



**KARBOKSİSÜLFONAMİD TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE
KARBONİK ANHİDRAZ (hCA I ve hCA II) ENZİMLERİ ÜZERİNE
İN VİTRO VE *İN SİLİCO* ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Hakkı GERÇEK

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Prof. Dr. Kani ZİLBAYAZ

AĞRI-2022

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
AĞRI İBRAHİM ÇEÇEN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

Hakkı GERÇEK

KARBOKSİSÜLFONAMİD TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE
KARBONİK ANHİDRAZ (hCA I ve hCA II) ENZİMLERİ
ÜZERİNE *İN VİTRO* VE *İN SİLİCO* ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. Kani ZİLBEYAZ

AĞRI-2022

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KARBOKSİSÜLFONAMİT TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE KARBONİK ANHİDRAZ (hCA I ve hCA II) ENZİMLERİ ÜZERİNE *İN VİTRO* VE *İN SİLİCO* ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Kani ZİLBEYAZ

2022, 84 Sayfa

Jüri: Prof. Dr. Deniz EKİNCİ

Jüri: Dr. Öğr. Üyesi Dilan ÖZMEN ÖZGÜN

Mevcut tez iki bölümden oluşmaktadır. Çalışmanın ilk kısmı, sülfonamit grubu içeren bileşiklerin sentezini kapsamaktadır. Sentez oda sıcaklığında diklorometan ve aseton çözücü sisteminde, *para/meta* substitue amino sülfonamitlerle çeşitli benzoil klorür türevlerinin reaksiyonunu içerir. Yüksek verim ve saflıkta elde edilen ürünler, NMR, IR ve MS spektroskopik yöntemleri kullanılarak deneyleri ile karakterize edilmiştir.

Çalışmanın ikinci bölümünde sentezlenen amino karboksisülfonamit bileşiklerini de içeren moleküllerin insan eritrosit karbonik anhidraz I ve II üzerine inhibisyon etkileri araştırılmıştır. Elde edilen IC₅₀ sonuçları, karbonik anhidraz inhibitörü asetazolamidin IC₅₀ sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Ayrıca karbonik anhidraz enzimleri ile sentezlenen moleküllerin muhtemel etkileşimlerinin belirlenmesi için moleküler docking çalışmaları yapılmıştır.

2022, 84 Sayfa

Anahtar sözcükler: Organik Sentez, Sülfonamit, Karbonik Anhidraz, İnhibitör.

ABSTRACT

MASTERS DISSERTATION

SYNTHESIS OF CARBOXYSULFONAMİTE COMPOUNDS AND REWİEV THEIR *IN VITRO* AND *IN SILICO* EFFECTS ON CARBONIC ANHYDRASE (hCA I and hCA II) ENZYMES

Advisor: Prof. Dr. Kani ZİLBEYAZ

2022, Page: 84

Jury: Prof. Dr. Deniz EKİNCİ

Jury: Dr. Öğr. Üyesi Dilan ÖZMEN ÖZGÜN

The current thesis consists of two parts. The first part of the study covers the synthesis of para/meta substituted amino sulfonamides with various benzoyl chloride compounds containing a sulfonamide group. The synthesis involves coupling in a mixture of dichloromethane and acetone at room temperature. The compounds were obtained in high purity and yield and their structures determined by NMR, IR and MS spectroscopic techniques.

In the second part of the study the synthesized carboxysulfonamide compounds were screened for their carbonic anhydrase activity by utilizing human erythrocyte carbonic anhydrases I and II. The IC₅₀ results obtained were compared with the IC₅₀ results of the carbonic anhydrase inhibitor acetazolamide. Furthermore, molecular docking of the synthesized compounds and carbonic anhydrase enzymes were carried out to predict the possible binding mode of the ligand.

2022, 84 pages

Keywords: Organic Synthesis, Sulfonamide, Carbonic Anhydrase, Inhibitor.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Sülfonamidler.....	1
1.1.1. Sülfonamidlerin yapısı ve çalışması.....	1
1.1.2. Sülfonamidlerin etki sürelerine göre gruplandırılması.....	9
1.1.3. Sülfonamidlerin farmakolojik aktiviteleri.....	9
1.2. Karboksamidler.....	15
1.2.1. Karboksamidlerin sentezi.....	16
1.2.2. Karboksamidlerin farmakolojik aktiviteleri.....	17
1.3. Karbonik Anhidraz Enzimi.....	19
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	24
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	28
3.1. Materyal.....	28
3.1.1. Kullanılan kimyasallar.....	28
3.1.2. Kullanılan cihazlar.....	28
3.2. Yöntem.....	29
3.2.1. SA türevi maddelerin sentezi.....	29
3.3. Araştırma Verileri.....	32
3.3.1. N-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamid(1).....	32
3.3.2. N-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamid (2).....	32
3.3.3. 2-Floro-N-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamid (3).....	33
3.3.4. 2-Floro-N-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamid (4).....	33

3.3.5. 4-Kloro-N-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (5).....	34
3.3.6. 4-Kloro-N-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (6).....	34
3.3.7. 4-Metil-N-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (7).....	35
3.3.8. 4-Metil-N-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (8).....	35
3.3.9. 4-Siyano-N-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (9).....	36
3.3.10. 4-Siyano-N-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (10).....	36
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	39
4.1. Karboksisülfonamit Türevlerinin Spektrumları.....	39
4.1.1. N-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (1).....	39
4.1.2. N-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (2).....	41
4.1.3. 2-Floro-N-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (3).....	43
4.1.4. 2-Floro-N-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (4).....	45
4.1.5. 4-Kloro-N-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (5).....	47
4.1.6. 4-Kloro-N-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (6).....	49
4.1.7. 4-Metil-N-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (7).....	51
4.1.8. 4-Metil-N-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (8).....	53
4.1.9. 4-Siyano-N-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (9).....	55
4.1.10. 4-Siyano-N-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (10).....	57
4.2. Kantitatif Protein Analizi için Standart Grafik.....	59
4.2.1. CA Enzimlerinin Saflaştırması.....	60
4.3. İnhibitör IC50 Değerinin Tayin Edilmesinde Yapılan Çalışmanın Sonuçları.....	60
5. SONUÇ	75
KAYNAKLAR	77

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.1. Klinik kullanımda olan bazı sülfonamid türevi ilaç etken maddeleri.....	13
Tablo 1.2. CA izoenzimlerinin etkileri ve organizmadaki dağılımları.....	21
Tablo 4.1. İnsan eritrosit CA-I ve CA-II izoenzimlerinin Sepharose 4B-tirozin-sülfanilamid afinite kolon materyali ile saflaştırılma basamakları.....	60
Tablo 4.2. Sentezlenen sülfonamid türevlerinin hCA-I ve hCA-II enzimlerine karşı IC50 değerleri.....	71
Tablo 4.3. hCA-I ile 1-10 molekülleri arasında hesaplanan bağlanma/etkileşim verileri.....	74
Tablo 4.4. hCA-II ile 1-10 molekülleri arasında hesaplanan bağlanma/etkileşim verileri.....	74

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. p-Sülfonamit.....	1
Şekil 1.2. Sülfonamit ve PABA yapısı.....	2
Şekil 1.3. Sülfonamitlerin etki mekanizması.....	3
Şekil 1.4. N atomuna bağlı grup sayısına göre sınıflandırılan genel sülfonamit formülleri.....	4
Şekil 1.5. Tiyollerden sülfonamit sentezi.....	5
Şekil 1.6. Elektrokimyasal yöntemle sülfonamit sentezi.....	6
Şekil 1.7. Paladyum katalizörü ile sülfonamitasyon.....	6
Şekil 1.8. Mikrodalga yöntemiyle sülfonamit sentezi.....	6
Şekil 1.9. Sülfonamit türevi schiff bazı sentezi.....	7
Şekil 1.10. Sülfonamitlerin sentezi.....	7
Şekil 1.11. N-Heteroaril benzensülfonamit sentez mekanizması.....	8
Şekil 1.12. Floroaril kumarin sülfonamit türevlerinin sentezi.....	8
Şekil 1.13. N- Asetilsülfonamit türevi.....	9
Şekil 1.14. N-Sübstitüe sülfonamit türevleri sentezi.....	10
Şekil 1.15. Kumarin sülfonamit sentezi.....	11
Şekil 1.16. Benzensülfonamit bağlı pirazolin sentezi.....	11
Şekil 1.17. Benzen sülfonamit ve N-Asetil türevleri.....	12
Şekil 1.18. Karbonhidrat içerikli sülfonamit bileşiklerinin yapısı.....	12
Şekil 1.19. N-(6 Sübstitüe 1,3 benzotiazol 2 il) benzenosülfonamit yapısı.....	13
Şekil 1.20. Karboksamit genel yapısı.....	15
Şekil 1.21. Karboksamit ligand kompleks örneği.....	15
Şekil 1.22. Karboksamitlerin eldesi.....	16
Şekil 1.23. Karboksamit türevleri sentez mekanizması.....	16
Şekil 1.24. N,N'-bis((tiyofen-2-karboksamit)propil)piperazin sentezi.....	17

Şekil 1.25. N',N'' bis(3 karboksi 1 oksofenilenil) 2 amino N arilbenzamidin ve ligandların yapısı	17
Şekil 1.26. H-Benzimidazol-5(6)-il karboksamit türevleri.....	18
Şekil 1.27. Fenil-N-Karboksamito-H-Benzimidazol türevi bileşiğin sentezi.....	18
Şekil 1.28. Karboksamit türevleri sentezi.....	19
Şekil 1.29. CO ₂ 'in HCO ₃ ⁻ ve protona hidratasyonu.....	20
Şekil 1.30. α-CA yerleşim ve kompozisyon formları.....	20
Şekil 1.31. CA-I ve CA-II izoenzimlerinin 3D modelleri.....	22
Şekil 2.1. Çeşitli Sülfonamit Tiyazol ve benzotiyazollerin Sentezi.....	25
Şekil 2.2. Sülfonamit Türevleri.....	25
Şekil 2.3. N-(Fenil)-sülfonamit türevleri.....	25
Şekil 2.4. Siklo-(Nα-dipikolinoil)-bis-[L-Leu-DL-Nval]-L-Liz OMe sentezi.....	26
Şekil 2.5. Piridindikarboksisülfonamit Türevlerinin Sentezi.....	27
Şekil 3.1. Sülfonamitlerin genel sentezi.....	30
Şekil 3.2. Sentelenen sülfonamit türevleri.....	31
Şekil 4.1. 1'in 1H-NMR spektrumu.....	39
Şekil 4.2. 1'in 13C-NMR spektrumu.....	39
Şekil 4.3. 1'in FT-IR spektrumu.....	40
Şekil 4.4. 1'in LC-MS/MS spektrumu.....	40
Şekil 4.5. 2'in 1H-NMR spektrumu.....	41
Şekil 4.6. 2'in 13C-NMR spektrumu.....	41
Şekil 4.7. 2'in FT-IR spektrumu.....	42
Şekil 4.8. 2'nin LC-MS/MS spektrumu.....	42
Şekil 4.9. 3'ün 1H-NMR spektrumu.....	43
Şekil 4.10. 3'ün 13C-NMR spektrumu.....	43
Şekil 4.11. 3'ün FT-IR spektrumu spektrum.....	44
Şekil 4.12. 3'ün LC-MS/MS spektrumu.....	44

Şekil 4.13. 4'ün ¹ H-NMR spektrumu.....	45
Şekil 4.14. 4'ün ¹³ C-NMR spektrumu.....	45
Şekil 4.15. 4'ün FT-IR spektrumu.....	46
Şekil 4.16. 4'ün LC-MS/MS spektrumu.....	46
Şekil 4.17. 5'in ¹ H-NMR spektrumu.....	47
Şekil 4.18. 5'in ¹³ C-NMR spektrumu.....	47
Şekil 4.19. 5'in FT-IR spektrumu.....	48
Şekil 4.20. 5'in LC-MS/MS spektrumu.....	48
Şekil 4.21. 6'nın ¹ H-NMR spektrumu.....	49
Şekil 4.22. 6'nın ¹³ C-NMR spektrumu.....	49
Şekil 4.23. 6'nın FT-IR spektrumu.....	50
Şekil 4.24. 6'nın LC-MS/MS spektrumu.....	50
Şekil 4.25. 7'nin ¹ H-NMR spektrumu.....	51
Şekil 4.26. 7'nin ¹³ C-NMR spektrumu.....	51
Şekil 4.27 7'nin FT-IR spektrumu.....	52
Şekil 4.28. 7'nin LC-MS/MS spektrumu.....	52
Şekil 4.29. 8' in ¹ H-NMR spektrumu.....	53
Şekil 4.30. 8' in ¹³ C-NMR spektrumu.....	53
Şekil 4.31. 8' in FT-IR spektrumu.....	54
Şekil 4.32. 8' in LC-MS/MS spektrumu.....	54
Şekil 4.33. 9'un ¹ H-NMR spektrumu.....	55
Şekil 4.34. 9'un ¹³ C-NMR spektrumu.....	55
Şekil 4.35. 9'un FT-IR spektrumu.....	56
Şekil 4.36. 9'un LC-MS/MS spektrumu.....	56
Şekil 4.37. 10'un ¹ H-NMR spektrumu.....	57
Şekil 4.38. 10'un ¹³ C-NMR spektrumu.....	57

Şekil 4.39. 10'un FT-IR spektrumu.....	58
Şekil 4.40. 10'un LC-MS/MS spektrumu.....	58
Şekil 4.41. Bradford metodunda kullanılan standart grafiği.....	59
Şekil 4.42. N-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid (1) Konsantrasyona karşı hCA-I % aktivitesi.....	61
Şekil 4.43. N-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid (1) Konsantrasyona karşı hCA-II % aktivitesi.....	61
Şekil 4.44. N-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid (2) Konsantrasyona karşı hCA-I % aktivitesi.....	62
Şekil 4.45. N-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid (2) Konsantrasyona karşı hCA-II % aktivitesi.....	62
Şekil 4.46. 2-floro-N-(4-sülfamoil-fenil)-benzamid(3)Konsantrasyona karşı hCA-I.....	63
Şekil 4.47. 2-floro-N-(4-sülfamoil-fenil)-benzamid (3) Konsantrasyona karşı hCA-II % aktivitesi.....	63
Şekil 4.48. 2-floro-N-(3-sülfamoil-fenil)-benzamid (4) Konsantrasyona karşı hCA-I % aktivitesi.....	64
Şekil 4.49. 2-floro-N-(3-sülfamoil-fenil)-benzamid (4) Konsantrasyona karşı hCA-II % aktivitesi.....	64
Şekil 4.50. 4-kloro-N-(4-sülfamoil-fenil)-benzamid (5) Konsantrasyona karşı hCA-I % aktivitesi.....	65
Şekil 4.51. 4-kloro-N-(4-sülfamoil-fenil)-benzamid (5) Konsantrasyona karşı hCA-II % aktivitesi.....	65
Şekil 4.52. 4-kloro-N-(3-sülfamoil-fenil)-benzamid (6) Konsantrasyona karşı hCA-I % aktivitesi.....	66
Şekil 4.53. 4-kloro-N-(3-sülfamoil-fenil)-benzamid (6) Konsantrasyona karşı hCA-II % aktivitesi.....	66
Şekil 4.54. 4-metil-N-(4-sülfamoil-fenil)-benzamid (7) Konsantrasyona karşı hCA-I % aktivitesi.....	67
Şekil 4.55. 4-metil-N-(4-sülfamoil-fenil)-benzamid (7) Konsantrasyona karşı hCA-II % aktivitesi.....	67

Şekil 4.56. 4-metil-N-(3-sülfamoil-fenil)-benzamid (8) Konsantrasyona karşı hCA-I % aktivitesi.....	68
Şekil 4.57. 4-metil-N-(3-sülfamoil-fenil)-benzamid (8) Konsantrasyona karşı hCA-II % aktivitesi.....	68
Şekil 4.58. 4-siyano-N-(4-sülfamoil-fenil)-benzamid (9) Konsantrasyona karşı hCA-I % aktivitesi.....	69
Şekil 4.59. 4-siyano-N-(4-sülfamoil-fenil)-benzamid (9) Konsantrasyona karşı hCA-II % aktivitesi.....	69
Şekil 4.60. 4-siyano-N-(3-sülfamoil-fenil)-benzamid (10) Konsantrasyona karşı hCA-I % aktivitesi.....	70
Şekil 4.61. 4-siyano-N-(3-sülfamoil-fenil)-benzamid (10) Konsantrasyona karşı hCA-II % aktivitesi.....	70
Şekil 4.62. 4-metil-N-(4-sülfamoil-fenil)-benzamid'in hCA-I aktif bölgesinde olası bağlanma/etkileşim 3D görüntüsü.....	72
Şekil 4.63. hCA I ile 4-metil-N-(4-sülfamoil-fenil)-benzamid'in 2D etkileşim görüntüsü.....	72
Şekil 4.64. N-(4-sülfamoil-fenil)-benzamid'in hCA-II ile aktif bölgesinde olası bağlanma/etkileşim 3D görüntüsü.....	73
Şekil 4.65. hCA II ile N-(4-sülfamoil-fenil)-benzamid'in 2D etkileşim görüntüsü...	73

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Al ₂ O ₃	: Alüminyu oksit
Br	: Brom
CA	: Karbonik Anhidraz Enzimi
CA-I	: Karbonik Anhidraz Enzimi-I
CA-II	: Karbonik Anhidraz Enzimi-II
Cl	: Klor
Cl ₂	: Klorür
CH ₂	: Metilen
CH ₃	: Metan
C ₂ H ₅	: Etil
CO ₂	: Karbondioksit
Cu	: Bakır
CuI	: Bakır iyodür
°C	: Santigrat (Celcius) derece
dk	: Dakika
DCM	: Diklorometan
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DMEDA	: Dimetiletilendiamin
Et ₃ N	: Trietilamin
EtOH	: Etanol
F	: Flor
FT-IR	: Fourier Transform Infrared Spektroskopisi
H ⁺	: Hidrojen iyonu
H ₂ O	: Su
hCA	: İnsan Karbonik Anhidraz Enzimi
HCl	: Hidroklorik asit
HCO ₃ ⁻	: Bikarbonat iyonu
HIV IN	: HIV İntegraz
IC ₅₀	: Maksimum hızı yarıya düşüren inhibitör konsantrasyonu
K ₂ CO ₃	: Potasyum karbonat
K ₃ PO ₄	: Tri potasyum fosfat

K_i	: Enzim inhibitör kompleksinin ayrışma sabiti
M	: Molarite
m-	: Meta
Me	: Metal
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
N	: Normalite
NCBI	: Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
NCI	: Ulusal kanser enstitüsü
NH ₂	: Amin
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
NO ₂	: Nitrit
MW	: Mikro dalga ışıması
O	: Oksijen
o-	: Orto
OH	: Hidroksil
PABA	: Para-aminobenzoikasit
Ph	: Fenil
Pd	: Paladyum
PDB	: Protein Veri Bankası
<i>p</i> -	: Para
R	: Radikal grup
RCONR'R''	: Karboksamit genel formülü
rt	: Oda Sıcaklığı
S	: Kükürt
s	: Saat
SOCl ₂	: Tioniklorür
TLC	: İnce tabaka kromatografisi
TRIS	: Trihidroksimetil amino metan
UV	: Ultraviyole ışınları
Zn ⁺²	: Çinko iyonu
μM	: Mikro molar

<i>E. Coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
<i>C. albicans</i>	: <i>Candida albicans</i>
<i>F. solani</i>	: <i>Fusarium solani</i>
<i>K. pneumoniae</i>	: <i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>M. canis</i>	: <i>Microsporium canis</i>
<i>P. falciparum</i>	: <i>Plasmodium falciparum</i>
<i>P. Mirabilis</i>	: <i>Proteus mirabilis</i>
<i>S. aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. Epidermidis</i>	: <i>Staphylococcus Epidermidis</i>

1. GİRİŞ

1.1. Sülfonamitler

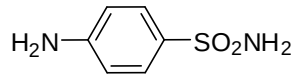
1.1.1. Sülfonamitlerin yapısı ve çalışması

Sülfonamitler, Ehrlich' in 1906 yılında yapmış olduğu çalışma ile bilim dünyasına bu maddeyi kazandırmıştır. 1932 yılında Domagk tarafından sülfonilamid halkası geliştirilmesi ile enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde, enfeksiyonlar sebebiyle ölümlerinin önüne geçerek insanların yaşam kalitelerini artırmak amacıyla ilk antibiyotikler denilebilecek sülfonamit türevleri geliştirilmiştir. (Hormazabal and Rogstad 1992; Samuelsen and Ervik 1997)

Sülfonamitler, SO_2NH_2 grubu içeren bileşiklerdir. Sülfonamitlerin genel formülleri RSO_2NH_2 ' dir. Benzol yapısına, *p*- konumunda $-\text{NH}_2$ ve $-\text{SO}_2\text{NHR}$ gruplarının bağlanmasıyla oluşurlar (şekil 1.1.). Beyaz renkte, kokusuz, acı tatlı ve kristal formda yapıya sahiptirler. Alkali ortamda, asidik ortamda olduğundan daha iyi çözünürler.

Bakterilerin nükleik asidin sentezi için folik asite ihtiyaçları vardır ve bu folik asidi dışarıdan alamadıklarından dolayı kendileri (para-aminobenzoik asit) PABA kullanarak sentezlerler. *p*-sülfonamitler ise PABA' kimyasal olarak benzerliklerinden dolayı reaksiyonda PABA yerine katılarak bakteriyostatik etki gösterirler ve folik ait üretim zincirini bozar, böylece de bakterilerin üremesini durdururlar.

Sülfonamitler asidik ortamda ve suda ortamında iyi çözünmezler bu nedenle ilaç olarak sülfonamit temelli ilaçlar kullanıldığında vücutta idrar yollarında çökeliş kalmaması için, bol su içilerek idrar alkali hale getirilmek koşuluyla insan vücudundan atılabilir.



Şekil 1.1. *p*-Amino benzen sülfonamit

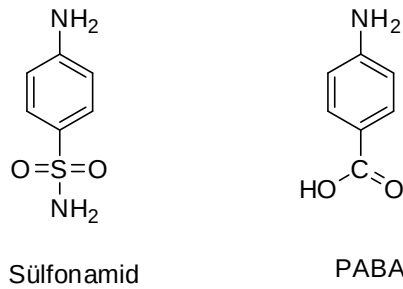
Sülfonamidlerde bulunan benzen halkasına bağlı amino grupları ile sülfonil gruplarının bağlanma açıları 180 derecedir, yani iki fonksiyonel grup birbirlerine göre para konumundadırlar. Sülfonamidlerde fonksiyonel grupta bulunan azot atomuna bağlanan gruplarla bileşiğin etki gücü değişir (Kolaczek et al. 2014).

NH₂ grubunda bulunan H atomlarından bir tanesinin koparak yerine heterosiklik halkaların bağlanması sonucu en verimli sonuçların elde edilebildiği daha önce yapılan çalışmalar neticesinde görülmüştür. Bakterilerle bu bileşikler vasıtasıyla mücadele etmenin en etkili yolu para pozisyonundaki amino grubunun serbest olmasıdır. Para konumunda NH₂ grubu içeren, reaksiyon ortamında bu grubun koparak yerine NO₂, H₂NO ve N₂ grupları bağlanır ve bu sayede serbest kalan NH₂ grubu ile bakterilere karşı etken bir mücadele verilir (Kolaczek et al. 2014). Sülfonamid grubu PABA yerine kullanılarak dihidropteroat sentetaz enzimi inhibe ettirilir. Bu sayede folik asit üretiminin zinciri kırılarak sürekliliği engellenir ve bakterilerin etkinliği baskılanır (Töreci 2003).

Para sülfonamidler para-amino benzoik aside (PABA) benzediklerinden dolayı antibakteriyel etki gösterirler (Sköld 2000; Bano et al. 2011).

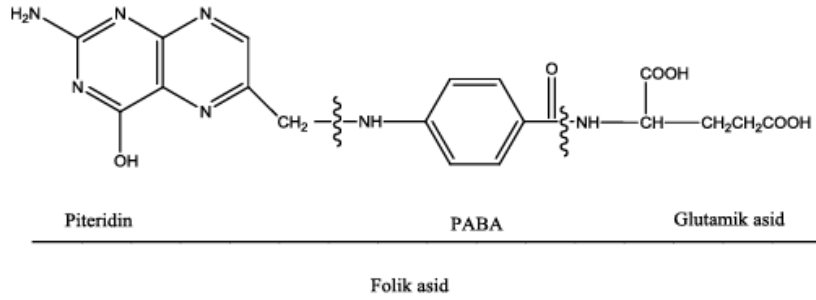
Önceleri hiper tansiyon tedavisinde kullanılan sülfonamidler aynı zamanda diüretik olarak kullanılmıştır. Böbreklerdeki kan akışını düşürürler, buna bağlı olarak ürik asit miktarı da düşer. Asetazolamid, Furosemid, Bumetanid, Azosemid vb. asetazolamidlerdir ve bunlar karbonik anhidraz inhibitörleridirler. Karbonik anhidraz enzimi bikarbonatın, sodyumun ve klorürün geri emilimine izin verir. Bu enzimi inhibe ederek bu iyonların fazlası su vasıtasıyla atılır bu şekilde de kan basıncı düşer.

Sülfonamid ve PABA arasındaki yapı benzerliği aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 1.2. Sülfonamid ve PABA yapısı

Sülfonamitlerin etki mekanizması:



Şekil 1.3. Sülfonamitlerin etki mekanizması

5000 civarında sülfonamit türevi bileşikler sentezlenmişse de bunların 25-30 kadarı tedavide kullanıldığı bilinmektedir (Tablo 1.1). Bakteriler üzerine etkinlik için N4 üzerinde para amino grubunun bulunması esastır. Işığa duyarlı olmaları dışında genellikle dayanıklıdırlar.

Sülfonamitler keşfedildiği ilk zamanlarda sağlık sektöründe çığır açan ve etkili kemoterapötik öneme sahip maddeler olarak bilim dünyasında yer aldı. Ancak gerek mikroorganizmaların bu kimyasallardan elde edilen maddelere giderek direncinin artması gerekse bilim dünyasında gerçekleşen gelişmeler akabinde daha etkin ve daha az toksik olan antibiyotiklerin keşfi ile ilaç sektöründeki önemi günden güne azalmıştır. (Demirbas 2009)

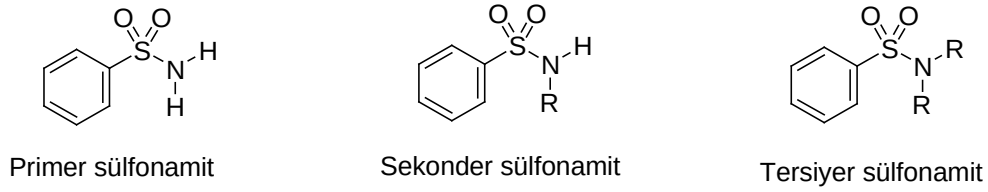
Nokardiyoz ve miçetom tedavisinde kullanılan sülfonamitler sayesinde, bu hastalıklar sebebiyle oluşan ölüm oranı önemli ölçüde azaltılmıştır (Boiron 1992, 1998)

Sülfonamitlerin antibakteriyel olarak kullanımında bakteriyel direncin gelişmesi riski ortaya çıkabilir. Yan etkiler ya da zayıf hastaların tedaviye yanıtı son çalışmalarda raporlanmıştır (Welsh et al. 1987,1991; McNeil 1994,1995)

Sülfonamitlerin bulunması ve bilim dünyasında çeşitli alanlarda kullanılmaya başlamasıyla, sülfonamitler yapısında bulunan hidrojenlerin veya yapılarındaki diğer grupların değişik yapıda olan fonksiyonel grupların yer değiştirme reaksiyonları sonucu farklı iskeletlere sahip sülfonamitler sentezlenmiştir (Altintas 2006; Kolaczek et al. 2014).

Sülfonamit yapılarındaki azot atomuna bağlı bulunan grup sayılarına göre primer sülfonamit, sekonder sülfonamit ve tersiyer sülfonamit olarak üç farklı yapıda

sınıflandırılabilirler (şekil 1.4.). Sülfonamitlerin bu sistemdeki sınıflandırılması aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 1.4. N atomuna bağlı grup sayısına göre sınıflandırılan genel sülfonamit formülleri

Sülfonil ile bağ yapmış olan N atomuna bağlı 2 H atomu var ise primer, 1 H atomu var ise sekonder ve H atomu yok ise tersiyer olarak isimlendirilirler. Primer ve sekonder yapıdaki sülfonamitlere bağlı H atomu olduğundan dolayı asidik karakterdeyken, tersiyer sülfonamitlerde bağlı H atomu olmadığından dolayı asidik karakterde değildir. (Moeker et al. 2014).

Sülfonamitler yapılarındaki çeşitliliklerine ve etki mekanizmalarına bağlı olarak çeşitlilik göstermekle beraber bu çeşitliliklere bağlı olarak fiziksel özellikleri, kimyasal özellikleri, farmakolojik özellikleri ve anti-infeksiyöz özellikleri farklıdır (Sağduyu 2010).

Alifatik sülfonamitlerin, Gram (-) bakterilere karşı Gram (+) bakterilerden daha güçlü antibakteriyel aktivite gösterdikleri görülmüştür. Bileşiklerdeki karbon zinciri uzadıkça antibakteriyel aktivitenin azaldığı yapılan çalışmalarda belirlenmiştir (Kolaczek et al. 2014).

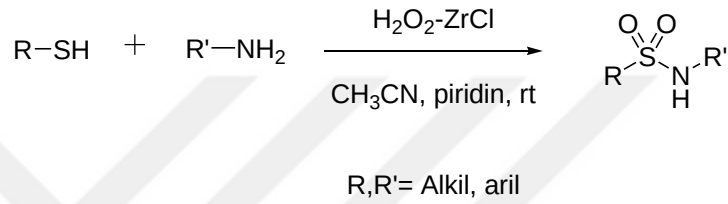
Sülfonamit sentezinde farklı yöntemler kullanılmakla beraber sıklıkla kullanılan ve verimi en yüksek yöntem sülfonil klorürü amonyak veya amin ile reaksiyona girmesiyle sülfonamit eldesi yöntemidir (Bahrami et al. 2009; Kolaczek et al. 2014).

Tiyollerin ve disülfidlerin sülfonamitlere dönüştürülmesinde H_2O_2 - $ZrCl_4$ reaktif sisteminin oldukça verimli olduğu, uygun şartlarda yüksek verimde kısa sürede üretilmesi ayrıca ekonomik olması bu yöntemi cazip hale getirmektedir (Bahrami et al. 2009).

Bu reaksiyon;

- Model substrat tiyofenol ile 4-metilanilin,
- Çözücü olarak asetonitril kullanılır,
- 2 dk 25 °C' de 0.5 ml piridin, 3 mol H₂O₂, 1 mol ZrCl₄, 1 mol tiyofenol ve 1 mol 4-metilanilin ile icra edilir.

Tiyollerden sülfonamit sentezi şekil 1.5'te gösterilmiştir.



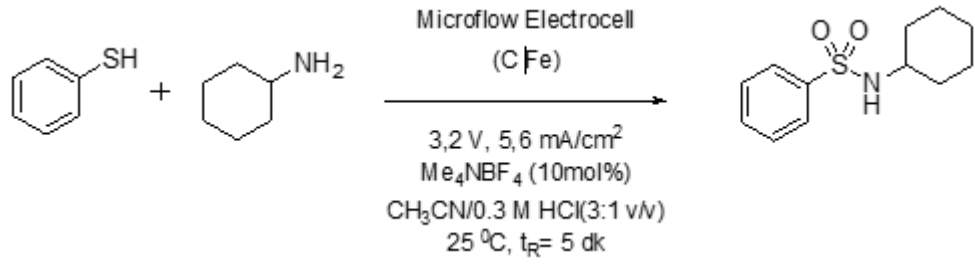
Şekil 1.5. Tiyollerden sülfonamit sentezi

Sülfonamit sentezinde tiyoller ve aminler arasında oksidatif bağlantıyı sağlayan elektrokimyasal bir metod keşfedilmiştir. Bu metod düşük maliyetli olmasının yanı sıra kullanılan kimyasallara ulaşmak diğer yöntemlere göre daha kolaydır. Reaktif veya ilave bir katalizöre ihtiyaç duyulmadan kısa sürede gerçekleştirilebilmesi bu reaksiyonun başka bir avantajıdır (Laudadio et al. 2019).

Reaksiyon;

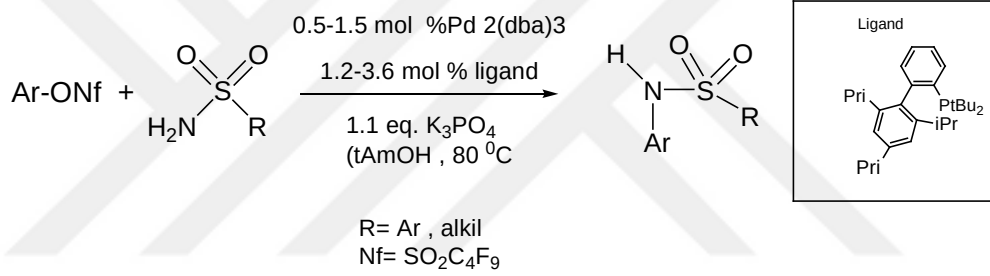
- 2 mmol tiyofenol, 3.0 mmol sikloheksilamin, 0.2 mmol Me₄NBF₄, 20 ml, 3: 1 v/v CH₃CN / 0.3 M HCl,
- Anot (C) / Katot (Fe), reaksiyon süresi 5 dk ve reaktör hacmi 700 µL

Yukarıdaki metodla elde edilen verimin % 81 olduğunu raporlamışlardır, reaksiyon mekanizması şekil 1.6'da gösterilmiştir (Laudadio et al. 2019).



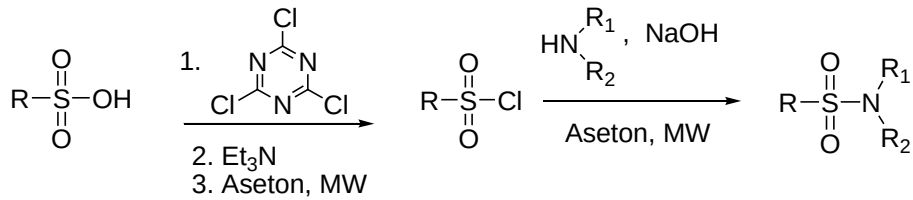
Şekil 1.6. Elektrokimyasal yöntemle sülfonamit sentezi

Geçiş metali katalizör bazıları sülfonamitlerin *N*-arilasyonu kapsamında bazı çalışmalarda kullanılmıştır. Paladyum bu geçiş metallerinden birisidir ve reaksiyonu; Biarilfosfin ligand, BuXPhos ve *t*-amilalkol'de varlığında K_3PO_4 'ın aril-florobütansülfonatların Pd sülfonamitasyon mekanizması şekil 1.7'de gösterilmiştir (Shekhar et al. 2011).



