



**SESAMOL TEMELLİ SÜLFONAT ESTERLERİN SENTEZİ
VE BAZI KARBONİK ANHİDRAZ İZOENZİMLERİ
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Habip ÇELİK

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Ana Bilim Dalı

Prof.Dr. Murat GÜNEY

**AĞRI-2022
(Her hakkı saklıdır.)**

T.C.
AĞRI İBRAHİM ÇEÇEN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
Kimya Anabilim Dalı
Organik Kimya Bilim Dalı

**SESAMOL TEMELLİ SÜLFONAT ESTERLERİN SENTEZİ VE BAZI
KARBONİK ANHİDRAZ İZOENZİMLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

HABİP ÇELİK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. MURAT GÜNEY

2022

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

SESAMOL TEMELLİ SÜLFONAT ESTERLERİN SENTEZİ VE BAZI KARBONİK ANHİDRAZ İZOENZİMLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Murat GÜNEY

2022, 68+ix Sayfa

Jüri: Prof. Dr. Murat GÜNEY

Prof. Dr. Murat ŞENTÜRK

Prof. Dr. Hüseyin ÇAVDAR

Bu tez kapsamında biyolojik ve sentetik açıdan önemli olan sesamolün sülfonat ester türevlerinin sentezi hedeflenmiştir. Bu amaçla sesamol sülfonil klorürler ile reaksiyona tabi tutularak sesamol türevi sülfonat esterler **81-84**'ün sentezi başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

Sesamol türevi **81-84** moleküllerinin karbonik anhidraz izozimlerinden CAI ve CAII enzimleri üzerine inhibisyon çalışmaları sonucu, **81-84**'ün bu enzimler üzerine nM seviyede etkili oldukları bulunmuştur.

Bu tez kapsamında elde edilen moleküller kristallendirme yöntemi ile saflaştırılmaları gerçekleştirilmiş ve yapıları NMR ve IR spektrumları ile ortaya konulmuştur.

2022, 68 sayfa

Anahtar Kelimeler: Sesamol, Sülfonat ester, Karbonik anhidraz, Sülfonil klorür

ABSTRACT

Master Thesis

SYNTHESIS OF SESAMOL-BASED SULFONATE ESTERS AND EFFECTS ON SOME CARBONIC ANHYDRASE ISOENZYMES

Advisor: Prof. Dr. Murat GÜNEY

2022, Page: 68+ix

Juries: Prof. Dr. Murat GÜNEY

Prof. Dr. Murat ŞENTÜRK

Prof. Dr. Hüseyin ÇAVDAR

In this thesis, it is aimed to synthesize sulfonate ester derivatives of sesamol, which is important biologically and synthetically. For this purpose, the synthesis of sesamol derivative sulfonate esters **81-84** were successfully carried out by reacting sesamol with sulfonyl chlorides.

As a result of inhibition studies performed on the carbonic anhydrase isozyme CAI and CAII enzymes of sesamol derivative **81-84** molecules, it was found that **81-84** was effective on these enzymes at the level of nM.

The molecules obtained within the scope of this thesis were purified by crystallization method and their structures were determined by NMR and IR spectra.

2022, 68 pages

Keywords: Sesamol, Sulfonate ester, Carbonic anhydrase, Sulfonyl chloride

TEŞEKKÜR

Yükseklisans tezi olarak sunduğum bu çalışmanın deneysel kısmı Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Merkezi Araştırma ve uygulama Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Öncelikle çalışmalarım boyunca bilgi ve tecrübesi ile bana rehber olan, sabrını, maddi ve manevi desteğini benden hiç esirgemeyen çok kıymetli danışman hocam sayın Prof. Dr. Murat GÜNEY'e sonsuz minnet ve teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışmanın tamamlanmasında ve yüksek lisans öğrenimim süresince bana yol gösteren, her zaman yanımda olan, tecrübesini, sabrını, maddi ve manevi yardımını benden esirgemeyen çok kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Murat ŞENTÜRK'e sonsuz minnet ve teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım esnasında bilgisi ve tecrübesi ile yanımda olup benden sabrını ve yardımlarını esirgemeyen çok kıymetli hocam sayın Doç. Dr. Furkan ORHAN'a sonsuz teşekkürü bir boç bilirim.

Çalışmalarım esnasında benden bilgi ve tecrübesini esirgemeyen çok kıymetli hocam Dr. Lütfiye Sevgi ÖZYEĞİN'e, Kıymetli dostum Mustafa ORHAN'a teşekkürü bir boç bilirim.

Çalışmamın her aşamasında maddi manevi yardım ve desteklerinin yanı sıra göstermiş oldukları sabır ve anlayıştan dolayı Annem'e, Babam'a, çok değerli Abim Halim ÇELİK'e ve bütün aileme sonsuz teşekkürlerimi ve şükran duygularımı sunarım.

Bütün tez dönemim boyunca sabrıyla yanımda olup bana hep destek olan varlığıyla kuvvet bulduğum sevgili kader arkadaşım Gamze Kimyâ'ya bütün kalbimle teşekkür ederim.

Habip ÇELİK

Haziran 2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİL VE ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1.GİRİŞ	1
2. ALANYAZIN DERLEMESİ (LİTERATÜR)	2
2.1. Sülfonat Esterler	2
2.2. Sesamol ve Önemi.....	11
2.3. Karbonik Anhidraz Enzimi	21
2.3.1. Karbonik Anhidraz Enziminin Katalizlediği Reaksiyonlar.....	21
2.3.2. Karbonik Anhidraz Enziminin Fizyolojik Fonksiyonları ve Dağılımı.	24
2.3.3. Karbonik Anhidraz Enziminin Fiziksel, Kimyasal ve Kinetik Özellikleri.....	25
2.3.4. Karbonik Anhidraz Enziminin Üç Boyutlu Yapısı	26
2.3.5. Karbonik Anhidraz Enziminin Katalitik, İnhibisyon ve Aktivasyon Mekanizması	27
2.4. Çalışmanın Amacı.....	31
3. MATERYAL VE YÖNTEM	33
3.1. SÜLFONAT ESTERLER 81, 82, 83, 84'ÜN SENTEZİ.....	33
3.1.1. Sülfonatester 81'in Sentezi.....	33
3.1.2. Sülfonat Esterler 82'nin Sentezi.....	35
3.1.4. Sülfonat Ester 84'ün Sentezi	39
3.2. Biyokimyasal Materyal	41
3.2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	41
3.2.2. Faydalanılan Alet Ve Cihazlar	41
3.2.3. Kullanılan Çözeltiler ve Bu Çözeltilerin Hazırlanması.....	42
3.3. Metodlar	43
3.3.1. Protein Tayini	43
3.3.1.1. Kalitatif Protein Tayini.....	43
3.3.1.2. Kantitatif Protein Tayini.....	43
3.3.1.3. Enzim aktivitesi tayini.....	44
3.3.1.3.a. Esteraz Aktivitesi Tayini	44
3.3.1.4. hCA Enzimi İçin IC ₅₀ Değerlerinin Bulunması ile İlgili Çalışmalar	45
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	46
4.1. Kromotografik Ayırmalar	46
4.2 Spektrumlar	46
4.3. Sülfonat Esterler 81-84'ün Sentezi İçin Genel Prosedür:	46
4.4.1. Benzo[d][1,3]dioksol-5-İl 4-asetamidobenzen-sülfonat (81):.....	47
4.4.2. Benzo[d][1,3]dioksol-5-İl 4-metilbenzen-sülfonat (82):.....	48
4.4.3. Benzo[d][1,3]dioksol-5-İl 3-(triflorometil)Benzen-sülfonat (83):	49
4.4.4. Benzo[d][1,3]dioksol-5-il 4-florobenzen-sülfonat (84):	50

4.5. Enzim Kinetiği Sonuçları	52
5. TARTIşMA ve SONUÇ	57
KAYNAKÇA	59
ZGEMİř	66



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

MW	Mikro dalga
Me	Metil
NEt ₃	Trietilamin
DCM	Diklorometan
SET	Singlet elektron transferi
EDA	Elektron d6n6r alıcı
Ts	Tosil
TEMED	N,N,N',N'-tetrametietilendiamin
Tris	Trihidroksimetil amino metan
R ₃ N	Tersiyer amin
DMF	Dimetilformamid
m-CPBA	Metaklorperbenzoikasit
THF	Tetrahidrofuran
EtOAc	Etilasetat
<i>J</i>	Etkileşim sabiti
NMR	N6kleer Manyetik Rezonans
HFIP	Hegzafloroizopropanol
TM	Geçiş metali
DIPEA	N,N-diizopropiletilamin
DMS	Dimetils6lfat
Pd(TFA) ₂	Palladyum(II)trifloroasetat
CyPF-tBu	Terb6til siklohegzil floro fosfan
hCA	İnsan karbonik anhidraz enzimi
I	İnhibit6r
IC ₅₀	Maksimum hızı yarıya d6ş6ren inhibit6r konsantrasyonu
M _A	Molek6l k6tlesi
PAGE	Poliakrilamid jel elektroforezi
SDS	Sodyum dodesil s6lfat
TEMED	N,N,N',N'-tetrametietilendiamin
Tris	Trihidroksimetil amino metan

ŞEKİL VE ÇİZELGELER DİZİNİ

Şekil 2. 1. Sülfonat esterlerin sentezi için geleneksel reaksiyon	2
Şekil 2. 2. Bazı sülfonil klorürler	2
Şekil 2. 3. Diariliyodonyum tuzlarından sülfonat esterlerin sentezi	2
Şekil 2. 4. Sülfonik asit ve alifatik alkollerden sülfonat esterlerin sentezi	3
Şekil 2. 5. Sülfonatlardan sülfonat esterlerin sentezi	3
Şekil 2. 6. Sülfonat esterlerin eldesi için önerilen mekanizma	4
Şekil 2. 7. Sülfonat esterlerin H_2O_2 - $POCl_3$ ile eldesi	4
Şekil 2. 8. Sülfonat esterlerin sentezinde yeni bir yöntem	5
Şekil 2.9. Diollerden sülfonat esterlerin regioselektif sentezi	5
Şekil 2. 10. Diollerden sülfonat esterlerin katalitik döngü	6
Şekil 2. 11. İyot benzen katalize sülfonat esterlerin sentezi	6
Şekil 2. 12. Bhatthula ve grubunun sülfonat esterlerin sentezi için geliştirdikleri yöntem	7
Şekil 2. 13. Sülfonat esterlerden alkin sentezi	8
Şekil 2. 14. Biyolojik açıdan önemli bazı sülfonat esterler	8
Şekil 2. 15. Sülfonat esterlerde sülfonamitlerin sentezi	9
Şekil 2. 16. Vinil sülfonların sentezi	9
Şekil 2. 17. Vinil sülfonların eldesi için önerilen reaksiyon mekanizması	10
Şekil 2. 18. İkincil nitroalkanların sentezi	10
Şekil 2. 19. Susam yağı lignanları	11
Şekil 2. 20. Sesamol (36)'nın doğal olarak eldesi	11
Şekil 2. 21. Sesamol (36) için sentez yöntemi	12
Şekil 2. 22. Sesamol (36)'nın Grignard bileşikleri üzerinden sentezi	12
Şekil 2. 23. Oksidasyon için mekanizma	12
Şekil 2. 24. Sesamol (36) 'nın eldesi için Xia ve grubu tarafından geliştirilen sentez yöntemi	13
Şekil 2. 25. Alkil sesamol türevleri	14
Şekil 2. 26. Sesamol (36)'dan ksantan esterlerin sentezi	14
Şekil 2. 27. Cicerfuran (45)'in sentezi	14
Şekil 2. 28. Cycloillicinone (46)'nin sentezi	15
Şekil 2. 29. Carpanon (48)'in sentezi	15
Şekil 2. 30. N-fenilpirazol (49)'un sentezi	15
Şekil 2. 31. Vialinin A (50) ve Vialinin B (51) 'in sentezi	16
Şekil 2. 32. Rhodamine B türevi 52'nin sentezi	16
Şekil 2. 33. TV-45070'in ilk sentezi	17
Şekil 2. 34. Benzofuran (57)'nin sentezi	18
Şekil 2. 35. Sesamol (36)'dan formaldehit ve furfuril amini kullanılarak benzoksazin sentezi	18
Şekil 2. 36. Sesamol (36)'dan yola çıkılarak Aza Friedel Crafts reaksiyonu üzerinden aminofenollerin sentezi	18
Şekil 2. 37. Sesasmol ve Türevlerinin nitro Alkenlerle Reaksiyonu	19
Şekil 2. 38. Kumarin tipi doğal ürünler olan Arnottin (I ve II)'nin sentezi	19

Şekil 2. 39. Alkil ve aril sübstitüe kumarinlerin sentezi	20
Şekil 2. 40. CA enziminin katalizlediği başlıca reaksiyon	21
Şekil 2. 41. α -karbonik anhidraz izoenzimleri ile katalize edilen reaksiyonlar	22
Şekil 2. 42. CO ₂ 'nin CA enzimine bağlanması ve katalitik döngü.....	23
Şekil 2. 43. CA inhibitörleri olarak eugenol türevleri	23
Şekil 2. 44. CA inhibitörleri olarak urasil türevleri	24
Şekil 2. 45. Karbonik anhidrazlarda metal iyon koordinasyonu (Supuran 2016).....	27
Şekil 2. 46. α -CA'ların katalitik (fizyolojik reaksiyon için), inhibisyon (çinko bağlayıcılarla) ve aktivasyon mekanizması (hCA I'in aktif bölgesindeki çinko ile etkileşen amino asitlerin numaralandırması) (Supuran 2016).	28
Şekil 2. 47. Çalışmanın amacı.....	31
Şekil 3. 48. Sülfonat ester 81 'in sentezi.....	33
Şekil 3. 49. Sülfonat ester 86 'nın sentezi.....	33
Şekil 3. 50. Sülfonat ester 81 'in 400 MHz ¹ H-NMR ve 100 MHz ¹³ C-NMR Spektrumu (CDCl ₃)	34
Şekil 3. 51. Sülfonat ester 82 'nin sentezi.....	35
Şekil 3. 52. Sülfonat ester 82 'nin 400 MHz ¹ H-NMR Spektrumu(CDCl ₃).....	35
Şekil 3. 53. Sülfonat ester 82 'nin 100 MHz ¹³ C-NMR Spektrumları (CDCl ₃).....	36
Şekil 3. 54. Sülfonat ester 83 'ün sentezi.....	36
Şekil 3. 55. Sülfonat ester 83 'ün 400 MHz ¹ H-NMR ve 100 MHz ¹³ C-NMR Spektrumu (CDCl ₃)	38
Şekil 3. 56. Sülfonat ester 84 'ün sentezi.....	39
Şekil 3. 57. Sülfonat ester 84 'ün 400 MHz ¹ H-NMR ve 100 MHz ¹³ C-NMR Spektrumu (CDCl ₃)	40
Şekil 3. 58. <i>p</i> -Nitrofenilasetatin <i>p</i> -nitrofenol olarak dönüştürme mekanizması (Verpoorte <i>et al.</i> 1967).....	44
Şekil 4. 59. Sülfonat ester 81 'in FTIR spektrumu	48
Şekil 4. 60. Sülfonat ester 82 'nin FTIR spektrumu	49
Şekil 4. 61. Sülfonat ester 83 'ün FTIR spektrumu	50
Şekil 4. 62. Sülfonat ester 84 'ün FTIR spektrumu	51
Şekil 4. 63. Sülfonat ester 81 'in hCA I ile IC ₅₀ grafiği.	52
Şekil 4. 64. Sülfonat ester 82 'nin hCA I ile IC ₅₀ grafiği.	52
Şekil 4. 65. Sülfonat ester 83 'ün hCA I ile IC ₅₀ grafiği.....	53
Şekil 4. 66. Sülfonat ester 84 'ün hCA I ile IC ₅₀ grafiği.....	53
Şekil 4. 67. Sülfonat ester 81 'in hCA II ile IC ₅₀ grafiği.	54
Şekil 4. 68. Sülfonat ester 82 'nin hCA II ile IC ₅₀ grafiği.	54
Şekil 4. 69. Sülfonat ester 83 'ün hCA II ile IC ₅₀ grafiği	55
Şekil 4. 70. Sülfonat ester 84 'ün hCA II ile IC ₅₀ grafiği	55
Şekil 4. 71. Test edilen sülfonat esterler ile hCA I ve II için elde edilen IC ₅₀ değerleri.	56

1.GİRİŞ

Sülfonat esterleri inorganik esterlerin bir sınıfıdır. Genellikle alkollerin sülfonil klorürler ile olan reaksiyonları sonucu oluşur. Bu reaksiyon sonucunda alkoller hem korunmuş hem de zor ayrılan bir grup olan -OH grubunu kolay ayrılan bir gruba dönüştürülmektedir.

Sülfonat esterleri karşımıza lösemi tedavisinde, nöroprotektif etkisi olan agonist olarak ilaçlarda, anti-HIV terapide, antiproliferatif antitümör etkiye sahip moleküllerde, monoaminooksidaz antibiyotik olarak ve karbonik anhidraz, asetilkolinesteraz ve bütirikolinesteraz enzimlerine inhibisyon etkisi gösteren moleküllerde yine karşımıza çıkmaktadır.

Sesamol, susam tohumlarında bulunan doğal bir fenol türevidir. Sesamol ve türevleri antioksidan, antikanser, hepatoprotektif, nöropsikofarmakolojik, antimutajenik, antihepatotoksik, antiinflamatuvar, antiaging, antiplatelet pek çok biyolojik aktiviteye sahiptir.

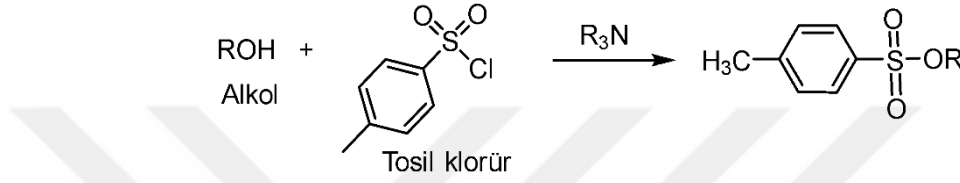
Karbonik anhidrazlar (CAs) CO₂'yi bikarbonata dönüşümlü olarak katalizleyen ve aktif bölgesinde Zn²⁺ içeren bir metaloenzimdir. Karbonik anhidraz izozimleri glokoma, diyabet gibi pek çok hastalığın tedavisinde terapötik olarak hedef enzimlerdir.

Tüm bu özellikler sebebiyle bu tez kapsamında sesamol temelli sülfonat esterlerin sentezi ve bunların karbonik anhidraz izoenzimlerinden CA I ve CA II üzerine inhibisyon etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir.

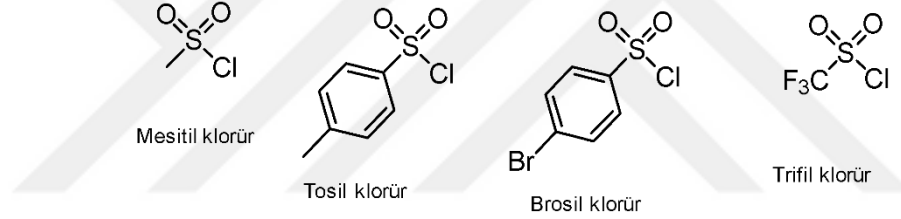
2. ALANYAZIN DERLEMESİ (LİTERATÜR)

2.1. Sülfonat Esterler

İnorganik esterlerin bir sınıfı olan sülfonat esterler geleneksel olarak bir alkolün bir sülfonil klorürle baz olarak üçüncül bir amin eşliğinde reaksiyonu sonucu elde edilir. Sıklıkla kullanılan sülfonil klorürler mesitil, tosil, brosil ve trifil sülfonil klorürlerdir.

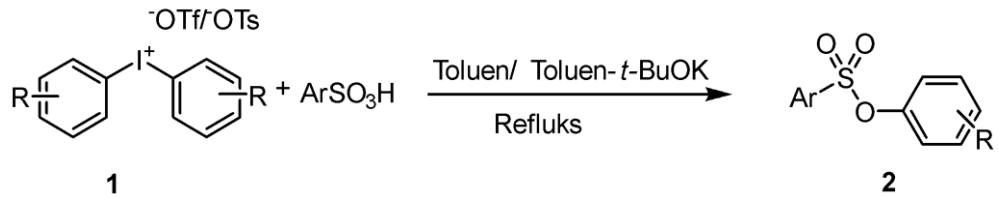


Şekil 2. 1. Sülfonat esterlerin sentezi için geleneksel reaksiyon



Şekil 2. 2. Bazı sülfonil klorürler

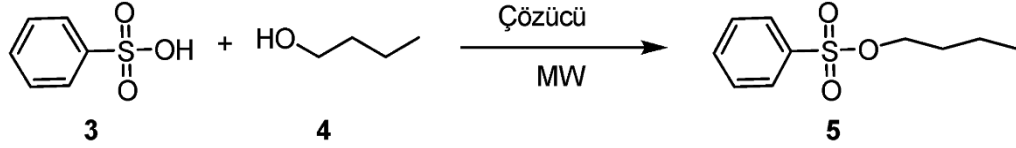
Geleneksel olarak kullanılan bu yöntemin haricinde sülfonat esterlerin sentezi için pek çok yöntem vardır. Örneğin Jalalian ve grubu diariliyodonyum tuzlarını kullanarak metal kullanmaksızın pek çok sülfonat ester sentezini gerçekleştirmişlerdir (Jalalian *et al.* 2012).



Şekil 2. 3. Diariliyodonyum tuzlarından sülfonat esterlerin sentezi

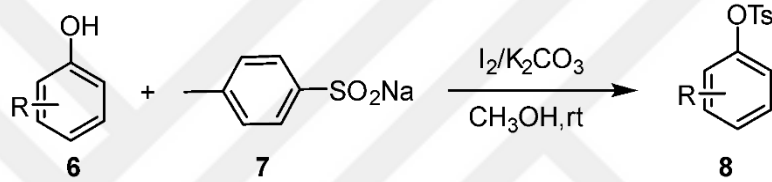
Bununla beraber Chandra ve grubu ise sülfonik asitlerin çeşitli çözücülerde alifatik alkollerle MW (mikro dalga) eşliğinde alkil aril sülfonatların sentezini

gerçekleştirmişlerdir. Reaksiyon metal ve halojen olmaksızın çevre dostu olması sebebi ile önemlidir (Chandra *et al.* 2017).



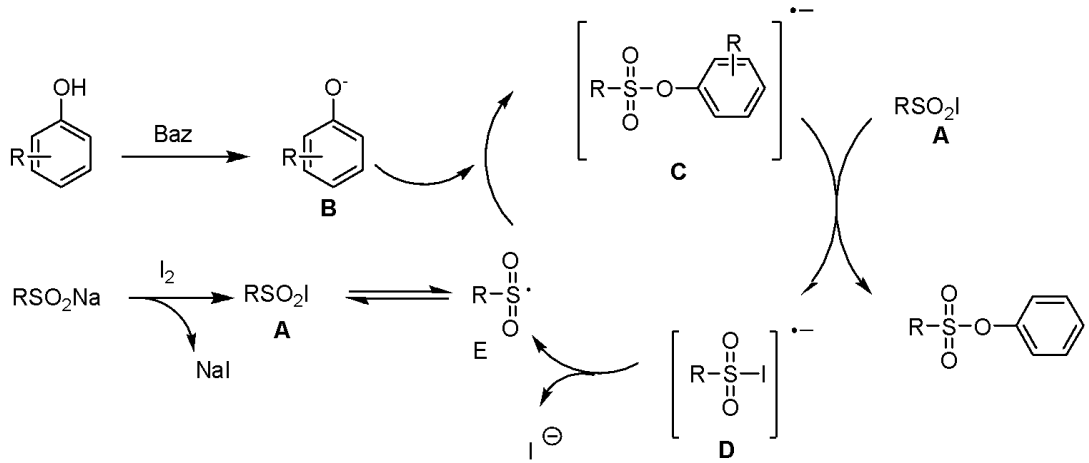
Şekil 2. 4. Sülfonik asit ve alifatik alkollerden sülfonat esterlerin sentezi

Gao ve çalışma arkadaşları ise sodyum sülfonat ve fenollerden metal kullanmaksızın iyot katalize, çevreci ve kolay bir yolla yüksek verimle sülfonat esterlerin sentezini gerçekleştirmişlerdir (Gao *et al.* 2015).



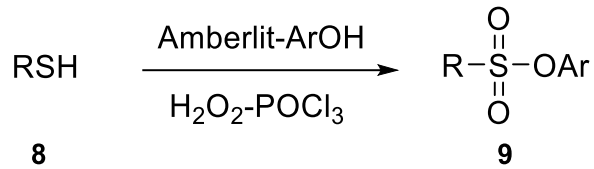
Şekil 2. 5. Sülfinatlardan sülfonat esterlerin sentezi

Gao elde edilen sülfonat esterler için aşağıdaki mekanizmayı önermişlerdir. Sodyum sülfonat ilk olarak iyot ile reaksiyona girerek sülfonil radikali (E)'yi vermek üzere kolayca homolize olarak sülfonil iyodür (A) oluşturur. Bununla beraber fenoller alkali ortamda ariloksi anyonu (B)'ye dönüştürülür. Sonra ariloksi anyon B, E radikali ile birleştirilerek radikal anyon C'yi oluşturur. Radikal anyon C ise A ile tepkimeye girerek D radikal anyonu ile birlikte istenen sülfonat ester oluşur. Radikal anyon D ise bir sonraki döngü için radikal E'yi oluşturur.



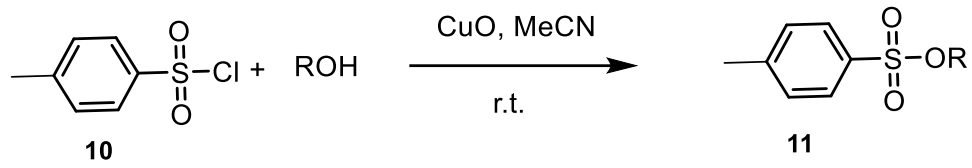
Şekil 2. 6. Sülfonat esterlerin eldesi için önerilen mekanizma

Bununla beraber Bahrami *et al* (2012) ise tiyollerden amberlit varlığında H_2O_2 ve $POCl_3$ kullanılarak $25^\circ C$ ’ de sülfonat esterleri sentezlenmişlerdir. Aromatik halkada elektron sağlayıcı ve çekici grupların varlığında reaksiyonlar incelenmiş ve kısa süreli olan reaksiyonların elektron çekiçi gruplar olduğu zaman, reaksiyonun daha uzun süreli olarak gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Hem anilinin hem de fenolün aynı ortamda olduğu reaksiyonlarda sadece fenolün reaksiyona girerek sülfonat esterlerinin elde edildiğini ve amino fenol yapısındaki moleküllerde oksijen üzerinden gerçekleşen reaksiyon ile sülfonat esterlerin elde edileceğini ve kullanılan bu sistemin sülfonilasyon reaksiyonlarında bu özelliği ile önemli olduğunu ortaya koymuşlardır.



