

2-Aminopiridin ile (E)-4-Okso-4-((4-sülfamoyilfenil)amino)büt-2-enoik Asitin Proton Transfer Tuzunun Sentezi, Metal Komplekslerinin Hazırlanması ve hCA I ve hCA II İzoenzimleri Üzerindeki İnhibisyon Özelliklerinin İncelenmesi

Cengiz YENİKAYA¹, Halil İLKİMEN^{1*}, Mehmet Melih DEMİREL¹, Burçin CEYHAN¹, Ekrem TUNCA²,
Metin BÜLBÜL²

¹Dumlupınar Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, 43100, Kütahya, TÜRKİYE

²Dumlupınar Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyokimya Bölümü, 43100, Kütahya, TÜRKİYE
e-posta: halil.ilkimen@dpu.edu.tr

Geliş Tarihi:26.01.2016; Kabul Tarihi:30.03.2016

Özet

Bu çalışmada, ilk olarak sülfanilamid (sa) ve maleik anhidritin (mal) tepkimesinden (E)-3-(4-sülfamoyilfenil)amino)büt-2-enoik asit (Hsamal) bileşiği sentezlenmiş ve sonra bu bileşiğin 2-aminopiridin (ap) ile proton transfer tuzu (Hapsamal) hazırlanmıştır. Bu tuzun Fe(II), Co(II), Ni(II) ve Zn(II) geçiş metal kompleksleri sentezlenmiştir. Proton transfer tuzlarının yapısı elemental analiz, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, FT-IR, UV-Vis metotları ile aydınlatılmıştır. Amorf halde elde edilen geçiş metal komplekslerinin yapıları ise elemental analiz, ICP-OES, FT-IR, UV-Vis, 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 tespit edilmiştir. Bu maddelerin inhibisyon değerlerinin kontrol bileşiği asetazolamid (AAZ) değerleri ile kıyaslanabilir büyüklükte olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler

“Sülfamoyil Bileşikleri”
“2-Aminopiridin”
“Proton Transfer Tuzu”
“Metal Kompleksleri”
“Karbonik Anhidraz İnhibisyonu”

Synthesis and Structural Studies of Proton Transfer Salt Between Benzimidazole and (E)-4-oxo-4-(4-sulfamoylphenylamino)but-2-enoic Acid and Their Transition Metal Complexes, and Investigation of Inhibition Properties on hCA I and hCA II Isoenzymes

Abstract

In this study, first (E)-4-oxo-4-(4-sulfamoylphenylamino)but-2-enoic acid (Hsamal) have been synthesized from the reaction between sulfanilamide (sa) and maleic anhydride (mal) and second, proton transfer salt (Hapsamal) has been prepared from 2-aminopyridine (ap) and Hsamal. Four transition metal complexes [Fe(II), Co(II), Ni(II) and Zn(II)] of the salt have also been synthesized. The structure of proton transfer compounds have been proposed by using elemental analysis, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, FT-IR, UV-Vis techniques. The structure of a morphous metal complexes have been proposed by using elemental analysis, ICP-OES, FT-IR, UV-Vis, 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 and the inhibition values of these compounds are comparable with the inhibition values of control compound acetazolamide (AAZ).

Keywords

“Sulfamoyl Compounds”
“2-Aminopyridine”
“Proton Transfer Salt”
“Metal Complexes”
“Carbonic Anhydrase Inhibition”

1. Giriş

Fizik, kimya ve biyokimyada en temel işlemlerden olan proton transfer tepkimeleri, suyun öziyonlaşması, asit-baz nötralizasyon tepkimesi ve enzim katalizigibi reaksiyonlarda önemli bir anahtar görevi görür [MacDonald et al. 2000]. 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 reaksiyona girerek oluşturdukları metal kompleksleri genellikle suda çözünebilen iyonik bileşiklerdir [Aghabozorg et al. 2008].

2-Aminopiridinler inorganik ve organometalik uygulamalarda şelatlama ligandları olarak kullanılmaktadır [Kempte et al. 1996; Fuhrmann et al. 1996; Téllez et al. 2008]. 2-Aminopiridin ve türevleri, çoğu durumda halkanın azot atomu yoluyla metal iyonlarına tek dişli ligant [Yenikaya et al. 2009; Mei et al. 2009; Lah et al. 2001; Mistri et al. 2013] olarak bağlansada; bazı çalışmalarda amino grubunun da yer aldığı koordinasyon durumları vardır [Poddar and Agarwala 1973; Raso et al. 1999]

Sülfamoyil grubu içeren bileşiklerin, antimikrobiyal, antidiyabetik, antienflamatuar, enzim inhibitörü, antagonist özellikleri, enfeksiyon tedavisi, sıtma tedavisi, ağrı kesici, menisküs ve romatizma tedavisi gibi çalışma alanlarında bol miktarda kullanıldığını literatürde görebilmekteyiz [R.G. Allen et al. 1998; Prescott and Baggot 1993; Bywater 1991; Supuran et al. 2000; Yenikaya et al. 2010; Yenikaya et al. 2011]. 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 [Supuran, 2008]. 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 (Netland, 2008).

Bu çalışmada önce sülfanilamid (sa) ile maleik anhidrit (mal) bileşiğinin tepkimesi sonucunda sülfamoyil grubu içeren amid bileşiği literatürdeki gibi sentezlenmiştir [(E)-4-okso-4-(4-sülfamoyilfenil)amino)büt-2-enoik asit, Hsamal] [Bergmann ve Schapiro 1942]. Daha sonra Hsamal ile 2-aminopiridin (ap) tepkimesinden proton transfer tuzu bileşiği Hapsamal [(E)-2-aminopridinyum 4-okso-4-(4-sülfamoyilfenilamino)büt-2-enoat] hazırlanmıştır [Demirel 2013; Yenikaya et al. 2016]. Bu tuzun Fe(II), Co(II), Ni(II) ve Zn(II) ile verdiği komplekslerin yapıları 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.

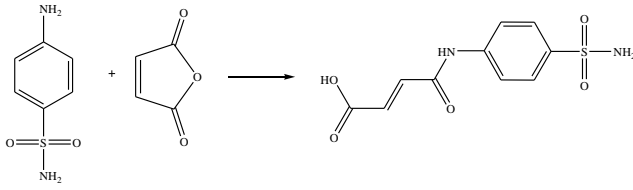
2. 1. 2 Analizlerde Kullanılan Cihazlar

¹H- ve ¹³C-NMR Spektroskopisi; BRUKER AVANCE DPX-400, Elementel Analiz Cihazı; LECO CHNS 932, ICP-OES Cihazı; Perkin Emler 4300 Optima, İnfrared Spektrometresi; BRUKER OPTICS VERTEX 70, UV-Vis cihazı; SHIMADZU UV-2550 Spektrometresi, Manyetik Duyarlılık Cihazı; Sherwood Scientific Magway MSB MK1, Molar İletkenlik Cihazı; WTW Cond 315i/SET Model, Erime Noktası Tayin Cihazı; STUART SCIENTIFIC, Melting Point SMP3.