Şekil 1.7. Paladyum katalizörü ile sülfonamitasyon

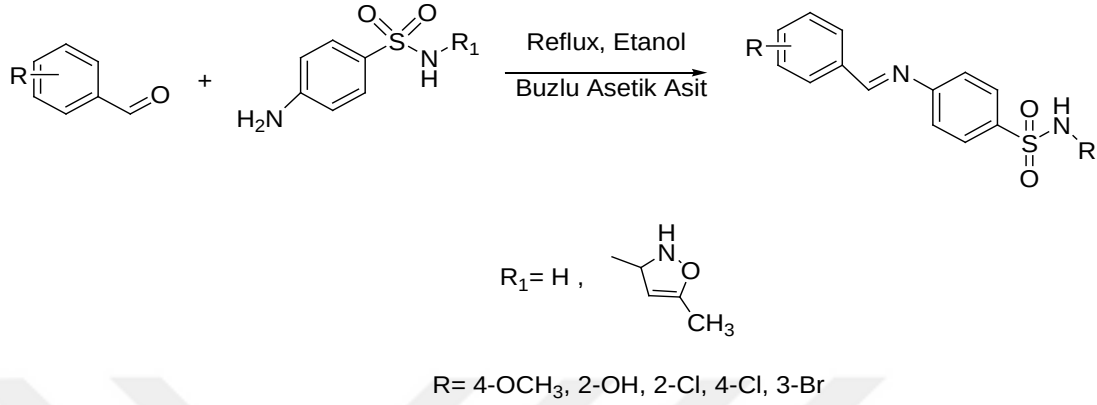
Mikro dalga ışıması (MW) ile farklı bir sülfonamit sentezi gerçekleştirilmiş ve % 78 - % 95 arası verim elde edildiği tespiti yapılmış olup reaksiyon mekanizması şekil 1.8'de gösterilmiştir (De Luca and Giacomelli 2008).



Şekil 1.8. Mikrodalga yöntemiyle sülfonamit sentezi

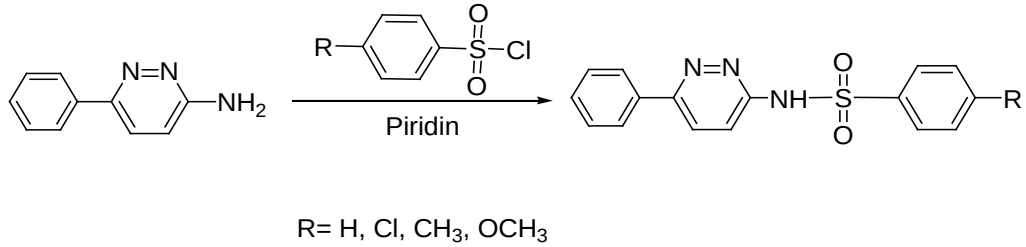
Sülfonamit türevi olan 4-aminobenzenler, aromatik aldehytler ile glasiyal asetik asit içinde 8-12 saat reflux edilmiş, kristalimsi ürün süzülerek toplanılmış ve sonrasında kurutularak tekrar kristallendirilmiştir. Elde edilen aminobenzen-sülfonamit ürünleri bazı gram negatif ve gram pozitif bakterilere karşı denenmiş (G- için *K.*

Pneumoniae ve G⁺ için *S. Epidermidis* ile *B. Subtilis*) olup, sonuç olarak aminobenzensülfonamitler, orta ile iyi seviyede antibakteriyel etki gösterdiği görülmüştür (Singh et al. 2010).



Şekil 1.9. Sülfonamit türevi schiff bazı sentezi

Süstitüe olmuş benzensülfonil klorit ile piridin içerisinde 3-Amino-6-fenilpiridazin çözeltisine ilavesi sonrasında buzlu su uygulanarak süzölmüştür. Piridin çözöcö sisteminde 3-amino-6-fenilpiridazinin benzensülfonilklorid türevi ile tepkimesi sonucunda oluşın sülfonamid türevi sentezi (Şekil 1.10.)’de verilmiştir (Doğruer et al. 2010).



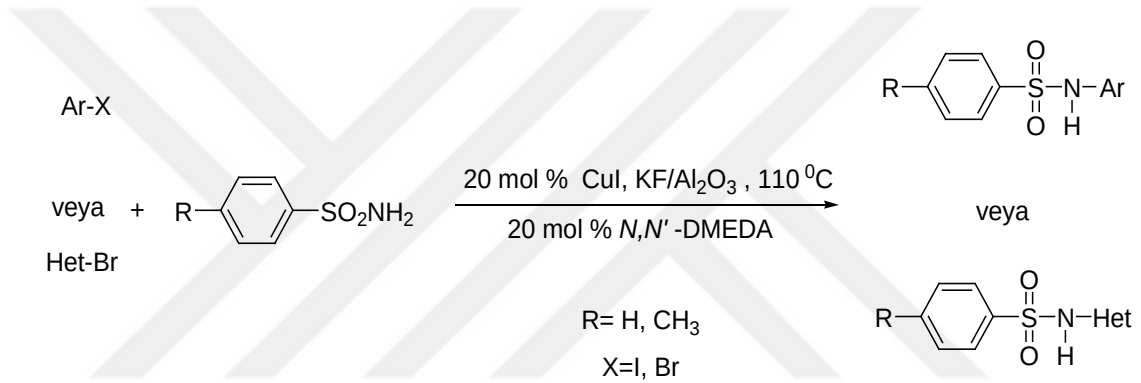
Şekil 1.10. Sülfonamitlerin sentezi

Sülfonamit türevi sentez çalışmalarının başka bir metoduda argon ortamında dioksanda arilhalojenür ve arilsülfonamit çözeltisinde, CuI / N, N'-DMEDA ilavesi ve akabinde KF/ Al₂O₃ ilave edilmesiyle gerçekleştirilmiştir (Hosseinzadeh et al. 2010).

- Reaksiyon boyunca reaksiyon ortamı 100 °C civarında tutularak reaksiyon devam ettirilerek TLC ile kontrol edilmiştir.

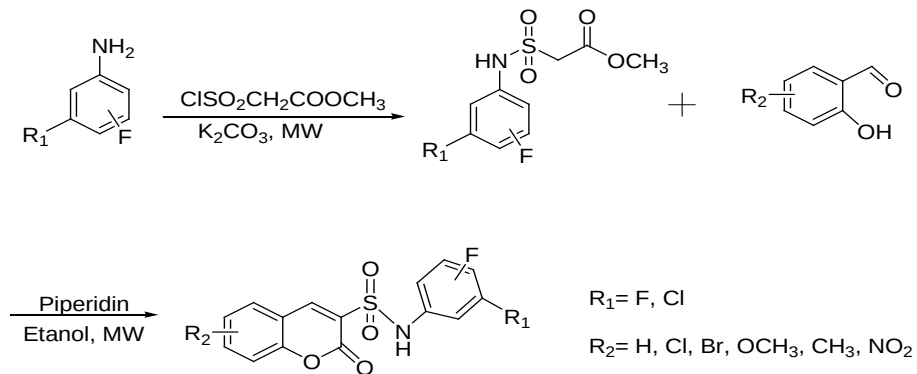
- Reaksiyon sonlandıktan sonra ortam oda sıcaklığına soğutulur etil asetat eklenerek çökelti alınmıştır.
- Süzülen çökelek, vakumlanarak saf ürün alacak şekilde heksan ve etilasetat kullanılmak suretiyle silika jel vasıtasıyla kolon kromatografisi uygulanmıştır.

Benzensülfonamid sentez mekanizması aşağıda verilmiştir. Para konumundan bağlı olan bileşiklerin verimi %75 ile %98, meta konumdan bağlı bileşiklerin verimi %66 ile %88 ve orto konumundan bağlı bileşiklerin verimi ise %15 ile %42 aralıklarında olduğu görülmüştür.



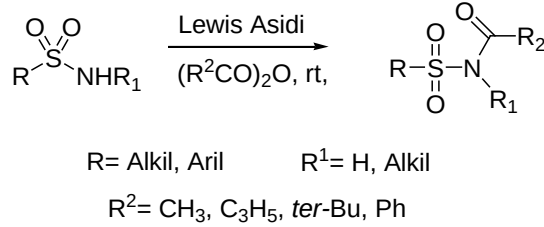
Şekil 1.11. N-Heteroaril benzensülfonamid sentez mekanizması

Florinlenmiş kumarin sülfonamidler, salisilaldehitlerin kapalı bir tüpte mikrodalga fırında gerçekleştirilen Knoevenagel yoğunlaştırılması sonucu sülfonamid sentezlenmiştir (Şekil 1.12). 5 dakikada tamamlanan reaksiyon TLC ile izlenmiş ve bu yöntem ile sentezlenen bileşiklerin %74-92 oranında verim elde edilmiştir. Bu oranın geleneksel yöntemlere göre daha yüksek bir değere sahip olduğu belirlenmiştir (Zuo et al. 2010).



Şekil 1.12. Floroaril kumarin sülfonamit türevlerinin sentezi

2007 yılında yapılan bir çalışmada farklı sülfonamit türevleri asetikanhidrit türevleriyle Lewis asiti katalizöründe muamele edilerek *N*-asetil sülfonamit türevlerinin sentezi gerçekleştirilmiştir (Reddy et al. 2007).



Şekil 1.13. *N*-asetilsülfonamit türevi sentezi

1.1.2. Sülfonamitlerin etki sürelerine göre gruplandırılması

Sülfonamitler yarılanma ömürleri göz önünde bulundurulduğunda kısa süreli sülfonamitler, orta süreli sülfonamitler ve uzun süreli sülfonamitler olmak üzere üç grupta sınıflandırılabilirler (Dax 1997).

Kısa süreli sülfonamitler; İnsan vücudundaki absorblanma hızı oldukça yüksektir. Yarılanma ömürleri 4 ile 7 saat aralığındadır. Bu sınıftaki sülfonamitlerin vücuttan atılımı da aynı ölçüde hızlıdır.

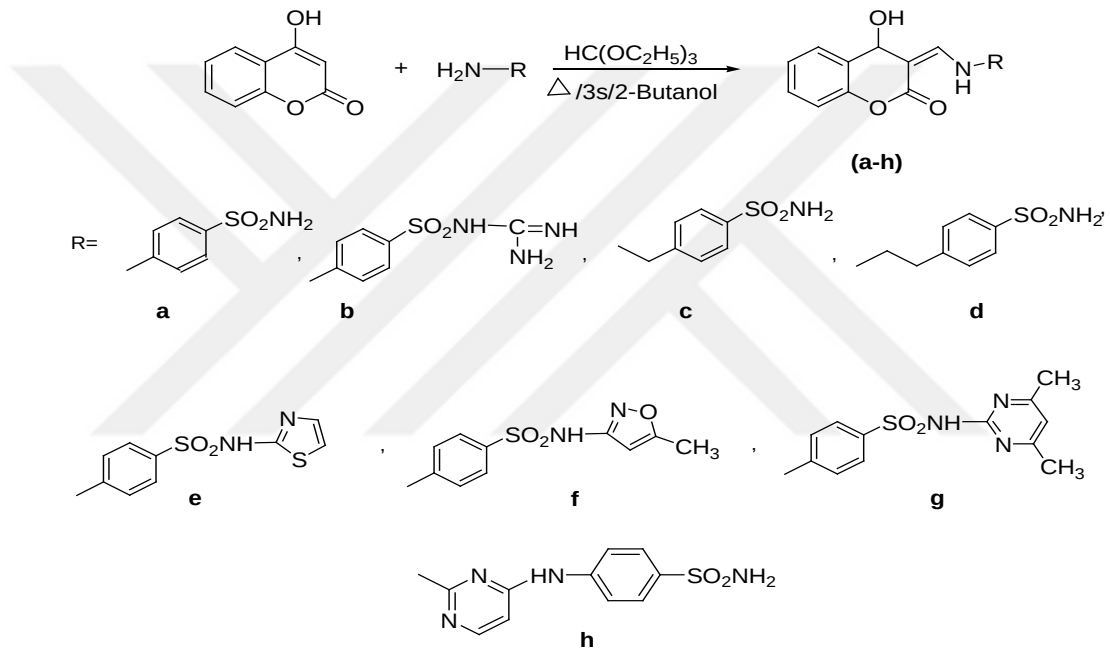
Orta süreli sülfonamitler; İnsan vücudundaki absorblanma hızı kısa süreli sülfonamitlerden uzundur. Yarılanma ömürleri 10-12 saat aralığındadır.

Uzun süreli sülfonamitler; İnsan vücudundaki absorblanma hızı en uzun süreli sülfonamitlerdir. Yarılanma süreleri 30-150 saattir.

1.1.3. Sülfonamitlerin farmakolojik aktiviteleri:

Sülfonamitler keşfedilmeleriyle eş zamanlı olarak kemoterapide kullanılmaya başlanılmıştır. Hızla ve bilinçsizce kullanılmaları, bakteriyel direnç oluşumuna sebep olmuştur (Supuran 2008). Bu bileşiklerin ilaç olarak kullanımı insan vücudunda bazı yan etkilere sebep olmuştur. Günümüzde mevcut ilaçların yan etkilerini azaltmak için ilaçlar üzerinde çalışmalar sürdürülmektedir.

Antibakteriyel Etki; Sülfonamit ve türevleri birçok gram pozitif ve gram negatif bakteri türlerinin her ikisi üzerinde de etkili oldukları görülmüştür. Sülfonamitler bu antibakteriyel davranışlarından dolayı enfeksiyon hastalıklarında tedavi amaçlı kullanım alanları vardır (Kayaalp 1998; Akbulut 2003). Sülfonamitler; *E.coli* ile mücadelede çok etkin, *P. mirabilis* ve *Enterobacter* türleri üzerine orta düzeyde etkin ve *Klebsiella* türleri üzerine ise düşük aktivite gösterirler (Varagić and Milošević 2009). Para pozisyonundaki sülfonamitlerin antimikrobiyal aktivitelerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Strauss et al. 1941). *N*-süstitüe sülfonamit türevlerinin sentezi şekil 1.14’de verilmiştir.



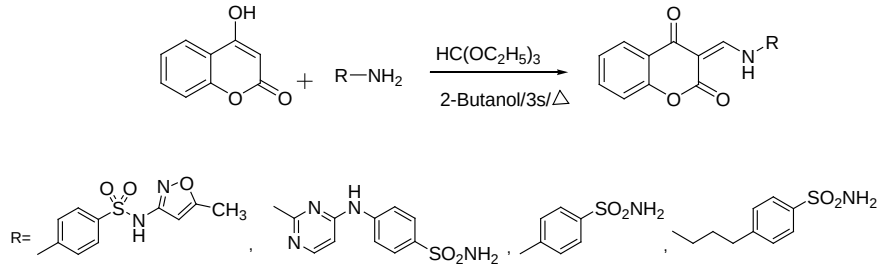
Şekil 1.14 *N*-Süstitüe sülfonamit türevleri sentezi

Elde edilen ürünlerin tamamı farklı suşlar üzerinde farklı ölçülerde etki ettikleri gözlemlenmiştir. R grubu olarak **d**’nin bağlandığı sülfonamit türevi en yüksek aktiviteyi göstermiştir (Chohan et al. 2006).

Antimikrobiyal Etki; *Nocardiaspecies* sebebiyle enfekte olmuş organizmaların tedavisinde antimikrobiyal etkili sülfonamit türevleri kullanıldığı bilinmektedir (Işık, Özdemir ve Koçak 2009) .

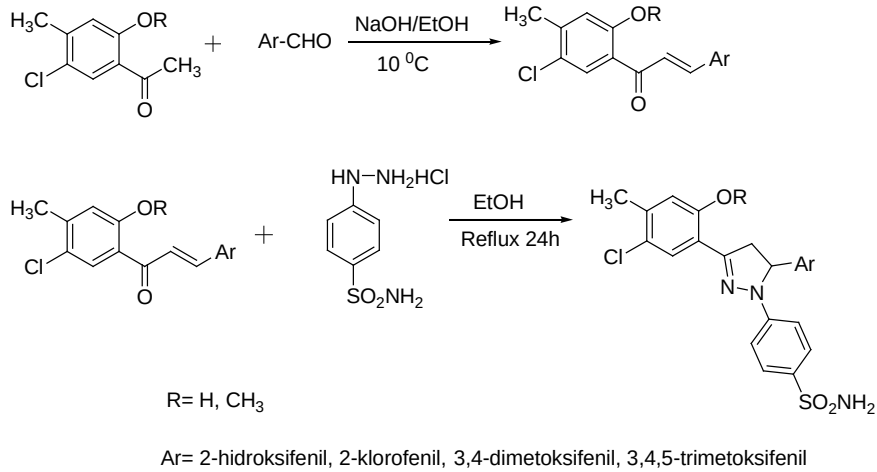
Antifungal Etki; Bazı sülfonamit türevlerinin bazı mantar türleri üzerinde antifungal etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir. 4-hidroksikoumarin kullanılarak sentezlenen *N*-süstitüe sülfonamit türevlerinin antifungal etkileri incelenmiş ve

bileşiklerin mantar suşlarından bazılarında orta ya da düşük seviyelerde etki ettiği görülmüştür (Chohan et al. 2006). Kumarin sülfonamid sentezi (Şekil 1.15.)’ de gösterilmiştir.



Şekil 1.15. Kumarin sülfonamid sentezi

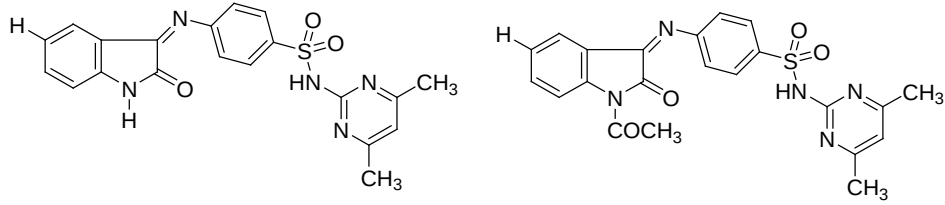
Antikanser etki; Sülfonamid türevlerinin *in vitro* ve *in vivo* olarak tümörler üzerine etkili olduğu belirlenmiştir (Scozzafava et al. 2002). Benzen sülfonamid in ikamet edildiği yeni 2-pirazolin türevleri sentezlemiştir (Şekil 1.16.) ve antikanser aktiviteleri incelenmiştir. Bazı sülfonamid bileşiklerinin bazı kanser hücreleri üzerine antitümör etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Bashir et al. 2011).



Şekil 1.16. Benzen sülfonamid bağlı pirazolin sentezi

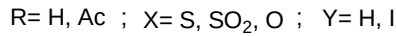
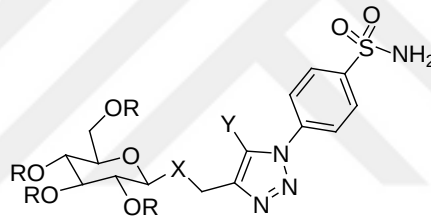
Antiviral etki; Sentezlenen sülfonamid türevlerinin, *in vitro* ve *in vivo* olarak anti viral aktivite gösterdikleri rapor edilmiştir (Supuran et al. 2004).

Sülfonamit türevi olan 4-[(1,2-dihidro-2-okso-3H-indol-3-ilidin)amino]-N-(4,6-dimetil-2-pirimidinil)-benzenoisatin reaksiyonu yoluyla sentez etmiş ve anti-HIV aktivitesini incelemiştir (Selvam et al. 2001).



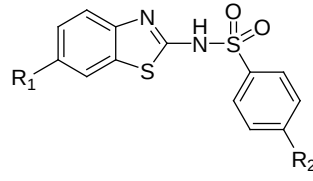
Şekil 1.17. Antiviral Etkili Sülfonamit Bileşikleri

Antimalarial etki; Karbonhidrat içerikli sülfonamitler sıtma hastalığının tedavisi için anti viral antimalarial etki göstermektedir. *P. falciparum* virüsü insanları enfekte ederek hastalık yapmaktadır ve sülfonamitlerde bunun üzerine anti viral etki etmektedir (Domínguez et al. 2005).



Şekil 1.18. Karbonhidrat içerikli sülfonamit bileşiklerinin yapısı

Antidiyabetik etki; N-(6-süstitüe-1,3-benzotiazol-2-il) benzenosülfonamit içerikli sülfonamit yapıları diyabetik hastalıkların tedavisinde etkili olup insülinin sekresyonunu stimüle etmektedir (Atmaca ve Ecemiş 2012). N-(6-süstitüe-1,3-benzotiazol-2-il) benzenosülfonamit türevleri sentezlenmiş ve insülin bağımlısı olmayan sıçanlarda *in vivo* antidiyabetik aktiviteleri incelenmiş, sentezlenen bileşiklerin antidiyabetik etki ettiği görülmüştür (Moreno-Díaz et al. 2008).



$R_1 = \text{NO}_2, \text{OCH}_2\text{CH}_3, \text{CH}_3, \text{OCH}_3$

$R_2 = \text{H, Cl, OCH}_3, \text{NHCOCH}_3, \text{NO}_2$

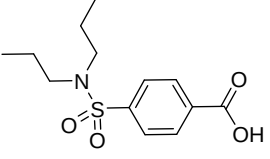
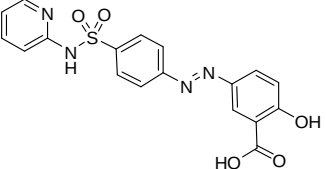
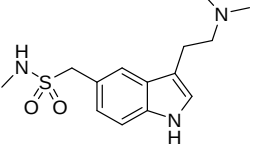
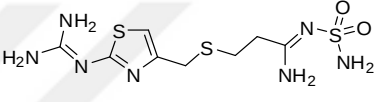
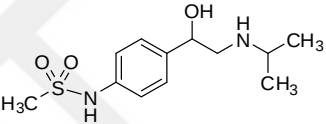
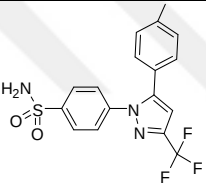
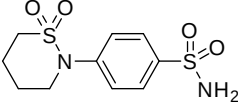
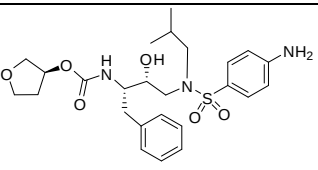
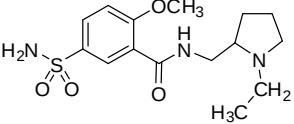
Şekil 1.19. N-(6 Sübstütüe 1,3 benzotiazol 2 il) benzenosülfonamit yapısı

Karbonik anhidrazların etki mekanizması; Aromatik ve hetero aromatik sülfonamit türevleri çok güçlü CA inhibitörleridirler. CA izoenzimlerini inhibe eden ve sentezlenmiş olan sülfonamitler tedavi amaçlı ilaç olarak kullanılmaktadırlar (Roughton and Booth 1946).

Tedavi amaçlı ilaç olarak kullanılan sülfonamit türevleri aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

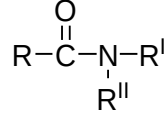
Tablo 1.1. İlaç olarak kullanılan sülfonamit türevleri

Kullanılan alan	İlaç olarak kullanılan sülfonamit türevi maddeler	Maddenin yapısı
Glokom	Asetazolamid (Schwartz et al. 2010)	
Enfeksiyon	Topikal antimikrobiyal mafenid (Lateef 2006)	
Diyabet	Glibenklamid (Loubatieres et al. 1969)	
Diüretik	Bumetanid (Puschett, 1994)	

Gut ve hiperürisemide	Probenesid (Fanelli 1975)	
Romatoid artrit, ülseratif kolit	Sulfasalazin (Brooks 2001)	
Migren	Sumatriptan (Lipton et al. 2000)	
Peptik ülserde	Famotidin (Taha et al. 1996)	
Kardiyak aritmi ve hipertansiyonda	Sotalol (Simon ve Berman 1979)	
Ağrı kesici ve antiinflamatuvar ajan olarak	Selekoksib (Amgad et al. 2001)	
Epilepside	Sultiam (De Simone et al. 2009)	
HIV	Amprenavir (Mastrolorenzo et al. 2006)	
Şizofreni ve majör depresif bozukluk	Sülpirid (Lai et al. 2012)	

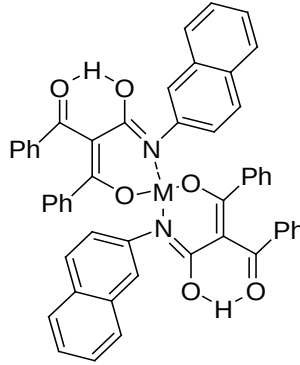
1.2. Karboksamitler

Karboksilik asitlerin -COOH grubunda bulunan hidroksil grubunun, NH₂ ile yer değiştirme reaksiyonu ile sentezlenirler. Karboksamitler R-CO-NR'R'' genel formülüyle formüle edilirler (Kumar et al. 2017).



şekil 1.20. Karboksamit genel yapısı

Amidler organizmaların ana bileşenlerinden biridir (Ravindar et al. 1985). Amid bileşikleri inhibitör ve antimikrobiyal etki gösterirler. Metal-amid bileşikleri biyolojik anlamda önemi çeşitli çalışmalarda rap-lanmıştır (Singh et al. 2008). Karboksamit bileşikleri farmakolojik bir öneme sahip olup; azot, platin veya oksijen atomları ile tepkimeye girmesi ile elde edilirler. Enzimler ve metal-peptit kompleksleri eldesi için bu reaksiyonlar iyi bir emsaldir (Meszaros et al. 2003). Karboksamit ligandlarının yapılarında azot ve oksijen atomları bulundurmaları bunların kompleks oluşturmasını kolaylaştırır. Yapılarında aktif karbonil grubu olmasından dolayı yer değiştirme reaksiyonlarına meğillidirler (Greenhill J. M. and Lue P. 1993).



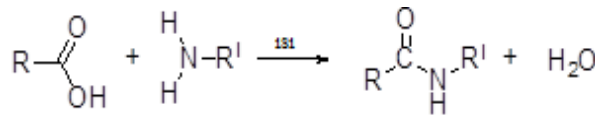
şekil 1.21. Karboksamit-ligand bileřięine örnek

1.2.1. Karboksamitlerin sentezi

Amin grubu ile karboksilik asit, iki adımda gerçekleşen reaksiyon sonucu amitler oluşur.

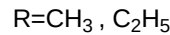
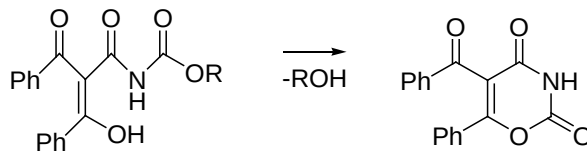
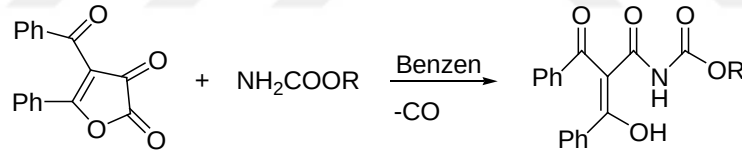
- 1. Safha asit-baz reaksiyonudur. Asit ve amin grubu birleştirilerek amonyum tuzu oluşturulur.

- 2. Adımda ısıtılan amonyum karboksilat'tan su uzaklaştırılarak amid oluşturulur.



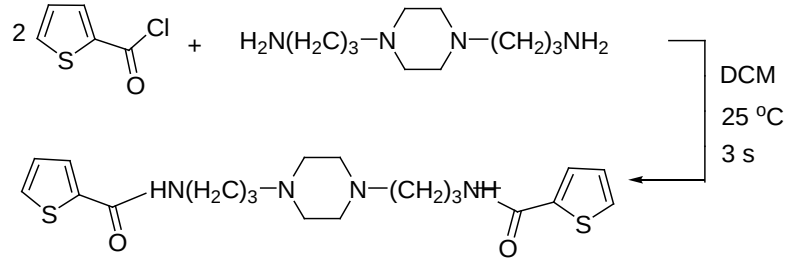
Şekil 1.22. Karboksamitlerin eldesi

Heterosiklik yapıda 4-benzoil5-fenil2,3-furandion ile ürethanların tepkimeye girmesiyle 3 karbonil grubu içeren dibenzoilasetikasit *N* karboksialkilamid bileşiği elde edilmiştir (Tezcan 1990).



Şekil 1.23. Karboksamit türevleri sentez mekanizması

1,4-bis(3-aminopropil)piperazin ile tiyofen-2-karbonilklorür tepkimesi sonucunda *N,N'*-bis((tiyofen-2-karboksamit)propil)piperazin sentezlenmiştir (Balaban et al. 2008).



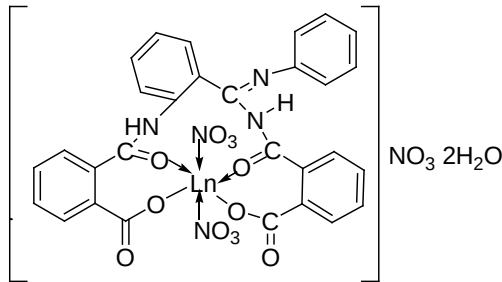
Şekil 1.24. *N,N'*-bis((tiyofen-2-karboksamit)propil)piperazin sentezi

Peptidler, β -laktamlar ve makrolaktamlar biyoaktifte sahip en önemli karboksamitlerdir.

1.2.2. Karboksamitlerin farmakolojik aktiviteleri

Bu moleküller kas genlerinde düzenleyici olarak kullanılır (Lippert 2000). DNA iskeleti üzerinde anahtar kilit uyumunu hassas bir şekilde sağlayan metal bileşikleri, nükleik asit ve protein arasında gerçekleşen reaksiyon için reaktif modeldirler (Lippard 1978).

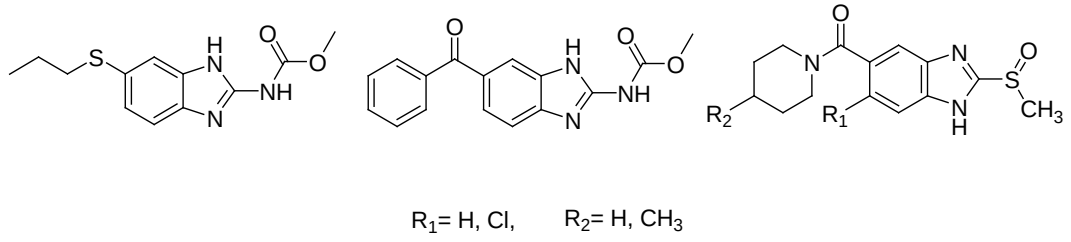
Geçiş metal komplekslerinin anahtar kilit uyumu içerisinde hedef bölgesi seçerek etki etmesi bu çalışmalara güveni artırmış ve çalışmalarda tercih sebebi olmuştur (Cowan 2001; Morrow and Iranzo 2004).



Ln=La(III), Sm(III), Eu(III) ve Tb(III)

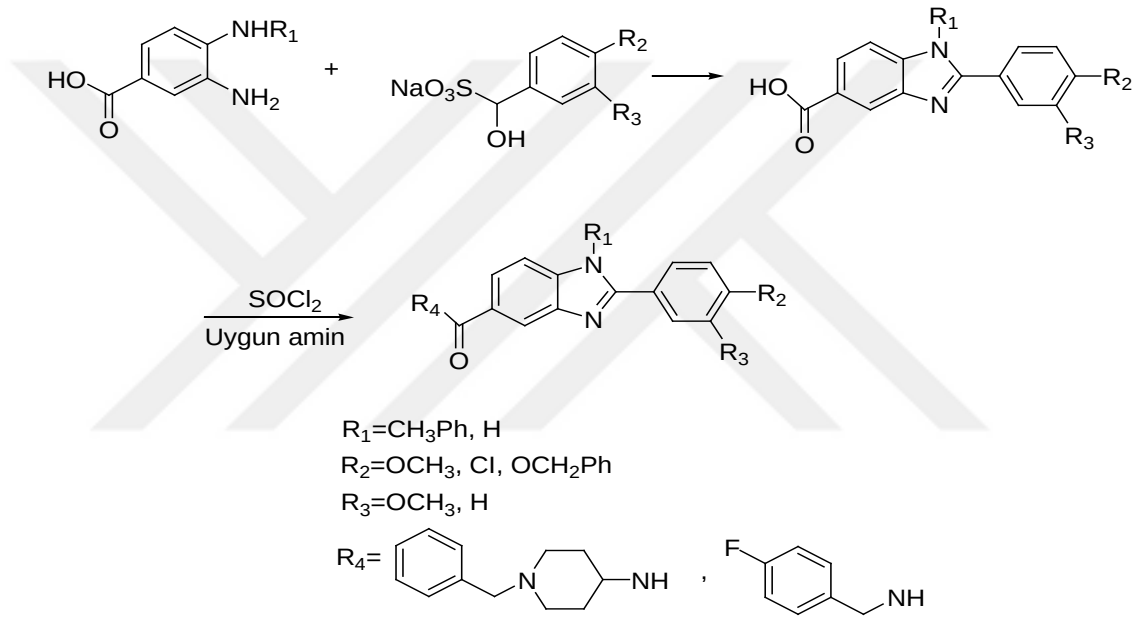
Şekil 1.25. *N',N''* bis(3 karboksi 1 oksofenilenil) 2 amino *N* arilbenzamidin ve ligandların yapısı

Antihelmintik amacıyla tecih edilen albendazol ve benzimidazol-2-karbamat bileşiklerinin biyo aktivitesini yükseltmek amacıyla bu bileşiklerin karboksamit türevlerini sentezlenmişlerdir (Rivera et al. 2007).

