

# Sülfonamit İçeren Maleamik Asit Türevi ile 2-Aminopiridinin Proton Transfer Tuzu ve Co(II) ve Cu(II) Komplekslerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Karbonik Anhidraz İzoenzimleri Üzerindeki İnhibisyon Özelliklerinin İncelenmesi

Halil İlkimen<sup>1\*</sup>, Cengiz Yenikaya<sup>1</sup>, Metin Bülbül<sup>2</sup>, Gözde İmdat<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dumlupınar Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, 43100, Kütahya, TÜRKİYE, +90 274 2652031, halil.ilkimen@dpu.edu.tr.

<sup>2</sup>Dumlupınar Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyokimya Bölümü, 43100, Kütahya, TÜRKİYE, +90 274 2652031

<sup>3</sup>Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 43100, Kütahya, TÜRKİYE.

\*İletişimden sorumlu yazar / Corresponding author

Geliş / Received: 27 Haziran (June) 2016

Kabul / Accepted: 7 Ocak (January) 2016

DOI: 10.18466/cbayarfbe.302655

## Özet

Bu çalışmada, ilk olarak 3-aminobenzen-sülfonilamid (abs) ile maleik anhidritin (mal) tepkimesinden (E)-4-okso-4-(3-sülfamoylphenil)amino)but-2-enoik asit (Hmabsmal) bileşiği sentezlenmiştir. Daha sonra Hmabsmal bileşiği ile 2-aminopiridinin (ap) proton transfer tuzu (1) hazırlanmıştır. Bu maddelerin değişik yöntemlerle Co(II) (2) ve Cu(II) (3 ve 4) geçiş metal kompleksleri sentezlenmiştir. Proton transfer tuzunun yapısı elementel analiz, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, FT-IR, UV-Vis metotları ile aydınlatılmıştır. Amorf halde elde edilen geçiş metal komplekslerinin yapıları ise elementel analiz, ICP-OES, FT-IR, UV-Vis, termal analiz, manyetik duyarlılık ve molar iletkenlik sonuçları dikkate alınarak önerilmiştir. Ayrıca, sentezlenen maddelerin insan eritrosit hCA I ve hCA II izoenzimleri üzerindeki inhibisyon etkilerini belirlemek üzere *in vitro* çalışmalar yapılmıştır. Yeni sentezlenen maddelerin izoenzimlerin esteraz aktivitesini inhibe ettiği, hidrataz aktivitesini ise sadece 3 bileşiğinin inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bu maddelerin inhibisyon değerlerinin kontrol bileşiği asetazolamid (AAZ) değerleri ile kıyaslanabilir büyüklükte olduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler** — Sülfonamit Bileşikleri, 2-Aminopiridin, Proton Transfer Tuzu, Metal Kompleksleri, Karbonik Anhidraz İnhibisyonu.

## Synthesis and Characterization of Proton Transfer Salt Between Maleamic Acid Derivative Including Sulfonamide Moiety and 2-aminopyridine and Preparation of Their Co(II) and Cu(II) Complexes and Investigation of Inhibition Properties on Carbonic Anhydrase Isoenzymes

### Abstract

In this study, firstly (E)-4-oxo-4-(3-sulfamoylphenylamino)but-2-enoic acid (Hmabsmal) has been synthesized from the reaction between 3-aminobenzenesulfonamide (abs) and maleic anhydride (mal) and secondly, proton transfer salt has been prepared from 2-aminopyridine (ap) and Hmabsmal. Transition metal complexes of these substances, Co(II) (2) and Cu(II) (3 and 4), have been synthesized by different methods. The structure of proton transfer compounds have been proposed by using elemental analysis, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, UV-Vis techniques. The structure of amorphous metal complexes have been proposed by using elemental analysis, ICP-OES, FT-IR, UV-Vis, thermal analysis, magnetic susceptibility and molar conductivity techniques. In addition, *in vitro* studies have been performed to determine the inhibition effects of synthesized compounds on human erythrocyte hCA I and hCA II isoenzymes. It

has been observed that synthesized compounds have affected esterase activities of hCA I and hCA II. But only compound **3** has inhibition effect on the hydratase activities on the isozymes. Also the inhibition values of these compounds are comparable with the inhibition values of control compound acetazolamide (AAZ).

**Keywords** – Sulfonamide Compounds, 2-Aminopyridine, Proton Transfer Salt, Metal Complexes, Carbonic Anhydrase Inhibition.

## 1 Giriş

Proton transfer tepkimeleri fizik, kimya ve biyokimyada temel işlemlerden olan suyun öziyonlaşması, asit-baz nötralizasyon tepkimesi ve enzim katalizi gibi reaksiyonlarda önemli bir anahtar görevi görür [1]. Proton transfer tepkimelerinde asitin protonu, bazın ortaklaşmamış elektronu tarafından transfer edilir. Böylece oluşan (+) ve (-) yüklerin bir araya gelerek oluşturdukları tuzlara proton transfer tuzları denir. Proton transfer tuzlarının, metal iyonları ile oluşturdukları metal kompleksleri genellikle suda çözünebilen iyonik bileşiklerdir [2].

Glokom; optik sinir başının dönüşümsüz hasarına neden olan yüksek göz içi basıncı ile karakterize edilen, görme fonksiyonunun kademeli olarak azalmasına bağlı körlükle sonuçlanan kronik, dejeneratif bir göz rahatsızlığıdır [3]. Glokom tedavisi için yapılan çalışmalar prostaglandin analoglarının, beta blockerların, adrenerjik ajanların, kolinerjik ilaçların, osmotik ilaçların ve karbonik anhidraz inhibitörlerinin bu hastalığın tedavisinde etkili olduklarını göstermiştir. Karbonik anhidraz inhibitörleri olarak ise günümüzde daha çok sülfonamid türevleri kullanılmaktadır [4].

Bu çalışmanın asidik bileşeni olan, sülfonamid grubu içeren bileşiklerin, antimikrobiyal, antidiyabetik, antiinflamatuvar, enzim inhibitörü, enfeksiyon tedavisi, ağrı kesici, menisküs ve romatizma tedavisi gibi biyolojik özellikleri de bilinmektedir. [5-12].

Bu çalışmanın bazik bileşeni olan 2-aminopiridinler inorganik ve organometalik uygulamalarda çok dişli ligandlar olarak kullanılmaktadır [13-15]. 2-Aminopiridinler, çoğunlukla halkanın azot atomu yoluyla metal iyonlarına tek dişli ligant [16-19] olarak bağlansa da; bazı çalışmalarda amino grubunun da yer aldığı koordinasyon halleri vardır [20,21].

Bu çalışmada önce 3-aminobenzensülfonamid (*mabs*) ile maleik anhidritin (*mal*) tepkimesi sonucunda sülfonamid grubu içeren amit bileşiği literatürdeki gibi sentezlenmiştir [(*E*)-4-okso-4-(3-sülfamoyilfenil) amino]büt-2-enoik asit, *Hmabsmal*] [22]. Daha sonra 2-aminopiridin (*ap*) ile *Hmabsmal* tepkimesinden proton transfer tuzu bileşiği [(*Hap*)<sup>+</sup>(*mabsmal*)], 2-aminopridinyum (*E*)-4-okso-4-(3-sülfamoyilfenil) amino]büt-2-enoat, (**1**) hazırlanmıştır. Bu tuzun Co(II) ve Cu(II) ile verdiği komplekslerin yapıları (**2-4**) aydınlatılmaya çalışılmıştır. Ayrıca, sentezlenen maddelerin insan eritrosit karbonik anhidraz (*hCA*) I ve II izoenzimleri üzerindeki inhibisyon etkilerini belirlemek üzere *in vitro* çalışmalar yapılmıştır.

## 2 Materyal ve Metot

### 2.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu çalışmada kullanılan kimyasal maddeler Sigma Aldrich firmasından temin edilmiştir.

### 2.1.2 Analizlerde Kullanılan Cihazlar

NMR Cihazı; Bruker DPX FT NMR (500 MHz), Elementel Analiz Cihazı; Leco CHNS 932, ICP-OES Cihazı; Perkin Elmer 4300 Optima, İnfrared Spektrometresi; Bruker Optics Vertex 70, TG-DTA cihazı; Pelkin Elmer, SII Exstar 6000 TG/DTA 6300, UV-Vis cihazı; Shimadzu UV-2550 Spektrometresi, Manyetik Duyarlılık Cihazı; Sherwood Scientific Magway MSB MK1, Molar İletkenlik Cihazı; WTW Cond 315i/SET Model.

## 2.2 Metot

### 2.2.1 *Hmabsmal* Sentezi

5 mmol (0.86 g) 3-Aminobenzensülfonamid bir balonda 10 mL kuru asetonda çözüldü. 5 mmol (0.49 g) maleik anhidrit katı olarak çözelti üzerine ilave edildi. Oda koşullarında 2 saat karıştırma işleminden sonra reaksiyon ortamında çöken katı

süzüldü, kuru asetonla yıkandı ve kurutuldu (Şekil 2. 1). Elde edilen bileşiğin bazı fiziksel özellikleri Tablo 1'de verilmiştir.

