

TC.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İLK DEFA SENTEZLENEN EPEREZOLİD BENZERİ
BİLEŞİKLERİN ANTİOKSİDAN VE ANTİ-ÜREAZ
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dilem ŞEN

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA

Tez Danışmanı : Bahar BİLGİN SÖKMEN

Ağustos 2018

T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İLK DEFA SENTEZLENEN EPEREZOLİD BENZERİ
BİLEŞİKLERİN ANTİOKSİDAN VE ANTİ-ÜREAZ
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

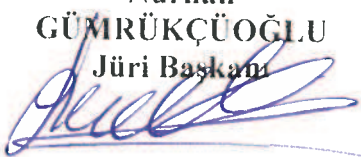
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dilem ŞEN

Enstitü Anabilim Dalı : Fen Bilimleri Enstitüsü

Bu tez 15/08/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr.
Nurhan
GÜMRÜKÇÜOĞLU
Jüri Başkanı



Prof. Dr.
Bahar BİLGİN
SÖKMEN
Üye



Dr.Öğretim Üyesi
Canan ALBAY

Üye



Doç. Dr.
Bahadır KOZ
Enstitü Müdürü

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Dilem ŞEN
31/07/2018

TEŐEKKÖR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca, tez çalışmalarımın yürütölmesi ve değeriendirilmesinde yardım ve desteğini hiç esirgemeyen çok değerieli danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Bahar BİLGİN SÖKMEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, her zaman yanımda olan ve bugünlere gelmemi sağlayan canım aileme en içten duygularıyla teşekkürlerimi sunarım.

Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyon Başkanlığına
(Proje No: FEN-BAP-C-160317-11) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ	VII
TABLolar LİSTESİ	IX
ÖZET.....	X
SUMMARY	XI

BÖLÜM 1. GİRİŞ	1
1.1. Serbest Radikaller.....	1
1.2. Serbest Radikal Kaynakları.....	2
1.2.1. Endojen Kaynaklar.....	2
1.2.1.1. Mitokondriyal Elektron Transport Zinciri	2
1.2.1.2. Mikrozomal Elektron Transport Zinciri.....	2
1.2.1.3. Proteinler	3
1.2.1.4. Araşidonik Asid Döngüsünün Aktivasyonu.....	3
1.2.1.5. Oksidatif Stres Yapıcı Durumlar.....	3
1.2.1.6. Fagositik Hücreler	3
1.2.1.7. Peroksizomlar.....	3
1.2.1.8. Plazma Membranı	4
1.2.1.9. Transizyon Metalleri	4
1.2.2. Eksojen Kaynaklar	5
1.2.2.1. İlaçlar	5
1.2.2.2. Metal İyonları.....	5
1.2.2.3. Kirleticiler	5
1.2.2.4. Radyasyon	5
1.3. Serbest Radikallerin Oluşum Mekanizmaları.....	5
1.4. Serbest Radikal Türleri.....	7
1.5. Reaktif Oksijen Türleri.....	8

1.5.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\bullet-}$).....	10
1.5.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	11
1.5.3. Hidroksil Radikali ($^{\bullet}OH$).....	12
1.5.4. Singlet Oksijen (1O_2).....	13
1.5.5. Peroksil ve Alkoksil Radikalleri	13
1.5.6. Ozon (O_3)	14
1.6. Hücredeki Reaktif Oksijen Kaynakları.....	14
1.6.1. Biyolojik Kaynaklar	14
1.6.1.1. Solunumsal Patlama	14
1.6.1.2. Radyasyon ve Çevresel Ajanlar	15
1.6.1.3. Antineoplastik Ajanlar	15
1.6.1.4. Stres.....	16
1.7. Serbest Radikallerin Etkileri.....	16
1.7.1. Oksidatif Stres	16
1.7.2. Lipid Peroksidasyonu.....	17
1.7.3. Lipid Peroksidasyonu.....	20
1.7.4. Nükleik Asitlere ve DNA'ya Etkisi	21
1.7.5. Karbonhidratlara Etkisi	23
1.8. Antioksidanlar.....	23
1.8.1. Antioksidanların Sınıflandırılması	25
1.8.1.1. Kaynaklarına Göre Antioksidanlar	26
1.8.1.2. Endojen Kaynaklı Antioksidanlar	27
1.8.1.3. Enzimatik Antioksidanlar	27
1.8.1.3.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	27
1.8.1.3.2. Mangan Süperoksit Dismutaz	28
1.8.1.3.3. Cu/Zn Süperoksit Dismutaz	28
1.8.1.3.4. Ekstrasellüler Süperoksit Dismutaz	28
1.8.1.3.5. Nikel Süperoksit Dismutaz.....	29
1.8.1.3.6. Katalaz.....	29
1.8.1.3.7. Glutasyon Peroksidaz (GPx)	29
1.8.1.3.8. Glutasyon-S-Transferaz (GST)	29
1.8.1.3.9. Glutasyon Redüktaz.....	30

1.8.1.4. Non-Enzimatik Antioksidan Savunma.....	30
1.8.1.4.1. Tokoferoller ve Tokotrienoller (E vitamini)	31
1.8.1.4.2. Askorbik Asid (Vitamin C).....	31
1.8.1.4.3. Karotenoidler.....	32
1.8.1.4.4. Polifenoller.....	34
1.8.1.4.5. Flavonoidler	34
1.8.1.4.6. Glutasyon (GSH)	35
1.8.1.4.7. Albumin	36
1.8.1.4.8. Bilirubin	36
1.8.1.4.9. Ürik Asid.....	36
1.8.1.4.10. Selenyum.....	36
1.8.1.4.11. Koenzim Q	36
1.8.1.5. Sentetik Antioksidanlar	37
1.8.1.5.1. Butillenmiş Hidroksianisol (BHA)	37
1.8.1.5.2. Butillenmiş Hidroksi Toluene (BHT)	38
1.8.1.5.3. Tersiyer Butil Hidrokinon (TBHQ)	38
1.8.1.5.4. Propil Gallatlar (PG)	39
1.8.1.5.5. Nordihidroguareyetik Asid (NDGA)	39
1.8.1.5.6. Koenzim Q	40
1.9. İyi Bir Antioksidanın Özellikleri.....	40
1.10. Antioksidanların Faydaları Nelerdir?.....	41
1.11. Enzimler Hakkında Genel Bilgi.....	41
1.11.1. Enzimlerin Yapısı	41
1.11.2. Enzimlerin Çalışmasına Etki Eden Etmenler	44
1.11.2.1. Enzim Konsantrasyonu	45
1.11.2.2. Substrat Konsantrasyonu.....	45
1.11.2.3. Sıcaklık.....	46
1.11.2.4. Ortam pH'ı	46
1.11.2.5. Zaman.....	47
1.11.2.6. Reaksiyon Ürünleri	47
1.11.2.7. Işık ve Diğer Fiziksel Etkenler.....	47
1.12. Üreaz Enzimi.....	47

1.12.1. Üreaz Enziminin Moleküler Yapısı	50
1.12.2. Üreaz Katalizi ve Aktivitesinde Nikel İyonlarının Önemi.....	51
 BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	53
 BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	55
3.1. Materyal.....	55
3.1.1. Deneylerde Kullanılan Cihazlar	55
3.1.2. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler	55
3.2. Yöntem.....	59
3.2.1. Antioksidan Aktivite Yöntemleri.....	59
3.2.1.1. DPPH Radikal Giderme Aktivitesi Tayini.....	59
3.2.1.2. Demir İndirgeme Gücü Tayini	60
3.2.1.3. ABTS Radikal Giderme Aktivitesi Tayini.....	61
3.2.1.4. Anti-Üreaz Aktivitesinin Ölçülmesi	62
 BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	63
4.1. DPPH Radikal Giderme Aktivitesi Sonuçları.....	63
4.2. ABTS Radikal Giderme Aktivitesi Tayini Sonuçları.....	64
4.3. Demir İndirgeme Gücü Tayini Sonuçları.....	66
4.4. Üreaz Aktivitesi Tayini Sonuçları.....	67
 BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ	69

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

kDa	:	Kilo Dalton
μmol	:	Mikromol
μg	:	Mikrogram
μg/ml	:	Mikrogram / Mililitre
μL	:	Mikrolitre
mM	:	Milimolar
mg/ml	:	Miligram/Mililitre
mL	:	Mililitre
M	:	Molar
Nm	:	Nanometre
°C	:	Santigrat Derece
%	:	Yüzde
ATP	:	Adenozin Trifosfat
BHA	:	Bütil Hidroksianisol
BHT	:	Bütil Hidroksitoluen
DNA	:	Deoksiribo Nükleik Asit
FMO	:	Flavin Monooksijenaz
PG	:	Propil Gallat
RAT	:	Reaktif Azot Türleri
ROT	:	Reaktif Oksijen Türleri
UV	:	Ultraviyole

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Moleküler Oksijen	8
Şekil 1.2. Oksijenin Suya İndirgenmesi ve Diğer Oksijen Türlerinin Oluşumu	9
Şekil 1.3. Singlet Oksijen.....	13
Şekil 1.4. Ozonun Serbest Radikal Oluşumunu Bozma Tepkimesi.....	14
Şekil 1.5. Nötrofil Membranı	15
Şekil 1.6. Oksidatif Stres.....	17
Şekil 1.7. Lipid Oksidasyonu	18
Şekil 1.8. Lipid Peroksidasyonu.....	19
Şekil 1.9. Protein ve Peptit Bağının Kırılması	21
Şekil 1.10. Serbest Radikallerin Nükleik Asitlere ve DNA'ya Etkileri	22
Şekil 1.11. Bazı Antioksidanların Hücreye Etkileri	25
Şekil 1.12. Alfa Tokoferol (E Vitamini)	31
Şekil 1.13. Askorbik Asit (C Vitamini)	32
Şekil 1.14. β -Karoten, Likopen, Lutein ve Zeaksantin'in kimyasal yapısı.....	33
Şekil.1.15. Flavonoid	35
Şekil 1.16. KoenzimQ	37
Şekil 1.17. BHA Molekülünün Kimyasal Yapısı.....	37
Şekil 1.18. BHT'nin Kimyasal Yapısı	38
Şekil 1.19. TBHQ Molekülünün Kimyasal Yapısı	38
Şekil 1.20. Propil Gallatın Kimyasal Yapısı	39
Şekil 1.21. NDGA Molekülünün Kimyasal Yapısı.....	40
Şekil 1.22. KoenzimQ	40
Şekil 1.23. Enzim-Substrat İlişkisi.....	41
Şekil 1.24. Katalizörlü ve Katalizörsüz Reaksiyon Profili	42
Şekil 1.25. Anahtar-Kilit ve İndüksiyonla Oluşmuş Uygunluk Modellerinin Şematik Gösterimi.....	43
Şekil 1.26. Anahtar-Kilit Modeli	44
Şekil 1.27. Enzim Konsantrasyonunun Reaksiyon Hızına Etkisi	45

Şekil 1.28. Substrat Miktarının Reaksiyon Hızına Etkisi	46
Şekil 1.29. Sıcaklığın Reaksiyon Hızına Etkisi	46
Şekil 1.30. Üreaz Enziminin Aktif Kimyasal Formu	48
Şekil 1.31. KAU'nın Üç Boyutlu Yapısı	49
Şekil 1.32. BPU'nın Üç Boyutlu Yapısı Üstten Görünüm, Yandan Görünüm.....	49
Şekil 1.33. BPU'nın Üç Boyutlu yapısı	50
Şekil 1.34. Üreaz Enzimin Üç Boyutlu Yapısı	50
Şekil 1.35. Üreaz Enziminin Kataliz Reaksiyon Mekanizması	52
Şekil 3.1. DPPH Radikalinin İndirgenmesi.....	59
Şekil 3.2. ABTS'nin Persülfatla Oksidasyonu Sonucu Radikal Oluşumu.....	61
Şekil 3.3. Troloks'un Kimyasal Yapısı	61

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. Serbest Radikal Türleri	7
Tablo 1.2. Serbest radikallerin neden olduğu bazı hastalıklar [43].....	22
Tablo 1.3. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	25
Tablo 1.4. Kaynaklarına Göre Antioksidanlar	26
Tablo 1.5. Başlıca Enzimatik Endojen Antioksidanlar	27
Tablo 1.6. Enzimatik Olmayan (Nonenzimatik) Antioksidanlar	30
Tablo 3.1. Eperezolid Benzeri Bileşiklerin Numaraları ve Adları.....	55
Tablo 4.1. Eperezolid Benzeri Bileşiklerin DPPH Radikal Giderme Aktiviteleri	63
Tablo 4.2. Eperezolid Benzeri Bileşiklerinin ABTS Radikal Giderme Aktiviteleri Sonuçları	65
Tablo 4.3. Eperezolid Benzeri Bileşiklerin İndirgeme Gücü Aktiviteleri	66
Tablo 4.4. Eperezolid Benzeri Bileşiklerin Üreaz Aktivitesi.....	67

İlk Defa Sentezlenen Eperezolid Benzeri Bileşiklerinin Antioksidan ve Anti- üreaz Aktivitelerinin İncelenmesi

ÖZET

Eperezolid, Pfizer tarafından 2000’li yılların başında linezolid ile birlikte geliştirilen bir antibiyotiktir. Eperezolid, linezolidten sonra piyasaya çıkan ikinci oksazolidinon türevi antibiyotiktir. Organik sentez yoluyla elde edilen bir antimikrobiyaldir. Bakteriyel protein sentezini inhibe ederek etki göstermektedir.

Serbest radikaller, organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında veya çevresel ajanlar, stres, radyasyon gibi çeşitli dış faktörlerin etkisiyle meydana gelmektedir. Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek nötralize eder ve böylece vücudun serbest radikallerden etkilenmesini engeller. Antioksidanlar, insan sağlığına faydalarının yanı sıra gıdaların raf ömrünü de uzatarak besin değerlerindeki kaybı azaltırlar.

Üreaz, ürenin amonyak ve karbondioksit hidrolizini katalizleyen enzimdir. Amonyak, birçok doku ve organda metabolik fonksiyon bozukluğuna yol açmaktadır. Örneğin; idrar yollarında taş oluşumu ve mide ülseri. Bu hastalıkların tedavisi için üreaz enziminin inhibisyonu temeline dayalı olarak üreaz inhibitörleri geliştirilmektedir.

Bu çalışmada, yeni sentezlenmiş eperezolit benzeri bileşiklerin antioksidan özelliklerinin yanı sıra anti-üreaz aktiviteleri de incelendi. Antioksidan demir indirgeme gücü Oyaizu, DPPH radikal giderme aktivitesi Brand-Williams ve ark., ABTS radikal giderme aktivitesi Arnao ve ark., üreaz inhibisyon aktivitesi ise Van Slyke ve Archibald’ın yöntemlerine göre spektrofotometrik olarak belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Eperezolid, Antioksidan, Anti-üreaz, ABTS radikal giderme aktivitesi

The Investigation of Antioxidant and Antiurease Activities of Firstly Synthesized Eperezolide Derivatives

SUMMARY

Eperezolide is an antibiotic developed with linezolid in the early 2000's by Pfizer. Eperezolide is the second oxazolidinone derivative antibiotic go on the market then linezolid. It is an antimicrobial obtained via organic synthesis. It effects by inhibiting bacterial protein synthesis.

Free radicals occur during the processing of normal metabolic pathways in organism or by the effects of various external factors such as environmental agents, stress, radiation. Antioxidants neutralize by preventing the formation of free radicals and so on it prevents body from being effected by free radicals. Antioxidants reduce the loss of nutritional value by extending the shelf life of foods as well as human health benefits.

Urease is the enzyme that catalyzes the hydrolysis to ammonia and carbon dioxide of urine. Ammonia causes metabolic dysfunction in many tissues and organs. For example; stone formation in the urinary tract and stomach ulcer. For the treatment of these diseases inhibitors based on the inhibition of the urease enzyme are being developed.

In this study, in addition to antioxidant properties of newly syntesized eperezolit compounds, anti-urease activities have also been examined. Antioxidant iron recuding power was determined according to Oyaizu method, the DPPH radical scavenging activity was determined according to the method described by Brand-Williams et al., the ABTS radical scavenging activity was determined according to the method described by Arnao et al., the urease inhibition activity was determined according to the method described by Van Slyke and Archibald as spectrophotometrically.

Keywords: Eperezolide, Antioxidant, Anti-urease, ABTS radical scavenging activity

BÖLÜM 1. GİRİŞ

1.1. Serbest Radikaller

Atom; çekirdekte proton ve nötron, çekirdeğin etrafında dönen yörüngelerde ise elektronlardan meydana gelir. Bu elektronlar, orbital olarak bilinen belirli enerji seviyelerinde bulunur. Orbitallere elektronların yerleşimi, bir orbitale en çok iki tane olacak şekilde ve zıt spinlidir [1].

İki veya daha fazla elementin aralarında kimyasal bağ oluşturmasıyla kimyasal bileşikler oluşur. Kimyasal bağlar elektronlar ile çevrelenmiştir. Bu da bileşiğin kararlı olmasının nedenidir. Kararlı bileşiklerin dış yörüngelerinde elektronlar çift yani eşleşmiş halde bulunurlar. Eğer dış yörüngedeki elektron çift değilse, bu molekülün kararsız olduğunu gösterir. Bir ya da daha fazla tek yani çiftlenmemiş elektronu olan yapılara serbest radikaller denir [2]. Serbest radikalın eşleşmemiş elektronu bulunduğu atom ya da grubun yanına veya üzerine bir nokta (•) konularak gösterilir [3, 4].

Kimyasal olarak serberst radikaller kararsız yapıdadır. Stabil hale dönebilmek için ise eşleşmemiş elektronlarını diğer moleküller ile paylaşmak üzere reaksiyon verirler. Bu moleküllerin de bir elektronu azaldığı için reaktif hale gelirler. Zincirleme reaksiyon olarak devam eder. Oksijenden oluşan serbest radikaller, biyolojik sistemde yer alan önemli serbest radikallerdir [5]. Oksijen kullanan organizmalarda meydana gelen reaksiyonlar neticesinde serbest radikaller oluşmaktadır. Azot kaynaklı radikaller (RAT) ve oksijen kaynaklı radikaller (ROT) biyolojik sistemlerde iki etkilidir. Sisteme hem yararları hem de zararları olmaktadır. Eğer serbest radikaller, yüksek derişimde ise sisteme farklı şekillerde (protein ve nükleik asitlerin yıkımı) zararları olabilmektedir. Bu zararları ise enzimlere ilave olarak non-enzimatik antioksidan sistemler ile denge sağlanmaktadır [6, 7]. Oksijen

radasyonuna maruz kalan bakteri ve hayvan hücrelerinde radyasyona bağılı hasarın arttığı görölmektedir [8].

1.2. Serbest Radikal Kaynakları

Moleküler halde bulunan oksijen, elektron dizilimi nedeni ile reaktif değıldir. Elektron vererek enerji ile aktive olur. Moleküler oksijene elektron verildikten sonra reaktif türlerin kendiliğinden oluştuğı görölmektedir. Geçiş metal iyonları Fe^{2+} ve Cu^{2+} gibi elektron donörleri sayesinde tepkimeler gerçekleşir. Oksijen kaynaklı radikallerin oluşumu enzimatik ya da nonenzimatik olabilir. Bunun yanında, mitokondride, kloroplastlarda, plazma membranındaki elektron transport zincirinde yan ürün olarak da ROT'lar oluşabilirler [9].

Oksijenli ortamda, oksidatif fosforilasyon ile ATP yani adenzintrifosfat üretimi büyük ölçüde yarar sağlamaktadır. Bunun yanında bazı tehlikeleri de bulunmaktadır. Serbest radikal kaynakları biyolojik, hücre içi sıvısı veya toksik madde olabilir. Bu kaynaklar endojen ve eksojen olarak ikiye ayrılmaktadır.

1.2.1. Endojen Kaynaklar

1.2.1.1. Mitokondriyal Elektron Transport Zinciri

Hücre solunumunun gerçekleştiğı organel, mitokondridir. Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijenin %95'i suya indirgenir. %1-5 civarı ise süperoksit yapımında kullanılır. Bunun nedeni, NADH dehidrojenaz ve koenzim Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene elektron sızıntısı olmasıdır [10, 11].

1.2.1.2. Mikrozomal Elektron Transport Zinciri

Birçok P_{450} ve flavin mono oksijenaz (FMO) enzim sistemleri, endoplazmik retikulumda ve nükleer membranlarda bulunur. Bu sistemler doymamış yağ asitlerini ve metabolizma için yabancı maddeleri okside eder. Serbest radikal oluşturur [12].

1.2.1.3. Proteinler

Glisin, histidin ve prolin gibi birçok aminoasit kalıntısından veya peptid omurgasında oluşan oksidatif hasar neticesinde protein karbonil türevleri, reaktif oksijen türlerinin proteinlerle etkileşmesi sonucu oluşur. Fakat serbest radikaller proteinlerdeki tiyol gruplarının (-SH) oksidasyonu nedeni ile oksidatif protein hasarına sebep olur [13].

1.2.1.4. Araşidonik Asid Döngüsünün Aktivasyonu

Reaktif oksijen türlerinin üretildiği önemli nokta, araşidonik asid döngüsüdür. Fagositik hücreler uyarılarak protein kinaz ve fosfolipaz enzimleri aktive olur. Bu şekilde plazma membranından araşidonik asid salınımı gerçekleşir. Serbest radikal ürünleri ise araşidonik asidin enzimatik oksidasyonu ile açığa çıkar [14].

1.2.1.5. Oksidatif Stres Yapıcı Durumlar

Serbest radikal üretimi, metabolizmada her zaman vardır. Fakat bu serbest radikaller, endojen ve eksojen antioksidan sistemler ile elimine edilir. Böylece denge oluşur. Denge serbest radikaller lehine bozulursa buna oksidatif stres denir. Termal, kimyasal ya da kinetik enerjinin dokulara transfer olması ile hasar meydana gelmesine travma denir.

1.2.1.6. Fagositik Hücreler

Enfeksiyona karşı vücudun hücresel cevabını veren hücrelere, fagositik hücreler denir. Bunlar; makrofajlar, eozinofiller, nötrofiller, monositler ve lenfositlerdir. Bu hücreler, fagositoz sırasında bakterileri öldürmek amacıyla hipokloröz asid ya da hidrojen peroksit üretirler.

1.2.1.7. Peroksizomlar

Oksidazlar yüksek derişimde bulunmaktadırlar. Bu sebeple hücrel hidrojen peroksid kaynağıdır. Bunlar; D-aminoasid oksidaz, L- α -hidroksi asid oksidaz, açıl CoA oksidaz ve ürat oksidaz'dır. Bu yapılardan oldukça fazla miktarda bulunmaktadır [15].

1.2.1.8. Plazma Membranı

İntrasellüler olarak ortaya çıkan serbest radikaller hücrenin diğer bölümleriyle tepkimeye girmek isterler. Bunu gerçekleştirebilmek için plazma membranını geçmelidirler. Bir başka yol ise, toksik reaksiyonları membranda başlatmaktır. Membran yapısında doymamış yağ asidleri, gliserol, fosfolipidler, glikolipidler ve steroller okside olabilen amino asid içeren membran proteinleri, serbest radikal hasarına karşı duyarlıdır [14].

Plazma membranında bulunan lipoksijenaz, prostaglandin sentetaz, fagositlerde bulunan NADPH oksidaz, lipid peroksidasyonuna sebep olan serbest radikallerin kaynaklarıdır. Fagositoz sırasında oksijen tüketiminde artış olmaktadır. Bunun sonucunda açığa çıkan, oksijenden süperoksid dolayısıyla hidrojen peroksid miktarıda artar [14].

1.2.1.9. Transizyon Metalleri

Bazı geçiş metalleri (bakır ve demir gibi), oksido-redüksiyon reaksiyonlarında yer alırlar. Lipitlere ve proteinlere elektron taşıyarak oksidatif hasarı hızlandıran, deoksiribonükleik asit (DNA)'dır.

Hücre lizisi sonucunda hücre içinde demir, ferritin ve hemosiderin olarak depolanır. Seruloplazminin yapısında ise bakır vardır ve proteinlerin yıkımı ile bakır ve demir serbest hale geçer. Çevre dokulara salınan Cu ve Fe katalizör görevi görerek oksidatif hasarı arttırması bunun bir sonucudur [12].

1.2.2. Eksojen Kaynaklar

1.2.2.1. İlaçlar

Serbest radikal oluşumuna yol açan ilaçlar bulunmaktadır. Bunlardan bazıları; pestisitler, hiperbarik oksijen, herbisitler, klonazin, bleomisin, klosapin, parasetamol, aminotriazol, doksorubisin, klosaptin, nitrofurantoin, 3,4-metilendioksi metamfetamin, siklosporin, trisiklik antidepresanlar ve siprofloksasin'dir [16].

1.2.2.2. Metal İyonları

Serbest radikal oluşumuna sebep olan bazı metaller şunlardır: Krom, nikel, demir, kadmiyum, bakır ve civa'dır [16].

1.2.2.3. Kirleticiler

Serbest radikal oluşturan bazı kirleticiler şunlardır: mineral tozlar, nitrik oksid, azot dioksit, karbonmonoksit, silika, ozon, hipoklorid, parakuat, dikuat, bazı çözücüler, juglone ve plumbagin'dir [16].

1.2.2.4. Radyasyon

UV yani ultraviyole ışık, gama ışınları ve X ışınları radikal oluşumuna neden olur [16].

1.3. Serbest Radikallerin Oluşum Mekanizmaları

Kimyasal olaylar ve fiziksel faktörler sebebi ile çevrede ve hücresel koşullarda sürekli bir radikal yapımı olmaktadır.

