



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KARBONİK ANHİDRAZİN İNHİBİSYONU

Esra UĞURLU

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

Danışman

Doç. Dr. Özlem SAÇAN

İstanbul, 2012

İSTANBUL

Bu çalışma 12/01/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı Biyokimya programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi


Doç. Dr. Özlem SAÇAN (Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi
Kimya Bölümü
Biyokimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi
Kimya Bölümü
Biyokimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Nuriye AKEV
İstanbul Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi
Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü
Biyokimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Aysen YARAT
Marmara Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Temel Tıp Bilimleri Bölümü
Biyokimya Bilim Dalı


Prof. Dr. Ayşe OGAN
Marmara Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakültesi
Kimya Bölümü
Biyokimya Anabilim Dalı

Bu çalışma **İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 15552** numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Lisans ve yüksek lisans öğrenimim sırasında engin bilgilerinden faydalandığım, her türlü desteği ile yanımda olan, bilgi ve tecrübelerini kendime örnek aldığım çok değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Özlem SAÇAN'a derin minnet ve saygılarımı arz ederim.

Çalışmalarım boyunca benden yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı hocam Sayın Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ'a teşekkür ederim. Ayrıca Yard. Doç. Dr. Sevim TUNALI'ya, Arş. Gör. Bertan Boran BAYRAK'a, Arş. Gör. İsmet Burcu TÜRKYILMAZ'a ve diğer çalışma arkadaşlarıma bana gösterdikleri ilgi ve anlayıştan dolayı teşekkür ederim.

Hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve bugünlere gelmemi sağlayan sevgili aileme en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Çalışmamın uygulama kısmını destekleyen İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

İstanbul, 2012

Esra UĞURLU

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİL LİSTESİ	v
TABLO LİSTESİ	vii
SEMBOL LİSTESİ	viii
ÖZET	ix
SUMMARY	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR	3
2.1. ENZİMLER VE GENEL ÖZELLİKLERİ	3
2.2. ENZİMLERİN YAPISI	5
2.3. ENZİMLERİN ADLANDIRILMASI VE SINIFLANDIRILMASI.....	6
2.4. ENZİMLERE ETKİ EDEN ETKENLER.....	9
2.4.1. Enzim Konsantrasyonu	9
2.4.2. Substrat Konsantrasyonu.....	9
2.4.3. Isı ve Sıcaklık.....	12
2.4.4. pH	12
2.4.5. Zaman	13
2.4.6. Işık ve Diğer Fiziksel Etkenler	13
2.4.7. İyonların Doğası ve Konsantrasyonu	13
2.4.8. Hormonlar ve Diğer Biyokimyasal Faktörler	14
2.4.9. Reaksiyon Ürünleri	14
2.5. ENZİM İNHİBİSYONU	14
2.5.1. Geri Dönüşümlü Enzim İnhibisyonları (Reversibl).....	15
2.5.1.1. Kompetitif (Yarışmalı) Enzim İnhibisyonu	15
2.5.1.2. Nonkompetitif (Yarışmasız) Enzim İnhibisyonu	15

2.5.1.3. Ankompetitif Enzim İnhibisyonu (Sınırlı Yarışmalı).....	16
2.5.2. Geri Dönüşümsüz Enzim İnhibisyonları (İrreversibl)	17
2.6. KARBONİK ANHİDRAZ.....	18
2.6.1. Karbonik Anhidraz Enzimlerinin Üç Boyutlu Yapıları.....	21
2.6.2. Karbonik Anhidraz İzoenzimleri	22
2.6.3. Karbonik Anhidraz Enziminin Fizyolojik Fonksiyonları	26
2.6.4. Karbonik Anhidraz Aktivitesi	28
2.6.5. Karbonik Anhidraz İnhibitörleri	29
2.6.6. Yeni Doğal Karbonik Anhidraz İnhibitörleri	32
2.6.6.1. Fenoller ve Polifenollerin İnhibitör Etkisi.....	32
2.6.6.2. Kumarinlerin İnhibitör Etkisi.....	36
2.6.6.3. Poliaminlerin İnhibitör Etkisi.....	37
2.6.7. Karbonik Anhidraz İnhibitörlerinin Kullanım Alanları	37
2.6.7.1. Diüretikler Olarak CAİ'ler.....	38
2.6.7.2. Göz Bozukluklarının Tedavisinde CAİ'ler.....	38
2.6.7.3. Potansiyel Antiobezite İlaçları Olan CAİ'ler.....	40
2.6.7.4. Kanser Tedavisinde Kullanılan CAİ'ler	40
2.6.7.5. Osteoporoz Tedavisinde Kullanılan Potansiyel İlaçlar Olarak CAİ'ler.....	41
2.6.7.6. Omurgasızlarda CAİ' ler.....	41
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	43
3.1. DENEYLERDE KULLANILAN ALETLER.....	43
3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER	43
3.3. ENZİM İNHİBİSYONUNDA KULLANILAN BİTKİ EKSTRELERİ	44
3.3.1. Sulu Ekstrelerin Hazırlanması	47
3.4. ENZİM İNHİBİSYONUNDA KULLANILAN KİMYASA MADDELER	47
3.5. KARBONİK ANHİDRAZ İNHİBİTÖRÜ ETKİSİNİN ÖLÇÜLMESİ	49
3.5.1. Esteraz aktivitesi tayini	49
4. BULGULAR	51
4.1. BİTKİ EKSTRELERİNİN KARBONİK ANHİDRAZ İNHİBİTÖRÜ ETKİSİ.....	51

4.2. KİMYASAL MADDELERİN KARBONİK ANHİDRAZ İNHİBİTÖR ETKİLERİ.....	72
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	85
KAYNAKLAR	94
ÖZGEÇMİŞ	104

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1.1.	: Aktif merkez için enzim-substrat bağlanması.....	4
Şekil 2.1.2.	: Toplam enerji-reaksiyon yolu	4
Şekil 2.1.3.	: Enzim yokluğunda aktivasyon enerjisi (a) Enzim varlığında aktivasyon enerjisi (b).....	5
Şekil 2.2.1.	: Holoenzimin oluşumu.....	5
Şekil 2.4.1.1.	: Enzimatik reaksiyonun hızının enzim konsantrasyonuna bağlılığı.....	9
Şekil 2.4.2.1.	: Enzimatik reaksiyonun hızının substrat konsantrasyonuna bağlılığı	10
Şekil 2.4.2.2.	: Reaksiyon hızı- substrat konsantrasyonu arasındaki ilişki.....	10
Şekil 2.4.3.1.	: Enzimatik reaksiyonunun hızının sıcaklığa bağlılığı.....	12
Şekil 2.4.4.1.	: Bazı enzimlerin pH grafikleri.....	13
Şekil 2.5.1.1.1.	: Kompetitif enzim inhibisyonu	15
Şekil 2.5.1.2.1.	: Nonkompetitif enzim inhibisyonu	16
Şekil 2.5.1.3.1.	: Ankompetitif enzim inhibisyonu	17
Şekil 2.6.1.	: HCAII'nin 3 boyutlu kristal yapısı.....	19
Şekil 2.6.2.	: CA (II) enziminin polipeptit yapısı.....	20
Şekil 2.6.1.1.	: HCA (II) izoenziminin ligand yapısındaki metal merkezinin şeması	21
Şekil 2.6.3.1.	: Eritrosit membranının klorür-bikarbonat değiştiricisi.....	27
Şekil 2.6.3.2.	: CA enziminin CO ₂ -hidratasyon reaksiyonunun kataliz mekanizması	28
Şekil 2.6.5.1.	: Farklı van-der waals etkileşimli sülfonamid türevleri.....	31
Şekil 2.6.5.2.	: Sülfonamid sınıfından bazı bileşiklerin kimyasal formülleri	32
Şekil 2.6.6.1.1.	: Bazı fenol ve polifenollerin kimyasal formülleri	33
Şekil 2.6.6.2.1.	: Bazı kumarinler ve kimyasal formülleri.....	36
Şekil 2.6.6.3.1.	: Bazı poliaminlerin kimyasal formülleri.....	37
Şekil 2.6.7.2.1.	: Glokom hastalığına yakalanmış farklı göz örnekleri.....	39
Şekil 4.1.1.	: Akasya çiçeği sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği.....	55
Şekil 4.1.2.	: Aslan pençesi sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği.....	55
Şekil 4.1.3.	: At kuyruğu sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği.....	56
Şekil 4.1.4.	: Ayrık otu sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği.....	56
Şekil 4.1.5.	: Civan perçemi sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği.....	57
Şekil 4.1.6.	: Çoban çantası sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği.....	57
Şekil 4.1.7.	: Çuha çiçeği sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği	58
Şekil 4.1.8.	: Deve dikenli sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği.....	58
Şekil 4.1.9.	: Deve tabanı sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği.....	59
Şekil 4.1.10.	: Ebegümece sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği	59
Şekil 4.1.11.	: Ekinezya sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği	60
Şekil 4.1.12.	: Elma sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği.....	60
Şekil 4.1.13.	: Funda sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği	61
Şekil 4.1.14.	: Gelincik sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği	61
Şekil 4.1.15.	: Ginseng sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği.....	62
Şekil 4.1.16.	: Gingko biloba sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği	62
Şekil 4.1.17.	: Hazanbel sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği	63
Şekil 4.1.18.	: Hünnap sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği	63
Şekil 4.1.19.	: Isırgan sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği	64
Şekil 4.1.20.	: Karahindiba sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği	64
Şekil 4.1.21.	: Kekik sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği	65
Şekil 4.1.22.	: Kayısı sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği.....	65
Şekil 4.1.23.	: Kuşburnu sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği	66
Şekil 4.1.24.	: Mahlep sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği.....	66

Şekil 4.1.25.	: Melek otu sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği.....	67
Şekil 4.1.26.	: Melisa sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği	67
Şekil 4.1.27.	: Menengiç sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği	68
Şekil 4.1.28.	: Mersin yaprağı sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği.....	68
Şekil 4.1.29.	: Meşe palamudu sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği.....	69
Şekil 4.1.30.	: Meyan kökü sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği.....	69
Şekil 4.1.31.	: Mürver sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği	70
Şekil 4.1.32.	: Okalptüs sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği	70
Şekil 4.1.33.	: Ökse otu sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği.....	71
Şekil 4.1.34.	: Yasemin sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği.....	71
Şekil 4.2.1.	: Asetazolamid bileşiğinin % inhibisyon grafiği	75
Şekil 4.2.2.	: Asparagin bileşiğinin % inhibisyon grafiği.....	75
Şekil 4.2.3.	: Benzoik asit bileşiğinin % inhibisyon grafiği	76
Şekil 4.2.4.	: Kojik asit bileşiğinin % inhibisyon grafiği	76
Şekil 4.2.5	: L-Arginin bileşiğinin % inhibisyon grafiği.....	77
Şekil 4.2.6..	: L- Glutamin bileşiğinin % inhibisyon grafiği	77
Şekil 4.2.7.	: L- Glutasyon bileşiğinin % inhibisyon grafiği	78
Şekil 4.2.8.	: L-Lizin bileşiğinin % inhibisyon grafiği.....	78
Şekil 4.2.9.	: L(+)- Sistein bileşiğinin % inhibisyon grafiği.....	79
Şekil 4.2.10.	: L(-)- Sistin bileşiğinin % inhibisyon grafiği	79
Şekil 4.2.11.	: Potasyum persülfat bileşiğinin % inhibisyon grafiği	80
Şekil 4.2.12.	: Potasyum rodanür bileşiğinin % inhibisyon grafiği	80
Şekil 4.2.13.	: Sinamik asit bileşiğinin % inhibisyon grafiği	81
Şekil 4.2.14.	: Sodyum klorür bileşiğinin % inhibisyon grafiği	81
Şekil 4.2.15.	: Sodyum sülfat bileşiğinin % inhibisyon grafiği.....	82
Şekil 4.2.16.	: Sülfanilamid bileşiğinin % inhibisyon grafiği	82
Şekil 4.2.17.	: Tiyosemikarbazid bileşiğinin % inhibisyon grafiği	83
Şekil 4.2.18.	: Üre bileşiğinin % inhibisyon grafiği	83
Şekil 4.2.19.	: Vanadyum sülfat bileşiğinin % inhibisyon grafiği.....	84

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.4.2.1.	: Bazı enzimler, substratları ve K_m değerleri	11
Tablo 2.5.2.1.	: Bazı inhibitörler ve inhibitörlerin etki ettiği gruplar	17
Tablo 3.3.1.	: Bitki materyallerinin Latince adları	45
Tablo 3.4.1.	: Organik ve anorganik kimyasal maddeler	48
Tablo 4.1.1.	: Çeşitli bitkilerin sulu ekstraktlarının CA üzerindeki IC_{50} değerleri	51
Tablo 4.2.1.	: Çeşitli kimyasal çözeltilerin CA üzerindeki IC_{50} değerleri	72

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

L	Litre
mL	Mililitre
μ L	Mikrolitre
μ g	Mikrogram
μ M	Mikromolar

Açıklama

Kısaltmalar

CA	Karbonik anhidraz
CAİ	Karbonik anhidraz inhibitörü
HCA I	İnsan karbonik anhidraz I izoenzimi
HCA II	İnsan karbonik anhidraz II izoenzimi
E.C	Enzim kod numarası
E.U	Enzim ünitesi
IOP	Yüksek göz içi basıncı
Tris	Trihidroksimetilaminometan

Açıklama

ÖZET

KARBONİK ANHİDRAZIN İNHİBİSYONU

Tarih boyunca bitkiler; barınak, yiyecek, giyecek, baharat, parfüm ve ilaç olarak kullanılmıştır. Yüzyıllardır tedavi amaçlı olarak kullanılmakta olan bitkilerin türlerinin de 750.000 ile 1.000.000 arasında oldukları tahmin edilmektedir. Son yıllarda büyük ilgi gören bitkilerle tedavi yöntemi, yurdumuzda da yaygın bir şekilde kullanılmaya ve incelenmeye başlanmıştır. Bitkilerin bilinçli ve dikkatli kullanılması çok önemlidir. Bu bitkilerin bilimsel yönden araştırılarak olumlu ve olumsuz etkilerinin saptanması halk sağlığı açısından yararlı olacaktır.

Ülkemizde, enzimler tıpta, sanayide ve birçok alanda kullanılmaktadır. Çalışmamızda son yıllarda sağlık alanında önemli bir yer edinen karbonik anhidraz enzim aktivitesi üzerine çeşitli bitkilerden hazırlanan sulu ekstrelerin ve bazı kimyasal maddelerin inhibitör etkileri araştırıldı. Çalışmamızda kullandığımız sulu bitki ekstrelerinin ve kimyasal maddelerin tümünde karbonik anhidraz inhibitör etkisi saptandı. Elde edilen sonuçlardan bitki ve kimyasal maddelerin karbonik anhidraz üzerindeki % inhibisyon değerlerinin konsantrasyon artışı ile arttığı saptandı.

Yüksek oranda karbonik anhidraz inhibitör etkisi gösteren bitki ekstreleri ve kimyasal maddelerin, karbonik anhidraz inhibitörü olarak kanser, osteoporoz, hipertansiyon ve göz hastalıkları tedavisinde, sağlık alanında ilaç tedavisine ilave olarak kullanımının uygun olabileceği sonucuna varıldı.

SUMMARY

INHIBITION OF CARBONIC ANHYDRASE

Throughout history, plants have been used as shelter, food, clothes, spice, perfume and medicine. It is estimated that the species of plants which have being used for treatment for many centuries, are between 750.000-1.000.000. In recent years, treatment methods with plants, which are very popular, have began to be used and researched widely in our country. The conscious and careful usage of plants are very important. Determining the positive and negative effects of these plants researching via scientific aspects will be useful for public health.

Enzymes are used in medicine, industry and in many areas in our country. In this study, the inhibitory effects of chemical compounds and water extracts prepared from different plants were investigated on the activity of carbonic anhydrase which has an important value in health area.

It was determined that all the plant extracts and chemical substances used in our study showed carbonic anhydrase inhibitory effect. The results showed that inhibition % values of plant extracts and chemical compounds on the carbonic anhydrase were increased with increasing concentration.

It can be suggested that several plant spices and chemical compounds which are potential sources of carbonic anhydrase inhibitors may be appropriate to be used as an additional support to drug treatments such as cancer, osteoporosis, hypertension and eye diseases in the field of health.

1. GİRİŞ

Enzimler, kendisi parçalanmadan veya değişikliğe uğramadan kimyasal reaksiyonu katalizleyen moleküllerdir; biyolojik sistemlerin reaksiyon katalizörleri, biyokimyasal olayların vücutta yaşam ile uyumlu bir şekilde gerçekleşmesini sağlayan kimyasal ajanlardır.

Enzimlerle katalize edilen tepkimeye katılan kimyasal moleküllere substrat adı verilir. Enzimler spesifik oluşları ve düşük konsantrasyonlarda dahi substrat reaksiyonlarını katalizlemelerinden dolayı sanayide, gıda ve kimya endüstrisinde, tıp, eczacılık, ziraat gibi alanlarda teşhis, tedavi ve biyolojik savaş gibi amaçlarla kullanılmaktadırlar.

Karbonik anhidraz (CA) (EC. 4.2.1.1), çinko prostetik grubu taşıyan tek polipeptit zincirinden meydana gelen ve 29 kDa molekül ağırlığında olan bir enzimdir. İlk olarak Meldrum ve Roughton tarafından 1933 yılında eritrositlerde bulunmuştur. CA'lar metabolizmada CO₂'in hidrasyonunu ve HCO₃⁻'in dehidrasyonunu çift yönlü olarak katalizleyebilen bir metalo enzim ailesidir (Dökmeci, 1992).

Birçok memeli dokusunda ve bitkilerde varlığı tespit edilmiş olan CA, ilk olarak sığır ve insan eritrositlerinden saflaştırılmıştır. Memeli dokuları içinde en bol olarak eritrositlerde, kaslarda ve karaciğerde bulunmaktadır (Dökmeci, 1985).

CA bitki aleminde oldukça yaygındır ve hemen hemen bütün yeşil bitkilerde bulunur. Yalnız bitkilerde sistein ve metiyonin gibi kükürtlü amino asitlerin oranı daha fazladır. Molekül ağırlığı ve bir çinko atomu içermesi yönünden de bitki CA alt birimleri hayvanlardaki enzime benzemektedir.

İnsanda yedi farklı CA izoenziminin gen yapısı belirlenmiş ve bu izoenzimlerin hayati fonksiyonlarının doku ve organlara göre farklılık gösterdiği bulunmuştur. Bu dokular arasında; akciğer, böbrek, gastrik mukoza, göz lensi, tükürük bezleri, kaslar, sinir miyelin kılıfı, pankreas, prostat ve endometrium dokular başta gelmektedir ve bunların çoğundan CA enzimi karakterize edilmiş ve fonksiyonları belirlenmeye çalışılmıştır. Bu yolla çeşitli doku ve organlarda elektrolit salgılanması, CO₂ ve pH dengesinin sağlanması, akciğer ve dokular arasındaki CO₂/ HCO₃⁻ transportu gibi önemli fizyolojik olaylarda rol oynadıkları gibi; kemik erimesi, kireçlenme, tümör oluşumu ve diğer patolojik ve fizyolojik proseslerde de rol oynadıkları açıklanmıştır (Hewett-Emmett, 2000; Sugrue, 2000).

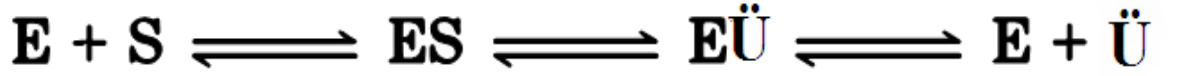
Bitkilerden ve bitkisel kaynaklı bir çok bileşikten elde edilen kimyasal maddeler çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Enzim inhibitörlerinin çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilindiğinden çalışmamızda çeşitli bitki ekstraktlarının, anorganik ve organik kimyasal maddelerin karbonik anhidraz enzimi üzerindeki inhibisyon etkileri incelendi.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. ENZİMLER VE GENEL ÖZELLİKLERİ

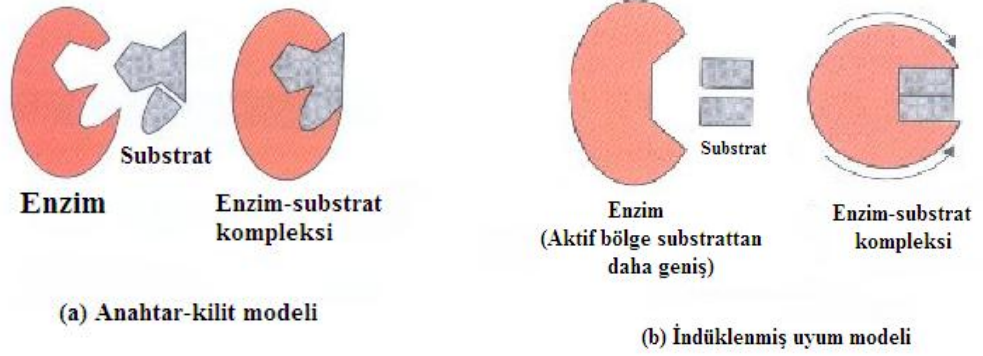
Enzimler, metabolizmadaki kimyasal reaksiyonları hızlandıran ve hiçbir yan ürün oluşumuna meydan vermeden % 100 ürün verimi sağlayan biyolojik katalizörlerdir (Keha ve Küfrevioğlu, 2004). Enerji açısından mümkün olan birçok biyolojik reaksiyonda; enzimler reaktanları kullanışlı yollara seçici olarak kanalize ederler (Champe ve Harvey, 1997). Enzimlerin substratlara spesifiklikleri bunların en önemli nitelikleridir. Enzimlerin substratlara göre daha hacimli olmaları, kataliz olayına enzimin sınırlı bir alanının, yani aktif bölgesinin katıldığı kavramına yol açmıştır (Dikmen ve Özgünen, 2004).

Enzimle katalizlenen bir reaksiyonun ayırt edici özelliği, enzim üzerinde *aktif merkez* denen bir cep sınırları içinde meydana gelmesidir. Aktif merkez, enzim molekülü üzerinde, substrat bağlama özelliğine sahip özel bölgedir; substratı tutar ve enzim-substrat kompleksi oluşur, substratın ürüne dönüşmesiyle oluşan enzim-ürün kompleksinden enzimin ayrılmasıyla ürün serbestleşir.



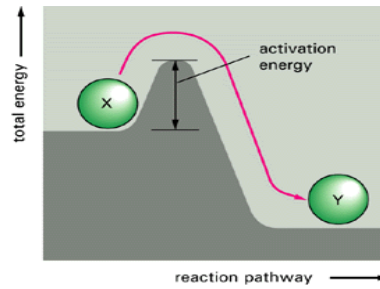
Aktif merkez için, enzim-substrat bağlanmasını açıklayan iki model ileri sürülmüştür. Fisher'in anahtar-kilit modelinde, substrat ve enzimin aktif yerinin birbirine uyacak şekilde önceden belirlenmiş olduğu varsayılır (Demirsoy, 2006).

Koshland'ın uyum oluşturma modeline göre aktif merkez esnek yapıdadır; substrat varlığında, proteinin tersiyer yapısında oluşan bir değişiklikle, enzim substratını katalize uygun en doğru biçimde bağlayacak biçimsel bir değişikliğe uğrar (Şekil 2.1.1.).

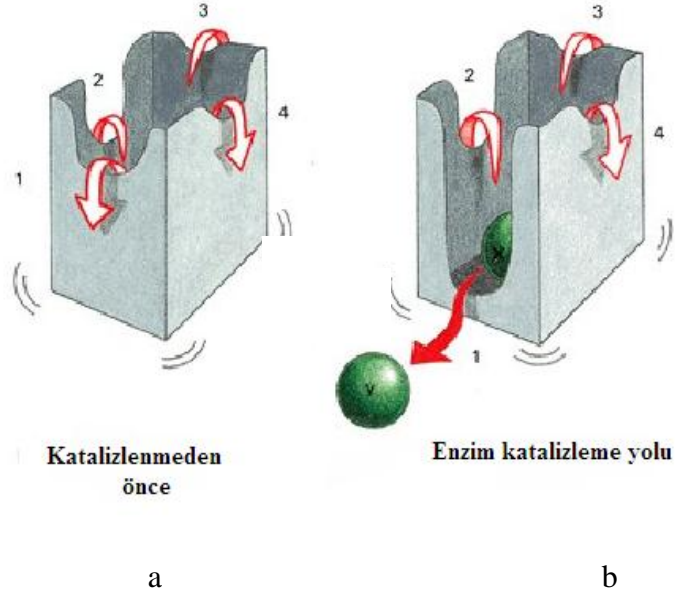


Şekil 2.1.1. Aktif merkez için enzim - substrat bağlanması

Enzimler diğer kimyasal katalizörlerden birçok açıdan farklıdır. Her şeyden önce katalitik etkinlikleri kimyasal katalizörlerden 10^6 - 10^{16} kat daha fazladır. Katalizör olarak bir enzimin fonksiyonu, aktivasyon enerjisini düşürmek suretiyle bir reaksiyonun hızını artırmaktır (Tüzün, 1997).



Şekil 2.1.2. Toplam enerji - reaksiyon yolu

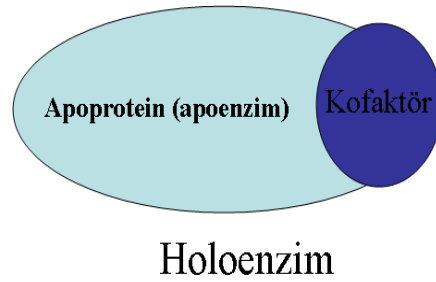


Şekil 2.1.3. Enzim yokluğunda aktivasyon enerjisi (a)
Enzim varlığında aktivasyon enerjisi (b)

2.2. ENZİMLERİN YAPISI

Bazı enzimler aktivite için, protein yapıyı oluşturan amino asit kalıntılarında başka kimyasal bileşen gerektirmezler. Bazı enzimler ise kofaktör diye adlandırılan bir ek kimyasal bileşen gerektirirler.

Kofaktörü ile birlikte tam, katalitik olarak aktif bir enzim, **holoenzim** olarak adlandırılır. Holoenzimin bir protein kısmı bir de kofaktör kısmı vardır. Holoenzimin protein kısmı **apoenzim** veya **apoprotein** olarak adlandırılır (Murray ve arkadaşları 1993).



Şekil 2.2.1. Holoenzimin oluşumu

Holoenzimin kofaktör kısmı, bazı enzimler için Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} gibi bir veya daha fazla *inorganik iyon*; bazı enzimler için ise *koenzim* denen bir organik veya metalorganik kompleks bir moleküldür (Tekman ve Öner, 1998). Koenzimlerin enzim proteinine çok sıkı bir şekilde kovalent olarak bağlı olup enzim proteininden ayrılmayanları *prostetik grup* olarak adlandırılırlar (Onat ve arkadaşları, 2002). Koenzimlerin enzim proteinine çok gevşek bir şekilde nonkovalent olarak bağlı olup enzim proteininden ayrılabilenleri *kosubstrat* olarak adlandırılırlar.

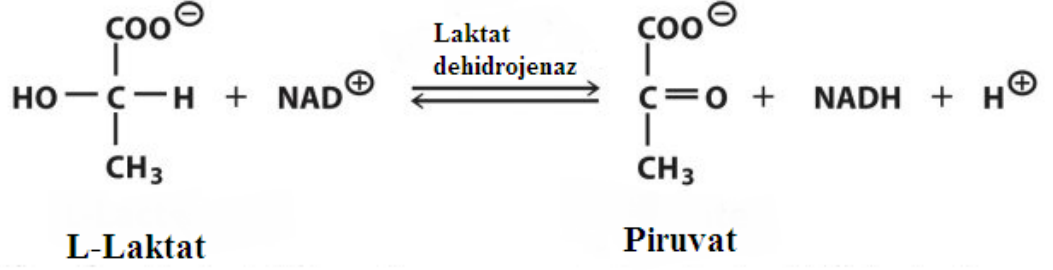
2.3. ENZİMLERİN ADLANDIRILMASI VE SINIFLANDIRILMASI

Enzimlerin adlandırılması; başlangıçta, her enzim substratının veya enzimin etki ettiği grup ismine ek bir *-az* takısının eklenmesi suretiyle (ürezaz gibi) olmuştur. Daha sonra reaksiyon tipine göre adlandırılma yapılmıştır. Bazı enzimlere deneysel/ampirik adlar (tripsin gibi) verilmiştir. Uluslararası Biyokimya Birliği (IUB) Enzim Komitesinin (EC) önerdiği sistematik isim, katalizlenen reaksiyonun doğasını tanımlar ve özel bir sayısal kod ile gösterilir. Her enzim için özel sayısal kod 4 rakamdan oluşur ve her biri nokta ile ayrılır, numaranın önünde EC kısaltması bulunur (EC 2.6.1.2 gibi). İlk numara enzimin ait olduğu sınıfı belirtir ki tüm enzimler katalizledikleri reaksiyon türü ile belirlenen altı sınıftan birine aittir. Sonraki iki rakam enzimin ait olduğu alt sınıfları ve alt-alt sınıfları gösterir. Son sayı her enzim için, enzimin alt-alt sınıfında verilen özgün bir seri numarasıdır.

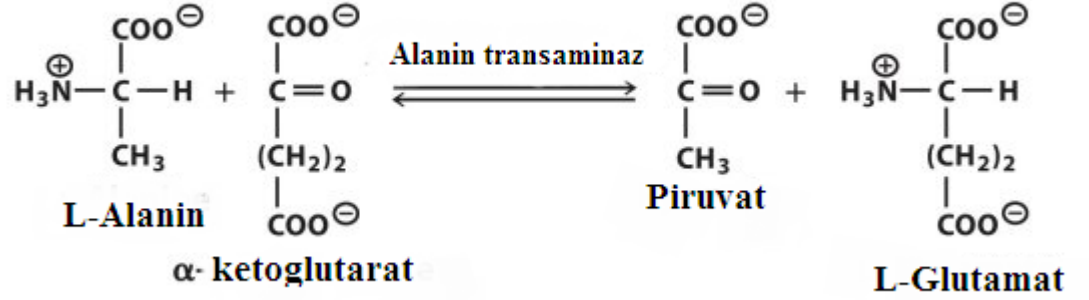
Her enzimin sistematik ismi iki kısımdan oluşur; birincisi substratın veya etkilenen substratların ismidir, ikincisi *-az* ile biten bir sözcüktür ve gruptaki tüm enzimler tarafından katalizlenen reaksiyon tipini gösterir (Tekman ve Öner, 1981; Can ve Akev, 2008).

Uluslararası Biyokimya Birliği (IUB) Enzim Komitesi (EC) enzimleri, kataliz ettikleri genel reaksiyon tipinin sonuna 'az' eki getirmek suretiyle altı sınıfa ayırmıştır. Bunlar:

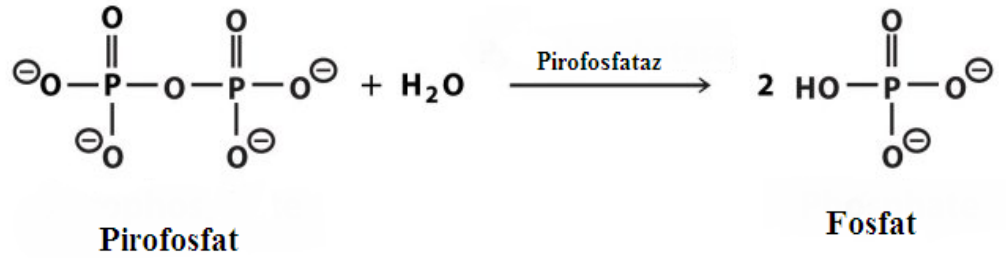
1-Oksidoredüktazlar: Oksidasyon - redüksiyon olaylarını katalize ederler.



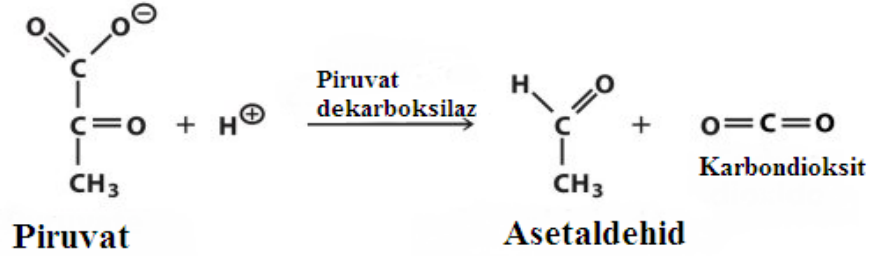
2-Transferazlar: Fonksiyonel grupların bir molekülden diğerine transferini katalize ederler.



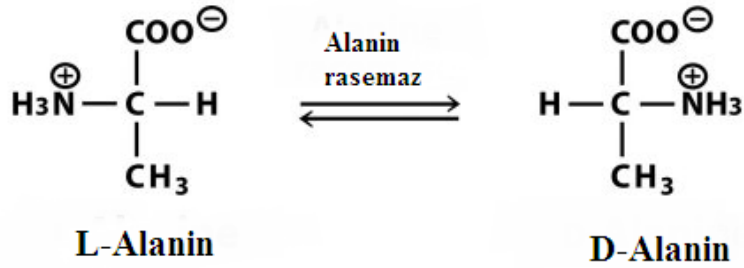
3-Hidrolazlar: Su katılması suretiyle bağların parçalandığı hidroliz reaksiyonlarını katalize ederler.



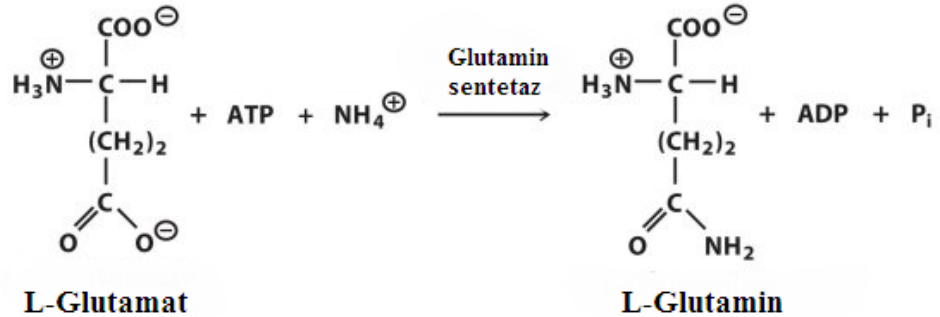
4-Liyazlar: Bir organik moleküldeki grupların hidrolitik veya oksidatif olmayarak ayrılmasını kataliz eden enzimlerdir. C-C, C-O, C-N ve C-S bağlarını yükseltgenme ve hidroliz dışında bir mekanizma ile kıran enzimlerdir.



5-İzomerazlar: Sustratın molekül içi değişikliklerini katalizleme özelliğine sahip enzimlerdir.



6-Ligazlar (Sentazlar): Enerjice zengin bir bağın hidrolizi ile iki molekülün birbirine bağlanmasını katalize eden enzimlerdir.



2.4. ENZİMLERE ETKİ EDEN ETKENLER

Enzimatik bir reaksiyonun hızını etkileyen birçok faktörden bazıları şunlardır:

- 1-Enzim konsantrasyonu
- 2-Substrat konsantrasyonu
- 3-pH
- 4-Isı veya sıcaklık
- 5-Zaman
- 6-Işık ve diğer fiziksel faktörler
- 7-İyonların doğası ve konsantrasyonu
- 8-Hormonlar ve diğer biyokimyasal faktörler
- 9-Reaksiyon ürünleri

2.4.1. Enzim Konsantrasyonu

Substratın çok bol olduğu bir ortamda optimal şartlarda enzimatik bir reaksiyonun ölçülen ilk hızı (V_0), enzim konsantrasyonu $[E]$ ile doğru orantılıdır (Kalaycıoğlu ve arkadaşları, 2006).

