T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YENİ AROMATİK SÜLFONAMİT TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN (*İN VİTRO*) İNCELENMESİ

Hasan SÖNMEZ

KİMYA ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA
2016

Yrd. Doç. Dr. Mustafa DURGUN danışmanlığında, Hasan SÖNMEZ'in hazırladığı **"Yeni Aromatik Sülfonamit Türevlerinin Sentezi ve Biyolojik Aktivitelerinin (*in vitro*) İncelenmesi''** konulu bu çalışma 22/12/2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

İmza

Danışman : Yrd. Doç. Dr.Mustafa DURGUN …….

Üye : Prof. Dr. Murat KOCA …….

Üye : Prof. Dr. Mustafa DEĞİRMENCİ …….

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

Prof. Dr. Murat KISA
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma HÜBAK tarafından desteklenmiştir.
Proje No: 12059

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

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET i
ABSTRACT ii
TEŞEKKÜR iii
ŞEKİLLER DİZİNİ iv
ÇİZELGELER DİZİNİ v
SİMGELER DİZİNİ vi
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 3
2.2. Karbonik Anhidraz Enzimi 4
2.3. Karbonik Anhidraz İnhibitörleri 5
2.4. Kanser 7
3. MATERYAL ve YÖNTEM 10
3.1. Materyal 10
3.1.1. Kullanılan araç ve gereçler 10
3.1.2. Kullanılan kimyasallar 10
3.1.3. Kullanılan cihazlar 11
3.2.Yöntem 12
3.2.1. 2-bromo-N-(4-sulfamoilfenil)propanamit (MMH_1) sentezi 12
3.2.2. N-(4-sulfamoilfenil)-2-tiyomorfolinopropanamit (H_1) sentezi 13
3.2.3. 2-(4-etilpiperazin-1-yl)-N-(4-sulfamoilfenil)propanamit (H_2) sentezi 14
3.2.4. Biyolojik çalışma 15
3.2.4.1. Hücreler ve kültür koşulları 15
3.2.4.2. Bileşiklerin uygulanması ve sitotoksik etkinliklerinin saptanması 15
3.2.4.3. MTT hücre proliferasyon kiti ile sitotoksik etkinin belirlenmesi 16
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA 17
4.1. Sentezlenen Maddelerin Spektroskopik Yöntemlerle Açıklanması 17
4.1.1. 2-bromo-N-(4-sulfamoilfenil)propanamit (MMH_1) 17
4.1.2. N-(4-sulfamoilfenil)-2-tiyomorfolinopropanamit (H_1) 18
4.1.3. 2-(4-etilpiperazin-1-yl)-N-(4-sulfamoilfenil)propanamit (H_2) 19
4.2. Sentezlenen Bileşiklerin Biyolojik Çalışmaları 21
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER 23
KAYNAKLAR 25
ÖZGEÇMİŞ 28
EKLER 29
EK 1 Sentezlenen Bileşiklerin FT-IR Spektrumları 29
EK 2 Sentezlenen Bileşiklerin ^{1}H NMR Spektrumları 31
EK 3 Sentezlenen Bileşiklerin ^{13}C NMR Spektrumları 33
EK 4 Sentezlenen Bileşiklerin LC-MS/MS Spektrumları 35

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

YENİ AROMATİK SÜLFONAMİT TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN *(İN VİTRO)* İNCELENMESİ

Hasan SÖNMEZ

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Yrd.Doç. Dr. Mustafa DURGUN
Yıl: 2016, Sayfa :35

Bu çalışmada; birinci basamakta; sülfanilamit (4-aminobenzensülfonamit) ile bazik koşullarda (piridin) 2-bromopropionilbromit'in reaksiyonu sonucu 2-bromo-N-(4-sülfamoilfenil)propanamit **(MMH_1)** sentezlenmiştir. İkinci basamakta; 2-bromo-N-(4-sülfamoilfenil)propanamit **(MMH_1)** ile bazik koşullarda (piridin) tiyomorfolin'in reaksiyonu sonucu N-(4-sulfamoilfenil)-2-tiomorfolinopropanamit **(H_1)** bileşiği, 1-etilpiperazin'in reaksiyonu sonucu ise 2-(4-ethilpiperazin-1-yl)-N-(4-sulfamoilfenil)propanamit **(H_2)** bileşiği sentezlenmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapıları FT-IR, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, Kütle spektroskopisi ve elementel analiz yöntemleriyle aydınlatılmıştır. Çalışmada kullanılan bileşiklerin ve kemoterapik maddenin (**5-Fu**), kanser ve normal hücreler üzerindeki sitotoksik etkisi de incelenmiştir. H_1 ve H_2 Maddelerin kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etki gösterdikleri gözlenmiştir. H_2 maddesinin kanser hücresi olan PC3 ve HeLa üzerinde sitotoksik etki gösterirken H_1 maddesi ve Sülfanilamit yeterli etki göstermemiştir. Ayrıca, H_1 maddesinin DLD-1 üzerinde ki sitotoksik aktivitesi H_2, Süfanilamit ve kemoterapik maddeden (5-Fu) daha etkili olduğu görülmüştür. H_1 ve sülfonilamit diger bir kanser hücresi olan ECC-1 maddesi üzerindeki sitotoksik etki gösterirken H_2 ise yeterli bir etki gösterememiştir. H_1, H_2 ve Sülfanilmit bileşikleri kanser hücre hattı olan HT-29 ve DU-145 ile normal hücre hattı olan PNT1-A ve HEK-293 üzerinde fazla bir sitotoksik etki gösterememiştir.

ANAHTAR KELİMELER : Sentez, spektroskopi, karbonik anhidraz inhibitörleri, sülfonamit, antikanser

ABSTRACT

MSc Thesis

SYNTHESIS OF NEW AROMATIC SULFONAMIDE DERIVATIVES and INVESTIGATION OF BIOLOGICAL ACTIVITIES *(IN VITRO)*

HarranUniversity
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Assoc. Yrd.Doç.Dr. Mustafa DURGUN
Year: 2016, Page: 35

In this study; in the first step; the 2-bromo-N- (4-sulfamoylphenyl) propanamide **(MMH_1)** was synthesized by the reaction of 2-bromopropionylbromide with sulfanilamide (4-aminobenzenesulphonamide) in basic condition (pyridine). In the second step; the N- (4-sulfamoylphenyl) -2-thiomorpholinopropanamide **(H_1)** compound and 2- (4-ethylpiperazin-1-yl) -N- (4-sulfamoylphenyl) propanamide **(H_2)** were synthesized by the reaction of 2-bromo-N- (4-sulfamoylphenyl) propanamide **(MMH_1)** with thiomorpholine and 1-ethylpiperazine in basic condition (pyridine), respectively. The structures of the obtained compounds were clarified by FT-IR, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, mass spectroscopy and elemental analysis methods. The cytotoxic effect of the compounds used in the study and the chemotherapeutic agent (5-FU), cancer and normal cells was also examined. $\mathbf{H_1}$ and $\mathbf{H_2}$ substances were observed to have cytotoxic effects on cancer cells. $\mathbf{H_2}$ substance showed cytotoxic effect on the cancer cells PC3 and HeLa, whereas $\mathbf{H_1}$ substance and Sulfanilamide did not show sufficient effect. In addition, the cytotoxic activity of $\mathbf{H_1}$ on DLD-1 was found to be more effective than $\mathbf{H_2}$, sulfanilamide and chemotherapeutic agent (5-FU). $\mathbf{H_1}$ and sulfanilamide showed cytotoxic effect on the other cancer cell ECC-1 substance whereas $\mathbf{H_2}$ did not show a sufficient effect. The $\mathbf{H_1}$, $\mathbf{H_2}$ and sulfanilamide compounds did not show an excess cytotoxic effect on the cancer cell line HT-29 and DU-145 on the normal cell lines PNT1-A and HEK-293.

KEY WORDS: Synthesis, spectroscopy, carbonic anhydrase inhibitors, sulfonamide, anticancer

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın hazırlanmasında ve tüm aşamasında bilimsel bilgi, beceri ve deneyimleri ile her türlü desteği büyük bir özveri ile gösteren ve çok emeği geçen değerli danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Mustafa DURGUN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Elde edilen bileşiklerin kanser hücreleri üzerindeki Sitotoksisite etkilerini inceleyen Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. İsmail KOYUNCU'ya teşekkür ederim. Tez çalışmalarım boyunca teşvik edip, desteklerini benden esirgemeyen sevgili aileme de tüm kalbimle teşekkür ederim.

Ayrıca bize bu çalışmamız da maddi olarak destekte bulunan HÜBAK' a teşekkürlerimi sunuyorum.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. hCA II'nin aktif kısmının uygun geometrik şekli 4
Şekil 2.2. Karbonik anhidraz inhibitör mekanizmasının şematik gösterimi (A: Tetrahedral Yapı – Yerdeğiştirme; B: Trigonal-bipramit Yapı – Katılma) 6
Şekil 3.1. MMH_1 bileşiğinin sentezi. 12
Şekil 3.2. H_1 bileşiğinin sentezi 13
Şekil 3.3. H_2 bileşiğinin sentezi 14

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 4. 1. Bileşiklerin hücreler üzerindeki IC_{50} (µg/ml) değerleri. 22

SİMGELER DİZİNİ

LC-MS	Sıvı Kramotografisi - Kütle Spektroskopisi
THF	Tetra Hidrofuran
$CHCl_3$	Kloroform
CH_2Cl_2	Diklorometan
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
FT-IR	Infrared Spektroskopisi
GİB	Göz İçi Basıncı
hCA	Human Carbonic Anhydrase
IC_{50}	Enzimin %50'sini İnhibe Eden İnhibitörün Molar Konsantrasyon
KAE	Karbonik Anhidraz Enzimi
KAİ	Karbonik Anhidraz İnhibitör
PABA	Para Amino Benzoik Asit
TLC	Thin Layer Chromatography (İnce Tabaka Kromatografisi)
TEA	Tri Etil Âmin

1. GİRİŞ

Sülfonamitler, $-SO_2NH_2$ grubu içeren organik bileşikler olup, antibakterial aktiviteye sahip, antimikrobiyal özellik gösteren bileşiklerdir (Domagk, 1935). Sülfonamidlerin keşfi kemoterapötik ajanların en ilginç döneminin başlangıcı olmuştur. (Cribb ve ark., 1996).

1935 yılında prontosil adlı boyanın in vivo olarak aktif bir bileşik olan süfanilamid'e metabolize olduğu ve bu aktif bileşiğin farelerdeki streptokok enfeksiyonlarını önlediği bulunmuştur. Böylece sülfonamidler insanlarda sistemik bakteriyel enfeksiyonların önlenmesi veya tedavisi için kullanılan ilk kemoterapötikler olma ünvanını almışlardır (Carey, 2003). 1935 yılından bugüne kadar, biyolojik aktivite özelliğinin iyileştirilmesi amacına yönelik olarak, daha etkili ve daha az toksisite olan çeşitli türevde sülfonamitler sentezlenmiştir.

80 yılı aşkın bir süre önce prontosil kullanıma sunulduğundan beri sülfat ilaçları geniş bir spektrumdaki mikrobiyal dezesyonları tedavi etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Sülfonamid grubu, biyolojik açıdan aktif moleküllerde bulunan bir farmakofor olarak düşünülmektedir. $-SO_2NH_2$ fonksiyonel grubuna farklı grup ve sübstitüentler takılarak elde edilen yeni sülfonamitler farklı enzimler için inhibitör özelliği göstermekte ve birçok hastalığın tedavisi için kullanılmaktadır. Örnek olarak, karbonik anhidraz inhibitörleri olarak asetazolamit, dorzolamit bileşikleri (Becker, 1954; Maren, 1995), HIV-I *aspartil proteas* inhibitörü olan ve AIDS hastalığının tedavisinde kullanılan Amprenavir bileşiği (Adkins ve Faulds, 1998), Romatoid artrit (eklem rahatsızlığı) tedavisinde kullanılan Celecoxib bileşiği (Penning ve ark., 1997) halen ilaç olarak (sülfonamit türevleri halinde) kullanılmaktadır. Ayrıca sülfonamit türevleri bakteriyel enfeksiyonlar, hipertansiyon ve gut önlenmesi ve tedavisinde, antitümör, ağrı kesici, epilepsi, antifungal, antiülser, diüretik ve nörolojik rahatsızlıklarda ilaç ve antibiyotik olarak halen kliniklerde kullanılmaktadır (Supuran ve Scozzafava, 2001; Brzozowski ve ark., 2011; Rami ve

ark., 2011; Isık ve Özdemir Kocak, 2006). Bu bileşikler, aynı zamanda önemli bir sitosolik izoenzim I ve II inhibitörleridir (Pastorekova, 2004).

