky, B., Karpenko, O., Grellier, P., ve Lesyk, R. (2016). Synthetic approaches, structure–activity relationship and biological applications for pharmacologically attractive pyrazole/pyrazoline–thiazolidine-based hybrids. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 113, 145–166. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.02.030>.
- Heckmann, C. M., ve Paradisi, F. (2020). Looking back: A short history of the discovery of enzymes and how they became powerful chemical tools. *ChemCatChem*, 12(24), 6082–6102. <https://doi.org/10.1002/cctc.202001107>.
- Imtaiyaz Hassan, M., Shajee, B., Waheed, A., Ahmad, F., ve Sly, W. S. (2013). Structure, function and applications of carbonic anhydrase isozymes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21(6), 1570–1582. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2012.04.044>.
- Kabir, E. (2022). A review on biological and medicinal impact of heterocyclic compounds. *Results in Chemistry*, 4, 100606. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2022.100606>.
- Kalaycıoğlu, L., Serpek, B., Nizamlioğlu, M., Başpınar, N., ve Tiftik, A. M. (2006). *Biyokimya*. Nobel Yayın Dağıtım.
- Karaytuğ, T. (2024). Doğal ve mutant *Bacillus* sp. suşlarından farklı ısı kararlılığına sahip alkalın proteaz enzimlerinin izolasyonu, karakterizasyonu ve biyoteknolojik potansiyelinin araştırılması. Doktora tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kaul, A., Short, W. D., Wang, X., ve Keswani, S. G. (2021). Hyaluronidases in Human Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(6), 3204.
- Khan, H., Amin, S., Kamal, M. A., ve Patel, S. (2018). Flavonoids as acetylcholinesterase inhibitors: Current therapeutic standing and future prospects. *Biomedicine ve Pharmacotherapy*, 101, 860-870.
- Khirallah, H. M., Abdel-Mageed, W. M., ve El-Sayed, A. A. (2022). Design, synthesis and biological evaluation of 2-thiohydantoin derivatives as anti-inflammatory agents. *Molecules*, 27(19), 6271. <https://doi.org/10.3390/molecules27196271>.
- Khirallah, S. M., Ramadan, H. M. M., Shawky, A., Qahl, S. H., Baty, R. S., Alqadri, N., ... Saied, E. M. (2022). Development of novel 1,3-disubstituted-2-thiohydantoin

- analogues with potent anti-inflammatory activity: In vitro and in silico assessments. *Molecules*, 27(19), 6271. <https://doi.org/10.3390/molecules27196271>.
- Korkmaz, B., Horwitz, M. S., Jenne, D. E., ve Gauthier, F. (2010). Neutrophil elastase, proteinase 3, and cathepsin G as therapeutic targets in human diseases. *Pharmacological Reviews*, 62(4), 726–759. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002733>.
- Kraunsoe, J. A. E., Claridge, T. D. W., ve Lowe, G. (1996). Inhibition of human leukocyte elastase by peptide trifluoromethyl ketones. *Journal of the American Chemical Society*, 118(3), 709–710.
- Kumar, H., Aggarwal, N., Marwaha, M. G., Deep, A., Chopra, H., Matin, M. M., ve Al-Harrasi, A. (2022). Thiazolidin-2, 4-dione scaffold: an insight into recent advances as antimicrobial, antioxidant, and hypoglycemic agents. *Molecules*, 27(19), 6763.
- Kumar, A., Singh, AK, Singh, H., Vijayan, V., Kumar, D., Naik, J., Thareja, S., Yadav, JP, Pathak, P., Grishina, M., Verma, A., Khalilullah, H., Jaremko, M., Emwas, A.-H., Kumar, P. (2023). Nitrogen Containing Heterocycles as Anticancer Agents: A Medicinal Chemistry Perspective. *Pharmaceuticals*, 16 (2), 299. <https://doi.org/10.3390/ph16020299>.
- Lane, R. M., Potkin, S. G., ve Enz, A. (2006). Targeting acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in dementia. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5(3), 220–234. <https://doi.org/10.1038/nrd2053>.
- Layer, P. G., Allebrandt, K., Andermann, P., Bodur, E., Boopathy, R., Bytyqi, A. H., ve Paraoanu, L. E. (2005). On the multifunctionality of cholinesterases. *Chemico-Biological Interactions*, 37(41), 157-158.
- Lebovitz, H. E. (1997). Alpha-glucosidase inhibitors. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 26(3), 539–551. [https://doi.org/10.1016/S0889-8529\(05\)70266-8](https://doi.org/10.1016/S0889-8529(05)70266-8).
- Lee, S. H., Park, S. J., ve Choi, S.-Y. (2020). How and why are cancers acidic. *Cancers*, 12(6), 1616. <https://doi.org/10.3390/cancers12061616>.
- Liu, Y., Wang, J., Zhang, H., ve Wang, Z. (2022). Enzyme inhibition in toxicology and environmental risk assessment. *Toxicology Letters*, 356, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2021.11.006>.
- Maren, T. H., Jankowska, L., Sanyal, G., ve Edelhauser, H. F. (1983). The transcorneal permeability of sulfonamide carbonic anhydrase inhibitors and their effect on aqueous humor secretion. *Experimental Eye Research*, 36(4), 457-479. [https://doi.org/10.1016/0014-4835\(83\)90041-6](https://doi.org/10.1016/0014-4835(83)90041-6).
- McDonald, A. G., ve Tipton, K. F. (2023). Enzyme nomenclature and classification: the state of the art. *FEBS Journal*. <https://doi.org/10.1111/febs.16274>.

