

İnterferon Beta-1a İlacının Enzim İnhibisyon Etkilerinin İncelenmesi

Lokman DURMAZ^{1*}

ÖZET: Bu araştırmada, interferon beta-1a (IFN β -1a) ilacının enzim inhibisyon etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla IFN β -1a ilacının insan eritrosit karbonik anhidraz izoenzimi I ve II (hCA I ve II) ile asetilkolinesteraz (AChE), bütirilkolinesteraz (BChE) enzimleri üzerine in vitro da enzim analizleriyle enzim inhibisyon etkileri açıklanmıştır. Bununla birlikte Sepharose-4B-L-Tirozin afinite kolon kromatografisi ile hCA I ve II izoenzimleri insan eritrositlerinden saflaştırıldı. Ardından IFN β -1a ilacının hCA I, II izoenzimleri ve AChE, BChE enzimleri üzerine inhibisyon etkileri belirlenmiştir ve IC₅₀ ve K_i değerleri hesaplanmıştır. Bu çalışmada hCA I izoenzimi için IC₅₀ ve K_i değerleri sırasıyla 1.73 μ M ve 0.78 \pm 0.21 μ M olduğu bulunmuştur. Aynı parametreler hCA II izoenzimi için 1.33 μ M ve 1.46 \pm 0.13 μ M olduğu hesaplanmıştır. Enzim ile ilgili yapılan çalışmalarda IC₅₀ ve K_i değerleri AChE enzimi için sırasıyla 13.86 μ M ve 14.47 \pm 4.81 μ M olduğu bulunmuştur. Enzim ile ilgili yapılan çalışmalarda son olarak IC₅₀ ve K_i değerleri BChE enzimi için sırasıyla 18.72 μ M ve 12.80 \pm 4.38 μ M olduğu bulunmuştur. Enzim ile ilgili yapılan çalışmalarda her iki CA izoenzimi için asetazolamit, AChE ve BChE enzimleri için ise Takrin standart olarak kullanılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Asetilkolinesteraz, bütirilkolinesteraz, enzim inhibisyonu, hCA, interferon beta-1a

Investigation of Enzyme Inhibition Effects of Interferon Beta-1a Drug

ABSTRACT: In this study, the enzyme inhibition effects of interferon beta-1a (IFN β -1a) have been investigated. For this purpose, enzyme inhibition effects of IFN β -1a on human erythrocyte carbonic anhydrase isoenzyme I and II (hCA I and II) isoenzymes and acetylcholinesterase (AChE), butyrylcholinesterase (BChE) enzymes have been examined by in vitro analysis. In addition, hCA I and II isoenzymes were purified from human erythrocytes by Sepharose-4B-L-Tyrosine affinity column chromatography. Then, inhibition effects of IFN β -1a on hCA I, II isoenzymes and AChE, BChE enzymes have been determined and IC₅₀ and K_i values have been calculated. In this study, IC₅₀ and K_i values have been found to be 1.73 μ M and 0.78 \pm 0.21 μ M for hCA I isoenzyme, respectively. The same parameters have been calculated as 1.33 μ M and 1.46 \pm 0.13 μ M for the hCA II isoenzyme. In studies on the enzyme, IC₅₀ and K_i values have been found to be 13.86 μ M and 14.47 \pm 4.81 μ M for AChE enzyme, respectively. Finally, in studies on the enzyme, the IC₅₀ and K_i values were found to be 18.72 μ M and 12.80 \pm 4.38 μ M for the BChE enzyme, respectively. In enzyme studies, acetazolamide was used for both CA isoenzymes and Tacrine was used for AChE and BChE enzymes as standard.

Keywords: Acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, enzyme inhibition, hCA, IFN β -1a

¹ Lokman DURMAZ (Orcid ID: 0000-0002-3773-5751), Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Çayırılı Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Çayırılı, Erzincan, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Lokman DURMAZ, e-mail: lokmandurmaz25@gmail.com

GİRİŞ

Nörodejeneratif hastalık (NH), Alzheimer hastalığı (AH), Parkinson hastalığı (PH), Huntington hastalığı (HH), Multiple skleroz (MS) gibi hastalıkların içeren, merkezi sinir sistemi dejenerasyonunun neden olduğu, kronik olarak ilerleyen ve bağışıklığı azaltan hastalıktır. NH, spesifik nöronların birçoğunun işlevlerinin bozulması ve kaybı ile karakterize bir hastalıktır (Nelson ve ark., 2008; Li ve ark., 2017). NH'lerin, tedavisinde ciddi tıbbi sorunlar oluşmaktadır. Bu hastalıkların karmaşık yapısından ve genel metabolizmayı etkilediğinden dolayı tedavide birçok zorluklarla karşılaşılır. Son yıllarda NH'ler ile ilgili araştırmalara bakıldığı zaman terapötik stratejilere ve farklı patojeniklere özgü ilaçlar ortaya çıkmıştır; örneğin AH tedavisinin klinik çalışmalarında bu tür ilaçlar kullanılmıştır. AH, yaşlanmayla birlikte demans, hafıza kaybı, bilişsel azalma ile kendini gösteren en yaygın nörodejeneratif bozukluklardan birisi olarak karakterize edilir (Zhang ve ark., 2016; Li ve ark., 2017).

