

T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**YENİ BENZOTİYOFEN TÜREVLERİNİN ANTIOKSİDAN  
KAPASİTELERİNİN VE GSTM2 İZOZİMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Derya ERGİN  
DANIŞMAN: Dr. Öğr. Üyesi Can YILMAZ

VAN-2019



T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**YENİ BENZOTİYOFEN TÜREVLERİNİN ANTIOKSİDAN  
KAPASİTELERİNİN VE GSTM2 İZOZİMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Derya ERGİN

Bu çalışma YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından **FYL-2018-5702**  
No'lu proje olarak desteklenmiştir.

VAN-2019



## KABUL VE ONAY SAYFASI

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda Dr. Öğretim Üyesi Can YILMAZ danışmanlığında, Derya ERGİN tarafından sunulan "Yeni benzotiyofen türevlerinin antioksidan kapasitelerinin ve GSTM2 izozimi üzerine etkilerinin tayini" isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 22/03/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Doç. Dr. Metin KONUŞ

İmza: 

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Nizamettin ÖZDOĞAN

İmza: 

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Can YILMAZ

İmza: 

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 29.03.2019 tarih, ve .....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza:   
Enstitü Müdürü



## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

imza

Derya ERGİN

## ÖZET

### YENİ BENZOTİYOFEN TÜREVLERİNİN TOPLAM ANTIOKSİDAN KAPASİTELERİNİN TAYİNİ VE GSTM2 İZOZİMİ ÜZERİNE ETKİLERİ

ERGİN, Derya

Yüksek Lisans Tezi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Can YILMAZ

Mart 2019,71 sayfa

Benzotiyofenler, son dönemde, ilaç olarak kullanılabilme potansiyellerinin test edilmesini amaçlayan projelerin konusunu oluşturmaya başlamıştır. Bu çalışmamızın ilk aşamasında, Reaxys® ile yapılan araştırmada daha önceden çalışılmadığı tespit edilmiş iki benzotiyofen türevinin antioksidan kapasiteleri ABTS, DPPH ve Galvanoksil olmak üzere üç farklı yöntemle tayin edildi. İkinci aşamada ise, bu türevlerin GSTM2 izozimi üzerine muhtemel inhibisyon/aktivasyon etkileri araştırıldı.

Benzotiyofen türevlerinin ikisi de test edilen mevcut standart antioksidan maddelere kıyasla çok düşük kapasite göstermişlerdir. Türev-1 için ABTS prosedürü sonucunda  $EK_{50}$  değeri 42.52  $\mu$ M olarak hesaplanmıştır. Ancak diğer iki metotla yapılan deneylerde  $EK_{50}$  değeri hesaplamamıza yetecek derecede yüksek % RSA değerleri izlenmemiştir. Türev-2 üzerinde yapılan testlerin hiçbirinde  $EK_{50}$  değerine ulaşamamıştır.

Türev-1 için  $V_{max}$  değerinin azaldığı ancak  $K_m$  değerinin değişmediği tayin edilmiş, SigmaPlot yazılımı tam yarışmasız inhibisyon modelini öngörmüştür. Türev-2 düşük konsantrasyonlarda aktivasyon, 5 $\mu$ M madde konsantrasyonundan sonra inhibisyon etki göstermiştir. Yazılım bu etkiyi tam yarışmalı ile tam yarışmasız arasında, muhtemel karışık modele uygun öngörmüştür.

**Anahtar kelimeler:** ABTS, Benzotiyofen, DPPH, Galvanoksil, GSTM2, İnhibisyon modeli





## ABSTRACT

### THE DETECTION OF THE TOTAL ANTIOXIDANT CAPACITIES OF NEW BENZOTHIOPHEN DERIVATIVES AND THEIR EFFECTS ON GSTM2 ISOZYME

ERGIN, Derya

M.Sc. Thesis, Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Can YILMAZ

March 2019, Pages 71

Benzothiophenes have begun to form the subject of projects that aim to test their potential to be used as a drug, recently. In the first part of this study, antioxidant capacities of two benzothiophene derivatives, whose not being subjected in another project was detected by Reaxys®, were determined by three different methods: ABTS, DPPH and Galvanoxil. In the second step, the possible inhibition / activation effects of these derivatives on GSTM2-2 isozyme were investigated.

Both of the benzothiophene derivatives showed very low antioxidant capacities compared to the standard antioxidants tested. As a result of the ABTS procedure for derivative-1, the EC<sub>50</sub> value was calculated as 42.52 µM. However, in the experiments performed for the other two methods, the % RSA values were not high enough to calculate the EC<sub>50</sub>. The EC<sub>50</sub> value could not be reached in any of the tests on Derivative-2.

The value of V<sub>max</sub> for derivative-1 was reduced but the K<sub>m</sub> value was not changed. SigmaPlot software predicted the full noncompetitive inhibition model. Derivative-2 showed activation at low concentrations but inhibition over 5µM final concentration. The software stated this effect to be either full competitive or full noncompetitive inhibition; a possible mixed-type model.

**Keywords:** ABTS, Benzothiophen, DPPH, Galvinoxyl, GSTM2, Inhibition model



## ÖN SÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen, çalışmam boyunca her aşamada bana destek sunan çok değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi. Can YILMAZ 'a

Tez çalışmasında test edilen benzotiyofen türevlerinin sentezini ve teminini sağlayan Sayın Prof. Dr. Arif KIVRAK ve ekibine,

Değerli katkılarından dolayı, jüri üyeleri Sayın Doç. Dr. Metin KONUŞ ve Dr. Öğr. Üyesi Nizamettin ÖZDOĞAN'a,

Çalışmama proje desteği sağlayan Van YYÜ Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü'ne,

Beni yetiştiren, maddi ve manevi desteklerini her zaman hissettiğim değerli Aileme teşekkürlerimi sunarım.

2019

Derya ERGİN



# İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET .....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖN SÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
EKLER DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Tiyofen.....	1
1.2. Benzotiyofen.....	2
1.3. Serbest radikaller.....	4
1.3.1. Süperoksit radikali.....	6
1.3.2. Hidrojen peroksit.....	6
1.3.3. Hidroksil radikali.....	6
1.4. Antioksidanlar.....	7
1.4.1. Antioksidanların sınıflandırılması.....	8
1.4.1.1. Enzimatik olan antioksidanlar.....	8
1.4.1.1.1. Süperoksit dismut.....	8
1.4.1.1.2. Glutasyon peroksidaz.....	8
1.4.1.1.3. Glutasyon S-transferazlar.....	9
1.4.1.1.4. Katalaz.....	10
1.4.1.1.5. Glutasyon redüktaz.....	11
1.4.1.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar.....	11
1.4.1.2.1. Glutasyon.....	11
1.4.1.2.2. Askorbik asit.....	12
1.4.1.2.3. $\alpha$ -tokoferol.....	12
1.4.1.2.4. A vitamini.....	13

	<b>Sayfa</b>
1.4.1.2.5. Polifenoller.....	14
1.4.1.2.6. Flavonoidler.....	14
1.5. İlaç.....	14
1.5.1. İlaç metabolizması.....	17
1.6. Enzim İnhibisyonu.....	19
1.6.1. Tersinir enzim inhibisyonu .....	19
1.6.1.1. Yarışmalı enzim inhibisyon modeli.....	19
1.6.1.2. Yarışmasız inhibisyon modeli.....	20
1.6.1.3. Bağımlı inhibisyon modeli.....	21
1.6.1.4. Karışık inhibisyon modeli.....	22
1.6.2. Tersinmez enzim inhibisyonu .....	23
1.7. Etkili Konsantrasyon Değeri.....	23
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ.....	24
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	28
3.1. Materyal.....	28
3.1.1. Kullanılan cihazlar ve malzemeler.....	28
3.1.2. Kullanılan kimyasallar.....	28
3.2. Yöntem.....	29
3.2.1. Benzotiyofen türevlerinin sentezi ve saflık testleri.....	29
3.2.1.1. Türev-1 (2-hidroksi-5-(3-iyodobenzo[b]tiyofen-2-il)benzaldehit).....	29
3.2.1.2. Türev-2 (2-(etiniloksi)-5-(3-iyodobenzo[b]tiyofen-2-il)benzaldehit).....	30
3.2.2. Antioksidan kapasitesinin belirlenmesi.....	30
3.2.2.1. ABTS metodu.....	30
3.2.2.2. DPPH metodu.....	31
3.2.2.3. Galvinoxil metodu.....	32
3.2.3. GST M-2 izozimi üzerine inhibisyon / aktivasyon testleri.....	32
3.2.3.1. Toplam GST spesifik aktivite tayini.....	33
3.3. İstatiksel Analizler.....	33
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	34
4.1. NMR Analizi ile Türevlerin Saflık Derecelerinin Belirlenmesi.....	35

	<b>Sayfa</b>
4.1.1. Türev-1 (2-hidroksi-5-(3-iyodobenzo[b]tiyofen-2-il)benzaldehit).....	35
4.1.2. Türev-2 (2-(etiniloksi)-5-(3-iyodobenzo[b]tiyofen-2-il)benzaldehit).....	36
4.2. ABTS Metodu İle Antoksidan kapasitelerinin Ölçümü.....	37
4.3. DPPH Metodu İle Antoksidan kapasitelerinin Ölçümü.....	40
4.4. Galvinoxil Metodu İle Antoksidan kapasitelerinin Ölçümü.....	43
4.5. Benzotiyofen Türevlerinin GSTM2-2 İzoziminin Aktivitesi Üzerine Etkileri.....	52
4.5.1. Türev-1'nin GSTM2-2 izozimi aktivitesi üzerine etkileri.....	53
4.5.2. Türev-2'nin GSTM2-2 izozimi aktivitesi üzerine etkileri.....	55
5. SONUÇ.....	60
KAYNAKLAR.....	64
ÖZ GEÇMİŞ.....	77





## ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Deneyleerde kullanılan cihazlar ve malzemelerin listesi.....	28
Çizelge 3.2. Deneyleerde kullanılan kimyasallar ve marka kodları.....	28
Çizelge 4.1. ABTS askorbik asit sonucu.....	37
Çizelge 4.2. ABTS kuarsetin sonucu.....	38
Çizelge 4.3. ABTS troloks sonucu .....	39
Çizelge 4.4.DPPH askorbik asit sonucu.....	40
Çizelge 4.5.DPPH kuarsetin sonucu.....	41
Çizelge 4.6.DPPH troloks sonucu.....	42
Çizelge 4.7. Galvanoksil askorbik asit sonucu.....	43
Çizelge 4.8. Galvanoksil kuarsetin sonucu.....	44
Çizelge 4.9. Galvanoksil troloks sonucu.....	45
Çizelge 4.10. ABTS Türev-1 2-hidroksi-5-(3-iyodobenzo[b]tiyofen-2-il) benzaldehit sonucu.....	46
Çizelge 4.11. DPPH Türev-1 2-hidroksi-5-(3-iyodobenzo[b]tiyofen-2-il) benzaldehit sonucu.....	47
Çizelge 4.12. Galvanoksil Türev-1 2-hidroksi-5-(3-iyodobenzo[b] tiyofen-2-il) benzaldehit sonucu.....	48
Çizelge 4.13. ABTS Türev-2 2-(etini-loksi)-5-(3-iyodobenzo[b]tiyofen-2-il) benzaldehit sonucu.....	49
Çizelge 4.14. DPPH Türev-2 2-(etini-loksi)-5-(3-iyodobenzo[b]tiyofen-2-il) benzaldehit sonucu.....	50
Çizelge 4.15. Galvanoksil Türev-2 2-(etini-loksi)-5-(3-iyodobenzo [b]tiyofen-2- il)benzaldehit sonucu.....	51
Çizelge 4.16. Türev-1'in inhibisyon etkisi için enzim kinetik modellerinin.....	56
karşılaştırılması.	

Çizelge 4.17. Türev-2'nin inhibisyon etkisi için enzim kinetik modellerinin karşılaştırılması.....58



## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Tiyofenin kimyasal yapısı.....	2
Şekil 1.2. Benzotiyofenin kimyasal yapısı.....	3
Şekil 1.3. Biyolojik olarak aktif benzotiyofen türevlerinin örnekleri.....	4
Şekil 1.4.Oksijenin indirgenerek ROT bileşiklerinin oluşumu.....	5
Şekil 1.5. L-Askorbik asitin kimyasal yapısı.....	12
Şekil 1.6. Vitamin E 'nin kimyasal yapısı.....	13
Şekil 1.7. A vitamininin kimyasal yapısı.....	13
Şekil 1.8. İlaç geliştirme aşamaları.....	16
Şekil 1.9. İlaçların CYP enzimleri ile etkileşimi.....	18
Şekil.1.10.Yarışmalı (kompetitif) inhibisyonun Linewear-Burk grafiği.....	20
Şekil.1.11.Yarışmasız inhibisyonun Linewear-Burk grafiği.....	21
Şekil.1.12. Bağımlı inhibisyonun Linewear-Burk grafiği.....	21
Şekil.1.13. Karışık inhibisyonun modelinin (A durumu) Linewear-Burk grafiği.....	22
Şekil 1.14. Karışık inhibisyonun modelinin (B durumu) Linewear-Burk grafiği.....	22
Şekil 4.1. Türev-1 molekülünün <sup>1</sup> H NMR spektrumu.....	35
Şekil 4.3. Türev-2 molekülünün <sup>1</sup> H NMR spektrumu.....	35
Şekil 4.2. Türev-1 molekülünün <sup>13</sup> C NMR spektrumu.....	36
Şekil 4.4. Türev-2 molekülünün <sup>13</sup> C NMR spektrumu.....	36
Şekil 4.5. ABTS metodu ile standart olarak kullanılan Askorbik asidin antioksidan ölçümlerinin farklı konsantrasyonlardaki % RSA değerlerini ifade eder.....	37

Şekil	Sayfa
Şekil 4.6. ABTS metodu ile standart olarak kullanılan Kuarsetinin antioksidan ölçümlerinin farklı konsantrasyonlardaki % RSA değerlerini ifade eder.....	38
Şekil 4.7. ABTS metodu ile standart olarak kullanılan Troloks'un antioksidan ölçümlerinin farklı konsantrasyonlardaki % RSA değerlerini ifade eder.....	39
Şekil 4.8. DPPH metodu ile standart olarak kullanılan Askorbik asidin antioksidan ölçümlerinin farklı konsantrasyonlardaki % RSA değerlerini ifade eder.....	41
Şekil 4.9. DPPH metodu ile standart olarak kullanılan Kuarsetinin Antioksidan ölçümlerinin farklı konsantrasyonlardaki % RSA değerlerini ifade eder.....	42
Şekil 4.10. DPPH metodu ile standart olarak kullanılan Troloks Antioksidan ölçümlerinin farklı konsantrasyonlardaki % RSA değerlerini ifade eder.....	43
Şekil 4.11. Galvinoxil metodu ile standart olarak kullanılan Askorbik asidin Antioksidan ölçümlerinin farklı konsantrasyonlardaki % RSA değerlerini ifade eder .....	44
Şekil 4.12. Galvinoxil metodu ile standart olarak kullanılan Kuarsetinin Antioksidan ölçümlerinin farklı konsantrasyonlardaki % RSA değerlerini ifade eder.....	45
Şekil 4.13. Galvinoxil metodu ile standart olarak kullanılan Troloks'un antioksidan ölçümlerinin farklı konsantrasyonlardaki % RSA değerlerini ifade eder.....	46
Şekil 4.14. ABTS metodu ile Türev-1 maddesinin antioksidan ölçümlerinin farklı konsantrasyonlardaki % RSA değerlerini ifade eder.....	47
Şekil 4.15. DPPH metodu ile Türev-1 maddesinin antioksidan ölçümlerinin farklı konsantrasyonlardaki % RSA değerlerini ifade eder.....	48
Şekil 4.16. Galvinoxil metodu ile Türev-1 maddesinin antioksidan ölçümlerinin farklı konsantrasyonlardaki % RSA değerlerini ifade eder.....	49

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 4.17. ABTS metodu ile Türev-2 maddesinin antioksidan ölçümlerinin farklı konsantrasyonlardaki % RSA değerlerini ifade eder.....	50
Şekil 4.18. DPPH metodu ile Türev-2 maddesinin antioksidan ölçümlerinin farklı konsantrasyonlardaki % RSA değerlerini ifade eder.....	51
Şekil.4.19. Galvinoxil metodu ile Türev-2 maddesinin antioksidan ölçümlerinin farklı konsantrasyonlardaki % RSA değerlerini ifade eder.....	52
Şekil 4.20. Türev-1 maddesinin GSTM2-2 izozimi üzerine inhibisyon etkisi.....	53
Şekil 4.21. Türev-2 için SigmaPlot analizleri sonucu oluşturulan Kinetik grafikleri.....	54
Şekil 4.22. Türev-3 maddesinin GSTM2-2 izozimi üzerine inhibisyon Etkisi.....	55
Şekil 4.23. Türev-3'ün aktivasyon etkisi için SigmaPlot analizleri sonucu oluşturulan kinetik grafikleri.....	56
Şekil 4.24. Türev-3'ün inhibisyon etkisi için SigmaPlot analizleri sonucu oluşturulan kinetik grafikleri. Grafikler tam yarışmalı modele aittir.....	58
Şekil 4.25. Türev-3'ün inhibisyon etkisi için SigmaPlot analizleri sonucu oluşturulan kinetik grafikleri. Grafikler tam yarışmasız modele aittir.....	59
Şekil 5.1. Benzotiyofen türevlerinin test edilen biyolojik aktivitelerinin sonuçları.....	62



## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

### Simgeler

### Açıklama

<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Hidrojen peroksit
<b>GSSG</b>	Glutasyon disülfid
<b>Kg</b>	Kilogram
<b>M</b>	Molarite
<b>Mg</b>	Miligram
<b>ml</b>	Mililitre
<b>µM</b>	Mikro molar
<b>NO</b>	Nitrik oksit
<b>%</b>	Yüzde

### Kısaltmalar

### Açıklama

<b>Abs</b>	Absorbans
<b>ABTS</b>	2,2-azino bis-3-etil Benzotiazolin-6-sülfonik
<b>Ark</b>	Arkadaşları
<b>DMSO</b>	Dimetil sülfoksit
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>DPPH</b>	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
<b>EC</b>	Enzim komisyonu
<b>EK<sub>50</sub></b>	Etkili konsantrasyonu
<b>GP<sub>x</sub></b>	Glutasyon peroksidaz
<b>GR</b>	Glutasyon Redüktaz
<b>GST</b>	Glutasyon S transferaz



## Kısaltmalar

## Açıklama

**GSH**

Glutatyon

**KAT**

Katalaz

**ROS**

Reaktif oksijen ürünleri

**p-gp**

Permeabilite-Glikoprotein

**SOD**

Süperoksit dismütaz

**YYÜ**

Yüzüncü Yıl Üniversitesi

±

Artı Eksi



# 1. GİRİŞ

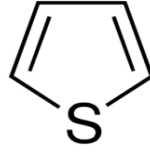
Heterosiklik bileşikler göstermiş olduğu biyolojik ve farmakolojik özelliklerinden dolayı biyokimya alanında, ilaç dünyasında önemli bir yere sahiptir (Turgut ve ark., 2009). Yapılan çalışmalarda heterosiklik bileşiklerin mikrobiyolojik etki gösterdikleri saptanmıştır (Daidone ve ark., 1990). Heterosiklik bileşikler genellikle farmakolojik özellikte olan bileşiklerin yapısında (Yao ve ark., 2017) ve çeşitli ilaçların etken maddelerinde bulunurlar (Lipshutz, 1986). Heterosiklik bileşiklerin türevleri kanser tedavisinde tümörlerin çoğalmasını engellemede, çeşitli kimyasal tarım ilaçlarının etkisini azaltmada, endüstriyel alanlarda kullanılmaktadır (Çobanoğlu, 2005).

## 1.1. Tiyofen

Heterosiklik bileşikler farmakolojik özelliklerinden dolayı son dönemlerde ilaç moleküllerinin tasarlanmasında kullanılırlar. Farmakolojik ve terapötik özellik gösteren heterosiklik bileşiklerden biride tiyofen molekülüdür (Mishra ve ark., 2012).

Tiyofen beş üyeli heterohalkalı, neme ve oksijene karşı hassas bir heterosiklik bileşiktir (Mishra ve ark., 2012). Tiyofen, suda çözünemeyen, renksiz, kaynama noktası 84 °C ve erime noktası -38 °C olan bir sıvıdır. 1882'de Alman kimyacı Victor Meyer tarafından keşfedilmiştir. Ham petrolde ve taş kömürü katranında bulunur (İkizler, 1984). Tiyofen, halkalı yapıda olup halkayı oluşturan atomlar düzlemsel yapıdadır. Tiyofenin aromatik özelliği diğer heterosiklik bileşiklerden olan benzenden az furandan daha fazladır. Tiyofen elektron verme eğiliminde olan asitlere karşı az aktivite gösteren, bazlara karşı ise hiç aktivitesi olmayan bileşiktir (Uslu, 2012).

Tiyofen sahip olduğu kimyasal kararlılığından dolayı kimyacılar tarafından diğer heterosiklik bileşiklerden daha fazla çalışılmıştır (Schomaker ve Pauling, 1939). Tiyofen halkasında kükürt atomu bulunur. Kükürt atomu halka içerisinde bulunup, sp<sup>2</sup> hibritleşmesi yaparak ortaklanmamış elektronlar içerir (Longuet-Higgins, 1949). Tiyofen tıbbi kimyada, kimyasal endüstride biyolojik aktivitesi yüksek olan bileşiklerin çekirdeğini oluşturur (Mishra, 2011). Son yıllarda yapılan çalışmalarda tiyofenin anajezik olarak tedavi edici etkisi bulunmuştur (Mishra, 2011).



Şekil 1.1. Tiyofenin kimyasal yapısı.

## 1.2. Benzotiyofen

Son yıllarda dikkat çekmeye başlayan bir diğer organik molekül ise benzotiyofendir. Literatürde az çalışma olmasına rağmen bilim adamlarının dikkatlerini çekmektedir.

Benzotiyofenler erime noktası 32°C, kaynama noktası 221°C olan renksiz bileşiklerdir. Benzotiyofen, indolün kükürlü karşıtıdır; sentezi ve reaksiyonları indolünkiyle benzerlik gösterir. Benzotiyofen ve benzotiyofen türevleri farmasötik ve zirai ilaç endüstrilerinde geniş uygulama yelpazesine sahip olan önemli heterosiklik bileşiklerin önemli grubunu oluşturur (Li ve ark., 2010).

Benzotiyofen türevlerinin ilaç olabilme potansiyellerini belirlemek için çeşitli biyolojik ve farmakolojik testler yapılır. Biyolojik ve farmakolojik testler yapmak için veri tabanlarından yararlanılır. Testler ve araştırma yapılırken Lipinski kuralları göz önünde bulundurulmalıdır.

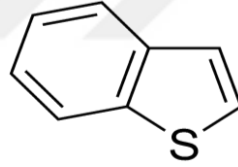
Lipinski'nin 5 Kuralı (Lipinski's Rule of Five) kimyasal bileşiklerin ilaç benzerliğini veya belirli farmakolojik ve biyolojik aktifliğe sahip bileşiklerin ilaç olarak kullanılabilirliğini değerlendirir. 1997'de Christopher A. Lipinski tarafından, nispeten küçük ve lipofilik ilaçlar üzerine yaptığı gözlemler sonucunda formüle edilmiştir. İnsanlarda ilaç farmakokinetiği EDMA (Emilim, Dağılım, Metabolizma, Atılım) adı verilen 4 aşamada gerçekleşir. Lipinski kuralları moleküllerin farmakokinetiği hakkında öngöründe bulunur; bileşiğin farmakolojik aktifliği hakkında bir tahminde bulunmaz. Lipinski kuralı ilaç tasarımında önder bileşiklerin optimize edilmesinde çok kullanılır. Lipinski'nin tanımladığı kurallara uygun olarak önder bileşiğin molekül yapısında modifikasyonlar yapılarak (molekül ağırlığını, halka veya dönen bağ sayısını arttırma, lipofilikliğı artırma gibi) moleküllerin aktifliği, seçiciliğı ve ilaç-benzer özellikleri arttırılır (Lipinski, 2004).

Lipinski'ye göre oral ilaçlarda genellikle bulunan özellikler şunlar olmalıdır;

1. Hidrojen bağı donör sayısı 5'den fazla olmamalı (OH ve NH grupları)
2. Hidrojen bağı akseptör sayısı 10'dan fazla olmamalı (N ve O atomları)
3. Molekül ağırlığı 500 g/mol'den küçük olmalı
4. Log P değeri 5'den küçük olmalı
5. Dönebilen bağı sayısı 5'den küçük olmalı

Bu çalışmamızda yeni sentezlenen benzotiyofen türevleri yukarıda bahsedilen Lipinski kurallarına uygundur.

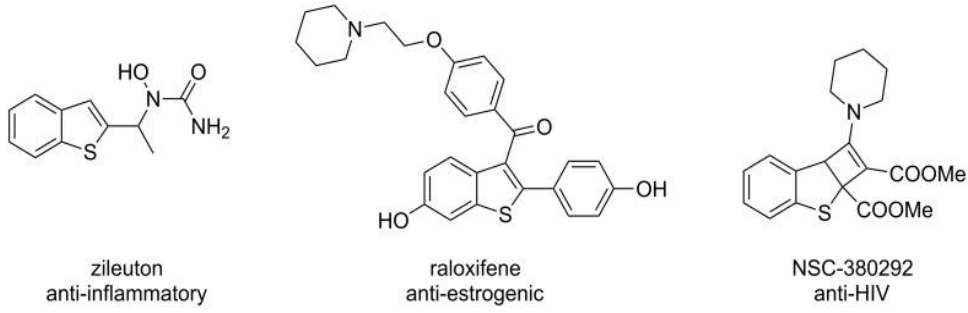
Özellikle çağımızın en sık rastlanan hastalığı olan kanser giderek artış göstererek birçok kişinin ölümüne neden olmaktadır (Güran, 2015; Baykara, 2016). Bu tür hastalıkların yayılmasını engellemek ve tedavi sürecini hızlandırmak için antioksidanlar kullanılmaktadır (Arı, 2017). Yapılan araştırmalarda benzotiyofen türevleri antioksidan özellik sergileyerek, hiperlipidemi, meme ve rahim kanseri tedavisinde etkinlik göstermektedir (Charles ve ark; 1984).



Şekil 1.2. Benzotiyofenin kimyasal yapısı.

Benzotiofenler, anti-enflamatuar, (Rajender ve ark., 2004) anti-viral (Rashad ve ark., 2010), anti-mikrobiyal (Bondock ve ark., 2010; Isloor ve ark; 2010), anti-kanser (Alqasoumi ve ark; 2009; Romagnoli ve ark; 2011) gibi biyolojik aktivitelere sahip olup heterosiklik bileşiklerdir.

Heterosiklikler genellikle doğal ürünlerde ve farmakolojik olarak aktif bileşiklerde bulunurlar, bu nedenle heterosikleri elde etmek için ekonomik ve verimli yöntemler her zaman çok tercih edilir (Yao ve ark., 2017). Benzotiofenlerin malzeme bilimi hususunda geniş uygulamaları vardır. Alkin substratların geçiş metaliyle katalizlenen siklizasyonunun geleneksel yöntemlerinden farklı olarak benzotiofenlerin metal içermeyen koşullar aracılığıyla sentezi son zamanlarda çok dikkat çekmektedir (Yao ve ark., 2017).



Şekil 1.3. Biyolojik olarak aktif benzotiyofen türevlerinin örnekleri (Yao, 2017).