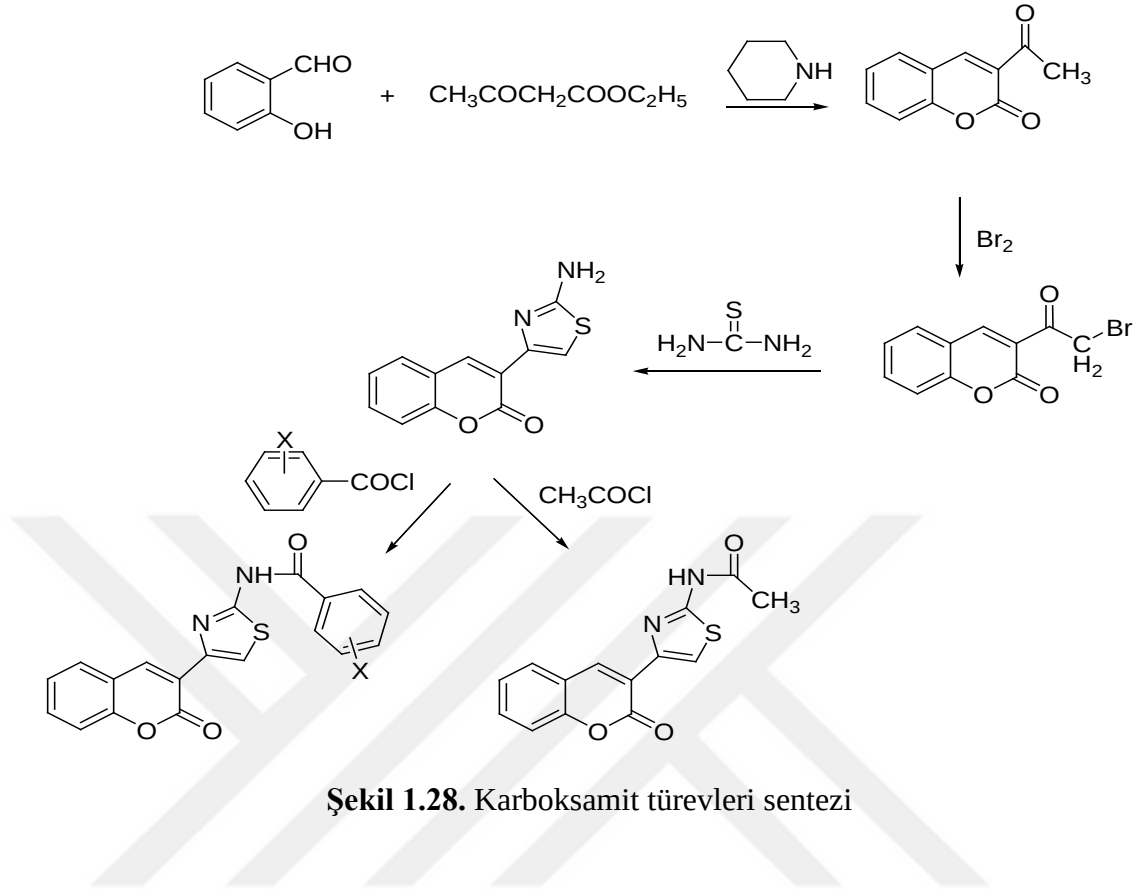


Şekil 1.26. *H*-benzimidazol-5(6)-il karboksamit türevleri

2001 yılında yapılan bir çalışmada *C. albicans* üzerinde flukonazole muadili antifungal etki ettiğini rapor etmişlerdir (Göker et al. 2001)



Şekil 1.27. Fenil-*N*-Karboksamito-*H*-Benzimidazol türevi bileşiğin sentezi



Şekil 1.28. Karboksamit türevleri sentezi

Nikotinamid enterovirüslere karşı antiviral etki ettiği ve immun sisteme destek olarak hastalıkları tedavi etmekte kullanıldığı raporlanmıştır (Moëll et al. 2009).

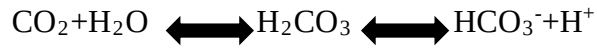
1.3. Karbonik Anhidraz Enzimi

Karbonik anhidraz (CA) enzimleri bütün canlılarda pH' ı stabil tutabilmekte kullanılan, su-elektrolit-iyon transferinde düzenleyici görevi alan izoenzimlerdir. Karbondioksitin hidrasyonu ile bikarbonatın dehidratasyonunu sistematik olarak katalize ederler (Wistrand et al. 1986; Beydemir et al. 2011; Ferraroni et al. 2002).

CA I ve CA II izoenzimleri insan kanındaki eritrositlerden izole edilen ilk enzimler olmuş olup CA izolasyonunda sıkça kullanılan yöntem afinite kromatografisi yöntemidir. Afinite kromatografisi yöntemi ilk olarak 1970' li yılların başından itibaren tercih edilmeye başlanılmıştır. Bugüne kadar CA enziminin 16 izoenzimi olduğu tespit edilmiştir (Supuran and Scozzafava 2001; Supuran 2008, 2017).

CA enzimleri her canlıda farklı izoenzimler olarak çalışırlar. Bu enzimlerin canlıların nerelerinde ve nasıl yoğunlaştıklarını ve çalışma şekillerini anlamak için pek çok çalışma yapılmıştır (Dinçer et al. 2016).

CA enzimi, organizmalarda geniş bir alanda bulunur ve aktif bölgesi Zn^{+2} iyonudur. Şekil 1.29.' da gösterilen CO_2 ' in HCO_3^- ve H^+ hidrasyonunu tersinir katalizler (Supuran and Scozzafava 2001).

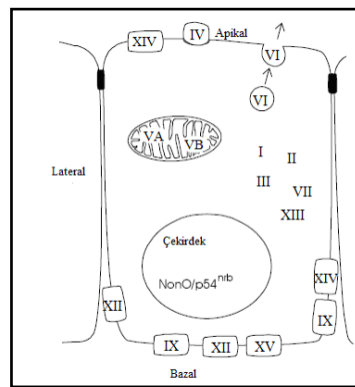


Şekil 1.29. CO_2 'in HCO_3^- ve H^+ hidrasyonu

CA' lar prokaryotik ve ökaryotik canlılarda yaygın olarak bulunurlar (Supuran 2008). CA' lar α -, β -, γ -, δ -, ζ -, η - gen familyaları altında şekillenir (Alterio et al. 2012).

Omurgalılarda, mantarlarda, alglerde, mercanlarda, ve yeşil bitkilerde sitoplazma kısmında α -CA (Maren 1997; Alterio 2012), bakterilerde, alglerde, arkealarda, monokotiledonda ve dikotiledondaların sitoplazma kısmında β -CA' lar bulunur (Winum 2010; Alterio 2012). Bitkiler ve arkealar bünyesinde γ -CA ların varlığı görülmüş ve ζ -CA lar ise sadece deniz diatomları bünyesinde gözlemlenmiştir (Xu 2008; Alterio 2012).

α -CA'ların hücre içi yerleşimleri aşağıda şematize edilmiştir;



Şekil 1.30. α -CA yerleşim ve kompozisyon formları

Memeli canlıların eritrositlerinde CA-I ve CA-II, kas yapılarında CA-III, insan böbrek yapısında CA-IV, bazı doku mitokondrilerinde CA-V, tükürük bezi yapısında CA-VI ve sitozolde CA-VII yapısında bulunur (Küfrevioğlu et al. 2002). CA-I, CA-

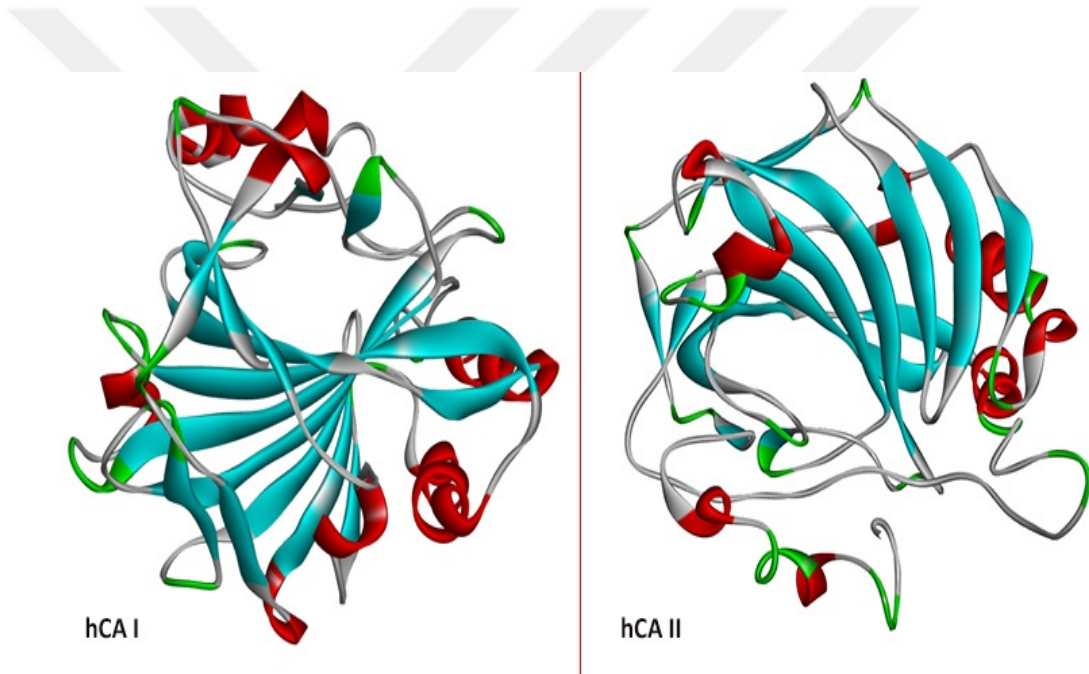
II, CA-III, CA-VII ve CA-XIII izoenzimleri sitolojik formlardır. CA-IV, IX, XII ve XIV izoenzimleri ise membrana bağlıdır.

Tablo 1.2. CA izoenzimlerinin etkileri ve organizmadaki dağılımları

İzoenzim	Etki	Organizmadaki yeri
CA-I	Antireflü ve iyon taşınması	Eritrositler, Gastrointestinal sistem
CA-II	Antireflü, kemik rezorpsiyonu, sperm aktivitesi, ürenin asidifikasyonu ve CO ₂ nazal kemosenitivitesi	Neredeyse bütün hücre yapılarında
CA- III	Antireflü, yağ asitlerinin metabolik aktiviteleri, sıvı taşınması ve homeöstazi	İnsanda embriyo notokordunda ve kas sistemi,
CA-IV	Antireflü, HCO ₃ ⁻ absorpsiyon, NH ₄ salınımı, Ph'ın düzenlenmesi, oküler sıvı üretimi, kan akışı	Gastrointestinal sistem, Böbrekler, Pankreaslar, Tükürük bezi, Kalp kası ve Gözler
CA-VA	Biyosentetik reaksiyonda piruvat karboksilaza HCO ₃ ⁻ sağlamak	Akciğerler, Böbrekler, Pankreaslar
CA-VB	Biyosentetik reaksiyon, amonyak detoksifikasyon	Pankreaslar, Böbrekler, Tükürük bezi, Kalpte ve kas sisteminde
CA-VI	pH' nın dengelenmesi, antireflü, antikarsinojen etki, tat duyusları	Tükürük Gözyaşı ve süt salgıları, Nazal bez,
CA-VII	Serebrospinal sıvı üretimi	Sinir sistemi
CA-VIII	Fonksiyonsuz	Purkinj hücreleri
CA-IX	pH' nın dengelenmesi, hücrenin adhezyonu proliferasyonu ve farklılaşması, iyon aktarımı	Gastrointestinal sistem, kanser türleri
CA-X	Fonksiyonsuz	Beyin ve merkezi sinir sistemi, Miyelin kılıflar
CA-XI	Fonksiyonsuz	Beyin ve merkezi sinir sistemi, Omurilik
CA-XII	pH' nın dengelenmesi, HCO ₃ absorpsiyon	Kolonda, Böbreklerde, Prostatda, Kanser türlerinde
CA-XIII	Böbrek ve üreme sistemi ve asit baz dengesinin sağlanmasında	Timusda, İnce bağırsakda, Kolonda, Dalakta,
CA-XIV	HCO ₃ absorpsiyonu, sinirde sinyallerin iletimi	Merkezi sinir sistemi, Kolonda, Böbrekte, kas sisteminde

Eritrositlerde hCA-II ile birlikte hCA-I izoenzimide bulunur ve bunlar çözünebilirler. Eritrositler içerisinde hemoglobinlerden sonra en fazla miktarda bulunan proteinlerdir (Lowe et al. 1991; Brady et al. 1991).

Sülfonamidler kolaylıkla iyonik yapı kazanırlar, bu durumda CA enziminin inhibisyonu noktasında son derece önemlidir (Roughton ve Booth 1946). CA-I ve II izoenzim yapılarının aminoasit dizilimleri ve 3 boyutlu yapıları üzerine yapılan araştırmada bu enzimlerin etkilerinin farklılık gösterdiği aynı zamanda da 3 boyutlu yapılarının birbirlerine benzer yapıda oldukları görülmüştür. (Tashian 1983; Deutsch 1997). CA-I ve CA-II' in üç boyutlu modellemesi Şekil 1.31'de gösterilmiştir.



Şekil 1.31. CA-I ve CA-II izoenzimlerinin 3D modelleri (Chiaramonte et al. 2018; Vannozzi et al. 2021)

Sülfonamidler birçok hastalığın tedavisinde uzun zamandır kullanılan önemli bileşiklerdir ve bilinen en güçlü karbonik anhidraz inhibitörleridir. Bu yüzden de dokulardaki CA izoenzimlerinin inhibe etmek için sülfonamidlere ihtiyaç duyulur. Sülfonamidler kolaylıkla iyonik yapı kazanabilen moleküllerdir, bu özellikleri, CA enziminin inhibisyonu noktasında sülfonamidlerin önemini daha da arttırmaktadır (Roughton ve Booth 1946).



2. KAYNAK ÖZETLERİ

Sülfonamitlerin keşfedilmesinden bugüne kadar sülfonamit türevleri ve bunların hangi canlıda nerede bulunduğu nasıl bir işleve sahip olduğu üzerine çok sayıda araştırmalar yapılmıştır.

Sülfonamitler üzerine yapılan araştırmaların neticesinde farmakolojik olarak anti-tümör ve antimikrobiyal alanlarda yapılan çalışmalar sonucunda sülfonamit türevleri sentezlenmiştir. Ayrıca sülfonamitler CA enziminin inhibisyonu olarakta aktivite gösterdikleri bilinmektedir ve bu tez çalışması kapsamında da bu özelliklerinden faydanılmak istenilmiştir.

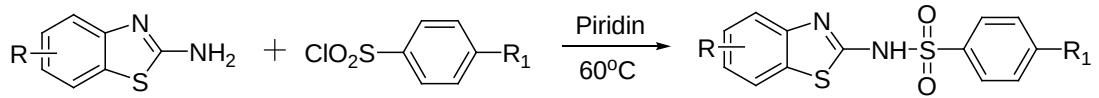
Sülfonamitlerin geniş bir alanda biyolojik aktivite göstermesi neticesinde ilaç endüstrisi açısından da değerlendirmeye yönelik çalışmalar yapılmasını teşvik etmiştir. Bu sebeple organik sentez ile sülfonamit türevlerinin sentezlenmesi amacıyla bilim dünyasında bu türevler üzerine çalışmalar artmıştır.

Sülfonamitler diüretik olarakta kullanılmışlardır, böbreklerdeki kan akışını düşürerek ürik asit miktarını azaltırlar. Asetazolamid, Furosemid, Bumetanid, Azosemid maddeleri karbonik anhidraz inhibitörü sülfonamitlerin bazılarıdır.

Sülfonamitler üzerine yapılan çok sayıda çalışma olsada, bunların sadece 25 civarındaki türevleri ilaç olarak hastalık tedavisinde kullanılabilmektedir. Ancak ilaç olarak kullanılsalar da ışığa duyarlı oldukları unutulmamalı ve uygun koşullarda muhafaza edilmelidirler.

Sülfonamitlerin her ne kadar antibakteriyel olarak kullanılsa da bakterilerin bu sülfonamit türevlerine direnç geliştirebileceği bir gerçektir bunun içinde yeni sülfonamit türevlerinin sentezi için çalışmalar yapılmaktadır.

Sülfonamit tiyazol ve benzotiyazol türevleri (şekil 2.1.)' de aktarıldığı gibi sentezlenmiştir. Sentezlenen bu sülfonamit türevleri *B. subtilis* ve *S. aureus*' a karşı etkili olmuşlardır (Argyropoulou et al. 2009).

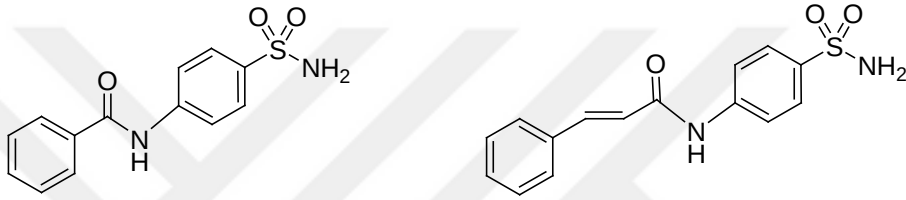


R= H, CH₃, F, Cl, CH₂COOC₂H₅, OC₂H₅

R₁= NHCOCH₃, NO₂, NH₂, Cl

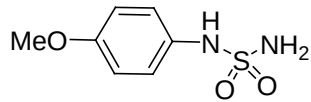
Şekil 2.1. Çeşitli Sülfonamit Tiyazol ve benzotiyazollerin Sentezi

Sapna Rani ve Kumar 2014 yılında yapmış oldukları çalışmalarında antikanser etkilere sahip yeni türevler sentezlemişlerdir mekanizması Şekil 2.2' te verilmiştir.

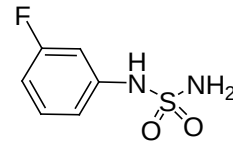


Şekil 2.2. Sülfonamit Türevleri

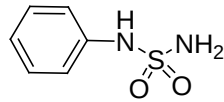
Bechecker 2014 yılında yaptıkları çalışmalarında, N-(fenil)-sülfonamit türevleri sentezlemişler ve tüm moleküllerin antibakteriyel aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir (Şekil 2.3.).



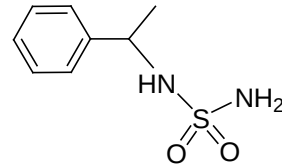
N-(4-metoksifenil)sulfonamid



N-(3-fluorofenil)sulfonamid



N-(fenil)sulfonamid

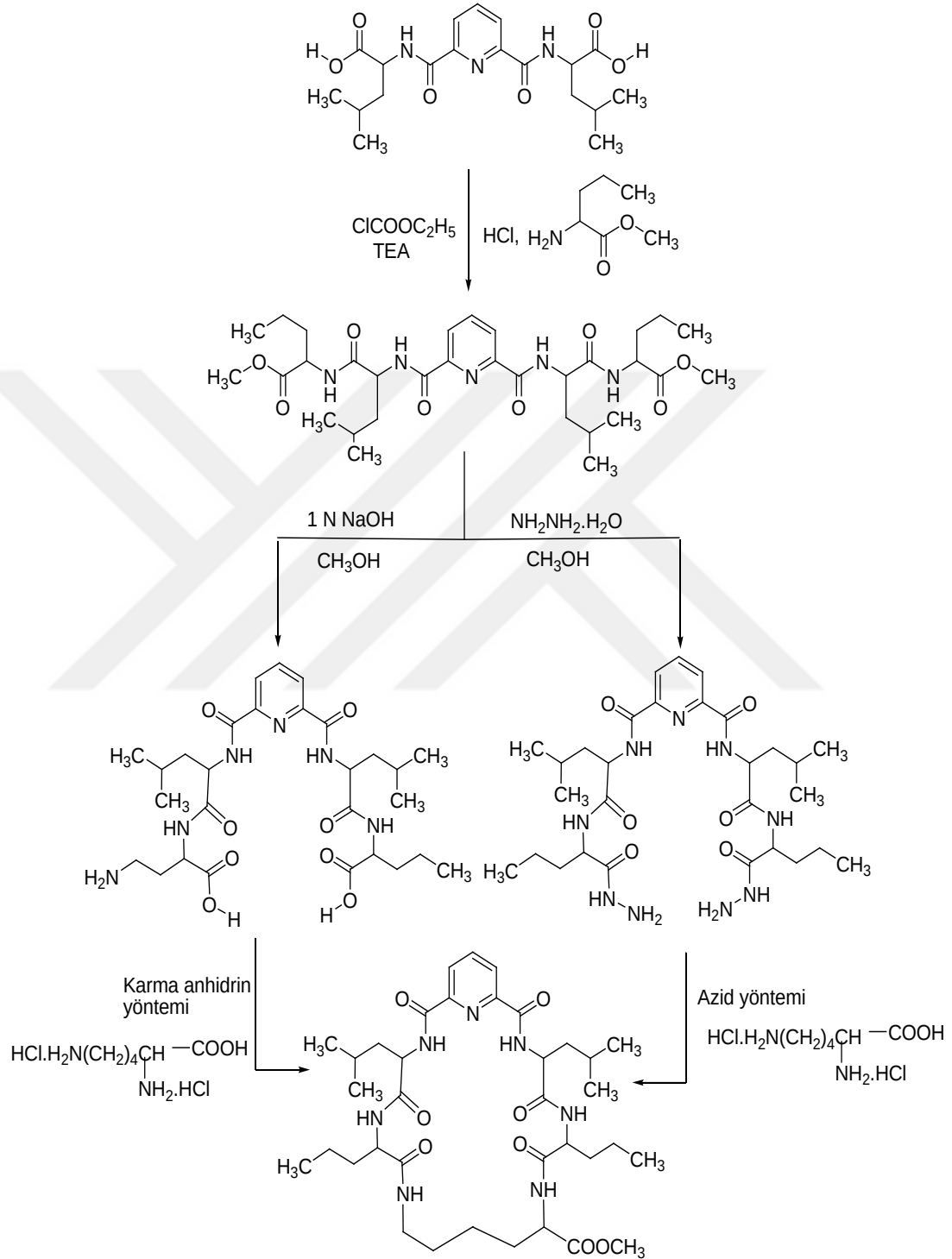


N-(feniletil)sulfonamid

Şekil 2.3. N-(Fenil)-sülfonamit türevleri

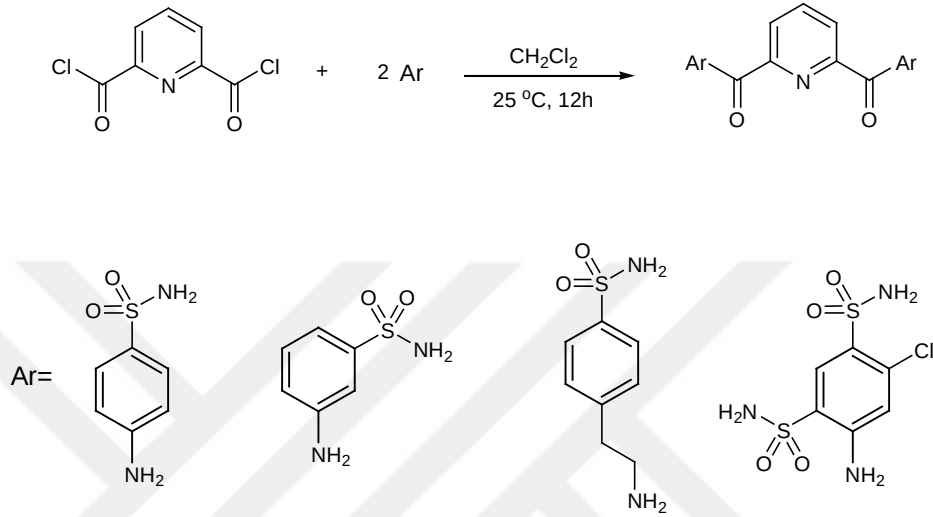
Sitotoksik aktivitesini incelemek için asetillenmiş siklopentapeptid türevi Siklolo-(N^α-dipicolinoyl)-bis-[L-Leu-DL-Nval]-L-Liz OMe molekülünü sentezlemişlerdir (Şekil 2.4.). Siklopentapeptid türevi çeşitli hücre hatlarına denenmiş

ve sitotoksik aktivite göstererek hücre gelişmelerinde iyi sonuçlar verdiği anlaşılmıştır (Abo-Ghalia and Amr 2004).



Şekil 2.4. Siklo-(N^{α} -dipikolinoil)-bis-[L-Leu-DL-Nval]-L-Liz OMe sentezi

Piridin-2,6-dikarbonildiklorür' ün çeşitli sülfonamitlerle reaksiyonu sonucu piridindikarboksisülfonamit türevleri sentezlemiş (Şekil 2.5.)' de gösterilmiştir, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve FT-IR kullanılarak tayin etmişlerdir. hCA-I ve hCA-II enzimlerine karşı yapılan *in-vitro* çalışmaları bu moleküllerin yüksek enzim inhibisyonuna sahip olduklarını göstermiştir (Stellenboom et al. 2019).



Şekil 2.5. Piridindikarboksisülfonamit Türevlerinin Sentezi

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan kimyasallar

Tez çalışmamız esnasında yapılan sentez aşamalarında kullanılan ayrıca CA inhibisyon deneylerinde kullanılan kimyasalların tamamı Sigma-Aldrich firmasından tedarik edilmiştir. Kullanılan kimyasal maddelerde saflaştırma yapılmadan olduğu haliyle kullanılmak suretiyle deneylerimiz gerçekleştirilmiştir.

Reaksiyonlar gerçekleştirilirken periyodik olarak Merck Marka silika jel plakaları kullanılmak suretiyle ince tabaka kromatografisi (TLC) ile denetlenerek deney kontrol altında devam ettirilmiştir. TLC plaklarına yüklenen kimyasal numuneleri UV ışığı altında gözlenmek suretiyle reaksiyonun akıbeti hakkında bilgi edinilerek takibi yapılmıştır.

3.1.2. Kullanılan cihazlar

Erime noktası tespiti Stuart Melting Point Meter SMP30 cihazı ile tespit edilmiş ve Infrared (IR) spektrumları Thermo Nicolet iS10 FT-IR cihazı ile tespit edilmiştir.

NMR spektroskopisi deneyleri H için 400 MHz' de ve C için 100 MHz' de Varian Unity 400 spektrometresin ile analiz edilmiştir. Bileşikler DMSO' da çözülerek spektrumun sonuçları tayin edilmiştir. Bütün kimyasal kaymalar ppm olarak ve etkileşim sabitleri ise Hz olarak sunulmuştur.

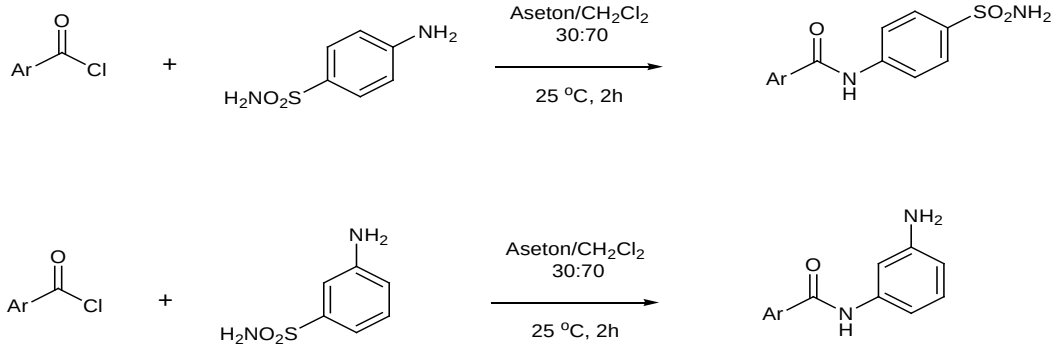
LC-MS spektrometresi kullanılmak suretiyle elde edilen sülfonamit türevi maddeler karakterize edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. SA türevi maddelerin sentezi

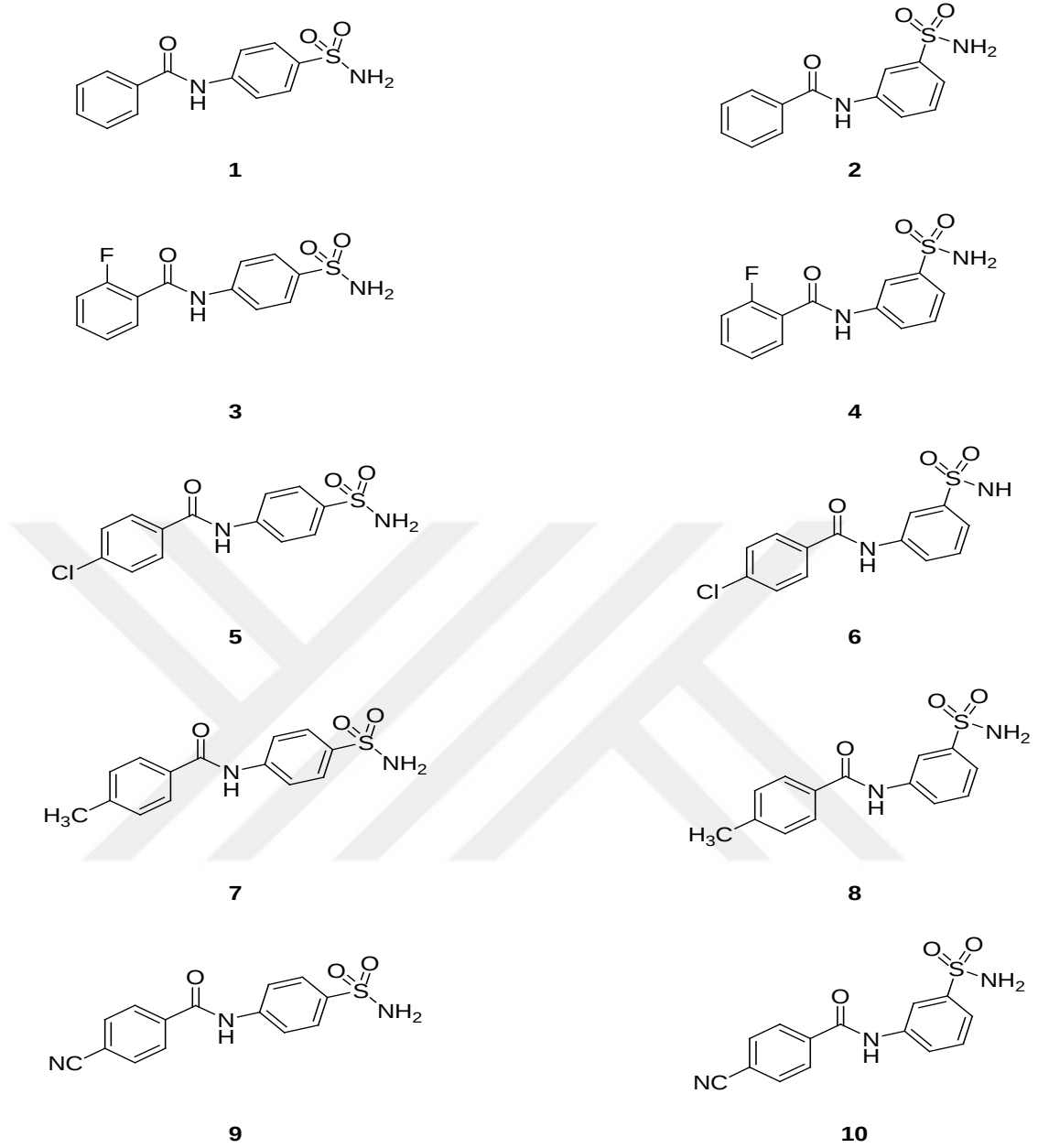
Yapılan bu çalışmanın birinci safhasında sülfonamit türevi maddeler (Şekil 3.1.)’de aktarılan yöntem ile sentezlenmiştir. Sülfonamit reaktifleri (1 mmol), 5 ml aseton’ da çözülür ve üzerine 5 ml CH_2Cl_2 ’ de çözülen benzoil klorür (1.1 mmol) maddesi damla damla ilave edilir. Reaksiyon ortamı TLC kromatografisi ile periyodik olarak kontrol edilerek, sülfonamit türevi madde ortamda tükenene kadar reaksiyon oda sıcaklığında 12-18 saat karıştırılarak devam ettirilir. Ortamdaki sülfonamit türevi maddenin bittiği anlaşıldıktan sonra, reaksiyon ortamındaki çözücüler rotary evaporatör kullanılarak mevcut hacminin yarısına kadar uçurulur. Süzülerek saf suyla yıkanan çökelti, aseton / heksan çözücü ortamında kristallendirilir.

Sentezlenen sülfonamit türevleri aşağıdaki şekilde aktarıldığı yöntemle elde edilmiştir. (1 mmol) sülfonamitler, 5 ml aseton/ CH_2Cl_2 (30:70)’de çözöldü ve üzerine 5 ml aseton/ CH_2Cl_2 (30:70)’de çözölen benzoil klörürler (1.1 mmol) damla damla eklenilir. Reaksiyon ortamında bulanma olduğu gözlemlenerek ve yürütölen reaksiyon TLC ile periyodik olarak kontrol etme yoluyla sülfonamit türevi başlangıç maddesi ortamda tükenene kadar reaksiyonlar devam ettirilir. Reaksiyonlar oda sıcaklığında 6-12 saat arası sürelerde tamamlanmıştır. Reaksiyon bitmesi ile oluşun çökelti süzölerek ortamdan ayrılmış ve metilen klorür ile yıkanıp oda sıcaklığında karanlık ortamda kurumaya bırakılmıştır. TLC ile kontrol edilen çökelekte safsızlık görölmesi durumunda aseton / petrol eteri çözücü sisteminde tekrar kristallendirilerek saflaştırılır.



Şekil 3.1. Sülfonamitlerin genel sentezi

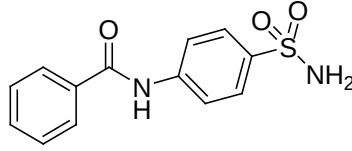
Çalışmamız üç aşamadan oluşmaktadır. Bu aşamalardan ilki sülfonamit türevlerinin sentezlenmesi, ikincisi elde ettiğimiz sülfonamit türevlerinin biyolojik aktiviteleri üzerine yapılan çalışmaları kapsamaktadır, son olarak moleküler modelleme çalışmaları yapılarak bağlanma enerjileri hesaplanacaktır. Tez çalışmamız dahilinde çeşitli sülfonamit türevlerini metilen klorür ve aseton ortamında farklı bileşiklerle çaprazlayarak on farklı sülfamid türevi sentezlenmiştir.