### 2.2.2 Proton Transfer Tuzunun Sentezi (1)

10 mmol Hmabsmal bileşiği (2.70 g) bir balon içerisinde 20 mL saf etanolde çözüldü. 10 mmol ap bileşiği (0.941 g) ayrı bir balon içerisinde 20 mL saf etanolde çözüldü. Oda koşullarında ap çözeltisi, Hmabsmal çözeltisinin üzerine damla damla ilave edildi. 24 saatlik bir karıştırma işleminden sonra reaksiyon ortamında çöken beyaz renkli proton transfer tuzu (1) süzüldü, saf etanol ile yıkandı ve kurutuldu (Şekil 2. 1). Elde edilen tuzun bazı fiziksel özellikleri Tablo 1'de verilmiştir.

### 2.2.4 Metal Komplekslerinin Sentezi

#### 2.2.4.1 Yöntem 1

Proton transfer tuzundan 1 mmol (0.364 g) alınarak 10 mL su:etanolde (1:1) çözüldü. Üzerine 0.5 mmol metal tuzunun [0.229 g  $\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (2) veya 0.099 g  $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (3)] 10 mL sudaki çözeltisi ilave edildi ve 72 saat oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra kristallenmeye bırakıldı. Çözelti ortamında çöken metal kompleksleri süzüldü ve kurutuldu (Şekil 2. 1). Elde edilen kompleks bileşiklerin bazı fiziksel özellikleri Tablo 1'de verilmiştir.

#### 2.2.4.2 Yöntem 2

1 mmol Hmabsmal (2.70 g), 1mmol ap (0.094 g) ve 0.5 mmol metal(II) tuzu [0.125 g  $\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (2) veya 0.099 g  $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (4)] alınarak 25 mL su:etanolde (1:1) çözüldü. 72 saat oda sıcaklığında

karıştırıldıktan sonra kristallenmeye bırakıldı. Çözelti ortamında çöken metal kompleksleri süzüldü ve kurutuldu (Şekil 2. 1). Yapılan analizler sonucunda Co(II) kompleksinin her iki yöntemle de aynı ürün şeklinde (2) elde edildiği tespit edilmiştir. Elde edilen kompleks bileşiklerin bazı fiziksel özellikleri Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1.** Sentezlenen bileşiklerin bazı fiziksel özellikleri

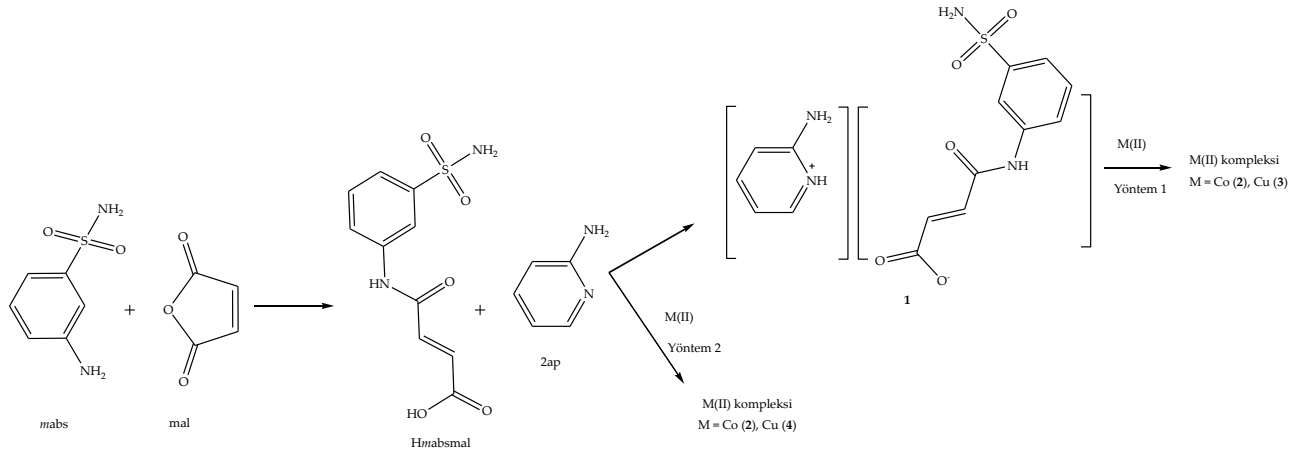
Bileşik	Renk	Mol Kütlesi*	Verim (%)
Hmabsmal	Beyaz	270.26	90
1	Beyaz	364.38	85
2	Pembe	551.44	70
3	Yeşil	541.48	70
4	Yeşil	845.34	75

\*Tahmini molekül ağırlığı (g/mol)

### 2.2.5 *In vitro* İnhibisyon Çalışmaları

#### 2.2.5.1 Sentezlenen bileşiklerin hCA I ve hCA II izoenzimlerinin hidrataz ve esteraz aktivitesi üzerindeki inhibisyon etkilerinin incelenmesi ve IC<sub>50</sub> değerlerinin belirlenmesi

Yeni sentezlenen bileşiklerin glokom hastalığı tedavisi için klinikte lokal olarak kullanılan miktar olan %1'lik çözeltileri hazırlanarak insan karbonik anhidraz I ve II izoenzimlerinin hidrataz ve esteraz aktiviteleri üzerine inhibisyon etkileri incelenmiştir. İnsan eritrositlerinden saflaştırılan hCA I ve hCA II izoenzimleri için beş farklı uygun inhibitör konsantrasyonunda hidrataz ve esteraz aktivite ölçümleri yapılmıştır [23,24]. İnhibisyon etkisi olan bileşiklerin %Aktivite-[I] grafikleri çizilerek IC<sub>50</sub> değerleri hesaplanmıştır.



Şekil 2. 1 Proton transfer tuzu ve metal komplekslerinin sentezi

### 2.2.5.2 İnhibitörlerin inhibisyon sabiti ( $K_i$ ) değerlerinin hesaplanması

$K_i$  değerlerini bulmak için eritrosit hCA I ve hCA II izoenzimlerinin esteraz aktiviteleri üzerinde yeni sentezlenen bileşiklerin inhibisyon etkileri; enzim üzerine ilave edildiği deneylerde, inhibitörlü ve inhibitörsüz olarak beş farklı substrat konsantrasyonu için esteraz aktivite ölçümleri yapılarak belirlenmiştir [25,26].

Her bir inhibitörün, hCA I ve hCA II izoenzimleri için ayrı ayrı Lineweaver-Burk grafikleri çizilmiştir. Bu grafiklerden elde edilen denklemlerden  $K_i$  değerleri hesaplanmıştır.

## 3 Sonuçlar ve Tartışma

### 3.1 Elementel Analiz ve ICP-OES sonuçları

Sentezlenen başlangıç maddesi, proton tuzu ve metal komplekslerinin elementel analiz ve komplekslerin ICP-OES sonuçları Tablo 2'de verilmiştir. Deneysel olarak elde edilen değerlerin, hem teorik elementel analiz değerleri ile hem de diğer spektroskopik çalışmalar sonucu ortaya konulan yapılar ile uyum içinde olduğu gözlenmiştir.

Bu çalışmada hazırlanan tuzun asit ve baz oranları elementel analiz sonuçlarına göre belirlenmiştir. Buna göre hazırlanan proton transfer tuzundaki asit ve baz birleşme oranları 1:1 olarak bulunmuştur. Elementel analiz ve ICP-OES sonuçlarına göre metal komplekslerinde Metal:Asit:Baz oranının; 2 kompleksi için 1:1:2, 3 kompleksi için 2:1:1 ve 4 kompleksi için 1:2:2 olduğu görülmektedir.

Tablo 2. Sentezlenen bileşiklerin elementel analiz ve ICP-OES sonuçları

Bileşik	Kapalı formülü	% Deneysel(% Teorik)				
		C	H	N	S	M
Hmabsmal	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S	44.50(44.44)	3.75(3.73)	10.40(10.37)	11.85(11.86)	-
1	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> S	49.45(49.44)	4.35(4.43)	15.40(15.38)	8.85(8.80)	-
2	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub> SCo	43.50(43.56)	4.25(4.39)	15.20(15.24)	5.80(5.81)	10.65(10.69)
3	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>8</sub> SCu <sub>2</sub>	33.35(33.27)	3.35(3.35)	10.30(10.35)	5.85(5.91)	(23.40)(23.47)
4	C <sub>30</sub> H <sub>37</sub> N <sub>8</sub> O <sub>13</sub> S <sub>2</sub> Cu	42.57(42.62)	4.60(4.41)	13.25(13.26)	7.60(7.59)	(7.45)(7.52)

### 3.2 NMR Spektrumu Sonuçları

#### 3.2.1 Hmabsmal Bileşiğinin NMR Spektrumları

Sentezlenen Hmabsmal bileşiğinin (Şekil 4. 1) DMSO-d<sub>6</sub> içerisinde alınan <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR

spektrum değerleri Tablo 3'de, spektrumları Ekler 1-3'de verilmiştir.