Yapılan bu çalışmada; öncelikle, sülfanilamit (4-Aminobenzensülfonamit) ile 2-Bromopropionil bromit'in reaksiyonu sonucu 2-bromo-N-(4-sülfamoilfenil)propanamit **(MMH_1)** bileşiği sentezlenmiştir. Daha sonra, sentezlenen 2-bromo-N-(4-sülfamoilfenil)propanamit **(MMH_1)** bileşiği ile tiyomorfolin ve 1-Etilpiperazin reaksiyona sokularak sırasıyla, N-(4-sulfamoilfenil)-2-tiomorfolinopropanamit **(H_1)** ve 2-(4-ethilpiperazin-1-yl)-N-(4-sulfamoilfenil)propanamit **(H_2)** bileşikleri sentezlenmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapıları FT-IR, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, Kütle spektroskopisi ve elementel analiz yöntemleriyle aydınlatılmıştır. Ayrıca, Pozitif kontrol olarak kullanılan kemoterapik madde 5-Fu (5- florourasil) ve elde edilen bileşiklerin PC3 *(İnsan Prostad Kanseri Hücre Hattı),* HT-29 *(İnsan Kolon Kanser Hücre Hatları),* HeLa *(İnsan Servikal (Rahim Ağzı) Kanser Hücre Hatları),* DLD-1 *(İnsan Kolon Kanser Hücre Hatları),* ECC-1 *(İnsan Rahim İçi Kanser Hücre Hatları),* DU-145 *(İnsan Prostad Kanseri Hücre Hattı),* PNT1-A *(Normal Prostad Epitel Hücre Hattı),* HEK-293 *(Normal İnsan Emriyonik Böbrek Hücre Hattı) üzerindeki* sitotoksik etkisi MTT metoduyla ölçülmüştür.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Sülfonamitler, bakteri enfeksiyonlarını tedavi etmede kullanıldıktan sonra, daha iyi biyolojik aktivite göstermesine yönelik olarak çeşitli sülfonamit türevleri sentezlenmiştir. -SO_2NH_2 fonksiyonel grubunu içeren yeni nesil sülfonamitler farklı alanlarda biyolojik özellik göstermektedir (Domagk, 1935).

Sülfonamit türevleri karbonik anhidraz enziminin etkisini düşürerek, göz içi basıncın azalmasına yardımcı olur. İlk karbonik anhidraz inhibitörü olarak sülfonamit türevi olan sülfanilamit bileşiğinin Mann ve Keilin (1940) tarafından kullanılması hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde kullanılan kapsamlı bir ilaç topluluğunun gelişmesine yol açmıştır.

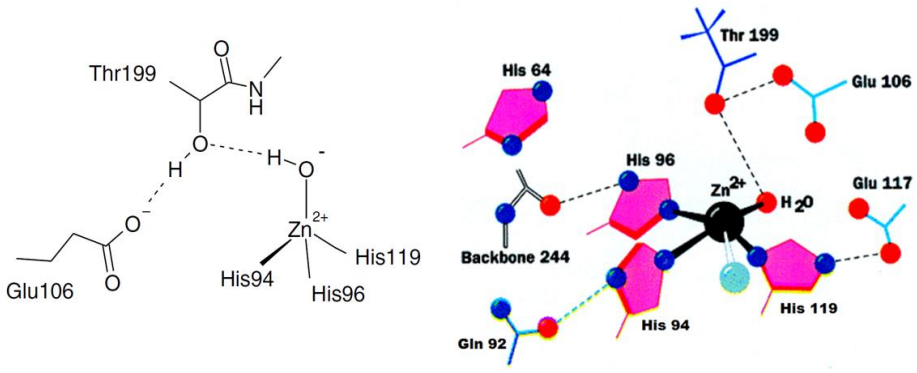
Şu anda kliniklerde karbonik anhidraz inhibitörü olarak kullanılan asetazolamit ve dorzolamit sülfonamit türevleridir. Ayrıca AIDS hastalığının tedavisinde kullanılan Amprenavir bileşiği (Adkins ve Faulds, 1998), Romatoid artrit (eklem rahatsızlığı) tedavisinde kullanılan Celecoxib bileşiği (Penning ve ark., 1997) halen ilaç olarak (sülfonamit türevleri halinde) kullanılmaktadır. Ayrıca sülfonamit türevleri antitümör, ağrı kesici, epilepsi ve nörolojik rahatsızlıklarda ilaç, pozitron emisyon tomografisi ve manyetik rezonans belirlenmesinde diagnostik teşhis metaryali, antiülser, diüretik ilaçların gelişmesinde yol gösterici ve antibiyotik olarak halen kliniklerde kullanılmaktadır. Tümor tedavisinde de halen klinik denemelerde sülfonamit türevleri olan asetazolamit, methazolamit, ethoxazolamit, diklorofenamit, dorzolamit ve brinzolamit kullanılmaktadır (Supuran ve Scozzafava, 2001; Isık ve Özdemir Kocak, 2006; Rami ve ark., 2011). Sülfonamitler, antibakteriyal ajanlar olarak dünyada çok yaygın kullanılmaktadır. Ayrıca sentezlenmiş olan sülfonamit türevlerinin kompleksleri de yapılmıştır. Bu konu ile de ilgili çalışmalar literatürde mevcuttur (Arslan 2001; Ozbek ve ark., 2007).

2.2. Karbonik Anhidraz Enzimi

Karbonik anhidraz (CA, EC 4.2.1.1) enzimi ilk defa 1933 yılında Roughton ve Meldrum tarafından insan eritrositlerinde bulunmuştur. CO_2 nin katalitik hidratasyonundan ve dehidratasyonundan sorumlu olup, CO_2 ve H_2CO_3 veya ortamın pH'sına göre HCO_3^- ve CO_3^{2-} iyonları arasında dönüşümleri katalizleyen bir enzimdir Karbonik anhidraz enzimi Zn(II) tipi enzimlerinden olup, CO_2 nin hidratasyonunda çift yönlü etki yapar ve CO_2' yi bikarbonat iyonuna dönüştürür (Denklem 2.1) (Maren, 1967; Coleman, 1998).

$$CO_2 + H_2O \overset{CAE}{\rightleftharpoons} H_2CO_3 \overset{CAE}{\rightleftharpoons} HCO_3^- + H^+ \qquad (2.1)$$

İnsanları da 16 farklı karbonik anhidraz izoenzimi tespit edilmiş ve bu izoenzimlerin hücre içindeki yerleşimlerine göre CA, I, II, III, VII ve XIII olmak üzere beş tanesi sitozoliktir. CA-IV, CA-IX, CA XII ve CA XIV ise membrana bağlıdır. CA-VA ve VB mitokondriyal, CA-VI tükürük ve süt de salgılanır ve üç tanesi nonkatalitiktir (VIII, X, XI) (Supuran ve Scozzafava, 2001, 2007). hCA II'nin aktif kısmının uygun geometrik şekli Şekil 2.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. hCA II'nin aktif kısmının uygun geometrik şekli

hCA IX, hCA XII, hCARP VIII gibi bazı izoenzimler, onkojenez (tümör oluşumu) ve tümör ilerlemesinde rol almakta, tümörlerde çok bol miktarda bulunmaktadır. Rahim boynu, göğüs, mesane ve küçük olmayan hücreli akciğer

kanserlerinde, hCA IX ve hCA XII enzimlerinin etkisiyle (asitlenmesi sonucu), kanserli hücrelerin bulundukları doku dışında doğrudan ya da kan-lenf damarlarıyla başka bölgelere sıçramaktadır. Ayrıca bu enzimler mide-bağırsak mukozası ve mide-bağırsak ile ilgili dokularda da mevcuttur (Cecchi ve ark., 2004; Supuran ve Scozzafava, 2001, 2007).

2.3. Karbonik Anhidraz İnhibitörleri

Karbonik anhidraz enzimi, organizmanın asit–baz dengesinin düzenlenmesinde önemli rol üstlenir. Bu dengenin bozulduğu durumlarda, örneğin göz içi tansiyonunda, tümör oluşumu ve ilerlemesinde, karbonik anhidraz enzim aktivitesine inhibitörler ile müdahale edilerek enzim aktivitesini azaltmak sıklıkla uygulanan bir tedavi yöntemidir (Supuran ve Scozzafava, 2001, 2007; Lindskog, 1997).

Karbonik anhidraz inhibitörleri; trigonal bipramit yapı (enzimin metal kısmıyla kompleks yapmış anyonlar) ve tetrahedral yapı (çinko ligandı tarafından sübstitüe edilmesiyle enzimin Zn(II) iyonuna bağlanan dallanmamış sülfonamitler) şeklinde iki sınıfta incelenebilir (Şekil 2.7.). Sülfonamit grubunun iyonik yapı hali (SO_2NH^-), azot atomu üzerinden karbonik anhidraz izoenziminin Zn(II) iyonuna tetrahedral yapı ile bağlanmaktadır (Durgun, 2014).

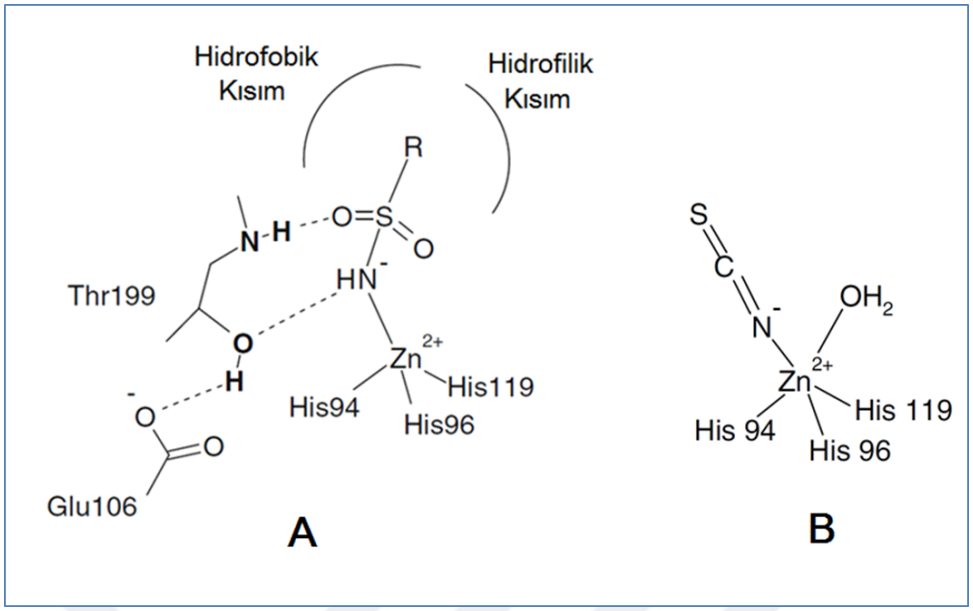
Aşağıdaki denklemde görüldüğü gibi, tetrahedral yapıda yer değiştirme reaksiyonu olurken, trigonal-bipramit yapıda katılma reaksiyonu gerçekleşmektedir (Supuran ve Scozzafava, 2001, 2007; Lindskog, 1997).

$$\mathbf{E\text{-}Zn^{+2}—OH_2 \quad + \quad I \quad \rightleftharpoons \quad E\text{-}Zn^{+2}—I \quad + \quad H_2O}$$

(Tetrahedral Yapı – Yerdeğiştirme)

$$\mathbf{E\text{-}Zn^{+2}—OH_2 \quad + \quad I \quad \rightleftharpoons \quad E\text{-}Zn^{+2}—OH_2(I)}$$

(Trigonal-bipramit Yapı – Katılma)



Şekil 2.2. Karbonik anhidraz inhibitör mekanizmasının şematik gösterimi (A: Tetrahedral Yapı – Yerdeğiştirme; B: Trigonal-bipramit Yapı – Katılma)

Durgun (2004) yaptığı çalışmada, 4-(3-metil piperazinopropanoilamino) benzensülfonamit, 4-(3-morfolinopropanoilamino)benzensülfonamit, 4-(3-pirolidinopropanoilamino)benzensülfonamit ve 4-(3-metilpiperidino propanoilamino) benzensülfonamit bileşiklerini sentezlemiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapıları aydınlatılmış ve bölme katsayısı, sudaki çözünürlükleri gibi çeşitli fiziksel özellikleri de incelenmiştir. Türkmen ve ark. (2015) yaptığı çalışmada, sülfanilamit ve asetazolamit türevleri sentezlenmiş ve insan karbonik anhidraz izoformları: sitosolik izoenzim hCA I ve II, ayrıca, transmembran tümör-bağlantılı izoenzim hCA IX karşı inhibitör aktiviteleri araştırılmıştır. En iyi sonuçları azetazolamit türevleri göstermiştir.

Durgun ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, sülfanilamit ve 4-(2-aminoetil)benzensülfonamit ile benzaldehit türevlerinin kondensazyon reaksiyonu sonucu imin sülfonamit türevleri sentezlenmiştir. İmin bileşiklerinin $NaBH_4$ ile indirgenme reaksiyonu sonucu amin sülfonamit türevleri elde edilmiştir. Bileşiklerin yapıları elementel analiz, spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmıştır. Sentezlenen bileşikler, insan karbonik anhidraz izoformları: sitosolik izoenzim hCA I ve II, ayrıca, transmembran tümör-bağlantılı izoenzim hCA IX ve XII karşı inhibitör aktiviteleri araştırılmıştır. Genellikle yeni amin bileşikleri, imin bileşikleri ve

kliniklerde kullanılan bileşikler ile kıyaslandığında daha yüksek inhibitör özelliği göstermiştir (Durgun, 2014; Durgun ve ark., 2015 ve 2016).

Carta ve ark. (2009), sülfanilamit veya metanilamit'in fenol veya amin türevlerinin reaksiyonu sonucu bir seri diazenilbenzensülfonamit bileşikleri sentezlemişler ve karbonik anhidraz izoenzimlerine (hCA I, hCA II, hCA IX ve hC XII) karşı inhibitör etkinliklerini incelemişlerdir. Elde ettikleri bu bileşikler sitozolik izoformlardan hCA I ve hCA II' ye karşı orta veya düşük dereceli inhibitör aktivitesi gösterirken transmembrana bağlı tümör bağlantılı izoformlar olan hCA IX ve hCA XII' ye karşı çok iyi (Ki: 3.5-63 nM) aktivite göstermişlerdir. Ayrıca bu inhibitörlerin hCA IX' un hCA II üzerindeki seçicilik oranlarına bakıldığında (15-104) bu bileşiklerin tümör bağlantılı izoenzim üzerinde seçici olduğu görülmektedir.