Şekil 3.2. Sentezlenen sülfonamit türevleri

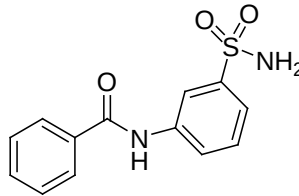
3.3. Araştırma Verileri

3.3.1. *N*-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (1):



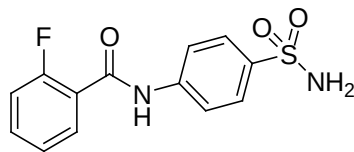
Erime Noktası: 289-291 °C; LC-MS/MS (*m/z*): 277.2574, beklenen değeri: (C₁₃H₁₂N₂O₃S) 276.0569; IR ν_{max} (saf, cm⁻¹): 3360, 3286, 3265, 1652, 1580, 1591, 1515, 1486, 1318, 1296, 1267, 1154, 1094, 905, 829, 718; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ_{H} : 10.54 (br s, 1H), 7.96 (d, AB sisteminin A kısmı, *J* = 9.9 Hz, 2H), 7.95 (s, 2H), 7.81 (d, AB sisteminin B kısmı, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.61 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.55 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.27 (br s, 2H); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ_{C} : 165.8, 142.0, 138.6, 134.4, 131.8, 128.3, 127.7, 126.4, 119.7.

3.3.2. *N*-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (2):



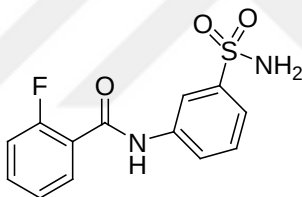
Erime noktası: 233-235 °C; LC-MS/MS (*m/z*): 277.3525, beklenen değeri: (C₁₃H₁₂N₂O₃S) 276.0569; IR ν_{max} (saf, cm⁻¹): 3339, 3238, 3065, 1659, 1599, 1543, 1479, 1445, 1325, 1305, 1262, 1161, 1103, 901, 786; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ_{H} : 10.52 (br s, 1H), 8.37 (s, 1H), 7.97 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 7.63-7.53 (m, 5H), 7.37 (br s, 2H); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ_{C} : 165.6, 145.0, 140.0, 135.0, 132.3, 129.8, 128.9, 128.2, 123.7, 121.2, 117.8.

3.3.3. 2-Floro-*N*-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (3):



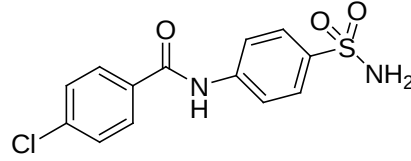
Erime Noktası: 270-272 °C; LC-MS/MS (m/z): 295.1952, beklenen değer: ($C_{13}H_{11}FN_2O_3S$) 294.0474; IR $\nu_{\max}$ (saf, cm^{-1}): 3359, 3301, 3264, 1658, 1589, 1515, 1482, 1456, 1401, 1295, 1152, 1092, 899, 833, 725; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 10.73 (br s, 1H), 7.88 (d, AB sisteminin A kısmı, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.81 (d, AB sisteminin B kısmı, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.69 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.60 (q, $J = 6.0$ Hz, 1H), 7.35 (q, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.28 (br s, 2H); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ_C : 163.1, 158.8 (d, $J = 247.5$ Hz), 141.6, 138.9, 132.7 (d, $J = 8.2$ Hz), 129.8 (d, $J = 2.6$ Hz), 126.6, 124.5, 124.4 (d, $J = 12.5$ Hz), 119.2, 116.1 (d, $J = 10.5$ Hz).

3.3.4. 2-Floro-*N*-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (4):



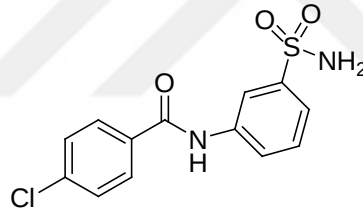
Erime Noktası: 217-219 °C; LC-MS/MS (m/z): 295.2662, beklenen değer: ($C_{13}H_{11}FN_2O_3S$) 294.0474; IR $\nu_{\max}$ (saf, cm^{-1}): 3407, 3266, 3087, 1653, 1612, 1588, 1526, 1449, 1426, 1312, 1200, 1147, 1083, 915, 780, 757; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 10.70 (br s, 1H), 8.3 (s, 1H), 7.85 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.69 (t, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.62-7.53 (m, 3H), 7.38-7.32 (m, 4H); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ_C : 163.0, 158.8 (d, $J = 247.7$ Hz), 144.6, 139.1, 132.7 (d, $J = 8.4$ Hz), 129.8 (d, $J = 2.5$ Hz), 129.4 (d, $J = 4.2$ Hz), 124.5 (d, $J = 3.5$ Hz), 124.4 (d, $J = 4.4$ Hz), 122.5, 120.9, 116.7, 116.1 (d, $J = 21.6$ Hz) .

3.3.5. 4-Kloro-*N*-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (5):



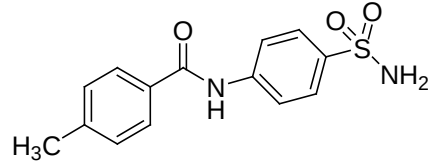
Erime Noktası: 286-288 °C; LC-MS/MS (m/z): 308.9174, beklenen değer: ($C_{13}H_{11}ClN_2O_3S$) 310.0179; IR ν_{max} (saf, cm^{-1}): 3376, 3303, 3171, 1664, 1590, 1526, 1488, 1402, 1316, 1265, 1156, 1096, 1015, 897, 831, 740; ; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 10.59 (br s, 1H), 8.00 (d, AB sisteminin A kısmı, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7.94 (d, AB sisteminin A kısmı, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7.81 (d, AB sisteminin B kısmı, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.62 (d, AB sisteminin B kısmı, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.27 (br s, 2H); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ_C : 164.7, 141.8, 138.8, 136.7, 133.1, 129.6, 128.4, 126.4, 119.8.

3.3.6. 4-Kloro-*N*-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (6):



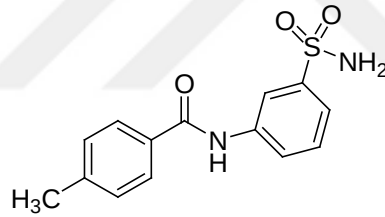
Erime Noktası: 269-271 °C; LC-MS/MS (m/z): 311.1681, beklenen değer: ($C_{13}H_{11}ClN_2O_3S$) 310.0179; IR ν_{max} (saf, cm^{-1}): 3364, 3336, 3211, 1658, 1598, 1570, 1479, 1407, 1323, 1305, 1261, 1157, 1092, 892, 844, 783; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 10.59 (br s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.022 (d, AB sisteminin A kısmı, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7.96 (dt, $J = 7.2$ Hz, 2.0 Hz, 1H), 7.63 (d, AB sisteminin B kısmı, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.59-7.54 (m, 2H), 7.38 (br s, 2H); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ_C : 164.5, 144.5, 139.2, 136.6, 133.0, 129.6, 129.2, 128.4, 123.1, 120.8, 117.3.

3.3.7. 4-Metil-N-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (7):



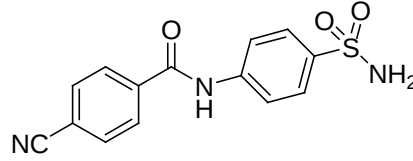
Erime Noktası: 303-305 °C; LC-MS/MS (m/z): 288.9490, beklenen değer: ($C_{14}H_{14}N_2O_3S$) 290.0725; IR $\nu_{\max}$ (saf, cm^{-1}): 3367, 3330, 3206, 1656, 1596, 1544, 1480, 1325, 1305, 1265, 1157, 902, 837, 780, 708; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 10.46 (br s, 1H), 9.97 (d, AB sisteminin A kısmı, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7.91 (d, AB sisteminin A kısmı, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7.81 (d, AB sisteminin B kısmı, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7.36 (d, AB sisteminin B kısmı, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7.27 (br s, 2H), 2.40 (s, 3H); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ_C : 165.7, 142.2, 142.0, 138.6, 131.6, 129.0, 127.8, 126.5, 119.8, 21.0.

3.3.8. 4-Metil-N-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (8):



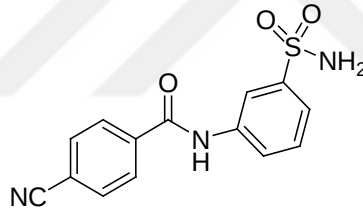
Erime Noktası: 251-253 °C; LC-MS/MS (m/z): 289.0053, beklenen değer: ($C_{14}H_{14}N_2O_3S$) 290.0725; IR $\nu_{\max}$ (saf, cm^{-1}): 3329.60; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 10.46 (br s, 1H), 8.39 (s, 1H), 7.98 (dt, $J = 6,8$ Hz, 2.0 Hz, 1H), 7.92 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7.69-7.63 (m, 2H), 7.37 (br s, 2H), 7.35 (s, 1H), 2.40 (s, 3H); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ_C : 165.6, 144.5, 141.9, 139.6, 131.6, 129.2, 128.9, 127.7, 123.2, 120.6, 117.3, 21.0.

3.3.9. 4-Siyano-N-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (9):



Erime Noktası: 280-282 °C; LC-MS/MS (m/z): 299.4717, beklenen değer: ($C_{14}H_{11}N_3O_3S$) 301.0521; IR $\nu_{\max}$ (saf, cm^{-1}): 3365, 3275, 2229, 1672, 1592, 1532, 1503, 1402, 1323, 1313, 1259, 1160, 1106, 896, 861, 824, 758; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 10.78 (br s, 1H), 8.13 (d, AB sisteminin A kısmı, $J = 8.4$ Hz, 2H), 8.05 (d, AB sisteminin B kısmı, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.96 (d, AB sisteminin A kısmı, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.84 (d, AB sisteminin B kısmı, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.30 (br s, 2H); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ_C : 164.6, 141.7, 139.2, 138.5, 132.5, 128.6, 126.6, 120.0, 118.2, 114.1.

3.3.10. 4-Siyano-N-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (10):



Erime Noktası: 271-273 °C; LC-MS/MS (m/z): 300.0170, beklenen değer: ($C_{14}H_{11}N_3O_3S$) 301.0521; IR $\nu_{\max}$ (saf, cm^{-1}): 3365, 3256, 355, 2244, 1667, 1598, 1546, 1476, 1335, 1302, 1259, 1158, 1099, 886, 856, 797; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 10.76 (br s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.14 (d, AB sisteminin A kısmı, $J = 8.4$ Hz, 2H), 8.05 (d, AB sisteminin B kısmı, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.97 (dt, $J = 7.2$ Hz, 2.0 Hz, 1H), 7.61-7.56 (m, 2H), 7.40 (br s, 2H); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ_C : 164.4, 144.6, 139.1, 138.5, 132.5, 129.4, 128.6, 123.3, 121.2, 117.5, 117.4, 114.1.

Sentezlenen sülfonamit türevi moleküllerin IC_{50} değerleri tespit edilerek CA-I ve CA-II izoenzimlerine karşı inhibe etme kapasitelerinin araştırılması: Tez çalışmasının bu kısmında sentezlenen sülfonamit türevlerinin (**1-10**), CA-I ve CA-II enzimlerinin üzerine inhibisyon etkileri incelenmiştir. Bu amaçla ilk olarak CA-I ve II enzimleri Sefaroz 4B-l-tirozin-sülfanilamit afinite kromatografi tekniği kullanılarak

insan eritrositlerinden saflaştırılmıştır. Daha sonra sentezlenen türev moleküllerin enzimler üzerine IC₅₀ değerleri belirlenmiştir. Ayrıca sentezlenen türev moleküllerin CA I ve II ile olası etkileşimlerinin belirlenmesi için docking analiz çalışmaları yapılmıştır.

Kan hemolizatin hazırlanma aşaması: Kullanılan insan kanı örnekleri Ağrı Devlet Hastanesinden temin edilmiştir. Taze kan örnekleri santrifüje alınarak 15 dakika boyunca 2500 g’ de santrifüj edilir. Üste ayrılmış olan kanın plazma ve lökosit kısmı damlalık marifetiyle alındıktan sonra altta kalan pelet kısımlar üzerine 0,154M NaCl üçer kez eklenerek yıkanır. Hacminin hemen hemen 5 katı oranında buzlu hemoliz çözeltisi ile muamele edilerek eritrosit hemolizi gerçekleştirilir. Bu hemolizat ortamı +4⁰C’ de 20000 g’ de 30 dakika boyunca santrifüj edilip ve bu şekilde eritrositlerin hücre zarları ortamdaki uzaklaştırılır. Üste kalan hemolizatlar damlalıkla hassasiyetle alındıktan sonra çökelek atılır (Hunaiti ve Soud, 2000).

CA enziminin aktivite tespiti: CA enziminin aktivitesi üzerine yapılan analizinde, enzimlerin esteraz aktivite etkinliğine dayalı yöntem kullanılarak yapılır. Esteraz yöntemi CA enziminin *p*-nitrofenil asetatı hidrolize ederek *p*-nitrofenole dönüştürmesini hedefleyen bir yöntemdir. *p*-Nitrofenol 348 nm dalga boyunda max. absorbans değerlerini vermektedir (Verpoorte et al. 1967). *p*-nitrofenol bileşiği her deney gününde hazırlanmak suretiyle taze kullanılmıştır. *p*-nitrofenol asetat çözeltisi (3 mM) olarak kullanıldı. 13.5 mg katı *p*-nitrofenol asetat tartıldıktan sonra 0,5 ml aseton içerisinde çözülerek ve 24 ml saf suyla seyreltilerek hazırlanılır.

Sentezlenen türev moleküllerin CA I ve II üzerine inhibe etme kabiliyetlerinin incelenmesi: Çalışmamız kapsamında sentezlenen türev moleküllerin (1-10) CA I ve II üzerine inhibisyon etkisini belirlemek için, her bir türev molekülün en az 5 farklı konsantrasyonunda aktivite ölçümleri 3 tekrarlı olarak yapılır ve elde edilen ortalama değerlerle % aktiviteye karşı konsantrasyon grafikleri çizilir. Bu grafiklerden yararlanılarak IC₅₀ değerleri belirlenir.

Docking Analiz Çalışmaları: CAI’nin üç boyutlu yapısı (PDB ID:6EVR) ve CAII’nin üç boyutlu yapısı (PDB ID:7RNZ) protein veri bankasından (<https://www.rcsb.org>) indirildi (Niccolò et al. 2018, Supuran et al. 2021). Enzimlerin üç boyutlu yapılarının docking için hazırlanması için Autodoc 4.2 protokolleri takip

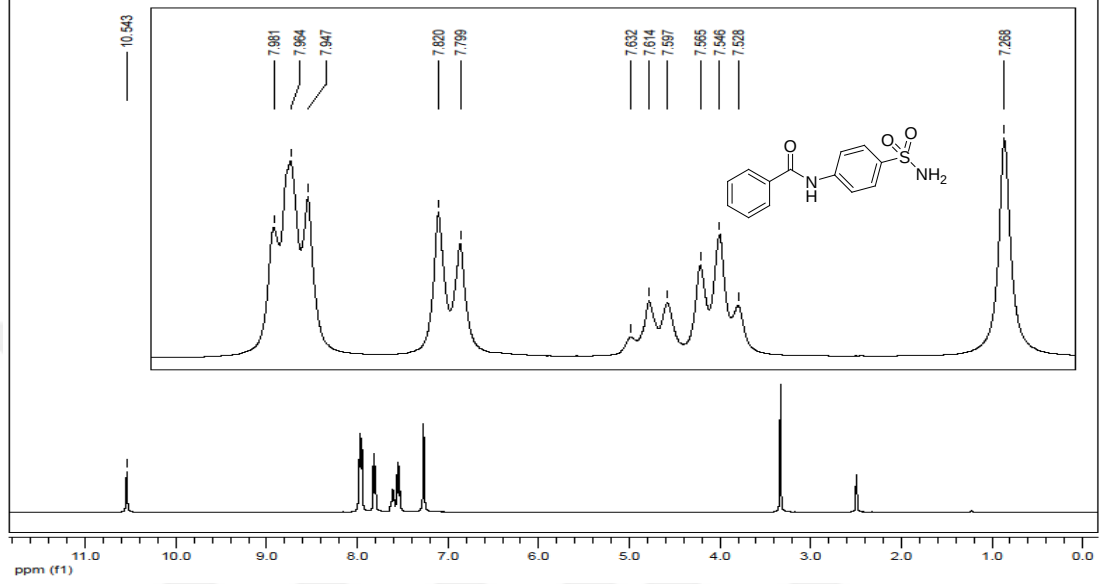
edildi. Moleküllerin (1-10) kimyasal yapıları ilk olarak ChemDraw 19.1'de çizildi ve Chem3D programına aktarıldı. 3 boyutlu yapının optimizasyonu için Avogadro programı (Hanwell 2012) kullanıldı. Ligandlar ve reseptör hazırlıklarından sonra Autodock 4.2 ve Autodock vina ile PyRx platformunda (Dallakyan and Olson 2015, Trott and Olson 2010) docking analizi yapıldı. Etkileşim konformasyonları ve etkileşimlerin 3D modellerinin görselleştirilmesi için Discovery Studio Visualizer kullanıldı (Biovia, D. S. and DSME 2017).

Afinite kromatografisi jel hazırlanışı: CA izo enzimlerinin inhibitörleri olan sülfanilamidler, afinite jeli yapısında tutunarak CA enzimlerinde yüksek saflaştırma hedeflenmiştir (Pocker and Sarkanen 1979). 25 ml saf su içerisinde AktifSephrose 4B maddesi çözündürülür, 200 mg tirozin eklenir ve fazla tirozinin saf su ve 0.2 M NaHCO_3 ile yıkanır ortamdan uzaklaştırılır. Tirozinin bağlanmış olduğu jel hazırlanmış olan bu tampon çözeltiden 40 ml eklenerek temiz bir behere alınır, 50 mg sülfonilamid 0 °C 1 M 10ml HCl içinde çözündürülüp ve üzerine 150 mg NaNO_2 5ml' lik çözeltisi yavaşça ilave edilir. Reaksiyon 5-10 dakika kadar sürdürüldü bu şekilde diyazollanmış sülfonamid Sepharose-4B tirozin ortamına eklenerek üzerine 1 M' lık NaOH ilave edilir pH 9,5 'e çıkartılarak sabit tutulur ve 3 saat boyunca oda sıcaklığında yavaş şekilde reaksiyon devam ettirildi. Elde edilen karışım 1 lt su ve 200 ml 0.05 M Tris- SO_4 (pH: 7,4) tamponu ile yıkanılır. Aynı tampon çözeltiden ilave edilerek buzdolabına (+4 °C) alınarak muhafaza edilir (senturk et al. 2011).

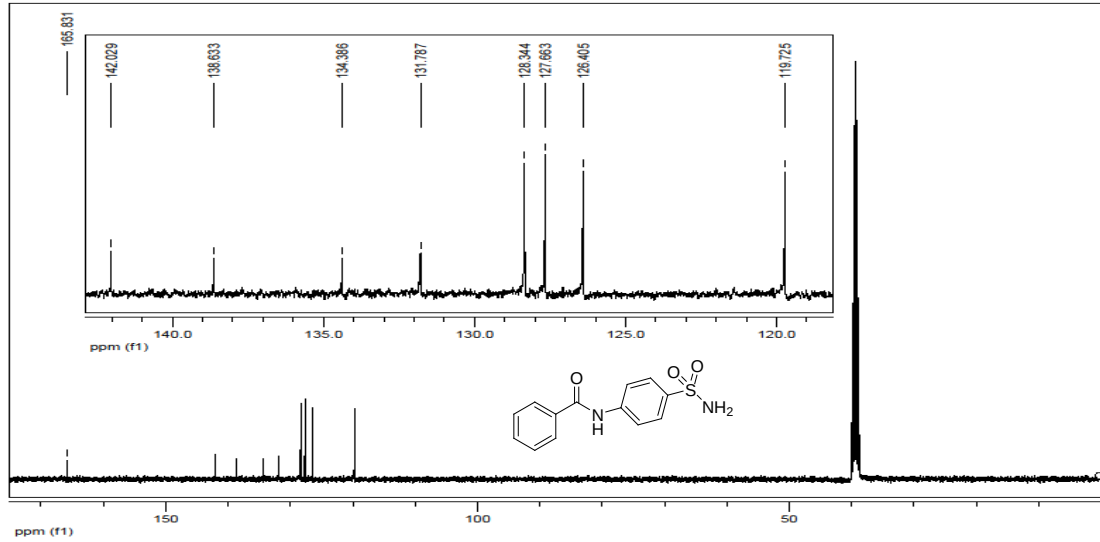
4. ARASTIRMA BULGULARI

4.1. Karboksisülfonamid Türevlerinin Spektrumları

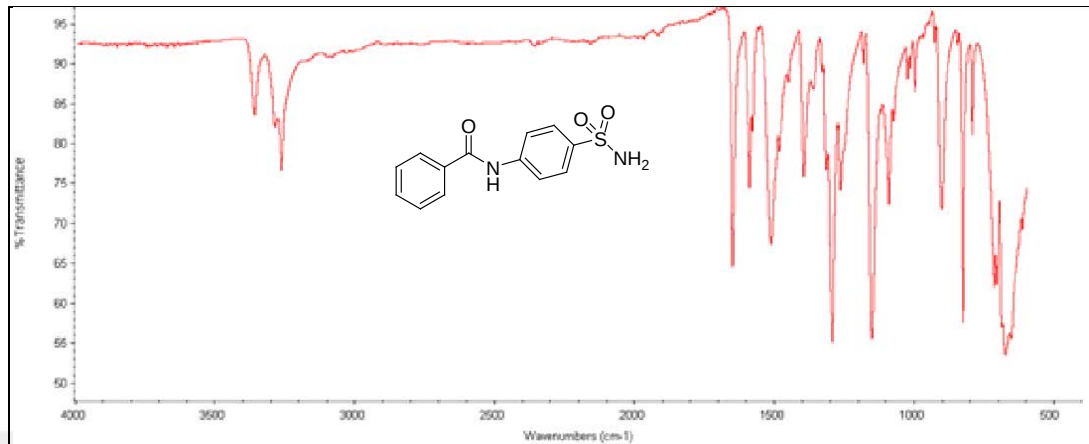
4.1.1. *N*-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamid (1)



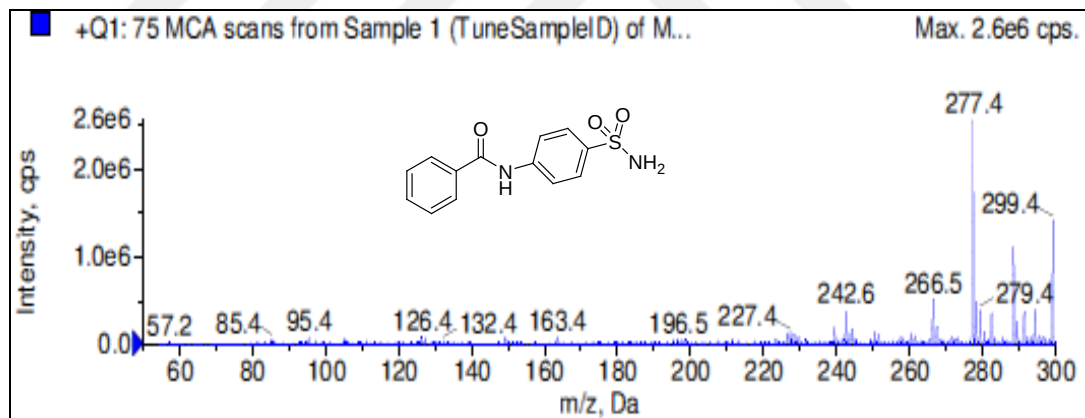
Şekil 4.1. 1'in ¹H-NMR spektrumu



Şekil 4.2. 1'in ¹³C-NMR spektrumu

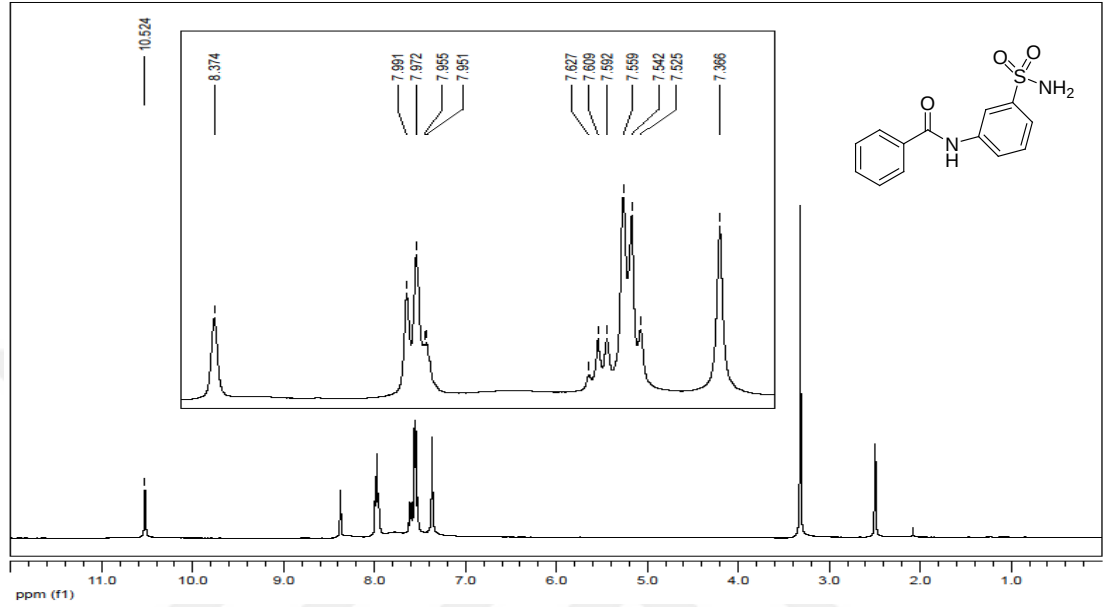


Şekil 4.3. 1'in FT-IR spektrumu

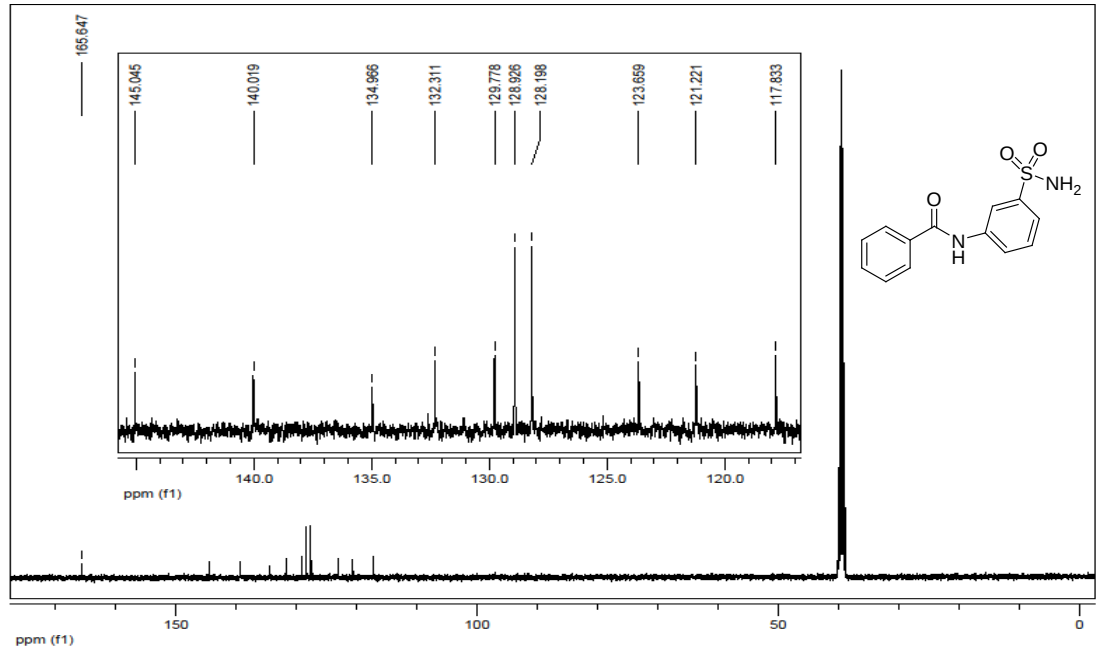


Şekil 4.4. 1'in LC-MS/MS spektrumu

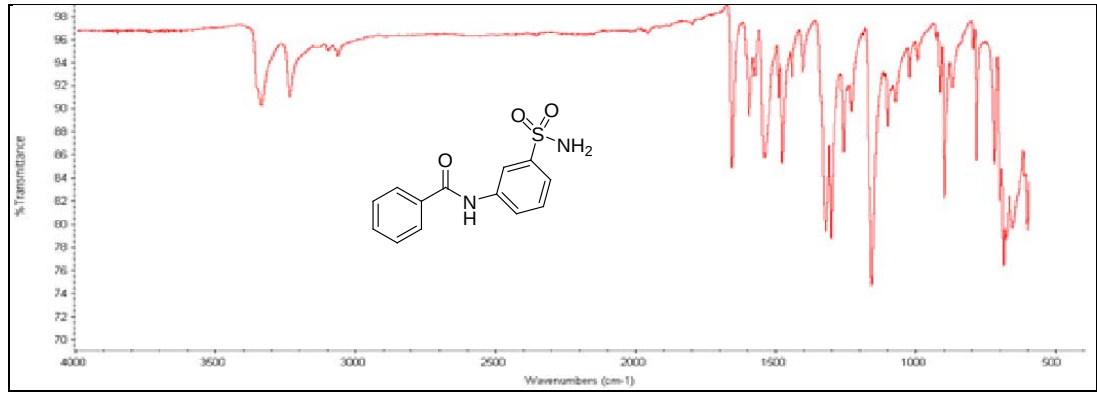
4.1.2. *N*-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (2):



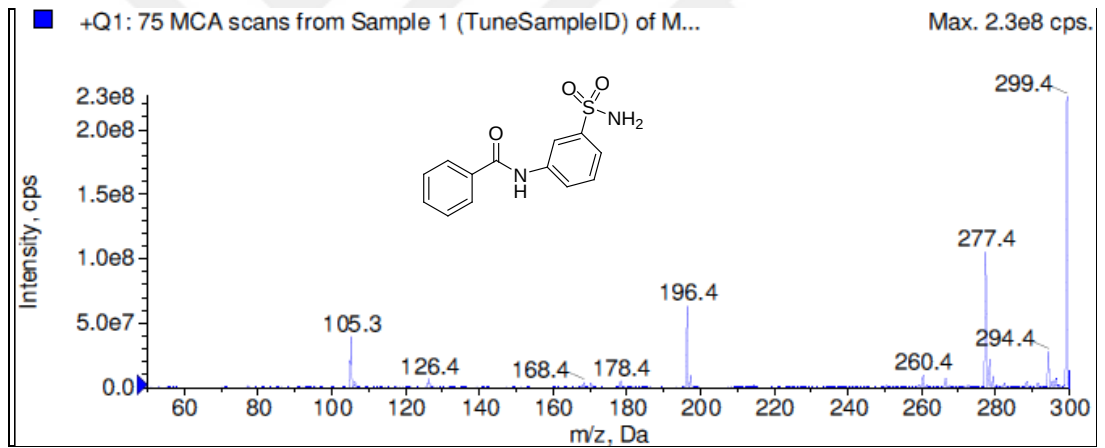
Şekil 4.5. 2'nin ¹H-NMR spektrumu



Şekil 4.6. 2'nin ¹³C-NMR spektrumu

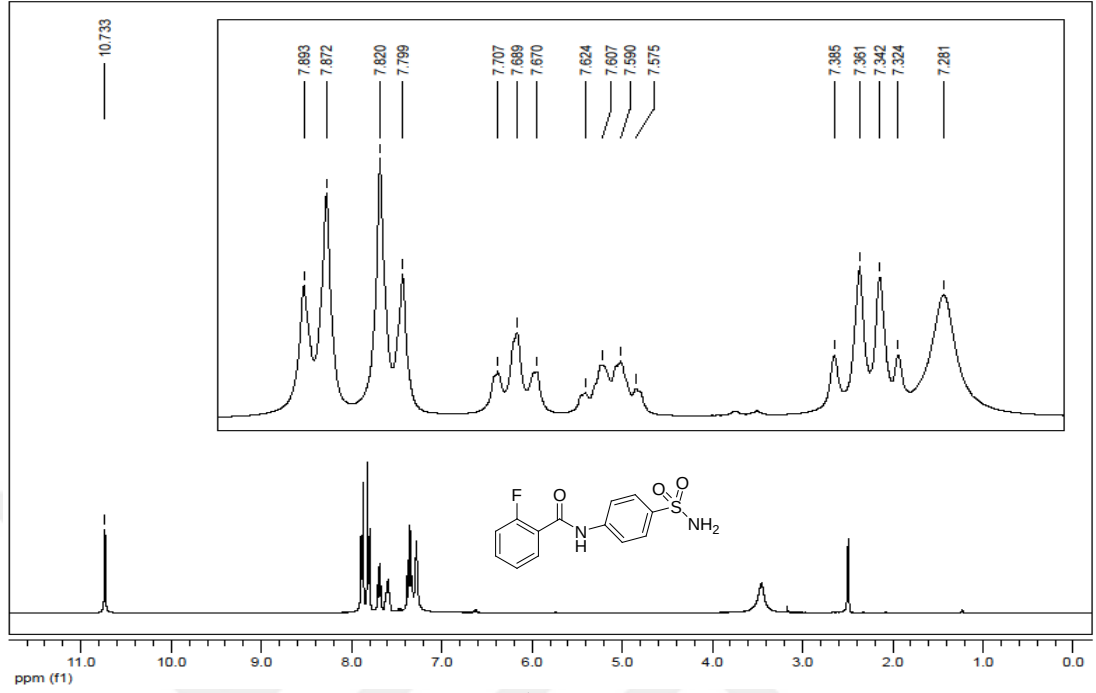


Şekil 4.7. 2'nin FT-IR spektrumu

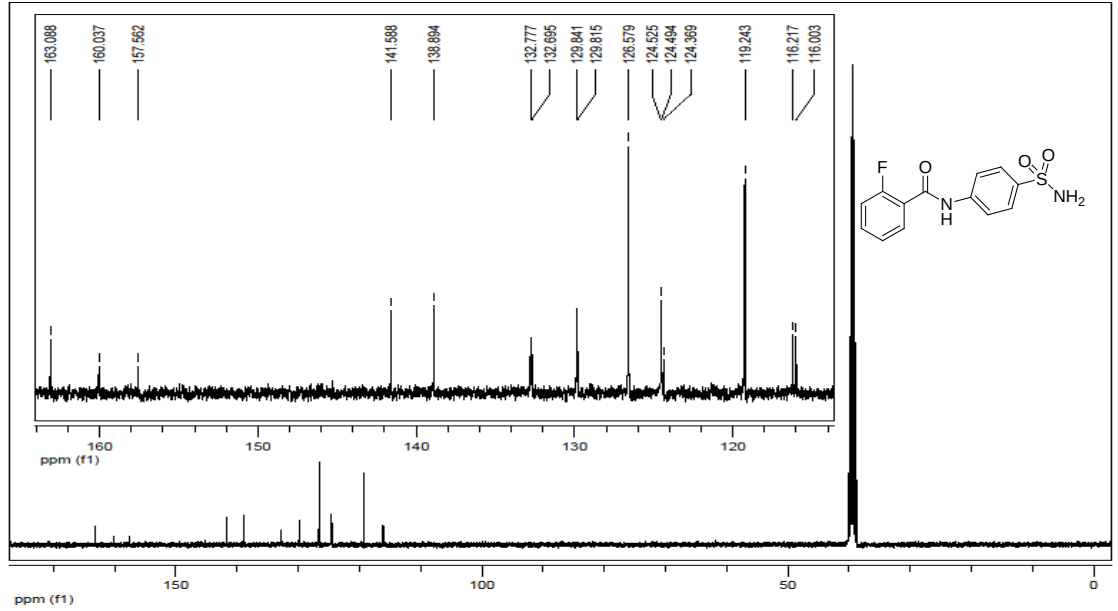


Şekil 4.8. 2'nin LC-MS/MS spektrumu

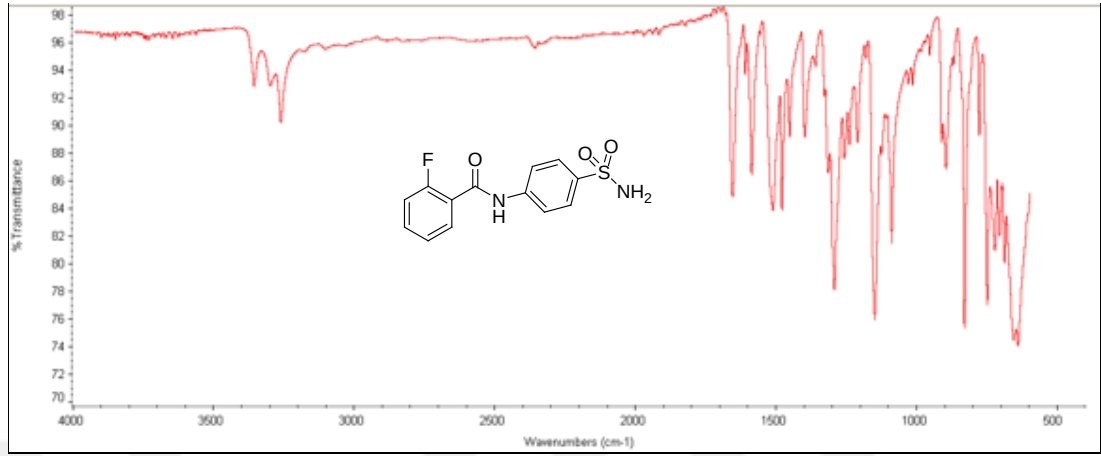
4.1.3. 2-Floro-N-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (3):



