

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**GLOKOM TEDAVİSİNDE KULLANILAN YENİ AROMATİK
SÜLFONAMİTLERİN SENTEZİ VE İNHİBİTÖR AKTİVİTELERİNİN
(İN VİTRO) İNCELENMESİ**

Mahmut EMÜL

KİMYA ANABİLİM DALI

**ŞANLIURFA
2006**

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**GLOKOM TEDAVİSİNDE KULLANILAN YENİ AROMATİK
SÜLFONAMİTLERİN SENTEZİ VE İNHİBİTÖR AKTİVİTELERİNİN
(İN VİTRO) İNCELENMESİ**

Mahmut EMÜL

KİMYA ANABİLİM DALI

**ŞANLIURFA
2006**

Yrd. Doç. Dr. Hasan TÜRKMEN danışmanlığında, Mahmut EMÜL'ün hazırladığı “Glokom Tedavisinde Kullanılan Yeni Aromatik Sülfonamidlerin Sentezi ve İnhibitör Aktivitelerinin (*in vitro*) İncelenmesi” konulu bu çalışma 04/01/2006 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Hasan TÜRKMEN :

Üye : Doç. Dr. Nihat DİLSİZ :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Mustafa DEĞİRMENCI :

Bu Tezin Kimya Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.

Prof. Dr İbrahim BOLAT
Enstitü Müdürü

Bu çalışma HÜBAK/DPT tarafından desteklenmiştir.
Projen No : 585

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZ	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
SİMGELER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
2.1. Gözün Yapısı	4
2.2. Glokom	4
2.2.1. Göz basıncı oluşumu	5
2.2.2. Glokomun sınıflandırılması	6
2.2.2.1. Primer glokom	6
2.2.2.1.1. Primer açık açılı glokom (PAAG)	6
2.2.2.1.2. Primer kapalı açılı glokom	6
2.2.2.2. Sekonder glokom	7
2.2.2.3. Doğuştan glokom	7
2.2.3. Glokomun Tedavisi	7
2.2.4. Tedavide Kullanılan Ajanlar	8
2.2.4.1. Monoterapi ajanları	8
2.2.4.1.1. Parasempatomimetikler	8
2.2.4.1.2. Sempatomimetikler	10
2.2.4.1.3. α_2 -Adrenerjik agonistler	11
2.2.4.1.4. Sempatolitikler	11
2.2.4.1.5. Prostaglandinler	14
2.2.4.1.6. Karbonik anhidraz inhibitörleri	15
2.2.4.2. Antiglokom ilaçlarının bileşimleri	15
2.2.5. Glokomda risk faktörleri	15
2.3. Karbonik Anhidraz Enzimi	16
2.3.1. Karbonik anhidrazın yapısı ve çalışma mekanizması	17
2.3.2. Karbonik anhidraz enziminin böbrek fizyolojisindeki yeri	19
2.3.3. Karbonik anhidraz inhibitörlerinin temel etkileri	20
2.3.4. Karbonik anhidraz inhibitörlerinin kullanım alanları	21
2.3.5. Karbonik anhidraz inhibitörlerinin sınıflandırılması	22
2.3.5.1. Sistemik karbonik anhidraz inhibitörleri	22
2.3.5.2. Topikal karbonik anhidraz inhibitörleri	23
2.4. Sülfonamidler	24
2.4.1 Sülfonamidlerin tarihçesi	24
2.4.2. Antibakteriyal etki mekanizması	25
2.4.3. Antimikrobik spektrum	27
2.4.4. Direnç oluşması	27
2.4.5. Sülfonamidlerin farmakokinetiği	27
2.4.6. Sülfonamidlerin kullanışlarına göre sınıflandırılması	28
2.4.6.1. Kısa ve orta etkili sülfonamidler	29
2.4.6.2. Uzun etkili sülfonamidler (Depo sülfonamidler)	29
2.4.6.3. Özel kullanılış yerlerine göre sülfonamidler	30
2.4.6.3.1. Lokal kullanılanlar	30
2.4.6.3.2. Yanık tedavisinde lokal kullanılanlar	30
2.4.6.3.3. Ülseratif kolit ve romatoid artrit tedavisinde kullanılan sülfonamidler	30
2.4.7. Yan etkileri	31
3. MATERYAL ve YÖNTEM	32
3.1. Materyal	32
3.1.1. Kullanılan araç ve gereçler	32

3.1.2. Kullanılan cihazlar.....	32
3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler.....	33
3.2. Yöntem.....	35
3.2.1. Sentez.....	35
3.2.1.1. 4-(4-klorobütanoilamino)-benzensülfonamit (7) sentezi.....	35
3.2.1.2. 4-(4-metilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (8) sentezi.....	36
3.2.1.3. 4-(4-pirrolidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (9) sentezi.....	37
3.2.1.4. 4-(4-metilpiperazinobütanoilamino)-benzensülfonamit (10) sentezi.....	38
3.2.1.5. 4-(4-morfolinobütanoilamino)- benzensülfonamit (11) sentezi.....	39
3.2.1.6. 4-(4-benzilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (12) sentezi.....	40
3.2.1.7. 4-(4- aminopirimidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (13) sentez çalışması.....	40
3.2.1.8. 4-(4-pirrolobütanoilamino)-benzensülfonamit (14) sentez çalışması.....	41
3.2.1.9. 4-(4-etilendiaminobütanoilamino)-benzensülfonamit (15) sentez çalışması.....	41
3.2.2. Biyolojik çalışma.....	42
3.2.2.1. Sentezlenen bileşiklerin IC ₅₀ değerinin hesaplanması.....	42
3.2.2.2. Bölme katsayısı ölçümü.....	43
3.2.2.2.1. Bölme katsayısının belirlenmesi.....	43
3.2.2.2. IC ₅₀ değerinin saptanması.....	44
3.2.2.3. İnhibitörlerin sudaki çözünürlüklerinin hesaplanması.....	44
3.2.2.4. Tampon çözeltisinin hazırlanması.....	45
3.2.2.5. Substrat solüsyonun hazırlanması.....	45
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	46
4.1. Sentezlenen Maddelerin Spektroskopik Yöntemlerle Açıklanması.....	46
4.1.1. 4-(4-klorobütanoilamino)-benzensülfonamit (7).....	46
4.1.2. 4-(4-metilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (8).....	46
4.1.3. 4-(4-pirrolidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (9).....	48
4.1.4. 4-(4-metilpiperazinobütanoilamino)-benzensülfonamit (10).....	50
4.1.5. 4-(4-morfolinobütanoilamino)-benzensülfonamit (11).....	52
4.1.6. 4-(4-benzilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (12).....	54
4.2. Biyolojik Çalışma (in vitro) Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	56
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	63
KAYNAKLAR.....	64
ÖZGEÇMİŞ.....	66
EK 1 Sentezlenen Bileşiklerin FT IR Spektrumları.....	67
EK 2 Sentezlenen Bileşiklerin ¹ H NMR Spektrumları.....	70
EK 3 Sentezlenen Bileşiklerin ¹³ C NMR Spektrumları.....	73
EK 4 Sentezlenen Bileşiklerin Kütle Spektrumları.....	76
ÖZET.....	79
SUMMARY.....	81

ÖZ

Yüksek Lisans Tezi

GLOKOM TEDAVİSİNDE KULLANILAN YENİ AROMATİK SÜLFONAMİTLERİN SENTEZİ VE İNHİBİTÖR AKTİVİTELERİNİN (İN VİTRO) İNCELENMESİ

Mahmut EMÜL

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Hasan TÜRKMEN

Yıl: 2005, Sayfa:82

Bu çalışmamızın amacı glokom tedavisinde kullanılabilen ve topikal kullanım özelliğe sahip yeni karbonik anhidraz inhibitörleri sentezlenmesidir. Ve ayrıca biyolojik aktivitelerinin incelenmesidir. Tarafımızdan setezlenen karbonik anhidraz inhibitörleri reaksiyonları sonunda büyük verim ve saflıkta elde edilmiştir. Sentezlediğimiz bileşikler 4-(4-metilpiperidinobütanoilamino)-benzen sülfonamit, 4-(4-pirrolidinobütanoilamino)-benzen sülfonamit, 4-(4-metilpiperazinobütanoilamino)-benzen sülfonamit, 4-(4-morfolinobütanoilamino)-benzen sülfonamit, 4-(4-benzilpiperidinobütanoilamino)-benzen sülfonamittir. Sentezlenen bileşiklerin yapısı FT IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, kütle spektroskopisiyle aydınlatılmıştır. Biyolojik aktiviteleri (*in vitro*) uv-vis spektrofotometre ile ölçülmüştür. Ayrıca bölme katsayıları, erime noktaları ve sudaki çözünürlükleri gibi fiziksel özellikleri de incelenmiştir. Sentezlenen bileşiklerden en az birinin topikal karbonik anhidraz inhibitörü olarak kullanılabilmesini umuyoruz.

ANAHTAR KELİMELER : Glokom, Karbonik Anhidraz, Karbonik Anhidraz İnhibitörleri, Aromatik Sülfanilamitler

Abstract

MSc. Thesis

**SYNTHESIS AND INVESTIGATION OF INHIBITORY ACTIVITIES (IN VITRO) OF
NOVEL AROMATIC SULFONAMIDES FOR GLAUCOMA THERAPY**

Mahmut EMÜL

**Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry**

**Supervisor: Assist. Prof. Dr. Hasan TÜRKMEN
Year: 2006, Page:82**

Aim of this project is the synthesis and investigation of biological activities(*in vitro*) of novel carbonic anhydrase inhibitors to be used as topical for glaucoma therapy. Novel carbonic anhydrase inhibitors was synthesised in high yield and purity. The synthesised compounds are 4-(4-metilpiperidinobutanoilamino)-benzene sulfonamide, 4-(4-pyrrolidinobutanoilamino)-benzene sulfonamide, 4-(4-metilpiperazino-butanoilamino)-benzene sulfonamide, 4-(4-morfolinobutanoilamino)-benzene sulfonamide, 4-(4-benzylpiperidinobutanoilamino)-benzene sulfonamide. The synthesised compounds were characterised by FT IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, Elemental Analysis and Mass Spectroscopy. Inhibitor Activities of the compounds (*in vitro*) were measured by uv-vis spectrofotometer. In addition the physical properties of the synthesised compounds such as partition coefficients, melting points and water solubulities were studied as well. We hope that at least one of the synthesised compounds will be used as topical carbonic anhydrase inhibitor.

KEY WORDS: Glaucoma, Carbonic Anhydrase, Carbonic Anhydrase Inhibitors, Aromatic Sulfonamides.

TEŞEKKÜR

Bu çalıřmanın planlanması ve yűrűtűlmesinde, benden maddi ve manevi desteęini esirgemeyen bilgi ve hořgűrűsűnden yararlandıęım çok deęerli danıřmanım sayın Yrd. Doç. Dr. Hasan TŪRKMEN'e teőekkűrű bir borç bilirim.

Çalıřmam sırasında benden yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Mehmet ASLANOęLU, Yrd. Doç. Dr. Fatih ASLAN, Yrd. Doç. Dr. Hařim YILMAZ, Arař. Gűr. Dr. Sıtkı BAYTAK ve yűksek lisans arkadařım Serpil YILMAZTEKİN'e teőekkűr ederim.

Bu çalıřmada maddi destek saęlayan Harran Ŭniversitesi Arařtırma Fonu Műdűrlűęűne teőekkűr ederim.

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 2.3. Karbonik anhidraz izoenzimleri, CO ₂ hidrasyon aktiviteleri ve hücredeki yerleri	17
Çizelge 4.1. Sentezlenen bileşiklerin kod numaraları, kapalı formülleri, molekül ağırlıkları, erime noktaları, verimler ve elementel analiz sonuçları.....	56
Çizelge 4.2. Sentezlenen bileşiklerin bölme katsayıları, inhibitör aktiviteleri ve sudaki çözünürlükleri.....	60

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Sülfanilamid (1) yapısı.....	1
Şekil 1.2. Asetazolamid (2) yapısı.....	2
Şekil 1.3. Metazolamid (3) yapısı.....	2
Şekil 1.4. Diklorfenamid (4) yapısı.....	2
Şekil 1.5. Dorzolamid (5) yapısı.....	3
Şekil 1.6. Brinzolamid (6) yapısı.....	3
Şekil 2.1. Sıvının göz içinde oluşumu ve akımı.....	4
Şekil 2.2. Karbonik anhidrazın katalitik mekanizması.....	17
Şekil 2.3. hCA II'nın katalitik döngüsü.....	18
Şekil 2.4. hCA II enziminin şematik gösterimi.....	19
Şekil 2.5. Sülfonamidler ve PABA arasındaki yapı benzerliği.....	26
Şekil 3.1. 4-(4-klorobütanoilamino)-benzensülfonamid (7) sentezi.....	35
Şekil 3.2. 4-(4-metilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamid (8) sentezi.....	36
Şekil 3.3. 4-(4-pirrolidinobütanoilamino)-benzensülfonamid (9) sentezi.....	37
Şekil 3.4. 4-(4-metilpiperazinobütanoilamino)-benzensülfonamid (10) sentezi.....	38
Şekil 3.5. 4-(4-morfolinobütanoilamino)-benzensülfonamid (11) sentezi.....	39
Şekil 3.6. 4-(4-benzilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamid (12) sentezi.....	40
Şekil 3.7. 4-(4-aminopirimidinobütanoilamino)-benzensülfonamid (13) sentez çalışması.....	41
Şekil 3.8. 4-(4-pirrolidinobütanoilamino)-benzensülfonamid (14) sentez çalışması.....	41
Şekil 3.9. 4-(4-etilendiaminobütanoilamino)-benzensülfonamid (15) sentez çalışması.....	41
Şekil 4.1. p-nitrofenilasetatın enzim etkisiyle 400 nm'de zamana bağlı olarak sülfanilamidli ve blank ortamda absorpsiyon değişimi.....	57
Şekil 4.2. p-nitrofenilasetatın enzim etkisiyle 400 nm'de zamana bağlı sülfanilamidli ve 8 numaralı bileşik ortamda absorpsiyon değişimi.....	58
Şekil 4.3. p-nitrofenilasetatın enzim etkisiyle 400 nm'de zamana bağlı sülfanilamidli ve 9 numaralı bileşik ortamda absorpsiyon değişimi.....	58
Şekil 4.4. p-nitrofenilasetatın enzim etkisiyle 400 nm'de zamana bağlı sülfanilamidli ve 10 numaralı bileşik ortamda absorpsiyon değişimi.....	59
Şekil 4.5. p-nitrofenilasetatın enzim etkisiyle 400 nm'de zamana bağlı sülfanilamidli ve 11 numaralı bileşik ortamda absorpsiyon değişimi.....	59
Şekil 4.6. p-nitrofenilasetatın enzim etkisiyle 400 nm'de zamana bağlı sülfanilamidli ve 12 numaralı bileşik ortamda absorpsiyon değişimi.....	60
Şekil 4.7. Sentezlenen bileşiklerin çözünürlük, bölme katsayısı ve inhibitör aktiviteleri arasındaki ilişki.....	61
Ek Şekil 1.1. 4-(4-klorobütanoilamino)-benzensülfonamid (7)'in KBr tabletleri ile hazırlanmış IR spektrumu.....	67
Ek Şekil 1.2. 4-(4-metilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamid (8)'in KBr tabletleri ile hazırlanmış IR spektrumu.....	67
Ek Şekil 1.3. 4-(4-pirrolidinobütanoilamino)-benzensülfonamid (9)'in KBr tabletleri ile hazırlanmış IR spektrumu.....	68
Ek Şekil 1.4. 4-(4-metilpiperazinobütanoilamino)-benzensülfonamid (10)'in KBr tabletleri ile hazırlanmış IR spektrum.....	68
Ek Şekil 1.5. 4-(4-morfolinobütanoilamino)-benzensülfonamid (11)'in KBr tabletleri ile hazırlanmış IR spektrum.....	69
Ek Şekil 1.6. 4-(4-benzilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamid (12)'in KBr tabletleri ile hazırlanmış IR spektrum.....	69
Ek Şekil 2.1. 4-(4-metilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamid (8)'in DMSO içerisinde alınan ¹ H NMR spektrumu.....	70
Ek Şekil 2.2. 4-(4-pirrolidinobütanoilamino)-benzensülfonamid (9)'in DMSO içerisinde alınan ¹ H NMR spektrumu.....	70
Ek Şekil 2.3. 4-(4-metilpiperazinobütanoilamino)-benzensülfonamid (10)'in DMSO içerisinde alınan ¹ H NMR spektrumu.....	71

Ek Şekil 2.4. 4-(4-morfolinobütanoilamino)- benzensülfonamit (11)'in DMSO içerisinde alınan ¹ H NMR spektrumu.....	71
Ek Şekil 2.5. 4-(4-benzilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (12)'in DMSO içerisinde alınan ¹ H NMR spektrumu.....	72
Ek Şekil 3.1. 4-(4-metilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (8)'in DMSO içinde alınan ¹³ C NMR spektrumu.....	73
Ek Şekil 3.2. 4-(4-pirrolidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (9)'in DMSO içinde alınan ¹³ C NMR spektrumu.....	73
Ek Şekil 3.3. 4-(4-metilpiperazinobütanoilamino)-benzensülfonamit (10)'in DMSO içinde alınan ¹³ C NMR spektrumu.....	74
Ek Şekil 3.4. 4-(4-morfolinobütanoilamino)- benzensülfonamit (11)'in DMSO içinde alınan ¹³ C NMR spektrumu.....	74
Ek Şekil 3.5. 4-(4-benzilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (12) DMSO içinde alınan ¹³ C NMR spektrumu.....	75
Ek Şekil 4.1. 4-(4-metilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (8)'in kütle spektrumu.....	76
Ek Şekil 4.2. 4-(4-pirrolidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (9)'in kütle spektrumu.....	76
Ek Şekil 4.3. 4-(4-metilpiperazinobütanoilamino)-benzensülfonamit (10)'un kütle spektrumu.....	77
Ek Şekil 4.4. 4-(4-morfolinobütanoilamino)- benzensülfonamit (11)'in kütle spektrumu....	77
Ek Şekil 4.5. 4-(4-benzilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (12) kütle spektrumu..	78

SİMGELER DİZİNİ

DMSO	Dimethyl Sulfoxide
GİB	Göz İçi Basıncı
hCA	Human Carbonic Anhydrase
IC ₅₀	Enzimin %50'sini İnhibe Eden İnhibitörün Molar Konsantrasyonu
IOB	Intro Oküler Basıncı
IOP	Intro Ocular Pressure
ISA	İntrensek Sempatomimetik Aktivite
KAH	Karbonik Anhidraz Enzimi
KAI	Karbonik Anhidraz İnhibitör
PAAG	Primer Açık Açılı Glokom
PABA	Para Amino Benzoik Asit
PBS	Phosphate Buffered Saline
PKAG	Primer Kapalı Açılı Glokom
TLC	Thin Layer Chromatography
TEA	Three Ethyl Amine
THF	Tetra Hidro Furan

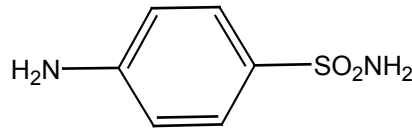
1. GİRİŞ

Glokom göz içi basıncının yükselmesiyle görme sinirinin giderek zayıflamasına ve böylece görme kaybına yol açan ciddi bir hastalıktır (Soylu, 2001). Amerika Birleşik Devletlerinde yaklaşık 2.2 milyon kişi 40 ve ileri yaşlarda glokomludur ve bunların 120 000 kadarı kördür. 2020 yılına kadar glokomlu Amerikalı sayısının 3.3 milyona ulaşacağı hesaplanmaktadır (American Health Assistance Foundation, 2005).

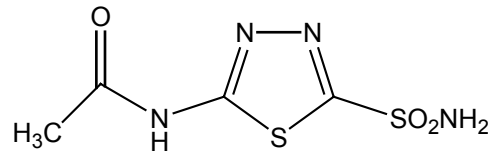
Glokomun dünyada 60 milyondan fazla kişiyi etkilediği, etkilediği insanların neredeyse yarısında görme bozukluğuna neden olduğu ve gelişmiş ülkelerde etkilenenlerin % 10'unun körlükle sonuçlandığı belirtilmektedir(Erik ve ark, 2001).

1932 yılında Alman kimyacı Klarer ve Mietz, yün proteinleri üzerine güçlü bir şekilde bağlanan *prontosil* (parasülfamidokrizoidin) adlı azot türevi bir kırmızı boya keşf ettiler. 1935'te G. Domagk ve arkadaşlarının, farelerde oluşturdukları, hemolitik streptococcus'lardan ileri gelen enfeksiyonları prontosille tedavi etmelerinden sonra antienfeksiyöz kemoterapide ilk adım atılmış oldu. Bir yıl sonra da prontosilin aktif metaboliti olan sülfanilamid sentezlendi (Dökmeci, 1992).

Antimikrobiyal kemoterapinin modern devrini **Sülfanilamid (1)** (Şekil 1.1) ortaya koydu, idrarın bazikleşmesine ve metabolik asidoza neden olduğundan söz edildi. Mann ve Keilin sülfanilamidin karbonik anhidrazi inhibe ettiğini gösterdiler.



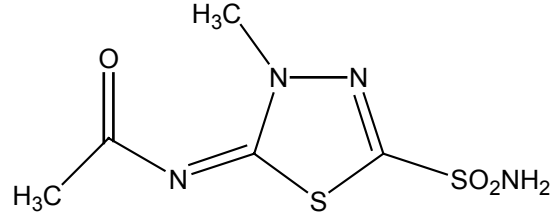
Şekil 1.1. Sülfanilamid (1) yapısı



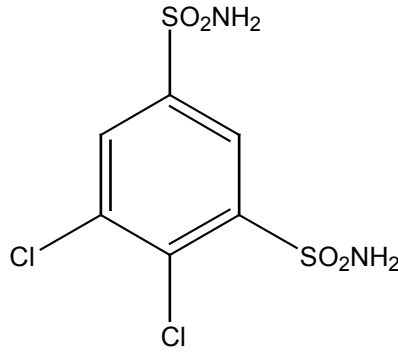
Şekil 1. 2. Asetazolamid (2) yapısı

1949'da Schwartz cevap vermeyen kalp hastalarında HCO_3^- salgılanmasını azaltarak, ödem yardımı için kullanılabileceğini söyledi. Daha güçlü karbonik anhidraz inhibitörlerin araştırılması 1953'te **Asetazolamit (2)**'in (Şekil 1.2) klinik faydasının ortaya çıkmasıyla sonuçlandı. Asetazolamit oral olarak uygulandığında iyi emilecek ilk diüretikti (Glark ve ark, 1992).

Asetazolamit dışındaki diğer karbonik anhidraz inhibitörleri **Metazolamit (3)** (Şekil 1.3) ve **Diklorfenamit (4)**'tir (Şekil 1.4). Metazolamit Asetazolamidin türevidir ve yalnızca glokom tedavisinde kullanılır (Cedric ve Reynard, 1992).

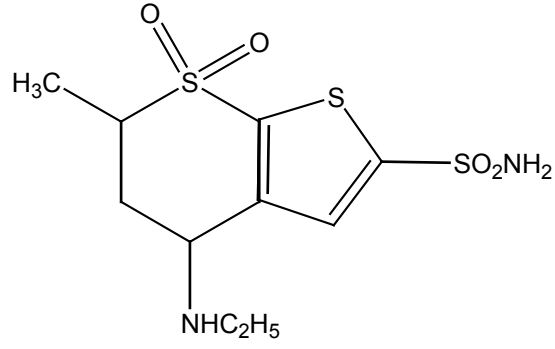


Şekil 1.3. Metazolamit (3) yapısı

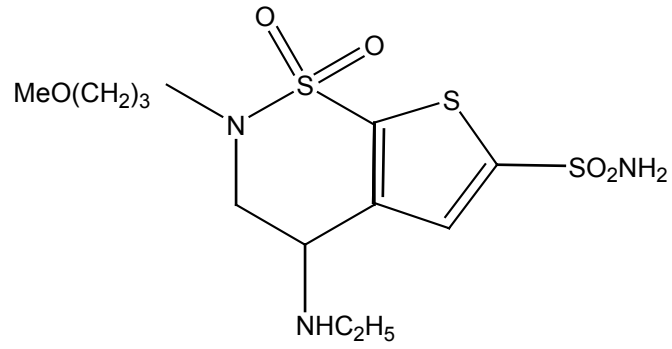


Şekil 1.4. Diklorfenamit (4) yapısı

Topikal karbonik anhidraz inhibitörlerin kullanımı yüksek emilime sahip yeni iki sülfonamit türünün keşfini bekledi. Bunlardan birincisi; heteroaromatik sülfonamitlerden oluşan MK-927, MK-417 ve MK-507 (Dorzolamit) (Şekil 1.5) ikinci türü de Brinzolamit (Şekil 1.6) temsil ediyordu (Michaud ve ark, 2001).



Şekil 1. 5. Dorzolamid yapısı



Şekil 1. 6. Brinzolamid yapısı

Bu çalışmamızın amacı şu anda glokom tedavisinde kullanılan karbonik anhidraz inhibitörlerinden daha kullanışlı maddeler sentezlemektir. İyi bir inhibitörden beklenen özellikler şunlardır:

1. Enzimlere karşı yüksek aktivitede (enzimin % 99'nu inhibe etmesi) olmalı
2. Su ve yağ arasındaki çözünürlüğü dengede olmalı.
3. Sudaki çözünürlüğünün en az % 3 w/v seviyesinde olmalı.
4. Göze uyumlu yani tolere edilebilmeli.
5. Yan etkilerinin olmaması; en azından minimum seviyede olmalı.
6. Yağ içindeki çözünürlüğünün istenilen seviyede (optimum) olmalı
7. Topikal (damla) olmalıdır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2. 1. Gözün Yapısı



Şekil 2.1. Sıvının göz içinde oluşumu ve akımı (Guyton, 1991)

Göz, elektromanyetik spektrumdaki enerjiyi sinirsel uyarılara dönüştüren bir duyu organıdır. Bu spektrumun sadece 400-700 nm dalga boyundaki görünür ışık bölgesi uyarılabilir (Fox, 1990).

2. 2. Glokom

Göz içi basıncının yükselmesi ve buna bağlı olarak fonksiyonel bozuklukların ve doku tahribatının ortaya çıkmasına glokom denir (Bengisu,1990). Glokomda en önemli risk intraoküler basıncın istatistiksel normların, 21 mmHg ötesine çıkmasıdır. Yüksek intraoküler basınç aköz humörün trabeküler ağa akarken bir direncin artmasından kaynaklanır (Hoyng ve Beek, 2000).

2.2.1. Göz içi basıncı oluşumu

Göz içi basıncı (intraocular pressure, IOP) aköz humörün oluşumu ve akışı arasındaki bir homeostatik dengenin sonucudur. Aköz humör korpus siliyare tarafından üretilir. Göz küresinin duvarları, esnek olmayan, kornea ve skleradan oluşmaktadır. Bu nedenle göz içi dokularının hacimlerinin artması, göz içi basıncının yükselmesine yol açar. İçi sıvı ile dolu olan ön kamaranın hacim değişiklikleri göz içi basıncını etkiler. Ön ve arka kamaraları dolduran kamaralar sıvısı korpus siliyareden üretildikten sonra büyük kısmı pupilla alanından ön kamaraya diğer kısmı da vitreye geçer. Daha sonra ön kamaradaki sıvı iridokorneen açındaki trabekulum ve Schlemm kanalı yoluyla gözü terk eder (% 75). Geriye kalan % 25'lik bölüm ise iris, korpus siliyare–süprakoroidiyen aralık, retina–koroid yoluyla genel kan dolaşımına karışır (Hoyng ve van Beek, 2000; Bengisu, 1990).

Kamaralar sıvısının dışarıya akımında karşılaştığı direnç ve gözde oluşan basınç Goldman formülüyle (2.1.) hesaplanır:

$$P = F \times R + P \times v \quad (2.1.)$$

Burada P göz içi basıncını, F kamaralar sıvısının debisini, R karşılaştığı direnci ve episkleral venalardaki basıncı da P x v temsil eder.

Göz içi basıncı şu yöntemlerle ölçülür:

1. Gonyoskopi
2. Tonometri
 - Çökertme yöntemiyle (indentasyon)
 - Parmakla ölçme
 - Pnömotometri
 - Friedenwaldin çift ağırlıklı tonometri
 - Düzenleme yöntemiyle (aplanasyon)
 - Havalı aplanasyon tonometrisi
3. Görme alanı muayenesi

- Konfrontasyon
- Permetri

2.2.2. Glokomun sınıflandırılması

- Primer glokom
 - Açık açılı glokom
 - Kapalı açılı glokom
- Sekonder glokom
- Konjenital glokom

2.2.2.1. Primer glokom

Birincil glokom sınıfına giren basit glokomda ve açı kapanması glokomunda göz içi basıncının yükselme nedeni Goldman formülünde değinildiği gibi R değerinin artmış olmasıdır (Bengisu, 1990).

