KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KARBONİK ANHİDRAZ İNHİBİTÖRLERİNİN *Drosophila melanogaster*'İN BAZI GELİŞİMSEL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

DUYGU FATMA CAN

KOCAELİ 2020

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KARBONİK ANHİDRAZ İNHİBİTÖRLERİNİN *Drosophila melanogaster*'İN BAZI GELİŞİMSEL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

DUYGU FATMA CAN

Doç.Dr. Ayla KARATAŞ
Danışman, Kocaeli Üniv. .....
Prof.Dr. Hüseyin AKSOY
Jüri Üyesi, Sakarya Üniv. .....
Doç.Dr. Özlem AKSOY
Jüri Üyesi, Kocaeli Üniv. .....

Tezin Savunulduğu Tarih: 12/08/2020

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca her türlü anlayış ve ilgisini gördüğüm, bu tezin hazırlanması sırasında bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren Sayın Hocam, Tez Danışmanım Doç. Dr. Ayla KARATAŞ'a saygılarımı ve en içten teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmam sırasında karbanik anhidraz inhibitörlerini gönderen, Prof. Dr. Hüseyin AKSOY'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca laboratuvar çalışmamda kullandığım test maddelerini sentezleyen Prof. Dr. Mustafa ARSLAN'a teşekkürü borç bilirim.

Laboratuvar çalışmam sırasında destek ve görüşlerini esirgemeyen, Doç. Dr. Özlem AKSOY'a çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamın istatistiksel analizler konusunda tecrübe ve önerilerinden faydalandığım Emel ÖZGÜMÜŞ DEMİR'e teşekkürü borç bilirim.

Ayrıca, değerli dostum ve çalışma arkadaşım Bahar ÖZBÖLÜK'e deneysel çalışmalarımda desteğinden ve katkılarından dolayı çok teşekkür ederim.

Sevgileri ve manevi desteklerini her zaman kalbimde hissettiğim, beni bugünlere getiren değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak çalışmalarım esnasında manevi desteklerini eksiltmeyen dostlarım Elif ÇELİK ve Elif AYAZ SÜRÜCÜ' ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ağustos - 2020 Duygu Fatma CAN

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR i
İÇİNDEKİLER ii
ŞEKİLLER DİZİNİ iv
TABLOLAR DİZİNİ v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ vi
ÖZET vii
ABSTRACT viii
GİRİŞ 1
1.GENEL BİLGİLER 3
1.1. *Drosophila melanogaster* 3
1.2. *Drosophila melanogaster*'in Fiziksel Özellikleri 4
1.3. *Drosophila melanogaster*'in Genetiksel Özellikleri 6
1.4. *D. melanogaster*'in Hayat Döngüsü 6
1.5. *Drosophila melanagaster*'ın Model Organizma Olarak Önemi 10
1.6. Karbonik Anhidrazlar 11
1.7. Sülfonomitler 13
2.MALZEME VE YÖNTEM 15
2.1. Kullanılan Cihazlar 15
2.2. Kullanılan Kimyasallar 15
2.3. Kullanılan Çözücüler 15
2.4. Organizma 15
2.4.1. *Drosophila melanogaster* kültürleri 15
2.5. Deneysel Çalışma 16
2.5.1. Kullanılan kimyasallar 16
2.5.2. Metmorfoz süresi üzerine etkileri gözlemek amacıyla yapılan uygulama 17
2.5.4. Maddelerin morfolojik karakterlere etkilerini gözlemek amacıyla yapılan uygulama 19
2.5.5. Maddelerin eşey oranı etkilerini gözlemek amacıyla yapılan uygulama 20
2.5.6. İstatistiksel değerlendirme 20
3. BULGULAR 21
3.1. Karbonik Anhidraz İnhibitörlerin F1 Neslinde Metamorfoz Süresi Üzerine Etkisi 21
3.1.1. 2a bileşiğinin F_1 neslinde metamorfoz süresi üzerine etkisi 21
3.1.2. 6a bileşiğinin F_1 neslinde metamorfoz süresi üzerine etkisi 22
3.2. Karbonik Anhidraz Inhibitörlerin F2 Neslinde Metamorfoz Süresi Üzerine Etkisi 23
3.2.1. 2a bileşiğinin F_2 neslinde metamorfoz süresi üzerine etkisi 23
3.2.2. 6a bileşiğinin F_2 neslinde metamorfoz süresi üzerine etkisi 24
3.3. Karbonik Anhidraz İnhibitörlerinin F1 Neslinin Ergin Birey Sayısına Etkileri 25

3.3.1. 2a bileşiğinin F_1 Neslinin Ergin Birey Sayısına Etkileri 25
3.3.2. 6a bileşiğinin F_1 Neslinin Ergin Birey Sayısına Etkileri 27
3.4. Karbonik Anhidraz İnhibitörlerinin F2 Neslinin Ergin Birey Sayısına Etkileri 29
3.4.1. 2a bileşiğinin F_2 neslinin ergin birey sayısına etkileri 29
3.4.2. 6a bileşiğinin F_2 neslinin ergin birey sayısına etkileri 30
3.5. Karbonik Anhidraz İnhibitörlerin F1 Neslinde Fenotipe Etkisi 32
3.5.1. 2a bileşiğinin F_1 neslinde fenotipe etkisi 35
3.5.2. 6a bileşiğinin F_1 neslinde fenotipe etkisi 36
3.6. Karbonik Anhidraz Inhibitörlerin F2 Neslinde Fenotipe Etkisi 38
3.6.1. 2a bileşiğinin F_2 neslinde fenotipe etkisi 38
3.6.2. 6a bileşiğinin F_2 neslinde fenotipe etkisi 39
3.7. Karbonik Anhidraz İnhibitörlerinin F1 Neslinde Eşey Oranı Üzerine Etkisi 41
3.7.1. 2a bileşiğinin F_1 Neslinde Eşey Oranı Üzerine Etkisi 41
3.7.2. 6a bileşiğinin F_1 Neslinde Eşey Oranı Üzerine Etkisi 43
3.8. Karbonik Anhidraz İnhibitörlerinin F2 Neslinde Eşey Oranı Üzerine Etkisi 45
3.8.1. 2a bileşiğinin F_2 Neslinde Eşey Oranı Üzerine Etkisi 45
3.8.2. 6a bileşiğinin F_2 Neslinde Eşey Oranı Üzerine Etkisi 48
4.SONUÇ VE TARTIŞMA 51
KAYNAKLAR 59
KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER 66
ÖZGEÇMİŞ 67

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. *D. melanogaster* dişi ve erkek bireyde eşeysel dimorfizm 4
Şekil 1.2. *D. melanogaster*'de abdomen ucu farkı 5
Şekil 1.3. *D. melanogaster* eşey tarakları 5
Şekil 1.4. *D. melanogaster* yaşam döngüsü 6
Şekil 1.5. *D. melanogaster* yumurtaları 7
Şekil 1.6. *D. melanogaster* larvaları 8
Şekil 1.7. *D. melanogaster* pupaları 9
Şekil 1.8. *Drosophila melanogaster* açık renkli vücut 10
Şekil 1.9. Karbonik anhidraz enziminin hidrataz aktivitesi 13
Şekil 1.10. Sülfonomidin kimyasal yapısı 14
Şekil 2.1. Metilenaminobenzen Sülfonamit Türevleri 17
Şekil 3.1. 2a bileşiğinin F_1 neslinde ergin birey sayısına etkisi 26
Şekil 3.2. 6a bileşiğinin F_1 neslinde ergin birey sayısına etkisi 28
Şekil 3.3. 2a bileşiğinin F_2 neslinde ergin birey sayısına etkisi 30
Şekil 3.4. 6a bileşiğinin F_2 neslinde ergin birey sayısına etkisi 32
Şekil 3.5. Kanat anormallikleri 33
Şekil 3.6. *Drosophila*'da toraks anormallikleri 33
Şekil 3.7. *Drosophila*'da segment anormallikleri 34
Şekil 3.8. *Drosophila* abdomende benek 34
Şekil 3.9. 2a bileşiği F_1 neslinde anormal birey sayısı 36
Şekil 3.10. 6a bileşiğinin F_1 neslinde anormal fenotipli ergin birey sayısına etkisi 37
Şekil 3.11. 2a bileşiğinin F_2 neslinde anormal birey sayısıne etkisi 39
Şekil 3.12. 6a bileşiğinin F_2 neslinde anormal birey sayısına etkisi 41
Şekil 3.13. 2a bileşiğinin F_1 neslinde dişi birey sayısına etkisi 42
Şekil 3.14. 2a bileşiğinin F_1 neslinde erkek birey sayısına etkisi 43
Şekil 3.15. 6a bileşiğinin F_1 neslinde dişi birey sayısına etkisi 44
Şekil 3.16. 6a bileşiğinin F_1 neslinde erkek birey sayısına etkisi 45
Şekil 3.17. 2a bileşiğinin F_2 neslinde dişi birey sayısına etkisi 47
Şekil 3.18. 2a bileşiğinin F_2 neslinde erkek birey sayısına etkisi 47
Şekil 3.19. 6a bileşiğinin F_2 neslinde dişi birey sayısına etkisi 49
Şekil 3.20. 6a bileşiğinin F_2 neslinde erkek birey sayısına etkisi 50

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 3.1. 2a bileşiğinin F_1 neslinde metamorfoz süresi üzerine etkisi 21
Tablo 3.2. 6a bileşiğinin F_1 neslinde metamorfoz süresi üzerine etkisi 22
Tablo 3.3. 2a bileşiğinin F_2 neslinde metamorfoz süresi üzerine etkisi 24
Tablo 3.4. 6a bileşiğinin F_2 neslinde metamorfoz süresi üzerine etkisi 24
Tablo 3.5. 2a Bileşiğinin F_1 Neslinde Ergin Birey Sayısına Etkisi 25
Tablo 3.6. 6a bileşiğinin F_1 neslinde ergin birey sayısına etkisi 27
Tablo 3.7. 2a bileşiğinin F_2 neslinde ergin birey sayısına etkisi 29
Tablo 3.8. 6a bileşiğinin F_2 neslinde ergin birey sayısına etkisi 31
Tablo 3.9. 2a bileşiğinin F_1 neslinde fenotipe etkisi 35
Tablo 3.10. 6a bileşiğinin F_1 neslinde fenotipe etkisi 37
Tablo 3.11. 2a bileşiğinin F_2 neslinde anormal birey sayısının karşılaştırılması 38
Tablo 3.12. 6a bileşiğinin F_2 neslinde anormal birey sayısının karşılaştırılması 40
Tablo 3.13. 2a bileşiğinin F_1 neslinde eşey oranına etkisi 42
Tablo 3.14. 6a Bileşiğinin F_1 neslinde eşey oranına etkisi 43
Tablo 3.15. 2a bileşiğinin F_2 neslinde eşey oranına etkisi 46
Tablo 3.16. 6a bileşiğinin F_2 neslinde eşey oranına etkisi 49

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AMS : Akut Dağ Hastalığı
Ca : Karbonik Anhidraz
CAI : Karbonik Anhidraz İnhibütörü
CO_2 : Karbondioksit
DMSO : Dimetilsülfoksit
Gib : Göz İçi Basıncı
H^+ : Hidrojen İyonu
H_20 : Su
HCO_3^- : Bikarbonat
K_i : İnhibisyon Sabiti
mM : Milimolar
mri : Manyetik Rezonans
$NaAsO_2$: Sodyumarsenit
Pet : Pozitron Emisyon Tomoğrafisi
pH : Power of Hydrogen (Hidrojenin Gücü)
RSO_2NH_2 : Sülfonomidlerin Genel Formülü
Zn^{+2} : Çinko
µL : Mikrolitre

KARBONİK ANHİDRAZ İNHİBİTÖRLERİNİN *Drosophila Melanogaster*'İN BAZI GELİŞİMSEL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

ÖZET

Bu çalışmada yeni sentezlenmiş bir sülfonamit olan, 2a ve 6a bileşiğinin *Drosophila melanogaster*'in F_1 ve F_2 neslinde ergin birey çıkışı, fenotipik özellikleri, eşey oranı ve metamorfoz süresine etkileri incelenmiştir. Ki değeri baz alınarak üç farklı konsantrasyonda 2a bileşiği (2,12 µL, 4,25 µL ve 8,5 µL) ve 6a bileşiği (0,47 µL, 0,94 µL ve 1,88 µL) beslenme yoluyla uygulanmış, F_1 ve F_2 nesline ait veriler elde edilmiştir. 2a bileşiği F_1 neslinde toksik bir etki yapmamıştır. F_1 neslinin 6a bileşiğinde ise, en düşük konsantrasyonlarında (0,47 µL ve 0,94 µL) birey sayısı ve anormal birey sayısı azalmıştır. 2a bileşiği F_2 neslinde en yüksek konsantrasyonda (8,5 µL) birey sayısı azaltırken, anormal birey sayısını arttırmıştır. 6a bileşiği F_2 neslinde ise en düşük ve en yüksek konsantrasyonları (0,47 µL ve 1,88 µL) fenotipik anormalliklere neden olmuştur. Öte yandan F_2 neslinin pozitif kontrol grubunda (10 mM $NaAsO_2$) birey sayısı artmıştır. Sadece parental bireylere uygulama yapılmıştır, dolayısıyla F_2 nesli maddeyle temas etmeden elde edilen nesildir. Bu nedenle F_2 neslinde gözlenen etki kalıtsal mutasyona atfedilebilir. 2a bileşiği eşey oranında her iki nesilde de toksik bir etki tespit edilmemiştir. Cinsiyete bağlı bir etkisi olmadığı ifade edilebilir. 6a bileşiği her iki nesilde eşey oranında sapmalara neden olmuştur. Her iki bileşikte F_1 ve F_2 neslinde, metamorfoz süresini etkilemediği gözlenmiştir. Bulgular neticesinde, 2a ve 6a bileşiğinin gelecekte umut verici terapötik ajan olabileceği ifade edilebilir. Her iki bileşiğin ilaç etken maddesi olarak kullanılma potansiyeline sahip olabileceğini ifade etmek mümkündür.

Anahtar Kelimeler: *Drosophila*, Eşey Oranı, Karbonik Anhidraz İnhibitörü.

EFFECTS OF CARBONIC ANHYDRASE INHIBITORS ON SOME DEVELOPMENTAL CHARACTERISTICS OF *Drosophila Melanogaster*

ABSTRACT

In this study, the effects of 2a and 6a compounds, newly synthesized sulfonamides, on adult individual output, phenotypic characteristics, sex ratio and metamorphosis duration of *Drosophila melanogaster* in F_1 and F_2 generation were investigated. Based on the Chi value, 2a compound (2,12 µL, 4,25 µL and 8,5 µL) and 6a compound (0,47 µL, 0,94 µL and 1,88 µL) were administered through nutrition in three different concentrations, and data about F_1 and F_2 generation were obtained. 2a compound did not have a toxic effect on the F_1 generation. In the 6a compound of the F_1 generation, the number of individuals and the number of abnormal individuals decreased at its lowest concentrations (0,47 µL and 0,94 µL). 2a compound decreased the number of individuals at the highest concentration (8,5 µL) in the F_2 generation and increased the number of abnormal individuals. The lowest and highest concentrations (0,47 µL and 1.88 µL) of 6a compound in the F_2 generation caused phenotypic abnormalities. On the other hand, the number of individuals increased in the positive control group (10 mM $NaAsO_2$) of the F_2 generation. Only parental individuals were treated, so the F_2 generation is the generation obtained without contact with the substance. Therefore, the effect observed in the F_2 generation can be attributed to hereditary mutation. No toxic effect was detected in both sexes in the sex ratio of 2a compound. It can be said that it does not have a gender-related effect. 6a compound caused deviations in the sex ratio in both generations. It was observed that both compounds did not affect metamorphosis duration in F_1 and F_2 generation. As a result of the findings, it can be stated that 2a and 6a compounds may be the promising therapeutic agents in the future. It is possible to state that both compounds may have the potential to be used as drug agents.

Keywords: *Drosophila* , Sex Ratio, Carbonic Anhydrase Inhibitor.

GİRİŞ

Günümüzde binlerce ilaç olmasına karşın, yeni ilaç geliştirme çalışmaları sürekli olarak artış göstermektedir. Diğer taraftan piyasaya sürülmüş ilaçların, teröpatik etkileri iyileştirilmeye ve yan etkilerini azaltılmaya yönelik varyantları sentezlenmeye devam etmektedir.

Karbonik Anhidraz inhibitörü olan ilk sülfanilamit bileşiği 1940 yılında Mann ve Keilin tarafından sentezlenmesine karşın *Drosophila melanogaster* üzerinde yapılan bir araştırma bulunamamıştır (Keilin ve Mann, 1940).

1944 yılında yapılan diğer bir çalışmada Friedenwald glokom tedavisi için gözdeki basıncın düşürülmesi gerektiğini ifade etmiştir. Başlangıçta diüretik olarak kullanılan oral karbonik anhidraz inhibitörü (CAI)'nün göz içi basıncını (gib) azalttığı bir başka çalışmada 1954 yılında Becker tarafından bildirilmiştir. Yine aynı yıl glokom tedavisi için sistemik karbonik anhidraz inhibitörü olan asetazolamit (acetazolamide) sentezlenmiştir. Halen glokom tedavisi için tablet olarak kullanılmaktadır (Gümüş, 2008)

Diğer sistemik karbonik anhidraz inhibitörleri metazolamit ve diklorfenamittir. İlk topikal karbonik anhidraz inhibitörü olan dorzolamittir. 1995 yılında Maren tarafından sentezlenmiştir (Maren, 1995)

Konu ile ilgili İngiltere'de çalışmalar yapılmıştır. Şu anda kullanılmakta olan ilaçlardan biyolojik aktivitesi yaklaşık (in vitro) on kat daha iyi olan ilaçlar sentezlenmiştir. Bu ilaçların in vivo ve in vitro çalışmaları devam etmektedir (Gümüş, 2008).

Hastalıkların tedavisinde ve teşhisinde, (CAI) karbonik inhibitörlerinin önemi, glokom hastalığı tedavisi için Ca enzimi üzerinden yapılan inhibisyon çalışmaları sonucu ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışmalarda, Ca enziminin kataliz mekanizmalarının aydınlatılmasının yanı sıra, bu enzimin dokulara dağılımı ve bu dokulardaki hayati

fonksiyonları anlaşılmış ve bunun sonucunda Ca enziminin inhibitörleri ve aktivatörlerinin sentezlenmesine hız verilmiştir. Bu çalışmalarda çok çeşitli Ca enzimi inhibitörleri sentezlenmiştir. Bu inhibitörler başta glokom tedavisinde ilaç, antitümör, ağrı kesici, epilepsi ve nörolojik rahatsızlıklarda ilaç, pozitron emisyon tomoğrafisi (pet) ve manyetik rezonans belirlenmesinde (mri) diagnostis teşhis materyali, antiülser, diüretik ilaçların gelişmesinde yol gösterici ve antibiyotik olarak halen kliniklerde kullanılmaktadır. Bu sebeple, Ca enziminin inhibisyon mekanizmasının bilinmesi ve yeni bileşiklerin sentezlenmesi çok büyük önem kazanmıştır (Özeyson, 2006)

Thomas Morgan tarafından *D. melanogaster* 1910 yılında ilk kez genetik dünyasına tanıtılmış ve o günden itibaren genetik çalışmalarda önemli bir yer almıştır. Laboratuvar koşullarında kolayca üreyip, çok sayıda yavru meydana getirebilmesi, kısa jenerasyon süresinin oluşu, cinsiyet ve diğer fenotipik karakterlerinin kolaylıkla incelenebilmesine olanak sağlaması, birçok mutant karakterinin bulunması, besin gereksinimlerinin basit ve ekonomik olması, genetik kodlarının insanlara benzemesi gibi birçok önemli özelliği bulunması nedeniyle tercih edilen model organizma olarak karşımıza çıkmaktadır (Falakalı, 1990).

Bu tez çalışması kapsamında, farklı konsantrasyonlarla hazırlanan karbonik anhidraz inhibitörleri olan 2a ve 6a bileşiklerinin ayrı ayrı *D. melanogaster*'e uygulanması ile ilaç etken maddeleri olarak kullanılma potansiyeline sahip olabilecekleri düşünülerek olası toksik potansiyellerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, *D. melanogaster*'da metamorfoz süresine, ergin birey sayısına, eşey oranına ve ergin bireylerde fenotipik anormalliklere etkisi araştırılmıştır.

1. GENEL BİLGİLER

Bu bölümde çalışmalarda kullanılan organizma ve karbonik anhidraz inhibitörleri hakkında kısaca bilgi sunulmuştur.

1.1. *Drosophila melanogaster*

Bu çalışmada esas olarak karbonik anhidraz inhibitörlerinin (2a ve 6a bileşiği), *D. melanogaster*'ın gelişimi üzerine etkileri incelendiği için; söz konusu organizmanın fiziksel özellikleri, genetik temeli ve gelişim süreci hakkında kısaca bilgi verilmesi ihtiyacı duyulmuştur.

19. yy'da Alman entomolog Johann Wilhelm Meigen (1764-1845) 3000'den fazla takson tanımlamıştır. Dipteriyoloji'nin babası olarak bilinen Meigen 1830 yılında *D. melanogaster*'ı tanımlamıştır (Keller, 2007).

Domain: *Eukarya* (Ökaryotlar)

Kingdom: *Animalia* (Hayvanlar)

Phylum: *Arthropoda* (Eklem bacaklılar)

Class: *Insecta* (Böcekler)

Superorda: *Mecopteroidea* (Uzun kanatlılar)

Ordo: *Diptera* (Çift kanatlılar)

Subordo: *Brachycera* (Kısa antenliler)

Familia: *Drosophilidae* (Sirke sineğigiller)

Genus: *Drosophila*

Species: *D. melanogaster*

Holometabol grubu böceklerdir. Yani tam metamorfozlu bir gelişmeleri vardır (Falakalı, 1990).

Latince karşılığı "nem seven" olan *D. melanogaster*'ın olgunlaşmış, ekşiyen ve çürüyen meyvelerle beslendiği için "meyve sineği" olarak da adlandırılabilir (Kohler, 1993).

1.2. *Drosophila melanogaster*'in Fiziksel Özellikleri

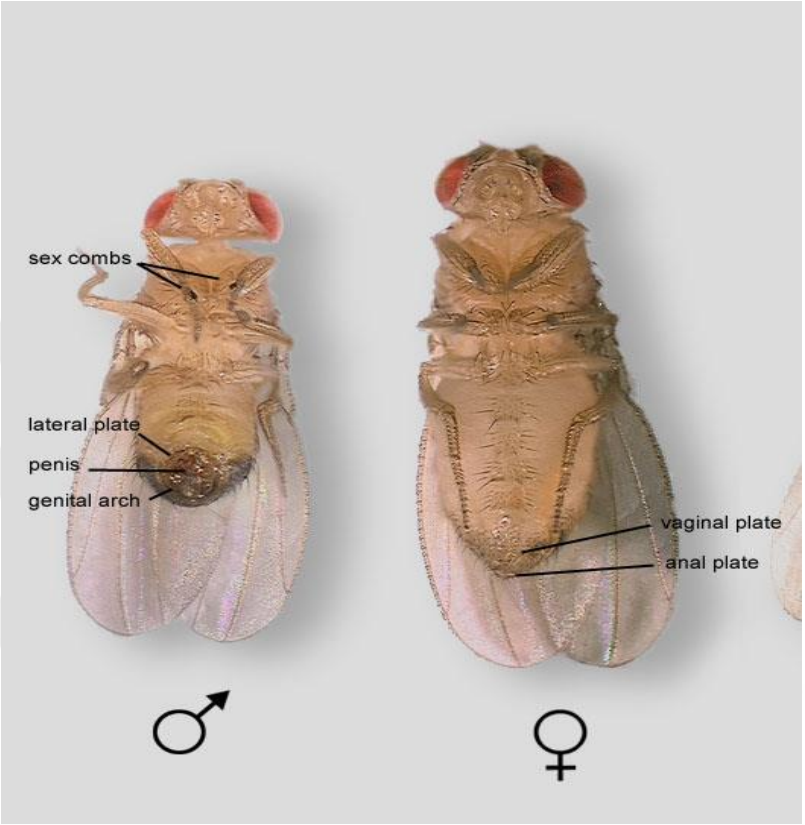
Tüm böcekler gibi *D. melanogaster*, bir kitin dış iskeletle kaplıdır; üç ana gövde parçasına sahiptir ve üç çift parçalı bacağı vardır. *D. melanogaster*'in gözleri kiremit kırmızısı, abdomeni ise sarı-kahverengi bir renge sahiptir. Abdomende enine ve birbirine paralel olarak dizilmiş siyah çizgiler bulunur. Eşeysel dimorfizm gösterirler. Dişi bireylerin abdomeni yedi segmente sahipken erkek bireylerin son segmentleri birleştiği için beş segment bulunur. Bundan dolayı erkeklerin abdomeni dişilere göre kısadır ve abdomenin posterior ucu koyu siyah renktedir (Şekil 1.1).



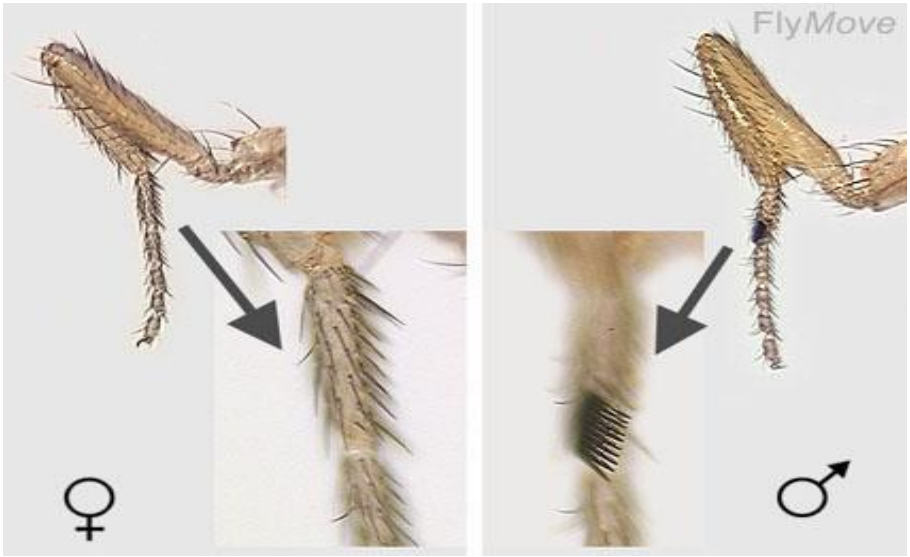
Şekil 1.1. *D. melanogaster* dişi ve erkek bireyde eşeysel dimorfizm (URL-1)

Ayrıca erkeğin abdomen ucu küttür, dişilerde ise sivridir (Şekil 1.2). Lakin bu özellikler yeni pupadan çıkmış, vücut rengi ve şekli tam olarak gerçek halini almamış bireylerde doğru sonuç vermez bu nedenle eşey tarağı yönünden incelemek gerekir.