Mete ve ark. (2016) tarafından bir dizi yeni tiyenil ikameli pirazolin benzensülfonamit sentezlenmiş ve karbonik anhidraz (CA, EC 4.2.1.1) inhibitör aktiviteleri hCAI ve hCA II insan (h) izoformları üzerinde test edilmiştir. Bu sülfonamitlerin inhibisyon sabitleri (Ki) hCA I için 232.16-637.70 nM aralığında ve hCA II için 342.07-455.80 nM aralığında idi. Bu bileşiklerin birçoğu, klinik olarak kullanılan bir ilaç olan referans sülfonamit olan asetazolamid ile kıyaslanabilir bir inhibisyon göstermiştir.

2.4. Kanser

Kanser, hücre veya bir grup hücrenin kontrolsüz büyüme, istila ve bazen metastazı olduğu hastalık sınıfıdır. Kanser, insan için risk oluşturur ve her yaştan insanı etkiler. 2007 yılında insan ölümlerinin yaklaşık % 13'üne (7,6 milyon) kanser neden olmuştur. Uluslararası Kanser Araştırma Enstitüsü' nün 2012 verilerine göre dünya çapında 14,1 milyon yeni kanser vakası, 8,2 milyon kansere bağlı ölüm vakası, 32,6 milyon kanser hastası bulunmaktadır. Yeni kanser vakalarının% 57'sinde (8 milyon), 5 yıllık kanser vakalarının% 65'inde (5,3 milyonu) ve 5 yıllık yaygın kanser vakalarının ise% 48'inde (15,6 milyonu) az gelişmiş bölgelerde meydana gelmiştir (URL-1).

Mohamed ve ark. (2008) tarafından yapılan çalışmada; mikrodalga yöntemiyle bir seri sülfanilamit Schiff bazı bileşiği sentezlenmiş ve saflıkları erime noktası ve HPLC ile doğrulanmış ve kimyasal yapılar FT-IR, UV ve ^{1}H ve ^{13}C-NMR spektroskopik tekniklerle belirlenmiştir. Sentezlenen bul bileşiklerin antitümör etkileri insan meme ve akciğer kanseri hücreleri üzerinde hücre sayım testi ile taranmıştır. Bazı test edilen bileşikler, 90 ila 166 μM IC_{50} aralığı ile meme kanserine (MCF-7) karşı kuvvetli ve seçici bir etki göstermiştir. Geniş spektrumlu aktivite ile ilgili olarak, bazı bileşikler, 96 ila 140 μM IC_{50} aralığında insan göğsü ve insan akciğer hücrelerine karşı kuvvetli antitümör aktivite göstermiştir.

Bano ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada, yeni 2-pirazolin bileşikleri uygun kalkon / flavanonların 4-hidrazinonbenzensülfonamid hidroklorid ile reaksiyona sokulmasıyla sentezlenmiş ve anti-enflamatuar ve anti-kanser aktiviteleri incelenmiştir. Bazı bileşikler, test edilen 60 insan tümör hücre hatlarına karşı belirgin antitümör aktivite sergilemişlerdir. Spesifik olarak, bileşik 2f, lösemi kanserinde MOLT-4 (1.94), SR (1.28), küçük hücreli dışı akciğer kanserinde EKVX (1.88), kolon kanserinde COLO 205 (1.69) 2 μM'den düşük GI50 değerleri ile umut verici anti-proliferatif etkinlik sergilemiştir.

Mirian ve ark. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, yeni sentezlenmiş sülfonamit türevlerinin sitotoksik etkileri, HeLa, MDA-MD-468 ve MCF-7 kanser hücre hatları üzerinde MTT yöntemi ile araştırılmıştır. Test edilen sülfonamitlerin tümü, 100-1000 μm konsantrasyon aralığında HeLa ve MCF-7 hücreleri üzerinde sitotoksik etki göstermiştir. Bu sülfonamidler, 10-100 μm konsantrasyonda MDA-MB-468 hücre hattına karşı sitotoksite etki göstererek ve hücre canlılığını % 50'den daha azaltmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, MDA-MB-468 <30 μm; MCF-7 <128 μm ve HeLa <360 μm. Sonuç olarak, bazı test edilen sülfonamidlerin meme kanseri hücreleri, MDA-MB-468'e karşı iyi sitotoksik etkileri olmuştur.

Ghorab ve ark., (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, sülfonamit grubu içeren bazı yeni tiyazolo [4,5-b] piran, tiyazolo [4,5-b] pirano [2,3-d] pirimidin türevleri sentezlenmiştir. Bu bileşiklerin yapıları, CA inhibe edici anti kanser ilaçları

için genel farmakoforik gerekliliklere uygundur. Yeni sentezlenen bileşikler, insan meme kanseri hücre hattına (MCF7) karşı in vitro anti kanser aktivitesi açısından değerlendirilmiştir. Taranan bileşiklerin çoğu referans ilaç olarak doksorubisin ile karşılaştırıldığında daha yüksek sitotoksik aktiviteler göstermiştir.

Renve ark. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, bir dizi N-sülfonil-3,7-diokso-5p-kolan-24-amid, ursodeoksikolik asit türevleri, ursodeoksilkolik asitten başlayarak dokuz aşamada sentezlenmiştir. Hedef bileşimlerin in vitro antitümör aktivitesi HCT-116, MCF-7, K562 ve SGC-7901 hücre hatları üzerinde değerlendirilmiştir. Farmakolojik sonuçlar, hazırlanan bileşiklerin çoğunun, HCT-116, MCF-7 ve K562 hücre hatlarına karşı mükemmel seçici sitotoksisite sergilediğini göstermiştir.. Özellikle, bazı bileşikler insan kanser hücre hatları üzerinde yüksek inhibisyon aktivitesi göstermiştir (IC_{50}: 2.39-9.34 μM). Tersine, tüm bileşikler genellikle SGC-7901'e karşı aktiflik göstermemiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan araç ve gereçler

- Çeşitli ebatlarda balonlar, huniler, geri soğutucular, erlenmayerler, değişik soğutucular, damlatma beherler, büretler, kılcal borular, hunileri, ayırma hunileri.
- Manyetik ısıtıcılı karıştırıcılar.
- Soğutucu olarak su buz banyosu.
- Sıcaklık ölçümleri için dijital termometre (-10 ile 200 ^{o}C arası).
- İnce Tabaka Kromotografisi (TLC) için TLC Aliminyum Plakalar DC-Alufolien 60F 254 TLC (Merck).

3.1.2. Kullanılan kimyasallar

- **Sülfanilamit:** Bileşiklerin sentezinde baslangıç maddesi olarak kullanıldı (Sigma-Aldrich).
- **2-Bromopropionil bromit:** Yeni bileşiklerin sentezinde baslangıç maddesi olarak kullanıldı(Sigma-Aldrich).
- **Tiomorpholine:** Bileşiklerin sentezinde son basamakta Kullanıldı (Sigma-Aldrich).
- **1-Etil Piperazin:** Bileşiklerin sentezinde son basamakta Kullanıldı (Sigma-Aldrich).
- **Etil alkol:** Kristallendirme aşamalarında kullanıldı (Merck).
- **Metil alkol:** TLC analizlerinde çözücü olarak kullanıldı (Merck).
- **Tetrahidrofuran (THF):** Sentez basamaklarında çözücü olarak kullanıldı (Merck).
- **Etilasetat:** TLC analizlerinde ve ürünlerin saflastırılmasında kullanıldı (Merck).

- **Dietileter:** Bölme katsayısı ölçümlerinde (Peter) ve sentezlenen maddelerin kristallendirilmesinde kullanıldı (Merck).
- **Trietilamin (TEA):** Baz olarak kullanıldı (Sigma-Aldrich).
- **Piridin:** Baz olarak kullanıldı (Sigma-Aldrich).
- **Diklormetan (DCM):** TLC anlizlerinde çözücü olarak kullanıldı (Merck).
- **Hekzan:** TLC anlizlerinde çözücü olarak kullanıldı (Ak Kimya).

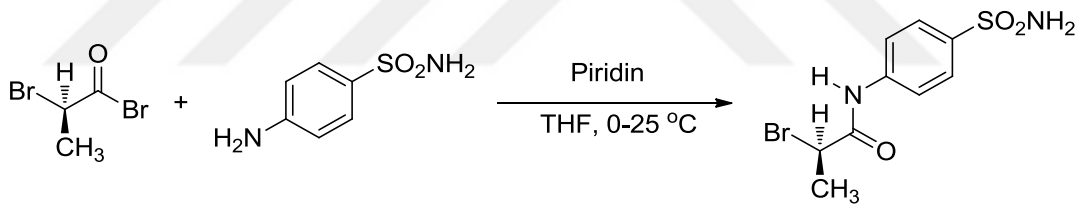
3.1.3. Kullanılan cihazlar

- **^{1}H NMR:** Agilent 400 MR, 400 MHz NMR Spektrometre Harran Üniversitesi Merkezi Laboratuarı.
- **^{13}C NMR:** Agilent 400 MR, 100 MHz NMR Spektrometre Harran Üniversitesi Merkezi Laboratuarı.
- **İnfrared Spektrometresi:** Perkin Elmer Spektrum Two UATR IR spektrometre.
- **Elementel Analiz:** CHNS-932 LECO İnönü Üniversitesi Bilmsel ve Teknoloji Merkezi
- **Kütle Spektrometresi:** Shimadzu LCMS 8040 Model Sıvı Kromatografi-3'lü Quadropole Kütle Spektrometresi (LC–MS /MS) Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi.
- **Erime Noktası Tayin Cihazı:** Stuart Scientific Melting Point Apparatus.
- **Dönerli Buharlaştırıcı:** Heidolph Laborota 4003 Rotary Evaporator
- **UV Lambası:** Camag UV-Lamp (254-366 nm).
- **Hassas Terazi:** Sartorius CP 224 S.

3.2.Yöntem

3.2.1. 2-bromo-N-(4-sulfamoilfenil)propanamit (MMH_1) sentezi

2-bromo-N-(4-sülfamoilfenil)propanamit **(MMH_1)** bileşiğini sentezlemek için; Kuru tetrahidrofuran (40 mL) içerisinde çözünmüş 2-Bromopropionil bromit (2.15 g, 10.00 mmol) (3.07 g, 10.00 mmol) bileşiği, kuru tetrahidrofuran (30 mL) içerisinde çözülmüş sülfanilamit (1.72 g, 10.00 mmol) ve piridin (1.19 g, 15.00 mmol) çözeltisine damla damla 1 saat boyunca 0 ^{o}C'de ilave edildi. İlave işlemi bittikten sonra reaksiyonun oda sıcaklığına gelmesi beklendi. Daha sonra reaksiyon oda sıcaklığında 20 saat boyunca devam ettirildi. Yapılan TLC (DCM/Methanol) analizinde reaksiyonun tamamlandığı görüldü. Çöken amin tuzu süzülerek ayrıldı. Çözeltideki çözücü evaporatörde uzaklaştırıldı. Oluşan yağımsı ürün $NaHCO_3$ (2%) ve HCl (5%) ile yıkandı. Daha sonra oluşan ürün etanolde kristallendirildi ve beyaz ürün elde edildi.

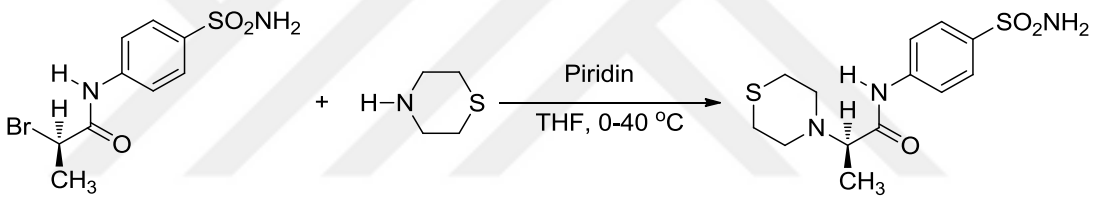


Şekil 3.1. MMH_1 bileşiğinin sentezi

Verim: (70%); **E.N.:** 217-219 ˚C; $C_9H_{11}BrN_2O_3S$ (307.16 g/mol) **Hesaplanan (%):** C, 35.19; H, 3.61; N, 9.12; S, 10.44. **Bulunan (%):** C, 35.10; H, 3.67; N, 9.19; S, 10.35. **FT-IR (KBr pellets, cm^{-1}):** 3333, 3207 (NH_2), 3129 (Amit-N-H), 3071 (Ar-C-H), 2927, 2980 (Alifatik-C-H), 1683 (Amit-C=O), 1331 (asimetrik), 1160 (simetrik) (S=O), 541 (C-Br); **^{1}H-NMR (DMSO-d_6, TMS, 400 MHz, δ ppm):** 10.66 (1H, s, H-N-C=O), 7.71-7.77 (4H, m, *J*= 8 Hz, -Ar-H), 7.27 (2H, s, SO_2NH_2), 4.66-4.71 (1H, q, *J*= 8 Hz, Br-CH-), 1.72-1.74 (3H, d, *J*= 8 Hz, -CH_3); **^{13}C-NMR (DMSO-d_6, TMS, 100 MHz, δ ppm):** 168.44 (C=O), 141.89 (Ar-C-NH-), 139.37 (Ar-C-SO_2NH_2), 127.22 (Aromatik), 119.39 (Aromatik), 44.56 (CH-Br), 21.64 (CH_3); **LC-MS/MS Mass(m/z):** 308.1 [M+H].