2. 2 Metot

2. 2. 1 (E)-4-okso-4-(4-sülfamoyilfenil)amino)büt-2-enoik asit (Hsamal) Sentezi

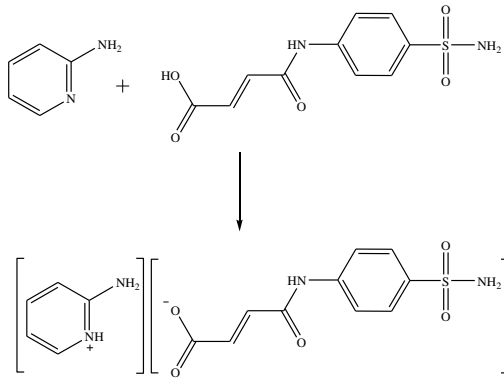
10 mmol (1.72 g) sülfanilamid bir balonda 10 mL kuru asetonla çözüldü. Üzerine 10 mmol (0.980 g) maleik anhidrit katı olarak eklendi. Otuz dakikalık bir karıştırma işleminden sonra reaksiyon ortamında çöken sarı renkli katı süzüldü, kuru asetonla yıkandı ve kurutuldu (Şekil 1). Elde edilen bileşiğin bazı fiziksel özellikleri Tablo 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Hsamal Sentezi

2. 2. 2 Hapsamal Proton Transfer Tuzunun Sentezi

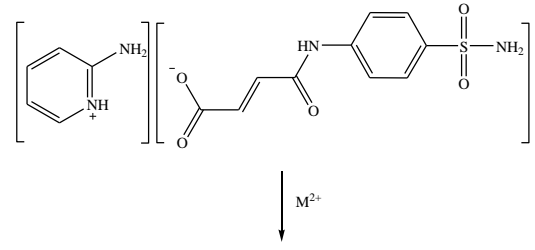
20 mmol (5.40 g) Hsamal bileşiği bir balon içerisinde 20 mL etanolde çözüldü. 20 mmol (1.882 g) ap bileşiği ayrı bir balon içerisinde 20 mL etanolde çözüldü. Oda koşullarında asit çözeltisi baz çözeltisinin üzerine damla damla eklendi. 24 saatlik bir karıştırma işleminden sonra reaksiyon ortamında çöken beyaz katı süzüldü, etanol ile yıkandı ve kurutuldu (Şekil 2). Elde edilen tuzun bazı fiziksel özellikleri Tablo 1’de verilmiştir.



Şekil 2. Hapsamal Proton Transfer Tuzunun Sentezi

2. 2. 3 Metal Komplekslerin Sentezi

Proton transfer tuzundan 1 mmol (0.364 g) alınarak 10 mL su:etanolde (1:1) çözüldü. Üzerine 0.5 mmol metal(II) tuzunun [0.139 g FeSO₄.7H₂O; 0.1245 g Co(CH₃COO)₂.4H₂O; 0.124 g Ni(CH₃COO)₂.4H₂O veya 0.111 g Zn(CH₃COO)₂.2H₂O] 10 mL sudaki çözeltisi damla damla ilave edildi ve 24 saat oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra metal kompleks çözeltileri 0.1 M NaOH ile pH’ı ayarlandı (pH= 7-8). Sonra geçiş metal kompleks çözeltileri oda koşullarında iki gün boyunca karıştırılmaya bırakıldı. Çözelti ortamında çöken metal kompleksleri süzüldü ve kurutuldu (Şekil 3). Elde edilen kompleks bileşiklerin bazı fiziksel özellikleri Tablo 1’de verilmiştir.



Metal Kompleksi

M= Fe, Co, Ni, Zn

Şekil 3. Metal Komplekslerinin Sentezi

2. 2. 4 In vitro İnhibisyon Çalışmaları

2. 2. 4. 1 Sentezlenen bileşiklerin hCA I ve hCA II izoenzimlerinin esteraz aktivitesi üzerindeki inhibisyon etkilerinin incelenmesi

Yeni sentezlenen bileşiklerin glokom hastalığı tedavisi için klinikte lokal olarak kullanılan miktar olan %1’lik çözeltileri hazırlanarak insan karbonik anhidraz I ve II izoenzimlerinin esteraz aktivitesi üzerine inhibisyon etkileri incelenmiştir. İnsan eritrositlerinden saflaştırılan hCA I ve hCA II izoenzimleri için beş farklı uygun inhibitör konsantrasyonunda esteraz aktivitesi ölçümleri yapılmıştır [Verpoorte et al. 1967; Innocenti et al. 2008]. İnhibisyon etkisi olan bileşiklerin %Aktivite-[I] grafikleri çizilerek IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

2. 2. 4. 2 İnhibitörlerin inhibisyon sabiti (K_i) değerlerinin hesaplanması

K_i değerlerini bulmak için eritrosit hCA I ve hCA II izoenzimlerinin esteraz aktivitesi 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 [Bulbul et al. 2003; Ciftci et al. 2005]. 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. BULGULAR ve TARTIŞMA**

3. 1 NMR Spektrumu Sonuçları

3. 1. 1 Hsamal Bileşiğinin NMR Spektrumları

Sentezlenen Hsamal bileşiğinin (Şekil 4) DMSO-d₆ içerisinde alınan ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumundaki kimyasal kayma değerleri Tablo

2'de verilmiştir. Literatürde bulunan değerler ile uyumludur [Yenikaya et al. 2016].

Tablo 1. Sentezlenen bileşiklerin bazı fiziksel özellikleri

Bileşik	Renk	Mol Kütle (g/mol)	Erime Noktası (°C)	Verim(%)
Hsomal	Sarı	270.26	198-201	90
ap	Beyaz	94.11	122-126	-
Hapsomal	Beyaz	364.38	187-188	92
[Fe ₂ (samal)(H ₂ O) ₃ (OH) ₃]	Kahverengi	501.01	213*	43
[Co ₂ (samal)(H ₂ O) ₃ (OH) ₂].H ₂ O	Mor	493.20	268*	56
[Ni ₂ (samal)(ap) ₂ (OH) ₄ (H ₂ O)]	Yeşil	660.91	328*	37
[Zn ₂ (samal)(ap)(OH) ₃]	Beyaz	545.15	307*	61

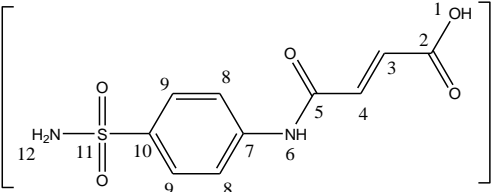
* bozunma noktası

Hsomal bileşiğinin ¹H-NMR spektrumunda (Tablo 2); 7.80 ppm'de gözlenen 4H'luk tekli pik benzen halkasındaki hidrojenlerden (2H⁸, 2H⁹) kaynaklanmaktadır. 6.50 ppm (H³, ³J_{H³-H⁴} = 11.96 Hz) ve 6.36 ppm'de (H⁴, ³J_{H⁴-H³} = 11.95 Hz) gözlenen 1H'luk doublet pikler alken protonlarından (-CH=CH-) kaynaklanan piklerdir. Bu hidrojenlerin Hz değerleri yaklaşık 12 olması yapının trans pozisyonunda olduğunu göstermektedir [Williams ve Fleming 1989; Yenikaya et al. 2016]. Yapıda bulunan -SO₂NH₂ hidrojenleri (H¹²) ve amit hidrojeni (H⁶) sırayla 7.30 ppm'de 2H'luk tekli ve 10.80 ppm'de 1H'luk tekli pik olarak gözlenmiştir. Yapıdaki karboksil grubunda bulunan proton (H¹) ise 12.90 ppm'de 1H'luk tekli pik olarak gözlenmiştir. Örnek çözeltisi üzerine D₂O ilavesinden sonra çekilen ¹H-NMR spektrumunda;

H¹, H⁶ ve H¹² hidrojenleri gözlenmemiştir [Yenikaya et al. 2016].