### 1.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller son orbitallerinde eşlenmemiş elektron bulunduran moleküllerdir (Kavas, 1989). Serbest radikaller kararsız bileşikler oldukları için sürekli kararlı duruma geçme eğilimindedirler. Kararlı hale geçmek içinde başka bileşiklerden elektron alma çabasına girerek hücrelere zarar vermektedirler (Gökpınar ve ark., 2006). Serbest radikaller hem hücresel metabolizma sonucu hemde enfeksiyon, radyasyon, X-rays, UV ışınları, sigara kullanımı, yanlış beslenme gibi etkenlere bağlı olarak oluşan ve antioksidanlar tarafından etkisiz hale getirilen bileşiklerdir (Karabulut ve ark., 2016). Antioksidanlar serbest radikallerin etkisini azaltarak veya tamamen yok ederek vücudun bağışıklık sistemini harekete geçiren moleküllerdir (Karabulut ve ark., 2016).

Serbest radikaller son derece reaktif bileşikler olup kararlı hale geçebilmek için elektron arayışına geçerek özellikle protein, nükleik asit (DNA, RNA) ve lipitlerle reaksiyona girerek (Shinde ve ark., 2012), yaşlanma, (Manisha, 2017) kalp rahatsızlıkları, kanser, diyabet gibi hastalıkların oluşmasına neden olmaktadır (Cross., 1987).

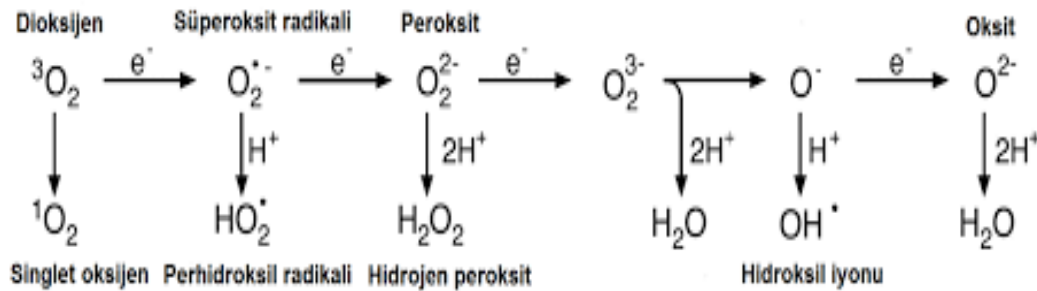
Serbest radikallerin daha çok zararlı etkileri olmasına rağmen düşük konsantrasyonda fizyolojik aktiviteleri düzenleme ve hücrelerde sinyalleşme gibi çok önemli faydaları vardır (Karabulut ve ark., 2016; Manisha, 2017).

Canlı organizmalardaki biyokimyasal olayların devamlılığı için serbest radikaller ve antioksidanlar arasında bir denge mevcuttur (Doğan ve ark., 2018). Serbest radikallerin oluşması ve antioksidan savunma sistemleri tarafından yok edilmesindeki bu dengenin bozulması oksidatif strese neden olmaktadır (Labo, 2010). Oksidatif stres

antioksidan savunma sistemini zayıflatarak hücrelerde lipit peroksidasyonunu yükselterek, doku hasarlarını arttırarak, lipit, protein yapısını bozarak çeşitli hastalıkların oluşmasına neden olur (Büyükuslu ve ark., 2015). Serbest radikaller oksijen kaynaklı ve nitrojen kaynaklı olabilmektedir. Oksijen kaynaklı olanlar reaktif oksijen türleri (ROT) nitrojen kaynaklı olanlar reaktif nitrojen türleri (RNT) olarak isimlendirilir (Valko ve ark., 2007). Reaktif oksijen türleri süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hidroksil radikali ( $OH^{\cdot}$ ) reaktif nitrojen türleri ise nitrik oksit ( $NO$ ) ve nitrojen dioksit ( $NO_2$ ) dir.

Oksijen insan hayatı için oldukça önemli bir element olmasına rağmen metabolizma sonucu oluşan reaktif oksijen türlerinin (ROT) temelini oluşturarak hücrelere zarar verir (Pham-Huy ve ark., 2008). ROT'ların vücuda verdikleri zararlar bağışıklık sistemini zayıflatmaya, yaşlanmaya özellikle kansere ve kardiyovasküler hastalıklara yakalanma riskini arttırır (Neeraj ve ark., 2013).

Oksijenli solunum reaksiyonlarında oksijenin bir kısmı suya dönüşürken bir kısımda radikallerin oluşmasına neden olabilmektedir (Çaylak, 2011). Solunum sırasında oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile reaktif oksijen türlerinden (ROT), süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ), iki elektron alması ile hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve üç elektron almasıyla hidroksil radikali ( $OH^{\cdot}$ ) oluşur (Young ve ark., 2001).



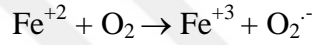
Şekil 1.4. Oksijenin indirgenerek ROT bileşiklerinin oluşumu (Gechev ve ark., 2006).

Mitokondri organeli, peroksisom organeli, sitokrom p450 enzimlerinin faaliyetleri, alkol, sigara, antibiyotik kullanımı gibi faktörler reaktif oksijen türlerini oluşturabilirler (Inoue ve ark., 2003). Canlı organizmalarda serbest radikallerin etkisini yok eden Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), Katalaz (CAT), Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon (GSH), Glutasyon redüktaz (GR) gibi enzimlerden (Hortonn ve ark., 1987) ve

besinlerden alınan C vitamini, E vitamin,  $\beta$ -karoten gibi organik bileşiklerden oluşan antioksidan savunma sistemleri mevcuttur (Okan ve ark., 2013).

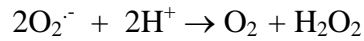
### 1.3.1.Süperoksit radikali ( $O_2 \cdot^-$ )

Süperoksit radikali organizmada ATP üretimi gerçekleşirken oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşan serbest radikallerdendir (Young ve ark., 2001). Süperoksit radikali hidrojen peroksitin oluşum kaynağıdır (Becker ve ark., 1999). Süperoksit radikalının önemli özelliklerinden birisi demir gibi geçiş metallerinin indirgeyicisi olarak işlev yapmasıdır (Dennis ve ark., 1990).



### 1.3.2.Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )

Hidrojen peroksit oksijenin etrafındaki moleküllerden iki elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşan tepken bir moleküldür (Labo ve ark., 2010). Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmamasına rağmen reaktif oksijen türleri (ROT) arasına dahil edilen bir moleküldür (Young ve ark., 2001). Hidrojen peroksit molekülü hücrelere karşı toksik etki oluşturarak serbest radikallerin oluşumuna zemin hazırlamaktadır (Gürgöze ve ark., 2007). Hidrojen peroksit yağda çözünen bir molekül olup, geçiş metallerinden olan  $Fe^{+2}$  ile reaksiyona girerek serbest radikal oluşturur ve kolayca hücrelerin içine yerleşerek onlara zarar verir (Sezer ve ark., 2014).

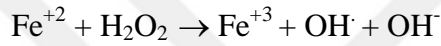


### 1.3.3.Hidroksil radikali (OH•)

Hidroksil radikali, oksijenin üç elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşan bir moleküldür (Çaylak, 2011). Serbest radikallerin organizmalara verdiği hasarın temelini hidroksil radikali oluşturmaktadır (Lloyd ve ark., 1997).

Hidrojen peroksit ve süperoksit radikalleri demir ve diğer geçiş metalleriyle (Cr, Co, Ni, Mo, Zn, Cu, Mn) girdikleri reaksiyon sonucu indirgenerek hidroksil radikalini oluşturmaktadırlar (Lloyd ve ark., 1997).

Yapılan bazı çalışmalarda hidroksil radikalının DNA ile reaksiyona girdiği ve DNA bazlarının üzerinde değişiklik oluşturduğu bildirilmektedir (Akpoyraz ve Durak., 1995).



### 1.4. Antioksidanlar

Antioksidanlar vücudumuz için oldukça önemli olan karbonhidrat, protein, lipit ve DNA gibi yapısal organik moleküllerin zarar görmesini engelleyen ve oksidatif strese karşı vücudu koruyan moleküllerdir (Vinson, 2006). Antioksidanlar serbest radikal moleküllerinin zincir reaksiyonlarını kırarak, ksenobiyotiklere karşı vücudu korur (Ekici ve Sağdıç., 2008). Günümüzde meydana gelen yanlış beslenme, stresli yaşam biçimleri, çevre kirliliği, hava kirliliği gibi etmenler serbest radikallerin oluşmasını tetikleyerek kanser ve diyabet gibi hastalıkların artışına sebebiyet vermektedir. Bu hastalıkların önlenmesinde ve tedavi edilmesinde göstermiş olduğu performansından dolayı son dönemlerde antioksidanlara çok önem verilmektedir (Ratnam ve ark., 2006). Antioksidanlar organizmada profilaktik ve terapötik etkiler göstererek vücudun savunmasında görev yapan ajanlardandır (Thomas ve ark., 2010). Antioksidan savunma sistemi lipit peroksidasyonu inhibe etmekle görevlidir (Büyüksulu ve ark., 2015).

Antioksidanlar 4 çeşit etki göstererek serbest oksijen radikallerine karşı vücudu korurlar. Bu etkileri şöyle sıralayabiliriz; (Valko ve ark., 2007).



1. Mineraller, hemoglobin, A vitamini gibi moleküller serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak işlevlerini inaktive ederler. Antioksidanların göstermiş olduğu bu etkiye zincir kırıcı etki denir.
2. Antioksidanlar serbest oksijen radikallerine hidrojen bağlayarak aktivitelerini inaktive ederler. Vitamin, flavanoidler bu şekilde etki eden bileşiklerdendir. Antioksidanların bu etkisine söndürme etkisi denir.
3. Serbest oksijen radikallerini daha zayıf yeni moleküllere dönüştürerek serbest radikallerin etkisi yok edilir. Antioksidanların bu etkisine süpürme etkisi denir.
4. Serbest radikallerin vücutta meydana getirdiği hasarları onarırlar. Antioksidanların bu etkisine onarım etkisi denir (Gökpinar ve ark., 2006).

Canlı organizmalarda ROT'ların oluşumunu ve verecekleri zararları önlemek üzere endojen kaynaklı enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri bulunmaktadır (Çaylak, 2011). Bunun yanında bazı ilaçlar, vitaminler ve sentetik gıda antioksidanları da ekzojen antioksidanlar olarak değerlendirilebilir (Blois, 1958).

#### **1.4.1. Antioksidanların sınıflandırılması**

Antioksidanlar enzimatik olan veya olmayan olmak üzere ikiye ayrılır;

##### **1.4.1.1. Enzimatik olan antioksidanlar**

Endojenler enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere iki sınıfta incelenir.

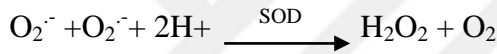
###### **1.4.1.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD) (E.C. 1.15.1.1)**

Antioksidan savunma sisteminin ilk basamağını oluşturan süperoksit dismutaz (SOD) enzimi bir metaloenzim olup süperoksit radikallerin ( $O_2^{\cdot -}$ ) hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve oksijene ( $O_2$ ) dönüşümünü sağlar (Baskin ve Salem, 1997). Süperoksit dismutaz enzimi canlı organizmaları süperoksit radikalleri ( $O_2^{\cdot -}$ ) ve hidrojen peroksit radikallerinden korur (Freeman ve ark., 1982). Ayrıca yapılan çalışmalarda SOD

enziminin lipid peroksidasyonunun önleyici etkisinin olduğu rapor edilmiştir (Larson 1988).

SOD' beş farklı formu mevcuttur (Çaylak, 2011).

1. Mn-SOD manganez içerir, mitokondride bulunan, tetramerik yapıda olan bir SOD izomeridir. Siyanidle inhibe edilmez. Mn-SOD enzimi anti-tümör aktiviteye sahip antioksidan enzimlerden biridir (Valko ve ark., 2007).
2. CuZn-SOD bakır ve çinko içeren sitozolde bulunan, dimerik yapıda olan SOD izomeridir. Siyanidle inhibe edilir (Kireççi, 2018).
3. Fe-SOD Mn ve Fe içerir. Ni-SOD Ni içerir (Baskin ve Salem, 1997). Fe-SOD formu prokaryot canlılarda ve bitkilerde bulunur (Karabulut ve ark., 2016).
4. Cu-SOD bakır içerir. SOD'un hücrelerde en fazla görülen formu Cu-SOD formudur (Karabulut ve ark., 2016).
5. Ekstraselüler SOD (EC-SOD), ise damar tonusunun düzenlenmesinde rol oynar. (Marklund, 1982).



#### 1.4.1.1.2. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) (E.C. 1.11.1.9)

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) eritrositlerde meydana gelen oksidatif strese karşı kullanılacak en etkili antioksidan enzim olan GSH-Px, 4 selenyum atomu içerir tetramerik yapılıdır ve lipid peroksidasyonunun başlamasını ve gelişmesini engelleyen enzimdir (Kılınç, 1986).

Mitokondri, sitozol ve hücre membranında bulunan GSH-Px elektron kaynağı olarak redükte glutasyonu kullanır. Hidrojen peroksitlerin ve organik hiperoksitlerin indirgenmesinde görev alır (Garewal, 1997; Çaylak, 2011).



### 1.4.1.1.3. Glutasyon S-transferazlar (GST) (E.C.2.5.1.18)

Glutasyon S-transferaz, EC.2.5.1.18. koduna sahip iki alt birimden oluşan, elektrofilik ve hidrofobik bileşiklerin glutasyon ile konjugasyonunu sağlayan, fazII enzimlerinden olan antioksidan bir enzimdir (Orhan ve Şahin, 1995).

GST ksenobiyotikler ve oksidatif strese karşı hücrel koruma sağlamanın yanı sıra merkaptürik asit biyosentezi reaksiyonlarına aracılık eder (Kasap, 2010) Doksorubisin gibi kemoterapötik bileşiklere karşı da direnç gösterir (Duvoix ve ark., 2004; Tozkoparan ve Aytaç, 2007).

Glutasyon S-Transferaz (GST), polimorfik yapıda olup GSH'la birlikte kanserojen radikallere karşı vücudu savunmada ve ksenobiyotiklerin tepkimelerini hızlandırarak iç dengeyi sağlayan birçok fonksiyona sahip olan bir enzimdir (Hayes ve ark., 1999). GST enzimi indirgenmiş glutasyonun konjugasyonunu hızlandıran toksinleri gideren izoenzimlerdendir (Öztürk ve İşbir, 2004). GSH organizmayı ksenobiyotiklerden korur (Liebman ve Greenberg, 1988).

GST ailesinin birçok üyesi vardır. İnsanda GST ailesinde bulunan sitoplazmik enzimler primer yapılarına göre  $\alpha$  (alfa),  $\mu$  (mü),  $\Pi$  (pi),  $\theta$  (theta),  $\delta$  (sigma) olmak üzere 5 sınıfa ayrılırlar (Board, 1981). İnsanda GST ailesine ait enzimleri kodlayan pek çok gen polimorfiktir. Birinci kromozomun kısa kolu üzerinde (1p13 bölgesinde) GST  $\mu$  (mü) sınıfı enzimine ait beş sınıf gen (M1-M5) tespit edilmiştir.

GST enzimleri serbest radikal hasarına karşı hücreleri korur. Sitotoksik ve genotoksik stres koşullarında hücrelerin zarar görmesini engeller (Öztürk ve İşbir, 2004). GST'ler karsinojen ve mutajen olabilen maddelerin detoksifikasyonunda rol alırlar. GST M1 genine ait ürün çoğu polisiklik aromatik hidrokarbonların detoksifikasyonunda rol alan izozimdir. GSTM2 eksikliğinde kansere yakalanma riski artabilir. Özellikle sigara içen kişilerde bu önemli bir risk faktörü oluşturur. Lafuente ve ark. GSTM'nin sigara dumanındaki benzopiren gibi kanserojen maddeleri konjuge ederek detoksifiye ettiği, dolayısıyla enzimin yokluğunun sigara içenlerde kanser riskini arttırdığını bildirmiştir (Lafuente ve ark., 1993).

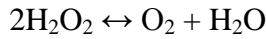
Sigara kullanan kişilerde Glutasyon S- transferaz enziminin azalması kansere yakalanma riskini arttırmaktadır (Ambrosone ve ark., 2001). Bu yüzden sigara kullanan

kişilerde toksik maddelerin vücuttan uzaklaştırılmasını sağlayan GST enzimi çok aktif olmalıdır (Öztürk ve İşbir, 2004).

Kanser hücrelerinde GSH düzeyide, GST enziminin aktiviteside artar. GST enzimi bu ksenobiyotiklerin (anti-kanser) organizmadan atılmasını sağlar (Ambrosone ve ark., 2001). Kanserli hücrede GST aktivitesi çok arttığı için ilaç uzun süre etken kalmaz hale gelir. Bazı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda, kanserli hücreler GST 'lere karşı direnç göstererek kanser tedavisine engel olduğunu rapor etmişlerdir (Ambrosone ve ark., 2001).

#### **1.4.1.1.4. Katalaz (CAT) (E.C.1.11.1.6)**

Çalışma mekanizması bakımından SOD ile benzerlik gösteren Katalaz enzimi heme grubu içeren (Seriner ve ark., 2012), hidrojen peroksiti parçalayan organizmadaki biyolojik sistemlerin zarar görmesini engelleyen enzimdir (Halliwell ve ark., 1990). Katalaz enzimi, hidrojen peroksiti parçalamazsa hidrojen radikalinin oluşumuna zemin hazırlar. Oluşan hidrojen radikali de organizmada hasarlar bırakır (Seriner ve ark., 2012). Katalaz enzimi zehir etkisi bulunan hidrojen peroksit molekülünü su ve oksijene dönüştürmektedir. (Duthie ve ark., 1989).



#### **1.4.1.1.5. Glutasyon redüktaz (GSSG-R) (E.C. 1.6.4.2)**

Glutasyon redüktaz, ilk defa 1951'de keşfedilen, E.C. 1.6.4.2 koduna sahip olan bir enzimdir (Temel ve ark., 20017). Glutasyon redüktaz enzimi canlı organizmayı serbest radikallerden ve reaktif oksijen türlerinden korur. (Senturk ve ark., 2009).

Ayrıca katalizlediği reaksiyonlarda yükseltgenen veya indirgenen GSH (GSH/GSSG) oranını koruyarak protein ve DNA sentezi gibi önemli olayların düzenlenmesini sağlar. Glutasyon redüktaz enziminin inhibitörleri kanser gibi hastalıkların tedavi edilmesinde kullanılır (Senturk ve ark., 2009).

#### **1.4.1.2.Enzimatik olmayan antioksidanlar**

Her geçen gün artış gösteren hastalıkların bertaraf edilmesi için antioksidan özellik gösteren vitamin değeri yüksek meyvelerin, gıdaların ve besinlerin kullanımı önem kazanmaktadır (Berger, 2005). Enzimatik olmayan antioksidanlardan en önemlileri, vücudun besinlerden elde ettiği veya sentezlemek için besin maddelerindeki öğelere ihtiyaç duyduğu, glutatyon, askorbik asit,  $\alpha$ -tokoferol,  $\beta$ -karoten, bilirubin, selenyum, fenolik bileşikler sayılabilir (Singh ve ark., 2004).

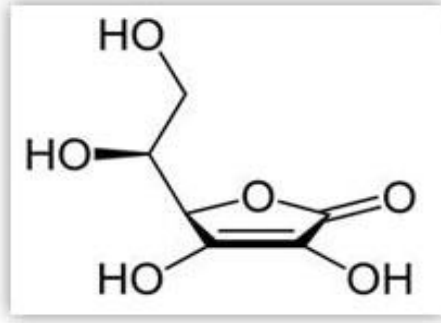
##### **1.4.1.2.1.Glutatyon**

Glutatyon (GSH) memelilerin hücrelerinde bulunan, glutamik asit, sistein ve glisinden meydana gelen tiyol grubu taşıyan, serbest radikallerin yaratmış olduğu zararlara karşı hücreleri koruyan tripeptit bir antioksidandır (Compoti, 1987; Mitchel ve Russol, 1987). Glutatyon (GSH) içerdiği sülfür grubu sayesinde antioksidan özellik gösterir (Temel ve ark., 20017). Glutatyonlar hidrojen peroksiti parçalama, lipid peroksidazları detoksifiye etme, oksidatif strese karşı hücreleri koruma, bazı ilaçların duyarlılığının artımında görev alır (Gurtoo ve ark., 1981; Meister, 1983; 1991).

##### **1.4.1.2.2. Askorbik asit (vitamin C)**

C vitamini bağışıklık sisteminde önemli işlevlere sahip çok güçlü bir antioksidan olup serbest radikallerin hücrelere verdiği hasarı önler (Karabulut, 2016) E vitamininin yenilenmesinde görev alır (Kojo, 2004) C vitamini sulu ortamlarda çözünen ve bu özelliğinden dolayı reaktif oksijen türlerini etkisiz hale getiren kuvvetli bir antioksidandır (Carr ve ark., 2000). C-vitamini peroksil moleküllerini inhibe ederek peroksidasyona karşı hücreleri korur (Gökpınar ve ark., 2006).

C vitamini enfeksiyonlara karşı etki gösteren bağışıklık sisteminde T lenfositlerin sayısının arttırılmasını uyarır (Ergün, 2006).



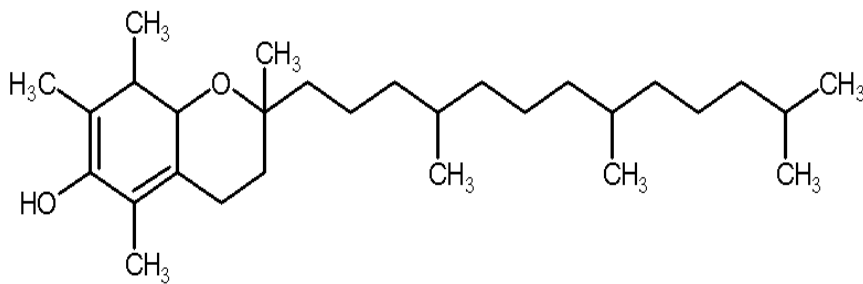
Şekil 1.5. L-Askorbik asitin kimyasal yapısı.

#### 1.4.1.2.3. $\alpha$ -tokoferol (vitamin E)

E vitamini yapısında bulundurduğu fenolik hidroksil grubundan dolayı kuvvetli bir antioksidan özellik sergiler. Oksidatif strese karşı hücreleri korur (Çaylak, 2011).

Hücre zarının yapısını oluşturan fosfolipit tabakasında yer alan doymamış yağ asitlerini serbest radikallere karşı koruyan lipofilik özellik gösteren esansiyel olarak dışarıdan alınan bir antioksidandır (Gey ve ark., 1991; McNeil 2004). E vitamini serbest radikallerin oluşturmuş olduğu lipid peroksidasyonunu inhibe ederek antioksidan özelliğinin olduğunu net olarak gösterir (Altınar ve ark., 2017).

E vitamini protein kinaz fosforilasyonunu etkileyerek NADPH oluşumunu engeller. Göstermiş olduğu bu aktivite sayesinde reaktif oksijen türlerinin üretimini azaltır (Ergün, 2006).

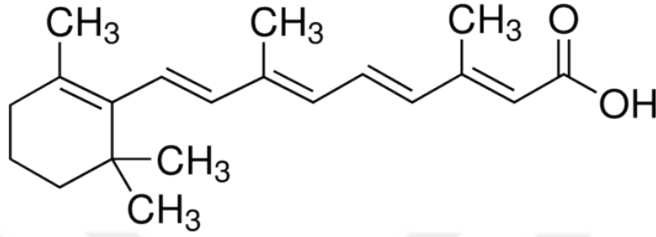


Şekil 1.6. Vitamin E 'nin kimyasal yapısı.

#### 1.4.1.2.4. A vitamini (Beta Karoten)

A vitamini karaciğerde depolanan, kanda retinol bağlayıcı protein ile taşınan, yağda çözünen bir vitamindir (Doğan ve ark., 2010). Bağışıklık sistemini oksidatif

strese karşı korur (Ergün.2006). A vitamininin kanseri önleyici etkisi bilinmekte olup eksikliğinde akciğer (Nettesheim ve ark., 1975), mesane (Cohen ve ark., 1976) ve kolon (Newberne ve ark., 1973) gibi kanser türlerine yakalanma riski artmaktadır (Doğan ve ark., 2010). A vitamini bağırsak emilimini arttırarak antioksidanların biyoyaralanımlarına etki etmektedir (Mazlum, 2012).



Şekil 1.7. A vitamininin kimyasal yapısı

#### 1.4.1.2.5. Polifenoller

Polifenoller, benzen halkası içeren, lipid peroksidasyonunu önleyen (Barak ve Yaşar, 2018), reaktif oksijen türlerini etkisiz hale getiren antioksidanlardır (Güleşçi, 2016). Polifenoller bazı enzimlerin (lipaz enzimi) aktivitelerini azaltırken (Fraga ve ark., 2010) bazı enzimlerle de etkileşime girerek gıdalardan alınan besin değerini düşürerek toksik etki yaratabilmektedir (Baxter ve ark., 1997).

#### 1.4.1.2.6. Flavonoidler

Flavonoidler lipofilik yapıda olan, hücreleri oksidatif strese karşı koruyan, serbest radikalleri etkisiz hale getiren ve canlı organizmanın çeşitli hastalıklara yakalanma riskini azaltan antioksidanlardır (Çimen, 1999). Hidrofilik özelliği lipofilik diğer antioksidan olan  $\alpha$ -tokoferole (Vitamin E) göre daha yüksektir. Flavonoidlerin antioksidan olmasının yanında antiviral, antitrombotik, antialerjik, antiinflamatuvar gibi birçok aktivitesi de vardır (Çimen, 1999).

Flavonoidler flavonollar, flavonlar, izoflavonlar, flavanonlar, antosiyanidinler ve flavanoller olmak üzere altı alt sınıfta toplanır (Feredioon ve ark., 1992; Rice-Evans ve ark., 1992)

## 1.5. İlaç

İlaçlar vücuda uygunlandıkları zaman emilime uğrar, etki edeceği yere ulaşır, kimyasal bazı değişikliklere uğrar ve vücuttan atılır (Özbay, 2012). İlaçlar organizmada kimyasal bazı değişikliklere uğrayarak metabolize olurlar. İlaçların metabolize olması yani enzimler tarafından değişikliğe uğraması biyotransformasyon olarak adlandırılır (Kayaalp, 2009). Biyotransformasyona uğrayan ilaçlar bazen daha fazla etkili hale gelirken, bazen de detoksifikasyonu engelleyerek toksik bileşik haline gelebilirler (Akgün, 2004). Biyotransformasyon ile ilaçların suda çözünmesi sağlanarak ve toksik etkileri azaltılarak vücuttan atılımları kolaylaşır (Özdemir ve ark., 2016).

Metabolizma sonucu meydana gelen bileşiklere metabolit denir (Özbay, 2012). Metabolitlerin emilim, dağılım, metabolizma ve atılım gibi farmakokinetik özellikleri ilaç geliştirme açısından önemlidir (Özdemir ve ark., 2016).

Ayrıca metabolizma sonucu lipofilik yapıya sahip bileşikler polar hale gelerek organizmadan kolayca atılırlar. (Özdemir ve ark., 2016). Eğer lipofilik bileşikler hidrofilik bileşiklere dönüştürülüp atılmazsa uzun süre vücutta kalıp birikime neden olarak hücrelere zarar verebilir (Özbay, 2012).

Bazen ilaçların metabolizması detoksifikasyon sağlamayarak toksik bileşik oluşturabilir. İlaçların bazıları kendi içinde aktif olmayıp biyolojik ortamlarda yani biyotransformasyon sonucu aktifleşebilir (Özdemir ve ark., 2016). Bu tür ilaçlara ön ilaç denir. Örneğin; kortizon, klormezanon, kloramfenikol palmiat, prontosil.