Serbest radikallerin oluşumu üç yol ile gerçekleşir [17].

1. Kovalent Bağların Homolitik Kırılması ile:

Kovalent bağın kopması esnasında, bağ yapısında bulunan iki elektronun ikisi de ayrı ayrı atomlar üzerinde kalır.



2. Normal Bir Molekülün Elektron Kaybetmesi ile:

Bir molekülün radikal özelliği yoksa ve elektron kaybı esnasında dış orbitalinde eşleşmemiş elektron kalıyorsa radikal hale dönüşmektedir. Örneğin, hücresel antioksidanlardan olan olan tokoferol ve askorbik asit radikal türlere bir elektron vererek radikalleri indirger. Bunun sonucunda radikal hale dönüşür.

3. Normal Bir Molekülde Tek Bir Elektron Transferi ile:

Radikal özelliği bulunmayan moleküle tek elektron geçişi ile dış orbitalde ortaklaşmamış elektron meydana geliyorsa bu indirgeme radikal oluşumuna neden olabilir. Örneğin, moleküler oksijenin bir elektronunun indirgenerek radikal şekli olan süreoksidin oluşması.

Serbest radikaller biyolojik sistemlerde büyük oranda elektron transferi sonucu meydana gelirler. Serbest radikaller üç şekilde bulunabilirler. Pozitif yüklü, nötr ya da negatif yüklü olabilirler. Serbest oksijen radikaller bu sistemlerde önemli radikaller arasındadır. Bununla birlikte, C, S ve N türevi olan radikaller ve inorganik moleküller de bulunmaktadır.

Bazı geçiş metallerinin; (Fe^{3+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} ve Mo^{5+} gibi) ortaklanmamış elektronları bulunmaktadır. Ancak serbest radikal kabul edilmez. Bunlar tepkimeleri katalizlediği için serbest radikal oluşumu için oldukça önemlidir [5].

1.4. Serbest Radikal Türleri

Tablo 1.1. Serbest Radikal Türleri

Serbest Radikaller	Radikal Olmayan Reaktif Türleri
Reaktif Oksijen Türleri	Reaktif Oksijen Türleri
Singlet Oksijen (O_2^1)	Ozon (O_3)
Süperoksid Radikali (O_2^-)	Hidrojen Peroksid (H_2O_2)
Hidroksi Radikali ($HO^\bullet$)	Organik Peroksidler ($ROOH$)
Alkoksil Radikali ($RO^\bullet$)	Peroksinitrit Radikali ($ONOO^-$)
Peroksil Radikali ($ROO^\bullet$)	Peroksinitrik asid ($ONOOH$)
Hidroperoksil Radikali ($HO_2^\bullet$)	Peroksonitrat (O_2NOO^-)
Karbonat Radikali ($CO_3^{\bullet-}$)	Peroksomono karbonat ($HOOCO_2^-$)
Karbondioksit Radikali ($CO_2^{\bullet-}$)	Hipobromik asid ($HOBr$)
	Hipoklorik asid ($HOCl$)
Reaktif Klorür Türleri	Reaktif Klorür Türleri
Klor radikali ($Cl^\bullet$)	Hipoklorik Asid ($HOCl$) Klor gazı (Cl_2)
	Nitril klorit (NO_2Cl) Brom klorür ($BrCl$)
	Kloraminler Klordioksit (ClO_2)
Reaktif Brom Türleri	Reaktif Brom Türleri
Brom radikali ($Br^\bullet$)	Hipobromik Asid ($HOBr$)
	Brom gazı (Br_2)
	Brom klorür ($BrCl$)
Reaktif Azot Türleri	Reaktif Azot Türleri
Azot Dioksit ($NO_2^\bullet$)	Nitrik asid (HNO_3) Peroksinitrat ($OONOO^-$)
Nitrat Radikali ($NO_3^\bullet$)	Nitrosil katyonu (NO^+) Nitril klorit ($ClNO_2$)
Nitrik Oksid ($NO^\bullet$)	Nitrosil anyonu (NO^-) Peroksinitrit ($OONO^-$)
Diazot Trioksit ($N_2O_3^\bullet$)	Nitronyum katyonu (NO_2^+)
	Dinitrojen trioksit (N_2O_3)
	Dinitrojen tetraoksit (N_2O_4)
	Alkil peroksinitritler ($ROONO$)
	Alkil peroksinitratlar (RO_2NO_2)
	Peroksiasetil nitrat ($CH_3C(O)O_2NO_2$)
	Peroksinitrik asid ($ONOOH$)

1.5. Reaktif Oksijen Türleri

Reaktif oksijenler, radikal olan ve radikal olmayan oksijen merkezli türler olmak üzere ikiye ayrılır. Peroksi radikali ($\text{ROO}^\bullet$), süperoksid anyonu ($\text{O}_2^{\bullet-}$), hidroksi radikali ($\text{OH}^\bullet$) ve alkoksi radikali ($\text{RO}^\bullet$) radikal olan türlerdendir. Hidrojen peroksit (H_2O_2) ve singlet oksijen (O_2^1) radikal olmayan türlerdendir. Nitrik dioksit ($\text{NO}_2^\bullet$), nitrik oksit ($\text{NO}^\bullet$) ve peroksinitrit ($\text{OONO}^\bullet$) diğer türlere örnektir. Serbest radikaller atomik ya da moleküler orbitalinde tek veya daha çok eşleşmemiş elektron bulundurur. Bu radikaller yüksek reaktivite gösterir ve genelde stabil değildirler. Enerji yüklüdürler [17, 18].

Moleküler oksijen (O_2) iki kovalent yapar. Molekülün eşleşmemiş elektron bulundurması paramanyetik özellikte olduğunu gösterir. Dış orbitalde yer alan iki elektron aynı doğrultuda ve farklı orbitallerdeyken molekül minimum enerji seviyesindedir [19].

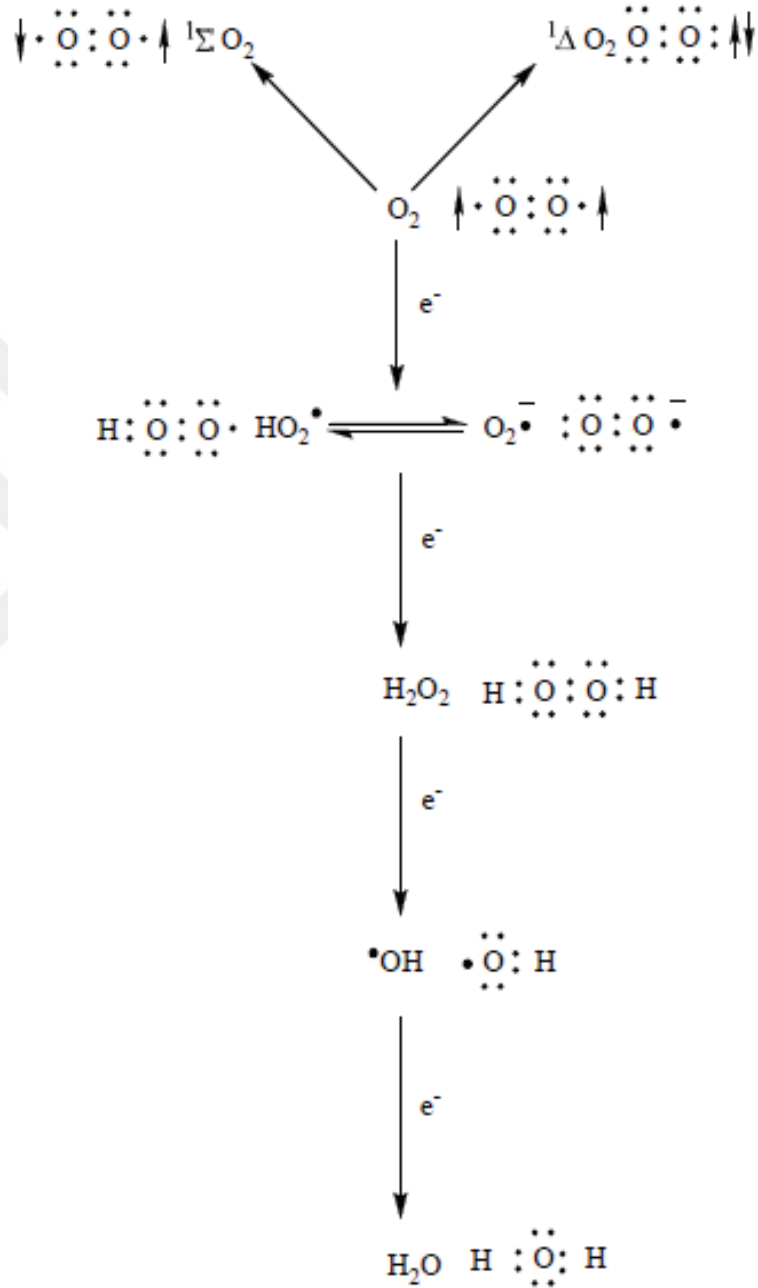
Oksijen, di-radikal olarak değerlendirilir (serbest radikal tanımına göre). Spin kısıtlaması nedeniyle di-radikal oksijen, radikal olmayan maddelerle yavaş tepkimeye girer. Ancak diğer serbest radikallerle kolay tepkime verir [20].



Şekil 1.1. Moleküler Oksijen [20]

Organizmada birçok oksijenaz ve oksidazın aktif merkezlerinde bulunan Fe^{3+} ve Cu^{2+} gibi geçiş metalleri aracılığıyla bir elektron transfer edilerek moleküler oksijenin spin sınırlaması aşılabilir. Enerji absorpsiyonu ile oksijenin uyarılmış hale getirilmesi de spin kısıtlamasını aşmanın bir başka yoludur. Sonuç olarak singlet oksijen meydana gelir [21].

Oksijen bulunan bir ortamda kimyasal ve fiziksel faktörler yardımı ile zorunlu metabolik tepkimeler sonucunda oksijen radikalleri meydana gelir. Biyolojik sistemde yer alan en önemli serbest radikal, oksijen radikalleridir.

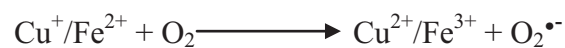


Şekil 1.2. Oksijenin Suyu İndirgenmesi ve Diğer Oksijen Türlerinin Oluşumu [21]

1.5.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\bullet-}$)

Aerobik canlıların neredeyse hepsinde oksijen tek elektron alarak indirgenir. Sonuç olarak süperoksit radikali oluşur. Bu radikal aşağıdaki yollarla meydana gelmektedir [21, 22].

- Bazı biyolojik moleküller; hidrokinonlar, redükflavinler, tiyoller, tetrahidrofolatlar ve katekolaminler aerobik ortamda oksidasyon ile kendiliğinden süperoksit oluşturur.
- Monositler, makrofajlar, nötrofiller ve eozinofiller gibi aktive haldeki fagositik hücreler, virüs veya bakterinin aktivasyonu için çok miktarda süperoksit oluşturur.
- Mitokondriyal enerji metabolizması sırasında elektron kaçağı ortaya çıkar. Bunun sonucunda %1-3 oranında kullanılan oksijen, süperoksit meydana getirir.
- İndirgenmiş haldeki transizyon metallerinin kendiliğinden oksidasyonu sonucunda süperoksit meydana gelir.



Transizyon metal iyonlarının indirgenmesi ve H_2O_2 kaynağı olması, süperoksit radikalının önemidir. Hücre ortamında süperoksit oluşuyorsa oksitleyici özellik göstermesinin yanında indirgeyici özellik de gösterebilir. Örneğin; ferrisitokrom C ile tepkimesinde indirgeyici gibi davranarak bir elektron kaybederek oksijene dönüşür. Epinefrinin oksidasyonunda ise bir oksidan gibi davranır. Sonuç olarak tek elektron alarak H_2O_2 'ye indirgenir [23].

Düşük pH'larda süperoksit radikali daha reaktiftir. Oksidan bir tür olan perhidroksil radikalini ($HO_2^{\bullet}$) meydana getirmek amacı ile protonlanır. Perhidroksi radikali ve

süperoksit radikali tepkimeye girdiğinde, türlerden biri indirgenirken diğeri yükseltgenir. Bu tepkime sonucunda ise H₂O₂ oluşur.



Süperoksit radikali ile fizyolojik bir serbest radikal çeşidi olan NO[•]'nin tepkimesi sonucu peroksi nitrit oluşur. Peroksinitritler aynı zamanda doğrudan proteinlere etki edebilirler. Peroksinitrit, reaktif oksijen türevidir. Bu şekilde NO[•] normal etkisini kaybeder.



1.5.2. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Moleküler oksijen, çevresindeki moleküllerden iki elektron alarak veya süperoksit bir elektron alarak oluşturduğu yapı, H₂O₂'dir.

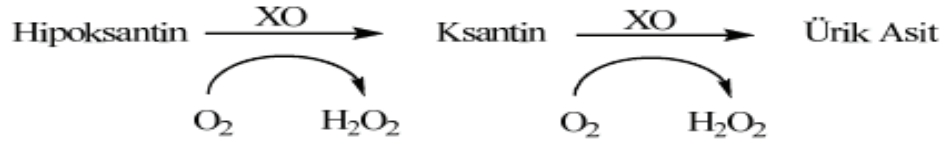


H₂O₂, bünyesinde eşleşmemiş elektron çifti bulundurur. Bu nedenle radikal değildir. Ancak biyolojik membranları rahatlıkla geçer. Hücre içi ve arasına difüze olabilir ve oldukça uzun ömürlü bir türdür [21, 22].

Biyolojik sistemlerde H₂O₂'nin temel üretimi süperoksitin nonenzimatik veya SOD (süperoksit dismutaz) katalizli dismutasyonu yolu ile hidrojen perokside dönüşmesi gerçekleşir.



Bazı oksidaz grubu enzimler; aminosit oksidaz ve ksantin oksidaz (XO) gibi faaliyetleri sonucunda H_2O_2 , *in vivo* ortamda üretilebilir [24].



H_2O_2 radikal değildir. Serbest radikal biyokimyasında önemli bir role sahip aynı zamanda ROT sınıfındadır. Nedeni ise, geçiş metallerinin varlığı ile Fenton reaksiyonu, süperoksit radikali varlığında Haber-Weiss reaksiyonu ile en reaktif ve çok daha fazla hasar veren bir tür olan hidroksil radikaline dönüşür [25].

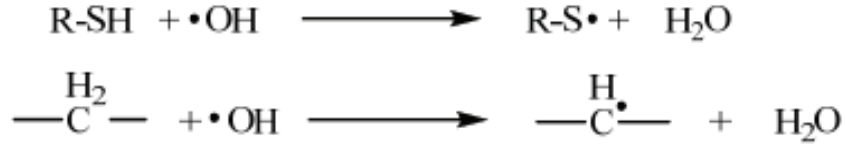
1.5.3. Hidroksil radikali ($\bullet OH$)

Transizyon metalleri varlığında, H_2O_2 'in Feton reaksiyonu ile indirgenmesi sonucu hidroksil radikali ortaya çıkar. Suyun yüksek enerjili iyonlaştırıcı radyasyonuna maruz kalması sonucunda da hidroksil radikali oluşur.



Bu türün yarılanma ömrü oldukça kısadır. Bulunduğu ortamda karşılaştığı neredeyse her biyomolekül ile tepkimeye girer. Sonuç olarak geldiği yerde büyük hasara sebep olmaktadır [21, 23].

Biyolojik sistemlere en çok zarar veren aynı zamanda en reaktif radikal, hidroksil radikali. Bu radikal; organik peroksitler ($RCOO\bullet$), yağ asitleri ve tiyoller gibi molekülerden tek proton kopararak karbon merkezli organik radikaller ($R\bullet$) ve tiyol radikalleri ($RS\bullet$) gibi yeni radikallerin ortaya çıkmasının sebebidir.

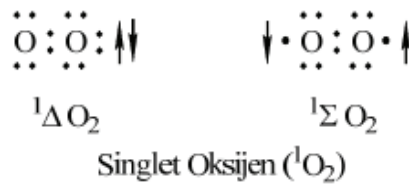


Bu türler, biyolojik moleküller tepkimeye girmeleri durumunda bile elektronca zengin molekülleri seçerler. Proteinler (aromatik yapılı amino asitler) ve nükleik asitler (pürin ve pirimidin bazıları) ile çeşitli radikal tepkimeleri gerçekleştirir.

1.5.4. Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$)

Singlet oksijen, moleküler oksijendeki elektronlardan birinin enerji alarak kendi spininin zıt yönünde olan diğer orbital ile yer değiştirmesi sonucunda meydana gelir.

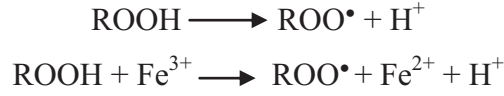
Oksijenin çiftleşmemiş elektronları paralel spinlidir. Bu nedenle oksijende bulunan spin kısıtlaması singlet oksijende yoktur [23]. Bu tür, sigma ve delta olmak üzere iki şekilde bulunur. Delta daha düşük (92 kJ) enerjilidir. Sigma formunun enerjisi (155 kJ) daha yüksektir. Bu sebeple delta formu, sigma formundan daha uzun yarı ömüre sahiptir [26].



Şekil 1.3. Singlet Oksijen

1.5.5. Peroksil ve Alkoksil Radikalleri

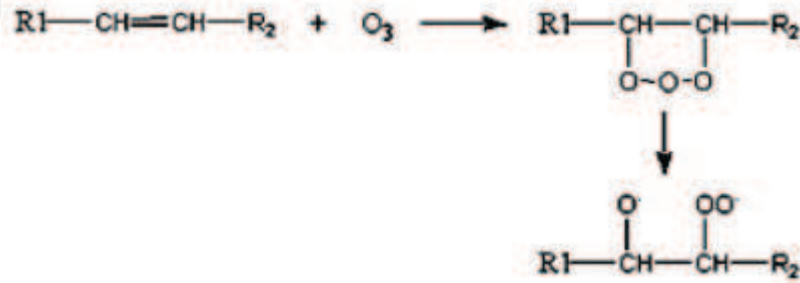
Oksijenin alkil radikalleri ($\text{R}\bullet$) ile tepkimesi sonucunda peroksil radikalleri ($\text{ROO}\bullet$) oluşur. Oksijen ve lipid radikalleri arasındaki reaksiyon buna örnek verilebilir. Alkil peroksidlerinin (ROOH) dekompozisyonu sonucunda ise alkoksil ($\text{RO}\bullet$) radikalleri ve peroksil ($\text{ROO}\bullet$) radikalleri oluşur.



1.5.6. Ozon (O₃)

Bu doğal bileşik, atmosferin üst kısmında ve çevre kirliliği olan yerleşimlerde ortaya çıkar. Azot oksitler ve hidrokarbonlar arasındaki fitokimyasal reaksiyonla oluşan neredeyse en büyük kirliliktir. Ozon, serbest bir radikal değildir. Ancak singlet oksijen onları üretebilir. Lipid peroksidasyonunu stimüle edebilir.

Bu şekilde *in vivo* olarak lipid ve protein seviyelerindeki hasarı indükleyebilir. Ozon'un stimüle ettiği peroksidasyonun asıl kimyası tam olarak bilinmemektedir. Ozon, serbest bir radikalın oluşumunu bozabilir. Öngörülen mekanizma aşağıdadır [27].



Şekil 1.4. Ozonun Serbest Radikal Oluşumunu Bozma Tepkimesi

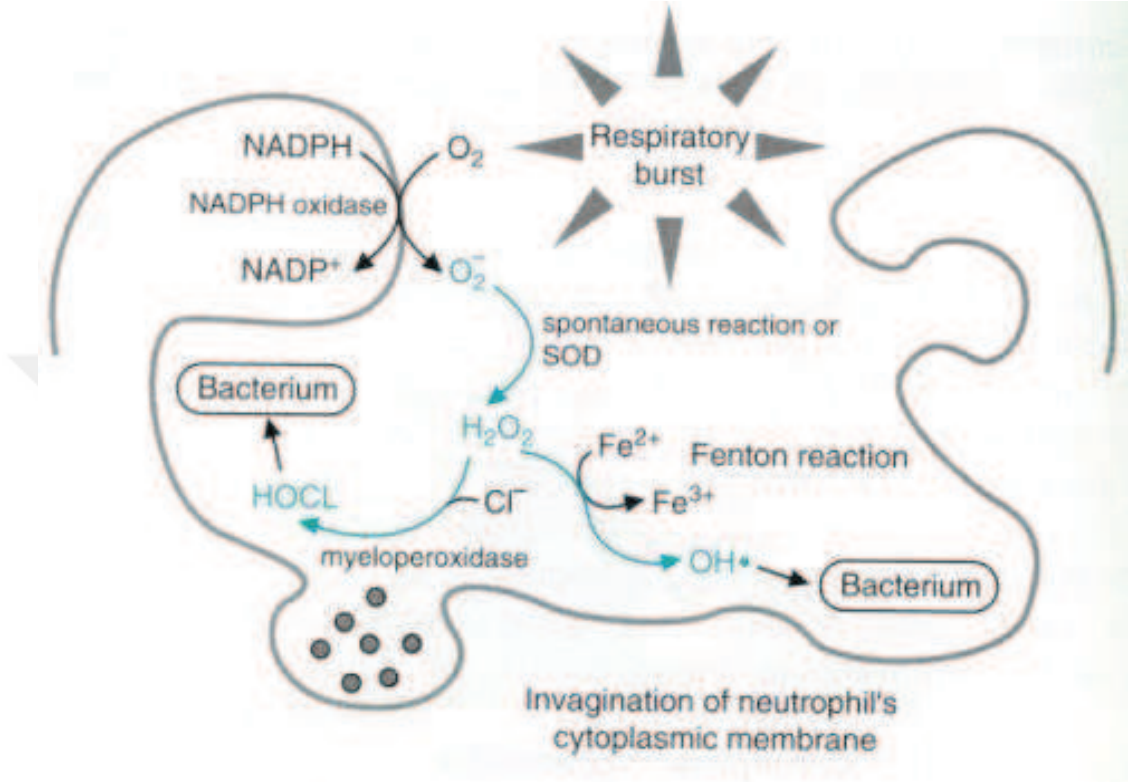
1.6. Hücredeki Reaktif Oksijen Kaynakları

1.6.1. Biyolojik Kaynaklar

1.6.1.1. Solunumsal Patlama

Aktive halde bulunan; eozinofiller, makrofajlar ve nötrofiller biyolojik hedeflerin parçalanmasına sebep olur. Enfeksiyonlara karşı vücudun hücresel yanıtını başlatır. Çeşitli oksijen radikaller, fagositik solunumsal patlama esnasında oluşur. Bakteri ve

türevi ürünlerin etkisi ile fagosite edilmiş mikroorganizma öldürülür. Fakat bu oksidan ürünler hücrelerin antioksidan savunma güçlerini aştığı zaman konakçı hücrelere zarar verir. Bu yolla farklı hastalıkların patogenezinde rol oynar.



Şekil 1.5. Nötrofil Membranı [28]

1.6.1.2. Radyasyon ve Çevresel Ajanlar

Anestezikler, pestisitler, hava kirliliği, sigara dumanı, bazı çözücüler ve aromatik hidrokarbonlar serbest radikal oluşumuna sebebiyet verir.

1.6.1.3. Antineoplastik Ajanlar

Bunlardan bazıları; bleomisin, adriksimicin, nitrofurantoin ve doxorubicin'dir. Doxorubicin, antikarsinojen bir ajandır. Hücrenin DNA replikasyonunu inhibe eder.

Bu esnada O₂ ve H₂O₂ oluşumuna neden olur. Sonuç olarak lipid peroksidasyonu başlar [29, 30].

1.6.1.4. Stres

Sinirsel uyarılar katekolaminleri sentezinde yükselişe neden olur. Katekolaminlerin oksidasyonu, başlıca serbest radikal kaynağıdır. Birçok hastalığın sebebinde stresin rolü vardır. Bu da serbest radikallerin oluşumuyla ilişkilidir [5].

1.7. Serbest Radikallerin Etkileri

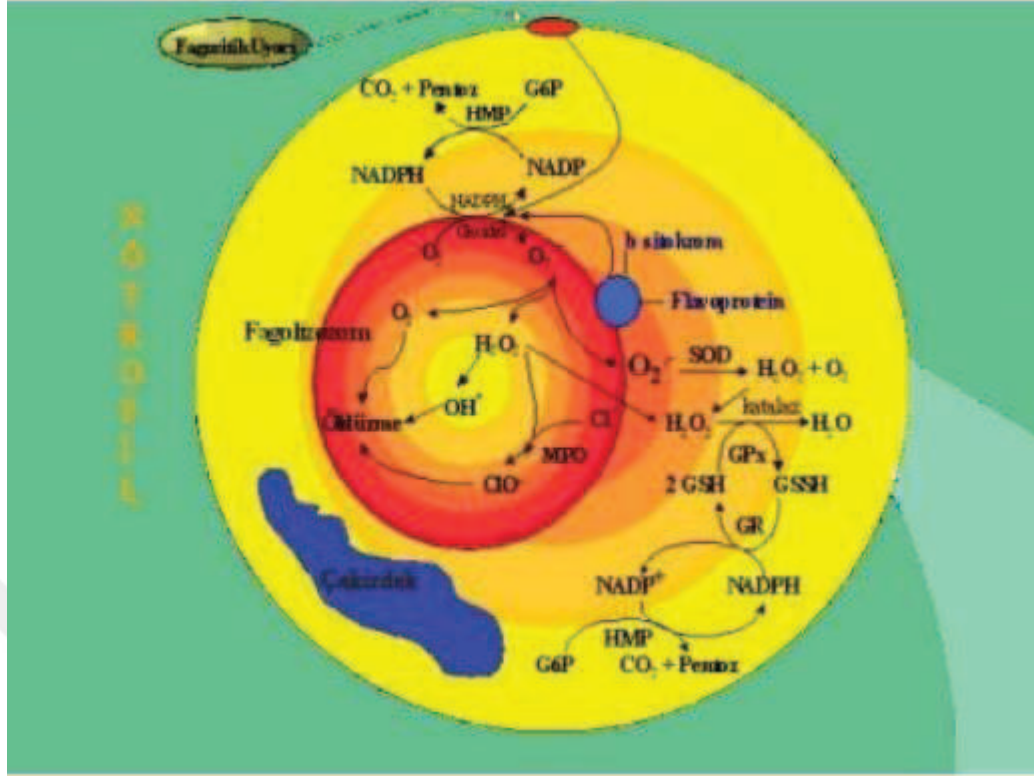
Serbest radikallerden kuvvetli reaktif olanlar, hücrenin bütün bileşenleriyle rahatlıkla etkileşime geçebilirler. Savunma mekanizmaları ile ortadan kaldırılmazlar ise, biyolojik moleküller ile reaksiyona girebilirler. Bunun sonucunda da yeni serbest radikal türleri ortaya çıkar ve zincirleme bir tepkime başlar [30].

