

**BAZI İLAÇLARIN İNSAN ERİTROSİTLERİNDEN SAFLAŞTIRILAN
GLUKOZ 6-FOSFAT DEHİDROGENAZ VE 6-FOSFOGLUKONAT DEHİDROGENAZ ENZİM
AKTİVİTELERİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Ebru AKKEMİK

**Y.Lisans Tezi
Kimya Anabilim Dalı
Prof. Dr. Mehmet ÇİFTÇİ**

2009

Her hakkı saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI İLAÇLARIN İNSAN ERİTROSİTLERİNDEN
SAFLAŞTIRILAN GLUKOZ 6-FOSFAT DEHİDROGENAZ VE
6-FOSFOGLUKONAT DEHİDROGENAZ ENZİM AKTİVİTELERİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Ebru AKKEMİK

KİMYA ANABİLİMDALI

ERZURUM

2009

Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. Mehmet ÇİFTÇİ danışmanlığında, Ebru AKKEMİK tarafından hazırlanan bu çalışma 12/08/2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından. Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof.Dr. Ali YILDIRIM

İmza:



Üye : Prof.Dr. Mehmet ÇİFTÇİ

İmza:



Üye : Doç.Dr Şükrü BEYDEMİR

İmza:



Yukarıdaki sonucu onaylarım

(imza)

Prof. Dr. Ömer AKBULUT

Enstitü Müdürü

ÖZET

Y. Lisans Tezi

BAZI İLAÇLARIN İNSAN ERİTROSİTLERİNDEN SAFLAŞTIRILAN GLUKOZ 6-FOSFAT DEHİDROGENAZ VE 6-FOSFOGLUKONAT DEHİDROGENAZ ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Ebru AKKEMİK

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet ÇİFTÇİ

İnsan eritrositlerinden elde edilen glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) ve 6-fosfo glukonat dehidrogenaz (6PGD) enzimleri üzerine bazı ilaçların inhibisyon etkileri araştırıldı. Bu amaçla önce eritrosit glukoz-6-fosfat dehidrogenaz ve 6-fosfo glukonat dehidrogenaz enzimleri afinite kromatografisi vasıtasıyla saflaştırıldı. Saflaştırma esnasında sıcaklık kontrol altında tutuldu (+4°C). Enzim aktiviteleri Beutler metotlarına göre spektrofotometrik olarak belirlendi. Bütün kinetik çalışmalarda bu metotlar kullanıldı. Bu çalışma kapsamında G6PD enziminin kinetik çalışmalarında toplam 25 ilaç çalışıldı. Bu ilaçlardan ketotifen, dakarbazin, tiyokolsikosid, meloksikam, metotreksat, furosemid, olanzapin, metilprednizolan asetat, parikalsitol, ritodrin HCl, gadobenat dimeglubin enzimi inhibe ederken; diğerleri inhibisyon etkisi göstermedi. 6PGD enziminin kinetik çalışmalarında toplam 23 ilaç çalışıldı. Bu ilaçlardan ketotifen, dakarbazin, meloksikam, furosemid, metotreksat, metoklopramid HCl, ritodrin HCl, gadopentetik asit enzimi inhibe ederken; diğerleri inhibisyon etkisi göstermedi. İnhibisyon etkisi gösteren ilaçlar için %Aktivite-[I] grafikleri çizilerek I₅₀ değerleri bulundu. Ayrıca inhibisyon etkisi gösteren ilaçlar için Lineweaver-Burk grafikleri yardımıyla K_i sabitleri ve inhibisyon tipleri belirlendi.

2009, 121 sayfa

Anahtar Kelimeler: İnsan, Eritrosit, Glukoz-6-fosfat Dehidrogenaz, 6-Fosfoglukonat Dehidrogenaz

ABSTRACT

MS Thesis

DETERMINATION OF THE EFFECTS OF SOME DRUGS ON ACTIVITY OF 6-PHOSPHOGLUKONATE DEHYDROGENASE AND GLUCOSE 6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE ENZYMES PURIFIED FROM HUMAN ERYHTROCYTE

Ebru AKKEMİK

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet ÇİFTÇİ

Inhibitory effects of some drugs on glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD) and 6-phosphogluconate dehydrogenase (6PGD) enzymes from the erythrocytes of human have been investigated. For this purpose, at the beginning, erythrocytes glucose 6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase were purified by affinity chromatography. Temperature of +4°C was maintained under control during the purification process. Enzymes activities were spectrophotometrically determined with Beutler methods. These methods were applied in for all kinetic studies. In this study, 25 drugs were investigated with respect to inhibitory effect on G6PD. While the drugs such as; ketotifen, dacarbazine, tiyokolsikosid, meloxiam, metotrexate, furosemide, olanzapine, metilprednizolon acetat, paricalcitol, ritodrine HCl, gadobenat dimeglubin indicated inhibitory effects on the enzyme, other drugs did not show any inhibition on the enzyme. 23 drugs were investigated with respect to inhibitory effect on 6PGD. While the drugs such as; ketotifen, dacarbazine, meloxiam, furosemide, metotrexate, metochloropramide HCl, ritodrine HCl, gadopentetic acid indicated inhibitory effects on the enzyme, other drugs did not show any inhibition on the enzyme. I_{50} values the drugs exhibiting inhibitory inhibition effects were determined by plotting Activity % vs [I]. In addition K_i constants and inhibition types for drugs indicating inhibitory effects were determined from Lineweaver - Burk plots.

2009, 121 pages

Keywords: Human, Erythrocyte, Glucose 6-phosphate Dehydrogenase, 6-Phosphogluconate Dehydrogenase

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak yürüttüğün bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Mehmet ÇİFTÇİ yönetiminde Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Araştırma laboratuvarında yapılmıştır. Deneysel çalışmalarım ve tez yazımı boyunca ilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet ÇİFTÇİ'ye en derin minnet ve şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarım boyunca değerli yardımlarını gördüğüm Sayın Prof. Dr. Ö. İrfan KÜFREVİOĞLU, Sayın Prof. Dr. Hasan ÖZDEMİR, Sayın Doç. Dr. Şükrü BEYDEMİR, Sayın Doç. Dr. İlhami GÜLÇİN ve diğer bölüm elemanlarına teşekkürü borç bilirim. Yardımlarını esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Murat ŞENTÜRK'e ve çalışma arkadaşım Arş. Gör. Pınar TAŞER'e teşekkür ederim.

Ayrıca maddi manevi hiçbir desteğini esirgemeyen babama hep yanımda olan anneme ve kardeşime teşekkür ederim.

Ebru AKKEMİK

Ağustos 2009

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLER.....	25
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	32
3.1. Materyal.....	32
3.1.1. Yararlanılan alet ve cihazlar.....	32
3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler.....	33
3.1.3. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması.....	33
3.2. Yöntemler	41
3.2.1. Protein tayini	41
3.2.1.a. Kalitatif protein tayini	41
3.2.1.b. Bradford yöntemiyle protein tayini	42
3.2.2. Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz enziminin saflaştırılması.....	43
3.2.2.a. G6PD enzim aktivitesinin ölçümü.....	43
3.2.2.b. Kan numenelerinin alınması ve hemolizatın hazırlanması.....	44
3.2.2.c. Amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz.....	45
3.2.2.d. Afinite kolonunun hazırlanması.....	46
3.2.2.e. Numunenin afinite kolonuna tatbiki ve G6PD'nin elüsyonu	46
3.2.3. 6-Fosfoglukonat dehidrogenaz enziminin saflaştırılması.....	47
3.2.3.a. 6PGD Enziminin aktivite ölçümü.....	47
3.2.3.b. Hemolizatın hazırlanması.....	48
3.2.3.c. Amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz.....	48
3.2.3.d. Numunenin afinite kolonuna tatbiki ve 6PGD'nin elüsyonu.....	49
3.2.4. Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE)	

ile enzim saflığının kontrolü.....	50
3.2.5. G6PD ve 6PGD enzimleri için I_{50} ve K_i değerlerinin belirlenmesine ait kinetik çalışmalar.....	51
3.2.5.a. Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz enzimi için yapılan kinetik çalışmalar..	51
3.2.5.b. 6-fosfoglukonat dehidrogenaz enzimi için yapılan kinetik çalışmalar..	71
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	88
4.1. Kantitatif Protein Tayini İçin Kullanılan Standart Grafik.....	88
4.2. Saflaştırma Sonuçları	89
4.3. Kinetik Çalışmaların Sonuçları	90
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	103
KAYNAKLAR.....	114
ÖZGEÇMİŞ.....	122

SİMGELER DİZİNİ

6PGD	6-Fosfoglukonat dehidrogenaz
6PGA	6-Fosfoglukonat
ADP	Adenozin difosfat
ATP	Adenozin trifosfat
BOS	Beyin omurilik sıvısı
BSA	Bovin serum albümin
DNA	Deoksiribonükleik asit
EC	Enzim kodu
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
ES	Enzim substrat kompleksi
GABA _A	Gamma aminobutyric acid
G6PD	Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz
G6P	Glukoz 6-fosfat
GSH	İndirgenmiş glutatyon
GSSG	Okside glutatyon
I ₅₀	Maksimum hızı yarıya düşüren inhibitör konsantrasyonu
K _i	Enzim inhibitör kompleksinin ayrışma sabiti
MetHb	Methemoglobin
NADP ⁺	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (okside form)
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (redükte form)
Nm	Nanometre
NSAİİ	Non-steroidal anti-inflamatuar ilaçlar
RNA	Ribonükleik asit
PAGE	Poliakrilamid jel elektroforezi
PER	Amonyum per sülfat
SDS	Sodyum dodesil sülfat
TEMED	N,N,N',N'-tetrametilendiamin
Tris	Trihidroksimetil amino metan
V _{max}	Maksimum hız

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Pentoz fosfat yolu reaksiyonları.....	4
Şekil 1.2. NADPH'ın biyosentez olaylarındaki rolü.....	5
Şekil 1.3. Tiyokolşikosid molekülünün yapısal formülü.....	8
Şekil 1.4. Dakarbazin molekülünün yapısal formülü.....	8
Şekil 1.5. Olanzapin molekülünün yapısal formülü.....	9
Şekil 1.6. Ketotifen molekülünün yapısal formülü.....	9
Şekil 1.7. Vinkristine sülfat molekülünün yapısal formülü	10
Şekil 1.8. Pantoprozol sodyum molekülünün yapısal formülü.....	10
Şekil 1.9. 5-Fluorouracil molekülünün yapısal formülü	11
Şekil 1.10. Metaprolol Tartarat molekülünün yapısal formülü.....	11
Şekil 1.11. Paklitaksel molekülünün yapısal formülü.....	12
Şekil 1.12. Sisplatin molekülünün yapısal formülü.....	12
Şekil 1.13. Meloksikam molekülünün yapısal formülü.....	13
Şekil 1.14. L-Karnitin molekülünün yapısal formülü	13
Şekil 1.15. Karboplatin molekülünün yapısal formülü	14
Şekil 1.16. Atropin Sülfat molekülünün yapısal formülü	14
Şekil 1.17. Gadobenat Dimeglubün molekülünün yapısal formülü.....	15
Şekil 1.18. Ritodrin HCl molekülünün yapısal formülü	15
Şekil 1.19. Metilprednizolan Asetat molekülünün yapısal formülü	16
Şekil 1.20. Dekspantenol molekülünün yapısal formülü.....	16
Şekil 1.21. Flumazenil molekülünün yapısal formülü	17
Şekil 1.22. Siklosporin molekülünün yapısal formülü	17
Şekil 1.23. Pentoksifilin molekülünün yapısal formülü.....	18
Şekil 1.24. Parikalsitol molekülünün yapısal formülü.....	18
Şekil 1.25. Essitalopram okzalot molekülünün yapısal formülü.....	19
Şekil 1.26. Metotreksat molekülünün yapısal formülü.....	19
Şekil 1.27. Furosemid molekülünün yapısal formülü.....	20
Şekil 1.28. Gadopentetik Asit molekülünün yapısal formülü.....	20
Şekil 1.29. Metoklopramid HCl molekülünün yapısal formülü.....	21

Şekil 1.30. Hiyosin N-Bütül Bromür molekülünün yapısal formülü.....	21
Şekil 1.31. Klorfenoksamin HCl molekülünün yapısal formülü.....	22
Şekil 1.32. Lidokain HCl molekülünün yapısal formülü.....	22
Şekil 1.33. Transeksamik asit molekülünün yapısal formülü.....	23
Şekil 1.34. Digoksin molekülünün yapısal formülü.....	23
Şekil 1.35. Teofilin Etilendiamin molekülünün yapısal formülü.....	24
Şekil 4.1. Bradford yöntemiyle proteinlerin kantitatif tayininde kullanılan standart grafik	88
Şekil 4.2. 2',5' ADP Sepharose-4B afinite kolon materyali ile G6PD ve 6PGD enzimlerinin saflaştırmasını gösteren SDS-PAGE fotoğrafi	90
Şekil 4.3. İnsan G6PD enzimi için 5 farklı meloksikam ve 5 farklı furosemid konsantrasyonlarında çizilen %Aktivite-[Meloksikam] ve %Aktivite-[Furosemid] grafikleri	91
Şekil 4.4. İnsan G6PD enzimi için 5 farklı tiyokolşikoid ve 5 farklı metotreksat konsantrasyonlarında çizilen %Aktivite-[Tiyokolşikoid] ve %Aktivite-[Metotreksat] grafikleri	91
Şekil 4.5. İnsan G6PD enzimi için 5 farklı parikalsitol ve 5 farklı dakarbazin konsantrasyonlarında çizilen %Aktivite-[Parikalsitol] ve %Aktivite-[Dakarbazin] grafikleri	92
Şekil 4.6. İnsan G6PD enzimi için 5 farklı ritodrin HCl ve 5 farklı ketotifen konsantrasyonlarında çizilen %Aktivite-[Ritodrin HCl] ve %Aktivite-[Ketotifen] grafikleri	92
Şekil 4.7. İnsan G6PD enzimi için 5 farklı metilpredinizon asetat ve 5 farklı gadobenat dimeglubin konsantrasyonlarında çizilen %Aktivite-[Metilpredinizon asetat] ve %Aktivite-[Gadobenatdimeglubin]grafikleri.....	93
Şekil 4.8. İnsan G6PD enzimi için 5 farklı olanzapin konsantrasyonunda çizilen %Aktivite-[olanzapin] grafiği	93
Şekil 4.9. İnsan 6PGD enzimi için 5 farklı ketotifen ve 5 farklı methotreksat konsantrasyonlarında çizilen %Aktivite-[Ketotifen]	

ve %Aktivite-[Methotreksat] grafikleri	94
Şekil 4.10. İnsan 6PGD enzimi için 5 farklı dakarbazin ve 5 farklı furosemid konsantrasyonlarında çizilen %Aktivite-[Dakarbazin] ve %Aktivite-[Furosemid] grafikleri.....	94
Şekil 4.11. İnsan 6PGD enzimi için 5 farklı meloksikam ve 5 farklı metoklopramit HCl konsantrasyonlarında çizilen %Aktivite-[Meloksikam] ve %Aktivite-[Metoklopramit HCl] grafikleri	95
Şekil 4.12. İnsan 6PGD enzimi için 5 farklı ritodrin HCl ve 5 farklı gadopentatik Asit sodyumbisülfid konsantrasyonlarında çizilen %Aktivite-[Ritodrin HCl] ve %Aktivite-[Gadopentatik Asit] grafikleri	95
Şekil 4.13. İnsan G6PD enzimi için 3 sabit olanzapin ve ketotifen için 5 farklı substrat konsantrasyonlarında çizilen Lineweaver-Burk grafikleri	96
Şekil 4.14. İnsan G6PD enzimi için 3 sabit meloksikam ve gadobenat dimeglubun için 5 farklı substrat konsantrasyonlarında çizilen Lineweaver-Burk grafikleri.....	96
Şekil 4.15. İnsan G6PD enzimi için 3 sabit ritodrin HCl ve metilprednizolan asetat için 5 farklı substrat konsantrasyonlarında çizilen Lineweaver-Burk grafikleri	97
Şekil 4.16. İnsan G6PD enzimi için 3 sabit dakarbazin ve parikalsitol için 5 farklı substrat konsantrasyonlarında çizilen Lineweaver-Burk grafikleri	97
Şekil 4.17. İnsan G6PD enzimi için 3 sabit metotreksat ve furosemid için 5 farklı substrat konsantrasyonlarında çizilen Lineweaver-Burk grafikleri	98
Şekil 4.18. İnsan G6PD enzimi için 3 sabit tiyokolşikosid için 5 farklı substrat konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği	98
Şekil 4.19. İnsan 6PGD enzimi için 3 sabit ketotifen ve metotreksat için 5 farklı substrat konsantrasyonlarında çizilen	

Lineweaver-Burk grafikleri	99
Şekil 4.20. İnsan 6PGD enzimi için 3 sabit dakarbazine ve furosemid için 5 farklı substrat konsantrasyonlarında çizilen Lineweaver-Burk grafikleri	99
Şekil 4.21. İnsan 6PGD enzimi için 3 sabit meloksikam ve metokloropramid HCl için 5 farklı substrat konsantrasyonlarında çizilen Lineweaver-Burk grafikleri	100
Şekil 4.22. İnsan 6PGD enzimi için 3 sabit ritodrin HCl ve gadopentetik asit için 5 farklı substrat konsantrasyonlarında çizilen Lineweaver-Burk grafikleri	100

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Farklı türlere ait G6PD enziminin molekül kütleleri	25
Çizelge 2.2. G6PD enziminin saflaştırıldığı dokular.....	26
Çizelge 2.3. 6-PGD enziminin koenzim özgülüğü.....	28
Çizelge 2.4. Farklı türlere ait 6PGD enziminin molekül kütleleri ve alt birim yapısı.....	29
Çizelge 3.1. İnsan eritrosit G6PD enziminin aktivite ölçüm kuvvet içeriği.....	43
Çizelge 3.2. İnsan eritrosit 6PGD enziminin aktivite ölçüm kuvvet içeriği.....	47
Çizelge 3.3. İnsan G6PD enzimi için tiyokolşikosid ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları	52
Çizelge 3.4. İnsan G6PD enzimi için dakarbazine ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	52
Çizelge 3.5. İnsan G6PD enzimi için olanzapin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları	52
Çizelge 3.6. İnsan G6PD enzimi için ketotifen ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	53
Çizelge 3.7. İnsan G6PD enzimi için meloksikam ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	53
Çizelge 3.8. İnsan G6PD enzimi için gadobenat dimeglubin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	53
Çizelge 3.9. İnsan G6PD enzimi için ritodrin HCl ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	54

Çizelge 3.10.	İnsan G6PD enzimi için metilprednizolan asetat ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	54
Çizelge 3.11.	İnsan G6PD enzimi için parikalsitol ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	54
Çizelge 3.12.	İnsan G6PD enzimi için metotreksat ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	55
Çizelge 3.13.	İnsan G6PD enzimi için furosemid ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları	55
Çizelge 3.14.	İnsan G6PD enzimi için vincristine sülfat ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	55
Çizelge 3.15.	İnsan G6PD enzimi için pantoprozol sodyum ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	56
Çizelge 3.16.	İnsan G6PD enzimi için 5-fluorouracil ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	56
Çizelge 3.17.	İnsan G6PD enzimi için metaprolol tartarat ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	56
Çizelge 3.18.	İnsan G6PD enzimi için paklitaksel ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	57
Çizelge 3.19.	İnsan G6PD enzimi için sisplatin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	57
Çizelge 3.20.	İnsan G6PD enzimi için l-karnitin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara	

	bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	57
Çizelge 3.21.	İnsan G6PD enzimi için atropin sülfat ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	58
Çizelge 3.22.	İnsan G6PD enzimi için dekspentenol ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	58
Çizelge 3.23.	İnsan G6PD enzimi için flumazenil ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	58
Çizelge 3.24.	İnsan G6PD enzimi için siklosporin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	59
Çizelge 3.25.	İnsan G6PD enzimi için pentoksifilin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	59
Çizelge 3.26.	İnsan G6PD enzimi için essitalopram ogzalat ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	59
Çizelge 3.27.	İnsan G6PD enzimi için karboplatin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	60
Çizelge 3.28.	İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerinde tiyokolşikosid ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları.....	60
Çizelge 3.29.	İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerinde dakarbazin ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları.....	61
Çizelge 3.30.	İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerinde olanzapin ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde	

	kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları.....	62
Çizelge 3.31.	İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerinde ketotifen ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları.....	63
Çizelge 3.32.	İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerinde meloksikam ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları.....	64
Çizelge 3.33.	İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerinde gadobenat dimeglubin ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları.....	65
Çizelge 3.34.	İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerinde ritodrin HCl ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları.....	66
Çizelge 3.35.	İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerinde metilprednizolan asetat ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları.....	67
Çizelge 3.36.	İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerinde parikalsitol ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları.....	68
Çizelge 3.37.	İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerinde metotreksat ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları.....	69
Çizelge 3.38.	İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerinde furosemid ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde	

	kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları.....	70
Çizelge 3.39.	İnsan 6PGD enzimi için ritodrin HCl ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	72
Çizelge 3.40.	İnsan 6PGD enzimi için gadopentetik asit ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	72
Çizelge 3.41.	İnsan 6PGD enzimi için metokloropramid HCl ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	72
Çizelge 3.42.	İnsan 6PGD enzimi için meloksikam ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	73
Çizelge 3.43.	İnsan 6PGD enzimi için furosemid ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	73
Çizelge 3.44.	İnsan 6PGD enzimi için dakarbazin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	73
Çizelge 3.45.	İnsan 6PGD enzimi için methotreksat ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	74
Çizelge 3.46.	İnsan 6PGD enzimi için ketotifen ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	74
Çizelge 3.47.	İnsan 6PGD enzimi için olanzapin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	74
Çizelge 3.48.	İnsan 6PGD enzimi için hiyosin N-bütül bromür ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	75

Çizelge 3.49. İnsan 6PGD enzimi için klorfenoksikam HCl ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	75
Çizelge 3.50. İnsan 6PGD enzimi için lidokain HCl ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	75
Çizelge 3.51. İnsan 6PGD enzimi için transeksamik asit ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	76
Çizelge 3.52. İnsan 6PGD enzimi için digoxin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	76
Çizelge 3.53. İnsan 6PGD enzimi için metoprolol tartarat ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	76
Çizelge 3.54. İnsan 6PGD enzimi için teofilin etilendiamin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	77
Çizelge 3.55. İnsan 6PGD enzimi için karboplatin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	77
Çizelge 3.56. İnsan 6PGD enzimi için karnitin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	77
Çizelge 3.57. İnsan 6PGD enzimi için atropin sülfat ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları	78
Çizelge 3.58. İnsan 6PGD enzimi için dekspantenol ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	78
Çizelge 3.59. İnsan 6PGD enzimi için flumazenil ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara	

	bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	78
Çizelge 3.60.	İnsan 6PGD enzimi için esitalopram okzalat ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	79
Çizelge 3.61.	İnsan 6PGD enzimi için siklosporin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara bağlı karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.....	79
Çizelge 3.62.	İnsan eritrositlerinden saflaştırılan 6PGD enzimi üzerinde ritodrin HCl ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları.....	80
Çizelge 3.63.	İnsan eritrositlerinden saflaştırılan 6PGD enzimi üzerinde Gadopentetik Asit ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları.....	81
Çizelge 3.64.	İnsan eritrositlerinden saflaştırılan 6PGD enzimi üzerinde Metokloropramid HCl ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları.....	82
Çizelge 3.65.	İnsan eritrositlerinden saflaştırılan 6PGD enzimi üzerinde meloksikam ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları.....	83
Çizelge 3.66.	İnsan eritrositlerinden saflaştırılan 6PGD enzimi üzerinde furosemid ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları.....	84
Çizelge 3.67.	İnsan eritrositlerinden saflaştırılan 6PGD enzimi üzerinde dakarbazin ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları.....	85
Çizelge 3.68.	İnsan eritrositlerinden saflaştırılan 6PGD enzimi	

	üzerinde methotreksat ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları.....	86
Çizelge 3.69.	İnsan eritrositlerinden saflaştırılan 6PGD enzimi üzerinde ketotifen ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları.....	87
Çizelge 4.1.	İnsan eritrosit G6PD enziminin 2',5' ADP Sepharose-4B afinite kolon materyali ile saflaştırılma basamakları.....	89
Çizelge 4.2.	İnsan eritrosit 6PGD enziminin 2',5' ADP Sepharose-4B afinite kolon materyali ile saflaştırılma basamakları.....	89
Çizelge 4.3.	İnsan G6PD enzimi için %Aktivite-[I] ve Lineweaver-Burk grafiklerinden elde edilen I_{50} değerleri, K_i sabitleri ve inhibisyon tipleri tablosu.....	101
Çizelge 4.4.	İnsan G6PD enzimi üzerinde herhangi bir inhibisyon ve aktivasyon etkisi göstermeyen ilaçların tablosu.....	101
Çizelge 4.5.	İnsan 6PGD enzimi için %Aktivite-[I] ve Lineweaver-Burk grafiklerinden elde edilen I_{50} değerleri, K_i sabitleri ve inhibisyon tipleri tablosu.....	102
Çizelge 4.6.	İnsan 6PGD enzimi üzerinde herhangi bir inhibisyon ve aktivasyon etkisi göstermeyen ilaçların tablosu.....	102

1. GİRİŞ

Kan, içinde bulundurduğu maddeler ve hücrelerden dolayı viskozdur. Kanın rengi; oksijen taşındığında kırmızı, karbondioksit taşınması halinde ise koyu kırmızıdır. Erişkin erkeklerde ortalama 5 litre, erişkin kadınlarda ise 4 litre kan bulunmaktadır. Kanın insan metabolizmasında taşıma, düzenleme, savunma ve koruma görevleri vardır (Özden 1990).

Kanın %42-45'ini eritrosit, lökosit ve trombosit gibi kan hücreleri oluşturur. Lökositler mikroorganizmaların vücuda yayılmalarının önlenmesi ve dokuların tamir edilmesinde görev alır. Trombositler, kapillerin endotel bütünlüğünün sağlanması ve damardan dışarıya kanın sızmasını önlemek gibi fonksiyonlara sahiptir (Onat 1996). Eritrositler ise ilk kez 1665 yılında Malphigi tarafından tanımlanmıştır. 1673'te Leuwenhock kanın kırmızı renginin eritrositlere bağlı olduğunu bulmuştur. Şekillerinin disk biçiminde olduğu 1765'te saptanan eritrositlerde, demirin varlığını Menghini, hemoglobini ise Funke bulmuştur (Özer 1985).

Eritrositlerin hücre yapıları birçok değişimden sonra oluşur. "Stem cell" temel hücresinden sonra bazı değişimlerle, nükleus dışında bütün organelleri bulunan retikülositler oluşur. Retikülositlerde glikoliz, pentoz fosfat yolu, trikarboksilik asit siklusu oksidatif fosforilasyon, hemoglobin, kolesterol, fosfolipid, triaçil gliserol pürin nükleotid sentezi enzimleri bulunur (Thomas and Devlin 1986). Retikülositler kemik iliğinden kana salındıktan sonra, üç gün içinde mitokondri, golgi cisimciği, lizozom ve RNA'nın hücreden uzaklaştırılmasıyla olgun eritrositlere dönüşürler (Shohet *et al.* 1986).

Eritrositlerin ortalama ömürleri 120 gün kadardır. Olgun hücre çekirdeksiz ve bikonkav yapıdadır. Membran kalınlığı 6 nm, insan eritrosit çapı 6,0-9,0 mikron arasındadır. İleri düzeyde özelleşmiş olan bu hücrelerin, sitoplazmasının %34'ü hemoglobindir. Eritrositlerde nükleik asit ve protein sentezi yapılamamaktadır (Onat 1996).

Eritrositlerin görevi, yapısındaki hemoglobinin vasıtasıyla dokulara oksijen taşımaktır. Bu görevi yerine getirebilmeleri için şekillerini, içyapılarını ve membran aktivitelerini koruyacak enerjiye ihtiyaç duyarlar. Bu enerji eritrositlerin tek yakıtı olan glukozun anaerobik glikolizi ve pentoz fosfat yolu ile gerçekleşmektedir (Özer 1985).

Enzimler, canlı organizmaların kimyasal oluşumunu sağlayan, reaksiyon hızını artıran ve yan ürün oluşmaksızın %100 ürün verimi sağlayan biyolojik katalizörlerdir. Enzimlerin çoğunluğu protein yapısındadır. Katalitik aktivite gösteren küçük bir RNA grubu da mevcuttur (Keha ve Küfrevioğlu 2004).

Biyokimyasal araştırmaların büyük çoğunluğunu enzim çalışmaları oluşturmaktadır. Bu alandaki en büyük gelişmelerden biri 1926 yılında J.B.Summer'in üreaz enzimini "Jack Bean" bitkisinden elde edip kristallendirmesi ve protein yapısında olmasını keşfetmesidir. Günümüzde 4000'e yakın enzim tanımlanmış (Bairoch 2000), birçoğu saflaştırılmış, karakterize edilmiş ve 200'den fazla enzim de kristallendirilmiştir. Enzimlerin bazıları katalizleme fonksiyonlarını protein yapıları ile gerçekleştirirken, bazıları ise enzimlerin yapılarında bulunmayan ve kofaktör denen moleküllere ihtiyaç duyarlar. Kofaktör metal iyonu (Mg^{+2} , Fe^{+2} , Zn^{+2} , vb.) olabileceği gibi koenzim denen kompleks organik moleküller de (NAD^+ , FAD^+ , Koenzim A) olabilir. Bazı enzimler her ikisine de ihtiyaç duyarlar. Koenzimlerin çoğu vitaminlerden ve özellikle B grubu vitaminlerden türetilmişlerdir. Koenzimler proteinin denatüre olmasından bozulmazlar ve defalarca kullanılabilirler. Kofaktörlü enzimlere holoenzim, enzimin protein kısmına ise apoenzim denir (Onat 1996).

İnsan eritrositlerinde, pentoz fosfat yolunun fonksiyonu, eritrositlerin canlılığının temini açısından önemlidir. Eritrositler, glutatyon, koenzimler ve ATP gibi önemli bileşiklerin sentezi için enerjiye ihtiyaç duyarlar ve bu enerji glukozun metabolize edilmesiyle sağlanır. ATP, laktik asit oluşumuyla beraber anaerobik glikolizden sağlanır, ancak solunum zinciri yoluyla oksidatif fosforilasyon mümkün değildir. Pentoz fosfat yolu $NADPH$ 'ın oluşumu, methemoglobinin indirgenmesini (oksijene bağlanmayan

hemoglobinin Fe⁺³ formu devamlı olarak oluşur) ve redükte formda glutatyon eldesini sağlar (Montgomery 1996).

Pentoz fosfat yolu eritrosit ve beyin hücreleri gibi bazı hücrelerin temel enerji kaynağı olan glukozun oksidasyonu için anahtar oksidatif yoldur (Thomas *et al.*1983; Mathews and Van Holde 1990; Mayes 1991; Lukens 1993). Bu yol ile hücredeki glukozun %10 nu kullanılmaktadır (Beutler 1983; Lu and Comphell 1991). Hücrelerde indirgeyici gücün hemen kullanılabilir şekli NADPH'dır. Pentoz fosfat yolunda glukoz 6-fosfat, riboz 5-fosfata oksitlenirken NADPH üretilir. Bu beş karbonlu şeker ve onun türevleri, ATP, CoA, NAD⁺, FAD, RNA ve DNA gibi hayati öneme sahip biyomoleküllerin bileşenleridir (Çiftci 1998).