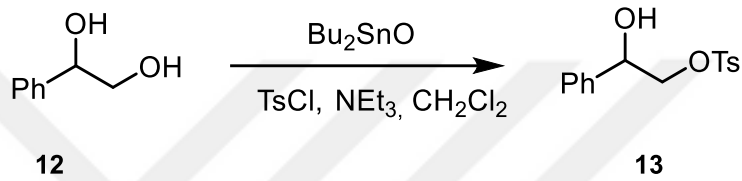
Şekil 2. 7. Sülfonat esterlerin H_2O_2 - $POCl_3$ ile eldesi

Meshram ve Patil (2009), CuO katalizörlüğünde sülfonat esterlerin sentezi için etkin (düşük maliyetli ve kolay kullanımlı bir katalizör eşliğinde) bir yol geliştirmişlerdir.



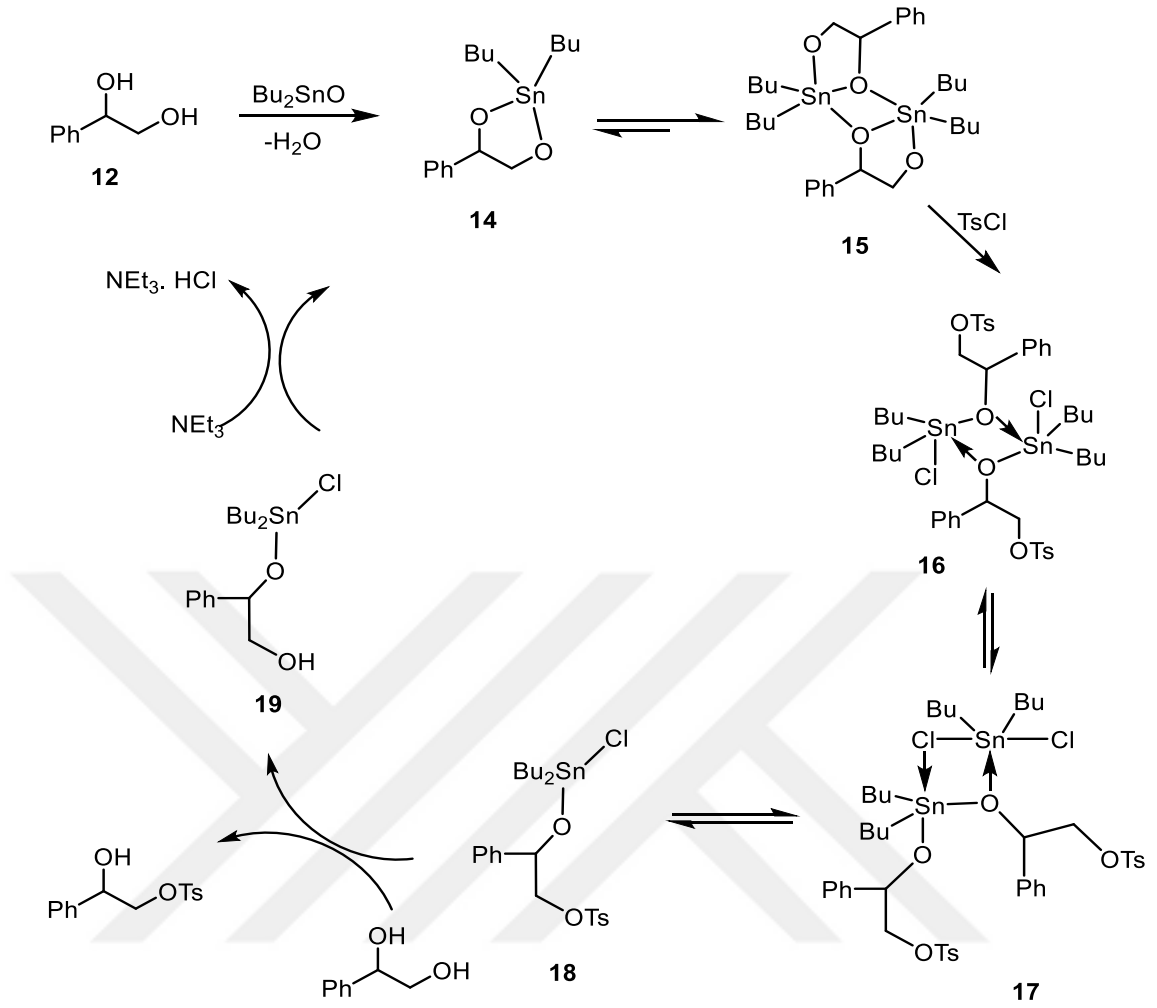
Şekil 2. 8. Sülfonat esterlerin sentezinde yeni bir yöntem

Ayrıca asetal oluşturabilecek dioller %2 mol Bu₂SnO katalizörlüğünde regioselektif olarak TsCl ve NEt₃ eşliğinde sülfonat esterlere dönüştürülmüşlerdir. Reaksiyon katalizörlü ve katalizörsüz gerçekleştirildiğinde katalizörsüz halde seçici olmadığı ve reaksiyon süresinin uzadığı gözlemlenmiştir (Martinelli *et al.* 2002).



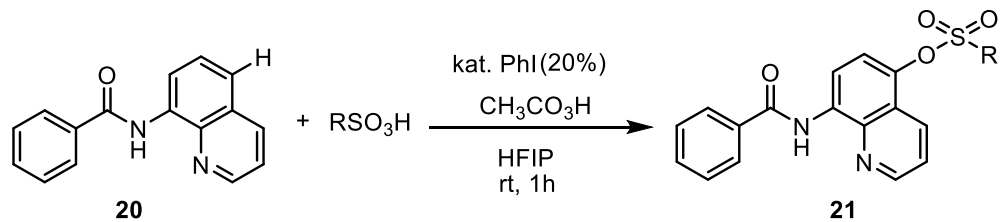
Şekil 2.9. Diollerden sülfonat esterlerin regioselektif sentezi

Reaksiyon için önerilen katalik döngü ise şu şekilde açıklanmıştır. Diolün Bu₂SnO ile reaksiyonu, bir dimerik tür **15** ile dengede olan kalay asetal **14**'ü in situ olarak oluşturur. P-TsCl ile sülfonilasyon, ara ürünler **16** ve **17**'nin oluşumuna yol açar. NEt₃, **18**'in oluşumu için dimerik yapıları parçalar. Tosilat **18**'in diolün başka bir molekülü etkilemesi ara ürün **19**'un oluşumuna sebep olacaktır. Trietilamin daha sonra kalay asetal (**14**)'ü yeniden oluşturmak ve katalitik döngüyü tamamlamak için HCl tutmaktadır.



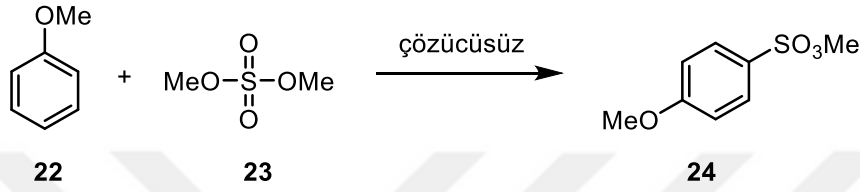
Şekil 2. 10. Diollerden sülfonat esterlerin katalitik döngü

Yine Shen ve grubu ise iyot benzen katalize aminokinolin sülfonat esterlerin sentezini gerçekleştirmişlerdir. Sentez yöntemi hem sülfonat esterlerin eldesi için hem de reaksiyonların kinolin 5 pozisyonunda gerçekleşmesi açısından önemlidir. Reaksiyonun geçiş metalleri olmaksızın gerçekleştirilmesi de ayrıca bir avantaj olarak karşımıza çıkmaktadır (Shen *et al.* 2017).



Şekil 2. 11. İyot benzen katalize sülfonat esterlerin sentezi

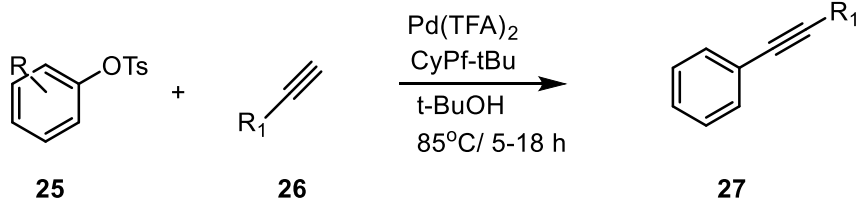
Bhatthula ve grubu tarafından alkoksi sülfonilasyon reaktifleri olarak DMS ve DES kullanılarak aril ve heteroaril sülfonik esterlerin doğrudan sentezi için etkili ve basit bir yaklaşım geliştirilmiştir. Reaksiyonun basit ve ölçeklenebilir olması, düşük maliyetli, kolay ve geniş bir substrat yelpazesinde gerçekleştirilebilmesi, çözücü, pahalı katalizörler, baz, ligand katkı maddeleri veya diğer reaktifler gerektirmemesi gibi avantajlarının bulunması bu yöntemin önemli özellikleri arasındadır (Bhatthula *et al.* 2020).



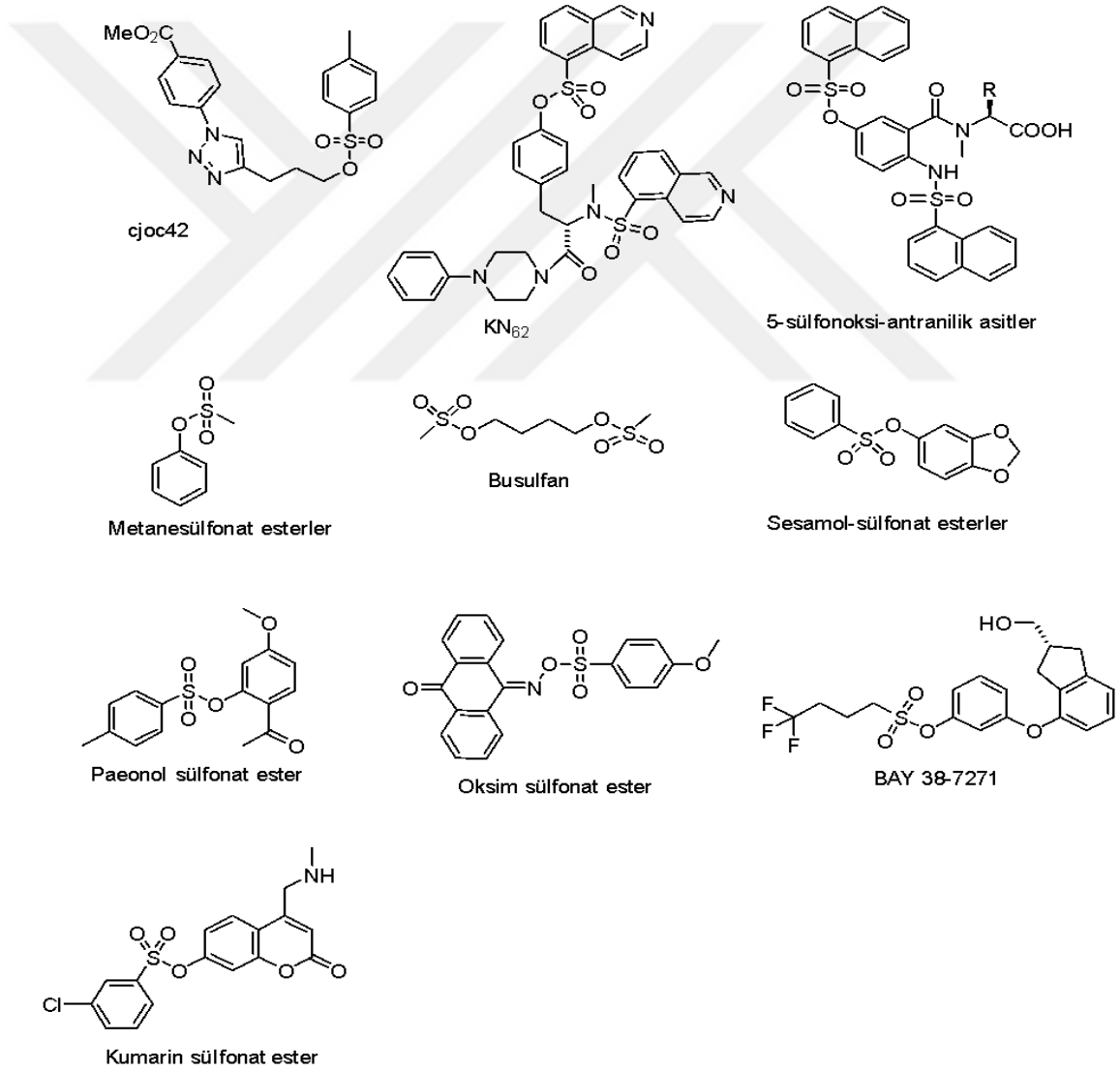
Şekil 2. 12. Bhatthula ve grubunun sülfonat esterlerin sentezi için geliştirdikleri yöntem

Pek çok değişik yöntemle elde edilen sülfonat esterler önemli biyolojik aktiviteye de sahiptirler. Örneğin cJoc42 ve türevleri, birçok kanser türünde anahtar rol oynayan onko-protein Gankrin'i bağlayarak anti-kanser aktivitesine sahip moleküllerdir (Kanabar *et al.* 2020, Chattopadhyay *et al.* 2016). Ayrıca KN62, antitümör özelliklere sahip bir sülfonat esterdir. Bununla beraber kumarin sülfonat ester monoamin oksidaz inhibitörüdür (Gao *et al.* 2015). Bazı metan sülfonatlar karbonik anhidraz ve kolinesteraz inhibitörleridir (Kazancıoğlu *et al.* 2012, Zilbeyaz *et al.* 2018). 5-sülfonoksi antralik asit türevleri, antibakteriyel ajan olarak yeni bileşiklerin keşfi ve geliştirilmesi için çok önemli olan Mur A enzim inhibisyonunu göstermiştir (Helal *et al.* 2019). Busulfan ise kemoterapide kullanılan bir ilaçtır (Pishnamazi *et al.* 2020). Oksim sülfonat ester lösemi hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite ve tübülün polimerizasyonunun güçlü inhibitörleridir. Paeneol sülfonat ester ise anti HIV tedavi için kullanılabilecek öncü bir bileşiktir (Chandra *et al.* 2017). BAY 38-7271 nöroprotektif etkisi olan ve agonist olarak kullanılan bir ilaçtır. Böcek öldürücü özelliklere sahip bazı sesamol bazlı sülfonat esterler de, geleneksel yöntemle elde edilen örnekler arasındadır (Che Zhi-Ping *et al.* 2020). (Şekil 2.14)

Bununla beraber sülfonat esterler, organik kimyacılar için anahtar ara üründür. Örneğin croos-coupling reaksiyonlarında R'kyek ve grubu Sonogashira reaksiyonu ile sülfonat esterleri kullanarak pek çok arıl türevini %60-90 arasında verim ile sentezlemiştir (R'kyek *et al.* 2010).

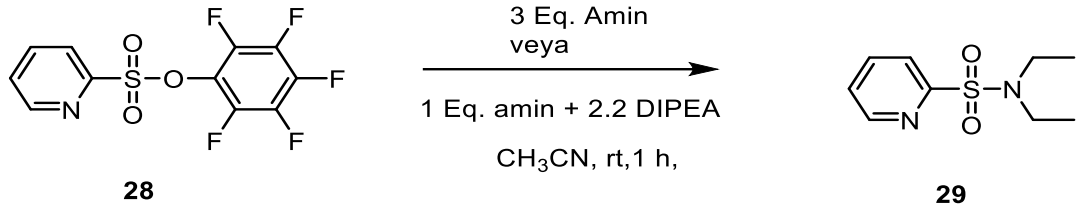


Şekil 2. 13. Sülfonat esterlerden alkin sentezi



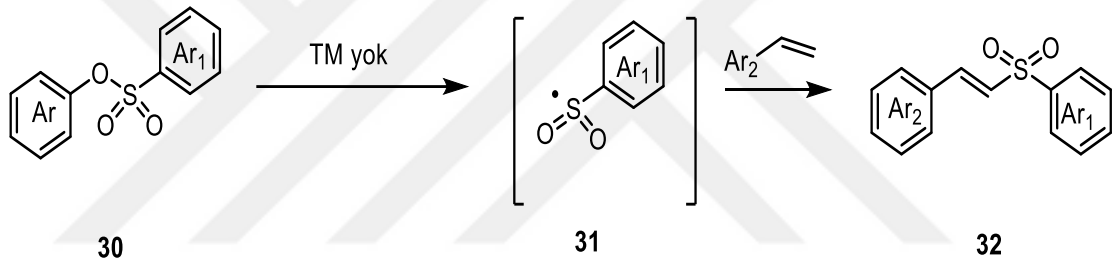
Şekil 2. 14. Biyolojik açıdan önemli bazı sülfonat esterler

Bununla beraber antibakteriyel ajan olarak kullanılan sentetik antibiyotik olan sülfonamid sentezinde sülfonat esterler Bornhold ve grubu tarafından başarılı bir şekilde kullanılmıştır (Bornholdt *et al.* 2009).



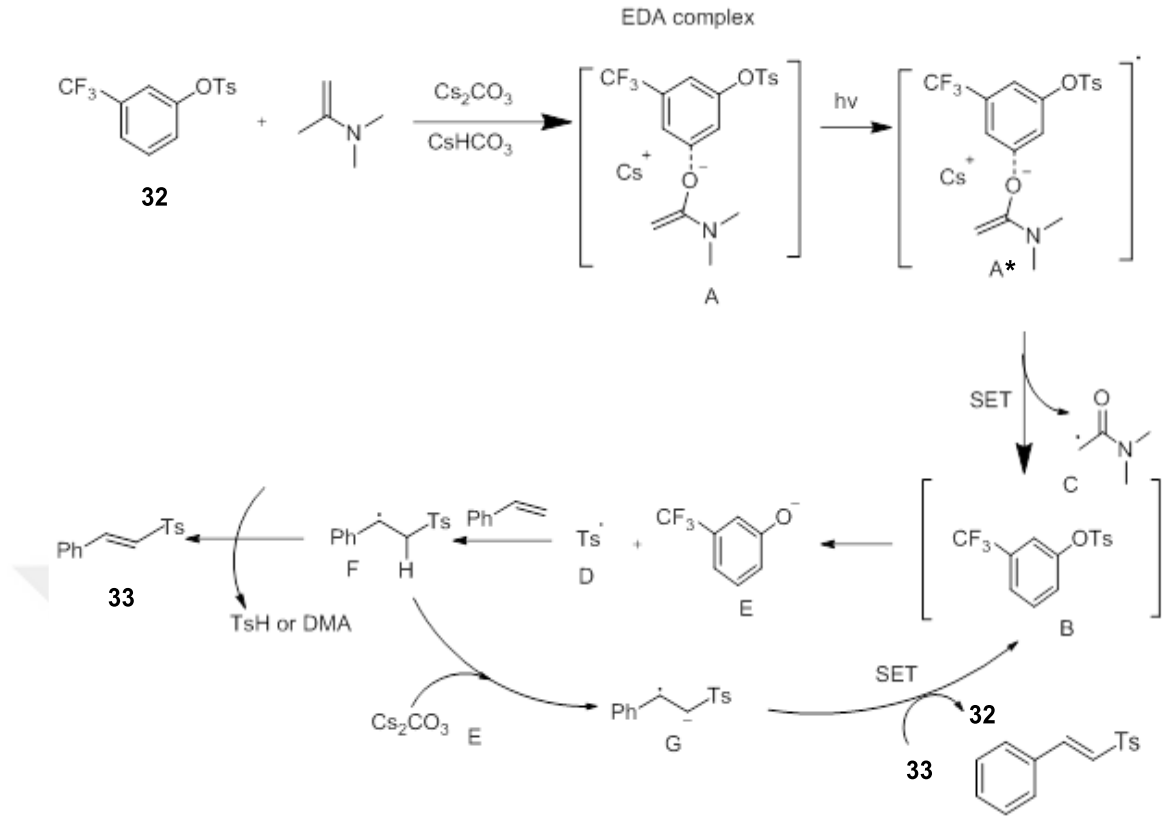
Şekil 2. 15. Sülfonat esterlerde sülfonamidlerin sentezi

Ayrıca Ratushnyy ve çalışma grubu ara ürün sülfonil radikalleri üzerinden S-O bağınyı yarılması ile medisinale açıdan önemli pek çok vinil sülfonların sentezini gerçekleştirmişlerdir (Ratushnyy *et al.* 2018).



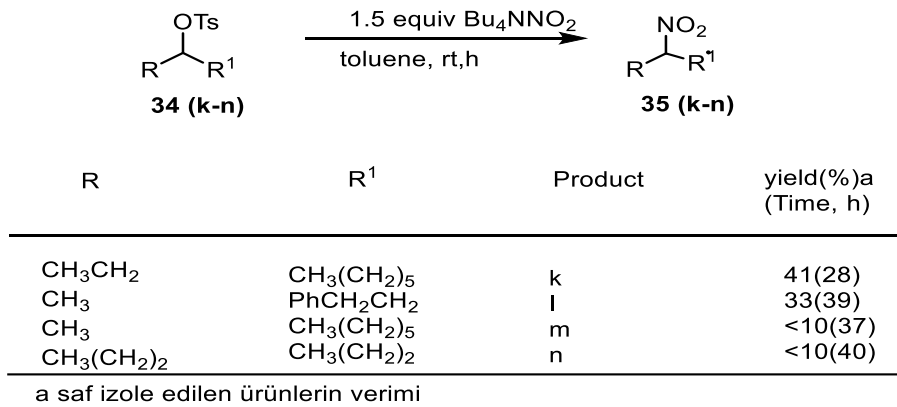
Şekil 2. 16. Vinil sülfonların sentezi

Vinil sülfonların oluşumu için ise aşağıdaki mekanizmayı önermişlerdir. İlk önce fenol ester **33** ve bir DMA molekülü arasındaki reaksiyon EDA (elektron döner alıcı) kompleksi A oluşur. Uyarılmış kompleks A* tek elektron transferi ile sülfonil radikali D ve fenoksit E ye dönüşecek olan radikal anyon B'yi oluşturur. Sülfonil radikali D'nin stirene katılması ile benzil radikali F oluşur. Daha sonra D veya C radikallerinden biri intermoleküler hidrojen atom transferi ile 3a'nın oluşumuna sebep olurlar. Ayrıca alternatif diğer bir yolda ise benzil radikali F'nin deprotonasyonu katalitik döngüyü tamamlayan anyon radikal G'yi oluşturur. Daha sonra radikal anyon G, **33** üzerinden intermoleküler SET ile **32** ürününü ile katalitik döngüde radikal anyon B oluşur.



Şekil 2. 17. Vinil sülfonların eldesi için önerilen reaksiyon mekanizması

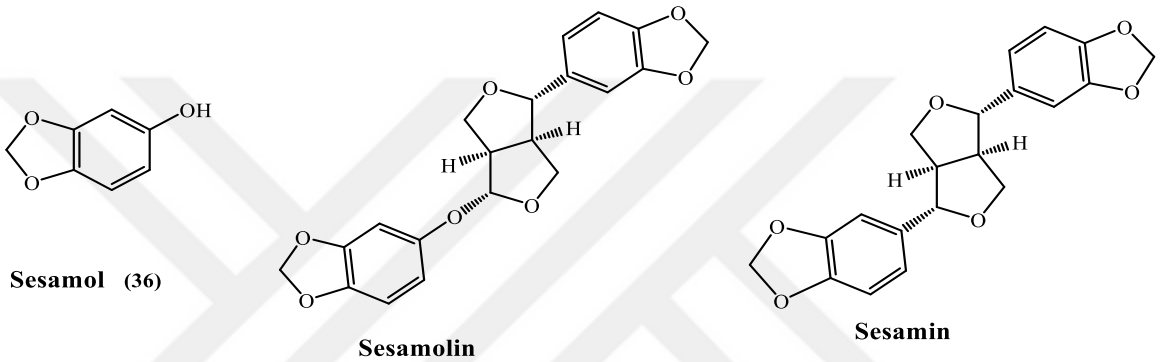
Palmieri ve çalışma arkadaşları tosilatlar ve mesilatları tetrabutylamonyumnitrit (TBAN) ile muamele ederek ılımlı şartlar altında kolay ve doğrudan boya, plastik, parfüm, farmasötik ve doğal ürün açısından önemli olan nitroalkanların pek çok türevini sentezlemişlerdir (Palmieri *et al.* 2013).



Şekil 2. 18. İkincil nitroalkanların sentezi

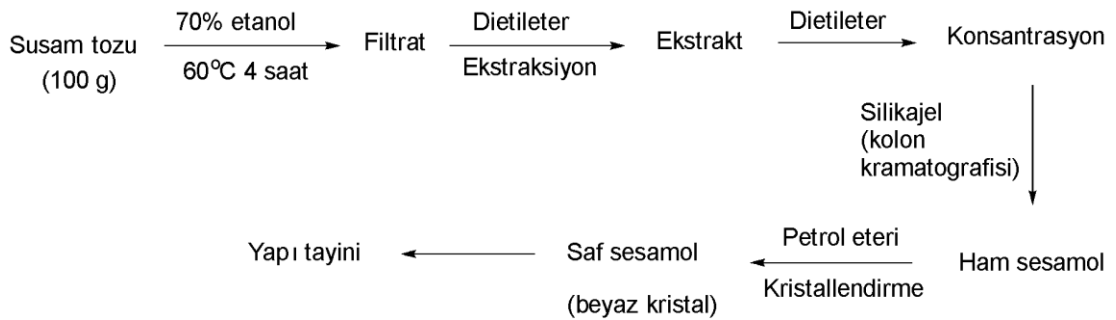
2.2. Sesamol ve Önemi

Susam yağının bir bileşeni olan Sesamol (3,4-metilendioksifenol) (36) fenolik doğal bir üründür (Chen *et al.* 2015). Susam yağı gıdadan kozmetiğe, farmasotikten kimya endüstrilerine kadar geniş bir yelpazede kullanım alanına sahiptir (Constantin *et al.* 2012). Susam yağı tokoferol, fitosteroller ve sesamin, sesamol ve sesemolin lignanları açısından oldukça zengindir (Ji *et al.* 2018). Sesamol termal olarak kararlı bir bileşik olup yüksek sıcaklıkta ve nem mevcudiyetinde sesamolin yağının işlenmesi (kavurma ve renk giderme) sırasında oluşur (Yashaswini *et al.* 2017).



Şekil 2. 19. Susam yağı lignanları

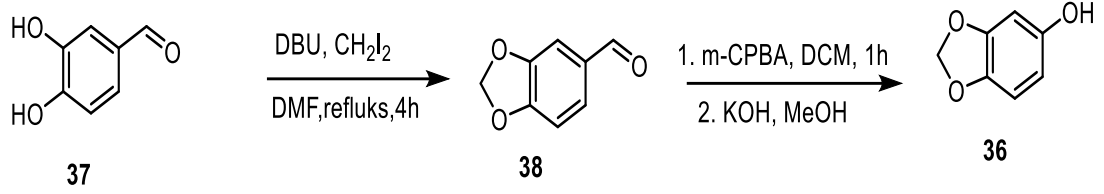
Doğal olarak elde edilen sesamol sentetik olarak elde edilebilir. Örneğin Zhou ve grubu susamdan ekstraksiyon ve kolon kromatografisini kullanarak sesamol (36)'yı doğal kaynağından elde etmişlerdir (Zhoua *et al.* 2021).