Biyotransformasyonda görev yapan enzimlerin çoğu başta karaciğer olmak üzere böbrek, akciğer gibi organlarda, düz endoplazmik retikulum gibi hücresel organelde bulunur (Özdemir ve ark., 2016). Canlı organizmanın sahip olduğu polimorfizimlerden dolayı ilaçlara verdiği cevaplarda farklılık göstermektedir. Bu farklılıklar ilaçların emilimini, dağılımını, metabolizmadan atılımını etkilemektedir (Steimer ve ark., 2002). Yeni ilaçlar keşfedilirken güvenli sonuçların elde edilmesi için ilaçların farmakolojik cevapta farklılığı ve farmakokinetik özellikleri göz önüne alınmalıdır (Üney ve ark., 2006).

İlaçlar keşfedilirken kullanılacak kimyasal moleküller ilk önce "klinik öncesi faz"a alınmalıdır. Çünkü yeni kimyasal moleküllerin, insanlarda denenmeden önce deney hayvanlarında denenerek etkisinin araştırılması gereklidir (Ergün, 2017). Bu

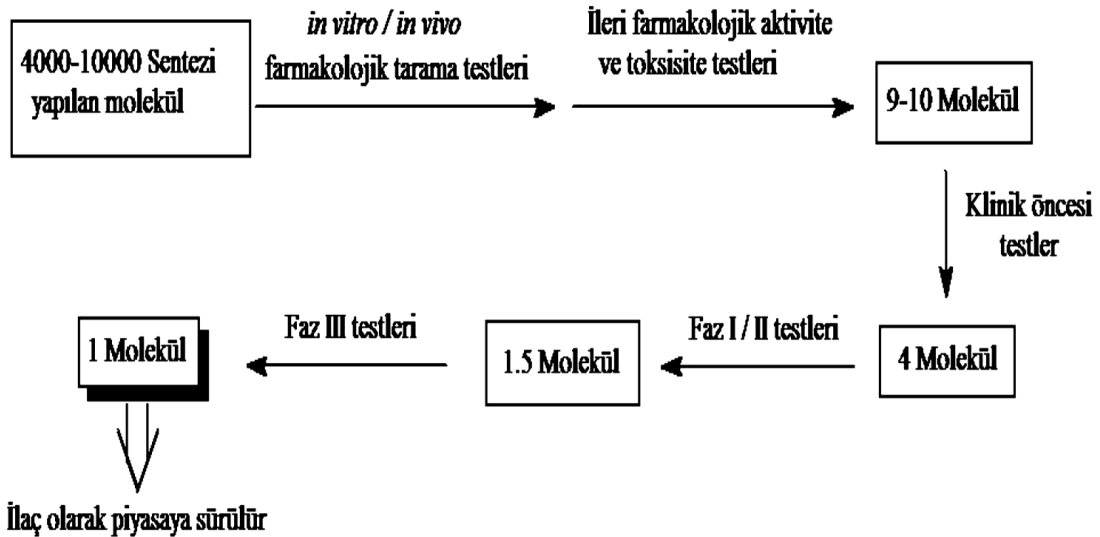


çalışmalara bakılarak insanlar üzerinde ne gibi etkiler olacağı öngörülür. Binlerce molekül arasından ilaç olmaya aday olan moleküller tarama testleri ve toksisite testleri yapılarak ayrıştırılır. Tarama testleri basit ve ucuz olup kısa sürede sonuç veren, laboratuvar ortamında yapılan *in vitro* testlerdir. Tarama testlerinde çöktürme, süzme, yıkama, kurutma, tartma gibi işlemler yapılır. Toksikite testleri ise *in vivo* olarak canlı hayvanlarda (sıçan, fare, köpekler) gerçekleştirilir. Hayvanlar üzerinde, ilacın Emilimi, dağılımı ve metabolizmasında meydana gelen etkisi araştırılır. Klinik değerlendirme sonuçlarında ise insan için kullanılacak ilaçlar etik kurulundan onay alınarak sağlıklı ve hasta kişilerde denir (İskit, 2006).

Klinik denemeler dört aşamada gerçekleştirilir;

1. Faz I (birinci dönem),
2. Faz II (ikinci dönem),
3. Faz III (üçüncü dönem),
4. Faz IV (dördüncü dönem) çalışmalardır.

## . İlaç geliştirme aşamaları



Şekil 1.8. İlaç Geliştirme Aşamaları (Kapucu ve ark., 2009).

İlaç olmaya aday olan moleküller bazı aşamalarda elenebilir (Kapucu ve ark., 2009). Çünkü bu moleküller;

- ✓ Beklenen aktiviteyi sergilemeyebilir,
- ✓ Güçlü ilaçlara karşı etkisi düşük seyirde olabilir,
- ✓ Toksik etki yaratabilir,
- ✓ Çeşitli yan etkilere sebep olabilir,
- ✓ Ekonomik olarak pahalı olabilir,
- ✓ Oldukça dayanıksız olabilir,
- ✓ Üretimi zor olabilir.

Faz I (birinci dönem) klinik testler: Araştırmalar genel olarak gönüllü, sağlıklı deneklerde 20-80 kişiden oluşan güvenli gruplarla yapılır. Deneklere farklı dozlarda ilaç verilerek dozu sınırlayan toksisitenin belirlenmesi, tolere edilen en yüksek dozun belirlenmesi, ilacın etki mekanizması, toksisitesi ve güvenlik yönü araştırılır. Araştırmalar yaklaşık 9-18 ay sürede gerçekleştirilir. Araştırmalar bazen de hasta kişiler (kanser hastası) üzerinde yapılabilir. (İskit, 2006).

Faz II (ikinci dönem) klinik testler: Bu dönemde yaklaşık 100-300 arası hasta gönüllü kişiler üzerinde ilacın tedavi edici (terapötik), yan etkisi ve koruyucu (profilaktik) etkisi araştırılır. Araştırmalar için mutlaka klinik ve farmakolog olmalıdır. Genellikle 1-3 yıl süren bu araştırmalar faz 3 için gerekli alt yapıyı oluşturur (İskit, 2006).

Faz III (üçüncü dönem) klinik testler: Bu fazda yaklaşık 1000-3000 hasta gönüllü üzerinde 3-4 yıl süren çok merkezli çalışmalardır. İlacın etkinliği ve diğer ilaçlarla etkinliğinin kıyaslanması bu fazda gerçekleşir. Gerekli bütün çalışmalar gerçekleştikten sonra ilaç için onay alınması gereklidir. Her ülkenin onay verme makamları mevcut olup Türkiye için bu onay T.C. Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü tarafından verilir (İskit, 2006).

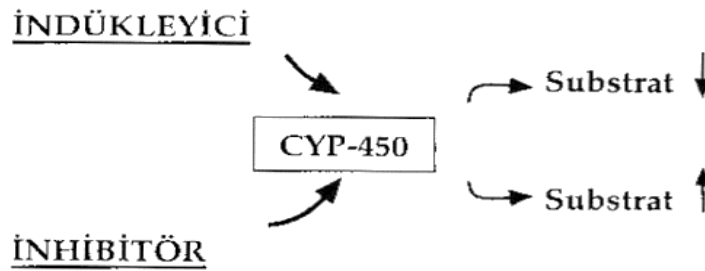
Faz IV (dördüncü dönem) klinik testler: Bu dönemde ruhsatı alınmış ilacın pazarlanması, ekonomik boyutu, maliyeti, yararı, riski analiz edilerek Faz 3'te tamamlanmamış çalışmalar tamamlanır. Daha sonrasında ilacın tedavi etkinliği, yan etkileri izlenerek değerlendirme yapılır (İskit, 2006).

### 1.5.1. İlaç metabolizması

İlaçların canlı organizmalarında sergilemiş oldukları emilim, dağılım, metabolizma, atılım gibi farklı etkileşimleri sahip oldukları genlerin bireysel farklılığından ileri gelmektedir (Steimer ve Potter., 2002).

İlaçların organizmadaki metabolizmasında görev alan organlardan en önemlisi karaciğerdir (Buratti ve Lavine., 2002). İlaçlar canlı organizmaya alındığında emilim sağlanmadan önce bir kısmı karaciğer tarafından etkisiz hale getirilerek aktivitesi düşürülür. Karaciğerin bu etkisinden dolayı bazen verilen ilacın dozunda artış sağlanırken bazen de ilacın yapısında değişikliğe gidilir. Örneğin; lipofilik yapıya sahip olan ilaçların moleküler yapılarında herhangi bir değişiklik olmazsa canlı vücudunda uzun süre kalarak bazı dokularda birikime neden olur. Bu yüzden lipofilik yapılu ilaçların organizmadan atılması kolaylaşsın diye hidrofilik yapıya dönüştürülerek atımları sağlanır (Özdemir ve ark., 2016).

Karaciğerde biyotransformasyon Faz-I ve Faz-II olmak üzere iki fazda gerçekleşir (Özdemir ve ark., 2016). Faz-I metabolik etkileşiminde oksidatif, redüktif, hidrolitik reaksiyonlar yer alırken, Faz-II reaksiyonları polar yapıların enzimatik sentezlen ilaçlara bağlandığı reaksiyonlardır (Joseph ve ark., 2005). Biyotransformasyon olaylarının çoğu karaciğer organının endoplazmik retikulumunda sitokrom P450 izoformları (CYPler) ve transferaz enzimleri sayesinde gerçekleşir (Özdemir ve ark., 2016).



Şekil 1.9. İlaçların CYP enzimleri ile etkileşimi (Türkbay ve ark., 2000).

Canlı organizmalarda bulunan sitokrom P450 izoformları (CYPler) ve transferaz enzimleri canlı organizmayı ilaçların yan etkilerine ve kanserojen maddelere karşı korur (Lakehal ve ark., 1999). CYP enzimleri HEME proteini içeren (Yüksel, 2001), 450 nm

frekansdaki ışığı absorbe eden, ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda (Guengerich, 2006) önemli işlevi olan enzimlerdendir (Yüksel, 2001). CYP enzimleri canlı organizmada N-oksidasyon, S-oksidasyon, O-dealkilasyon, deaminasyon, aromatik hidroksilasyon gibi birçok olayın gerçekleşmesini sağlar (Türkbay ve ark., 2000).

Biyotransformasyonda görev alan CYP alt izozimleri CYP1A1, 1A2, 1B1, 2A6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6,2E1, 3A4, 3A5'tir. Bunlardan en aktif olanlar ise CYP2C, CYP2D ve CYP3A' dır (Yamazaki ve ark., 1999). İlaçların çoğu CYP3A4 enzimi ile metabolize olur (Yurdakök ve ark., 2011). İlaçlar organizmaya alındıktan sonra emilimleri CYP3A4 enzimi ile sınırlandırılarak, ilaç direnç taşıyıcısı olan Permeabilite-Glikoprotein (P-gp) ile etkileşimi sonucu ilaçların hürelere girişi engellenmektedir. P-gp taşıyıcı protein olup ilaçların emilim, metabolizma, dağılım ve atılımlarında rol oynayarak ksenobiyotiklere karşı organizmayı korur (Gül ve ark., 2016). P-gp kanser hücrelerinde kullanılan ilaçlara karşı direnç oluşturarak kemoterapiyi olumsuz yönde etkilemektedir (Gül ve ark., 2016). İlaç metabolizmasını, ayrıca, genetik farklılıklar, hastalıklar, organizmada meydana gelen etkileşimler etkilemektedir (Herken ve ark., 2001).

## 1.6. Enzim İnhibisyonu

Organizmalarda meydana gelen reaksiyonların hızını arttıran moleküllere aktivatör, enzimin aktivitesini durduran veya yavaşlatan maddelere ise inhibitör denir (Gözükara, 1989). Enzimatik tepkimenin inhibitör olarak tanımlanan maddelerce hızının azaltılması veya tepkimenin durdurulmasına enzim inhibisyonu denir (Lehninger, 2005). Herhangi bir inhibitör madde enzimatik inhibisyonu gerçekleştirirken enzimin çalışmasını engeller ise enzimin katalize ettiği reaksiyonu da bozabilir (Keha ve Küfrevioğlu, 2009).

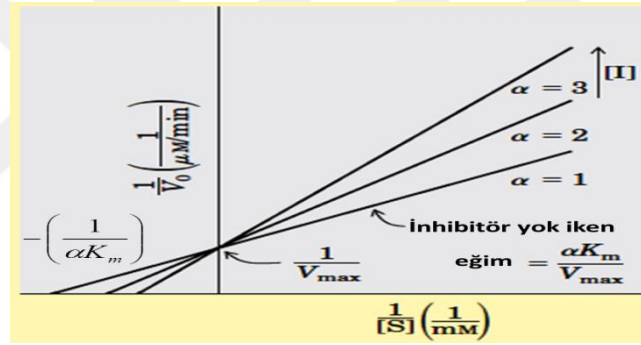
Enzim kinetiğinde kullanılan Michaelis – Menten ve Lineweaver – Burk grafiklerinden hesaplanan  $K_m$  sabiti (enzimin substrata olan affinitesini ifade eder) ve  $V_{max}$  (enzimatik reaksiyonlarında ulaşılan maksimum hız) değerlerindeki değişimlere bakılarak enzim inhibisyon modelleri belirlenmektedir (Keha ve Küfrevioğlu 2009; İnal, 2013).

Enzim inhibitörleri ile enzim inhibisyonları tersinir veya tersinmez olabilirler.

## 1.6.1. Tersinir enzim inhibisyonu

### 1.6.1.1. Yarışmalı enzim inhibisyon modeli

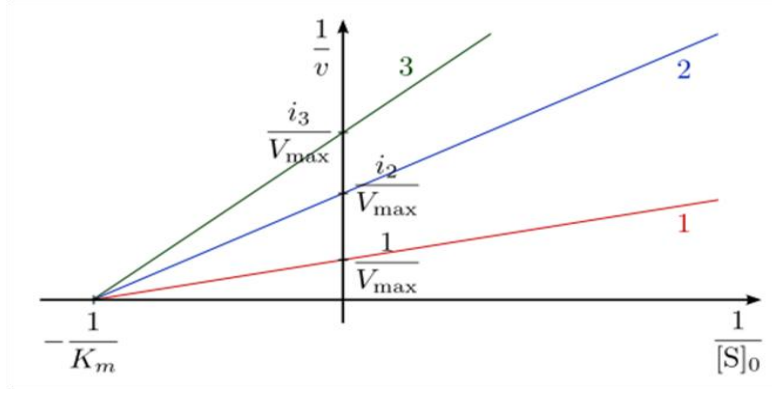
Tersinir enzim inhibisyonunun yaygın olan tipidir. Yarışmalı enzim inhibisyonunda inhibitör enzimin aktif kısmı için substrat ile yarıştığından yarışmalı enzim inhibisyonu denir. Enzimin aktif kısmına inhibitör bağlanınca substratın bağlanmasını önler. Böylelikle tepkime gerçekleşmez. İnhibitör enzimin substrata olan ilgisini azaltarak  $K_m$  değerinin büyümesine neden olur.  $K_m$  değeri büyür,  $V_{max}$  değişmez. Yarışmalı enzim inhibisyonunda substrat konsantrasyonu, artırılarak enzimin inhibitöre olan ilgisi azaltılabilir ve böylelikle inhibisyon ortadan kaldırılabilir. Yarışmalı inhibitör bileşiği enzim inhibitör (EI) kompleksi oluşturmak için tersinir bağlanır (Keha ve Küfrevioğlu, 2009; Sillero ve Herrero, 2015).



Şekil.1.10. Yarışmalı (kompetitif) inhibisyonun Lineweaver-Burk grafiği.

### 1.6.1.2. Yarışmasız inhibisyon modeli

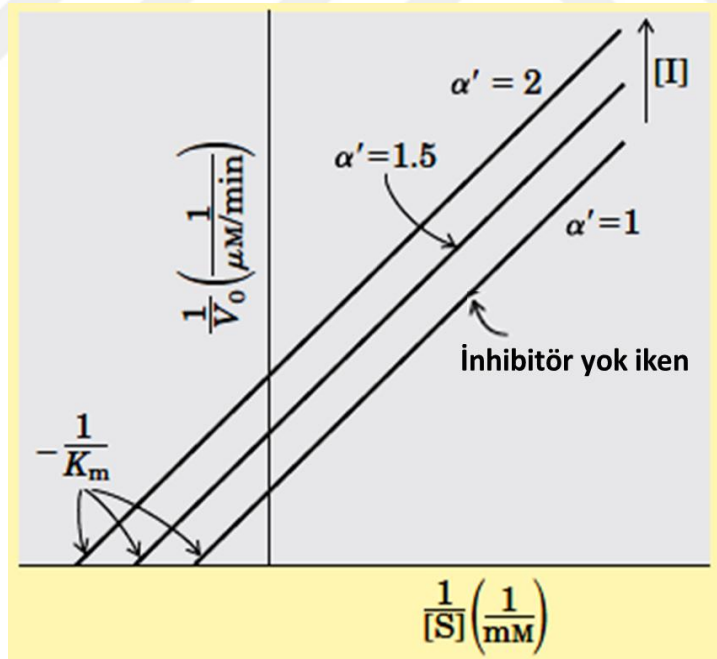
Yarışmasız enzim inhibisyonunda inhibitör enzim üzerinde substratın bağlandığı yere değil farklı bir yere tersinir olarak bağlanır. Bu yüzden substrat inhibitörü inhibitörde substratı etkilemez. Bu modelde inhibitör enzim substrat kompleksine de farklı bölgeden bağlanabilir. Yani bir yarış söz konusu değildir. İnhibitörler enzimin yapısında değişiklik yaratarak tepkime hızını düşürür. Ancak EI kompleksine ve serbest E'ye aynı ilgi söz konusu olduğundan  $K_m'$  ye bir etkisi olmaz (Keha ve Küfrevioğlu, 2009).



Şekil.1.11. Yarışmasız inhibisyonun Lineweaver-Burk grafiği.

### 1.6.1.3. Bağımlı inhibisyon modeli

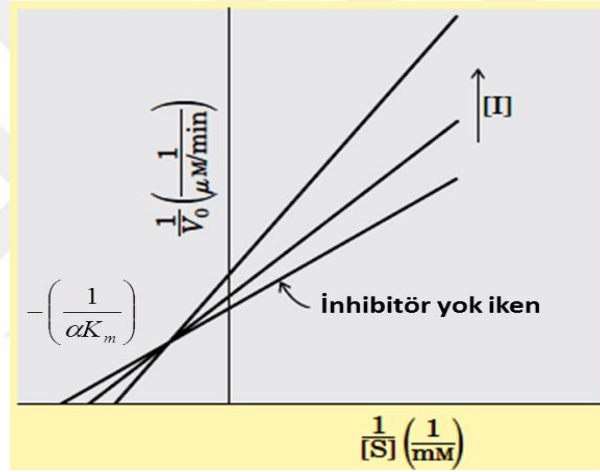
Bağımlı inhibitörün enzime bağlanmasıyla oluşan inhibisyonudur. Enzime substrattan farklı bir yerden tersinir şekilde bağlanır. Sadece ES kompleksine bağlanabilir. Bu tür enzim inhibisyonunun sonucunda  $V_{max}$  ve  $K_m$  değerlerinin ikisi de değişir.  $V_{max}$  ve  $K_m$  değerleri aynı oranda azalır (Keha ve Küfrevioğlu, 2009).



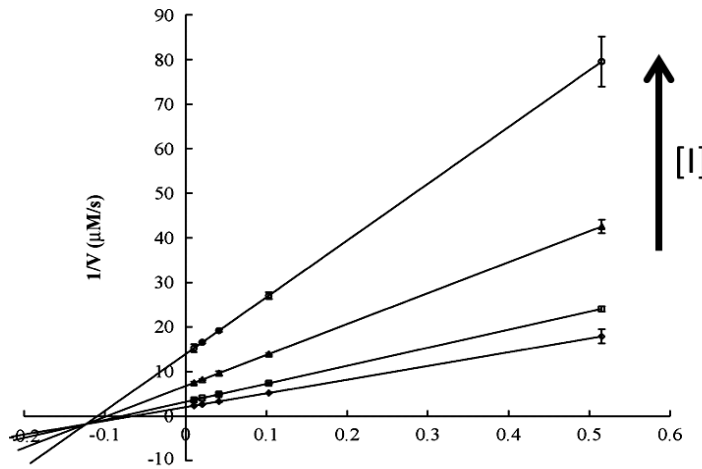
Şekil.1.12. Bağımlı inhibisyonun Lineweaver-Burk grafiği.

#### 1.6.1.4. Karışık inhibisyon modeli

İnhibitör ve substrat aynı zamanda enzime bağlanabilir. Ancak, inhibitörün bağlanması substratın bağlanmasını, substratın bağlanması da inhibitörün bağlanmasını etkiler. Substratın konsantrasyonunu artırmakla bu tip inhibisyon azaltılabilir ama tamamen üstesinden gelinemez. Karışık tipli inhibitörlerin aktif bölgeye bağlanması mümkün olmakla beraber, bu tip inhibisyon genelde inhibitörün enzim üzerinde başka bir yere bağlanmasından kaynaklanan allosterik bir etkinin sonucudur. İnhibitörün allosterik yere bağlanması, enzimin konformasyonunu (yani üçüncül yapısı veya üç boyutlu şeklini) değiştirir, öyle ki substratın aktif bölgeye olan çekim gücü azalır (Segel, 1975).



Şekil 1.13. Karışık inhibisyon modelinin (A durumu) Lineweaver-Burk grafiği.



Şekil 1.14. Karışık inhibisyon modelinin (B durumu) Lineweaver-Burk grafiği.

### 1.6.2. Tersinmez enzim inhibisyonu

Bu inhibisyon modelinde inhibitör kovalent bağ ile enzimin fonksiyonel grubuna bağlanarak enzimin fonksiyonel grubunu inhibe eder. Oluşan enzim inhibitör kompleksi geri dönüşümsüz olarak inaktif hale gelmiştir (Keha ve Küfrevioğlu, 2009).

### 1.7. Etkili Konsantrasyon Değeri (EK<sub>50</sub> Değeri)

EK<sub>50</sub>, yarı maksimum inhibitör konsantrasyonudur ve bir maddenin belirli bir biyolojik veya biyokimyasal fonksiyonu yarıya kadar inhibe etmedeki etkinliğinin bir ölçüsüdür (örneğin, enzimlerin inhibisyonu). Farmasötik araştırmada, bir ilacın *in vitro* potansiyelini belirlemek için sıklıkla kullanılan bir birimdir. EK<sub>50</sub> değerleri % inhibisyon-konsantrasyon grafiklerinde çıkan doğrusal çizgi denklemlerinde "y" yerine 50 yazılarak hesaplanır. Y eksenindeki etkinliği ve X eksenindeki konsantrasyonu belirtir.





## 2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Heteroaromatik bileşikler göstermiş olduğu biyolojik ve farmakolojik özelliklerinden dolayı yeni ilaçların tasarımında ve geliştirilmesinde kullanılırlar (Brasholz, 2009). Heteroaromatik bileşikler anti-bakteriyal (Shakdofa ve ark., 2014) anti-kanser (Rahmouni ve ark., 2016), A anti-enflamatuar (Kazemizadeh ve ark., 2016), anti-parazit (Coa ve ark., 2015) gibi aktivitelere sahip olduklarından dolayı yıllardır bilim adamlarının çalışma alanını oluşturmaktadır.

Jones ve ark. (1984), tarafından yapılan çalışmada sentezlenen [6-hidroksi-2-(4-hidroksifenil)benzo[b]tiyofen-3-il] [4-[2-(1-piperidinil)etoksi]-fenil] türevinin sıçan uterusu üzerindeki östradiolün büyüme etkisini inhibe edip etmeyeceği araştırılmıştır. Sentezlenen bileşiğin östradiolü antagonize etme yeteneği üzerinde derin etkilere sahip olduğu ve meme tümörlerinin büyümesini engelleyen inhibitör olduğunu ifade etmişlerdir.

Qin ve ark., 2007 yılında yaptığı çalışmada benzotiyofen seçici östrojen reseptörleri (SERM) geliştirmişlerdir. SERM'ler meme kanseri üzerinde kemopreventif aktiviteyi arttırmak için kullanılan modülatörlerdir. Sentezlenen benzotiyofen türevlerinin (6-Hidroksi-3- {4- [2- (1-piperidinil) etoksi] fenoksi} -2- [4- (2-kloroasetamid) fenil] benzo [b] tiyofen ve 6-Hidroksi-3- {4- [2- (1-piperidinil) etoksi] fenoksi} -2- {4 - [(2-kloroetil) amino] fenil} benzo [b] tiyofen) antioksidan aktivitelerine bakarak iyi bir SERM olabileceğini rapor etmişlerdir.

Kawasaki ve ark., 2008 yılında yaptığı çalışmada Alzheimer hastalığı için oksidatif stres ve nitrik oksite bağlı olarak nörotoksisiteyi inhibe eden terapötik bir ajan olan T-817MA (1- {3- [2- (1-benzotiyofen-5-il) etoksi] propil} azetid-3-ol maleat)'nın 1-metil-4-(MPTP) üzerindeki etkisini incelemişlerdir. MPTP dopamin seviyelerinde ve tirozin hidroksilaz immüno reaktivitesini düşürerek beyin fonksiyonlarını etkiler. Bu çalışmanın sonucunda T-817MA'nın lipid peroksidasyonunu bloke ederek MPTP kaynaklı nörotoksisiteye karşı koruma sağladığını ve bu bileşiğin Parkinson gibi oksidatif stres ile ilgili nörodejeneratif bozuklukların tedavisinde yararlı olacağını bildirmişlerdir. Abreu ve ark. tarafından 2009 yılında yapılan çalışmada 7-aril veya 7-heteroarilamino-2,3-dimethylbenzo [b] tiyofenlerin antioksidan aktivitesi DPPH metodu ile belirlenmiş

olup EK<sub>50</sub> değerleri hesaplanmıştır. EK<sub>50</sub> değerleri, standartların EK<sub>50</sub> değerleri ile karşılaştırılmıştır. Elde ettikleri EK<sub>50</sub> değerlerine bakarak bileşiklerin yüksek antioksidan aktiviteye sahip oldukları rapor edilmiştir.

Sheikha ve ark. (2011), tarafından yapılan çalışmada sentezlenen (N-(piridin-2-il)-benzotiyofen-2-karboksamid, N-(piridin-3-il)-benzotiyofen 2- karboksamid, N-(1H-benzimidazol-2-il)- benzotiyofen-2- karboksamid) benzotiyofen türevlerinin farmakolojik etkilerini araştırmışlardır. Sentezlenen bu bileşiklerin hiperlipidemi ve ateroskleroz tedavisinde umut verici bir potansiyele sahip olabildiğini rapor etmişlerdir.

Serry ve ark. (2010), tarafından yapılan çalışmada sentezlenen yeni benzotiyofen türevlerinin antitümör ve antioksidan etkileri araştırılmıştır. Antitümör testleri Ehrlich asit hücleri (EAC) modeline göre *in vitro* olarak test edilmiştir. Elde edilen verilerine göre sentezlenen yeni benzotiyofen türevlerinin antitümör aktivitesinin olmadığını ifade etmişlerdir. Antioksidan testleri ABTS metodu ile belirlenmiştir. 2- (2-siyanoasetilamino) -4,5,6,7-tetrahidrobenzo [b] tiyofen-3-karboksilik asit etil ester ve etil 2- (2-siyano-2- (2- [1,5-dimetil-3-okso-2-fenil-2,3-dihidro-1 H-pirazol-4-il] hidrazono) asetamido) -4, 5,6,7-tetrahidrobenzo [b] tiyofen-3-karboksilat türevlerinin ABTS metodu ile belirlenen sonuçlarına göre yüksek antioksidan aktivitelerinin olduğu, Etil 2- (2-siyano-3- (4- (dimetilamino) fenil) akrilamido) -4,5,6,7-tetrahidrobenzo [b] tiyofen-3-karboksilat, Etil 2- (2-siyano-3- (4- (piperidin-1-il) fenil) akrilamido) -4,5,6,7-tetrahidrobenzo [b] tiyofen-3-karboksilat, 2- (2-siyano-3- (dimetilamino) akrilamido) -4,5,6,7-tetrahidro-benzo [b] tiyofen-3-karboksilat türevlerinin antioksidan aktivitelerinin orta düzeyde olduğu, sentezlenen diğer bileşiklerin ise antioksidan aktivite göstermediği rapor edilmiştir.