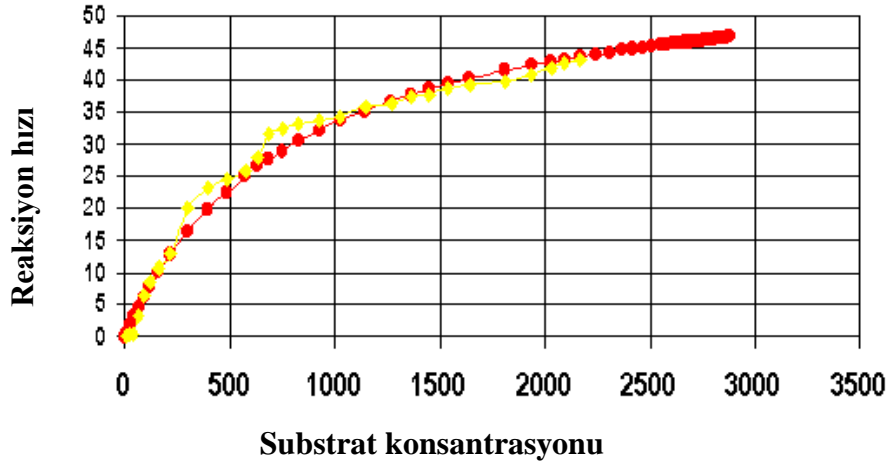


Şekil 2.4.1.1. Enzimatik reaksiyonunun hızının enzim konsantrasyonuna bağlılığı

2.4.2. Substrat Konsantrasyonu

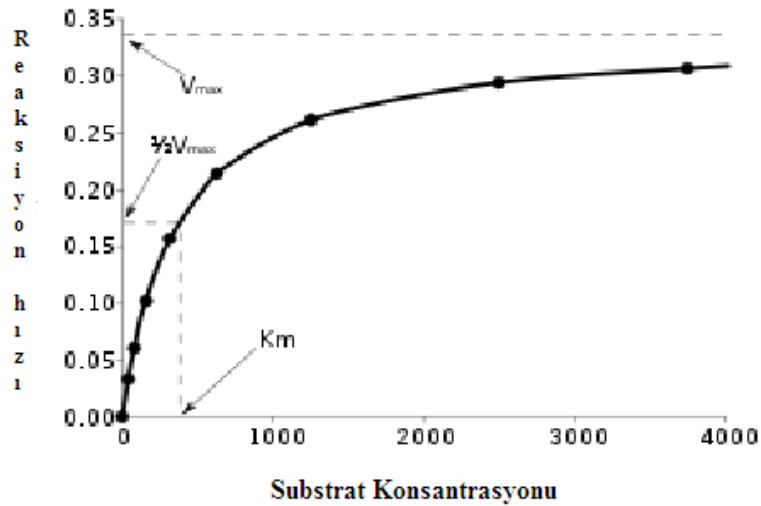
Enzim konsantrasyonu ve diğer bütün şartların sabit olduğu bir ortamda enzimatik tepkimenin hızı, substrat konsantrasyonunun artırılmasıyla başlangıçta doğrusal bir artış

gösterir; fakat substrat ilave edildikçe hız giderek daha az artar ve belirli bir V_{max} düzeyinde sabit kalır.



Şekil 2.4.2.1. Enzimatik reaksiyonunun hızının substrat konsantrasyonuna bağlılığı

V_{max} noktasındaki substrat konsantrasyonu enzimi doyuran ve bunun üzerinde herhangi bir değer olabileceğinden bunun ölçülmesi pratik olarak zordur. Buna karşılık enzimatik bir reaksiyonda enzim moleküllerinin yarısının substrata doydugu ve böylece yarı maksimal hızın ($1/2 V_{max}$) gözleendiği noktadaki substrat konsantrasyonu ölçülebilir.



Şekil 2.4.2.2. Reaksiyon hızı- substrat konsantrasyonu arasındaki ilişki

Bir enzimatik reaksiyonda enzim moleküllerinin yarısının substrata doydugu ve böylece yarı maksimal hızın gözleendiği noktadaki substrat konsantrasyonuna “**Michaelis-**

Menten sabiti” denir ve K_m ile gösterilir. Enzimatik bir reaksiyon için K_m , başlangıç hızını (V_o) substrat konsantrasyonunun ($[S]$) bir fonksiyonu kabul ederek grafik çizmek suretiyle deneysel olarak saptanabilir.

K_m (Michaelis-Menten sabiti), enzimin substratına karşı olan ilgisini göstermektedir. K_m değeri küçük olan enzim, substratı için yüksek bir affinite gösterir; enzim düşük bir substrat konsantrasyonunda doyararak maksimal hız sağlar.

K_m değeri 10^{-6} M (10^{-3} mM) ve daha düşük olan enzimler yüksek affiniteli enzimlerdir ki bunların metabolizmada büyük önemi vardır.

K_m değeri büyük olan enzim, substratı için düşük bir affinite gösterir; enzimin yarı doygunluğa ulaşması için daha fazla substrat konsantrasyonu gerekmektedir.

Tablo 2.4.2.1. Bazı enzimler, substratları ve K_m değerleri

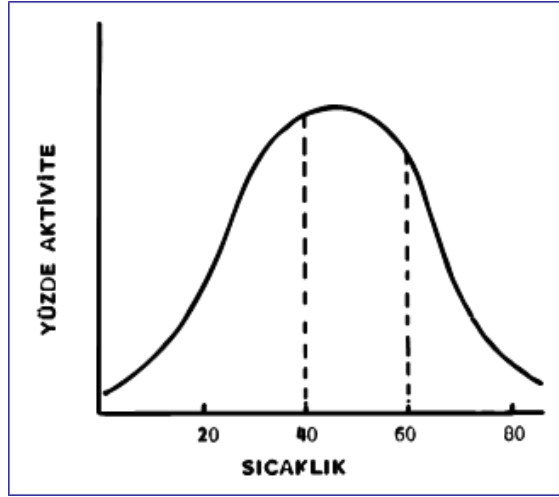
Enzim	Substrat	K_m (mM)
Katalaz	H_2O_2	25
Hekzokinaz	ATP	0.4
Karbonik anhidraz	HCO_3^-	9
β -Galaktozidaz	D- Laktoz	4.0

Enzimatik bir reaksiyon için V_o , V_{max} , K_m ve $[S]$ arasındaki ilişki, “**Michaelis-Menten denklemi**” denen eşitlikle ifade edilir. Michaelis-Menten denklemi, enzimatik bir reaksiyon için başlangıç hızını (V_o) substrat konsantrasyonunun ($[S]$) bir fonksiyonu kabul ederek çizilen hiperbolik eğrinin matematiksel ifadesidir.

$$V_0 = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$$

2.4.3. Isı ve Sıcaklık

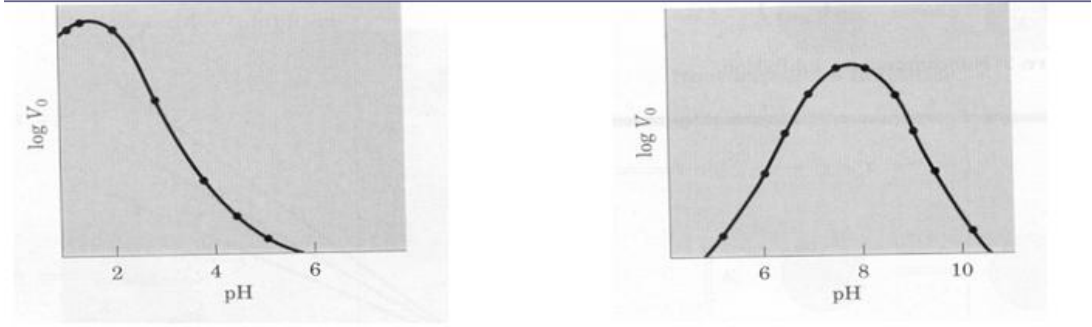
Sıcaklık artışıyla enzimatik reaksiyonun hızındaki artış, sıcaklık belli bir değere yükselineye kadar devam eder; daha yüksek sıcaklıklarda enzim denatüre olarak aktivitesini kaybeder ve reaksiyon hızı azalır. Enzimatik reaksiyonun hızının maksimum olduğu sıcaklık derecesine *optimum sıcaklık* denir (Tüzün, 1997) (Şekil 2.4.3.1.).



Şekil 2.4.3.1. Enzimatik reaksiyonunun hızının sıcaklığa bağlılığı

2.4.4. pH

Her reaksiyonun gerçekleşebilmesi ortamın pH'ını belirleyen belli oranda $[H^+]$ ve $[OH^-]$ iyonları konsantrasyonu olmasına bağlıdır. Her enzimin maksimum aktivite gösterdiği bir pH değeri vardır ki bu pH değerine enzimin *optimum pH değeri* denir. (Şekil 2.4.4.1.).



Pepsinin pH-aktivite grafiği

Glukoz-6-fosfatazın pH-aktivite grafiği

Şekil 2.4.4.1. Bazı enzimlerin pH grafikleri

2.4.5. Zaman

Reaksiyon ürünlerinin kendi aralarında birleşerek aksi yönde bir reaksiyon meydana getirmeleri, enzimin zamanla inaktive olması, reaksiyonu önleyen maddelerin oluşması, substratın tükenmesi gibi sebeplerle bir reaksiyonun hızı zamanla azalır.

2.4.6. Işık ve Diğer Fiziksel Etkenler

Işık, enzimlerin aktivitesini artırır veya azaltır. Enzim çözeltilerinin kuvvetli çalkalanması da enzimi denatüre etmektedir.

2.4.7. İyonların Doğası ve Konsantrasyonu

Metal iyonlarının enzimatik katalizde oynadıkları rol, beş mekanizma ile özetlenebilir.

- Metalloenzimlerdeki metal iyonları, katalize doğrudan katılırlar.
- Bir metal iyonu, enzimde biçimsel bir değişiklik yapar; aktif olan tersiyer veya kuarterner yapıyı sürdürmede rol oynar.
- Bir enzim için esas substrat metal-substrat kompleksi (MS) olabilir; enzim ancak MS kompleksine bağlanabilir.
- Bir enzim, metal ile enzim-metal kompleksi (EM) oluşturduktan sonra substrata bağlanabilir ve EMS kompleksi üzerinden ürün oluşur.

- Bir metal ürün ile kompleks yapar ve ürünün tekrar substrata dönüşümünü engelleyerek reaksiyonu hızlandırabilir.

2.4.8. Hormonlar ve Diğer Biyokimyasal Maddeler

Hormonlar, amino asitler ve diğer maddeler enzimin durumunu etkileyebilirler. Glutamat dehidrojenaz enzimi gevşek olarak bağlanmış 4 alt üiteden ibarettir. Bunlar ayrışarak enzimin aktivitesinin kaybolmasına neden olabilirler. Enzim yapısındaki bu değişme çeşitli östrojenik, androjenik ve diğer bazı steroid yapıdaki hormonlar tarafından meydana getirilebilir. Bu durum esansiyel aminoasitle, ADP, L-lösin, L-metiyonin ve L-izolösin tarafından geri çevrilebilir.

2.4.9. Reaksiyon Ürünleri

Reaksiyon ürünleri oluştuğça enzimatik reaksiyonun hızı azalır. Çünkü enzimatik reaksiyonlar geri dönüşümlüdür; reaksiyon ürünleri kendi aralarında birleşerek aksi yönde bir reaksiyon meydana getirirler: $A \leftrightarrow B + C$ reaksiyonu, ancak B ve C oluşur oluşmaz ortamdan uzaklaştırılırlarsa hep soldan sağa yürür. Reaksiyon ürünlerinden bir kısmı substrat ile yapısal benzerlik gösterir ve enzimle birleşerek onun aktivitesini azaltabilir.

2.5. ENZİM İNHİBİSYONU

Enzim inhibisyonu, enzimatik bir tepkimenin hızının *enzim inhibitörü* adı verilen bazı maddeler tarafından azaltılması veya tamamen durdurulmasıdır.

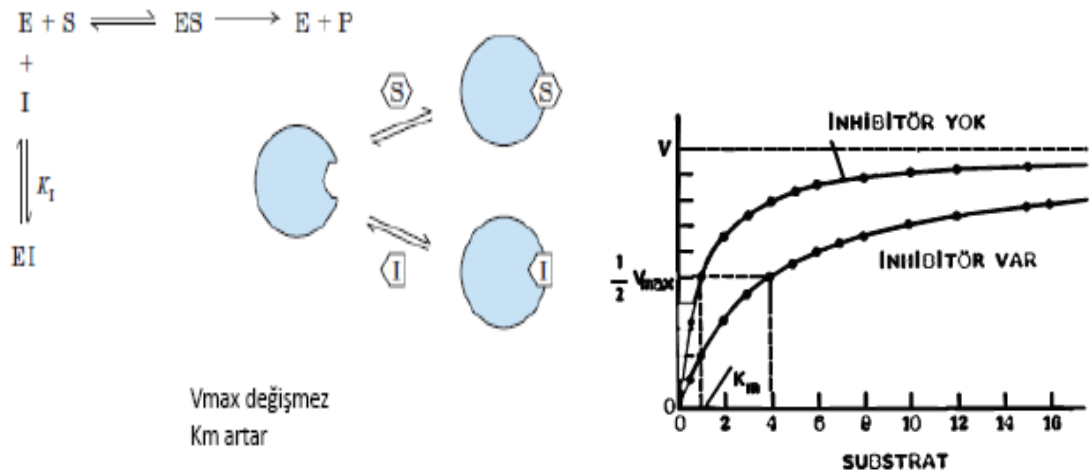
Enzim inhibitörleri ile enzim inhibisyonu geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz olabilir.

2.5.1. Geri Dönüşümlü Enzim İnhibisyonları (Reversibl)

Dönüşümlü inhibitörler, enzime kovalent olmayan etkileşimler ile bağlanır ve enzim molekülünden uzaklaştırılabilirler. Dönüşümlü inhibisyon üç farklı şekilde gerçekleşebilir.

2.5.1.1. Kompetitif (Yarışmalı) Enzim İnhibisyonu

Kompetitif enzim inhibisyonunda, bir kompetitif inhibitör, enzimin aktif yeri için substrat ile yarışır. Enzimin aktif yerine inhibitör bağlanınca reaksiyon gerçekleşmez; inhibitör aktif yeri işgal ederken substratın enzime bağlanmasını önler. Kompetitif enzim inhibisyonunda inhibitör madde, enzimin substratına olan ilgisini azaltır; K_m değeri büyür, reaksiyon az çok normal bir V_{max} değeri gösterir (Şekil 2.5.1.1.1.).

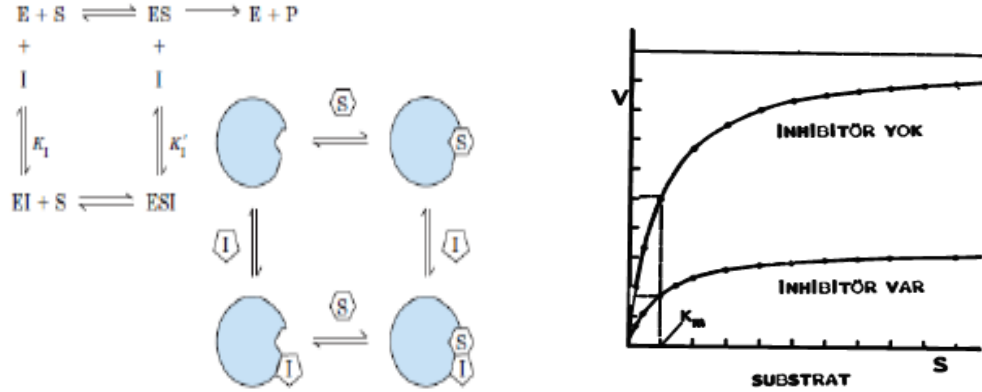


Şekil 2.5.1.1.1. Kompetitif enzim inhibisyonu

2.5.1.2. Nonkompetitif (Yarışmasız) Enzim İnhibisyonu

Nonkompetitif enzim inhibisyonunda, bir nonkompetitif inhibitör, enzim üzerinde substratın bağlandığı aktif yerden ayrı bir yere reversibl olarak bağlanır. Enzime nonkompetitif inhibitörün bağlanması substrat bağlanmasını bloke etmez, substrat

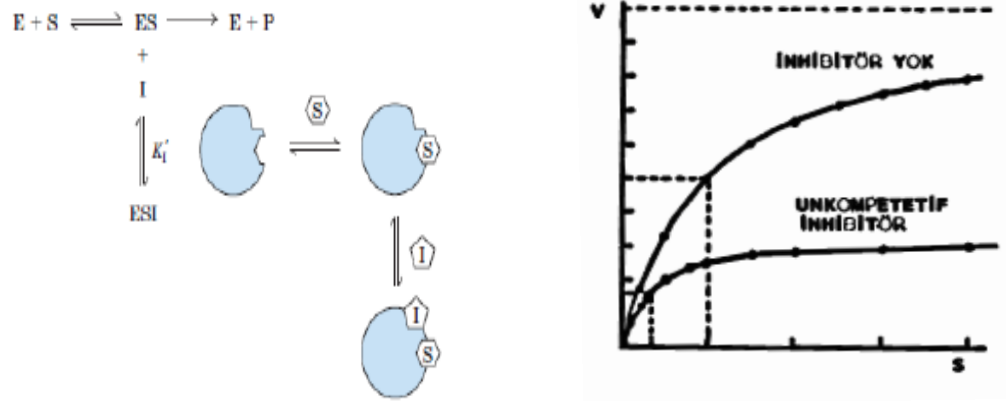
bağlanması da nonkompetitif inhibitörün bağlanmasını bloke etmez. Ancak ESI kompleksi ürün vermek üzere ES kompleksinden daha yavaş parçalandığı için tepkimenin hızı yavaşlamaktadır. Bu tür inhibisyon ile, tepkimenin V_{max} değeri azaldığı halde K_m değeri değişmez (Şekil 2.5.1.2.1.).



Şekil 2.5.1.2.1. Nonkompetitif enzim inhibisyonu

2.5.1.3. Ankompetitif Enzim İnhibisyonu (Sınırlı Yarışmalı)

Ankompetitif inhibitör, nonkompetitif inhibitör gibi, enzim üzerinde substratın bağlandığı aktif yerden ayrı bir yere reversibl olarak bağlanır; fakat nonkompetitif inhibitör serbest enzime veya ES kompleksine bağlanabildiği halde ankompetitif inhibitör, yalnızca ES kompleksi oluşuktan sonra enzimin substratın bağlı olduğu aktif yerden başka bir yerine reversibl bağlanarak enzimi inaktive eder. Ankompetitif inhibisyon sonucu V_{max} değeri azalırken K_m değeri de küçülür (Şekil 2.5.1.3.1.).



Şekil 2.5.1.3.1. Ankompetitif enzim inhibisyonu

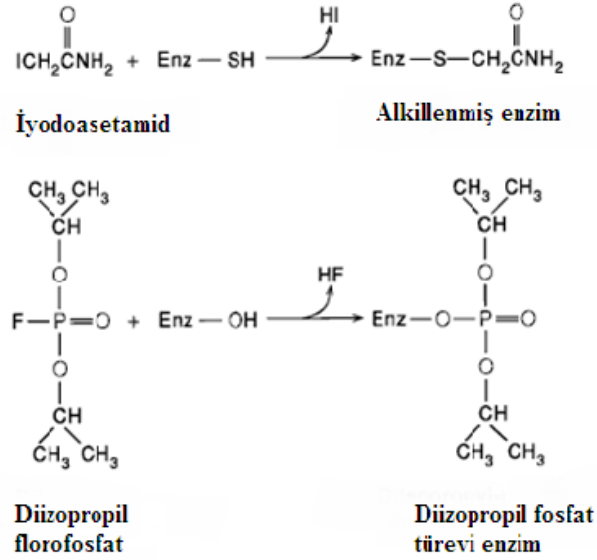
2.5.2. Geri Dönüşümsüz Enzim İnhibisyonları (İrreversibl)

İrreversibl enzim inhibisyonu, bir irreversibl inhibitörün, enzim üzerinde bulunan ve aktivite için esas olan bir fonksiyonel grubu yıkması veya onunla irreversibl olarak birleşmesi sonucu meydana gelir. Bir irreversibl inhibitör ve bir enzim arasında kovalent bağ oluşması yaygındır. Bazı inhibitörler geri dönüşümsüz olarak enzimleri inhibe edebilir. Bu inhibitörlerin etki ettiği gruplar Tablo 2.5.2.1. de gösterilmiştir.

Tablo 2.5.2.1. Bazı inhibitörler ve inhibitörlerin etki ettiği gruplar

İnhibitör	İnhibitör ile kovalent bağ oluşturan gruplar
Siyanür	Fe, Cu, Zn ve diğer metaller
p-Merkuribenzoat	Sülfhidril
Diizopropilflorofosfat	Serin hidroksili
İyodoasetat	Sülfhidril, imidazol, karboksil, tiyoeter

İyodoasetamid, aktif yerinde sistein kalıntısı içeren birçok enzim için bir irreversibl inhibitördür; Diizopropilflorofosfat, aktif yerinde serin kalıntısı içeren tripsin ve kimotripsin gibi enzimler için bir irreversibl inhibitördür (Tablo 2.5.2.1.).



İrreversibl inhibitörlerin çok özel bir sınıfı, **suisid inhibitörler**dir. Suisid inhibitörler, bir spesifik enzimin aktif yerine bağlanınca normal enzim reaksiyonunun ilk birkaç basamağını gerçekleştirmek için hazırlanır. Ancak suisid inhibitör, normal ürüne değişme yerine enzim ile irreversibl olarak birleşen birçok etkili bileşiğe dönüştürülür. Suisid inhibitörler, enzimi inaktive etmek için normal enzim reaksiyon mekanizması kullandıklarından **mekanizmaya dayanan inaktivatörler** diye de adlandırılırlar.

2.6. KARBONİK ANHİDRAZ (CA)

CA (karbonat hidrolizaz, karbonat dehidrataz E.C 4.2.1.1.) CO₂'nin dönüşümlü hidrasyonunu katalizleyen ve Zn⁺² iyonu içeren bir enzimdir (Lindskog, 1997). Omurgalılarda, omurgasızlarda, yüksek bitkilerde, alglerde ve bazı bakterilerde bulunur.

CA, hücrede CO₂'in hidrasyonu ve HCO₃⁻'in dehidrasyonu reaksiyonunu katalizler.



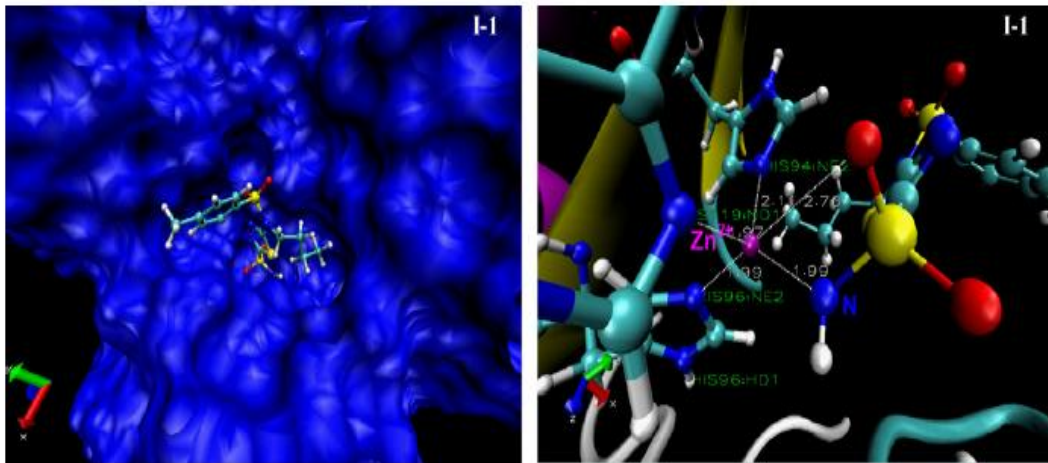
Fakat H₂CO₃ kendiliğinden,



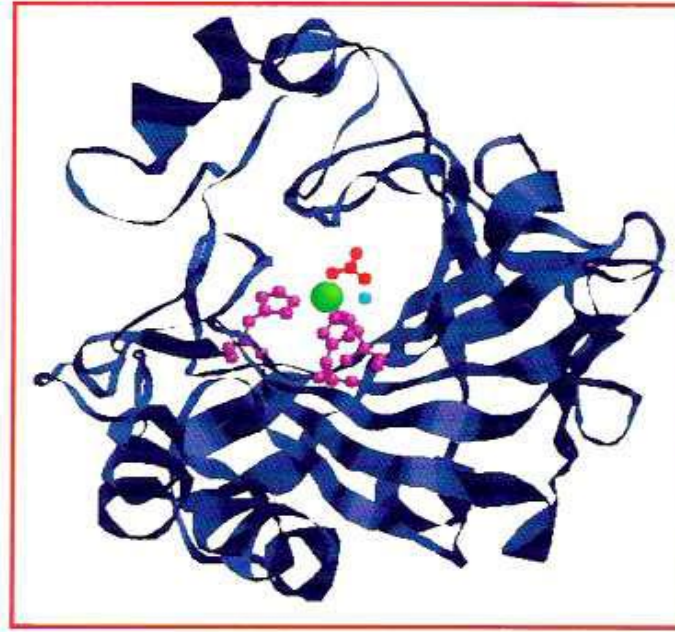
şeklinde iyonlarına ayrışır.

CA ilk olarak Meldrum ve Roughton tarafından 1933 yılında eritrositlerde keşfedilmiştir. Aktivitesi sonradan renal korteks, gastrik mukoza, pankreas, göz merkezi, sinir sistemini de içine alan birçok yerde saptanmıştır. Genel olarak CA, metabolik CO₂ transportunu sağlamanın yanı sıra, birçok dokunun H⁺ ve HCO₃⁻'in birikiminde de rol almaktadır. Balıkların solungaç ve salgı organlarında, bazı bakterilerde, kabuklu hayvanların kabuk yapımında, alglerde ve bitkilerin fotosentetik kloroplastlarında bu enzimin değişik rolleri olduğu ayrıca ispatlanmıştır. CA sözü geçen canlı hücrelerinde çoğu kez sitoplazmada çözünmüş, bazen de hücre membranına zayıfça bağlanmış olarak yer almaktadır (Polya ve Wirtz, 1965; Maren, 1967; Carter, 1972; Pocker ve Joan, 1974; Pocker ve Sarkanen, 1978).

Enzimlerin katalizleme güçleri, turnover sayısıyla ifade edilir. Turnover sayısı, birim zamanda 1 mol enzimin ürüne dönüştürdüğü substratın mol sayısıdır. Turnover sayısı en yüksek olan enzimlerden biri de karbonik anhidrazdır .



Şekil 2.6.1. HCAII'nin 3 boyutlu kristal yapısı (Supuran, 2010)



Şekil 2.6.2. CA (II) enziminin polipeptit yapısı

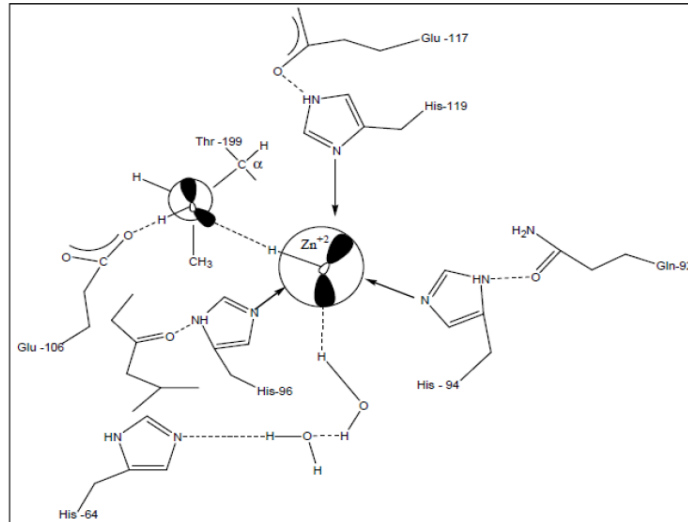
Karbonik anhidraz, doğal hali özel bir kürecik şeklinde kıvrılmış bir protein zinciridir. Yapısında, aktif merkez denilen, reaktantların orada ürünlere dönüştüğü bir yarık veya cep bulunmaktadır. Karbonik anhidrazın protein zinciri Şekil 2.6.2.'de mavi bir şerit olarak gösterilmiştir. Karbonik anhidrazın aktif tarafında bir su molekülü proton kaybederek hidroksit (OH⁻) iyonunu oluşturur. Bu proton, karbonik anhidrazın baz olarak davranan bir kısmı tarafından koparılır. Normalde su molekülünün protonu çok asidik değildir. Ancak CA'ın aktif merkezinde bulunan bir çinko katyonu ve bir su molekülünün oksijen atomu arasındaki Lewis asit baz etkileşmesi suyun oksijeni üzerinde pozitif yük oluşmasına yol açar. Bu durum su molekülünün protonlarını daha asidik yapar.

Su molekülünün protonlarından birinin uzaklaştırılması hidroksiti oluşturur ki bu da aktif taraftaki karbon dioksit ile HCO₃⁻ (hidrojen karbonat veya bikarbonat) oluşturmak üzere tepkimeye girer. CA'ın Şekil 2.6.2. de gösterilen yapısında (X-ışını kristalografisi verilerine göre) aktif taraftaki bikarbonat iyonu kırmızı, aktif taraftaki çinko katyonu yeşil, su molekülü ise mavi ile gösterilmiştir (Solomons ve Fryhle, 2004) (Şekil 2.6.2).

2.6.1. Karbonik Anhidraz Enzimlerinin Üç Boyutlu Yapıları

CAlar, α -CA, β -CA, γ -CA, δ -CA, ζ -CA olmak üzere beş farklı familyada incelenmiştir. Farklı familyalarla gösterilen homolog enzimler arasında önemli bir fark yoktur, aksine bunların hepsinde çinko iyonu vardır. Bundan dolayı bu familyaların hepsi, katalitik fonksiyonu yerine getirmeleri yönünden birbirine benzer yapılardadır (Supuran, 2010). Üç boyutlu yapılardan ilki α -CA olup, insan CA-I ve CA-II izoenziminin kristal yapısı ile sığır CA-III, yassı formlu bir sıçan CA-V'i ve *Escharia Coli* de bulunan CA formu bu yapıdaki enzim tipidir. Aktif bölge oyuk şeklindedir ve geniş bir alana yerleşmiştir. Koni biçimindeki bu oyuk hemen hemen molekülün merkezine kadar uzanır. Çinko iyonu bu oyğun alt kısmına bitişik durumdadır. Dört ligand gibi H₂O veya OH⁻ ile bir tetrahedral geometride His-94, His-96 ve His-119'daki üç azot atomuyla koordine edilmiştir. Ligandlar protein formundaki bir indirekt ligandın hidrojen bağı ile diğer gruplara bağlanmasıyla oluşurlar (Şekil 2.6.3) (Lesburg ve Christianson, 1995).

Metal iyonlu ligandlar ve indirekt ligandların α -CA amino asit dizilişleri sabittir. Bunun yanı sıra 17 amino asitli direkt ve çinko ligandlı indirekt ligandların bütün amino asit dizilişleri çok sıkı şekilde korunmaktadır. Bu rezidülerin bazıları protein yapısını stabilize ederken, bazıları da katalitik aktivite için önemlidir.



Şekil 2.6.1.1. HCA-II izoenziminin ligand yapısındaki metal merkezinin şeması

β -CA'nın yapısı ise şimdiye kadar henüz açıklanamamıştır. Bilinmeyen yapının çapraz bağlanmaları ve bezelye yapraklarındaki mutantların incelenmesi sonucu, bu yapının belirlenen bir alt ünitesinin oktamer yapısında olduğunu ortaya çıkarmıştır. Mutasyonlar ve X-ray spektroskopisi absorpsiyon sonuçları; ısıpanaktaki Zn (II) iyonu α -CA'dakinin aksine bir Cys-His-Cys-H₂O grubuyla koordine olmuş bir küre şeklinde olduğunu göstermektedir (Boriack-Sjodin ve arkadaşları, 1995).

γ -CA ise, son araştırmalarda *M. thermophila*'dan elde edilen bir yapı olarak ortaya çıkarılmıştır. Bu trimetrik molekül, α -CA'daki katlanmalardan tamamen farklı katlanmalara sahip olup ve bu bölge kalıtsal bölgeyi ifade etmektedir. Her bir ünite, her dönüşteki üç kısa iplikçiğin sol el β -heliks yapısının 7 dönüşüyle oluşmaktadır. Bunun sonucunda birbirinin yanında üç tane yassı β -şeridi meydana gelir. Heliksin karşılıklı bölmeleri de üçgen yapısındadır.

Çinko iyonları ise alt üniteler arasında bulunur ve bir alt üniteden His-81 ve His-122'ye ve bitişik bir alt birimden His-117 ile ligand oluşturmuştur. Varsayılan bir su molekülü bükülmeyi sağlayarak, tetrahedral yapının oluşumunu tamamlar (Kisker ve arkadaşları, 1996).

2.6.2. Karbonik Anhidraz İzoenzimleri

Aynı canlı türünde aynı reaksiyonu katalizleyen ancak farklı kimyasal ve fiziksel özellikleri olan enzimlere *izoenzim* veya *izozim* denir. İzoenzimlerin substratlarına, kofaktörlerine ve inhibitörlerine karşı ilgileri farklıdır. İzoenzimlerin başlıca özellikleri arasında amino asit sayı ve sırasının farklı olması, izoelektrik pH değerinin farklı olması, her bir alt ünitenin ayrı geninin olması ve elektroforetik hareketliliklerinin farklı olması sayılabilir. İzoenzimler farklı dokularda lokalize olabildiği gibi, bir hücrenin subsellüler fraksiyonlarında da yerleşebilirler (Keha ve Küfrevioğlu, 2004).

Hayvanlar aleminde karbonik anhidraz'ın 16 izoenzimi vardır. Bunların beş tanesi sitoplazmik (CA I, II, III, VII ve XIII), iki tanesi mitokondriyal (CA VA, VB), bir tanesi

salgısal (CA VI), dört tanesi membrana bağı (CA IV, IX, XII ve XIV), üç tanesi nonkatalitiktir (CA VIII, X, XI) (Tashian ve arkadaşları, 1983; Dodgson ve arkadaşları, 1991; Supuran, 2010). CA-XV'in ise katalitik aktivitesinin düşük olduğu ve CA-IV ile benzer özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. CA VIII, IX ve XII izozimlerinin tümörojen olduğu belirlenmiştir. İnsanda farklı izoenzimlerin gen yapısı belirlenmiş ve bu izoenzimlerin hayati fonksiyonlarının doku ve organlara göre farklılık gösterdiği bulunmuştur.

Bu dokular arasında; akciğer, böbrek, gastrik mukoza, göz lensi, tükürük bezleri, kaslar, sinir miyelin kılıfı, pankreas, prostat ve endometrium dokular başta gelmektedir ve bunların çoğundan CA enzimi karakterize edilmiş ve fonksiyonları belirlenmeye çalışılmıştır (Hewett-Emmett, 2000; Sugrue, 2000).

Genelde insanda bulunan CA izoenzimlerinin incelenmesi sonucu izoenzimler ortaya çıkarılmıştır. HCA-I, insan eritrosit hücrelerinde bulunan bir izoenzimdir ve insan kanından saflaştırıldığında, miktarı 12 mg/g hemoglobin olarak hesaplanmıştır. Eritrositlerde HCA-I izoenzimi yanında HCA-II izoenzimi de bulunmaktadır. Bu izoenzimlerin en önemli fonksiyonları ise, doku kılcıl damarlarından metabolizma ürünü olan CO₂'i, HCO₃⁻ a, akciğer pulmoner kapilerde ise HCO₃⁻ in CO₂'e dönüşmesi reaksiyonunu katalizleyerek solunum olayında yer almasıdır. HCA-I izoenziminin turnover sayısı 2.5x10⁵ s⁻¹'dir. Bu izoenzimin fizyolojik fonksiyonu HCA-II kadar açık değildir. HCA-I eksikliği sendromu belirlenmiş fakat herhangi bir klinik semptomla ilgisi bulunamamıştır (Supuran ve Scozzafava, 2001; Sly ve Hu, 1995).

HCA-II izoenzimi karbonik anhidrazın en çok çalışılan formudur. Bu izoenzimin turnover sayısı 25°C de 10⁶ s⁻¹ olarak bulunmuştur. İnsan eritrosit hücrelerinden saflaştırılan HCA-II izoenzimi miktarı 2 mg/g hemoglobin olarak hesaplanmıştır ve bu değer HCA-I'e kıyasla daha azdır. Göz lensi, kornea ve silyer epitelyumda ise, HCA-II ve HCA-IV izoenzimleri bol miktarda bulunmaktadır. Bu dokuda bulunan HCA-II izoenziminin önemi, glokom hastalığı tedavisi için yapılan araştırmalar sonucu ortaya çıkarılmıştır. Böbrek korteksinde ise membrana yapışık halde olan HCA-II izoenzimi ile Na⁺ ve H₂O'nun geri emilimi sağlanmaktadır. HCA-II izoenzimi ile ilgili olarak CA-II

eksikliği sendromu belirlenmiştir. Bunun da; kemiklerin kireçlenmesi, böbrek taşı oluşumu ve beyinde kireçlenme ile ilgili olduğu gösterilmiştir. Bu da HCA-II izoenziminin kemik, böbrek ve beyin dokuları için ne derece önemli olduğunu ortaya koymaktadır (Renzi ve arkadaşları, 2000).