Bu olayın toplam reaksiyonu;

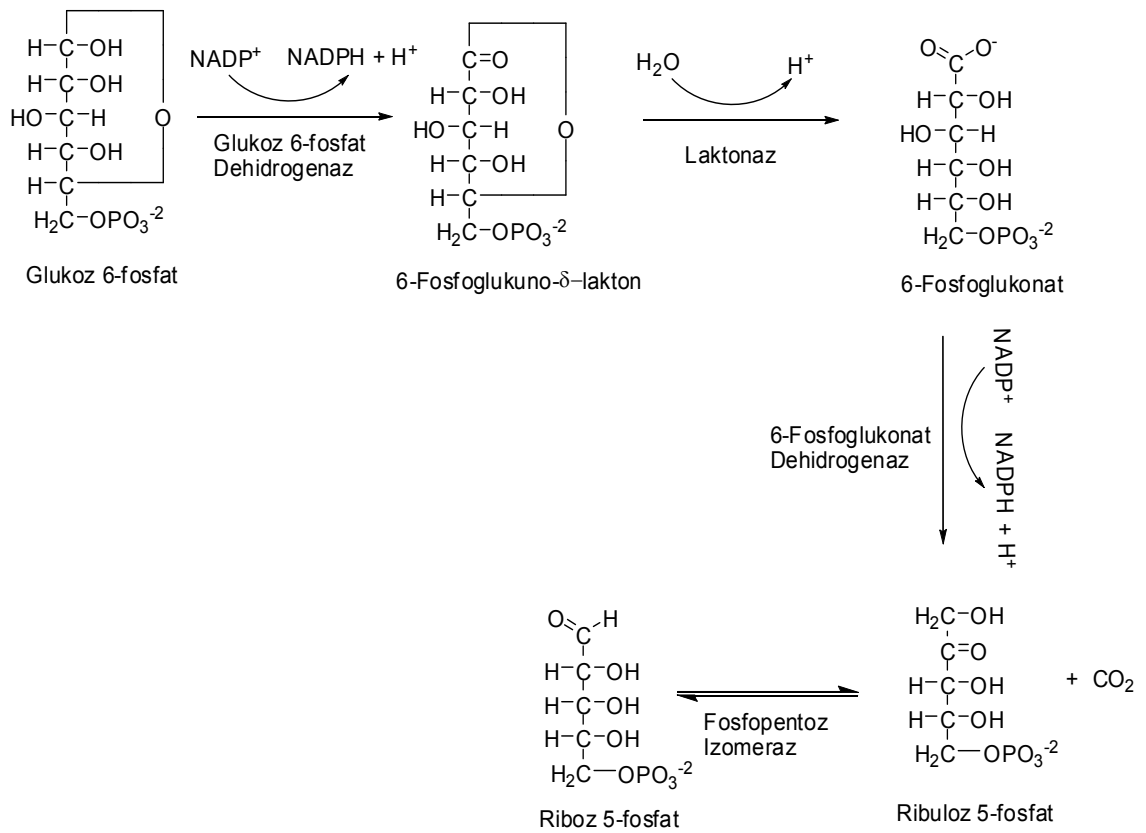
Glukoz 6-fosfat + 2NADP⁺ + H₂O → Riboz 5-fosfat + 2NADPH + 2H⁺ + CO₂
şeklindedir.

Pentoz fosfat yolu aynı zamanda üç, dört, beş, altı ve yedi karbonlu şekerlerin oksidatif olmayan bir seri reaksiyonlarla birbirine dönüştürülmesini de katalizler. Bu reaksiyonların tamamı sitozolde ceryan eder.

Pentoz fosfat yolu bazen pentoz yan yolu, heksoz monofosfat yolu veya fosfoglukonat oksidatif yolu olarak da isimlendirilir. Bu reaksiyon serisinde ilk adım, 1931 yılında Otto Warburg tarafından atılmış ve tamamı Fritz Lipmann, Frank Dinckens, Bernard Horecker ve Efraim Racker isimli biyokimyacılar tarafından ortaya konulmuştur (Keha ve Küfrevioğlu 2004).

Pentoz fosfat yolu, glukoz 6-fosfatın 1 nolu karbonunun dehidrogenasyonu ile başlar. Bu reaksiyon glukoz 6-fosfat dehidrogenaz enzimi tarafından katalizlenir. Bu enzim NADP⁺ ya karşı son derece spesifiktir ve NAD⁺ için K_M değeri NADP⁺ için olandan yaklaşık 1000 misli fazladır. Bu reaksiyonun ürünü C-1 karboksili ile C-5 hidroksil

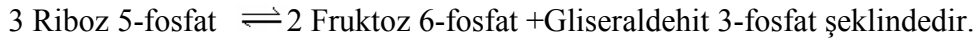
grubu arasında oluşan bir molekül içi estere sahip olan 6-fosfoglukono- δ -laktondur. Bundan sonraki basamak 6-fosfoglukono- δ -laktunun laktonaz enzimi katalizörlüğünde 6-fosfoglukonata hidrolizidir. Bu altı karbonlu şeker daha sonra oksidatif dekarboksilasyonla ribuloz 5-fosfata dönüşür. Bu reaksiyonda, koenzimi yine NADP^+ olan 6-fosfoglukonat dehidrogenaz enzimi görev alır. Şimdi bu reaksiyonları açık formülleri ile görelim:



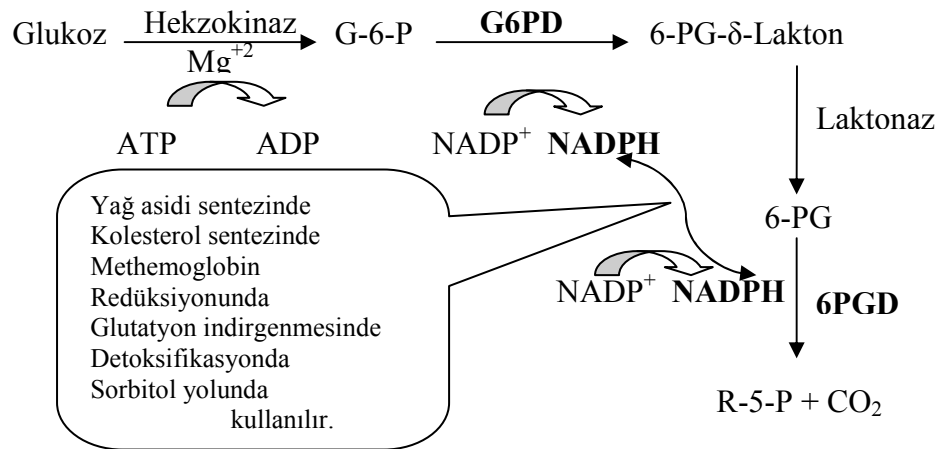
Şekil 1.1. Pentoz fosfat yolu reaksiyonları

Pentoz fosfat yolu; hücrede RNA, DNA ve nükleotid sentezi için gerekli riboz 5-fosfat ve redüktif biyosentezlerde indirgeyici güç olan NADPH 'ları sentezlemek gibi başlıca iki işlevi vardır (Krebs and Eggleston 1978). Ayrıca, aromatik aminoasit ve vitamin sentezinde gerekli eritroz 4-fosfat, bakteri hücre duvarının bir bileşeni olan sedoheptuloz 7-fosfat gibi fosforile karbohidratlar bu yolda sentezlenmektedir (Wood 1986).

Oksidatif olmayan bölümde; ksiluloz 5-fosfat ve riboz 5-fosfattan transketolaz enzimi ile gliseraldehit 3-fosfat ve sedoheptuloz 7-fosfat oluşması ile başlar. Oluşan bu iki ürün transaldolaz enzimi ile eritroz 4-fosfata ve fruktoz 6-fosfata, bu bileşiklerde transketolaz tarafından gliseraldehit 3-fosfat ve fruktoz 6-fosfata dönüştürülmektedir. Böylece pentoz fosfat yolunda oluşan riboz 5-fosfat glikoliz yolu ara bileşiklerine dönüştürülmüş olur. Oksidatif olmayan bölümün net reaksiyon denklemi aşağıdaki gibidir (Keha ve Küfrevioğlu 2004).



Pentoz fosfat yolunun temel görevi, NADPH'ın üretilmesidir. Üretilen NADPH 'lar genel olarak;



Şekil 1.2. NADPH'ın biyosentez olaylarındaki rolü

NADPH hücrede yağ asidi, kolesterol, L-askorbik asit, nitrik oksit biyosentezi, glutasyonun indirgenmesi, ilaç ve ksenobiyotik detoksifikasyonu ve peroksitlerin indirgenmesinde rol alır (Wood 1986; Nelson and Cox 2000). Eritrositlerde pentoz fosfat yolu okside glutasyonun indirgenmesinde kullanılan NADPH'ı sağlar. Redükte glutasyon (GSH) ve GSH-bağımlı enzimler hücreyi iç ve dış kaynaklı toksik bileşiklerden ve reaktif oksijen türlerinden (ROS) korur (Siems *et al.* 2000).

Fagositlerde oksijen tüketimi ve H₂O₂ oluşumu fazla olduğundan pentoz fosfat yolunun aktivitesi de fazladır (Borregaard *et al.* 1984). Ksenobiyotikler, glutasyon peroksidaz, sitokrom P-450 detoksifikasyon sistemleri ile NADPH kullanılarak zararsız hale getirilir (Hollenberg 1992). NADPH'ın damar düz kas hücrelerinde iyon kanallarının aktivitesini kontrol ettiği öne sürülmüştür. NADPH'ın azalması özellikle V-tipi potasyum (K⁺) kanallarının açılmasına ve vazodilatasyona neden olur (Gupte *et al.* 2002). Sorbitol yolunun önemli enzimlerinden aldoz redüktaz da NADPH kullanır (Grunewald 1993). DNA sentezi için ribonükleotidlerin (ribonükleotid redüktaz ile) deoksiribonükleotidlere dönüşmesini sağlar. NADPH suda çözünmeyen birçok bileşik için de gereklidir. Diğer ürün riboz-5-fosfat; ATP, FAD, NAD⁺, NADP⁺, DNA, RNA, CoA yapısına girer (Keha ve Küfrevioğlu 2004).

Eritrositlerde glukoz 6-fosfat dehidrogenazın kalıtsal eksikliği ya da değişik varyantlarının bulunması, ileri seviyelerde anemiye yol açmaktadır. Tiamin eksikliğinde ortaya çıkan ve bellek kaybı ile kısmi paralizin birlikte görüldüğü Wernicke-Karsokoff sendromu; pentoz fosfat yolundaki transketolaz aktivitesindeki değişimlere de bağlanmaktadır (Kutay 2002). Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz ve 6-fosfoglukonat dehidrogenaz enzimlerinin eksikliğinde anemi görülür (Ajmar 1979).

Bazı bileşikler tarafından enzimlerin *in vivo* ve *in vitro* aktivitelerinin azaltılması ya da tamamen yok edilmesi olayına inhibisyon adı verilir. İnhibisyona sebep olan bileşiklere inhibitör denir. İnhibitörler genellikle küçük molekül yapısına sahip bileşikler ya da iyonlardır. Enzim inhibisyonu biyolojik sistemlerde başlı başına bir kontrol mekanizması oluşturduğu için önemlidir. Birçok kimyasal madde, ilaç ve zehirli bileşikler de fonksiyonlarını bu yolla gerçekleştirirler (Keha ve Küfrevioğlu 2004).

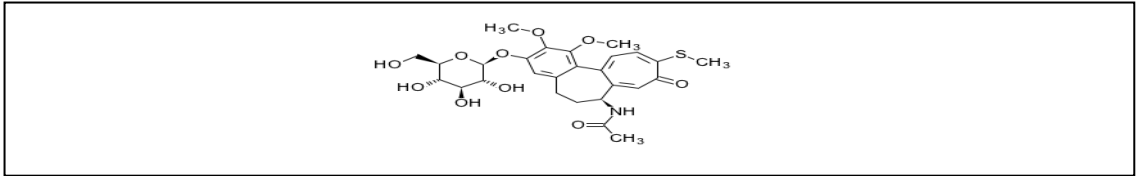
İnhibisyon, dönüşümlü ya da dönüşümsüz olabilir. Dönüşümlü inhibisyonda enzim ile inhibitör etkileşimleri bir denge reaksiyonudur. Bu inhibisyon türü yarışmalı, yarışmasız veya yarı yarışmalı olabilir. Yarışmalı inhibisyonda, inhibitör ile substrat enzimin aynı bölgesine bağlanmakta yarışır. Substrat konsantrasyonu artırıldıkça

inhibisyon etkisi azalmaktadır. Yarışmasız inhibisyonda, inhibitör ile substrat enzimin farklı bölgelerine bağlandığından genelde inhibisyon etkisi substrat konsantrasyonundan etkilenmez. Yarı yarışmalı inhibisyonda ise inhibitör sadece ES (enzim-substrat) kompleksine bağlanabilir. İnhibitörleri çok kez yarışmalı ve yarışmasız olarak kesin sınırlarla birbirinden ayırmak mümkün değildir. Genellikle karışık inhibisyon gözlenir. Dönüşümsüz inhibisyonda inhibitör enzime ya kovalent bağlanır yada zor ayrılabilen bir kompleks oluşturur.

Çok sayıda polipeptid zincirinden meydana gelen allosterik enzimler olarak bilinen enzimlerde allosterik inhibisyon adı verilen başka bir inhibisyon olayı gözlenir. Bu inhibisyon çeşidinde, inhibitörler enzimin aktif merkezinden başka bir yere bağlanırlar ve üç boyutlu yapıyı değiştirerek enzim aktivitesini etkilerler (Keha ve Küfrevioğlu 2004).

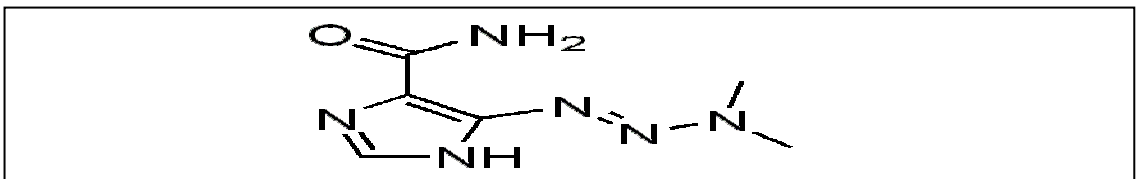
Enzimler, hem katalizledikleri reaksiyon tiplerine hem de ürüne dönüştürdükleri substratlara karşı son derece spesifiktirler. Genellikle tek bir kimyasal reaksiyonu ya da aynı tip benzer reaksiyonları katalizlerler (Lehninger 2000). İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD, 6PGD enzimleri üzerine etkileri incelenen ilaçların bazı özellikleri aşağıda anlatılmaktadır.

1. Tiyokolşikosid: Santral etkili kas gevşeticiler sınıfına girer, çiğdem türü bitkilerden elde edilen bir kolsisin glikozidi olan kolsikozidin tiyometil türevidir. İn vitro deneylerde GABA_A (Gamma aminobutyric acid) reseptörleri üzerinde ve beyin sapında omurilikte ara nöronlar tarafından salıverilen inhibitör bir nöromadyotör olan glisin etkilediği glisinerjik reseptörler üzerinde agonistik etki gösterir. Kas spazmında rol alan omurilik motor nöronları bu şekilde inhibe etmek suretiyle çizgili kas spazmını azalttığı sanılmaktadır. Başlıca yan tesirleri somnolans, dispepsi, karın ağrısı ve diyaredir (Kayaalp 2002).



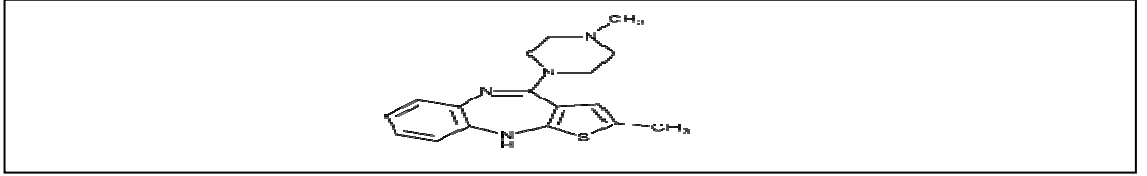
Şekil 1.3. Tiyokolşikosid molekülünün yapısal formülü

2. Dakarbazin: Antineoplastik ilaçlar sınıfına girer. Antineoplastik ilaçlar ise genel etki mekanizmaları ve ya kaynakları göz önünde bulundurarak 6 sınıfa ayrılırlar. Bir triazen türevidir olan dakarbazin antineoplastiklerin alkilleyici ilaçlar sınıfına girmektedir. Kesin etki mekanizması belli değildir. Vücutta esas olarak serbest metil radikali salıveren bileşiklere dönüşmek suretiyle etkinlik kazandığına ve DNA moleküllerini metilleme suretiyle sitotoksik etki yaptıklarına inanılmaktadır. Ayrıca, RNA ve dolayısıyla protein sentezinde bozarlar. Dakarbazin hodkin hastalığı (AGVD) kombinasyonu içinde maliny melanoma, yumuşak doku sarkomlarında kullanılmaktadır (Kayaalp 2002).



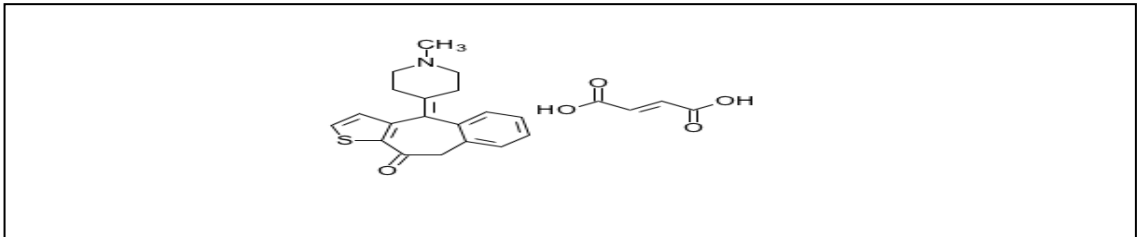
Şekil 1.4. Dakarbazin molekülünün yapısal formülü

3. **Olanzapin:** Benzepin türevi bir atipik noroleptiktir. Dopamin D₄ reseptörleri ile seratonin 5-HT_{2A} reseptörleri üzerinde yüksek afiniteli antagonistik etkinlik gösterir. Bu bakımdan ve davranışsal ve elektrofizyolojik testlerdeki etkinliği bakımından klozapin'e benzer. Asetilkolin, noradrenalin ve histamin reseptörlerini de güçlü bir şekilde bloke eder. Klinik denemelerde ekstrapiramidal yan tesir yapma potansiyelinin düşük olduğu ve şizofreninin hem pozitif hemde negatif semptomlarını düzelttiği saptanmıştır. Başlıca yan tesirleri uyuşukluk, kilo alma baş dönmesi ve akatisiadır (Kayaalp 2002).



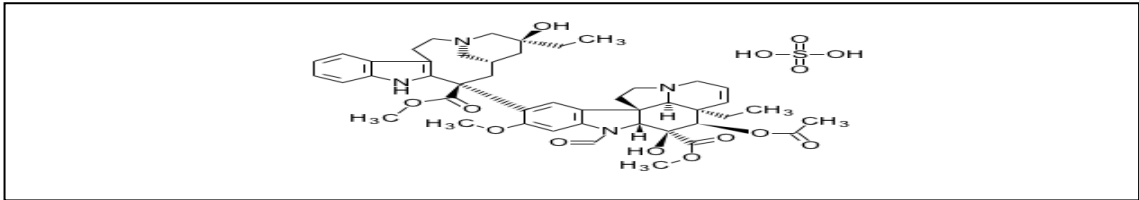
Şekil 1.5. Olanzapin molekülünün yapısal formülü

4. **Ketotifen:** Histamin adındaki kimyasalın vücuttan salıverilmesini inhibe eden bir antihistamindir. Histamin hapşurma, burun akıntısı ve gözde sulanma gibi alerjik semptomlara sebep olur. Ketotifen toz, polen, hayvanlar veya diğer alerjik etkenlerin sebep olduğu gözde kaşınmalarının tedavisinde kullanılır. Yan etkileri ise baş ağrısı, burun akıntısı, gözlerde yanma, gözlerde kuruma, göz kapağı problemleridir (Kayaalp 2002).



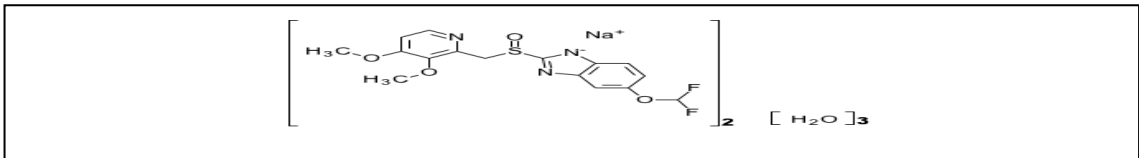
Şekil 1.6. Ketotifen molekülünün yapısal formülü

5. **Vinkristine Sülfat:** Antineoplastik ilaçlar sınıfına giren vinkristine sülfat ilerlemiş Hodgkin hastalığı tedavisinde kullanılan ve yüksek oranda tam şifa sağlayan MOPP ve ABVD kombinasyonlarının bir ögesidir. Hodgkin dışı lenfomalar, Burkitt lenfoması, nadir görülen pediatrik solid tümörler, küçük hücreli akciğer kanseri, akut myeloid lösemi, kronik lenfositik lösemi, meme kanseri, serviks kanseri ve multipl myelomada etkilidir. Hem somatik duysal ve motor sinirleri hemde otonomik sinirleri bozar bulantı ve kusma nadirdir (Kayaalp 2002).



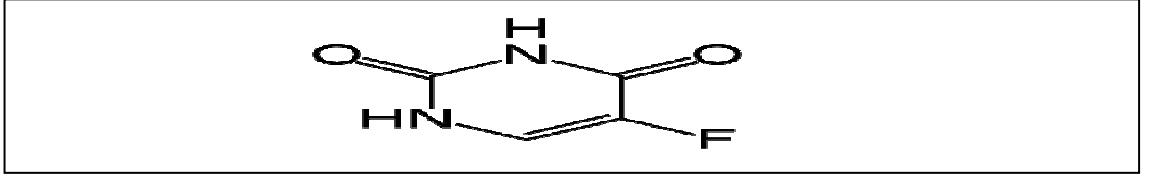
Şekil 1.7. Vinkristine sülfat molekülünün yapısal formülü

6. **Pantoprozol Sodyum:** Midenin asit salgısını azaltan ilaçlar sınıfına giren pantoprozol sodyum peptik ülser tedavisinde kullanılır. Paryetal hücrelerin apikal membranında ve hücre içine sokulmuş durumdaki sekretuar kanalikülleri kaplayan tübüloveziküllerde yerleşmiş olan K^+ , H^+ -ATPaz enzimini güçlü bir şekilde inhibe eder. Baş ağrısı ve orta şiddetli diyare, karnın yukarı kısmında ağrı, flatulans, ciltte döküntü ve kaşınma yapabilir (Kayaalp 2002).



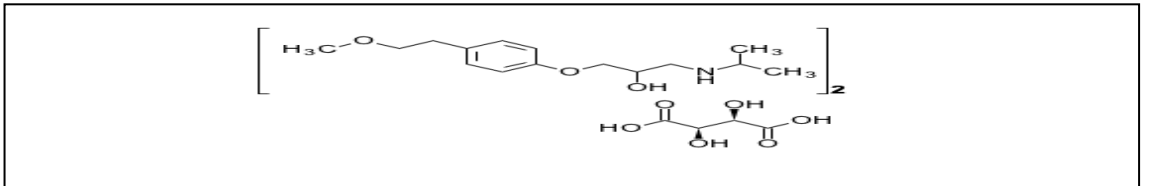
Şekil 1.8. Pantoprozol sodyum molekülünün yapısal formülü

7. **5-Fluorouracil:** Antimetabolitler sınıfı ile antineoplastik bir ilaçtır. Florlanmış bir pirimidin analogudur. Vücutta önce fluorouradilat'a ve daha sonra dezoksinukleotid olan fluorode zoksivrilata dönüştükten sonra etkinlik kazanır. Bu aktif metabolit, folatlı kofaktör olan NS-10 metilen tetra hidrolat ile birlikte timidilat sentaz ile üçlü kompleks yaparak birleşir ve onu inhibe eder. Timidilat oluşması azalınca hücrede timin sentezi bozulmuş olur. Ve DNA sentezi duraklar. Fluorourasilden vücutta oluşan fluorouridilat (FUMP), RNA yapısına katılır ve böylece RNA fonksiyonlarını bu arada hücrede protein sentezini bozar (Kayaalp 2002).



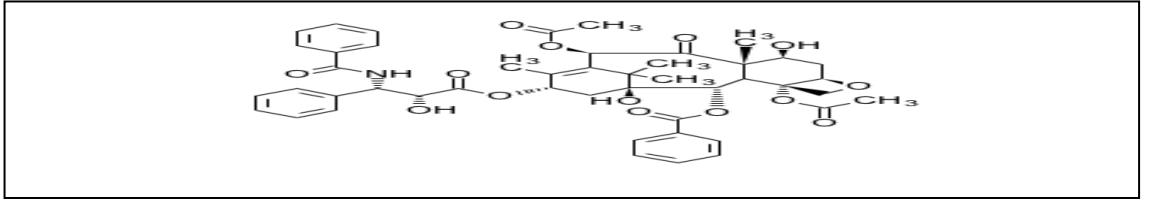
Şekil 1.9. 5-Fluorouracil molekülünün yapısal formülü

8. **Metoprolol Tartarat:** Metoprolol tartarat (MT); hipertansiyon, anjina pektoris ve aritmi tedavisinde kullanılan bir selektif β 1-bloker ajandır. Kısa yarılanma ömrü(3-4 saat) nedeni ile uzun dönem tedavide etkili kan konsantrasyonunu sürdürebilmek için tekrarlanan dozlarına gerek duyulmaktadır (Anonim 2009)



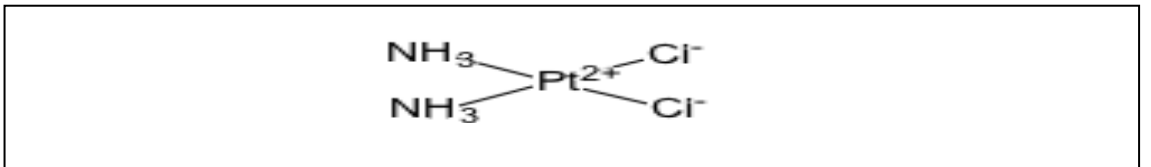
Şekil 1.10. Metoprolol tartarat molekülünün yapısal formülü

9. **Paklitaksel:** Paklitaksel, porsuk ağacı (*Taxus Brevifolia*) kabuğundan izole edilen doğal bir diterpen alkaloididir. Paklitaksel, mikrotübül polimerine bağlanarak depolimerizasyona karşı kararlılığın sağlanmasında rol oynar. Günümüzde göğüs ve rahim kanserlerinin kemoterapisinde kullanılan en önemli ilaçlardan biridir (Karlığa ve Talınlı 2004).



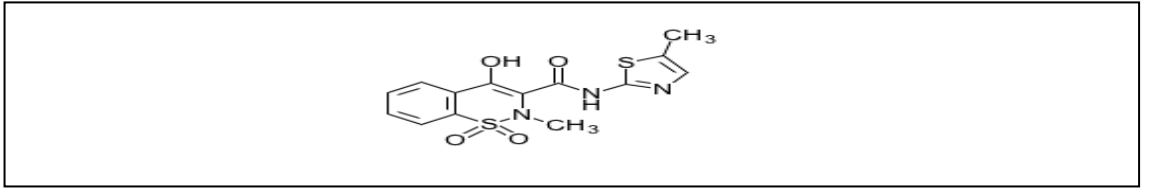
Şekil 1.11. Paklitaksel molekülünün yapısal formülü

10. **Sisplatin:** Yapısı bakımından diğer antineoplastik ilaçlara benzemeyen organik platin türevi ilaçlardır. DNA çift-zincirinde zincirler-arası ve zincir-içi çapraz-bağlanma yapar; bu nedenle etki mekanizması bifonksiyonel alkilleyici ilaçlarınkine benzer. Sadece sisizomeri sitotoksiktir. Geniş spektrumlu bir antineoplastik ilaçtır. Non-seminomazol testis tümörleri, ilerlemiş over kanseri, mesane, prostat, serviks gibi solid tümörlerin tedavisinde kullanılır. En ciddi yan tesirleri, doza-bağımlı olarak akut tübüler nekroz yapması ve ayrıca glomerüler filtrasyonu bozmasıdır (Kayaalp 2002).



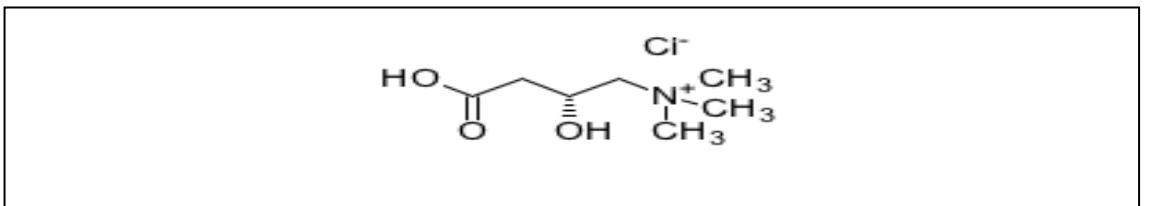
Şekil 1.12. Sisplatin molekülünün yapısal formülü

11. Meloksikam: Uzun etkili bir ilaçtır. Non –streoidal antinflamauvar ilaçlar mide-bağırsak kanalında kısmen veya yavaş absorbe edilir. Tek dozdan sonra plazmada doruk düzeyine yaklaşık 5-6 saatte erişir. Eliminasyon yarılanma ömrü 20 saattir. 23 gün ile bir ay arasında süre ile karşılaştırmalı denemelerde gastrointestinal yan tesirlerinin plasebo ile görülen sıklıkta ve günde 20 mg piroksikan veya 100 mg diklofenek alanlardakinden daha düşük oranlarda ortaya çıktığı gösterilmiştir. Maksimum dozu 15 mg'dır. Başlıca kullanım yerleri osteortrit, romatoid, artritve, onkilozan, spondilittir (Kayaalp 2002).



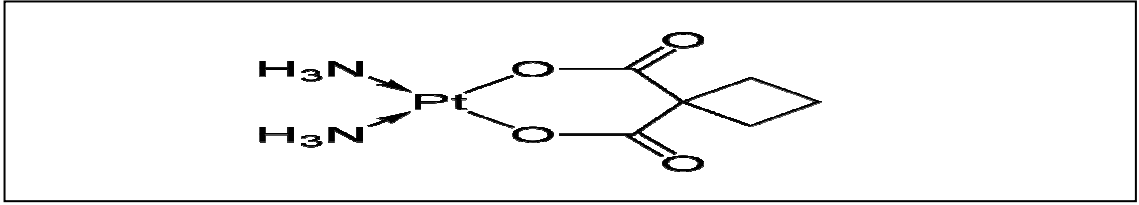
Şekil 1.13. Meloksikam molekülünün yapısal formülü

12. L-Karnitin: Kimyaca, beta-hidroksi-gamtrietylmonyum butirattır. Et, süt ve süt ürünlerinde bulunur ve diyet içinde alınır. Ayrıca, proteinler içindeki lizinden sentez edilir. Bu olay için C vitamini, niasin, pridoksim, demir ve 5-adenozilmetionine gerek vardır. En önemli fonksiyonu hücrelerde yağ asidlerinin oksidasyonu için gerekli olmasıdır; bu olay için yağ asidlerinin karnitin açil transferazlar aracılığıyla açilkarnitin türevi haline geçmesi ve bu şekilde mitokondrilere translokasyonları gerekir. Primer karnitin eksikliği ve sekonder karnitin eksikliği kalıtsal olarak ortaya çıkar bu da birçok hastalığa sebep olur (Kayaalp 2002).