Hmabsmal bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumunda (Ekler 1 ve 2, Tablo 3); 6.48 ppm (H<sup>3</sup>, <sup>3</sup>J<sub>H3-H4</sub> = 11.98 Hz) ve 6.34 ppm'de (H<sup>4</sup>, <sup>3</sup>J<sub>H4-H3</sub> = 11.96 Hz) gözlenen

1H'lık doublet pikler alken protonlarından (-CH=CH-) kaynaklanan piklerdir. Bu hidrojenlerin Hz değerleri yaklaşık 12 olması yapının trans pozisyonda olduğunu göstermektedir [27]. 7.55 ppm'de gözlenen 2H'lık triplet (doublet + triplet) pik ( $H^8$ ,  $^3J_{H8-H9} = 7.26$  Hz ve  $H^9$ ,  $^3J_{H9-H8,10} = 7.72$  Hz) ve 7.75 ppm'de gözlenen 1H'lık doublet pik ( $H^{10}$ ) benzen halkasındaki hidrojenlerden kaynaklanmaktadır. Yapıda bulunan  $-SO_2NH_2$  hidrojenleri ( $H^{14}$ ) ve amit hidrojeni ( $H^6$ ) sırayla 7.39 ppm'de 2H'lık singlet ve 10.60 ppm'de 1H'lık singlet pik olarak gözlenmiştir. Yapıdaki karboksil grubunda bulunan proton ( $H^1$ ) ise 12.95 ppm'de 1H'lık singlet olarak gözlenmiştir. Örnek çözeltisi üzerine  $D_2O$  ilavesinden sonra çekilen  $^1H$ -NMR spektromunda (Ek 2);  $H^1$ ,  $H^6$  ve  $H^{12}$  hidrojenleri gözlenmemiştir.

$H_{mabsmal}$  bileşiğinin  $^{13}C$ -NMR spektromunda (Ek 3, Tablo 3); 164 ppm'de gözlenen pik karboksil grubu karbonuna ( $-C^2OOH$ ), 167 ppm'de gözlenen pik ise amit grubunun karbon atomuna ( $C^5$ ) aittir. Sülfamoyil grubunun bağlı olduğu karbon ( $-C^{11}SO_2NH_2$ ) piki 145 ppm'de ve  $-NH$  grubuna bağlı karbon atomunun ( $C^7$ ) piki ise 140 ppm'de gözlenmiştir. Aromatik bölgede bulunan diğer karbon atomlarının ( $C^8$ ,  $C^9$ ,  $C^{10}$  ve  $C^{12}$ ) pikleri ise sırasıyla 130, 121, 117 ve 123 ppm'de gözlenmiştir. Alken karbon atomları sırasıyla 131 ( $C^3$ ) ve 132 ( $C^4$ )

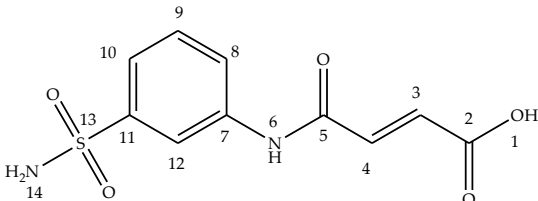
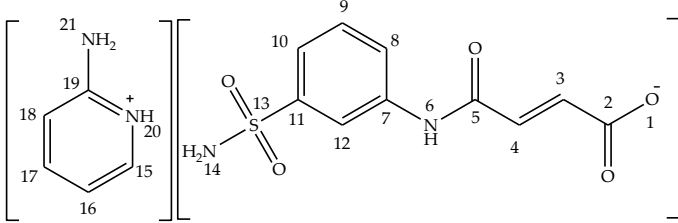
ppm'de gözlenmiştir.

### 3.2.2 (1) Bileşiğinin NMR Spektrumları

Sentezlenen proton transfer tuzu (1) bileşiğinin (Şekil 4. 2)  $DMSO-d_6$  içerisinde alınan  $^1H$ -NMR ve  $^{13}C$ -NMR spektrum değerleri Tablo 3'de, spektrumları Ekler 4-6'da verilmiştir.

Proton transfer tuzu (1) bileşiğinin  $^1H$ -NMR spektromunda (Ekler 4 ve 5, Tablo 3); 6.40 ppm ( $H^3$ ,  $^3J_{H3-H4} = 11.61$  Hz) ve 6.35 ppm'de ( $H^4$ ,  $^3J_{H4-H3} = 11.36$  Hz) gözlenen 1H'lık doublet pikler alken protonlarından (-CH=CH-) kaynaklanan piklerdir. Bu hidrojenlerin Hz değerleri yaklaşık 12 olması yapının trans pozisyonda olduğunu göstermektedir [27]. 7.40 ppm'de gözlenen 3H'lık doublet (doublet + triplet) pik [ $H^8$ ,  $H^9$  ve  $H^{10}$ , ( $^3J = 18.92$  Hz)]  $mabsmal$  grubundaki benzen halkası hidrojenlerden kaynaklanmaktadır. Ap grubu hidrojenleri ise; 7.90 ppm'de 1H'lık doublet-doublet beklenirken singlet ( $H^{15}$ ), 6.50 ppm'de 2H'lık triplet-doublet beklenirken singlet ( $H^{16}$  ve  $H^{17}$ ) ve ise 7.75 ppm'de 1H'lık triplet-doublet beklenirken singlet ( $H^{18}$ ) gözlenmiştir. Yapıda bulunan amit hidrojeni ( $H^6$ ),  $-SO_2NH_2$  hidrojenleri ( $H^{14}$ ) ve  $-NH_2$  ( $H^{21}$ ) hidrojenleri sırayla 11.20 ppm'de 1H'lık singlet, 7.55 ppm'de 2H'lık singlet ve 6.20 ppm'de 2H'lık singlet pik olarak gözlenmiştir.

**Tablo 3.**  $H_{mabsmal}$  ve 1 bileşiğinin  $^1H$ -NMR ve  $^{13}C$ -NMR spektromunun kimyasal kayma değerleri  $\delta$ (ppm)

			
$H^1$	12.95 (1H s)	$C^2$	164
$H^3$	6.48 (1H, d) [ $^3J_{H3-H4} = 11.98$ Hz]	$C^3$	131
$H^4$	6.34 (1H, d) [ $^3J_{H4-H3} = 11.96$ Hz]	$C^4$	132
$H^6$	10.60 (1H, s)	$C^5$	167
$H^8$	7.55 (1H, d) [ $^3J_{H8-H9} = 7.26$ Hz]	$C^7$	140
$H^9$	7.55 (1H, t) [ $^3J_{H9-H8,10} = 7.72$ Hz]	$C^8$	121
$H^{10}$	7.75 (1H, d) [ $^3J_{H10-H9} = 6.83$ Hz]	$C^9$	117
$H^{12}$	8.24 (1H, s)	$C^{10}$	123
$H^{14}$	7.39 (2H, s)	$C^{11}$	145
		$C^{12}$	130
$H^3$	6.40 (1H, d) [ $^3J_{H3-H4} = 11.61$ Hz]	$C^2$	164
$H^4$	6.35 (1H, d) [ $^3J_{H4-H3} = 11.36$ Hz]	$C^3$	131
$H^6$	11.20 (1H, s)	$C^4$	132
$H^8, H^9, H^{10}$	7.40 (3H, d) [ $^3J = 18.92$ Hz]	$C^5$	167
$H^{12}$	8.25 (1H, s)	$C^7$	140
$H^{14}$	7.55 (2H, s)	$C^8$	112
$H^{15}$	7.90 (1H, s)	$C^9$	109
$H^{16}, H^{17}$	6.50 (1H, s)	$C^{10}$	117
$H^{18}$	7.75 (1H, s)	$C^{11}$	145
$H^{21}$	6.20 (2H, s)	$C^{12}$	130

C <sup>15</sup>	147
C <sup>16</sup>	138
C <sup>17</sup>	121
C <sup>18</sup>	123
C <sup>19</sup>	159

Tuzda yaklaşık 13 ppm civarında beklenen *Hmabsmal*'a ait -COOH hidrojeni (H<sup>1</sup>) gözlenmemiştir. Bu hidrojenin ap'deki N<sup>20'</sup>e transfer olduğu düşünülmektedir (H<sup>20</sup>). NMR spektrumu için hazırlanan tuz çözeltisinde asidik H'nin H<sup>1</sup> ↔ H<sup>20</sup> tersinir tepkimesine uğradığı düşünülmektedir. Bu nedenle H<sup>1</sup> veya H<sup>20</sup> NMR spektrumunda gözlenmemiştir. Aynı tuzun katı örnek ile FT-IR spektrumu alındığında H<sup>20</sup>'nin varlığı belirlenmiştir. Bu çalışmada hazırlanan proton transfer tuzunun; ap ve *Hmabsmal* oranı <sup>1</sup>H-NMR spektrumundaki integrasyon oranlarından yararlanarak 1:1 olarak bulunmuştur. Örnek çözeltisi üzerine D<sub>2</sub>O ilavesinden sonra çekilen <sup>1</sup>H-NMR spektrumunda (Ek 5); H<sup>6</sup>, H<sup>14</sup> ve H<sup>21</sup> hidrojenleri de döteryum ile yer değiştirdikleri için gözlenmemiştir.