İskelet kasında CA enzimi olarak HCA-III izoenzimi bulunmuş ve laktik asit-laktat dengesinde çok önemli bir role sahip olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Kırmızı kas dokusuna CA-III enzimi zayıf bağlı olup, doku kapilerine CO₂'nin difüzyonunu kolaylaştırıcı bir görev yapmaktadır (Cabiscol ve Levine, 1996). Düşük aktiviteli bir izoenzimdir ve bu enzimin turnover sayısı $8 \times 10^3 \text{ s}^{-1}$ dir. Kırmızı kas dokusuna zayıf bağlı olduğundan büyük oranda çözünebilir bir proteindir. Aynı zamanda bu izoenzimden yağ dokusunda yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır. HCA-I ve HCA-II izoenzimleri gibi HCA-III de p-nitrofenil asetat hidrolizi aktivitesine sahiptir. Diğer yandan HCA-III izoenziminin fosfataz aktivitesi de vardır (Engberg, 1985).

HCA-IV ve HCA-V ise, iki sinyal sekans izoenzimleri olup, sinyallerin hedef doku ve organlara ulaşmasını sağlarlar. HCA-IV izoenzimi membrana bağlı bir enzimdir ve böbreklerin membranına bağlı olarak bulunduğu gibi, bazı epitel hücrelerin membranlarına bağlı olarak ve akciğerde kapiler hücrelerinin plazma yüzeylerine yerleşmiş olarak bulunur. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, sülfonamid inhibitörlerinin üre sentezini azalttığı gösterilmiştir. Bu durum mitokondriyal CA enzimi olan HCA-IV'ün, sitrulin sentezi için gerekli olan HCO₃⁻ iyonunu, sitrik asit devrinden gelen CO₂'den sağlayarak, üre devrinin ilerlemesinde büyük role sahip olmasıyla açıklanmaktadır (Okuyama ve arkadaşları, 1995).

HCA-V izoenzimi de, bazı dokuların mitokondri matrikslerine yerleşmiş olarak bulunur. Karbamoil fosfat sentetaz-I ve piruvat karboksilaz enzimlerine sıralı olarak bikarbonat iyonu sağlamasından dolayı, üre devri ve glukoneojenezde rol oynadığı öngörülmektedir. Bu izoenzimin ayrıca lipojenez olayında da etkili olduğu bildirilmiştir (Hazen ve arkadaşları, 1996).

Tükrük bezinde CA enzimi olarak HCA-VI ve HCA-VII izoenzimi vardır. HCA-VI izoenzimi, tükrük bezlerinden salgılanan bir enzimdir. İnsan tükrüğünden izole edilmiş olup, tükrüğün pH dengesini sağladığına inanılmaktadır. HCA-VII izoenzimi ise, tükrükte bikarbonat salgılanması için katkıda bulunmaktadır (Lakkis ve arkadaşları, 1996).

CA-VIII enzimi de sıçan beyininden elde edilen bir cDNA kütüphanesinde keşfedilmiştir. İnsan cDNA homologlarının amino asit dizilişleri de tespit edilmiştir (Sjoblom ve arkadaşları, 1996).

CA-IX ilk olarak tümöre bağlı yeni bir antijen olarak tanımlanmış, insan serviks kanser hücrelerinde ekspresyonu yapılmıştır.

Katalitik izoenzim CA-X'in beyin, böbrek, serebral korteks, hippokampus, talamus, yumurtalık ve hipofiz bezinde eksprese olduğu belirlenmiştir.

CA-XI, ilk olarak 36 kDa molekül ağırlıklı koyun beyin cDNA kütüphanesinde açıklanmıştır. Proteinin güçlü bir sinyal sekansa, çeşitli potansiyel fosforilasyon bölgeleri ve bağlama motiflerine sahip olduğu ve sinyal uyumunda rol oynadığı önerilmektedir. Beyinde kuvvetli bir şekilde eksprese olduğu gösterilmiştir. İnsan pankreası, böbrek, karaciğer, tükrük bezi ve spinal kort'da tespit edilmiştir. Normal pankreasa göre pankreatik kanser hücresinde daha güçlü sinyal görülmüştür (Gökçe, 2009).

CA-XIII, tükrük bezleri, böbrek, ince bağırsak, kolon, uterus ve testisi de içeren çeşitli dokularda eksprese olmuş bir enzimdir. CA-XIII proteinini modelleme çalışmaları globüler bir molekül olduğunu ve CA-I, II ve III sitozolik enzimleriyle yüksek derecede (% 60) özdeşlik gösterdiği belirtilmiştir. Yapılan gen ekspresyon çalışmalarında insan dokularında; timus, ince bağırsak, dalak, prostat, yumurtalık, kolon ve testiste, farede; dalak, akciğer, böbrek, kalp, beyin, iskelet kası ve testislerde pozitif sinyal elde edilmiştir (Gökçe, 2009).

CA-XIV ilk olarak fare böbreğinde; en çok eksprese olduğu proksimal çapraşık tübüllerde tanımlanmıştır. Fare dokularındaki Northern Blot analizleri CA-XIV mRNA

ekspresyonunun en bol böbrek ve kalpte, daha sonra iskelet kası, beyin ve karaciğerde olduğunu göstermiştir (Gökçe, 2009) .

CA-XV'in yapısının CA-IV ile çok benzer olduğu filogenetik çalışmalarla belirlenmiştir ve katalitik aktivitesinin düşük olduğu bildirilmiştir (Gökçe 2009).

CA'nın değişik izoenzimleri farklı şekilde dokulara dağılmıştır. Bazı izoenzimler aynı dokularda birlikte bulunduğu gibi (eritrosit CA-I ve CA-II), bazı dokularda tek bir izoenzim olarak da bulunmaktadır (membrana bağlı CA-IV gibi).

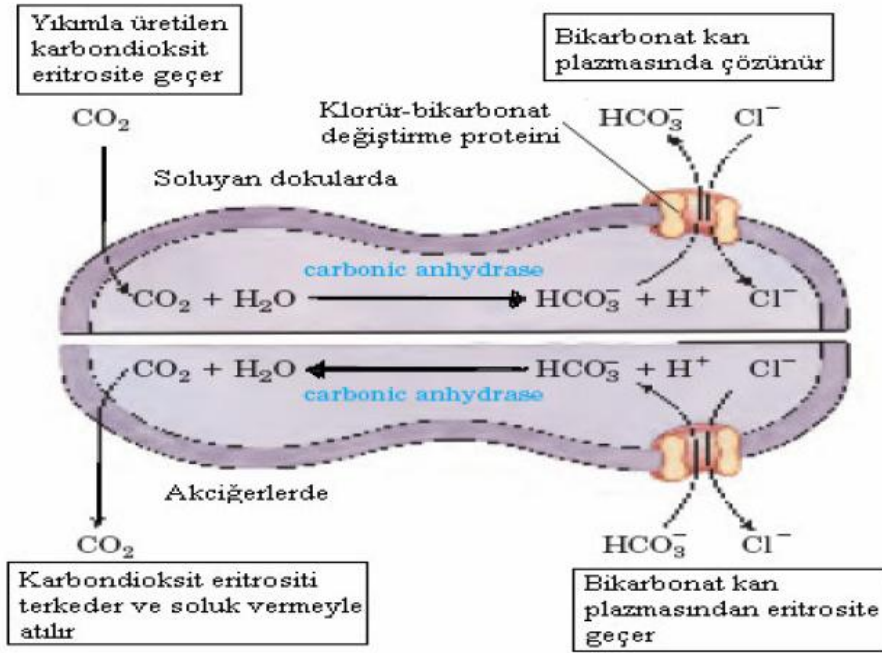
2.6.3. Karbonik Anhidraz Enziminin Fizyolojik Fonksiyonları

Metabolizma için CO_2 ve HCO_3^- 'in birbirlerine dönüşümleri çok önemlidir. CO_2 hücre içine ve hücre dışına çok kolay geçebilmesine rağmen HCO_3^- lipidlerde az çözüldüğü için hücre membranından geçemez. İşte bu yüzden gerekli durumlarda bikarbonatın hücre içine geçmesi ve karbondioksitin hücre içerisinde tutulabilmesi için bu reaksiyon gerçekleşmektedir (Şekil 2.6.3.1). Fizyolojik pH'da bu olay kendi kendine gerçekleşmez ve çok uzun zaman alır. CA bu tepkimeyi enzimatik olarak katalizleyerek çok hızlı bir şekilde gerçekleşmesini sağlar (Keha ve Küfrevioğlu 2000; Smith ve Ferry 1999) (Şekil 2.6.3.1.).

CA'nın hayvan, bitki ve bakterilerde iyon değişimi, asit-baz dengesi, elektrolit sekresyonu, üre döngüsü ve glukoneojenez gibi metabolik yollar için öncül maddelerin sentezlenmesi gibi fizyolojik ve metabolik olaylarda rolü olduğu bulunmuştur (Wilbur ve Saleuddin 1983; Sultemeyer ve arkadaşları 1993; Badger ve Price, 1994; Sly ve Hu, 1995; Smith ve arkadaşları 1999).

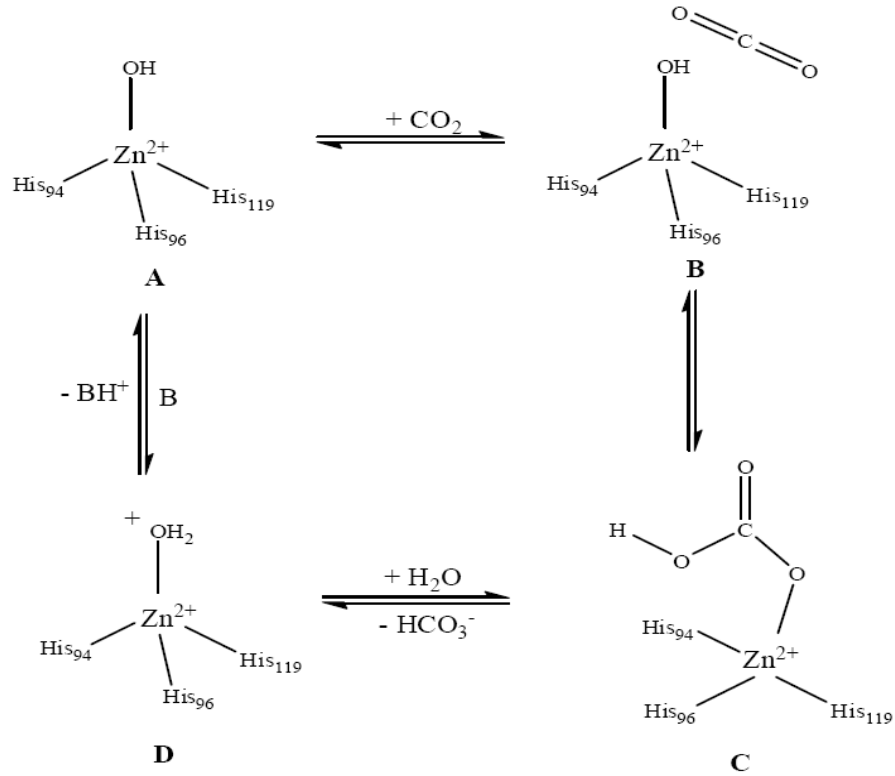
CA, hayvan metabolizmasında özellikle eritrositler olmak üzere birçok dokuda pH düzenleyicisi olarak görev yapar (Parui ve arkadaşları 1991). CA'nın bitkilerde de kloroplastik pH'ların düzenlenmesinde rol oynadığı ve değişken durumlardaki pH değişimlerinden oluşabilecek denatürasyonlardan koruduğu bildirilmiştir (Reed ve Graham 1981). Karbamoil fosfat sentetaz-I ve piruvat karboksilaz enzimlerine sıralı

olarak bikarbonat iyonu sağlamasından dolayı, üre devri ve glukoneojenezde rol oynadığı düşünülmektedir. CA'nın ayrıca lipojenez olayında da rol oynadığı bildirilmiştir (Hazen ve arkadaşları 1996).



Şekil 2.6.3.1. Eritrosit membranının klorür-bikarbonat değiştiricisi

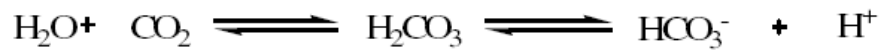
CA'nın katalitik etkisinin sebebi aktif bölgesinde Zn²⁺ iyonu ve ona bağlı bir hidroksil grubu ihtiva etmesidir. Ayrıca aktif bölge yakınındaki amino asitler de proton gradiyenti oluşturabilecek yapıdadırlar. Yapısal olarak bir Zn²⁺ iyonu, bir OH⁻ iyonu ve üç histidin kalıntısı (His-94, His-96, His-119) ile bağ yapmıştır. CA, yapısındaki Zn²⁺ iyonuna bağlı OH⁻ iyonundan dolayı nükleofilik olarak CO₂ molekülüne saldırır ve Zn²⁺ iyonuna bağlanmış HCO₃⁻ iyonunun oluşmasını sağlar. Daha sonra HCO₃⁻ iyonu bir su molekülüyle yer değiştirir ve çözeltiye geçer. Böylece CO₂ molekülünün HCO₃⁻ iyonuna dönüşümü gerçekleşmiş olur (Boriack-Sjodin ve arkadaşları, 1998; Supuran ve Scozzafava 2001) (Şekil 2.6.3.2.).



Şekil 2.6.3.2. Karbonik anhidraz enziminin CO₂ hidratasyon reaksiyonunun kataliz mekanizmasının şematik olarak gösterilişi (Supuran ve arkadaşları, 2003)

2.6.4. Karbonik Anhidraz Aktivitesi

Enzimin CO₂'i hidratasyonu, bikarbonatın dehidratasyonu ve bazı esterleri hidrolizi gibi özelliklerinden yararlanılarak belirlenir.



Yukarıdaki reaksiyonda görüldüğü gibi, ortama göre CO₂ gazı çıkmakta veya harcanmaktadır. Aynı zamanda H⁺ konsantrasyonu artmakta veya azalmaktadır. Açığa çıkan veya azalan CO₂ gazı, kantitatif olarak manometrik yolla tespit edilebilir. Fakat manometrik metodun reaksiyon pH'sının değişken olması, CO₂'in suda sınırlı çözünmesi ve uzun zaman alması gibi dezavantajları vardır (Maren ve Conroy, 1993).

İkinci olarak, ortamdaki H^+ konsantrasyonu; pH'nın yükselmesi veya düşmesi için geçen süre potansiyometrik yolla inhibitörle belirlenebilir. Fakat bu metodun kısa zaman alması gibi bir avantajının yanı sıra, reaksiyon sırasında pH'nın değişken olması CO_2 'in suda sınırlı çözünmesi ve kullanılan indikatörün inhibisyon etkisi gibi olumsuz sonuçları da vardır. Bu dezavantajları en az düzeye indirmek için sabit pH'da titrasyon veya 0.02–0.05 birimlik pH düşüşünün indikatörlü ortamda, spektrofotometre ile ölçüm yapıldığı hızlı akış reaksiyonu gibi metodlar aktivite tayininde kullanılmaktadır (Maren ve Conroy, 1993; Landolfi ve arkadaşları, 1998).

Enzimin saflaştırma basamağında aktivite ölçümleri, genellikle bütün araştırmacılar tarafından Wilbur-Anderson metodu ile yapılmaktadır. Bu yöntemde; CO_2 hidratasyonunda pH'nın 8.2'den 6.3'e düşmesi için geçen süre, pH-stat metodu kullanılarak bulunmaktadır.

Enzim birimi ise, enzimsiz CO_2 -hidratasyon süresi (t_0) ile enzimli reaksiyon süresi (t_c) arasındaki farkın, t_c 'ye bölünmesi ile belirlenmektedir. Buna göre enzim ünitesi, enzimsiz reaksiyon süresini yarıya düşüren enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır (Landolfi ve arkadaşları, 1998).

Enzimin esteraz aktivitesi ise, p-nitro fenil asetatın hidrolizi ile açığa çıkan p-nitro fenol miktarının 348 nm'de spektrofotometrik ölçümü ile tayin edilmektedir (Landolfi ve arkadaşları, 1998; Verpoorte ve arkadaşları, 1967).

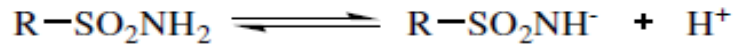
2.6.5. Karbonik Anhidraz İnhibitörleri

Karbonik anhidraz inhibitörleri, inorganik anyon ve katyonlar bir de organik inhibitörler olmak üzere iki sınıfta incelenmektedir. Çoğu tek değerli olan anyonlar CA enzimini inhibe ederler (Lindskog, 1997).

Karbonik anhidraz inhibitörü olan anyon serileri; hidrojen sülfür, siyanür, tiyosiyanat, azit, bisülfid, nitrat, brom, asetik asiddir. Bu seride hidrojen sülfidden asetik aside doğru gidildikçe inhibisyon etkisi azalır.

Sıgır CA'sı ile yapılan esteraz aktivitesi deneylerinde; artan etkinliğe göre F⁻, Cl⁻, CH₃COO⁻, Br⁻, NO₃⁻, HSO₃⁻, HCO₃⁻, ClO₄⁻, I⁻, N₃⁻, SCN⁻, CNO⁻, HS⁻, CN⁻ anyonlarının p-nitro fenil asetatın hidrolizini inhibe ettikleri bulunmuştur. Bunlardan başka kafein, nikotin, nikotinamid, Ca²⁺, Ni²⁺, Sr²⁺, Mn²⁺, Hg²⁺, Sb³⁺, Cu²⁺ ve Al³⁺ iyonlarının da CA enzimini inhibe ettiği, Ca²⁺, Ni²⁺, Sr²⁺, Mn²⁺ ve Hg²⁺ katyonlarının enzimin aktif bölgesinde olan sisteinlerin tiyol gruplarına bağlandıkları farklı araştırmacılar tarafından çalışmalar ile gösterilmiştir (Yeşilyaprak, 2004).

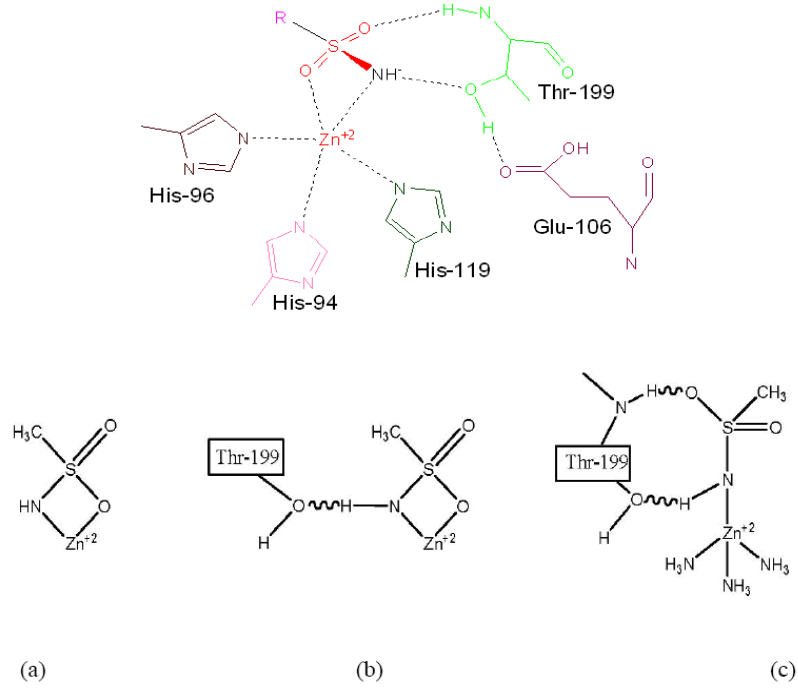
Yapılan çalışmalar, CA'nın en güçlü organik inhibitörünün aromatik ve heteroaromatik sülfonamidler olduğunu göstermektedir. Sülfonamidlerin kolaylıkla iyonik yapı kazanmaları en çarpıcı özelliklerinden biridir.



Sülfonamidler esas itibarı ile p-aminobenzensülfonamid (sülfanilamid) maddesinin türevidir. Bu sınıfa asetazolamid, metazolamid, klorozolamid, benzolamid, sülfanilamid ve etoksizolamid girer. Bu bileşikler farklı şekillerde CA'a etki ederler. Asetazolamid ve azid, CA'nın CO₂ hidrasyon aktivitesini inhibe ederler. Bu iki madde bilinen bütün memeli CA'ları inhibe eder.

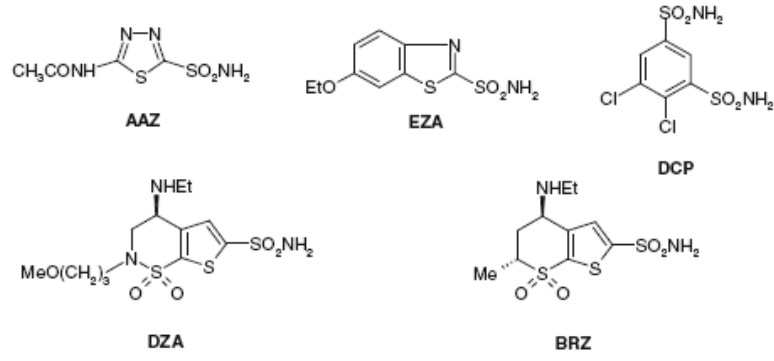
Sülfonamidler, süstitüe olmamış bir -SO₂NH₂ grubu veya bir -SO₂NH(OH) grubu içeren etkin inhibitörlerdir. Sülfonamid grubunun azot atomu aracılığıyla ilk olarak; enzimin aktif bölgesindeki metal iyonuna anyonlar şeklinde, (R-SO₂NH⁻ veya R-SO₂N-OH⁻) iyonik olarak bağlanırlar. İkinci olarak da hidrofobik etkileşmelerle inhibitörün enzime bağlanması tamamlanmış olur. Sülfonamidlerin, CA'a güçlü bir şekilde bağlanması; bu iki etkinin toplamının bir sonucudur (Maren, 1987; Arslan, 2001). Süstitüe ya da alkil sülfonamidlerin enzime bağlanmasında; yalnızca hidrofobik etkileşmeler olduğu için, aromatik ve heteroaromatik yan grup taşıyanlara göre daha zayıf inhibitörlerdir. İnorganik anyonlar ise; yalnızca hidrofobik bağlanmadan dolayı, CA için sülfonamidler kadar güçlü inhibitörler değildir (Maren ve arkadaşları, 1983). Sülfonamidler arasındaki inhibitör aktivitesi farkını ortaya koymak için yapı aktivite

ilişkileri ve enzim-inhibitör bağlanma serbest enerjileri araştırılmıştır. Elde edilen verilere göre, sülfonamid türevlerinin enzim ile farklı şekilde Van der Waals etkileşmelerinden dolayı K_i değerlerinde önemli fark olduğunu göstermiştir (Şekil 2.6.5.1.).



Şekil 2.6.5.1. Farklı van der Waals etkileşimli sülfonamid türevleri

Klasik CA inhibitörleri olan sülfonamidler, $R-SO_2NH_2$, 50 yıldan fazla bir süredir diüretik ve sistematik etkili antiglokom ilaçları olarak kullanılmaktadır. Klinikte ya da klinik araştırmalarda kullanılan sülfonamid ya da sülfamat sınıfından birçok ilaç vardır. Asetazolamid (AAZ), Ethoksozolamid (EZA), Diklorofenamid (DCP), Dorzolamid (DZA) ve Brinzolamid (BRZ) inhibitörleri diüretik olarak, glokom tedavisinde, epilepsi tedavisinde, obezite tedavisinde, kanser karşıtı, ağrı kesici ve antibakteriyel olarak kullanılmaktadır (Supuran, 2010). Sülfonamid sınıfından bazı bileşiklerin kimyasal formülleri Şekil 2.6.5.2. de gösterilmiştir.



Şekil 2.6.5.2. Sülfonamid sınıfından bazı bileşiklerin kimyasal formülleri

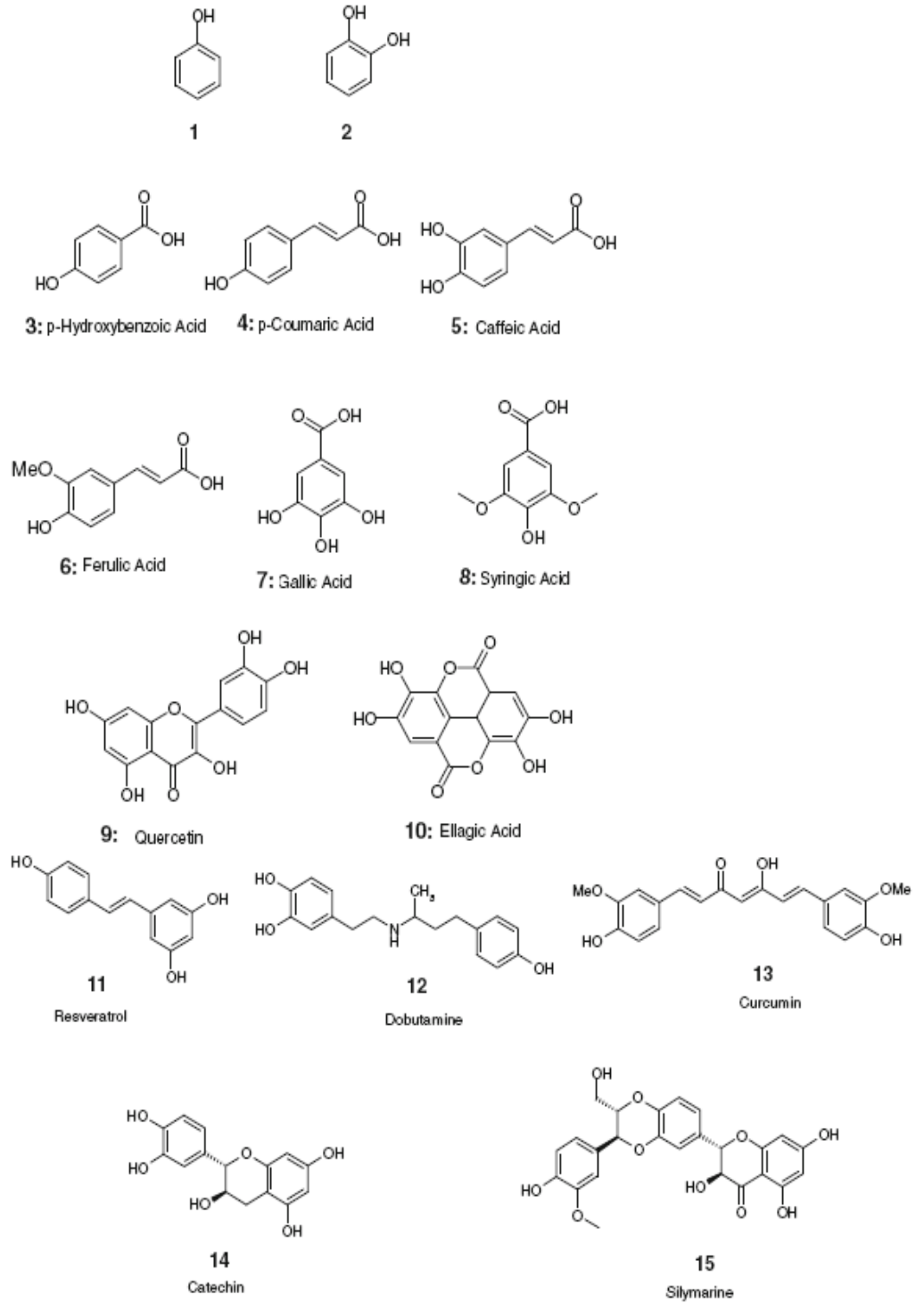
2.6.6. Yeni Doğal Karbonik Anhidraz İnhibitörleri

Bazı bitkilerin CA enzimini inhibe ettiği literatürde belirtilmiştir. Bu çalışmalarda CA enzimini inhibe eden bileşiklerin, bitkilerin yapısında bulunan fenoller, polifenoller, kumarinler gibi etken maddelerden ileri geldiği belirtilmiştir (Supuran, 2010).

2.6.6.1. Fenoller ve Polifenollerin İnhibitör Etkisi

Christianson'un çalışma grubu tarafından fizyolojik olarak kristal yapısı büyük oranda belirlenmiş CA II izoformuna fenolün etkisi gösterilmiştir.

Doğal ürünlerdeki pirokatekol ve fenolik asit gibi mono ya da polifenollerin memeli izoenzimleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bitkilerin hücre duvarında baskın olarak bulunan kumarik asit dışında bitkilerde kafeik asit, ferulik asit, gallik asit ve onun bismetil türevi şiringik asit bitkilerdeki yaygın polifenollerdir (Supuran, 2010) (Şekil 2.6.6.1.1).



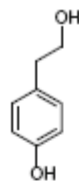
Şekil 2.6.6.1.1. Bazı fenol ve polifenollerin kimyasal formülleri

Yapılan çalışmalarda 9-15 arasındaki inhibitörlerin daha etkili olduğu gösterilmiştir (Supuran, 2010). Kuersetin ve elaik asit bileşikleri 1 ve 8 arasındaki bileşiklerle

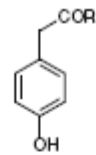
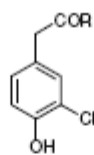
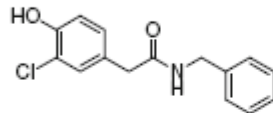
karşılaştırıldığında antioksidan ve antiinflamatuvar aktivite açısından daha etkili olduğu bulunmuştur.

Diğer polifenollerden resveratrol, kırmızı şarapta bulunmaktadır ve kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etkili olduğu belirtilmiştir. Dobutamin, kalp yetmezliği tedavisinde, kalp cerrahisinde, septik ya da kardiyojenik şoklarda kullanılmaktadır. *Curcuma longa* bitkisinin köklerinden saflaştırılan sarı bileşik curcuminin birçok biyolojik etkisinden biri de antikanserojen özelliğidir. Kateşin, çayda, meyvelerde, sebzelerde, birçok bitki türünde bulunan polifenolik bir antioksidan bitki metabolitidir. Silmarin, meyvelerden ve deve dikenini tohumlarından elde edilir. Kanser tedavisinde, varisli damarlarda, menstrual problemlerde, depresyonda, düşük süt üretiminde, karaciğer hastalıklarında, srikozis ve kronik hepatitte kullanılmaktadır.

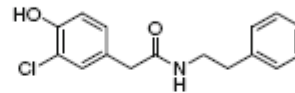
Supuran yaptığı diğer bir çalışmada 16'dan 38'e kadar olan bileşikleri incelemiştir. Bu bileşikler, mantarlardan ve bitkilerden saflaştırılmış ya da kimyasal olarak sentezlenmiştir. 16-21 arasındaki bileşikler, mono ya da disubstitue polifenoller, 22-29 arasındaki bileşikler, sekiz tane sentetik amid türevini, 30 bileşiği (-) - ikslaramid A' yı, 31 bileşiği 30 bileşiğinin sentetik enantiyomeri olan (+) – ikslaramid A' yı, 32 ve 33 bileşikler, sırasıyla poliandrokarpamin A ve B'yi, 34 ve 35 bileşikler iksanthonesleri, 36 ve 37 bileşiği endiandrin A ve B'yi ve 38 bileşiği de (-) – dihidroguaitetik asiti kapsamaktadır. Bu bileşikler içinde en etkili CA inhibitörü olarak endiandrin A ve B ile (-) - dihidroguaitetik asit olarak belirlenmiştir (Supuran, 2010).



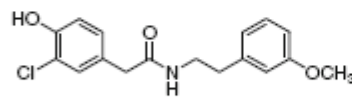
16

17: R = OH
18: R = N₂H19: R = OH
20: R = NH₂; 21: R = OMe

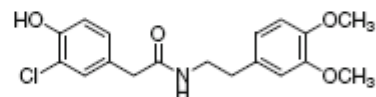
22



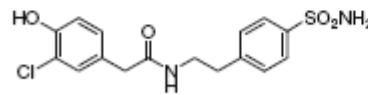
23



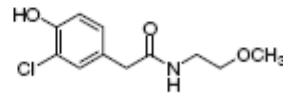
24



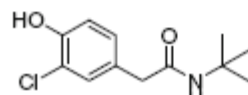
25



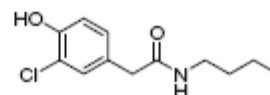
26



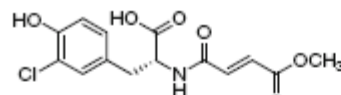
27



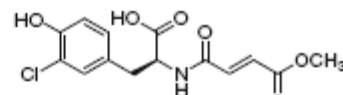
28



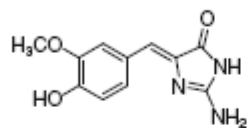
29



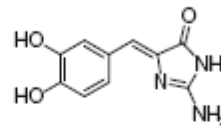
30



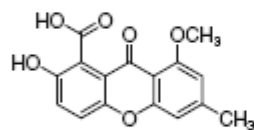
31



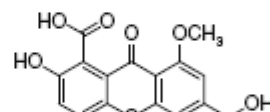
32



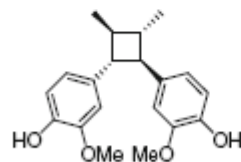
33



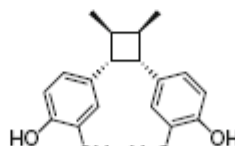
34



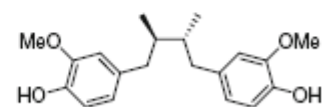
35



36



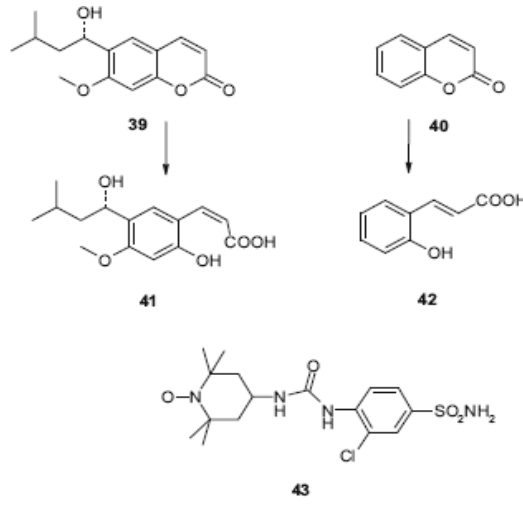
37



38

2.6.6.2. Kumarinlerin İnhibitör Etkisi

Kumarinler, son zamanlarda CA inhibitörü olarak ortaya çıkmıştır ve inhibisyon mekanizması aydınlatılmıştır. Doğal bir bileşik olan 6-(1S-hidroksi-3-metilbutil)-7-metoksi-2H-kromen-2-one, bir Avusturya bitkisi olan *Leionema ellipticum* bitkisinden izole edilmiştir. İnhibitör aktivitesi öncelikle Quinn'in grubu tarafından belirtilmiştir (Supuran, 2010).



Şekil 2.6.6.2.1. Bazı kumarinler ve kimyasal formülleri

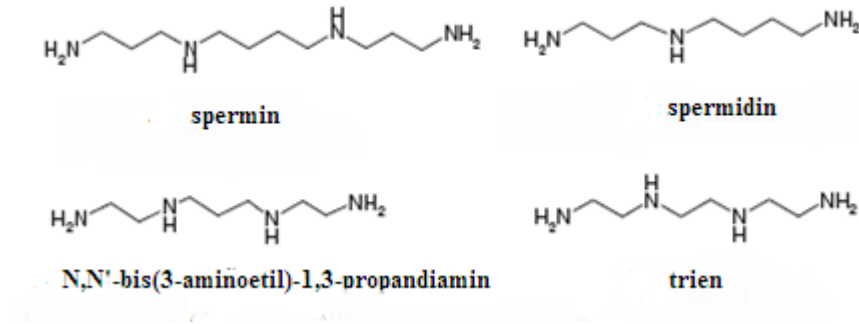
Şekil 2.6.6.2.1. de kimyasal formülleri belirtilen 39 bileşiği ve onun daha basit şekli olan 40 bileşiğinin α -CA izoformları ile etkileşimi araştırılmıştır. Bu bileşiklerin hidrolizi ile yine inhibitör etki gösteren 2-hidroksi sinamik asidler, 41 ve 42 elde edilmiştir (Şekil 2.6.6.2.1.).

