

T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**α -GLUKOZİDAZ VE ELASTAZ ENZİM AKTİVİTELERİNE İLK
DEFA SENTEZLENEN EPEREZOLİD BENZERİ BİLEŞİKLERİN
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Aylin KURT

Enstitü Anabilim Dalı : Kimya

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Bahar BİLGİN SÖKMEN

Nisan 2019

T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

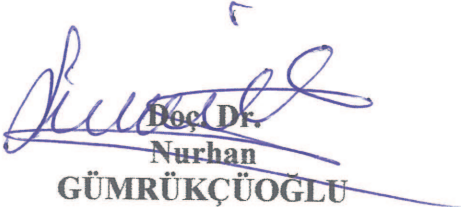
**α -GLUKOZİDAZ VE ELASTAZ ENZİM AKTİVİTELERİNE İLK
DEFA SENTEZLENEN EPEREZOLİD BENZERİ BİLEŞİKLERİN
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

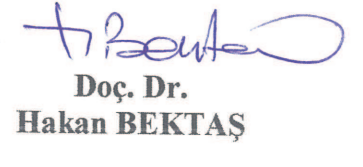
Aylin KURT

Enstitü Anabilim Dalı : Kimya

Bu tez 30/04/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.


Doç. Dr.
Nurhan
GÜMRÜKÇÜOĞLU
Jüri Başkanı


Prof. Dr.
Bahar BİLGİN
SÖKMEN
Üye


Doç. Dr.
Hakan BEKTAŞ
Üye

Doç. Dr. Bahadır KOZ
Enstitü Müdürü

BEYAN

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

Aylin KURT

30/04/2019

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca, tez çalışmalarımın yürütülmesi ve değerlendirilmesinde yardım ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Bahar BİLGİN SÖKMEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, her zaman yanımda olan ve bugünlere gelmemi sağlayan annem Fatma KURT'a ve aileme en içten duygularıyla teşekkürlerimi sunarım.

Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyon Başkanlığına (Proje No: FEN-BAP-C-160317-12) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VII
TABLOLAR LİSTESİ	VIII
ÖZET.....	IX
SUMMARY	X

BÖLÜM 1. GİRİŞ	1
1.1. Enzimler	3
1.2. Enzimlerin Genel Özellikleri	4
1.3. Enzimlerin Yapısı.....	5
1.4. Enzimlerin Sınıflandırılması	7
1.5. Enzim Aktivite Birimleri.....	8
1.6. Enzimatik Aktiviteyi Etkileyen Faktörler	9
1.6.1. Substrat Konsantrasyonu.....	9
1.6.2. Enzim Konsantrasyonu	10
1.6.3. Zaman.....	10
1.6.4. pH'ın Etkisi	10
1.6.5. Sıcaklığın Etkisi	11
1.6.6. Enzim İnhibisyonu	11
1.6.6.1. Dönüşümlü İnhibisyon	12
1.6.6.1.1. Yarışmalı (Kompetitif) İnhibisyon.....	12
1.6.6.1.2. Yarışmasız (Nonkompetitif) İnhibisyon	13
1.6.6.1.3. Yarı Yarışmalı (Unkompetitif) İnhibisyon.....	13
1.6.6.2. Dönüşümsüz İnhibisyon.....	14
1.7. Enzimlerin Endüstriyel Kullanım Alanları	14
1.8. α -Glukozidaz Enzimi	16
1.8.1. α -Glukozidaz Enziminin Moleküler Özellikleri	16

1.8.2. α -Glukozidaz Enziminin Sınıflandırılması	17
1.8.3. α -Glukozidaz Enziminin Uygulama Alanları	17
1.8.4. α -Glukozidaz Enzim İnhibitörleri	18
1.8.4.1. Akarboz.....	19
1.8.4.2. Miglitol.....	20
1.8.4.3. Vogliboz.....	21
1.8.5. α -Glukozidaz Enziminin Klinik Kullanımı.....	21
1.8.6. Tip 2 Diabetes Mellitus.....	22
1.9. Proteazlar.....	23
1.9.1. Ekzopeptidazlar.....	24
1.9.2. Endopeptidazlar.....	24
1.9.2.1. Serin Proteazlar	24
1.9.2.1.1. Elastaz Enzimi.....	24
1.9.2.1.1.1. Elastin.....	29
1.9.2.1.1.2. Kolajen	31
1.9.3. Elastaz Enziminin Klinik Kullanımı	33
1.10. Antimikrobiyal Ajanlar	34
1.11. Antimikrobiyal Ajanların Etki Mekanizması.....	35
1.11.1. Oksazolidinonlar	35
1.11.1.1. Eperezolid	36
1.11.1.2. Linezolid	36
 BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	 38
 BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	 41
3.1. Materyal	41
3.1.1. Deneylerde Kullanılan Cihazlar.....	41
3.1.2. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	41
3.1.3. Deneylerde Kullanılan Eperezolid Benzeri Bileşikler	41
3.2. Yöntem.....	44
3.2.2. Anti- α -Glukozidaz Enzim Aktivitesinin Tayini.....	44
3.2.3. Anti-Elastaz Enzim Aktivitesinin Tayini	45

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	47
4.1. Anti- α -Glukozidaz Aktivitesi Tayini Sonuçları.....	47
4.2. Anti-Elastaz Aktivitesi Tayini Sonuçları	48
 BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ	50
 KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	65



SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

AST	: Aspartat Aminotransferaz
ATP	: Adenozin Trifosfat
ALT	: Alanin Aminotransferaz
A1AT	: Alfa-1 Antitripsin
α	: Alfa
β	: Beta
$^{\circ}\text{C}$	: Santigrat Derece
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DM	: Diabetes Mellitus
DMSO	: Dimetilsülfoksit
E.C	: Enzim Komisyonu
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FE-1	: Fekal Pankreatik Elastaz 1
GTP	: Guanozin Trifosfat
HIV	: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
HNE	: İnsan Nötrofil Elastazı
HLE	: İnsan Lökosit Elastazı
IUBMB	: Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği
KOAH	: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
kg	: Kilogram
kDA	: Kilo Dalton
μg	: Mikrogram
μM	: Mikromolar
$\mu\text{g/mL}$	: Mikrogram / Mililitre
mM	: Milimolar
mg/mL	: Miligram/Mililitre
mg/dL	: Miligram/Desilitre
mL	: Mililitre
M	: Molar
nM	: Nanomolar

nm	: Nanometre
U/mL	: Enzim Ünite/Mililitre
USD	: Amerikan Doları
PNP-G	: P-Nitrofenil α -D-Glukopiranozid
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
STANA	: N-Succinyl-Ala-Ala-Ala- <i>p</i> -nitroanilide
Tris-HCl	: Tris Hidroklorür
Tip 1 DM	: Tip 1 Diabetes Mellitus
Tip 2 DM	: Tip 2 Diabetes Mellitus
UV	: Ultraviyole
WBS	: Williams-Beuren Sendromu
%	: Yüzde

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Enzimatik Reaksiyon.	5
Şekil 1.2. Anahtar-Kilit Modeli.	5
Şekil 1.3. Enzimlerin birincil, ikincil, üçüncül ve dördüncül yapıları.	6
Şekil 1.4. Substrat miktarının reaksiyon hızına etkisi.	9
Şekil 1.5. Enzim konsantrasyonunun reaksiyon hızına etkisi.	10
Şekil 1.6. Sıcaklığın tepkime hızına etkisi.	11
Şekil 1.7. İnhibitörün reaksiyon hızına etkisi.	12
Şekil 1.8. Yarışmalı inhibisyon.	12
Şekil 1.9. Yarışmasız inhibisyon.	13
Şekil 1.10. Yarı yarışmalı inhibisyon.	13
Şekil 1.11. α -Glukozidaz enziminin üç boyutlu yapısı.	16
Şekil 1.12. Akarbozun kimyasal yapısı.	20
Şekil 1.13. Miglitolün kimyasal yapısı.	20
Şekil 1.14. Voglibozun kimyasal yapısı.	21
Şekil 1.15. Proteaz hidroliz mekanizması.	23
Şekil 1.16. Elastaz enziminin üç boyutlu yapısı.	27
Şekil 1.17. Alvelestatın kimyasal yapısı.	27
Şekil 1.18. BAY 85-8501 kimyasal yapısı.	28
Şekil 1.19. Sivelestat kimyasal yapısı.	28
Şekil 1.20. Elastinin (a) aort, (b) akciğer, (c) bağ doku ve (d) kulak kıkırdağındaki morfolojisi ve organizasyonu.	29
Şekil 1.21. Doğal ve dış faktörlere bağlı yaşlanma ile kolajen ve elastik yapılarda gözlenen değişimler.	30
Şekil 1.22. Kolajen üçlü sarmalına genel bakış a) Kolajenin üçlü sarmalının ilk yüksek çözünürlüklü kristal yapısı b) Kolajen üçlü sarmalının boşluk doldurma, top ve şerit gösteriminin aşağıdan görüntüsü c) Kolajen üçlü sarmalının hidrojen bağları arasındaki merdiven yapısının top ve çubuk görüntüsü.	32
Şekil 1.23. Oksazolidinon yapısı.	35
Şekil 1.24. Eperezolidin Yapısı.	36
Şekil 1.25. Linezolidin Yapısı.	37

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 3.1. İlk Defa Sentezlenen Eperezolid Benzeri Bileşiklerin Numaraları ve Sistematik Adları.....	42
Tablo 4.1. İlk Defa Sentezlenen Eperezolid Benzeri Bileşiklerin α -Glukozidaz Aktivitesi.....	47
Tablo 4.2. İlk Defa Sentezlenen Eperezolid Benzeri Bileşiklerin Elastaz Aktivitesi.....	48



α -Glukozidaz ve Elastaz Enzim Aktivitelerine İlk Defa Sentezlenen Eperezolid Benzeri Bileşiklerin Etkisinin İncelenmesi

ÖZET

İnce bağırsak epiteli üzerinde bulunan α -glukozidaz (E.C.3.2.1.20) enzimi, sindirim sırasında α -1,4 bağlarıyla reaksiyona girerek nişasta ve karbohidratları glukozla dönüştüren bir hidrolazdır. Karbohidrat metabolizmasının bozukluğu ise glukozun hızlı bir şekilde salınmasına neden olarak kan glukoz seviyesini yükseltmekte ve diabetes mellitus riskini ortaya çıkarmaktadır. Diabetes mellitus, insülin hormonunun kısmen veya tamamen eksikliğine bağlı olarak gelişen kan glukozunun yüksekliği ile karakterize kronik bir metabolizma hastalığıdır. α -Glukozidaz aktivitesinin inhibisyonu, kanın postprandial glukoz seviyesini azaltmak için en etkili yaklaşımlardan biri olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, α -glukozidaz enzim inhibitörleri insüline bağımlı olmayan diabetes mellitus tedavisinde önemli rol oynamaktadır.

Serin proteazların kimotripsin ailesine ait önemli bir enzim olan elastazlar, cilt elastikiyetinden ve sağlamlığından sorumlu olan elastin ve kolajen gibi hücre dışı matris proteinlerinin parçalanmasından sorumludur. Elastaz enziminin artışı hücre dışı matris bileşenlerinin bozulmasına, elastik liflerin yapısında değişikliklere ve bunun sonucunda ise cildin elastik özelliklerinin azalmasına ve kırışıklık oluşumuna yol açmaktadır. Ayrıca elastaz enzimlerin düzensiz ve aşırı salınımı sağlıklı dokularda anormal bozulmalara neden olmakta ve bu durum ise kronik yaralara, iltihaplı hastalıklara neden olmaktadır. Bu farklı etkileri nedeniyle elastaz enzim inhibitörlerinin gelişimi; cilt elastikiyetinin korunması ve elastazla ilişkili hastalıkların kontrol edilmesinde fayda sağlayacağı düşünülmektedir.

Eperezolid, klinik olarak önemli birçok gram (+) bakterilere karşı bakteriyostatik aktiviteye sahip yeni bir sentetik antimikrobiyal sınıfı olan oksazolidinon türevi bir ajandır.

Bu çalışmada, α -glukozidaz ve elastaz enzim aktivitelerine ilk defa sentezlenen eperezolid benzeri bileşiklerin etkisi incelendi. α -Glukozidaz inhibisyon aktivitesi Khan ve ark., elastaz inhibisyon aktivitesi ise Moon ve ark. yöntemlerine göre spektrofotometrik olarak belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Anti- α -glukozidaz, Anti-elastaz, Eperezolid, İnhibitör

The Examination of the Effect of the Firstly Synthesized Compounds Like Eperezolid on the Enzyme Activities of α -Glucosidase and Elastase

SUMMARY

The α -glucosidase enzyme (E.C.3.2.1.20) on the small intestine epithelium is a hydrolase that converts starch and carbohydrates to glucose by reacting with α -1,4 bonds during digestion. The disorder of carbohydrate metabolism increases the blood glucose level and reveals the risk of diabetes mellitus by causing a rapid release of glucose. Diabetes mellitus is a chronic metabolic disease characterized by elevation of blood glucose that develops due to partial or total deficiency of insulin hormone. The inhibition of α -glucosidase activity is regarded as one of the most effective approaches to reduce postprandial glucose levels of blood. Therefore, α -glucosidase, enzyme inhibitors play an important role in the treatment of non-insulin dependent diabetes mellitus.

Elastases, an important enzyme belonging to the chymotrypsin family of serine proteases, are responsible for the fragmentation of extracellular matrix proteins such as elastin and collagen, which are responsible for skin elasticity and strength. The increase of elastase enzyme leads to deterioration of extracellular matrix components, changes in the structure of elastic fibers and consequently it leads reduction of elastic properties of the skin and formation of wrinkle. In addition, the irregular and excessive release of elastase enzymes cause abnormal distortions in healthy tissues and this causes chronic wounds and inflammatory diseases. The development of elastase enzyme inhibitors due to these different effects is regarded as beneficial for protecting the skin elasticity and controlling the elastase-associated diseases.

Eperezolid is an oxazolidinone-derived agent which is a novel class of synthetic antimicrobials having bacteriostatic activity against a number of clinically important gram (+) bacteria.

In this study, the examination of the effect of the firstly synthesized compounds like eperezolid on the enzyme activities of α -glucosidase and elastase. α -Glucosidase inhibition activity was determined by Khan et al., and elastase inhibition activity was determined by Moon et al. according to their methods spectrophotometrically.

Keywords: Anti- α -glucosidase, Anti-elastase, Eperezolid, Inhibitory

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Canlılığın sürdürülebilmesi özgün ve güçlü katalizörler olan enzimlerin varlığına bağlıdır [1]. Hücrelerdeki tüm kimyasal olaylar enzimler aracılığıyla gerçekleşir ve hücre içerisinde enzimi olmayan bir reaksiyonun kendiliğinden gerçekleşmesi hemen hemen mümkün değildir [2]. Enzimler; besinlerin ve enerjinin çevreden alınması, enerjinin dönüşümü, hücrelerin çoğalması gibi bütün hücresel fonksiyonların gerçekleşmesini sağlayan biyolojik katalizörlerdir [3]. Canlı sistemlerdeki kimyasal tepkimeleri hızlandıran enzimler, oldukça özelleşmiş proteinlerdir [1,3]. Kendilerine özel yapıları sayesinde enzimler, biyolojik olmayan katalizörlere kıyasla oldukça önemli ve endüstriyel potansiyele sahip özellik taşırlar [3]. Kimyasal tepkimeleri olağanüstü derecelerde hızlandırmaları, substratlarına karşı özgünlük göstermeleri, sulu çözeltilerde, çok ılıman sıcaklık ve pH'larda biyokimyasal reaksiyonları katalizlemeleri enzimlerin özellikleri arasında sıralanmaktadır ve biyolojik olmayan katalizörlerin ise sadece birkaçı bu özelliklerin tamamına sahiptirler [1,3].

Proteinlerin en büyük sınıfını oluşturan, kendilerine özel üç boyutlu yapılarla sahip olan enzimler; peptit zincirleri halinde, temel yapı elemanları olan amino asitlerden oluşurlar [2,3]. Enzimlerin bu yapılarının üzerinde substrat adı verilen, molekülleri bağlayan ve katalitik etkinlik gösteren bölgeleri bulunmaktadır [3]. Enzimlerin katalitik etkinlikleri protein konformasyonunun bütünlüğüne bağlıdır [1]. Enzimlerin amino asitlerine parçalanması durumunda ise katalitik etkinlikleri genellikle kaybolmaktadır [1]. Sıcaklık, pH, substrat konsantrasyonu ve inhibitörler enzimatik aktiviteyi etkileyen faktörlerdir [4].

Enzim aktivitesinin, hızını yavaşlatan ya da tamamen durduran maddelere inhibitör denilmektedir. İnhibitörlerin etkisiyle, enzim aktivitesinin azalması ise inhibisyon olarak adlandırılmaktadır [3]. Enzim inhibisyonları, farmasötik araştırmaların önemli çalışma alanlarından birini oluşturmaktadır. Bu alanda yapılan çalışmalar, birçok hastalığın tedavisinde kullanılabilen çeşitli ilaçların ortaya çıkmasını sağlamıştır [5]. Örneğin; α -glukozidaz enzim inhibitörleri, tip 2 diabetes mellitusta (Tip 2 DM)

postprandiyal hipergliseminin önlenmesinde kullanılan oral antidiyabetik ilaçlardır [6].

α -Glukozidaz (E.C.3.2.1.20) ince bağırsak hücrelerinin fırça sınır yüzey zarı üzerinde yer alan ve karbohidratları glukozu hidrolize eden bir glukozidik hidrolaz enzimidir [7,8]. α -Glukozidaz enzimleri karbohidratların hidrolizi için hayati bir öneme sahiptirler [9]. Monosakkaridlerin, bağırsak duvarından kolayca emilerek kana geçebilmesi için, oligosakkaridlerin ve disakkaridlerin, α -glukozidaz enzimleri tarafından monosakkaridlere ayrışması gerekmektedir [10]. Karbohidrat metabolizmasının dejerasyonu ise beraberinde diabetes mellitus (DM) olarak adlandırılan hastalığı ortaya çıkarmaktadır [8]. DM, yaşam boyu devam eden akut ve kronik komplikasyonları olan, yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen ve çok yönlü takip edilmesi gereken, metabolik bir hastalıktır [11]. Tüm diyabet tipleri içerisinde tip 2 DM en sık görülen formu oluşturmaktadır. Tip 2 DM hem insülin direnci hem de insülin salgısında azalma ile karakterize kronik bir hastalıktır [10]. Bu nedenle α -glukozidaz inhibisyon aktivitesi postprandiyal hipergliseminin kontrol edilmesinde etkili bir yöntem olarak kullanılmaktadır [12].

Elastazlar, önemli bir doku proteini olan elastini parçalayan bir grup serin proteazlardır. Bu proteazlar arasında pankreatik elastaz, makrofaj elastaz, fibroblast elastaz ve nötrofil elastaz (lökosit elastaz) yer almaktadır. Omurgalıların dokularında dağılım gösteren elastin özellikle cilt, akciğer, arter ve bağ dokuda bol miktarda bulunmaktadır [13]. Elastin dışında kolajen, fibronektin ve diğer hücreler arası matris proteinleri de elastaz enzimi tarafından parçalanabilmektedir [14].

Oksidatif hasarlara ve ultraviyole (UV) ışınlarına aşırı maruz kalmak, cilt elastikiyetinin azalmasına, kırışıklıklara ve sarkmalara yol açabilmektedir. Literatürde spesifik elastaz inhibitörlerinin, UV ışınları ya da başka sebeplerle oksidatif hasara uğramış cilt üzerine topikal olarak uygulamasıyla yararlı etkiler oluşturabileceği bildirilmektedir [15]. Bunun yanı sıra, elastaz üretiminin, özellikle akciğer dokusuna yerleşme ve yayılmasında önemli bir virülans faktörü olduğu da bildirilmektedir [16].

Eperezolid, oksazolidinon adı verilen ve gram (+) bakterilerin tedavisinde kullanılan yeni bir sentetik antimikrobiyal ajandır [17,18]. Oksazolidinonlar, 35 yılı aşkın süredir kullanım onayı alan ilk yeni antibiyotik sınıfını oluşturmaktadırlar [18].

Bu çalışmada, ilk defa sentezlenen eperezolid benzeri bileşiklerin, α -glukozidaz ve elastaz enzim aktivitesi üzerine inhibitör etkileri incelenmiştir.

1.1. Enzimler

Biyokimya tarihinin büyük bir bölümü enzimler üzerine yapılan araştırmalardan oluşmaktadır [2]. 1700'lü yılların sonlarında etin mide salgıları tarafından sindirilmesi üzerine yapılan çalışmalar sonunca, biyolojik kataliz ilk defa fark edilmiştir [1]. 1860 yılında fermantasyonun enzimler tarafından yürütüldüğünü deneylerle kanıtlayan Louis Pasteur, enzimler için "ferment" terimini kullanmıştır ve fermentlerin yalnızca canlı maya hücrelerinin yapısında görev yaptığını kabul etmiştir [2]. Yıllarca kabul gören bu görüş, 1897 yılında maya özütlerinin şekeri alkole dönüştürdüğünü bulan Eduard Buchner tarafından, fermantasyonun hücrelerden uzaklaştırıldıkları zaman bile işlevlerini sürdürebilen moleküller tarafından gerçekleştiğini kanıtlayan çalışmasıyla son bulmuştur. Daha sonraları Wilhelm Kühne tarafından, keşfedilen bu moleküllere enzim adı verilmiştir [1]. Yunanca'da enzim kelimesi "maya içinde" anlamına gelmektedir [4].

Enzim çalışmalarındaki ilk başarı 1926 yılında James Sumner tarafından, üreaz enziminin saflaştırılması ve kristallendirilmesidir. Sumner bu çalışması ile enzimlerin protein yapısında olduğunu ortaya koymuştur. 1930'lara gelindiğinde bu sonuç John Northrop ve Moses Kunitz'in tripsin, pepsin ve diğer sindirim enzimlerini kristallendirmeleri ve protein yapısında olduklarını ortaya koymaları ile doğrulanmıştır [1]. Son elli yıl içerisinde çeşitli organizmalardan 2500 kadar enzim saflaştırılmış ve kristalize edilmiştir [4].