Erkek bireylerin birinci çift bacakların tarsus segmentinin bazal tarafında, kısa kalın kıllardan oluşan ve "eşey tarağı" (sex comb) adı verilen bir yapı vardır (Şekil 1.3). Dişilerde bu yapı bulunmaz. Eşey tarağı çiftleşme sırasında erkek bireylerin dişiyi kavramasını sağlar (Falakalı, 1990).



Şekil 1.2. *D. melanogaster*'de abdomen ucu farkı (URL-2)



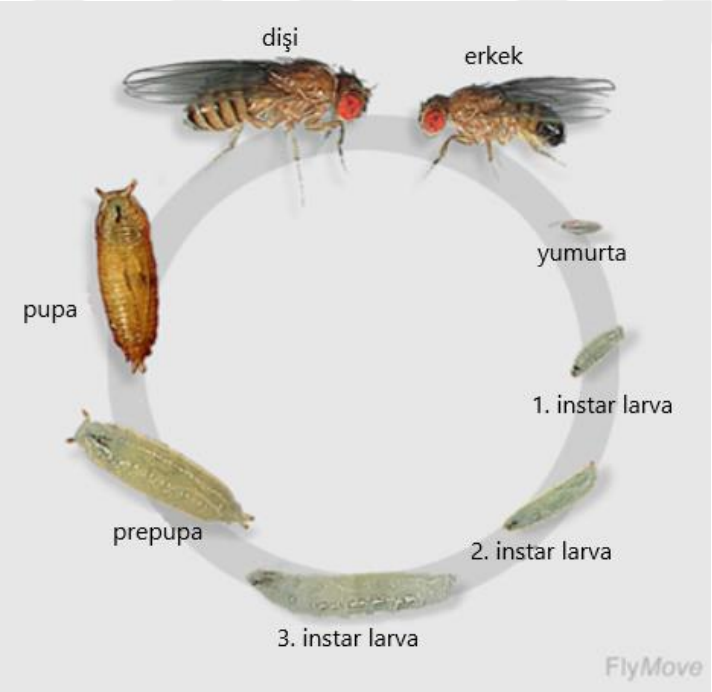
Şekil 1.3. *D. melanogaster* erkek bireylerdeki eşey tarakları (URL-3)

1.3. *Drosophila melanogaster*'in Genetiksel Özellikleri

D. melanogaster'de diploid sette dört çift kromozom bulunduğu belirlenmiştir. Bunlardan üç çifti otozomal (somatik) kromozomlar, bir çifti de gonozomlardır. Kromozomları X, Y, 2, 3, 4 olarak numaralandırılır. Dişilerde iki tane çubuk şekilli X kromozomu bulunmaktadır. Erkek bireylerde bir çubuk şekilli X yanında bir de ters J harfi şeklinde Y kromozomu bulunmaktadır. *D. melanogaster* ile insanlar arasında genetik açıdan benzerlikler bulunmaktadır (Falakalı, 1990).

1.4. *D. melanogaster*'in Hayat Döngüsü

D. melanogaster, hayat döngüsü yumurta, larva, pupa ve ergin olmak üzere dört farklı gelişim evresine sahip tam metamorfozlu bir böcektir (Şekil 1.4). *D. melanogaster*'ın gelişim evreleri sıcaklık, beslenme, populasyon yoğunluğu, radyasyon ve nem gibi çeşitli faktörlerle etkilenmektedir (Keser, 2010). Gelişim evresi sıcaklığa göre değiştiği için ektodermik bir canlıdır. Uygun koşullarda (25°C sıcaklık, %40-60 bağıl nem) yaşam döngüsü yaklaşık 10 gündür (Klug ve diğ., 2019).



Şekil 1.4. *D. melanogaster* yaşam döngüsü (URL-4)

D. melanogaster yumurtaları, ortalama 0,5 mm boyunda, 0,2 mm eninde, oval şekillidir. Yumurtanın dışı, koryon adı verilen ince bir koruyucu zarla çevrilidir.

Yumurtanın ön dorsal ucunda, iki adet ipliksi filament bulunmaktadır (Şekil 1.5). Yumurtanın besiyerine batmasına filamentler engel olmaktadır. Ayrıca bu filamentler yumurtanın ortamdan oksijen almasını sağlamaktadır (Orhan, 2013).

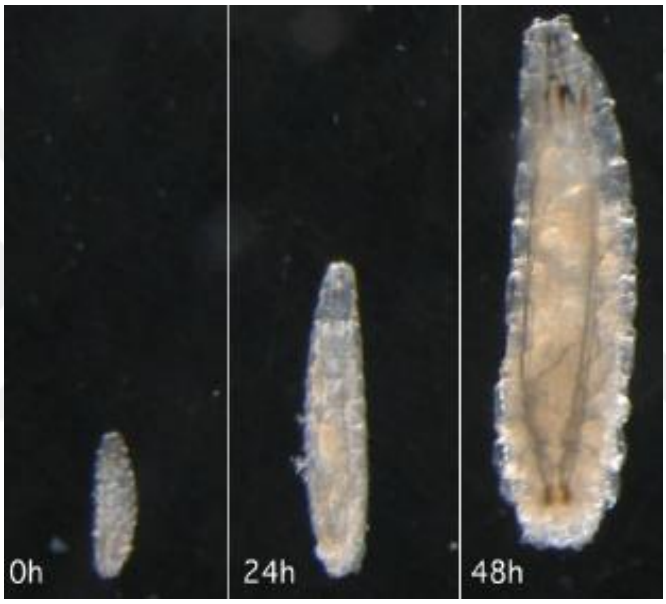
D. melanogaster yumurta hücresi, ana bireyin ovaryumunda gelişir ve etrafı, bakıcı hücrelere ve folikül hücreleri ile çevrilmiştir. Bunlar, yumurta hücresine gelişim için gerekli olan besinleri ve diğer maddeleri sağlarlar. Ayrıca bunlar yumurta kabuğunu yaparlar. Döllenmeden sonra bırakılan yumurtalar, mitoz geçirmeye başlar. Erken mitotik bölünmelerin önemli özellilkleri vardır. Bunlar, sitoplazma miktarı değişmez; ilk on bölünmede çok çabuk gerçekleşen, sadece S ve M fazları vardır. Bu sırada büyüme görülmez. Sitokinez olmaz; *D. melanogaster*'ın erken embriyosu, çok çekirdekli ve büyük bir hücredir. Onuncu çekirdek bölünmesinde ise çekirdekler embriyonun çevresine göç etmeye başlar. Bu bölünmede, plazma zarı, sonunda 6000 parçaya bölünür. Bunun sonucunda çekirdekler ayrı ayrı hücrelere girerler. Henüz mikroskop altında gözükmezler ancak vücut eksenleri ve segment sınırlarını içeren temel vücut planı, bu süreçte belirlenmiştir. Vitellus (yumurta sarısı) merkezde yer almaktadır. Vitellus embriyoyu besler ve yumurta kabuğu embriyoyu korumaya devam etmektedir (Reece ve diğ., 2007).



Şekil 1.5. *D. melanogaster* yumurtaları

Embriyoda daha sonra birbirini izleyen olaylar, belirgin segmentlerin ortaya çıkmasına yol açar. Sonrasında ise bazı hücreler yeni yerlere hareket eder, organlar oluşur ve larva yumurtanın kabuğundan dışarı çıkar. Yumurtalar yaklaşık 24 saat içinde açılarak

zigot, embriyonel gelişimi tamamlamış olur ve ergin bireylere benzemeyen larva halini alır (McMillane ve diğ., 1970a). *D. melanogaster* larvaları 12 segmentten oluşur. Bunlar bir baş, üç toraks ve sekiz abdomendir. Larvalar beyaz renklidir. Sürekli beslenen ve büyüyen larva, belli aralıklarla kütikula tabakasını iki kez atarak yenisini oluşturur. Bu olay gömlek değiştirme olarak adlandırılır. *D. melanogaster* üç larval evre geçirir (Şekil 1.6). İki gömlek değiştirme arasındaki bu evrelere "instar" denmektedir. Birinci instar (L1) 1 gün, ikinci instar (L2) 1gün ve üçüncü instar (L3) ise 2-3 gündür (Güneş, 2013). Üçüncü instar larvanın, tükrük bezlerinde politen kromozom oluşumu en önemli özelliğidir (Karataş, 1998).



Şekil 1.6. *D. melanogaster* larvaları

D. melanogaster'da steroid hormon olan ekdizonun kademeli artışı metamorfozun başlamasını düzenler. Larval gelişim sonundaki ekdizon artışları, puplaşma formasyonunu ve prepupal gelişimi destekler. Bunu izleyen on saat sonunda bir başka ekdizon artışı prepupal-pupal geçişi haber verir (Karataş ve Bahçeci, 2009). Larvalar beslenmesini tamamladıktan sonra bulunduğu besini terk eder ve bulunduğu kabın kuru yerine geçer. Bu evre yaklaşık 4 saat süren prepupal dönemdir. Prepupa evresine giren lavralar sarımsı bir renk alır ve larval kütikul sertleşerek "puparium" denen kılıfı oluşturur. Daha sonra renk kahverengiye doğru değişir ve bir kılıf içerisinde saklanan pupa oluşur (Şekil 1.7). Pupasyon yaklaşık 4 gün sürer. Tam başkalaşım geçiren larvada, larval doku ve organlar parçalanır. Larval sinir sistemi bu parçalanmaya uğramamaktadır. Malpighi tüpleri ve gonadlar gibi yapılar korunur (Orhan, 2013). Pek

çok larval doku pupal gelişim esnasında yıkılır ve imaginal öncül hücrelerin bir araya gelmesiyle oluşan imaginal disklerin büyümesi ve değişmesiyle ergin yapı ortaya çıkar. Bu gelişimsel yolların net sonucu olarak sürünen bir larvadan, oldukça hareketli ve üreyebilen ergin sinekler ortaya çıkar (Karataş ve Bahçeci, 2009). Pupadan yeni çıkmış bireylerin henüz kanatları tam açılmamış ve pigmentasyonu tamamlanmamıştır. Metamorfoz larvadan ergin sineğe olan bir değişimdir (Reece ve diğ., 2007).



Şekil 1.7. *D. melanogaster* pupaları

Metamorfozu tamamlayarak pupadan çıkan ergin bireyler ince, uzun, yumuşak vücutlu ve açık renklidir (Şekil 1.8). Kırışık olan tam açılmamış kanatlar iki saat içinde açılır, iki üç saat içinde pigmentasyon da tamamlanır. *D. melanogaster*'ın ergin bireyleri yaklaşık 3 mm uzunluğunda ve 2 mm enindedir (Rajarathinam, 2005). Ergin bireyin vücudu baş, toraks ve abdomen olmak üzere üç kısımdan oluşur. Erkek bireyler pupadan çıktıkları zaman eşeysel olgunluğa ulaşırken, buna karşın dişi bireylerin eşeysel olgunluğa ulaşması ve çiftleşme yeteneği kazanması için 6-12 saatlik bir süre geçmesi gerekir (Keser, 2010). Dişi bireyler döllenme olmadan da yumurta bırakabilirler ancak döllenme olmadan yumurtalar açılmamaktadır. Çiftleştikten sonra, dişi bireyler, yumurtalarını döllemek için kullanacakları spermleri, spermateka (sperm kesesi) adı verilen yapılarda depolar (Orhan, 2013). Dişi bireyler 10 günde yaklaşık 500 yumurta bırakırlar (Rajarathinam, 2005).



Şekil 1.8. *D. melanogaster* açık renkli vücut

1.5. *Drosophila melanagaster*'ın Model Organizma Olarak Önemi

D. melanogaster organizma biyolojisi araştırmak için iyi model organizmadır (Ormerod ve diğ., 2017). *D. melanogaster*, bazıları potansiyel ilaç hedefleri olarak işlev görebilen insan proteinleri ile benzerliği nedeniyle yaklaşık bir asırdır biyolojik araştırmalarda örnek bir organizma olarak kullanılmaktadır (Piper ve diğ., 2005). İnsanlar ve *D. melanogaster* birçok korunmuş fizyolojik ve biyolojik yolağa sahip olan bir organizmadır (Jafari, 2010). *D. melanogaster* dokular açısından, kalp ve böbrek de dahil olmak üzere memelilere *Caenorhabditis elegans*'dan daha çok benzerdir (Pipera ve Partridge, 2018). Bilim adamları, *D. melanagoster* genetik kodu ile bilinen insan hastalık genlerinin %60'ından fazlası arasında tanımlanabilir bir eşleşme keşfettiler (Bernards ve Hariharan, 2001). Bu nedenle *D. melanogaster,* Alzheimer (Prüßing ve diğ, 2013), Parkinson (Aryal ve Lee, 2019) ve Kanser hastalıkları (Mirzoyan ve diğ., 2019) da dahil olmak üzere çeşitli insan hastalıkları için genetik bir model organizma olarak kullanılmaktadır (Reiter ve diğ., 2001).

*D. melanogaster'*ı ağırlıklı olarak genetik ve evrimsel biyolojide çok yönlü bir araştırma örneği yapan özelliklerden bazıları aşağıda verilmiştir:

- Besin gereksinimleri basit ve ekonomik olduğu için çok fazla sayıda birey üretmek mümkündür (Hales ve diğ, 2015).
- Sinekler küçük boyutludur (yaklaşık 3 mm uzunluğunda ve 2 mm genişliğinde) ve laboratuvarda kolayca yetiştirilebilir.
- Hayat döngüleri kısadır (Koh ve diğ, 2006).
- Basit ekipmanlarla kolayca uyutulabilirler.
- Sinekler kısa bir üretim süresine sahiptir ve uygun koşullarda yüksek verimlilik gösterirler.
- Politen kromozomlara sahiptirler.
- Genetik kodları insanlara benzemektedir (Klug ve diğ., 2019).
- *D. melanogaster* cinsel olarak dimorfiktir, cinsiyet ve diğer fenotipik karakterlerinin kolaylıkla incelenebilmesine olanak sağlamaktadır.
- Birçok mutant karakteri bulunmaktadır (Mcmillan ve diğ, 1970b).

Ayrıca sinek dokuları, kalp ve böbrek de dahil olmak üzere *Caenorhabditis elegans'*dan memelilere daha çok benzemektedir (Piper ve Partridge, 2018). Bütün bu yararları göz önüne alındığında *D. melanogaster*, laboratuvarda kullanılmak için çok uygun bir organizmadır.

1.6. Karbonik Anhidrazlar

Enzimler en önemli ilaç hedefleridir. Bilinen ilaç hedeflerinin yaklaşık %40'ını enzimler teşkil etmektedir (Sen ve diğ., 2017, Imming ve diğ., 2006). İnsan vücudunda hem fizyolojik hem de patolojik süreçlerde karbonik anhidraz izoenzimleri önemli rol oynadıkları için ilaç tasarımında oldukça dikkat çekici olmuşlardır (Geldeard, 2009).

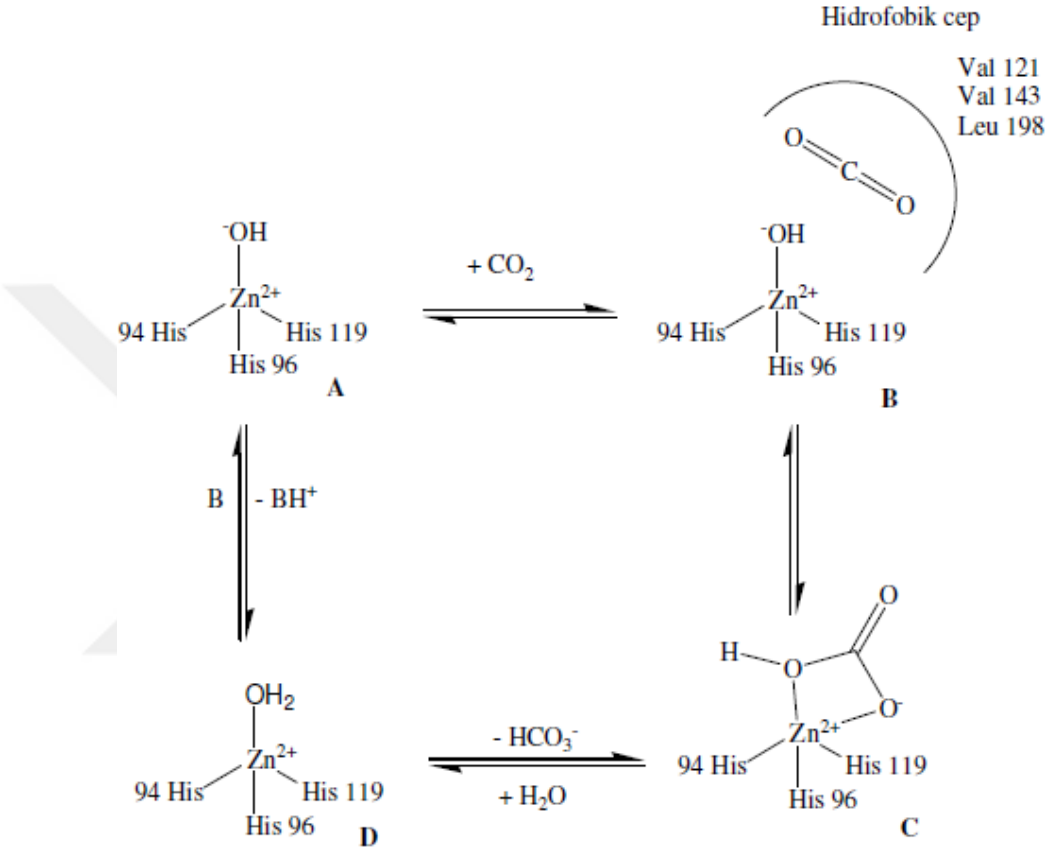
Karbonik anhidrazlar (CA'lar; karbonat dehidratazlar EC 4.2.1.1 olarak da bilinir), dört gen ailesi tarafından kodlanan prokaryotlarda ve ökaryotlarda bulunan metaloenzimlerdir. Bunlar α-CA'lardır; omurgalıların, bakterilerin, alglerin ve yeşil bitkilerin sitoplazmasında bulunmaktadır. β- CA'lar ise ağırlıklı olarak monodikotilin ve dikotiledonların bakteri, alg ve kloroplastlarında bulunmaktadır. γ-CA'lar esas olarak arkea ve bazı bakterilerde bulunmaktadır. δ-CA'lar bazı deniz diyatomlarında bulunmaktadır. Memelilerde farklı doku dağılımları gösteren α-CA gen ailesine baglı 16 farklı CA izoenzimi ve CA bağlantılı protein tanımlanmıştır. Bunlar beş sitosolik

form (CA I, CA II, CA III, CA VII ve CA XIII), beş membrana bağlı izozim (CA IV, CA IX, CA XII, CA XIV ve CA XV), iki mitokondriyal form (CA VA ve CA VB) ve salgılanan bir CA izozimidir (CA VI). Ca izoenzimleri kinetik özellikleri ve inhibisyon profilleri açısından değişiklik göstermektedirler (Supuran, 2008). CA izoenzimlerini inhibe ederek, bazı insan hastalıklarının tedavi edilmesini sağlarlar. Bu farmakolojik ajanlara karbonik anhidraz inhibitörleri (CAİ) denir (Şen, 2018). Göz hastalıkları alanında kullanılan, karbonik anhidraz inhibitörleri (CAİ), göz içi basıncını (gib) düşürücü etkisi olan en kuvvetli ilaçlar arasındadır. Günümüzde göz içi basıncını düşürmek için iki formda kullanılır. Bunlar topikal ve sistemik olmak üzeredir (Doğanay ve Fırat, 2007).

Karbonik anhidrazlar (CA), hücreler ve dokulardaki H_20 ve CO_2'in H^++HCO_3^-'a dönüşümünü katalize ederler. Bununla birlikte pH ve CO_2 homeostazını gerçekleştiren metaloenzimlerdir. Ayrıca çeşitli dokularda/organlarda elektrolit salınması, biyosentetik reaksiyonlar (lipojenez, glukoneogenez ve ürejenez), kemik rezorpsiyonu, kalsifikasyon, tümörijenite ve diğer pek çok fizyolojik veya patolojik süreç ile iletişimli kritik fizyolojik işlemlerde rol oynarlar (Supuran, 2018, Supuran, 2016, Aggarwal ve McKenna, 2012, Karioti ve diğ., 2016, Maren, 1984). Gerçekten de, bir veya daha fazla dokuda bu izoformların aktivitesinin düzensizliği, önemli patolojik sonuçlara sahiptir: aşırı salgılandığında glokom göz içinde, daha sonra göz içi basıncında (gib) artış ile, idrarda yeterli miktarda sıvı salgılanmadığında ödem yani vücutta sıvı birikmesine neden olur. Bu süreçlerde CA II, CA IV, XII ve XIV gibi diğer bazı izoformlarla birlikte böbrekler, beyin, vb. tek başına veya CA IX ve XII gibi diğer izoformlarla birlikte. CA II, akut dağ hastalığı (AMS) ve görünüşte ateroskleroz ve osteoporoz gibi diğer patolojilerde de rol oynar (Grandane ve diğ., 2015).

CO_2 hidrataz aktivitesi ile karbonik anhidraz enziminin çalıştığı bilinmektedir. Şekil 1.9'daki verilen mekanizmaya göre, karbonik anhidrazın aktif bölgesinde olan Zn^{+2} katyonuna bağlı su molekülünün protonlarından (H^+) biri, CA'nın baz olarak davranan kısmı tarafından koparılır. Bu reaksiyonun gerçekleşmesine ortamdaki tampon bölgeler yardımcı olur. Böylece Zn^{+2} iyonuna hidroksil grubunun baglanmasıyla enzimin aktif formu olusur (Şekil 1.9A). Sonrasında ise enzimin aktif formu, güçlü nükleofilik yapısıyla CO_2 molekülüne saldırır (Şekil 1.9B). Bu sayede Zn^{+2} iyonuna bağlanmış bikarbonat (HCO_3^-) iyonunun oluşmasını sağlamaktadır (Şekil 1.9C).

Sonrasında ise bikarbonat (HCO_3^-) iyonu, su molekülüyle yer değiştirir ve çözeltiye geçer. Bunun neticesinde, Zn^{+2} iyonuna su molekülü bağlanır. Bu da, enzimin katalitik olarak inaktif olan formuna dönüşmesini sağlar (Şekil 1.9D) (Aydoğan, 2006, Supuran ve diğ, 2004, Şen, 2018).

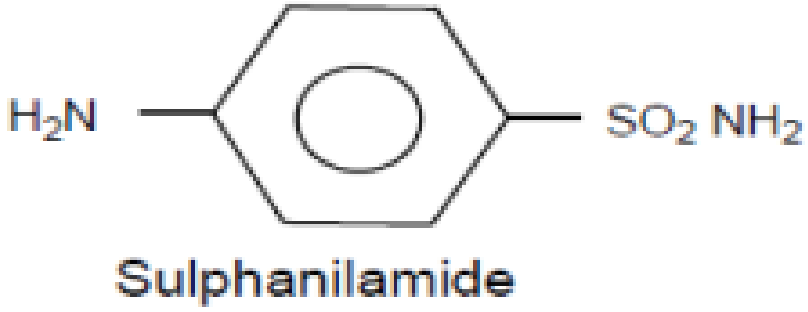


Şekil 1.9. Karbonik anhidraz enziminin hidrataz aktivitesi (Şahin, 2008)

1.7. Sülfonomitler

CA inhibitörlerinin en önemli ve en çok incelenen sınıfı, katalizör Zn^{2+} 'yı enzim aktif bölgesinden koordine edebilen, böylece katalitik süreci bloke edebilen aromatik sülfonamidlerdir (El-Gazzar ve diğ., 2018).

Sülfonomidler, kimyasal olarak SO_2NH_2 fonksiyonel grubunu içeren bileşikler olarak adlandırılmaktadır. Sülfonomidlerin RSO_2NH_2 genel formülüdür. Sülfonamid terimi genellikle para amino benzen sülfonamidlerin türevleri için genel bir isim olarak kullanılır (Lavanya, 2017). Sülfonomidlerin kimyasal yapısı Şekil 1.10'da gösterilmiştir.



Şekil 1.10. Sülfonomidin kimyasal yapısı (Lavanya, 2017)

Sülfonamidler ve bunların izosterleri, yıllardır diüretik olarak klinik kullanımda veya glokom, epilepsi, obezite ve yakın zamanda kanser tedavisinde kullanılan bu tür birçok türevle birlikte CA inhibitörlerinin (CAI) ana sınıfı olmaya devam etmektedir (Eldehna diğ., 2017).

Araştırmalarda, antikonvülsan ilaçların yeni hedefleri olarak sulfamid türevlerine odaklanmıştır (Villalba ve diğ., 2016). Sülfonamitler anti-glokom, antibakteriyel, antikarbonik anhidraz, diüretik, antitumor, antimigren, antiepileptik gibi değişik biyolojik aktivitelere sahip önemli bir ilaç sınıfıdır (Chen ve diğ., 2019, Supuran, 2018, Aggarwal ve McKenna, 2012, Barrios ve diğ., 2002).

