



Laktoperoksidaz Enziminin Sülfamat Türevleri Bileşikleri Üzerine İnhibisyon Profili

Hande Usanmaz^{1*}, Ufuk Atmaca²

¹ Sinop Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri, Sinop, Türkiye (ORCID: 0000-0003-3851-9601)

² Atatürk Üniversitesi, Oltu Meslek Yüksek Okulu, Erzurum, Türkiye (ORCID: 0000-0002-5598-0443)

(İlk Geliş Tarihi 10 Temmuz 2020 ve Kabul Tarihi 7 Aralık 2020)

(DOI: 10.31590/ejosat.767395)

ATIF/REFERENCE: Usanmaz, H., & Atmaca, U. (2020). Laktoperoksidaz Enziminin Sülfamat Türevleri Bileşikleri Üzerine İnhibisyon Profili. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (20), 746-750.

Öz

Sülfamat iskeleti içeren birçok doğal ürün ve ilaç etken maddelerinde bulunmaktadır. Son zamanlarda, sülfamatlar bileşiklerinin bulundukları fonksiyonel gruplarından dolayı malzeme bilimcisi ve farmakolog tarafından daha fazla ilgi görmektedirler. Peroksidazlar (POD), metabolik fonksiyonlarından dolayı gıda ve ilaç endüstrisinde enzimatik reaksiyonlarda ve klinik teşhislerde önemli kullanım alanında yer alırlar. Laktoperoksidaz (LPO, EC 1.11.1.7) peroksidaz ailesinin bir üyesidir. Bu enzim sütte, tükürükte ve gözyaşında bulunan bir oksidoredüktaz olup, patojen mikroorganizmalara karşı yeni doğanların bağırsak sistemlerini ve meme bezlerini korumada önemli bir role sahip olmaktadır. Memeli sütlerinden edilen LPO enzimi, bakterilerin büyümesinin baskılanmasında ve bakteri inhibisyonunun desteklenmesinde oldukça önemlidir. Sığırlar LPO'sunun bakteriyal büyümeyi inhibe etmesi, H₂O₂ ve tiyosiyanat içeren peroksidaz sistemine atfedilir. Bu sistemin antimikrobiyal etkisi sütte doğal olarak oluşmuştur. LPO enzimi üzerine yapılan antibakteriyal çalışmalarda LPO-tiyosiyanat ve peroksit sisteminin patojenik bakterilerde önemli derecede inhibisyona sebep olduğu tespit edilmiştir. LPO'nun birçok uygulama alanı vardır. Peroksidazlar hem gıdalarda hem de farmakolojik uygulamalarda koruyucu olarak kullanılır ve süt işleme tesislerinde nakil esnasında sütün muhafazası amacıyla süt endüstrisinde kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, LPO enzimi üzerine Metil benzoilsülfamat, Metil (2-bromobenzoil) sülfamat, Metil (3-fenilpropanoil) sülfamat, Metil (1-naphthoil) sülfamat, Metil (2-metilbenzoil) sülfamat, Metil (2-iyodobenzoil) sülfamat, Metil (2-fenilbutanoil) sülfamat, Metil (4-isopropilbenzoil) sülfamat, Metil (4-metoksibenzoil) sülfamat ve Metil (isoquinoline-1-karbonil) sülfamat bileşiklerinin in vitro etkilerini belirlemektir. Bu sülfamat türevi bileşiklerinin LPO enzimi üzerindeki inhibisyon etkisini belirlemek için, enzim aktiviteleri ölçülerek her bir inhibitör için Lineweaver-Burk grafikleri çizildi; Ki sabiti ve inhibisyon tipleri bu çizilen grafiklerden bulunarak hesaplandı. Ki değerleri sırasıyla Metil benzoilsülfamat 0,70 µM, Metil (2-bromobenzoil) sülfamat 0,025 µM, Metil (3-fenilpropanoil) sülfamat 0,018 µM, Metil (1-naphthoil) sülfamat 0,047 µM, Metil (2-metilbenzoil) sülfamat 0,043 µM, Metil (2-iyodobenzoil) sülfamat 0,19 µM, Metil (2-fenilbutanoil) sülfamat 0,39 µM, Metil (4-isopropilbenzoil) sülfamat 0,42 µM, Metil (4-metoksibenzoil) sülfamat 0,078 µM, Metil (isoquinoline-1-karbonil) sülfamat 0,075 µM olarak belirlendi. Metil (4-isopropilbenzoil)sülfamat bileşiği yarışmasız inhibisyon ve diğer maddeler yarışmalı inhibisyon gösterdiği kaydedildi. Metil (2-metilbenzoil)sülfamat bileşiği ise en etkili inhibitör özelliğini yarışmalı inhibisyon tipi LPO enzimi üzerine 0.018 ± 0.024 µM Ki değeri ile göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Enzim inhibisyonu, laktoperoksidaz, memeli sütleri, sülfamat