Klasik inhibitör olan sülfonamidler çinko iyonu ile etkileşirken fenoller, çinkonun bağlı olduğu su molekülü ile etkileşmektedir (Supuran, 2010).

Birçok bitkide bol miktarda bulunan kumarinler ve türevleri, izoformlara özgü CA inhibitörleridir (Supuran, 2010).

2.6.6.3. Poliaminlerin İnhibitör Etkisi

Aminler ve amino asitler CA aktivatörü olarak bilinir. Spermin ve spermidin gibi poliaminler ile bunların sentetik tipleri olan N,N'-bis (3-aminoetil)-1,3-propandiamin ve trien bileşikleri ise CA izoformlarının katalitik aktivitesini engeller (Supuran, 2011) (Şekil 2.6.6.3.1).



Şekil 2.6.6.3.1. Bazı poliaminlerin kimyasal formülleri

2.6.7. Karbonik Anhidraz İnhibitörlerinin (CAİ) Kullanım Alanları

CA reaksiyonu solunum, CO₂'nin ve bikarbonatı metabolize eden dokular ve akciğer arasında taşınması; pH ve CO₂ dengelemesi; farklı doku ve organlarda elektrolit salgılanması; biyosentetik reaksiyonlar (glukoneojenez, lipojenez ve üre oluşması gibi); kemik erimesi; kireçlenme ve tümör oluşumu gibi pek çok fizyolojik ve patolojik işleme katkıda bulunur. Bu aktivitelere katılan pek çok CA inhibitörü, ödem, glokom, obezite, kanser, sara ve osteoporoz gibi bozuklukların tedavisinde inhibisyon göstererek kullanılma potansiyeline sahiptir. Ayrıca, tek hücreliler, mantarlar ve bakterilerin yol açtığı enfeksiyonlarla savaşmak için CA inhibitörlerinin potansiyel kullanımı son zamanların yeni araştırma konusudur. Farklı familyalara ait CA'lar klonlanmış, ve *Plasmodium falciparum*, *Helicobacter pylori*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Candida albicans* ve *Cryptococcus neoformans* gibi pek çok organizmada tanımlanmıştır.

CA'ların parazitlerin etkililik, büyüme ve intibakında hayati bir role sahip olduğu belirlenmiştir.

CA inhibitörü bileşikler, Alzheimer hastalığında, yaşlanmada ve hafıza kayıpları ile ilgili diğer durumların tedavisinde kullanılabilecek farmakolojik ajanların bulunmasına yardımcı olabilirler.

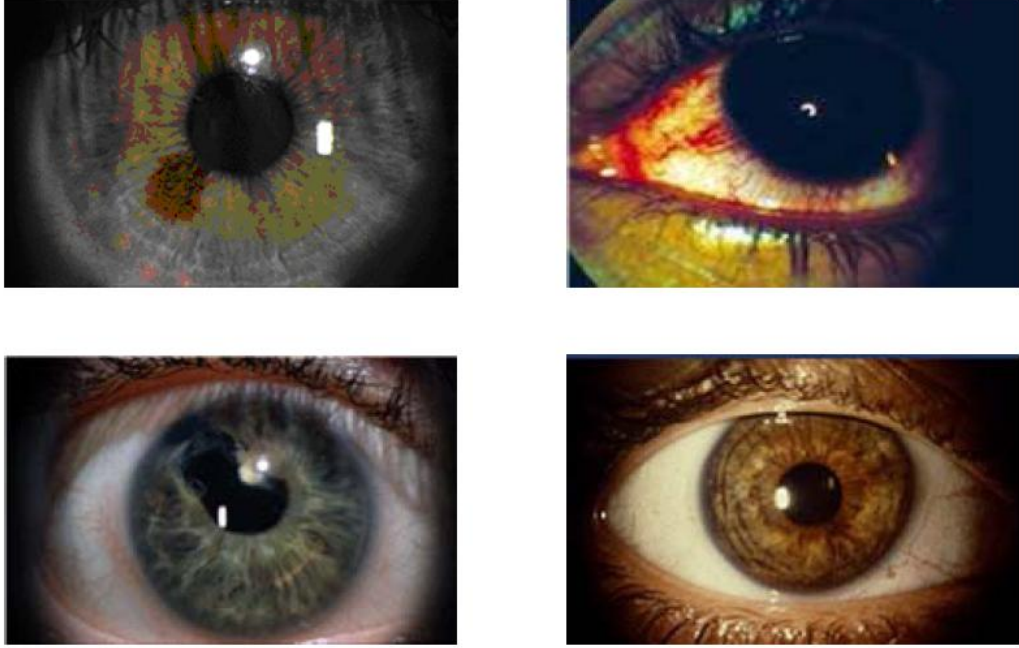
2.6.7.1 Diüretikler Olarak CAİ'ler

CA'lar böbrekte büyük miktarlarda bulunur ve bu organda bulunan izoenzimler en az üç fizyolojik işlemde önemli görevler üstlenirler. Bu görevler asit-baz denge ayarı (bu işlem enzimler tarafından katalize edilen CO₂ hidrasyon reaksiyonu neticesinde, protonları salgılayarak ve boşaltılarak gerçekleştirilir), bikarbonatın yeniden emilme işlemi ve NH₄ çıkışıdır. Asetazolamid 1956 yılında klinik olarak kullanılan ve ilk civalı olmayan diüretiktir. Diğerlerine nazaran daha sınırlı terapötik kullanıma sahiptir. Renal fizyoloji ve farmakolojideki temel gelişmelerde, tiyazid ve yüksek düzeyli diüretikler gibi yaygın olarak kullanılan diüretik ajanlarının tasarımında önemli bir rol oynamıştır. Asetazolamidin uygulanmasından sonra, idrar hacmi artar ve alkali halini alır (Supuran ve Scozzafava, 2000; Rosenberg ve arkadaşları, 1998).

Artmış olan bikarbonat, idrarın içinde Na⁺ ve K⁺ katılımıyla birlikte elimine edilir. Öte yandan atılan klorür miktarı ortadan kalkmıştır. Bu olaylar dizisi yakın tübülusta CA'nın inhibisyonu sonucunda gerçekleşir.

2.6.7.2. Göz Bozukluklarının Tedavisinde Kullanılan CAİ'ler

Glokom; kronik, bozulmuş, optik sinir başında geri döndürülemez zarara sebep olan yüksek göz içi basıncı (GİB) ile karakterize edilen göz hastalığıdır. Bu hastalık görme fonksiyonu kaybıyla ve ileriki aşamada da körlükle sonuçlanır (Mincione ve arkadaşları, 2007). Aköz hümörün dinamikleri ve kimyası ile ilgili çalışmalar bu salgılamının ana bileşeninin sodyum bikarbonat olduğunun bulunmasını sağlamıştır. CA'lar gözün ön damar tabakasında bulunurlar ve bikarbonat salgılamasından sorumludurlar.



Şekil 2.6.7.2.1. Glokom hastalığına yakalanmış farklı göz örnekleri

Lekli (benekli) ödemin tedavisinde sistemik asetazolamid etkili olduğu gözlemlenmiştir. Son zamanlarda benzer verimlilik değerleri dorzolamid ve brinzolamidin topikal uygulamaları içinde görülmüştür. Ödemin kaybolması ve görme fonksiyonunun gelişmesinin, retinadaki dolaşımın doğrudan etkisi sebebiyle, sülfonamidin düşük tansiyona sebep olan aktivitesinden bağımsız olduğu varsayılmaktadır. Asetazolamid, dorzolamid veya brinzolamidler büyük olasılıkla bu organdaki kan akışını regüle eden ve bundan dolayı metabolik çöp ürünlerini temizleyen, lokal damar genişleten ilaçlar olarak kullanılırlar (Sugrue, 2000; Cox ve arkadaşları, 1988).

Son zamanlarda CA II'nin glokom hastalarının gözlerinde büyük oranlarda salgılandığı bulunmuştur. Bu durum hastalığın yüksek GİB oluşmasında önemli bir rol oynadığını varsaymaktadır. CA II'nin klinik olarak kullanılan bütün antiglokom sülfonamidleri tarafından yüksek oranda inhibe edildiği de bilinmektedir (Maren, 1995; Innocenti ve arkadaşları, 2005).

2.6.7.3. Potansiyel Antiobezite İlaçları Olarak CAI'ler

Hayvanlarda bulunan α -CA sınıfı formları arasında iki CA VA ve CA VB, mitokondride bulunurlar. Bu izoenzimler, omurgalılarda ve omurgasızlarda üre oluşumu, glukoneojenez ve lipojenez gibi birkaç biyosentetik işleme katkıda bulunurlar (Supuran, 2003).

Antiobezite ilaçları olarak CA inhibitörlerinin CA izoenzimleri üzerindeki etkilerinden dolayı potansiyel faydalarının olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. Sara tedavisinde kullanılan ve güçlü antikonvülzan etkiye sahip topimaradın obez hastalarda gözlemlenen yan etkilerinden biri, bu konuda hiçbir farmakolojik açıklama yapılamamasına rağmen, kilo kaybıdır. Ayrıca, topimaradın zayıf ve obez Zucker farelerinde enerji ve kilo almayı azalttığı literatürde bildirilmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, topimarad ayrıca CA II, CA VA, CA VB, CA VI, CA VII, CA XII ve CA XIII gibi birkaç CA izoenziminin güçlü inhibitörü olduğu bulunmuştur. Topimaradın CA II ile girişik x-ışını kristal yapısı son zamanlarda ulaşılan başka bir sonuçtur. Bu sonuç, bileşiğin CA aktif alanı için yakın uyumunu açıklayan moleküler etkileşimleri ortaya çıkarmıştır. Topimaradın aynı zamanda insan mitokondriyal izoenzimleri olan CA VA ve CA VB'nin etkili bir şekilde inhibisyonunda rol alması, lipojenez esnasında hem mitokondriyal hem de sitozolik CA izoenzimlerinin inhibisyonuyla kilo kaybının kontrolünde rol alabileceği yeni bir yaklaşım olarak bildirilmiştir.

2.6.7.4. Kanser Tedavisinde Kullanılan CAI'ler

Pek çok tümörde görülen önemli bir özellik hipoksiyadır. Yetersiz oksijen temini, yapısal ve işlevsel olarak bozuk mikrosirkülasyon ve kötü oksijen difüzyon işlemlerinin patofizyolojik bir sonucudur. Tümördeki oksijen azlığı tümörün yayılmasıyla, ilerlemesi, kemoterapi ve radyoterapiye direnç göstermesiyle güçlü bir şekilde bağlantılı görünmektedir (Maxwell ve arkadaşları, 1999; Hon ve arkadaşları, 2002).

Beyin tümörü (gliyom)/epandimomlar, mezotelyom, papilali/foliküllerden oluşmuş karsinomaları, idrar kesesindeki habis urlar, uteriner serviks, nazofarenkse ait habis urlar, kafa ve boyun, göğüs, yutak, akciğer, beyin, vulva, skuamöz /bazal hücre kötü urları ve böbrek tümörleri gibi pek çok tümörde CA IX salınımı güçlü bir şekilde gerçekleşir (Maxwell ve arkadaşları, 1995; Hon ve arkadaşları, 2002).

Biyokimyasal, fizyolojik ve farmakolojik veriler klasik kemoterapiye ya da radyoterapiye yanıt vermeyen hipoksit tümörlerin tedavisinde tümör-ilintili CA izoenzim olan IX'un inhibisyonunun faydalı olabileceğini belirtmektedir. Bu nedenle, şimdiye kadar bahsettiğimiz CA inhibitörlerinin kullanımı, bu tümörlerin non-invazif görüntülenmesinde kullanılan teşhis araçlarının geliştirilmesine olanak sağlamaktadır (Svastova ve arkadaşları, 2004; Dubois ve arkadaşları, 2007).

2.6.7.5. Osteoporoz Tedavisinde Kullanılan Potansiyel İlaçlar Olarak CAI'ler

CA II kemikte yüksek oranlarda bulunur. CA II'nin buradaki rolü CO₂'nin hidrasyonu vasıtasıyla oluşturulmuş hidrojen iyonlarını ATP-bağımlı proton pompalarına götürmektir. Bu pompalar, hidrojen iyonlarını kemikten gelen kalsiyumun mobilizasyonu için kullanırlar. Bu mobilizasyon, organik matriks çözülmesinin enzimsel salınımından önce yapılan inorganik kemik matriksi için gereklidir (Riihonen ve arkadaşları, 2007).

.

2.6.7.6. Omurgasızlarda CAI'ler

Ökaryot ve prokaryot genomların sıralanması, özellikle de yaygın hastalıklara neden olan patojenlerin ortaya çıkarılması (örneğin, sıtma, tüberküloz ile birlikte diğer bakteriyel ve fungal enfeksiyonlarda), CA'ların bu organizmalarda da bulunduğunu göstermiştir. Fakat omurgalılar sadece α -sınıfına bağlı bulunan CA'lara sahipken, bu tür daha basit organizmalar farklı CA familyalarına sahip enzimlere sahiptir (Innocenti ve arkadaşları, 2004; Zimmerman ve arkadaşları, 2007).

İnsanlarda görülen sıtmanın ölüme sebebiyet verebilecek durumlar oluşturmasından genelde *Plasmodium falciparum* sorumludur. İlaçlara direnç gösteren sıtma

parazitlerinin varlığı yeni ilaç hedeflerinin belirlenmesine ve özelliklerinin ortaya çıkarılmasını gerektirmektedir. *Plasmodium falciparum*'da bulunan CA'lar α sınıfındandır ve insan host enzimleri olan CA I ve II'de bulunanlardan farklı katalitik özelliklere sahiptirler. 4-(3,4-Diklorfenilüre-etil)-benzensülfonamid *Plasmodium falciparum*'un büyümesini engellemede ve dolayısıyla sıtma ile mücadelede *in vitro* olarak en etkili sülfonamid sınıfı bileşiktir. Bu olgu, tek hücreleri CA enzimlerine karşı sülfonamid türevi inhibitörlerin yeni sıtma karşıtı ilaçların gelişimine katkıda bulunabileceğini göstermektedir (Innocenti ve arkadaşları, 2004; Zimmerman ve arkadaşları, 2007).

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. DENEYLERDE KULLANILAN ALETLER

Buzdolabı	: Arçelik
Destile Su Cihazı	: Brand MonoDest3000
Derin Dondurucu	: Beko
Etüv	: Nüve FN5000
Evaporatör	: Bibby Rotary Vacum Evaporator
Isıtıcı	: Electromantle
pH Metre	: Beckman
Spektrofotometre	: Shimadzu UV-mini 1240
Terazi	: Mettler 110 Hassas Terazi
Terazi	: Gec Avery
Vorteks	: Fisons Whirlimixer
Ultra Saf Su Cihazı	: Humana
Sonikatör	: Bandelin Sonorex
Mikropipet	: Volac
Su sirkülatörü	: PolyScience

3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Çalışmamızdaki deneylerde aseton (Sigma- Aldrich, 24201), 4- nitrofenil asetat (Aldrich, N2,020-4), karbonik anhidraz (Sigma, C3934), asetazolamid (Sigma, A-6011), Asparagin (Merck ,1565), benzoik asit (Merck , 17252), kojik asit (Fluka, 60890), L- Arginin (Merck, 101543), L-Glutamin (Merck, 289), L-Glutatyon (indirgen) (Fluka, 49750), L-Lizin (Fluka Chemika, 62840), L(+)- Sistein (Merck, 2838), L(-)- Sistin (Merck, 2837), sinamik asit (Merck, 800235), üre (Riedel-de Hä en, 15604), sülfanilamid (Fluka, 86060), krom (III) klorür (Merck 2505219), krom (III) sülfat (Fluka 21185), potasyum nitrat (Merck, 5061), potasyum rodanür (Riedel-de Seelze-

Hannover, 12667), potasyum tiyosülfat (Merck, 5090), sodyum karbonat (Riedel-de Hã en, 13418), sodyum klorür (Merck, 6400), sodyum sülfat (Merck, 106649), sodyum nitrit (Merck, 6544), vanadyum sülfat (Riedel-de Hã en, 14229) kullanıldı.

3.3. ENZİM İNHİBİSYONUNDA KULLANILAN BİTKİ EKSTRELERİ

Çalışmamızda, CA inhibitörü etkilerinin tayinlerinde akasya çiçeği, aslan pençesi, at kuyruğu (kırkkilit), ayrık otu, civan perçemi, çoban çantası, çuha çiçeği, deve diken, deve tabanı, ebegümeci, ekinezya, elma, funda, gelincik, ginseng, ginkgo biloba, hazanbel, hünnap, ısırgan, karahindiba, kekik, kuru kayısı, kuşburnu, mahlep, melisa, melek otu, menengiç (bıttım), mersin yaprağı, meşe palamudu, meyan kökü, mürver, okaliptüs, ökse otu, yasemin bitkileri ve bal kullanıldı. Bitki materyallerinin Latince adları Tablo 3.3.1 de verildi.

Mısır çarşısındaki aktarlardan ve pazarlardan alınan bitkiler toplandı, yıkandı, distile sudan geçirildi ve gölgede kurutuldu. Kurutulan bitkilerden sulu ekstratlar hazırlandı.

Tablo 3.3.1. Bitki materyallerinin Latince adları

	Bitki Materyalinin Türkçe Adı	Bitki Materyalinin Latince Adı	Bitkinin Kullanılan Kısımları
1	Akasya çiçeği	<i>Robinia pseudoacacia</i> L.	Çiçekler
2	Aslan pençesi	<i>Alchemilla arvensis</i> (L.) Scop	Çiçekler
3	At kuyruğu (kırkkilit)	<i>Equisetum arvense</i> L.	Yapraklar
4	Ayrık otu	<i>Agropyron repens</i> (L.)	Yapraklar
5	Civan perçemi	<i>Achillie millefolium</i> L.	Çiçekler
6	Çoban çantası	<i>Capsella bursa- pastoris</i> L.	Çiçekler ve dallar
7	Çuha çiçeği	<i>Primula veris</i> L.	Çiçekler
8	Devedikeni	<i>Silybum marianum</i> (L.)	Tohum
9	Devetabanı	<i>Tubera cyclaminis</i>	Yapraklar
10	Ebegümece	<i>Malva sylvestris</i> L.	Yapraklar
11	Ekinezya	<i>Echinacea purpurea</i>	Çiçekler ve yapraklar
12	Elma	<i>Malus domestica</i>	Meyva
13	Funda	<i>Calluna vulgaris</i> (L.)	Çiçekler
14	Gelincik	<i>Papaver rhoceas</i> L.	Çiçekler

15	Ginseng	<i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer	Kök
16	Gingko Biloba	<i>Ginkgo biloba</i>	Yapraklar
17	Hazanbel	<i>Acorus calamus</i>	Kök
18	Hünnap	<i>Zizyphus jujuba</i> Miller	Meyva
19	Isırgan	<i>Urtica dioica</i>	Yapraklar
20	Karahindiba	<i>Taraxacum officinale</i>	Çiçekler ve Yapraklar
21	Kekik	<i>Thymus</i> (Labiatae)	Çiçekler ve yapraklar
22	Kayısı	<i>Armeniaca</i> L.	Meyva
23	Kuşburnu	<i>Rosae caninae</i>	Meyva
24	Mahlep	<i>Prunus mahaleb</i> L.	Tohum
25	Melek Otu	<i>Angelica sylvestris</i> L.	Yapraklar
26	Melisa	<i>Melissa officinalis</i> L.	Yapraklar
27	Menengiç (Bittim)	<i>Fructus Pistaciae terebinthinae</i>	Meyva
28	Mersin Yapağı	<i>Myrtus communis</i> L.	Yapraklar
29	Meşe Palamudu	<i>Quercus cerris</i> L.	Meyva
30	Meyan Kökü	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	Kök

31	Mürver	<i>Sambucus nigra</i> L.	Çiçekler ve Yapraklar
32	Okaliptüs	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	Yapraklar
33	Ökse Otu	<i>Viscum album</i> L.	Yapraklar
34	Yasemin	<i>Jasminiumofficinale</i> L.	Çiçekler

3.3.1. Sulu Ekstrelerin Hazırlanması

5 g bitki tartıldı. 250 mL'lik balona yerleştirildi. Balona 50 mL bidestile su konuldu. Karışım geri soğutucu altında 7 saat reflüks edildi. Elde edilen karışım soğutuldu ve süzüldü. Süzüntü önceden darası alınan balona konuldu. Balon, rota evaporatöre yerleştirilerek düşük basınç altında karışımın suyu uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstre miktarları tartılarak kaydedildi.

3.4. ENZİM İNHİBİSYONUNDA KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Çalışmamızda CA inhibitör etkilerinin tayinlerinde Tablo 3.4.1 de belirtilen organik ve anorganik maddeler kullanıldı.

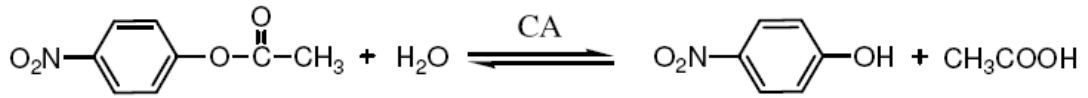
Tablo 3.4.1. Organik ve anorganik kimyasal maddeler

Asetazolamid (Sigma, A-6011)
Asparagin (Merck, 1565)
Benzoik Asit (Merck, 17252)
Kojik Asit (Fluka, 60890)
L-Arginin (Merck, 101543)
L-Glutamin (Merck, 289)
L-Glutatyon (indirgenmiş) (Fluka, 49750)
L-Lizin (Fluka Chemika, 62840)
L(+)- Sistein (Merck, 2838)
L(-)- Sistin (Merck, 2837)
Potasyum Rodanür (Riedel-de Seelze- Hannover, 12667)
Sodyum Klorür (Merck, 6400)
Sodyum Sülfat (Merck, 106649)
Sinamik Asit (Merck, 800235)
Sülfanilamid (Fluka, 86060)
Üre (Riedel-de Haen, 15604)
Vanadyum Sülfat (Riedel-de Haen, 14229)

3.5. KARBONİK ANHİDRAZ İNHİBİTÖRÜ ETKİSİNİN ÖLÇÜLMESİ

3.5.1. Esteraz aktivitesi tayini

İnhibitörlerin sığır karbonik anhidraz enzimi üzerindeki etkisini araştırmak için bu yöntem kullanıldı. Bu yöntem, karbonik anhidrazın esteraz aktivitesine sahip olması esasına dayanmaktadır. Prensipte olarak karbonik anhidraz, substrat olarak kullanılan *p*-nitro fenil asetatı, 348 nm'de absorbanans veren *p*-nitro fenol veya *p*-nitro fenolat'a hidroliz etmektedir.



348 nm'de *p*-nitro fenol ve *p*-nitro fenolat'ın her ikisi de aynı absorbanansı göstermektedir. Bu yüzden fenol grubundaki H⁺ iyonunun ayrışıp ayrışmaması ölçümü etkilememektedir (Armstrong ve arkadaşları, 1966; Kandel ve arkadaşları, 1970). Bu dalga boyundaki *p*-nitro fenil asetatın da çok az absorpsiyonu olduğundan, kör olarak kullanılmaktadır. Tayin işlemlerinde kuvartz küvetlere 0.5 mL substrat, 0.65 mL tampon, 0.3 mL su ve 0.05 mL enzim konulmasından 3 dakika sonra 25°C'de 348 nm'de absorbanansı okundu. Spektrofotometre, daha önce enzim yerine 0.05 mL tampon konularak, karışımın 3 dakika sonraki absorbanansı ile sifira ayarlandı. Bu suretle; 3 dakika içinde esterin kendi kendine hidrolizlenen kısmı ve *p*-nitro fenil asetatın absorpsiyonu için düzeltme yapıldı. İnhibitörlü çalışmalarda ise suyun hacmi azaltılarak, yerine o miktarda inhibitör eklenerek aktivite tayinleri yapıldı.

Bu deneyde kullanılan *p*-nitro fenil asetat substrat çözeltisi, taze olarak hazırlandı. Bunun için 27.2 mg ester, 1 mL aseton içinde çözüldü ve hızlıca karıştırılan 49 mL destile suya yavaş yavaş eklendi. Bu çözelti 3 mM'lık olup, daha derişğini hazırlamak ester sınırlı çözünürlüğü sebebiyle mümkün değildir. Aseton ise diğer organik

çözücülere oranla hidroliz reaksiyonunu en az inhibe eden çözücü olduğu için seçildi (Armstrong ve arkadaşları, 1966). Enzim çözeltisinin tamponlanması 0.05 M Tris-SO₄ (pH=7.4) çözeltisiyle yapıldı (Kohn ve Wilchek, 1978).

4. BULGULAR

Bu çalışmada, halk arasında çeşitli amaçlar için kullanılan bitkilerin, organik ve anorganik maddelerin CA üzerindeki inhibisyon etkileri incelendi.

Enzim kaynağı olarak saf CA kullanıldı.

4.1. BİTKİ EKSTRELERİNİN KARBONİK ANHİDRAZ İNHİBİTÖRÜ ETKİSİ

Tablo 4.1.1. Çeşitli bitkilerin sulu ekstralarının CA üzerindeki IC₅₀ değerleri

Bitki Adı	Süre (dk)	Konsantrasyon (µg/mL)	% İnhibisyon	IC ₅₀ Değeri (µg/ mL)
Akasya çiçeği	3	0.1	24.15 ± 2.13	5.79 ± 0.77
		0.075	13.69 ± 5.23	
		0.05	4.60 ± 1.99	
Aslan pençesi	3	10	41.69 ± 1.25	4.02 ± 0.15
		7.5	33.82 ± 1.96	
		5	25.64 ± 0.06	
Atkuyruğu	3	0.01	55.33 ± 7.09	2.84 ± 0.41
		0.05	31.66 ± 9.02	
		0.001	20.33 ± 5.13	
Ayrık otu	3	0.1	55.32 ± 2.57	2.65 ± 0.13
		0.05	39.47 ± 0.35	
		0.025	34.93 ± 1.31	
Civan perçemi	3	5	44.30 ± 7.42	3.45 ± 0.69
		2.5	34.63 ± 4.64	
		1	19.63 ± 8.60	
Çoban çantası	3	0.01	33.88 ± 2.73	4.48 ± 0.48
		0.005	17.33 ± 2.24	
		0.001	9.21 ± 1.85	
Çuha çiçeği	3	100	59.28 ± 1.55	1.68 ± 0.39
		75	51.12 ± 2.92	
		50	44.85 ± 4.72	

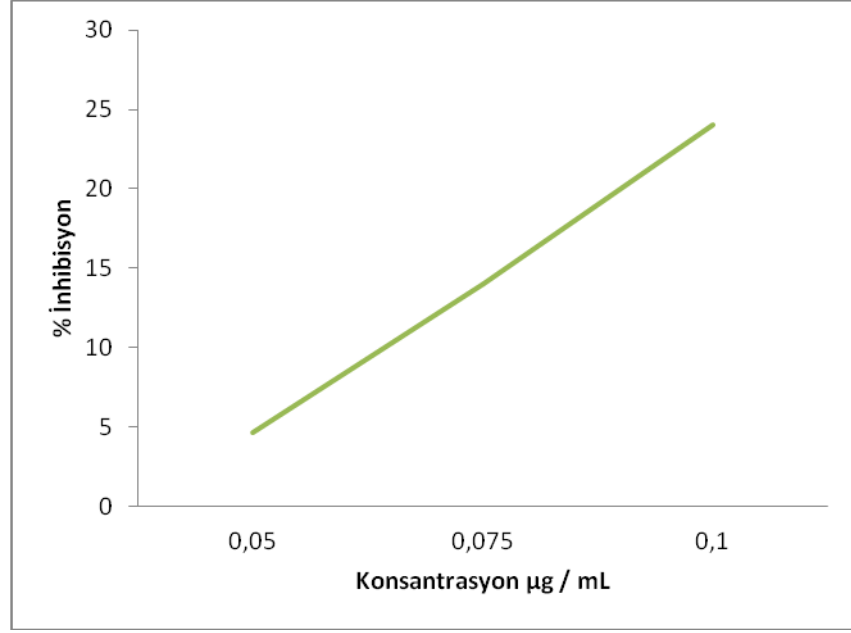
Devedikeni	3	0.1	71.86 ± 7.16	1.81 ± 0.45
		0.05	45.52 ± 9.98	
		0.01	35.32 ± 14.89	
Devetabanı	3	100	48.91 ± 0.09	3.23 ± 0.03
		10	29.95 ± 0.40	
		1	22.93 ± 1.72	
Ebegümece	3	100	45.72 ± 2.28	3.24 ± 0.09
		10	37.84 ± 5.65	
		1	20.44 ± 3.35	
Ekinezya	3	100	51.13 ± 3.02	2.89 ± 0.08
		10	37.34 ± 4.64	
		1	17.39 ± 6.12	
Elma	3	1	31.53 ± 1.32	6.71 ± 0.76
		0.1	27.65 ± 4.34	
		0.01	21.72 ± 3.79	
Funda	3	10	37 ± 8.37	4.92 ± 0.16
		1	31 ± 5.34	
		0.1	23 ± 14.96	
Gelincik	3	10	37.68 ± 5.19	4.02 ± 0.61
		1	33.04 ± 3.59	
		0.1	16.40 ± 1.97	
Ginseng	3	10	74.39 ± 11.82	1.96 ± 0.35
		1	53.63 ± 2.64	
		0.1	21.17 ± 15.73	
Gingko Biloba	3	0.1	19.59 ± 7.66	11.65 ± 0.61
		0.05	15.50 ± 9.89	
		0.025	12.21 ± 9.25	
Hazanbel	3	100	37.13 ± 2.40	5.13 ± 0.67
		50	26.98 ± 0.29	
		25	23.55 ± 1.02	
Hünnap	3	1	46.57 ± 8.06	3.15 ± 0.58
		0.1	34.80 ± 7.09	
		0.01	8.31 ± 3.47	
Isırgan	3	100	51.60 ± 15.41	3.10 ± 0.72
		75	23.72 ± 8.88	
		50	5.45 ± 1.13	
Karahindiba	3	10	51.98 ± 9.99	2.87 ± 0.86
		7.5	28.00 ± 14.33	
		5	13.56 ± 2.95	

Kekik	3	10^{-3}	37.91 ± 2.21	3.99 ± 0.42
		10^{-4}	19.26 ± 9.98	
		10^{-5}	10.79 ± 2.11	
Kuru Kayısı	3	100	30.24 ± 3.07	6.11 ± 0.68
		10	25.29 ± 3.51	
		1	17.25 ± 7.03	
Kuşburnu	3	1500	38.78 ± 0.06	3.38 ± 0.06
		1250	33.14 ± 2.41	
		1000	2.71 ± 0.35	
Mahlep	3	1	46.52 ± 10.21	3.30 ± 0.75
		0.1	34.68 ± 3.29	
		0.01	19.17 ± 4.04	
Melisa	3	10	39.81 ± 0.14	3.92 ± 0.11
		5	24.27 ± 1.41	
		2.5	13.59 ± 2.87	
Melek Otu	3	100	43.36 ± 3.79	3.95 ± 0.65
		10	26.40 ± 2.28	
		1	21.55 ± 4.24	
Menengiç	3	1	40.27 ± 2.10	3.55 ± 0.04
		0.5	22.49 ± 2.46	
		0.1	5.09 ± 2.14	
Mersin Yaprağı	3	100	50.41 ± 3.05	2.72 ± 0.44
		50	42.79 ± 2.17	
		10	21.94 ± 2.60	
Meşe Palamudu	3	0.1	25.79 ± 1.49	5.45 ± 0.33
		0.05	12.94 ± 1.47	
		0.025	5.65 ± 1.20	
Meyan Kökü	3	10	37.06 ± 2.92	5.14 ± 0.20
		7.5	28.15 ± 4.45	
		5	21.32 ± 3.05	
		2.5	7.67 ± 1.44	
Mürver	3	1	55.64 ± 3.84	2.53 ± 0.34
		0.1	44.28 ± 6.88	
		0.01	28.69 ± 5.14	
Okaliptüs	3	0.1	47.37 ± 0.52	3.15 ± 0.05
		0.01	37.20 ± 3.10	
		0.001	22.88 ± 4.07	
Ökse Otu	3	1	56.89 ± 14.81	2.62 ± 0.50
		0.5	42.90 ± 7.43	

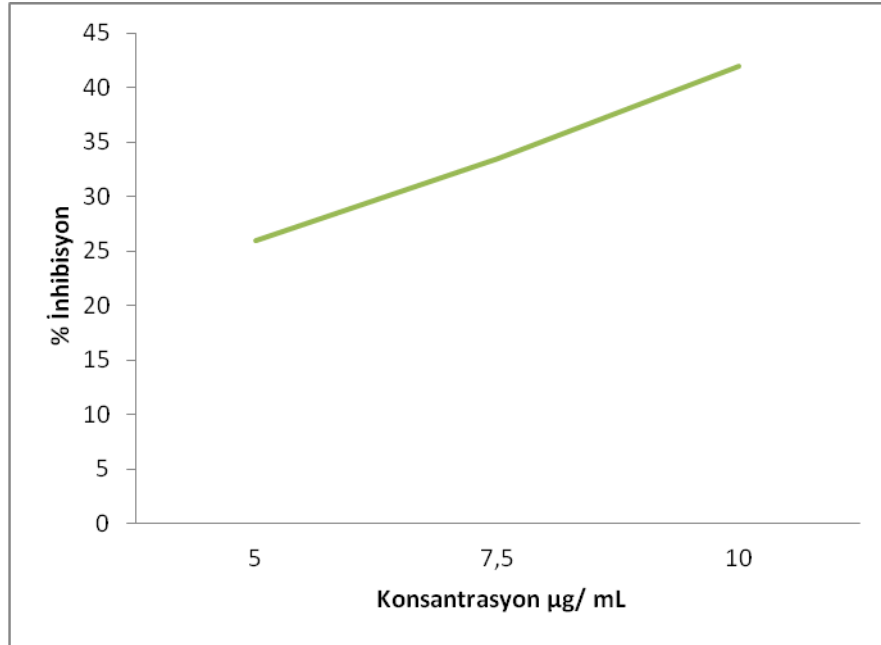
		0.1	14.01 ±6.81	
Yasemin	3	1	44.81 ± 3.19	3.61 ± 0.30
		0.5	24.53 ± 1.41	
		0.25	19.47 ± 2.56	

- a. Bitki ekstraları içinde IC_{50} değerinin en düşük olması nedeniyle sulu ekstralar arasında en yüksek oranda CA'ı inhibe eden ekstrenin uha ieği ($IC_{50}= 1.68 \mu\text{g/mL}$) olduğu bulundu (Tablo 4.1.1).
- b. En düşük IC_{50} değerinden başlayarak yapılan sıralama; uha çiçeği, deve dikenii, ginseng, mürver, ökse otu, mersin yaprağı, at kuyruğu, okalıptüs, karahindiba, ekinezya, ebe gümecci, ısırgan, hünnap, deve tabanı, ayırık otu, mahlep, kuşburnu, civan perçemi, menengiç, yasemin, melisa, melek otu, kekik, aslan pençesi, gelincik, oban antası, funda, hazanbel, meyan kökü, meşe palamudu, akasya ieği, kuru kayısı, elma, ginkgo bilobadır.