1.2. Enzimlerin Genel Özellikleri

DNA sentezinden gıda sindirimine kadar değişen fizyolojik fonksiyonlarda yaşamsal bir rol oynayan enzimler oldukça seçici bir protein sınıfını oluşturmaktadırlar [19]. Canlılığın sürdürebilmesi için gerekli olan çeşitli ve çok sayıdaki biyokimyasal reaksiyonları hızlandıran enzimler birer biyolojik katalizörlerdir [3]. Kendileri bir değişikliğe uğramayan bu organik maddeler, %100'lük bir ürün verimi sağlayarak hiçbir yan ürün oluşturmazlar [2,4]. Genellikle inorganik ve sentetik katalizörlerden çok daha büyük, olağanüstü bir kataliz gücüne sahip olan enzimler çok etkili ve spesifik katalizörlerdir [1,4]. Enzimle katalize edilen kimyasal reaksiyonların hızı, enzimle katalize edilmeyen kimyasal reaksiyonlara göre 10^3 - 10^{17} kat daha hızlı gerçekleşmektedir [4]. Organizmada gerçekleşen enerjinin ve maddenin çevreden alınarak işlenmesi, enerjinin dönüşümü, yeni biyomoleküllerin sentezi, metabolitlerin taşınması gibi hücre metabolizmasını oluşturan, hücre fonksiyonlarının çoğu enzimler olmaksızın ya oldukça yavaş bir hızda gerçekleşir ya da hemen hemen hiç gerçekleşemez [3]. Örneğin; sükrozun yükseltgenmesi gibi kimyasal tepkimeler termodinamik olarak uygun olmasına rağmen katalizsiz olarak uygun bir zaman diliminde meydana gelemezler. İnsan veya başka bir canlı tarafından tüketildiğinde sükrozun içerisindeki kimyasal enerji saniyeler içerisinde açığa çıkar, buna rağmen bir kutu şeker O_2 varlığında H_2O , CO_2 ya da başka bir kimyasal ürüne dönüşmeksizin yıllarca bekleyebilir, işte farkı sağlayan etken katalizdir. Bu tür tepkimelerin katalizsiz olarak gerçekleşmesi durumunda ise canlılık sürdürülemezdi [1]. Hücre içerisinde her bir kimyasal tepkimenin katalizlenmesinden sorumlu olan binlerce farklı enzim bulunmaktadır [3].

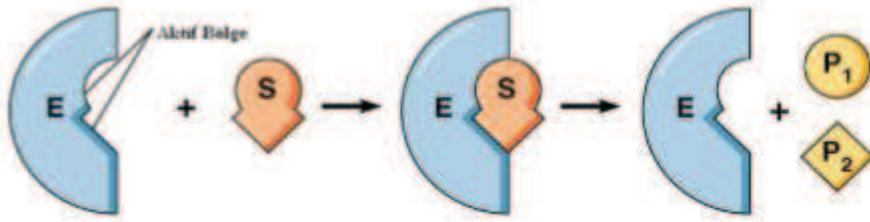
Enzimlerin, yeterli koşulların sağlanması durumunda doğal ortamlarının dışında da etkilerini gösterebiliyor olmaları pek çok alanda kullanılabilmelerini sağlamıştır [20]. Pratikte enzim çalışmalarının büyük önemi bulunmaktadır. Bazı hastalıkların teşhisinde enzimler oldukça önemlidir, birçok ilaç etkisini enzimlerle etkileşerek göstermektedir [1]. Ayrıca enzimler gıda teknolojisi, kimya mühendisliği, tekstil endüstrisi ve ziraat alanlarında da kullanılan çok önemli araçlardır [1,4].

1.3. Enzimlerin Yapısı

Katalitik RNA moleküllerinin (ribozimler) küçük bir grubu dışında, enzimlerin tamamı protein yapısındadır. Proteinlerin en büyük ve özelleşmiş grubunu oluşturan enzimler DNA tarafından şifrelenirler [2]. Enzimlerin kendilerine özel üç boyutlu yapıları üzerinde substrat adı verilen molekülleri bağlayabilen ve katalitik etkinlik gösterebilen bölgeleri bulunmaktadır. Substratlar, polipeptit zincirinin uygun bir şekilde katlanması sonucunda enzim yüzeyine yakın bölgelerde etkileşebilecekleri ve reaksiyonların gerçekleşeceği aktif bölgeye bağlanırlar. Enzim reaksiyonlarında bu etkileşim sonucunda substratlardaki kimyasal bağlar kırılır ve yapılır. Bu özelliklerinden dolayı enzim bir kilide, substrat anahtara ve aktif bölge ise kilit üzerindeki anahtar deliğine benzetilir [3].



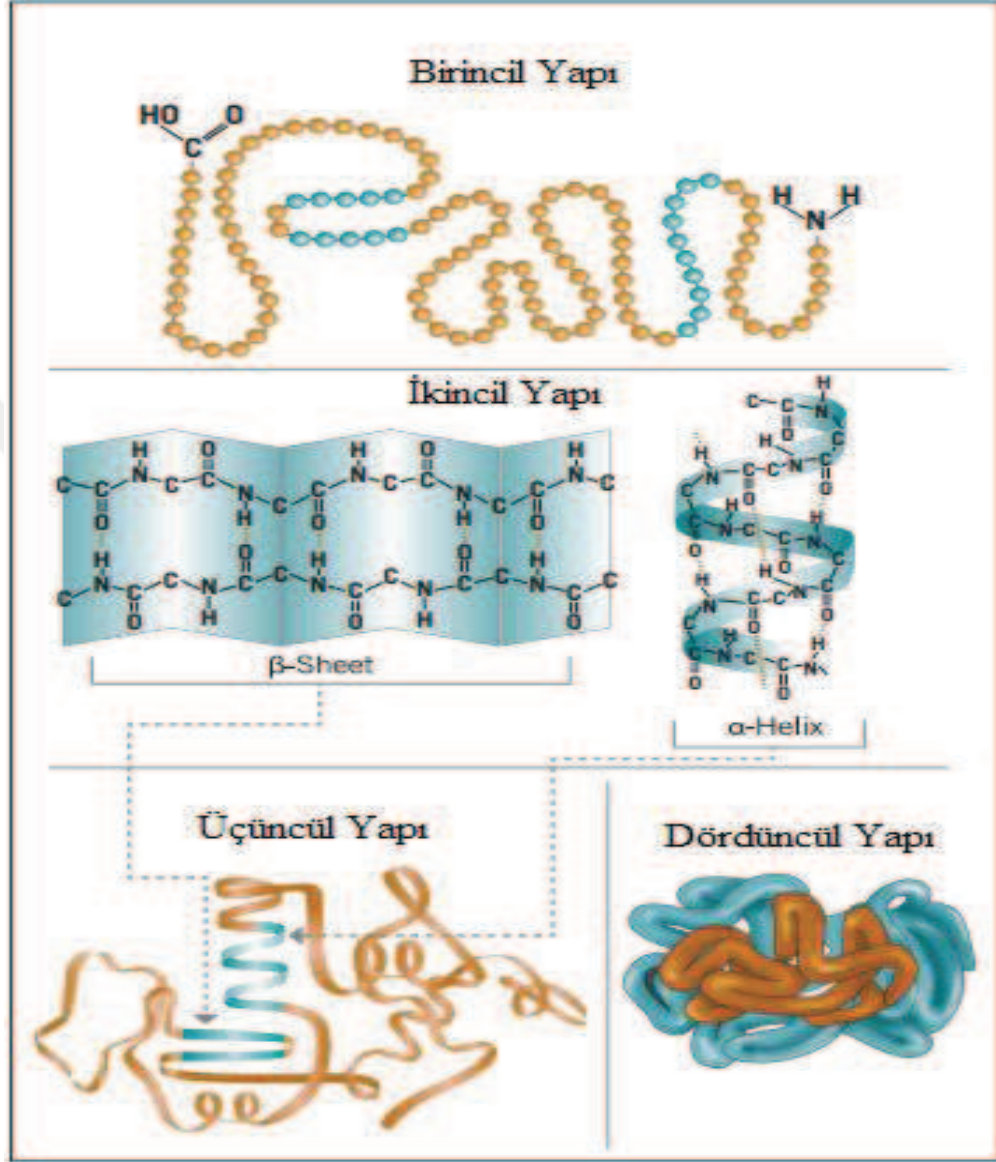
Şekil 1.1. Enzimatik Reaksiyon [21].



Şekil 1.2. Anahtar-Kilit Modeli [22].

Protein konformasyonunun bütünlüğü, enzimlerin katalitik aktivitelerini belirlemektedir. Enzimlerin katalitik aktivitesi, enzimin alt birimlerine ayrışması veya denatüre olması durumunda genellikle kaybolmaktadır. Enzimlerin onu

oluşturan amino asitlerine parçalanması durumunda ise katalitik aktivite her zaman kaybolur. Enzimlerin birincil, ikincil, üçüncül ve dördüncül yapıları onların katalitik aktifliklerinin temelini oluşturmaktadır [1].



Şekil 1.3. Enzimlerin birincil, ikincil, üçüncül ve dördüncül yapıları [23,24].

Bazı enzimler aktiflik için kendi amino asit kalıntılarından başka kimyasal gruplara ihtiyaç duymazken, bazıları ise protein yapısında olmayan kofaktör olarak isimlendirilen ilave kimyasal gruplara ihtiyaç duyarlar [1,2]. Kofaktör bir metal iyonu olabildiği gibi koenzim olarak bilinen bir organik kompleks bileşikte olabilir. Enzimler sıcaklık ile denatüre olurken, kofaktörler ısıya dayanıklılık gösterirler. Bazı

enzimler aktiflik gösterebilmek için hem bir koenzime, hem de bir veya daha fazla metal iyonununa ihtiyaç duyarlar. Katalitik olarak aktif olan enzim-kofaktör kompleksi holoenzim olarak isimlendirilir. Böyle bir enzimin protein kısmına apoenzim adı verilmektedir [2].

1.4. Enzimlerin Sınıflandırılması

Enzimler önceleri genellikle substrat adlarına, etkinliklerini tanımlayan bir ifadeye veya bir kelimeye “az” eki ilave edilerek isimlendirilmişlerdir. Daha sonraları keşfedilen enzimlerin sayılarının artması, bazen de iki farklı enzimin aynı adı alması gibi belirsizlikler nedeniyle sistematik bir isimlendirmeye ihtiyaç duyulmuştur [1]. Bunun üzerine enzimleri isimlendirmek ve sınıflandırmak için; Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği (IUBMB)’nin enzim komisyonu tarafından enzimler, katalizledikleri tepkimenin türüne göre 6 ana gruba ayrılmıştır [25]. Her enzime bir kod numarası verilerek, bu numara E.C. (Enzim Komisyonu) harflerinden sonra gelen dört rakamla ifade edilmiştir [2]. Örneğin, resmi sistematik adı ATP glukoz fosfotransferaz olan enzimin, enzim komisyon numarası E.C.2.7.1.1’dir [1]. Birinci rakam (2), enzimin bağlı olduğu grubu, bir transferaz olduğunu, ikinci rakam (7) alt sınıfını (fosfotransferaz) olduğunu, üçüncü rakam (1) alt alt grubunu, fosfotransferazın alıcı grup olarak hidroksil grubunu kullandığını ve dördüncü rakam (1) fosforil grubu alıcısının bir D-glukoz olduğunu göstermektedir [1,2]. Enzimler; oksidoredüktazlar, transferazlar, hidrolazlar, liyazlar, izomerazlar ve ligazlar olmak üzere 6 ana sınıfa ayrılmışlardır.

1-Oksidoredüktazlar: Oksijen veya hidrojen atomlarını ya da elektronları bir substrattan diğerine transfer edilmesini sağlayan enzimlerdir [4].

2-Transferazlar: İki substrat arasında hidrojen dışındaki bir atom veya atom grubunun transferini katalize eden enzim grubudur [2].

3-Hidrolazlar: Hidroliz reaksiyolarını katalizleyen enzimlerdir [3]. Glikozid, eter, ester, anhidrit ve peptit bağlarına etki ederler. Glikozidaz, esteraz, nükleaz, fosfataz, lipaz ve bütün proteolitik enzimler bu gruba dahildir.

4-Liyazlar: Hidrolizden farklı bir mekanizma ile substratlardan çeşitli grupların ayrılmasını ve molekülde çift bağların oluşumunu ya da çift bağlara grupların katılmasını katalizlerler. Dehidratasyon ve hidratasyon reaksiyonlarını katalizleyen enzimler bu gruptandır.

5-İzomerazlar: Bir molekül içindeki geometrik, optik ya da yapısal izomerlerin birbirine dönüşümünü katalizleyen enzimlerdir [2,4].

6-Ligazlar: İki molekülün birbirine bağlanması reaksiyonlarını katalizleyen reaksiyonlardır. Bu bağlanma için gerekli enerji ATP ve GTP gibi yüksek enerjili fosfat bileşiklerinden sağlanmaktadır [2].

1.5. Enzim Aktivite Birimleri

Enzim aktivitesi sabit pH ve sıcaklıkta, belirli bir zamanda, belirli bir miktar substratı ürüne dönüştüren enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır. Ürünün oluşma hızının veya substratın tükenme hızının ölçülmesiyle enzim aktivitesi tayin edilebilmektedir. Oluşan ürünün renkli olması ve spektrumun görünür bölgesindeki ışığı absorbe edebilmesi durumunda, ürünün oluşma hızının ölçülmesi daha uygun olmaktadır. Bu amaçla spektrofotometreye yerleştirilen substrat ve enzim karışımının absorbansındaki değişiklikler belli bir dalga boyunda ölçülmektedir [3]. Spektrofotometrik yöntem enzim aktivite tayinlerinde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir [24] .

Enzim Ünitesi: Optimal şartlarda ve 25 °C’de 1 mikromol (10^{-6} mol) substratı bir dakikada ürüne dönüştüren enzim miktarı bir enzim ünitesi olarak adlandırılmaktadır ve EU veya U şeklinde gösterilmektedir [2].

Katal: Bir saniyede bir mol substratın ürüne çevrilmesi olarak tanımlanan enzim aktivitesine katal adı verilmektedir [2].

Spesifik Aktivite: Bir miligram protein başına enzim ünitesi olarak ifade edilmektedir. Bu aktivite aynı zamanda enzim saflığının bir ölçüsü olarak kullanılmaktadır [2]. Enzim saflaştıkça spesifik aktivite artmaktadır [4].

Turnover sayısı: Birim zamanda bir mol enzim tarafından ürüne dönüştürülen substratın mol sayısı olarak ifade edilen turnover sayısı bir enzimin ne kadar hızlı çalışabileceğinin bir göstergesidir [2,3].

1.6. Enzimatik Aktiviteyi Etkileyen Faktörler

Enzim aktivitesini değiştiren en önemli etkenler; substrat konsantrasyonu, enzim konsantrasyonu, zaman, pH, sıcaklık ve inhibitörlerdir [4,26].

1.6.1. Substrat Konsantrasyonu

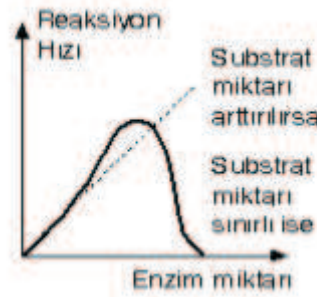
Enzim aktivitesi, enzim ile etkileşebilecek substrat miktarından önemli derecede etkilenmektedir. Düşük substrat konsantrasyonunda enzimatik reaksiyon oldukça hızlı gerçekleşirken, yüksek substrat konsantrasyonlarında ise hızdaki artış oldukça düşüktür [3]. Bu durumun enzimin aktif bölgelerinin substrat ile doyması ve substratın fazlasının enzime bağlanmamasından dolayı kaynaklandığı ifade edilmektedir [4].



Şekil 1.4. Substrat miktarının reaksiyon hızına etkisi [26].

1.6.2. Enzim Konsantrasyonu

Substrat miktarının fazla olduğu optimal koşullarda enzimatik reaksiyonun ölçülen ilk hızı (V_o), enzim konsantrasyonu ile doğrusal olarak artmaktadır. Belirli bir zaman sonra ortamda enzimle reaksiyona girebilecek substrat miktarının sınırlı olması reaksiyon hızının giderek azalmasına neden olmaktadır [26].



Şekil 1.5. Enzim konsantrasyonunun reaksiyon hızına etkisi [26].

1.6.3. Zaman

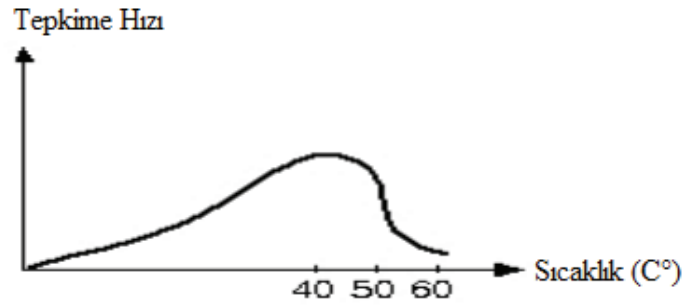
Enzimatik reaksiyonların hızı zaman ilerledikçe azalmaktadır. Zamanın ilerlemesi reaksiyon sırasında oluşan maddelerin zıt yönde reaksiyona girerek enzimin inaktive olmasına, substratın azalmasına ve reaksiyon hızının düşmesine neden olmaktadır [4].

1.6.4. pH'ın Etkisi

Her bir enzimin maksimum aktivite gösterdiği belli bir pH değeri bulunmaktadır ve bu değer optimal pH olarak adlandırılmaktadır [2,4]. Enzimlerin optimal pH değerlerinin altında ve üzerinde aktiviteleri düşmektedir [2]. Enzimler pH değişimlerine karşı çok hassas davranış göstermektedirler [4].

1.6.5. Sıcaklığın Etkisi

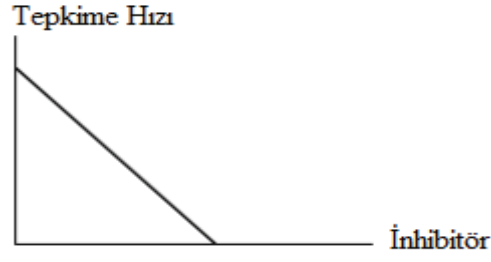
Sıcaklık artışı enzimatik reaksiyonların hızını belli bir noktaya kadar artırmaktadır. Ancak sıcaklığın 50-60 °C üzerine çıkması durumunda enzim yapısında meydana gelen denatürasyondan dolayı aktivitede düşüş gözlemlenmektedir [2]. Enzimlerin maksimum aktivite gösterdikleri sıcaklık ise optimal sıcaklık olarak ifade edilmektedir [4].



Şekil 1.6. Sıcaklığın tepkime hızına etkisi [26].

1.6.6. Enzim İnhibisyonu

Enzim aktivitelerinin bazı bileşikler tarafından azaltılması veya aksatılması olayına inhibisyon ve inhibisyon yapan bileşiklere ise inhibitör adı verilmektedir. Enzim inhibitörleri küçük molekül ağırlığına sahip bileşikler ya da iyonlar olup, çok önemli farmasötik maddelerdir [1,2]. Biyolojik sistemlerde enzim inhibisyonu bir kontrol mekanizması oluşturduğundan oldukça önemlidir. Çünkü birçok zehirli bileşik ve ilaçlar etkilerini bu yolla göstermektedir [2]. HIV enfeksiyonundan baş ağrısına kadar birçok hastalığın tedavisinde kullanılan ilaçlar daima bir enzimin inhibitörleridir. Örneğin; HIV hastalığının tedavisinde proteaz inhibitörleri kullanılırken, topoizomeraz inhibitörleri antikanser ilaçları olarak geliştirilmişlerdir. Bakteriyel topoizomeraz inhibitörlerinin iki sınıfı ise antibiyotik olarak geliştirilmiş ilaçlardır. Enzim inhibitörleri dönüşümlü ve dönüşümsüz olmak üzere iki büyük sınıfa ayrılmaktadır [1].



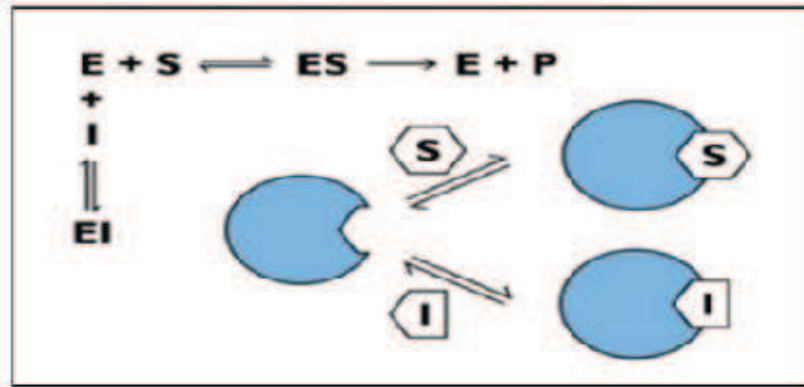
Şekil 1.7. İnhibitörün reaksiyon hızına etkisi [26].

1.6.6.1. Dönüşümlü İnhibisyon

Dönüşümlü inhibitörler, enzime kovalent olmayan etkileşimlerle bağlanmaktadır [3]. Dönüşümlü inhibisyon, yarışmalı (kompetitif), yarışmasız (nonkompetitif) ve yarıyarışmalı (unkompetitif) olmak üzere üç sınıfa ayrılmaktadırlar [2].

1.6.6.1.1. Yarışmalı (Kompetitif) İnhibisyon

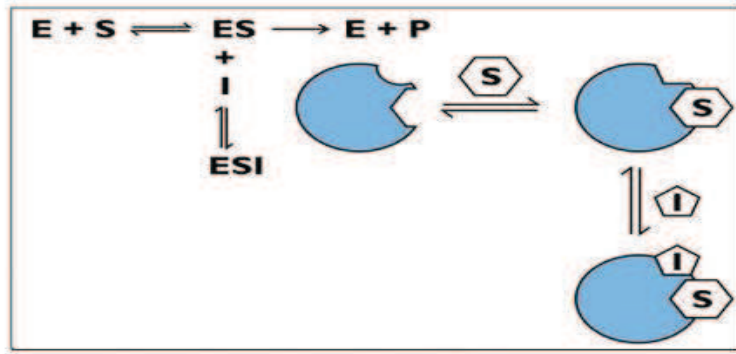
Aktif bölgeye bağlanabilen inhibitörler yarışmalı inhibitörler olarak isimlendirilmektedirler ve yarışmalı inhibitörler yapısal olarak substrata benzemektedirler [1,3]. Enzimin aktif bölgesi için substratla yarışan, yarışmalı inhibitörler aktif bölgeye yerleşerek substratın enzime bağlanmasını engellerler, böylece enzimin etkinliğini azaltırlar veya durdururlar [1].



