



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ECZACILIKTA BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**KALKON, PİRAZOLİN, PİRAZOLİN-N-ASETİL
ANALOGLARININ SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

Pınar KARDAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Rezzan ALİYAZICIOĞLU

TRABZON-2025

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak yapıldığını ve yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

16/05/2025

Pınar KARDAL

TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında desteğini esirgemeyen danışman hocalarım Prof. Dr. Rezzan ALİYAZICIOĞLU ve Doç. Dr. Seda FANDAKLI'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmam esnasında bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren hocalarım Doç. Dr. Uğur UZUNER'e, Dr. Öğr. Üyesi Merve BADEM'e, Dr. Öğr. Üyesi Şeyda KANBOLAT'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında TÜBİTAK Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı (BİDEB) 2211-Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı kapsamında maddi destek sağlayan TÜBİTAK Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı'na teşekkür ederim.

TYL-2023-10909 proje numaralı Bilimsel Araştırma Projesi ile maddi destek sağlayan Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimine beni teşvik ederek ilk günden itibaren desteklerini esirgemeyen ve hep yanımda olan aileme teşekkür ederim.

Pınar KARDAL

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK SAYFASI	
ONAY	
BEYAN	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	xi
ÖZET	xv
ABSTRACT	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Flavonoidler	4
2.2. Kalkonlar	4
2.3. Pirazolin	6
2.4. Serbest Radikaller	7
2.5. Antioksidan Savunma Sistemleri	8
2.5.1. Antioksidanların Sınıflandırılması	9
2.6. Enzimler	10
2.6.1. Enzimlerin Sınıflandırılması	10
2.6.2. Enzim İnhibisyonu	11
2.7. Karbonhidratlar	11
2.7.1. Kan Glukozu	12
2.8. Diabetes Mellitus	13
2.8.1. Diabetes Mellitus'un Sınıflandırılması	14
2.8.1.1. Tip 1 Diabet (T1D)	14
2.8.1.2. Tip 2 Diyabet (T2D)	14
2.8.2. Diabetes Mellitus Tanısı	15
2.8.3. Diabetes Mellitus Tedavi Yöntemleri	16
2.8.3.1. İnsülin	16
2.8.3.2. Oral Antidiyabetik Tedavi	17

2.9. Antimikrobiyal Direnç (AMR)	19
3. GEREÇ ve YÖNTEM	20
3.1. Biyokimyasal Analizlerde Kullanılan Kimyasallar ve Çözücüler	20
3.2. Enstrümantasyon	20
3.3. Deneysel Çalışma Aşaması	20
3.3.1. Bileşiklerin Sentezi, Saflaştırması ve Karakterizasyonu Çalışmaları	20
3.3.1.1. 1-4 No.lu Bileşiklerin Sentezi	20
3.3.1.2. 5-8 No.lu Pirazolin Bileşiklerin Sentezi	23
3.3.1.3. 9-12 No.lu Pirazolin-N-Asetil Bileşiklerin Sentezi	26
3.3.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	29
3.3.2.1. Sentezlenen Bileşiklerin Antioksidan Aktivite Çalışmaları	29
3.3.2.2. α -Glukozidaz İnhibisyonu	30
3.3.2.3. Antimikrobiyal Aktivitelerin Belirlenmesi	30
3.3.3. Moleküler Yerleştirme (Docking) Çalışmaları	31
4. BULGULAR	32
4.1. Bileşiklere Ait Formüller ve Adlandırmalar	32
4.2. 1-12 No.lu Bileşiklerin Yapılarının Aydınlatılması	34
4.3. Bileşiklerin Antioksidan Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular	37
4.3.1. Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Tayini Sonuçları	37
4.3.2. Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Tayini Sonuçları	38
4.4. Alfa Glukozidaz Aktivite İnhibitor Aktivite Sonuçları	40
4.5. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Sonuçları	43
4.6. Moleküler Yerleştirme (Docking) Çalışma Sonuçları	43
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	49
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	55
KAYNAKLAR	56
EKLER	63
Ek 1. 1 No.lu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)	64
Ek 2. 1 No.lu Bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)	65
Ek 3. 1 No.lu Bileşiğin LC/MS-MS Spektrumu	66
Ek 4. 2 No.lu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)	67
Ek 5. 2 No.lu Bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)	68
Ek 6. 2 No.lu Bileşiğin LC/MS-MS Spektrumu	69

Ek 7. 3 No.lu Bileşimin ^1H -NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)	70
Ek 8. 3 No.lu Bileşimin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)	71
Ek 9. 3 No.lu Bileşimin LC/MS-MS Spektrumu	72
Ek 10. 4 No.lu Bileşimin ^1H -NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)	73
Ek 11. 4 No.lu Bileşimin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)	74
Ek 12. 4 No.lu Bileşimin LC/MS-MS Spektrumu	75
Ek 13. 5 No.lu Bileşimin ^1H -NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)	76
Ek 14. 5 No.lu Bileşimin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)	77
Ek 15. 5 No.lu Bileşimin LC/MS-MS Spektrumu	78
Ek 16. 6 No.lu Bileşimin ^1H -NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)	79
Ek 17. 6 No.lu Bileşimin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)	80
Ek 18. 6 No.lu Bileşimin LC/MS-MS Spektrumu	81
Ek 19. 7 No.lu Bileşimin ^1H -NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)	82
Ek 20. 7 No.lu Bileşimin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)	83
Ek 21. 7 No.lu Bileşimin LC/MS-MS Spektrumu	84
Ek 22. 8 No.lu Bileşimin ^1H -NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)	85
Ek 23. 8 No.lu Bileşimin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)	86
Ek 24. 8 No.lu Bileşimin LC/MS-MS spektrumu	87
Ek 25 9 No.lu Bileşimin ^1H -NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)	88
Ek 26. 9 No.lu Bileşimin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)	89
Ek 27. 9 No.lu Bileşimin LC/MS-MS Spektrumu	90
Ek 28. 10 No.lu Bileşimin ^1H -NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)	91
Ek 29. 10 No.lu Bileşimin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)	92
Ek 30. 10 No.lu Bileşimin LC/MS-MS Spektrumu	93
Ek 31. 11 No.lu Bileşimin ^1H -NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)	94
Ek 32. 11 No.lu Bileşimin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)	95
Ek 33. 11 No.lu Bileşimin LC/MS-MS Spektrumu	96
Ek 34. 12 No.lu Bileşimin ^1H -NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)	97
Ek 35. 12 No.lu Bileşimin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)	98
Ek 36. 12 No.lu Bileşimin LC/MS-MS Spektrumu	99
ÖZGEÇMİŞ	100

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 1. Antioksidan savunma sistemleri	8
Tablo 2. Antioksidanların sınıflandırılması	10
Tablo 3. 1-12 no.lu bileşiklerin molekül formülleri	33
Tablo 4. Sentezlenen bileşiklerin (1 mg/mL) antioksidan aktivite sonuçları	39
Tablo 5. Örneklerin α -glukozidaz inhibisyon akarboz eşdeğeri sonuçları	40
Tablo 6. Örneklerin α -glukozidaz inhibisyon sonuçları	41
Tablo 7. Sentezlenen bileşiklerin agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile oluşturduğu inhibisyon çapları (mm)	43
Tablo 8. Sentezlenen bileşiklere ait moleküler yerleştirme sonuçları	44

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1. Flavonoidlerin genel yapısı	4
Şekil 2. Kalkon iskeletinin yapısal gösterimi	5
Şekil 3. Kalkonun Claisen-Schmidt yoğunlaşması	5
Şekil 4. 1-12 no.lu bileşiklerin reaksiyon şeması	32
Şekil 5. FRAP tayininde kullanılan troloks'a ait kalibrasyon grafiği	38
Şekil 6. Sentezlenen bileşiklerin FRAP tayini sonuçları	38
Şekil 7. CUPRAC tayininde kullanılan troloks'a ait kalibrasyon grafiği	39
Şekil 8. Sentezlenen bileşiklerin CUPRAC tayini sonuçları	39
Şekil 9. Örneklerin α -glukozidaz inhibisyon akarboz eşdeğeri sonuçları	40
Şekil 10. Akarboz'un standart çalışma grafiği	41
Şekil 11. 9 numaralı örneğin α -glukozidaz inhibisyon grafiği	41
Şekil 12. 10 numaralı örneğin α -glukozidaz inhibisyon grafiği	42
Şekil 13. 12 numaralı örneğin α -glukozidaz inhibisyon grafiği	42
Şekil 14. Örneklerin α -glukozidaz inhibisyon sonuçları	42
Şekil 15. Akarboz-Sc_A_Gluk kompleksine ait 3D moleküler yerleştirme görseli ve enzim ligand kompleksinin barındırdığı potansiyel biyokimyasal etkileşimleri ortaya koyan 2D plot görseli	46
Şekil 16. P5-Sc_A_Gluk kompleksine ait 3D moleküler yerleştirme görseli ve enzim ligand kompleksinin barındırdığı potansiyel biyokimyasal etkileşimleri ortaya koyan 2D plot görseli.	46
Şekil 17. P6-Sc_A_Gluk kompleksine ait 3D moleküler yerleştirme görseli ve enzim ligand kompleksinin barındırdığı potansiyel biyokimyasal etkileşimleri ortaya koyan 2D plot görseli.	47
Şekil 18. P9-Sc_A_Gluk kompleksine ait 3D moleküler yerleştirme görseli ve enzim ligand kompleksinin barındırdığı potansiyel biyokimyasal etkileşimleri ortaya koyan 2D plot görseli.	47
Şekil 19. P10-Sc_A_Gluk kompleksine ait 3D moleküler yerleştirme görseli ve enzim ligand kompleksinin barındırdığı potansiyel biyokimyasal etkileşimleri ortaya koyan 2D plot görseli.	48
Şekil 20. P12-Sc_A_Gluk kompleksine ait 3D moleküler yerleştirme görseli ve enzim ligand kompleksinin barındırdığı potansiyel biyokimyasal etkileşimleri ortaya koyan 2D plot görseli.	48

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ABTS	2,2-azino-bis (3-etil-benzotiazolin-6-sülfonik asit)
AMR	Antimikrobiyal direnç
APT	Karbon türünü belirten spektrum
ARG	Arginin
ASN	Asparajin
ATP	Adenozin trifosfat
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
CDC	Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri
COX-2	Siklooksijenaz-2
Cu(II)-Nc	Bakır(II)-neokuproin kompleksi
CUPRAC	Bakır (II) indirgeme/antioksidan kapasite
CYP1	Sitokrom P450 ailesi 1
DCCT	The Diabetes Control and Complications Trial
DCM	Genişlemiş kardiyomiyopati
DM	Diabetes Mellitus
DMSO	Dimetil sülfoksit
DPP-4	Dipeptidil peptidaz-4
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DNA	Deoksiribonükleik asit
E.C	Enzim kodu
ES/EI	Elektron sprey yöntemi
FPG	Açlık plazma glukozu
FRAP	Demir (III) indirgeme antioksidan kapasitesi
FT-IR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
GIP	Gastrik inhibitör peptid
GLU	Glutamik asit
GLUT	Glukoz taşıyıcısı
GLY	Glisin
GSH	Glutatyon
GSH-Px	Glutatyon peroksidaz

GST	Glutatyon S-Transferaz
HbA1c	Glukozillenmiş hemoglobin
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HIS	Histidin
¹H-NMR	Bir boyutlu nükleer manyetik rezonans spektrumu
HRMS	Yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi
IEC	Enzim Komisyonu
İTK	İnce tabaka kromatografisi
KK	Kolon kromatografisi
KKK	Kronik kalp yetmezliği
LC-MS/MS	Sıvı kromatografi- Kütle spektrometresi
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
LGGT	Lu'an Guapian yeşil çayı
MRSA	Metisiline Dirençli Staphylococcus Aureus
NMR	Nükleer manyetik rezonans
NPH	Nötr protamin Hagedorn
OGTT	Oral glukoz toleransı
OH⁻	Hidroksil
PEG-400	Polietilen glikol 400
PHE	Fenilalanin
PG	Propil gallat
PNPG	4- Nitrofenil β-D-glukuronid
PPAR-γ	Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptörü-γ
RNS	Reaktif azot türleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
RSS	Reaktif kükürt türleri
SER	Serin
SOD	Süperoksit dismutaz
T1D	Tip 1 Diabet
T2D	Tip 2 Diabet
TBHQ	Ter-butilhidrokinon
TCF7L2	Transkripsiyon faktörü 7 benzeri 2
TEAC	Trolox eşdeğer antioksidan kapasite

TMS	İç standart tetrametilisilan
TPTZ	Tripiridiltriazin
Troloks	6-Hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit
UV	Ultraviyole
VAL	Valin
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
Simgeler	
~	Yaklaşık
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
cm	Santimetre
dL	Desilitre
g	Gram
IC ₅₀	Yarı maksimum inhibitör konsantrasyonu
kcal	kilokalori
Km	Maksimum hızın yarısına karşılık gelen substrat konsantrasyonu
L	Litre
M	Molar
mg	Miligram
MHz	Megahertz
mL	Mililitre
mmol	Milimol
mm	Milimetre
nm	Nanometre
pH	Hidrojenin gücü
Vmax	Katalizin ulaşabileceği en yüksek hız değeridir
μ L	Mikrolitre
μ M	Mikromolar

Formüller**8-OHdG**

8-hidroksi deoksiguanozin

Cu^{2,3+}

Bakır II, III iyonu

Cu(II)-Nc

Bakır(II)- neocuproin kompleksi

Fe^{2,3+}

Demir II, III iyonu

H₂O

Su

NaOH

Sodyum hidroksit

Na₂CO₃

Sodyum karbonat

NH₄CH₃COO⁻

Amonyum asetat

O₂^{•-}

Süperoksit radikali

O₂

Oksijen

OH[•]

Hidroksil radikali

ÖZET

Kalkon, Pirazolin, Pirazolin-N-Asetil Analoglarının Sentezi, Karakterizasyonu ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi

Bu çalışmada pirazolin ve pirazolin n-asetil analogları sentezlenerek sentez bileşiklerinin antimikrobiyal aktivitesi, antioksidan kapasitesinin aydınlatılması, alfa-glukozidaz enzim inhibisyonunun incelenmesi ve alfa-glukozidaz enzim bölgesine bağlanma modlarının moleküler docking çalışmaları ile aydınlatılıp biyolojik aktivitelerinin incelenmesi amaçlandı.

Bu tez kapsamında, 3-amino süstitüe kalkon bileşiklerinden Pirazolin ve Pirazolin N-Asetil Analogları sentezlendi. Sentezlenen bileşiklerin yapıları NMR (1H-NMR, C-NMR), FT-IR, UV-VIS, kütle (LCMS/MS) ve elemental analiz teknikleri yardımıyla spektroskopik olarak tanımlandı. Sentez bileşiklerinin, antimikrobiyal (agar kuyu difüzyon testi), enzim inhibisyonu (alfa glukozidaz) ve antioksidan (Cu(II) iyon azaltıcı antioksidan kapasite (CUPRAC) ve Fe(III) iyon azaltıcı antioksidan kapasite (FRAP)) potansiyelleri araştırıldı. Sentez bileşiklerinin alfa glukozidaz inhibisyon potansiyellerine ilişkin moleküler docking çalışmaları, AutodockVina programı kullanılarak gerçekleştirildi.

Tez çalışmasında sentezlenen bütün bileşiklerin farklı düzeylerde antioksidan aktivite sergilediği tespit edildi. 6 ve 7 no.lu bileşikler dışındaki tüm bileşikler test edilen mikroorganizmaların bazılarına karşı inhibisyon zonu oluşturdu, bu da antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları anlamına gelmektedir. Özellikle 1, 2, 3 ve 4 no.lu bileşikler test mikroorganizmalarının tümüne karşı iyi düzeyde antimikrobiyal aktiviteler gösterdi. En yüksek alfa-glukozidaz enzim inhibisyonu 9, 10 ve 12 numaralı bileşiklerde gözlemlendi. IC₅₀ değerleri sırasıyla 904.134±23.201, 1071.772±37.543 ve 1027.468±38.758 olarak bulundu.

Yapılan bu tez çalışması, tıp, kozmetik veya gıda endüstrilerinde halihazırda kullanılan ajanlar için daha etkili, güvenli, çok işlevli yeni bileşikler tespit ederek literatüre katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Anti-alfa glukozidaz aktivite, Antimikrobiyal aktivite, Antioksidan aktivite, Kalkon, Pirazol

ABSTRACT

Synthesis, Characterization and Investigation of Biological Activities of Chalcone, Pyrazoline, Pyrazoline-N-Acetyl Analogs

In this thesis, it was aimed to synthesize pyrazoline and pyrazoline n-acetyl analogues and to elucidate the antimicrobial activity and antioxidant capacity of the synthesis compounds, to examine alpha-glucosidase enzyme inhibition, and to elucidate their binding modes to the alpha-glycosidase enzyme site by molecular docking studies and examine their biological activities.

Within the scope of this thesis, Pyrazoline and Pyrazoline N-Acetyl Analogues were synthesized from 3-amino substituted chalcone compounds. The structures of the synthesized compounds were identified spectroscopically with the help of NMR (¹H-NMR, ¹³C-NMR), FT-IR, UV-VIS, mass (LCMS/MS) and elemental analysis techniques. The antimicrobial (agar well diffusion test), enzyme inhibition (alpha glucosidase) and antioxidant (Cu(II) ion-reducing antioxidant capacity (CUPRAC) and Fe(III) ion-reducing antioxidant capacity (FRAP)) potentials of the synthesis compounds were investigated. Molecular docking studies on the alpha glucosidase inhibition potential of the synthesis compounds were carried out using the AutodockVina program.

It was determined that all the compounds synthesized in the thesis study exhibited antioxidant activity at different levels. All compounds except compounds no. 6 and 7 formed an inhibition zone against some of the tested microorganisms, which means that they have antimicrobial activity. Especially compounds no. 1, 2, 3 and 4 showed good antimicrobial activities against all of the tested microorganisms. The highest alpha-glucosidase enzyme inhibition was observed in compounds numbered 9, 10 and 12. IC₅₀ values were found as 904.134±23.201, 1071.772±37.543 and 1027.468±38.758, respectively.

This thesis study will contribute to the literature by identifying more effective, safe, multifunctional new compounds for the agents currently used in the medical, cosmetic or food industries.

Keywords: Anti-alpha glucosidase activity, Antimicrobial activity, Antioxidant activity, Chalcone, Pyrazol

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Reaktif oksijen türleri (ROS) veya serbest radikal üretiminin vücudun antioksidan savunması tarafından dengelenememesi sonucunda ortaya çıkan duruma oksidatif stres denir. Hücrelerin normal redoks durumundaki bozukluklar hücrenin bütün bileşenlerine zarar veren serbest radikallerin üretimi yoluyla toksik etkilere neden olabilmektedir. Reaktif oksijen türleri (ROS), canlı organizmalarda metabolik süreçlerin doğal yan ürünleri olarak ortaya çıkan moleküllerdir. En yaygın ROS türleri arasında süperoksit radikalleri ($O_2^{\bullet-}$), hidroksil radikalleri ($\bullet OH$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve tekli oksijen ($1O_2$) yer almaktadır (1).

Reaktif oksijen türleri, hücresel düzeyde sinyal iletimi, apoptoz, bağışıklık yanıtları ve hücre farklılaşması gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde görev alabilir. Ancak bu türlerin üretimi normalin üzerine çıktığında, proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi temel biyomoleküllerde tahribata yol açarak oksidatif stresin oluşmasına neden olur. Oksidatif stresin, diyabet, kanser, ateroskleroz, metabolik bozukluklar ve kardiyovasküler hastalıklar dahil olmak üzere pek çok hastalıkla ilişkili olduğu araştırmalarla ortaya konmuştur. Ayrıca, serbest radikallerin üretimi sadece insan vücudundaki normal metabolik süreçlerle (endojen kaynaklar) ilişkili değildir, aynı zamanda stres, radyasyon, kirlilik, pestisitler ve endüstriyel kimyasallar gibi çevresel faktörlerden (dış kaynaklı kaynaklar) de kaynaklanabilmektedir (1). Oksidasyon hasarı sadece insan vücudunda meydana gelmez. Oksidasyon reaksiyonları, havaya (oksijen) ve/veya ısıya veya ışığa maruz kaldığında birçok gıda ürününde de meydana gelir.

Yaygın gıda bozulma süreçlerinden biri lipid peroksidasyonudur (örneğin margarin, mayonez ve kızartma yağlarında meydana gelebilir) (2). Aldehitler, ketonlar ve organik asitler gibi istenmeyen kimyasal bileşiklerin üretimine neden olarak lipid içeren gıda ürünlerinin raf ömrünün ve besin değerinin azalmasına neden olur. Biyomoleküllerin oksidasyonunu geciktirme stratejilerinden biri, gıda ürünlerinin üretildikten sonra hemen tüketilmediği çoğu durumda oksidatif hasarın azaltılarak veya inhibe edilerek antioksidanların dahil edilmesidir. Sentetik antioksidanlar, daha kararlı, daha etkili ve daha ucuz oldukları için oldukça fazla kullanım alanına sahiptirler (3). Gıda sanayisinde en yaygın kullanılan sentetik antioksidanlar arasında bütillenmiş hidroksianizol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), propil gallat (PG) ve tert-bütıl hidrokinondur (TBHQ) yer almaktadır. Halihazırda kullanılan bu sentetik antioksidanların yüksek dozları, DNA

hasarına ve erken yaşlanmaya neden olabilmektedir (4, 5). Bu nedenle mevcut kullanılan antioksidanları daha güvenli olanlarla değiştirme eğilimi artmaktadır.

Alfa-glukozidaz inhibitörleri, bağırsaklardan glukoz emilimini geciktirerek postprandiyal hiperglisemiye kontrol altına alırlar, böylelikle kan glukoz seviyesinin ani yükselmesini önlerler. Ancak uzun süreli kullanımları sıklıkla şişkinlik, ishal ve dispepsi gibi gastrointestinal rahatsızlıklara yol açtığı için sınırlı kalmaktadır. Ayrıca karaciğer enzimlerinde orta düzeyde yükselmeler ve seyrek şekilde anemi vakaları bildirilmiştir. Türkiye’de bu gruba ait ilaçlardan sadece akarboz piyasada bulunmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda sentezlenen yan etkisi oldukça düşük bileşiklerin alfa glukozidaz inhibitörlerinin etkinliği araştırılacaktır.

Bakteriyel patojenlerde antibiyotik direnci şu anda çok yüksek ve endişe verici seviyelere ulaşmıştır. Antibiyotik direnci krizi, bu ilaçların aşırı ve yanlış kullanımının yanı sıra azaltılmış ekonomik teşvikler ve zorlu yasal gereklilikler nedeniyle ilaç endüstrisi tarafından yeni ilaç geliştirme eksikliğine bağlanmıştır. Ne yazık ki, son on yılda gözlemlenen antibiyotik keşfi ve gelişimindeki yavaş ilerleme, klinik kullanım için yeni bileşiklerin sınırlı varlığına neden olup antibiyotik direncinin morbidite ve mortalite oranları üzerindeki yükünü ağırlaştırmıştır (6). Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC)’nin 2019 Antibiyotik Direnç Tehditleri Raporu’na göre, her yıl Amerika Birleşik Devletleri’nde her sene 2,8 milyonu aşan sayıda antibiyotiğe dirençli enfeksiyon görülmektedir. Sonuç olarak 35.000’den fazla insan ölmektedir. Antibiyotik direnci, sağlık, veterinerlik, gıda ve tarım sektörlerinin yanı sıra yaşamın her aşamasında insanları etkileme potansiyeline sahiptir. Bu da onu dünyanın en acil halk sağlığı sorunlarından biri haline getirmektedir (7). Bazı bakteriler belirli antibiyotik türlerine doğal olarak dirençlidir ancak çoğu doğal bir genetik mutasyon yoluyla veya diğer bakterilerden direnç genleri alarak dirençli hale gelmektedir. Bakteriler zamanla birçok direnç özelliği kazanabildikleri için farklı antibiyotik türlerine karşı dirençli hale gelebilmektedir (8). Metisiline Dirençli Staphylococcus Aureus (MRSA), en sık bilinen antibiyotiğe dirençli bakterilerden biridir. Tıp merkezlerinde MRSA, hayatı tehdit eden kan dolaşımı ve cerrahi alan enfeksiyonlarının yanı sıra pnömoniye neden olmaktadır. Treptococcus pneumoniae bakterileri, pnömoni de dahil olmak üzere birçok hastalığa neden olmaktadır. Ancak yiyecek veya su belirli Enterobacteriaceae türleri tarafından kontamine olursa gıda zehirlenmesine veya gastroenterite neden olabilmektedir (9). Bu sebeplerden dolayı yeni

antibakteriyel ajanlar yaratmak günümüzün en önemli önceliklerinden biridir. Bu açıdan bakıldığında, yeni antibiyotiklerin keşfedilmesi ve geliştirilmesinin acil bir ihtiyaç olduğu açıktır.

Kalkonlar benzil asetofenon olarak tanınmaktadır. Kalkonlar, farklı sübtitüe düzenlemelerine sahip iki aromatik halkayı (A ve B halkaları) bir arada tutan alfa, beta doymamış ketonlardır. Kalkonlarda, iki aromatik halka, alifatik üç karbon serisi ile birbirine bağlanmıştır (10). Doğal olarak oluşan kalkonların potansiyel antikanser, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antioksidan ve antiparaziter özellikleri bulunmaktadır. Ayrıca onların benzersiz kimyasal yapısal özellikleri çok sayıda kalkon türevinin sentezine ilham vermiştir (11). Kalkonlar, flavonoidler (C6-C3-C6 sistemi) ailesine ait sekonder metabolitlerdir ve flavonoid biyosentetik yolların önemli ara ürünleri olarak işlev görmektedir. Kalkonlardan sentezlenen nitrojen içeren heterosiklik türevler, antiinflamatuvar, antioksidan, antitüberküler, anti-HIV, antifungal, antikanser, antitüberküloz ve antibakteriyel aktiviteler sergilemiştir (12).

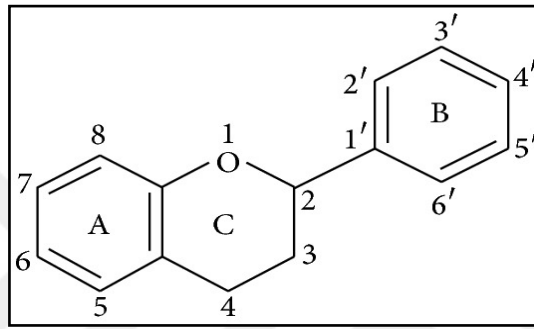
İlaç tasarımı ve geliştirilmesinde önem taşıyan heterosiklik bileşikler arasında pirimidin, triazol, tetrazol, oksadiazol, tiyadiazol ve pirazol gibi yapılar ön plandadır. Bu halkalar, çeşitli biyolojik aktivitelere sahip yeni ilaç adaylarının geliştirilmesinde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bu bağlamda, pirazolin yapısı, pirazolün indirgenmiş hali olarak dikkat çeker ve ilaç sentezinde sıklıkla tercih edilir. Pirazolin türevlerinin, başta beyin, mide, karaciğer ve kolon olmak üzere pek çok organ kanserinin önlenmesinde potansiyel taşıdığı bildirilmektedir (13).

Diabetes Mellitus (DM), dünya genelinde giderek yaygınlığı artan, yol açtığı komplikasyonlar nedeniyle önemini koruyan, kronik hiperglisemi ile karakterize kronik bir sağlık sorunudur. Günümüzde mevcut antidiyabetik ilaçların çoğu, kan şekeri düzeyini düzenlemede başarılı olsa da, gastrointestinal sorunlara yol açabilmektedir. Bu nedenle, α -glukozidaz enzim inhibisyonu gösteren ve yan etkileri az olan yeni tedavi seçeneklerinin araştırılması kritik bir öneme sahiptir. Bu amaçla çalışmamızda pirazol türevlerinin antidiyabetik özelliği araştırılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Flavonoidler

Flavonoidler, karakteristik sarı renklerinden ötürü Latince’de sarıya karşılık gelen flavus kelimesinden türetilip “flavonoid” ismini almışlardır. Flavonoidler, piran halkası (C) ile iki aromatik halka (A ve B) içeren 15 karbonlu iskelet yapısıyla tanımlanan ve polifenolik karakterde olan doğal bileşiklerdir (Şekil 1). Flavon, flavanol, flavanon, kalkon gibi çeşitli alt grupları bulunmaktadır (14).



Şekil 1. Flavonoidlerin genel yapısı (Bravo’dan, 15)

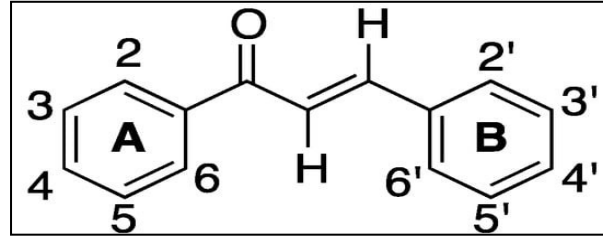
Flavonoidler birçok besinde bulunmaktadır. Meyveler, sebzeler, çiçekler ve tohumlar en yüksek miktarda doğal flavonoid içeren kaynakların başında gösterilebilir. Bunların dışında şarap, bira ve çay gibi içeceklerde de bulunabilir. Ancak bu bileşiklerin miktarı bitki çeşidi/genotipi, yetiştirme ortamı koşulları, toprak özellikleri, hasat ve depolama gibi çeşitli faktörlere göre değişiklik göstermektedir (16).

Flavonoidler, önemli bir doğal ürün sınıfıdır ve bitkisel sekonder metabolitlerdir. Antioksidan, antiinflamatuvar, antimutajenik ve antikarsinojenik özelliklerinden dolayı ilaç ve kozmetik sektöründe yaygın olarak kullanılmaktadır (17).

2.2 Kalkonlar

Kalkon, doğal şekilde meydana gelen birçok bileşiğin basit bir kimyasal iskeletidir. Kalkon, çoğu doğal kalkonun renklerinden ötürü, bronz anlamına gelen Yunanca “chalcos” kelimesinden türetilmiştir. Başlıca kalkonlar arasında floridzin, arbutin, floretin ve kalkonaringenin vardır. Kalkonlar domates, çilek, armut, yaban mersini ve buğday ürünlerinin bazısında önemli miktarlarda yer alır. Kalkonlar ve türevleri, birçok besinsel ve biyolojik aktivitelerinden ötürü uzun yıllardır büyük ilgi görmüştür.

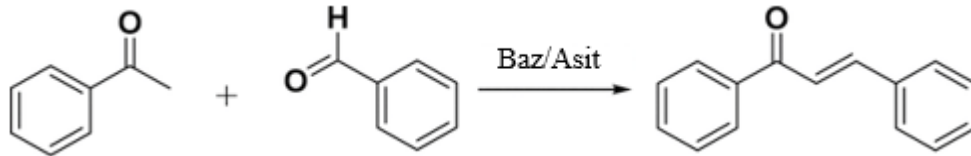
Kalkonlar, flavonoidlerin bir alt sınıfıdır. Flavonoidlerin kalkon alt sınıfı, yapılarında C halkasının bulunmamasıyla ayırt edilir (17). Şekil 2’de kalkon iskeletinin yapısal gösterimi verilmiştir. Kalkonların yapısında iki aromatik halka, üç karbon ile birbirine bağlanmıştır.



Şekil 2. Kalkon iskeletinin yapısal gösterimi (Zhuang’dan, 18)

Birçok kalkon türevi kalkon sentezinin kolay olması sebebiyle sentezlenmiştir. Kalkonlar; süstitüsyon çeşitliliği de sağlayabilir. Bu özelliklerinden dolayı özellikle ilaç kimyası ve organik kimya açısından yoğun araştırmalara konu olmuştur. Bu doğal ve sentetik bileşikler, türlü hastalıklara karşı klinik potansiyele sahip olup ilgi çekici birçok biyolojik aktivite göstermiştir.

Kalkon bileşiklerini hazırlayabilmek için en çok tercih edilen yöntem Claisen-Schmidt kondenzasyonu yöntemidir. Claisen-Schmidt yoğunlaşması, kalkon bileşiğinin baz varlığında karbonil türevi yoğunlaşması yoluyla hazırlanmasına yönelik yaygın kullanılan bir metodolojidir. Aldehit ve ketonun baz veya asit katalizli kondenzasyonunu ve ardından dehidrasyonunu içerir (Şekil 2) (18).



Şekil 3. Kalkonun Claisen-Schmidt yoğunlaşması (Zhuang’dan, 18)

Heterosiklik yapı iskeletlerine sahip kalkon türevleri, üstün aktiviteleri sebebiyle ilaç potansiyeli araştırmalarında umut vaadedici bileşiklerdir. Günümüze kadar, kalkonların sahip olduğu temel kimyasal yapı, bazı ilaçların tasarımında ve geliştirilmesinde birçok araştırmaya potansiyel kaynak olarak hizmet etmiş ve etmeye de

devam etmektedir. Ayrıca birçok araştırmacı, heterosiklik bir yapı iskelesi içeren kalkon türevlerinin sentezlenmesine kapsamlı bir şekilde çalışmaya devam etmektedir. Heterosiklik yapı iskeletleri içeren kalkonların antioksidan aktivite gibi çeşitli biyolojik ve farmakolojik aktivitelerinin olduğu rapor edilmiştir. Bunlara antibakteriyel aktivite, antiinflamatuvar aktivite, antikanser aktivitesi, antitüberküloz aktivite, antiproliferatif ajanlar, antimalarial aktivite, antiplatelet aktivite, karbonik anhidraz inhibitörleri, mikrozomalenzim glutatyon-*S*-transferazların bir inhibitörü ve sitokrom P450 ailesi 1 (CYP1) enzim inhibitörleri örnek olarak verilebilir (19).

Kalkonların basit aromatik bileşiklerden sentezi kolaydır. Bu bileşikler işlevsellendirilmiş kalkon türevleri sentezleyebilmek için yapısal olarak kolayca modifiye edilebilirler. Yapısal modifikasyon esas olarak her iki fenil halkasında meydana gelmektedir (18). Kalkonların yapısında bulunan üç karbon atomundan meydana gelen α , β -doymamış karbonil grubu, elektronların hareketinde fayda sağlamaktadır. Böylece heterosiklik bileşiklerin sentezinde de başlangıç maddesi olarak sıklıkla tercih edilmektedir. Michael reaksiyonu karbon-karbon bağı oluşumu için en etkili yöntemlerden biridir ve bu yöntem sentetik kimyada sıklıkla uygulanılmaktadır (18, 20).

Michael katılmaları, aktif çift bağı içeren bileşiklerle nükleofiller arasında gerçekleşen konjuge eklenme reaksiyonlarıdır. Bu tepkimeler, karbon, azot, oksijen ya da kükürt içeren nükleofiller ile α , β -doymamış karbonil bileşikleri arasında meydana gelir (21).

2.3. Pirazolin

Pirazolinler, iki bitişik nitrojene sahip beş üyeli heterosiklerdir. Biyolojik açıdan güçlü aktiviteleri ve yapısal çeşitlendirmeye yönelik çok sayıda olasılık sebebiyle organik ve tıbbi kimyagerlerin ilgisini çekmiştir. Son yıllar içerisinde antikanser tedavilerinde potansiyel hedefler doğrultusunda yoğun bir şekilde araştırılmıştır. Her yıl yayınlanmış araştırma makalelerinde sayıca istikrarlı bir yükselişe sebep olmuştur.

Pirazolinler, nitrojen-nitrojen çift bağına sahip izomerlerdir. Sıklıkla bir diazoalkan ile bir siklik veya asiklik alken arasındaki siklo katılma reaksiyonu ile sentezlenirler. Fotoliz veya termoliz yoluyla siklopropanlara veya diğer yapılara dönüştürüldüklerinden karmaşık doğal ürünlerin sentezinde bile yarar sağlayan maddelerdir (22).

Pirazolin, kalkon bileşiğı vermek amacıyla bir dizi ikame asetofenon ile etkileşime giren bir akarbonil aldehit grubu içerir. Farmakolojik kimyasal ilaçlar içerisinde bu yapı oldukça önemlidir çünkü pirazol halka yapısı birçok çeşitli biyolojik aktiviteyi sağlayabilecek aktif bir kısma sahiptir. Pirazolin türevleri geniş biyolojik aktivite özellikleri gösterir. Bunlar antiinflamatuvar, antimalarial, antidepresan, antimikrobiyal, antilösemik, antioksidan, analjezik, antikanser, immün baskılayıcı, antidiyabetik, sitotoksik, antihepatotoksik ve antitümör ajanlar şeklinde sıralanabilir (13, 23).

2.4. Serbest Radikaller

Yüksek enerjili atomlar veya moleküller olan serbest radikaller, dış yörüngelerinde eşleşmemiş elektronlar bulundurlar. Bu kararsız durum, diğer moleküllerle kolayca tepkimeye girmelerine neden olur. Genellikle kısa ömürlü olsalar da, moleküler oksijen gibi uzun ömürlü radikaller de vardır. Serbest radikaller, çeşitli kimyasal ve biyolojik süreçlerde yan ürün olarak oluşurlar (24).

Oksijen kaynaklı radikaller en bilinenler olsa da, farklı atomların radikalleşmesi de söz konusu olabilir. Örneğin, lipit peroksidasyonunun ara ürünleri karbon merkezli radikallerdir. Azot kökenli radikaller ise fenilhidrazin metabolizması gibi süreçlerde meydana gelebilir. Geçiş metal iyonları da serbest radikal olarak tanımlanabilir.

Radikal yapısında olmayan ancak radikale dönüşebilme potansiyeli taşıyan moleküller de bulunur. Bunlara reaktif türler denir. Reaktif oksijen türleri (ROS) oksijen kaynaklı, reaktif azot türleri (RNS) azot kaynaklı ve reaktif kükürt türleri (RSS) ise kükürt kaynaklı olarak adlandırılır. Hücre içinde reaktif türlerin oluşumu çeşitli faktörlerin etkisiyle artabilir. Bu radikaller, hücrenin önemli bileşenleri olan lipitlere, proteinlere, karbonhidratlara, DNA'ya ve enzimlere zarar verebilirler. Normal şartlarda, hücrede sürekli oluşan reaktif türlere karşı bir dengeyi sağlayan antioksidanlar bulunur. Ancak bu dengenin reaktif türler lehine bozulması, yani radikallerin aşırı birikimi veya savunma mekanizmalarının yetersiz kalması durumunda oksidatif stres olarak bilinen bir durum ortaya çıkar. Böylelikle protein, lipit, koenzimler, nükleotit ve DNA gibi çevrelerindeki çoğu molekül ile reaksiyona girme eğilimleri oldukça yükselir ve buna bağlı olarak zararlı etkiler meydana getirebilirler. Diabetes mellitus, nörodejeneratif hastalıklar, romatoid artrit, katarakt, kardiyovasküler hastalıklar, solunum sistemi hastalıkları gibi çeşitli hastalıklarda ve yaşlanma sürecinde oksidatif stres artmaktadır (24).

Diyabetli bireylerde ve deneysel olarak diyabet oluşturulmuş hayvanlarda ROS üretiminin ve lipid peroksidasyonunun arttığı gözlenmiştir. Diabetin kronik komplikasyonlarının meydana gelişinin oksidatif stres ve antioksidan kapasite arasındaki dengenin bozulmasıyla ilişkili olabileceği araştırmacılar tarafından vurgulanmaktadır (25).

2.5. Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu ve zararlı etkilerine karşı vücut, çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmiştir. Bu savunma mekanizmalarına “antioksidan savunma sistemleri” denmektedir (Tablo 1).

Tablo 1. Antioksidan savunma sistemleri (25)

Serbest Radikal Süpürücüler	Enzim Bazlı Antioksidanlar	Yapay Antioksidanlar	Taşıyıcı ve Bağlayıcı Antioksidanlar
Askorbik asit (C vitamini)	Katalaz	N-asetilsistein	Transferrin
Alfa tokoferol (E Vitamini)	Paraoksonaz	Allopurinol	Albümin
Tiyoller	Süperoksit dismutaz	Probakol	Seruloplasmin
Beta karoten	Glutasyon peroksidaz	Penisilamin	Ferritin
Ürik asit		Deferoksamin	
Flavonoidler		Bütıl-Hidroksitoluen (BHT)	
Koenzim Q			

Serbest radikallerle hızlı biçimde reaksiyona girerek otooksidasyon ya da peroksidasyon gibi süreçlerin ilerlemesini durduran maddeler antioksidanlardır. Bu bileşiklerin temel görevleri arasında serbest radikallerin fazlasını etkisizleştirmek, hücreleri bu radikallerin zararlı etkilerine karşı korumak ve çeşitli hastalıkların oluşum riskini azaltmak yer almaktadır (26).

Antioksidan moleküller hem vücut tarafından üretilen (endojen), hem de dışarıdan alınan (eksojen) bileşenleri kapsar. Oksidan maddelerin yol açtığı hücresel hasar, iç ve dış olmak üzere iki farklı savunma sistemi sayesinde kontrol altında tutulmaktadır. Hücrenin dışındaki savunma sisteminde albumin, bilirubin, transferrin, seruloplazmin ve ürik asit gibi farklı moleküller görev alırken; esas koruma, hücre içinde bulunan serbest radikal temizleyici enzimler tarafından sağlanır. Bu önemli enzimler arasında süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon-S-transferaz, glutasyon peroksidaz, glutasyon reduktaz, katalaz ve

sitokrom oksidaz yer alır. Ayrıca çinko, bakır ve selenyum gibi iz elementler de bu enzimlerin işlevlerini yerine getirebilmesi için gereklidir. Serbest radikal üretimi ile antioksidan savunma kapasitesi arasındaki dengesizlik sonucu oksidatif stres meydana gelerek çeşitli patolojik süreçleri tetikleyebilir (25).

Diyabet, komplikasyonları ve reaktif oksijen türleri arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda enzimatik olmayan glikasyon, metabolik stres, sorbitol yolu aktivitesi, oksijen azlığı ve kan akışının kesilip yeniden başlaması sonucunda meydana gelen doku harabiyetinin serbest radikal üretiminin artışına neden olduğu ve antioksidan savunma sisteminde değişikliklere neden olduğu öne çıkarılmaktadır. Pankreas adacık hücrelerinde, süperoksit dismutaz veya glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin üretimi ve toplam antioksidan gücünün, karaciğer ve adipoz doku gibi diğer dokulara kıyasla en alt düzeyde olduğu saptanmıştır. Beta hücrelerinde görülen hasarın, yüksek kan şekerinin zararlı etkilerinden ileri geldiği varsayılmaktadır. Yüksek reaktivliğe sahip bir ROS olan hidrojen peroksit, OH^- radikaline dönüştükten sonra insülin reseptör sinyal sistemini etkileyebilir. Hidrojen peroksidin sinyal iletim yollarında önemli bir rol oynayabileceği fikri araştırmacılar tarafından desteklenmektedir. Glikasyon süreçlerinin yol açtığı serbest radikal üretiminin, insülin gen ekspresyonunu baskılayarak beta hücrelerinde apoptozu (programlı hücre ölümü) tetiklediği de çalışmalarda gösterilmiştir. T ve B lenfositlerin makrofajlara benzer şekilde, serbest radikallerin yardımıyla inflamatuvar hücrelerin beta hücrelerine toksik etki gösterdiği düşünülmektedir. Diabet oluşturulan rat deney modellerinde oksidatif stresin belirtisi olan 8-OHdG (8-hidroksi deoksiguanozin) seviyelerinde belirgin artışlar saptanmıştır (25).