Hsomal bileşiğinin ¹³C-NMR spektrumunda (Tablo 2); 168 ppm'de gözlenen pik karboksil grubundaki karbon atomuna (C²OO⁻) ve 164 ppm'de gözlenen pik ise amid grubuna bağlı karbon atomuna (C⁵) aittir. 142 ppm'de gözlenen pik benzenin -SO₂NH₂ grubuna bağlı karbon atomundan (C¹⁰), 139 ppm'de gözlenen pik ise benzenin -NH grubuna bağlı karbon atomundan (C⁷) kaynaklanmaktadır. Yapıda bulunan diğer aromatik karbon atomları 132 (C⁸) ve 131 (C⁹) ppm'de ortaya çıkmıştır. Alken karbon atomları ise 119 (C⁴) ve 137 (C³) ppm'de gözlenmiştir [Yenikaya et al. 2016].

Tablo 2. Hsomal bileşiğinin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumunun kimyasal kayma değerleri δ (ppm)

			
H ¹	12.9 (1H, s)	C ²	168 ppm
H ³	6.50 (1H, d) [³ J _{H³-H⁴} = 11.96 Hz]	C ³	137 ppm
H ⁴	6.36 (1H, d) [³ J _{H⁴-H³} = 11.95 Hz]	C ⁴	119 ppm
H ⁶	10.8 (1H, s)	C ⁵	164 ppm
H ⁸ , H ⁹	7.80 (4H, s)	C ⁷	139 ppm
H ¹²	7.30 (2H, s)	C ⁸	132 ppm
		C ⁹	131 ppm
		C ¹⁰	142 ppm

5. 1. 2 Hapsamal Bileşiğinin NMR Spektrumları

Sentezlenen Hapsamal bileşiğinin (Şekil 5) DMSO-d₆ içerisinde alınan ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumundaki kimyasal kayma değerleri Tablo 3'de verilmiştir. Literatürde bulunan değerler ile uyumludur [Yenikaya et al. 2016].

Hapsamal proton transfer tuzunun ¹H-NMR spektrumunda (Tablo 3); 7.90 ppm (H¹⁸, [³J_{H18-H17} = 5.07 Hz, ⁴J_{H18-H16} ~ 3.00 Hz]) ve 6.50 ppm'de (H¹⁵, [³J_{H15-H16} = 8.41 Hz, ⁴J_{H15-H17} = 2.88 Hz]) gözlenen 1H'lık ikili-ikili piklerle 7.42 ppm (H¹⁷, [³J_{H17-H18,H16} = 7.20 Hz, ⁴J_{H17-H15} = 2.98 Hz]) ve 6.50 ppm'de (H¹⁶, [³J_{H16-H17,H15} = 8.72 Hz, ⁴J_{H16-H18} = 2.69 Hz]) gözlenen 1H'lık üçlü-ikili pikler tuzdaki piridin halkasının hidrojenlerinden kaynaklanmaktadır. Tuzdaki piridin halkasında bulunan amin grubu protonları (H¹⁹) 6.20 ppm'de 2H'lık tekli olarak gözlenmiştir. 6.36 ppm (H³, ³J_{H3-H4} = 12.14 Hz) ve 6.33 ppm'de (H⁴, ³J_{H4-H3} = 12.11 Hz) gelen 1H'lık ikili pikler alken protonlarından (-CH=CH-) kaynaklanan piklerdir. Bu hidrojenlerin Hz değerleri yaklaşık 12 olması yapının trans pozisyonunda olduğunu göstermektedir [Williams ve Fleming 1989; Yenikaya et al. 2016]. 7.80 ppm'de gözlenen 4H'lık tekli pik (2H⁸, 2H⁹)

tuzdaki samal grubunun benzen halkasındaki hidrojenlerden kaynaklanmaktadır. Yine aynı gruptaki amit hidrojeninden (H⁶) kaynaklanan pik 11.3 ppm'de 1H'lık tekli olarak ortaya çıkmıştır. Sülfamoyil grubunda bulunan hidrojenlerden (H¹²) kaynaklanan pik ise 7.30 ppm'de 2H'lık tekli olarak gözlenmiştir. Tuzda yaklaşık 13 ppm civarında beklenen Hsamal'a ait -COOH hidrojeni (H¹) gözlenememiştir. Bu hidrojenin ap'deki N^{13'}e transfer olduğu düşünülmektedir (H¹³). NMR spektrumu için hazırlanan tuz çözeltisinde asidik H'nin H¹ ⇌ H¹³ tersinir tepkimesine uğradığı düşünülmektedir. Bu nedenle H¹ veya H¹³ NMR spektrumunda gözlenememiştir. Aynı tuzun katı örnek ile FT-IR spektrumu alındığında H^{13'}ün varlığı belirlenmiştir. Bu çalışmada hazırlanan proton transfer tuzunun; ap ve Hsamal oranı ¹H-NMR spektrumundaki integrasyon oranlarından yararlanarak 1:1 olarak bulunmuştur. Örnek çözeltisi üzerine D₂O ilavesinden sonra çekilen ¹H-NMR spektrumunda H⁶, H¹² ve H¹⁹ hidrojenleri de döteryum ile yer değiştirdikleri için gözlenememiştir [Yenikaya et al. 2016].

Tablo 3. Hapsamal proton transfer tuzunun ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumunun kimyasal kayma değerleri δ(ppm)

H ¹⁹	6.20 (2H,s)	C ²	168 ppm
H ¹⁸	7.90 (1H, dxd) [³ J _{H18-17} = 5.07 Hz, ⁴ J _{H18-16} = 2.38 Hz]	C ³	127 ppm
H ¹⁷	7.42 (1H, txd) [³ J _{H17-18} = 7.20 Hz, ⁴ J _{H17-15} = 2.98 Hz]	C ⁴	119 ppm
H ¹⁶	6.50 (1H, txd) [³ J _{H16-17,15} = 8.72 Hz, ⁴ J _{H16-18} = 2.69 Hz]	C ⁵	164 ppm
H ¹⁵	6.50 (1H, dxd) [³ J _{H15-16} = 8.41 Hz, ⁴ J _{H15-17} = 2.84 Hz]	C ⁷	139 ppm
H ³	6.36 (1H,d) [³ J _{H3} = 12.14 Hz]	C ⁸	131 ppm
H ⁴	6.33 (1H,d) [³ J _{H4} = 12.11 Hz]	C ⁹	132 ppm
H ⁶	11.3 (1H, s)	C ¹⁰	142 ppm
H ⁸ H ⁹	7.80 (4H, s)	C ¹⁴	159 ppm
H ¹²	7.30 (2H, s)	C ¹⁵	138 ppm
H ¹³	Gözlenemedi	C ¹⁶	109 ppm
		C ¹⁷	112 ppm
		C ¹⁸	147 ppm

Proton Transfer Tuzun ¹³C-NMR spektrumunda (Tablo 3); 168 ppm'de gözlenen pik karboksil grubundaki karbon atomuna (C²OO⁻) ve 164 ppm'de gözlenen pik ise amid grubuna bağlı karbon atomuna (C⁵) aittir. 142 ppm'de gözlenen pik benzenin -SO₂NH₂ grubuna bağlı karbon atomundan (C¹⁰), 139 ppm'de gözlenen pik ise benzenin -NH grubuna bağlı karbon atomundan (C⁷) kaynaklanmaktadır. Yapıda bulunan aromatik karbon atomları 159 (C¹⁴), 147 (C¹⁸), 138 (C¹⁵), 132 (C⁹), 131 (C⁸), 112(C¹⁷) ve 109 (C¹⁶) ppm'de ortaya çıkmıştır. Alken karbon atomları ise 119 (C⁴) ve 127 (C³) ppm'de gözlenmiştir [Yenikaya et al. 2016].