Şekil 2. 20. Sesamol (36)'nın doğal olarak eldesi

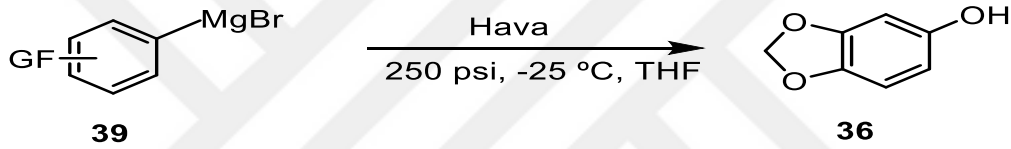
Gangar ve grubu ise sesamol (36)'yı sentetik olarak elde etmişlerdir. Reaksiyon piperonal (37)'nin DBU eşliğinde CH_2I_2 ile dioksol 38'e dönüşümünü ve

Beayer Villiger oksidasyonunu takip eden hidroliz ile sesamol (36)'nın sentezi gerçekleştirilmiştir (Gangar et al. 2016).



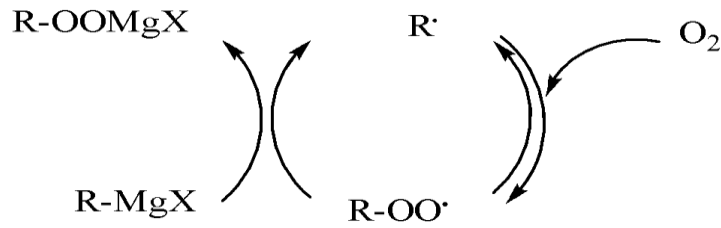
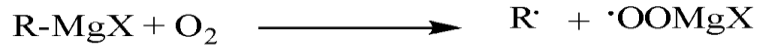
Şekil 2. 21. Sesamol (36) için sentez yöntemi.

He ve Jamison ise aerobik oksidasyonu ile Grignard bileşikleri üzerinden Sesamol (9)'un sentezini %57 verimle gerçekleştirmişlerdir (He and Jamison 2014).

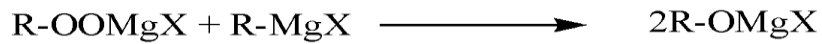


Şekil 2. 22. Sesamol (36)'nın Grignard bileşikleri üzerinden sentezi

Oksidasyon Basamağı



Metatez Basamağı

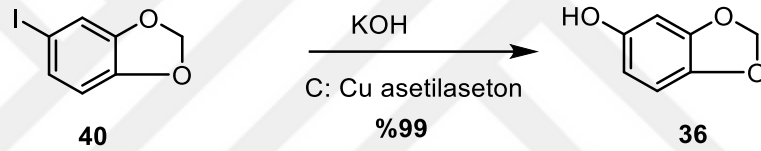


Şekil 2. 23. Oksidasyon için mekanizma

Mekanizma olarak radikal zincir prosesi üzerinden iki basamaklı bir reaksiyon üzerinden gerçekleştiğini önermişlerdir. Başlangıçta alkil veya aril magnezyum türleri

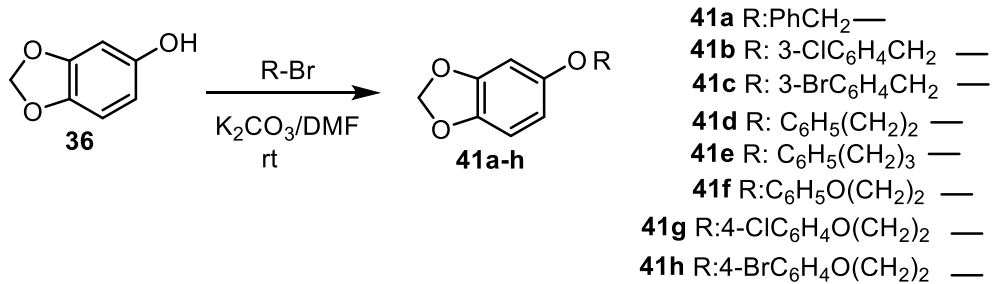
moleküler oksijen ile etkileşerek alkil veya aril radikallerinin oluşumu gerçekleşmektedir. Oluşan radikal bir organoperoksit radikali oluşturmak üzere ikinci bir moleküler oksijen tarafından yakalanır. Organoperoksit radikali de ikinci bir Grignard bileşiği ile reaksiyona girer ve organoperoksit magnezyum tuzunu oluşturur. Oluşan bu tuzlarda alkoksit veya fenoksitleri oluşturmak üzere Grignard bileşiği ile etkileşir.

Xia ve grubu ise pek çok açıdan önemli olan fenolleri aril ve heteroaril halojenürlerde bakır katalize hidroksilasyon ile ılımlı şartlar altında elde etmiştir bu reaksiyonlarında aşağıda gösterilen dioksol içeren halobenzenler (**40**) üzerinden sesamolün sentezini gerçekleştirmiştir. Özellikle halojenin brom ve iyot olması durumunda reaksiyon %99 verim ile gerçekleştirilmiştir (Xia *et al.* 2016).



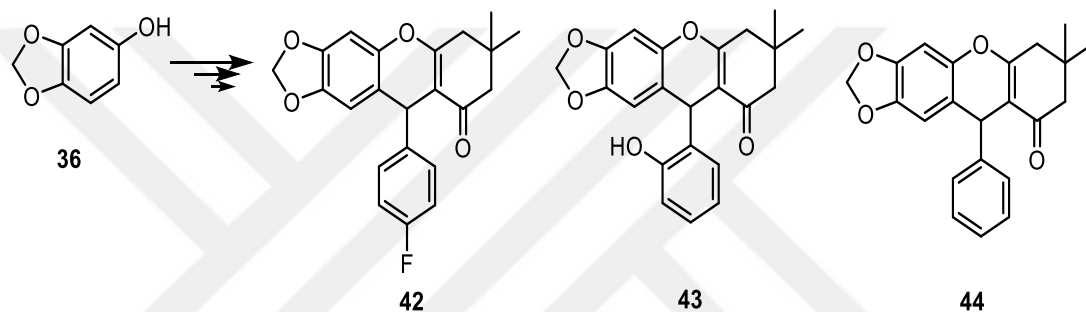
Şekil 2. 24. Sesamol (**36**) 'nın eldesi için Xia ve grubu tarafından geliştirilen sentez yöntemi

Sesamol (**36**) antioksidan, anti kanser, hepatoprotektif, nöropsikofarmakolojik gibi pek çok biyolojik aktiviteye sahiptir (Constantin *et al.* 2012). Bunlara ilaveten antimutagenik, antihepatotoksik, anti-inflamatuvar, antiaging ve antiplatelet özelliklere de sahiptir (Chen *et al.* 2015). Tüm bu özellikler sesamol ve türevlerinin sentezi ve biyolojik olarak incelenmesi anlamında araştırmacıların oldukça dikkatini çekmiştir. Örneğin Engelbrecht ve grubu ise bazı benzodioksan türevleri ile beraber aşağıda verilen sesamol türevleri **41a-h**'yi sentezleyerek bunların psikiyatrik ve nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde hedef enzim olan MAO (Monoamin oksidaz) üzerine inhibisyon etkilerini incelemişlerdir (Engelbrecht *et al.* 2015).



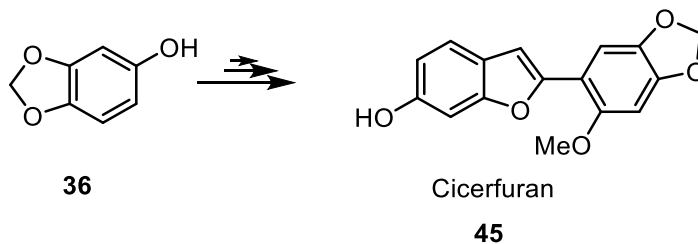
Şekil 2. 25. Alkil sesamol türevleri

Silva ve grubu antikanser aktivite gösteren ksantinon türevleri **42-44**'ü sesamol (**36**)'dan yola çıkarak sentezlemişlerdir (Silva *et al.* 2014).



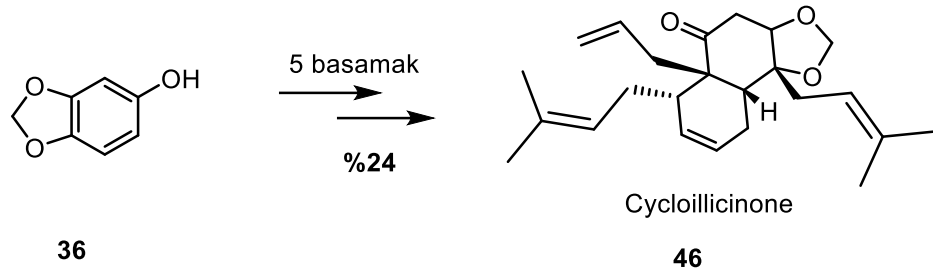
Şekil 2. 26. Sesamol (**36**)'dan ksantan esterlerin sentezi

Bununla beraber bazı doğal bileşiklerin sentezinde sesamol uygun çıkış molekülü olarak kullanılmaktadır. Örneğin antifungal etkiye sahip ve *cicer bijugum*'dan izole edilen Cicerfuran (**45**) sesamol (**36**)'dan yola çıkılarak sentezlenmiştir (Damodar *et al.* 2016).



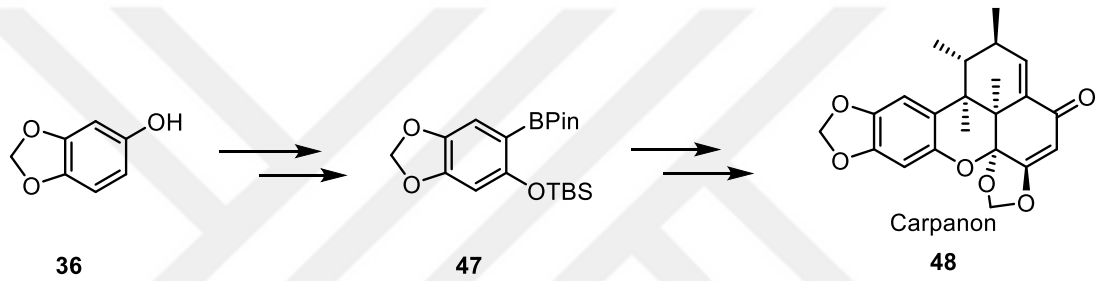
Şekil 2. 27. Cicerfuran (**45**)'in sentezi

Anti tümör aktivitesi ile bilinen ve fitoquinoid sınıfına ait olan Cycloillicinone (**46**) Wateh ve arkadaşları tarafından sesamol (**36**)'dan yola çıkılarak sentezlenmiştir (Wateh *et al.* 2015).



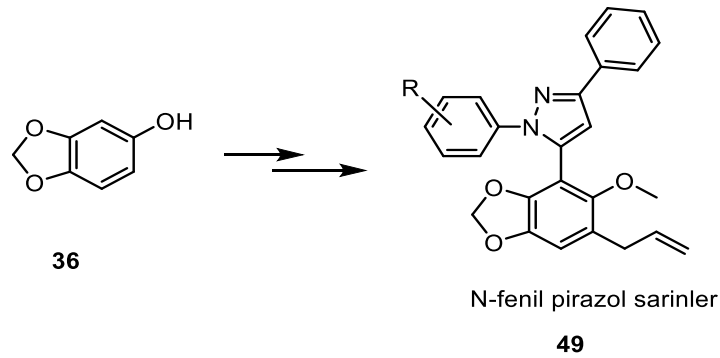
Şekil 2. 28. Cycloillicinone (46)'nın sentezi

Beş bitişik stereojenik merkez içeren carpanone (48), Bougainville Adası'nda bulunan carpano ağacının kabuğundan rasemik olarak izole edilen, heksasiklik bir lignandır. Carpanon (48) ise 6 basamakta stereoselektif olarak sesamolden yola çıkılarak sentezlenmiştir (Liron *et al.* 2009).



Şekil 2. 29. Carpanon (48)'in sentezi

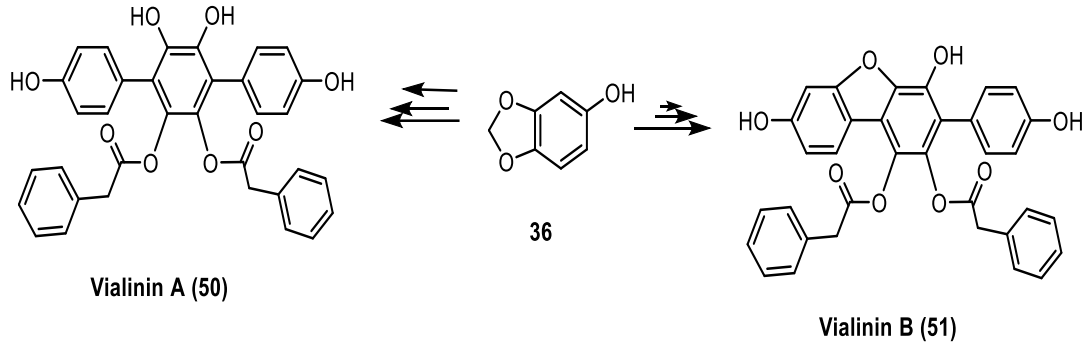
Antiseptik, antimikrobiyal, psifarmakolojik activiteye sahip Sarisan'ın N-fenilpirazol (49) türevleride yine sesamolden yola çıkılarak sentezlenmiştir (Qu *et al.* 2015).



Şekil 2. 30. N-fenilpirazol (49)'un sentezi

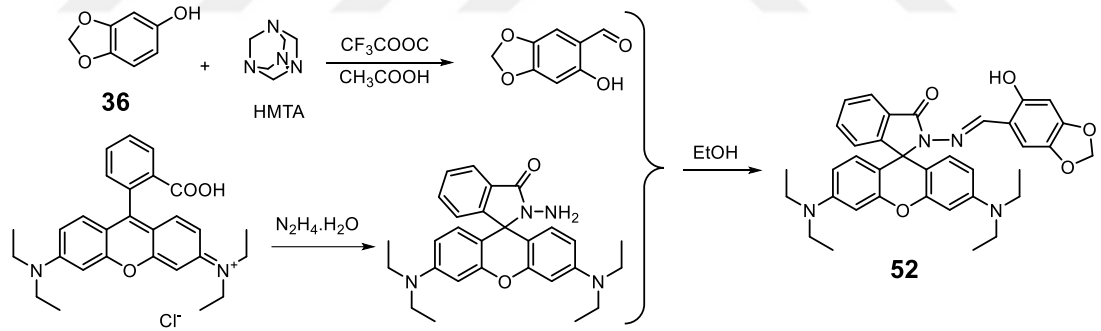
Thelephora Vialis kuru meyvesinden izole edilen Vialinin A (50) ise sesamol (36)'dan 11 basamakta sentezlenmiş bir doğal üründür. TNF- α üretimini inhibe ettiğini ve bu yüzden bu tür maddelerin anti alerjik ajan olarak aday olabileceği vurgulanmıştır

(Ye *et al.* 2007). Aynı grup dibenzofuran analogu olan Vialinin B(**51**)’i sesamol (**36**)’dan yola çıkarak sentezlemişlerdir (Ye *et al.* 2009).



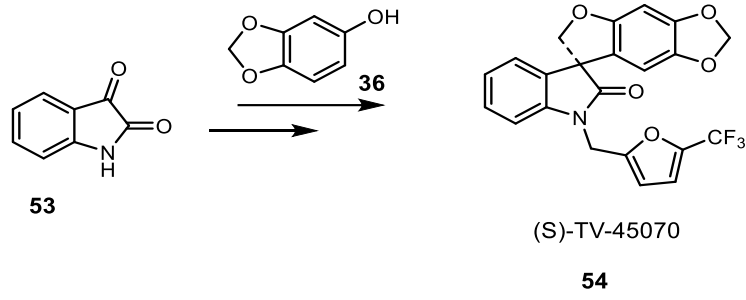
Şekil 2. 31. Vialinin A (**50**) ve Vialinin B (**51**) ‘in sentezi

Sesamol ve türevleri biyolojik aktif moleküller, doğal ürünlerin sentezinde başlangıç molekülü olmasının yanı sıra çeşitli reaksiyonlarda bir reaktif olarak ta karşımıza çıkmaktadır. Örneğin Zhang *et al.* (2016) Cu^{2+} ’nın belirlenmesi için floresans sensör olarak rhodamine B türevi **52**’yi sesamol’ü kullanarak sentezlemiştir. Elde ettikleri bu sensörün daha seçici ve duyarlı olduğunu belirtmişlerdir.



Şekil 2. 32. Rhodamine B türevi **52**’nin sentezi

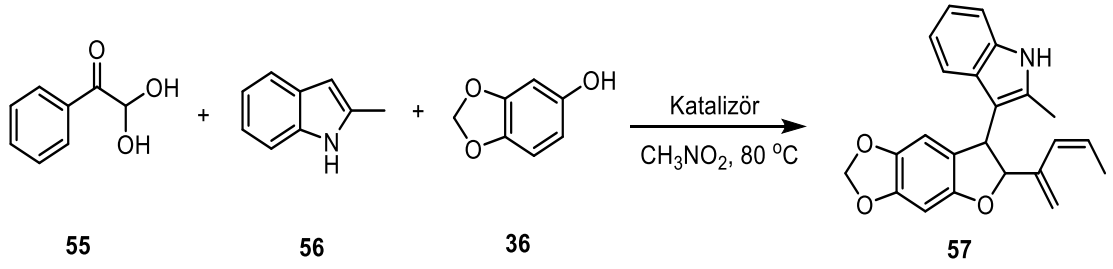
Yine Sclafani ve grubu tarafından yapılan çalışmada, bir antagonist olan TV-45070’in ilk asimetrik sentezinde sesamol (**36**)’nın reaktif olarak kullanıldığı bir başka örnektir (Sclafani *et al.* 2017).



Şekil 2. 33. TV-45070'in ilk sentezi

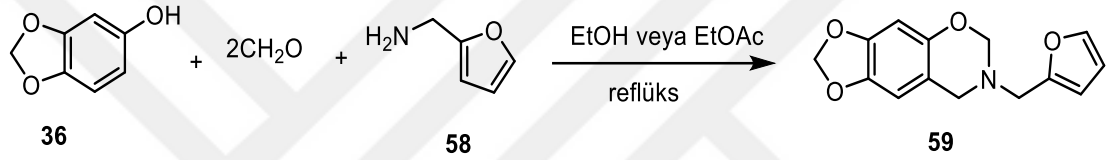
Yine Sesamol (36)'nın eliza testinde horseradish peroksidaz enziminin substratı olduğu Arakawa *et al.* tarafından belirtilmiştir (Arakawa *et al.* 2012). Shenoy *et al.* ise sesamol (36)'nın yaraların iyileşmesinde etkin olduğu ve bu anlamda umut verici bir ilaç olabileceğini belirtmişlerdir (Shenoy *et al.* 2011). Khamphio *et al.* yüksek konsantrasyonlardaki sesamol (36)'nın prooksidan özelliği ile kanser hücrelerinde mitokondrial apoptose tetiklediğini ifade etmişlerdir (Khamphio *et al.* 2016). Bununla beraber Sesamol diğer bitkisel yağlardan oksidatif bozulmaya karşı daha dirençlidir. Sıçan beyininde UV- ve Fe³⁺ / askorbatın neden olduğu lipid peroksidasyonunu engeller. Sesamol, demir iyonlarını indirgediği gibi hem sulu hem de yağlı fazlardaki çözünürlüğünü engellemesi demir iyonlarının hücre zarlarında yerel konsantrasyonunu artmasına sebep olur. Bu durum demir iyonlarını zincir kırıcı antioksidan hale getirir. Sesamol, hidroksil ve lipid peroksil radikallerini söndürücü (yakalar) etki gösterir ve radyasyona bağlı deoksiriboz bozulmasını azaltır. Aynı zamanda, γ -radyasyonla tek iplikli DNA kopmalarının oluşumunu da engeller. Ayrıca sesamolün, neoplazi ve mutajenez oluşumunda birkaç aşamayı inhibe ettiği gösterilmiştir (Chopra *et al.* 2010).

Sesamol reagent olduğu bir başka çalışmada, üç bileşenli tek kap reaksiyonu ile farklı katalizörler eşliğinde pek çok benzofuran sentezi (Cheng *et al.* 2015) tarafından gerçekleştirilmiştir.



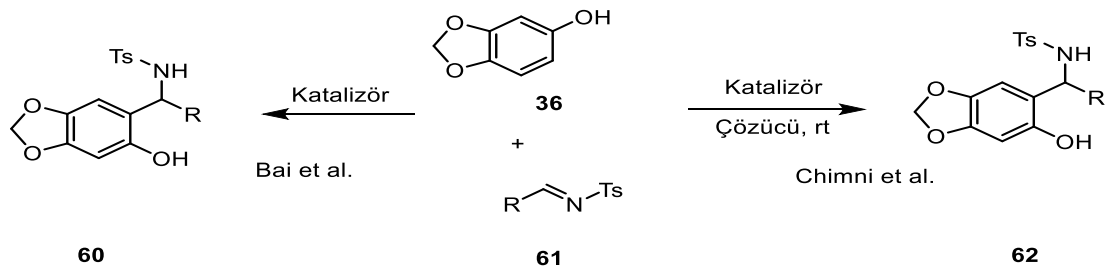
Şekil 2. 34. Benzofuran (57)'nin sentezi

Yine Salum ve arkadaşları sesamol formaldehit ve furfuril amini kullanarak hem benzoksazini sentezlemişler hem de polimerizasyonunu incelemişlerdir. Doğal ürünlerin de kullanılarak son teknolojik ürünlerin çevreci şartlar eşliğinde sentezlenebileceğini göstermişlerdir (Salum *et al.* 2018).



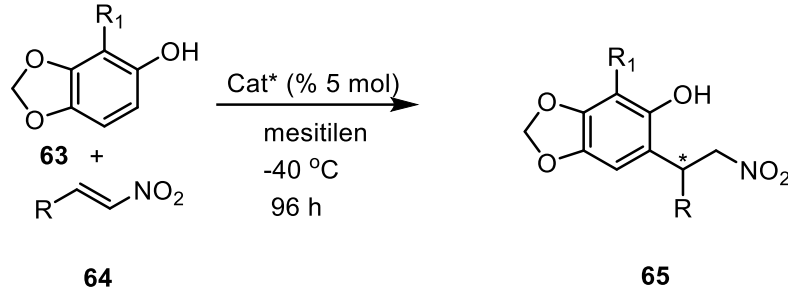
Şekil 2. 35. Sesamol (36)'dan formaldehit ve furfuril amini kullanılarak benzoksazin sentezi

Bununla beraber Sesamol Friedel Crafts reaksiyonlarında naftoller ve fenollerle karşılaştırıldığında daha iyi bir nükleofilik gösterdiği bilinmektedir (Chang *et al.* 2016). Örneğin Chauhan ve Chimni (2013) Aza Friedel Crafts reaksiyonu üzerinden 6'-OH Cinchona alkaloidleri katalizörlüğünde ve Bai *et al.* (2014) ise N,N dioksit skandinyum (III) katalize asimetrik aminofenollerin sentezinde de yine sesamol önemli bir reagent olarak karşımıza çıkmaktadır.



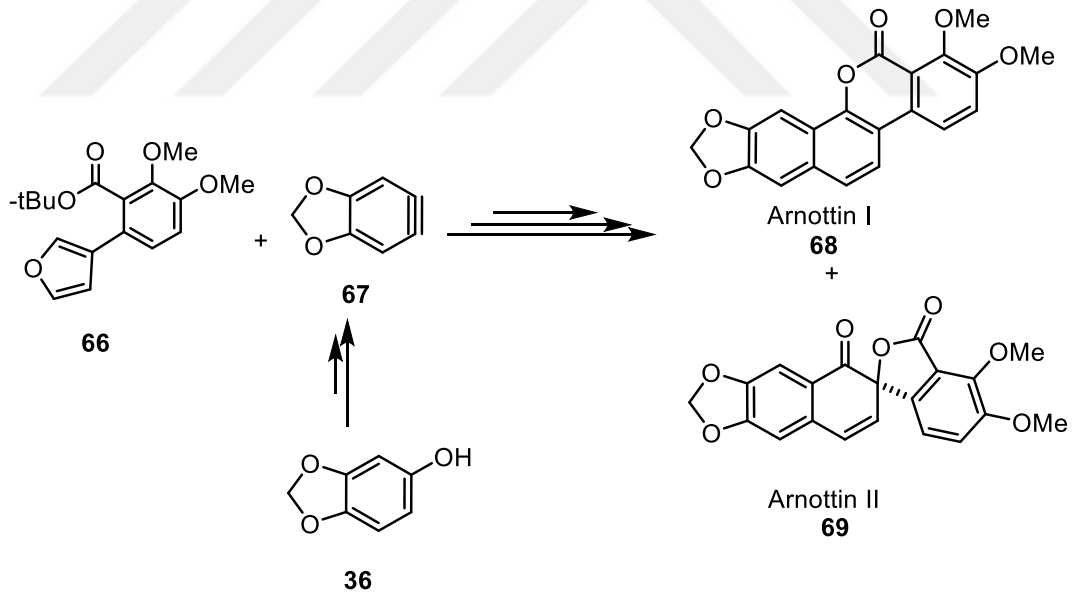
Şekil 2. 36. Sesamol (36)'dan yola çıkılarak Aza Friedel Crafts reaksiyonu üzerinden aminofenollerin sentezi

Yine (Zhang *et al.* 2016) sesamol ve 2 sübtitüe sesamol türevlerinin çeşitli nitro alkenlerle kiral tiyoüre-tersiyer amin katalizörleri eşliğinde asimetrik friedel crafts reaksiyonlarını % 90'lara varan *ee* 'lerle gerçekleştirmişlerdir.



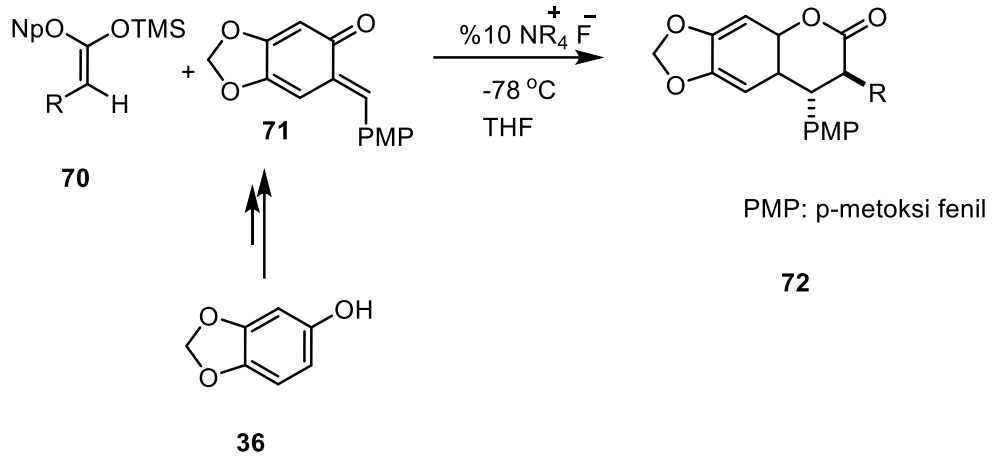
Şekil 2. 37. Sesamol ve Türevlerinin nitro Alkenlerle Reaksiyonu

Bununa beraber sesamol den elde edilen bazı ara ürünler özellikle siklo katılma reaksiyonlarında kullanılmıştır. Örneğin Antibiyotik özelliğe sahip ve kumarin tipi doğal ürünler olan Arnottin (I ve II)'ler ise sesamolden elde edilen sesamol benzinin kullanıldığı siklokatılma reaksiyonlarına bir örnektir (Moschitto *et al.* 2015).