- Meng, X. Y., Zhang, H. X., Mezei, M., ve Cui, M. (2011). Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current Computer Aided Drug Design*, 7(2), 146-157.
- Mendonça, J. S., vd. (2022). Natural antioxidant evaluation: Detection, analysis, and bioavailability. *Molecules*, 27(11), 3563. <https://doi.org/10.3390/molecules27113563>.
- Mezoughi, A. Belgasem, Mohammed, W. Abdussalam and Ettarhouni, Z. O. (2021). Recent Biological Applications and Chemical Synthesis of Thiohydantoins. *Journal of Chemical Reviews*, 3(3), 196-218. doi: 10.22034/jcr.2021.285244.1111.
- Mixon, A., Kumar, P., ve Yu, H. (2021). An in vitro investigation to understand the synergistic role of MMPs and ADAMTSs in cartilage destruction during arthritis. *Scientific Reports*, 11, Article 14432. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93744-1>.
- Morris, G. M., ve Lim-Wilby, M. (2008). Molecular docking. In A. R. Leach ve S. J. Leach (Eds.), *Molecular modeling of proteins* (pp. 365–382). Humana Press. [https://doi.org/10.1007/978-1-60327-058-8\\_19](https://doi.org/10.1007/978-1-60327-058-8_19).
- Munteanu, I. G., ve Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *Molecules*, 26(14), 4306. <https://doi.org/10.3390/molecules26144306>.
- Nelson, D. L., ve Cox, M. M. (2005). *Lehninger principles of biochemistry* (4. baskı). W. H. Freeman.
- Nelson, D. L., ve Cox, M. M. (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry* (7th ed.). W.H. Freeman.
- Nelson, D. L., Cox, M. M., ve Hoskins, A. A. (2021). *Lehninger principles of biochemistry* (8. baskı). W. H. Freeman.
- Nimse, S. B., ve Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*, 5(35), 27986–28006. <https://doi.org/10.1039/C4RA13315C>.
- Occhipinti, R., ve Boron, W. F. (2019). Role of carbonic anhydrases and inhibitors in acid–base physiology: insights from mathematical modeling. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(15), 3841. <https://doi.org/10.3390/ijms20153841>.
- Ochs, R. S. (2000). Understanding Enzyme Inhibition. *Journal of Chemical Education*, 77(11), 1453. <https://doi.org/10.1021/ed077p1453>.
- Özmen, H. D. (2015). Hiyalüronidaz enzim inhibitörleri. Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Petlichnaya, L. I. (1967). The dual reactivity of 3-aminorhodanine. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 3(2), 521-523.