2.5.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar, kaynaklarına göre iki ana grupta incelenir: endojen (vücut tarafından üretilen) ve eksojen (dış kaynaklı) bileşikler (Tablo 2). Her iki tür antioksidan da organizmayı serbest radikallerin zararlı etkilerinden korumaya yardımcı olur. Aynı zamanda, oksidatif stresin kontrol altına alınmasında ve hücrel hasarın önlenmesinde kritik rol üstlenirler (26).

Tablo 2. Antioksidanların sınıflandırılması (Aydemir-Sarı'dan, 27)

Endojen Sentezlenen Antioksidanlar		Ekzojen Alınan Antioksidanlar	
Enzim Temelli Antioksidanlar	Enzim Dışı Antioksidanlar	Vitamin Kökenli Antioksidanlar	Terapötik Amaçlı Antioksidanlar
Süperoksit Dismutaz (SOD)	Melatonin	Vitamin E (α -tokoferol)	Allopurinol, oksipurinol, pterin aldehit, tungsten
Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)	Seruloplazmin	B-karoten	Adenozin, lokal anastezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflatuarlar
Glutasyon Redüktaz	Transferrin	Vitamin C (askorbikası)	Trolox-C
Glutasyon S-Transferaz (GST)	Laktoferrin	Koenzim Q (ubikinon)	Ebselen, asetilsistein
Katalaz	Glutasyon (GSH)		Mannitol
Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz	Sistein		Desferoksamin
	Ürik asit		
	Glukoz		
	Albumin		
	Bilirubin		

2.6. Enzimler

Enzimler, biyolojik sistemlerde meydana gelen kimyasal tepkimelerin hızını artıran biyokatalizörlerdir. Hücrelerden saflaştırılarak elde edilen bu bileşikler, çeşitli endüstriyel ve ticari uygulamalarda da kullanılmaktadır. Çok düşük miktarlarda bile oldukça etkili olan enzimler, reaksiyonlara katılırken kendileri tüketilmezler ve tepkimenin verimini artırır (28).

2.6.1. Enzimlerin Sınıflandırılması

Enzimlerin adlandırılması ve sınıflandırılması zamanla sistematik bir yapıya kavuşmuştur. Enzimlerin ürüne dönüştürdükleri maddelere substrat adı verilir. Başlangıçta, enzim isimleri genellikle etki ettikleri substratlara “-az” eki getirilerek verilmişse de, çok sayıda enzim keşfedildikçe Uluslararası Biyokimya Derneği tarafından Enzim Komisyonu (IEC) oluşturularak her enzime özgü bir sınıflandırma kodu (E.C – Enzyme Code) verilmiştir. Bu kod dört basamaklıdır ve sırasıyla enzimin ait olduğu ana grup, alt grup, alt alt grup ve en son olarak aynı gruptaki sıra numarasını ifade eder (29).

Oksidoredüktazlar, elektronların aktarıldığı oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarını katalize eder.

Transferazlar, fonksiyonel grup transfer reaksiyonlarını katalize eder. Örnek: Heksokinaz glikolizde kullanılır.

Hidrolazlar, hidrolizi içeren reaksiyonları katalize eder. Örneğin: Kimotripsin.

Liyazlar, moleküllerdeki çift bağları kırmak için fonksiyonel grupların eklendiği veya fonksiyonel grupların çıkarılmasıyla çift bağların oluşturulduğu reaksiyonları katalizler.

İzomerazlar, bir molekül içindeki fonksiyonel grupları aktaran ve böylece izomerik formların üretilmesini sağlayan reaksiyonları katalize eder. Bu enzimler bir bileşik içinde yapısal veya geometrik değişikliklere izin verir.

Ligazlar, bağ oluşumunun gerçekleştiği tepkimeleri katalizleyen enzimlerdir. Bu reaksiyonlar ATP (adenozin trifosfat)'nin bölünmesi ile ilgilidir (29).

2.6.2. Enzim İnhibisyonu

Enzim inhibisyonu, enzimlerin işlevlerinin belirli maddeler aracılığıyla azaltılması ya da tamamen durdurulması durumudur. Bu süreci etkileyen maddelere inhibitor denmektedir (30).

2.7. Karbonhidratlar

Karbonhidratlar, yapılarında aldehit veya keton grupları bulunduran ve çok sayıda hidroksil (-OH) grubu barındıran alkol yapısındaki moleküller ya da bu tür bileşiklerin hidrolizinden meydana gelen maddelerdir (31).

Karbonhidratların sindirimi, içerdiği α ve β -glukozidik bağların yapısına ve şeker birimlerinin sayısına özgü olarak işlev gören enzimler tarafından gerçekleştirilir. Tükürükteki α -amilaz, pankreastan salgılanan α -amilaz ve ince bağırsakta bulunan 1,6-glukozidaz gibi enzimler yardımıyla karbonhidratlar parçalanır. Bu süreç sonunda, ince bağırsak lümeninde disakkaritlerin yanı sıra monosakkaritler de ortaya çıkar. Disakkaritler, bağırsak epitel hücrelerinin yüzeyindeki disakkaridaz enzimleri (maltaz, izomaltaz, sakkaraz, laktaz) aracılığıyla emilim sırasında monosakkaritlere ayrıştırılır ve bu monosakkaritler daha sonra hücre içine alınıp kana geçer (31).

Genel olarak “kan şekeri” ifadesi kullanıldığında, kastedilen glukozdur. Sağlıklı bir bireyde, 12 saatlik açlığın ardından normal kan glukoz seviyesi yaklaşık olarak 60-70 mg/dL (3.33-3.9 mmol/L) aralığındadır. Kan glukoz seviyesi, kana glukoz sağlayan süreçler ile kandan glukoz uzaklaştıran süreçler arasındaki bir denge sayesinde düzenlenir. Karbonhidrat metabolizması, kan glukoz düzeyini düşürmeye yönelik olaylar ve kan

glukoz düzeyini yükseltmeye yönelik olaylar aracılığıyla bu dengeyi etkiler. Karbonhidrat metabolizmasının ve bağı olarak kan şekeri seviyesinin yönetimi hormonal kontrol altındadır. Bu sistemdeki en kilit hormon insülin dir. İnsülinin antagonistleri olan glukagon, epinefrin, büyüme hormonu, kortizol ve diğer hormonlar (tiroksin, somatostatin) da bu düzenlemede rol oynar (31).

Pankreasın Langerhans adacıklarında yer alan β hücrelerinden salgılanan insülin, 51 amino asitten oluşan bir peptit hormondur. İnsülin, glukoz homeostazisinde, lipit ve protein metabolizmasında önemli rollere sahiptir. Glukozun kas ve yağ dokularına taşınmasını kolaylaştırarak depolanmasını teşvik eder; bu depolama glikojen veya yağ formunda gerçekleşir. Ayrıca karaciğerde glukoz üretimini baskılayarak protein sentezini artırır, protein yıkımını ise azaltır. Mitojenik etkisi sayesinde hücre bölünmesini ve büyümesini sağlayarak normal kan şekeri seviyelerini korur (31, 32).

2.7.1. Kan Glukozu

İnsülin salınımı esas olarak glukozla tetiklenmekle birlikte, bazı makro besinler, hormonlar ve sinirsel uyarılar da bu süreci etkileyebilir. İnsülin glukagon ile birlikte çalışarak kan şekeri konsantrasyonlarını düzenlenmesini sağlamaktadır (33).

Glukagon, pankreasın Langerhans adacıklarının α hücrelerinden salgılanan, yapısında 29 amino asit barındıran önemli katabolik bir hormondur. Özellikle açlık sırasında karaciğerde glukoz üretimini uyararak kandaki glukoz seviyesini korur. Kan glukozu düştüğünde glukagon salgısı artar ve karaciğerden glukoz salımı başlar. Bu sayede glukoz seviyesi normal sınırlarına döner. Yemek esnasında ve sonrasında bu endojen glukoz kaynağına ihtiyaç duyulmaz ve glukagon sekresyonu baskılanır. Glukagon baskılanması, hepatik glukoz çıkışının neredeyse tamamen baskılanması ile sonuçlanır (34).

Açlık sonrası normal kan şekeri seviyesi 60-70 mg/dL iken, çeşitli fizyolojik veya patolojik nedenlerle bu düzey değişebilir. Örneğin yüksek karbonhidratlı bir öğün, uzun süreli açlık, yoğun fiziksel aktivite, stres, anemi gibi durumlar bu seviyeyi etkileyebilir (34).

Bireyin 8 ila 12 saatlik bir açlık periyodunun ardından kanındaki glukoz seviyesinin 110 mg/dL'yi aşması durumu hiperglisemi olarak tanımlanmaktadır. Bu durum ya glukoz alımının artması ya da glukoz kullanımının azalmasıyla ilişkilidir (34).

Hipoglisemi glukoz düzeyinin 40 mg/dL'nin altına düşmesidir ve bu durum genellikle glukoz üretimindeki azalma veya kullanımındaki artışla ortaya çıkar (34).

2.8. Diabetes Mellitus

Karbonhidrat metabolizmasındaki tam veya kısmi insülin eksikliği, Diabetes Mellitus (DM) olarak adlandırılan duruma yol açar. DM, aynı zamanda lipit ve protein metabolizmasındaki bozuklukları da kapsayan hiperglisemi ve glukozüri ile karakterize bir hastalıktır (34).

Diyabet gelişiminde birçok patojenik süreç rol oynamaktadır. Bu mekanizmalar, pankreasın beta hücrelerinin otoimmün yıkımından kaynaklanan insülin eksikliğinden, insülinin etkisine karşı direnç gelişimiyle sonuçlanan anormalliklere kadar geniş bir yelpazede yer alır. Diyabette görülen karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki aksaklıkların temel sebebi, insülinin hedef dokularda yetersizliğidir. Bu yetersiz insülin etkisi, hem yetersiz insülin salgılanmasından hem de hormonun etki mekanizmalarındaki çeşitli noktalarda dokuların insüline verdiği yanıtın azalmasından kaynaklanabilir. İnsülin salgılanmasındaki aksaklıklar ve insülinin etkisindeki bozukluklar genellikle aynı bireyde bir arada bulunur ve yüksek kan şekerinin (hiperglisemi) temel nedeninin hangisi olduğu çoğu zaman net olarak belirlenemez (35).

Belirgin hiperglisemi bulguları arasında sık idrar yapma, yoğun susuzluk hissi, kilo kaybı, aşırı yeme isteği ve bulanık görme yer alır. Uzun vadede büyüme geriliği ve enfeksiyonlara yatkınlık da görülebilir (35).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2014 yılında yaptığı açıklamada 18 yaş ve üzerindeki yetişkinlerin %8,5'inin diyabetten etkilendiğini belirtmiştir. 2019'da diyabet, 1.5 milyon ölümle ilişkilendirilmiş ve bunların %48'i 70 yaş öncesinde gerçekleşmiştir. 2000-2019 yılları arasında diyabete bağlı ölüm oranlarında %3 artış göstermiştir. Düşük ve orta gelirli ülkelerde diyabete bağlı ölüm oranının %13 arttığı görülürken buna karşılık 30 ila 70 yaşları arasında dört temel bulaşıcı olmayan hastalıktan (kardiyovasküler hastalıklar, kanser, kronik solunum hastalıkları veya diyabet dahil) herhangi birine yenik düşme olasılığı ise 2000'den 2019'a kadar dünya çapında % 22 düşüş göstermiştir (36).

2.8.1. Diabetes Mellitus'un Sınıflandırılması

2.8.1.1. Tip 1 Diabet (T1D)

Toplam diyabet vakalarının %5-10'unu oluşturan bu tür, genellikle çocuklukta başlar ve insülin bağımlılığı ile karakterizedir. Bu tipte, β hücreleri otoimmün mekanizmalarla tahrip edilir (35).

İdiyopatik Tip 1 Diabet

T1D'nin sık rastlanmayan bir varyantı olarak rapor edilmiştir ve "idiyopatik diyabet" olarak bilinmektedir. Otoimmün belirti göstermeksizin insülin eksikliği ve ketoasidoz atakları ile kendini gösterir. Bu varyant Asya veya Afrika kökenli kişilerde daha fazla görülmektedir (36).

Fulminant Tip 1 Diabet

İlk kez 2000 yılında tanımlanan bu T1D alt türü, ani başlayan ketoasidoz ve neredeyse tamamen yok olan C-peptid düzeyleriyle karakterizedir. Japonya'da akut başlangıçlı T1D'li bireylerin %20'sinde görülür ve çoğunlukla Doğu Asya kökenli bireylerde rastlanır. İnanılmaz bir şekilde ani ve pratik olarak tam bir β hücresi ölümüne neden olup neredeyse hiç insülin çıkışı bırakmamaktadır (36).

2.8.1.2. Tip 2 Diyabet (T2D)

En yaygın görülen diyabet formudur ve erişkin yaşta ortaya çıkar. İnsüline karşı direnç, yeterli olmayan insülin sekresyonu veya ikisinin beraber olması neticesinde meydana gelip diyabetin en yaygın görülen formudur. Kusurlu insülin sekresyonu, Tip 2 diyabet patogenezinin önemli bir faktörüdür. Yeterli glukoz düzeylerinin korunması amacıyla insülin duyarlılığına cevap olarak insülin sekresyonu büyük ölçüde değişir. İnsülin duyarlılığı ile insülin salgılanması arasındaki eğrisel ilişkinin bir ölçüsü eğilim indeksidir. Tip 2 diyabeti bulunan bireylerin eğilim indeksi daha düşüktür, bu sebeple insülin direnci ile mücadele etmek için insülin üretimini uygun biçimde artıramazlar (36).

İnsüline dirençli, kilolu bireylerdeki mevcut insülin düzeyleri, zayıf ve insüline duyarlı bireylere göre daha yüksek olsa da, direnç şiddeti dikkate alındığında bu seviyeler hâlâ yetersiz kalmaktadır. İnsülin üretimi (ilk aşama), glukoz uyarımı sebebiyle önemli derecede azalır veya ortadan kaldırılır. T2D hastalarında proinsülin/ insülin (C-

peptid) oranı fazladır. Maksimum insülin üretimi ve glukoz dışındaki uyaranlara verilen insülin tepkisi azalmıştır. Hiperglisemi kötüleşme eğilimine geçer ve zaman geçtikçe tedavisi daha da zorlaşır. β hücre fonksiyonunda devam eden azalma, T2D ilerlemesinin farklı bir özelliğidir (36).

Diyabetik bireylerin %90-95'inden fazla bir kısmı bu tipi bulundurur ve bu hastaların büyük bir kısmı yetişkindir. 2009 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde tip 2 diyabeti bulunan 20 yaş altı gençlerin sayısı binde 0.46 idi ve gençlerdeki tip 2 diyabetin yaklaşık %20'sini oluştuyordu. Gençlerde tip 2 diyabetin artışı, öncelikle gençlerin daha çok sedanter bir yaşam tarzı benimsemesi ve daha az sağlıklı beslenme alışkanlıklarına sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Obezite, tip 2 diyabetin ortaya çıkmasında önemli bir rol oynayan insülin direncinin temel nedenlerinden biridir (36).

T2D'de insülin direnci, hedef dokularda insülin ihtiyacını artırır. Artan bu ihtiyacı karşılamakla görevli pankreas β hücreleri, zamanla işlevlerini yitirdiği için yeterli insülin salgılayamaz. Bu süreç bazı bireylerde insülin bağımlılığına yol açabilir. Ancak, çoğu T2D hastasında insülin üretimi tamamen tükenmez ve bu kişiler insüline bağımlı hale gelmez. Tip 1 ve tip 2 diyabet arasındaki temel farklardan biri de budur. Ayrıca, T2D'de ketoasidoz nadir görülür ve otoimmün β hücre hasarı bulunmaz. Her iki diyabet türünün de genetik bileşeni olsa da, T2D'de genetik yatkınlık daha belirgindir. Örneğin, TCF7L2 geni T2D ile güçlü bir ilişki göstermektedir. T2D başlangıcında semptomların hafif seyretmesi, tanının gecikmesine yol açarak uzun vadeli komplikasyonların gelişme riskini artırabilir (37).

İnsülin direncinin diyabete ek olarak obezite, nefropati, hipertansiyon, dislipidemi (düşük HDL, küçük LDL partikülleri, hipertrigliseridemi), yumurtalık hiperandrojenizmi ve alkolsüz karaciğer yağlanması gibi pek çok durumla bağlantısı vardır (37).

2.8.2. Diabetes Mellitus (DM) Tanısı

Diabetes Mellitus tanısı, plazma glukozu (açlık plazma glukozu: FPG, oral glukoz toleransı: OGTT) veya glukozillenmiş hemoglobin (HbA1c) değeri göz önünde bulundurularak konur. Glukoz ve HbA1c değerlerinin tahmini, FPG veya HbA1c'nin retinopati ile ilişkisine dayanmaktadır. FPG ≥ 126 mg/dL, 2 saatlik OGTT sonucu ≥ 200 mg/dL veya HbA1c $\geq \%6.5$ olan bireylerde diyabet tanısı konur. Ayrıca rastgele plazma glukoz düzeyi 200 mg/dL'yi aşıyor ve hiperglisemi belirtileri varsa bu da tanı koymak için yeterlidir (37).

2.8.3. Diabetes Mellitus Tedavi Yöntemleri

Diyabette tedavi ile varılmak istenen amaç hipergliseminin normal sınırlarda tutulabilmesi veya bu sınıra yakın tutulmasıdır. İnsülin, tip 1 diabette hipoglisemik ilaç olarak kullanılabilecek tek ilaçtır. Tip II diabette ise insülin ve oral antidiabetik ilaçlar arasında duruma göre tercih yapmak gerekmektedir (38).

2.8.3.1. İnsülin

İnsülin, tip 1 diyabeti (T1DM) bulunan bireylerde birincil tedavi yöntemidir. İnsülin tedavisi, normal veya normale yakın kan şekeri seviyelerine erişmek ve komplikasyonları engellemek veya en aza indirmek amacıyla vücudun kendi insülininin yerine geçer veya onu destekler (38).

Obez olmayan ve 30 yaş altındaki bireylerde, keton varlığı, optik atrofi, sağırılık gibi sistemik bulgular yoksa T1DM gibi tedavi uygulanması önerilir. T1DM’de tedavi, kan glukoz düzeyini yönetmeyi ve komplikasyonları önlemeyi amaçlayan çoklu kısa etkili insülin enjeksiyonları ve bazal uzun etkili insülin uygulamalarını içerir. Bazal-bolus insülin rejimi; bazal insülin (örneğin glarjin, detemir, degludec, NPH) ile bolus insülinin (hızlı etkili lispro, aspart, glulisin veya kısa etkili regüler insülin) kombinasyonunu içerir. Diyabetik ketoasidoz gibi ciddi durumlarda kısa etkili insülinlerle sıkı izlem altında tedavi gerekir. The Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) çalışması, bu yöntemin glisemik kontrolü artırdığını ve uzun vadeli komplikasyonları azalttığını göstermiştir (38).

Bazal-bolus rejimi, postprandiyal glukoz düzeylerini daha iyi yönetir ve hipoglisemi riskini azaltır. İnsülin glulisin veya lispro gibi hızlı etkili insülinlerin yemeklerden önce uygulanması daha etkin glisemik kontrol sağlar. İnsülin aspart, yaşam kalitesini olumlu etkilerken, detemir ve glarjin, NPH ile karşılaştırıldığında daha az gece hipoglisemisiyle açlık glukozunu düşürmektedir. Uzun etkili analog insülinler zamanlamadaki katılık nedeniyle hipoglisemi riski taşır; bu durum insülin pompası kullanımıyla azaltılabilir. Hazır karışım insülin analogları, insan insülinlerine kıyasla HbA1c düzeylerini düşürmede daha başarılıdır ve postprandiyal glukoz kontrolü daha etkilidir (38).

Amilin analogu olan pramlintid, mide boşalmasını yavaşlatır ve glukagon salımını baskılar. T1DM hastalarında tokluk hissini artırır, insülin dozlarının azalmasına ve kilo

kaybına katkı sağlar. Ayrıca obez T1DM hastalarında metformin kullanımı, kilo kontrolü, insülin ihtiyacında azalma ve lipid profiline olumlu etkiler sunar (38).

2.8.3.2. Oral Antidiyabetik Tedavi

Tip 2 diyabet tedavisinde ülkemizde kullanılan başlıca oral antidiyabetik ilaçları dört grupta incelemek mümkündür (38). Bunlar insülin salgısını destekleyenler, insülin hassasiyetini yükseltenler, alfa-glukozidaz enzimini inhibe edenler ve dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4) enzim baskılayıcılarıdır.

İnsülin Sekresyonunu Artıranlar

Pankreasın beta hücrelerinde bulunan sülfonilüre reseptörlerine etki ederek insülin salgısının uyarılmasını sağlayan ilaçlar sülfonilürelerdir. Salgılanan insülin miktarındaki artış, karaciğerden glukoz üretimini azaltır ve çevresel dokularda glukozun kullanımını artırır. Sülfonilüreler, pankreasında yeterli beta hücre rezervi bulunan kişilerde tercih edilmelidir. Kullanım şekli günlük tek doz veya bölünmüş dozlar halinde olabilir ve genellikle öğünlerden yaklaşık yarım saat önce uygulanırlar (39).

Glinidler, sülfonilüre grubuna benzer şekilde çalışarak insülin salımını artıran, kısa etkili ajanlardır. 2000’li yıllardan itibaren tedaviye dahil edilen repaglinid ve nateglinid gibi ilaçlar bu grupta yer alır. Hızlı emilim ve kısa yarılanma ömrüne sahip olmaları nedeniyle özellikle öğün öncesi kullanımları önerilir. Bu ilaçlar, diyet ve egzersizle yeterli kontrol sağlanamayan bireylerde, metformin ile birlikte güvenle kullanılabilir (39).

İnsülin Duyarlılığını Artıranlar

Biguanidler, PPAR- γ (Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptörü- γ) üzerinden etki göstererek bu yol üzerinden insülin duyarlılığını artıran genlerin ekspresyonunu düzenler. Özellikle iskelet kasında insülin etkisini artırarak açlık plazma glukoz düzeylerinde 25-55 mg/dL arası düşüş sağlarlar. Glitazonlar sıvı retansiyonuna ve ödeme sebep olabildiğinden kalp yetmezliği bulunan hastalarda kullanılması, özellikle de insülinle beraber kullanılması önerilen bir durum değildir. HbA1C düşürücü etkisi %1-2’dir. Yaygın yan etkiler arasında kilo artışı, ödem ve osteoporotik kırık riski yer alır. Günlük 15-45 mg doz aralığında, besinlerden bağımsız olarak alınabilir (40).

Tiyazolidinedionlar (glitazonlar), PPAR- γ aktivasyonu yoluyla periferik dokularda insülin etkisini artırır. Özellikle adipoz dokuda insüline daha duyarlı hücrelerin gelişimini teşvik eder ve miyolojik dokuda GLUT-1 ve GLUT-4 üretimini artırarak glukoz alımını

destekler. Aynı zamanda serbest yağ asidi seviyelerini düşürerek hepatik glukoneogenezi azaltırlar. Troglitazon, bu gruptaki ilk ilaç olarak kullanılmış, ancak hepatotoksisite nedeniyle piyasadan kaldırılmıştır. Günümüzde yalnızca pioglitazon kullanılmakta olup, monoterapi veya diğer oral ajanlarla kombine tedavi seçeneklerinde yer alabilir. İnsülinle birlikte kullanımı mümkündür ancak vücutta sıvı birikimi (ödem) ve kalp yetmezliği riskini yükseltebilir (41).

Alfa-Glukozidaz Enzim İnhibitörleri

Alfa-glukozidaz, ince bağırsaklardaki fırçamsı kenar hücrelerinde yer alan bir enzimdir. Bu enzim kompleks karbonhidratların yapısındaki polisakkaritleri, miktara bağlı olarak monosakkaritlere parçalar. Akarboz, bu enzimi geri dönüşümlü şekilde inhibe ederek karbonhidratların emilimini yavaşlatır. Ülkemizde bu grupta onaylı tek ilaçtır. Akarboz tek başına açlık kan glukoz seviyesini 15 ila 25 mg/dl, yemek sonrası kan glukoz seviyesini yaklaşık 50 mg/dl düşürebilmektedir. Hipoglisemiye neden olmadan etki gösterir ve kilo alımına yol açmaz. 50 ve 100 mg'lık tablet formları mevcuttur ve tercihen yemekte ilk lokmayla alınması tavsiye edilmektedir. En sık görülen yan etkileri arasında karında şişlik ve gaz gibi sindirim sistemi belirtileri bulunur. Bu durumun nedeni, sindirilememiş karbonhidratların bağırsağın alt kısımlarına ulaşarak buradaki bakteriler tarafından parçalanması ve gaz oluşumuna sebep olmasıdır. Vakaların yaklaşık %3'ünde şiddetli ishale rastlanabilir. Bu tür gastrointestinal rahatsızlıklar, hastaların fazla karbonhidrat tercihindan kaçınma eğilimine girmesine ve dolayısıyla diyetlerine uyum oranının artmasına yardımcı olabilir (41).

Dipeptidil Peptidaz-4 (DPP-4) Enzim İnhibitörleri

Dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4), organizmada glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) ve gastrik inhibitör peptid (GIP) gibi çeşitli biyoaktif peptitleri yıkan bir enzimdir. DPP-4 inhibitörleri bu parçalanmayı önleyerek, özellikle GLP-1 düzeylerini artırır. Bu etki insülin salımını glukoz düzeyine bağımlı şekilde artırır, böylece hipoglisemi riski azaltılmış olur. Beta hücre proliferasyonu teşvik edilirken apoptoz baskılanır, bu da beta hücre fonksiyonlarının korunmasına yardımcı olur (13). DPP-4 inhibitörleri, sülfonilüre, metformin veya tiazolidinedionlarla birlikte kombine olarak kullanılabilir. Ancak kombine kullanımlarda hipoglisemi riski nedeniyle doz ayarlaması gerekebilir. Ülkemizde, bu grup ilaçlar glisemik kontrolün yeterli sağlanamadığı bireylerde ikinci veya üçüncü basamak tedavi seçenekleri arasında yer almaktadır. Sitagliptin, vildagliptin ve saksagliptin en sık

kullanılan ajanlar arasında olup, genellikle günde bir veya iki kez oral olarak uygulanmaktadır. Bu ilaçlarla ilgili olarak klinik çalışmalarda ciddi bir yan etki rapor edilmemiştir (41).

2.9. Antimikrobiyal Direnç (AMR)

Antimikrobiyal direnç (AMR), kronik hastalıkların etkili bir şekilde önlenmesi ve tedavisinde ciddi zorluklara neden olarak halk sağlığına yönelik en önemli acil tehditlerden biri olarak ortaya çıkmıştır.

AMR, bakteriler, virüsler, mantarlar ve parazitler gibi mikroorganizmaların, daha önce etkili olan antimikrobiyal ajanlara karşı direnç geliştirerek yaşamlarını sürdürmeleriyle ortaya çıkmaktadır. Bu durum yalnızca düşük gelirli ülkelerde değil, dünya genelinde sağlık sistemlerinin sürdürülebilirliğini tehdit eden önemli bir risk faktörüdür. Antimikrobiyal direnç (AMR) enfeksiyonu, ciddi sağlık sorunlarına, uzun süreli hastane yatışlarına, artan sağlık hizmeti maliyetlerine, ikinci basamak ilaçlarla ilişkili daha yüksek harcamalara ve tedavi başarısızlıklarına neden olmaktadır (42).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Biyokimyasal Analizlerde Kullanılan Kimyasallar ve Çözücüler

Sentezlenen bileşiklerde kullanılan 3-Amino asetofenon, 2-/3-/4-Flor/4-triflor benzaldehit, fenil hidrazin, asetik anhidrit, Merck, Fluka, Lancaster ve Sigma-Aldrich markalarından temin edildi ve analitik saflık düzeyindedir. Sentez, saflaştırma ve enstrümental analizlerde tercih edilen etanol, metanol, dietileter, etil asetat ile n-hegzan benzeri çözücülerin fraksiyonlu destilasyon yöntemiyle saflaştırılması sağlandı. NMR çözücüsü olarak kullanılan Dimetil sülfoksit (DMSO) ise Merck firmasından temin edildi ve saflıkları %99.8'dir.

3.2. Enstrümantasyon

Sentez bileşiklerinin NMR ve kütle spektrumları sırasıyla Bruker 400 MHz NMR ve Micromass Quattro LC-MS/MS cihazları ile analiz edildi. ¹H-NMR spektrumları TMS pikine göre kalibre edilirken APT spektrumları ise DMSO çözücü pikine (39.0 ppm) göre kalibre edildi. Kütle spektrumları, elektron spre y iyonizasyonu (ESI) veya elektron iyonizasyonu (EI) teknikleri kullanılarak elde edildi. Kolon kromatografisi (KK) uygulamalarında 230-400 mesh boyutundaki normal faz silika jel, ince tabaka kromatografisi (İTK) analizlerinde ise normal faz silika jel 60 F254 ve alüminyum oksit tabakası ile kaplanmış alüminyum plakalar tercih edildi. İnce tabakadaki ayrışmaların takibinde 254 nm dalga boyunda ultraviyole (UV) lamba ve renklendirme amacıyla (UV aktif olmayan maddelerde) iyot kullanıldı.

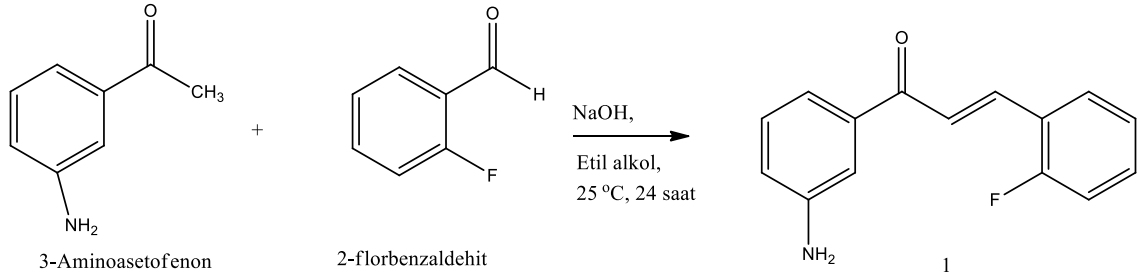
3.3. Deney sel Çalışma Aşaması

3.3.1. Bileşiklerin Sentezi, Saflaştırması ve Karakterizasyonu Çalışmaları

3.3.1.1. 1-4 No.lu Bileşiklerin Sentezi

1-4 numaralı bileşiklerin sentezi Claisen-Schmidt kondenzasyon yöntemi ile gerçekleştirildi. Bu sentezlerde başlangıç materyalleri olarak 3-Amino asetofenon ile 2-/3-/4-Flor/4-triflor benzaldehit kullanıldı, sodyum hidroksit (NaOH) baz olarak ve etanol ile su çözücü olarak kullanıldı. Reaksiyonlar, oda sıcaklığı koşullarında tamamlanarak tepkimeler ve yapı lış biçimleri aşağıda sunuldu (43, 44).

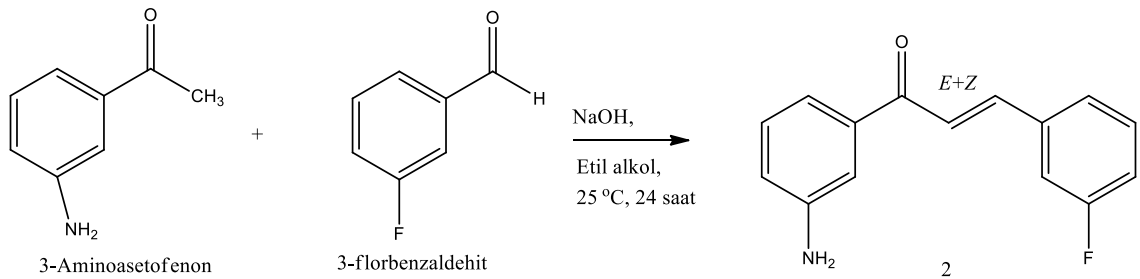
(2E)-1-(3-aminofenil)-3-(2-fluorofenil)prop-2-en-1-on (1)



Bir beherde (250 mL), sodyum hidroksit (1 g, 25 mmol), 1:1 oranında hazırlanmış 10 mL saf su-etil alkol karışımında çözüldü. Elde edilen çözelti, yaklaşık 0-5 °C'lik bir buz banyosu içerisinde 15 dakika boyunca manyetik karıştırıcı aracılığıyla karıştırılarak soğutuldu. Soğutulmuş bu NaOH çözeltisine, 2 mL etil alkolde çözülmüş 1.35 gram (10 mmol) 3-amino asetofenon ilave edilerek 15 dakika daha karıştırıldı. Bu soğuk karışım üzerine, 3 mL etil alkolde çözülmüş 1.24 gram (10 mmol) 2-florobenzaldehit damla damla (15 dakika süresince) ilave edildi. Karışım, oda sıcaklığı koşullarında bir gece karıştırıldı ve ince tabaka kromatografisi (İTK) ile kontrolü yapılarak tamamlandı. Oluşan katı madde bir krozeden süzülerek ayrıldı ve soğuk saf su ile yıkandı. Bir miktar ürün alınıp kloroformda çözüldü. Ardından İTK ile saflığına bakıldı. Saflığı doğrulanan sarı renkli katı madde, bir desikatörde kurumaya bırakıldı.

Verim (%) : 90
Rf : 0.66 (hegzan-dietil eter, 1: 1)
¹H NMR Spektrumu : Ek 1
APT Spektrumu : Ek 2
Kütle Spektrumu : Ek 3

(2E/Z)-1-(3-aminofenil)-3-(3-fluorofenil)prop-2-en-1-on (2)

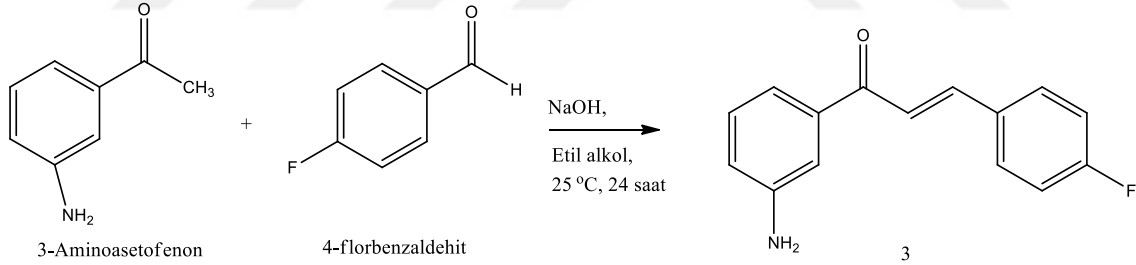


Bir beher (250 mL) içerisinde sodyum hidroksit (1 g, 25 mmol), 1:1 oranında hazırlanmış 10 mL saf su-etil alkol çözücü karışımında çözüldü. Bu çözelti, yaklaşık 0-5

°C'lik bir buz banyosunda 15 dakika süreyle manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak soğutuldu. Soğutulmuş NaOH çözeltisine, 2 mL etil alkol içinde çözülmüş 1.35 gram (10 mmol) 2-amino asetofenon ilave edilerek 15 dakika karıştırıldı. Soğukta karıştırılmaya devam eden bu karışıma, 3 mL etil alkolde çözülmüş 1.24 gram (10 mmol) 3-florobenzaldehit 15 dakika boyunca damla damla eklendi. Karışım, oda sıcaklığı koşullarında yaklaşık bir gece karıştırıldı. Ardından ince tabaka kromatografisi (İTK) ile takibi yapılarak sonlandırıldı. Oluşan çökelti, bir krozele süzgeç yardımıyla ayrıldı ve soğuk saf su ile yıkandı. Alınan bir miktar örnek kloroformda çözülerek İTK ile saflığı kontrol edildi. Elde edilen *E/Z* karışımı, turuncu sarı renkli katı madde halinde bir desikatörde kurumaya bırakıldı.

Verim (%)	: 88
Rf	: 0.65 (hegzan-dietil eter, 1: 1)
¹ H NMR Spektrumu	: Ek 4
APT Spektrumu	: Ek 5
Kütle Spektrumu	: Ek 6

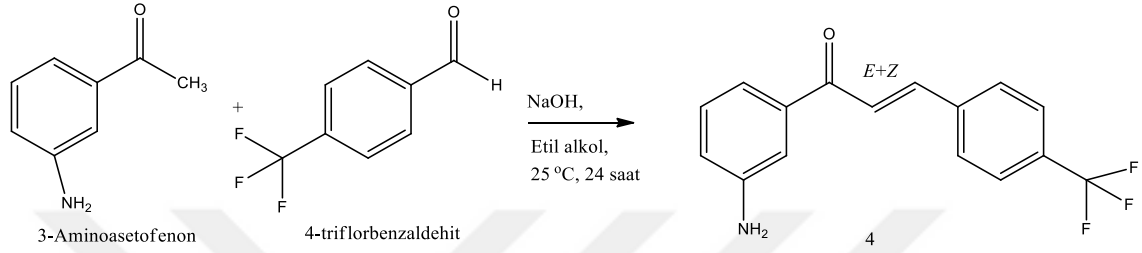
(2E)-1-(3-aminofenil)-3-(4-fluorofenil)prop-2-en-1-on (3)



Bir beher (250 mL) içinde sodyum hidroksit (1 gram, 25 mmol), 1:1 oranında hazırlanmış 10 mL saf su-etil alkol çözücü karışımında çözüldü. Bu çözelti, yaklaşık 0-5 °C'lik bir buz banyosunda 15 dakika süreyle manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak soğutuldu. Soğutulmuş NaOH çözeltisine, 2 mL etil alkol içinde çözülmüş 1.35 gram (10 mmol) 2-amino asetofenon ilave edilerek 15 dakika karıştırıldı. Soğukta karıştırılmaya devam eden bu karışıma, 3 mL etil alkolde çözülmüş 1.24 gram (10 mmol) 4-florobenzaldehit 15 dakika boyunca damla damla eklendi. Karışım, oda sıcaklığı koşullarında yaklaşık bir gece karıştırıldı. Ardından ince tabaka kromatografisi (İTK) ile takibi yapılarak sonlandırıldı. Oluşan çökelti, bir krozele süzgeç yardımıyla ayrıldı ve soğuk saf su ile yıkandı. Alınan bir miktar örnek kloroformda çözülerek İTK ile saflığına bakıldı. Saf, turuncu parlak kristaller benzerindeki madde desikatörde kurumaya bırakıldı.

Verim (%) : 92
Rf : 0.67 (hegzan-dietil eter, 1: 1)
¹H NMR Spektrumu : Ek 7
APT Spektrumu : Ek 8
Kütle Spektrumu : Ek 9

(2E/Z)-1-(3-aminofenil)-3-(4-trifluorofenil)prop-2-en-1-on (4)



Bir beher (250 mL) içerisinde sodyum hidroksit (1 gram, 25 mmol), 1:1 oranında hazırlanmış 10 mL saf su-etil alkol çözücü karışımında çözüldü. Bu çözelti, yaklaşık 0-5 °C'lık bir buz banyosunda 15 dakika süreyle manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak soğutuldu. Soğutulmuş NaOH çözeltisine, 2 mL etil alkol içinde çözülmüş 1.35 gram (10 mmol) 2-amino asetofenon ilave edilerek 15 dakika karıştırıldı. Soğukta karıştırılmaya devam eden bu karışıma, 3 mL etil alkolde çözülmüş 1.74 gram (10 mmol) 4-triflorbenzaldehit 15 dakika boyunca damla damla eklendi. Karışım, oda sıcaklığı koşullarında bir gece karıştırıldı ve ince tabaka kromatografisi (İTK) ile takibi yapılarak sonlandırıldı. Oluşan çökelti, bir krezeli süzgeç yardımıyla ayrıldı ve soğuk saf su ile yıkandı. Alınan bir miktar örnek kloroformda çözülerek İTK ile saflığına bakıldı. E/Z karışım olan sarı renkli çökelek şeklindeki madde desikatörde kurutuldu.

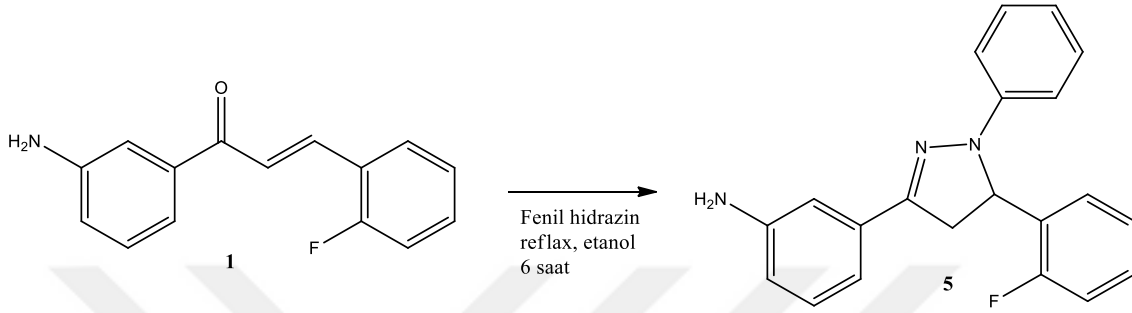
Verim (%) : 92
Rf : 0.64 (hegzan-dietil eter, 1: 1)
¹H NMR Spektrumu : Ek 10
APT Spektrumu : Ek 11
Kütle Spektrumu : Ek 12

3.3.1.2. 5-8 No.lu Pirazolin Bileşiklerin Sentezi

Pirazolin bileşikleri (5-8), 1-4 no.lu kalkon bileşiklerinin etil alkol içerisinde çözülerek elde edilen çözeltiye, fenil hidrazin ve NaOH reaktifi ilave edildi, geri soğutucu altında ısıtılarak sentezleri yapıldı. Reaksiyonlar İTK ile takip edilerek sonlandırıp, buz

banyosunda çöktürülerek süzöldü. Ham pirazolin bileşikleri (5-8), gerektiğinde kristallendirme veya kolon kromatografisi gibi teknikler saflaştırılması sağlandı. Sentezlenen bileşiklerin yapı analizleri NMR (^1H ve ^{13}C (APT)) ve LC-MS/MS yöntemleri aracılığıyla incelendi (45-48).

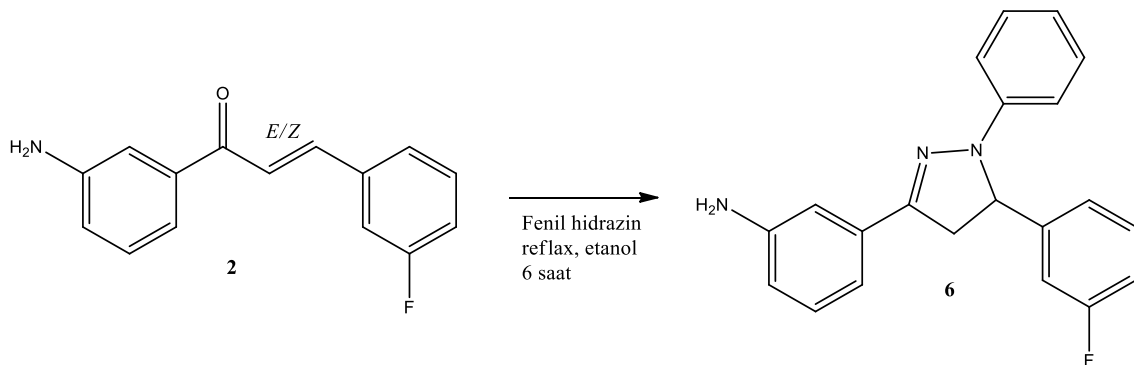
{3-[5-(2-florofenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il]fenil}amin (5)



1 no.lu bileşiğe (1 gram, 41.5 mmol), fenil hidrazin (0.9 gram, 83 mmol) yuvarlak bir balonda etanol (75 mL) içinde yaklaşık 6 saat geri soğutucu altında ısıtma işlemi uygulandı. Tepkime İTK ile izlendi. Elde edilen 1.8 gramlık ham karışım kolon kromatografisi yönteminde (2x50 cm, silikajel-230-400 mesh, 40 g) sırasıyla 50 mL hegzan, hegzan-dietil eter 200 mL (3:1), 200 mL (3:2), 300 mL (3:3) çözücü düzeneği aracılığıyla her biri 25 mL olacak şekilde 30 fraksiyon toplandı. Fraksiyonların İTK analizleri sonrasında 20-27 no.lu fraksiyonlar karıştırılarak 0.42 gram katı madde elde edildi.