Şekil 2. 38. Kumarin tipi doğal ürünler olan Arnottin (I ve II)'nin sentezi

Alden-Danforth *et al.* (2008) ise sesamolden elde edilen o-kinon metid 'in 4+2 siklokatılmaları sonucu asimetrik yapıya sahip alkil ve aril sübtitüe kumarinlerin sentezini gerçekleştirmişlerdir.



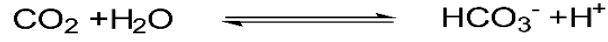
Şekil 2. 39. Alkil ve aril sübstitüe kumarinlerin sentezi

Sesamol'ün insan sağlığı üzerine olan etkileri ve susam yağının lezzetinde önemli bir rol üstlenmesi sebebi ile gerek susam yağında gerekse de diğer gıdalarda lignan içeriğinin belirlenmesi için sesamolün belirlenmesi gerekmektedir. Bu amaç doğrultusunda sesamolün çeşitli yöntemlerle tanınması/belirlenmesi araştırmacılar arasında önemli bir çalışma alanı olmuştur. Örneğin Wang *et al.* (2018) MOF temelli bir kompozit olan Tb(3+)-Sr-MOF sensörünü sesamolün belirlenmesinde kullanılmak üzere sentezlemişlerdir. Bu sensörün sesamolün belirlenmesinde MOF temelli ilk sensör olduğunu belirtmişlerdir. Yine Liu *et al.* (2015) susam yağında sesamolün belirlenmesi amacı moleküler baskılama polimerizasyonuna dayalı CdSe/ZnS kuantum nanopartiküller ile yeni bir optosensing çip geliştirmişlerdir. Bununla beraber sesamol'ün anti kanser özelliğinden dolayı, kitosan modifiye edilmiş CdS kuantum nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirilerek sesamol'ün kanserli hücreye daha etkin bir şekilde taşınması sağlanmıştır (Abdelhamid *et al.* 2019).

Gerek sülfonat esterlerin gerekse de sesamol ve türevlerinin sahip olduğu biyolojik ve sentetik potansiyellerinden dolayı, bu tez sesamol temelli sülfonat esterlerin sentezi ve karbonik anhidraz enzimlerinden CA I ve CA II enzimleri üzerine inhibisyon çalışmalarını kapsayacaktır.

2.3. Karbonik Anhidraz Enzimi

Karbonik anhidrazlar (CA'lar, EC 4.2.1.1) bir metaloenzim olup, üç basit ama temel kimyasal tür olan CO₂, bikarbonat ve protonlar arasındaki reaksiyonu dengelerler. 1933 yılında keşfinden sonra CA'lar üzerine gerek inhibisyon ve gerekse de aktivasyonu üzerine pek çok çalışma yapılmıştır (Supuran 2018).

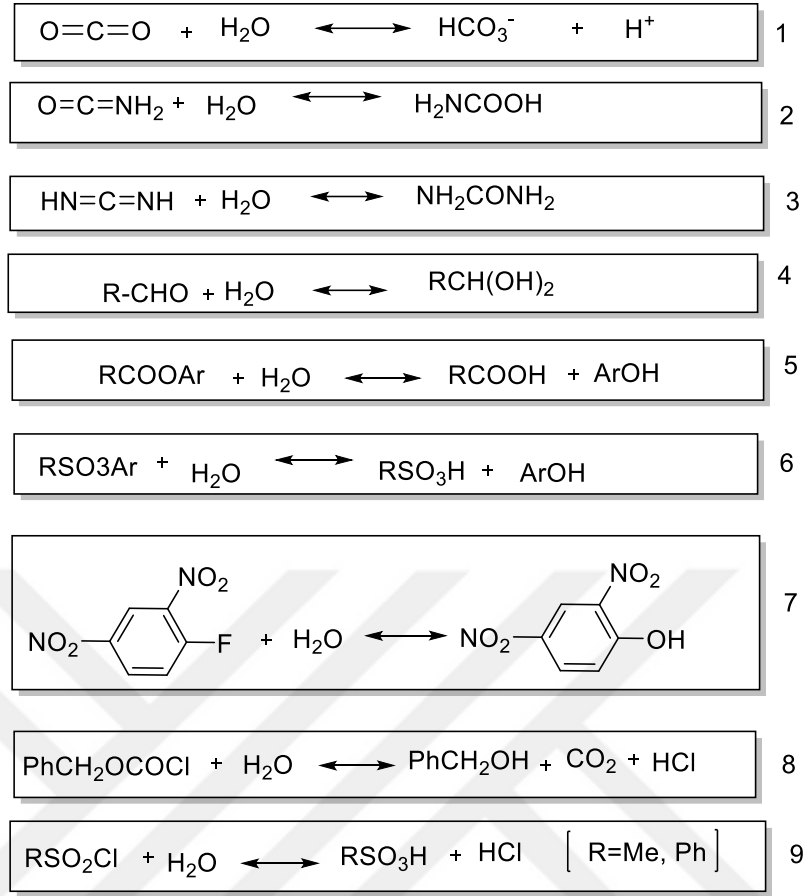


Şekil 2. 40. CA enziminin katalizlediği başlıca reaksiyon

CA'ların katalitik döngüsü ise şu şekilde gerçekleşir. Çinkoya bağlı su aynı zamanda Thr199'un hidroksil kısmı ile hidrojen bağı oluşturur ve bu da daha sonra Glu106'nın karboksilat kısmına köprülenir; bu etkileşimler, çinkoya bağlı su molekülünün nükleofilikliğini artırır ve substratı (CO₂) nükleofilik saldırı için uygun bir konuma yönlendirir. Enzimin aktif formu, hidroksitin Zn²⁺ (a) 'ya bağlı olduğu temel formdur. Bu güçlü nükleofil, komşu (b)'de bir hidrofobik cepte bağlı olan CO₂ molekülüne saldırır (zor substrat-bağlanma sahası, insan izozimi CA II durumunda Val121, Val143 ve Leu198 kalıntıları içerir) ve Zn²⁺ ile bikarbonatın koordine olduğu (c)'nin oluşumuna yol açar. Bikarbonat iyonu daha sonra bir su molekülü ile yer değiştirir ve çözelti içinde serbest bırakılır, katalitik olarak inaktif olan su ile Zn²⁺ koordineli enzimin asit formu (d)'nin oluşumuna yol açar (Supuran 2008).

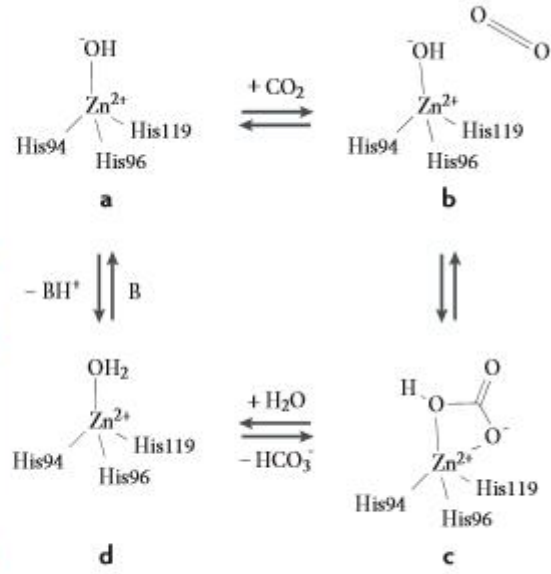
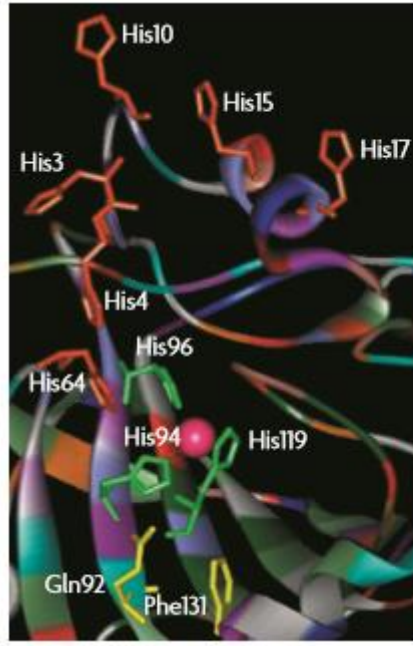
2.3.1. Karbonik Anhidraz Enziminin Katalizlediği Reaksiyonlar

Fizyolojik reaksiyonları ile birlikte karbonik anhidrazlar çeşitli rxn'ları katalizler: Örneğin CO₂'nin bikarbonata dönüştürülebilen hidrasyonu (reaksiyon 1) ; siyanatın Aminoformik asit ve siyanamid'in üreye hidrasyonu (reaksiyon 2 ve 3); gem-diollere aldehit hidrasyonu (reaksiyon 4); karboksilik veya sülfonik asit hidrolizi (reaksiyon 5, 6) ve daha az incelenen hidroliz işlemleri (reaksiyon 7-9)'dir.



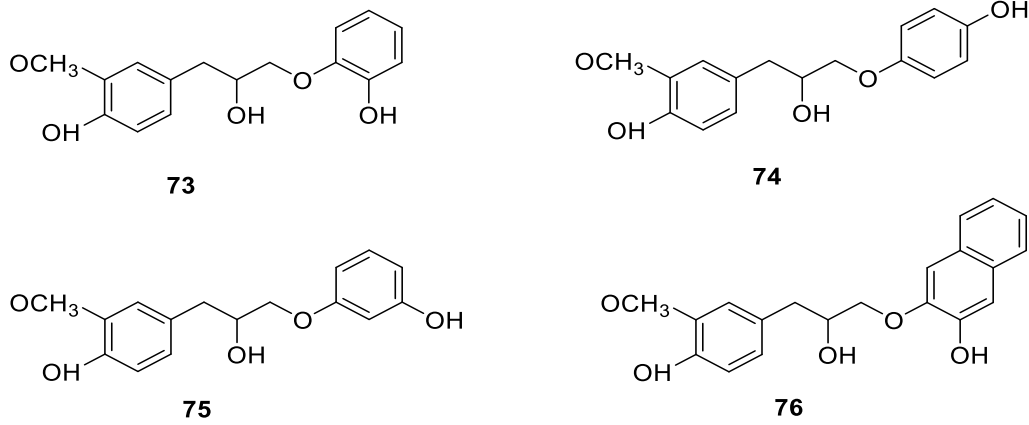
Şekil 2. 41. α -karbonik anhidraz izoenzimleri ile katalize edilen reaksiyonlar

Omurgalılarda CA'ların 16 farklı izoformu bulunur (CA I-XV). Lokalizasyona göre (sitozolik, mitokondriyal, salgısal ve membranla ilişkili). Tüm organizmalardaki karbonik anhidrazlar α -, β -, γ -, δ -, ζ -, η -, θ - ve ι olarak sekiz ayrı genetik aileye sahiptir. Bu formların hepsi aktif hallerinde kullanılan metal iyonları tercihlerinde farklılık gösterir. Neredeyse her canlı organizmada en az bir CA ailesi bulunur.



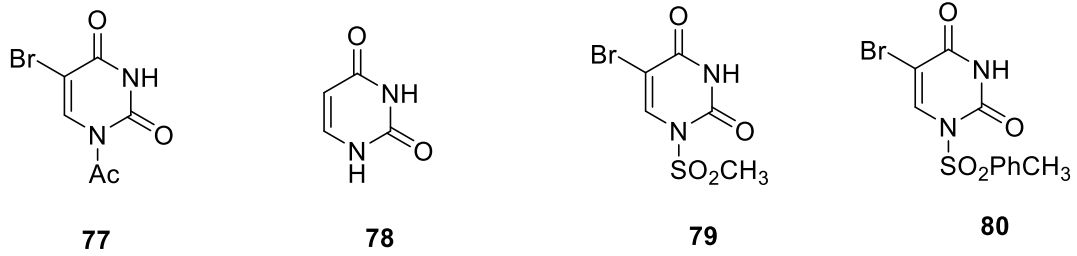
Şekil 2. 42. CO₂'nin CA enzimine bağlanması ve katalitik döngü

CA'nın aşırı ekspresyonu, glokom, tümörijeniz, ödem, obezite, kireçlenme ve epilepsi dahil olmak üzere çeşitli patolojik durumlarla ilişkilidir. Bu nedenle araştırmacılar, potansiyel terapötik ajanlar olarak CA seçici inhibitörlerin tasarımına büyük önem vermeye devam etmektedir (Occhipinti and Boron 2019). Örneğin Topal ve grubu çeşitli eugenol türevlerini sentezleyerek bunların hCA I ve II izoenzimleri üzerine inhibisyonunu incelemişlerdir. Elde ettikleri nanomolar seviyedeki K_i değerleri ile eugenol türevleri **73-76**'yı CA izoenzimleri için selektif inhibitörleri olabileceğini belirtmişlerdir (Topal *et al.* 2017).



Şekil 2. 43. CA inhibitörleri olarak eugenol türevleri

Güney ve grubu ise bazı urasil türevlerini sentezleyerek hCAI ve hCAII izoenzimlerinin inhibisyonlarını inceleyerek bu enzimlerin inhibisyonunda yeni bir sınıf molekül grubunu tanımlamışlardır (Güney *et al.* 2015) .



Şekil 2. 44. CA inhibitörleri olarak urasil türevleri

2.3.2. Karbonik Anhidraz Enziminin Fizyolojik Fonksiyonları ve Dağılımı

CA II izoenzimi taşıma ve metabolik süreçler için hücresele seviyede merkezi bir izoenzimdir. CA, yüksek karbondioksit derişimlerinde anahtar koruyucu bir izoenzim olarak çalışır. Karbonil sülfür ve karbon disülfür gibi karbondioksit analogları enzim aktiviteleri için substrat problemleri olarak faydalıdır.

CA I, Alyuvarlarda miktarı en çok olan hemoglobin proteini olmasına rağmen eksikliğinde herhangi bir anormallik görülmez. Sitozolik CA I, alyuvarlarda CA II'den 5-6 kattan çok bulunur lakin CA II kadar yaygın değildir. hCA II en yaygın biçimde izole edildiği izoformudur. Ayrıca kemik erimesinden solunuma ve pH düzenlenmesine kadar değişiklik gösteren süreçlere katılır. Sitozolik CA II aktivitesi üriner asitleştirmesini artırır.

hCA III yağ dokuları, iskelet kası lifleri ile hepatositler gibi yüksek oksidasyon miktarlarına sahip hücrelerde antioksidan rol oynar. CA IV (membrana bağlı) aktivitesi, üriner asidifikasyonu artırır ve CO₂ taşınmasında rol oynar.

hCA V, mitokondriyal matriste VA ve VB şeklinde bulunur. hCA VA glikoneogenez için bikarbonat, pirimidin baz sentezi için ise yağ asitleri sağlar ve kalp, akciğer, dalak ve bağırsak mitokondrilerinde bulunur. hCA VB, metabolizmada orta derecede rol oynayan pankreas, böbrek ve tükürük bezlerinin mitokondrilerinde eksprese edilmiştir (Lindskog 1997; Aggarwal *et al.* 2013; Hassan *et al.* 2013).

CA ile ilgili proteinler CA VIII, X ve XI daha çok merkezi sinir sistemi, beyin ve akciğerlerde eksprese edilir. CA IX, hipoksik tümörler için bir belirteçtir ve meme kanseri hastalarında kötü prognoz ile korelasyon gösterir. CA IX ekspresyonunun ve aktivitesinin tümör hücrelerinde metabolik işlev bozukluğu ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Hassan *et al.* 2013).

hCA XII gastrointestinal mukozada eksprese edilir. Bununla birlikte akciğerler, böbrekler, prostat ve göğüs tümörleri de dahil olmak üzere epitelyal tümörlerde aşırı derecede eksprese edilmiştir. hCA XIV beyinde ve retinalde bulunur. Ayrıca sinir retinasından CO₂'nin uzaklaştırılmasını sağladığı ve fotoreseptör işlevini modüle etmesine yardımcı olduğu düşünülmektedir (Aggarwal *et al.* 2013).

İnsan vücudunda sadece α -CA'lar bulunmuştur. İnsanda bulunan 15 CA izoformundan 12'si katalitik olarak aktiftir ve bunların alt hücreli lokalizasyonu, organ ve dokulardaki dağılımı, ekspresyon seviyeleri, kinetik özellikleri ve inhibitör bağlanma afiniteleri farklılık gösterir (Smirnovienė *et al.* 2017).

2.3.3. Karbonik Anhidraz Enziminin Fiziksel, Kimyasal ve Kinetik Özellikleri

CA karbondioksitin bikarbonat ve protonlara dönüşebilen hidrasyonunu katalizleyen ve çoğunlukla çinko bulunduran metaloenzimlerdir (Smirnovienė *et al.* 2017).

CA enzimi ilk tanınan metaloenzimdir. CA, Meldrum ve Roughton tarafından alyuvarlardan izole edilmiştir. CA I, CA II ve CA III'ün üç'ü de engellenmiş bir N-terminal grubu vardır ve aktivitesi için gerekli olan Zn²⁺'yi bulundurur. Bu izozimler belirgin bir şekilde ayrı genler tarafından kodlanır ve aminoasit dizileri büyük bir benzerlik gösterir. Gaz değişimi, asit-baz dinamik dengesi, salgılama, fotosentez gibi süreçlerin potansiyel bir düzenleyicisi olan enzim biyosentetik süreçler, kemik erimesi, kalsifikasyon ve tümöre özdeşliğinin yanısıra diğer pek çok fizyolojik ve patolojik süreçte rol oynar (Ferroni *et al.* 2017).

Karbonik anhidraz izoenzimleri omurgalıları canlılarda, omurgasız canlılarda, yüksek bitkiler (yosunlarda) ve bazı bakteri türlerinde bulunur. Şimdiye kadar 16 tür CA izoenzimi memelilerde keşfedilmiştir ve en çok ilgiyi insan CA I (hCA I), CA II (hCA II) ve sığır CA III (bCA)'sı almıştır. Bunlar yaklaşık olarak 29

kDa moleköl kütlesi olan monomerlerdir ve Kristal yapıları 0,2 nm ya da daha yüksek çözünürlükte çözülmüştür. Bununla birlikte polipeptit zincirinin katlanması bu enzimlerin üçü için de benzerdir (Johansson *and* Forsman 1993; Şentürk *et al.* 2009). İzoenzimler, birbirinden immünokimyasal ve genetik olarak farklılık gösterir. Bununla birlikte izozimlerin hepsinin birçok elektroforetik varyantı bulunur (Register *et al.* 1978).

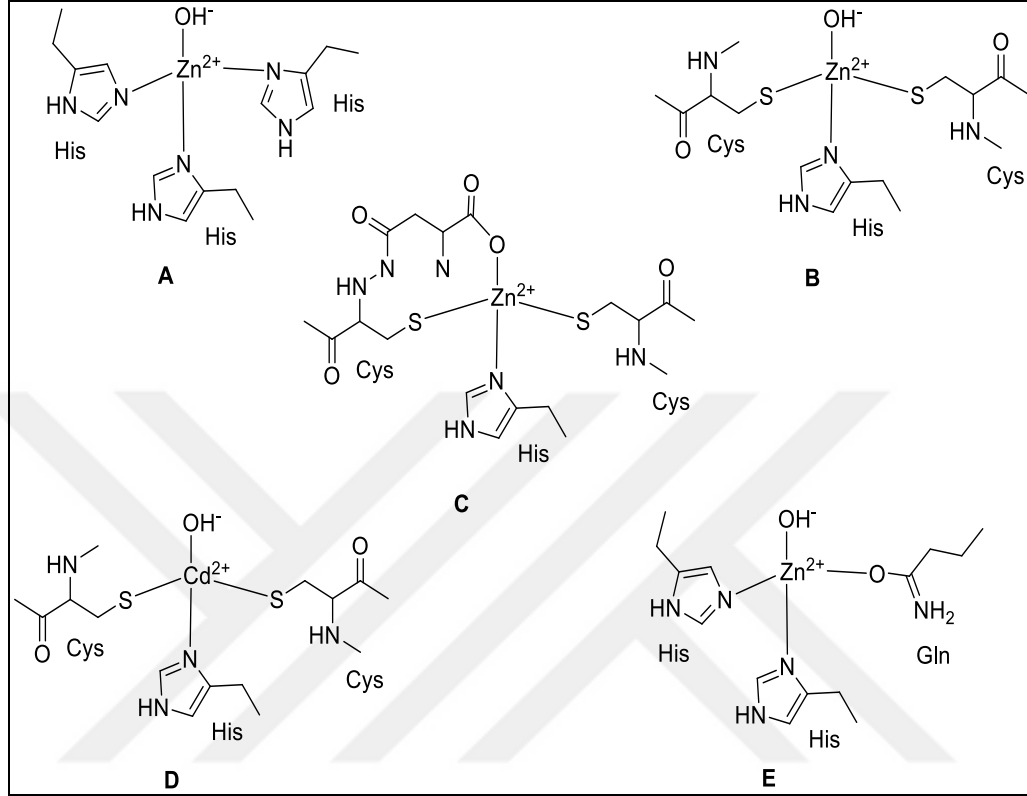
CA, keşfedildiği günden bu güne memeli alyuvarlarında fazlaca bulunurken doku ve salgı organlarının farklı türlerinde oranla az bulunuyor (Krungrai *et al.* 2001). CA I (düşük aktivite, sülfonamide duyarlı form), çoğunlukla alyuvarlarda bulunurken diğer dokularda da (körbağırsak, kalın bağırsak mukozası, hipofiz bezi) bulunmaktadır. CA II (yüksek aktivite, sülfonamide duyarlı form) alyuvarlarda ve diğer dokuların bir çoğunda bulunur. CA III (düşük aktivite, sülfonamide dirençli form) ise kırmızı iskelet kasında bol miktarda bulunur. Her üç izoenzim CO₂'nin geri dönüşümlü hidrasyonunu katalizlese de bazı ester bağlantılarını da hidrolizler ve asetazolamid (AZA) gibi heterohalkalı sülfonamidler tarafından selektif olarak inhibe olur. Bunların göreceli aktiviteleri ve sülfonamid inhibisyon dereceleri önemli ölçüde değişebilir. Örneğin CA II izoenzimleri en yüksek CO₂ hidrataz, esteraz aktivitelerine ve sülfonamidler için en yüksek afiniteye sahiptir. Bunu CA I izozimleri takip eder ve son olarak CA III izoenzimleri, CO₂ hidrataz ile esteraz aktivitelerini görecek şekilde düşük gösterirler ve sülfonamidler tarafından hafif şekilde inhibe edilirler (Carter *et al.* 1981).

Memelilerde 1000 ml kanda (kırmızı hücreler) yaklaşık olarak 1-2 gr karbonik anhidraz enzimi bulunur. Oranla kararlıdırlar ve suda iyi çözünürler. pH değeri 6-10 aralığında aktivitelerini korurlar, en yüksek aktiviteyi pH: 8 de gösterirler. izoelektrik noktaları enzim çeşidine bağlı olarak yaklaşık 5,5 - 7,5 arasında değişiklik gösterir (Maren 1967).

2.3.4. Karbonik Anhidraz Enziminin Üç Boyutlu Yapısı

Karbonik anhidrazlar (CA'lar) bir metalo enzim olup, üç basit ama temel kimyasal tür olan CO₂, bikarbonat ve protonlar arasındaki reaksiyonu dengelerler.

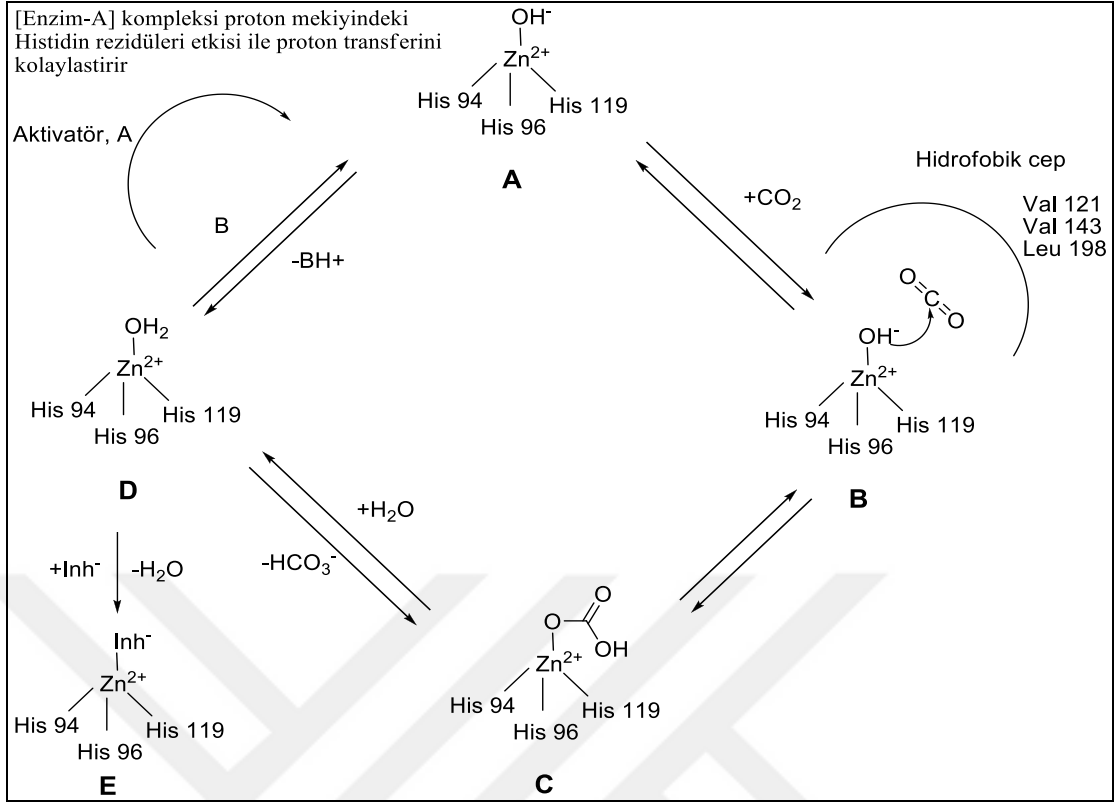
1933 yılında keşfinden sonra CA'lar üzerine gerek inhibisyon ve gerekse de aktivasyonu üzerine pek çok çalışma yapılmıştır (Supuran 2018).



Şekil 2. 45. Karbonik anhidrazlarda metal iyon koordinasyonu (Supuran 2016)

2.3.5. Karbonik Anhidraz Enziminin Katalitik, İnhibisyon ve Aktivasyon Mekanizması

CA'ların katalitik döngüsü ise şu şekilde gerçekleşir. Çinkoya bağlı su aynı zamanda Thr199'un hidroksil kısmı ile hidrojen bağı oluşturur ve bu da daha sonra Glu106'nın karboksilat kısmına köprülenir; bu etkileşimler, çinkoya bağlı su molekülünün nükleofilikliğini artırır ve substratı (CO_2) nükleofilik saldırı için uygun bir konuma yönlendirir. Enzimin aktif formu, hidroksitin Zn^{2+} (a) 'ya bağlı olduğu temel formdur. Bu güçlü nükleofil, komşu (b)'de bir hidrofobik cepte bağlı olan CO_2 molekülüne saldırır (zor substrat - bağlanma sahası, insan izozimi CA II durumunda Val121, Val143 ve Leu198 kalıntılarını içerir) ve Zn^{2+} ile bikarbonatın koordine olduğu (c)'nin oluşumuna yol açar. Bikarbonat iyonu daha sonra bir su molekülü ile yer değiştirir ve çözelti içinde serbest bırakılır, katalitik olarak inaktif olan su ile Zn^{2+} koordine enzimin asit formu (d)'nin oluşumuna yol açar (Supuran 2008).