Inhibition Profile of Lactoperoxidase Enzyme on Sulfamate Derivatives

Abstract

They are found in many natural products and active ingredients that contain a sulfamate skeleton. Recently, due to the functional groups of sulfamates compounds, they have received more attention from the material scientist and pharmacologist. Due to their metabolic functions, peroxidases (POD) are important in enzymatic reactions and clinical diagnoses in the food and pharmaceutical industry. Lactoperoxidase (LPO, EC 1.11.1.7) is a member of the peroxidase family. This enzyme is an oxidoreductase found in milk, saliva and

* Sorumlu Yazar: Sinop Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri, Sinop, Türkiye, ORCID: 0000-0003-3851-9601, husanmaz@sinop.edu.tr

tears and has an important role in protecting the gut systems and mammary glands of newborns against pathogenic microorganisms. The LPO enzyme from mammalian milk is very important in suppressing the growth of bacteria and promoting bacterial inhibition. Inhibition of bacterial growth of bovine LPO is attributed to the peroxidase system containing H₂O₂ and thiocyanate. The antimicrobial effect of this system occurs naturally in milk. In antibacterial studies on LPO enzyme, LPO-thiocyanate and peroxide system has been found to cause a significant inhibition of pathogenic bacteria. LPO has many application areas. Peroxidases can be used as preservatives in both food and pharmacological applications, and are used in the milk industry for milk preservation during transport in milk processing plants. The aim of this study is to determine the in vitro effects of Methyl benzoylsulfamate, Methyl (2-bromobenzoyl) sulfamate, Methyl (3-phenylpropanoyl) sulfamate, Methyl (1-naphthoyl) sulfamate, Methyl (2-methylbenzoyl) sulfamate, Methyl (2-iodobenzoyl) sulfamate, Methyl (2-phenyl), Methyl (4-isopropylbenzoyl) sulfamate, Methyl (4-methoxybenzoyl) sulfamate and Methyl (isoquinoline-1-carbonyl) sulfamate compounds on LPO enzyme. To determine the inhibition effect of these sulfamate derivative compounds on the LPO enzyme, Lineweaver-Burk plots were drawn for each inhibitor by measuring enzyme activities; K_i constant and inhibition types were calculated from these plotted graphs. K_i values were determined as Methyl benzoylsulfamate 0.70 µM, Methyl (2-bromobenzoyl) sulfamate 0.025 µM, Methyl (3-phenylpropanoyl) sulfamate 0.018 µM, Methyl (1-naphthoyl) sulfamate 0.047 µM, Methyl (2-methylbenzoyl) sulfamate 0.043 µM, Methyl (2-methylbenzoyl) sulfamate 0.043 µM -Iodobenzoyl) sulfamate 0.19 µM, Methyl (2-phenylbutanoyl) sulfamate 0.49 µM, Methyl (4-isopropylbenzoyl) sulfamate 0.42 µM, Methyl (4-methoxybenzoyl) sulfamate 0.078 µM, Methyl (isoquinoline-1-carbonyl) sulfamate 0.075 µM, respectively. Methyl (4-isopropylbenzoyl) sulfamate compound was noted to exhibit non-competitive inhibition and other substances showed competitive inhibition. Methyl (2-methylbenzoyl) sulfamate compound, on the other hand, showed its most effective inhibitory feature on competitive competitive inhibition type LPO enzyme with a value of K_i 0.018 ± 0.024 µM.

Keywords: Enzyme inhibition, lactoperoxidase, mammalian milk, sulfamate

1. Giriş

Sülfamat grupları birçok doğal ürün ve ilaç molekülleri de bulunmaktadır (Ilardi et al. (2014)). Örneğin, 5'-O- (N-isoleucil) sülfamoil nükleosid türevleri antibakteriyel aktiviteye sahiptirler (Peterson et al. (1992)). Sülfamat grubu içeren Avasimibe ateroskleroz ve hiperlipidemi tedavisinde kullanılmaktadır (Llaverias et al. (2003)). Ayrıca, sülfamat grupları amid, karbamat ve sülfonamid için yararlı bir biyoizosterik ikame görevi görebilmektedir (Albright et al. (1983)).