5. 2 FT-IR Sonuçları

Hapsamal proton transfer tuzu, başlangıç maddeleri (sa, mal, Hsamal ve ap) ve metal kompleks bileşiklerinin FT-IR değerleri Tablo 4'de verilmiştir. Spektrumlarda Şekiller 4-9'da önerilen yapıları destekleyen titreşim bantları mevcuttur.

Hapsamal proton transfer tuzunun FT-IR spektrumunda [Yenikaya et al. 2016]; v(N-H)

gerilmelerinden kaynaklanan şiddetli titreşim bantları 3442 ve 3303 cm⁻¹, Hsamal da 3352, 3263 ve 3212 cm⁻¹, ap'de 3447 ve 3307 cm⁻¹ gözlenmiştir. Tuzda 2707 ve 2549 cm⁻¹'de gözlenen zayıf titreşim bantlarının v(N⁺-H) gözlenmesi önerilen yapıyı desteklemektedir (Şekil 4) [Cook, 1961]. Tuz ve başlangıç maddelerinin yapılarındaki alken ve aromatik v(C-H) gerilmelerinden kaynaklanan zayıf titreşim bantları, 3060-3013 cm⁻¹ ve 3083-3063 cm⁻¹ aralığında ortaya çıkmaktadır. v(C=O) gerilmelerinin titreşim bantları Hsamal'da 1630 cm⁻¹ (amit) ve 1695 cm⁻¹ (asit)'de gözlenirken, Hapsamal'da 1633 cm⁻¹ (amit) ve 1677 cm⁻¹ (asit) gözlenmektedir. 1581-1401 cm⁻¹ aralığındaki titreşim bantları yapılarındaki v(C=N) ve v(C=C) gerilmelerinden kaynaklanmaktadır. Hsamal ve Hapsamal 1438-1094 cm⁻¹ aralığında gözlenen titreşim bantları ise yapıdaki v(S=O) gerilmelerinden kaynaklanmaktadır [Gowda et al. 2002]. Ayrıca ap ve Hapsamal'da piridin halkasının dalgalanma titreşim piki sırasıyla 751 ve 768 cm⁻¹'de gözlenmiştir.

Tablo 4. Hapsamal tuzu ve metal komplekslerinin FT-IR bandları (cm⁻¹)

	sa	mal	Hsamal	ap	Hapsamal	Fe	Co	Ni	Zn
v(OH)	-	-	2900(br)	-	-	3394(br)	3433(br)	3416(br)	3409(br)
v(NH ₂)	3478(m)	-	3352(m)	3447(m)	3432(m)	3359(m)	-	3303(m)	3305(m)
	3375(m)	-	3263(m)	3307(m)	3303(m)	3313(m)	-	3272(m)	3272(m)
	3267(m)	-	3212(m)	-	-	3296(m)	-	3235(m)	3239(m)
	3216(m)	-	-	-	-	3251(m)	-	3113(m)	3180(m)
v(NH) ⁺	-	-	-	-	2707(w)	-	-	-	-
					2549(w)				
v(C-H) _{Ar}	3063(w)	-	3068(w)	3073(w)	3083(w)	3067(w)	3076(w)	3060(w)	3072(w)
v(C-H) _{Alk.}	-	3060(w)	3013(w)	-	3041(w)	3045(w)	3060(w)	3052(w)	3044(w)
v(C=O) _{amit}	-	-	1630(s)	-	1633(s)	1638(s)	1634(s)	1630(s)	1638(s)
v(C=O) _{asit}	-	1783(s)*	1695(s)	-	1677(s)	1655(s)	1667(s)	1674(s)	1667(s)
v(C=N)	1629(s)	1591(s)	1549(s)	1601(s)	1581(s)	1578(s)	1591(s)	1592(s)	1637(s)
v(C=C)	1595(s)	1566(s)	1496(s)	1561(s)	1561(s)	1561(s)	1562(s)	1563(s)	1561(s)
	1557(s)	1462(s)	1468(s)	1492(s)	1496(s)	1544(s)	1545(s)	1493(s)	1497(s)
	1503(s)	-	1425(s)	1443(s)	1408(s)	1487(s)	1493(s)	-	1435(s)
	1458(s)	-	1401(s)	-	-	-	-	-	-
v(S=O)	1438(s)	-	1397(s)	-	1368(s)	1438(s)	1357(s)	1405(s)	1390(s)
	1313(s)	-	1317(s)	-	1333(s)	1313(s)	1260(s)	1322(s)	1348(s)
	1143(s)	-	1193(s)	-	1161(s)	1143(s)	1153(s)	1155(s)	1159(s)
	1094(s)	-	1093(s)	-	1094(s)	1094(s)	1093(s)	1097(s)	1091(s)
v(Py)	-	-	-	751(s)	768(s)	-	-	768(s)	695(s)
v(M-O)	-	-	-	-	-	565(s)	520(w)	548(w)	556(w)
v(M-N)	-	-	-	-	-	422(s)	431(w)	477(w)	468(w)

*anhidritin v(C=O) gerilmesi.

Metal komplekslerinin FT-IR spektrumlarında yapıdaki su ve (OH)⁻ gruplarından kaynaklanan $\nu(\text{O-H})$ titreşimleri 3433-3394 cm^{-1} aralığında gözlenmiştir. Fe(II), Ni(II) ve Zn(II) metal kompleksleri için $\nu(\text{N-H})$ grubundan kaynaklanan gerilim pikleri 3359-3103 cm^{-1} aralığında gözlenmiştir. Co(II) metal kompleksinde ise $\nu(\text{N-H})$ grubundan kaynaklanan gerilim pikleri yayvan $\nu(\text{O-H})$ gerilim piklerinin altında kaldığı için gözlenememiştir. Tüm metal komplekslerinin önerilen yapılarındaki alken ve aromatik $\nu(\text{C-H})$ gerilmelerinden kaynaklanan zayıf titreşim bantları, 3060-3035 cm^{-1} ve 3076-3060 cm^{-1} aralığında ortaya çıkmaktadır. $\nu(\text{C=O})$ gerilmesinin titreşim bantları, Fe(II) kompleksi için 1638 cm^{-1} (asit) ve 1655 cm^{-1} (asit), Co(II) kompleksi için 1634 cm^{-1} (asit) ve 1667 cm^{-1} (asit), Ni(II) kompleksi için 1630 cm^{-1} (asit) ve 1674 cm^{-1} (asit) ve Zn(II) kompleksi için 1638 cm^{-1} (asit) ve 1667 cm^{-1} (asit) dir. Tüm metal komplekslerinde; 1638-1420 cm^{-1} aralığında aromatik (ve alken) $\nu(\text{C=C})$ ve $\nu(\text{C=N})$ gerilmeleri, 1438-1091 cm^{-1} aralığında $\nu(\text{S=O})$ gerilmeleri [Gowda et al. 2002], 565-520 cm^{-1} ve 477-422 cm^{-1}

aralığında M-O ve M-N gerilmeleri gözlenmiştir. Ni(II) ve Zn(II) komplekslerinde piridin halkasına ait dalgalanma titreşimi 768-695 cm^{-1} aralığında gözlenirken, bu pikler Fe(II) ve Co(II) komplekslerinde gözlenmemiştir. Bu durum Fe(II) ve Co(II)'nin tuz yerine sadece Hsomal ile kompleks yaptığını göstermektedir.