MS, demiyelinizasyon, enflamasyon iltihaplı hasarı ile karakterize, genç yetişkinlerde görülebilen merkezi sinir sisteminin kronik otoimmün bir hastalığıdır (Paty ve ark., 1999; Mikol ve ark., 2005). MS hastalığının tedavisinde birçok yöntem uygulanmaktadır. Bu yöntemlerden birisi de IFN denilen işlevsel proteinlerin kullanılmasıdır. Bu çalışmada IFN β -1a ilaç tedavisi üzerinde durulacaktır. IFN β -1a, hastalarda 44 mcg dozunda haftada üç kez deri altına enjeksiyonla uygulanır. IFN β -1a, hastalığın ertelenmesinde, atak sayısını azaltmada, yeni lezyonların oluşmasının baskılanmasında oldukça etkilidir. Bu etki, RRMS (Relapsing Remitting MS) hastalarında manyetik rezonans görüntüleme ile gözlemlenmiştir; ancak IFN β -1a tedavisi ile ilgili yan etkiler ise laboratuvarında influenza benzeri semptomlar şeklinde görülmüştür (Walther ve ark., 1999; Mikol ve ark., 2005).

İnterferonlar (IFN'lar) sitokinlerin bir grubu olup virüslere karşı savunmada ilk görevi üstlenirler. IFN'ların viral enfeksiyonlara karşı koruyucu rolleri vardır. IFN ailesi tip I, II ve III, IFN'lardan oluşur. IFN'lar, tümör hücrelerine karşı hücre sel büyümede ve immün yanıtta sayısız ilave fonksiyonlara sahiptir (Platanias ve ark., 2005; McNab ve ark., 2015; Wack ve ark., 2015; Chunga ve ark., 2020). IFN'lar, ilk olarak 1957'de kuvvetli antiviral elemanlar olarak betimlenmiştir. Sitokinler, büyüme ve farklılaşma faktörleri olarak sınıflandırılmıştır. Bunun sonucu olarak IFN'ların salgılanan protein olduğu tespit edilmiştir. IFN'lar sitokin ailesinin bir unsurudur. Ayrıca immün sistemin anahtar molekülü olduğu düşünülmektedir. (Sen ve ark., 1992; Tying ve ark., 1995; Peters ve ark., 1996; van Boxel-Dezaire ve ark., 2006; Rudick ve ark., 2011) çalışmalarında IFN'ların 2 tipi olduğundan bahsedilmiştir. IFN: Tip I (örneğin; IFN α , IFN β , IFN τ , IFN ω) ve tip II (IFN γ). Tip I ve tip II IFN'ların her ikisi de nispeten küçük molekül ağırlığına (~15–25 kDa) ve benzer yapıya sahip, alfa sarmalları ve beta kırmalı yapıları olan, kompakt, düzenli, protein yapısında tek zincirli polipeptitlerdir.

Enzimler, biyokimyasal reaksiyonları hızlandıran ve herhangi bir yan ürün oluşturmayan, %100'lük bir ürün verimi sağlayan, aminoasitlerden oluşan makromoleküllerdir. Enzimler metabolizma için önemlidir ve birçok metabolik enzim vardır. Bunlar: hCA I ve II izoenzimleri ile AChE ve BChE enzimi gibi enzimlerdir.

CA enzimi, karbondioksitin bikarbonat ve H⁺ iyonuna dönüştüren önemli bir metabolik enzimdir. Karbonat liyaz, karbonat dehidrataz enzimleri karbonik anhidraz (CA, E.C 4.2.2.1) olarak da bilinir. Bu enzim CO₂'in HCO₃⁻ iyonuna karşılıklı tersinir olarak dönüşümünü katalizler. CA enzimi, tek ve çok hücreli canlılarda tümör oluşumu, kalsifikasyon, kemik rezorpsiyonu, glikoneogenez, elektrolit sentezi, solunum, asit ve baz dengesi gibi olaylarda etkilidir ve aynı zamanda önemli rol oynar (Gul ve ark.,2016; Ozbey ve ark., 2016; Polat Köse ve Gülçin, 2021; Mahmudov ve ark., 2022).

Bunun yanısıra CA inhibitörlerinin glokom, ülser ve osteoporoz gibi çeşitli hastalıklarda faydalı ve önemli olduğu belirlenmiştir (Erdemir ve ark., 2018; Mahmudov ve ark., 2022). Bu inhibitörlerin en iyi tanınan örnekleri: Asetazolamit, brinzolamit, dorzolamit, tolsultozolamit, diklofenamit, etoksozolamit, zonisamit, metazolamit'tir (Garibov ve ark.,2016; Koksall ve ark., 2019; Mahmudov ve ark., 2022).

AChE enzimi, metabolizmada asetilkolinin hidrolizinde görev alan önemli bir enzimdir. BChE enzimi, metabolizmada bütirilkolinin hidrolizinde görev alan önemli bir enzimdir. AChE (EC 3.1.1.7) ve BChE (EC 3.1.1.8) ismindeki kolinesteraz enzimleri, amiloid protein plaklarına neden olmaktadır. Bu plakları azaltmada kolinesteraz inhibitörleri kullanılmaktadır (Yu ve ark., 2010; Li ve ark., 2017). Asetilkolin (ACh), AChE ve BChE enzimleri tarafından hidroliz edilmektedir.

