



**BAZI AÇIL TIYOÖRE TÜREVLERİNİN
DİYABET İLE İLİŞKİLİ ENZİMLER ÜZERİNE
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Bükre Yaren ERTANO

**Yüksek Lisans Tezi
Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Orhan ERDOĞAN
İkinci Danışman: Doç. Dr. Yeliz DEMİR
2021**

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI

**BAZI AÇIL TİYOÜRE TÜREVLERİNİN DİYABET İLE İLİŞKİLİ ENZİMLER
ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

(Investigation the Effect of Some acylthiourea Derivatives on Diabetes-Associated Enzymes)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bükre Yaren ERTANO

Danışman: Prof. Dr. Orhan ERDOĞAN
İkinci Danışman: Doç. Dr. Yeliz DEMİR

Erzurum
Aralık, 2021

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Bükre Yaren ERTANO tarafından hazırlanan “Bazı Açıl Tiyoüre Türevlerinin Diyabet İle İlişkili Enzimler Üzerine Etkisinin İncelenmesi” başlıklı çalışması 16.12.2021 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Genetik Bilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Orhan ERDOĞAN <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır.
Danışman:	Prof. Dr. Orhan ERDOĞAN <i>Atatürk Üniversitesi</i> Doç. Dr. Yeliz DEMİR <i>Ardahan Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır. Aslı Islak İmzalıdır.
Jüri Üyesi:	Prof. Dr. Arzu GÖRMEZ <i>Erzurum Teknik Üniversitesi</i> Dr. Öğr. Üyesi Hamid CEYLAN <i>Atatürk Üniversitesi</i> Dr. Öğr. Üyesi Melike KARAMAN <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır. Aslı Islak İmzalıdır. Aslı Islak İmzalıdır.

Enstitü Yönetim Kurulunun
....../....../.... tarih ve sayılı
kararı.

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN
Enstitü Müdürü

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

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak Prof. Dr. Orhan ERDOĞAN ve Doç. Dr. Yeliz DEMİR danışmanlığında sunulan “Bazı Açıl Tiyoüre Türevlerinin Diyabet İle İlişkili Enzimler Üzerine Etkisinin İncelenmesi” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	12	30
Kuramsal Temeller	13	30
Materyal ve Yöntem	29	35
Bulgular	17	20
Tartışma	13	20
Tezin Geneli	16	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'ten büyük olmaması gerekir.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Bükre Yaren ERTANO	Prof. Dr. Ohan ERDOĞAN
7.12.2021	7.12.2021
İmza: Aslı Islak İmzalıdır.	İmza: Aslı Islak İmzalıdır.

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayımlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

- ☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.
- ☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmanın deneysel kısmı Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü ve Kimya Bölümü, Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Çalışmalarında her zaman bana her türlü yardım ve desteği sağlayan, manevi olarak bana güç veren, her daim gölgesinde olduğumu hissettiren, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Orhan ERDOĞAN'a,

Çalışmalarımın bütün safhalarında bana yardımcı olan manevi desteği ile bu seviyeye gelmemi sağlayan Sayın Doç. Dr. Yeliz DEMİR'e, deneysel çalışmamızda Biyokimya labının bütün imkânlarını benden esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Ö. İrfan KÜFREYİOĞLU, Sayın Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN, Sayın Prof. Dr. Hasan ÖZDEMİR'e ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Deryanur KILIÇ'a, kullanılan bazı açıl tiyoüre türevlerinin sentezlenmesini gerçekleştiren Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyelerinden Sayın Doç. Dr. Yahya NURAL'a, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. Harun BUDAK'a, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hamid CEYLAN'a her daim hissettirdikleri destekleri, tecrübeleri ve güler yüzlerinden dolayı teşekkür ederim.

Aynı evi paylaştığım ve birçok zorluğu beraber aştığım Kimya Bölümü Yüksek Lisans Öğrencileri olan Tuğba TAŞ ve Zeynep Yağmur BABAOĞLU'na, bir an bile desteklerini esirgemeyen dostlarım Nurdan TOPALOĞLU, Şevval ÖZKAYA, Murathan POLAT ve Erdem DEMİR'e en büyük destekçilerimden biri olan Fakhriyya MAMMADOVA teyzeme ve Ömer ÇAMKAYA amcama sonsuz teşekkür ederim.

Yüksek lisans sürecimde maddi manevi her türlü destek sağlayan zor günlerimde beni yalnız bırakmayan kıymetli babam Atila ERTANO'ya ve kardeşlerim Umut İlke ERTANO ile İlyas Arda ERTANO'ya, tüm hislerimi benimle aynı anda yaşayan, paylaşan canım annem Filiz ERTANO'ya daha birçok başarımda yanımda olmalarını dileyerek gösterdikleri sabır destek ve anlayışlarından dolayı teşekkür ederim.

Bu tez, 02.07.2003 günü kaybettiğimiz rehberim, bugüne gelmemin en büyük müsebbibi olan, bundan sonraki başarılarımda ana ilhamı olacak olan abim Utku Can ERTANO'nun unutulmaz anısına adanmıştır.

Bükre Yaren ERTANO

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI AÇIL TIYOÜRE TÜREVLERİNİN DİYABET İLE İLİŞKİLİ ENZİMLER ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Bükre Yaren ERTANO

Danışman: Prof. Dr. Orhan ERDOĞAN

İkinci Tez Danışman: Doç. Dr. Yeliz DEMİR

Amaç: Bu çalışmada koyun böbrek dokusundan elde edilen diyabet ile ilişkili enzimler olan Aldoz Redüktaz (AR) ve Sorbitol Dehidrogenaz (SDH) ile ticari olarak satın alınan α -Glukozidaz enziminin aktivitesi üzerine bazı açıl tiyoüre türevlerinin inhibisyon etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışma kapsamında AR ve SDH enzimleri çeşitli kromatografik teknikler kullanılarak saflaştırılmıştır. α -Glukozidaz enzimi ise ticari olarak satın alınmıştır. Diyabet ile ilişkili olan bu enzimlerin aktivitesi üzerine bazı açıl tiyoüre türevlerinin inhibisyon etkisi araştırılmıştır. Bu bileşikler için % Aktivite-[I] grafikleri çizilerek IC_{50} değerleri bulunmuştur. Ayrıca bu bileşikler için Lineweaver-Burk grafikleri kullanılarak K_i değeri ve inhibisyon şekli belirlenmiştir.

Bulgular: Yapılan çalışmalar sonucunda, saflaştırılan AR ve SDH enzimleri ile ticari olarak satın alınan α -Glukozidaz enzimlerinin aktivitesi üzerine bazı açıl tiyoüre bileşikleri mikromolar seviyede inhibisyon etkisi göstermiştir. AR ve SDH enzimleri üzerine **2c** (AR için K_i : $0,200 \pm 0,024 \mu M$; SDH için K_i : $0,247 \pm 0,014 \mu M$) bileşiği, α -Glukozidaz enzimi üzerine **2g** (K_i : $0,055 \pm 0,010 \mu M$) bileşiği en iyi inhibitör özelliği göstermiştir.

Sonuç: Elde edilen bulgular, açıl tiyoüre bileşiklerinin diyabetle ilişkili kritik enzimler üzerinde etkili bir inhibisyon kapasitesine sahip olmalarından dolayı çalışmamızın gelecekte diyabet hastalığının tedavisinde yenilikçi ve/veya alternatif tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sunacağını düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, Açıl Tiyoüre, Aldoz Redüktaz, Sorbitol Dehidrogenaz, α -Glukozidaz

Aralık 2021, 87 sayfa

ABSTRACT

MASTER THESIS

INVESTIGATION THE EFFECT OF SOME ACYLTHIOUREA DERIVATIVES ON DIABETES-ASSOCIATED ENZYMES

Bükre Yaren ERTANO

Supervisor: Prof. Dr. Orhan ERDOĞAN

Co-supervisor: Assoc. Prof. Dr. Yeliz DEMİR

Purpose: In this study, it was aimed to determine the inhibitory effect of some acyl thiourea derivatives on the activity of diabetes-related enzymes Aldose Reductase (AR) and Sorbitol Dehydrogenase (SDH), obtained from sheep kidney tissue and commercially purchased α -Glucosidase enzyme

Method: In this study, AR and SDH enzymes were purified using various chromatographic techniques. The α -Glucosidase enzyme was purchased commercially. The inhibitory effect of some acyl thiourea derivatives on the activity of these enzymes associated with diabetes was investigated. IC_{50} values were found for these compounds by plotting % Activity-[I] graphs. In addition, K_i value and inhibition mode were determined for these compounds using Lineweaver-Burk plots.

Findings: As a result of the studies, some acyl thiourea compounds showed inhibition effect at micromolar level on the activity of purified AR and SDH enzymes and commercially purchased α -Glycosidase enzymes. 2c (K_i for AR: $0.200 \pm 0.024 \mu M$; for SDH: $0.247 \pm 0.014 \mu M$) compound on AR and SDH enzymes, 2g (K_i : $0.055 \pm 0.010 \mu M$) compound on α -Glycosidase enzyme is the best inhibitor feature showed.

Results: The findings suggest that our study will contribute to the development of innovative and/or alternative treatment strategies in the treatment of diabetes in the future, since acyl thiourea compounds have an effective inhibition capacity on critical enzymes associated with diabetes.

Key Words: Diabetes, Acyl Thiourea, Aldose Reductase, Sorbitol Dehydrogenase, α -Glycosidase

December 2021, 87 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xii
GİRİŞ.....	1
Diyabet Tanımı ve Epidemiyolojisi	1
Diabetes mellitus riski oluşturan parametreler.....	2
Diabetes mellitus tanı kriterleri.....	2
Diyabetik komplikasyonlar	2
Diyabetik komplikasyonların sınıflandırılması.....	3
DM'nin sınıflandırılması.....	4
Enzim	8
Poliol yolağı	11
AR enzimi	13
SDH enzimi.....	15
α - Glukozidaz.....	17
Açıl Tiyoüre bileşikleri	19
KURAMSAL TEMELLER.....	22
Teze Genel Bakış	22
Literatür Özeti	23
MATERYAL VE METOD	27
Materyal	27
Çalışmalarda Kullanılan Cihazlar	27
Önceden sentezlenmiş olan açıl tiyoüre türevi bileşikler.....	27
Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler.....	28
Metod	29
Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması.....	29
AR ve SDH enziminin aktivite ölçümü	32

α -Glukozidaz enzim aktivitesinin ölçümü	32
Koyun böbrek dokusundan AR enziminin saflaştırılması	33
Protein tayini	34
Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) ile AR ve SDH enzimlerinin saflığının kontrolü	34
IC50 ve Ki değerlerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar	35
Önceden sentezlenmiş olan açıl tiyoüre türevi bileşiklerin sentez yöntemi	35
ARAŞTIRMA BULGULARI	36
Kullanılan Standart Grafik	36
Koyun Böbreği Ar Enziminin Saflaştırılması Sonuçları	36
Koyun Böbreği AR, SDH Enzimleri ile Ticari Olarak Temin Edilen α -Gly Üzerine Bazı Açıl tiyoüre Bileşiklerinin Etkilerinin Belirlenmesine Ait Çalışma Sonuçları	38
AR, SDH ve α -glukozidaz Enzimleri Üzerine Çalışılan İnhibitör Etkisi Gösteren Bazı Açıl Tiyoüre Bileşikleri İçin Ki Değerlerinin Tespit Edilmesine Ait Yapılan Çalışmaların Sonuçları	46
TARTIŞMA ve SONUÇ	55
KAYNAKLAR	61
ÖZGEÇMİŞ	72

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Kullanılan Cihazlar.....	27
Tablo 2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	28
Tablo 3. Gümüş Boyama Yönteminde Kullanılan Çözeltiler.....	32
Tablo 4. AR Enzimi Saflaştırma Basamakları.....	37
Tablo 5. SDH Enzimi Saflaştırma Basamakları	37
Tablo 6. AR enzim Lineweaver-Burk ve % Aktivite-[I] IC ₅₀ Değerleri, Ki Sabitleri ve İnhibisyon Türleri	53
Tablo 7. SDH Enzim Lineweaver-Burk ve % Aktivite-[I] IC ₅₀ Değerleri, Ki Sabitleri ve İnhibisyon Türleri	53
Tablo 8. α-gly Enzim Lineweaver-Burk ve % Aktivite-[I] IC ₅₀ Değerleri, Ki Sabitleri ve İnhibisyon Türleri	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. İnsanda İnsülin Proteinin Yapısı	2
Şekil 2. Diyabetik komplikasyonlara yol açan yolaklar.....	3
Şekil 3. Diyabet tipleri ve insülin davranışları	6
Şekil 4. Yarışmalı İnhibisyon.....	10
Şekil 5. Yarışmasız İnhibisyon.....	11
Şekil 6. Yarı Yarışmalı İnhibisyon.....	11
Şekil 7. Geri dönüşümsüz İnhibisyon	11
Şekil 8. Glukoliz ve poliol yolağı.....	12
Şekil 9. Poliol (sorbitol) yolu	13
Şekil 10. Aldoz redüktaz enziminin temel yapısı.....	14
Şekil 11. AR ve SDH enzimlerinin diyabetik komplikasyonlarla ilişkisine genel bakış	14
Şekil 12. İnsan SDH enzimin yapısı.....	16
Şekil 13. SDH enziminin aktif bölgesindeki çinko iyonunun koordinasyonu	17
Şekil 14. α -Glukozidaz enziminin üç boyutlu yapısı	19
Şekil 15. Açıl Tiyoüre molekül yapısı	19
Şekil 16. Açıl tiyoüre türevi bileşiklerin açık yapıları	28
Şekil 17. Açıl tiyoüre türevi bileşiklerin sentezi	35
Şekil 18. Bradford metodu kullanılarak proteinlerin kantitatif tayinininde kullanılan standart grafik	36
Şekil 19. Koyun böbreğinden saflaştırılan AR ve SDH enzimlerinin SDS-PAGE yöntemi ile saflık kontrolü	38
Şekil 20. SDS-PAGE sonucu çizilen R_f - log M_K grafiği	38
Şekil 21. AR enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2a bileşiği %Aktivite-[2a] grafiği.....	39
Şekil 22. AR enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2b bileşiği %Aktivite-[2b] grafiği	39
Şekil 23. AR enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2c bileşiği %Aktivite-[2c] grafiği	39
Şekil 24. AR enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2d bileşiği %Aktivite-[2d] grafiği	40
Şekil 25. AR enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2e bileşiği %Aktivite-[2e] grafiği	40
Şekil 26. AR enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2f bileşiği %Aktivite-[2f] grafiği	40
Şekil 27. AR enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2g bileşiği %Aktivite-[2g] grafiği.....	41
Şekil 28. SDH enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2a bileşiği %Aktivite-[2a] grafiği	41
Şekil 29. SDH enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2b bileşiği %Aktivite-[2b] grafiği	41
Şekil 30. SDH enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2c bileşiği %Aktivite-[2c] grafiği.....	42
Şekil 31. SDH enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2d bileşiği %Aktivite-[2d] grafiği	42

Şekil 32. SDH enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2e bileşiği %Aktivite-[2e] grafiği.....	42
Şekil 33. SDH enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2f bileşiği %Aktivite-[2f] grafiği.....	43
Şekil 34. SDH enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2g bileşiği %Aktivite-[2g] grafiği	43
Şekil 35. α -gly enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2a bileşiği %Aktivite-[2a] grafiği	43
Şekil 36. α -gly enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2b bileşiği %Aktivite-[2b] grafiği	44
Şekil 37. α -gly enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2c bileşiği %Aktivite-[2c] grafiği.....	44
Şekil 38. α -gly enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2d bileşiği %Aktivite-[2d] grafiği.....	44
Şekil 39. α -gly enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2e bileşiği %Aktivite-[2e] grafiği.....	45
Şekil 40. α -gly enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2f bileşiği %Aktivite-[2f] grafiği.....	45
Şekil 41. α -gly enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2g bileşiği %Aktivite-[2g] grafiği	45
Şekil 42. AR enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan 2a bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği.....	46
Şekil 43. AR enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan 2b bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği.....	46
Şekil 44. AR enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan 2c bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği.....	47
Şekil 45. AR enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan 2d bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği.....	47
Şekil 46. AR enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan 2e bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği.....	47
Şekil 47. AR enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan 2f bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği.....	48
Şekil 48. AR enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan 2g bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği.....	48
Şekil 49. SDH enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan 2a bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği.....	48
Şekil 50. SDH enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan 2b bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği.....	49
Şekil 51. SDH enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan 2c bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği.....	49
Şekil 52. SDH enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan 2d bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği.....	49
Şekil 53. SDH enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan 2e bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği.....	50

Şekil 54. SDH enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan 2f bileşiğinin	
Lineweaver-Burk grafiği.....	50
Şekil 55. SDH enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan 2g bileşiğinin	
Lineweaver-Burk grafiği.....	50
Şekil 56. α -gly enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan 2a bileşiğinin	
Lineweaver-Burk grafiği.....	51
Şekil 57. α -gly enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan 2b bileşiğinin	
Lineweaver-Burk grafiği.....	51
Şekil 58. α -gly enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan 2c bileşiğinin	
Lineweaver-Burk grafiği.....	51
Şekil 59. α -gly enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan 2d bileşiğinin	
Lineweaver-Burk grafiği.....	52
Şekil 60. α -gly enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan 2e bileşiğinin	
Lineweaver-Burk grafiği.....	52
Şekil 61. α -gly enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan 2f bileşiğinin	
Lineweaver-Burk grafiği.....	52
Şekil 62. α -gly enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan 2g bileşiğinin	
Lineweaver-Burk grafiği.....	53

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AR	Aldoz Redüktaz
Da	Dalton
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Deoksiribonükleik asit
EC	Enzim kodu
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
ES	Enzim substrat kompleksi
FT-IR	Kızılötesi Spektroskopi Yöntemi
g	Gram
GDM	Gestasyonel Diyabet
GFAT	Glutamine: fructose-6-phosphate amidotransferase
GLN	Glutamin
GLU	Glutamik asit
HRMS	Yüksek Çözünürlüklü MS
IC₅₀	Maksimum hızı yarıya düşüren inhibitör konsantrasyonu
IDDM	Tip 1 Diyabet
ISE	İyon Seçici Elektrotlar
İnh	İnhibisyon
K_i	Enzim inhibitör kompleksinin ayrışma sabiti
KM	Enzim aktif bölgesinin tamamının substratla dolduğu andaki hızı
mg	Miligram
ml	Mikrolitre
MS	Kütle Spektrometrisi
NADP⁺	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (okside form)
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (redükte form)
NIDDM	Tip 2 Diyabet
Nm	Nanometre
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
°c	Santigrat Derece
OGTT	Oral Glukoz Tolerans Testi
PAGE	Poliakrilamid jel elektroforezi
PER	Amonyum persülfat
PP	Poliol Yolu

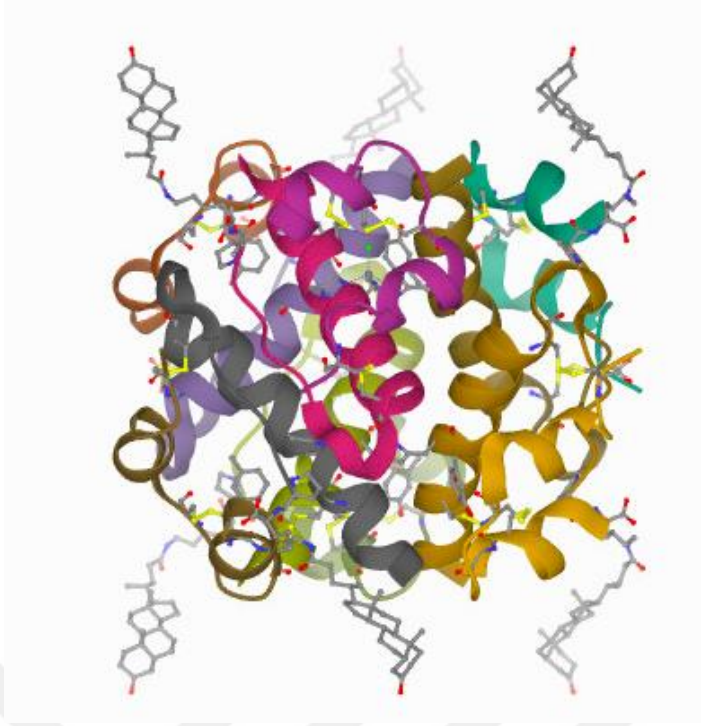
RNA	Ribonükleik asit
ROS	Serbest Oksijen Radikalleri
SDH	Sorbitol Dehidrogenaz
SDS	Sodyum dodesil sülfat
STZ	Streptozotocin
T1D	Tip 1 Diyabet
T2D	Tip 2 Diyabet
TEMED	N,N,N',N'-tetrametilendiamin
TRİS	Trihidroksimetil amino metan
V_{max}	Maksimum hız
α-Gly	α -glikosidaz
μg	Mikrogram
μM	Mikrometre

GİRİŞ

Diyabet Tanımı ve Epidemiyolojisi

Diyabet, ilk olarak M.Ö. 1500'lü yıllarda Mısırda idrara çok çıkma ile seyreden bir hastalık olarak tanımlanmıştır ve sonralarda M.S. 1000 yıllarında ise İbn-i Sina, diyabetin seyreden iki farklı türü olduğunu ortaya koymuştur (Gündoğan 2003). Hipergliseminin semptomları polidipsi, poliüri, kilo kaybı, polifaji, görme bozukluğu, büyüme bozukluğu, enfeksiyona yatkınlık, sebepsiz kilo kaybı olmakla beraber yaşam boyu süren, yaşam kalitesini düşüren maaliyeti yüksek bir süreçtir (Süleymanlar *et al.* 2003). Bu hastalık, genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle insülin yapısında oluşan bozulmalardan dolayı ortaya çıkmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün raporlarına göre 21. yüzyılda Diabetes Mellitus (DM), prevalansı yükselen hastalıklar arasında listenin başında gelmekle birlikte sağlık otoriteleri tarafından çok tehlikeli hastalıklar arasında kabul edilmiştir (Bağrıaçık *et al.* 2003; Dinççağ 2004). 2025 yılında DM sebebiyle ölümlerin artacağı bildirilmiştir. DM'nin küresel ölüm sebepleri arasında 4. sırada olduğu bildirilmiştir (WHO, 2010; Boyle *et al.* 2001). Türkiye'de DM prevalansı 2008 yılında adrese dayalı nüfus kayıt sistemine göre yapılan bir çalışmada %7,2 olarak belirtilmiştir (Satman *et al.* 2002). Dünyada prevalansı engellenemeyecek şekilde zamanla artan diyabet hastalığı kronik metabolik endokrin bir bozukluktur. (Schmidt 2018). Şiddetli ve ilerleyen bir hastalık olması ile birlikte hastanın yaşam kalitesini önemli ölçüde düşürmektedir. Bilinen yaklaşık 463 milyon yetişkin (20-79 yaş) hasta olmasıyla birlikte 2035'te bu sayının 592 milyona çıkacağı düşünülmektedir (Guariguata *et al.* 2014).

İnsülin 1889 yılında iki Alman bilim adamının hayvanlar üzerine yaptıkları deney sırasında pankreas tarafından salgılanan bir madde olduğu şüphesiyle keşfedilmiştir. 1909 yılında Belçikalı bir bilim insanı bu maddeye insülin adını vermiştir. İnsülin ilk kez 1921 yılında izole edilmiştir (Bliss 1993). İnsülin 51 amino asitten oluşur ve birbirlerine iki disülfid bağı ile bağlanan A (21 amino asitten oluşmaktadır) ve B (30 amino asitten oluşmaktadır) zinciri vardır. Moleküler ağırlığı 5802'dir. İzoelektrik pH noktası 5,5' dir (Home *et al.* 1997; Doson and Steiner 1998). İnsülin salgılanması bazal salgılama ve uyarılmış salgılama şeklinde gerçekleşmektedir ve salgılanmanın en önemli uyararı glikozdur. Bazal salgılama açlıkta gerçekleşen ve egzogen uyarı olmaksızın insan vücudunda meydana gelen insülin salgılama şeklindedir. Uyarılmış salgılama ise ağızdan besin alımına bağlı, β hücresinin verdiği insülin sekresyon cevabıdır (İmamoğlu 2006).



Şekil 1. İnsanda İnsülin Proteinin Yapısı (Whittingham *et al.* 2005).

Diabetes mellitus riski oluşturan parametreler

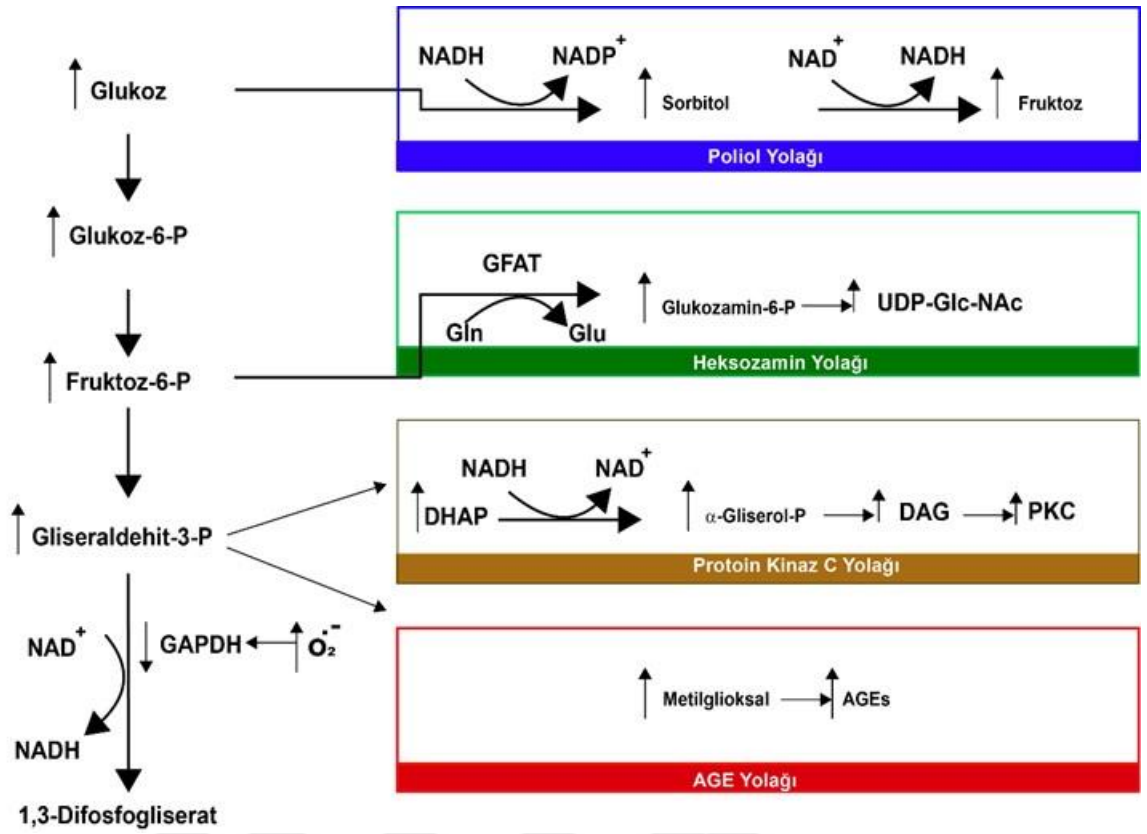
Genetik Sendromlar, Endokrin Hastalıklar, Pankreatik Hastalıklar, İlaçlar, Kimyasal Ajanlar, Toksinler (Olgun 2005).

Diabetes mellitus tanı kriterleri

- 1- Kişilerde rastgele plazma glukozunun ≥ 200 mg/dL olması
- 2- Açlık plazma glukozunun (APG) ≥ 126 mg/dL olması (Açlık minimum 8 saat sürmeli)
- 3- Hemoglobin A1C (HbA1c) seviyesinin yetişkinlerde %6,5'nin üstünde olması
- 4- Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) 'nin venöz kanda 2. saat glukoz değerinin ≥ 200 mg/dL üzerinde ise diyabet olarak kabul edilmektedir (American Diabetes Association 2012).

Diyabetik komplikasyonlar

Diyabet sonucu oluşan komplikasyonlar, mikrovasküler ve makrovasküler olarak iki grupta sınıflanmaktadır. Mikrovasküler oluşumlar; retinopati, nöropati ve nefropatidir. Makrovasküler oluşumlar ise özellikle koroner kalp hastalığı, periferik damar hastalıkları ve serebrovasküler komplikasyonlardan meydana gelmektedir (Eroğlu 2018).



Şekil 2. Diyabetik komplikasyonlara yol açan yollar

(GFAT Glutamin: fruktoz-6-fosfat amidotransferase; DAG Diaçilgliserol; PKC Protein Kinaz C; GLU Glutamik asit; GLN Glutamin) Aşırı süperoksit, glikolitik enzim GAPDH'yi kısmen inhibe eder, böylece yukarı akış metabolitlerini glikolizden glikoz aşırı kullanım yollarına yönlendirir. Bu, dihidroksiaseton fosfatın (DHAP) bir PKC aktivatörü olan DAG'a ve trioz fosfatların ana hücre içi AGE öncüsü olan metilglioksal'e akışının artmasıyla sonuçlanır. UDP-N-asetilglukozamin'e artan fruktoz-6-fosfat akışı, proteinlerin O-bağı N-asetilglukozamin (GlcNAc) tarafından modifikasyonunu artırır ve poliol yolundan artan glikoz akışı NADPH'yi tüketir ve GSH'yi tüketir (Brownlee 2001).

Diyabetik komplikasyonların sınıflandırılması

Braunvvald ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre diyabetik komplikasyonların sınıflandırması;

1. Akut (metabolik) komplikasyonlar

- Hipoglisemi
- Hiperozmolar non-ketotik koma
- Diyabetik ketoasidoz
- Laktik asidoz

2. Kronik (dejeneratif) komplikasyonlar

A. Mikrovasküler komplikasyonlar

- Diyabetik retinopati
- Diyabetik nöropati
- Diyabetik nefropati

B. Makrovasküler komplikasyonlar

- Hipertansiyon
- Kroner arter hastalığı
- Serebrovasküler hastalığı

C. Diğer kronik komplikasyonlar

- Gastrointestinal
- Genitoüriner (seksüel disfonksiyon, üropati)
- Dermatolojik
- Kemik ve mineral metabolizma bozukluklar
- Diyabetik ayak
- Psikolojik problemler ve psikiyatrik bozukluklar (Braunvvald *et al.* 2004)

DM'nin sınıflandırılması

Diyabet hastalarının %85'i Tip 2, %15'i ise Tip 1 DM'dir. Ve bu dağılımlar etnik köken, cinsiyet, yaşlanma, genetik ve çevresel parametreler ile ülkeden ülkeye değişiklik gösterebilmektedir (Özata and Yönm 2006).

Tip-1 DM

1. Immün nedenli
2. İdiyopatik

Tip-2 DM

1. Periferik insülin direnci ön planda
2. İnsulin sekresyon yetmezliği ön planda

Gestasyonel DM

Diğer spesifik tipler

A. β -hücre fonksiyonunun genetik defektleri

1. Kromozom 20, HNF- 4a (MODY1)
2. Kromozom 7, glukokinaz (MODY2)
3. Kromozom 12, HNF- 1a (MODY3) ve diğerleri

B. İnsülin fonksiyonunda genetik defektler

1. Tip A insülin direnci
2. Leprechaunism

3. Rabson-Mendenhall sendromu ve diğerleri

C. Ekzokrin pankreas hastalıkları

1. Pankreatitler
2. Travmal pankreatektomi
3. Neoplazitler ve diğerleri

D. Endokrinopatiler

1. Akromegali
2. Cushing sendromu
3. Glukogonoma vd.

E. İlaç ve kimyasal sebepler

1. Vakor
2. Pentamidin
3. Nikotinik asit vd.

F. Enfeksiyonlar

1. Konjenital rubella
2. Sitomegalovirus enfeksiyonu vd.

G. Otoimmün diyabetin nadir formları

1. Anti- insülin reseptör antikolları
2. Stiff-man sendromu vd.

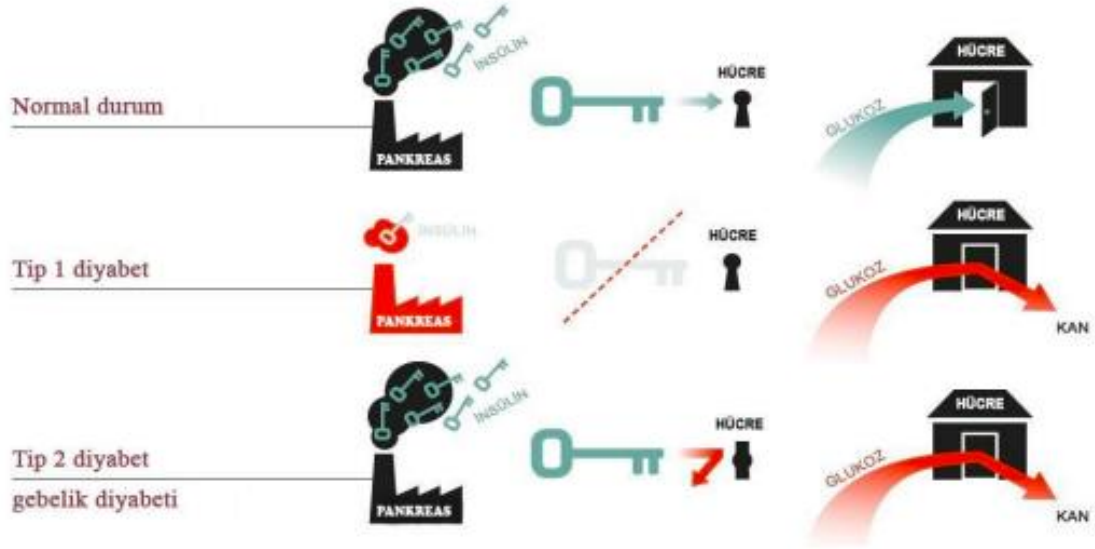
H-Diğer genetik hastalıklar

1. Down sendromu
2. Klinifelter sendromu vd.

Diabetes mellitusun etiyolojik sınıflandırılması (Anonymous 2005).