1.7.1. Oksidatif Stres

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızları ve bunların ortamdan kaldırılma hızları denge halindedir. Bu dengeye oksidatif denge denir.

Serbest radikallerin oluşum hızlarında herhangi bir artma veya ortamdan kaldırılma hızlarında herhangi bir azalma meydana gelirse oksidatif denge bozulur. Bu durum oksidatif stres olarak adlandırılır. Serbest radikallerin oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasında meydana gelen önemli bir dengesizliği gösterir. Bu dengesizlik dokularda hasara sebep olur [31].

Oksidatif stres halinde azot ve reaktif oksijen türlerinin miktarında artış görülür. Yani bu ürünlerin reaksiyon hızları artar. Bu durumdan öncelikle lipidler daha sonra proteinler ve nükleik asitler olmak üzere bunların yanında metabolizmadaki pek çok sistem olumsuz yönde etkilenir [32].



Şekil 1.6. Oksidatif Stres [33]

Oksidatif stresin etkileri 3 başlık altında incelenebilir.

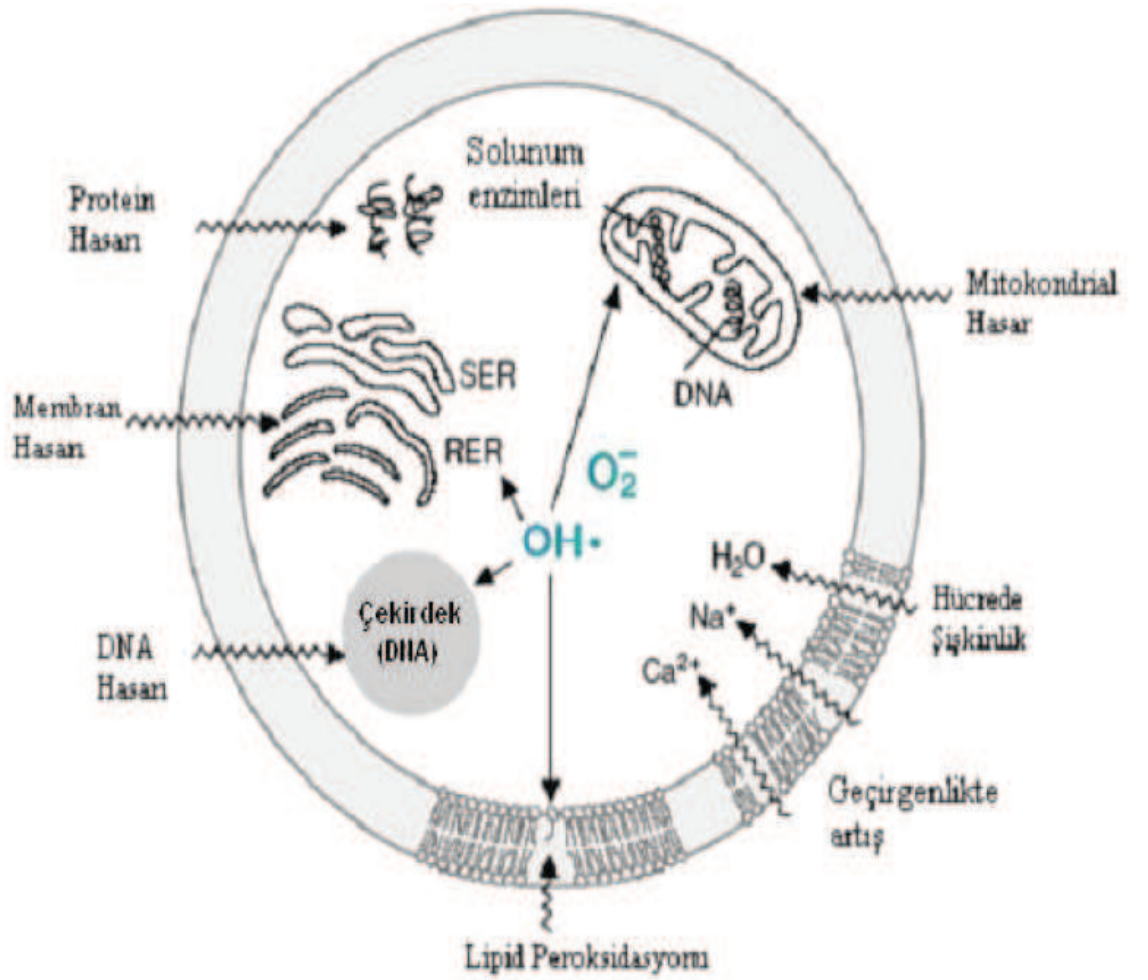
1.7.2. Lipid Peroksidasyonu

Organizmadaki serbest oksijen radikallerinin etkisi ile lipidlerin yapısındaki doymamış yağ asitlerinden bir hidrojen atomunun uzaklaştırılmasına lipid peroksidasyonu denir. Yağ asidi zinciri bu şekilde bir lipid radikali ($L^{\bullet}$) kazanır. Bu lipid radikali reaktiftir. Birtakım değişikliğe uğrar. Sonrasında lipid radikallerinin oksijen ile birleşmesi ile lipid peroksid radikalleri ($LOO^{\bullet}$) oluşur (Şekil 1.6) [34]. Lipid radikalleri, membran yapısında bulunan doymamış yağ asilerine etki ederek yeni lipid radikalleri oluşturur [35].

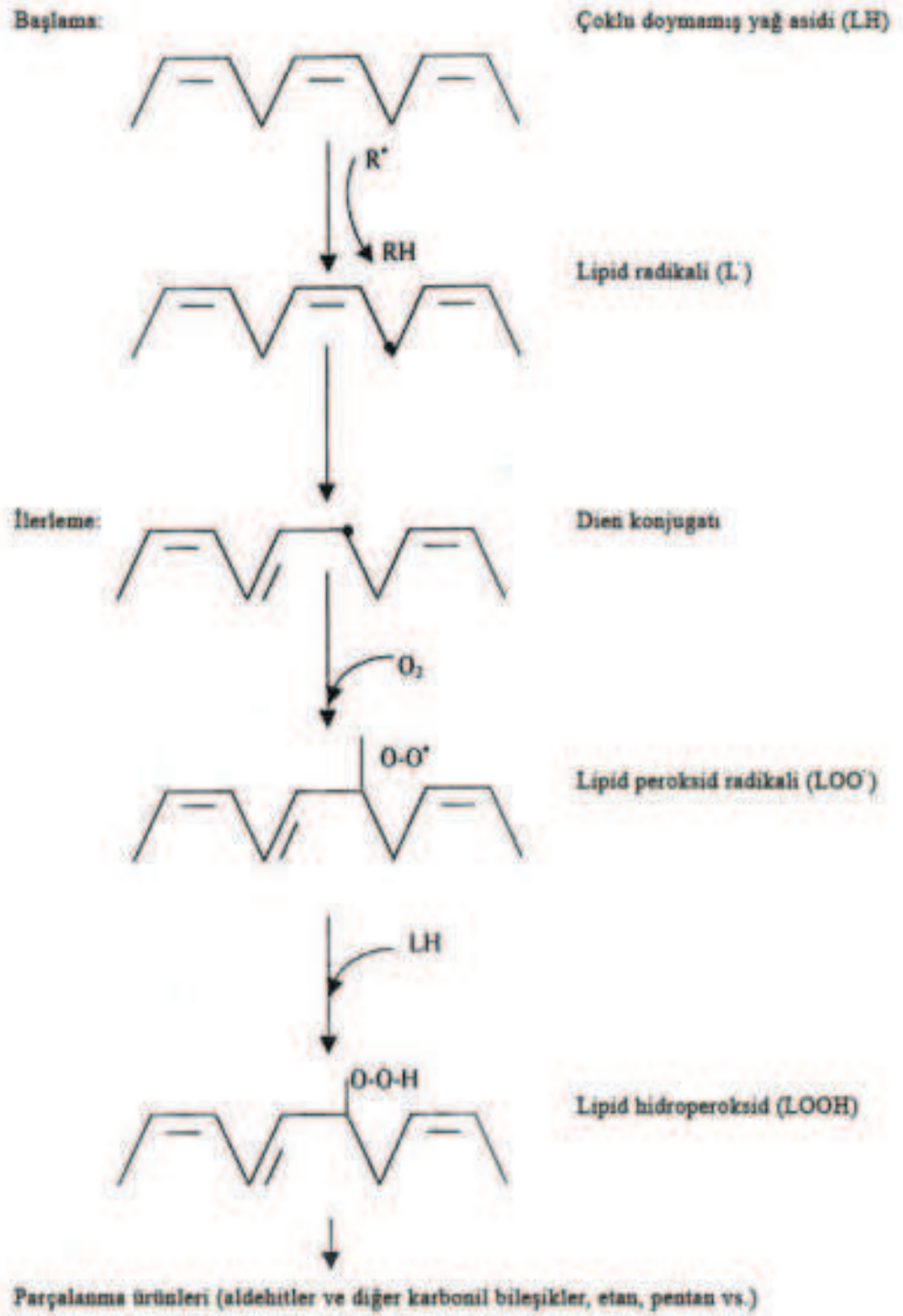
Bir serbest radikal zincir reaksiyonu olan lipid oksidasyonunu reaktif oksijen türleri hızlandırır. Hücre membranları, dışında protein bulunan fosfolipid çift tabakalardan oluşan ve lipid oksidasyonunun direkt hedefi olan yapılardır [36]. Hücre membranlarının lipid oksidasyonu artarsa, lipid fazın yüzey yükünün polaritesi artar.

Buna bağılı olarak protein oligomerlerinin oluşumunda artış meydana gelir. Bir lipid oksidayosnu ürünü de malondialdehiddir. Proteinlerle, fosfolipidlerle, nükleik asitlerle tepkimeye girer.

Bunun sonucunda immun sistemin disfonksiyonuna yol açarak yapısal değışikliklere sebebiyet verir. Lipid oksidasyon ürünlerindeki artma diabet, ateroskleroz, karaciğer hastalığı, apopleksi ve inflamasyon hastalıklarının görülmesine yol açar [37].



Şekil 1.7. Lipid Oksidasyonu



Şekil 1.8. Lipid Peroksidasyonu

1.7.3. Lipid Peroksidasyonu

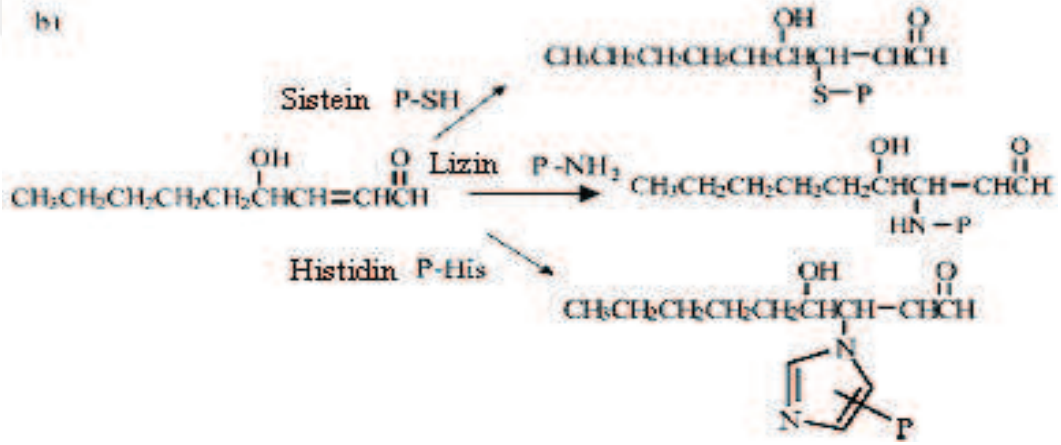
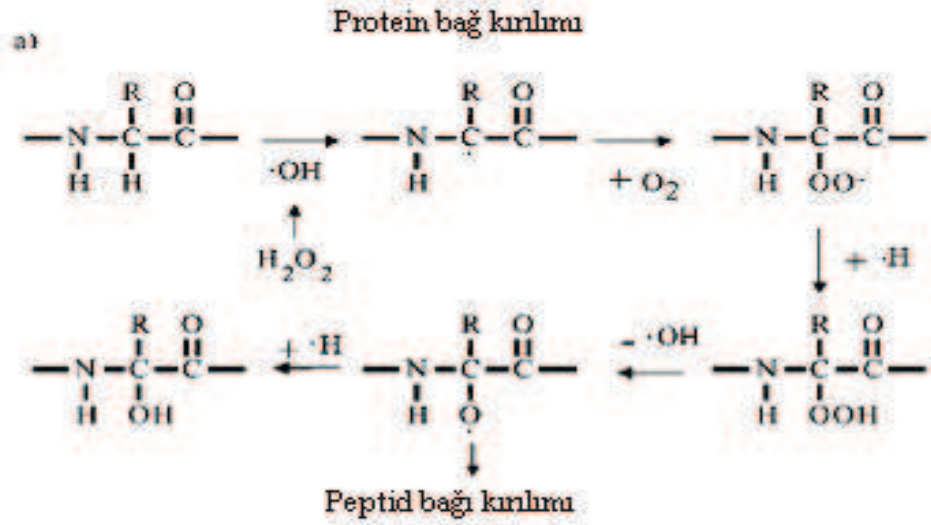
Reaktif oksijen türleri proteinlere saldırır. Karboniller, metiyonin sülfoksid, 2-oksohistidin ve protein peroksidlerinde içinde bulunduğu başka aminoasitlerin modifikasyonunu sebep olurlar [38]. Proteinler, serbest radikallerden etkilenir. Etkileme derecesi aminoasit kompozisyonuna bağlıdır [39]. Doymamış bağ ve sülfür bulunduran moleküllerin serbest radikal reaktivitesi yüksektir. Triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin, sistein gibi amino asidlere sahip proteinler serbest radikallerden kolayca etkilenirler. Bu etkilenme sonrasında özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller oluşur. Bu tepkime sonrasında immunoglobulin-G ve albumin gibi fazla sayıda disülfid bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulmaya uğrar. Bu bozulma sonucunda normal fonksiyonlarını yerine getiremezler [40].

Proteinlerde oluşan yapısal değişiklikler üç kısımda incelenir [14].

1-Amino asitlerin modifikasyonu

2-Proteinlerin fragmentasyonu

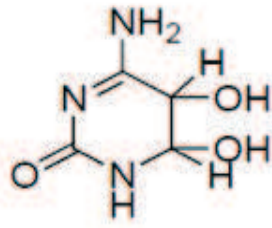
3-Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalar



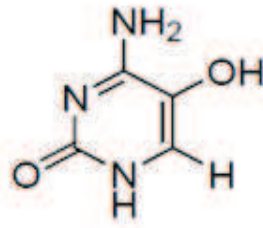
Şekil 1.9. Protein ve Peptit Bağının Kırılımı [24]

1.7.4. Nükleik Asitlere ve DNA'ya Etkisi

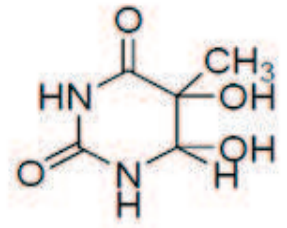
Serbest oksijen radikallerinin iyonize edici radyasyona maruz kalmasıyla DNA etkilenir. Hücrede mutasyon meydana gelir. Hidroksi radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolaylıkla tepkimeye girebilir. Aktif olmuş nütrofil kaynaklı hidrojen peroksid, membranlardan kolayca geçer. Hücre çekirdeğine ulaşır. Mutajenez, karsinogenez ve hücre ölümüne neden olur. Bu yüzden DNA, serbest oksijen radikallerinin kolay zarar verdiği önemli bir hedeftir [41, 42].



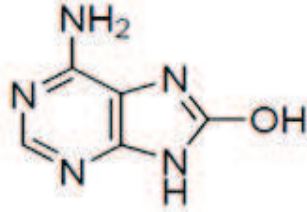
sitozin glikol



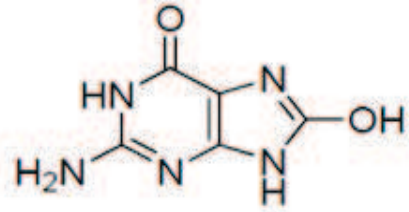
5-hidroksi sitozin



timin glikol



8-hidroksi adenin



8-hidroksi guanin

Şekil 1.10. Serbest Radikallerin Nükleik Asitlere ve DNA'ya Etkileri [40]

Tablo 1.2. Serbest radikallerin neden olduğu bazı hastalıklar [43]

1.İltihabi ve İmmün Hasarlar	7.İskemi-Reperfüzyon Sendromları
-Vazkülleritler -Romatoid Artrit	-Stres Ülserleri -Serebral İskemi
2.Solunum Sistemi	8.Göz
-Amfizem -Akciğer kanseri	-Katarakt -Retinopatiler
3.Kardiyovasküler Sistem	9.Karaciğer
-Ateroskleroz -Keshan hastalığı	-Endotoksin
4.Böbrekler	10.Sinir Sistemi
-Otoimmün Nefrotik Sendromlar	-Epilepsi -Parkinson -Alzheimer
5.Gastrointestinal Sistem	11.Cilt Bozuklukları
-Mide Mukozası Ülserleri	-Yanıklar -Porfiriya
-Pankreatitler	-Kontakt Dermatit
6.Eritrositler	12.Diğer
-Sıtma -Anemi -Kurşun Zehirlenmesi	-Diyabet -Kas Distrofisi -Yaşlanma

1.7.5. Karbonhidratlara Etkisi

Karbonhidratlar üzerine serbest radikallerin, polisakkarid depolimerizasyonu ve monosakkarid otooksidasyonu gibi etkileri vardır [44]. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu oksoaldehitler, peroksitler ve hidrojen peroksid oluşur. Mannitol ve glukoz gibi monosakkaritlerin geçiş metalleri katalizörlüğü ile hidroksi radikaliyle reaksiyona girmeleri, moleküler oksijeni indirgeyerek ketoaldehit, hidrojen peroksid, peroksitler ve oksoaldehitler oluşumuna sebep olur. Oksoaldehitler, RNA, DNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturabilme özelliğine sahiptir. Bu sayede yaşlanma ve kanser olaylarında rol oynarlar [14, 41].

1.8. Antioksidanlar

Son zamanlarda insanlar sağlıklı yaşam ve sağlıklı yaşlanma konularına büyük merak ve ilgi göstermektedir. Bundan dolayı dışarıdan alınan gıdaların ve bu gıdalara katılan katkı maddelerinin büyük önemi bulunmaktadır [45].

Antioksidanlar serbest radikalleri nötralize eder. Vücudun onlardan etkilenmemesini dolayısıyla da vücudun kendini yenilemesini sağlayan maddelerdir. Antioksidanlar hücrelere zarar veren serbest radikalleri ve reaktif oksijen türlerini etken bir şekilde indirger. Düşük toksiteli ya da toksik olmayan ürünlere dönüştürür.

Antioksidanlar vücutta endojen olarak üretilir. Bunun yanında gıda yolu ile eksojen olarak da vücuda alınabilir. Besinlerde mevcut olan antioksidanlar insan sağlığına yararlı olduğu gibi gıda maddelerinin raf ömrünü uzatır. Oksidasyonu geciktirir ya da inhibe ederek besin değerlerindeki kaybı azaltır [46, 47].

Besin maddelerinde bulunan ve insan vücudunu serbest radikallerden koruyan başlıca doğal antioksidanlar; flavonidler, polifenoller, vitaminler ve karotenoidlerdir. Antioksidan içeren gıda maddeleri ile beslenilirse önemli hastalıklarda azalma

yaşanması mümkündür. Kanser, kalp ve damar hastalıklarındaki önemli ölçüde azalma buna örnektir [48, 49].

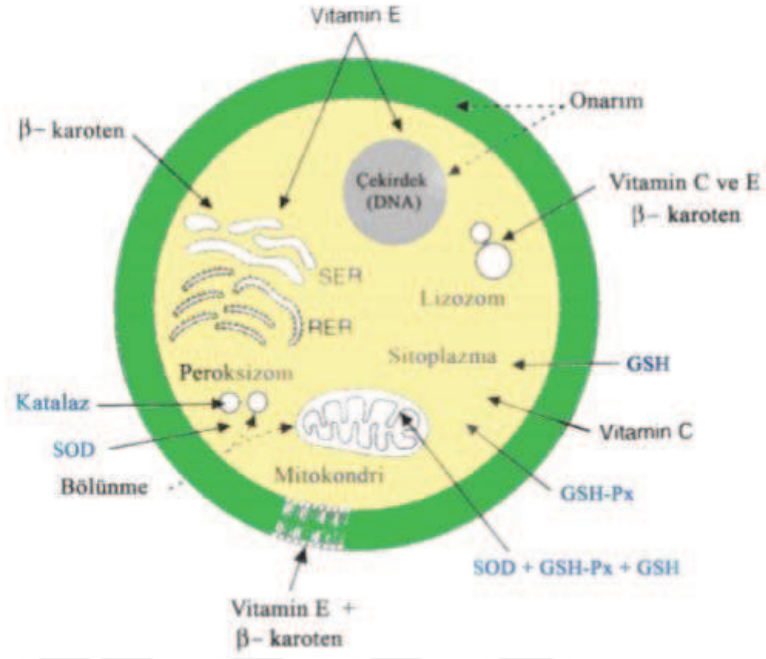
Yaşlanmaya karşı mücadelede ve bağışıklık sisteminin de olumlu yönde etkilemesi sebebi ile antioksidanlar oldukça önemlidir. Antioksidanlar biyokimyacılar ve diğer sağlık uzmanları için de önemli olan maddelerdir. Çünkü vücudu reaktif oksijen türlerine (ROT), reaktif azot türlerine (RAT) ve reaktif klor içerikli maddelere karşı koruma görevi üstlenirler. Butillenmiş hidroksianisol (BHA), butillenmiş hidroksitoluen (BHT), propil gallat (PG) ve tersiyer butilhidrokinon (TBHQ) piyasada en çok kullanılan sentetik antioksidanlardır [50].

Antioksidanların oksidatif reaksiyonlara etkisi farklı şekillerde olabilir [51, 52].

a) ROT oluşumunu önleyen sistemler: Demir ve bakır iyonlarını bağlayan metal şelatlayıcılar, mitokondride doğal yoldan meydana gelen ROT'ları indirgeyebilen mitokondriyal sitokrom oksidaz gibi.

b) ROT'ları yakalayıp etkisini yok eden (nötralize eden) antioksidanlar: Flavonoidler, α - tokoferol, β -karoten, askorbik asit, indirgenmiş glutatyon, metiyonin, ürik asit, mukus gibi. Bu grup antioksidanlar radikalik zincir reaksiyonunun başlamasını inhibe eder ya da zincir reaksiyonunun ilerlemesini engelleyerek radikal reaksiyonunu sonlandırırlar.

Antioksidanlar hücrelere zarar veren serbest radikalleri, reaktif oksijen türlerinin sebep oldukları zararı hücre içi ve hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirirler. Hücre içi savunma süperoksid dismutaz, glutatyon-S-transferaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, katalaz ve sitokrom oksidaz gibi enzimler tarafından sağlanır. Hücre dışı savunma ise albümin, bilirubin, transferin, seruloplazmin, ürik asit gibi çeşitli moleküllerle sağlanır. Bazı antioksidanların hücreye etkileri Şekil 1.11.'da gösterilmektedir.



Şekil 1.11. Bazı Antioksidanların Hücreye Etkileri

1.8.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanların sınıflandırılması farklılık göstermektedir. Endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olarak sınıflandırılabilir [5]. Bunun yanında enzim ve enzim olmayan antioksidanlar olarak da sınıflandırılabilir [52].