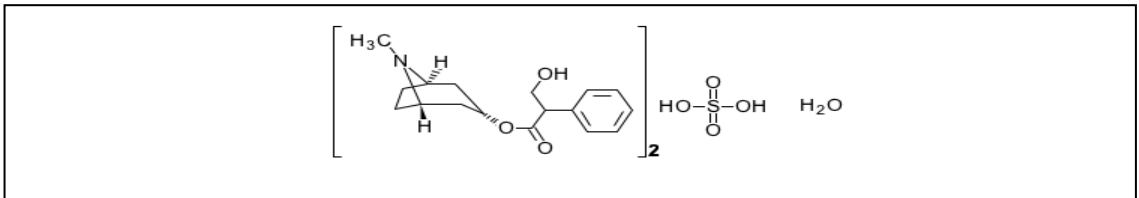
Şekil 1.14. L-Karnitin molekülünün yapısal formülü

13. **Karboplatin:** Sisplatin kadar güçlü antineoplastik etkinliğe sahip olan, fakat emetik etkisi, renal toksitesi ile ototoksitesi ve nörotoksitesi daha düşük bir sisplatin analogudur. Myelosupresy etkisi sisplatininkinden fazladır; kan hücrelerinden özellikle trombositlerin düzeyini düşürür. İndikasyonu kısıtlıdır. Daha önce yapılan kemoterapiden sonra nükseden over kanserinin tedavisinde kullanılır (Kayaalp 2002).



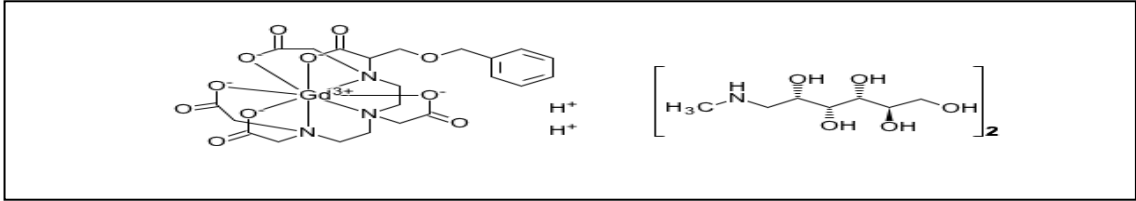
Şekil 1.15. Karboplatin molekülünün yapısal formülü

14. **Atropin Sülfat:** Parasempatik bir ilaçtır. Sinoatriyal düğüm ve A-V düğüm üzerinden vegal tonusu kaldırır, sinüs ritminin hızlanması ve normal antriyoventriküler iletimin hızının artmasına neden olur. Sinüs brodikardisi, sinoatriyal durma, sinoatriyal blok'un ve ikinci derecede A-V bloklarının 1. Tipinin tedavisi için kullanılır. Sinoatriyal veya A-V düğüm bölgesindeki iskemi nedeniyle veya refleks olarak ileri derecede bradikardi ve kalp dabilitesi azalması gösteren akut miyokard infarktüsü olgularında da kullanılır. Bazı yan etkileri ise ağız kuruluğu yapar, hastayı huzursuz eder, görme bozukluğu oluşturur, idrar retensiyonuna neden olur, halusinasyonlar ve asitasyona neden olur (Kayaalp 2002).



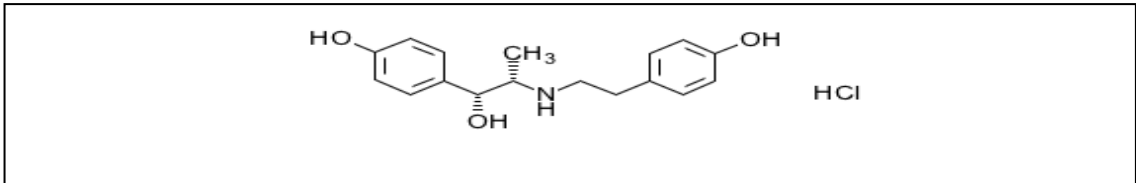
Şekil 1.16. Atropin Sülfat molekülünün yapısal formülü

15. **Gadobenat Dimeglumin:** Karaciğer ve santral sinir sisteminin tanısal manyetik rezonans görüntülenmesinde (MRI) kullanılan paramanyetik bir kontrast ajandır. Böbrek fonksiyon bozukluğu (kreatinin klerensi ≤ 30 ml/dak) olan hastalarda yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, bu hasta grubunda kullanımı önerilemez. Klinik yönden geliştirilmesi sırasında aşağıdaki yan etkiler görülmüştür: hipertansiyon. Vaka da: injeksiyon yerinde his değişikliği veya ağrı, taşikardi, baş ağrısı, bulantı, kusma, kaşıntı, ishal, ağız kuruluğu, vazodilatasyon, cilt döküntüsü, baş dönmesi, titreme, karın ağrısı, hipotansiyon, aritmi, tat bozukluğu, lokalize ödem yapabilir (Anonim 2009).



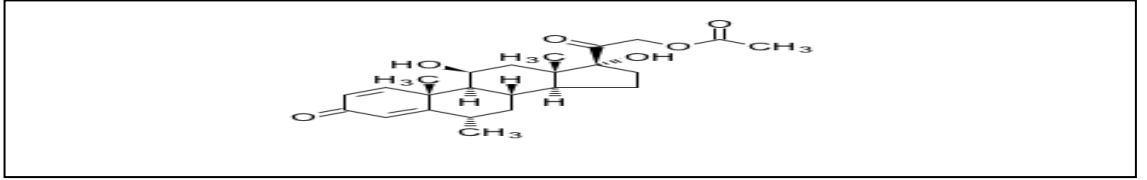
Şekil 1.17. Gadobenat Dimeglumin molekülünün yapısal formülü

16. **Ritodrin HCl:** Prematüre uterin kontraksiyonların inhibisyonunda, beta semptomimetik ilaçlar (ritodrin gibi), prostaglandin sentetaz inhibitörleri, magnezyum sülfat, kalsiyum kanal blokerleri (nifedipin gibi), oksitosin reseptör antagonistleri (atosiban) ve nitrik oksid donörleri öne sürülmektedir. Günümüzde beta adrenerjik ilaçlar (özellikle ritodrin HCl) ve kalsiyum kanal blokerleri (nifedipin) en çok kullanılan tokolitik ajanlardır. Ritodrinin maternal yan etkileri arasında; taşikardi, tremor, bulantı, baş ağrısı, göğüs ağrısı ve daha ciddi olarak pulmoner ödem miyokardiyal iskemi bulunmaktadır (Ceyhan vd 2007).



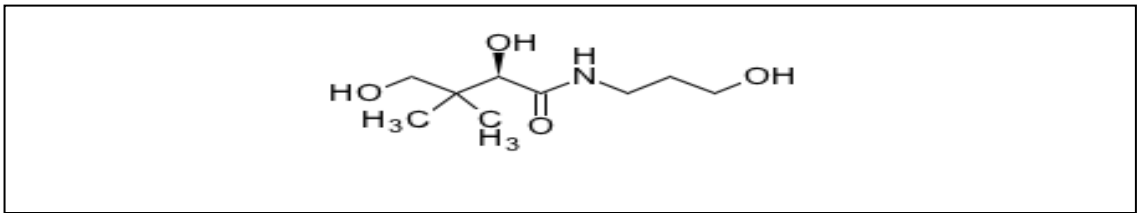
Şekil 1.18. Ritodrin HCl molekülünün yapısal formülü

17. Metilprednizolan Asetat: Kortikosteroidler, esas olarak karaciğer metabolize edilmek suretiyle inaktive edilirler. Esas olarak hidrojenazlarla çift bağın indirgenmesi ve sonra hidroksil gruplarının glüküronik asid ya da sülfatla konjuge edilmesi suretiyle edilirler. Ayrıca kortizol vücutta bir dehidrogenaz enziminin yardımıyla kısmen kortizona oksitlenir. Kortizolun yaklaşık %5'i 17-ketosteroid şeklinde idrarla itrah edilir. Metilprednizolan asetat suda çözünmeyen uzun etki süreli bir metilprednizolon esteridir (Kayaalp 2002).



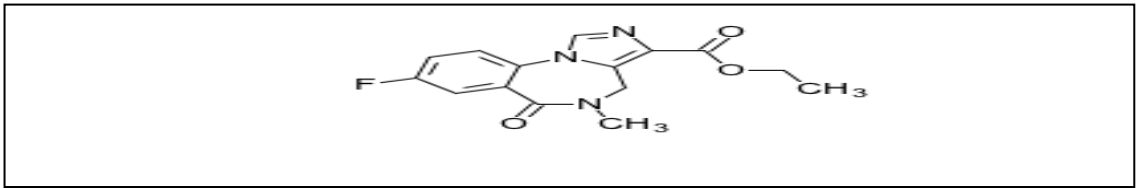
Şekil 1.19. Metilprednizolan Asetat molekülünün yapısal formülü

18. Dekspantenol: Dekstro-pantotenik asidin alkol şeklidir. Dekspantenol, karaciğerde D-pantotenik aside dönüşür. Pantotenik asid ise koenzim A'nın yapısına girer. Bu önemli metabolik fonksiyonuna rağmen insanda eksikliğine bağlı belirli bir patolojik bozukluk gösterilmemiştir. Cilt ve mukozaların ülser ve iltihap halleri ile güneş yanığına karşı kullanılmak üzere çıkarımlı pastil ve %2-5 ilaç içeren cilt merhemi ve solüsyonu şeklinde dekspantenol mustahzerleri varsa da bunların spesifik bir terapötik değerlerinin olduğu kanıtlanmamıştır. Lokal alerjik reaksiyonlara neden olabilir (Kayaalp 2002).



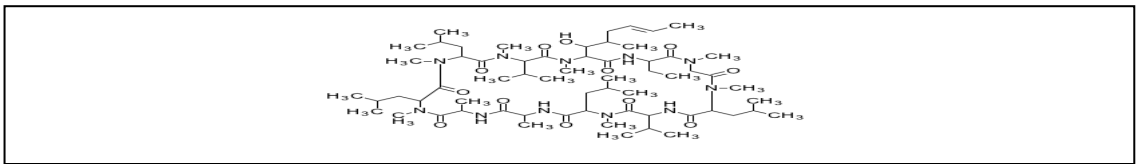
Şekil 1.20. Dekspantenol molekülünün yapısal formülü

19. **Flumazenil:** Gerçekte agonist etkinli düşük olan persiyel agonist tipi bir antagonuttur. Bir imidazodiazpin türevidir. Kısa süreli cerrahi veya endoskopik girişimlerde hastayı sakinleştirmek için enjekte edilen benzodiazepinlerin etkisinden hastayı girişim bittikten sonra hemen çıkarmak için ve benzodiazepin zehirlenmesinin teşhis ve tedavisi için kullanılır. Baş ağrısı, uyuşukluk, dikkat bozukluğu, görme yeteneğinin azalması gibi etkileri vardır (Kayaalp 2002).



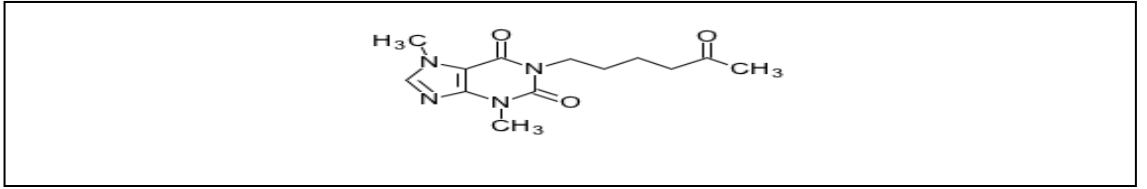
Şekil 1.21. Flumazenil molekülünün yapısal formülü

20. **Siklosporin:** Tolypocladium inflatum gams adlı fungusun elde edilen 11 aminoasidli siklik bir polipeptiddir. Halen kullanılan immunosupresif ilaçların etkinliği en yüksek olanıdır. CD4 tipi T lenfositlerinde, T lenfosit reseptörünün antijenle uyarılması ile başlatılan sinyalleme kaskadı basamaklarından birini oluşturan ve Ca^{+2} a bağımlı bir enzim olan kalsinörünü selektif bir şekilde inhibe eder. Böbrek, kemik iliği, karaciğer, kalp ve kalp-akciğer ile yapılan allojeneik transplantların (allogreftlerin) red rex önlenmesinde, kemik iliği transplatasyonundan sonra ortaya çıkan graft-versus-host reaksiyonun önlenmesi ve oluşmuşsa tedavisi ayrıca otoimmün hastaların tedavisinde kullanılır. En ciddi yan tesirleri ise nefrotoksisite, nörotoksisite, tromboembülüm, hepatotoksisite ve hipertansiyondur (Kayaalp 2002).



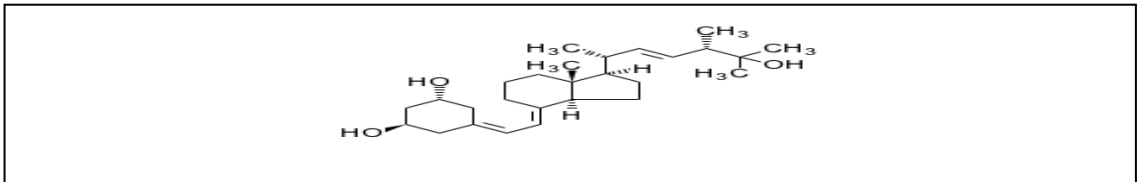
Şekil 1.22. Siklosporin molekülünün yapısal formülü

21. **Pentoksifilin:** Ksantin türevi fosfodiesteraz inhibitörü bir ilaçtır. Vazodilatör etkisi mutad dozlarda verildiğinde belirgin değildir. Periferik dilatör ilaçların çoğundan farklı olarak kanda neolojik etki de gösterir ve kanın viskozitesini azaltır. İnterminant koladikasyonlu hastalarda bacak kaslarının oksijenlenmesini artırır; fakat raynaud fenomeninde yeterli derecede terapötik etkinlik göstermez. Başlıca yan tesiri bulantı, yüzde kızarma (flushing), baş dönmesi, baş ağrısı ve gastroinlestial bozukluklardır. Kan basıncı ve kalp atışı hızını hafif değiştirir (Kayaalp 2002).



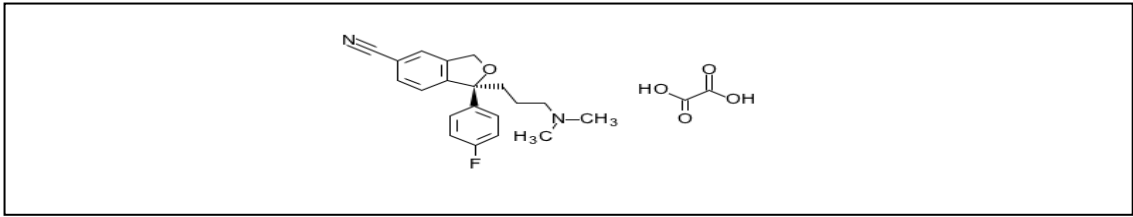
Şekil 1.23 Pentoksifilin molekülünün yapısal formülü

22. **Parikalsitol:** D vitamini analogu olan parikalsitol kronik renal yetmezlikte, sekonder hiperparatiroidizmin önleme ve tedavisinde kullanılır. Genellikle Yetişkinlerde diyaliz sırasında, gün aşırıdan daha sık verilmeyen 0.04 mcg/kg ile 0,1 mcg/kg dozajında verilir. Kontrendikasyonları ise; Vitamin D toksisitesi, hiperkalsemi, aşırı duyarlılıktır. Parilalsitolün başlıca yan etkileri ise; ürperme, kendini kötü hissetme, ateş, soğuk algınlığı, sepsis, çarpıntı, ağız kuruluğu, gastroinlestial kanama, bulantı, kusma, ödemdir (Anonim 2009)



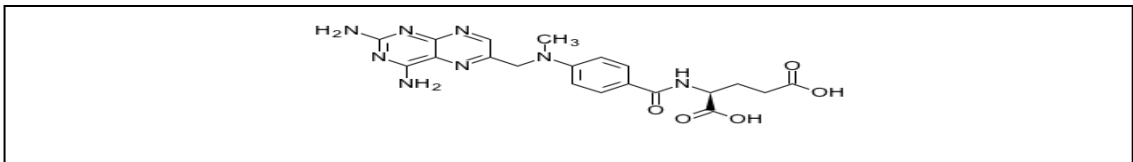
Şekil 1.24. Parikalsitol molekülünün yapısal formülü

23. Essitalopram okzalat: Selektif Serotonin geri alım inhibitörleri ("Selective serotonin reuptake inhibitors-SSRI") bir antidepresan ilaç sınıfıdır. Beyindeki sinaptik boşluktaki serotonin (5-hidroksitriptamin veya 5-HT olarak ta bilinir) isimli nörotransmitter'in geri emilimini engelleyerek miktarını arttırmayı hedefleyen bir ilaçtır (Kayaalp 2002).



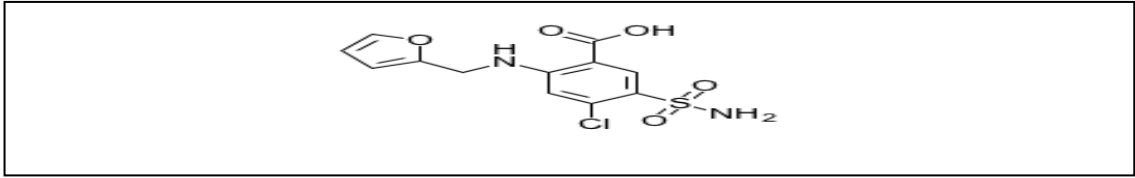
Şekil 1.25. Essitalopram okzalat molekülünün yapısal formülü

24. Metotreksat: Metotreksat, dihidrofolat redüktaz enziminin aktif noktasına sıkı bir şekilde bağlanarak enzimi inhibe eder. Tetrahidrofolat sentezinin inhibisyonu timidilat ve purin nükleotidlerinin biyosentezinin durmasına yol açar. Bu yapı taşlarının üretilmesi hücre çoğalması için gerekli olan DNA ve RNA'nın sentezini ve enerji üretimi için gerekli ATP üretimini inhibe eder. Metotreksat tümör hücrelerinde ve karaciğer ile böbrek hücrelerinde uzun süre bağlı kalır. Tümör hücrelerindeki bu durumun tedavi yönünden değeri vardır. En önemli kullanılı yeri losemilerin idame tedavisidir. En önemli toksik tesirleri kemik iliği depresyonuna bağlı olanlardır. Ağız ve barsak mukozası epitelini de bozar (Kayaalp 2002).



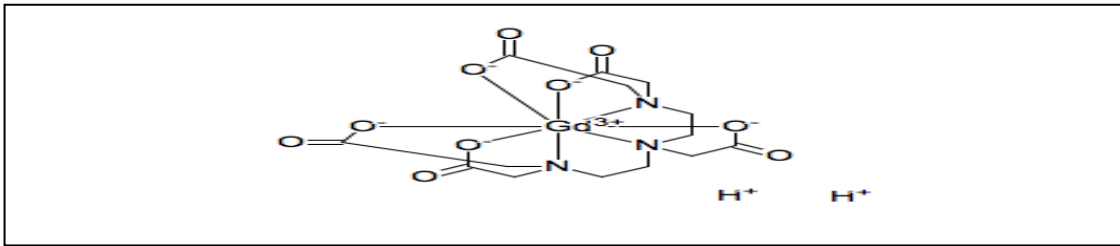
Şekil 1.26. Metotreksat molekülünün yapısal formülü

25. Furosemid: Antiranilik türevi bir diüretiktir. Furosemid temelde yakınsal ve uzakasal kanallarda değil aynı zamanda damar içindeki sodyum ve klorit geri emilimini inhibe eder. Pediatrik ve yetişkinlerde kan ve stoplazmasına bağlı kalpin eşlik ettiği ödemlerde karaciğer sirozunda lenfolit sendromu içeren böbrek hastalarının tedavisinde kullanılır. Başlıca yan etkileri pakrealitik sarılık, iştahsızlık, gastrik rahatsızlıklar, ishal, kabızlık, mide bulantısı, kusma, baş dönmesi baş ağrısı, hemolitik anemi gösterir (Anonim 2009)



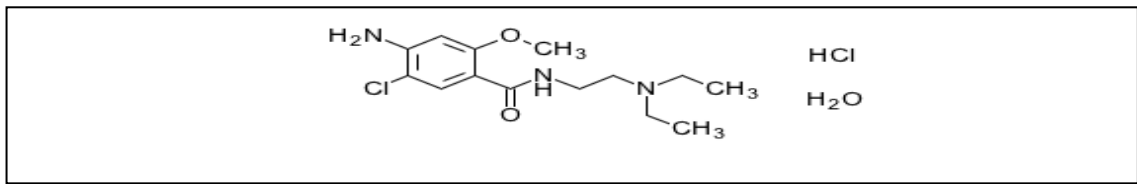
Şekil 1.27. Furosemid molekülünün yapısal formülü

26. Gadopentetik Asit: Gadopentetik asit dimeglumin, kuvvetli paramanyetik etkisi sayesinde düşük konsantrasyonlarda dahi relaksasyon sürelerinde belirgin bir kısalmaya neden olmaktadır. DTPA, paramanyetik gadolinyum iyonu ile oldukça yüksek bir in vitro ve in vivo stabiliteye sahip kompleks oluşturmaktadır. Gadopentetik Asit, özellikle tümörlerin gösterilmesinde ve meningioma şüphesi, (akustik) nörinoma, invazif tümörler (örn. glioma) ve metastazların ayırıcı tanılarının konulmasında; küçük ve/veya izointens tümörlerin gösterilmesinde; serebral kökenli olmayan tümörlerin yayılımları bakımından daha iyi değerlendirilmesinde endikedir (Anonim 2009)



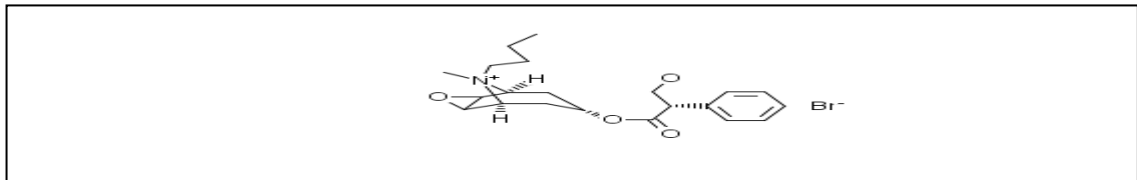
Şekil 1.28. Gadopentetik asit molekülünün yapısal formülü

27. **Metoklopramid HCl:** Metoklopramid, benzamid türevi bir dopamin antiagonistidir. Küçük dozlarda santral sinir sisteminde ve periferde dopamin D₂ reseptörlerini bloke eder. Yüksek dozda daha belirgin olmak üzere serotonin 5-HT₃ reseptörlerini bloke eder. Öte yandan serotonin 5-HT₄ reseptörlerin agonistidir, onları aktive eder. Dozu erişkinlerde günde 4 kez 10 mg'dır. Yan etkisi; uyuşukluk, ağız kuruluğu, diyare, halsizlik ve ciltte alerjik döküntülerdir (Kayaalp 2002).



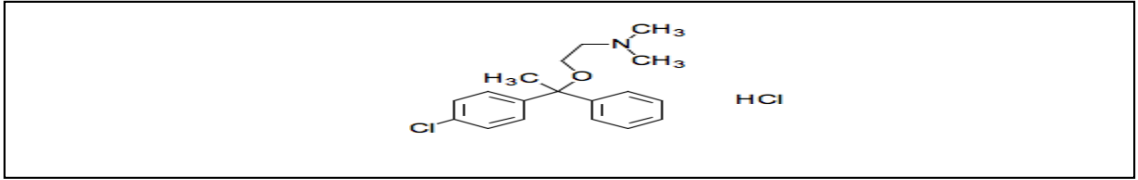
Şekil 1.29. Metoklopramid HCl molekülünün yapısal formülü.

28. **Hiyosin N-Bütül Bromür:** Skopolamin'in kuvaterner amin türevidir. Düz kas, dış salgı bezi ve kalp hücreleri gibi efektör hücrelerin muskarinin tipteki kolinerjik reseptörleri bloke ederler ve böylece efektör hücreye yönelik parasempatik impuls trafiğini iki farklı düzeyde keserler. Muskarinik reseptörlerin dört alt tipine (M₁, M₂, M₃, M₄) karşı eşit afinite gösterirler ve bu bakımdan belirgin bir selektiflikleri vardır. Antiplazmodik olarak gastroin, bilyer ve renal koliklere kullanılır. Uterus düz kasını da gevşetebilir. %10 oranında absorbe edildiği ve verilen dozun %90'ının feçeste kaldığı saptanmıştır (Kayaalp 2002).



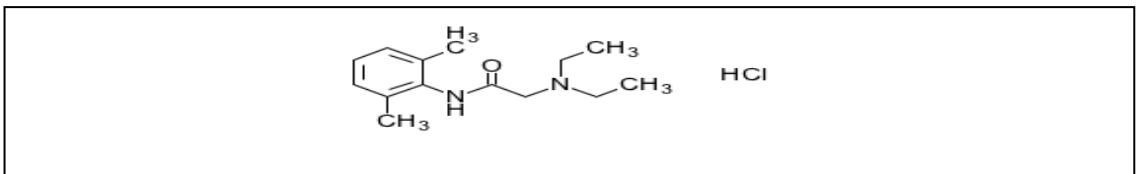
Şekil 1.30. Hiyosin N-Bütül Bromür molekülünün yapısal formülü

29. Klorfenoksamin HCl: Yapı benzerliği nedeniyle klasik antihistaminiklerin çoğu parasempotolitik etki gösterirler. Bu ilaçlar küçük dozlarda veya düşük konsantrasyonlarda selektif olarak H₁ reseptörlerini bloke ederler. Yüksek dozda veya konsantrasyonda ise selektiflikleri azalır; bazıları muskarinik tipteki asetil kolin reseptörlerini de bloke ederler. Fenoksamin kimyasal yapısına göre etanolamin türevlerine girer. Antihistaminik, sedatif ve antikolinergik etkileri güçlüdür. Taşıt tutmasına karşı etkilidirler; Parkinson hastalığı tedavisinde kullanılırlar (Kayaalp 2002).



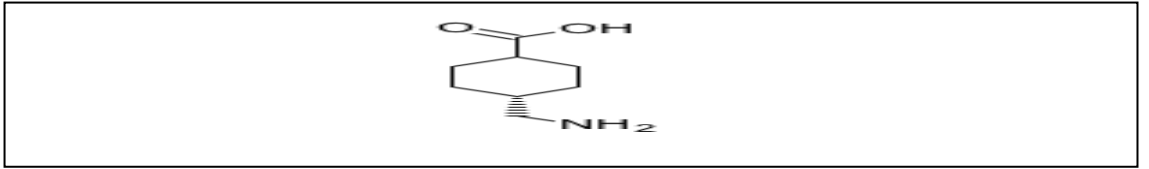
Şekil 1.31. Klorfenoksamin HCl molekülünün yapısal formülü

30. Lidokain HCl: Kalp cerrahisi, kalp kateterizasyonu ve akut myokard infarktusu sırasında gelişen akut ventriküler aritmilerin önlenmesinde ve ortadan kaldırılmasında intravenöz yoldan verilmek suretiyle başarı ile ve sık kullanılan bir antiaritmiktir. Lidokain'in otomotisite ile ilgili önemli bir elektrofizyolojik bir etkisi kinidin ve prokainamid gibi spontan diyastatik depolarizasyonun hızını yavaşlatmasıdır. Bunun taban sodyum akımını azaltmasına ve potasyum akımını artırmasına bağlı olduğu sanılmaktadır. Yan etkileri; uyuşukluk, paresteziler, ataksi, dizartri, nistagmus dezoriyanlasyon ve ajitasyondur. (Kayaalp 2002).



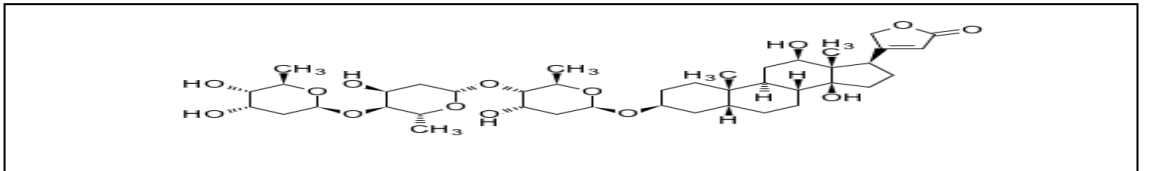
Şekil 1.32. Lidokain HCl molekülünün yapısal formülü

31. **Transeksamik asit:** Aminokaproik asidin siklobenzil analogudur. Aminokaproik asid için belirtilen şekilde “ lizin antimetaboliti” gibi davranarak fibrinolizi inhibe eder. Aşırı fibrinoliz durumu dahil aminokaproik asidin kullanıldığı indikasyonlarda kullanılır. Ayrıca mide ve düodenum ülserinin kanamasında, yeniden kanama olasılığını ve kan transfüzyonu ve acil cerrahi girişim gereksinimini azaltır. Menorajiye karşı da etkilidir. Gastrintestinal bozukluklar ve alerji oluşturabilir. En ciddi yan tesiri tromboembolik olaylara neden olmasıdır (Kayaalp 2002).



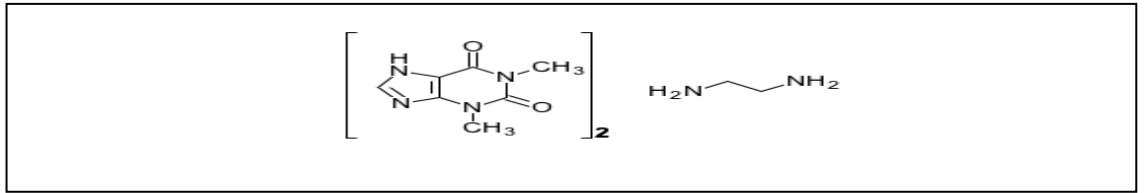
Şekil 1.33. Transeksamik asit molekülünün yapısal formülü

32. **Digoksin:** D-lanata'dan elde edilen bir glikoziddir. Oral ve intravenöz yollardan verilir. Digoksin beyaz yüksük otundan elde edilmiştir. Kalp glikozidlerinin tedavinde başlıca kullanılma yerlerinin kalp yetmezliğinin tedavisi olduğu yukarıda belirtilmiştir. Bu kullanım yerinde ilacın terapötik değeri ile ilgili en önemli tek özelliği myokardın kontraktılıtesini artırması ve bu etkiyi yaparken myokardın oksijen tüketimini önemli ölçüde farklılaştırmaması veya duruma göre azaltabilmesidir (Kayaalp 2002).



Şekil 1.34. Digoksin molekülünün yapısal formülü

33. **Teofilin Etilendiamin:** Teofilin etki mekanizmalarından biri bronş düz kas hücrelerinde ve iltihap hücrelerinde çeşitli endojen uyarıların yaptığı adenilin siklaz ve guanilin siklaz enzimi aktivasyonu sonucu oluşan sırasıyla siklik AMP ve siklik GMP düzeyinin artmasına dayanır. Artma teofilinin bu maddeleri hücre içinde yıkan fosfodiesteraz (FDE) enzimlerini inhibe etmesine bağlıdır. Adı geçen iki siklik nükleotid, bronş düz kaslarında gevşemeye ve iltihap hücrelerinde proinflamatuvar (iltihap yapıcı) medıya neden olur. Teofilin bronş düz kaslarında egemen izoenzimleri olan FDE3'ü ve FDE4'ü ve proinflamatuvar hücrelerin egemen izoenzimleri olan FDE4 ve FDE6'yı inhibe eder. Ayrıca diğeri bir etkisi ise teofilin ve diğeri metil santinler bronş düz kasları dışında diğeri düz kaslarda da gevşeme yapabilirler; fakat beyin damarlarını büzerler. Teofilin astım nöbetlerinin önlenmesi amacıyla ağız yolundan kronik uygulama için kullanılır. En sık görülen yan tesiri ise bulantı ve kusmadır. Ayrıca baş ağrısı, sinirlilik, uykusuzluk ve baş dönmesi yapabilir (Kayaalp 2002).