1997 yılında Amerikan Diyabet Birliği (ADA) yeni sınıflandırmayı yayımlamıştır.

- 1- Tip 1 DM (Otoimmün tip DM ve İnsülin eksikliğinin başka nedenlerle olduğu tip 1 DM) (IDDM)
- 2- Tip 2 DM (NIDDM)
- 3- Gestasyonel DM (GDM)
- 4- Özel DM tipleri (American Diabetes Association 2012).



Şekil 3. Diyabet tipleri ve insülin davranışları (Anonymous 2013).

Tip 1 DM hastalarında insülin hormonu bulunmamaktadır. Tip 1 diyabetin gelişimine sebep olan asıl gen yerleşimi 6. kromozomdaki HLA lokusudur. İmmünolojik süreçlerle pankreatik β - hücrelerinin bozulması veya total kaybına bağlı olarak gelişen insülin eksikliği ile ortaya çıkan ve insüline bağımlı olarak sürüp giden diyabet tipi olarak tanımlanmaktadır (Mellitus 2005). Kişilerde iştahsızlık, ağız kuruluğu, açlık hissi, çok idrara çıkma, kilo kaybı, kaşıntı, yaraların geç iyileşmesi, nükseden yaralar, bulanık görme başlıca bulgulardır. Hastalarda yoğun insülin tedavisi uygulanmaktadır. Hastalık 30 yaşından önce ortaya çıkmaktadır (Guariguata *et al.* 2014). Tip 1 DM'si olan bir annenin çocuğunda yine Tip 1 DM görülme olasılığı oldukça yüksektir. Tip 1 DM babada ise bu oran üç kat artmaktadır. Şayet hem anne hem de babada Tip 1 DM var ise risk oldukça fazlaşmaktadır (Sacks 2005). NIDM insidansı dünya çapında artmaktadır ve her yıl yaklaşık 90.000 çocukta var olduğu düşünülmektedir. İnsidans oranı ülkeler arasında önemli değişiklikler göstermektedir. Bu varyasyonun nedeni tam olarak bilinmemektedir, fakat genetik yatkınlık (örneğin, HLA genetik risk faktörlerinin popülasyondaki prevalansı), muhtemelen hijyen ve çocukluk enfeksiyonlarını içeren çevresel ve yaşam tarzı faktörleri ile ilgili olabileceğine ihtimal verilmektedir (Diaz-Valencia *et al.* 2015).

Prevalansı oldukça yüksek olan ve genellikle 40 yaş üstü bireylerde görülen Tip 2 diyabette de bulgular çok benzerdir. Tip 2 insülin salgısının bozukluğu, glikoz üretimindeki artış ve farklı seviyelerdeki insülin direnci ile karakterize olan heterojen bir diyabet tipidir (Chatterjee *et al.* 2017). Beta hücrelerinin kan şekerine olan yanıtı bozuktur ve beta hücresi glukozu tanıyamamaktadır (Goldman 2006; Ronald and Codario 2007). Genetik yatkınlık, obezite ve fiziksel hareketsizlik Tip 2 diyabetin ana sebepleri arasında gösterilmektedir. Bu diyabet türü ile birlikte göz, böbrek ve kardiyovasküler sistem hasar görebilmektedir

(Chatterjee *et al.* 2017). Kan şekerinin optimal kontrolü sağlanmadığı zaman morbiditeyi ve mortaliteyi negatif yönde etkileyerek akut ve kronik olmak üzere başka komplikasyonlara sebebiyet verebilir. Hiperglisemi, endotel, kalp, böbrek, göz ve sinir gibi glukoz taşınımı insülinle ilişkisi olmayan dokularda glukoz düzeyini artırır. Söz konusu durumun çeşitli komplikasyonlara ve bu dokularda hasara sebep olduğu bilinmektedir (Kawasaki *et al.* 1998; Oates 2002). Diyabet hastalığının oluşmasından ve gelişmesinden çeşitli faktörler sorumludur. Bunların ilki ve en önemlisi pankreatik β -hücrelerindeki hasar sonucu meydana gelen insülin yetmezliği ve bazı anomaliler sonucu periferik hücrelerde oluşan insülin direncidir. Diyabetik hastalarda karbohidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki bozuklukların temel sebebi, insülin hormonunun hedef dokulardaki yetersiz etkisiyle ilişkilendirilmiştir (Altunoğlu 2012). İnsülin, plazmada bulunan glukozun, okside olup enerji metabolizmasında veya glikojen olarak depolanması için kas ve yağ dokusu gibi periferik dokulara taşınmasını sağlarken karaciğerde glikojenoliz ve glukoneogenezi baskılayıp hepatik glukoz üretimini sekteye uğratmaktadır (Donkin *et al.* 1997; Breton *et al.* 2018). İnsülin direnci gelişmesi durumunda pankreatik β -hücrelerinin çalışma prensipleri bozulur ve fonksiyon kaybı meydana gelebilir böylece Tip 2 diyabet meydana gelebilmektedir (Mooradian 2009).

Tip 2 DM için risk faktörleri:

1. Etnik gruplar
2. Ailede var olan Tip 2 diyabet öyküsü
3. Genetik belirleyiciler
4. Çevresel faktörler
5. Obezite
6. Yaş
7. Diyet
8. Düşük fizik aktivitesi (Damcı 1999).

Gestasyonel Diyabet (GDM) tanısı ilk olarak hamilelikte konulan glukoz intoleransıdır (American Diabetes Assosiation 1997). Gebeliklerin %7'si gibi bir kısmı GDM ile komplike olmakta ve bu değer farklı toplumlarda değişebilmektedir (American Diabetes Assosiation 2003). Özel DM tipleri ise malnutrisyonla ilişkili ve bozulmuş glukoz toleransı ile beraber seyreden diyabet olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Malnutrisyonla ilişkili DM genellikle tropikal ve gelişmekte olan ülkelerde genç yetişkinlerde görülmektedir (Acker *et al.* 1999). Bozulmuş Glukoz Tolerans sahibi hastalarda plazma glukoz değeri normal değer ile diyabet tanısı için gereken değer arasında bulunmaktadır. Bu değer OGTT ile ölçülmektedir (Huysal 1999).

Enzim

Enzimler canlı organizmalardaki kimyasal olayların tümünü gerçekleştiren ve reaksiyonların hızını attıran ve yan ürün oluşturmada %100'lük bir verim sağlayan özgül biyomoleküllerdir. Doğada hali hazırda bulunan enzimler, temel aldıkları kaynaklarına göre hayvansal enzimler, mikrobiyal enzimler ve bitkisel enzimler olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadırlar. Enzimler katalizledikleri tepkimeler sonucunda yok olmazlar ve tepkimenin dengesini korurlar (Bairoch 2000). Neredeyse tüm enzimler (katalitik RNA molekülleri hariç) protein yapıda olmakla beraber proteinlerin en özelleşmiş ve en geniş bölümünü oluşturmaktadırlar (Smith *et al.*1997). Protein yapıda olduklarından dolayı DNA tarafından kodlanmaktadırlar (Keha and Kührevioğlu 2012). Katalitik aktivasyonları doğal protein konformasyonu ile ilişkili olup enzimin denatüre olması, altbirimlerine ayrılması, amino asitlerine dönüşme durumunda katalitik aktivitesi düşmekte ya da yok olmaktadır (Nelson and Cox 2013). Tıpkı diğer proteinlerin sahip olduğu gibi yaklaşık olarak 12.000'den 1 milyona kadar farklılık gösteren bir molekül ağırlığına sahiptirler (Nelson and Cox 2013).

Biyokimya alanındaki çalışmaların çoğu enzim üzerine olup özellikle kataliz üzerine odaklanmaktadır. İlk olarak enzim çalışmaları 1760-1825 yıllarında mide organındaki enzimler üzerinedir. Spesifik olarak bir enzim üzerine *in vivo* ortamda çalışan ilk bilim insanı S.S. Berzelius'tur. 1926 yılında J.B. Sumner'in üreaz enzimini Jack bean bitkisinden elde edilmesi ve sonrasında kristallendirme çalışması yaparak protein yapısını kanıtlanması önemli bir gelişme olmuştur. 1930'lu yıllarda J. Northrop ve Moses Kunitz'in pepsin, tripsin, kimotripsin enzimlerini kristallendirmesi ile de bu desteklenmiştir. J.B.S Haldane enzim ve substrat arasındaki etkileşimlerin substratı değiştirdiğini ve tepkimelerde kataliz fonksiyonu olabileceğini düşünerek enzimatik katalizleme temellerini atmıştır (Nelson and Cox 2013).

Canlı organizmada organik maddelerin sentezi, yıkımı, kas hareketleri ve solunum gibi fizyolojik olaylar enzimlerin aracılığıyla gerçekleşmektedir. Enzimler substrat moleküllerine spesifik olarak bağlanarak ürün oluşturmaktadırlar. Aktivasyon enerjisini düşürerek reaksiyonun hızını arttıran enzimler düzenli tepkime dizilerindeki aktiviteleriyle besinsel moleküllerin ayrıldığı yüzlerce tepkimeyi katalizlemektedir (Champe and Harvey 1997). Böylece kimyasal enerji korunur, dönüştürülür ve basit öncüllerden biyolojik makromoleküller üretilmektedir (Nelson and Cox 2013). Enzimler reaksiyon mekanizmalarına göre 6 ana kategoriye ayrılmaktadırlar.

Oksidoredüktazlar: İki substrat arasındaki oksidasyon redüksiyon (yükseltgenme-indirgenme veya redoks) reaksiyonlarını katalizleyen ana enzim grubudur.

Transferazlar: İki substrat arasındaki hidrojen hariç diğer işlevsel grupların transferini katalizleyen enzim grubudur.

Hidrolazlar: Farklı bağların bir H₂O molekülü eklenmesiyle hidrolizini gerçekleştiren enzim grubudur.

Liyazlar: Hidroliz ve oksidasyondan ayrılan bir çalışma prensibi ile substratlardan grupları uzaklaştırarak, çift bağ oluşturan enzim grubudur.

İzomerazlar: Yapısal, optik ve geometrik izomerlerin birbirlerine olan reaksiyonlarını gerçekleştiren enzim grubudur.

Ligazlar (Sentetazlar): Fosfat bileşiklerinden fosfat bağının kopması ile oluşan enerji aracılığıyla iki molekülün bağlanmasını katalizleyen enzim grubudur (Keha and Kührevioğlu 2012).

Enzimlerin katalizledikleri tepkimelerde aktif yere bağlanan ve işlenen maddelere substrat denmektedir. Her substratın işlenebilmesi için vücutta değişken enzimler bulunmaktadır. Enzimlerin bir kısmı katalitik aktiviteleri için kofaktör (Fe⁺², Mg⁺², Mn⁺², Zn⁺² gibi bir veya daha çok inorganik iyon ihtiyacı duymaktadırlar) veya koenzim (kompleks organik ve metalloorganik moleküllere ihtiyacı duymaktadırlar) adı verilen gruplara gereksinim duymaktadırlar. Koenzimi ile birlikte katalitik aktivitesi aktif olan enzimlere holoenzim denir ve kofaktörü bulunmayan enzime ise apoenzim denilmektedir. Bazı enzimlerin katalizleme görevlerini yerine getirebilmek için protein yapıda olmaları yeterken, bazıları ise protein yapıda olmayan kofaktör gruplara mecbur kalmaktadırlar (Nelson and Cox 2013).

Apoenzim + Kofaktör = Holoenzim (Nelson and Cox 2013).

Aynı türdeki canlılarda aynı reaksiyonları gerçekleştiren fakat farklı kimyasal ve fiziksel özelliklere sahip olan enzimlere izoenzim denilmektedir. İzoenzimlerin kendilerine özgü olan substratlarına, kofaktörlerine ve inhibitörlerine karşı eğilimleri değişkenlik göstermektedir. İzoenzimler arasındaki farklılıklar amino asit dizilimi ve sayısından ve doğru orantılı olarak farklı genlerinin olması, izoelektrik noktalarının değişkenlik göstermesi, elektroforetik hareketlerinin farklı olması, lokalizasyonlarının değişken olması olmak üzere sıralanmaktadır (Devlin 2002).

Enzimler bazı metabolik hastalıklar ile ilişkisinden dolayı yoğun olarak üstünde durulan bir konudur. Bazı hastalıklarda özellikle de kalıtsal olan türlerde bazı enzim ya da enzimlerin yokluğu söz konusu olmaktadır. Aynı şekilde bir grup hastanın da hastalık kaynağı enzimin aşırı aktivitesi sebep olabilmektedir. Eritrositlerde, kan plazmasında ya da doku örneklerinden elde edilen enzim aktivitesi hastalık tayini için oldukça mühim olmaktadır. Bu nedenle enzim

aktivasyonu ve inhibisyonu sadece tıp alanında değil aynı zamanda biyokimya alanında da çok fazla çalışılan konular arasında sayılmaktadır (Nelson and Cox 2013). Enzimlerin aktivitelerinin bazı bileşikler veya organik sentezler ile artıp azalmasıyla inhibisyon veya aktivasyon çalışmaları yapılmaktadır.

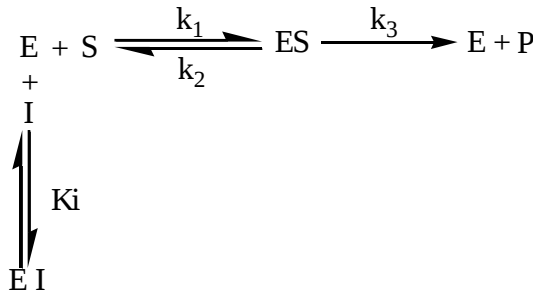
Enzim aktivasyon hızlarına etki eden parametreler

1. Substrat konsantrasyonu
2. Enzim konsantrasyonu
3. pH
4. Sıcaklık
5. İnhibitör ve aktivatör konsantrasyonu
6. Kofaktör konsantrasyonu
7. İyonik şiddet (Söyler 2006).

Enzimlerin aktivasyonunu düşüren veya yok eden bileşiklere inhibitör denmektedir (Şehitoğlu 2012). Enzim inhibitörleri tepkimeleri yavaşlatmakta veya sonlandırmaktadırlar. Enzim inhibitörleri iki genel gruba ayrılmaktadır (Keha *et al.* 2014).

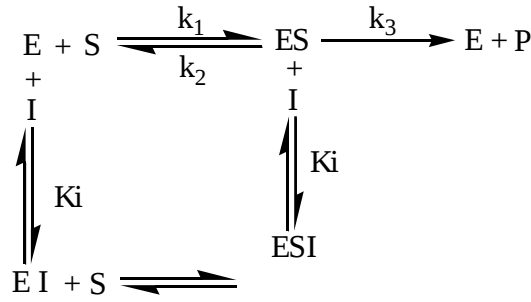
Geri Dönüşümlü İnhibisyon: İnhibitörler enzime nonkovalent bağlanmaktadır.

A- Yarışmalı İnhibisyon: İnhibitörler enzimin aktif bölgesine bağlanmakta ve yapısal olarak substrata benzemektedirler. V_{max} (enzimin reaksiyonda gelebileceği maksimum hız) değişmez iken K_M (Enzimin substrata olan ilgisini gösteren) artmaktadır.



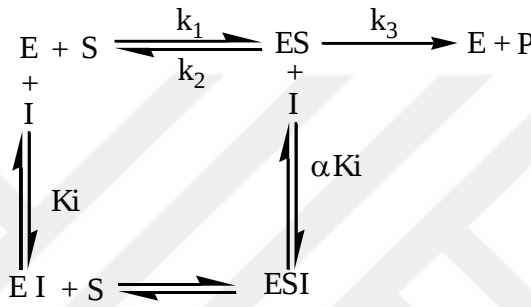
Şekil 4. Yarışmalı İnhibisyon (Nelson *et al.* 2013).

B-Yarışmasız İnhibisyon: İnhibitörler farklı bölgeye eş zamanlı bağlanabilmektedir. Bu durum bağlanmanın olduğu yerin enzimin aynı bölgesinde olmadığını göstermektedir. V_{max} azalır iken K_M sabit kalmaktadır. Farklı bağlanımdan ötürü iki çeşit inaktif kompleks oluşabilmektedir.



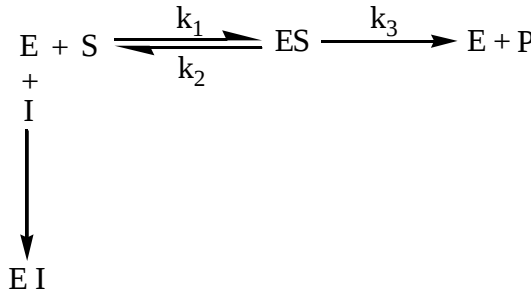
Şekil 5. Yarışmasız İnhibisyon (Nelson *et al.* 2013).

C-Yarı Yarışmalı İnhibisyon: İnhibitörler, serbest enzimlere bağlanamamakta ve ES'ye bağlanmaktadır. Fazla substratlı enzimlerde bu tip inhibisyon görülmektedir. K_M ve V_{max} azalmaktadır.



Şekil 6. Yarı Yarışmalı İnhibisyon (Nelson *et al.* 2013).

Geri Dönüşümsüz İnhibisyon: İnhibisyon enzime kovalent bağ ile bağlanabilmektedir ve zor ayrılan bir kompleks meydana getirebilmektedir. Dönüşümsüz inhibisyon tipinde V_{max} azalır, K_M ise değişmez. (Güner 2007; Nelson and Cox 2013).

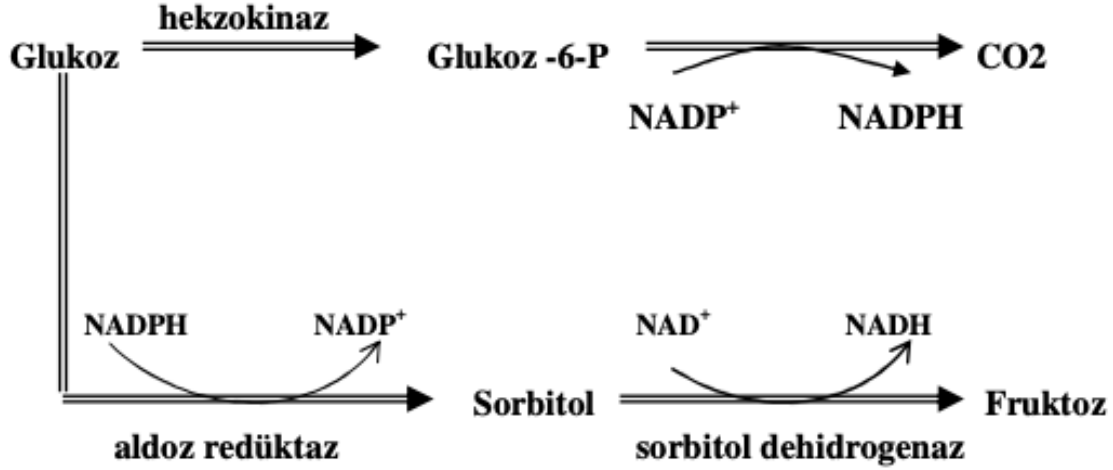


Şekil 7. Geri dönüşümsüz İnhibisyon (Nelson *et al.* 2013).

Poliol yolağı

1956'da yaptığı bir çalışmada Hers, enerji kaynağı olarak sperm hücrelerinin, seminal kesede polioliol yolu (PP) vasıtasıyla glukozun fruktoza dönüşümünü göstermiştir (Hers 1956; Kador *et al.* 1986; Bhatnagar and Srivastava 1992). Sonraki çalışmalarda polioliol yolunun varlığı diyabetik sıçan lensinde tespit edilmiştir (Heyning 1959). Optimum standartlarda polioliol yoluna giren glukoz total glukoz miktarının %0,1'inden azdır (Vander Jagt *et al.* 1988; Petrash *et al.* 1992). Glukozun oldukça fazla bir kısmı heksokinaz enzimi ile fosforillenerek glikoz-6-

fosfota dönüşmekte ve bununla beraber glikoliz reaksiyonu ile metabolize olmaktadır. Bu durumda aldoz redüktaz (AR) enziminin glukoz için afinitesinin oldukça düşük olmasından dolayı, fosforilize olmayan glikozun ortalama %3'ü polioliol yoluna dahil olarak sorbitol ve fruktoza metabolize edilmektedir (Beyer and Hutson, 1986; Cardenas *et al.* 1998).



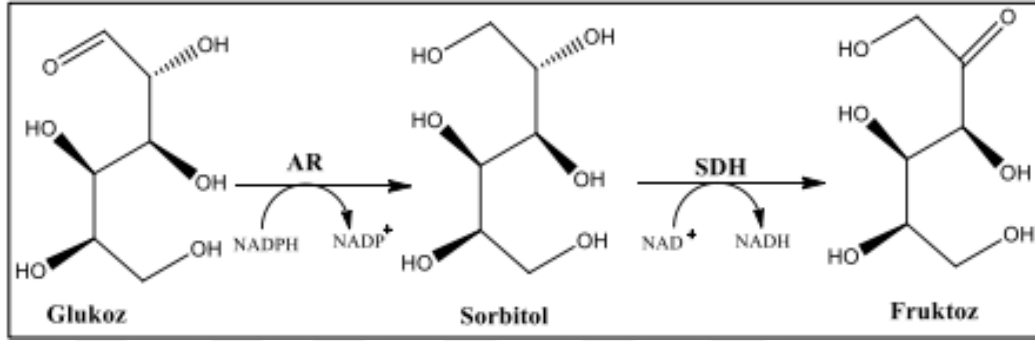
Şekil 8. Glukoliz ve polioliol yolağı (Gonza'lez *et al.* 1984).

Glukozun sorbitole dönüşümünü sağlayan polioliol yolağı sorbitol dehidrogenaz (SDH) ile tamamlanmakta ve böylece polioliol yolağında NADPH'ın kullanımı ve oluşturulmasıyla birlikte, glikoz fruktoza dönüştürülmüş olmaktadır (Petrash 2012). Polioliol yolunun ilk enzimi olan AR, aldo şekerlerin ve diğer doymuş ve doymamış aldehyitlerin azalmasını katalize etmektedir (Demir *et al.* 2019; Sever *et al.*, 2020). Sorbitol Dehdirogenaz (SDH), PP'nin ikinci enzimidir, koenzim olarak NAD⁺ kullanır ve oksidoredüktaz enzim ailesinin bir üyesidir. Polioliol yolunun genel ürünleri sorbitol, fruktoz ve NADH'dir. NADH üretimi ise NADPH tüketiminden kaynaklanmaktadır. PP'de sorbitolün fruktoza dönüşümünde hayati bir rol oynayan homotetramerik bir enzimdir. Bu metabolik yol, sperm hücreleri, plasenta, böbrek, retina, lens ve karaciğer dahil birçok doku için çok önemlidir (Demir *et al.* 2020).

Polioliol yolağının diyabette hem nöral hem de vasküler komplikasyonların gelişiminde önemli bir rol oynadığı öne sürülmüştür (Tang *et al.* 2012; Kaneko and Ramasamy 2004). AR inhibisyonunun diyabetiklerde vasküler ve diğer komplikasyonları tersine çevirdiği gösterilirken, SDH inhibisyonunun Streptozotocin (STZ) ile indüklenen diyabetik sıçan modelinde otonomik nöropatiyi şiddetlendirdiği gösterilmiştir (Verrotti *et al.* 2014; Schmidt *et al.* 2001). Bu ayrıca sorbitolün diyabet otonomik nöropatide sinir hasarına aracılık etmede önemli bir rol oynayabileceği gerçeğini desteklemektedir (Yagihashi *et al.* 2011). Olması gereken optimum koşullar altında total glukoz tüketiminin az bir kısmı polioliol yolağı aracılığıyla metabolize edilmektedir. Hiperglisemik şartlar olunca hücre içi glukoz konsantrasyonu artmakta ve bunun neticesinde polialkollerin sorbitole dönüşümü artmaktadır. Böylece,

NADPH miktarı azalmaktadır. Sorbitolun fruktoza indirgenmesi, ortamda bulunan NAD^+ kofaktörü ile, SDH tarafından meydana getirilmektedir. Hiperglisemi meydana gelmesi durumunda glukozun poliol yolağı ile kullanılması ortalama %11-%33 oranları arasında değişim göstermektedir. Bu nedenle, poliol yolağının diyabetik komplikasyonların oluşumundaki rolü oldukça fazladır (Brownlee 2001).

Patolojik kardiyak hipertrofi gelişiminde poliol yolağının rolünü incelemek için sınırlı çalışmalar yapılmıştır (Baba *et al.* 2018).

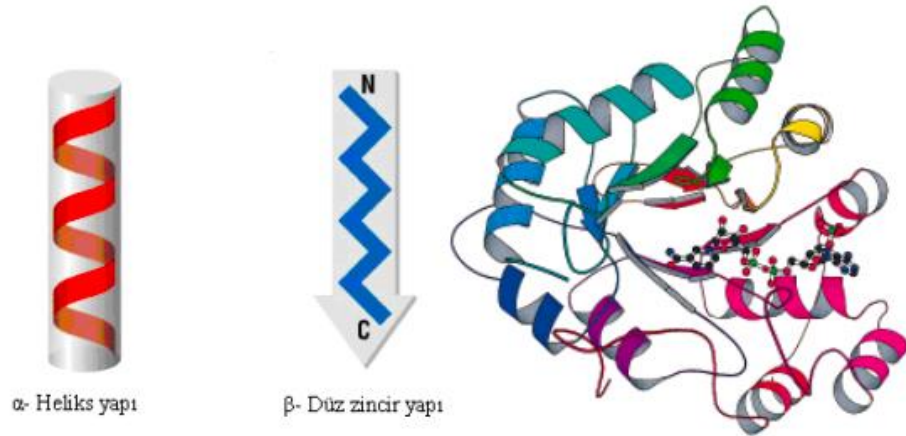


Şekil 9. Poliöl (sorbitol) yolu (Alım and Beydemir 2012).

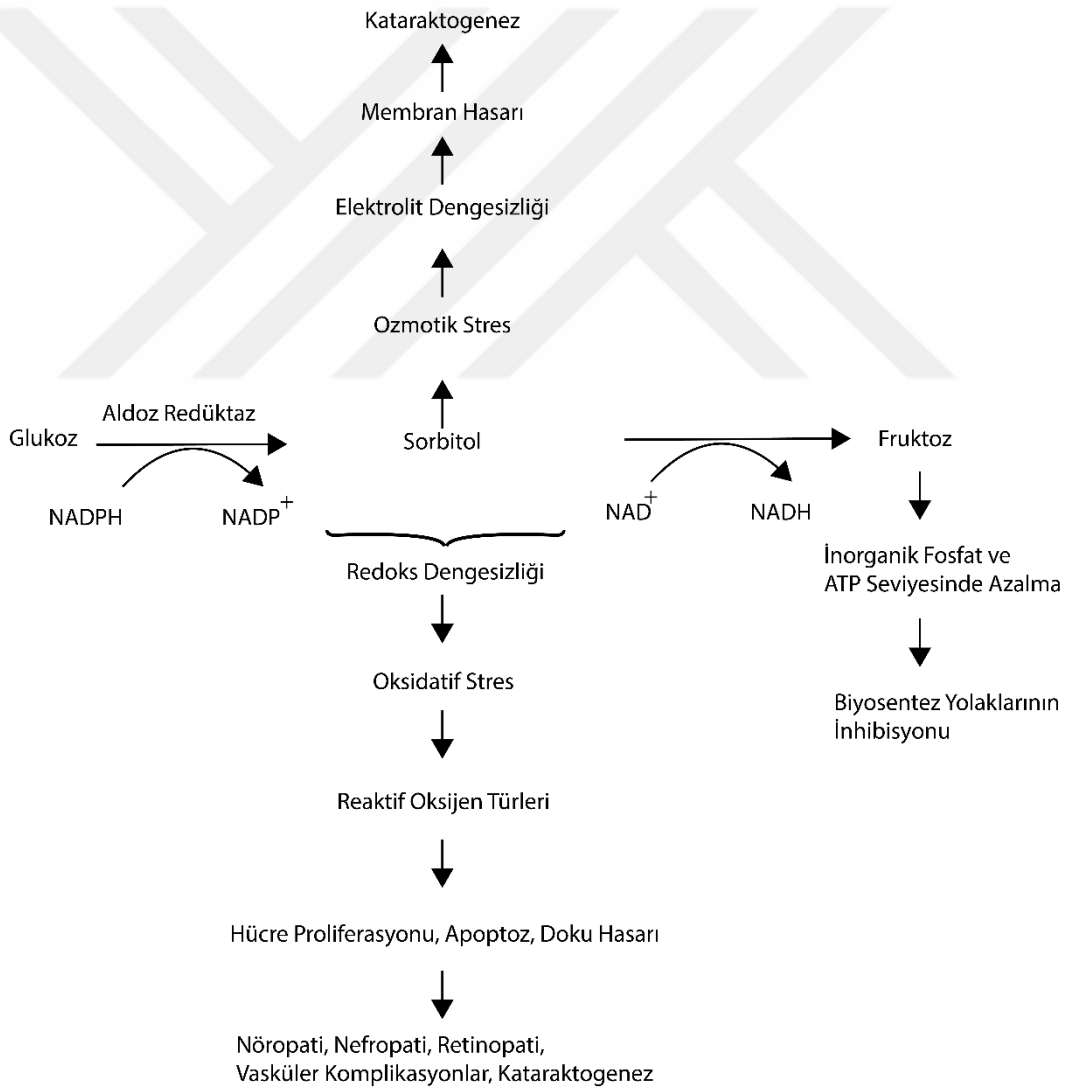
AR enzimi

Aldo-keto redüktaz süper aile üyeleri monomerik yapıda olan genellikle 315- 330 amino asitten meydana gelen proteinlerdir (Hara *et al.* 1983). Bu protein ailesi ara metabolizma, detoksifikasyon ve biyosentez gibi pek çok fonksiyondan yükümlü holoenzimleri içermektedir. Yine bu aileye mensup olan AR enzimi (Alditol: NADP⁺ 1- oksidoredüktaz, E.C. 1.1.1.21), indirgenmiş formdaki NADPH' ı kofaktör görevinde kullanan, glukoz indirgeyerek glukozun sorbitole dönüşümünü NADPH'a bağımlı olarak katalizleyen önemli bir enzimdir. AR enzimi toksik aldehytleri inaktif alkollere dönüştürmektedir. Bu dönüşüm diyabetik komplikasyonlar için anahtar rol oynayarak ve diyabet hastalarında gelişen hiperglisemi, oksidatif stres ve hücre fonksiyonunun bozukluğuyla ilişkilendirilmektedir (Askwith *et al.* 2009) Hücrenin sitozolünde bulunan AR, ortalama 36 kDa olup, aminoasit sayısı 325'dir. (Türkeş *et al.* 2019; Kumar and Reddy 2007). AR enzimi, aminoasitlerin α/β (8 α ve 8 β bulunmaktadır) katlanmasıyla meydana gelen fiçı yapısındadır ve substrat bağlanma bölgesi β kıvrımlarının son kısmında bulunan karboksi terminal ucunda bulunmaktadır (Bohren *et al.* 2005; Wilson *et al.* 1992). AR, geniş bir substrat spesifikliği sergilemekte ve metabolik hastalıklarla ilişkili endojen substratlar arasında, sorbitol, galaktitole dönüştürülen glukoz ve galaktoz bulunmaktadır. Ayrıca AR için mükemmel substratlar aldoheksozlardan türetilen reaktif şekerler ve triozlardır (Vander *et al.* 1995). Normal şartlar altında yüksek orandaki kısmi hekzokinaz enzimi aracılığıyla fosforile edilmekte ya da pentoz fosfor için substrat olarak kullanıldığından glikozun az bir bölümü

poliol yoluyla metabolize edilmektedir. Hiperglisemi ile poliol yolağından geçen glukoz akışı oldukça artmaktadır (Cheng *et al.* 1986).



Şekil 10. Aldoz redüktaz enziminin temel yapısı (Costantino *et al.* 1999).



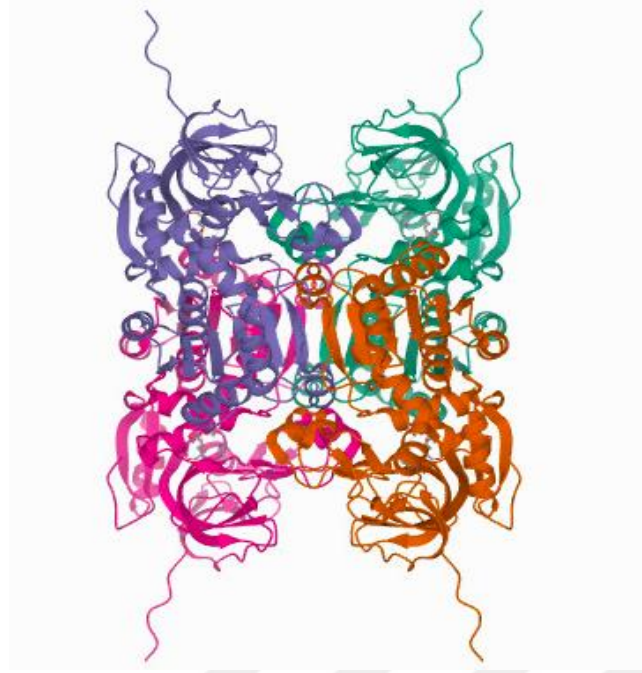
Şekil 11. AR ve SDH enzimlerinin diyabetik komplikasyonlarla ilişkisine genel bakış (Srivastava *et al.* 2005).