Proton transfer tuzu (1) bileşiğinin <sup>13</sup>C-NMR spektrumunda (Ek 6, Tablo 3); 164 ppm'de gözlenen pik karboksil grubu karbonuna (-C<sup>20</sup>OO-), 167 ppm'de gözlenen pik ise amit grubunun karbon atomuna (C<sup>5</sup>) aittir. Sülfamoyil grubunun bağlı olduğu karbon (-C<sup>11</sup>SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>) piki 145 ppm'de ve -NH grubuna bağlı karbon atomunun (C<sup>7</sup>) piki ise 140 ppm'de gözlenmiştir. Aromatik bölgede bulunan diğer karbon atomları 112 (C<sup>8</sup>), 109 (C<sup>9</sup>), 117 (C<sup>10</sup>), 130 (C<sup>12</sup>), 147 (C<sup>15</sup>), 138 (C<sup>16</sup>), 121 (C<sup>17</sup>), 123 (C<sup>18</sup>) ve 159 (C<sup>19</sup>) ppm'de gözlenmiştir. Alken karbon atomları sırasıyla 131 (C<sup>3</sup>) ve 132 (C<sup>4</sup>) ppm'de gözlenmiştir.

### 3.3 FT-IR Sonuçları

Başlangıç maddeleri (*Hmabsmal*, ap), proton transfer tuzu (1) ve metal kompleks bileşiklerinin (2-4) FT-IR değerleri Tablo 4'de verilmiştir. Şekiller 4. 1-5'de önerilen yapıları destekleyen titreşim bantları mevcuttur.

*Hmabsmal* ve proton transfer tuzunun FT-IR spektrumunda; 3392-3155 cm<sup>-1</sup> aralığında gelen ν(N-H) gerilmelerinden kaynaklanan şiddetli titreşim bantları *mabs*'de 3486, 3387, 3312 ve 3274 cm<sup>-1</sup>, *Hmabsmal* da 3315, 3229 ve 3205 cm<sup>-1</sup> ve ap ise 3443 ve 3291 cm<sup>-1</sup>'de gözlenmiştir. Tuzda 2724 ve 2527 cm<sup>-1</sup>'de gözlenen zayıf titreşim bantlarının ν(N<sup>+</sup>-H) gözlenmesi önerilen yapıyı desteklemektedir (Şekil 4. 2) [28]. Tuz ve başlangıç maddelerinin yapılarındaki aromatik ν(C-H) ve/veya alken ve alifatiklik ν(C-H) gerilmelerinden kaynaklanan zayıf titreşim bantları, 3095-3060 cm<sup>-1</sup> ve 3060-2831 cm<sup>-1</sup> aralığında ortaya çıkmaktadır. ν(C=O) gerilmelerinin titreşim bantları *Hmabsmal*'da 1620 cm<sup>-1</sup> (amit) ve 1688 cm<sup>-1</sup> (asit)'de gözlenirken, tuzda 1638 cm<sup>-1</sup> (amit) ve 1667 cm<sup>-1</sup> (asit) gözlenmektedir. 1622-1415 cm<sup>-1</sup> aralığındaki titreşim bantları yapılarındaki ν(C=N) ve ν(C=C) gerilmelerinden kaynaklanmaktadır. *Hmabsmal* ve tuzda 1363-1034 cm<sup>-1</sup> ve 1284-1145 cm<sup>-1</sup> aralığında gözlenen titreşim bantları ise yapıdaki ν(C-O) ve ν(S=O) [29] gerilmelerinden kaynaklanmaktadır.

**Tablo 4.** *Hmabsmal* metal komplekslerin bazı FT-IR bantları (cm<sup>-1</sup>)

	<i>Hmabsmal</i>	ap	1	2	3	4
ν(OH)	2900(br)	-	-	3484(br)	3538(br)	3447(br)
ν(NH <sub>2</sub> )	3315(m)	3443(m)	3330(m)	3391(m)	3478(m)	3322(m)
		3291(m)	3314(m)	3358(m)	3464(m)	3289(m)
		3205(m)	3224(m)	3308(m)	3322(m)	3257(m)
			3191(m)	3280(m)	3246(m)	3230(m)
			3133(m)	3225(m)	3184(m)	3197(m)
ν(NH) <sup>+</sup>	-	-	2724(w)	-	-	-
			2527(w)			
ν(C-H) <sub>Ar</sub>	3095(w)	3070(w)	3092(w)	3078(w)	3072(w)	3073(w)
ν(C-H) <sub>Alf.</sub>	3040(w)	-	2939(w)	3000(w)	2999(w)	3013(w)
	2934(w)		2903(w)	2972(w)	2907(w)	2935(w)
	2984(w)		2831(w)	2944(w)	2886(w)	2838(w)
ν(C=O) <sub>amit</sub>	1620(s)	-	1638(s)	1609(s)	1591(s)	1619(s)
ν(C=O) <sub>asit</sub>	1688(s)	-	1667(s)	1671(s)	1670(s)	1669(s)

$\nu(\text{C}=\text{N})$	1578(s)	1622(s)	1600(s)	1586(s)	1540(s)	1541(s)
$\nu(\text{C}=\text{C})$	1541(s)	1593(s)	1541(s)	1547(s)	1478(s)	1508(s)
	1492(s)	1555(s)	1482(s)	1482(s)	1432(s)	1474(s)
	1472(s)	1483(s)	1415(s)	1422(s)		1421(s)
	1435(s)	1435(s)				
$\nu(\text{C}-\text{O})$	-	-	1357(s)	1311(s)	1335(s)	1302(s)
			1212(s)	1205(s)	1210(s)	1222(s)
			1052(s)	1099(s)	1153(s)	1094(s)
$\nu(\text{S}=\text{O})$	1211(s)	-	1300(s)	1255(s)	1252(s)	1250(s)
	1162(s)		1145(s)	1154(s)	1182(s)	1147(s)
$\nu(\text{M}-\text{N})$	-	-	-	510(w)	586(w)	582(w)
$\nu(\text{M}-\text{O})$	-	-	-	446(w)	474(w)	455(w)

(br; yayvan, s; şiddetli, m; orta şiddetli, w; zayıf)

Metal komplekslerinin FT-IR spektrumlarında; yapıdaki su ve (OH)<sup>-</sup> gruplarından kaynaklanan  $\nu(\text{O}-\text{H})$  titreşimleri 3538-3447  $\text{cm}^{-1}$  de gözlenmiştir. Tüm metal kompleksleri için  $\nu(\text{N}-\text{H})$  grubundan kaynaklanan gerilim pikleri 3478-3184  $\text{cm}^{-1}$  aralığında gözlenmiştir. Tüm metal komplekslerin önerilen yapılarındaki aromatik  $\nu(\text{C}-\text{H})$  ve/veya alken ve alifatik  $\nu(\text{C}-\text{H})$  gerilmelerinden kaynaklanan zayıf titreşim bantları, 3078-3072  $\text{cm}^{-1}$  ve 3013-2838  $\text{cm}^{-1}$  aralığında ortaya çıkmaktadır.  $\nu(\text{C}=\text{O})$  gerilmesinin titreşim bantları, 2 kompleksi için 1609  $\text{cm}^{-1}$  (amit) ve 1671  $\text{cm}^{-1}$  (asit), 3 kompleksi için 1591  $\text{cm}^{-1}$  (amit) ve 1670  $\text{cm}^{-1}$  (asit) ve 4 kompleksi için 1619  $\text{cm}^{-1}$  (amit) ve 1669  $\text{cm}^{-1}$  (asit)'dir. Tüm metal komplekslerinde; 1586-1421  $\text{cm}^{-1}$  aralığında aromatik (ve alken)  $\nu(\text{C}=\text{C})$  ve  $\nu(\text{C}=\text{N})$  gerilmeleri, 1335-1094  $\text{cm}^{-1}$  aralığında  $\nu(\text{C}-\text{O})$  gerilmeleri, 1255-1147  $\text{cm}^{-1}$  aralığında  $\nu(\text{S}=\text{O})$  gerilmeleri [29], 474-446  $\text{cm}^{-1}$  ve 586-510  $\text{cm}^{-1}$  aralığında M-O ve M-N gerilmeleri gözlenmiştir.

### 3.4 Termal Analiz Sonuçları

Sentezlenen metal komplekslerinin (2-4) TG/DTA değerleri Tablo 5'de spektrumları Ekler 7-9'da verilmiştir.

2 kompleksinin,  $[\text{Co}(\text{mabsmal})(\text{ap})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})]$ , termal olarak dört basamakta bozunduğu görülmektedir (Ek 7). İlk olarak 30 ve 130 °C arasında yapıdan 1 mol su ve 1 mol OH ayrılmıştır (endotermik pik;  $\text{DTG}_{\text{max}} = 61$  ve 114 °C; deneysel 6.70, teorik 6.72). Sonra 130 ve 245 °C arasında yapıdan  $\text{SO}_2\text{NH}_2$  parçasının ayrıldığı gözlenmektedir (endotermik pik;  $\text{DTG}_{\text{max}} = 213$  ve 231 °C; deneysel 14.50, teorik 14.51). Daha sonra gözlenen 245 ve 460 °C arasındaki eğim yapıdan  $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_3$  parçasının ayrılışına karşılık gelmektedir (ekzotermik pik;  $\text{DTG}_{\text{max}} = 330$  ve 396 °C deneysel 45.50, teorik 45.58). En son basamakta ise  $\text{C}_4\text{H}_2\text{N}_2\text{O}_3$  parçası, 460 ve

900 °C'de yapıdan ayrılmıştır (ekzotermik pik;  $\text{DTG}_{\text{max}} = 487$  ve 506 °C; deneysel 22.70, teorik 10.69). Termal bozunma sonrası ortaya çıkan kalıntının CoO olduğu düşünülerek Co yüzdesi belirlenmiştir (deneysel 10.60, teorik 10.69).