- Pham-Huy, L. A., He, H., ve Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89–96.
- Pulik, Ł., Krzemiński, P., Prokop, J., Gałało, I., ve Kotela, A. (2023). Matrix metalloproteinases in rheumatoid arthritis and osteoarthritis: A state-of-the-art review. *Rheumatology Forum*, 9(3), 148–153. <https://doi.org/10.5114/rf.2023.130310>.
- Prior, R. L., Wu, X., ve Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>.
- Radzki, D., vd. (2024). Matrix metalloproteinases in the periodontium — vital in health and disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(5), 2763.
- Ring, B., Wrighton, S. A., ve Mohutsky, M. (2014). Reversible mechanisms of enzyme inhibition and resulting clinical significance. In B. Ring ve S. A. Wrighton (Eds.), *Enzyme kinetics in drug metabolism: Fundamentals and applications* (pp. 37–56). Springer.
- Saboury, A. A. (2009). Enzyme Inhibition and Activation: A General Theory. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 6(2), 219-229. <https://doi.org/10.1007/BF03245829>.
- Sahasrabudhe, A., ve Deodhar, M. (2010). Anti-hyaluronidase, anti-elastase activity of *Garcinia indica*. *International Journal of Botany*, 6(3), 299-303.
- Savaş, F. (2024). V. cracca L.'nin bazı metabolik enzimler üzerine inhibitör potansiyelinin belirlenmesi ve biyoaktif bileşiklerinin analizi. Yüksek lisans tezi, Muş Alparslan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Seçgin, Ö. (2013). Maya hücreleri ve invertaz enziminin poli(etilenoksit) elektronlarda tutuklanması. Yüksek lisans tezi, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Schrödinger Release 2023. Maestro, Protein Preparation Wizard, LigPrep, *Glide*. Schrödinger, LLC.
- Shende, P., Kasture, P., ve Gaud, R. S. (2018). Nanoflowers: The future trend of nanotechnology for multi-applications. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46(sup1), 413-422.
- Siedle, B., Hrenn, A., ve Merfort, I. (2007). Natural compounds as inhibitors of human neutrophil elastase. *Planta Medica*, 53(05), 401-420.
- Skariyachan, S., ve Garka, S. (2018). *Exploring the binding potential of carbon nanotubes and fullerene towards major drug targets of multidrug-resistant bacterial pathogens and their utility as novel therapeutic agents*. In A. M. Grumezescu (Ed.), *Fullerenes, graphenes and nanotubes* (pp. 1–29). William Andrew Publishing.

- Solak, B. (2025). Rosmarinik asit yüklü PLGA bazlı nanosistemlerin hazırlanması, karakterizasyonu ve antioksidan etkinliklerinin belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı.
- Sousa, S. F., Ramos, M. J., Lim, C., ve Fernandes, P. A. (2015). Relationship Between Enzyme/Substrate Properties and Enzyme Efficiency in Hydrolases. *ACS Catalysis*, 5(10), 5877-5887. <https://doi.org/10.1021/acscatal.5b00923>.
- Supuran, C. T. (2008). Carbonic anhydrases: Novel therapeutic applications for inhibitors and activators. *Nature Reviews Drug Discovery*, 7(2), 168–181. <https://doi.org/10.1038/nrd2467>.
- Supuran, C. T. (2016). Structure and function of carbonic anhydrases. *Biochemical Journal*, 473(14), 2023–2032. <https://doi.org/10.1042/BCJ20160115>.
- Taslimi, P. (2017). Olivetol'un antioksidan kapasitesinin belirlenmesi ve bazı metabolik enzimler üzerinde inhibisyon etkilerinin incelenmesi. Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Taslimi, P., Akıncıoğlu, H., ve Gülçin, İ. (2017). Synephrine and phenylephrine act as  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glycosidase, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, and carbonicanhydrase enzymes inhibitors. *PubMed*, 31(11), e21973.
- Taslimi, P., Osmanova, S., Gülçin, İ., Sardarova, S., Farzaliyev, V., Sujayev, A., Kaya, R., Koç, F., Beydemir, S., Alwasel, S. H., ve Kufreviöglu, O. I. (2017). Discovery of potent carbonic anhydrase, acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes inhibitors: the new amides and thiazolidine-4-ones synthesized on an acetophenone base. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. <https://doi.org/10.1002/jbt.21931>.
- Timur, Ç. (2023). RAT'larda doksorubisin uygulamasının glutasyon S-transferaz, asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzimleri üzerine aktivitesi; kafeik asitin etkisi. Yüksek lisans tezi, Iğdır Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü.
- Tomasic, T., ve Mašič, L. P. (2009). Rhodanine as a privileged scaffold in drug discovery. *Current Medicinal Chemistry*, 16(13), 1596–1629.
- Tüzün, B. (2020). Examination of anti-oxidant properties and molecular docking parameters of some compounds in human body. *Turkish Computational and Theoretical Chemistry*, 4(2), 76–87.
- Vandenberghe, L. S., ve MGBP, S. K. (2020). Chapter 2–classification of enzymes and catalytic properties. *İçinde S. P. Singh, A. Pandey, R. R. Singhanian, S. S. Kumar, ve D. V. D. D. C. S. L. V. G. A. Kumar (Ed.), Enzyme Technology (s. 11-30)*. Elsevier.
- van de Laar, F. A., Lucassen, P. L., Akkermans, R. P., van de Lisdonk, E. H., Rutten, G. E., ve van Weel, C. (2005). Alpha-glucosidase inhibitors for type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (2), CD003639. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003639.pub2>.