AR, kataraktogenez, nefropati, retinopati ve nöropati gibi diyabetik komplikasyonlarda anahtar rol oynayan poliol yolunun ilk ve hız kısıtlayıcı enzimidir (Kato *et al.* 2009). AR enziminin inhibitörleri, poliol sentezindeki ilk basamağın katalizörü olmasından kaynaklı oluşan bu komplikasyonların önlenmesi için mühim bir terapötik ajan potansiyeli olarak düşünülmektedir. Diyabet hastalarının yaşam kalitelerini arttırabilmek için yeni inhibitör araştırmalarının yapılması kaçınılmazdır (Ziegler 2004). Bu sebeple, AR katalizörünü daha iyi anlamak ve diyabet ilişkili dokularda sorbitolün sentezini engelleyebilmek için terapötik stratejiler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Enzim seviyesinin, diyabetik komplikasyonların hedef dokularında daha yüksek miktarda olması, bu durumların oluşumundan AR'nin sorumlu olduğunu işaret etmektedir (Tanimoto *et al.* 1998). AR enziminin aktif kısmı, α , β katlanması ile meydana gelen fiçi yapının karboksil terminalinde bulunmaktadır.

Genellikle inhibitörler, piridin halkasına yakın olan polar baş kısma bağlanmaktadır ve muhtemel aromatik ve apolar kalıntılar oluşturmaktadır (Petrash, 2004).

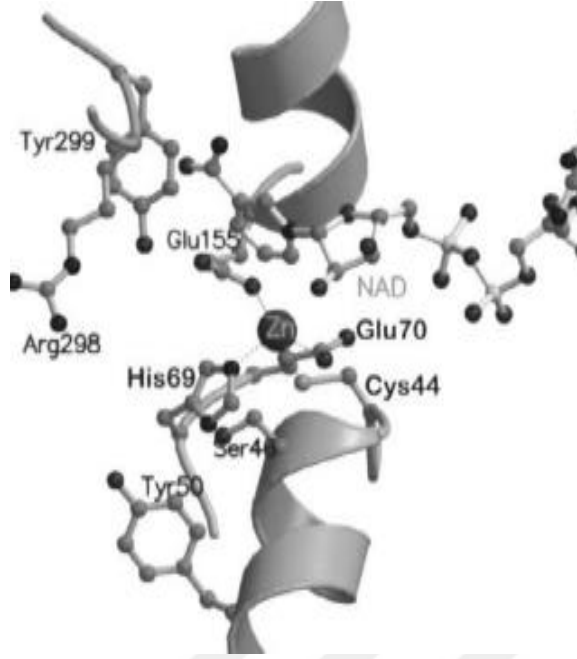
SDH enzimi

SDH, dehidrogenaz/redüktaz protein ailesine mensup bir oksidoredüktazdır. SDH enzimi hiperglisemi geliştiğinde aktifleşen mikrovasküler ve makrovasküler gibi diyabetik komplikasyonların oluşumunda önemli olan bir enzimidir (Obrosova *et al.* 1999; Nishikawa *et al.* 2000; Chu-Moyer *et al.* 2002; Amano *et al.* 2003). Bu bağlamda diyabetin çeşitli komplikasyonlarının azaltılması ve tedavi için kullanılabilecek ilaçların geliştirilmesi amacıyla önem taşımaktadır. Karbonhidratların poliollere indirgenmesi ve karşılık gelen ters reaksiyonlar, çok farklı kaynaklardan gelen bir takım enzim tarafından katalize edilmektedir. SDH (L-İditol: NAD⁺ oksidoredüktaz, EC 1.1.1.14) 'ın sistematik ismi L-İditol'dür. (Lindstad *et al.* 1994). SDH, çeşitli dokularda gösterilmiş ve tetramer olmak üzere alt birimi başına bir çinko iyonu içermektedir ve insan SDH enziminin tüm alt birimleri katalitik aktiveye sahiptir (Eklund *et al.* 1985). Her biri 356 kalıntı ve tek çinko (Zn) atomundan oluşan yaklaşık 37 kDa alt birimi ile 155 kDa'lık bir tetramerik moleküldür (Jeffery *et al.* 1984; Jeffery *et al.* 1981).



Şekil 12. İnsan SDH enzimin yapısı (Pauly *et al.* 2004).

Çeşitli dokulardaki sorbitol birikimi diyabet ilişkili oluşan komplikasyonlar ile ilişkilendirilmektedir. SDH aktivitesinin yükselmesi ile meydana gelen NADH, NADH-oksidadaz (Nox) enziminin katalizlediği reaksiyonla serbest oksijen radikalleri (ROS) oluşmasına sebep olmaktadır (Tsfamariam 1994; Morre *et al.* 2000). ROS'lar gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz enziminin inhibe olmasına, AR enzim aktivitesi artışına ve poliol yoluna daha çok glukozun girişine neden olmaktadır (Stevens *et al.* 2000). SDH enziminin aktivasyonu, dokular üzerinde zararlı bir etkiye sahip olan artan sorbitolün uzaklaştırılmasını sağlamaktadır (Cameron *et al.* 1997; Kador *et al.* 1998). AR inhibitörü ve SDH aktivatörünün eşzamanlı kullanımı, sorbitol birikimine daha etkili bir çözüm sağlayabilmekte, böylece diyabetik komplikasyonlar için etkili bir tedavi olasılığını arttırabilmektedir. SDH, koenzim olarak NAD^{+} ı kullanarak bir alkol oluşumu olan ve hidrofilik özellik gösteren sorbitolün fruktoza oksidasyonunu katalizlemektedir. (Jeffery *et al.* 1984; Jörnvall *et al.* 1984). SDH'nın katalitik kısmında bir H_2O ve His69, Glu70, Cys44 ile ilişkili olan çinko atomu mevcuttur (Pauly *et al.* 2003).



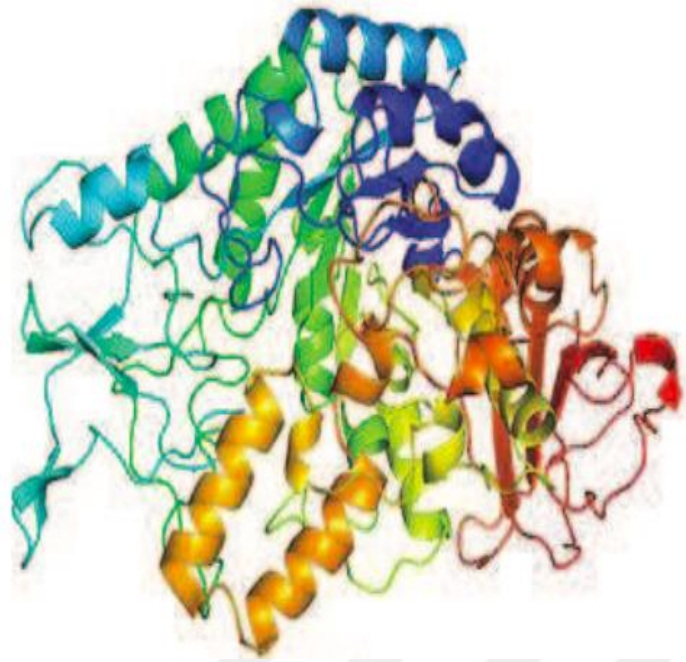
Şekil 13. SDH enziminin aktif bölgesindeki çinko iyonunun koordinasyonu (Johansson *et al.* 2001).

SDH, karaciğer, beyin, göz lensleri ve eritrositler dahil olmak üzere bütün memeli dokularda neredeyse her yerde eksprese edilmektedir. Diyabetik komplikasyonların ortaya çıkmasındaki rolünden dolayı büyük ilgi görmektedir (El-Kabbani *et al.* 2004). Hiperglisemiden kaynaklanan komplikasyonlar arasında nöropati, retinopati ve nefropati ile kalp hastalığı ve inme gibi kardiyovasküler problemler yer almaktadır (Jedziniak *et al.* 1981; Costantino *et al.* 1999). Sorbitolün SDH yoluyla fruktoza oksidasyonu, sitozolik NAD^+/NADH oranında bir azalmaya sebep olmaktadır. Normal koşullarda, bu redoks dengesi, piruvatın laktata indirgenmesiyle korunmaktadır. Bununla birlikte, hiperglisemik koşullarda, NADH seviyelerindeki büyük artış, gliseraldehit-3-fosfattan 1,3-bifosfogliserat üretimini inhibe ederek (Ross *et al.* 1966) NAD^+ rejenerasyonunu yavaşlatmakta ve glikoliz yolunu etkileyebilmektedir. Nihayetinde glikozun poliöl yoluna daha fazla kanalize edilmesi, sitozolik NAD^+/NADH oranını azaltmaktadır, bu da vücutta pentoz fosfat döngüsü ve trikarboksilik asit (TCA) döngüsü gibi çeşitli süreçleri etkileyen bir olaylar zincirini başlatmaktadır. NAD^+ düzeylerindeki azalma, damar geçirgenliğinde ve ayrıca glukoz ve lipid metabolizmasında değişikliklere yol açabilmektedir (Jeffery *et al.* 1983).

α - Glukozidaz

α -Glukozidaz enzimi karbonhidrat metabolizması için oldukça önemlidir (Taslimi *et al.* 2017). Mikroorganizmalar tarafından nişastanın parçalanması α -glukozidaz ile gerçekleştirilmektedir. α -glukozidazlar genelde transglukozilasyon aktivitesine sahip ve geri dönüşümlü olarak bilinmektedirler α -Gukozidik bağların hidrolizini katalize etmektedirler

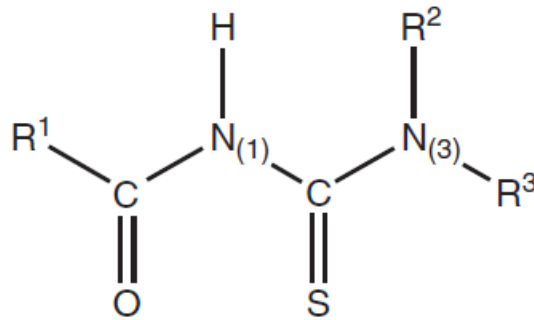
(Truscheit *et al.* 1981) ve nişasta parçalanmasının son basamağını katalizlemektedirler. α -glukozidaz enzimleri lokal olarak ince bağırsağın fırçamsı yüzey tabakasında bulunmaktadır. α -glukozidazlar oligo ve disakkaridleri monosakkaridlere parçalamaktadırlar. Monosakkaridlerde bağırsak duvarından emilip kana geçmektedirler. α -glukozidaz enzim inhibitörleri bu enzimleri yarışmalı olarak inhibe etmektedirler. Bilinen mühim α -glukozidaz enzimleri glukoamilaz, sukraz, maltaz, izomaltaz, laktazdır (Tatar 2007). Ortalama %10 ila %30 değerinde amiloz ve %70 ile %90 değerinde amilopektin polimerlerinde oluşmaktadırlar. Amiloz 6000 D- glukoz molekülünün α -1,4 glukozidik bağ aracılığıyla bağlanması sonucu meydana gelen düz zincirler bulunduran bir polimerdir ve amilopektin polimeri ise α -1,4 glukozidik bağ vasıtasıyla bağlı olan 10- 60 kadar glukoz molekülünün buluşmasıyla oluşturduğu kısa düz zincirler ve yine bu zincirlere α -- 1,6 glukozidik bağ ile bağlanmış 15-45 kadar glukoz molekülünden meydana gelmektedir. Enzimin molekül ağırlığı 30 ile 102 kDa arasında değişmektedir (Çöleri 2007; Maarel *et al.* 2002). α - Glukozidazlar (E.C.3.2.1.20, α -D-glukozid glukohidrolaz, ekzo- α -1,4- glukozidaz) nişasta yapısı D-glukoz monomerlerinden meydana gelen bir polisakkarit olup, amiloz ve amilopektinin parçalanma ürünleri olan kısa zincirli oligosakkaridlerdeki α -1,4 glukozidik bağlarını hidroliz ederek parçalayan serbest glukoz birimleri meydana getiren enzimlerdir ve primer yapılarındaki farklılar nedeniyle birbirinden ayrılan 13. ve 31. α - Glukozidaz olmak üzere iki familyaya ayrılmaktadırlar (Piller *et al.* 1996; Henrissat *et al.* 1995; Henrissat *et al.* 1993). Substratları, özgünlüklerine bağlı olarak -oligo- ve polisakkaritlerdir. α -Glukozidazlar bakteri, mantar, bitki ve hayvanlarda her yerde bulunan hidrolazlardır. α -glukozidazlar özellikle ekzo tipi hidroliz reaksiyonu ile substratın redükleyici olmayan terminal ucundan her seferinde bir D-glukoz molekülünü serbest bırakmaktadırlar (Taslimi *et al.* 2017). Bu bağlamda diyabet hastalarının tedavisi için polisakkarit molekülleri hidrolize eden ve bunları monosakkarite dönüştürebilen enzimlerin inhibisyonu çalışmaları dikkat çekmektedir. Güncel olarak birçok sektörde kullanıldığı üzere özellikle sağlık sektörü, temel enzimolojik çalışmalar, nişastanın işlenmesi ve oligosakkaritlerin sentezi gibi önemli endüstriyel protokollerde termostabil α -glukozidazlar ile oldukça fazla ilgilenilmektedir (Çöleri 2007). (Truscheit *et al.* 1981).



Şekil 14. α -Glukozidaz enziminin üç boyutlu yapısı (Lin *et al.* 2019).

Açıl Tiyoüre bileşikleri

Genel olarak $R_1R_2N-C(S)-NR_1R_4$ molekül formülü ile gösterilebilen tiyoüre türevi bileşikleri, azot atomları üzerindeki ikame derecesine bağlı olarak mono-, di-, tri- veya tetra-sübstitüentli tiyoüre türevleri olabilmektedir. 1-(açıl/aroil) sübstitüe tiyoüre türevi bileşikler ise üre çekirdeğine bağlı bir karbonil grubunun varlığına işaret etmektedir. Bu molekül sınıfının ilk örneği olan $CH_3C(O)NHC(S)NH_2$ bileşiği yaklaşık bir asırdan beri bilinmektedir. Sübstitüsyon genellikle 1-(açıl/aroil)-3-(monosübstitüe) ve 1-(açıl/aroil)-3,3(disübstitüe)tiyoüre türevlerini veren ikinci azot atomunda olmaktadır. Açıl/aroil tiyoüre türevi bileşiklerin genel olarak molekül formülü $R_1C(O)NHC(S)NR_2R_3$ şeklindedir.



Şekil 15. Açıl Tiyoüre molekül yapısı

Son yirmi yılda 1,3-disübstitüe tiyoürelerin sentezi ve bu bileşiklerin ilaç kimyası, koordinasyon kimyası, analitik kimya, malzeme kimyası gibi pek çok disiplinde uygulamaları ile ilgili çalışmalar çok yoğun bir şekilde gerçekleşmiştir. 1-(Açıl/aroil)-3-sübstitüe tiyoüreler, her azot atomunda bir tane olmak üzere iki serbest hidrojen atomunun bulunması nedeniyle çok

çeşitli heterosiklik bileşiklerin sentezi için ara ürün olarak kullanılarak tiyazol, tiyohidantoin vb. gibi çok önemli farmakofor grupların sentezinde kullanılmaları, bu tür bileşiklerin ilaç kimyasında önemli bir yere gelmesine de katkı sağlamıştır (Nural *et al.* 2018; Erşen *et al.* 2017).

Ayrıca, açıl/aroil tiyoürelerin moleküler yapılarında bulunan karbonil ve tiyokarbonil grupları bu bileşiklerin çok çeşitli metal iyonları ile koordinasyon bileşikleri oluşturmalarına katkı sağlamaktadır. Koch 2001 yılında 1-(açıl/aroil)-3-(alkil)- ve 1-(açıl/aroil)-3,3-(dialkil)-tiyoürelerin, özellikle platin grubu metallerle yaptıkları koordinasyon bileşikleri üzerinde yoğun çalışmalar yapmıştır. Son yıllarda, tiyoüre ligandlarına sahip çeşitli metal kompleksleri çevresel kontrolde kullanılan faydalı ara maddeler olarak ve iyon seçici elektrotlarda (ISE'ler) iyonoforlar olarak, (Otazo-Sanchez *et al.* 2001 ve Wilson *et al.* 2001) kullanımlarına ek olarak açıl tiyoüre ligandlarının da hem sağlık hem de çevre için önemli anyonlar olarak kabul edilen florür ve siyanür gibi pek çok anyonun tayinlerinde kemosensör olarak kullanımları da (Gemili *et al.* 2018) yoğun bir şekilde çalışılmıştır. Açıl/aroil tiyoüre türevi bazı metal komplekslerin floresans özellik gösterdiği ve metal sülfid nanopartiküller için prekursor olarak fonksiyon gösterdikleri de literatürde yer almaktadır (Semeniuc *et al.* 2010; Afzaal *et al.* 2010, Bruce *et al.* 2007). Bu tür bileşiklerde çok fazla sayıda X-ışını kristal yapılarının mevcudiyeti son yıllarda ilaç kimyasında ki önemini artırmıştır (Saeed *et al.* 2014). Bu nedenle, yüksek verimli ilaç benzer özellikleri optimize etmek için yapı-aktivite ilişkisi analizleri yapılabilir. Bir dizi salisilik asit-tiyoüre türevi bileşiğin, florür iyonu gibi biyolojik olarak önemli anyonlar için seçici ve hassas bir şekilde tayinlerine imkân veren kemosensörlerin geliştirildiği de literatürde rapor edilmiştir (Li *et al.* 2012). Bununla birlikte, açıl/aroil tiyoüre türevi bileşiklerin antikanser (Koca *et al.* 2016; Koca *et al.* 2013) antibakteriyel, antifungal (Erşen *et al.* 2017; Gemili *et al.* 2017) ve analjezik (Shoaib *et al.* 2014) gibi geniş spektrum farmakolojik aktiviteler gösterdikleri literatürde mevcuttur. Bununla birlikte, bazı polisüstitüe açıl tiyoüre türevlerinin güçlü influenza virüsü inhibitör özelliği gösterdiği bilinmektedir. Bir grup (Anchoori *et al.* 2008), üre ve tiyoüre bileşiklerinin kanser hücrelerinin tedavisi için ajanlar olarak kullanımını kapsamlı bir şekilde çalışmış ve bu bileşiklerin mitotik durmaya ve nihayetinde hücre ölümüne neden olan mikrotübül düzeneğine müdahale etme yeteneklerinin olduğu bildirmiştir.

Deneyisel çalışmamızda kullandığımız önceden sentezlenmiş Açıl tiyoüre bileşikleri potansiyel olarak nanoteknolojik çalışmalar, ilaç geliştirme çalışmaları, ilaç hammaddesi olarak kullanım ve biyolojik çalışmalara kadar yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Ayrıca, son yıllarda 1,3-di- substitide edilmiş tiyoürelerin uygulamalarının sentezinde eşi görülmemiş bir artış görülmektedir. Bu bakımdan sentezlenmiş bu bileşiklerin diyabet ile poliol yolu ilişkisinden ötürü diyabetik çalışmalarda oldukça fazla kullanılan AR, SDH, ve karbonhidrat

parçalanmasında oldukça önemli bir rol oynayan α -glukozidaz enzimleri üzerine inhibisyon çalışılmamış olması ve bu bileşiklerin diyabette yer alan enzimler üzerine inhibisyon etkilerinin ön deneme çalışmaları sayesinde tespit edilmesiyle, bu türevlerin potansiyel bir diyabet önleyici ajan ve ilaç geliştirmede belirli bir potansiyele sahip olabilecekleri düşüncesi ile böyle bir çalışma yapılmıştır.



KURAMSAL TEMELLER

Teze Genel Bakış

DM, doğrudan insülin direncinden, yetersiz insülin sekresyonundan veya aşırı glukojen sekresyonundan temel alan hiperglisemi ile karakterize edilen bir grup fizyolojik fonksiyon bozukluğu olarak tanımlanmaktadır. Diyabet iki sınıfa ayrılmaktadır. Tip 1 Diyabet (T1D), pankreas beta hücrelerinin harabiyeti sonucu meydana gelen otoimmün bir hastalıktır. Prevalansı daha yüksek olan Tip 2 Diyabet (T2D), işlevsiz pankreas beta hücresi ile insülin direncinin birleşimi sonucu artan bozulmuş glukoz regülasyonu sonucu meydana gelmektedir (Lewis *et al.* 2014; Ignatavicius and Workman, 2016). Diyabet komplikasyonlar iki kategoriye ayrılmaktadır (WHO 2013). Mikrovasküler komplikasyonlar küçük kan damarlarının hasar görmesinden kaynaklanmaktadır. Mikrovasküler komplikasyonlar ise böbrek hasarına (nefropati) sebep olarak böbrek yetmezliğine yol açmaktadır; körlüğe yol açan retinopati ve enfeksiyonlara ve amputasyonlara neden olabilen iktidarsızlığa ve diyabetik ayak rahatsızlıklarına, nöropatiye neden olmaktadır. Makrovasküler komplikasyonlar, daha büyük kan damarlarına verilen hasardan kaynaklanmaktadır. Makrovasküler komplikasyonlar inme, kalp krizi ve bacaklara kan akışı yetersizliği gibi kardiyovasküler hastalıkları içermektedir (Lewis *et al.* 2014; Ignatavicius and Workman, 2016).

Poliol yolu bazı diyabetik komplikasyonlarda önemli role sahip olan ve hücrel toksisiteyi açıklayan en önemli mekanizmadır. Kan glukoz seviyesinin yükselmesiyle polioli yolu aktifleşmekte ve hücrede birtakım birikimler meydana gelmektedir (De la Fuente *et al.* 2003). Polioli yolunun ilk enzimi olan AR diyabetik komplikasyonların patofizyolojisinde rol oynamakta ve polioli yolunun hız belirleyici enzimidir. AR enzimi bu sebeple diyabetik komplikasyonları engelleyebilmek ve tedavi edebilmek amacı ile önemli bir terapötik ajan potansiyeli taşımaktadır (Lucia *et al.* 2021). SDH enzimi ise polioli yolunun ikinci enzimi olup koenzim olarak NAD^{+} 'i kullanan ve sorbitol ile fruktoz arasındaki dönüşümlü oksidasyon-redüksiyon reaksiyonunu katalizleyen bir metalo enzimdir (Linstand *et al.* 1994). SDH enzimi de diyabet ilişkili komplikasyonların oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır. α -Glukozidazlar diyabet hastalarının tedavisi ve önlenmesi için polisakarideomolekülleri hidrolize eden ve bunları monosakkarite dönüştürebilen enzimlerin inhibisyon çalışmaları dikkat çekmektedir (Taslimi *et al.* 2017).

Açıl tiyoüre türevleri, günümüzde giderek önemli hale gelmektedir. Türevlerin bazıları mantar öldürücü, antiviral, antimikrobiyal (Saeed *et al.* 2009) parazit öldürücü (Müller *et al.* 2009), antitümöral (Faidallah *et al.* 2012), haşere öldürücü (Wang *et al.* 2005; Duan *et al.* 2010) ajan olarak kullanılmaktadır. Bazıları ise HIV inhibisyon aktivitesi göstermektedir (You *et al.* 2011).

Literatür Özeti

AR, glikozu poliolsal yolda sorbitole dönüştürür. Diyabetik komplikasyonları önlemek için önemli bir enzimdir. Demir ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, bromofenol türevlerinin AR, α -glukozidaz ve α -amilaz enzimleri üzerindeki inhibitör etkilerini incelemişlerdir. Bromofenol serilerinde, bileşik 1f'nin, $\pm 0,01 \mu\text{M}$ K_i değeri ile AR'ye karşı maksimum inhibisyon etkisi gösterirken, bileşik 1d'nin, $1,13 \pm 0,99 \mu\text{M}$ K_i değeri ile AR'ye karşı en düşük inhibisyon etkisini gösterdiğini bulmuşlardır. Ek olarak, enzim olarak domuz pankreasından elde edilen α -amilaz ve *Saccharomyces cerevisiae*'den elde edilen α -glukozidaz enzimi kullanmışlardır. Bu çalışmada, tüm bileşikler α -glukozidaz enziminin inhibisyonu için test edilmiş ve bu bileşiklerin α -glukozidaza karşı $43,62 \pm 5,28$ ila $144,37 \pm 16,37$ nM aralığında K_i değerleri ile etkili inhibisyon profilleri gösterdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca bu bileşikler, $9,63$ - $91,47$ nM aralığında IC_{50} değerleri ile etkili bir inhibisyon profili belirleyen α -amilaz enzimine karşı test edilmiştir. Bu bileşiklerin, antidiyabetik ajanlar olarak AR, α -glukozidaz ve α -amilaz enzimlerinin seçici inhibitörleri olabileceği belirtilmiştir (Demir *et al.* 2018).

Çağlayan ve arkadaşları, sıçanlarda sodyum arsenit kaynaklı farklı organ toksisitesi üzerine hesperidin'in antidiyabetik ve antikolinergik potansiyeller olarak metabolik enzimler üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. α -Gly, bütirilkolin esteraz (BChE), asetilkolin esteraz (AChE) sıçanların beyin, kalp, karaciğer, testis ve böbrek dokularındaki enzim aktiviteleri kontrole kıyasla HSP, SA, SA+HSP-100 ve SA+HSP-200 verilen sıçanların testis, karaciğer ve kalp dokularında CA aktiviteleri önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir ($p < 0,05$). Karaciğer dokusunda tüm gruplarda verilen AChE ve BChE enzim aktiviteleri önemli ölçüde azaldığı ortaya konmuştur. Tüm dokularda, tüm gruplarda verilen α -Gly aktivitesi azaldığı belirtilmiştir. Mevcut çalışmada, AR enzim aktivitesi, standart ile karşılaştırıldığında tüm grupların testis, beyin ve kalp dokularında önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir ($p < 0,05$). Sıçanların HSP gruplarının böbrek ve karaciğer dokularında PON1 enzim aktivitesinin kontrole göre anlamlı olarak arttığı ve SA gruplarının azaldığı tespit edilmiştir (Çağlayan *et al.* 2019).

Türkeş ve arkadaşları AR inhibisyonunun diyabetik komplikasyonların önüne geçebilmek amacı ile yaptıkları çalışmada, AR enzimi koyun böbreğinden basit yöntemlerle saflaştırmış ve bazı kalsiyum kanal blokerleri ile enzim arasındaki etkileşimleri belirlemiştir. Kalsiyum kanalı blokerlerinin (sinnarizin, nilvadipine, amlodipin besilat, nifedipin, isradipin, ve nitrendipin), AR enzimi üzerine IC_{50} değeri 5,87-8,77 μM aralığında; K_i değerleri $2,07 \pm 0,72$ – $5,62 \pm 1,53$ μM aralığında bulunmuştur. Kalsiyum kanal blokerleri farklı inhibisyon mekanizmaları göstermiştir. İsradipin ve nitrendipin dışındaki tüm çalışılan bileşiklerin yarışmalı inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir. Bu ilaçlar arasında, sinnarizin en güçlü AR inhibitörü olduğu (K_i : $2,07 \pm 0,72$ μM) ve diyabetik komplikasyonların tedavisinde ve/veya önlenmesinde faydalı olabileceği gösterilmiştir (Türkeş *et al.* 2019).

Demir ve arkadaşları AR'nin basit kromatografik yöntemlerini kullanarak koyun karaciğerinden saflaştırılması ve Pirazolil-tiyazollerin ((3a R ,4 S ,7 R ,7a S)-2-(4-{1-[4-(4-bromofenil)tiazol-2-il]-5-(aril) inhibitör etkileri -4,5-dihidro-1 H -pirazol-3-il}fenil)-3a,4,7,7a-tetrahidro- 1H -4,7-metanoizoindol-1,3(2H)-dion türevleri; (3a -i) AR ve α -glukosidaz enzimleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Tüm bileşiklerin, AR ve α -glukosidaza karşı iyi bir inhibitör etkisi gösterdiği ve bu bileşikler arasından, bileşik 3d'nin, AR enzimine karşı en iyi inhibisyon profili ortaya koyduğu tespit edilmiştir. (K_i : $7,09 \pm 0,19$ μM) 3e'nin, düşük inhibisyon etkisi gösterdiği tespit edilmiştir (K_i : $21,89 \pm 1,87$ μM). Ayrıca, bütün bileşiklerin α -glukosidaza karşıda etkili inhibisyon profili gösterdikleri ve K_i değerlerinin $0,43 \pm 0,06$ - $2,30 \pm 0,48$ μM aralığında olduğu belirlenmiştir. Son olarak çalışmada, bileşiklerin AR ve α -glukosidaza karşı bağlanma afinitelerini tahmin etmek için moleküler modelleme yaklaşımları uygulanmıştır ve moleküllerin ADME analizleri yapılmıştır (Demir *et al.* 2020).

Aslan, AR ve SDH enzimlerini koyun karaciğerinden saflaştırmıştır. AR enzimi; homojenat hazırlanması, DE-52 Selüloz iyon değişim, amonyum sülfat çöktürmesi, Sephadex G-100 jel filtrasyon ve 2',5'-ADP Sepharose 4B afinite kromatografisi yöntemleri kullanılarak %2,11 verimle ortalama 161,9 kat saflaştırmıştır. SDH enzimi ise; koyun karaciğerinden homojenat hazırlanması, DE-52 Selüloz iyon değişim, amonyum sülfat çöktürmesi, CM-Selüloz C-52 iyon değişim ve Sephadex G-100 jel filtrasyon kromatografisi yöntemleri vasıtasıyla %0,53 verimle ortalama 9,07 kat saflaştırmıştır. Enzim saflık kontrolü ve alt birimlerin molekül kütlelerini belirtmek amacıyla SDS-PAGE yapmış ve AR 38,82 kDa ve SDH 37,74 kDa olarak tespit etmiştir. Enzimlerin K_M ve V_{max} değerlerini hesaplayarak yine bu enzimler üzerine bazı fenolik asitlerin etkileri saptamıştır. Linewear-Burk grafikleri ve K_i sabitleri ve inhibisyon tiplerini belirlemiştir. Çalışılan bileşikler içerisinde kafeik asit

bileşiğinin K_i ; 0,002 değeri ile kuvvetli bir AR inhibitörü olduğu elagik asitin K_i ; 0,045 değeri ile güçlü bir SDH inhibitörü olduğu sonucuna ulaşmıştır (Aslan 2015).

Prostat kanseri kemoterapiye dirençli olduğundan Aldo-keto redüktaz 1C'nin (AKR1C) ekspresyonu, çeşitli kanserlerde ilaç direnci ve hastalık ilerlemesi ile ilişkilendirilmiştir. Huang ve arkadaşları, prostat kanserinde AKR1C ekspresyonu ile hastalık progresyonu arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmada. 1996'dan 2005'e kadar prostat kanseri olan Çin kökenli 86 hastadan; Amerika kökenli 31 hastadan örnek toplamışlardır. İmmünohistokimyasal yöntemler ile, dokulardaki AKR1C2'nin ekspresyonu değerlendirmişler. AKR1C2'nin aşırı ekspresyonunun, prostat kanserinde hastalığın ilerlemesi ile ilişkili olduğunu; 86 Çinlinin 77'sinde (%89,5) ve 31 Amerikan örneğinin 28'inde (%90,3) aşırı eksprese edildiğini ve AKR1C2'nin aşırı ekspresyonunun, prostat kanserinde hastalığın ilerlemesi ile ilişkili bulunduğunu bildirilmiştir (Huang *et al.* 2010).

Santos ve arkadaşları, α -glukozidaz inhibitörleri olarak ksantonların, etki mekanizmalarının, deneysel prosedürlerinin ve yapı-aktivite ilişkilerinin çalışıldığı literatürün kapsamlı bir incelemesi olan bu çalışmada 280'den fazla doğal ve sentetik türevi kapsayan ksantonun analoglarını kullanmışlardır. Bu çalışma diyabet için ana terapötik hedeflerden biri olan α -glukozidaz enzimine karşı potansiyel inhibitör etkisi araştırılmıştır. Çalışmada analiz edilen yapılar ve bunların engelleyici profilleri arasındaki korelasyona derin bir anlayış sağlamak için bir dizi QSAR modeli uygulanmış ve tartışılmıştır. Çalışmanın sonucunda, ksantonlar α -glukozidaz inhibitörleri olarak ayrıcalıklı bir motife sahip heterosiklik bileşiklerin bir sınıfı olduğu ve yeni geliştirilmiş anti-diyabetik ajanların arayışında gelecekteki araştırmalar için özel ilgiyi hak ettiği bildirilmiştir (Santos *et al.* 2018).

Bir dizi aminoresorsinol bileşiklerinin türevleri ile ilgili yapılan başka bir çalışmada, sıçan bağırsak α -glukozidaz inhibisyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda 2-aminoresorsinol güçlü bir α -glukosidaz inhibitör etkisi olduğu bildirilmiştir (Gao and Kawabata 2008).