3 kompleksinin,  $[\text{Cu}_2(\text{mabsmal})(\text{ap})(\text{OH})_3]$ , termal olarak dört basamakta bozunduğu görülmektedir (Ek 8). İlk olarak 30 ve 170 °C arasında yapıdan 3 mol OH ayrılmıştır (endotermik pik;  $\text{DTG}_{\text{max}} = 70$  °C; deneysel 9.30, teorik 9.42). Sonra 170 ve 332 °C arasında yapıdan  $\text{C}_5\text{H}_6\text{NO}_2\text{S}$  parçasının ayrıldığı gözlenmektedir (ekzotermik pik;  $\text{DTG}_{\text{max}} = 217, 226$  ve 322 °C; deneysel 26.80, teorik 26.63). Daha sonra gözlenen 332 ve 523 °C arasındaki eğim yapıdan  $\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_2$  parçasının ayrılışına karşılık gelmektedir (ekzotermik pik;  $\text{DTG}_{\text{max}} = 433$  °C deneysel 26.90, teorik 26.81). En son basamakta ise  $\text{CNO}_3$  parçası, 523 ve 900 °C'de yapıdan ayrılmıştır (ekzotermik pik;  $\text{DTG}_{\text{max}} = 700$  °C; deneysel 13.40, teorik 13.67). Termal bozunma sonrası ortaya çıkan kalıntının CuO olduğu düşünülerek Cu yüzdesi belirlenmiştir (deneysel 23.60, teorik 23.47).

4 kompleksinin,  $[\text{Cu}(\text{mabsmal})_2(\text{ap})_2].3\text{H}_2\text{O}$ , termal olarak üç basamakta bozunduğu görülmektedir (Ek 9). İlk olarak 30 ve 165 °C arasında yapıdan 3 mol su ayrılmıştır (endotermik pik;  $\text{DTG}_{\text{max}} = 60$  °C; deneysel 6.20, teorik 6.39). Sonra 165 ve 420 °C arasında yapıdan  $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2$  parçasının ayrıldığı gözlenmektedir (ekzotermik pik;  $\text{DTG}_{\text{max}} = 187$  ve 312 °C; deneysel 34.30, teorik 34.11). En son basamakta ise  $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_6\text{O}_6$  parçası 420 ve 900 °C'de yapıdan ayrılmıştır (ekzotermik pik;  $\text{DTG}_{\text{max}} = 459$  ve 671 °C; deneysel 52.00, teorik 51.99). Termal bozunma sonrası ortaya çıkan kalıntının CuO olduğu düşünülerek Cu yüzdesi belirlenmiştir (deneysel 7.50, teorik 7.51).

**Tablo 5.** Sentezlenen metal komplekslerinin TG/DTA Değerleri

Bileşik	Sıcaklık Aralığı (°C)	DTG <sub>max</sub> (°C)	Ayrılan Grup	Deneysel (%)	Teorik (%)
<b>2</b>	35-130	61, 114	H <sub>2</sub> O, OH	6.70	6.72
	130-245	213, 231	SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	14.50	14.51
	245-460	330, 396	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub>	45.50	45.58
	460-900	487, 506	C <sub>4</sub> H <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	22.70	22.50
	-	-	Co	10.60	10.69
<b>3</b>	35-170	70	3OH	9.30	9.42
	170-332	217, 226, 322	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> NO <sub>2</sub> S	26.80	26.63
	332-523	433	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> N <sub>2</sub>	26.90	26.81
	523-900	700	CNO <sub>3</sub>	13.40	13.67
	-	-	Cu	23.60	23.47
<b>4</b>	35-165	60	3H <sub>2</sub> O	6.20	6.39
	165-420	187, 312	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S <sub>2</sub>	34.30	34.11
	420-900	459, 671	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub>	52.00	51.99
	-	-	Cu	7.50	7.51

### 3.5 UV-Vis Sonuçları

Başlangıç maddeleri (Hmabsmal, ap), proton transfer tuzu ve metal komplekslerinin DMSO çözücüsü içinde alınan UV-Visible absorpsiyon spektrumları ve  $\epsilon_0$  değerleri Tablo 6'da verilmiştir.

Başlangıç maddeleri, proton transfer tuzu ve metal komplekslerinin DMSO ( $10^{-3}$  M) içinde alınan spektrumlarında  $\pi \rightarrow \pi^*$  elektronik geçişleri Hmabsmal için 290 nm; ap için 327 ve 303 nm; **1** için 318 ve 309 nm; **2** kompleksi için 292 nm; **3** kompleksi için 303 ve 283 nm ve **4** kompleksi için 289 nm olarak

gözlenmiştir. Komplekslerdeki metal iyonunun d→d elektronik geçişleri, **2** kompleksi için 779 nm; **3** kompleksi için 760 nm ve **4** kompleksi için 760 nm olarak gözlenmiştir.

Çalışılan tüm bileşiklerin UV-Vis spektrumları incelendiğinde,  $n \rightarrow \pi^*$  elektronik geçişlerine rastlanmamıştır. Bu geçişlerin, şiddetli  $\pi \rightarrow \pi^*$  geçişlerinin altında kaldığı düşünülmektedir. Ayrıca  $\pi \rightarrow \pi^*$  ve d→d geçiş şiddetlerinin ( $\epsilon_0$ ) beklenen değerler aralığında olduğu gözlenmiştir.

**Tablo 6.** Sentezlenen bileşiklerin DMSO içindeki UV spektrumları (nm( $\epsilon_0$ ))

Habsmal	ap	1	2	3	4
290(24510)	327(43400)	318(43400)	292(14300)	303(25100)	289(13100)
	303(43400)	308(39720)	779(90)	283(48000)	760(20)
				760(20)	

### 3.6 Manyetik Duyarlılık Sonuçları ve Molar İletkenlik Sonuçları

Sentezlenen metal komplekslerinin deneysel ve teorik manyetik duyarlılık sonuçlarında deneysel olarak elde edilen değerler ile teorik değerler Şekiller 4. 2-5'de önerilen yapıların uyum içerisinde olduğu gözlenmiştir.

**2** kompleksi manyetik duyarlılığı deneysel olarak sırasıyla 3.80 BM bulunmuştur. Bu değer komplekste

üç eşleşmemiş elektron sayısını işaret eder. Buradan Co(II) iyonunun d<sup>7</sup> elektronik dağılımına sahip olduğu söylenebilir. Sentezlenen diğer komplekslerde ise manyetik duyarlılığı deneysel olarak 1.69 (**3**) ve 1.65 (**4**) BM bulunmuştur. Bu değerler komplekslerde bir eşleşmemiş elektron sayısını işaret eder. Buradan bu komplekslerde Cu(II) iyonunun d<sup>9</sup> elektronik dağılımına sahip olduğu söylenebilir. Bunlar Şekiller 4. 3-5'de önerilen yapıları desteklemektedir.



DMSO çözücüsü içinde ( $10^{-3}$  M) yapılan iletkenlik ölçümleri sonucunda bütün komplekslerin iletkenlikleri sırasıyla 15.5, 8.8 ve 9.9  $\mu\text{S}/\text{cm}$  aralığında gözlenmiştir. Bu sonuçlar kompleks yapısının beklendiği gibi iyonik olmadığını göstermektedir [30] ve buda Şekiller 4. 3-5'de önerilen yapıları desteklemektedir.

### 3.7 *In vitro* İnhibisyon Çalışmalarının Sonuçları

Tablo 7'de verilen inhibisyon değerleri incelendiğinde sentezlenen bileşiklerin tamamının hCA I ve hCA II izoenzimlerinin esteraz aktivitesini inhibe ettikleri, hidrataz aktivitesi üzerinde ise sadece 3 bileşiğinin inhibisyon etkisi gösterdiği görülmektedir. Hidrataz aktivitesinin inhibisyonu için  $-\text{SO}_2\text{NH}_2$  grubunun enzimin aktif bölgesindeki  $\text{Zn}^{2+}$  iyonuna bağlanması gerektiği düşünüldüğünde sentezlenen bileşiklerden bazılarının  $\text{Zn}^{2+}$  iyonuna bağlandığı, bazılarının ise bağlanmadığı tahmini yürütülebilir. Hidrataz aktivitesinin inhibisyonu için kıyaslama yapıldığında 3 bileşiğinin referans bileşik olan asetazolamit (AAZ) den daha zayıf inhibisyon potansiyeline sahip olduğu görülmektedir. Bileşiğin hCA II hidrataz aktivitesi üzerindeki inhibisyon etkisinin hCA I üzerindeki inhibisyon etkisinden daha kuvvetli olduğu tespit edilmiştir.