Şekil 2. 46. α -CA'ların katalitik (fizyolojik reaksiyon için), inhibisyon (çinko bağlayıcılarla) ve aktivasyon mekanizması (hCA I'in aktif bölgesindeki çinko ile etkileşen amino asitlerin numaralandırması) (Supuran 2016).

CA'lar α -, β -, γ -, δ -, ζ -, η -, ve θ olmak üzere yedi alt sınıfa ayrılır ve neredeyse her canlı organizmada en az bir CA ailesi bulunur (Occhipinti and Boron 2019). Bilinen 15 insan CA izozimi, farklı katalitik verimlilik, hücre altı lokalizasyonu ve doku dağılımı sergiler. Bununla birlikte, tüm CA'lar karbon dioksitin bikarbonata tersine çevrilebilir hidrasyonunu katalize eder. Bu süreçlerde yer alan CA izozimlerinin çoğu, ödem, glokom, obezite, kanser, epilepsi, irtifa hastalığı ve osteoporoz dahil bir dizi bozukluğun tedavisinde önemli terapötik hedeflerdir. Bu protein ailesinin önemi nedeniyle, izozime özgü CA inhibitörlerinin tasarımına çok az yan etki gösteren çok sayıda çalışma yapılmıştır (Koutnik *et al.* 2017).

Katalitik fonksiyonu için mühim olan CA moleküler yapısının dört ana bileşeni vardır. Bunlar; Zn²⁺ bağlama bölgesi, substrat birleştirme kısmı, treonin¹⁹⁹ döngüsü ile proton mekik mekanizmalarıdır (Esbaugh *et al.* 2006). Bazı CA izoformlarının katalitik hızı $1 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$ 'i aşmaktadır (Wieczorek and Jelonek 2017).

CA inhibitörleri (CAI'ler) oftalmolojide 1954'de kullanıldıktan sonra yaygın olarak kullanılmıştır (Kass 1989). CAI'ler, metaller ile kompleks yapmış anyonlar ve proteinsiz Zn^{2+} ligandı tarafından yer değiştirerek enzimin Zn^{2+} iyonuna bağlı olan ya da genel itibarıyla trigonal-bipiramidal yapıda olup metal koordinasyon halkasına giren inhibitörler olarak iki sınıfa ayrılır (Supuran *and* Scozzafava 2001).

CAI'lerin dört ana gruba sahiptir:

1. Metal iyonunun tetrahedral veya trigonal bipiramidal geometrilerinde enzim aktif bölgesinden Zn^{2+} iyonu ile koordine olan sülfonamidler (ve sülfamidler, sülfamadlar ve benzeri türevler gibi izosterleri) ve metal kompleks anyonları.

2. İki hidrojen bağı yardımıyla aktif bölgeden Zn^{2+} ile koordineli H_2O molekülü / OH^- iyonuna bağlanan fenoller.

3. Fenollere çokça benzerlik gösteren ama özdeş olmayan, yani Zn^{2+} 'ye koordine edilen molekülü / iyonuna bağlanarak spermidin, spermin, ve konjenerler gibi poliaminler.

4. Yakın zamanlarda bildirilmiş olan etkin bir CAI sınıfı olan kumarinler ve dikumarinler. Zn^{2+} 'ye bağlı olmayan ve aktivatörleri ile aynı aktif bölgede bağlanan (hidrolize edilmiş biçimde) bir inhibisyon mekanizmasına sahip olup, aktif bölgenin girişini tıkamaktadır (Durdagi *et al.* 2011).

CAI'ler çoğu hastalıkların tedavisinde ya da hastalığın önlenmesinde yaygın bir şekilde kullanılan terapötik etmenlerdir (Supuran *et al.* 2003).

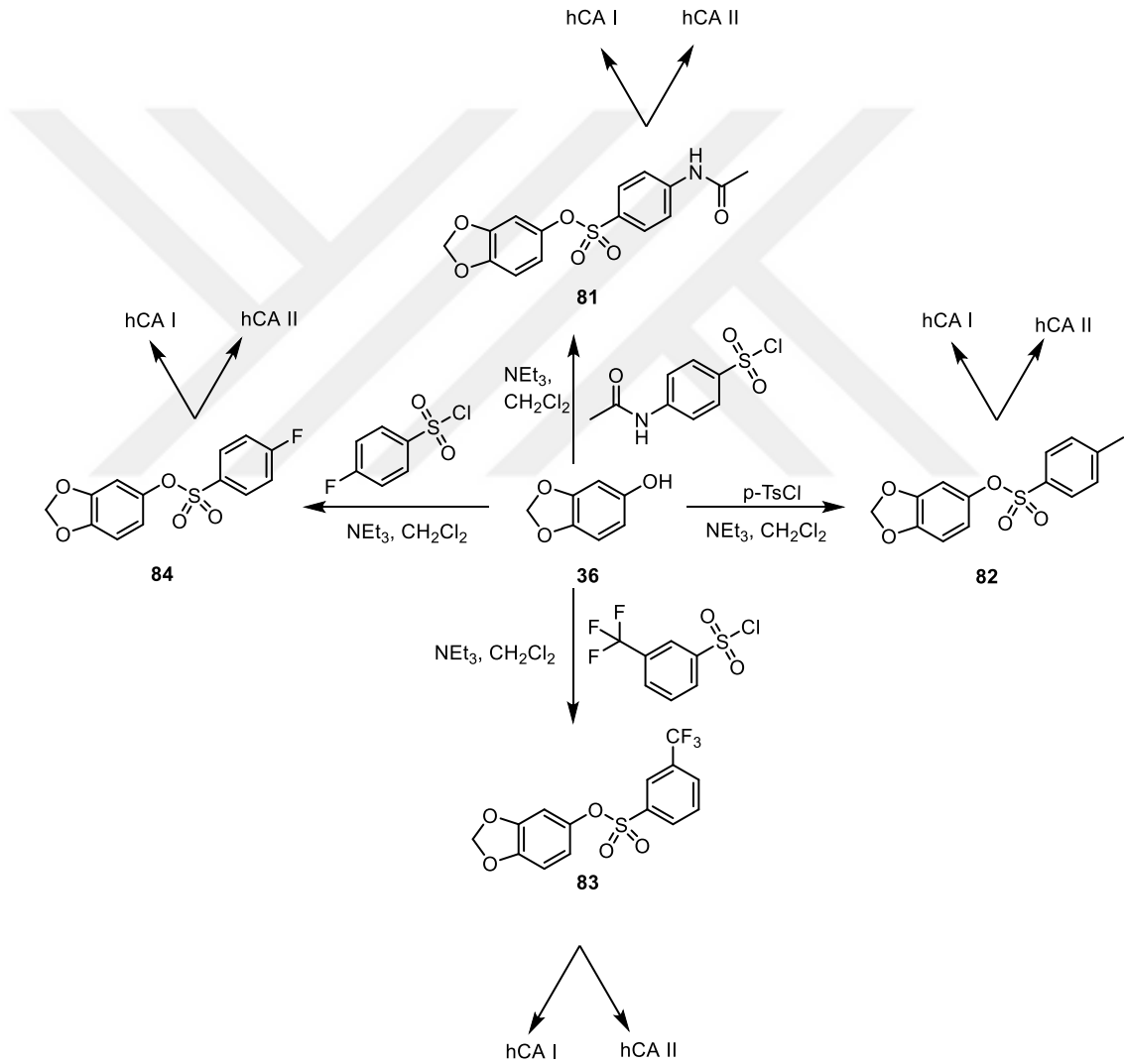
CA enzimi, gözde aköz humor sıvısının üretiminde anahtar bir rol oynar. Bu nedenle siliyer proseslerdeki aktivitesinin inhibisyonu, azalan aköz humoral salgılanmasına neden olur ve bu salgılama göz iç basıncını (GİB) azaltır (Holló 2015). CAI'ler, kedi ve köpeklerdeki hemen hemen bütün glokom tiplerinin tedavisinde kullanılabilir (Mas'lanka 2015). Asetazolamid ki CA inhibitörlerinden biri, akut dağ hastalığını (AMS) engellemek ve iyileştirmek için etkili bir ilaç kabul edilmiştir (Xiao *et al.* 2011). Anemik, enfeksiyon ya da zayıf pıhtılaşma gibi belirtilerde CA inhibitörleri üzerine hastaların gözlemlenmesi ve araştırılması tedavi süresince tercih edilmektedir (Mogk *and* Cyrllin 1988). CAI'ler bazı nörolojik bozuklukların (idiyopatik intrakranyal, hipertansiyon gibi) tedavisi için de kullanılmaktadır (Topal

et al. 2017). Bununla beraber son zamanlarda bazı yapılan araştırmalar sonucunda yeni bir etki mekanizması ile anti enfektif etkenlerin tasarımı için karbonik anhidrazların'ların önemini vurgulamıştır (Altıntop *et al.* 2017).

Çoğu hastalığın tedavisinde ve dahi önleminde CAI'lerin kullanılmasının sebebi CA'nın çoğu hücre, doku ve organlarda geniş bir yelpazeye sahip olması ve önemli fizyolojik fonksiyonlarının olmasıdır. Ancak bilinen farmakolojik inhibitörler yeterli gelmemektedir ve istenmeyen çokça olumsuz etkileri vardır. İlk CAI'leri olarak sülfonamidler belirlenmiş olmakla birlikte günümüzde bu grup inhibitörlerin yan etkilerinin fazla olması ve türe özgöl inhibisyonlarının az olması nedeni ile yeni ve daha etkili farklı molekül grupları belirlenmektedir (Supuran *et al.* 2003; Karioti *et al.* 2016).

2.4. Çalışmanın Amacı

Bu çalışma kapsamında hem sentetik hem biyolojik açıdan önemli olan sesamol'ün bazı analoglarının çeşitli sülfonil klorürler ile olan reaksiyonları ve bu reaksiyonlar sonucunda literatüre önemli katkılar sağlayacak sülfonat ester türevlerinin sentezi hedeflenmektedir. Ayrıca elde edilecek sülfonat esterlerin karbonik anhidraz izoenzimlerinden olan hCA I ve hCA II üzerine olan etkilerini kapsamaktadır.



Şekil 2. 47. Çalışmanın amacı

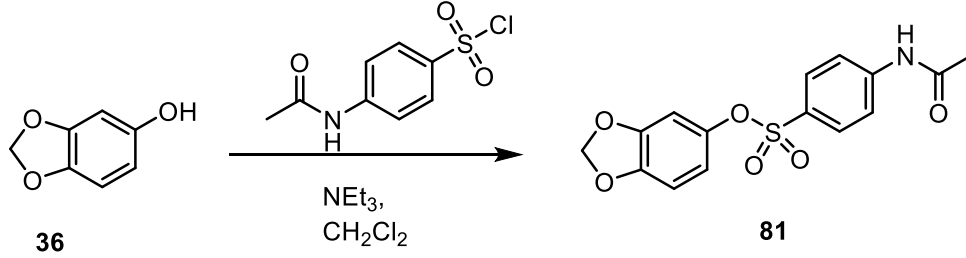
Bu amaçla, bazı sesamol temelli sülfonat esterlerin sentezi için tek kademeli olarak planlanan reaksiyonlarda, ticari olarak temin edilebilen sesamol (**36**), ilgili sülfonat esterleri elde etmek üzere CH_2Cl_2 içinde NEt_3 varlığında p-TsCl, 4-florobenzenesülfonil klorür, 3-(Triflorometil)benzenesülfonil klorür, 4-asetamidobenzenesülfonil klorür ile OH konumunda doğrudan sülfonilasyona tabi tutularak **81**, **82**, **83**, **84** molekülerinin sentezi hedeflenmektedir. Ayrıca bazı karbonik anhidraz izoenzimleri üzerine inhibisyonları incelenerek, bu enzimler üzerine etkin olabilecek yeni bir sınıf molekülün tanımlanması yapılacaktır.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

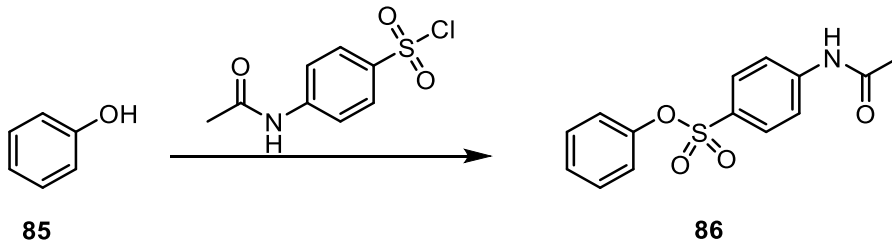
3.1. SÜLFONAT ESTERLER 81, 82, 83, 84'ÜN SENTEZİ

3.1.1. Sülfonatester 81'in Sentezi



Şekil 3. 48. Sülfonat ester **81**'in sentezi

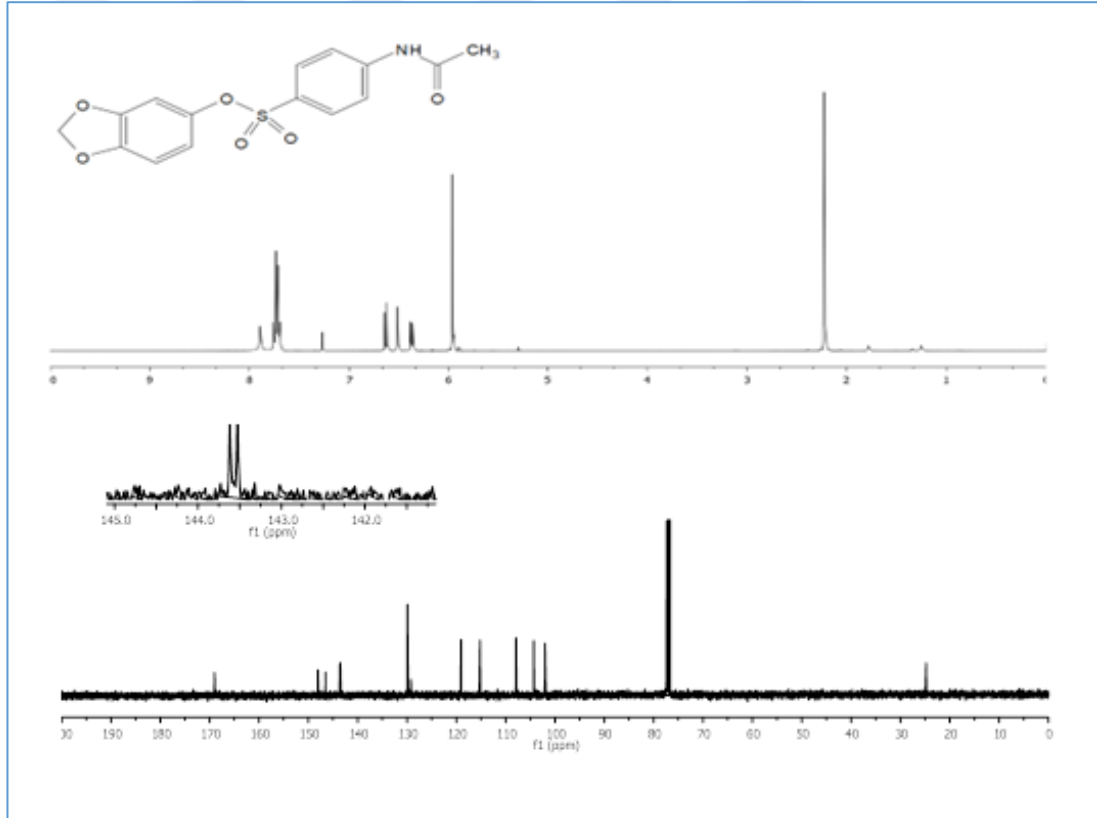
Sentez çalışmamızın son kısmında ise sülfonat ester **81**'i elde etmek amacı ile yine ticari olarak mevcut sesamol (**36**) ve N-asetilsülfonil klorür oda sıcaklığında NEt₃ (Trietilamin) eşliğinde reaksiyonu sonucu sülfonat ester **81** %50 bir verimle elde edildi. Reaksiyon şartları daha önce elde edilen sülfonat ester ile aynı olmasına rağmen bu reaksiyonda çıkış bileşiği sesamol reaksiyon ortamında tamamen tükenmemiştir. Bu durum sülfonil klorürdeki NH grubunun elektron sağlamasının bir sonucu olarak düşünülmüştür. Ayrıca Bailey ve grubu tarafından yapılan benzer bir tosil ester **86**'nın eldesinde fenolik bileşiğin tamamen tükenmediği belirtilmiştir (Bailey *et al.* 2004). Reaksiyon ürün izolasyonu sağlandığı ve sentezlenen diğer sülfonat esterlerle aynı reaksiyon şartlarında olması için, sülfonil klorürün aşırısı alınarak veya daha yüksek sıcaklıkta, tekrar edilmemiştir.



Şekil 3. 49. Sülfonat ester **86**'nın sentezi

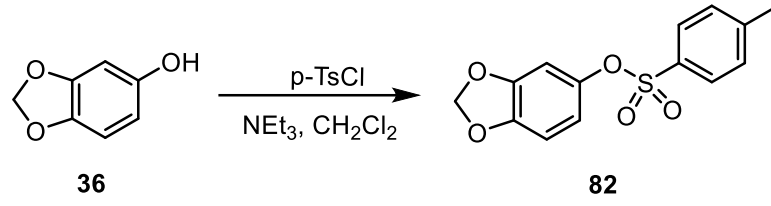
Elde edilen sülfonat ester **81** molekülünün ¹H-NMR spektrumu incelendiği zaman 7.89 ppm deki yayvan pik(broad singlet) amit NH protonuna aittir. Amit

grubunun bağılı olduğu aromatik halkadaki protonlar ise 7.83 ppm de multipler olarak rezonans olmuşlardır. Sesamol halkasına ait olan pikler dublet ve dubletin dubleti olarak sırası ile 6.63 ppm, 6.52 ppm ve 6.37 ppm de rezonans olmuşlardır. Dioksol halkasında CH₂ protonları ise 5.96 ppm singlet olarak rezonans olmuştur. 2.33 ppm de gözlemlenen singlet piki ise amit grubundaki metil protonlarına aittir. Sülfonat ester **81**'in ¹³C-NMR spektrumunda yapı ile uyum içerisindedir. Molekülde bulunan sülfonil grubunun bağılı olduğu aromatik halkanın karbon pikleri ve sesamol halkasına ait pikler 130.03 ppm deki 2 karbon piki olmak üzere toplam 11 pik ile 102.46 ve 148.08 ppm aralığında rezonans olmuştur. Bununla beraber amit karbonil piki 168.95 ppm de ve karbonil grubuna bağılı olan CH₃ grubuna ait karbon ise 24.78 ppm de rezonans olmuştur.



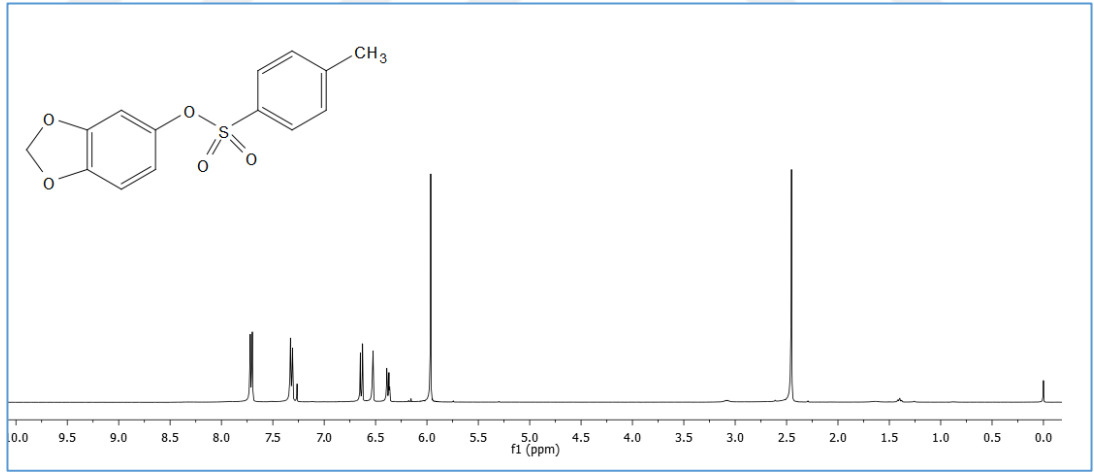
Şekil 3. 50. Sülfonat ester **81**'in 400 MHz ¹H-NMR ve 100 MHz ¹³C-NMR Spektrumu (CDCl₃)

3.1.2. Sülfonat Esterler 82'nin Sentezi

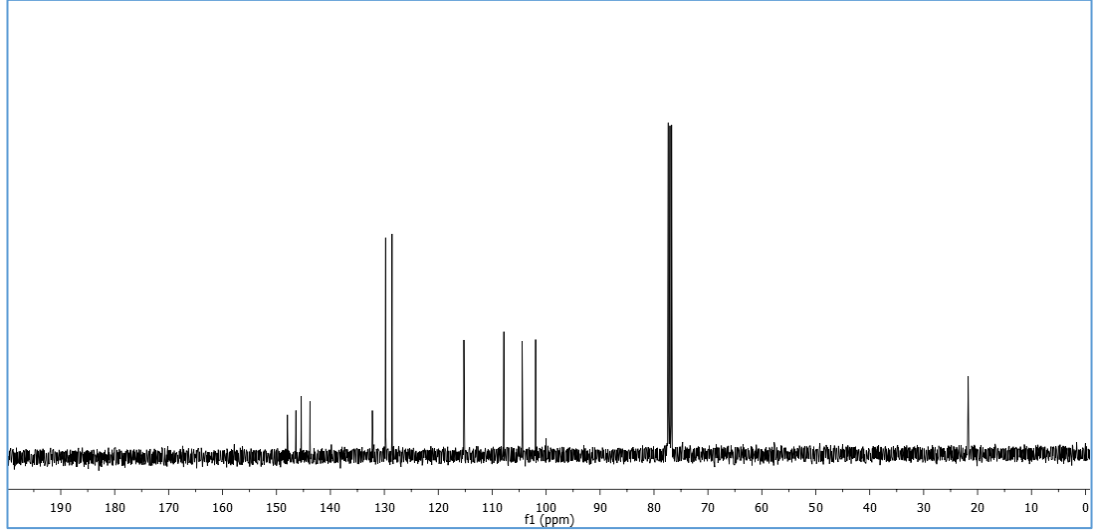


Şekil 3. 51. Sülfonat ester **82**'nin sentezi

Sülfonat ester **82**'in sentezi için ticari olarak mevcut sesamol (**36**) ve p-TsCl oda sıcaklığında NEt₃ eşliğinde reaksiyonu sonucu sülfonat ester **82** kantitatif bir verimle elde edildi. Elde edilen sülfonat ester **82** molekülünün NMR spektrumu incelendiği zaman 2.45ppm deki singlet aromatik halkaya bağlı metil protonlarının varlığını göstermektedir. Yine 7.71 ve 7.32 deki dubletler kükürt atomunun bağlı olduğu aromatik halkadaki protonlara ait piklerdir. Sesamol halkasına ait olan pikler ise 6.64 te dublet, 6.53 te dublet, 6.38 de dubletin dubleti ve 5.96 da singlet şeklinde rezonans olmuştur. Molekülün ¹³C-NMR incelendiği zaman spektrumda gözlenen 12 pik yapıyla uyum içerisindedir.



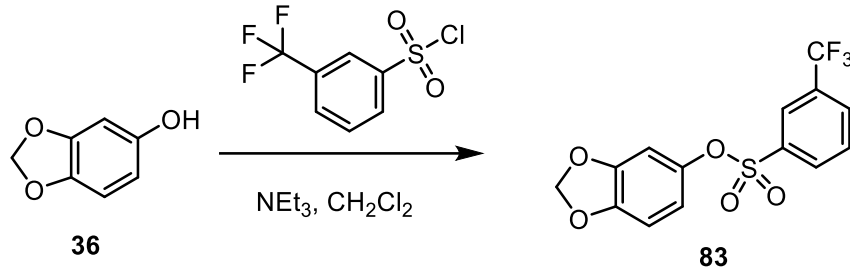
Şekil 3. 52. Sülfonat ester **82**'nin 400 MHz ¹H-NMR Spektrumu(CDCl₃)



Şekil 3. 53. Sülfonat ester **82**'nin 100 MHz ^{13}C -NMR Spektrumları (CDCl_3)

3.1.3. Sülfonat ester **83**'ün Sentezi

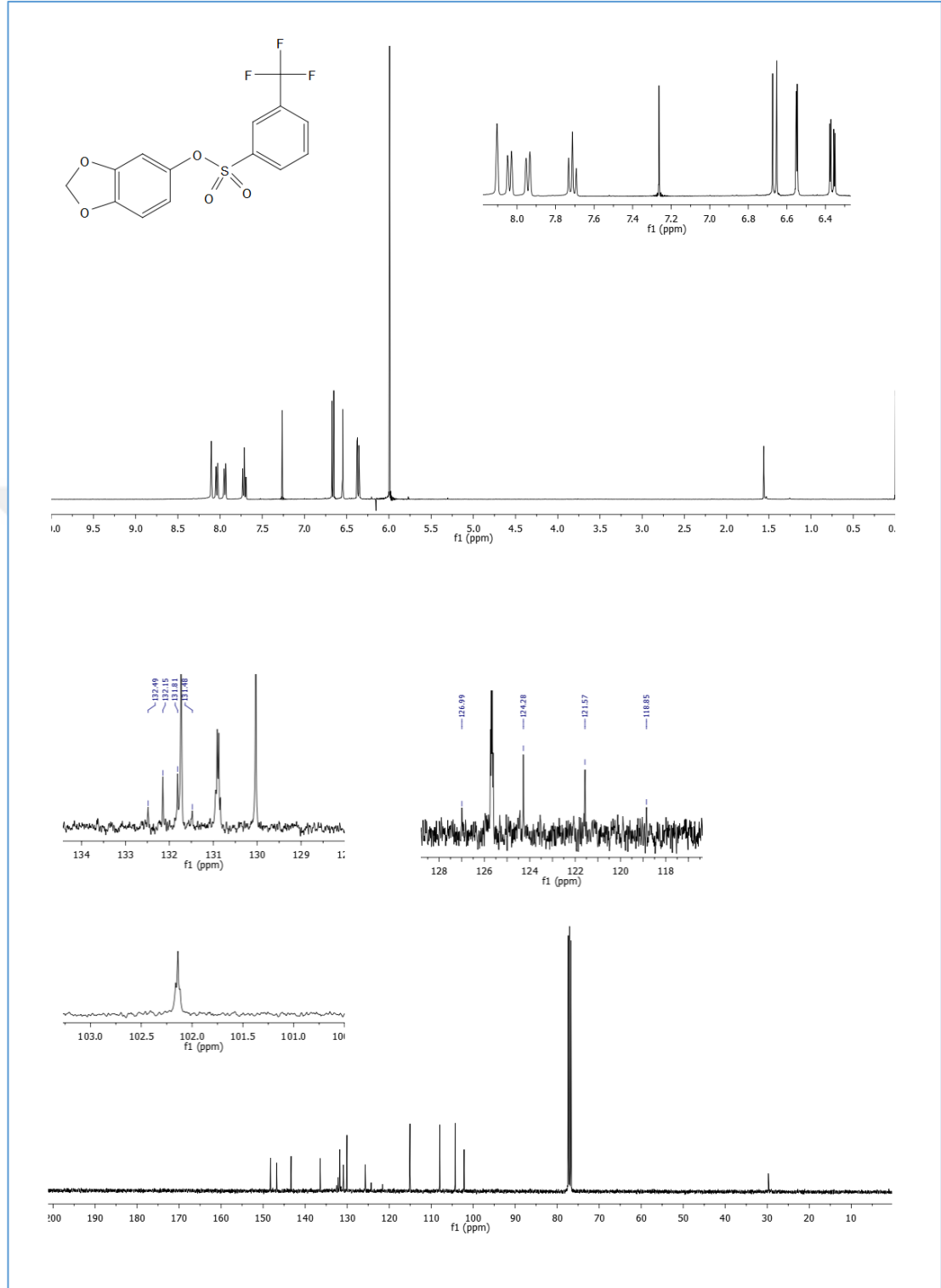
Sülfonat ester **83**, yapısında bulunan F atomuna sahip CF_3 grubundan dolayı ^{13}C -NMR spektrumlarında karbon atomlarının quarterner olarak rezonans olması söz konusu olmuştur. Yine sülfonat ester **83**, sesamol (**36**)'nın NEt_3 varlığında 3-(Triflorometil)benzensülfonil klorür ile oda sıcaklığında gerçekleştirilen reaksiyonu sonucu OH grubu üzerinden direk sülfonizasyonu ile kantitatif bir dönüşümle elde edildi.