2.2.2.1.1. Primer açık açılı glokom (PAAG)

Primer açık açılı glokom (PAAG), normal görünümde ön kamara açısına sahip bulunan ve herhangi bir oküler veya sistemik hastalığı olmayan bireylerde optik sinirde dejenerasyon ve atrofi, tipik görme alanı defektleri ve olguların önemli bir kısmında göz içi basıncının yüksekliğiyle tanınan bir hastalıktır. Çift taraflıdır; cinsiyet farkı gözetmeksizin, kırk yaşlarından sonra da görülebilir. Kırk yaşından küçüklerde görülen glokoma juvenil glokom denir (İrkeç, 1997; Bengisu, 1990).

2.2.2.1.2. Primer kapalı açılı glokom

Basit glokomdan beş defa daha az görülür. Kadınlarda erkeklerden daha fazladır. Birincil açı kapanması glokomu ön kamarası sığ, iridokorneen açısı dar, ön arka eksen küçük gözlerde daha sık görülür. Krizden önce hastaların göz içi basınçları, papillaları ve görme alanları tamamen normaldir. Aniden iridokorneen

açının çepeçevre kapanmasıyla glokom krizi başlar; göz içi basıncı 70 – 80 mmHg kadar yükselir. Hastalık büyük oranda çift taraflıdır; fakat birinci gözün krizinden sonra diğer göz krizinin ne zaman olacağı belli değildir. Tedavi edilmeyen olgular körlükle sonuçlanır. Birincil açı kapanması glokomu iki şekilde olur:

1. Midriyasis sonucu açı kapanması
2. Pupilla bloku şeklinde olur.

2.2.2.2. Sekonder glokom

Sekonder glokom aköz hümörün arka kamaradan ön kamaraya göz bebeği yoluyla geçmesi ve Schlemn kanalına ulaşmasını etkileyen herhangi bir nedenle oluşur. İkincil glokom iltihaplardan, damar hastalıklarından, yaralanmalardan, tümörlerden, dejeneratif hastalıklardan ve iris distrofilerinden sonra görülür (Bengisu, 1990; Keklikoğlu ve Tuzcu, 1995).

2.2.2.3. Doğuştan glokom

Fötüsde ön kamarayı dolduran mezodermal dokunun iridokorneen açıda, trabekulumun önünde, tamamen yok olmadığı olgularda doğuştan glokom görülür. Mezodermal dokunun yoğunluğu glokomun başlangıç yaşını etkiler. Açıdaki anormal dokunun çok yoğun olduğu olgularda göz içi basıncı yükselmesi, bebeklik yaşlarında başlar. Diğerlerinde ise glokom daha geç yaşlarda ortaya çıkar (Bengisu, 1990).

2.2.3. Glokomun tedavisi

Primer açık açılı glokomda amaç önce göz içi basıncı düzeyini emniyetli bir sınıra düşürebilmek ve glokomatöz görme alanı kaybını yavaşlatmak veya tamamen durdurmaktır (İrkeç, 1997).

PAAG tedavisi tıbbi tedavi, lazer, cerrahi ve insizyonel cerrahi olmak üzere üç bölümde toplanır (İrkeç, 1997).

Primer kapalı açılı glokomda (PKAG) tedavi cerrahidir. Tıbbi tedavi, hastanın hazırlanması ve ameliyatın düşük göz içi basıncıyla güvenli bir ortamda uygulanması için yapılır (Bengisu, 1990).

Doğuştan glokomun tedavisi cerrahidir. Cerrahi girişimle, açıdaki mezodermal doku yırtılarak, trabekulumun önü serbestleştirilir (Bengisu, 1990).

Sekoder glokomun tedavisi basit glokomdaki gibi tıbbi, cerrahi ve lazer yöntemidir (Bengisu, 1990).

2.2.4. Tedavide kullanılan ajanlar

Tıbbi tedavide kullanılan ajanları genel olarak topikal, oral ve intravenöz olarak üç şekilde sınıflandırmak mümkündür (İrkeç, 1997).

Oküler hipotansive ajanlar glokom tedavisinin başlıca dayanağıdır. Birkaç ilacın sistemik olarak kullanılmasına karşın, hipotansif ilaçların çoğu topikal olarak verilir. Topikal olarak uygulanan oküler hipotansif ajanlar sistemik olarak uygulanan oküler hipotansif ajarlardan daha düşük kan konsantrasyonlarına ulaşırlar ve bu nedenle topikal olarak uygulanan ilaçlar daha az sistemik yan etkiler yaparlar (Hoyng ve Beek, 2000).

2.2.4.1. Monoterapi ajanları

2.2.4.1.1. Parasempatomimetikler

Parasempatomimetikler veya kolinerjik ajanlar 1877 yılında von Weber tarafından sunuldu ve glokom tedavisinde kullanılan oküler hipotansif

bileşiklerin ilk sınıfıydı. Parasempatomimetikler hem diüertik hem de dolaylı olarak gözde reseptörlere etkirler. İndirekt parasempatomimetikler kolinesterazı inhibe edereleler (Hoyng ve Beek, 2000; Bengisu, 1990).

Pilokarpin: Bir alkaloid olan pilokarpin miyotiklerin temel temsilcisidir, bu yüzden pupilla üzerine olan etkilerinden dolayı isimlendirilirler. Pilokarpin damlatıldıktan 1 saat sonra göz içi basıncını azaltmaya başlamakta ve bu etkisi 2. saatte azamiye çıkmakta ve 5-8 saat devam etmektedir. Günde 4 kez verilmesi gerekmektedir. Pilokarpin IOP'ı % 20 ile % 30 kadar indirir (İrkeç,1997; Hoyng ve Beek, 2000).

Yan etkileri: Pilokarpine bağlı sistemik yan etkiler oldukça nadirdir. Pilokarpin ve diğer kolinerjik ajanların uygulanmasından sonra pupillada miosis, buna bağlı olarak görme azalması, baş ağrıları ve miyopi görülebilir ve çeşitli yaş gruplarında tolere edilemeyen sorunlara neden olabilir. Avrupa'da kullanılan sentetik bir kolinerjik ilaç olan aseklidin GİB üzerinde pilokarpine benzer bir özellik gösterir; bu ilacın daha az akomodatif spazm yapması nedeniyle glokomlu olgular tarafından daha iyi tolere edilmesi söz konusudur.

Sistemik yan etkiler pilokarpinin daha yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığında daha sık görülür. Bu yan etkiler kusma, hızlı kalp çarpıntısı, bronşspazm, ishal ve mide bulantısını içerir. Topikal oküler tedavideki son gelişmeler üçüncü ilaç serisi olarak pilokarpin yer aldı (İrkeç, 1997; Hoyng ve Beek, 2000).

Karbakol: Sentetik olarak karbakolun formülü asetilkoline çok yakındır. Saf bir kolinerjik değildir. Çünkü içinde, etkisini daha da kuvvetlendiren antikolinesterazik eserine vardır (Bengisu, 1990). Karbakol gözün ön segmentinde korneadan penetrasyonu artırarak etkili konsantrasyonlara ulaşmak için benzalkonyumkloride ihtiyaç duyar. Kullanılan konsantrasyonlar % 0.75, % 1.5 ve %

3 ve uygulama sıklıkları günde 3 kezdir. IOP üzerine etkisi pilokarpinden daha fazla gösterilir (Hoyng ve Beek, 2000).

Yan etkileri: Bu oküler yan etkiler benzerdir fakat pilokarpine göre daha ciddidir, bu nedenle tedavi kesilebilir. Düşük derecede bir ön üveitis karbakollu tedavi sırasında görülebilir. Ek olarak sistemik yan etkiler karbakollu tedavi sırasında pilokarpinden daha sık gözlenir. O yüzden günümüzde glökom tedavisinde kullanılmaz (Hoyng ve Beek, 2000).

Diğer parasempatomimetikler: Ekotiofat, demekaryum bromür ve diizopropilflorofat olarak dönüşümsüz kolinesteraz inhibitörleri afaki ve pseudoafaki bazı hastalarda yararlı olabilir, fakat genellikle daha az oküler ve sistemik yan etkilerine sahip yeni bileşikler yer aldığından beri glökom tedavisinde az kullanılırlar (Hoyng ve Beek, 2000).

2.2.4.1.2. Sempatomimetikler

Epinefrin: Hem alfa hemde beta etkili bir sempatomimetiktir. Epinefrin ve tuzları hipotansif etkiler nedeniyle PAAG (primer açık açılı glökom) tedavisinde kullanım alanı bulmuştur. Kullanılan konsantrasyonlar L-izomerin % 0.5'ten % 2'ye olan rasemik karışımlardır (İrkeç, 1997; Bengisu, 1990; Hoyng ve Beek, 2000).

Yan etkiler: Adrenerjik etkisinden dolayı yaşlılarda, kalp hastalarında, hipertendü ve diyabetlilerde dikkatli kullanılmalıdır (Bengisu, 1990; Hoyng ve Beek, 2000).

Dipivalil Epinefrin: Epinefrinin terapötik gösterge ve yan etkilerini iletmek için DPE geliştirildi. DPE 2 pivalil grup eklenmiş epinefrinin bir benzeridir. DPE lipofilik ve epinefrinden 17 kez daha kolay korneaya geçer. (Hoyng ve Beek, 2000). % 0.1 konsantrasyonda ve göze günde 1 veya 2 kez damlatılarak kullanılmaktadır (İrkeç, 1997).

2.2.2.1.3. α_2 -Adrenerjik agonistler

Klonodin: Klonidin seçici bir α_2 -adrenerjik agonisttir fakat bazı α_1 -adrenerjik özellikleri vardır. Hastalarda klonidin göz damlaları (% 0.125, % 0.25, % 0.5) sistemik hipotansiyonu indirdi ve oftalmik damlalarda basıncı düşürdü ve düşük basınçlarda, görme alanı kayıplarına karşın önerildi (Hoyng ve Beek, 2000).

Apraklonidin: Nispeten selektif bir alfa 2-adrenerjik agonist olan apraklonidin GİB düzeyini % 27 ile % 39 oranında azaltmaktadır (İrkeç, 1997). Apraklonidin, klonidinden daha yüksek polariteye sahiptir. Klonidine benzerliği, trabeküler akışta küçük bir artıştan bile bahsedilmesine karşın, en çok aköz hümörün üretimini azaltmasıyla IOP'u indirmesidir (Hoyng ve Beek, 2000).

Yan etkileri: Lokal yan etkiler apraklonidinin ana sorunudur. GİB kontrolünde etkin bir ilaç olmasına rağmen en önemli yan etkisi olguların % 25 – 40'ında ortaya çıkan ve kullanım süresine bağlı olarak görülme sıklığı artan alerjik blefarokonjoktivit ve dermatittir (İrkeç, 1997; Hoyng ve Beek, 2000).

Brimodin: Brimodin oldukça selektif bir alfa 2-adrenoseptör agonisttir. Apraklonidine göre daha lipofiliktir. PAAG tedavisinde % 0.5 brimodin günde 2 kez uygulanmak suretiyle GİB %20 – 30 oranında azaltılabilir (İrkeç, 1997; Hoyng ve Beek, 2000).

Yan etkileri: Alerjik yan etkileri daha azdır. Ağız kuruluğu, konjoktivanın soluklaşması ve yorgunluk görülebilir. Baş ağrısı görülebilir (İrkeç, 1997; Hoyng ve Beek, 2000).

2.2.2.1.4. Sempatolitikler

β -blokerler glokomda hala başlıca ve tek seçeneklerdendir. Bu ilacın kolinerjik ve adrenerjik agonistlere olan üstünlükleri pupilla çapı ve akomodasyonu çok daha

az etkilemeleri, karanlık görme, gece görmede azalma ve bulanık görme sorunlarına yol açmamalarıdır.

Propanololun 1967’de ilk kez IOP’ düşürmesi gözlemlendikten sonra 1978’e kadar glokom tedavisinde uygulanan ilk beta bloker oldu (İrkeç, 1997; Hoyng ve Beek, 2000).

Timolol: Beta blokan olan timolol, günümüzde en fazla kullanılan glokom ilacıdır. Birçok çalışma glokomda timololün yararlılığını göstermiştir. IOP’taki % 27 ile % 35 arasındaki azalmalar uzun tedavi dönemi süresinde ortaya çıkarıldı Timololün % 0.1, % 0.25, % 0.5’lik solüsyonları bulunur ve günde iki kez uygulanmalıdır (Hoyng ve Beek, 2000). Ek olarak timolol propanolole göre milligramına karşı olarak 3 ile 5 defa daha güçlüdür. Timolol Amerika’da kronik geniş açılı glokomda hemoraji veya iltihaba bağlı sekonder glokomda ve göz içi tansiyon yüksekliğinde en seçilendir (Akcasu ve ark, 1989; Bengisu, 1990; İrkeç,1997).

Yan etkileri: Bu ilaca karşı iyi tahammül edilmektedir; göz tahrişi belirtileri ve istirahatatta hafif azalmış kalp ritmi gözlenebilir. Beta bloker ajanlarda yapılan tedavi sırasında punktat keratit, gözlerde yabancı cisim hissi ve kuruluk gibi oküler yan etkilerin yanı sıra kardiyovasküler pulmoner sindirim sistemi, deri, kas iskelet sistemine ait yan etkiler görülebilir (Akcasu ve ark, 1989; Bengisu, 1990; İrkeç, 1997; Hoyng ve Beek, 2000).

Betaksolol: Betaksolol bir β_1 -selektif adrenoektör antagonistir. Aköz hümör akışı inhibe edilerek IOP üzerine etkisini kullanır. Siliyar cisim hemen hemen β_1 -adrenoektörlerin hepsini, içerdiği için, betaksololün IOP’ı daha zayıf β_2 -blokerleri tarafından düşürülebileceği düşünülür. IOP üzerindeki etki timololün etkisinden daha küçüktür ve yaklaşık olarak 3.9’dan 7.8 mmHg’ ye kadar düşmüştür. Betaksololün bu etkisi kalsiyum antagonistik etkisine sebep olabilir. Betaksolol günde iki kez uygulanması gereken 0.25 ve % 0.5’lik çözeltileri şeklinde bulunur (Hoyng ve Beek, 2000).

Yan etkileri: Topikal uygulamalardan sonra betaksololün en sık oküler yan etkisi kısa periyotta yanma ve kaşıntı görülür. Ayrıca oküler yan etkiler diğer beta blokerlere benzerdir ve ortaya çıkması diğerlerine göre düşüktür (Hoyng ve Beek, 2000).

Levobunolol: Bir nonselektif β_1 ve β_2 bloker ajandır. Dihidrolevobunolol'un metaboliti bir de IOB'u düşürmede etkilidir. Levobunolol'un ne ISA (intrensek semptomimetik aktivite) ne de lokal anestetik aktivitesi vardır. Oküler hipotansif etkisi timolole benzerdir. IOB'deki düşüş yaklaşık olarak % 27'dir. Levobunolol günde bir veya iki kez uygulanabilen % 0.25 ve % 0.5'lik solüsyonlar halinde bulunur (Hoyng ve Beek, 2000).

Yan etkileri: Levobunolol yan etkilerinin şekli timololünkine benzerdir. Bir çalışma % 4'lük levobunolol tedavisinden sonra alerjik blefarokonjunktivitis bir olayı göstermiştir (Hyon ve Beek, 2000).

Karteolol: Karteolol bazı ISA ve lokal anestetik aktivitesi olmayan bir nonselektif β - blokerdir. Ana metaboliti 8-hidroksikarteolol olan, tavşan ve maymunlarda IOB' yi düşürmede karteololden daha etkili olduğu görüldü. Karteolol aköz hümör oluşumunu indirerek IOB 'yi düşürür. Aköz hümör oluşumu oküler hipertansiyonlu hastalarda timololle % 39, karteololle % 20.4' kadar indirilir. Günde iki kez uygulanması gereken % 1 ve % 2' lik solüsyonları vardır (Hyon ve Beek, 2000).

Yan etkileri: Uygulamadan sonra sinirlilik ve ağrı gibi oküler yan etkiler timolol tedavisinden daha az görülür (Hyon ve Beek, 2000).

Metipranolol: Metipranolol ISA'sız bir nonselektif beta blokerdir. Metipranolol aköz hümör oluşumunu inhibe ederek IOB'yi düşürür. Bazı korneal anestetik etkileri olduğu söylenir. Dışa akım üzerindeki etkisi açık değildir (Hyon ve Beek, 2000). Metipranolol çok daha az bronkonstriksiyon oluşturur ve isoprotenerol tedavisinin brokotiladasyon ile aralarında uyumsuzluk yoktur (Akcasu ve ark, 1989).

Günde iki kez uygulanmalı ve metipranolol % 0.1, % 0.3 ve % 0.6'lık solüsyonları bulunur. % 0.1'lik metipranololden sonra IOB'deki düşüş yaklaşık olarak % 25 ve % 0.3'lük ve % 0.6'lık metipranololden sonra % 25 ve % 33 oranındadır (Hyon ve Beek, 2000).

Yan etkiler: Timolole benzer metipranololün neden olduğu yan etkiler iğnelenme ve yanmadır, kısa periyotlarla. Levobunolole benzer hafif konjktiva hiperemisi yapar (Hyon ve Beek, 2000).

2.2.2.1.5. Prostaglandinler

Prostaglandinler tahrik edici göreve sahip araçlardır. Yüksek dozlarda konjktival hiperemi, miyosis, iris hiperemi yaparlar (Hyon ve Beek, 2000).

PAAG'li hastalara ikinci bir tedavi ajanının eklenmesi durumunda kullanılırlar (İrkeç, 1997).

Latanoprost: Son zamanlarda PAAG tedavisinde prostaglandin F_{2α} isopropil ester analogu olarak latanoprost kuvvetli bir hipotansif ajan olarak kullanıma girmiştir (İrkeç, 1997). Latanoprostta kısa dönemli çalışmalarda IOB'deki azalma % 25 ve % 36 arasında gözlenmiştir. Latanoprostun günde iki kez uygulanması bir kez uygulanmasından daha az etkilidir. Bir de latanoprostun gece uygulanmasının sabah uygulanmasından daha etkili olduğu keşfedilmiştir. Latanoprost % 0.005'lik bir solüsyon halinde bulunur ve gece bir kez uygulanmalıdır (Hyon ve Beek, 2000).

Yan etkileri: Uzun dönem çalışmalarda hastaların % 3 ve % 5'i arasında latanoprost tedavisinden sonra hafif konjktiva hipereminin farkına varılmıştır. Uygulamalardan sonra iğnelenme, yanma veya gözde yaşlanma % 20 ile % 40 arasında gözlenmiştir (Hyon ve Beek, 2000). Açık renkli gözlerde latanoprostun 3 aydan fazla kullanımı sonucu iris renginde koyulaşma görülür (İrkeç, 1997).

İsopropil unoproston: İsopropil unoproston prostaglandin metabolitinin bir analogudur ve glokom tedavisinde kullanılır. % 0.06 ve % 0.12'lik

konsantrasyonlarda bulunur ve günde iki kez uygulanmalıdır. % 0.12'lik çözeltinin IOB üzerindeki etkisi % 0.5'lik timololünkine benzerdir (Hyon ve Beek, 2000).

Yan etkileri: Lokal yan etkileri konjonktival hiperemi (% 7), korneal erozyon ve blefaritis (% 1)'ten ibarettir. Klinik çalışmalarda, isopropil unoprostonun iris rengi üzerine etkisinin olmadığını göstermiştir (Hyon ve Beek, 2000).

2.2.2.1.6. Karbonik anhidraz inhibitörleri

Karbonik anhidraz inhibitörleri bölüm 2.3'te ayrıntılı olarak incelenecektir.

2.2.4.2. Antiglokom ilaçlarının bileşimleri

IOB monoterapiyle yeterli derecede düzenlenmediğinde antiglokom ilaçları birleştirilerek ortak uygulanır. Monoterapi sırasında IOB üzerine yetersiz etki ilacın ilk yetersiz etkisine uzun dönem tedavi sırasında toleransın gelişmesine veya hastalığın gelişmesine neden olur. Özellikle tolerans sorunu olursa, birkaç bileşimden önce başka bir monoterapi çalışması tavsiye edilir. İki ajan karşılaştırıldığında IOB'deki azalmanın en az % 15 olması arzu edilir (Hyon ve Beek, 2000).

2.2.5. Glokomda risk faktörleri

Göz içi basıncı yüksekliği yönünden genel risk faktörleri: yaş, ailesel özellikler, ırk, cinsiyet, arterioskleroz ve miyopi veya hipermetropidir.

PAAG yaşlı bireylerde daha yaygındır ve çoğu vakalar 65 yaşından sonra ortaya çıkar. Bu teşhisin 40 yaşından önce konulması alışılmış bir durum değildir.

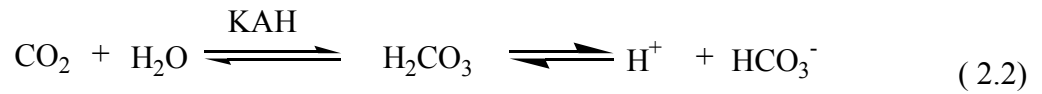
Beyazlara oranla siyahlarda bariz biçimde daha yaygın olup, daha genç yaşta ortaya çıkar ve daha şiddetli seyredir.

PAAG sıklıkla multifaktöriyel biçimde herediter olarak geçer. Sorumlu olan genin bazı ailelerde penetrasyon eksikliği ve ortaya çıkışta varyasyon gösterdiği düşünülmektedir. GİB seviyesi, dışa akım kapasitesi ve optik diskin büyüklüğü de keza genetik olarak belirlenir. PAAG hastalarının birinci dereceden akrabaları glokom geliştirme açısından yüksek risk altında bulunurlar. Ebeveynlerinden birinde bu klinik durum mevcutsa bu risk ikiye, eğer kardeşlerden birinde PAAG ortaya çıkmışsa dörde katlanmaktadır. Miyopi de artmış PAAG insidansı ile birlikte bulunmakta ayrıca miyotik gözler glomatöz hasara karşı daha meyilli olmaktadır (Orağlı, 2001).

2.3. Karbonik Anhidraz Enzimi

Karbonik anhidraz enzimi CO_2 ve HCO_3^- 'ün birbirine dönüşümünde, (2.2) formülünde gösterildiği gibi, fizyolojik fonksiyonu bilinen hayvan ve bitkilerin ikisinde de keşfedilen enzimlerdir. Karbonik anhidraz enzimi Roughton ve Meldrum tarafından 1933 yılında keşfedildi (Maren, 1994). 1992 yılında hCAI–hCAVII olarak tanımlanan insan karbonik anhidrazların sayısının en az yedi olduğu düşünülüyordu (Zeng ve Keneth, 1992).

Karbonik anhidraz belirlenen ilk çinko metallo-proteindi (Keilin and Mann, 1940).



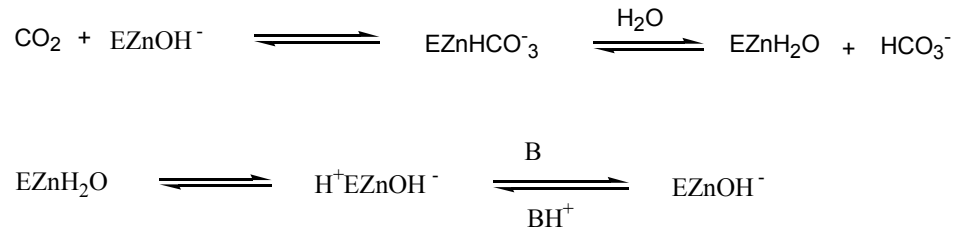
Supuran ve ark (2000) yaptıkları bir araştırmada memelilerde 14 değişik karbonik anhidraz izoenzimi keşfettiler. Bunların hücredeki yerleri, karbondioksit hidrasyonları ve hücredeki yerleri Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2. 1. Karbonik anhidraz izoenzimleri, CO₂ hidrasyon aktiviteleri ve hücredeki yerleri (Supuran ve ark, 2000)

İzoenzim	Karbondiyoksit hidrasyonu	Hücredeki yeri
CA I	Düşük (CAII' nin % 10'u)	Stoplazma
CA II	Yüksek	Stoplazma
CA III	Çok düşük	Stoplazma
CA IV	Yüksek	Hücre zarı
CA V	Orta - yüksek	Mitokondride
CA VI	Orta	Salgıda gizlenmiştir
CA VII	Yüksek	Stoplazma
CA-RP VIII	Akatalitik	Büyük olasılıkla stoplazmada
CA IX	Yüksek	Hücre zarında
CA-RP X	Akatalitik	Bilinmiyor
CA-RP XI	Akatalitik	Hücre zarı
CA XII	Düşük	Hücre zarı
CA XIII	Büyük olasılıkla yüksek	Bilinmiyor
CA XIV	Düşük	Hücre zarı

Karbonik anhidrazlar katalitik fonksiyonların evrime yönelmenin mükemmel örnekleridir. Gerçekten de bu her yerde bulunabilen metallo enzimler gen familyaları farklı prokaryot ve ökaryotlarda bulunurlar. Ancak henüz mantarlarda belirlenmemiştir ve α , β ve γ karbonik anhidrazlar olmak üzere üç sınıfa ayrılmışlardır (Lindskog, 1997; Alessio ve ark, 2004).

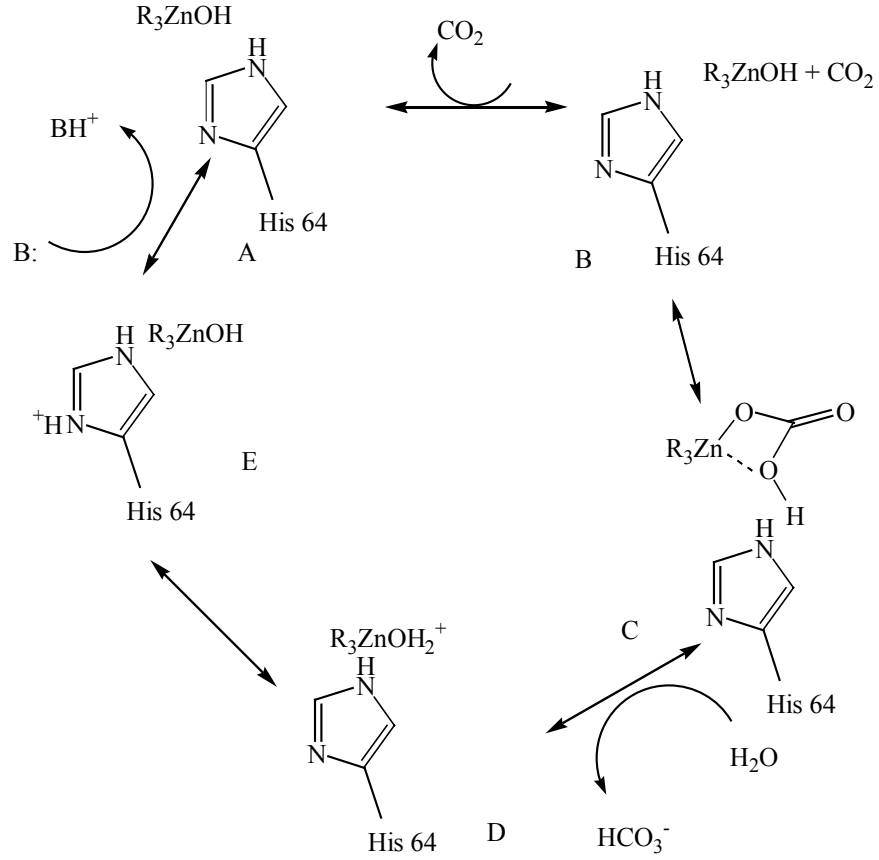
2.3.1. Karbonik anhidrazın yapısı ve çalışma mekanizması



Şekil 2.2. Karbonik anhidrazın katalitik mekanizması

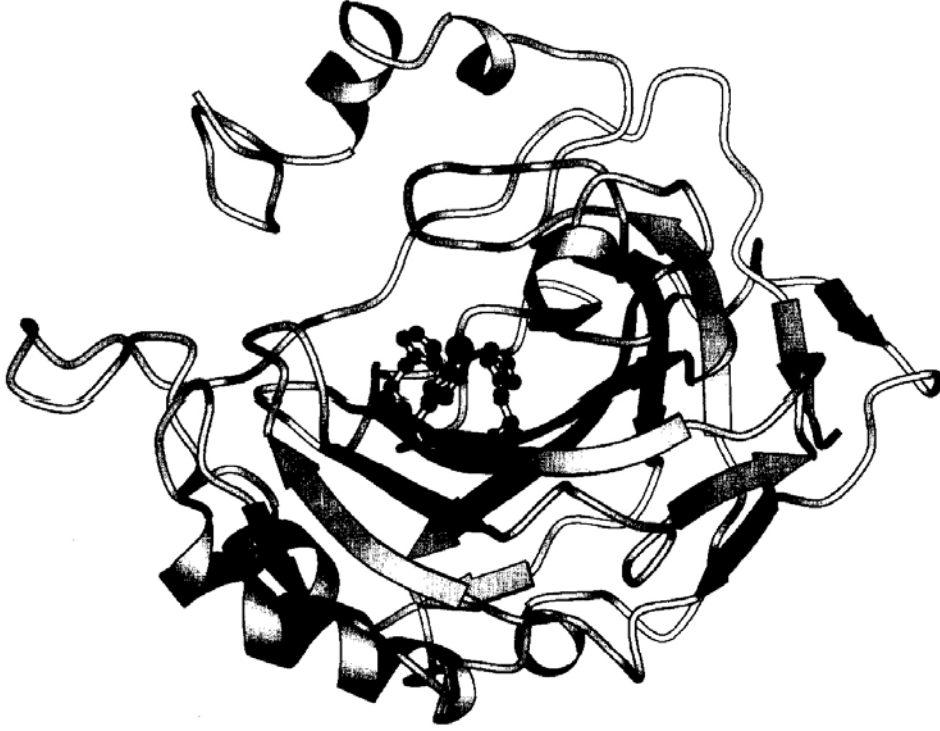
Şekil 2.2.'de gösterildiği gibi kataliz iki safhada gerçekleşmektedir. Birinci safhada enzimin karbondioksidi bağlaması ve bikarbonat oluşması gözlenirken,

ikinci safhada ise proton transferini ve enzimin tekrar başlangıçtaki haline dönmesi izler (Pocker ve Sarkanen, 1978).