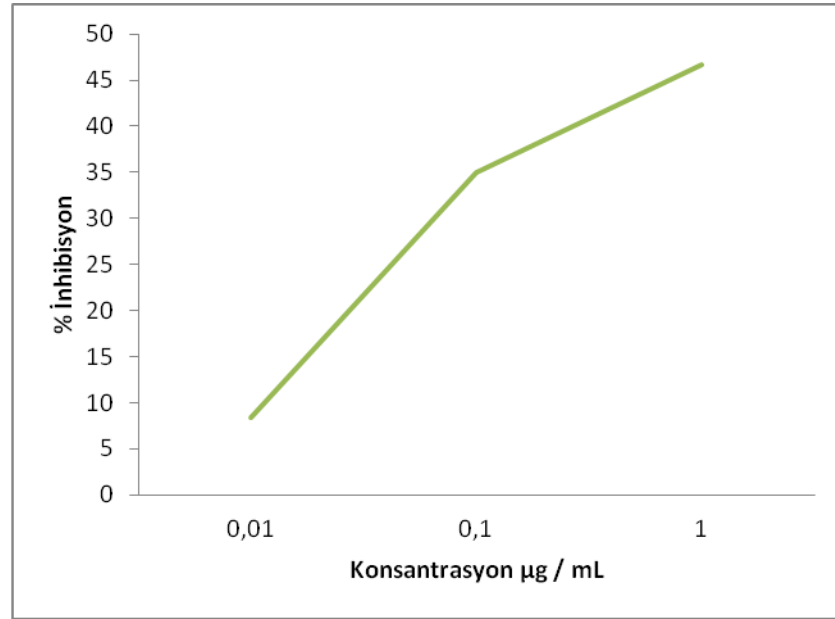
Bitkilerin CA aktivitesini % İnhibisyon – Konsantrasyon grafikleri gösterilmiştir.



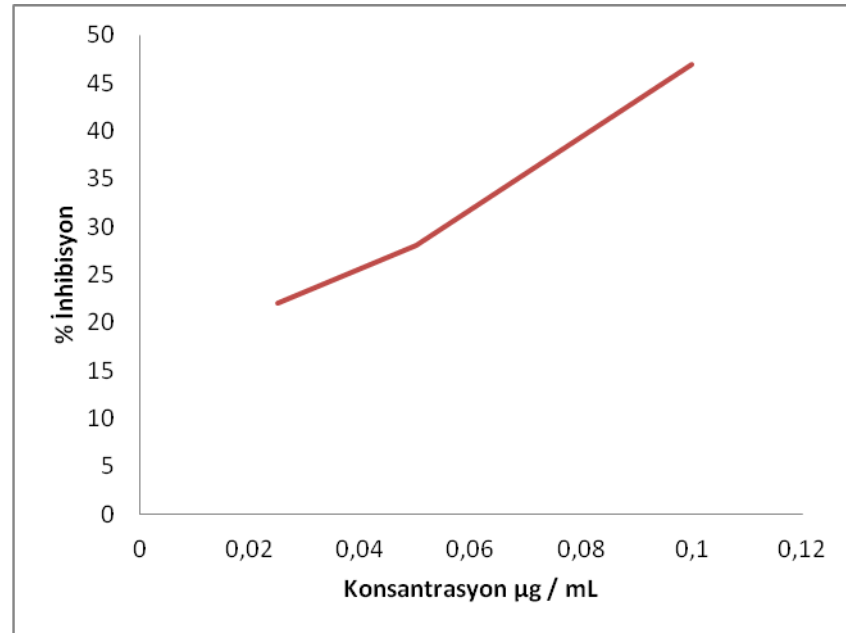
Şekil 4.1.1. Akasya çiçeği sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



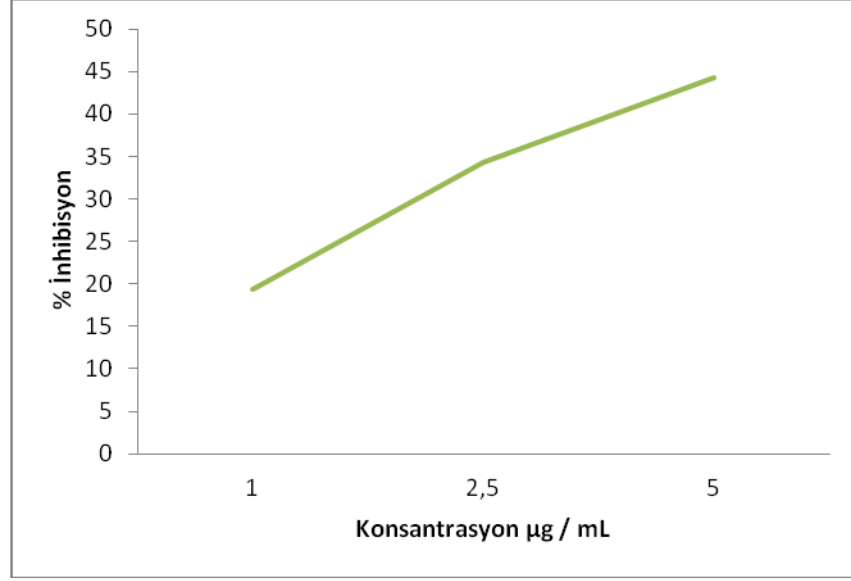
Şekil 4.1.2. Aslan pençesi sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



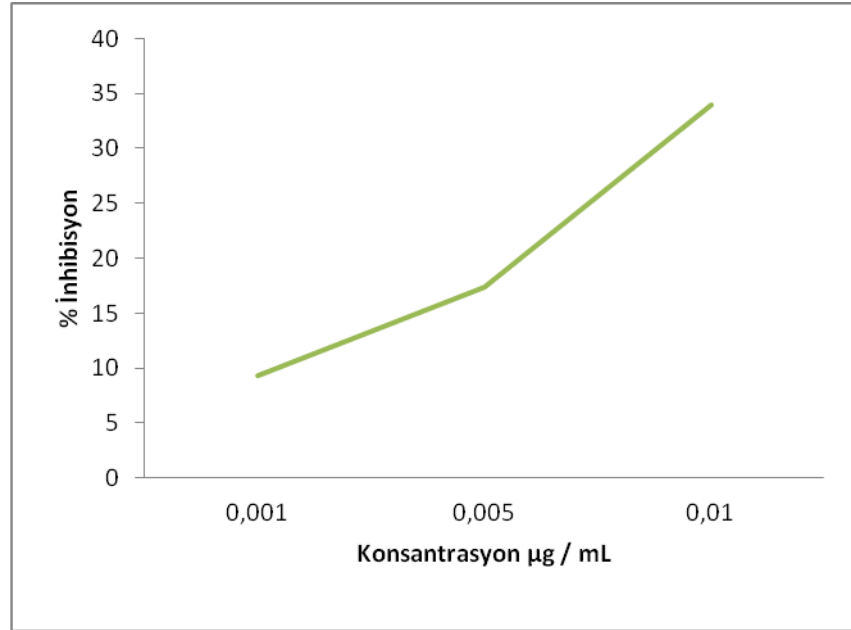
Şekil 4.1.3. At kuyruğu sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



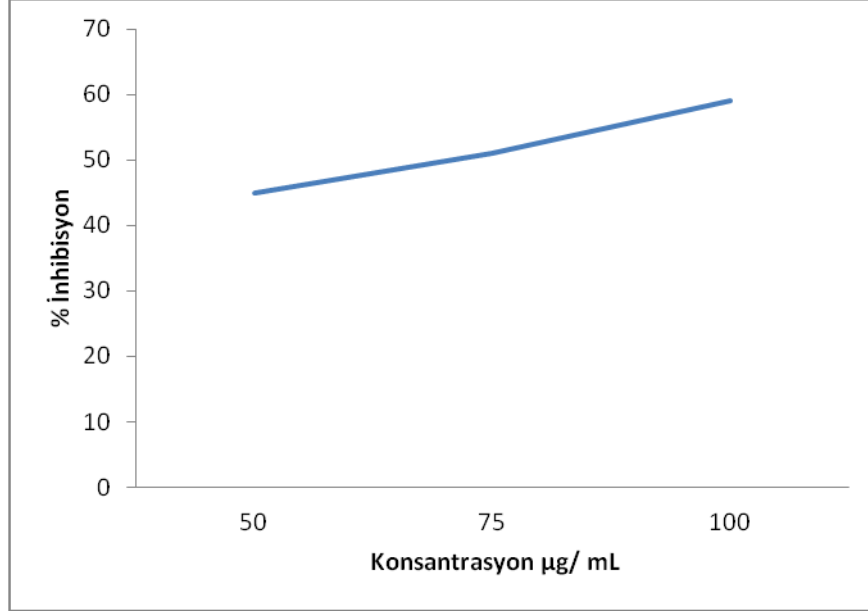
Şekil 4.1.4. Ayırık otu sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



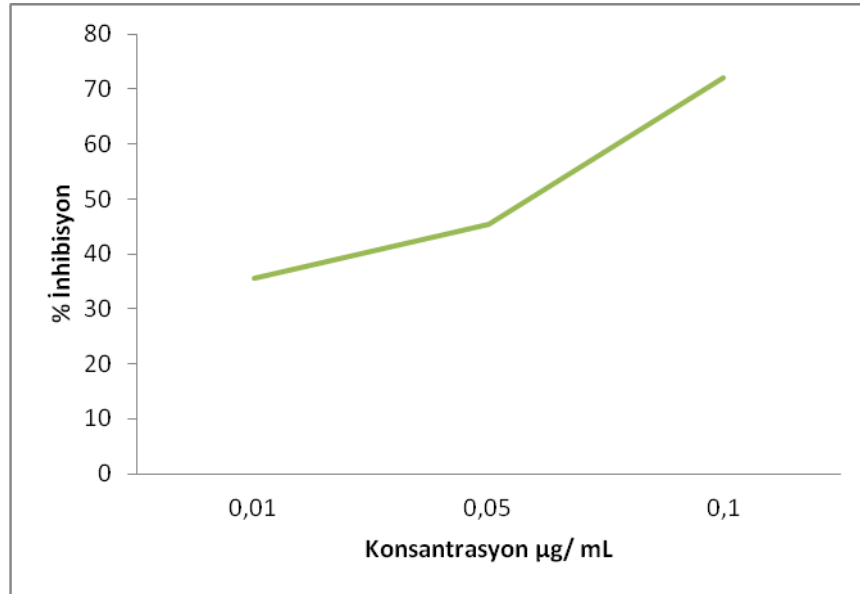
Şekil 4.1.5. Civan perçemi sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



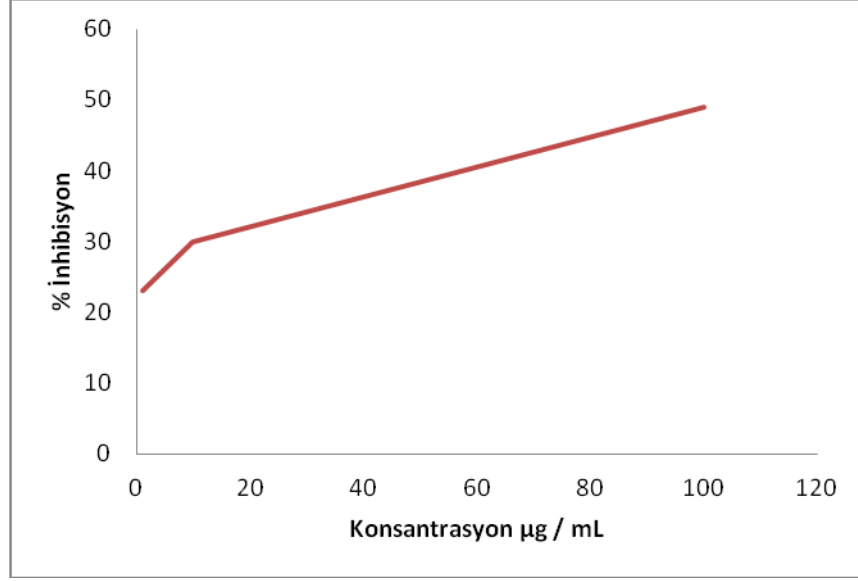
Şekil 4.1.6. Çoban çantası sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



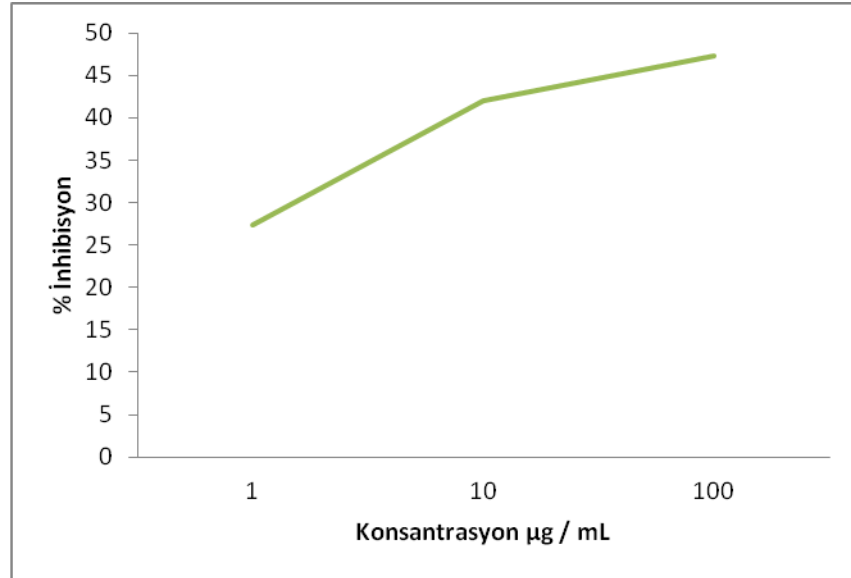
Şekil 4.1.7. Çuha çiçeği sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



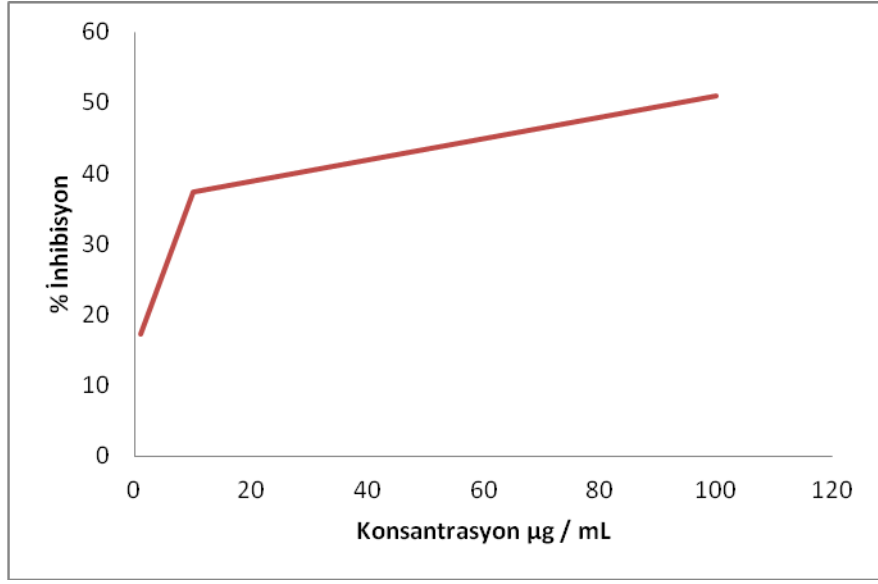
Şekil 4.1.8. Deve dikenini sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



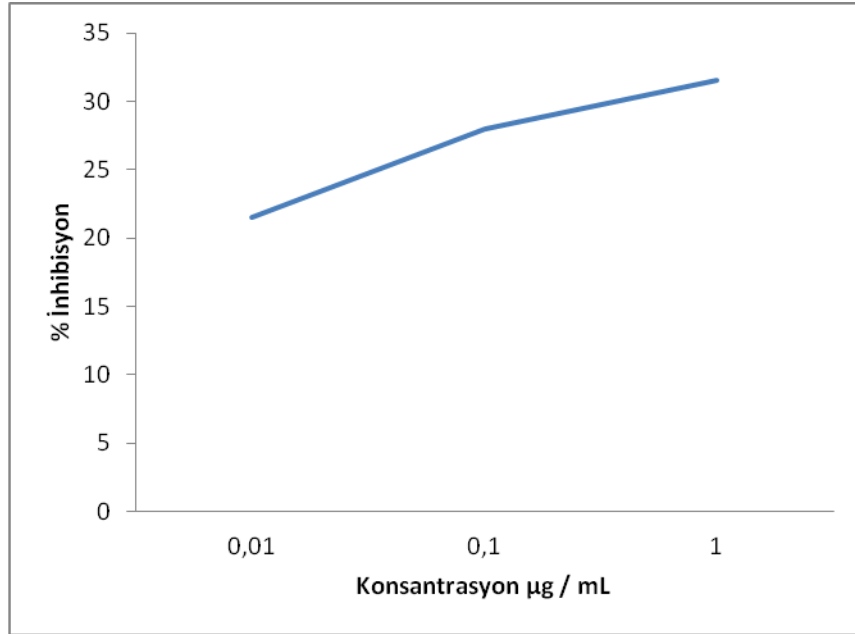
Şekil 4.1.9. Deve tabanı sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



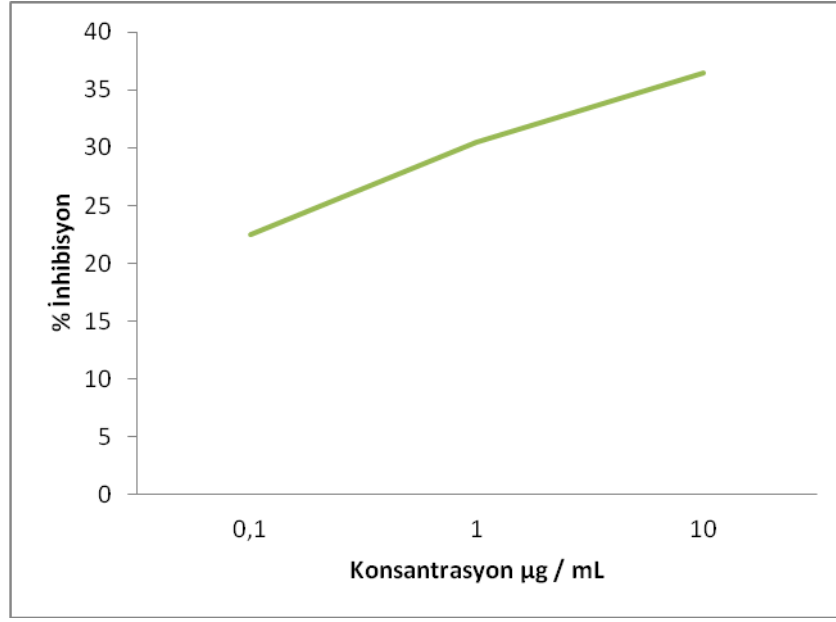
Şekil 4.1.10. Ebegümece sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



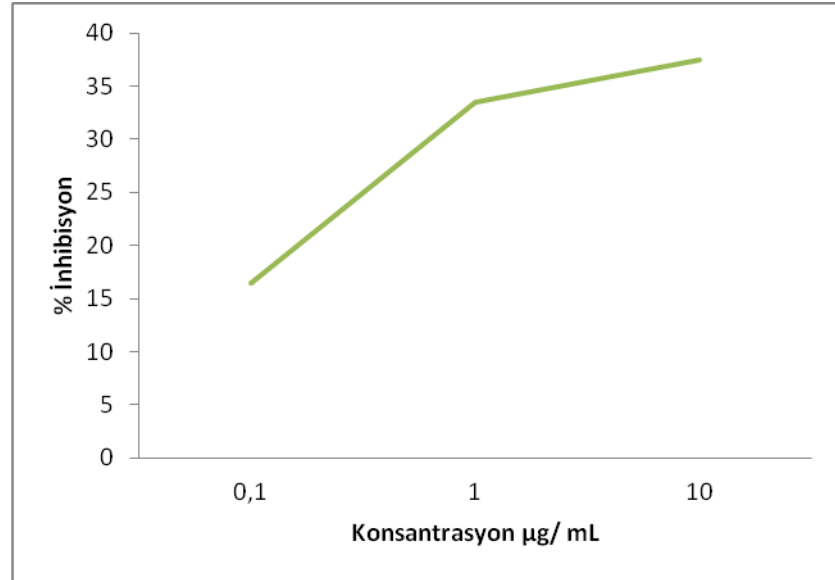
Şekil 4.1.11. Ekinezya sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



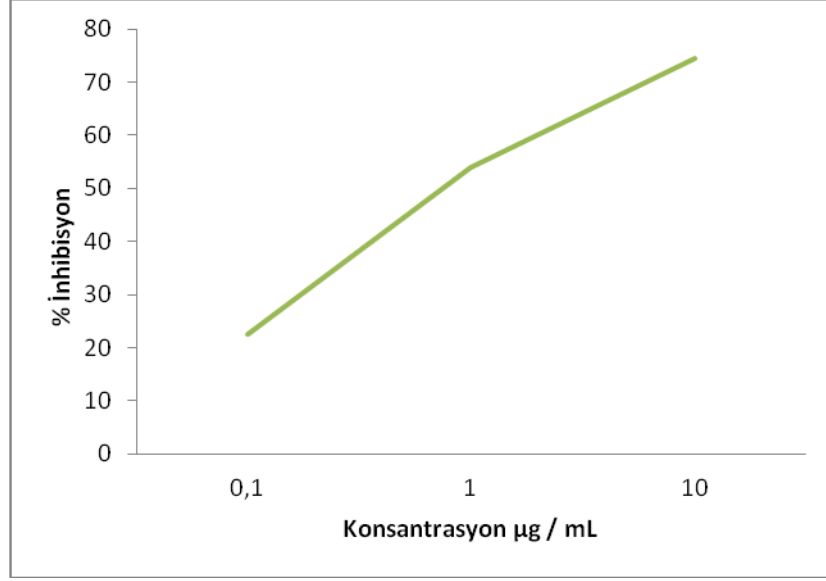
Şekil 4.1.12. Elma sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



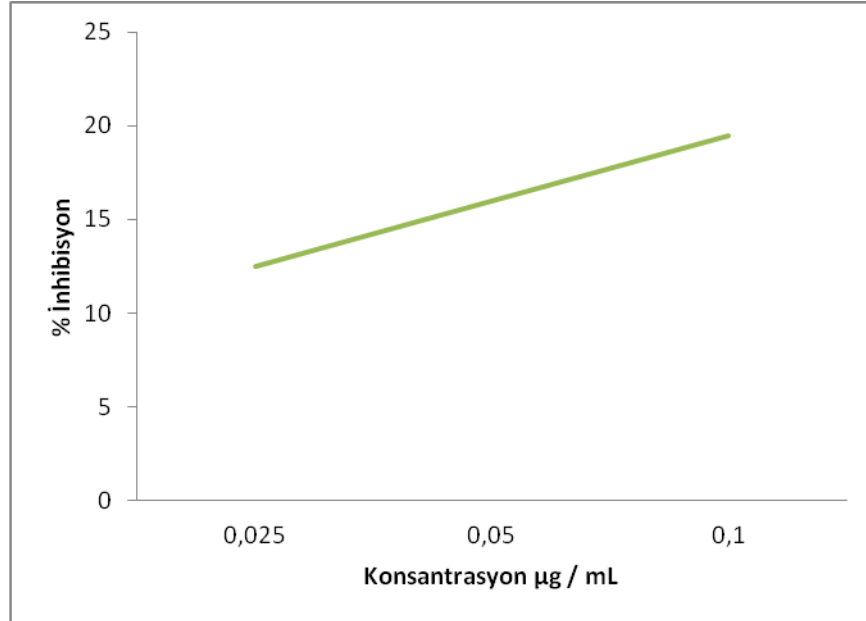
Şekil 4.1.13. Funda sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



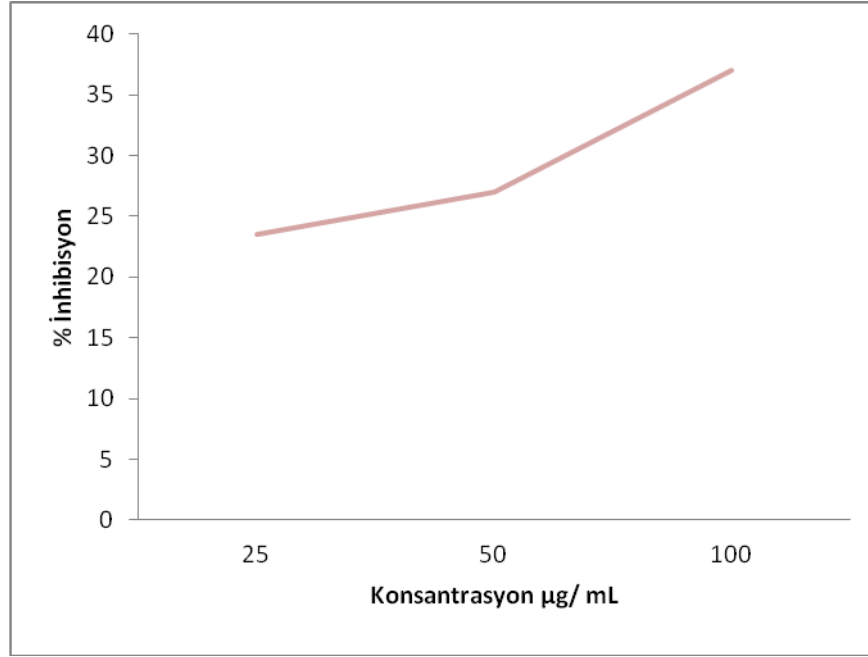
Şekil 4.1.14. Gelincik sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



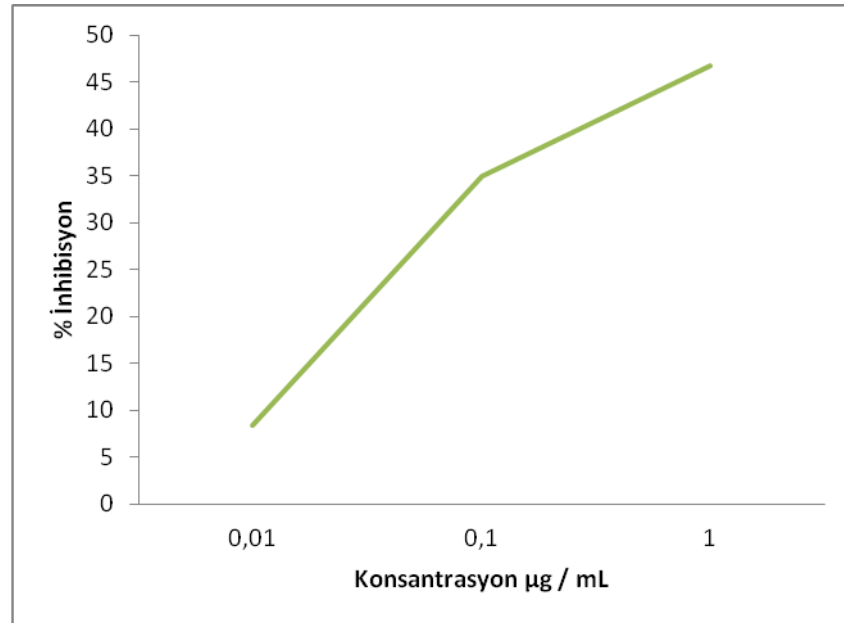
Şekil 4.1.15. Ginseng sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



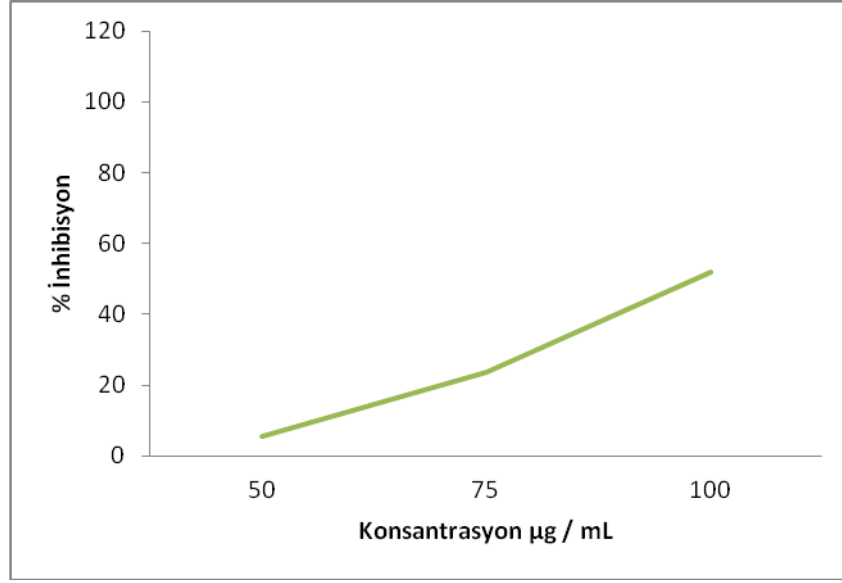
Şekil 4.1.16. Ginkgo biloba sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



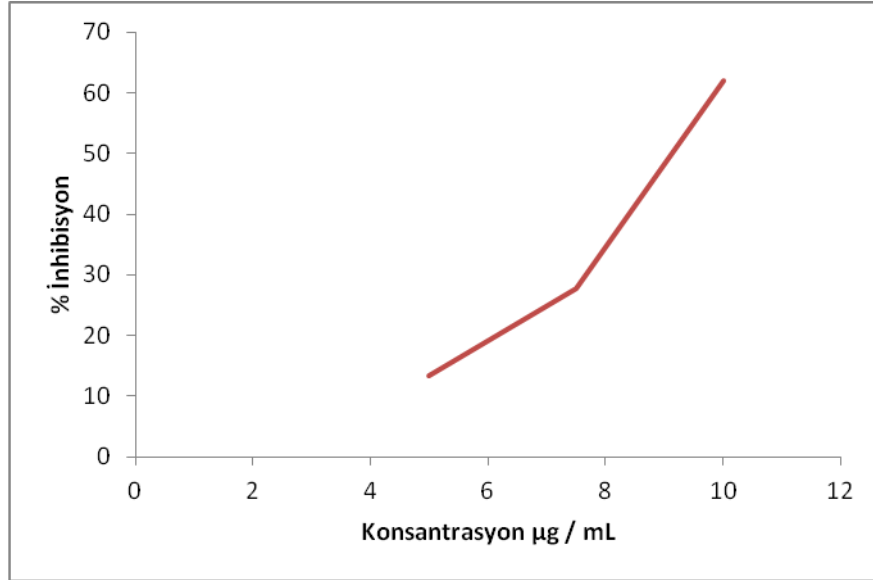
Şekil 4.1.17. Hazanbel sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



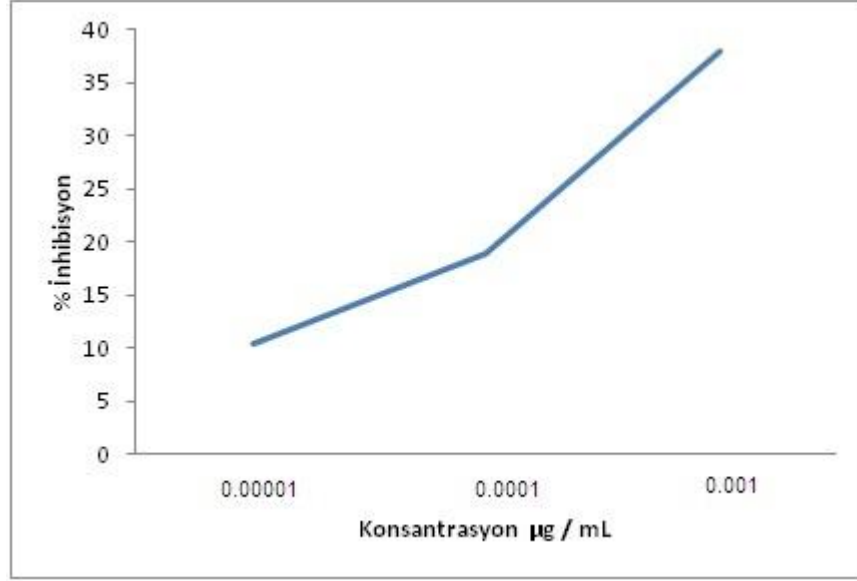
Şekil 4.1.18. Hünnap sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



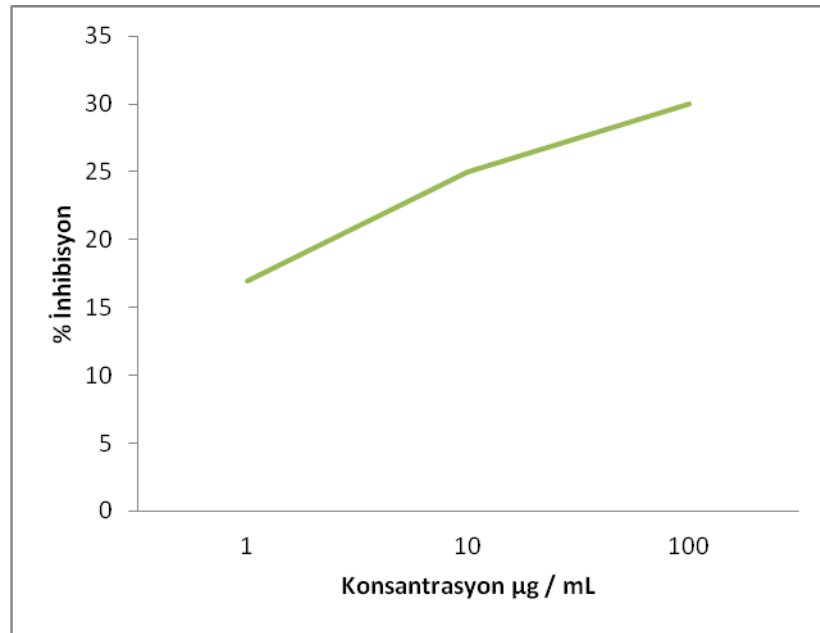
Şekil 4.1.19. Isırgan sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



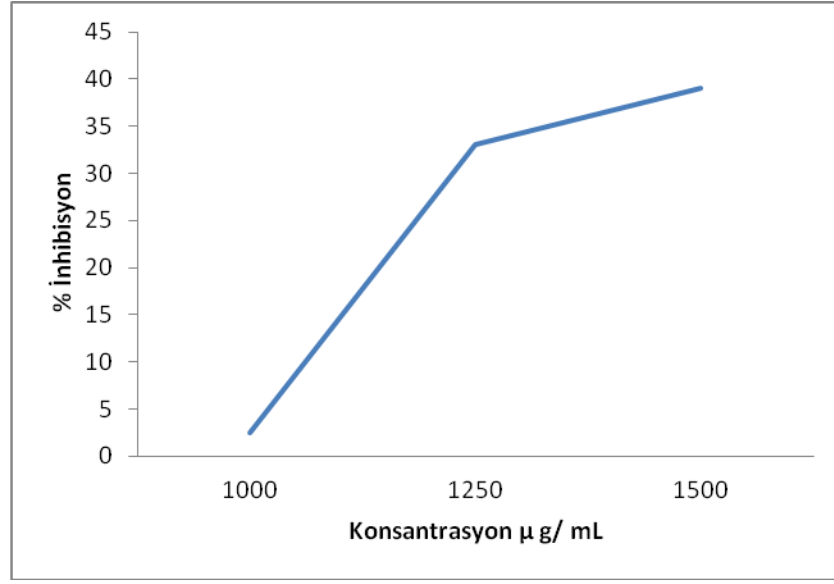
Şekil 4.1.20. Karahindiba sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



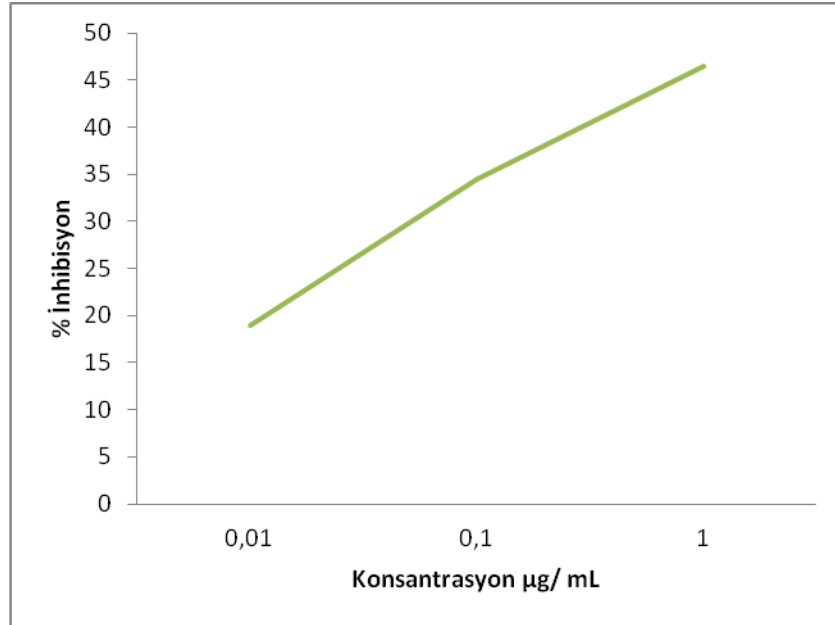
Şekil 4.1.21. Kekik sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