Bu çalışmada IFN β -1a ilacının hCA I ve II ile AChE, BChE enzimleri üzerine inhibisyon düzeyleri incelenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan IFN β -1a (Rebif) Merck'ten temin edilmiştir. Enzimler ve diğer kimyasallar Sigma-Aldrich GmbH, Sternheim, Germany'den temin edilmiştir. Asetilkolinesteraz yılan balığından (*Electrophorus electricus*) (Sigma-Aldrich) elde edilmiştir. Bütirilkolinesteraz at serumundan (Sigma-Aldrich) elde edilmiştir. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Kan Merkezi'nden taze olarak insan kanı temin edilmiştir. +4°C'de, deneylerde kullanılıncaya kadar korunmuştur. Rebif kullanıma hazır şırıngada deri altına uygulanan, steril enjeksiyonluk çözelti olup, 0.5 mL'de 44 (mcg) mikrogram (12MIU) etkin maddesi olan interferon beta-1a içerir.

CA enzim aktivitesi yöntemi

Her iki hCA izoformu, Sefaroz-4B-L-Tirozin-sülfanilamit afinite kromatografisiyle insan eritrositlerinden saflaştırılmıştır (Durmaz, 2015). Karbonik anhidrazın esteraz aktivitesinde, karbonik anhidraz enzimi substratı olan p-nitrofenilasetatı, p-nitrofenolata dönüşmektedir. para-Nitrofenolat ve para-nitrofenol 348 nm'de aynı absorbansı göstermektedir (Durmaz, 2015). CA aktiviteleri Verpoorte ve arkadaşlarının metoduna göre belirlenmiştir (Verpoorte ve ark., 1967).

Antikolinergik yöntem

AChE ve BChE Ellman ve arkadaşlarının gerçekleştirdikleri metoda göre belirlenmiştir. AChI / BChI (Asetilkolin iyodat / Bütirilkolin iyodat) (10 mM) ve DTNB (5,5'-Ditiyo-bis (2-Nitrobenzoik Asit) AChE / BChE enzim aktivitelerini belirlemek için substrat olarak kullanıldı. Öncelikle, 100 mL Tris/ HCl tampon çözeltisine (Tris-HCl 1.0 M, pH 8.0), 30 μ L sırasıyla AChE veya BChE enzimleri ilave edildi. Karışım 10 dakika boyunca 25°C'de inkübe edildikten sonra üzerine 50 μ L DTNB (0.5 mM) ilave edildi. Reaksiyon ayrı ayrı 50 μ L sırasıyla AChI veya BChI (10 mM) ilavesiyle başlatıldı. Substratların hidrolizi sonrası DTNB'nin tiyokolin ile reaksiyon sonucu oluşan sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonunu 412 nm dalga boyunda maksimum absorbans vermektedir. Her iki enzim içinde Takrin pozitif kontrol olarak kullanıldı (Burmaoglu ve ark., 2017).

IC₅₀ ve K_i değerlerinin belirlenmesi

İnhibisyon etkisi gösteren IFN β -1a'nın için Aktivite(%)-[IFN β -1a] grafiğinden IC₅₀ değerleri ve Lineweaver-Burk grafiğinden de K_i değerleri hesaplandı (1934).

BULGULAR VE TARTIŞMA

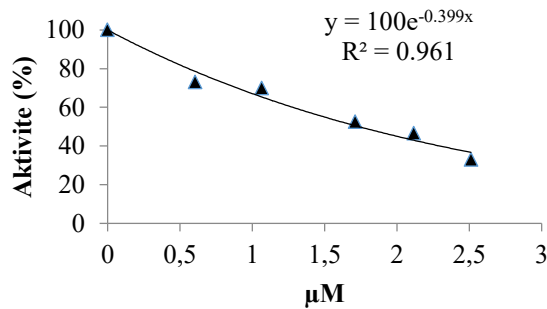
Enzimler, olağanüstü katalizörlerdir. Kimyasal reaksiyonları hızlandıran bileşiklere katalizörler denir. Katalizörler, tepkime hızını aktivasyon enerjisinin düşürülmesiyle artırır. Enzimlerin neden olduğu hız artışları 10^5 - 10^{17} büyüklüğündedir. Karbonik anhidraz enzimiyle oluşturulan hız artışı 10^7 büyüklüğündedir. Karbonik anhidraz enziminin substratları CO_2 ve HCO_3^- 'dir (Lehninger 2005).