Esteraz aktivitesinin inhibisyonu için kıyaslama yapıldığında ise tüm bileşiklerin AAZ'den daha zayıf

inhibisyon etkisine sahip oldukları görülmüştür. Ancak sentezlenen bileşikler arasında 2 ve 3 bileşikleri AAZ ile daha kıyaslanabilir büyüklükte inhibisyon etkisine sahiptirler. Ayrıca sentezlenen metal komplekslerinin, başlangıç maddesi (Hmabsmal) ve proton transfer tuzundan (1) daha kuvvetli inhibisyon etkileri vardır. Metal kompleksleri arasında 4 bileşiği izoenzimler üzerinde en zayıf inhibisyon etkisine sahiptir. Genel olarak inhibisyon potansiyellerindeki bu farklılıkların bileşiklerin yapılarında bulunan atom veya grupların enzimin aktif bölgesindeki amino asitler ile farklı şekilde etkileşime girmesi sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Buradan hareketle 2 ve 3 bileşiklerinin, diğer bileşiklere nazaran enzimin aktif bölgesi ile daha iyi etkileşime girdiği söylenebilir. Ancak bu verilerin doğrulanması için enzim-inhibitör kompleksinin X-ışınları kırınımı yöntemi ile analiz edilmesi gereklidir. Bu tarz analizler ve protein yapılarının çözümlenmesi ise ülkemizde henüz yapılamamaktadır. Esteraz  $K_i$  çalışmalarında ise bileşiklerin yarışmasız inhibisyon gösterdikleri tespit edilmiştir.

Bileşiklerin inhibisyon potansiyellerinin güçlü olması *in vivo* çalışmalarda da kullanılabilmesinin kapısını açmaktadır. Sentezlenen bileşikler bu çalışmalarda denenerek glokom tedavisi için daha detaylı analiz edilmiş olacaktırlar.

**Tablo 7.** Sentezlenen bileşiklerin insan eritrosit karbonik anhidraz izoenzimleri (hCA I ve hCA II) üzerine *in vitro* şartlarda etkisi

Bileşik	Hidrataz $\text{IC}_{50}^{\text{a,b}}$ ( $\mu\text{M}$ )		Esteraz $\text{IC}_{50}^{\text{a,b}}$ ( $\mu\text{M}$ )		$K_i^{\text{a,b}}$ ( $\mu\text{M}$ )	
	hCA I	hCA II	hCA I	hCA II	hCA I	hCA II
AAZ	0.39±0.008	0.20±0.005	0.42±0.004	0.31±0.008	0.26±0.003	0.14±0.005
Hmabsmal	-	-	7.11±0.17	6.24±0.25	3.64±0.14	3.02±0.17
ap	-	-	-	-	-	-
1	-	-	6.91±0.16	5.36±0.10	3.45±0.11	2.56±0.04
2	-	-	1.73±0.08	1.46±0.15	1.12±0.11	0.84±0.06
3	3.35±0.18	2.56±0.14	2.51±0.17	2.08±0.17	0.74±0.08	0.41±0.08
4	-	-	5.46±0.16	5.01±0.17	2.37±0.11	1.66±0.12

AAZ referans bileşik olarak kullanılmıştır.

<sup>a</sup>Üç farklı deneyin  $\pm$  standart sapması.

<sup>b</sup>Bütün analizler için  $p < 0.0001$  olarak alınmıştır.

"-" işareti inhibisyon etkisinin gözlenmediğini gösterir.

## 4 Sonuçlar

Bu proje çalışmasında, 3-aminobenzensulfonamit (mabs) ile maleik anhidrit (mal) bileşiğinin tepkimesi sonucunda sulfomoil grubu içeren amit

bileşikler sentezlenmiştir [(E)-4-okso-4-(3-sülfamoyilfenil) amino)büt-2-enoik asit, Hmabsmal]. Hmabsmal ile 2-aminopiridin (ap) tepkimesinden yeni proton transfer tuzu bileşiği

[(Hap)<sup>+</sup>(mabsmal), 2-aminopridinyum (E)-4-okso-4-(3-sülfamoyilfenilamino) büt-2-enoat, (1)] hazırlanmıştır. Çalışmada iki yöntemle metal kompleksleri sentezlenmiştir. Birinci yöntemde tuzun Co(II) (2) ve Cu(II) (3) ile verdiği komplekslerin yapıları sentezlenmiştir. İkinci yöntemde ise tuz için kullanılan sarf malzemelerin tuz oluşumu olayı gerçekleşmeden karışım olarak birbirine ilave edilmesi ile Co(II) (2) ve Cu(II) (4) verdiği komplekslerin yapıları elde edilmiştir. Her iki yöntemde de Co(II) ile tepkimelerden aynı ürün elde edilmiştir (2). Proton transfer tuzu ve geçiş metal komplekslerinin tamamı amorf halde elde edilmiştir. Proton transfer tuzunun yapısı elementel analiz, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, IR ve UV-Vis metotları ile geçiş metal komplekslerinin yapıları ise, elementel analiz, ICP-OES, FT-IR, UV-Vis, termal analiz, manyetik duyarlılık, molar iletkenlik, yük denkliği ve daha önceki çalışmalar ile önerilmiştir.

Sentezlenen tüm maddeler DMSO, DMF gibi polar çözücülerde çözünmektedir.

Sentezlenen başlangıç maddesi ve proton transfer tuzunun DMSO içerisinde alınan <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR spektrumları incelenerek, protonlarından kaynaklanan kimyasal kayma değerleri ile yapıları açıklanmıştır. Bu çalışmada hazırlanan tuzun asit (Hmabsmal) ve baz (ap) oranı NMR sonuçlarına göre belirlenmiştir. Buna göre hazırlanan proton transfer tuzundaki asit-baz birleşme oranları 1:1 olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada sentezlenen Hmabsmal bileşiği ve tuzun IR spektrumlarına bakıldığında  $\nu(\text{N-H})$  gerilmelerinden kaynaklanan pikler gözlenmiştir. Tuzda  $\nu(\text{N}^+-\text{H})$  titreşim bandının gözlenmesi önerilen yapıyı desteklemektedir. Metal komplekslerinde, tuzda gözlenen  $\nu(\text{N}^+-\text{H})$  pikleri gözlenmemiştir. Bunun sonucunda kompleks bileşiklerin yapısında, tuzun yapımında kullanılan asit veya bazın tamamlayıcı iyon şeklinde bulunmadığı anlaşılmaktadır. Ayrıca iletkenlik ölçümleri de bu önerilen yapıları desteklemektedir.

Başlangıç maddesi, proton transfer tuzları ve metal komplekslerinin DMSO-d<sub>6</sub> içerisinde alınan UV-Visible spektrumları ile  $\pi \rightarrow \pi^*$  elektronik geçişleri ve metal komplekslerdeki metal iyonlarının d $\rightarrow$ d geçişlerinin dalga boyları belirlenmiş ve bu geçişler

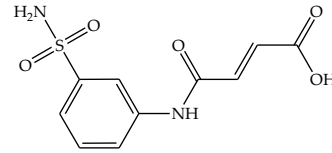
$\epsilon_0$  değerleri ile desteklenmiştir.

Metal komplekslerinin manyetik duyarlılık çalışmalarında; metal iyonlarının kobalt kompleksinde Co(II) (d<sup>7</sup>) şeklinde kaldığı ve üç tane eşleşmemiş elektron taşıdığı, bakır komplekslerinde Cu(II) (d<sup>9</sup>) şeklinde kaldığı ve bir tane eşleşmemiş elektron taşıdığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar diğer spektroskopik analizler ile uyum içerisinde.

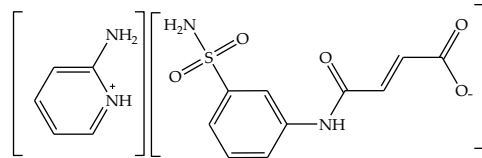
İletkenlik ölçümleri sonucunda bütün komplekslerin iyonik olmadığı bulunmuştur. Bu da önerilen yapıları desteklemektedir.

*In vitro* çalışmalar sonucunda yeni sentezlenen bileşiklerin karbonik anhidraz izoenzimleri olan hCA I ve hCA II üzerinde inhibisyon etkisine sahip olduğu gözlenmiştir. Buradan hareketle bu bileşiklerin daha ileri çalışmalar olan *in vivo* çalışmalarda kullanılabileceğini söyleyebiliriz.

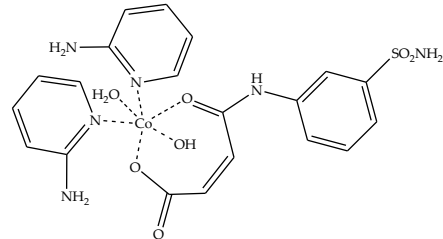
Bu çalışmada sentezlenen başlangıç maddesi (Hmabsmal), proton transfer tuzu ve metal komplekslerinin yapıları Şekiller 4. 1-5'de sırasıyla verilmiştir. Bu yapıların önerilmesinde, yukarıda tartışılan deneysel sonuçlar, yük denkliği ve daha önce yapılmış benzer çalışmalar dikkate alınmıştır [11,26,31-35].