Said ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada sentezlenen tiyofen ve tiyazol türevlerinin meme kanseri (MCF7 ) üzerine etkileri araştırılmıştır. Sentezlenen bileşiklerden, 2-Amino-5-siyano-4-(4-hidroksifenil)-6-okso-1-{1-[4- (piperidin-1-sülfonil)fenil] etiliden amino}-1,6- dihidropiridin-3-karboksilik asit etil ester ve 2-Amino-4-(4-klorofenil)- 5-siyano-6-okso-1-{1-[ [4-(piperidin-1-sülfonil)fenil]etilidene amino}-1,6- dihidropiridin karboksilik asit etil ester türevlerinin EC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 20,6 ve 25,5 µg/mL olarak ifade edilmiş olup referans olarak kullanılan doksorubisinden daha fazla aktivite gösterdiği ifade edilmiştir. Sentezlenen diğer bir türev olan 2-Amino-5-

siyano-4-(4 dimetilaminofenil)-6-okso-1-{1-[4-( piperidin -1- sülfonil) fenil] etilidenamino}-1,6- dihidropiridin-karboksilik asit etil ester türevi yaklaşık olarak doksorubisin kadar aktivite gösterdiği, etil-2,4-diamino-5-[2-(1-(4-piperidin-1-ilsulfonil) fenil) etiliden) hidrazin karbonil] tiyofen-3-karboksilat türevinin ise aktivite göstermediği rapor edilmiştir.

Biradar ve Mruthyunjayaswamy 2013 yılında yaptığı çalışmada 3-kloro-*N*-[(1e)-(2-hidroksi fenil)metilen]-6-metoksi-1-benzotiyofen-2- karbo hidrazid (HL) ve Cu(II), Co(II), Ni(II), Zn(II), Hg(II), Mn(II) ve Fe(III) kompleksleri sentezlenmiştir. Yapılan çalışmada bu bileşik ve metal komplekslerinin antibakteriyal ve antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda Hg(II) ve Mn(II) standart ilaç olarak kullanılan Streptomisine kıyasla iyi antibakteriyal etki gösterdiklerini Cu (II), Co (II), Mn(II) ve Fe(III) komplekslerinin orta düzeyde, Zn(II) ve HL komplekslerinin ise az aktivite gösterdiğini ifade etmişlerdir.

Antioksidan testlerini DPPH radikal süpürme antioksidan metodu ile test ederek göstermiş oldukları aktivitelerini standart olarak kullanılan vitamin E'ye karşı analiz ederek Cu (II), Ni(II), Zn(II) ve Fe(III) komplekslerinin çok yüksek serbest radikal temizleme aktivitesi gösterdiğini ve Co (II) orta seviyede, HL, Hg(II), Mn(II)'nin de az aktivite sergilediğini rapor etmişlerdir.

Gouda ve ark. (2014), yaptıkları çalışmada yeni sentezlenen benzotiyofen türevlerinin antioksidan aktvitesini araştırmışlardır. Elde edilen verilere göre, Etil 2 - [(2 - [(siyanoasetil) amino] -4,5, 6, 7 - tetrahidrobenzo [b] tien - 3 } il) karbonil) amino] -4,5, 6,6,7 - tetrahidro - 1 - benzotiyofen - 3 - karboksilat, Etil -2 - {(2 - {(2 - amino - 5, 6 - dihidro - 4H - siklopenta [b] tien-3 - il) karbonil) amino} -5, 6 - dihidro - 4H - siklopenta [b] ientien - 3 - yl) karbonil) amino} -4,5,6,7-tetrahidro-1-benzotiofen-3-karboksilat, Etil 2 - {(2 - {(2 - imino - 2H - kromen - 3) il) karbonil) amino} -4,5, 6, 7 - tetrahidro - 1 - benzotiyofen - 3) yl) karbonil) amino} -4, 5, 6, 7 - tetrahidro - 1 - benzotiyofen - 3 - karboksilat, etil 2- (2 - siyano - 3,3 - bis (2 - etoksi - 2 - oksoetiltio) akrilamido) -4,5,6,7-tetrahidrobenzo [b] tiyofen-3-karboksilat, Etil 2 - {(2E) -3 - anilino - 2 - siyano - 3-merkaptroprop-2-enoil) amino} -4,5,6,7-tetrahidro-benzotiyofen-3-karboksilat,türevlerinin iyi antioksidan aktivitelere sahip olduğunu açıkça ifade etmişlerdir. Sentezlenen etil 2 - [(siyanoasetil) amino] -4,5,6,7 - tetrahidro-1-benzotiyofen-3-karboksilat, Etil 2 - {(2 - amino - 5,6 - dihidro - 4H - siklopenta [b] tien

- 3 - yl) karbonil] amino} -4,5,6,7-tetrahidro-1-benzotiyofen-3-karboksilat, Etil 2 - {[2 - amino - 4, 5, 6, 7 - tetrahidro - 1 - benzotiyofen - 3 - yl) karbonil] amino} -4,5,6,7-tetrahidro-1-benzotiyofen-3-karboksilat, Etil 2 - {[2 - {[2 - imino - 2H - kromen - 3 - il) karbonil] amino} -4,5, 6, 7 - tetrahidro - 1 - benzotiyofen - 3) il) karbonil] amino} -4, 5, 6, 7-tetrahidro-1-benzotiyofen-3-karboksilat, Etil 2 - {[2E) -3 - anilino - 2 - siyano - 3-merkaptoprop-2-enoil] amino} -4,5,6,7-tetrahidro-1-benzotiyofen - 3 - karboksilat, Etil 2 - {[5 - asetil - 4 - amino - 2 - anilino - 3 - tienil) karbonil] amino} -4, 5, 6, 7 - tetrahidro - 1 - benzotiyofen - 3 - karboksilat, bileşiklerin ise Bleomisin'in oluşturacağı serbest radikal oluşumunu engelleyerek DNA'ya vereceği hasarı önlediğini rapor etmişlerdir.

Rao ve ark. (2015), yaptıkları çalışmada benzotiyofen türevlerinin *in vitro* antibakteriyal ve antitüberküler aktivitelerini araştırmışlardır. Elde edilen verilere göre 2-(2-klorofenil)-4-oksi kinazolin-3(4H)-yl]-1-benzotiyofen-2-karboksamid ve [2-(2-nitrofenil)-4- oksi kinazolin -3 (4H)-yl]-1-benzotiyofen-2-karboksamid türevlerinin iyi antitüberküler aktivite gösterdiklerini, (4-oxo-2-fenil kinazolin-3 (4H) - yl)-1-benzotiyofen-2-karboksamid türevinin ise iyi antibakteriyal aktivite sergilediğini rapor etmişlerdir.

Algo ve ark. (2018), yılında yaptığı çalışmada yeni sentezlenen benzotiyofen bileşiklerinin antimikrobiyal özelliklerini dört indikatör mikroorganizmaya karşı test ederek araştırmışlardır. Sentezlenen bileşiklerden birkaçı (*C. albicans* ATCC 10231, *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 25922 ve *S. aureus* ATCC 25923. 3- (4-aminobenzoetinil) -2- (tiyofen-2-il) benzo [b] tiyofen (12E), 3-etinil-2- (tiyofen-2-il) benzo [b] tiyofen, 3- (2-aminobenzoetinil) -2- (tiyofen-2-il) benzo [b] tiyofen ) *S.aureus*'a karşı yüksek oranda antibakteriyel aktivite sergilerken diğer (2- (tiyofen-2-il) benzo [b] tiyofen 3- (-indol-2-il 1 H) ve3- (4-aminobenzoetinil) -2- (tiyofen-2-il) benzo [b] tiyofen) bileşiklerin ise standart olarak kullanılan trolokstan daha iyi antioksidan aktivite gösterdiklerini rapor etmişlerdir. Ayrıca 3-iyodo-2- (tiyofen-2-il) benzo [b] tiyofen ve 3- (trimetil silil etinil) -2- (tiyofen-2-il) benzo [b] tiyofen'in birçok mantar hastalıklarına karşı koruma sağlayan antifungal özellik sergilediğini rapor etmişlerdir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Bu çalışmada antioksidan kapasiteleri test edilecek olan - benzotiyofen türevleri Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Kimya Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Arif KIVRAK ve ekibi tarafından sentezlenmiştir.

##### 3.1.1. Kullanılan cihazlar ve malzemeler

Çizelge 3.1. Deneilerde kullanılan cihazlar ve malzemelerin listesi

Kullanılan cihazlar	Kullanılan malzemeler
✓ Spektrofotometre	✓ Eldiven
✓ Sonikatör	✓ Dereceli silindir(mezür)
✓ Hassas terazi	✓ Filtre kâğıtları
✓ Distile su cihazı	✓ Otomatik pipetler
✓ Vorteks	✓ Pipet uçları
✓ Elisa plaka okuyucu	✓ Cam malzemeler
	✓ Parafilm
	✓ Santrifüj tüpleri
	✓ Cam kalemleri

##### 3.1.2. Kullanılan kimyasallar

Çizelge 3.2. Deneilerde kullanılan kimyasallar ve marka kodları

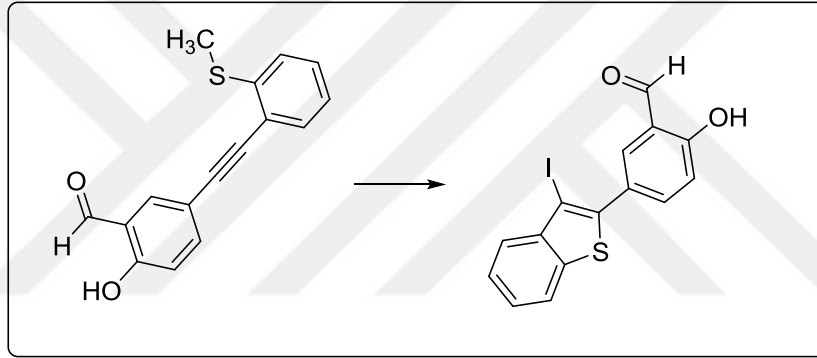
Kullanılan kimyasallar	
Troloks	Aldrich-238813
2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil	Aldrich-D9132
2,2-azino bis (3-ethyl benzothiazolin-6-sülfonik asit)	Sigma-A3219
Potasyum persülfat	Sigma-Aldrich-216224
Saf etanol	Sigma-46139
Kuersetin	Sigma-Q4951
Askorbik asit	Sigma-A0278
DMSO	Millipore (EMD) I.02952
Potasyum di hidrojen fosfat	Sigma-Aldrich –NIST200B

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Benzotiyofen türevlerinin sentezi ve saflık testleri

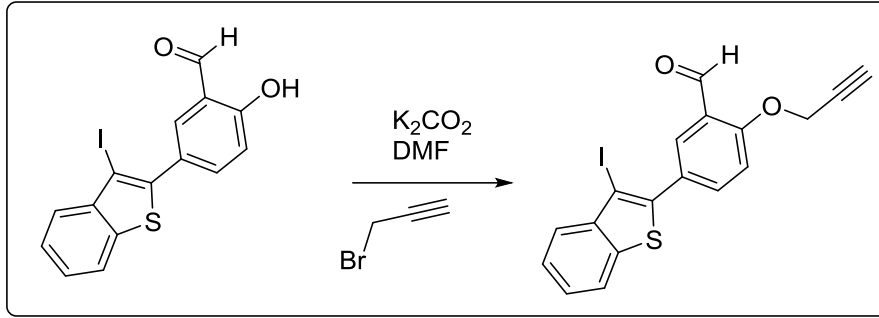
Benzotiyofen türevleri Prof Dr Arif KIVRAK'ın organik kimya laboratuvarında, en yüksek verim derecesinde kimyasallar kullanılarak, kontrollü sentez koşullarında en yüksek verim esas alınarak sentezlenmiş, hedef yapılar için moleküler yapı testleri Van YYÜ Bilim Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde NMR Cihazı'nda gerçekleştirilmiştir.

#### 3.2.1.1. Türev-1 (2-hidroksi-5-(3-iyodobenzo[b]tiyofen-2-il)benzaldehit)



100 mL balon joje içerisine 2-hidroksi-5-((2-(metiltiyo)fenil)etinin)benzaldehit (100 mg, 0.373 mmol) diklorometan (60 mL) içerisinde çözdürülür ve üzerine I<sub>2</sub> (284 mg, 1.11 mmol) eklenerek oda sıcaklığında 30 dakika karıştırıldı. Reaktantlar ince tabaka kromatografisi ile kontrol edildi ve ekstraksiyon için 30 mL doymuş sodyumtiyosülfat çözeltisi ve 50 mL diklorometan (3X) ile su fazı yıkanarak alındı. Organik fazlar birleştirildi ve MgSO<sub>4</sub> ile kuruldu, yüksek vakum altında konsantre edildi. Elde edilen katı malzeme kolon kromatografisi kullanılarak hekzan (19 mL), etil asetat (1 mL) çözücü sistemi ile saflaştırıldı.

### 3.2.1.2. Türev-2 (2-(etiniloksi)-5-(3-iyodobenzo[b]tiyofen-2-il)benzaldehit)



2-hidroksi-5-(3-iyodobenzo[b]tiyofen-2-il)benzaldehit (50 mg, 0.1315 mmol), dimetilformamid (5 mL) içerisinde çözdürüldü. Üzerine 3-bromoprop-1-in (23.47 mg, 0.1972 mmol) ve potasyumkarbonat (18.18 mg, 0.1315 mmol) eklenerek oda sıcaklığında 6 saat karıştırıldı. Reaktantlar ince tabaka kromatografisi ile kontrol edildi ve ekstraksiyon için 30 mL distile su ve etil asetat 50 mL (3X) ile su fazı yıkanarak alındı. Organik fazlar birleştirildi ve  $MgSO_4$  ile kuruldu, yüksek vakum altında konsantre edildi. Elde edilen katı malzeme kolon kromatografisi kullanılarak hekzan (19 mL), etil asetat (1 mL) çözücü sistemi ile saflaştırıldı ve katı (38.6 mg) ürün elde edildi.

### 3.2.2. Antioksidan kapasitesinin belirlenmesi

Test edilen benzotiyofen türevlerinin antioksidan kapasitelerini belirlemek için üç farklı metot kullanıldı. Kullanılan üç metotda da spektrofotometrik ölçümler yapıldı.

#### 3.2.2.1. ABTS (2,2-azino bis (3-etil benzothiazolin-6-sülfonik asit) metodu

Re ve arkadaşlarının (1999) geliştirdiği ABTS metodu kullanıldı. Deneyin başlangıcından 14-16 saat önce kahverengi şişede ABTS stok çözeltisi hazırlandı. ABTS çözeltisi 0,0115 gr ABTS ile 0,0020 gr potasyum persülfat 3 ml  $dH_2O$  içerisinde çözülerek hazırlandı. Troloks ve maddeler saf etanolde çözülerek farklı konsantrasyonlara (troloks için 1,25-2,5-5-10-20  $\mu g/ml$ , maddeler için 6,25-25  $\mu g/ml$ ) seyreltmeler yapıldı. Test edilen maddeleri çözebilmek için ultrasonikatör kullanıldı.



Deneyden hemen önce ABTS çözeltisi, saf etanol ile 734 nm'de 0,700 -0,710 absorbans verecek şekilde seyreltildi. Daha sonra kahverengi şişelere 600µl örnek/standart ve 600 µl seyreltilmiş ABTS çözeltisi eklenerek kapakları kapatıldı. Negatif kontrol için kahverengi şişelere 600 µl saf etanol ve 600 µl seyreltilmiş ABTS çözeltisi eklendi. Tüm şişeler 30 dakika boyunca 25 °C 'de inkübe edildikten sonra örnekler küvete eklenerek referansa karşı okuma yapıldı. Aynı prosedür 3 farklı zamanda tekrarlandı.

Maddelerin % RSA değerleri hesaplandı. Standart olarak troloks, askorbik asit ve kuersetin kullanıldı.

$$\%RSA = \frac{\text{Abskör} - \text{Absörnek}}{\text{Abskör}} \times 100 \quad (3.1)$$

### 3.2.2.2. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) metodu

Bu metot ilk olarak Brand-Williams ve arkadaşları tarafından 1995 yılında geliştirilmiş olup sonrasında Sanchez ve arkadaşları tarafından 1998 yılında değiştirilerek kullanılmaya başlanmıştır (Alive ark. 2008).

0,0016 gr DPPH katısı tartıldı. 10 ml saf etanolde kahverengi şişe içerisinde çözüldü. DPPH'ın tam çözünmesi için ultrasonikatör içerisinde 30 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletildi. Aynı şekilde, test edilen maddeler ve standart maddeler (troloks, askorbik asit, kuersetin) 10 ml saf etanolde çözüldü. Bu örneklerin çözünmesi için de yine ultrasonikatör kullanıldı. Saf etanol ile seyreltmeler yapıldı ve madde 1.15-3.25-6,25- 12.5-25 µg/ml konsantrasyon aralığı ve troloks (standart) için 1,25-2,5-5-10-20 µg/ml konsantrasyon aralığı oluşturuldu. Kahverengi şişelere 900 µl madde çözeltisi ve 300 µl DPPH (1200 µM) çözeltisi eklenerek kapakları kapatıldı. 30 dakika boyunca 25 °C'de inkübe edildikten sonra örnekler küvete eklenerek UV/VIS spektrofotometrede 517 nm'de referansa (saf etanol) karşı okuma yapıldı. Negatif kontrol için 900 µl etanol ve 300 µl DPPH çözeltisi küvete eklenerek referansa karşı okuma yapıldı. Aynı prosedür 3 farklı zamanda tekrarlandı. % Radikal sönmüleme Aktivitesi aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$\%RSA = \frac{\text{Abskör} - \text{Absörnek}}{\text{Abskör}} \times 100 \quad (3.2)$$

### 3.2.2.3. Galvinoxil metodu

Bu metot için 0.001 gr galvinoxil katısı tartıldı. Kahverengi şişede 15 ml etanolde çözüldü. Bu bizim ana stoğumuzu oluşturdu.

Galvinoxil çözeltisinin tam olarak çözünüp homojen hale gelmesi için oda sıcaklığında karanlık ortamda 5 dk bekletildi. Standart olarak trolox, askorbik asit ve kuersetin kullanıldı. 100 µg/ml trolox, maddeler ise (1,5625-3,125-6,25-12,5-25 µg/ml) farklı konsantrasyonlarda hazırlanıp, ana stoktan 170 µl çekilip bir şişeye aktarılıp üzerine 170 µl saf etanol eklenerek deney stoğu oluşturuldu ve bu stoktan seri dilüsyon hazırlandı. Bu hazırlanan çözeltiler standart eğrinin oluşturulmasında kullanıldı. Kör olarak örneğin çözüldüğü solvent kullanıldı. Daha sonra kahverengi şişelere 1000µl oranında örnek/standart ve 50 µl galvinoxil çözeltisi eklenerek kapakları kapatıldı. Kör (blank) için kahverengi şişelere 1000 µl saf etanol ve 50 µl galvinoxyl çözeltisi eklendi. Tüm şişeler 10 dakika boyunca 25 °C 'de inkübe edildi. Aynı prosedür 3 farklı zamanda tekrarlandı. Daha sonra spektrofotometrede 428 nm de ölçüm alındı. Kör tüpten başlayarak en son galvinoxil eklediğimiz tüpe kadar tüm tüplerin ABS değeri okunur ve her örnek için 3 ABS değerinin ortalaması kullanıldı.

Maddelerin % RSA değerleri hesaplandı.

$$\%RSA = \frac{Absk\ddot{o}r - Abs\ddot{o}rnek}{Absk\ddot{o}r} \times 100 \quad (3.3)$$

### 3.2.3. GST M-2 izozimi üzerine inhibisyon / aktivasyon testleri

GST spesifik enzim aktivitesi ölçümleri Habig tarafından belirlenen ve daha sonra ELISA Plaka Okuyucu Sisteme göre adapte edilmiş metotla belirlenecektir. Kontrol gruplarında ve benzo(y)fen türevlerinin farklı konsantrasyonlarını test edeceğimiz 96 kuyucuklu mikrotipler hazırlanmasında 100mM fosfat tamponu (pH:7,0), 1mM GSH ve 1mM CDNB substratları kullanılacaktır. Enzim eklenmesiyle başlatılan aktivite ölçümleri 20sn arayla 10 dakika boyunca kaydedilecek ve elde edilen sonuçlar Sigma Plot Enzyme Kinetics modülü taşıyan lisanslı yazılım ile analiz edilecek ve en uygun inhibisyon modeli bulunacaktır.

### 3.2.3.1. Toplam GST spesifik aktivite tayini

1) Kullanılan kimyasalların hazırlanması:

(a) 500 mM pH 7,0 Fosfat Tamponu Hazırlanışı:

43,55 g  $K_2HPO_4$  ~200 ml distile su ile manyetik karıştırıcıda çözüldükten sonra son hacmi 500 ml' ye tamamlanır. 34,02 g  $KH_2PO_4$  aynı şekilde ~200 ml distile su ile manyetik karıştırıcıda çözüldükten sonra son hacmi 500 ml' ye tamamlanır. 500 ml  $K_2HPO_4$  manyetik karıştırıcıda karıştırılırken Pastör pipeti ile  $KH_2PO_4$  eklemesi ile pH 7,0'a kalibre edilir. Örneklerin seyreltilmesi için gerekli 10 mM fosfat tamponu ise 500 mM' lık fosfat tamponunun seyreltilmesi ile hazırlanır.

(b) 20 mM 10 ml CDNB hazırlığı:

0,041 g CDNB tartılır. 7 ml etilalkol içerisinde çözüldükten sonra son hacim 3 ml distile su ile 10 ml' ye tamamlanır.

(c) 10 mM 10 ml GSH Hazırlığı:

0,031 g GSH tartılır. 10 ml distile su içerisinde çözünmesi sağlanır.

Abzorbans değerleri (340nm) şu formül ile spesifik enzim aktivitesi olarak hesaplanır:

$$\text{Spesifik Aktivite} = \frac{dA/dt}{\epsilon \text{ (mM)}} \times DF \times \frac{1}{\text{mg protein/ml}} \quad (3.4)$$

$dA/dt$  birim zamanda (ms) abzorbanstaki değişimi (mOD),  $\epsilon$  ekstinksiyon sabitini (340nm'de CDNB  $9.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) ve DF ise dilüsyon faktörünü simgelemektedir.

Her reaksiyon kuyucuğunda 100 mM fosfat tamponu, 1mM GSH, (0,5, 1,0 ve 1,5mM) CDNB, (1,5,10,25,50,100 ve 250 mikromolar) türev bulunmaktadır. Kör kuyucuklardan farklı olarak, reaksiyon kuyucuklarının üzerine 10 mikrolitre saf enzim (stokta yaklaşık 60ünite/mikrolitre) eklenip, enzim aktivitesi için, 10 dakika boyunca her 30sn de bir ölçüm alındı. Her dk için absorbans değerindeki değişim, enzim hızı olarak kullanıldı.

### 3.3. İstatiksel Analizler

Deney grupları arasındaki farklar Sigma plot yazılımı ile Student t-Test ve One-Way ANOVA testleri uygulanarak analiz edildi ve standart sapma değerleri de hesaplandı.





#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda bir çok antioksidan kapasite (AOC) tayin metotları kullanılmaktadır. Antioksidan kapasite ölçme tayin metotları hidrojen atomu transferi (HAT) ve elektron transferine (ET) dayanan metotlar olup iki grupta incelenir (Huang ve ark., 2005). HAT temelli antioksidan metodu antioksidan ile substrat arasındaki yarışmalı reaksiyona dayanan, ET temelli antioksidan metodu ise antioksidan (substrat) ve oksidan arasındaki reaksiyona dayanan ve substratın indirgeyici etkisini ölçen metottur (Albayrak ve ark., 2010). Oksidan antioksidandan elektron alarak renk değişimine uğrar (Huang ve ark., 2005). Antioksidan metotlarının reaksiyon mekanizmaları, radikal, oksidan kaynakları, propları farklılık gösterdiği için yapılan çalışmaların sonuçları tek bir metotla sınırlı kalmamalıdır (Karadağ ve ark., 2009). Antioksidan tayin yöntemleriyle hem lipofilik hem hidrofilik özelliğe sahip örneklerin antioksidan kapasiteleri ölçülebilmektedir. ABTS radikali oldukça geniş pH aralıklarında kararlılık gösterdiği için antioksidan reaksiyonlardaki pH etkisini belirlemede kullanılırken (Büyüktuncel, 2013), aynı zamanda hidrofilik ve lipofilik yapıli bileşiklerin antioksidan ölçümlerinde de kullanılmaktadır (Albayrak ve ark., 2010). DPPH metodu özellikle alkolik çözeltilerde çözüldüğü için hidrofilik özellik gösteren bileşiklerin antioksidan ölçüm metotlarındaki rolü tam olarak belirlenememektedir. Bu yüzden bileşiklerin antioksidan aktivitelerini belirlemek için birden fazla metotla çalışılmalıdır (Büyüktuncel, 2013). Galvinoxil metodu da hidrofilik ve hidrofobik özellik gösteren bileşiklerin antioksidan aktivitelerini belirlemede kullanılan bir yöntemdir (Selçuk, 2012). Galvinoxil troluks ile kolayca etkileşime girebilmektedir (Shi ve Niki, 1998).

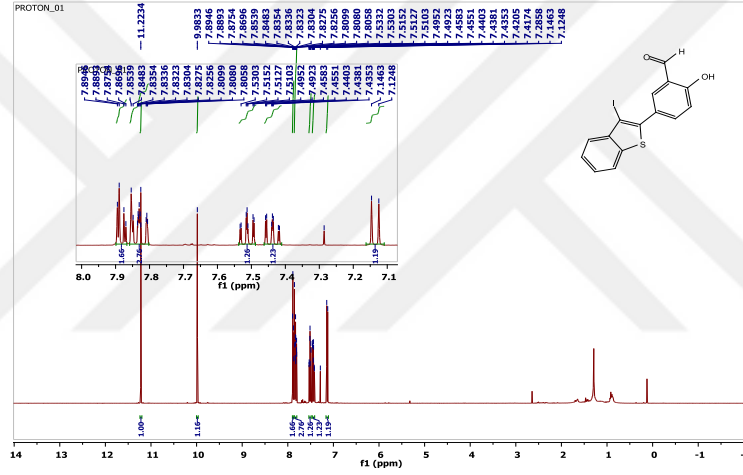
Sentezlenen benzotiyofen türevlerinin antioksidan aktiviteleri, antioksidan kapasite ölçme tayin metotlarından ABTS, DPPH ve Galvinoxil metotları ile belirlenmiş ve standart olarak troluks, askorbik asit ve kuarsetin kullanılmıştır. Kullanılan standartların farklı metotlarda aynı aktiviteyi göstermemesinin nedeni metotların, hidrofilik, hidrofobik, lipofilik gibi farklı özellikleri ölçmesinden kaynaklanmaktadır. Bu yüzden bileşiklerin antioksidan aktivitesini belirlemek için birden fazla metot kullanılmıştır.