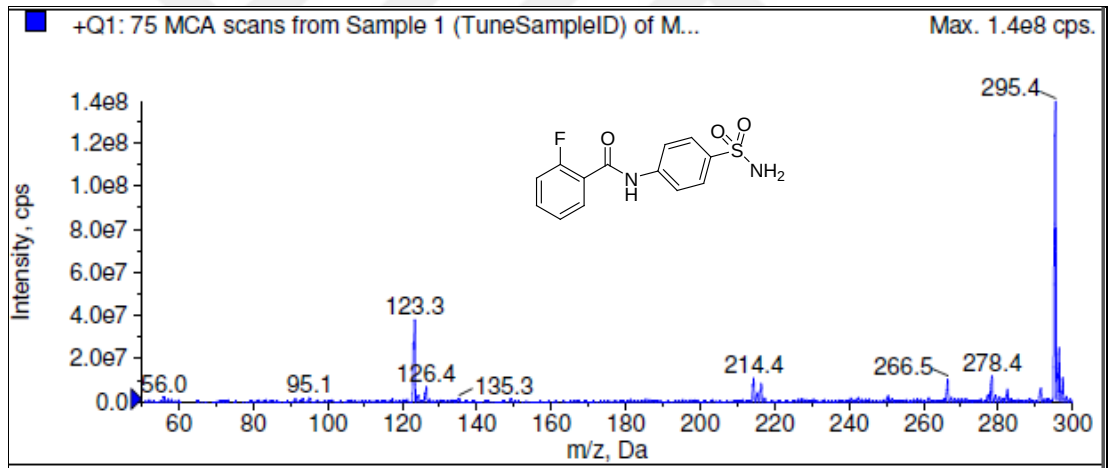
Şekil 4.9. 3'ün ¹H-NMR spektrumu



Şekil 4.10. 3'ün ¹³C-NMR spektrumu

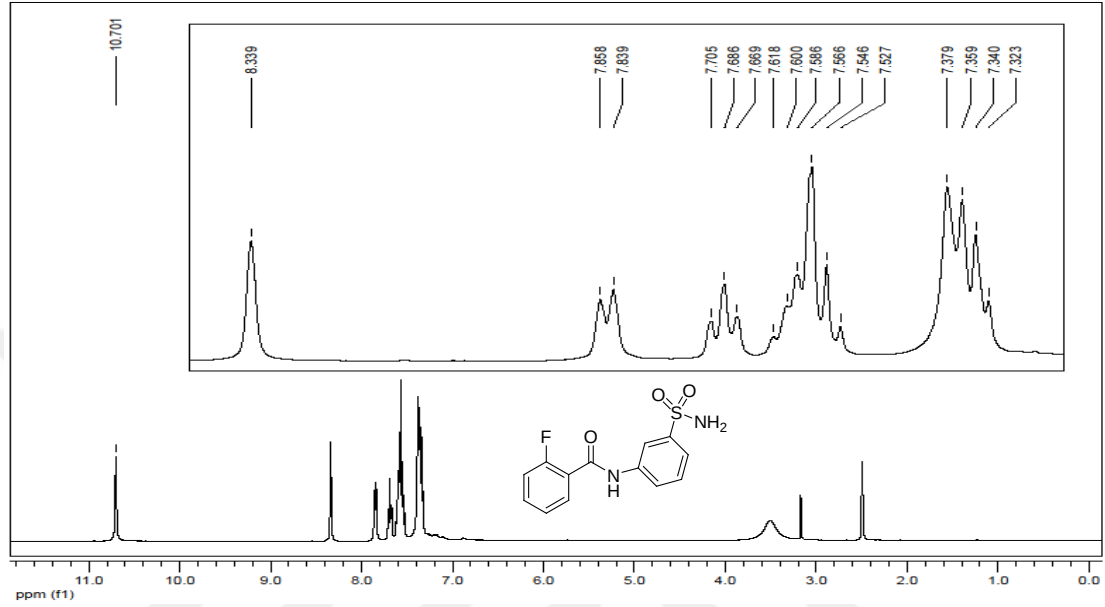


Şekil 4.11. 3'ün IR spektrumu

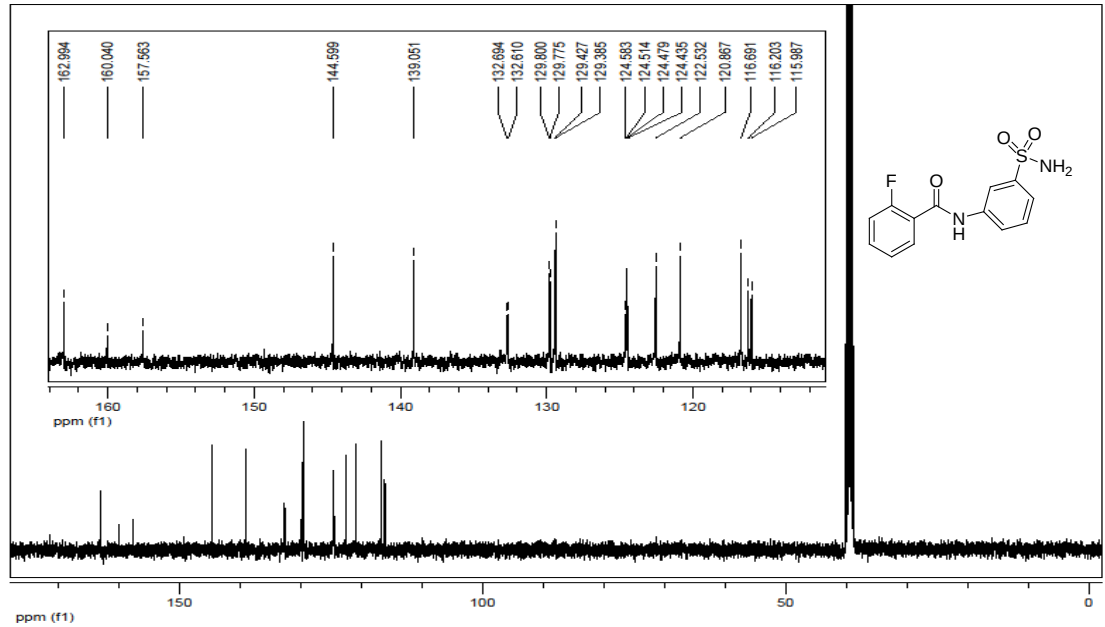


Şekil 4.12. 3' ün LC-MS/MS spektrumu

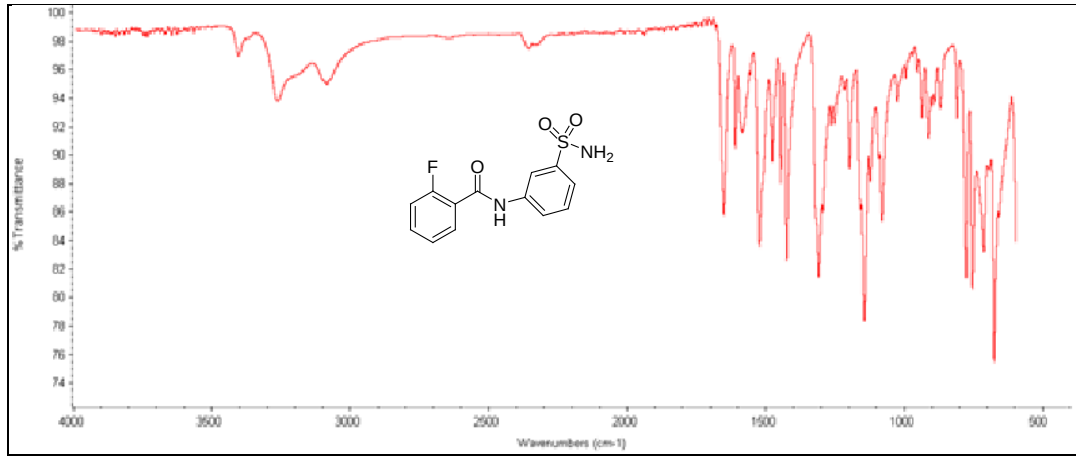
4.1.4. 2-Floro-*N*-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (4):



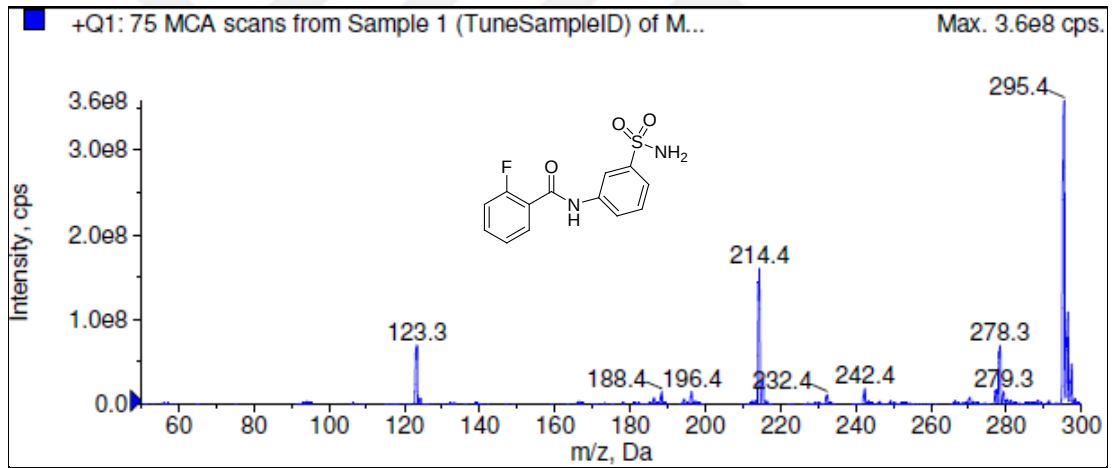
Şekil 4. 13. 4'ün ¹H-NMR spektrumu



Şekil 4.14. 4'ün ¹³C-NMR spektrumu

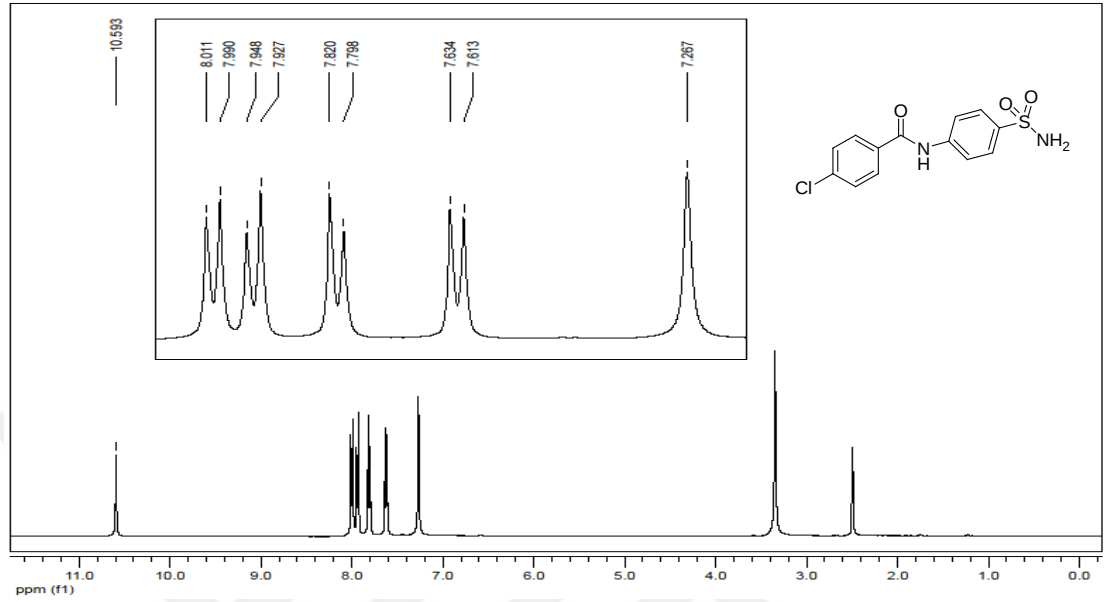


Şekil 4.15. 4'ün FT-IR spektrumu

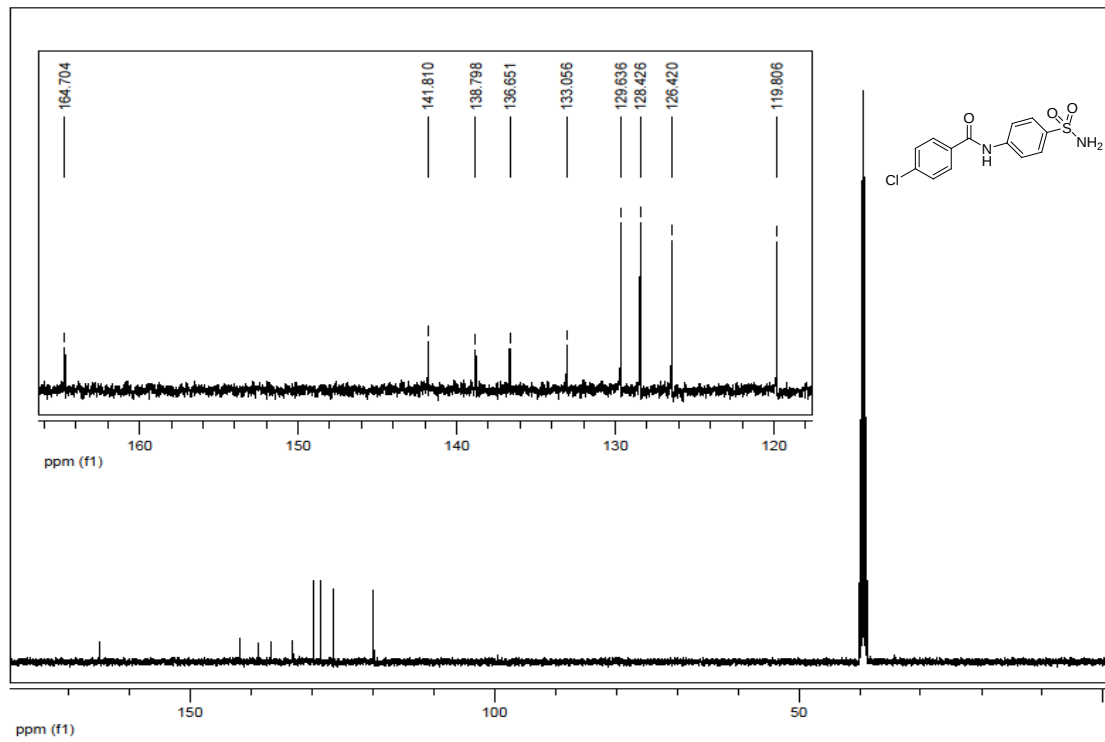


Şekil 4.16. 4'ün LC-MS/MS spektrumu

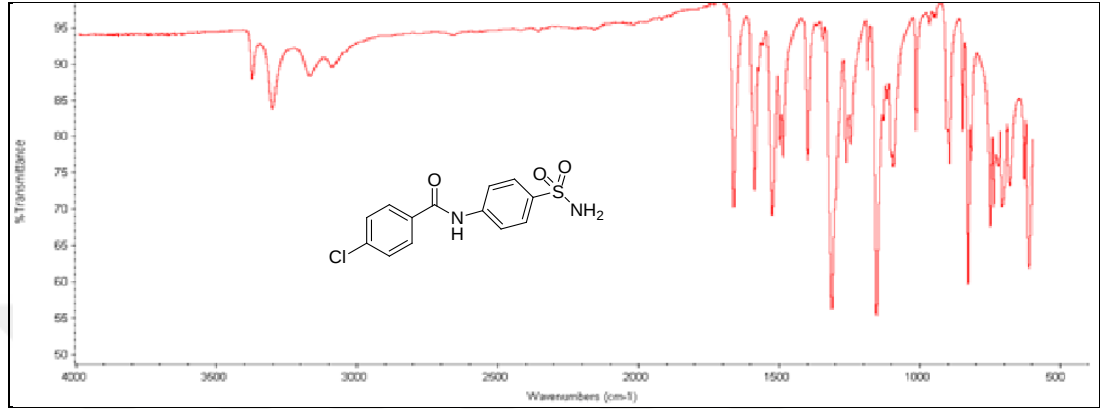
4.1.5. 4-Kloro-*N*-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (5):



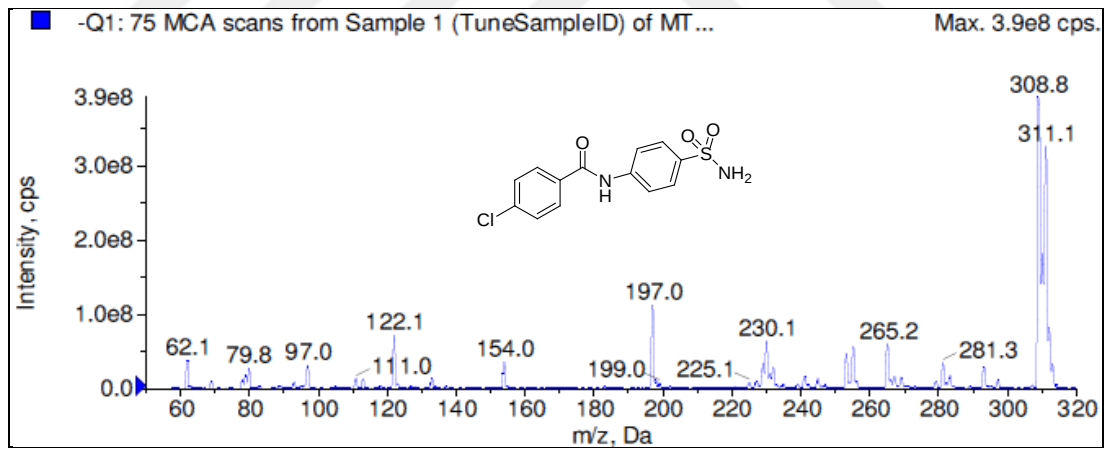
Şekil 4.17. 5'in ¹H-NMR spektrumu



Şekil 4.18. 5'in ¹³C-NMR spektrumu

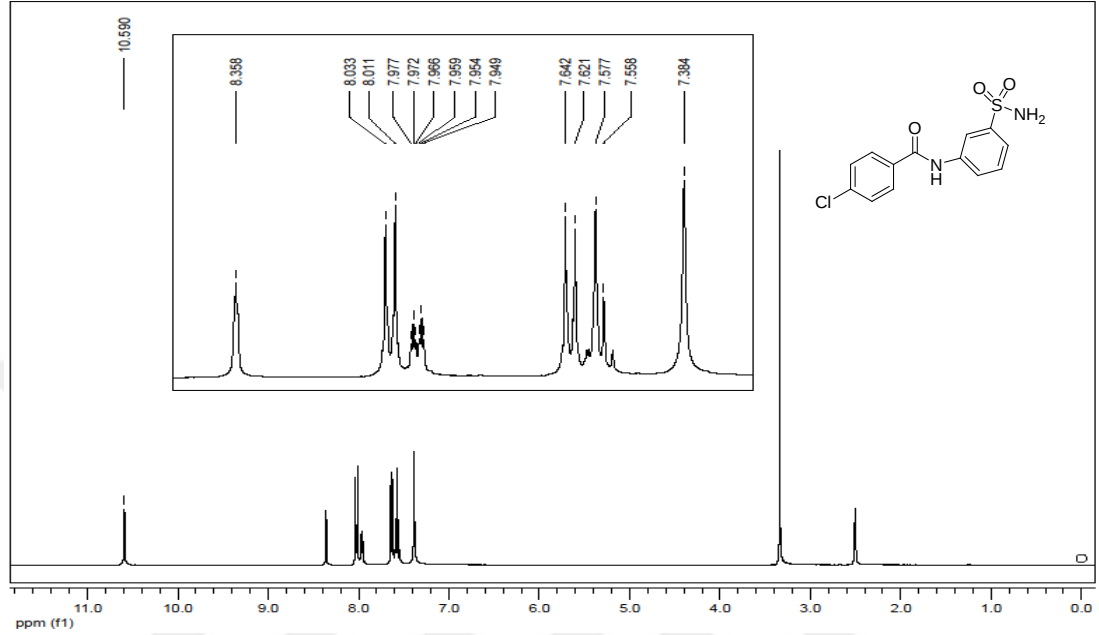


Şekil 4.19. 5'in FT-IR spektrumu

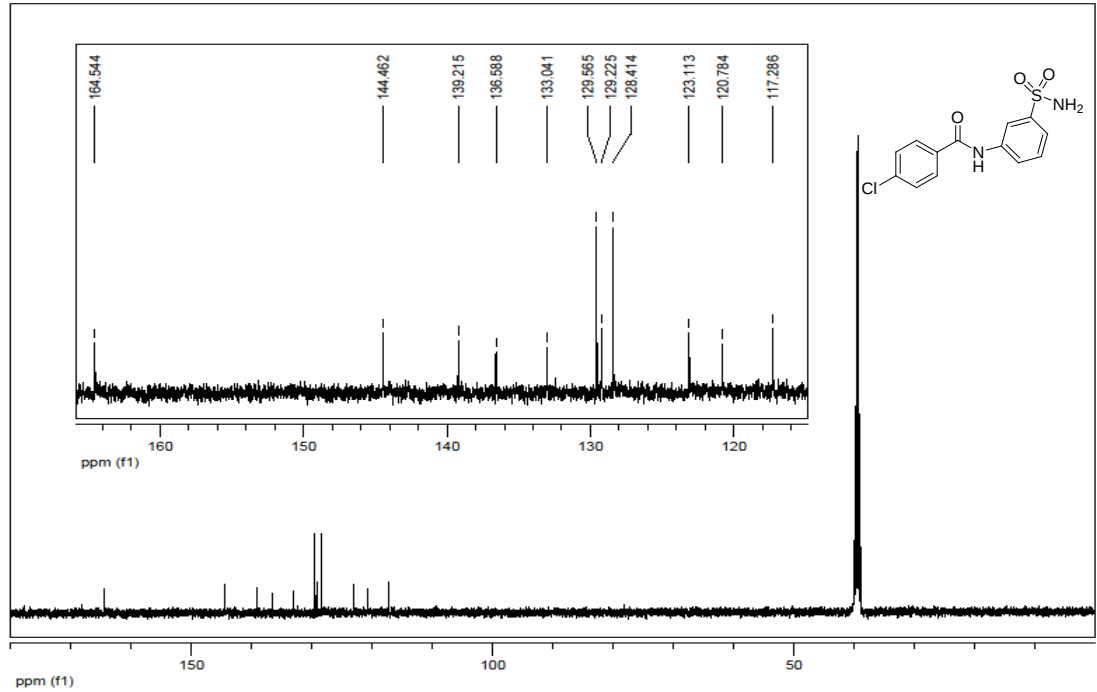


Şekil 4.20. 5'in LC-MS/MS spektrumu

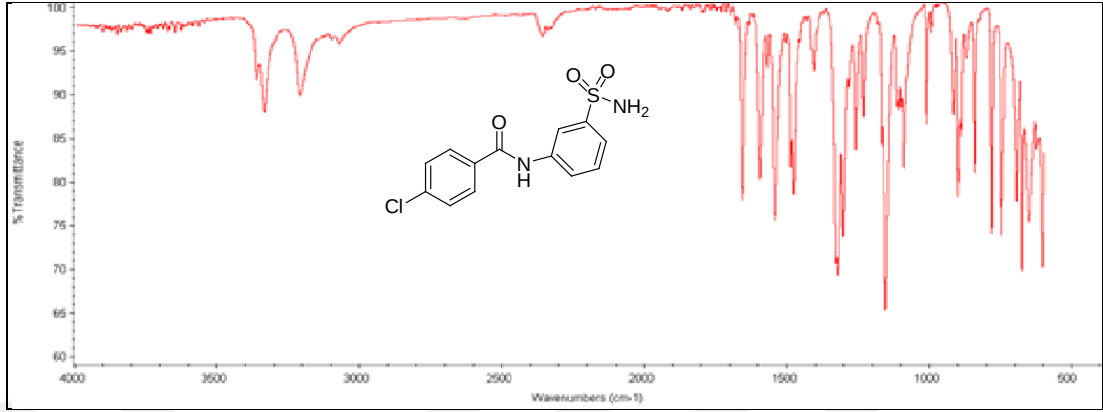
4.1.6. 4-Kloro-*N*-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (6):



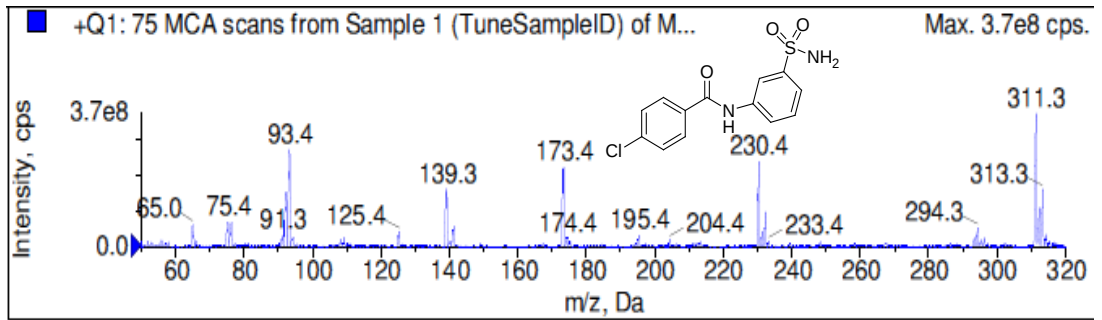
Şekil 4.21. 6'nın ¹H-NMR spektrumu



Şekil 4.22. 6'nın ¹³C-NMR spektrumu

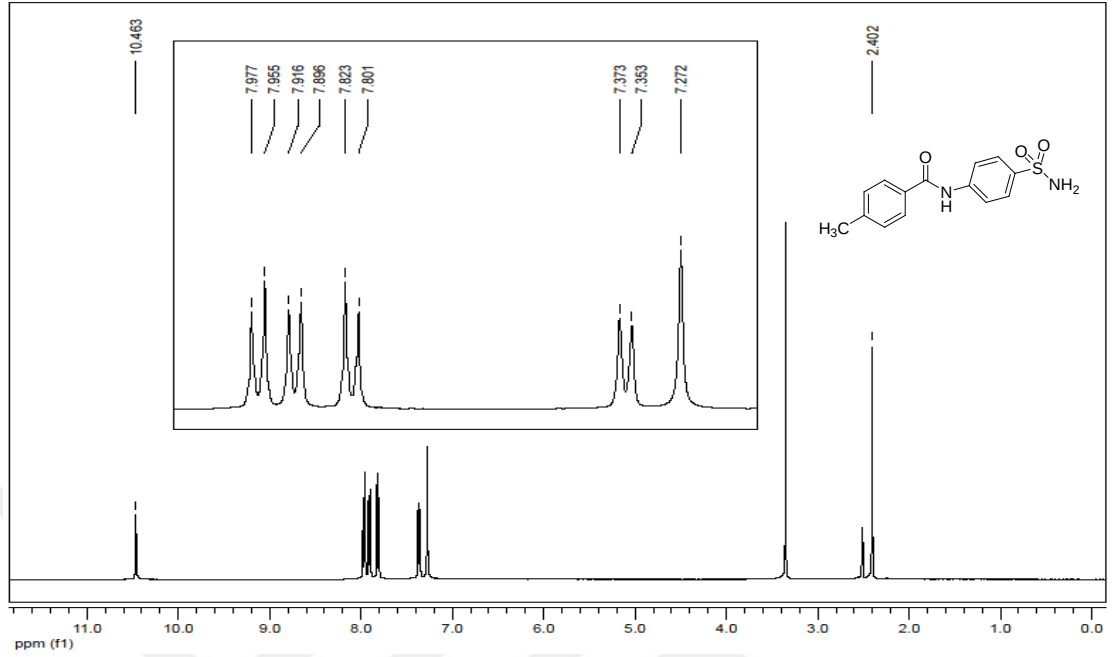


Şekil 4.23. 6'nın FT-IR spektrumu

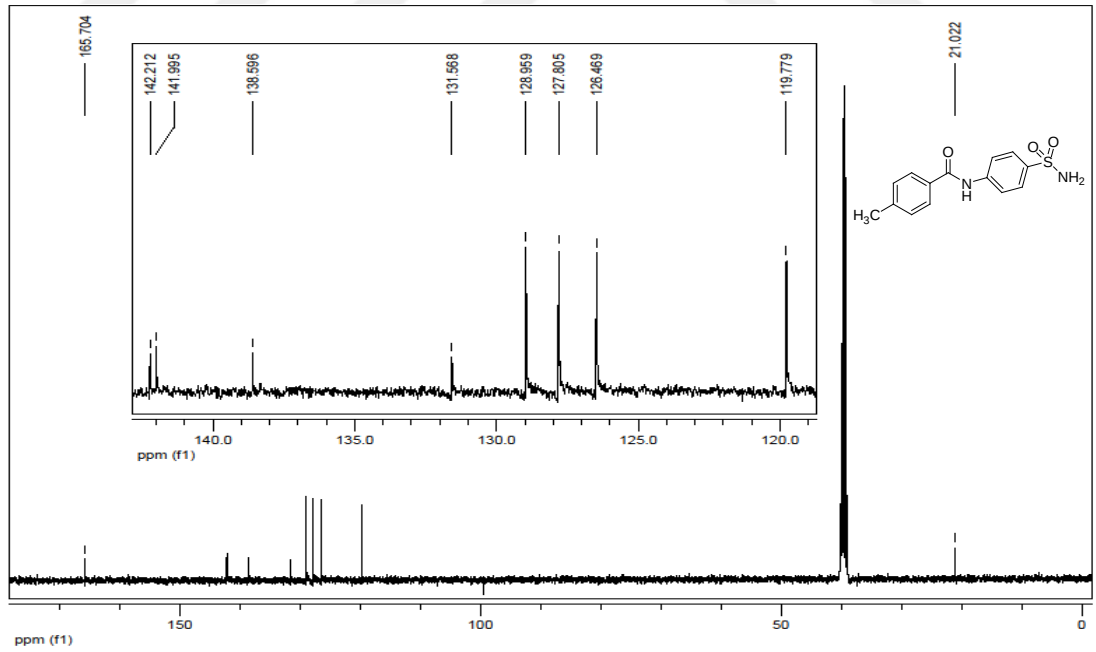


Şekil 4.24. 6'nın LC-MS/MS spektrumu

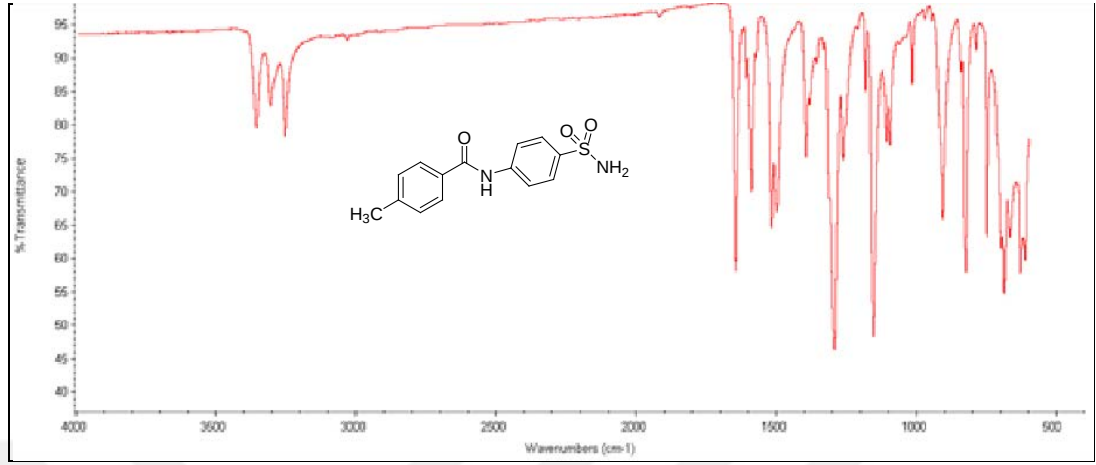
4.1.7. 4-Metil-N-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (7):