Biyolojik sistemlerin katalizörleri olan enzimler kimyasal dönüşümleri sağlayan protein yapısında moleküllerdir. İnsan genomunun büyük bir kısmı enzimlerin şifrelerini bulundurmaktadır (Lehninger, (2005)). Enzimlerin en önemli fonksiyonları katalitik güçleri ve spesifik olmalarıdır. Birçok enzimin aktiviteyi spesifik moleküllerin ve iyonların bağlanmasıyla inhibe edilebilir. Enzimlerin biyolojik sistemlerde inhibe olması kontrol mekanizmasıdır. Ayrıca birçok ilaç toksik moleküller enzimleri inhibe edebilirler. (Berg et al. (2014)). Canlı hücrelerde metabolik reaksiyonların yürüyebilmesi için, serbest radikallere ve oksijen metabolizmasının toksik etkilerine karşı korunması gerekir. Bu koruma sisteminin başında, süperoksitdismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, proteazlar, fosfolipaz ve peroksidazlar gibi antioksidan enzimler ve tokoferol, ubiquinon gibi antioksidan moleküller etkilidir. Antioksidan enzim ve moleküller aerobik hücrelerde lipid peroksidasyonu ve diğer serbest radikal aracılı reaksiyonları inhibe ederek hücreleri oksidatif strese karşı korurlar. Antioksidanlar, lipid peroksidasyonu gibi çoğu kronik hastalığın ilerlemesine engel olurlar (Gülçin et al. (2010a)).

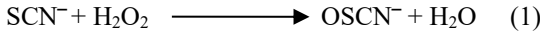
Peroksidazlar (POD: H₂O₂ - Oksidoredüktaz E.C.1.11.1.7), oksidoredüktaz enzimleridir. Metabolizma sırasında oluşan reaktif oksijen türleri enzimler sayesinde zararsız moleküllere dönüşürler (Davies, (1995); Champe et al. (2007)). Peroksidazlar antioksidan özellik göstererek elektron alıcısı olarak hidrojen peroksiti kullanan organik ve inorganik substratların aralarında gerçekleşen oksidasyonu katalizlerler (Hussain et al. (1995)). Peroksidazlar çok yaygın olarak prokaryotlarda, ökaryotlarda ve fotosentetik hücrelerde bulunurlar. (Van Huystee, (1987)).

Memelilerdeki peroksidaz enzimleri; sütte, tükürük bezlerinde ve göz yaşında; LPO (Kumar and Bhatla, (1995)), lökositlerde, trombositlerde, karaciğerde ve dalakta; miyeloperoksidaz, uterus, akciğer duvarlarında, sitoplazma ve mitokondrielerde; glutatyon peroksidaz, mikrozomlar ile lizozomlarda; peroksidazlar lokalize olmuştur (Pütter and Becker, (1987)).

Peroksidaz ailesinin bir üyesi olan Laktoperoksidaz (LPO, E.C. 1.11.1.7), inek ve insan sütünün normal bir bileşenidir. Memelilerin süt, tükürük ve gözyaşı bezleri ile bunlara ait salgılarda bulunmakta ve hem kimyasal hem de immünojenik olarak benzer özellikler göstermektedir. Patogen mikroorganizmalara karşı yeni doğanların bağırsak sistemlerini ve meme bezlerini korumada önemli bir role sahiptir (Kumar and Bhatla, (1995)).

LPO enzimi % 8-10 karbonhidrattan oluşan bir glikoproteindir. LPO bazik bir proteindir ve izoelektrik pH değeri 9,2'dir (Kussendrager and van Hooijdonk, (2000)). LPO, 612 amino asit kalıntısı, tek bir hem protez grubu, dört veya beş karbonhidrat zinciri içeren tek bir polipeptid zincirinden oluşur (Paul et al.1985) ve yaklaşık 78 kDa molekül ağırlığı ile toplam kütleinin yaklaşık % 10'unu oluşturur. (Elagamy et al. (1992); Reiter and HaErnuly, (1984); Sisecioglu et al. (2010)). Katalitik merkezdeki hem grubu protoporfirin IX dur ve polipeptid zincirine disülfid köprüsü boyunca kovalent olarak bağlanmıştır (Thanabal and La Mar, (1989)). LPO enzimidaki demir bileşimi 0,07 % dir (Booth et al. (1989)).

LPO, tiyosiyanatı, hipotiyosiyanata okside etmek için, hidrojen peroksitten yararlanan, çeşitli anatomik kısımlarda aktive olur (Paul et al. (1985)). Psödohalojenler, tiyosiyanatlar veya halojenler, enzim için bu gibi antimikrobiyal etkileri gösteren ikinci substratlar olarak işlev görürler (Reiter and Perraudin, (1991)). Bu enzim üzerine yapılan antibakteriyel çalışmalarda LPO-tiyosiyanat ve peroksid sisteminin patojenik bakterilerde önemli derecede inhibisyona sebep olduğu tespit edilmiştir (Jacob et al. (1998)). Bu sistemin aktivasyonu iki reaksiyon maddesinin tiyosiyanat ve hidrojen peroksid konsantrasyonu ile orantılıdır ve antimikrobiyal etkisi sütte doğal olarak oluşur. LPO hidrojen peroksid varlığında, tiyosiyanatın antibakteriyel özelliklere sahip hipotiyosiyanata dönüşmesini katalize eder (Haddain et al. (1996)).