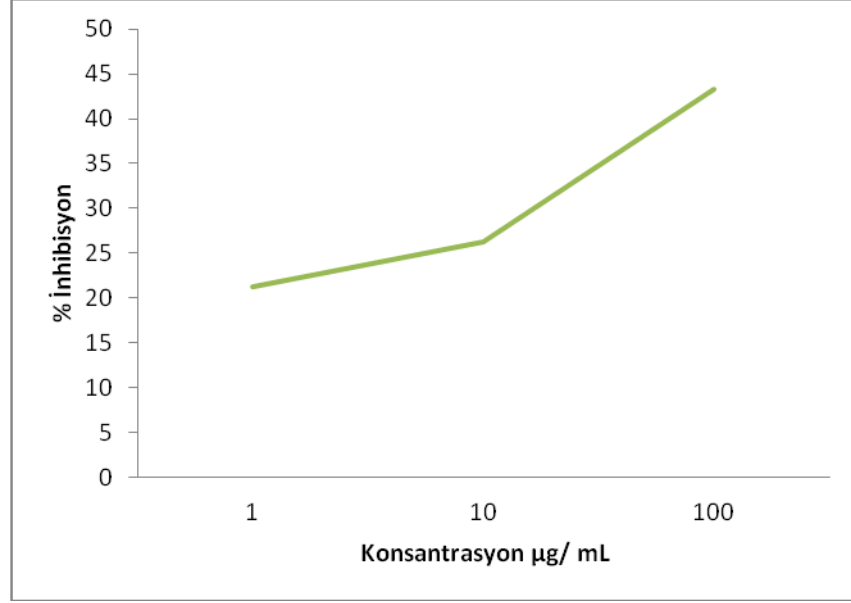
Şekil 4.1.22. Kayısı sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



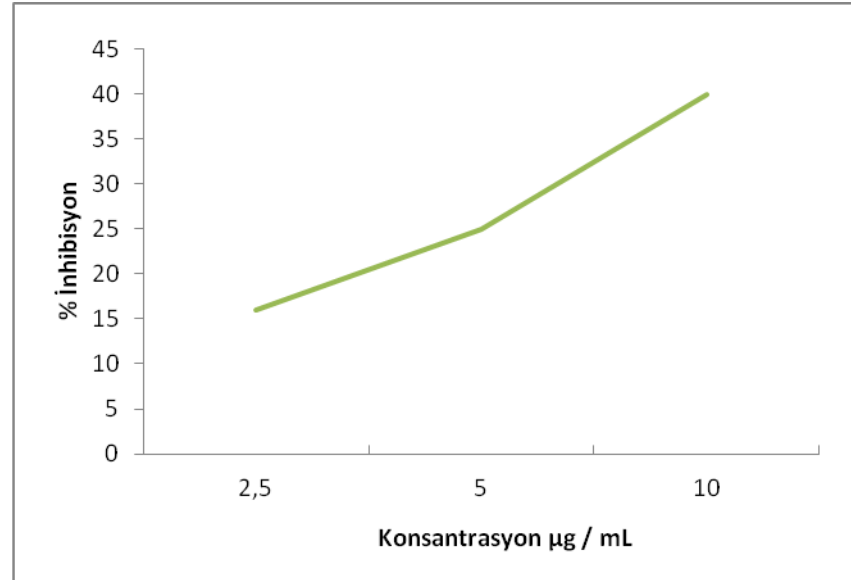
Şekil 4.1.23. Kuşburnu sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



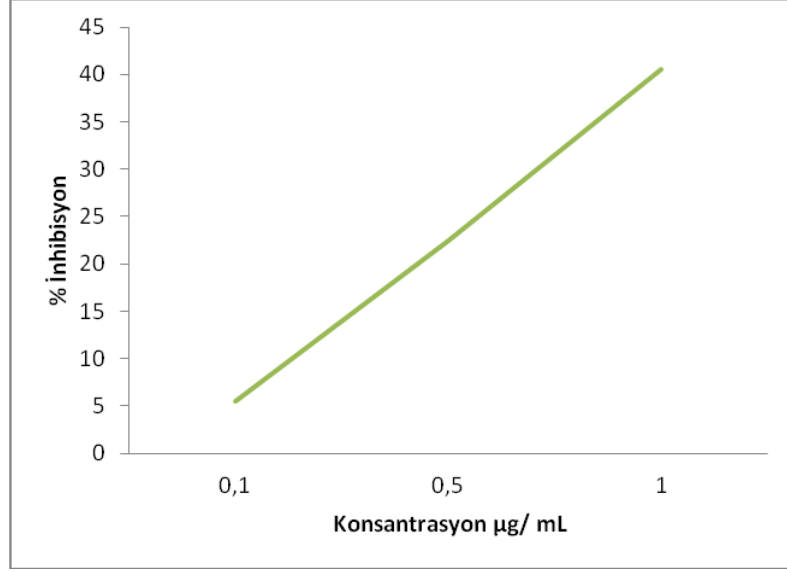
Şekil 4.1.24. Mahlep sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



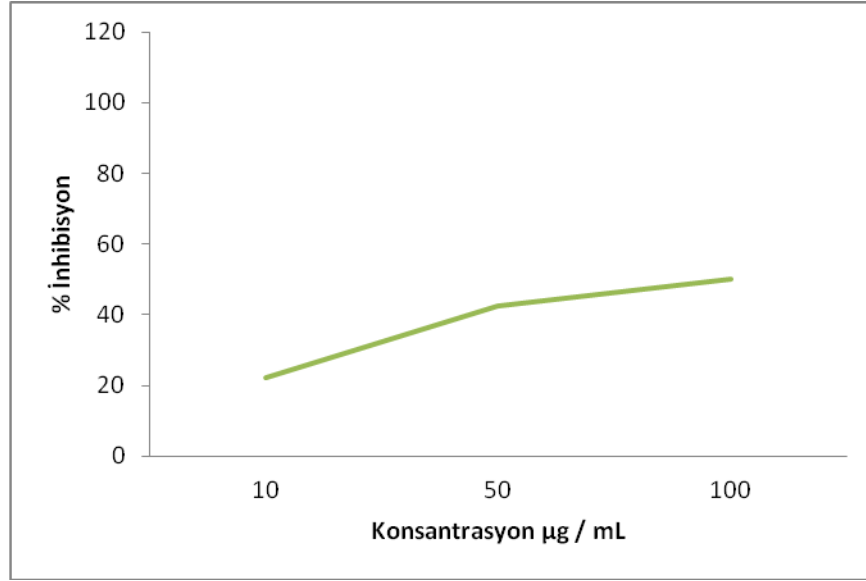
Şekil 4.1.25. Melek otu sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



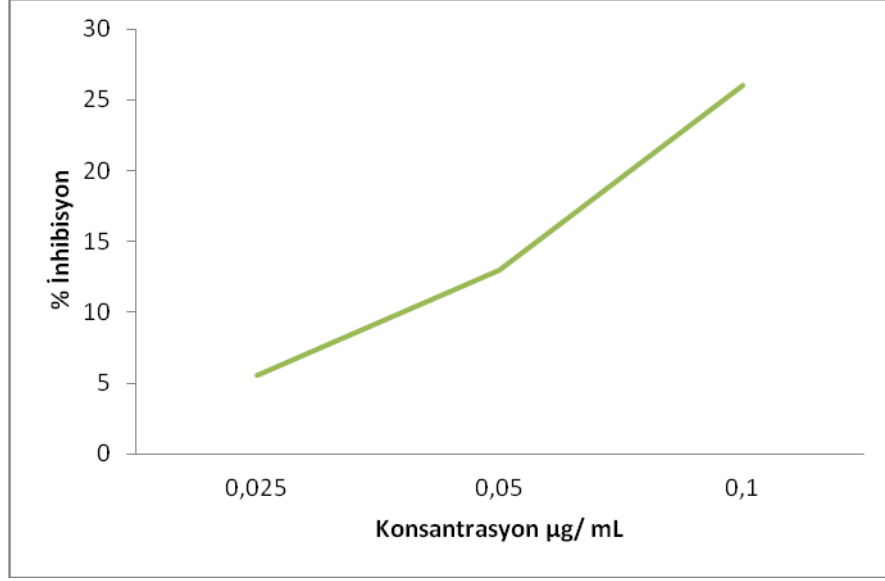
Şekil 4.1.26. Melisa sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



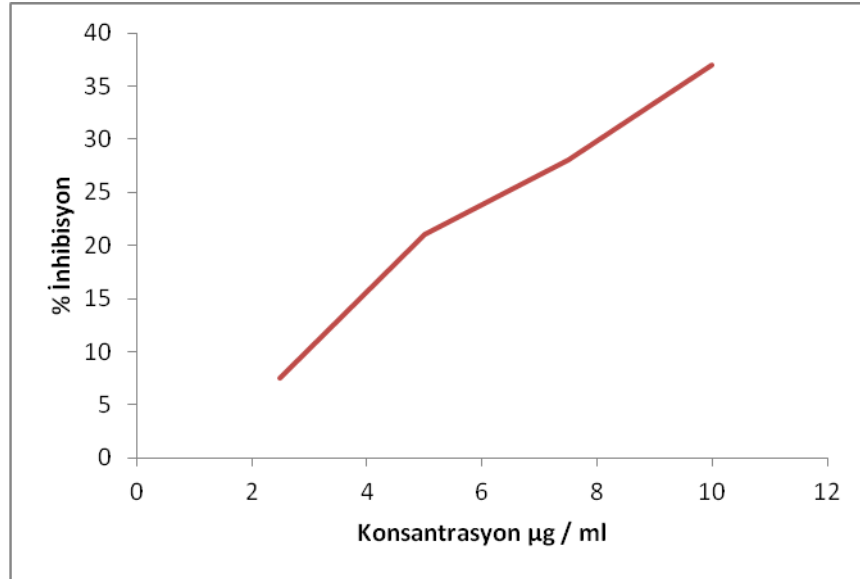
Şekil 4.1.27. Menengiç sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



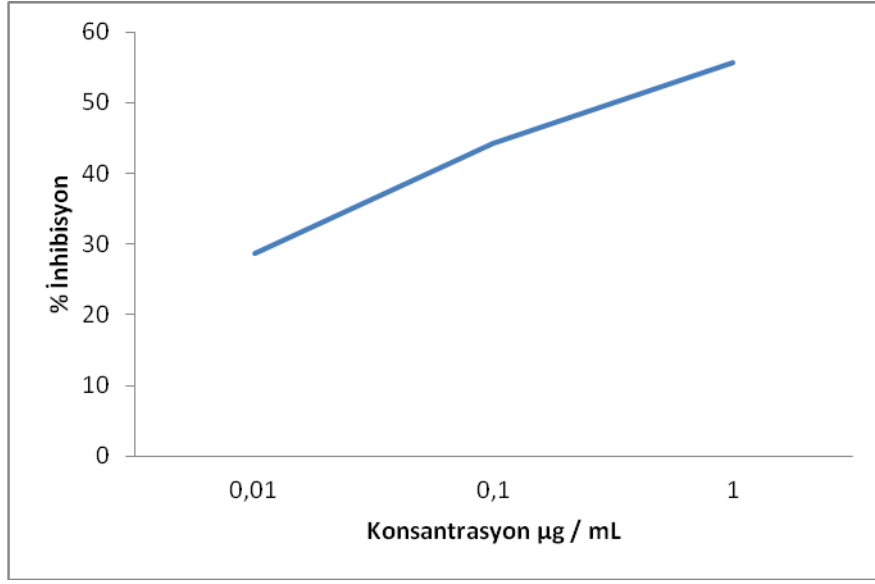
Şekil 4.1.28. Mersin yaprağı sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



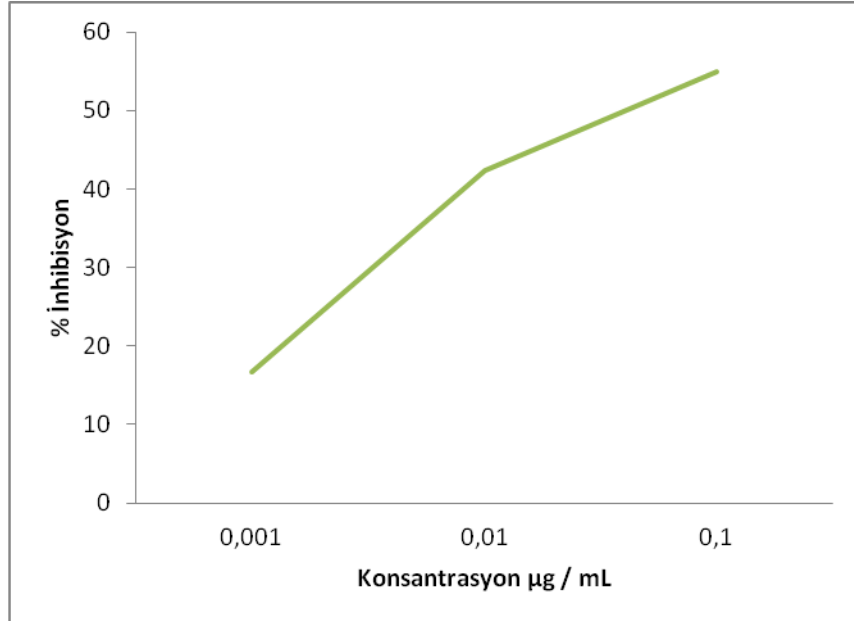
Şekil 4.1.29. Meşe palamudu sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



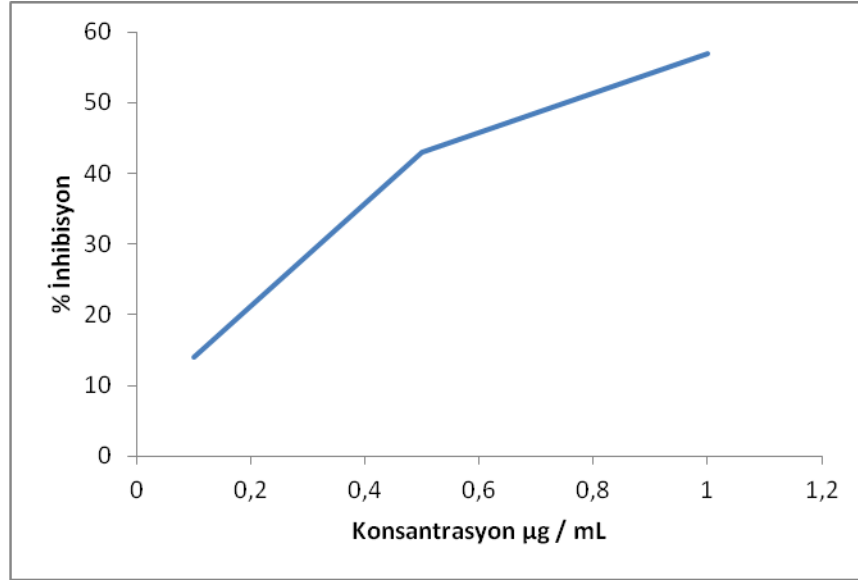
Şekil 4.1.30. Meyan kökünün sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



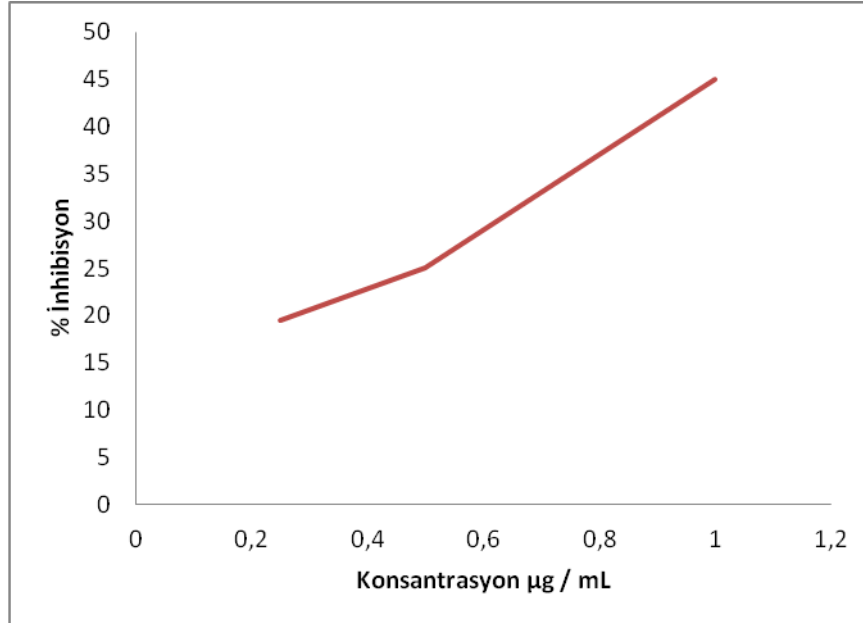
Şekil 4.1.31. Mürver sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



Şekil 4.1.32. Okaliptüs sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



Şekil 4.1.33. Ökse otu sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği



Şekil 4.1.34. Yasemin sulu ekstresinin % inhibisyon grafiği

4.2. KİMYASAL MADDELERİN KARBONİK ANHİDRAZ İNHİBİTÖR ETKİLERİ

Asetazolamid, asparagin, benzoik asit, kojik asit, L-Arginin, L-Glutamin, L-Glutatyon, L- Lizin, L(+)- Sistein, L(-)- Sistin, sinamik asit, üre, sülfanilamid, potasyum nitrat, potasyum rodanür, sodyum klorür, sodyum sülfat, tiyosemikarbazid, vanadyum sülfat gibi kimyasal maddelerin karbonik anhidraz inhibitörü etkileri (Tablo 4.2.1) verildi.

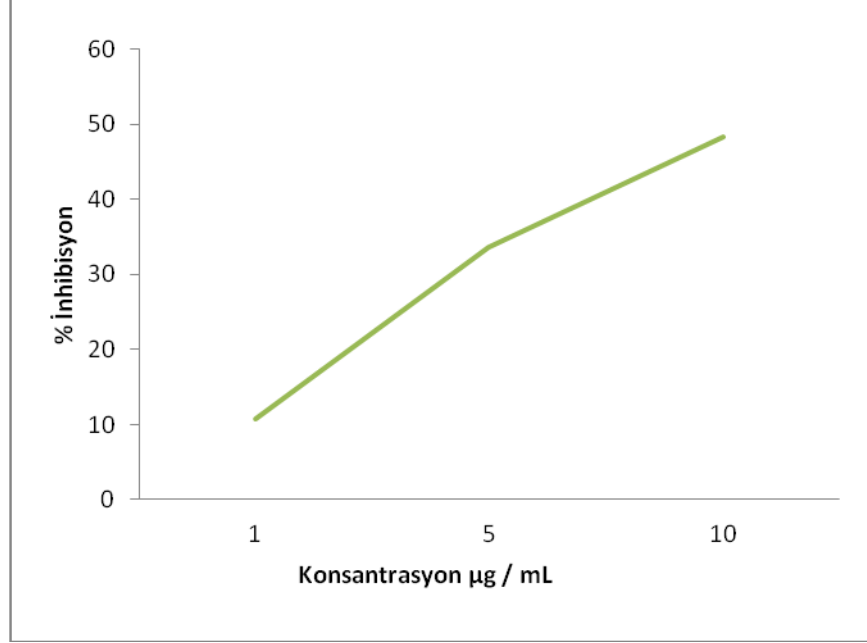
Tablo 4.2.1. Çeşitli kimyasal çözeltilerin CA üzerindeki IC₅₀ değerleri

Kimyasal Maddenin Adı	Süre (dk)	Konsantrasyon (µg/mL)	% İnhibisyon	IC ₅₀ Değeri (µg/ mL)
Asetazolamid	3	10	48.48 ± 0.89	3.01 ± 0.03
		5	33.97 ± 1.17	
		1	10.44 ± 0.47	
Asparagin	3	10	47.74 ± 3.53	3.34 ± 0.48
		5	35.92 ± 6.20	
		1	29.31 ± 4.88	
Benzoik Asit	3	1	31.60 ± 1.75	8.74 ± 1.31
		0.1	28.49 ± 1.86	
		0.05	25.13 ± 1.61	
Kojik Asit	3	100	38.75 ± 5.24	3.88 ± 0.50
		10	26.50 ± 4.68	
		1	13.40 ± 2.85	
L- Arginin	3	1	56.91 ± 7.64	2.49 ± 0.40
		0.5	44.65 ± 2.13	
		0.1	33.10 ± 0.02	
L-Glutamin	3	100	52.77 ± 5.51	2.86 ± 0.26
		10	33.75 ± 7.27	
		1	8.73 ± 4.45	
L-Glutatyon	3	1	44.51 ± 5.73	3.57 ± 0.56
		0.5	28.55 ± 1.73	
		0.25	18.94 ± 1.64	

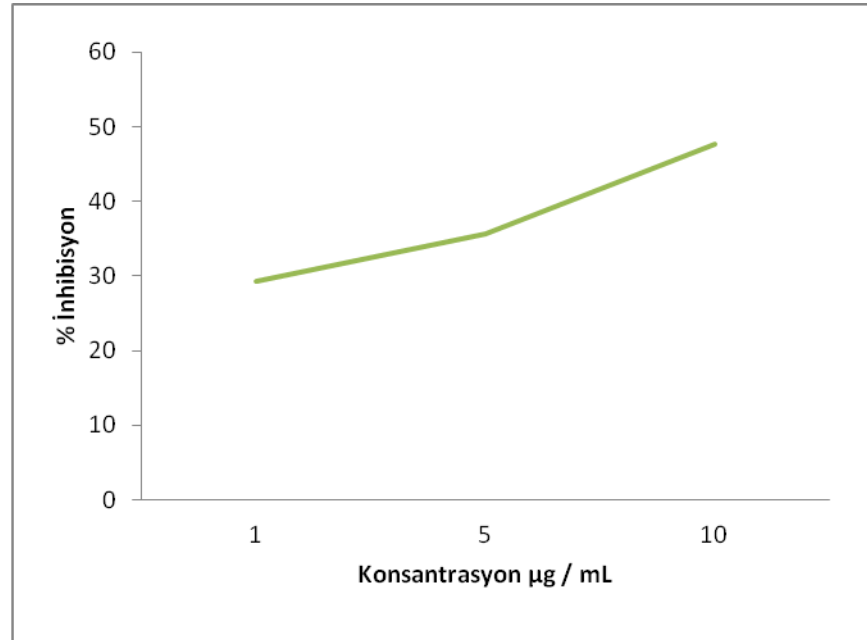
L-Lizin	3	100	48.17 ± 6.27	3.41 ± 0.45
		75	36.15 ± 9.80	
		50	26.46 ± 12.67	
L(+)-Sistein	3	10	67.64 ± 5.44	2.15 ± 0.05
		5	50.97 ± 3.98	
		1	21.94 ± 5.12	
L(-)-Sistin	3	10 ⁻³	18.93 ± 2.84	7.29 ± 0.69
		10 ⁻⁴	6.82 ± 0.50	
		10 ⁻⁵	3.5 ± 1.04	
Potasyum Persülfat	3	1	47.18 ± 6.22	3.09 ± 0.38
		0.1	33.88 ± 4.96	
		0.01	11.78 ± 3.74	
Potasyum Rodanür	3	100	36.17 ± 4.70	4.36 ± 0.43
		10	21.27 ± 0.87	
		1	13.52 ± 2.57	
Sinamik Asit	3	1000	28.28 ± 2.18	6.78 ± 0.58
		100	22.14 ± 1.44	
		10	17.46 ± 1.62	
Sodyum Klorür	3	10	40.57 ± 1.18	3.94 ± 0.03
		1	27.22 ± 8.23	
		0.1	18.62 ± 3.97	
Sodyum Sülfat	3	1	47.45 ± 4.11	3.04 ± 0.31
		0.1	37.21 ± 5.01	
		0.01	16.32 ± 6.46	
Sülfanilamid	3	0.1	57.06 ± 11.71	2.83 ± 0.42
		0.01	28.69 ± 5.20	
		0.001	13.66 ± 5.87	
Tiyosemikarbazid	3	0.01	38.49 ± 1.79	3.80 ± 0.35
		0.005	21.46 ± 8.58	
		0.001	6.76 ± 3.46	
Üre	3	1000	37.98 ± 5.31	3.94 ± 0.34
		100	35.29 ± 4.02	
		10	18.23 ± 8.81	
Vanadyum Sülfat	3	0.1	56.69 ± 9.83	2.82 ± 0.35
		0.05	29.62 ± 0.74	
		0.01	12.91 ± 2.69	

- a. IC₅₀ deęeri en dűşük olan maddenin enzimi en yüksek oranda inhibe etmesine göre çalıřmamızda kullandıęımız kimyasal maddeler içinde en dűşük IC₅₀ deęerine sahip olan maddenin L(+)-sistein (2.15 µg/ml) olduęu bulundu.
- b. IC₅₀ deęerine göre en yüksek karbonik anhidraz inhibisyonunun sırasıyla; L(+)-sistein, L-arginin, vanadyum sűlfat, sűlfanilamid, L-glutamin, asetazolamid, sodyum sűlfat, potasyum persűlfat, L-lizin, asparagin, L-glutatyon, tiyosemikarbazid, kojik asit, sodyum klorűr, űre, potasyum rodanűr, sinamik asit, L(-)-sistin, benzoik asit olduęu saptandı.

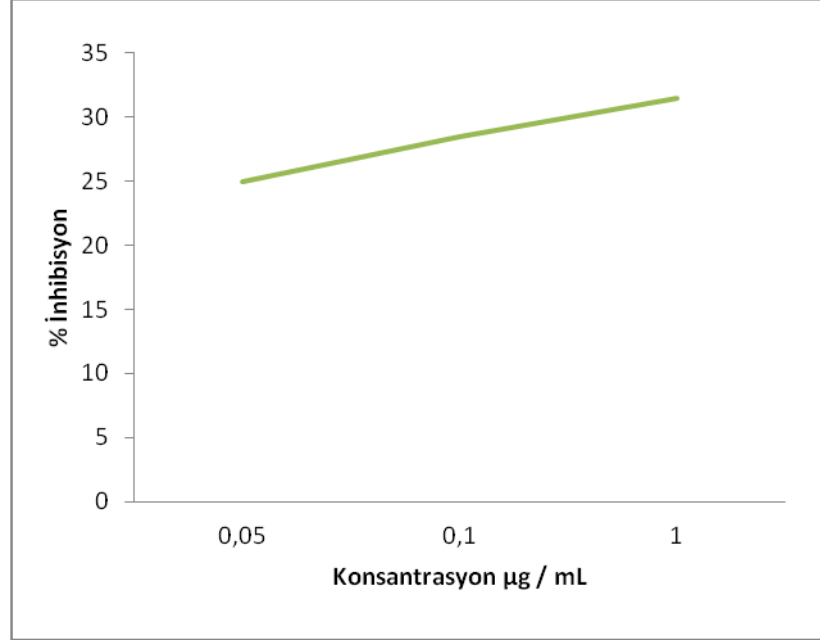
Kimyasal maddelerin CA aktivitesini % İnhibisyon – Konsantrasyon grafikleri gösterilmiştir.



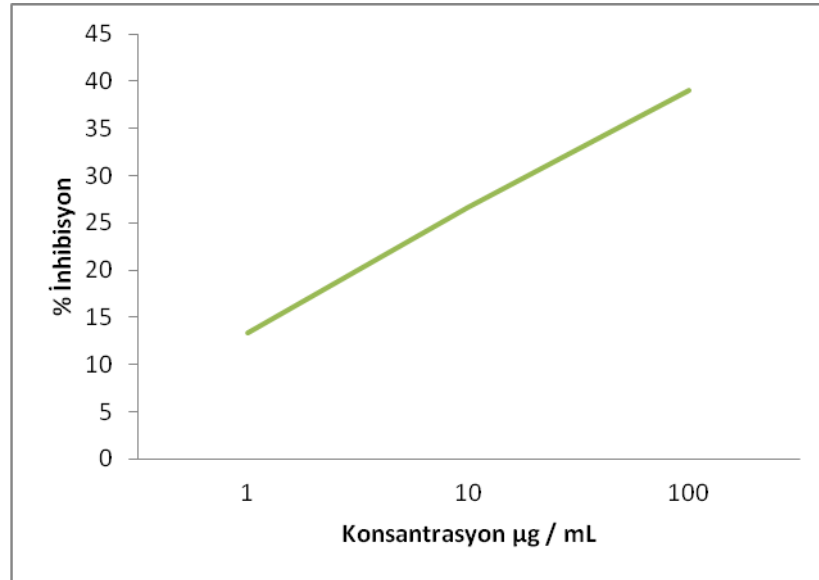
Şekil 4.2.1. Asetazolamid bileşiğinin % inhibisyon grafiği



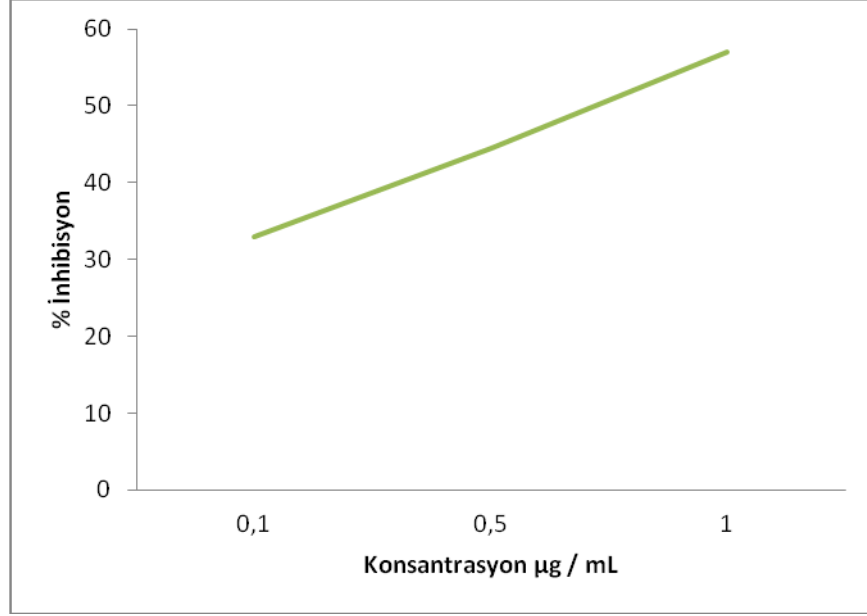
Şekil 4.2.2. Asparagin bileşiğinin % inhibisyon grafiği



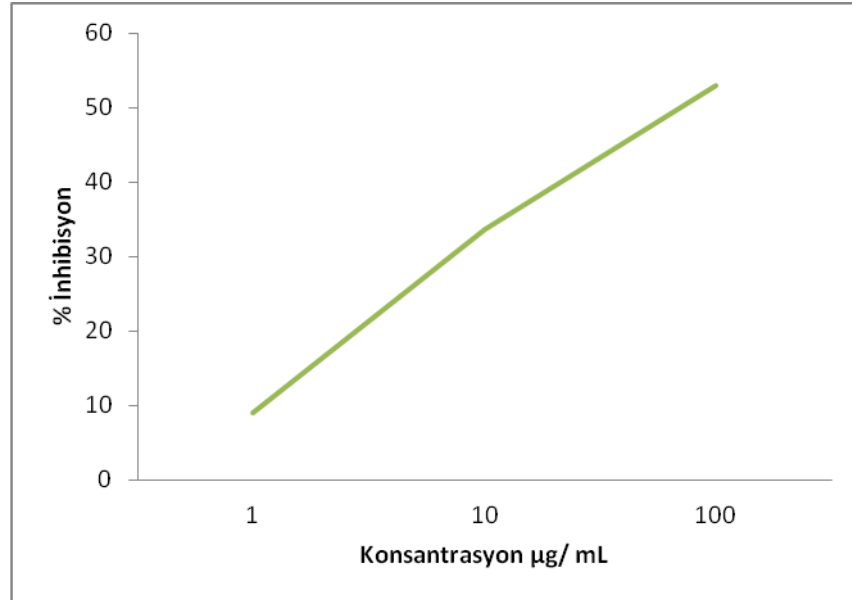
Şekil 4.2.3. Benzoik asit bileşiğinin % inhibisyon grafiği



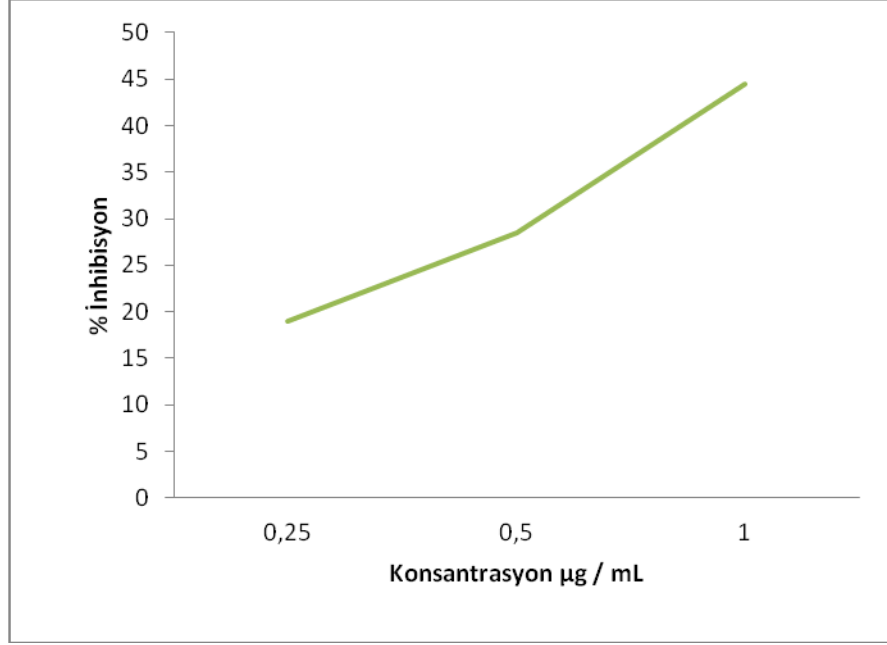
Şekil 4.2.4. Kojik asit bileşiğinin % inhibisyon grafiği



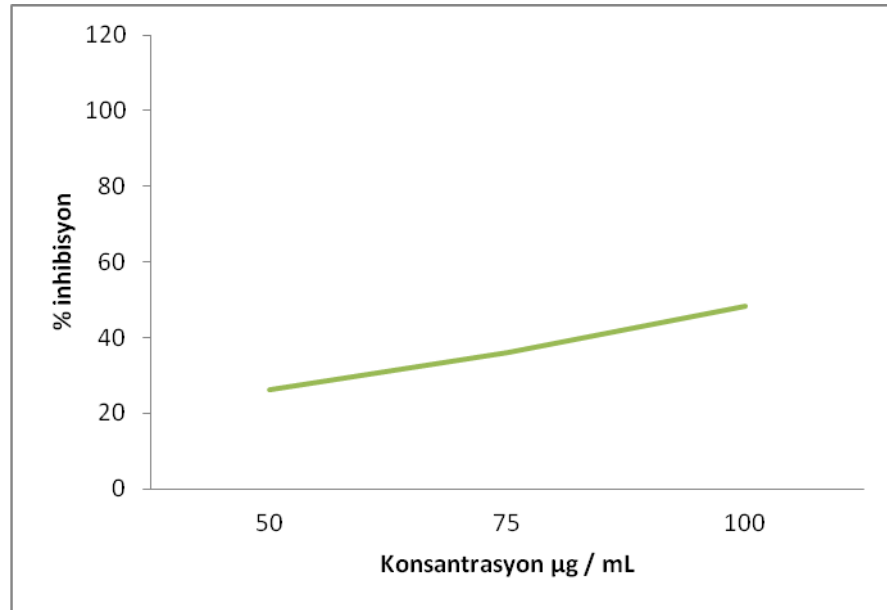
Şekil 4.2.5. L- Arginin bileşiğinin % inhibisyon grafiği