Şekil 2.3. hCA II'nin katalitik döngüsü

Mekanizmanın ilk adımı (A'dan B'ye) enzimin çinko hidroksit aktif bölgesine CO₂'nin girişi, onu B'den C'ye çinko bikarbonat intermediate şekline CO₂'nin hidrasyonu izler. Daha sonra su, enzimde (C'den D 'ye) su şeklinde bikarbonat iyonu yerini alır, E şeklinde His-64'e bir intramoleküler proton transferi yapar. Bu ara ürün ardından protonu ortamdaki suya veya tampona transfer ederek tekrar A'yı oluşturur (Zeng ve Keneth, 1992).



Şekil 2.4. h CA II enziminin şematik gösterimi

Yukarıdaki şekilde çinko iyonun geniş olarak kapladığı alan ve üç histidil ligandı gösterilmektedir. Bu yapı Molscrip programı kullanılarak gösterilmiştir (Lindskog, 1997).

2.3.2. Karbonik anhidraz enziminin böbrek fizyolojisindeki yeri

Karbonik anhidraz enzimi 2.2 denkleminde gösterildiği gibi reaksiyon zincirinde CO_2 'nin su ile birleşmesini katalize eden enzimdir.

Oluşan H_2CO_3 kimyaca stabil bir bileşik olmadığından tama yakın bir kısmı iyonize olur. Böylece başta proksimal tübülünkiler olmak üzere tübül hücrelerinde su ve CO_2 'den H^+ ve HCO_3^- oluşur.

H^+ , tübül lümenine salgılanır; bunun karşılığında Na^+ iyonu lüminal membrandaki Na^+-H^+ antiportu ilk lümeden hücreye alınır (H^+-Na^+ değiş tokuşu). HCO_3^- ise hücreden bazoleteral membrandaki $\text{Na}^+-\text{HCO}_3^-$ simportu ile intersiyal

sıvıya aktarılır ve oradan peritübüler kapillerler içinden kana girer. Bu duruma göre tübül hücrelerinden H^+ salgılanması, plazmaya ekivalentmiktarda HCO_3^- eklenmesi demektir. ayrıca salgılanan H^+ 'nın bir kısmı glomerüllerden filtre olmuş sıvıdaki HCO_3^- 'ün atılmasını önler. Şöyle ki bikarbonatın elektiriksel yükü nedeniyle reabsorbsiyonu güç olduğu halde; onun lumende H^+ ile birleşmesi sonucu dönüştüğü CO_2 molekülü şeklinde reabsorbsiyonu çok kolaydır. Lumene salgılanan H^+ 'nın kalan kısmı lumende NH_3 veya HPO_4^{2-} ve diğer zayıf asitler tarafından bağlanır; böylece tubulus lumeninde birinci olay sonucu amonyum (NH_4^+) ve ikinci olay sonucu titre edilebilir asidite ($H_2PO_4^-$ ve benzeri protonlanmış zayıf asitler gibi) oluşturulurlar. Bu sayede idrarda net H^+ kaybı sağlanır.

Filtratta HCO_3^- 'ün % 90'nın reabsorbsiyonu proksimal tübüllerde, kalan kısmının reabsorbsiyonu ise distal segmentlerde olur. Distal tübüler de yukarıda belirtilen mekanizmalarla net asit kaybını sağlama ve idrarı bu şekilde asitleştirmek yönünden önemli görevler yaparlar (Kayaalp, 2002).

2.3.3. Karbonik anhidraz inhibitörlerinin temel etkileri

Karbonik anhidraz enziminin ilaçlar tarafından inhibisyonu sonucu, tübül hücrelerinde H^+ üretiminin azalması sonucu aşağıdaki etkiler doğurur:

Sodyum reabsorbsiyonun H^+ ile değiş-tokuşu suretiyle olan bölümü; buna bağlı olarak su reabsorbsiyonu da azalır.

Distal tubullerde değiş-tokuş için gerekli H^+ 'nın azalması buradan K^+ salgılanmasında artmaya neden olur. Bunun sonucu, idrarda potasyum kaybı artar ve hipokalemi gelişir.

Filtratta HCO_3^- 'ün CO_2 'ye dönüşümü ve dolayısıyla reabsorbsiyonu azalır. Bunun sonucu, vücuttan HCO_3^- kaybı artar, hiperkloremik asidoz gelişir ve idrarın bazlığı artar.

Amonyanın amonyum haline dönüşümü azalacağından filtrattan amonyanın geri alınması artar ve sonuçta amonyak retansiyonu gelişir. Sirozlu hastalarda bu durumun olumsuz etkisi vardır. Bu hastalarda diüretik olarak KAI ilaçlar kullanılması amoniemiği artırarak, hepatik komayı etkiler (Kayaapl, 2002).

2.3.4. Karbonik anhidraz inhibitörlerinin kullanım alanları

Aşağıdaki durumlarda kullanılabilirler

Kalevi diürez oluşturulması istenen durumlarda antineplastik ilaçlarla tedavi edilen kanserli hastalarda aşırı miktarda itrah edilen ürik asidin idrar yollarında çökmesini önleyebilirler.

Glokom ve oküler hipertansiyon tedavisinde korpus siliyareden aköz hümör salgılanmasını azaltmak suretiyle göz içi basıncını azaltırlar. Aynı indikasyonda kullanılan diğer ilaçlara ek olarak verilirler. Asetazolamit gibi ağızdan uygulanan ilaçlardan çok topikal olarak uygulanan dorzolamit ve brinzolamit tercih edilir.

Epilepsi tedavisinde KAH inhibitörler tonik-klonik ve kısmi tutarıkların tedavisinde ikinci sıra ilaçtır; atipik absens ve atonik ve tonik tutarıklarda diğer ilaçlara yardımcı olarak kullanılabilirler.

Kronik metabolik alkalozda asetazolamit böbrekten bikarbonat atılmasını artırarak alkalozu düzeltebilir.

Respiratuvar asidoz gösteren amfizem ve kronik bronşit gibi kronik obstrüktif akciğer hastalıklarında karbonik anhidraz inhibitörleri metabolik asidoz yaparak solunumu sitümüle ederler ve respiratuvar asidozu düzeltirler.

Akut dağ hastalığı denilen ve yüksek irtifalarda (3000 ve daha fazla) yerlere çıkıldığında aklimatizasyon olana kadar (3 gün kadar) gelişen respiratuvar alkaloz ve ona bağlı uykusuzluk, halsizlik, bulantı, baş ağrısı, letarji, uyku sırasında kabus, apne

veya periyodik solunum gibi belirtilerle seyreden durumlarda asetazolamit yararlı olabilir (Kayaalp, 2002).

Son yıllarda tümör oluşumunda rol oynadığı düşünülen CA IX enziminin inhibisyonu şeklinde antitümör olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (Supuran ve ark, 2000).

Ayrıca bazı yeni türlerinin antitiroid, antiviral olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (Türkmen ve ark, 2004).

2.3.5. Karbonik anhidraz inhibitörlerinin sınıflandırılması

Karbonik anhidraz inhibitörleri sistemik ve topikal olmak üzere ikiye ayrılır

2.3.5.1. Sistemik karbonik anhidraz inhibitörleri

Sistemik karbonik anhidraz inhibitörleri dört tanedirler. Bunlar asetazolamit, metazolamit, diklorfenamit ve etoksazolamittir. Bunlar sistemik yan etkilerinden dolayı ve glokom tedavisinde yeni topikal inhibitörlerinin girmesiyle önemlerini yitirmişlerdir.

Asetazolamit: Asetazolamit Becker tarafından yaklaşık olarak 50 yıl önce glokom tedavisine sunuldu. Asetazolamit aköz hümörün üretimini yaklaşık olarak % 27 azaltır. Asetazolamit oral olarak uygulandığında iyi tolere edecek ve emilecek ilk diüretiktir. IOB üzerindeki maksimum etkisi günde 4 kez 250 mg'lık tabletlerle veya 500 mg'lık kapsüllerle ulaşılır. Asetazolamit 125 mg ve 250 mg'lık tabeltler ve 250 ve 500 mg'lık yavaş salınan şekli bulunmaktadır (Clark ve ark, 1992; İrkeç, 1997; Hoyng ve Beek, 2000).

Metazolamit: Metazolamid diğer bir karbonik anhidraz inhibitörüdür. Metazolamit, asetazolamitin bir türevidir ve sadece glokom tedavisinde kullanılır. Tavsiye edilen dozlar günde üç kez 25, 50 veya 100 mg'dır. IOB üzerine etkisi

asetazolamitte görülenden biraz daha düşüktür fakat yan etkileri daha azdır (Smith ve Reynard, 1992; Hoyng ve Beek, 2000).

Etoksazolamit: Asetazolamite göre bir üstünlüğü yoktur. Ticari adı Ethamide ve Cardrase'dir (Bengisu, 1990; Kayaalp, 2002).

Diklorfenamit: Aynı şekilde asetazolamide göre bir üstünlüğü yoktur. Ticari adı Daranide ve Oratrol olarak bilinir (Bengisu, 1990; Kayaalp, 2002).

Yan etkiler: Oral karbonik anhidraz inhibitörlerin hemen hemen hiç oküler yan etkileri yoktur. Ancak sistemik yan etkileri glokom tedavisinde kullanımı kısıtlar. Anoreksi , kilo kaybı, gastrointestinal bozukluklar, güçsüzlük, libido kaybı, impotens, böbrek taşları, metabolik asidoz, aplastik anemi, diare, Stevens- Johnson sendromu ve genel malez durumu oluşturabilirler. Yüksek dozlarda uyuşukluk ve parestezilere neden olabilirler (İrkeç, 1997; Hoyng ve Beek, 2000; Kayaalp, 2002)

2.3.5.2. Topikal karbonik anhidraz inhibitörleri

Sistemik karbonik anhidraz inhibitörlerinin neden olabilecekleri yan etkilerinin fazlalığı ve bundan kaynaklanan tolerans sorunu topikal KAI'lerin gelişmesini sağlamıştır. Bunlar korpus siliyareden aköz hümör salgılanmasını azaltırlar (İrkeç, 1997; Kayaalp, 2002).

Dorzolamit: Dorzolamid glokom tedavisi için uygun bulunmuş ilk topikal KAI'dir. Bu ilaç şu anda geniş olarak diğer ilaçların türleriyle glokom tedavisinde kullanılmaktadır. Glokomun tıbbi tedavisindeki önemli gelişme yeni topikal KAI'lerin gelişmesidir. Dorzolamit hCA II enziminin bir inhibitörü ve bir de hCA IV'ün zayıf inhibitörüdür. Dorzolamid (M-507) 1980'lerin sonunda keşfedildi ve ilk kez 1995'te Amerika'da TRUSOPT ticari adıyla pazarlandı (İngram ve Brubaker,1999; Michaud ve Beatric, 2001; Hoyng ve Beek, 2000).

PAAG tedavisine giren dorzolamit hidroklorür topikal olarak beta blokerlerin yetersiz kaldığı PAAG olgularında % 2 konsantrasyonunda günde 3 kez kullanıldığı takdirde GİB’de ek bir % 20’lik azalma sağlamaktadır. Tek başına kullanıldığında % 20’lik dorzolamit günde 3 kez uygulama ile GİB’i % 18 ile % 22 oranında azaltmaktadır. Dorzolamit astımlı ve kalp yetmezliği olan PAAG olgularında ilk tercih olarak kullanılabilirler (İrkeç, 1997).

Brinzolamit: Karbonik anhidraz izoenzimi-II’nin inhibitörüdür. Topikal karbonik anhidraz inhibitörü ilaçların yeni ikinci sınıfını brinzolamit temsil ediyordu. İlk kez Amerika’da pazarlandı ve Avrupa Birliği’nde Azopt ticari adıyla kaydedildi. Brinzolamit günde iki kez uygulanan dorzolamidin günde 3 kez yarallılığına eşitti ve timlolden daha az yararlıydı. 3 aylık bir periyottan sonra, PAAG’li ve oküler hipertansiyonlu hastalarda IOB’deki azalma % 1’lik brinzolamitin günde iki kez uygulamasında % 19.1 ve brinzolamitin günde 3 kez uygulaması % 20.3 göstermiştir (İrkeç, 1997; Michaud ve Beatric, 2001; Hoyng ve Beek, 2000).

Yan etkiler: Brinzolamit, dorzolamitten daha az önemsiz oküler rahatsızlığa neden olur. En sık görülen yan etkiler ağızda acı tat, alerjik konjonktivit ve sindirim bozukluklarıdır. Dorzolamit gözde yanma, batma ve yabancı cisim hissine ve sulanmaya neden olabilir (İrkeç, 1997).

2.4. Sülfonamidler

2.4.1 Sülfonamidlerin tarihçesi

Sülfonamidler geniş spektrumları nedeniyle tek başlarına çok sayıda endikasyonda kullanıldılar.

1932 yılında Alman kimyacı Klarer ve Mietzch, yün proteinleri üzerine güçlü bir şekilde bağlanan prontosil (parasülfamidokrizoidin) adlı azot türevi bir kırmızı boya keşfettiler. 1935’te G. Domagk ve arkadaşlarının farelerde oluşturdukları, hemolitik streptococcuslardan ileri gelen enfeksiyonaları prontosille tedavi

etmelerinden sonra antiinfeksiyöz kemoterapide ilk adım atılmış oldu. Bir yıl sonra da prontosilin aktif metaboliti olan sülfanilamid sentez edildi. Bu tarihten sonra 30 yıl içinde sülfonamid grubunun (-SO₂NH₂) N₁ pozisyonundaki değişikliklerle yüzden fazla türev elde edilerek tedaviye sunulmuştur (Dökmeci, 1992). Bakterisid ve daha güçlü olan penisilinlerin ve diğer birçok antibiyotiğin tedavi alanına girmesi ve bakterilerde sülfonamitlere zamanla direnç gelişmesi sonucu, önemleri ve kullanılış yerleri giderek azalmıştır; fakat bugün de, eskisi kadar olmamakla beraber, az sayıda infeksiyon hastalığına karşı alternatif ilaç olarak başarılı şekilde kullanılmaktadırlar. Ucuz tedaviye olanak veren ilaçlardır. Ancak tek başına sülfonamid içeren müstahzar Türkiye’de artık pek çıkarılmamaktadır (Kayaalp, 2002).

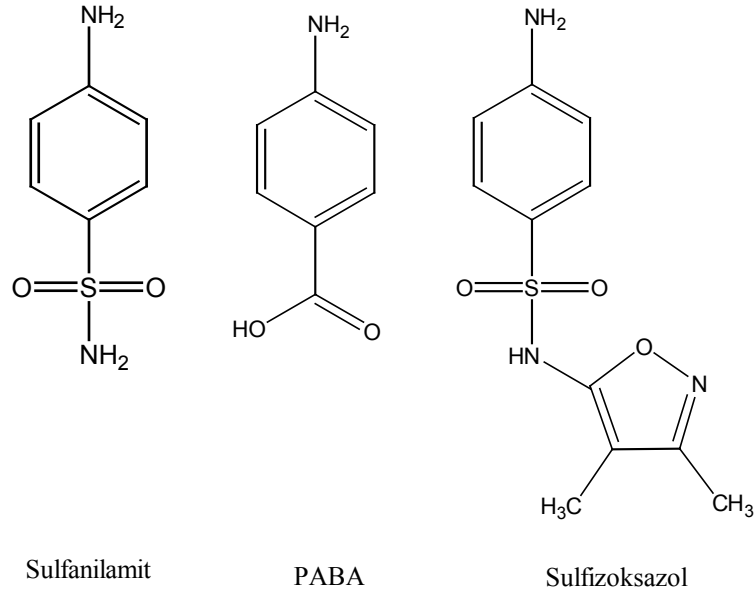
Sülfonamitler, esas itibariyle para-aminobenzensülfonamid (diğer adıyla sülfanilamid) maddesinin türevleridir. Bu maddenin sülfonamid (-SO₂NH₂) grubundaki azot atomunda hidrojen atomlarından birinin yerine uygun radikaller bağlanarak çeşitli sülfonamid türevleri sentezlenmiştir (Kayaalp, 2002).

2.4.2. Antibakteriyal etki mekanizması

Sülfonamitlere duyarlı olan bakteri ve diğer mikroorganizmalar, membranları folikaside (dihidrofolik aside) geçirgen olmadığı için bu maddeyi dışarıdan sitoplazmalarının içine alamazlar; onu sentezlemek zorundadırlar. Dışarıdan aldıkları prekürsör madde olan PABA’yı (paraaminobenzoik asit) pteridinle dihidropteroat sentetaz eşliğinde birleştirilerek dihidropteroik asit, dihidrofolat sentetaz eşliğinde dihidrofolik aside dönüştürülür. Sülfonamitlerin etkisi altında dihidropteroik asit sentezi azalınca, dihidrofolik asidin, ve ondan dihidrofolat redüktaz enzimi aracılığıyla oluşturulan tetrahidrofolik asidin yapımı azalır. Sonuçta purin bazları (adenin ve guanidin) ve timidin yapımını sağlayan enzimlerin kofaktörü olan dihidrofolat türevleri yapılamaz ve bakterilerde DNA ve RNA sentezi bozulur; metionin ve glisin sentezi de azalır. İnsan, folik asidi (vit B₉) besinler içinde hazır olarak alır ve insan hücreleri folik aside karşı geçirgendir. Bu nedenle sülfonamitler memeli hücrelerinde yukarıda belirtilen öğelerin sentezini bozmazlar (Kayaalp, 2002).

Sülfonamidlerin yapısı PABA'ya benzediğinden, bakterilerin bünyesinde gerekli olan ve dışarıdan sağlanan bu madde (PABA) ile sülfonamidler yalancı substrat gibi etkileşerek kompetisyona girmektedir. *In vitro* ve *in vivo* ortamda PABA konsantrasyonundaki bu artış sülfonamidlerin aktivitesini azaltmaktadır (Dökmeci, 1992).

Sülfonamidlerin dihidrofolat redüktaz enzimi üzerine etkisi yoktur. Bu enzim diaminopirimidin türevi ilaçlar olan trimetoprim ve pirimetamin tarafından inhibe edilir. Sülfonamidler ve trimetoprim aynı son ürünlerin sentez yolağı üzerinde farklı iki noktayı etkilediğinden yani ardışık-blok yaptıklarından birbirlerinin antibakteriyel etkinliğini potansiyalize ederler. Bu iki ilaç ko-trimoksazol denilen kombinasyon şeklinde ve benzer kombinasyonlarda yeni farmasötik şekil içinde kullanılırlar.



Şekil 2.5. Sülfonamidler ve PABA arasındaki yapı benzerliği

Sülfonamidlerin etkisi bakteriyo statiktir. Çok yüksek konsantrasyonda bakterisid etki yapabilirler. İdrarla serbest sülfonamid konsantrasyonu plazmadakinin 10-20 katına çıkabilir. Bu nedenle sülfonamidler idrarda bakterisid etki gösterebilirler. Ko-trimoksazol genellikle bakterisid etki gösterir (Kayaalp, 2002).

2.4.3. Antimikrobik spektrum

Sülfonamidler ilk çıktıkları zaman genişçe bir spektruma sahiptiler. Altmış yılı aşkın kullanım süreleri içinde birçok bakteri türü bu ilaçlara karşı rezistans (direnc) kazanmıştır (Dökmeci, 1992).

2.4.4. Direnc oluşması

Bakteriler PABA sentezinin artmasıyla yada dihidropteroat sentetazda meydana gelen bir değişiklikle sülfonamidlere direnc oluşturabilirler. Ayrıca direnc plazmidler tarafından da taşınabilmekte ve bunun sonucu olarak da sülfonamidlerin dihidropteroat sentetaza afinitelerinde bir azalma yada bakteri çeperinin geçirgenliğinde bir azalma meydana gelmektedir.

Diaminoprimidinlere direnc şekillenmesi dihidrofolat redüktaz enzimi yapımının artmasıyla olmaktadır. Bu direnc oluşumu sülfonamidlerle bu antibiyotiklerin kombinasyonu (ko-trimoksazol) durumunda azalmaktadır. Ayrıca bakteri plazmidleri diaminoprimidinlerin enzimi kodlayarak da direnc oluşabilmektedir.

Sülfonamidler ve diaminoprimidinlere karşı direnc oluşması hızlı olmaktadır. Bu antibiyotiklerin kombinasyonları direnc oluşmasını belirgin bir şekilde geciktirmektedir. Sülfonamid türevleri arasında çapraz direnc vardır. Birine dirençli olan diğerine de dirençlidir. Ancak, sülfonamidlere dirençli suşlar, sülfonamid–diaminoprimidin kombinasyonuna duyarlı olabilirler, fakat tersi durum olmaz (Dökmeci, 1992).

2.4.5. Sülfonamidlerin farmakokinetiği

Sülfonamidlerin farmakokinetik özellikleri, ilaçlar arasında değişiklik gösterir. Bu değişkenlik ilaçlar arasında etkinlik yönünden nicel farkların oluşmasına neden olur.

Sülfonamidler sistemik etki oluşturmak için oral yoldan uygulanan sülfonamidlerin absorpsiyonları, yani biyo yararlılıkları oldukça iyidir (% 70–80). Sülfonamidler oral veya parental yoldan uygulanırlar. Bu nedenle tedaviye yeni giren sülfonamidlerin oral kullanımları tercih edilmektedir.. Absorpsiyon genellikle ince bağırsaklarda olmakta ve 4–6 saat içinde serum konsantrasyon piki oluşturmaktadır. Plazma proteinlerine bağlanmaları, farklı sülfonamidlerin fiziko–şimik özelliklerine göre % 50–93 arasında değişiklik göstermektedir.

Sülfonamidler tüm dokuların interstisyel sıvısına ve menenjit durumunda BOS içine yeterli düzeyde dağılırlar. Günümüzde, enterobakteri yada *Listeria monocytogenesten* ileri gelen bazı menenjitler ko–trimoksazolle tedavi edilebilmektedir. Fötüs kanına ve anne sütüne hızlı bir şekilde geçerler.

Sülfonamidler karaciğerde asetilasyonla (N₄ pozisyonunda asetillenme) inaktif metabolitlere dönüşürler. Sülfonamidlerin asetilasyonu bireyler arasında farklılık gösterebilmektedir. İsoniazid’i hızlı inaktive eden bireyler sülfonamidleri de hızlı inaktive ederler. N–asetilasyonla oluşan metabolitler suda az çözünürler ve üriner sistemde presipitasyon (çökelti) oluştururlar. Yani sülfonamid türevlerinde asetilasyon oranı düşüktür (% 16) ve asetilli metabolitleri de kendileri gibi suda iyi çözdüklerinden üriner sistemde çökelti yapıp kristüleri oluşturma riski taşımazlar (Dökmeci, 1992).

2.4.6. Sülfonamidlerin kullanışlarına göre sınıflandırılması

Sülfonamid türevleri esas itibariyle absorpsiyon hızı, plazma proteinlerine bağlanma oranı,dağılım eğilimi, itrah hızı eliminasyon yarılanma ömrü ve dolayısıyla etki süresi gibi farmakokinetik özellikleri yönünden farklılık gösterirler. Bu özellikleri kullanım yerleri göz önünde tutularak aşağıdaki şekilde sınıflandırılır.

2.4.6.1. Kısa ve orta etkili sülfonamidler

Sistemik infeksiyonların tedavisinde kullanılan sülfonamidler kısa ve orta etkili olanlardır. Kısa etkili olanların yarılanma ömürleri 4–7 saattir; orta etkili olanların yarılanma ömürleri 10–20 saattir.

Sülfadiazin: Vücutta görece az asetillenen, gerek kendisinin ve gerekse asetil türevinin suda çözünürlüğü ilk çıkan sülfonamidlere göre oldukça fazla olan bir türevidir. Yarılanma ömrü 10–20 saattir.

Sülfizoksazol: Gerek serbest ve gerekse asetillenmiş şeklinin suda çözünürlüğü çok yüksektir. Nötür hatta asit ortamda bile kristalize olmaz. Böbrek üzerine toksik etkisi azdır. Eliminasyon yarılanma ömrü 6 saat kadardır. Sistemik infeksiyonların ve idrar yolu infeksiyonlarının tedavisinde en fazla tercih edilen sülfonamittir.

Sulfametoksazol: Yapı bakımından sülfizoksazola çok benzeyen bir sülfonamittir. Ona göre mide–bağırsak kanalından absorpsiyonu daha yavaştır. Etki süresi bu gruptaki ilaçların çoğundan uzun, fakat depo sülfonamidlerden daha kısadır. Sülfametoksazol ile tedavi sırasında günde en az 1.5 litre su alınması tavsiye edilir; fakat idrarın bazikleştirilmesi gerekmez. Trimetoprim ile sabit doz oranlı kombinasyonu (ko–trimoksazol) şeklinde de kullanılır.

2.4.6.2. Uzun etkili sülfonamidler (Depo sülfonamidler)

Bu gruptaki ilaçların itrahları daha önce açıklanan farmakokinetik özellikleri nedeniyle birinci gruptaki ilaçlara göre çok yavaştır. Renal klerensleri 1–3 ml/dk kadardır. İtrahları yavaş olduğu için yarılanma ömürleri uzundur (30–150). Genellikle günde bir kez ağızdan verilmek suretiyle kullanılmışlardır.

2.4.6.3. Özel kullanılış yerlerine göre sülfonamidler

2.4.6.3.1. Lokal kullanılanlar

Sulfasetamid: Suda, sulfadiazine göre 90 kez daha fazla çözünür. İdrar yolu infeksiyonlarının tedavisinde kullanılmıştır. Sodyum tuzunun % 30'luk solüsyonu veya % 10'luk krem göze lokal uygulanabilir.

2.4.6.3.2. Yanık tedavisinde lokal kullanılanlar

Bunlar gümüş-sülfadiazin ve marfanildir.

Gümüş-sülfadiazin: Yanık tedavisinde lokal kullanılan bir sülfonamid türevidir. Antibakteriyal etkiliği kısmen içindeki gümüşe bağlı olduğundan bu ilaç antiseptik ve dezenfektan özelliindedir.

Marfanil (mafenid): Dermatitlere karşı % 2-5'lik merhem ve yanık tedavisinde % 10'luk krem şeklinde lokal uygulanan bir ilaçtır. Her ne kadar sülfonamid grubu içerirse de para-amino grubunun metil ile substitüe edilmiş olması bakımından diğer sülfonamidlerden ayrılır. Yanık ciltten absorbe edilen ilaç, karbonik anhidraz enzimini inhibe ederek diüretik etki yapabilir ve hiperkloremik asidoz oluşturabilir. Aynı yerde kullanılan, ağrı yapmayan ve daha geniş etkinlik spektrumu gösteren gümüş-sülfadiazinin çıkmasıyla bu ilacın önemi azalmıştır (Kayaapl, 2002).

2.4.6.3.3. Ülseratif kolit ve romatoid artrit tedavisinde kullanılan sulfonamid

Bu grupta sulfapiridin türevi olan sulfasalazin bulunur ve daha çok onun piridinsiz türevleri bu indikasyonda kullanılır (Kayaapl, 2002).

2.4.7. Yan Etkileri

Yan etkileri bulantı, kusma,ve diyare gibi G_1 reaksiyonları; döküntü, Steve-Johnson sendromu, vaskülit, serum hastalığı, anafilaksi ve anjiyödem gibi aşırı duyarlılık reaksiyonları; kristaluri, oliguri ve anuri; methemoglobinemi, granülositoz, trombositopeni, yeni doğanda kerniterus ve G6PD noksanlığı olan hastalarda hemolitik anemi gibi hemotolojik reaksiyonlar; fotosentivite; perferik nörit, insomni ve baş ağrısı gibi nörolojik yan etkilerdir. Steve-Johnson sendromunun uzun etkili sülfonamitlerle kısa etkililere göre daha sık etkili olduğu sanılmaktadır. Sülfonamitlerin termdeki anne veya yeni doğana verilmesi kernikterusla sonuçlanabilir çünkü sülfonamitler yeni doğanda bilirubini albuminden ayrılırlar. Bu nedenle terme yakın gebelerde ve yeni doğanlara sülfonamit verilmemelidir. Diğer yan etkileri hipotiroidi, hepatit, sülfonilüre etkisini potansiyalize etmelerine bağlı hipoglisemi ve kumarin antikoagulanların etkisinin potansiyalize olmasıdır. Sessiz gidişli SLE bildirilmiştir. Yan etki insidesi çeşitli sülfonamitler için farklıdır ancak çapraz-duyarlılık sık görülür (Keklikoğlu ve Tuzcu, 1995).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan araç ve gereçler

- Cam malzeme olarak; tek, iki ve üç boyunlu çeşitli ebatlarda balon, geri soğutucu, huni, adaptör, erlen, beher, büret, deney tüpü, kılcal boru ve mezürler.
- Manyetik karıştırıcı, manyetik balık.
- Spor, kısıkaç.
- Yağ banyosu, su banyosu.
- Termometre.
- Buzdolabı.
- Baget, piset, puvar, pipet.
- İnce tabaka kromatografisi (TLC) için TLC aliminyum plakalar DC-Alufolien 60 F 254 TLC (Merck).
- UV spektroskopisi için Quartz küvetler.