Yapılmış olan bazı çalışmalarda bazı tetrahidropirimidin -5- karboksilat maddesi için K_i değerleri hCA I (429.24-530.80 nM) ve hCA II (391.86-530.80 nM) (Sujayev ve ark., 2016), aminometil ve alkolsimetil türevleri maddesi için K_i değerleri hCA I (58-157 nM) ve hCA II (81-215 nM) (Gulçin ve ark., 2017), diaril eter sentez maddesi için K_i değerleri hCA I (102.01-127.13 nM) ve hCA II (73.71-113.40 nM) (Özbey ve ark., 2016), 4,5-disübsite-2-tioksi-1,2,3,4-tetrahidroksipirimidin sentez maddesi için K_i değerleri hCA I (47.40-76.06 nM) ve hCA II (30.63-76.06 nM) (Garibov ve ark., 2016), Bromofenollerin türevleri 4-fenol bütenonun ilk sentezi maddesi için K_i değerleri hCA I (158.07-404.16 pM) ve hCA II (107.63-237.40 pM) (Bayrak ve ark., 2017), 2-Hidroksietil substite NHC öncülü maddesi için K_i değerleri hCA I (13.90-41.46 nM) ve hCA II (12.82-49.95 nM) (Erdemir ve ark., 2018), phloroglucinol türevleri maddesi için K_i değerleri hCA I (1.80-5.10 nM) ve hCA II (1.14-5.45 nM) (Burmaoglu ve ark., 2017), indenoquinoline maddesi için K_i değerleri hCA I (120.94-1150.95 nM) ve hCA II (267.58 -1568.16 nM) (Ekiz ve ark., 2018), mentolün yeni sülfamat türevleri maddesi için K_i değerleri hCA I (34.37-53.40 nM) ve hCA II (12.91-38.67 nM) (Daryadel ve ark., 2018), N-salisilolil-N'-maleoil-hidrazin Ni(II) ve Co(II) kompleksleri maddesi için K_i değerleri hCA I (18.36-26.61 nM) ve hCA II (13.81-29.56 nM) (Gondolova ve ark., 2018), 1,1-bis-(karboksimetiltio)-1-ariletanların yeni amidleri maddesi için K_i değerleri hCA I (63.27-132.34 nM) ve hCA II (29.63-127.31 nM) (Taslami ve ark., 2018), takrin türevleri maddesi için K_i değerleri hCA I (57.28-213.41 nM) ve hCA II (46.95 -274.94 nM) (Ökten ve ark., 2019), bazı pirazol türevleri maddesi için K_i değerleri hCA I (1.06 - 9.83 nM) ve hCA II (0.68-7.16 nM) (Turkan ve ark., 2018) olarak bulunmuştur.

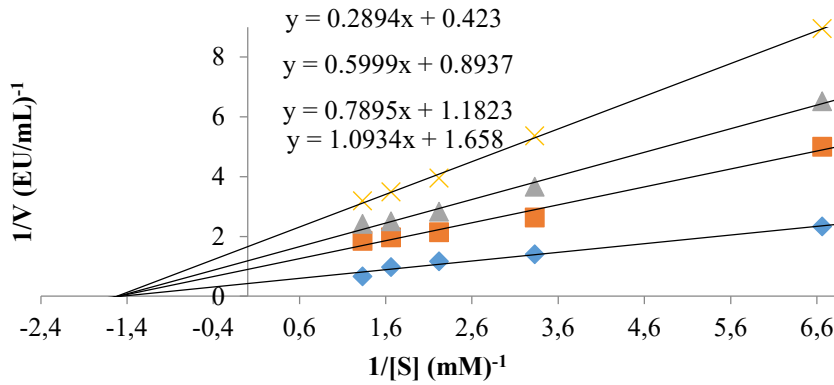
Yapılmış olan bazı çalışmalarda ise bazı tetrahidropirimidin-5-karboksilat maddesi için K_i değerleri AChE (68.48-97.19 nM) ve BChE (104.70-214.15 nM) (Sujayev ve ark., 2016), aminometil ve alkolsimetil türevleri maddesi için K_i değerleri AChE (18-78 nM) ve BChE (23-88 nM) (Gulçin ve ark., 2017), diaril eter sentez maddesi için K_i değerleri AChE (15.35-18.34 nM) ve BChE (9.07-22.90 nM) (Özbey ve ark., 2016), 4,5-disübsite-2-tioksi-1,2,3,4-tetrahidroksipirimidin sentez maddesi için K_i değerleri AChE (6.11-16.13 nM) ve BChE (6.76-15.68 nM) (Garibov ve ark., 2016), Bromofenollerin türevleri 4-fenol bütenonun ilk sentezi maddesi için K_i değerleri AChE (14.81-33.99 pM) ve BChE (5.64-19.30 pM) (Bayrak ve ark., 2017), 2-Hidroksietil substite NHC öncülü maddesi için K_i değerleri AChE (280.92-1370.01 nM) ve BChE (145.82-882.01 nM) (Erdemir ve ark., 2018), phloroglucinol türevleri maddesi için K_i değerleri AChE (1.14-3.92 nM) ve BChE (0.24-1.64 nM) (Burmaoglu ve ark., 2017), indenoquinoline için K_i değerleri AChE (37.58 - 88640 nM) ve BChE (84 - 144120 nM) (Ekiz ve ark., 2018), mentolün yeni sülfamat türevleri maddesi için K_i değerleri AChE (111.17-522.86 nM) ve BChE (50.01-109.63 nM) (Daryadel ve ark., 2018), N-salisilolil-N'-maleoil-hidrazin Ni(II) ve Co(II) kompleksleri maddesi için K_i değerleri AChE (487.45- 453.81 nM) ve BChE (199.21- 409.41 nM) (Gondolova ve ark., 2018), 1,1-bis-(karboksimetiltio)-1-ariletanların yeni amidleri maddesi için K_i değerleri AChE (0.64-1.47 nM) ve BChE (9.11-48.12 nM) (Taslami ve ark., 2018), sübsite takrin türevleri maddesi için K_i değerleri AChE (30.26 - 117.54 nM) ve BChE (22.45-77.41 nM) (Ökten ve ark., 2019), bazı pirazol türevleri maddesi için K_i değerleri AChE (44.66 -78.34 nM) ve BChE (50.36 - 88.36 nM) (Turkan ve ark., 2018) olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada, IFN β -1a maddesi için hCA I izoenziminin K_i değeri $0.78 \pm 0.21 \mu\text{M}$ aralığında, hCA II izoenziminin K_i değeri $1.46 \pm 0.13 \mu\text{M}$ aralığında AChE enziminin K_i değeri $14.47 \pm 4.81 \mu\text{M}$ aralığında BChE enziminin K_i değeri $12.80 \pm 4.38 \mu\text{M}$ olarak belirlenmiştir. CA inhibitörü olarak kullanılan azetazolamit maddesi için hCA I izoenziminin K_i değeri $2.98 \pm 0.68 \mu\text{M}$ aralığında, hCA II izoenziminin K_i değeri $3.06 \pm 0.61 \mu\text{M}$ aralığında AChE ve BChE enzimleri için inhibitör olarak kullanılan takrin maddesi için sırasıyla enzimlerin K_i değerleri $21.66 \pm 2.11 \mu\text{M}$ ve $28.78 \pm 1.93 \mu\text{M}$ olarak belirlenmiştir.