Karbonik anhidrazın en güçlü organik inhibitörleri, aromatik ve heteroaromatik sülfonamidlerdir. Sülfonomitler insanlardaki bakteriyel hastalıkların sistematik olarak tedavisi ve önlenmesinde ilk kullanılan ilaçlardır. Geniş şekilde kullanılmaya başlanmalarını takiben etkili oldukları bakterilerin yol açtıkları hastalıklarda önemli azalma olmuştur. 1936'da 4-aminobenzensülfonamit sentez edilmiştir. Daha sonra otuz yıl içerisinde sülfonamit grubunun yüzlerce türevi elde edilmiştir (Gümüş, 2008).

Bu nedenle bu çalışmada, yeni sentezlenen karbonik anhidraz türevleri olan 2a (4-(((4,4-dimetil-2,6-dioksocsiklohekziliden)metil)amino)benzensülfonamit) ve 6a (4-(2-oxo-3'H-spiro[indoline-3,2'-[1,3,4]oxadiazole]-5'-yl)benzenesulfonamide) bileşiğinin etkileri *D. melanogaster*'de araştırılmıştır.

2. MALZEME VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Cihazlar

İnkübatör (Nüve TK 600)

Stereo mikroskop (Olympus SZ2-ILST Sterio microscope)

Mikropipet

Hassas Terazi

2.2. Kullanılan Kimyasallar

6a: 4-(2-oxo-3'H-spiro[indoline-3,2'-[1,3,4]oxadiazole]-5'-yl)benzenesulfonamide

2a: 4-(((4,4-dimetil-2,6-dioksocsiklohekziliden)metil)amino)benzensülfonamit

Sodyumarsenit ($NaAsO_2$)

2.3. Kullanılan Çözücüler

Karbonik anhidraz inhibitörleri dimetilsülfoksitte (DMSO) çözülerek kullanılmıştır. Pozitif kontrol grubu olarak kullanılan sodyumarsenit de ($NaAsO_2$) suda çözünmüştür.

2.4. Organizma

Yapılan araştırmada *D. melanogaster* (Diptera: Drosophilidae)'in yabanıl tip Oregon-R soyu kullanılmıştır.

2.4.1. *Drosophila melanogaster* kültürleri

Deneylerimizde *D. melanogaster* (Diptera: Drosophilidae)'in yabanıl tip Oregon-R soyu kullanılmıştır. Deneylerde kullanılan *D. melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) kültürü, Akdeniz Üniversitesi Biyoloji Bölümünden getirilmiştir ve laboratuvarımızda uzun süredir yaşatılmaktadır.

Çalışmalarda kullanılan kültürler, 50 ml'lik hazır besi yeri içeren kültür şişeleri içerisinde, sürekli karanlık koşulda 25±1° C' ye ayarlanmış soğutmalı inkübatörde yaşatılmıştır. Besi yeri olarak pişirmeye ya da steril etmeye ihtiyaç duyulmayan, sadece su eklenerek hazırlanan standart besiyeri (Formula 4-24® Instant Drosophila Medium, Carolina Biological Supply Company 2700 York Road, Burlington, NC 27215-3398) kullanılmıştır. Kültür şişesi olarak, sık sık steril edilen 200 ml'lik ayran şişeleri kullanılmıştır (Karataş ve Bahçeci, 2010a, Karataş ve Bahçeci, 2010b).

2.5. Deneysel Çalışma

Çalışmada virjin *D. melanogaster* dişi ve erkeklerine madde uygulanarak, maddenin olası etkisi F_1 ve F_2 neslinde incelenmiştir. Metamorfoz süresi, ergin birey sayısı, normal gelişim gerçekleşip gerçekleşmediğini görmek için ergin birey fenotipi ve eşey oranı F_1 ve F_2 neslinde incelenmiştir.

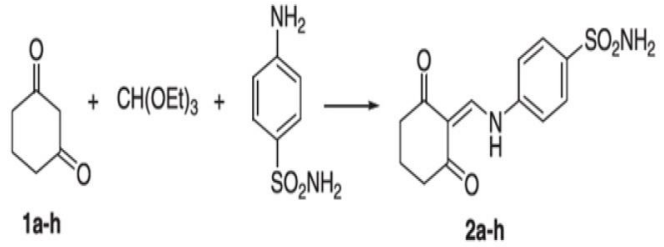
2.5.1. Kullanılan kimyasallar

Bu tez çalışması kapsamında; ilaç etken maddeleri olarak kullanılma potansiyeline sahip olabilecekleri düşünülen iki madde test edilmiştir. Bunlar, metilenaminobenzen-sülfonamit türevlerinden 6a ve 2a bileşikleridir, bu iki bileşiğin olası toksik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu maddelerin sentezi Sakarya Üniversitesi Kimya Bölümünde yapılmıştır.

Sakarya Üniversitesi Kimya Bölümünde; sülfonilamit (18,25 gr, 0,106 mol), 1,3 dikarbonil bileşikleri (0,127 mol) ve trietil [ortoformat] (16 mL) karışımının 100 mL etanol içerisinde üç saat reflukse edilmesiyle sentezlenmiştir. Şekil 2.1'de görülen metilenaminobenzen sülfonamit türevlerinin H NMR, C NMR, IR, elemental analizle karakterizasyonları yine aynı üniversitede yapılmıştır. İlaç etken maddeleri olarak kullanılma potansiyeline sahip olabilecekleri düşünülerek sentezlenmiş bu bileşiklerin, insan vücudunda en bol bulunan ve en yaygın dağılım gösteren insan kanından saflaştırılmış CA I ile CA II izoenzimleri üzerindeki inhibitör etkileri de Balıkesir Üniversitesi Kimya Bölümünde incelenmiştir (Şen, 2018).

Deneylerde kullanılmak üzere K_i değerinin altında olan iki konsantrasyon (2,12 µL, 4,25 µL) ve K_i değerinin üstünde bir konsantrasyon (8,5 µL) deney konsantrasyonları

olarak seçilmiştir. 6a ve 2a maddesi %1'lik DMSO'da çözülmüş ve besiyerine karıştırılarak, üç farklı konsantrasyonda (2,12 µL, 4,25 µL ve 8,5 µL) beslenme yoluyla uygulanmıştır. Ayrıca çözücü olarak kullanılan %1'lik DMSO çözeltisi de deney grubu olarak deney setine eklenmiştir. Negatif kontrol grubu olarak distile su, pozitif kontrol grubu olarak sodyum arsenit (10 mM sodyum arsenit, $NaAsO_2$) kullanılmıştır (Karataş ve Bahçeci, 2010a).



Compound	2a	2b	2c	2d	2e	2f	2g	2h
1a-h								

Şekil 2.1. Metilenaminobenzen Sülfonamit Türevleri (Demirci, 2014)

2.5.2. Metamorfoz süresi üzerine etkileri gözlemek amacıyla yapılan uygulama

Metamorfoz süresi üzerine etkileri gözlemek amacıyla, 6a maddesi için üç uygulama konsantrasyonu (0,47 µL, 0,94 µL ve 1,88 µL) kullanılmıştr. Ayrıca kontrol grubu olarak üç grup hazırlanmıştır. Pozitif kontrol grubu olarak sodyumarsenit ($NaAsO_2$), negatif kontrol grubu olarak distile su ve çözücü kontrol grubu (DMSO) kullanılmıştır. 2a maddesi için de üç uygulama konsantrasyonu (2,12 µL, 4,25 µL ve 8,5 µL) ve pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$), negatif kontrol grubu (distile su) ve çözücü kontrol grubu (DMSO) kullanılmıştır. 2a ve 6a maddesi için çözeltiler %1'lik DMSO kullanılarak hazırlanmıştır (Kızılet ve Uysal, 2012). Tüm deney gruplarından 1 ml çözelti alınmıştır ve besiyerine ilave edilmiştir. Her deney ve kontrol şişesine 15 dişi ve 15 erkek birey konulmuştur. Bu şişeler her gün kontrol edilmiştir. Yapılan gözlemlerle, şişelerde yumurta, larva, pupa ve erginlerin çıkışı gözlenmiş ve ilk gözlendikleri gün kaydedilmiştir. Daha sonra F_1 nesline ait metamorfoz süreleri arasında karşılaştırma yapılmıştır.

F_2 neslinde metamorfoz süresinin karşılaştırılması için, F_1 neslinden elde edilen bireyler, normal besiyeri içeren şişelere, 15 erkek birey ve 15 dişi birey olmak üzere konulmuştur. Fakat bu esnada F_2 nesli için hazırlanan besiyerlerine hiçbir kimyasal eklenmemiş, standart besiyeri kullanılmıştır. Bu uygulamada amaç, F_1 neslinde maruz kalınan kimyasalların F_2 neslinde etkisinin ortaya çıkıp çıkmayacağı araştırılmıştır. Bu yolla maddeye maruz kalmayan F_2 neslinde etki olup olmadığı ortaya çıkarılmaya çalışılmıştır. F_2 neslinde yapılan uygulamada, başlangıç konstrasyonlarına bağlı kalınarak normal besiyerinde gelişim tamamlanması sağlanmıştır. F_1 neslinde yapılan işlemlerin aynısı F_2 neslinde de tekrar edilmiştir. Her gün gözlem yapılarak sonuçlar kaydedilmiştir. Deney altı tekrarlı yapılmıştır.

2.5.3. Maddelerin ergin birey sayısına etkilerini gözlemek amacıyla yapılan uygulama

Ergin birey sayısı üzerine etkileri gözlemek amacıyla, 6a bileşiği için üç uygulama konsantrasyonu (0,47 µL, 0,94 µL ve 1,88 µL), 2a bileşiği için de üç uygulama konsantrasyonu (2,12 µL, 4,25 µL ve 8,5 µL) kullanılmıştr. Ayrıca kontrol grubu olarak üç grup hazırlanmıştır. Pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$), negatif kontrol grubu (distile su) ve çözücü kontrol grubu (DMSO) kullanılmıştır. Deneylerde virjin ve erkek bireyleri elde etmek amacıyla 15 dişi ve 15 erkek ergin birey madde içermeyen taze besiyerine aktarılmıştır. Parental ergin bireyler besiyerinden uzaklaştırılmıştır. Deneylerde, 10-12 gün sonra pupadan yeni çıkan o güne ait dişi ve erkek ergin bireyler kullanılmıştır. Deney gruplarında 1 ml madde çözeltisi (2a, 6a, DMSO, $NaAsO_2$), hazır besi yeri hazırlanırken kültür ortamına karıştırılarak ilave edilmiştir. Deney setlerinde kontrol ve deney grubu kültür şişelerine virgin 15 erkek ve 15 dişi birey konulmuştur. Dişi bireylerin çiftleştikten sonra bıraktıkları yumurtlar pupa evresine geçtikten sonra, ergin dişi ve erkek bireyler besi yerinden uzaklaştırılmıştır. Yumurtaların ergin bireylere dönüşmesi beklenerek, besiyerinde sadece F_1 nesli bireylerinin bulunması sağlanmıştır. Daha sonra F_1 nesli bireylerinin ilk çıktığı gün morfolojik gözlemlere başlanmıştır. Ergin birey sayısı not edilmiştir. Gözlemler sekiz gün boyunca devam etmiştir. *D. melanogaster*'da gelişim ortalama on günde tamamlanır. Bu yüzden çalışmalar sekiz günle sınırlandırılıp F_2 nesli ile karışması önlenmiştir. Deneylerde Olympus SZ2-ILST Sterio mikroskobu kullanılmıştır. Deneyler altı tekrarlı yapılmıştır

(Keser ve Karataş, 2012; Mukhopadhyay, 2003; Piper ve diğ., 2005; Suckow ve Suckow, 2006). Aynı işlemler F_2 neslinde de uygulanmıştır.

2.5.4. Maddelerin morfolojik karakterlere etkilerini gözlemek amacıyla yapılan uygulama

Bu aşamada uygulama maddelerin F_1 ve F_2 neslinde morfolojik karakterlerde değişimine neden olup olmadığını gözlemek için deney setleri kurulmuştur. Bu amaçla, deney grubu besiyerlerine 6a maddesi için üç konsantrasyon (0,47 µL, 0,94 µL ve 1,88 µL) ve 2a maddesi için de üç konsantrasyon uygulama yapılmıştır (2,12 µL, 4,25 µL ve 8,5 µL). Deney gruplarına ilave olarak, pozitif kontrol için $NaAsO_2$, çözücü kontrol için DMSO ve negatif kontrol için distile su, besiyerlerine 1 ml olarak ilave edilmiştir. Deney grupları, pozitif kontrol ($NaAsO_2$), negatif kontrol (distile su) ve çözücü kontrol (DMSO) gruplarına ait besiyerlerine 15 erkek birey ve 15 dişi birey konulmuştur. Besiyerlerinde pupa evresi gözlendiği gün, ergin bireyler besiyerinden uzaklaştırmıştır. Bu sayede parental bireylerin bıraktığı yumurtalardan çıkan F_1 nesli bireyleri ile parental bireylerin karışması engellenmiş ve veriler F_1 nesli ile sınırlandırılmıştır.

F_1 nesli bireylerinin ilk çıktığı gün morfolojik gözlemlere başlanmıştır. Gözlemler sekiz gün boyunca devam etmiştir. *D. melanogaster*'da gelişim ortalama on günde tamamlanır. Bu yüzden çalışmalar sekiz günle sınırlandırılıp F_2 nesli ile karışması önlenmiştir.

F_1 neslinde fenotipik özellikler, ilk ergin bireyin gözlendiği günden itibaren, sekiz gün boyunca Olympus SZ2-ILST Sterio mikroskobu altında incelenmiştir. Dişi ve erkek birey ayrımı yapılarak, bireyler tek tek incelenmiş; kanatlar, üyeler, segmentler, gözler kontrol edilmiştir. Bu yapılarda gözlenen anormallikler ayrı ayrı not edilmiştir. F_1 neslinde bu aşamada teratojenik etki olup olmadığı ortaya çıkarılmaya çalışılmıştır (Karataş ve diğ, 2011). Deneyin bu aşaması da altı tekrarlı yapılmıştır.

F_1 neslinde gözlenen fenotipik anormalliklerin kalıtsal olup olmadığını anlamak amacıyla, F_1 neslinden elde edilen bireyler toplanmıştır. Normal besiyeri içeren şişelere 15 erkek birey ve 15 dişi birey konulmuştur. F_1 neslinde uygulanan tüm deney setlerinin aynısı F_2 nesli için de kurulmuştur. Yani deney seti olarak 6a maddesi için

üç konsantrasyon (0,47 µL, 0,94 µL ve 1,88 µL) ve 2a maddesi için de üç konsantrasyon uygulama yapılmıştır (2,12 µL, 4,25 µL ve 8,5 µL). Kontrol grubu olarak pozitif kontrol için $NaAsO_2$, çözücü kontrol için DMSO ve negatif kontrol için distile su besiyerlerine ilave edilmiştir. Gözlemler için F_1 neslinde yapılan işlemlerin aynısı F_2 neslinde de tekrar edilmiştir. Bu deney de altı kere tekrarlanmıştır.

2.5.5. Maddelerin eşey oranı etkilerini gözlemek amacıyla yapılan uygulama

Araştırmanın son aşamasında ise eşey oranına etkisini gözlemlemek amacıyla, çaprazlamadan sonra, her iki nesilde (F_1 ve F_2) elde edilen erkek ve dişi bireyler ayrı ayrı kaydedilmiştir. Sonrasında ise veriler değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonucunda eşey oranında değişim olup olmadığı incelenmiştir (Karataş ve Bahçeci, 2009).

2.5.6. İstatistiksel değerlendirme

Bulguların istatistik değerlendirilmesinde z-testi kullanılmıştır. Ortaya çıkan istatiksel farkın z değeri ±1,96'dan büyükse %5 de düzeyinde önemli, ±2,575'den büyükse %1 düzeyinde önemlidir.

Verilerin istatistik hesapları Anova testi ile yapılmıştır. Ayrıca kullanılan konsantrasyonların kendi içinde ve diğer konsantrasyonlarla mukayesesi için ikinci bir istatistik olarak, iki faktörlü varyans analizi kullanılmıştır. İki faktörlü varyans analizi ile her deney grubunun diğer tüm deney ve kontrol grupları ile tüm karşılaştırmaları yapılmıştır (Ratkowsky, 1990).

3. BULGULAR

2a bileşiği için üç uygulama konsantrasyonu (2,12, 4,25 ve 8,5 µL) ,6a bileşiği için de üç uygulama konsantrasyonu (0,47, 0,94 ve 1,88 µL), ve pozitif kontrol ($NaAsO_2$), negatif kontrol (distile su), çözücü kontrol (DMSO) *D. melanogaster'*in besiyerine karıştırılarak uygulanması sonucu elde edilen verilerimiz ayrı ayrı başlıklar halinde sunulmuştur.

3.1. Karbonik Anhidraz İnhibitörlerin F_1 Neslinde Metamorfoz Süresi Üzerine Etkisi

Yukarıda da bahsedildiği gibi karbonik anhidraz inhibitörlerinden, 2a bileşiğinin (2,12, 4,25 ve 8,5 µL) ve 6a bileşiğinin (0,47, 0,94 ve 1,88 µL) etkileri ayrı ayrı başlıklar halinde incelenecektir.

3.1.1. 2a bileşiğinin F_1 neslinde metamorfoz süresi üzerine etkisi

Karbonik anhidraz inhibitörlerinden 2a bileşiğinin F_1 nesline ait araştırma verileri Tablo 3.1'de sunulmuştur.

Tablo 3.1. 2a bileşiğinin F_1 neslinde metamorfoz süresi üzerine etkisi

Metamorfoz Süresi / Gruplar	Yumurta	1. instar	2. instar	3. instar (1.evre)	3. instar (2.evre)	Pupa	Ergin
2a (2,12 µL)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün
2a (4,25 µL)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün
2a (8,5 µL)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün
Pozitif kontrol grubu (NaAsO2)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	7. gün	11. gün
Çözücü kontrol grubu (DMSO)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün
Negatif kontrol grubu (distile su)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün

Tablo 1 incelendiğinde F_1 neslinin metamorfoz süresi gözlemlenmiştir. Bu gözlemler de; yumurtadan itibaren tüm evreler görülmüştür.

Yumurta, hem deney gruplarında hem de kontrol gruplarında birinci gün görülmüştür.

1. ve 2. instar evreleri de aynı şekilde hem deney gruplarında hem de kontrol gruplarında, sırasıyla ikinci ve üçüncü gün gözlemlenmiştir.

3. instarın 1. ve 2. evresi de aynı şekilde hem deney hem de kontrol gruplarında sırasıyla dördüncü ve beşinci gün gözlemlenmiştir.

Pupa evresi ise pozitif kontrol grubunda ($NaAsO_2$) yedinci gün gözlemlenirken, diğer tüm gruplarda altıncı gün gözlemlenmiştir.

Aynı şekilde ergin bireylerin pozitif kontrol grubunda ($NaAsO_2$) diğer tüm uygulama gruplarına göre bir gün geç ortaya çıktığı gözlemlenmiştir. Sadece pozitif kontrol grubu gelişimi bir gün geriletmiştir.

3.1.2. 6a bileşiğinin F_1 neslinde metamorfoz süresi üzerine etkisi

Karbonik anhidraz inhibitörlerinden 6a bileşiğinin F_1 nesline ait araştırma verileri Tablo 3.2'de sunulmuştur.

Tablo 3.2. 6a bileşiğinin F_1 neslinde metamorfoz süresi üzerine etkisi

Metamorfoz Süresi / Gruplar	Yumurta	1. instar	2. instar	3. instar (1.evre)	3. instar (2.evre)	Pupa	Ergin
6a (0,47 µL)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün
6a (0,94 µL)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün
6a (1,88 µL)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün
Pozitif kontrol grubu (NaAsO2)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	7. gün	11. gün
Çözücü kontrol grubu (DMSO)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün
Negatif kontrol grubu (distile su)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün

Yumurtadan itibaren tüm evrelere ait veriler Tablo 3.2'de sunulmuştur.

Yumurta, hem deney hem de kontrol gruplarında birinci gün görülmüştür.

1. ve 2. instar evreleri de aynı şekilde, hem deney gruplarında hem de kontrol gruplarında, sırasıyla ikinci ve üçüncü gün gözlemlenmiştir.

3. instarın 1. ve 2. evresinde de aynı şekilde hem deney hem de kontrol gruplarında sırasıyla dördüncü ve beşinci gün gözlemlenmiştir.

Pupa evresi ise pozitif kontrol grubunda ($NaAsO_2$) yedinci gün gözlemlenirken, diğer tüm gruplarda altıncı gün gözlemlenmiştir.

Ergin bireylerde de bu nedenle pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$) diğer tüm gruplara göre bir gün geç ortaya çıktığı gözlemlenmiştir. Sadece pozitif kontrol grubu gelişimi bir gün geriletmiştir.

3.2. Karbonik Anhidraz Inhibitörlerin F_2 Neslinde Metamorfoz Süresi Üzerine Etkisi

Karbonik anhidraz inhibitörlerinin, F_2 neslinde metamorfoz süresini tespit etmek amacıyla yapılan araştırmaya ait veriler, ayrı ayrı başlıklar altında ele alınmıştır.

3.2.1. 2a bileşiğinin F_2 neslinde metamorfoz süresi üzerine etkisi

Karbonik anhidraz inhibitörlerinden 2a bileşiğinin F_2 nesline ait araştırma verileri Tablo 3.3'de sunulmuştur.

Yumurta, hem deney gruplarında hem de kontrol gruplarında birinci gün görülmüştür.

1. ve 2. instar evreleri de aynı şekilde, hem deney gruplarında hem de kontrol gruplarında, sırasıyla ikinci ve üçüncü gün gözlemlenmiştir.

3. instarın 1. ve 2. evresi de aynı şekilde hem deney hem de kontrol gruplarında sırasıyla dördüncü ve beşinci gün gözlemlenmiştir.

Pupa ve ergin evresine geçiş de tüm uygulama gruplarında, normal yaşam döngülerine göre devam ettiği ve sırasıyla altıncı ve onuncu günde ortaya çıktığı gözlemlenmiştir.

Tablo 3.3. 2a bileşiğinin F_2 neslinde metamorfoz süresi üzerine etkisi

Metamorfoz Süresi / Gruplar	Yumurta	1. instar	2. instar	3. instar (1.evre)	3. instar (2.evre)	Pupa	Ergin
2a (2,12 µL)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün
2a (4,25 µL)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün
2a (8,5 µL)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün
Pozitif kontrol grubu (NaAsO2)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün
Çözücü kontrol grubu DMSO	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün
Negatif kontrol grubu (distile su)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün

3.2.2. 6a bileşiğinin F_2 neslinde metamorfoz süresi üzerine etkisi

Karbonik anhidraz inhibitörlerinden 6a bileşiğine ait F_2 neslinin metamorfoz süresi verileri Tablo 3.4'de verilmiştir.

Tablo 3.4. 6a bileşiğinin F_2 neslinde metamorfoz süresi üzerine etkisi

Metamorfoz Süresi / Gruplar	Yumurta	1. instar	2. instar	3. instar (1.evre)	3. instar (2.evre)	Pupa	Ergin
6a (0,47 µL)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün
6a (0,94 µL)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün
6a (1,88 µL)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün
Pozitif kontrol grubu (NaAsO2)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün
Çözücü kontrol grubu (DMSO)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün
Negatif kontrol grubu (distile su)	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün

Yumurta, hem deney gruplarında hem de kontrol gruplarında birinci gün ortaya çıkmıştır.

1. ve 2. instar evreleri de aynı şekilde hem deney gruplarında hem de kontrol gruplarında, sırasıyla ikinci ve üçüncü gün gözlemlenmiştir.

3. instarın 1. ve 2. evresi ise hem deney hem de kontrol gruplarında sırasıyla dördüncü ve beşinci gün ortaya çıkmıştır.

Pupa evresi tüm uygulama gruplarında altıncı gün, ergin birey çıkışı ise onuncu gün gerçekleşmiştir.

F_2 neslinde, kontrol ve deney gruplarındaki bireylerin metamorfoz esnasındaki gelişim basamaklarında tüm deney ve kontrol gruplarında bir değişiklik gözlenmemiştir.

3.3. Karbonik Anhidraz İnhibitörlerinin F_1 Neslinin Ergin Birey Sayısına Etkileri

Karbonik anhidraz inhibitörlerinin, F_1 nesli ergin birey sayısına ait verileri ayrı başlıklar altında ele alınmıştır.

3.3.1. 2a bileşiğinin F_1 Neslinin Ergin Birey Sayısına Etkileri

Karbonik anhidraz inhibitörlerinden 2a bileşiğinin uygulanmasıyla elde edilen F_1 neslinin ergin birey sayısına ait verileri Tablo 3.5'de sunulmuştur.