Şekil 1.35. Teofilin Etilendiamin molekülünün yapısal formülü

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) (EC.1.1.1.49) enzimi pentoz fosfat yolunun ilk ve kilit enzimidir. Bu enzim bakteri, protozoa, mantar, sinek balık, memelileri içeren geniş bir canlı topluluğunda bulunmuştur. Son yapılan çalışmalarda tavşan karaciğer mikrozomunda da olduğu tespit edilmiştir (Cacciaputi and Lessie 1977; Deutsch 1983; Fickenscher and Scheibe 1986; Dikmen ve Yüregir 1989; Ninfali *et al.* 1990; Reuter 1990; Cristina *et al.* 1990; Ünlükurt vd 1993; Walter *et al.* 1994; Aksoy 1997).

İnsan eritrositlerinden ilk kez 1965 yılında Yoshida tarafından saflaştırılan G6PD'nin değişik canlı ve dokulardaki molekül büyüklüğü, birincil ve alt birim yapıları ortaya konmuş (Levy 1979; Luzzatto and Battistuzzi 1985; Persico *et al.* 1986; Yoshido and Huang 1986; Vulliamy *et al.* 1988; Ozols 1993; İritani *et al.* 1992; Jeffery *et al.* 1993) ve muhtemel ikincil yapı amino asit dizilişinden tahmin edilmiş (Levy 1979; Yoshido and Huang 1986; Jeffery *et al.* 1993); enzimin spesifik substrat ve koenzim bağlanma bölgeleri dolaylı olarak belirlenmiştir (Comardella *et al.* 1988; Beutler 1991; Bautista *et al.* 1992; Ozols 1993; Jeffery *et al.* 1993). İnsan eritrosit G6PD enziminin sistemin sayısının her monomerde sekiz adet olduğu ve dimerler arasında disülfid köprülerinin olmadığı belirlenmiştir (Persico *et al.* 1986; Yoshido and Huang 1986; Vulliamy *et al.* 1988; Jeffery *et al.* 1993). Değişik tür G6PD'larda aspartik asit+glutamik asit sayısının lizin+histidin+arginin sayısından fazla olması enzime düşük izoelektrik nokta kazandırmıştır (Levy 1979).

Çizelge 2.1. Farklı türlere ait G6PD enziminin molekül kütleleri

Enzim kaynağı	Molekül kütlesi kDa	Kaynak
Mikroorganizmalarda	50-60	(Levy 1979)
Memelilerde	58-67	(Levy 1979)
Tavşan karaciğeri	90	(Ozols 1993)
Fare karaciğeri	121	(David <i>et al.</i> 1977)
Sıçan karaciğeri	130	(David <i>et al.</i> 1977)
Sıçan meme bezlerinde	120	(David <i>et al.</i> 1977)

Çizege 2.1'in devamı

Sıçan eritrositlerinde	131	(David <i>et al.</i> 1977)
Domuz karaciğerinde	133	(David <i>et al.</i> 1977)
Sığır eritrositinde	114	(David <i>et al.</i> 1977)
İnsan karaciğerinde	118	(David <i>et al.</i> 1977)

G6PD enzimi aktivitesi değişikliğine dokusal farklılıkların etkisi yanında enzimin biyokimyasal ve genetik yapısındaki değişiklikler de etki etmektedir(Luzatto and Battistuzzi 1985; Meada *et al.*1992; Cappellini *et al.* 1993). Bu yapısal değişiklikler sonucu oluşan aktivite düşüklüğü ile birlikte ortaya çıkan tablo G6PD enzim eksikliği adı altında incelenmiştir (Aksoy 1997).

Dünyada G6PD enzimi eksikliğinden yaklaşık 400 milyon insan etkilenmektedir. Bu enzimin bugüne kadar dünyada yaklaşık 400, Türkiye'de ise 20 ye yakın varyantı tespit edilmiştir. Türkiye'deki varyantlarının büyük bir kısmı Çukurova ile Antalya bölgesinde bulunmuştur (Aksoy 1997).

Çizelge 2.2. G6PD enziminin saflaştırıldığı dokular

Enzim kaynağı	Kaynaklar
İnsan eritrositlerinden	(Morelli <i>et al.</i> 1978; Dikmen ve Yüregir 1989;Yüregir vd 1994)
Sıçan meme bezlerinden	(Ninfali <i>et al.</i> 1990)
Sığır eritrositlerinden	(Ninfali <i>et al.</i> 1990)
At eritrositlerinden	(Cristina <i>et al.</i> 1990)
<i>Pseudomonas W6</i>	(Reuter <i>et al.</i> 1990)
<i>Pseudomonas cepacio</i>	(Cacciapuoti and Lessie 1977)
Bezelye yapraklarından	(Fickenscher and Scheibe 1986)
Domuz karaciğerinden	(Mohammed <i>et al.</i> 1976)
<i>Cryptococcus neoformans</i>	(Walter <i>et al.</i> 1994)
İnsan plasentasından	(Fazi <i>et al.</i> 1988)
Ekmekek mayasından	(Alhama <i>et al.</i> 1991)
Köpek karaciğerinden	(Bilgi vd 1995)
Sıçan karaciğerinden	(Gonzale <i>et al.</i> 1988)
<i>Candida utilis</i>	(Li <i>et al.</i> 1990)

1926 yılında sıtma tedavisinde kullanılmaya başlanan pamaquin, bazı hastalarda birkaç gün sonra ciddi belirtiler ortaya çıkarmıştır. İdrar siyaha dönüşmüş, sarılıkla beraber kan hemoglobin seviyesi aniden düşmüştü. Bu vakalar alyuvarların büyük ölçüde tahribatından dolayı ölümle sonuçlanmıştır (Keha ve Küfrevioğlu 2004). Kırmızı kan hücreleri aerobik glikoliz lezyonlarına karşı çok duyarlıdır. Yine sıtma tedavisinde kullanılan bir ilaç olan primaquine konsantrasyonuna bağımlı değişimi bulunmuştur (Telefoncu ve Telefoncu 1989).

Benzer şekilde William ve arkadaşları G6PD eksikliği olan şahısların eritrositlerinde hemolize sebep olan bazı ilaç ve kimyasalları tespit etmiştir. Bu ilaç ve kimyasallar; asetanilid, metilenblue, naliksikasit, primaquin, sulfasitamid, sulfapridin, tolvidinblue, sulfometokzol, tiyozolsulfon, trinitro toluen (Williams *et al.* 1986).

Yine bakırın G6PD enzimi üzerine etkisi araştırılmış ve inhibe ettiği bulunmuştur (Fairbanks 1967). Ayrıca maya G6PD enziminin dietilnitrozamin (Atalay ve Aker 1984) tarafından inhibe edildiği, fare böbreği G6PD (Pınarbaşı ve Çolak 1989) ve eritrosit G6PD enzimlerinin (Alıcıgüzel vd 1989) 2,4-diklorofenoksiasetik asit tarafından *in vivo* ve *in vitro* olarak inhibe edildiği tespit edilmiştir. Ayrıca peroksitlerin eritrosit G6PD enzimi üzerine etkisi araştırılmış yaşlılarda daha çok tahribatın olduğu bulunmuştur (Reddon *et al.* 1988).

Eritrosit G6PD'si üzerinde yapılan çalışmalarda seftizoksim, ampisilin, ampisilin-sulbaktam kombinasyonu, sulbaktam/sefoprazon, sefuroksim, dipiron sodyum, sefozolin sodyum, sefepezon, streptomisin, heparin, dopamin HCl, digoksin, gentamisin, netilmisin, magnezyum sülfat enzimi inhibe ettiği, lidokain, hiyosin n-bütülbromür, siklofosfamid, traneksamid asid, teofilin, alxan, aminokardon enzim üzerinde etkisiz olduğu belirtilmiştir (Çiftci 1998).

6-Fosfoglukonat dehidrogenaz (E.C.1.1.1.44; 6PGD) NADP⁺ varlığında 6-fosfoglukonat bileşiğini D-ribuloz 5-fosfata dönüştüren pentoz fosfat yolunun üçüncü

enzimidir. Reaksiyon sonucu birçok biyomolekülün yapısına giren riboz 5-fosfatın izomeri D-ribuloz 5-fosfat ve birçok biyokimyasal reaksiyonda indirgeyici güç olarak kullanılan NADPH oluşur. Enzimin önemi NADP⁺'yi NADPH'a indirgemesinden kaynaklanmaktadır. Birçok mikroorganizmada glukoz ve glukonat katabolik enzimi olarak görev alır (Yoshida *et al.* 1997). Enzim, glukoz 6-fosfatın, glikolitik ve pentoz fosfat yolu arasındaki dengesinin korunmasında önemlidir (Del Mar *et al.* 1986).

Enzimin eksikliğinde hemolitik anemi, retikulosit sayısında eksiklik, sarılık ve episodemik hemolitik olaylar tespit edilmiştir. Enzimin eksikliği ile beraber piruvat kinaz aktivitesi artmakta ve GSH seviyesinde ise azalma gözlenmektedir. Bu durum eritrositlerin ömürlerini kısaltmaktadır.

6PGD'nin doğal substratı 6-fosfoglukonat'tır. Enzimin NADP⁺'ya olan ilgisi genelde substratı olan 6-fosfoglukonat'tan daha fazladır (Topham and Dalziel 1986). Ayrıca NADPH spesifik 6PGD'nin insan eritrositi, kuzu karaciğeri, *Trypanosoma Brucei* ve *Candida utilis*' de substrat olarak 2-deoksi-6-fosfoglukonat ve 3-keto-6-fosfoglukonatı kullanabildiği çalışmalarda rapor edilmiştir (Hanau *et al.* 1992).

Enzimin koenzim spesifikliği; spesifik olarak NAD⁺ kullananlar, spesifik olarak NADP⁺ kullananlar, spesifik olmayanlar olmak üzere üç farklı şekilde belirlenmiştir (Ohara *et al.* 1996). Koenzim kullanımı türe göre değişmekle beraber memeliler ve mayalar genelde NADP⁺ spesifik, bakterilerde hem NADP⁺ hem de NAD⁺ spesifikliği belirlenmiştir.

Çizelge 2.3. 6-PGD enziminin koenzim özgülüğü

Enzim kaynağı	NAD ⁺ spesifik	NADP ⁺ spesifik	Spesifik olmayan	Kaynak
<i>Gluconabacter subaksidans</i>			+	Wood 1982
Bradyrhizobium sp.	+			Sosa <i>et al.</i> 2001
<i>Pseudomonas flourosens</i>			+	Stournaras <i>et al.</i> 1983
<i>Escherichia coli</i>		+		Yoon <i>et al.</i> 1989
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>		+		Tsai and Chen 1998

Çizelge 2.3'ün devamı

<i>Haemophilus influenzae</i>		+		Yoon <i>et al.</i> 1989
Koyun karaciğeri		+		Toews <i>et al.</i> 1976
<i>Bacillus siccatermofulus</i>		+		Veronese <i>et al.</i> 1976
<i>Lacto bacillus</i>	+			Menezes <i>et al.</i> 1989
<i>L. casei</i>		+		Menezes <i>et al.</i> 1989
Memeliler ve mayalar(genelde)		+		Wood 1982

6-fosfoglukanat dehidrogenazın molekül kütlesi kaynağına göre 80-152 kDa, altbirimlerinin molekül kütlesi ise 33-55 kDa arasında değişmektedir. Bazı canlılarda homodimer, bazılarında homotetramer bir yapıya sahiptir. İnsanda homodimer bir yapıya sahip enzimin alt biriminin molekül kütlesi 53 kDa olduğu deneysel verilerle gösterilmiştir (Adem 2006).

Çizelge 2.4. Farklı türlere ait 6PGD enziminin molekül kütleleri ve altbirim yapısı

Enzim kaynağı	Molekül kütlesi (kDa)	Alt birim molekül kütlesi ve yapısı (kDa)	Kaynak
Koyun karaciğeri	94	47, homodimer	Betts and Mayer 1975
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	120	52,5, homodimer	Bianchi and Bertrand 2001
<i>Leuconostoc lactis SHO-54</i>	140	32,8, tetramer	Ohara <i>et al.</i> 2004
İnsan	106	53, homodimer	Pearse and Rosemeyer 1975
Sıçan karaciğeri	102	52, homodimer	Proscal and Holten 1972
<i>Drosophila melanogaster</i>	105	53, homodimer	Williamson <i>et al.</i> 1980
<i>Schizosaccorharomyces Pombe</i>	152	38, homotetramer	Tsai and Chen 1998

Türüne göre değişmekle beraber enzimin optimum pH aralığı 5,5-9,6 aralığında değişmektedir. Enzim aktivitesinin pH 7,6-9,2 aralığında arttığı, 9,3'ten sonra ise aktivitesini kaybettiği bildirilmiştir (Barengi *et al.* 1987). Enzimin doğal halinin optimum pH'sı; insan beyinde 8,6 (Weisz *et al.* 1985), sıçan eritrositlerinde 7,0

(Beydemir vd 2003) ve sıçan böbrek korteksinde 8,0 (Corpas *et al.* 1995) olarak belirlenmiştir.

G6PD ve 6PGD beraber olarak 2' 5'-ADP Sepharose 4B afinite ve DEAE Sepharose Fast Flow iyon değiştirici kolonlar kullanılarak saflaştırılmışlardır. Enzimler iyon değişim kolonundan tuz gradienti oluşturularak elue edilmişlerdir (Ulus *et al.* 1999). Enzim; amonyum sülfat çöktürmesi, yüksek hızda santrifüj, DE-52 kolonu, SP-Sephadex, DEAE selüloz, CM-selüloz, DEAE-Sephadex, CM-Sephadex, hidroksiapatit ve NADP⁺-Sepharose, 2' 5'-ADP Sepharose 4B afinite kromatografisi, NADP⁺-Agaroz vb. yöntemlerle saflaştırılmıştır (Hanau *et al.* 1992).

ATP'nin 6-PG'a karşı yarışmalı (Moritz *et al.* 2000), NADP⁺ karşı yarışmasız (Cottreau *et al.* 1975) inhibisyonu gözlenmesine karşın, *in vitro* şartlarda ATP enzimi inhibe etmesine rağmen *in vivo* şartlarda ATP'nin %80-90'ı Mg⁺² ile kompleks oluşturduğundan dolayı inhibisyonu zayıflar (Moritz *et al.* 2000). Fruktoz-1,6-bisfosfatın ve eritroz 4-P'nin *leuconostoc lactis* 6PGD enzimini yarışmalı olarak inhibe ettiği belirtilmiştir. Bu türde 1'er mM ATP, ADP, AMP, NADP⁺, NADPH, asetilCoA, okzalasetat, glukoz-1-P, fosfoenolpruvat ve glukoz-6P'ın inhibisyon yaptığı gözlenmemiştir (Ohara *et al.* 2004).

Bazı metal iyonlarının potansiyel inhibitör olduğu belirtilmiş ve Roark and Brown (1996) tarafından Zn⁺², Cu⁺², Cd⁺² inhibisyonları tespit edilmiştir (Sawa *et al.* 1985). Asetat ve sodyum asetat inhibisyon etkisi göstermediği için diğer anyonların etkileri incelenirken sabit iyonik kuvvet oluşturmak da kullanılabilir (Proscal and Holten 1972). Ayrıca enzim düşük Mg⁺² konsantrasyonunda aktive, yüksek Mg⁺² konsantrasyonunda ise inhibisyona uğramaktadır (Veronese *et al.* 1974).

Enzimin ürün inhibisyonu çalışmalarında NADPH ve ribuloz-5-fosfatın etkisi araştırılmış ve NADPH'ın NADP⁺ bağlanmasını yarışmalı, 6-PG'nin bağlanmasını yarışmasız olarak inhibe ettiği belirtilmiştir (Kato *et al.* 1979). Ribuloz-5-fosfatın ise hem 6-

PG hem de NADP^+ bağlanmasını yarışmasız olarak inhibe ettiği belirtilmiştir. Fruktoz-1,6-bisfosfatın koyun karaciğerinde 6-PG'ye karşı yarışmalı, NADP^+ ye karşı yarışmasız inhibisyona neden olduğu belirtilmiştir (Dyson and D'Orazio 1971). Bazı türlerde okzalasetat, glukoz-6P, okzalat, fruktoz-6-P, fruktoz-1-P, glukoz-1,6 bisfosfat, P_{Pi}, P_i, Phi (fosfanat), sitrat ve sülfatın ibhibisyon etkisi gösterdiği belirtilmiştir (Beitner and Nordenberg 1979). Sıçan eritrositlerinde $2,500 \pm 0,866$ mM, $0,052 \pm 0,007$ mM, ve $0,070 \pm 0,007$ mM konsantrasyonlarında ATP, NADPH ve NADH için inhibisyon etkisi gösterdiği belirtilmiştir. (Çiftçi vd 2002)

Eritrosit 6PGD'si üzerinde yapılan çalışmalarda metiergobazin maleat, piroksikam, tenoksikam, tiyokolşikosid, menadion sodyum bisülfıt, fuluorourasil, sisplatin, ketoprofenin enzimi inhibe ettiği, adranalin, midazolam, fentanil, deksametazomna bisülfıt, pentoksifilin de enzim üzerinde etkisiz olduğu belirtilmiştir (Akyüz 2004; Özabacıgil 2005). İnsan eritrositi üzerindeki çalışmalarında; amikasin, ampisilin, sefepim HCl, netilmisin, gentamisin sülfat, isepamisin, kloramfenikol, lavoflaksasin, ofloksasin, penisilin, seftazidim pentahidrat, siprofloksasin, sefotaksim sodyum teikoplanin enzimi inhibe ettiği, sefazolin sodyumun aktive ettiği, sefriakson, meropenem, streptomisin sülfatın etkisiz olduğu belirtilmiştir. Ayrıca vanadat'ın kuzu karaciğeri enzimini inaktive ettiği tespit edilmiştir (Çiftci *et al.* 2002). Sıçan eritrositlerinde yaptıkları enzimin çalışmalarında amikasin, ampisilin ve netilmisin sülfat'ın enzimi inhibe ettiğini ve metamizol'ün enzim aktivitesi üzerine etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir. Sıçan eritrositlerinde melatonin hormonunun enzimi inhibe ettiği ayrıca tespit edilmiştir (Gülçin and Beydemir 2004).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Yararlanılan alet ve cihazlar

Çalışmalar esnasında aşağıdaki alet ve cihazlardan faydalanılmıştır.

Santrifüj	: IEC Clinical centrifuge USA
Soğutmalı santrifüj	: Heraeus Sepatch Suprafuge-22
Spektrofotometre	: Shimadzu UV-VIS 1208 (Japan)
pH metre	: Lab Star
Elektroforez tankı	: Heofer, HSI
Peristaltik pompa	: Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala (İsveç)
Karıştırıcı	: Vortex-Genine, Model K-55: GE, Sci. Ind. Inc. Springfield, Mass. 01103 (ABD)
Hassas terazi	: Metler Ha 51 Gallenkamp
Afinite kolonu	: Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala (İsveç)
Kronometre	: Hanhard, Electronische Digital-stopphur Germany
Otomatik pipetler	: Eppendorf
Magnetic karıştırıcı	: İka Combimag RCO
Çalkalayıcı	: GFL
Saf su cihazı	: Barnstead Easy Pure UV/UF
Su banyosu	: Clifton
Kar makinesi	: Scotsman AF-20 (Authomatic ice machines)
Liyofilizatör	: Snijders
Güç kaynağı	: 1-Bio Rad Power Pac 3000
Buzdolapları	: Arçelik
Derindondurucu (-20°C'ye k):	Sanyo Medical Freezer

3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmalarımızda kullanılan standart serum albümin, N,N,N',N'-tetrametil etilendiamin (TEMED), diyaliz torbaları, β -nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (indirgenmiş form) (NADPH), β -nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (okside form) (NADP⁺), potasyum siyanür, potasyum ferrisiyanür, sodyum bikarbonat ve etilendiamintetraasetikasit (EDTA) Sigma Chemical Comp.'den; triklor asetik asit, sodyum hidroksit, trihidroksimetilaminometan (Tris), amonyum sülfat, sodyum klorür, sodyum asetat, hidroklorik asit, glisin, fosforik asit, sodyum azotür, gliserin, potasyum fosfat, potasyum bisfosfat, potasyum asetat, potasyum klorür, etanol, metanol, asetik asit, sodyum asetat, izopropanol E.Merck AG'den; akrilamid, N,N'-metilen bisakrilamid, coomassie brillant blue G-250, brom timol mavisi, sodyum dodesil sülfat (SDS), Sephadex G-200, agar, amonyum persülfat, β -merkaptto etanol ve 2',5' ADP-Sepharose 4B Pharmacia'dan; çalışmada kullanılan ilaçlar ise piyasadan temin edildi.

3.1.3. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması

Araştırma süresince kullanılan çözeltilerin kullanılış yerleri ve hazırlanış şekilleri aşağıdaki gibidir:

G6PD enzimi çalışmalarında kullanılan çözeltiler

1. 1M Tris-HCl/5 mM EDTA (pH=8,0) (Enzim aktivitesinde kullanılan tampon): 6,057 g (0,05 mol) Tris ve 0,0605 g (0,00025mol) EDTA alınarak 40 ml destile suda çözüldü. HCl çözeltisi ile pH 8,0'a ayarlandı. Daha sonra toplam hacim su ile 50 ml'ye tamamlandı.
2. 0,1 M MgCl₂ (Enzim aktivite ölçümünde kullanılan aktivatör çözeltisi): 0,475g MgCl₂ (0,005 mol) alınıp hacmi destile suyla 50 ml ye tamamlandı.

3. 2 mM NADP⁺ (Enzim aktivite ölçümünde kullanılan çözelti): 0,0765 g NADP⁺ (0,0001 mol)alınıp hacmi destile su ile 50 ml ye tamamlandı.
4. 6 mM G-6P (Enzimin aktivite ölçümünde kullanılan substrat çözeltisi): 0,091 g G-6P (0,0003 mol) alınıp hacmi destile su ile 50 ml' ye tamamlandı.
5. 0,16 M KCl (Kanın yıkanması için gerekli çözelti): 1,192 g KCl (0,016 mol) alınıp hacmi destile su ile 100 ml ye tamamlandı.
6. 50 mM KH₂PO₄ (pH=7,5) (Amonyum sülfat çökeltisinin çözünmesi için kullanılan tampon):0,68g KH₂PO₄ (5x10⁻³ mol) alınıp 80 ml destile suda çözüldü. pH'sı KOH ile 7,5'e ayarlandı. Daha sonra toplam hacim destile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
7. 50 mM K-asetat/ 50 mM K-fosfat (pH=7,5) (Çözünmüş amonyum sülfat çökeleğinin diyalizi için kullanılan tampon):4,9g K-asetat (0,05 mol), 6,8g K-fosfat (0,05 mol) alınarak 800 ml suda çözüldü, pH=6'ya ayarlandı ve toplam hacim 1 L'ye tamamlandı.
8. 0,1 M K-asetat/0,1 M K-fosfat, pH=6,0 (Afinite kolonunun dengelenmesi ve yıkanması için kullanılan 1.tampon): 9,8 g K-asetat (0,1 mol) ve 13,6 g K-fosfat (0,1 mol) karışımı 800 ml destile suda çözüldü. pH'sı 6.0'ya ayarlandıktan sonra toplam hacim 1L'ye tamamlandı.
9. 0,1 M K-fosfat/0,1 M KCl, pH=7,85 (Numune tatbik ettikten sonra afinite kolonunun yıkanması için kullanılan 2.tampon): 13,6 K-fosfat (0,1 mol) ve 7,45 g (0,1 mol) KCl karışımının hacmi destile su ile 800 ml'ye tamamlandı. pH'sı 7,85'e ayarlandıktan sonra toplam hacim 1L'ye tamamlandı.
10. 0,1 M K-asetat/0,1 M K-fosfat, pH=7,85 (Numune tatbik ettikten sonra afinite kolonunun yıkanması için kullanılan 3.tampon): 9,8 g K-asetat (0,1 mol) ve 13,6 g K-

fosfat (0,1 mol) karışımı 800 ml destile suda çözüldü. pH'sı 7,85'e ayarlandıktan sonra toplam hacim 1L'ye tamamlandı.

11. (80 mM K-fosfat +80 mM KCl + 0,5 mM NADP⁺ +10 mM EDTA) (pH=7,85) (Afinite jeline tutunmuş olan glukoz 6-fosfat dehidrogenaz tamponu): 5,44 g K-fosfat (0,04 mol), 2,98 g KCl (0,04 mol), 0,1913 g NADP⁺ (0,025 mol) ve 1,21g EDTA (0,003 mol) karıştırıldı. pH=7,85 'e ayarlandıktan sonra toplam hacim su ile 500 ml' ye tamamlandı.

12. % 0,02' lik NaN₃ çözeltisi (Afinite kolonunun bakterilerden korunması için kullanılan çözelti): 20 mg NaN₃ alınarak hacmi saf su ile 100 ml ye tamamlandı.

13. (0,1 M Tris +0,5 M NaCl) (pH=8,5) (Afinite kolonunun rejenerasyonu için hazırlanan tampon): 6,05 g Tris (0,05 mol) ve 14,61 g NaCl (0,25 mol) alınarak pH=8,5'e ayarlandı. Toplam hacim destile su ile 500 ml' ye tamamlandı.

14. (0,1 M Na-asetat/0,5 M NaCl) (pH=4,5) (Afinite kolonunun rejenerasyonu için hazırlanan tampon): 4,1 g Na-asetat (0,05 mol) ve 14,61 g NaCl (0,25 mol) alınıp suda çözüldü, pH=4,5'e ayarlandı. Daha sonra toplam hacim su ile 500 ml' ye tamamlandı.

15. 0,154 M NaCl (Eritrositlerin yıkanmasında kullanılan çözelti): 9,009 g NaCl (0,154 mol) alınarak hacmi destile su ile 1 L'ye tamamlandı.

6PGD enzimi çalışmalarında kullanılan çözeltiler

1. 1 M Tris-HCl / 5 mM EDTA (pH=8,0) (Enzim aktivitesinde kullanılan tampon): 0,6057 g (5 mmol) Tris ve 0,0292g (0,1 mmol) EDTA alınarak 90 ml destile suda çözüldü. HCl çözeltisi ile pH 8,0'a ayarlandı. Daha sonra toplam hacim su ile 100 ml'ye tamamlandı.

2. 0,16 M KCl (Kanın yıkanması için gerekli çözelti): 11,92 g KCl (0,16 mol) alınarak su ile 1 L ye tamamlandı.
3. 0,1 M MgCl₂ (Enzim aktivite ölçümünde kullanılan aktivatör çözeltisi): 0,475 g MgCl₂ (0,005 mol) alınıp hacmi destile suyla 50 ml ye tamamlandı.
4. 6 mM 6PGA(Enzim aktivitesinde kullanılan çözelti): 0,091 g (0,3 mmol) 6PGA alınıp bir miktar suda çözüldü. Hacmi su ile 50 ml' ye tamamlandı.
5. 2 mM NADP⁺ (Enzim aktivitesinde kullanılan çözelti): 0,0795 g NADP⁺ (0,1 mmol) alınarak bir miktar suda çözüldü. Hacmi suyla 50 ml' ye tamamlandı.
6. 50 mM KH₂PO₄ (pH=7,5)(Amonyum sülfat çökeltisinin çözünmesi için kullanılan tampon) : 0,68 g KH₂PO₄ (5×10^{-3} mol) alınıp 80 ml destile suda çözüldü. pH'sı KOH ile 7,5'e ayarlandı. Daha sonra toplam hacim destile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
7. 50 mM K-asetat/ 50 mM K-fosfat (pH=7,5) (Çözünmüş amonyum sülfat çökeleğinin diyalizi için kullanılan tampon): 4,9 g K-asetat (0,05 mol), 6,8 g K-fosfat (0,05 mol) alınarak 800 ml suda çözüldü, pH=6,0'ya ayarlandı ve toplam hacim 1 L'ye tamamlandı.
8. 0,1 M K-asetat/0,1 M K-fosfat, pH=6,0 (Afinite kolonunun dengelenmesi ve yıkanması için kullanılan 1.tampon): 9,8 g K-asetat (0,1 mol) ve 13,6 g K-fosfat (0,1 mol) karışımı 800 ml destile suda çözüldü. pH'sı 6,0'ya ayarlandıktan sonra toplam hacim 1L'ye tamamlandı.
9. 0,1 M K-fosfat/0,1 M KCl, pH=7,85 (Numune tatbik ettikten sonra afinite kolonunun yıkanması için kullanılan 2.tampon): 13,6 K-fosfat (0,1 mol) ve 7,45 g (0,1

mol) KCl karışımının hacmi destile su ile 800 ml'ye tamamlandı. pH'sı 7,85'e ayarlandıktan sonra toplam hacim 1L'ye tamamlandı.

10. 0,1 M K-asetat/0,1 M K-fosfat, pH=7,85 (Numune tatbik ettikten sonra afinite kolonunun yıkanması için kullanılan 3.tampon): 9,8 g K-asetat (0,1 mol) ve 13,6 g K-fosfat (0,1 mol) karışımı 800 ml destile suda çözüldü. pH'sı 7,85'e ayarlandıktan sonra toplam hacim 1L'ye tamamlandı.

11. (80 mM K-fosfat +80 mM KCl + 5 mM NADP⁺ +10 mM EDTA) (pH=7,85) (Afinite jeline tutunmuş olan 6-fosfoglukonat dehidrogenaz enziminin elüsyonu için kullanılan tampon): 5,44 g K-fosfat (0,04 mol), 2,98 g KCl (0,04 mol), 0,1913 g NADP⁺ (0,025 mol) ve 1,21g EDTA (0,003 mol) karıştırıldı. pH=7,85 'e ayarlandıktan sonra toplam hacim su ile 500 ml' ye tamamlandı.

12. % 0,02' lik NaN₃ çözeltisi (Afinite kolonunun bakterilerden korunması için kullanılan çözelti): 20 mg NaN₃ alınarak hacmi saf su ile 100 ml ye tamamlandı.

13. (0,1 M Tris +0,5 M NaCl) (pH=8,5) (Afinite kolonunun rejenerasyonu için hazırlanan tampon): 6,05 g Tris (0,05 mol) ve 14,61 g NaCl (0,25 mol) alınarak pH=8,5'e ayarlandı. Toplam hacim destile su ile 500 ml' ye tamamlandı.

14. (0,1 M Na-asetat/0,5 M NaCl) (pH=4,5) (Afinite kolonunun rejenerasyonu için hazırlanan tampon): 4,1 g Na-asetat (0,05 mol) ve 14,61 g NaCl (0,25 mol) alınıp suda çözüldü, pH=4,5'e ayarlandı. Daha sonra toplam hacim su ile 500 ml' ye tamamlandı.

15. 0,154 M NaCl (eritrositlerin yıkanmasında kullanılan çözelti): 9,009 g NaCl (0,154 mol) alınarak hacmi destile su ile 1 L'ye tamamlandı.