3.1.2. Kullanılan cihazlar

- **UV Lambası:** Camag UV-Lamb (254-366 nm).
- **Hassas Terazı:** Sartorius CP 224 S.
- **Rotary Evapartör:** Heidolph Laborta 4003 –contral.
- **Erime Noktası Tayin Cihazı:** Stuart Scientific Melting Point Apparatus.
- **Etüv:** Nüve FN 500, Safety Thermostat.
- **pH Metre:** Crison pH Meter Basic 20.
- **FT-IR Spektrofotometre:** Perkin Elmer Spektrum.
- **UV-Vis Spektrofotometre:** Shimadzu UV Mini 1240 UV-Vis Spektrometre.

- **¹H NMR:** BRUKER DPX-400, 400 MHz Dijital FT-NMR Spektrometre (Tübitak laboratuvarı).
- **¹³C NMR:** BRUKER Am-400 Spektrometre 62.9 MHz (Tübitak laboratuvarı).
- **Elementel Analiz:** LECO CHNS 932 (Tübitak laboratuvarı).
- **Kütle Spektrometrisi:** Agilent 1100 LC-MS (Tübitak laboratuvarı).

3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler

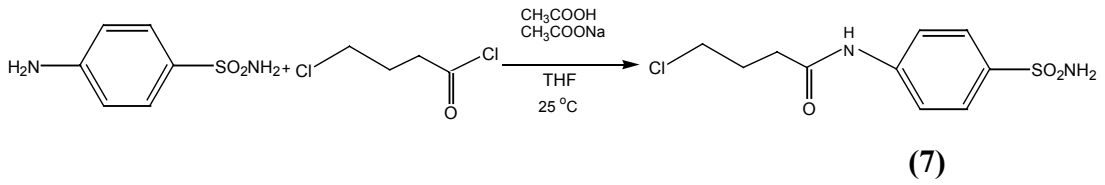
- **Sülfanilamid:** Yeni karbonik anhidraz inhibitörleri sentezinde ilk basamakta başlangıç maddesi olarak kullanıldı,
- **4-Kloro bütanoil klorür:** 4-(4-klorobütanoilamino)-benzensülfonamid sentezinde kullanıldı.
- **Morfolin:** Karbonik anhidraz inhibitörlerinin sentezinde son basamakta kullanıldı.
- **4-Metil piperidin:** Karbonik anhidraz inhibitörlerinin sentezinde son basamakta kullanıldı.
- **1-Metil piperazin:** Karbonik anhidraz inhibitörlerinin sentezinde son basamakta kullanıldı.
- **1-Benzil piperazin:** Karbonik anhidraz inhibitörlerinin sentezinde son basamakta kullanıldı.
- **Etil alkol:** Çözücü olarak TLC analizinde ve ürünü kristallendirme aşamalarında kullanıldı.
- **Tetrahidrofuran (THF):** Sentez basamaklarında çözücü olarak kullanıldı.
- **Asetik asit:** 4-(4-klorobütanoilamino)-benzensülfonamid sentezinde tampon sisteminde kullanıldı.
- **Sodyum asetat:** 4-(4-klorobütanoilamino)-benzensülfonamid sentezinde tampon sisteminde kullanıldı.
- **Etil asetat:** TLC analizlerinde ve ürünlerin saflaştırılmasında kullanıldı.
- **Dietileter:** Bölme katsayısı ölçümlerinde ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanıldı.
- **Trietilamin (TEA):** Baz olarak kullanıldı.

- **Metil alkol:** Çözücü olarak kullanıldı.
- **Diklormetan (DCM):** Çözücü olarak kullanıldı.
- **Hekzan:** Çözücü olarak kullanıldı.
- **Aseton:** Çözücü olarak kullanıldı.
- **Kalsiyum klorür(CaCl₂):** Nem tutucu olarak kullanıldı.
- **p-Nitrofenilasetat:** Biyolojik çalışmada substrat çözeltisi hazırlamak için kullanıldı.
- **Trishidroksimetilaminometan:** TRİS tamponunun hazırlanmasında kullanıldı.
- **Sodyum bikarbonat:** Ortamın bazikleştirilmesi için kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Sentez

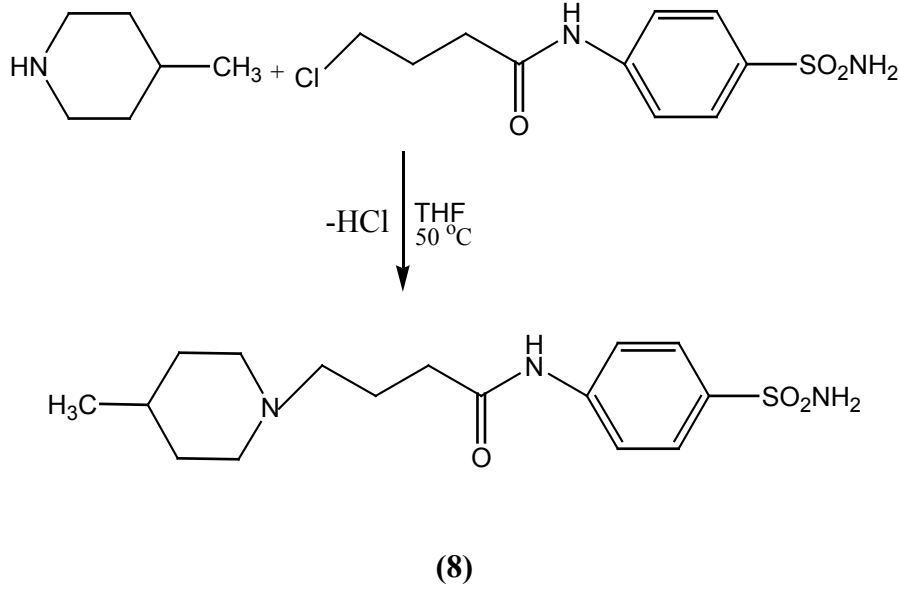
3.2.1.1. 4-(4-klorobütanoilamino)-benzensülfonamit (7) sentezi



Şekil 3.1. 4-(4-klorobütanoilamino)-benzensülfonamit (7) sentezi

4-(4-klorobütanoilamino)-benzensülfonamitin sentezi için 250 ml'lik bir balona (10 g, 58 mmol) sülfanilamit koyulup tetrahidrofuranda çözüldü sonra (4.16 g, 69 mmol) asetik asit ve (5.7 g, 69.5 mmol) sodyum asetat eklendi tamamen çözüldükten sonra THF' de çözülen (9.36 g, 66 mmol) 4-kloropropanoilklorürü damla damla eklendi. Reaksiyon çok hızlı olduğundan önce buz banyosunda daha sonra oda koşullarıyla devam edildi. Buz banyosunda az tuz oluşumu gözlenirken oda sıcaklığında reaksiyonun daha da hızlı olduğu 3.5 saat sonra gözlemlendi. Reaksiyonun bittiği ince tabaka kromatografisinde (TLC) 72 saat sonra anlaşıldı. Çözücü sistemi olarak etilasetat:etilalkol/5:1 oranında kullanıldı. Daha sonra süzülde, sıvı kısım evaporatörde uçuruldu. Kurutuldu ve tartım sonucunda 7.04 g madde elde edildi. Verim: % 44, erime noktası: 186 °C. Elde edilen bileşiğin kapalı formülü: C₁₀H₁₃SO₃N₂Cl.

3.2.1.2. 4-(4-metilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (8) sentezi

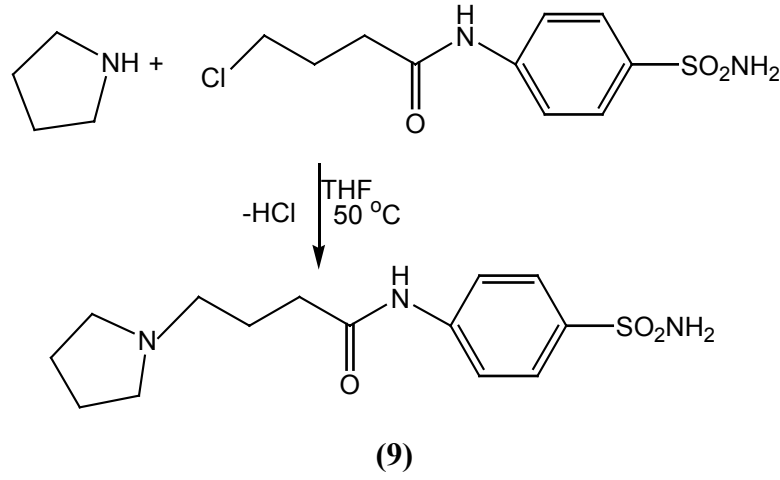


Şekil 3.2. 4-(4-metilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamitin (8) sentezi

250 ml'lik çift boyunlu bir balona (5 g, 18.08 mmol) 4-(4-klorobütanoilamino)-benzensülfonamit maddesinden alındı 40 ml THF'de çözüldü ve yine 20 ml THF'de çözülen (5.31 g, 53.6 mmol) 4-metilpiperidin yavaş yavaş oda sıcaklığında eklenmeye başlandı. 2 gün sonra TLC'ye (etilasetat:etilalkol/5:1) bakıldı biraz ürün oluştuğu gözlemlendi. Daha sonra reaksiyonun hızlanması için sıcaklık 50 °C'ye kadar çıkarıldı ve 6 gün sonra TLC' de reaksiyonun bitmiş olduğu gözlemlendi. Çözücü evaporatörde uçuruldu ancak tamamen kurumadı bundan dolayı freeze dryerda uçurilmaya çalışıldı yeşilimsi kristaller gözlemlendi. Daha sonra etil alkol ve etilasetat çözücülerinde kristallendirildi.

Süzülüp tartıldı 1.04 g madde elde edildi. Verim % 26,erime noktası 209 °C, kapalı formülü C₁₅H₂₅SO₃N₃'tür.

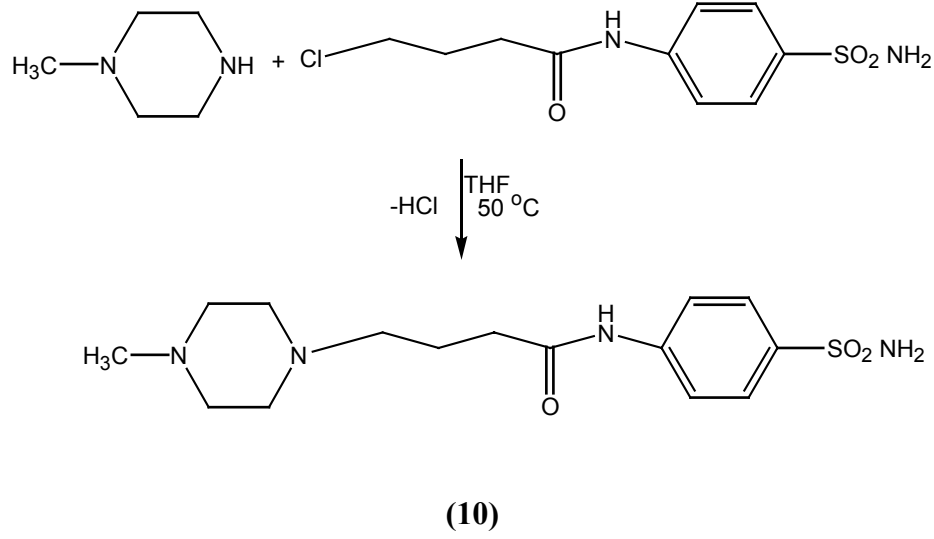
3.2.1.3. 4-(4-pirrolidinbütanoilamino)-benzensülfonamit (9) sentezi



Şekil 3.3. 4-(4-pirrolidinbütanoilamino)-benzensülfonamit (9) sentezi

Sentezlenecek bileşik için 250 ml çift boyunlu bir balonda (5 g, 18.08 mmol) 4-(4-klorbütanoilamino)-benzensülfonamit manyetik karıştırıcı yardımıyla 60 ml THF’de çözüldü ve üzerine oda sıcaklığında 40 ml THF’de çözülmüş (3.2 g, 45. mmol) pirrolidin damla damla eklendi. İlk gün reaksiyona oda sıcaklığında devam edildi ama TLC’de reaksiyonun yavaş olduğu gözlenince sıcaklık 50 °C’ye çıkarıldı. Çözelti koyu sarı renge dönüştü. TLC’de 5:1/etilasetat:etilalkol kullanıldı. 5 gün sonunda reaksiyonun bittiği TLC’ye bakılarak anlaşıldı. Çözücü evaporatörde uçuruldu ama jelimsi bir şekil aldı. Daha sonra freeze dryerda uçuruldu beyaz köpükler oluşmaya başladı üzerine etilasetat ve eter eklenerek kristallendirildi, süzülme ,kurutuldu ve tartıldı. Sonuçta 4.17 g madde elde edilmiş oldu. Verim % 72.6, erime noktası 203 °C ve kapalı formülü C₁₄H₂₁SO₃N₃’tür.

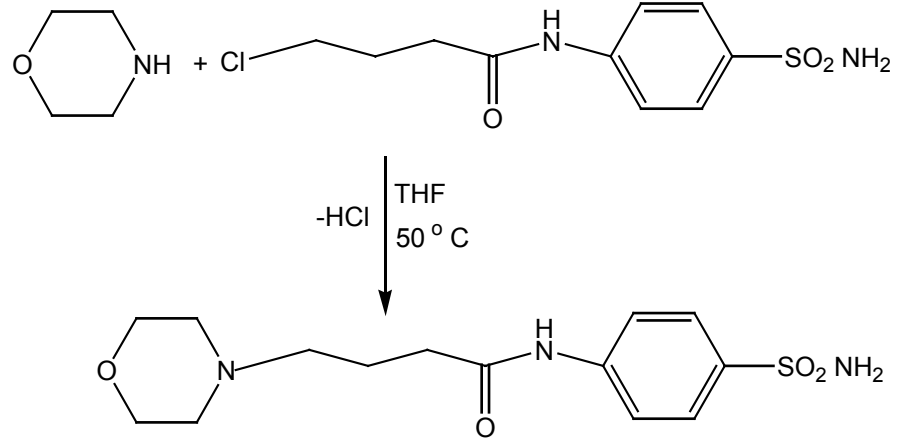
3.2.1.4. 4-(4-metilpiperazinobütanoilamino)-benzensülfonamit (10) sentezi



Şekil 3.4. 4-(4-metilpiperazinobütanoilamino)-benzensülfonamit (10) sentezi

(3 g, 10.8 mmol) 4-(4-klorbütanoilamino)-benzensülfonamit maddesi 60 ml THF’de çözüldü ve manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Daha sonra 40 ml THF’de çözülen (3.24 g, 32.4 mmol) 1-metilpiperazin oda sıcaklığında damla damla ilave edilerek reaksiyona devam edildi. 1 gün sonra TLC’ye (etilasetat:etilalkol/5:1) bakıldı. Reaksiyonun çok yavaş yürüdüğü gözlemlendi. Reaksiyonun hızını artırmak için sıcaklık 50 °C’ye çıkarıldı. Reaksiyonun rengi sarımsı bir renk aldı. 9. gün sonunda TLC’den reaksiyonun neredeyse bittiği anlaşıldı. Reaksiyon düzeneği söküldü çözücü uçuruldu. Kristal elde edilemedi. Numune freeze dryer’a alındı yine kristal gözlenmedi. Balondaki madde ekstraksiyon balonuna alındı üzerine suda çözülmüş NaHCO₃ eklendi ve onun üzerine de etilasetat eklenerek ekstraksiyon yapıldı. Etilasetat fazında çökme meydana geldi. Etilasetat fazında TLC’de bir spot gözlemlendi. Etilasetat uçuruldu, madde kurutulup tartıldı. 1.5 g madde elde edildi. Verim % 41, erime noktası 189 °C ve kapalı formülü C₁₅H₂₄SO₃N₄’tür.

3.2.1.5. 4-(4-morfolinobütanoilamino)-benzensülfonamit (11) sentezi

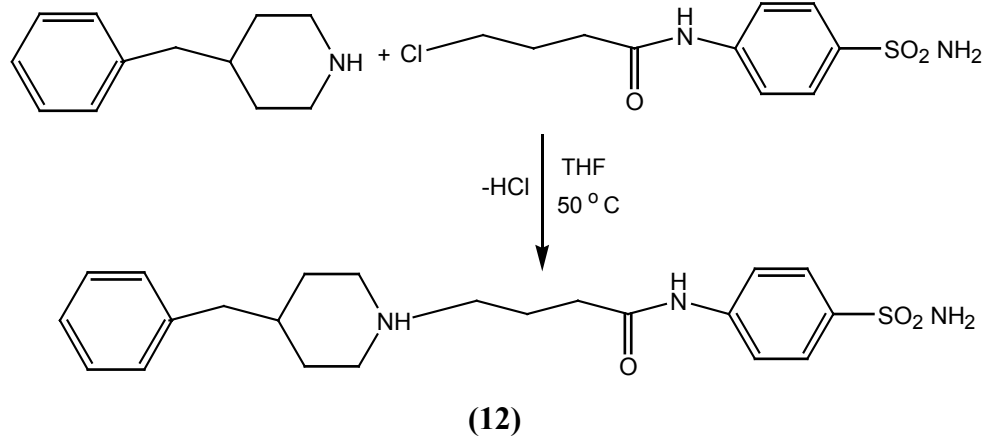


(11)

Şekil 3.5. 4-(4-morfolinobütanoilamino)-benzensülfonamit (11) sentezi

250 ml'lik şilifli bir balona (1 g, 3.6 mmol) 4-(4-klorbütanoilamino)-benzensülfonamit eklendi ve üzerine 60 ml THF eklenerek manyetik karıştırıcıyla karıştırılarak çözüldü, daha sonra 40 ml THF'de çözülen (0.95 g, 10.9 mmol) morfolin oda sıcaklığında damla damla eklendi. Bir gün sonra TLC'ye (etilasetat:etilalkol/5:1) bakıldı çok az ürün oluştuğu gözlenince sıcaklık 50 °C'ye çıkarıldı. 10 gün sonra TLC'de aynı çözücüyle yapılan yürütmeye çok az bir başlangıç maddesi gözlendi düzenek söküldü. Çözücü uçuruldu. Jelimsi bir madde elde edildi. Etilasetat eklendi kristal gözlenmedi. Eter eklenince önce beyazlaştı sonra eski haline döndü. Etilasetat ve suyla ekstraksiyon yapıldı ama yine ayrılmadı. Sonunda 6:1 oranında etilasetat/etilalkolle kolon kromatografisi yapıldı ve madde saf olarak elde edildi. Kolondaki tek spotlar bir balona alınarak çözücü uçuruldu. Madde kurutulularak tartıldı ve tartım sonunda 0.58 g madde elde edildi. Verim % 50, erime noktası 179 °C ve kapalı formülü C₁₄H₂₁SO₄N₃'tür.

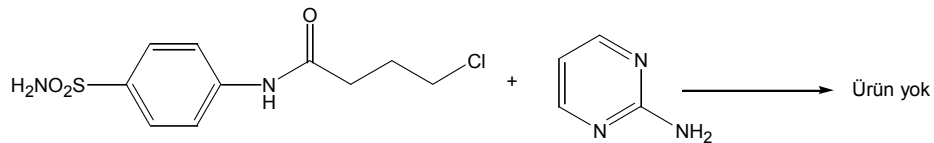
3.2.1.6. 4-(4-benzilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (12) sentezi



Şekil 3.6. 4-(4-benzilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (12) sentezi

250 ml'lik şilifli bir balona (1 g, 3.6 mmol) 4-(4-klorbütanoilamino)-benzensülfonamit eklendi ve üzerine 60 ml THF eklenerek manyetik karıştırıcıyla karıştırılarak çözüldü, 0.55 TEA balona eklendi, daha sonra 40 ml THF'de çözülen (0.706 g, 4.03 mmol) 4-benzilpiperidin damla damla eklendi. Önce reaksiyona oda sıcaklığında devam edildi. Bir gün sonra TLC'ye (etilasetat:etilalko/5:1 çözücü sisteminde) bakıldı. Reaksiyonun yavaş yürüdüğü gözlemlendi. Sıcaklık 50 °C'ye çıkarıldı. 9. gün sonunda reaksiyonun bittiği gözlemlendi. Düzenek söküldü çözücü uçuruldu ama jelimsi olarak elde edildi. Etilasetat ve etil alkolde kristallenme olmadı. Daha sonra freeze dryer'da kurutulmaya çalışıldı ama yine jel halindeydi. Bunun üzerine 6:1 oranında etilasetat:etilalkol çözücü sisteminde kolon kromatografisi yapıldı ve bileşik saf olarak elde edildi. Kurutulan madde 0.944 g olarak tartım sonunda elde edildi. Verim % 63, erime noktası 179 °C ve kapalı formülü $C_{22}H_{29}SO_3N_3$ 'tür.

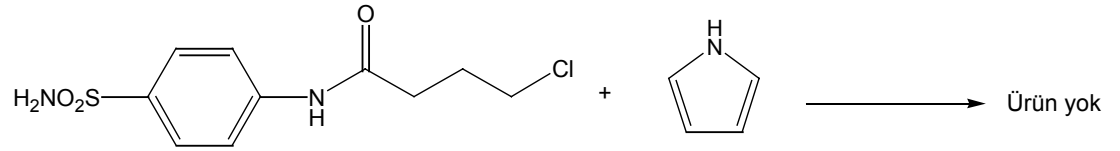
3.2.1.7. 4-(4-aminopirimidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (13) sentez çalışması



Şekil 3.7. 4-(4-aminopirimidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (13) sentezi

100 ml'lik şilifli bir balona (0.1 g, 0.36 mmol) 4-(4-klorbütanoilamino)-benzensülfonamit eklendi ve üzerine 30 ml THF eklenerek manyetik karıştırıcıyla karıştırılarak çözüldü, daha sonra 20 ml THF'de çözülen (0.0687 g, 0.72 mmol) 2-aminopirimidin oda sıcaklığında damla damla eklendi. 1 gün sonra TLC'ye (etilasetat:etilalkol/5:1 çözücü sisteminde) bakıldı. Reaksiyonun yavaş yürüdüğü gözlemlendi. Sıcaklık 50 °C'ye çıkarıldı. 9. gün sonunda yeterince madde oluşmadığı anlaşıldı ve reaksiyona son verildi.

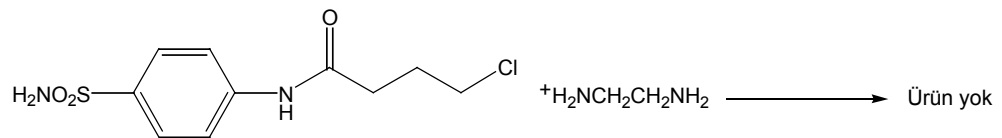
3.2.1.8. 4-(4-pirrolbütanoilamino)-benzensülfonamit (14) sentezi



Şekil 3.8. 4-(4-pirrolbütanoilamino)-benzensülfonamit (14) sentezi

100 ml'lik şilifli balona 0.1 g (0.36mmol) 4-(4-klorbütanoilamino)-benzensülfonamit eklendi ve üzerine 30 ml THF eklenerek manyetik karıştırıcıyla karıştırılarak çözüldü, daha sonra 20 ml THF'de çözülen pirrol (0.048 g, 0.72 mmol) oda sıcaklığında damla damla eklendi. 1 gün sonra TLC'ye (etilasetat:etilalkol/5:1 çözücü sisteminde) bakıldı. Reaksiyonun yavaş yürüdüğü gözlemlendi. Sıcaklık 50 °C'ye çıkarıldı. 8. gün sonunda yeterince madde oluşmadığı anlaşıldı ve reaksiyona son verildi.

3.2.1.9. 4-(4-etilendiaminobütanoilamino)-benzensülfonamit (15) sentezil



Şekil 3.9. 4-(4-etilendiaminobütanoilamino)-benzensülfonamit (15) sentezi

100 ml'lik şilifli bir balona (0.2 g, 0.72 mmol) 4-(4-klorbütanoilamino)-benzensülfonamit eklendi ve üzerine 30 ml THF eklenerek manyetik karıştırıcıyla

karıştırılarak çözüldü, daha sonra 20 ml THF’de çözülen etilendiamin (0.86 g, 1.45 mmol) oda sıcaklığında damla damla eklendi. Ortam bulanıklaştı. 1 gün sonra TLC’ye (etilasetat:etilalkol/5:1 çözücü sisteminde) bakıldı. Dipte çökmüş bir sarımsı madde gözlemlendi. Reaksiyonun yavaş yürüdüğü gözlemlendi. Sıcaklık 50 °C’ye çıkarıldı. 8. gün sonunda yeterince madde oluşmadığı anlaşıldı ve reaksiyona son verildi.

3.2.2. Biyolojik çalışma

Bu çalışmada sentezlenen yeni bileşiklerin (in vitro) inhibitör aktivite ölçümleri (IC₅₀) yapıldı.

İnhibitörlerin birbirleriyle kıyaslanmasında iki sabit vardır, bunlardan biri inhibitör enzim ayrışma sabiti olan K_i, ikincisi inhibitör enzim bağlama sabiti olan IC₅₀’dir.

Sentezlenen yeni bileşiklerin sudaki çözünürlükleri, bölme katsayısı ve inhibitör aktiviteleri incelenmiştir. İnhibitör aktivitesi IC₅₀, bölme katsayısı P_{eter}/P_{su}, sudaki çözünürlükleri ise g/100ml olarak verilmiştir.

3.2.2.1. Sentezlenen bileşiklerin IC₅₀ değerinin hesaplanması

İlaç olarak kullanılan maddelerin aktivitesi IC₅₀ değeri ile ifade edilir. IC₅₀ değeri enzimin % 50’sinin inhibe olması için gerekli olan molar konsantrasyonudur. Bu değerin saptanması için Aldrich firmasından sağlanan Sığır Karbonik Anhidraz Enzimi standart olarak kullanılmıştır.

Yapılan çalışmalara uygun olarak inhibitör aktivitelerinin ölçümünde 348 nm dalga boyunda enzimin etkisiyle p-nitro fenilasetatın hidrolizi incelenmiştir. Burada hidroliz sonunda p-nitro fenol oluşmaktadır (Pocker ve ark., 1967). Bizim yaptığımız çalışmalarda Erel ve arkadaşlarının (2002) yaptığı çalışmalarda p-nitrofenolün pH

7.7 ile 9.1 arasında 400 nm dalga boyundaki maksimum absorpsiyonu 348 nm dalga boyundakinden daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu nedenle inhibitör aktivite ölçümleri ideal pH olan 8.3'de 348 nm yerine 400 nm dalga boyunda Erel yöntemiyle yapılmıştır.

3.2.2.2. Bölme katsayısı ölçümü

Bölme katsayısı ölçümünde sentezlenen maddelerin eter-su çözücü sistemi kullanılarak (Hansch, 1964) tekniği ile ölçülmüştür. Bölme katsayısı aşağıdaki şekilde ifade edilebilir.

$$P = C_o C_w (1 - \alpha)$$

Burada P: bölme katsayısı C_o : bileşiğin eter fazındaki konsantrasyonu C_w : bileşiğin su fazındaki konsantrasyonu α : bileşiğin sudaki dissosiyasyon derecesi. Göz içi dokulara iyi dağılım olması için bölme katsayısı değeri en az 0.01 olmalıdır. Asetazolamidin bölme katsayısı 0.14'dür. Sentezlenen bileşiklerden beklenen ve istenen sonuç daha yüksek bölme katsayısı değerleridir.

3.2.2.2.1. Bölme katsayısının belirlenmesi

Bölme katsayısı bir maddenin birbirine karışmayan iki sıvı arasındaki faz dağılım dengesidir. Sentezlenen bileşiklerin bölme katsayılarının hesaplanması için % 0.01'lik çözeltileri hazırlandı. Standart grafiklerinin çizilmesi için değişik konsantrasyonlara seyreltildi. Seyreltilen çözeltilerin Uv-Vis Spektrofotometre'de absorpsiyonları ve dalga boyları ölçüldü. Belli konsantrasyonda madde miktarı bilinen çözeltiden 5 ml alındı üzerine eşit hacimde eter eklendi ve 5 dakikadan az olmamak şartıyla ekstraksiyon yapıldı. Su fazının absorpsiyonu ölçüldü ve eter fazındaki eter uçurulup su eklenerek absorpsiyonu ölçüldü.