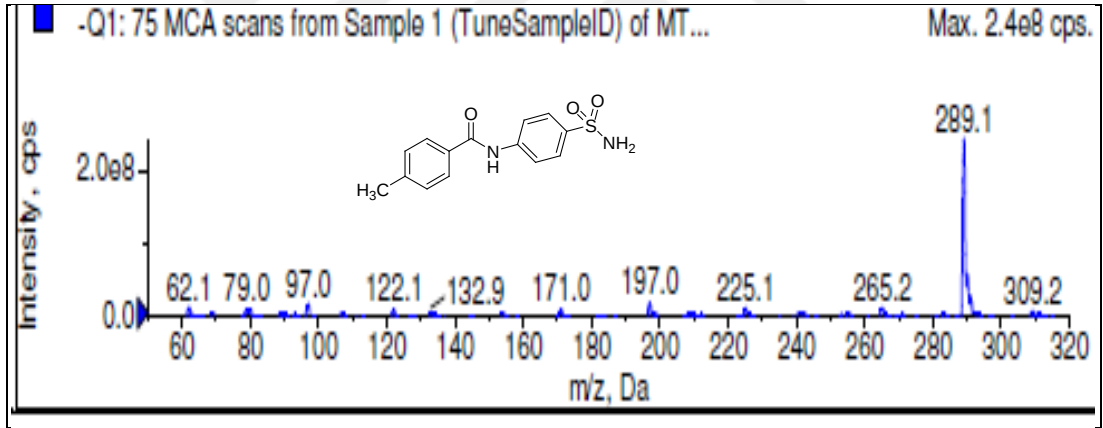
Şekil 4.25. 7'nin ¹H-NMR spektrumu



Şekil 4.26. 7'nin ¹³C-NMR spektrumu

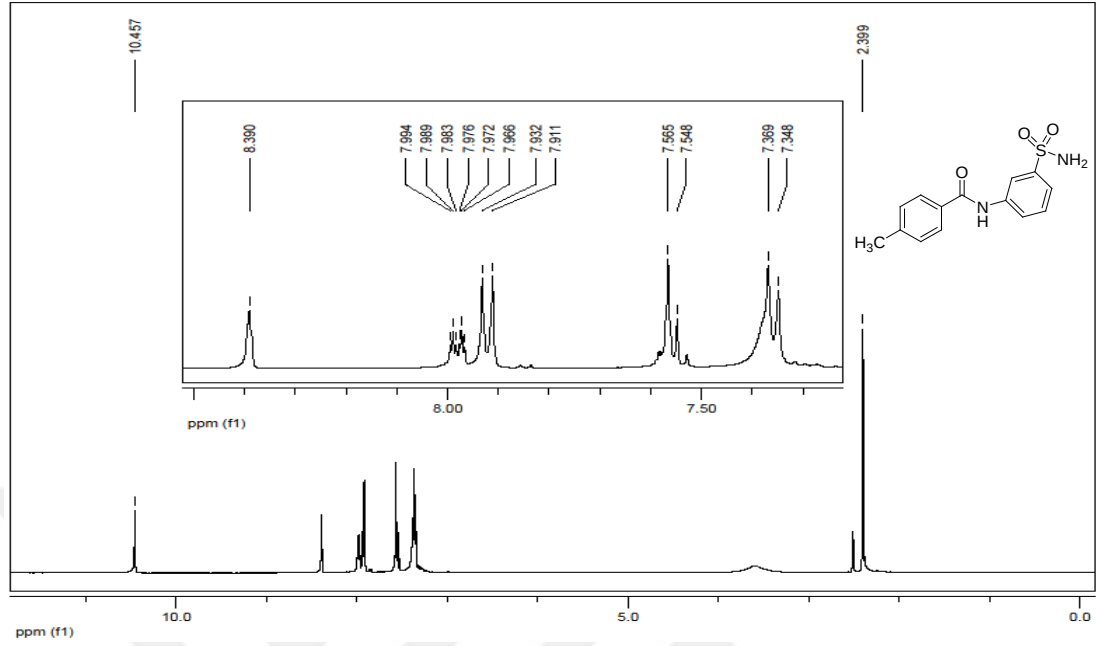


Şekil 4.27. 7'nin FT-IR spektrumu

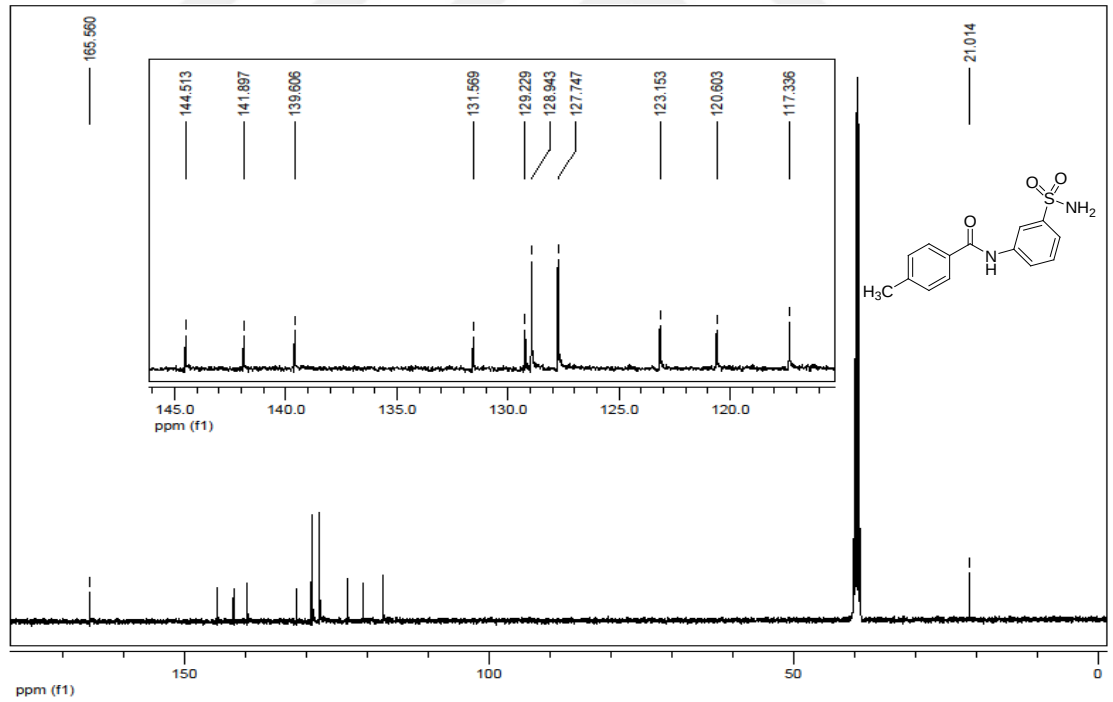


Şekil 4.28. 7'nin LC-MS/MS spektrumu

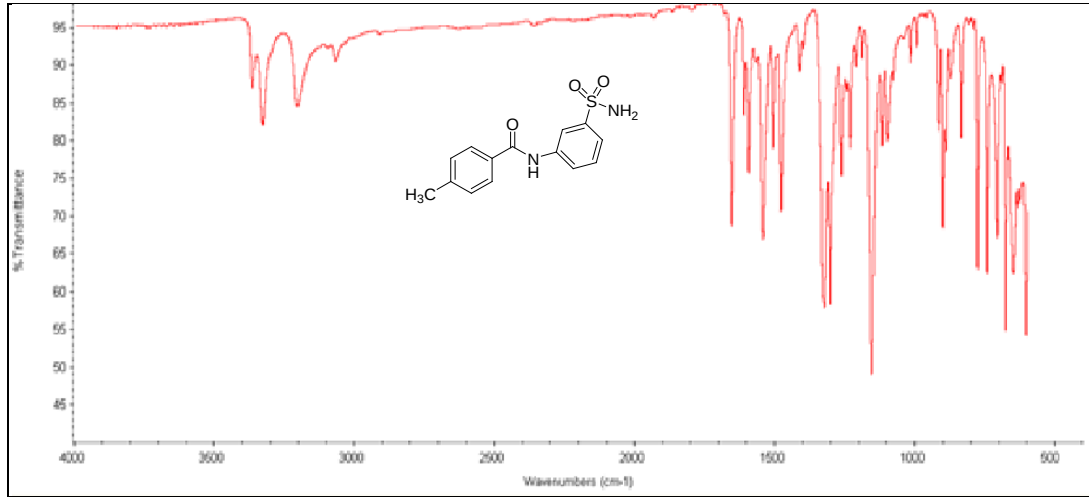
4.1.8. 4-Metil-N-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (8):



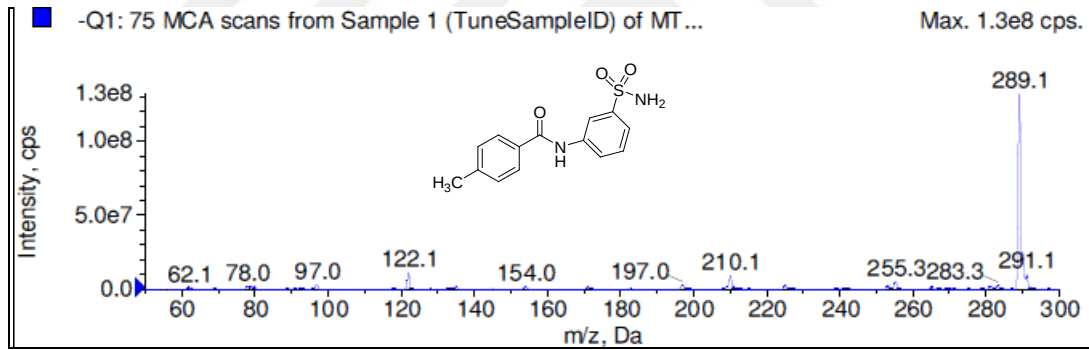
Şekil 4.29. 8' in ¹H-NMR spektrumu



Şekil 4.30. 8' in ¹³C-NMR spektrumu

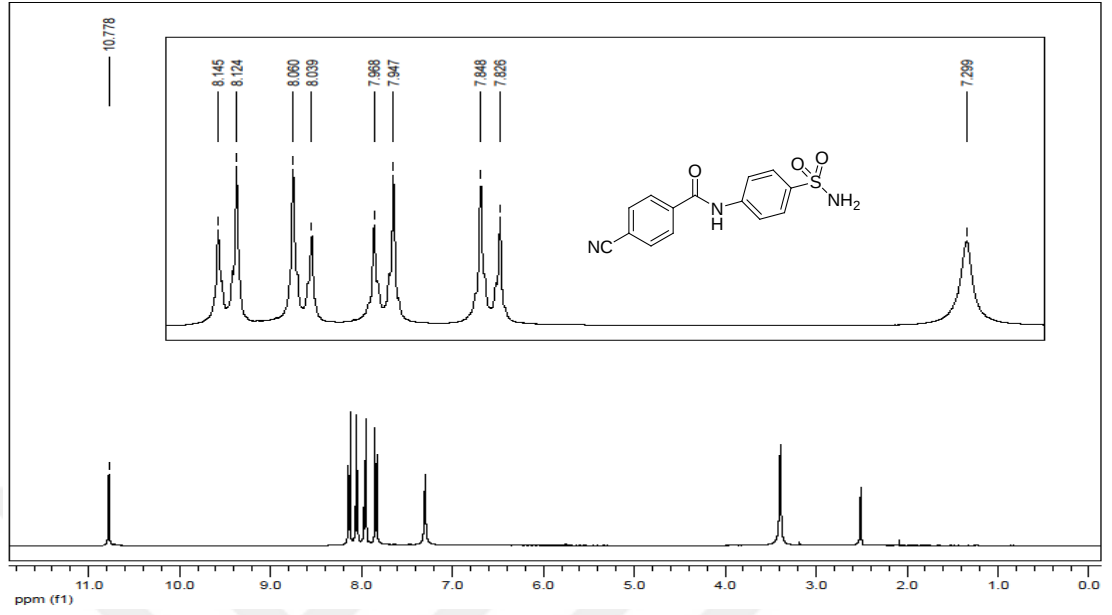


Şekil 4.31. 8' in FT-IR spektrumu

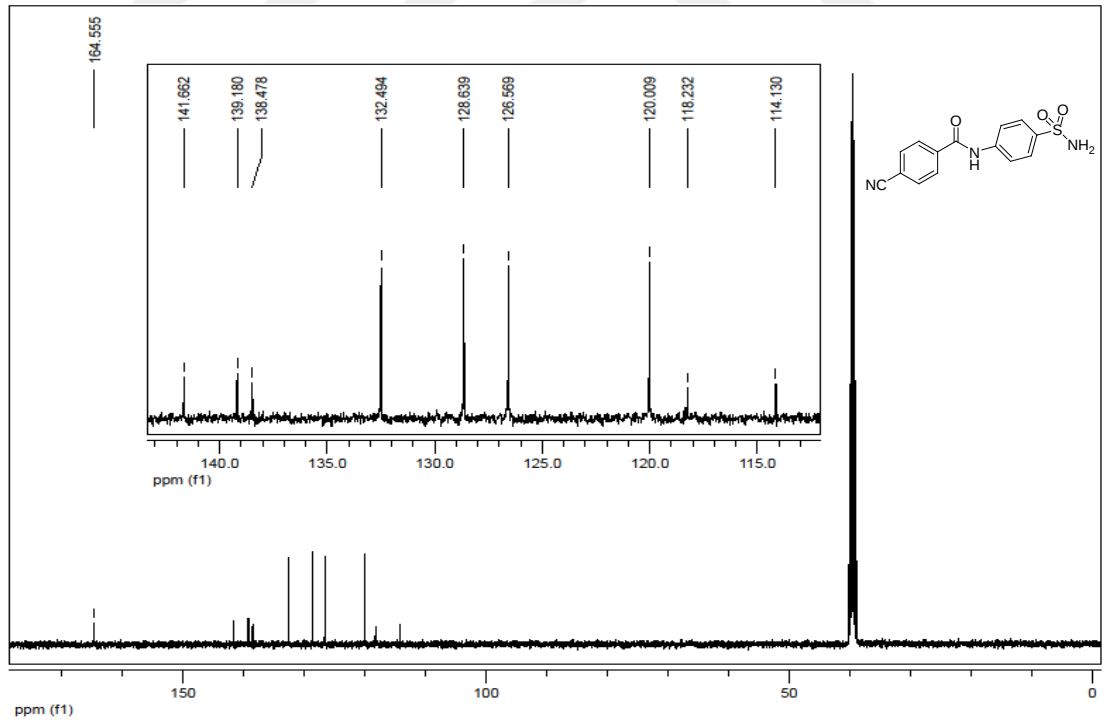


Şekil 4.32. 8' in LC-MS/MS spektrumu

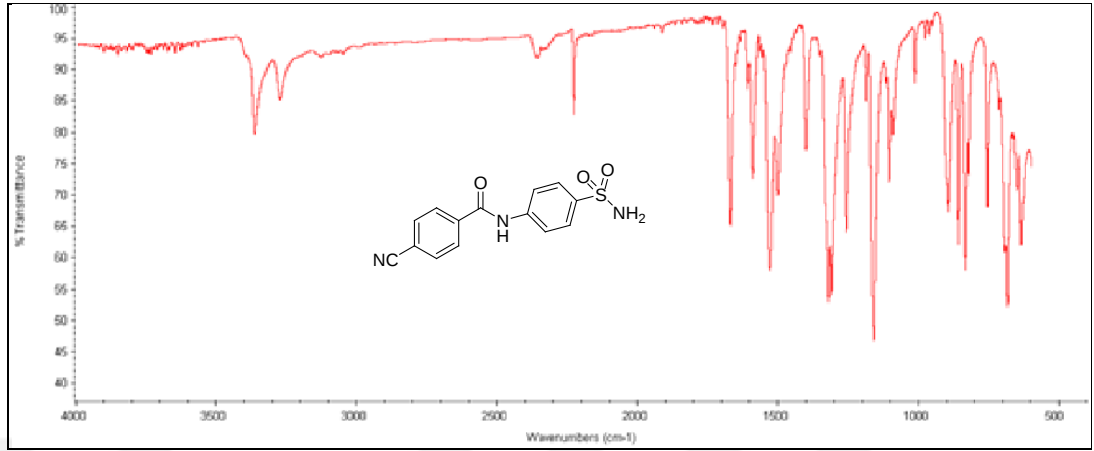
4.1.9. 4-Siyano-*N*-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (9):



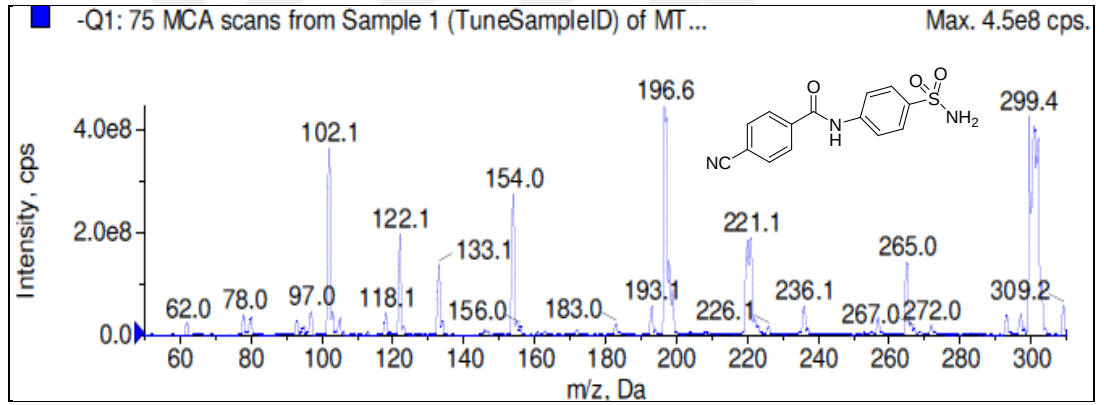
Şekil 4.33. 9'un ¹H-NMR spektrumu



Şekil 4.34. 9'un ¹³C-NMR spektrumu

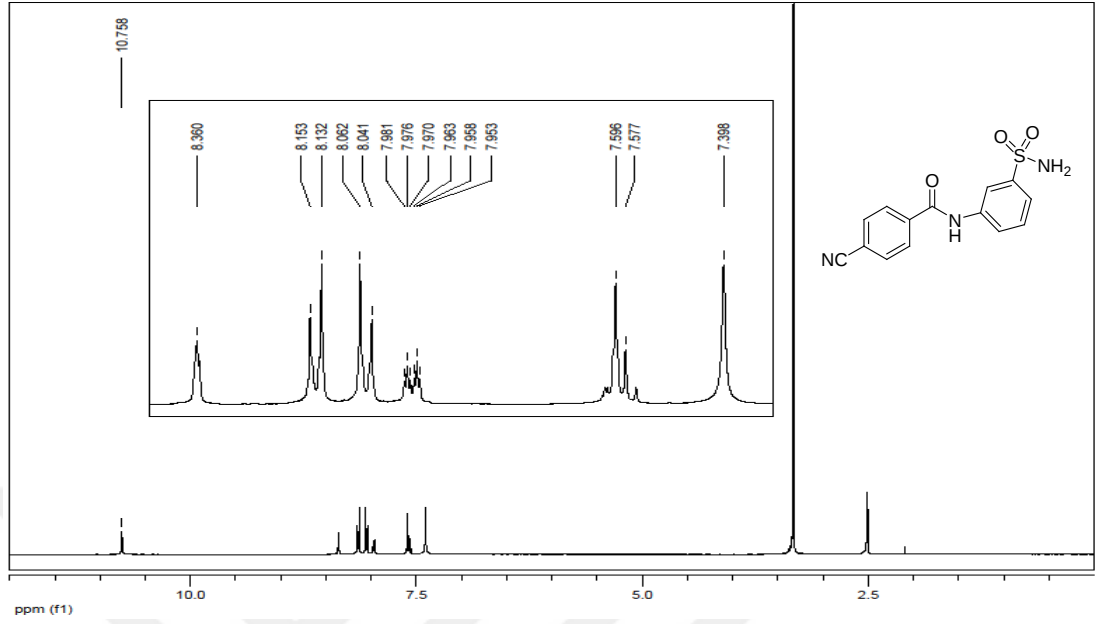


Şekil 4.35. 9'un FT-IR spektrumu

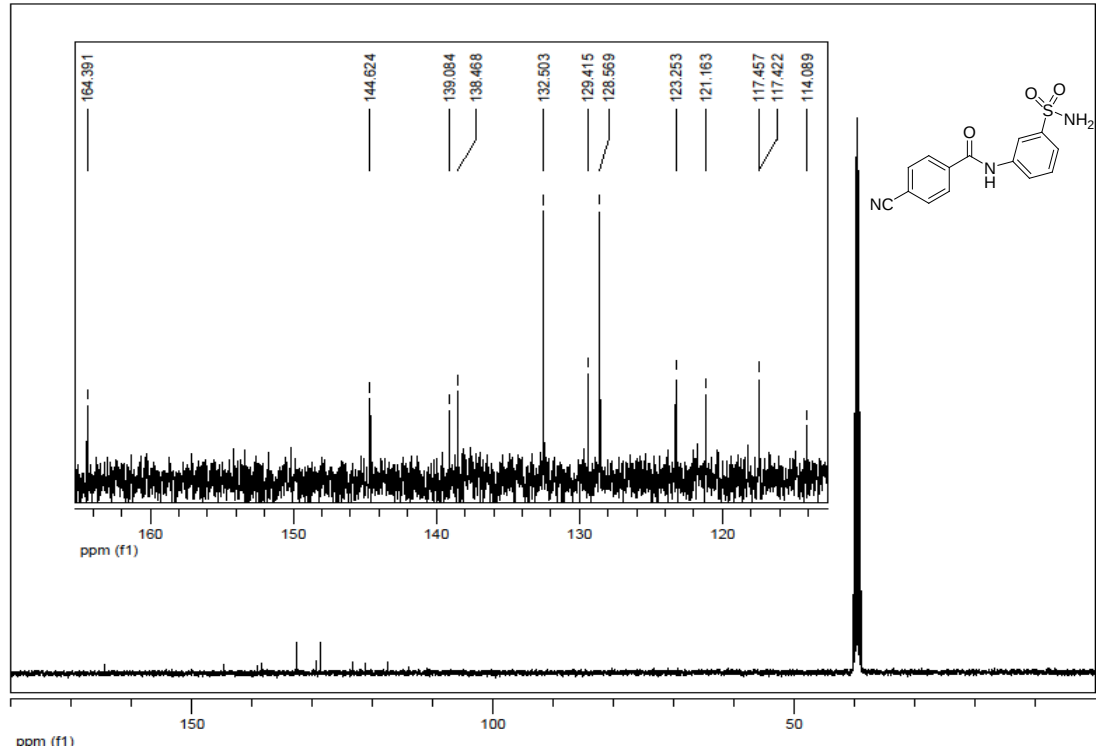


Şekil 4.36. 9'un LC-MS/MS spektrumu

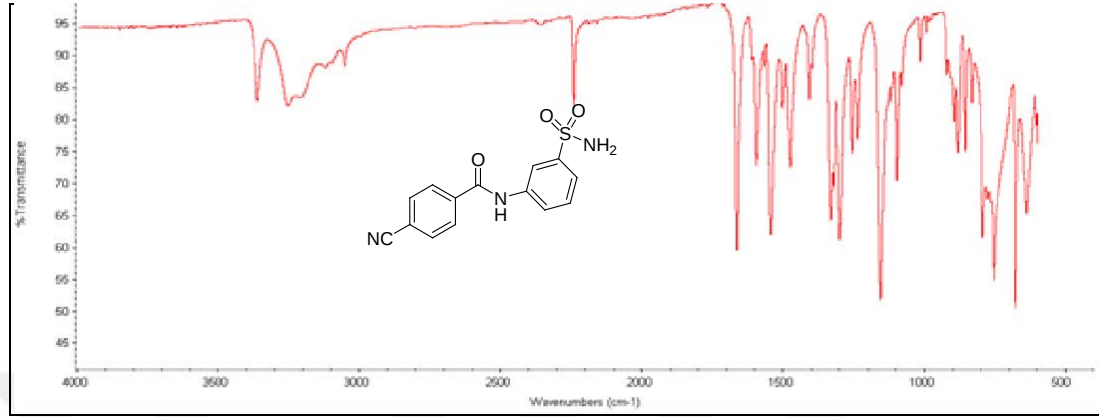
4.1.10. 4-Siyano-*N*-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid sülfonamit (10):



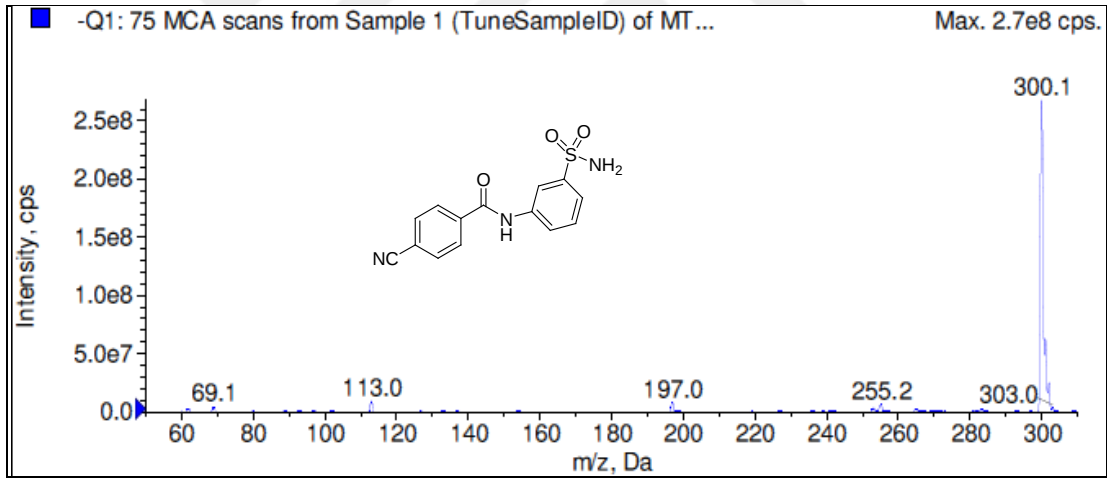
Şekil 4.37. 10'un ¹H-NMR spektrumu



Şekil 4.38. 10'un ¹³C-NMR spektrumu



Şekil 4.39. 10'un FT-IR spektrumu

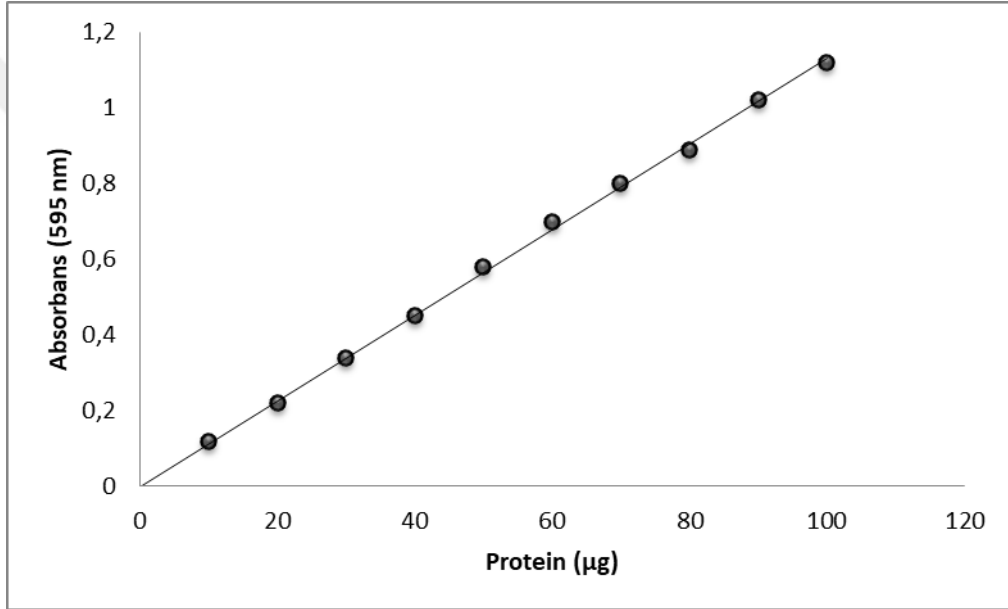


Şekil 4.40. 10'un LC-MS/MS spektrumu

4.2. Kantitatif Protein Analizi için Standart Grafik

Tez çalışmamızın bu kısmında sentezlemiş olduğumuz 10 farklı sülfonamid türevlerinin CA I ve II izoenzimleri üzerine inhibisyon etkisi incelenmiştir. Sülfonamid türevlerinin inhibisyon etkileri IC_{50} değerleri olarak aktarılacaktır.

Bradford yöntemi ile protein tayini yapılarak hazırlanan enzim çözeltilerinde protein tayini yapıldı. Hazırlanan çözeltilerde incelenen enzimlerin değerleri tespit edilerek grafiğe aktarıldı. Standart grafiği (Şekil 4.41.)’ de verilmiş olup bu grafik nazarında proteinlerin miktarları hesaplanmıştır (Bradford 1976).



Şekil 4.41. Bradford metodunda kullanılan standart grafiği

4.2.1. CA Enzimlerinin Saflaştırması

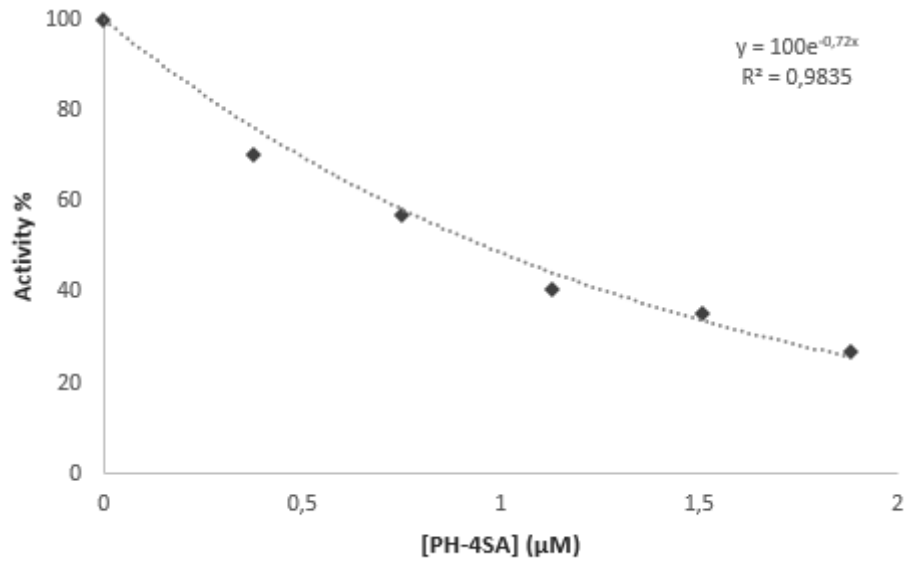
İnsan kanından elde edilen CA-I ve CA-II izoenzimlerinin sefaroze 4b-l-tirozin-sülfanilamid afinite kolonu ile saflaştırılması sonucunda elde edilen sonuçlar Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1. İnsan eritrosit CA-I ve CA-II izoenzimlerinin Sepharose 4B-tirozin-sülfanilamid afinite kolon materyali ile saflaştırılma basamakları

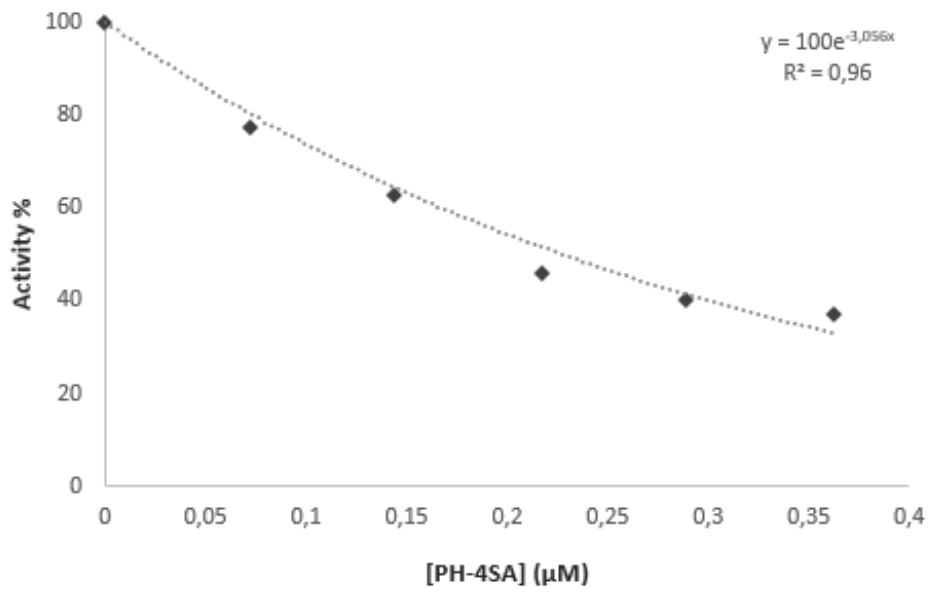
Numune	Aktivite (EÜ/ml)	hacim (ml)	Protein (mg/ml)	protein (mg)	aktivite	Spesifik aktivite (EÜ/mg)	Verim(%)	Saflaştırma (katsayı)
Hemoliz	135	30	18,3	549	4050	7,38	100,0	1,0
hCA-I (Afiniteden sonra)	386	5	0,51	2,55	1930	756.86	47,65	102,55
hCA-II (Afiniteden sonra)	642	4	0,19	0,76	2568	3378,95	63,40	457,85

4.3. İnhibitör IC₅₀ Değerinin Tayin Edilmesinde Yapılan Çalışmanın Sonuçları

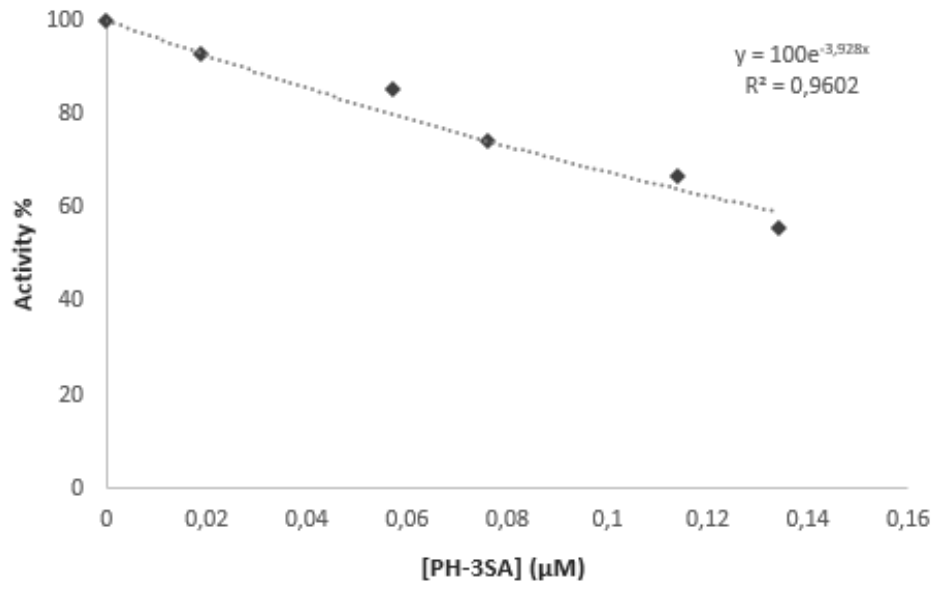
Sentezlenen türev moleküllerin CA-I ve II enzimleri üzerine inhibisyon etkilerini belirlemek için kinetik çalışmalar yapıldı. **1-10** sülfonamit türevlerinin tamamı için ayrı ayrı stok çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan çözeltilerden azalan konsantrasyonlarda ayrıca çözeltiler hazırlandı, insan eritrositinden elde edilen CA enzimlerinin aktivitesi inhibitörler varlığında incelendi. İnhibitör konsantrasyonuna karşı aktivite grafikleri aşağıda listelenmiştir. Eğri denklemlerinden IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.