3.2.2. N-(4-sulfamoilfenil)-2-tiyomorfolinopropanamit (H_1) sentezi

N-(4-sulfamoilfenil)-2-tiomorfolinopropanamit **(H_1)** bileşiğini sentezlemek için; Kuru tetrahydrofuran (30 mL) içerisinde çözünmüş 2-bromo-N-(4-sülfamoilfenil)propanamit **(MMH_1)** (3.07 g, 10.00 mmol) bileşiği, kuru tetrahydrofuran (30 mL) içerisinde çözülmüş tiyomorfolin (2.06 g, 20.00 mmol) ve piridin (1.19 g, 15.00 mmol) çözeltisine damla damla 30 dakika boyunca 0 ^{o}C'de ilave edildi. İlave işlemi bittikten sonra reaksiyonun oda sıcaklığına gelmesi beklendi. Daha sonra reaksiyon geri soğutucu altında 48 saat boyunca 40 ^{o}C'de devam ettirildi. Yapılan TLC (DCM/Metanol) analizinde reaksiyonun tamamlandığı görüldü. Çöken amin tuzu süzülerek ayrıldı. Çözeltideki çözücü evaporatörde uzaklaştırıldı. Oluşan yağımsı ürün etanol/metanol (5/4) da kristallendirildi ve beyaz ürün elde edildi.

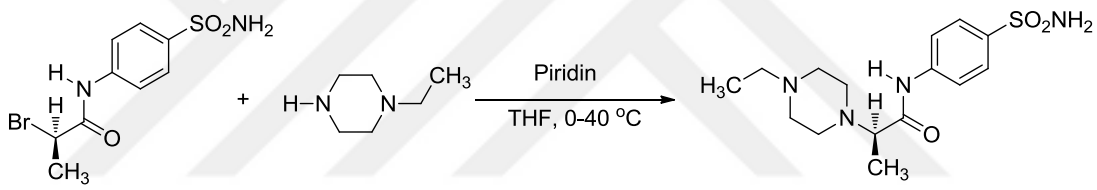


Şekil 1. H_1 bileşiğinin sentezi

Verim: (80%); **E.N.:** 186-187 ˚C; $C_{13}H_{19}N_3O_3S_2$ (329.44 g/mol) **Hesaplanan (%):** C, 47.40; H, 5.81; N, 12.76; S, 19.47. **Bulunan (%):** C, 47.32; H, 5.89; N, 12.88; S, 19.33; **FT-IR (U-ATR, cm^{-1}):** 3330, 3292 (NH_2), 3190 (Amit-N-H), 3105 (Ar-C-H), 2987-2819 (Alifatik-C-H), 1661 (Amit-C=O), 1328 (asimetrik), 1148 (simetrik) (S=O); **^{1}H-NMR (DMSO-d_6, TMS, 400 MHz, δ ppm):** 10.06 (1H, s, -CONH), 7.82-7.84 (2H, d, *J*=8 -Ar-H), 7.75-7.77 (2H, d, *J*=8, -Ar-H), 7.26 (2H, s, SO_2NH_2), 2.79-2.77 (4H, t, *J*=8, -C$\underline{H_2}$-N-C$\underline{H_2}$), 3.38-3.43 (1H, q, -N-C$\underline{H}$-CH_3), 2.67-2.69 (4H, m, -C$\underline{H_2}$-S-C$\underline{H_2}$), 1.15-1.17 (3H, d, *J*=4 Hz -C$\underline{H_3}$); **^{13}C-NMR (DMSO-d_6, TMS, 100 MHz, δ ppm):** 172.16 (C=O), 142.04 (Ar-$\underline{C}$-NH-), 138.91 (Ar-$\underline{C}$-SO_2NH_2), 127.04 (Aromatik), 119.46 (Aromatik), 64.55 (CH_3-$\underline{C}$H-N), 51.78 ($\underline{C}H_2$-N-$\underline{C}H_2$), 27.92 ($\underline{C}H_2$-S-$\underline{C}H_2$), 11.37 ($\underline{C}H_3$); **LC-MS/MS Mass(m/z):** 330.10 [M+H].

3.2.3. 2-(4-etilpiperazin-1-yl)-N-(4-sulfamoilfenil)propanamit (H_2) sentezi

2-(4-ethilpiperazin-1-yl)-N-(4-sulfamoilfenil)propanamit **(H_2)** bileşiğini sentezlemek için; Kuru tetrahydrofuran (30 mL) içerisinde çözünmüş 2-bromo-N-(4-sülfamoilfenil)propanamit **(MMH_1)** (3.07 g, 10.00 mmol) bileşiği, kuru tetrahydrofuran (30 mL) içerisinde çözülmüş 1-Etilpiperazin (2.28 g, 20.00 mmol) ve piridin (1.19 g, 15.00 mmol) çözeltisine damla damla 30 dakika boyunca 0 ^oC'de ilave edildi. İlave işlemi bittikten sonra reaksiyonun oda sıcaklığına gelmesi beklendi. Daha sonra reaksiyon geri soğutucu altında 72 saat boyunca 45 ^oC'de devam ettirildi. Yapılan TLC (DCM/Methanol) analizinde reaksiyonun tamamlandığı görüldü. Çöken amin tuzu süzülerek ayrıldı. Çözeltideki çözücü evaporatörde uzaklaştırıldı. Oluşan yağımsı ürün etanol/metanol (5/4) da kristallendirildi ve beyaz ürün elde edildi.



Şekil 3.3. $2H_2$ bileşiğinin sentezi

Verim: (70%); **E.N.:** 221-222 ˚C; $C_{15}H_{24}N_4O_3S$ (340,44 g/mol) **Hesaplanan (%):**C, 52.92; H, 7.11; N, 16.46; S, 9.42; **Bulunan (%):** C, 52.83; H, 7.17; N, 16.57; S, 9.38; **FT-IR (U-ATR, cm^{-1}):** 3297, 3252 (NH_2), 3180 (Amit-N-H), 3043 (Ar-C-H), 2984-2790 (Alifatik-CH_2), 1694 (Amit-C=O), 1328 (asimetrik), 1159 (simetrik) (S=O); **^{1}H-NMR (DMSO-d_6, TMS, 400 MHz, δ ppm):** 10.06 (1H, s, -CONH), 7.75-7.82 (4H, m, J=8, -Ar-H), 7.26 (2H, s, SO_2NH_2), 2.40 -2.54 (8H, m, N-CH_2-CH_2-N), 3.24-3.29 (1H, q, CH_3-CH-N); 2.28-2.33 (2H, q, CH_3-CH_2-N); 1.17-1.18 (3H, d, *J*=4 Hz CH_3-CH); 0.96-0.99 (3H, t, *J*=4 Hz CH_3-CH_2-N); **^{13}C-NMR (DMSO-d_6, TMS, 100 MHz, δ ppm):** 172.37 (C=O), 142.02 (Ar-C-NH-), 138.87 (Ar-C-SO_2NH_2), 127.06 (Aromatik), 119.40 (Aromatik), 64.04 (CH_3-CH-N), 53.02 (CH_2-N(CH_2CH_3)-CH_2), 52.04 (CH_2-N($CHCH_3$)- CH_2), 49.50 (CH_3-CH_2-N); 12.92 (-CH-CH_3); 12.49 (CH_3-CH_2-N); **LC-MS/MS Mass(m/z):** 341.10 [M+H].

3.2.4. Biyolojik çalışma

Elde edilen bileşiklerin kanser hücreleri üzerindeki Sitotoksisite etkileri Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. İsmail KOYUNCU tarafından göre yapılmıştır (Durgun ve ark., 2016b).

3.2.4.1. Hücreler ve kültür koşulları

Çalışmada ATCC'den temin edilip stokladığımız; PC3 *(İnsan Prostad Kanseri Hücre Hattı),* HT-29 *(İnsan Kolon Kanser Hücre Hatları),* HeLa *(İnsan Servikal (Rahim Ağzı) Kanser Hücre Hatları),* DLD-1 *(İnsan Kolon Kanser Hücre Hatları),* ECC-1 *(İnsan Rahim İçi Kanser Hücre Hatları),* DU-145 *(İnsan Prostad Kanseri Hücre Hattı),* PNT1-A *(Normal Prostad Epitel Hücre Hattı),* HEK-293 *(Normal İnsan Emriyonik Böbrek Hücre Hattı)* hücre hatları kullanıldı. Hücre hatları %10 FBS ve %1 glutamin ile desteklenmiş DMEM:F12 ve RPMI-1640, besi yerinde çoğaltılır. Bütün hücreler %5 CO_2'li atmosferde 37°C'de inkübe edildi. ATCC'nin tavsiye ettiği şekilde hücreler %0.25 tripsin, %0.03 EDTA karışımı ile kaldırılıp 1:3 oranında olacak şekilde pasajlanarak, kullanılmayan hücreler %95 besi yeri ve %5 DMSO içerecek şekilde hazırlanan hücre dondurma solüsyonu içerisinde önce -80^0C'lik derin dondurucuda kısa süreli veya uzun sureli olarak sıvı azota alınarak saklanır.

3.2.4.2. Bileşiklerin uygulanması ve sitotoksik etkinliklerinin saptanması

Hücreler stoktan açılarak 75 cm^3 flasklara ekilip ve hücreler %80-90 oranında çoğalınca, tripsinizasyon ile kaldırılıp 1x104 hücre/kuyucuk olacak şekilde 96 kuyucuklu steril plaklara ekilir. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda besi yerleri uzaklaştırılıp, yerine 0, 1, 5, 10, 25, 50, 100 ve 200 µM konsantrasyonlarında madde içeren 200 µl besiyeri hücrelere eklenerek 48 saat inkübe edildi.

3.2.4.3. MTT hücre proliferasyon kiti ile sitotoksik etkinin belirlenmesi

MTT hücre proliferasyon kiti kullanılarak bileşiklerin sitotoksik etkileri incelecektir. MTT testi canlı hücrelerdeki metabolik aktiviteyi, hücrelerin mitokondriyal dehidrogenaz enzimi aracılığı ile MTT parçalayarak, çözülebilir formazan tuzları oluşturması prensibine dayanarak yapılmaktadır (Mosmann, 1983). Hücreler stoktan açılarak 25 cm^3 flasklara ekilip, %80-90 oranında dolunca tripsinizasyon ile kaldırılıp 1x104 hücre/kuyucuk olacak şekilde 96 kuyucuklu steril plaklara ekilecek. 24 saatlik süre ardından besi yerleri uzaklaştırılıp ve her bir bileşikler için 0, 1, 5, 10, 25, 50, 100 ve 200 µM olacak şekilde uygulanır ve sitotoksik doz bulunmaya çalışılır. Bileşikler her bir kuyucuğa 200 µl olacak şekilde eklenir ve ardından 48 saatlik inkübasyon süresince %5 CO_2'li atmosferde 37°C'lik etüvde inkübasyona bırakılır. İnkübasyon süresinin ardından kuyucuklardaki besi yerleri çekilip yerine 5 mg/ ml MTT içeren besiyeri eklenir ve ortalama 4 saat inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonunda plaklardaki besiyeri uzaklaştırılır, formazon kristalleri 100 µl DMSO ile çözdürüldükten sonra absorbans değerleri spektrofotometrede 570 nm dalga boyunda ölçülerek kaydedilir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Sentezlenen Maddelerin Spektroskopik Yöntemlerle Açıklanması

4.1.1. 2-bromo-N-(4-sulfamoilfenil)propanamit (MMH_1)

Başlangıç maddesi olarak sülfanilamit kullanılarak 2-bromo-N-(4-sulfamoilfenil)propanamit Bölüm 3.2.1.'de anlatıldığı gibi sentezlenmiş ve aşağıda belirtilen yöntemler kullanılarak karakterize edilmiştir. Elde edilen bileşik DCM/Metil alkol (5/3) çözeltisinde, ince tabaka kromatografi'si (TLC) ile 256 nm ve 366 nm de UV lambası altında kontrol edilmiş ve tek nokta olduğu görülmüştür. Ayrıca, elde edilen bileşik tek erime noktasına da sahiptir. Bileşiklerin elde edilmiş verileri incelendiğinde, elde edilen sonuçlar ile önerilen yapının uyumlu olduğu ve önerilen yapıyı desteklediği görülmüştür (Ek 1-3).

Bu bileşiğin **IR** spektrumu KBr tabletleriyle alınmıştır ve Ek Şekil 1.1'de görülmektedir. Yapıyı destekleyen titreşim bandları şunlardır: 3333 ve 3207 cm^{-1}'de çıkan pikler amin (NH_2) grubundan kaynaklanan gerilmeleridir. 3129 cm^{-1}'deki pik ise amitin N-H pikidir. 3071'de ki pik ise aromatik halkadaki C-H gerilme pikidir. Alifatik C-H gerilmesinden kaynaklanan pikler ise 2927 ve 2980 cm^{-1}'de gözlenmiştir. 1683 cm^{-1}'de amit bandı (-C=O)'dan kaynaklanır. 1331 cm^{-1}'de asimetrik ve 1160 cm^{-1}'de ise simetrik (S=O)'dan kaynaklanan pikler gözlenmektedir. 541 cm^{-1}'de ise C-Br gerilmesinden kaynaklanan pik gözlenmiştir.

(MMH_1) bileşiğinin DMSO içersinde alınmış **^{1}H-NMR** spektrumu Ek Şekil 2.1.'de incelendiğinde 10.66 ppm' de çıkan singlet pikin –CONH grubundaki protondan kaynaklandığı ve 7.71-7.77 ppm'de görülen multiplet pikin aromatik protonlardan kaynaklandığı görülür. Ayrıca 7.27 ppm' de $–SO_2NH_2$ grubundan kaynaklanan bir pik görülmüştür. 4.66-4.71 ppm' deki pik Broma bağlı CH'tan kaynaklanmaktadır. 1.72-1.74 ppm'deki pik ise CH_3 protonlarından kaynaklanmaktadır.