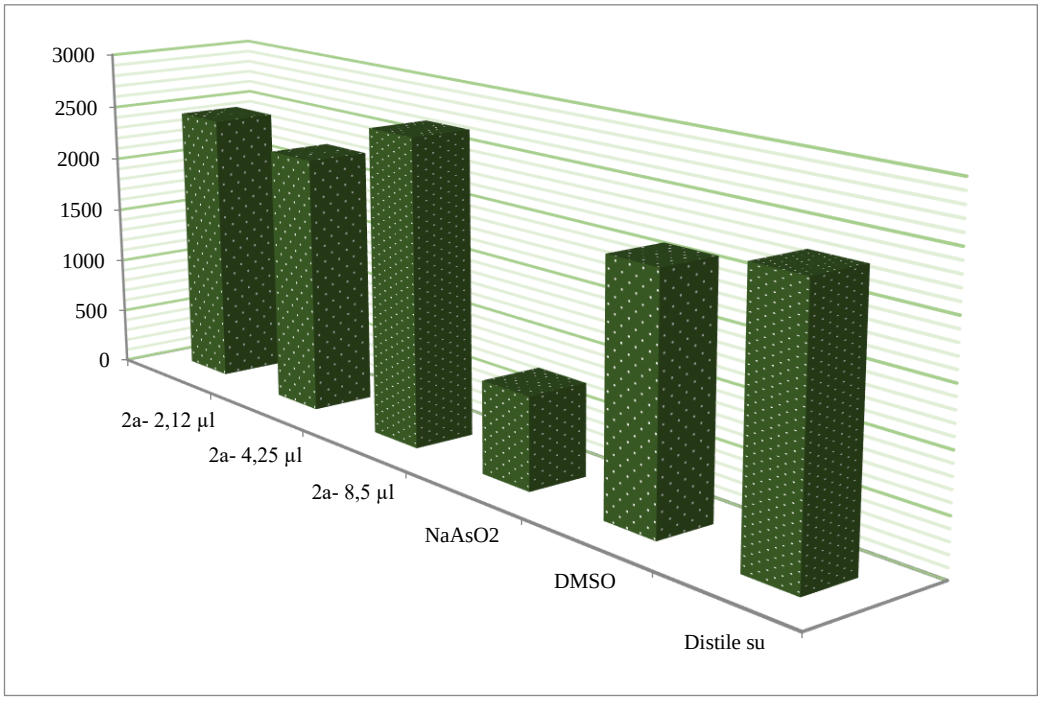
Tablo 3.5. 2a Bileşiğinin F_1 Neslinde Ergin Birey Sayısına Etkisi

Gruplar	Ergin Birey Sayısı	Grupların Karşılaştırması	Standart Sapma	Z Değeri
2a (2,12 µL)	2448 (G1)	(G1-G2)	0,0069	-0,131
		(G1-G3)	0,0066	0,060
		(G1-G4)	0,009	1,133
		(G1-G5)	0,007	-0,185
		(G1-G6)	0,0071	-1,190
2a (4,25 µL)	2294 (G2)	(G2-G3)	0,0067	0,194
		(G2-G4)	0,0091	1,025
		(G2-G5)	0,0071	-0,309
		(G2-G6)	0,0071	-1,302
2a (8,5 µL)	2711 (G3)	(G3-G4)	0,0089	1,193
		(G3-G5)	0,0069	-0,130
		(G3-G6)	0,0069	-1,159
Pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$)	809 (G4)	(G4-G5)	0,0092	-1,249
		(G4-G6)	0,0092	-2,017*
Çözücü kontrol grubu (DMSO)	2149 (G5)	(G5-G6)	0,0073	-0,971
Negatif kontrol grubu (Distile su)	2363 (G6)			

*$p<0,05$

Tablo 3.5 incelendiği takdirde, F_1 neslinde ortaya çıkan ergin bireylerin sayısı gösterilmektedir. 2a bilesiğinin tüm konsantrasyonlarının kontrol grupları ile karşılaştırılması yapılmış ve istatistiksel açıdan herhangi bir farklılık bulunmamıştır. 2a bileşiğinin; 2,12 µL (2448) ve 8,5 µL'lik (2711) konsantrasyonlarında ergin birey sayısı, kontrol grubuna göre (2363) yüksektir. Ancak bu farklılık istatistiksel açıdan önemsiz çıkmıştır. Ayrıca çözücü kontrol grubunda da (DMSO) ergin birey sayısı 2149'dur, istatistiksel olarak bir farklılık ortaya çıkmamıştır. Fakat pozitif kontrol grubunda ($NaAsO_2$) ergin birey sayısı 809'dur ve negatif kontrol grubu (distile su) arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık ortaya çıkmıştır. Tabloda da görüleceği gibi pozitif kontrol grubunda ($NaAsO_2$) ergin birey sayısının negatif kontrol grubuna (distile su) göre düşük olduğu ve bu farklılığın istatistik açıdan anlamlı olduğu ortaya çıkmıştır ($p<0,01$ düzeyinde). Pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$) uygulamasının ergin birey sayısını düşürdüğü tabloda sunulmuştur (Tablo 3.5).

Şekil 3.1'de de görüldüğü gibi en düşük ergin birey sayısı, pozitif kontrol grubundadır ($NaAsO_2$) ve istatistik bulgulara göre anlamlı farklılık sadece bu grup ve negatif kontrol grubu (distile su) arasındadır. Nitekim bu iki grup dışındaki diğer deney ve kontrol gruplarında, ergin birey sayısının birbirine yakın olduğu şekil 3.1'den de anlaşılabilir.



Şekil 3.1. 2a bileşiğinin F1 neslinde ergin birey sayısına etkisi

3.3.2. 6a bileşiğinin F_1 Neslinin Ergin Birey Sayısına Etkileri

6a bileşiğinin F_1 neslinde ergin birey sayısına etkisini tespit etmek amacıyla yapılan morfolojik çalışmalara ait araştırma verileri Tablo 3.6'da sunulmuştur.

Tablo 3.6. 6a bileşiğinin F_1 neslinde ergin birey sayısına etkisi

Gruplar	Ergin Birey Sayısı	Grupların Karşılaştırması	Standart Sapma	Z Değeri
6a (0,47 µL)	2229 (G1)	(G1-G2)	0,0054	-0,167
		(G1-G3)	0,0052	0,135
		(G1-G4)	0,0085	-1,803
		(G1-G5)	0,0064	-4,179**
		(G1-G6)	0,0065	-5,269**
6a (0,94 µL)	2260 (G2)	(G2-G3)	0,0051	0,312
		(G2-G4)	0,0085	-1,916
		(G2-G5)	0,0064	-4,349**
		(G2-G6)	0,0064	-5,446**
6a (1,88 µL)	2761 (G3)	(G3-G4)	0,0084	-1,753
		(G3-G5)	0,0062	-4,205**
		(G3-G6)	0,0062	-5,331**
Pozitif kontrol grubu (NaAsO2)	809 (G4)	(G4-G5)	0,0092	-1,249
		(G4-G6)	0,0092	-2,017*
Çözücü kontrol grubu (DMSO)	2149 (G5)	(G5-G6)	0,0073	-0,971
Negatif kontrol grubu (Distile su)	2363 (G6)			

*p<0,05; **p<0,01

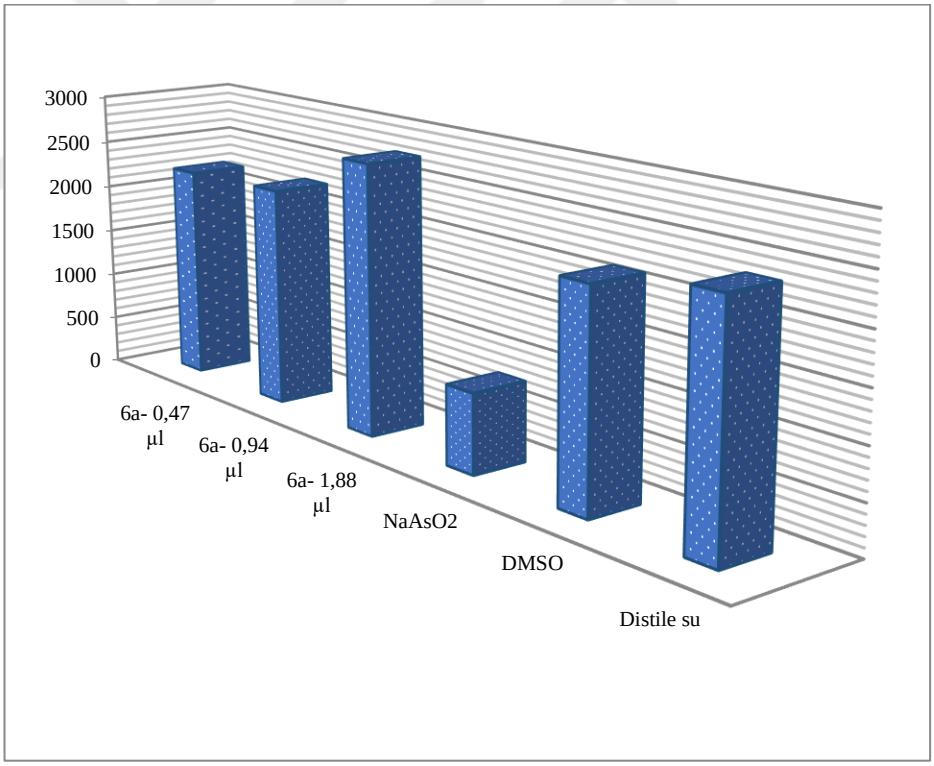
Tablo 3.6'da F_1 neslinde ortaya çıkan ergin bireylerin sayısı (12571) gösterilmektedir. Bu verilere göre, 6a bileşiğinin en düşük konsantrasyonu nun (0,47 µL); hem çözücü kontrol grubu (DMSO) hem de negatif kontrol grubu (distile su) ile istatistiksel açıdan farklı olduğu ortaya çıkmıştır. 0,47 µL'lik konsantrasyonda ergin birey sayısı (2229), çözücü kontrol grubundan (DMSO) yüksektir ve bu farklılık istatistiksel açıdan anlamlıdır (p<0,01 düzeyinde). Diğer yandan 0,47 µL'lik konsantrasyonda ergin birey sayısı negatif kontrol grubuna (distile su) göre düşüktür ve bu farklılık istatistiksel açıdan anlamlıdır (p<0,01 düzeyinde).

6a bileşiğinin 0,94 µL'lik konsantrasyonu (2260) ile ilgili değerler incelendiğinde; hem çözücü (DMSO) hem de negatif kontrol grubu (distile su) ile istatistiksel açıdan fark ortaya çıkmıştır. 0,94 µL'lik konsantrasyonda çözücü kontrol grubuna (DMSO) göre ergin birey sayısında bir miktar artış olduğu ve bu farklılığın istatistik açıdan anlamlı olduğu ortaya çıkmıştır (p<0,01 düzeyinde). 0,94 µL'lik konsantrasyonda

negatif kontrol grubuna (distile su) göre, ergin birey sayısında azalma olduğu ve bu farklılığın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu ortaya çıkmıştır ($p<0,01$ düzeyinde).

6a bileşiğinin en yüksek konsantrasyonunda (1,88 µL), çözücü kontrol grubu (DMSO) ve negatif kontrol grubu (distile su) ile istatistiksel açıdan fark ortaya çıkmıştır ($p<0,01$ düzeyinde). 6a bileşiğinin 1,88 µL'lik konsantrasyonunda (2761), çözücü (DMSO) ve negatif kontrol grubuna göre, ergin birey sayısında artış olduğu görülmektedir (Tablo 3.6).

Pozitif kontrol grubunun ($NaAsO_2$) negatif kontrol grubu ile istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde farklılaştığı görülmüştür. Tabloda da rahatlıkla görüleceği gibi pozitif kontrol grubunda ($NaAsO_2$) ergin birey sayısının (809) negatif kontrol grubuna (distile su) göre düşük olduğu ve bu farklılığın istatistik açıdan anlamlı olduğu ortaya çıkmıştır ($p<0,01$ düzeyinde).



Şekil 3.2. 6a bileşiğinin F_1 neslinde ergin birey sayısına etkisi

Şekil 3.2'de de görüldüğü gibi en yüksek ergin birey sayısı, 6a bileşiğinin 1,88 µL'lik konsantrasyonundadır (2761). İstatistik bulgulara göre anlamlı farklılık çözücü kontrol grubu (DMSO) ve negatif kontrol grubu (distile su) ile 6a bileşiğinin en yüksek konsantrasyonu (1,88 µL) arasındadır. Ayrıca en düşük ergin birey sayısı, pozitif

kontrol grubundadır (NaAsO2) ve istatistik bulgulara göre anlamlı farklılık bu grup ile negatif kontrol grubu (distile su) arasındadır.

3.4. Karbonik Anhidraz İnhibitörlerinin F_2 Neslinin Ergin Birey Sayısına Etkileri

3.4.1. 2a bileşiğinin F_2 neslinin ergin birey sayısına etkileri

2a bileşiği F_1 neslinin ergin birey sayısında toksik bir etki yapmamış olmasına rağmen F_2 nesli verileride araştırılmıştır. 2a bileşiğinin F_2 neslinde ergin birey sayısına etkisini tespit etmek amacıyla yapılan morfolojik çalışmalara ait araştırma verileri, Tablo 3.7'de sunulmuştur.

Tablo 3.7. 2a bileşiğinin F_2 neslinde ergin birey sayısına etkisi

Gruplar	Ergin Birey Sayısı	Grup Karşılaştırma	Standart Sapma	Z Değeri
2a (2,12 µL)	1926 (G1)	(G1-G2)	0,0087	0,659
		(G1-G3)	0,0092	3,236**
		(G1-G4)	0,0074	3,241**
		(G1-G5)	0,0103	0,633
		(G1-G6)	0,0081	-0,0246
2a (4,25 µL)	1771 (G2)	(G2-G3)	0,0095	2,530**
		(G2-G4)	0,0078	3,816**
		(G2-G5)	0,0105	1,157
		(G2-G6)	0,0085	0,648
2a (8,5 µL)	1834 (G3)	(G3-G4)	0,0084	6,421**
		(G3-G5)	0,011	3,296**
		(G3-G6)	0,009	3,268**
Pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$)	2242 (G4)	(G4-G5)	0,0096	-1,832
		(G4-G6)	0,0072	-3,354**
Çözücü kontrol grubu (DMSO)	859 (G5)	(G5-G6)	0,0101	-0,661
Negatif kontrol grubu (Distile su)	2099 (G6)			

**p<0,01

2a bileşiğinin en düşük konsantrasyonunun (2,12 µL) ergin birey sayısı; 2a bileşiğinin en yüksek konsantrasyonu (8,5 µL) ve pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$) ile istatistik açıdan fark olduğu ortaya çıkmıştır (p<0,01 düzeyinde).

2a bileşiğinin 4,25 µL'lik konsantrasyonunda ise 2a bileşiğinin en yüksek deney grubu (8,5 µL) ve pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$) ile istatistik fark bulunmuştur (p<0,01 düzeyinde). 2,12 ve 4,25 µL'lik deney gruplarında da ergin birey sayısı düşmüştür, fakat istatistik açıdan anlamlı fark çıkmamıştır.

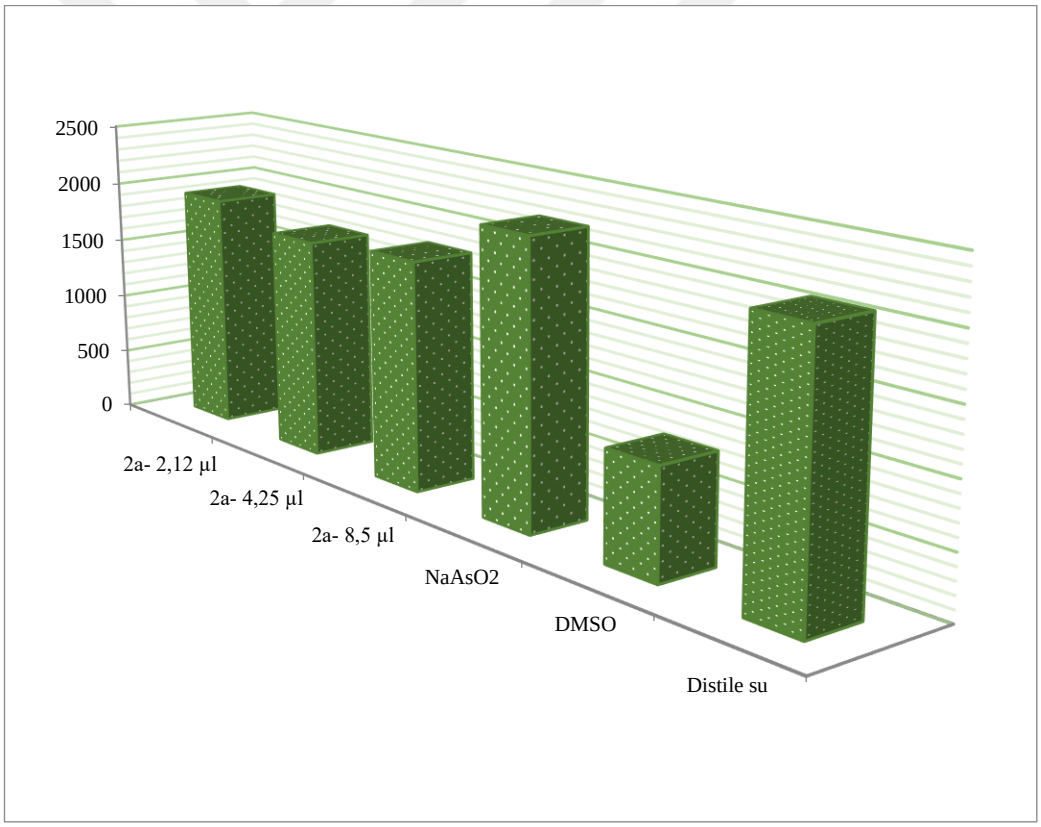
F_2 neslinde 2a bileşiğinin en yüksek konsantrasyonu (8,5 µL), kontrol grupları ile istatistik açıdan farklıdır (p<0,01 düzeyinde). 2a bileşiğinin en yüksek

konsantrasyonunda (8,5 µL) ergin birey sayısı, negatif kontrol gurubuna (distile su) göre düşüktür ve bu farklılık istatistik olarak anlamlıdır.

Çözücü kontrol grubunda (DMSO) ergin birey sayısı, negatif kontrol gurubuna (distile su) göre düşük çıkmıştır ancak bu farklılık istatistik açıdan anlamsızdır.

Pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$) ile ilgili z değerleri incelendiğinde; ergin birey sayısı, negatif kontrol grubundan (distile su) yüksek çıkmıştır ve fark istatistik açıdan anlamlıdır($p<0,01$ düzeyinde). Pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$) beklenenin aksine F_2 neslinde ergin birey sayısını artırmıştır.

Şekil 3.3'de de görüldüğü gibi en düşük ergin birey sayısı, çözücü kontrol grubundadır (DMSO) ancak istatistik açıdan anlamlı bir farklılık yoktur. En yüksek ergin birey sayısı, pozitif kontrol grubundadır ($NaAsO_2$) ve istatistik bulgulara göre anlamlı farklılık, bu grup ve negatif kontrol grubu (distile su) arasındadır.



Şekil 3.3. 2a bileşiğinin F_2 neslinde ergin birey sayısına etkisi

3.4.2. 6a bileşiğinin F_2 neslinin ergin birey sayısına etkileri

6a bileşiğinin F_2 neslinde ergin birey sayısına etkisini tespit etmek amacıyla yapılan morfolojik çalışmalara ait araştırma verileri Tablo 3.8'de sunulmuştur.

Tablo 3.8'de F_2 neslinde ortaya çıkan ergin bireylerin sayıları gösterilmektedir. Araştırma ile ilgili z değerleri incelendiğinde, 6a bileşiğinin en düşük konsantrasyonun (0,47 µL), 6a bileşiğinin en yüksek konsantrasyonu (1,88 µL) hariç diğer tüm gruplarla istatistik açıdan anlamlı bir fark ortaya çıkmıştır ($p<0,01$ düzeyinde). 6a bileşiğinin en düşük konsantrasyonunun (0,47µL) ergin birey sayısını F_2 neslinde azalttığı görülmektedir.

Tablo 3.8. 6a bileşiğinin F_2 neslinde ergin birey sayısına etkisi

Gruplar	Ergin Birey Sayısı	Grupların Karşılaştırması	Standart Sapma	Z Değeri
6a (0,47 µL)	1388 (G1)	(G1-G2)	0,0103	-5,715**
		(G1-G3)	0,012	-0,669
		(G1-G4)	0,0097	7,097**
		(G1-G5)	0,0123	4,274**
		(G1-G6)	0,0103	4,350**
6a (0,94 µL)	1726 (G2)	(G2-G3)	0,01	5,068**
		(G2-G4)	0,0072	1,416
		(G2-G5)	0,0101	-0,721
		(G2-G6)	0,008	-1,758
6a (1,88 µL)	1407 (G3)	(G3-G4)	0,0094	6,467**
		(G3-G5)	0,0118	3,679**
		(G3-G6)	0,01	3,668**
Pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$)	2242 (G4)	(G4-G5)	0,0096	-1,832
		(G4-G6)	0,0072	-3,354**
Çözücü kontrol grubu (DMSO)	859 (G5)	(G5-G6)	0,0101	-0,661
Negatif kontrol grubu (Distile su)	2099 (G6)			

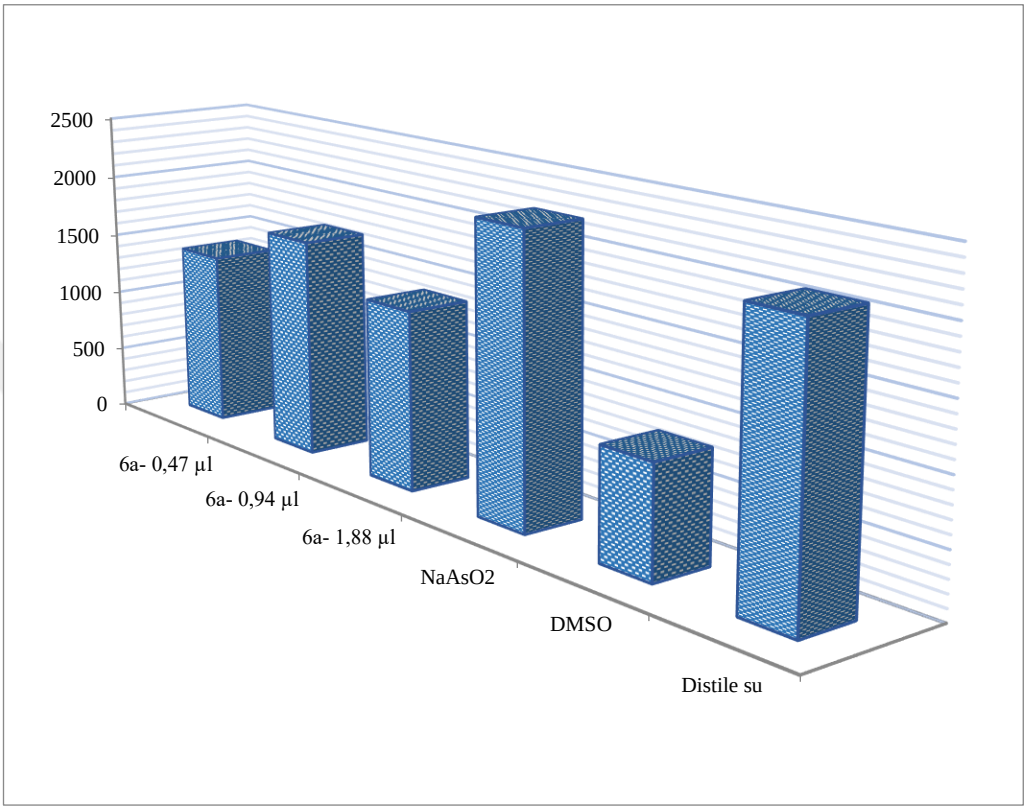
**p<0,01

6a bileşiğinin 0,94 µL'lik konsantrasyonu ile en yüksek konsantrasyonu (1,88 µL) arasında istatistik açıdan anlamlı bir fark ortaya çıkmıştır ($p<0,01$ düzeyinde). Tablo 3.8'de de görüldüğü üzere F_2 neslinde ergin birey sayısı, negatif kontrol gurbuna (distile su) göre düşüktür ancak istatistik açıdan anlamlı bir fark ortaya çıkmamıştır.

1,88 µL'lik deney konsantrasyonu ile tüm kontrol grupları arasında ($NaAsO_2$, DMSO, Distile su) istatistiksel açıdan anlamlı bir fark ortaya çıkmıştır ($p<0,01$ düzeyinde). 6a bileşiğinin en yüksek konsantrasyonu (1,88 µL) F_2 nesli ergin birey sayısında, negatif kontrol grubuna (distile su) göre azalma olduğu ve bu durumun istatistik açıdan anlamlı olduğu görülmektedir (Tablo 3.8).

Bunlara ilave olarak pozitif kontrol grubunda ($NaAsO_2$) ergin birey sayısı, negatif kontrol grubundan yüksek çıkmıştır ve fark istatistik açıdan anlamlıdır ($p<0,01$ düzeyinde). Sodyum arsenit ($NaAsO_2$) beklenenin aksine F_2 neslinde ergin birey sayısını arttırmıştır.

Şekil 3.4'de de görüldüğü gibi en düşük ergin birey sayısı, çözücü kontrol grubundadır (DMSO) ancak istatistik açıdan anlamlı bir farklılık yoktur. Pozitif kontrol grubunda ($NaAsO_2$) ergin birey sayısı, diğer tüm gruplara göre yüksektir bu durum Şekil 3.4'de görülebilir.

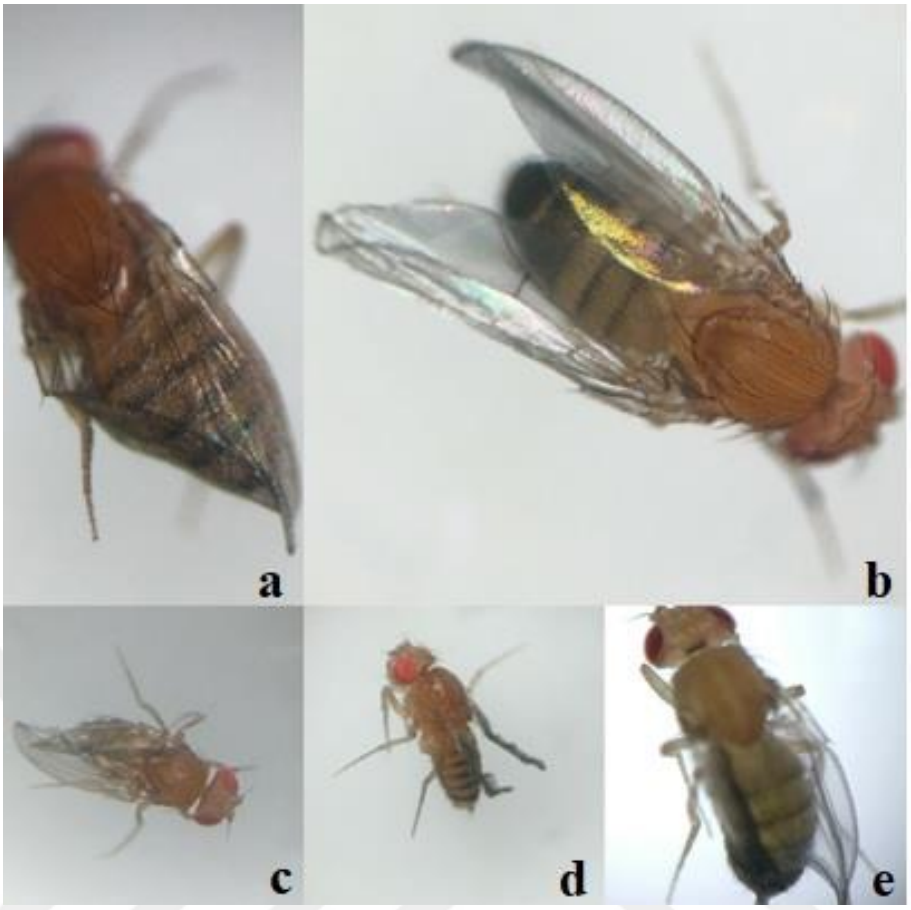


Şekil 3.4. 6a bileşiğinin F_2 neslinde ergin birey sayısına etkisi

3.5. Karbonik Anhidraz İnhibitörlerin F_1 Neslinde Fenotipe Etkisi

Karbonik anhidraz inhibitörlerinin F_1 neslinde yapılan morfolojik çalışmalara ait araştırma verileri ayrı başlıklar altında ele alınmıştır.