Eter ve su fazındaki maddenin konsantrasyonların bulunması için Uv-Vis Spektrofotometre'de bulunan absorpsiyon ve dalga boyu değerleri excelde grafiğe geçirilerek absorpsiyon-konsantrasyon standart grafikleri çizildi ve hepsinin doğrusal olduğu gözlemlendi.

3.2.2.2. IC₅₀ değerinin saptanması

Asetazolamit, sulfanilamit ve yeni sentezlediğimiz maddelerin (8, 9, 10, 11 ve 12) inhibitör aktiviteleri Bovine Karbonik Anhidraz enzimi üzerinde araştırıldı. Bunun için standart (1000 µg / ml, Sigma) olan Bovine Karbonik Anhidraz enzimi, substrat olarak 3.0 mmol/l p-nitrofenil asetat kullanıldı. Asetazolamit, sulfanilamit ve yeni sentezlenen bileşiklerin deiyonize suda 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 mM konsantrasyonları hazırlandı.

Blank hazırlanması: 1 tane 400 nm'de absorbans vermeyen küvet alındı bu küvet içine 1000 µl tris tamponu + 100 µl deiyonize su + 100 µl enzim ilave edildi. Hazırlanan blank küveti UV-VİS'e konuldu ve 75. saniyede üzerine karbonik anhidraz enziminin substratı 100 µl p-nitrofenilasetat çözeltisi eklendi. 100. saniyeden sonra her 50 saniyede bir 400 nm'de absorbans ölçüldü ve 600. saniyeye kadar reaksiyon kinetiği gözlemlendi.

İnhibitörlerin enzime karşı absorbansı etkilemesi incelendi bunun için: Küvet içine 1000 µl tris tamponu + 100 µl inhibitör + 100 µl enzim ilave edildi.. Hazırlanan çözelti küveti UV-VİS'e konuldu ve 75. saniyede üzerine karbonik anhidraz enziminin substratı 100 µl p-nitrofenilasetat çözeltisi eklendi. 100. saniyeden sonra her 50 saniyede bir 400 nm'de absorbansı ölçüldü. 600. saniyeye kadar reaksiyon kinetiği gözlemlendi.

Bu çalışma hazırlanan 0.1, 0.2, 0.3 ve 0.4 nM konsantrasyonları için ayrı ayrı uygulandı ve ortalamaları alındı. IC₅₀ değerinin saptanması için bilgisayarda % inhibitör değeri kullanılarak Regresyon Analiz Eğrisi çizildi ve sonuçlar IC₅₀ şeklinde verildi.

3.2.2.3. İnhibitörlerin sudaki çözünürlüklerinin hesaplanması

KAI'ler suda iyi çözünmelidir. Etkili bir inhibitörün %1'lik çözeltide iyi çözünmesi gerekmektedir. Maddelerin çözünürlükleri 24,5 °C'de 30 dakikadan az

olmamak şartıyla su banyolu çalkalayıcıda çözüldü, çözünmeyen madde miktarı hesaplandı ve çözünürlük değeri g/100 ml şeklinde verildi.

3.2.2.4. Tampon çözeltisinin hazırlanması

İnhibitör aktivitelerinin ölçülmesinde pH 8.3 olan 0.5 mol/l konsantrasyonunda TRİS tamponu kullanılmıştır. Bunun için tris(hidroksimetil)amino metan bazından 6.06g, 0.05 mol 100 ml deiyonize suda çözüldü. TRİZMA-HCl (Tris (hidroksimetil) aminometanhidroklorit) 7.88 g, 0.05 mol 100 ml deiyonize suda çözülmüştür. Bir manyetik karıştırıcı yardımıyla bir pH metre yardımıyla iki çözelti birbirine karıştırıldı ve HCl ile pH 8.3'e ayarlandı.

3.2.2.5. Substrat solüsyonun hazırlanması

p-nitrofenil asetat (0.0275 g, 0.1518 mol) 1 ml asetonda çözüldü ve deiyonize su ile karıştırılarak 50 ml'ye tamamlandı. Son konsantrasyon 3.0 mmol/l oldu.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Sentezlenen Maddelerin Spektroskopik Yöntemlerle Açıklanması

4.1.1. 4-(4-klorobütanoilamino)-benzensülfonamit (7)

Bu deneyde başlangıç maddesi olarak 1. basamakta sülfanilamit kullanılarak 4-(4-klorobütanoilamino)-benzensülfonamit (7) sentezlenmiştir. Bölüm 3.2.1'de anlatıldığı gibi sentezlendi. Literatürde rastlanmayan bu bileşik yeni yöntemler kullanılarak karakterize edilmiştir.

Bu bileşiğin IR spektrumu KBr tabletleriyle alınmıştır ve EK Şekil 1.1'de görülmektedir. Bu bileşiğin IR spektrumu şekil 3.1'deki yapıyı desteklemektedir. Yapıyı destekleyen titreşim bandları şunlardır: 3356.91, 3317.98, 3219 ve 3130.28 cm^{-1} 'de N-H gerilmeleridir. 2967,61 cm^{-1} 'deki pik ise alifatik C-H gerilmesidir. 1673.34 cm^{-1} 'de amit bandı (-C=O)'dan kaynaklanır. 1595.14,1535.45 cm^{-1} 'de aromatik C=C gerilmesi ve 1458.29,1440.72 cm^{-1} 'de alifatik düzlem içi eğilmesi görülmektedir. 1404.40 cm^{-1} 'de 3. amit bandı (C-N) gerilimi gözlenmektedir. 1364.78 cm^{-1} 'de SO_2 asimetrik gerilmesi, 1326, 1253, 1183, 1174 ve 1154 cm^{-1} 'de alifatik C-H düzlem içi eğilmesi gözlenir. 745.44 cm^{-1} 'de C-Cl gerilmesinden kaynaklanan pik gözlenir.

4.1.2. 4-(4-metilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (8)

Bu çalışmada başlangıç maddesi olarak 1. basamakta elde edilen 4-(4-klorobütanoilamino)-benzensülfonamit ile metilpiperidin reaksiyona sokularak; 4-(4-metilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamit elde edilmiştir. Sentezleme işlemleri Şekil 3.2.' de anlatılmıştır. Elde edilen bileşiğin yapısı aşağıda anlatılacağı

gibi IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR, kütle spektroskopisiyle ve elementel analizle aydınlatılmıştır.

Bu maddenin, reaksiyon bittikten sonra TLC kullanılarak tek spot gözlenmesiyle ve tek erime noktasının gözlenmesine dayanılarak safsızlık içermediği kanısına varılmıştır.

Elde edilen saf (8) bileşiğinin elementel analiz sonuçları çizelge 4.1'de verilmiştir. Bu maddenin deneysel olarak bulunan yüzde atom ağırlıkları ile teorik olarak hesaplanan yüzde atom ağırlıklarının değerlerinin Şekil 3.2'deki yapıyı desteklediği görülmektedir.

Bu bileşiğin IR spektrumu KBr tabletleriyle alınmıştır. (8) bileşiğinin IR spektrumu Ek Şekil 1.2 gösterilmiştir. Yapıyı destekleyen pikler şunlardır: 3313, 3238, 3196, 3118 ve 3056 cm^{-1} gerilmeleri amin (N-H) pikleridir. 2953, 2917, 2850, 2825 ve 2870 cm^{-1} 'deki pikler alifatik C-H gerilmeleridir. 1681 cm^{-1} 'deki pik (C=O) gerilme pikidir. 1638 cm^{-1} 'deki pik N-H 2. amit bandı gerilmesidir. 1593 ve 1534 cm^{-1} aromatik C=C gerilmelerini göstermektedir. 1319 ve 1148 cm^{-1} 'deki pikler C-H düzlem içi simetri eğilmelerini gösterir. 1345 cm^{-1} 'deki pik ise SO_2 asimetric gerilmesini göstermektedir. 1183 cm^{-1} 'deki pik ise SO_2 simetric gerilmesini gösterir. 1098 cm^{-1} 'deki pik C-N gerilmesine aittir. Bu spektrum yapıyı desteklemektedir.

(8) bileşiğinin DMSO içerisinde ^1H NMR spektrumu EK Şekil 2.1'de incelendiğinde 10.19 ppm' de çıkan singlet pikin $-\text{CONH}-$ grubundaki protondan kaynaklandığı ve 7.67–7.82 ppm' de görülen pikin ise aromatik protonlardan kaynaklandığı görülür. Ayrıca 7.11–7.33 ppm' de $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ grubundan kaynaklanan bir pik ortaya çıkmıştır. 2.70-2.90 ppm'deki pik metil piperidine bağlı $-\text{CH}_2-$ den kaynaklanmaktadır. 1.50–1.65 ppm'deki pik ise $-\text{COCH}_2$ protonlarından kaynaklanmaktadır. 2.20–2.45 ppm arasındaki pikler ise $-\text{CH}_2\text{NCH}_2-$ protonlarından kaynaklanmaktadır. 1.64–1.92 ppm $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2-$ protonlarından kaynaklanmaktadır. 0.95-1.25 ppm arasındaki pik $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ alifatik protondan kaynaklanır. 1.20-1.40 ppm'deki pik metilin bağlı olduğu karbondaki protondan kaynaklanır. 0.72–0.95 ppm'deki pik metilden kaynaklanır.

(8) bileşiminin DMSO içinde ^{13}C NMR spektrumu Ek Şekil 3.1’de verilmiştir. Bu spektrum incelendiğinde 172.30 ppm’de $-\text{CONH}$ grubundaki karbon piki görülmektedir. 142.76 ppm’de benzen halkasına $-\text{NHCO}-$ grubunun bağlı olduğu karbondan kaynaklanmaktadır. $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ grubunun bağlı olduğu karbon piki ise 138’de çıkmaktadır. $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ grubuna göre orto konumundaki karbon piki ise 127.08 ppm’de çıkmıştır. $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ grubuna göre meta konumundaki karbon piki ise 118.88 ppm’de çıkmıştır. Piperidindeki azot atomuna bağlı karbon ($-\text{CH}_2\text{-N-}$) piki 58.06 ppm’de çıkmıştır. Piperidin halkasında azota komşu karbonlar ($-\text{CH}_2\text{NCH}_2-$) 53.87 ppm’de pik vermiştir. $-\text{NCOCH}_2$ grubundaki karbon 35.03 ppm’de pik vermiştir. 34.48 ppm’de metil piperidindeki $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2-$ karbonlarından kaynaklanmaktadır. 30.88 ppm’deki pik metilin bağlı olduğu karbondan kaynaklanmaktadır. 22.67 ppm’deki pik ise alifatik karbondan ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$) kaynaklanmaktadır. 22.34 ppm’deki pik ise metildeki karbondan kaynaklanmaktadır.

Kütle spektrumu Ek Şekil 4.1’de verilmiştir. Sentezlenen (8) bileşiminin molekül ağırlığı 339 g/mol’dür. Temel pik spektrumda 340.2 m/z’de çıkmıştır. Metilpiperidindeki azot bağı koparak 242.2 m/z’de pik ortaya çıkmıştır. Daha sonra (N-C) bağı koparak 172.2 m/z’de pik vermiştir.

Yukarıda açıklanan spektrumlar bileşimin yapısını desteklemektedir.

4.1.3. 4-(4-pirrolidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (9)

Bu sentezde 1. basamakta elde edilen 4-(4-klorobütanoilamino)-benzensülfonamit ile pirrolidin reaksiyona sokularak (9) bileşiği elde edilmiştir. Sentezleme işlemleri Bölüm 3.2.3’te anlatılmıştır. Elde edilen bileşimin yapısı IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR, kütle spektroskopisi ve elementel analiz kullanılarak aydınlatılmıştır.

Bu sentezlediğimiz madde TLC kullanılarak, çeşitli çözücülerde yürütülmüş ve tek spot gözlenmesine dayanılarak safsızlık içermediği kanısına varılmıştır.

Elde edilen (9) maddesinin elementel analiz sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir. Bu maddenin deneysel olarak bulunan yüzde kütleleri ile teorik olarak hesaplanan yüzde kütleleri Şekil 3.2.3’teki yapıyı desteklemektedir.

Bu bileşiğin IR spektrumu KBr tabletleriyle alınmıştır. (9) bileşiğinin spektrumu Ek Şekil 1.3’te verilmiştir. Yapıyı tanıtan pikler şunlardır: 3283, 3238, 3172, 3096 ve 3036 cm^{-1} ’deki amin N-H pikleridir. 2686, 2603 ve 2517 cm^{-1} pikleri alifatik C-H gerilmelerine ait piklerdir. 1701 cm^{-1} (C=O) grubuna ait 1. amit bandı gerilmesidir. 1672 cm^{-1} ’deki gerilme ise 2.amit bandı gerilmesi olan N-H gerilmesine aittir. 1591, 1537 ve 1501 cm^{-1} aromatik C-C gerilmesinden kaynaklanan piklerdir. 1463 cm^{-1} ’deki gerilme ise alifatik düzlem içi gerilmesine ait piktir. 1337 cm^{-1} ’deki pik SO_2 grubuna ait asimetric gerilmedir. 1183 cm^{-1} ’deki pik SO_2 grubuna ait simetric gerilme pikidir. 1315 ve 1156 cm^{-1} ’deki pikler C-H düzlem içi simetri eğilmelerini gösterir. 1098 cm^{-1} ’de çıkan pik alifatik C-N gerilmesinden kaynaklanır.

(9) bileşiğinin DMSO içersindeki ^1H NMR spektrumu Ek Şekil 2.2’de gösterilmiştir. Bu spektrum incelendiğinde 10.36-11.45 ppm arasındaki singlet pikin amitteki protondan kaynaklandığı görülür. 7.66-7.97 ppm’de görülen pikin aromatik protonlardan kaynaklandığı görülmektedir. 7.17- 7.43 ppm’de çıkan pik ise – SO_2NH_2 grubundaki protonlardan kaynaklanmaktadır. 3.00-3.38 ppm civarındaki pik pirrolidindeki azota komşu $-\text{CH}_2-$ grubundan kaynaklanmaktadır. 2.40-2.60 ppm arasındaki pik ise $-\text{CH}_2\text{NCH}_2-$ ve $-\text{COCH}_2-$ protonlarında kaynaklanır. 1.60-2.10 ppm arasındaki pik $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ protonlarından ve pirrolidindeki $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2-$ protonlardan kaynaklanır.

(9) bileşiğinin DMSO içindeki ^{13}C NMR spektrumu Ek Şekil 3.2’de verilmiştir. 171.14 ppm’deki pik CONH grubundaki karbondan kaynaklanır. 142.56 ppm’deki pik ise SO_2NH_2 grubuna göre para konumundaki karbondan kaynaklanır. 138.63 ppm’deki pik ise $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ grubunun bağlı olduğu karbon atomundan kaynaklanır. 127.09 ppm’deki pik $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ ’ye göre orto, 119.02 ppm’deki pik ise meta konumundaki eş karbonlardan kaynaklanır. 53.69 ppm’deki pik pirrolidindeki azota bağlı karbondan, 53.27 ppm’deki pik ise halkadaki azota komşu iki karbondan

kaynaklanır. 33.54 ppm'de çıkan pik karbonile bağlı alifatik karbondan kaynaklanmaktadır. 23.17 ppm'deki pik ise pirrolidindeki $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{NCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2-$ karbonlarından kaynaklanmaktadır. 21.48 ppm'deki pik de karbonil grubuna bağlı karbondan kaynaklanmaktadır.

Kütle spektrumu Ek 4.2'de gösterilmiştir. (9) bileşiğinin molekül ağırlığı 311 g/mol'dür. Spektrum incelendiğinde temel pikin 314.1 m/z'de çıktığı görülmektedir. Pirrolün kopmasıyla 241.1 m/z'de bir pik gözlenmektedir.

Tüm bu spektrumlar bileşiğin yapısını açık bir şekilde doğrulamaktadır.

4.1.4. 4-(4-metilpiperazinobütanoilamino)-benzensülfonamit (10)

Bu çalışmanın 2. basamağında başlangıç maddesi olarak (7) maddesi kullanılarak 1-metilpiperazinle reaksiyona sokularak (10) maddesi elde edilmiştir. Sentezleme işlemleri Bölüm 3.2.4' ayrıntılı olarak açıklanmıştır. Elde edilen bileşiğin yapısı IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR, kütle spektroskopisiyle ve elementel analizle aydınlatılmıştır.

Bu madde reaksiyon bittikten sonra çözücü sistemleri kullanılarak TLC'de tek spot gözlenmiş ve sabit erime noktasına sahip olduğu gözlenmiştir. Bunlar maddenin safsızlık içermediğine işarettir.

Elde edilen (10) saf maddesinin elementel analiz sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir. Bu maddenin analiz sonuçları ve teorik olarak hesaplanan yüzde atom ağırlıkları arasında bir uyum vardır. Bu da önerilen yapıyı desteklemektedir.

Bu bileşiğin IR spektrumu KBr tabletleri içinde alınmıştır ve IR spektrumu Ek Şekil 1.4'te verilmiştir. Bu spektrumun pikleri yapıyı desteklemektedir. 3333 cm^{-1} 'de çıkan pik aminlerden kaynaklanır. 2947 ve 2811 cm^{-1} 'de çıkan pik alifatik C-H gerilmelerinden kaynaklanan piklerdir. 1693 cm^{-1} 'de çıkan pik 1. amit bandından, C=O; 1677 cm^{-1} 'de ileri gelen pik de 2. amit bandından N-H Gerilmesinden ileri

gelen piklerdir. 1593 cm^{-1} 'deki pik aromatik C=C gerilmelerinden kaynaklanır. 1501 cm^{-1} 'deki gerilme alifatik düzlem içi eğilmesinden C-H kaynaklanır. 1360 cm^{-1} 'deki pik SO_2 asimetrik gerilimi ve 1179 cm^{-1} 'deki pik SO_2 simetrik geriliminden kaynaklanan piklerdir. 1152 ve 1097 cm^{-1} 'deki pikler piperidindeki C-N geriliminden kaynaklanırlar.

(10) bileşiminin ^1H NMR spektrumu DMSO içerisinde Ek Şekil 2.3'te verilmiştir. Spektrum incelendiğinde 10.22 ppm'de singlet pikin $-\text{CONH}-$ grubundaki protondan kaynaklandığı görülmektedir. Ayrıca 7.59-8.ppm arasındaki pikin aromatik protonlardan kaynaklandığı görülür. Yine 6.91-7.56 ppm'deki pikin ise $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ grubundaki protonlardan kaynaklandığı belirgin bir şekilde görülmektedir. 2.47-2.58 ppm arasındaki pik metil piperazine bağlı ($-\text{CH}_2-$) metilen protonlarından kaynaklanır. 2.17-2.46 ppm arasındaki dubletin tripletleri ise metil piperazindeki $-\text{CH}_2-$ protonlardan ve karbonile bağlı metilen ($-\text{CH}_2-$) kaynaklanan piklerdir. 1.99-2.17 ppm'deki pik ise metil piperazindeki metil grubundaki protonlardan kaynaklanmaktadır. 1.62-1.87 ppm'deki multipl pik $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ grubundaki piklerden kaynaklanır.

(10) bileşiminin DMSO içerisinde ^{13}C NMR spektrumu Ek Şekil 3.3'te verilmiştir. Bu spektrum incelendiğinde 172.26 ppm'de $-\text{CONH}-$ grubundaki karbondan kaynaklanmaktadır. 142.75 ppm'de ise benzen halkasına bağlı $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ grubuna göre para konumundaki karbondan dolayı görülen bir piktir. 138.42 ppm'deki pik $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ grubunun bağlı olduğu karbondan kaynaklanmaktadır. 127.09 ppm'deki pik ise benzen halkasındaki $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ grubuna göre orto konumundaki eş iki karbondan kaynaklanmaktadır. 118.92 ppm'deki pik ise meta konumundaki iki karbondan kaynaklanır. 57.68 ppm'deki pik metil piperazinin bağlı olduğu karbondan kaynaklanmaktadır. 53.08 ppm'deki pik $-\text{CH}_2\text{NCH}_2-$ grubundaki karbonlara aittir. 55.20 ppm'deki pik yine metil piperazindeki metilin bağlı bulunduğu azot atomuna komşu karbonlardan kaynaklanır. 34.19 ppm'deki pik metile ait bir piktir. 22.53 ppm'deki kimyasal kayma piki de $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ karbondan kaynaklanır.

Kütle spektrumu Ek Şekil 4.3'te verilmiştir. Sentezlenen (10) bileşiğinin molekül ağırlığı 340 g/mol'dür. Spektrumda temel pik 341.2 m/z'dir. molekülde C-N bağı kopmuştur ve yeni bileşik 241m/z'de pik vermiştir. Daha sonra başlangıç maddesi olan sülfanilamid 172 m/z'de ortaya çıkmıştır.

Yukarıda açıklanan spektrumlar bileşiğinin yapısını desteklemektedir.

4.1.5. 4-(4-morfolinobütanoilamino)-benzensülfonamid (11)

Bu çalışmanın 2. basamak başlangıç maddesi olarak 4-(4-klorobütanoilamino)-benzensülfonamid ile morfolin reaksiyona sokulmuş ve 4-(4-morfolinobütanoilamino)-benzen sentezlenmiştir. Sentezleme işlemleri Bölüm 3.2.5'te açıklanmıştır.

Elde edilen bileşiğin yapısı IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, kütle spektroskopisi ve elementel analizle aydınlatılmıştır.

Bu reaksiyon sonucunda elde edilen maddenin çeşitli çözücülerde TLC'sine bakılarak tek spot gözlenmiş ve tek erime noktasına da sahip olmasından safsızlık içermediği fikrine varıldı.

(11) maddesinin IR spektrumu KBr tabletleri içerisinde alındı. Bu bileşiğin IR spektrumu Ek Şekil 1.5'te verilmiştir. Gözlenen spektrum değerleri yapıyı desteklemektedir. 3335, 3208 ve 3097 cm⁻¹'deki pikler N-H gerilmelerinden kaynaklanan piklerdir. 2953, 2913, 2889, 2856 ve 2815 cm⁻¹'deki pikler alifatik C-H gerilmelerinden kaynaklanır. 1659 cm⁻¹'deki pik C=O gerilmesinden gelir. 1591 ve 1516 cm⁻¹'deki pikler aromatik C=C gerilmelerinden kaynaklanır. 1399, 1358, 1339, 1317, 1299,1269,1259 ve 1254 cm⁻¹'deki pikler alifatik C-H simetrik ve asimetric düzlem içi eğilmelerinden kaynaklanan piklerdir. 1180 cm⁻¹'deki pik SO₂ asimetric gerilim pikidir. 1158 cm⁻¹'deki pik SO₂ simetrik gerilmesinden kaynaklanır. 1136 ve 1118 cm⁻¹'deki pikler C-N pikleridir.

Bu maddenin (11) elementel analiz sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir. Analiz sonuçlarıyla teorik olarak hesaplanan yüzde kütleleri yapıyı desteklemektedir.

(11) bileşiğinin DMSO içersindeki ^1H NMR spektrumu Ek Şekil 2.4’te verilmiştir. spektrum incelendiğinde 10.21 ppm’deki singlet pikin $-\text{CONH}-$ protonundan kaynaklandığı görülür. 7.59-7.96 ppm’de aromatik protonlardan dolayı pik çıkmıştır. Ayrıca $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ grubundan dolayı 7.02-7.50 ppm’de pik ortaya çıkmıştır. 3.45- 3.67 ppm’deki pik morfolindeki $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$ protonlarından kaynaklanmaktadır. $-\text{CH}_2\text{N}-$ grubundan kaynaklanan pik 2.45-2.55 ppm civarında çıkmaktadır. 2.40-2.46 ppm arasındaki çoklu pikler morfolindeki $-\text{CH}_2\text{NCH}_2-$ protonlarından ve $-\text{COCH}_2-$ grubundaki protonlardan kaynaklanmaktadır. 1.66-1.85 ppm arasındaki pikler ise $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ grubundaki protonlarda kaynaklanır.

Bu bileşiğin ^{13}C NMR spektrumu Ek Şekil 3.4’te verilmiştir. Bu spektrum incelendiğinde 172.25 ppm’de $-\text{CONH}-$ grubundan kaynaklanan pik görülür. 142.75 ppm’de benzen halkasında $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ grubuna göre para konumundaki karbondan kaynaklanmaktadır. 138.40 ppm’deki pik ise $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ grubunun bağlı olduğu karbondan dolayı çıkmıştır. 127.12 ppm’deki pik ise orto konumundaki karbondan kaynaklanır. 118.87 ppm’deki pik ise meta konumundaki karbondan kaynaklanan bir piktir. 66.65 ppm’deki pik morfolindeki oksijen atomuna komşu karbonlardan $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$ kaynaklanır. 58.12 ppm’deki pik morfolindeki azota bağlı alifatik karbondan kaynaklanmaktadır. 53.72 ppm’deki pik morfolindeki azot atomuna komşu karbon atomlarından ($-\text{CH}_2\text{NCH}_2-$) kaynaklanır. 34.89 ppm’deki pik karbonil grubuna bağlı alifatik karbonundan kaynaklanırken, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ grubundaki karbondan 22.14 ppm’de bir pik çıkmıştır.

Kütle spektrumu Ek Şekil 4.4’te verilmiştir. (11) bileşiğinin molekül ağırlığı 327 g/mol’dür. Spektrum incelendiğinde 328 m/z’de temel pik ortaya çıkmıştır. Yapıdaki morfolin ile alifatik karbon arasındaki bağ koparak oluşan bileşik 240.1 m/z’de pik vermiştir. Daha sonra N-C bağı koparak başlangıç maddesi olan sülfanilamit oluşmuştur.

Yukarıda açıklanan spektrumlar yapıyı desteklemektedir.

4.1.6. 4-(4-benzilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (12)

Bu çalışmada 1. basamak sonunda sentezlenmiş olan 4-(4-klorobütanoilamino)-benzen sülfonamit ile benzil piperidin reaksiyona sokularak 4-(4-benzilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamit sentezlenmiştir. Sentezleme işlemleri Bölüm 3.2.6’da açıklanmıştır. Elde edilen bileşiğin yapısı IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, kütle spektroskopisi ve elementel analiz kullanılarak açıklığa kavuşturulmuştur.

Bu sentezlediğimiz madde TLC ile çeşitli çözücüler kullanılarak yürütüldü ve tek spot gözlemlendi. Erime noktası tayininde de tek nokta gözlenmesi maddemizin safsızlık içermediğine işaret etmiştir.

Elde edilen saf (12) maddesinin Çizelge 4.1’de verilen elementel analiz sonuçlarıyla teorik olarak hesaplanan yüzde kütleleri Şekil 3.6’daki yapıyı desteklemektedir.

(12) bileşiğinin IR spektrumu KBr tabletler içinde alındı. IR spektrumu Ek Şekil 1.6’da verilmiştir. Spektrumdaki pikler yapıyı desteklemektedir. 3317 ve 3027 cm⁻¹’de gözlenen pikler N-H gerilmesinden kaynaklanan bir piklerdir. 2935, 2848, 2812 ve 2873 cm⁻¹’deki pikler de alifatik C-H gerilmelerinden kaynaklanır. 1673 cm⁻¹’deki pik C=O gerilmesinden kaynaklanır. 1594, 1493 ve 1520 cm⁻¹’deki pikler aromatik C=C gerilmelerinden kaynaklanır. 1347, 1319 ve 1152 cm⁻¹’deki pikler alifatik C-H düzlem içi simetrik eğilmelerinden kaynaklanır. 1118 ve 1136 cm⁻¹’deki pikler C-N gerilmelerinden kaynaklanır.

(12) bileşiğinin DMSO içersindeki ¹H NMR spektrumu Ek Şekil 2.5’te verilmiştir. 10.20 ppm’de çıkan singlet –CONH grubunun pikidir. 7.6-7.8 ppm’de gözlenen pikler ise aromatik protonlardan kaynaklanan piktir. 6.89-7.46 ppm

arasındaki pikler $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ protonlarından ve piperidine bağlı benzen halkasının protonlarından kaynaklanan piklerdir. 2.70-2.90 ppm'de çıkan pik $-\text{CH}_2\text{NCH}_2-$ grubundaki protonlardan kaynaklanmaktadır. 2.45-2.55 ppm'deki pik ise piperidin ile benzen arasındaki metilen $-\text{CH}_2\text{NCH}_2-$ grubunun ve karbonile bağlı karbondaki protonlardan $-\text{COCH}_2-$ pikidir. 2.21-2.45 ppm arasındaki pikler piperidin halkasındaki metilen grupları azot atomuna bağlı metilen gruplarından kaynaklanır. 1.65-1.85 ppm arasındaki pik benzil grubunun bağlı olduğu piperidin karbonundaki tek protondan kaynaklanır. 1.33-1.60 ppm arasındaki pik ise alifatik metilen $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ grubundaki protonlardan kaynaklanan bir piktir. 0.90-1.20 ppm arasındaki pikler de $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2-$ grubundaki protonlardan kaynaklanır.