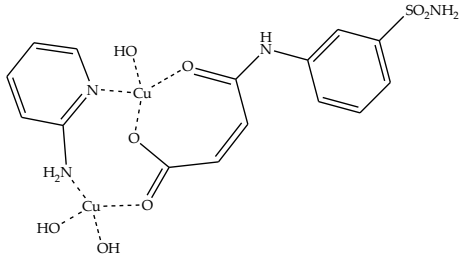
Şekil 4. 1 Hmabsmal bileşiğinin yapısı



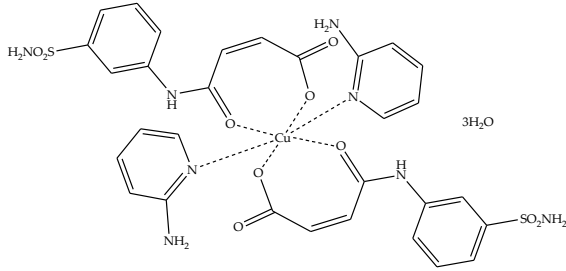
Şekil 4. 2 (1) bileşiğinin yapısı



Şekil 4. 3 (2) bileşiğinin yapısı



Şekil 4. 4 (3) bileşiğinin yapısı



Şekil 4. 5 (4) bileşiğinin yapısı

### Teşekkür

Bu çalışmaya katkılarından dolayı Dumlupınar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na teşekkür ederiz (Proje No: 2013/36).

### 5 Referanslar

- [1] Macdonald, J.C.; Dorrestein, P.C.; Pilley, M.M.; Foote, M.M.; Lundburg, J.L.; Henning, R.W.; Schultz, A.J.; Manson, J.L. Design of layered crystalline materials using coordination chemistry and hydrogen bonds. *Journal of the American Chemical Society*. 2000; 122, 11692-11702.
- [2] Aghabozorg, H.; Manteghi, F.; Sheshmani, S. A brief review on structural concepts of novel supramolecular proton transfer compounds and their metal complexes. *Journal of the Iranian Chemical Society*. 2008; 5(2), 184-227.
- [3] Supuran, C.T. Carbonic anhydrases: novel therapeutic applications for inhibitors and activators. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2008; 7, 168-181.
- [4] Netland, P.A. Glaucoma medical therapy. Oxford University Press Inc. 2008; 290.
- [5] Allen, R.G.; Pereira, L.S. Raes D.; Smith, M. Crop evapotranspiration: Guidelines for computing crop

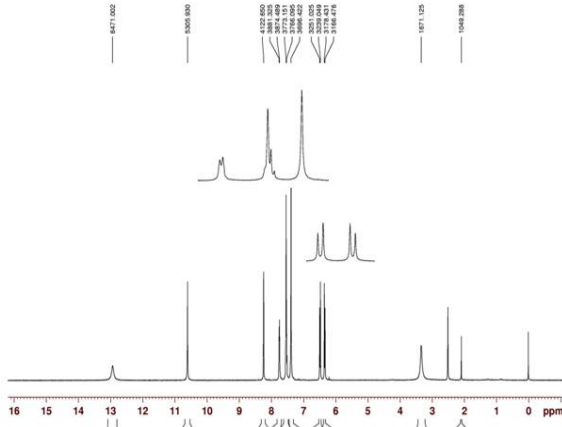
water requirements. Irr and Drain, UN-FAO, Rome, Italy 1998; 56.

- [6] Prescott, J.J.; Baggot, D.J. Antimicrobial therapy in veterinary medicine. International Book Distributing Co.; India, 1993; 564-565.
- [7] Bywater, R.J. Sulfonamides and diaminopyrimidines. In: *Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics*. Eds: Brander, G.C.; Pugh, D.M.; Bywater, R.J.; Jenkins, W.L. 5 th Ed, Baillere Tindali, London, 1991; 489-494.
- [8] Supuran, C.T.; Briganti, F.; Tilli, S.; Chegwidden, W.R.; Scozzafava, A. Carbonic Anhydrase Inhibitors: Sulfonamide as Antitumor Agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2000; 9, 703-714.
- [9] Yenikaya, C.; Sarı, M.; Bülbül, M.; Ilkimen, H.; Çelik, H.; Büyükgüngör, O. Synthesis, characterization and antiglaucoma activity of a novel proton transfer compound and a mixed-ligand Zn(II) complex. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2010; 18(2), 930-938.
- [10] Yenikaya, C.; Sarı, M.; Bülbül, M.; Ilkimen, H.; Çınar, B.; Büyükgüngör, O. Synthesis and characterization of two novel proton transfer compounds and their inhibition studies on Carbonic Anhydrase isoenzymes. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2011; 26(1), 104-114.
- [11] Yenikaya, C.; Ilkimen, H.; Demirel, M.M.; Ceyhan, B.; Tunca E.; Bülbül, M.; 2-Aminopiridin ile (E)-4-Okso-4-((4-sülfamoylfenil)amino)büt-2-enoik Asitin Proton Transfer Tuzunun Sentezi, Metal Komplekslerinin Hazırlanması ve İnhibisyon Özelliklerinin İncelenmesi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi* 2016; 16, 41-53,
- [12] Yenikaya, C.; Ilkimen, H.; Demirel, M.M.; Ceyhan, B.; Bülbül, M.; Tunca E. Preparation of Two Maleic Acid Sulfonamide Salts And Their Cu(II) Complexes and Antiglaucoma Activity Studies. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2016; 27(10), 1706-1714.
- [13] Kempte, R.; Brenner, S.; Arndt, P. Mononuclear Tris(aminopyridinato)zirconium Alkyl, Aryl, and Alkynyl Complexes. *Organometallics* 1996; 15, 1071-1074.
- [14] Fuhrmann, H.; Brenner, S.; Arndt P.; Kempe, R. Octahedral Group 4 Metal Complexes That Contain Amine, Amido, and Aminopyridinato Ligands: Synthesis, Structure, and Application in  $\alpha$ -Olefin

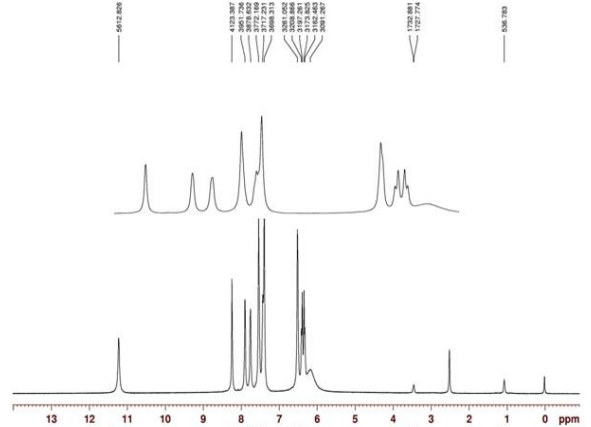
- Oligo- and Polymerization. *Inorganic Chemistry*. 1996; 35, 6742-6745.
- [15] Téllez, F.; López-Sandoval, H.; Castillo-Blum, S.E.; Barba-Behrens, N. Coordination behavior of benzimidazole, 2-substituted benzimidazoles and benzothiazoles, towards transition metal ions. *Arkivoc (v)*. 2008; 245-275.
- [16] Yenikaya, C.; Poyraz, M.; Sarı, M.; Demirci, F.; İlkimen, H.; Büyükgüngör, O. Synthesis, characterization and biological evaluation of a novel Cu(II) complex with the mixed ligands 2,6-pyridinedicarboxylic acid and 2-aminopyridine. *Polyhedron* 2009; 28(16), 3526-3532.
- [17] Mistri, S.; Zangrando, E.; Manna, S.C. Cu(II) complexes of pyridine-2,6-dicarboxylate and N-donor neutral ligands: Synthesis, crystal structure, thermal behavior, DFT calculation and effect of aromatic compounds on their fluorescence. *Inorganica Chimica Acta*. 2013; 405, 331-338.
- [18] Lah, N.; Giester, J.; Segedin, P. and Leban, I.; 2001. Copper(II) carboxylates with 2-aminopyridine. Synthesis, characterization and a study of the dimer-monomer equilibrium in acetonitrile solutions by VIS-spectroscopic and microcalorimetric titrations. *New Journal of Chemistry*. 25, 753-759.
- [19] Mei, L.; Ming, T.H.; Rong, L.Q.; Jie, S.; Zhong, Y.S.; Liang, L.X. The synthesis of N-Zn, N-Cu complexes involving 2-amino pyridine and ethylenediamine ligands and application to the Henry reaction. *Journal of Chemical Sciences*. 2009; 121(4), 435-440.
- [20] Poddar, R.K.; Agarwala, U. Reactions of Ru(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and [Ru(AsPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub> with various donor molecules. *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*. 1973; 35, 3769-3779.
- [21] Raso, A.G.; Fiol, J.J.; Zafra, A.L.; Cabrero, A.; Mata, I.; Molins, E. Crystal structures of the N-salicylidene-L-serinatoaquacopper(II) monohydrate and its ternary derivative with 2-aminopyridine. *Polyhedron* 1999; 18, 871-878.
- [22] Kremlev, M.M.; Kul'chitskaya, N.E.; Biba, A.D.; Romanenko, V.D. Arenesulfonamides. XXVII. N-(sulfamoylary)maleimides. *Khimicheskaya Tekhnologiya (Kharkov)*. 1971; 21, 5-10.
- [23] Innocenti, A.; Scozzafava, A.; Parkkila, S.; Pucceti, L.; De Simone, G.; Supuran, C.T. Investigations of the esterase, phosphatase, and sulfatase activities of the cytosolic mammalian carbonic anhydrase isoforms I, II, and XIII with 4-nitrophenyl esters as substrates. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2008; 18, 2267-2271.
- [24] Verpoorte, J.A.; Mehta, S.; Edsall, J.T. Esterase activities of human carbonic anhydrases B and C. *Journal of Biological Chemistry*. 1967; 242, 4221-4229.
- [25] Ciftci, M.; Bulbul, M.; Gul, M.; Gumuştekin, K.; Dane, Ş.; Suleyman, H. Effects of nicotine and Vitamin E on carbonic anhydrase activity in some rat tissues in vivo and in vitro. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2005; 20, 103-109.
- [26] Bulbul, M.; Hisar, O.; Beydemir, S.; Ciftci, M.; Kufrevioğlu, O.İ. The in vitro and in vivo inhibitory effects of some sulfonamide derivatives on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) erythrocyte carbonic anhydrase activity. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2003; 18, 371-375.
- [27] Williams, D. H., Fleming, I. *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*. 4th ed. revised, McGraw-Hill Book Company (UK) Limited, 1989.
- [28] Cook D. Vibrational spectra of pyridinium salts. *Canadian Journal of Chemistry*, 1961; 39, 2009-24.
- [29] Gowda, B.T.; Jyothi, K.; Souza, J.D.D.Z. Infrared and NMR spectra of arylsulfonamides, 4-X-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> and i-X, j-YC<sub>6</sub>H<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> (X = H; CH<sub>3</sub>; C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>; F; Cl; Br; I or NO<sub>2</sub> and i-X, j-Y = 2,3-(CH<sub>3</sub>)(2); 2,4-(CH<sub>3</sub>)(2); 2,5(CH<sub>3</sub>)(2); 2-CH<sub>3</sub>, 4-Cl; 2-CH<sub>3</sub>, 5-Cl; 3-CH<sub>3</sub>, 4-Cl; 2,4-Cl-2 or 3,4-Cl-2). *Naturforsch.* 2002; 57a, 967.
- [30] Geary, W.J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds, *Coordination Chemistry Reviews*. 1971; 7(1), 81-122.
- [31] Ceyhan, B. 2-Hidrojenbenzimidazol ile 4-okso-4-((4-sülfomofilfenil)amino)büt-2-enoik asit tuzunun sentezi, geçiş metal komplekslerinin hazırlanması ve kullanım alanlarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2013.
- [32] Demirel, M.M. 2-Aminopiridin ile 4-okso-4-((4-sülfomofilfenil)amino)büt-2-enoik asit tuzunun sentezi, geçiş metal komplekslerinin hazırlanması ve kullanım alanlarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2013.