Deney ve kontrol gruplarında morfolojik anormalliklere rastlanmıştır. Başlıca anormallikler; kanatlarda, toraksta ya da abdomende ortaya çıkan anormalliklerdir. Kanatlarda; kanadın büzülmüş ya da katlanmış olması, tek ya da her iki kanadın kıvrık olması, abdomene yapışmış olması, kanadın kısmen ya da tamamen körelmiş olması, mızrak biçimine dönüşmüş olması gibi anormallikler gözlenmiştir (Şekil 3.5). Toraksta gözlenen anormallikler ise toraks bozukluğu (Şekil 3.6), segment eksikliği, segmentlerin kaynaşması gibi anormalliklerdir (Şekil 3.7). Abdomende ise benek gözlenmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.5. Kanat anormallikleri; a) Her iki kanat abdomene yapışık, b) Her iki kanat kıvrık, c) Kanatlar birbirine yapışık, d) Her iki kanat mızrak, e) Her iki kanat kıvrık



Şekil 3.6. *Drosophila*'da toraks anormallikleri



Şekil 3.7. *Drosophila*'da segment anormallikleri



Şekil 3.8. *Drosophila* abdomende benek

3.5.1. 2a bileşiğinin F_1 neslinde fenotipe etkisi

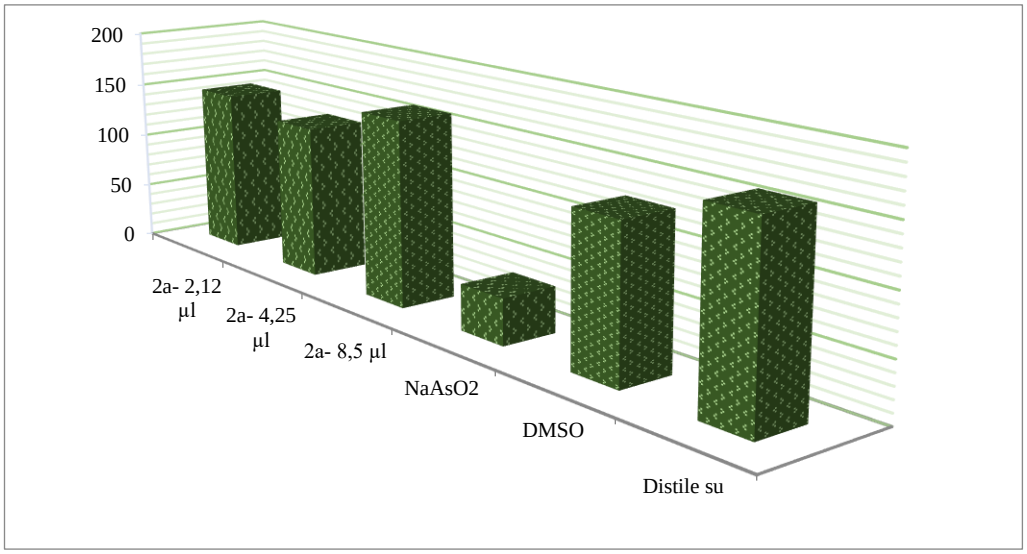
Tablo 3.9'da F_1 neslinde ortaya çıkan anormal fenotipli bireylerin oranı ve karşılaştırılması sunulmuştur. Araştırma ile ilgili z puanları incelendiğinde, 2a bileşiği uygulanan deney gruplarının düşük konsantrasyonlarında (2,12 ve 4,25µL) gözlenen anormal birey sayısı, negatif kontrol grubundan (distile su) düşüktür fakat istatistik açıdan anlamlı bir sonuç değildir. F_1 neslinde gözlenen tek anlamlı istatistik farklılık pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$) ile negatif kontrol grubu arasındadır ($p<0,05$ düzeyinde). Anormal birey oranı hem negatif kontrol grubundan (distile su) istatistik olarak farklı hem de diğer tüm deney gruplarından sayısal olarak düşüktür (%4.95).

Tablo 3.9. 2a bileşiğinin F_1 neslinde fenotipe etkisi

Gruplar	Normal	(%)	Anormal Birey Sayısı	(%) Anormal Birey Yüzdesi	Toplam	Grup Karşılaştırma	Standart Sapma	Z Değeri
2a (2,12 µL)	2302	94,03	146 (G1)	5,97	2448	(G1-G2) (G1-G3) (G1-G4) (G1-G5) (G1-G6)	0,0069 0,0066 0,009 0,007 0,0071	0,131 -0,060 -1,133 0,185 1,190
2a (4,25 µL)	2159	94,12	135 (G2)	5,88	2294	(G2-G3) (G2-G4) (G2-G5) (G2-G6)	0,0067 0,0091 0,0071 0,0071	-0,194 -1,025 0,309 1,302
2a (8,5 µL)	2584	93,99	163 (G3)	6,01	2711	(G3-G4) (G3-G5) (G3-G6)	0,0089 0,0069 0,0069	-1,193 0,131 1,158
Pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$)	769	95,5	40 (G4)	4,95	809	(G4-G5) (G4-G6)	0,0092 0,0092	1,249 2,017*
Çözücü kontrol grubu (DMSO)	2018	93,90	131 (G5)	6,1	2149	(G5-G6)	0,0073	0,971
Negatif kontrol grubu (Distile su)	2202	93,19	161 (G6)	6,81	2363			

*$p<0,05$

Şekil 3.9'da da görüldüğü gibi en düşük anormal ergin birey sayısı, pozitif kontrol grubundadır ($NaAsO_2$) ve istatistik bulgulara göre anlamlı farklılık, sadece bu grup ve negatif kontrol grubu (distile su) arasındadır. En yüksek anormal ergin birey sayısı, 2a bileşiğinin en yüksek konsantrasyonundadır (8,5 µL), ancak bu fark istatistik olarak anlamlı değildir. Diğer deney ve kontrol gruplarında anormal ergin birey sayısının, birbirine yakın olduğu Şekil 3.9'dan da anlaşılabilir.



Şekil 3.9. 2a bileşiği F_1 neslinde anormal birey sayısına etkisi

3.5.2. 6a bileşiğinin F_1 neslinde fenotipe etkisi

Tablo 3.10'da F_1 neslinde ortaya çıkan anormal fenotipli bireylerin oranı ve karşılaştırılması gösterilmiştir. Deney ve kontrol gruplarında anormallikler gözlemlenmiştir.

6a bileşiğinin en düşük konsantrasyonu (0,47 µL) ile çözücü (DMSO) ve negatif kontrol grubu (distile su) arasında istatistik olarak fark ortaya çıkmıştır ($p<0,01$ düzeyinde). F_1 neslinde 6a bileşiğinin en düşük konsantrasyonunda (0,47 µL) morfolojik anormallik oranını istatistik açıdan anlamlı olacak şekilde azaltmıştır (%3,41).

0,94 µL'lik konsantrasyon ile çözücü (DMSO) ve negatif kontrol grubu (distile su) arasında anlamlı fark ortaya çıkmıştır ($p<0,01$ düzeyinde). F_1 neslinde 6a bileşiğinin 0,94 µL'lik uygulaması morfolojik anormallik oranını azaltmıştır (%3,32).

6a bileşiğinin en yüksek konsantrasyonu (1,88 µL) ile çözücü kontrol grubu (DMSO) ve negatif kontrol grubu (distile su) arasında anlamlı fark ortaya çıkmıştır ($p<0,01$ düzeyinde). F_1 neslinde 6a bileşiğinin 1,88 µL'lik konsantrasyonu morfolojik anormallik oranını azaltmıştır (%3,48).

Pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$) ile negatif kontrol grubu arasında anormal birey sayısında istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde bir farklılık ortaya çıkmıştır ($p<0,05$

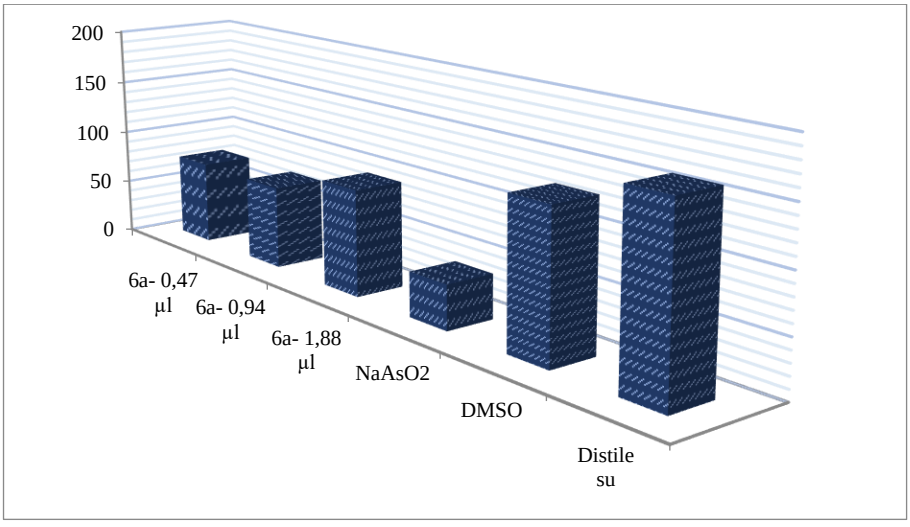
düzeyinde). Pozitif kontrol grubunun ($NaAsO_2$) anormal birey sayısı hem negatif kontrol grubundan (distile su) istatistik olarak farklı hem de diğer tüm deney gruplarından sayısal olarak düşüktür (%4.95).

Tablo 3.10. 6a bileşiğinin F_1 neslinde fenotipe etkisi

Gruplar	Normal	(%)	Anormal Birey Sayısı	(%) Anormal Birey Yüzdesi	Toplam	Grup Karşılaştırma	Standart Sapma	Z Değeri
6a (0,47 µL)	2153	96,59	76 (G1)	3,41	2229	(G1-G2) (G1-G3) (G1-G4) (G1-G5) (G1-G6)	0,0054 0,0052 0,0085 0,0064 0,0065	0,167 -0,135 1,803 4,179** 5,269**
6a (0,94 µL)	2185	96,68	75 (G2)	3,32	2260	(G2-G3) (G2-G4) (G2-G5) (G2-G6)	0,0051 0,0085 0,0064 0,0064	-0,312 1,916 4,349** 5,447**
6a (1,88 µL)	2665	96,52	96 (G3)	3,48	2761	(G3-G4) (G3-G5) (G3-G6)	0,0084 0,0062 0,0062	1,753 4,205** 5,331**
Pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$)	769	95,05	40 (G4)	4,95	809	(G4-G5) (G4-G6)	0,0092 0,0092	1,249 2,017*
Çözücü kontrol grubu (DMSO)	2018	93,9	131 (G5)	6,1	2149	(G5-G6)	0,0073	0,971
Negatif kontrol grubu (Distile su)	2202	93,19	161 (G6)	6,81	2363			

*p<0,05; **p<0,01

Sonuçlar genelleştirildiğinde, 6a deney konsantrasyonlarında anlamlı düzeyde farklılıkların olduğu ortaya çıkmıştır. Buna göre 6a bileşiği (0,47 µL, 0,94 µL ve 1,88 µL) uygulanan deney gruplarında anormal fenotipli ergin birey sayısı (sırasıyla 76, 75, 96), negatif kontrol grubuna (161) göre düşük olduğu Şekil 3.10'dan görülebilir.



Şekil 3.10. 6a bileşiğinin F_1 neslinde anormal birey sayısına etkisi

3.6. Karbonik Anhidraz Inhibitörlerin F_2 Neslinde Fenotipe Etkisi

3.6.1. 2a bileşiğinin F_2 neslinde fenotipe etkisi

Tablo 3.11'de F_2 neslinde ortaya çıkan anormal fenotipli bireylerin oranı ve karşılaştırılması sunulmuştur.

2a bileşiğinin en düşük konsantrasyonu (2,12 µL) ile 8,5 µL'lik konsantrasyonu ve pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$) arasında istatistik açıdan fark bulunmuştur ($p<0,01$ düzeyinde). 2a bileşiğinin 4,25 µL'lik konsantrasyonu ile pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$) arasında istatistik açıdan fark bulunmuştur ($p<0,01$ düzeyinde). 2a bileşiği uygulanan deney gruplarının düşük konsantrasyonlarında (2,12 ve 4,25µL) gözlenen anormal birey sayısı (138 ve 137) negatif kontrol grubundan (151) düşüktür fakat istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Tablo 3.11. 2a bileşiğinin F_2 neslinde anormal birey sayısının karşılaştırılması

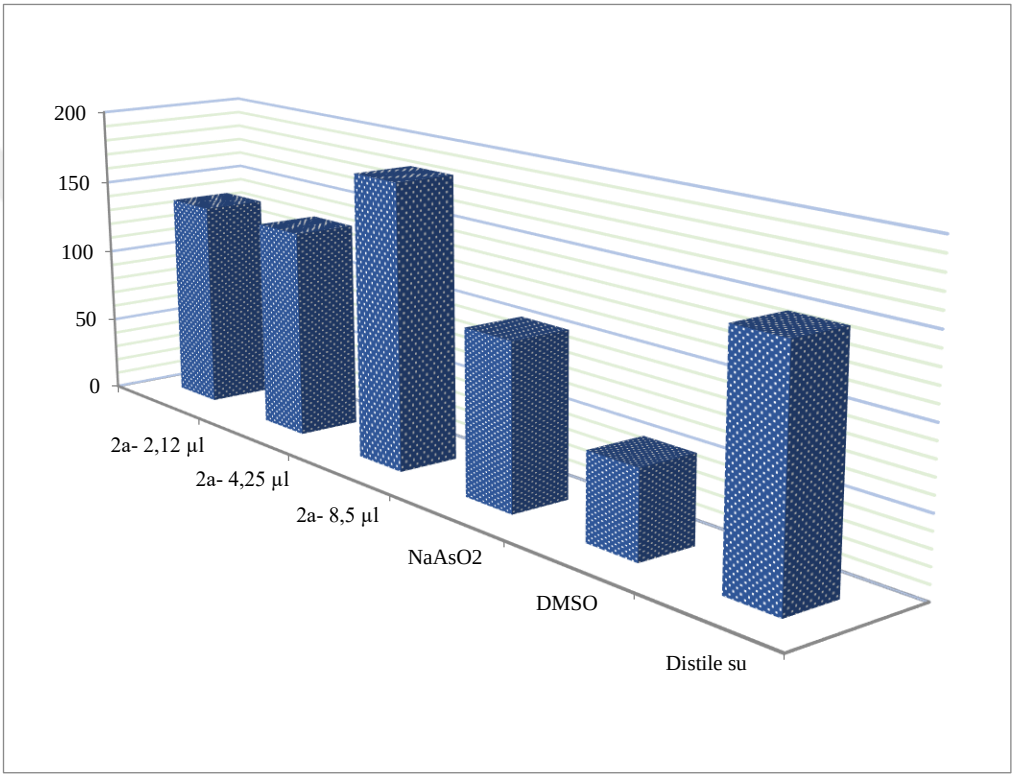
Gruplar	Normal	(%)	Anormal Birey Sayısı	(%) Anormal Birey Yüzdesi	Toplam	Grup Karşılaştırma	Standart Sapma	Z Değeri
2a (2,12 µL)	1788	92,83	138 (G1)	7,17	1926	(G1-G2) (G1-G3) (G1-G4) (G1-G5) (G1-G6)	0,0087 0,0092 0,0074 0,0103 0,0081	-0,659 -3,236** -3,242** -0,633 0,025
2a (4,25 µL)	1634	92,26	137 (G2)	7,74	1771	(G2-G3) (G2-G4) (G2-G5) (G2-G6)	0,0095 0,0078 0,0105 0,0085	-2,53* -3,816** -1,157 -0,648
2a (8,5 µL)	1648	89,86	186 (G3)	10,14	1834	(G3-G4) (G3-G5) (G3-G6)	0,0084 0,011 0,009	-6,421** -3,296** -3,268**
Pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$)	2135	95,23	107 (G4)	4,77	2242	(G4-G5) (G4-G6)	0,0096 0,0072	1,832 3,354**
Çözücü kontrol grubu (DMSO)	803	93,48	56 (G5)	6,52	859	(G5-G6)	0,0101	0,661
Negatif kontrol grubu (Distile su)	1948	92,81	151 (G6)	7,19	2099			

*p<0,05; **p<0,01

2a bileşiğinin en yüksek konsantrasyonu (8,5 µL) ile kontrol grupları arasında istatistik olarak fark ortaya çıkmıştır ($p<0,01$ düzeyinde). F_2 neslinde 2a bileşiği sadece en yüksek konsantrasyonda (8,5 µL) morfolojik anormallik oranını istatistik açıdan

anlamlı olacak şekilde arttırmıştır (%10,14). Pozitif kontrol grubunda anormallik oranı, çözücü kontrol grubu (DMSO) hariç, diğer tüm deney gruplarından istatistiksel olarak farklılık ortaya çıkmıştır ($p<0,01$ düzeyinde).

Şekil 3.11'de de görüldüğü gibi en düşük anormal ergin birey sayısı, çözücü kontrol grubundadır (56) ancak istatistik açıdan anlamlı fark çıkmamıştır. 2a bileşiğinin 8,5 µL'lik konsantrasyonu (186) anormal ergin birey sayısını artırdığı Şekil 3.11'de görülebilir.



Şekil 3.11. 2a bileşiğinin F_2 neslinde anormal birey sayısına etkisi

3.6.2. 6a bileşiğinin F_2 neslinde fenotipe etkisi

Tablo 3.12 incelendiğinde F_2 neslinde ortaya çıkan anormal fenotipli bireylerin oranı ve karşılaştırılması sunulmuştur. Deney ve kontrol gruplarında anormallikler gözlemlenmiştir.

6a bileşiğinin 0,47 µL'lik konsantrasyonu ile 6a bileşiğinin 1,88 µL'lik konsantrasyonu hariç, diğer tüm gruplarla anlamlı fark ortaya çıkmıştır ($p<0,01$ düzeyinde). 6a bileşiğinin en düşük konsantrasyonu (0,47 µL) ile negatif kontrol grubu (distile su) arasında anormal ergin birey sayısı artmıştır (%11,67).

6a bileşiğinin 0,94 µL konsantrasyonu ile 1,88 µL konsantrasyonu arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık ortaya çıkmıştır ($p<0,01$ düzeyinde). 6a bileşiğinin 0,94 µL'lik konsantrasyonu (100), negatif kontrol grubuna (151) göre anormal ergin birey sayısında, azalma olduğu ancak istatistik olarak anlamlı olmadığı görülmektedir (%5,79).

1,88 µL'lik konsantrasyonunu ile tüm kontrol grupları ($NaAsO_2$, DMSO, Distile su) arasında istatistiksek olarak fark ortaya çıkmıştır ($p<0,01$ düzeyinde). 6a bileşiğinin en yüksek konsantrasyonu (1,88 µL) ile negatif kontrol grubu (distile su) arasında anormal ergin birey sayısında artmıştır (%10,87).

Pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$) ile ilgili z puanları incelendiğinde; negatif kontrol grubuyla (distile su) istatistiksel açıdan fark ortaya çıkmıştır ($p<0,01$ düzeyinde).

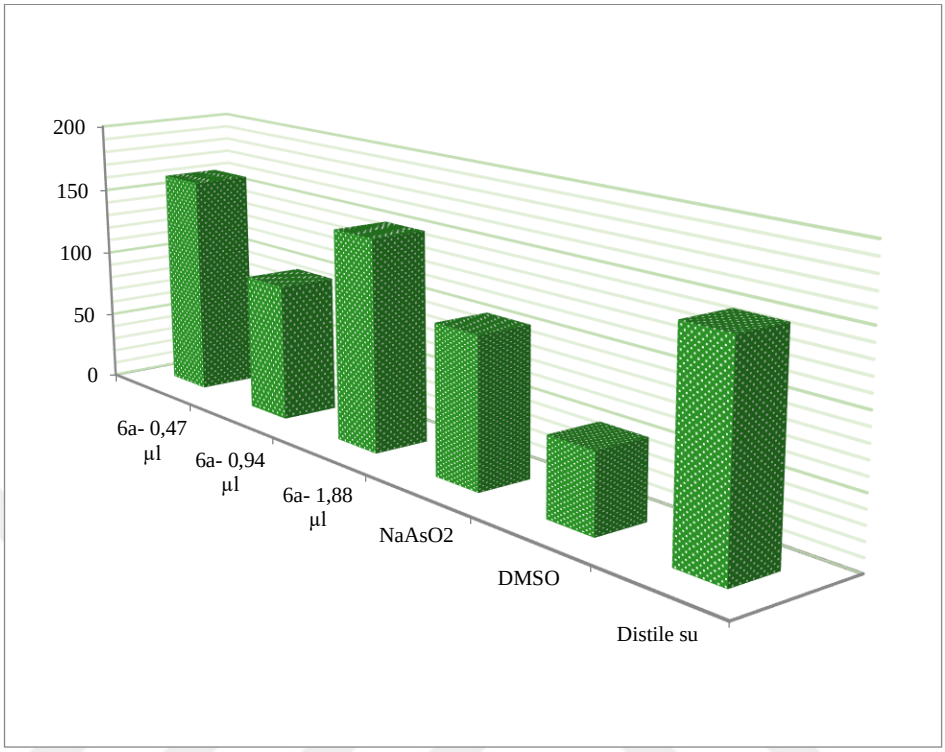
Tablo 3.12. 6a bileşiğinin F_2 neslinde anormal birey sayısının karşılaştırılması

Gruplar	Normal	(%)	Anormal Birey Sayısı	(%) Anormal Birey Yüzdesi	Toplam	Grup Karşılaştırma	Standart Sapma	Z Değeri
6a (0,47 µL)	1226	88,33	162 (G1)	11,67	1388	(G1-G2) (G1-G3) (G1-G4) (G1-G5) (G1-G6)	0,0103 0,012 0,0097 0,0121 0,0103	5,715** 0,669 -7,097** -4,274** -4,350**
6a (0,94 µL)	1626	94,21	100 (G2)	5,79	1726	(G2-G3) (G2-G4) (G2-G5) (G2-G6)	0,01 0,0072 0,0101 0,008	-5,068** -1,416 0,721 1,758
6a (1,88 µL)	1254	89,13	153 (G3)	10,87	1407	(G3-G4) (G3-G5) (G3-G6)	0,0094 0,0118 0,01	-6,462** -3,679** -3,668**
Pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$)	2135	95,23	107 (G4)	4,77	2242	(G4-G5) (G4-G6)	0,0096 0,0072	1,832 3,354**
Çözücü kontrol grubu (DMSO)	803	93,48	56 (G5)	6,52	859	(G5-G6)	0,0101	0,661
Negatif kontrol grubu (Distile su)	1948	92,81	151 (G6)	7,19	2099			

**$p<0,01$

Şekil 3.12'de de görüldüğü gibi en düşük anormal ergin birey sayısı, çözücü kontrol grubundadır ancak istatistik açıdan anlamlı fark çıkmamıştır. Anormal ergin birey

sayısı, 6a bileşiğinin en düşük konsantrasyonunda negatif kontrol grubuna oranla artırdığı Şekil 3.12'den görülebilir.



Şekil 3.12. 6a bileşiğinin F_2 neslinde anormal birey sayısına etkisi

3.7. Karbonik Anhidraz İnhibitörlerinin F_1 Neslinde Eşey Oranı Üzerine Etkisi

Karbonik anhidraz inhibitörlerinin, F_1 neslinde eşey oranına ait verileri ayrı başlıklar altında ele alınmıştır.

3.7.1. 2a bileşiğinin F_1 Neslinde Eşey Oranı Üzerine Etkisi

2a bileşiği F_1 neslinin eşey oranına etkisini tespit etmek amacıyla yapılan morfoloji deneyine ait araştırma verileri Tablo 3.13'de sunulmuştur.