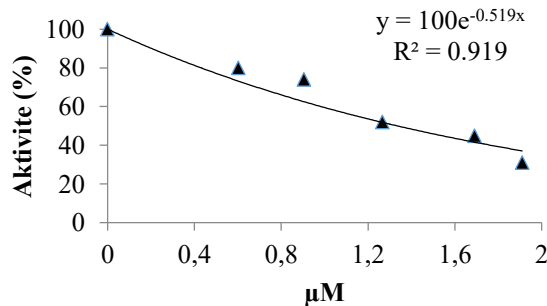
IFN β -1a ilacının hCA I ve II ile AChE, BChE enzimleri üzerine in vitro etkileri araştırmamızda IC_{50} ve K_i grafikleri (Şekil 1, Şekil 2, Şekil 3, Şekil 4, Şekil 5, Şekil 6, Şekil 7 ve Şekil 8) aşağıda verilmiştir. IFN β -1a ilacının hCA I ve II ile AChE, BChE enzimleri üzerine in vitro etkileri araştırmamızda IC_{50} ve K_i değerleri (Çizelge 1 ve Çizelge 2) aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 1. hCA I izoenziminin esteraz aktivitesi metodu ile çalışılan farklı İnterferon beta-1a konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[IFN β -1a] grafiği

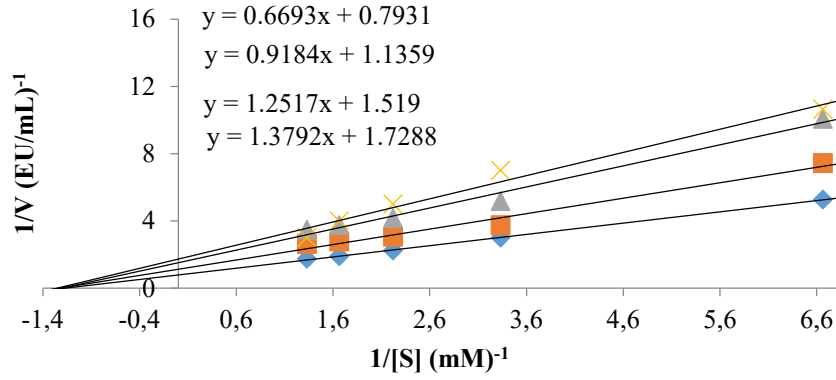


Şekil 2. hCA I izoenzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı İnterferon beta-1a konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği



Şekil 3. hCA II izoenziminin esteraz aktivitesi metodu ile çalışılan farklı İnterferon beta-1a konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[IFN β -1a] grafiği

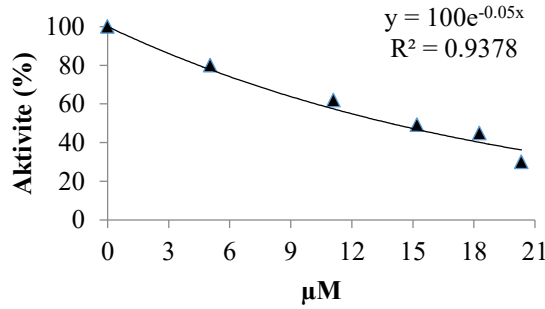
İnterferon Beta-1a İlacının Enzim İnhibisyon Etkilerinin İncelenmesi



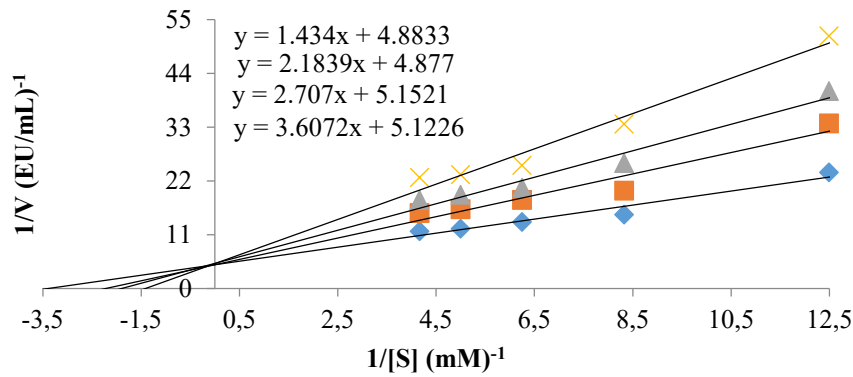
Şekil 4. hCA II izoenzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı İnterferon beta-1a konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği

Çizelge 1. hCA I ve II izoenzimlerinin aktivitesi üzerinde inhibisyon etkisini gösteren interferon beta-1a ve asetazolamite ait IC_{50} ve K_i değerleri

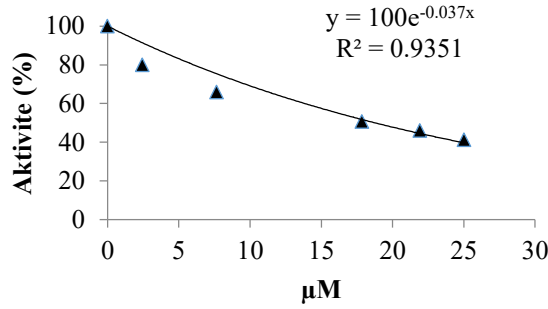
İzoenzimler	İnterferon beta-1a		Asetazolamit	
	IC_{50} (μ M)	K_i (μ M)	IC_{50} (μ M)	K_i (μ M)
hCA I	1.73	0.78 ± 0.21	3.13	2.98 ± 0.68
hCA II	1.33	1.46 ± 0.13	2.96	3.06 ± 0.61



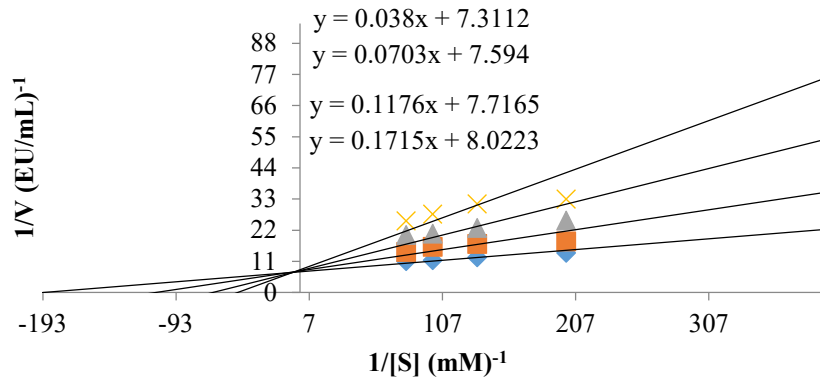
Şekil 5. AChE enzimi ile çalışılan farklı İnterferon beta-1a konsantrasyonunun da çizilen Aktivite (%)-[IFN β -1a] grafiği



Şekil 6. AChE enziminin kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı İnterferon beta-1a konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği



Şekil 7. BChE enzimi ile çalışılan farklı İnterferon beta-1a konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[IFNβ-1a] grafiği



Şekil 8. BChE enziminin kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı İnterferon beta-1a konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği

Çizelge 2. AChE ve BChE enzimlerinin aktivitesi üzerinde inhibisyon etkisini gösteren interferon beta-1a ve takrine ait IC_{50} ve K_i değerleri

Enzimler	İnterferon beta-1a		Takin	
	IC_{50} (μM)	K_i (μM)	IC_{50} (μM)	K_i (μM)
AChE	13.86	14.47±4.81	24.75	21.66±2.11
BChE	18.72	12.80±4.38	36.47	28.78±1.93

SONUÇ

Enzim inhibitörleri, enzime bağlanarak onun aktivitesini azaltan ve hatta yok eden moleküllerdir. Enzimler özgün moleküller ile inhibe edilir. Birçok ilaç, toksik ajan enzimleri inhibe eder. Bir enzimin aktivitesini engellemekle bir patojen öldürülebilir. Aynı zamanda bir metabolik dengesizliği düzeltebilir. Bundan dolayı çoğu ilaç aslında birer enzim inhibitörüdür (Denizli ve ark., 2014).

IC_{50} değerleri ile K_i sabitleri küçük olan moleküller, bileşikler ve ilaçlar enzim inhibitörü olarak kullanılabilir. Bu çalışmada IFNβ-1a'nın hCA I ve II izoenzimleri üzerine inhibisyon etkileri belirlendi ve mikromolar düzeyde olan bu inhibisyonlar için her bir izoenzim için IC_{50} değerleri ile K_i sabitleri hesaplandı. IFNβ-1a'nın hCA I, hCA II izoenzimleri üzerine etkisi incelendiğinde standart asetazolamide göre IC_{50} değerleri ile K_i sabitleri küçük olduğu için yüksek düzeyde enzim inhibitör etkisi gösterir. Bu bulgularda kullanılan IFNβ-1a'nın özellikle glukom gibi hastalıklarda ilaç potansiyelini kazandırmaktadır. Bu durum bulgularda (Çizelge 1)'de gösterilmiştir.

Ayrıca bu çalışmada IFNβ-1a'nın AChE ve BChE enzimleri üzerine inhibisyon etkileri belirlendi ve mikromolar düzeyde olan bu inhibisyonlar için her bir izoenzim için IC_{50} değerleri ile K_i sabitleri hesaplandı. IFNβ-1a'nın AChE ve BChE enzimleri üzerine etkisi incelendiğinde standart takrine göre IC_{50} değerleri ile K_i sabitleri küçük olduğu için yüksek düzeyde enzim inhibitör etkisi gösterir. Bu (Çizelge 2)'de gösterilen bulgularda kullanılan IFNβ-1a ilacının özellikle MS dışında AH gibi

hastalıklarda da etkili olduğu düşünülmektedir (Vavougiou ve ark., 2022).