Tablo 1.3. Antioksidanların Sınıflandırılması

Enzimler	Radikal Yağda Çözünenler	Tutucular Suda Çözünenler	Metal İyonlarını Bağlayan Proteinler
Süperoksiddismutaz	E vitamini	C vitamini	Ferritin (Fe)
Katalaz	B-Karoten	Glutasyon	Transferrin (Fe)
Glutasyon Peroksidaz	Bilirubin	Ürik asit	Laktoferrin (Fe)
Glutasyon Redüktaz	Ubikinon	Sistein	Albumin (Cu)
Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz	Melatonin		Miyogloblin (Fe)
Glutasyon-S-transferaz	Flavonoidler	Mannitol	Seuloplazmin (Cu)
	Lipoik asit		

1.8.1.1. Kaynaklarına Göre Antioksidanlar

Antioksidanlar kaynaklarına göre sınıflandırıldıklarında endojen ve eksojen olarak ikiye ayrılır. Bunlardan endojen antioksidanlar ise enzimatik ve nonenzimatik olarak iki grupta incelenir. Endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar Tablo 1.4'te gösterilmektedir:

Tablo 1.4. Kaynaklarına Göre Antioksidanlar

ENDOJEN	EKSOJEN
ENZİMATİK	Albumin
Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)	Anestezikler
Glutasyon redüktaz (GSH-R)	Asetil sistein
Glutatyce-S-transferaz (GST)	Besinlere eklenenler
Hidroperoksidaz	-BHA
Katalaz (CAT)	-BHT
Peroksidaz	-Etoksiguin
Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz	-Fe süperoksid dismutaz
(Solunum zinciri son enzimi)	-Propil Gallat
Süperoksit dismutaz (SOD)	-Sodyum benzoat
NON-ENZİMATİK	Desferroksamin (Fe tutucu)
Albumin	DMSO
Askorbik asid (C vitamini)	Ebselen
Alfa-tokoferol (E vitamini)	Flavonoidler
Beta karoten	Kalsiyum kanal blokerleri
Bilirubin	Ksantin Oksidaz İnhibitörleri
Ferritin	-Allepürinol
Glutasyon	-Folikaisd
Haptogloblin	-Oksipürinal
Hemoglobin	-Pterin aldehit
Laktoferrin	Mannitol
Melatonin	Frubukol
Retinoik asid	Antioksidan enzimler
Seruploplazmin	Serüloplazmin
Sistein	Troloks
Transferrin	Taurin

1.8.1.2. Endojen Kaynaklı Antioksidanlar

Endojen kaynaklı antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan (nonenzimatik) antioksidanlar şeklinde ikiye ayrılırlar [53].

1.8.1.3. Enzimatik Antioksidanlar

Hücre içinde oksijenin metabolize edildiği her yerde, antioksidanlar oksijen ara metabolitlerini azaltmak amacıyla hızlı ve spesifik olarak çalışmaktadır Enzimatik antioksidanlar, antioksidan savunmada öncelikli etkili olanlardır. Bunlar süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz gibi enzimlerdir [5].

Tablo 1.5. Başlıca Enzimatik Endojen Antioksidanlar

Antioksidan	Reaksiyonu
Süperoksit Dismutaz (SOD)	Süperoksit serbest radikalının ($O_2^{\cdot -}$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) radikallerinin moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir. ($2O_2^{\cdot -} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$)
Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)	Hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Özellikle eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidan enzimdir. $H_2O_2 + 2GSH \longrightarrow GSSG + 2H_2O$
Glutatyon Redüktaz	GSH-Px vasıtasıyla hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan Okside Glutasyonu (GSSG) tekrar indirgenmiş Glutatyona (GSH) dönüşümünü kataliz eder.
Glutatyon S-Transferaz (GST)	Lipid peroksitlere karşı GSH-Px aktivitesi göstererek antioksidan savunma mekanizması oluştururlar.
Katalaz	Hidrojen peroksidi (H_2O_2) ve hidroksil (OH) radikallerinin oluşumunu önlemek için bunları suya ve oksijene parçalar.
Mitokondriyal Glutakonat Dehidraz	Solunumun zincirinin son enzimi olup, Süperoksidi ($O_2^{\cdot -}$) detoksifiye eder.

1.8.1.3.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (EC 1.15.1.1), reaktifliği yüksek olan süperoksit serbest radikalini daha sonra katalaz ve glutatyon peroksidaz tarafından yok edilebilmesi için daha az reaktif olan hidrojen perokside dönüştürür.



Süperoksit dismutazın bir başka görevi ise dehidratazları (dihidroksi asit dehidrataz, akonitaz, 6-fosfoglukano dehidrataz ve Fumaraz A ve B) süperoksit serbest radikali tarafından inaktivasyonuna karşı korumaktır [53].

Süperoksit dismutazlar kofaktörlerine göre dinükleer Cu, Zn içeren ve mononükleer Mn, Fe ve Ni içerenler olmak üzere dört sınıfa ayrılmaktadır [54]. Cu/Zn süperoksit dismutaz ağırlıklı olarak ökaryotların sitosollerinde, kloroplastlarda ve bazı bakteri türlerinde, Mn süperoksit dismutaz ise ökaryot mitokondrisinde ve prokaryotlarda, Fe süperoksit dismutaz prokaryotlarda bulunur [55].

1.8.1.3.2. Mangan Süperoksit Dismutaz

Mn-SOD her bir alt biriminde bir mangan atomu içeren homotetramer (96 kDa) bir moleküldür. Süperoksitin iki aşamalı bozunması sırasında öncelikle Mn^{+3} , Mn^{+2} ye sonrasında da tekrar Mn^{+2} , Mn^{+3} 'e dönüşür. Mitokondrideki solunum zinciri oksijen radikallerinin başlıca kaynağıdır. Mn-SOD süperoksit radikalini gidermede görevlidir. Aynı zamanda primer bir antioksidandır [56]. Hücrel Mn-SOD içeriği beyin, kalp, karaciğer ve böbrek gibi yüksek metabolik aktivitesi olan dokularda daha fazladır.

1.8.1.3.3. Cu/Zn Süperoksit Dismutaz

Cu-Zn SOD, 32 kDa ağırlığındadır. Memelilerde en çok böbrek, karaciğer, eritrosit ve santral sinir sisteminde bulunur. İki protein altbirimi içerir. Her bir altbirimde Cu ve Zn atomları bulunur [57, 58].

1.8.1.3.4. Ekstrasellüler Süperoksit Dismutaz

Ekstrasellüler süperoksit dismutaz, tetramerik yapıda olup Cu ve Zn içeren bir glikoproteindir. Heparin ve heparan sülfat gibi bazı glikozaminoglikanlara yüksek affinitesi vardır. Dokularda ve ekstrasellüler sıvılarda bulunur. Plazma, lenf ve sinovial sıvılardaki SOD aktivitesinin önemli bir kısmını oluşturur [59].

1.8.1.3.5. *Nikel Süperoksid Dismutaz*

Ni-SOD, *Streptomyces sp.* ve *Streptomyces coelicolor*'un sitosolik fraksiyonlarından asflaştırılmıştır. Ni-SOD, herbiri 13.4 kDa'luk dört alt birimden oluşmuştur. 70°C'ye kadar ve pH: 4.0-8.0 arası stabildir. Amino asid kompozisyonu Fe-SOD, Mn-SOD ve Cu, Zn-SOD'dan farklılık gösterir [60].

1.8.1.3.6. *Katalaz*

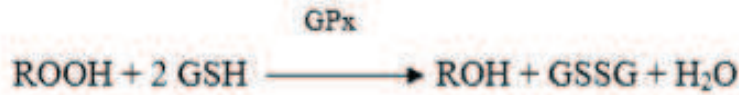
Katalaz (EC 1.11.1.6), 60 kDa'luk 4 altbirimden oluşur. Tetramerik bir enzimdir. Her bir molekülünde 4 ferriprotoporfirin içerir. Molekül ağırlığı 240 kDa'dur. Katalaz bilinen en etkin enzimlerdendir [61]. Peroksizomlarda lokalizedir.

SOD'un oluşturduğu H₂O₂'i, katalaz peroksidazlarla beraber su ve moleküler oksijene parçalar. Katalaz aktivitesi böbrek, eritrosit ve karaciğerde yoğundur [62].



1.8.1.3.7. *Glutasyon Peroksidaz (GPx)*

Glutasyon peroksidaz (EC 1.11.1.19), selenyum içeren ve çeşitli hidroperoksidlerin glutasyon ile indirgenmesini katalizleyerek memelileri oksidatif strese karşı koruyan bir enzimdir.



1.8.1.3.8. *Glutasyon-S-Transferaz (GST)*

Glutasyon-S-transferazlar (EC 2.5.1.18), detoksifikasyon enzimlerinin önemli bir sınıfıdır. GST'ler tripeptid glutasyonun lipofilik bileşiklerin elektrofilik merkezlerine

konjugasyonunu katalizler. Böylece çözünürlüğünün artmasını ve hücreden salgılanmasına yardımcı olur.

Oksidatif stres sırasında, makromoleküllerin *in vivo* yıkılma ürünleri olarak oluşan reaktif doymamış karboniller, reaktif DNA bazları, epoksidler ve organik hidroperoksidler gibi endojen substratları da içeren geniş bir substrat spesifitesine sahiptirler. Glutasyon transferazlar dokuları oksidatif hasarlara ve oksidatif strese karşı korumada hayati önem taşırlar.

1.8.1.3.9. Glutasyon Redüktaz

Glutasyon redüktaz (EC 1.8.1.7), yükseltgenmiş glutasyonu indirgenmiş hale çevirir. 2 alt birimden oluşan bir dimerdir. Her bir alt ünite NADPH bağlayan alan, FAD bağlayan alan ve arayüz alan olmak üzere 3 yapısal alan içerir.

Glutasyonun indirgenme tepkimesi esnasında elektronlar sıklıkla NADPH'tan FAD'ye transfer edilir [63]. Bundan dolayı NADPH serbest radikal hasarına karşı gereklidir. Majör kaynağı pentoz fosfat yoludur [42].

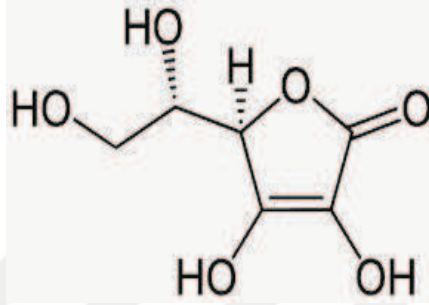
1.8.1.4. Non-Enzimatik Antioksidan Savunma

Non-enzimatik antioksidan savunmada esansiyel mikronutrient bileşiklerin önemli rolü vardır.

Tablo 1.6. Enzimatik Olmayan (Nonenzimatik) Antioksidanlar

Antioksidan	Reaksiyonu
Melatonin	Lipofilik özellik göstermesinden dolayı hücrenin hemen hemen bütün organellerine hatta hücrelerine kadar ulaşarak geniş bir dağılım gösteren melatonin, hidroksil ve süperoksit radikallerini tutarak antioksidan etki gösterir.
Seruloplazmin	Ferro demiri (Fe^{2+}) ferri demire (Fe^{3+}) yükseltgeyerek fenton reaksiyonunu ve hidroksil radikali oluşumunu engeller.
Transferrin	Serbest demir iyonlarını bağlayarak fenton reaksiyonunu önler.
Laktoferrin	Düşük pH'lı ortamlardaki demir iyonlarını bağlar.
Glutasyon (GSH)	Karaciğerde sentezlenen bir tripeptittir. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşmesini önler. Eritrositleri, lökositleri, göz lensini oksidatif hasara karşı korur.
Sistein	Süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır.
Ürik asit	Genelde metal bağlayıcı olarak çalışırken değişik radikalleride toplar.
Glukosa	Hidroksil radikali gidericisidir.
Albumin	HOCl radikali toplar. Proteini ve metal iyonlarını bağlar.
Bilirubin	Önemli bir peroksil radikali toplayıcısıdır.

Bu sebeple C vitamini ihtiyaçlarını taze sebze ve meyvelerden karşırlarlar [71]. Vücutta hidroksilasyon reaksiyonları, demir emiliminde askorbik asid görev alır. Ayrıca sulu peroksil radikalleri ile reaksiyona girerek antioksidan görevini de yerine getirir [72, 73].

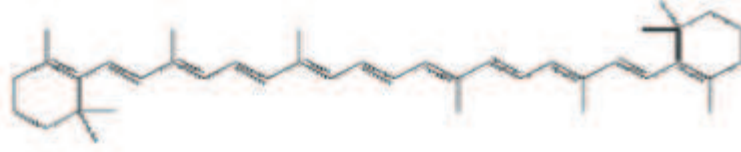


Şekil 1.13. Askorbik Asit (C Vitamini)

1.8.1.4.3. Karotenoidler

Karotenoidler bitkiler ve mikroorganizmalar tarafından sentezlenebilir. Ancak hayvanlarca sentezlenemeyen doğal pigmentlerdir [74]. Yapısında çift bağlar bulunur. Bu bağlardan dolayı sarı, portakal veya kırmızı renklindedir. Yapılarındaki konjuge çift bağlar, kimyasal, biyokimyasal ve fiziksel özelliklerini etkiler [75]. Karotenoidler teraterpenoidlerin bir grubudur.

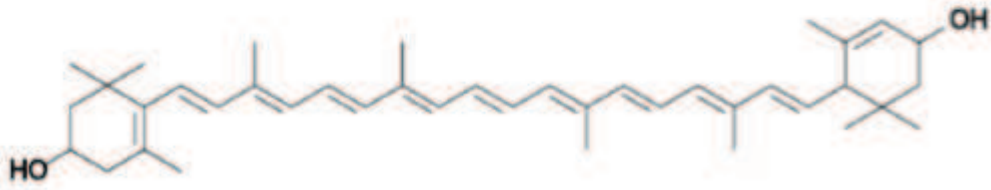
İki sınıf karotenoid vardır. Bulardan birincisi karotenler, ikincisi ise ksantofillerdir. Karotenler hidrokarbon karotenoidlerdir. Ksantofillerse hidroksil, metoksil, karboksil, keto veya epoksi grupları şeklinde oksijen içerirler. Likopen ve β-karoten tipik karotenlerdir. Yeşil yapraklardaki lutein ve mısırdaki zeaksantin ise ksantofildirler (Şekil 1.14).



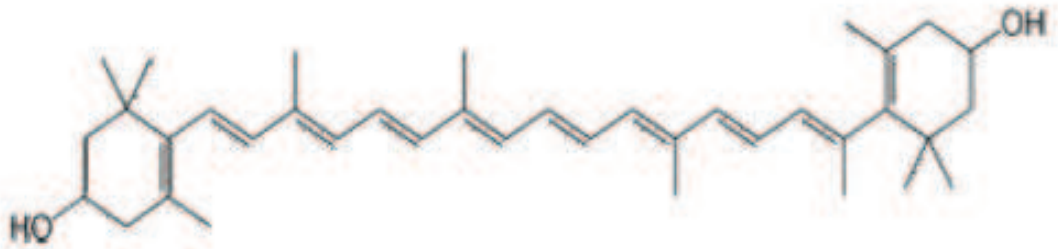
β -Karoten



Likopen



Lutein



Zeaksantin

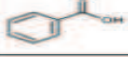
Şekil 1.14. β -Karoten, Likopen, Lutein ve Zeaksantin'in kimyasal yapısı

Karotenoidlerin ateroskleroz, katarakt, yaşa bağlı kas dejenerasyonları ve multiplskleroz gibi çeşitli radikal kaynaklı hastalıkları önlediği bildirilmiştir.

1.8.1.4.4. Polifenoller

Bitkilerde, fenolik bileşikler veya polifenollerin 8000'den fazla türü bulunmaktadır. Bunlardan başlıcaları gösterilmiştir (Tablo 1.6). Fenolik bileşiklerin antioksidan, antimutajenik ve serbest radikal giderme etkilerinin olduğu görülmüştür. Epidemiyolojik çalışmalarda yüksek oranlarda fenolik bileşiklerin tüketilmesinin kardiyovasküler hastalıkları ve belli kanser türleri riskini azalttığını göstermiştir [51].

Tablo 1.6. Fenolik Bileşenlerin Sınıfları

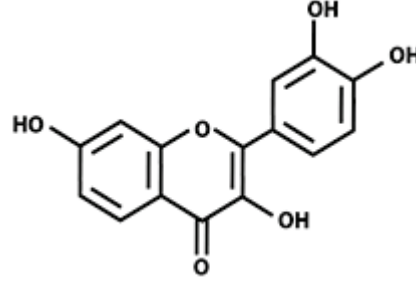
Sınıf	Temel İskelet	Temel Yapı
Basit fenoller	C ₆	
Benzokinonlar	C ₆	
Fenolik asitler	C ₆ - C ₁	
Asetofenonlar	C ₆ - C ₂	
Fenil asetik asitler	C ₆ - C ₂	
Hidroksisinnamik asitler	C ₆ - C ₃	
Fenil propenler	C ₆ - C ₃	
Kumarinler	C ₆ - C ₃	
Kromonlar	C ₆ - C ₃	
Antrakininonlar	C ₆ - C ₂ - C ₆	
Flavonoidler	C ₆ - C ₃ - C ₆	

1.8.1.4.5. Flavonoidler

Flavonoidlerin insan sağlığı üzerine olumlu etkileri vardır. Bitkilerde doğal bir şekilde oluşurlar. İnsan metabolizmasında sentezlenemezler. 4000'den fazla flavonoid bulunmuştur.

Flavonoidler, yapısal olarak genellikle C₆- C₃- C₆ karbon iskeletiyle karakterize edilirler (Şekil 1.15). Glikozid veya aglikon şeklinde bulunabilirler. En çok sebze, meyve, fındık, şarap, kakao, çayda bulunurlar.

Bitkilerin; tohum, çiçek, yaprak ve köklerinde bulunurlar. Yapıları aromatik A halkasına birleşmiş heterosiklik C halkasından ve buna bağlı ikinci aromatik B halkasının birleşmesinden oluşur.



Şekil.1.15. Flavonoid

Yapıdaki aromatik halkalara hidroksi grubunun bağlanması ile oluşan flavonoidler antioksidan aktivite gösterir [76].

Metal kelatlama, reaktif oksijen türlerini içeren diğer süreçleri azaltma, lipid peroksidasyonunu engelleme özellikleri vardır. Antioksidan, serbest radikal süpürücü ve antienflamatuar etkilerinin yanında, farklı enzimlerin aktivitelerini arttırırlar. Ayrıca spesifik reseptörlerle etkileşerek insan sağlığına faydaları bulunmaktadır. Flavonoidler, ayrıca vazodilatatör etki gösterirler.

Bakır ve demir gibi metal iyonlarını şeletlama özelliğine sahiptirler. Besinlerdeki flavonoidler oksidatif strese karşı önemli eksojen savunma mekanizmalarıdır. Flavonoidlerin ateroskleroz, tromboz ve karsinojenez olaylarında önemli etkisi olduğu düşünülen LDL oksidasyonunu önlediği de bilinmektedir [77].

1.8.1.4.6. Glutasyon (GSH)

Karaciğer başta olmak üzere pek çok dokuda bulunur. Glutamat, sistein ve glisinden sentezlenir. Tripeptid yapısındaki GSH oksidatif strese ve radyasyona karşı hücrelerin korunmasında önemli rol oynar. Dokuda antioksidan savunmanın önemli bir elemanıdır. GSH peroksidaz, GSH redüktaz ve GSH transferaz gibi enzimlerin substratı veya kofaktörüdür. Hücrelerin içinde toplanmış okside glutasyon ve

GSH/GSSG oranı organizmadaki oksidatif stresin bir ölçümüdür. GSSG'nin konsantrasyonunun çok yüksek olması oksidatif olarak birçok enzime zarar verebilir.

1.8.1.4.7. Albumin

Vücutta birçok fonksiyona ek olarak bakır iyonunu bağlama yeteneğine sahiptir. Bu şekilde bakır iyonuna bağlı lipid peroksidasyonunu ve hidroksil radikali oluşumunu inhibe eder.

1.8.1.4.8. Bilirubin

İn vivo ortamda bilirubin, lipid peroksidasyonunda antioksidan olarak görev yapar.

1.8.1.4.9. Ürik Asid

İnsanlarda purin nükleozidleri olan adenosin ve guanosin katabolizmasının temel ürünü ürik asidir. Metal bağlayıcı ve serbest radikal temizleyici olarak rol oynar.

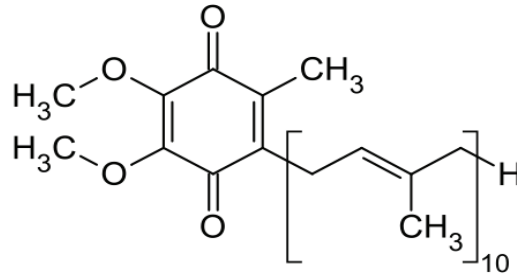
1.8.1.4.10. Selenyum

Selenit ve selenometionin, UV ışınları ile oluşan oksidatif DNA hasarını önemli ölçüde azaltmaktadır.

1.8.1.4.11. Koenzim Q

Kanser ve belli başlı nörolojik hastalıklara pozitif etkileri vardır. Koenzim Q, önemli bir antioksidandır. Vücut tarafından üretilir fakat diyet yolu ile de alınabilir.

Ciğer, böbrek ve kalp gibi et ürünlerinde ve balıkta yüksek miktarda bulunur. Ancak diyetle takviye amacıyla alınan koenzim Q hapları ile vücuda alınması daha etkilidir [78].

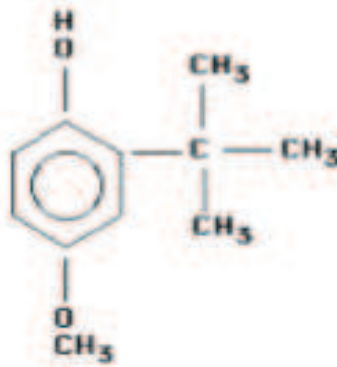


Şekil 1.16. KoenzimQ

1.8.1.5. Sentetik Antioksidanlar

1.8.1.5.1. Butillenmiş Hidroksianisol (BHA)

BHA, beyaz ve mumsu katı bir yapıya sahiptir. Erime noktası yaklaşık 48-63°C'dir. Hem hayvansal hem de bitkisel yağlarda çözünebilen ancak suda çözünmeyen bir antioksidan olarak tanımlanmaktadır (Şekil 1.17). Beyaz mumsu parçacıklar halindedir.



Şekil 1.17. BHA Molekülünün Kimyasal Yapısı

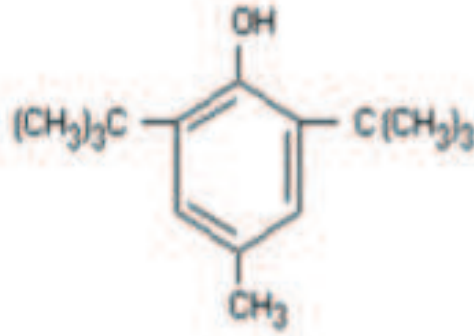
BHA $C_{11}H_{16}O_2$; 3-tertiyer bütıl-4-hidroksi anisol (% 90) ve 2-tertiyer bütıl-4-hidroksi anisol (% 10) izomerlerinin karışımı halinde bulunmaktadır.

Bitkisel ve hayvansal yağlarda kolaylıkla çözünebilen ancak suda çözünmeyen oldukça etkili sentetik bir antioksidandır. BHA gıdalarda % 0,02 oranında kullanılır. Hayvansal yağlar ve bu yağlarla yapılan bisküvi, pasta ve patates cipsinde etkili antioksidan olarak kullanılır [7].

1.8.1.5.2. Butillenmiş Hidroksi Toluen (BHT)

Beyaz renkli kristal yapıda bir maddedir. (2,6 di tersiyer butil 4-metil fenol) $C_{15}H_{24}O$ formülüne sahip bitkisel ve hayvansal yağlarda çözünen, suda çözünmeyen bir yapıya sahiptir.

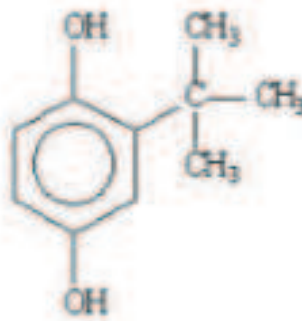
BHT beyaz kristal görünümündedir. BHT'nin gösterdiği özellikler büyük ölçüde BHA'ya benzemektedir (Şekil 1.18)



Şekil 1.18. BHT'nin Kimyasal Yapısı

1.8.1.5.3. Tersiyer Butil Hidrokinon (TBHQ)

TBHQ yağlarda orta derecede, suda ise çok az çözünür. Beyaz ile sarımsı kahverengi arası renktedir. Kristal yapıda bir madde olup erime noktasının $127^{\circ}C$ olduğu belirtilmektedir (Şekil 1.19). Yüksek sıcaklıklara dayanıklıdır. Gıdalara %0.02 oranında katılır [78].



Şekil 1.19. TBHQ Molekülünün Kimyasal Yapısı

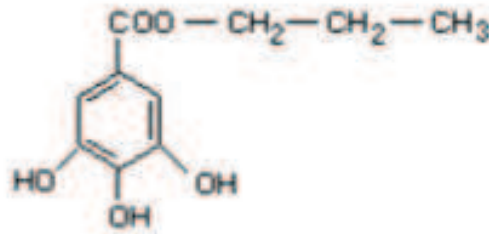
THBQ, doymamış yağ asitlerinde kullanıldığında diğer antioksidanlara göre daha etkilidir ve birçok avantajı vardır. Bunlar;

- Yağlarda kullanıldığında tadı ve kokusu fark edilmez.
- Yağlarda iyi çözünebilme özelliğine sahiptir.
- Demir ihtiva eden ortamda kullanıldığında renk değişimine uğramaz.
- Fırınlanacak ve kızartılacak ürünlerde de kullanılır.
- Tokoferollerden daha iyi stabilite etkisine sahiptir.
- Hayvansal yağlarda, kümes hayvanlarında ve bitkisel yağlarda etkilidir.