## 4.1. NMR Analizi ile Türevlerin Saflık Derecelerinin Belirlenmesi

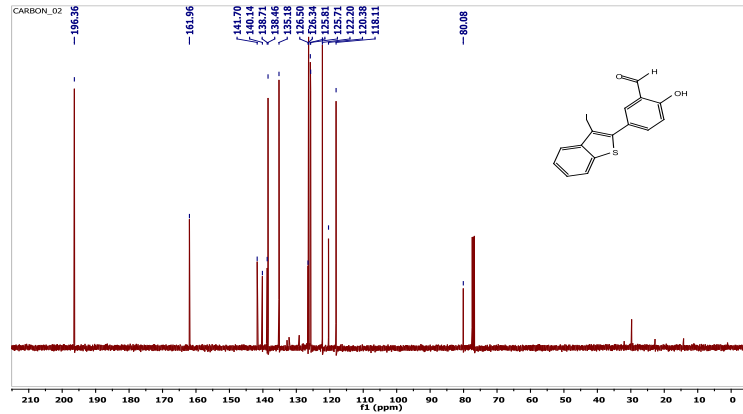
### 4.1.1. Türev-1 (2-hidroksi-5-(3-iyodobenzo[b]tiyofen-2-il)benzaldehit

Uygulanan sentez basamakları sonucunda Türev-1 maddesi %80 verimle elde edilmiştir (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.49 (s, 3H), 6.96 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 7.13 ( $J = 8.6$  Hz, 1H), 7.44 (td,  $J = 7.2, 1.3$  Hz, 1H), 7.50 (td,  $J = 7.2, 1.2$  Hz, 1H), 7.80-7.90 (m, 4H), 9.98 (s, 1H), 11.22 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  80.08, 118.11, 120.38, 122.20, 125.71, 125.81, 126.34, 126.50, 135.18, 138.46, 138.71, 140.14, 141.70, 161.96, 196.36.



Şekil 4.1. Türev-1 molekülünün  $^1\text{H}$  NMR spektrumu.

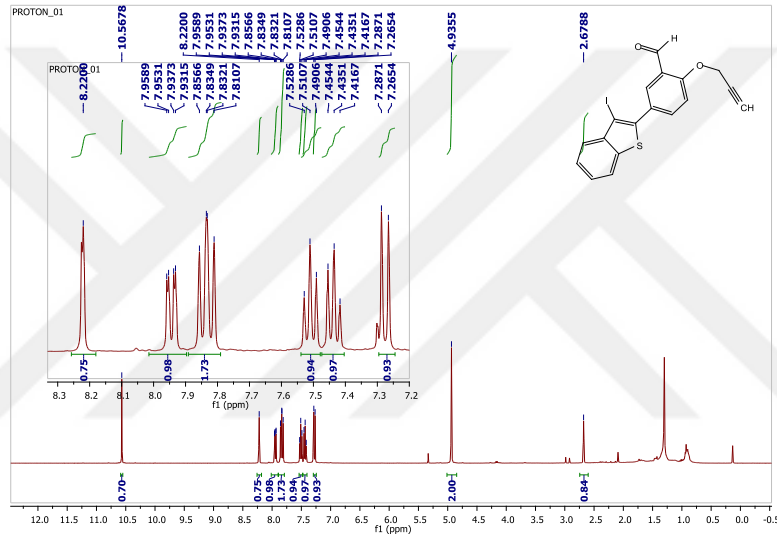


Şekil 4.2. Türev-1 molekülünün  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu.

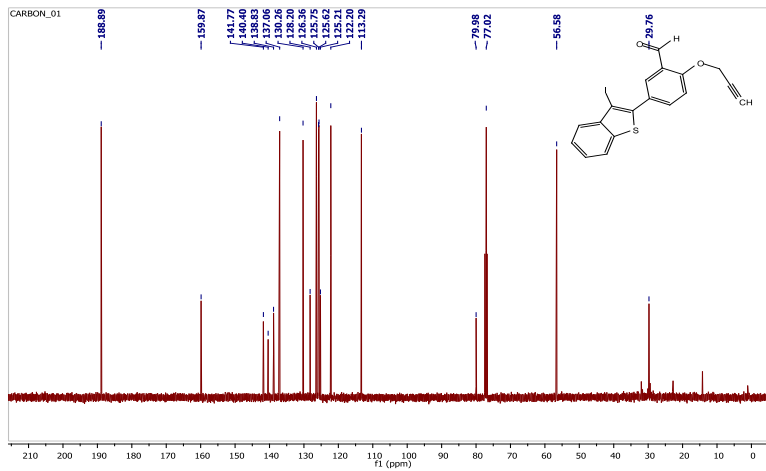
#### 4.1.2. Türev-2 (2-(etiniloksi)-5-(3-iyodobenzo[b]tiyofen-2-il)benzaldehit)

Uygulanan sentez basamakları sonucunda Türev-2 maddesi %70 verimle elde edilmiştir (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.67 (s, 1H), 4.93 (s, 2H), 7.27 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 7.43 (t,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 7.51 (t,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 7.83 (t,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.95 (dd,  $J = 8.7$ , 2.3 Hz, 1H), 8.22 (s, 1H) 10.58 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  29.76, 56.58, 77.02, 79.98, 113.29, 122.20, 125.21, 125.62, 125.75, 126.36, 128.20, 130.26, 137.06, 138.83, 140.40, 141.77, 159.87, 189.89.



Şekil 4.3. Türev-2 molekülünün  $^1\text{H}$  NMR spektrumu.



Şekil 4.4. Türev-2 molekülünün  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu.

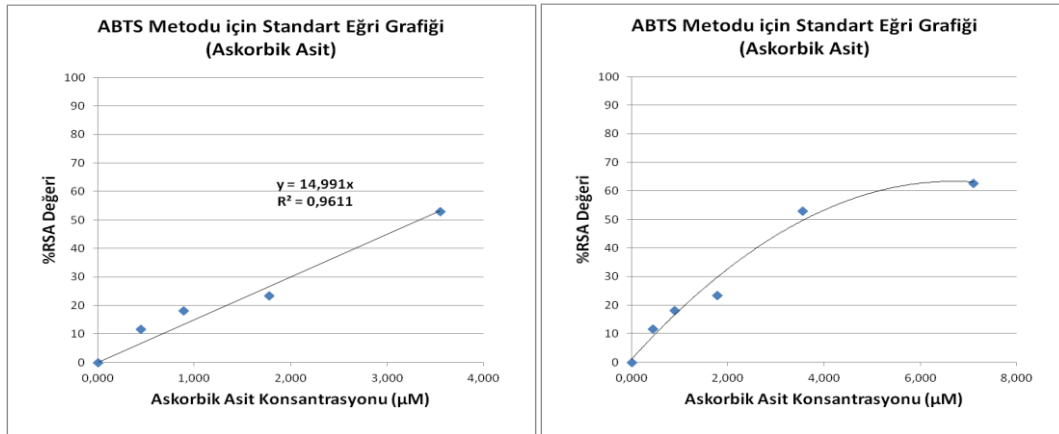


## 4.2. ABTS Metodu ile Antoksidan kapasitelerinin Ölçümü

ABTS metoduyla, türevlerin antioksidan testlerinin gerçekleştirilmesinden evvel, askorbik asit (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.5), kuarsetin (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.6) ve troloks (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.7) standartlarının toplam antioksidan kapasite verileri ölçülmüş ve  $EK_{50}$  değerleri belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. ABTS metodu ile askorbik asit için ölçülen değerler

Reaksiyon Ortamındaki Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	$ABS_{734-1}$	$ABS_{734-2}$	$ABS_{734-3}$	$ABS_{734-AVG}$	%RSA	SD
7.097	0.099	0.098	0.100	0.099	62.642	0.001
3.549	0.128	0.125	0.121	0.125	52.956	0.004
1.777	0.199	0.200	0.210	0.203	23.396	0.006
0.886	0.215	0.218	0.217	0.217	18.239	0.002
0.443	0.232	0.235	0.235	0.234	11.698	0.002
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<b>KÖR</b>	0.264	0.267	0.264	0.265		0.002

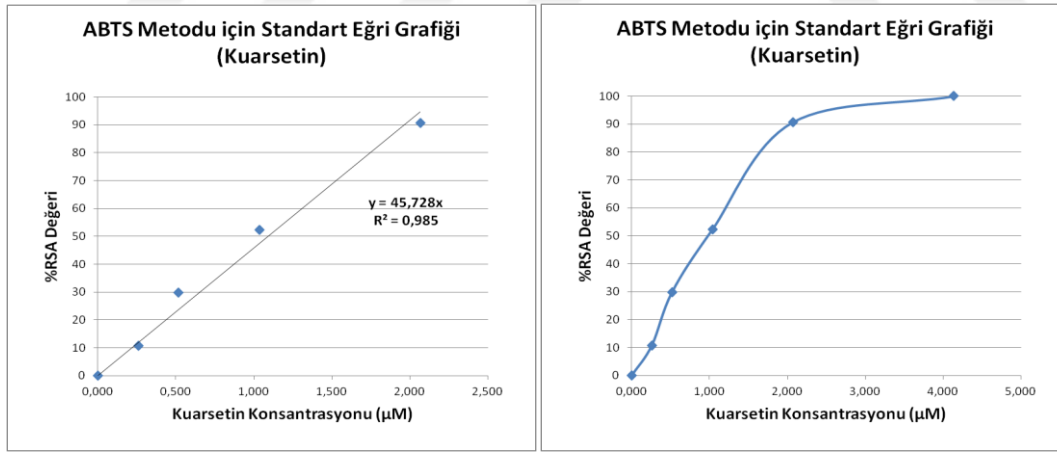


Şekil 4.5. ABTS metodu ile standart olarak kullanılan Askorbik asidin konsantrasyon-% inhibisyon grafiği;  $EK_{50}$  değeri  $3,340 \mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır.

Üç tekrarlı yapılan ölçümlerde, ortalamanın çok dışında yer alan, bir başka ifadeyle diğer iki tekrardan istatistiksel olarak uzakta yer alan veriler iptal edilerek tekrar ortalama hesaplanmıştır.

Çizelge 4.2. ABTS metodu ile kuarsetin için ölçülen değerler

Reaksiyon Ortamındaki Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	$\text{ABS}_{734-1}$	$\text{ABS}_{734-2}$	$\text{ABS}_{734-3}$	$\text{ABS}_{734-AVG}$	%RSA	SD
4.136	0.000	0.000	0.000	0.000	100.000	0.000
2.068	0.022	0.026	0.022	0.023	90.691	0.002
1.036	0.116	0.128	0.115	0.120	52.261	0.007
0.516	0.187	0.173	0.168	0.176	29.787	0.010
0.258	0.225	0.229	0.217	0.224	10.771	0.006
0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<b>KÖR</b>	0.253	0.247	0.252	0.251		0.003

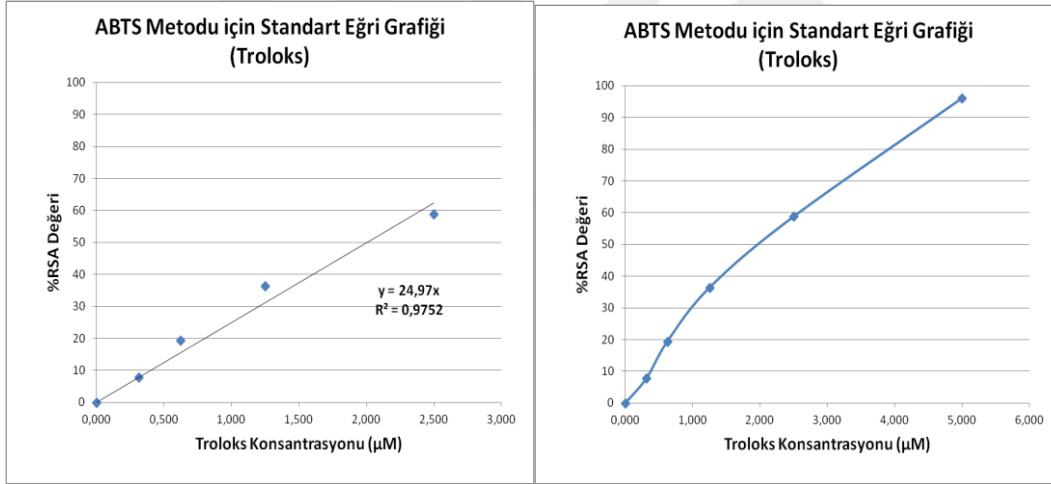


Şekil 4.6. ABTS metodu ile standart olarak kullanılan Kuarsetinin konsantrasyon-% inhibisyon grafiği;  $\text{EK}_{50}$  değeri  $1,093 \mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır.

Standartlarda, doygunluk noktası gözlemlenmiş ve ayrı grafikler olarak gösterilmiştir. Bununla birlikte,  $\text{EK}_{50}$  değeri hesaplanan eğilim çizgisine doygunluk seviyesindeki veri noktaları dahil edilmemiş; doğrusal kısımda hesaplama yapılmıştır.

Çizelge 4.3. ABTS metodu ile troloks için ölçülen değerler

Reaksiyon Ortamındaki Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	ABS <sub>734-1</sub>	ABS <sub>734-2</sub>	ABS <sub>734-3</sub>	ABS <sub>734-AVG</sub>	%RSA	SD
4.994	0.010	0.009	0.010	0.010	96.027	0.001
2.497	0.101	0.102	0.098	0.100	58.767	0.002
1.251	0.144	0.155	0.165	0.155	36.438	0.011
0.623	0.198	0.190	0.200	0.196	19.452	0.005
0.312	0.227	0.224	0.222	0.224	7.808	0.003
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0,000	0.000
<b>KÖR</b>	0.241	0.259	0.230	0.243		0.015

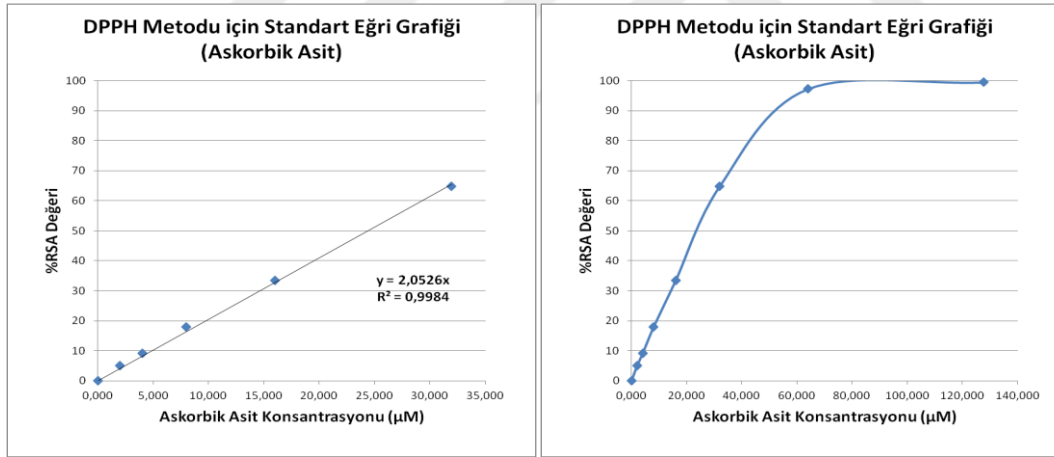
Şekil 4.7. ABTS metodu ile standart olarak kullanılan Troloks'un konsantrasyon-% inhibisyon grafiği; EK<sub>50</sub> değeri 2,002  $\mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır.

### 4.3. DPPH Metodu İle Antoksidan kapasitelerinin Ölçümü

DPPH metoduyla, türevlerin antioksidan testlerinin gerçekleştirilmesinden evvel, askorbik asit (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.8), kuarsetin (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.9) ve troloks (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.10), standartlarının toplam antioksidan kapasite verileri ölçülmüş ve EK<sub>50</sub> değerleri belirlenmiştir.

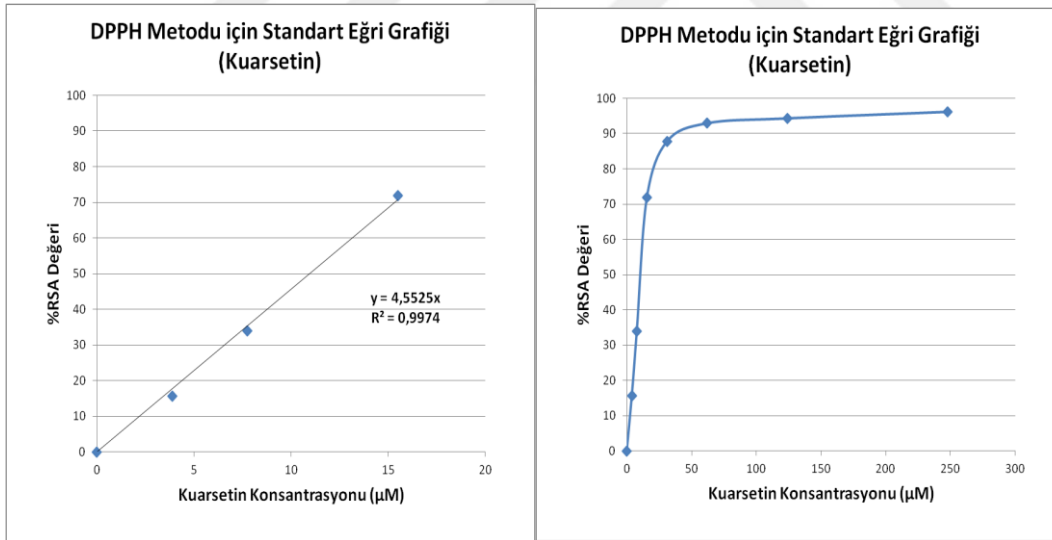
Çizelge 4.4.DPPH metodu ile askorbik asit için ölçülen değerler

Reaksiyon Ortamındaki Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	$\text{ABS}_{517-1}$	$\text{ABS}_{517-2}$	$\text{ABS}_{517-3}$	$\text{ABS}_{517-AVG}$	%RSA	SD
127.754	0.006	0.007	0.006	0.006	99.468	0.001
63.877	0.035	0.035	0.030	0.033	97.201	0.003
31.938	0,424	0.416	0.420	0.420	64.736	0.004
15.969	0.796	0.795	0.790	0.794	33.361	0.003
7.985	0.989	0.967	0.979	0.978	17.856	0.011
3.992	1.086	1.078	1,ç085	1.083	9.068	0.004
1.996	1.125	1.134	1.136	1.132	4.982	0.006
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<b>KÖR</b>	1.192	1.188	1.193	1.191		0.003

Şekil 4.8. ABTS metodu ile standart olarak kullanılan Askorbik asidin konsantrasyon-% inhibisyon grafiği;  $\text{EK}_{50}$  değeri  $24,359 \mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır.

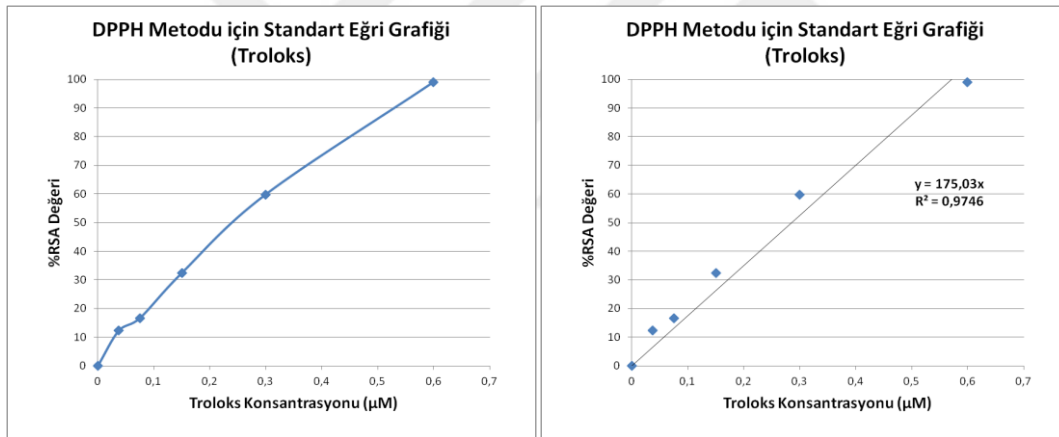
Çizelge 4. 5. DPPH metodu ile kuarsetin için ölçülen değerler

Reaksiyon Ortamındaki Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	$\text{ABS}_{517-1}$	$\text{ABS}_{517-2}$	$\text{ABS}_{517-3}$	$\text{ABS}_{517-AVG}$	%RSA	SD
248.150	0.034	0.040	0.038	0.037	96.155	0.003
124.075	0.057	0.051	0.058	0.055	94.301	0.004
62.38	0.074	0.067	0.065	0.069	92.928	0.005
31.19	0.117	0.118	0.122	0.119	87.745	0.003
15.09	0.272	0.280	0.270	0.274	71.782	0.005
7.55	0.639	0.641	0.643	0.641	33.986	0.002
3.77	0.819	0.820	0.820	0.820	15.585	0.001
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<b>KÖR</b>	0.970	0.972	0.971	0.971		0.001

Şekil 4.9. DPPH metodu ile standart olarak kullanılan Kuarsetinin konsantrasyon-% inhibisyon grafiği;  $\text{EK}_{50}$  değeri 10,983  $\mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.6. DPPH metodu ile troloks için ölçülen değerler

Reaksiyon Ortamındaki Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	$\text{ABS}_{517-1}$	$\text{ABS}_{517-2}$	$\text{ABS}_{517-3}$	$\text{ABS}_{517-AVG}$	%RSA	SD
0.599	0.013	0.012	0.012	0.012	98.918	0.001
0.300	0.463	0.463	0.450	0.459	59.754	0.008
0.150	0.771	0.756	0.786	0.771	32.349	0.015
0.075	0.946	0.925	0.980	0.950	16.613	0.028
0.037	0.986	1.006	1.007	1.000	12.284	0.012
0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<b>KÖR</b>	1.137	1.142	1.140	1.140		0.003

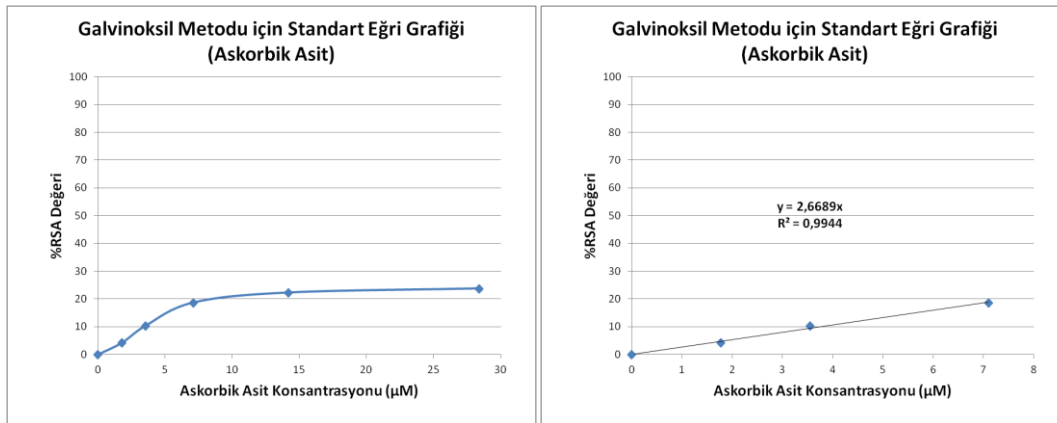
Şekil 4.10. DPPH metodu ile standart olarak kullanılan Troloks'un konsantrasyon-% inhibisyon grafiği;  $\text{EK}_{50}$  değeri  $0,286 \mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır.

#### 4.4. Galvinoxil Metodu İle Antoksidan Kapasitelerinin Ölçümü

Galvinoxil metoduyla, türevlerin antioksidan testlerinin gerçekleştirilmesinden evvel, askorbik asit (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.11), kuarsetin (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.12) ve troloks (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.13) standartlarının toplam antioksidan kapasite verileri ölçülmüş ve  $EK_{50}$  değerleri belirlenmiştir

Çizelge 4.7. Galvanoksil metodu ile askorbik asit için ölçülen değerler

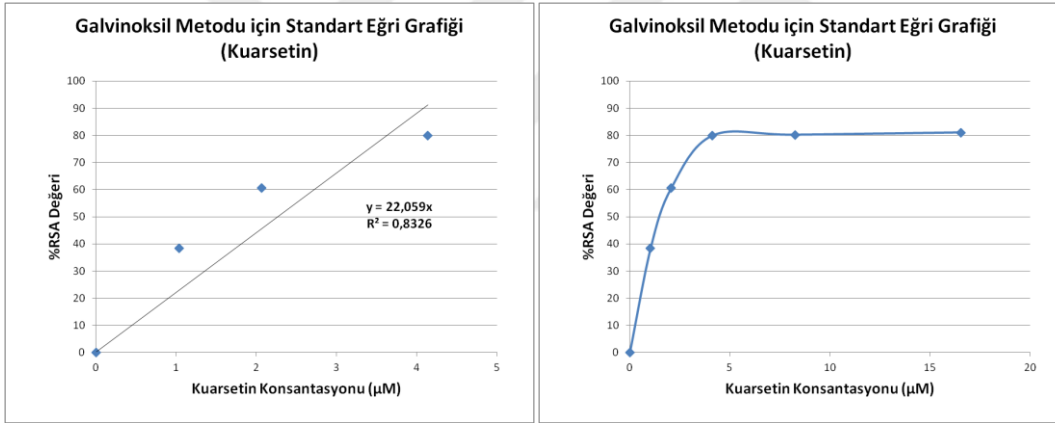
Reaksiyon Ortamındaki Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	ABS <sub>428-1</sub>	ABS <sub>428-2</sub>	ABS <sub>428-3</sub>	ABS <sub>428-AVG</sub>	%RSA	SD
28.390	0.748	0.750	0.742	0.747	23.732	0.004
14.195	0.760	0.761	0.762	0.761	22.268	0.001
7.097	0.788	0.800	0.801	0.796	18.658	0.007
3.549	0.880	0.878	0.876	0.878	10.317	0.002
1.777	0.935	0.939	0.940	0.938	4.188	0.003
0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<b>KÖR</b>	0.978	0.980	-	0.979		0.001



Şekil 4.11. Galvinoxil metodu ile standart olarak kullanılan Askorbik asidin konsantrasyon-% inhibisyon grafiği;  $EK_{50}$  değeri 18,734  $\mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.8. Galvanoksil metodu ile kuarsetin için ölçülen değerler

Reaksiyon Ortamındaki Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	ABS <sub>428</sub> -1	ABS <sub>428</sub> -2	ABS <sub>428</sub> -3	ABS <sub>428</sub> -AVG	%RSA	SD
16.543	0.171	0.170	0.172	0.171	81.042	0.001
8.272	0.178	0.177	0.181	0.179	80.192	0.002
4.136	0.181	0.181	0.182	0.181	79.897	0.001
2.068	0.360	-	0.352	0.356	60.532	0.006
1.036	0.558	0.554	0.557	0.556	38.322	0.002
0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<b>KÖR</b>	0.900	0.901	0.905	0.902		0.003

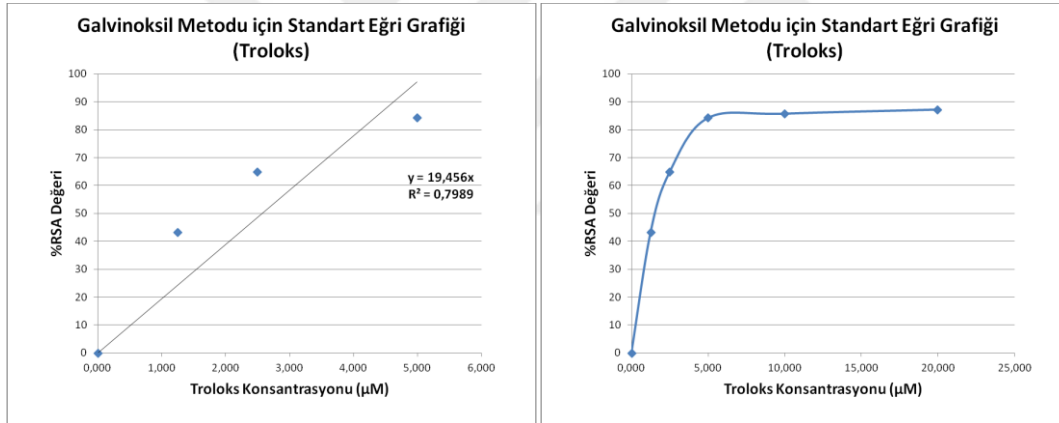


Şekil 4.12. Galvanoksil metodu ile standart olarak kullanılan Kuarsetinin konsantrasyon-% inhibisyon grafiği; EK<sub>50</sub> değeri 2,267  $\mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır.