LPO enziminin birçok bakteri ve mantar suşunu yok ettiği bilinmektedir (Gulcin et al., 2006). LPO enzimi geniş bir antifungal aktivite gösterir (Jacob, (1998); Sisecioglu, (2009)). Mastit memelilerde bakteri inflamasyonudur. Birkaç antibakteriyel ve antifungal suş üzerinde farklı konsantrasyonlarda tiyosiyanat-H₂O₂ maddesinin etkileri, bu süt endüstrisi sorununu çözmek için incelenmiştir (Uguz and Ozdemir, (2005); Sisecioglu (2010)). LPO enziminin, tiyosiyanat-H₂O₂ sistemi ile gerçekleşen bu reaksiyon sitoplazmik membranı etkileyerek enzimlerin aktivitesini inhibe ederek ve bakteriyel büyümeyi hücre zarlarına zarar vererek azaltabilirler (Sharma, et al., (2013)).

LPO enziminin biyolojik önemi, mikroorganizmaların istilasına karşı doğal bir koruma sistemi içermesi, hayvan hücrelerini çeşitli zararlar ve peroksidatif etkilere karşı koruması olarak belirlenmiştir (Reiter and HaÈrnulv, 1984; Wolfson and Sumner, 1993). LPO enzimi, yenidoğan bebeklerinin sindirim sistemindeki patojen mikroorganizmalara karşı savunma sisteminin önemli bir rol oynar. Bu enzim memelilerin immün olmayan biyolojik savunma sisteminin doğal bir bileşeni olup, tiyosiyanat iyonunun antibakteriyel hipotiyosiyanata oksidasyonunu katalize eder (Kumar and Bhatla, 1995).

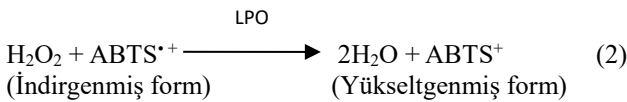
Bu çalışmada LPO enzimi üzerine, yaygın olarak antioksidan gıda katkı maddeleri, ön ilaçlar veya ilaçlar olarak kullanılan sülfamat türevi maddelerin LPO üzerindeki inhibitör etkilerini araştırması amaçlandı. Bu sülfamat türevi maddeleri, önemli biyoaktif bileşiklerdir ve bunlar çeşitli farmakolojik faaliyetlerle ilişkilendirilirler. Bu amaçla LPO enzimi çeşitli memeli sütlerinden saflaştırılmış, daha sonra bu sülfamat türevi maddeler için IC₅₀ değerleri, Ki sabitleri ve inhibisyon tipleri belirlenmiştir.

2. Materyal ve Metot

Sülfamat türevi maddeler grubumuz tarafından literatürdeki gibi sentezlenmiştir (Atmaca, (2019)). LPO enzimi ticari olarak satın alındı.

2.1. Laktoperoksidaz Aktivitesinin Ölçümü

Aktivite ölçümü, H₂O₂ tarafından 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit) (ABTS) kromojenik substratın yükseltgenmesi ve oluşan renkli bileşiğin meydana getirdiği absorbans artışının 412 nm'de izlenmesi esasına dayanır (Shindler and Bardsley, (1975)).



Aktivite tayininde şu prosedür takip edildi: 3 mL'lik spektrofotometre küvetine 2.8 mL 1 mM ABTS ve 0.1 mL 3.2 mM H₂O₂ pipetlendi. 0.1 mL enzim çözeltisi ilave edilerek, küvet alt üst edildikten sonra spektrofotometreye yerleştirilerek köre karşı 412 nm'de absorbans artışı, 3 dakika süreyle her 60 saniyede bir olmak üzere kaydedildi. Kör olarak enzim çözeltisi yerine 0.1 M fosfat tamponu pH=6,0 konularak diğer çözeltiler aynı oranda kullanıldı. Aktivite hesabında 1 dakikalık absorbans artışı esas alınmıştır.

2.2. İn Vitro İnhibisyon Araştırmaları

Sabit substrat konsantrasyonunda (ABTS) 5 farklı inhibitör konsantrasyonunda her bir inhibitör için aktivite değerleri hesaplandı, %Aktivite ve buradan %50 inhibisyona sebep olan inhibitör konsantrasyonu değerleri IC₅₀ çalışıldı. Daha sonra 5 farklı sabit substrat konsantrasyonun da ve her bir inhibitör için 3 farklı sabit inhibitör konsantrasyonlarında Linewaver-Burk grafikleri yardımıyla Ki değerleri tespit edildi.