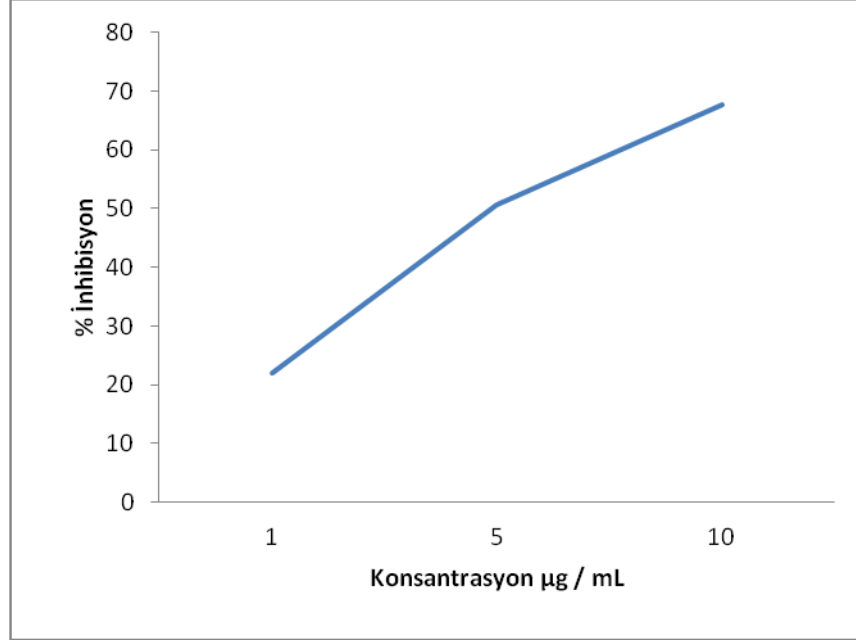
Şekil 4.2.6. L- Glutamin bileşiğinin % inhibisyon grafiği



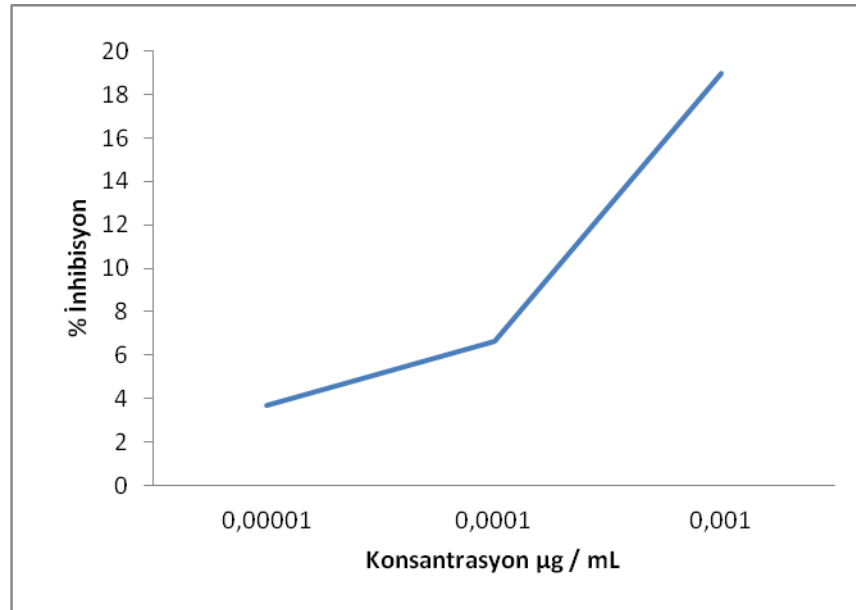
Şekil 4.2.7. L- Glutasyon bileşığının % inhibisyon grafiğı



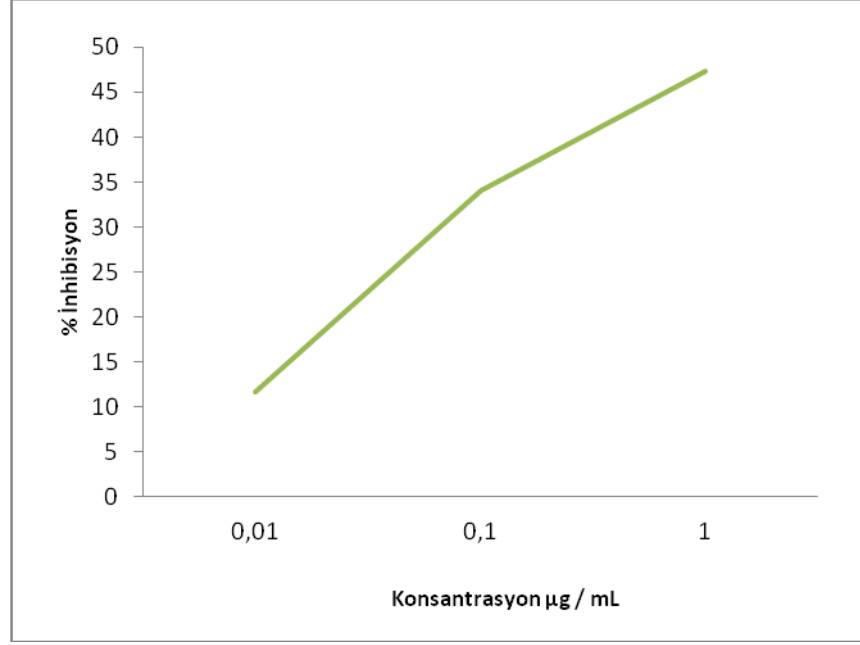
Şekil 4.2.8. L- Lizin bileşığının % inhibisyon grafiğı



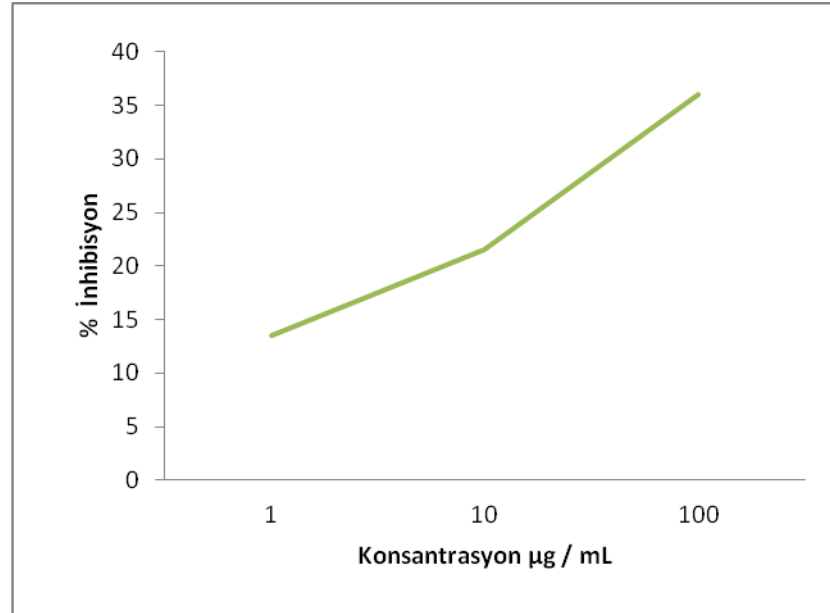
Şekil 4.2.9. L(+) - Sistein bileşiğinin % inhibisyon grafiği



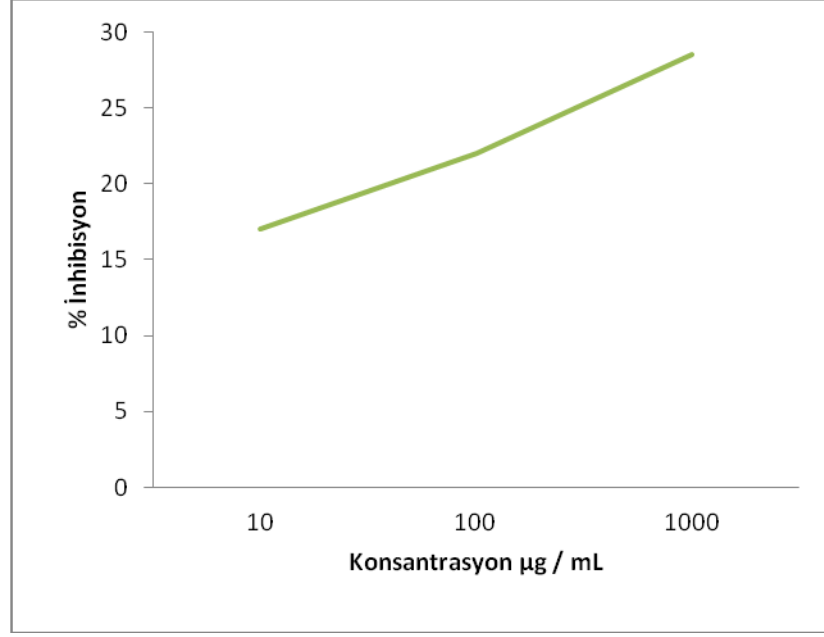
Şekil 4.2.10. L(-) - Sistin bileşiğinin % inhibisyon grafiği



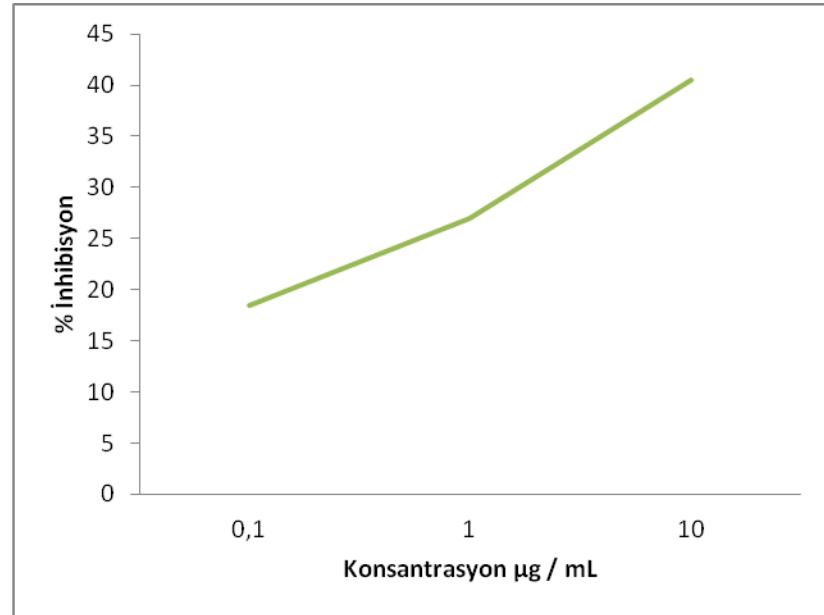
Şekil 4.2.11. Potasyum persülfat bileşiğinin % inhibisyon grafiği



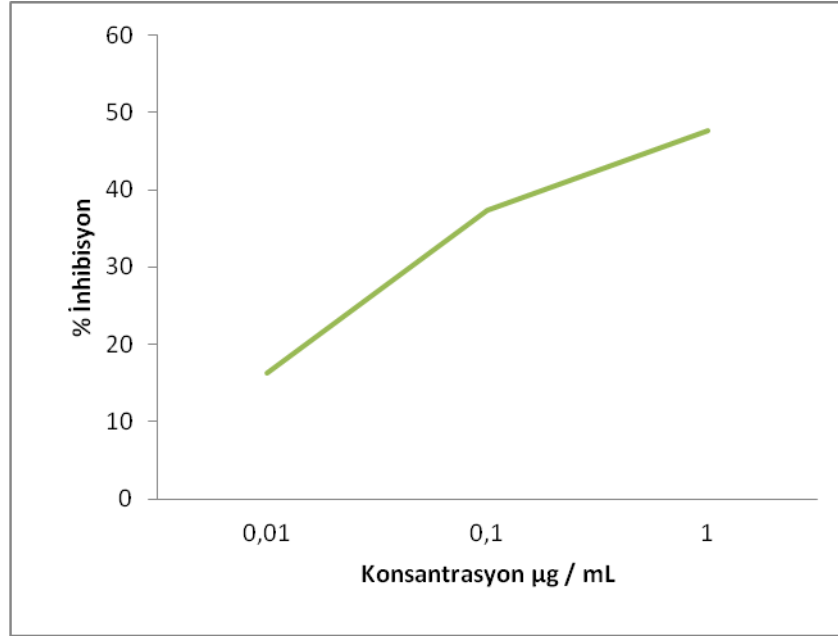
Şekil 4.2.12. Potasyum rodanür bileşiğinin % inhibisyon grafiği



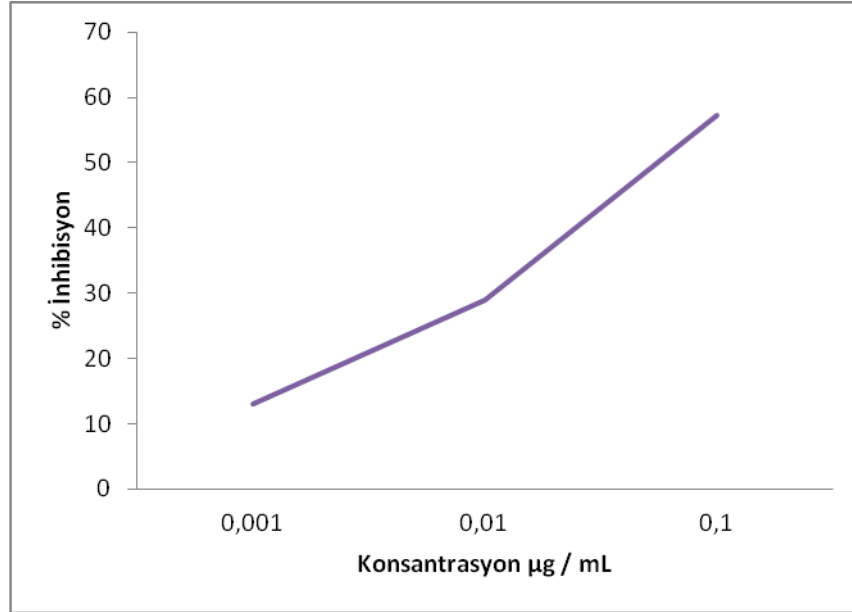
Şekil 4.2.13. Sinamik asit bileşiğinin % inhibisyon grafiği



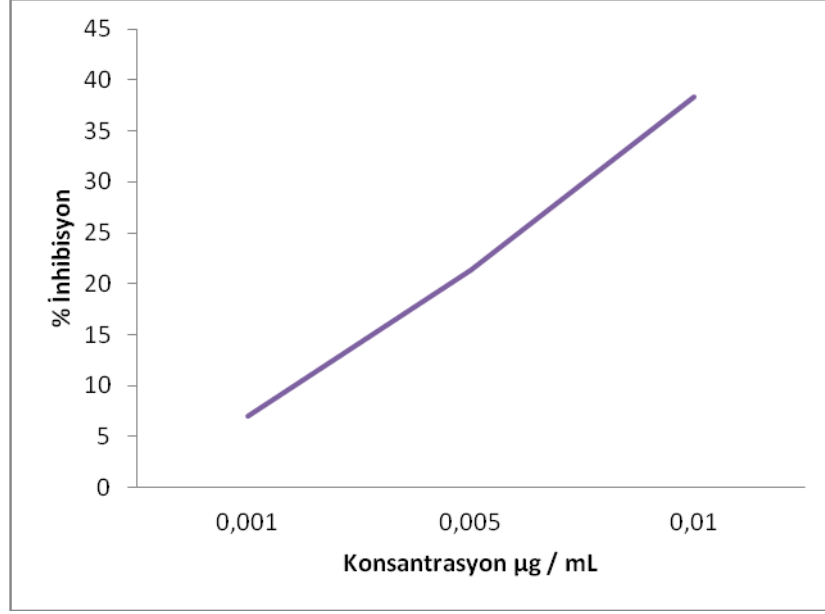
Şekil 4.2.14. Sodyum klorür bileşiğinin % inhibisyon grafiği



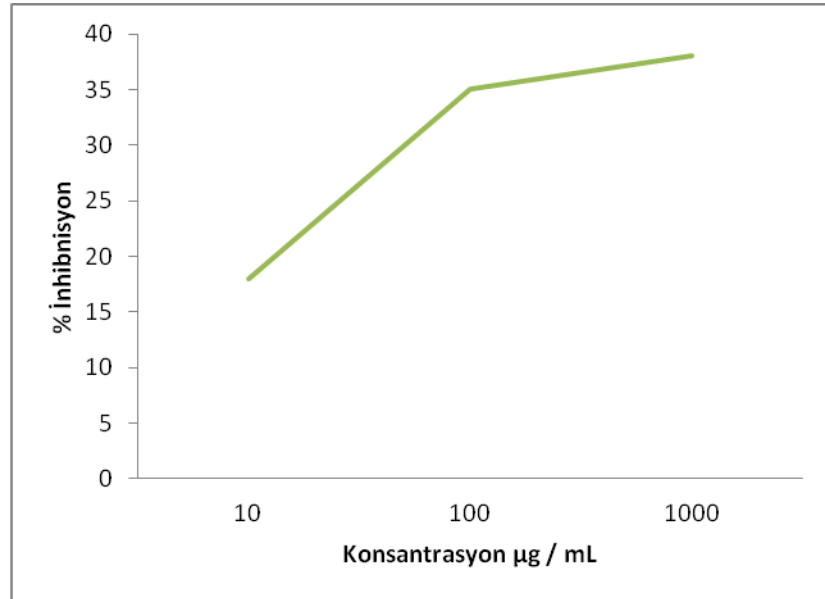
Şekil 4.2.15. Sodyum sülfat bileşiğinin % inhibisyon grafiği



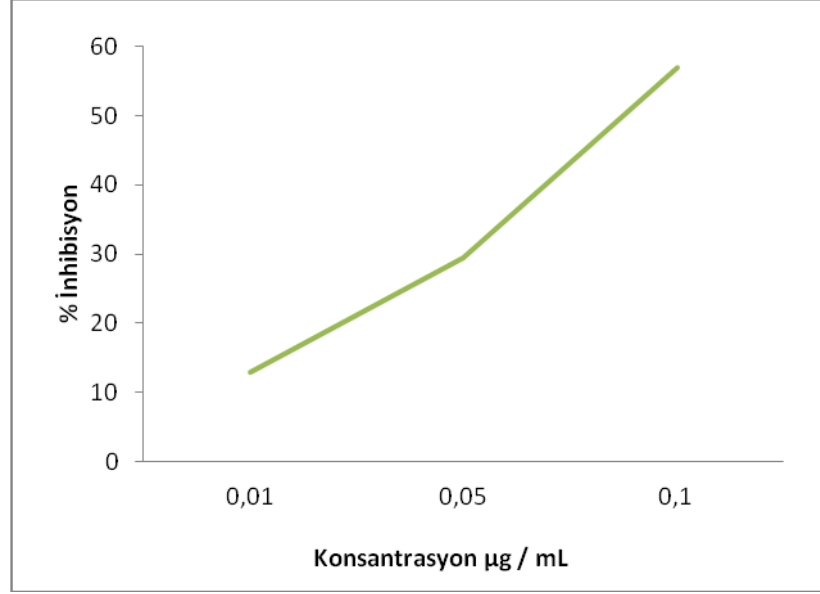
Şekil 4.2.16. Sülfanilamid bileşiğinin % inhibisyon grafiği



Şekil 4.2.17. Tiyosemikarbazid bileşiğinin % inhibisyon grafiği



Şekil 4.2.18. Üre bileşiğinin % inhibisyon grafiği



Şekil 4.2.19. Vanadyum sülfat bileşiminin % inhibisyon grafiği

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Halk arasında “ Göz Tansiyonu” adıyla da bilinen glokom milyonlarca insanı etkileyen yaygın bir göz hastalığıdır. Tedavi edilmez ise görme kaybına neden olabilir. Glokomda göz içindeki sıvı basıncı görme yeteneği için gerekli olan göz sinirine zarar verecek düzeyde yüksektir. Sıklıkla 40 yaşın üzerinde oluşan glokom genellikle yıllar içinde çok sinsi ilerler. Bu; en sık görülen glokom tipi olup “Primer Açık Açılı Glokom” olarak adlandırılır. Bu süre içinde glokomlu kişilerin bir bölümünde de hastalığa ait herhangi bir belirti görülmez. Glokom birçok hasta tarafından ancak ileri dönemde ve belirgin görme kaybı ortaya çıktığında fark edilebilir. Glokomda görme kaybı oluştuktan sonra geri dönüş olmadığından erken tanı önemlidir. Glokom riskini arttıran faktörler içinde ilerleyen yaş, ailede glokom yks (Genetik yatkınlık), sigara, şeker hastalığı, yksekdşk kan basıncı, miyopi, uzun süreli kortizon tedavisi, göz yaralanmaları, migren sayılabilir (<http://glokomhastaligi.com>). Tedavide en sık olarak, gözde aköz humor salgılanmasını azaltarak göz-içi basıncını düşürmelerinden dolayı, açık açılı glokomun kronik tedavisinde, diğer ilaçlara ek olarak glokom hastaları tarafından kullanılırlar. Bu indikasyonda daha çok, asetazolamid yerine, göze lokal olarak daha iyi penetre olan dorzolamid ve brinzolamid tercih edilir.

Belirli bir zaman diliminde, böbrek nefronlarında idrar oluşumunu artıran ilaca diüretik adı verilir. Diüretikler, tedavide sodyum ve bunu izleyen su tutulmasıyla karakteristik dem ve arteriyel hipertansiyon gibi önemli hastalıklarda öncelikle kullanılan ilaçlardır. Karbonik anhidraz inhibitörleri diüretik ilaçlar sınıfına girmektedir. Bu grupta halen kullanılan ilaç asetazolamiddir. Asetazolamid, sülfonamid yapısındadır ve proksimal tübül epiteli hücre içi ve apikal membranda bulunan karbonik anhidraz (CA) enzimini inhibe eder. Normal şartlarda CA enzimi etkisiyle oluşan H⁺ lümene atılır ve karşılığında Na⁺ geri emilimi olur (H⁺-Na⁺ değiş-tokuşu). CA enziminin inhibisyonu sonucu, Na⁺ geri emilimi azalacağından, Na⁺ ve beraberinde su atılımı sonucu diüretik etki oluşur. Ayrıca asetazolamid, antineoplastik tedavi esnasında ürik asidin idrar yolunda çökmesini önlemek için kalevi diürez oluşturmak amacıyla, diğer

antiepileptiklerin etkisini artırmak için epilepsi tedavisinde, kronik metabolik alkaloz veya respiratuvar alkaloz tedavisinde ve akut dağ hastalığının profilaksisinde (BOS oluşumunu azaltarak ve respiratuvar alkalozu düzelterek etki gösterir) oral yoldan kullanılabilir. Akut dağ hastalığında, irtifa değişikliğine fizyolojik alıştırmanın (aklimatizasyon) yerine geçmez. Hafif metabolik asidoz, K⁺ kaybı, nefrolitiazis, sersemlik ve parestezi gibi genelde çok ciddi olamayan yan tesirler görülebilir (web.inonu.edu.tr/~eolmez/diuretikler).

Obezite günümüzde gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin en önemli sağlık sorunları arasında yer almaktadır. Obezite, genel olarak bedenin yağ kütesinin yağsız kütleyle oranının aşırı artması sonucu, boy uzunluğuna göre vücut ağırlığının arzu edilen düzeyin üstüne çıkmasıdır. Yetişkinlerde sinirsel, hormonal, kimyasal ve fiziksel mekanizmalarla vücut ağırlığı belirli bir düzeyde tutulmaktadır. Bu mekanizmaların bir veya birkaçındaki bozukluk bu dengeyi olumsuz yönde etkilemektedir. Dengenin bozulması beden ağırlığının değişmesiyle sonuçlanır. Dünya genelinde obezite görülme sıklığını (prevalans) etkileyen etmenler arasında; kalıtım, yaş, cinsiyet, besin tüketimi ve beslenme alışkanlıkları, yaşam tarzı ve/veya alışkanlıkları yer almaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre, dünyada 400 milyonun üzerinde obez ve 1,6 milyar civarında da hafif şişman birey bulunmaktadır. 2015 yılında bu oranın sırasıyla 700 milyon ve 2,3 milyara ulaşılacağı düşünülmektedir (Bilim ve Teknik Dergisi, 2007 Mart sayısı). Antiobezite ilaçları olarak CA inhibitörlerinin CA izoenzimleri üzerindeki etkilerinden dolayı potansiyel faydalarının olduğu çalışmalarda gösterilmiştir.

Geleneksel olarak uygulanan kanser tedavilerinde önemli gelişmeler olmasına rağmen yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesi gerekmektedir. Son yıllarda tümör hücrelerini yok etmek için yeni hedefler ortaya çıkmıştır. Bu hedefler arasında yer alan en önemli enzim ailelerinden biri olan karbonik anhidrazlar (CA) yeni ilaçların geliştirilmesinde hedef proteinler olarak kanser tedavisinde yer almışlardır. Kanser ile karbonik anhidrazlar arasındaki ilişki yaklaşık olarak 17 yıldan beri çalışılmaktadır. Bu kapsamda tümör-ilişkili membran karbonik anhidraz izozimleri (CA IX ve CA XII) tanımlanarak klonlanmış ve gen dizileri belirlenmiştir (Pastorek ve arkadaşları, 1994; Türeci ve arkadaşları, 1998).

Osteoporoz (OP); düşük kemik kütlesi ve kemik dokusunun mikroyapısının bozulması sonucu kemik kırılabilirliğinin ve kırık olasılığının artması ile karakterize sistemik bir iskelet hastalığıdır (Eryavuz, 1998). Düşük kemik kütlesi oluşmasındaki faktörleri; yaşlanma, genetik ve irksal, hormonal, beslenme, yaşam stili faktörleri, çeşitli ilaçlar ve hastalıklar olarak sayabiliriz (Nas ve Çevik, 2000). Kemikte yüksek oranda bulunan CAII enzimi, CO₂'nin hidrasyonu vasıtasıyla oluşturulmuş hidrojen iyonlarını ATP-bağımlı proton pompalarına götürmektedir. Bu pompalar, hidrojen iyonlarını kemikten gelen kalsiyumun mobilizasyonu için kullanırlar.

Karbonik anhidrazlar, kanser, glokom, osteoporoz hastalığına karşı ilaç üretiminde, antiobezite ajanlarının üretilmesinde, antibakteriyal, antifungal ajanlarının geliştirilmesi gibi karbonik anhidrazlarının inhibisyonunu baz alan pek çok farmakolojik ilaç tasarımında kullanılmış ve kullanılmaya devam edilmektedir.

Küreselleşen dünyada insanların ve toplumların uzayan yaşam süresinin yanı sıra nitelikli yaşam sürme ihtiyacı ön plana çıkmıştır. Dünyada sağlıklı ve kaliteli yaşam sürmek isteyen kişiler, kimyasal ve sentetik ürünlerin yan etkilerinden kaçınmak için doğal yaşam tarzına yönelmişler ve doğal ürünler kullanmaya başlamışlardır (Carlsen ve arkadaşları, 2010).

Hastalıkların çeşitli bitkilerle tedavi edilmesinin başlangıcı antik çağlara kadar uzanmaktadır. Bununla birlikte yazılı kaynaklar bakımından bitkilerle tedavinin Anadolu'daki başlangıcını Hititler dönemine (M.Ö. 1500) kadar götürebiliriz. Henüz modern tıbbın gelişmediği dönemlerden günümüze değin oldukça uzun bir zaman geçmiş olmasına rağmen halk arasında bitkilerin tedavi maksatlı kullanımı devam etmektedir. Kırsal bölgelerde, hazırlanacak ilaç için çevrede yetişen yabanî bitkiler kullanılırken şehirlerde ise aktarlardan ya da mısır çarşılarından gerekli bitkiler temin edilmektedir.

CA canlı organizmalarda pH düzenleyici, iyon transportu, su ve elektrolit dengesi gibi önemli fonksiyonları olan ve aktif bölgesinde Zn⁺² iyonu bulunduran yaygın bir metalloenzim ailesidir. Bu enzim fizyolojik şartlarda karbondioksitin hidrasyonu ve bikarbonatın dehidrasyonu reaksiyonlarını tersinir olarak katalizlemektedir. CA,

hemen hemen bütün hayvan dokularında, bakterilerde ve fotosentetik hücrelerde fonksiyon gören önemli bir enzimdir. CA, canlı metabolizmasında hidrataz aktivitesinin yanı sıra; böbrek, gastrik mukoza ve göz lensi gibi dokularda H^+ ve HCO_3^- birikiminde rol almaktadır. Bunlardan başka önemli miktarda tükürük bezleri, beyin, sinir miyelin kılıfı, pankreas, prostat, uterus ve endometrium dokularında da belirli miktarlarda bulunmaktadır. Karbonik anhidrazın en güçlü organik inhibitörleri, aromatik ve heteroaromatik sülfonamidlerdir. Sülfonamidler, $R-SO_2NH_2$ kimyasal yapısına sahiptir.

Çalışmamızda kan dolaşımından kaynaklanan cilt problemlerinde, alerji, romatizma şikayetlerinde; sedef, ekzama, nörodermatit gibi hastalıklarda kullanılan çuha çiçeğinin antispazmodik etkisi, kusturucu ve bağırsak hareketlerini düzenleyici fonksiyonları olduğu Turker ve Usta (2008) tarafından bildirilmiştir. Çalışmamızda çuha çiçeği CA'ı, en yüksek oranda inhibe eden bitki olarak bulundu. IC_{50} değeri $1.68 \mu g/mL$ gibi çok düşük bir değer olarak saptandı. Bu durum çuha çiçeğinin yapısında bulunan ve prostaglandin E_1 sentezinin öncüsü olan γ -linoleik asitten ileri gelebilir.

Literatürde akasya çiçeğinin, yapısında fenolik bileşikler, flavonoidler (Latorraca ve arkadaşları, 2011), saponinler (Garai ve Mahato, 1997), taninler (Bernhard-Reversat 1999) gibi sekonder metabolitler içerdiği ve bu bileşiklerden dolayı antioksidan ve antibakteriyel özelliklerinin bulunduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda akasya çiçeğinin CA'ı inhibe ettiği ve IC_{50} değeri $5.79 \mu g/mL$ olduğu saptandı.

IC_{50} değerini $4.02 \mu g/mL$ olarak bulduğumuz aslan pençesi bitkisinin, yapısında bulunan taninlerden dolayı soğuk ortam şartlarında metabolik hızı arttırdığı (Borodin ve arkadaşları, 1999) ve içerdiği flavonoidlerden ötürü sindirim enzimlerini düzenleyici ve kalp koruyucu etkisinin olduğu (Jonadet ve arkadaşları, 1986) literatürde bildirilmiştir.

Ülkemizde sindirim sistemi şikayetlerinde, inflamasyon düzenlemelerinde, yara iyileşmelerinde, sarılık ve benzeri komplikasyonlarda kullanımının yanında kusturucu ve idrar söktürücü özellikleri de bulunan (Küçükbay ve arkadaşları, 2011) civan perçeminin yaptığımız çalışma sonucunda 5 mg/mL konsantrasyonda CA'ı %44 oranında inhibe ettiği ve IC_{50} değerinin $3.45 \mu g/mL$ olarak saptanmıştır. Ayrıca yapısında bulunan saponinlerden dolayı parazit düşürücü ve sitotoksik etkisinin de

olduğu (Ali ve arkadaşları, 2011), bununla birlikte bitkinin sinir sistemi rahatsızlıklarını önleyici ve tedavi edici etkilerinin de olduğu literatürlerde bildirilmiştir (Elmann ve arkadaşları, 2011).

Kan şekerini düşürücü etkisinin yanı sıra idrar söktürücü özelliğinin de olduğu bildirilen (Solemani ve arkadaşları, 2007; Mamedova ve arkadaşları, 1996) at kuyruğunun, Avrupa, Asya ve ABD'de antiinflamatuvar etkisinin olduğu ve deri hastalıklarında kullanıldığı, bununla birlikte hem ülkemizde hem de ABD'de antiseptik özelliğinden dolayı tercih edildiği literatürde verilen bilgiler arasındadır (Ody ve Kindersley, 1993; Mineo ve arkadaşları, 1993). Ayrıca, sulu ve alkollü ekstresinin oksidatif strese neden olan serbest radikalleri giderici etkisinin olduğu ve bu etkisinin yapısındaki flavanoidler, saponinler ve triterpenoidlerden ileri geldiği literatürde bildirilmiştir. Ayrıca alkollü ekstresinin orta düzeyde yatıştırıcı etkisinin de bulunduğu literatürde mevcuttur. Çalışmamızda bitkinin sulu ekstresinin CA'ı $IC_{50} = 2.84 \mu\text{g}/\text{mL}$ gibi düşük bir konsantrasyonda inhibe ettiği bulundu.

Literatürde ayırık otunun, menstrual dönemlerde analjezik olarak, romatizma, travmatik rahatsızlıklarda, kullanıldığı ve bunun da yapısındaki mono ve seskiterpenoidler ile kurkuminoidlerden ileri geldiği bildirilmiştir (Moo-Key ve arkadaşları, 2003). Ayrıca yapılan çalışmalarda hem insektisit olarak hem de dondurulmuş gıdalarda koruyucu olarak kullanıldığı da gösterilmiştir (Chander ve arkadaşları, 1991; Chander ve arkadaşları, 1992; Jilani ve arkadaşları, 1990). Kim ve arkadaşları yaptıkları çalışma sonucunda ayırık otunun çiçeklerinin fungusit olarak da kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda ayırık otunun organizma için önemli bir enzim olan CA üzerine $IC_{50} = 3.26 \mu\text{g}/\text{mL}$ gibi düşük bir değerde inhibisyon etkisinin var olduğu tespit edildi. Bredebach ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bitkinin sekonder metabolitlere sahip olduğu ve bunların flavanoidler, strilpiron, glukozidler ve kafeik asid esterleri gibi fenolik bileşikleri yüksek oranda içerdiği bildirilmiştir (Bredebach ve arkadaşları, 2011). Flavanoidlerin antioksidan ve çimlenmeyi önleyici aktivitelerinin olduğu ve flavonların karaciğeri koruyucu etkiye sahip oldukları Oh ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir (Oh ve arkadaşları, 2004). Daha sonra yapılan *in vivo* ve *in vitro* araştırmalar sonucunda bu flavonlardan dolayı ayırık otunun antikanserojenik aktivitesinin de olduğu gösterilmiştir (Chang ve arkadaşları, 2008). Yapısındaki

flavanodilerin böbrek adenozin reseptörünün vasopressin sinyaline bağlanmadaki muhtemel etkisinden dolayı diüretik etkisinin olduğu Welch tarafından ortaya konmuştur (Welch, 2002).

Ekinezya bitkisi ile ilgili ABD Merkezli Connecticut Üniversitesinde yapılan çalışmalarda elde edilen verilere göre ekinezya bitkisinde 14 çeşit etken madde tespit edilmiştir. Ancak yapılan detaylı çalışmalar sonucunda özellikle değişik yapıdaki polisakkaritlerin ve kikhorik asitin ekinezyada bulunan en önemli etken maddeler olduğu anlaşılmıştır. Solunum yolu hastalıklarında, iltihaplı hastalıklarda, bağışıklık sisteminin güçlendirilmesinde, alerjik durumların tedavisinde etkili özelliklere sahip ekinezya sulu ekstresinin IC₅₀ değerinin 2.89 µg/ mL olduğu ve CA enzimini yüksek bir oranda inhibe ettiği belirlendi.

Kuşburnu ekstraktlarının Avrupa'da halk arasında artrit, gut, soğuk algınlığı gibi birçok rahatsızlıkta kullanıldığı ve diüretik, laksatif özelliklerinin olduğu Chrubasik ve arkadaşları tarafından literatürde bildirilmiştir (Chrubasik ve arkadaşları, 2008). Bitki üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar ekstraktların fenolik asitler, proantosiyanidinler, taninler, flavanoidler, doymamış ve polidoymamış yağ asitleri, fosfolipidler, mineraller, galaktolipidler ve karotenoidler içerdiğini göstermiştir (Chrubasik ve arkadaşları, 2008). Bu bileşiklerden dolayı antiinflamatuvar ve antioksidan özellikleri söz konusudur. Antioksidan aktivitesinin içerdiği yüksek C vitamininden ileri geldiği araştırmacılar tarafından ileri sürülmektedir (Egea ve arkadaşları, 2010; Wenzig ve arkadaşları, 2008; Daels-Rakotoarison ve arkadaşları, 2002). Lattanzio ve arkadaşları sıçanlar üzerinde yaptıkları *in vivo* çalışmada kuşburnunun antioksidan ve anti-inflamatuar etkisinin olduğunu bildirmişlerdir (Lattanzio ve arkadaşları, 2011). Çalışmamızda kuşburnu ekstraktının CA üzerine inhibisyon etkisinin % 39, IC₅₀ değerinin ise 3.38 µg/ mL gibi düşük bir değer olduğu bulundu.