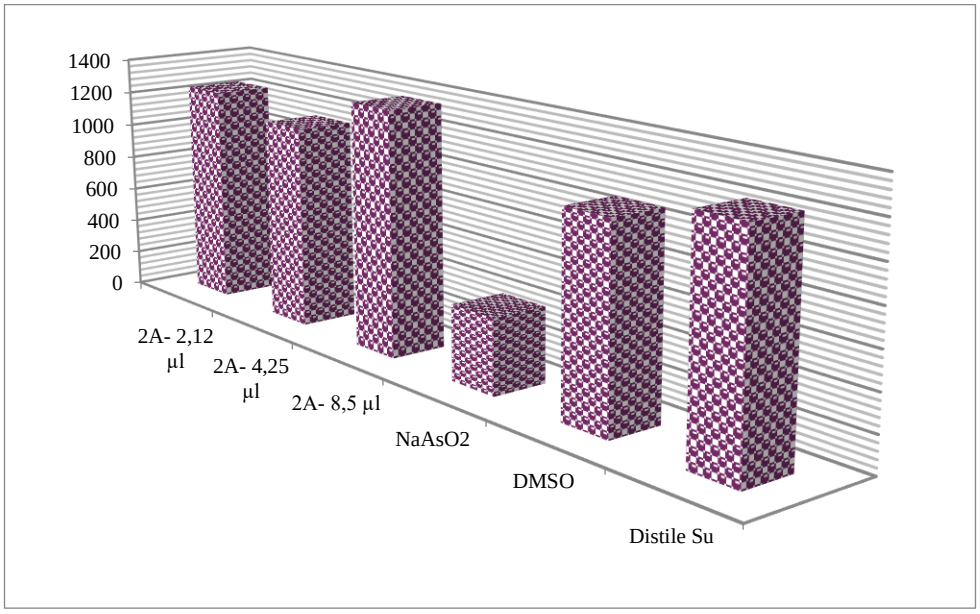
Tablo 3.13 incelendiğinde; F_1 neslinde 2a bileşiği uygulanan deney gruplarında eşey oranı değişmemiştir. Eşey oranı 2a bileşiği 4,25 µL'lik konsantrasyonu hariç dişiler lehine değişirken, 4,25 µL'lik konsantrasyonunda erkek bireyler lehine değiştiği gözlemlenmiştir ancak istatistik açıdan anlamsızdır. Sadece negatif kontrol grubunun (distile su), dişi ve erkek bireyleri arasında istatistiksel farklılık bulunmuştur ve dişi bireyler lehine artış olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$ düzeyinde).

Tablo 3.13. 2a bileşiğinin F_1 neslinde eşey oranına etkisi

Gruplar	Dişi Birey Sayısı	(%)	Erkek Birey Sayısı	(%)	Grup İçi Z Değeri	Standart Sapma	Dişi Z Değeri	Erkek Z Değeri
2a (2,12 µL)	1239 (G1)	50,61	1209 (G7)	49,39	(G1-G7) 0,854	0,0143	(G1-G2) 0,676 (G1-G3) 1,044 (G1-G4) 1,200 (G1-G5) -0,697 (G1-G6) -1,518	(G7-G8) -0,837 (G7-G9) -0,944 (G7-G10) 0,435 (G7-G11) 0,423 (G7-G12) -0,196
2a (4,25 µL)	1140 (G2)	49,59	1154 (G8)	50,31	(G2-G8) -0,488	0,0148	(G2-G3) 0,328 (G2-G4) 1,703 (G2-G5) -0,029 (G2-G6) -0,815	(G8-G9) -0,076 (G8-G10) -0,161 (G8-G11) -0,391 (G8-G12) -1,018
2a (8,5 µL)	1362 (G3)	50,24	1349 (G9)	49,76	(G3-G9) 0,353	0,0136	(G3-G4) 2,013* (G3-G5) 0,293 (G3-G6) -0,516	(G9-G10) -0,217 (G9-G11) -0,479 (G9-G12) -1,129
Pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$)	416 (G4)	51,42	393 (G10)	48,58	(G4-G10) 1,143	0,0249	(G4-G5) -1,712 (G4-G6) -2,372*	(G10-G11) -0,122 (G10-G12) -0,574
Çözücü kontrol grubu (DMSO)	1086 (G5)	50,54	1063 (G11)	49,46	(G5-G11) 0,708	0,0152	(G5-G6) -0,775	(G11-G12) -0,608
Negatif kontrol grubu (Distile su)	1220 (G6)	51,63	1143 (G12)	48,37	(G6-G12) 2,242*	0,0145		

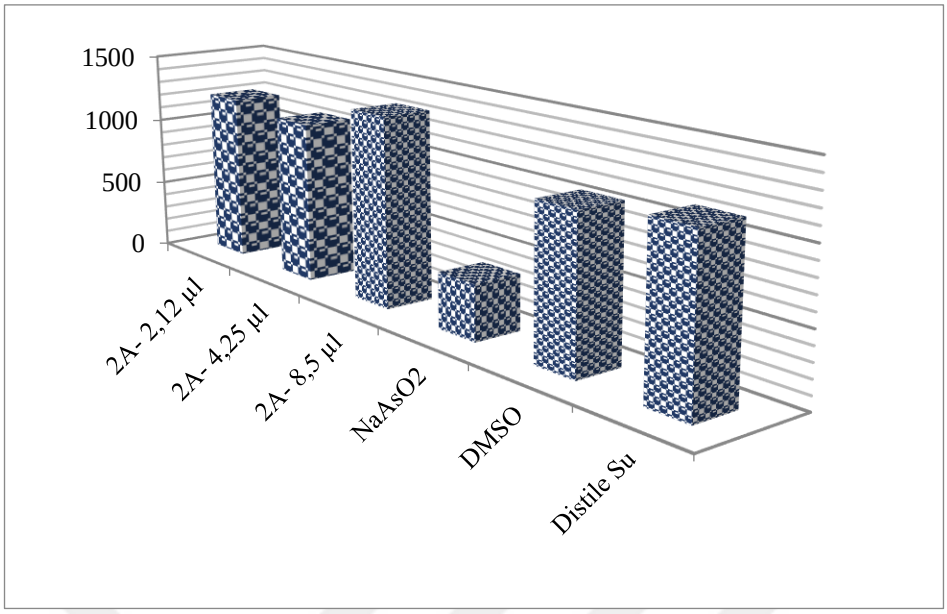
*p<0,05

Şekil 3.13'de de görüldüğü gibi en düşük dişi birey sayısı (416), pozitif kontrol grubundadır ($NaAsO_2$) ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir.



Şekil 3.13. 2a bileşiğinin F_1 neslinde dişi birey sayısına etkisi

Şekil 3.14'te de görüldüğü gibi en düşük erkek birey sayısı (393), pozitif kontrol grubundadır ($NaAsO_2$) ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir.



Şekil 3.14. 2a bileşiğinin F_1 neslinde erkek birey sayısına etkisi

3.7.2. 6a bileşiğinin F_1 Neslinde Eşey Oranı Üzerine Etkisi

6a bileşiği F_1 neslinde eşey oranına etkisini tespit etmek amacıyla yapılan morfoloji deneyine ait araştırma verileri Tablo 3.14'te sunulmuştur.

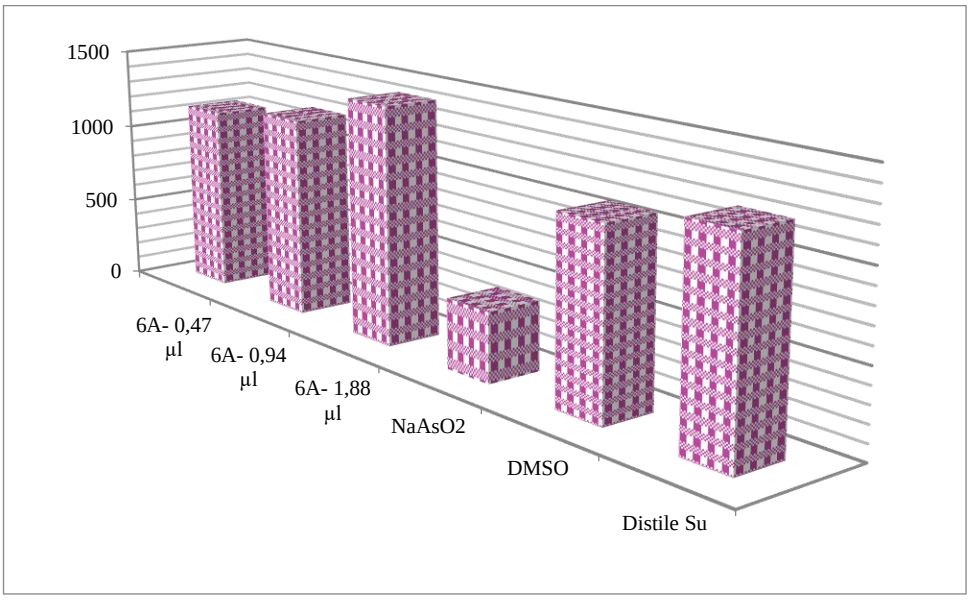
Tablo 3. 14. 6a Bileşiğinin F_1 neslinde eşey oranına etkisi

Gruplar	Dişi Birey Sayısı	(%)	Erkek Birey Sayısı	(%)	Grup İçi Z Değeri	Standart Sapma	Dişi Z Değeri	Erkek Z Değeri
6a (0,47 µL)	1142 (G1)	51,23	1087 (G7)	48,77	(G1-G7) 1,643	0,015	(G1-G2) -0,741 (G1-G3) -0,11 (G1-G4) -0,53 (G1-G5) -2,93** (G1-G6) -3,81**	(G7-G8) 0,538 (G7-G9) 0,297 (G7-G10) -1,95 (G7-G11) -2,981** (G7-G12) -3,65**
6a (0,94 µL)	1218 (G2)	53,89	1042 (G8)	46,11	(G2-G8) 5,246**	0,0148	(G2-G3) 0,673 (G2-G4) -4,579** (G2-G5) -3,661** (G2-G6) -3,815**	(G8-G9) -0,271 (G8-G10) -1,596 (G8-G11) -2,434* (G8-G12) -3,087**
6a (1,88 µL)	1431 (G3)	51,83	1330 (G9)	48,17	(G3-G9) 2,722**	0,0135	(G3-G4) -0,618 (G3-G5) -3,146** (G3-G6) -4,066**	(G9-G10) -1,802 (G9-G11) -2,805** (G9-G12) -3,490**
Pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$)	416 (G4)	51,42	393 (G10)	48,58	(G4-G10) 1,143	0,0249	(G4-G5) -1,712 (G4-G6) -2,372*	(G10-G11) -0,122 (G10-G12) -0,574
Çözücü kontrol grubu (DMSO)	1086 (G5)	50,54	1063 (G11)	49,46	(G5-G11) 0,708	0,0152	(G5-G6) -0,775	(G11-G12) -0,608
Negatif kontrol grubu (Distile su)	1220 (G6)	51,63	1143 (G12)	48,37	(G6-G12) 2,242*	0,0145		

*p<0,05; **p<0,01

Tablo 3.14'te görüldüğü üzere karbonik anhidraz inhibitörlerinin F_1 neslinde eşey oranına etkisi sonucu ortaya çıkan ergin bireylerin sayısı gösterilmektedir. 6a bileşiğinin 0,94 µL'lik; 1,88 µL'lik konsantrasyonlarında ve negatif kontrol grubunda eşey oranı istatistik açıdan farklılık göstermiştir ($p<0,01$ ve $p<0,05$ düzeyinde). 6a bileşiğinin 0,94 µL'lik; 1,88 µL'lik konsantrasyonlarında ve negatif kontrol grubunda dişi bireyler lehine eşey oranı değişmiştir. Dişi birey sayısı 6a bileşiğinin 0,94 µL'lik konsantrasyonu ile tüm kontrol grupları ($NaAsO_2$, DMSO, Distile su) arasında istatistiksel olarak farklılık ortaya çıkmıştır ($p<0,01$ düzeyinde). Dişi birey sayısı 6a bileşiğinin en yüksek konsantrasyonu (1,88 µL) ile çözücü (DMSO) ve negatif kontrol grubu (distile su) arasında istatistiksel olarak farklı olduğu ortaya çıkmıştır ($p<0,01$ düzeyinde). Erkek birey sayısı 6a bileşiği uygulama konsantrasyonları (0,47 µL, 0,94 µL ve 1,88 µL) ile çözücü (DMSO) ve negatif kontrol grubu (distile su) arasında istatistiksel olarak farklı olduğu ortaya çıkmıştır ($p<0,01$ ve $p<0,05$ düzeyinde). Genel olarak dişi bireyler lehine bir artış söz konusudur.

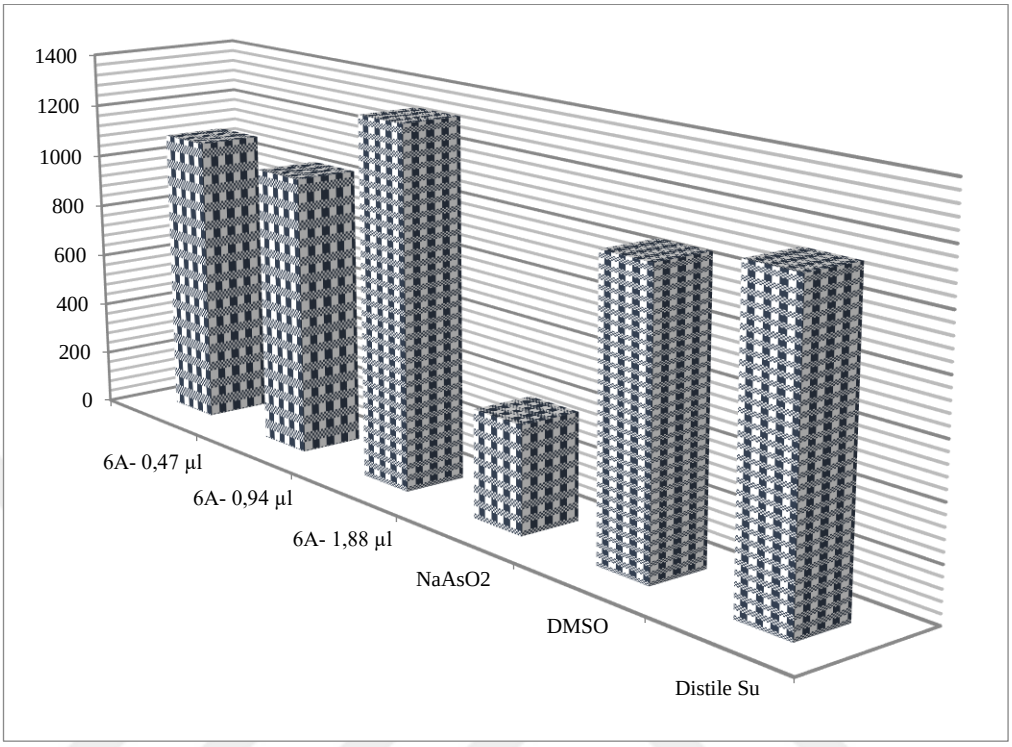
Şekil 3.15'de de görüldüğü üzere en yüksek ergin dişi birey sayısı (1431) 6a bileşiğinin en yüksek konsantrasyonu (1,88 µL) ve negatif kontrol grubu (Distile su) arasındadır. En düşük dişi ergin birey sayısı ise pozitif kontrol grubundadır ($NaAsO_2$).



Şekil 3.15. 6a bileşiğinin F_1 neslinde dişi birey sayısına etkisi

Şekil 3.16'da da görüldüğü üzere en yüksek erkek ergin birey sayısı (1330) 6a bileşiğinin en yüksek konsantrasyonu (1,88 µL) ve negatif kontrol grubu (Distile su)

arasındadır. En düşük erkek ergin birey sayısı ise pozitif kontrol grubundadır ($NaAsO_2$).



Şekil 3.16. 6a bileşiğinin F_1 neslinde erkek birey sayısına etkisi

3.8. Karbonik Anhidraz İnhibitörlerinin F_2 Neslinde Eşey Oranı Üzerine Etkisi

Karbonik anhidraz inhibitörlerinin, F_2 neslinde eşey oranına ait verileri ayrı başlıklar altında ele alınmıştır.

3.8.1. 2a bileşiğinin F_2 Neslinde Eşey Oranı Üzerine Etkisi

2a bileşiğinin F_2 neslinde eşey oranına etkilerine ait araştırma verileri Tablo 3.15'de sunulmuştur.

Sadece çözücü (DMSO) ve negatif kontrol grubunda (distile su) eşey oranı istatistik açıdan farklılık göstermiştir ($p<0,01$ düzeyinde). Çözücü kontrol grubunda (DMSO) dişiler, negatif kontrol grubunda (distile su) ise erkek bireyler lehine eşey oranı değişmiştir. Öte yandan F_2 neslinde 2a bileşiğinin tüm konsantrasyonlarında (2,12 µL, 4,25 µL ve 8,5 µL) eşey oranı erkek bireyler lehine değişmiştir ancak istatistiksel olarak fark bulunmamıştır.

Tablo 3.15. 2a bileşiğinin F_2 neslinde eşey oranına etkisi

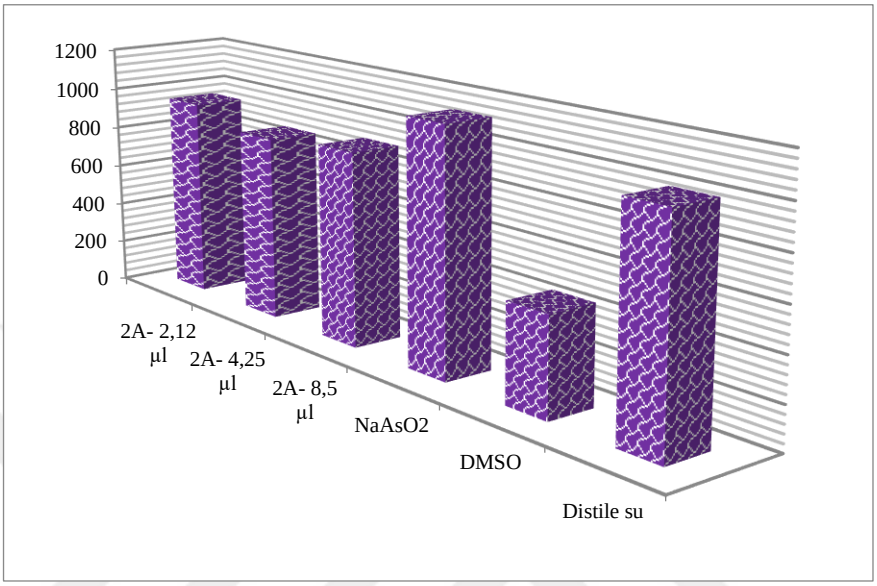
Gruplar	Dişi Birey Sayısı	(%)	Erkek Birey Sayısı	(%)	Grup İçi Z Değeri	Standart Sapma	Dişi Z Değeri	Erkek Z Değeri
2a (2,12 µL)	953 (G1)	49,48	973 (G7)	50,52	(G1-G7) -0,646	0,0162	(G1-G2) -0,486 (G1-G3) 1,856 (G1-G4) 2,763** (G1-G5) 0,014 (G1-G6) 0,796	(G7-G8) 1,261 (G7-G9) 2,693** (G7-G10) 1,849 (G7-G11) 0,917 (G7-G12) -0,67
2a (4,25 µL)	872 (G2)	49,24	899 (G8)	50,76	(G2-G8) -0,905	0,0168	(G2-G3) 2,299* (G2-G4) 2,198 (G2-G5) -0,377 (G2-G6) 0,286	(G8-G9) 1,404 (G8-G10) 3,075** (G8-G11) 1,926 (G8-G12) 0,642
2a (8,5 µL)	909 (G3)	49,56	925 (G9)	50,44	(G3-G9) -0,533	0,0165	(G3-G4) 4,553** (G3-G5) 1,552 (G3-G6) 2,651**	(G9-G10) 4,527** (G9-G11) 3,120** (G9-G12) 2,106*
Pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$)	1131 (G4)	50,45	1111 (G10)	49,55	(G4-G10) 0,603	0,0149	(G4-G5) -2,09* (G4-G6) -2,004*	(G10-G11) -0,483 (G10-G12) -2,599**
Çözücü kontrol grubu (DMSO)	455 (G5)	52,97	404 (G11)	47,03	(G5-G11) 2,466*	0,0241	(G5-G6) 0,615	(G11-G12) -1,465
Negatif kontrol grubu (Distile su)	1008 (G6)	48,02	1091 (G12)	51,98	(G6-G12) -2,509*	0,0154		

*p<0,05; **p<0,01

Deney gruplarının kendi arasında karşılaştırılmasında; dişi bireyler 2,12 µL'lik konsantrasyonu ve pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$) arasında istatistiksel olarak farklılık ortaya çıkmıştır (p<0,01 düzeyinde). 4,25 µL'lik ve 8,5 µL'lik uygulama konsantrasyonlarında ise p<0,05 düzeyinde anlamlı farklılık bulunmuştur. Dişi birey sayısı 8,5 µL'lik konsantrasyonu ile pozitif ($NaAsO_2$) ve negatif kontrol grubu (distile su) arasında istaitstiksel olarak fark ortaya çıkmıştır (p<0,01 düzeyinde).

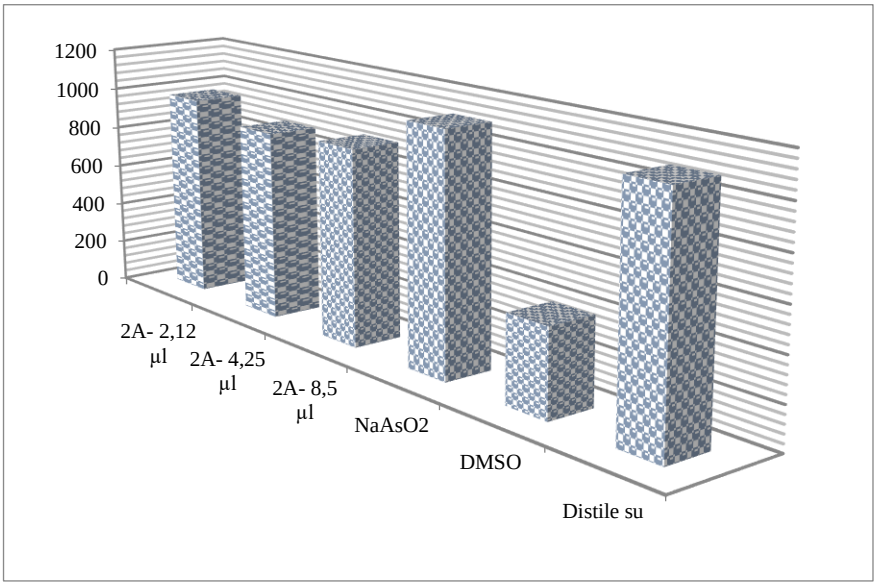
Erkek bireylerin deney grupları karşılaştırıldığında ise sadece 2,12 ve 8,5 µL konsantrasyonu arasında fark ortaya çıkmıştır (p<0,01 düzeyinde). 2a bileşiğinin 4,25 ve 8,5 µL'lik konsantrasyonu ile pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$) arasında istatistiksel olarak fark ortaya çıkmıştır (p<0,01 düzeyinde). 8,5 µL'lik konsantrasyon ile çözücü kontrol grubu (DMSO) arasında p<0,01 düzeyinde, pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$) ile p<0,01 düzeyinde istatistik açıdan anlamlı farklılık bulunmuştur. 8,5 µL'lik konsantrasyon ile negatif kontrol arasında p<0,05 düzeyinde anlamlı farklılık bulunmuştur. Bunlara ilave olarak pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$) ile negatif kontrol grubu arasında istatistiksel olarak fark bulunmuştur (p<0,01 düzeyinde).

Şekil 3.17'de de görüldüğü gibi en düşük dişi birey sayısı (455) çözücü kontrol grubuna (DMSO) aittir ancak istatistiksel açıdan fark çıkmamıştır. 2a bileşiğinin tüm konsantrasyonlarında (2,12 µL, 4,25 µL ve 8,5 µL) dişi birey sayısı (953,872 ve 909), negatif kontrol grubuna (1008) göre düşüktür.



Şekil 3.17. 2a bileşiğinin F_2 neslinde dişi birey sayısına etkisi

Şekil 3.18'de de görüldüğü gibi en düşük erkek birey sayısı (404) çözücü kontrol grubuna aittir ancak istatistiksel açıdan anlamsız bulunmuştur. 2a bileşiğinin tüm konsantrasyonlarında (2,12 µL, 4,25 µL ve 8,5 µL) erkek birey sayısı (973,899 ve 925), negatif kontrol grubuna (1091) göre düşüktür.



Şekil 3.18. 2a bileşiğinin F_2 neslinde erkek birey sayısına etkisi

3.8.2. 6a bileşiğinin F_2 Neslinde Eşey Oranı Üzerine Etkisi

Tablo 3.16'da görüldüğü üzere karbonik anhidraz inhibitörlerinin F_2 neslinde eşey oranına etkisi sonucu ortaya çıkan ergin bireylerin sayısına ait veriler sunulmuştur. 6a bileşiğinin en düşük konsantrasyonlarında (0,47 µL, 0,94 µL) eşey oranı istatistik açıdan farklılık göstermiştir ($p<0,01$ ve $p<0,05$ düzeyinde). 6a bileşiğinin 0,47 µL ve 0,94 µL'lik konsantrasyonlarında dişi bireyler lehine eşey oranı değişmiştir.

Buna ilave olarak çözücü (DMSO) ve negatif kontrol grubunda (distile su) eşey oranı istatistik açıdan farklı bulunmuştur ($p<0,05$ düzeyinde). Çözücü kontrol grubunda (DMSO) dişiler, negatif kontrol grubunda (distile su) ise erkek bireyler lehine eşey oranı değişmiştir.

Deney gruplarının kendi arasında karşılaştırılmasında ise dişi birey sayıları 6a bileşiğinin 0,47 µL'lik konsantrasyonu, 1,88 µL'lik konsantrasyonu hariç diğer tüm deney gruplarıyla istatistiksel olarak fark ortaya çıkmıştır ($p<0,01$ düzeyinde).

Dişi birey sayısında 6a bileşiğinin 0,94 µL'lik konsantrasyonu ile 1,88 µL'lik konsantrasyonu ve pozitif kontrol grubu arasında, istatistiksel olarak fark ortaya çıkmıştır ($p<0,01$ ve $p<0,05$ düzeyinde).

Aynı şekilde 6a bileşiğinin en yüksek konsantrasyonu (1,88 µL) ile tüm kontrol grupları arasında istatistiksel olarak fark ortaya çıkmıştır ($p<0,01$, $p<0,05$ düzeyinde).

Erkek birey sayısında ise 6a bileşiği uygulama konsantrasyonları (0,47 µL ve 1,88 µL) ile çözücü (DMSO) kontrol grubu arasında istatistiksel olarak fark ortaya çıkmıştır ($p<0,01$ düzeyinde).