3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

Sülfamat bileşikleri, sülfon grubuna bir amino ve bir -OR grubunun bağlı olduğu biyolojik aktiviteye sahip bileşiklerdir (Hartwig 1998). İhtiva ettikleri bu gruplar ilaç olma özelliği kazandırmakta ve günümüzde anti-kanser tedavisinde, antiflemetuar, antibakteriyel, antiviral vb. kullanılan ilaçların yapılarında bulunduğu bilinmektedir (Goddard-Borger ve Stick, (2007); Atmaca, (2020)). Bu sebeple sülfamat bileşikleri hem sentetik farmasötik kimya alanında hem de kullanım alanları bakımından mekanistik organik kimya alanında oldukça önemli bir yere sahiptirler (Daryadel ve ark., (2018)). Bununla birlikte, sülfamat türevi bileşikler LPO enzim aktivitesi üzerindeki etkisi bilinmemektedir. LPO üzerine bu maddelerin inhibisyon etkileri incelenmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Sülfamat türevi bileşiklerinin LPO enzim inhibisyon etkisi

	IC ₅₀ Değeri nM	Ortalama Ki sabiti nM	İnhibisyon türü
Metil benzoilsülfamat	0,70 μM	0,70 ± 0,070 μM	Yarışmalı
Metil (2-bromobenzoil) sülfamat	0,025 μM	0,025 ± 0,050 μM	Yarışmalı
Metil (3-fenilpropanoil) sülfamat	0,018 μM	0,018 ± 0,0041 μM	Yarışmalı
Metil (1-naphthoil) sülfamat	0,047 μM	0,047 ± 0,0060 μM	Yarışmalı
Metil (2-metilbenzoil) sülfamat	0,043 μM	0,043 ± 0,0052 μM	Yarışmalı
Metil (2-iyodobenzoil) sülfamat	0,19 μM	0,19 ± 0,0404 μM	Yarışmalı
Metil (2-fenilbutanoil) sülfamat	0,39 μM	0,39 ± 0,085 μM	Yarışmalı
Metil (4-isopropilbenzoil) sülfamat	0,42 μM	0,42 ± 0,382 μM	Yarışmasız
Metil (4-metoksibenzoil) sülfamat	0,078 μM	0,078 ± 0,0422 μM	Yarışmalı
Metil (isoquinoline-1-karbonil) sülfamat	0,075 μM	0,075 ± 0,024 μM	Yarışmalı

Sonuçlardan da görüleceği üzere (Çizelge 1) Metil benzoilsülfamat, Metil (2-bromobenzoil) sülfamat, Metil (3-fenilpropanoil) sülfamat, Metil (1-naphthoil) sülfamat, Metil (2-metilbenzoil) sülfamat, Metil (2-iyodobenzoil) sülfamat, Metil (2-fenilbutanoil) sülfamat, Metil (4-isopropilbenzoil) sülfamat, Metil (4-metoksibenzoil) sülfamat ve Metil (isoquinoline-1-karbonil) sülfamat bileşikleri için en küçük IC₅₀ ve Ki değerleri Metil (3-fenilpropanoil) sülfamat için elde edilmiştir. Sülfamatlar biyoaktif bileşiklerin önemli grubunu oluşturmaktadır. Sülfamatlar antioksidan davranışına ve potansiyel sağlığa ilgili yararına artan ilgi vardır. Fakat yürütülen bazı çalışmalarda sülfamat bileşiklerin çeşitli zararlı etkileri belirtilmiştir. Sülfamat içeren besinleri tüketirken dikkatli olmalıyız, çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir ki bu moleküllerin farklı enzimler üzerine etkisi vardır.

Bazı sülfamat maddelerin enzim aktivitesi üzerindeki önleyici etkileri in vitro şartlar altında test edildi; IC₅₀ değerleri aktivite % - [inhibitör] grafikleri kullanılarak hesaplandı. Metil benzoilsülfamat, Metil (2-bromobenzoil) sülfamat, Metil (3-fenilpropanoil) sülfamat, Metil (1-naphthoil) sülfamat, Metil (2-metilbenzoil) sülfamat, Metil (2-iyodobenzoil) sülfamat, Metil (2-fenilbutanoil) sülfamat, Metil (4-isopropilbenzoil) sülfamat, Metil (4-metoksibenzoil)sülfamat ve Metil (isoquinoline-1-karbonil)sülfamat bileşikleri LPO enzimi inhibisyonunun IC₅₀ değerleri sırası ile 33 µM, 36,47 µM, 23,89 µM, 24,75 µM, 69,3 µM, 40,76 µM, 53 µM, 63 µM, 43,31 µM, 36,47 µM bulunmuştur. Ki değerleri Lineweaver-Burk eğrileri kullanılarak hesaplanarak, Çizelge 1'de verilmiştir. Çizelge 1'de gösterildiği gibi, LPO enzimi için, Metil benzoilsülfamat, Metil (2-bromobenzoil)