(MMH1) bileşiğinin DMSO içinde **^{13}C NMR** spektrumu Ek Şekil 3.1.'de verilmiştir. Bu spektrum incelendiğinde 168.44 ppm'deki pik CONH grubundaki karbondan kaynaklanır. 141.89 ppm'de aromatik halkadaki -SO2NH2 grubuna göre para konumundaki karbondan kaynaklanmaktadır. 139.37 ppm'deki pik -SO_2NH_2 grubunun bağlı olduğu karbondan dolayı çıkmıştır. Ayrıca aromatik halkadaki 4 karbon atomu iki pik gösterir. Bunlar -SO_2NH_2 tarafında olan 127.22 ppm ve –NH tarafında olan 119.39 ppm de kimyasal kayma verir. 44.56 ppm deki pik CH-Br deki karbondan, 21.64 ppm'deki pik ise metildeki karbondan kaynaklanmaktadır.

4.1.2. N-(4-sulfamoilfenil)-2-tiyomorfolinopropanamit (H_1)

N-(4-sulfamoilfenil)-2-tiyomorfolinopropanamit **(H_1)** bileşiğini sentezlemek için 1. basamakta elde edilen 2-bromo-N-(4-sulfamoilfenil)propanamit **(MMH_1)** ile tiyomorfolin bazik ortamda (piridin) reaksiyona konulmuştur. Sentez işlemleri Bölüm 3.2.2.'de ayrıntılı olarak anlatılmıştır. Elde edilen bileşik DCM/THF (5/3) çözeltisinde, ince tabaka kromatografi'si (TLC) ile 256 nm ve 366 nm de UV lambası altında kontrol edilmiş ve tek nokta olduğu görülmüştür. Ayrıca, elde edilen bileşik tek erime noktasına da sahiptir. Bileşiklerin elde edilmiş verileri incelendiğinde, elde edilen sonuçlar ile önerilen yapının uyumlu olduğu ve önerilen yapıyı desteklediği görülmüştür (Ek 1-4).

(H_1) maddesinin U-ATR ile alınan **IR** spektrumu Ek Şekil 1.2.'de verilmiştir. Gözlenen spektrum değerleri yapıyı desteklemektedir. 3330, 3292 cm^{-1}'deki pikler NH_2 gerilmelerinden kaynaklanan piklerdir. 3190'de çıkan pik ise amit'in N-H pikidir. 3105'te çıkan pikler ise aromatik halkadaki C-H pikleridir. 2987 ve 2819 cm^{-1}'deki pikler ise alifatik C-H'lardan kaynaklanan gerilme pikleridir. 1661 cm^{-1}'deki pik ise amit teki (C=O) gerilme pikidir. 1325 cm^{-1}'deki pik asimetrik, 1148 cm^{-1}'deki pik ise simetrik SO_2 geriliminden kaynaklanan piklerdir.

(H_1) bileşiğinin DMSO içerisinde alınmış **^{1}H NMR** spektrumu Ek Şekil 2.2'de verilmiştir. Spektrum incelendiğinde 10.06 ppm'deki singlet pikin –CONH grubundaki protondan kaynaklandığı görülmektedir. Ayrıca 7.82-7.84 ve 7.75-7.77

ppm arasındaki pikin aromatik protonlardan kaynaklandığı görülmektedir. Aynı şekilde 7.26 ppm'deki pikin ise -SO_2NH_2 grubundaki protonlardan kaynaklandığı belirgin bir şekilde görülmektedir. 2.79-2.77 ppm'de çıkan pik -CH_2NCH_2- grubundaki protonlardan kaynaklanmaktadır. 3.38-3.43 ppm'deki pik ise -N-CH-CH_3 grubundaki C-H' dan kaynaklanmaktadır. 2.67-2.69 ppm'deki pik -CH_2-S CH_2- grubundaki metilenden kaynaklanmaktadır. 1.15-1.17 ppm de görülen pik –CH_3'deki protonlardan kaynaklanmaktadır.

(H_1) bileşiğinin DMSO içerisinde alınmış **^{13}C NMR** spektrumu Ek Şekil 3.2'de verilmiştir Bu spektrum incelendiğinde 172.66 ppm'deki pik –CONH- grubundaki karbondan kaynaklanmaktadır. 142.04 ppm de görülen kimyasal kayma –NH'a bağlanan aromatik halkadaki karbondan kaynaklanmaktadır. 138.91 ppm de ise -C-SO_2NH_2 bağlı olan benzen halakasındaki C dan kaynaklanmaktadır.. 127.04 ppm'deki pik ise benzen halkasındaki -SO_2NH_2 grubuna göre orto konumundaki eş iki karbondan kaynaklanmaktadır. 119.46 ppm'deki pik ise meta konumundaki iki karbondan kaynaklanır. 64.55 ppm'deki pik –CH_3-CH-N grubundaki karbondan kaynaklanmaktadır. 51.78 ppm'deki pik ise -CH_2-N-CH_2- grubundaki karbonlara aittir. 27.91 ppm'deki pik –CH_2-S-CH_2 grubundaki karbonlarda kaynaklanmaktadır. 11.37 ppm de çıkan pik ise –CH_3 protonlarından kaynaklanmaktadır

4.1.3. 2-(4-etilpiperazin-1-yl)-N-(4-sulfamoilfenil)propanamit (H_2)

2-(4-etilpiperazin-1-yl)-N-(4-sulfamoilfenil)propanamit **(H_2)** bileşiğini sentezlemek için 1. basamakta elde edilen 2-bromo-N-(4-sulfamoilfenil)propanamit **(MMH_1)** ile 1-Etilpiperazin bazik ortamda (piridin) reaksiyona konulmuştur. Sentez işlemleri Bölüm 3.2.3.'de ayrıntılı olarak anlatılmıştır. Elde edilen bileşik DCM/THF (5/3) çözeltisinde, ince tabaka kromatografi'si (TLC) ile 256 nm ve 366 nm de UV lambası altında kontrol edilmiş ve tek nokta olduğu görülmüştür. Ayrıca, elde edilen bileşik tek erime noktasına da sahiptir. Bileşiklerin elde edilmiş verileri incelendiğinde, elde edilen sonuçlar ile önerilen yapının uyumlu olduğu ve önerilen yapıyı desteklediği görülmüştür (Ek 1-4).

(H_2) maddesinin U-ATR ile alınan **IR** spektrumu Ek Şekil 1.3.'de verilmiştir. Gözlenen spektrum değerleri yapıyı desteklemektedir. Spektrumda 3292, 3252 cm^{-1} de gözlenen pikler $-SO_2NH_2$ grubundaki N-H gerilme pikleridir. 3180 cm^{-1} çıkan pik amit bandındaki –N-H gerilmesinen ileri gelmektedir. 3043 cm^{-1} de ise aromatik –C-H pikleri gözlenmektedir. Ayrıca alifatik C-H gerilmelerinden kaynaklanan pikler 2984-2790 cm^{-1} arasında gözlenmiştir. 1694 cm^{-1} deki pik amitin –C=O gerilme pikidir. 1328 cm^{-1}'deki pik SO_2 asimetrik gerilimi ve 1159 cm^{-1}'deki pik SO_2 simetrik geriliminden kaynaklanan piklerdir.

(H_2) bileşiğinin DMSO içerisinde alınmış **^{1}H NMR** spektrumu Ek Şekil 2.3'te verilmiştir. Spektrum incelendiğinde 10.06 ppm'de singlet pikin –CONHgrubundaki protondan kaynaklanmaktadır. Ayrıca 7.75-7.82 ppm arasındaki pikin aromatik protonlardan kaynaklandığı görülür. Yine 7.26 ppm'deki pikin ise $-SO_2NH_2$ grubundaki protonlardan kaynaklandığı belirgin bir şekilde görülmektedir. 2.40-2.54 ppm arasındaki pik N-CH_2-CH_2-N grubuna bağlı (–CH_2-) metilen protonlarından kaynaklanır. 3.24-3.29 ppm arasındaki pikler CH_3-$\underline{CH}$-N grubundaki tek protondan kaynaklanmaktadır. 2.28-233 ppm arasındaki pikler –CH_3-$\underline{CH_2}$-N grubundaki N'a bağlı CH_2 protonlarından kaynaklanmaktadır. 1.17-1.18 ppm deki pik metilin protonlarından (C$\underline{H_3}$-CH) kaynaklanır. 0.96–0.99 ppm'deki pik $\underline{CH_3}$-CH_2-N grubundaki protonlardan kaynaklanır.

(H_2) bileşiğinin DMSO içerisinde alınmış **^{13}C NMR** spektrumu Ek Şekil 3.3'te verilmiştir. Bu spektrum incelendiğinde 172.37 ppm'de –CONH- grubundaki karbon piki görülmektedir. 142.02 ppm'de benzen halkasına –NHCO- grubunun bağlı olduğu karbondan, $-SO_2NH_2$ grubunun bağlı olduğu karbon piki ise 138.87 ppm'de çıkmıştır. 127.06 ppm'deki pik ise benzen halkasındaki $-SO_2NH_2$ grubuna göre orto konumundaki eş iki karbondan kaynaklanmaktadır. 119.40 ppm'deki pik ise meta konumundaki iki karbondan kaynaklanır.64.04 ppm'deki pik CH_3-$\underline{CH}$-N grubunun bağlı olduğu karbondan kaynaklanmaktadır.53.02 ppm'deki pik –$\underline{CH_2}$-N(CH_2CH_3)-$\underline{CH_2}$ grubundaki karbonlara aittir. 52.04 ppm'deki pik yine $\underline{CH_2}$-N($CHCH_3$)-$\underline{CH_2}$ grubundaki metilin bağlı bulunduğu azot atomuna komşu karbonlardan kaynaklanır. CH_3-$\underline{CH_2}$-N grubundan kaynaklanan pik 49.50 ppm de görülmektedir. –CH-$\underline{CH_3}$

grubundan kaynaklanan pik 12.92 de görülürken, $\underline{CH_3}$-CH_2-N grubundan kaynaklanan pik ise 12,49 ppm de görülmektedir.

4.2. Sentezlenen Bileşiklerin Biyolojik Çalışmaları

Pozitif kontrol olarak kullanılan kemoterapik madde 5-Fu (5- florourasil) ve sentezlenen bileşiklerin aşağıdaki hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkisi MTT metoduyla ölçülmüştür.

- PC3 *(İnsan Prostad Kanseri Hücre Hattı)*
- HT-29 *(İnsan Kolon Kanser Hücre Hatları)*
- HeLa *(İnsan Servikal (Rahim Ağzı) Kanser Hücre Hatları)*
- DLD-1 *(İnsan Kolon Kanser Hücre Hatları)*
- ECC-1 *(İnsan Rahim İçi Kanser Hücre Hatları)*
- DU-145 *(İnsan Prostad Kanseri Hücre Hattı)*
- PNT1-A *(Normal Prostad Epitel Hücre Hattı)*
- HEK-293 *(Normal İnsan Emriyonik Böbrek Hücre Hattı)*

Her hücre hattı, 37°C'de, 48 saat boyunca bileşikler ve kemoterapik maddelerin 0, 1, 5, 10, 25, 50, 100 ve 200 µM dozları eklendikten sonra inkübe edilmiştir. Daha sonra, IC_{50} değerlerini saptamak için MTT analizleri yapılmıştır. Her analiz ve her bir hücre hattı için üç well plate kullanılarak, üç bağımsız analizden gelen veriler değerlendirilmiştir. Kemoterapik madde ve bileşik ilave edilmeyen (0µM) kontrol grubu hücrelerinin canlılığı %100 kabul edildi ve diğer örneklere ait canlılık değerleri oransal olarak absorbans değerlerinden hesaplandı.

Çalışmada kullanılan bileşiklerin ve kemoterapik maddenin (5-Fu), kanser ve normal hücreler üzerindeki sitotoksik etkisinin MTT ile incelenmesi sonucunda elde edilen IC_{50} değerleri Çizelge 4.1.' de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde; genel olarak sentezlenen $\mathbf{H_1}$ ve $\mathbf{H_2}$ Maddelerin kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etki gösterdikleri gözlenmiştir. $\mathbf{H_2}$ maddesinin kanser hücresi olan PC3 üzerinde sitotoksik etki gösterirken $\mathbf{H_1}$ maddesi ve Sülfanilamit yeterli etki göstermemiştir.

Aynı şekilde **H_2**, kanser hücresi olan HeLa üzerinde az bir sitotoksik etki gösterirken, **H_1** ve Sülfanilamit yeterli etki göstermemiştir. Ayrıca, **H_1**, **H_2** ve Sülfanilmit bileşikleri kanser hücresi olan DLD-1 üzerinde sitotoksik aktivite gösterirken, **H_1** hem **H_2** ve Süfanilamit hemde kemoterapik maddeden (5-Fu) daha etkili olduğu görülmüştür. **H_1** ve sülfonilamit diger bir kanser hücresi olan ECC-1 maddesi üzerindeki sitotoksik etki gösterirken **H_2** ise yeterli bir etki gösterememiştir. **H_1**, **H_2** ve Sülfanilmit bileşikleri kanser hücre hattı olan HT-29 ve DU-145 ile normal hücre hattı olan PNT1-A ve HEK-293 üzerinde fazlabir sitotoksik etki gösterememiştir.

Çizelge 4. 1. Bileşiklerin hücreler üzerindeki IC_{50} (µM) değerleri.