Literatürde tiyoüre bileşiklerinin özellikleri hakkında çeşitli çalışmalarda mevcuttur. Örneğin, yapılan bir çalışmada yeni 5,5-difenilpirolidin N- aroiltiyoüre türevlerinin ve işlevselleştirilmiş bir heksahidro-1 H- pirol[1,2- c] imidazolün sentezi ve antimikrobakteriyal aktivitesi çalışılmış ve bu çalışmada, beş yeni 5,5-difenilpirolidinden benzer şekilde hazırlanmış, N-aroylthiourea türevlerinin stereoselektif yapıları sentezlenmiştir. Cis-heterosiklik tiyoüre türevleri sterokimya, tekli kristal X-ışını kırınım çalışmaları ile karakterize edilmiştir. Bileşiklerin, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* 'a karşı antibakteriyel aktivitesi bildirilmiştir. *Acinetobacter baumannii*

ve *E. Coli* suşlarına karşı 62,5-1000 µg/mL aralığında minimum inhibitör konsantrasyon değerleri tespit edilmiştir. Bileşiklerin antimikobakteriyel aktivitesi *M. tuberculosis* H37Rv suşuna karşı tespit edilmiştir ve tüm bileşikler, 80 µg/mL minimum inhibitör konsantrasyon değeri ile antimikobakteriyel aktivite sergilediği bildirilmiştir (Erşen *et al.* 2017).

Diğer bir çalışmada, yeni 4-metilbenzoil içeren 5,5-difenilpirrolidin N-aroiltioüreler, 2-klorobenzoil, 2,4-diklorobenzoil ve 2-naftoil bileşikler sentezlenlenmiş ve yapısal analizleri ¹H Nükleer Manyetik Rezonans (NMR), ¹³C NMR, Kızılötesi spektroskopi (FT-IR) yöntemi, kütle spektrometrisi (MS) yöntemi ve HRMS teknikleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 5,5-difenilpirrolidin Naroyltiyoüre türevi bileşiklerinin asit ayrışma sabitleri Hyperquad bilgisayar programı kullanılarak belirlenmiştir. Bu bağlamda **3b** ve **3d** bileşikler için iki asit ayrışma sabiti elde edilmiş ve N-H ve enol ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür. N-H, entiol ve enol grupları ile ilgili ve **3c** bileşiği için elde edilen dört asit ayrışma sabiti N-H, enthiol, enol ve karboksil gruplarıyla ilişkili oldukları tespit edilmiştir (Nural 2017).

Antypenko ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada dokuz yeni asil tiyoüre sentezlemişler ve sentezledikleri bileşiklerin saflıklarını LC-MS spektrumları ile doğrulamış ve her yapı element analizi, IR, ¹H ve ¹³C NMR spektrumları ile aydınlatmışlardır. Antifungal potansiyellerinin bir *in vitro* taramasını yaparak, üç madde (**3**, **5** ve **6**) fitopatojenik öneme sahip 11 mantar ve 3 *Phytophthora* suşuna karşı yüksek aktivite gösterdiği bildirilmiştir. İlaç benzerliği, lipofilisite değerlendirmesi olarak *Salmonella* ters mutajenite testi ile gen toksisitesinin analizi ve sınır moleküler orbitallerinin hesaplamalarını yapmışlardır. Moleküler kenetleme ve yapı-aktivite ilişkisini ortaya koymuşlardır (Antypenko *et al.* 2019).

MATERYAL VE METOD

Materyal

Tez çalışmasında kullanılan enzimlerden, AR ve SDH koyun böbreğinden saflaştırılarak elde edilmiş ve α -glukozidaz ise ticari olarak temin edilmiştir.

Çalışmalarda Kullanılan Cihazlar

Tablo 1. Kullanılan Cihazlar

Buzdolabı	Siemens
Spektrofotometre	Beckman Coulter DU 730
pH metre	Thermo Orion Star A211
Hassas terazi	Denver
Elektroforez tankı	Biorad
Soğutmalı santrifüj	Hermle Z323 K
Peristaltik pompa	Ismatec
Otomatik pipet	Eppendorf
Magnetic karıştırıcı	Ika C- Mag HS7
Çalkalayıcı	Ika
Saf su cihazı	Merck
Güç kaynağı	Bio Rad Power Pac 3000

Önceden sentezlenmiş olan açıl tiyoüre türevi bileşikler

(2a): Dimetil 1-((4-metilbenzoil)karbamotiyol)-5,5-difenilpirolidin-2,4-dikarboksilat (Nural 2017)

(2b): Dimetil 1-((4-tert-butilbenzoil)karbamotiyol)-5,5-difenilpirolidin-2,4-dikarboksilat (Erşen *et al.* 2017)

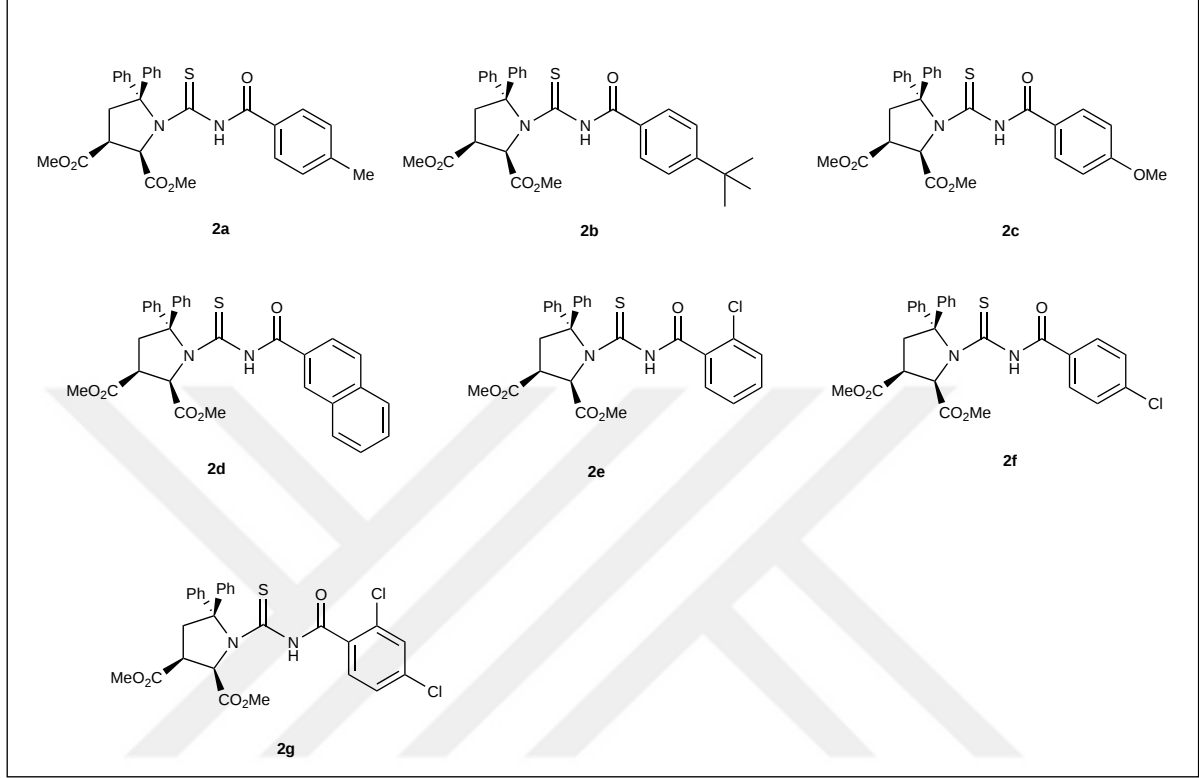
(2c): Dimetil 1-((4-metoksibenzoil)karbamotiyol)-5,5-difenilpirolidin-2,4-dikarboksilat (Erşen *et al.* 2017)

(2d): Dimetil 1-((2-naftoil)karbamotiyol)-5,5-difenilpirolidin-2,4-dikarboksilat (Nural 2017)

(2e): Dimetil 1-((2-klorobenzoil)karbamotiyol)-5,5-difenilpirolidin-2,4-dikarboksilat (2e) (Nural 2017)

(2f): Dimetil 1-((4-klorobenzoil)karbamotiyol)-5,5-difenilpirolidin-2,4-dikarboksilat (Erşen *et al.* 2017)

(2g): Dimetil 1-((2,4-diklorobenzoil)karbamotiyol)-5,5-difenilpirolidin-2,4-dikarboksilat (Nural 2017)



Şekil 16. Açıl tiyöüre türevi bileşiklerin açık yapıları (Nural 2017; Erşen *et al.* 2017)

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

Tablo 2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kimyasal Maddeler	Üretici Firma
Trihidroksimetilaminometan (Tris), Sodyumtiyosülfat, Glutaraldehit, N,N,N,N'-tetrametiletilediamin(TEMED), Guaiakol, Hidrojen peroksit, Formaldehit, Sodyum klorür, N,N'-metilen bisakrilamid, Standart serum albumin, Coomassie brilliantblue G-250, Etanol, Coomassiebrillantblue R-250, Sodyum dodesilsülfat (SDS), Akrilamid, Sodyum karbonat, Sodyum bikarbonat, Brom timol mavisi, Gliserol, Metanol, Diklorometan, Etil asetat, Diyaliz torbası, sodyum fosfat, potasyum fosfat, NADP ⁺ , NADPH, sorbitol, DL-gliseraldehit, β-merkaptotetanol, glisin, kolon materyalleri	Sigma Chemical Company
Hidroklorik asit, Fosforik asit, Gümüş nitrat, Sodyum sülfat, Sülfirik asit, İzopropanol	E. Merk AG
Sodyum hidroksit, Triklor asetik asit (TCA)	Riedel de Haen

Metod

Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması

Aldoz Redüktaz enziminin aktivite ölçümü için gerekli olan çözeltiler:

pH=5, 5 olacak şekilde 100 mM Na-fosfat tampon çözeltisi için : 6 g NaH_2PO_4 tartılıp 40 ml saf su ile çözülmüştür, pH=5,5'e ayarlanmış ve saf su ile toplam hacim 50 ml olacak şekilde tamamlanmıştır.

0,11 mM NADPH çözeltisi için: 0,009 g NADPH tartılıp 10 ml saf su ile çözülmüştür.

4,7 mM DL-gliseraldehit çözeltisi için: 0,0105 g DL-gliseraldehit tartılıp 5 ml saf su ile çözülmüştür.

Sorbitol Dehidrogenaz enziminin aktivite ölçümünde gerekli olan çözeltiler:

pH=9,9 olacak şekilde 71,5 mM Glisin/NaOH tampon çözeltisi için: 1,08 g Glisin 180 ml saf su ile çözülmüştür. 1 M NaOH ile pH=9,9 ayarlanmasının ardından saf su ile toplam hacim 200 ml ye tamamlanmıştır.

4,7 mM β -NAD⁺ çözeltisi için: 0,031 g β -NAD⁺ alınmış 10 ml 71,5 mM Glisin/NaOH tampon çözeltisi için (pH=9,9) içerisinde çözülmüştür.

100 mM sorbitol çözeltisi için: 0,091 g sorbitol alınıp 5 ml 71,5 mM Glisin/NaOH tampon çözeltisi için (pH=9,9) içerisinde çözülmüştür.

α -glukozidaz Enziminin Aktivite Ölçümlerinde Gerekli Olan Çözeltilerin Hazırlanması

Sodyum Fosfat Tamponu (Aktivite ölçmesi için, 0,1 M): 5,99 g sodyum fosfat tartılmıştır ve 450 mL distile su içerisinde çözülmüştür. pH'sı 6,9'a ayarlanıp daha sonra distile su ile var olan son hacim 500 mL'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

5 mM'lık 4-Nitrophenyl β -D-glucopyranoside substrat çözeltisinin hazırlanması için: 37,6 mg ilgili olan substrattan tartım yapıp 0,1 M'lık 25 mL fosfat tamponundan çözülerek hazırlanmıştır.

AR enziminin saflaştırılması için gerekli olan çözeltiler:

Homejanat tamponu: pH=7,4 olacak şekilde 10 mM Na-fosfat tampon çözeltisi için: 1,2 g NaH_2PO_4 tartılıp 900 ml saf su çözülmüştür. pH=7,4'e ayarlanıp saf su ile toplam hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

Diyalizinde tamponu: pH=7,4 olacak şekilde 5 mM β -Merkaptoetanol ihtiva eden 10 mM Na-fosfat tampon çözeltisi için: 1,2 g NaH_2PO_4 tartılıp ortalama 900 ml saf su içerisinde çözülmüştür ve 72 μl β -Merkaptoetanol eklenmiştir. pH= 7,4'e ayarlanıp daha sonra saf su ile toplam hacim 1000 ml olacak şekilde tamamlanmıştır.

DEAE-Sephadex iyon değişim kromatografisi, jel filtrasyon kromatografisi ve afinite kromatografisi yönteminde gerekli olan tampon: pH=7,4 olacak şekilde 10 mM Na-fosfat tampon çözeltisi için: (DEAE-Sephadex iyon değişim kolonunun dengelenmesi ve yıkanması gayesiyle hazırlanan tampon çözeltisi): 1,2 g NaH_2PO_4 tartılıp ortalama 900 ml saf su ile çözülmüştür. pH= 7,4'e ayarlanıp daha sonra ise saf su ile toplam hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

SDH enziminin saflaştırılması için gerekli olan çözeltiler:

Homojenat tamponu: 5 mM KH_2PO_4 , pH= 7,0: 0,068 gr KH_2PO_4 alınmıştır. 90 ml saf su ile çözülmüş, pH=7,0'a ayarlanıp daha sonra saf su aracılığıyla toplam hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Diyaliz tamponu: pH=7,9 olacak şekilde 5 mM KH_2PO_4 tampon çözeltisi için: (1 mM β -merkaptetanol içeren), 0,34 g KH_2PO_4 yaklaşık 450 ml saf su ile çözüldü. 1M NaOH ile pH=7,9'a getirildikten sonra içerisine 36 μl β -merkaptetanol katılarak, son hacim saf su ile 500 ml'ye tamamlandı.

DEAE-Sephadex iyon değişim kromatografisinde kullanılan tampon: pH=7,9 olacak şekilde 5 mM KH_2PO_4 tampon çözeltisi için: 0,68 g KH_2PO_4 ortalama 900 ml saf su ile çözülmüştür. 1M NaOH aracılığıyla pH=7,9'a ayarlanıp daha sonra saf su ile en son hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

CM-Selüloz C-50 iyon değişim kromatografisinde gerekli olan tampon: pH=6,2 olacak şekilde 5 mM KH_2PO_4 tampon çözeltisi için: 0,68 g KH_2PO_4 ortalama 900 ml saf su ile çözülmüştür. 1M NaOH aracılığıyla pH=6,2'ye ayarlandıktan daha sonra saf su ile son hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

Jel filtrasyon kromatografisinde kullanılan tampon: pH=7,0 olacak şekilde 50 mM KH_2PO_4 tampon çözeltisi (Kolonun dengelenmesi için ve elüsyon işleminde kullanılması için gerekli olan çözelti); 6,8 g KH_2PO_4 yaklaşık 900 ml saf su ile çözüldü. 1 M NaOH ile pH=7,0'ye getirildikten sonra son hacim saf su ile 1000 ml'ye tamamlanacak şekilde tamamlandı.

Proteinlerin kantitatif tayininde kullanılan çözeltiler:

50 mg Bradford yöntemi için gerekli olan coomassie brilliant blue G-250, 25 ml %95'lik etanol içinde çözülmüştür. Bu çözelti içerisine %95'lik 50 ml fosforik asit eklenmiştir. Çözelti saf su ile var olan hacmi 500 mL tamamlanmıştır.

Standart serum albumin çözeltisi için (1 mg/ml; protein tayini için gerekli olan çözelti): 1 mg standart serum albuminin 1 ml saf su ile çözülmesiyle hazırlanmıştır.

Elektroforez için kullanılan çözeltiler:

pH=8,8 olacak şekilde 1M Tris-HCl : 12,11 g Tris (0,1 mol) tartılıp 80 ml saf su ile çözülmüştür, 1M HCl ilavesiyle pH=8,8'e getirilip daha sonra saf su ile toplam hacim 100 ml olacak şekilde tamamlanmıştır.

pH=6,8 olacak şekilde 1 M Tris-HCl : 12,11 g Tris (0,1 mol) tartılıp 80 ml saf su ile çözülmüştür, 1M HCl ilavesiyle pH=6,8'e getirilip daha sonra saf su ile son hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır.

%30 Akrilamid-%0,8 Bisakrilamid çözeltisi için: 0,4 g bisakrilamid ve 15 g akrilamid ve 34,6 g saf su karıştırılıp çözülmüştür.

%10'luk amonyum persülfat çözeltisi için: 1 g amonyum persülfat maddesi tartılıp saf su aracılığıyla 10 ml'ye tamamlanmıştır

%10'luk SDS için: 1 g SDS, 9 g saf su içerisinde çözülmüştür.

Yürütme tampon çözeltisi için: (12,5 mmol) 1,51 g Tris ve (0,1 mol) 7,51 g glisin tartılıp 450 ml saf su ile çözülmüştür; Hazırlanan %10'luk SDS'den 5 ml eklenip pH=8,3'e ayarlanmıştır ve saf su aracılığıyla toplam hacim 500 ml'ye tamamlanmıştır.

pH=8,0 olacak şekilde Numune tampon çözeltisi için: 1 M Tris-HCl çözeltisinden 0,5 ml, %10'luk SDS'den ise 1 ml, %100'lük gliserinden 1 ml ve %0,1'lik bromtimol mavisinden 1 ml alınıp saf su ile 10 ml'ye tamamlanmıştır. Bu numune tampon çözeltisi kullanılmadan hemen önce 950 µl numune tampon çözeltisinden 50 µl β-Merkaptoetanol ilave edilmiştir.

Tablo 3. Gümüş Boyama Yönteminde Kullanılan Çözeltiler

Tespit çözeltisi	120 mL su, %96'lık 60 mL etanol ve 20 mL asetik asitten hazırlandı.
Redüksiyon çözeltisi	45 mL etanol ve 80 mL su karıştırıldı. İçerisinde 4,8 g sodyum asetat çözüldü. Asetik asitle pH 6 olacak şekilde titre edildi. 3 mL glutaraldehit ve 150 mg sodyum tiyosülfat eklendikten sonra saf su aracılığıyla 150 mL'ye tamamlandı.
Boyama çözeltisi	100 mL saf suda 100 mg gümüş nitrat çözüldü ve üzerine 30 µl formaldehit eklendi.
Yıkama Çözeltisi 1	3,75 g sodyum karbonat, 270 mL saf suda çözülecek ve üzerine 120 µl formaldehit eklendi.
Yıkama çözeltisi 2	2 mL gliserin ve %5'lik asetik asitin 500 mL'si karıştırılarak hazırlandı.

AR ve SDH enziminin aktivite ölçümü

AR enziminin aktivite ölçümü Cerelli ve arkadaşlarının (1986) kullandığı prosedürün modifiye edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. 340 nm de enzim aktivitesindeki değişim takip edilmiş ve SDH enziminin aktivite ölçümü 340 nm'de 3 dakika süreyle NAD⁺'nin indirgenmesi sonucu oluşan absorbans artışına bağlı olarak ölçülmüştür (Lindstad *et al.* 1994). Her iki enzim içinde enzim ünitesi hesaplanırken aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$E\ddot{U}/ml = \frac{\Delta OD}{6,22} \times \frac{V_T}{V_E} \times S_F$$

Bu formülde bulunan simgeler aşağıdaki gibidir;

- 6,22 : β-NADH 'ın 340 nm'deki milimolar ekstinksiyon katsayısı
EÜ/ml : 1 ml'deki enzim ünitesi
ΔOD : Bir dakikadaki absorbans değişimi
V_T : Ölçümün yapıldığı toplam küvet hacmi
V_E : Ölçümün yapıldığı küvete ilave edilen enzim numunesinin hacmi
S_F : Seyreltme Faktörü

α-Glukozidaz enzim aktivitesinin ölçümü

Ticari olarak satın alınan α-Glukozidaz enzim aktivitesi, Tao ve arkadaşlarının (2013) daha önce yapmış oldukları prosedüre göre para-nitrofenol β-D-glikopiranosid (p-NPG) substrat olarak kullanılmasıyla belirlenmiştir.

$$E\ddot{U}/ml = \frac{\Delta OD}{1,81} \times \frac{V_T}{V_E} \times S_F$$

Bu formülde bulunan simgeler aşağıdaki gibidir;

1,81	: p-NPG 'nin 405 nm'deki molar ekstinksiyon katsayısı
EÜ/ml	: 1 ml'deki enzim ünitesi
ΔOD	: Bir dakikadaki absorbans değişimi
V_T	: Ölçümün yapıldığı toplam küvet hacmi
V_E	: Ölçümün yapıldığı küvete ilave edilen enzim numunesinin hacmi
S_F	: Seyreltme Faktörü

Koyun böbrek dokusundan AR enziminin saflaştırılması

Homojenatın hazırlanması

Koyun böbrek dokuları sıvı azot kullanılarak homojenize edilmiştir. Sonrasında homojenat eldesi, +4°C'de 13500 rpm'de santrifüj edilmiştir.

Amonyum sülfat çöktürmesi

Koyun böbreğinden elde edilen homojenat sırasıyla %20'den başlayıp %90'a kadar 10'ar birim aralıklarda katı amonyum sülfat aracılığıyla çöktürülmüştür. Çöktürme işlemi bittikten sonra homojenat +4°C, 13500 rpm'de 30 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda oluşan pelletler, oluşturulan homojenat tamponu içerisinde çözülüp aktivite ölçümü yapılmış ve çöktürme aralığı belirlenmiştir.

Diyaliz

Amonyum sülfat çöktürmesi işlemi sonucu elde ettiğimiz numune diyaliz torbasına konarak bir gece boyunca diyaliz tamponuna karşı diyaliz edilmiştir.

DE-52 selüloz anyon değişim kromatografisi

AR enziminin saflaştırılması için DE-52 selüloz kolonu (3,0 x 50 cm) dengeleme tamponu ile dengelendikten sonra akış hızı 12 ml/saat olacak şekilde ayarlanmıştır. Enzim homojenatı kolondan geçirilip tüplere 2'şer ml toplanmıştır. Her bir tüpteki numunenin 340 nm'de aktivitesine bakılmış ve enzim aktivitesi görülen fraksiyonlar daha sonraki işlemlerde kullanılmıştır.

CM-selüloz katyon değişim kromatografisi

SDH enziminin saflaştırılması için CM-selüloz katyon değişim kromatografisi yapılmıştır. Enzim homojenatı kolondan geçirilip tüplere 2'şer ml tüplerde toplanmıştır. Her bir tüpteki numunenin 340 nm'de aktivitesine bakılmıştır. Enzim aktivitesi görülen fraksiyonlar daha sonraki işlemlerde kullanılmıştır.

Sephadex G-100 jel filtrasyon kromatografisi

SDH ve AR enzimlerinin saflaştırılması için Sephadex G-100 kolon materyali kullanılarak kolon hazırlanmıştır. Enzim numunesi kolona tatbik edildikten sonra 280 nm'de absorbans değerlerine ve enzim aktivitesine bakılmıştır.

Afinite kolonunun hazırlanması ve koyun böbrek AR enziminin saflaştırılması

2', 5'-ADP Sepharose 4B jeli firmanın önerdiği prosedür uygulanmıştır. Elde edilen protein çözeltisi tampon ile dengelenmiş olan kolana uygulanmıştır ve sonrasında kolon aynı tamponla yıkanmıştır. Daha sonra ise 0,2-2,5 mM NaCl gradientli Na-fosfat tampon çözeltisi sayesinde elüsyon işlemi gerçekleştirilmiş ve sonucunda AR enzimi elde edilmiştir.

Protein tayini

Kalitatif protein tayini

Saflaştırılan proteinler 280 nm'de kuvartz küvetlere konularak, absorbansları spektrofotometrede köre karşı okunmuştur.

Kantitatif protein tayini

Protein tayininde kullanılan Coomassie blue G-250 negatif (-) bir yüke sahipken protein üzerindeki pozitif (+) yüke bağlanmaktadır. Bağlanma gerçekleşirken kırmızı form mavi forma dönüşmektedir. Reaksiyon birçok kez tekrarlanabilmektedir. Renk stabilitesi 2 saat kadar devam etmektedir. Reaktif bir kere hazırlandıktan sonra uzun süre kullanılabilir. Sodyum dodesil sülfat (SDS) VE Triton X-100 deterjanları reaksiyonu bozmaktadırlar. Protokol şu şekildedir:

10-200 µg protein içeren 0,1 mL'lik çözelti, 5,0 mL Coomassie blue boya reaktifine (100 mg Coomassie brilliant blue G-250, 50 mL %95 etil alkol içinde çözülmemektedir; 100 mL %85' fosforik asit eklenmekte ve toplam hacim su ile 1 litreye tamamlanmaktadır.) ilave edilerek 5 dakika beklendikten sonra, absorbans 595 nm'de ölçülmüştür. Standart eğri ise genel olarak sığır serum albümin kullanılarak hazırlanmıştır. Bradford metoduna uygun yapılmıştır (Bradford 1976).

Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) ile AR ve SDH enzimlerinin saflığının kontrolü

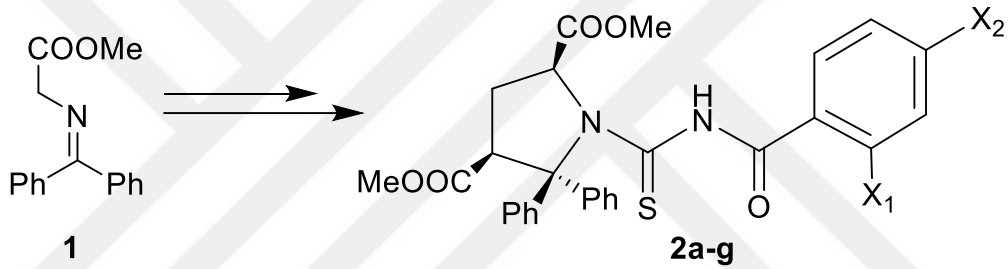
%3-8 kesikli SDS-PAGE yöntemi enzimler saflaştırıldıktan sonra Laemmli metoduna uygun enzimin saflık derecesi kontrol edilmiştir (Laemmli 1970).

IC₅₀ ve Ki değerlerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar

Sentezlenmiş açıl tiyoüre türevlerinin inhibisyon etkisi yüksek olanların %Aktivite-[I] grafikleri çizilip, eğrinin denkleminde IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Koyun böbreği AR, SDH enzimleri ile ticari olarak satın alınan α -glukozidaz enzimlerini inhibe eden üç farklı konsantrasyonda ve beş farklı substrat değerinde çalışılarak elde edilen değerlerle Lineweaver-Burk grafikleri çizilmiştir.

Önceden sentezlenmiş olan açıl tiyoüre türevi bileşiklerin sentez yöntemi

AR, SDH, α -glukozidaz enzimleri üzerine etkileri incelenen ve yapıları daha önce Nural ve ark. tarafından rapor edilen açıl tiyoüre türevi bileşikler (**2a**, **2b**, **2c**, **2d**, **2e**, **2f**, **2g**) literatürde belirtildiği şekilde dimetil 5,5-difenilpirolidin-2,4-dikarboksilat bileşiğinin çeşitli izotiyosiyat bileşikleriyle tepkimeleri sonucunda sentezlenmiş ve yapıları ¹H NMR, ¹³C NMR ve HRMS teknikleri ile aydınlatılmıştır (Nural 2017; Erşen *et al.* 2017).



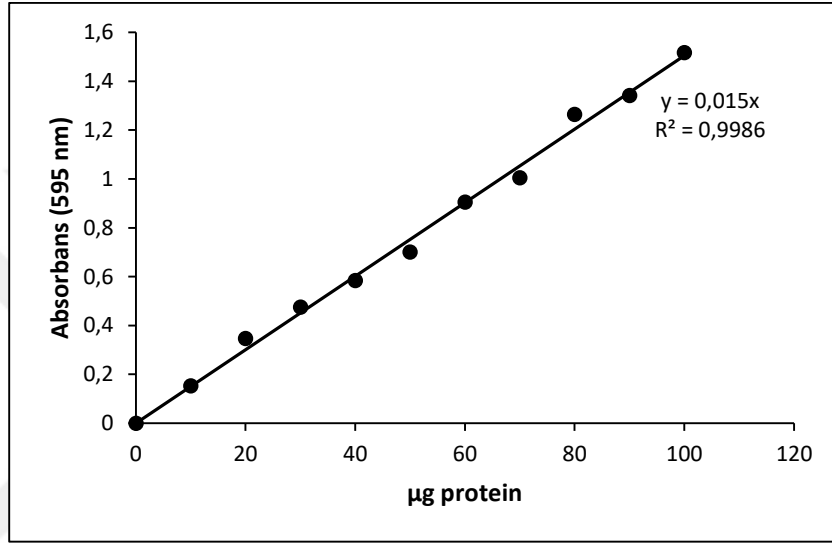
- | | | |
|----|---------------------|-----------------------------------|
| a. | X ₁ = H | X ₂ = Me |
| b. | X ₁ = H | X ₂ = CMe ₃ |
| c. | X ₁ = H | X ₂ = OMe |
| d. | X ₁ = H | X ₂ = Naftalen-2-il |
| e. | X ₁ = Cl | X ₂ = H |
| f. | X ₁ = H | X ₂ = Cl |
| g. | X ₁ = Cl | X ₂ = Cl |

Şekil 17. Açıl tiyoüre türevi bileşiklerin sentezi (Nural 2017; Erşen *et al.* 2017)

ARAŞTIRMA BULGULARI

Kullanılan Standart Grafik

Koyun böbreğinden elde edilen AR ve SDH enzim çözeltilerinin kantitatif protein tayini Bradford metodu ile belirlenerek standart grafik hazırlanmıştır. Standart çözeltilerin absorbans değerleri Şekil 25'te gösterilmiştir.



Şekil 18. Bradford metodu kullanılarak proteinlerin kantitatif tayinininde kullanılan standart grafik

Koyun Böbreği Ar Enziminin Saflaştırılması Sonuçları

Koyun böbreğinden homojenat hazırlanması, amonyum sülfat çöktürmesi (0-%70), DE-52 selüloz iyon değişim kolon kromatografisi, Sephadex G-100 jel filtrasyon kolon kromatografisi ve 2'5' ADP Sepharoz 4B Afinite kromatografisi kullanılarak AR enziminin saflaştırılması sonucu elde edilen verilen Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. AR Enzimi Saflaştırma Basamakları

Saflaştırma Basamakları	Aktivite (EU/ml)	Toplam hacim (ml)	Protein (mg/ml)	Toplam protein (mg)	Toplam aktivite (EU)	Spesifik aktivite (EU/mg)	Verim (%)	Saflaştırma Katsayısı
Homojenat	0,61	45	34,56	1555,20	27,45	0,018	100	1
Amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz	0,64	35	22,56	789,60	22,4	0,028	81,60	1.56
DE-52 selüloz iyon değişim kolon kromatografisi	0,37	12	9,45	113,40	4,44	0,039	16,17	2.17
Sephadex G-100 jel filtrasyon kolon kromatografisi	0,21	8	2,13	17,04	1,68	0,099	6,12	5,50
2'5' ADP Sepharoz 4B Afinite kromatografisi	0,11	5	0,27	1,35	0,55	0,41	2,00	22,78

Koyun Böbreği SDH Enziminin Saflaştırılması Sonuçları

Koyun böbreğinden homojenat eldesi, (NH₄)₂SO₄ çöktürmesi (0-%70), DE-52 selüloz iyon değişim kolon kromatografisi, CM selüloz iyon değişim kolon kromatografisi ve Sephadex G-100 jel filtrasyon kolon kromatografisi kullanılarak SDH enziminin saflaştırılması sonucu elde edilen verilen Tablo 5'de gösterilmiştir.

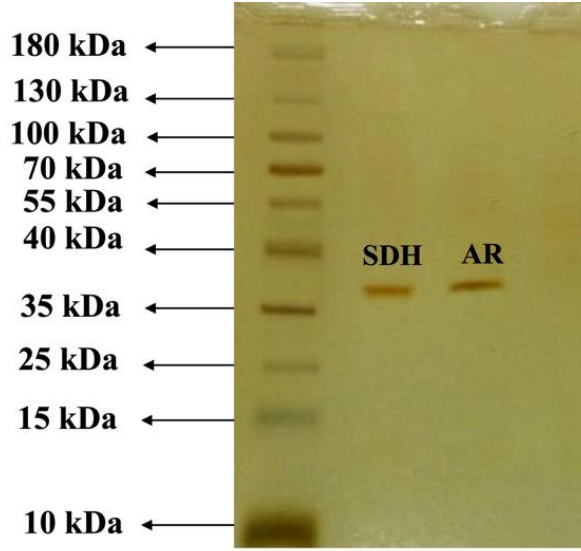
Tablo 5. SDH Enzimi Saflaştırma Basamakları

Saflaştırma Basamakları	Aktivite (EU/ml)	Toplam hacim (ml)	Protein (mg/ml)	Toplam protein (mg)	Toplam aktivite (EU)	Spesifik aktivite (EU/mg)	Verim (%)	Saflaştırma Katsayısı
Homojenat	0,56	45	34,56	1555,20	25,2	0,016	100	1
Amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz	0,51	30	20,13	603,90	15,30	0,025	60,71	1.56
DE-52 selüloz iyon değişim kolon kromatografisi	0,31	21	8,11	170,31	6,51	0,038	25,83	2.38
CM selüloz iyon değişim kolon kromatografisi	0,15	14	1,93	27,02	2,10	0,078	8,33	4.88
Sephadex G-100 jel filtrasyon kolon kromatografisi	0,08	5	0,21	1,05	0,40	0,38	1,59	23,75

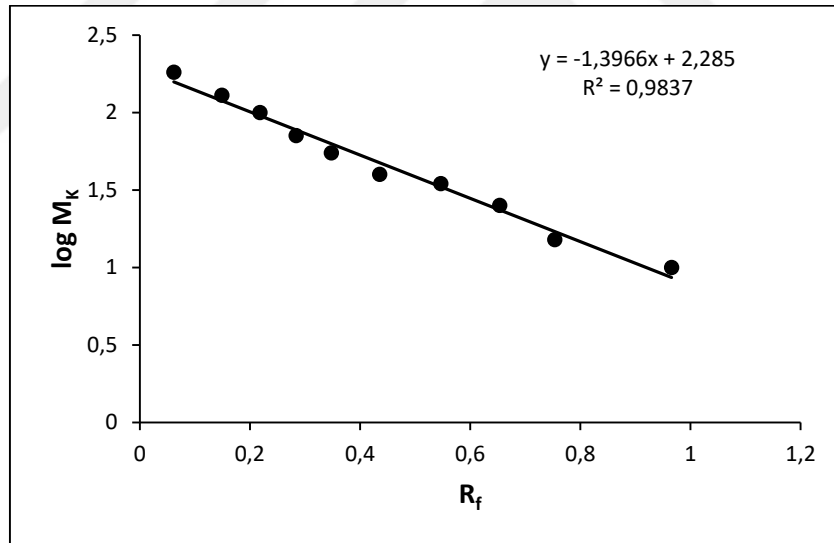
Koyun Böbreği AR ve SDH Enziminin SDS-PAGE ile Saflık Kontrolü

Koyun karaciğerinden elde edilen saf enzim SDS-PAGE'de yürütüldükten sonra fotoğrafı çekilmiştir (Şekil 26). Koyun böbreğinden saflaştırılan AR ve SDH enzimlerinin

molekül kütlesi $\log M_K$ - R_f grafiği çizilerek bu grafik ile hesaplamalar gerçekleştirilmiştir (Şekil 27). Grafikten faydalanılarak koyun böbreği AR enziminin molekül kütlesi ise yaklaşık 38,95 kDa; SDH enziminin molekül kütlesi ise yaklaşık 37,46 kDa değerinde hesaplanmıştır.