Şekil 1.8. Yarışmalı inhibisyon [1].

1.6.6.1.2. Yarışmasız (Nonkompetitif) İnhibisyon

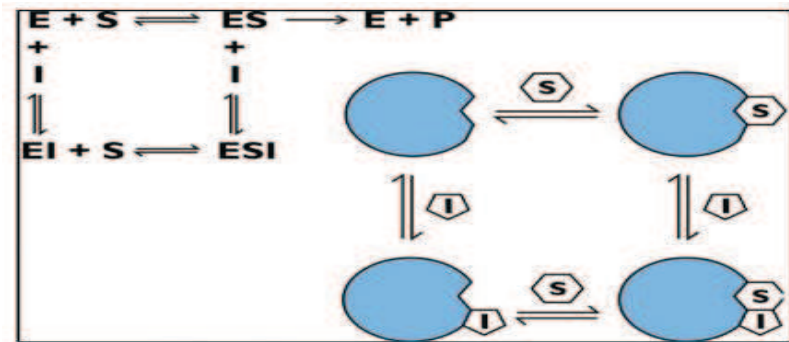
Yarışmasız inhibisyonunda; substrat ve inhibitör aynı anda enzim moleküllerine bağlanabilir [2]. İnhibitör ile substrat arasında bir yarışma gerçekleşmez ve substrat konsantrasyonunun artmasıyla inhibisyon ortadan kalkmaz [3]. Yarışmasız inhibitör etkisini, enzimin katalitik aktivitesini düşürerek göstermektedir. İnhibitör ve substrat farklı bölgelere bağlanabildiğinden enzimin iki farklı inaktif kompleksi meydana gelmektedir [2].



Şekil 1.9. Yarışmasız inhibisyon [1].

1.6.6.1.3. Yarı Yarışmalı (Unkompetitif) İnhibisyon

Yarı yarışmalı inhibisyon türünde; inhibitör serbest haldeki enzime değil, yalnızca ES kompleksine bağlanmaktadır. Yarı yarışmalı inhibisyon, tek substratlı reaksiyonlarda az görülmesine karşılık iki substratlı reaksiyonlarda yaygındır [2].



Şekil 1.10. Yarı yarışmalı inhibisyon [1].

1.6.6.2. Dönüşümsüz inhibisyon

Dönüşümsüz inhibitörler enzimin kataliz yeteneğini ortadan kaldırarak enzim aktivitesini inhibe etmektedirler [3]. Enzim aktifliği için gerekli olan bir işlevsel grubu bozan bu inhibitörler ile enzim arasında genellikle kovalent bir bağ oluşmaktadır [1].

1.7. Enzimlerin Endüstriyel Kullanım Alanları

Enzimatik reaksiyonların hızlı, seçici, verimli ve istenmeyen yan ürünler oluşturmaması enzimlerin tıp, gıda endüstrisi, ziraat, deterjan, tekstil, kağıt ve biyoyakıt gibi çok çeşitli alanlarda yaygın kullanıma sahip önemli araçlar haline getirmiştir [26,27]. Enzimlere olan talebin yıllar içerisinde istikrarlı bir şekilde artması küresel endüstriyel enzim piyasasının 2017 yılında 6,1 milyar ABD dolarına ulaşmasına ve 2022 yılına kadar ise 8,5 milyar ABD dolarına ulaşması beklenilmektedir. Gıda endüstrisi ise bu piyasada büyük bir paya sahiptir [27].

Gıda endüstrisinde enzimler unlu mamüller, içecek üretimi, tahıl, yumurta, süt, et, balık ve şekerleme ürünleri imalatı gibi çeşitli yiyeceklerin üretilmesinde kullanılmaktadırlar. Biyolojik katalizörler olarak enzimler gıda ürünlerinde kalitenin, tazeliğin, raf ömrünün, besin değerinin, görünümün, aromanın ve istenen yapıların geliştirilmesine yardımcı olmaktadır [28]. 55'ten fazla farklı enzim ürünü gıda işlemede yer almaktadır ve bu sayı yeni gıda enzimlerinin keşfi ile giderek artmaktadır [27]. Gıda işleme yöntemlerinde proteazlar, içeceklerin berraklaştırılması, sütün pıhtılaştırılması ve et, balık ürünlerinde lezzet, doku ve fonksiyonel özelliklerin arttırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır [27,29]. Lipazlar ise genellikle lezzeti zenginleştirmek, etlerde, tahıllarda, meyve sularında, alkollü içeceklerde, süt ürünlerinde etli veya meyveli aromalar üretmek için kullanılmaktadırlar. Bira, şarap, şurup ve hamur üretiminde ise glikozid hidrolazlar geniş bir uygulama alanına sahiptirler [27].

Tıp alanında enzim preparatlarından bazı hastalıkların tedavisinde ilaç olarak faydalanılmaktadır. Örneğin proenzim olarak pepsinojeni kapsayan preparatlar midedeki sindirim bozukluklarının tedavisinde ilaç olarak kullanılırken, katarak operasyonlarında göz merceğinin asılı ipliklerini eritmek için α -kimotripsin enziminden faydalanılmaktadır [4]. Karaciğer enzimlerinden alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeylerinin yüksekliği karaciğer hücre hasarın hassas bir göstergesidir ve hepatit gibi karaciğer hastalıklarının tanısında faydalı olabilmektedir [30]. Böbrek hasarının ortaya çıkarılmasında ve böbrek hastalıklarının teşhisinde idrar enzimlerinin ölçülmesi klinikte geniş bir kullanım alanına sahiptir [31]. Ekzokrin pankreas yetmezliği olan çocuk ve yetişkinlerin tedavisinde proteaz, lipaz ve α -amilaz enzimlerinin bir kombinasyonu olan enzimatik ilaçlardan yararlanılmaktadır [19,32].

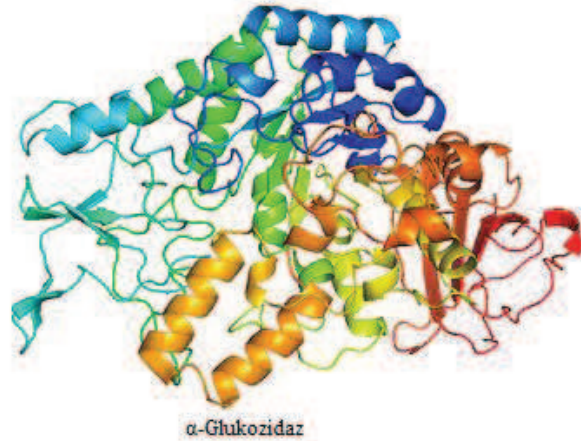
Yem sanayinde; lipaz, amilaz, selüloz ve pektinaz enzimleri yem katkı maddesi olarak tek veya toplu olarak karma yemlere katılmaktadır. Enzimlerin kullanılmasıyla yemlerin sindirilebilirliği ve hayvanların yemden yararlanma oranlarında artış sağlanmaktadır. Balık yemlerinde enzim kullanılmasıyla birlikte sudaki fosfor gibi kirleticilerin seviyesinin azaltılabileceği belirtilmiştir [33].

Tekstil endüstrisinde termostabil α -amilaz enzimleri, dokunmuş kumaştaki fazla nişastanın giderilmesinde kullanılırken, selüloz enzimleri kumaş yüzeyinin düzgünleştirilmesinde, proteaz enzimleri ise yünlü mamüllere keçeleşmezlik özelliği sağlamada kullanılmaktadırlar [34,35].

Ayrıca enzimler katalitik bileşen olarak biyosensörlerde kullanılan en iyi materyallerdir. Enzim temelli biyosensörlerde sıklıkla enzim olarak oksidoredüktazların alt sınıfı olan dehidrojenazlar ve oksidazlar yer almaktadır. Enzim temelli biyosensörler; gıda kalite kontrol, biyotıp, tarım, çevre ve ilaç endüstrilerinde çeşitli hedef analitlerin kantitatif ve kalitatif analizlerinde kullanılan oldukça önemli araçlardır. Örneğin diyabetin tanı ve tedavisinde enzim biyosensörü olarak kullanılan glukoz biyosensörü pratik ve yaygın bir kullanışa sahiptir [36].

1.8. α -Glukozidaz Enzimi

α -Glukozidazlar (E.C.3.2.1.20), (α -D-glukozid glukohidrolaz, ekzo- α -1,4-glukozidaz) nişasta molekülü D-glukoz monomerlerinden oluşan bir polisakkarit olup, amiloz ve amilopektinin parçalanma ürünleri olan kısa zincirli oligosakkaridlerdeki α -1,4 glukozidik bağlarını hidrolize ederek serbest glukoz birimleri oluşturan enzimlerdir [37-41]. α -Glukozidazlar, yaklaşık olarak %10-30 oranında amiloz ve %70-90 oranında amilopektin polimerlerinden meydana gelmektedirler. Amiloz 6000 kadar D-glukoz molekülünün birbirlerine α -1,4 glukozidik bağ ile bağlanmasıyla oluşmuş düz zincirler içeren bir polimer olup, amilopektin ise α -1,4 glukozidik bağ ile bağlı 10 ile 60 adet glukoz molekülünün biraraya getirdiği kısa düz zincirler ve bu zincirlere α -1,6 glukozidik bağ ile dallanarak bağlanmış 15 ile 45 glukoz molekülünden oluşmaktadır [37-39].



Şekil 1.11. α -Glukozidaz enziminin üç boyutlu yapısı [42].

1.8.1. α -Glukozidaz Enziminin Moleküler Özellikleri

α -Glukozidaz enzimini kodlayan genin, hem prokaryotik hem de ökaryotik canlılarda kromozomal DNA üzerinde bulunduğu belirlenmiş ve şu ana belirlenen pek çok mikrobiyal α -glukozidazın molekül ağırlığının 30 ile 102 kDa arasında değişiklik gösterdiği ve genellikle 70 kDa'un altında olduğu tespit edilmiştir [37].

1.8.2. α -Glukozidaz Enziminin Sınıflandırılması

IUBMB tarafından enzimler, kataliz ettikleri reaksiyonun türlerine göre altı sınıfa ayrılmışlardır. IUBMB enzim sınıflandırması, substrat spesifikliğini ve enzimin katalizlediği reaksiyon tipini esas almaktadır. α -Glukozidazlar, IUBMB sınıflandırmasına göre E.C.3.2.1.20 koduna sahip olup glukozil hidrolaz familyasına dahil edilmişlerdir. E.C.3.2.1.20 kodunun ilk üç basamağı α -glukozidaz enziminin, glukozidik bağları hidroliz ettiğini gösterirken, dördüncü basamağı ise enzimin maltoz ve maltooligosakkaritlere spesifik olduğunu belirtmektedir. Geniş substrat spesifikliği gösteren enzimler için E.C. sınıflandırmasının yeterli olmadığı ifade edilmiştir [37,43]. α -Glukozidazlar, amino asit dizi benzerliğine göre yapılan sınıflandırma son zamanlarda belirlenen primer yapılarına göre filogenetik olarak birbirlerinden farklılık gösteren I. α -glukozidaz familyası (13. Familya) ve II. α -glukozidaz familyası (31. Familya) olmak üzere iki ayrı sınıfta gruplandırılmışlardır [37,44,45].

1.8.3. α -Glukozidaz Enziminin Uygulama Alanları

Günümüzde çoğunlukla sağlık sektörü, temel enzimolojik çalışmalar, nişastanın işlenmesi ve oligosakkaritlerin sentezi gibi önemli endüstriyel uygulamalarda termostabil α -glukozidazlar, etkin olarak kullanılmaktadırlar [37]. α -Glukozidazlar gibi yeni termostabil nişasta parçalayıcı enzimlerin bulunmasıyla birlikte, nişastanın endüstriyel biyodönüşüm işlemlerinin verimliliği belirgin bir şekilde artmıştır. α -Glukozidazlar; özellikle maltodekstrinlerin, modifiye nişastaların veya glukoz ve fruktoz şuruplarının yapımı esnasında sıvılaştırma işlemlerinde α -amilazlar ile birlikte kullanılmaktadırlar [37,39]. Sağlık sektöründe son yıllarda klinik biyokimya analizlerinde, serum klorür ve α -amilazın tayininde kullanılan kitlerde α -glukozidaz enziminin yararlanılmaktadır. Bunun yanı sıra termofilik *Bacillus* cinsi mikroorganizmalara ait α -glukozidazlar, indikatör olarak, hastanelerde sterilizasyon kontrolünde kullanılan kitlerin yapımında kullanılmaktadırlar [37].

1.8.4. α -Glukozidaz Enzim İnhibitörleri

α -Glukozidazlar, ince bağırsak hücrelerinin fırça sınır yüzey zarı üzerinde yer alan ve karbohidratları glukoza hidrolize eden glukozidik hidrolaz enzimleridir [46,47]. Bilinen α -glukozidaz enzimleri dekstrinaz, maltaz, izomaltaz, glukoamilaz, laktaz ve sükrazdır [10,11]. Karbohidratların hidrolizi için hayati bir öneme sahip olan bu enzimler kompleks karbohidratların parçalanmasından sorumludurlar [10,47]. Kompleks karbohidratların, oligosakkaridlere ayrışması ince bağırsakta amilaz enzimi tarafından gerçekleşmektedir. Oligosakkaridlerin ise emilmeden önce monosakkaridlere ayrışması gereklidir. α -Glukozidaz enzimleri tarafından oligosakkaridlerin, monosakkaridlere ayrışması sonucunda, monosakkaridler kolayca bağırsak duvarından emilerek kana geçerler [10,11,48,49]. Bununla birlikte karbohidrat metabolizmasının bozukluğunda ise, kandaki glukoz seviyesi artarak, DM olarak adlandırılan hastalığı ortaya çıkarır [50]. Sağlıklı bir kişide yemekten sonra kan glukozundaki yükselme 30-50 mg/dL iken diyabetli hastalarda bu artış çok daha fazla olmaktadır. Tüm diyabetli hastaların yaklaşık %80-90 kadarını tip 2 DM formu oluşturmaktadır [10]. Tip 2 DM hem insülin direnci, hem de insülin salgısındaki azalma ile karakterize kronik, multifaktöriyel metabolik bir bozukluktur [51,52]. Tip 2 DM tedavisinde glisemik kontrolü sağlamak üzere α -glukozidaz enzim inhibitörleri antidiyabetik ilaç olarak kullanılmaktadırlar [53].

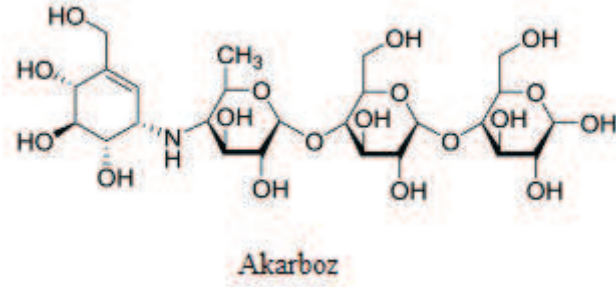
Tip 2 DM hastalığının tedavisindeki esas amaç glukoz kontrolünü sağlayarak hiperglisemiye önlemektir. Bu nedenle gastrointestinal sistemdeki enzimlerin aktivilerini geçici olarak inhibe edebilen ilaçların, postprandial glukoz yükselmeleri üzerinde etkili olabileceği görüşü sonucunda α -glukozidaz enzim inhibitörleri diyabetik hipergliseminin düzenlenmesinde etkili bir ilaç grubu olarak geliştirilmiştir. α -Glukozidaz enzim inhibitörleri akarboz, miglitol ve voglibozdur [10]. Bu grup ilaçların insülin salgısı ve insülin etkisi üzerinde direkt etkileri bulunmamakla birlikte, karbohidrat absorpsiyonu ve emilimini geciktirerek postprandial plazma glukozunda azalmaya neden olmaktadır [10,11]. Ayrıca glukoz emiliminin yavaşlaması, β hücrelerine insülin salınımını artırması için zaman kazandırmaktadır. Bu ilaçların en önemli avantajı, bağırsakta lokal etki gösterip,

sistemik etkilerinin olmayışıdır. Bu nedenle ileri yaşlı diyabetik hastalarda kullanımı daha uygundur. Hipoglisemiye ve kilo alımına yol açmamaktadırlar [51]. En sık görülen yan etkileri ise gastrointestinal sisteme ait karın ağrısı, şişkinlik, diyare ve gaz yakınmalarıdır. Yüksek dozlarda kullanımlarında ise karaciğer enzimlerinde yükselmeye yol açabilmektedirler [10].

1.8.4.1. Akarboz

Akarboz, diyabet tedavisi için ilk olarak 1990 yılında Almanya'da Glucobay markasıyla, 1996 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde Precose markasıyla piyasa sürülmüştür [54]. Ülkemizde bulunan tek α -glukozidaz enzim inhibitörü olan akarboz, saflaştırılmış mikrobiyal kaynaklı bir psödotetrasakkarittir [11,51,52,55]. Glukoamilaz ve sükröz inhibitörü olan akarboz, sükröz, nişasta ve maltoz emilimini inhibe ederek, ortamda bulunan glukoz ve diğer monosakkaridlerin emilimini etkilemez [10]. Akarbozun, izomaltaz enzimi üzerinde çok az, laktaz enzimi üzerinde ise hiçbir etkisi bulunmamaktadır [11]. α -Glukozidaz enzimine reversibl bir şekilde bağlanan akarboz, karbohidrat absorpsiyonu ve emilimini geciktirerek etkisini sadece gastrointestinal kanalda göstermektedir. Böylece, hem tip 1 DM'ta hemde tip 2 DM'ta postprandiyal plazma glukozunda azalmaya neden olmaktadır [11]. Akarbozun tek başına kullanımında açlık kan şekerini 15-25 mg/dL, tokluk kan şekerini 50 mg/dL kadar azalttığı belirlenmiştir [53]. İlacın etkisinin artması için yemeklerde ilk lokma ile birlikte alınması önerilmektedir [53,56]. Tek başına kullanımında kilo alımına ve hipoglisemiye yol açmamaktadır [53].

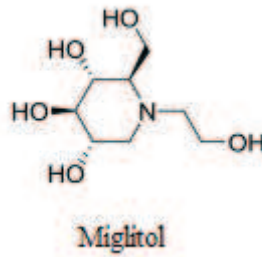
Akarboz kullanımındaki en büyük sorun, hastaların üçte birinde görülen ishal, dispepsi ve şişkinlik gibi gastrointestinal yan etkilerin ortaya çıkmasıdır. Ayrıca bu yan etkilerin yanı sıra karaciğer enzimlerinde orta derecede yükselme, B₁₂ vitamini veya folik asit eksikliğine bağlı anemi ile nadir olarak demir eksikliği anemisi vakalarında bildirilmiştir [56]. Akarbozun sadece %1-2'si emilmekte olup, plazma yarı ömrü yaklaşık 2 saat kadardır [10]. İnce bağırsakta amilaz ve bakteriler tarafından parçalanan akarboz, idrardan 24 saatte atılmakta ve vücutta birikmemektedir [10,57].



Şekil 1.12. Akarbozun kimyasal yapısı [58].

1.8.4.2. Miglitol

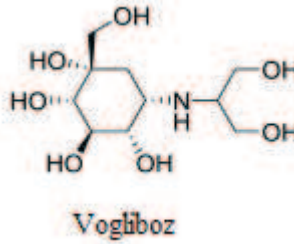
Miglitol, deoxynojirimycin türevi sentetik bir α -glukozidaz enzim inhibitörüdür. İlk olarak intestinal izomaltazı inhibe eden miglitol, intestinal sodyuma bağlı glukoz taşıyıcıları ile etkileşir [10]. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından 1996 yılında Glyset markasıyla kullanıma giren miglitolun, daha az gastrointestinal yan etkili ve daha güçlü ikinci jenerasyonu 1999 yılında tekrar piyasa sürülmüştür [54]. Miglitolün farmokinetik özellikleri akarbozdan farklıdır ve intestinal sistemde tamamına yakını emilerek, böbrek tarafından değişmeden vücuttan atılmaktadır [10,59,60]. Bununla birlikte gastrointestinal yan etkilerin yanı sıra, sistemik yan etkilere de sahip olabileceği belirtilmektedir [59,60].



Şekil 1.13. Miglitolün kimyasal yapısı [58].

1.8.4.3. Vogliboz

α -Glukozidaz enzim inhibitörlerinden biri olan vogliboz, mikrobiyal kaynaklı bir valiomine türevidir [10]. Birçok α -glukozidaz enziminin güçlü inhibitörü olan vogliboz, Basen ticari markasıyla Japonya’da 1994’den beri diyabet tedavisinde kullanılmaktadır [10,54]. Voglibozun, farmokinetik özellikleri akarbozla benzerlik göstermektedir [10].



Şekil 1.14. Voglibozun kimyasal yapısı [58].

1.8.5. α -Glukozidaz Enziminin Klinik Kullanımı

Pompe hastalığı (Tip II Glikojen Depo Hastalığı) nadir görülen, ilerleyici ve çoğunlukla ölümcül bir kas hastalığıdır [61]. Glikojen yıkımından sorumlu lizozomal asit α -1,4-glukozidaz (asit maltaz) disfonksiyonu veya eksikliği sonucu ortaya çıkan pompe hastalığı, görülme sıklığı 1/40.000 olan genetik lizozomal depo hastalıklarından biridir [61,62]. Lizozomal α -1,4 glukozidaz enzim eksikliği, glikojenin lizozomlarda birikmesine neden olmakta ve glikojenin sağlıklı kas dokularında birikimi ile belli bir süre sonra kas hücrelerinin geri dönüşümsüz hasarına yol açmaktadır [63]. Glikojen birikimi ile etkilenim daha çok karaciğer, iskelet kası, kalp ve sinir sisteminde olmaktadır [64-66]. Pompe hastalığı infantil ve geç başlangıçlı tip olarak iki gruba ayrılmaktadır [61]. Infantil başlangıçlı formda semptomlar 12 aylıktan önce başlamakta ve belirgin olarak kas güçsüzlüğü, hipotoni, kardiomegali, beslenme bozukluğu, gelişme geriliği ve akciğer sorunları olarak gözlemlenmektedir [62]. Pompe hastalığının tanısında klinik ve laboratuvar bulgularının yanı sıra, kanda α -glukozidaz enzim düzeyi düşüklüğünün görülmesi gerekmektedir. Infantil tip pompe hastalığında enzim düzeyi normalin %1’inin

altında olup, geç ortaya çıkan tipte ise normalin %2-40'ı kadar olmalıdır. Son yıllarda bulunan enzim yerine koyma tedavisi pompe hastalığının tek tedavisidir. Tedavide eksik olan enzim damar içi yolla rekombinan asit α -glukozidaz olarak uygulanmakta ve tedavi ile bulgular hafifletilmektedir. Ancak tedavi ömür boyu gerekmektedir. Erken başlangıçlı pompe hastalarında, enzim yerine koyma tedavisinin hastaların yaşam sürelerini uzattığı gözlemlenmiştir [61].