- van de Laar, F. A. (2008). Alpha-glucosidase inhibitors in the early treatment of type 2 diabetes. *Vascular Health and Risk Management*, 4(6), 1189–1195. <https://doi.org/10.2147/vhrm.s3119>.
- Verma, A., ve Saraf, S. K. (2008). 4-Thiazolidinone – A biologically active scaffold. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 43(5), 897–905. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2007.07.017>.
- Voet, D., ve Voet, J. G. (2016). *Biochemistry* (5. baskı). Wiley.
- Wang, Z. D., Sheikh, S. O., ve Zhang, Y. (2006). A simple synthesis of 2-thiohydantoin. *Molecules*, 11(10), 739-750.
- Wang, G.-C., Peng, Y.-P., Xie, Z.-Z., Wang, J., ve Chen, M. (2017). Synthesis,  $\alpha$ -glucosidase inhibition and molecular docking studies of novel thiazolidine-2,4-dione or rhodanine derivatives. *MedChemComm*, 8(7), 1477–1484. <https://doi.org/10.1039/c7md00173h>.
- Wanigasekera, W. M. P. N., ve Ratnasooriya, W. D. (2014). In vitro anti-hyaluronidase activity of Sri Lankan low grown orthodox orange pekoe grade black tea (*Camellia sinensis* L.). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(12), 959–963.
- Wensing, A. M. J., Calvez, V., Ceccherini-Silberstein, F., Charpentier, C., Günthard, H. F., Paredes, R., ... Vandamme, A. M. (2019). 2019 update of the drug resistance mutations in HIV-1. *Topics in Antiviral Medicine*, 27(3), 111–121.
- Wu, F., Jiang, H., Zheng, B., Kogiso, M., Yao, Y., Zhou, C., Wang, Z., ve Song, Y. (2015). Inhibition of cancer-associated mutant isocitrate dehydrogenases by 2-thiohydantoin compounds. *Journal of Medicinal Chemistry*, 58(17), 6899-6908.
- Yılmaz, G. (2025). İki farklı rakımdan elde edilen kestane (*Castanea sativa* Mill.) ballarının fizikokimyasal, antioksidan ve biyoaktif özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Yurtseven, L. (2014). Bazı rodanin türevlerinin biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

## EKLER

**Ek 1:** Yapay zekâ kullanım tablosu

| No | Yapay Zekâ Aracı | Kullanım Amacı                                                      | Kullanıldığı Bölüm | Kullanım Şekli                                                                 |
|----|------------------|---------------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
|    | ChatGPT          | İngilizce özet yazımında dil bilgisi ve ifade bütünlüğünün kontrolü | Özet               | Dilbilgisi, yazım ve ifade hatalarının tespiti için öneri amaçlı kullanıldı.   |
|    | ChatGPT          | Akademik metinlerde dil bilgisi ve yazım hatalarının kontrolü       | Giriş, Bulgular    | Mevcut metinler üzerinde dilbilgisel düzenleme önerileri alındı.               |
|    | ChatGPT          | Kaynakça biçimlendirme desteği                                      | Kaynaklar          | Kaynakların APA 7 formatına uygunluğunun kontrol edilmesi amacıyla kullanıldı. |

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Zeynep Karaoğlu

### Eğitim Durumu

Lisans Öğrenimi : Bartın Üniversitesi/ Biyoteknoloji  
Yüksek Lisans Öğrenimi : Bartın Üniversitesi/ Biyoteknoloji A.B.D.  
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce  
Bilimsel Faaliyet/Yayınlar : Mahmudov, I., Ibrahimova, B., Taslimi, P., Sadeghian, N., Karaoğlu, Z., Taskin-Tok, T., ve Gulçin, İ. (2024). Synthesis, characterization, crystal structure, molecular docking, and biological studies of Cu, Ni and Co metal complexes of pyrazole. Journal of Molecular Structure, 1309, 138205.  
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.138205>

### İş Deneyimi

Stajlar : Tarım ve Orman Bakanlığı Şap Enstitüsü Müdürlüğü  
Projeler ve Kurs Belgeleri : Güneş Kremleri ve Güneş Losyonlarında Kullanılmak Üzere Fotoliz Enziminin Rekombinant Üretimi/ Tübitak 2209-B  
Çalıştığı Kurumlar : Desteklab- Biyoteknolog  
Sanitrum Biyoteknoloji A.Ş. – Araştırma ve Geliştirme Uzmanı