Şekil 3. 54. Sülfonat ester **83**'ün sentezi

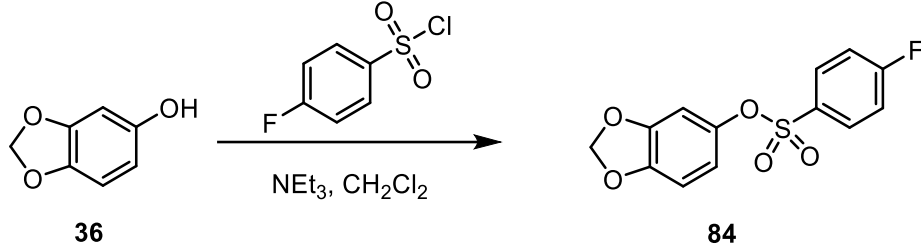
Sülfonat ester **83**'ün ^1H NMR spektrumu incelendiği zaman yapının CF_3 grubunun bağlı olduğu aromatik halkadaki protonların singlet, dublet ve triplet şeklinde rezonans oldukları görülmektedir. Sesamol halkasına ait aromatik halkadaki pikler ise dublet ve dubletin dubleti şeklinde rezonans olmuşlardır. 5.99 ppm deki singlet ise dioksol halkasındaki protonlara aittir. Sülfonat ester **83**'ün ^{13}C -NMR spektrumunda ise quarterner yarılmalar dikkat çekmektedir. Bu yarılmalar CF_3

grubundaki 3 flor atomundan dolayı meydana gelmiştir. Bu yarılmalar yapıda CF₃ grubunun bulunduğu da bir ispatı olmaktadır. Yine bu yarılmalar n+1 kuralı gereği olmaktadır. Yani karbon atomundaki yarılmalar etkileşimin olduğu flor sayısının bir fazlası olarak meydana gelmektedir. Burada n flor sayısını göstermektedir. Tekrar NMR spektrumuna dönülecek olursa sülfonat ester **83**'ün ¹³C NMR spektrumunda toplam 14 pik vererek rezonans olmuştur. Bu piklerden 131.98 ppm de bir quarted (J=33.9 Hz), 130.89 ppm (J= 3.5 Hz), 125.68 ppm (J= 3.8 Hz) ve 122.92 ppm J= 273 Hz etkileşim sabiti ile rezonans olmuştur. 102.14 ppm de ise tam bir yarıлма olmayan bir karbon piki uzak mesafe flor ile olan bir başka etkileşimi göstermektedir. Gerek ¹H NMR ve gerekse de ¹³C NMR sülfonat ester **83**'ün yapısı ile uyum içerisinde dir.



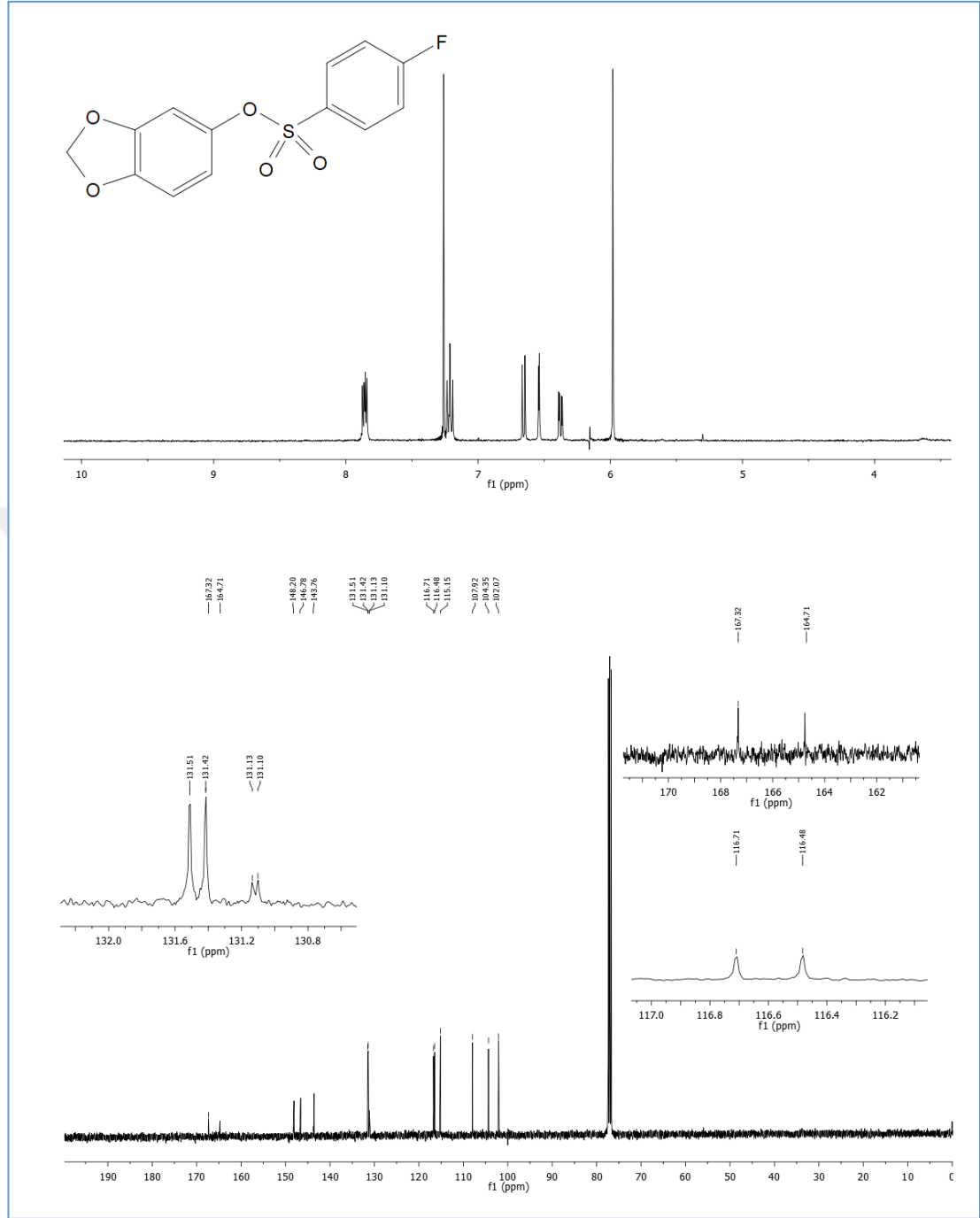
Şekil 3. 55. Sülfonat ester **83**'ün 400 MHz $^1\text{H-NMR}$ ve 100 MHz $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrumu (CDCl_3)

3.1.4. Sülfonat Ester 84'ün Sentezi



Şekil 3. 56. Sülfonat ester **84**'ün sentezi

Yapısında flor bulunan moleküller, flor atomunun NMR da aktif olması nedeni ile ^{13}C NMR spektrumlarında gözlenen piklerde yarılmalara sebep olurlar. Sesamol (**36**)'nın p-florobenzenesülfonil klorür ile olan reaksiyonu ile sülfonat ester **84** kantitatif bir dönüşümlü elde edildi. Sülfonat ester **84** 'ün NMR spektrumlarına bakıldığında zaman zaman flor atomunun bağlı olduğu aromatik halkada ki piklerin 7.86 ve 7.21 ppm de multiplet şeklinde rezonans olduğu görülmektedir. Yine 5.98 ppm deki singlet dioksol halkasındaki protona aittir. Sesamol (**36**)'nın benzen halkasındaki piklerde sırası ile 6.66 ppm dublet, 6.54 ppm de dublet ve 6.38 ppm de dubletin dubleti şeklinde rezonans olmuştur. Flor-19 atomunun spin kuantum sayısı 1/2 olması sebebi ile NMR da aktif olması F atomuna dört bağ üzerinden komşu olan karbonlarda bir yarılmaya sebep olmaktadır. Ester **84** molekülünün ^{13}C NMR spektrumu incelendiğinde F atomunun bağlı olduğu aromatik halkda bulunan karbon atomlarının sırası ile 165.97 ppm dublet, 131.46 ppm de dublet, 131.12 ppm de dublet ve 116.60 ppm de dublet olarak rezonans olan C pikleri görülmektedir. ^{13}C NMR spektrumda gözlenen dörtü dublet şeklinde toplam 15 pik (yarılmaları olmasaydı 11 pik) yapı ile uyum içerisindedir.



Şekil 3. 57. Sülfonat ester **84**'ün 400 MHz ^1H -NMR ve 100 MHz ^{13}C -NMR Spektrumu (CDCl_3)

3.2. Biyokimyasal Materyal

3.2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu çalışmamızda kullandığımız kimyasallar; Sefaroz-4B, standart serum albümin, L-Tirozin, p-nitrofenil asetat, diyaliz torbası ve N,N,N',N'-tetrametiletillen diamin (TEMED) Sigma Chemical Company'den; bikarbonat, sülfanilamid, sodyum bikarbonat, trihidroksimetilaminometan (Tris), sodyum hidroksit, aseton, sodyum asetat, etanol, sodyum sülfat, sodyum perklorat, metanol, 2- merkaptotanol, fosforik asit, hidroklorik asit, sülfirik asit, glisin, brom timol mavisi, izoproponal, sodyum barbital, coomassie brilliant blue G-250 akrilamid, N,N'- metilen bisakrilamid, coomassie brilliant blue R-250 Merk firmasından sağlanmıştır.

3.2.2. Faydalanılan Alet Ve Cihazlar

Çalışma sırasında aşağıdaki araç-gereçler kullanılmıştır.

Spektrofotometre Thermo Scientific Evolution 201 UV-Visible Spectrophotometer

Karıştırıcı WiseMix VM-10

pH metre Crison MM41 Multimeter

Peristaltik pompa Gilson Minipuls 3

Hassas terazi OHAUS Pioneer

Santrifüj Thermo Scientific

Otomatik pipet ISOLAB Seti

Buzdolabı profilo

Derin dondurucu (-19) Profilo Derin Dondurucu

3.2.3. Kullanılan Çözeltiler ve Bu Çözeltilerin Hazırlanması

1. pH'sı 7.40 olan 50 mM Tris-sülfat, 6054 mg tris 900 ml damıtılmış su içerisinde çözüldükten sonra, pH'sı 7.40 olan 1 N sülfirik asit ile ayarlanarak son hacim distile su ile 1000 mililitreye tamamlandı.

2. p-nitrofenilasetat çözeltisi: önce 14,1 mg p-nitrofenilasetat 1000 µl dimetil keton içerisinde çözüldü ve ardından 24 ml dH₂O damla damla eklenerek hazırlandı.

3. pH'sı 8.70 olan 100 mM sodyum sülfat /25 mM Tris-HCl çözeltisi (Afinite jeli dengelenme tamponu): 3027 mg tris ve 1423 mg sodyum sülfat tartılarak 900 ml damıtılmış suda çözülüp pH'sı 0,1 N HCl ile 8.70'e ayarlanmıştır. Ardından damıtılmış su ile hacmi 1000 mililitreye çıkarılmıştır.

4. 22 mM Na₂SO₄ / 25 mM Tris-HCl çözeltisi (afinite jelin yıkama tamponu): 3027 mg Tris ve 3125 mg sodyum sülfat, 900 ml damıtılmış su ile çözüp. pH 8,70'e 0,1 N HCl ile tamamlayıp ardından hacim 1000 mililitreye çıkarılmıştır.

5. 1 M sodyum klorür / 50 mM sodyum bifosfat çözeltisi (hCA I izoziminin elüsyon tamponu): 28635 mg NaCl ve 440 mg Na₂HPO₄ alınıp 0,45 L de çözülüp, pH 6,30'a ayarlanıp ardından hacim 0,5 L'ye su ile çıkarılmıştır.

6. 500 mM sodyum perklorat / 100 mM sodyum asetat çözeltisi (hCA II izoenziminin elüsyon tamponu): 2041 mg sodyum asetat ve 9186 g sodyum perklorat 110 ml dH₂O'da çözüldü. pH'sı 0,1 N HCl ile 5,60'a ayarlanıp hacmi dH₂O ile 150 ml'ye çıkarılmıştır.

7. 200 mM sodyum bikarbonat çözeltisi (Sefaroz-4B matriks-afinite jel tamponu): 1680 mg sodyum bikarbonat, 900 ml dH₂O'da çözülüp, 0,1 N sodyum hidroksit ile pH 8,80'e ayarlanmış ve ardından dH₂O ile hacim 1000 mililitreye çıkarılmıştır.

8. 0,2 M Sodyum bikarbonat çözeltisi : (Sefaroz-4B matriksi üzerinde afinite jeli hazırlama tamponu): 16810 mg Sodyum bikarbonat, 900 ml dH₂O ile çözülüp 0,1

N sodyum hidroksit ile pH 10'a ayarlanıp ardından, hacmi dH₂O ile 1000 mililitreye çıkartıldı.

9. Sülfanilamid çözeltisi (afinite jeli hazırlamada kullanılacak tampon): 250 mg sülfanilamid 0°C civarlarında 10 ml 1 mol/L Hidroklorik asit içinde çözülüp ardından 750 mg Sodyum nitrit içeren 5 ml 0°C'deki çözelti, sülfanilamid çözeltisine damla damla ilave edilerek hazırlandı.

10. Coomassie Brilliant Blue çözeltisi: 100 mg Coomassie Brilliant Blue G-250 reaktifi 50 ml %95'lik etanolde çözüldü. Çözeltiye %95'lik 100 ml fosforik asit ilave edildi. Çözeltinin hacmi saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan çözelti karanlık ortamda muhafaza edildi.

3.3. Metodlar

3.3.1. Protein Tayini

3.3.1.1. Kalitatif Protein Tayini

Nitel (Kalitatif) protein tayini, Warburg metodu kullanılarak belirlendi. Bu metodta proteinlerin bulundurduğu tirozin ve triptofan amino asitlerinin 280 nm'de maksimum absorbans değeri göstermesi mantığına dayanır (Segel 1968). Aynı hacimdeki bütün elüsyonlarda Sefaroz-4B-L-tirozin sülfonamid afinite kromatografisi işleminden sonra protein tayini yapıldı ve kuvartz küvetler kullanılarak spektrofotometre yardımıyla absorbans değerleri 280 nm'de dara'ya (kör'e) karşı okundu.

3.3.1.2. Kantitatif Protein Tayini

Bu yöntem afinite kromatografisiyle saf hale dönüştürülen enzim çözeltisi içindeki, hemolizattaki protein miktarları tayin edildi. Bu yöntem, 595 nm'de maksimum absorbans veren 'Protein-Coomassie Brilliant Blue G-250' kompleks oluşturması esasına dayanır. Kompleks bileşenlerinin kenetlenmesi gayet hızlı

gerçekleşir ve çözeltilerde uzunca bir süre kalır. Bu yöntemin hassasiyeti 1-100 µg arasındadır (Bradford 1976).

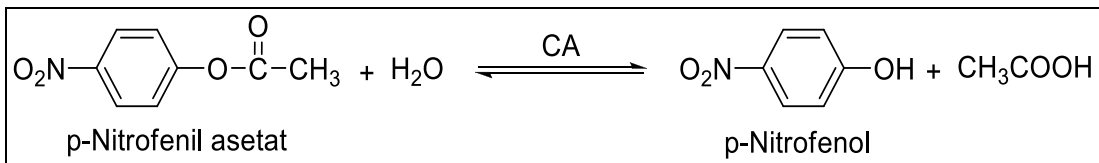
Belirleme işlemleri için şu yöntem takip edildi; 1 ml'sinde 1 mg protein bulunduran standart insan serum albümin çözeltisinden tüplere 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 ve 10 µl alındı. Damıtılmış su ile bütün tüplerin hacimleri 0,1 ml'ye tamam edildi. 4900 µl renk verme reaktifi tüplere ilave edilip vortekste yeteri kadar karıştırıldıktan 10 dk sonra 595 nm'de 3 ml'lik küvetlerde köre göre absorbans miktarları okundu. 0,1 ml aynı tampon çözelti ile 4,9 ml renk verme reaktifinden oluşan karışım dara (kör) olarak kullanılarak absorbans-µg protein değerlerinin standart grafikleri çizildi.

3.3.1.3. Enzim aktivitesi tayini

3.3.1.3.a. Esteraz Aktivitesi Tayini

CA izozimi üzerine inhibitörlerin etkilerini incelemek için bu yöntem kullanıldı. Yöntem, CA'nın esteraz aktivitesine sahip olması mantığına dayanmaktadır.

Karbonik anhidraz, substrat olarak seçilen *p*-nitrofenilasetatı, 348 nm'de absorbans veren *p*-nitrofenolat veya *p*-nitrofenol'a parçalayıp hidrolize eder ($\epsilon_{348}=5 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) (Şekil 3.58).



Şekil 3. 58. *p*-Nitrofenilasetatın *p*-nitrofenol olarak dönüştürme mekanizması (Verpoorte *et al.* 1967)

Fenoldeki H⁺ iyonunun ayrılıp ayrılmaması ölçüm sonucuna etki etmemektedir, bunun nedeni 348 nm' de hem *p*-nitrofenol hem *p*-nitrofenolat aynı absorbans değerini göstermektedir. 348 nm dalga boyunda *p*-nitrofenilasetatın da absorpsiyonu çok az olduğu için dara (kör) olarak kullanılmaktadır.

Aktivite belirlemede řu yol takip edilmiştir; 1 mL substrat, 1,3 mL tampon řözelti, 0,6 mL su ve 0,1 mL enzim kuvartz küvetlere konulup 3 dk sonra 25°C’de 348 nm’de absorbens değeri belirlendi.

Spektrofotometrede, daha önce enzim yerine 0,1 mL tampon konularak, karışımın 3 dk sonra absorbens değeri sıfıra ayarlandı. Bu şekilde 3 dk içerisinde esterin kendisiyle hidroliz olan kısmı ve *p*-nitrofenilasetatin absorpsiyonu için düzenleme yapıldı. İnhibitör ile yapılan çalışmalarda ise eksiltelen su ölçüsünde inhibitör eklenip aktiviteleri tayin edildi.

Deney için kullanılan *p*-nitrofenilasetat substrat şözeltileri ölçümlerden hemen önce hazırlandı; 14 mg ester, 1 ml aseton ile şözölüp manyetik karıştırıcıda hızlı bir şekilde karıştırılan 24 ml damıtılmış suya damla damla eklendi. Ester sınırlı çözünlüğü olduğu için bu çözelti 3 mM’dir, daha konsantre halini hazırlamak mümkün olmuyor. Asetonun çözücü olarak seçme nedenimiz; diğer organik çözücülere baz alındığında hidroliz tepkimesini en az inhibe ediyor olması.

3.3.1.4. hCA Enzimi İçin IC₅₀ Değerlerinin Bulunması ile İlgili Çalışmalar

hCA I ve II izoenzimlerinin IC₅₀ değerlerini tespit etmek için farklı derişimlerde inhibitör kullanıldı ve enzim aktivitesi ölçümleri en uygun koşullarda yapıldı. Leneweaver-Burk grafikleri çizildi ve bu grafiklerden yararlanılarak IC₅₀ değerleri hesaplandı.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Kromotografik Ayırmalar

4.1.1. İnce Tabaka Kromatografisi

(Merck firması) Silikajel 60 HF₂₅₄₊₃₆₆(preperatif)

4.2 Spektrumlar

¹H NMR Varian 400 MHz Spektrometre

¹³C NMR Varian 100 MHz Spektrometre

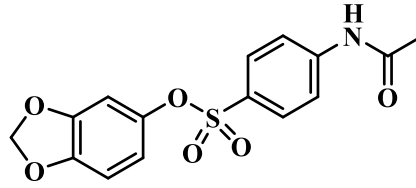
IR Spektrumu Thermo Nicolet iS10 FT-IR Spektrometresi

4.3. Sülfonat Esterler 81-84'ün Sentezi İçin Genel Prosedür:

Sesamol (**36**) (7.24 mmol, 1.00 g) 100 ml'lik bir balona alınarak oda sıcaklığında CH₂Cl₂ (20 mL) içinde çözüldü ve daha sonra üzerine trietilamin (NEt₃) (7.24 mmol) damla damla ilave edildi. Sülfonil klorür (p-TsCl, 4-florobenzenesülfonil klorür, 3-(Triflorometil)benzenesülfonil klorür, 4-asetamidobenzenesülfonil klorür (7.24 mmol) eklendikten sonra oluşan karışım oda sıcaklığında karıştırıldı. 24 saat sonra reaksiyon karışım, suyla (15 mL) seyreltildi ve DCM (30 mL X 3) ile ekstrakte edildi. Daha sonra, birleştirilen organik fazlar, doygun tuzlu su (30 mL) çözeltisi ile yıkandı, susuz Na₂SO₄ üzerinde kurutuldu, süzüldü ve çözücü vakumda uzaklaştırıldı. (Çözücü uzaklaştırıldıktan sonra, 1H-NMR analizi, iyi verimlerde sülfonat esterlerinin oluşumunu gösterdi. Sülfonat esterleri **82-84** kantitatif bir dönüşümle elde edilirken, bileşik **81** saf olarak elde edilmedi. Sesamolün 4-asetamidobenzenesülfonil klorür ile (düşük sıcaklık ve oda sıcaklığında) tüm reaksiyonları, sülfonat ester **81** ve çıkış bileşiği sesamol (**36**) karışımını verdi. 24 saat sonra, %68 sesamol (**36**)'ya dönüştürülmüş ve metilen klorür/petrol eterinden yeniden kristallendirmeden sonra %50 verimle sülfonat ester **81** elde edildi.) Çözücünün uzaklaştırılmasıyla katılan karışımdan sülfonat esterler **81-84** metilen klorür/petrol eteri ile yeniden

kristallendirilerek tekrar saflaştırılmıştır. Sülfonat esterler **81-84** için veriler aşağıda gösterilmiştir.

4.4.1. Benzo[d][1,3]dioksol-5-il 4-asetamidobenzensülfonat (81):



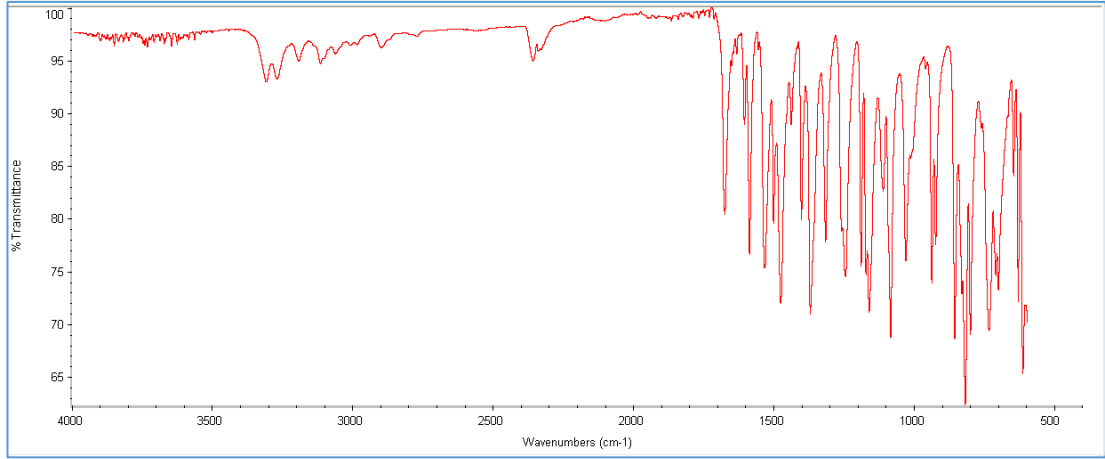
81

Metilen klorür/petrol eterinden kristallendirildi. m.p.: 139.5-140 °C.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ=7.89 (bs, NH), 7.83 (m, 4H, Ar-H), 6.63 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, Ar-H), 6.52 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.37 (dd, *J* = 8.5 Hz, 2.4 Hz, 1H, Ar-H), 5.96 (s, 2H, OCH₂O), 2.23 (s, 3H, CH₃).

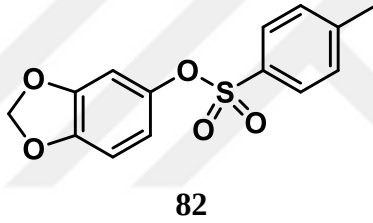
¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ= 168.95, 148.08, 146.62, 143.58, 130.03, 129.77, 119.06, 115.31, 107.90, 104.16, 102.46, 24.78.

IR (ATR, cm⁻¹): ν 3311, 3273, 3195, 3118, 1678, 1590, 1537, 1479, 1405, 1374, 1319, 1247, 1193, 1164, 1087, 1034, 941, 927, 859, 834, 822, 803.



Şekil 4. 59. Sülfonat ester **81**'in FTIR spektrumu

4.4.2. Benzo[d][1,3]dioksol-5-il 4-metilbensensülfonat (**82**):

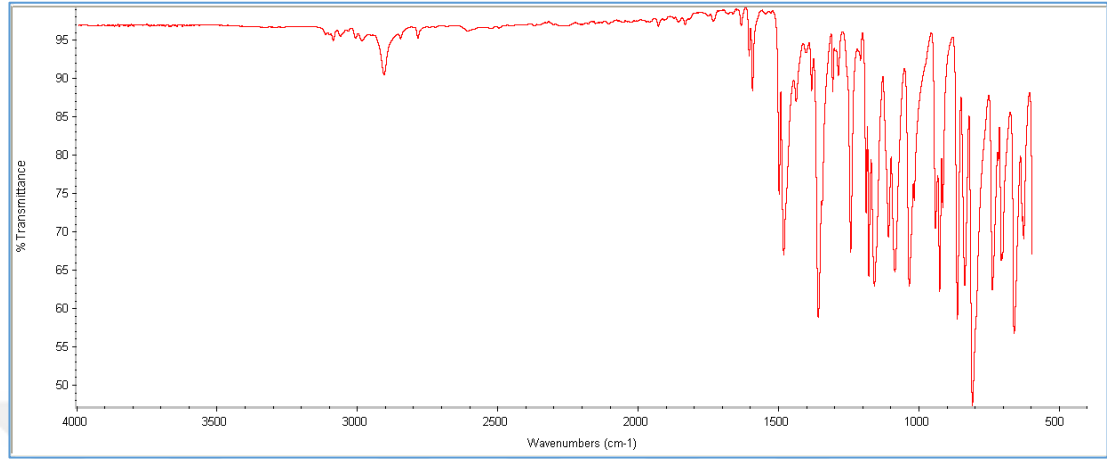


Metilen klorür/petrol eterinden kristallendirildi. m.p.: 86-87 °C. (Che *et al.* 2020)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ= 7.71 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.32 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, Ar-H), 6.64 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, Ar-H), 6.53 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.38 (dd, *J* = 8.5, *J* = 2.4 Hz, 1H, Ar-H), 5.96 (s, 2H, OCH₂O), 2.45 (s, 3H, CH₃).