6a bileşiğinin 0,94 µL'lik konsantrasyonun erkek birey sayısı (830), negatif kontrol grubuna (1091) göre düşüktür ve istatistiksel açıdan farklıdır ($p<0,05$ düzeyinde).

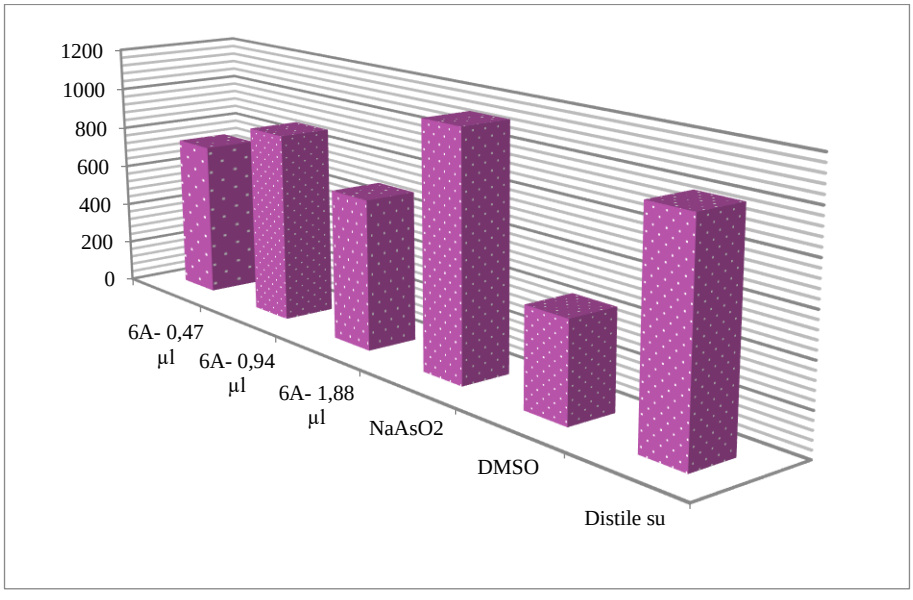
Bunlara ilave olarak pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$) ile negatif kontrol grubu erkek birey sayısı karşılaştırılmasında, istatistiksel olarak fark ortaya çıkmıştır($p<0,01$ düzeyinde).

Tablo 3.16. 6a bileşiğinin F_2 neslinde eşey oranına etkisi

Gruplar	Dişi Birey Sayısı	(%)	Erkek Birey Sayısı	(%)	Grup İçi Z Değeri	Standart Sapma	Dişi Z Değeri	Erkek Z Değeri
6a (0,47 µL)	739 (G1)	53,24	649 (G7)	46,76	(G1-G7) 3,421**	0,0189	(G1-G2) -4,378** (G1-G3) -0,824 (G1-G4) 6,143** (G1-G5) 3,266** (G1-G6) 4,485**	(G7-G8)-3,687** (G7-G9) -0,110 (G7-G10) 3,944** (G7-G11) 2,841** (G7-G12) 1,842
6a (0,94 µL)	896 (G2)	51,91	830 (G8)	48,09	(G2-G8) 2,246*	0,017	(G2-G3) 3,480** (G2-G4) 1,968* (G2-G5) -0,575 (G2-G6) 0,038	(G8-G9) 3,681** (G8-G10) 0,130 (G8-G11) -0,367 (G8-G12) -2,306*
6a (1,88 µL)	702 (G3)	49,89	705 (G9)	50,11	(G3-G9) -0,117	0,0189	(G3-G4) 5,221** (G3-G5) 2,475* (G3-G6) 3,574**	(G9-G10) 3,953** (G9-G11) 2,799** (G9-G12) 1,773
Pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$)	1131 (G4)	50,45	1111 (G10)	49,55	(G4-G10) 0,603	0,0149	(G4-G5) -2,09* (G4-G6) -2,004*	(G10-G11) -0,483 (G10-G12) -2,599**
Çözücü kontrol grubu (DMSO)	455 (G5)	52,97	404 (G11)	47,03	(G5-G11) 2,466*	0,0241	(G5-G6) 0,615	(G11-G12) -1,465
Negatif kontrol grubu (Distile su)	1008 (G6)	48,02	1091 (G12)	51,98	(G6-G12) -2,509*	0,0154		

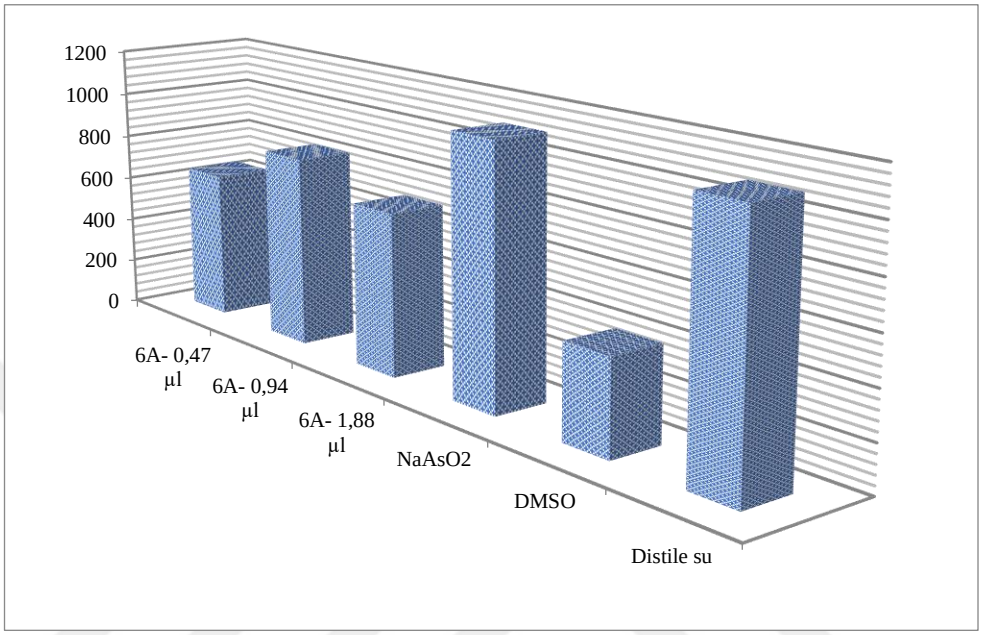
*p<0,05; **p<0,01

Şekil 3.19'da da görüldüğü gibi en düşük dişi birey sayısı (455) çözücü kontrol grubuna (DMSO) aittir ancak istatistiksel açıdan fark çıkmamıştır. 6a bileşiğinin tüm konsantrasyonlarında (0,47 µL, 0,94 µL ve 1,88 µL) dişi birey sayısı (739,896 ve 702), negatif kontrol grubuna (1008) göre düşüktür.



Şekil 3.19. 6a bileşiğinin F_2 neslinde dişi birey sayısına etkisi

Şekil 3.20'de de görüldüğü gibi en düşük erkek birey sayısı (404) çözücü kontrol grubuna aittir ancak istatistiksel açıdan anlamsız bulunmuştur. 2a bileşiğinin tüm konsantrasyonlarında (0,47 µL, 0,94 µL ve 1,88 µL) erkek birey sayısı (649,830 ve 705), negatif kontrol grubuna (1091) göre düşüktür.



Şekil 3.20. 6a bileşiğinin F_2 neslinde erkek birey sayısına etkisi

Eşey oranı incelendiğinde kontrol grubuna ait %48,02'si (1008 birey) dişi %51,98'i (1091 birey) ise erkek ergin bireylerden oluşmaktadır. DMSO grubuna ait %52,97'si (455 birey) dişi %47,03'ü (404 birey) ise erkek ergin bireylerden oluşmaktadır. Pozitif kontrol grubuna ($NaAsO_2$) ait %50,45'i (1131 birey) dişi %49,55'i (1111 birey) ise erkek ergin bireylerden oluşmaktadır. 0,47 µL dozuna ait %53,24'ü (739 birey) dişi %46,76'sı (649 birey) ise erkek ergin bireylerden oluşmaktadır. 0,94 µL dozuna ait %51,91'i (896 birey) dişi %48,09'u (830 birey) ise erkek ergin bireylerden oluşmaktadır. 1,88 µL dozuna ait %49,89'u (702 birey) dişi %50,11'i (705 birey) ise erkek ergin bireylerden oluşmaktadır.

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

İlaç ve etken maddelerin genel adı farmasötik bileşiklerdir ve birçok hastalığın tedavisinde farmasötik bileşikler yaygın olarak kullanılır. Son zamanlardaki raporlarda, farmasötik bileşikler, kozmetikler gibi birçok kimyasalın canlılarda üreme fonksiyonlarında bozukluklar, perinatal ölüm, çeşitli anormallikler meydana getirebileceğini ortaya koymaktadır (Balcı ve diğ, 2010). Karbonik anhidraz inhibitörleri de bu etken maddelerin arasında yer alır.

Karbonik anhidrazlar, yaşamın filogenetik alanlarının üçünde de (Bakteri, Archaea ve Eukarya) bulunan metaloenzimlerdir ve şimdiye kadar araştırılan çoğu organizmada bulunan çeşitli izoformlardır. Dünya çapında klinik olarak kullanılan ilaçlarla ortaya çıkan ciddi antibiyotik ilaç direnci problemleri göz önüne alındığında, bu tür ajanların yeni sınıflarına yol açabilecek yeni ilaç hedefleri için sürekli bir araştırma vardır (Vullo ve diğ., 2017). Karbonik anhidraz inhibitörlerinin, diüretikler ve antiglokom ilaçları olarak belirlenen rolüne ek olarak, son zamanlarda CAI'lerin yeni anti-obezite, antikanser ve anti-enfektif ilaçlar olarak potansiyele sahip olabileceği ortaya çıkmıştır. Ayrıca, son çalışmalar CA aktivasyonunun Alzheimer hastalığı için yeni bir tedavi sağlayabileceğini düşündürmektedir (Claudiu T. Supuran, 2008). Karbonik anhidraz inhibitörlerinin en önemli ve en çok incelenen sınıfı, katalizör Zn^{2+} 'yı enzim aktif bölgesinden koordine edebilen, böylece katalitik süreci bloke edebilen aromatik sülfonamidlerdir (El-Gazzar ve diğ., 2018).

Sülfonamidlerin gelişimi, tıbbi kimyadaki en büyüleyici ve bilgilendirici alanlardan biridir. Sülfonamidin keşfi, mikrobiyal enfeksiyonlara doğrudan saldırı sağlayarak kemoterapötik dönemin başlangıcını işaret etmiştir (Patel ve Mistry, 2004).

Bu çalışmada, test maddeleri olarak kullanılan insan CAI ve CAII inhibitörü yeni sülfonamit türevleri (2a ile 6a) de ilaç etken maddeleri olarak kullanılma potansiyelleri olabileceği düşünülerek teratojenik potansiyellerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, *D. melanogaster*'da metamorfoz süresine, ergin birey gelişimine, bireylerde fenotipik anormalliklere ve eşey oranına etkileri araştırılmıştır. D.

*melanogaster'*in genetik, fizyolojik ve nörobiyolojik açıdan insanlara benzerliği önem taşımaktadır (Klug ve diğ, 2018).

Deneylerde, *D. melanogaster* yabanıl tip Oregon-R soyunun gelişim ve üreme fonksiyonlarını etkileyebilecek iç ve dış etkenler sabit tutulmuştur. Elde edilen bilgilerle, uygulanan maddelerin bulguları arasındaki farklılıklarının bu maddelerin etkisi sonucu ortaya çıktığı yorumu yapılabilir. Ayrıca sentezi yapılmış yeni bir bileşik (2a ve 6a) olan sülfonamit sınıfı potansiyel bir karbonik anhidraz inhibitörü hakkında ilk rapordur.

2a bileşiğinin üç konsantrasyonunda (2,12, 4,25 ve 8,5 µL) F_1 ve F_2 neslinde metamorfoz süresinin değiştirmediği tespit edilmiştir (Tablo 3.1 ve Tablo 3.2). 6a bileşiğinin de (0,47, 0,94 ve 1,88 µL) aynı şekilde F_1 ve F_2 neslinde metamorfoz süresini değiştirmediği tespit edilmiştir (Tablo 3.3 ve Tablo 3.4). Verilerimizle ilgili sülfonamidlerle yapılmış metamorfoza etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Aynı şekilde yeni sentezlenmiş herhangi bir ilaçla ilgili çalışmaya da rastlanmamıştır. Bu nedenle bulgularımız mevcut çalışmalarla kıyaslanmıştır. Bulgularımızı destekleyen bir çalışmada farklı konsantrasyonlarda kurşunun *D. melanogaster*'e uygulanması ile metamorfoz süresini değiştirmediği ifade edilmiştir (Cohn ve diğ, 1992). Yine bulgularımızı destekleyen başka bir çalışmada Sodyum arsenit ve krom (III) klorürün hem ayrı ayrı hem de birlikte *D. melanogaster*' e uygulanması ile F_1 neslinde başkalaşım süresini değiştirmediği tespit edilmiştir (Karataş ve Bahçeci, 2010a).

F_1 neslinde kontrol gruplarından ($NaAsO_2$, DMSO, Distile su) sadece pozitif kontrol grubunda ($NaAsO_2$) metamorfoz süresini bir gün geciktirdiği görülmüştür. Bu durumda, pozitif kontrol grubunun ($NaAsO_2$) gelişimsel genler ya da bu genlerin işleyişi üzerindeki etkileri gelişimi olumsuz etkilemiş olabilir. Bu bulgumuzu destekleyen bir araştırmada, gıda katkı maddesi olan krom pikolinatın, *D. melanogaster*' da pupadan çıkmayı gerilettiği gözlenmiştir (Stallings ve diğ., 2006). Bulgularımızı destekleyen başka bir araştırma da Pascoe ve arkadaşları kadmiyumun *Chironomus* larvalarında, larva gelişimini geciktirdiğini bildirmişlerdir (Pascoe ve diğ, 1989). F_2 neslinde ise kontrol gruplarının ($NaAsO_2$, DMSO, Distile su) metamorfoz süresini değiştirmediği tespit edilmiştir. *D melanogaster*' e sodyum arsenit ve krom

(III) klorürün hem ayrı ayrı hem de birlikte uygulanması ile F_2 neslinde başkalaşım süresini değiştirmediği tespit edilmiştir. Söz konusu çalışmada uygulanan metallerin etkisiyle meydana gelen normal ve anormal fenotipli bireyler kendi aralarında çaprazlanmış, bu bireylerin bıraktıkları yumurtaların gelişiminde de başkalaşım süresinin değişmediği ifade edilmiştir (Karataş ve Bahçeci, 2010a). Bu veriler de bulgularımızı desteklemektedir.

F_1 neslinde 2a bileşiği üç konsantrasyonda da (2,12, 4,25 ve 8,5 µL) ergin birey sayısını değiştirmemiştir. Bu nedenle F_1 neslinde ergin birey sayısı açısından toksik bir etki gözlenmemiştir (Tablo 3.5). Bu durumda 2a bileşiğinin F_1 neslinde gelişime engel olan bir etki göstermediği söylenebilir. Buna ek olarak deney gruplarında anormal birey oranında artış ortaya çıkmamıştır. 2a bileşiğinin K_i değerinin altında ve üstünde uygulandığında, bireylerde gelişimi engelleyerek birey sayısını azaltmadığı ve fenotipik anormalliğe neden olmadığı söylenebilir (Tablo 3.9). Buradan karbonik anhidraz inhibitörü, K_i değerine göre uygulandığında, F_1 neslinde ergin birey gelişimine olumsuz etki yapmadığı söylenebilir. CO_2, hemen hemen tüm organizmalarda çoğu oksidatif metabolik süreçte üretilir. Bu sebeple filogenetik ağacın her yerindeki organizmalarda değişik genetik yapıda karbonik anhidraz (CA) enzimi bulunur (Supuran, 2018). *D. melanogaster*'de β-CA'nın oldukça aktif bir mitokondriyal enzim olup (Syrjänen ve diğ., 2015a), gelişmekte olan yumurtadaki sınır hücre göçü için gerekli olduğu ve bu sebeple yumurta beslenmesi için, dolayısıyla *D. melanogaster*'in üremesi için gerekli olduğu gösterilmiştir. Bu sonuç hem gelişmekte olan hem de yetişkin sineklerde RNA enterferansı (RNAi)-kaynaklı gen susturma metodu kullanılarak ortaya çıkarılmıştır (Syrjänen ve diğ, 2015b). 2a bileşiğinin F_1 neslinde *D. melanogaster'*da ergin birey gelişimini olumsuz etkilememiştir. Eğer karbonik anhidraz inhibitörünün gelişime toksik etkisi olsaydı, F_1 nesli ergin birey sayısında düşme ve istatistiksel olarak farklılık ortaya çıkmalıydı.

F_1 neslinde 6a bileşiği uygulaması düşük konsantrasyonlarda (0,47, 0,94 µL) *D. melanogaster'* de ergin birey sayısı negatif kontrol grubuna göre düşüktür (Tablo 3.6). Dolayısıyla F_1 neslinde 6a bileşiğinin düşük konsantrasyonlarında fertiliteyi azalttığı söylenebilir. Bulgularımızla ilgili sülfonoidlerle yapılmış çalışmalara rastlanmamıştır. Bu nedenle bulgularımız mevcut çalışmalarla kıyaslanmıştır. Krom kaplama sanayi atık suyunun yüksek konsantrasyonlarda *D. melanogaster'* da üreme performansı ve

yumurta bırakma oranını düşürdüğü ve stres proteinleri ekspresyonunda gerilemeye sebep olduğu gözlenmiştir (Mukhopadhyay ve diğ., 2003). Bu araştırma neticeleri bizim bulgularımızı destekler niteliktedir. Öte yandan anormal birey sayısı (76, 75, 96), negatif kontrol grubuna (161) göre düşük olduğu için toksik bir etki söz konusu değildir. Bunlara ilave olarak 6a bileşiğinin en yüksek konsantrasyonu (1,88 µL) F_1 neslinde birey sayısını artırdığı ve istatistiksel açıdan anlamlı olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.6). 6a bileşiğinin en yüksek konsantrasyonunun (1,88 µL) fertiliteyi pozitif yönde etkilediği söylenebilir. Bu bulgumuzu destekleyen sülfonomidlerle ilgili bir araştırmaya rastlanmamıştır. Ancak bulgularımızı destekleyen başka bir araştırmada antidepresan olarak kullanılan fluoksetin uygulamalarının düşük dozlarda (10 µg/L) *Potamopyrgus antipodarum*'da yumurta verimini arttırıcı etkileri olduğunu ifade edilmiştir (Péry ve diğ, 2008).

Yeni sentezlenen sülfonamidlerin etkilerine dair çalışmalar, ya inhibitör etkileri (Ahmed ve diğ., 2018) ya antienflamatuar (iltihap ilacı), antiromatizmal (romatizmayı önleyen ilaç) ve analgesic (ağrı kesici) aktiviteleri ya da kanser ve tümörün hayatta kalmasındaki rolleri ile ilgili (Chen ve diğ., 2019) çalışmalardır. Sülfonamidlerin böceklerde tesirlerine dair araştırmalar ise pestisit ve insektisit olarak kullanım için, LD veya LC değerlerinin ortaya çıkarılması ile alakalı çalışmalarıdır. Bu sebeple araştırma neticelerimizi kıyas ederek, böceklerde K_i değeri baz alınarak ilaç olarak kullanılma potansiyeline dayalı *D. melanogaster* ya da başka bir böcek ile yapılmış hiç bir çalışma bulunamamıştır. Buna rağmen mevcut araştırmalarla literatür desteği yapılmıştır. Örneğin beş karbonik anhidraz inhibitörünün (asetazolamide; brinzolamid; diklorfenamid; dorzolamid; metazolamid) *Aedes aegypti*'e karşıt toksik ve nörofizyolojik etkileri olduğu, larvalarda toksisite ve felce yol açarak ölümcül olduğu, *D. melanogaster* larvalarında sinir ve kasta toksik etkileri olduğu söylenmiştir (Francis ve diğ., 2016). Bu araştırma bizim çalışma bulgularımızın tersini göstermektedir. Bunun sebebi konsantrasyonlarının farklı olması ile ilgili olduğu ifade edilebilir. Sözü edilen araştırmada kullanılan konsantrasyonlar 250-1000 ppm arasında kullanılmış olup, en düşük konsantrasyon (250 ppm) bizim araştırmamızda kullanılan en yüksek konsantrasyonun (8,5 µL) ortalama 31 katından fazla olduğu söylenebilir. Aynı şekilde, del Pilar Corena ve ark., altı farklı sivrisinek türünün larvaları üzerinde bir karbonik anhidraz inhibitörü olan metazolamid ve asetazolamidi test etmiştir. LC50

değerleri, metazolamid ve asetazolamidin sırasıyla 75 ve 70 ppm olduğu ve etkilerin karbonik anhidraz inhibisyonu ile ilgili olduğu söylenmiştir (Francis ve diğ., 2016). Sözü edilen çalışmada kullanılan konsantrasyon bizim kullandığımız konsantrasyonun on katı kadardır. Dolayısı ile bulgularımıza göre K_i değeri baz alınarak kullanıldığında toksik etki göstermemektedir. İnsanda denemeden önce yapılan bu in vivo araştırma sonucunun pozitif olduğu ifade edilebilir. Bir başka araştırmada 4,7-dimetil-3,4,7,8-tetrahidro-3λ6- [1,2] tiazino [4,3-f] kinolin-3,3,8-trion, parazit *Setaria cervi*'nin yetişkinlerine denenmiş ve LD50 dozu ile (281.4 μM) ölümcül olduğu bulunmuştur (Mukherjee ve diğ., 2018). Kullanılan konsantrasyon bizim deneyimizdeki en yüksek dozun 33 katından daha fazladır. Bizim araştırmamızda kullanılan konsantrasyonun düşük olması ve bulgularımız bu durumda uyumludur. Bulgularımızı destekleyen bir başka araştırma da farelerde yapılmıştır. 2-(5-mercapto-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-N-propylbenzenesulphonamide (MOPBS), 1, 10, 50 ve 100 mg/kg dozlarında uygulanmış; mide, böbrek ve karaciğer fonksiyonu ve kas kuvveti ve motor fonksiyonu üzerinde belirgin bir toksik etki yaratmadığı ifade edilmiştir (Rasheed ve diğ., 2018).

2a bileşiğinin F_2 neslinde düşük konsantrasyonlarda (2,12 ve 4,25 μL) ergin birey sayısını değiştirmemiştir. Bundan dolayı F_1 neslinde ergin birey sayısı açısından toksik bir etki gözlenmemiştir (Tablo 3.7). Buna ilaveten F_2 neslinin en yüksek konsantrasyonunda (8,5 μL) ergin birey sayısı kontrol grubuna göre düşük (Tablo 3.7) ve buna ilave olarak anormal birey sayısı yüksektir (Tablo 3.11). F_2 nesli bireyleri gelişimini normal besiyerinde tamamlamasına karşın, F_1 neslinde maruz kalınan 2a bileşiğinin etkisi F_2 neslinde ortaya çıktığı tespit edilmiştir. Hem ergin birey sayısında azalma hem de anormal birey sayısında artış olarak F_2 neslinde gözlenen bu etki, 2a maddesinin K_i değerinden daha yüksek konsantrasyonda neden olduğu kalıtsal etkiye yüklenebilir. Sonuç olarak bu olay somatik bir hücrede meydana gelmiş ise etki F_1 neslinde, gametik bir hücrede meydana gelmişse bu etki F_2 neslinde ortaya çıkacaktır. F_2 neslinde anormalliklerin negatif kontrol grubuna göre anlamlı çıkmasının moleküller mekanizması bu şekilde açıklanabilir. Buna ilave olarak etkinin kalıtsal bir mutasyondan kaynaklandığı söylenebilir. *D. melanogaster*'in Antenapedia kompleksinde bir delesyon mutasyonunun, fenotipte dominant ya da resesif işlev kayıplarına sebep olduğu ve bu mutasyonun, ayrıca dominant torasik defektlerle de

ilişkili olduğu söylenmiştir (Cribbs ve diğ., 1992). Bu araştırma sonucu bulgularımızı destekler niteliktedir. Buna ilave olarak *D. melanogaster* homeotik genlerinden olan *Ultrabithorax* genlerinin torasik ve abdominal metamerlerinin identitysinden mesul olduğu (Botas ve Auwers, 1996) dolayısı ile gözlenen anormalliklerin torasik segmentlerde olması, bu ve benzeri genlerde meydana gelen homeotik gen mutasyonlarına dayandırılabilir. Ayrıca *D. melanogaster* genlerinin %30' unun vital genler olduğu ve bu genlerden birinin veya birkaçının işlev kaybının ölümle sonuçlanacağı ifade edilmiştir (Miklos ve Rubin, 1996). Bu nedenle yüksek konsantrasyonda vital genlerde meydana gelen olası mutasyonlar ergin birey sayısındaki düşmeyi açıklayabilir. Mutajenik maddeler, canlıda hem kromozomal düzeyde hem de gen seviyesinde nokta mutasyonlara sebep olabilmektedir. Sayısal kromozom farklılıklarını sitolojik olarak gözlemek mümkündür, fakat nokta mutasyonlar ancak fenotipte bir farklılığın ortaya çıkmasıyla anlaşılabilmektedir (Watson ve diğ., 1987). Maddeyle hiç temas etmemesine rağmen F_2 neslinde ortaya çıkan bu sonuç, 2a maddesinin epigenetik mekanizma ile genetik faktörleri etkilemiş olduğu söylenebilir. Epigenetik değişimler, çevresel şartlarda gerçekleşen değişiklikler sebebiyle genetik yapıda yapısal olmayan ancak yine de kalıtsal farklılıklara sebep olan düzenlemelerdir (Klug ve diğ. 2019). Tüm bunlar göz önüne alındığında, in vivo araştırmalarda F_2 neslinin de incelenmesi gerektiği söylenebilir. Netice olarak, F_1 neslinde maruz kalınan 2a maddesi, K_i değerinin üstündeki konsantrasyonda kalıtsal farklılıklara neden olarak, ergin birey sayısını düşürmüş, aynı zamanda teratojenik etkiye neden olmuştur diyebiliriz. Bu netice, potansiyel ilaç hammaddelerinin in vivo araştırmalarda F_2 neslinin de araştırılması gerektiğini göstermektedir. Aynı gruptan bir sülfonamid olan karbonik anhidraz inhibitörü 2b ve 2e test maddelerinin in vitro insan periferal lenfositlerinde yüksek konsantrasyonda ve uzun süreli maruz kalmada sitotoksik olduğunu, ancak klastojenik ve/veya mutajenik olmadıkları ortaya çıkmıştır, sözkonusu araştırma bulgularımızın aksini göstermektedir (Sen ve diğ., 2017). 2a bileşiğinin F_1 nesli verileri bizim araştırmamızda toksik bir etki olmadığını göstermektedir. Oysa 2a bileşiğinin F_2 neslinde kalıtsal etkiye dair veriler gözlenmiştir. Söz konusu çalışmada F_2 neslini temsil eden bir deney grubu olmaması sebebiyle F_2 nesline dair veriler karşılaştırılamamıştır. Bu sebeple insanda kullanılacak her tür farmasötik maddenin in vivo ve birkaç nesilde etkilerinin incelenmesi faydalı olabilir.