1.8.1.5.4. Propil Gallatlar (PG)

Propil gallat, ticari olarak gallik asidin propil alkol ile esterifikasyonu sonucu üretilir (Şekil 1.20.). Beyaz renkli kristal toz halinde bir maddedir. Suda az çözünür. Erime noktası da 148 °C'dir.

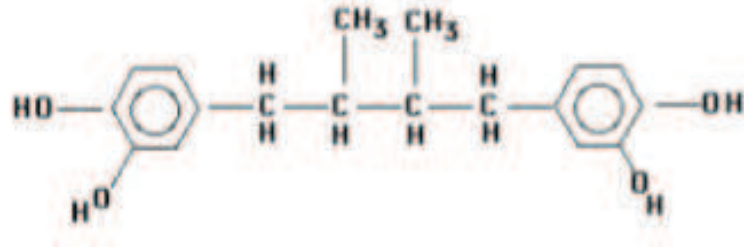
Propil gallat, demir iyonları ile mavi-siyah renkte bir kompleks oluşturur. Bunu önlemek için PG daima sitrik asitle birlikte kullanılır. Propil gallatlar, BHA ve BHT ile iyi sinerjistik etki gösterirler. PG, bitkisel ve hayvansal yağlarda, et ürünlerinde, taze ve dondurulmuş salam ve sosislerde antioksidan olarak kullanılmaktadır.



Şekil 1.20. Propil Gallatın Kimyasal Yapısı

1.8.1.5.5. Nordihidroguareyetik Asid (NDGA)

NDGA'nın toksik etkisi yüksektir. Yağlardaki çözünürlüğü azdır. Sentetik bir antioksidandır. Özellikle domuz yağı için etkili bir antioksidandır. Gıdalara % 0,01 oranında katılır [78].

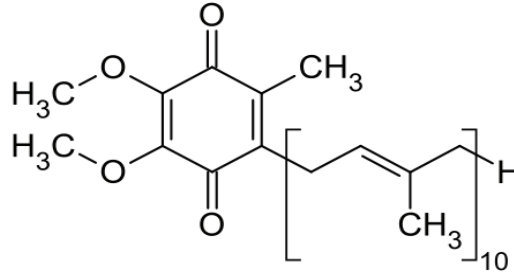


Şekil 1.21. NDGA Molekülünün Kimyasal Yapısı

1.8.1.5.6. Koenzim Q

Kanser ve belli başlı nörolojik hastalıklara pozitif etkileri vardır. Koenzim Q, önemli bir antioksidandır. Vücut tarafından üretilebilir fakat diyet yolu ile de alınabilir.

Ciğer, böbrek ve kalp gibi et ürünlerinde ve balıkta yüksek miktarda bulunur. Ancak diyetle takviye amacıyla alınan koenzim Q hapları ile vücuda alınması daha etkilidir [79].



Şekil 1.22. KoenzimQ

1.9. İyi Bir Antioksidanın Özellikleri

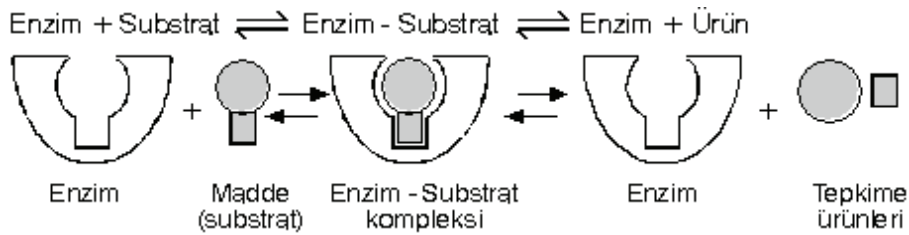
- *Fizyolojik olarak zararsız olmalıdır.
- *Yağ veya yağlı ürünlerin kokusunu, tadını ve görünüşünü etkilememelidir.
- *Yemeklerin pişirilmesi esnasında yağı ve bununla hazırlanmış besinleri etkilememelidir.
- *Yağda yeterli miktarda çözünmeli ve yağ ile karışabilmelidir.
- *Küçük derişimlerde bile etkili olmalıdır.
- *Kolay elde edilebilmelidir.

1.10. Antioksidanların Faydaları Nelerdir?

Antioksidanlar, serbest radikallerin neden olduğu bütün rahatsızlıklara karşı vücudu korur. Kalp rahatsızlıkları başta olmak üzere diyabet, makuladejenerasyonu ve kanser gibi hastalıkları ve bunların yanında bulaşıcı özellik gösteren hastalıklara karşı da koruyucu görev yaparlar. Antioksidanlar, bu rahatsızlıkların tedavisinde değil, bu rahatsızlıklara yakalanmamak için koruyucu bir önlem olarak kullanılmalıdır [80].

1.11. Enzimler Hakkında Genel Bilgi

Enzimler, canlı hücrelerde oluşan ve organizmadaki reaksiyonların normal koşullarda gerçekleşmesini sağlayan protein yapısında bulunan biyokimyasal katalizörlerdir [81]. Reaksiyon esnasında fiziksel değişiklikler geçirirler. Ancak tepkime tamamlandığında, orijinal hallerine geri dönerler. Katalitik (RNA) ribonükleik asit molekülleri (ribozimler) ile katalizlenen birkaç olay bilinmekle beraber enzimlerin neredeyse tümü protein yapısındaki katalizörlerdir [82]. “Substrat” tanımı ise, enzim tarafından değişikliğe uğratılan maddelerdir [83].



Şekil 1.23. Enzim-Substrat İlişkisi

1.11.1. Enzimlerin Yapısı

Enzimde, proteini oluşturan aminoasitlerin yapısı, dizilişi düzen içindedir. Bu da enzim-substrat seçiliğini sağlar. Bazı enzimler sadece proteinden oluşur. Bazıları ise protein yanında protein olmaya kısım da içerir. Böyle enzimlere, enzimin protein kısmına “apoenzim” denir. Protein olmayan kısmına ise “kofaktör” denir [84]. Enzimin, hangi maddeye etki edeceğini apoenzim saptar ve ısı ile kolaylıkla denatüre

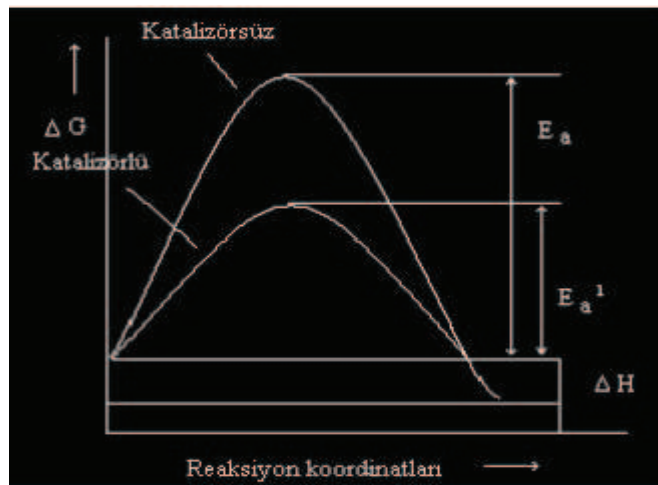
olabilir. Pepsin, üreaz, tripsin ve hidrolaz sınıfı enzimler yapıları sadece protein olan enzimlere örnektir [85].

Koenzimler, apoenzimden kolaylıkla ayrılabilir. Fakat tek başlarına katalitik etki göstermez [85]. Koenzime sıkıca bağlı gruba, “prostetik grup” denir. Apoenzim ve koenzim birlikte ise “holoenzim” adı verilir. Holoenzimin büyük bir kısmını apoenzim oluşturur [86].

Enzim molekülünün bir bölgesinde belirli aminoasitlerin oluşturduğu bir kısım bulunmaktadır. Protein zincirinin bu kısmı enzimin katalitik bölgesinden sorumludur. “Aktif bölge” olarak tanımlanır. Substrat ve varsa koenzim buraya bağlanır. Aktif merkezin geometrik yapısı genellikle asimetrik veya cep şeklindedir. İçerdiği girinti-çukurluklar substrat molekülünün şekline ve onun aktif bölgeye bağlanmasına uygundur [87].

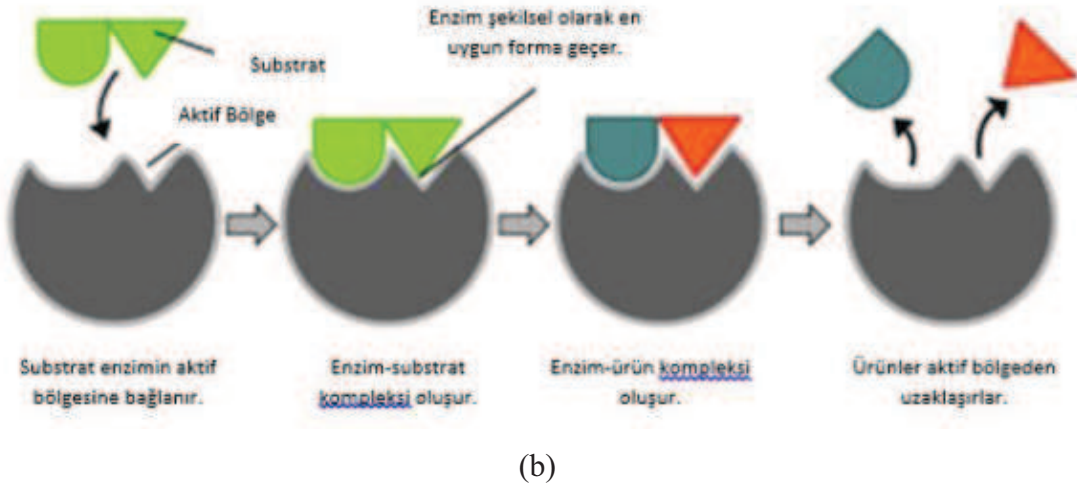
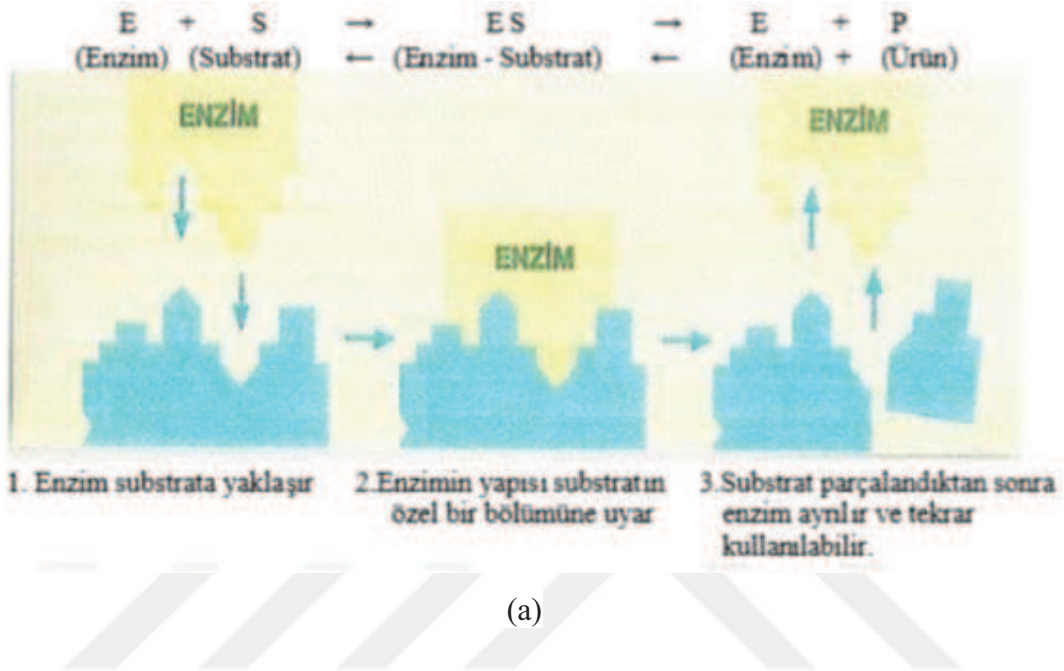
Enzimler katalizledikleri reaksiyonlarda denge konumunu ve sabitini değiştiremez. Ancak dengeye çabuk erişilmesini sağlar.

Reaksiyon hızının artması, kimyasal katalizörlerdeki gibidir. Mekanizmanın değişmesi neticesinde aktivasyon enerjisinin küçülmesinden kaynaklanır. Katalizörlü ve katalizörsüz bir reaksiyon için (Şekil 1.24) profil çizilmiştir.



Şekil 1.24. Katalizörlü ve Katalizörsüz Reaksiyon Profili

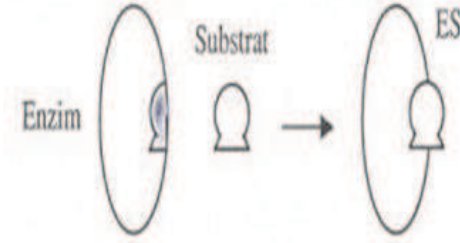
Emil Fisher 1894 yılında enzim substrat ilişkisini “anahtar-kilit” modeliyle açıklamıştır. Enzim aktif bölgesi substrat bağlanmasına uygunsa, bağlanma sırasında hem enzim konformasyonu hem de substratın şekli biraz değişikliğe uğrar. Aktif kompleksi oluşturur. Bu modele “indüksiyonla oluşmuş uygunluk” modeli denir [88, 89].



Şekil 1.25. Anahtar-Kilit (a) ve İndüksiyonla Oluşmuş Uygunluk (b) Modellerinin Şematik Gösterimi

Anahtar-Kilit Modeli: Fischer (1894) tarafından önerilmiştir. Bu modelde enzim-substrat etkileşimi bir anahtarın özel bir kilidin anahtar deliğine yerleştiği gibi, substratın da enzimin aktif bölgesine yerleştiği şeklinde açıklama yapılmıştır. Bu

model, enzim özgünlüğünü açıklayabilmesine rağmen enzim katalizini açıklamada yeterli olamamıştır.



Şekil 1.26. Anahtar-Kilit Modeli

İndüklenmiş Uyum Modeli: Koshland (1958) tarafından önerilmiştir. Bu modelde hem enzim hem de substrat bağlanma sonucu şeklini değiştirir. Substrata geçiş halini alacak şekilde bir konformasyona zorlanır. Bu şekilde, enzim substratı baskı altında tutar. Doğrudan katalitik olayın oluşmasını sağlar. Bu model için bazen el-eldiven benzetmesi de yapılmaktadır [90].

1.11.2. Enzimlerin Çalışmasına Etki Eden Etmenler

Enzimler biyolojik sistemlerde oldukça küçük miktarlarda bulunur. Bundan dolayı enzim proteinin miktarından ziyade biyolojik sistemde gösterdiği aktivite miktarı ölçülür [85].

Enzimler biyolojik sistemlerde düşük miktarlarda bulunur. Bundan dolayı enzim protein miktarından ziyade biyolojik sistemde gösterdiği aktivite miktarı ölçülmektedir [85].

Bir enzim aktivitesi birimi: 25°C'de 1 µmol substratı ürüne dönüştüren enzim miktarı olarak kabul edilmektedir.

Özgül (spesifik) aktivite: Miligram protein başına düşen enzim aktivitesidir. Bu terim daha çok izole edilen enzimin saflığını kontrol etmek için kullanılır.

Dönüşüm sayısı (k_{kat}): Her bir enzim molekülü tarafından ürüne dönüştürülen substrat moleküllerinin sayısıdır [90].

Enzim reaksiyon hızı üzerine enzim ve substrat konsantrasyonlarının, sıcaklığın, ortam pH'ının, zamanın, hormonların, reaksiyon ürünlerinin, ışık vb. gibi fiziksel faktörlerin etkisi vardır [85].

1.11.2.1. Enzim Konsantrasyonu

Substratın çok fazla olduğu bir ortamda optimal şartlarda enzimatik bir reaksiyonun ölçülen ilk hızı (V_o), enzim konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Belirli bir süre sonra ortamda enzimin reaksiyona girebileceği substrat sınırlı olduğundan hız giderek azalmaya başlar [85].



Şekil 1.27. Enzim Konsantrasyonunun Reaksiyon Hızına Etkisi [85]

1.11.2.2. Substrat Konsantrasyonu

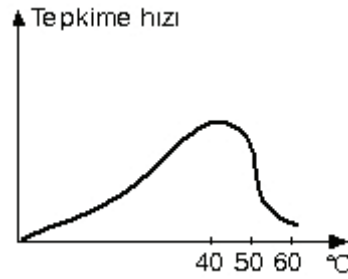
Enzim konsantrasyonu ve diğer bütün şartların stabil olduğu bir ortamda enzimatik tepkimenin hızı, substrat konsantrasyonunun arttırılmasıyla başlangıçta doğrusal bir artış gösterir. Ancak substrat ilave edildikçe ortamda reaksiyona girebilecek enzim bulunmadığından hız giderek daha az artar. Belirli bir maksimum hız (V_{max}) düzeyinde sabit kalır [85].



Şekil 1.28. Substrat Miktarının Reaksiyon Hızına Etkisi [85]

1.11.2.3. Sıcaklık

Enzimatik reaksiyonların hızında sıcaklık artışıyla belirli bir noktaya kadar artış gözlenmektedir. Belirli bir sıcaklık aşıldıktan sonra ise enzimler de diğer proteinler gibi denatüre olurlar. Dolayısıyla etkilerini kaybederler. Her enzimin substratını en fazla değişikliğe uğrattığı belirli bir maksimum sıcaklık değeri bulunmaktadır. Bu sıcaklığa “*optimum sıcaklık*” denir. *In vitro* enzim reaksiyonları genel olarak 37-40°C’de yapılmaktadır [85].



Şekil 1.29. Sıcaklığın Reaksiyon Hızına Etkisi [85]

1.11.2.4. Ortam pH'ı

Her enzimin maksimum aktivite gösterdiği belirli bir pH aralığı bulunmaktadır. Bu pH'ya enzimin “*optimum pH'i*” denir. Pepsin pH 1-2 aralığında, üreaz ise pH 6-7 aralığında en yüksek aktiviteyi göstermektedir. Enzimin optimum pH'sının altında ve üstünde reaksiyon hızı azalır. Enzim belirli bir pH'da tamamen etkisiz kalır ve yapısı bozulur [85].

1.11.2.5. Zaman

Enzim tarafından katalizlenen bir reaksiyonun hızı, zamanla azalmaktadır. Bunun nedeni, tepkime ürünlerinin kendi aralarında birleşmesi ve aksi yönde bir reaksiyon meydana getirmesidir. Sonrasında ise enzimin zamanla inaktif olur ve reaksiyonu önleyen maddelerin oluşur. Substratın tükenir [85].

1.11.2.6. Reaksiyon Ürünleri

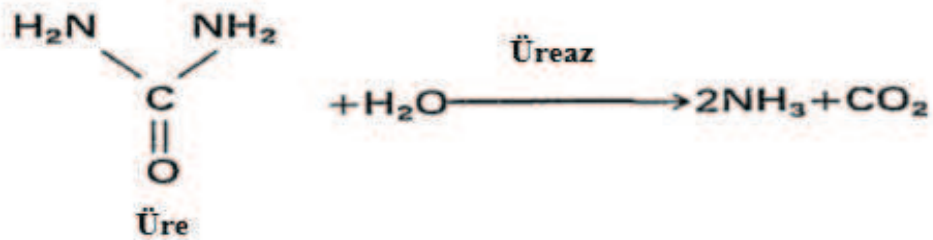
Enzim reaksiyonu devam ettiği sürece, reaksiyon ürünleri enzimi inhibe eder. Bundan dolayı enzim reaksiyonunun hızı azalır. Bu inhibisyonun nedeni, reaksiyon ürünlerinin molekül yapısı bakımından substratı andırmaları ve enzime substrattan daha fazla bağlanmalarıdır [91].

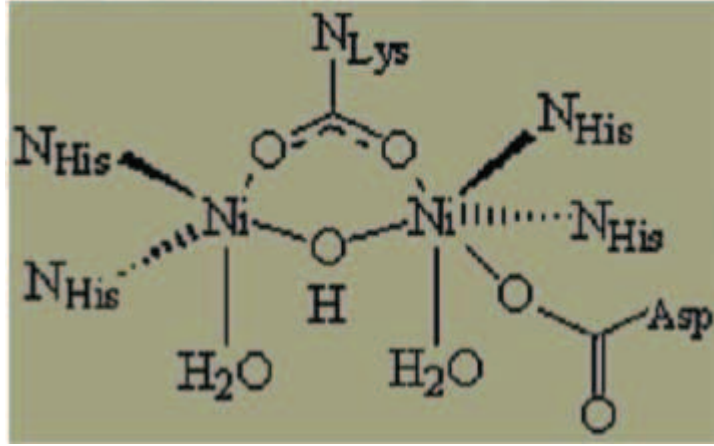
1.11.2.7. Işık ve Diğer Fiziksel Etkenler

Enzimlerin etkisi ışıkla artırılabilir ya da azaltılabilir. Enzim çözeltilerinin kuvvetli çalkalanması yoluyla da enzim denatüre olabilir [91].

1.12. Üreaz Enzimi

Üreaz; nikel bağlı, hidrolaz sınıfı bir metaloenzimdir. İlk olarak 1926 yılında Sumner tarafından soya fasulyesinden kristalize edilmiştir. Böylece ilk kez bir enzim saf olarak elde edilmiş ve enzimlerin protein yapıda olduğu kanıtlanmıştır.





Şekil 1.30.Üreaz Enziminin Aktif Kimyasal Formu [28].

1972 yılında Uluslararası Biyokimya Birliğinin aldığı karar ile üreaz enzimi E.C.

3.5.1.5. olarak kodlanmıştır. Bu sıralamaya göre;

3: Tip no: hidrolaz sınıfı bir enzimdir.

5: Grup no: Amidaz grubudur (C-N bağlarına etki eder).

1: Alt grup no: Enzim bir açilamidazdır.

5: Sistemik ad: Enzimin sistemik adı 'üre aminohidrolaz'dır.

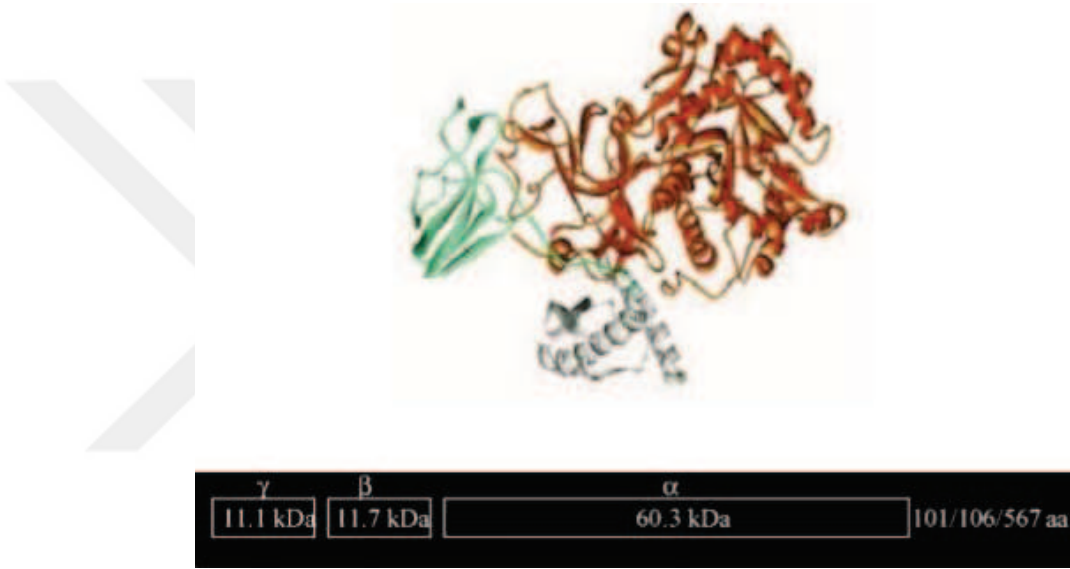
Üreazın öncelikli amacı, üreyi amonyak ve karbondioksit parçalamaktır. Organizmanın bu ürünleri azot kaynağı olarak kullanmasına izin vermektir. Açığa çıkan amonyak topraktaki mikroorganizmalar ve bitkiler tarafından da kullanılabilir. Bunun yanında zirai gübrelemede ürenin hidrolizini hızlandırmada ayrıca insan ve hayvanlarda çeşitli hastalıkların oluşmasında da üreaz enzimi önemli rol oynar.

Üreaz enzimi, üreyi hidroliz eder. Amonyak ve karbondioksit oluşumunu katalizler. Başlıca; bitkiler, bakteriler ve funguslar tarafından sentezlenmektedir. İnsanlar ve hayvanlar üreaz enzimi sentezleyemezler [92]. Yapılan bitkisel üreaz çalışmalarında en iyi karakterize edilen üreaz, Canavalia ensiformis üreazıdır [93]. Bu çalışmalara göre bu bitki topraktan azot emiliminin yetersiz olduğu durumlarda argininin açığa çıkardığı üreyi üreaz enzimi sayesinde amonyağa çevirerek azot kaynağı olarak kullanılmasını sağlar. Üreaz ile yapılan biyokimyasal çalışmalarda genellikle kristal

yapısı, [94] üreaz inhibitörleri [95, 96] ve aktif nikel merkezi üzerine odaklanılmıştır [97].