Çizelge 4.9. Galvanoksil metodu ile troloks için ölçülen değerler

Reaksiyon Ortamındaki Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	ABS <sub>428</sub> -1	ABS <sub>428</sub> -2	ABS <sub>428</sub> -3	ABS <sub>428</sub> -AVG	%RSA	SD
19.977	0.748	0.750	0.742	0.747	23.732	0.004
9.988	0.760	0.761	0.762	0.761	22.268	0.001
4.994	0.788	0.800	0.801	0.796	18.658	0.007
2.497	0.880	0.878	0.876	0.878	10.317	0.002
1.251	0.935	0.939	0.940	0.938	4.188	0.003
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<b>KÖR</b>	0.978	0.980	-	0.979		0.001

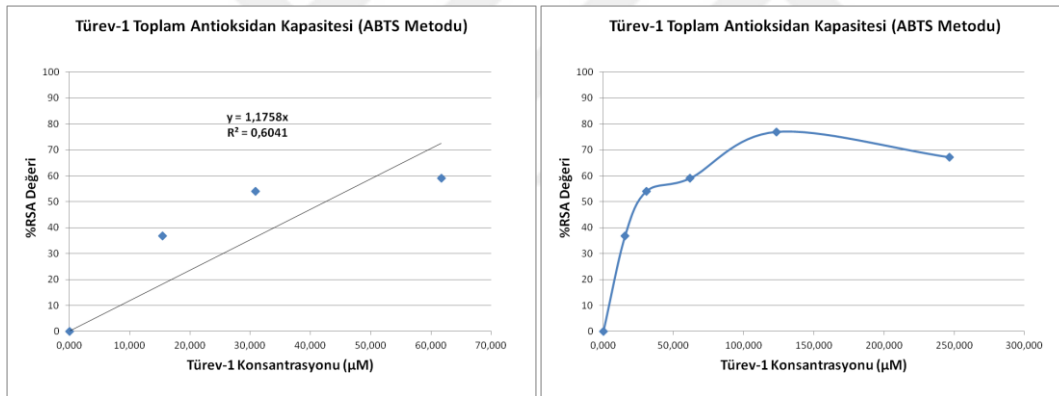


Şekil 4.13. Galvanoksil metodu ile standart olarak kullanılan Troloks'un konsantrasyon-% inhibisyon grafiği;  $EK_{50}$  değeri  $2,570 \mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır.

Çalışmanın bir sonraki basamağında, yeni sentezlenmiş iki benzotiyofen türevinin antioksidan kapasiteleri üç farklı metotla test edilmiştir. Türev-1 için ABTS prosedürü sonucunda (Çizelge 4.10, Şekil 4.14)  $EK_{50}$  değeri hesaplanabilmiştir. Ancak diğer iki metotla yapılan deneylerde  $EK_{50}$  değeri hesaplamamıza yetecek derecede yüksek %RSA değerleri izlenmemiştir (Çizelge 4.11-4.12, Şekil 4.15-4.16). Türev 2- üzerinde yapılan testlerin hiçbirinde  $EK_{50}$  değerine ulaşılammıştır (Çizelge 4.13-4.14-4.15, Şekil 4.17-4.18-4.19).

Çizelge 4.10. ABTS metodu Türev-1 2-hidroksi-5-(3-iyodobenzo[b]tiyofen-2-yl)benzaldehit için ölçülen değerler

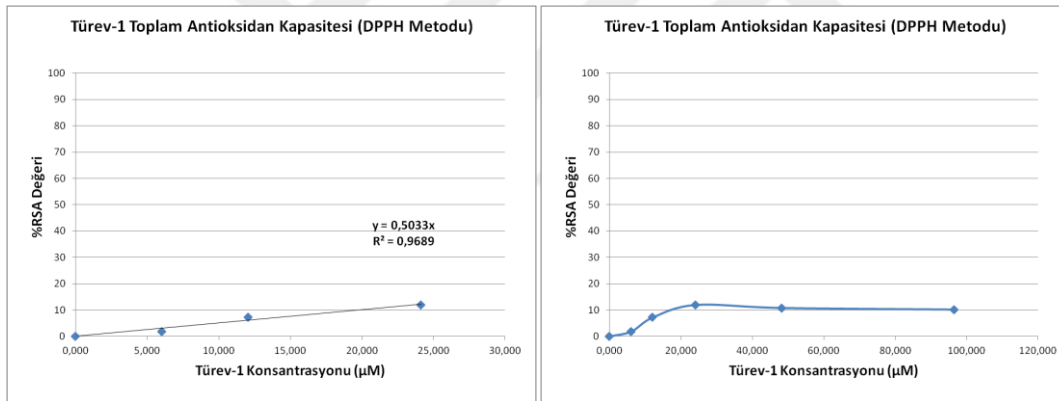
Reaksiyon Ortamındaki Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	ABS <sub>734-1</sub>	ABS <sub>734-2</sub>	ABS <sub>734-3</sub>	ABS <sub>734-AVG</sub>	%RSA	SD
246.749	0.090	0.096	0.076	0.087	67.127	0.010263
123.375	0.061	0.063	0.060	0.061	76.913	0.001528
61.87	0.108	0.110	-	0.109	58.971	0.001414
30.44	0.122	0.122	0.122	0.122	54.078	0
15.422	0.167	0.168	0.169	0.168	36.763	0.001
0	0	0	0	0	0.000	
<b>KÖR</b>	0.265	0.267	0.265	0.266		0.001155



Şekil 4.14. ABTS metodu ile Türev-1 maddesinin farklı konsantrasyonlardaki % inhibisyon (%RSA) grafiği;  $\text{EK}_{50}$  değeri 42,524  $\mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.11. DPPH metodu Türev-1 2-hidroksi-5-(3-iyodobenzo[b]tiyofen-2-i)benzaldehit için ölçülen değerler

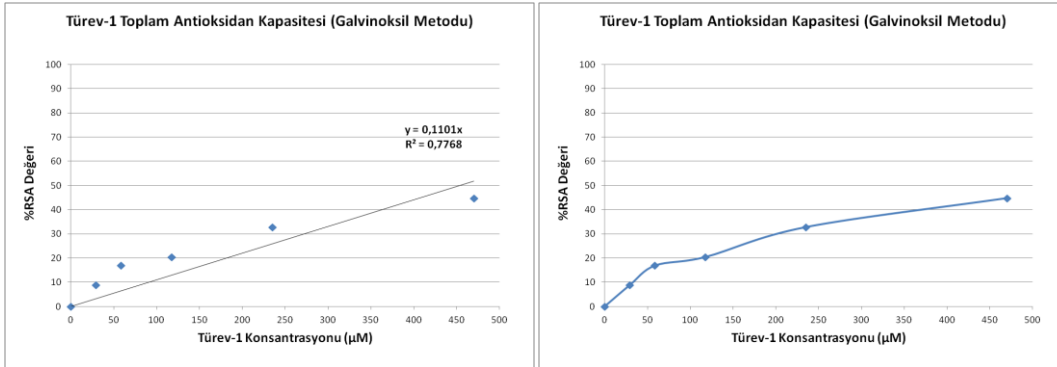
Reaksiyon Ortamındaki Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	$\text{ABS}_{517-1}$	$\text{ABS}_{517-2}$	$\text{ABS}_{517-3}$	$\text{ABS}_{517-\text{AVG}}$	%RSA	SD
96.528	0.865	0.875	0.894	0.878	10.164	0.014731
48.264	-	0.873	0.871	0.872	10.778	0.001414
24.132	-	0.850	0.872	0.861	11.903	0.015556
12.066	0.906	0.901	0.915	0.907	7.162	0.007095
6.033	0.967	0.952	-	0.960	1.825	0.010607
0	0	0	0	0	0.000	
<b>KÖR</b>	0.972	0.966	0.994	0.977		0.014742



Şekil 4.15. DPPH metodu ile Türev-1 maddesinin farklı konsantrasyonlardaki % inhibisyon (%RSA) grafiği;  $\% \text{RSA} / \text{Uygulanan konsantrasyon} = 0,493 \mu\text{M}^{-1}$

Çizelge 4.12. Galvanoksil metodu Türev-1 2-hidroksi-5-(3-iyodobenzo[b]tiyofen-2-  
i)benzaldehit için ölçülen değerler

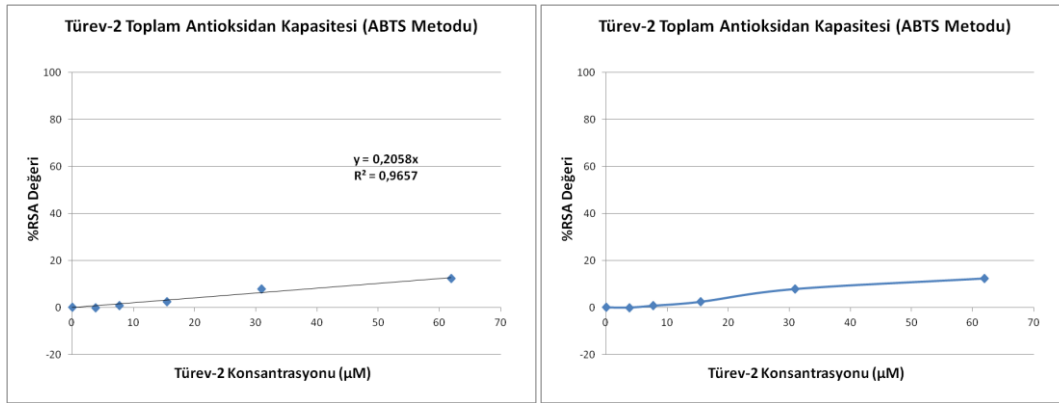
Reaksiyon Ortamındaki Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	ABS <sub>428-1</sub>	ABS <sub>428-2</sub>	ABS <sub>428-3</sub>	ABS <sub>428-AVG</sub>	%RSA	SD
469.995	0.538	0.541	-	0.540	44.780	0.002121
234.998	0.668	0.650	0.652	0.657	32.787	0.009866
117.499	0.780	0.775	0.778	0.778	20.403	0.002517
58.749	0.816	0.805	0.815	0.812	16.888	0.006083
29.375	0.894	0.887	-	0.891	8.854	0.00495
0	0	0	0	0	0.000	
<b>KÖR</b>	0.978		0.976	0.977		0.001414



Şekil 4.16. Galvanoksil metodu ile Türev-1 maddesinin farklı konsantrasyonlardaki %  
inhibisyon (%RSA) grafiği; %RSA/Uygulanan konsantrasyon =  $0,090 \mu\text{M}^{-1}$

Çizelge 4.13. ABTS metodu ile Türev-2 2-(etiniloksi)-5-(3-iyodobenzo[b]tiyofen-2-yl)benzaldehit için ölçülen değerler

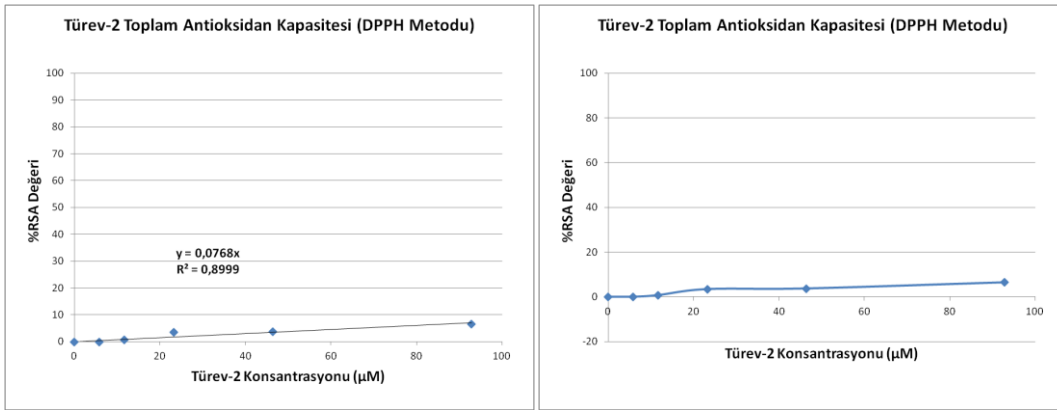
Reaksiyon Ortamındaki Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	ABS <sub>734-1</sub>	ABS <sub>734-2</sub>	ABS <sub>734-3</sub>	ABS <sub>734-AVG</sub>	%RSA	SD
61.890	0.240	0.248	0.249	0.246	12.366	0.004933
30.945	0.263	0.263	0.249	0.258	7.848	0.008083
15.473	0.285	0.280	0.256	0.274	2.378	0.015503
7.736	0.276	0.279	0.280	0.278	0.713	0.002082
3.868	0.281	0.280	-	0.281	-0.059	0.000707
0.000	0	0	0	0	0.000	
<b>KÖR</b>	0.280	0.280	0.281	0.280		0.000577



Şekil 4.17. ABTS metodu ile Türev-2 maddesinin farklı konsantrasyonlardaki % inhibisyon (%RSA) grafiği;  $\% \text{RSA} / \text{Uygulanan konsantrasyon} = 0,200 \mu\text{M}^{-1}$

Çizelge 4.14. DPPH metodu ile Türev-2 2-(etniloksi)-5-(3-iyodobenzo[b]tiyofen-2-yl)benzaldehit için ölçülen değerler

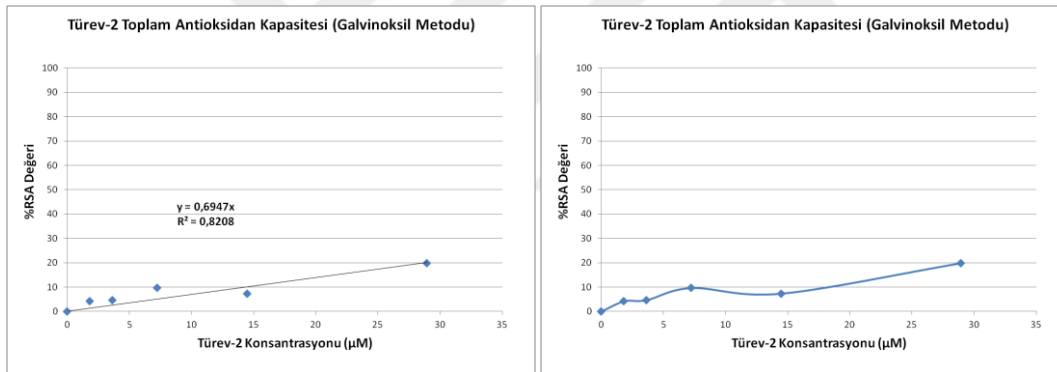
Reaksiyon Ortamındaki Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	ABS <sub>517-1</sub>	ABS <sub>517-2</sub>	ABS <sub>517-3</sub>	ABS <sub>517-AVG</sub>	%RSA	SD
92.836	0.945	0.950	-	0.948	6.620	0.003536
46.418	0.981	0.971	-	0.976	3.811	0.007071
23.209	1.003	0.953	0.981	0.979	3.515	0.02506
11.604	1.054	0.994	0.973	1.007	0.756	0.042036
5.802	0.981	1.006	1.056	1.014	0.033	0.038188
0	0	0	0	0	0.000	
<b>KÖR</b>	1.006	1.017	1.021	1.015		0.007767



Şekil 4.18. DPPH metodu ile Türev-2 maddesinin farklı konsantrasyonlardaki % inhibisyon (%RSA) grafiği; %RSA/Uygulanan konsantrasyon =  $0,071 \mu\text{M}^{-1}$

Çizelge 4.15. Galvanoksil metodu ile Türev-2 2-(etiniloksi)-5-(3-iyodobenzo[b]tiyofen-2-il)benzaldehit için ölçülen değerler

Reaksiyon Ortamındaki Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	ABS <sub>428-1</sub>	ABS <sub>428-2</sub>	ABS <sub>428-3</sub>	ABS <sub>428-AVG</sub>	%RSA	SD
28.965	0.658	0.657	-	0.658	19.882	0.000707
14.482	0.781	0.740	-	0.761	7.331	0.028991
7.241	0.725	-	0.758	0.742	9.647	0.023335
3.621	0.767	0.798	-	0.783	4.651	0.02192
1.810	0.793	0.780	-	0.787	4.163	0.009192
0	0	0	0	0	0.000	
<b>KÖR</b>	0.818	0.819	0.825	0.821		0.003786



Şekil 4.19. Galvanoksil metodu ile Türev-2 maddesinin farklı konsantrasyonlardaki % inhibisyon (%RSA) grafiği; %RSA/Uygulanan konsantrasyon =  $0,686 \mu\text{M}^{-1}$

Türev-1 ABTS metodunda %50'den fazla inhibisyonu gerçekleştirdiği için  $\text{EK}_{50}$  ( $\mu\text{M}$ ) değeri 42,52 olarak hesaplandı. Fakat DPPH ve Galvanoksil metodlarında % 50'den fazla inhibisyonu gerçekleştiremediği için  $\text{EK}_{50}$  ( $\mu\text{M}$ ) değeri hesaplanamadı. Türev-2 ABTS, DPPH ve Galvanoksil metodlarında % 50'den fazla inhibisyonu gerçekleştiremediği için  $\text{EK}_{50}$  ( $\mu\text{M}$ ) değeri hesaplanamadı. ; türev-1 ABTS metoduyla yapılan ölçümlerde yüksek antioksidan aktivite göstermesine rağmen DPPH ile yapılan testlerde aynı oranda yüksek aktivite gösterememiştir. Bunun sebebi, DPPH testinde serbest -OH grubuna sahip bileşiklerin diğerlerine oranla daha az etkinlikle reaksiyona girmesi olabilir (Selçuk, 2012).

#### 4.5. Benzotiyofen Türevlerinin GSTM2-2 İzoziminin Aktivitesi Üzerine Etkileri

Glutasyon *S*-transferaz (GST) (EC.2.5.1.18) enzimi toksik maddelerin atılmasında, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda rol oynayan bir enzimdir. GST enzimi GSH'ı kullanarak elektrofilik ve hidrofilik özellik gösteren bileşiklerin konjugasyonunu katalize eden enzimdir (Orhan ve ark., 1995). Bileşikleri GSH sistesine ait –SH (tiyol) grubu ile bağlayarak bileşiklerin elektrofilik merkezi ile GSH in sülfür atomu arasında bir tiyoester bağı oluşturarak onları etkisizleştirmektedir. Böylece bileşiklerin suda kolayca çözünebilir hale gelmesini sağlamaktadır (Hayes ve ark., 2005).

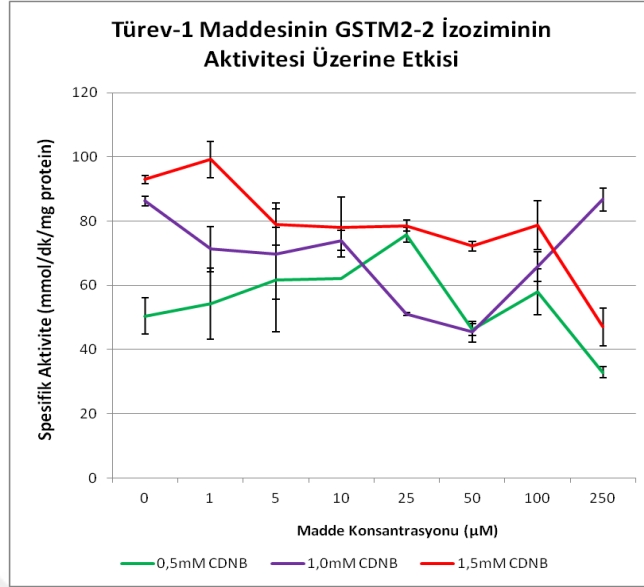
Organik Kimya araştırma grubu tarafından tasarlanarak sentezi gerçekleştirilen 2 farklı benzotiyofen türevinin (Türev-1 ve Türev-2) GSTM2-2 izozimi üzerine etkileri Habig *ve ark* (Habig, 1974) tarafından bildirilen ve daha sonra ELISA mikropılaka okuyucu sistem için optimize edilen (Yılmaz ve İşcan, 2014) metotla spektroskopik olarak belirlenmiştir.

Türev-1 ve Türev-2 reaksiyon ortamına 7 farklı konsantrasyonda (1µM, 5 µM, 10 µM, 25 µM, 50 µM, 100 µM ve 250 µM) eklenerek, CDNB substratının 3 farklı konsantrasyonunda (0,5mM, 1,0mM ve 1,5mM) aktivite ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

##### 4.5.1. Türev-1'nin GSTM2-2 izozimi aktivitesi üzerine etkileri

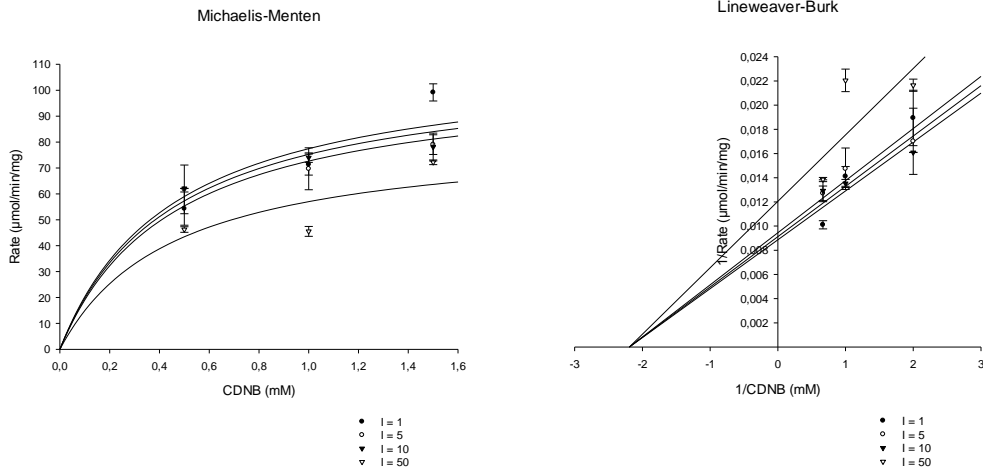
Türev-1 için yapılan ölçümlerde, 1µM, 5µM, 10µM ve 50µM madde konsantrasyonlarında ölçülen değerler kullanılarak inhibisyon modeli araştırılmıştır. 100µM ve 250µM madde konsantrasyonlarında kuyucuklarda bulanıklık oluşmuştur. Ayrıca 25µM madde konsantrasyonu için ölçülen değerlerde, 0,5mM CDNB konsantrasyonunda başarısız ölçümler elde edildiğinden, bütünlüğü bozmayacak şekilde, tüm CDNB konsantrasyonlarında analiz dışında bırakılmıştır (Şekil 4.20).

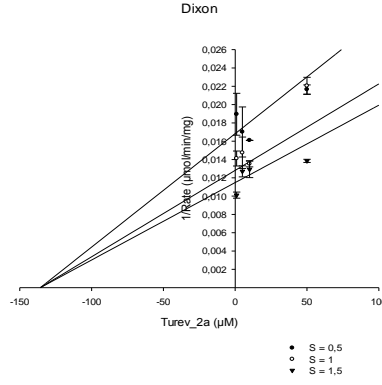




Şekil 4.20. Türev-1 maddesinin GSTM2-2 izozimi üzerine inhibisyon etkisi.

SigmaPlot yazılımı, girilen spesifik aktivite değerleri için, 1µM, 5µM, 10µM ve 50µM madde konsantrasyonlarında ve; 0,5mM, 1,0mM ve 1,5mM CDNB konsantrasyonları için işletilmiştir. Yazılım en uygun inhibisyon modeli olarak tam yarışmasız modeli önermiştir.





Parametreler			
	Değer	±Std. Hata	95% Güven Aralığı
Vmax	113.5877	10.0906	93,0578 ile 134.1176
Km	0.4558	0.1215	0.2085 ile 0.7030
Ki	135.7196	37.2044	60,0252 ile 211.4140
Goodness of Fit			
Serbestlik Derecesi	33		
AICc	172.441		
R <sup>2</sup>	0.634		
Kareler Toplamı	3.345.909		
Sy.x	10.069		
p değeri	0.112		

Şekil 4.21. Türev-1 için SigmaPlot analizleri sonucu oluşturulan kinetik grafikleri.

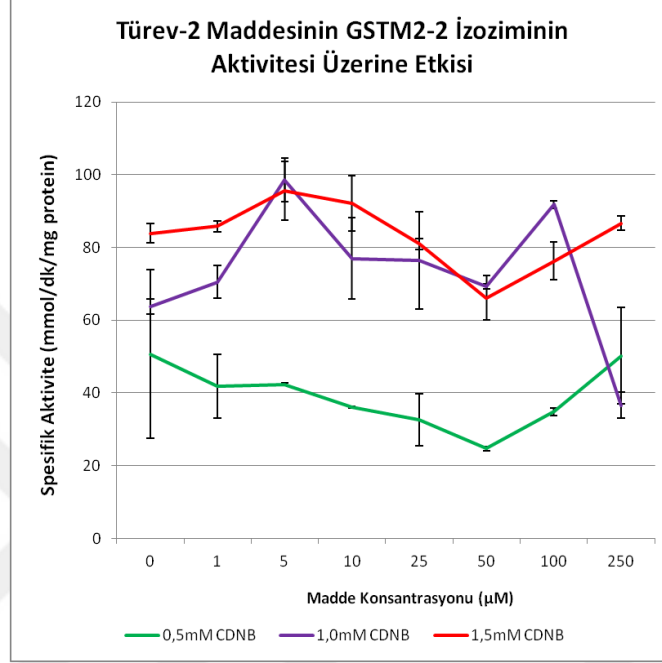
SigmaPlot yazılımı, girilen veriler için en uygun modeli tam yarışmasız olarak göstermekle birlikte tam bağımlı modelle yakın AICc ve R<sup>2</sup> değerleri hesaplanmıştır. Ancak uygulanan test, tam bağımlı model için geçemediğinden (Çizelge 4.16), değerlendirmede ilk sıradaki model kabul edilmiştir.