(12) bileşiğinin DMSO içerisindeki ^{13}C NMR spektrumu Ek Şekil 3.5'te verilmiştir. Bu spektrum incelendiğinde 172.31 ppm'de $-\text{CONH}-$ grubundan kaynaklanan pik görülür. 142.78 ppm'de benzen halkasında $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ grubuna göre para konumundaki karbondan kaynaklanmaktadır. 140.84 ppm'deki pik benzildeki metilen grubunun bağlı olduğu karbondan kaynaklanır. 138.41 ppm'deki pik ise $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ grubunun bağlı olduğu karbondan dolayı çıkmıştır. 129.46-129.42 ppm'deki pik ise benzil piperazindeki orto ve meta konumundaki karbonlardan kaynaklanır. 128.55 ppm'deki pik $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ grubuna göre orto konumunda, 127.09 ppm'deki pik ise meta konumundaki karbondan kaynaklanır. 126.14 ppm'deki pik benzildeki metilene göre para konumundaki karbondan kaynaklanır. 118.89 ppm'deki pik ise benzen halkasında $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ grubuna göre meta konumundaki karbonlardan kaynaklanır. 58.02 ppm'deki pik piperidine bağlı karbondan $-\text{CH}_2-\text{N}-$ kaynaklanır. 53.77 ppm'de pik ise piperidindeki azota komşu olan $-\text{CH}_2\text{NCH}_2-$ grubundaki karbonlardan kaynaklanır. 46.26 ppm'deki pik benzildeki metilenden $-\text{CH}_2-$ kaynaklanır. 42.91 ppm'deki pik benzildeki metilenin bağlı olduğu piperidindeki karbondan kaynaklanır. 37.92 ppm'de görülen pik karbonile bağlı olan metilenden $-\text{COCH}_2-$ kaynaklanır. 32.22 ppm'de gözükken pik piperidindeki metilen karbonlarından $-\text{CH}_2\text{CHCH}_2-$ kaynaklanır. 22.79 ppm'deki pik ise alifatik karbondan kaynaklanır.

Çizelge 4.1. Sentezlenen bileşiklerin kod numaraları, kapalı formülleri, molekül ağırlıkları, erime noktaları, verimler ve elementel analiz sonuçları

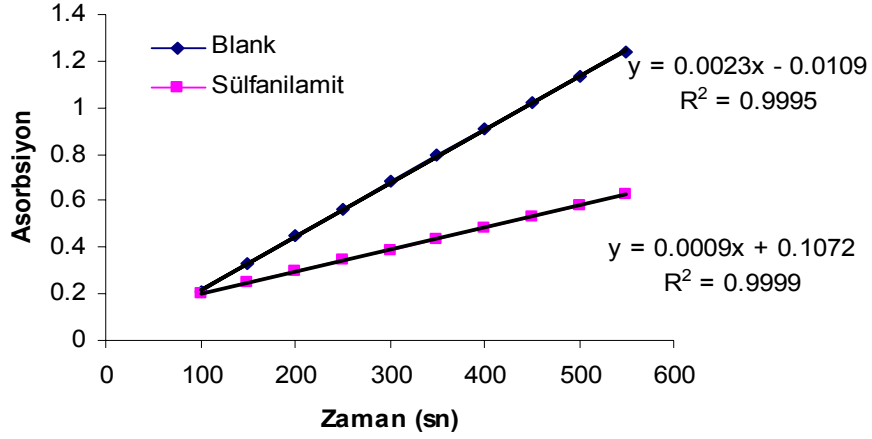
Bileşikler Kod Numarası	Kapalı Formülü	Molekül Ağırlıkları g/mol	Elementel Analiz/Teorik Sonuçlar				Erime Noktası °C	Verim %
			% C	% H	% N	% S		
8	C ₁₆ H ₂₅ N ₃ O ₃ S	339	56.55 56.61	6.87 7.42	12.14 12.38	8.97 9.45	209	26
9	C ₁₄ H ₂₁ N ₃ O ₃ S	311	48.03 54	5.81 6.8	11.98 13.49	8.74 10.3	203	72
10	C ₁₅ H ₂₄ N ₄ O ₃ S	340	49.73 52.92	4.63 7.11	15.16 15.46	8.32 9.42	189	41
11	C ₁₄ H ₂₁ N ₃ O ₄ S	327	52.19 51.36	4.79 6.47	12.48 12.83	9 9.79	179	50
12	C ₂₂ H ₂₉ N ₃ O ₃ S	415	64.52 63.59	6.89 7.03	9.97 10.11	6.97 7.72	169	63

4.2. Biyolojik Çalışma (in vitro) Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Bileşiklerin veya ilaçların aktiviteleri K_i ya da IC_{50} değerleri ile ifade edilir. K_i değeri bileşiğin inhibisyon katsayısıdır. IC_{50} değeri enzimin % 50'sini inhibe etmesi için gereken bileşiğin konsantrasyonudur. IC_{50} değerinin saptanması için Bovine karbonik anhidraz enzimi kullanıldı. IC_{50} değerlerinin saptanması 3. Bölümde anlatılmıştır. Bilgisayarda % inhibitör değeri kullanılarak regresyon analiz eğrisi çizilmiştir ve sonuçlar IC_{50} şeklinde verilmiştir.

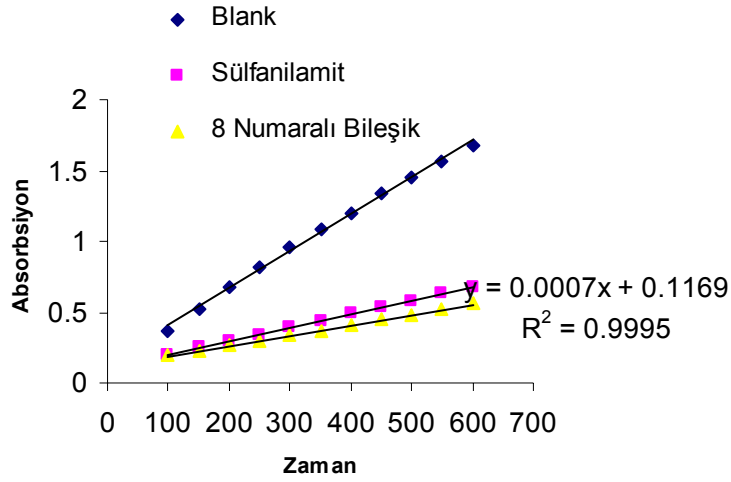
Elde ettiğimiz bileşiklerin inhibitör aktivitelerini saptamak amacıyla inhibitörsüz ortamda (blank) enzimin p-nitrofenilasetadı hidrolize ederek p-nitrofenile dönüştürmesi ve inhibitörlü ortamda enzimin p-nitrofenilasetadı p-

nitrofenile dönüştürmesi UV- visible spektrometresinde incelenmiştir. Gözle görülen olayda enzim üzerine substratı eklenince inhibitörsüz ortamdakine göre daha fazla sarı bir renk gözlemlendi. İnhibitörlü ortamda ise daha az bir sarı renk gözlemlendi. Bu da inhibitörlerin enzime bağlanarak inhibe ettiğini kanıtlamıştır.

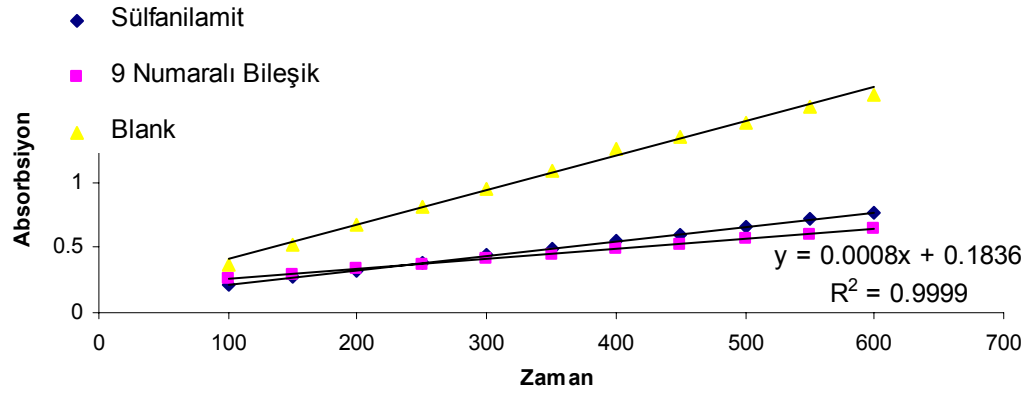


Şekil 4.1. p-nitrofenilasetatın enzim etkisiyle 400 nm’de zamana bağlı olarak sülfanilamidli ve blank ortamda absorpsiyon değişimi

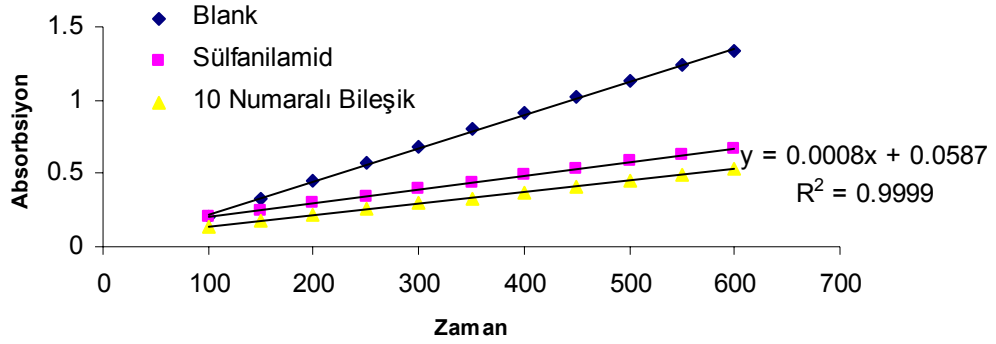
Şekil 4.1.’de gözlemlendiği gibi blank ortamında zamanla enzimin etkisiyle 400 nm’de p-nitrofenol konsantrasyonu artarken; sülfanilamid ortamında aynı süre içinde absorpsiyonunun düştüğü yani aynı zamanda konsantrasyonun da düştüğünü gösterir. Bu da enzimle inhibitörün aynı ortamda bulunması halinde inhibe edildiğini kanıtlar.



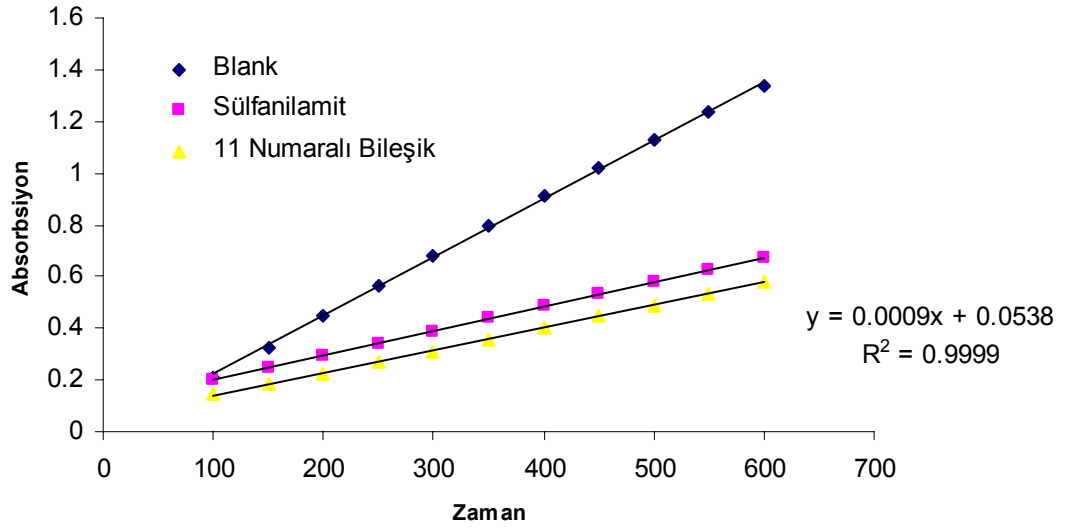
Şekil 4.2. p-nitrofenilasetatın enzim etkisiyle 400 nm'de zamana bağlı sülfanilamitli ve 8 numaralı bileşik ortamda absorpsiyon değişimi



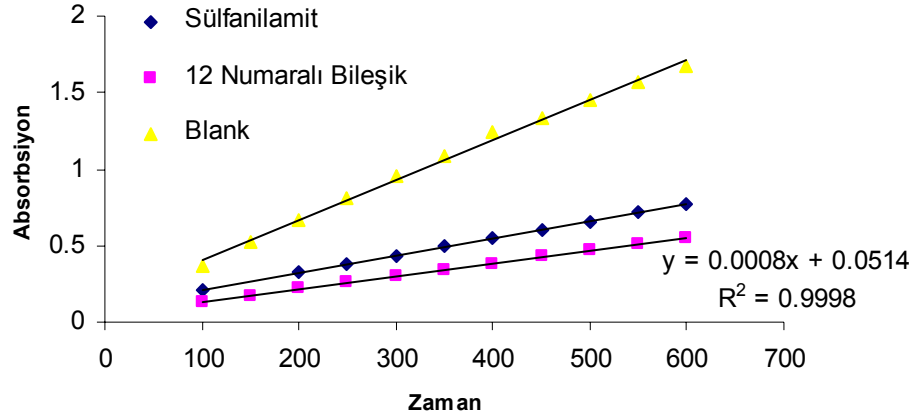
Şekil 4.3. p-nitrofenilasetatın enzim etkisiyle 400 nm'de zamana bağlı sülfanilamitli ve 9 numaralı bileşik ortamda absorpsiyon değişimi



Şekil 4.4. p-nitrofenilasetatın enzim etkisiyle 400 nm'de zamana bağlı sülfanilamitli ve 10 numaralı bileşik ortamda absorbans değişimi



Şekil 4.5. p-nitrofenilasetatın enzim etkisiyle 400 nm'de zamana bağlı sülfanilamitli ve 11 numaralı bileşik ortamda absorbans değişimi



Şekil 4.6. p-nitrofenilasetatin enzim etkisiyle 400 nm’de zamana bağlı sülfanilamitli ve 12 numaralı bileşikli ortamda absorbans değişimi

Sentezlediğimiz tüm bileşiklerin sudaki çözünürlükleri , bölme katsayıları ve inhibitör aktiviteleri araştırıldı. İnhibitör aktivitesi IC_{50} , bölme katsayısı $P_{eter/su}$, sudaki çözünürlükleri ise g/100 ml olarak verilmiştir.

Çizelge 4.2. Sentezlenen bileşiklerin bölme katsayıları, inhibitör aktiviteleri ve sudaki çözünürlükleri

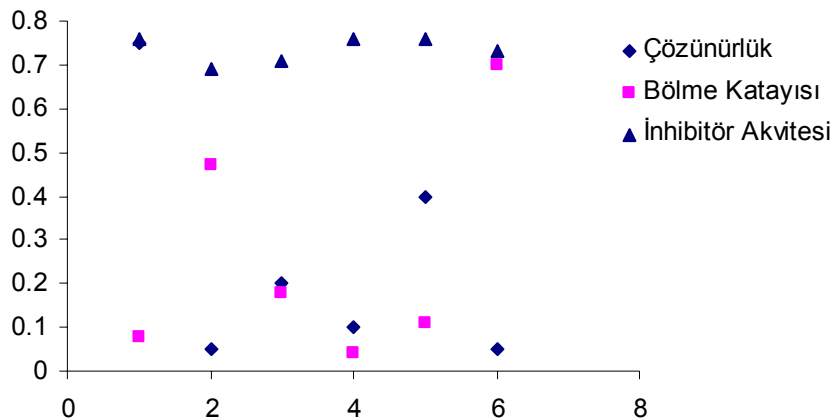
Bileşikler	Sudaki Çözünürlükleri (g/100 cm ³)	Bölme Katsayıları (P) pH=7.2	İnhibitör Aktiviteleri IC ₅₀ (nM)
Sülfanilamit	0.75±0.015	0.080	76
8	Çok az	0.470	69
9	0.2	0.180	71
10	0.1	0.043	76
11	0.4	0.110	76
12	Çok az	0.700	73

İnhibitör aktivitesi ile IC_{50} değeri arasında ters orantı vardır yani IC_{50} değeri küçük olan bileşik daha iyi inhibitördür. Bu sonuçlara bakıldığında 10, 11 numaralı bileşiklerin inhibitör aktiviteleri sülfanilamide eşit iken; 8, 9 ve 12 numaralı

bileşiklerin inhibitör aktivitelerinin sülfanilamitten daha iyi oldukları görülmektedir. Sentezlediğimiz bileşiklerin bir kısmının inhibitör aktiviteleri klinik olarak kullanılan sülfanilamitten daha iyidir bu da bileşiklerimizin önemini arttırmaktadır.

Sentezlenen bileşiklerin bölme katsayıları ölçümü Hansch (1964) tekniği kullanılarak su-eter çözücü sisteminde incelendi. Elde ettiğimiz bölme katsayıları 0.043-0.7 aralığında değişmektedir. Sentezlediğimiz tüm bileşikler göz içi dokulara iyi dağılım olması için gereken en az bölme katsayı değeri olan 0.01 değerini aşmıştır. Bir bileşiğin etkili olması için sadece iyi bir inhibitör olması yetmez aynı zamanda iyi bir bölme katsayısına sahip olması gerekir. Sentezlediğimiz bileşiklerin hepsi oldukça iyi birer bölme katsayısına sahiptir.

Şekil 4.7.'de görüldüğü gibi IC_{50} değerleriyle bölme katsayıları arasında doğrusal bir ilişki yoktur. Diğer yandan bölme katsayısı ve IC_{50} değerlerine bakarsak 10 ve 11 numaralı bileşiklerin IC_{50} değerleri 76 nM'dır. Bu değer sülfanilamidin IC_{50} değerine eşittir ama 11 numaralı bileşiğin bölme katsayısı 0,11, 10 numaralı bileşiğin bölme katsayısı 0,043 ve sülfanilamidin bölme katsayısı 0,08'dir. Görüldüğü gibi 10,11 numaralı bileşiklerin ve sülfanilamidin IC_{50} değerleri aynı iken bölme katsayıları farklıdır bu da bölme katsayısı ile IC_{50} değeri arasında herhangi bir ilişkinin olmadığını göstermektedir.



Şekil 4.7. Sentezlenen bileşiklerin çözünürlük, bölme katsayısı ve inhibitör aktiviteleri arasındaki ilişki

8 ve 9 numaralı bileşikler karşılaştırılırsa 8 numaralı bileşiğin bölme katsayısı 0,47, IC_{50} değeri 69 nM; 9 numaralı bileşiğin bölme katsayısı 0,18, IC_{50} değeri 0,71'dir. Burada görüldüğü gibi 8 numaralı bileşiğin bölme katsayısı büyük iken IC_{50} değeri 69 nM'dır. Burada 8 numaralı bileşik daha iyi bölme katsayısına ve IC_{50} değerine sahiptir. Ama 8 ve 12 numaralı bileşikler karşılaştırıldığında 12 numaralı bileşiğin bölme katsayısı (0,7) daha büyük IC_{50} değeri 73 nM'dır. Yani inhibitör aktivitesi daha düşüktür. Buradan bölme katsayısı ile IC_{50} değeri arasında bir ilişkinin olmadığı sonucu çıkartılabilir.

Şekil 4.7'ye bakıldığında bileşiklerin sudaki çözünürlükleri ile inhibitör aktiviteleri arasında doğrusal bir ilişkinin olmadığı görülür. Ayrıca hesaplanan çözünürlük ile IC_{50} değerlerine bakılırsa 8 numaralı bileşiğin çözünürlüğü çok kötü iken en iyi IC_{50} değerine (69 nM) sahiptir. 11 numaralı bileşik ile 10 numaralı bileşik karşılaştırıldığında IC_{50} değerleri eşitken 11 numaralı bileşiğin çözünürlüğü daha büyüktür. Buradan çözünürlük ile inhibitör aktivitesi arasında bir ilişkinin olmadığı görülmektedir.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Karbonik anhidraz enzimi Roughton ve Meldrum tarafından 1933 yılında keşfedildi. Kısa bir süre sonra Mann ve Keilin sülfonamidin karbonik anhidrazı inhibe ettiğini gösterdiler. Bundan sonra birçok karbonik anhidraz inhibitörü sentezlenmiştir. Bunlar arasında hetero halkalı bileşiklerin güçlü birer karbonik anhidraz inhibitörü oldukları bilinmektedir. Bu çalışmamızda da şu anda kullanılan karbonik anhidraz inhibitörlerinden daha güçlü bileşikler sentezlenmesi amaçlanmıştır ve 5 yeni aromatik sülfanilamit türevi yüksek verimde ve saflıkta elde edilmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin yapıları Elementel Analiz, FT IR, ¹H NMR, ¹³C NMR ve Kütle spektroskopisi yöntemleri kullanılarak aydınlatılmıştır. Bu bileşiklerin inhibitör aktiviteleri (in vitro) ölçülerek, biyolojik aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Sentezlenen bileşiklerden 8, 9 ve 12 numaralı bileşik sülfanilamitten daha iyi inhibitör aktiviteye sahipken; 10 ve 11 numaralı bileşikler aynı aktiviteye sahiptir. Ayrıca bölme katsayıları da hesaplanmış ve 10 numaralı bileşik dışında bütün bileşiklerin sülfanilamitten daha iyi bölme katsayısına sahip oldukları gözlenmiştir. Bileşiklerin sudaki çözünürlükleri de yapılmıştır.

Sentezlediğimiz bileşiklerin glokom tedavisinde kullanma amacı olduğu için bu bileşiklerin in vivo çalışmalarının da yapılması gerekmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalardan elde edilen bulgulara bakılırsa bu bileşiklerin antiobezit, antikanser, antibakteriyel, antiAIDS, karbonik anhidraz inhibitörü ve antitümör olmak üzere birçok özelliğe sahip oldukları görülmektedir. Bu da bu bileşiklerin önemini bir kat daha arttırmaktadır.

Biz de elde ettiğimiz sonuçlar neticesinde bu bileşiklerden en az birinin glokom tedavisinde potent ilaç olarak kullanılmasını ümit etmekteyiz.

KAYNAKLAR

- AKCASU, A., ÖZÜNER, Z., ve EŞKAZAN, E., 1989. Temel Tıp Farmakolojisi. Nobel Tıp Kitabevi, 2. Basımdan çeviri, İstanbul, 688s.
- American Health Assistance Foundation, 2005. Glaucoma. http://www.ahaf.org./glaucoma/about_glaout_body.htm.
- BENGİSU, Ü., 1990. Göz Hastalıkları. Beta Yayıncılık 3. Baskı, İstanbul, 225s.
- CEDRIC, M. S., and ALAN, M. R., 1992. Textbook of Pharmacology. W. B. Saunders Company, USA, 1213p.
- CRAIG, C.R., and STITZEL, R.E., 1990. Modern Pharmacology. Little, Brown and Company, 3.Baskı, USA, 1047p.
- DÖKMECİ, İ., 1992. Farmakoloji İlaç Uygulamalarında Temel Kavramlar. Nobel Tıp Kitabevi, 1. Baskı, İstanbul, 976s.
- EREL, O., and AVCI, S., 2002. Semi-automated Enzymatic Measurement of Serum Zinc Concentration. *Clinical Biochemistry*, 35:41-47.
- ERIK, O., HATTENHAUER, M. G., HELEN, H., HODGE, D. O., KENNEDY, R. H., HERMAN, D. C., and JHONSON, D. H., 2001. Estimated Incidence of Open-Angel Glaucoma in Olmsted. *Ophthalmology*, 108(5):882-886.
- FOX, I.S., 1990. Human Physiology. Pierce College, Third Edition, USA.
- GLARK, W.G., BRATER, D.C., and JHONSON, A.R., 1992. GHOT'S Medical Pharmacology. International Edition, 13th Edition, USA, 841p.
- GUYTON, A. C., 1991. Textbook of Medical Physiology. University of Mississippi School of Medicine, 8th Edition, USA, 1014p.
- HANSCH, C., FUJITA, T., and IWASA, J., 1964. A New Substituent Constant π , Derived From Partition Coefficient. *J. Amer. Chem. Soc.*, 86:5175-5180.
- HOYNG, F.J., and van BEEK, L.M., 2000. Pharmacological Therapy for Glaucoma. *Drugs*, 59(3):411-434.
- INGRAM, C. J., and BRUBAKER, R. F., 1999. Effect of Brinzolamide on Aqueous Humor Flow in Human Eyes. *American Journal of Ophthalmology*, 128 (3):292-296.
- INNOCENTI, A., ZIMMERMAN, S., FERRY, J.G., SCOZZAFAVA, A., and SUPURAN, C.T., 2004. Carbonic Anhydrase Inhibitors. Inhibition of the Beta-class Enzyme From The Methanoarchhaeon Methanobacterium Thermoautotrophicum with Anions. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 14(2):4563-4567.
- İRKEÇ, M., 1997. Glokom Tedavişi. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 28(3):63-68
- KAYAALP, S.O., 2002. Rasyonel Yönden Tıbbi Farmakoloji. Hacettepe-Taş 10. Baskı, Ankara, 1726s.
- KEILIN, D., and MANN, T., 1940. Sulphanilamide as A Specific Carbonic Anhydrase Inhibitors. *Nature*, 146:164-165.
- KEKLİKOĞLU, M, ve TUZCU, M., 1995. Tanı-Tedavi El Kitabı Cilt 1-2. Nobel Tıp Kitabevi 16. Baskı, İstanbul, 2840s.
- LINDSKOG, S., 1997. Structure and Mechanism of Carbonic Anhydrase. *Pharmacolog & Therapeutics*, 74(1):1-20.

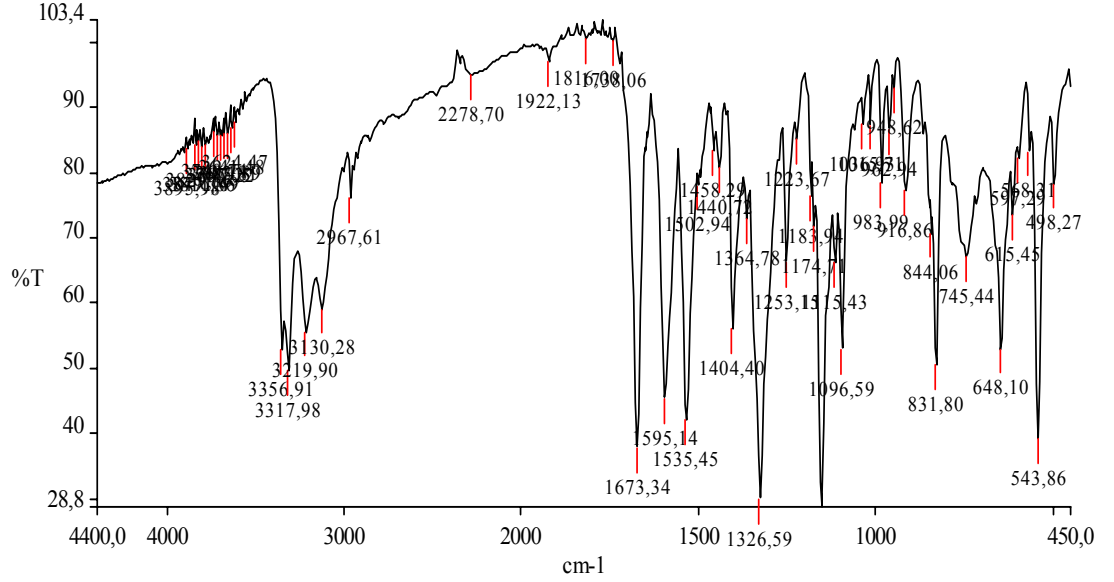
- MAREN, H., 1994. The Development of Topical Carbonic Anhydrase Inhibitors. *Journal of Glaucoma*, 4:49–62.
- MICHAUD, J., FRIREN, B., and The International Brinzolamide Adjunctive Study Group., 2001. Comparison of Topical Brinzolamide 1 % and Dorzolamide 2 % Eye Drops Given Twice Daily in Addition to Timolol 0.5 % in Patients with Primary Open Angle Glaucoma and Ocular Hypertension. *American Journal of Ophthalmology*, 132(2):235–243.
- ORAĞLI, K.M., 2001. *Klinik Oftalmoloji*. Nobel Tıp Kitabevi 4. Baskı, İstanbul, 684s.
- POCKER, Y., and SARKANEN, S., 1978. Carbonic Anhydrase: Structure, Catalytic Versatility and Inhibition. *Adv. Enzymol*, (47):149–274.
- POCKER, Y., and STONE, J.T., 1967. The Catalytic Versatility of Erythrocyte Carbonic Anhydrase . III. Kinetic Studies of The Enzyme-Catalyzed Hydrolysis of p-Nitrophenylacetate. *Biochemistry*, 6:668–678.
- SOLTAU, J.B., and ZIMMERMAN, T.J., 2002. Changing Paradigms in the Medical Treatment of Glaucoma. *Survey of Ophthalmology*, 47:S2-S5.
- SOYLU, T., 2001. Göz Hastalıkları ve Cerrahisi. http://goz.gen.tr/web/h_glokom.html.
- SUPURAN, C.T., BRIGANTI, F., TILLI, S., CHEGWIDDEN, W.R., and SCOZZAFAVA, A., 2000. Carbonic Anhydrase Inhibitors: Sulfonamides as Antitumor Agents?. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 9(3):703-714.
- TURKMEN, H., DURGUN, M., YILMAZTEKİN, S., EMUL, M., INNOCENTI, A., VULLO, D., SCOZZAFAVA, A., and SUPURAN, C.T., 2004. Novel Sulfanilamide/Acetazolamide Derivatives Obtained by the Tail Approach and Their Interaction with The Cytosolic Isozymes I and II, and The Tumor-Associated Isozyme. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 15(2):367-372.
- ZHENG, Y.-J., and MERZ, K.M., 1992. Mechanism of the Human Carbonic Anhydrase II Catalyzed Hydration of Carbon Dioxide. *Journal of American Chemical Society*, 114(26):10498-10507.