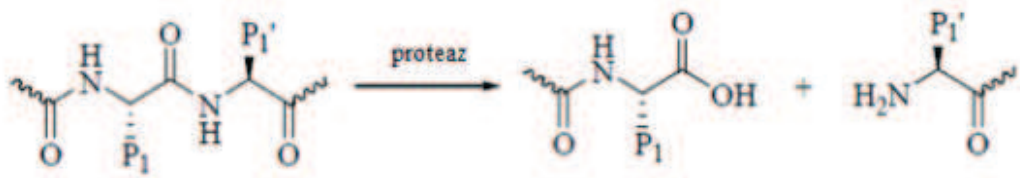
1.8.6. Tip 2 Diabetes Mellitus

DM tüm dünyada ve ölkemizde alınan önlemlere rağmen giderek büyüyen ve toplum sağlığını tehdit eden ciddi bir sağlık sorunudur [53]. DM, insülin hormon salgısının veya insülin aktivitesinin tamamen veya göreceli azalması sonucu ortaya çıkan karbohidrat, yağ ve protein metabolizmasının bozulmasına neden olan hiperglisemik, kronik bir metabolizma hastalığıdır [67]. DM'un kontrol edilememesi veya yanlış yönetilmesi durumlarında ise körlük, böbrek hastalıkları, dolaşım sorunları, sinir rahatsızlıkları, bacak ve ayak ampütasyonlarına ve hatta ölüme neden olabilmektedir [68]. DM, Amerikan Diyabet Derneği'ne göre, tip 1 DM, tip 2 DM, gestasyonel ve diğerk spesifik tipler olarak sınıflara ayrılmıştır [67]. Tip 2 DM birinci dünya ölkelerinde önde gelen ölüm nedenleri arasında dört ila beşinci sırada yer almakta ve önemli bir küresel sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir. Birçok araştırmacı 285 milyonu bulan tip 2 DM vakalarının 2030 yılı küresel tahminlerinin bu rakamın iki katına kadar çıkabileceği görüşündedir [69]. Tip 2 DM periferik dokularda ve karaciğerde insülin direnci ve genellikle eşlik eden rölatif insülin yetmezliği ile karakterize multifaktöriyel metabolik bir bozukluktur [70]. Tip 2 DM'ta vücutta insülin üretilmekte ancak çeşitli nedenlerden dolayı insülin gerektiği gibi işlevini yerine getirememektedir [68]. Hastalığın ortaya çıkmasına neden olan insülin direnci ve insülin salgısındaki azalma hem açlık hem de tokluk dönemlerinde plazma glukoz değerlerinin yükselmesine neden olmaktadır. Tip 2 DM tedavisinde glisemik kontrolü sağlamak üzere kullanılan oral antidiyabetik ilaçlar; α -glukozidaz enzim inhibitörleri, tiyazolidinedionlar, glinidler, biguanidler, sulfonilüreler, SGLT inhibitörleri, amilin analogları, GLP-1 analogları ve DPP-4 inhibitörleridir [53]. Bu antidiyabetik ilaçların çeşitli yan etkileri mevcuttur. Örneğin; tiyazolidinedionlar

uykusuzluk, anemi, baş ağrısı ve görme bozukluğuna, biguanidler şiddetli böbrek yetmezliği olan abdominal rahatsızlığa, anoreksiya veya ishale, sulfonilüreler kilo alımına, kardiyovasküler mortaliteye ve hafif baş ağrılarına neden olabilmektedirler [71]. Gastrointestinal sistemde karbohidrat emilimini azaltan α -glukozidaz enzim inhibitörlerinin en önemli avantajı ise bağırsakta lokal etki göstererek, sistemik etkilerinin olmayışdır [11]. Bu nedenle herhangi bir yan etki göstermeyen yeni antidiyabetik ilaçların geliştirilmesi diyabetik bozuklukların kontrol edilebilmesi için gereklidir [71].

1.9. Proteazlar

Proteazlar, proteinlerin yapısındaki peptid bağlarının hidrolitik parçalanmasını katalizleyen enzimlerdir. Canlı organizmalarda fizyolojik olarak gerekli olan proteazlar; hayvanlar, bitkiler ve mikroorganizmalar gibi çok çeşitli kaynaklarda bulunmaktadır. Proteazlar, yara onarımının fizyolojik sürecinde de kritik ve önemli bir rol oynamaktadırlar. Sağlıklı dokularda anormal bozulmalara neden olan elastaz gibi proteolitik enzimlerin aşırı salınımı kronik yaralar gibi iltihaplı hastalıklara yol açmaktadır [72]. Proteazlar, hem fizyolojik rolleri hem de ticari alanlardaki uygulamalarının çeşitliliği nedeniyle çok önemli bir pozisyonda bulunan tek enzim sınıfını oluşturmaktadırlar. En büyük üç endüstriyel enzim grubundan biri olan bu enzimler, dünya çapında toplam enzim satışının yaklaşık %60'ını oluşturmaktadırlar. Proteazlar; aktif bölgelerine göre ekzopeptidazlar ve endopeptidazlar olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadırlar [73].



Şekil 1.15. Proteaz hidroliz mekanizması [74].

1.9.1. Ekzopeptidazlar

Ekzopeptidazlar, polipeptit zincirlerinin amino (N) ya da karboksil (C) uçlarındaki peptit bağlarını hidrolize etmektedirler. Proteinin, karboksil ucundaki peptit bağlarını hidrolize eden ekzopeptidazlar karboksipeptidazlar, amino ucundaki peptit bağlarını hidrolize edenler ise aminopeptidazlar olarak adlandırılmaktadırlar [75].

1.9.2. Endopeptidazlar

Endopeptidazlar, amino veya karboksil uçlarında bulunan peptit bağları yerine iç bölgelerde yer alan peptit bağlarını hidrolize etmektedirler [75]. Serbest karboksil (C) ya da amino (N) grubunun varlığı enzimatik aktivite üzerine olumsuz bir etkiye sahip olmaktadır. Endopeptidazlar, katalitik mekanizmalarına göre; serin proteazlar, sistein proteazlar, aspartik proteazlar ve metalloproteazlar olmak üzere dört alt gruba ayrılmaktadırlar [73].

1.9.2.1. Serin Proteazlar

Serin proteazlar, aktif bölgelerinde bir serin birimi içermeleri ile karakterize edilirler. Ökaryotlar, bakteriler ve virüsler arasında çok sayıda ve yaygın olmakla birlikte organizmalar için hayati bir öneme sahip oldukları düşünülmektedir. Alkali pH değerlerinde aktif olan bu enzimlerin optimum pH değerleri 7 ile 11 arasında değişmektedir. Moleküler ağırlıkları 18 ila 35 kDa arasında olup, geniş bir substrat çeşitliliğine sahiptirler [73]. Elastaz, tripsin ve kimotripsin gibi enzimler birer serin proteaz olarak tanımlanmaktadır [3].

1.9.2.1.1. Elastaz Enzimi

Elastazlar, önemli bir doku proteini olan ve omurgalıların dokularında yaygın olarak dağılım gösteren, özellikle cilt, akciğer, arter ve bağ dokuda bol miktarda bulunan elastini parçalama kabiliyetine sahip bir grup serin proteazdır. Bu proteazlar arasında nötrofil elastaz (lökosit elastaz), makrofaj elastaz, pankreatik elastaz ve fibroblast

elastazda yer almaktadır [13,76]. Elastaz enzimi, elastin dışında kolajen, fibronektin ve diğer hücre dışı matris proteinlerini de parçalayabilen geniş bir substrat spesifikliğine sahiptir. Normal şartlar altında elastaz aktivitesi, metalloproteinazlarda olduğu gibi yara oluşumundan sonra, doku iyileşmesini sağlamak için nötrofiller tarafından fagositoz sırasında hücre dışı matris proteinleri içindeki yabancı proteinlerin parçalanması için gerekli olmaktadır [14,76].

İnsan cildinde nötrofil elastaz ve cilt fibroblast elastazı olmak üzere 2 tip elastaz enzimi bulunmaktadır. Her iki enzimde kırışıklık oluşumuna neden olan esnek yapıların bozulmasına neden olmaktadır. Cildin ultraviyole radyasyonuna maruz kalması reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumunu artırmaktadır. ROT, elastazların aşırı üretilmesine, elastik lif ağının etkilenmesine, kolajenin bozulmasına ve azalmasına neden olmaktadır. Bunun sonucunda ise ciltte algılanabilir değişiklikler oluşturacak şekilde kırışıklıklar ve sarkmalar meydana gelmektedir [77]. Bu nedenle elastaz aktivitesinin inhibisyonu cilt yaşlanmasına karşı korunmada etkili bir yöntem olarak kullanılabilmektedir [78].

İnsan nötrofil elastazı (HNE, E.C.3.4.21.37) 30 kDa ağırlığında bir glikoprotein olup, kimotripsin benzeri serin proteaz aktiviteye sahip bir enzimdir [13,76,79]. Ön enzim olarak sentezlenen HNE'nin aktif hale gelebilmesi için iki ayrı amino-terminal işlem basamağından geçmesi gerekmektedir [13,76]. HNE, ilk defa 1968 yılında Janoff ve Scherer tarafından tanımlanmıştır [80]. İnsan lökosit elastazı olarak da bilinen HNE insan vücudunda bulunan en yıkıcı enzimlerden biridir. HNE, kolajen tip I-IV, elastin ve fibronektin gibi hücre dışı matris proteinlerinin yapılarını parçalayabilmektedir [81]. Bağ dokunun temel yapısal elamanları olan elastin ve kolajenin, aşırı nötrofil elastaz aktivitesi sonucunda parçalanması akciğer dokusunun zarar görmesine neden olabilmektedir [82]. HNE aktivitesi, normal fizyolojik şartlarda endojen serin proteinaz inhibitörlerinden biri olan alfa-1 antitripsin (A1AT) ile kontrol edilmektedir [76,83]. Bu endojen proteinaz inhibitörleri arasında ayrıca elafin ve salgılayıcı lökosit proteinaz inhibitöründe bulunmaktadır ve çeşitli nedenlerden dolayı bu inhibitörler koruyucu etkilerini kaybedebilmektedirler [13]. Karaciğerde sentezlenen bir glikoprotein olan A1AT, insan serumunda en bol

bulunan proteaz inhibitörüdür [84,85]. A1AT'nin esas görevi aktive olmuş nötrofillerden salınan proteazların yıkıcı etkilerini önlemektir ve eksikliğinde çoğunlukla amfizem, kronik karaciğer hastalığı ve panikülüt görülmektedir [84]. Yapılan laboratuvar araştırmalarında ve klinik bulgulara A1AT eksikliğinin çeşitli kanser hastalıkları riskinin artmasıyla ilişkili olduğunu ve yükselmiş elastaz seviyelerinin ise birçok kanserin gelişimini, çoğalmasını ve yayılımını destekleyebileceğini göstermiştir [13]. Serolojik nötrofil elastazının artışı akciğer hastalarında sadece hastalık durumu ile ilgili değil, aynı zamanda hastalığın ilerlemesi ile de pozitif yönde ilişkili olmaktadır. Elastaz aktivitesi, akciğer kanseri olan hastaların kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) olan hastalara kıyasla bronkoalveolar lavaj sıvısında üç kat, serumunda ise beş kat daha fazla bulunmaktadır [86].

Tüm canlı organizmaların normal çalışması için proteaz ve antiproteazlar arasındaki homeostatik denge çok önemli bir durumdur. Proteolitik enzim aktivasyonları ve inhibitörleri, üreme, gelişme, enflamasyon, hemostaz ve kanser üzerindeki etkileri de dahil olmak üzere bir dizi patolojik ve fizyolojik süreci etkilemektedir [87]. HNE ile inhibitörleri arasındaki hassas dengenin bozulması çeşitli hastalıklara yol açan ciddi doku yaralanmalarına neden olmaktadır. Kontrolsüz elastaz aktivitesi, KOAH, pulmoner amfizem, astım, kistik fibroz, yetişkin solunum sendromu, romatoid artrit ve gecikmiş yara iyileşmesi gibi kronik enflamatuvar hastalıkların gelişimine yol açabilmektedir [13].

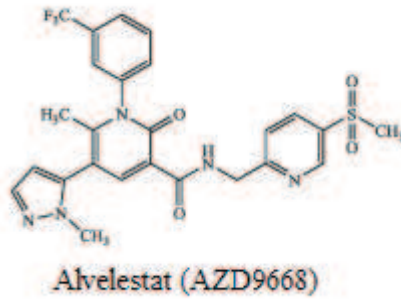
Elastaz enziminin önemli fırsatçı patojenler olan *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının neden olduğu enfeksiyonlarda önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir. Kistik fibroz gibi klinik durumlarda, *P.aeruginosa* suşları akciğer enfeksiyonlarının önemli bir nedenidir. Özellikle akciğer dokusuna yerleşme ve yayılımında, elastaz üretiminin önemli bir virülans faktörü olduğu belirtilmektedir. *P. aeruginosa* suşları aynı zamanda idrar yolu enfeksiyonu, yanık sonrası enfeksiyonları, cerrahi yara yeri enfeksiyonu ve hastane kaynaklı pnömoni gibi hastalık durumlarının ortaya çıkmasında da etken bir patojen olarak bildirilmektedir [16].



Pseudomonas aeruginosa suşu Kelastazı

Şekil 1.16. Elastaz enziminin üç boyutlu yapısı [88].

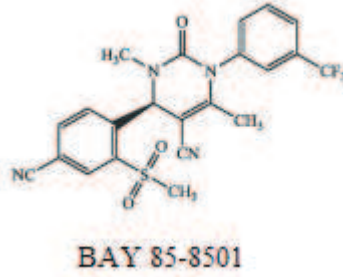
Son yıllarda akademik ve ilaç endüstrisindeki birçok paydaş çeşitli ve yeni birçok elastaz inhibitörleri keşfetmişlerdir. Doğal ürün kaynaklı birçok nötrofil elastaz inhibitörleri tanımlanmış olmasına rağmen, bu küçük ila orta boyutlu moleküllerin birçoğu, zayıf veya orta dereceli bir etki, sınırlı seçicilik ve klinik testleri engelleyen ciddi metabolik sorunlar göstermişlerdir. 2002 yılında AstraZeneca ve 2001'de ise Bayer tarafından bağımsız olarak geliştirilen, optimize edilmiş iki güçlü kullanılabilir aday olan AZD9668 (alvelestat) ve BAY-678 klinik testlere girmişlerdir. Klinik faz I çalışmalarında AZD9668 ve BAY-678'nin güvenilirliği ve etkinliği, sağlıklı gönüllüler ve KOAH hastaları ile yapılan çalışmalarda değerlendirilmiş ve bu iki 3. ve 4. kuşak elastaz inhibitörlerinin tolere edilebilirliği ve güvenilirliği onaylamıştır. Klinik faz II çalışmalarında ise, AZD9668 genel olarak sağlam bir primer klinik etkinlik gösterememiş olmasına rağmen, enflamatuvar veya mekanik biyobelirteçler gibi sekonder sonuç parametreleriyle ilgili bazı ümit verici etkiler gösterdiği belirtilmiştir [79].



Alvelestat (AZD9668)

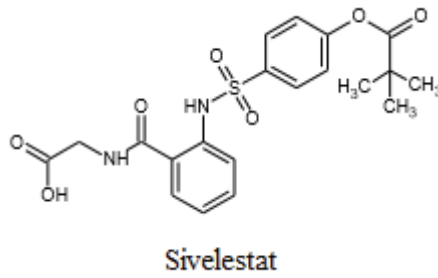
Şekil 1.17. Alvelestatın kimyasal yapısı [89].

5. kuşak elastaz inhibitörü olan ve oral yolla uygulanan BAY 85-8501'nin ise günde bir kez güvenilirliğini, farmakokinetiğini ve tolere edilebilirliğini değerlendirmek için sağlıklı erkek gönüllülerle klinik faz I çalışmaları yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda, 1 mg'a kadar tek ve çoklu dozlarda güvenli ve iyi tolere edilebilir olduğu belirtilmiştir [79].



Şekil 1.18. BAY 85-8501 kimyasal yapısı [89].

Yapılan tüm bu çalışmalara rağmen klinik pazara ulaşan tek sentetik elastaz inhibitörü sivelestatır [13]. Yeni bir terapötik ajan olan sivelestat (Elaspol®) Japonya'da Ono Pharmaceutical Company Ltd. tarafından akut akciğer hasarı tedavisi için geliştirilerek 2002 yılında pazarlanmasına başlanılmıştır [90]. İntravenöz olarak etkili bir HNE inhibitörü olan ve IC₅₀ 44 nM değerinde sahip sivelestatın, çeşitli akciğer yaralanmalarına karşı koruyucu etkiler gösterdiği kanıtlanmıştır [13].

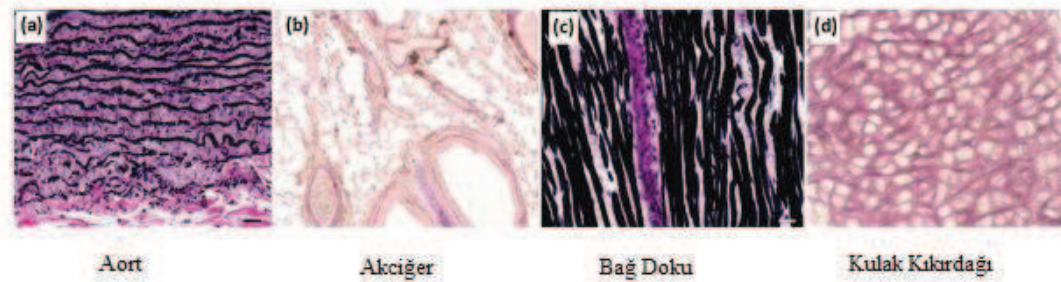


Şekil 1.19. Sivelestat kimyasal yapısı [13].

1.9.2.1.1.1. Elastin

Elastin, düzensiz ve rastgele dizilmiş sarmal yapıda 830 amino asit kalıntısından oluşan ve 64-66 kDa moleküler ağırlığa sahip özelleşmiş bir proteindir [91]. Cilt elastikiyetini oluşturan ve hücre dışı bir matris proteini olan elastin, cildin dermis tabakasında fibroblastlar ve düz kas hücreleri tarafından tropoelastin olarak sentezlenerek salgılanmaktadır [91,92]. Doku ve organların esnekliği için gerekli olan bu önemli yapısal protein, esnekliğin ve elastikiyetin çok önemli olduğu organlarda bol miktarda bulunmaktadır [93]. Elastin yaklaşık olarak elastik bağların %50'sini, aortun %30-57'sini, ana kan damarlarının yaklaşık %28-32'sini, tendonların %4'nü, akciğerlerin %3-7'sini ve cildin kuru ağırlığının %2 ila %5'ini oluşturmaktadır. Vücuttaki en kararlı proteinlerden biri olan elastin, 70 yıllık bir yarı ömre sahiptir [94]. Elastin, bağ doku, cilt, akciğerler ile arter duvarları gibi pek çok dokuya elastikiyet ve esneklik sağlayan elastik liflerin ana bileşenidir [78]. Cildin, bağ dokunun, vasküler duvarların ve akciğerlerin esnekliği hücre dışı matristeki elastik liflerle korunmaktadır [95]. Elastik liflerinin hasar görmesi ise cilt elastikiyetinin azalmasına yol açmaktadır [91].

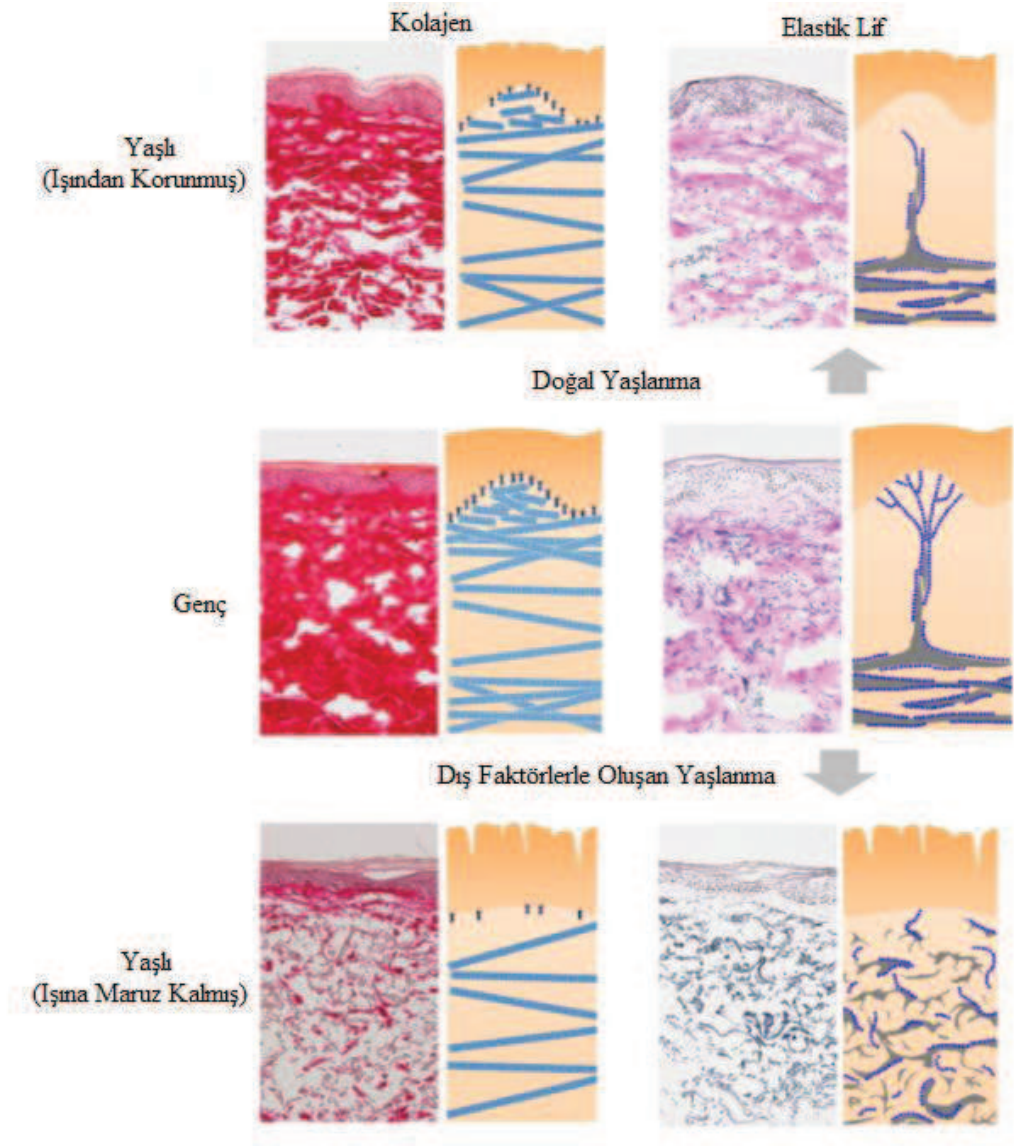
Elastin, farklı elastik dokularda farklı yapılar halinde düzenlenmektedir. Elastin lifleri, tendonlarda ve bağ dokuda paralel yönlü ip benzeri yapılar şeklinde bulunurken, elastik kıkırdakta 3D petek yapısında, akciğerde ise kafes benzeri bir yapıda bulunmaktadır [94,95].