Elektroforez için kullanılan çözeltiler

1. 1M Tris-HCl (pH=8,8): 12,11 g Tris (0,1 mol) tartılarak 80 ml suda çözüldü, pH ayarı 1M HCl ile yapıldıktan sonra 100 ml'ye tamamlandı.
2. 1 M Tris-HCl (pH=6,8):12,11 g Tris (0,1 mol) tartılarak 80 ml suda çözüldü, pH ayarı 1M HCl yapıldıktan sonra 100 ml'ye tamamlandı.
3. %30 Akrilamid-%0,8 Bisakrilamid çözeltisi: 15 g akrilamid, 0,4 g bisakrilamid ve 34,6 g su karıştırılarak çözüldü.
4. %10'luk amonyum persülfat çözeltisi:1 g amonyum persülfat tartılarak su ile 10 ml'ye tamamlandı.
5. %10'luk SDS: 1 g SDS, 9 g suda çözülerek elde edildi.
6. Yürütme tamponu: 1,51 g Tris (12,5 mmol) ve 7,51 g glisin (0,1 mol) tartılarak 450 ml suda çözüldü; %10'luk SDS'den 5 ml ilave edildi, pH=8,3'e ayarlandı ve toplam hacim 500 ml'ye tamamlandı.
7. Numune tamponu: 1 M Tris-HCl (pH=8,0)'den 0,5 ml, %10'luk SDS'den 1 ml, %100'lük gliserinden 1 ml ve %0,1'lik bromtimol mavisinden 1 ml alınarak suyla 10 ml'ye tamamlandı. Bu tampona kullanılmadan önce 950 µl numune tamponundan 50 µl olacak şekilde β-merkaptolanol ilave edildi.
8. Sabitleştirme çözeltisi (jelde yürütülen proteinlerin sabitleştirilmesi için kullanılan çözelti): %50 izopropanol, %10 TCA ve %40 su olacak şekilde karıştırılarak hazırlandı.

9. Jel boyama çözeltisi: 50 ml metanol, 10 ml asetik asit ve 40 ml su içerisinde 0,1 g coomassie brillant blue R-250 reaktifinin çözülmesiyle hazırlandı.
10. Jel yıkama çözeltisi: 50 ml metanol, 10 ml asetik asit ve 40 ml su karıştırılarak elde edildi.
11. Antikoagulant çözelti: 26,3 g Na-sitrat (dihidrat) (115,35 mmol), 3 g sitrik asit (15,62 mmol), 31,9 g glukoz (monohidrat) (177 mmol), 2,2 g NaH₂PO₄ H₂O (15,94 mmol) ve 0,35 g adenin (2,6 mmol) tartılarak suda çözüldü ve 1 L'ye tamamlandı.
12. Coomassie brillant blue G-250 reaktifi (proteinlerin kantitatif tayininde kullanılan çözelti): 100 mg coomassie brillant blue G-250, 50 ml %95'lik etanolde çözüldü. Bu çözeltiye %95'lik 100 ml fosforik asit ilave edildi. Çözeltinin hacmi suyla 1L'ye tamamlandı.
13. %0,04'lük brom timol mavisi çözeltisi: 0,1 g indikatör 16 ml 0,01 M NaOH içerisinde çözüldü ve toplam hacim suyla 250 ml'ye tamamlandı.

İlaç ve kimyasal maddelerin stok çözeltileri

1. Tiyokolşikosid: 4 mg tiyokolşikosid'in hacmi saf suyla 2'mlye tamamlanarak elde edildi (3,55 mM).
2. Dakarbazin: 200 mg dakarbazin'in hacmi saf suyla 20'mlye tamamlanarak elde edildi (5,3 mM).
3. Olanzapin: 10 mg olanzapin'in hacmi saf suyla 10'mlye tamamlanarak elde edildi (3,20 mM).
4. Ketotifen: 1mg ketotifen'in hacmi saf suyla 25'mlye tamamlanarak elde edildi (0,094 mM).
5. Vinkristine Sülfat: 1 mg vinkristine sülfat'ın hacmi saf suyla 2'mlye tamamlanarak elde edildi (1,08 mM).

6. Pantoprozol Sodyum: 42,3 mg pantoprozol sodyum'un hacmi saf suyla 10'mlye tamamlanarak elde edildi (4,89 mM).
7. 5-Fluorouracil: 1000 mg 5-fluorouracil'in hacmi saf suyla 20'mlye tamamlanarak elde edildi (384,1 mM).
8. Metoprolol Tartarat: 5 mg metoprolol tartarat'in hacmi saf suyla 5'mlye tamamlanarak elde edildi (1,46 mM).
9. Paklitaksel: 6 mg paklitaksel'in hacmi saf suyla 1'mlye tamamlanarak elde edildi (7,03 mM).
10. Sisplatin: 0,5 mg sisplatin'in hacmi saf suyla 1'mlye tamamlanarak elde edildi (1,67 mM).
11. L-Karnitin: 1000 mg karnitin'in hacmi saf suyla 5'mlye tamamlanarak elde edildi (1014,8 mM).
12. Meloksikam: 15 mg meloksikam'in hacmi saf suyla 1,5'mlye tamamlanarak elde edildi (2,85 mM).
13. Atropin Sülfat: 1 mg atropin sülfat'in hacmi saf suyla 1'mlye tamamlanarak elde edildi (1,44 mM).
14. Gadobenat Dimeglumin: 529 mg gadobenat dimeglumin'in hacmi saf suyla 1'mlye tamamlanarak elde edildi (499,8 mM).
15. Ritodrin HCl: 50 mg ritodrin HCl'in hacmi saf suyla 5'mlye tamamlanarak elde edildi (30,94 mM).
16. Metilprednizolan Asetat: 40 mg Metilprednizolan asetat'ın hacmi saf suyla 1'mlye tamamlanarak elde edildi (96,04 mM).
17. Dekspantenol: 500 mg dekspantenol'un hacmi saf suyla 2'mlye tamamlanarak elde edildi (1218 mM)
18. Flumazenil: 0,5 mg flumazenil'in hacmi saf suyla 5'mlye tamamlanarak elde edildi (0,329 mM).
19. Siklosporin: 50 mg siklosporin'in hacmi saf suyla 1'mlye tamamlanarak elde edildi (41,60 mM).
20. Pentoksifilin: 100 mg pentoksifilin'in hacmi saf suyla 5'mlye tamamlanarak elde edildi (21,79 mM).
21. Essitalopram okzalat: 10 mg essitalopram'ın hacmi saf suyla 15'mlye tamamlanarak elde edildi (1,61 mM).

22. Parikalsitol: 5 mg parikalsitol'un hacmi saf suyla 1'mlye tamamlanarak elde edildi (12 mM).
23. Karboplatin: 150 mg karboplatin'in hacmi saf suyla 15'mlye tamamlanarak elde edildi (2,69 mM).
24. Metotreksat: 50 mg metotreksat'ın hacmi saf suyla 5'mlye tamamlanarak elde edildi (22 mM).
25. Furosemid: 20 mg furosemid'in hacmi saf suyla 2'mlye tamamlanarak elde edildi (30,03 mM).
26. Gadopentetik Asit: 324 mg gadopentetik asit'in hacmi saf suyla 1'mlye tamamlanarak elde edildi (500 mM).
27. Metoklopramid HCl: 10 mg metoklopramid HCl'in hacmi saf suyla 2'mlye tamamlanarak elde edildi (16,67 mM).
28. Hiyosin N-Bütil Bromür: 20 mg Hiyosin N-Bütil Bromür'ün hacmi saf suyla 1'ml tamamlanarak elde edildi (137,8 mM).
29. Fenoksamin HCl: 1 mg fenoksamin 10 ml steril suda çözünmesiyle elde edildi (0,329 mM)
30. Lidokain HCl: 40 mg lidokain HCl'in hacmi saf suyla 2'mlye tamamlanarak elde edildi (74,03 mM).
31. Transeksamik asit: 100 mg transeksamik asit'in hacmi saf suyla 1'mlye tamamlanarak elde edildi (63,65 mM).
32. Digoksin: 0,5 mg digoksin'in hacmi saf suyla 1'mlye tamamlanarak elde edildi. (3,2 mM)
33. Teofilin Etilendiamin: 240 mg teofilin etilendiamin'in hacmi saf suyla 10'mlye tamamlanarak elde edildi (57,14 mM).

3.2. Yöntemler

3.2.1. Protein tayini

3.2.1.a. Kalitatif protein tayini

Kromatografi işlemlerinde fraksiyon toplayıcısı yardımıyla eşit hacimde alınan bütün fraksiyonlarda kalitatif protein tayini yapıldı. Kalitatif protein tayini, 280 nm'de proteinlerin yapısında bulunan triptofan, tirozin ve fenilalanin amino asitlerinin maksimum absorbans göstermesi esasına dayanmaktadır (Segel 1968). İnsan eritrositlerinden elde edilen enzim numunelerinde kalitatif protein tayini bu metoda göre belirlendi. Jel filtrasyon kromatografisi yapılırken, eşit hacimlerde alınan bütün fraksiyonlarda kalitatif protein tayini yapıldı. Fraksiyonlar kuvarz küvetlere alınarak, absorbansları spektrofotometrede köre karşı okundu.

3.2.1.b. Bradford yöntemiyle protein tayini

Hemolizat, amonyum sülfat çöktürmesi, afinite kromatografisi ve jel filtrasyon kromatografisi ile saflaştırılan enzim çözeltilerindeki protein miktarı bu yöntemle belirlendi. Bu yöntemde boya olarak kullanılan Coomassie brilliant blue G-250 negatif bir yüke sahiptir ve protein üzerindeki pozitif yüke bağlanır. Boyanın kırmızı ($\lambda_{\max}=465$ nm) ve mavi ($\lambda_{\max}=595$ nm) formu mevcuttur. Proteinin bağlanması, kırmızı formun mavi forma dönüşümünü sağlar. Bu yöntemin bozucu faktörlere hassasiyeti oldukça azdır (1-100 μg arası). Reaksiyon yüksek oranda tekrarlanabilir ve hızlı cereyan eder, iki dakikada tamamlanır. Renk stabilitesi iki saat'in üzerinde devam edebilir (Bradford 1976).

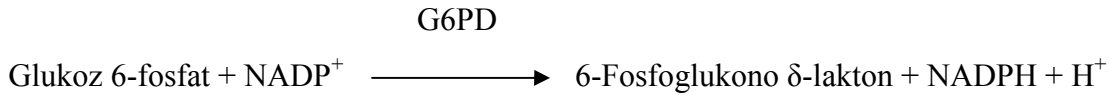
Bu yöntem ile protein tayini edebilmek için standart bir grafiğe ihtiyaç vardır. Bu amaçla 1 ml'sinde 1 mg protein ihtiva eden standart sığır albumin çözeltisinden tüplere 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ve 100 μl konuldu. Saf su ile bütün tüplerin hacmi 0,1 ml'ye tamamlandı ve 4900 ml Coomassie Brilliant Blue G-250 çözeltisi ilave edilip vorteks ile karıştırıldı. 10 dakika inkübe edildikten sonra 595 nm'de 3 ml'lik küvetlerde köre karşı absorbans değerleri okundu. Kör olarak, 0,1 ml enzim numunesinin içinde bulunduğu tampondan ve 4900 ml Coomassie Brilliant Blue G-250 çözeltisinden oluşan karışım kullanıldı. Elde edilen sonuçlardan absorbans değerlerine karşılık gelen μg protein değerleri standart grafik haline getirildi (Şekil 4.1).

İnsan eritrosit hemolizatından ve adı geçen saflaştırma basamaklarından elde edilen enzim numunelerinden 0,1 ml tüplere konularak üzerine 4900'er ml Coomassie Brilliant Blue G-250 reaktifi ilave edildi. Vorteks ile karıştırıldıktan sonra 10 dakika inkübasyona bırakıldı. Sonra 595 nm'de absorbans değerleri okundu. Her bir numuneden üçer adet deneme yapılarak bu üç değer aritmetik ortalamasından gerçek değer tespit edildi. Elde edilen bu değerlere göre standart grafikten yararlanılarak protein miktarları belirlendi.

3.2.2. Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz enziminin saflaştırılması

3.2.2.a. G6PD enziminin aktivite ölçümü

Kinetik çalışmalarda G6PD aktivitesi ölçümü aşağıdaki şekilde yapıldı. Enzim aktivitesi tayininde kullanılan spektrofotometrik yöntem aşağıdaki reaksiyona dayanmaktadır.



Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADP⁺), glukoz 6-fosfat dehidrogenaz tarafından glukoz 6-fosfat varlığında indirgenir. NADPH'ın oluşum oranı glukoz 6-fosfat dehidrogenaz aktivitesine bağımlı olup 340 nm'deki absorbans artışı ile ölçülebilir.

Çizelge 3.1. İnsan eritrosit G6PD enziminin aktivite ölçüm küvet içeriği

Stok aktivite çözeltileri	Kontrol küveti		Numune küveti	
	Hacim(μl)	Konsantrasyon	Hacim(μl)	Konsantrasyon
1M Tris-HCl, 5mM EDTA	100	0,1 M Tris, 0,5 mM EDTA	100	0,1M Tris, 0,5 mM EDTA
0,1 M MgCl ₂	100	0,01 mM	100	0,01 mM
2mM NADP ⁺	100	0,2 mM	100	0,2 mM
6mM G-6P	100	0,6 mM	100	0,6 mM
Su	600	-	570	-
Enzim numunesi	-	-	30	-

Çözeltisi konulduktan sonra 25°C’de 10 dakika inkübe edildi. Sonra kontrole karşı numunenin absorbans artışları 3 dakika süreyle 1 dakikada bir kaydedildi (Beutler 1971). Enzim ünitesi hesaplanırken aşağıdaki formül kullanıldı.

$$E\ddot{U}/ml = \frac{\Delta OD}{6,22} \times \frac{V_T}{V_E} \times S_F$$

Bu formülde yer alan simgeler aşağıda açıklandı;

- EÜ/ml : 1 ml’deki enzim ünitesi
 ΔOD : Bir dakikadaki absorbans değişimi
 6,22 : 1 mM NADPH’ın oluşturduğu absorbans değeri (ekstinksiyon katsayısı)
 V_T : Ölçümün yapıldığı toplam küvet hacmi
 V_E : Ölçümün yapıldığı küvete ilave edilen enzim numunesinin hacmi
 S_F : Seyreltme faktörü (seyreltilen örnek için kullanılır)

3.2.2.b. Kan numunelerinin temini ve hemolizatın hazırlanması

Deneyler için İnsan kanı Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kan Merkezi’nden temin edildi. Kanlar alındıktan sonra +4°C’de muhafaza edildi. Alınan sağlıklı insan kanından eritrositleri ayırmak için santrifüj tüplerine doldurularak, santrifüje yerleştirildi ve 15 dakika 2500xg’de santrifüj edildi. Santrifüjden çıkarılan tüplerin üst kısmında kalan plazma ve lökosit tabakası damlalıkla dikkatli bir şekilde alındı. Tüplerin altında kalan eritrosit peleti 0,154 M NaCl çözeltisi ile üç defa yıkandı. Her defasında 2500xg’de 15 dakika santrifüj edildi. Elde edilen eritrositler hacimlerinin 5 katı kadar buzlu hemoliz çözeltisi ile hemoliz edildi. Hemolizat içerisinde bulunan eritrosit hücre zarlarını uzaklaştırmak için +4°C’de 20.000 g’de 30 dakika santrifüj yapıldı. Üst kısımdaki hemolizat sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere damlalıkla dikkatli bir şekilde alındıktan sonra çökelek kısmı atıldı. Böylece hemolizat elde edilmiş oldu (Ninfali *et al.* 1990). Elde edilen bu hemolizatta enzim aktivitesi aktivite tayin metodu bölümünde anlatıldığı şekilde hesaplandı. Ayrıca 3.2.1.b.’deki konuda anlatıldığı gibi hemolizatta protein tayini yapıldı.

3.2.2.c. Amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz

Proteinler çok değerlikli elektrolitler oldukları için iyonlarla benzer şekilde hareket ederler. Yüksek tuz konsantrasyonlarında, protein moleküllerini çevreleyen ve çözünür halde tutan su molekülleri, amonyum sülfat tuzundaki iyonlar tarafından çekilir ve proteinler çöker (salting-out). Bu çökmede molekül ağırlığı ve iyonik şiddet etkilidir. Dolayısıyla değişik tuz konsantrasyonlarında değişik proteinler çöker (Lehninger *et al.* 2000; Keha ve Küfrevioğlu 2004). Yapılacak amonyum sülfat çöktürmesi deneyleri proteinlerin bu özellikleri esasına dayanmaktadır.

Kan numunesinden hazırlanan hemolizat için %35-65 aralıklarında amonyum sülfat çöktürmesi yapıldı (Ninfali *et al.* 1990). Çöktürme sırasında kullanılan katı amonyum sülfat miktarı aşağıdaki formülden hesaplandı.

$$g(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 = \frac{1,77 \times V \times (S_2 - S_1)}{3,54 - S_2}$$

V: Enzim çözeltisinin hacmi

S₁: 1'in kesri olarak çözeltideki amonyum sülfat doygunluğu

S₂: 1'in kesri olarak istenen amonyum sülfat doygunluğu

Bütün bu işlemler +4°C'de gerçekleştirildi. Önce %35 doygunlukta amonyum sülfat çöktürmesi yapıldı. Amonyum sülfat hemolizata bir manyetik karıştırıcı üzerinde yavaş yavaş ilave edildi. Tuzlu hemolizat santrifüj tüplerine konularak 5000xg'de 15 dakika santrifüj yapıldı (böylece yabancı proteinlerin çökmesi sağlandı). Daha sonra %65 doygunlukta amonyum sülfat çöktürmesi yapıldı. Çözünen tuzlu hemolizat santrifüj tüplerine konularak 5000xg'de 15 dakika santrifüj yapıldı. Süpernatant kısmı atıldı çökelek minimum fosfat tamponunda (50 mM K-fosfat, pH=7,0) çözüldü. Amonyum sülfat çöktürmesi sonucu elde edilen karışım diyaliz torbasına yerleştirilerek iki saat süreyle diyaliz tamponuna (50 mM K-fosfat, pH=7,0) karşı 2 defa değiştirilerek diyaliz

edildi (Ninfali *et al.* 1990). Diyaliz işlemi, +4°C’de gerçekleştirildi. Diyaliz bittikten sonra aktivite tayin metodunda anlatıldığı şekilde aktiviteye bakıldı. Ayrıca 3.2.1.b.’deki konuda anlatıldığı gibi protein tayini yapıldı.

3.2.2.d. Afinite kolonunun hazırlanması

10 ml’lik yatak hacmi için 2 g kuru 2',5'-ADP Sepharose 4B jeli tartılarak, 400 ml destile su ile katı maddelerin uzaklaştırılması için birkaç defa yıkandı. Yıkama esnasında jel şişirilmiş oldu. Şişirilmiş jelin havası su trombu kullanılarak vakum ile alındıktan sonra dengeleme tamponu (0,1 M K-asetat/0,1 M K-fosfat, pH=6,0) ilave edilerek jel süspanse edildi. Süspanse edilmiş jel, 1x10 cm’lik kapalı sistemden oluşan soğutmalı kolona paketlenildi. Jel çöktükten sonra peristaltik pompa yardımıyla dengeleme tamponu ile yıkandı. Dengelemede ve yıkamada akış hızı 50 ml/h absorbansının eşitlenmesinden anlaşıldı. Böylece afinite kolonu hazırlanmış oldu.

3.2.2.e. Numunenin afinite kolonuna tatbiki ve G6PD’ın elüsyonu

3.2.2.d’deki gibi hazırlanan afinite jeli insan eritrosit hemolizatından glukoz 6-fosfat dehidrogenazın saflaştırılmasında kullanıldı. Amonyum sülfat çöktürmesinden elde edilen 30 ml’lik derişikleştirilmiş numune, 0,1M K-asetat/0,1MK-fosfat (pH=6,0) tamponu ile dengelenmiş kolona tatbik edildi. Daha sonra kolon sırsıyla 25 ml 0,1 M K-asetat /0,1M K-fosfat (pH=6,0), 25 ml 0,1M K-asetat/0,1M K-fosfat (pH=7,85) ve 25 ml 0,1M KCl/0,1M K-fosfat (pH=7,85) çözeltisiyle yıkandı. Dengeleme ve yıkama hızı 50 ml/h’ya ayarlandı. Akış hızı peristaltik pompa ile kontrol altında tutuldu. Böylece enzimin büyük bir kısmı jele tutunmuş ve diğer safsızlıklar uzaklaştırılmış oldu. Daha sonra 80mM K-fosfat +80mM KCl + 0,5mM NADP⁺ +10mM EDTA (pH=7,85) çözeltisi kolona uygulanarak enzim elüe edildi. Elüsyonlar fraksiyon toplayıcısı ile 2’şer ml’ lik tüplere alındı. Akış hızı peristaltik pompa ile 20 ml/h’ ayarlandı. Bütün bu işlemler esnasında sıcaklık +4°C kontrol altında tutuldu (Morelli *et al.* 1978; Ninfali *et al.* 1990). Elüatlarda 280 nm’de kalitatif protein tayini, NADP⁺ absorbansı protein

absorbansını maskeleydiğinden yapılamadı. Bunun yerine enzim aktivitesi her fraksiyonda belirlendi. Aktivite gösteren fraksiyonlar birleştirildi. Ayrıca hemolizat, amonyumsülfat çöktürmesi ve enzim çözeltisinde spesifik aktiviteler ayrı ayrı belirlenerek saflaştırma katsayısı hesaplandı (Ninfali *et al.* 1990). Saflaştırılan enzim çözeltisi 50 mM K-asetat/50 mM K-fosfat (pH=6,0) çözeltisiyle 3-4 defa çözelti değiştirilerek diyaliz edildi (Ninfali *et al.* 1990). Elde edilen enzim çözeltisi kinetik çalışmalarda kullanılmak üzere derin dondurucuda dondurularak saklandı.

3.2.3. 6-Fosfoglukonat dehidrogenaz enziminin saflaştırılması

3.2.3.a. 6PGD enziminin aktivite ölçümü



Enzim aktivitesi spektrofotometrede 25°C'de Beutler metoduna göre ölçüldü. Reaksiyonda da görüldüğü gibi 6-fosfoglukonat dehidrogenaz; 6-fosfoglukonat varlığında NADP⁺'nin indirgenmesinden dolayı oluşan NADPH'ın 340 nm'de absorbans vermesi esasına dayanır.

Çizelge 3.2. İnsan eritrosit 6PGD enziminin aktivite ölçüm küvet içeriği

	Kontrol küveti		Numune küveti	
	Hacim(μl)	Konsantrasyon	Hacim(μl)	Konsantrasyon
Stok aktivite çözeltileri				
1M Tris-HCl, 5mM EDTA	100	0,1 M Tris, 0,5 mM EDTA	100	0,1M Tris, 0,5 mM EDTA
0,1 M MgCl ₂	100	0,01 mM	100	0,01 mM
2mM NADP ⁺	100	0,2 mM	100	0,2 mM
Su	600	-	570	-
Enzim numunesi	-	-	30	-
10 dakika İnkübasyon				
6 mM 6PGA	100	0,6 mM	100	0,6 mM

Aktivite ölçüm kuvvetleri Çizelge 3,2'de gösterildiği şekilde önce enzim numunesi katılmaksızın pipetlendi. Başlangıçta ve dakikada bir olmak üzere üç dakika boyunca absorbans değerleri kaydedildi. Enzim ünitesi hesaplanırken 3.2.2.a.'deki konuda anlatılan formül kullanıldı.

3.2.3.b. Hemolizatın hazırlanması

Alınan sağlıklı insan kanı santrifüj tüplerine doldurularak, santrifüje yerleştirildi ve 15 dakika 2500xg'de santrifüj edildi. Santrifüjden çıkarılan tüplerin üst kısmında kalan plazma ve lökosit tabakası damlalıkla dikkatli bir şekilde alındı. Tüplerin altında kalan eritrosit peleti 0,154 M (izotonik) NaCl çözeltisi ile üç defa yıkandı. Her defasında 2500xg'de 15 dakika santrifüj edildi. Elde edilen eritrositler hacimlerinin 5 katı kadar buzlu hemoliz çözeltisi ile hemoliz edildi. Hemolizat içerisinde bulunan eritrosit hücre zarlarını uzaklaştırmak için +4°C'de 20.000xg'de 30 dakika santrifüj yapıldı. Üst kısımdaki hemolizat sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere damlalıkla dikkatli bir şekilde alındıktan sonra çökelek kısmı atıldı. Böylece hemolizat elde edilmiş oldu (Hunaiti and Soud 2000). Elde edilen bu hemolizatta enzim aktivitesi aktivite tayin metodu bölümünde anlatıldığı şekilde hesaplandı. Ayrıca 3.2.1.b.'deki konuda anlatıldığı gibi hemolizatta protein tayini yapıldı.

3.2.3.c. Amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz

3.2.2.c.'deki konuda anlatıldığı gibi kan numunesinden hazırlanan hemolizat için %35-65 aralıklarında amonyum sülfat çöktürmesi yapıldı. Çöktürme için kullanılan katı $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ yavaş yavaş katılarak manyetik karıştırıcı üzerinde bar ile iyice çözünmesi sağlandı. Katı amonyum sülfat miktarı 3.2.2.c.'deki konuda anlatılan formül ile hesaplandı.

Önce %35 doygunlukta amonyum sülfat çöktürmesi yapıldı. Tuzlu hemolizat santrifüj tüplerine konularak 5000xg'de 15 dakika santrifüj yapıldı (böylece yabancı proteinlerin

çökmesi sağlandı). Daha sonra %65 doygunlukta amonyum sülfat çöktürmesi yapıldı. Çözünen tuzlu hemolizat santrifüj tüplerine konularak 5000xg'de 15 dakika santrifüj yapıldı. Süpernatant kısmı atıldı çökelek minimum fosfat tamponunda (50 mM K-fosfat, pH=7,5) çözüldü. Amonyum sülfat çöktürmesi işlemleri buzla dolu kap içerisinde gerçekleştirildi.

Amonyum sülfat çöktürmesi sonucu elde edilen karışım diyaliz torbasına yerleştirilerek iki saat süreyle diyaliz tamponuna (50mM K-asetat/50mM K-fosfat, pH=7,0) tamponuna karşı diyaliz edildi. Diyaliz işlemi, soğuk ortamda gerçekleştirildi.

3.2.3.d. Numunenin afinite kolonuna tatbiki ve 6PGD'nin elüsyonu

3.2.2.d'deki konuda anlatıldığı gibi hazırlanan afinite jeli insan eritrosit hemolizatından 6PGD enziminin saflaştırılmasında kullanıldı. Amonyum sülfat çöktürmesinden elde edilen enzim çözeltisinin tamamı kolondan geçtikten sonra kanın kırmızı rengi tamamen yok oluncaya kadar dengeleme tamponu geçirmeye devam edilerek kolonun yıkanması sağlandı. Daha sonra kolon sırsıyla 25 ml 0,1 M K-asetat /0,1 M K-fosfat (pH=6,0), 25 ml 0,1 M K-asetat/0,1 M K-fosfat (pH=7,85) ve 25 ml 0,1 M KCl/0,1 M K-fosfat (pH=7,85) çözeltisiyle yıkandı. Bu yıkama, spektrofotometrede takip edilerek absorbans değerinin köre eşit olmasıyla belirlendi. Dengeleme ve yıkama hızı 50 ml/h'ya ayarlandı. Akış hızı perilstaltik pompa ile kontrol altında tutuldu. Böylece enzimin büyük bir kısmı jele tutunmuş ve diğer safsızlıklar uzaklaştırılmış oldu. Daha sonra 80mM K-fosfat +80mM KCl + 5mM NADP⁺ + 10mM EDTA (pH=7,85) çözeltisi kolona uygulanarak enzim elüe edildi. İnsan eritrosit 6PGD ile çalışırken literatürde kullanılan optimal şartlar uygulandı (Ninfali *et al.* 1990). Elüsyonlar 1 ml olacak şekilde ependorf tüplerine alındı. Aktivite gösteren fraksiyonlar birleştirildi. Bu çalışmada elde edilen enzim örneklerinin saf olup olmadığını kontrol etmek için SDS-PAGE yapıldı. Ayrıca hemolizat, amonyumsülfat çöktürmesi ve enzim çözeltisinde spesifik aktiviteler ayrı ayrı belirlenerek saflaştırma katsayısı hesaplandı (Ninfali *et al.* 1990). Elde edilen

enzim çözeltisi kinetik çalışmalarda kullanılmak üzere derin dondurucuda dondurularak saklandı.

3.2.4. Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) ile enzim saflığının kontrolü

Enzim saflaştırıldıktan sonra %3-8 kesikli sodyum dodesilsülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) Laemmli metoduna göre yapılarak enzimin saflık derecesi kontrol edildi (Laemmli 1970).

Bunun için elektroforez plakaları önce su ile sonra alkol ile iyice yıkandı. Her iki kenarında aralık oluşturucu bir plaka ile düz bir plaka üst üste getirilerek kısıkaçlarla tutturuldu. Sabitleştirilen plakalar, içerisinde sızdırmayı önleyen sünger ihtiva eden jel hazırlama kabinine konuldu. Önce ayırma jeli hazırlandı ve enjektörle plakaların arasına üst kesimde 2 cm kalıncaya kadar dolduruldu. İki saat jelin donması beklendi, ayırma jelinin katılaştığından emin olunduktan sonra yığılma jeli hazırlandı. Jelin üst kısmındaki boşluğa dolduruldu ve numune kuyucuklarının oluşması için tarak dikkatlice yerleştirildi. Yığılma jelinin katılaşması beklenirken ıslatılmış süzgeç kağıdı sistemin üzerine kapatıldı ve kuruması önlendi. Yığılma jeli katılaştıktan sonra tarak dikkatlice çıkartılarak numune kuyuları belirlendi. Önce saf su, sonra da yürütme tamponuyla yıkandı ve jel plakalarla birlikte elektroforez tankına yerleştirildi. Elektroforez tankının alt ve üst kısmına yürütme tamponu dolduruldu. Enzim örnekleri yaklaşık 20 µg protein olacak şekilde hazırlandı. Toplam hacim 50 µl olacak şekilde 1/1 oranında numune tamponu katıldı. Üç dakika kaynar su banyosunda inkübe edildi. Elektroforez tankı kapatılarak alt tarafından (+) anot, üst taraftan ise (-) katot yerleştirildi. Önce 80 voltta 20 dakika yürütüldü ve örnek ayırma jeline kadar gelip yığıldı. Sonra akım 100 volt'a çıkartılarak numunelerin jelin alt sınırına gelmesine kadar yürütüldü. Numunelerin takip edilmesi, numune tamponuna katılan brom timol mavisi yardımıyla anlaşıldı. Yürütme işlemi bittikten sonra akım kesilerek plakalar arasındaki jel dikkatlice çıkarıldı ve sabitleştirme çözeltisine konuldu. Sabitleştirme çözeltisinde 20 dakika bekletilen jel, çıkarılarak boyama çözeltisine konuldu ve çalkalayıcı üzerinde 2 saat bekletildi. Jel

boyandıktan sonra çıkarılarak yıkama çözeltisine konuldu. Rengi açılıp, protein bantları belirginleşene kadar çalkalayıcıda yıkanan jel çıkarılarak fotoğrafı çekildi (Şekil 4.2). Ayırma jeli şöyle hazırlandı: 3,75ml 1M Tris-HCl (pH=8,8), 3,3ml %30 Akrilamid-%0,8 bisakrilamid, 0,15ml %10'luk SDS, 0,1ml %5'lik TEMED, 0,2ml %1,5'lik PER ve 2,35ml saf su karıştırıldı. Yığma jeli şöyle hazırlandı: 0,31ml 1M Tris-HCl (pH=6,8), 0,3325ml %30 Akrilamid %0,8 bisakrilamid, 0,025ml %10'luk SDS, 0,025ml %5'lik TEMED, 0,05ml %1,5'lik PER ve 1,84ml saf su karıştırıldı. PER çözeltisi taze hazırlandı ve karıştırıldığında hemen döküldü.