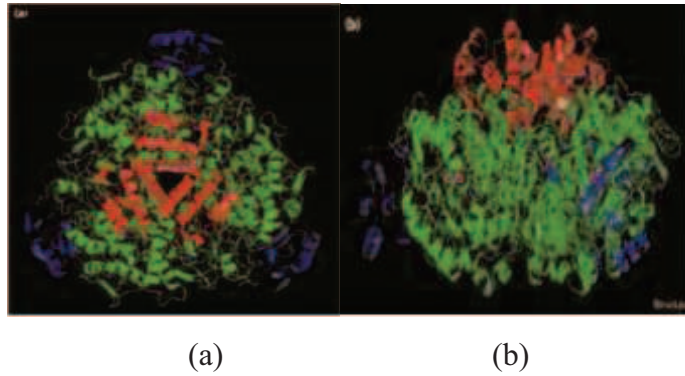
Araştırılan en yaygın üreaz içeren kaynaklar şunlardır:

1- *Klebsiella aerogenes* (*Enterobacter aerogenes*): Geviş getirenlerin sindirim sisteminde yaşayan ve içerdiği üreaz (*Klebsilla a.* üreazı, KAU) sayesinde azot metabolizmasında önemli rol oynayan bir bakteridir.



Şekil 1.31. KAU'nın Üç Boyutlu Yapısı [98, 99]

2- *Bacillus pasteurii*: Toprakta ve pis sularda yaşar. Özellikle ziraat için çok önemlidir. İçerdiği üreaz (*Bacillus p.* üreazı, BPU) sayesinde bitkiler için toprağı azotça zenginleştirir.



Şekil 1.32. BPU'nın Üç Boyutlu Yapısı (a) Üstten Görünüm, (b) Yandan Görünüm [100]

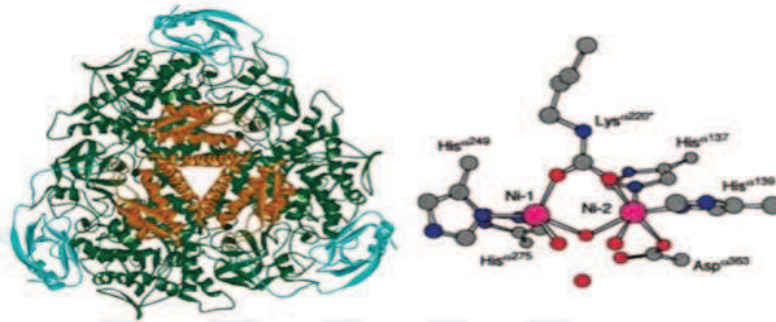


3- *Canavalia ensiformis*: Bir tür fasulyedir. Bulunduğu bitkide topraktan azot emiliminin yeterli olmadığı durumlarda azot deposu olarak kullanılan arginin açığa çıkardığı üreyi üreaz (*Canavalia e.* üreazı, JBU) sayesinde amonyağa çevirerek azot kaynağı olarak kullanılmasına yardım eder.

4- *Helicobacter pylori* (HP): İnsanlarda mide rahatsızlığına sebep veren bir bakteridir. Midenin asidik yapısını etkileyerek ülser vb. rahatsızlıklara sebebiyet verir [101].

1.12.1. Üreaz Enziminin Moleküler Yapısı

Üreazlar bulundukları canlı sınıfına göre farklı kuaterner yapı gösterirler. Buna rağmen benzer kataliz mekanizmalarına sahiptirler. Enzimde alfa, beta, gama olmak üzere 3 alt birim bulunur. Aktif merkezler alfa alt biriminde bulunmaktadır. Aktif merkezde bulunan iki nikel iyonu enzimaktivasyonunda önem taşır [102].



1.12.2. Üreaz Katalizi ve Aktivitesinde Nikel İyonlarının Önemi

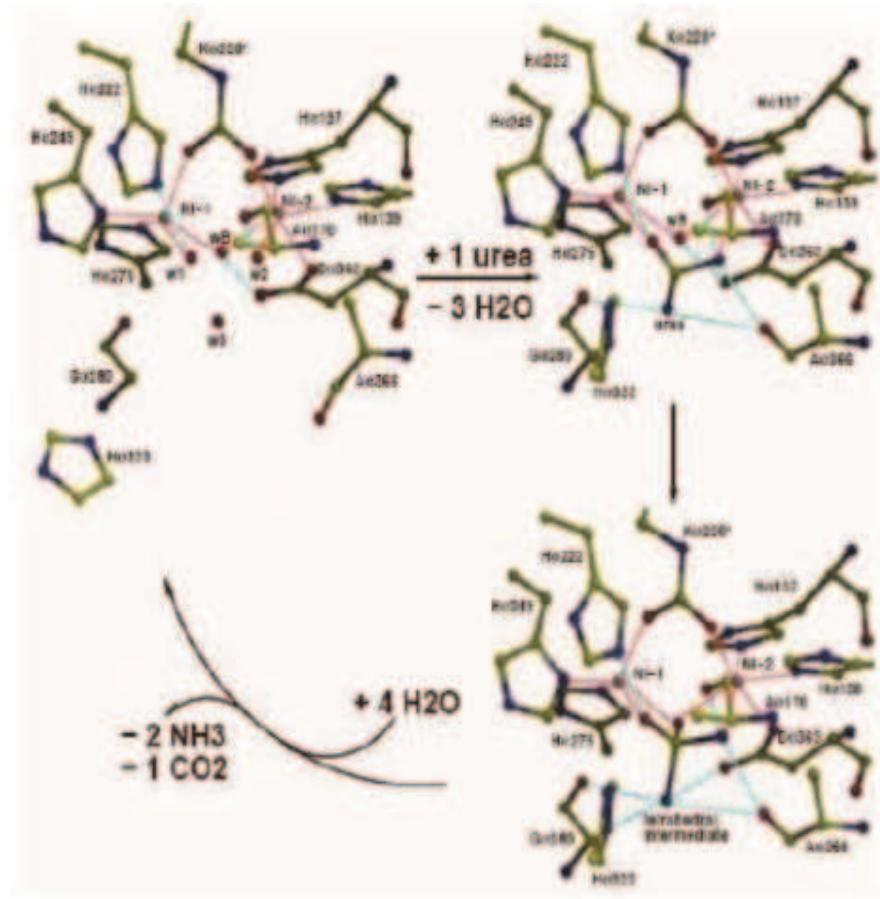
Üreazın metaloenzimler arasında nikel içeren ilk enzim olduğu yapılan çalışmalarda bulunmuştur [104]. Üreaz enziminin aktif merkezinde iki nikel iyonu bulunur. Enzim aktivasyonunda önemli rol oynar.

Reaksiyonun bu nikel iyonlarının farklı görevleri yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir. Üreaza bağlı nikel iyonlarından bir tanesi üreyi bağlayarak aktifleştirir. Diğer de nükleofilik su molekülünü bağlayarak aktifleştirir [105].

Üreaz katalizi için çok sayıda mekanizma önerilmiştir [105, 106]. En fazla kabul gören mekanizma Ciruli ve arkadaşları tarafından önerilen nikel iyonlarının farklı rolleri üzerine olan yaklaşımdır [105].

Daha sonra Klebsiella aerogenes ile yapılan bir çalışmaya göre, üre birinci nikel atomuna karbonil oksijeni ile koordine olurken ikinci nikel atomuna ise hidrolitik su bağlanmıştır. Bu durumda iken dört üre protonu proteini ile hidrojen bağı oluşturur. Üç proton ise oksijen atomlarına, dördüncü de hidrojen akseptörü olarak sistein 319 kalıntısına hidrojen bağı ile bağlanmıştır. İkinci nikel atomunun -OH (hidroksil) tarafı üredeki karbonilin karbonuna saldırır.

Tetrahedral dehidrate üre meydana gelir. Hidrate üre oluşumunda üre azotu histidin 320 kalıntısı ile etkileşir ve protonlanır. Bu tepkime sonunda tetrahedral bir merkez meydana gelir. Böylece amonyum iyonu ortamdan uzaklaşır. Bağlı karbamat ise enzimden disosiye edilebilir hale gelir [107, 108].



Şekil 1.35. Üreaz Enziminin Kataliz Reaksiyon Mekanizması

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Sözüdönmeztarafından yapılan çalışmada; 22 adet benzimidazol türevi eperezolit bileşiklerinin antioksidan özellikleri, DPPH ile etkileşim, süperoksid radikalının süpürülmesi ve mikrozomal NADPH-bağımlı lipid peroksidasyon inhibisyonu ile incelenmiştir. P-fluoro ya da 2-metoksifenilpiperazin türevleri süperoksid anyon radikal oluşumunu göreceli olarak indüklerken, metil piperazin ve piperidin taşıyan türevlerle farklı düzeylerde olmak üzere genel bir inhibisyon gözlenmiştir [109].

Heves tarafından yapılan çalışmada, antioksidan aktivitenin görülmesi nedeni ile akyıldız bitkisinden doğal antioksidan kaynağı olarak yararlanılabileceği ileri sürülmektedir [110].

Kerimov ve ark. tarafından yapılan çalışmada; imidazol bileşiklerinin antioksidan aktiviteleri DPPH rincelenmiş ve bileşiklerin her iki aktivite radikali süpürücü aktivitesi ve lipid peroksidasyon inhibisyonu açısından orta derecede etki gösterdikleri izlenmiştir [111].

Eş tarafından yapılan çalışmada; triazol türevlerinin antioksidan aktiviteleri (DPPH ve ABTS radikal giderme ve indirgeme gücü) incelenmiş ve bileşiklerin orta düzeyde antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir [112].

Baltaş ve ark. tarafından yapılan çalışmada; farklı tür heterosiklik halkalar içeren, bazı benzimidazol türevi bileşik sentezlendi. Sentezlenen bileşiklerin, antioksidan radikal süpürme aktiviteleri (ABTS, DPPH), incelendi. Sentezlenen bileşiklerden bazılarının ABTS metoduna göre çok iyi radikal süpürme aktivitesi sergilediği bildirilmiştir [113].

Serter tarafından yapılan çalışmada ilk defa sentezlenmiş benzimidazol bileşiklerinin bütün testlerde antioksidan aktivite gösterdiği ve iyi bir antioksidan kaynağı olabileceği tespit edilmiştir [114].

Şahin tarafından yapılan çalışmada, üreaz enzimini en yüksek oranda inhibe eden bitkilerden etken maddelerin izole edilerek yapı tayinlerinin yapılması ve bu maddelerin enzim inhibisyonlarının in vivo deneylerle de kanıtlanması için daha ileri düzeyde çalışmalara gereksinim olduğu saptanmıştır [115].

Menteşe ve ark., yeni sentezledikleri bir seri benzimidazol bileşiğinin antiüreaz aktivitesini incelemiş ve bileşiklerin iyi üreaz inhibitörü aktivitesine sahip olduğunu bildirmişlerdir [116].

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Deneylerde Kullanılan Cihazlar

Buzdolabı	: Arçelik
Destile Su Cihazı	: Nüve-NS-108
Etüv	: Binder
pH Metre	: Butech
UV-VIS Spektrofotometre	: T80+PG Instruments
Terazi	: Shimadzu AUx220
Vorteks	: Velp Scientifica
Hassas Terazi	: Sartorius
Su Banyosu	: Memmert
Otomatik Pipetler	: Brand Pipetleri

3.1.2. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

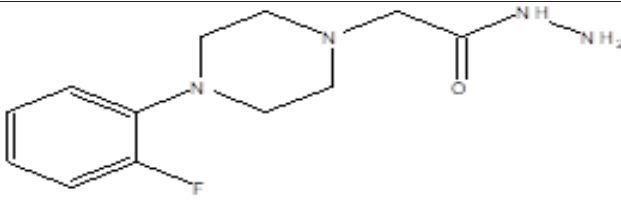
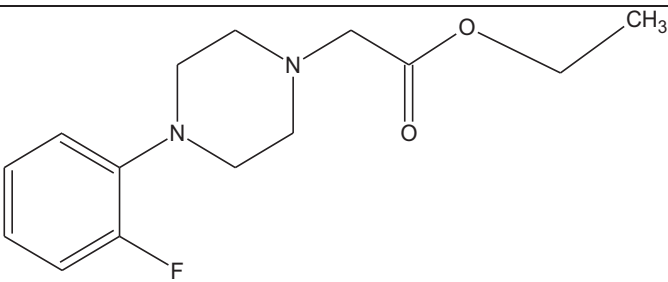
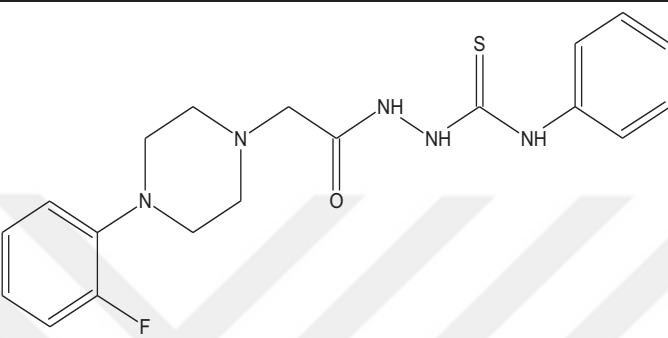
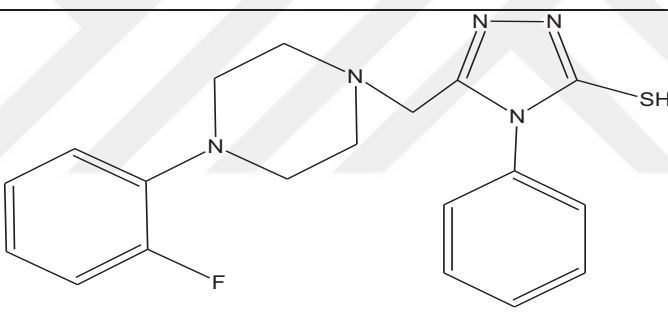
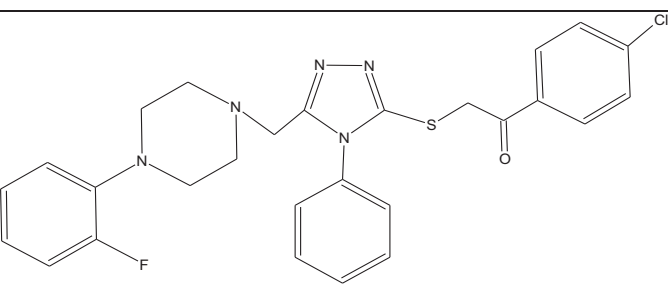
Tüm deneylerde, MERCK veya SIGMA ürünler kullanıldı.

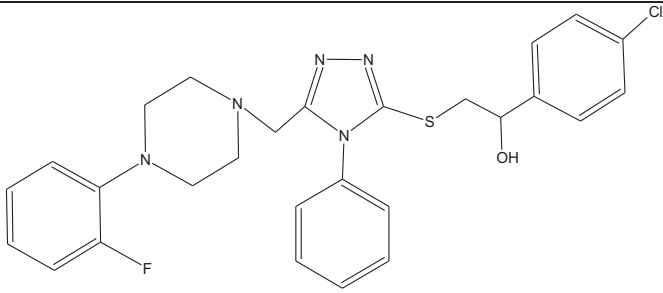
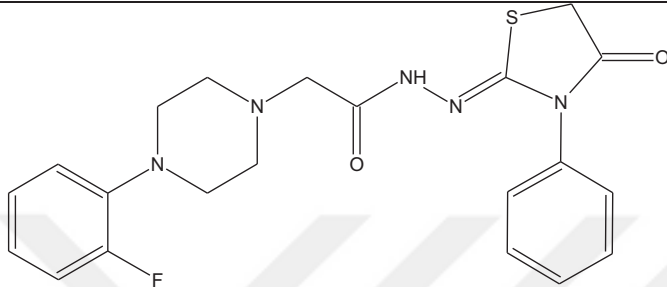
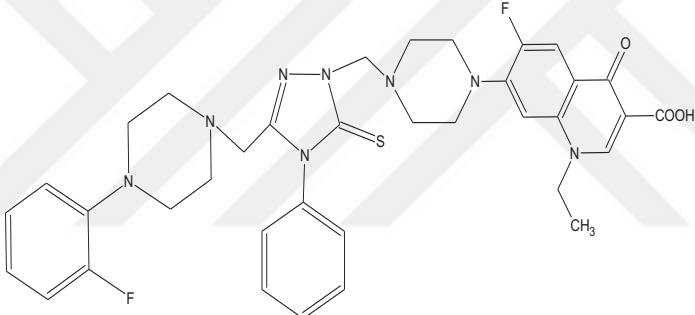
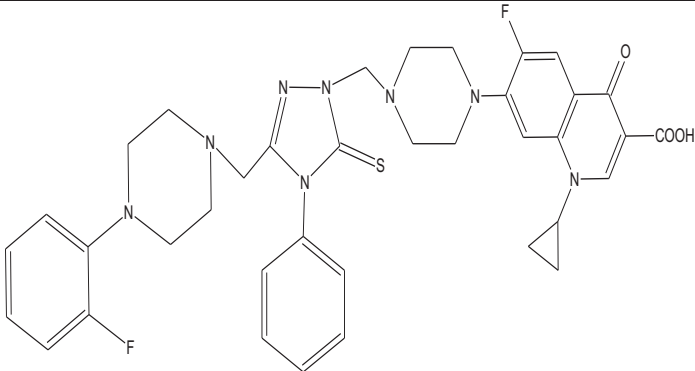
3.1.3. Deneylerde Kullanılan Eperezolid Benzeri Bileşikler

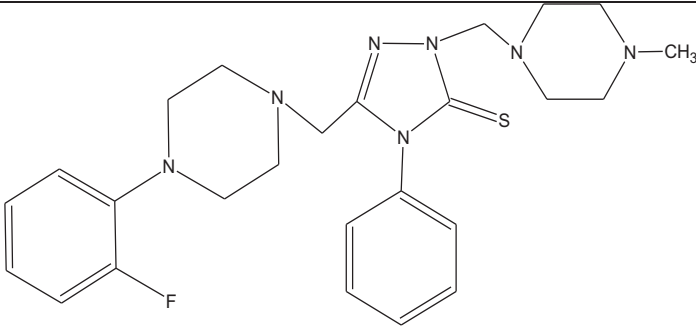
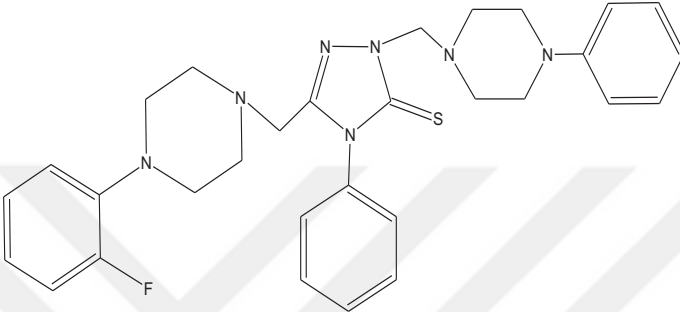
Bu çalışmada, Giresun Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Organik Kimya Laboratuvarında Doç.Dr. Hakan BEKTAŞ tarafından ilk defa sentezlenen eperezolid benzeri bileşiklerin antioksidan aktiviteleri incelendi.

Bu çalışmada kullanılan eperezolid benzeri bileşiklerin numaraları ve adları aşağıdaki gibidir:

Tablo 3.1. Eperezolid Benzeri Bileşiklerin Numaraları ve Adları

1		2-[4-(2-fluorophenyl) piperazin-1-yl] acetohydrazide
2		Ethyl[4-(2- fluorophenyl) piperazin-1-yl] acetate
3		2-{[4-(2-fluorophenyl) piperazin-1-yl]acetyl}- <i>N</i> -phenylhydrazine carbothioamide
4		5-{[4-(2-fluorophenyl) piperazin-1-yl] methyl}-4-phenyl-4 <i>H</i> - 1,2,4-triazole-3-thiol
5		1-(4-chlorophenyl)-2- [(5-{[4-(2- fluorophenyl) piperazin-1-yl] methyl}-4-phenyl-4 <i>H</i> - 1,2,4-triazol-3-yl) thio] ethanone

6		1-(4-chlorophenyl)-2-[(5-{[4-(2-fluorophenyl)piperazin-1-yl]methyl}-4-phenyl-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-yl)thio]ethanol
7		2-[4-(2-fluorophenyl)piperazin-1-yl]- <i>N'</i> [(2 <i>Z</i>)-4-oxo-3-phenyl-1,3-thiazolidin-2-ylidene]acetohydrazide
8		Ethyl-6-fluoro-7-{4-[(3-{[4-(2-fluorophenyl)piperazin-1-yl]methyl}-4-phenyl-5-thioxo-4,5-dihydro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)methyl]piperazin-1-yl}-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid
9		1-cyclopropyl-6-fluoro-7-{4-[(3-{[4-(2-fluorophenyl)piperazin-1-yl]methyl}-4-phenyl-5-thioxo-4,5-dihydro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)methyl]piperazin-1-yl}-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid

10		5- {[4-(2-fluorophenyl) piperazin-1-yl] methyl}-2-[(4-methylpiperazin-1-yl) methyl]-4-phenyl-2,4-dihydro-3 <i>H</i> -1,2,4-triazole-3-thione
11		5- {[4-(2-fluorophenyl) piperazin-1-yl]methyl}-4-phenyl-2-[(4-phenylpiperazin-1-yl)methyl]-2,4-dihydro-3 <i>H</i> -1,2,4-triazole-3-thione

Sentezlenen eperezolid benzeri bileşikleri bazı bileşiklerinin DMSO'teki stok çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan stok çözeltilerden belirli oranlarda seyreltmeler yapılarak antioksidan aktiviteleri spektrofotometrik olarak tayin edildi.

3.2. Yöntem

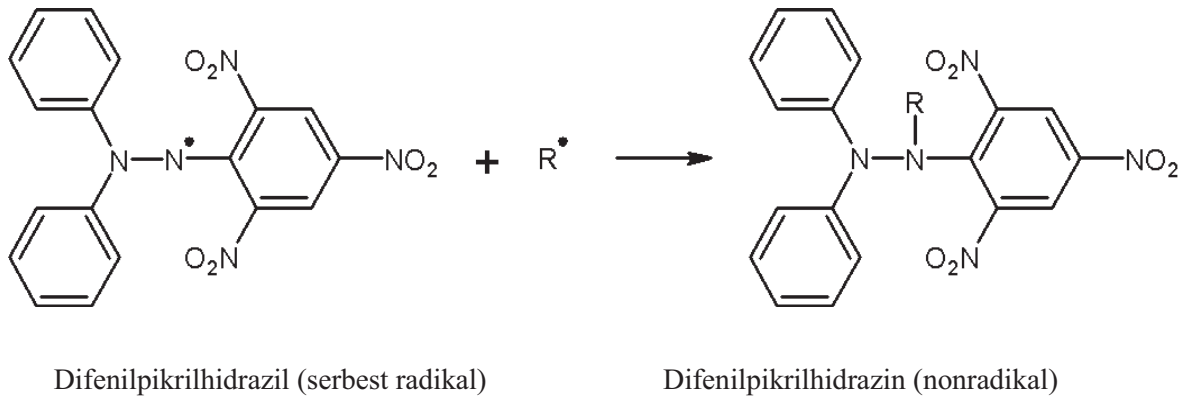
3.2.1. Antioksidan Aktivite Yöntemleri

Bu çalışma kullanılan eperezolid benzeri bileşikler Giresun Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü Organik Kimya Laboratuvarında Doç. Dr. Hakan BEKTAŞ tarafından ilk defa sentezlenmiştir [117]. Çalışmada ilk olarak eperezolid benzeri bileşikler uygun bir çözücü (Dimetil sülfoksit, metanol, etanol, vs.) kullanılarak çözünmesi sağlandı. Çözünmüş haldeki türevler, yine aynı çözücü kullanılarak farklı konsantrasyonlara seyreltildi ve aşağıdaki çeşitli yöntemler kullanılarak antioksidan aktiviteleri incelendi.

3.2.1.1. DPPH Radikal Giderme Aktivitesi Tayini

DPPH radikal giderme aktivitesi Brand-Williams metoduna göre 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikali (Şekil 3.1.) kullanılarak yapıldı [118,119].

DPPH, bir serbest radikaldir. Bir elektron veya hidrojen radikali ile etkileşerek stabildiyamagnetik bir molekül olma eğilimindedir [120, 121].



Şekil 3.1. DPPH Radikalinin İndirgenmesi

20 mg/L DPPH çözeltisi metanolde çözüldü ve günlük olarak hazırlandı. Bu çözeltiden 1,5 mL alınarak üzerine farklı konsantrasyonlarda hazırlanan benzimidazol türevlerinden 0.75 mL ilave edildi. 30 dakikada köre karşı absorbans

değeri 517 nm’de spektrofotometrede ölçüldü. Kontrol olarak 0,75 mL metanol ve 1,5 mL DPPH çözeltisi kullanıldı. Kör olarak sadece metanol, standart olarak Troloks kullanıldı. Azalan absorbans değeri geriye kalan DPPH çözelti miktarını yani DPPH radikal giderme aktivitesini verdi.

DPPH radikal giderme aktivitesi aşağıdaki formül yardımı ile hesaplandı:

$$\text{DPPH Radikal Giderme Aktivitesi (\%)} = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

A_0 =Kontrolün absorbans değeri

A_1 =Örnek ve standardın absorbans değeri

SC₅₀ değerleri (Bileşiklerin %50 inhibisyon etkisi göstermesi için gerekli olan madde miktarı) absise konsantrasyon, ordinata % üreaz inhibisyon değerlerinin uygulanması ile çizilen eğrinin lineer kısmından elde edilen regresyon denkleminde hesaplandı.