Verim (%) : 72
Rf : 0.67 (hegzan-dietil eter, 1: 3)
 ^1H NMR Spektrumu : Ek 13
APT Spektrumu : Ek 14
Kütle Spektrumu : Ek 15

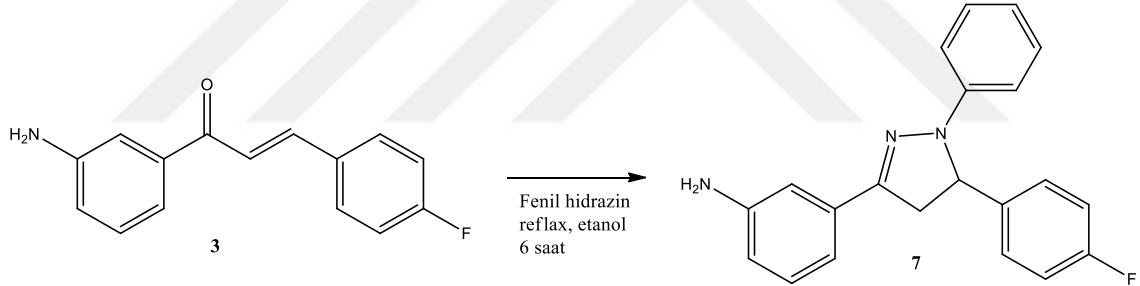
{3-[5-(3-florofenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il]fenil}amin (6)



Bir balonda, 2 numaralı bileşiğe (1 gram, 41.5 mmol) ve fenil hidrazin (0.9 gram, 83 mmol) 75 mL etanol içerisinde yaklaşık 6 saat geri soğutucu altında ısıtma işlemi uygulandı. Reaksiyonun ilerleyişi ince tabaka kromatografisi (İTK) metoduyla izlendi. Elde edilen 2 gramlık ham karışım kolon kromatografisinde (2x50 cm, silikajel-230-400 mesh, 40 g) hegzan 50 mL, hegzan-dietil eter 200 mL (3:1), 200 mL (3:2), 300 mL (3:3) çözücüleri aracılığıyla her biri 25 mL olacak şekilde 30 fraksiyon toplandı. Fraksiyonların İTK ile yapılan analizleri sonucunda, 20 ila 28 numaralı fraksiyonlar birleştirilerek 0.45 gram katı ürün oluşturuldu.

Verim (%)	: 74
Rf	: 0.66 (hegzan-dietil eter, 1: 3)
¹ H NMR Spektrumu	: Ek 16
APT Spektrumu	: Ek 17
Kütle Spektrumu	: Ek 18

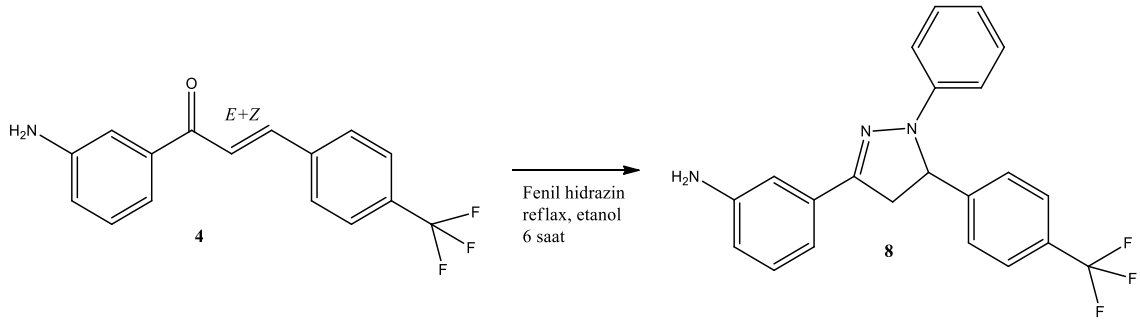
{3-[5-(4-florofenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il]fenil}amin (7)



Üç numaralı bileşiğin (1 g, 41.5 mmol) ve fenil hidrazinin (0.9 g, 83 mmol) etanol (75 mL) içerisindeki karışımı, yuvarlak bir balonda 6 saat geri akış sıcaklığında tutuldu. Reaksiyonun ilerleyişi ince tabaka kromatografisi (İTK) metoduyla izlendi. Elde edilen 2 gramlık ham karışım kolon kromatografisinde (2x50 cm, silikajel-230-400 mesh, 40 g) sırasıyla hegzan 50 mL, hegzan-dietil eter 200 mL (3:1), 200 mL (3:2), 300 mL (3:3) çözücüleri aracılığıyla her biri 25 mL olacak şekilde 30 fraksiyon toplandı. Fraksiyonların İTK ile yapılan analizleri sonrasında 20-29 no.lu fraksiyonların karıştırılması ile 0.46 gramlık katı ürün oluşturuldu.

Verim (%)	: 75
Rf	: 0.65 (hegzan-dietil eter, 1: 3)
¹ H NMR Spektrumu	: Ek 19
APT Spektrumu	: Ek 20

(3-{1-fenil-5-[4-triflorofenil]-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il}fenil)amin (8)



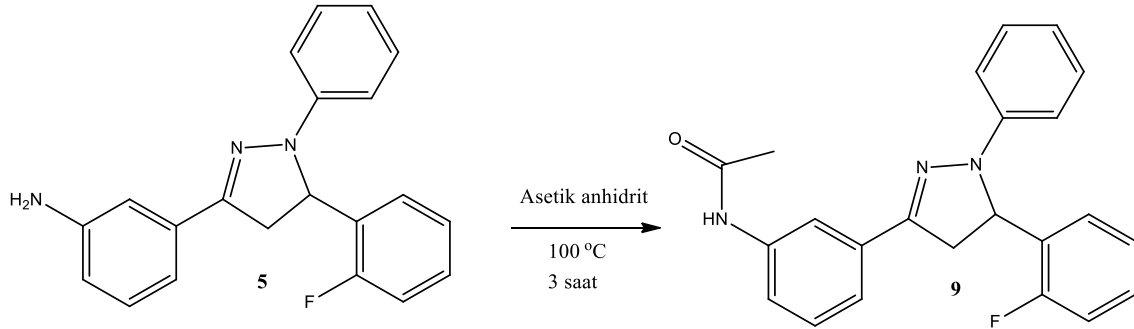
4 numaralı bileşik (1 g, 34.4 mmol), fenil hidrazin (0.74 g, 68.8 mmol) yuvarlak bir balon içerisinde etanol (75 mL) içerisinde yaklaşık 6 saat geri soğutucuda reflax edildi. Tepkime İTK ile izlendi. Oluşan 2.2 gramlık ham karışım kolon kromatografisinde (2x50 cm, silikajel-230-400 mesh, 40 g) sırasıyla hegzan 50 mL, hegzan-dietil eter 200 mL (3:1), 200 mL (3:2), 300 mL (3:3) çözücüler aracılığıyla her biri 25 mL olacak şekilde 30 fraksiyon toplandı. Fraksiyonların İTK ile yapılan analizleri sonrasında 20-26 no.lu fraksiyonların karıştırılması ile 0.41 gramlık katı ürün oluşturuldu.

Verim (%)	: 70
Rf	: 0.64 (hegzan-dietil eter, 1: 3)
¹ H NMR Spektromu	: Ek 22
APT Spektromu	: Ek 23
Kütle Spektromu	: Ek 24

3.3.1.3. 9-12 No.lu Pirazolin-N-Asetil Bileşiklerin Sentezi

Pirazolin bileşikleri (9-12), 5-8 no.lu pirazolin bileşiklerinin susuz asetik anhidrit ortamında geri soğutucuda ısıtılarak 100 °C sentezleri yapıldı. Reaksiyonlar İTK ile takip edilerek sonlandırıp, buz banyosunda çöktürülerek süzüldü. Ham Pirazolin-N-asetil bileşikleri (9-12), kristallendirme tekniğiyle saflaştırıldı. Sentezlenen bileşiklerin yapı analizleri NMR (¹H ve ¹³C(APT)) ve LC-MS/MS yöntemleri ile incelendi (49).

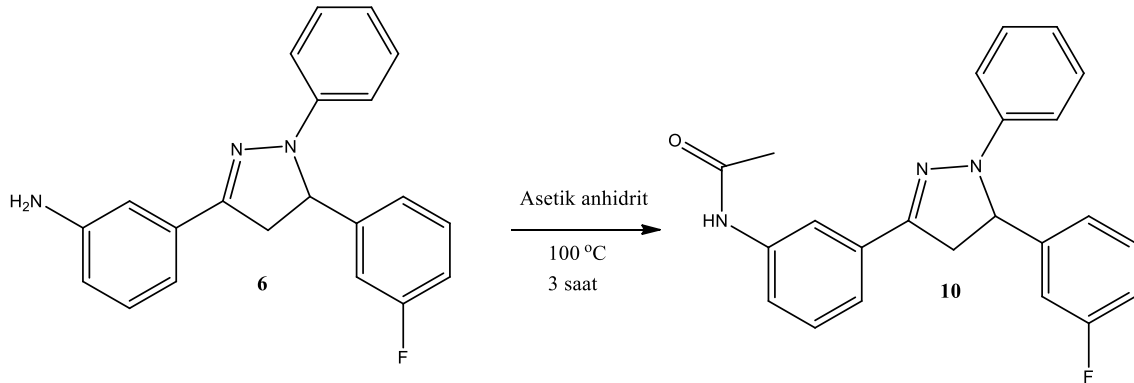
N-{3-[5-(2-florofenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il]fenil}asetamit (9)



5 no.lu bileşik (0.3 g, 0.9 mmol) ve 50 ml susuz asetik anhidrit yuvarlak bir balon içerisinde 3 saat geri soğutucu altında devam ettirildi. Reaksiyon İTK ile izlendi. Elde edilen 0.35 gramlık ham karışım etanol ile kristallendirildi.

Verim (%)	: 70
Rf	: 0.67 (hegzan-dietil eter, 1: 4)
¹ H NMR Spektrumu	: Ek 25
APT Spektrumu	: Ek 26
Kütle Spektrumu	: Ek 27

N-{3-[5-(3-florofenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il]fenil}asetamit (10)

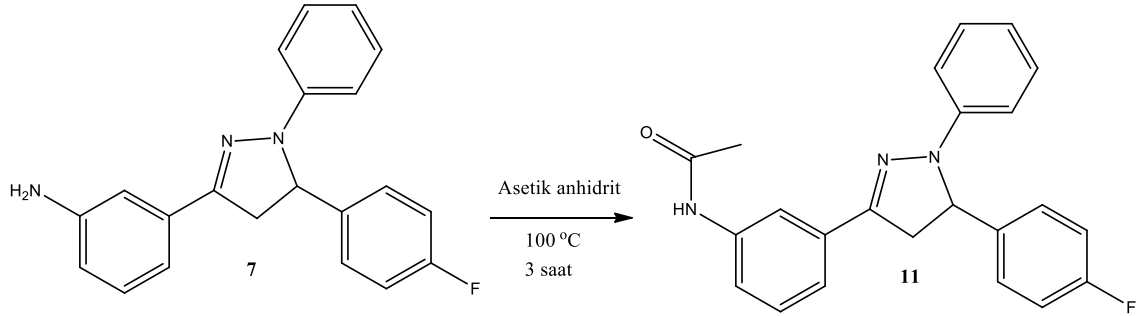


6 no.lu bileşik (0.3 g, 0.9 mmol) ve 50 ml susuz asetik anhidrit yuvarlak bir balon içerisinde 3 saat geri soğutucu altında devam ettirildi. Reaksiyon İTK ile izlendi. Elde edilen 0.37 gramlık ham karışım etanol ile kristallendirildi.

Verim (%)	: 70
Rf	: 0.66 (hegzan-dietil eter, 1: 4)
¹ H NMR Spektrumu	: Ek 28
APT Spektrumu	: Ek 29

Kütle Spektrumu : Ek 30

N-{3-[5-(4-florofenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il]fenil}asetamit (11)



7 no.lu bileşik (0.3 g, 0.9 mmol) ve 50 ml susuz asetik anhidrit yuvarlak bir balon içerisinde 3 saat geri soğutucu altında devam ettirildi. Reaksiyon İTK ile izlendi. Elde edilen 0.36 gramlık ham karışım etanol ile kristallendirildi.

Verim (%) : 70

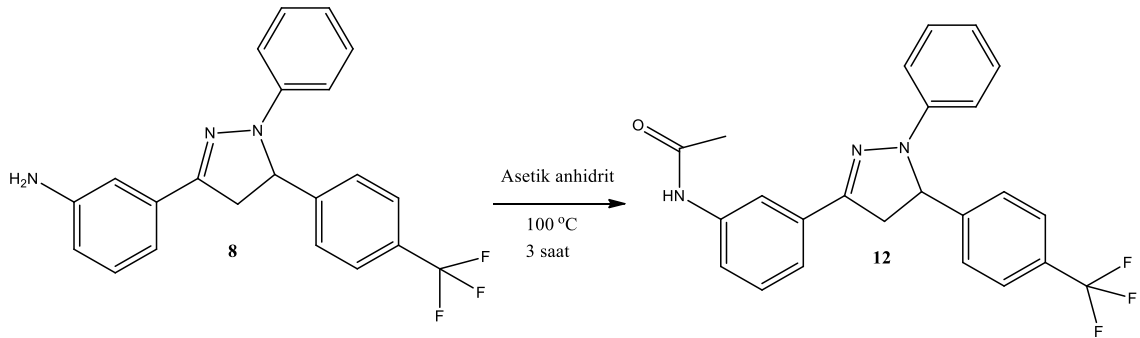
Rf : 0.65 (hegzan-dietil eter, 1: 4)

¹H NMR Spektrumu : Ek 31

APT Spektrumu : Ek 32

Kütle Spektrumu : Ek 33

N-(3-{1-fenil-5-[4-triflorofenil]-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il}fenil)asetamit (12)



8 no.lu bileşik (0.3 g, 0.9 mmol) ve 50 ml susuz asetik anhidrit yuvarlak bir balon içerisinde 3 saat geri soğutucu altında devam ettirildi. Reaksiyon İTK ile izlendi. Elde edilen 0.30 gramlık ham karışım etanol ile kristallendirildi.

Verim (%) : 70

Rf : 0.64 (hegzan-dietil eter, 1: 4)

¹H NMR Spektrumu : Ek 34

APT Spektrumu : Ek 35

3.3.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

3.3.2.1. Sentezlenen Bileşiklerin Antioksidan Aktivite Çalışmaları

Sentez bileşiklerinin antioksidan aktiviteleri, ferrik indirgeyici antioksidan güç (FRAP) ve Cu(II) iyon indirgeme kapasitesi (CUPRAC) ile belirlendi.

Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Tayini

FRAP'in prensibi, antioksidanların mevcudiyetinde Fe(III)-TPTZ (2,4,6-tris(2-piridli)-S-triazin) kompleksinin mavi renkteki Fe(II)-TPTZ'ye indirgenmesine dayanmaktadır. Elde edilen renk yoğunluğu antioksidanın gücü ile doğru orantılıdır ve bu renk en yüksek absorbans değerini 595 nm'de verir (50). Çalışmada sentezlenen bileşiklerin numuneleri 10 mg/mL konsantrasyonunda hazırlandı. Troloks'un 62.5, 125, 250, 500, 1000 µM konsantrasyonlarındaki metanolik çözeltileri kullanıldı.

Deney prosedürü aşağıdaki gibi gerçekleştirildi.

En başta FRAP reaktifi (taze şekilde) ve test çözeltileri hazırlandı. 50 µL numune/standart solüsyonları test 1, test 2 ve test 3 ve numune körü tüplerine pipetlendi. Reaktif körü tüpüne 50 µL numune/standart çözücüsü pipetlendi. Spektrofotometre çalıştırılarak 595 nm dalga boyuna ayarlandı. Test 1, test 2, test 3 ve reaktif körü tüplerine (20 saniye aralıklarla) 1.5 mL FRAP reaktifi eklenip karıştırıldı. Numune körü tüplerine de 1.5 mL su-metanol karışımı (2:3) (FRAP reaktif çözücüsü) (20 saniye aralıklarla) ilave edilerek karıştırıldı. Tüpler oda sıcaklığında (25 °C) 20 dakika inkübe edildi ve 595 nm'de absorbans değerleri okundu. Ardından Trolox'un standart kalibrasyon eğrisi çizildi. Grafik yardımı ile numunelerin FRAP değeri bulundu. Numunelerin FRAP değerleri µM/g cinsinden hesaplandı.

Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Tayini

CUPRAC tayini elektron veren antioksidanların varlığında bakır(II)-neocuproin kompleksinin (Cu(II)-Nc) bakır(I)-neocuproine (Cu(I)-Nc) indirgenmesine dayanmaktadır (51). Oluşan sarı-turuncu (Cu(I)-Nc) renkteki kompleksin yoğunluğu 450 nm'de spektrofotometrede ölçülmektedir. Absorbans değerleri, test bileşiklerinin antioksidan gücü ile doğru orantıdadır. CUPRAC yönteminde, sentez bileşiklerine ait tüm numuneler,

10 mg/mL konsantrasyonunda hazırlandı. Troloks'un 62.5, 125, 250, 500, 1000 µM konsantrasyonlarındaki metanolik çözeltileri kullanıldı.

Deney prosedürü aşağıdaki gibi gerçekleştirildi.

Reaktifler ve deney çözeltileri kullanıma hazır hale getirildi. Test 1, test 2, test 3 (3 paralel çalışılmıştır) ve numune körü sıralarına 500 µL test çözeltisi pipetlendi. Reaktif körü tüplerine 500 µL numune/standart çözücüsü olarak metanol eklendi. Spektrofotometre hazırlanarak 450 nm dalga boyuna ayarlandı. Tüm tüplere 1000 µL $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}^-$ çözeltisi ve 1000 µL $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi ilave edildi. Test 1, test 2, test 3 ve reaktif körü tüp sıralarına 1000 µL neocuproin reaktifi pipetlenirken numune körü tüplerine 1000 µL metanol (neocuproin reaktifi çözücüsü) 20 saniye bekleme süresi ile pipetlendi. Tüpler 25 °C'de, karanlık ortamda 30 dakika inkübe edildi. İlk pipetlenen tüpten başlanarak, 30 dakikalık inkübasyon süresi tamamlanan tüpler sırasıyla alınarak plastik küvete aktarıldı ve tüm tüplerin absorbansı 450 nm'de okundu. Sonuçlar TEAC (Trolox eşdeğer antioksidan kapasite) (µM) olarak ifade edildi.

3.3.2.2. α-Glukozidaz İnhibisyonu

Alfa-glukozidaz inhibitör aktivitesi, Palanisamy ve arkadaşlarının geliştirdiği bir yöntemle belirlendi. Bu yöntemde, bir 96 kuyucuklu mikrolaka içerisinde örnek çözeltisi (20 µL), glutatyon (20 µL), alfa-glukozidaz enzimi çözeltisi (20 µL), pH 6.8 olan fosfat tamponu ve substrat olarak kullanılan PNPG (4-Nitrofenil β-D-glukuronid) çözeltisi (20 µL) karıştırılarak 37°C'de 15 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı. Aynı işlem, enzim içermeyen bir kontrol (kör) için de tekrarlandı. Reaksiyon, sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi (80 µL, 0.2 M) eklenerek sonlandırıldı. Ardından, örnek ve kör çözeltilerinin absorbans değerleri 400 nm dalga boyunda ölçüldü. Alfa-glukozidaz inhibisyon aktivitesi, akarboz eşdeğeri cinsinden ifade edildi (52).

3.3.2.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Tez çalışmasında sentezlenen bileşiklerin antimikrobiyal aktivite tayinlerinde Agar kuyucuk yöntemi kullanıldı ve etkinlikleri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* RSKK 709 ve *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 bakterilerine karşı değerlendirildi.

Agar kuyucuk yönteminde öncelikle, test edilecek mikroorganizmaların bulunduğu besiyeri olarak Mueller-Hinton agar sterilize edildi, petrilere 20 mL olacak şekilde döküldü

ve katılaşması için beklendi. Tüm örnekler 17 mg/ml konsantrasyonunda çalışıldı. Tez kapsamında kullanılacak bakteriler 24 saatlik kültür olacak şekilde inkübatörde pasajlandı. Bakteriler, hücre densitometresi (Biosan DEN-1) aracılığı ile 0.5 Mcfarland bulanıklığına ayarlandı (10^8 kob/mL'ye denk). Hazırlanan kültürler eküvyon çubuğunun yardımı ile besiyeri üzerine yayıldı. Besiyeri üzerinde mantar delme aparatı aracılığı ile 6 mm'lik kuyucuklar açıldı (53). Kuyucuklara 50 µL örnek koyuldu. Kör olarak ise örnek çözücülerini olan etil asetat kullanıldı. Sonrasında petri kapları 37°C'de yaklaşık 24 saat inkübe edildi ve oluşan inhibisyon zonları milimetre (mm) cinsinden ölçüldü.

3.3.3. Moleküler Yerleştirme (Docking) Çalışmaları

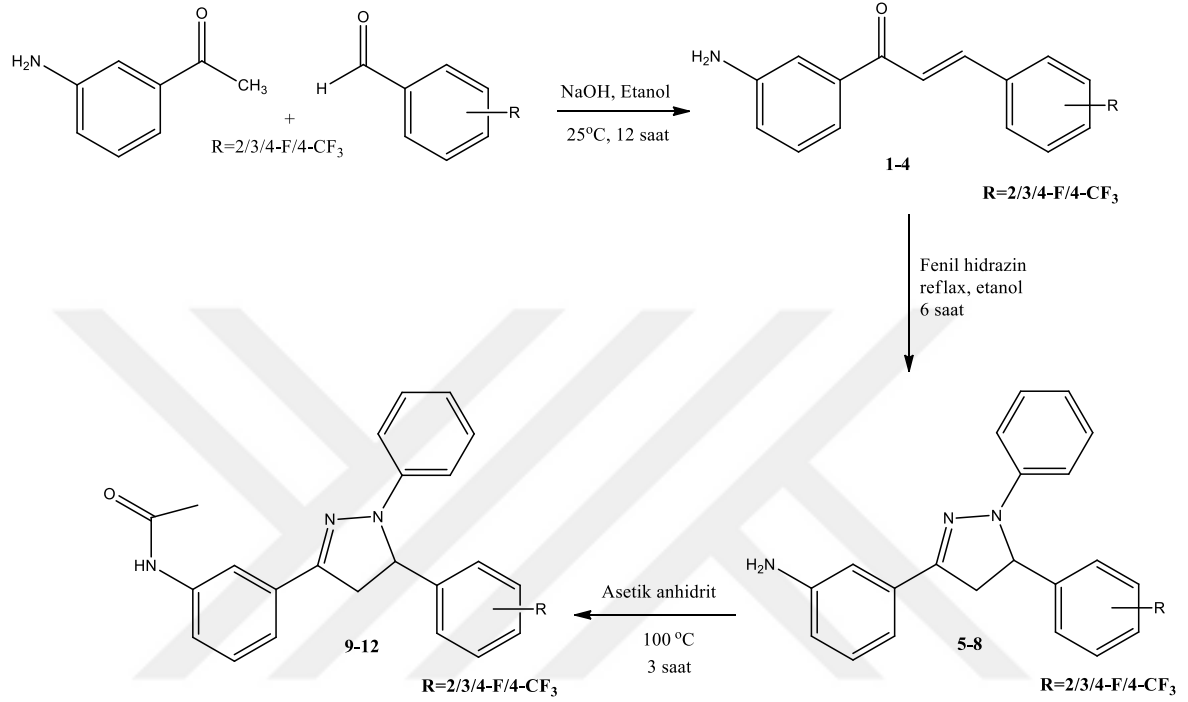
Sentezlenen bileşiklerin *Saccharomyces cerevisiae* alfa glukozidaz enziminin aktif bölgesine bağlanma afiniteleri AutoDock Vina V.1.5.7. yazılımı kullanılarak moleküler hedefleme yolu ile test edildi. Söz konusu enzime ait kristal yapısı Protein Data Bank'ta mevcut olmadığından Uniprot ID: P38158 ile tanımlanan enzimin 3D yapısı AlphaFold 2 kullanılarak modellendi.

İlgili protein modeli yerleştirme çalışmalarından önce, AutoDockTools programı aracılığıyla yerleştirme işlemlerine uygun hale getirildi. Bu esnada, protein yapısında enerji minimizasyonu sağlandı. Polar hidrojen ilaveleri yapılarak 3D yapısı protonlandı ve Kollman yükleri ile yüklenmesi aşamaları tatbik edildi. Sonuçta yerleştirme işlemi için gerekli olan amino asitler tanımlanarak hazırlandı. Test edilen bileşiklerin 2D yapıları çizildi, SDF dosyaları oluşturulup kaydedildi. Her bir ligand için öncelikle pdb dosya formatları oluşturuldu, sonrasında bu yapılar kullanılarak .pdbqt dosya uzantıları AutoDockTools programı çalıştırılarak hazırlandı. Uzantılar yerleştirme çalışmaları öncesinde kaydedildi. Moleküler yerleştirme işleminde, AutoDock Vina programı ara yüzünde yerleştirme seçeneği ile her bir bileşik için birbirlerinden bağımsız, deneysel süreçler gerçekleştirildi. Ligandların serbest hareket etmesine izin verildi ancak reseptör bağlanma bölgesi sabit tutuldu. Alfa glukozidaz aktif bölgesi ile en uygun pozların moleküler yerleştirme puanları elde edildi. Uygun yazılım kullanılarak enzim ligand kompleks yapılarının 3D görünimleri ve protein-ligand etkileşimlerini rezidü seviyesinde belirten 2D Plot analiz verileri oluşturuldu.

4. BULGULAR

4.1. Bileşiklere Ait Formüller ve Adlandırmalar

Sentezlenen 1-12 no.lu bileşiklere ait reaksiyon şemasına Şekil 4'te yer verildi.



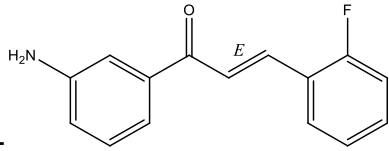
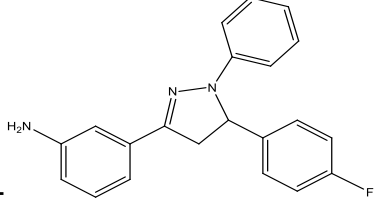
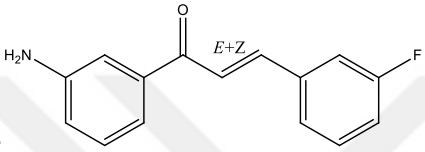
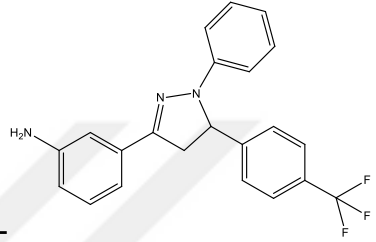
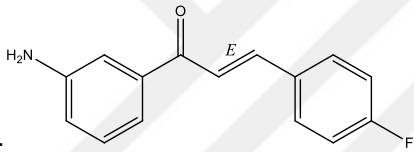
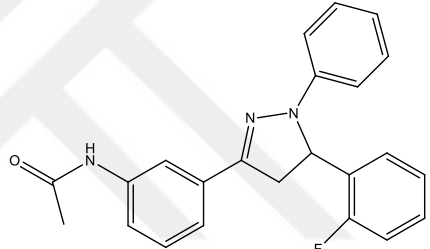
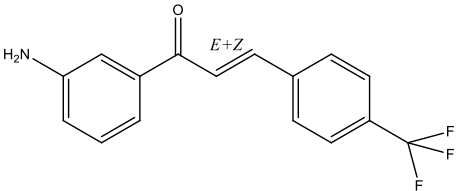
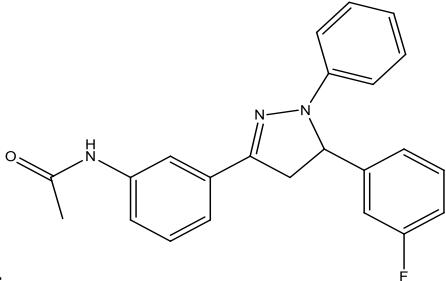
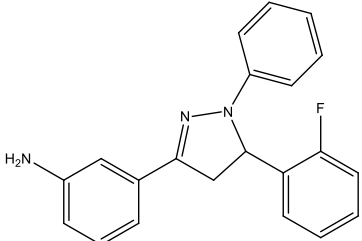
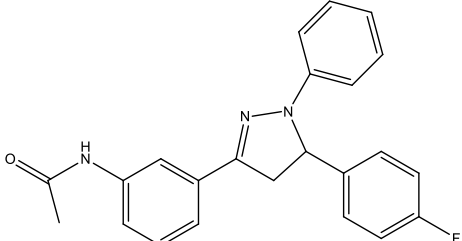
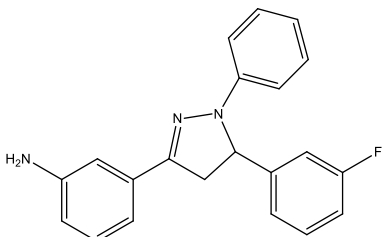
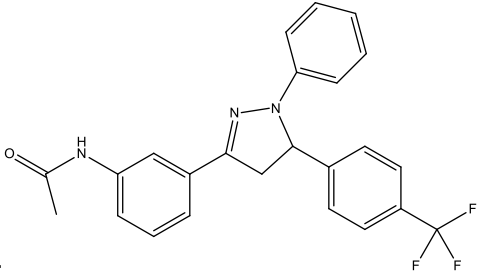
Şekil 4. 1-12 no.lu bileşiklerin reaksiyon şeması

Sentezlenen 1-12 no.lu bileşiklere ait adlandırmalar aşağıda verildi.

1. (2E)-1-(3-aminofenil)-3-(2-fluorofenil)prop-2-en-1-on
2. (2E/Z)-1-(3-aminofenil)-3-(3-fluorofenil)prop-2-en-1-on
3. (2E)-1-(3-aminofenil)-3-(4-fluorofenil)prop-2-en-1-on
4. (2E/Z)-1-(3-aminofenil)-3-(4-trifluorofenil)prop-2-en-1-on
5. {3-[5-(2-fluorofenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il]fenil} amin
6. {3-[5-(3-fluorofenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il]fenil} amin
7. {3-[5-(4-fluorofenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il]fenil} amin
8. (3-{1-fenil-5-[4-trifluorofenil]-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il} fenil)amin
9. N-{3-[5-(2-fluorofenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il]fenil} asetamit
10. N-{3-[5-(3-fluorofenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il]fenil} asetamit
11. N-{3-[5-(4-fluorofenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il]fenil} asetamit
12. N-(3-{1-fenil-5-[4-trifluorofenil]-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il} fenil)asetamit

Sentezlenen 1'den 12'ye kadar numaralandırılmış bileşiklerin moleküler formülleri
Tablo 3'te sunuldu.

Tablo 3. 1-12 no.lu bileşiklerin molekül formülleri

1-		7-	
2-		8-	
3-		9-	
4-		10-	
5-		11-	
6-		12-	

4.2. 1-12 No.lu Bileşiklerin Yapılarının Aydınlatılması

1-4 no.lu halojen substitute bilinen aminokalkon bileşikleri Claisen-Schmidt yöntemine göre sentezlendi. Sentezlenen bileşiklerin yapı analizleri ¹H-NMR ve ¹³C(APT) NMR yöntemleriyle yapıldı (43, 44). Bileşiklere dair spektrum yorumları Ek 1-12'de verildi.

{3-[5-(2-florofenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il]fenil}amin (5)

İlgili bileşiğin spektral verileri aşağıda sunuldu.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆ (δ, ppm): Pirazolin-H: 5.6/5.6 (dd, *J*= 6.0/6.4, 1H, H-5), 3.9/3.8 (dd, *J*= 12.4/12.4, 1H, H-4b), 3.1/ 3.0(dd, *J*= 6/6, 1H, H-4a), Ar-H: [6.6-7.5 (m, 13H, H-2'/4'-6'/3''-6''/2'''-6'''), 5.2 (s, 2H, -NH₂)].

¹³C-NMR (APT) (100 MHz, DMSO-d₆ (δ, ppm): Pirazolin-C:149.2 (C-3), 57.4 (C-5), 42.3 (C-4), Ar-C: [161.1/158.7 (C-2'', ¹*J*_{C-F}=243 Hz, 148.7 (C-1'''), 144.6 (C-3'), 133.0 (C-1'), 130.0/129.9 (C-4'', ³*J*_{C-F}=8 Hz), 129.5 (C-6''), 129.4 (C-3'''/5'''), 129.4 (C-5'), 129.2/129.1 (C-1'', ²*J*_{C-F}=14 Hz), 125.3 (C-5''), 116.5/116.3 (C-3'', ²*J*_{C-F}=20 Hz), 119.2 (C-6'), 115.3 (C-4'''), 114.4 (C-4'), 113.0 (C-2'''/6'''), 111.0 (C-2')].

LC/MS-MS (m/z, %): 331.96 (100) [M]⁺, hesaplanan 331.38 [M]⁺

{3-[5-(3-florofenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il]fenil}amin (6)

İlgili bileşiğin spektral verileri aşağıda sunuldu.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆ (δ, ppm): Pirazolin-H: 5.5/5.4 (dd, *J*= 6.0/6.4 Hz, 1H, H-5), 3.8/3.8 (dd, *J*= 8.4/12.0 Hz, 1H, H-4b), 3.0/ 3.0(dd, *J*= 6.4/6.4 Hz, 1H, H-4a), Ar-H: [7.0-7.2 (m, 7H, H-2'/2''/5''-6''/3'''-5'''), 7.3-7.4 (m, 1H, H-6'), 6.9 (d, *J*= 8.4 Hz, 2H, H-2'''-6'''), 6.8 (d, *J*= 8 Hz, 1H, H-4'), 6.6 (d, *J*= 8 Hz, 1H, H-4''), 6.7 (m, 1H, H-5'), 5.2 (s, 2H, -NH₂)].

¹³C-NMR (APT) (100 MHz, DMSO-d₆ (δ, ppm): Pirazolin-C:149.2 (C-3), 62.8 (C-5), 43.4 (C-4), Ar-C: [164.2/161.7 (C-3'', ¹*J*_{C-F}=243 Hz, 146.0/145.9.9 (C-1'', ³*J*_{C-F}=6 Hz), 148.5 (C-1'''), 144.6 (C-3'), 133.0 (C-1'), 131.6/131.5 (C-5'', ³*J*_{C-F}=9 Hz), 129.6 (C-5'), 129.4 (C-3'''/5'''), 122.0 (C-6'), 119.0 (C-4'''), 115.3 (C-4'), 114.4 (C-2'), 114.8/114.6 (C-6'', ⁴*J*_{C-F}=2 Hz), 113.2 (C-2''), 113.2 (C-2'''/6'''), 111.0 (C-4'')].

LC/MS-MS (m/z, %): 332.03 (100) [M+H]⁺, hesaplanan 332.38 [M+H]⁺

{3-[5-(4-florofenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il]fenil}amin (7)

İlgili bileşiğin spektral verileri aşağıda sunuldu.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆ (δ, ppm): Pirazolin-H: 5.3-5.5 (m, 1H, H-5), 3.7-3.9 (m, 1H, H-4b), 2.9-3.1(m, 1H, H-4a), Ar-H: [6.5-7.5 (m, 13H, H-2'/4'-6'/2''-3''/5''-6''/2'''-6'''), 5.2 (s, 2H, -NH₂)].

¹³C-NMR (APT) (100 MHz, DMSO-d₆ (δ, ppm): Pirazolin-C:149.2 (C-3), 62.6 (C-5), 43.5 (C-4), Ar-C: [162.9/160.5 (C-3'', ¹J_{C-F}=241 Hz, 139.2/139.1 (C-1'', ⁴J_{C-F}=1.3 Hz), 148.3 (C-1'''), 144.7 (C-3'), 133.1 (C-1'), 128.4/128.3 (C-2''/6'', ³J_{C-F}=8 Hz), 129.5 (C-5'), 129.5 (C-3'''/5'''), 118.9 (C-6'), 114.4 (C-4'''), 115.3 (C-4'), 116.3/116.1 (C-3''/5'', ²J_{C-F}=20 Hz), 113.3 (C-2'''/6'''), 111.0 (C-2')].

LC/MS-MS (m/z, %): 331.90 (100) [M]⁺, hesaplanan 331.38 [M]⁺

3-{1-fenil-5-[4-triflorofenil]-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il}fenil)amin (8)

İlgili bileşiğin spektral verileri aşağıda sunuldu.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆ (δ, ppm): Pirazolin-H: 5.5/5.4 (dd, *J*= 6.0/6.4 Hz, 1H, H-5), 3.8/3.8 (dd, *J*= 8.4/12.0 Hz, 1H, H-4b), 3.0/ 3.0(dd, *J*= 6.4/6.4 Hz, 1H, H-4a), Ar-H: [7.6 (d, 2H, 8.4 Hz, H-3''-5''), 7.4 (d, 2H, 8.0 Hz, H-2''-6''), 7.1-7.6 (m,9H, H-2'/4'-6'/2'''-6'''), 5.2 (s, 2H, -NH₂)].

¹³C-NMR (APT) (100 MHz, DMSO-d₆ (δ, ppm): Pirazolin-C:149.2 (C-3), 62.8 (C-5), 43.3 (C-4), Ar-C: [147.4 (C-1'''), 145.7 (C-3'), 144.4 (C-1''), 133.0 (C-1'), 129.4 (C-3'''/5'''), 129.6 (C-5'), 128.6/128.3 (C-4'', ²J_{C-F}=32 Hz), 127.2 (C-2''/6''), 126.4/126.3 (C-3''/5'', ⁴J_{C-F}=4 Hz), 120.5/123.2/125.9/130.7 (-CF₃), 119.7 (C-6'), 116.1.4 (C-4'''), 115.4 (C-4'), 113.3 (C-2'''/6'''), 111.0 (C-2')].

LC/MS-MS (m/z, %): 382.04 (80) [M+H]⁺, hesaplanan 382.39 [M+H]⁺

N-{3-[5-(2-florofenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il]fenil}asetamit (9)

İlgili bileşiğin spektral verileri aşağıda sunuldu.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆ (δ, ppm): Pirazolin-H: 5.6/5.6 (dd, *J*= 6.0/6.4, 1H, H-5), 3.9/3.8 (dd, *J*= 12.4/12.4, 1H, H-4b), 3.1/ 3.0(dd, *J*= 6/6, 1H, H-4a), Ar-H: [10.0 (s, 1H, -NH) 8.05 (s, 1H, H-2') 7.6 (s, 1H, H-6'), 6.7-7.3 (m, 11H, H-4'-5'/3''-6''/2'''-6''') 2.0 (s, 3H, -CH₃)].

¹³C-NMR (APT) (100 MHz, DMSO-d₆ (δ, ppm): Pirazolin-C:149.2 (C-3), 57.4 (C-5), 42.3 (C-4), Ar-C: [169.2 (-C=O), 161.1/158.7 (C-2'', ¹J_{C-F}=243 Hz, 148.7 (C-1'''), 144.6 (C-3'), 133.0 (C-1'), 130.0/129.9 (C-4'', ³J_{C-F}=8 Hz), 129.5 (C-6''), 129.4 (C-3'''/5'''), 129.4 (C-5'), 129.2/129.1 (C-1'', ²J_{C-F}=14 Hz), 125.3 (C-5''), 116.5/116.3 (C-3'', ²J_{C-F}=20 Hz), 119.2 (C-6'), 115.3 (C-4'''), 114.4 (C-4'), 113.0 (C-2'''/6'''), 111.0 (C-2'), 24.4 (-CH₃).

LC/MS-MS (m/z, %): 374.10 (40) [M+H]⁺, hesaplanan 374.40 [M+H]⁺, 395.90 (100) [M+Na]⁺, hesaplanan 396.00 [M+Na]⁺.

***N*-{3-[5-(3-florofenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-3-il]fenil}asetamit (10)**

İlgili bileşiğin spektral verileri aşağıda sunuldu.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆ (δ, ppm): Pirazolin-H: 5.5/5.4 (dd, *J*= 6.0/6.4 Hz, 1H, H-5), 3.8/3.8 (dd, *J*= 8.4/12.0 Hz, 1H, H-4b), 3.0/ 3.0(dd, *J*= 6.4/6.4 Hz, 1H, H-4a), Ar-H: [10.0 (s, 1H, -NH), 8.05 (s, 1H, H-2'), 7.6 (s, 1H, H-6'), 7.0-7.2 (m, 6H, H-2''/5''-6''/3'''-5'''), 6.9 (d, *J*= 8.4 Hz, 2H, H-2'''-6'''), 6.8 (d, *J*= 8 Hz, 1H, H-4'), 6.6 (d, *J*= 8 Hz, 1H, H-4''), 6.7 (m, 1H, H-5'), 2.0 (s, 3H, -CH₃)].

¹³C-NMR (APT) (100 MHz, DMSO-d₆ (δ, ppm): Pirazolin-C:149.2 (C-3), 62.8 (C-5), 43.4 (C-4), Ar-C: [169.2 (-C=O), 164.2/161.7 (C-3'', ¹J_{C-F}=243 Hz, 146.0/145.9.9 (C-1'', ³J_{C-F}=6 Hz), 148.5 (C-1'''), 144.6 (C-3'), 133.0 (C-1'), 131.6/131.5 (C-5'', ³J_{C-F}=9 Hz), 129.6 (C-5'), 129.4 (C-3'''/5'''), 122.0 (C-6'), 119.0 (C-4'''), 115.3 (C-4'), 114.4 (C-2'), 114.8/114.6 (C-6'', ⁴J_{C-F}=2 Hz), 113.2 (C-2''), 113.2 (C-2'''/6'''), 111.0 (C-4''), 24.1 (-CH₃)].

LC/MS-MS (m/z, %): 373.80 (40) [M]⁺, hesaplanan 373.40 [M]⁺, 395.90 (100) [M+Na]⁺, hesaplanan 396.00 [M+Na]⁺.

***N*-{3-[5-(4-florofenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-3-il]fenil}asetamit (11)**

İlgili bileşiğin spektral verileri aşağıda sunuldu.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆ (δ, ppm): Pirazolin-H: 5.3-5.5 (m, 1H, H-5), 3.7-3.9 (m, 1H, H-4b), 2.9-3.1(m, 1H, H-4a), Ar-H: [10.0 (s, 1H, -NH), 8.05 (s, 1H, H-2'), 7.6 (s, 1H, H-6'), 6.7-7.3 (m, 11H, H-4'-5'/2''-3''/5''-6''/2'''-6'''), 2.06 (s, 3H, -CH₃)].

¹³C-NMR (APT) (100 MHz, DMSO-d₆ (δ, ppm): Pirazolin-C:149.2 (C-3), 62.6 (C-5), 43.5 (C-4), Ar-C: [167.7 (-C=O), 162.9/160.5 (C-3'', ¹J_{C-F}=241 Hz, 139.2/139.1 (C-1'', ⁴J_{C-}

$f=1.3$ Hz), 148.3 (C-1'''), 144.7 (C-3'), 133.1 (C-1'), 128.4/128.3 (C-2''/6'', $^3J_{C-F}=8$ Hz), 129.5 (C-5'), 129.5 (C-3'''/5'''), 118.9 (C-6'), 114.4 (C-4'''), 115.3 (C-4'), 116.3/116.1 (C-3''/5'', $^2J_{C-F}=20$ Hz), 113.3 (C-2'''/6'''), 111.0 (C-2'), 23.3 (-CH₃)].