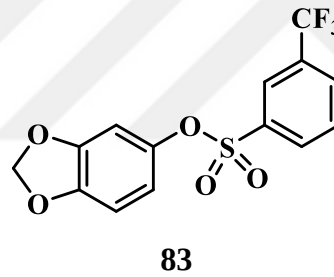
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 147.97, 146.40, 145.41, 143.79, 132.22, 129.78, 128.57, 115.25, 107.84, 104.44, 101.95, 21.74.

IR (ATR, cm⁻¹): ν 3089, 2909, 2849, 2788, 1608, 1596, 1501, 1484, 1362, 1291, 1246, 1182, 1088, 1037, 929, 866, 840, 813.



Şekil 4. 60. Sülfonat ester **82**'nin FTIR spektrumu

4.4.3. Benzo[d][1,3]dioksol-5-il 3-(triflorometil)benzensülfonat (**83**):

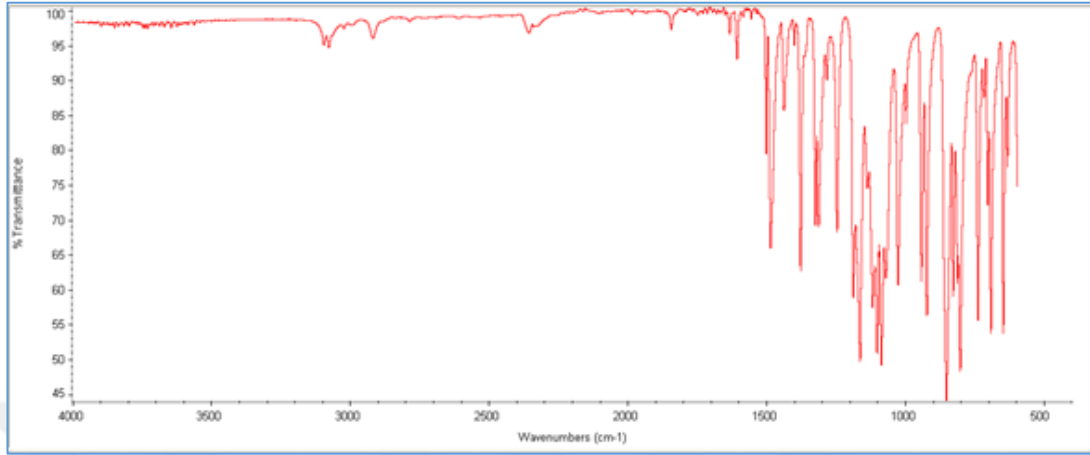


Metilen klorür/petrol eterinden kristallendirildi. m.p.: 77.5-78.5 °C.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.10 (s, 1H, Ar-H), 8.04 (d, J = 7.9 Hz, 1H, Ar-H), 7.94 (d, J = 7.9 Hz, 1H, Ar-H), 7.71 (t, J = 7.9 Hz, 1H, Ar-H), 6.66 (d, J = 8.5 Hz, 1H, Ar-H), 6.55 (d, J = 2.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.36 (dd, J = 8.5, 2.4 Hz, 1H, Ar-H). 5.99 (s, 2H, OCH₂O).

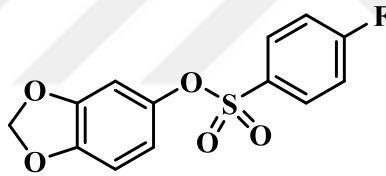
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 148.24, 146.79, 143.33, 136.43, 131.98 (q, J = 33.9 Hz), 131.73, 130.89 (q, J = 3.5 Hz), 130.03, 125.68 (q, J = 3.8 Hz), 122.92 (q, J = 273.0 Hz), 115.04, 107.97, 104.27, 102.14.

IR (ATR, cm⁻¹): ν 3099, 3080, 2922, 1636, 1610, 1505, 1489, 1441, 1381, 1328, 1316, 1250, 1191, 1121, 1105, 1090, 1030, 946, 926, 832, 816, 806.



Şekil 4. 61. Sülfonat ester **83**'ün FTIR spektrumu

4.4.4. Benzo[d][1,3]dioksol-5-il 4-florobenzensülfonat (**84**):



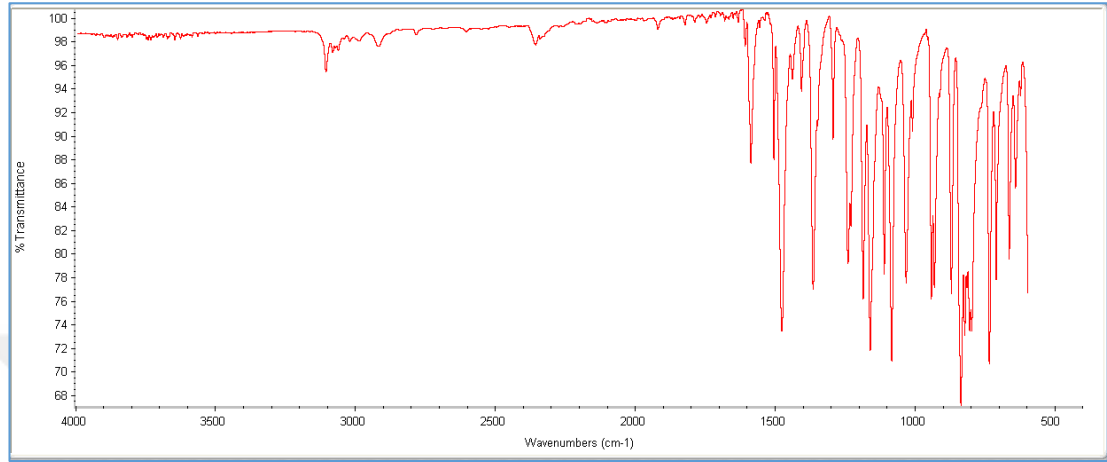
84

Metilen klorür/petrol eterinden kristallendirildi. m.p.: 88-89 °C. (Che *et al.* 2020)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.86 (m, 2H, Ar-H), 7.21 (m, 2H, Ar-H), 6.66 (d, J = 8.5 Hz, 1H, Ar-H), 6.54 (d, J = 2.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.38 (dd, J = 8.5, 2.4 Hz, 1H, Ar-H), 5.98 (s, 2H, OCH₂O).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 165.97 (d, J = 254.5 Hz), 148.20 (s), 146.78 (s), 143.76 (s), 131.46 (d, J = 9.7 Hz), 131.12 (d, J = 3.4 Hz), 116.60 (d, J = 22.8 Hz), 115.15 (s), 107.92 (s), 104.35 (s), 102.07 (s).

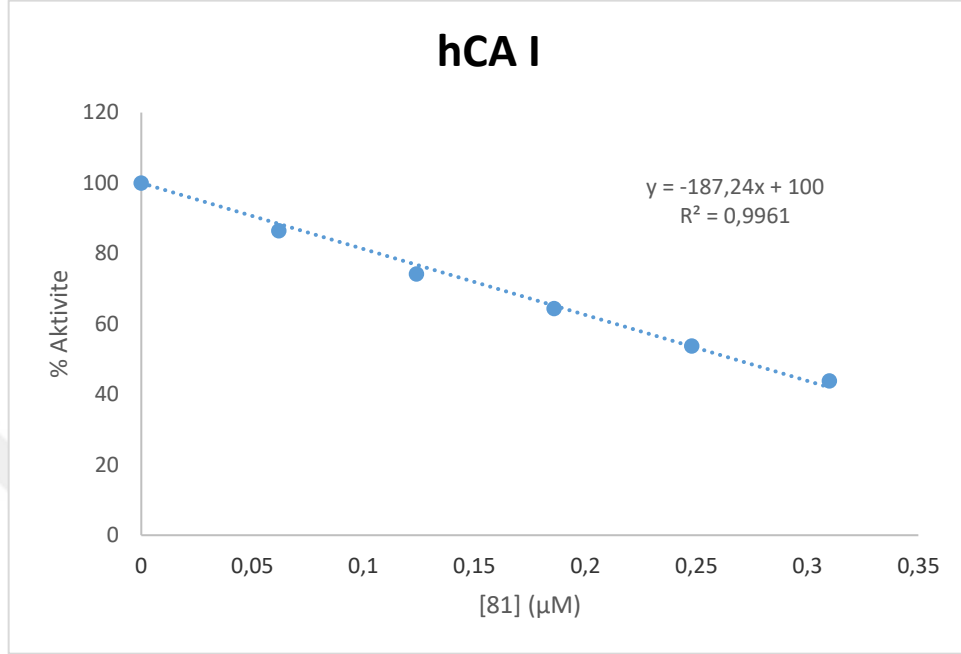
IR (ATR, cm^{-1}): ν 3109, 2920, 1590, 1508, 1480, 1367, 1296, 1243, 1232, 1163, 1114, 1100, 1087, 1035, 945, 934, 840, 826, 818.



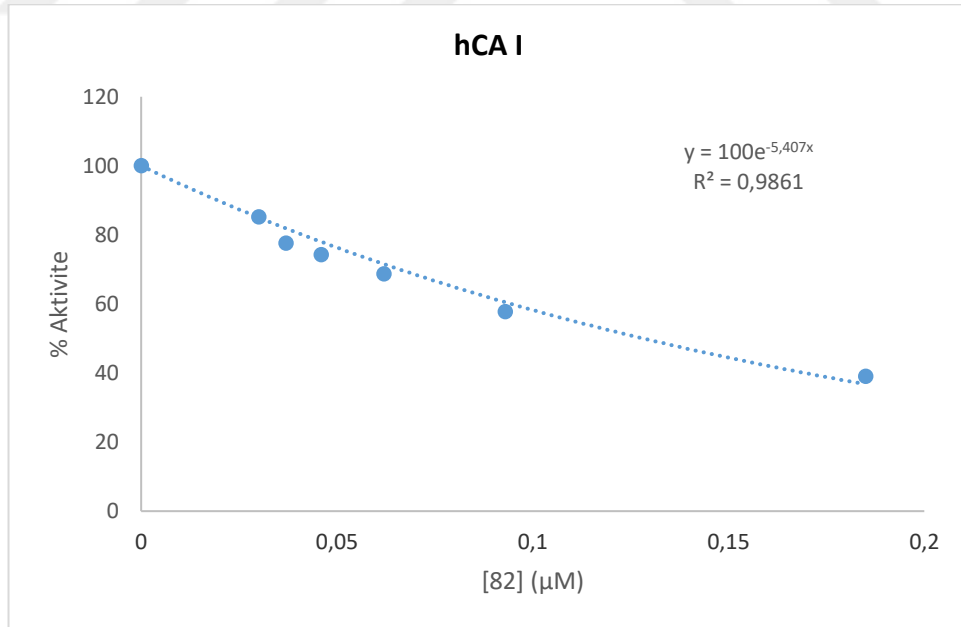
Şekil 4. 62. Sülfonat ester **84**'ün FTIR spektrumu

4.5. Enzim Kinetiği Sonuçları

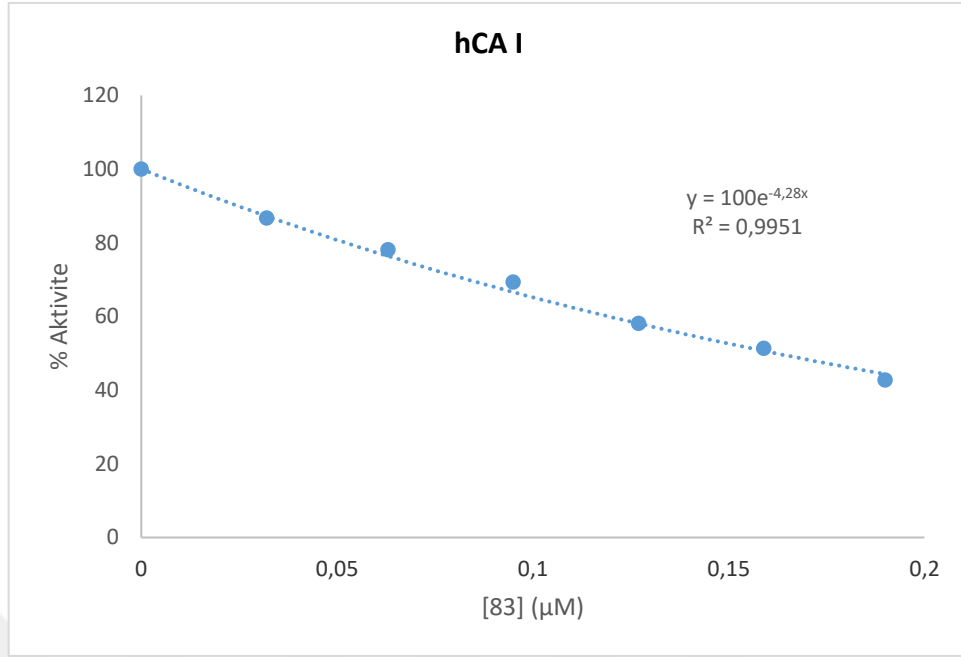
hCA I ve II ile sentezlenen sesamol türevleri **81-84**'ün etkileşimi sonucu elde edilen IC₅₀ grafikleri aşağıdaki gibidir (Şekil 4.63. - Şekil 4.70.).



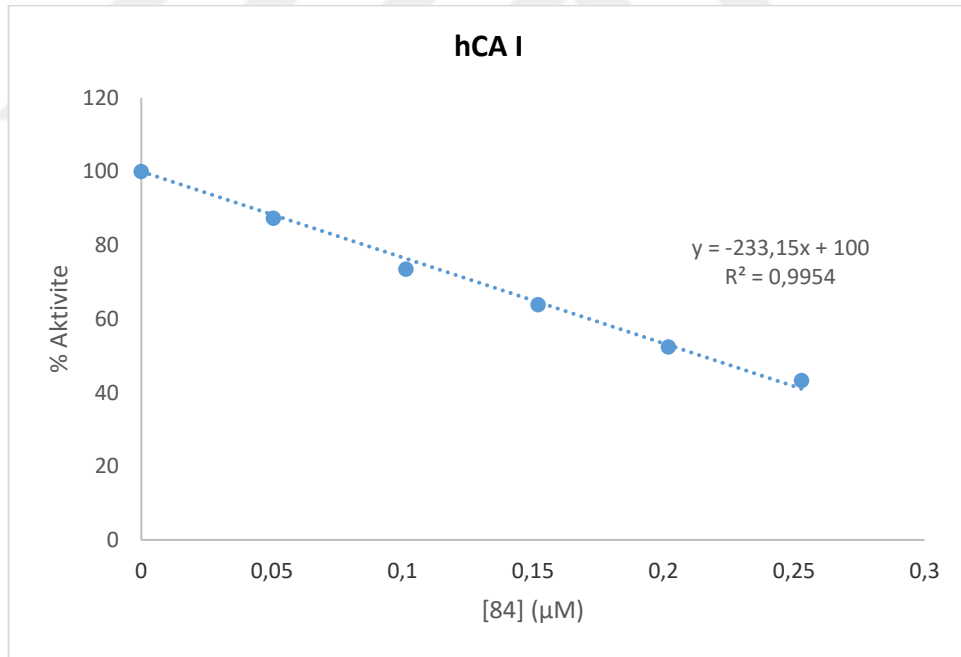
Şekil 4. 63. Sülfonat ester **81**'in hCA I ile IC₅₀ grafiği.



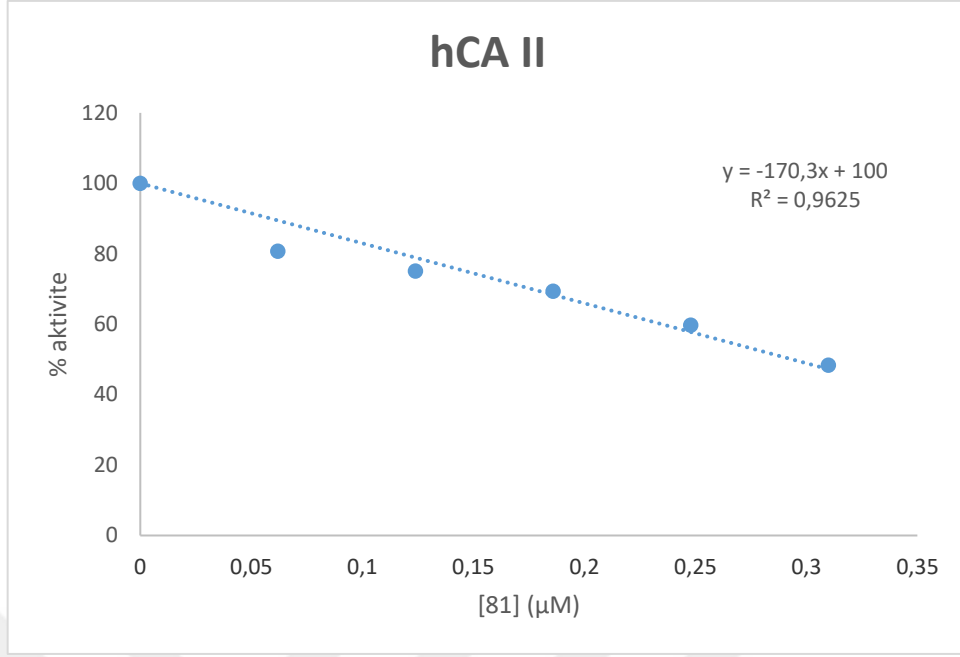
Şekil 4. 64. Sülfonat ester **82**'nin hCA I ile IC₅₀ grafiği.



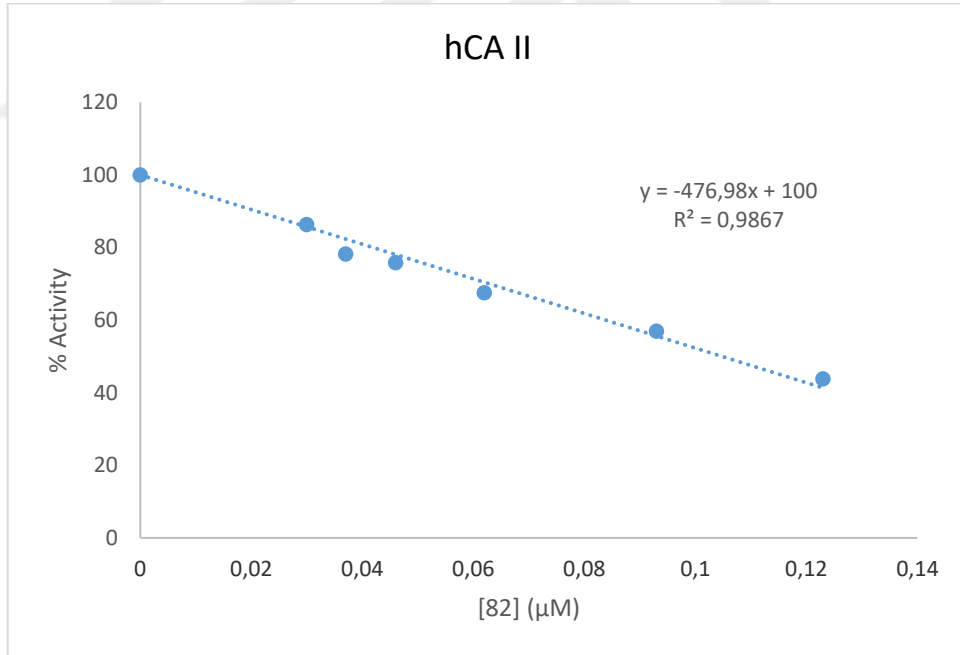
Şekil 4. 65. Sülfonat ester **83**'ün hCA I ile IC₅₀ grafiği



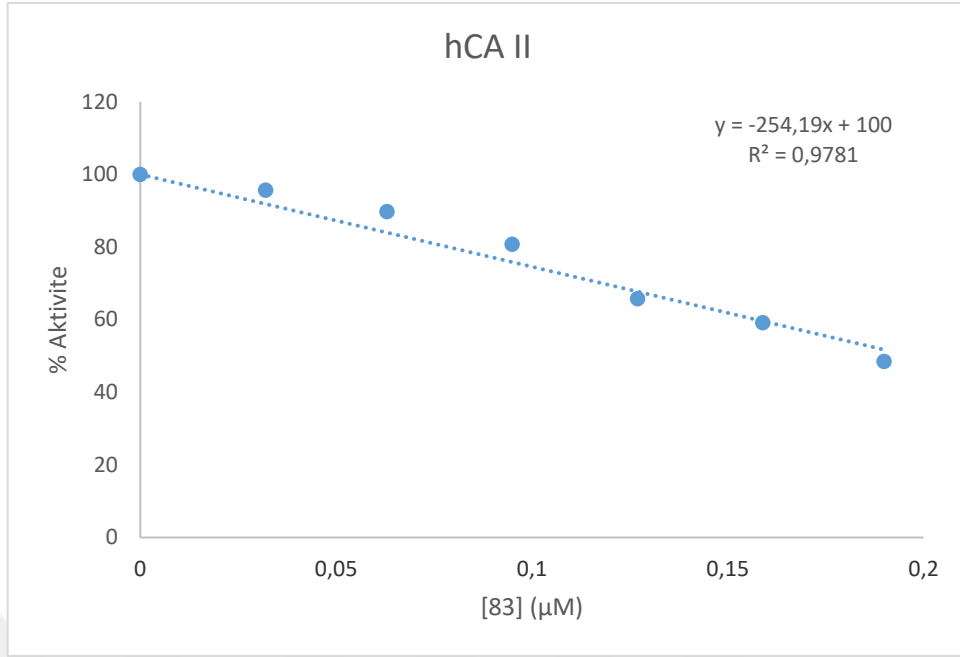
Şekil 4. 66. Sülfonat ester **84**'ün hCA I ile IC₅₀ grafiği



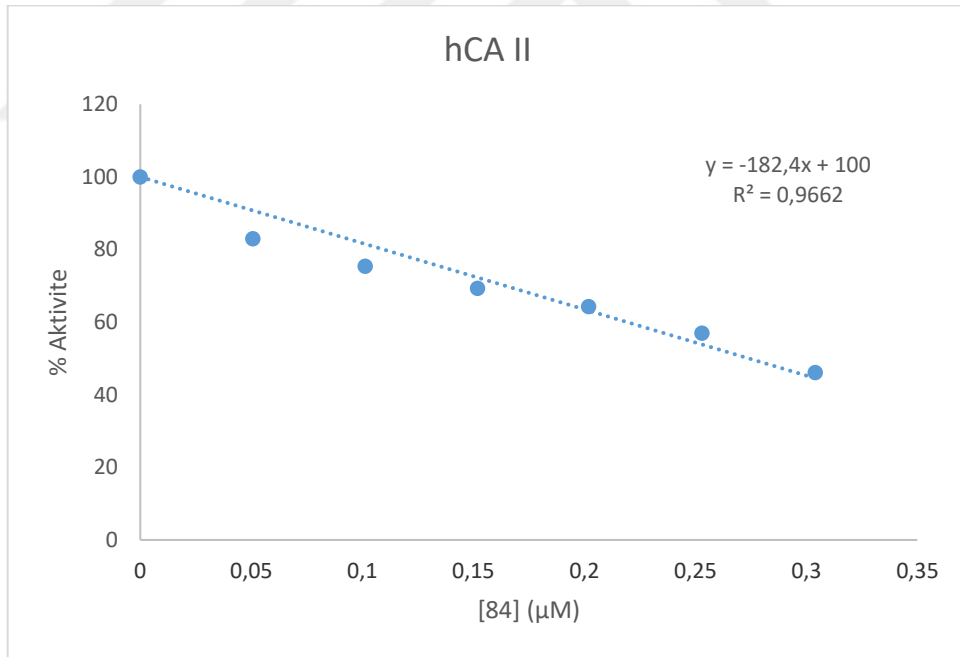
Şekil 4. 67. Sülfonat ester **81**'in hCA II ile IC₅₀ grafiği.



Şekil 4. 68. Sülfonat ester **82**'nin hCA II ile IC₅₀ grafiği.



Şekil 4. 69. Sülfonat ester **83**'ün hCA II ile IC₅₀ grafiği



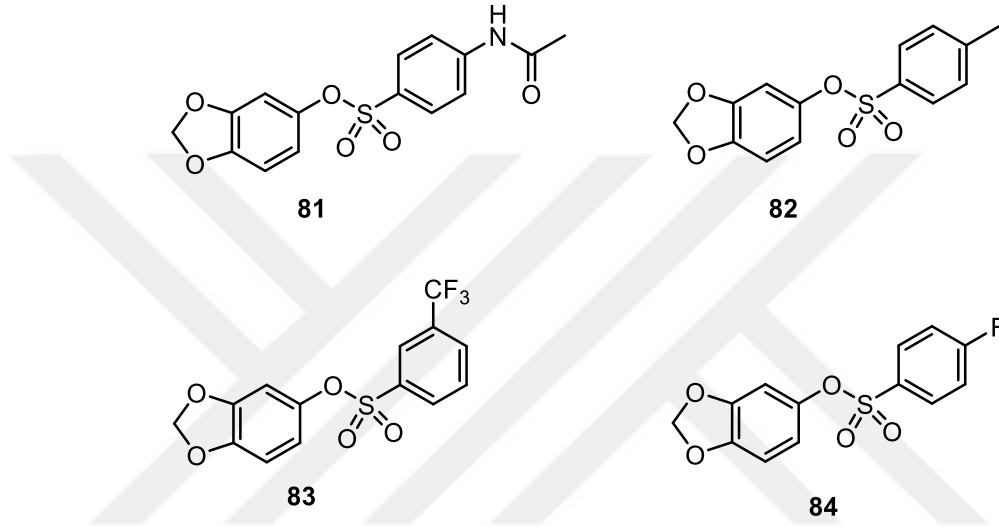
Şekil 4. 70. Sülfonat ester **84**'ün hCA II ile IC₅₀ grafiği

İnhibitör	hCA I (nM)	hCA II (nM)
81	267,0	293,6
82	128,1	104,8
83	162,0	196,7
84	214,0	274,1

Şekil 4. 71. Test edilen süflonat esterler ile hCA I ve II için elde edilen IC₅₀ değerleri.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Sesamol ve türevleri ile sülfonat esterlerin sahip olduğu biyolojik aktivitelerden dolayı bu tür moleküllerin hem sentezi hem de biyolojik açıdan incelenmesi araştırmacıların oldukça dikkatini çekmiştir. Bu yüzden bu tez kapsamında sesamol temelli sülfonat esterlerin sentezi ve bazı biyolojik özelliklerinin incelenmesi temel hedef olmuştur. Bunun için iki kısımdan meydana gelen bu tezin ilk kısmında sesamol türevi olan sülfonat esterler **81-84** iyi bir verimle elde edildi.