3.2.5. G6PD ve 6PGD enzimleri için I_{50} ve K_i değerlerinin belirlenmesine ait kinetik çalışmalar

3.2.5.a. Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz enzimi için yapılan kinetik çalışmalar

İnsan eritrosit G6PD enzimi üzerinde ketotifen, dakarbazin, tiyokolsikosid, meloksikam, metotreksat, furosemid, olanzapin, metilprednizolan asetat, parikalsitol, ritodrin HCl, gadobenat dimeglumin; atropin sülfat, karboplatin, karnitin, cisplatin, dekspentenol, eskitalopram okzalat, flumazenil, fluoracil, metoprolol tartarat, paklitaksel, pantoprozol sodyum, feniramidol HCl, siklosporin, vinkristin sülfat ve pentoksifilin ilaçlarının inhibisyon etkisi gösterip göstermedikleri mümkün olan en yüksek inhibitör konsantrasyonunda bir ön deneyle araştırıldı. Bu araştırma sonucuna göre; ketotifen, dakarbazin, tiyokolsikosid, meloksikam, metotreksat, furosemid, olanzapin, metilprednizolan asetat, parikalsitol, ritodrin HCl, gadobenat dimeglumin inhibisyon etkisi gösterirken diğerlerinin göstermediği anlaşıldı. G6PD aktivitesi bölüm 3.2.2.a.'da anlatıldığı şekilde hesaplandı.

Aktivite ölçümünde kullanılan çözeltilerin miktarları ve buna göre küvetteki inhibitör konsantrasyonları çalışmada kullanılan bütün ilaçlar için ayrı ayrı olmak üzere aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. İnsan G6PD enzimi için tiyokolşikosid ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
570	100	100	100	30	100	1000	0	-
560	100	100	100	30	100	1000	10	0,035
550	100	100	100	30	100	1000	20	0,071
540	100	100	100	30	100	1000	30	0,105
530	100	100	100	30	100	1000	40	0,140
520	100	100	100	30	100	1000	50	0,170

Çizelge 3.4. İnsan G6PD enzimi için dakarbazine ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
570	100	100	100	30	100	1000	0	-
565	100	100	100	30	100	1000	5	0,013
560	100	100	100	30	100	1000	10	0,027
550	100	100	100	30	100	1000	20	0,053
540	100	100	100	30	100	1000	30	0,080
530	100	100	100	30	100	1000	40	0,107

Çizelge 3.5. İnsan G6PD enzimi için olanzapin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
580	100	100	100	20	100	1000	0	-
530	100	100	100	20	100	1000	50	0,16
480	100	100	100	20	100	1000	100	0,32
380	100	100	100	20	100	1000	200	0,64
280	100	100	100	20	100	1000	300	0,96
180	100	100	100	20	100	1000	400	1,28

Çizelge 3.6. İnsan G6PD enzimi için ketotifen ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
580	100	100	100	20	100	1000	0	-
560	100	100	100	20	100	1000	20	0,0018
530	100	100	100	20	100	1000	50	0,0047
480	100	100	100	20	100	1000	100	0,0094
380	100	100	100	20	100	1000	200	0,0188
280	100	100	100	20	100	1000	300	0,0282

Çizelge 3.7. İnsan G6PD enzimi için meloksikam ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
580	100	100	100	20	100	1000	0	-
575	100	100	100	20	100	1000	5	0,014
570	100	100	100	20	100	1000	10	0,028
560	100	100	100	20	100	1000	20	0,057
550	100	100	100	20	100	1000	30	0,085
540	100	100	100	20	100	1000	40	0,114

Çizelge 3.8. İnsan G6PD enzimi için gadobenat dimeglumin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
580	100	100	100	20	100	1000	0	-
530	100	100	100	20	100	1000	50	25
480	100	100	100	20	100	1000	100	50
380	100	100	100	20	100	1000	200	100
280	100	100	100	20	100	1000	300	150
180	100	100	100	20	100	1000	400	200

Çizelge 3.9. İnsan G6PD enzimi için ritodrin HCl ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
570	100	100	100	30	100	1000	0	-
520	100	100	100	30	100	1000	50	1,54
470	100	100	100	30	100	1000	100	3,08
370	100	100	100	30	100	1000	200	6,16
270	100	100	100	30	100	1000	300	9,24
70	100	100	100	30	100	1000	500	15,4

Çizelge 3.10. İnsan G6PD enzimi için metilprednizolan asetat ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
580	100	100	100	20	100	1000	0	-
579	100	100	100	20	100	1000	1	0,096
577	100	100	100	20	100	1000	3	0,288
575	100	100	100	20	100	1000	5	0,480
570	100	100	100	20	100	1000	10	0,96
560	100	100	100	20	100	1000	20	1,92

Çizelge 3.11. İnsan G6PD enzimi için parikalsitol ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
570	100	100	100	30	100	1000	0	-
520	100	100	100	30	100	1000	50	0,6
470	100	100	100	30	100	1000	100	1,2
370	100	100	100	30	100	1000	200	2,4
270	100	100	100	30	100	1000	300	3,6
170	100	100	100	30	100	1000	400	4,8

Çizelge 3.12. İnsan G6PD enzimi için metotreksat ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
570	100	100	100	30	100	1000	0	-
569	100	100	100	30	100	1000	1	0,022
565	100	100	100	30	100	1000	5	0,110
560	100	100	100	30	100	1000	10	0,220
550	100	100	100	30	100	1000	20	0,440
540	100	100	100	30	100	1000	30	0,660

Çizelge 3.13. İnsan G6PD enzimi için furosemid ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
549	100	100	100	50	100	1000	1	0,030
545	100	100	100	50	100	1000	5	0,151
540	100	100	100	50	100	1000	10	0,300
530	100	100	100	50	100	1000	20	0,600
500	100	100	100	50	100	1000	50	1,500

Çizelge 3.14. İnsan G6PD enzimi için vincristine sülfat ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
570	100	100	100	30	100	1000	0	-
520	100	100	100	30	100	1000	50	0,054
470	100	100	100	30	100	1000	100	0,108
370	100	100	100	30	100	1000	200	0,216
270	100	100	100	30	100	1000	300	0,324
20	100	100	100	30	100	1000	550	0,594

Çizelge 3.15. İnsan G6PD enzimi için pantoprozol sodyum ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
570	100	100	100	30	100	1000	0	-
520	100	100	100	30	100	1000	50	0,244
470	100	100	100	30	100	1000	100	0,489
370	100	100	100	30	100	1000	200	0,978
270	100	100	100	30	100	1000	300	1,467
70	100	100	100	30	100	1000	500	2,445

Çizelge 3.16. İnsan G6PD enzimi için 5-fluorouracil ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
570	100	100	100	30	100	1000	0	-
520	100	100	100	30	100	1000	50	19,20
470	100	100	100	30	100	1000	100	38,41
370	100	100	100	30	100	1000	200	76,82
270	100	100	100	30	100	1000	300	115,23
20	100	100	100	30	100	1000	550	211,25

Çizelge 3.17. İnsan G6PD enzimi için metaprolol tartarat ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
580	100	100	100	20	100	1000	0	-
530	100	100	100	20	100	1000	50	0,073
480	100	100	100	20	100	1000	100	0,146
380	100	100	100	20	100	1000	200	0,292
280	100	100	100	20	100	1000	300	0,438
180	100	100	100	20	100	1000	400	0,584

Çizelge 3.18. İnsan G6PD enzimi için paklitaksel ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
580	100	100	100	20	100	1000	0	-
530	100	100	100	20	100	1000	50	0,351
480	100	100	100	20	100	1000	100	0,703
380	100	100	100	20	100	1000	200	1,406
280	100	100	100	20	100	1000	300	2,109
180	100	100	100	20	100	1000	400	2,812

Çizelge 3.19. İnsan G6PD enzimi için sisplatin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
580	100	100	100	20	100	1000	0	-
530	100	100	100	20	100	1000	50	0,083
480	100	100	100	20	100	1000	100	0,167
380	100	100	100	20	100	1000	200	0,334
280	100	100	100	20	100	1000	300	0,501
180	100	100	100	20	100	1000	400	0,668

Çizelge 3.20. İnsan G6PD enzimi için l-karnitin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
570	100	100	100	30	100	1000	0	-
470	100	100	100	30	100	1000	100	101,48
370	100	100	100	30	100	1000	200	202,96
270	100	100	100	30	100	1000	300	304,44
170	100	100	100	30	100	1000	400	405,92
70	100	100	100	30	100	1000	500	507,4

Çizelge 3.21. İnsan G6PD enzimi için atropin sülfat ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
570	100	100	100	30	100	1000	0	-
520	100	100	100	30	100	1000	50	0,072
470	100	100	100	30	100	1000	100	0,144
370	100	100	100	30	100	1000	200	0,288
270	100	100	100	30	100	1000	300	0,432
170	100	100	100	30	100	1000	400	0,576

Çizelge 3.22. İnsan G6PD enzimi için dekspantenol ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
500	100	100	100	50	100	1000	50	60,9
450	100	100	100	50	100	1000	100	121,8
350	100	100	100	50	100	1000	200	243,6
250	100	100	100	50	100	1000	300	365,4
50	100	100	100	50	100	1000	500	609

Çizelge 3.23. İnsan G6PD enzimi için flumazenil ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
500	100	100	100	50	100	1000	50	0,01645
450	100	100	100	50	100	1000	100	0,0329
350	100	100	100	50	100	1000	200	0,0658
250	100	100	100	50	100	1000	300	0,0987
50	100	100	100	50	100	1000	500	0,1645

Çizelge 3.24. İnsan G6PD enzimi için siklosporin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
500	100	100	100	50	100	1000	50	2,08
450	100	100	100	50	100	1000	100	4,16
350	100	100	100	50	100	1000	200	8,32
250	100	100	100	50	100	1000	300	12,48
50	100	100	100	50	100	1000	500	20,8

Çizelge 3.25. İnsan G6PD enzimi için pentoksifilin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
500	100	100	100	50	100	1000	50	1,0890
450	100	100	100	50	100	1000	100	2,179
350	100	100	100	50	100	1000	200	4,358
150	100	100	100	50	100	1000	400	8,716
50	100	100	100	50	100	1000	550	11,98

Çizelge 3.26. İnsan G6PD enzimi için essitalopram ogzalat ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
570	100	100	100	30	100	1000	0	-
560	100	100	100	30	100	1000	10	0,0161
520	100	100	100	30	100	1000	50	0,0805
470	100	100	100	30	100	1000	100	0,161
370	100	100	100	30	100	1000	200	0,322
270	100	100	100	30	100	1000	300	0,483

Çizelge 3.27. İnsan G6PD enzimi için karboplatin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
570	100	100	100	30	100	1000	0	-
520	100	100	100	30	100	1000	50	1,35
470	100	100	100	30	100	1000	100	2,7
270	100	100	100	30	100	1000	300	8,1
170	100	100	100	30	100	1000	400	10,8
70	100	100	100	30	100	1000	500	13,5

Çizelge 3.28. İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerinde tiyokolşikosid ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NAD ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (µl)	Küvette ki Glukoz 6-fosfat (mM)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [I] (mM)	Toplam Hacim (µl)
668	100	100	100	30	2	0,012	-	-	1000
665	100	100	100	30	5	0,03	-	-	1000
660	100	100	100	30	10	0,06	-	-	1000
650	100	100	100	30	20	0,12	-	-	1000
620	100	100	100	30	50	0,45	-	-	1000
648	100	100	100	30	2	0,012	20	0,071	1000
645	100	100	100	30	5	0,03	20	0,071	1000
640	100	100	100	30	10	0,06	20	0,071	1000
630	100	100	100	30	20	0,12	20	0,071	1000
600	100	100	100	30	50	0,45	20	0,071	1000
633	100	100	100	30	2	0,012	35	0,124	1000
630	100	100	100	30	5	0,03	35	0,124	1000
625	100	100	100	30	10	0,06	35	0,124	1000
615	100	100	100	30	20	0,12	35	0,124	1000
585	100	100	100	30	50	0,45	35	0,124	1000
618	100	100	100	30	2	0,012	50	0,170	1000
615	100	100	100	30	5	0,03	50	0,170	1000
610	100	100	100	30	10	0,06	50	0,170	1000
600	100	100	100	30	20	0,12	50	0,170	1000
570	100	100	100	30	50	0,45	50	0,170	1000

Çizelge 3.29. İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerinde dakarbazine ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları

Saf su (μ l)	Tris- HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	MgCl ₂ (0,1 M) (μ l)	NAD ⁺ (2mM) (μ l)	Enzim Hacmi (μ l)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (μ l)	Küvette ki Glukoz 6-fosfat Miktarı (mM)	İnhibitör Hacmi (μ l)	Küvette ki [İnhibitör] miktarı (mM)	Toplam Hacim (μ l)
648	100	100	100	50	2	0,012	-	-	1000
645	100	100	100	50	5	0,03	-	-	1000
640	100	100	100	50	10	0,06	-	-	1000
630	100	100	100	50	20	0,12	-	-	1000
600	100	100	100	50	50	0,45	-	-	1000
638	100	100	100	50	2	0,012	10	0,027	1000
635	100	100	100	50	5	0,03	10	0,027	1000
630	100	100	100	50	10	0,06	10	0,027	1000
620	100	100	100	50	20	0,12	10	0,027	1000
590	100	100	100	50	50	0,45	10	0,027	1000
628	100	100	100	50	2	0,012	20	0,053	1000
625	100	100	100	50	5	0,03	20	0,053	1000
620	100	100	100	50	10	0,06	20	0,053	1000
610	100	100	100	50	20	0,12	20	0,053	1000
580	100	100	100	50	50	0,45	20	0,053	1000
618	100	100	100	50	2	0,012	30	0,080	1000
615	100	100	100	50	5	0,03	30	0,080	1000
610	100	100	100	50	10	0,06	30	0,080	1000
600	100	100	100	50	20	0,12	30	0,080	1000
570	100	100	100	50	50	0,45	30	0,080	1000

Çizelge 3.30. İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerinde olanzapin ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları

Saf su (μ l)	Tris- HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	MgCl ₂ (0,1 M) (μ l)	NAD ⁺ (2mM) (μ l)	Enzim Hacmi (μ l)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (μ l)	Küvette ki Glukoz 6-fosfat Miktarı (mM)	İnhibitör Hacmi (μ l)	Küvette ki [İnhibitör] miktarı (mM)	Toplam Hacim (μ l)
648	100	100	100	50	2	0,012	-	-	1000
645	100	100	100	50	5	0,03	-	-	1000
640	100	100	100	50	10	0,06	-	-	1000
630	100	100	100	50	20	0,12	-	-	1000
600	100	100	100	50	50	0,45	-	-	1000
548	100	100	100	50	2	0,012	100	0,32	1000
545	100	100	100	50	5	0,03	100	0,32	1000
540	100	100	100	50	10	0,06	100	0,32	1000
530	100	100	100	50	20	0,12	100	0,32	1000
500	100	100	100	50	50	0,45	100	0,32	1000
448	100	100	100	50	2	0,012	200	0,64	1000
445	100	100	100	50	5	0,03	200	0,64	1000
440	100	100	100	50	10	0,06	200	0,64	1000
430	100	100	100	50	20	0,12	200	0,64	1000
400	100	100	100	50	50	0,45	200	0,64	1000
348	100	100	100	50	2	0,012	300	0,96	1000
345	100	100	100	50	5	0,03	300	0,96	1000
340	100	100	100	50	10	0,06	300	0,96	1000
330	100	100	100	50	20	0,12	300	0,96	1000
300	100	100	100	50	50	0,45	300	0,96	1000

Çizelge 3.31. İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerinde ketotifen ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları.

Saf su (μ l)	Tris- HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	MgCl ₂ (0,1 M) (μ l)	NAD ⁺ (2mM) (μ l)	Enzim Hacmi (μ l)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (μ l)	Küvette ki Glukoz 6-fosfat Miktarı (mM)	İnhibitör Hacmi (μ l)	Küvetteki [İnhibitör] miktarı (mM)	Toplam Hacim (μ l)
668	100	100	100	30	2	0,012	-	-	1000
665	100	100	100	30	5	0,03	-	-	1000
660	100	100	100	30	10	0,06	-	-	1000
650	100	100	100	30	20	0,12	-	-	1000
620	100	100	100	30	50	0,45	-	-	1000
648	100	100	100	30	2	0,012	20	0,018	1000
645	100	100	100	30	5	0,03	20	0,018	1000
640	100	100	100	30	10	0,06	20	0,018	1000
630	100	100	100	30	20	0,12	20	0,018	1000
600	100	100	100	30	50	0,45	20	0,018	1000
568	100	100	100	30	2	0,012	100	0,0094	1000
565	100	100	100	30	5	0,03	100	0,0094	1000
560	100	100	100	30	10	0,06	100	0,0094	1000
550	100	100	100	30	20	0,12	100	0,0094	1000
520	100	100	100	30	50	0,45	100	0,0094	1000
468	100	100	100	30	2	0,012	200	0,0188	1000
465	100	100	100	30	5	0,03	200	0,0188	1000
460	100	100	100	30	10	0,06	200	0,0188	1000
450	100	100	100	30	20	0,12	200	0,0188	1000
420	100	100	100	30	50	0,45	200	0,0188	1000

Çizelge 3.32. İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerinde meloksikam ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları

Saf su (μ l)	Tris- HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	MgCl ₂ (0,1 M) (μ l)	NAD ⁺ (2mM) (μ l)	Enzim Hacmi (μ l)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (μ l)	Küvette ki Glukoz 6-fosfat Miktarı (mM)	İnhibitör Hacmi (μ l)	Küvetteki [İnhibitör] miktarı (mM)	Toplam Hacim (μ l)
678	100	100	100	20	2	0,012	-	-	1000
675	100	100	100	20	5	0,03	-	-	1000
670	100	100	100	20	10	0,06	-	-	1000
660	100	100	100	20	20	0,12	-	-	1000
630	100	100	100	20	50	0,45	-	-	1000
668	100	100	100	20	2	0,012	10	0,0285	1000
665	100	100	100	20	5	0,03	10	0,0285	1000
660	100	100	100	20	10	0,06	10	0,0285	1000
650	100	100	100	20	20	0,12	10	0,0285	1000
620	100	100	100	20	50	0,45	10	0,0285	1000
658	100	100	100	20	2	0,012	20	0,057	1000
655	100	100	100	20	5	0,03	20	0,057	1000
650	100	100	100	20	10	0,06	20	0,057	1000
640	100	100	100	20	20	0,12	20	0,057	1000
610	100	100	100	20	50	0,45	20	0,057	1000
648	100	100	100	20	2	0,012	30	0,085	1000
645	100	100	100	20	5	0,03	30	0,085	1000
640	100	100	100	20	10	0,06	30	0,085	1000
630	100	100	100	20	20	0,12	30	0,085	1000
600	100	100	100	20	50	0,45	30	0,085	1000

Çizelge 3.33. İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerinde gadobenat dimeglumin ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları

Saf su (μ l)	Tris- HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	MgCl ₂ (0,1 M) (μ l)	NAD ⁺ (2mM) (μ l)	Enzim Hacmi (μ l)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (μ l)	Küvette ki Glukoz 6-fosfat Miktarı (mM)	İnhibitör Hacmi (μ l)	Küvette ki [İnhibitör] miktarı (mM)	Toplam Hacim (μ l)
678	100	100	100	20	2	0,012	-	-	1000
675	100	100	100	20	5	0,03	-	-	1000
670	100	100	100	20	10	0,06	-	-	1000
660	100	100	100	20	20	0,12	-	-	1000
630	100	100	100	20	50	0,45	-	-	1000
578	100	100	100	20	2	0,012	100	50,06	1000
575	100	100	100	20	5	0,03	100	50,06	1000
570	100	100	100	20	10	0,06	100	50,06	1000
560	100	100	100	20	20	0,12	100	50,06	1000
530	100	100	100	20	50	0,45	100	50,06	1000
428	100	100	100	20	2	0,012	250	124,9	1000
425	100	100	100	20	5	0,03	250	124,9	1000
420	100	100	100	20	10	0,06	250	124,9	1000
410	100	100	100	20	20	0,12	250	124,9	1000
380	100	100	100	20	50	0,45	250	124,9	1000
278	100	100	100	20	2	0,012	400	200	1000
275	100	100	100	20	5	0,03	400	200	1000
270	100	100	100	20	10	0,06	400	200	1000
260	100	100	100	20	20	0,12	400	200	1000
230	100	100	100	20	50	0,45	400	200	1000

Çizelge 3.34. İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerinde ritodrin HCl ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları.

Saf su (μ l)	Tris- HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	MgCl ₂ (0,1 M) (μ l)	NAD ⁺ (2mM) (μ l)	Enzim Hacmi (μ l)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (μ l)	Küvette ki Glukoz 6-fosfat Miktarı (mM)	İnhibitör Hacmi (μ l)	Küvette ki [İnhibitör] miktarı (mM)	Toplam Hacim (μ l)
668	100	100	100	30	2	0,012	-	-	1000
665	100	100	100	30	5	0,03	-	-	1000
660	100	100	100	30	10	0,06	-	-	1000
650	100	100	100	30	20	0,12	-	-	1000
620	100	100	100	30	50	0,45	-	-	1000
468	100	100	100	30	2	0,012	200	6,16	1000
465	100	100	100	30	5	0,03	200	6,16	1000
460	100	100	100	30	10	0,06	200	6,16	1000
450	100	100	100	30	20	0,12	200	6,16	1000
420	100	100	100	30	50	0,45	200	6,16	1000
368	100	100	100	30	2	0,012	300	9,24	1000
365	100	100	100	30	5	0,03	300	9,24	1000
360	100	100	100	30	10	0,06	300	9,24	1000
350	100	100	100	30	20	0,12	300	9,24	1000
320	100	100	100	30	50	0,45	300	9,24	1000
168	100	100	100	30	2	0,012	500	15,4	1000
165	100	100	100	30	5	0,03	500	15,4	1000
160	100	100	100	30	10	0,06	500	15,4	1000
150	100	100	100	30	20	0,12	500	15,4	1000
120	100	100	100	30	50	0,45	500	15,4	1000

Çizelge 3.35. İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerinde metilprednizolan asetat ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları

Saf su (μ l)	Tris- HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	MgCl ₂ (0,1 M) (μ l)	NAD ⁺ (2mM) (μ l)	Enzim Hacmi (μ l)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (μ l)	Küvette ki Glukoz 6-fosfat Miktarı (mM)	İnhibitör Hacmi (μ l)	Küvette ki [İnhibitör] miktarı (mM)	Toplam Hacim (μ l)
678	100	100	100	20	2	0,012	-	-	1000
675	100	100	100	20	5	0,03	-	-	1000
670	100	100	100	20	10	0,06	-	-	1000
660	100	100	100	20	20	0,12	-	-	1000
630	100	100	100	20	50	0,45	-	-	1000
675	100	100	100	20	2	0,012	3	0,288	1000
673	100	100	100	20	5	0,03	3	0,288	1000
667	100	100	100	20	10	0,06	3	0,288	1000
657	100	100	100	20	20	0,12	3	0,288	1000
627	100	100	100	20	50	0,45	3	0,288	1000
670	100	100	100	20	2	0,012	8	0,77	1000
667	100	100	100	20	5	0,03	8	0,77	1000
662	100	100	100	20	10	0,06	8	0,77	1000
652	100	100	100	20	20	0,12	8	0,77	1000
622	100	100	100	20	50	0,45	8	0,77	1000
668	100	100	100	20	2	0,012	10	0,96	1000
665	100	100	100	20	5	0,03	10	0,96	1000
660	100	100	100	20	10	0,06	10	0,96	1000
650	100	100	100	20	20	0,12	10	0,96	1000
620	100	100	100	20	50	0,45	10	0,96	1000

Çizelge 3.36. İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerinde parikalsitol ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları

Saf su (μ l)	Tris- HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	MgCl ₂ (0,1 M) (μ l)	NAD ⁺ (2mM) (μ l)	Enzim Hacmi (μ l)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (μ l)	Küvette ki Glukoz 6-fosfat Miktarı (mM)	İnhibitör Hacmi (μ l)	Küvette ki [İnhibitör] miktarı (mM)	Toplam Hacim (μ l)
668	100	100	100	30	2	0,012	-	-	1000
665	100	100	100	30	5	0,03	-	-	1000
660	100	100	100	30	10	0,06	-	-	1000
650	100	100	100	30	20	0,12	-	-	1000
620	100	100	100	30	50	0,45	-	-	1000
568	100	100	100	30	2	0,012	100	1,2	1000
565	100	100	100	30	5	0,03	100	1,2	1000
560	100	100	100	30	10	0,06	100	1,2	1000
550	100	100	100	30	20	0,12	100	1,2	1000
520	100	100	100	30	50	0,45	100	1,2	1000
468	100	100	100	30	2	0,012	200	2,4	1000
465	100	100	100	30	5	0,03	200	2,4	1000
460	100	100	100	30	10	0,06	200	2,4	1000
450	100	100	100	30	20	0,12	200	2,4	1000
420	100	100	100	30	50	0,45	200	2,4	1000
268	100	100	100	30	2	0,012	400	4,8	1000
265	100	100	100	30	5	0,03	400	4,8	1000
260	100	100	100	30	10	0,06	400	4,8	1000
250	100	100	100	30	20	0,12	400	4,8	1000
220	100	100	100	30	50	0,45	400	4,8	1000

Çizelge 3.37. İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerinde metotreksat ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları

Saf su (μ l)	Tris- HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	MgCl ₂ (0,1 M) (μ l)	NAD ⁺ (2mM) (μ l)	Enzim Hacmi (μ l)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (μ l)	Küvette ki Glukoz 6-fosfat Miktarı (mM)	İnhibitör Hacmi (μ l)	Küvette ki [İnhibitör] miktarı (mM)	Toplam Hacim (μ l)
668	100	100	100	30	2	0,012	-	-	1000
665	100	100	100	30	5	0,03	-	-	1000
660	100	100	100	30	10	0,06	-	-	1000
650	100	100	100	30	20	0,12	-	-	1000
620	100	100	100	30	50	0,45	-	-	1000
663	100	100	100	30	2	0,012	5	0,110	1000
660	100	100	100	30	5	0,03	5	0,110	1000
655	100	100	100	30	10	0,06	5	0,110	1000
645	100	100	100	30	20	0,12	5	0,110	1000
615	100	100	100	30	50	0,45	5	0,110	1000
658	100	100	100	30	2	0,012	10	0,220	1000
655	100	100	100	30	5	0,03	10	0,220	1000
650	100	100	100	30	10	0,06	10	0,220	1000
640	100	100	100	30	20	0,12	10	0,220	1000
610	100	100	100	30	50	0,45	10	0,220	1000
648	100	100	100	30	2	0,012	20	0,440	1000
645	100	100	100	30	5	0,03	20	0,440	1000
640	100	100	100	30	10	0,06	20	0,440	1000
630	100	100	100	30	20	0,12	20	0,440	1000
600	100	100	100	30	50	0,45	20	0,440	1000

Çizelge 3.38. İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerinde furosemid ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları

Saf su (μ l)	Tris- HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	MgCl ₂ (0,1 M) (μ l)	NAD ⁺ (2mM) (μ l)	Enzim Hacmi (μ l)	Glukoz 6-fosfat (6mM) (μ l)	Küvette ki Glukoz 6-fosfat Miktarı (mM)	İnhibitör Hacmi (μ l)	Küvette ki [İnhibitör] miktarı (mM)	Toplam Hacim (μ l)
648	100	100	100	50	2	0,012	-	-	1000
645	100	100	100	50	5	0,03	-	-	1000
640	100	100	100	50	10	0,06	-	-	1000
630	100	100	100	50	20	0,12	-	-	1000
600	100	100	100	50	50	0,45	-	-	1000
647	100	100	100	50	2	0,012	1	0,030	1000
644	100	100	100	50	5	0,03	1	0,030	1000
639	100	100	100	50	10	0,06	1	0,030	1000
629	100	100	100	50	20	0,12	1	0,030	1000
599	100	100	100	50	50	0,45	1	0,030	1000
643	100	100	100	50	2	0,012	5	0,151	1000
640	100	100	100	50	5	0,03	5	0,151	1000
635	100	100	100	50	10	0,06	5	0,151	1000
625	100	100	100	50	20	0,12	5	0,151	1000
595	100	100	100	50	50	0,45	5	0,151	1000
638	100	100	100	50	2	0,012	10	0,3	1000
635	100	100	100	50	5	0,03	10	0,3	1000
630	100	100	100	50	10	0,06	10	0,3	1000
620	100	100	100	50	20	0,12	10	0,3	1000
590	100	100	100	50	50	0,45	10	0,3	1000

3.2.5.b. 6-fosfoglukonat dehidrogenaz enzimi için yapılan kinetik çalışmalar

İnsan eritrosit 6PGD enzimi üzerinde ketotifen, dakarbazin, meloksikam, furosemid, metotreksat, metoklopramid HCl, ritodrin HCl, gadopentetik asit, atropin sülfat, karboplatin, karnitin, dekspantenol, eskitalopram okzalat, flumazenil, metoprolol tartarat, siklosporin, fenoksikam, digoksin, hiyosin N-bütül bromür, lidokain HCl, traneksamik asit, teofilin etilendiamin, olanzapin ilaçlarının inhibisyon etkisi gösterip göstermedikleri mümkün olan en yüksek inhibitör konsantrasyonunda bir ön deneyle araştırıldı. Bu araştırma sonucuna göre; ketotifen, dakarbazin, meloksikam, furosemid, metotreksat, metoklopramid HCl, ritodrin HCl, gadopentetik asit, inhibisyon etkisi gösterirken diğerlerinin göstermediği anlaşıldı. 6PGD aktivitesi bölüm 3.2.3.a.'deki konuda anlatıldığı şekilde hesaplandı.

Aktivite ölçümünde kullanılan çözeltilerin miktarları ve buna göre küvetteki inhibitör konsantrasyonları çalışmada kullanılan bütün ilaçlar için ayrı ayrı olmak üzere aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 3.39. İnsan 6PGD enzimi için ritodrin HCl ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları.