	IC_{50} (µM)[a,b]			
	5-Fu	**Sülfanilamit**	**H_1**	**H_2**
PC3	45.20	>200	>200	**57,67**
HT-29	23.40	>200	>200	>200
HeLa	19.20	>200	>200	**180,12**
DLD-1	50.90	**36.19**	**26,12**	**73,12**
ECC-1	30.20	**23.63**	**47,35**	>200
DU-145	37.40	>200	>200	>200
PNT1-A	142.10	>200	>200	>200
HEK-293	65.30	>200	>200	>200

[a] Değerler üç bağımsız deneyin sonuçlarıdır.
[b] IC_{50} değerleri 48 saat sonunda ölçülmüştür.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Aromatik veya heterosiklik sülfonamit bileşiklerinin ($-SO_2NH_2$) karbonik anhidraz enzimine (hCA) karşı güçlü inhibe etkisi olduğu görülmüştür (Mann ve Keilin 1940; Maren, 1967; Supuran ve Scozzafava, 2007). Sülfonamitler başlıca antibakterial, antitümör, diüretik, hipoglisemik, antitiroid, yada proteas inhibitör aktivite ilaçları olarak kulanılmaktadır (Casini ve ark., 2002 Supuran ve ark. 2003a, 2003b).

Yapılan bu çalışmada; birinci basamakta; sülfanilamit (4-Aminobenzensülfonamit) ile bazik ortamda (piridin) 2-Bromopropionilbromit'in reaksiyonu sonucu 2-bromo-N-(4-sülfamoilfenil)propanamit **(MMH_1)** sentezlenmiştir. İkinci basamakta; 2-bromo-N-(4-sülfamoilfenil)propanamit **(MMH_1)** ile bazik ortamda (piridin) tiyomorfolin'in reaksiyonu sonucu N-(4-sulfamoilfenil)-2-tiomorfolinopropanamit **(H_1)** bileşiği, 1-Etilpiperazin'in reaksiyonu sonucu ise 2-(4-ethilpiperazin-1-yl)-N-(4-sulfamoilfenil)propanamit **(H_2)** bileşiği sentezlenmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapıları FT-IR, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, Kütle spektroskopisi ve elementel analiz yöntemleriyle aydınlatılmıştır (Ek 1-4).

Yaptığımız bu çalışmada, antikanser özellik gösterdiği bilinen sülfonamit içeren bileşiklerin bazı türevleri sentezlenmiş ve kanser ve normal hücre hatları üzerinde bu bileşiklerin sitotoksite aktiviteleri incelenmiştir. Kanser tedavi seçeneklerinden biri olan kemoterapide farklı kimyasal yapıda birçok ilaç kullanılmaktadır. Mevcut ilaçların önemli yan etkileri, terapötik yetersizlikleri, etkide seçicilik sorunları ve ilaçlara karşı gelişen direnç nedeniyle bu alanda araştırma ve geliştirme çalışmaları tüm dünyada yoğun olarak sürdürülmektedir. Bu çalışmada medisinal kimyada ilaç bulma yöntemleri arasında kabul edilen birden çok aktif bileşiğin aynı molekülde birleştirilmesi kuralı dikkate alınarak antikanser aktivitesi yüksek yeni kemoterapi adayı bileşiklerin ortaya çıkacağı düşünülmüştür.

Çalışmada kullanılan bileşiklerin ve kemoterapik maddenin (**5-Fu**), kanser ve normal hücreler üzerindeki sitotoksik etkisinin incelenmesi sonucunda elde edilen IC_{50} değerleri incelendiğinde; genel olarak sentezlenen $\mathbf{H_1}$ ve $\mathbf{H_2}$ Maddelerin kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etki gösterdikleri gözlenmiştir. $\mathbf{H_2}$ maddesinin kanser hücresi olan PC3 ve HeLa üzerinde sitotoksik etki gösterirken $\mathbf{H_1}$ maddesi ve Sülfanilamit yeterli etki göstermemiştir. Ayrıca, DLD-1 üzerinde sitotoksik aktivite, $\mathbf{H_1}$ maddesinin $\mathbf{H_2}$, Süfanilamit ve kemoterapik maddeden (5-Fu) daha etkili olduğu görülmüştür. $\mathbf{H_1}$ ve sülfonilamit diger bir kanser hücresi olan ECC-1 maddesi üzerindeki sitotoksik etki gösterirken $\mathbf{H_2}$ ise yeterli bir etki gösterememiştir. $\mathbf{H_1}$, $\mathbf{H_2}$ ve Sülfanilmit bileşikleri kanser hücre hattı olan HT-29 ve DU-145 ile normal hücre hattı olan PNT1-A ve HEK-293 üzerinde fazla bir sitotoksik etki gösterememiştir. Bu da sentezlediğimiz bileşiklerin yapılacak ileri *in vivo* çalışmalarında kullanılacak bir ön değerlendirme çalışması olabilir.

Bu konunun son zamanlarda ilgi çekici ve gelişmeye çok açık olduğu göz önünde bulundurulduğundan, bu çalışma kapsamında yapılmış olan çalışma sonuçlarının da çok önemli olacağı, geliştirilebilir ve daha sonraki çalışmalara da ışık tutabilir, literatürdeki boşlukları doldurabilir, disiplinler arası ve farklı bilimsel ve teknolojik alanlarda kullanılabilme özelliğine sahip olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ulusal ve/veya uluslararası seminerlerde sunulacak ve uluslararası bilimsel bir yayın organında yayınlanacaktır. Ayrıca bu çalışmanın daha sonra yapılacak olan daha kapsamlı bilimsel çalışmalara da yardımcı olacağı açıktır.

KAYNAKLAR

ADKINS, J. and FAULDS, D., 1998. Amprenavir. Drugs, 55(6): 837-842.

ARSLAN, O., 2001. Inhibition of Bovine Carbonic Anhydrase by New Sulfonamide Compounds. Biochemistry (Moscow), 66 (9): 1206-1208.

BANO, S., JAVED, K., AHMAD, S., RATHİSH, I. G., SİNGH, S., & ALAM, M. S. 2011. Synthesis and biological evaluation of some new 2-pyrazolines bearing benzene sulfonamide moiety as potential anti-inflammatory and anti-cancer agents. European Journal of Medicinal Chemistry, 46(12): 5763-5768.

BECKER, B., 1954. Decrease in intraocular pressure in man by carbonic anhydrase inhibitor Diamox. Am J Ophthalmol, 37: 13-25.

BRZOZOWSKI, Z., SŁAWIŃSKI, J., GDANIEC, M., INNOCENTI, A. and SUPURAN, C. T., 2011. Carbonic anhydrase inhibitors. Synthesis, molecular structures, and inhibition of the human cytosolic isozymes I and II and transmembrane isozymes IX, XII (cancer-associated) and XIV with novel 3-pyridinesulfonamide derivatives. European Journal of Medicinal Chemistry, 46: 4403-4410.

CAREY F.A., 2003. Organic Chemistry. 5th Edition, University of Virginia Charlotesvilke, Mcgraw Hill Higher Education, 1191p.

CARTA, F., MARESCA, A., SCOZZAFAVA, A., VULLO, D. and SUPURAN, C.T., 2009. Carbonic anhydrase inhibitors. Diazenylbenzenesulfonamides are potent and selective inhibitors of the tumor-associated isozymes IX and XII overthe cytosolic isoforms I and II. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 17: 7093–7099.

CASINI, A., SCOZZAFAVA, A., MASTROLORENZO, A. and SUPURAN, C. T. 2002. Sulfonamides and sulfonylated derivatives as anticancer agents. Current Cancer Drug Targets. 2(1) 55-75.

CECCHI, A., WINUM, J. Y., INNOCENTI, A., VULLO, D., MONTERO, J. L., SCOZZAFAVA, A. and SUPURAN, C. T., 2004. Carbonic anhydrase inhibitors: synthesis and inhibition of cytosolic/tumor-associated carbonic anhydrase isozymes I, II, and IX with sulfonamides derived from 4-isothiocyanato-benzolamide. Bioorg. Med. Chem. Lett., 14 (23): 5775-5780.

COLEMAN, J.E., 1998. Zinc Enzymes. Curr. Opin. Chem. Biol, (2): 222-234.

CRIBB, A.E., LEE, B.L., TREPANIER, L.A. and SPIELBERG, S. P., 1996. Adverse reactions to sulphonamide and sulphonamide-trimethoprim antimicrobials: clinical syndromes and pathogenesis. Adverse Drug React Toxicol Rev., 15(1): 9-50.

DOMAGK, G., 1935. Eine neue Klasse von Desininfektionsmitten. Dt Med Wocheschr, 61(21): 829-832.

DURGUN, M. 2014. Bazı Yeni Sülfonamit Türevlerinin Sentezi, Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi Ve Kantitatif Yapı – Etki İlişkilerinin (QSAR) Değerlendirilmesi. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Şanlıurfa, 223s.

DURGUN, M., 2005. Glokom Tedavisinde kullanılan yeni Sülfanilamit Türevlerinin Sentezi ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa, 83s.

DURGUN, M., TURKMEN, H., CERUSO, M., SUPURAN, C. T. 2015. Synthesis of Schiff base derivatives of 4-(2-aminoethyl)-benzenesulfonamide with inhibitory activity against carbonic anhydrase isoforms I, II, IX and XII. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 25(11): 2377-2381.

DURGUN, M., TURKMEN, H., CERUSO, M., SUPURAN, C. T. 2016. Synthesis of 4-sulfamoylphenyl-benzylamine derivatives with inhibitory activity against human carbonic anhydrase isoforms I, II, IX and XII. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 24(5): 982-988.

GHORAB, M. M., RAGAB, F. A., HEİBA, H. I., EL-HAZEK, R. M. 2011. Anticancer and radio-sensitizing evaluation of some new thiazolopyrane and thiazolopyranopyrimidine derivatives bearing a sulfonamide moiety. European Journal of Medicinal Chemistry, 46(10): 5120-5126.

ISIK, K. and OZDEMĠR KOCAK, F., 2009. Antimicrobial activity screening of some sulfonamide erivatives on some Nocardia species and isolates. Microbiological Research, 164(1): 49-58.

LINDSKOG, S. and SILVERMAN D. W., 2000. The Catalytic Mechanism of Mammalian Carbonic Anhydrases. In: Chegwidden WR, Edwards Y, Carter N, editors. The carbonic anhydrases—New Horizons; Basel: Birkha¨user Verlag; 175–196.

MANN, T. and KEILIN, D., 1940. Sulphanilamide as a Specific Carbonic Anhydrase Inhibitor. Nature, 146:164–165.

MAREN, T. H., 1995. The Development of Topical Carbonic Anhydrase Inhibitors. J. Glaucoma, 4:49-62.

MAREN, T.H., 1967. Carbonic anhydrase: Chemistry, Physiology and Inhibition. Physiol Rev., 47: 595–781.

METE, E., COMEZ, B., INCİ GUL, H., GULCİN, I., & SUPURAN, C. T. 2016. Synthesis and carbonic anhydrase inhibitory activities of new thienyl-substituted pyrazoline benzenesulfonamides. Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry, 31(sup2): 1-5.

MİRİAN, M., ZARGHİ, A., SADEGHİ, S., TABARAKİ, P., TAVALLAEE, M., DADRASS, O., & SADEGHİ-ALİABADİ, H. (2011). Synthesis and cytotoxic evaluation of some novel sulfonamide derivatives against a few human cancer cells. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 10(4), 741.

MOHAMED, S. S., TAMER, A. R., BENSABER, S. M., JAEDA, M. I., ERMELI, N. B. & ALLAFI, A. A., MREMA, I. A., ERHUMA, M., HERMANN, A. and GBAJ, A. M., 2013. Design, synthesis, molecular modeling, and biological evaluation of sulfanilamide-imines derivatives as potential anticancer agents. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 386: 813–822.

MOSMANN, T.J. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. J. Immunol. Methods, 65(1-2): 55-63.

OZBEK, N., KATIRCIOGLU, H., KARACAN, N. and BAYKAL, T., 2007. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of new aliphatic sulfonamide. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 15:5105–5109.

PASTOREKOVA, S., PARKKILA, S., PASTOREK, J. and SUPURAN, C.T., 2004. Carbonic anhydrases: current state of the art, therapeutic applications and future prospects. J. Enzym. Inhib. Med. Chem., 19(3): 199–229.

PENNING, T. D., TALEY, J. J. and BERTENSHAW, S. R., 1997. Synthesis of 4-[5-substituted orunsubstitutedphenyl)-3-substituted-1H-pyrazol-1-yl] benzenesulfonamides. J. Med. Chem., 40:1347-1365.

RAMI, M., INNOCENTI, A., MONTERO, J.L., SCOZZAFAVA, A., WINUM, J.Y. and SUPURAN, CT., 2011. Synthesis of rhodamine B–benzenesulfonamide conjugates and their inhibitory activity against human *alpha* and bacterial/fungal *beta*-carbonic anhydrases. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 21: 5210–5213.

REN, J., WANG, Y., WANG, J., LİN, J., WEİ, K., HUANG, R. 2013. Synthesis and antitumor activity of N-sulfonyl-3, 7-dioxo-5β-cholan-24-amides, ursodeoxycholic acid derivatives. Steroids, 78(1):53-58.

ROUGHTON, F. J. W. and BOOTH, V. H., 1946. The Effect of Substrate Concentrataion pH and Other Factors Upon the Activity of Carbonic Anhydrase. J. Biochem., 40: 319-330.

SUPURAN, C.T. and SCOZZAFAVA, A., 2007. Carbonic anhydrases as targets for medicinal chemistry. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 15: 4336–4350.

SUPURAN, C.T., and SCOZZAFAVA, A., 2001. Carbonic Anhydrase Inhibitors Curr. Med.chem., 363 (1): 61-97.