LC/MS-MS (m/z, %): 373.80 (20) [M]⁺, hesaplanan 373.40 [M]⁺, 396.20 (100) [M+Na]⁺, hesaplanan 396.40 [M+Na]⁺.

N-(3-{1-fenil-5-[4-triflorofenil]-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il}fenil)asetamit (12)

İlgili bileşiğin spektral verileri aşağıda sunuldu.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆ (δ, ppm): Pirazolin-H: 5.5/5.4 (dd, $J= 6.0/6.4$ Hz, 1H, H-5), 3.8/3.8 (dd, $J= 8.4/12.0$ Hz, 1H, H-4b), 3.0/ 3.0(dd, $J= 6.4/6.4$ Hz, 1H, H-4a), Ar-H: [7.6 (d, 2H, 8.4 Hz, H-3''-5''), 7.4 (d, 2H, 8.0 Hz, H-2''-6''), 7.1-7.6 (m,9H, H-2'/4'-6'/2'''-6'''), 2.0 (s, 3H, -CH₃)].

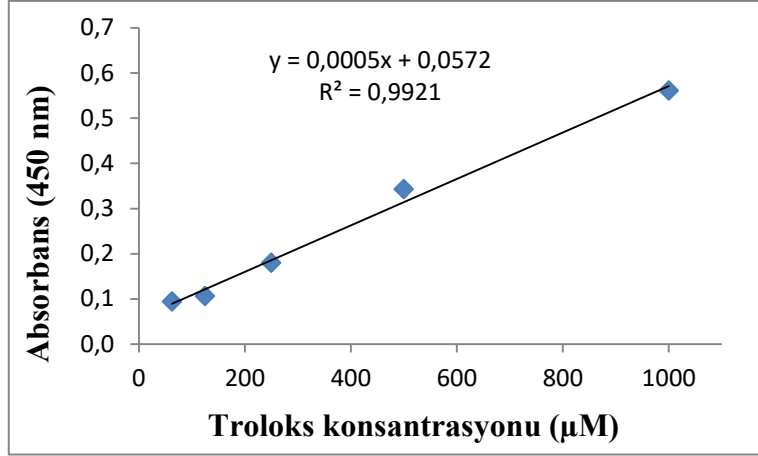
¹³C-NMR (APT) (100 MHz, DMSO-d₆ (δ, ppm): Pirazolin-C:149.2 (C-3), 62.8 (C-5), 43.3 (C-4), Ar-C: [172.4 (-C=O), 147.4 (C-1'''), 145.7 (C-3'), 144.4 (C-1''), 133.0 (C-1'), 129.4 (C-3'''/5'''), 129.6 (C-5'), 128.6/128.3 (C-4'', $^2J_{C-F}=32$ Hz), 127.2 (C-2''/6''), 126.4/126.3 (C-3''/5'', $^4J_{C-F}=4$ Hz), 120.5/123.2/125.9/130.7 (-CF₃), 119.7 (C-6'), 116.1.4 (C-4'''), 115.4 (C-4'), 113.3 (C-2'''/6'''), 111.0 (C-2'), 27.3 (-CH₃)].

LC/MS-MS (m/z, %): 423.8 (10) [M+H]⁺, hesaplanan 423.4 [M]⁺; 279.3 (40) [M-C₆H₄-CF₃]⁺, hesaplanan 279.5 [M- C₆H₄-CF₃]⁺

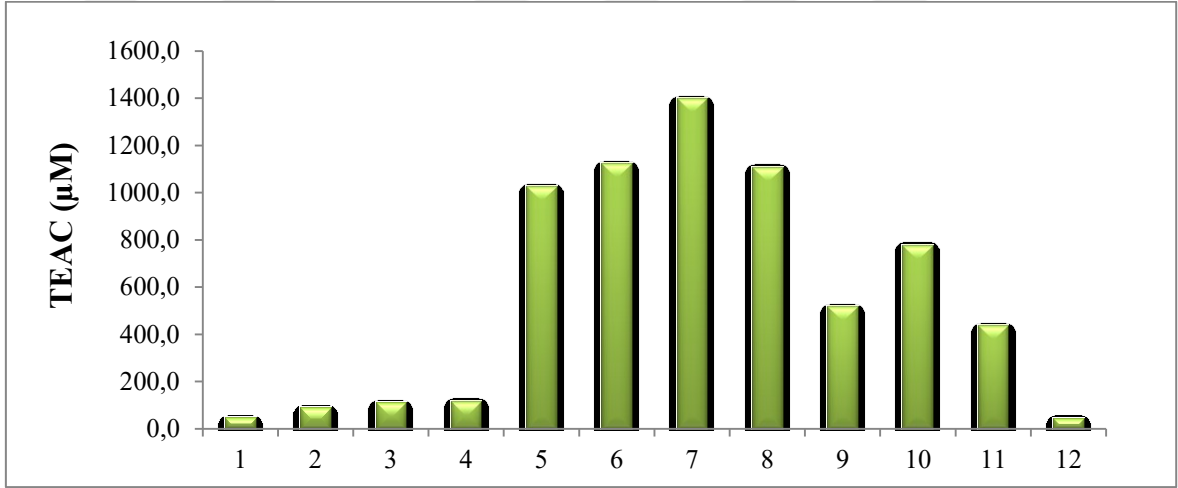
4.3. Bileşiklerin Antioksidan Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular

4.3.1. Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Tayini Sonuçları

Sentez bileşiklerinin FRAP değerleri troloks standardının kullanıldığı kalibrasyon eğrisinden faydalanarak hesaplandı. FRAP tayininde kullanılan troloks'a ait kalibrasyon grafiği Şekil 5'te gösterildi. Sentezlenen bileşiklerin FRAP değerleri troloks ile kıyaslanarak TEAC (μM) olarak Şekil 6'da ve Tablo 4'te verildi.



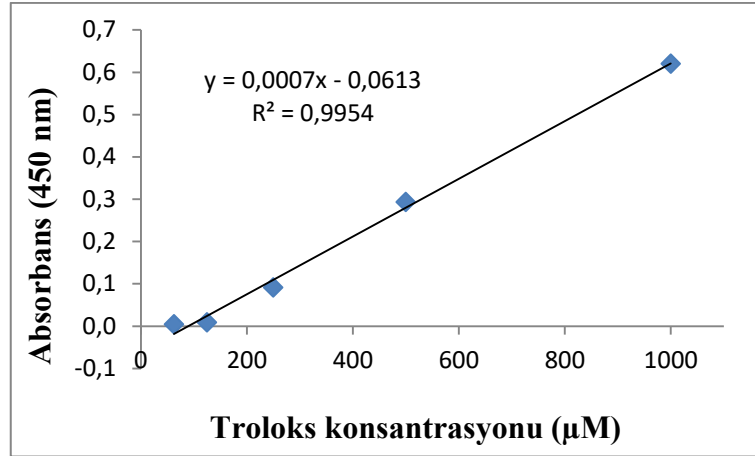
Şekil 5. FRAP tayininde kullanılan troloks'a ait kalibrasyon grafiği



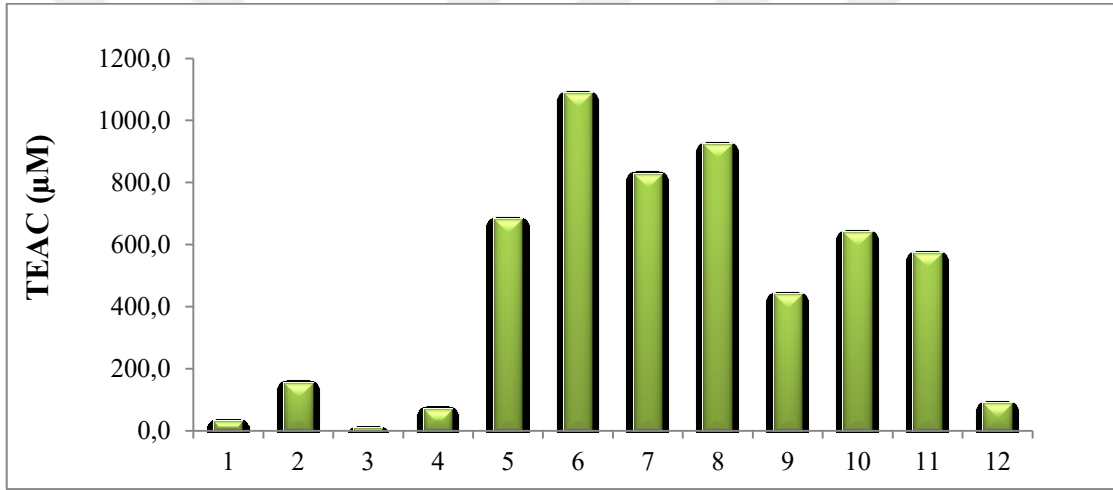
Şekil 6. Sentezlenen bileşiklerin FRAP tayini sonuçları

4.3.2. Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Tayini Sonuçları

Sentezlenen bileşiklerin CUPRAC metodu değerleri troloks standardı kullanımıyla elde edilen kalibrasyon grafiğinden faydalanarak hesaplandı. Troloks için hazırlanan kalibrasyon grafiği Şekil 7'de belirtildi. Bileşiklerin CUPRAC tayin değerleri Troloks ile kıyaslanarak TEAC (µM) olarak Şekil 8'de ve Tablo 4'te verildi.



Şekil 7. CUPRAC tayininde kullanılan troloks'a ait kalibrasyon grafiği



Şekil 8. Sentezlenen bileşiklerin CUPRAC tayini sonuçları

Tablo 4. Sentezlenen bileşiklerin (1 mg/mL) antioksidan aktivite sonuçları

Test Bileşikleri	CUPRAC ¹	FRAP ²
1	30.524 ± 3.563	46.933 ± 13.695
2	152.905 ± 10.838	88.933 ± 18.184
3	7.667 ± 7.776	111.600 ± 13.064
4	70.524 ± 20.942	118.267 ± 9.843
5	680.524 ± 29.098	1027.600 ± 18.833
6	1085.762 ± 13.265	1123.600 ± 22.511
7	827.667 ± 9.060	1398.933 ± 13.888
8	922.905 ± 6.424	1109.600 ± 12.961
9	439.095 ± 18.964	518.933 ± 10.873
10	638.143 ± 8.193	778.267 ± 26.254
11	570.048 ± 16.836	437.600 ± 22.627
12	87.190 ± 2.428	45.600 ± 19.596

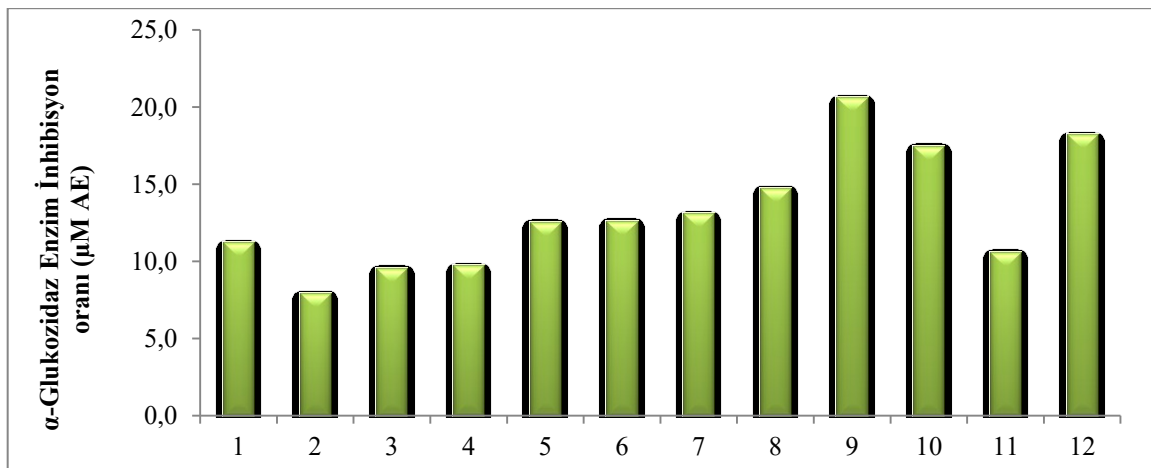
¹CUPRAC değeri bakır indirgeyici antioksidan kapasitesini (µM trolox eşdeğeri/gram), ²FRAP değeri demir indirgeyici antioksidan kapasitesini (µM trolox eşdeğeri/gram) gösterir.

4.4. Alfa Glukozidaz Aktivite İnhibitor Aktivite Sonuçları

Sentezlenen bileşiklere ait alfa-glukozidaz inhibisyon eşdeğeri sonuçları Tablo 5’te ve Şekil 9’da yer almaktadır. Alfa-glukozidazı geri dönüşümlü şekilde inhibe eden akarbozun standart çalışma grafiği Şekil 10’da verildi. En yüksek alfa-glukozidaz inhibisyonu gösteren 9, 10 ve 12 numaralı bileşiklere ait inhibisyon sonuçları Tablo 6 ve Şekil 10-14’te gösterildi.

Tablo 5. Örneklerin α -glukozidaz inhibisyon akarboz eşdeğeri sonuçları

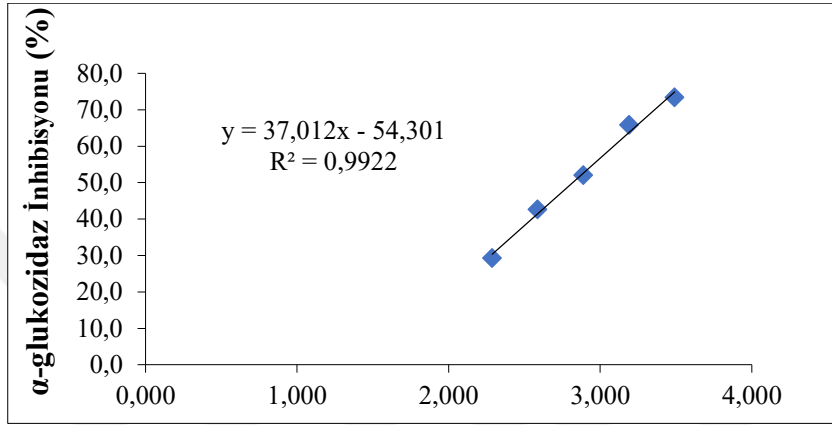
Örnekler	α -Glukozidaz Enzim İnhibisyon oranı (μ M AE)
1	11.208 ± 0.178
2	7.961 ± 0.378
3	9.584 ± 0.219
4	9.757 ± 0.466
5	12.554 ± 0.136
6	12.625 ± 0.365
7	13.108 ± 0.761
8	14.747 ± 0.677
9	20.617 ± 0.157
10	17.469 ± 1.170
11	10.608 ± 0.535
12	18.240 ± 0.233



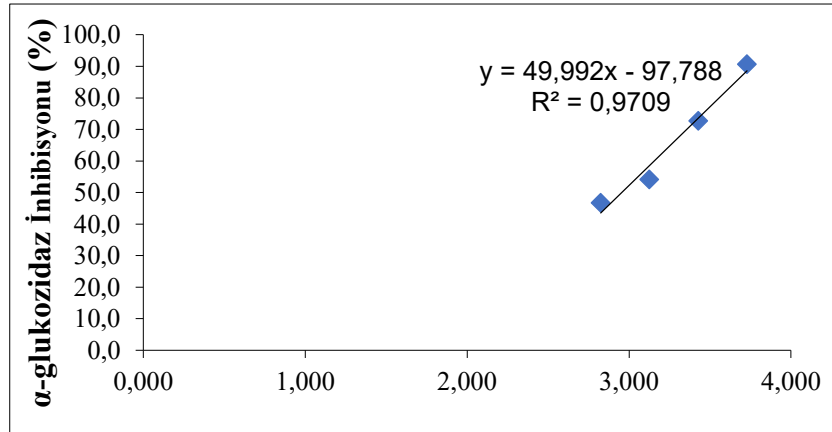
Şekil 9. Örneklerin α -glukozidaz inhibisyon akarboz eşdeğeri sonuçları

Tablo 6. Örneklerin α -glukozidaz inhibisyon sonuçları

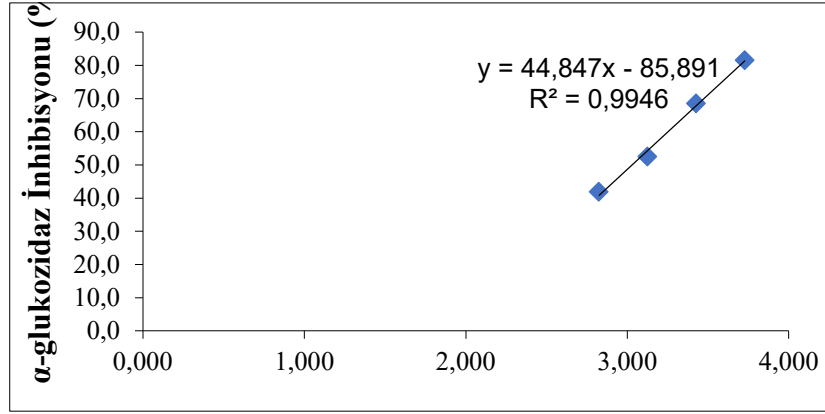
Örnekler	IC ₅₀ Değerleri (µg/mL)
9	904.134 ± 23.201
10	1071.772 ± 37.543
12	1027.468 ± 38.758
Akarboz	657.706 ± 18.278 µM



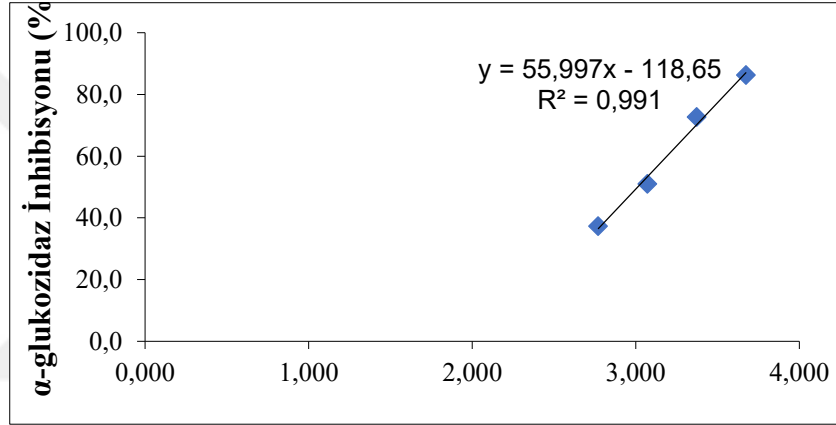
Şekil 10. Akarboz'un standart çalışma grafiği



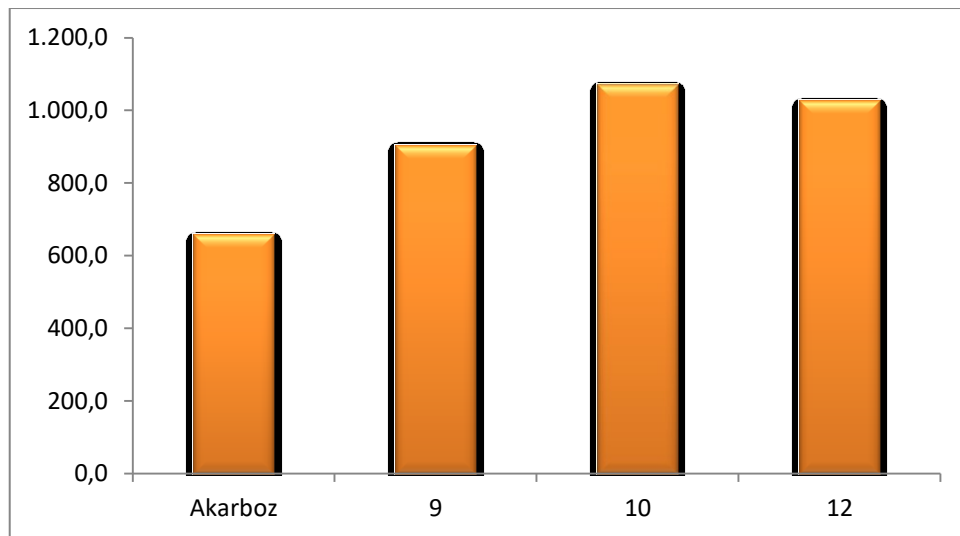
Şekil 11. 9 numaralı örneğin α -glukozidaz inhibisyon grafiği



Şekil 12. 10 numaralı örneğin α-glukozidaz inhibisyon grafiği



Şekil 13. 12 numaralı örneğin α-glukozidaz inhibisyon grafiği



Şekil 14. Örneklerin α-glukozidaz inhibisyon sonuçları

4.5. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

“–” işareti koyulan örnekler o mikroorganizmaya karşı inhibisyon zonu oluşturmamış demektir. Bu da antimikrobiyal aktivitesi olmadığı anlamına gelmektedir. Çözücü etil asetat 7 mm zon çapı oluşturdu. Çözücü, *B. cereus* ve *E. coli*’ye karşı 7 mm inhibisyon gösterdi. Sonuçlar hesaplanırken örneklerin zon çaplarından çözücü zon çapı çıkarıldı. Her bir örneğin ölçümündeki paraleller kullanılarak aritmetik ortalama ve standart sapması hesaplanarak tablo hazırlandı.

Sentezlenen bileşiklerin agar kuyucuk difüzyon metoduyla meydana getirdiği inhibisyon zonlarının çapları milimetre (mm) cinsinden Tablo 7’de sunuldu.

Tablo 7. Sentezlenen bileşiklerin agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile oluşturduğu inhibisyon çapları (mm)

İnhibisyon Zonu (mm)				
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>
1	22.00±7.21	4.33±2.08	20.66±2.30	16.66±3.21
2	15.33±0.57	3±0	18.33±2.88	17.66±1.52
3	14.66±0.57	12.33±0.57	23±1.73	6±1.73
4	8.33±0.57	8±1.73	11.33±1.52	2.33±0.57
5	-	2.66±0.57	10.66±0.57	-
6	-	-	-	-
7	-	-	-	-
8	-	3±1	-	-
9	-	2.33±0.57	9.66±0.57	2.33±0.57
10	-	1±0	-	2.66±0.57
11	-	1±0	-	-
12	-	1.33±0.57	-	-

4.6. Moleküler Yerleştirme (Docking) Çalışma Sonuçları

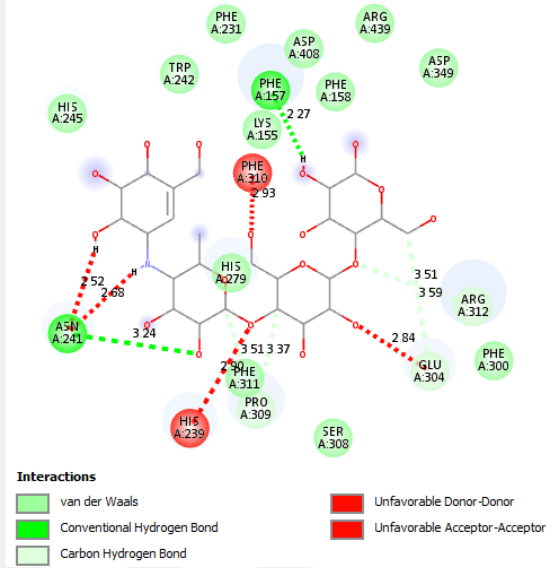
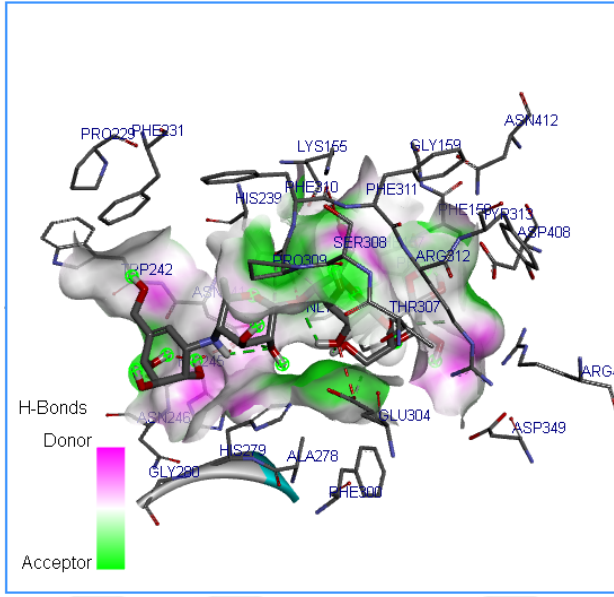
Sentezlenen bileşiklere ait moleküler yerleştirme sonuçları Tablo 8’de Şekil 15-20’de verildi.

Tablo 8. Sentezlenen bileşiklere ait moleküler yerleştirme sonuçları

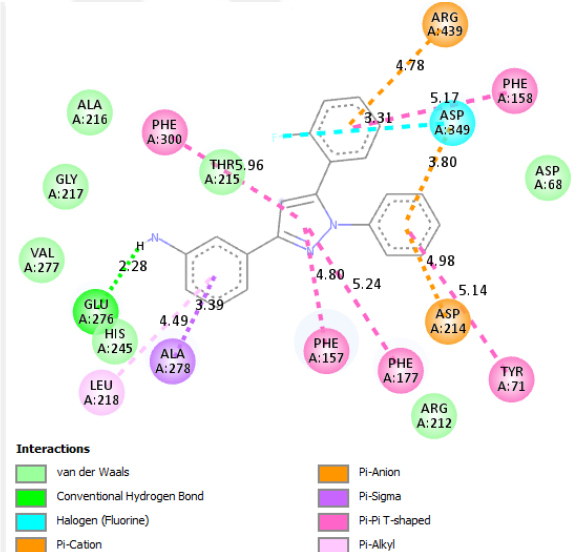
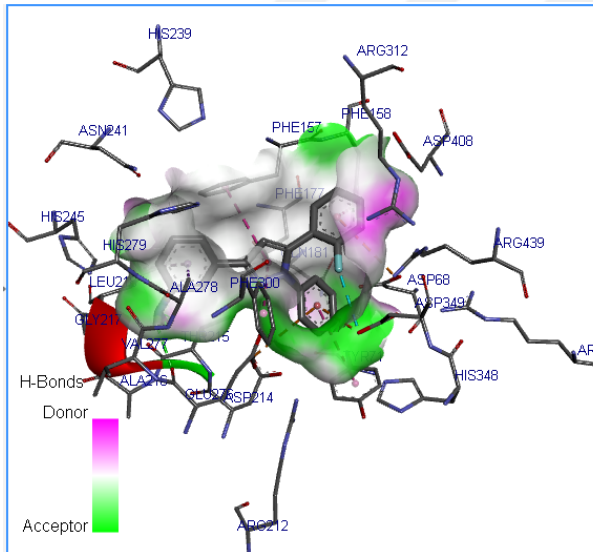
No	Sc α -Glucosidase model Binding energy (kcal/mol)	Interacting residues	H bond
P1	-8.4	Chain A: ASP68 TYR71 ASP106 LYS155 SER156 PHE157 PHE158 GLY159 PHE177 GLN181 ARG212 ASP214 THR215 LEU218 HIS239 ASN241 HIS245 GLU276 VAL277 ALA278 HIS279 PHE300 GLU304 THR307 SER308 PRO309 PHE310 PHE311 ARG312 TYR313 HIS348 ASP349 GLN350 ASP408 ASN412 ARG439	4
P2	-8.9	Chain A: ASP68 TYR71 ASP106 HIS111 LYS155 PHE157 PHE158 GLY159 PHE177 GLN181 ARG212 ASP214 THR215 ALA216 GLY217 LEU218 HIS239 ASN241 HIS245 GLU276 VAL277 ALA278 HIS279 PHE300 GLU304 THR307 SER308 PRO309 PHE310 PHE311 ARG312 TYR313 HIS348 ASP349 ASP408 ASN412 ARG439 ARG443	2
P3	-8.6	Chain A: ASP68 TYR71 ASP106 LYS155 SER156 PHE157 PHE158 GLY159 GLY160 PHE177 GLN181 ARG212 ASP214 THR215 LEU218 HIS239 ASN241 HIS245 GLU276 VAL277 ALA278 HIS279 PHE300 GLU304 THR307 SER308 PRO309 PHE310 PHE311 ARG312 TYR313 HIS348 ASP349 ASP408 ASN412 ILE415 ILE416 PHE420 ARG439	3
P4	-9.0	Chain A: ASP68 TYR71 ASP106 HIS111 LYS155 SER156 PHE157 PHE158 GLY159 PHE177 GLN181 ARG212 ASP214 THR215 GLY217 LEU218 HIS239 PRO240 ASN241 HIS245 GLU276 VAL277 ALA278 HIS279 PHE300 GLU304 THR307 SER308 PRO309 PHE310 PHE311 ARG312 TYR313 HIS348 ASP349 ASP408 ASN412 ARG439	4
P5	-10.5	Chain A: ASP68 TYR71 LYS155 SER156 PHE157 PHE158 GLY159 PHE177 GLN181 ARG212 ASP214 THR215 LEU218 HIS239 ASN241 HIS245 GLU276 VAL277 ALA278 HIS279 PHE300 GLU304 LEU305 THR307 SER308 PRO309 PHE310 PHE311 ARG312 TYR313 HIS348 ASP349 ASP408 ASN412 ARG439 ARG443	1
P6	-10.3	Chain A: ASP68 LYS155 SER156 PHE157 PHE158 GLY159 PHE177 ARG212 ASP214 THR215 LEU218 HIS239 PRO240 ASN241 HIS245 GLU276 VAL277 ALA278 HIS279 PHE300 THR301 HIS302 GLU304 LEU305 GLY306 THR307 SER308 PRO309 PHE310 PHE311 ARG312 TYR313 HIS348 ASP349 ASP408 ASN412 ARG439 ARG443	2
P7	-10.2	Chain A: ASP68 TYR71 ASP106 LYS155 SER156 PHE157 PHE158 GLY159 PHE177 ARG212 ASP214 THR215 ALA216 GLY217 LEU218 HIS239 ASN241 HIS245 GLU276 VAL277 ALA278 HIS279 PHE300 THR301 HIS302 GLU304 LEU305 GLY306 THR307 SER308 PRO309 PHE310 PHE311 ARG312 HIS348 ASP349 ASP408 ASN412 ARG439 ARG443	3
P8	-10.3	Chain A: ASP68 TYR71 ASP106 HIS111 LYS155 SER156 PHE157 PHE158 GLY159 GLY160 PHE177 GLN181 ARG212 ASP214 THR215 ALA216 GLY217 LEU218 PHE231 HIS239 PRO240 ASN241 TRP242 HIS245 GLU276 VAL277 ALA278 HIS279 PHE300 THR301 HIS302 GLU304 LEU305 GLY306 THR307 SER308 PRO309 PHE310 PHE311 ARG312 TYR313 HIS348 ASP349 ASP408 ASN412 ARG439 ARG443	2

Tablo 8. (Devam)

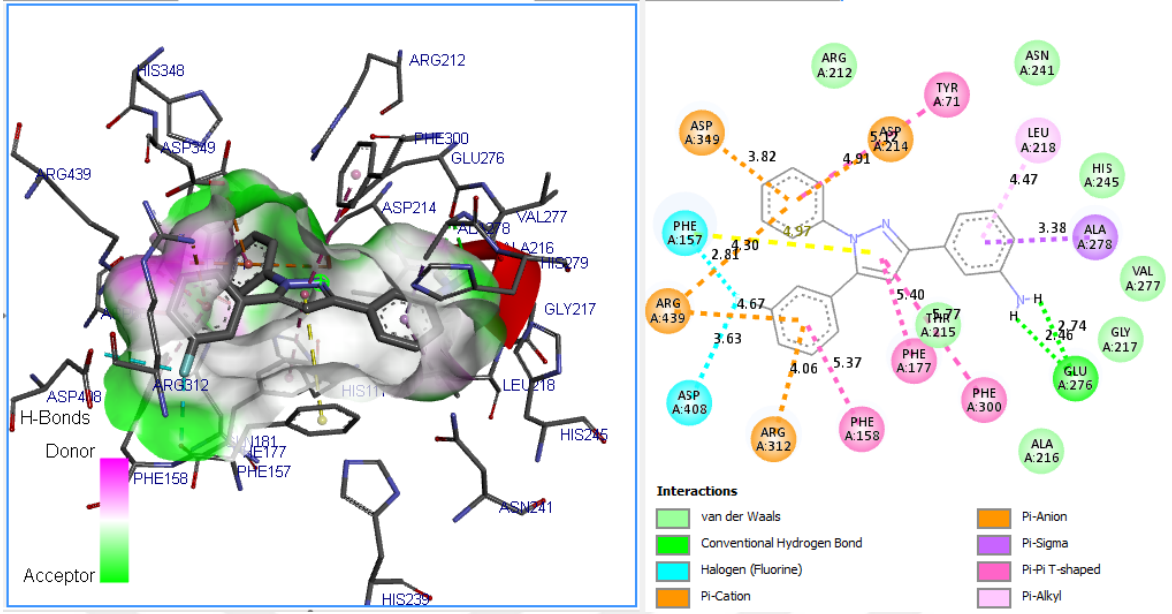
P9	-10.8	Chain A: ASP68 TYR71 HIS111 LYS155 SER156 PHE157 PHE158 GLY159 PHE177 GLN181 ASP214 THR215 ALA216 GLY217 LEU218 HIS239 ASN241 HIS245 GLU276 VAL277 ALA278 HIS279 PHE300 GLU304 LEU305 THR307 SER308 PRO309 PHE310 PHE311 ARG312 TYR313 HIS348 ASP349 GLN350 ASP408 ASN412 ARG439 ARG443	1
P10	-10.9	Chain A: ASP68 TYR71 HIS111 LYS155 SER156 PHE157 PHE158 PHE177 ARG212 ASP214 THR215 ALA216 GLY217 LEU218 HIS239 ASN241 HIS245 GLU276 VAL277 ALA278 HIS279 PHE300 GLU304 THR307 SER308 PRO309 PHE310 PHE311 ARG312 TYR313 ASP349 GLN350 ASP408 ASN412 ARG439	1
P11	-10.5	Chain A: ASP68 TYR71 HIS111 LYS155 SER156 PHE157 PHE158 GLY159 PHE177 GLN181 ARG212 ASP214 THR215 ALA216 GLY217 LEU218 HIS239 ASN241 HIS245 GLU276 VAL277 ALA278 HIS279 PHE300 GLU304 THR307 SER308 PRO309 PHE310 PHE311 ARG312 TYR313 ASN347 HIS348 ASP349 GLN350 ASP408 ASN412 ARG439 ARG443	2
P12	-10.8	Chain A: ASP68 TYR71 HIS111 LYS155 SER156 PHE157 PHE158 GLY159 GLY160 PHE177 GLN181 ARG212 ASP214 THR215 ALA216 GLY217 LEU218 HIS239 ASN241 HIS245 GLU276 VAL277 ALA278 HIS279 PHE300 GLU304 LEU305 THR307 SER308 PRO309 PHE310 PHE311 ARG312 HIS348 ASP349 GLN350 ASP408 ASN412 ARG439	1
Acarbose	-8.5	Chain A: ASP68 TYR71 VAL108 HIS111 PHE157 PHE158 PHE177 GLN181 ARG212 ASP214 THR215 LEU218 HIS239 ASN241 GLU276 ALA278 HIS279 PHE300 GLU304 THR307 SER308 PRO309 PHE310 PHE311 ARG312 TYR313 ASN314 ASN347 HIS348 ASP349 ASP408 ARG439 ARG443	2



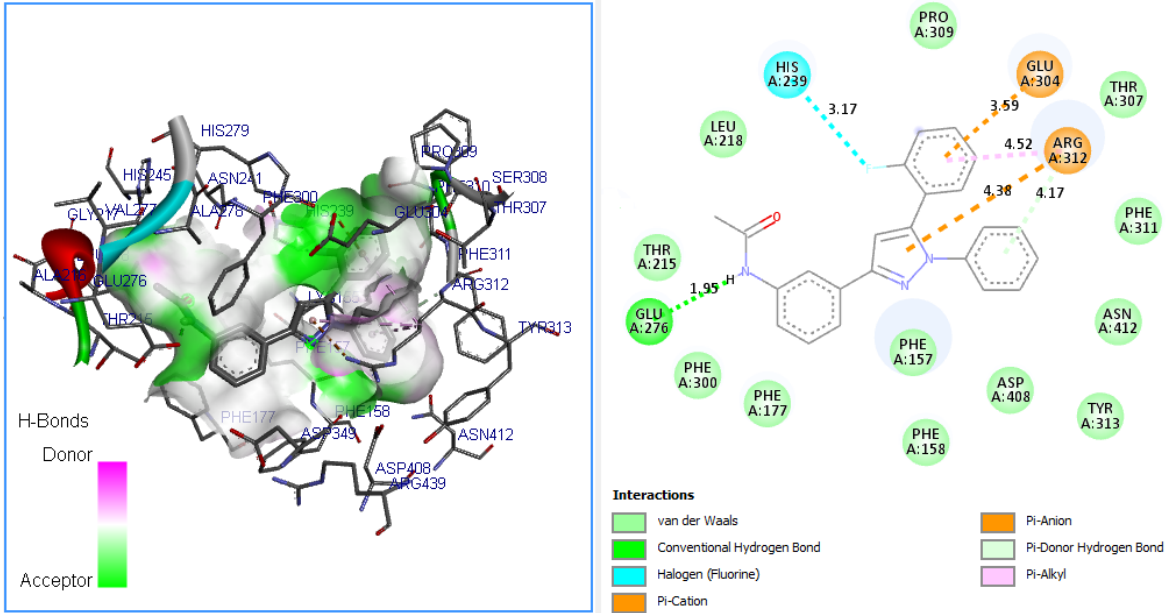
Şekil 15. Akarboz-Sc_A_Gluk kompleksine ait 3D moleküler yerleştirme görseli ve enzim ligand kompleksinin barındırdığı potansiyel biyokimyasal etkileşimleri ortaya koyan 2D plot görseli.



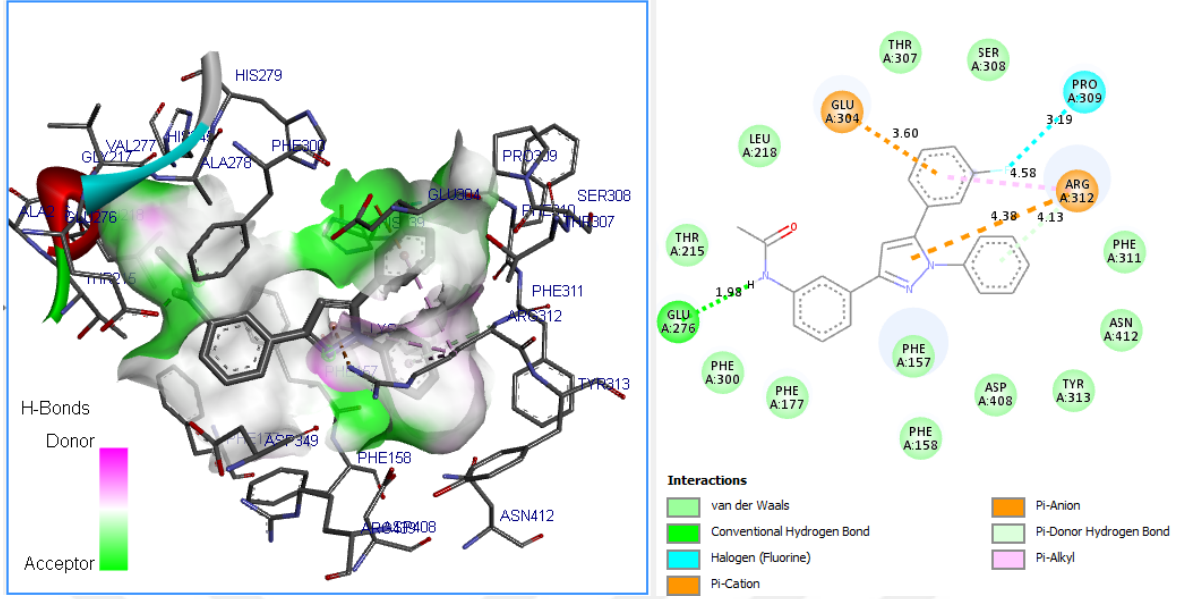
Şekil 16. P5-Sc_A_Gluk kompleksine ait 3D moleküler yerleştirme görseli ve enzim ligand kompleksinin barındırdığı potansiyel biyokimyasal etkileşimleri ortaya koyan 2D plot görseli.



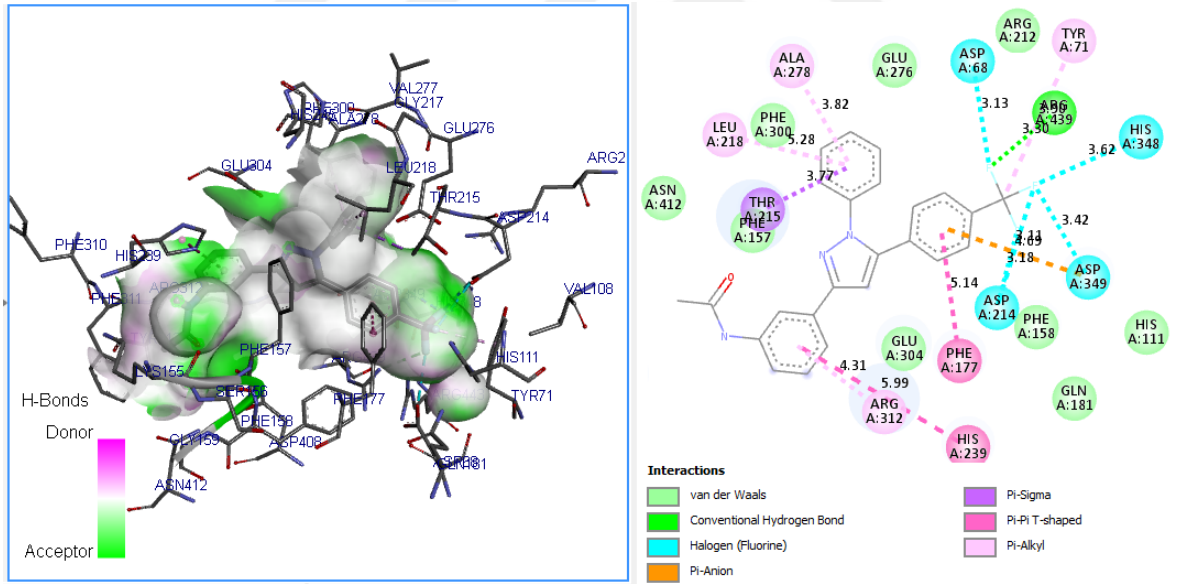
Şekil 17. P6-Sc_A_Gluk kompleksine ait 3D moleküler yerleştirme görseli ve enzim ligand kompleksinin barındırdığı potansiyel biyokimyasal etkileşimleri ortaya koyan 2D plot görseli.



Şekil 18. P9-Sc_A_Gluk kompleksine ait 3D moleküler yerleştirme görseli ve enzim ligand kompleksinin barındırdığı potansiyel biyokimyasal etkileşimleri ortaya koyan 2D plot görseli.



Şekil 19. P10-Sc_A_Gluk kompleksine ait 3D moleküler yerleştirme görseli ve enzim ligand kompleksinin barındırdığı potansiyel biyokimyasal etkileşimleri ortaya koyan 2D plot görseli.