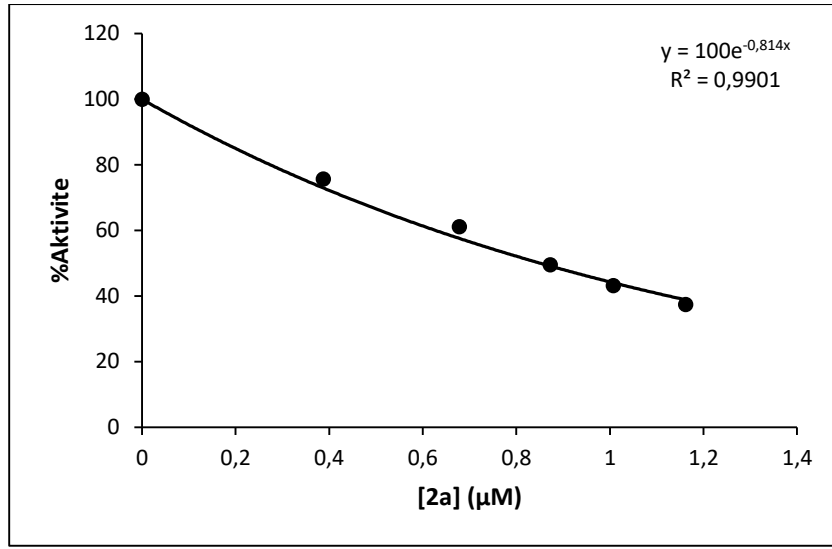
Şekil 19. Koyun böbreğinden saflaştırılan AR ve SDH enzimlerinin SDS-PAGE yöntemi ile saflık kontrolü



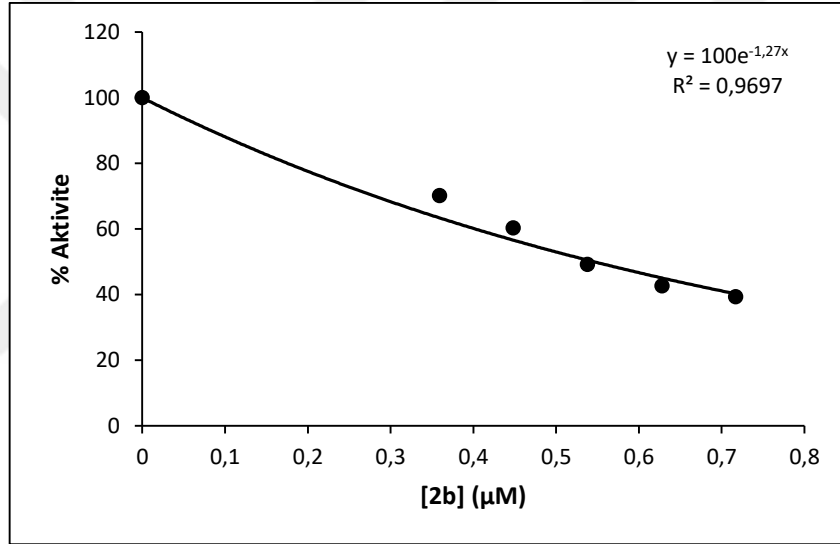
Şekil 20. SDS-PAGE sonucu çizilen R_f - $\log M_K$ grafiği

Koyun Böbreği AR, SDH Enzimleri ile Ticari Olarak Temin Edilen α -Gly Üzerine Bazı Açiltiyoüre Bileşiklerinin Etkilerinin Belirlenmesine Ait Çalışma Sonuçları

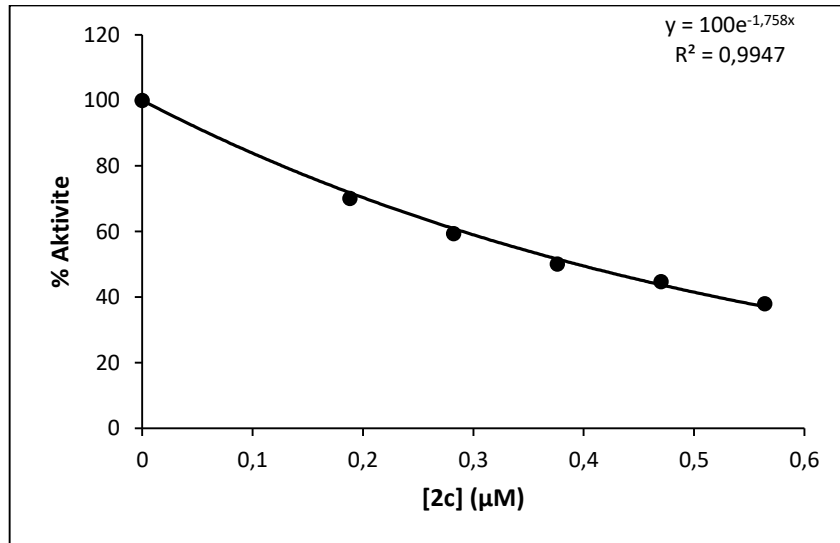
Elde ettiğimiz tüm enzimler için ayrı ayrı olmak üzere, aktiviteleri üzerine çalışılan bileşikler için minimum 5 farklı inhibitör konsantrasyonundaki aktiviteler hesaplanarak tespit sağlanmış ve bu bağlamda %Aktivite-[I] grafikleri çizildi (Şekil 28-48) ve bu grafiklerden IC_{50} değerleri hesaplanarak Tablo 6,7 ve 8’de verilmiştir.



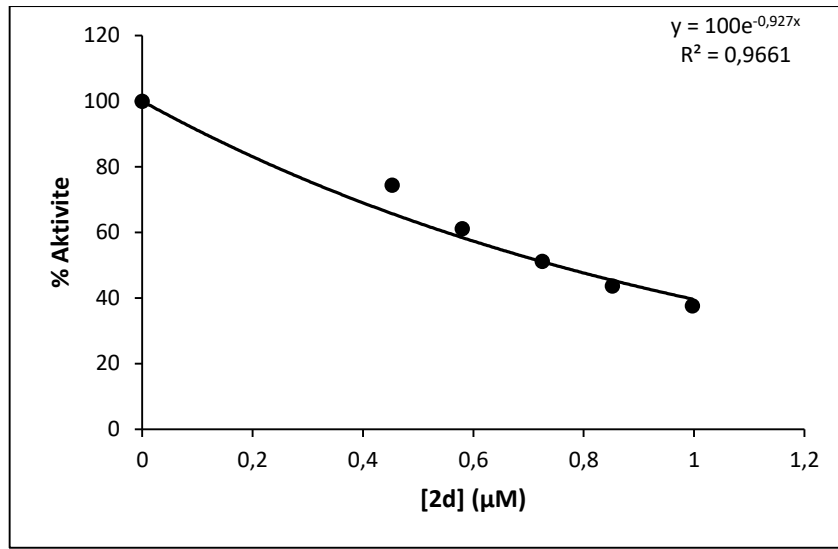
Şekil 21. AR enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2a bileşiği %Aktivite-[2a] grafiği



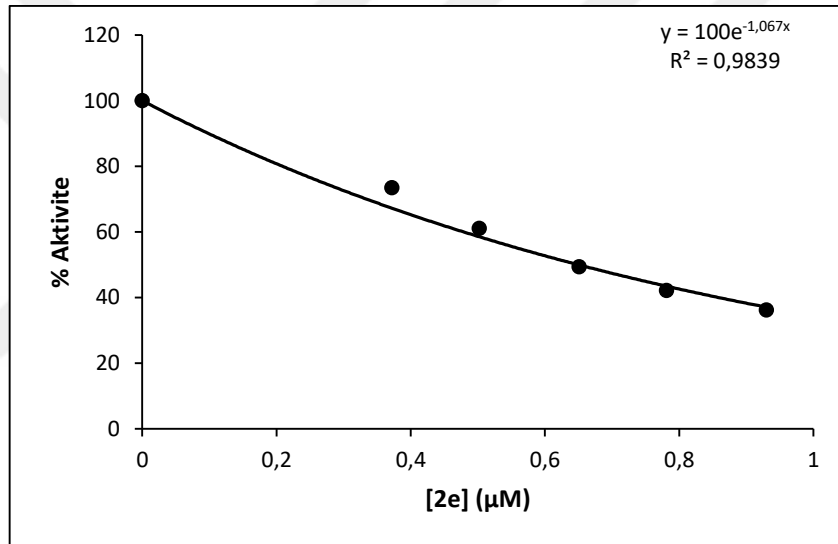
Şekil 22. AR enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2b bileşiği %Aktivite-[2b] grafiği



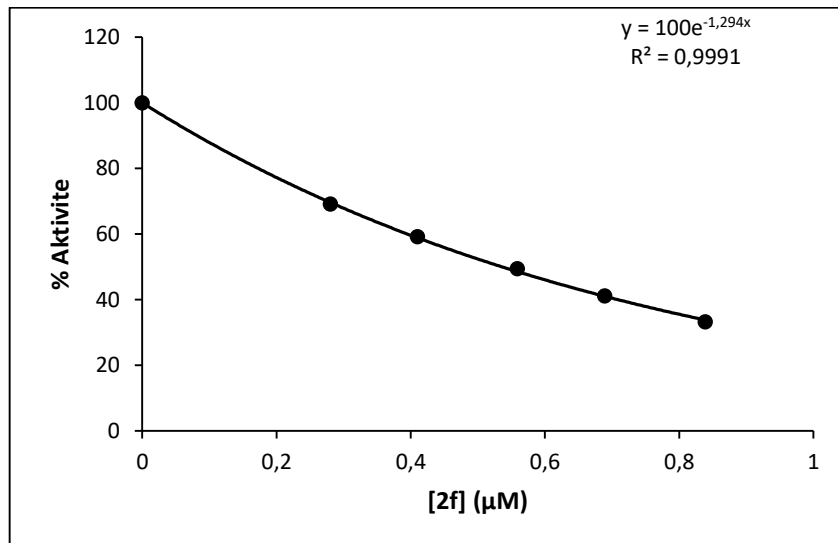
Şekil 23. AR enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2c bileşiği %Aktivite-[2c] grafiği



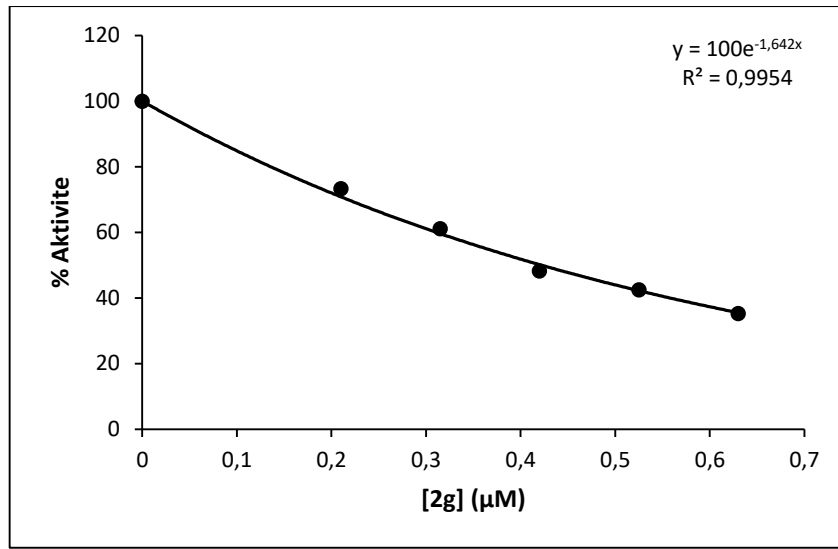
Şekil 24. AR enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2d bileşiği %Aktivite-[2d] grafiği



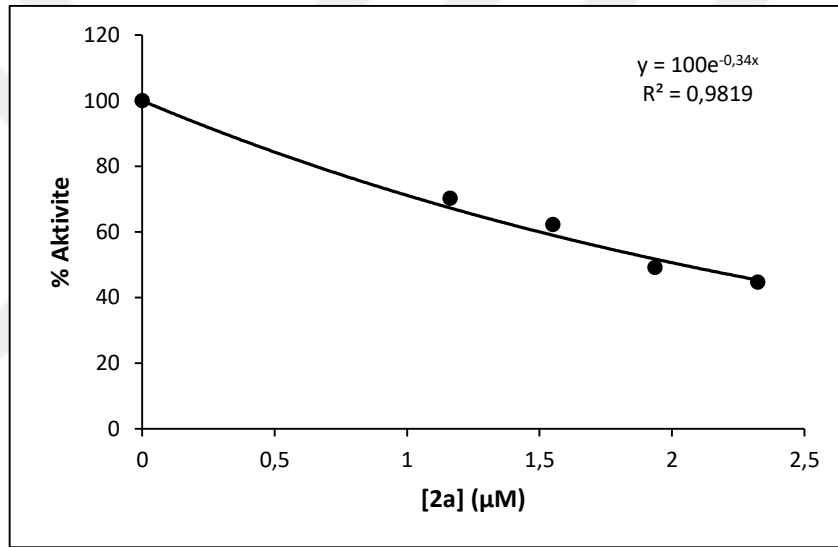
Şekil 25. AR enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2e bileşiği %Aktivite-[2e] grafiği



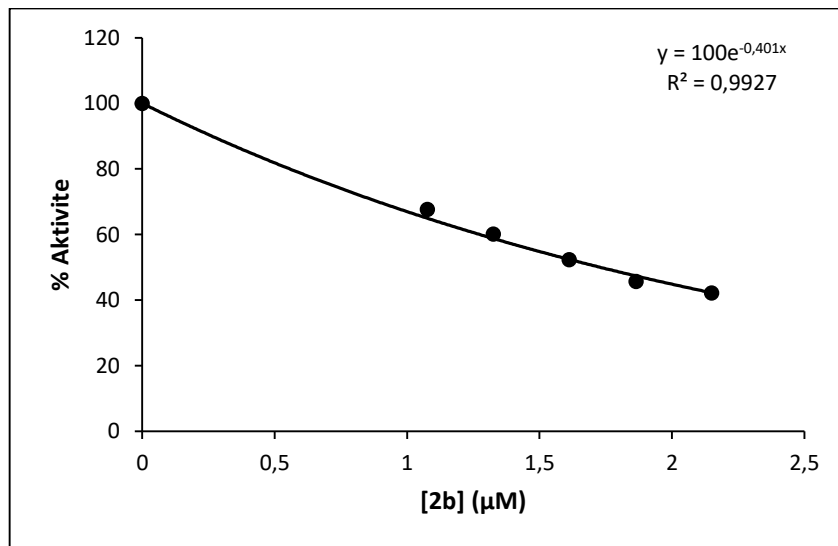
Şekil 26. AR enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2f bileşiği %Aktivite-[2f] grafiği



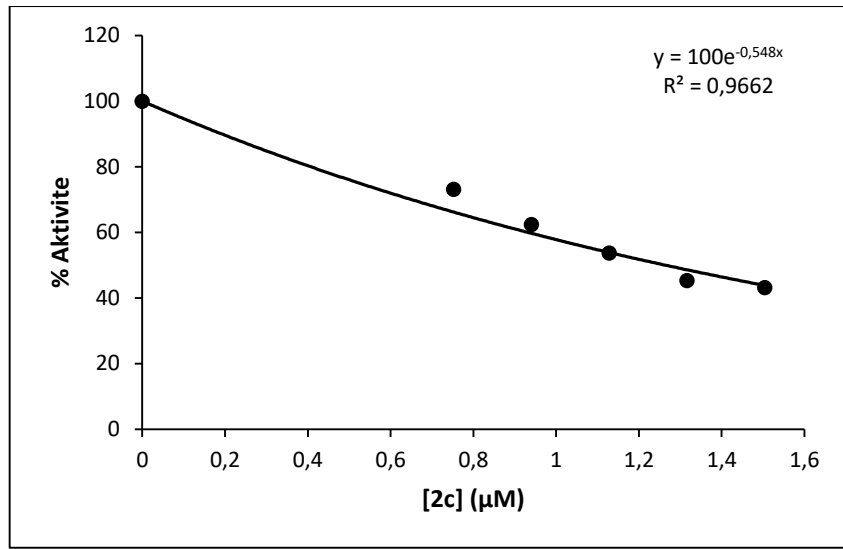
Şekil 27. AR enzimi için 5 farklı konsantrasyonda **2g** bileşiği %Aktivite-[2g] grafiği



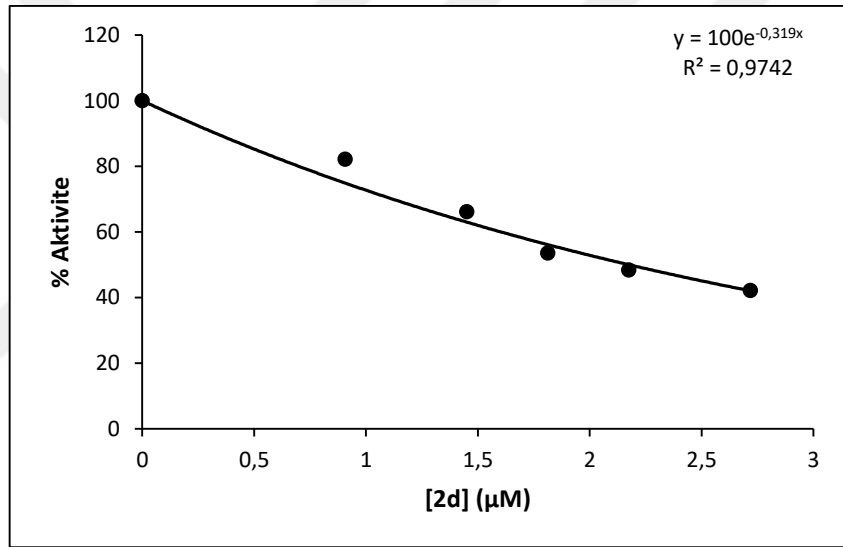
Şekil 28. SDH enzimi için 5 farklı konsantrasyonda **2a** bileşiği %Aktivite-[2a] grafiği



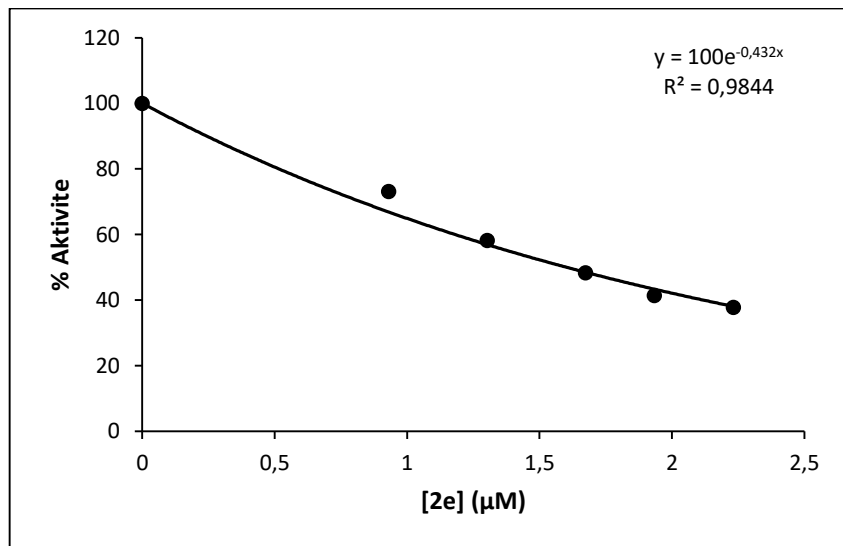
Şekil 29. SDH enzimi için 5 farklı konsantrasyonda **2b** bileşiği %Aktivite-[2b] grafiği



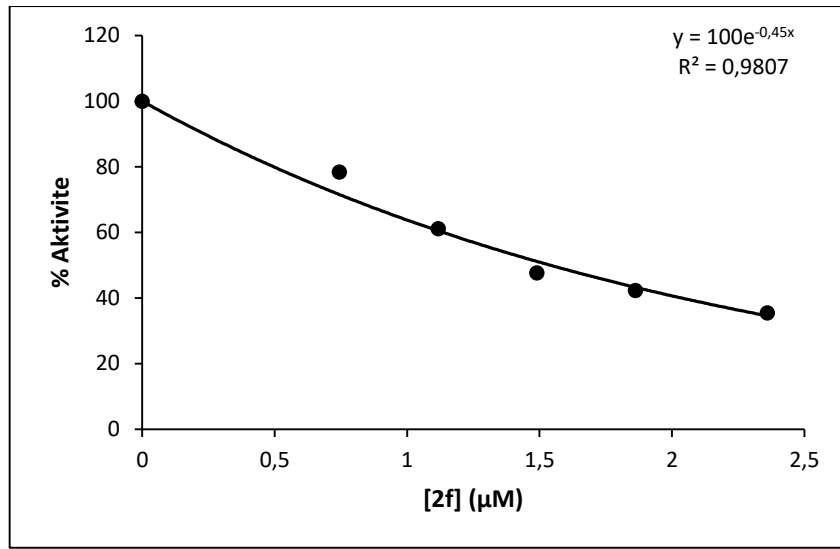
Şekil 30. SDH enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2c bileşiği %Aktivite-[2c] grafiği



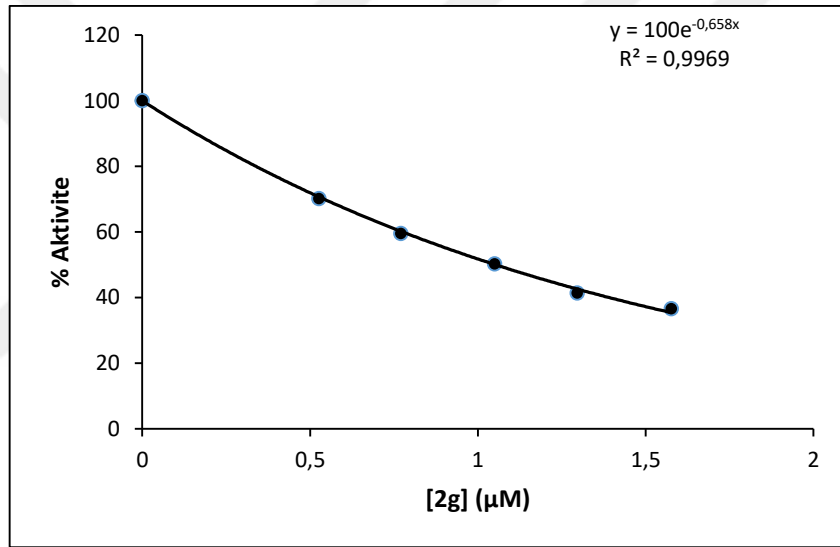
Şekil 31. SDH enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2d bileşiği %Aktivite-[2d] grafiği



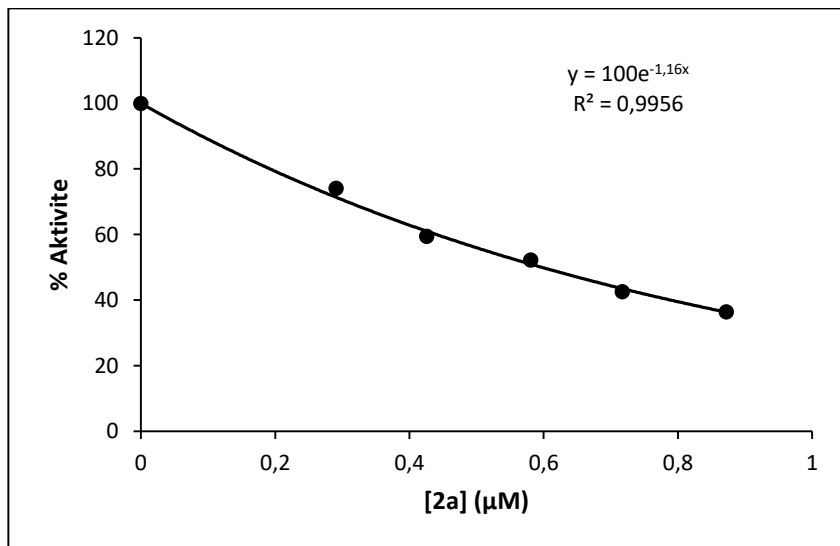
Şekil 32. SDH enzimi için 5 farklı konsantrasyonda 2e bileşiği %Aktivite-[2e] grafiği



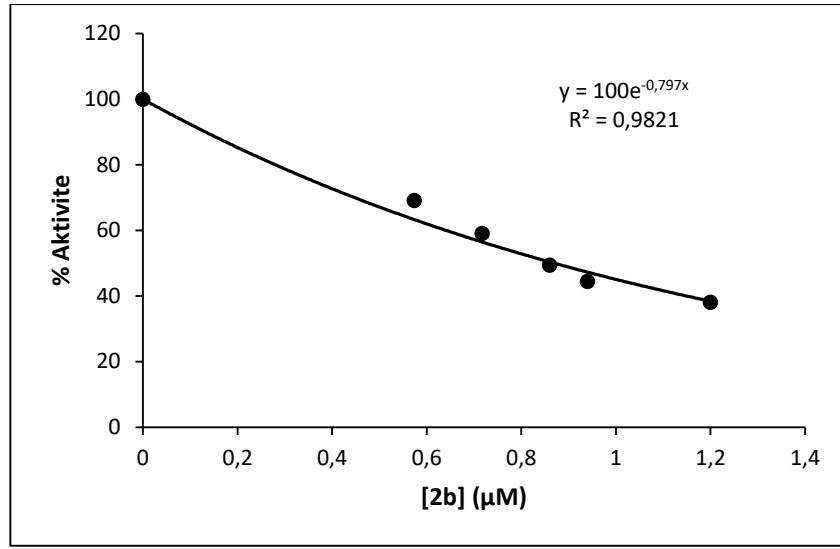
Şekil 33. SDH enzimi için 5 farklı konsantrasyonda **2f** bileşiği %Aktivite-[2f] grafiği



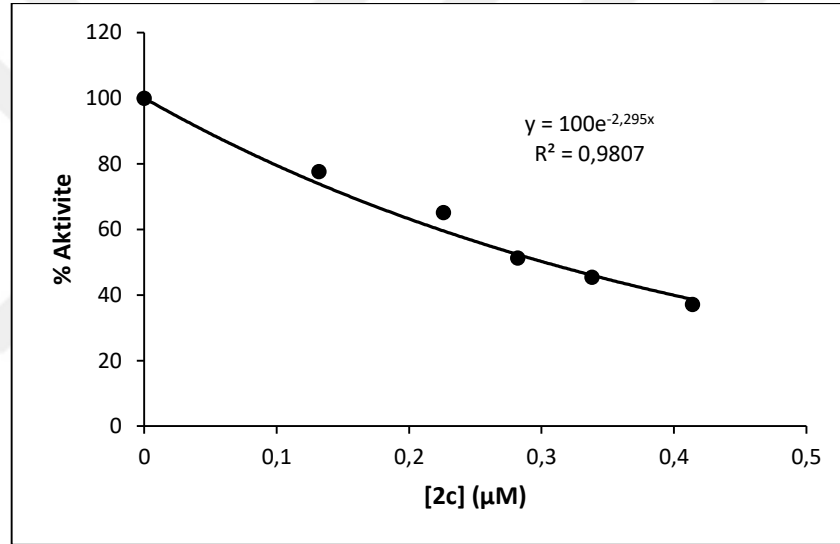
Şekil 34. SDH enzimi için 5 farklı konsantrasyonda **2g** bileşiği %Aktivite-[2g] grafiği



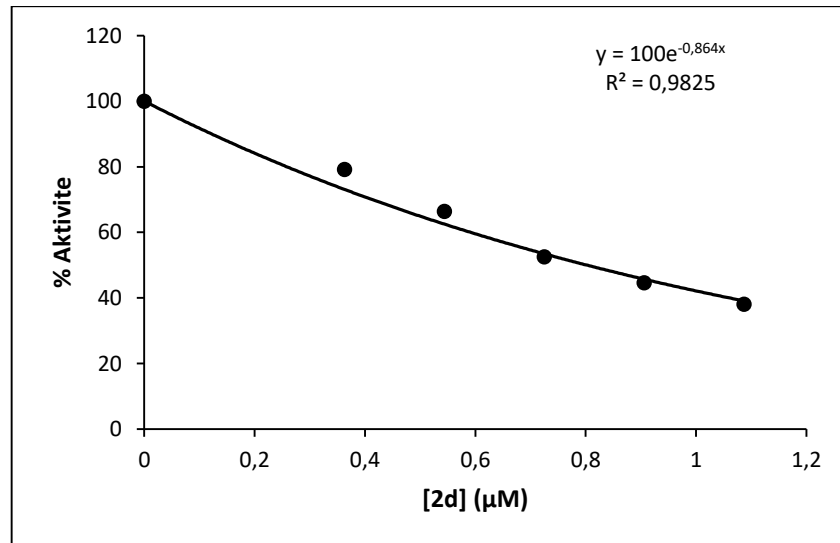
Şekil 35. α-gly enzimi için 5 farklı konsantrasyonda **2a** bileşiği %Aktivite-[2a] grafiği



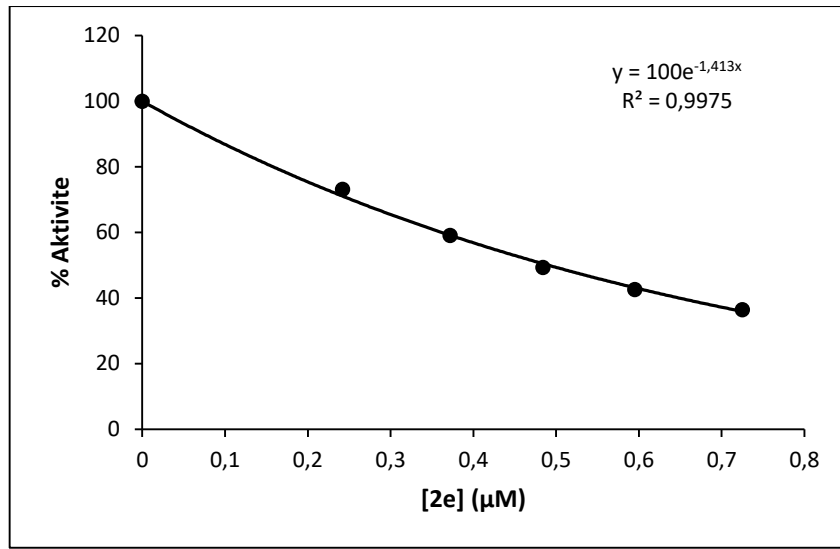
Şekil 36. α -gly enzimi için 5 farklı konsantrasyonda **2b** bileşiği %Aktivite-[2b] grafiği



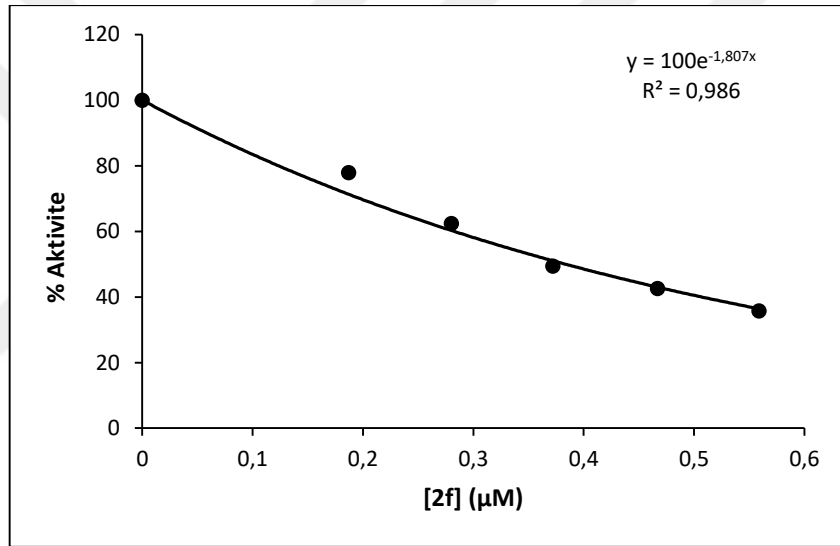
Şekil 37. α -gly enzimi için 5 farklı konsantrasyonda **2c** bileşiği %Aktivite-[2c] grafiği