4. Sonuç

Sonuç olarak, Metil benzoilsülfamat, Metil (2-bromobenzoil) sülfamat, Metil (3-fenilpropanoil) sülfamat, Metil (1-naphthoil) sülfamat, Metil (2-metilbenzoil) sülfamat, Metil (2-iyodobenzoil) sülfamat, Metil (2-fenilbutanoil) sülfamat, Metil (4-isopropilbenzoil) sülfamat, Metil (4-metoksibenzoil) sülfamat ve Metil (isoquinoline-1-karbonil) sülfamat bileşikleri LPO enziminin aktif bölgesine bağlanarak inhibisyona neden olmuştur. LPO enziminin biyosidal aktivitesi, katalize ettiği kimyasal reaksiyonların ürünlerinden kaynaklanmaktadır. Reaksiyonun ana ürünü olan hipotiyosiyanat, çeşitli proteinlerin tiyol grupları ile etkileşime girer ve bu da patojenlerin hayatta kalması için önemli bir role sahiptir. LPO enziminin bakteriler üzerindeki etkisi, sülfhidrilin oksidasyonundan önegelir. -SH gruplarının oksidasyonu bakteriyel sitoplazmik zarın glikoz, potasyum iyonları, amino asitler ve peptidleri taşıma yeteneğini kaybetmesine neden olur. Bu çalışma gösteriyor ki bu sülfamat bileşikleri LPO enziminin aktivitesini azaltmaktadır. LPO enziminin aktivitesi ve tiyosiyanat bileşimi laktasyon periyodunda önemlidir. Bundan dolayı LPO enzimi yenidoğanların bağışıklık sisteminde büyük rol oynar. Bu çalışmada kullanılan moleküllerden Metil benzoilsülfamat, Metil (2-bromobenzoil) sülfamat, Metil (3-fenilpropanoil) sülfamat, Metil (1-naphthoil) sülfamat, Metil (2-metilbenzoil) sülfamat, Metil (2-iyodobenzoil) sülfamat, Metil (2-fenilbutanoil) sülfamat, Metil (4-isopropilbenzoil) sülfamat, Metil (4-metoksibenzoil) sülfamat ve Metil (isoquinoline-1-karbonil) sülfamat bileşikleri yapı itibarı ile daha fazla sulfon, amid ve -OR grubuna sahiptir ve LPO enzimini daha iyi inhibe ettiği görülmektedir. Bu ise enzim aktivitesinin azalması immun sistemin zayıflaması anlamına gelmektedir. Anti-kanser tedavisinde, antiflemetuar,

sülfamat, Metil (3-fenilpropanoil) sülfamat, Metil (1-naphthoil) sülfamat, Metil (2-metilbenzoil) sülfamat, Metil (2-iyodobenzoil) sülfamat, Metil (2-fenilbutanoil) sülfamat, Metil (4-isopropilbenzoil) sülfamat, Metil (4-metoksibenzoil) sülfamat ve Metil (isoquinoline-1-karbonil) sülfamat bileşikleri maddeleri Ki sabitleri $0,018 \pm 0,0041 \mu\text{M}$ ile $0,70 \pm 0,070 \mu\text{M}$ aralığındaydı. Metil benzoilsülfamat, Metil (2-bromobenzoil) sülfamat, Metil (3-fenilpropanoil) sülfamat, Metil (1-naphthoil) sülfamat, Metil (2-metilbenzoil) sülfamat, Metil (2-iyodobenzoil) sülfamat, Metil (4-isopropilbenzoil) sülfamat, Metil (4-metoksibenzoil) sülfamat ve Metil (isoquinoline-1-karbonil) sülfamat bileşikleri yarışmalı inhibisyon Metil (2-fenilbutanoil) sülfamat yarışmasız inhibisyon etkisi göstermiştir. Bilindiği üzere sülfamatlar, sulfon grubuna amin ve -OR grubunun bağlı olan bileşiklerdir (Atmaca 2019). Bu çalışmadan kinetik sonuçlar (IC₅₀ ve Ki) incelendiğinde görülüyor ki Metil benzoilsülfamat, Metil (2-bromobenzoil) sülfamat, Metil (3-fenilpropanoil) sülfamat, Metil (1-naphthoil) sülfamat, Metil (2-metilbenzoil) sülfamat, Metil (2-iyodobenzoil) sülfamat, Metil (2-fenilbutanoil) sülfamat, Metil (4-isopropilbenzoil) sülfamat, Metil (4-metoksibenzoil) sülfamat ve Metil (isoquinoline-1-karbonil) sülfamat bileşikleri sütü inhibe etmiştir. Metil benzoilsülfamat, Metil (2-bromobenzoil)sülfamat, Metil (3-fenilpropanoil)sülfamat, Metil (1-naphthoil)sülfamat, Metil (2-metilbenzoil)sülfamat, Metil (2-iyodobenzoil)sülfamat, Metil (2-fenilbutanoil)sülfamat, Metil (4-isopropilbenzoil)sülfamat, Metil (4-metoksibenzoil)sülfamat ve Metil (isoquinoline-1-karbonil)sülfamat bileşikleri için Ki sonuçları kıyaslandığında LPO enziminin en güçlü inhibitörü Metil (3-fenilpropanoil)sülfamat bileşiğinin olduğu görülmüştür ve $0,018 \pm 0,0041 \mu\text{M}$ seviyede inhibe ettiği bulunmuştur.