Şekil 1.20. Elastinin (a) aort, (b) akciğer, (c) bağ doku ve (d) kulak kıkırdağındaki morfolojisi ve organizasyonu [94].

Uzun süreli güneş ve UV ışınlarına maruz kalınması, cildin esnek liflerinin üç boyutlu yapısının bozulmasına, kolajen ve elastin liflerin parçalanmasına, cilt

yapısında değişikliklere ve fotoyaşlanmaya neden olmaktadır. Cildin fotoyaşlanma sürecinde nötrofiller, önemli bir rol oynamaktadırlar. Nötrofiller; insan lökosit elastazı (HLE) ve matris metalloproteinazlar gibi aktif enzimleri serbest bırakarak cilde sızmalarına neden olmaktadır. Bu durum ise, HLE'nin tip I kolajenin heliks yapısını ayırmasına, derideki elastik lifin bozularak cildin sarkmasına ve kırışıklık oluşumuna yol açmaktadır [77,96]. Bu nedenle dermisteki elastaz aktivitesinin inhibisyonu cilt elastikiyetini korumak ve cildin yaşlanmasını önlemek için etkili bir yöntem olarak kullanılabileceği öngörülmektedir [76,78,91].



Şekil 1.21. Doğal ve dış faktörlere bağlı yaşlanma ile kolajen ve elastik yapılarda gözlenen değişimler [76,97].

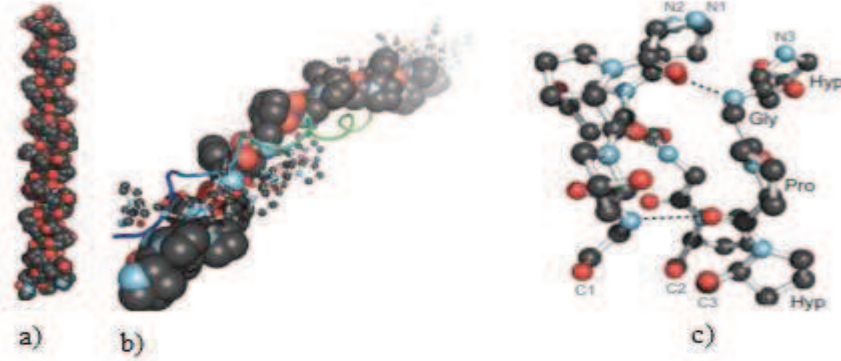
Elastin, akciğer dokusunda ve damar çeperlerinde de önemli miktarda bulunmaktadır ve akciğerlerin genişleyip daralmasından sorumludur. Elastin dışında fibrin, kolajen, kompleman faktörleri ve değişik bağışıklık sistemi bileşenlerini parçalayan elastaz enzimi patogeneizde önemli rol oynamaktadır. Elastaz enzimi tarafından damar çeperindeki elastin, kolajen ve fibrinin parçalanması damar bütünlüğünün bozularak akciğer alveollerinde nekro-hemorajik lezyonları meydana getirmektedir [98]. Ayrıca elastin sentezindeki anormallikler, otozomal dominant cutis laxa ve genetik bozukluklara bağlı olarak ortaya çıkan Williams-Beuren sendromu (WBS) gibi hastalıklarda çeşitli birçok elastikiyetle ilişkili rahatsızlıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. WBS, elastin genini içeren 7q11.23 kromozomundaki genlerin mikrodelsiyonundan kaynaklanmaktadır ve elastin sentezi normalin %50'sinden daha az gerçekleşmektedir. Bu durum ise beraberinde kardiyovasküler rahatsızlıklara ve bağ dokusu anormalliklerine neden olmaktadır [93]. Yaşlı bir görünüme neden olan sarkık, buruşuk, gevşek ve elastik olmayan bir deri ile karakterize nadir görülen bir elastik dokusu rahatsızlığı olan cutis laxa ise elastin gen mutasyonu ile ortaya çıkmaktadır [92,93]. Cutis laxa rahatsızlığında hastalarda, hafif ile şiddetli değişebilen bronşektazi ve amfizem gibi kalp ve akciğer komplikasyonları gibi sistemik bulgular görülmektedir [92].

1.9.2.1.1.2. Kolajen

Kolajen kornea, kemik ve dişlerin organik bileşeni olmasının yanı sıra cildin, kıkırdak ve tendonların baskın ana ögesini oluşturmaktadır [76,99]. Cildin ana yapısal proteini olan kolajen cildin güç, esneklik ve sağlamlığından sorumludur [78]. Memeli organizmasındaki toplam proteinin yaklaşık %25 ila %33'ünü oluşturan kolajenin %80'i cildin dermis tabakasında ve kemiklerde bulunmaktadır [76,99,100].

Derideki kolajen iki temel alfa zincirinden oluşmaktadır. Kolajeni oluşturan $\alpha 1$ ve $\alpha 2$ zincirlerinin her biri 1000 amino asit kalıntısından biraz fazlasını içermektedir. Üçlü bir sarmal yapı oluşturan alfa zincirleri, kolajeni çok güçlü bir yapı haline getirmektedir [100]. Kolajenin yapısında %11 oranında alanin, %35 oranında glisin bulunmaktadır. Ayrıca kolajen diğer proteinlerden farklı olarak %9 oranında hidroksiprolin ve %12 oranında prolin içermektedir. Diğer proteinlerde ise bu amino

asitlere nadir olarak rastlanılmaktadır. Kolajenin üçlü heliks yapısını oluşturan α zincirlerinin sıkıca bağlanması, kolajene eşit boyuttaki çelik bir telden daha fazla gerilme kuvveti sağlamaktadır [101].



Şekil 1.22. Kolajen üçlü sarmalına genel bakış

a) Kolajenin üçlü sarmalının ilk yüksek çözünürlüklü kristal yapısı b) Kolajen üçlü sarmalının boşluk doldurma, top ve şerit gösteriminin aşağıdan görüntüsü c) Kolajen üçlü sarmalının hidrojen bağları arasındaki merdiven yapısının top ve çubuk görüntüsü [102].

Kolajen ailesi, keşiflerinin kronolojik sırasına göre roma rakamları ile numaralandırılmış yirmi sekiz üyeden oluşmaktadır [103]. İnsan derisinde on iki tip kolajen molekülü tanımlanmaktadır. Kolajen tip I ve tip III dermiste en bol bulunan proteinlerdir ve çoğunlukla derideki ana hücre tipi olan fibroblastlar tarafından üretilmektedir. Kolajen tip I vücuttaki toplam kolajenin %90'ını oluşturmaktadır [100]. Cilt dermisinin ana bileşenini oluşturan tip I kolajen, dermis yapısının korunmasına yardımcıdır ve azalması cildin yaşlanmasına neden olmaktadır [77]. Ayrıca kemik ve tendonlarda kolajen tip I'in yüksek konsantrasyonda bulunduğu dokulardır. Kolajen tip I, iki tane $\alpha 1$ ve bir tane $\alpha 2$ zincirinden oluşmaktadır ve moleküler formülü $[\alpha 1(I)_2\alpha 2(I)]$ olarak gösterilmektedir. Kolajen tip III kaslarda, karaciğerde, akciğerde, uterusu ve cildin yanı sıra büyük damarlarda bulunmaktadır. Genç yaşta yüksek miktarda bulunan kolajen tip III, yaşla birlikte azalmaktadır ve kolajen liflerinin yapısında da zamanla değişiklikler meydana gelmektedir. Tip III kolajenin moleküler formülü $[\alpha 1(III)_3]$ 'dir ve üç tane $\alpha 1$ zincirinden oluşmaktadır. Kolajen tip IV ise ana cilt katmanlarının stabilitesinden sorumludur [100].

Vücudumuzdaki en büyük organ olan deri, kolajen bakımından zengin hücre dışı matris proteininden oluşmaktadır [104]. Derinin, birincil işlevi çevresel, kimyasal,

termal ve mikrobiyal faktörlere karşı koruyucu bir bariyer görevi yaparak vücudun tüm bu etkenlerden korunmasını sağlamaktır [77,104]. Deri, epidermis ve dermis olmak üzere iki doku katmanından oluşmaktadır. Dermis kalın bir kompleks bağ doku tabakasını oluştururken, epidermis ince bir koruyucu tabakayı oluşmaktadır. Dermisteki ana fibröz dokular kolajen ve elastik liflerden meydana gelmektedir ve çoğunlukla %97,5 oranında kolajen ve %2,5 oranında elastin lif içermektedir [78,100]. Dermisin esnekliğinden sorumlu olan kolajen, bağ dokusunun sağlamlığını oluşturmaktadır. Epidermis ise esas olarak kolajen liflerinden oluşmaktadır ve kolajen lifleri epidermiste cilt yüzeyine paralel uzanırken, elastin lifleri bir ağ oluşturmaktadır [100].

1.9.3. Elastaz Enziminin Klinik Kullanımı

Kronik pankreatit, pankreasta kalıcı yapısal hasarlara, ekzokrin ve endokrin fonksiyon bozukluklarına sebep olan, kronik ve kontrol altına alınamayan karın ağrısının bu sürece eşlik ettiği inflamatuvar bir sendromdur [105].

Pankreas ekzokrin fonksiyonlarının değerlendirilmesi, kronik pankreatitte hastalığın tanı ve tedavisinde önem taşımaktadır. Günümüzde pankreas ekzokrin fonksiyonlarının değerlendirilmesinde sekretin-serulein testi kullanılmaktadır. Fakat bu testin, invaziv ve hastalar için zahmetli olması araştırmacıları, invaziv olmayan, rutin çalışmalara uygun, tanısal doğruluğu yüksek yeni testleri araştırmaya yönlendirmiştir [106]. İnvaziv yöntemler uzun uğraşı ve zaman gerektirmelerinin yanı sıra maliyetli olmaları nedeniyle yaygın olarak kullanılmamaktadır [107]. Pankreatik proteazların, gaitada belirlenebilmesi pankreas ekzokrin fonksiyonlarının değerlendirilmesinde yeni bir tanı yöntemine imkan sağlamıştır [106].

İnsan pankreatik elastaz-1 enzimi pankreasta zimojen granüller içerisinde bulunmaktadır ve pankreasın asiner hücrelerinde sentezlenmektedir. Pankreas ekzokrin salgısı içerisinde duodenuma geçen pankreatik elastaz enzimi, duodenumda tripsin tarafından aktive edilmektedir ve intestinal geçiş sırasında miktarında bir değişiklik olmadan gaita ile atılmaktadır. Günümüzde pankreatik ekzokrin

fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılabilecek noninvaziv bir yöntem olarak fekal pankreatik elastaz-1 (FE-1) testi orta ve ciddi pankreatik ekzokrin fonksiyonlarının tanısına imkan vermektedir. FE-1 testinin kronik pankreatit tanısında destekleyici bir parametre olabileceği ve bu amaçla kullanılan test parametreleri arasında bir avantaja sahip olduğu da belirtilmektedir. Yapılan çalışmalarda sağlıklı kontrol grubuna göre kronik pankreatit tanısı almış hastalarda FE-1 düzeylerinin düşük bulunduğu bildirilmiştir. FE-1'in kronik pankreatit tanısında klinik açıdan önemi, feçeste pankreatik sıvıdan 5-6 kez daha fazla bulunması, uzun süre stabil kalması, intestinal geçiş sırasında miktarında herhangi bir değişiklik olmaması, ilaçlardan, dismotiliteden, mide cerrahisinden ve ince bağırsak hastalığından etkilenmemesidir [106].

1.10. Antimikrobiyal Ajanlar

Antibiyotikler, bazı bakteri ve mantarlar tarafından üretilen ve diğer bakterilerin çoğalmasını önleyen veya onları yok eden doğal maddelerdir. Sentetik olarak sentezlenen ve antibiyotiklerle aynı etkiyi gösteren kimyasal bileşikler ise “kemoterapötik ajanlar” olarak adlandırılırlar. Antimikrobiyaller ise, mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılan, antibiyotikleri ve kemoterapötik ajanları içeren ilaçlardır [108].

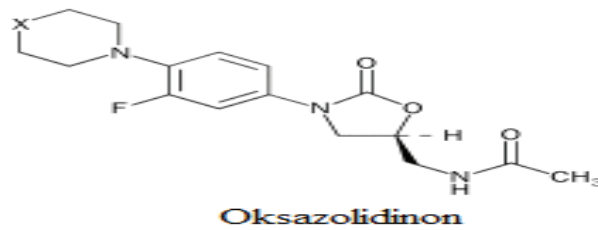
1800'lü yılların sonlarına kadar uzanan antibiyotiklere ilişkin ilk araştırmalar, 1928 yılında Alexander Fleming'in penisilini keşfi ile bu alanda önemli bir dönüm noktasına ulaşmıştır. 1941 yılında penisilin ilk kez kliniklerde kullanılmaya başlanmıştır [109]. 1943 yılında antibiyotiğe dirençli ilk bakterilerin keşfedilmesi ile birlikte dirençli bakterilerle mücadele etmek için yeni antibiyotikler bulmaya yönelik çalışmalar başlamış ve 1944 yılında yeni bir antibiyotik olan streptomisin keşfedilmiştir. Bilim insanları yeni antibiyotik türevlerini keşfetmeye ve geliştirmeye devam etmiştir [110]. Ancak tüm bu gelişmelere rağmen son 40 yılda yeni antibiyotik grupları ve antibiyotikler alanındaki gelişmelerin, oldukça sınırlı olduğu ve yetersiz kaldığı gözlemlenmektedir [109].

1.11. Antimikrobiyal Ajanların Etki Mekanizması

Antimikrobiyal ajanlar, etki mekanizmalarına göre protein sentez inhibitörleri, hücre duvarı sentez inhibitörleri, nükleik asit sentez inhibitörleri, membran bütünlüğünü bozanlar ve antimetabolitler olmak üzere 5 sınıfa ayrılmaktadırlar. Oksazolidinonlar, protein sentezini inhibe eden antimikrobiyal sınıfı içerisinde, 50S ribozomal alt üniteye bağlanan alt sınıfta yer almaktadırlar [108].

1.11.1. Oksazolidinonlar

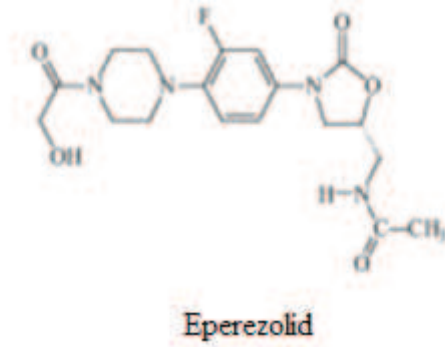
Birçok yaygın gram (+) patojenin, antimikrobiyal ajanlara karşı giderek daha dirençli hale gelmesi, gram (+) bakterilere karşı daha etkin yeni ilaçlara ihtiyacı ortaya çıkarmıştır. Yeni bir sentetik antimikrobiyal ilaç sınıfını oluşturan oksazolidinonlar, bakteriyostatik etkilerini, duyarlı oldukları bakterilerin protein sentezini inhibe ederek göstermektedirler. Oksazolidinonlar ile ilgili ilk çalışmalar 1980'lerin sonunda E I du Pont De Nemours şirketi tarafından yapılmıştır. Daha sonra oksazolidinonların iki türevi olan eperezolid ve linezolid, Pharmacia ve Upjohn şirketleri tarafından geliştirilmiştir. Linezolidin faz I klinik çalışmalarında önemli hiçbir toksik etki göstermemesi üzerine klinik kullanım için serbest bırakılmıştır. Linezolid klinik kullanım onayı alan ilk oksazolidinon ajandır [111]. Ayrıca oksazolidinonların diğer antibiyotiklerle çapraz direnç göstermediğide belirtilmektedir [112]. Klinik çalışmalarda bulunan eperezolid dışındaki diğer önemli oksazolidinonlar ise ranbezolid, DuP-721 ve Dup- 105' tir [18].



Şekil 1.23. Oksazolidinon yapısı [111].

1.11.1.1 Eperezolid

Eperezolid (PNU-100592), gram (+) patojenlerin neden olduğu enfeksiyonlara karşı, bakteriyostatik aktiviteye sahip yeni bir sentetik antimikrobiyal ilaç sınıfını oluşturan bir oksazolidinon ajandır. Eperezolid bakteriyostatik etkisini protein sentezinin ilk evresindeki 50S ribozomal alt üniteye spesifik olarak bağlanarak gösterir. Eperezolidin önemli etkinliği in vitro ve hayvanlarda doğrulanmıştır [112].

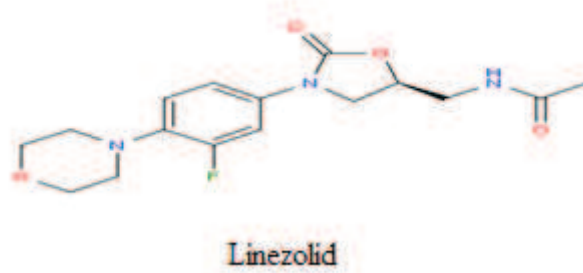


Şekil 1.24. Eperezolidin Yapısı [112].

1.11.1.2. Linezolid

Oksazolidinon sınıfı antibiyotiklerin ilki olan linezolid, diğer antibiyotiklere dirençli gram (+) enfeksiyonların tedavisinde kullanılan bir bakteriyel protein sentez inhibitör ajanıdır [113]. 1990'lı yıllarda geliştirilmeye başlanılan linezolid (Zyvox®, Zyvoxid®, Zyvoxam®) 2000 yılında kullanım için FDA tarafından onaylanan ilk oksazolidinon grubu antibiyotiktir ve Pfizer Inc. tarafından pazarlanmaktadır [18,114,115]. Duyarlı oldukları bakterilerin ribozomlarına bağlanarak protein sentezini önlemektedirler ve etkilerini protein sentezini başlatan kompleksin oluşumunu geri dönüşümlü bir biçimde engelleyerek göstermektedirler. Bakteriyel protein sentezini, 50S ribozomal alt ünitesinde bulunan 23S ribozomal RNA (rRNA)'ya bağlanarak inhibe etmektedirler ve böylece bakterilerin çoğalmasını engellemektedirler [116].

Linezolid, oral yolla alındığında emiliminin ortalama %100'lere kadar ulaşması klinik kullanımda oldukça fayda sağlamaktadır [109,113]. Kemik, yağ dokusu, akciğer, kas, beyin omurilik sıvısı ve deriye geçişi çok iyi düzeyde olan linezolidin atılımı böbrek yolu ve böbrek dışı mekanizmalarla gerçekleşmektedir [113]. Böbrek, böbrek dışı ve dışkı yoluyla atılım sırasıyla %30, %65 ve %5 oranlarında gerçekleşmektedir. Linezolid, günde 12 saat arayla kullanılması önerilmektedir ve yarılanma ömrü 5 saattir. En sık görülen yan etkileri diyare, mide bulantısı, ateş, baş ağrısı ve trombositopenidir. Linezolide karşı gelişen direnç mekanizması oldukça düşüktür ve direnç gelişim oranı (1×10^{-9})'dur [109]. Çoklu dirençli toplumsal veya hastane kökenli gram (+) enfeksiyonların tedavisinde linezolid kullanımı çok başarılı sonuçlanmıştır [113].



Şekil 1.25. Linezolidin Yapısı [117].

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Khan ve ark. tarafından yapılan çalışmada; yeni bir dizi 6-kloro-3-oksindol türevleri sentezlenmiş ve sentezlenen bileşiklerin **(1-25)** α -glukozidaz inhibisyon aktivitesi incelenmiştir. Yapılan çalışmada tüm bu bileşiklerin değişik derecelerde α -glukozidaz inhibisyonu gösterdikleri ve yedi bileşiğin enzimin güçlü inhibitörleri olduğu bildirilmiştir. Tüm bileşikler standart akarboz ($IC_{50} = 38,25 \pm 0,12 \mu M$) ile karşılaştırıldığında; **2** ($IC_{50} = 2,71 \pm 0,007 \mu M$), **3** ($IC_{50} = 11,41 \pm 0,005 \mu M$), **4** ($IC_{50} = 37,93 \pm 0,002 \mu M$), **5** ($IC_{50} = 15,19 \pm 0,004 \mu M$), **6** ($IC_{50} = 24,71 \pm 0,007 \mu M$), **23** ($IC_{50} = 17,33 \pm 0,001 \mu M$) ve **25** ($IC_{50} = 14,27 \pm 0,002 \mu M$) numaralı bileşiklerin standarttan daha güçlü inhibitör oldukları tespit edilmiştir [118].

Taha ve ark. tarafından yapılan çalışmada; oksindol bazlı oksadiazollerin hibrid analoglarının α -glukozidaz inhibe edici aktiviteleri incelenmiştir. Sentezlenen 20 bileşik, IC_{50} değeri $895,09 \pm 2,04 \mu M$ olan standart ilaç akarboz ile karşılaştırıldığında $1,25 \pm 0,05 \mu M$ ile $268,36 \pm 4,22 \mu M$ arasında değişen IC_{50} değerlerine sahip oldukları belirtilmiştir. **4** ($IC_{50} = 1,25 \pm 0,05 \mu M$) ve **8** ($IC_{50} = 3,80 \pm 0,05 \mu M$) numaralı bileşikler ise IC_{50} değerleri ile olağanüstü aktivite göstermişlerdir. Sonuç olarak tüm bileşiklerin **(1-20)** güçlü inhibitörler oldukları tespit edilmiştir [119].