Şekil 20. P12-Sc_A_Gluk kompleksine ait 3D moleküler yerleştirme görseli ve enzim ligand kompleksinin barındırdığı potansiyel biyokimyasal etkileşimleri ortaya koyan 2D plot görseli.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Diabetes Mellitus, günümüzün en yaygın ve önemli sağlık sorunlarından biridir. Kontrol altına alınmadığında, diyabetik nöropati, retinopati gibi mikrovasküler komplikasyonlar ve kardiyovasküler hastalıklar gibi makrovasküler bozukluklar dahil olmak üzere ciddi komplikasyonlara yol açmaktadır. Bu hastalık, yüksek plazma glukoz seviyeleri ile karakterize edilen bir metabolik bozukluk olarak tanımlanır. Mevcut hipoglisemik ilaçlar kan şekeri düzeyini normal aralıklara indirebilse de, bu ilaçların yol açabildiği yan etkiler nedeniyle, minimal veya hiç yan etkisi olmayan etkili oral hipoglisemik bileşiklerin araştırılması günümüzde büyük önem taşımaktadır.

Diyabetin kontrol altına alınmasında kullanılan stratejilerden biri, glukoz metabolizmasında görev alan belirli enzimlerin aktivitesini inhibe etmektir. Bu enzimler arasında özellikle alfa-glukozidaz, karbohidratların sindirim sürecinde kritik bir rol oynar. Alfa-glukozidazın aktivitesi, kan şekeri seviyesinin yükselmesine neden olduğundan, bu enzimin etkili ve yan etkisi az olan terapötik ajanlarla inhibe edilmesi, diyabet yönetiminde kan glukoz düzeylerinin düzenlenmesinde büyük önem taşır (54). Son yıllarda, diyabet tedavisinde kullanılmak üzere fizyolojik fonksiyonel bileşikler geliştirmek amacıyla doğal kaynaklardan etkili α -glukozidaz inhibitörlerini tespit etmeye yönelik yoğun çalışmalar yürütülmektedir (55).

Kalkonlar benzil asetofenon olarak bilinmektedir (56). Doğal olarak bulunan kalkonlar, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antioksidan ve antikanser gibi çeşitli potansiyel biyolojik özellikler sergilemektedirler. Bu geniş spektrumlu aktiviteler ve kendilerine özgü kimyasal yapıları, çok sayıda kalkon türevinin sentezlenmesinde önemli bir ilham kaynağı olmuştur (57). Ayrıca, kalkonlardan sentezlenen azot içeren heterosiklik türevlerin de antiinflamatuvar, antioksidan, antitüberküler, anti-HIV, antibakteriyel ve antikanser aktiviteler gösterdiği bilinmektedir (58). Bu özellikler, kalkonların ve türevlerinin ilaç geliştirme alanında umut vadeden bileşikler olduğunu göstermektedir.

İlaç geliştirme araştırmalarında yaygın olarak rastlanan pirimidin, triazol, oksadiazol, tetrazol, tiyadiazol ve pirazol gibi heterosiklik yapılar, biyolojik aktiviteye sahip bileşiklerin tasarlanmasında temel ve değerli yapısal unsurlardır. Bu sınıflamaya dahil olan pirazolinler, beş üyeli ve bitişik iki nitrojen atomu içeren halkalı yapılardır. Özellikle pirazolin halkasının, çeşitli biyolojik etkiler gösteren farmasötik bileşiklerin sentezinde yoğun olarak kullanıldığı bilinmektedir (59). Pirazolin ve pirazolin n-asetil

analoglarının antikanser, antioksidan, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antidiyabetik, antimikrobiyal, antiviral ve antimalaryal etkiler gösterdikleri literatürde yer almaktadır (60-61). Bu yapılar, α -glukozidaz enzimi inhibisyonu üzerinden hiperglisemi kontrolünde umut vadeden moleküller arasında değerlendirilmekte ve bu bağlamda araştırmalar artarak sürmektedir.

Khan ve arkadaşları 17 adet yeni benzotiyazol türevi pirazolin bazlı tiyazol bileşiği sentezlemiştir. Sentezlenen bileşikler ^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve HRMS gibi çeşitli spektroskopik yöntemler kullanılarak karakterize edilmiştir. Ardından bileşiklerin, alfa-glukozidaz ve üreaz enzimlerine karşı inhibe edici aktiviteleri incelenmiştir. Çalışmanın bulgularına göre sentezlenen tüm bileşikler anlamlı inhibitör potansiyel sergilemiştir. Alfa-glukozidaz enzimine karşı IC_{50} değerleri 2.50 ± 0.30 ile 17.50 ± 0.20 μM aralığında, üreaz enzimine karşı ise 14.30 ± 3.90 ile 41.50 ± 1.70 μM aralığında bulunmuştur. Bu sonuçlar, söz konusu bileşiklerin alfa-glukozidaz ve üreaz enzimlerinin aktif bölgeleriyle önemli etkileşimler gösterdiğini ve bu enzimleri inhibe etme yeteneğine sahip olduğunu ortaya koymuştur (62).

Mehmood ve arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada 17 adet 1,3,5-triaril-2-pirazolin türevi sentezlenerek antidiyabetik aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir. Referans akarbozun yarı maksimum inhibitör konsantrasyonu (IC_{50}) $= 375.82 \pm 1.76$ μM iken sentezlenen bileşikler, 114.57 ± 1.35 ila 462.94 ± 1.23 μM aralığında IC_{50} değerleri göstermiştir. Bu bulgular, test edilen tüm bileşiklerin alfa-glukozidaz enzimine karşı orta ila iyi düzeyde inhibisyon aktivitesi gösterdiğini ortaya koymuştur. Sonuçlar, pirazolinlerin Diyabetes Mellitus tedavisinde potansiyel ilaç adayı olabileceğine işaret etmektedir (63).

Kumar ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada, pirazolin bileşiklerinin alfa-glukozidaz inhibisyonu üzerindeki potansiyeli araştırılmıştır. Bu çalışmada, öncelikle kalkonlardan pirazolinler sentezlenmiş, ardından da pirazolin-1,2,3-triazol hibritleri elde edilmiştir. Sentezlenen pirazolin alkinleri ve 1H-1,2,3-triazol hibrit türevleri bazı spektral teknikler aracılığıyla karakterize edilip alfa-glukozidaz inhibitör aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir. Çalışmada bileşiklerin 41.281 ila 106.71 μM arasında değişen IC_{50} değerlerine sahip olmasıyla iyi α -glukozidaz inhibisyon potansiyeline sahip oldukları ortaya çıkmıştır. Çalışma sonucunda diyabet tedavisinde öncü moleküllerin geliştirilmesi açısından bu tür pirazolin-triazol hibritlerinin fayda gösterebileceği ortaya çıkmıştır (64).

Kim ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırma, hem genişlemiş kardiyomiyopati (DCM) hem de kronik kalp yetmezliği (KKY) olan hastalarda görülen anormal glukoz metabolizması oranını incelemiştir. Çalışma, glukoz metabolizmasındaki bozukluğun düzeltilmesinin DCM hastalarında KKY'nin patofizyolojisini iyileştirip iyileştiremeyeceği sorusuna odaklanmıştır. Araştırmacılar, bir alfa-glukozidaz inhibitörü olan voglibozu kullanarak anormal glukoz toleransının düzeltilebileceğini belirtmişlerdir. Dahası, bozulmuş glikoz toleransının düzeltilmesinin, KKY'nin patofizyolojisi üzerinde olumlu etkiler yarattığını bildirmişlerdir (65). Bu bulgular, glukoz metabolizmasının kalp yetmezliği üzerindeki etkileşimini ve alfa-glukozidaz inhibitörlerinin bu bağlamda potansiyel terapötik rolünü ortaya koymaktadır.

Li ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışma, Çin'in önde gelen yeşil çaylarından biri olan Lu'an Guapian yeşil çayının (LGGT) hipoglisemik etkilerini ve farklı metabolitlerinin kombinasyonunu araştırmıştır. Bu çalışma, LGGT özütlerinin in vitro ortamda alfa-amilaz ve alfa-glukozidaz enzimlerini inhibe edici aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur. Araştırmacılar, ilk kez olarak, LGGT'nin in vivo ortamda glukoz toleransını ve insülin duyarlılığını iyileştirdiğini belirtmişlerdir (66).

Okolo ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, kalkon türevlerinin potansiyel antimikrobiyal ve antioksidan etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, Claisen-Schmidt yoğunlaşma metodu kullanılarak yedi adet kalkon türevi sentezlenmiştir. Sentez bileşiklerinin yapıları ultraviyole/görünür ışık, kızılötesi, nükleer manyetik rezonans ve kütle spektroskopisi gibi çeşitli spektral teknikler aracılığıyla incelenmiştir. Yapısal karakterizasyonun ardından, bileşiklerin antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri hem in vitro (laboratuvar ortamında) hem de in silico (bilgisayar simülasyonları ile) olarak değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda, sentezlenen kalkon türevlerinin hem antioksidan hem de antimikrobiyal özellikler gösterdiği rapor edilmiştir (67). Bu bulgular, kalkonların yeni antimikrobiyal ve antioksidan ajanların geliştirilmesinde umut vadeden bileşikler olduğunu desteklemektedir.

Aksöz ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, yirmi altı adet pirazolin ve hidrazon türevi Claisen-Schmidt kondensasyonu yöntemiyle sentezlenmiştir. Bu bileşiklerin potansiyel antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Bileşiklerin antioksidan aktivite etkinliği in vitro 2,2-azino-bis (3-etil-benzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) ve 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikal süpürücü analizleri aracılığıyla test

edilmiştir. Çalışmanın sonuçları, sentezlenen bazı bileşiklerin güçlü antioksidan özellikler sergilediğini göstermiştir (68). Bu bulgular, pirazolin ve hidrazon türevlerinin oksidatif stresle ilişkili hastalıkların tedavisinde yeni terapötik ajanlar olarak potansiyel taşıdığını ortaya koymaktadır.

Hedge ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, yeni sentezlenen pirazolin bileşiklerinin gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı in vitro antimikrobiyal aktiviteleri ile antioksidan aktiviteleri test edilmiştir. Bu kapsamda, kalkonlardan bazik koşullar altında ve PEG-400'ün reaksiyon ortamında başarıyla bir dizi pirazolin türevi sentezlenmiştir. Sentezlenen pirazolin türevlerinin antibakteriyel aktivitelerini incelemek amacıyla agar difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Gram pozitif *S. aureus*, *B. subtilis* ve gram negatif *E. coli*'ye karşı in vitro değerlendirilmiştir. Antioksidan aktivite tespiti için ise DPPH testi uygulanmıştır. Çalışma sonucunda sentezlenen pirazolin bileşiklerinin belirgin antibakteriyel ve antioksidan aktiviteler sergileyen güçlü moleküller olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma, pirazolin bileşiklerinin hem antioksidan hem de antibakteriyel etki açısından önemli kullanım potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymaktadır (69).

Kahrıman'ın gerçekleştirdiği çalışmada literatürde daha önce tanımlanmamış, kalkonlardan pirazolin türevi 3 adet yeni bileşik sentezlemiştir. Bu bileşikler 3,5-disüstitü-2-pirazolin türevleridir. Sentezlenen bileşiklerin antioksidan potansiyelleri 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürme ve Fe(III) iyon azaltıcı antioksidan kapasite (FRAP) yöntemleri aracılığıyla araştırılmıştır. Ek olarak, tirozinaz ve α -glukozidaz enzim inhibisyon aktiviteleri de incelenmiştir. Elde edilen DPPH ve FRAP sonuçları, 3-(3-Aminofenil)-5-(3-hidroksifenil)-2-pirazolin bileşiği 125 μ M konsantrasyonda sırasıyla % 67.59 $\pm$ 0.44 süpürme aktivitesi ve 0.815 $\pm$ 0.009 absorbans göstererek incelenen üç bileşik arasında en yüksek antioksidan etkinliğe sahip olduğunu ortaya koymuştur. Sentezlenen bileşiklerin α -glukozidaz enzimini inhibe etme aktivitelerinin ise belirgin düzeyde olmadığı, 3-(2-aminofenil)-5-(3-hidroksifenil)-2-pirazolin bileşiğinin en güçlü inhibisyonu (IC₅₀=134.24 $\pm$ 2.51 μ M) sergilediği gözlemlenmiştir (70).

Ahmad ve arkadaşlarının yürüttüğü bir çalışmada, izoniazid ve fenil-hidrazin başlangıç maddeleri kullanılarak iki farklı pirazolin serisine ait toplam 16 yeni bileşik sentezlenmiştir. Bu bileşiklerin karakterizasyonu spektral veriler (IR, ¹H NMR ve kütle) ve elementel analiz çalışmaları aracılığı ile aydınlatılmıştır. Ayrıca, bu bileşiklerin çeşitli

mikroorganizmalara karşı antibakteriyel, antifungal ve antitüberküloz aktiviteleri de incelenmiştir. Araştırma sonucunda, izoniazidden türetilen pirazolinlerin, fenil-hidrazinden elde edilen pirazolinlere göre daha belirgin antimikrobiyal ve antitüberküloz etkiler gösterdiği saptanmıştır. İki izoniazid-pirazolin, yani N -(3-(5-(2,4-diklorofenil)-1-isonikotinoil-4,5-dihidro-1 H -pirazol-3-il)-4-hidroksifenil) asetamid ve N -(4-hidroksi-3-(1-isonikotinoil-5-(4-nitrofenil)-4,5-dihidro-1 H -pirazol-3-il) fenil) asetamidin geniş spektrumlu antimikrobiyal ve antitüberküloz etkilere sahip öncü bileşikler olduğu ortaya çıkmıştır. Sentezlenen bu bileşiklerin spesifik ve güçlü antimikrobiyal ajanlar elde edilmesinde türevleştirilebileceği sonucuna varılmıştır (71).

Tok ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir çalışmada, kalkon türevleri başlangıç maddesi olarak kullanılarak dokuz yeni pirazolin türevi sentezlenmiş ve bu bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Sentezlenen bileşikler *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis*'e karşı antimikrobiyal etkilerini değerlendirmişlerdir. Standart antimikrobiyal siprofloksasin karşılaştırmada kullanılmıştır. Bileşikler arasında en yüksek antibakteriyel aktiviteyi siyano ve dimetilamino gruplarını içerenler göstermiştir. Sonuçlar, pirazolin halkasının antimikrobiyal etki göstermesi açısından ümit verici bir yapı olduğunu ortaya çıkarmıştır (72).

Khan ve arkadaşları, diyabet tedavisinde kullanılabilecek yeni antidiyabetik ajanlar keşfetmek amacıyla, 18 adet biscoumarin türevi bileşik sentezlemişlerdir. Bu bileşikler, alfa-glukozidaz inhibitör potansiyeli açısından değerlendirilmiştir. Çalışmada ayrıca, biscoumarin türevlerinin enzimle bağlanma etkileşimlerini anlamak için moleküler yerleştirme (docking) çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla MOE-Dock yerleştirme yazılımı olarak tercih edilmiştir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda, sentezlenen 18 bileşiğin tamamının çeşitli düzeylerde alfa-glukozidaz inhibitör potansiyeli gösterdiği bildirilmiştir (73). Bu bulgular, biscoumarin türevlerinin diyabet tedavisinde potansiyel ilaç adayları olarak değerlendirilebileceğini ve moleküler yerleştirme çalışmalarının ilaç keşif sürecindeki önemini vurgulamaktadır.

Nasap ve ark. antikanser özelliklere sahip yeni bileşiklerin keşfi amacıyla on bir adet yeni tiyazolil-pirazolin türevi sentezlemişlerdir. Sentez bileşiklerinin siklooksijenaz-2 (COX-2) proteininin öngörülen aktif bölgesi ile olası etkileşimlerini göstermek amacıyla moleküler docking (yerleştirme) çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, sentezlenen bileşiklerden dördünün referans ilaç olan erlotinib ile kıyaslandığında güçlü anti-

proliferatif aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca, bu bileşiklerden iki tanesinin COX-2 proteinindeki aktif bölgeye iyi düzeyde bağlanabildiği tespit edilmiştir. Böylelikle, pirazolin türevlerinin antikanser ajanların keşfinde umut vadeden adaylar olduğu saptanmıştır (74).

Kaya ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada (E)-1-(3-hidroksifenil)-3-(2,4,6-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on (Tx) adlı kalkon bileşiği sentezlenerek karakterize edilmiştir. Araştırmacılar, bu bileşiğin proteinlerle olası bağlanma modlarını analiz etmek için AutoDock Vina yazılımını kullanarak moleküler yerleştirme (docking) çalışmaları gerçekleştirmişlerdir. Yapılan moleküler yerleştirme çalışması, Tx'in meme kanserine karşı etkili olabileceğine dair veriler sunmuştur (75).

Bu tez çalışması, sentezlenen pirazolin ve pirazolin n-asetil analoglarının biyolojik aktivite çalışmalarına ve moleküler docking analizlerine yer vermektedir. Çalışma sonuçları bu bileşiklerle ilgili literatürdeki mevcut boşlukların doldurulmasını sağlayacaktır. Biyolojik aktivite değerlendirmelerinin sonuçları bizlere bileşiklerin iyi derecede antioksidan, antimikrobiyal ve anti-alfa glukozidaz etkiler sergilediğini göstermektedir. Yeni inhibitör ajanların ortaya çıkarılma durumu olması bakımından bu tez prelinik çalışmalara öncülük etme potansiyeli bulundurmaktadır. Dahası, doğal kaynaklı ilaç arayışındaki gelecek çalışmalara bu bileşiklerin temel oluşturabilmesi muhtemeldir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Tez çalışmasında sentezlenen bütün bileşiklerin farklı düzeylerde antioksidan aktivite sergilediği tespit edildi. Özellikle 6, 7 ve 8 numaralı bileşikler, diğer bileşiklerle kıyaslandığında belirgin şekilde daha yüksek antioksidan aktivite gösterdi. Sentezlenen bileşiklerin antioksidan etkilerini farklı deneyler aracılığıyla daha fazla araştırmak mümkün olabilir.

6 ve 7 no.lu olanlar haricinde tüm sentez bileşikleri, test edilen mikroorganizmalara karşı değişken inhibisyon zonu oluşturdu. Bu da sentez bileşiklerinin çoğunun antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu anlamına gelmektedir. Özellikle 1, 2, 3 ve 4 no.lu bileşikler test mikroorganizmalarının tümüne karşı iyi düzeyde antimikrobiyal aktiviteler gösterdi. Bileşiklerin antimikrobiyal etkileri farklı mikroorganizmalar kullanılarak daha fazla araştırılabilir.

Sentezlenmiş bileşikler, alfa glukozidaz enzim aktivitesini farklı oranlarda inhibe etti. Yapılan incelemeler sonucunda, en yüksek alfa-glukozidaz enzim inhibisyonu 9, 10 ve 12 numaralı bileşiklerde saptandı. Bu bileşiklere ait IC_{50} değerleri sırasıyla 904.134 ± 23.201 , 1071.772 ± 37.543 ve 1027.468 ± 38.758 olarak hesaplandı. Bu tez kapsamında sentezlenen ve nispeten iyi düzeyde alfa glukozidaz enzim inhibisyonu gösteren bileşiklerin, diyabet tedavisinde potansiyel kullanılabilirliği bağlamında daha kapsamlı çalışmalar yürütülebilir.

KAYNAKLAR

1. Yousefi R, Alavian-Mehr MM, Mokhtari F, Panahi F, Mehraban MH, Khalafi-Nezhad A (2013). Pyrimidine-fused heterocycle derivatives as a novel class of inhibitors for α -glucosidase. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 28(6): 1228–1235.
2. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, Squadrito F, Altavilla D, Bitto A (2017). Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2017: 8416763-8416763.
3. Jayaprakasha GK, Singh RP, Sakariah KK (2001). Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chemistry* 73(3): 285-290.
4. Saad B, Sing YY, Nawi MA, Hashim N, Mohamed Ali AS, Saleh MI, Sulaiman SF, Talib KM, Ahmad K (2007). Determination of synthetic phenolic antioxidants in food items using reversed-phase HPLC. *Food Chemistry* 105(1): 389-394.
5. Kornienko JS, Smirnova IS, Pugovkina NA, Ivanova JS, Shilina MA, Grinchuk TM, Shatrova AN, Aksenov ND, Zenin VV, Nikolsky NN, Lyublinskaya OG (2019). High doses of synthetic antioxidants induce premature senescence in cultivated mesenchymal stem cells. *Scientific Reports* 9(1): 1296.
6. Ventola CL (2015). The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P & T: a peer-reviewed journal for formulary management* 40(4): 277-283.
7. Dadgostar PJI (2019). Antimicrobial resistance: implications and costs. *Infect Drug Resist* 12: 3903.
8. Lewis R (1995). The rise of antibiotic-resistant infections. *FDA Consumer Magazine* 29(1).
9. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G (2018). *Textbook of diagnostic microbiology-book Elsevier Health Sciences*.
10. Aksöz BE, Ertan RF (2011). Chemical and structural properties of chalcones I. *Pharm Sci* 36: 223-242.
11. Rozmer Z, Perjési P (2016). Naturally occurring chalcones and their biological activities. *Phytochemistry Reviews* 15(1): 87-120.

12. Trivedi AR, Dodiya DK, Ravat NR, Shah VH (2008). Synthesis and biological evaluation of some new pyrimidines via a novel chalcone series. *Arkivoc* 11: 131-141.
13. Shaharyar M, Abdullah MM, Bakht MA, Majeed J (2010). Pyrazoline bearing benzimidazoles: search for anticancer agent. *Eur J Med Chem* 45(1): 114–119.
14. Kahraman A, Serteser M, Köken T (2002). Flavonoidler. *Kocatepe Tıp Dergisi* 3: 1-8.
15. Bravo L (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev* 56(11): 317-333.
16. Dias MC, Pinto DCGA, Silva AMS (2021). Plant flavonoids: chemical characteristics and biological activity. *Molecules* 26(17): 5377.
17. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science* 5: 47.
18. Zhuang C, Zhang W, Sheng C, Zhang W, Xing C, Miao Z (2017). Chalcone: a privileged structure in medicinal chemistry. *Chemical Reviews* 117(12): 7762-7810.
19. Mezgebe K, Melaku Y, Mulugeta E (2023). Synthesis and pharmacological activities of chalcone and its derivatives bearing N-heterocyclic scaffolds: a review. *ACS Omega* 8(22): 19194–19211.
20. Dinkova-Kostova AT, Massiah MA, Bozak RE, Hicks RJ, Talalay P (2001). Potency of Michael reaction acceptors as inducers of enzymes that protect against carcinogenesis depends on their reactivity with sulfhydryl groups. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98(6): 3404-3409.
21. Uludağ Üniversitesi (2013). Library services electronic resources [online]. Available from: <http://kimyakongreleri.org/kok2013/KOK2013-053.pdf>. [Accessed 17 October, 2023].
22. Matiadis D, Sagnou M (2020). Pyrazoline hybrids as promising anticancer agents: an up-to-date overview. *International Journal of Molecular Sciences* 21(15): 5507.
23. Praceka MS, Megantara S, Maharani R, Muchtaridi M (2021). Comparison of various synthesis methods and synthesis parameters of pyrazoline derivatives. *J Adv Pharm Technol Res* 12(4): 321–326.

24. Eseryel SA (2022). Serbest radikaller ve antioksidanlar. Yalçın S (Ed.). Marmara Üniversitesi Yayınevi, İstanbul, Sayfa: 1-24.
25. Nilgün A, Sepici-Dinçel A, Bicer C (2006). Diabetes Mellitus and oxidative stress. Türk Biyokimya Dergisi 31.
26. Karabulur H, Gülay MŞ (2016). Antioksidanlar. MAE Vet Fak Derg. 1(1): 65-76.
27. Aydemir B, Sarı EK (2009). Antioksidanlar ve büyüme faktörleri ile ilişkisi. Kocatepe Veteriner Dergisi. 2(2): 56-60.
28. Robinson PK (2015). Enzymes: principles and biotechnological applications. Essays Biochem. 59(1): 41.
29. Cerrahoğlu E (2014). Eflatun çiçekli ballibaba (lamium purpureum) bitkisinden polifenol oksidaz enziminin karakterizasyon ve immobilizasyonunun incelenmesi. Yüksek lisans tezi, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Sakarya
30. Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM (2005). Lehninger principles of biochemistry Macmillan.
31. Altınışık M (2010). Karbonhidrat metabolizması bozukluklarına biyokimyasal yaklaşım. ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi 11(1): 51-59.
32. Rahman MS, Hossain KS, Das S, Kundu S, Adegoke EO, Rahman MA, Hannan A, Uddin MJ, Pang MG (2021). Role of insulin in health and disease: an update. Int J Mol Sci 22(12): 6403.
33. Wilcox G (2005). Insulin and insulin resistance. Clin Biochem Rev 26(2): 19–39.
34. Aronoff SL, Berkowitz K, Shreiner B, Want L (2004). Glucose metabolism and regulation: beyond insulin and glucagon. Diabetes Spectrum 17(3): 183–190.
35. American Diabetes Association (2011). Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 34(Ek 1): S62–S69.
36. Antar SA, Ashour NA, Sharaky M, Hattab M, Ashour NA, Zaid RT, Roh EJ, Elkamhawry A (2023). Diabetes mellitus: classification, mediators, and complications; a gate to identify potential targets for the development of new effective treatments. Biomedicine & Pharmacotherapy 168: 115734.

37. Kharroubi AT, Darwish HM (2015). Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World J Diabetes* 6(6): 850–867.
38. Silver B, Ramaiya K, Andrew SB, Fredrick O, Bajaj S, Kalra S, Charlotte BM, Claudine K, Makhoba A (2018). EADSG Guidelines: insulin therapy in Diabetes. *Diabetes Ther* 9(2): 449–492.
39. Çubuk G, İnce S (2015). Oral antidiyabetik ilaçlar. *Kocatepe Vet J* 8(1): 95-102.
40. Salmanoğlu M (2019). Tip 2 diyabetin oral antidiyabetik ilaçlarla tedavisi. *Klinik Tıp Bilimleri Dergisi* 7(3): 20-23.
41. Turan E, Kulaksızoğlu M (2015). Tip 2 diyabet tedavisinde güncel yaklaşımlar. *Okmeydanı Tıp Dergisi* 31(Ek sayı): 86-94.
42. Dadgostar P (2019). Antimicrobial resistance: implications and costs. *Infection and Drug Resistance* 12: 3903-3910.
43. Garcia AR, Sardi JCO, Santos MB, Lazarini JG, Rosalen PL, Regasini LO (2025). Synthesis and evaluation of the antifungal and antibiofilm potential of aminochalcones. *Arch Microbiol* 207(2): 37.
44. Wang D, Zhang T, Deng Z, Xian-song X, Ai-ling B, Chen W, Li W, Shuai-shuai L, Tang X, Ying-kun Y (2025). Preparation, agricultural bioactivity evaluation and mechanistic studies of unique and structurally novel pyrazole-heterocyclic-amides analogues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 73(4): 2332–2341.
45. P Kıvanç (2017). 2-amino-4-metilfenil-6-piridinilpirimidin bileşikleri, n-alkil ve pirimidin n-glikozit türevlerinin sentezi ve biyolojik özelliklerinin incelenmesi. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, Trabzon
46. Çelik G (2021). Synthesis and structural characterization of novel pyrazoline derivatives. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* 11(2): 622-628.
47. Çelik G, Arslan T, Şentürk M, Ekinci D. (2020). Synthesis and characterization of some new pyrazolines and their inhibitory potencies against carbonic anhydrases. *Archiv der Pharmazie* 353(3).

48. Kumari P, Mishra VS, Narayana C, Khanna A, Chakrabarty A, Sagar R (2020). Design and efficient synthesis of pyrazoline and isoxazole bridged indole C-glycoside hybrids as potential anticancer agents. *Sci Rep* 10: 6660.
49. Kahriman N, Haşimoğlu Z, Serdaroğlu V, Beriş FŞ, Barut B, Yaylı N (2017). Synthesis of novel pyrazolines, their boron-fluorine complexes, and investigation of antibacterial, antioxidant, and enzyme inhibition activities. *Archiv der Pharmazie* 350(2).
50. Benzie IF, Strain JJ (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology* 299: 15-27.
51. Apak R, Güçlü K, Demirata B, Özyürek M, Çelik SE, Bektaşoğlu B, Berker KI, Özyurt D (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules* 12: 1496-1547.
52. Palanisamy UD, Ling LT, Manaharan T, Appleton D (2011). Rapid isolation of geraniin from *Nephelium lappaceum* rind waste and its anti-hyperglycemic activity. *Food Chemistry* 127: 21-7.
53. Boyracı GM, Değirmenci A, Yıldız O, & Çelebi ZB. (2023). Propolis ve arı sütü içeren cilt kremi: Antioksidan, anti-hyaluronidaz ve antimikrobiyal aktivitelerin değerlendirmesi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 23(2): 224-238.
54. Liu S, Ai Z, Qu F, Chen Y, Ni D (2017). Effect of steeping temperature on antioxidant and inhibitory activities of green tea extracts against α -amylase, α -glucosidase and intestinal glucose uptake. *Food Chem* 234: 168–173.
55. Kumar S, Narwal S, Kumar V, Prakash O (2011). α -glucosidase inhibitors from plants: a natural approach to treat diabetes. *Pharmacognosy reviews* 5(9): 19–29.
56. Aksöz BE, Ertan RF (2011). Chemical and structural properties of chalcones I. *Pharm Sci* 36: 223- 242.
57. Rozmer Z, Perjési P (2016). Naturally occurring chalcones and their biological activities. *Phytochemistry reviews* 15(1): 87-120.

58. Trivedi AR, Dodiya DK, Ravat NR, Shah VH (2008). Synthesis and biological evaluation of some new pyrimidines via a novel chalcone series. *Arkivoc* 11: 131-141.
59. Shaharyar M, Abdullah MM, Bakht MA, Majeed J (2010). Pyrazoline bearing benzimidazoles: search for anticancer agent. *Eur J Med Chem* 45: 114-119.
60. Qin HL, Shang ZP, Jantan I, Unsal Tan O, Hussain MA, Sher M, Bukhari SNA (2015). Molecular docking studies and biological evaluation of chalcone based pyrazolines as tyrosinase inhibitors and potential anticancer agents. *RSC Advances* 5: 46330-46338.
61. Patel MR, Dodiya BL, Ghetiya RM, Joshi KA, Vekariya PB, Bapodara AH, Joshi HS (2011). Synthesis and antimicrobial evaluation of pyrazoline derivatives. *International Journal of ChemTech Research* 3, 2: 967-974.
62. Khan Y, Khan S, Hussain R, Maalik A, Rehman W, Attwa MW, Masood R, Darwish HW, Ghabbour HA (2023). The synthesis, in vitro bio-evaluation, and in silico molecular docking studies of pyrazoline–thiazole hybrid analogues as promising anti- α -glucosidase and anti-urease agents. *Pharmaceuticals* 16(12): 1650.
63. Mehmood R, Sadiq A, Alsantali RI, Mughal EU, Alsharif MA, Naeem N, Javid A, Al-Rooqi MM, Chaudhry GS, Ahmed SA (2022). Synthesis and evaluation of 1,3,5-triaryl-2-pyrazoline derivatives as potent dual inhibitors of urease and α -glucosidase together with their cytotoxic, molecular modeling and drug-likeness studies. *American Chemical Society* 7(4): 3134-3835.
64. Kumar L, Lal K, Yadav P, Kumar A, Kumar Paul AK (2020). Synthesis, characterization, α -glucosidase inhibition and molecular modeling studies of some pyrazoline-1H-1,2,3-triazole hybrids. *Journal of Molecular Structure* 1216: 128253.
65. Kim J, Nakatani S, Hashimura K, Komamura K, Kanzaki H, Asakura M, Asanuma H, Kokubo Y, Tomoike H, Kitakaze M (2006). Abnormal glucose tolerance contributes to the progression of chronic heart failure in patients with dilated cardiomyopathy. *Hypertens Res* 29: 775–782.
66. Li M, Luo X, Ho CT, Li D, Guo H, Xie Z (2022). A new strategy for grading of Lu'an guapian green tea by combination of differentiated metabolites and hypoglycaemia effect. *Food Res Int.* 159: 111639.

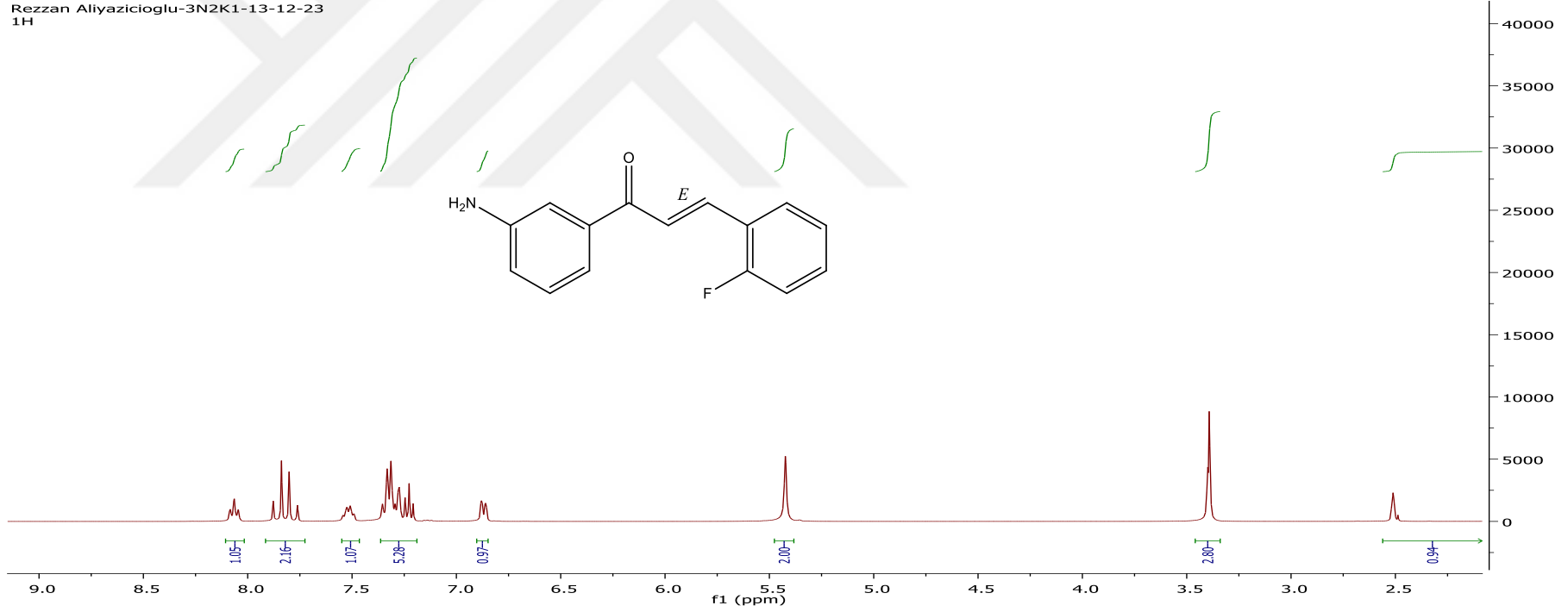
67. Okolo EN, Ugwu DI, Ezema BE, Ndefo JC, Eze FU, Ezema CG, Ezugwu JA, Ujam OT (2021). New chalcone derivatives as potential antimicrobial and antioxidant agent. *Sci Rep* 11: 21781.
68. Aksöz BE, Sarıaltın SY, Çoban T (2022). Pyrazoline and hydrazone derivatives as potent membrane stabilizer and antioxidant compounds. *Pharm Chem J* 56: 220–225.
69. Hegde H, Ahn C, Shwetha D, Gaonkar SL, Shetty NS (2017). Synthesis of new pyrazoline derivatives and its antimicrobial and antioxidant activities. *Journal of the Korean Chemical Society* 61: 5.
70. Kahrıman N (2020). Yeni 3,5-disübstitüe-2-pirazolin türevlerinin sentezi ve biyolojik aktivitelerinin incelenmesi. *BAUN Fen Bil. Enst. Dergisi* 22(1): 34-47.
71. Ahmad A, Husain A, Khan SA, Mujeeb M, Bhandari A (2016). Synthesis, antimicrobial and antitubercular activities of some novel pyrazoline derivatives. *Journal of Saudi Chemical Society* 20(5): 577-584.
72. Tok F, Doğan MO, Gürbüz B, Koçyiğit Kaymakçioğlu B (2022). Synthesis of novel pyrazoline derivatives and evaluation of their antimicrobial activity. *Journal of Research in Pharmacy* 26(5): 1453-1460.
73. Khan KM, Rahim F, Wadood A, Kosar N, Taha M, Lalani S, Khan A, Fakhri MI, Junaid M, Rehman W, Khan M, Perveen S, Sajid M, Choudhary MI (2014). Synthesis and molecular docking studies of potent α -glucosidase inhibitors based on biscoumarin skeleton. *European Journal of Medicinal Chemistry* 81: 245-252.
74. Nasab NH, Azimian F, Shim RS, Eom YS, Shah FH, Kim SJ (2023). Synthesis, anticancer evaluation, and molecular docking studies of thiazolyl-pyrazoline derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 80(2): 129105.
75. Kaya S, Gökce H, Arslan T, Alpaslan G (2020). Synthesis, spectroscopic characterization, DFT computations, nonlinear optical profile and molecular docking study of a novel chalcone derivative. *Journal of Molecular Structure* 1202: 127270.