5. 3 Elementel Analiz ve ICP-OES Sonuçları

Hapsamal proton transfer tuzunun elementel analizleri ile bunların Fe(II), Co(II), Ni(II) ve Zn(II) metal komplekslerinin elementel analiz ve ICP-OES sonuçları Tablo 5'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 göstermektedir.

Bu çalışmada hazırlanan tuzda ap ve Hsomal oranları elementel analiz ve NMR sonuçlarına göre belirlenmiştir. Buna göre hazırlanan proton transfer tuzlarındaki ap:Hsomal birleşme oranı 1:1 olarak bulunmuştur.

Tablo 5. Sentezlenen bileşiklerin elementel analiz ve metal iyonu için ICP-OES sonuçları

Bileşik	Kapalı formülü	% Deneysel				
		C	H	N	S	M
Hsomal	C ₁₀ H ₁₀ N ₂ O ₅ S	44.46 (44.44)	3.78 (3.73)	10.32 (10.37)	11.85 (11.86)	-
Hapsamal	C ₁₅ H ₁₆ N ₄ O ₅ S	49.45 (49.44)	4.45 (4.43)	15.40 (15.38)	8.81 (8.80)	-
FeHapsamal	C ₁₀ H ₁₈ N ₂ O ₁₁ SFe ₂	24.00 (23.97)	3.45 (3.42)	5.60 (5.59)	6.43 (6.40)	22.30 (22.29)
CoHapsamal	C ₁₀ H ₁₈ N ₂ O ₁₁ SCo ₂	24.35 (24.35)	3.90 (3.88)	5.70 (5.68)	6.55 (6.50)	23.95 (23.90)
NiHapsamal	C ₂₀ H ₂₆ N ₆ O ₉ SNi ₂	36.37 (36.35)	4.15 (4.12)	12.75 (12.72)	4.83 (4.85)	17.75 (17.76)
ZnHapsamal	C ₁₅ H ₁₈ N ₄ O ₈ SZn ₂	33.08 (33.05)	3.35 (3.33)	10.30 (10.28)	5.90 (5.88)	23.90 (23.99)

Elementel analiz ve ICP-OES sonuçlarına göre Hapsamal tuzunun metal komplekslerinde (Tablo 5); FeHapsamal, CoHapsamal, NiHapsamal ve ZnHapsamal komplekslerinde metal:samal:ap oranı ise sırasıyla 2:1:-, 2:1:-, 2:1:2 ve 2:1:1 olduğu

bulunmuştur. Bu sonuçlardan Fe(II) ve Co(II) komplekslerinde ap ligandı kompleks oluşumuna katılmadığı düşünülmektedir.

5. 4 UV-Vis Sonuçları

Başlangıç maddeleri (ap ve Hsamal), proton transfer tuzu (Hapsamal) ve metal komplekslerinin DMSO çözücüsü içinde alınan UV-Visible elektronik geçişleri ve ϵ_0 değerleri Tablo 6'da verilmiştir.

Hapsamal ve metal komplekslerinin DMSO içinde alınan spektrumlarında $\pi \rightarrow \pi^*$ elektronik geçişleri Hapsamal için 315 ve 309 nm; Fe(II) kompleksi için 288 ve 273 nm; Co(II) kompleksi için 379 ve 284 nm; Ni(II) kompleksi için 383 ve 296 nm ve Zn(II) kompleksi için 292 ve 285 nm olarak gözlenmiştir. Komplekslerdeki metal iyonunun $d \rightarrow d$ elektronik geçişleri, Fe(II) kompleksi için 728 nm; Co(II)

kompleksi için 776 nm; Ni(II) kompleksi için 764 nm ve Cu(II) kompleksi için 745 nm'de gözlenmiştir. Zn(II) kompleksinde, Zn(II) iyonu d^{10} yapılı olduğu için $d \rightarrow d$ geçişi gözlenmemiştir [Yenikaya et al. 2010; İlkimen et al. 2013].

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 $d \rightarrow d$ geçiş şiddetlerinin (ϵ_0) beklenen değerler aralığında olduğu gözlenmiştir.

Tablo 6. Sentezlenen bileşiklerin DMSO içindeki UV spektrumları (nm(ϵ_0))

ap	Hapsamal	Hsamal	Fe	Co	Ni	Zn
327(43400)	315(37760)	301(43400)	288(26470)	379(210)	383(440)	292(13650)
303(43400)	309(31090)	290(33540)	273(6490)	284(1730)	296(4290)	285(12710)
			728(20)	776(60)	761(350)	-

5. 5 Manyetik Duyarlılık Sonuçları ve Molar İletkenlik Sonuçları

Sentezlenen metal komplekslerinin deneysel ve teorik manyetik duyarlılık sonuçları Tablo 7'de verilmiştir. Deneysel olarak elde edilen değerler ile teorik değerler Şekiller 6-9'da önerilen yapıların uyum içerisinde olduğu gözlenmiştir.

Sentezlenen $[\text{Fe}_2(\text{samal})(\text{H}_2\text{O})_3(\text{OH})_3]$, $[\text{Co}_2(\text{samal})(\text{H}_2\text{O})_3(\text{OH})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$, $[\text{Ni}_2(\text{samal})(\text{ap})_2(\text{OH})_4(\text{H}_2\text{O})]$ ve $[\text{Zn}_2(\text{samal})(\text{ap})(\text{OH})_3]$ komplekslerin metal atomu başına düşen manyetik duyarlılığı deneysel olarak sırasıyla 4.87, 3.85, 2.80 ve 0 BM bulunmuştur. Bu değerler komplekslerde sırasıyla 4, 3, 2 ve 0 eşleşmemiş elektron sayılarını işaret eder (Tablo 7). Buradan, Fe(II) iyonunun d^6 , Co(II) iyonunun d^7 , Ni(II)

iyonunun d^8 ve Zn(II) iyonunun d^{10} elektronik dağılımına sahip olduğu söylenebilir. Bunlar Şekiller 6-9'da önerilen yapıları desteklemektedir.

DMSO çözücüsü içinde (10^{-3} M) yapılan iletkenlik ölçümleri Tablo 7'de verilmiştir. İletkenlik ölçümleri sonucunda (FeHapsamal kompleksi hariç) diğer bütün komplekslerin iletkenlikleri 3.8-11.2 $\mu\text{S}/\text{cm}$ aralığında gözlenmiştir (Tablo 7). Bu sonuçlar kompleks yapılarının beklediği gibi iyonik olmadığını göstermektedir. FeHapsamal kompleksinin iletkenliği 37.5 $\mu\text{S}/\text{cm}$ olarak bulunmuştur. Bu sonuca göre kompleksin 1:1 (+1 yüklü bir iyon, -1 yüklü bir iyon) iyonik olduğunu bulunmuştur [Geary 1971] ve bunlarda Şekiller 6-9'da önerilen yapıları desteklemektedir.