IFN β -1a ile ilgili elde edilen sonuçların ileride yapılacak çalışmalarda ve özellikle de metabolik hastalıkların tedavisinde kullanılacak ilaçların tasarımına, farmakolojik uygulamalarına ve ilgili araştırmalarda önemli katkılar sağlayacağı ve önemli yararlı etkileri olacağı düşünülmektedir. IFN β -1a ile ilgili elde edilen sonuçların farmakolojik ve biyokimyasal çalışmalarda yol gösterici ve etkili önemli bir unsur olabileceği de ayrıca düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Bayrak Ç, Taslimi P, Gülçin İ, Menzek A, 2017. The first synthesis of 4-phenylbutenone derivative bromophenols including natural products and their inhibition profiles for carbonic anhydrase, acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes. *Bioorganic Chemistry*, 72: 359-366.
- Burmaoglu S, Yilmaz AO, Taslimi P, Algul O, Kilic D, Gulcin I, 2017. Synthesis and biological evaluation of phloroglucinol derivatives possessing α -glycosidase, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, carbonic anhydrase inhibitory activity. *Archiv der Pharmazie Chemistry in Life Sciences*, 351: 351:e1700314.
- Chunga JH, Hong SH, Seo N, Kim TS, An HJ, Lee P, Shin EC, Kim HM, 2020. Structure-based glycoengineering of interferon lambda 4 enhances its productivity and antiviral potency. *Cytokine*, 125:154833.
- Daryadel S, Atmaca U, Taslimi P, Gülçin İ, Çelik M, 2018. Novel sulfamate derivatives of menthol: Synthesis, characterization, and cholinesterases and carbonic anhydrase enzymes inhibition properties. *Archiv der Pharmazie Chemistry in Life Sciences*, ardp.e1800209.
- Denizli A, Özden AK, 2014. *Biyokimya*, Palme yayıncılık, 7. Baskıdan çeviri ISBN: 978-605-355-202-4, Ankara.
- Durmaz L, 2015. Some Coumarin Derivatives: Their Antioxidant Capacities and Investigation of Their Effects on Human Carbonic Anhydrase Izozymes (hCA I and II) and Acetylcholinesterase Enzymes, Atatürk University Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Chemistry, Ph.D. Thesis, Erzurum.
- Ekiz M, Tutar A, Ökten S, Bütün B, Koçyiğit ÜM, Taslimi P, Topçu G, 2018. Synthesis, characterization, and SAR of arylated indenoquinoline-based cholinesterase and carbonic anhydrase inhibitors. *Archiv der Pharmazie Chemistry in Life Sciences*, 351: e1800167.
- Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherston RM, 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7, 88-95.
- Erdemir F, Celepci DB, Aktaş A, Taslimi P, Gök Y, Karabıyık H, Gülçin İ, 2018. 2-Hydroxyethyl substituted NHC precursors: Synthesis, characterization, crystal structure and carbonic anhydrase, α -glycosidase, butyrylcholinesterase, and acetylcholinesterase inhibitory properties. *Journal of Molecular Structure*, 1155: 797-806.
- Garibov E, Taslimi P, Sujayev A, Bingol Z, Çetinkaya S, Gulçin İ, Beydemir S, Farzaliyev V, Alwasel SH, Supuran CT, 2016. Synthesis of 4,5-disubstituted-2-thioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines and investigation of their acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, carbonic anhydrase I/II inhibitory and antioxidant activities. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31(S3): 1-9.
- Gondolova G, Taslimi P, Medjidov A, Farzaliyev V, Sujayev A, Huseynova M, Şahin O, Yalçın B, Turkan F, Gulçin İ, 2018. Synthesis, crystal structure and biological evaluation of spectroscopic characterization of Ni(II) and Co(II) complexes with N-salicyloyl-N'-maleoil-hydrazine as anticholinergic and antidiabetic agents. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 32: e22197.
- Gul HI, Tuğrak M, Sakagami H, Taslimi P, Gulcin I, Supuran CT, 2016. Synthesis and bioactivity studies on new 4-(3-(4-substitutedphenyl)-3a,4-dihydro-3h-indeno[1,2-c]pyrazol-2-yl) benzenesulfonamides. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31:6, 1619-1624.
- Gulçin İ, Abbasova M, Taslimi P, Huyut Z, Safarova L, Sujayev A, Farzaliyev V, Beydemir Ş, Alwasel SH, Supuran CT, 2017. Synthesis and biological evaluation of aminomethyl and alkoxyethyl derivatives as carbonic anhydrase, acetylcholinesterase and butyryl cholinesterase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32:1, 1174-1182.
- Köksal Z, Alim Z, Bayrak S, Gülçin I, Özdemir H, 2019. Investigation of the effects of some sulfonamides on acetylcholinesterase and carbonic anhydrase enzymes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 33:5, e22300.
- Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM, 2005. *Principles of Biochemistry*, 3. Baskıdan çeviri, Çeviri editörü: Kılıç N, Palme Yayıncılık.
- Li Q, Yang H, Chen Y, Sun H, 2017. Recent progress in the identification of selective butyrylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 132: 294-309.
- Lineweaver H, Burk D, 1934. The determination of enzyme dissociation constants. *Journal of the American Chemical Society*, 56, 658-666.