Çizelge 4.16. Türev-1 için enzim kinetik modellerinin karşılaştırılması

Rank by AICc	Equation	R <sup>2</sup>	AICc	Sy.x	Test	Runs Convergence
1	Noncompetitive (Full)	0,63437	172,441	10,06932	pass	Yes
2	Uncompetitive (Full)	0,63265	172,610	10,09297	fail	Yes
3	Competitive (Full)	0,62146	173,691	10,24556	pass	Yes
4	Noncompetitive (Partial)	0,63461	175,127	10,22206	pass	Yes
5	Mixed (Full)	0,63446	175,142	10,22417	pass	Yes
6	Uncompetitive (Partial)	0,63265	175,320	10,24946	fail	Yes
7	Competitive (Partial)	0,62146	176,400	10,40441	pass	Yes
8	Mixed (Partial)	0,63547	177,939	10,37335	pass	Yes

#### 4.5.2. Türev-2'nin GSTM2-2 izozimi aktivitesi üzerine etkileri

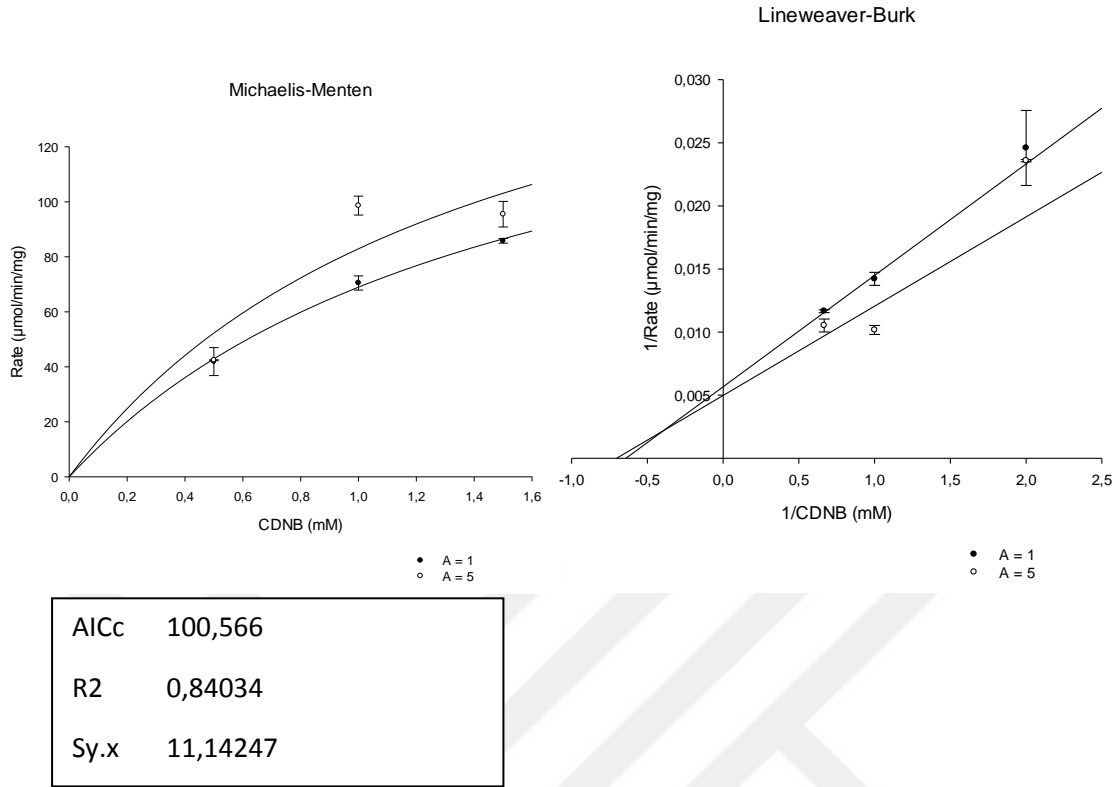
Türev-2 için düşük konsantrasyonlarda aktivasyon, yüksek konsantrasyonlarda ise inhibisyon gözlemlenmiş (Şekil 4.22), her iki durum SigmaPlot yazılımında test edilmiştir.



Şekil 4.22. Türev-2 maddesinin GSTM2-2 izozimi üzerine inhibisyon etkisi.

Aktivasyon testleri için, 1µM ve 5µM madde konsantrasyonları içeren kuyucuklarda ölçülen ve hesaplanan spesifik aktivite değerleri kullanılırken, inhibisyon testlerinde ise 5µM, 10µM ve 25µM madde konsantrasyonları uygulandığında elde edilen değerler kullanılmıştır. 50µM ve üzerinde Türev-2 konsantrasyonlarının yarattığı artış, aktivasyon özelliğinden değil; ortaya çıkan bulanıklıktan kaynaklanabileceği için değerlendirme dışı bırakılmıştır.

Aktivasyon testleri, "zorunlu olmayan aktivasyon" modeli üzerinden değerlendirilmiştir; çünkü, test edilen benzotiyofen türevleri GSTM2-2 izoziminin doğal aktivisinde gerekli olmayan (zorunlu bir komponentin yerini almayan) maddelerdir. Bu nedenle, olası bir aktivasyon ancak "zorunlu olmayan" koşullar içerisinde değerlendirilebilir (Şekil 4.22). SigmaPlot yazılımına 1µM ve 5µM madde konsantrasyonları içeren kuyucuklarda ölçülen değerler girilerek işlendiğinde, "zorunlu olmayan aktivasyon" modeli için test geçmiştir:



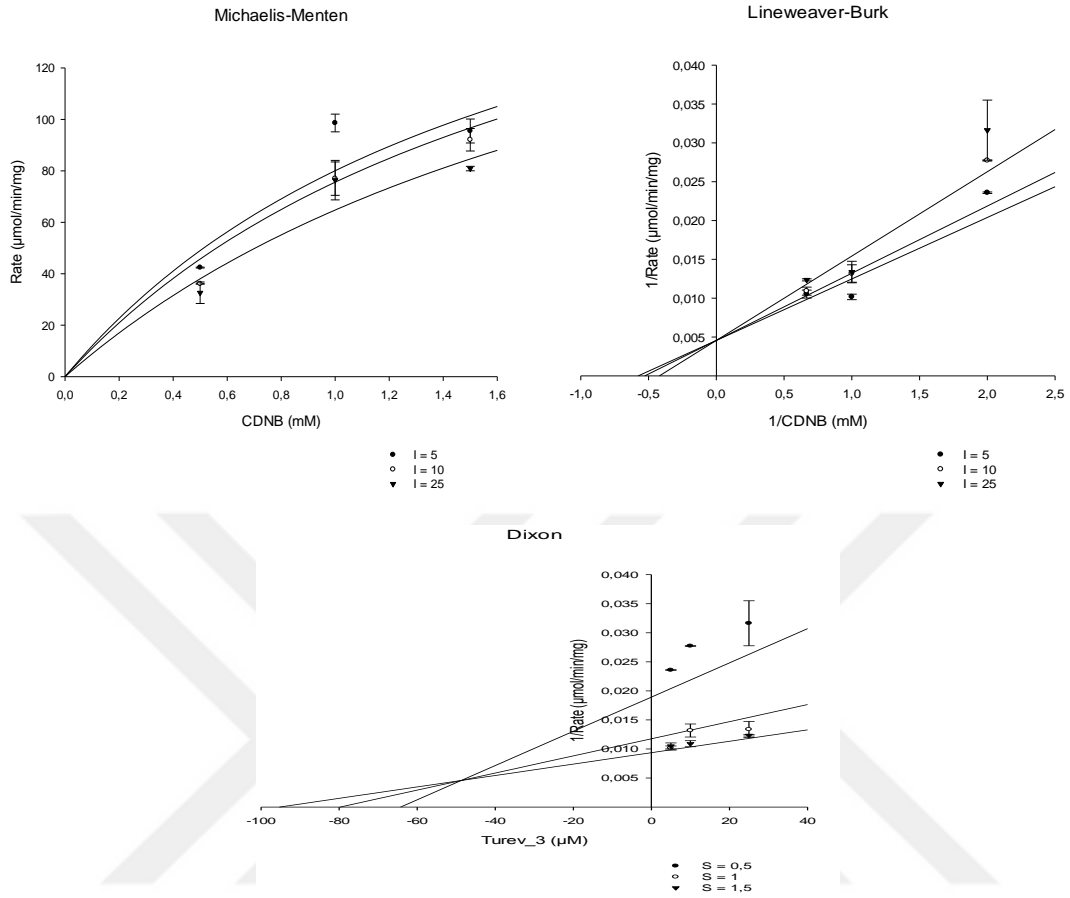
Şekil 4.23. Türev-2'nin aktivasyon etkisi için SigmaPlot analizleri sonucu oluşturulan kinetik grafikleri.

Aynı konsantrasyon aralığında, daha fazla sayıda test grubu denenerek yapılacak analizler bu türden bir aktivasyon etkisinin varlığını kesinleştirecektir; ancak, mevcut ölçümler muhtemel bir aktivasyon etkisi için kanıt teşkil edebilir.

5µM madde konsantrasyonundan sonra gözlemlenen inhibisyon etkisi için yapılan testler tüm modeller için geçerli sonuçlar vermiştir. AICc değeri esas alındığında tam yarışmalı ve tam yarışmasız modeller sıralamada oldukça yakın yer almıştır (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. Türev-2'nin inhibisyon etkisi için enzim kinetik modellerinin karşılaştırılması.

Rank by AICc	Equation	R <sup>2</sup>	AICc	Sy.x	Test	Runs	Convergence
1	Competitive (Full)	0,81768	138,613	11,51875		pass	Yes
2	Noncompetitive (Full)	0,81666	138,763	11,55088		pass	Yes
3	Uncompetitive (Full)	0,81123	139,551	11,72072		pass	Yes
4	Competitive (Partial)	0,82833	140,027	11,41770		pass	Yes
5	Mixed (Full)	0,81768	141,652	11,76650		pass	Yes
6	Uncompetitive (Partial)	0,81123	142,590	11,97280		pass	Yes
7	Mixed (Partial)	0,82861	143,324	11,66455		pass	Yes
8	Noncompetitive (Partial)	0,76206	148,840	13,44176	pass	Yes	



Tam yarışmalı model için hesaplanan kinetik parametreler:

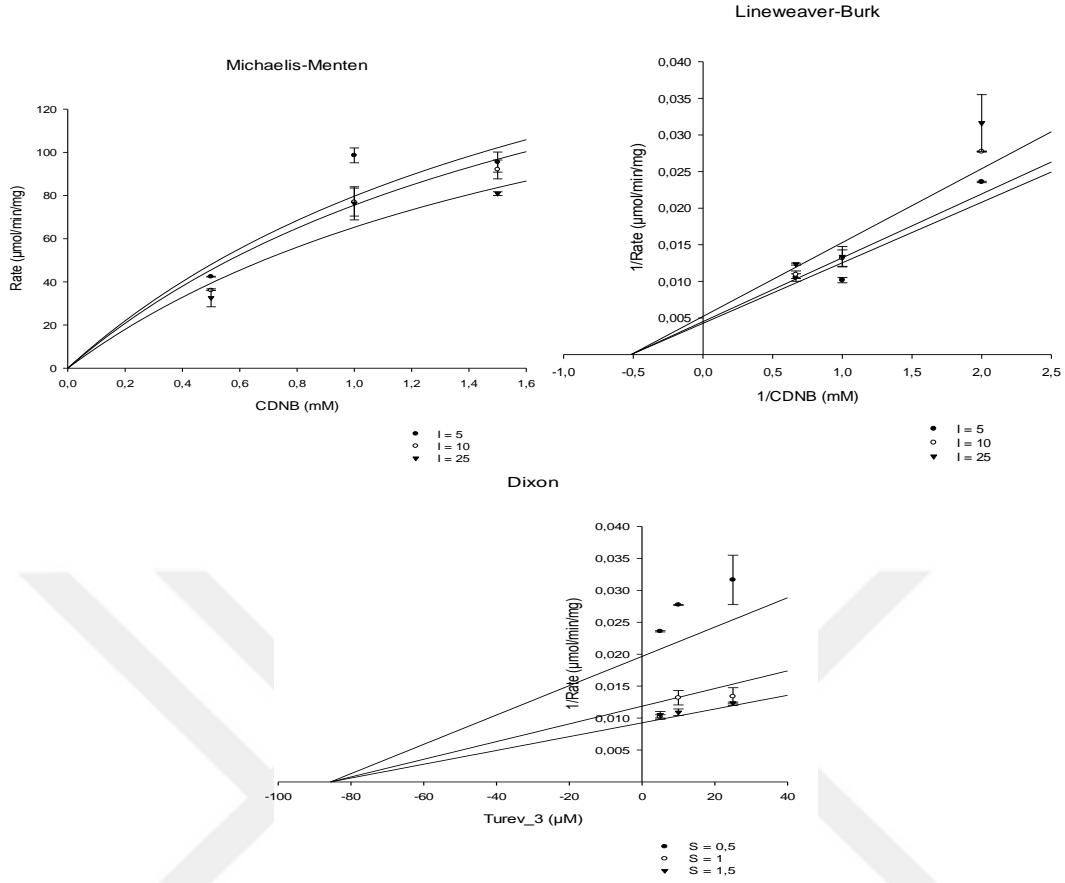
Parametreler

	Değer	±Std. Hata	95% Güven Aralığı
Vmax	218.6389	53.1440	108.9529 ile 328.3249
Km	1.5696	0,6686	0.1897 ile .,9496
Ki	48.7549	24.3737	-1.5510 ile 99,0608

Goodness of Fit

Serbestlik Derecesi	24
AICc	138.613
R <sup>2</sup>	0.818
Kareler Toplamı	3.184.359
Sy.x	11.519
p değeri	0.137

Şekil 4.24. Turev-2'nin inhibisyon etkisi için SigmaPlot analizleri sonucu oluşturulan kinetik grafikleri. Grafikler tam yarışmalı modele aittir.



Tam yarışmasız model için hesaplanan kinetik parametreler:

Parametreler

	Değer	±Std. Hata	95% Güven Aralığı
Vmax	247.3763	61.9092	119.5994 ile 375.1532
Km	1.9319	0.7537	0.3762 ile 3.4875
Ki	85.6527	37.8418	7.5495 ile 163.7559

Goodness of Fit

Serbestlik Derecesi	24
AICc	138.763
R <sup>2</sup>	0.817
Kareler Toplamı	3.202.150
Sy.x	11.551

Şekil 4.25. Türev-2'nin inhibisyon etkisi için SigmaPlot analizleri sonucu oluşturulan kinetik grafikleri. Grafikler tam yarışmasız modele aittir.



## 5. SONUÇ

Bu çalışmada yeni sentezlenen iki benzotiyofen türevinin *in vitro* antioksidan kapasitelerinin tayini ve GSTM2-2 izozimi üzerine muhtemel inhibisyon /aktivasyon etkilerinin araştırılması hedeflenmiş; sentetik türevlerin ilaç potansiyeline sahip olup olmadığı hakkında bir ön değerlendirme gerçekleştirilmiştir.

Heteroaromatik bileşikler anti-bakteriyal (Shakdofa ve ark., 2014) anti- kanser, (Rahmouni ve ark., 2016) A anti-enflamatuar (Kazemizadeh ve ark., 2016) anti-parazit (Coa ve ark., 2015) gibi aktivitelere sahip, birçok biyolojik, farmakolojik özellik gösteren moleküller olup, bilim adamlarının çalışma alanını oluşturmaktadır (Brasholz M., 2009).

Yeni sentezlenen benzotiyofen türevlerinin antioksidan kapasiteleri üç farklı antioksidan testi ile tayin edildi. Antioksidan aktivite tayinlerinde DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini, ABTS ve Galvinoxil yöntemlerini kullanıldı. ABTS metodu radikal katyonunun antioksidan tarafından absorbanasının engellenmesi temeline dayanan bir metot olup hem lipofilik hemde hidrofilik bileşenlerde kullanılır. Meydana gelen renk değişimine bakılarak antioksidan maddenin indirgeyici aktivitesi belirlenir. DPPH metodu ise serbest radikallerin proton transferi absorbanasının azalması temeline dayanan radikal süpürücü aktivitesini ölçen metottur. Galvinoxil yönteminin temeli, galvinoxil molekülünün bir aktif hidroksil grubu ile reaksiyona girmesi ve tepkime çözeltisinde galvinoxilin absorbanasının azalması ve galvinoxil ile reaksiyondaki aktif fenolik hidrojenlerinin miktarlarının hesaplanmasına dayanmaktadır. Çalışmamızda benzotiyofen türevlerinin antioksidan kapasiteleri tayin edilerek kullanılan standartlardan Troloks, Kuersetin ve Askorbik asite karşı kıyaslanmıştır.

Standart olarak kullanılan Askorbik asitin ABTS metodunda  $EK_{50}$  değeri  $3.340\mu M$ , DPPH metodunda  $EK_{50}$  değeri  $24,360\mu M$  ve Galvinoxil metodunda  $EK_{50}$  değeri  $18,730\mu M$  olarak hesaplanmıştır. Standart olarak kullanılan Troloksun ABTS metodunda  $EK_{50}$  değeri  $2,000\mu M$ , DPPH metodunda  $EK_{50}$  değeri  $0,290\mu M$  ve Galvinoxil metodunda  $EK_{50}$  değeri  $2,570\mu M$  olarak ölçülmüştür. Kuersetinin  $EK_{50}$  değerleri ise, ABTS metodunda  $1,090\mu M$ , DPPH metodunda  $10,980\mu M$  ve Galvinoxil metodunda  $2,270\mu M$  olarak belirlenmiştir.



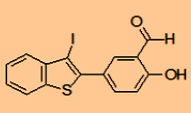
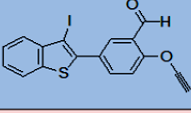
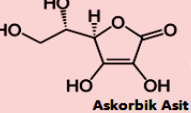
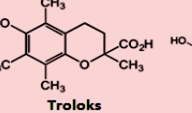
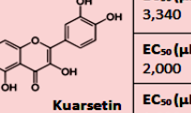
Antioksidan kapasite tayin sonuçlarından elde ettiğimiz verilere göre Türev-1 ABTS metodunda radikalın %50'sinden fazlasının inhibisyonunu gerçekleştirdi ve  $EC_{50}$  değeri  $42,52 \mu\text{M}$  olarak hesaplandı. Kullanılan standartlara göre daha az antioksidan aktivite sergilediği tespit edildi. DPPH ve Galvinoxil testlerinde ise, türev-1 radikalın %50'sinden fazlasının inhibisyonunu gerçekleştiremediği için  $EC_{50}$  değeri hesaplanamadı.

Türev-1 için SigmaPlot yazılımının verdiği istatistiksel değerlere göre,  $V_{\text{max}}$  değerinin azaldığı ancak  $K_m$  değerinin değişmediği tayin edilerek tam yarışmasız inhibisyon modeli tespit edildi.

Türev-2, ABTS, DPPH ve Galvinoxil testlerinde mevcut radikalın %50'sinden fazlasının inhibisyonunu gerçekleştiremediğinden dolayı  $EC_{50}$  değeri hesaplanamadı.

Türev-2 için, düşük konsantrasyonlarda aktivasyon,  $5 \mu\text{M}$  madde konsantrasyonundan sonra inhibisyon etki gözlenmiştir. SigmaPlot yazılımına  $1 \mu\text{M}$  ve  $5 \mu\text{M}$  madde konsantrasyonları içeren kuyucuklarda ölçülen değerler girilerek işlendiğinde, "zorunlu olmayan aktivasyon" modeli için testi geçmiştir. Aktivasyon testleri, "zorunlu olmayan aktivasyon" modeli üzerinden değerlendirilmiştir; çünkü, test edilen benzotiyofen türevleri GSTM2-2 izoziminin doğal aktivisinde gerekli olmayan (zorunlu bir komponentin yerini almayan) maddelerdir. Bu nedenle, olası bir aktivasyon ancak "zorunlu olmayan" koşullar içerisinde değerlendirilebilir. Yazılımın verdiği istatistiksel değerlere göre, nispeten yüksek madde konsantrasyonlarında, hem tam yarışmalı hem tam yarışmasız model öngörüldü.

Şekil 5.1. Benzotiyofen türevlerinin test edilen biyolojik aktivitelerinin sonuçları

Örnek	Moleküler Yapısı	Molekül Ağırlığı (g/mol)	GSTM2-2 İzozimi Üzerindeki İnhibisyon/Aktivasyon Modeli ( $K_m / V_{\text{maks}} / K_i$ )	Toplam Antioksidan Kapasitesi		
				ABTS Metodu	DPPH Metodu	Galvinoxil Metodu
Türev-1		379,940	Tam Yarışmasız İnhibisyon (0,456 / 113,588 / 135,720)	$EC_{50} (\mu\text{M})$ 42,52	$EC_{50} (\mu\text{M})$ -	$EC_{50} (\mu\text{M})$ -
				%RSA/Uyg. Kons. -	%RSA/Uyg. Kons. $0,493 \mu\text{M}^{-1}$	%RSA/Uyg. Kons. $0,090 \mu\text{M}^{-1}$
Türev-2		403,940	Tam Yarışmalı (1,570 / 218,639 / 48,755)	$EC_{50} (\mu\text{M})$ -	$EC_{50} (\mu\text{M})$ -	$EC_{50} (\mu\text{M})$ -
			Zorunlu Olmayan Aktivasyon ( $5 \mu\text{M}$ ve altındaki konsantrasyonlarda)	%RSA/Uyg. Kons. $0,200 \mu\text{M}^{-1}$	%RSA/Uyg. Kons. $0,071 \mu\text{M}^{-1}$	%RSA/Uyg. Kons. $0,686 \mu\text{M}^{-1}$
Askorbik Asit				$EC_{50} (\mu\text{M})$ 3,340	$EC_{50} (\mu\text{M})$ 24,360	$EC_{50} (\mu\text{M})$ 18,730
Troloks				$EC_{50} (\mu\text{M})$ 2,000	$EC_{50} (\mu\text{M})$ 0,290	$EC_{50} (\mu\text{M})$ 2,570
Kuarsetin				$EC_{50} (\mu\text{M})$ 1,090	$EC_{50} (\mu\text{M})$ 10,980	$EC_{50} (\mu\text{M})$ 2,270

Sonuç olarak, yeni sentezlenmiş iki benzotiyofen türevinin antioksidan kapasiteleri üç farklı metotla test edilmiştir. Test edilen mevcut standart antioksidan maddelere kıyasla çok düşük kapasite göstermişlerdir. Türev-1 için ABTS prosedürü sonucunda (Çizelge 5.1)  $EK_{50}$  değeri 42,52  $\mu$ M olarak hesaplanmıştır. Ancak diğer iki metotla yapılan deneylerde  $EK_{50}$  değeri hesaplamamıza yetecek derecede yüksek %RSA değerleri izlenmemiştir. Türev-2 üzerinde yapılan testlerin hiçbirinde  $EK_{50}$  değerine ulaşılamamıştır.

ABTS ve DPPH metotlarında test edilecek maddenin  $N^{\cdot}$  radikalini indirgeyebilmesine bakılır ki bu tezde kullanılan yeni benzotiyofen türevlerinin  $N^{\cdot}$  radikalini indirgenme güçleri kullanılan standartlara göre daha azdır. Türev-1 diğerine oranla daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olmakla birlikte, antioksidan takviyesi olarak ilaç tasarımında kullanılmayacak derecede zayıflardır.

Gerçekleştirilen çalışmanın sonuçları, antioksidan kapasiteleri zayıf olan bu iki türevin GSTM2-2 izozimi üzerinde belirgin bir inhibisyon potansiyellerinin bulunduğunu göstermiştir. Ancak, bu kapasitenin halihazırda piyasadaki inhibitör karakterli ilaçların seviyesine ulaştırılabilmesi için maddeler ile enzim arasındaki ilişkinin daha ileri moleküler biyoloji testleri ile açığa çıkarılması, bilgisayarlı hesaplama teknikleriyle (molecular docking çalışmaları) irdelenmesi ve nihayetinde aynı yapı üzerinden yeni grup/grupların eklenmesiyle türevlerin ilerletilmesi gerekmektedir.



## KAYNAKLAR

- Abreu, R., Falcao, S., Calhelha, R, C., Ferreira, C, F, R, I., Queiroz, M, J, R, P., Vilas-Boas, M., 2009. Insights in the antioxidant activity of diarylamines from the 2,3-dimethylbenzo[b]thiophene through the redox profile. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **628**: 43–47.
- Akgün, H., Balkan, A., Bilgin, A, A., Çalış, Ü., Gökhan, N., Dalkara, S., Erdoğan, H., Erol, D, D., Ertan, M., Özkanlı, F., Palaska, E., Saraç, S., Şafak, C., Tozkoparan, B., 2004. *Farmasötik Kimya*, 109-148. Hacettepe Yayınları, Ankara.
- Albayrak, S., Sağdıç, O., Aksoy, A., 2010. Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **26** (4): 401-409.
- Altın, A., Atalay, H., Bilal, T., 2017. Bir antioksidan olarak e vitamini. *Balikesir Sağlık Bil Derg* **6**(3): 149-156.
- Ali, S, S., Kasoju, N., Luthra, A., Singh A., Sharanabasava, H., Sahu, A., Bora, U., 2008. Indian Medicinal herbs as sources of antioxidants. *Science Direct, Food Research*, **41**:1-15.
- Akpoyraz, M., Durak, İ., 1995. Serbest radikallerin biyolojik etkileri. *Ankara Tıp Mecmuası (The Journal of the Faculty of Medicine)*, **48**: 253-262.
- Aksoy, Y., 2002. Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. *T Klin Tıp Bilimleri*, **22**: 442-448.
- Alqasoumi, S, I., Ragab, F, A., Alafeefy, A, M., Galal, M., Ghorab, M, M., 2009. Ethyl 2-amino-4,5-dimethylthiophene-3-carboxylate. *Phosphorus, Sulfur and Silicon Relat. Elem*, **184**: 3241-3257.
- Ambrosone, C, B., Sweeney, C., Coles, B, F., Thompson, P, A., Mc Clure, G, Y., Korourian, S., Fares, M, Y., Stone, A., Kadlubar, F, F., Hutchins, L, F., 2001. Polymorphisms in glutathione S-transferases (GSTM1 and GSTT1) and survival after treatment for breast cancer. *Cancer Res*, **61**(19):7130-5.
- Arı, M., ÖGÜT, S., Döğer, F, K., 2017. Kanserin önlenmesinde antioksidanların rolü. *Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, **1**(2):67-74.
- Barak, C., Yaşar, S, B., Polifenollerin antioksidan özelliği ve zeytinyağında toplam polifenol tayini. *I.Ulusal Zeytin Öğrenci Kongresi*. 17-18 Mayıs 2008, Balıkesir. 10145.
- Baskin, S, I., Salem, H., 1997. Oxidants, Antioxidants, and Free Radicals. *CRC Press*
- Baykara, O., 2016. Kanser tedavisinde güncel yaklaşımlar. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, **5**(3): 154 -162.
- Baxter, N, J., Lilley, T.,H., Haslam, E., Williamson m.,P., 1997. Multiple Interactions between Polyphenols and a Salivary Proline-Rich Protein Repeat Result in Complexation and Precipitation. *Biochemistry*, **36**: 5566-5577.
- Becker, L, B., Vanden Hoek, T, L., SHAO, Z, H., Lİ, C, Q., Schumacker, P, T., 1999. Generation of superoxide in cardiomyocytes during ischemia before reperfusion. *Am J Physiol.*, **277**(6): 2240-6.
- Berger, M, M., 2005. Can oxidative damage be treated nutritionally? *Clinical Nutrition*, **24**: 172-183.
- Biradar, V, D., Mruthyunjayaswamy, B, H, M., 2013. Synthesis characterization and antimicrobial activity studies of some transition metal complexes derived from 3-

- chloro-n-[(1e)-(2-hydroxyphenyl)methylene]-6-methoxy-1-benzothiophene-2-carbohydrazide. *The Scientific World Journal*, **26**: 451629.
- Blois, M. S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **181**: 1199-1200.
- Board, P. G., 1981. Biochemical genetics of glutathione S-transferase in man. *Am J Hum Genet*, **33**: 36.
- Bondock, S., Fadaly, W., Metwally, M.A., 2010. Synthesis and antimicrobial activity of some new thiazole, thiophene and pyrazole derivatives containing benzothiazole moiety. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **45**: 3692-3701.
- Brasholz, M., Reissig, H, U., Zimmer, R., 2009. Sugars, alkaloids, and heteroaromatics: exploring heterocyclic chemistry with alkoxyallenes. *Acc Chem Res*, **42**(1): 45-56.
- Buratti, S., Lavine, J.E., 2002. Drugs and the liver: advances in metabolism, toxicity, and therapeutics. *Curr Opin Pediatr*, **14**: 601-607.
- Büyükuşlu, N., Yiğitbaşı, T., 2015. Reaktif oksijen türleri ve obezitede oksidatif stres. *Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **5**(3): 197.
- Büyüktuncel, E., 2013. Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal* **17**: 93-103.
- Carr, A. C., Zhu, B, Z., Frei, B., 2000. Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and alpha-tocopherol (vitamin E). *Circ Res*, **87**, 349-354.
- Charles D. J., Mary G. J., Andrew J. P., Mary K. P., Larry J. B., Allen R. T., Julie F. F., and James A. C., 1984. Antiestrogens. 2. Structure-activity studies in a series of 3-aryloxy-2-arylbenzo[b]thiophene derivatives leading to [6-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)benzo[b]thien-3-yl]-[4-[2-(1-piperidinyl)ethoxy]phenyl]methanone hydrochloride (LY 156758), a remarkably effective estrogen antagonist with only minimal intrinsic estrogenicity. *J. Med. Chem*, **27**: 1057 – 1066.
- Coa, J, C., Castrillon, W., Cardona, W., Carda, M., Ospina, V., Munoz, J, A., Velez, I, D., Robledo, S, M., 2015. Synthesis, leishmanicidal, trypanocidal and cytotoxic activity of quinoline-hydrazone hybrids. *Eur J Med Chem*, **101**: 746-53.
- Cohen, S, M., Wittenberg, J, F., Bryan, G, T., 1976. Effect of avitaminosis A and hypervitaminosis A on urinary bladder carcinogenicity of N-(4-(5-Nitro-2-furyl)-2-thiazolyl)formamide. *Cancer Res*, **36**(1): 2334-2339.
- Compoti, M., 1987. Glutathione depleting agents and lipid peroxidation in the aging rat. *Com Biochem Phys*, **88**: 177- 180.
- Cross, C, E., Halliwell, B., Borish, E, T., Prior, W., 1987. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med*, **107**: 526-645.
- Çaylak, E., 2011. Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi*: **9** (1):73-83.
- Çimen, M, B, Y., 1999. Flavonoidler ve antioksidan özellikleri. *T Klin Tıp Bilimleri* , **19**: 296-304.
- Çobanoğlu, S., 2005. *Substitue Tiyosemikarbazonlar ve Tiyadiazollerin Sentezi*. (Yüksek lisans tezi). Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Daidone, G., maggio, B., schillaci, D., 1990. Salicylanilide and its heterocyclic analogues. a comparative study of their antimicrobial activity. *Pharmazie*, **45**(6): 441-442.
- Dennis, M, M., Buettner, G, R., Daust, S., 1990. Transition metals as catalysts of “autoxidation” reactions. *Free Radical Biology and Medicine*, **8**(1): 95-108.