Tablo 7. Sentezlenen metal komplekslerinin iletkenlik ve manyetik duyarlılık değerleri

	Manyetik duyarlılık değerleri (BM)				İletkenlik değerleri (Ω)
	$\mu_{\text{Deneyisel}}$	μ_{Teorik}	n	d^x	DMSO
$[\text{Fe}_2(\text{samal})(\text{H}_2\text{O})_3(\text{OH})_3]$	8.95	4.89	4	d^6	37.5
$[\text{Co}_2(\text{samal})(\text{H}_2\text{O})_3(\text{OH})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$	6.80	3.87	3	d^7	11.2
$[\text{Ni}_2(\text{samal})(\text{ap})_2(\text{OH})_4(\text{H}_2\text{O})]$	4.84	2.82	2	d^8	3.8
$[\text{Zn}_2(\text{samal})(\text{ap})(\text{OH})_3]$	0	0	0	d^{10}	4.0

*(BM: Bohr magnetonu, n: ortaklaşmamış elektron sayısı, Ω : $\mu\text{S}/\text{cm}$)

5. 6 *In vitro* İnhibisyon Çalışmalarının Sonuçları

Başlangıç maddelerinin (sa, mal, Hsamal, ap), sentezlenen proton transfer tuzunun (Hapsamal), metal komplekslerinin ve kontrol bileşiği olan asetazolamidin (AAZ) karbonik anhidraz izoenzimleri olan hCA I ve hCA II 'nin esteraz aktivitesi üzerindeki inhibisyon etkileri *in vitro* olarak çalışılmıştır. Elde edilen sonuçların literatürde bulunan benzer çalışmalar ile uyumlu olduğu göze çarpmaktadır [Yenikaya et al. 2016].

Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar mal ve ap'nin karbonik anhidraz izoenzimleri olan hCA I ve hCA II üzerinde herhangi bir inhibisyon etkisine sahip olmadığını göstermiştir. sa, Hsamal ve sentezlenen türev bileşikleri ise bu enzimler üzerinde inhibisyon etkisi göstermiştir. Tablo 8'deki değerlere bakıldığında Hsamal'ın inhibisyon etkisinin zayıf olduğu, ancak proton transfer tuzunun ise kayda değer bir şekilde güçlü inhibisyon etkisi gösterdiği anlaşılmaktadır [Yenikaya et al. 2016]. Proton transfer tuzunun metal kompleksleri de tuzun kendisine benzer şekilde güçlü inhibisyon potansiyeline sahiptir. Bu değerler kontrol bileşiği

olan AAZ ile kıyaslandığında yeni sentezlenen bileşiklerin inhibisyon etkisinin AAZ ile kıyaslanabilir büyüklükte olduğu görülmektedir. Proton transfer tuzu ve metal komplekslerinin IC_{50} ve K_i değerleri arasında çok büyük farklılıklar bulunmamakla birlikte en güçlü inhibisyon etkisini NiHapsamal bileşiği göstermiştir (hCA I ve hCA II için esteraz IC_{50} değerleri sırasıyla 0.80 ve 0.25 μM , K_i değerleri ise 0.30 ve 0.13 μM 'dir.). Ayrıca bu bileşiğin iki kat seçicilik ile hCA II ye karşı en seçici bileşik olduğu açıkça görülmektedir. Metal kompleksleri arasında CoHapsamal bileşiği en zayıf inhibisyon etkisine sahiptir. Ayrıca proton transfer tuzunun Fe(II) ve Zn(II) komplekslerinin hCA I ve hCA II üzerinde aynı inhibisyon sabitlerine sahip oldukları görülmektedir (Tablo 8). Metal komplekslerinin inhibisyon değerleri arasındaki bu farklılıklar liganın bağlanma şekline ve bağlanan ligant sayısına göre değişebilmektedir. Sonuç olarak bileşiklerin hCA I ve hCA II üzerinde güçlü inhibisyon potansiyeline sahip olması, glokom tedavisi için daha ileri çalışmalar olan *in vivo* çalışmalarda da kullanılabileceğini göstermektedir.

Tablo 8. Hapsamal tuzu ve metal komplekslerinin *in vitro* inhibisyon çalışmalarından elde edilen esteraz IC_{50} ve K_i değerleri

Madde	Esteraz IC_{50} (μM)		K_i (μM)	
	hCA I	hCA II	hCA I	hCA II
AAZ	0.42	0.31	0.26	0.14
sa	28.14	5.36	26.32	4.14
mal			İnhibe etmedi	
Hsamal	164.37	151.21	102.00	93.41
ap			İnhibe etmedi	
Hapsamal	0.77	0.64	0.22	0.19
FeHapsamal	1.53	1.32	0.81	0.78
CoHapsamal	2.06	2.10	1.21	1.05
NiHapsamal	0.80	0.25	0.30	0.13
ZnHapsamal	1.26	0.76	0.81	0.78

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada, 2-aminopiridin ile 3-(4-sülfamoyilfenil)amino)büt-2-enoik asitin proton transfer tuzu (Hapsamal) ve bunun Fe(II), Co(II), Ni(II) ve Zn(II) metal kompleksi sentezlenmiştir.

Proton transfer tuzu ve geçiş metal komplekslerinin tamamı amorf halde elde edilmiştir. Proton transfer tuzunun yapısı elementel analiz, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, FT-IR ve UV-Vis metotları ile geçiş metal komplekslerinin yapıları ise, elementel analiz, ICP-

OES, FT-IR, UV-Vis, manyetik duyarlılık, molar iletkenlik, yük denkliği ve daha önceki çalışmalar ile önerilmiştir [Ceyhan 2013; Shah et al. 2012; Ashok et al. 2007; Lazarou et al. 2008].

Sentezlenen tüm maddeler DMSO, DMF gibi polar çözücülerde çözünmektedir.

Hsomal ve Hapsamal DMSO-d₆ içerisinde alınan ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları incelenerek, protonlarından kaynaklanan kimyasal kayma değerleri ile yapıları açıklanmıştır.

Deneysel olarak elde edilen elementel analiz ve ICP-OES sonuçları spektroskopik çalışmalar sonucunda önerilen yapılardan hesaplanan element miktarları ile uyum içerisinde. Bu çalışmada hazırlanan tuzun da ap ve Hsomal oranı elementel analiz ve NMR sonuçlarına göre belirlenmiştir. Buna göre hazırlanan proton transfer tuzundaki Hsomal:ap oranı 1:1 olarak bulunmuştur. Elementel analiz ve ICP-OES sonuçlarına göre FeHapsamal, CoHapsamal, NiHapsamal ve ZnHapsamal, komplekslerinde metal:asit:baz oranı ise sırasıyla 2:1:-, 2:1:-, 2:1:2 ve 2:1:1 olarak bulunmuştur. FeHapsamal, ve CoHapsamal metal komplekslerinde ap kompleks oluşumuna katılmamıştır.

Bu çalışmada sentezlenen Hsomal ve tuzun IR spektrumlarına bakıldığında $\nu(N-H)$ gerilmelerinden kaynaklanan pikler gözlenmiştir. Tuzda $\nu(N^+-H)$ titreşim bandının gözlenmesi önerilen yapıyı desteklemektedir. Metal komplekslerinde tuzda gözlenen $\nu(N^+-H)$ pikleri gözlenmemiştir. $\nu(N-H)$ grubundan kaynaklanan gerilmeler ise ya spektrumda gözlenmiş yada yayvan OH piklerinin altında kaldığı için gözlenememiştir. Bu sonuçlarda kompleks bileşiklerin tuzun yapımında kullanılan asit veya baz tamamlayıcı iyon şeklinde bulunmadığını göstermektedir. Bu da önerilen yapıları desteklemektedir.