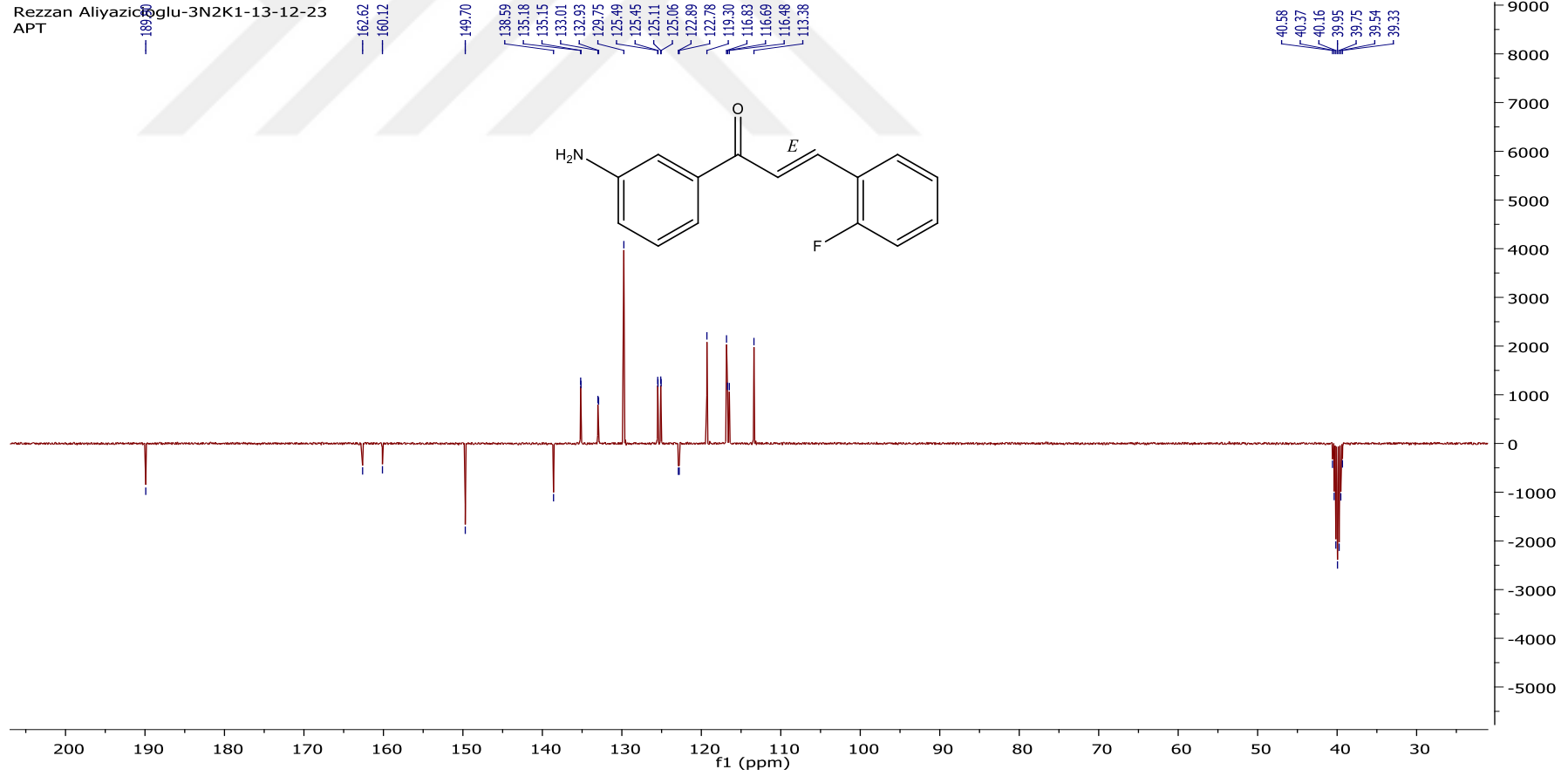
EKLER

Ek 1. 1 No.lu Bileşiğin ¹H-NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO-d₆)

Rezzan Aliyazicioglu-3N2K1-13-12-23
1H

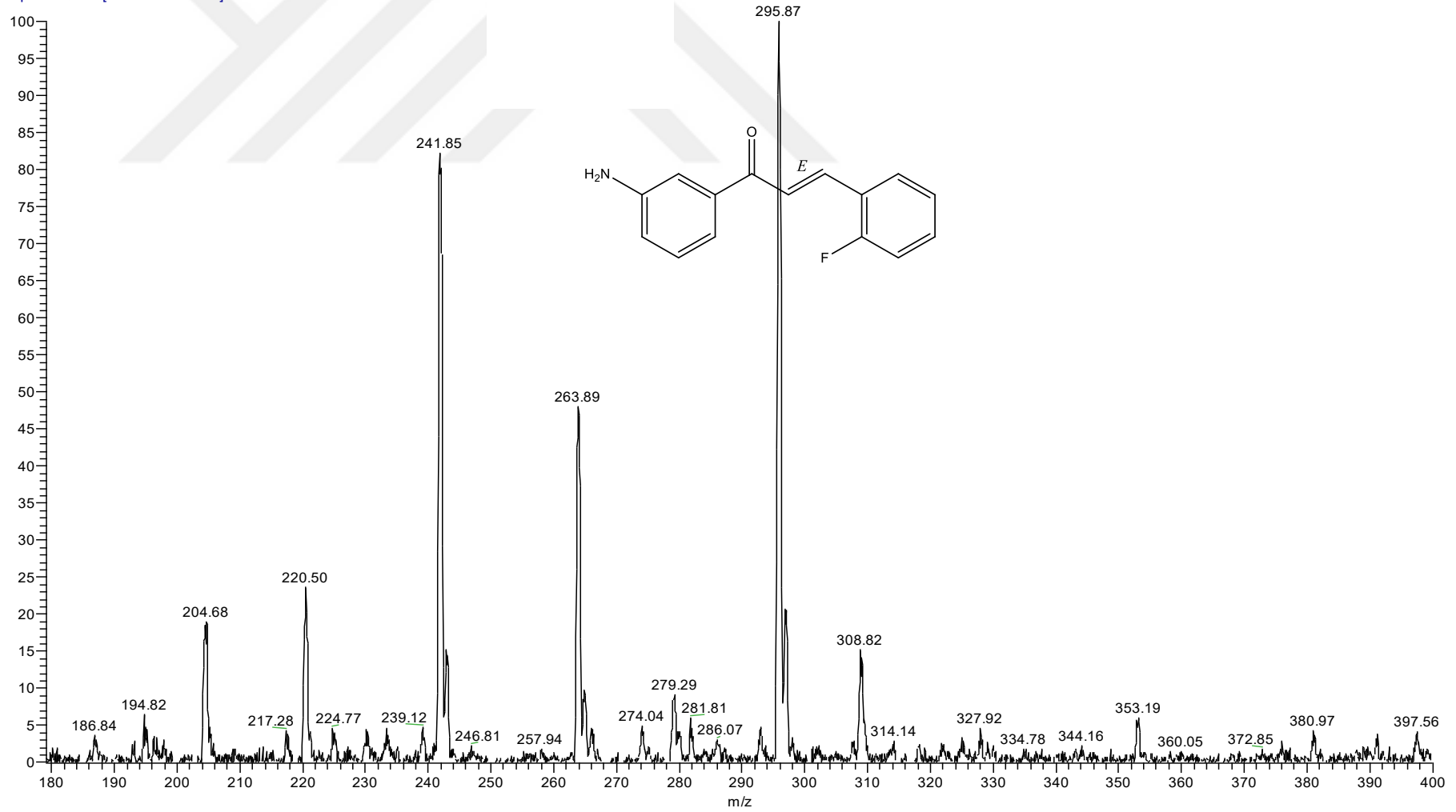


Ek 2. 1 No.lu Bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)



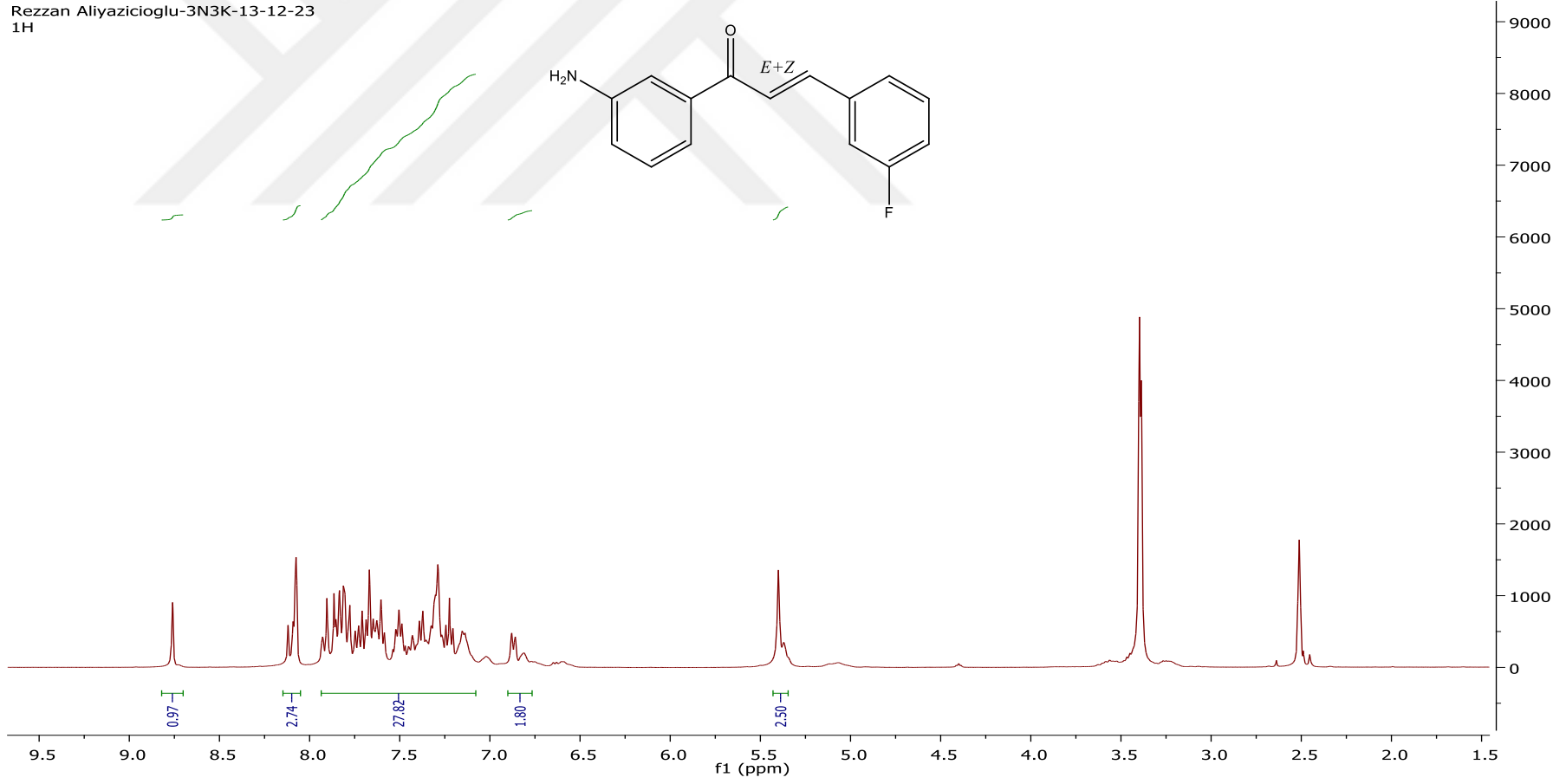
Ek 3. 1 No.lu Bileşiğin LC/MS-MS Spektrumu

ALIYAZICIOGLU-1 #62-67 RT: 0.29-0.31 AV: 6 SB: 28 0.21-0.27 , 0.32-0.37 NI : 2 54F7
T: + p ESI Q1MS [179.070-400.000]



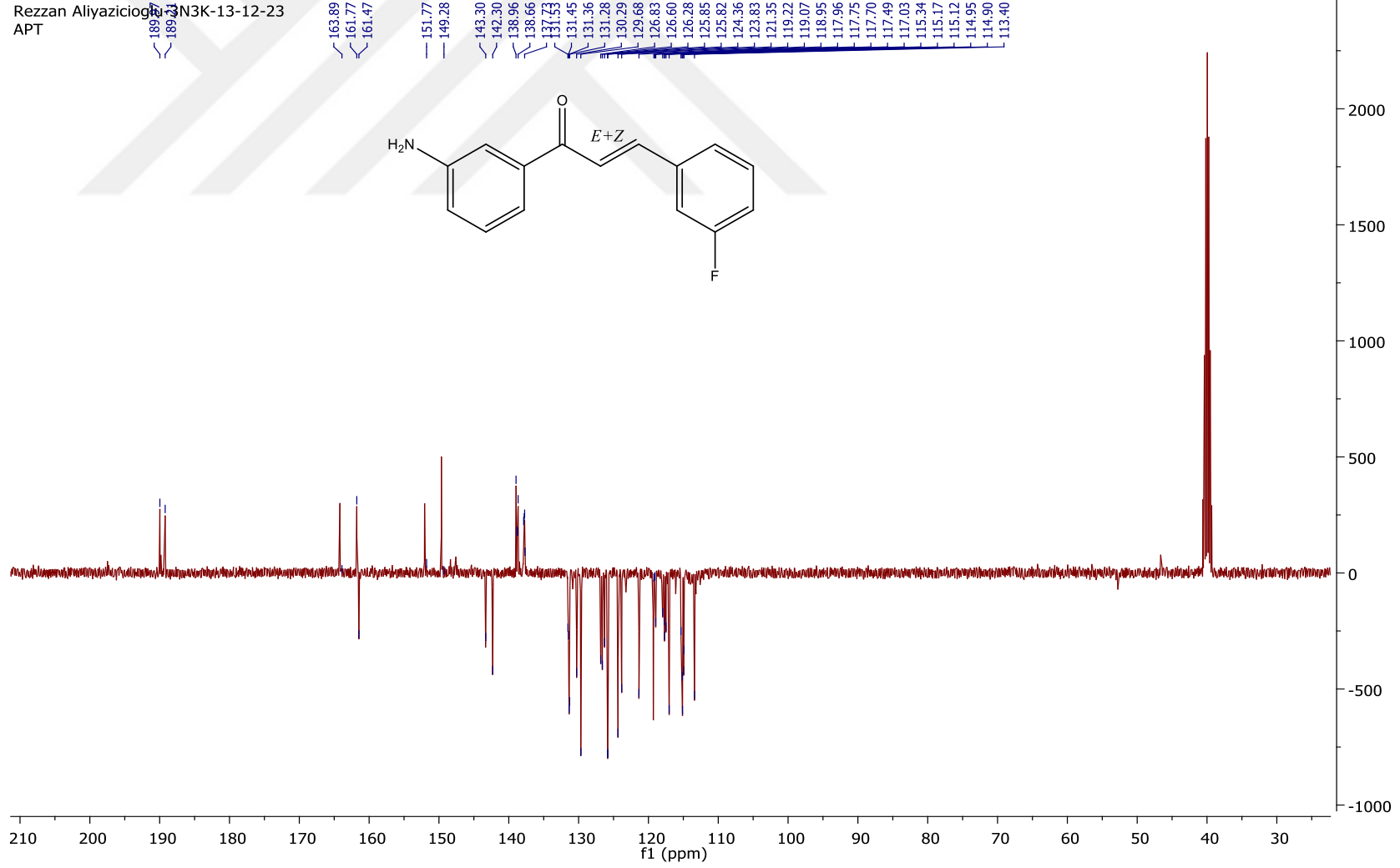
Ek 4. 2 No.lu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO-d_6)

Rezzan Aliyazicioglu-3N3K-13-12-23
 ^1H



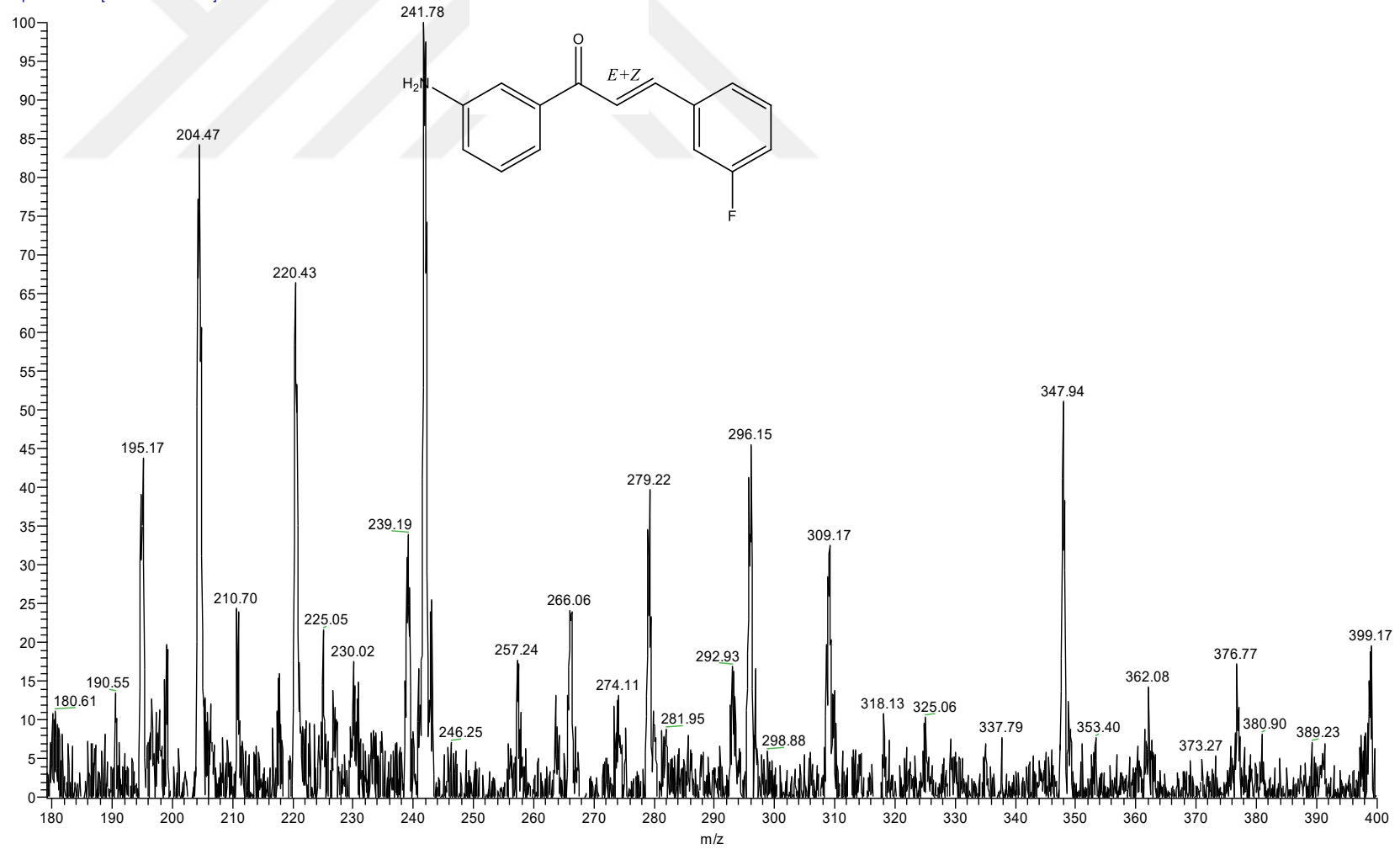
Ek 5. 2 No.lu Bileşiğin ¹³C-NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO-d₆)

Rezzan Aliyazıcıoğlu
APT



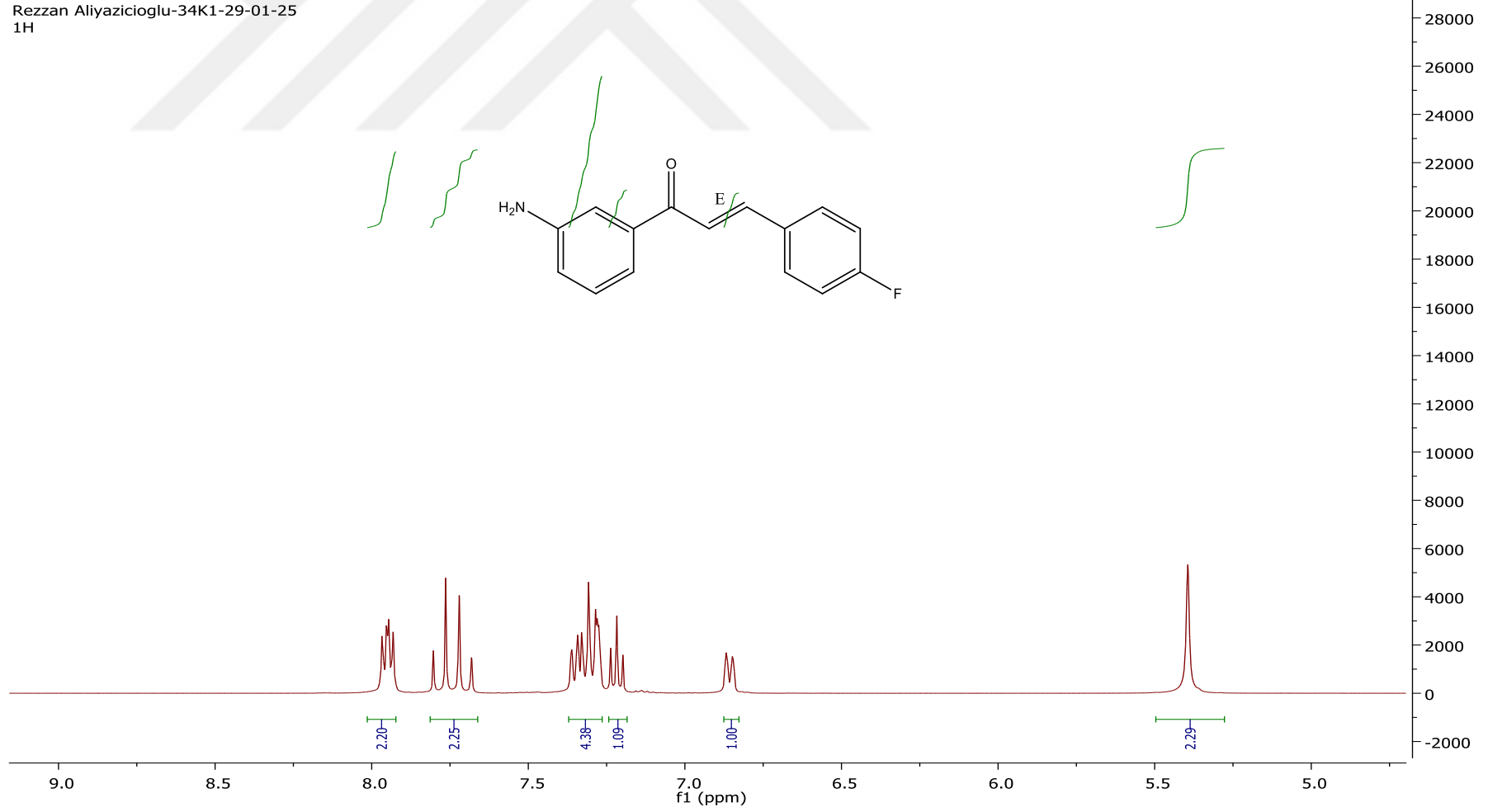
Ek 6. 2 No.lu Bileşiğin LC/MS-MS Spektrumu

ALIYAZICIOGLU-2 #40-44 RT: 0.18-0.19 AV: 5 SB: 14 0.15-0.17 , 0.19-0.23 NL: 4.85E6
T: + p ESI Q1MS [179.070-400.000]



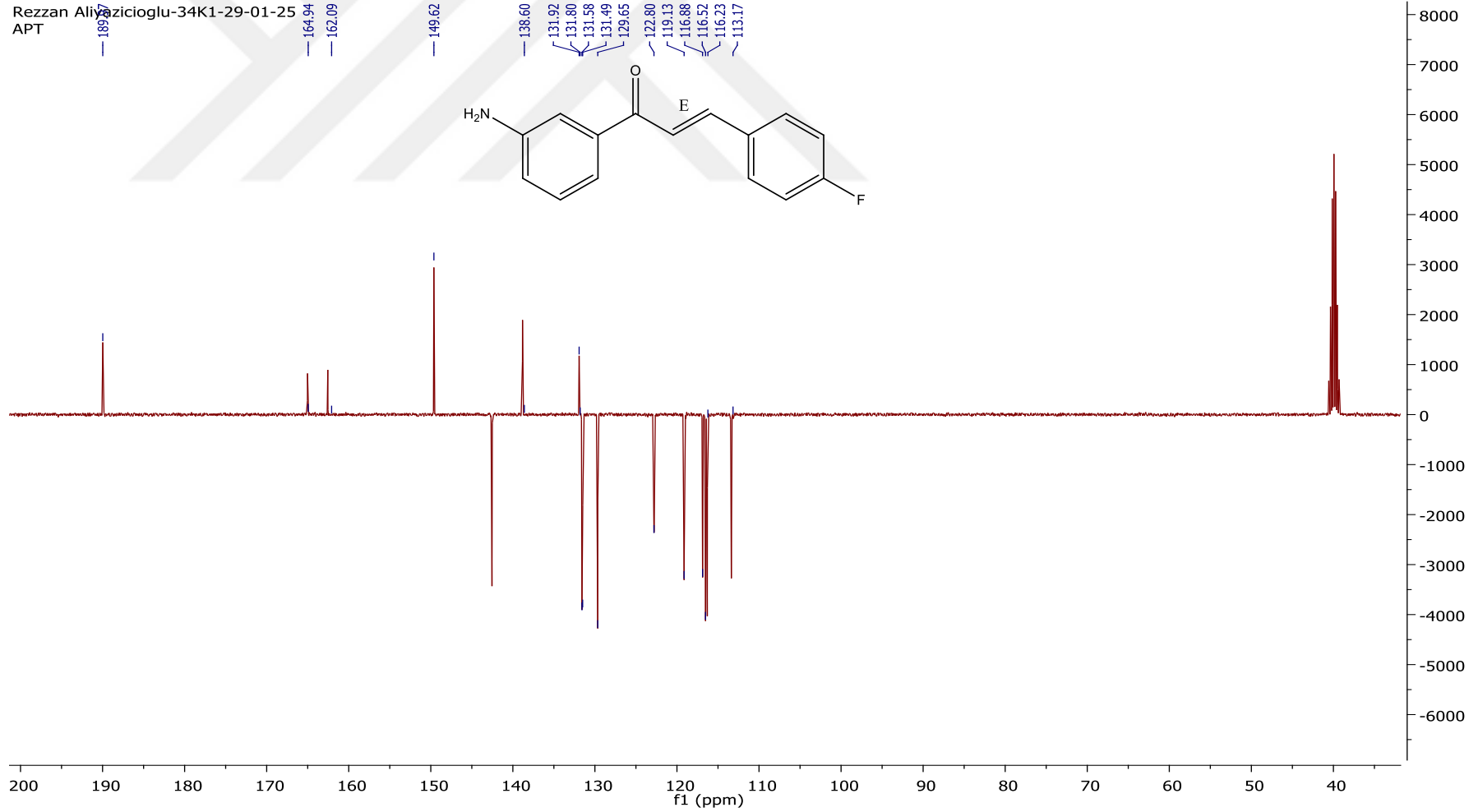
Ek 7. 3 No.lu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)

Rezzan Aliyazicioglu-34K1-29-01-25
 ^1H



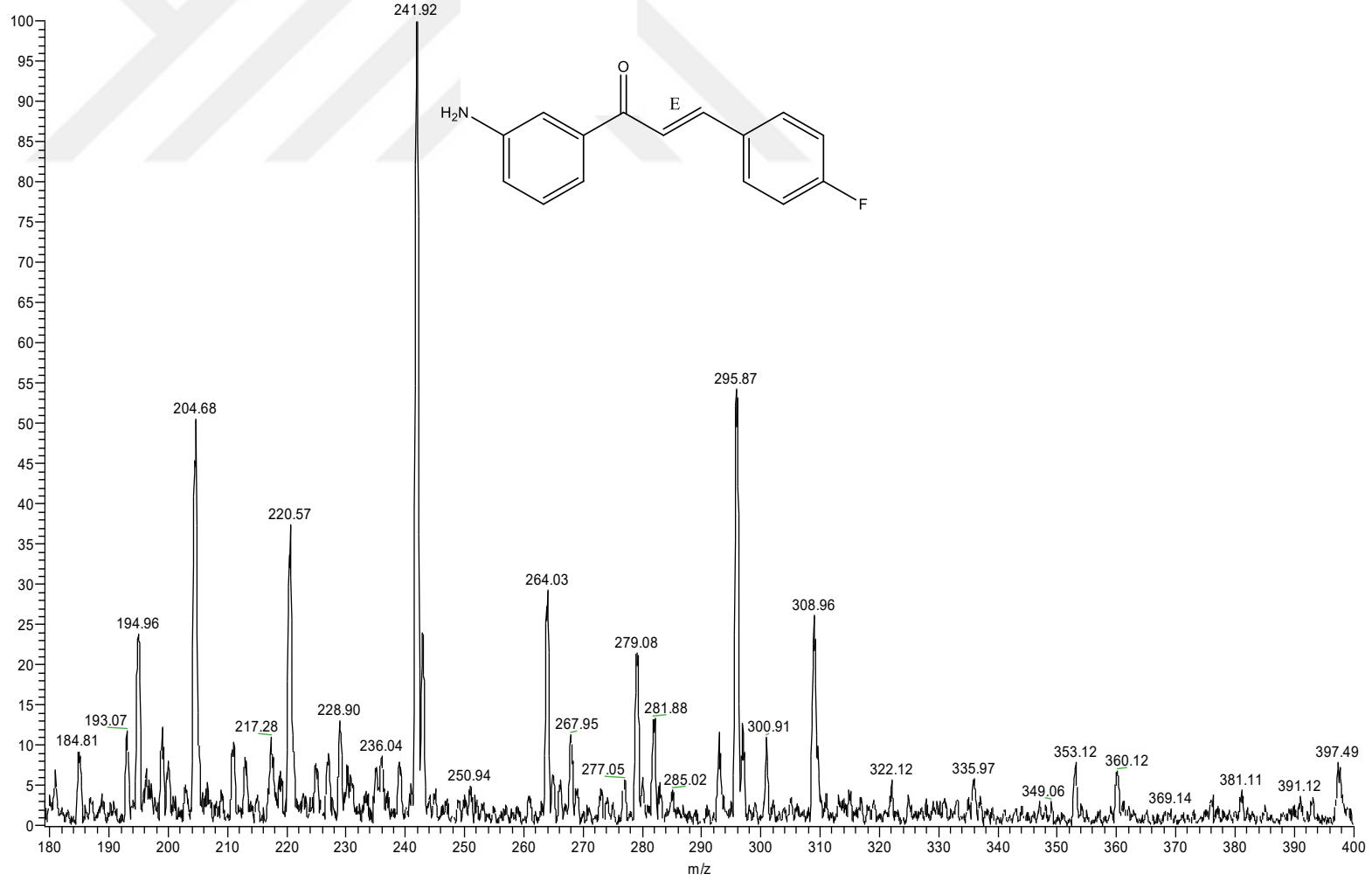
Ek 8. 3 No.lu Bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)

Rezzan Aliyazicioglu-34K1-29-01-25
APT



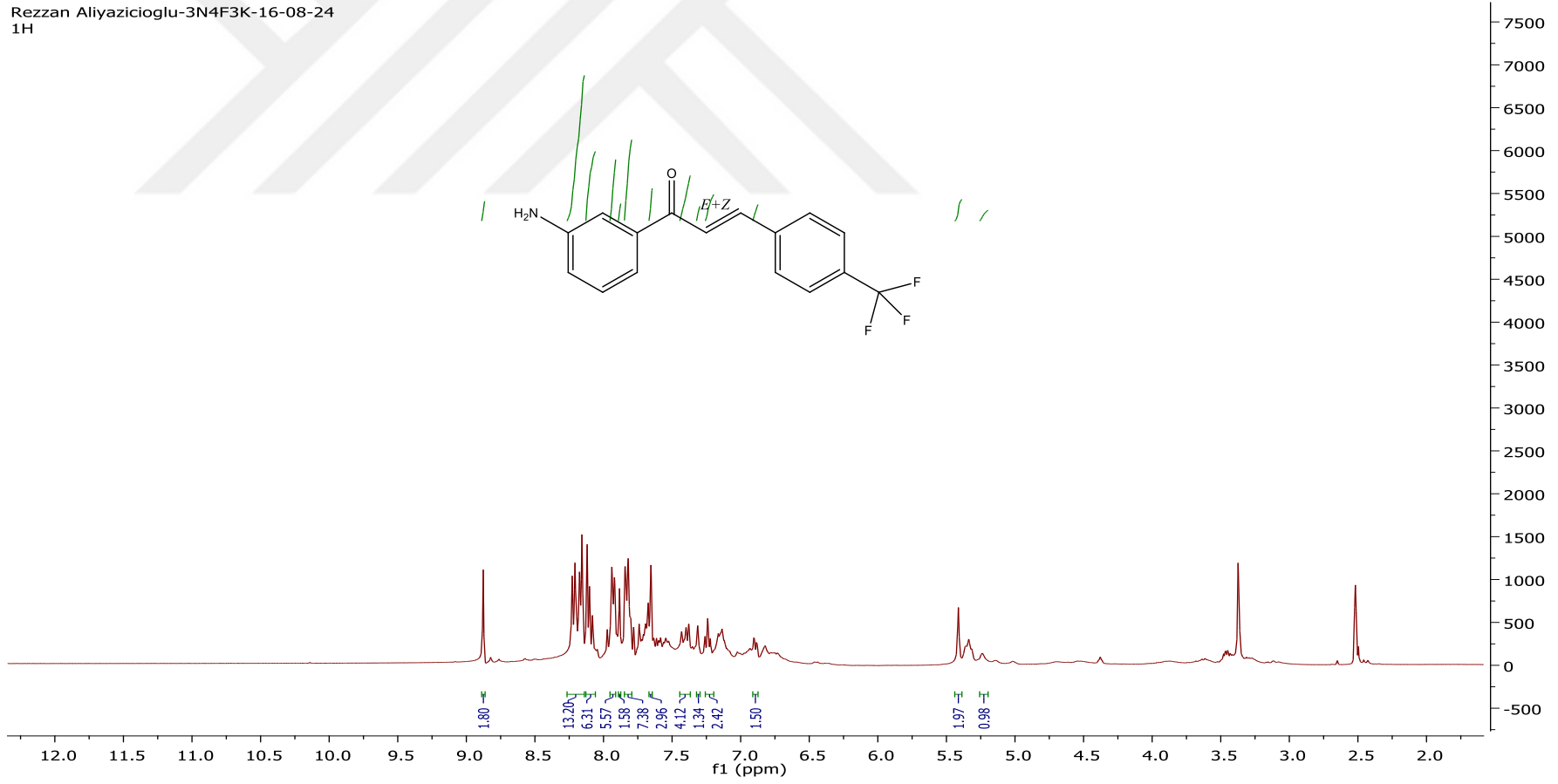
Ek 9. 3 No.lu Bileşiğin LC/MS-MS Spektrumu

ALİYAZICIOĞLU-3 #79-87 RT: 0.35-0.39 AV: 9 NL: 1.83E7
T: +p ESI Q1MS [179.070-400.000]



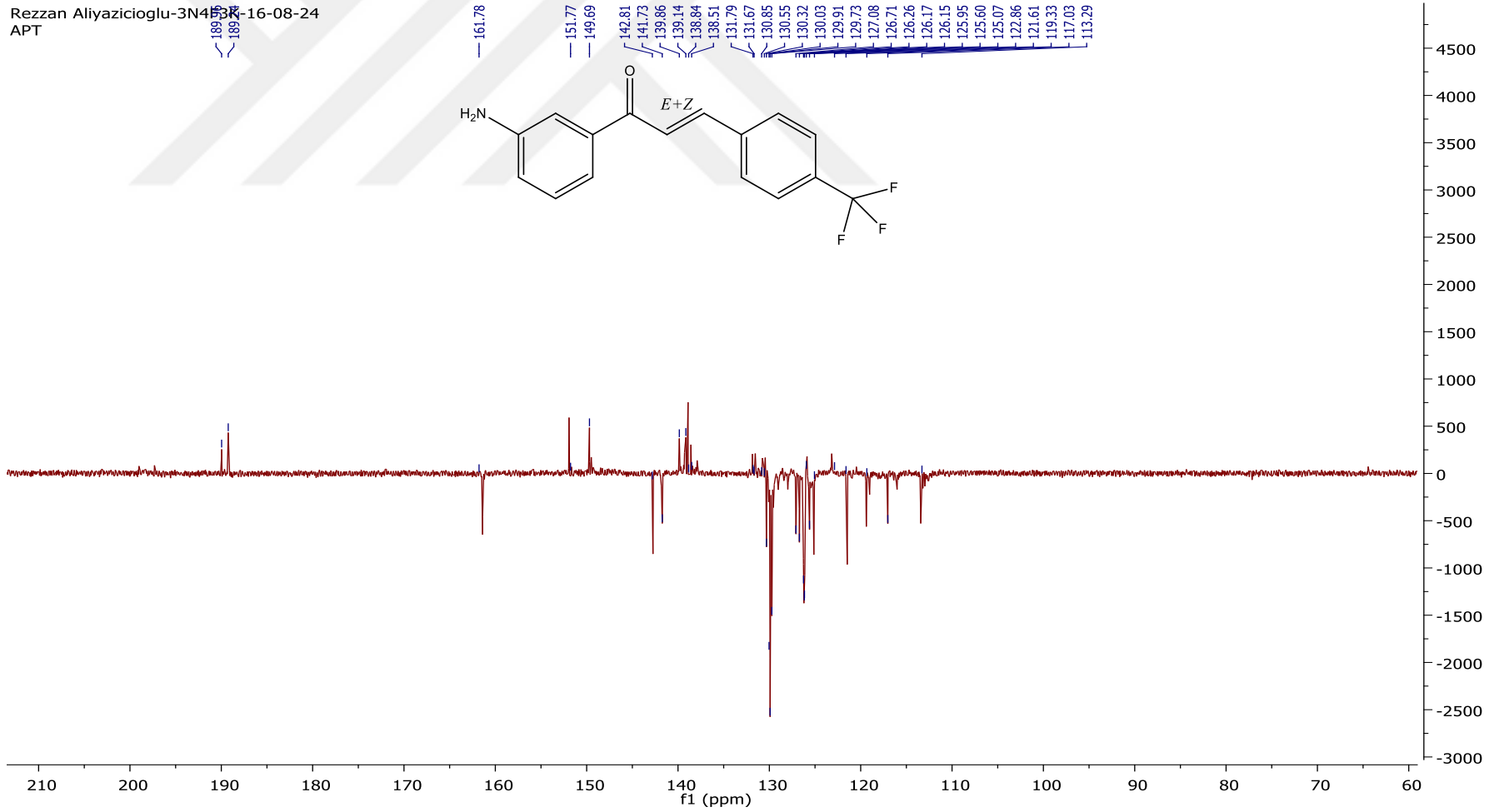
Ek 10. 4 No.lu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)

Rezzan Aliyazicioglu-3N4F3K-16-08-24
 ^1H



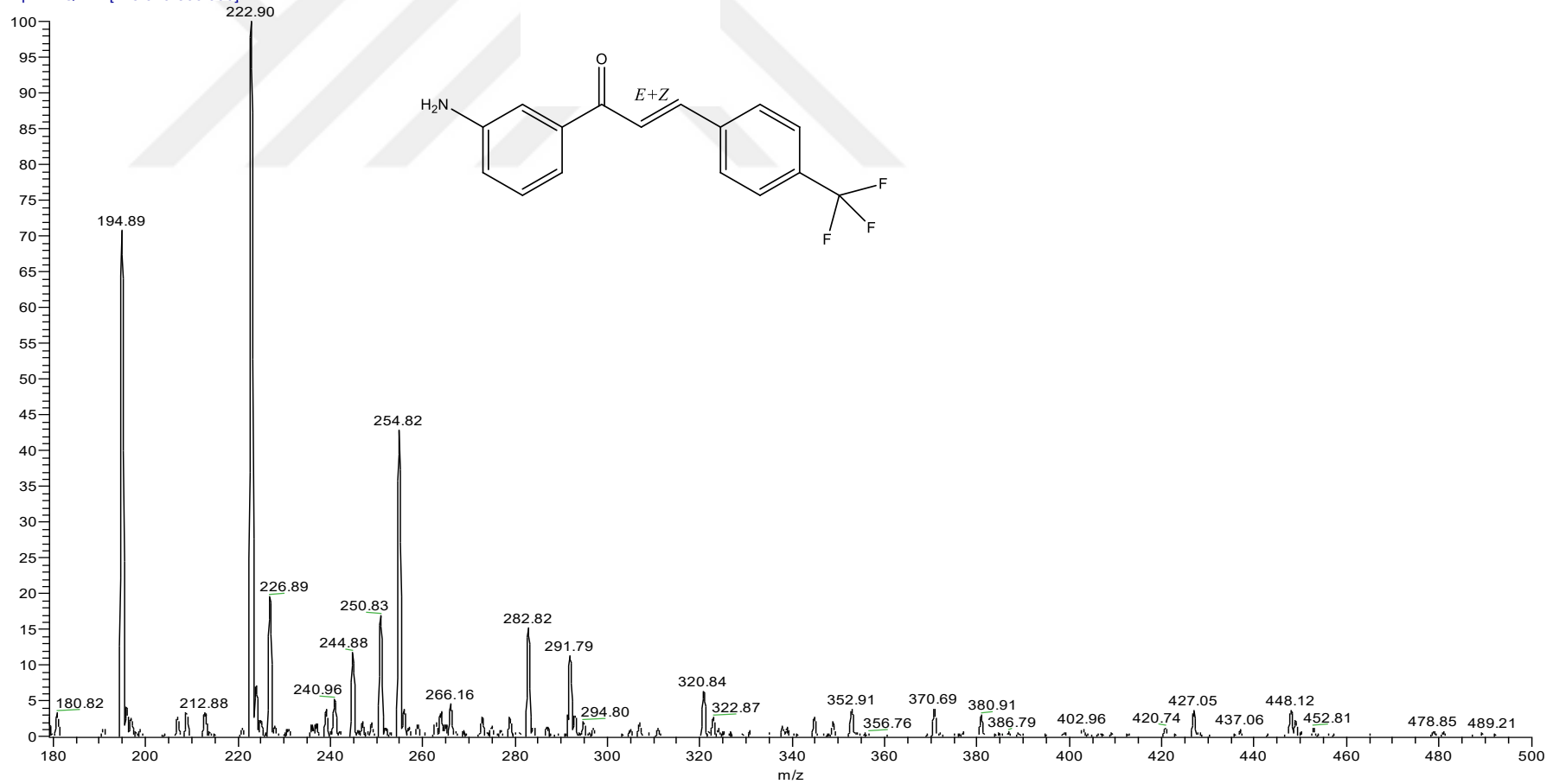
Ek 11. 4 No.lu Bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)

Rezzan Aliyazicioglu-3N453K-16-08-24
APT



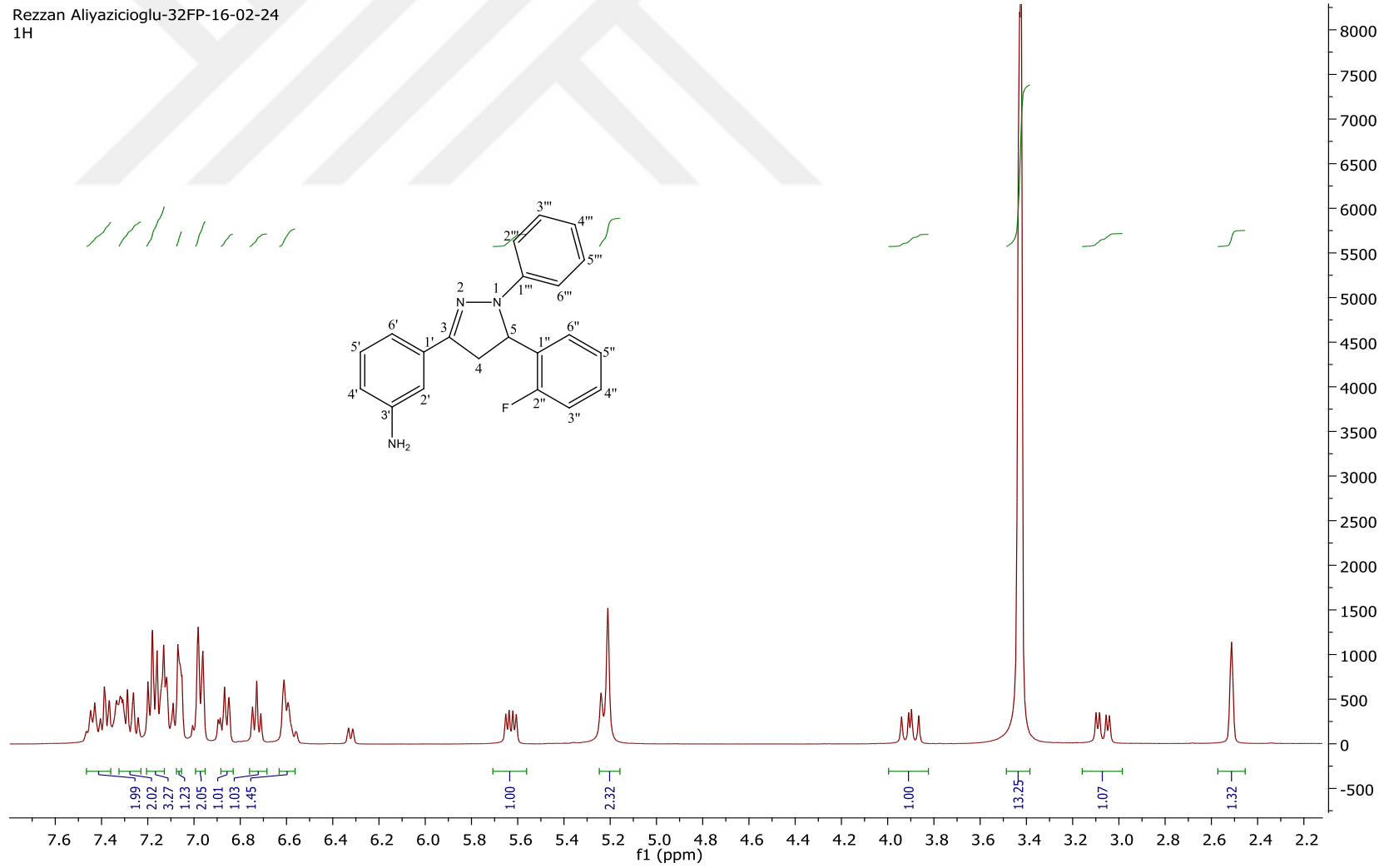
Ek 12. 4 No.lu Bileşiğin LC/MS-MS Spektrumu

ALİYAZICIOĞLU-4 #364-369 RT: 2.58-2.62 AV: 6 SB: 37 2.40-2.58 , 2.61-2.74 NL: 7.53E7
T: + p ESI Q1MS [179.070-500.000]



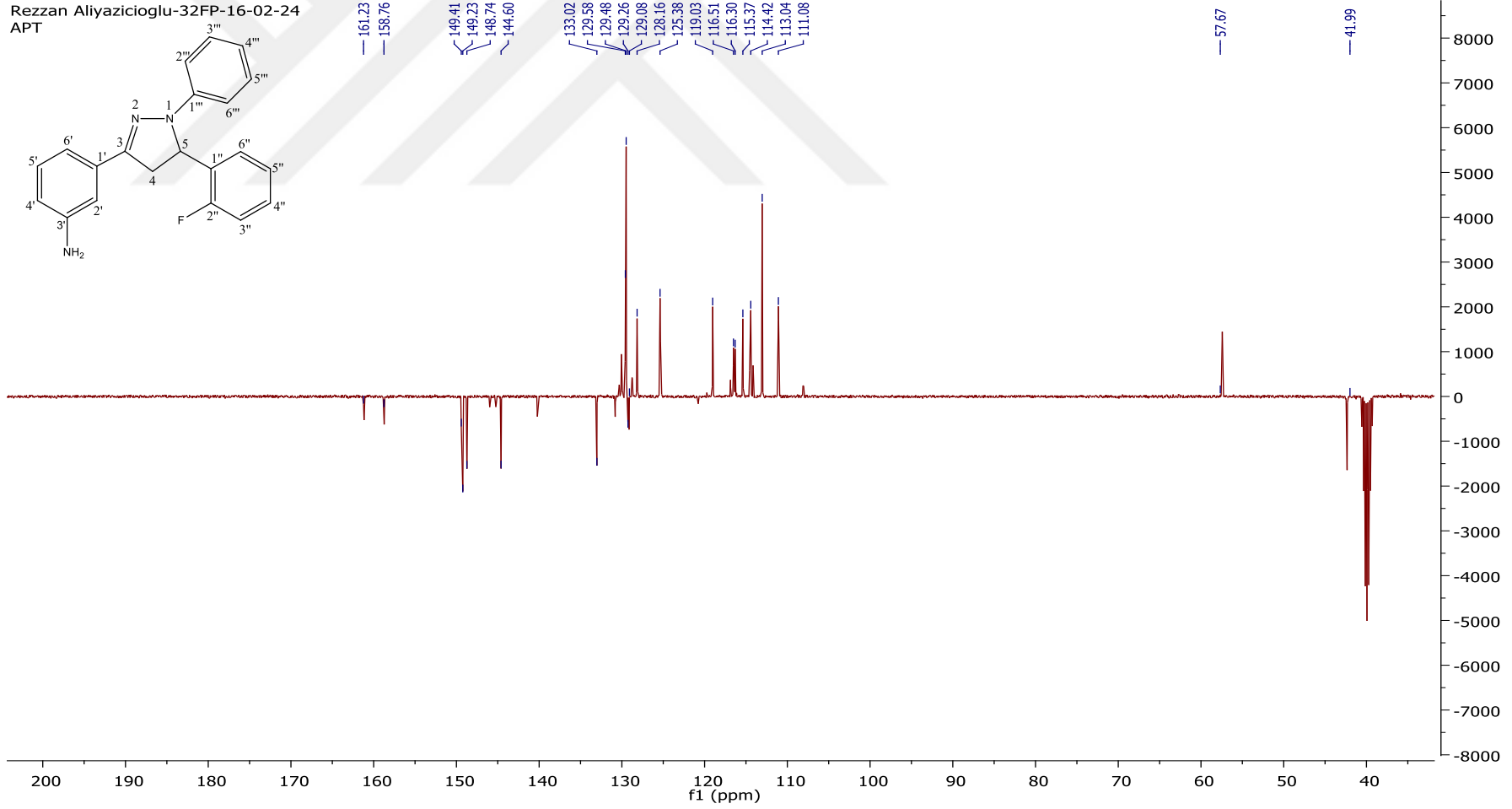
Ek 13. 5 No.lu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)