Zawawi ve ark. tarafından yapılan çalışmada; benzimidazol olan 17 adet tiyoüre türevi sentezlenmiş ve α -glukozidaz inhibisyonu incelenmiştir. Tiyoüre taşıyan benzimidazol türevi 17 bileşik, standart akarboz ($IC_{50} = 774,5 \pm 1,94 \mu M$) ile karşılaştırıldığında, IC_{50} değerlerinin $35,83 \pm 0,66 \mu M$ ile $297,99 \pm 1,20 \mu M$ arasında değiştiği ve α -glukozidaz inhibe edici aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir. **14** ($IC_{50} = 35,83 \pm 0,66 \mu M$) ve **10** ($IC_{50} = 50,57 \pm 0,81 \mu M$) numaralı bileşikler IC_{50} değerleri ile serinin geri kalanına göre önemli inhibe edici etkiler göstermişlerdir ve tüm bileşiklerin güçlü bir α -glukozidaz inhibe edici potansiyeline sahip olduğu sonucuna varılmıştır [120].

Gollapalli ve ark. tarafından yapılan çalışmada; benzotiyazol bazlı oksadiazol türevleri **(1-23)** sentezlenmiş ve bileşiklerin α -glukozidaz inhibe edici aktivitesi

değerlendirilmiştir. Tüm bileşiklerin, $0,5 \pm 0,01 \mu\text{M}$ ila $36,50 \pm 0,50 \mu\text{M}$ arasında değişen IC_{50} değerlerine sahip oldukları belirtilmiş ve standart akarboz ($\text{IC}_{50} = 866,30 \pm 3,20 \mu\text{M}$) ile karşılaştırıldığında, **8** ($\text{IC}_{50} = 0,5 \pm 0,01 \mu\text{M}$) ve **6** ($\text{IC}_{50} = 0,08 \pm 0,01 \mu\text{M}$) numaralı bileşikler IC_{50} değerleri ile üstün aktivite göstermişlerdir. Tüm bileşiklerin (**1-23**) güçlü α -glukozidaz inhibisyonuna sahip oldukları sonucuna varılmıştır [121].

Rahim ve ark. tarafından yapılan çalışmada; (**1-21**) bir dizi tiyazol türevi sentezlenmiş ve α -glukozidaz inhibisyon potansiyelleri değerlendirilmiştir. 21 türevin tümü, standart akarboz ($\text{IC}_{50} = 38,25 \pm 0,12 \mu\text{M}$) ile karşılaştırıldığında IC_{50} değerleri $18,23 \pm 0,03 \mu\text{M}$ ile $424,41 \pm 0,94 \mu\text{M}$ arasında değişen değişken bir α -glukozidaz inhibisyonu göstermiştir. İki bileşik; **8** ($\text{IC}_{50} = 18,23 \pm 0,03 \mu\text{M}$) ve **7** ($\text{IC}_{50} = 36,75 \pm 0,05 \mu\text{M}$), IC_{50} değerleri ile standart akarbozdan daha iyi bir aktivite sergilemiştir [122].

Lin ve ark. tarafından yapılan çalışmada; yarı sentetik güçlü bir antibiyotik olan rifampisin, 3-[[[(4-metil-1-piperazinil) imino] metil]-rifamisin, α -glukozidaz aktivitesi üzerindeki inhibitör etkisi değerlendirilmiştir. Sonuçlar, rifampisin, α -glukozidaz aktivitesini belirgin bir şekilde ($\text{IC}_{50} = 135 \pm 1,2 \mu\text{M}$) geri dönüşümlü ve rekabetçi tipte inhibe ettiğini göstermiştir [42].

Zeng ve ark. tarafından yapılan çalışmada; α -glukozidaz enzim aktivitesine bir flavonoid bileşiği olan galangin'in (3,5,7-trihidroksiflavon) etkisi incelenmiştir. IC_{50} değerleri galangin için ($\text{IC}_{50} = 27,50 \pm 0,5 \mu\text{M}$) ve akarboz için ($\text{IC}_{50} = 412 \pm 4 \mu\text{M}$) bulunmuştur. Bu sonuçlar galangin'in α -glukozidazı kuvvetle inhibe ettiği ve galanginin potansiyel bir α -glukozidaz inhibitörü olduğunu göstermiştir [123].

Bilgin Sökmen ve ark. tarafından yapılan çalışmada; 4-(aza sübstitüye) metilen sübstitüye dihidroksi kumarin türevleri sentezlenerek anti-elastaz aktiviteleri incelenmiştir. Sentezlenen yedi bileşik, standart ursolik asit ile ($\text{IC}_{50} = 0,416 \pm 0,063 \mu\text{M}$) karşılaştırıldığında IC_{50} değerlerinin $0,125 \pm 0,002 \mu\text{M}$ ila $0,737 \pm 0,085 \mu\text{M}$ arasında değiştiği ve iyi düzeyde elastaz inhibitör aktiviteye sahip oldukları

belirtilmiştir. Bileşikler arasındaki en etkili elastaz enzim inhibitör etkisini ($IC_{50} = 0,125 \pm 0,002 \mu M$) değeri ile **7** numaralı bileşik göstermiştir [124].

Butt ve ark. tarafından yapılan çalışmada; bir dizi yeni etillenmiş bi-heterosiklik asetamid hibritlerinin (9a-p) anti-elastaz enzim aktiveleri incelenmiştir. Sentezlenen bileşikler standart oleanolik asit ile ($IC_{50} = 13450,5 \pm 13,6 \text{ nM}$) karşılaştırıldığında IC_{50} değerlerinin $9,4 \pm 2,3 \text{ nM}$ ile $2749,1 \pm 345,1 \text{ nM}$ arasında değiştiği gözlenmiştir. 2-metilfenil halkasına sahip bileşik **9h** ($IC_{50}=9,4\pm2,3 \text{ nM}$) ve 3-metilfenil grubuna sahip bileşik **9i** ($IC_{50} =88,7 \pm 19,5 \text{ nM}$) değerleri ile mükemmel aktivitelere sahip olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak, bi-heterosiklik asetamidlerin, elastaz ile ilişkili hastalıkların tedavisi için önde gelen tıbbi iskeletler olarak kullanılabileceği ifade edilmiştir [125].

Chiocchio ve ark. tarafından yapılan çalışmada; Hindistan, Afrika ve Akdeniz bölgelerinden toplanan bitkilerden elde edilen yüz bitki ekstratının elastaz enzim inhibisyonu incelenmiştir. Elastaz inhibisyonu için seçilen on iki örneğin IC_{50} değerleri $7,17 \pm 1,36 \mu g/mL$ ile $101,07 \pm 20,74 \mu g/mL$ arasında değişmiştir. Pozitif kontrolün (quercetin) IC_{50} değeri $61 \mu g/mL$ ($202 \mu M$) ile karşılaştırıldığında on iki numune arasında, *Pistacia lentiscus*un yapraklarından elde edilen ekstrenin, en güçlü elastaz inhibitörü olduğu belirtilmiştir [126].

Eş tarafından yapılan çalışmada; ilk defa sentezlenen 1,2,4-triazol schiff bazı bileşiklerin anti elastaz aktiviteleri incelenmiştir. Sentezlenen (**1-10**) bileşiğin $0,201 \pm 0,005699 \mu M$ ile $3,52773 \pm 1,340179 \mu M$ arasında değişen IC_{50} değerlerine sahip oldukları belirtilmiştir. ($IC_{50} = 0,201 \pm 0,005699 \mu M$) değeri ile **1** numaralı bileşik elastaz enzimini en yüksek oranda inhibe ettiği belirtilmiştir [127].

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Deneylerde Kullanılan Cihazlar

Otomatik Pipetler	: Brand Pipetleri
Su Banyosu	: Memmert
pH Metre	: Butech
Destile Su cihazı	: Nüve-NS-108
Hassas Terazı	: Sartorius
Terazi	: Shimadzu AUX220
Etüv	: Binder
UV-VIS	
Spektrofotometre	: T80+PG Instruments
Buzdolabı	: Arçelik

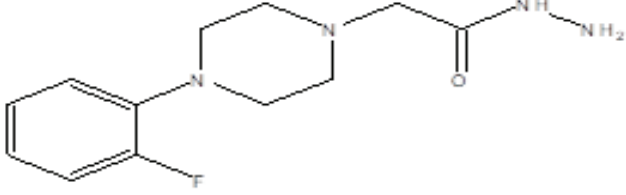
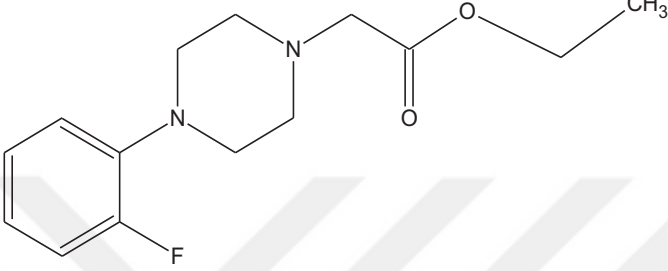
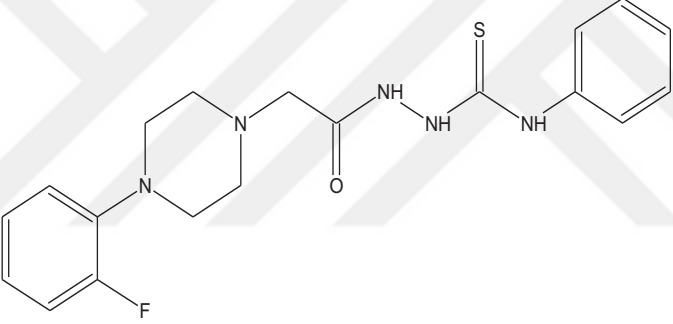
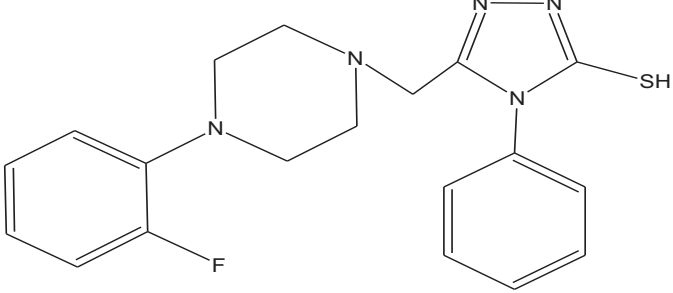
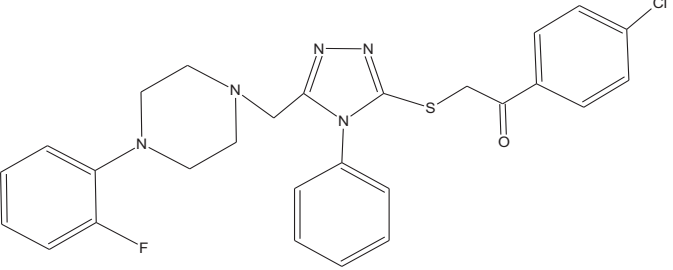
3.1.2. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneylerde kullanılan kimyasallar, MERCK veya SIGMA ürünleridir.

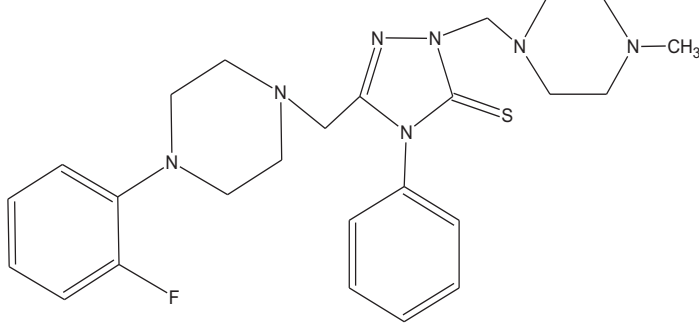
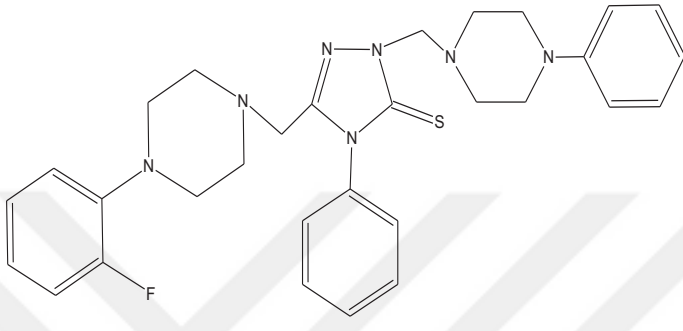
3.1.3. Deneylerde Kullanılan Eperezolid Benzeri Bileşikler

Bu çalışmada kullanılan eperezolid benzeri bileşikler, Giresun Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Organik Kimya Laboratuvarında Doç. Dr. Hakan BEKTAŞ tarafından ilk kez sentezlenmiştir. Bu çalışmada kullanılan eperezolid benzeri bileşiklerinin adları ve numaraları aşağıda belirtilmiştir.

Tablo 3.1. İlk Defa Sentezlenen Eperezolid Benzeri Bileşiklerin Numaraları ve Sistematik Adları

Bileşik No	Açık Yapı	Sistematik Adı
1		2-[4-(2-fluorophenyl)piperazin-1-yl]acetohydrazide
2		Ethyl[4-(2-fluorophenyl)piperazin-1-yl]acetate
3		2-{[4-(2-fluorophenyl)piperazin-1-yl]acetyl}-N-phenylhydrazine carbothioamide
4		5-{[4-(2-fluorophenyl)piperazin-1-yl]methyl}-4-phenyl-4H-1,2,4-triazole-3-thiol
5		1-(4-chlorophenyl)-2-[(5-{[4-(2-fluorophenyl)piperazin-1-yl]methyl}-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio]ethanone

6		1-(4-chlorophenyl)-2-[(5-{[4-(2-fluorophenyl)piperazin-1-yl]methyl}-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio]ethanol
7		2-[4-(2-fluorophenyl)piperazin-1-yl]-N'-[(2Z)-4-oxo-3-phenyl-1,3-thiazolidin-2-ylidene]acetohydrazide
8		Ethyl-6-fluoro-7-{4-[(3-{[4-(2-fluorophenyl)piperazin-1-yl]methyl}-4-phenyl-5-thioxo-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-1-yl)methyl]piperazin-1-yl}-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid
9		1-cyclopropyl-6-fluoro-7-{4-[(3-{[4-(2-fluorophenyl)piperazin-1-yl]methyl}-4-phenyl-5-thioxo-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-1-yl)methyl]piperazin-1-yl}-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid

10		5-([4-(2-fluorophenyl)piperazin-1-yl]methyl)-2-[(4-methylpiperazin-1-yl)methyl]-4-phenyl-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione
11		5-([4-(2-fluorophenyl)piperazin-1-yl]methyl)-2-phenyl-4-[(4-phenylpiperazin-1-yl)methyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione

İlk defa sentezlenen eperezolid benzeri bileşiklerin dimetil sülfoksit'teki (DMSO) stok çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan stok çözeltilerin belirli oranlarda seyreltmeleri yapılarak enzim aktiviteleri spektrofotometrik olarak tayin edildi.

3.2. Yöntem

3.2.1. Anti- α -Glukozidaz Enzim Aktivitesinin Tayini

İlk defa sentezlenen eperezolid benzeri bileşiklerin anti- α -glukozidaz aktivite tayini Khan ve arkadaşlarının metodundan yararlanılarak spektrofotometrik olarak tayin edildi [7]. Çalışmamızda ilk kez sentezlenen eperezolid benzeri bileşiklerin uygun bir çözücü, DMSO kullanılarak çözünmesi sağlandı ve aynı çözücü kullanılarak farklı konsantrasyonlara ($1,0 \times 10^{-3}$ - $1,0 \times 10^{-6}$ μ M) seyreltildi.

Hazırlanan örnek çözeltilerden 0,09 mL alındı. Üzerine 0,1 M (pH=6,8) olan 0,63 mL fosfat tamponu çözeltisi ilave edildi. Daha sonra 0,1 M (pH=6,8) olan fosfat tamponunda çözülmüş 0,09 mL (0,0234 U/mL) α -glukozidaz enzimi ilave edildi.

Kontrol çözeltisi, 0,1 M (pH=6,8) olan 0,63 mL fosfat tamponu çözeltisine 0,09 mL (0,0234 U/mL) α -glukozidaz enzimi ilave edilerek hazırlandı. Kontrol ve örnek çözeltileri 37°C'de 10 dakika inkübe edildi. 400 nm'de suya karşı örnek ve kontrol çözeltilerinin absorbans değerleri okundu. İnkübasyon sonra örnek ve kontrol çözeltilerine 0,05 mM 0,09 mL p-nitrofenil α -D-glukopiranozid (PNP-G) substratı ilave edilerek 37°C'de 30 dakika inkübe edildi. 400 nm'de suya karşı örnek ve kontrol çözeltilerinin absorbans değerleri okundu. Yapılan çalışmada farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örneklerin anti- α -glukozidaz inhibisyon aktivitesi aşağıdaki denkleme göre hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_{400 \text{ kontrol}} - A_{400 \text{ örnek}}) / A_{400 \text{ kontrol}}] \times 100$$

A_{kontrol} : Kontrol çözeltisinin 400 nm'de suya karşı absorbans değeri.

$A_{\text{örnek}}$: Örnek çözeltisinin 400 nm'de suya karşı absorbans değeri.

Deneyler 3 kez tekrarlanarak ve ortalamaları alındı. İlk kez sentezlenen eperezolid benzeri bileşiklerinin α -glukozidaz enzimi üzerindeki % inhibisyon değerleri hesaplandı.

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

3.2.2. Anti-Elastaz Enzim Aktivitesinin Tayini

İlk defa sentezlenen eperezolid benzeri bileşiklerin anti-elastaz aktivite tayini Moon ve arkadaşlarının metodundan yararlanılarak spektrofotometrik olarak tayin edildi [128]. Çalışmamızda ilk kez sentezlenen eperezolid benzeri bileşikler uygun bir çözücü, DMSO kullanılarak çözünmesi sağlandı ve aynı çözücü kullanılarak farklı konsantrasyonlara ($1,0 \times 10^{-3}$ - $1,0 \times 10^{-6}$ μ M) seyreltildi.

Hazırlanan örnek çözeltilerden 0,05 mL alındı. Üzerine, 0,05 mL elastaz enzimi (0,16 U/mL) ilave edildi. Daha sonra 0,2 M (pH=7,8) olan 0,9 mL tris hidroklorür (Tris-HCl) tampon çözeltisi örnek çözeltilere ilave edildi. Kontrol çözeltisi olarak 0,1 mL elastaz enzim çözeltisi üzerine 0,2 M (pH=7,8) 0,9 mL Tris-HCl tampon çözeltisi ilave edilerek hazırlandı. Kör çözeltisi ise 0,1 mL destile su üzerine, 0,2 M (pH=7,8) 0,9 mL Tris-HCl tampon çözeltisinin ilave edilmesiyle hazırlandı. Kör, kontrol ve örnek çözeltileri 37°C’de 15 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra kör, kontrol ve örnek çözeltilerine 5 mM 0,05 mL N-Succinyl-Ala-Ala-Ala-*p*-nitroanilide (STANA) substratı ilave edilerek 37°C’de 30 dakika inkübe edildi. 410 nm’de kör’e karşı örnek ve kontrol çözeltilerinin absorbans değerleri okundu. Yapılan çalışmada farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örneklerin anti-elastaz inhibisyon aktivite değerleri aşağıdaki denkleme göre hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_{410 \text{ kontrol}} - A_{410 \text{ örnek}}) / A_{410 \text{ kontrol}}] \times 100$$

A_{kontrol} : Kontrol çözeltisinin 410 nm’de köre karşı absorbans değeri.

$A_{\text{örnek}}$: Örnek çözeltisinin 410 nm’de köre karşı absorbans değeri.

Deneyler 3 kez tekrarlandı ve ortalaması alındı. İlk defa sentezlenen eperezolid benzeri bileşiklerin elastaz enzimi üzerindeki % inhibisyon değerleri hesaplandı.

IC₅₀ değeri (Aktivitenin %50’sini inhibe etmek için gerekli olan konsantrasyon değeri) absise konsantrasyon, ordinata % elastaz enzim inhibisyon verilerinin uygulanması ile çizilen eğrinin lineer kesiminden elde edilen regresyon denkleminde hesaplandı.

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada ilk defa sentezlenen eperezolid benzeri bileşiklerin α -glukozidaz ve elastaz enzim aktiviteleri incelendi

4.1. Anti- α -Glukozidaz Aktivitesi Tayini Sonuçları

İlk defa sentezlenen eperezolid benzeri bileşikleri arasında en yüksek anti- α -glukozidaz aktiviteyi **1** nolu ($IC_{50}=1,9 \times 10^{-3} \pm 5,7 \times 10^{-4} \mu M$) bileşiğin, diğer bileşiklere göre daha düşük anti- α -glukozidaz aktiviteyi ise **10** nolu ($IC_{50} = 8,3 \times 10^{-3} \pm 2,8 \times 10^{-4} \mu M$) bileşiğin gösterdiği gözlemlendi.