3.2.1.2. Demir İndirgeme Gücü Tayini

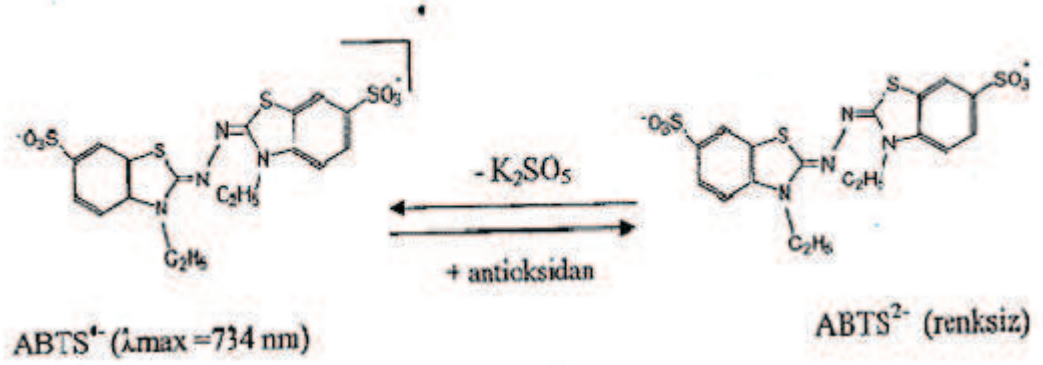
Eperezolid benzeri bileşiklerin indirgeme gücü tayini Oyaizu metoduna göre yapıldı [122]. Standart ve eperezolid benzeri bileşiklerden belli bir konsantrasyon aralığında çözeltiler hazırlandı.

Standart olarak BHT kullanıldı. Üzerine pH= 6,6 olan 0,2M fosfat tamponundan 2,5 mL ilave edildi. Daha sonra %1’lik ferrisiyanürden 2,5 mL ilave edilerek karışım su banyosunda 50°C’de 20 dakika inkübe edildi. Bu işlemde sonra reaksiyon karışımlarına 2,5 mL %10’luk triklorasetikasid (TCA) ilave edildi ve tüpler karıştırıldı. 3000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatandan 2,5 mL alınarak 2,5 mL destile su ve 0,5 mL %0,1’lik FeCl₃ ilave edildi ve 10 dakika bekletildi. Spektrofotometrede 700 nm’de köre karşı absorbans değerleri ölçüldü. Kör deneyin hazırlanmasında 5 mL destile su alınarak, üzerine 2,5 mL FeCl₃ ilave edildi.

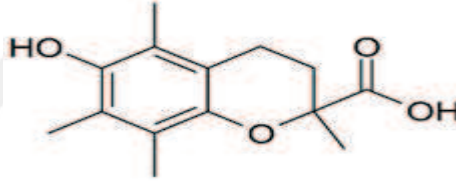
Eperezolid benzeri bileşiklerin ve standartların indirgeyici güç eğrileri, konsantrasyon ve bu konsantrasyonlara karşılık gelen absorbanslar arasında çizildi.

3.2.1.3. ABTS Radikal Giderme Aktivitesi Tayini

ABTS radikal giderme aktivitesi deneyi, antioksidanların dayanıklı bir radikal katyonu olan $ABTS^{\bullet+}$ radikalini giderme aktivitesinin belirlenmesi esasına dayanmaktadır (Şekil 3.2.) [123,124]. Deneyde standart olarak Troloks kullanıldı.



Şekil 3.2. ABTS'nin Persülfatla Oksidasyonu Sonucu Radikal Oluşumu (124)



Şekil 3.3. Troloks'un Kimyasal Yapısı

1 mL destile suda 7,4 mM ABTS (2,2'-Azino-bis (3-etilbenzenothiazoline-6-sülfonik asid) çözüldü, üzerine 2,6 mM $K_2S_2O_8$ 'den 1 mL ilave edilerek karıştırıldı ve 12-16 saat karanlıkta bekletildikten sonra bu karışımın üzerine 60 mL metanol ilave edildi. Bu çözeltinin 734 nm'de spektrofotometrede metanole karşı absorbansı okundu. Her deney için bu karışım günlük olarak hazırlandı. Bu şekilde hazırlanan metanollü ABTS çözeltisinden 2,850 mL alındı ve üzerine 150 μL benzimidazol türevlerinden konuldu. 2 saat karanlıkta bekletildi. Spektrofotometrede 734 nm'de absorbans değeri okundu. Kontrol olarak numune yerine metanol içeren reaksiyon karışımı kullanıldı ve ABTS radikal giderme aktivitesi (%), aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı [125].

$$\text{ABTS radikal giderme aktivitesi (\%)} = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

A_0 = Kontrolün absorbens değeri

A_1 = Örnek ve standardın absorbens değeri

SC₅₀ değerleri (Bileşiklerin %50 inhibisyon etkisi göstermesi için gerekli olan madde miktarı) absise konsantrasyon, ordinata % üreaz inhibisyon değerlerinin uygulanması ile çizilen eğrinin lineer kısmından elde edilen regresyon denkleminde hesaplandı.

3.2.1.4. Anti-Üreaz Aktivitesinin Ölçülmesi

Üreaz inhibitörü etkisi Van Slyke ve Archibald [127] metodundan yararlanılarak spektrofotometrik olarak tayin edildi. Çalışmamızda hazırlanan eperezolid benzeri bileşikler DMSO'da çözülüp yine DMSO ile farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan çözeltilerden 0,5'er mL alındı. Üzerine üreazın 100 mM fosfat tamponunda (pH=6.8) hazırlanan 16 mg/mL'lik çözeltisinden 0,5 mL ilave edildi. Bu karışım 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Kontrol çözeltisi olarak 500 mM üre içeren fosfat tamponu (pH=6.8) çözeltisinden 0,5 mL alındı. Örnek ve kontrol çözeltilerinin üzerine 30 dakika inkübasyondan sonra 1 mL'sinde 1 µg fenol kırmızısı bulunan üre fosfat tampon çözeltisinden (pH=6.8) 0,4 mL ilave edildi ve spektrofotometrede 570 nm'de köre karşı absorbens okundu. Köre olarak 100 mM fosfat tampon (pH=6.8) çözeltisi kullanıldı. Yapılan çalışmada farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örneklerin anti-üreaz inhibisyon aktivite değerleri aşağıdaki denkleme göre hesaplandı:

$$\% \text{ İnhibisyon} = [1 - (B/A)] \times 100$$

A : Kontrol çözeltisinin 570'nm de köre karşı okunan absorbens değeri.

B: Numune çözeltisinin 570'nm de köre karşı okunan absorbens değeri.

Deneyler 3 kez tekrarlandı ve ortalaması alındı. Hazırlanan eperezolid benzeri bileşiklerin üreaz enzimi üzerindeki % inhibisyon değerleri hesaplandı. IC₅₀ değerleri (Enzimi %50 inhibe etmek için gerekli olan madde miktarı) absise konsantrasyon, ordinata % üreaz inhibisyon değerlerinin uygulanması ile çizilen eğrinin lineer kısmından elde edilen regresyon denkleminde hesaplandı.

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada ilk defa sentezlenen eperezolid benzeri bileşiklerin antioksidan aktiviteleri incelendi.

4.1. DPPH Radikal Giderme Aktivitesi Sonuçları

Eperezolid benzeri bileşiklerinin DPPH radikal giderme aktiviteleri % inhibisyon olarak değerlendirildi ve Troloks ile karşılaştırıldı. Bu değerler Tablo 4.1’de verildi.

DPPH serbest radikal giderme aktivitesinin **2** ($SC_{50}= 221,99\pm 23,81 \mu M$), **3** ($SC_{50}= 190,37\pm 17,45 \mu M$) ve **4** ($SC_{50}=191,14\pm 14,21 \mu M$) bileşiklerinde en yüksek olduğu görüldü. En düşük aktiviteyi ise **1** ($SC_{50}=870,60\pm 76,31 \mu M$) nolu bileşik gösterdi.

Tablo 4.1. Eperezolid Benzeri Bileşiklerin DPPH Radikal Giderme Aktiviteleri

Bileşik No	Konsantrasyon ($\mu g/mL$)	% İnhibisyon*	DPPH SC_{50} (μM)
1	25	5,20 $\pm$ 1,43	870,60 $\pm$ 76,31
	50	10,69 $\pm$ 0,38	
	75	15,81 $\pm$ 2,41	
	100	21,62 $\pm$ 2,14	
2	25	31,95 $\pm$ 2,55	221,99 $\pm$ 23,81
	50	46,80 $\pm$ 3,66	
	75	62,24 $\pm$ 4,10	
	100	73,84 $\pm$ 3,60	
3	25	26,54 $\pm$ 4,38	190,37 $\pm$ 17,45
	50	37,94 $\pm$ 3,08	
	75	51,79 $\pm$ 2,37	
	100	66,20 $\pm$ 4,12	
4	25	25,28 $\pm$ 4,45	191,14 $\pm$ 14,21
	50	36,24 $\pm$ 3,09	
	75	48,38 $\pm$ 3,20	
	100	59,83 $\pm$ 1,97	
5	25	8,85 $\pm$ 1,28	539,93 $\pm$ 43,93
	50	14,10 $\pm$ 0,74	
	75	22,36 $\pm$ 1,73	
	100	26,93 $\pm$ 2,46	

6	25 50 75 100	20,82±2,24 27,70±2,34 34,97±1,01 42,26±2,84	252,31±14,50
7	25 50 75 100	15,08±2,55 21,08±3,69 28,77±2,02 34,57±2,07	310,18±10,43
8	25 50 75 100	13,98±2,62 19,57±3,33 26,72±2,24 31,54±1,48	255,26±2,33
9	25 50 75 100	12,47±1,66 18,10±2,34 23,28±2,48 30,58±1,41	263,83±10,13
10	25 50 75 100	16,65±1,85 23,62±4,68 30,05±2,95 36,64±2,14	320,13±20,96
11	25 50 75 100	7,04±1,30 11,84±0,70 16,59±1,79 23,14±1,43	434,36±20,66
Troloks	25 50 75 100	26,34±2,84 32,65±3,53 44,66±3,21 60,2±2,56	329,04±25,87

* Standart sapma

4.2. ABTS Radikal Giderme Aktivitesi Tayini Sonuçları

Eperezolid benzeri bileşiklerin ABTS radikal giderme aktiviteleri % inhibisyon olarak değerlendirildi ve Troloks ile serbest radikal giderme aktiviteleri karşılaştırıldı. Bu değerler ve SC₅₀ değerleri Tablo 4.2.'de verildi.

2 (SC₅₀=88,38±43,08 µM) ve **3** (92,37±4,56 µM) nolu bileşiklerin ABTS radikal giderme aktivitesinin birbirine çok yakın olduğu ardından **4** nolu (SC₅₀=106,23±10,62 µM) bileşiğin en yüksek aktiviteye sahip olduğu görüldü. En düşük aktivite ise **1** (SC₅₀=939,98±87,18 µM) nolu bileşik gösterdi.

Tablo 4.2. Eperezolid Benzeri Bileşiklerinin ABTS Radikal Giderme Aktiviteleri Sonuçları

Bileşik No	Konsantrasyon (µg/mL)	İnhibisyon*	ABTS SC ₅₀ (µM)*
1	25 50 75 100	4,65±0,83 8,54±1,28 14,35±1,08 19,78±1,40	939,98±87,18
2	25 50 75 100	52,56±4,80 64,08±5,60 76,97±5,97 94,24±1,47	88,38±43,08
3	25 50 75 100	44,28±1,80 61,25±4,44 71,18±2,05 91,20±2,19	92,37±4,56
4	25 50 75 100	36,08±2,07 56,41±5,09 70,66±0,86 85,28±1,56	106,23±10,62
5	25 50 75 100	5,97±0,05 9,39±1,44 15,61±1,03 22,18±2,81	657,04±80,00
6	25 50 75 100	11,14±1,73 17,78±2,81 26,63±0,95 37,26±3,54	275,65±19,01
7	25 50 75 100	8,24±1,11 13,67±0,93 18,76±1,43 28,00±1,72	376,54±28,15
8	25 50 75 100	7,93±0,25 13,02±1,39 17,61±0,70 25,50±1,14	308,04±18,63
9	25 50 75 100	7,61±1,35 10,56±0,46 14,41±0,90 22,57±0,65	357,52±16,98
10	25 50 75 100	10,74±0,58 16,19±1,15 22,87±2,12 31,60±0,02	362,67±19,23
Troloks	25 50 75 100	25,79±3,10 40,08± 2,74 61,95 ±5,42 87,07±4,62	248,94 ± 10,58

4.3. Demir İndirgeme Gücü Tayini Sonuçları

Eperezolid benzeri bileşiklerin demir indirgeme gücü konsantrasyona karşı absorbans tablosu olarak değerlendirildi ve BHT ile aktiviteleri karşılaştırıldı. Bu değerler Tablo 4.3.'de verildi.

Demir indirgeme gücü aktivitesi, **2** ($0,499\pm0,013$), **3** ($0,454\pm0,013$) ve **4** ($0,422\pm0,008$) nolu bileşiklerde ($100\text{ }\mu\text{g/mL}$ konsantrasyondaki absorbans değerleri) en yüksek olduğu görüldü. Konsantrasyon arttıkça indirgeme gücü de artmaktadır.

Tablo 4.3. Eperezolid Benzeri Bileşiklerin İndirgeme Gücü Aktiviteleri

Bileşik No	Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	İndirgeme Gücü Absorbans Değeri*
1	25	$0,100\pm0,006$
	50	$0,107\pm0,003$
	75	$0,123\pm0,005$
	100	$0,151\pm0,012$
2	25	$0,257\pm0,016$
	50	$0,332\pm0,028$
	75	$0,464\pm0,035$
	100	$0,499\pm0,013$
3	25	$0,219\pm0,008$
	50	$0,270\pm0,013$
	75	$0,402\pm0,023$
	100	$0,454\pm0,013$
4	25	$0,198\pm0,012$
	50	$0,251\pm0,008$
	75	$0,323\pm0,027$
	100	$0,422\pm0,008$
5	25	$0,114\pm0,006$
	50	$0,131\pm0,012$
	75	$0,142\pm0,010$
	100	$0,166\pm0,010$
6	25	$0,169\pm0,014$
	50	$0,199\pm0,018$
	75	$0,235\pm0,020$
	100	$0,275\pm0,020$
7	25	$0,124\pm0,008$
	50	$0,147\pm0,013$
	75	$0,169\pm0,008$
	100	$0,220\pm0,012$
8	25	$0,121\pm0,008$
	50	$0,139\pm0,013$
	75	$0,164\pm0,007$
	100	$0,189\pm0,010$
9	25	$0,118\pm0,008$
	50	$0,134\pm0,008$
	75	$0,152\pm0,016$
	100	$0,182\pm0,010$

10	25	0,143±0,005
	50	0,184±0,010
	75	0,220±0,016
	100	0,261±0,016
11	25	0,107±0,008
	50	0,122±0,009
	75	0,136±0,005
	100	0,156±0,007
BHT	25	0,167 ± 0,004
	50	0,222 ± 0,009
	75	0,275 ± 0,005
	100	0,318 ± 0,008

4.4. Üreaz Aktivitesi Tayini Sonuçları

Eperezolid benzeri bileşikler arasında en yüksek antiüreaz aktiviteyi **8** nolu ($IC_{50}=1,91 \times 10^{-3} \pm 2,97 \times 10^{-4} \mu M$) bileşiğin, diğer bileşiklere göre daha düşük anti-üreaz aktiviteyi **10** nolu ($IC_{50}=6,03 \times 10^{-3} \pm 1,98 \times 10^{-4} \mu M$) bileşiğin gösterdiği gözlemlendi.

Tablo 4.4. Eperezolid Benzeri Bileşiklerin Üreaz Aktivitesi

Bileşik No	Konsantrasyon ($\mu g/mL$)	İnhibisyon*	Anti-üreaz IC_{50} (μM)
1	0,000001	16,29±1,30	$3,99 \times 10^{-3} \pm 2,55 \times 10^{-4}$
	0,00001	22,29±1,58	
	0,0001	35,43±1,18	
	0,001	47,53±1,64	
2	0,000001	18,32±0,43	$3,5 \times 10^{-3} \pm 2,40 \times 10^{-4}$
	0,00001	25,81±1,83	
	0,0001	37,74±1,97	
	0,001	52,26±1,61	
3	0,000001	07,38±1,94	$4,14 \times 10^{-3} \pm 5,80 \times 10^{-4}$
	0,00001	16,05±1,19	
	0,0001	25,22±2,94	
	0,001	37,24±2,82	
4	0,000001	11,86±0,26	$3,92 \times 10^{-3} \pm 6,15 \times 10^{-4}$
	0,00001	16,52±1,46	
	0,0001	26,88±0,77	
	0,001	37,12±2,84	
5	0,000001	06,90±1,49	$4,72 \times 10^{-3} \pm 3,61 \times 10^{-4}$
	0,00001	12,51±1,76	
	0,0001	21,35±1,43	
	0,001	34,32±2,33	
6	0,000001	09,22±1,68	$3,07 \times 10^{-3} \pm 2,55 \times 10^{-4}$
	0,00001	17,78±1,25	
	0,0001	25,54±2,53	
	0,001	37,33±2,34	
7	0,000001	10,52±1,47	$3,07 \times 10^{-3} \pm 2,12 \times 10^{-4}$
	0,00001	17,41±2,72	

	0,0001 0,001	27,55±2,24 37,63±0,67	
8	0,000001 0,00001 0,0001 0,001	10,09±1,88 15,86±2,51 31,14±2,26 41,47±4,32	$1,91 \times 10^{-3} \pm 2,97 \times 10^{-4}$
9	0,000001 0,00001 0,0001 0,001	06,81±1,97 09,54±1,54 17,02±1,54 26,91±1,68	$3,33 \times 10^{-3} \pm 1,41 \times 10^{-4}$
10	0,000001 0,00001 0,0001 0,001	03,21±1,55 07,76±1,68 15,49±1,79 22,31±1,54	$6,03 \times 10^{-3} \pm 1,98 \times 10^{-4}$
11	0,000001 0,00001 0,0001 0,001	05,55±1,66 12,37±0,56 16,61±0,38 24,71±2,26	$5,30 \times 10^{-3} \pm 1,09 \times 10^{-3}$
Tiyoüre	0,000001 0,00001 0,0001 0,001	16,86±2,28 22,57±2,18 26,32±1,64 29,44±1,98	$3,41 \times 10^{-3} \pm 1,03 \times 10^{-3}$

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Hızla gelişen ve durmaksızın ilerleyen teknoloji, çevre kirliliği, radyasyon, kontamine sular, tarım ilaçları, ağır metaller ve canlı hücrelerdeki oksijen metabolizması gibi birçok etken insan vücudunda kaçınılmaz olarak serbest radikallerin oluşumuna neden olmaktadır. Serbest radikaller, oksijenin oldukça reaktif formlarıdır. Vücut hücrelerini tahrip etmektedir. Bunun sonucunda kalp damar hastalıkları, kanser, katarakt, diyabet, karaciğer tahribatı ve diğer pek çok hastalığa neden olmaktadır. Bu hastalıklara çözüm getirmek öncelikle serbest radikallerin olumsuz etkilerini yok etmek ve hastalıkların oluşumunu engellemek gerekmektedir [128].

Antioksidanlar serbest radikallerin etkilerini yok edici etkiye sahiptir. Vücutta ROT'ların oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek üzere enzimatik veya enzimatik olmayan birçok endojen antioksidan savunma mekanizması bulunmaktadır. Bunun yanında bazı ilaçlar, vitaminler ve sentetik gıda antioksidanları da ekzojen antioksidanlar olarak değerlendirilebilir [129].

Beslenmenin çeşitli hastalıkların önlenmesindeki rolü uzun zamandır bilinmektedir. Bu konu ile yapılan çalışmalarda besinlerin çeşitli mekanizmalarla oksidatif stresi azalttıkları tespit edilmiştir. Lipidlerin oksidasyonu birçok besinde kalite-tat bozulmasına ve zehirli bileşiklerin oluşmasına neden olur böylece yiyeceklerin kalite ve besin değerini düşürür. Lipid oksidasyonu yaş, membran hasarı, kalp krizi ve kanserle ilişkilidir [130]. Antioksidanlar lipid oksidasyonunu engellemekte, azaltmakta veya geciktirmektedir. Bu şekilde hem gıdaların kalitesi korunmaktadır. Hem de bu gıdaların raf ömrü uzamaktadır. Oksidasyonu önlemek veya ortadan kaldırmak amacıyla gıdalara çeşitli antioksidanlar ilave edilmektedir. Günümüzde en çok kullanılan antioksidanlar BHA (bütil hidroksi anisol), BHT (bütil hidroksi

tolüen), PG (propil gallat), TBHQ (tersiyerbütillhidrokinon)'dur. Son zamanlarda bu antioksidanların güvenilirlikleri toksisitelerinden dolayı sorgulanmaktadır [131].

Ayrıca BHA ve BHT'nin karaciğer hasarı ve kansere neden olduğu öne sürülmektedir [132, 133].

Yapılan bu çalışmada yeni sentezlenmiş bir seri eperezolid benzeri bileşiklerin (**1-11**) DPPH radikal giderici aktivite, demir indirgeme gücü ve ABTS radikal giderici aktivite gibi çeşitli yöntemler kullanılarak antioksidan kapasitelerin ve anti-üreaz aktiviteleri incelendi.

DPPH, kararlı diyamanyetik molekül haline gelmek için bir elektron veya hidrojen radikali alan serbest bir radikaldir [112]. Serbest radikaller lipid peroksidasyonda yer alırlar ve birçok kronik hastalıkta önemli rol alırlar [11]. Bundan dolayı serbest radikalleri temizleme gücü önemli bir antioksidan özelliktir. Çalışılan eperezolid benzeri bileşiklerde DPPH oranı en yüksek **2, 3** ve **4** nolu bileşiklerde tespit edildi.

İndirgeyici güç, bileşiklerin potansiyel antioksidan aktivitesinin önemli bir göstergesidir. Ayrıca konsantrasyon arttıkça indirgeyici güç aktivitesinde de artış gözlemlendi. Bu çalışmada, eperezolid benzeri bileşiklerde indirgeme gücüne en fazla olan **2, 3** ve **4** nolu bileşiklerin sahip olduğu bulundu.

DPPH serbest radikali, doğal bileşiklerin serbest radikal süpürme aktivitesini belirlemek için kullanılmasına karşın; ABTS serbest radikali, genellikle çözünürlük ve girişim sorunu ortaya çıktığında ve DPPH temelli tayinler yeterli gelmediği zaman kullanılır [134, 135]. Bu çalışmada, ABTS radikal giderme aktivitesi en yüksek **2, 3** ve **4** nolu bileşiklerde görüldü.

Sonuç olarak; tüm bileşikler ve standartlar arasında en yüksek indirgeme gücü, ABTS radikali süpürme aktivitesi ve DPPH radikali süpürme aktivitesi **2, 3** ve **4** nolu bileşiklerde gözlemlendi. Diğer bileşikler arasında en düşük indirgeme gücü, ABTS

radikali süpürme aktivitesi ve DPPH radikali süpürme aktivitesi **1** ve **11** nolu bileşikler olduğu görüldü.

Tüm bileşikler ve standartlar arasında en yüksek antiüreaz aktiviteyi **8** nolu bileşik, diğer bileşiklere göre daha az anti-üreaz aktiviteyi **10** nolu bileşiğin gösterdiği gözlendi.

Elde edilen sonuçlardan eperezolid benzeri bileşiklerin genel olarak antioksidan özelliğe sahip olduğu ve iyi bir üreaz inhibitörü olduğu sonucuna varıldı.



KAYNAKLAR

- [1] Ardoin, S. P., Sundry, S. J., 2006, Update on Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs, *Current Opinion in Rheumatology*, 18: 221-226.
- [2] Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y., 2006. Algal Antioksidanlar, *Çanakkale 18 Mart Üniversitesi E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*. (1/1): 85-89.
- [3] Halliwell, B. 1991. Reactive Oxygen Species in Living Systems. *The American Journal of Medicine*. 91: 14-21.
- [4] Bast, A., Haenen, G. R. M. M., Doelman, C. J. A., 1991. Oxidant and Antioxidant State of the Art. *The American Journal of Medicine*. 91: 2-12.
- [5] Akkuş, I. 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, *Mimosa Yayınları*, Konya, 5. Sağlık Dizisi 38: 4.
- [6] Yoshikawa, T., Naito, Y., Kishi, A., Tomii, T., Kaneko, T., Linuma, S., Ichikawa, H., Yasuda, M., Takahashi, S., Kondo, M. 1993. Role of Active Oxygen, Lipid Peroxidation and Antioxidants in the Pathogenesis of Gastric Mucosal Injury Induced by Indomethacin in Rats. *Gut*. 34: 732-737.
- [7] Kise, Y., Yoshimura, S., Akieda, K., Umezawa, K., Okada, K., Yoshitake, N., Shiramizu, H., Yamamoto, I., Inokuchi, S. 2004. Acute Oral Selenium Intoxication with Ten Times the Lethal Dose Resulting in Deep Gastric Ulcer. *The Journal of Emergency Medicine*. 26: 183-187.
- [8] Gutteridge, J. M. C. 1989. Iron and Oxygen: A Biologically Damaging Mixture. *Acta Paediatrica Scandinavica Supplement*. 361: 78-85.
- [9] Blokhina, O., Virolainen, E., Fagerstedt, K. V. 2003. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: A Review, *Annals of Botany*. 91: 179-194.
- [10] Kılınç K., Kılınç A. 2002. Oksijen Toksisitesinin Araç Molekülleri Olarak Oksijen Radikalleri, *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33: 110-118.
- [11] Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. 1989. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Clarendon Press, Oxford, 543.