CA'lar, fizyolojik ortamda CO_2 molekülünün bikarbonat ve H^+ iyonuna dönüştüren tepkimeyi kataliz eden metaloenzimlerdir. Bu tepime geri dönüşümlü şekilde cereyan eder (Orhan *et al.* 2022). CA'lar arkealar, bakteriler, omurgalılar, protozoalar ve yeşil bitkilerin kloroplastlarında bulunurlar (Ghiasi *et al.* 2017; Piazzetta *et al.* 2017; Orhan *et al.* 2022). CA'lar metabolizmada pH düzenleme, elektrolit sekresyonu, biyosentez süreci ve tümörigenez v.b. gibi çok sayıda fizyolojik proseste rol alırlar (Carta *et al.* 2015; Soydan *et al.*, 2020).

CA'ların dokulardaki dağılımları, kinetik kapasiteleri ve hücresel yapıdaki lokalizasyonları farklılık gösterir. CA I, II, III, VII ve XIII sitoplazma içerisinde bulunurken CA IV, IX, XII ve XIV membran yapısında yer alır; CA VA ve VB ise mitokondri içerisinde; CA VI salgısal izoformdur (Bottcher *et al.* 1994; Hilvo *et al.* 2005; Soydan *et al.*, 2020). Çok önemli birçok fizyolojik fonksiyonda görevi bulunan CA izozimleri ödemden, glokom hastalığına, kanserden, epilepsiye kadar birçok hastalığın tedavisinde önemli ilaç adayı moleküller olarak görev yaparlar.

CA'ların tanımlanması, moleküler ve kinetik karakterizasyon, subseleler fraksiyonlama ve sülfonamidler gibi spesifik inhibitörler ile birtakım deneysel yaklaşımlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Şu an'a dek sayısız sülfonamid ve sülfonamid olmayan (tiyoller, fenoller, poliaminler, kumarinler ve ditiyokarbamatlar) CA inhibitörleri sentezlendi veya izole edildi (Mert *et al.* 2015; Koutnik *et al.* 2017).

CA izoenzimlerinin inhibisyonu çalışmaları, bu enzimlerin birçok hastalığın tedavisinde hedef enzimler olması sebebi ile güncelliğini koruyan bir araştırma sahasıdır. CA'ların inhibisyonunda en önemli moleküller olarak sülfonamidler yer almaktadır. Bununla beraber araştırmacılar karbonik anhidraz inhibisyonu üzerine etkili yeni tip moleküllerin sentezi içinde oldukça yoğun olarak çalışmaktadırlar. Bu amaçla tezin ikinci kısmında ise sentezi başarılı bir şekilde gerçekleştirilen sesamol bazlı sülfonat esterler **81-84**'ün karbonik anhidraz izozimlerinden CAI ve CAII enzimleri üzerine inhibisyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. İnhibisyon çalışmalarını gösteren tablo 1 incelendiği zaman nM seviyesindeki IC₅₀ değerleri sentezlenen moleküllerin bu enzimler için iyi bir inhibitör olduklarını ortaya koymaktadır. Sentezlenen moleküller içinde **82** molekülü hem en etkili hCA I (128,1 nM) inhibitörü olarak hemde 104,8 nM IC₅₀ değeri ile en etkili hCA II inhibitörü olarak belirlenmiştir.

Böylece bu çalışma kapsamında sesamol temelli sülfonat esterlerin sentezlenmesi ve bazı CA'ların inhibisyonu üzerine etkili olduklarının gösterilmesi sonucu CAI'leri için yeni tip bir molekül sınıfı tanımlanmıştır. Ayrıca sesamol ve türevleri ile sülfonat esterlerin sahip olduğu biyolojik anlamda sahip olduğu pek çok özellik nedeni ile ve bu moleküllerin nM seviyedeki inhibisyon değerleri ile **81-84** moleküllerinin diğer CA izoenzimleri ve farklı enzimler içinde uygun inhibitörler olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- Abdelhamid, H.N., El-Bery, H.M, Metwally, A.A, Elshazly, M., Hathout, .RM., 2019. Synthesis of CdS-modified chitosan quantum dots for the drug delivery of Sesamol, Carbohydrate Polymers, 7, march.1-32.
- Aggarwal, M., Boone, C. D., Kondeti, B. and McKenna, R., 2013. "Structural annotation of human carbonic anhydrases." *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 28(2), 267–277.
- Alden-Danforth, E., Scerba, M.T and Asymmetric, T.L., 2008. Cycloadditions of o-Quinone Methides Employing Chiral Ammonium Fluoride Precatalysts. *Organic Letters*, Vol. 10, No. 21, 4951-4953.
- Altıntop, M. D., Sever, B., Özdemir, A., Kucukoglu, K., Onem, H., Nadaroglu, H. and Kaplancıklı, Z. A., 2017. "Potential inhibitors of human carbonic anhydrase isozymes I and II: Design, synthesis and docking studies of new 1,3,4-thiadiazole derivatives." *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 25(13), 3547-3554.
- Arakawa, H., Nakabayashi, S., Ohno, K., Maeda, M., 2012. New fluorimetric assay of horseradish peroxidase using sesamol as substrate and its application to EIA. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2 (2):156–159.
- Bahrami, k., Khodaei, M., Abbasi, j., 2012. Synthesis of sulfonamides and sulfonic esters via reaction of amines and phenols with thiols using H₂O₂/POCl₃ system. *Tetrahedron* (68) 5095-5101.
- Bai, S., Liao, Y., Lin, L., Luo, W., Liu, X., and Feng, X., 2014. N,N'-Dioxide-Scandium(III)-Catalyzed Asymmetric Aza-Friedel-Crafts Reaction of Sesamol with Aldimines. *The Journal of Organic Chemistry*, 79, 10662–10668.
- Bailey, K., Cowling, R., Tan, E.W., Webb, D., 2004. A colormetric assay for atechol-O-methyltransferase, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 12, 595–601.
- Bhatthulaa, B.K.G., Kanchania, J.R., Arava, V.R., Subbaraob, S.M.C., 2020. A simple method for the synthesis of sulfonic esters, Taylor & Francis Group, VOL. 50, NO. 20, 3133–3148.
- Bornholdt, J., Fjære, K.W., Felding, J., Kristensen, J.L., 2009. Heterocyclic pentafluorophenyl sulfonate esters as shelf stable alternatives to sulfonyl chlorides. *Tetrahedron*, 65, 9280–9284.
- Bottcher, K., Waheed, A. and Sly, W. S., 1994. "Membrane-associated carbonic anhydrase from the crab gill: Purification, characterization and comparison with mammalian CAs." *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 312(2), 429-435.
- Bradford, M. M., 1976. "A rapid and sensitive method for the quantitaion of microgram quantites of protein utilizing the principle of protein-dye binding." *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Carta, F. Manelli, L. D. C., Pinard, M., Ghelardini, C., Scozzafava, A., McKenna, R. and Supuran, C. T., 2015. "A class of sulfonamide carbonic anhydrase inhibitors with neuropathic pain modulating effects." *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 23(8), 1828-1840.
- Carter, N. D., Hemmett-Emmett, D., Jeffrey, S. and Tashian, R. E., 1981. "Testosterone-induced, sulfonamide-resistant carbonic anhydrase isozyme of

- rat liver is indistinguishable from skeletal muscle carbonic anhydrase III." *Febs Letters*, 128(1), 114-118.
- Chandra, J., Chaudhuri, R., Manne, S.R., Mondal, S., Mandal, B., 2017. Direct Synthesis of Sulphonates of Alcohol, Oxyma-O-sulphonates and Oxime-O-sulphonates under Microwave Irradiation. *Chemistry Select*, 2, 8471 – 8477.
- Chauhan, P., Chimni, S.S., 2013. Organocatalytic enantioselective aza-Friedel–Crafts reaction of sesamol with N-sulfonylimines catalyzed by 60-OH Cinchona alkaloids, *Tetrahedron Letters*, 54 (2013) 4613–4616.
- Chang, C.H., Han, J.L., 2016. Organocatalytic Enantioselective Friedel-Crafts Reaction of Sesamol and Electron-rich Phenols with Alkylideneindolenine Intermediates Generated from Arylsulfonyl Indoles, *Chemistry Select*, 1, 5628 – 5632.
- Chattopadhyay, A., O'Connor, C.J., Zhang, F., Galvagnion, C., Galloway, W.R. J. D., SingTan, Y., Stokes, J.E., Rahman, T., Verma, C., Spring, D.R., Itzhaki, L.S., 2016. Discovery of a small-molecule binder of the oncoprotein gankyrin that modulates gankyrin activity in the cell . *Scientific reports*, (6), 23732, (1-11).
- Che, Z.P., Yang, J.M., Shan, X.J., Tian, Y., Liu, S.M., Lin, X.M., Jiang, J., Hu, M., Chen, G.Q., 2020. Synthesis and insecticidal activity of sulfonate derivatives of sesamol against *Mythimna separata* in vivo. *Journal of Asian Natural Products Research*, 22 (7), 678-688.
- Chen, W.Y., Chen, F.Y., Lee, A., Tting, K-H., Chang, C-M., Hsu, J.F., Lee, W.S., Sheu, J-R., Chen, C-H., Shen, M-y., 2015. Sesamol Reduces the Atherogenicity of Electronegative L5 LDL in Vivo and in Vitro. *Journal of Natural Products*, 78, 225–233.
- Cheng, C., Liu, C., Gu, Y., 2015. One-pot three-component reactions of methyl ketones, phenols and a nucleophile: an expedient way to synthesize densely substituted benzofurans, *tetrahedron*, Volume 71, Issue 42, Pages 8009-8017.
- Chopra, K., Tiwari, V., Arora, V., Kuhad, A., 2010. Sesamol Suppresses Neuro-Inflammatory Cascade in Experimental Model of Diabetic Neuropathy. *The Journal of Pain*, Vol 11, No 10 (October), pp 950-957.
- Constantin, M.A., Conrad, J., Beifuss, U., 2012. An unprecedented oxidative trimerization of sesamol catalyzed by laccases. *Tetrahedron Letters*, 53. 3254–3258.
- Damodar, K., Kim, J.K., Jun, J.G., 2016. Unified syntheses of gramniphensols F and G, cicerfuran, morunigrol C and its derivative. *Tetrahedron Letters*, (57). 1183–1186.
- Durdagi, S., Şentürk, M., Ekinci, D., Balaydın, H. T., Göksu, S., Küfrevioğlu, Ö. İ., Innocenti, A., Scozzafava, A. and Supuran, C. T., 2011. "Kinetic and docking studies of phenol-based inhibitors of carbonic anhydrase isoforms I, II, IX and XII evidence a new binding mode within the enzyme active site." *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 19, 1381–1389.
- Engelbrecht, I., Petzer, J.P., Petzer, A., 2015. The synthesis and evaluation of sesamol and benzodioxane derivatives as inhibitors of monoamine oxidase, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25, 1896–1900.

- Esbaugh, A. J. and Tufts, B. L., 2006. "The structure and function of carbonic anhydrase isozymes in the respiratory system of vertebrates." *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 154, 185–198.
- Ferraroni, M., Cornelio, B., Sapi, J., Supuran, C. T. and Scozzafava, A., 2017. "Sulfonamide carbonic anhydrase inhibitors: Zinc coordination and tail effects influence inhibitory efficacy and selectivity for different isoforms." *Inorganica Chimica Acta*, In Press.
- Gangar, M., Chouhan, M., Goyal, S., Harikrishnan M., Chandran R., Ittuveetil, A., Nair V.A., 2016. Asymmetric glycolate alkylation approach towards total synthesis of 8-O.6' and 8-O.4'-neolignans. *Tetrahedron Letters*, (57) 5931–5934.
- Gao, J., Pan, X., Liu, J., Lai, J., Chang, L., Yuan, G., 2015, Iodine-induced synthesis of sulfonate esters from sodium sulfinates and phenols under mild conditions. *Royal Society of chemistry*, (5), 27439-27442.
- Ghiasi, M., Hemati, S. and Zahedi, M., 2017. "Activation modelling of b- and c-class of carbonic anhydrase with amines and amino acids: Proton transfer process within the active site from thermodynamic point of view." *Computational and Theoretical Chemistry*, 1109, 42–57.
- Guney, M., Cavdar, H., Senturk, M., Ekinici, D. 2015. Synthesis and carbonic anhydrase inhibitory properties of novel uracil derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25, (16), 3261-3263.
- Hassan, Md. I., Shajee, B., Waheed, A., Ahmad, F. and Sly, W. S., 2013. "Structure, function and applications of carbonic anhydrase isozymes." *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21, 1570-1582.
- He, Z., Jamison, T.F., 2014. Continuous-Flow Synthesis of Functionalized Phenols by Aerobic Oxidation of Grignard Reagents. *Angewandte Chemie international edition*, 53, 3353 –3357.
- Helal, A.M., Sayed, A.M., Omera, M., Elsebaei, M.M., Mayhoub, A.S., 2019. Peptidoglycan pathways: there are still more!. *Royal Society of chemistry*, (9), 28171-28185.
- Jalalian, N., Petersen, T.B., Olofsson, B., 2012. Metal-free Arylation of Oxygen Nucleophiles with diaryliodonium salts. *Chemistry a european journal*, (18), 14140-14149.
- Hilvo, M., Tolvanen, M., Clark, A., Shen, B., Shah, G.N., Waheed, A., Halmi, P., Hänninen, M., Hämäläinen, J. M., Vihinen, M., Sly, W.S. and Parkkila, S., 2005. "Characterization of CA XV, a new GPI-anchored form of carbonic anhydrase." *Biochemical Journal*, 392 (1), 83-92.
- Hollò, G., 2015. "54-Carbonic anhydrase inhibitors." *Glaucoma (Second Edition)*, 1, 559-565.
- Jalalian, N., Petersen, T., Olofsson, B., 2012. Metal-Free Arylation of Oxygen Nucleophiles with Diaryliodonium Salts, *Chemistry a european journal*, (18), 14140 – 14149.
- Ji, J., Liu, Y., Shi, L., Wang, N., Wang, X., 2018. Effect of roasting treatment on the chemical composition of sesame oil. *LWT - Food Science and Technology*, (101), 191-200.

- Johansson, M. I. and Forsman, C., 1993. "Kinetic studies of pea carbonic anhydrase." *European Journal of Biochemistry*, 218, 439-446.
- Kanabar, D., Farrales, P., Gnanamony, M., Almasri J., Abo-Ali, E.M., Otmankel, Y., Shah, H., Nguyen, D., Menyewi, M.E., Dukhande, V.V., D'Souza, A., Muth, A., 2020. Structural modification of the aryl sulfonate ester of cjoc42 for enhanced gankyrin binding and anti-cancer activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 30, 126889, (1-5).
- Karioti, A., Carta, F., Supuran, C.T. 2016. Phenols and Polyphenols as Carbonic Anhydrase Inhibitors. *Molecules*, 21(12), 1649.
- Kass, M. A., 1989. "Topical carbonic anhydrase inhibitors." *American Journal of Ophthalmology*, 107(3), 280-282.
- Kazancıoğlu Akın E., Güney, M., Şentürk, Supuran, C.T., 2012. Simple methanesulfonates are hydrolyzed by the sulfatase carbonic anhydrase activity. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 27,(6): 880–885.
- Khamphio, M., Barusrux, S., Weerapreeyakul, N., 2016. Sesamol induces mitochondrial apoptosis pathway in HCT116 human colon cancer cells via pro-oxidant effect. *Life Sciences* 158, 46–56.
- Koutnik, P., Shcherbakova, E.G., Gozem, S., Caglayan, M.G., Minami, T., Anzenbacher, Jr., P., 2017. Fluorescence-Based Assay for Carbonic Anhydrase Inhibitors. *Chem*, 2, 271–282.
- Krungkrai, S. R., Suraveratum, N., Rochanakij, S. and Krungkrai, J., 2001. "Characterization of carbonic anhydrase in plasmodium falciparum." *International Journal of Parasitology*, 31(7), 661-668.
- Lindskog, S., 1997. "Structure and mechanism of carbonic anhydrase." *Pharmacology & Therapeutics*, 74(1), 1-20.
- Liron, F., Fontana, F., Zirimwabagabo, J-O., Prestat, G., Rajabi, J., Rosa, C., Poli, G., 2009. A New Cross-Coupling-Based Synthesis of Carpanone. *Org. Lett.*, (11), 19, 4378–438.
- Liu, H., Wu, D., Liu, Y., Zhang, H., Ma, T., Aidaerhan, A., Wang, J., Sun, B., 2015. Application of an Optosensing Chip Based on Molecularly Imprinted Polymer Coated Quantum Dots for the Highly Selective and Sensitive Determination of Sesamol in Sesame Oils, *Journal Agricultural and Food Chemistry* 63, 2545–2549.
- Maren, T. H., 1967. "Carbonic anhydrase: Chemistry, physiology and inhibition." *Physiological Reviews*, 47(4), 595-781.
- Martinelli, M.J., Vaidyanathan, R., Pawlak, J.M., Nayyar, N.K., Dhokte, U.P., Doecke, C.W., Zollars, L.M.H., Moher, E.D., Khau, V.V., Kosmrlj, B., 2002. Catalytic Regioselective Sulfonylation of α -Chelatable Alcohols: Scope and Mechanistic Insight. *Journal American Chemical Society*, 124, 3578-3585.
- Maślanka, T., 2015. "A review of the pharmacology of carbonic anhydrase inhibitors for the treatment of glaucoma in dogs and cats." *The Veterinary Journal*, 203(3), 278-284.
- Mert, S., Alım, Z., İşgör, M. M. and Anıl, B., Kasımoğulları, B., and Beydemir, Ş., 2015. "Novel pyrazole-3,4-dicarboxamides bearing biologically active sulfonamide moiety as potential carbonic anhydrase inhibitors." *Arabian Journal of Chemistry*, In press.

- Meshram, G.A., Patil, V.D., 2009. A simple and efficient method for sulfonylation of amines, alcohols and phenols with cupric oxide under mild conditions *Tetrahedron Letters*, (50) 1117–1121.
- Mogk, L. G. and Cyrlin, M. N., 1988. “Blood dyscrasias and carbonic anhydrase inhibitors.” *Ophthalmology*, 95(6), 768-771.
- Moschitto, M.J., Anthony, D.R., Lewis, C.A., 2015. Syntheses of Arnottin I and Arnottin II. *The Journal of Organic Chemistry*, 80, 3339–3342.
- Nocentini, A., Vullo, D., Bartolucci, G. and Supuran, C. T., 2016. “N-Nitrosulfonamides: A new chemotype for carbonic anhydrase inhibition.” *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 24(16), 3612-3617.
- Occhipinti, R., Boron, W.F., 2019. Role of Carbonic Anhydrases and Inhibitors in Acid–Base Physiology: Insights from Mathematical Modeling. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(15): 3841.(1-30).
- Orhan, F., Senturk, M., Genisel, M. 2022. A new carbonic anhydrase identified in the Gram-negative bacterium (*Chromohalobacter* sp.) and the interaction of anions with the enzyme. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology*. 254(2022)109290. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2022.109290>.
- Qu, L., Xu, H., Wang, X., Huang, M., Deng, L., and Guo, Y., 2017. Application of Sustainable Natural Bioresources in Agriculture: Iodine-Mediated Oxidative Cyclization for Metal-Free One-Pot Synthesis of N-Phenylpyrazole Sarisan Analogues as Insecticidal Agents. *ACS Omega*, 2, 5974–5980.
- Palmieri, A., Gabrielle, S., Bellini, R., 2013. Easy and direct conversion of tosylates and mesylates into nitroalkanes *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 9, 533–536.
- Piazzetta, P., Marino, T., Russo, N. and Salahub, D. R., 2017. “The role of metal substitution in the promiscuity of natural and artificial carbonic anhydrases.” *Coordination Chemistry Reviews*, 345, 73-85.
- Pishnamazi, M., Zabihi, S., Jamshidian, S., Hezaveh, A.Z., Shirazian, S., 2020. Measuring solubility of a chemotherapy-anti cancer drug (busulfan) in supercritical carbon dioxide. *Journal of Molecular Liquids*, 317 – 113954, (1-9).
- Ratushnyy, M., Kamenova M., Gevorgyan, V., 2018. A mild light-induced cleavage of the S–O bond of aryl sulfonate esters enables efficient sulfonylation of vinylarenes. *Royal Society of Chemistry*, 9, 7193–7197.
- Register, A. M., Koester, M. K. and Noltmann, E. A., 1978. “Discovery of carbonic anhydrase in rabbit skeletal muscle and evidence for its identity with “Basic muscle protein” ”. *The Journal of Biological Chemistry*, 253(12), 4143-4152.
- R'kyek, O., Halland, N., Lindenschmidt, A., Alonso, J., Lindemann, P., Urmann, M. Nazar, M., 2010. General Palladium-Catalyzed Sonogashira Coupling of Aryl and Heteroaryl Tosylates. *Chemistry European Journal*, 16, 9986 – 9989.
- Salum, M.L., Iguchi, D., Arza, C.R., Han, L., Ishida, H., Froimowicz, P., 2018. Making Benzoxazines Greener: Design, Synthesis, and Polymerization of a Biobased Benzoxazine Fulfilling Two Principles of Green Chemistry, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 6, 13096–13106.

- Segel, H. I., 1968. "Biochemical calculations." John Wiley and Sons Incorporated, 403 p, New York.
- Sclafani, J.A., Chen, J., Levy, D.V., Reese, H., Dimitri, M., Mudipalli, P., Christie, M., Neville, C.J., Olsen, M., Bakale R.P., 2017. The First Asymmetric Pilot-Scale Synthesis of TV-45070. *Organic Process Research Development*, 21, 1616–1624.
- Shen, C., Yang, M., Xu, J., Chen, C., Zheng, K., Shenc, J., Zhang, P., 2017. Iodobenzene-catalyzed synthesis of aryl sulfonate esters from aminoquinolines via remote radical C–O cross-coupling *Royal society Of Chemirstry*, 7, 49436–49439.
- Shenoy, R.R., Sudheendrab, A.T., Nayaka, P.G., Paula, P., Kuttia, N.G., Rao, C.M., 2011. Normal and delayed wound healing is improved by sesamol, an active constituent of *Sesamum indicum* (L.) in albino rats. *Journal of Ethnopharmacology* 133, 608–612.
- Silva, D.L., Terra, B.S., Lage, M.R., Ruiz, A.L.T.G., Silva, C.C., Carvalho, J.E., Carneiro, J.W.M., Martins, F.T., Fernadese, S.A., Fátima, A., 2014. Xanthenones: calixarenes-catalyzed syntheses, anticancer activity and QSAR studies. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 13, 3280–3287.
- Smirnovienė, J., Smirnovas, V. and Matulis, D., 2017. "Picomolar inhibitors of carbonic anhydrase: Of inhibition and binding assays." *Analytical Biochemistry*, 522, 61-72.
- Soydan, E., Olcay, A. C., Bilir, G., Tas, O., Senturk, M., Ekinci, D., Supuran, C.T. 2020. Effects of some pesticides on honey bee carbonic anhydrase enzyme. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 35 (1) 1923-1927.
- Supuran, C. T. and Scozzafava, A., 2001. "Carbonic anhydrase inhibitors." *Current Medicinal Chemistry*, 1(1), 61-97.
- Supuran, C. T., Scozzafava, A. and Casini, A., 2003. "Carbonic anhydrase inhibitors." *Medicinal Research Reviews*, 23(2), 146-189.
- Supuran, C.T., 2008. Carbonic anhydrases: novel therapeutic applications for inhibitors and activators. *Nature Publishing Group*. 7, 168-181.
- Supuran, C. T., 2016. "Structure and function of carbonic anhydrases." *Biochemical Journal*, 473(14), 2023-2032.
- Supuran, C.T., 2018. Carbonic Anhydrases and Metabolism. *Metabolites*, 8, 25 (1-5).
- Şentürk, M., Gülçin, İ., Daşdan A., Küfrevioğlu, Ö.İ. And Supuran, C. T., 2009. "Carbonic anhydrase inhibitors. Inhibition of human erythrocyte isozymes I and II with a series of antioxidant phenols." *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17, 3207–3211.
- Topal, F. Gulcin, İ., Dastan A., Guney, M., 2017. Novel eugenol derivatives: Potent acetylcholinesterase and carbonicanhydrase inhibitors. *International Journal of Biological Macromolecules* 94, 845–851.
- Verpoorte, J. A., Mehta, S. and Edsall, J. T., 1967. "Esterease activities of human carbonic anhydrases B and C. *The Journal of Biological Chemistry*, 242(18), 4221-4229.
- Wang, Y., Lin, S., Luo, J., Huang, R., Cai, H., Yan, W., Yang, H., 2018. A Novel Tb@Sr-MOF as Self-Calibrating Luminescent Sensor for Nutritional Antioxidant, *Nanomaterials*, 8, 796.

- Wateh, A.N., Thy, C.K., Chee, C.F., Rahman, N.A., 2015. An Efficient Synthesis of ($\pm$)-Cycloillicinone. *An International Journal for Rapid Communication of Synthetic Organic Chemistry*, (45) 1421–1425.
- Wieczorek, J. F. and Jelonek, M. A., 2017. “The multifunctional face of plant carbonic anhydrase.” *Plant Physiology and Biochemistry*, 112, 362-368.
- Xia, S., Gan, L., Wang, K., Li, Z., Ma, D., 2016. Copper-catalyzed hydroxylation of (hetero)aryl halides under mild conditions, *Journal of the American Chemical Society*, 28, 1-6.
- Xiao, Z., Duan, R., Cui, W., Zhang, Y., Zhang, S., Chen, F., Zhang, Y., Liu, J., Zhang, D., Meng, Y., Wang, L. and Wang, H., 2011. “Synthesis and evaluation of new carbonic anhydrase inhibitors.” *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 19(10), 3221-3228.
- Yashaswini, S.P., Rao, A.R., Singhs.A. 2017. Inhibition of lipoxygenase by sesamol corroborates its potential anti-inflammatory activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, (94) 781–787.
- Ye, Y.Q., Koshino, H., Onose, J., Yoshikawa, K., Abe, N., Takahashi, S., 2007. First Total Synthesis of Vialinin A, a Novel and Extremely Potent Inhibitor of TNF- α Production. *Organik letters*, Vol. 9, No. 21, 4131-4134.
- Ye, Y.Q., Koshino, H., Onose, J., Yoshikawa, K., Abe, N., Takahashi S., 2009. Expedient Synthesis of Vialinin B, an Extremely Potent Inhibitor of TNF- α Production. *Organik letters*, Vol. 11, No. 21, 5074-5077.
- Zhang, B., Diao, Q., Maa,P., Liua, X., Songa, D., Wanga, X., 2016. A sensitive fluorescent probe for Cu²⁺ based on rhodamine B derivatives and its application to drinking water examination and living cells imaging. *Sensors and Actuators B.*, (225), 579-585.
- Zhou, S., Zou, H., Huang, G., Chen, G., 2021. Preparations and antioxidant activities of sesamol and it's derivatives . *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.*, (31), 127716. (1-5).
- Zilbeyaz, K., Stellenboom, N., Güney, M., Öztekin, A., Şentürk, M., 2018. Effects of aryl methanesulfonate derivatives on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, 32(11):e22210. (1-4).