Başlangıç maddeleri, proton transfer tuzları ve metal komplekslerinin DMSO içerisinde alınan UV-Visible spektrumları ile $\pi \rightarrow \pi^*$ elektronik geçişleri ve metal komplekslerdeki metal iyonlarının $d \rightarrow d$

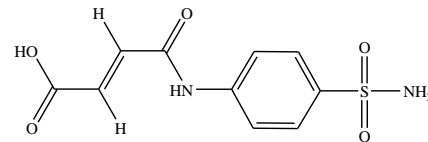
geçişlerinin dalga boyları belirlenmiş ve bu geçişler ϵ_0 değerleri ile desteklenmiştir.

Metal komplekslerinin manyetik duyarlılık çalışmalarında; metal iyonlarının Fe(II) (d⁶), Co(II) (d⁷), Ni(II) (d⁸) ve Zn(II) (d¹⁰) şeklinde kaldığı ve sırasıyla dört, üç, iki ve sıfır tane eşleşmemiş elektron taşıdığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar diğer spektroskopik analizler ile uyum içerisindedir.

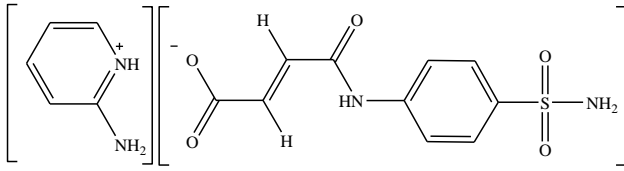
iletkenlik ölçümleri sonucunda (FeHapsamal kompleksi hariç) bütün komplekslerin iyonik olmadığı, FeHapsamal kompleksi ise 1:1 (+1 yüklü bir iyon, -1 yüklü bir iyon) iyonik olduğu bulunmuştur.

In vitro çalışmalar sonucunda yeni sentezlenen bileşiklerin karbonik anhidraz izoenzimleri olan hCA I ve hCA II üzerinde inhibisyon etkisine sahip olduğu gözlenmiştir. Bu maddelerin inhibisyon değerlerinin kontrol bileşiği olan asetazolamid (AAZ)'in inhibisyon değerleri ile kıyaslanabilir büyüklükte olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, sentezlenen bileşiklerin ilaç geliştirme çalışmalarında daha ileri safhalar olan *in vivo* çalışmalarda kullanılmaya aday olduklarını göstermektedir.

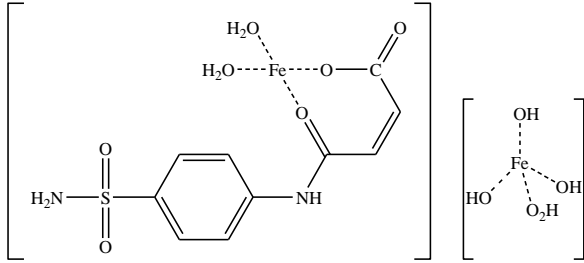
Bu çalışmada sentezlenen başlangıç maddesi (Hsomal), proton transfer tuzu (Hapsamal) ve metal komplekslerinin (FeHapsamal, CoHapsamal, NiHapsamal ve ZnHapsamal) yapıları Şekiller 4-9'da sırasıyla verilmiştir. Bu yapıların önerilmesinde, yukarıda tartışılan deneysel sonuçlar, yük denkliği ve daha önce yapılmış benzer çalışmalar dikkate alınmıştır [Ceyhan 2013; Shah et al. 2012; Ashok et al. 2007; Lazarou et al. 2008].



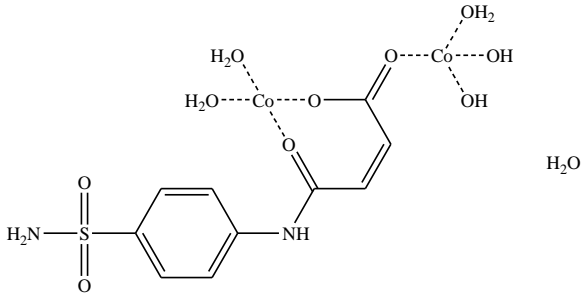
Şekil 4. Hsomal bileşiğinin yapısı



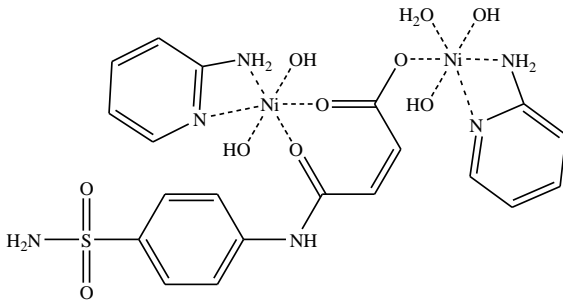
Şekil 5. Hapsamal proton transfer tuzunun yapısı