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NADP ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	6PGA (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
500	100	100	100	50	100	1000	50	1,54
450	100	100	100	50	100	1000	100	3,08
300	100	100	100	50	100	1000	250	6,16
250	100	100	100	50	100	1000	300	9,24
150	100	100	100	50	100	1000	400	15,4

Çizelge 3.40. İnsan 6PGD enzimi için gadopentetik asit ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NADP ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	6PGA (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
500	100	100	100	50	100	1000	50	24,99
350	100	100	100	50	100	1000	200	99,97
250	100	100	100	50	100	1000	300	149,96
150	100	100	100	50	100	1000	400	199,95
50	100	100	100	50	100	1000	500	249,93

Çizelge 3.41. İnsan 6PGD enzimi için metokloropramid HCl ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NADP ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	6PGA (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
500	100	100	100	50	100	1000	50	0,83
450	100	100	100	50	100	1000	100	1,667
350	100	100	100	50	100	1000	200	3,334
250	100	100	100	50	100	1000	300	5,001
50	100	100	100	50	100	1000	500	8,335

Çizelge 3.42. İnsan 6PGD enzimi için meloksikam ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NADP ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	6PGA (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
549	100	100	100	50	100	1000	1	0,028
548,5	100	100	100	50	100	1000	1,5	0,043
547,5	100	100	100	50	100	1000	2,5	0,071
545	100	100	100	50	100	1000	5	0,1425
510	100	100	100	50	100	1000	10	0,285

Çizelge 3.43. İnsan 6PGD enzimi için furosemid ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NADP ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	6PGA (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
549	100	100	100	50	100	1000	1	0,03
545	100	100	100	50	100	1000	5	0,151
540	100	100	100	50	100	1000	10	0,3
530	100	100	100	50	100	1000	20	0,6
520	100	100	100	50	100	1000	30	0,9

Çizelge 3.44. İnsan 6PGD enzimi için dakarbazin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NADP ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	6PGA (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
549	100	100	100	50	100	1000	1	0,0026
545	100	100	100	50	100	1000	5	0,013
540	100	100	100	50	100	1000	10	0,027
535	100	100	100	50	100	1000	15	0,039
530	100	100	100	50	100	1000	20	0,054

Çizelge 3.45. İnsan 6PGD enzimi için methotreksat ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NADP ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	6PGA (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
549	100	100	100	50	100	1000	1	0,022
545	100	100	100	50	100	1000	5	0,110
540	100	100	100	50	100	1000	10	0,220
535	100	100	100	50	100	1000	15	0,330
530	100	100	100	50	100	1000	20	0,440

Çizelge 3.46. İnsan 6PGD enzimi için ketotifen ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NADP ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	6PGA (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
530	100	100	100	50	100	1000	20	0,0018
500	100	100	100	50	100	1000	50	0,0047
450	100	100	100	50	100	1000	100	0,0094
350	100	100	100	50	100	1000	200	0,0188
250	100	100	100	50	100	1000	300	0,0282

Çizelge 3.47. İnsan 6PGD enzimi için olanzapin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NADP ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	6PGA (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
500	100	100	100	50	100	1000	50	0,16
450	100	100	100	50	100	1000	100	0,32
350	100	100	100	50	100	1000	200	0,64
150	100	100	100	50	100	1000	400	1,28
50	100	100	100	50	100	1000	500	1,6

Çizelge 3.48. İnsan 6PGD enzimi için hiyosin n-bütül bromür ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su	Tris-HCl	MgCl ₂	NADP ⁺	Enzim	6PGA	Toplam	İnhibitör	Küvetteki
--------	----------	-------------------	-------------------	-------	------	--------	-----------	-----------

(μ l)	(1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	(0,1 M) (μ l)	(2mM) (μ l)	Hacmi (μ l)	(6mM) (μ l)	Hacim (μ l)	Hacmi (μ l)	[İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
500	100	100	100	50	100	1000	50	6,89
450	100	100	100	50	100	1000	100	13,78
350	100	100	100	50	100	1000	200	27,56
250	100	100	100	50	100	1000	300	41,34
50	100	100	100	50	100	1000	500	68,9

Çizelge 3.49. İnsan 6PGD enzimi için klorfenoksikam HCl ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (μ l)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	MgCl ₂ (0,1 M) (μ l)	NADP ⁺ (2mM) (μ l)	Enzim Hacmi (μ l)	6PGA (6mM) (μ l)	Toplam Hacim (μ l)	İnhibitör Hacmi (μ l)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
500	100	100	100	50	100	1000	50	0,01645
450	100	100	100	50	100	1000	100	0,0329
350	100	100	100	50	100	1000	200	0,0658
250	100	100	100	50	100	1000	300	0,0987
150	100	100	100	50	100	1000	400	0,1316

Çizelge 3.50. İnsan 6PGD enzimi için lidokain HCl ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (μ l)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	MgCl ₂ (0,1 M) (μ l)	NADP ⁺ (2mM) (μ l)	Enzim Hacmi (μ l)	6PGA (6mM) (μ l)	Toplam Hacim (μ l)	İnhibitör Hacmi (μ l)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
	100	100	100	50	100	1000	50	3,7015
	100	100	100	50	100	1000	100	7,403
	100	100	100	50	100	1000	200	14,806
	100	100	100	50	100	1000	300	22,209
	100	100	100	50	100	1000	400	29,612

Çizelge 3.51. İnsan 6PGD enzimi için transeksamik asit ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (μ l)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	MgCl ₂ (0,1 M) (μ l)	NADP ⁺ (2mM) (μ l)	Enzim Hacmi (μ l)	6PGA (6mM) (μ l)	Toplam Hacim (μ l)	İnhibitör Hacmi (μ l)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
-------------------	--	--------------------------------------	------------------------------------	------------------------	-----------------------	-------------------------	----------------------------	----------------------------

	(μ l)							
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
500	100	100	100	50	100	1000	50	3,18
350	100	100	100	50	100	1000	200	12,73
250	100	100	100	50	100	1000	300	19,09
150	100	100	100	50	100	1000	400	25,46
50	100	100	100	50	100	1000	500	31,82

Çizelge 3.52. İnsan 6PGD enzimi için digoksin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (μ l)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	MgCl ₂ (0,1 M) (μ l)	NADP ⁺ (2mM) (μ l)	Enzim Hacmi (μ l)	6PGA (6mM) (μ l)	Toplam Hacim (μ l)	İnhibitör Hacmi (μ l)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
500	100	100	100	50	100	1000	50	0,16
450	100	100	100	50	100	1000	100	0,32
350	100	100	100	50	100	1000	200	0,64
250	100	100	100	50	100	1000	300	0,96
150	100	100	100	50	100	1000	400	1,28

Çizelge 3.53. İnsan 6PGD enzimi için metoprolol tartarat ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (μ l)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	MgCl ₂ (0,1 M) (μ l)	NADP ⁺ (2mM) (μ l)	Enzim Hacmi (μ l)	6PGA (6mM) (μ l)	Toplam Hacim (μ l)	İnhibitör Hacmi (μ l)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
500	100	100	100	50	100	1000	50	0,073
450	100	100	100	50	100	1000	100	0,146
350	100	100	100	50	100	1000	200	0,292
250	100	100	100	50	100	1000	300	0,438
150	100	100	100	50	100	1000	400	0,584

Çizelge 3.54. İnsan 6PGD enzimi için teofilin etilendiamin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (μ l)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	MgCl ₂ (0,1 M) (μ l)	NADP ⁺ (2mM) (μ l)	Enzim Hacmi (μ l)	6PGA (6mM) (μ l)	Toplam Hacim (μ l)	İnhibitör Hacmi (μ l)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-

500	100	100	100	50	100	1000	50	2,857
450	100	100	100	50	100	1000	100	5,714
350	100	100	100	50	100	1000	200	11,428
150	100	100	100	50	100	1000	400	22,856
50	100	100	100	50	100	1000	500	28,57

Çizelge 3.55 İnsan 6PGD enzimi için karboplatin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NADP ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	6PGA (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
500	100	100	100	50	100	1000	50	0,1345
400	100	100	100	50	100	1000	100	0,269
350	100	100	100	50	100	1000	200	0,538
250	100	100	100	50	100	1000	300	0,807
150	100	100	100	50	100	1000	400	1,076

Çizelge 3.56. İnsan 6PGD enzimi için karnitin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NADP ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	6PGA (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
500	100	100	100	50	100	1000	50	50,74
450	100	100	100	50	100	1000	100	101,48
400	100	100	100	50	100	1000	150	152,22
350	100	100	100	50	100	1000	200	202,96
100	100	100	100	50	100	1000	450	456,66

Çizelge 3.57. İnsan 6PGD enzimi için atropin sülfat ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NADP ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	6PGA (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
500	100	100	100	50	100	1000	50	0,072

450	100	100	100	50	100	1000	100	0,144
350	100	100	100	50	100	1000	200	0,288
250	100	100	100	50	100	1000	300	0,432
50	100	100	100	50	100	1000	500	0,72

Çizelge 3.58. İnsan 6PGD enzimi için dekspentenol ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NADP ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	6PGA (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
500	100	100	100	50	100	1000	50	60,9
450	100	100	100	50	100	1000	100	121,8
350	100	100	100	50	100	1000	200	243,6
250	100	100	100	50	100	1000	300	365,4
150	100	100	100	50	100	1000	400	487,2

Çizelge 3.59. İnsan 6PGD enzimi için flumazenil ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NADP ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	6PGA (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
500	100	100	100	50	100	1000	50	0,01645
450	100	100	100	50	100	1000	100	0,0329
350	100	100	100	50	100	1000	200	0,0658
150	100	100	100	50	100	1000	400	0,1316
100	100	100	100	50	100	1000	450	0,1480

Çizelge 3.60. İnsan 6PGD enzimi için esitalopram okzalit ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NADP ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	6PGA (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
500	100	100	100	50	100	1000	50	0,0805
450	100	100	100	50	100	1000	100	0,161
350	100	100	100	50	100	1000	200	0,322

250	100	100	100	50	100	1000	300	0,483
50	100	100	100	50	100	1000	500	0,805

Çizelge 3.61. İnsan 6PGD enzimi için siklosporin ilacı ile yapılan çalışmalarda kullanılan çözelti miktarı ve bunlara karşılık gelen inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NADP ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	6PGA (6mM) (µl)	Toplam Hacim (µl)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] (mM)
550	100	100	100	50	100	1000	0	-
500	100	100	100	50	100	1000	50	2,08
450	100	100	100	50	100	1000	100	4,16
350	100	100	100	50	100	1000	200	8,32
250	100	100	100	50	100	1000	300	12,48
150	100	100	100	50	100	1000	400	16,64

Çizelge 3.62. İnsan eritrositlerinden saflaştırılan 6PGD enzimi üzerinde ritodrin HCl ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NADP ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	6PGA (6mM) (µl)	Küvetteki 6PGA Miktarı (mM)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] miktarı (mM)	Toplam Hacim (µl)
645	100	100	100	50	5	0,003	-	-	1000
640	100	100	100	50	10	0,006	-	-	1000
630	100	100	100	50	20	0,012	-	-	1000
610	100	100	100	50	40	0,024	-	-	1000

590	100	100	100	50	60	0,036	-	-	1000
595	100	100	100	50	5	0,003	50	1,54	1000
590	100	100	100	50	10	0,006	50	1,54	1000
580	100	100	100	50	20	0,012	50	1,54	1000
560	100	100	100	50	40	0,024	50	1,54	1000
540	100	100	100	50	60	0,036	50	1,54	1000
445	100	100	100	50	5	0,003	200	6,16	1000
440	100	100	100	50	10	0,006	200	6,16	1000
430	100	100	100	50	20	0,012	200	6,16	1000
410	100	100	100	50	40	0,024	200	6,16	1000
390	100	100	100	50	60	0,036	200	6,16	1000
345	100	100	100	50	5	0,003	300	9,24	1000
340	100	100	100	50	10	0,006	300	9,24	1000
330	100	100	100	50	20	0,012	300	9,24	1000
310	100	100	100	50	40	0,024	300	9,24	1000
290	100	100	100	50	60	0,036	300	9,24	1000

Çizelge 3.63. İnsan eritrositlerinden saflaştırılan 6PGD enzimi üzerinde gadopentetik asit ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları

Saf su (μ l)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	MgCl ₂ (0,1 M) (μ l)	NADP ⁺ (2mM) (μ l)	Enzim Hacmi (μ l)	6PGA (6mM) (μ l)	Küvette ki 6PGA Miktarı (mM)	İnhibitör Hacmi (μ l)	Küvette ki [İnhibitör] miktarı (mM)	Toplam Hacim (μ l)
645	100	100	100	50	5	0,003	-	-	1000
640	100	100	100	50	10	0,006	-	-	1000
630	100	100	100	50	20	0,012	-	-	1000
610	100	100	100	50	40	0,024	-	-	1000
590	100	100	100	50	60	0,036	-	-	1000

445	100	100	100	50	5	0,003	200	99,97	1000
440	100	100	100	50	10	0,006	200	99,97	1000
430	100	100	100	50	20	0,012	200	99,97	1000
410	100	100	100	50	40	0,024	200	99,97	1000
390	100	100	100	50	60	0,036	200	99,97	1000
345	100	100	100	50	5	0,003	300	149,9	1000
340	100	100	100	50	10	0,006	300	149,9	1000
330	100	100	100	50	20	0,012	300	149,9	1000
310	100	100	100	50	40	0,024	300	149,9	1000
290	100	100	100	50	60	0,036	300	149,9	1000
245	100	100	100	50	5	0,003	400	199,9	1000
240	100	100	100	50	10	0,006	400	199,9	1000
230	100	100	100	50	20	0,012	400	199,9	1000
210	100	100	100	50	40	0,024	400	199,9	1000
190	100	100	100	50	60	0,036	400	199,9	1000

Çizelge 3.64. İnsan eritrositlerinden saflaştırılan 6PGD enzimi üzerinde metokloropramid HCl ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları

Saf su (μ l)	Tris- HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	MgCl ₂ (0,1 M) (μ l)	NADP ⁺ (2mM) (μ l)	Enzim Hacmi (μ l)	6PGA (6mM) (μ l)	Küvette ki 6PGA Miktarı (mM)	İnhibitör Hacmi (μ l)	Küvette ki [İnhibitör] miktarı (mM)	Toplam Hacim (μ l)
645	100	100	100	50	5	0,003	-	-	1000
640	100	100	100	50	10	0,006	-	-	1000
630	100	100	100	50	20	0,012	-	-	1000
610	100	100	100	50	40	0,024	-	-	1000
590	100	100	100	50	60	0,036	-	-	1000
595	100	100	100	50	5	0,003	50	0,83	1000
590	100	100	100	50	10	0,006	50	0,83	1000

580	100	100	100	50	20	0,012	50	0,83	1000
560	100	100	100	50	40	0,024	50	0,83	1000
540	100	100	100	50	60	0,036	50	0,83	1000
545	100	100	100	50	5	0,003	100	1,67	1000
540	100	100	100	50	10	0,006	100	1,67	1000
530	100	100	100	50	20	0,012	100	1,67	1000
510	100	100	100	50	40	0,024	100	1,67	1000
490	100	100	100	50	60	0,036	100	1,67	1000
445	100	100	100	50	5	0,003	200	3,34	1000
440	100	100	100	50	10	0,006	200	3,34	1000
430	100	100	100	50	20	0,012	200	3,34	1000
410	100	100	100	50	40	0,024	200	3,34	1000
390	100	100	100	50	60	0,036	200	3,34	1000

Çizelge 3.65. İnsan eritrositlerinden saflaştırılan 6PGD enzimi üzerinde meloksikam ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları

Saf su (μ l)	Tris- HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	MgCl ₂ (0,1 M) (μ l)	NADP ⁺ (2mM) (μ l)	Enzim Hacmi (μ l)	6PGA (6mM) (μ l)	Küvette ki 6PGA (mM)	İnhibitör Hacmi (μ l)	Küvette ki [İnhibitör] miktarı (mM)	Toplam Hacim (μ l)
640	100	100	100	50	10	0,006	-	-	1000
630	100	100	100	50	20	0,012	-	-	1000
610	100	100	100	50	40	0,024	-	-	1000
590	100	100	100	50	60	0,036	-	-	1000
570	100	100	100	50	80	0,048	-	-	1000
639	100	100	100	50	10	0,006	1	0,028	1000
629	100	100	100	50	20	0,012	1	0,028	1000
609	100	100	100	50	40	0,024	1	0,028	1000
589	100	100	100	50	60	0,036	1	0,028	1000

569	100	100	100	50	80	0,048	1	0,028	1000
637,5	100	100	100	50	10	0,006	2,5	0,071	1000
627,5	100	100	100	50	20	0,012	2,5	0,071	1000
607,5	100	100	100	50	40	0,024	2,5	0,071	1000
587,5	100	100	100	50	60	0,036	2,5	0,071	1000
567,5	100	100	100	50	80	0,048	2,5	0,071	1000
635	100	100	100	50	10	0,006	5	0,142	1000
625	100	100	100	50	20	0,012	5	0,142	1000
605	100	100	100	50	40	0,024	5	0,142	1000
585	100	100	100	50	60	0,036	5	0,142	1000
565	100	100	100	50	80	0,048	5	0,142	1000

Çizelge 3.66. İnsan eritrositlerinden saflaştırılan 6PGD enzimi üzerinde furosemid ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları

Saf su (μ l)	Tris- HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	MgCl ₂ (0,1 M) (μ l)	NADP ⁺ (2mM) (μ l)	Enzim Hacmi (μ l)	6PGA (6mM) (μ l)	Küvette ki 6PGA Miktarı (mM)	İnhibitör Hacmi (μ l)	Küvette ki [İnhibitör] miktarı (mM)	Toplam Hacim (μ l)
670	100	100	100	20	10	0,006	-	-	1000
660	100	100	100	20	20	0,012	-	-	1000
640	100	100	100	20	40	0,024	-	-	1000
620	100	100	100	20	60	0,036	-	-	1000
600	100	100	100	20	80	0,048	-	-	1000
669	100	100	100	20	10	0,006	1	0,03	1000
659	100	100	100	20	20	0,012	1	0,03	1000
639	100	100	100	20	40	0,024	1	0,03	1000
619	100	100	100	20	60	0,036	1	0,03	1000
599	100	100	100	20	80	0,048	1	0,03	1000
665	100	100	100	20	10	0,006	5	0,151	1000

655	100	100	100	20	20	0,012	5	0,151	1000
635	100	100	100	20	40	0,024	5	0,151	1000
615	100	100	100	20	60	0,036	5	0,151	1000
595	100	100	100	20	80	0,048	5	0,151	1000
660	100	100	100	20	10	0,006	10	0,3	1000
650	100	100	100	20	20	0,012	10	0,3	1000
630	100	100	100	20	40	0,024	10	0,3	1000
610	100	100	100	20	60	0,036	10	0,3	1000
590	100	100	100	20	80	0,048	10	0,3	1000

Çizelge 3.67. İnsan eritrositlerinden saflaştırılan 6PGD enzimi üzerinde dakarbazin ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları

Saf su (µl)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (µl)	MgCl ₂ (0,1 M) (µl)	NADP ⁺ (2mM) (µl)	Enzim Hacmi (µl)	6PGA (6mM) (µl)	Küvetteki 6PGA Miktarı (mM)	İnhibitör Hacmi (µl)	Küvetteki [İnhibitör] miktarı (mM)	Toplam Hacim (µl)
640	100	100	100	50	10	0,006	-	-	1000
630	100	100	100	50	20	0,012	-	-	1000
610	100	100	100	50	40	0,024	-	-	1000
590	100	100	100	50	60	0,036	-	-	1000
570	100	100	100	50	80	0,048	-	-	1000
637	100	100	100	50	10	0,006	3	0,0078	1000
627	100	100	100	50	20	0,012	3	0,0078	1000
607	100	100	100	50	40	0,024	3	0,0078	1000
587	100	100	100	50	60	0,036	3	0,0078	1000
567	100	100	100	50	80	0,048	3	0,0078	1000
635	100	100	100	50	10	0,006	5	0,013	1000
625	100	100	100	50	20	0,012	5	0,013	1000
605	100	100	100	50	40	0,024	5	0,013	1000
585	100	100	100	50	60	0,036	5	0,013	1000

565	100	100	100	50	80	0,048	5	0,013	1000
630	100	100	100	50	10	0,006	10	0,027	1000
620	100	100	100	50	20	0,012	10	0,027	1000
600	100	100	100	50	40	0,024	10	0,027	1000
580	100	100	100	50	60	0,036	10	0,027	1000
560	100	100	100	50	80	0,048	10	0,027	1000

Çizelge 3.68. İnsan eritrositlerinden saflaştırılan 6PGD enzimi üzerinde methotreksat ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları

Saf su (μ l)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	MgCl ₂ (0,1 M) (μ l)	NADP ⁺ (2mM) (μ l)	Enzim Hacmi (μ l)	6PGA (6mM) (μ l)	Küvetteki 6PGA Miktarı (mM)	İnhibitör Hacmi (μ l)	Küvetteki İnhibitör miktarı (mM)	Toplam Hacim (μ l)
640	100	100	100	50	10	0,006	-	-	1000
630	100	100	100	50	20	0,012	-	-	1000
610	100	100	100	50	40	0,024	-	-	1000
590	100	100	100	50	60	0,036	-	-	1000
570	100	100	100	50	80	0,048	-	-	1000
635	100	100	100	50	10	0,006	5	0,110	1000
625	100	100	100	50	20	0,012	5	0,110	1000
605	100	100	100	50	40	0,024	5	0,110	1000
585	100	100	100	50	60	0,036	5	0,110	1000
565	100	100	100	50	80	0,048	5	0,110	1000
630	100	100	100	50	10	0,006	10	0,220	1000
620	100	100	100	50	20	0,012	10	0,220	1000
600	100	100	100	50	40	0,024	10	0,220	1000
580	100	100	100	50	60	0,036	10	0,220	1000
560	100	100	100	50	80	0,048	10	0,220	1000

620	100	100	100	50	10	0,006	20	0,440	1000
610	100	100	100	50	20	0,012	20	0,440	1000
590	100	100	100	50	40	0,024	20	0,440	1000
570	100	100	100	50	60	0,036	20	0,440	1000
550	100	100	100	50	80	0,048	20	0,440	1000

Çizelge 3.69. İnsan eritrositlerinden saflaştırılan 6PGD enzimi üzerinde ketotifen ilacının K_i değerlerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltilerin miktarları ve bunlara karşılık gelen substrat ve inhibitör konsantrasyonları

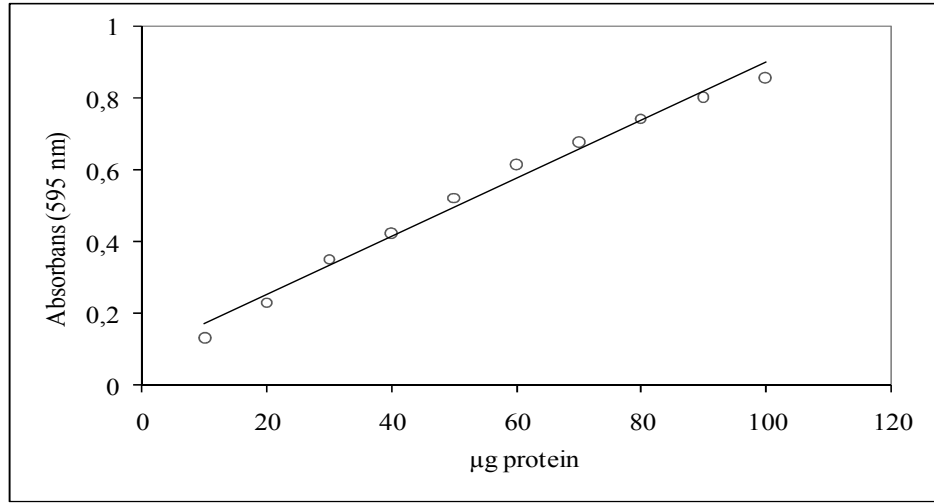
Saf su (μ l)	Tris-HCl (1M) EDTA (5mM) (pH=8) (μ l)	MgCl ₂ (0,1 M) (μ l)	NADP ⁺ (2mM) (μ l)	Enzim Hacmi (μ l)	6PGA (6mM) (μ l)	Küvetteki 6PGA Miktarı (mM)	İnhibitör Hacmi (μ l)	Küvetteki İnhibitör miktarı (mM)	Toplam Hacim (μ l)
640	100	100	100	50	10	0,006	-	-	1000
630	100	100	100	50	20	0,012	-	-	1000
610	100	100	100	50	40	0,024	-	-	1000
590	100	100	100	50	60	0,036	-	-	1000
570	100	100	100	50	80	0,048	-	-	1000
620	100	100	100	50	10	0,006	20	0,002	1000
610	100	100	100	50	20	0,012	20	0,002	1000
590	100	100	100	50	40	0,024	20	0,002	1000
570	100	100	100	50	60	0,036	20	0,002	1000
550	100	100	100	50	80	0,048	20	0,002	1000
540	100	100	100	50	10	0,006	100	0,009	1000
530	100	100	100	50	20	0,012	100	0,009	1000
510	100	100	100	50	40	0,024	100	0,009	1000
490	100	100	100	50	60	0,036	100	0,009	1000
470	100	100	100	50	80	0,048	100	0,009	1000
340	100	100	100	50	10	0,006	200	0,018	1000

330	100	100	100	50	20	0,012	200	0,018	1000
310	100	100	100	50	40	0,024	200	0,018	1000
290	100	100	100	50	60	0,036	200	0,018	1000
270	100	100	100	50	80	0,048	200	0,018	1000

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Kantitatif Protein Tayini İçin Kullanılan Standart Grafik

Elde ettiğimiz enzim çözeltilerindeki kantitatif protein tayini Bradford yöntemiyle belirlendi. Standart grafik bölüm 3.2.2.b'deki konuda anlatıldığı gibi hazırlandı. Ham hemolizat, amonyum sülfat çöktürmesi, afinite kromatografisi ve jel filtrasyon kromatografisi sonucu elde edilen enzim çözeltilerindeki kantitatif protein tayinin bu standart grafikten faydalanılarak bulundu. Standart çözeltilerin μg proteine karşılık gelen absorbans değerleri Şekil 4.1'de gösterildi.



Şekil 4.1. Bradford yöntemiyle proteinlerin kantitatif tayininde kullanılan standart grafik

4.2. Saflaştırma Sonuçları

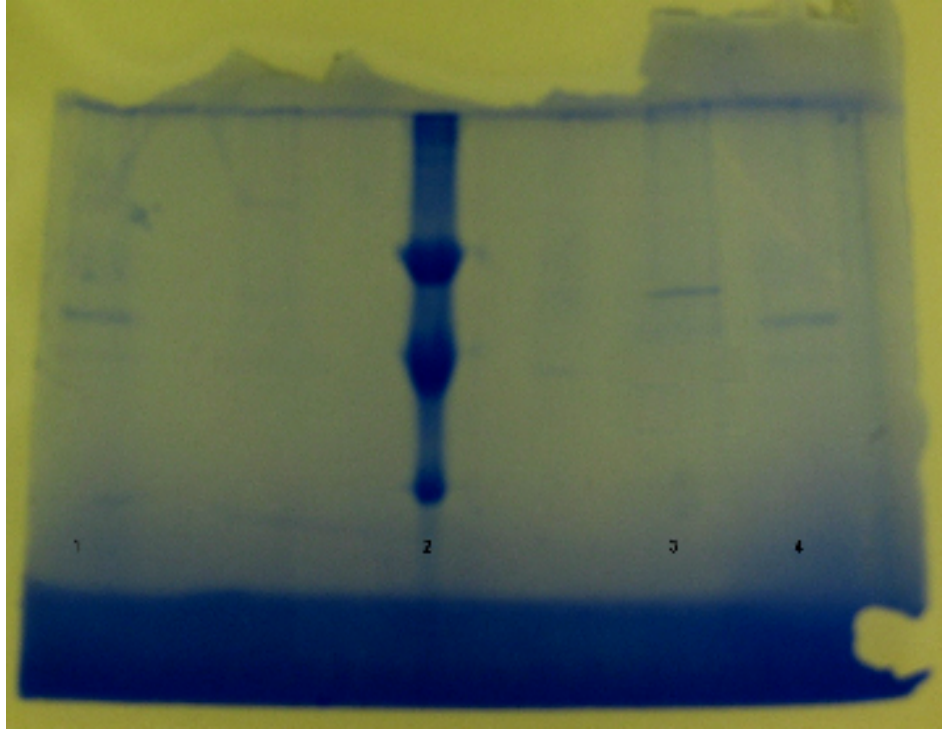
Çalışmalar sırasında elde edilen veriler, bu bölümde çizelge ve şekiller ile gösterildi.

Çizelge 4.1. İnsan eritrosit G6PD enziminin 2',5' ADP Sepharose-4B afinite kolon materyali ile saflaştırılma basamakları.

Numune Türü	Aktivite (EÜ/ml)	Toplam Hacim (ml)	Protein (mg/ml)	Toplam Protein (mg)	Toplam Aktivite	Spesifik Aktivite (EÜ/mg)	% Verim	Saflaştırma katsayısı
Hemolizat	0,196	60	30,66	1839,6	11,76	0,0064	100	1
Amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz	0,256	30	31,12	933,6	7,68	0,0082	65,30	1,28
Afinite Kromatografisi	0,650	8	0,045	0,36	5,20	14,44	44,22	2256

Çizelge 4.2. İnsan eritrosit 6PGD enziminin 2',5' ADP Sepharose-4B afinite kolon materyali ile saflaştırılma basamakları

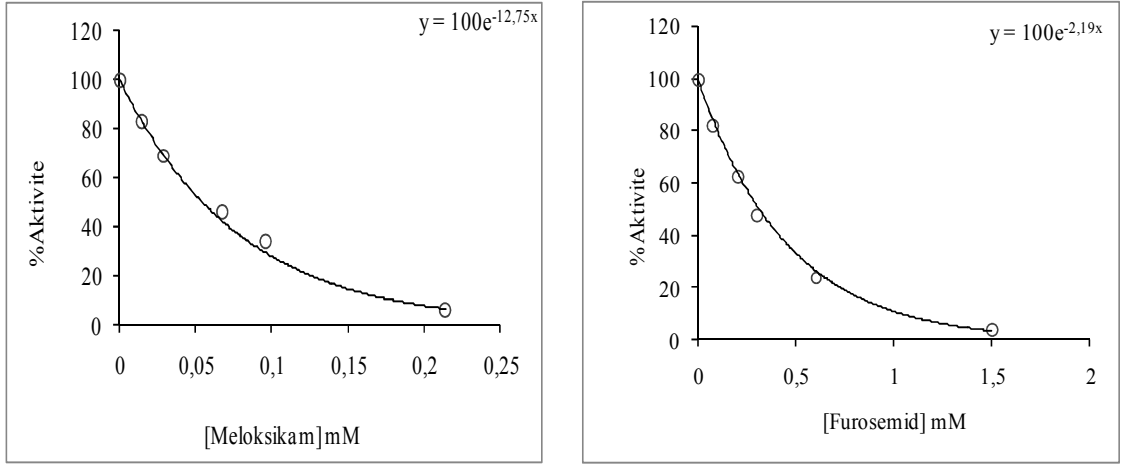
Numune Türü	Aktivite (EÜ/ml)	Toplam Hacim (ml)	Protein (mg/ml)	Toplam Protein (mg)	Toplam Aktivite	Spesifik Aktivite (EÜ/mg)	% Verim	Saflaştırma katsayısı
Hemolizat	0,12	60	30,88	1852,8	7,2	0,0039	100	1
Amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz	0,3055	20	32,12	642,4	6,1	0,009	84,72	2,3
Afinite Kromatografisi	0,525	8	0,04	0,32	4,2	13,12	58,33	3364



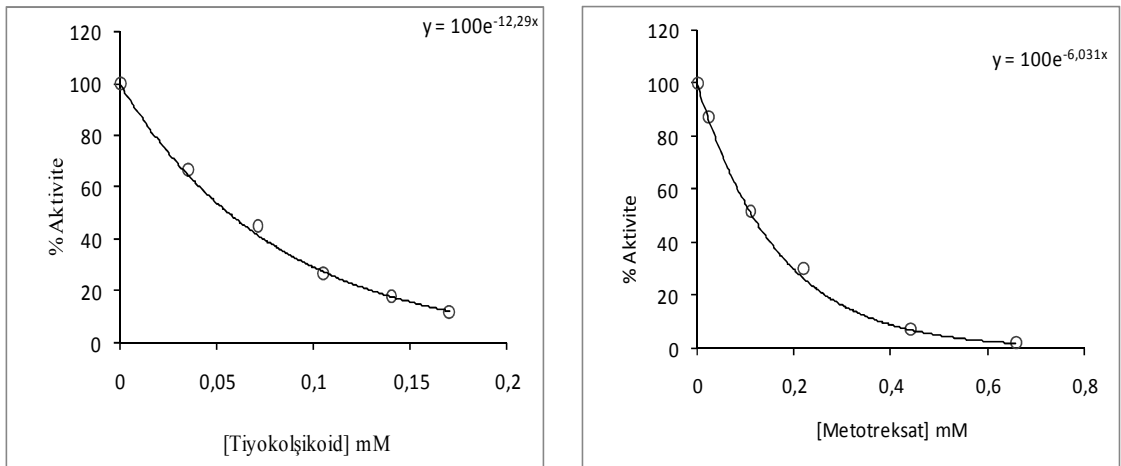
Şekil 4.2. 2',5' ADP Sepharose-4B afinite kolon materyali ile G6PD ve 6PGD enzimlerinin saflaştırmasını gösteren SDS-PAGE fotoğrafı (Kanal 2: Standart proteinler; sığır eritrosit karbonik anhidraz-I (29 kDa), yumurta albumini (45 kDa), sığır serum albumin (66 kDa), Kanal 1: İnsan eritrosit GR, Kanal 3: İnsan eritrosit G6PD, Kanal 4: İnsan eritrosit 6PGD).