Rezzan Aliyazicioglu-32FP-16-02-24
 ^1H



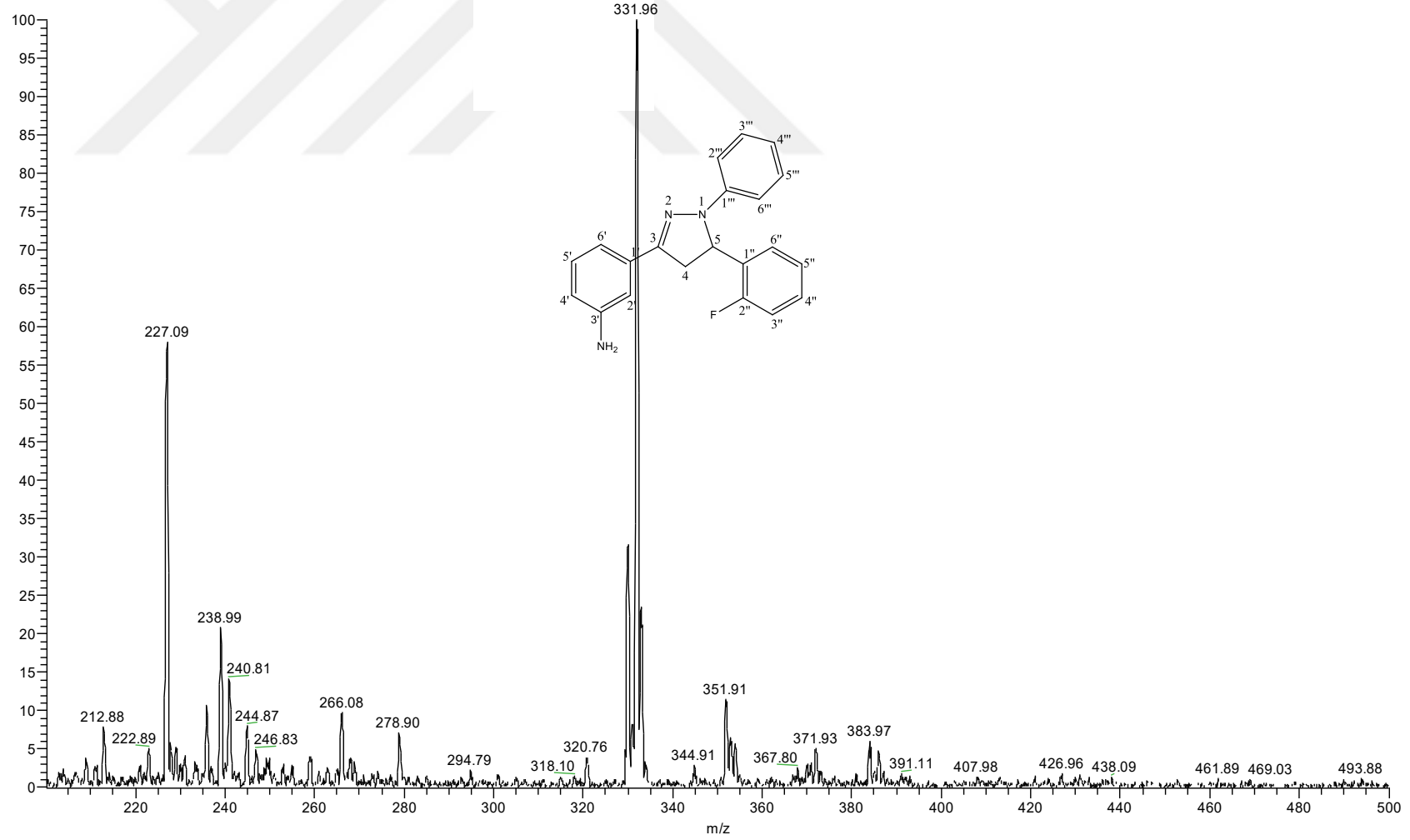
Ek 14. 5 No.lu Bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)

Rezzan Aliyazicioglu-32FP-16-02-24
APT



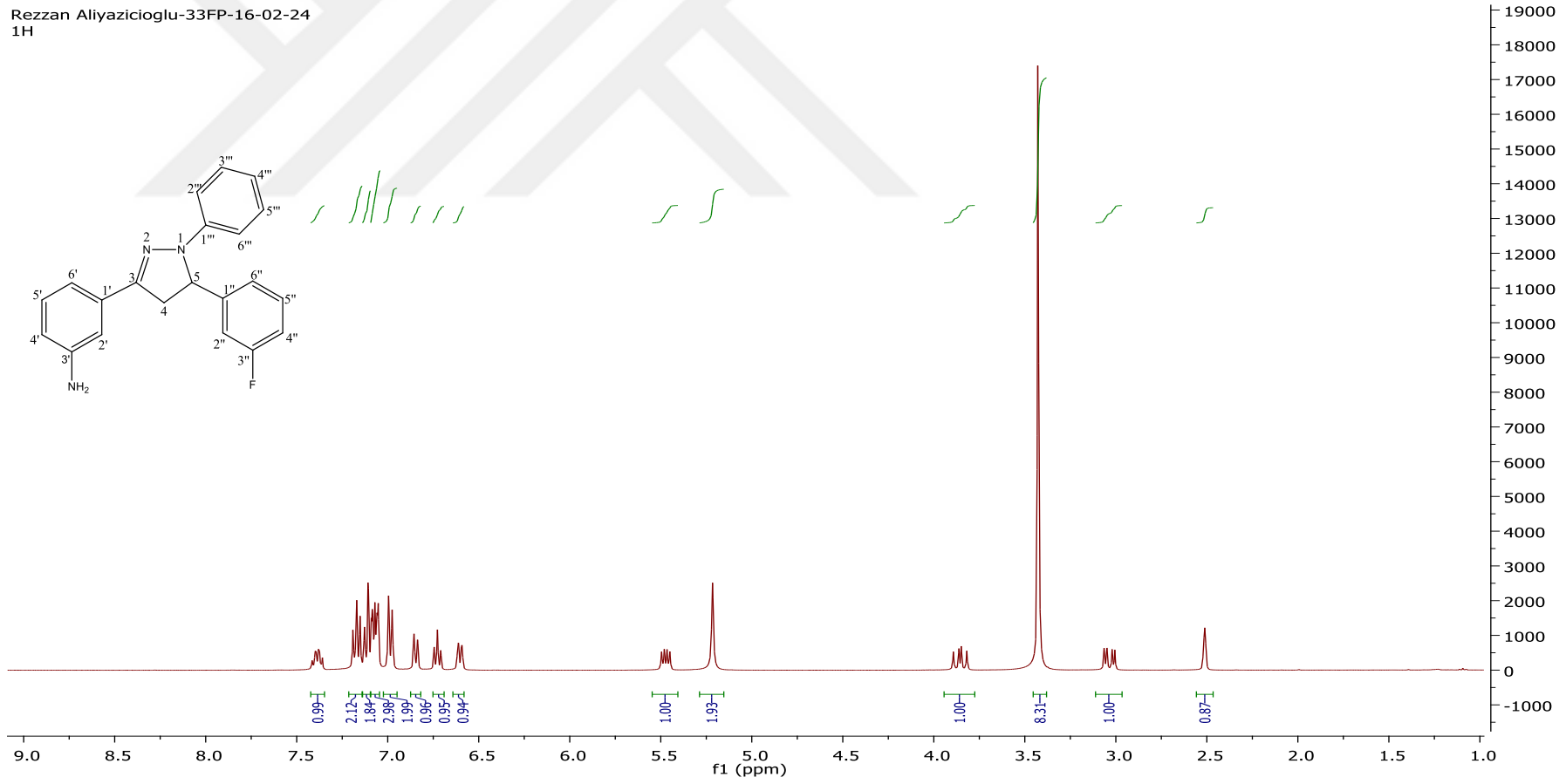
Ek 15. 5 No.lu Bileşiğin LC/MS-MS Spektrumu

ALIYAZICIOGLU-5 #41-44 RT: 0.36-0.38 AV: 4 NL: 4.49E7
T: + p ESI Q1MS [200.070-500.000]



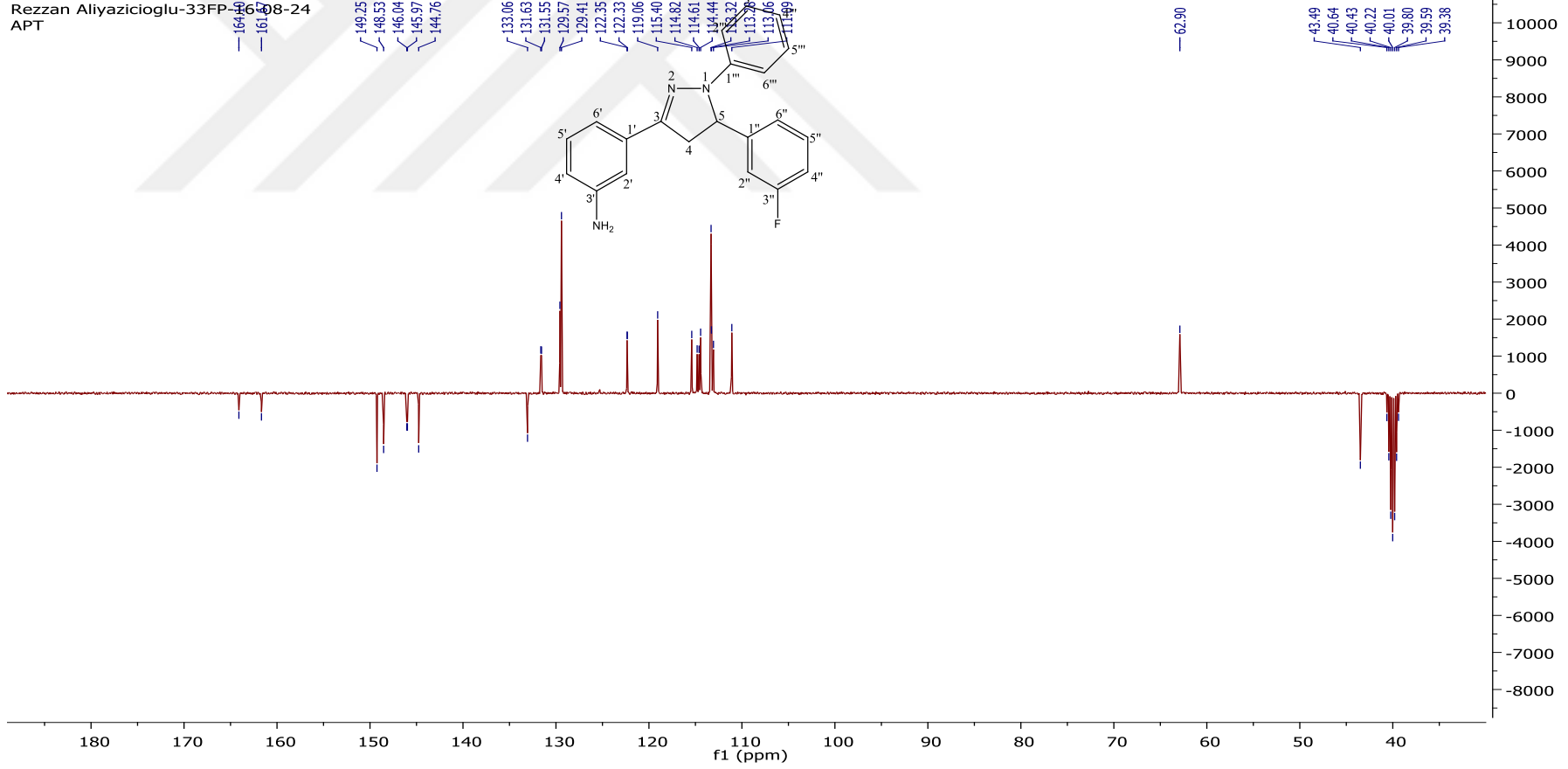
Ek 16. 6 No.lu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)

Rezzan Aliyazicioglu-33FP-16-02-24
 ^1H



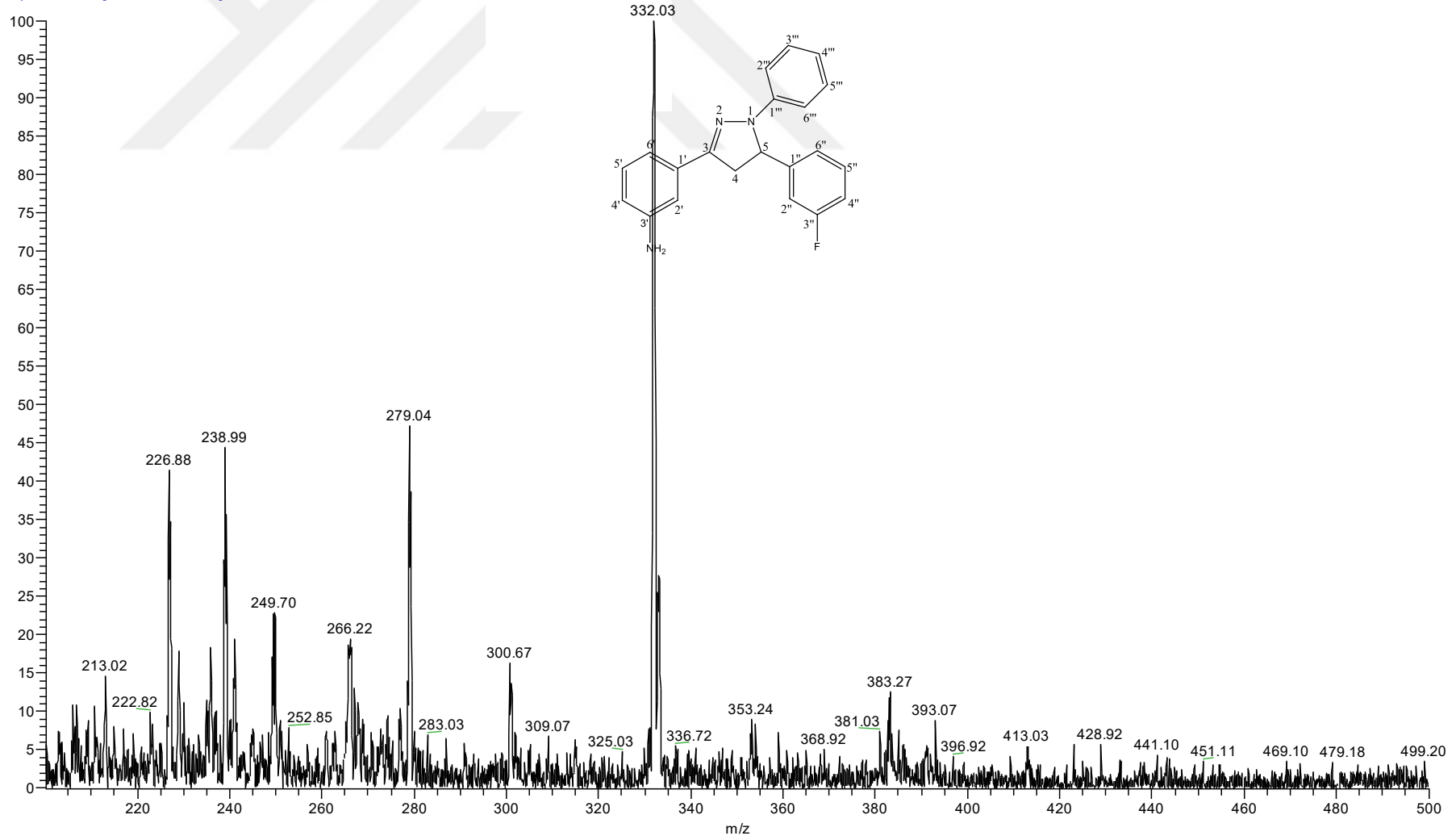
Ek 17. 6 No.lu Bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)

Rezzan Aliyazicioglu-33FP-16708-24
APT



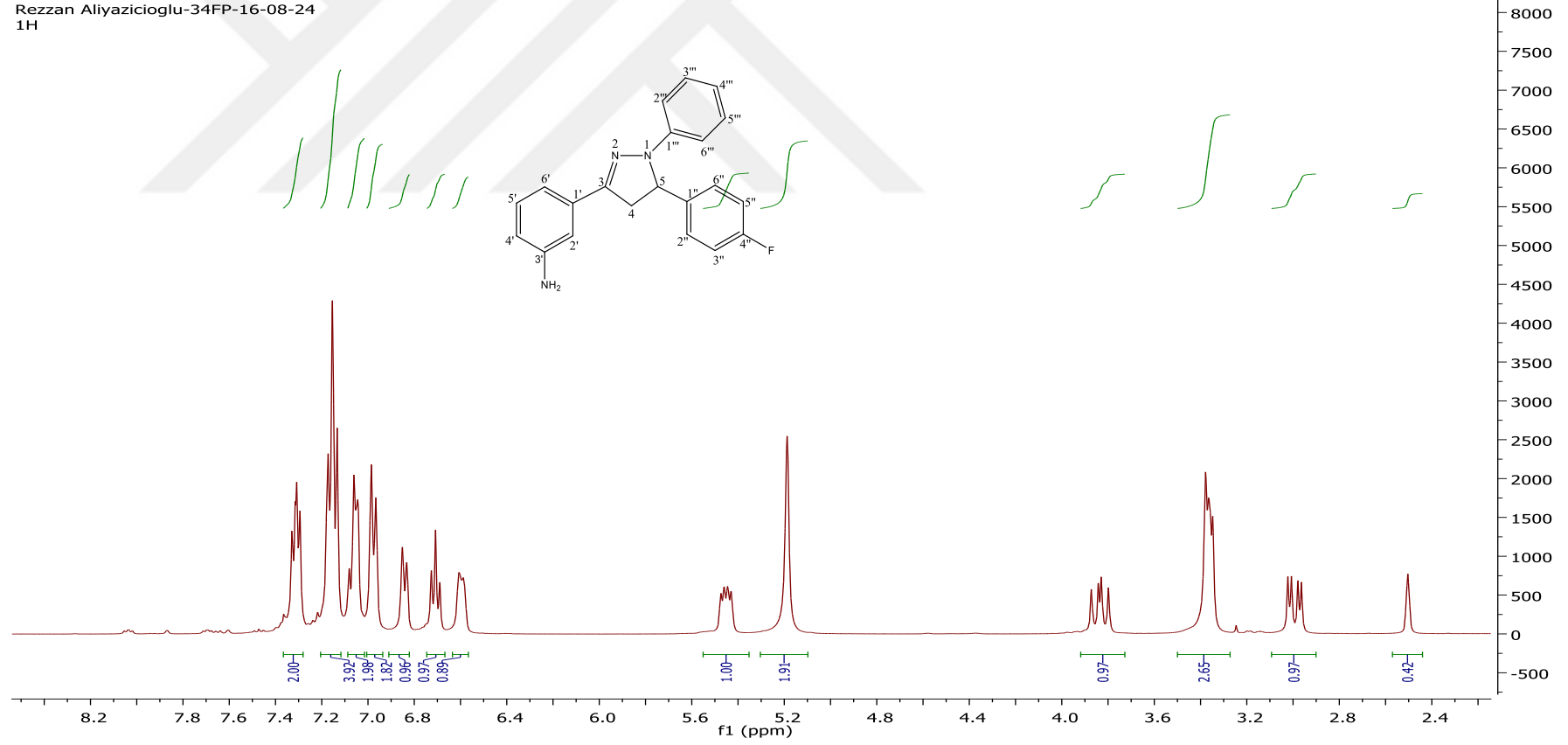
Ek 18. 6 No.lu Bileşiğin LC/MS-MS Spektrumu

ALİYAZICIOĞLU-6 #20 RT: 0.17 AV: 1 NL: 1.65E7
T: + p ESI Q1MS [200.070-500.000]



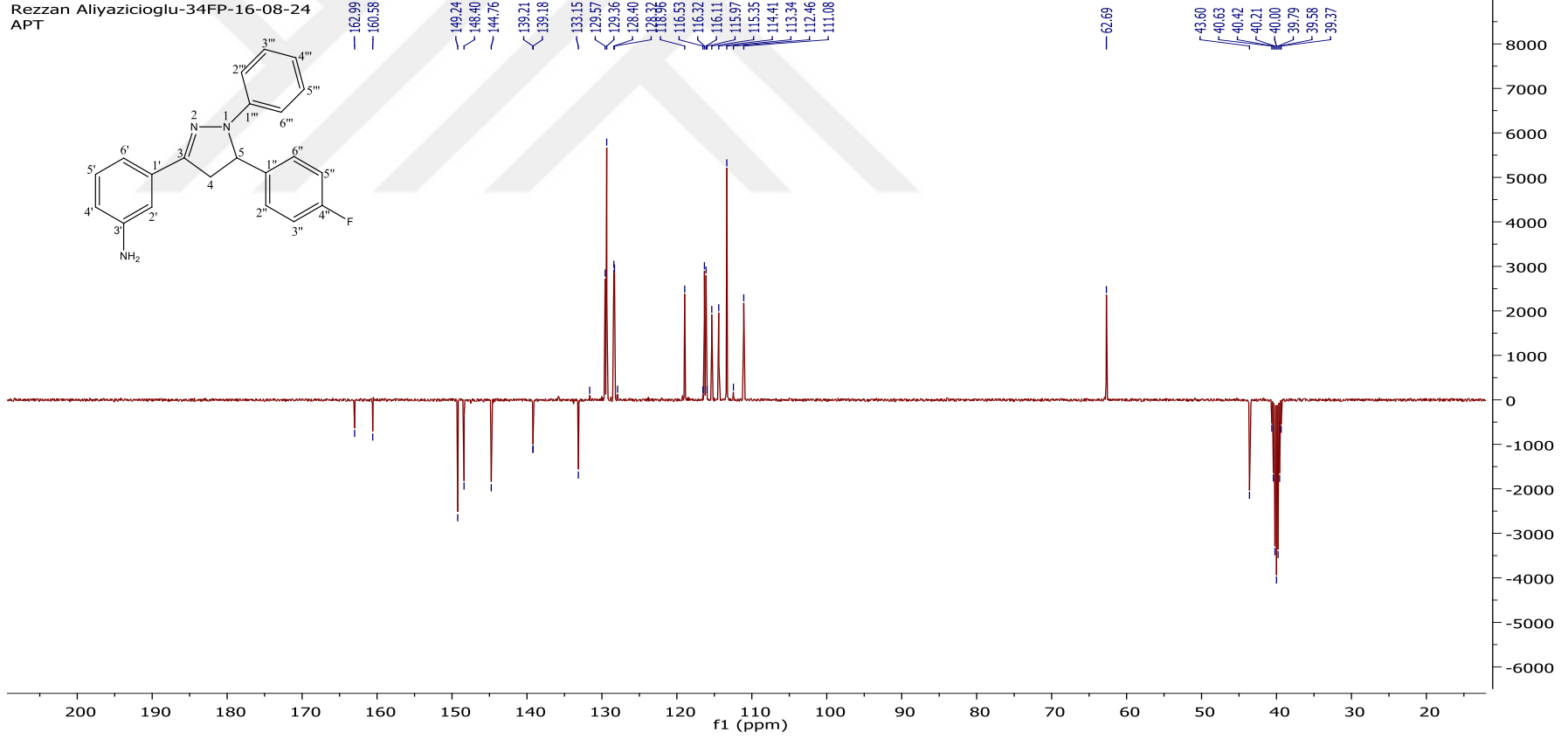
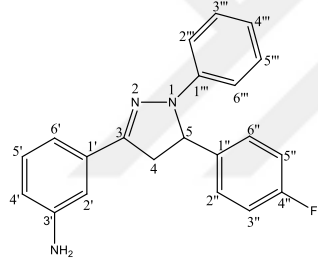
Ek 19. 7 No.lu Bileşiğin ¹H-NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO-d₆)

Rezzan Aliyazicioglu-34FP-16-08-24
1H



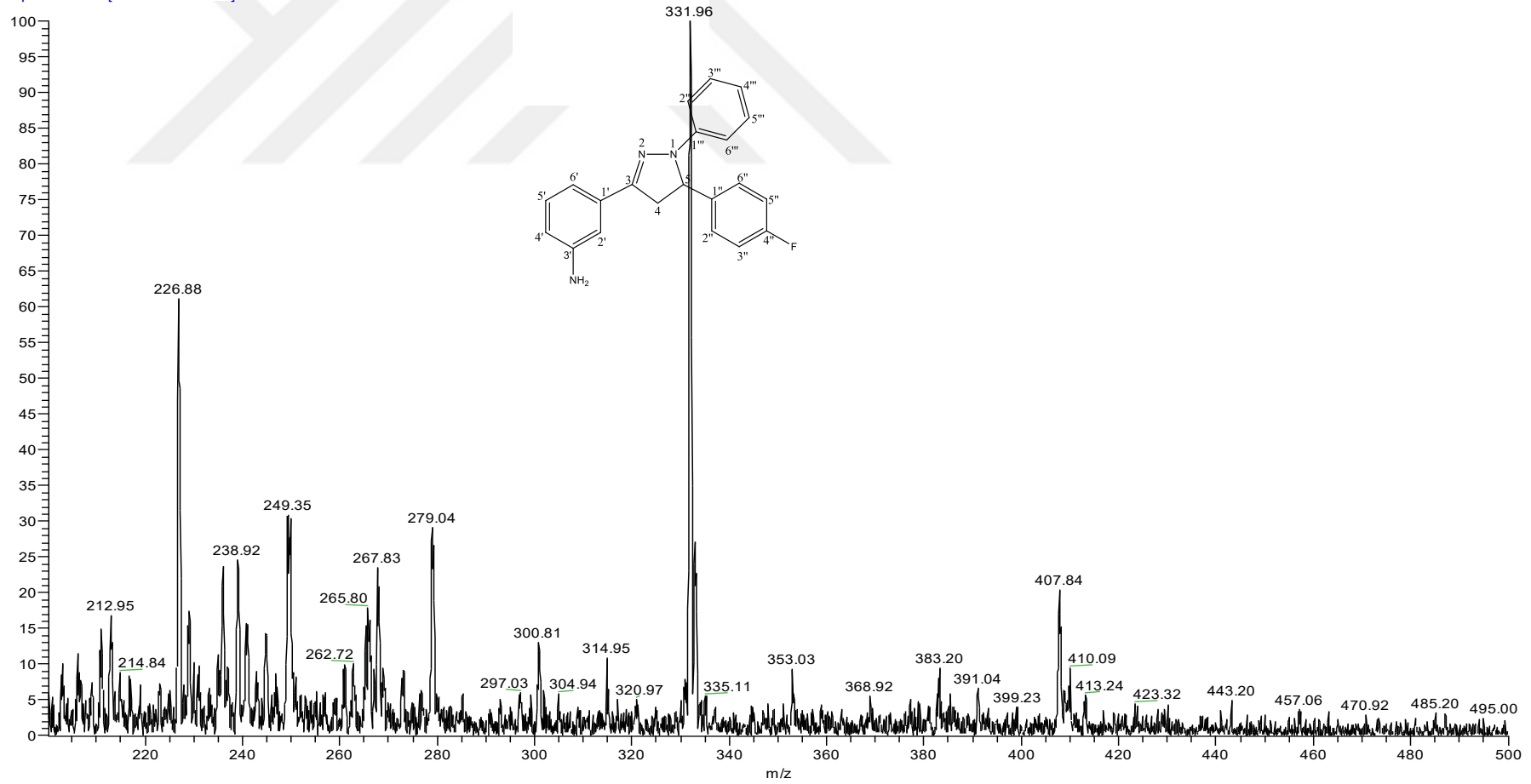
Ek 20. 7 No.lu Bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)

Rezzan Aliyazicioglu-34FP-16-08-24
APT



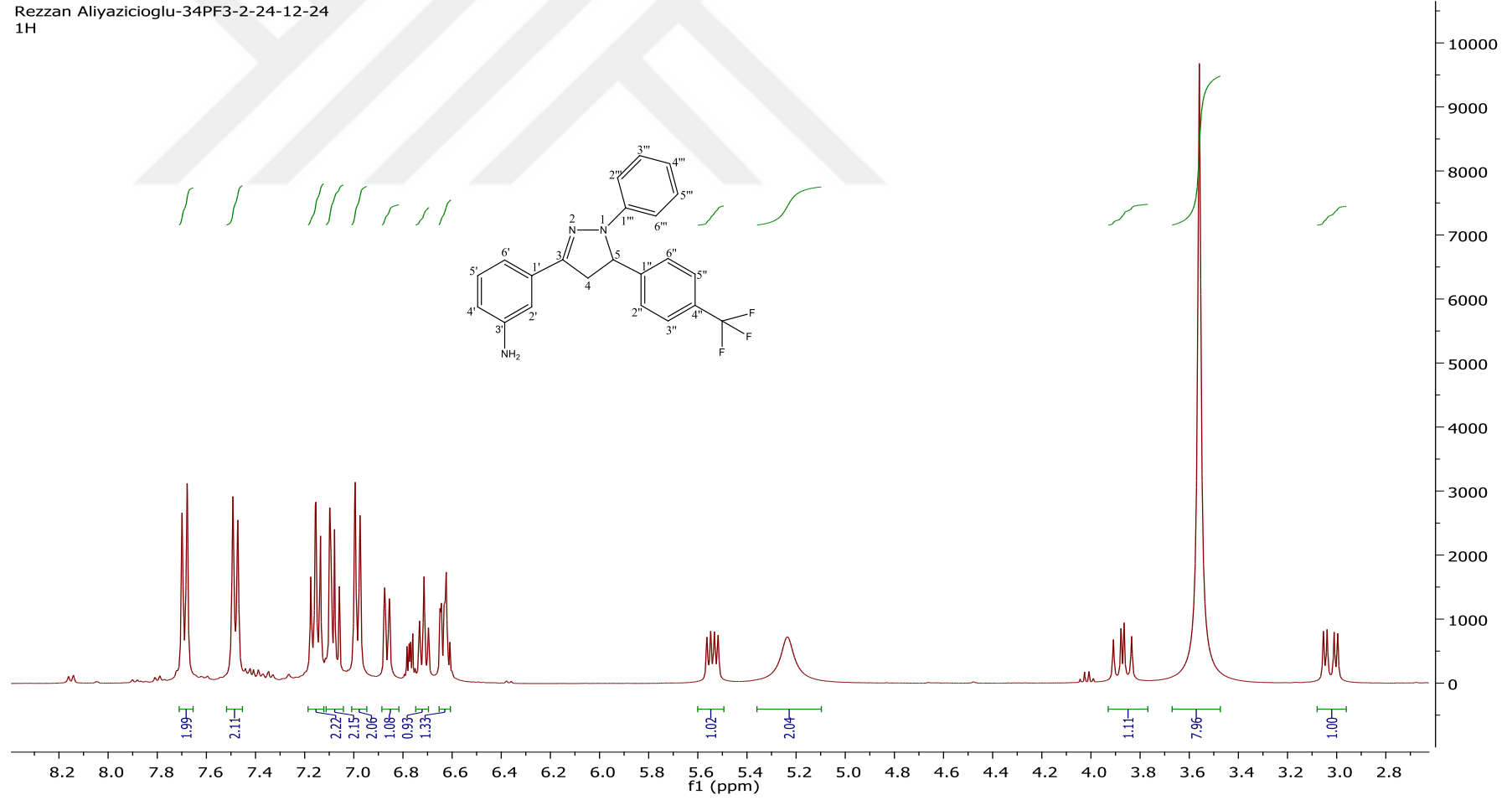
Ek 21. 7 No.lu Bileşiğin LC/MS-MS Spektrumu

ALİYAZICIOĞLU-7 #43-44 RT: 0.37-0.38 AV: 2 NL: 1.32E7
T: + p ESI Q1MS [200.070-500.000]



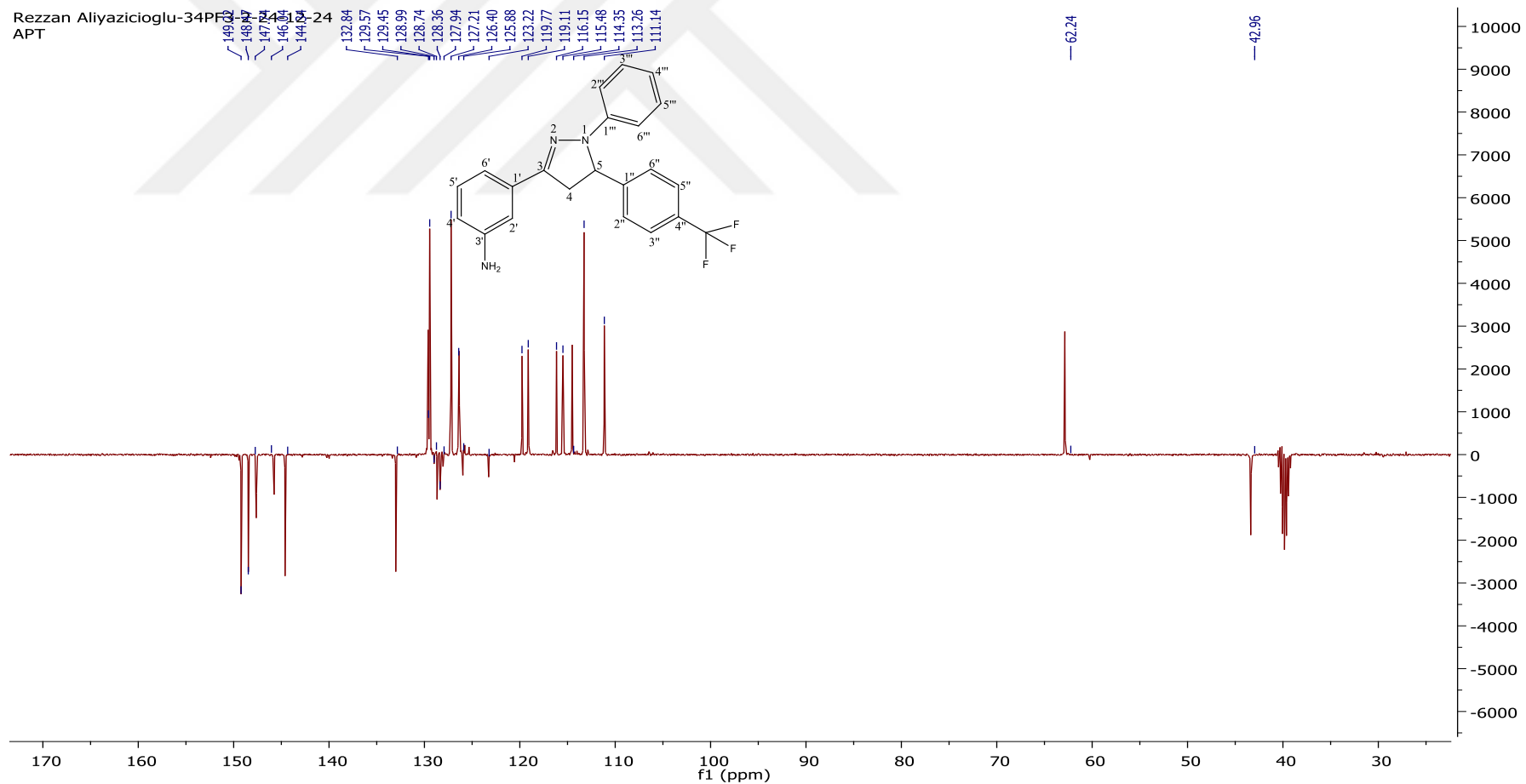
Ek 22. 8 No.lu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)

Rezzan Aliyazicioglu-34PF3-2-24-12-24
 ^1H



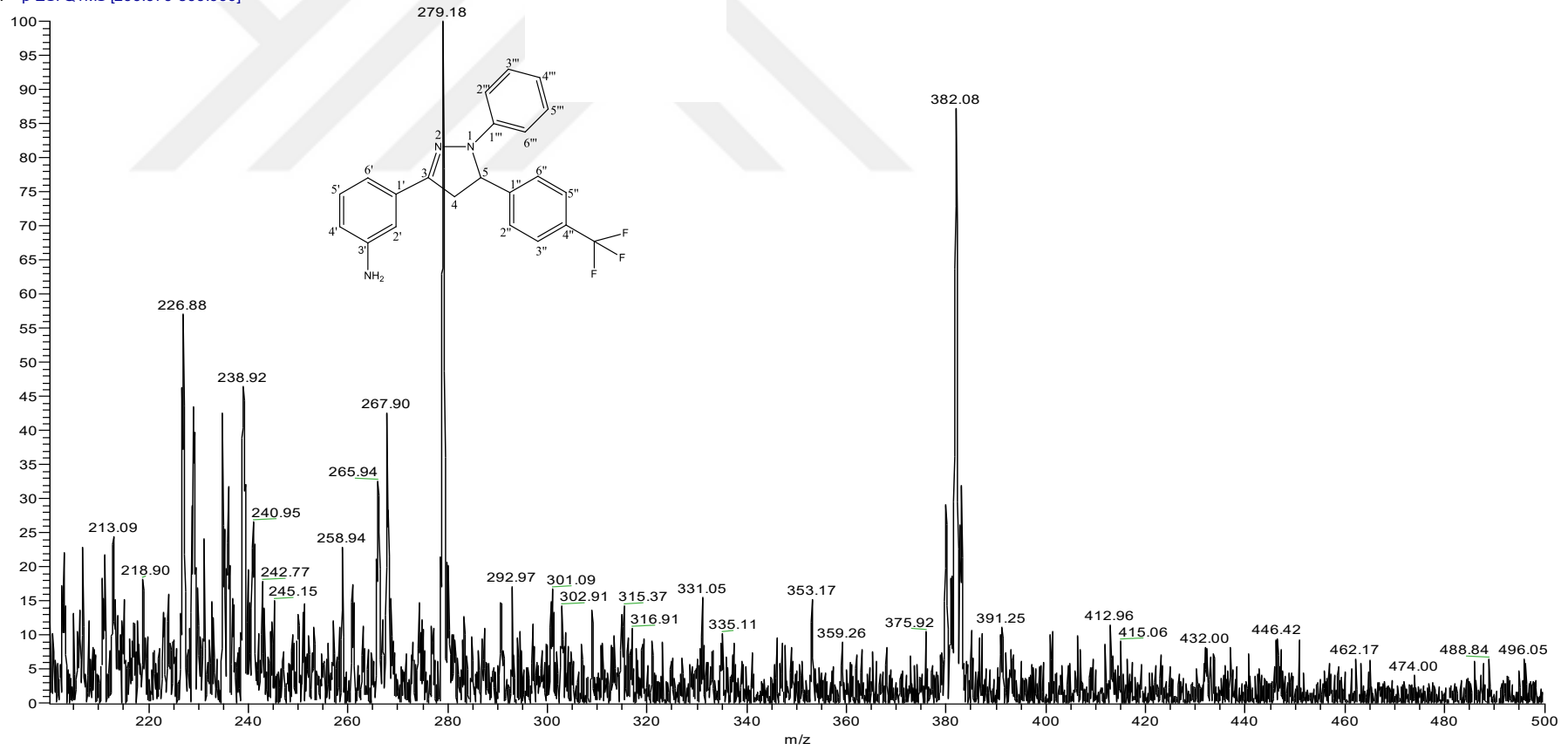
Ek 23. 8 No.lu Bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)

Rezzan Aliyazicioglu-34P
APT



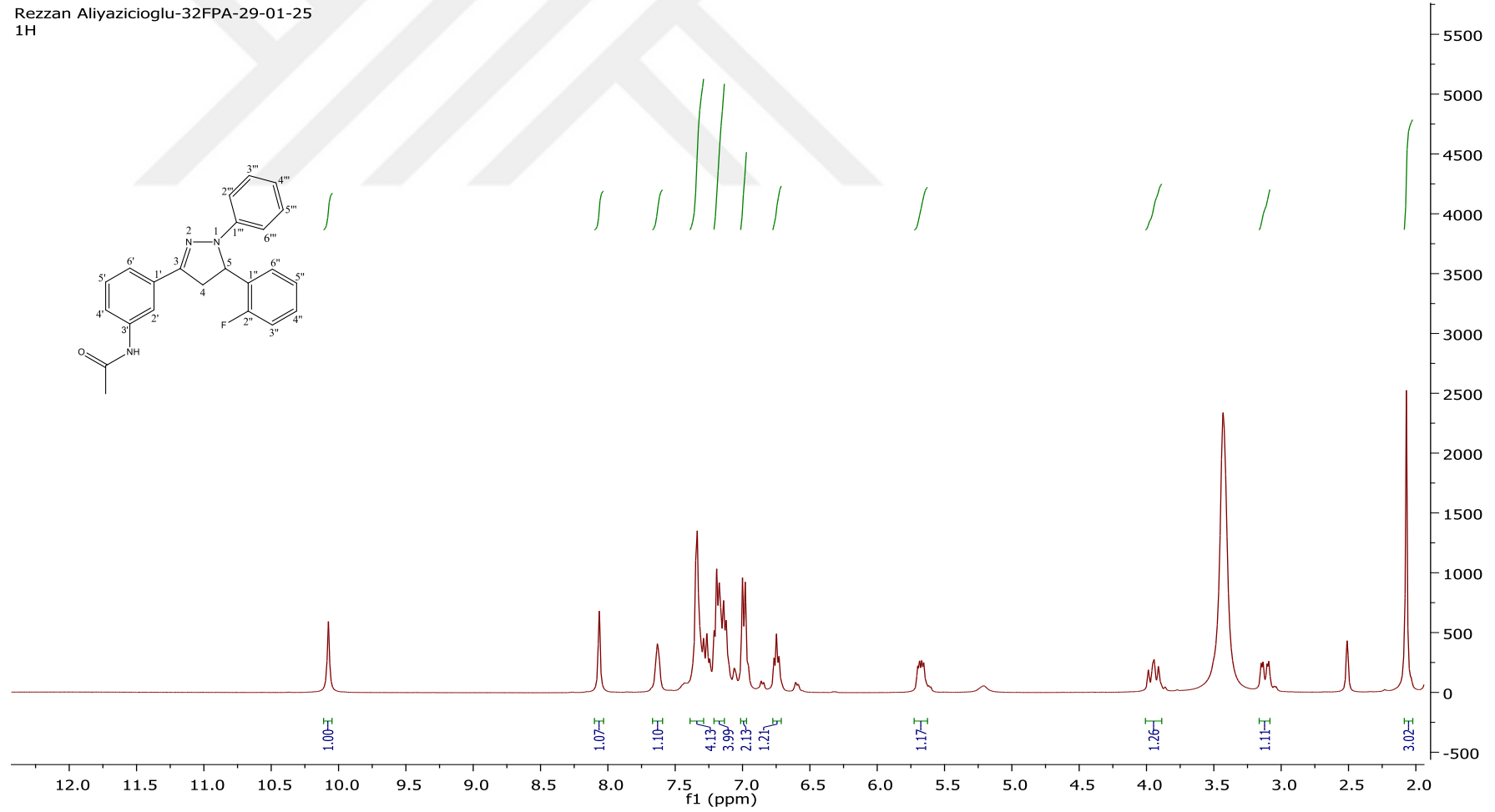
Ek 24. 8 No.lu Bileşiğin LC/MS-MS spektrumu