SUPURAN, C.T., CASINI, A. and SCOZZAFAVA, A., 2003b. Protease Inhibitors of the Sulfonamide Type: Anticancer, Anti-inflammatory, and Antiviral Agents. Medicinal Research Reviews, 23(5): 535-558.

SUPURAN, C.T., SCOZZAFAVA, A. and CASINI, A., 2003a. Carbonic Anhydrase Inhibitors. Medicinal Research Reviews, 23 (2): 146-189.

TURKMEN, H., DURGUN, M., YİLMAZTEKİN, S., EMUL, M., INNOCENTİ, A., VULLO, D., SCOZZAFAVA, A., SUPURAN, C. T. 2005. Carbonic anhydrase inhibitors. Novel sulfanilamide/acetazolamide derivatives obtained by the tail approach and their interaction with the cytosolic isozymes I and II, and the tumor-associated isozyme IX. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, *15*(2): 367-372.

URL-1, World Health Organization: WHO, globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx. Erişim Tarihi: 4 Eylül 2016.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Hasan SÖNMEZ
Uyruğu : T.C
Doğum Yeri ve Tarihi : Taşlı/01.01.1981
Telefon : 05468445765
Faks :
e-mail : brusk123456@gmail.com

EĞİTİM

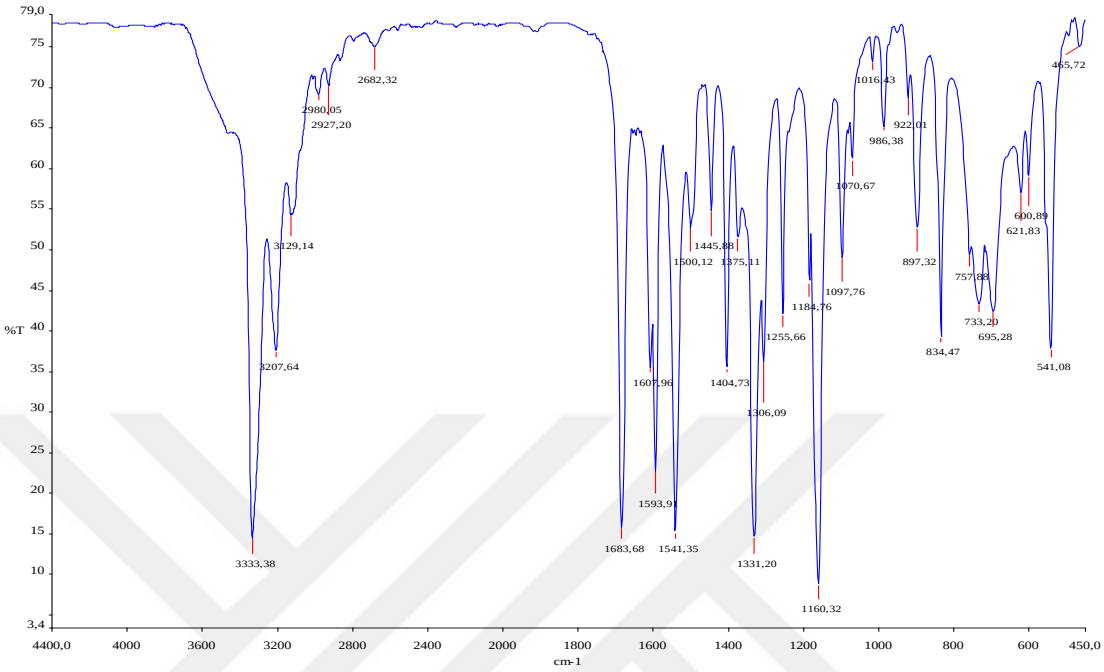
Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Siverek Lisesi- Siverek/Ş.Urfa	1999
Üniversite	: Dicle Üniversite Fen Edebiyat Fakültesi/Diyarbakır	2004
Yüksek Lisans	: Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı/Şanlıurfa	2016

İŞ DENEYİMLERİ

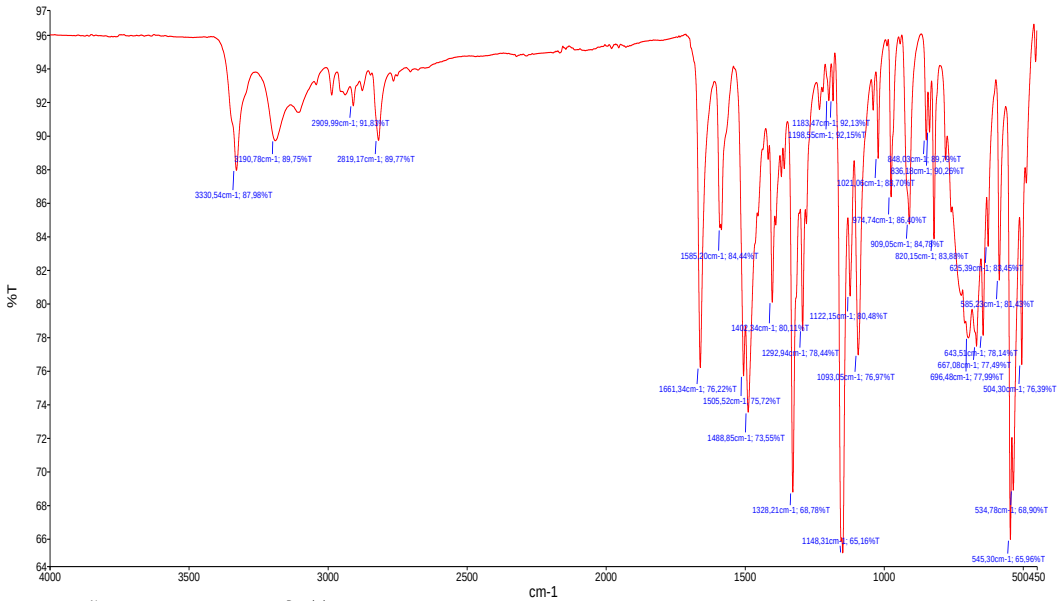
Yıl	Kurum	Görevi
2013-	Sos.Yrd.ve Dayanışma Vakfı	Sos.Yrd.ve İnc. Görevlisi

EKLER

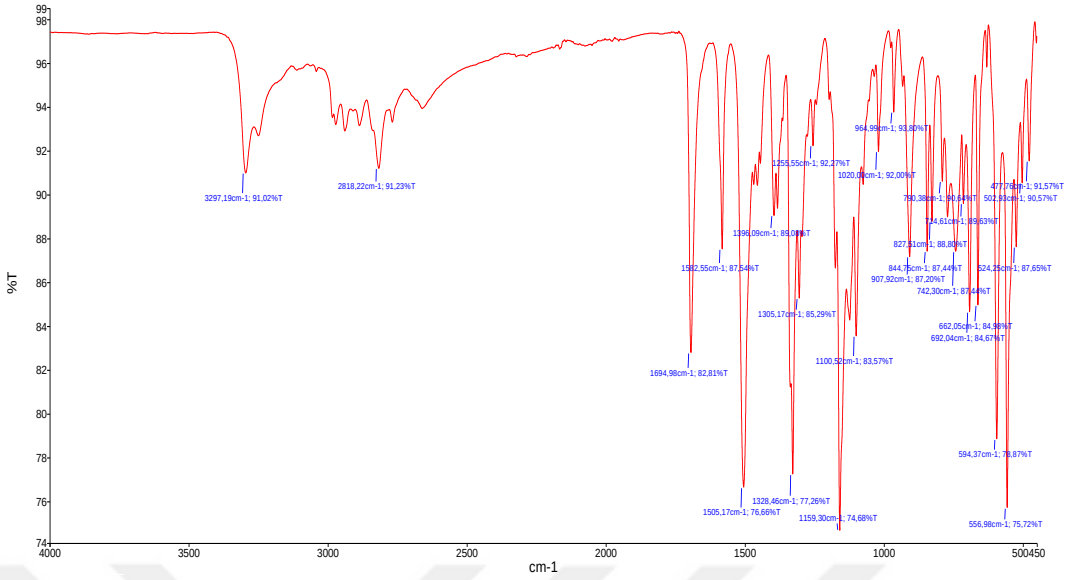
EK 1 Sentezlenen Bileşiklerin FT-IR Spektrumları