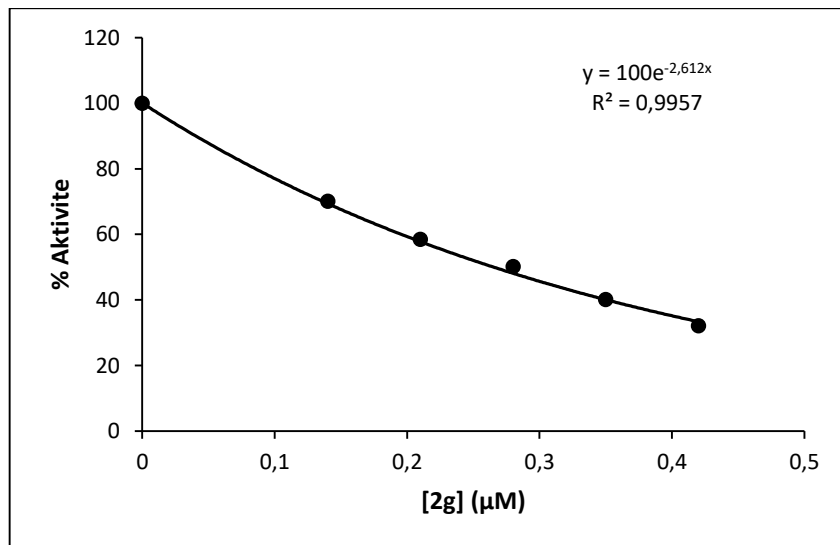
Şekil 38. α -gly enzimi için 5 farklı konsantrasyonda **2d** bileşiği %Aktivite-[2d] grafiği



Şekil 39. α -gly enzimi için 5 farklı konsantrasyonda **2e** bileşiği %Aktivite-[2e] grafiği



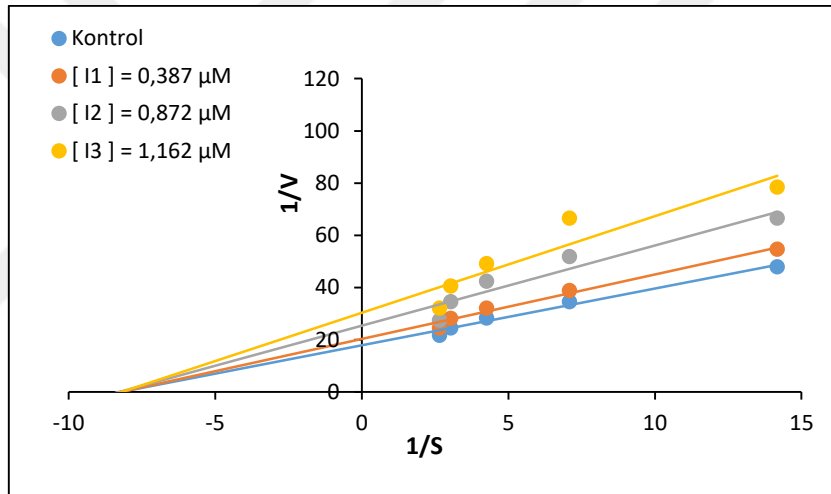
Şekil 40. α -gly enzimi için 5 farklı konsantrasyonda **2f** bileşiği %Aktivite-[2f] grafiği



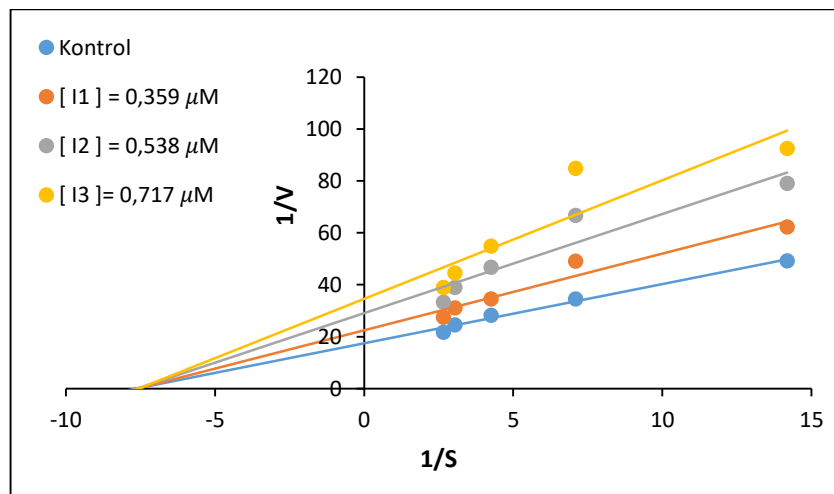
Şekil 41. α -gly enzimi için 5 farklı konsantrasyonda **2g** bileşiği %Aktivite-[2g] grafiği

AR, SDH ve α -glukozidaz Enzimleri Üzerine Çalışılan İnhibitör Etkisi Gösteren Bazı Açıl Tiyoüre Bileşikleri İçin K_i Değerlerinin Tespit Edilmesine Ait Yapılan Çalışmaların Sonuçları

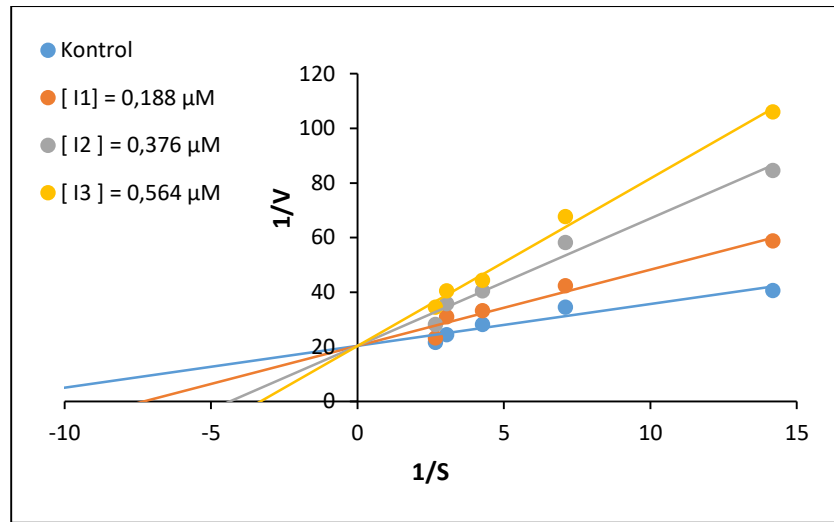
Koyun böbreğinden elde edilen AR, SDH enzimi ile ticari olarak temin edilen α -glukozidaz enzimlerinin aktivitesi üzerine güçlü inhibisyon etkisi gösteren önceden sentezlenmiş açıl tiyoüre bileşiklerinin K_i değerlerini tespit etmek gayesiyle sabit 3 uygun açıl tiyoüre bileşiklerinin konsantrasyonları ve 5 substrat konsantrasyonu tespit edilip aktivite değerleri ölçülerek elde edilen bu değerler ışığında Lineweaver-Burk grafikleri çizilmiştir, y ekseninde kesişen doğruların oluşturduğu grafiği veren inhibitör yarışmalı kabul edilirken, x ekseninde kesişen doğruların oluşturduğu grafiği veren inhibitör ise yarışmasız sayılmıştır. Elde edilen grafiklerdeki her bir doğrunun denkleminde K_i değerleri hesaplanmıştır. (Şekil 49-69) ve bu grafiklerden K_i değerleri hesaplanarak Tablo 6,7 ve 8'de verilmiştir.



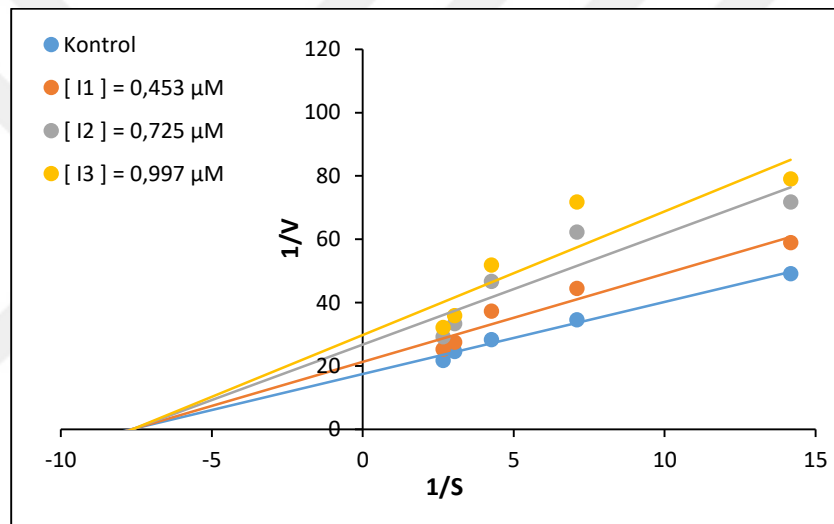
Şekil 42. AR enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan **2a** bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği



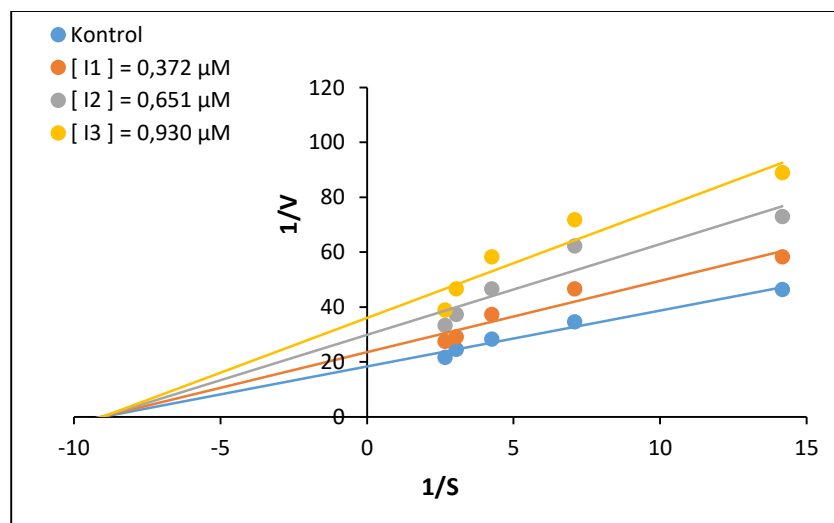
Şekil 43. AR enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan **2b** bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği



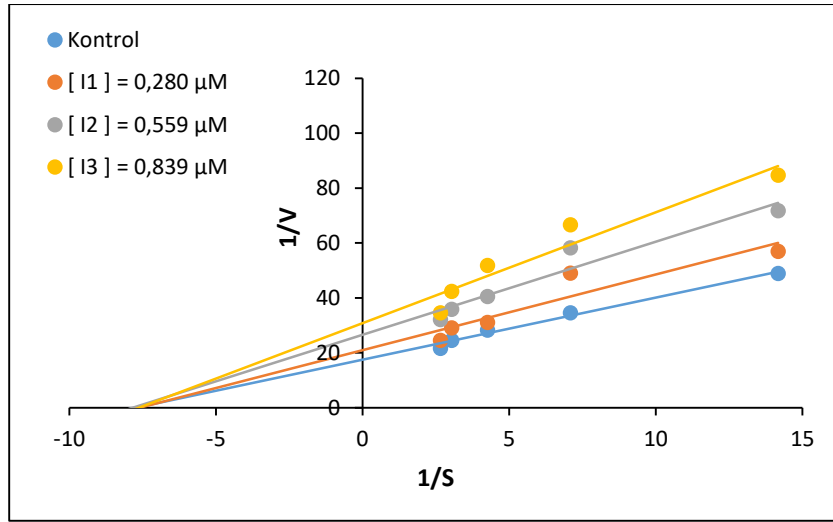
Şekil 44. AR enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan **2c** bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği



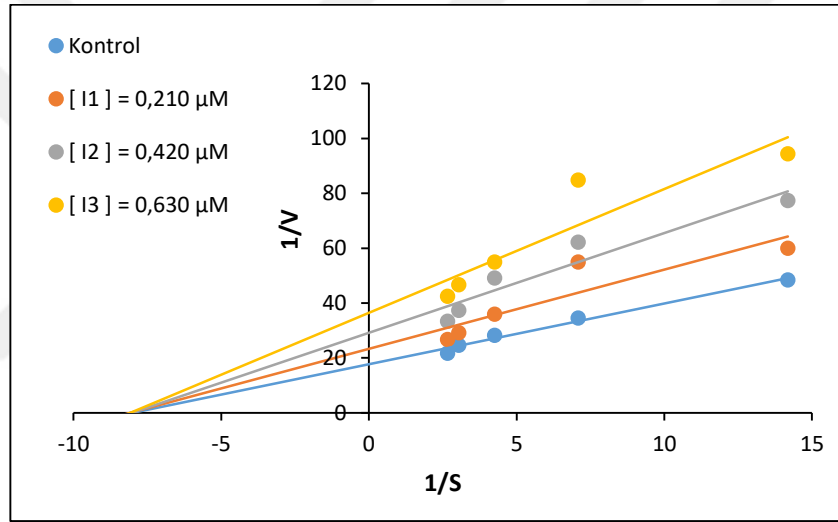
Şekil 45. AR enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan **2d** bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği



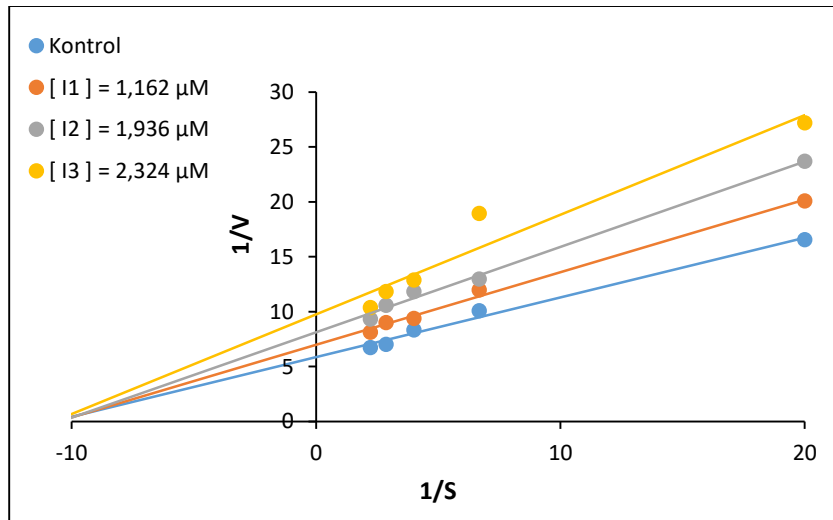
Şekil 46. AR enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan **2e** bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği



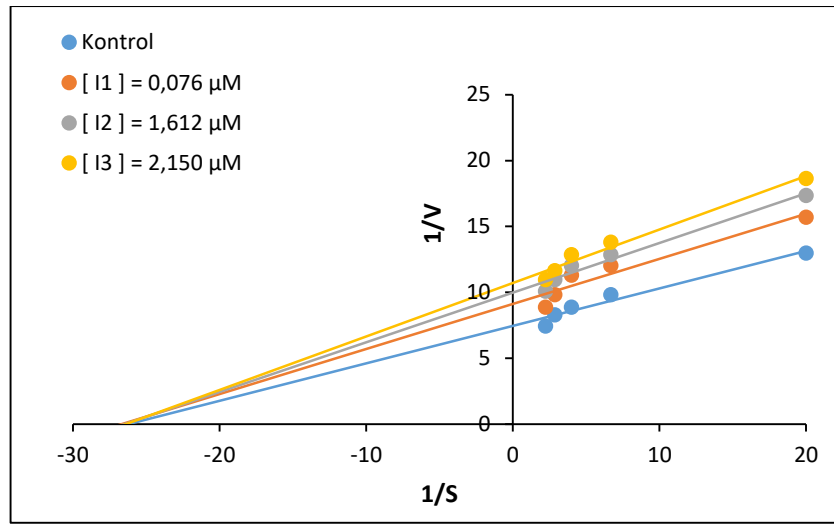
Şekil 47. AR enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan **2f** bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği



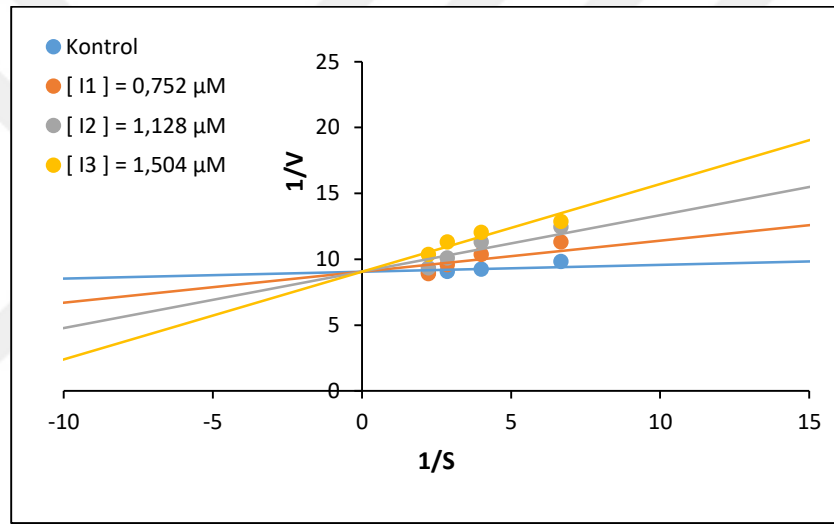
Şekil 48. AR enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan **2g** bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği



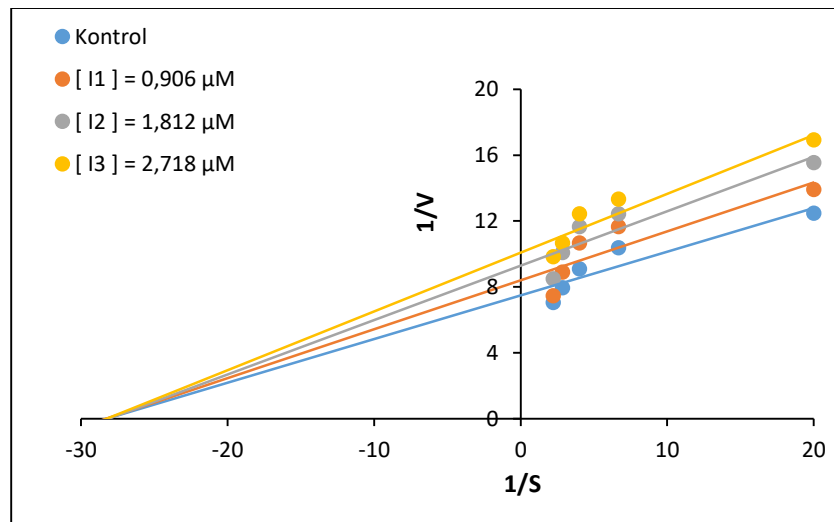
Şekil 49. SDH enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan **2a** bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği



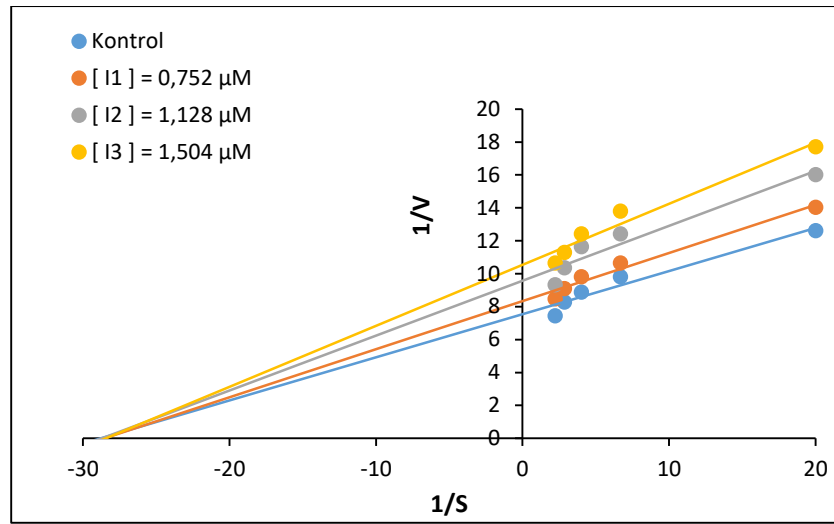
Şekil 50. SDH enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan **2b** bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği



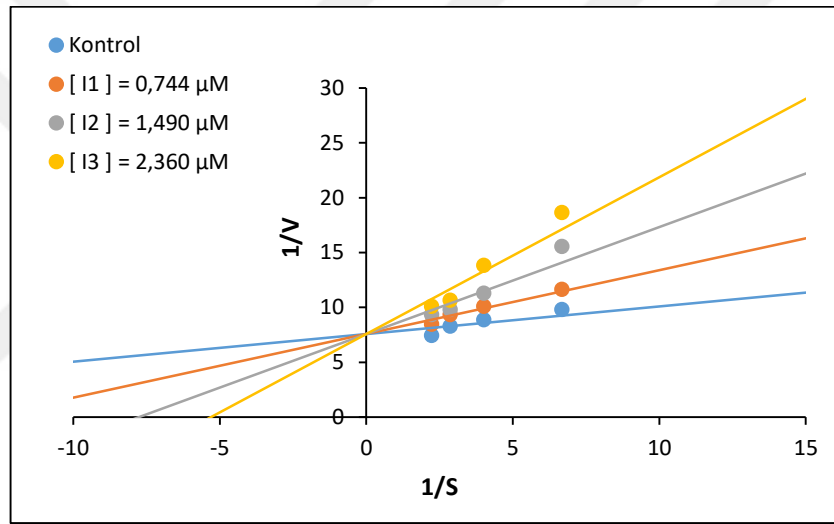
Şekil 51. SDH enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan **2c** bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği



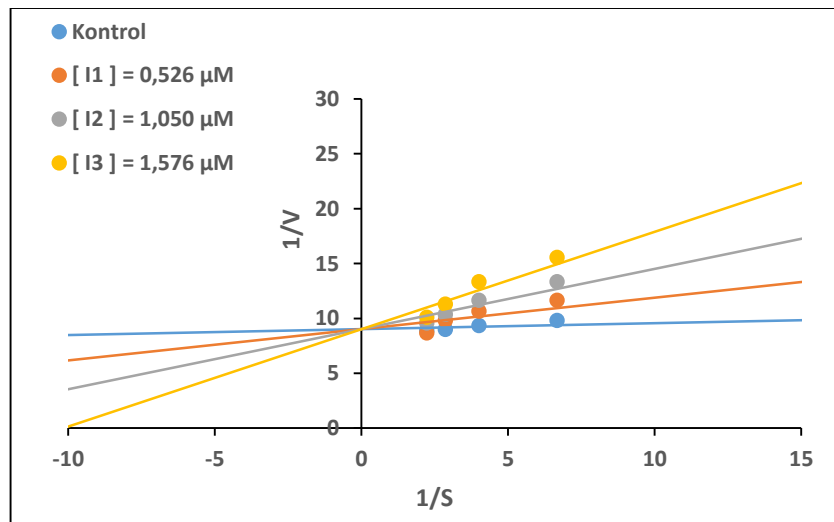
Şekil 52. SDH enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan **2d** bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği



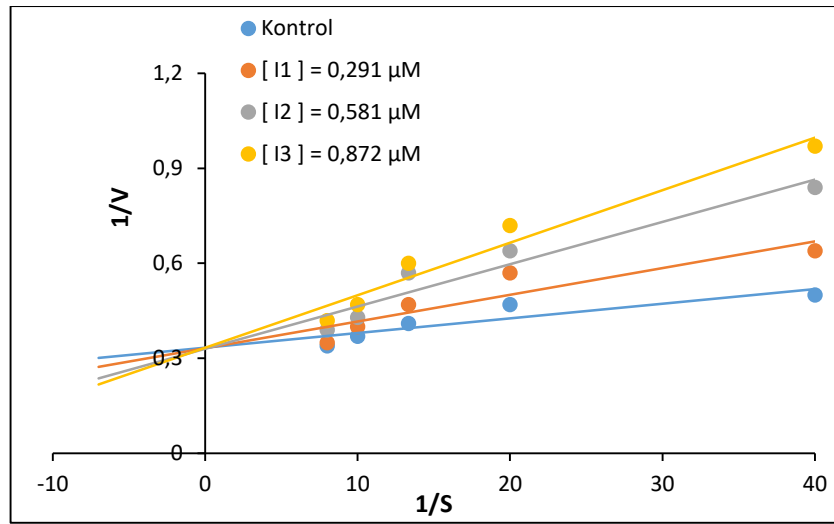
Şekil 53. SDH enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan **2e** bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği



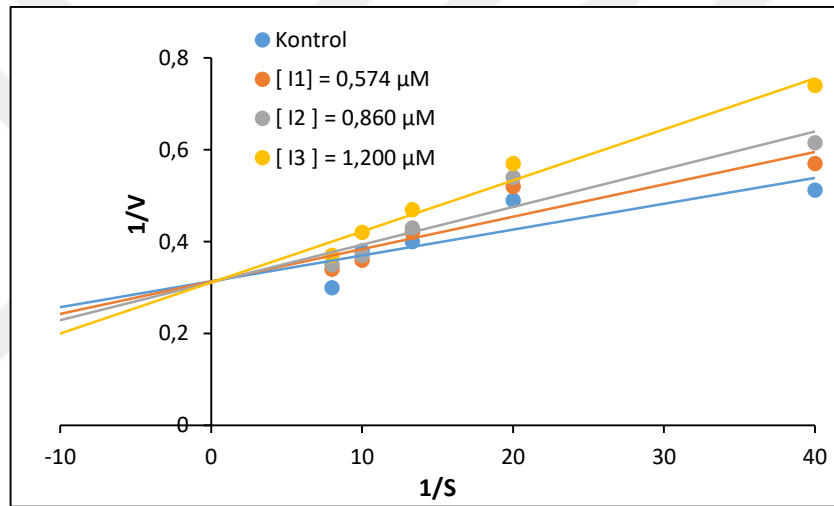
Şekil 54. SDH enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan **2f** bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği



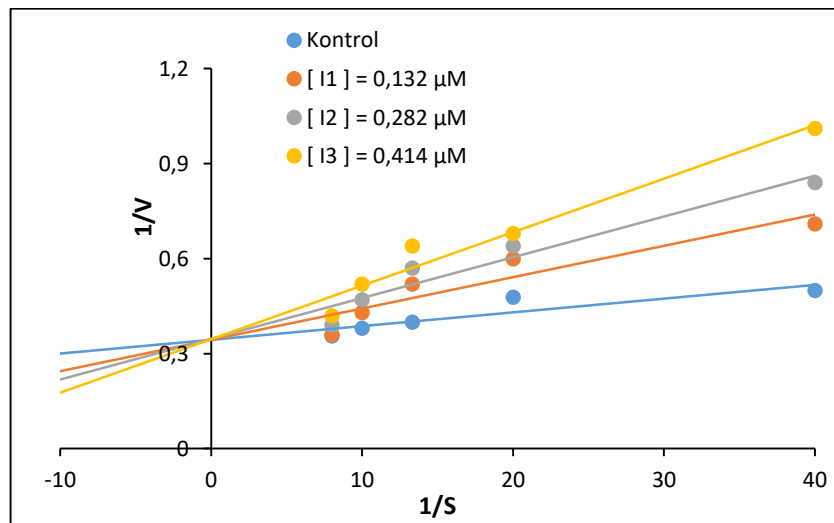
Şekil 55. SDH enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan **2g** bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği



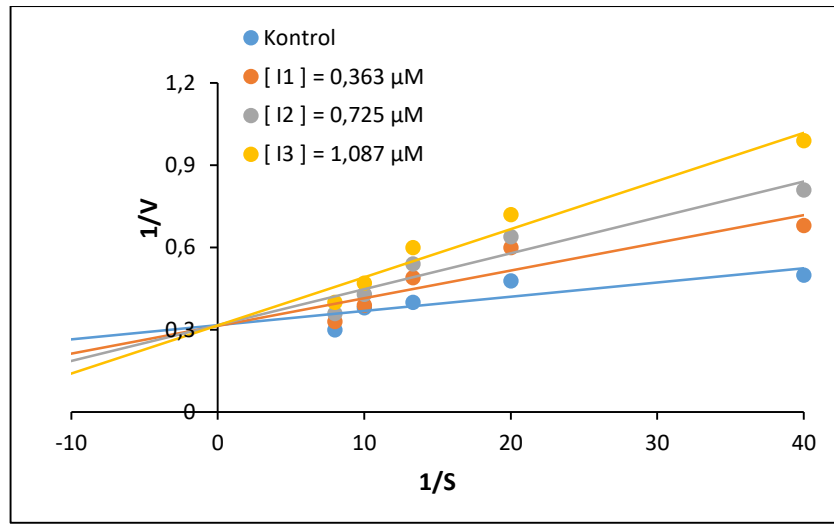
Şekil 56. α -gly enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan **2a** bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği



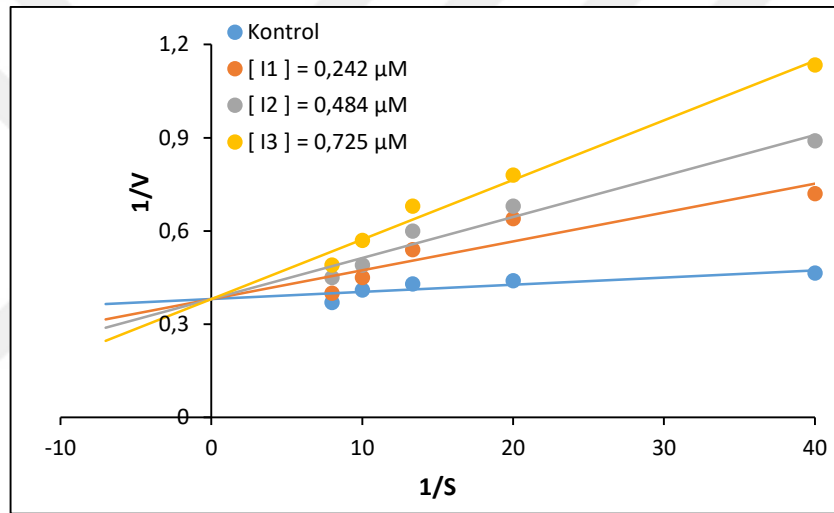
Şekil 57. α -gly enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan **2b** bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği



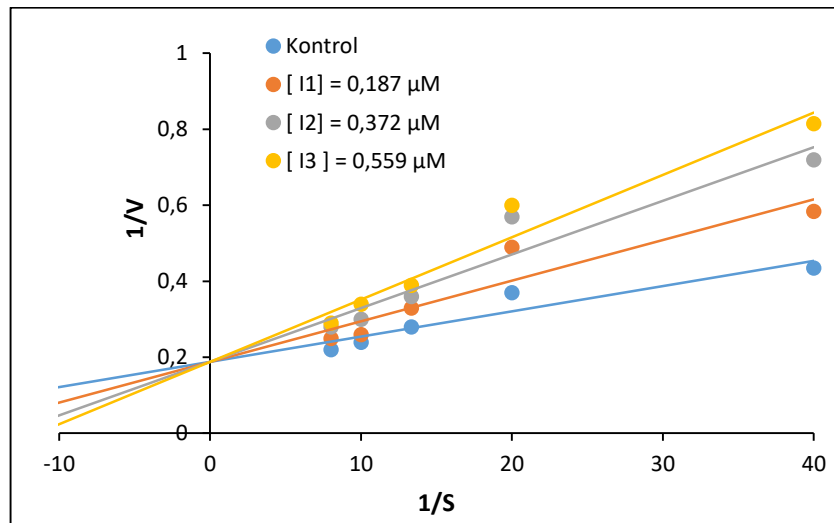
Şekil 58. α -gly enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan **2c** bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği



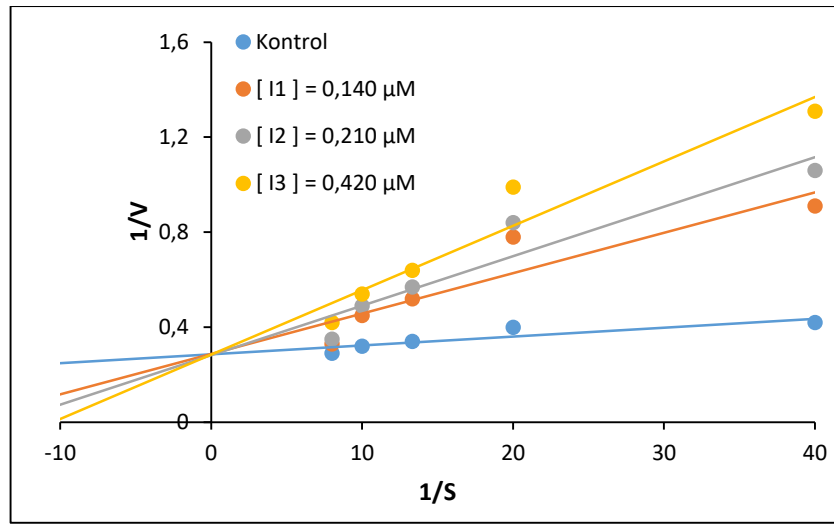
Şekil 59. α -gly enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan **2d** bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği



Şekil 60. α -gly enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan **2e** bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği



Şekil 61. α -gly enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan **2f** bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği



Şekil 62. α -gly enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi araştırılan **2g** bileşiğinin Lineweaver-Burk grafiği

Tablo 6. AR enzim Lineweaver-Burk ve % Aktivite-[I] IC_{50} Değerleri, K_i Sabitleri ve İnhibisyon Türleri

İnhibitör	IC_{50} (μM)	K_i (μM)	İnh Türleri
2a	0,851	$2,194 \pm 0,405$	Yarışmasız
2b	0,546	$0,927 \pm 0,181$	Yarışmasız
2c	0,394	$0,200 \pm 0,024$	Yarışmalı
2d	0,746	$1,407 \pm 0,240$	Yarışmasız
2e	0,649	$1,270 \pm 0,300$	Yarışmasız
2f	0,536	$0,898 \pm 0,141$	Yarışmasız
2g	0,422	$0,844 \pm 0,048$	Yarışmasız

Tablo 7. SDH Enzim Lineweaver-Burk ve % Aktivite-[I] IC_{50} Değerleri, K_i Sabitleri ve İnhibisyon Türleri

İnhibitör	IC_{50} (μM)	K_i (μM)	İnh Türleri
2a	1,986	$5,033 \pm 0,979$	Yarışmasız
2b	1,728	$4,860 \pm 0,086$	Yarışmasız
2c	1,265	$0,247 \pm 0,014$	Yarışmalı
2d	2,172	$7,040 \pm 0,625$	Yarışmasız
2e	1,604	$4,850 \pm 1,230$	Yarışmasız
2f	1,540	$0,530 \pm 0,034$	Yarışmalı
2g	1,053	$0,114 \pm 0,010$	Yarışmalı

Tablo 8. α -gly Enzim Lineweaver-Burk ve % Aktivite-[I] IC₅₀ Değerleri, K_i Sabitleri ve İnhibisyon Türleri

İnhibitör	IC ₅₀ (μM)	K _i (μM)	İnh Türleri
2a	0,597	0,327±0,025	Yarışmalı
2b	0,870	1,050±0,171	Yarışmalı
2c	0,302	0,129±0,024	Yarışmalı
2d	0,802	0,438±0,053	Yarışmalı
2e	0,490	0,093±0,012	Yarışmalı
2f	0,384	0,335±0,038	Yarışmalı
2g	0,265	0,055±0,010	Yarışmalı

TARTIŞMA ve SONUÇ

Diabetes mellitus, dünyada en çok ölüm sebebi olarak bilinen ve tedavisi için oldukça fazla çalışma bulunan bir hastalık türüdür. Günümüzdeki araştırmalar ve mevcut tedavi şekillerine dayanarak, bu alanda bazı yeni ve gelecek vadeden yaklaşımlar kapsamlı bir şekilde tartışılmaktadır. Bu çalışma her geçen gün yapılan çalışmaların ışığında dizayn edilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız önceden sentezlenmiş ama enzim inhibisyonu üzerine etkisi çalışılmamış bileşiklerin birçok türevi bulunmakla beraber, diyabet ile ilişkisi bilinmediğinden çalışmamızın odak noktası haline gelmiştir.