6a bileşiğinin F_2 neslinin en düşük (0,47 µL) ve en yüksek (1,88 µL) konsantrasyonunda ergin birey sayısı negatif kontrol grubuna göre düşüktür. Buna ilave olarak anormal birey sayısı yüksektir. F_2 nesli bireyleri gelişimini normal besiyerinde tamamlamasına karşın, F_1 neslinde maruz kalınan 6a bileşiğinin etkisi F_2 neslinde ortaya çıktığı söylenebilir. İlaç olarak kullanıldığı zaman F_2 nesli ile ilgili araştırmalar yapılmalıdır. Sadece F_1 nesli üzerine araştırmalar yapılırsa sakat doğumlara neden olabilir. Örneğin yaklaşık 60 yıl önce, gebe kadınlarda sabah bulantıyı tedavi etmek için thalidomide verildi. Bunu takiben, 10.000'den fazla çocuğun çeşitli ciddi ve zayıflatıcı malformasyonlarla doğduğu en büyük insan yapımı tıbbi felaket olduğu söylenebilir (Vargesson, 2015).

Ayrıca pozitif kontrol grubu ($NaAsO_2$) F_2 neslinin ergin birey sayısının tüm deney ve kontrol gruplarından daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu araştırmamızda ortaya çıkan hedef dışı bir bulgudur. Pozitif kontrol grubunun ($NaAsO_2$) F_2 neslinde fertilitiyeyi teşvik eden bir potansiyeli olduğu söylenebilir. Nitekim daha önce yapılan bir araştırmada da benzer bir neticeyle fertiliteyi teşvik ettiği ortaya çıkmıştır (Karataş, Bahçeci, 2010a). Ayrıca arsenilik asitin besicilikte domuz ve kümes hayvanları yemine, gelişim ve büyümeyi hızlandırıcı ajan olarak besiyerine katıldığı rapor edilmiştir (Friberg ve diğ., 1986).

2a bileşiğinin tüm konsantrasyonlarında eşey oranı iki nesilde de dişi veya erkek birey oranında anlamlı bir sapmaya neden olmamıştır. 2a bileşiğinin cinsiyete bağlı bir etkisi olmadığı söylenebilir. Böceklerin hayatta kalması için karbonik anhidrazların pH ve iyon düzenlemesindeki fizyolojik rolü, çok önemlidir (Francis ve diğ., 2016). 2a bileşiği organizmanın hayatta kalmasında cinsiyete bağlı bir değişiklik göstermemiştir.

6a bileşiğinin F_1 neslinde ise yüksek konsantrasyonlarında (0,94 µL, 1,88 µL) eşey oranı dişi cinsiyet lehine kaymıştır. Ayrıca 6a bileşiğinin F_2 neslinde düşük konsantrasyonlarda (0,47 µL, 0,94 µL) eşey oranı dişi cinsiyet lehine kaymıştır. Sülfonamidlerle ilgili çalışmalarda eşey oranı araştırmalarına rastlanmamıştır. Ancak bulgularımız literatürle desteklenmiştir. Erkek bireylerin gelişimi tamamlayamadığı, dolayısı ile dişi eşey oranı yükseldiği söylenebilir. Bu bulgumuzu destekleyen bir araştırmada, gıda katkı maddesi olan krom pikolinatın, *D. melanogaster*'da erkek bireylerin gelişim oranında düşmeye sebep olduğu bulunmuştur. Bunun sebebi olarak,

dişilerin sahip olduğu çift X kromozomunun, resesif mutasyonların etkisinin ortaya çıkmasını engellemiş olabileceği ve erkeklerde ise tek X kromozomu nedeniyle resesif mutasyonların kolayca açığa çıktığı için böyle bir sonuç gözlendiği söylenmiştir (Hepburn ve diğ., 2003). Bizim bulgularımız ve diğer araştırmacıların değerlendirmeleri neticesinde, eşey oranında görülen sapma, X kromozomunda bulunan gelişimsel genlerde meydana gelmiş olan resesif mutasyonlara, eşey kromozom kayıplarına ya da eşeye bağlı resesif mutasyonlara dayandırılabilir. Bu sebeple erkek bireylerin daha hassas olup gelişimini tamamlayamadıkları düşünülebilir. Nitekim hekzavalent krom bileşiklerinden potasyum dikromatın, *D. melanogaster*'de eşey kromozom kayıplarına ve eşeye bağlı resesif letaliteye sebep olduğu, kromium trioksitin ise bu etkiyi göstermediği bulunmuştur. Her iki bileşik de eşeye bağlı resesif mutasyonlara sebep olmuşlardır (Rodriguez-Arnaiz ve Martinez, 1986).

Yeni bir sülfonamid hakkındaki bu rapor, gelecekte umut verici bir terapötik ajan olabileceğine dair ipucu sunmaktadır. Çalışmanın bütününden çıkan sonuçlar özetlenecek olursa; 2a ve 6a bileşiğinin *D. melanogaster*'a uygulandığında, metamorfoz süresini değiştirmediği ifade edilebilir. 2a bileşiği ve 6a bileşiğinin F_1 neslinde fenotipik anormalliklere neden olmamıştır. 2a bileşiğinin F_2 nesli sadece yüksek konsantrasyonda fenotipik anormalliklere neden olmuştur. 6a bileşiği en düşük ve en yüksek konsantrasyonu fenotipik anormalliklere neden olmuştur. 2a bileşiğinin her iki nesilde de eşey oranında sapmalara neden olmamıştır. 6a bileşiği her iki nesilde eşey oranında sapmalara neden olmuştur. Tüm bu bulgular birleştirildiğinde 2a ve 6a bileşiğinin ilaç olarak geliştirilmesi için *D. melanogaster* ile yapılan bu araştırma pozitif sonuçlar ortaya koymaktadır. 2a ve 6a bileşiğinin ilaç etken maddesi olarak kullanılma potansiyeline sahip olabileceğini ifade etmek mümkün görünmektedir. Güvenli bileşikler olduğunu söylemek için, yapılacak yeni çalışmalarla toksisite testlerinin arttırılması gerekmektedir. Bu çalışma bu madde ile yapılmış ilk çalışma olması sebebiyle umut vermektedir, fakat kesin neticeye diğer deney organizmalarında ilave testler uygulandıktan sonra kesin karar verilebilir.

KAYNAKLAR

Aggarwal M., McKenna R., Update on carbonic anhydrase inhibitors: a patent review (2008 - 2011), *Expert Opin Ther Pat.*, 2012, **22**(8), 903-15.

Ahmed M., Qadir M. A., Hameed A., Arshad M. N., Asiri A. M., Muddassar M., Sulfonamides containing curcumin scaffold: Synthesis, characterization, carbonic anhydrase inhibition and molecular docking studies, *Bioorg Chem.*, 2018, **76**,218-227.

Aryal B., Lee Y., Disease model organism for Parkinson disease: *Drosophila melanogaster*, *BMB Rep.*, 2019, **52**(4), 250-258.

Aydoğan S., Yönlendirilmiş mutagenez ile mutant HCAII geninin eldesi ve mutant proteinlerinin inhibitörlere karşı ilgisinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir, 2006, 177981.

Balcı B., Erkuş A., Erkuş F. Ş., Farmasötik Bileşiklerin Sucul Ortamda Bulunuşu ve Etkileri, *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 2010, **3**(2), 13-19.

Barrios I. A., Bruno-Blanch L.E., Estiu G. L., Pharmacophoric pattern of anti-epileptic sulfonamides andsulfamates. Theoretical study of the associated requirements, *Journal of Molecular Structure: Theochem*, 2002, **580** (1-3), 243-250

Bernards A., Hariharan I., Of flies and men — studying human disease in *Drosophila*, *Current Opinion in Genetics & Development*, 2001, **11**, 274–278.

Botas, J., Auwers, L., Chromosomal binding sites of Ultrabithorax homeotic proteins, *Mechanisms of Development*, 1996, **56**, 129-138.

Chen, A. Y., Adamek, R. N., Dick, B. L., Credille, C. V., Morrison, C. N., and Cohen, S. M., Targeting Metalloenzymes for Therapeutic Intervention, *Chem Rev.*, 2019, **119**(2), 1323–1455.

Cohn J., Widzowski D. V., Cory-Slechta D. A., Lead retards development of *Drosophila melanogaster*, *Comp Biochem Physiol C.*, 1992, **102**(1), 45-9.

Cribbs D. L., Pattatucci A. M., Pultz M. A., Kaufman T. C., Ectopic Expression of the *Drosophila* Homeotic Gene Proboscipedia under Antennapedia P1 Control Causes Dominant Thoracic Defects, *Genetics*, 1992, **132**(3), 699-711.

Del Pilar Corena, M., Fiedler, M.M., VanEkeris, L., Tu, C., Silverman, D.N., Linser, P.J., Alkalization of larval *mosquito* midgut and the role of carbonic anhydrase in different species of *mosquitoes*. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol*. 2004, **137**, 207–225.

Demirci T., Arslan M., Bilen Ç., Demir D., Gençer N., Arslan O., Synthesis and carbonic anhydrase inhibitory properties of 1,3-dicarbonyl derivatives of methylaminobenzene-sulfonamide, *Journal of Enzyme Inhibition Medicinal Chemistry*, 2014, **29**(1), 132-136.

Doğanay S., Fırat P. G., Carbonic Anhydrase Inhibitors. *Glo-Kat*, 2007, **2**, 213-218.

Eldehna W. M., Al-Ansary G. H., Bua S., Nocentini A., Gratteri P., Altoukhy A., Ghabbour H, Ahmed H. Y., Supuran C. T., *Eur J Med Chem*., 2017, **127**, 521-530.

El-Gazzar M. G., Nafie N. H., Nocentini A., Ghorab M. M., Heiba H. I., Supuran C.T., Carbonic anhydrase inhibition with a series of novel benzenesulfonamide-triazole conjugates, *J Enzyme Inhib Med Chem*., 2018, **33**(1), 1565-1574.

Falakalı B., *Drosophila Genetiği*, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-İzmir, 1990.

Francis S. A. M., Taylor-Wells J., Gross, A. D., Bloomquist R. B., Toxicity and physiological actions of carbonic anhydrase inhibitors to *Aedes aegypti* and *Drosophila melanogaster*, *Insects*, 2016, **8**(1), 2.

Friberg L. T., Nordberg G. F., Vouk V. B., *Handbook On The Toxicology Of Metals*, 2rd ed., Elsevier, Amsterdam, 1986.

Geldeard L.J., Fundamental studies on 2,4,6-trichlorophenyl sulfonate esters, PhD Thesis, University College London, Faculty of Mathematical and Humanities, England, 2009.

Grandane A., Tanc M., Žalubovskis R, Supuran C. T., Synthesis of 6-aryl-substituted sulfocoumarins and investigation of their carbonic anhydrase inhibitory action, *Bioorg Med Chem*, 2015, **23**(7),1430-6.

Gümüş M., Yeni Karbonik Anhidraz İnhibitörleri Sentezi Ve İn Vitro İnhibitör Aktivitelerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa, 2008, 215816.

Güneş E., Borik asitin *Drosophila melanogaster*'in bazı biyolojik özellikleri ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi, Doktora Tezi, Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak, 2013, 330737.

Hales K. G., Korey C. A., Larracuente A. M., Roberts D. M., Genetics on the Fly: A Primer on the *Drosophila* Model System, *Genetics*, 2015, **201**(3), 815-42.

Hepburn D. D. D., Xiao J., Bindom S., Vincent J. B., O'Donnell J., Nutritional supplement chromium picolinate causes sterility and lethal mutations in *Drosophila melanogaster*, *Proc Natl Acad Sci USA*., 2003, **100**(7), 3766-71.

Imming, P., Sinning, C. and Meyer A., Drugs, their targets and the nature and number of drug targets, *Nature Reviews Drug Discovery*, 2006, **5**(10), 821-834.

Jafari, M., *Drosophila melanogaster* as a model system for the evaluation of anti-aging compounds, *Fly*, 2010, **4**(3), 253-257.

Karataş A., Bahçeci Z., Cypermethrinin *Drosophila Melanogaster*'in Üçüncü İnstar Larvalarının Tükrük Bezi Politen Kromozomları Üzerine Etkisi, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2009, **9**(1), 97-106.

Karataş A., Bahçeci Z., Effect of cypermethrin on some developmental stages of *Drosophila melanogaster, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2009, **82**(6), 738-742.

Karataş A., Bahçeci Z., Sodyum arsenit ve krom (III) klorürün *Drosophila melanogaster*' in eşey oranı ve bazı gelişimsel özellikleri üzerine etkileri, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2010, **26**(2), 102-111.

Karataş A., Bahçeci Z., Sodyum Arsenit ve Krom (III) Klorürün *Drosophila melanogaster*' in Ergin Bireylerinin Morfolojisi Üzerine Etkileri, *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2010, **31**(2), 1-21.

Karataş A., Biyolojik birikime neden olan bazı ağır metallerin *Drosophila melanogaster'*in gelişimi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1998, 76127.

Karataş A., Ertan F., Şaki N., Başpınar E., Sevim A.M., Gül, A., Effects of a porfirazin derivative on some developmental characteristics of *Drosophila melanogaster*, *Acta Biologica Hungarica*, 2011, **62**(4), 426-440.

Karioti A., Carta F., Supuran C. T., Phenols and Polyphenols as Carbonic Anhydrase Inhibitors, *Molecules*, 2016, **21**(12), 1649.

Keilin D., Mann T., Carbonic Anhydrase. Purification and Nature of the Enzyme, Biochem J., 1940, **34**(8-9), 1163-76.

Keller A., *Drosophila melanogaster*'s History As A Human Commensal, *Current Biology*, 2007, **17**(3), 77-81.

Keser D., Aspirin ve asetaldehitin *Drosophila melanogaster*'in bazı gelişimsel özellikleri üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli, 2010, 283045.

Keser, D., Karataş A., The effect of aspirin and acetaldehyte on egg fertility and development of *Drosophila melanogaster*, *Fress. Environ. Bull.*, 2012, **21**, 685–694.

Kızılet H., Uysal H., Ergin *Drosophila*'nın Ömür Uzunluğunda Kronik Zeralenon Alımına Bağlı Olarak Toksisitenin Uyarılması, *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 2012, **43**(1), 1-5.

Klug, W. S., Cummings M. R., Spencer C. A., Palladino M. A., *Genetik Kavramlar*, 11rd ed., Palme Yayınevi, Ankara, 2020.

Koh K., Evans J. .M., Hendricks J.C., Sehgal A., A *Drosophila* model for age-associated changes in sleep:wake cycles, *Proc Natl Acad Sci USA.*, 2006, **103**(37), 13843-13847.

Kohler R., *Drosophila*: A Life in the Laboratory, *Journal of the History of Biology*, 1993, **26**(2), 281-310.

Lavanya R., Sulphonamides: A Pharmaceutical Review, *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*, 2017, **6**(2), 01-03.

Maren T. H., The development of topical carbonic anhydrase inhibitors, *J Glaucoma*, 1995, **4**, 49–62.

Maren, T.H, The general physiology of reactions catalyzed by carbonic anhydrase and their inhibition by sulfonamides, *Ann. N. Y. Acad. Sci*., 1984, **429**(1), 568–579.

McMillan I., Fitz-Earle, M., Butler, L., Robson, D. S., Quantitative Genetics Of Fertility I. Lifetime Egg Production Of *Drosophila melanogaster*-Theoretical, *Genetics*, 1970, **65**(2), 349-53.

McMillan, I., Fitz-Earle, M., Butler, L., Robson, D. S., Quantitative genetics of fertility II. Lifetime egg production of *Drosophila melanogaster* experimental, *Genetics*, 1970, **65**(2), 355-369.

Miklos G.L.C., Rubin G.M, The role of the genome project in determining gene function: insights from model organisms, *Cell*, 1996, **86**(4), 521-529.

Mirzoyan Z., Sollazzo M., Allocca M., Valenza A., Grifoni D., Bellosta P., *Drosophila melanogaster*: A Model Organism to Study Cancer, *Frontiers in Genetics*, 2019, **10**(51).

Mukherjee S., Joardar N., Mondal S., Schiefer A., Hoerauf A., Pfarr K., Babu S. P. S., Quinolone-fused cyclic sulfonamide as a novel benign antifilarial agent, *Sci Rep*., 2018, **8**(1), 12073.

Mukhopadhyay I., Saxena D. K., Chowdhuri D. K., Hazardous effects of effluent from the chrome plating industry: 70 kDa heat shock protein expression as a marker of cellular damage in transgenic *Drosophila melanogaster* (hsp70-lacZ), *Environ Health Perspect*., 2003, **111**(16), 1926-32.

Orhan A., *Drosophila melanogaster*'de gelişim biyolojisi üzerine bazı antidepresanların etkilerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2013, 346095.

Ormerod K.G., LePine, O.K., Abbineni, P.S., Bridgeman, J.M., Coorssen, J.R., Mercier, A.J., and Tattersall G.J., *Drosophila* development, physiology, behavior, and lifespan are influenced by altered dietary composition, *FLY*, 2017, **11**(3), 153-170.

Özensoy Ö., Kanser İlişkili Karbonik Anhidraz IX Ve XII İzo Enzimlerinin (CA-IX, CA-XIII) Ekspresyonu, Saflaştırılması Ve Bazı Bileşiklere Karşı İnhibisyon Etkilerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir, 2006, 180163.

Pascoe D., Williams K. A., Green D. W. J., Chronic toxicity of cadmium to *Chironomus riparius* Meigen – effects upon larval development and adult emergence,

Hydrobiologia, 1989, **175**, 109-115.

Patel H. S., Mistry H. J., SYNTHESIS OF NOVEL SULPHONAMIDES AND EVALUATION OF THEIR ANTIBACTERIAL EFFICACY, Phosphorus Sulfur and Silicon, 2004, **179**(6), 1085–1093.

Péry A.R.R., Gust M., Vollat B., Mons R., Ramil M., Fink G., Ternes T., Garric J., Fluoxetine effects assessment on the life cycle of aquatic invertebrates, *Chemosphere*, 2008,**73**, 300–304.

Piper, M.D.W., Skorupab, D., Partridgea, L., Diet, metabolism and lifespan in *Drosophila*, *Experimental Gerontology*, 2005, **40**, 857–862.

Piper, M. D.W., Partridge, L., Drosophila as a model for ageing, *BBA- Molecular Basis of Disease*, 2018, **1864**, 2707-2717.

Prüßing K., Voigt A., Schulz J., *Drosophila melanogaster* as a model organism for Alzheimer's disease, *Molecular Neurodegeneration*, 2013, **8**(35).

Rajarathinam T., The Global Organization And Topological Properties Of *Drosophila Melanogaster*, Degree of Master of Science, University of Saskatchewan, Department of Chemical Engineering, Kanada, 2005.

Rasheed H., Afridi R., Khan A. U., Ullah M.Z., Khalid S., Atiq A., Kashif H., Ahmed M. N., Kim Y. S., Khan S., Anti-inflammatory, anti-rheumatic and analgesic activities of 2-(5-mercapto-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-N-propylbenzenesulphonamide (MOPBS) in rodents, *Inflammopharmacology*, 2018, **26**(4), 1037-1049.

Ratkowsky, D. A., Handbook of nonlinear regression models, M. Dekker, Medison Avenue, New York, 1990.

Reece, Jane B. ve diğerleri, *Biyoloji*, 6rd ed., Palme Yayınevi, Ankara, 2013.

Reiter L.T., Potocki L., Chien S., Gribskov M., Bier E., A Systematic Analysis of Human Disease-Associated Gene Sequences In *Drosophila melanogaster*, *Genome Research*, 2001, **11**(6), 1114-1125.

Rodriguez–Arnaiz R., Martinez R. F. M., Genetic effects of potassium dichromate and chromium trioxide in *Drosophila melanogaster*, *Cytologia*, 1986, **51**, 421-425.

Sen S., Berber A. A., Demirci T., Arslan M., Aksoy H., Cytotoxic and genotoxic evaluation of some newly synthesized sulfonamide derivatives, *Fresenius Environmental Bulletin*, 2017, **26**(3), 2243-2250.

Stallings D. M., Hepburn D. D. D., Hannah M., Vincent J. B., O'Donnell J., Nutritional supplement chromium picolinate generates chromosomal aberrations and impedes progeny development in *Drosophila melanogaster*, *Mutation Research*, 2006, **610**(1-2), 101–13.

Suckow, B. K. and Suckow, M. A., Lifespan Extension by the Antioxidant Curcumin in *Drosophila melanogaster*, *Int J Biomed Sci*., 2006, **2**(4), 401–405.

Supuran C. T., Carbonic anhydrase inhibitors and their potential in a range of therapeutic areas, *Expert Opinion On Therapeutic Patents*, 2018, **28**(10), 709–712.

Supuran C., Carbonic anhydrases: novel therapeutic applications for inhibitors and activators, *Nature Reviews Drug Discovery*, 2008, **7**(2), 168-81.

Supuran CT., How many carbonic anhydrase inhibition mechanisms exist?, *Journel of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2016, **31**(3), 345–360.

Supuran, C.T., Scozzafava, A., Conway, J., *Carbonic Anhydrase: Its inhibitors and activators*, CRC Press, 2004.

Syrjänen L., Valanne S., Kuuslahti M., Tuomela T., Sriram A., Sanz A., Jacobs H. T., Rämet M., Parkkila S., 2015, β carbonic anhydrase is required for female fertility in *Drosophila melanogaster*, *Frontiers in Zoology*, 2015, **12**(19).

Syrjänen, L., Kuuslahti, M., Tolvanen, M., Vullo, D., Parkkila, S., Supuran, C.T., The β-carbonic anhydrase from the malaria mosquito *Anopheles gambiae* is highly inhibited by sulfonamides, *Bioorg. Med. Chem.*, 2015, **23**, 2303–2309.

Şahin A., Bazı karbonik anhidraz izoenzimlerinin saflaştırılması için yeni bir afinite jelinin sentezi ve uygulanması, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir, 2008, 237731.

Şen S., Karbonik anhidraz inhibitörü metilenaminobenzen sülfonamit türevlerinin genotoksik profillerinin belirlenmesi, Doktora Tezi, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya, 2018, 488436.

Vargesson N., Thalidomide-induced teratogenesis: history and mechanisms, *Birth Defects Res C Embryo Today*, 2015, **105**(2), 140-56.

Villalba L., Enrique A. V., Higgs J., Castaño R. A., Goicoechea S., Taborda F. D., Gavernet L., Lick I. D., Marder M., Bruno Blanch L.E., Novel sulfamides and sulfamates derived from amino esters: Syntheticstudies and anticonvulsant activity, *European Journal of Pharmacology*, 2016, **774**, 55–63.

Vullo D., Kumar R. S. S., Scozzafava A., Ferry J. G., Supuran C. T., Sulphonamide inhibition studies of the β-carbonic anhydrase from the bacterial pathogen *Clostridium perfringens*, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2017, **33**(1), 31-36.

Watson J.D., Hopkins N.H., Roberts J.W., Steitz J.A., Weiner A.M., *Molecular Biology of The Gene*, The Benjamin-Cummings, California, 1987.

URL-1: http://flymove.uni-muenster.de/Genetics/Flies/MaleFemale/MaleFemalePict/Wildtype.jpg , (Ziyaret tarihi: 12 Temmuz 2020)

URL-2: http://flymove.uni-muenster.de/Genetics/Flies/MaleFemale/MaleFemalePict/MaleFemaleTafel.jpg, (Ziyaret tarihi: 12 Temmuz 2020)

URL-3: http://flymove.uni-muenster.de/Genetics/Flies/MaleFemale/MaleFemalePict/sexcombs.jpg, (Ziyaret tarihi: 12 Temmuz 2020)

URL-4: http://flymove.uni-muenster.de/Genetics/Flies/LifeCycle/LifeCyclePict/life_cycle.jpg , (Ziyaret tarihi: 12 Temmuz 2020)

KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

Can D. F., Karataş A., Karbonik Anhidraz İnhibitörünün "4-(2-Oxo-3'h-Spiro"Indoline-3,2'-"1,3,4"oxadiazole"-5'-Yl)" *Drosophila Melanogaster*'in Bazı Gelişimsel Özellikleri Üzerine Etkileri, International Congress Of Academic Research, 2019.

Can D. F., Karataş A., Karbonik Anhidraz İnhibitörü Metilenaminobenzen Sülfonamit Türevinin "4-(((4,4-Dimetil-2,6-Dioksocsiklohekziliden)metil)amino)benzensülfonamit" *Drosophila Melanogaster*'in Bazı Gelişimsel Özellikleri Üzerine Etkileri, International Congress Of Academic Research, 2019.

ÖZGEÇMİŞ

İlk orta ve lise öğrenimini İstanbul'da tamamladı. 2013 yılında girdiği Kocaeli Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliği Bölümü'nden 2017 yılında Fen Bilgisi Öğretmeni olarak mezun oldu. 2017-2020 yılları arasında, Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimi tamamladı.