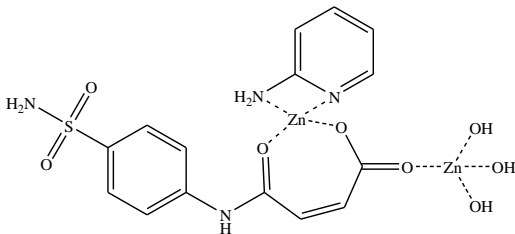
Şekil 6. FeHapsamal kompleksinin yapısı



Şekil 7. CoHapsamal kompleksinin yapısı



Şekil 8. NiHapsamal kompleksinin yapısı



Şekil 9. ZnHapsamal kompleksinin yapısı

7. KAYNAKLAR

- Aghabozorg, H., Manteghi, F. and Sheshmani, S., 2008. A brief review on structural concepts of novel supramolecular proton transfer compounds and their metal complexes, *J Iran Chem. Soc.*, **5(2)**, 184-227.
- Allen, R.G., Pereira, L.S. Raes D. and Smith, M. 1998. Crop evapotranspiration: Guidelines for computing crop water requirements", Irr and Drain, UN-FAO, Rome, Italy, pp 56.
- Ashok, M., Prasad, A.V.S.S. and Ravinder, V., 2007. Synthesis, Spectral Studies and Catalytic Activity of Ruthenium(II) Complexes with Organic Amide Ligands. *J Braz. Chem. Soc.* **18(8)**, 1492-1499.
- Bergmann, F. and Schapiro, D., 1942. Further acylation experiments with sulfanilamide and heterocyclic amines, *J Org. Chem.* **07(5)**, 419-423.
- Bulbul, M., Hisar, O., Beydemir, S., Ciftci, M. and Kufrevioğlu, O.İ., 2003. The in vitro and in vivo inhibitory effects of some sulfonamide derivatives on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) erythrocyte carbonic anhydrase activity. *J Enzyme Inhib. Med. Chem.* **18**, 371-375.
- Bywater, R.J., 1991. Sulfonamides and diaminopyrimidines. In: Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics, Eds: G. C. Brander, D. M. Pugh, R. J. Bywater, W. L. Jenkins, 5th Ed, Baillere Tindali, London, 489-494.
- Ceyhan, B., 2013. 2-Hidrojenbenzimidazol ile 4-okso-4-((4-sülfomoyilfenil)amino)büt-2-enoik asit tuzunun sentezi, geçiş metal komplekslerinin hazırlanması ve kullanım alanlarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Ciftci, M., Bulbul, M., Gul, M., Gumuştekin, K., Dane, Ş. and Suleyman, H., 2005. Effects of nicotine and Vitamin E on carbonic anhydrase activity in some rat tissues in vivo and in vitro. *J Enzyme Inhib. Med. Chem.* **20**, 103-109.
- Cook, D. 1961. Vibrational spectra of pyridinium salt. *Canadian J. Chem.* **39(10)**, 2009-2024.
- Demirel, M.M., 2013. 2-Aminopiridin ile 4-okso-4-((4-sülfomoyilfenil)amino)büt-2-enoik asit tuzunun sentezi, geçiş metal komplekslerinin hazırlanması ve kullanım alanlarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Fuhrmann, H., Brenner, S., Arndt P., and Kempe, R., 1996. Octahedral Group 4 Metal Complexes That Contain Amine, Amido, and Aminopyridinato Ligands: Synthesis, Structure, and Application in α -Olefin Oligo- and Polymerization. *Inorg. Chem.* **35**, 6742-6745
- Geary, W.J., 1971. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds, *Coord. Chem. Rev.* **7(1)**, 81-122.
- Gowda, B.T., Jyothi, K. and Souza, J.D.D.Z., 2002. Infrared and NMR spectra of arylsulphonamides, 4-X-C₆H₄SO₂NH₂ and i-X, j-YC₆H₃SO₂NH₂ (X = H; CH₃; C₂H₅; F; Cl; Br; I or NO₂ and i-X, j-Y = 2,3-(CH₃)(2); 2,4-(CH₃)(2); 2,5(CH₃)(2); 2-CH₃, 4-Cl; 2-CH₃, 5-Cl; 3-CH₃, 4-Cl; 2,4-Cl-2 or 3,4-Cl-2). *Naturforsch* **57a**, 967-973.
- Innocenti, A., Scozzafava, A., Parkkila, S., Pucceti, L., De Simone, G. and Supuran, C.T., 2008. 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. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **18**, 2267-2271.
- İlkimen, H., Yenikaya, C., Sarı, M., Bülbül, M., Tunca, E. and Süzen, Y. 2013. Synthesis and Characterization of a Proton Transfer Salt between Dipicolinic Acid and 2-Amino-6-Methylbenzothiazole and Its Complexes, and Their Inhibition Studies on Carbonic Anhydrase Isoenzymes. *Polyhedron*, **61** 56-64.
- Kempe, R., Brenner, S. and Arndt, P., 1996. Mononuclear Tris(aminopyridinato)zirconium Alkyl, Aryl, and Alkynyl Complexes. *Organometallics* **15**, 1071-1074.
- 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 J Chem.* **25**, 753-759.
- Lazarou, K.N., Perlepes, S.P., Psycharis, V. and Raptopoulou, C.P., 2008. Synthetic study of the ternary copper(II)/maleamate(-1)/1,10-phenanthroline reaction system: Mononuclear, dinuclear and polymeric complexes. *Polyhedron* **27**, 2131-2142.
- MacDonald, J.C., Dorrestein, P.C., Pilley, M.M., Foote, M.M., Lundburg, J.L., Henning, R.W., Schultz, A.J. and Manson, J.L., 2000. Design of layered crystalline materials using coordination chemistry and hydrogen bonds, *J Am. Chem. Soc.*, **122**, 11692-11702.
- Mei, L., Ming, T.H., Rong, L.Q., Jie, S., Zhong, Y.S. and Liang, L.X., 2009. The synthesis of N-Zn, N-Cu complexes involving 2-amino pyridine and ethylenediamine ligands and application to the Henry reaction, *J Chem. Sci.* **121(4)**, 435-440.
- Mistri, S., Zangrando, E. and Manna, S.C., 2013. 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. *Inorg. Chim. Acta* **405**, 331-338.
- Netland, P.A., 2008, Glaucoma medical therapy, Oxford University Press Inc., 290 p.
- Poddar, R.K. and Agarwala, U., 1973. Reactions of Ru(PPh₃)₂Cl₂ and [Ru(AsPh₃)₂Cl₂]₂ with various donor molecules. *J Inorg. Nucl. Chem.* **35**, 3769-3779.
- Prescott, J.J. and Baggot, D.J., 1993. Antimicrobial therapy in veterinary medicine, International Book Distributing Co., India, 564-565.
- Raso, A.G., Fiol, J.J., Zafra, A.L., Cabrero, A., Mata, I. and Molins, E., 1999. Crystal structures of the N-salicylidene-L-serinatoaquacopper(II) monohydrate and its ternary derivative with 2-aminopyridine. *Polyhedron* **18**, 871-878.
- Shah, A.I., Shukla, H.M., Shah. P.J. and Raj, D.S., 2012. Novel co-ordination polymers of 8-hydroxyquinoline. *Elixir. Chem. Phys.* **44** 7378-7381.
- Supuran, C.T., 2008. Carbonic anhydrases: novel therapeutic applications for inhibitors and activators. *Nat. Rev. Drug. Discov.* **7** 168-181.
- Supuran, C.T., Briganti, F., Tilli, S., Chegwidan, W.R. and Scozzafava, A., 2000. Carbonic Anhydrase Inhibitors: Sulfonamide as Antitumor Agents, *Bioorg. Med. Chem.*, **9**, 703-714.
- Téllez, F., López-Sandoval, H., Castillo-Blum, S. E and Barba-Behrens, N., 2008. Coordination behavior of benzimidazole, 2-substituted benzimidazoles and benzothiazoles, towards transition metal ions. *Arkivoc* (**v**), 245-275.
- Verpoorte, J.A., Mehta, S. and Edsall, J.T., 1967. Esterase activities of human carbonic anhydrases B and C. *J Biol. Chem.* **242**, 4221-4229.

- Williams D.H. and Fleming I., 1989, Spectroscopic Methods in Organic Chemistry, 4th ed. revised, McGraw-Hill Book Company (UK) Limited.
- Yenikaya, C., İlkimen, H., Demirel, M.M., Ceyhan, B., Bülbül, M. and Tunca, E., 2016. Preparation of Two Maleic Acid Sulfonamide Salts And Their Cu(II) Complexes and Antiglaucoma Activity Studies, *J Braz. Chem. Soc.* DOI: 10.5935/0103-5053.20160051.
- Yenikaya, C., Poyraz, M., Sarı, M., Demirci, F., İlkimen, H. and Büyükgüngör, O., 2009. Synthesis, characterization and biological evaluation of a novel Cu(II) complex with the mixed ligands 2,6-pyridinedicarboxylic acid and 2-aminopyridine. *Polyhedron*, **28(16)**, 3526-3532.
- Yenikaya, C., Sarı, M., Bülbül, M., İlkimen, H., Çelik, H. and Büyükgüngör, O., 2010. Synthesis, characterization and antiglaucoma activity of a novel proton transfer compound and a mixed-ligand Zn(II) complex, *Bioorg. Med. Chem.*, **18(2)**, 930-938.
- Yenikaya, C., Sarı, M., Bülbül, M., İlkimen, H., Çınar, B. and Büyükgüngör, O., 2011. Synthesis and characterization of two novel proton transfer compounds and their inhibition studies on Carbonic Anhydrase isoenzymes, *J Enzyme Inhi. Med. Chem.* **26(1)**, 104-114.

Teşekkür

Bu çalışmaya katkılarından dolayı Dumlupınar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na teşekkür ederiz (Proje No: 2012/16).