- [12] Hasani, A. 1999. Sıçanlarda Kafa Travması Sonrası Artan Serbest Oksijen Radikalleri Üzerine Sevofluranın Etkisi, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, İstanbul, pp.23-24.
- [13] Çakatay, U., Telci A. 2000. Oksidatif Protein Hasarı ve Saptanmasında Kullanılan Markerlar, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, 63: 314-317.
- [14] Çelik, S. 2001. APS ile Opere Edilen Tavşanların Kan ve Karaciğer Dokularındaki Serbest Oksijen Radikallerinin Antioksidan Enzim Düzeylerinin Tayini, Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Kütahya.
- [15] Kavas, G. 1989. Serbest Radikaller ve Organizma Üzerine Etkileri, Türkiye Klinikleri, 9: 1-8.
- [16] Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., Rezaie, A. 2004. Pesticides and Oxidative Stress: A Review, Medical Science and Monitoring, 10: 141-147.
- [17] Halliwell, B. 1997. Antioxidants and Human Disease: A General Introduction, Nutrition Reviews, 55: 544-549.
- [18] Stief, T. W. 2003. The Physiology and Pharmacology of Singlet Oxygen, Medical Hypothesis, 60: 567-572.
- [19] Lee, J. D. 1991. Concise Inorganic Chemistry, 4th ed, Chapman&Hall, New York.
- [20] Altınışık, M. 2009. Enzimler, Adana Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-1-09.pdf> web adresinden 28 Ocak 2018 tarihinde edinilmiştir.
- [21] Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. 1990. Role of Free Radicals and Catalytic Metal Ions in Human Disease: An Overview, In: Methods in Enzymology, 186: 1-85.
- [22] Cros, C. E., Halliwell, B., Borish, E. T. 1987. Oxygen Radicals and Human Disease, Annals of International Medicine, 107: 526-545.
- [23] Akkuş, İ. 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, Konya.

- [24] Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., Rodwell, V. W. 1996. Harper'ın Biyokimyası 24. Baskı, (Çev: Dikmen N, Özgünen T.), Barış Kitabevi, İstanbul.
- [25] Halliwell, B., Clement, M. V., Long, L. H. 2000. Hydrogen Peroxide in the Human Body, FEBS Letter, 486: 10-13.
- [26] Cotton, F. A., Wilkinson, G. 1988. Advanced Inorganic Chemistry, 5th Ed., John Wiley&Sons Inc., USA.
- [27] www.cyberlipid.org/index.htm [Ziyaret Tarihi: 13.04.2018] Winterbourn C. C., Gutteridge J. M. C., Halliwell, B. 1985. Doxorubicin-Depent Lipid Peroxidation at Low Partial Pressures of O₂, Journal of Free Radicals in Biology andd Medicine, 1: 43-49.
- [28] Altınışık, M. 2009. Enzimler, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-1-09.pdf>.web adresinden 29 Ocak 2018 tarihinde edinilmiştir.
- [29] Wejil, N. I., Cleton F. J., Osanto, S.1997. Free Radicals And Antioxidants In Chemotrathy-Induced Toxicity, Cancer Treatment Reviews, 23:209-240.
- [30] Winterbourn C. C., Gutteridge J. M. C., Halliwell, B. 1985. Doxorubicin-Depent Lipid Peroxidation at Low Partial Pressures of O₂, Journal of Free Radicals in Biology andd Medicine, 1: 43-49.
- [31] Sefarini, M., DEL RIO, D. 2004, Understanding The Association Between Dietary Antioxidants, Redox Status and Disease: Is The Total Antioxidant Capacity The Right Tool?, Redox Report, 9(3): 145-152.
- [32] Lambeth, J. D., 2004. Nox Enzymes And The Biology Of Reactive Oxygen. Nature Reviews, Immunology, 4:181–189.
- [33] www.w3.sdu.edu.tr/images/16_02_08_02.jpg. [Ziyaret Tarihi: 13.04.2018]
- [34] Green, P., Glozman, S., Weiner, L., Yavin, E., 2001. Enhanced Free Radical Scavenging And Decreased Lipid Peroxidation In The Rat Fetal Brain After Treatmentwith Ethyl Decosahexaenoate, Biochimica et Biophysica Acta, 1532:203-212.
- [35] Gutteridge, J. M. C., Halliwell, B., 1990. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems, Trends in Biochemical Science, 15:129-135.

- [36] Girotti, A., 1998. Lipid Hydroperoxide Generation Turnover And Effector Action In Biological Systems, *The Journal Of Lipid Research*, 39:1529-1542.
- [37] Frei, B., 1995. Cardiovascular Disease And Nutrient Antioxidants: Role Of Low Density Lipoprotein Oxidation, *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 35:83-98.
- [38] Berlett, B., S., Stadtman, E., R., 1997. Protein oxidation in aging, disease and oxidative stress, *The Journal of Biological Chemistry*, 272: 20313-20316.
- [39] Jeckins, D., J., Kendal, C., W., Machie, A., Parker, T., L., Conelly, P., W., Oian, W., Haight, J., S., Faulkner, D., Vidgen, E., Lapsley, K., G., Spiller, G., A., 2002. Dose Response Of Almonds On Coronary Heart Disease Risk Factors: Blood Lipids, Oxidized Low Density Lipoproteins, Lipoprotein (a), Homocystein And Pulmonary Nitric Oxide: A Randomized, Controlled, Crossover trial, *Circulation*, 106:1327-1332.
- [40] Özen, T., 2003. Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitesinin In Vitro ve İn Vivo Araştırılması, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Samsun.
- [41] Rikans, L., E., Hornbrook, K., R., 1997. Lipid Peroxidation, Antioxidant Protection and Aging. *Biochimica Biophysica Acta*, 1362:116-127.
- [42] Özkan, A., Fışkın, K., 2004. Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidant Enzimler, *Uluslararası Hematoloji-Onkoloji Dergisi*, 1, 14:52-60.
- [43] Halliwell, B. 1994. Free Radicals and Antioxidants: A Personal View. *Nutrition Reviews*, 52: 253-265.
- [44] Salıcı, Y., E., 2002. Taze Sıkılmış ve Ticari Domates ve Portakal Sularının Antioksidan Aktivitelerinin Saptanması ve Toplam Fenolik Madde ve Askorbik Asid İçeriklerinin Antioksidan Aktivitelerine Olan Etkileri Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- [45] Packer, L., Hiramatsu, M., Yoshikawa, T., 1999. Antioxidant food supplements in human health, Academic Press, USA.
- [46] Kiralan, M., Ercoşkun, H., Işıksal, S., 2004. Gıda antioksidanları ve etki mekanizmaları, *Akademik Gıda*, 2:5-14.

- [47] Altan, N., Dinçel, A. S., Koca, C., 2006. Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stress, *Türk Biyokimya Dergisi*, 31: 51-56.
- [48] Kanter, M., 1995. Free Radicals and Exercise Effects Of Nutritional Antioxidant Supplementation, *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 23:375-397.
- [49] Stahl, W., Sies, H., 2005. Bioactivity and Protective Effects of Natural Carotenoids, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1740:101-107.
- [50] Yanardağ R., Ozsoy-Sacan, O., Ozdil, S., Bolkent, S., 2007. Combined Effects of Vitamin C, Vitamin E, and Sodium Selenate Supplementation on Absolute Ethanol-Induced Injury in Various Organs of Rats, *International Journal of Toxicology*, 26:513-523.
- [51] Rice-Evans, C., 1999. Screening of Phenolics and Flavonoids for Antioxidant Activity. In: *Antioxidant Food Supplements in Human Health*. Pp . 239-253.
- [52] Seven, A., Candan, G. 1996. Antioksidan Savunma Sistemleri. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 27: 41-50.
- [53] Aydemir, B., Karadağ Sarı, E. 2009. Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. *Kafkas Üniversitesi Kocatepe Veteriner Dergisi*, 2: 56-60.
- [54] Benov, L., Fridovich, I., 1998. Growth in Iron Enriched Medium Partially Compensates Escherichia Coli for the Lack of Manganese and Iron Superoxide Dismutase, *The Journal of Biological Chemistry*, 273:10313-10316.
- [55] Raha, S., Robinson, B., H., 2000. Mitochondria oxygen free radicals, disease, and aging, *Trends in Biochemical Sciences*, 25:502-508.
- [56] Guan, Y., Hickey, M., J., Borgstahl, G., E., Hallewell, R., A., Lepock, J. R., O'connor, D., Hsieh, Y., Nick, H., S., Silverman, D., N., Tainer, J., A., 1998. Crystal Structure of Y734F Mutant Human Mitochondrial Manganese Superoxide Dismutase and the Functional Role of Tyrosine 34, *Biochemistry*, 37:4722-4730.
- [57] Kinnula, V., L., Paakko, P., Soini, Y., 2004. Antioxidant Enzymes and Redox Regulating Thiol Proteins in Malignancies of Human Lung, *FEBS Letters*, 569:1-6.

- [58] Kinnula, V., L., Crapo, J., D., 2004. Superoxide Dismutases in Malignant Cells and Human Tumors, *Free Radical Biology and Medicine*, 36:18-744
- [59] Adachi, T., Wang, X., L., 1998. Association of Extracellular-Superoxide Dismutase phenotype With the Endothelial Constitutive Nitric Oxide Synthase Polymorphism, *FEBS Letters*, 433:166-168.
- [60] Youn, H., Kim, E., J., Roe, J., H., Hah, C., Y., Kang, S., O., 1996. A novel Nickel Containing Superoxide Dismutase From *Streptomyces* spp., *Biochemical Journal*, 318:889-896.
- [61] Lledias, F., Rangel, P., Hansberg, W., 1998. Oxidation of Catalase by Singlet Oxygen, *The Journal of Biological Chemistry*, 273:10630-10637.
- [62] Memişoğulları, R., 2006. Diyabette Serbest Radikaller ve Antioksidanlar, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3:30-39.
- [63] Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M., C., Meccocci, C., 2005. Potential Markers of Oxidative Stress in Stroke, *Free Radical Biology and Medicine*, 39:841-852.
- [64] Ruch, R., T., Cheng, S., J., Klawns, E., 1989. Prevention of Cytotoxicity and Inhibition of Intercellular Communication by Antioxidant Catechins Isolated from Chinese Green Tea, *Carcinogenesis*, 10:1003-1008.
- [65] Sanchez-Moreno, C., Plaza, L., Ancos, D., B., Cano, M., P., 2003. Quantitative Bioactive Compounds Assessment and Their Relative Contribution to the Antioxidant Capacity of Commercial Orange Juices, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83:430-439.
- [66] Landvik, S., V., Diplock, A., T., Packer, L., 1996. Efficacy of Vitamin E in Human Health and Disease, In *Handbook of Antioxidants*. E. Cadenas and L. Packer, editors. Marcel Dekker, Inc. New York. 71–87.
- [67] Stocker, R., Frei, B., 1991. Endogenous Antioxidant Defense in Human Blood Plasma, *Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants*, London, Academic Press, sf. 213-243.
- [68] Gardner, P., T., White, T., A., C., Mcphail, D., B., Duthie, G., 2000. The Relative Contributions of Vitamin C, Carotenoids and Phenolics to the Antioxidant Potential of Fruit Juices, *Food Chemistry*, 68:471-474.

- [69]Halliwell., B., 199., Vitamin C: Antioxidant or Pro-oxidant In Vivo? Free Radical Research, 25:439-454.
- [70]Woodall, A., A., Ames, B., N., 1997. Diet and Oxidative Damage to DNA: the Importance of Ascorbate as an Antioxidant, Vitamin C In Health and Disease, Markel Dekker, New York, pp:193-203.
- [71]Bendich, A., 1997. Vitamin C Safety In Humans, Vitamin C In Health and Disease, Markel Dekker, New York, pp:367-369.
- [72]Torun, M., Yardım, S., 1993. Serbest Radikallerin Kalp-Damar Hastalıkları ile İlişkisi ve Savunma Mekanizmaları, FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences, 18:173-184.
- [73]Krinsky, N., I., 1998. Overview of Lycopene, Carotenoids, and Disease Prevention, Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 218:95-97.
- [74]Gaziano, M., J., Hennekens, C., H., 1993. The Role of Beta-Carotene in the Prevention of Cardiovascular Disease, Annals of the New York Academy of the Sciences, 691:148-155.
- [75]Quiros, A., R., B., Costa, H., S., 2006. Analysis of Carotenoids in Vegetable and Plasma Samples: A Review, Journal of Food Composition and Analysis, Williams and Wilkins, Baltimore, 0781741335.
- [76]Oner, A., 2003. Diyabet Oluşturulmuş Albino Sıçanların Lens Kataraktını Önlemede Çeşitli Antioksidanların Rolü, T.C. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adıyaman.
- [77]Booyse, F., M., Pan, W., Grenett, H., E., Parks, D., A., Darley-USmay, V., M., Bradley, K., M., Tabengwa, E., M., 2007. Mechanisim by Which Alcohol and Wine Polyphenols Affect Coronary Heart Disease Risk, Annals of Epidemiology, 17: pp24-31.
- [78]http://kimyasaldeneyler.blogspot.com.tr/2014_06_01_archive.html Web adresinden 15.04.2018 tarihinde edinilmiştir.
- [79]Keskin, H., Erkmen, G., 1987. Besin Kimyası, Güryay Matbaacılık, 5. basım, İstanbul.
- [80]<http://www.bitkiseldiyet.com/antioksidan-nedir-faydalari-nelerdir.html> Web adresinden 15.04.2018 tarihinde edinilmiştir.

- [81] Telefoncu, A., 1997. Enzimoloj., pp. 193-243-353-383, Tübitak Yayınları, Aydın
- [82] Murray, R., K., Granner, D., K., Mayes, P. ,A., Menten, G. ve Ersöz, B. 1993. Pp: 73-74, 341-349. Harper'ın Biyokimyası, Barış Kitabevi, İstanbul.
- [83] Güngör, K., 2008. Çala Badem (Prunus Dulcis) Bitkisinden Polifenol Oksidaz Enziminin Saflaştırılması ve Karakterizasyonu. Pp: 4., Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya.
- [84] Kalaycıolu, L., Serpek, B. ve Nizamlıolu, M., 2000. Biyokimya. Pp: 213-247, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.
- [85] Kalaycıolu, L., Serpek, B., Nizamlıolu, M., Başpınar, N. ve Tiftik, A., M., 2006. Biokimya. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 975-591-131-6.
- [86] Demirsoy, A., 2006. Enzimlerin Yapısı ve İşleyişi, <http://www.genbilim.com/content/view/154/34> web adresinden 15 Nisan 2018 tarihinde edinilmiştir.
- [87] Yenson, M., 1984. İnsan Biyokimyası, İstanbul Üniversitesi, Tıp Anabilim dalı, Kırklareli.
- [88] Pamuk, F., 2000. Biyokimya. Gazi Kitabevi, Ankara.
- [89] Özata, A., Kutlu, M., 2000. Enzimoloji Ders Notları. T.C. Anadolu Üniversitesi Yayınları, Eskişehir.
- [90] Güner, S. 2007. *Biyokimya I*. Kradeniz Teknik Üniversitesi Kitap Satış Bürosu, Trabzon.
- [91] Can, A. ve Akev, N. 2008. Eczacılık Fakültesi Öğrencileri İçin Biokimya Dersleri, İstanbul Üniversitesi Basım ve Yayınevi Müdürlüğü, İstanbul.
- [92] Mobley, L., T, Hausinger, R. 1989. Microbial Ureases: Significance, Regulation and Molecular Characterization, Microbiological Reviews, 53: 85-108.
- [93] Follmer, C., Wassermann, G., E., Carlini, C., R. 2004. Separation of Jack bean (*Canavalia ensiformis*) Urease Isoforms by Immobilized Metal Affinity Chromatography and Characterization of Insecticidal Properties Unrelated to Ureolytic Activity, Plant Science, 167: 241-246.

- [94] Dixon, N., E., Gazzola, C., Blakeley, R., L., Zerner, B. 1975. Jack Bean Urease (EC 3.5.1.5), A Metalloenzyme, A Simple Biological Role for Nickel, J. Am. Chem. Soc, 97: 4131-4133.
- [95] Andrews, R., K., Dexter, A., Blakeley, R., L., Zener, B. 1986. Jack Bean Urease (EC 3.5.1.5), On the Inhibition of Urease by Amides and Esters of Phosphoric Acid, J. Am. Chem. Soc., 108: 7124-7125.
- [96] Odake, S., Morikawa, T., Tsuchiya, M., Imamura, L., Kobashi, K. 1994. Inhibition of Helicobacter Pylori Urease Activity by Hydroxamic Acid Derivatives, 17, 10, 1329-32.
- [97] Burne, R., A., Chen, Y., Y. 2000. Bacterial Ureases in Infectious Diseases, Microbes Infect, 2, 5, 533-42.
- [98] Krajewska, B., Zaborska, W. and Leszko, M. 2001. Inhibition of Chitosan-Immobilized Urease by Slow-Binding Inhibitors: Ni²⁺, F⁻ and Acetohydroxamic Acid. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic 14:101-109.
- [99] Follmer, C. 2008. Review: Insights into the Role and Structure of Plant Ureases. Phytochemistry 69:18-28.
- [100] Ciurci, S., Benini, S. and Mangana, S. 1999. A New Proposal for Urease Mechanism Based on the Crystal Structures of the Native and Inhibited Enzyme. Structure 7:205-216.
- [101] Stefano, B. 2000. Structure and Function Relationship of Urease and Cytochrome c-553 from Bacillus Pasteurii, The University of York Faculty of Science, A Thesis the Degree of Doctor of Philosophy pp. 16-36.
- [102] Krajewska, B. 2009. Ureases I. Functional, Catalytic and Kinetic Properties: A Eeview, Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 59: 9-21.
- [103] http://bioinorg.agrsci.unibo.it/Images/urease_native01.jpg adresinden 21.04.2018 tarihinde edinilmiştir.
- [104] Hefnawy, M., Sakran, M., Ismail, A., Aboelfetoh, E., F. 2014. Extraction, Purification, Kinetic and Thermodynamic Properties of Urease from Germinating Pisum Sativum L. Seeds, BMC Biochem, 15.
- [105] Ciurli, S., Benini, S., Rypniewski, W., R., Wilson, K., S., Miletti, S., Mangani, S. 1999. Structural Properties of the Nickel Ions in Urease: Novel

Insights Into the Catalytic and Inhibition Mechanisms, Coordination Chemistry Reviews, 192: 331–355.

- [106] Dixon, N., E., Riddles, P., W., Gazzola, C., Blakeley, R., L., Zerner, B. 1980. Jack Bean Urease (EC 3.5.1.5). V. On the Mechanism of Action of Urease on Urea, Formamide, Acetamide, N-methylurea, and Related Compounds, Can J Biochem., 58, 12, 1335-44.
- [107] Pearson, M., A., Michel, L., O., Hausinger, R., P., Karplus, P., A. 1997. Structures of Cys319 Variants and Acetohydroxamate-Inhibited Klebsiella Aerogenes Urease, Biochemistry, 36, 26, 8164-Follmer, C. 2008. Review: Insights into the Role and Structure of Plant Ureases. Phytochemistry 69:18-28.
- [108] Gözükar, E., M. 2001. Biyokimya, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- [109] Sözüdönmez, F. 2008. Yeni Benzimidazol Türevlerinin Sentez, Yapı Aydınlatılması, Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, pp. 198, Ankara.
- [110] Heves, M. E. 2008. Akyıldız (Ornithogalum Sigmoidum Freyn Et Sint.)'IN Antioksidan Aktivitesi, T.C İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- [111] Kerimov, İ. 2011. Bazı Yeni Oksadiazol Benzimidazol Türevlerinin Sentezi Yapılarının Aydınlatılması ve Antioksidan Aktivitelerinin Değerlendirilmesi, pp. 143, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
- [112] Eş, S. 2013. İlk Defa Sentezlenen 1,2,4-Triazol Schiff Bazı Bileşiklerinin Antioksidan, Anti-Elastaz ve Anti-Tirozinaz Aktivitelerinin İncelenmesi, Giresun Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, pp. 92, Giresun.
- [113] Baltaş, N., Menteşe, E., Pakyıldız, S. ve Yılmaz, F. 2015. Yeni Benzimidazol Türevi Bileşiklerin Sentezi, Antioksidan Özellikleri ve Klinik Öneme Sahip Bazı Enzimler Üzerine İnhibisyon Etkilerinin İncelenmesi, 3.İlaç Kimyası: İlaç Etkin Maddesi Tasarımı-Sentezi-Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi, Rize.

- [114] Serter, T. 2016. İlk Defa Sentez Edilen Benzimidazol Türevlerinin Antioksidan Aktivitesinin İncelenmesi, Giresun Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Giresun.
- [115] Şahin, Y. 2013. Giresun Yöresindeki Bazı Yenilebilir Bitkilerin Farklı Çözücülerdeki Ekstrelerinin Anti-Üreaz Aktivitelerinin İncelenmesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Giresun.
- [116] Mentese, E., Bektas, B., Bilgin Sokmen, B., Emirik, M., Çakır, D., Kahveci, B. 2017. Synthesis and molecular docking study of some 5,6-dichloro-2-cyclopropyl-1H-benzimidazole derivatives bearing triazole, oxadiazole, and imine functionalities as potent inhibitors of urease, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 27: 3014-3018.
- [117] Pinner, A., 1892. Die Imidoether, Ihre Derivate, 1. Auflage, Oppenheim, Berlin.
- [118] Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie/Food Science and Technology*, 28: 25-30.
- [119] Takashira, M., Ohtake, Y. 1998. A new antioxidative 1,3-benzodioxole from *Melissa officinalis*, *Planta Medica*. 64: 555-558.
- [120] Soares, J., R., Dins, T., C., P., Cunha, A., P., Almeida, L., M. 1997. Antioxidant Activity Of Some Extracts of *Thymus Zygis*, *Free Radical Research*, 26: 469-478.
- [121] Gulcin, I., Oktay, M., Kufrevioglu, O., I., Aslan, A. 2002. Determination of Antioxidant Activity of *Lichen cetraria Islandica* (L). *Ach, Journal of Ethnopharmacology*, 79: 325-329.
- [122] Oyaizu, M. 1986. Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine, *Japanese Journal of Nutrition*, 44: 307-315.
- [123] Perez-Jimenez, J., Saura-Calixto, F. 2006. Effect of Solvent and Certain Food Constituents on Different Antioxidant Capacity Assays, *Food Research International*, 39: 791-800.
- [124] Huang, D., Ou, B., Prior, R., L. 2005. The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1841-1856.

- [125] Osman, A., M., Wong, K., K., Y., Fernyhough, A. 2006. ABTS radical driven-oxidation of polyphenols: Isolation and elucidation of covalent adducts, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 346: 321-329.
- [126] Bilgin Sokmen, B., Aydin, G., Gumus, A., Karadeniz, S., Ugras, H., I., Yanardag, R., Cakır, U. 2013. "Synthesis, Antielastase, Antioxidant and Radical Scavenging Activities of 4-(aza substituted) Methylene Substituted Dihydroxy Coumarines", *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 28 (4), 870-875.
- [127] Van Slyke, D., D. and Archibald, R., M. 1944. Manometric, Titrimetric and Colorimetric Methods for Measurements of Urease Activity. *The Journal of Biological Chemistry* 154: 623-642.
- [128] Kasnak, C., Palamutoğlu, R. 2015. Doğal Antioksidanların Sınıflandırılması ve İnsan Sağlığına Etkileri, *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3: 226-234.
- [129] Blois, M., S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 26: 1119-1200.
- [130] Ramarathnam, N., Osawa, T., Ochi, H., Kawakishi, S., 1995. The contribution of plant food antioxidants to human health, *Trends in Food Sciences and Technology*, 6: 75-82.
- [131] Sun, B., Fukuhara, M. 1997. Effects of co-administration of butylated hydroxytoluene, butylated hydroxyanisole and flavonoids on the activation of mutagens and drug metabolizing enzymes in mice, *Toxicology*, 122: 61-72.
- [132] Wichi, H. P. 1988. Enhanced tumour development by butylated hydroxyanisole (BHA) from the prospective of effect on forestomach and oesophageal squamous epithelium, *Food and Chemical Toxicology*, 26: 717-723.
- [133] Sherwin, F. R. 1990. Antioxidants, Food Additives, Branen, A.L., Davidson, P.M., Salminen, S. (Eds.), Marcel Dekker Inc., New York, pp. 139-191.

- [134] Arnao, M., B. 2000. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals, A practical case, Trends in Food Science and Technology. 11: 419–421.
- [135] Dorman, H., J., D., Hiltunen, R. 2004. Fe (III) reductive and free radical scavenging properties of summer savory (*Satureja hortensis* L.) extract and subfractions, Food Chemistry, 88: 193–199.



ÖZGEÇMİŞ

10.05.1992 yılında Ordu’da doğdu. 1. sınıfı Batman’da TED Özel İlköğretim Okulu’nda, 2-3 ve 4. Sınıfları Sinop/Türkeli’de Cumhuriyet İlköğretim Okulu’nda, 5 ve 6. sınıfı Van/Gürpınar’da Atatürk İlköğretim Okulu’nda, 7. sınıfı İstanbul/Samandıra’da Atatürk İlköğretim Okulu’nda, 8. sınıfı İstanbul/Sultanbeyli’de Özel Bilgiçağı Koleji’nde, liseyi Ordu’da Ordu Başöğretmen Anadolu Lisesi’nde tamamladı. 2011 yılında girdiği Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Kimya Öğretmenliği bölümünden 2016 yılında mezun oldu. Giresun Üniversitesi, kimya bölümü yüksek lisans programında biyokimya ana bilim dalında eğitime devam etmektedir.