antibakteriyel, antiviral vb. kullanılan ilaçların yapılarında bulunduğundan dolayı sülfamat bileşiklerin kullanımı emziren annelerin emzirme süreleri boyunca dikkat edilmelidir.

Kaynakça

- Albright, J.D., Devries, V.G., Du, M.T., Largis, E.E., Miner, T.G., Reich, M.F., Shepherd, R.G. (1983). Potential antiatherosclerotic agents. 2. (Aralkylamino)- and (alkylamino)benzoic acid analogs of cetaben J. Med. Chem. 26 1393e1411.
- Atamer M, Kocak C, Cimer A, Odabasi S, Tamucay B, Yamaner N. (1999). Some quality characteristics of Kasar cheese manufactured from milk preserved by activation of lactoperoxidase/thiocyanate/hydrogen peroxide (LP) system. *Milchwissenschaft*, 54: 553-556.
- Atmaca, U. (2019). Efficient and one-pot synthesis of novel sulfamates from carboxylic acids. *Tetrahedron* 75 (34), 130467.
- Atmaca, U. (2020) Tek Kapta Yeni Bir Yöntemle Alkollerden Potansiyel Biyolojik Aktif Azidosülfonil Bileşiklerinin Sentezi. *Journal of the Institute of Science and Technology*. 0(1): 345-356.
- Berg, J.M., Tymoczko, J.L., Stryer, L. (2014). Biyokimya. *Palme Yayıncılık*, 241-247p, Ankara.
- Booth, KS, Kimura, S., Lee, HC., Ikeda-Saito, M., & Caughey, WS. (1989). Bovine myeloperoxidase and lactoperoxidase each contain a high affinity binding site for calcium. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 160, 879±902.
- Champe, P.C., Harvey, R.A., Ferrier, D.R. (2007). Lippincott's Illustrated Reviews Serisinden: Biyokimya. *Nobel Tıp Kitapevleri*, Bursa