- [33] Shah, A.I.; Shukla, H.M.; Shah, P.J.; Raj, D.S., Novel co-ordination polymers of 8-hydroxyquinoline. *Elixir Chemical Physics*. 2012; 44, 7378-7381.
- [34] Lazarou, K.N.; Perlepes, S.P.; Psycharis, V.; Raptopoulou, C.P. Synthetic study of the ternary copper(II)/maleamate(-1)/1,10-phenanthroline reaction system: Mononuclear, dinuclear and polymeric complexes. *Polyhedron*. 2008; 27, 2131–2142.
- [35] Ashok, M.; Prasad, A.V.S.S.; Ravinder, V. Synthesis, Spectral Studies and Catalytic Activity of Ruthenium(II) Complexes with Organic Amide Ligands. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2007; 18(8), 1492-1499.

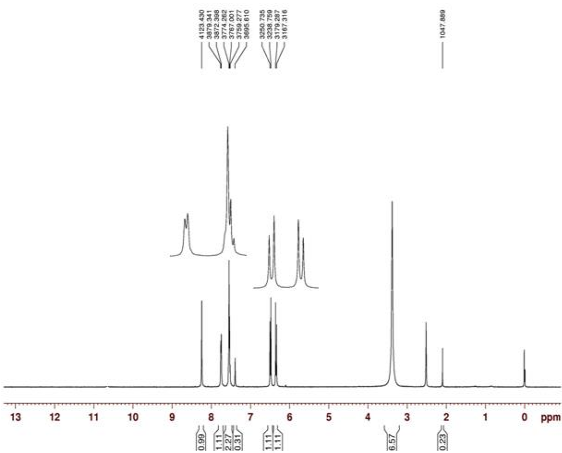
6 Ekler



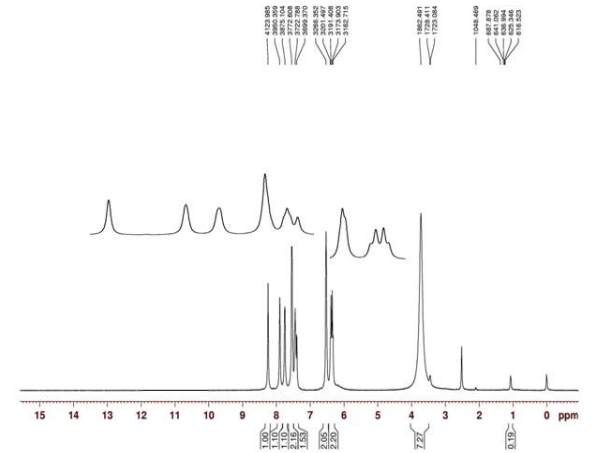
EK 1. H<sub>m</sub>absmal bileşiginin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu



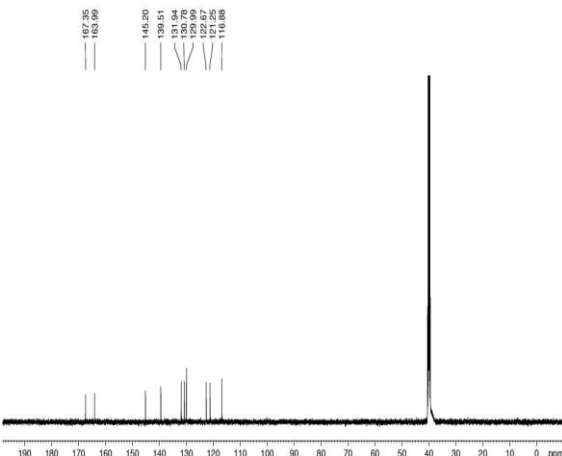
EK 4. (1) bileşiginin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu



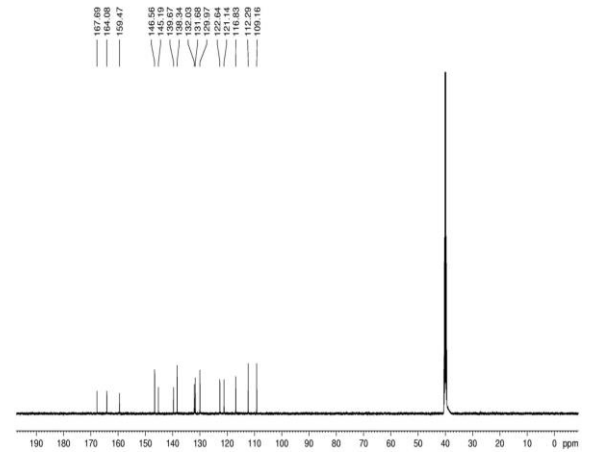
EK 2. H<sub>m</sub>absmal bileşiginin D<sub>2</sub>O ilaveli <sup>1</sup>H-NMR spektrumu



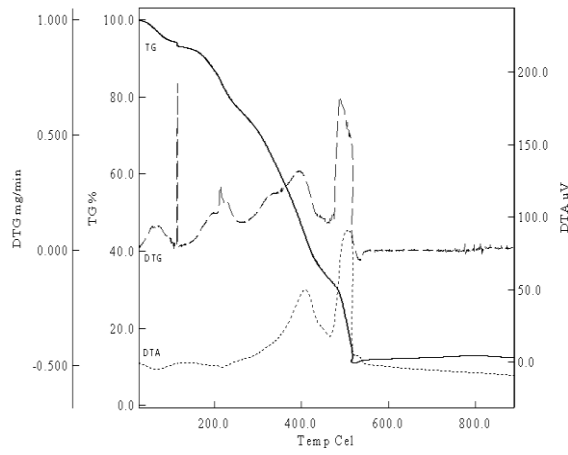
EK 5. (1) bileşiginin D<sub>2</sub>O ilaveli <sup>1</sup>H-NMR spektrumu



EK 3. H<sub>m</sub>absmal bileşiginin <sup>13</sup>C-NMR spektrumu

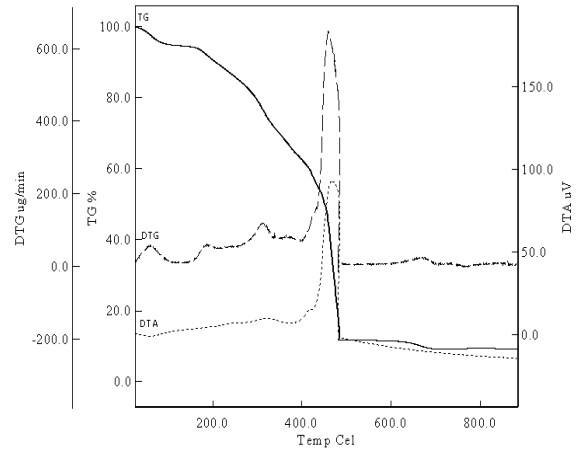


EK 6. (1) bileşiginin <sup>13</sup>C-NMR spektrumu



EK 7. (2) kompleksinin TG/DTA spektrumu

EK 8. (3) kompleksinin TG/DTA spektrumu



EK 9. (4) kompleksinin TG/DTA spektrumu