ALIYAZICIOGLU-8 #22 RT: 0.19 AV: 1 NL: 6.53E6
T: + p ESI Q1MS [200.070-500.000]



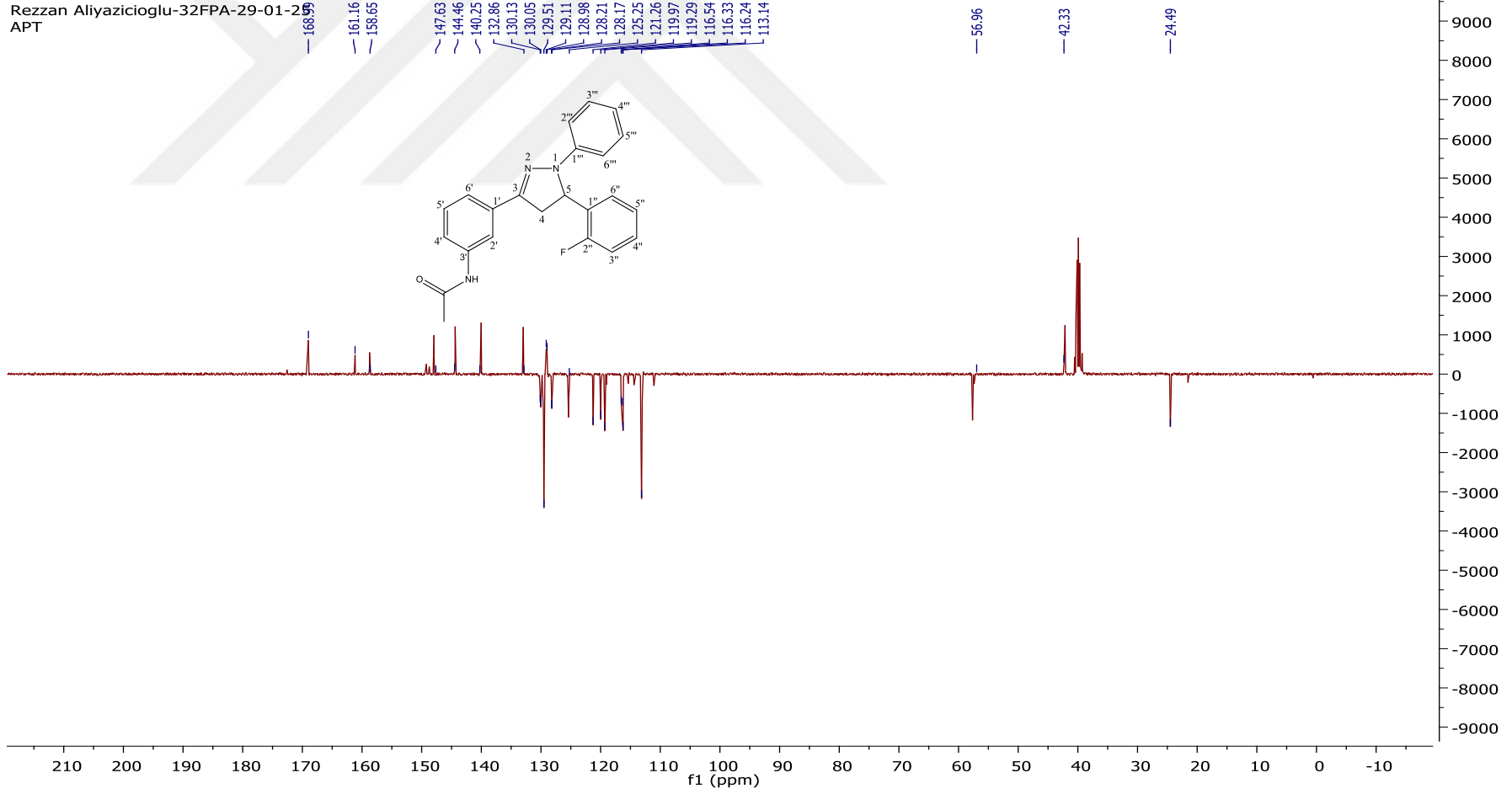
Ek 25. 9 No.lu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)

Rezzan Aliyazicioglu-32FPA-29-01-25
 ^1H



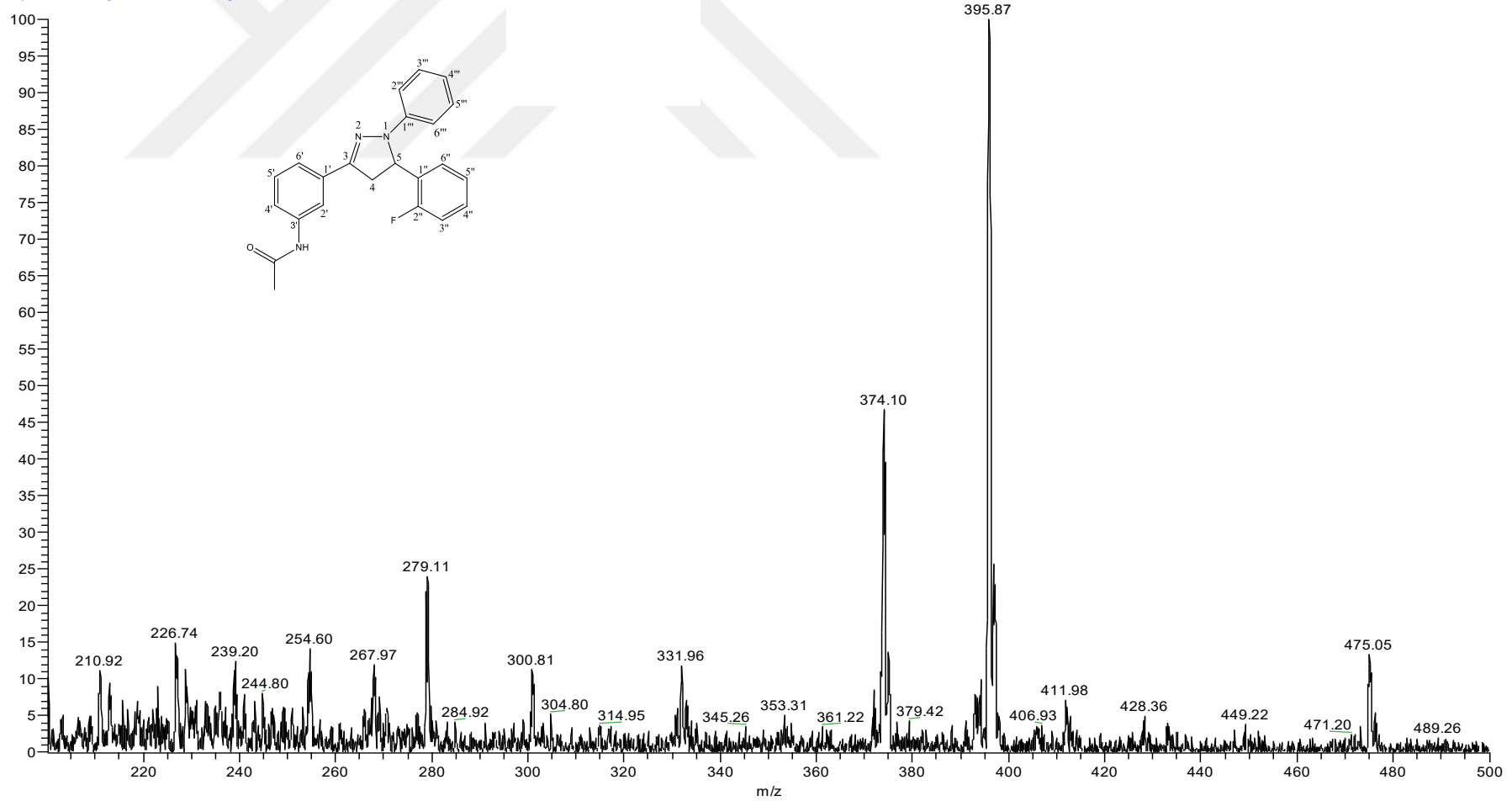
Ek 26. 9 No.lu Bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)

Rezzan Aliyazicioglu-32FPA-29-01-25
APT



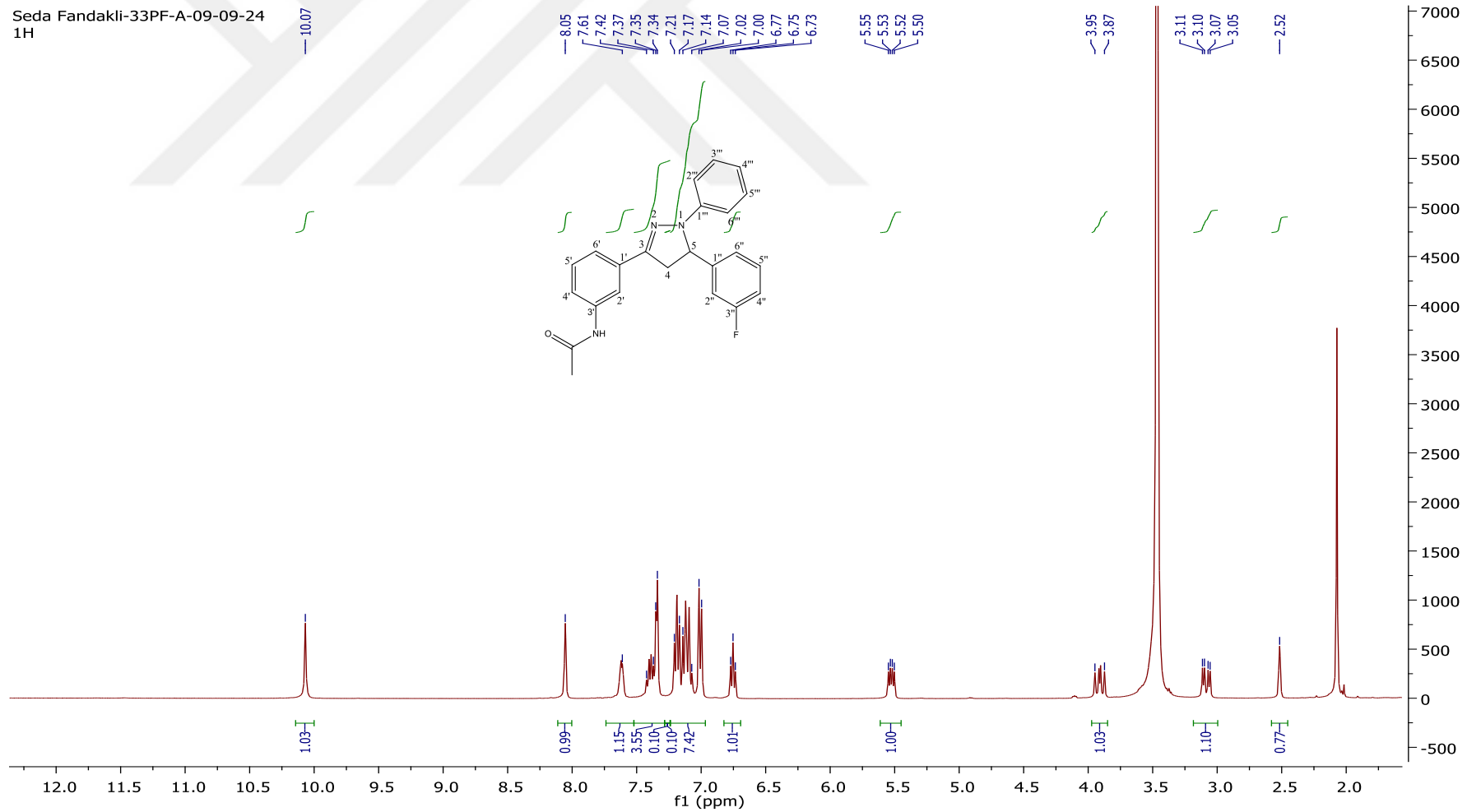
Ek 27. 9 No.lu Bileşiğin LC/MS-MS Spektrumu

ALİYAZICIOĞLU-9 #28 RT: 0.24 AV: 1 NL: 2.25E7
T: + p ESI Q1MS [200.070-500.000]



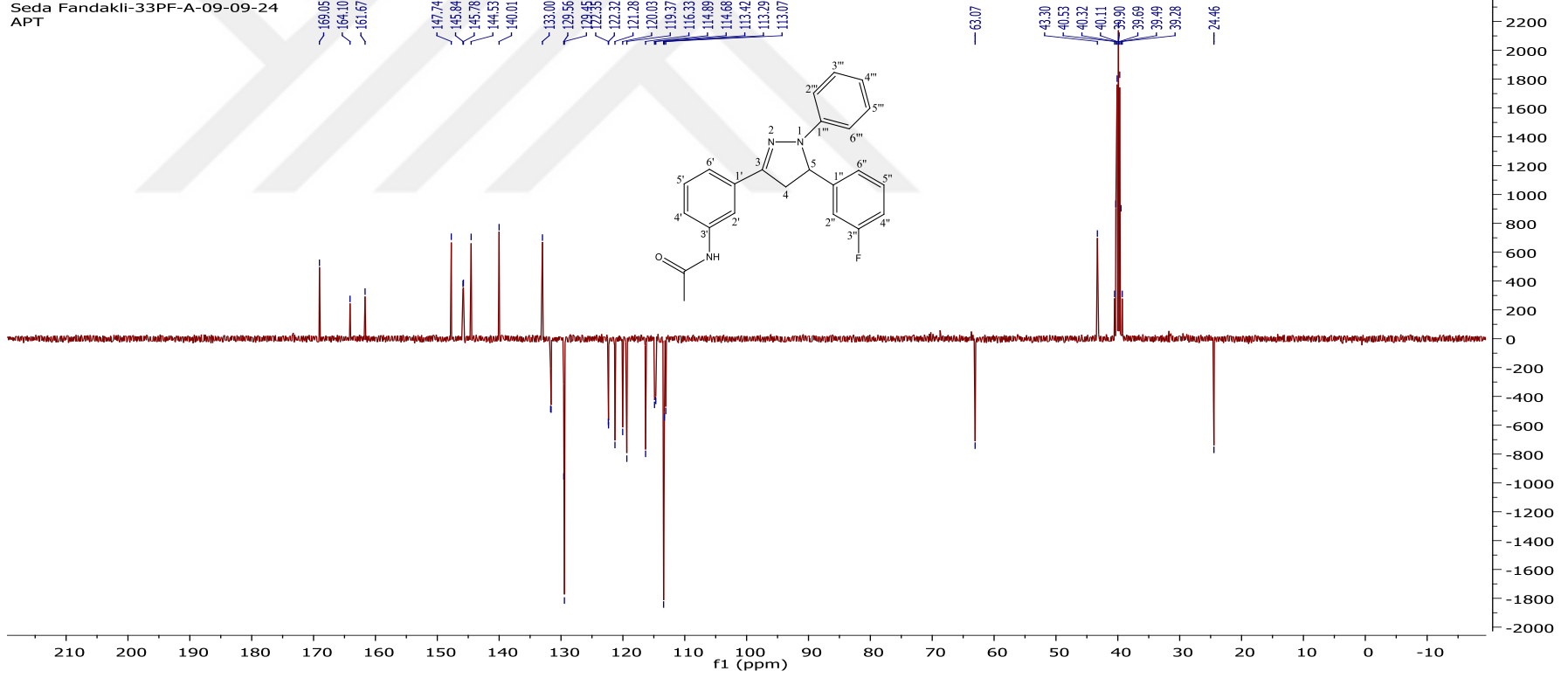
Ek 28. 10 No.lu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)

Seda Fandakli-33PF-A-09-09-24
1H



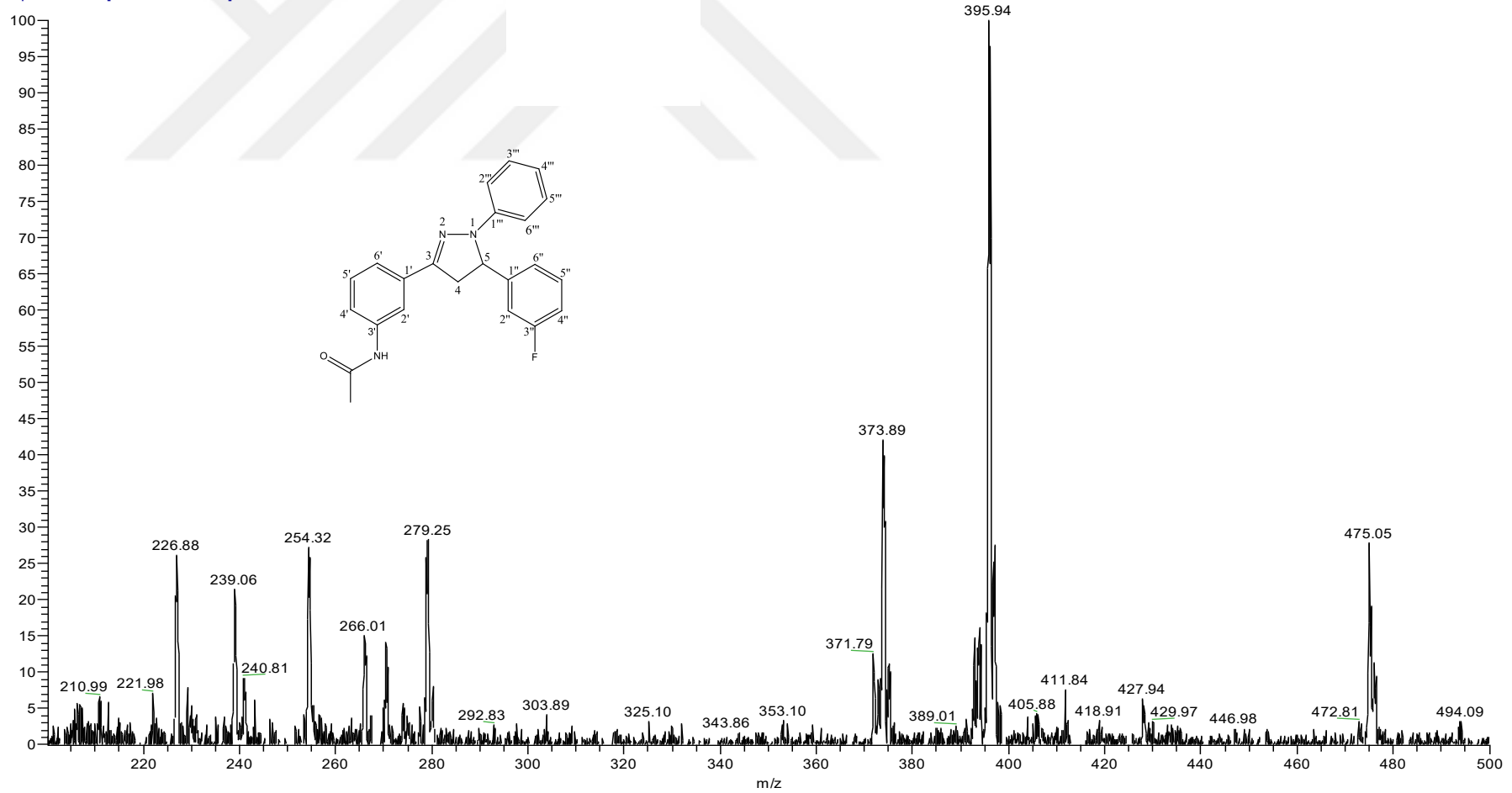
Ek 29. 10 No.lu Bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)

Seda Fandakli-33PF-A-09-09-24
APT



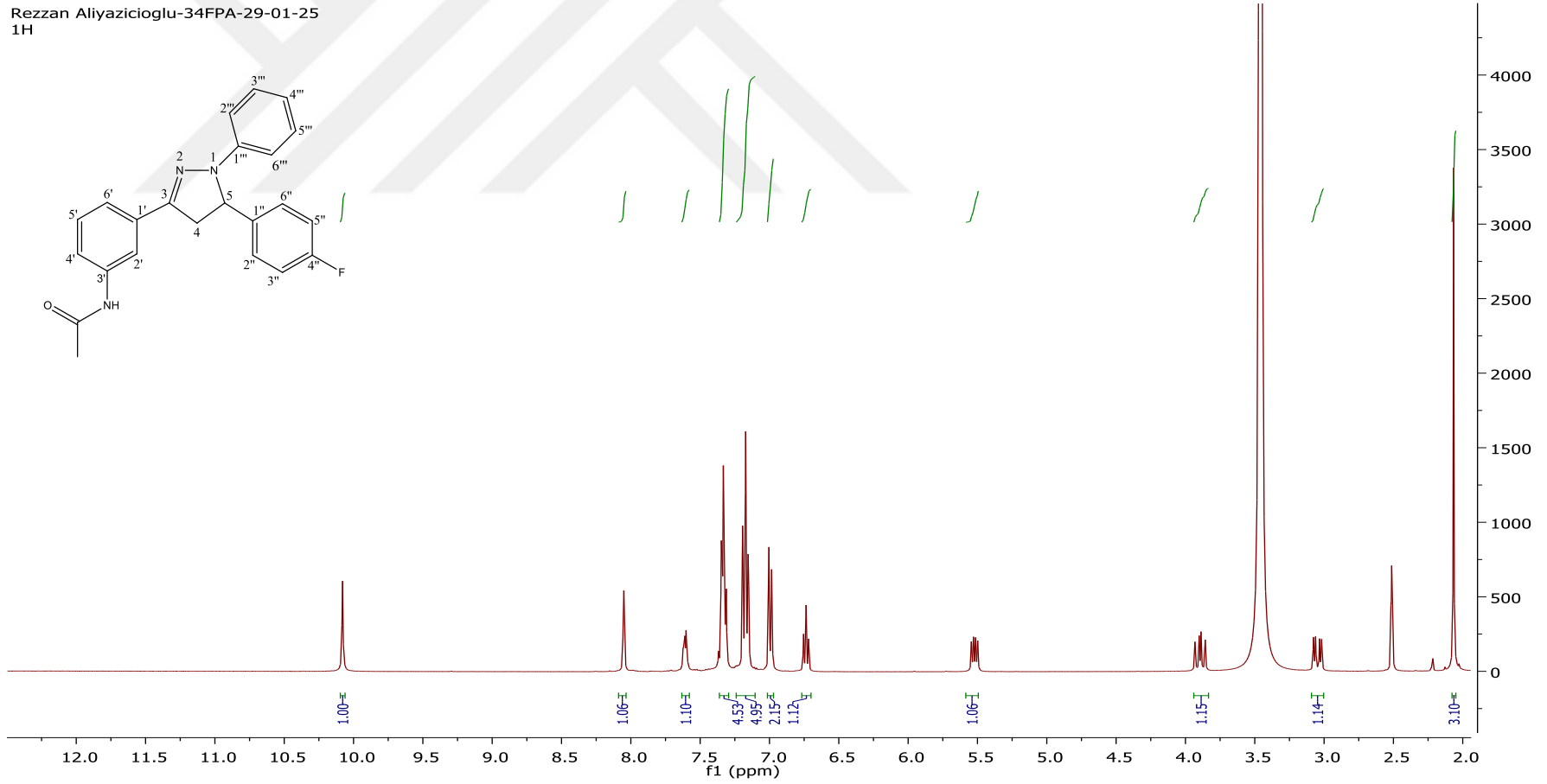
Ek 30. 10 No.lu Bileşiğin LC/MS-MS Spektrumu

ALİYAZICIOĞLU-10 #22-25 RT: 0.19-0.21 AV: 4 SB: 9 0.15-0.18 , 0.22-0.26 NI : 8 65F6
T: + p ESI Q1MS [200.070-500.000]



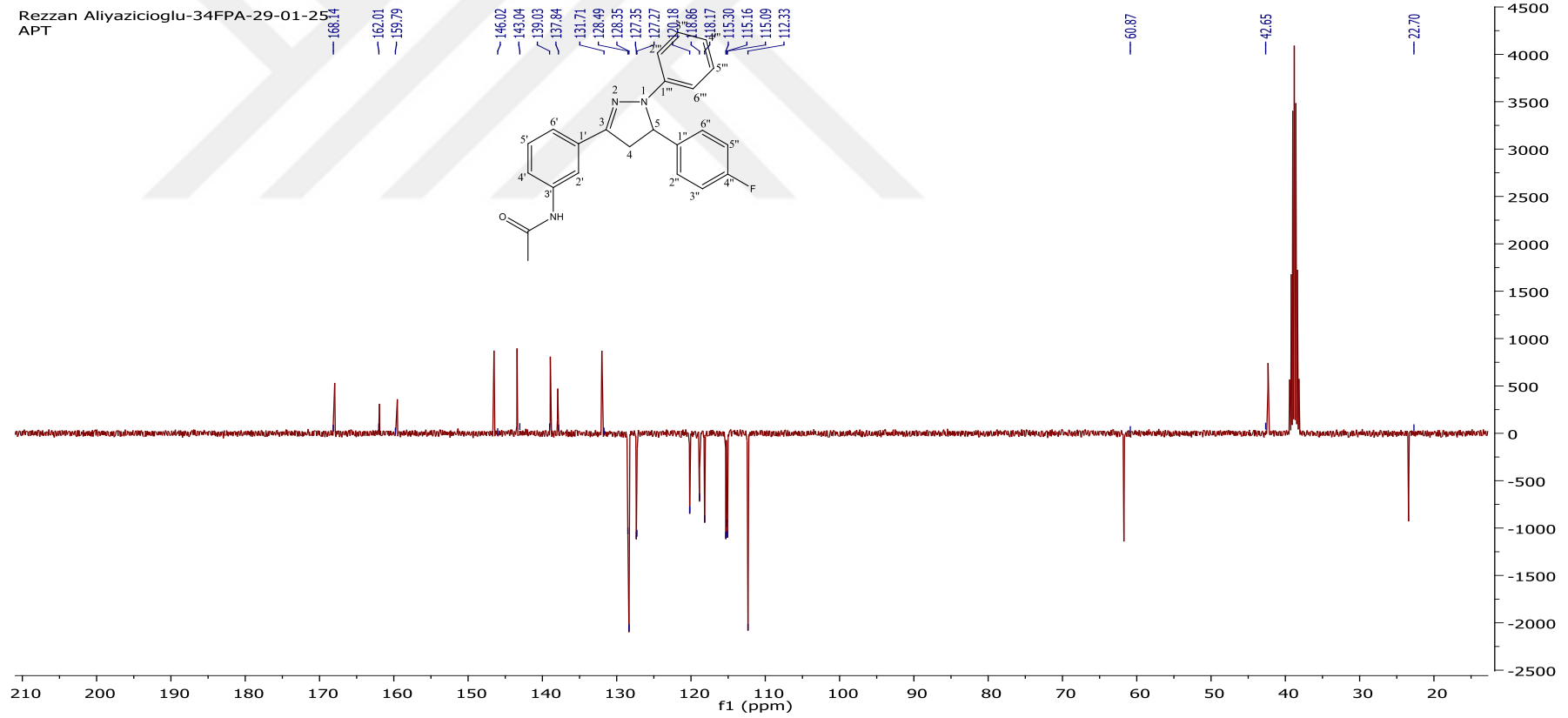
Ek 31. 11 No.lu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)

Rezzan Aliyazicioglu-34FPA-29-01-25
 ^1H



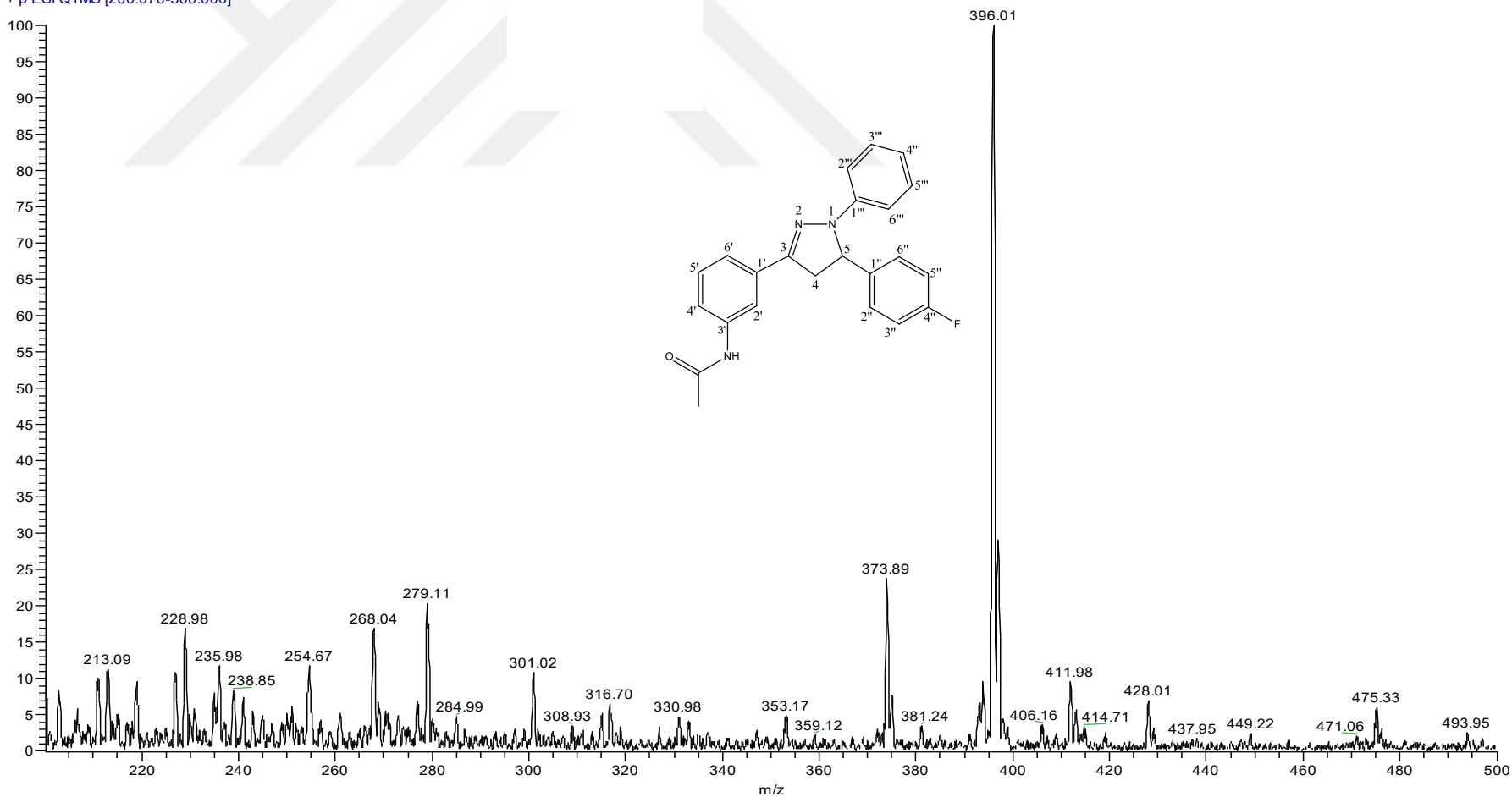
Ek 32. 11 No.lu Bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6)

Rezzan Aliyazicioglu-34FPA-29-01-25
APT



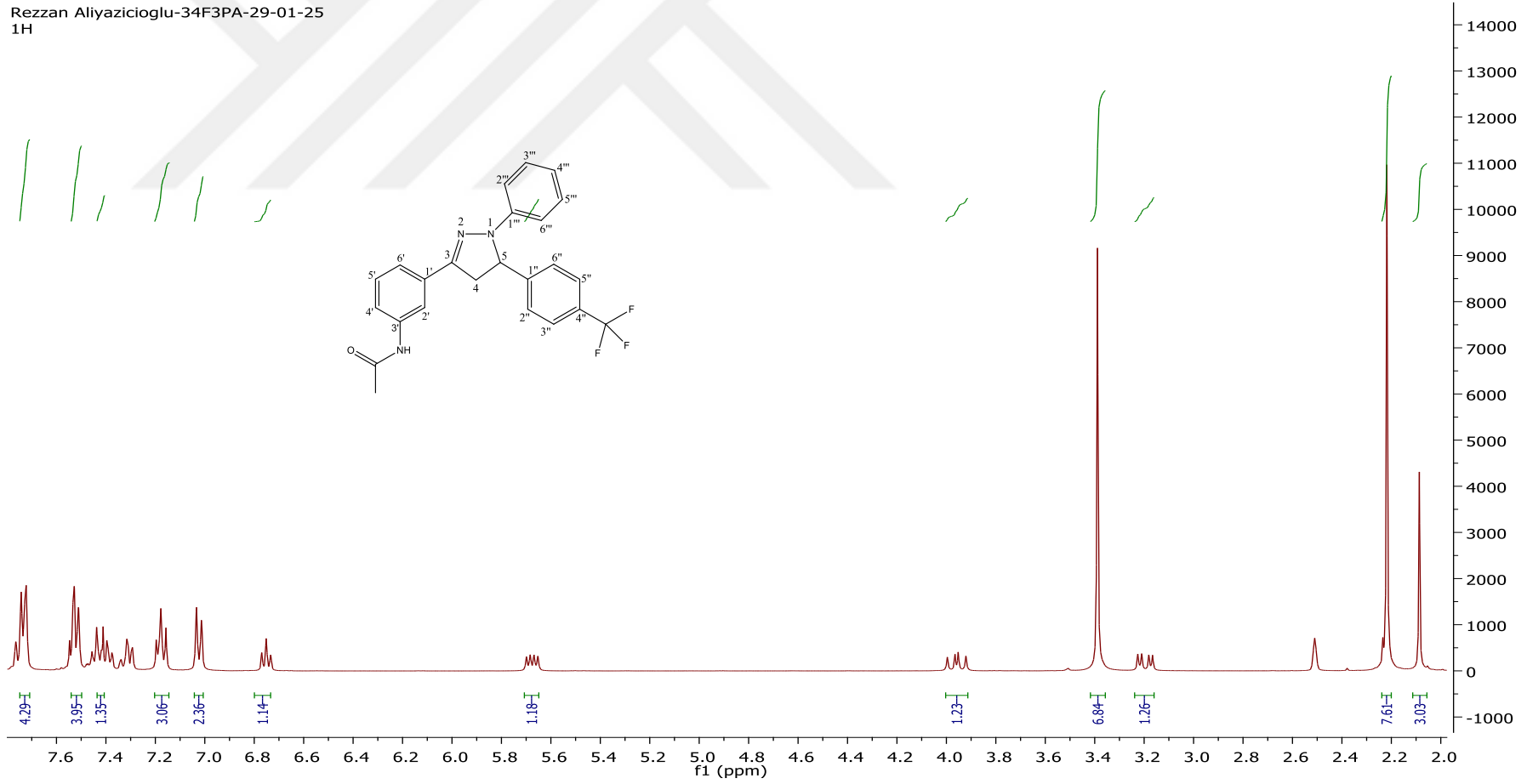
Ek 33. 11 No.lu Bileşiğin LC/MS-MS Spektrumu

ALİYAZICIOĞLU-11 #22-29 RT: 0.19-0.25 AV: 8 NL: 1.51E7
T: + p ESI Q1MS [200.070-500.000]



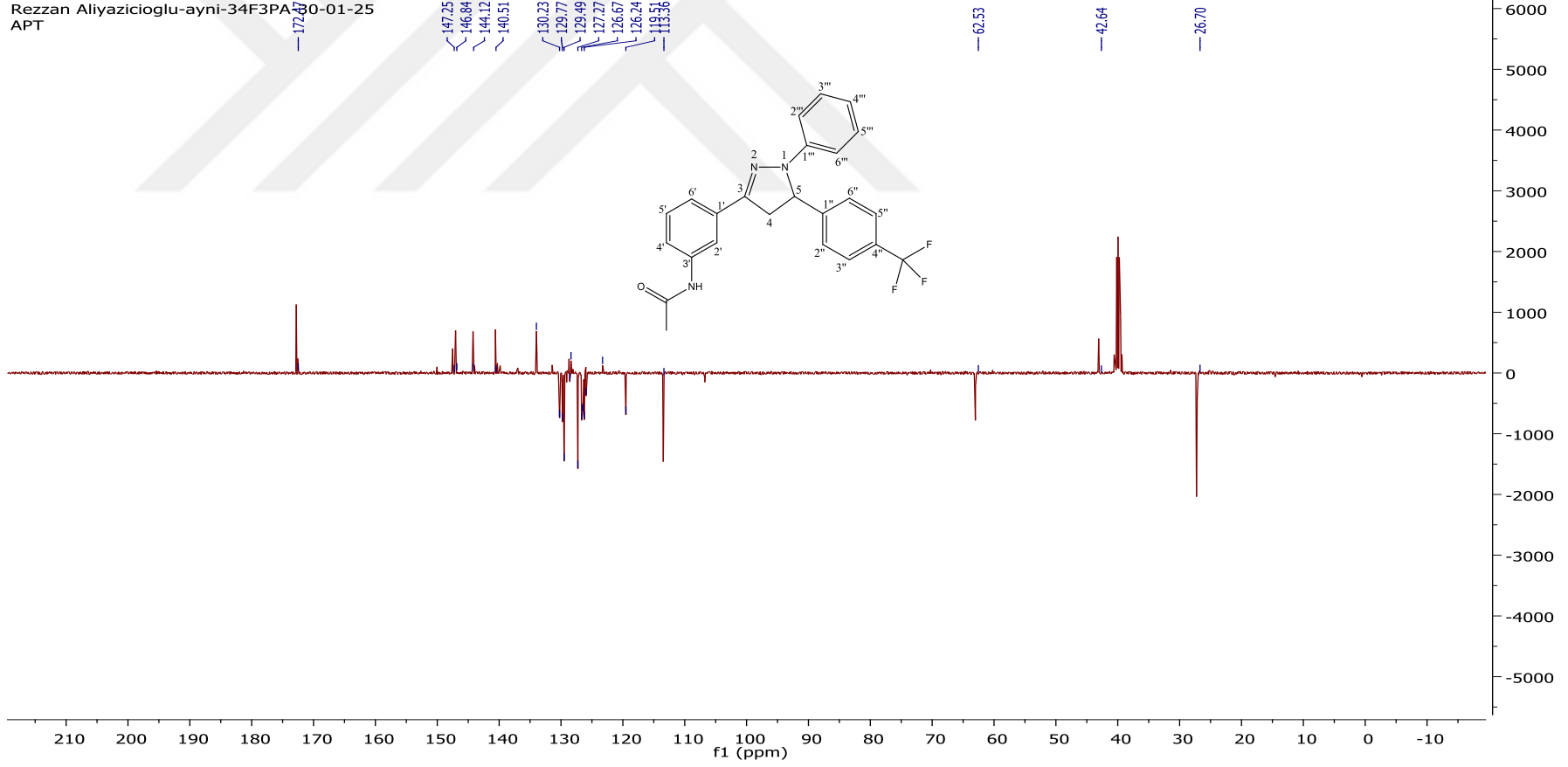
Ek 34. 12 No.lu Bileşiğin ^1H -NMR Spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6)

Rezzan Aliyazicioglu-34F3PA-29-01-25
1H



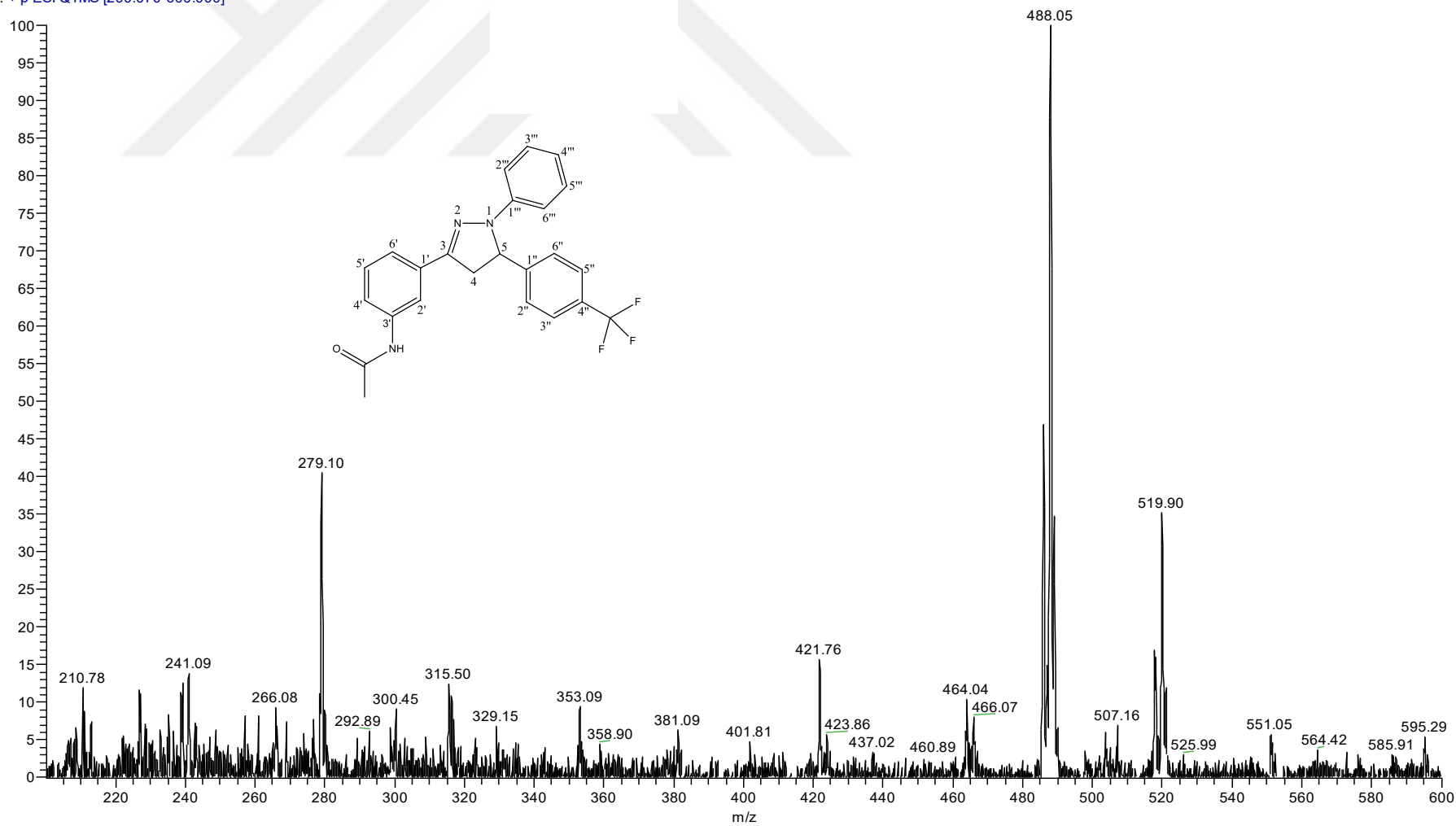
Ek 35. 12 No.lu Bileşiğin ¹³C-NMR (APT) Spektrumu (100 MHz, DMSO-d₆)

Rezzan Aliyazicioglu-ayni-34F3PA
APT



Ek 36. 12 No.lu Bileşiğin LC/MS-MS Spektrumu

ALIYAZICIOGLU-12 #55-64 RT: 0.49-0.56 AV: 10 SB: 18 0.41-0.48 , 0.56-0.63 NI: 4 11F6
T: + p ESI Q1MS [200.070-600.000]



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Pınar KARDAL
Uyruğu : T.C.
Doğum Tarihi :
Telefon (İş) :
E-Posta :

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi Eczacılıkta Biyokimya Anabilim Dalı	-
Lisans	Ondokuz Mayıs Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü	2022
Lise	Görele Nihat Gürel Fen Lisesi	2018

YABANCI DİL

İngilizce