- Daryadel S, Atmaca U, Taslimi P, Gulcin I, Celik M. (2018). Novel sulfamate derivatives of menthol: Synthesis, characterization, and cholinesterases and carbonic anhydrase enzymes inhibition properties. *Archiv Der Pharmazie*. 351.
- Davies, KJ. (1995). Oxidative stress: the paradox of aerobic life. *Biochem Soc Symp*. 61:1-31.
- de Wit JN, van Hooydonk ACM. (1996). Structure, functions and applications of lactoperoxidase in natural antimicrobial systems. *Netherlands Milk & Dairy Journal*. 50: 227±244.
- Demir Y, Beydemir Ş. (2015). Purification, refolding, and characterization of recombinant human paraoxonase-1. *Turkish Journal of Chemistry*. 39(4): 764-776.
- Elagamy, E., Ruppanner, R., Ismail, A., Champagne, C.P., and Assal, R. (1992). Antibacterial and antiviral activity of camel milk protective proteins. *J. Dairy. Res*. 59, 169-175.
- Goddard-Borger ED, Stick RV. (2007). An efficient, inexpensive, and shelf-stable diazotransfer reagent: Imidazole-1-sulfonyl azide hydrochloride. *Organic Letters*. 9: 3797-800
- Gulcin I, Mshvildadze V, Gepdiremen A, Elias R. (2006). Screening of antioxidant and antiradical activity of monodesmosides and crude extract from *Leontice smirnowii* Tuber. *Phytomedicine*. 13: 343-351.
- Haddain MS, Ibrahim SA, Robinson RK. (1996). Preservation of raw milk by activation of the natural lactoperoxidase systems. *Food Control*. 7: 149-152.
- Gülçin, İ., Kirecci, E., Akkemik, E., Topal, F., Hisar, O. (2010a). Antioxidant and Antimicrobial Activities of an Aquatic Plant: Duckweed (*Lemna minor* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 34, 175-188.
- Haddain, M.S., İbrahim, S.A., and Robinson, R.K. (1996). Preservation of raw milk by activation of the natural lactoperoxidase systems. *Food Control*. 7, 149-152.
- Hartwig JF. (1998). Carbon-heteroatom bond-forming reductive eliminations of amines, ethers, and sulfides. *Accounts of Chemical Research*. 31: 852-60.
- Hussain S, Slikker W, Ali SF. (1995). Age related changes in antioxidant enzymes, superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione in different region of mouse brain. *International Journal of Developmental Neuroscience*. 13: 811-817.
- Ilardi, E.A. Vitaku, E. Njardarson, J.T. (2014). *J. Med. Chem*. 57, 2832e2842.
- Jacob BM, Monoj NK, Haridas M. (1998). Antibacterial property of goat milk lactoperoxidase. *Indian Journal of Experimental Biology*. 31: 808.
- Kumar R, Bhatla KL. (1995). Purification, crystallization and preliminary x-ray crystallographic analysis of lactoperoxidase from buffalo milk. *Acta Crystallographica*. 51: 1094.
- Kussendrager KD, van Hooijdonk ACM. (2000). Lactoperoxidase: physico-chemical properties, occurrence, mechanism of action and applications. *British Journal of Nutrition*. 84: 19-25.
- Lehninger, A.L., Nelson, D.L., Cox, M.M. (2005). Principles of biochemistry, 3. Baskıdan çeviri (Çeviri editörü: Kılıç N.), *Palme Yayıncılık*.
- Llaverias, G., Laguna, J.C. Alegret, M. *Cardiovasc. (2003) Drug Rev*. 21, 33e50
- Paul, K.G., and Ohlsson, P.I. (1985). In the Lactoperoxidase System: Pruitt KM, and Tenovue YO, (Eds.) *Chemistry and Biological Significance, New York, USA: Marcel Dekker Inc*. p.15-29.
- Peterson, E.M., Brownell, J., Vince, R. (1992). *J. Med. Chem*. 35, 3991e4000.
- Pütter, J., and Becker, R. (1987), *Methods of Enzymatic Analysis: Peroxidases Bergmeyer*, third edition, VCH, *New York*, s.286.
- Reiter, B., & HaÈrnulv, G. (1984). Lactoperoxidase antibacterialsystem: natural occurrence, biological functions and practical applications. *Journal of Food Protection*, 47, 724±732.
- Reiter, B., & Perraudin, JP. (1991). Lactoperoxidase: biological functions. In *Peroxydases in Chemistry and Biology*. pp. 143±180. Boca Raton: CRC Press.
- Sharma, S., Singh, A. K., Kaushik, S., Sinha, M., Singh, R. P., et al. (2013). Lactoperoxidase structural insights into the function, ligand binding and inhibition. *International journal of biochemistry and molecular biology*. 4(3), 108.
- Shindler, J.S., and Bardsley, W.G. (1975). Steady-state kinetics of lactoperoxidase with ABTS as chromogen. *Biochem. and Biophys. Res. Comm*. 67, 1307.
- Sisecioglu M, Cankaya M, Ozdemir H. (2009). Effects of some vitamins on lactoperoxidase enzyme activity. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*. 79: 188-194.
- Sisecioglu, M., Gulcin, I., Cankaya, M., Atasever, A., & Ozdemir, H. (2010). The effects of norepinephrine on lactoperoxidase enzyme. *Scientific Research and Essays*. 5, 1351-1356.
- Thanabal, V., & La Mar, GN. (1989) A nuclear Overhauser effect investigation of the molecular and electronic structure of the heme crevice in lactoperoxidase. *Biochemistry*, 28, 7038±7044.
- Uguz, M.T., & Ozdemir, H. (2005). Purification of bovine milk lactoperoxidase and investigation of antibacterial properties at different thiocyanate mediated. *Applied. Biochemistry and Microbiology*. 41, 397-401.
- Van Huystee, R.B. (1987). Some molecular aspects of plant peroxidase biosynthetic studies. *Ann. Rev. Plant. Physiol*, 38, 205.
- Wolfson, LM., & Sumner, SS. (1993). Antimicrobial activity of the lactoperoxidase system. *A review. Journal of Food Protection*. 56, 887±892.