- Mahmudov I, Demir Y, Sert Y, Abdullayev Y, Sujayev A, Alwasel SH, Gülçin I, 2022. Synthesis and inhibition profiles of N-benzyl- and N-allyl aniline derivatives against carbonic anhydrase and acetylcholinesterase – A molecular docking study. *Arabian Journal of Chemistry*, 15, 103645.
- McNab F, Mayer-Barber K, Sher A, Wack A, O'Garra A, 2015. Type I interferons in infectious disease. *Nature Reviews Immunology*, 15: 87–103.
- Mikol D, Lopez-Bresnahan M, Taraskiewicz S, Chang P, Rangnow J, on behalf of the Rebiject TM Study Group, 2005. A randomized, multicentre, open-label, parallel-group trial of the tolerability of interferon beta-1a (Rebif R) administered by autoinjection or manual injection in relapsing/remitting multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*, 11: 585-591.
- Nelson PT, Wang WX, Rajeev BW, 2008. MicroRNAs (miRNAs) in neurodegenerative diseases. *Brain Pathology*, 18:130-138.
- Ökten S, Ekiz M, Koçyiğit ÜM, Tutar A, Çelik İ, Akkurt M, Gökalp F, Taslimi P, Gülçin İ, 2019. Synthesis, characterization, crystal structures, theoretical calculations and biological evaluation of novel substituted tacrine derivatives as cholinesterase and carbonic anhydrase enzymes inhibitors. *Journal of Molecular Structure*, 1175: 906-915.
- Özbey F, Taslimi P, Gülçin İ, Maraş A, Göksu S, Supuran CT, 2016. Synthesis of diaryl ethers with acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and carbonic anhydrase inhibitory actions. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31(S2): 79-85.
- Paty DW, Hartung HP, Ebers GC, Soelberg-Sorensen P, Abramsky O, Kesselring J ve ark., 1999. Management of relapsing-remitting multiple sclerosis: diagnosis and treatment guide-lines. *European Journal of Neurology*, 6: S1-35.
- Peters M, 1996. Actions of cytokines on the immune response and viral interactions: an overview. *Journal of Hepatology*, 23(4): 909–916.
- Platanias LC, 2005. Mechanisms of type-I- and type-II-interferon-mediated signalling. *Nature Reviews Immunology*, 5: 375–386.
- Polat Köse L, Gulcin, I, 2021. Evaluation of the antioxidant and antiradical properties of some phyto and mammalian lignans. *Molecules*, 26, 7099.
- Rudick RA, Goelz SE, 2011. Beta-interferon for multiple sclerosis. *Experimental cell research*, 317:1301-1311.
- Sen GC, Lengyel P, 1992. The interferon system. A bird's eye view of its biochemistry. *Journal of Biological Chemistry*, 267(8):5017-5020.
- Sujayev A, Garibov E, Taslimi P, Gulçin İ, Gojayeva S, Farzaliyev V, Alwasel SH and Supuran CT, 2016. Synthesis of some tetrahydropyrimidine-5-carboxylates, determination of their metal chelating effects and inhibition profiles against acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and carbonic anhydrase. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31(6): 1531-1539.
- Taslimi P, Osmanova S, Caglayan C, Turkan F, Sardarova S, Farzaliyev V, Sujayev A, Sadeghian N, Gulçin İ, 2018. Novel amides of 1,1-bis-(carboxymethylthio)-1-arylethanes: Synthesis, characterization, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, and carbonic anhydrase inhibitory properties. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 32: e22191.
- Turkan F, Cetin A, Taslimi P, Gulçin İ, 2018. Some pyrazoles derivatives: Potent carbonic anhydrase, α -glycosidase, and cholinesterase enzymes inhibitors. *Archiv der Pharmazie Chemistry in Life Sciences*, 351:e1800200.
- Tyring SK, 1995. Interferons: biochemistry and mechanisms of action. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 172: 1350–1353.
- Van Boxel-Dezaire AH, Rani MR, Stark GR, 2006. Complex modulation of cell type-specific signaling in response to type I interferons. *Immunity*, 25(3): 361–372.
- Vavougios GD, Mavridis T, Artemiadis A, Krogfelt KA, Hadjigeorgiou G, 2022. Trained immunity in viral infections, Alzheimer's disease and multiple sclerosis: A convergence in type I interferon signalling and IFN β -1a. *BBA - Molecular Basis of Disease*, 1868:166430.
- Verpoorte JA, Mehta S, Edsall JT, 1967. Esterase Activities of Human Carbonic Anhydrases B and C. *Journal of Biological Chemistry*, 242: 4221-4229.
- Wack A, Terczynska-Dyla E, Hartmann R, 2015. Guarding the frontiers: the biology of type III interferons. *Nature Reviews Immunology*, 16: 802–809.
- Walther E, Hohlfeld R, 1999. Multiple sclerosis. Side-effects of interferon beta therapy and their management. *Neurology*, 53: 1622-27.
- Yu L, Cao R, Yi W, Yan Q, Chen Z, Ma L, Peng W, Song H, 2010. Synthesis and binding ability of 1,2,3-triazole-based triterpenoid receptors for recognition of Hg(2p) ion. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20: 3254-3258.
- Zhang C, Du QY, Chen LD, Wu WH, Liao SY, Yu LH, Liang XT, 2016. Design, synthesis and evaluation of novel tacrine-multialkoxybenzene hybrids as multi-targeted compounds against Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 116: 200-209.