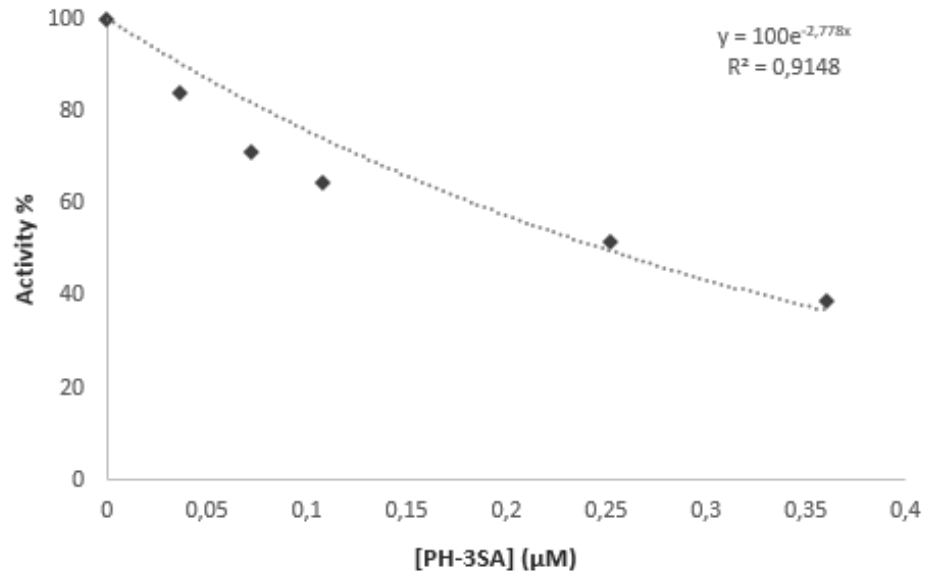
Şekil 4.42. *N*-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid (1) Konsantrasyona karşı hCA-I % aktivitesi



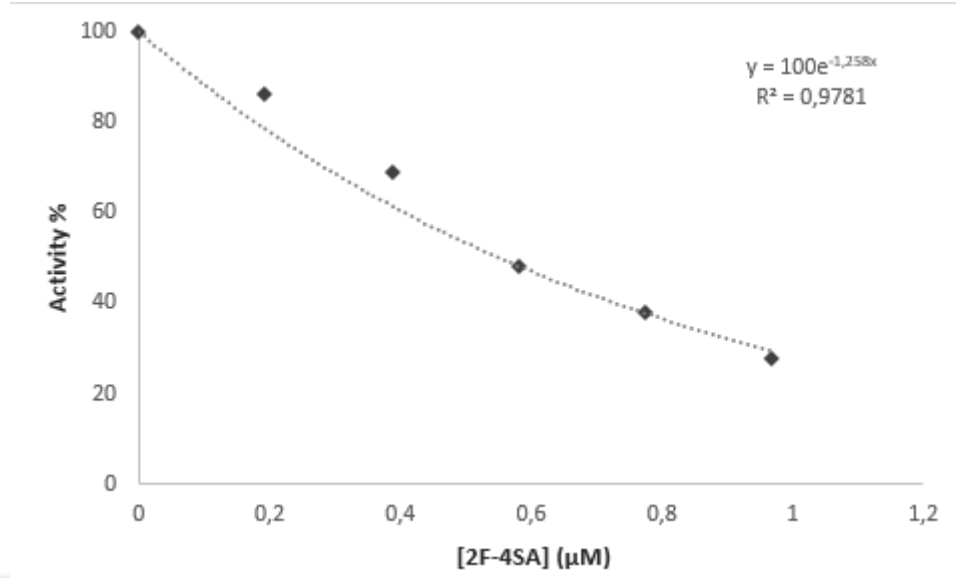
Şekil 4.43. *N*-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid (1) Konsantrasyona karşı hCA-II % aktivitesi



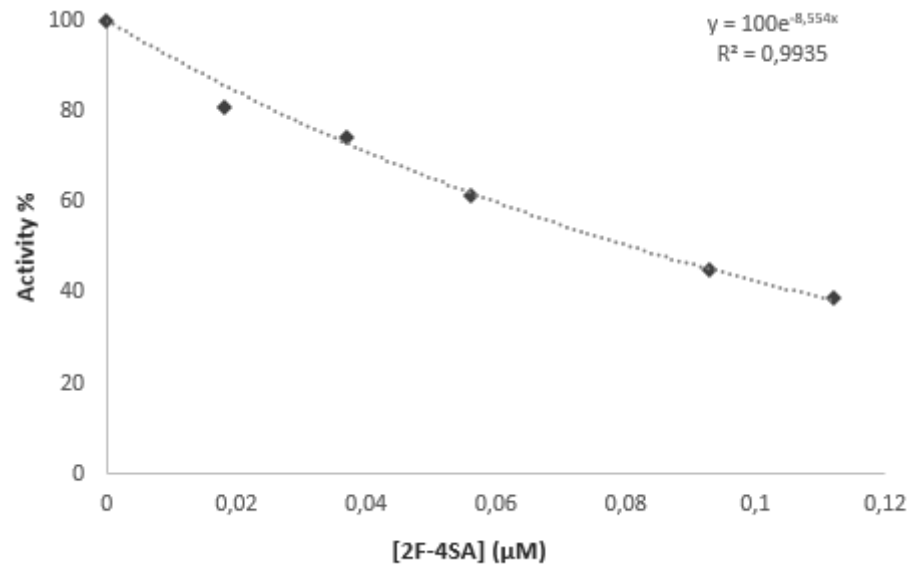
Şekil 4.44. 1N-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid (2) Konsantrasyona karşı hCA-I % aktivitesi



Şekil 4.45. N-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid (2) Konsantrasyona karşı hCA-II % aktivitesi

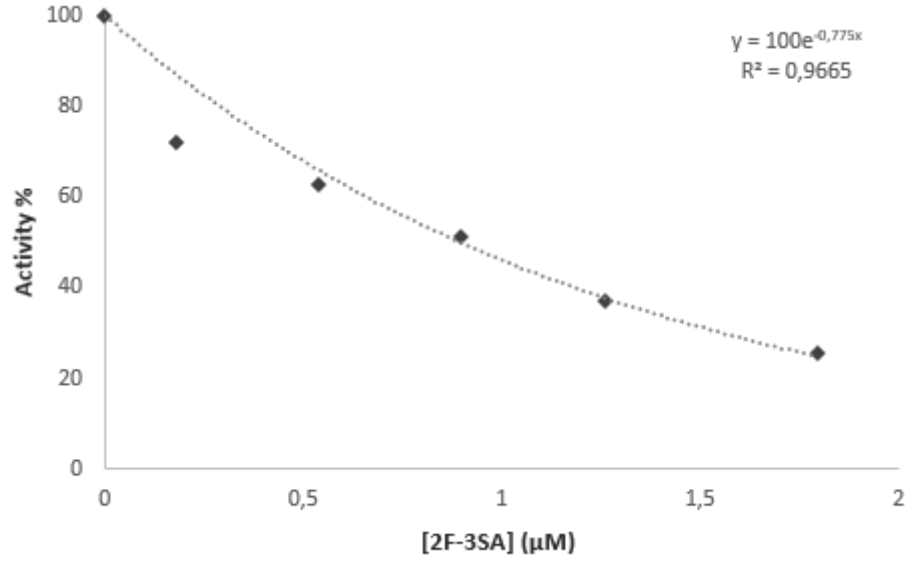


Şekil 4.46. 2-floro-*N*-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid (3) Konsantrasyona karşı hCA-I % aktivitesi

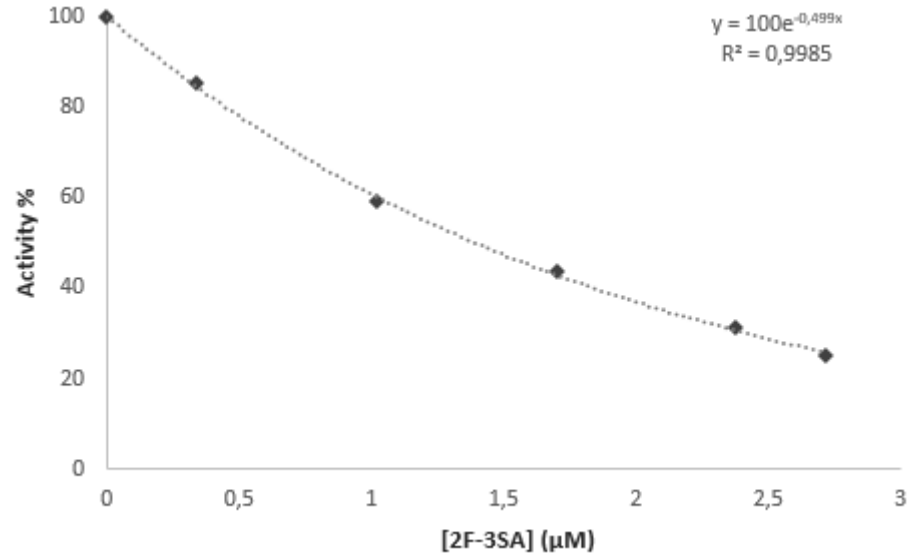


Şekil 4.47. 2-Floro-*N*-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid (3) Konsantrasyona karşı hCA-II % aktivitesi

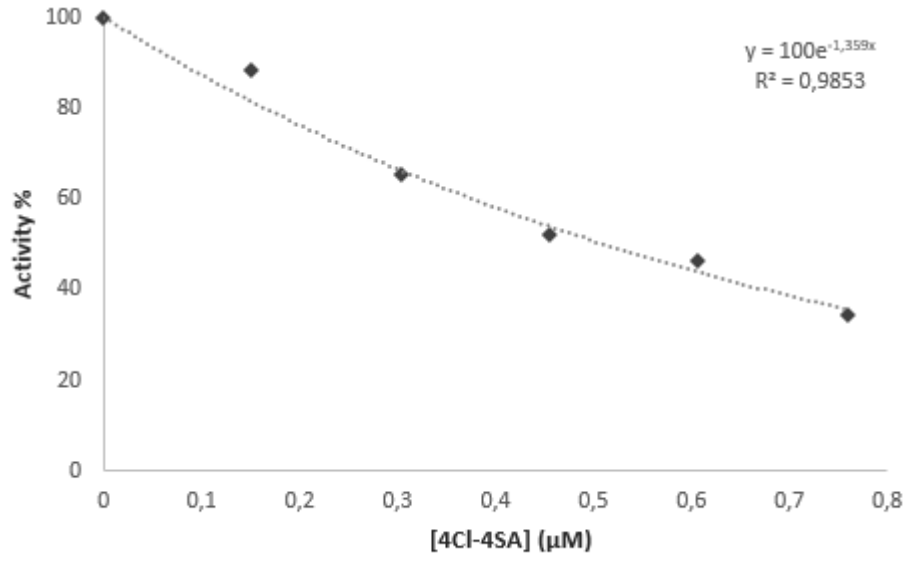
4 No' lu Bileşik İçin Aktivite Grafiği



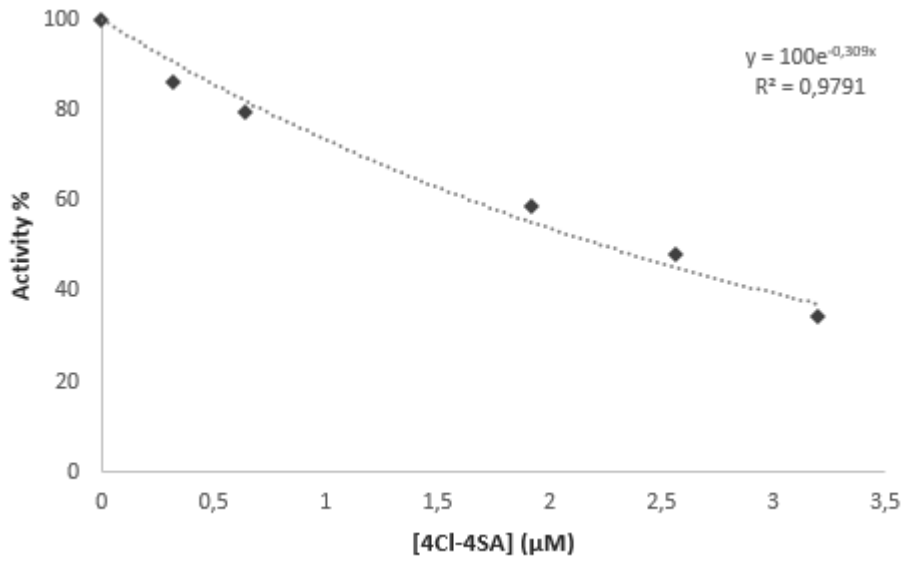
Şekil 4.48. 2-Floro-*N*-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid (4) Konsantrasyona karşı hCA-I % aktivitesi



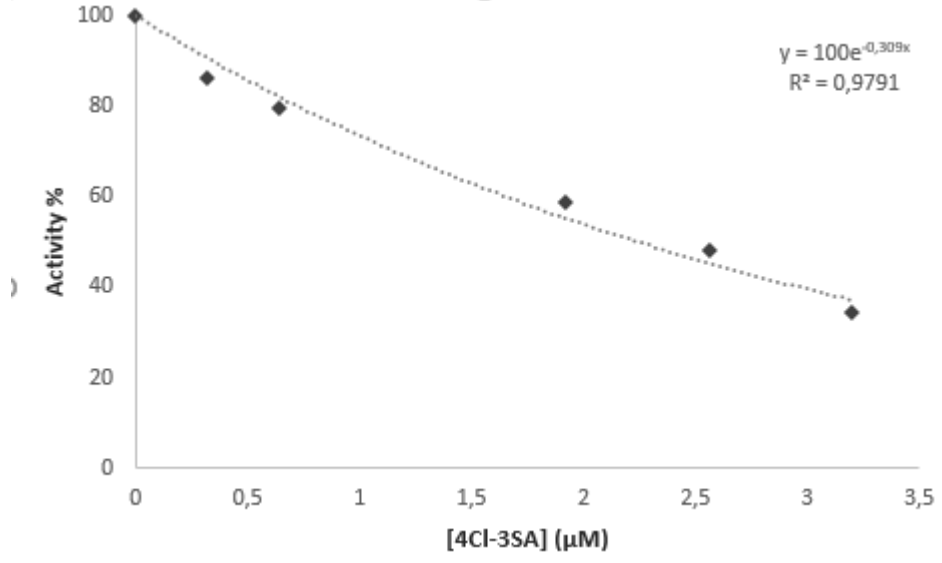
Şekil 4.49. 2-Floro-*N*-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid (4) Konsantrasyona karşı hCA-II % aktivitesi



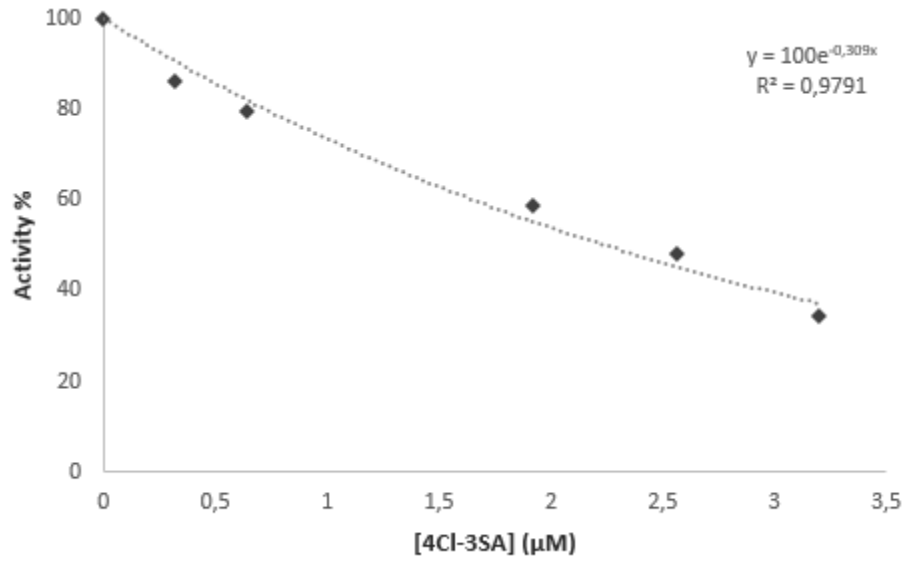
Şekil 4.50. 4-Kloro-*N*-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid (5) Konsantrasyona karşı hCA-I % aktivitesi



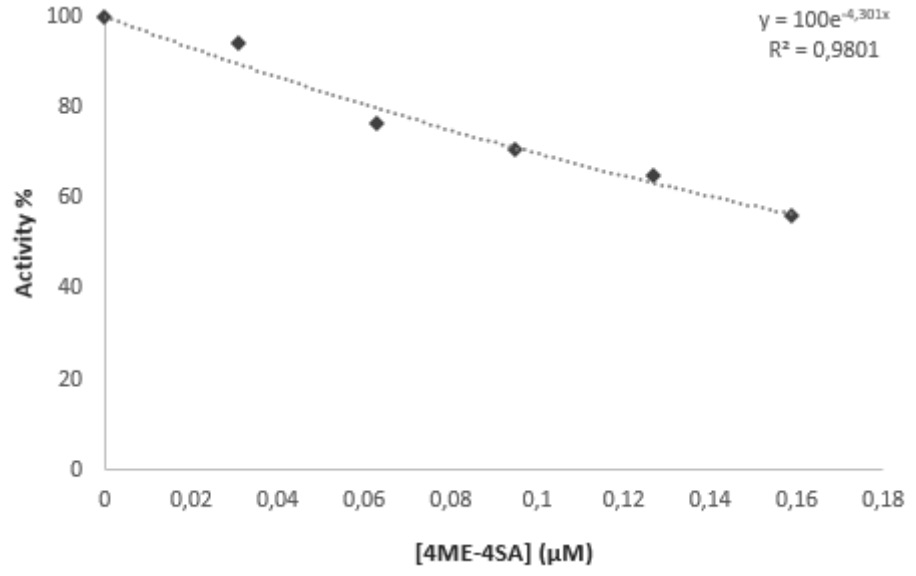
Şekil 4.51. 4-Kloro-*N*-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid (5) Konsantrasyona karşı hCA-II % aktivitesi



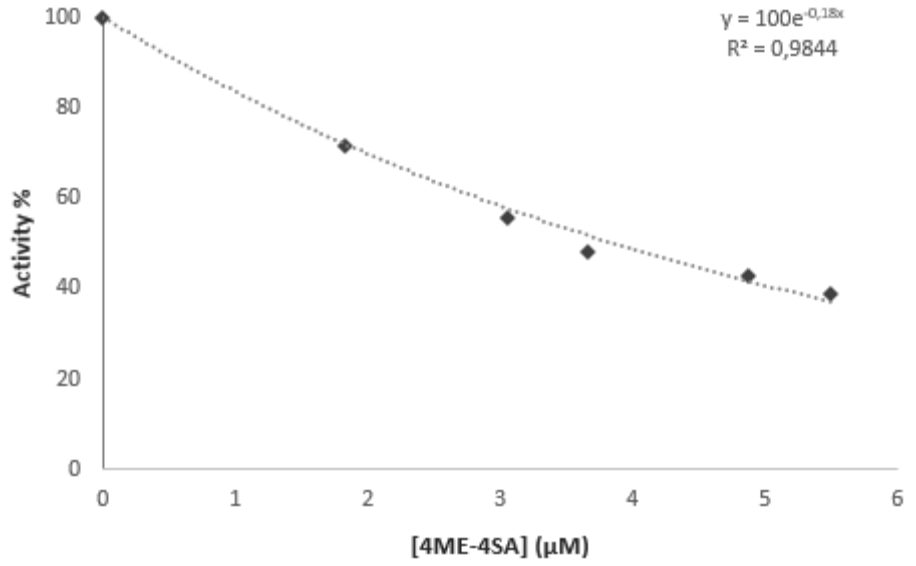
Şekil 4.52. 4-Kloro-*N*-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid (**6**) Konsantrasyona karşı hCA-I % aktivitesi



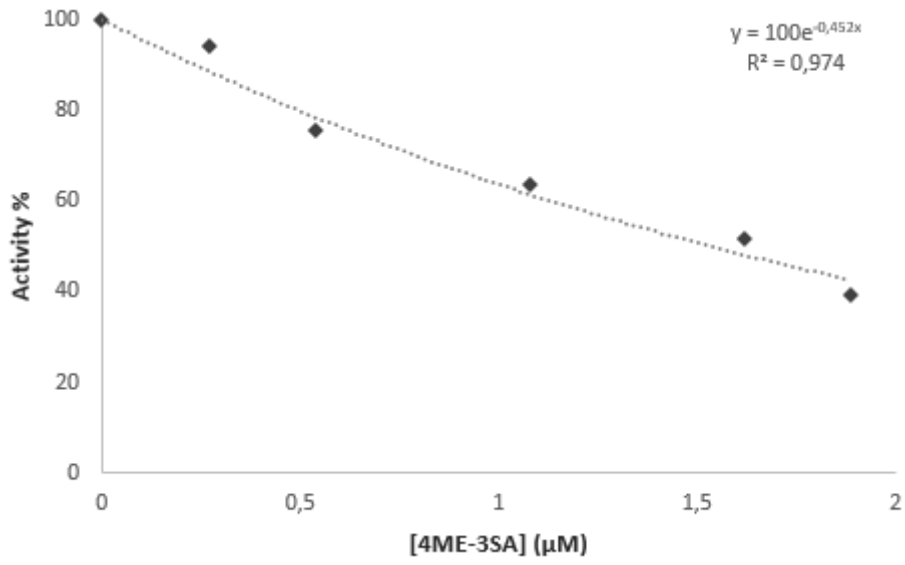
Şekil 4.53. 4-Kloro-*N*-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid (**6**) Konsantrasyona karşı hCA-II % aktivitesi



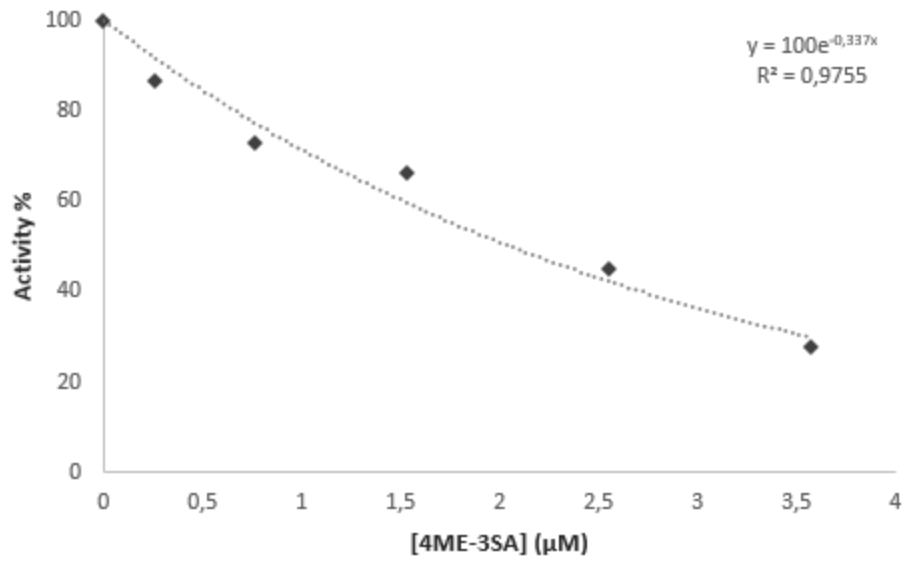
Şekil 4.54. 4-Metil-*N*-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid (7) Konsantrasyona karşı hCA-I % aktivitesi



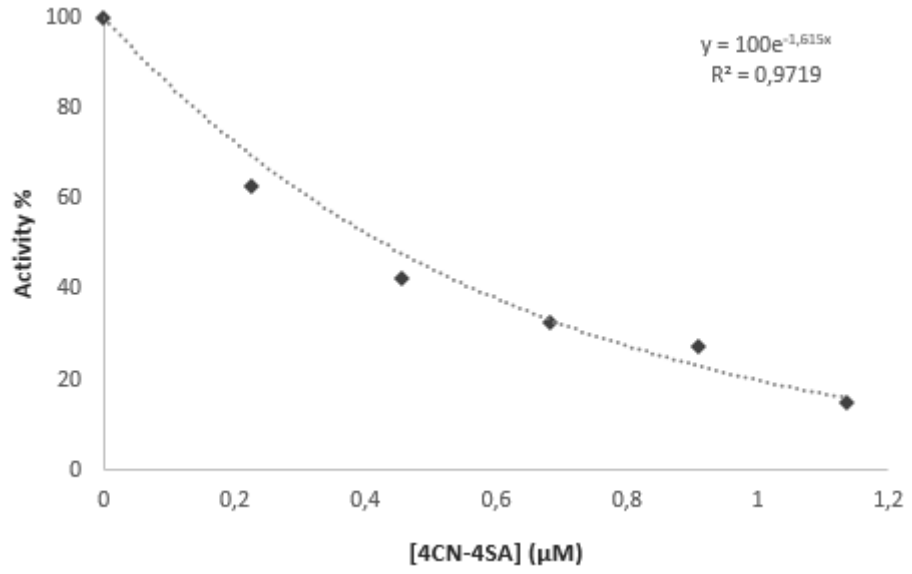
Şekil 4.55. 4-Metil-*N*-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid (7) Konsantrasyona karşı hCA-II % aktivitesi



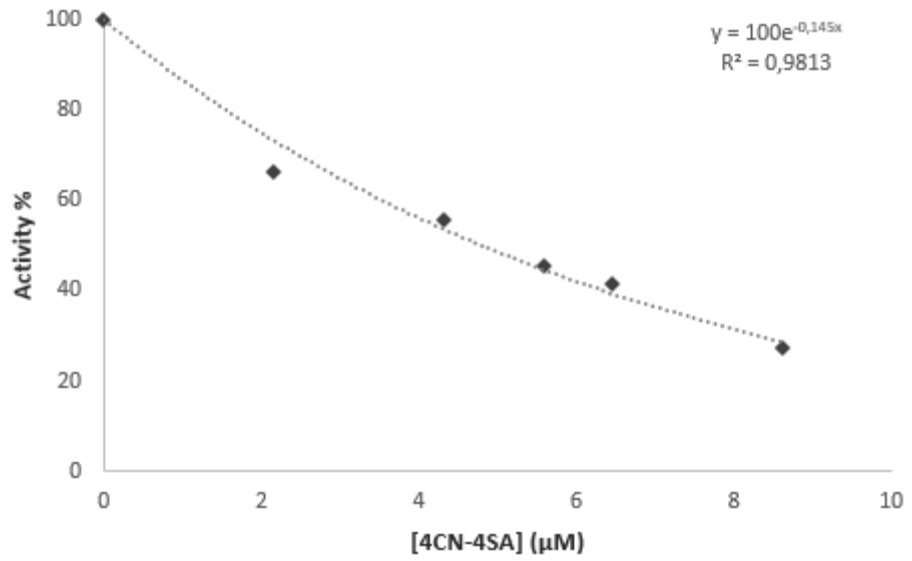
Şekil 4.56. 4-Metil-*N*-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid (**8**) Konsantrasyona karşı hCA-I % aktivitesi



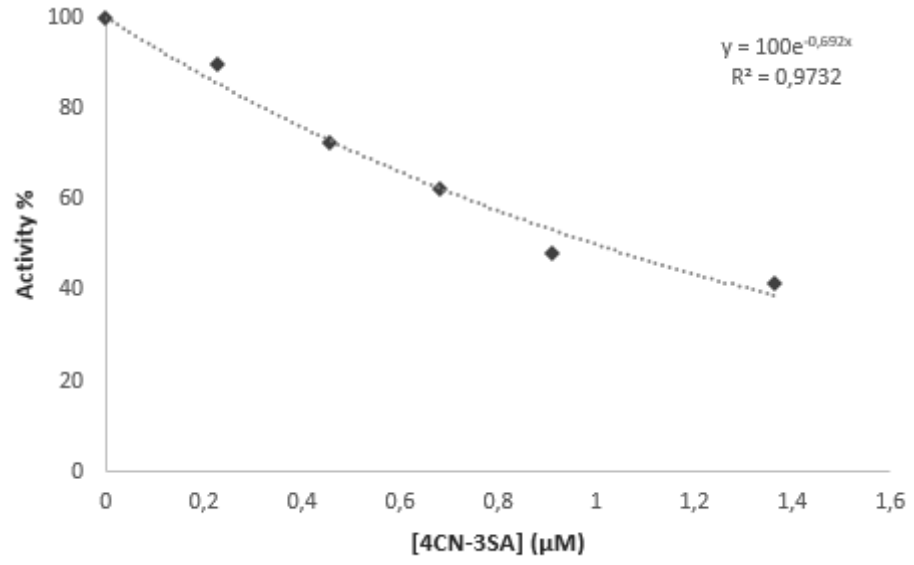
Şekil 4.57. 4-Metil-*N*-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid (**8**) Konsantrasyona karşı hCA-II % aktivitesi



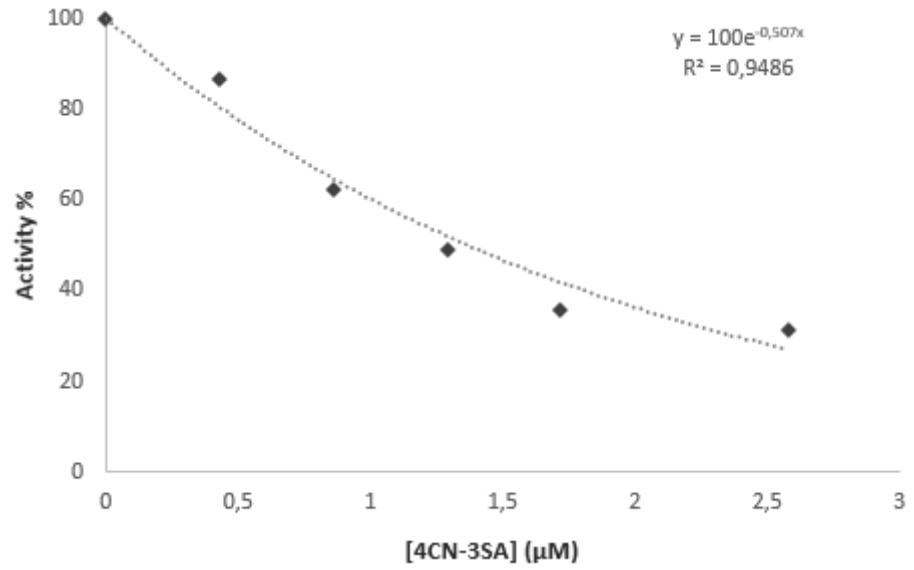
Şekil 4.58. 4-Siyano-*N*-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid (**9**) Konsantrasyona karşı hCA-I % aktivitesi



Şekil 4.59. 4-Siyano-*N*-(4-Sülfamoil-fenil)-benzamid (**9**) Konsantrasyona karşı hCA-II % aktivitesi



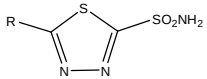
Şekil 4.60. 4-Siyano-*N*-(3-Sülfamoil-fenil)-benzamid (**10**) Konsantrasyona karşı hCA-I % aktivitesi



Şekil 4.61. 4-Siyano-*N*-(3-sülfamoil-fenil)-benzamid (**10**) Konsantrasyona karşı hCA-II % aktivitesi

Sentezlenen sülfonamid türevlerinin hCA-I ve hCA-II enzimlerine karşı IC₅₀ değerleri aşağıdaki tabloda verilmiştir.