Tablo 4.1. İlk Defa Sentezlenen Eperezolid Benzeri Bileşiklerin α -Glukozidaz Aktivitesi

Bileşik No	Konsantrasyon ($\mu g/mL$)	% İnhibisyon*	Anti- α -Glukozidaz IC_{50} (μM)*
1	0,000001 0,00001 0,0001 0,001	25,57 $\pm$ 3,38 39,60 $\pm$ 2,02 51,06 $\pm$ 2,38 60,75 $\pm$ 3,24	$1,9 \times 10^{-3} \pm 5,7 \times 10^{-4}$
2	0,000001 0,00001 0,0001 0,001	16,44 $\pm$ 1,34 26,20 $\pm$ 2,72 34,94 $\pm$ 1,32 46,08 $\pm$ 5,35	$4,8 \times 10^{-3} \pm 1,1 \times 10^{-3}$
3	0,000001 0,00001 0,0001 0,001	9,03 $\pm$ 1,90 14,42 $\pm$ 1,90 21,48 $\pm$ 2,84 30,92 $\pm$ 3,89	$5,5 \times 10^{-3} \pm 9,9 \times 10^{-4}$
4	0,000001 0,00001 0,0001 0,001	5,64 $\pm$ 0,85 10,98 $\pm$ 1,05 16,25 $\pm$ 1,61 23,20 $\pm$ 3,08	$7,4 \times 10^{-3} \pm 1,6 \times 10^{-3}$
5	0,000001 0,00001 0,0001 0,001	12,16 $\pm$ 1,24 18,93 $\pm$ 0,62 25,99 $\pm$ 2,02 34,58 $\pm$ 3,39	$5,4 \times 10^{-3} \pm 7,8 \times 10^{-4}$
6	0,000001 0,00001 0,0001 0,001	4,80 $\pm$ 0,83 9,14 $\pm$ 0,25 13,21 $\pm$ 1,23 20,74 $\pm$ 1,93	$6,5 \times 10^{-3} \pm 8,5 \times 10^{-4}$

7	0,000001 0,00001 0,0001 0,001	-	Aktivite Yok
8	0,000001 0,00001 0,0001 0,001	4,30 ± 1,05 8,02 ± 1,29 13,97 ± 0,64 18,94 ± 0,98	$5,5 \times 10^{-3} \pm 7,1 \times 10^{-4}$
9	0,000001 0,00001 0,0001 0,001	2,68 ± 0,81 6,25 ± 1,19 9,14 ± 1,34 14,49 ± 1,13	$7,0 \times 10^{-3} \pm 3,5 \times 10^{-4}$
10	0,000001 0,00001 0,0001 0,001	3,22 ± 1,51 7,24 ± 1,51 11,82 ± 1,09 17,58 ± 0,75	$8,3 \times 10^{-3} \pm 2,8 \times 10^{-4}$
11	0,000001 0,00001 0,0001 0,001	-	Aktivite Yok
Akarboz	0,000001 0,00001 0,0001 0,001	11,25 ± 1,51 20,25 ± 1,25 29,26 ± 0,16 40,65 ± 2,11	$1,38 \times 10^{-3} \pm 9,9 \times 10^{-5}$

*Ortalama ± Standart sapma

4.2. Anti-Elastaz Aktivitesi Tayini Sonuçları

İlk defa sentezlenen eperezolid benzeri bileşikler arasında en yüksek anti-elastaz aktiviteyi **8** nolu ($IC_{50} = 2,2 \times 10^{-2} \pm 2,6 \times 10^{-3} \mu M$) bileşiğin, diğer bileşiklere göre daha düşük anti-elastaz aktiviteyi ise **1** nolu ($IC_{50} = 4,1 \times 10^{-2} \pm 1,3 \times 10^{-3} \mu M$) bileşiğin gösterdiği gözlemlendi.

Tablo 4.2. İlk Defa Sentezlenen Eperezolid Benzeri Bileşiklerin Elastaz Aktivitesi

Bileşik No	Konsantrasyon ($\mu g/mL$)	% İnhibisyon*	Anti-Elastaz IC_{50} (μM) *
1	0,000001 0,00001 0,0001 0,001 0,01	12,39 ± 1,60 17,19 ± 1,23 25,76 ± 0,54 35,10 ± 1,18 46,66 ± 0,75	$4,1 \times 10^{-2} \pm 1,3 \times 10^{-3}$
2	0,000001 0,00001	17,15 ± 1,68 23,36 ± 2,81	$3,4 \times 10^{-2} \pm 3,4 \times 10^{-3}$

	0,0001 0,001 0,01	33,22 ± 1,52 42,27 ± 2,98 52,75 ± 2,18	
3	0,000001 0,00001 0,0001 0,001 0,01	15,31 ± 1,32 22,88 ± 2,14 30,20 ± 1,16 36,84 ± 0,94 50,78 ± 2,16	$2,5 \times 10^{-2} \pm 1,9 \times 10^{-3}$
4	0,000001 0,00001 0,0001 0,001 0,01	9,84 ± 0,75 14,69 ± 1,70 20,76 ± 2,00 30,25 ± 1,40 40,28 ± 1,43	$3,4 \times 10^{-2} \pm 2,8 \times 10^{-3}$
5	0,000001 0,00001 0,0001 0,001 0,01	11,35 ± 2,98 15,38 ± 1,56 23,22 ± 1,65 32,75 ± 2,07 44,15 ± 1,47	$3,4 \times 10^{-2} \pm 2,4 \times 10^{-3}$
6	0,000001 0,00001 0,0001 0,001 0,01	8,14 ± 1,45 14,71 ± 0,47 22,55 ± 2,13 30,08 ± 2,74 42,08 ± 2,67	$2,5 \times 10^{-2} \pm 2,4 \times 10^{-3}$
7	0,000001 0,00001 0,0001 0,001 0,01	9,21 ± 1,15 17,29 ± 1,35 22,75 ± 1,92 29,68 ± 1,90 40,48 ± 1,15	$2,7 \times 10^{-2} \pm 9,9 \times 10^{-3}$
8	0,000001 0,00001 0,0001 0,001 0,01	8,01 ± 0,50 11,69 ± 2,01 17,55 ± 1,80 25,34 ± 4,24 37,18 ± 3,14	$2,2 \times 10^{-2} \pm 2,6 \times 10^{-3}$
9	0,000001 0,00001 0,0001 0,001 0,01	6,66 ± 1,32 11,37 ± 1,38 17,36 ± 1,39 24,03 ± 0,52 34,48 ± 1,75	$2,4 \times 10^{-2} \pm 2,3 \times 10^{-3}$
10	0,000001 0,00001 0,0001 0,001 0,01	6,80 ± 1,27 11,81 ± 0,75 17,79 ± 2,05 24,82 ± 3,41 35,70 ± 1,00	$3,4 \times 10^{-2} \pm 1,5 \times 10^{-3}$
11	0,000001 0,00001 0,0001 0,001 0,1	7,93 ± 1,53 14,80 ± 2,14 22,26 ± 1,25 33,34 ± 1,88 43,35 ± 1,47	$2,3 \times 10^{-2} \pm 1,2 \times 10^{-3}$
Ursolik asit	0,000001 0,00001 0,0001 0,001 0,1	20,18 ± 1,52 25,94 ± 2,14 33,34 ± 1,88 43,35 ± 1,47 58,14 ± 2,57	$2,3 \times 10^{-2} \pm 1,4 \times 10^{-3}$

*Ortalama ± Standart sapma

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünyadaki en büyük sağlık sorunlarından biri olarak kabul edilen DM, insülin hormonunun pankreasta üretilmediği veya vücudun ürettiği insülini uygun şekilde kullanamadığı durumlarda kan glukoz seviyesinin anormal artışı ile kendini gösteren ve yüksek kan glukozu (hiperglisemi) ile karakterize çok yönlü bir metabolik bozukluktur [58,129]. DM tanısı, tedavisi, komplikasyonları ve hasta bakım giderleri açısından değerlendirildiğinde maliyeti oldukça yüksek bir hastalık olarak ortaya çıkmaktadır. Yapılan çalışmalarda diyabetin hasta başı ortalama maliyetinin 616 Amerikan Doları (USD) ile 1143 USD arasında olduğunu, Türkiye’de yapılan araştırmalarda ise hasta başı bir yıllık maliyetin 976 USD olduğu saptanmıştır [107]. Uluslararası Diyabet Federasyonu, günümüzde dünya çapında yaklaşık 425 milyon yetişkinin diyabetten etkilendiğini ve bu sayının 2045 yılına kadar yaklaşık 700 milyon kişiye ulaşabileceğini öngörmektedir [129]. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre ise, 2030 yılına gelindiğinde diyabetin önde gelen yedinci ölüm nedeni olacağını belirtmektedir [130].

Diyabet, tip I, tip II, gestasyonel ve diğer spesifik diyabet tipleri olmak üzere klinik olarak dört alt sınıfına ayrılmaktadır. Tip 2 DM’lu hastalar tüm diyabetik hastaların %90’nı oluşturmaktadır [130]. Tip 2 DM hiperglisemi, insülin direnci ve insülin sekresyonundaki bozulma ile ortaya çıkan ve insüline bağımlı olmayan bir diyabet türüdür [131,132]. Tip 2 DM tedavisindeki temel terapötik strateji α -glukozidaz enzim aktivitesinin inhibisyonu ile tokluk kan glukoz (postprandial hiperglisemi) seviyesinin etkili şekilde azalmasını sağlamaktır [58]. Kontrolsüz yüksek kan glukoz seviyesi kardiyovasküler komplikasyonlar, körlük, ayak ülserleri, böbrek yetmezliği ve uzuv amputasyonuna ihtiyaç duyulması gibi bir takım komplikasyonların gerçekleşmesine neden olabilmektedir [133]. Klasik α -glukozidaz inhibitörleri olan vogliboz, akarboz ve miglitol postprandial hiperglisemiyi azaltarak tip 2 DM’un tedavisinde yaygın olarak kullanılan oral antidiyabetik ilaçlar arasında yer almaktadırlar [130,134]. Bununla birlikte bu inhibitörlerinin sıklıkla karın ağrısı, şişkinlik, diyare ve diğer gastrointestinal bozukluklar gibi birçok yan etkiye yol açtığı bildirilmiştir [42]. Bu nedenle daha az yan etkiye sahip, etkili, güvenli ve düşük maliyetli α -glukozidaz inhibitörlerinin keşfedilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Ayrıca α -glukozidaz inhibitörlerinin HIV ve kanser gibi hastalıkların tedavisi içinde oldukça faydalı olduğu belirtilmektedir. α -Glukozidaz inhibitörlerinin HIV enfeksiyonlarındaki hücre çoğalmasını ve viral enfeksiyonlarıda engellediği gözlemlenmiştir [68].

Elastazlar, proteazların kimotripsin ailesine ait elastin, kolajen ve fibronektin gibi proteinlerin parçalanmasından sorumlu olan enzimlerdir [126]. Elastin, cilt, akciğer, bağ doku ve vasküler duvarlarda bulunan doku ve organlara esneklik sağlayan en önemli ve bol hücre dışı matris proteinlerinden biridir [93]. Bağ dokusunun sağlamlığından sorumlu olan kolajen ise dermiste en bol bulunan proteindir [91,97]. Dermisteki ana fibröz dokular elastin ve kolajenden meydana gelmektedir [78].

Güneş ışınlarına uzun süreli maruziyet cilt yapısında değişikliklere, cilt kusurlarına ve rahatsızlıklarına neden olmaktadır. UV radyasyon, ROT oluşumunu artırarak elastaz enziminin aşırı üretilmesine yol açmaktadır. Elastaz enzim aktivitesinin artışı kolajen ve elastik liflerin yapısal ve fonksiyonel olarak değişimini ortaya çıkarmaktadır. Bu durum ise cildin esnek yapılarının bozularak pürüzlü bir dokunun oluşmasına ve yaşlanmaya yol açmaktadır [77]. Elastaz inhibitörleri cilt elastikiyetinin korunmasını sağlayan kırışıklık karşıtı aktivite göstermektedirler [126]. Ayrıca elastaz ile doğal inhibitörleri arasındaki dengesizlik doku hasarlarına neden olmakta ve kistik fibroz, astım, pulmoner amfizem, solunum sıkıntısı sendromu gibi akciğer ve bağ doku hastalıklarının ortaya çıkmasına neden olabilmektedirler. Dolayısıyla elastaz spesifik inhibitörlerin gelişimi ile birlikte elastazla ilişkili hastalıkların kontrol edilmesine olanak sağlanacağı düşünülmektedir [135].

Yapılan bu çalışmada, yeni sentezlenmiş bir seri eperezolid benzeri bileşiklerin (**1-11**) anti- α -glukozidaz ve anti-elastaz aktiviteleri incelendi. Bu bileşiklerin anti- α -glukozidaz aktiviteleri incelendiğinde, IC_{50} değerlerinin $1,9 \times 10^{-3} \pm 5,7 \times 10^{-4} \mu M$ ile $8,3 \times 10^{-3} \pm 2,8 \times 10^{-4} \mu M$ arasında değiştiği gözlemlendi. Buna göre, aktivite gösteren bu bileşiklerin standart inhibitör olan akarboza ($IC_{50} = 1,38 \times 10^{-3} \pm 9,9 \times 10^{-5} \mu M$) yakın

bir inhibitör etkiye sahip oldukları belirlendi. Çalışılan bileşiklerin anti-elastaz aktiviteleri incelendiğinde ise, IC_{50} değerlerinin $2,2 \times 10^{-2} \pm 2,6 \times 10^{-3} \mu M$ ile $4,1 \times 10^{-2} \pm 1,3 \times 10^{-3} \mu M$ arasında değiştiği belirlendi. Standart elastaz inhibitörü olan ursolik asitle ($IC_{50}=2,3 \times 10^{-2} \pm 1,4 \times 10^{-3} \mu M$) karşılaştırıldığında **8** nolu bileşiğin ($IC_{50}=2,2 \times 10^{-2} \pm 2,6 \times 10^{-3} \mu M$) daha etkili bir elastaz inhibitörü olduğu gözlemlendi.

Elde edilen bu sonuçlardan ilk defa sentezlenen eperezolid benzeri bileşiklerin genel olarak α -glukozidaz ve elastaz inhibitör aktivitesine sahip olduğu sonucuna varıldı.



KAYNAKLAR

- [1] Nelson, D.L., Cox, M.M. Lehninger Biyokimyanın İlkeleri. 5. Baskıdan Çeviri, Palme Yayıncılık, Ankara, 25, 183-233, 960-961, 2013.
- [2] Keha, E., Küfrevioğlu, İ. Biyokimya. 10. Baskı, Aktif Yayınevi, İstanbul, 89-137, 2014.
- [3] Güner, S. Biyokimya-I. Karadeniz Teknik Üniversitesi Matbaası, Trabzon, 107-141,166, 2007.
- [4] Kalaycıoğlu, L., Serpek, B., Nizamlioğlu, M., Başpınar, N., Tiftik, A.M. Biyokimya. 5. Baskı, Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara, 213-246, 2013.
- [5] Amtul, Z., Atta-ur-Rahman, Siddiqui, R. A., Choudhury, M. I. Chemistry and mechanism of urease inhibition. Current Medicinal Chemistry, 9(14), 1323-1348, 2002.
- [6] Shah, S., Arshia, Javaid, K., Zafar, H., Khan, K.M., Khalil, R., Ul-Haq, Z., Perveen, S., Choudhary, M.I. Synthesis, and In Vitro and In Silico α -Glucosidase Inhibitory Studies of 5-Chloro-2-Aryl Benzo[d]thiazoles. Bioorganic Chemistry, 78, 269-279, 2018.
- [7] Khan, M.S., Munawar, M.A., Ashraf, M., Alam, U., Ata, A., Asiri, A.M., Kousar, S., Khan, M.A. Synthesis of novel indenoquinoxaline derivatives as potent α -glucosidase inhibitors. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 22(3), 1195-1200, 2014.
- [8] Taha, M., Ismail, N.H., Imran, S., Rokei, M.Q., Saad, S.M., Khan, K.M. Synthesis of new oxadiazole derivatives as α -glucosidase inhibitors. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 23(15), 4155-4162, 2015.
- [9] Javaid, K., Saad, S.M., Rasheed, S., Moin, S.T., Syed, N., Fatima, I., Salar, U., Khan, K.M., Perveen, S., Choudhary, M.I. 2-Arylquinazolin-4(3H)-ones: A new class of α -glucosidase inhibitors. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 23(23), 7417-7421, 2015.
- [10] Bayraktar, M. Oral Hipoglisemikler. Türkiye Tıp Dergisi 8(Ek 1), 35-44, 2001.
- [11] Cengiz Ecemiş, G., Atmaca, H. Oral antidiyabetik ajanlar. Journal of Experimental and Clinical Medicine, 29, 23-29, 2012.
- [12] Han, L., Fang, C., Zhu, R., Peng, Q., Li, D., Wang, M. Inhibitory effect of phloretin on α -glucosidase: Kinetics, interaction mechanism and molecular docking. International Journal of Biological Makromolecules, 95, 520-527, 2017.
- [13] Siedle, B., Hrenn, A., Merfort, I. Natural compounds as inhibitors of human neutrophil elastase. Planta Medica, 73(5), 401-420, 2007.

- [14] Thring, T.S., Hili, P., Naughton, D.P. Anti-collagenase, anti-elastase and antioxidant activities of extracts from 21 plants. BMC Complementary and Alternative Medicine, 9(27), 2009.
- [15] Liyanaarachchi, G.D., Samarasekera, J.K.R.R., Mahanama, K.R.R., Hemalal, K.D.P. Tyrosinase, elastase, hyaluronidase, inhibitory and antioxidant activity of Sri Lankan medicinal plants for novel cosmeceuticals. Industrial Crops and Products, 111, 597-605, 2018.
- [16] Demir, M., Cevahir, N., Kaleli, İ., Yıldırım, U., Şahin, R., Çevik Tepeli, E. Alt Solunum Yolu Örnekleri ve Solunum Dışı Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarında Siderofor, Total Matriks Proteaz ve Elastaz Aktivitesinin Araştırılması. Mikrobiyoloji Bülteni, 42, 197-208, 2008.
- [17] Edlund, C., Oh, H., Nord, C.E. In vitro activity of linezolid and eperezolid against anaerobic bacteria. Clinical Microbiology and Infection, 5(1), 51-53, 1999.
- [18] Brickner, S.J. Oxazolidinone Antibiotics. Comprehensive Medicinal Chemistry II, 7, 673-698, 2007.
- [19] Ladics, G.S., Sewalt, V. Industrial microbial enzyme safety: What does the weight-of-evidence indicate?. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 98, 151-154, 2018.
- [20] Bilgin Sökmen, B. Kayısı (*Armeniaca vulgaris* Lam.) Tohumlarından Lipazın Saflaştırılması ve Çeşitli Taşıyıcılara İmmobilize Edilmesi. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2005.
- [21] Česko, C. *Paulownia tomentosa*'dan Polifenol Oksidaz Enziminin Saflaştırılması ve Çeşitli Bitki Özütləri İle İnhibisyonu. Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2018.
- [22] Erenler, A. Biyoenzimler ve Biyoenzimlerin Örme Kumaş Özelliklerine Etkisi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2009.
- [23] Particle Sciences - Technical Brief, Protein Structure, PA-USA, 8, 2009.
- [24] Yaman, M. Peroksidazın Üç Fazlı Ayırma Yöntemi İle Pazıdan (*Beta vulgaris* L. var. cicla) Saflaştırılması. İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2018.
- [25] Göktaş, H. Elastaz Enzim İnhibitörleri. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2012.
- [26] İlğün, R. Kestane (*Castanea sativa*) Tohumundan Lipaz Enziminin Saflaştırılması ve Kinetik Özelliklerinin İncelenmesi. Giresun Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2016.

- [27] Zhang, Y., He, S., Simpson, B.K. Enzymes in food bioprocessing — novel food enzymes, applications, and related techniques. *Current Opinion in Food Science*, 19, 30-35, 2018.
- [28] Ermis, E. Halal status of enzymes used in food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 64, 69-73, 2017.
- [29] Zhang, Y., Geary, T., Simpson, B.K. Genetically modified food enzymes: a review. *Current Opinion in Food Science*, 25, 14-18, 2019.
- [30] Ersoy, O. Karaciğer Enzim Yüksekliğinin Değerlendirilmesi. *Ankara Medical Journal*, 12(3), 129-135, 2012.
- [31] Noyan, T., Şekeroğlu, M.R., Dülger, H. N-Asetil- β -D Glukozaminidaz ve Böbrek Hastalıklarında Kullanımı. *Van Tıp Dergisi*, 7(2), 80-83, 2000.
- [32] Patchell, C.J., Desai, M., Weller, P.H., MacDonald, A., Smyth, R.L., Bush, A., Gilbody, J.S., Duff, S.A. Creon® 10,000 Minimicrospheres™ vs. Creon® 8,000 microspheres— an open randomised crossover preference study. *Journal of Cystic Fibrosis* 1(4), 287–291, 2002.
- [33] Yiğit, N.Ö., Bahadır Koca, S. Balık Yemlerinde Enzim Kullanımı. *Journal of FisheriesSciences.com*, 5(3), 205-212, 2011.
- [34] Çalışkan, S. *Geobacillus* sp. Tarafından Termotabil α -Amilaz Üretimi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2011.
- [35] Eker, P. Farklı Hammaddeler İçeren Lycralı Dokuma Kumaşlarda Biyo-parlatma ve Biyo-parlatmanın Kumaş Performansına Etkileri. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2011.
- [36] Özoğlu, Ö., Ünal, M.A., Altuntaş, E.G. Biyosensörler: Gıda ve Sağlık Alanında Laktat Biyosensörleri. *Turkish Journal of Life Sciences*, 2(2), 180-193, 2017.
- [37] Çöleri, A. Bazı Termofilik *Bacillus* Türlerinin Termotabil α -Glukozidaz Üretim Kapasiteleri ve Enzim/lerin Kısmi Karakterizasyonu. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2007.
- [38] Niehaus, F., Bertoldo, C., Kähler, M., Antranikian, G. Extremophiles as a source of novel enzymes for industrial application. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 51(6), 711-729, 1999.
- [39] van der Maarel, M. J. E. C., van der Veen, B.α, Uitdehaag, J. C. M., Leenhuis, H., Dijkhuizen, L. Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. *Journal of Biotechnology*, 94(2), 137-155, 2002.
- [40] Aiyer, P.V. Amylases and their applications. *African Journal of Biotechnology* 4 (13), 1535-1529, 2005.