Meyan kökü tarihte Mısır, Çin, Yunanistan, Hindistan ve Romanya halkı tarafından kullanılmaktadır. Bitkinin antiülser, antiinflamatuvar, antidiüretik, antiaterojenik gibi farklı farmakolojik özelliklere sahip olduğu farklı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Birari ve arkadaşları, 2011; Lim ve arkadaşları, 2009; Visavadiye ve arkadaşları, 2009). Bitkinin yapısındaki fitokimyasal maddelerin çeşitliliğinin fazla olması

nedeniyle böbrek ve kalp hastalıklarında kullanımının tercih edildiği Bafna ve Balamaran tarafından ileri sürülmektedir (Bafna ve Balamaran, 2005). Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmada bitkinin ekstraktının diyetle alınan yağın bağırsaklarda emilimini azaltarak fosfolipit inhibisyonuna neden olduğu ve dolayısıyla lipit metabolizmasına etkisinin olduğu, bu sebeple de antiobezite ve lipit düşürücü olarak kullanılabilceği ileri sürülmüştür (Birari ve arkadaşları, 2011).

Asya ve Avrupa'da yarı parazit bir bitki olarak çam, söğüt ve meyve ağaçları gibi çeşitli ağaçların üstünde yaygın olarak bulunan ökse otu, gökçe, gevek ve güvelik gibi değişik isimler altında ülkemizde tanınmaktadır. Halk arasında, diüretik, kusturucu özelliğinin bulunduğu (Baytop 1984) bilinmektedir. Şeker hastalığı, sarılık, astım ve glikasyonu önleyici (Arndt 2000, Choudery 2010) ve antikarsinojen özelliğinin olduğu (Kienle ve Kiene 2010), koagülasyonu önlediği (Deliorman ve arkadaşları 2000) literatürde bildirilmektedir. Ayrıca Anabilim Dalımızda anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri üzerine yapılan Yüksek Lisans tez çalışmasında da tansiyon düşürücü etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Çepel 2011). Çalışmamızda ökse otu sulu ekstresinin CA'ı 2.62 µg/mL gibi düşük değerinde inhibe ettiği saptanmıştır.

Hünnap, halk arasında sağlık amaçlı kullanımının yanında yiyecek olarak da tüketilmektedir. Antimikrobiyal ve antiviral olarak da kullanılabilceği gibi sedatif etkisinin de olduğu literatürde bildirilmiştir (Mahajan ve Chodpa, 2009; Koetter ve arkadaşları, 2009). Bitkinin bu özellikleri yapısındaki flavanoid ve B₁, B₂ ve C vitaminlerinden ileri geldiği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Mahajan ve Chodpa, 2009). Çeşitlerindeki fenolik bileşik ve flavanoid içeriğinin zenginliklerinin farklı olmasından dolayı literatürde antioksidan özelliğinin de türlerine göre değişiklik gösterdikleri de belirtilmektedir (Choi ve arkadaşları, 2011). Bu şekilde farklı amaçlarda kullanılan hünnapın çalışmamızda CA'ı % 47 oranında inhibe ettiği saptanmıştır.

Halk arasında mürver bitkisinin kök ve yaprakları, boğaz, romatizma ve eklem ağrıları gibi inflamasyon ile ilişkili durumlarda halk arasında kullanılmaktadır. Schwaiger ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada yapısında ursolik asidin varlığı tayin edilmiştir. Ursolik asidin, literatürde girişim önleyici, antimutajenik, antiviral, antioksidatif, antiinflamatuvar, apoptotik ve antianjiyotajenik özelliklere sahip olduğu literatürde

belirtilmiştir (Schwaiger ve arkadaşları, 2011). Çalışmamızda mürverin CA'ı % 56 oranında inhibe ettiği saptanmıştır.

Yüzyıllardır antibakteriyel, antifungusit ve antiseptik olarak kullanılan okaliptus yağının herpes virüsü üzerine antiviral aktivitesinin olduğu literatürde bildirilmiştir (Batish ve arkadaşları, 2008). Çalışmamızda CA enziminin, okaliptüs tarafından % 55 oranında inhibe edildiği ve IC₅₀ değerinin 0.1 µg/mL olduğu saptanmıştır.

Klorür, bikarbonat, karbonat, sülfat, siyanür, siyanat, tiyosiyanat, azid, hidrojen sülfür, bisülfid, nitrit, tetraflorborat, perklorat, nitrat, florür ve benzeri diğer yapıların CA'ı mikromolar gibi düşük konsantrasyonlarda inhibe ettikleri değişik araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalar sonucunda ortaya konulduğu Temperini ve arkadaşları (2010) tarafından bildirilmektedir. Çalışmamızda asetazolamid, potasyum persülfat, sülfonilamid, tiyosemikarbazid ve vanadyum sülfat ile yapmış olduğumuz inhibisyon çalışmasında sırasıyla IC₅₀ değerlerini 3.01; 3.09; 4.36; 3.94; 3.04; 2.80; 3.81 ve 2.82 µg/mL gibi çok düşük değerlerde olduğu saptandı. Bu veriler, literatürde bildirilen değerlere uygunluk göstermektedir.

Benzoik asidin türevi olan hidroksi benzoik asidin CA I-XV izoformları üzerine yapılan çalışmada submikromolar konsantrasyon gibi çok düşük konsantrasyonlarda inhibisyonun olduğu Innocenti ve arkadaşları tarafından çalışmada gösterilmiştir (Innocenti ve arkadaşları, 2010a). Bu çalışmada tüm izoformlar üzerindeki inhibisyonun 0.87-35.4 µM arasında olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda benzoik asidin CA üzerine inhibisyon etkisi olan IC₅₀ değerini 8.75 µg/mL olarak tayin ettik.

IC₅₀ değerini 6.78 µg/mL olarak bulduğumuz sinamik asidin; hidroksi sinamik asit türevinin ve diğer pek çok polifenol bileşiğinin antioksidan etkilerinin incelendiği çalışmada, hidroksi sinamik asidin CA I-XV izoformları üzerine inhibitör etkisinin olduğu bulunmuştur (Innocenti ve arkadaşları, 2010b).

Sistein organizmada antioksidan olarak bulunan glutatyonun yapısında bulunmaktadır (Ryszka ve arkadaşları, 2011). Çalışmamızda CA için, sisteinin IC₅₀ değerini 2.15

$\mu\text{g/mL}$, glutatyonun IC_{50} deęerini $3.56 \mu\text{g/mL}$ gibi dūřuk konsantrasyonlarda oldukları saptandı.

Aras-Hisar ve arkadaşları (2004), ürenin CA'ı inhibe ettiğini literatürde bildirmişlerdir. Çalışmada ürenin CA'ı $3.94 \mu\text{g/mL}$ gibi dūřuk bir IC_{50} değerinde inhibe ettiği bulundu.

Çalışmamızda kullandığımız bitki ekstralarının ve kimyasal maddelerin hepsinde CA inhibitör etkisi saptanmıştır. Bu bitkiler antikarbonik anhidrazlar olarak kullanılabilirler. Ancak bu bitkilerdeki etken maddelerin izole edilerek yapılarının aydınlatılması ve CA enzim inhibisyonlarının *in vivo* deneylerle de ispatlanabilmesi için daha ileri düzeyde çalışmaların yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

ALI, N., SHAH, S.W., SHAH, I., AHMED, G., GHAS, M., KHAN, I., 2011, Cytotoxic and antihelmintic potential of crude saponins isolated from *Achillea Wilhelmsii* C. Koch and *Teuricum Stocksianum* boiss, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, DOI: 10.1186/1472-6882-11-106.

ARAS-HİSAR, Ş., HİSAR, O., YANIK, T., ARAS, S.M., 2004, Inhibitory effect of ammonia and urea on gill carbonic anhydrase enzyme activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 17, 125-128.

ARMSTRONG, J., MC, D., MYERS, D. V., VERPOORTE, J. A., EDSALL, J. T., 1966, Purification and properties of human erythrocyte carbonic anhydrase. *Journal of Biological Chemistry*, 214, 5137-5149.

ARNDT, B., 2000, *The Genus Viscum medicinal and aromatic plant, industrial profiles*, Harwood Academic, Amsterdam, 45.

ARSLAN, O., 2001, Inhibition of bovine carbonic anhydrase by new sulfonamide compounds, *Biochemistry*, 66, 1206-1208.

BADGER, M.R., PRICE, G.D., 1994, The role of carbonic anhydrase in photosynthesis, *Annual Review in Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 45, 369-392.

BAFNA, P.A., BALARAMAN, R., 2005, Antioxidant activity of DHC-1, an herbal formulation, in experimentally-induced cardiac and renal damage, *Phytotherapy Research*, 19, 216-221.

BATISH, D.R., SINGH, H.P., KOHLI, R.K., KAUR, S., 2008, Eucalyptus essential oil as a natural pesticide, *Forest Ecology and Management*, 256, 2166-2174.

BAYTOP, T., 1984, Türkiye’de bitkiler ile tedavi, *İstanbul Üniversitesi Yayınları*, No: 3255.

BERNHARD-REVERSAT, F., 1999, The leaching of Eucalyptus hybrids and *Acacia auriculiformis* leaf litter: laboratory experiments on early decomposition and ecological implications in congolese tree plantations, *Applied Soil Ecology*, 12, 251-261.

BİLİM ve TEKNİK DERGİSİ, Mart, 2007.

BIRARI, R.B., GUPTA, S., MOHAN, C.G., BHUTANI, K.K., 2011, Antiobesity and lipid lowering effects of *Glycyrrhiza* chalcones: Experimental and computational studies, *Phytomedicine*, 18, 795-801.

BORIACK-SJODIN, P.A., HECK, R.W., LAIPLS, P.J., SILVERMAN, D.N., CHRISTIANSON, D.W., 1995, Structure determination of murine mitochondrial carbonic anhydrase V at 2.45-Å resolution: implications for catalytic proton transfer and

inhibitor design, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 92, 10949-10953.

BORIACK-SJODIN, P.A., ZEITLIN, S., CHEN, H.H., CRENSHAW, L., GROSS, S., DANTANARAYANA, A., DELGADO, P., MAY, J.A., DEAN, T., CHRISTIANSON, D.W., 1998, Structural analysis of inhibitor binding to human carbonic anhydrase II, *Protein Science*, 7, 2483–2489.

BORODIN, I.I., SELIATITSIKAIA, V.G., OBUKHOVA, L.A., PAL'CHIKOVA, N.A., ODINTSOV, S.V., KUKUSHKINA, T.A., 1999, Effect of polyphenol fraction from *Alchemilla vulgaris* on the morphofunctional state of the thyroid in rats exposed to cold, *Biulleten' Eksperimental'noi Biologii i Meditsiny*, 127, 6, 697-699.

BREDEBACH, M., MATERN, U., MARTENS, S., 2011, Three 2-oxo-glutarate-dependent dioxygenase activities of *Equisetum arvense* L. forming flavones and flavonol from (2S)-naringenin, *Phytochemistry*, 72, 557-563.

CABISCOL, E., LEVINE, R.L., 1996, The phosphatase activity of carbonic anhydrase III is reversibly regulated by glutathiolation, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 93, 4170-4174.

CAN, A., AKEV, N., 2008, Eczacılık Fakültesi Öğrencileri İçin Biyokimya Dersleri, İstanbul Üniversitesi Basım ve Yayınevi- İstanbul, 51-57.

CARLSEN, M.H., HALVORSEN, B.L., HOLTE, K., BOHN, S.K., DRAGLAND, S., SAMPSON, L., WILLEY, C., SENOO, H., UMEZONO, Y., SANADA, C., BARIKMO, I., BERHE, N., WILLET, W.C., PHILIPS, K.M., JACOBS, D.R., BLOMHOFF, R., 2010, The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide, *Nutrition Journal*, 9, 1-11.

CARTER, M.J., 1972, Carbonic anhydrase: Isoenzymes, properties, distribution and functional significance, *Biological Reviews*, 42, 465-513.

CHAMPE, P.C., HARVEY, R.A., 1997, Biyokimya, Nobel Tıp Kitabevleri, 438 s.

CHANDER, H., KULKARNI, S.G., BERRY, S.K., 1991, Effectiveness of turmeric powder and mustard oil protectants in stored milled rice against the rice weevil *Sitophilus oryzae*, *International Pest Control*, 33, 94-97.

CHANDER, H., KULKARNI, S.G., BERRY, S.K., 1992, Studies on turmeric and mustard oil as protectants against infestation of red flour beetle, *Tribolium cataneum* (Herbst) in stored rice, *Journal of Insect Science*, 5, 220-222.

CHANG, H.L., SU, J.H., YEH, Y.T., LEE, Y.C., CHEN, H.M., WU, Y.C., YUAN, S.S.F., 2008, Protoapigenone, a novel flavonoid, inhibits ovarian cancer cell growth *in vitro* and *in vivo*, *Cancer Letters*, 267, 85-95.

CHOI, S.H., AHN, J.B., KOZUKUE, N., LEVIN, C.E., FRIEDMAN, M., 2011, Distribution of free amino acids, flavonoids, total phenolics, and antioxidative activities

of Jujube (*Ziziphus jujuba*) fruits and seeds harvested from plants grown in Korea, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 6594-6604.

CHOUHDARY, M.I., MAHER, S., BEGUM, A., ABBASHKAN, A., ALI, S., KHAN, A., REHMAN, S., RAHMAN, A., 2010, Characterization and antiglycation of phenolic constituents from *Viscum album* (European Mistletoe), *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 58, 980-982.

CHRUBASIK, C., ROUFOGALIS, B.B.D., MULLER-LADNER, U., CHRUBASIK, S., 2008, A systematic review on the *Rosa canina* effect and efficacy profiles, *Phytotherapy Research*, 22, 725-733.

COX, S.N., HAY, E., BIRD, A.C., 1988, Treatment of chronic macular edema with acetazolamide, *Archives of Ophthalmology*, 106, 1190-1195.

ÇEPEL, S., 2011, *Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Biyokimya Programı.

DAELS-RAKOTOARISON, D.A., GRESSIER, B., TROTIN, F., BRUNET, C., LUYCKX, M., DINE, T., BAILLEUL, F., CAZIN, M., CAZIN, J.C., 2002, Effect of *Rosa canina* fruit extract on neutrophil respiratory burst, *Phytotherapy Research*, 16, 157-161.

DELİORMAN, D., ÇALIŞ, İ., ERGÜN, F., DOĞAN, S., BUHARALIOĞLU, C. K., KANZIK, İ., 2000, Studies on the vascular effect of the fractions and phenolic compounds isolated from *Viscum album ssp. album*, *Journal of Ethnopharmacology*, 72, 323-329.

DEMİRSOY, A., 2006, Enzimlerin yapısı ve işleyişi, <http://www.genbilim.com/content/view/154/34>, (Ziyaret tarihi: 03 Kasım 2011).

DİKMEN, N., ÖZGÜNEN, T. , 2004, Harper Biyokimya, Nobel Tıp Kitabevleri, 928s.

DODGSON, S. J., TASHIAN, R. E., GROS, G., CARTER, N. D., 1991, The Carbonic Anhydrases, Cellular Physiology and Molecular Genetics. Plenum Press, New York, pp.297-306.

DÖKMECİ, İ., 1985, Farmakoloji. Beta Basım ve Yayım, 2. Baskı, 1136s, İstanbul

DÖKMECİ, İ., 1992, Farmakoloji. Saray Kitabevleri, 925s., İstanbul.

DUBOIS, L., DOUMA, K., SUPURAN, C.T., CHIU, R.K., VAN ZANDVOORT, M.A., PASTOREKOVÁ, S., SCOZZAFAVA, A., WOUTERS, B.G., LAMBIN, P., 2007, Imaging the hypoxia surrogate marker CA IX requires expression and catalytic activity for binding fluorescent sulfonamide inhibitors, *Radiotherapy and Oncology*, 83, 367-373.

EGEA, I., SÁNCHEZ-BEL, P., ROMOJARO, F., PRETEL, M.T., 2010, Six edible wild fruits as potential antioxidant additives or nutritional supplements, *Plant Foods for Human Nutrition*, 65, 121-129.

ELMANN, A., MORDECHAY, S., ERLANK, H., TELERMAN, A., RINDNER, M., OFIR, R., 2011, Anti-Neuroinflammatory effects of the extract of *Achillea fragrantissima*, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11, 1-10.

ENGBERG, P., 1985, Purification and some properties of carbonic anhydrase from bovine skeletal muscle, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 241, 628-638.

ERYAVUZ M., 1998, Osteoporozun tanımı ve sınıflandırılması. In: Kutsal YG, ed. Osteoporoz. İstanbul Sürat Matbaacılık, 1-7.

GARAI, S., MAHATO, S.B., 1997, Isolation and structure elucidation of three triterpenoid saponins from *Acacia auriculiformis*, *Phytochemistry*, 44, 137-140.

GÖKÇE, B., 2009, *Tiyadiazol türevleri bileşikleri karbonik anhidraz inhibitörü olarak karbonik anhidraz enzimi üzerinde inhibisyon etkilerinin araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı.

HAZEN, S.A., WAHEED, A., SLY, W.S., LANOUE, K.F., LYNCH, C.J., 1996, Differentiation-dependent of CA and the role of carbonic anhydrase isozymes in pyruvate carboxylation in adipocytes, *FASEB Journal*, 10, 481-490.

HEWETT-EMMETT, D., 2000, In the carbonic anhydrase – new horizons, Birkhauser Verlag, Basel, 29-78.

HON, W.C., WILSON, M.I., HARLOS, K., CLARIDGE, T.D., SCHOFIELD, C.J., PUGH, C.W., MAXWELL, P.H., RATCLIFFE, P.J., STUART, D.I., JONES, E.Y., 2002, Structural basis for the recognition of hydroxyproline in HIF-1 α by pVHL, *Nature*, 417, 975–978.

INNOCENTI, A., CASINI, A., ALCARO, M.C., PAPINI, A.M., SCOZZAFAVA, A., SUPURAN, C.T., 2004, Carbonic anhydrase inhibitors: the first on-resin screening of a 4-sulfamoylphenylthiourea library, *Journal of Medicinal Chemistry*, 47, 5224-5229.

INNOCENTI, A., FIRNGES, M.A., ANTEL, J., WURL, M., SCOZZAFAVA, A., SUPURAN, C.T., 2005, Carbonic anhydrase inhibitors. Inhibition of the membrane-bound human and bovine isozymes IV with sulfonamides, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 15, 1149–1154.

INNOCENTI, A., ÖZTÜRK-SARIKAYA, S.B., GÜLÇİN, I., SUPURAN, C.T., 2010a, Carbonic anhydrase inhibitors. Inhibition of mammalian isoforms I – XIV with a series of natural product polyphenols and phenolic acids, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 18, 2159–2164.

INNOCENTI, A., GÜLÇİN, I., SCOZZAFAVA, A., SUPURAN, C.T., 2010b, Carbonic anhydrase inhibitors. Antioxidant polyphenol effectively inhibit mammalian isoforms I-XV, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 20, 5050-5053.

JILANI, G., SAXENA, R.C., 1990, Repellent and feeding deterrent effects of turmeric oil, sweetflag oil, neem oil and a neem-based insecticide against lesser grain borer (Coleoptera: Bostrychiade), *Journal of Economic Entomology*, 83, 629-634.

JONADET, M., MEUNIER, M.T., VILLIE, F., BASTIDE, J.P., LAMAISON, J.L., 1986, Flavonoids extracted from *Ribes nigrum* L. and *Alchemilla vulgaris* L.: *In vitro* inhibitory activities on elastase, trypsin and chemotrypsin. 2. Angioprotective activities *in vivo*, *Journal de Pharmacologie*, 17, 1, 21-27.

KALAYCIOĞLU, L., SERPEK, B., NİZAMLIOĞLU, M., BAŞPINAR, N., TİFTİK, A.M., 2006, *Biyokimya*, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 975-591-131-6.

KANDEL, M., GONALL, A.G., WONG, S. AND KONDEL, S.I., 1970, Some characteristics of human, bovine and horse carbonic anhydrase as revealed by inactivation studies, *Journal of Biological Chemistry*, 245, 2444-2450.

KEHA, E. ve KÜFREVİOĞLU, Ö. İ., 2000, *Biyokimya*, Aktif Yayınevi, Erzurum.

KEHA, E. E. ve KÜFREVİOĞLU, Ö. İ., 2004, *Biyokimya*, Aktif Yayınevi, 642 s, Erzurum.

KIENLE, G.S., KIENE, H., 2010, Review article: Influence of *Viscum album* L (European mistletoe) extracts on quality of life in cancer patients: a systematic review of controlled clinical studies, *Integrative Cancer Therapy*, 9, 142-157.

KISKER, C., SCHINDELIN, H., ALBERT, B.E., FERRY, J.G., REES, D.C., 1996, A left handed β -helix revealed by the crystal structure of a carbonic anhydrase from the archaeon *Methanasarcina thermophila*, *The EMBO Journal*, 15, 2323-2330.

KOETTER, U., BARRETT, M., LACHER, S., ABDELRAHMAN, A., DOLNICK, D., 2009, Interactions of *Magnolia* and *Ziziphus* extracts with selected central nervous system receptors, *Journal of Ethnopharmacology*, 124, 421-425.

KOHN, J., WILCHEK, M.A., 1978, Colormetric method for monitoring activation of sepharose by cyanogen bromide, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 84, 7-14 .

KÜÇÜKBAY, F.Z., KUYUMCU, E., BİLENLER, T., YILDIZ, B., 2011, Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Achillea cretica* L. (Asteraceae) from Turkey, *Natural Product Research*, 1-8.

LAKKIS, M.M., BERGENHEM, N.C.H., TASHIAN, R.E., 1996, Expression of carbonic anhydrase of mouse VII in E.Coli and demonstration of its CO₂ hydrase activity, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 226, 268-272.

- LANDOLFI, C., MARCHETTI, M., CIOCCI, G. MILANESE, C., 1998, Development and pharmacological characterization of a modified procedure for the measurement of carbonic anhydrase activity, *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 38, 169-172.
- LATORRACA, J., DUNISCH, O., KOCH, G., 2011, Chemical composition and natural durability of juvenile and mature heartwood of *Robinia pseudoacacia* L., *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, 83, 1059-1068.
- LATTONZI, F., GRECO, E., CARRETTA, D., CERVELLATI, R., 2011, *In vivo* anti-inflammatory effect of *Rosa canina* L. extract, *Journal of Ethnopharmacology*, 137, 880-885.
- LESBURG, C.A., CHRISTIANSON, D.W., 1995. X-RAY Crystallographic studies on engineered hydrogen-bond network in protein-zinc binding-site, *Journal of The American Chemical Society*, 117, 6838-6844.
- LINDSKOG, S., 1997, Structure and mechanism of carbonic anhydrase, *Pharmacology and Therapeutics*, 74, 1-20.
- LIM, W.Y., CHIA, Y.Y., LIONG, S.Y., TON, S.H., KADIR, K.A., HHUSAIN, S.N., 2009, Lipoprotein lipase expression, serum lipid and tissue lipid deposition in orally administered glycyrrhizic acid-treated rats, *Lipids in Health and Disease*, 8, 31-35.
- MAHAJAN, R.T., CHODPA, M.Z., 2009, Phyto-pharmacology of *Ziziphus jujuba* mill – A plant review, *Pharmacognosy Review*, 3, 320-329.
- MAMEDOVA, K.T., GYSEJNOVA, I.D., 1996, Effect of *Equisetum arvense* L. on diuresis, *Doklady-Akademiya Nauk Azerbaidzhana*, 51, 175-179.
- MAREN, T. H., 1967, Carbonic anhydrase: Chemistry, physiology and inhibition, *Physiological Reviews*, 47, 595-781.
- MAREN, T.H., JANKOWSKA, L., SANYAL, G., EDELHAUSER, H.F., 1983, The Transcorneal permeability of sulfonamide carbonic anhydrase inhibitors and their effect on aqueous humor secretion, *Experimental Eye Research*, 36, 457-480.
- MAREN, T.H., 1987, Carbonic Anhydrase: General perspectives and advances in glaucoma research, *Drug Development Research*, 10, 255-276.
- MAREN, T.H., CONROY, C.W., 1993, A new class of carbonic anhydrase inhibitor, *Journal of Biological Chemistry*, 268, 26233-26239.
- MAREN, T.H., 1995, The development of topical carbonic anhydrase inhibitors, *Journal of Glaucoma*, 4, 49-62.
- MAXWELL, P.H, WIESENER, M.S., CHANG, G.W., CLIFFORD, S.W., VAUX, E.C., COCKMAN, M.E., WYKOFF, C.C., PUGH, C.W., MAHER, E.R., RATCLIFFE,

P.J., 1999, The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen dependent proteolysis, *Nature*, 399, 271–275.

MINCIONE, F., SCOZZAFAVA, A., SUPURAN, C.T., 2007, The development of topically acting carbonic anhydrase inhibitors as antiglaucoma agents, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 7, 849–854.

MINEO, S., TAKAYASU, M., KAORI, H., YOSHIRO, T., TAISUKE, S., MASAOKI, M., 1993, Studies on bathing agent: anti-inflammatory effect of bathing agent which used for skin disease, *Shoyakugaku Zasshi*, 43, 1-4.

MOO-KEY, K., GYUNG-JA, C., HOI-SEON, L., 2003, Fungicidal property of *Curcuma longa* L. rhizome-derived curcumin against phytopathogenic fungi in a greenhouse, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1578-1581.

MURRAY, R.K., GRANNER, D.K., MAYES, P.A., ERSOZ, B., DİKMEN, N., MENTES, G., ÖZGÜNEN, T., 1993, Harper'ın Biokimyası, Barış Kitapevi, 978-975-953-311-3.

NAS K., ÇEVİK R., 2000, Osteoporozda risk faktörleri. In: Göksoy T, ed. Osteoporozda Tanı ve Tedavi, İstanbul Özlem Grafik Matbaacılık, 69-94.

ODY, P., KINDERSLEY, D., 1993, The complete medicinal herbal (DK Publishing House, New York), 3.

OH, H., KIM, D.H., CHO, J.H., KIM, Y.C., 2004, Hepatoprotective and free radical scavenging activities of phenolic petrosins and flavonoids isolated from *Equisetum arvense*, *Journal of Ethnopharmacology*, 95, 421-424.

OKUYAMA, T., WAHEED, A., KUSUMOTO, W., ZHU, X.L., SLY, W.S., 1995, Carbonic anhydrase IV: Role of C-terminal domain in glycosylphosphatidylinositol anchoring and realization of enzyme activity, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 320, 315-322.

ONAT, T., EMERK, K., SÖZMEN, E.Y., 2002, İnsan Biokimyası, Palme Yayıncılık, 979-975-862-420-2.

PARUI, R., GAMBIR, K.K., MEHROTRA, P.P., 1991, Changes in carbonic anhydrase may be the initial step of altered metabolism in hypertension, *Biochemistry International*, 23, 779-789.

PASTOREK, J., PASTEROKOVA, S., CALLEBAUT, I., MORNON, J.P., STANBRIDGE, E.J., ZELNIK, V., OPAVSKY, R., ZATOVICOVA, M., POTETELLE, D., 1994, Cloning and characterization of MN, a human tumor-associated protein with a domain homologous to carbonic anhydrase and putative helix-loop-helix DNA binding segment, *Oncogene*, 9, 2788-2888.

POCKER, Y., JOAN, S.Y., 1974, Plant carbonic anhydrase, hydrase activitiy and its reversible inhibition, *Biochemistry*, 13, 5116-51120.

POCKER, Y., SARKANEN, S., 1978, carbonic anhydrase: structure, catalytic versatility and inhibition, *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*, 47, 149-247.

POLYA, J.B., WIRTZ, A.J., 1965, Studies on carbonic anhydrase-II. Occurrence of the enzyme in some invertebrates, *Enzymologia*, 29, 27-37.

REED, M.L., GRAHAM, D., 1981, Carbonic anhydrase in plants: distribution, properties and possible physiological roles. In: Reinhold L, Harborne JB, Swain T (eds) *Progress in phytochemistry*, Pergamon Press, Oxford, 47-94.

RENZI, G., SCOZZAFAVA, A., SUPURAN, C.T., 2000, Carbonic anhydrase inhibitors: Topical sulfonamide antiglaucoma agents incorporating secondary amine moieties, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 10, 673-676.

RIIHONEN, R., SUPURAN, C.T., PARKKILA, S., PASTOREKOVA, S., VÄÄNÄNEN, H.K., LAITALA-LEINONEN, T., 2007, Membrane-bound carbonic anhydrases in osteoclasts, *Bone*, 40, 1021-1031.

ROSENBERG, L.F., KRUPIN, T., TANG, L.Q., HONG, P.H., RUDERMAN, J.M., 1998, Combination of systemic acetazolamide and topical dorzolamide in reducing intraocular pressure and aqueous humor formation, *Ophthalmology*, 105, 88-92.

RYSZKA, F., DOLIŃSKA, CABAN, A., OSTRÓŻKA-CIEŚLIK, BUDZIŃSKI, G., KRZYSZTOFIK, M., OCZKOWICZ, G., CIERPKA, L., 2011, Hepatoprotective effect of prolactin and cysteine contained in perfusion and preservation solutions on porcine liver stored in simple hypothermia, *Transplantation Proceedings*, 43, 2882-2886.

SCHWAIGER, S., ZELLER, I., POLZELBAUER, P., FROTSCHNIG, S., LAUFER, G., MESSNER, B., PIERI, V., STUPPNER, H., BERNHARD, D., 2011, Identification and pharmacological characterization of the anti-inflammatory principal of the leaves of dwarf elder (*Sambucus ebulus* L.), *Journal of Ethnopharmacology*, 133, 704-709.

SJOBLOM, B., ELLEBY, B., WALLGREN, K., JONSSON, B.H., LINDSKOG, S., 1996, Two point mutations convert a catalytically inactive carbonic anhydrase-related protein (CARP) to an active enzyme, *FEBS Letters*, 398, 322- 325.

SLY, W.S., HU, P.Y., 1995, Human carbonic anhydrases and carbonic anhydrase deficiencies, *Annual Review of Biochemistry*, 67, 375-401.

SMITH, K.S., FERRY, L.G., 1999, A plant-type (β -class) carbonic anhydrase in the thermophilic methanoarchaeon *Methanobacterium thermoautotrophicum*, *Journal of Bacteriology*, 181, 6247-6253.

SMITH, K.S., JAKUBZUCK, C., WHITTMAN, T.S., FERRY, L.G., 1999, Carbonic anhydrase is an ancient enzyme wide spread in prokaryotes, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96, 15185–15189.

SOLEIMANI, S., AZARBAIZANI, F.F., NEJATI, V., 2007, The effect of *Equisetum arvense* L. (Equisetaceae) in histological changes of pancreatic β -cells in streptozotocin induced diabetes in rats, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10, 4236-4240.

SOLOMONS, J.W., FRYHLE, C.B., 2004, Organic Chemistry. John Willey & Sons, USA, 1344p.

SUGRUE, M.F., 2000, Pharmacological and ocular hypotensive properties of topical carbonic anhydrase inhibitors, *Progress in Retinal and Eye Research*, 19, 87–112.

SULTEMEYER, D., SCHMIDT, C., FOCK, H., 1993, Carbonic anhydrase in higher plants and aquatic microorganisms, *Plant Physiology*, 88, 179-190.

SUPURAN, C.T., SCOZZAFAVA, A., 2000, Carbonic anhydrase inhibitors, thiadiazole-2 sulfonamide derivatives as antitumor agents, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 35, 867– 874.

SUPURAN, C.T., SCOZZAFAVA, A., 2001, Carbonic anhydrase inhibitors, *Current Medicinal Chemistry*, 1, 61-97.

SUPURAN, C.T., 2003, Carbonic anhydrase inhibitors in the treatment and prophylaxis of obesity, *Expert Opinion in Therapeutic Patents*, 13, 1545–1550.

SUPURAN, C.T., SCOZZAFAVA, A., CASINI, A., 2003, Carbonic anhydrase inhibitors, *Medicinal Research Reviews*, 23, 146–189.

SUPURAN, C.T., 2010, Carbonic anhydrase inhibitors, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 20, 3467–3474.

SUPURAN, C.T., 2010, Carbonic anhydrase inhibition with natural products: novel chemotypes and inhibition mechanisms, *Molecular Diversity*, 15, 305-316.

SVASTOVÁ, E., HULIKOVÁ, A., RAFAJOVÁ, M., ZAT'OVICOVÁ, M., GIBADULINOVÁ, A., CASINI, A., CECCHI, A., SCOZZAFAVA, A., SUPURAN C.T., PASTOREK, J., PASTOREKOVÁ, S., 2004, Hypoxia activates the capacity of tumor associated carbonic anhydrase IX to acidify extracellular pH, *FEBS Letters*, 577, 439–445.

TASHIAN, R.E., HEWETT-EMMETT, D., GOODMAN, M. 1983, On the evolution and genetics of carbonic anhydrase I, II and III, *Isozymes Current Topics in Biological and Medical Research*, 7, 79-100.

TEKMAN, Ş., ÖNER, N., 1981, Genel Biyokimya, Üçüncü baskı, Fatih Yayınevi-İstanbul, 351-367.

TEKMAN, Ş., ÖNER, N., 1998, Genel Biyokimya Dersleri, Emek Matbaacılık, İstanbul, 975-404-338-8.

TEMPERINI, C., SCOZZAFAVA, A., SUPURAN, C.T., 2010, Carbonic anhydrase inhibitors. X-ray crystal studies of the carbonic anhydrase II-trithiocarbonate adduct-An inhibitor mimicking the sulfonamide and urea binding to the enzyme, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 20, 474-478.

TÜRECİ, O., ŞAHİN, U., VOLLMAR, E., SIEMER, S., GOTBERT, E., SEITZ, G., PARKKILA, A.K., SHAH, G.N., GRUBB, J.H., PFREUNDSCHUH, M., SLY, W.S., 1998, Human carbonic anhydrase XII: cDNA cloning, expression and chromosomal localization of a carbonic anhydrase gene that is overexpressed in some renal cancers, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 95, 7608-7613.

TURKER, A.U., USTA, C., 2008, Biological screening of some Turkish medicinal plant extracts for antimicrobial and toxicity activities, *Natural Product Research*, 22, 136-46.

TÜZÜN, C., 1997, Biyokimya, Üçüncü baskı, Palme Yayınları- Ankara, 124-125.

VERPOORTE, J.A., MEHTA, S., EDSALL, S.T., 1967, Esterase activities of human carbonic anhydrases B and C, *The Journal of Biological Chemistry*, 18, 4221-4229.

VISAVADIYA, N.P., SONI, B., DALWADI, N., 2009, Evaluation of antioxidant and antiatherogenic properties of *Glycyrrhiza glabra* root using *in vitro* models, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60, 135-149.

WELCH, W.L., 2002, Adenosine A1 receptor antagonists in the kidney: effects in fluid retaining disorders, *Current Opinion Pharmacology*, 2, 165-170.

WENZIG, E.M., WIDOWITZ, U., KUNERT, O., CHRUBASIK, S., BUCAR, F., KNAUDER, E., BAUER, R., 2008, Phytochemical composition and *in vitro* pharmacological activity of two rose hip (*Rosa canina* L.) preparations, *Phytomedicine*, 15, 826-8235.

WILBUR, K.M., SALEUDDIN, A.S.M., 1983, Shell formation. In: Saleuddin, A.S.M., Wilbur, K.M. (Eds.), *The Mollusca*, vol. 4. Academic Press, New York, 235-287.

YEŞİLYAPRAK, B., 2004, *Pazı (Beta vulgaris L. var. cicla)' dan karbonik anhidraz enziminin saflaştırılması ve bazı özelliklerinin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı, Biokimya Programı.

ZIMMERMAN, S.A., FERRY, J.G., SUPURAN, C.T., 2007, Inhibition of the archaeal β - class (cab) and γ - class (cam) carbonic anhydrases, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 7, 901-908.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Esra UĞURLU

Doğum Tarihi : 08.11.1982

Doğum Yeri : İstanbul

Öğrenim Durumu

İlk Okul : Şemsettin Sami İ.Ö.O. 1989-1994

Orta Okul : Ayhan Şahenk İ.Ö.O. 1994-1997

Lise : İsmail Rüştü Olcay YDA. 1997-2000

Yüksek Öğrenim : İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Kimya Bölümü 2005-2009

Yüksek Lisans : İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Programı 2009-2011

Yüksek Lisans Tezi Konusu: Karbonik Anhidrazın İnhibisyonu

Bildiği Yabancı Dil : İngilizce