AR diyabetik komplikasyonlara dahil olduğu kavramının gelişimi, Dr Van Heyningen'in 1959'da şeker kataraktlarında polioller keşfettiği ilk zamandan beri bilinmektedir (Kinoshita 1990). Poliol yolundaki ilk enzim olan AR, glikozu sorbitole indirger ve daha sonra SDH ile fruktoza dönüştürür (Chung *et al.* 2003). Sonuç olarak diyabetik komplikasyonların önlenmesi için yapılan bu diyabetik enzimlerin inhibisyon çalışmalarında AR ve SDH ile çalışmak kaçınılmazdır. Aldoz redüktaz (ALR2) hem poliol yolunun anahtar enzimidir hem de aktivasyonu hiperglisemik koşullar altında, kronik diyabetik komplikasyonların gelişmesine yol açar ve çok önemli normoglisemik bir durum altında bile inflamatuvar ve sitotoksik koşulların destekleyicisidir. Buna göre, mükemmel bir ilaç hedefini temsil eder ve yeni bileşiklerin ifşa edilmesi için büyük bir çaba sarf edilmektedir (Quattrini and Motta 2019).

α -glukozidaz ise büyük karbonhidratları parçalayıp glukozu açığa çıkaran önemli bir enzimdir. Bu bağlamda diyabet hastalarının tedavisi amacıyla polisakkarit moleküllerini hidrolize eden ve bunları monosakkarite dönüştürebilen enzimlerin inhibisyonu çalışmaları önem arz etmektedir (Avcı *et al.* 2019).

Yapılan bu çalışmada AR ve SDH enzimleri koyun böbreğinden saflaştırılmış α -glukozidaz ise ticari olarak elde edilmiştir. AR enzimi çeşitli kromatografik teknikler kullanılarak 2,00 spesifik aktiviteyle 22,78 kat saflaştırılmıştır. SDH enzimi ise 1,59 spesifik aktiviteyle 23,75 kat saflaştırılmıştır. Saflaştırılan bu enzimlerin saflık kontrolü SDS-PAGE ile kontrol edilmiştir. AR ve SDH enzimlerinin molekül kütlesi log M_K - R_f grafiği çizilerek hesaplanmıştır. Grafikten faydalanılarak koyun böbreği AR enziminin molekül kütlesi yaklaşık 38,95 kDa; SDH enziminin molekül kütlesi ise yaklaşık 37,46 kDa olarak hesaplanmıştır.

Önceden sentezlenen açıl tiyoüre türevlerinin inhibisyon etkisi %Aktivite-[I] grafikleri çizilip, eğrinin denkleminde IC_{50} değerleri bulunarak hesaplanmıştır.

AR enzimi için açıl tiyoüre bileşiklerinin IC_{50} değerlerinin etkisi sıralandığında **2c** (IC_{50} : 0,394 μ M) > **2g** (IC_{50} : 0,422 μ M) > **2f** (IC_{50} : 0,536 μ M) > **2b** (IC_{50} : 0,546 μ M) > **2e** (IC_{50} : 0,649 μ M) > **2d** (IC_{50} : 0,746 μ M) > **2a** (IC_{50} : 0,851 μ M) olarak belirlenmiştir. K_i değerlerinin etkisi sıralandığında **2c** (K_i : 0,200 $\pm$ 0,024 μ M) > **2g** (K_i : 0,844 $\pm$ 0,048 μ M) > **2f** (K_i : 0,898 $\pm$ 0,141 μ M) > **2b** (K_i : 0,927 $\pm$ 0,181 μ M) > **2e** (K_i : 1,270 $\pm$ 0,300 μ M) > **2d** (K_i : 1,407 $\pm$ 0,240 μ M) > **2a** (K_i : 2,194 $\pm$ 0,405 μ M) olarak belirlenmiştir **2a** ve **2c** bileşikleri yarışmalı inhibisyon sergilerken diğer bileşikler AR enzimi üzerine yarışmasız inhibisyon etkisi göstermiştir. Sonuçlara bakıldığında AR enzimi üzerine en iyi inhibitör olma özelliğini **2c** maddesi göstermiştir.

SDH enzimi için açıl tiyoüre bileşiklerinin IC_{50} değerlerinin etkisi sıralandığında **2g** (IC_{50} : 1,053 μ M) > **2c** (IC_{50} : 1,265 μ M) > **2f** (IC_{50} : 1,54 μ M) > **2e** (IC_{50} : 1,604 μ M) > **2b** (IC_{50} : 1,728 μ M) > **2a** (IC_{50} : 1,986 μ M) > **2d** (IC_{50} : 2,172 μ M) olarak belirlenmiştir. K_i değerlerinin etkisi sıralandığında **2g** (K_i : 0,114 $\pm$ 0,01 μ M) > **2c** (K_i : 0,247 $\pm$ 0,014 μ M) > **2f** (K_i : 0,53 $\pm$ 0,034 μ M) > **2e** (K_i : 4,85 $\pm$ 1,23 μ M) > **2b** (K_i : 4,86 $\pm$ 0,086 μ M) > **2a** (K_i : 5,033 $\pm$ 0,979 μ M) > **2d** (K_i : 7,04 $\pm$ 0,625 μ M) olarak belirlenmiştir. **2c**, **2f** ve **2g** bileşikleri yarışmalı inhibisyon sergilerken diğer bileşikler AR enzimi üzerine yarışmasız inhibisyon etkisi göstermiştir. Sonuçlara bakıldığında SDH enzimi üzerine en iyi inhibitör olma özelliğini **2g** maddesi göstermiştir.

AR inhibitörlerinin diyabetik komplikasyonları engelleyici veya tedavi edici potansiyeli olduğundan fakat pek çok yan etkisi ve/veya farmasötik profillerinin yetersizliği hastaların kararsız olmasına sebep olmuştur. Literatürde bu enzimlerin aktiviteleri üzerine çeşitli sentez moleküllerin etkileri incelenmiştir. Örneğin, Taslimi ve arkadaşları yaptıkları çalışmada bromofenol türevi bileşiklerin AR, α -amilaz ve α -glukosidaz, enzimleri üzerine etkilerini incelemiştirler. α -amilaz enzimi için IC_{50} değerleri 3,84-29,61nM bulunmuştur. α -glukosidaz için, K_i değerleri 14,44 $\pm$ 0,88–43,53 $\pm$ 9,06 aralığında; AR için, K_i değerleri 1,09 $\pm$ 0,29-0,092 $\pm$ 0,015 μ M aralığında bulunmuştur.

Diğer bir çalışmada Demir ve ark. genistein, pelargonidin, delfinidin klorür, tangeretin ve formononetin AR, α -amilaz ve α -glukosidaz enzimleri üzerine etkilerini incelemiş α -amilaz enzimi için IC_{50} değerleri 601,56-2067,78 nM bulunmuştur. α -glukosidaz için, K_i değerleri 169,25 $\pm$ 27,22-572,88 $\pm$ 106,76 nM aralığında; AR için, K_i değerleri 8,48 $\pm$ 0,56–43,26 $\pm$ 7,63 μ M aralığında belirlemiştirler (Demir *et al.* 2019).

Lin ve arkadaşları yaptıkları çalışmada diyabetik fareler üzerinde çalışarak protokatekuik asidin AR ve SDH enzimlerinin mRNA ifadeleri ve aktiviteleri üzerine etkilerini incelemiştir. Protokatekuik asidin AR ve SDH enzimlerinin ekspresyonunu ve aktivitesini azalttığını belirlemiştir ve bu sebep ile protokatekuik asidin diyabetik komplikasyonların azaltılması ve/veya önlenmesinde faydalı olabileceği sonucuna varmışlardır (Lin *et al.* 2011).

Evcimen N-asetil dehidroalanin türevlerinin, sıçan karaciğer AR enzimi üzerine etkisini incelemiştir. Yapılan deneyler sonucunda N-asetil dehidroalanin türevlerinden en yüksek inhibisyonun h ve b numaralı türevler olduğu ve %19, 56 ve %13, 13 oranında inhibisyon gösterdiğini ortaya koymuştur (Evcimen 2008).

Imran ve ark. AR inhibitörü olarak kumarin bazlı bir dizi tiyosemikarbazon türevi maddeleri sentezlemiştir. N-(2-florofenil)-2-(1-(2-okso-2H-kromen-3-il)etiliden) hidrazinkarbiyotioamid (3n), 2,07 μM IC₅₀ değeri ile AR'nin en etkili inhibitörü olduğunu bildirmiştir (Imran *et al.* 2021).

Xie ve arkadaşları Swertia cinsinden tipik bileşenlerin aldoz redüktazına karşı inhibitör etkisi incelenmiştir ve bunun in vivo böbrek koruyucu kabiliyetini ve altında yatan mekanizmayı araştırmak için db/db fare modelinde çalışmalarını yürütmüşler. Demetilbellidifolinin (DMB), AR'nin aktif bölgesini stabilize ederek $1,9 \pm 0,16 \mu\text{M}$ IC₅₀ ile AR'ye karşı en güçlü inhibitör aktiviteyi gösterdiğini bildirmiştir. In vivo deneyde ise DMB'nin kan şekeri ve albüminüri seviyesini önemli ölçüde azaltabileceğini ve oksidatif stres tepkisini hafifletebileceğini doğrulamışlardır. Bu arada histopatolojik inceleme, db/db farelerde böbrek hasarının DMB ile tedaviden sonra önemli ölçüde iyileştiğini de göstermişlerdir. Daha fazla mekanizma çalışması, DMB'nin poliol yolu ürünlerinden biri olan sorbitol birikimini önleyebileceğini göstermiştir. Ayrıca DMB, Nephren ve Podocin ekspresyonunu yukarı doğru düzenleyerek podosit yapısının bütünlüğünü koruyabilir ve poliol yolunda AR, Collagen IV ve TGF- β 1 ekspresyonunu inhibe ederek renal koruyucu etkilerini gösterdiğini bildirmiştir (Xie *et al.* 2021).

Shehzad ve arkadaşları yaptıkları çalışmada adamantil-tiyosemikarbazon türevlerini sentezleyerek aldehit redüktaz (ALR1) ve AR enzimleri üzerine etkilerini incelemiştir. Fenil (3a), 2-metilfenil (3g) ve 2,6-dimetilfenil (3m) içeren bileşikler, sorbinil ile karşılaştırıldığında sırasıyla $3,99 \pm 0,38$, $3,55 \pm 0,26$ ve $1,37 \pm 0,92 \mu\text{M}$ IC₅₀ değerleri ile en güçlü AR inhibitörleri olarak tanımlanmıştır. Bileşikler 3a, 3g ve 3m'nin sırasıyla $7,75 \pm 0,28$, $7,26 \pm 0,39$ ve $7,04 \pm 2,23 \mu\text{M}$ IC₅₀ değeri ile ALR1'i inhibe ettiğini bildirmişlerdir (Shehzad *et al.* 2019).

Wang ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada, 24 Peru demlenmiş çay bitkisinin antioksidan ve aldoz redüktaz inhibitör aktiviteleri araştırılmıştır. *Phoradendron* sp. aldoz

redüktaz (IC_{50} , $1,09 \pm 0,06 \mu\text{g/mL}$) ve önemli antioksidan (DPPH'nin IC_{50} 'si, $58,36 \pm 1,65 \mu\text{g/mL}$; ABTS'nin IC_{50} 'si, $9,91 \pm 0,43 \mu\text{g/mL}$) en yüksek inhibisyonu göstermiştir. Klorojenik asit, 3,5-di-O-kafeoilkinik asit ve 1,3,5-tri-O-kafeoilkinik asit'i, antioksidanlar ve aldoz redüktaz inhibitörleri olarak tanımlamışlardır; apigenin'i antioksidan olarak tanımlamışlardır. Son olarak, *Phoradendron* sp. ve onun aldoz redüktaz inhibitörleri ayrıca hücrel toksisite olmaksızın doza bağlı bir anti-inflamatuar etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu sonuçlar *Phoradendron* sp. bir antioksidan, aldoz redüktaz inhibitörü ve anti-inflamatuar ajan olarak güçlü bir fonksiyonel gıda bileşeni olabileceğini ortaya koymuşlardır (Wang *et al.* 2017).

Yapraklı sebzelerin poliol yolu enzimleri olan aldoz redüktaz ve sorbitol dehidrogenaz aktiviteleri üzerindeki inhibitör etkileri araştırılmıştır. Afrika patlıcanı (*Solanum macrocarpon* L), acı yaprak (*Vernonia amygdalina* Del.), oluklu balkabağı (*Telfairia occidentalis* Hook.) ve karanfil fesleğen yaprağının (*Ocimum gratissimum* L) sulu ekstraktları substratlar (glukoz ve sorbitol) ile inkübe edilmiş ve enzimlerin inhibisyon yüzdesi spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Düşük IC_{50} değeri nedeniyle, her iki enzimin kinetiğini değerlendirmek için acı yaprağın sulu özü kullanılmıştır. Çalışmada Afrika patlıcanı hariç, tüm bitkiler sorbitol dehidrogenazın aldoz redüktazdan daha güçlü inhibisyonu sergilemiştir. *V. amygdalina*, aldoz redüktaz ($78,03 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) ve sorbitol dehidrogenaz ($22,17 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) için en düşük IC_{50} 'yi sergilediğini bildirmişler. *V. amygdalina* aldoz redüktaz ve sorbitol dehidrogenazı sırasıyla rekabetçi olmayan ve karışık rekabetçi olmayan bir şekilde inhibe ettiği bildirilmiştir. *V. amygdalina* özünün, poliol yolu enzimleri üzerine güçlü inhibisyon sergilediği bildirilmiştir (Kazeem *et al.* 2021).

α -Gly inhibitörleri ince bağırsakta bu enzimin inhibisyonunu sağlayarak karbonhidrat emilimlerini geciktirmektedirler. Akarboz, miglitol ve vogliboz bu grupta yer alan ilaçlardır. Türkiye'de sadece akarboz ilacı mevcuttur. Her ana yemeğin başında içilerek veya çiğnenerek kullanılır. Açlık plazma glukozunda 20-30 mg/dl, A1C'de %0,5-0,7 azalma yapmaktadırlar. Tokluk hiperglisemi tedavisinde etkilidir. Yüzde 20 oranında gaz, şişkinlik, abdominal ağrı ve diyare gibi gastrointestinal yan etkilere sebep olabilmektedir. Bu inhibitör grubu ilaçların gaz ve diyare yan etkilerini azaltmak için tedaviye düşük dozda başlayıp yavaş yavaş verilen dozun artırılması önerilmektedir (Ayvaz and Kan 2010).

Yaptığımız bu tez çalışmasında, α -Gly enzimi üzerine de açıl tiyoüre bileşiklerinin etkileri incelenmiştir. α -Gly enzimi için açıl tiyoüre bileşiklerinin IC_{50} değerlerinin etkisi sıralandığında **2g** (IC_{50} : $0,265 \mu\text{M}$) > **2c** (IC_{50} : $0,302 \mu\text{M}$) > **2f** (IC_{50} : $0,384 \mu\text{M}$) > **2e** (IC_{50} : $0,490 \mu\text{M}$) > **2a** (IC_{50} : $0,597 \mu\text{M}$) > **2d** (IC_{50} : $0,802 \mu\text{M}$) > **2b** (IC_{50} : $0,870 \mu\text{M}$) olarak bildirilmiştir. K_i değerlerinin etkisi sıralandığında **2g** (K_i $0,055 \pm 0,01 \mu\text{M}$) > **2e** (K_i : $0,093 \pm$

0,012 μ M) > **2c** (K_i : 0,129 $\pm$ 0,024 μ M) > **2a** (K_i : 0,327 $\pm$ 0,025 μ M) > **2f** (K_i : 0,335 $\pm$ 0,038 μ M) > **2d** (K_i : 0,438 $\pm$ 0,053 μ M) > **2b** (K_i : 1,05 $\pm$ 0,171 μ M) olarak bildirilmiştir. Tüm bileşikler yarışmalı inhibisyon tipi göstermiştir. Sonuçlara bakıldığında α -Gly enzimi üzerine en iyi inhibitör olma özelliğini **2g** maddesi göstermiştir.

Yapılan bir çalışmada bir dizi 2-fenil-1H-benzo[d]imidazol bazlı α -gly inhibitörü sentezlenmiştir. *In vitro* ve *in vivo* olarak bileşiklerin anti-diyabetik potansiyelleri değerlendirilmiş ve türevlerin çoğu, **6a** türevinden daha yüksek etki göstermiş ve en potansiyel inhibitörlerin, sırasıyla 2,09 $\pm$ 0,04 ve 0,71 $\pm$ 0,02 μ M IC₅₀ değerleri ile **15o** ve **22d** bileşikleri olduğu bulunmuştur. Floresan söndürme deneyi, **15o** ve **22d** bileşiklerinin α -gly ile doğrudan bağlanmasını doğrulamıştır. Kinetik çalışmalar, her iki bileşiğin de rekabetçi olmayan inhibitörler olduğunu bildirilmiştir. Hücre canlılığı değerlendirmesi, LO2 hücrelerine karşı **15o** ve **22d**'nin toksisitenin olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca, *in vivo* farmakodinamik çalışmalarda, bileşik **15o** 'nun, pozitif kontrol akarboza kıyasla önemli hipoglisemik aktivite ve gelişmiş oral sakaroz toleransı gösterdiğini ortaya koymuşlardır (Li *et al.* 2021).

Yapılan başka bir çalışmada, *Rhododendron luteum* ve *Rhododendron caucasicum* bitkilerinin antidiyabetik ve antioksidan özellikleri araştırılmış ve DPPH radikal süpürücü aktivitesi ve antidiyabetik aktivitesinin belirlenmesi için α -amilaz ve α -gly enzimleri üzerine inhibisyon etkileri spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. *R. luteum* çiçek özütü, α -amilaz enzimi üzerine IC₅₀ değeri 792,52 $\pm$ 10,49 μ g/mL olarak bulunmuştur. α -gly enzimi üzerine *R. caucasicum* yaprağı ekstresinin IC₅₀ değeri 235,59 $\pm$ 1,27 μ g/ml olarak belirlenmiştir (Özdemir 2021).

Shamim ve arkadaşları İndazol Schiff bazlarını (**1-24**) sentezlenmiş ve yapısal olarak EI-MS, HREI-MS, 1H- ve 13C-NMR gibi farklı spektroskopik tekniklerle karakterize etmiştir. Bu bileşiklerin *in vitro* olarak α -gly enzimi üzerine etkileri incelenmiştir. Standart olarak kullanılan akarboz ile karşılaştırıldığında **1** kodlu bileşiğin (IC₅₀=9,43 $\pm$ 0,1 μ M) etkili olduğu bulunmuştur. Yarışmalı inhibisyon gösteren bu bileşiğin in siliko çalışmalarla analoglar (ligandlar) ile enziminin aktif bölgesi arasındaki etkileşim ayrıntıları gösterilmiştir (Shamim *et al.* 2021).

Xie ve arkadaşları tetrahidrobenzo[b]tiofen-2-il)üre çekirdekli α -glukozidaz inhibitörlerinin keşfi ve optimizasyonu araştırması yapılmıştır. Bu türevlerin çoğu, ana bileşik 5a'ya (26,71 $\pm$ 1,80 μ M'lik IC₅₀) ve pozitif kontrol akarboza (258,53 $\pm$ 1,27 μ M'lik IC₅₀'ye) göre α -glukosidaza karşı artan inhibitör aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Bunlar arasında, 8r (IC₅₀ =

0,59 $\pm$ 0,02 μ M) ve 8s (IC₅₀= 0,65 $\pm$ 0,03 μ M) bileşiklerin güçlü inhibitörler olduğu ve α -amilaza göre seçicilik gösterdiği belirtilmiştir. (Xie *et al.* 2021).

Shareghi ve arkadaşları fenoksimetil-1,2,3-triazol türevlerine bağlı yeni bir hidrazineylidendolinon serisi tasarlayarak sentez yapıp etkili anti-diyabetik ajanlar geliştirmeye yönelik acil ihtiyaç nedeniyle anti- α -glukosidaz aktiviteleri açısından değerlendirmişlerdir. Test edilen 15 bileşiğin arasında, 8 türev (9a, 9b, 9c, 9d, 9e, 9f, 9h ve 9o), pozitif kontrol akarboz ile karşılaştırıldığında üstün güç gösterdiği bildirilmiştir. Özellikle bileşik 9d, inhibitör aktivitede yaklaşık 46 katlık bir gelişme ile en iyi anti- α -glukozidaz aktivitesine sahip olduğu bildirilmiştir ve 9d bileşiğinin, yapılan kinetik çalışmada rekabetçi tipte bir inhibisyon gösterdiği bildirilmiştir (Shareghi *et al.* 2021).

Yu ve arkadaşları, omeprazolün α -gly ve enzimatik olmayan glikasyon üzerindeki inhibitör etkisi ve mekanizmasını, multi-spektroskopik yöntemler ve moleküler yerleştirme yönteminin kullanarak *in vitro* olarak araştırmışlardır. Enzim kinetik sonuçlarına göre, omeprazolün α -gly dönüşümlü ve yarışmasız bir şekilde inhibe ettiği bildirilmiştir. (IC₅₀= 0, 595 $\pm$ 0,003 mM). Çalışmanın sonucunda, α -gly ve enzimatik olmayan glikasyonun diyabet komplikasyonlarının tedavisi için uygulanabilir bir aday olabileceği çıkarımı ortaya atılmıştır (Yu *et al.* 2021).

Sonuç olarak; Yüksek lisans tez çalışması sonucunda aşağıda belirtilen bulgular elde edilmiştir.

- 1- AR enzimi, koyun böbreğinden kromatografik teknikler kullanılarak 0,41 EÜ/mg protein spesifik aktivite, 2,00 verimle 22,78 kat saflaştırılmıştır. SDH enzimide 0,38 EÜ/mg protein spesifik aktivite, 1,59 verimle 23,75 kat saflaştırılmıştır.
- 2- Saflaştırma işlemi sonucunda elde edilen enzimlerin saflık derece kontrolü SDS-PAGE yöntemi ile yapılmıştır. AR enziminin molekül kütlesi yaklaşık 38,95 kDa; SDH enziminin molekül kütlesi ise yaklaşık 37,46 kDa olarak hesaplanmıştır.
- 3- AR, SDH ve α -Gly enzimleri üzerine 7 farklı açıl tiyoüre bileşiklerinin etkileri incelenmiştir. IC₅₀, K_i sabitleri ve inhibisyon türleri belirlenmiştir. AR enzimi için en yüksek inhibisyonu **2c** bileşiği; SDH enzimi için **2g** bileşiği, α -Gly için **2g** bileşiği göstermiştir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre açıl tiyoüre bileşikleri farmakolojik etkileri açısından oldukça önem arz etmekte ve ileri çalışmalar içinde iyi bir potansiyel etki göstermektedir. Ayrıca mevcut çalışmada inhibisyon çalışması, medikal amaçlar için yol gösterici olarak değerlendirilebilmektedir.

KAYNAKLAR

- Acker, K., Alepguist, T., & Bakker, K., 1999. Diyabetik Ayağın Epidemiyolojisi. Diyabetik Ayakta Uluslar Arası Konsensüs. İstanbul: Medikal Yayıncılık, 20-27.
- Afzaal, M., Malik, M. A., & O'Brien, P., 2010. Chemical routes to chalcogenide materials as thin films or particles with critical dimensions with the order of nanometres. *Journal of Materials Chemistry*, 20(20), 4031-4040.
- Alberti, K. G. M. M., Zimmet, P., & DeFronzo, R. A., 1997. International textbook of diabetes mellitus. J. Wiley.
- Alım, Z. and Beydemir, Ş., 2012. Effects of some anti-neoplastic drugs on sheep liver sorbitol Dehydrogenase. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 118(5), 244- 252
- Altunoglu, E. G., 2012. Insulin resistance/Insulin direnci. *Istanbul Medical Journal*, 13(3), 137-141.
- Amano, S., Yamagishi S., Koda Y., Tsuneoka M., Soejima M., Okamoto T., Inagaki Y., Yamada K., Kimura H., 2003. Polymorphisms of sorbitol dehydrogenase gene and susceptibility to diabetic retinopathy. *Med. Hypotheses*, 60, 550–551.
- Anonymous, 2013. International Diabetes Federation. Diabetes Atlas 6th edition, 12-13.
- Antypenko, L., Meyer, F., Kholodniak, O., Sadykova, Z., Jirásková, T., Troianova, A., ... & Steffens, K. G., 2019. Novel acyl thiourea derivatives: Synthesis, antifungal activity, gene toxicity, drug-like and molecular docking screening. *Archiv der Pharmazie*, 352(2), 1800275.
- Askwith, T., Zeng, W., Eggo, M. C., & Stevens, M. J., 2009. Oxidative stress and dysregulation of the taurine transporter in high-glucose-exposed human Schwann cells: implications for pathogenesis of diabetic neuropathy. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 297(3), E620-E628.
- Aslan, H.E., 2015. Koyun Karaciğerinden Aldoz Redüktaz Ve Sorbitol Dehidrogenaz Enzimlerinin Saflaştırılması Ve Bazı Fenolik Asitlerin Enzim Aktivitesi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü,Erzurum.
- Atiş, M., Karipcin, F., Sarıboğa, B., Taş, M., & Çelik, H., 2012. Structural, antimicrobial and computational characterization of 1-benzoyl-3-(5-chloro-2-hydroxyphenyl) thiourea. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 98, 290-301.
- Avcı, D., Başoğlu, A., Tamer, Ö., Sönmez, F., & Atalay, Y., 2019. Yeni 6-metilpiridin-2-karboksilik Asit İçeren Karışık Liganlı Farklı Metal Komplekslerin Sentezi, Yapılarının Detaylı Analizi ve α -Glukozidaz Enzim İnhibisyonunun in vitro İncelenmesi.
- Ayvaz, G., Kan E., 2010. Tip 2 Diabetes Mellitus Tedavisinde Oral Antidiyabetik İlaçlar Tip 2 Diabetes Mellitus Tedavisi. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, http://eczaakademi.org/images/upld2/ecza_akademi/makale/20110325013320diabet_mellitus_tedavisi.pdf-30.11.2021-.
- Aziz, H., Saeed, A., Khan, M. A., Afridi, S., & Jabeen, F., 2021. Synthesis, characterization, antimicrobial, antioxidant and computational evaluation of N-acyl-morpholine-4-carbothioamides. *Molecular diversity*, 25(2), 763-776.