ÖZGEÇMİŞ

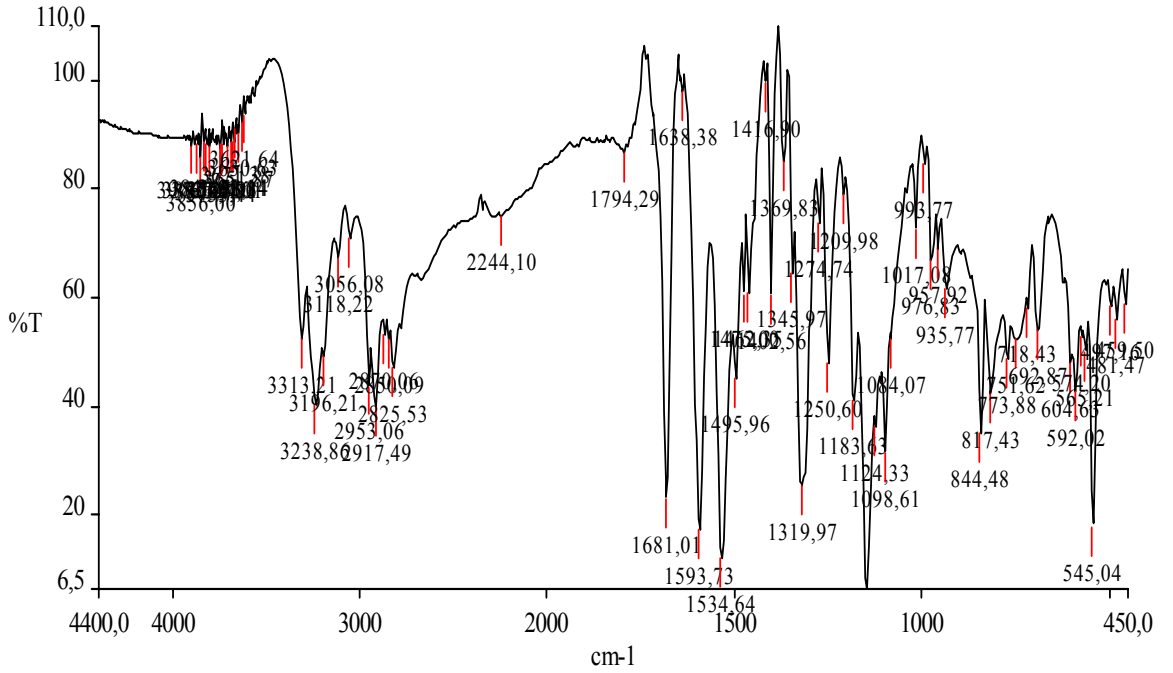
1978 yılında Adıyaman'a bağlı Güneşli Köyü'nde doğdu. İlk ve orta öğrenimini Adıyaman'da bitirdi. 1998 yılında Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde öğrenimine başladı. 2002 yılında bu bölümden mezun oldu. 2002-2003 bahar döneminde Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladı.

EKLER

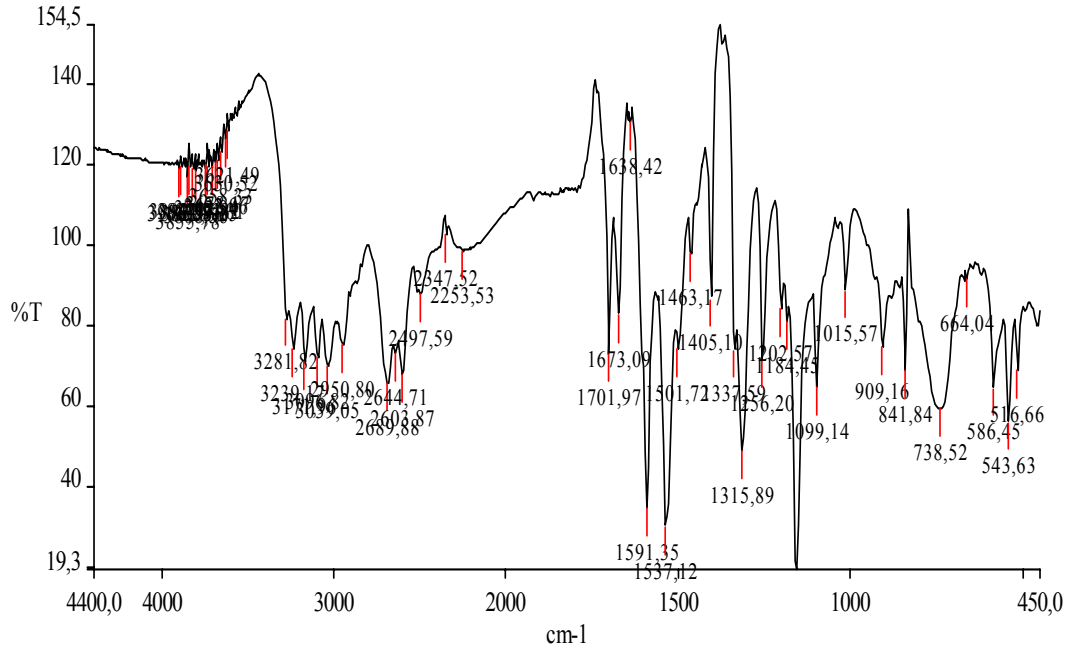
EK 1 Sentezlenen Bileşiklerin FT IR Spektrumları



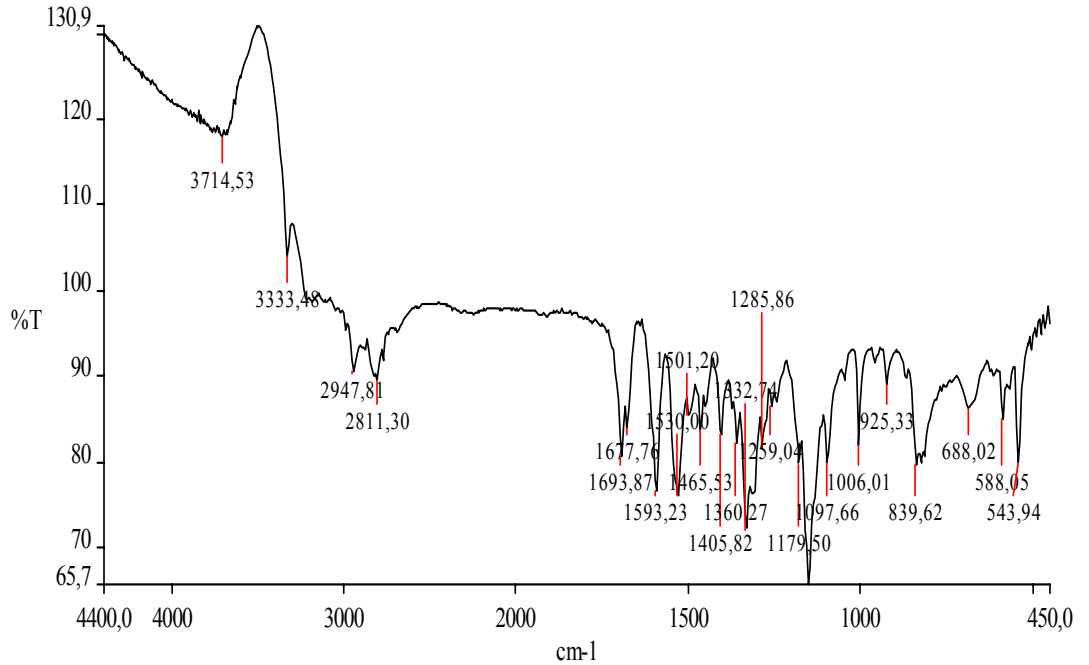
Ek Şekil 1.1 4-(4-klorobütanoilamino)-benzensülfonamit (7)'in KBr tabletleri ile hazırlanmış IR spektrumu



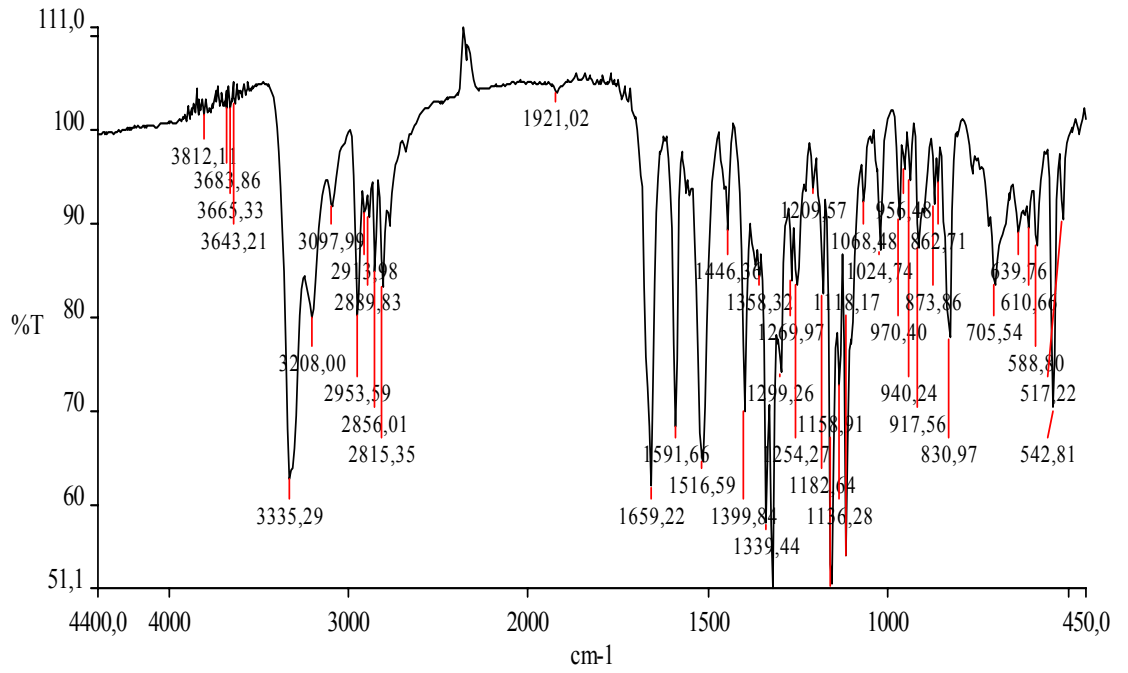
Ek Şekil 1.2. 4-(4-metilpiperidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (8)'in KBr tabletleri ile hazırlanmış IR spektrumu



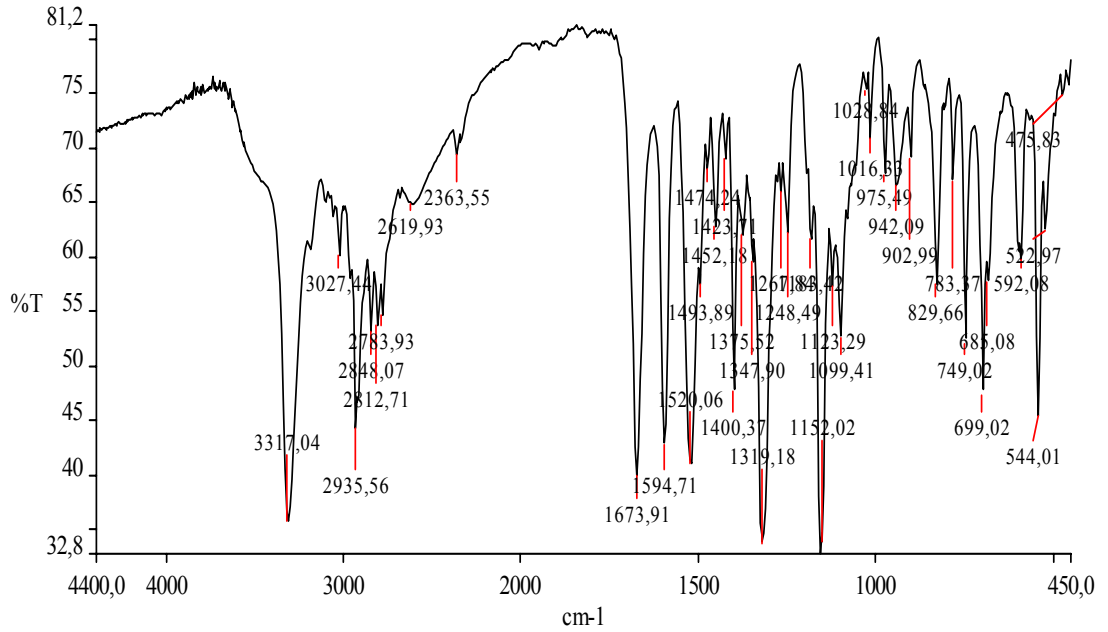
Ek Şekil 1.3. . 4-(4-pirrolidinobütanoilamino)-benzensülfonamit (9)'in KBr tabletleri ile hazırlanmış IR spektrumu



Ek Şekil 1.4. 4-(4-metilpiperazinobütanoilamino)-benzensülfonamit (10)'un KBr tabletleri ile hazırlanmış IR spektrum

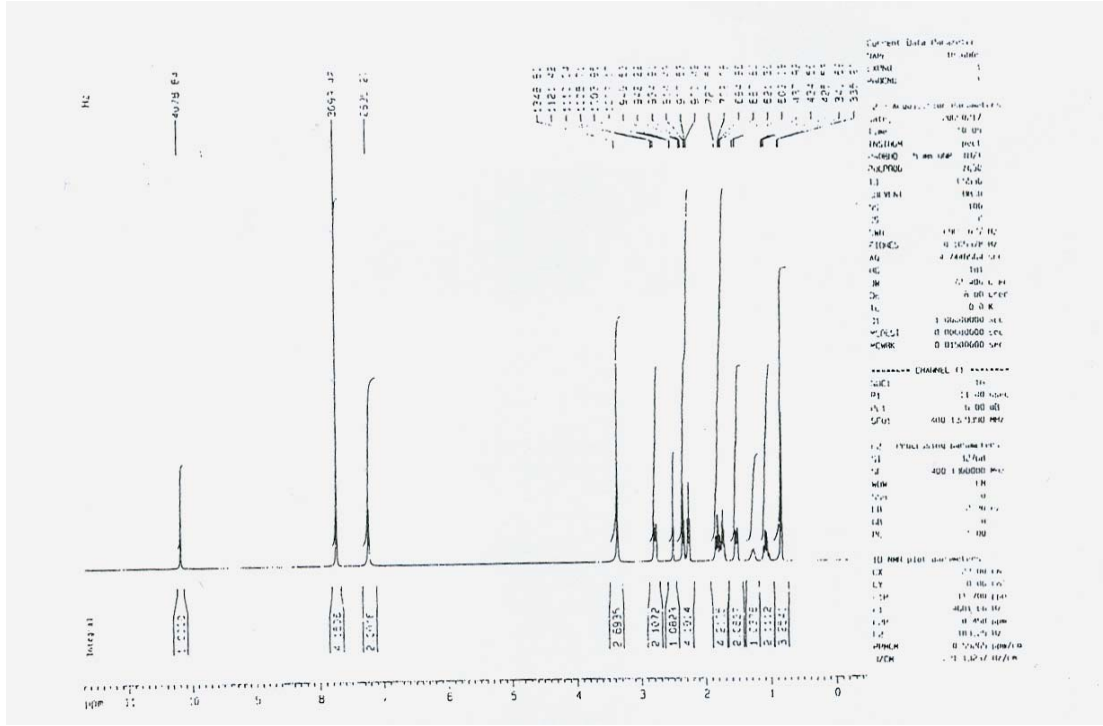


Ek şekil 1.5. 4-(4-morfolinobütanoilamino)-benzenesulfonamid (11)'in KBr tabletleri ile hazırlanmış IR spektrum

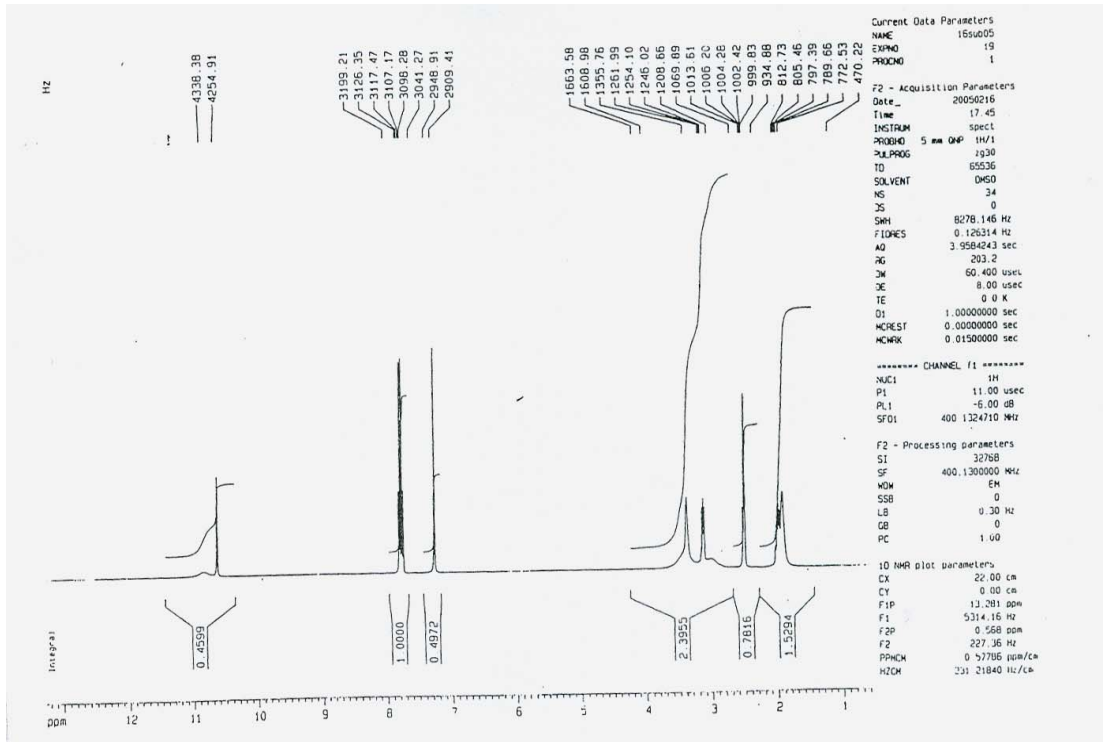


Ek Şekil 1.6. 4-(4-benzilpiperidinobütanoilamino)-benzenesulfonamid (12)'nin KBr tabletleri ile hazırlanmış IR spektrum

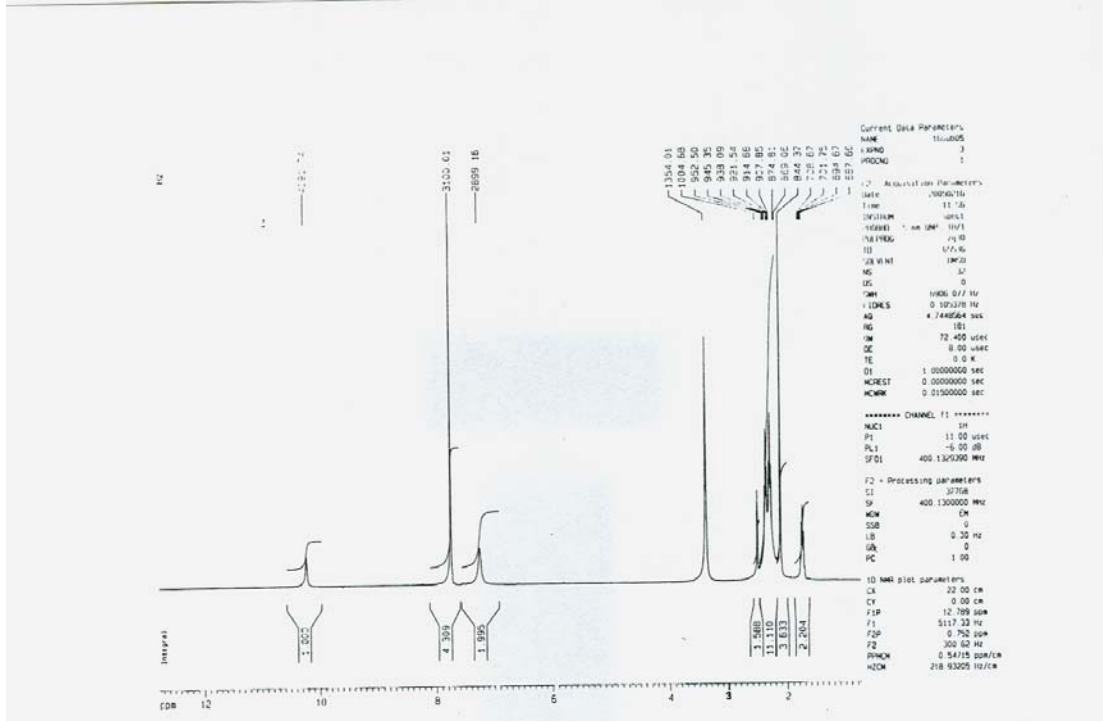
EK 2 Sentezlenen Bileşiklerin ^1H NMR Spektrumları



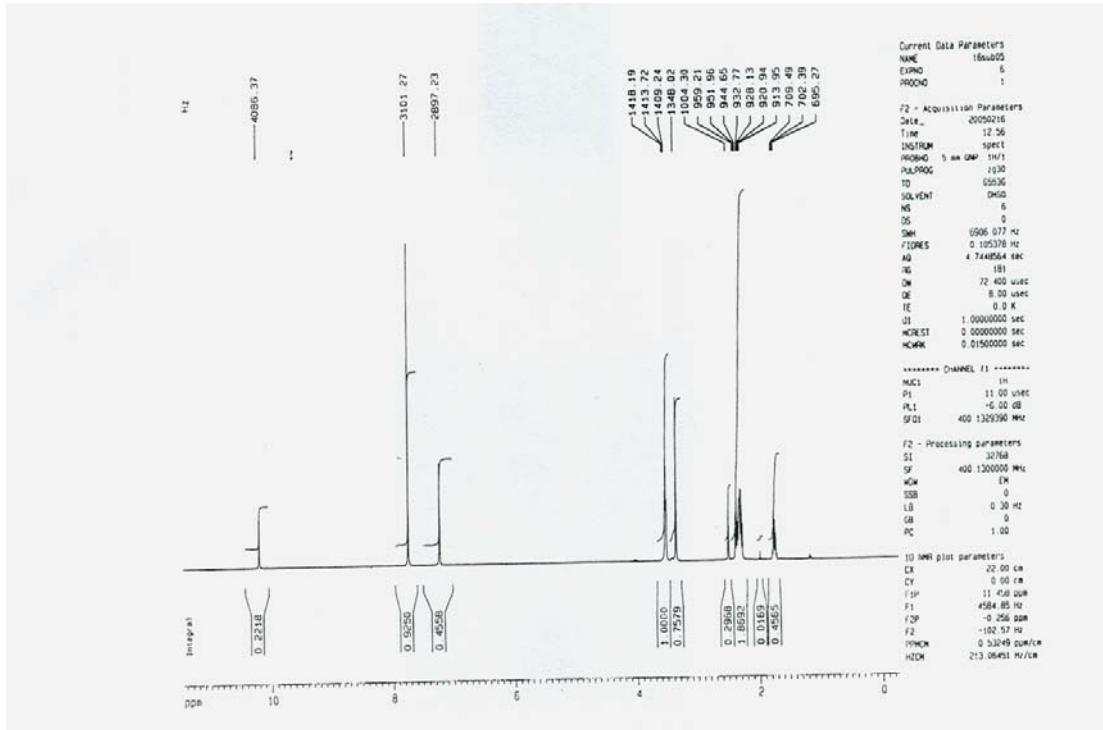
Ek Şekil 2.1. 4-(4-metilpiperidinobütanoilamino)-benzenesülfonamid (8)'in DMSO içerisinde alınan ^1H NMR spektrumu



Ek Şekil 2.2. 4-(4-pirrolidinobütanoilamino)-benzenesülfonamid (9) 'in DMSO içerisinde alınan ^1H NMR spektrumu

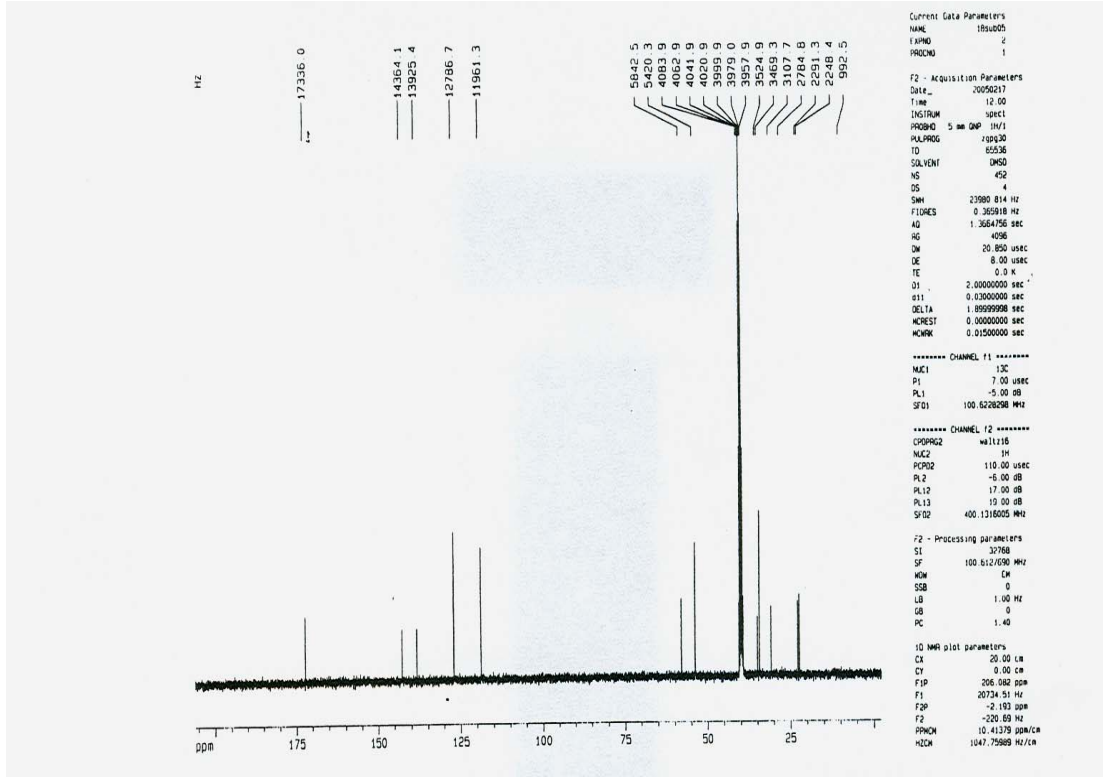


Ek Şekil 2.3. 4-(4-metilpiperazinobütanoilamino)-benzensulfonamid (10)'un DMSO içerisinde alınan ¹H NMR spektrumu

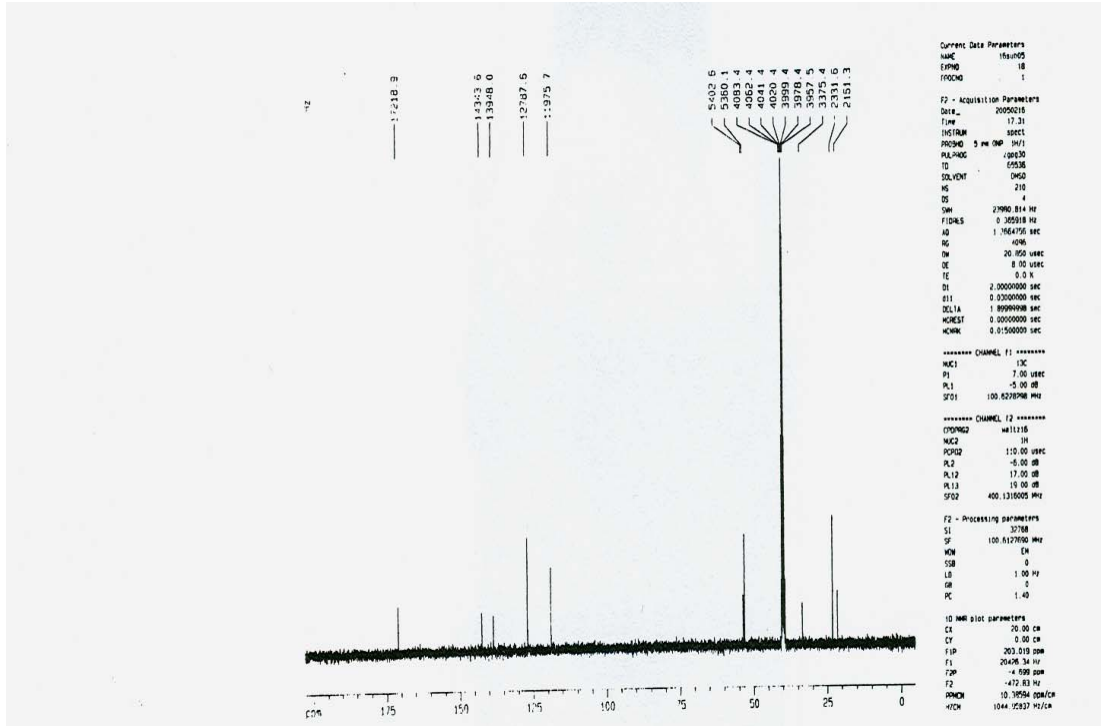


Ek Şekil 2.4. 4-(4-morfolinobütanoilamino)-benzensulfonamid (11)'in DMSO içerisinde alınan ¹H NMR spektrumu