- Doğan, U., Habibi, M., Bülbüller, N., Ellidağ, H, Y., Mayir, B., Çakır, T., Aslaner, A., Koç, Ü., Gömceli, İ., Oruç, M, T., 2018. Effects of different intraabdominal pressure levels on oxidative stress markers in laparoscopic cholecystectomy. *Turk J Surg*, **34**(3): 212–216.
- Doğan, B., Yılmaz, G., Fentoğlu, Ö., Kırzioğlu, F, Y., 2010. Antioksidan vitaminlerin periodontal sağlıktaki rolü. *S.D.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **1**(2): 133-137.
- Duthie, G.G., Wahle, K.W.J. and James, W.P.T. 1989. Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. *Nutr. Res. Rev*, **2**: 51-62.
- Duvoix, A., Delhalle, S., Blasius, R., Schnekenburger, M., Morceau, F., Fougere, M., Henry, E., Galteau, M,M., Dicato ,M., Diederich, M., 2004. Effect of chemopreventive agents on glutathione Stransferase P1-1 gene expression mechanisms via activating protein 1 and nuclear factor kappaB inhibition. *Biochem. Pharmacol*, **68**: 1101–1111.
- Ekici, L., Sağdıç, O., 2008. Serbest Radikaller ve antioksidan gıdalarla inhibisyonu. *Gıda*, **33** (5): 251-260.
- Ergün, C., 2016. Antioksidan vitaminler ve bağışıklık sistemi. *Türkiye Klinikleri J Nutr Diet-Special Topics*, **2**(2): 56-61.
- Ergün, Y., 2017. Klinik Araştırmalar: Türkiye'deki Güncel Mevzuatın Bir Özeti . *KSÜ Tıp Fak Der*, **12**(1): 50-72.
- Feredoon, S., Janitha, P, K., Wanasundara, P, D., 1992. Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **32**(1): 67-103.
- Freeman, B, A., Crapo, J, D., 1982. Free radicals and tissue injury. *Lab Invest*, **47**: 412-26.
- Fraga, C. G., Galleano, M., Verstraeten s . V., Oteiza, P. I., 2010. Basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols. *Molecular Aspects of Medicine*, **31**(6): 435-45.
- Garewal, H, S., 1997. Antioxidants and Diseaseprevention. *Florida: CRC Press LLC*,
- Gechev, T. S., Van Breusegem, F., Stone, J. M., Denev, I., Laloi, C., 2006. Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death. *Bioessays*, **28**: 1091-1101.
- Gey, K, F., Puska, P., Jordan, P., Moser, U, K., 1991. Inverse correlation between plasma vitamin E and mortality from ischemic heart disease in cross-cultural epidemiology. *Am J Clin Nutr*, **53**: 326-334.
- Gouda, M, A., Bialy, S, A, A, E., 2014. Synthesis and Antioxidant Evaluation of Novel Sophisticated Carboxamides Based On 3-(Ethoxycarbonyl) 4,5,6,7Tetrahydro-1-Benzothiophen-2-Amine. *European Journal of Chemistry*, **5**(4): 644-651.
- Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Yaşar Durmaz, Y., 2006. Algal antioksidanlar. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, **23**(1/1): 85-89.
- Gözükara, E, M., 1989. *Biyokimya*. Ofset Repromat LTD Şti, 792-795, Ankara.
- Guengerich, F, P., 2006. Cytochrome P450s and other enzymes in drug metabolism and toxicity. *AAPS J*.10;8(1): 101-11.
- Gurtoo, H, L., Hipkens, J, H., Sharmo, S, D., 1981. Role of glutathione in the metabolism dependent toxicity and chemotherapy of cyclophosphamide. *Cancer Res*, **41**: 3584-91.
- Gül, I, R., Eryılmaz, G., K. Oğuz Karamustafalıoğlu, K, O., 2016. P-glikoprotein ve Tedaviye Dirençteki Rolü. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar*, **8**(1):19-31.

- Güleşci, N., Aygöl, İ., 2016. Beslenmede yer alan antioksidan ve fenolik madde içerikli çerezler *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* , 5(1): 109-123.
- Güran, Ş., 2005. Kanserden korunma. *Gülhane Tıp Dergisi*, 47: 324-326.
- Gürgöze, S, Y., Şahin, T., 2, Durak, M, H., 2007. Memelilerde ortalama yaşam süresi ve yaşlanma sürecinde serbest radikallerin rolü. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.* 33 (1): 43-49.
- Habig, W, H., Pabst, M, J., Jakoby, W, B., 1974. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*, 249(22):7130-9.
- Halliwell, B., Gutteridge, J, M., 1990. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol*, 186: 1-85.
- Hayes, J, D., Flanagan, J, U., Jowsey, I, R., 2005. Glutathione transferases. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45: 51-88.
- Herken, H., Aynacıoğlu, Ş., Esgü, K., Vırıt, O., 2001. Psikiyatri Hastalarında Sitokrom P450 2D6 Yavaş ve Ultra Hızlı Metabolizör Sıklıkları. *Türk Psikiyatri Dergisi*, 12(2): 83-88.
- Hortoon, A, A., Fairhursts, S., 1987. Lipid peroxidation and mechanisms of toxicity. *Crit rew Toxicol*, 18(1): 27-79.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R. L., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6): 1841-1856.
- Inoue, M., Sato, E, F., Nishikawa, M., Park, A, M., Kira, Y., Imada, I., Utsumi, K., 2003. Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life. *Curr. Med. Chem*, 10: 2495-2505.
- Isloor, A.M., Kalluraya, B., Pai, K, S., 2010. Synthesis, characterization and biological activities of some new benzo [b]thiophene derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistr*, 45: 825-830.
- İnal, S., 2013. **Afinite Kromatografisi Tekniği İle Peroksidaz Enziminin Kırmızı Pancardan (Beta vulgaris) Saflaştırılması ve Karakterizasyonu.** Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- İkizler, A., 1984. *Heterohalkalı Bileşikler*. KTÜ, 84: 178-182.
- İskit, A, B., 2006. Klinik (İlaç) Araştırma Dönemleri Sayı. İyi klinik uygulamaları (İKU), 13.
- Johansson, A., Ridderström, M., Mannervik, B., 2000. The human glutathione transferase p1-1 spesific inhibitor ter 117 designed for overcoming cytostatic-drug resistance is also a strong inhibitor of glyoxalase *I. Mol Pharmacology*, 57: 619-24.
- Jones, C, D., Jevnikar, M, G., Pike, A, J., Peters, M, K., Black, L, J., Thompson, A, R., Falcone, J, F., Clemens, J, A., 1984. Antiestrogens. 2. Structure-activity studies in a series of 3-aroysl- 2- arylbenzo[b] thiophene derivatives leading to [6-hydroxy-2-benzo[b]-thien-3-yl][4-[2-(1-piperidiny) ethoxy]phenyl]methanone hydrochloride (LY156758), a remarkably effective estrogen antagonist with only minimal intrinsic estrogenicity. *J. Med. Chem*, 27(8): 1057-1066.
- Josephy, P, D., Guengerich, F, P., John O. Miners, J, O., 2005. Phase I and phase II" drug metabolism: terminology that we should phase out?*Drug Metabolism Reviews*, 37(4): 575-580.
- Kapucu, E., Kahveci, H., Susam, Ö., çanta, Y., 2009. İlaçların ve kozmetik ürünlerin geliştirilme süreçleri ve doğa üzerine etkileri. Dokuz Eylül Üniversitesi.
- Karabulut, H., Gülay, M, Ş., 2016. Serbest radikaller. *MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg.* 4(1): 50-59 .

- Karabulut, H., Gülay, M, Ş., 2016. Antioksidanlar. **MAEÜ Vet Fak Derg**, **1(1)**: 65-76.
- Karadağ, A., Özçelik, B., Saner, S., 2009. Rewiew of methots to determine antioxidant Capacities. **Food Anal. Methods**, **2**:41-60.
- Kasap, Y., 2010. **Glutasyon (gsh) düzeyinin plasentada araştırılması .farmasötik toksoloji anabilim dalı.** (Yüksek lisans tezi ). Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Kazemizadeh, A, R., Shajari, N., Shapouri, R., Adibpour, N., Mofrad, R, T., 2016. Synthesis and anti-brucella activity of some new 1,3,4-oxadiazole derivatives containing a ferrocene unit. **Journal of the Iranian Chemical Society**, **13(7)**, 1349-1355.
- Kavas, G., 1989. Serbest radikaller ve organizma üzerindeki etkileri. **Türkiye Klinikleri**, **9** (1).
- Kawasaki, T.,Ago, Y., Kitao, T., Nashida, T., Akiko Takagi, A., Takuma, K., Matsuda, T., 2008. A neuroprotective agent, T-817MA (1-{3-[2-(1-benzothiophen-5-yl) ethoxy]propyl} azetid-3-ol maleate), prevents 1-methyl-4- phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced neurotoxicity in mice. **Neuropharmacology**, **55**: 654–660.
- Keha, E., Küvrevioğlu ,Ö.İ., 2009. **Biyokimya**. Aktif yayınları, 97-125, Erzurum.
- Kılınç, K., 1986. Kanserde oksijen radikalleri ve süperoksit dismutaz. **Biyokimya Dergisi**, **11**: 59-76.
- Kireççi, O, A., 2018. Bitkilerde enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar. **BEÜ Fen Bilimleri Dergisi**, **7** (2): 473-483.
- Kojo, S., 2004. Vitamin C: basic metabolism and its function as an index of oxidative stress. **Curr. Med. Chem**, **11**: 1041-1064.
- Lafuente, A., Pujoi, F., Carrelero, P., Villa, J, P., Cuchi, A., 1993. Human glutathionc S transferase mu (GST mu) deficiency as a marker for the susceptibilty to bladder and îarynx cancer among smokers. **Cancer Lett**, **15**: 68,49.
- Labo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra., 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. **Jul-Dec**, **4(8)**: 118–126.
- Lakehal, F., Wendum, D., Barbu, R., Becquemont, L., Poupon, R., Ballardur, P., Hannoun, L., OIS Ballet, F., Beaune, P, H., Housset, C., 1999. Phase I and Phase II drug-metabolizing enzymes are expressed and heterogeneously distributed in the biliary epithelium. **Hepatology**, **30(6)**: 1498-506.
- Larson, R.A. 1988. The Antioxidants of higher plants. **Phytochemistry**. **27(4)**: 969-978.
- Lehninger, A, L., 2005. Principles of biochemistry. Worth publsher, Acedemic Press, New York.
- Liebman, J,F., Greenberg, A. , 1988. Mechanistic principles of enzyme activity. **New York: VCH Publishers**.
- Lipinski, C. A., 2004. Lead-and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. **Drug Discovery Today. Technologies**, **1(4)**: 337–341.
- Lipshutz, B, H.; 1986. Five -membered heteroaromatic rings as intermediates inorganic synthesis. **Chem. Rev**, **86**: 795-819.
- Li, L, C., Xing-Guo Zhang, X, G., Ri-Yuan Tang, R, Y., Zhong, P., Jin-Heng Li, J, H., 2010. Copper-Catalyzed thiolation annulations of 1,4-dihalides with sulfides leading to 2-trifluoromethyl benzothiophenes and benzothiazoles. **J. Org. Chem**, **75**: 7037–7040.
- Lloyd, R,V., Hanna, P, M., Mason, R, P., 1997. The origin of the hydroxyl radical oxygen in the fenton reaction. **Free Radic Biol Med**, **22(5)**: 885- 888.



- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N., 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. *Pharmacogn Rev.* **4**(8): 118-126.
- Longuet-Higgins, H, C., 1949. Electronic structure of thiophene and related molecules Trans. *Faraday Soc.* **41**:173.
- Manisha, Whidul, H., Rajak, R., Deepali Jat, D., 2017. Oxidative stress and antioxidants an overview. *International Journal of Advanced Research and Review*, **2**(9): 110-119.
- Marklund S. 1982. Human copper-containing superoxide dismutase of high molecular weight. *Proc Natl Acad Sci USA*, **79**: 7634-8.
- Mazlum, B., 2012. Psikiyatride güncel yaklaşımlar antioksidan vitaminler ve psikiyatride kullanımı psikiyatride güncel yaklaşımlar. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar*, **4**(4): 486.
- McNeil, J, J., Robman, L., Tikellis, G., Sinclair, M,I., Mc Carty, C, A., Taylor, H, R., 2004. Vitamin E supplementation and cataract: randomized controlled trial. *Ophthalmology*, **111**: 75- 84.
- Meister, A., 1983. Selective modification of glutathione metabolism. *Science*, **220**: 472-477.
- Meister, A., 1991. Glutathione deficiency produced by inhibition of its synthesis, and its reversal; application in research and therapy. *Pharmacol Ther*, **51**: 155-85.
- Mishra, R.,Tomar, I., Singhal, S., and K. K. Jha., 2012. Facile synthesis of thiazolidinones bearing thiophene nucleus as antimicrobial agents. *Der Pharma Chemic*, **4** (1): 489-496.
- Mishra, R., Tomer, I., Kumar, S., 2012. Synthesis and antimicrobial evaluation of novel thiophene derivatives. *Der Pharmacia Sinica*, **3**(3): 332-336 .
- Mishra, R., K. K. Jha., Tomer, I., Kumar, S., 2011. Synthesis properties and biological activity of thiophene. *Der Pharma Chemic*, **3**(4): 38-54.
- Mitchel, J, B., Russol., 1987. The role of glutathione in radiation and drug induced cytotoxicity. *BJ Cancer*, **55**: 96-104.
- Muheb, A, S., Kivrak, A., Konus, M., Yilmaz, C., Aslihan Kurt-Kizildoğan, A, K., 2018. Synthesis and biological evaluation of novel benzothiophene derivatives. *Journal of Chemical*, **130**: 119.
- Neeraj, Pramod, J., Singh, S., Singh, J., 2013. Role of free radicals and antioxidants in human health and disease. *Int J Curr Res Rev*, **5**(19): 14-22.
- Nettesheim, P., Snyder, C., Williams, M, L., 1975. Effect of vitamin A on lung tumor induction in rats. *Proc Am Assoc Cancer Res*, **16**: 54.
- Newberne, P, M., Rogers, A, E., 1973. Rat colon carcinomas associated with aflatoxin and marginal vitamin A. *J Natl Cancer Inst* **50**(2): 439-448.
- Okan, O, T., Varlıbaş, H., Öz, M., İlhan Deniz, İ., 2013. Antioksidan analiz yöntemleri ve doğu karadeniz bölgesinde antioksidan kaynağı olarak kullanılabilir olacak odun dışı bazı bitkisel ürünler. *Orman Fakültesi Dergisi*, **13** (1):48-59.
- Orhan, H., Şahin, G., 1995. Glutatyon s-transferazların klinik ve toksikolojik önemi *.Türkiye Klinikleri J Med Sci*, **15**(5): 303-15.
- Özdemir, Z., Karakurt, A., 2016. İlaç Metabolizması ve Farmasötik Kimyada Önemi. *İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, **5** (2): 35-46.
- Öztürk, O., İsbir, T., 2004. Detoksifikasyon enzimleri v e akciğer kanserleri. *İst. Tıp Fak. Mecmuası*, **67**: 3.
- Pham-Huy, L, A., He, H., Pham-Huy, C., 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci*, **4**(2): 89-96.

- Qin, Z., Kastrati, I., Chandrasena, R.E.P., Liu, H., Yao, P., Petukhov, P.A., Judy L. Bolton, J. L., Thatcher, G, R, J., 2007. Benzothiophene Selective Estrogen Receptor Modulators with Modulated Oxidative Activity and Receptor Affinity. *Journal of Medicinal Chemistry*, **50**: 11.
- Rahmouni, A., Souiei, S., Belkacem, M, A., Romdhane , A., Bouajila,J., Ben Jannet, H., 2016. Synthesis and biological evaluation of novel pyrazolopyrimidines derivatives as anticancer and anti-5-lipoxygenase agents. *Bioorg Chem*, **66**: 160-8.
- Rajender Kumar, P., Raju, S., Satish Goud, P., Sailaja, M., Sarma, M.R., Omreddy, G., Prem Kumar, M., Krishna Reddy, V.V.R.M., Suresha, T., Hegde, P., 2004. Synthesis and biological evaluation of thiophene [3,2-b] pyrrole derivatives as potential anti-inflammatory agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **12**: 1221-1230.
- Rao, G, K., Subramaniam, R., 2015. Synthesis, Antitubercular and antibacterial activities of some quinazolinone analogs substituted with benzothiophene. *Chemical Sciences Journal*, **6**:2.
- Rashad, A, E., Shamroukh, A, H., Abdel- Megeid, R, E., Mostafa, A., Elshesney, R., Kandeil, A., Ali, M.A., Banert, K., 2010. Synthesis and screening of some novel fused thiophene and thienopyrimidine derivatives for anti-avian influenza virus (h5n1) activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **45**: 5251-5257.
- Ratnam, D, V., Ankola, D, D., Bhardwaj, D, K., Sahana, D, K., Kumar, M,N., 2006. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: a pharmaceutical perspective. *Journal of Control Release*, **113**(3): 189-207.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, **26** (9-10): 1231-7.
- Rice-Evans, C, A., Miller, N, J., Paganga, G., 1996. Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med*, **20**(7): 933-56.
- Romagnoli, R., Baraldi, P, G., Cruz-lopez, O., Tolemeo, M., Di Cristina, A., Pipitone, R.M., Grimaudo, S., Balzarini, J., Brancale, A., Hamel, E., 2011. Synthesis of novel Antimitotic Agents Based on 2-Amino-3-Aroyl-5- (hetero) arylethynyl Thiophene derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **21**: 2746-2751.
- Said, M, S,A., Bashandy, M, S., Saleh I. Al-qasoumi, S., Ghorap, M, M., 2011. Anti-breast cancer activity of some novel 1,2- dihydropyridine, thiophene and thiazole derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **46**(1):137-141.
- Segel, I, H., 1975. Enzyme kinetics: behavior and analysis of rapid equilibrium and steady-state enzyme systems. *Wiley-Interscience*. New York. 957 .
- Selçuk, A. R., 2012. *Galvinoxil Radikali Bazlı Spektrofotometrik Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemi Ve Yaygın Olarak Kullanılan Diğer Yöntemlerle Kıyaslanması*. (Yüksek lisans tezi). Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- Senturk, M., Talaz, O., Cavdar, H., Ekinci, D., Kufrevioglu, O.I., 2009. Yeni Sentezlenen Bazı Organik Nitratların Glutatyon Redüktaz Enzim Kinetiği Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **19**: 3661-3663.

- Seriner, R., Bilgin, R., 2012. Katalaz enziminin hıyardan (*cucumis sativus*) saflaştırılması. *Ç.Ü Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **28** (4): 85.
- Serry, A., A., Bialya, E., Moustafa, A., Gouda., 2010. Cyanoacetamide in heterocyclic chemistry: synthesis, antitumorand antioxidant activities of some new benzothiophenes. *J. Heterocyclic Chem*, **48**: 1280.
- Sezer, K., Keskin, M., 2014. Serbest oksijen radikallerinin hastalıkların patogenezisindeki rolü *F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg*, **28** (1): 49 – 56.
- Schomaker, V., Pauling, L., 1939. The electron diffraction investigation of The structure of benzene, pyridine 1,3-butadiene cyclopentadiene, furan, pyrrole and thiophene. *J. Am. Chem. Soc*, **61**: 1769.
- Shakdofa, M, M, E., Shtaiwi, M, H., Morsy, N., Abdel-Rassel, T, M, A., 2014. Metal Complexes Of Hydrazones And Their Biological analytical and catalytic applications. *A review Main Group Chem*, **13**: 187.
- Sheikhaa, G, A., Hussin, B., Al-Hiarib , Y., Al-Qirima, T., Shattat, G., 2010. Synthesis of Benzothiophene Carboxamide Derivatives and their Pharmacological Evaluation as Potent Antihypertriglyceridemic Agents in Rats . *Z. Naturforsch.* **66**: 93 – 103.
- Shi, H., Niki, E., 1998. Stoichiometric and kinetic studies on Ginkgo biloba extract and related antioxidants. *Lipids*, **33**(4): 365-370.
- Shinde, A., Ganu, J., Naik, P., 2012. Effect of free radicals & Antioxidants on oxidative stress: A review. *J Dental Allied Sciences.*, **1**(2): 63-66.
- Sillero, A., Herrero, V, G., 2015. Theoretical Evaluation of Both Unknown Substrate Concentrations and Enzyme Kinetic Constants of Metabolic Cycles. *Journal of Biomedical Science and Engineering*, **8**(8): 479-489.
- Singh, R, P., Sharad, S., Kapur, S., 2004. Free radicals and oxidative stress neurodegenerative diseases: relevance of dietary antioxidants. *Journal Indian Academy of Clinical Medicine*, **5** (3): 218-225.
- Steimer, W., Potter, J,M., 2002. Pharmacogenetic screening and therapeutic drugs. *Clinica Chimica Acta*, **315**:137-55.
- Temel, Y., Bozkuş, T., Karagözoğlu, Y., Çiftci, M., 2017. Glutasyon redüktaz (GR) enziminin japon bildircin (*coturnix coturnix japonica*) eritrositlerinden saflaştırılması ve karakterizasyonu. *Araştırma Makalesi. Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der*, **7**(3): 143-150.
- Thomas, R, H., Bernardis ,M, A., Drake, E, E., Guglielmo, G.C., 2010. Changes in the antioxidant activities of seven herb- and spice-based marinating sauces after cooking. *Journal of Food Composite and Analysis*, **23**(3): 244-252.
- Tozkoparan, B., Aytaç, S,P., 2007. Kanser Kemoterapisinde Terapötik Hedef Olarak Glutasyon S-Transferazlar. *Eczacılık Fakültesi Dergisi*, **27** (2):139-164.
- Turgut, Z., Öztürkcan S. A., 2009. 1,3-disübstitue-2,3-dihidro-1h-naft-[1,3]okzain bileşiklerinin sentezi. *Araştırma Makalesi*, **9**(17): 171-176.
- Türkbay, T., Erman, H., Söhmen, T., 2000. Pediyatrik psikofarmakolojide ilaç etkileşimleri. *Çocuk ve Gençlik Ruh Sağlığı Dergisi*, **7**(1): 1-2.
- Uslu, F., 2012. *Ferrosenoil Tiyofen Türevlerinin Sentezleri Ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kırıkkale.
- Üney, K., Traş, B., 2006. İlaç metabolizmasında rol oynayan enzimler. *Genel Tıp Derg*, **16**(4): 203-211.

- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M, T, D., Mazur, M., Telser, J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **39** (1): 44-84.
- Vinson, J,A., 2006. Oxidative stress in cataracts. *Pathophysiology*, **13**(3), 151-162.
- Yamazaki, H., Inoue, K., Hashimoto, M., Shimada, T., 1999. Roles of CYP2A6 and CYP2B6 in nicotine C-oxidation by human liver microsomes. *Arch Toxicol*, **73**: 65-70.
- Yao, J., Xie, Y., Zhang, L., Yujin Li, Y., ve Zhou, H., 2017. Synthesis of benzothiophene and indole derivatives through metal-free propargyl–allene rearrangement and allyl migration. *Beilstein J. Org. Chem*, **13**: 1866–1870.
- Yılmaz, C., İşcan, M., 2014. Glutathione S-transferase activities and glutathione levels in needles of drought stressed Pinus Brutia Ten. Trees. *Turkish Journal of Biochemistry*, **39** (2): 238–243.
- Young, I, S., Woodside, J, V., 2001. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol*, **54**: 176–186.
- Yurdakök, B., Baydan, E., 2011. Sirkadiyan ritim ve sitokrom p450 enzimleri. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg*, **6**(2):157- 162.
- Yüksel, N., 2001. Sitokrom p450 enzim sistemi ve ilaç etkileşimleri. *Klinik Psikiyatri*, **1**: 5-16.

## ÖZ GEÇMİŞ

Derya ERGİN Van'da doğdu. İlköğrenimini ve ortaöğrenimini Şehit Kemal Görgülü İlköğretim Okulun'da Van' da tamamladı. 2005 yılında Van Kazım Karabekir Lisesi'nden mezun oldu. 2009 yılında Üniversite eğitimine Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümün'de başladı. Bu bölümden 2013 yılında mezun oldu. 2015 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji Anabilim Dalın'da tezli yüksek lisans eğitimine başladı.



T.C  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: ...../...../20.....

Tez Başlığı / Konusu: Yeni Benzotiyofen Türevlerinin Antioksidan Kpasitelerinin ve GSTM2 İzozimi Üzerine Etkilerinin Tayini

Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 71 sayfalık kısmına ilişkin, 28/03/2019 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından TURNİTİN intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinalite raporuna göre, tezin benzerlik oranı % 5 (beş) dir.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit inatch size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinalite Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Derya ERGİN

Öğrenci No:139102011

Anabilim Dalı: Moleküler Biyoloji ve Genetik

Programı: Tezli Yüksek lisans

Statüsü: Y. Lisans

Doktora

DANIŞMAN ONAYI  
UYGUNDUR

Dr. Öğr. Üyesi Can YILMAZ

ENSTİTÜ ONAYI  
UYGUNDUR

Prof. Dr. S. S. S. S. S. S. S. S. S. S.  
Enstitü Müdürü