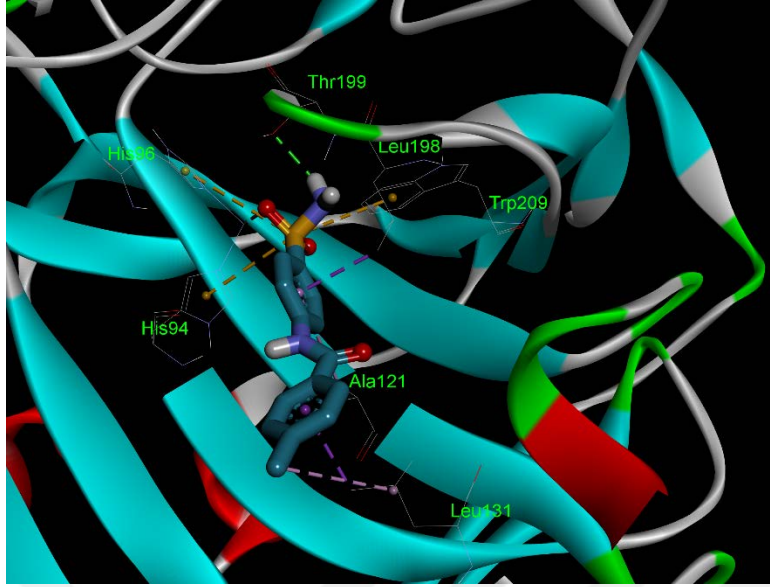
Tablo 4.2. Sentezlenen sülfonamit türevlerinin hCA-I ve hCA-II enzimlerine karşı IC₅₀ değerleri

Bilşikler	CAI	CAII
	IC ₅₀ (nM)	IC ₅₀ (nM)
N-(4-sülfamoil-fenil)-benzamid	0,960	0,220
N-(3-sülfamoil-fenil)-benzamid	0,170	0,250
2-floro-N-(4-sülfamoil-fenil)-benzamid	0,550	0.081
2-floro-N-(3-sülfamoil-fenil)-benzamid	0,890	1,380
4-kloro-N-(4-sülfamoil-fenil)-benzamid	0,500	1,060
4-kloro-N-(3-sülfamoil-fenil)-benzamid	1,910	2,240
4-metil-N-(4-sülfamoil-fenil)-benzamid	0,190	3,850
4-metil-N-(3-sülfamoil-fenil)-benzamid	1,530	2,050
4-siyano-N-(4-sülfamoil-fenil)-benzamid	0,420	4,770
4-siyano-N-(3-sülfamoil-fenil)-benzamid	1,001	1,360
	0,032	0,051

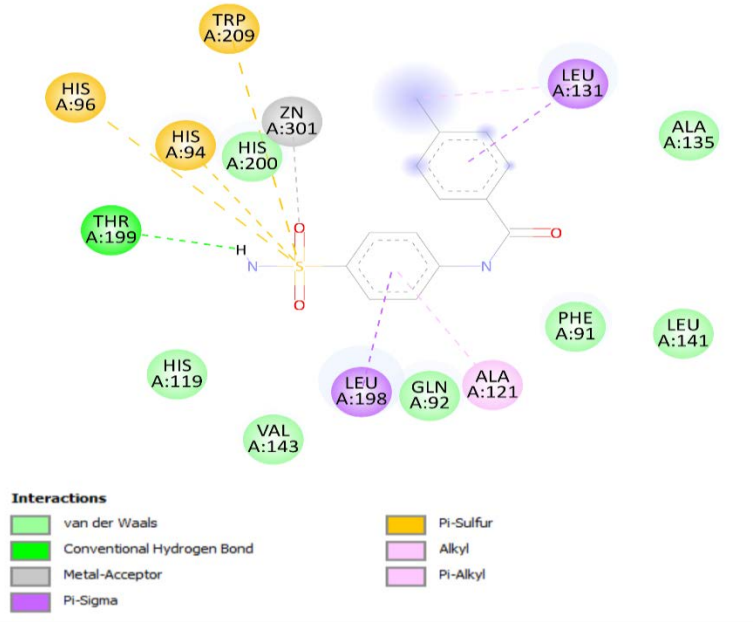
Analiz yapılırken 3 kez tekrarlanmış ve ortalaması alınarak veriler tespit edilmiştir.

Hata oranı $\pm$ %2 dir.

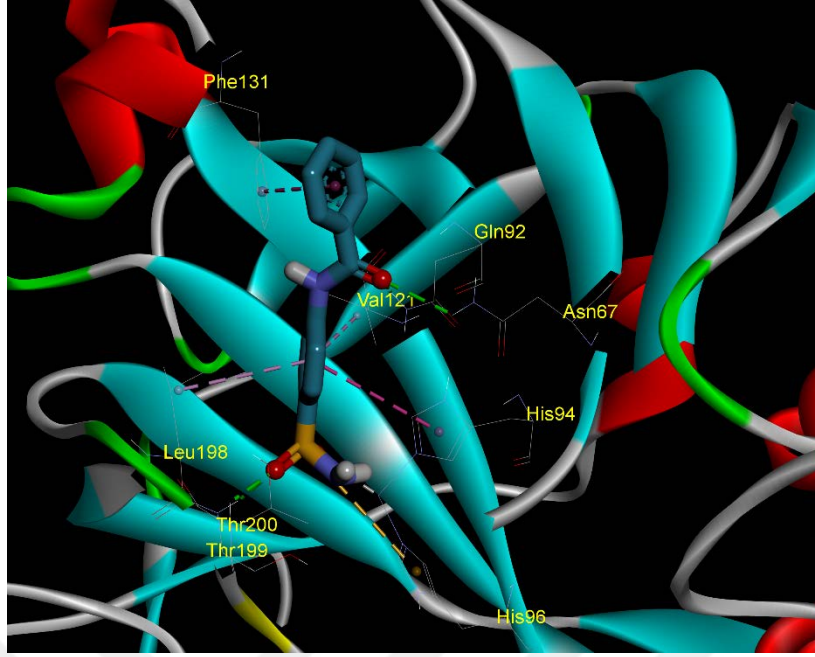
Tablo 4.2' de görüldüğü gibi sentezlenen sülfonamit türevleri nanomolar düzeyde CA I ve II enzimlerini inhibe etme kabiliyeti göstermişlerdir.



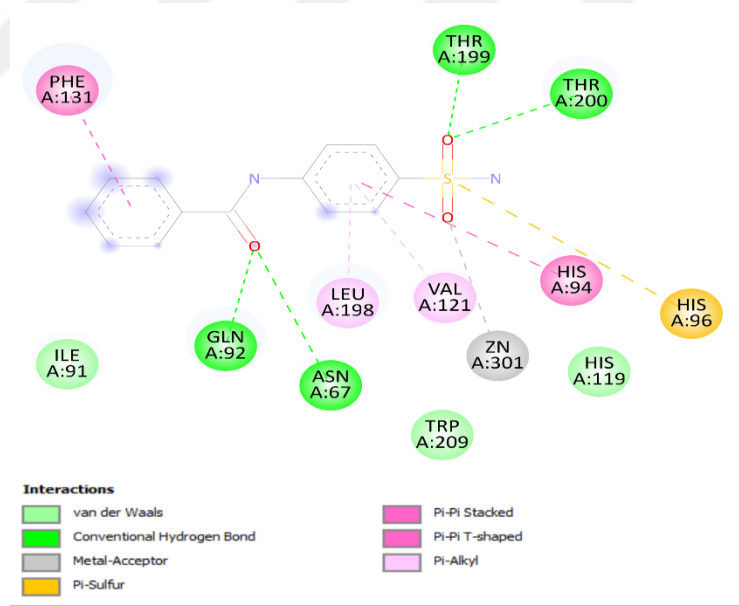
Şekil 4.62. 4-metil-N-(4-sülfamoil-fenil)-benzamid'in hCA-I aktif bölgesinde olası bağlanma/etkileşim 3D görüntüsü.



Şekil 4.63. hCA I ile 4-metil-N-(4-sülfamoil-fenil)-benzamid'in 2D etkileşim görüntüsü



Şekil 4.64. N-(4-sülfamoil-fenil)-benzamid'in hCA-II ile aktif bölgesinde olası bağlanma/etkileşim 3D görüntüsü.



Şekil 4.65. hCA II ile N-(4-sülfamoil-fenil)-benzamid'in 2D etkileşim görüntüsü

Tablo 4.3. hCA-I ile **1-10** molekülleri arasında hesaplanan bağlanma/etkileşim verileri

Molekül	IC50 (μ M)	R2	ΔG (kcal/mol) Autodock	ΔG (kcal/mol) Vina
1	0,96	0,983	-7.12	-7.1
2	0,17	0,96	-7.30	-7.7
3	0,55	0,978	-7.10	-7.2
4	0,89	0,966	-6.98	-7.6
5	0,5	0,985	-7.00	-7.4
6	1,91	0,964	-6.99	-7.4
7	0,16	0,98	-7.33	-7.6
8	1,53	0,974	-7.25	-7.1
9	0,42	0,971	-7.29	-7.2
10	1,001	0,973	-7.13	-7.1

Tablo 4.4. hCA-II ile **1-10** molekülleri arasında hesaplanan bağlanma/etkileşim verileri

Molekül	IC50 (μ M)	R2	ΔG (kcal/mol) Autodock	ΔG (kcal/mol) Vina
1	0,22	0,96	-6.80	-7.5
2	0,25	0,914	-6.97	-7,6
3	0,081	0,993	-6.83	-7.3
4	1,38	0,998	-6.36	-7.1
5	1,06	0,909	-6.50	-7.3
6	2,24	0,979	-6.33	-7.2
7	3,85	0,984	-6.63	-6.7
8	2,05	0,975	-6.50	-6.9
9	4,77	0,981	-6.50	-6.8
10	1,36	0,948	-6.94	-6.9

5.SONUÇ

Sülfonamit türevi maddeler etkin şekilde biyolojik aktivite gösterdikleri geçmiş yıllarda yapılan çalışmalardan anlaşılmıştır. Sülfonamit ve türevi maddelerin halkalı yapısına bağlanan bileşiklere göre ve bunların bağlanma pozisyonlarına göre etkinlikleri farklılık gösterirler. Tıp dünyasında her geçen gün antibiyotiklere karşı direnç kazanan mikroorganizmalar olduğu bilinmekle birlikte bu mikroorganizmalara karşı geliştirilen ilaçlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu sebeplerden dolayı bu tez kapsamında sülfonamit halkasına bağlanan farklı bileşiklerle yeni sülfonamit türevi maddeler sentezlenmiştir.

Bu tez çalışmamızın birinci aşamasında para ve orto sülfonamitler substitue benzoilklörürler ile (H, 2F, 4Cl, 4Me, 4CN) reaksiyona sokularak 10 farklı sülfonamit türevi elde edilmiştir. Hedeflenen moleküller için orto ve para sülfonamitler oda sıcaklığında diklorometan / aseton çözücü sisteminde çözülüp üzerine yine aynı çözücü sisteminde benzoilklörür reaktantları damla damla ilave edilmiştir. Reaksiyon kapalı sistemde gerçekleştirilmiş, açığa çıkan asit suya gönderilerek ortamdan uzaklaştırılmıştır. Reaksiyon sonunda elde edilen kristaller su ile yıkanarak HCl kalıntısı uzaklaştırılmıştır. Sentezlenen sülfonamit türevleri H-NMR, C-NMR, FT-IR ve LC-MS/MS spektrofotometrik yöntemler kullanılarak karakterize edilmiştir. Sülfonamitler kristalendirilip, kristallerin erime noktaları tayin belirlenmiştir. Tüm ürünlerde $-SO_2NH_2$ grubunun para pozisyonundan bağlı olan sülfonamit türevleri orta pozisyonundan bağlı olanlara göre daha yüksek erime noktasına sahip oldukları anlaşılmıştır. SO_2NH_2 grubu orto substitue olduğunda birbirleriyle etkileşen moleküllerin yüzeylerinin küçülmesi nedeniyle, komşu moleküller arasındaki van der Waals bağlarının zayıflamasına ve sonuç olarakta erime noktasının düşmesine neden olur.

Bu tez çalışmamızın ikinci kısmında; sentezlenen **1-10** bileşiklerin hCA-I ve hCA-II enzimleri üzerine inhibisyon etkileri araştırılmıştır. Sonuçlar sentezi yapılan moleküllerin tamamının hCA-I ve hCA-II üzerine nm seviyede inhibisyon etkileri olduğunu göstermiştir. hCA-I enzimine karşı en etkili inhibisyonu $0.170 \mu M$ IC_{50} değeriyle **7** molekülü ve hCA-II enzimine karşı en etkili inhibisyonu $0.081 \mu M$ IC_{50} değeriyle **4** molekülü göstermiştir.

1-10 bileşiklerinin CA-I ve CA-II'nin aktif bölgelerine olası bağlanma pozisyonlarını tahmin edebilmek için moleküler docking çalışmaları yapılmış ve enzimlerin sentezlenen moleküller ile etkileşim modelleri analiz edilmiştir. Tablo 4.3'de görülebileceği gibi, Autodock 4.2'deki bileşiklerin CAI ile etkileşim puanları -6.98 ile 7.33 arasında ve Autodock Vina'da ise bileşiklerin etkileşim puanları 7.1 ile 7.7 arasında değişmiştir. 7 molekülünün en düşük bağlanma enerjisine sahip modellemesi Şekil 4.62 verilmiştir. Etkileşim modeli incelendiğinde Pi-sülfür, metal akseptör ve hidrojen bağlarının modelin oluşmasında etkinliği göze çarpmaktadır. Özellikle ligandın etkileştiği HIS94, HIS96, THR199 ve HIS200 amino asitlerinin CA'in aktif bölgesini oluşturduğu göz önüne alındığında hem *in-vitro* hem de *in-silico* çalışmalarda en iyi inhibisyon potansiyelinin bu molekülde gözlemlenmesini desteklemektedir. CA-II enzimi için ise Autodock 4.2 etkileşim puanları -6.33 ile 6.97 arasında ve Autodock Vina'da bileşiklerin etkileşim puanları 6.7 ile 7.5 arasında değişmiştir. Moleküllerin IC50 değerleri ise 0.081 μ M ile 4.77 μ M arasındadır. Docking analiz ve *in-vitro* sonuçların birbirine en yakın olan **1** molekülünün muhtemel bağlanma pozisyonu şekil 4.63'de verilmiştir. Şekil 4.64 incelendiğinde bileşiğin THR199 THR 200, GLN92 ve ASN 67 ile hidrojen bağı yapabilme yeteneği olduğu görülmektedir bunun yanında aktif bölge amino asitleri HIS96 ve HIS94 ile sırasıyla psülfür ve Pi-pi etkileşimlerinde bulunmuştur. Buna paralel olarak molekülün IC50 değeri 0,220 μ M olarak gözlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Aggarwal, M. and McKenna, R., 2012. Update on carbonic anhydrase inhibitors: a patent review (2008–2011). *Expert opinion on therapeutic patents*, 22(8), 903-915.
- Akbulut, A., 2003. Sülfonamitler, trimetoprim, trimetoprim-sulfametaksazol. Güncel bilgiler ışığında antibiyotikler, Ed.: Leblebicioglu, H., Usluer, G., Ulusoy, S. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 381-393.
- Alterio, V., Di Fiore, A., D'Ambrosio, K., Supuran, C. T. and De Simone, G., 2012. Multiple binding modes of inhibitors to carbonic anhydrases: how to design specific drugs targeting 15 different isoforms?. *Chemical reviews*, 112(8), 4421-4468.
- Altıntaş, L., 2006. Ağızdan Kullanılan Bazı Sülfonamit Preparatlarının Broilerlerde Biyoeşdeğerliliği. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Andrews, K. T., Fisher, G. M., Sumanadasa, S. D., Skinner-Adams, T., Moeker, J., Lopez, M. and Poulsen, S. A., 2013. Antimalarial activity of compounds comprising a primary benzene sulfonamide fragment. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23(22), 6114-6117.
- Argyropoulou, I., Geronikaki, A., Vicini, P. and Zani, F., 2009. Synthesis and biological evaluation of sulfonamide thiazole and benzothiazole derivatives as antimicrobial agents. *Arkivoc*, 6, 89-102.
- Atmaca, M. H. ve Ecemiş, G. C., 2012. Oral antidiyabetik ajanlar. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 29(1), 23-29.
- Attia, A., Abdel-Salam, O. I., Ghalia, M. A. and Amr, A. E., 1995. Chemical and biological reactivity of newly synthesized 2-chloro-6-ethoxy-4-acetylpyridine. *Egyptian Journal of Chemistry*, 38(5), 543-554.
- Bahrami, K., Khodaei, M. M. and Soheilzad, M., 2009. Direct conversion of thiols to sulfonyl chlorides and Sulfonamides, *Journal of Organic Chemistry*, 74, 9287-9291.
- Balaban, A., Colak, N., Ünver, H., Erk, B., Durlu, T. N. and Zengin, D. M., 2008. Synthesis, spectroscopic studies and crystal structure of N, N'-bis ((thiophene-2-carboxamido) propyl) piperazine. *Journal of Chemical Crystallography*, 38(5), 369-372.
- Bashir, R., Ovais, S., Yaseen, S., Hamid, H., Alam, M. S., Samim, M., Singh, S., Javed, K. and Javed, K., 2011. Synthesis of some new 1, 3, 5-trisubstituted pyrazolines bearing benzene sulfonamide as anticancer and anti-inflammatory agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21(14), 4301-4305.

- Bayrak, H., Demirbas, A., Karaoglu, S. A. and Demirbas, N., 2009. Synthesis of some new 1, 2, 4-triazoles, their Mannich and Schiff bases and evaluation of their antimicrobial activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44(3), 1057-1066.
- Becheker, I., Berredjem, H., Boutefnouchet, N., Berredjem, M. and Ladjama, A., 2014. Antibacterial activity of four sulfonamite derivatives against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6(11), 893-899.
- Biovia, D. S. and DSME, R., 2017 San Diego: Dassault Systèmes, 2016. 2017.
- Boiron et al., 1992; Saubolle, 1993; Wortman, 1993; Lerner, 1996; Boiron., 1998
- Bradford, M. M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248.
- Brady, H. J., Lowe, N., Sowden, J. C., Edwards, M. and Butterworth, P. H., 1991. The human carbonic anhydrase I gene has two promoters with different tissue specificities. *Biochemical Journal*, 277(3), 903-905.
- Brooks, C. D., 2001. Sulfasalazine for the management of juvenile rheumatoid arthritis. *The Journal of Rheumatology*, 28(4), 845-853.
- Brynda, J., Mader, P., Šícha, V., Fábry, M., Poncová, K., Bakardiev, M. and Řezáčová, P., 2013. Carborane-based carbonic anhydrase inhibitors. *Angewandte Chemie International Edition*, 52(51), 13760-13763.
- Bülbül, M., Saraçoğlu, N., Küfrevioğlu, Ö. I. and Çiftçi, M., 2002. Bile acid derivatives of 5-amino-1, 3, 4-thiadiazole-2-sulfonamite as new carbonic anhydrase inhibitors: synthesis and investigation of inhibition effects. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 10(8), 2561-2567.
- Chang X., Zheng Y., Yang Q., Wang L., Pan J., Xia Y., Yan X. and Han J., 2012. Carbonic anhydrase I (CA1) is involved in the process of bone formation and is susceptible to ankylosing spondylitis. *Arthritis Res Ther.*, 14(4), R176.
- Chiaromonte, Niccolò., 2018 "2-Benzylpiperazine: A new scaffold for potent human carbonic anhydrase inhibitors. Synthesis, enzyme inhibition, enantioselectivity, computational and crystallographic studies and in vivo activity for a new class of intraocular pressure lowering agents." *European Journal of Medicinal Chemistry* 151: 363-375.
- Chohan, Z. H., Shaikh, A. U., Rauf, A. and Supuran, C. T., 2006. Antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of novel N-substituted sulfonamites from 4-hydroxycoumarin. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 21(6), 741-748.
- Cowan, J. A., 2001. Chemical nucleases. *Current Opinion in Chemical Biology*, 5(6), 634-642.

- Dallakyan, S. and Olson, A. J. 2015, in *Chemical biology*, Springer, pp. 243-250.
- De Luca L. and Giacomelli G., 2008. An Easy Microwave-Assisted Synthesis of Sulfonamites Directly from Sulfonic Acids. *Journal of Organic Chemistry*. 2008, 73, 3967.
- De Simone, G., Scozzafava, A. and Supuran, C. T., 2009. Which carbonic anhydrases are targeted by the antiepileptic sulfonamites and sulfamates?. *Chemical Biology and Drug Design*, 74(3), 317-321.
- Deutsch, H. F., 1997. "Carbonic anhydrase", *International Journal Biochemistry*.19. 100.
- Domínguez, J. N., León, C., Rodrigues, J., de Domínguez, N. G., Gut, J. And Rosenthal, P. J., 2005. Synthesis and antimalarial activity of sulfonamide chalcone derivatives. *Il Farmaco*, 60(4), 307-311.
- Fanelli, Jr., G. M., 1975. Uricosuric agents. *Arthritis ve Rheumatism*.18(S1), 853-858.
- Göker, H., Tunçbilek, M., Süzen, S., Kus, C. and Altanlar, N., 2001. Synthesis and Antimicrobial Activity of Some New 2-Phenyl-N-substituted Carboxamido-1H-benzimidazole Derivatives. *Archiv der Pharmazie: An International Journal Pharmaceutical and Medicinal Chemistry*, 334(5), 148-152.
- Hanwell, M. D., Curtis, D. E., Lonie, D. C., Vandermeersch, T., Zurek, E. and Hutchison, G. R. (2012) Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of cheminformatics*, 4, 1-17.
- Hosseinzadeh, R., Tajbakhsh, M., Mohadjerani, M. and Alikarami, M., 2010. Copper-catalysed N-arylation of arylsulfonamites with aryl bromides and aryl iodides using $\text{KF/Al}_2\text{O}_3$. *Journal of Chemical Sciences*, 122(2), 143-148.
- Hunaiti, A. A. and Soud, M., 2000. Effect of lead concentration on the level of glutathione, glutathione S-transferase, reductase and peroxidase in human blood. *Science of the total environment*, 248(1), 45-50.
- Işık, K. and Özdemir-Kocak, F., 2009. Antimicrobial activity screening of some sulfonamide derivatives on some *Nocardia* species and isolates. *Microbiological Research*, 164(1), 49-58.
- Kaya, M., Basar, E., Çakir, E., Tunca, E. and Bülbül, M., 2012. Synthesis and characterization of novel dioxoacridine sulfonamide derivatives as new carbonic anhydrase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 27(4), 509-514.
- Kaya, M., Yıldırım, Y. ve Çelik, G. Y., 2011. Yeni bisakridin-1, 8-dion türevlerinin sentezi ve antimikrobiyal aktiviteleri. *Tıbbi Kimya Araştırması*, 20 (3), 293-299.

- Kayaalp, O., 1998. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, Hacettepe Tas Kitapçılık, 8(1), 277-286.
- Kolaczek, A., Fusiarz, I., Lawecka, J. and Branowska, D., 2014. Biological activity and synthesis of sulfonamide derivatives: A brief review. *Chemik*, 68(7) 620-628.
- Kumar, P. and Gupta, R., 2016. The wonderful world of pyridine-2,6-dicarboxamide based scaffolds. *Dalton Transactions*, 45(47), 18769-18783.
- Kumar, A., Dwivedi, A., Srivastava, A. K., Misra, N., Narayana, B., Samshuddin, S. and Sarojini, B. K., 2017. Molecular Structures, Vibrational Spectra, Electronic Properties, and Molecular Docking of Two Pyrazoline Derivatives Containing 1-Carboxamide and 1-Carbothioamide: A Comparative Study. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 37(4), 267-279.
- Lai, E. C. C., Chang, C. H., Kao Yang, Y. H., Lin, S. J. and Lin, C. Y., 2012. Effectiveness of sulpiride in adult patients with schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 39(3), 673-683.
- Lateef, S., Mohan, S. R. K., Rameshraj, R. and Reddy, S. R. J., 2006. Novel synthesis of mafenide and other amino sulfonamides by electrochemical reduction of cyano sulfonamides. *Helvetica Chimica Acta*, 89(6), 1254-1257.
- Laudadio, G., Barmopoulos, E., Schotten, C., Struik, L., Govaerts, S., Browne, D. L. and Noël, T., 2019. Sulfonamide synthesis through electrochemical oxidative coupling of amines and thiols. *Journal of the American Chemical Society*, 141(14), 5664-5668.
- Lavanya, R., 2017. Sulphonamides: A Pharmaceutical Review. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*, 6(2), 1-3.
- Lippard, S. J., 1978. Platinum complexes: probes of polynucleotide structure and antitumor drugs. *Accounts of Chemical Research*, 11(5), 211-217.
- Lippert, B., 2000. Multiplicity of metal ion binding patterns to nucleobases. *Coordination Chemistry Reviews*, 200, 487-516.
- Lipton, R. B., Stewart, W. F., Cady, R., Hall, C., O'Quinn, S., Kuhn, T. and Gutterman, D., 2000. Sumatriptan for the range of headaches in migraine sufferers: results of the Spectrum Study. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 40(10), 783-791.
- Loubatieres, A., Mariani, M. M., Ribes, G. and Chapal, J., 1969. Experimental study of a new especially active hypoglycemic sulfonamide, HB-419 or Glibenclamide. *Diabetologia*, 5(1), 1-10.
- Maren, T. H., Conroy, C. W., Wynns, G. C. and Godman, D. R., 1997. Renal and cerebrospinal fluid formation pharmacology of a high molecular weight

- carbonic anhydrase inhibitor. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 280(1), 98-104.
- Mastrolorenzo, A., Rusconi, S., Scozzafava, A. and Supuran, C. T., 2006. Inhibitors of HIV-1 protease: 10 years after. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 16(8), 1067-1091.
- Meszaros Szecsenyi, K., Leovac, V., Jacimovic, Z. and Pokol, G., 2003. Transition Metal Complexes with Pyrazole Based Ligands. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 74(3), 943-952.
- Moeker, J., Peat, T. S., Bornaghi, L. F., Vullo, D., Supuran, C. T. and Poulsen, S. A., 2014. Cyclic secondary sulfonamides: unusually good inhibitors of cancer-related carbonic anhydrase enzymes. *Journal of medicinal chemistry*, 57(8), 3522-3531.
- Moreno-Díaz, H., Villalobos-Molina, R., Ortiz-Andrade, R., Díaz-Coutiño, D., Medina-Franco, J. L., Webster, S. P., and Navarrete-Vázquez, G., 2008. Antidiabetic activity of N-(6-substituted-1, 3-benzothiazol-2-yl) benzenesulfonamides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18(9), 2871-2877.
- Morrow, J. R. and Iranzo, O., 2004. Synthetic metallonucleases for RNA cleavage. *Current Opinion in Chemical Biology*, 8(2), 192-200.
- Pocker, Y. and Sarkanen, S., 1979. Carbonic anhydrase: structure, catalytic versatility, and inhibition. *Advances in enzymology and related areas of molecular biology*. 47, 149-274.
- Puschett, J. B., 1994. Pharmacological classification and renal actions of diuretics. *Cardiology*, 84(2), 4-13.
- Ravindar, V., Swamy, S. J., Srihari, S. and Lingaiah, P., 1985. Synthesis and spectral studies of copper (II) complexes with amide group ligands. *Polyhedron*, 4(8), 1511-1518.
- Reddy, C. R., Mahipal, B. and Yaragorla, S. R., 2007. A new and efficient method for the facile synthesis of N-acyl sulfonamides under Lewis acid catalysis. *Tetrahedron Letters*, 48(42), 7528-7532.
- Rivera, J. C., Yopez-Mulia, L., Hernandez-Campos, A., Moreno-Esparza, R., Castillo, R., Navarrete-Vazquez, G. and Jung-Cook, H., 2007. Biopharmaceutic evaluation of novel anthelmintic (1H-benzimidazol-5 (6)-yl) carboxamide derivatives. *International Journal of Pharmaceutics*, 343(1-2), 159-165.
- Rose, M. J. and Mascharak, P. K., 2008. Photoactive ruthenium nitrosyls: effects of light and potential application as NO donors. *Coordination Chemistry Reviews*, 252(18-20), 2093-2114.

- Roughton, F. J. W. and Booth, V. H., 1946. The effect of substrate concentration, pH and other factors upon the activity of carbonic anhydrase. *Biochemical Journal*, 40(2), 319.
- Sağduyu, H., 2010. Sülfonamitler. <http://ekutuphane.teb.org.tr/pdf/eczaciolasayinlari/antibiyotikler/1.pdf> 15.12.2018
- Sapna Rani, A. and Kumar, A., 2014. Designing of sulfanilamide/sulfacetamide derivatives as human topoisomerase II inhibitor: a docking approach. *American Journal of Pharmacological Sciences*, 2(2), 42-46.
- Schwartz, G. F., Patel, V. D., Burk, C. and Bennett, T., 2010. Patient persistency with topical glaucoma therapy is higher with fixed dose brimonidine/timolol than with two-bottle combinations. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 51(13): 185-185.
- Scozzafava, A., Mastrolorenzo, A. and Supuran, C. T., 2002. Sulfonamides and sulfonylated derivatives as anticancer agents. *Current cancer drug targets*, 2(1), 55-75.
- Selvam, P., Chandramohan, M., De Clercq, E., Witvrouw, M. and Pannecouque, C., 2001. Synthesis and anti-HIV activity of 4-[(1, 2-dihydro-2-oxo-3H-indol-3-ylidene) amino]-N (4, 6-dimethyl-2-pyrimidinyl)-benzene sulfonamide and its derivatives. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(4), 313-316.
- Senturk, M., Gulcin, I., Beydemir, S., Kufrevioglu, O. I. and Supuran, C. T., 2011. In vitro inhibition of human carbonic anhydrase I and II isozymes with natural phenolic compounds. *Chemical Biology ve Drug Design*, 77, 494-499.
- Shekhar S., Dunn T. B., Kotecki B. J., Montavon D. K. and Cullen S. C., 2011. A General Method for Palladium-Catalyzed Reactions of Primary Sulfonamides with Aryl Nonaflates. *Journal of organic chemistry*, 76(11), 4552-4563.
- Silverman, D. N. and McKenna R., 2007. Solvent-mediated proton transfer in catalysis by carbonic anhydrase. *Accounts of chemical research*, 40(8), 669-675.
- Simon, A. and Berman, E., 1979. Long-term sotalol therapy in patients with arrhythmias. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 19(8-9), 547-556.
- Singh, B. K., Mishra, P. and Garg, B. S., 2008. Synthesis and spectrothermal studies on group 12 metals coordination with novel carboxamide ligands. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 69(2), 361-370.
- Singh, B. K., Prakash, A. and Adhikari, D., 2009. Spectroscopic characterization of bioactive carboxamide with trinuclear lanthanide (III) ions. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 74(3), 657-664.
- Singh, U. K., Pandeya, S. N., Sethia, S. K., Pandey, M., Singh, A., Garg, A. and Kumar, P., 2010. Synthesis and biological evaluation of some sulfonamide

- schiff's bases. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research, 2(3), 216-218.
- Sköld, O., 2000. Sulfonamide resistance: Mechanisms and trends Drug, Resistance Updates, 155-160.
- Stellenboom, N., Baykan, A., 2019. Synthesis and Enzyme Inhibitory Activity of Novel Pyridine-2,6-Dicarboxamides Bearing Primary Sulfonamide Groups. Russian Journal of Organic Chemistry, 55(12), 1951-1956. Doi: 10.1134/S1070428019120248.
- Strauss, E., Lowell, F. C. and Finland, M., 1941. Observations on the inhibition of sulfonamide action by para-aminobenzoic acid. The Journal of clinical investigation, 20(2), 189-197.
- Supuran, C. T. and Scozzafava, A., 2001. Carbonic anhydrase inhibitors. Current Medicinal Chemistry-Immunology, Endocrine ve Metabolic Agents, 1(1), 61-97.
- Supuran, C. T., Scozzafava, A. and Conway, J., 2004. Carbonic Anhydrase Its Inhibitors And Activators, US: CRC Press 25-30.
- Supuran, C. T., Scozzafava, A., 2007. Carbonic anhydrases as targets for medicinal chemistry. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 15(13), 4336-4350.
- Supuran, C. T., 2008. Carbonic anhydrases-an overview. Current Pharmaceutical Design, 14(7), 603-614.
- Taha, A. S., Hudson, N., Hawkey, C. J., Swannell, A. J., Trye, P. N., Cottrell, J. and Russell, R. I., 1996. Famotidine for the prevention of gastric and duodenal ulcers caused by nonsteroidal antiinflammatory drugs. New England Journal of Medicine, 334(22), 1435-1439.
- Tashian, R. E., Hewett-Emmett, D. and Goodman, M., 1983. On the evolution and genetics of carbonic anhydrases I, II, and III. Isozymes, 7, 79-100.
- Tezcan, M., 1990. 4-Benzoyl-5-Fenil-2, 3-Furandion'un Üretan ve Türevleriyle Verdiği Reaksiyonlar, Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Töreci, K., 2003. Antibiyotik kullanımı ve direnç ilişkisi. Flora, 8(2), 89-110.
- Trott, O. and Olson, A. J. (2010) AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. Journal of computational chemistry, **31**, 455-461.
- Vannozzi, G., Vullo, D., Angeli, A., Ferraroni, M., Combs, J., Lomelino, C., Supuran, C. T. (2021). One-pot procedure for the synthesis of asymmetric substituted ureido benzene sulfonamides as effective inhibitors of carbonic anhydrase enzymes. Journal of Medicinal Chemistry, 65(1), 824-837.

- Varagić, V. M. and Milošević M. P., 2009. Sulfonamiti, trimetoprim i hinoloni. Farmakologija, Elitmedica, Beograd, 622-627. ISSN: 86-7222-062-2.
- Verpoorte, J. A., Mehta, S. and Edsall, J. T., 1967. Esterase activities of human carbonic anhydrase. Journal of biological chemistry, 242(18), 4221-4229.
- Welsh., 1987; Welsh, 1991; McNeil and Brown, 1994; McNeil., 1995; Burget, 1999; Torres., 2000; Saubolle, 2002; Matulionyte., 2004
- Winum, J. Y., Kohler, S. and T Supuran, C., 2010. Brucella carbonic anhydrases: new targets for designing anti-infective agents. Current pharmaceutical design, 16(29), 3310-3316.
- Wistrand, P. J., Schenholm, M., and Lönnerholm, G., 1986. Carbonic anhydrase isoenzymes CA I and CA II in the human eye. Investigative Ophthalmology and Visual Science, 27(3), 419-428.
- Xu, Y., Feng, L., Jeffrey, P. D., Shi, Y. and Morel, F. M., 2008. Structure and metal exchange in the cadmium carbonic anhydrase of marine diatoms, Nature, 452(7183), 56-61.
- Yang, Y., Diederich, F. and Valentine, J. S., 1991. Lewis acidic catalysts for olefin epoxidation by iodosylbenzene. Journal of the American Chemical Society, 113(19), 7195-7205.
- Zuo, H., Jose, G., Li, Z. B., Moon, B. H., Shin, D. S. and Ghate, M., Department of Chemistry, Changwon National University, Changwon, Korea, 641-773 b Department of Pharmaceutical Chemistry, Krupanidhi College of Pharmacy, Koramangala Bangalore, India, 110034 c College of Pharmacy, Southwest University, Chongqing, China, 400715 d Hwasung Chemical Co., Ulsan, S. Korea, 689-871