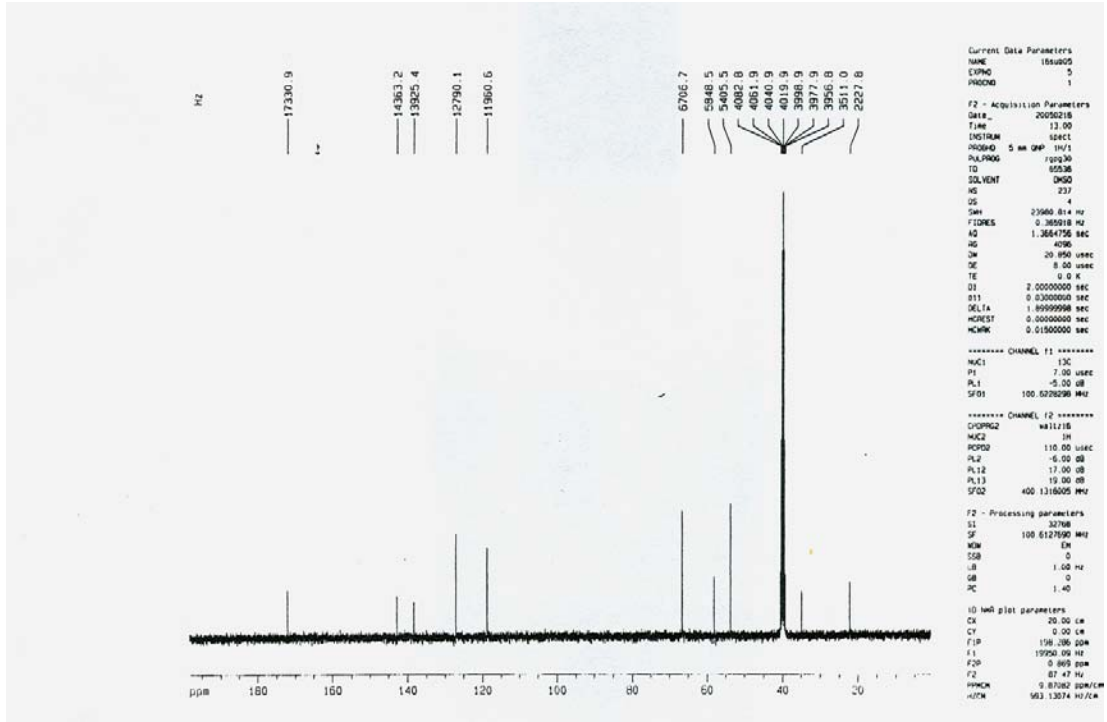
EK 3 Sentezlenen Bileşiklerin ^{13}C NMR Spektrumları



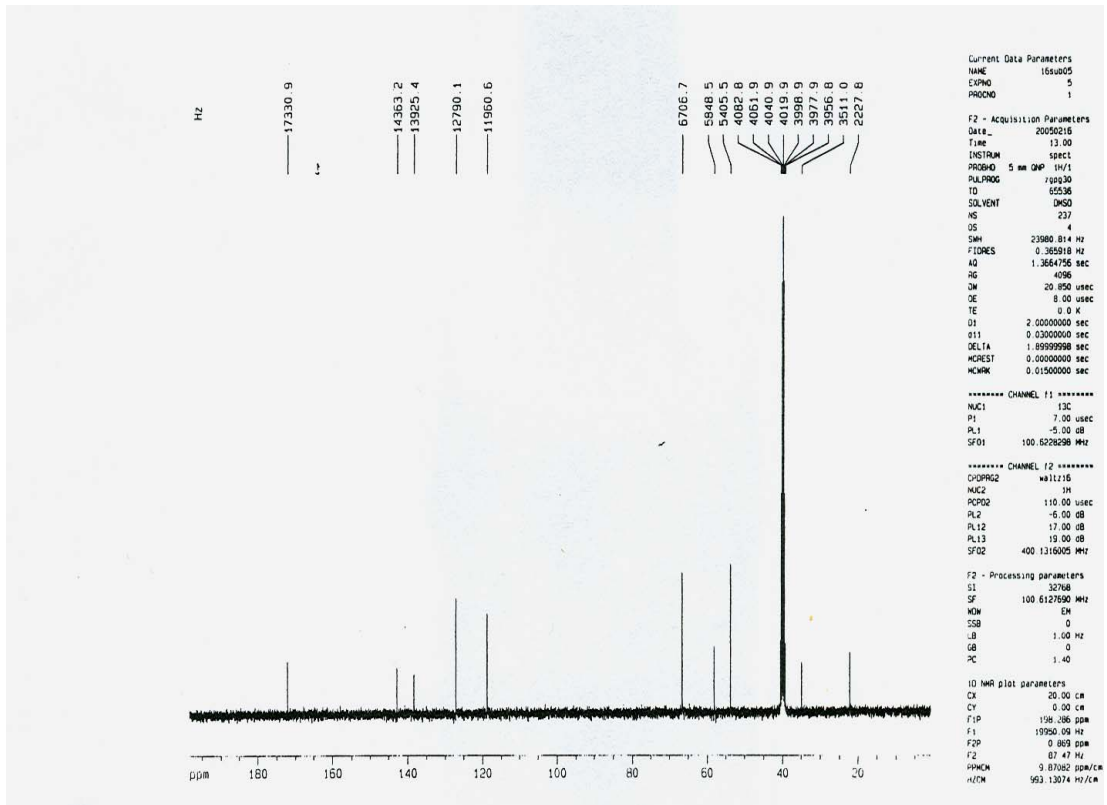
Ek Şekil 3.1. 4-(4-metilpiperidinobütanoilamino)-benzenesülfonamid (8)'in DMSO içinde alınan ^{13}C NMR spektrumu



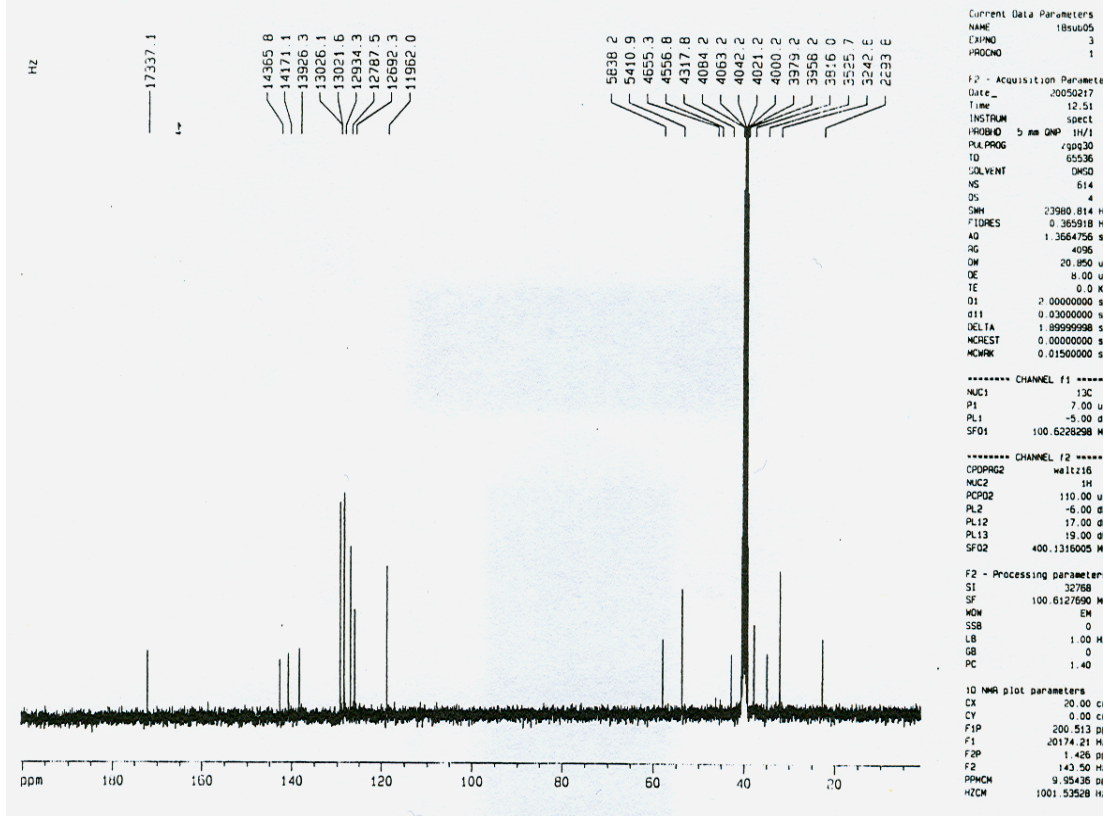
Ek Şekil 3.2. 4-(4-pirrolidinobütanoilamino)-benzenesülfonamid (9) 'in DMSO içinde alınan ^{13}C NMR spektrumu



Ek Şekil 3.3. 4-(4-metilpiperazinobütanoilamino)-benzensulfonamit (10)'un DMSO içinde alınan ^{13}C NMR spektrumu

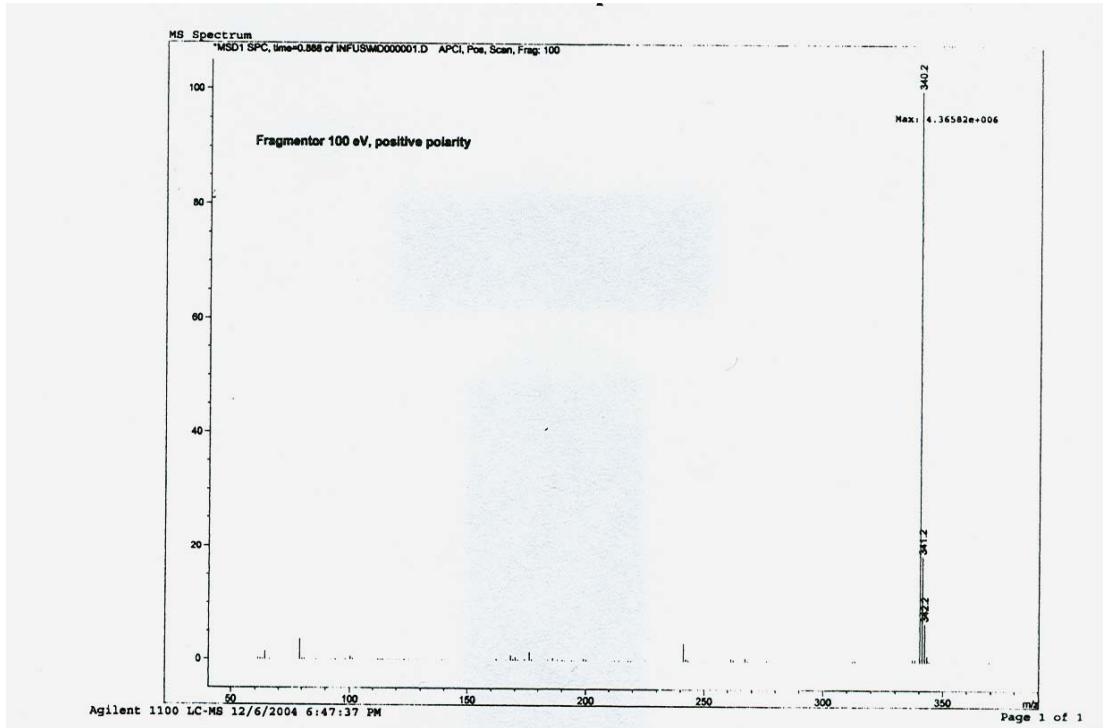


Ek Şekil 3.4. 4-(4-morfolinobütanoilamino)-benzensulfonamit (11)'in DMSO içinde alınan ^{13}C NMR spektrumu

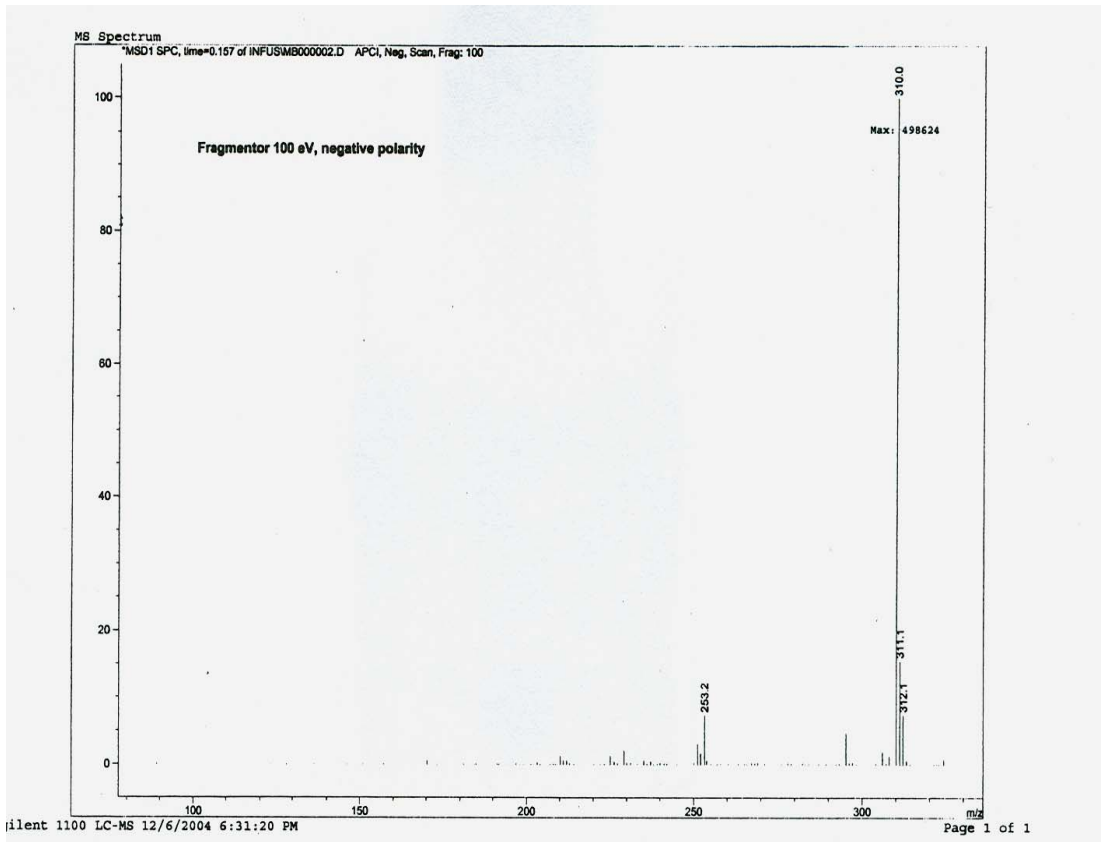


Ek Şekil 3.5. 4-(4-benzilpiperidinobütanoilamino)-benzensulfonamit (12) DMSO içinde alınan ^{13}C NMR spektrumu

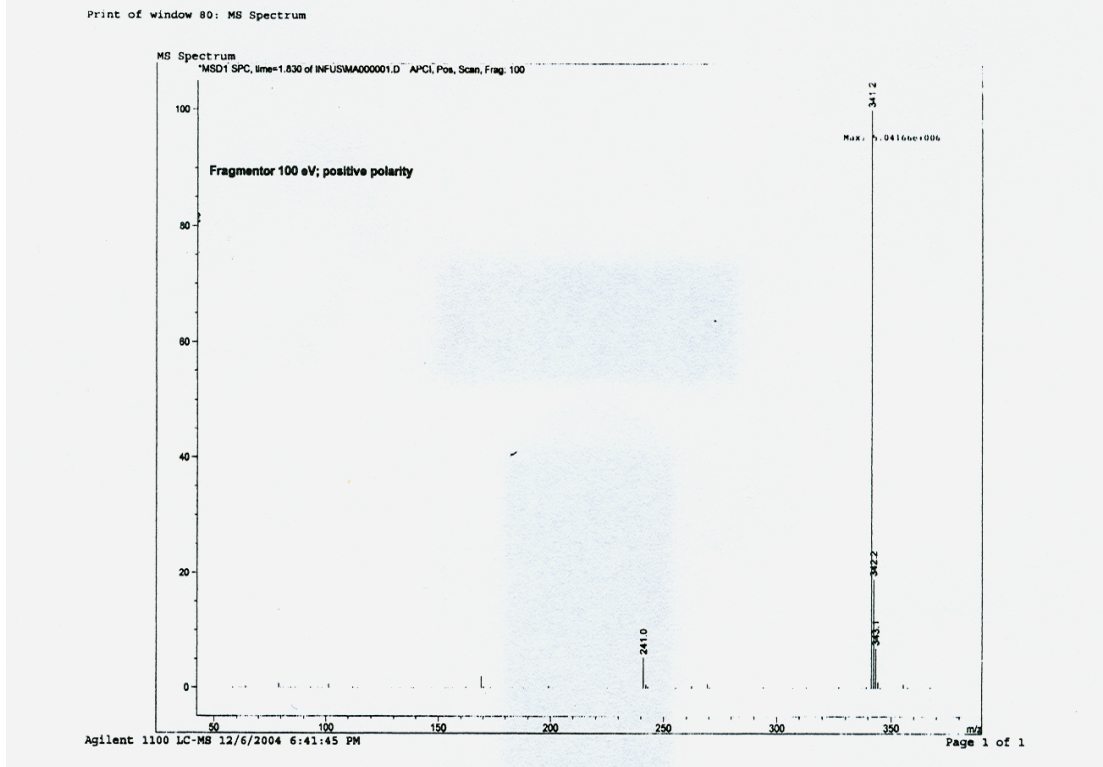
EK 4 Sentezlenen Bileşiklerin Kütle Spektrumları



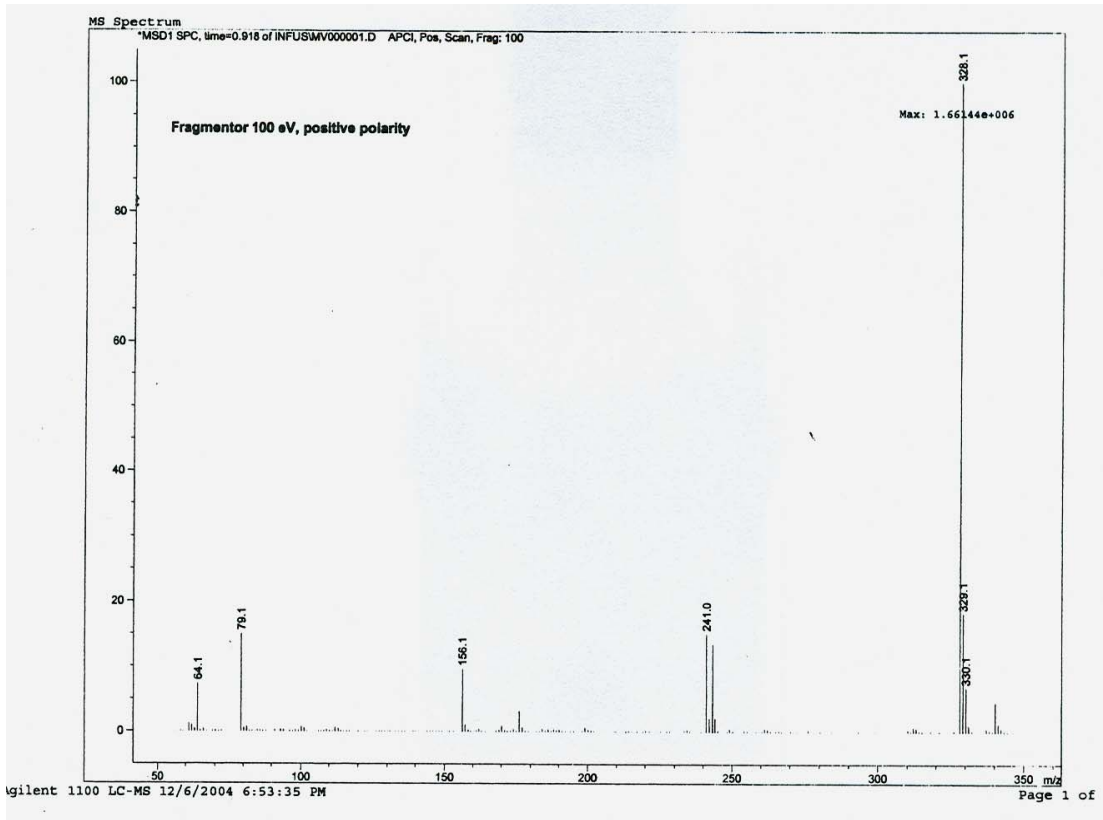
Ek Şekil 4.1. 4-(4-metilpiperidinobütanoilamino)-benzenesülfonamit (8)'in kütle spektrumu



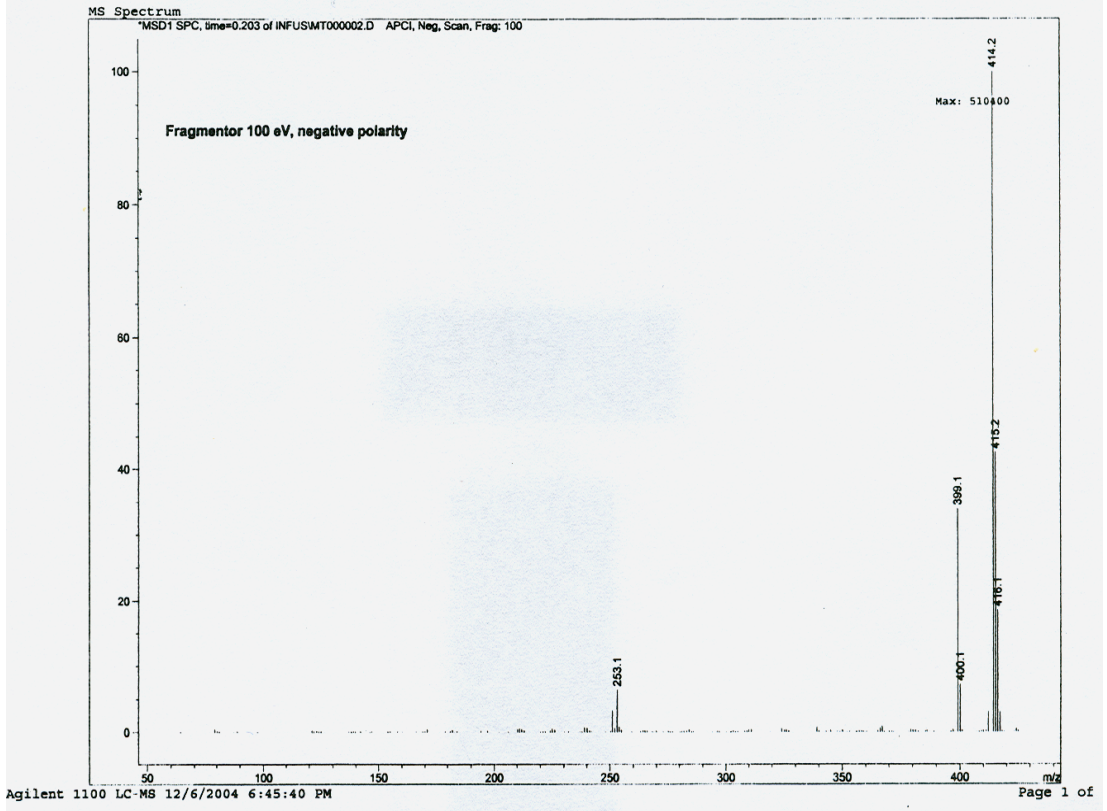
Ek Şekil 4.2. 4-(4-pirrolidinobütanoilamino)-benzenesülfonamit (9)'in kütle spektrumu



Ek Şekil 4.3. 4-(4-metilpiperazinobütanoilamino)-benzensulfonamit (10)'un kütle spektrumu



Ek Şekil 4.4. 4-(4-morfolinobütanoilamino)-benzensulfonamit (11)'in kütle spektrumu



Ek Şekil 4.5. 4-(4-benzilpiperidinobütanoilamino)-benzensulfonamit (12) kütle spektrumu

ÖZET

Glokom, kontrol altına alınmazsa gözün görme alanında geri dönüşümü olmayan etkilere neden olan bir hastalıktır.

Bu çalışmada glokom tedavisi için kullanılabilir yeni aromatik sülfonamidler sentezlenmiştir. Bu amaçla beş yeni bileşik sentezlendi. Bunlar 4-(4-metilpiperidinobütanoilamino)-benzen sülfonamid, 4-(4-pirrolidinobütanoilamino)-benzen sülfonamid, 4-(4-metilpiperazinobütanoilamino)-benzen sülfonamid, 4-(4-morfolinobütanoilamino)-benzen sülfonamid, 4-(4-benzilpiperidinobütanoilamino)-benzen sülfonamid bileşikleridir.

Reaksiyon takibi için ince tabaka kromatografisi metodu kullanılmıştır.

Sentezlenen bileşiklerin saflaştırılması için kristallendirme ve kolon kromatografisi uygulanmıştır. Elde edilen bileşiklerin yapılarının aydınlatılması için Infrared Spektroskopisi (IR), Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (^{13}C ve ^1H NMR), Kütle Spektroskopisi ve Elementel Analiz ile aydınlatılmıştır.

Aynı zamanda sentezlenen maddelerin inhibitör aktiviteleri (in vitro), IC_{50} , UV-VİS spektrofotometre ile ölçülmüştür. Bu bileşiklerden bazıları sülfanilamitten daha iyi aktiviteye sahipken; bazılarının ise aynı değerlere sahip oldukları gözlenmiştir.

Ayrıca sentezlenen bileşiklerin bölme katsayısı ölçümleri yapılmıştır. Bölme katsayılarına bakıldığında ise çok iyi bölme katsayılarına sahip oldukları görülmektedir. Aynı zamanda sentezlenen bileşiklerin sudaki çözünürlükleri ve erime noktaları da saptanmıştır.

Sonuç olarak sentezlenen bütün bileşikler iyi inhibitör aktivitelerine, çözünürlüğe ve bölme katsayılarına sahiptirler. Bu bileşiklerin klinik çalışmaları

yapılmalıdır. Çünkü (*in vitro*) sonuçlar bu bileşiklerin ümit verici bileşikler olduğunu göstermektedir.

Bu bileşiklerin en az birinin glokom tedavisinde ajan olarak kullanılacağı ümit edilmektedir.

SUMMARY

Glaucoma is a disease that it may cause irreversible vision effect in the eye, if it is not controlled.

It was synthesised novel aromatic sulfonamides for glaucoma therapy in this work. Five new compounds, which are 4-(4-methylpiperidinobutanoylamino)-benzene sulfonamide, 4-(4-pyrroldino butanoylamino)- benzene sulfonamide, 4-(4-methylpiperazino butanoylamino)-benzene sulfonamide, 4-(4-morpholino butanoylamino)-benzene sulfonamide, 4-(4-benzylpiperidino butanoylamino)-benzene sulfonamide, were synthesised for this purpose.

Thin layer chromatography method was used to understand whether the reaction completed or not.

Column chromatography and crystallisation techniques were done to purify synthesised compounds. All the synthesised compounds were identified by Infrared Spectroscopy (IR), Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy, Mass Spectroscopy and Elemental Analysis.

In addition, in vitro inhibitor activities (IC_{50}) of the synthesised compounds were investigated by using UV-VIS spectrophotometer. IC_{50} results show that inhibitor activity (in vitro) of some of the compounds are better than sulfanilamide, some of them are as good as sulfanilamide.

In addition, partition coefficients of the synthesised compounds were studied as well. The results show that partition coefficients of the synthesised compounds are very good. At the same time, water solubility and melting point of synthesised compounds were done as well.

As a result, all the synthesised compounds have good inhibitor, activity (in vitro), water solubility and partition coefficient. Clinical studies of these compounds should be investigated. Because in vitro results show that these compounds are promising compounds.

We hope that at least one of these compounds may be use useful for glaucoma therapy.