Ek Şekil 1. 1. MMH_1 bileşiğinin FT-IR spektrumu

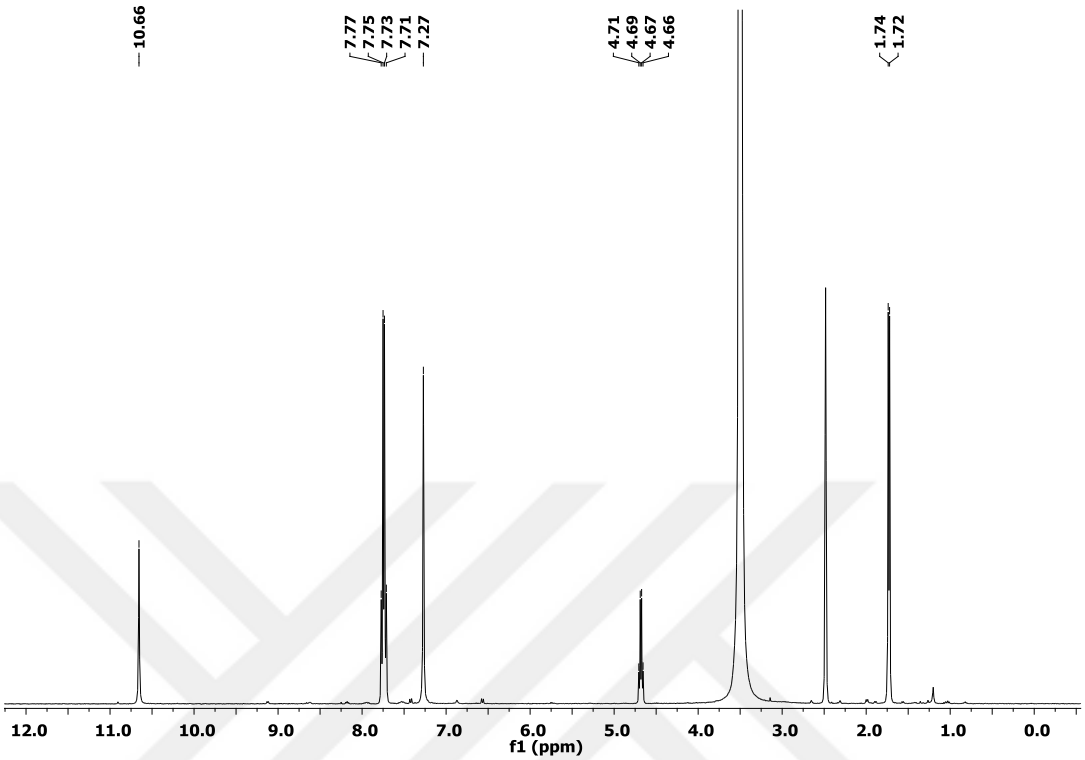


Ek Şekil 1. 2. H_1 bileşiğinin FT-IR spektrumu

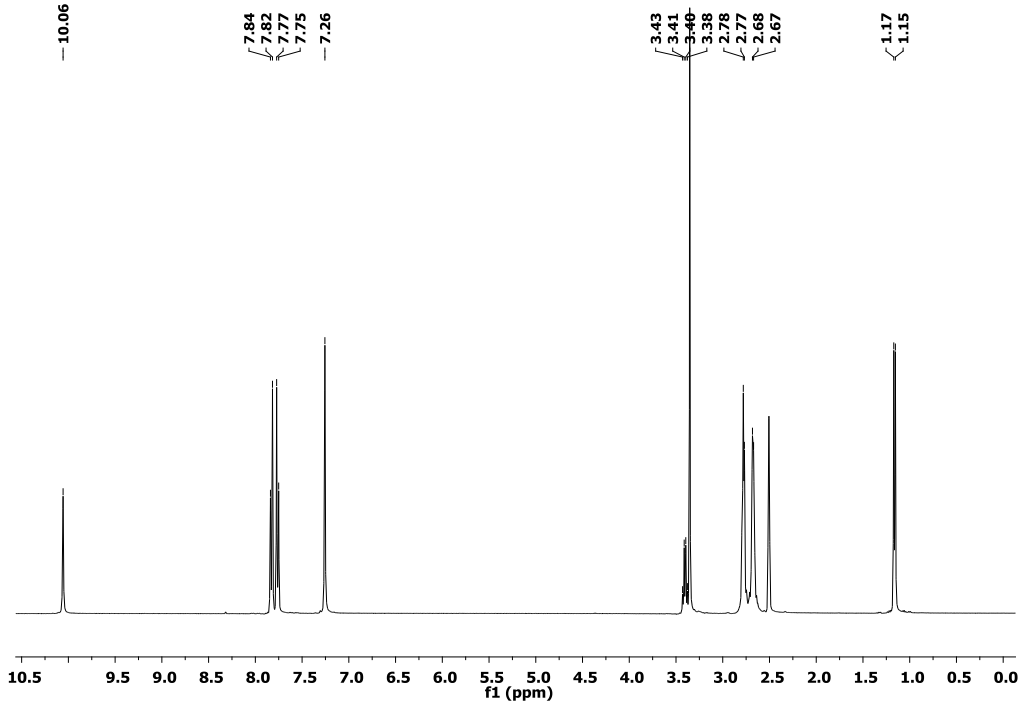


Ek Şekil 1. 3. H_2 bileşiğinin FT-IR spektrumu

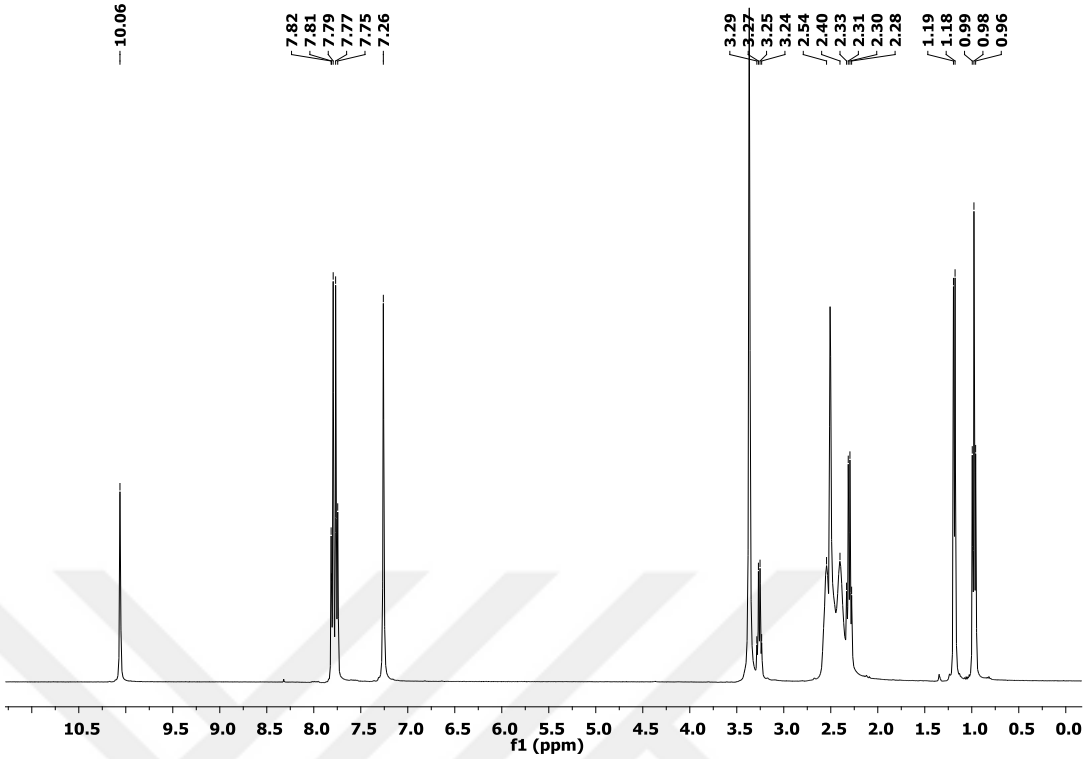
EK 2 Sentezlenen Bileşiklerin ^{1}H NMR Spektrumları



Ek Şekil 2.1. MMH_1 bileşiğinin ^{1}H NMR spektrumu

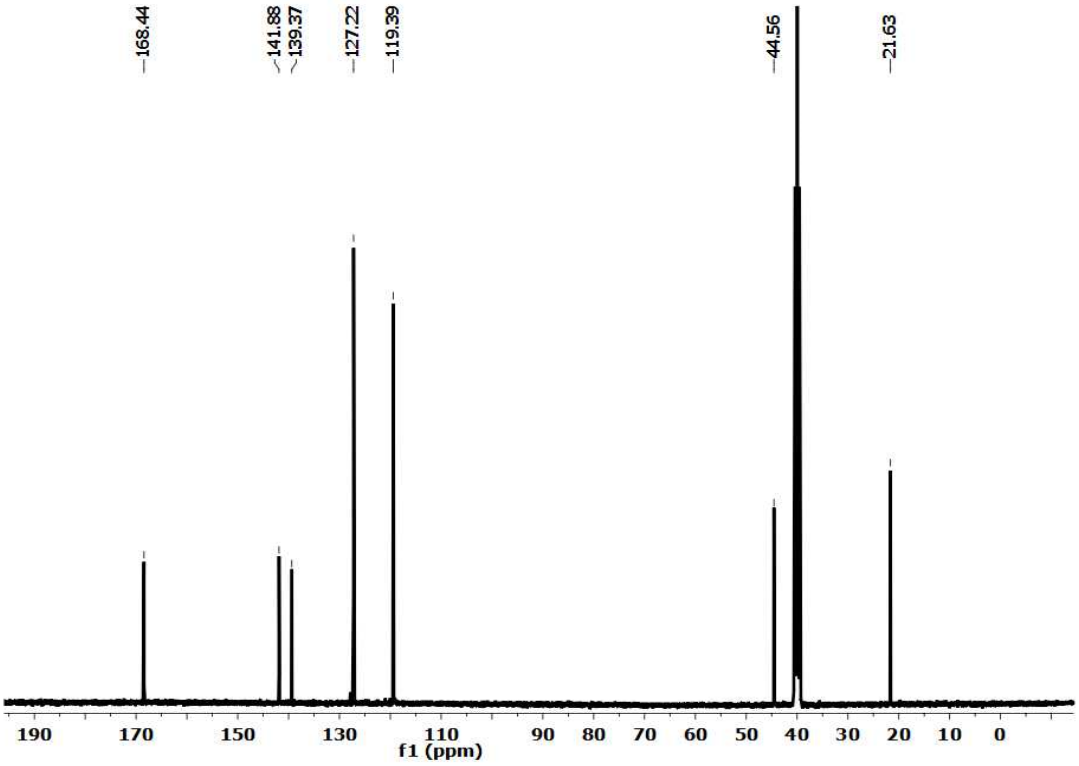


Ek Şekil 2.2. H_1 bileşiğinin ^{1}H NMR spektrumu

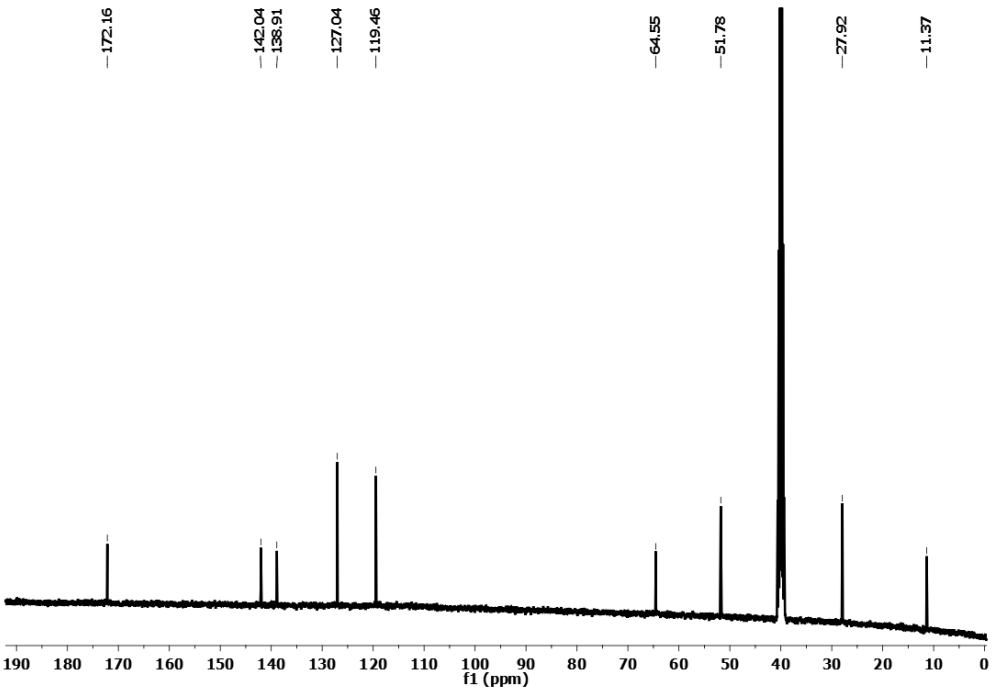


Ek Şekil 2.3. H_2 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu

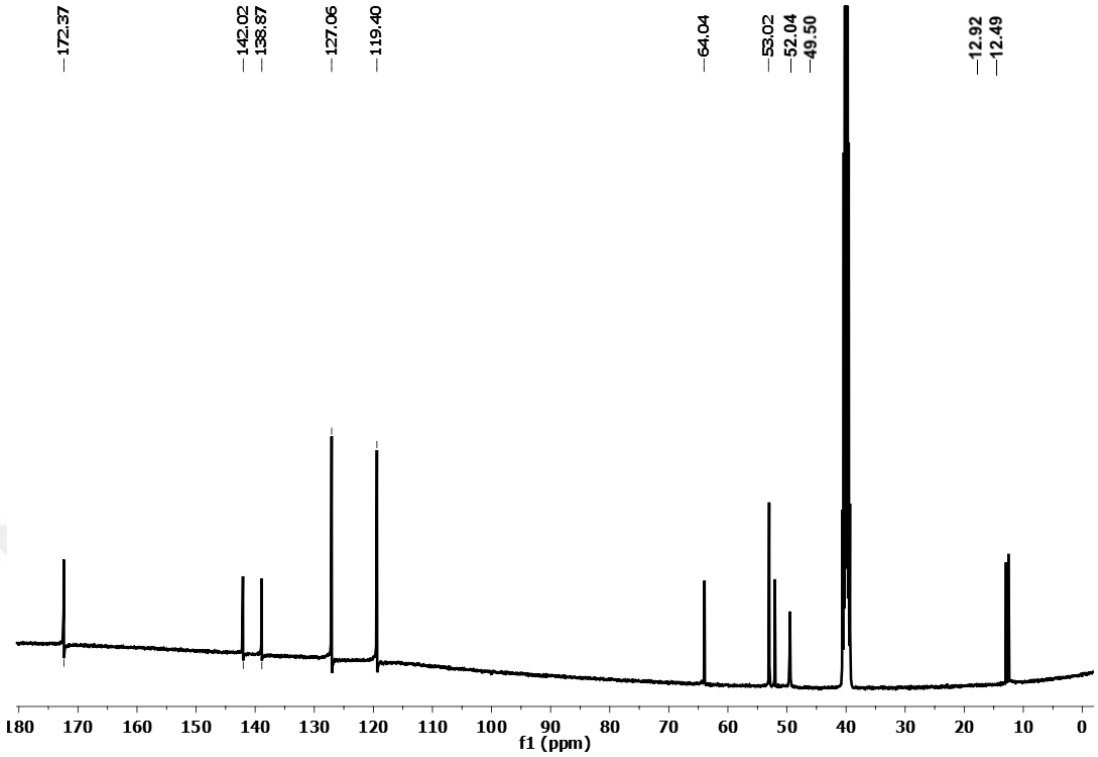
EK 3 Sentezlenen Bileşiklerin ^{13}C NMR Spektrumları



Ek Şekil 3.1. MMH_1 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu

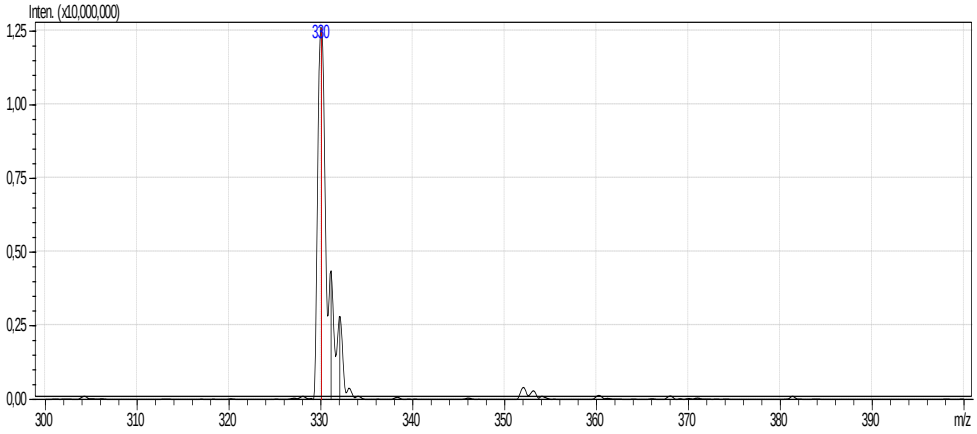


Ek Şekil 3.2. H_1 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu

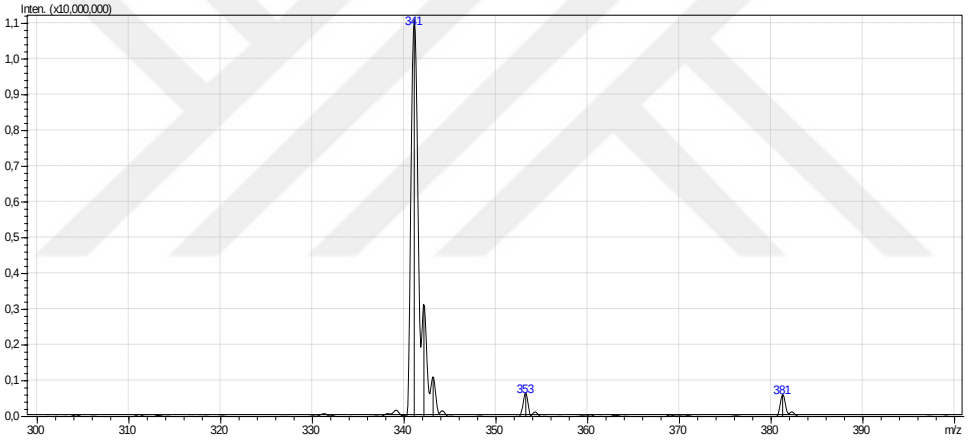


Ek Şekil 3.3. H_2 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu

EK 4 Sentezlenen Bileşiklerin LC-MS/MS Spektrumları



Ek Şekil 4.1. H_1 bileşiğinin LC-MS/MS spektrumu



Ek Şekil 4.2. H_2 bileşiğinin LC-MS/MS spektrumu