- [41] Piller, K., Daniel, R. M., Petach, H. H. Properties and stabilization of an extracellular α -glucosidase from the extremely thermophilic archaebacteria *Thermococcus* strain AN1: enzyme activity at 1300 C. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 1292, 197-205, 1996.
- [42] Lin, M.Z., Chai, W.M., Zheng, Y. L., Huang, Q., Ou-Yang, C. Inhibitory kinetics and mechanism of rifampicin on α -glucosidase: Insights from spectroscopic and molecular docking analyses. *International Journal of Biological Makromolecules*, 122, 1244-1252, 2019.
- [43] Henrissat, B. A classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. *Biochemical Journal*, 280(2), 309-316, 1991.
- [44] Henrissat, B. Callebaut, I., Fabrega, S., Lehn, P., Mornon, J., Davies, G. Conserved catalytic machinery and the prediction of a common fold for several families of glycosyl hydrolases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(15), 7090-7094, 1995.
- [45] Henrissat, B., Bairoch, A. New families in the classification of glycosyl hydrolases on amino acid sequence similarities. *Biochemical Journal*, 193(3), 781-788, 1993.
- [46] Sorensen, S.H., Norèn, O., Sjöström, H., Danielsen, E.M. *European Journal of Biochemistry*, 126, 559-568, 1982.
- [47] Kim, S.D. α -Glucosidase inhibitor from *Buthus martensi* Karsch. *Food Chemistry*, 136(2), 297-300, 2013.
- [48] Guo, F., Zhang, S., Yan, X., Dan, Y., Wang, J., Zhao, Y., Yu, Z. Bioassay-guided isolation of antioxidant and α -glucosidase inhibitory constituents from stem of *Vigna angularis*. *Bioorganic Chemistry*, 87, 312-320, 2019.
- [49] Ibrahim, M.A., Bester, M.J., Neitz, A.W., Gaspar, A.R.M. Rational *in silico* design of novel α -glucosidase inhibitory peptides and *in vitro* evaluation of promising candidates. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 107, 234-242, 2018.
- [50] Grundy, S.M., Hansen, B., Smith Jr, S.C., Cleeman, J.I., Kahn, R.A. Clinical Management of Metabolic Syndrome. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 24 (2), 19-24, 2004.
- [51] Mizuno, C.S, Chittiboyina, A.G, Kurtz, T.W, Pershadsingh, H.A, Avery, M.A. Type 2 diabetes and oral antihyperglycemic drugs. *Current Medicinal Chemistry*, 15 (1), 61-74, 2008.

- [52] Masharani, U, German, M.S. Pancreatic hormones and diabetes mellitus. Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology'de. Ed. Gardner DG, Shoback D. 8. Baskı, California, The McGraw Hill Companies, 661-747, 2007.
- [53] Turan, E., Kulaksızoğlu, M. Tip 2 Diyabet Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. Okmeydanı Tıp Dergisi, 31 (Ek sayı), 86-94, 2015.
- [54] Asano, N. Glycosidase inhibitors: update and perspectives on practical use Glycobiology, 13(10), 93-104, 2003.
- [55] Nathan, D.M., Buse, J.B., Davidson, M.B., Ferrannini, E., Holman, R.R., Sherwin, R., Zinman, B. Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. Diabetes Care, 32(1): 193-203, 2009.
- [56] Satmaz, İ. Biguanidler ve yeni geliştirilen hipoglisemik ajanlar. Aktuel Tıp Dergisi, 8, 573-576, 1996.
- [57] Krentz, A.J., Bailey, C.J. Oral antidiabetic agents: Current role in type 2 diabetes mellitus. Drugs, 65, 385-411, 2005.
- [58] Tang, H., Ma, F., Zhao, D., Xue, Z. Exploring the effect of salvianolic acid C on α -glucosidase: Inhibition kinetics, interaction mechanism and molecular modelling methods. Process Biochemistry, 78, 178-188, 2019.
- [59] Joubert, P.H., Foukaridis, G.N., Bopape, M.L. Miglitol may have a blood glucose lowering effect unrelated to inhibition of aglucosidase. European Journal of Clinical Pharmacology, 31, 723-724, 1987.
- [60] Joubert, P.H., Venter, H.L., Foukaridis, G.N. The effect of miglitol and acarbose after an oral glucose load: a novel hypoglycaemic mechanism?. British Journal of Clinical Pharmacology, 30, 391-396, 1990.
- [61] Anıl, A.B., Anıl, M., Yavaşcan, Ö., Özalkak, Ş., Taştan, M., Aksu, N. Pompe Hastalığında Enzim Yerine Koyma Tedavisi, Türkiye Klinikleri Journal of Pediatrics, 19(2), 162-166, 2010.
- [62] Öner, T., Yağar Keskin, G., Ocak, S., Kasapbaşı Gök, T. İnfantil Pompe Hastalığının Erken Teşhisinde Ekokardiyografinin Önemi. Şişli Etfal Hastanesi Tıp Bülteni, 49(4), 299-303, 2015.
- [63] Parkinson Lawrence, E.J., Shandala, T., Prodoehl, M., Plew, R., Borlace, G.N., Brooks, D.A. Lysosomal storage disease: revealing lysosomal function and physiology. Physiology, 25(2), 102-115, 2010.

- [64] Kishnani, P.S., Hwu, W.L., Mandel, H., Nicolino, M., Yong, F., Corzo, D. A retrospective, multinational, multicenter study on the natural history of infantile-onset Pompe disease. *The Journal of Pediatrics*, 148 (5), 671-676, 2006.
- [65] Shapir, Y., Roguin, N. Echocardiographic findings in Pompe's disease with left ventricular obstruction. *Clinical Cardiology*, 8, 181-185, 1985.
- [66] Rees, A., Elbl, F., Minhas, K., Solinger, R. Echocardiographic evidence of outflow tract obstruction in Pompe's disease (glycogen storage disease of the heart). *The American Journal of Cardiology*, 37(7), 1103-1106, 1976.
- [67] Uğurlu, M., Üstü, Y., Baydar Artantaş, A. Diabetes Mellitus İçin Birinci Basamak Kullanımına Yönelik Kanıta Dayalı Bir Rehber Çalışması. *Ankara Medical Journal*, 12(3), 140-144, 2012.
- [68] Rahim, F., Ullah, K., Ullah, H., Wadood, A., Taha, M., Ur Rehman, A., uddin, I., Ashraf, M., Shaukat, A., Rehman, W., Hussain, S., Khan, K.M. Triazinoindole analogs as potent inhibitors of α -glucosidase: synthesis, biological evaluation and molecular docking studies. *Bioorganic Chemistry*, 58, 81-87, 2015.
- [69] Njume, C., Donkor, O., McAinch, A.J. Predisposing factors of type 2 diabetes mellitus and the potential protective role of native plants with functional properties. *Journal of Functional Foods*, 53, 115-124, 2019.
- [70] Özyardımcı Ersoy, C. Tip 2 diabetes mellitusta oral antidiyabetik tedavi yaklaşımları. *Türkiye Aile Hekimliği Dergisi*, 14(1), 1-7, 2010.
- [71] Deepa, P., Sowndhararajan, K., Kim, S., Park, S.J. A role of *Ficus* species in the management of diabetes mellitus: A review. *Journal of Ethnopharmacology*. 215, 210-232, 2018.
- [72] Barros, S.C., Louro, R.O., Micaêlo, N.M., Martins, J.A., Marcos, J.C., Cavaco-Paulo, A. NMR and molecular modelling studies on elastase inhibitor-peptides for wound management. *Reactive and Functional Polymers*, 73(10), 1357-1365, 2013.
- [73] Rao, M.B., Tanksale, A.M., Ghatge, M.S., Deshpande, V.V. Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(3), 597-635, 1998.
- [74] Özden, S. *Bacillus subtilis* (RSKK-11014)'den Proteaz Enziminin Saflaştırılması, Aktivitesinin Tayini ve Karakterizasyonu. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2014.
- [75] Sağkal, Y. Giresun Yöresindeki Bazı Yenilebilir Bitkilerin Farklı Çözücülerdeki Ekstrelerinin Anti-Elastaz Aktivitelerinin İncelenmesi. Giresun Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2013.

- [76] Şenol, F.S. Bitkisel Kaynaklı Kozmetik Ürün Geliştirilmesi Üzerine Farmakognozik Araştırmalar. Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2016.
- [77] Roy, A., Sahu, R.K., Matlam, M., Deshmukh, V.K., Dwivedi, J., Jha, A.K. In vitro techniques to assess the proficiency of skin care cosmetic formulations. *Pharmacognosy Reviews*, 7(14), 97-106, 2013.
- [78] Xu, G. H., Kim, Y. H., Chi, S. W., Choo, S. J., Ryoo, I. J., Ahn, J. S., Yoo, I. D. Evaluation of human neutrophil elastase inhibitory effect of iridoid glycosides from *Hedyotis diffusa*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20(2), 513-515, 2010.
- [79] von Nussbaum, F., Li, V.M.-J. Neutrophil elastase inhibitors for the treatment of (cardio)pulmonary diseases: Into clinical testing with pre-adaptive pharmacophores. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25(20), 4370-4381, 2015.
- [80] Sieńczyk, M., Winiarski, L., Kasperkiewicz, P., Psurski, M., Wietrzyk, J., Oleksyszyn, J. Simple phosphonic inhibitors of human neutrophil elastase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21(5), 1310-1314, 2011.
- [81] Winiarski, Ł., Oleksyszyn, J., Sieńczyk, M. Human neutrophil elastase phosphonic inhibitors with improved potency of action. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55(14), 6541-6553, 2012.
- [82] Mikumo, H., Yanagihara, T., Hamada, N., Harada, E., Ogata-Suetsugu, S., Ikeda-Harada, C., Arimura-Omori, M., Suzuki, K., Yokoyama, T., Nakanishi, Y. Neutrophil elastase inhibitor sivelestat ameliorates gefitinib-naphthalene-induced acute pneumonitis in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 486(1), 205-209, 2017.
- [83] Benedek, B., Kopp, B., Melzig, M. F. *Achillea millefolium* L. s.l. - Is the anti-inflammatory activity mediated by protease inhibition?. *Journal of Ethnopharmacology*, 113(2), 312-317, 2007.
- [84] Güleç Ceylan, G., Şentürk, A., Hasanoğlu, C. Alfa 1 Antitripsin Eksikliğinde Moleküler Tanının Önemi: Olgu Sunumu. *Van Tıp Dergisi*, 23(1), 92-94, 2016.
- [85] Martínez Bugallo, F., Figueira Gonçalves, J.M., Martín Martínez, M.D., Díaz Pérez, D. Spectrum of Alpha-1 Antitripsin Deficiency Mutations Detected in Tenerife. *Archivos de Bronconeumología*, 53(10), 595-596, 2017.
- [86] Lerman, I., Hammes, S.R. Neutrophil elastase in the tumor microenvironment. *Steroids*, 133, 96-101, 2018.

- [87] Skarżyńska, E., Kiersztyn, B., Wilczyńska, P., Jakimiuk, A., Lisowska-Myjak, B. Total proteolytic activity and concentration of alpha-1 antitrypsin in meconium for assessment of the protease/antiprotease balance. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 223, 133-138, 2018.
- [88] Said, Z.S.A.M., Arifi, F.A.M., Salleh, A.B., Rahman, R.N.Z.R.A., Leow, A.T.C., Latip, W., Ali, M.S.M. Unravelling protein -organic solvent interaction of organic solvent tolerant elastase from *Pseudomonas aeruginosa* strain K crystal structure. *International Journal of Biological Macromolecules*, 127, 575-584, 2019.
- [89] Crocetti, L., Giovannoni, M.P., Schepetkin, I.A., Quinn, M.T., Khlebnikov, A.I., Cantini, N., Guerrini, G., Iacovone, A., Teodori, E., Vergelli, C. 1H-pyrrolo[2,3-b]pyridine: A new scaffold for human neutrophil elastase (HNE) inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 26(21), 5583-5595, 2018.
- [90] <https://www.ono.co.jp/eng/> Erişim Tarihi: 13.02.2019.
- [91] Ko, R. K., Kim, G. O., Hyun, C. G., Jung, D. S., Lee, N. H. Compounds with tyrosinase inhibition, elastase inhibition and DPPH radical scavenging activities from the branches of *Distylium racemosum* Sieb. et Zucc. *Phytotherapy Research*, 25(10), 1451-1456, 2011.
- [92] Berk, D.R., Bentley, D.D., Bayliss, S.J., Lind, A., Urban, Z. Cutis laxa: A review *Journal of the American Academy of dermatology*, 66(5), 842.e1-842.e17, 2012.
- [93] Lescan, M., Perl, R.M, Golombek, S., Pilz, M., Hann, L., Yasmin, M., Behring, A., Keller, T., Nolte, A., Gruhn, F., Kochba, E., Levin, Y., Schlensak, C., Wendel, H.P., Avci Adali, M. De Novo Synthesis of Elastin by Exogenous Delivery of Synthetic Modified mRNA into Skin and Elastin-Deficient Cells. *Molecular Therapy Nucleic Acids*, 11, 475-484, 2018.
- [94] Annabi, N., Mithieux, S.M., Unal Camci, G., Dokmeci, M.R., Weiss, A.S., Khademhosseini, A. Elastomeric recombinant protein-based biomaterials. *Biochemical Engineering Journal*, 77, 110-118, 2013.
- [95] Urbán, Z., Riazi, S., Seidl, T.L., Katahira, J., Smooth, L.B., Chitayat, D., Boyd, C.D., Hinek, A. Connection between elastin haploinsufficiency and increased cell proliferation in patients with supravalvular aortic stenosis and Williams-Beuren syndrome. *American Journal of Human Genetics*, 71(1), 30–44, 2002.
- [96] Masuda, M., Murata, K., Fukuham, A., Naruto, S., Fujita, T., Uwaya, A., Isami, F., Matsuda, H. Inhibitory effects of constituents of *Morinda citrifolia* seeds on elastase and tyrosinase. *Journal of Natural Medicines*, 63(3), 267-273, 2009.
- [97] Naylor, E.C., Watson, R.E.B., Sherratt, M.J. Molecular aspects of skin ageing. *Maturitas*, 69(3), 249-256, 2011.

- [98] Uğurlu, A. *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Çevreyi Algılama Sistemine Fenolik Maddelerin Etkisinin Araştırılması. Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, 2013.
- [99] Harrington, D.J. Bacterial collagenases and collagen-degrading enzymes and their potential role in human disease. *Infection and Immunity*, 64(6), 1885-1891, 1996.
- [100] Calleja-Agius, J., Brincat, M., Borg, M. Skin connective tissue and ageing. *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 27(5), 727-740, 2013.
- [101] Sinanoğlu, G. Kollajenaz Enzim İnhibitörleri. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2013.
- [102] Shoulders, M.D., Raines, R.T. Collagen Structure and Stability. *Annual Review of Biochemistry*, 78, 929-958, 2009.
- [103] Ricard Blum, S., Baffet, G., Thèret, N. Molecular and tissue alterations of collagens in fibrosis. *Matrix Biology*, 68(69), 122-149, 2018.
- [104] Morikiri, Y., Matsuta, E., Inoue, H. The collagen-derived compound collagen tripeptide induces collagen expression and extends lifespan via a conserved p38 mitogen-activated protein kinase cascade. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 505(4), 1168-1173, 2018.
- [105] Şişman, G., Özbalak, M., Şentürk, H. Kronik Pankreatit. *İç Hastalıkları Dergisi* 17, 45-54, 2010.
- [106] Gök, Ş., Saydam, G.S., Aydın, C., Yazıhan, N., Üsküdar, O., Oğuz, D. Kronik Pankreatit Tanısında Fekal Elastazın Klinik Önemi. *Yeni Tıp Dergisi*, 25, 213-216, 2008.
- [107] Özek, Ü. Diyabetik Hasta Popülasyonunda Pankreatik Ekzokrin Yetmezlik: Fekal Elastaz Tayini. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, 2018.
- [108] Saran, B., Karahan, Z.C. Ürolojide Antibiyotik Kullanımı I/Antimikrobiyal Ajanlara Genel Bakış. *Türk Üroloji Seminerleri*, 1, 216-220, 2010.
- [109] Büke, Ç. Gram-Pozitif Bakteri Enfeksiyonu Tedavisinde Yenilikler (Yeni Antibiyotikler). *Flora Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi*, 10(2), 58-64, 2005.
- [110] http://www.bilimteknik.tubitak.gov.tr/sites/default/files/posterler/antibiyotikler_poster.pdf, Erişim tarihi:19.09.2018.

- [111] Diekema, D.J., Jones, R.N. Oxazolidinone antibiotics. *The Lancet*, 358(9297), 1975-1982, 2001.
- [112] Li, J., Rayner, C.R., Nation, R.L. Simple method for the assay of eperezolid in Brain Heart Infusion broth by high-performance liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 35(4), 847-851, 2004.
- [113] Acar, M., Somer, A., Salman, N. Yeni antibiyotikler. *Çocuk Dergisi* 15(3-4), 99-103, 2015.
- [114] Phetsang, W., Blaskovich, M.A.T., Butler, M.S., Huang, J.X., Zuegg, J., Mamidyala, S.K., Ramu, S., Kavanagh, A.M., Cooper, M.A. An azido-oxazolidinone antibiotic for live bacterial cell imaging and generation of antibiotic variants. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 22(16), 4490–4498, 2014.
- [115] Küçükbayrak, A., Özdemir, D. İki yeni protein sentez inhibitörü: linezolit ve streptograminler (Kinopristin/Dalfoprustin). *İnfeksiyon Dergisi*, 20(2), 145-151, 2006.
- [116] Champney, W.S., Miller, M. Linezolid is a specific inhibitor of 50S ribosomal subunit formation in *Staphylococcus aureus* cells. *Current Microbiology*, 44(5), 350-356, 2002.
- [117] http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.390139.html?rid=263f8a4a-dbff-496c-82a6-c3cd80b4fef0&page_num=0 Erişim tarihi: 14.01.2019.
- [118] Khan, M., Yousaf, M., Wadood, A., Junaid, M., Ashraf, M., Alam, U., Ali, M., Arshad, M., Hussain, Z., Khan, K.M. Discovery of novel oxindole derivatives as potent α -glucosidase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 22(13), 3441-3448, 2014.
- [119] Taha, M., Imran, S., Rahim, F., Wadood, A., Khan, K.M. Oxindole based oxadiazole hybrid analogs: Novel α -glucosidase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 76, 273-280, 2018.
- [120] Zawawi, N.K., Taha, M., Ahmat, N., Ismail, N.H., Wadood, A., Rahim, F. Synthesis, molecular docking studies of hybrid benzimidazole as α -glucosidase inhibitor. *Bioorganic Chemistry*, 70, 184-191, 2017.
- [121] Gollapalli, M., Taha, M., Javid, M.T., Almandil, N.B., Rahim, F., Wadood, A., Mosaddik, A., Ibrahim, M., Alqahtani, M.A., Bamarouf, Y.A. Synthesis of benzothiazole derivatives as a potent α -glucosidase inhibitor. *Bioorganic Chemistry*, 85, 33-48, 2019.

- [122] Rahim, F., Ullah, H., Javid, M.T., Wadood, A., Taha, M., Ashraf, M., Shaukat, A., Junaid, M., Hussain, S., Rehman, W., Mehmood, R., Sajid, M., Khan, M.N., Khan, K.M. Synthesis, in vitro evaluation and molecular docking studies of thiazole derivatives as new inhibitors of α -glucosidase. *Bioorganic Chemistry*, 62:15-21, 2015.
- [123] Zeng, L., Ding, H., Hu, X., Zhang, G., Gong, D. Galangin inhibits α -glucosidase activity and formation of non-enzymatic glycation products. *Food Chemistry*, 271, 70-79, 2019.
- [124] Bilgin Sokmen, B., Aydın, G., Gümüş, A., Karadeniz, S., Ugraş, H.İ., Yanardağ, R., Çakır, Ü. Synthesis, antielastase, antioxidant and radical scavenging activities of 4-(aza substituted) methylene substituted dihydroxy coumarines. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 1–6, 2012.
- [125] Butt, A.R.S., Abbasi, M.A., Aziz-Ur-Rehman, Siddiqui, S.Z., Hassan, M., Raza, H., Shah, S.A.A., Seo, S.Y. Synthesis and structure-activity relationship of elastase inhibiting novel ethylated thiazole-triazole acetamide hybrids: Mechanistic insights through kinetics and computational contemplations. *Bioorganic Chemistry*, 86, 197-209, 2019.
- [126] Chiocchio, I., Mandrone, M., Sanna, C., Maxia, A., Tacchini, M., Poli, F. Screening of a hundred plant extracts as tyrosinase and elastase inhibitors, two enzymatic targets of cosmetic interest. *Industrial Crops and Products*, 122, 498-505, 2018.
- [127] Eş, S. İlk Defa Sentezlenen 1,2,4-Triazol Schiff Bazı Bileşiklerinin Antioksidan, Anti-Elastaz ve Anti-Tirozinaz Aktivitelerinin İncelenmesi. Giresun Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2013.
- [128] Moon, J.Y., Yim, E.Y., Song, G., Lee, N.H., Hyun, C.G. Screening of elastase and tyrosinase inhibitory activity from Jeju Island plants. *EurAsian Journal of BioSciences*, 4, 41-53, 2010.
- [129] Dai, T., Chen, J., McClements, D.J., Li, T., Liu, C. Investigation the interaction between procyanidin dimer and α -glucosidase: Spectroscopic analyses and molecular docking simulation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 130, 315-322, 2019.
- [130] Kim, J.H., Kim, H.Y., Jin, C.H. Mechanistic investigation of anthocyanidin derivatives as α -glucosidase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 2019.
- [131] Katırcı, İ.A. Üçüncü Basamak Eğitim ve Araştırma Hastanesi Olarak Diyabetik Hasta Populasyonunda Glisemik Kontrol ve Kronik Komplikasyon Sıklığının Araştırılması. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, 2018.

- [132] Chi, G., Qi, Y., Li, J., Wang, L., Hu, J. Polyoxomolybdates as α -glucosidase inhibitors: Kinetic and molecular modeling studies. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 193, 173-179, 2019.
- [133] Zaharudin, N., Staerk, D., Dragsted, L.O. Inhibition of α -glucosidase activity by selected edible seaweeds and fucoxanthin. *Food Chemistry*, 270, 481-486, 2019.
- [134] Wan, J.X., Lim, G., Lee, J., Sun, X.B., Gao, D.Y., Si, Y.X., Shi, X.L., Qian, G.Y., Wang, Q., Park, Y.D. Inhibitory effect of phloroglucinol on α -glucosidase: Kinetics and molecular dynamics simulation integration study. *International Journal of Biological Makromolecules*, 124, 771-779, 2019.
- [135] Kim, H., Chu, T.T.T., Kim, D.Y., Kim, D.R., Nguyen, C.M.T., Choi, J., Lee, J.R., Hahn, M.J., Kim, K.K. The crystal structure of guamerin in complex with chymotrypsin and the development of an elastase-specific inhibitor. *Journal of Molecular Biology*, 376(1), 184-192, 2008.

ÖZGEÇMİŞ

28.09.1982 yılında Kadıköy’de doğdu. İlköğrenimini Ümraniye Emine Koçulu İlkokulu ve Şebinkarahisar Yavuz Selim İlkokulunda, orta ve lise öğrenimini Şebinkarahisar Öğretmen Hüseyin Hüsnü Tekışık Anadolu Lisesi’nde tamamladı. 2011 yılında girdiği Giresun Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliği bölümünden 2015 yılında mezun oldu. 2015 yılında girdiği Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Biyokimya yüksek lisans programında eğitimine devam etmektedir.