- Aziz, H., Saeed, A., Khan, M. A., Afridi, S., Jabeen, F., & Hashim, M., 2020. Novel N-acyl-1H-imidazole-1-carbothioamides: Design, synthesis, biological and computational studies. *Chemistry & biodiversity*, 17(3), e1900509.
- Baba, S. P., Zhang, D., Singh, M., Dassanayaka, S., Xie, Z., Jagatheesan, G., ... & Bhatnagar, A., 2018. Deficiency of aldose reductase exacerbates early pressure overload-induced cardiac dysfunction and autophagy in mice. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 118, 183-192.
- Bağrıaçık, N., İpbüker, A., Görpe, U., 2003. Post-Prandial Hipergliseminin Önemi ve Tedavisi. *Diabet ve Obezite Eğitim Kursu Notları, İçinde: Bağrıaçık N (editör). İstanbul*, 25-28.
- Bairoch A., 2000. "The ENZYME database in 2000" (PDF). *Nucleic Acids Res. Cilt 28. ss. 304-305. doi:10.1093/nar/28.1.304. PMID 10592255. 1 Haziran 2011 tarihinde kaynağından (PDF) arşivlendi. Erişim tarihi: 23 Eylül 2008.*
- Bander Jagt, D. L., Kolb, N. S., bander Jagt, T. J., Chino, J., Martinez, F. J., Hunsaker, L. A., & Royer, R. E., 1995. Substrate specificity of human aldose reductase: identification of 4-hydroxynonenal as an endogenous substrate. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1249(2), 117-126.
- Beyer, T. A., And Hutson, N. J., 1986. Introduction: evidence for the role of the polyol pathway in the pathophysiology of diabetic complications. *Metabolism* 35, 1–31.
- Bhatnagar, A., And Srivastava, S. K., 1992. Aldose reductase: congenial and injurious profiles of an enigmatic enzyme. *Biochem. Med. Metab. Biol.* 48, 91–121.
- Bliss M., 1993 The history of insulin *Diabetes Care*.;16: Suppl 3:4-7.
- Bohren, K. M., Brownlee, J. M., Milne, C. A., Gabbaya, K. H., and Harrison, D. H. T., 2005. The structure of Apo R268A human aldose reductase: Hinges and latches that control the kinetic mechanism. *Biochimica et Biophysica Acta*, 201-212.
- Boyle, J. P., Honeycutt, A. A., Narayan, K. V., Hoerger, T. J., Geiss, L. S., Chen, H., & Thompson, T. J., 2001. Projection of diabetes burden through 2050: impact of changing demography and disease prevalence in the US. *Diabetes care*, 24(11), 1936-1940.
- Braunvald, E., Fauci, A. S., Kasper, D. L., Hauser, S. L., Longo, D. L. and Jameson, J. L., 2004. Diabetes mellitus. *Harrison İç Hastalıkları Prensipleri*, 15. Edisyon. Çev. Ed: Sağlık, Y. Nobel Tıp Kitabevleri, 2; 2109-2138.
- Breton, M. D., Patek, S. D., Lv, D., Schertz, E., Robic, J., Pinnata, J., ... & Anderson, S. M., 2018. Continuous glucose monitoring and insulin informed advisory system with automated titration and dosing of insulin reduces glucose variability in type 1 diabetes mellitus. *Diabetes technology & therapeutics*, 20(8), 531-540.
- Brownlee, M., 2001. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414(6865), 813-820.
- Bruce, J. C., Revaprasadu, N., & Koch, K. R., 2007. Cadmium (II) complexes of N, N-diethyl-N'-benzoylthio (seleno) urea as single-source precursors for the preparation of CdS and CdSe nanoparticles. *New Journal of Chemistry*, 31(9), 1647-1653.
- Cameron, N.E., Cotter, M., Basso, M., Hohman, 1997. *T.C. Diabetologia* 40, 271.
- Cardenas, M. L., Cornish-Bowden, A., And Ureta, T., 1998 Evolution and regulatory role of the hexokinases. *Biochim. Biophys. Acta* 1401, 242–264.
- Champe, P.C. and Harvey, R.A., 1997. *Biochemistry*

- Chatterjee, S., Khunti, K., & Davies, M. J., 2017. Type 2 diabetes. *The Lancet*, 389(10085), 2239-2251.
- Cheng H. M. and Gonzalez R. G., 1986 The effect of high glucose and oxidative stress on lens metabolism, aldose re- ductase and senile cataractogenesis. *Metabolism* 35: 10 – 14
- Cho, N., Shaw, J. E., Karuranga, S., Huang, Y. D., da Rocha Fernandes, J. D., Ohlrogge, A. W., & Malanda, B. 2018. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes research and clinical practice*, 138, 271-281.
- Chu-Moyer, M. Y., Ballinger W. E., Beebe D. A., Berger R., Couthier J. B., Day W. W., Li J., Mylari B. L., Oates P. J., Weekly R. M., 2002. Orally-effective, lon-acting sorbitol dehydrogenase inhibitors:synthesis, structure-activity relationships, and in vivo evaluations of novel heterocycle-substituted piperazine-pyrimidines. *J. Med. Chem.* 45, 511-528
- Chung, S. S., Ho, E. C., Lam, K. S., & Chung, S. K., 2003. Contribution of polyol pathway to diabetes-induced oxidative stress. *Journal of the American Society of Nephrology*, 14(suppl 3), S233-S236.
- Costantino, L.; Rastelli, G.; Vianello, P.; Cignarella, G.; Barlocco, D., 1999. Diabetes complications and their potential prevention: aldose reductase inhibition and other approaches. *Med. Res. Rev.*, 19(1), 3.
- Costantino, L., Rastelli, G., Vianello, P., Cignarella, G., & Barlocco, D., 1999. Diabetes complications and their potential prevention: aldose reductase inhibition and other approaches. *Medicinal research reviews*, 19(1), 3-23.
- Cunha, S., Macedo, F. C., Costa, G. A., Rodrigues, M. T., Verde, R. B., de Souza Neta, L. C., ... & Sá, F. P., 2007. Antimicrobial activity and structural study of disubstituted thiourea derivatives. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, 138(5), 511-516.
- Çağlayan, C., Demir, Y., Küçükler, S., Taşlımı, P., Kandemir, FM, & Gülçin, İ., 2019. Sıçanlarda sodyum arsenit kaynaklı farklı organ toksisitesi üzerine hesperidin'in antidiyabetik ve antikolinerjik potansiyeller olarak metabolik enzimler üzerindeki etkileri: Biyokimyasal bir yaklaşım. *Gıda biyokimyası dergisi* , 43 (2), e12720.
- Çöleri, A., 2007. Bazı Termofilik Bacillus Türlerinin Termostabil Alfa- Glukozidaz Üretim Kapasiteleri ve Enzimlerin Kısmi Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara Üniversitesi.
- Damcı, T., 1999-2000. Tip 2 Diyabette Primer ve Sekonder Koruma. *Türk Diyabet Yıllığı*, 171 174.
- De la Fuente, J. A., & Manzanaro, S., 2003. Aldose reductase inhibitors from natural sources. *Natural Product Communications*, 20(2), 243–251.
- Demir, Y., & Beydemir, Ş., 2015. Purification, refolding, and characterization of recombinant human paraoxonase-1. *Turkish journal of chemistry*, 39(4), 764-776.
- Demir, Y., Durmaz, L., Taslimi, P., & Gulçin, İ., 2019. Antidiabetic properties of dietary phenolic compounds: Inhibition effects on α -amylase, aldose reductase, and α -glycosidase. *Biotechnology and applied biochemistry*, 66(5), 781-786.
- Demir, Y., Özaslan, M. S., Duran, H. E., Küfrevioğlu, Ö. İ., & Beydemir, Ş., 2019. Inhibition effects of quinones on aldose reductase: Antidiabetic properties. *Environmental toxicology and pharmacology*, 70, 103195.
- Demir, Y., Taslimi, P., Koçyiğit, Ü. M., Akkuş, M., Özaslan, M. S., Duran, H. E., ... & Beydemir, Ş., 2020. Determination of the inhibition profiles of pyrazolyl-thiazole derivatives

- against aldose reductase and α -glycosidase and molecular docking studies. *Archiv der pharmazie*, 353(12), 2000118.
- Demir, Y., Taslimi, P., Ozaslan, M. S., Oztaskin, N., Çetinkaya, Y., Gulçin, İ., ... & Goksu, S. , 2018. Antidiabetic potential: In vitro inhibition effects of bromophenol and diarylmethanones derivatives on metabolic enzymes. *Archiv der pharmazie*, 351(12), 1800263.
- Devlin, T.M., 2002. *Biochemistry with clinical correlations*. Kanada.
- Diaz-Valencia, P. A., Bougnères, P., & Valleron, A. J., 2015. Global epidemiology of type 1 diabetes in young adults and adults: a systematic review. *BMC public health*, 15(1), 1-15.
- Dinççağ, N., 2004. Diyabet Önlenebilir mi. *Galenos Tıp Dergisi* , 7,37-43.
- Dodson, G., & Steiner, D., 1998. The role of assembly in insulin's biosynthesis. *Current opinion in structural biology*, 8(2), 189-194.
- Donkin, S. S., Bertics S. J., Armentano L. E., 1997. Chronic and transitional regulation of gluconeogenesis and glyconeogenesis by insulin and glucagon in neonatal calf hepatocytes. *J Anim Sci*. 75(11), 3082.
- Duan, L. P., Xue, J., Xu, L. L., & Zhang, H. B., 2010. Synthesis 1-acyl-3-(2'-aminophenyl) thioureas as anti-intestinal nematode prodrugs. *Molecules*, 15(10), 6941-6947.
- Duan, L. P.; Xue, J.; Xu, L. L.; Zhang, H. B. *Molecules* 2010, 15, 6941
- Eklund, H., Horjales, E., Joernvall, H., Braenden, C. I., & Jeffery, J., 1985. Molecular aspects of functional differences between alcohol and sorbitol dehydrogenases. *Biochemistry*, 24(27), 8005-8012.
- Eroğlu, N., 2018. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları. *Izmir Democracy University Health Sciences Journal*, 1(2), 6-12.
- Erşen, D., Ülger, M., Mangelinckx, S., Gemili, M., Şahin, E., & Nural, Y., 2017. Yeni 5, 5-difenilpirrolidin N-aroiltiyoüre türevlerinin ve işlevselleştirilmiş bir heksahidro-1 H-pirol [1, 2-c] imidazolün sentezi ve anti (miko) bakteriyel aktivitesi. *Tıbbi Kimya Araştırması* , 26 (9), 2152-2160.
- Evcimen, N. D., 2008. Aldoz redüktaz enzimini inhibe edecek yeni bileşiklerin sentezleri ve biyolojik aktivite çalışmaları.
- Faidallah, H. M.; Khan, K. A.; Asiri, A. M. J. *Chem. Sci. (Bangalore, India)* 2012, 124, 625.
- Gabbay, K. H., 1973. The sorbitol pathway and the complications of diabetes. *New England Journal of Medicine*, 288(16), 831-836.
- Gao, H., & Kawabata, J., 2008. 2-Aminoresorcinol is a potent α -glucosidase inhibitor. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 18(2), 812-815.
- Gemili, M., Nural, Y., Keleş, E., Aydın, B., Seferoğlu, N., Şahin, E., ... & Seferoğlu, Z., 2018. Novel 1, 4-naphthoquinone N-aroilthioureas: Syntheses, crystal structure, anion recognition properties, DFT studies and determination of acid dissociation constants. *Journal of Molecular Liquids*, 269, 920-932.]
- Gemili, M., Sari, H., Ülger, M., Sahin, E., & Nural, Y., 2017. Pt (II) and Ni (II) complexes of octahydropyrrolo [3, 4-c] pyrrole N-benzoylthiourea derivatives: Synthesis, characterization, physical parameters and biological activity. *Inorganica Chimica Acta*, 463, 88-96.
- Goldman, L., 2006. *Cecil's Text Book of Medicine*.

- Gonzales, R. G.; Barnett, P.; Aguayo, J.; Cheng, H.M.; Chylack, L.T.J., 1984. Direct measurement of polyol pathway activity in the ocular lens. *Diabetes*, 33,196.
- Guariguata, L., Whiting, D. R., Hambleton, I., Beagley, J., Linnenkamp, U., & Shaw, J. E., 2014. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes research and clinical practice*, 103(2), 137-149.
- Gündoğan, N., 2003. İnsülinin Keşfinin 80.Yıl Dönümü Nedeni İle Diyabet Hastalığı ve İnsülinin Keşfinin Tarihi: Bir Nobel Ödüllünün Hikayesi, Başkent Üniversitesi, Ankara.
- Biyokimya-I. Karadeniz Teknik Üniversitesi Matbaası, Trabzon, 107- 141,166, 2007.
- Hara, A., Deyashiki, Y., Nakayama, T. And Sawada, H., 1983. Isolation and characterization of multifunctions of aldehyde reductase in chicken kidney. *Eur. J. Biochem.* 133, 207 – 214.
- Henrissat, B., & Bairoch, A., 1993. New families in the classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. *Biochemical journal*, 293(3), 781-788.
- Henrissat, B., Callebaut, I., Fabrega, S., Lehn, P., Mornon, J. P., & Davies, G., 1995. Conserved catalytic machinery and the prediction of a common fold for several families of glycosyl hydrolases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(15), 7090-7094.
- Hers Hg.,1956. The mechanism of the transformation of glucose in fructose in the seminal vesicles. *Biochim Biophys Acta*;22(1):202-3.
- Huang, K. H., Chiou, S. H., Chow, K. C., Lin, T. Y., Chang, H. W., Chiang, I. P., & Lee, M. C., 2010. Overexpression of aldo-keto reductase 1C2 is associated with disease progression in patients with prostatic cancer. *Histopathology*, 57(3), 384-394.
- Huysal, K., 1999. Tip II Diabetlilerde Eritrosit Glutasyon Redüktaz, Glutasyon Peroksidaz, Süperoksit Dismutaz, Katalaz Aktiviteleri, Hemoglobin Glikozilasyonu ve Lipid Peroksidasyonunun İncelenmesi. *Biyokimya Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi.*
- Ignatavicius, D.D., & Workman, L., 2016. *Medical-surgical nursing: Patient- centered collaborative care* (8th ed.). St. Louis, MO: Elsevier.
- Ilardi EA, Vitaku E, Njardarson JT. Data-Mining for Sulfur and Fluorine: An Evaluation of Pharmaceuticals To Reveal Opportunities for Drug Design and Discovery: Miniperspective. *Journal of Medicinal Chemistry*. , 2014 Apr 10;57(7):2832–42.
- Imran, A., Shehzad, M. T., Al Adhami, T., Rahman, K. M., Hussain, D., Alharthy, R. D., ... & Iqbal, J., 2021. Development of coumarin-thiosemicarbazone hybrids as aldose reductase inhibitors: Biological assays, molecular docking, simulation studies and ADME evaluation. *Bioorganic Chemistry*, 115, 105164.
- İmamoğlu, Ş., 2006. *Diabetes Mellitus*, Deomed Medikal Yayıncılık, İstanbul.
- Jedziniak, J. A., Chylack, L. T., Cheng, H. M., Gillis, M. K., Kalustian, A. A., & Tung, W. H., 1981. The sorbitol pathway in the human lens: aldose reductase and polyol dehydrogenase. *Investigative ophthalmology & visual science*, 20(3), 314-326.
- Jeffery, J., Chesters J., Mills C., Sadler P.J., Jörnvall H.,1984. Sorbitol dehydrogenase is a zinc enzyme. *EMBO J.*, 3, 357-360.
- Jeffery, J.; Chesters, S. J.; Millers, C.; Sadler, P. J.; Jörnvall, H. *EMBO J.*, 1984, 3, 357.
- Jeffery, J.; Cummins, L.; Carlquist, M.; Jörnvall, H. *Eur. J. Biochem.*, 1981, 120, 229.
- Jeffery, J., Jörnvall, H., 1983. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80, 901.
- Johansson, K., El-Ahmad, M., Kaiser, C., Jörnvall, H., Eklund, H. and Hoog, J.O., 2001. Crystal structure of sorbitol dehydrogenase. *Chem. Biol. Interact.*, 130, 351- 358.

- Jörnvall, H., von Bahr-Lindström, H., Jany, K.D., Ulmer, W. and Fröschle, M., 1984. Extended superfamily of short alcohol-polyol-sugar dehydrogenases: Structural similarities between glucose and ribitol dehydrogenases, *FEBS Lett.*, 165, 190– 196.
- Kador Pf, Kinoshita Jh, Brittain Dr, Mirrlees Dj, Sennitt Cm, Stribling D., 1986. Purified rat lens aldose reductase. Polyol production in vitro and its inhibition by aldose reductase inhibitors. *Biochem J.*240(1):233-7.
- Kador, P. F., Inoue, J., Secchi, E. F., Lizak, M. J., Rodriguez, L., Mori, K., ... & Sato, S., 1998. Effect of sorbitol dehydrogenase inhibition on sugar cataract formation in galactose-fed and diabetic rats. *Experimental eye research*, 67(2), 203-208.
- Kaneko, M., & Ramasamy, R. (2004). Aldose reductase: a key player in myocardial ischemic injury. *Exercise and sport sciences reviews*, 32(1), 19-23.
- Kato, A., Yasuko, H., Goto, H., Hollinshead, J., Nash, R. J., & Adachi, I., 2009. Inhibitory effect of rhetsinine isolated from *Evodia rutaecarpa* on aldose reductase activity. *Phytomedicine*, 16(2-3), 258-261.
- Kawasaki, Y., Fujii, J., Miyazawa, N., Hoshi, A., Okado, A., Tano, Y. and Taniguchi, N.,1998. Specific detections of the early process of the glycation reaction by fructose and glucose in diabetic rat lens. *FEBS Lett.*, 11, 116-120.
- Kazeem, M. I., Umukoro, O. G., Ogunrinola, O. O., Nafiu, M. O., & Akanji, M. A., 2021. Leafy vegetables inhibit activities of aldose reductase and sorbitol dehydrogenase in vitro. *International Journal of Vegetable Science*, 1-9.
- Keha, E. E., Küfrevioğlu, Ö. İ., 2012. *Biyokimya, Aktif Yayınevi, Erzurum*
- Keha, E., Küfrevioğlu, İ. *Biyokimya*. 10. Baskı, Aktif Yayınevi, İstanbul, 89- 137, 2014.
- Kinoshita, J. H., 1990. A thirty year journey in the polyol pathway. *Experimental eye research*, 50(6), 567-573.
- Koca, I., Özgür, A., Er, M., Gümüş, M., Coşkun, K. A., & Tutar, Y., 2016. Design and synthesis of pyrimidinyl acyl thioureas as novel Hsp90 inhibitors in invasive ductal breast cancer and its bone metastasis. *European journal of medicinal chemistry*, 122, 280-290.
- Koch, K. R., 2001. New chemistry with old ligands: N-alkyl-and N, N-dialkyl-N'-acyl (aroyl) thioureas in co-ordination, analytical and process chemistry of the platinum group metals. *Coordination Chemistry Reviews*, 216, 473-488.
- Kovacikova, L., Prnova, M. S., Majekova, M., Bohac, A., Karasu, C., & Stefek, M., 2021. Development of Novel Indole-Based Bifunctional Aldose Reductase Inhibitors/Antioxidants as Promising Drugs for the Treatment of Diabetic Complications. *Molecules*, 26(10), 2867.
- Kumar, P.A. and Reddy, GB., 2007. Focus on molecules: Aldose reductase. *Experimental Eye Research*, 739-740.
- Lewis, S.L., Dirksen, S.R., Heitkemper, M.M., & Butcher, L., 2014. *Medical- surgical nursing: Assessment and management of clinical problems (9th ed.)*. St. Louis, MO: Elsevier.
- Li, Y., Zhang, J. H., Xie, H. X., Ge, Y. X., Wang, K. M., Song, Z. L., ... & Jiang, C. S., 2021. Discovery of new 2-phenyl-1H-benzo [d] imidazole core-based potent α -glucosidase inhibitors: Synthesis, kinetic study, molecular docking, and in vivo anti-hyperglycemic evaluation. *Bioorganic Chemistry*, 117, 105423.
- Lin, C.Y., Tsai, S.J., Huang, C.S., Yin, M.C., 2011. Antiglycative effects of protocatechuic acid in the kidneys of diabetic mice, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 5117-5124.

- Lin, M. Z., Chai, W. M., Zheng, Y. L., Huang, Q., & Ou-Yang, C., 2019. Inhibitory kinetics and mechanism of rifampicin on α -glucosidase: Insights from spectroscopic and molecular docking analyses. *International journal of biological macromolecules*, 122, 1244-1252.
- Lindstad, R.I., Hermansen L.F., McKinley-Mckee J.S., 1994. Inhibition and activation studies on sheep liver sorbitol dehydrogenase. *Eur. J. Biochem.*, 221, 847-854.
- Lindstad, R.I., Hermansen, L.F. and McKinley-McKee, J.S., 1994. Inhibition and activation studies on sheep liver sorbitol dehydrogenase. *Eur. J. Biochem.*, 15, 847-54.
- Mellitus, D., 2005. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 28(S37), S5-S10.
- Mellitus, G. D., 2003. American diabetes association publication. *Diabetes care*, 26(supplement 1), S103-S105.
- Mooradian, A. D., 2009. Dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*, 5(3), 150-159.
- Morre, D.M., Lenaz, G. and Morre, D.J., 2000. Surface oxidase and oxidative stress propagation inaging, *J. Exp. Biol.*, 203, 1513-1521.
- Müller, J.; Limban, C.; Stadelmann, B.; Missir, A. V.; Chirita, I. C.; Chifiriuc, M. C.; Nitulescu, G. M. *Parasitol. Int.*, 2009, 58, 128.
- Nelson, D. L., Cox, M. M., 2013. *Lehninger principles of biochemistry*, sixth edition (w.h. Freeman publishers), New York.
- Nishikawa T., Edelstein D., Brownlee M., 2000. The missing link, a single unifying mechanism for diabetic complications. *Kidney Int.*, 58(77), 26-30.
- Nural, Y., 2017. 5, 5-Difenilpirolidin N-Aroylthiourea Türevlerinin Dimetil Sülfoksit-Su Hidroorganik Solventinde Asit Ayırma Sabitlerinin Sentezi ve Belirlenmesi. *Türk Kimya Derneği Dergisi Bölüm A: Kimya*, 4 (3), 841-854.
- Nural, Y., Gemili, M., Ulger, M., Sari, H., De Coen, L. M., & Sahin, E., 2018. Synthesis, antimicrobial activity and acid dissociation constants of methyl 5, 5-diphenyl-1-(thiazol-2-yl) pyrrolidine-2-carboxylate derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 28(5), 942-946.
- Obrosova, I.G., Fathallah L., Lang H.J., 1999. Interaction between osmotic and oxidative stres in diabetic precataractous lens. *Biochem. Pharmacol.*, 58, 1945- 1954.
- Olgun, N., 2005. Diyabet Hemşiresinin Diyabette Akut Komplikasyonlara Yaklaşımı. *Diyabet Forumu*, 1, 70-75.
- WHO, 2010. Prevelance of Diabetes. http://www.who.int/diabetes/facts/world_figures/en/ (18.09.2010).
- Otazo-Sánchez, E., Pérez-Marín, L., Estévez-Hernández, O., Rojas-Lima, S., & Alonso-Chamarro, J., 2001. Aroylthioureas: new organic ionophores for heavy-metal ion selective electrodes. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, (11), 2211-2218.
- Özata, M., Yöner, A., 2006. *Endokrinoloji Metabolizma ve Diyabet*. Baskı. İstanbul, İstanbul Medikal Yayıncılık,
- Özdemir, B., 2021. *Rhododendron luteum ve Rhododendron caucasicum bitki ekstraktlarının antidiyabetik ve antioksidan aktivitelerinin araştırılması* (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).

- Pauly, T. A., Ekstrom, J. L., Beebe, D. A., Chrnyk, B., Cunningham, D., Griffor, M., ... & Rath, V. L., 2003. X-ray crystallographic and kinetic studies of human sorbitol dehydrogenase. *Structure*, 11(9), 1071-1085.
- Pauly, T.A., Ekstrom, J.L., Beebe, D.A., Chrnyk, B., Cunningham, D., Griffor, M., Kamath, A., Lee, S.E., Madura, R., Mcguire, D., Subashi, T., Wasilko, D., Watts, P., Mylari, B.L., Oates, P.J., Adams, P.D., Rath, V.L., 2004. Human Sorbitol Dehydrogenase (apo). Protein Databazı (PDB), <https://www.rcsb.org/structure/1PL7> (26.11.2021).
- Petrash, J. M., 2004. All in the family: aldose reductase and closely related aldo-keto reductases. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 61(7), 737-749.
- Petrash, J.M., Akileshwari C., Muthenna P., Nastasijevic B., Joksic, G. and Reddy GB., 2012. Inhibition of Aldose Reductase by *Gentiana lutea* Extracts. *Experimental Diabetes Research*, Vol. 2012, Article ID 147965, 8 pages, doi:10.1155/2012/147965.
- Petrash, J.M., Harter, T.M., Devine, C.S., Olins, P.O., Bhatnagar, A., Liu, S.Q., 1992. Involvement of cysteine residues in catalysis and inhibition of human aldose reductase – site-directed mutagenesis of cys-80, cys-298 and cys-303. *J. Biol. Chem.* 267:24833-24840.
- Piller, K., Daniel, R. M., & Petach, H. H., 1996. Properties and stabilization of an extracellular α -glucosidase from the extremely thermophilic archaebacteria *Thermococcus* strain AN 1: enzyme activity at 130° C. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1292(1), 197-205.
- Puavilai, G., Chanprasertyotin, S., & Sriphrapradaeng, A., 1999. Diagnostic criteria for diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance: 1997 criteria by the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (ADA), 1998 WHO consultation criteria, and 1985 WHO criteria. *Diabetes research and clinical practice*, 44(1), 21-26.
- Puavilai, G., Chanprasertyotin, S., & Sriphrapradaeng, A., 1999. Diagnostic criteria for diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance: 1997 criteria by the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (ADA), 1998 WHO consultation criteria, and 1985 WHO criteria. *Diabetes research and clinical practice*, 44(1), 21-26.
- Quattrini, L. ve La Motta, C., 2019. Aldoz redüktaz inhibitörleri: 2013-günümüz. *Terapötik patentler hakkında uzman görüşü* , 29 (3), 199-213.
- Ronald, A., Codario, MD., 2007. Tip 2 Diyabet, Pre-Diyabet, ve Metabolik Sendrom. *Baskı*.
- Ross, W.M.; Warms, J.V. J. 1966. *Biol. Chem.*, 241, 4848.
- Sacks, D., 2005. Karbonhidratlar. Burtis, C. A, Ashwood, E. R *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*, SACKS, D.,, 427-462.
- Saeed, A., Abbas, N., Rafique, H., Rashid, S., & Hameed, A., 2009. Synthesis, characterization and antibacterial activity of some 1-aroyle-3-aryl thioureas. *chemistry*, 18(5), 152-158.
- Saeed, A., Flörke, U., & Erben, M. F., 2014. A review on the chemistry, coordination, structure and biological properties of 1-(acyl/aroyle)-3-(substituted) thioureas. *Journal of Sulfur Chemistry*, 35(3), 318-355.
- Saeed, A., Mustafa, M. N., Zain-ul-Abideen, M., Shabir, G., Erben, M. F., & Flörke, U., 2019. Current developments in chemistry, coordination, structure and biological aspects of 1-(acyl/aroyle)-3-(substituted) thioureas: advances Continue.... *Journal of Sulfur Chemistry*, 40(3), 312-350.

- Saeed, A., Qamar, R., Fattah, T. A., Flörke, U., & Erben, M. F., 2017. Recent developments in chemistry, coordination, structure and biological aspects of 1-(acyl/aroyl)-3-(substituted) thioureas. *Research on Chemical Intermediates*, 43(5), 3053-3093.
- Saeed, A., Rafique, H., Hameed, A., & Rasheed, S., 2008. Synthesis and antibacterial activity of some new 1-aroyl-3-(substituted-2-benzothiazolyl) thioureas. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 42(4), 191.
- Santos, C. M., Freitas, M., & Fernandes, E. (2018). A comprehensive review on xanthone derivatives as α -glucosidase inhibitors. *European journal of medicinal chemistry*, 157, 1460-1479.
- Satman, I., Yilmaz, T., Sengül, A., Salman, S., Salman, F., Uygur, S., ... & King, H., 2002. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes care*, 25(9), 1551-1556.
- Schmidt, A. M., 2018. Highlighting Diabetes Mellitus: The Epidemic Continues. *ArteriosclerThromb Vasc Biol*, 38(1), e1-e8. doi:10.1161/ATVBAHA.117.310221
- Schmidt, R. E., Dorsey, D. A., Beaudet, L. N., Plurad, S. B., Parvin, C. A., Yarasheski, K. E., ... & Ido, Y., 2001. Inhibition of sorbitol dehydrogenase exacerbates autonomic neuropathy in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 60(12), 1153-1169.
- Semeniuc, R. F., Reamer, T. J., Blitz, J. P., Wheeler, K. A., & Smith, M. D., 2010. Functionalized O-alkyldithiocarbonates: a new class of ligands designed for luminescent heterometallic materials. *Inorganic chemistry*, 49(6), 2624-2629.
- Shamim, S., Khan, K. M., Ullah, N., Mahdavi, M., Faramarzi, M. A., Larijani, B., ... & Perveen, S., 2021. Synthesis, In Vitro, and In Silico Evaluation of Indazole Schiff Bases as Potential α -Glucosidase Inhibitors. *Journal of Molecular Structure*, 130826.
- Shareghi-Boroujeni, D., Iraj, A., Mojtavavi, S., Faramarzi, M. A., Akbarzadeh, T., & Saeedi, M., 2021. Synthesis, in vitro evaluation, and molecular docking studies of novel hydrazineylideneindolinone linked to phenoxymethyl-1, 2, 3-triazole derivatives as potential α -glucosidase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 111, 104869.
- Shehzad, M. T., Hameed, A., Al-Rashida, M., Imran, A., Uroos, M., Asari, A., ... & Iqbal, J., 2019. Exploring antidiabetic potential of adamantyl-thiosemicarbazones via aldose reductase (ALR2) inhibition. *Bioorganic chemistry*, 92, 103244.
- Shoaib, M., Ullah, S. S., Bari, A. U., Tahir, M. N., & Shah, S. W. A., 2014. Acute toxicity, brine shrimp cytotoxic, antioxidant and analgesic activities of synthesized 1-benzoyl-3-methyl thiourea. *Pharmacologyonline*, 3, 91-99.
- Smith, A.D., 1997. *Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology* Oxford University Press. ISBN 0-19-854768-4
- Söyler, M., 2006. Van kedisi eritrositlerinden karbonik anhidraz enziminin (E.C.4.2.1.1.) saflaştırılması ve karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Van.
- Srivastava, S. K., Ramana, K. V. and Bhatnagar, A., 2005. Role of Aldose reductase and oxidative damage in diabetes and the consequent potential for therapeutic options. *Endocrine Reviews*, 26(3); 380–392.
- Stevens, J.D., Bonfil, R., Dulvy, N.K. and Walker, P.A., 2000. The effects of fishing on sharks, rays, and chimaeras (chondrichthyans), and the implications for marine ecosystems. *ICES Journal of Marine Science*, 57 (3), 476–494.
- Süleymanlar, İ., İlçin, G., Biberoğlu, K., Ünal, S., 2003. İç Hastakıkları, Güneş Kitabevi, Ankara

- Şehitoğlu, M.H., 2012. Bazı fenolik doğal bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi ve insan karbonik anhidraz izoenzimleri (hCA-I ve hCA-II) üzerine inhibisyon etkilerinin incelenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum
- Tang, W., Martin, K. A., & Hwa, J., 2012. Aldose reductase, oxidative stress, and diabetic mellitus. *Frontiers in pharmacology*, 3, 87.
- Tanimoto, T., Maekawaa, K., Okadaa, S. and Yabe-Nishimurab, C., 1998., Clinical analysis of aldose reductase for differential diagnosis of the pathogenesis of diabetic complication. *Analytica Chimica Acta*, 365, 285-292.
- Taslimi, P., Aslan, H. E., Demir, Y., Oztaskin, N., Maraş, A., Gulçin, İ., ... & Goksu, S., 2018. Diarylmethanon, bromophenol and diarylmethane compounds: Discovery of potent aldose reductase, α -amylase and α -glycosidase inhibitors as new therapeutic approach in diabetes and functional hyperglycemia. *International journal of biological macromolecules*, 119, 857-863.
- Taslimi, P., Gulçin, İ., 2017. Antidiabetic Potential: In vitro Inhibition Effects of Some Natural Phenolic Compounds on α -Glycosidase and α - Amylase Enzymes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2017, 31, <https://doi.org/10.1002/jbt.21956>.
- Taslimi, P., Gulçin, İ., 2017. Antidiabetic Potential: In vitro Inhibition Effects of Some Natural Phenolic Compounds on α -Glycosidase and α - Amylase Enzymes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2017, 31, <https://doi.org/10.1002/jbt.21956>.
- Tatar S., 2007, Termofil Moderately Halofilik Bacillus sp. Suşlarından Amilaz Enzimi Üretimi ve Endüstriyel Kullanım Olanaklarının Araştırılması, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Tesfamariam, B., 1994. Free radical in diabetic endothelial cell dysfunction. *Free Radic. Biol. Med.*, 16, 383-391.
- Truscheit, E., Frommer, W., Junge, B., Müller, L., Schmidt, D. D., & Wingender, W., 1981. Chemistry and biochemistry of microbial α -glucosidase inhibitors. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 20(9), 744-761.
- Turkes, C., Demir, Y., & Beydemir, S., 2019. Anti-diabetic properties of calcium channel blockers: inhibition effects on aldose reductase enzyme activity. *Applied*
- Türkeş, C., Demir, Y., & Beydemir, Ş., 2019. Anti-diabetic properties of calcium channel blockers: inhibition effects on aldose reductase enzyme activity. *Applied biochemistry and biotechnology*, 189(1), 318-329.
- Van Der Maarel, M. J., Van der Veen, B., Uitdehaag, J. C., Leemhuis, H., & Dijkhuizen, L., 2002. Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. *Journal of biotechnology*, 94(2), 137-155.
- Van Heyningen., 1959. Metabolism of xylose by the lens, 2. Rat lens in vivo and in vitro. *Biochem J.*;73:197-207.
- Vander Jagt, D.L., Stangebye, L.A., Hunsaker, L.A., Eaton, R.P. Sibbitt, W.J., 1988. Purification of aldose reductase from human placenta and stabilization of the inhibitor binding site. *Biochem. Pharmacol.* 37:1051-1056.
- Verrotti A, Prezioso G, Scattoni R, Chiarelli F., 2014. Autonomic Neuropathy in Diabetes Mellitus. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 1(5): 205.
- Wang, Z. Y., Wang, S., Song, X. J., Wang, Y. G., Chin. J., 2005. *Pestic. Sci.*, 7, 282

- Wang, Z., Hwang, S. H., Quispe, Y. N. G., Arce, P. H. G., & Lim, S. S., 2017. Investigation of the antioxidant and aldose reductase inhibitory activities of extracts from Peruvian tea plant infusions. *Food chemistry*, 231, 222-230.
- Whittingham, J.L., Jonassen, I., Havelund, S., Roberts, S.M., Dodson, E.J., Verma, C.S., Wilkinson, A.J., Dodson, G.G., 2005. Protein Structure of Insulin in Human, <https://www.rcsb.org/structure/1UZ9> (26.11.2021)
- Wilson, D., de los Ángeles Arada, M., Alegret, S., & del Valle, M., 2010. Lead (II) ion selective electrodes with PVC membranes based on two bis-thioureas as ionophores: 1, 3-bis (N'-benzoylthioureido) benzene and 1, 3-bis (N'-furoylthioureido) benzene. *Journal of hazardous materials*, 181(1-3), 140-146.
- Wilson, D.K., Bohren, K.M., Gabbay, K.H. and Quiocho, F.A., 1992. An unlikely sugar substrate site in the 1.65 Å structure of the human aldose reductase holoenzyme implicated in diabetic complications. *Science*, 257, 81–84.
- WHO., 2013. Diabetes, complications. Retrieved from <http://www.who.int/diabetes/en/>
- Xie, H. X., Zhang, J., Li, Y., Zhang, J. H., Liu, S. K., Zhang, J., ... & Jiang, C. S., 2021. Novel tetrahydrobenzo [b] thiophen-2-yl) urea derivatives as novel α -glucosidase inhibitors: Synthesis, kinetics study, molecular docking, and in vivo anti-hyperglycemic evaluation. *Bioorganic Chemistry*, 115, 105236.
- Xie, H., Tong, Q., Xiang, Z., Zhou, C., Wan, L. S., & Chen, J., 2021. Demethylbellidifolin, a potential aldose reductase inhibitor ameliorates diabetic nephropathy by regulating the polyol pathway. *Phytomedicine Plus*, 100152.
- Yagihashi S, Mizukami H, Sugimoto K., 2011. Mechanism of diabetic neuropathy: Where are we now and where to go, Vol. 2, *Journal of Diabetes Investigation* p. 18-32.
- You, J.C., Han, G.H., Lee, C.H., Song, D.N., Chung, K.H., 2011. PCT Int. Appl. WO 2011159137 A2 20111222.
- Yu, C., Yu, Z. Y., Wen, Y. T., Chai, W. M., Wang, L. J., & Lin, M. Z., 2021. Omeprazole inhibits α -glucosidase activity and the formation of nonenzymatic glycation products: Activity and mechanism. *Journal of Bioscience and Bioengineering*.
- Ziegler, D., 2004. Polyneuropathy in the diabetic patient—update on pathogenesis and management. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 19(9), 2170-2175.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Bükre Yaren ERTANO
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Medeni Hali:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	İstanbul Küçükçekmece Toki Halkalı Güneşpark Evleri Lisesi
Önlisans:	
Lisans:	Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Atatürk Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi İşletme Bölümü
Yüksek lisans:	Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Ens, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Genetik Bilimdalı
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	İyi
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
-	
İlgi Alanları ve Hobiler	