4.3. Kinetik Çalışmaların Sonuçları

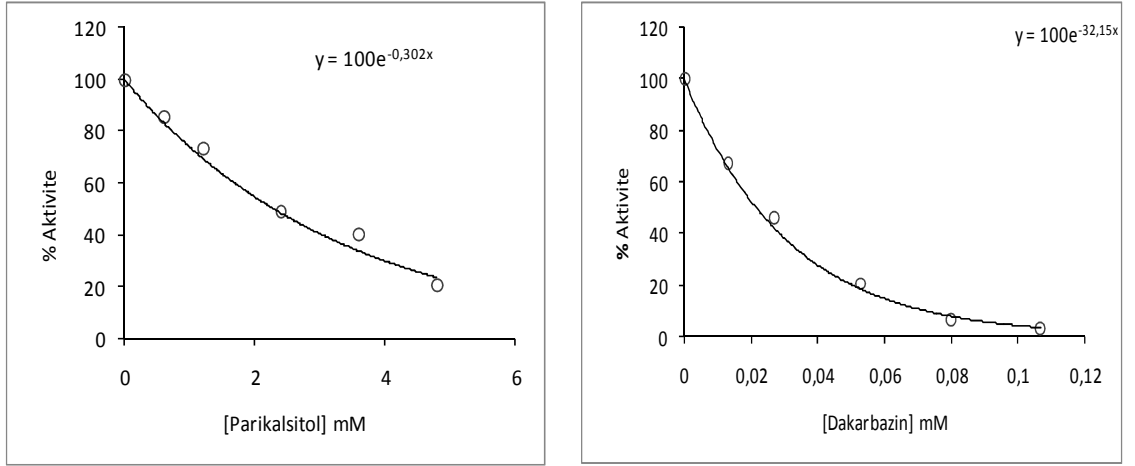
Her bir enzim için ayrı ayrı olmak üzere çalışılan ilaçlar için en az 5 farklı inhibitör konsantrasyonunda aktiviteler bulunarak %Aktivite-[I] grafikleri çizildi (Şekil 4.3-4.12) ve bu grafiklerden I_{50} değerleri hesaplanarak Çizelge 4.3-4.5'de verildi. Ayrıca inhibisyon etkisi gösteren ilaçlar için 5 sabit substrat ve 3 farklı inhibitör konsantrasyonlarında Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek (Şekil 4.13-4.22), bu grafiklerden her bir inhibitör için K_i sabiti bulundu ve Çizelge 4.3-4.5'de verildi.



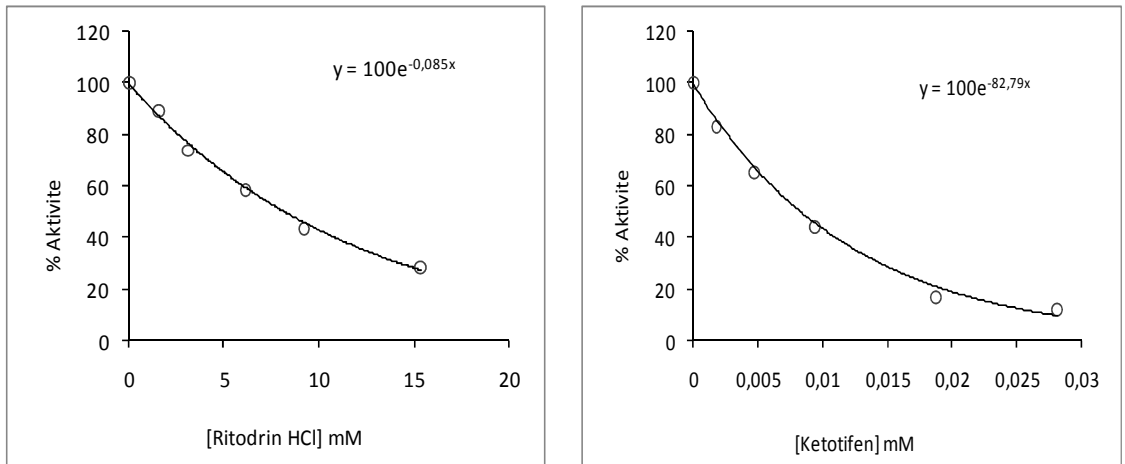
Şekil 4.3. İnsan G6PD enzimi için 5 farklı meloksikam ve 5 farklı furosemid konsantrasyonlarında çizilen %Aktivite-[Meloksikam] ve %Aktivite-[Furosemid] grafikleri



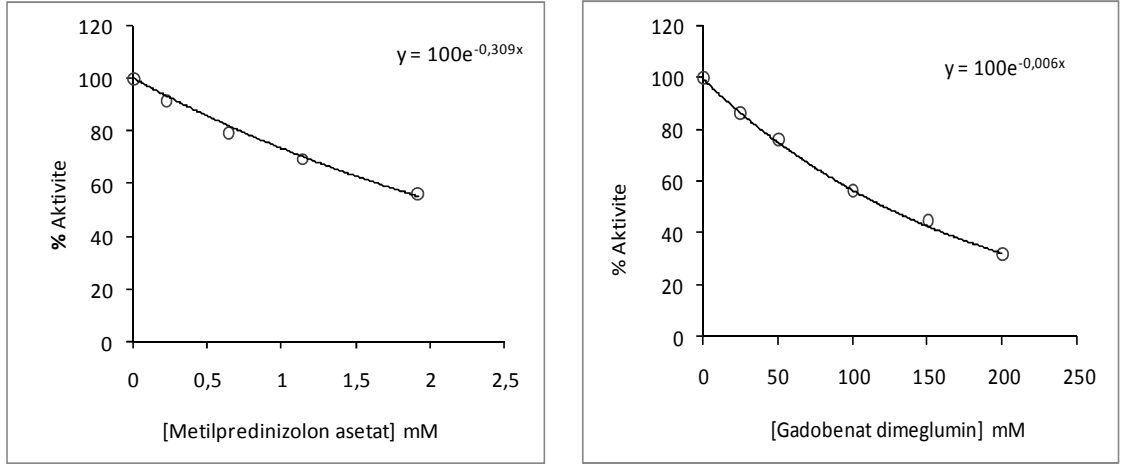
Şekil 4.4. İnsan G6PD enzimi için 5 farklı tiyokolşikoid ve 5 farklı metotreksat konsantrasyonlarında çizilen %Aktivite-[Tiyokolşikoid] ve %Aktivite-[Metotreksat] grafikleri



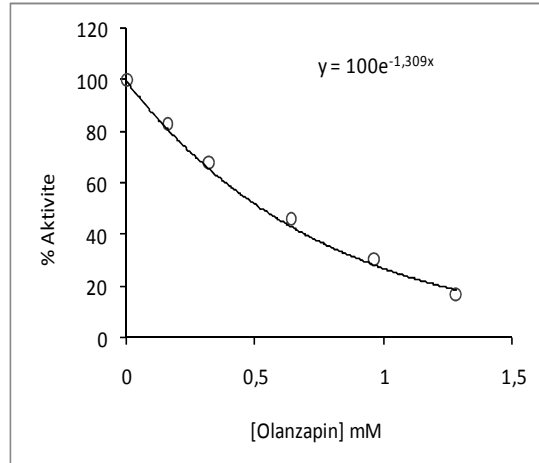
Şekil 4.5. İnsan G6PD enzimi için 5 farklı parikalsitol ve 5 farklı dakarbazin konsantrasyonlarında çizilen %Aktivite-[Parikalsitol] ve %Aktivite-[Dakarbazin] grafikleri



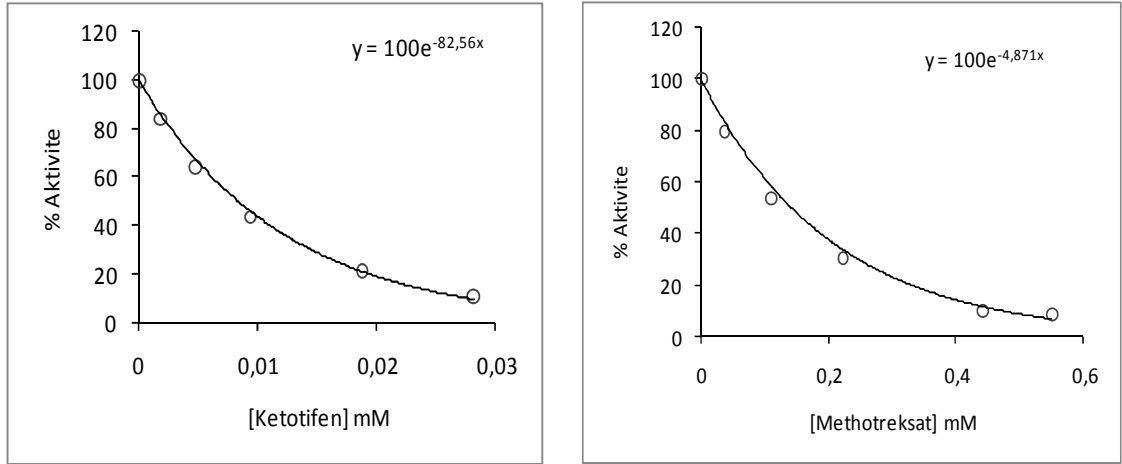
Şekil 4.6. İnsan G6PD enzimi için 5 farklı ritodrin HCl ve 5 farklı ketotifen konsantrasyonlarında çizilen %Aktivite-[Ritodrin HCl] ve %Aktivite-[Ketotifen] grafikleri



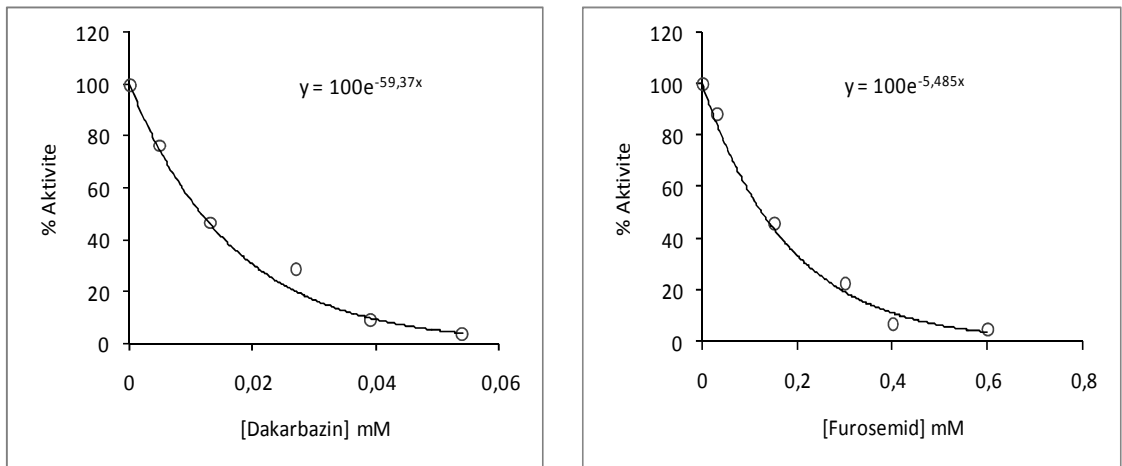
Şekil 4.7. İnsan G6PD enzimi için 5 farklı metilprednizolon asetat ve 5 farklı gadobenat dimeglumin konsantrasyonlarında çizilen %Aktivite-[Metilprednizolon asetat] ve %Aktivite-[Gadobenat dimeglumin] grafikleri



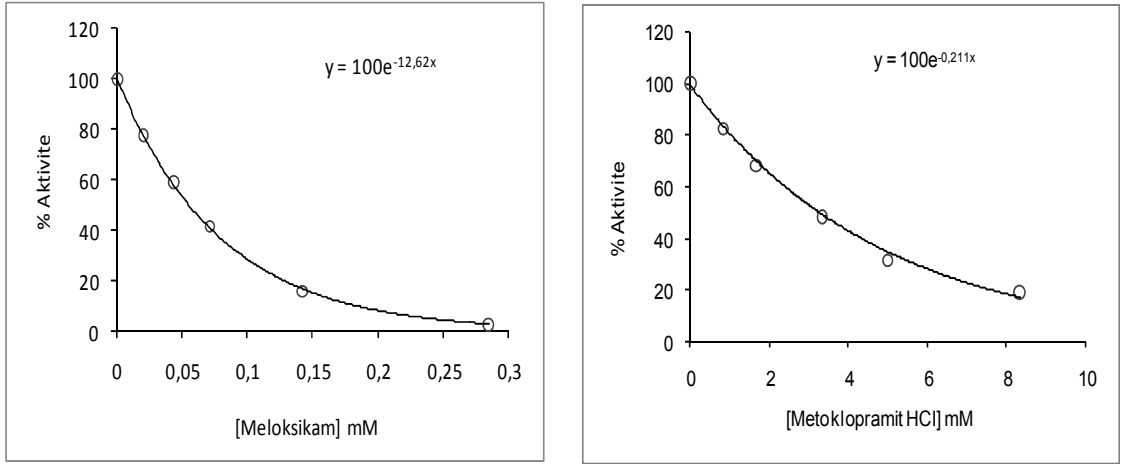
Şekil 4.8. İnsan G6PD enzimi için 5 farklı olanzapin konsantrasyonunda çizilen %Aktivite-[olanzapin] grafiği



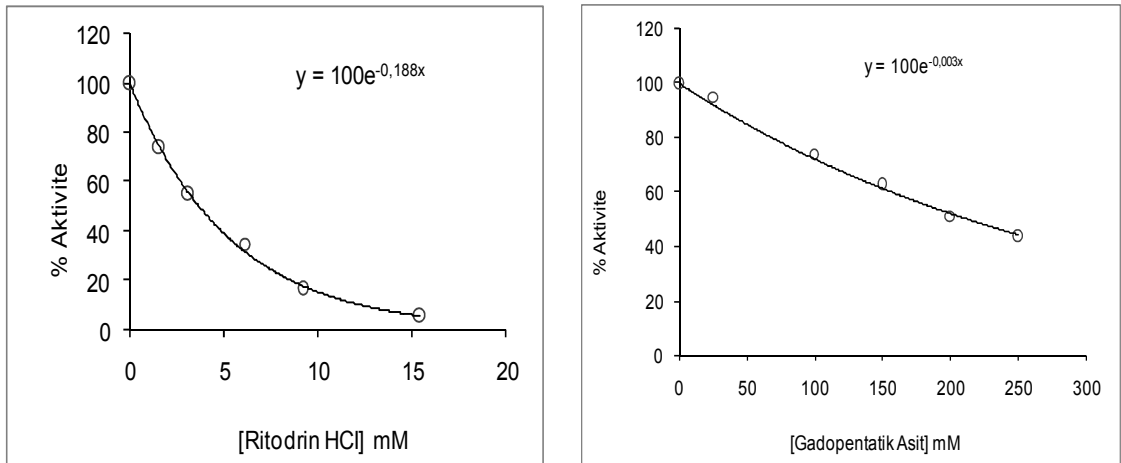
Şekil 4.9. İnsan 6PGD enzimi için 5 farklı ketotifen ve 5 farklı methotrexat konsantrasyonlarında çizilen %Aktivite-[Ketotifen] ve %Aktivite-[Methotrexat] grafikleri



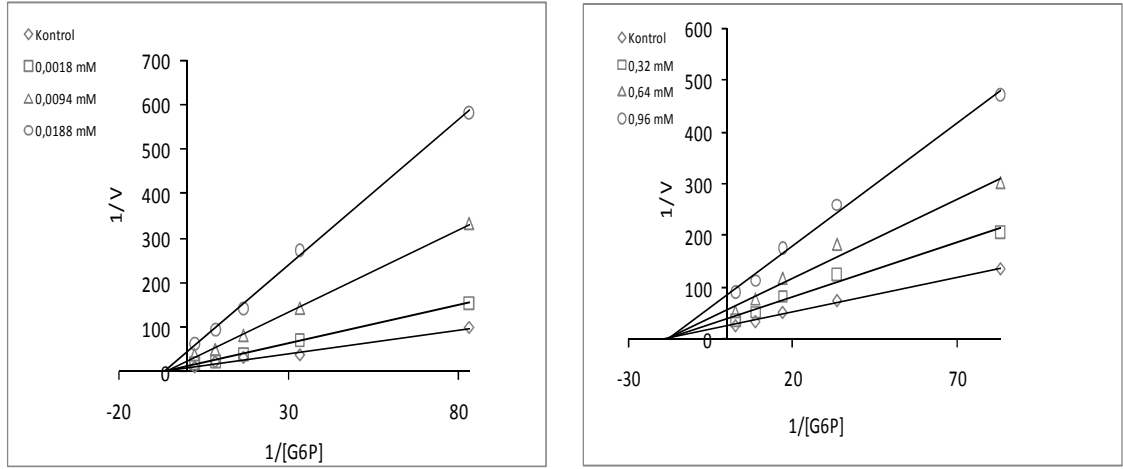
Şekil 4.10. İnsan 6PGD enzimi için 5 farklı dakarbazin ve 5 farklı furosemid konsantrasyonlarında çizilen %Aktivite-[Dakarbazin] ve %Aktivite-[Furosemid] grafikleri



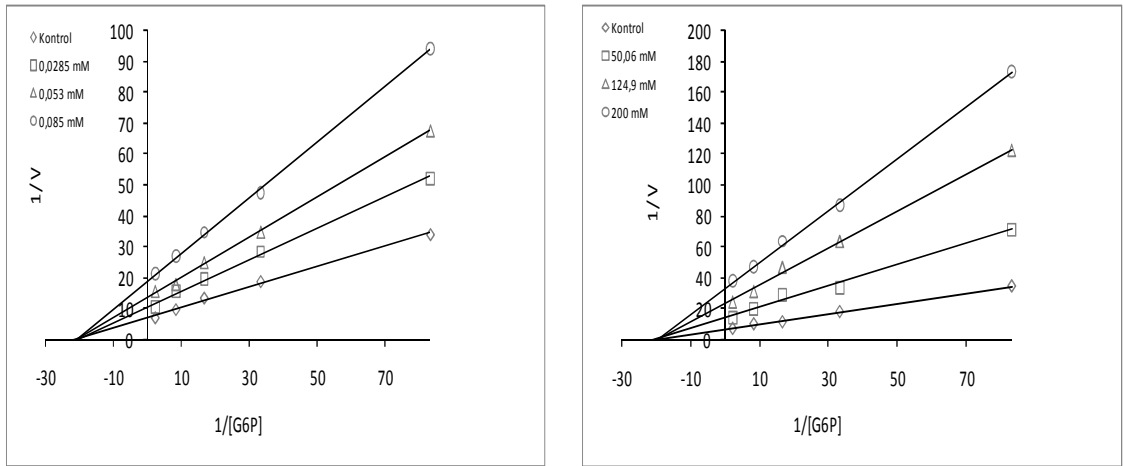
Şekil 4.11. İnsan 6PGD enzimi için 5 farklı meloksikam ve 5 farklı metoklopramit HCl konsantrasyonlarında çizilen %Aktivite-[Meloksikam] ve %Aktivite-[Metoklopramit HCl] grafikleri



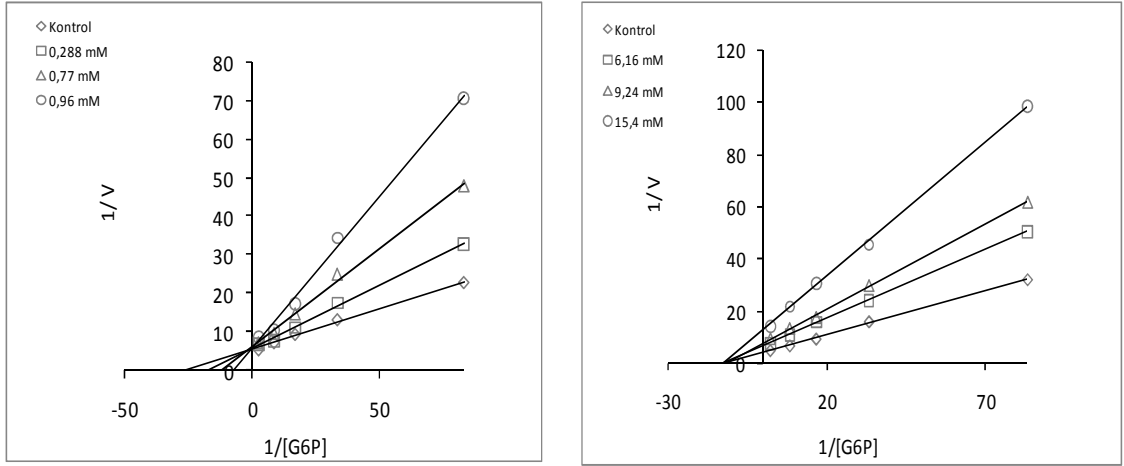
Şekil 4.12. İnsan 6PGD enzimi için 5 farklı ritodrin HCl ve 5 farklı gadopentatik Asit sodyumbisülfid konsantrasyonlarında çizilen %Aktivite-[Ritodrin HCl] ve %Aktivite-[Gadopentatik Asit] grafikleri



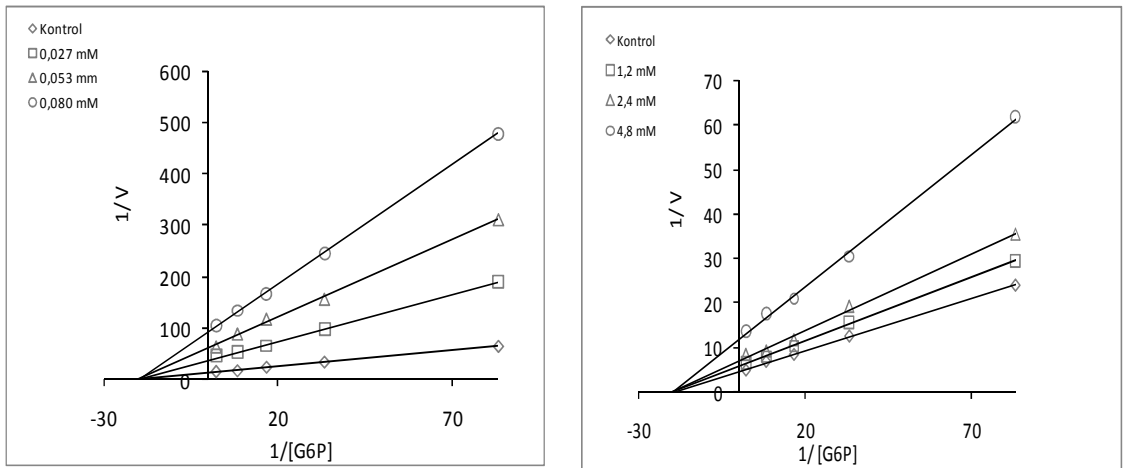
Şekil 4.13. İnsan G6PD enzimi için 3 sabit olanzapin ve ketotifen için 5 farklı substrat konsantrasyonlarında çizilen Lineweaver-Burk grafikleri



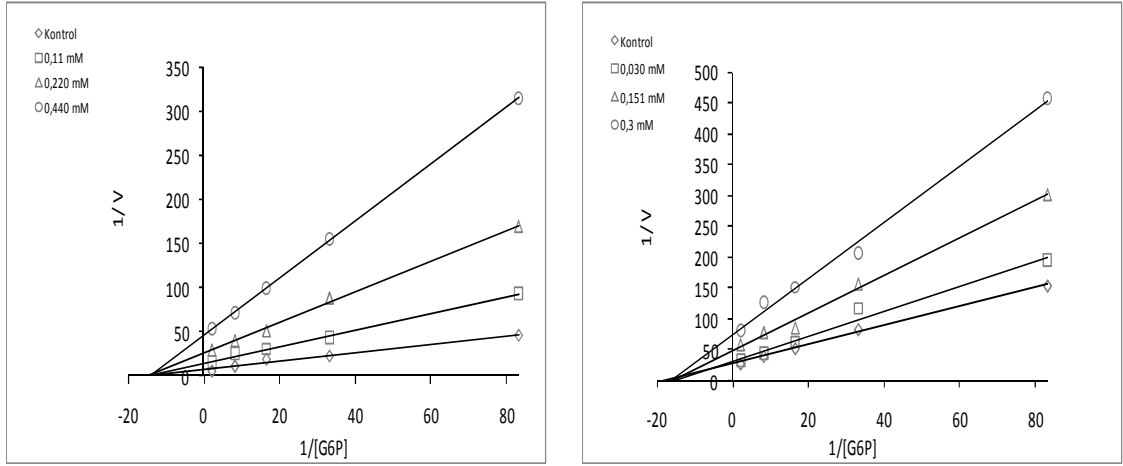
Şekil 4.14. İnsan G6PD enzimi için 3 sabit meloksikam ve gadobenat dimeglumin için 5 farklı substrat konsantrasyonlarında çizilen Lineweaver-Burk grafikleri



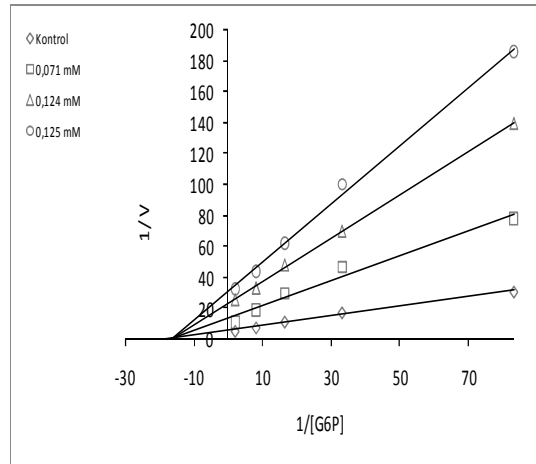
Şekil 4.15. İnsan G6PD enzimi için 3 sabit ritodrin HCl ve metilprednizolan asetat için 5 farklı substrat konsantrasyonlarında çizilen Lineweaver-Burk grafikleri



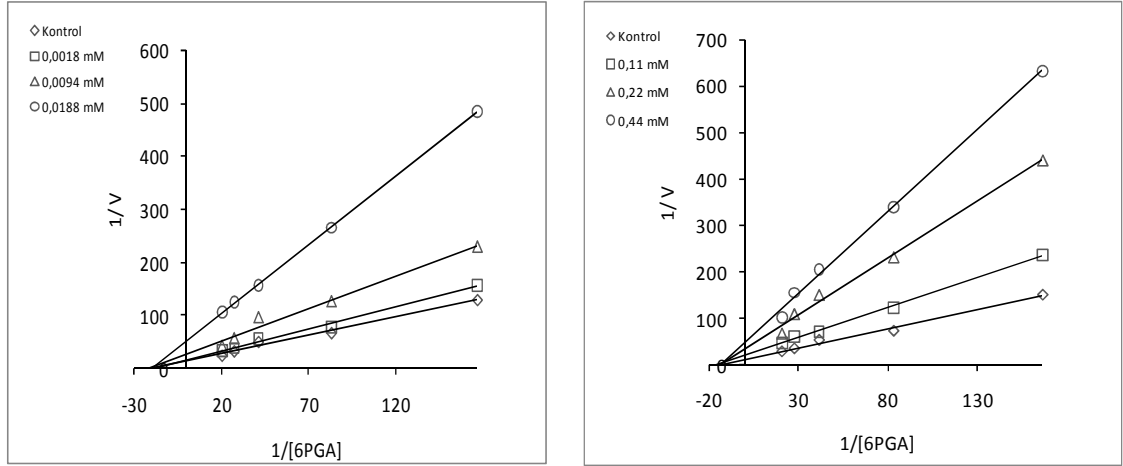
Şekil 4.16. İnsan G6PD enzimi için 3 sabit dakarbazin ve parikalsitol için 5 farklı substrat konsantrasyonlarında çizilen Lineweaver-Burk grafikleri



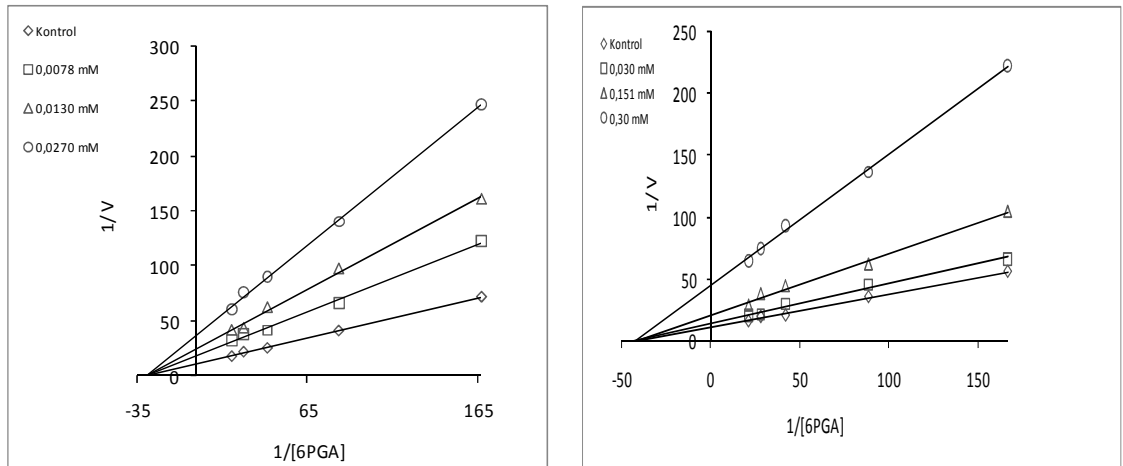
Şekil 4.17. İnsan G6PD enzimi için 3 sabit metotrexat ve furosemid için 5 farklı substrat konsantrasyonlarında çizilen Lineweaver-Burk grafikleri



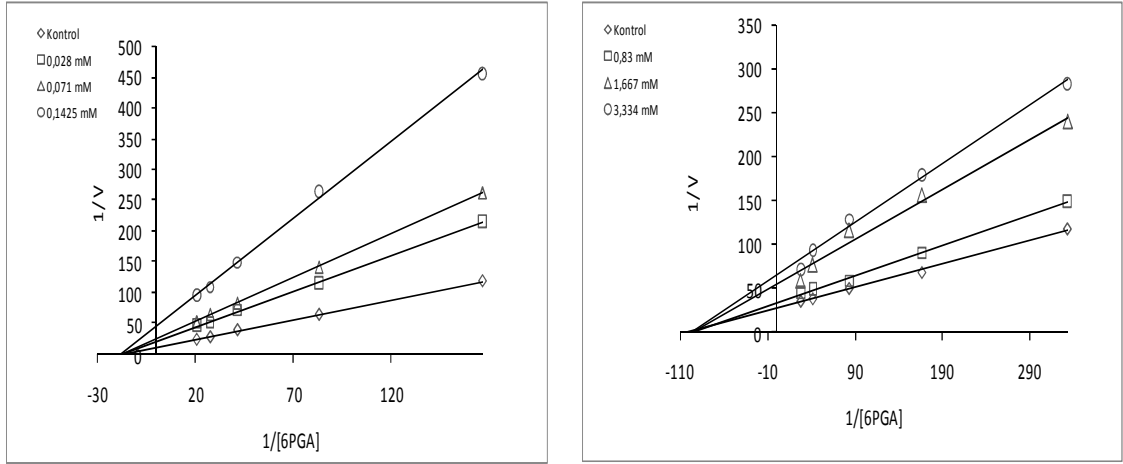
Şekil 4.18. İnsan G6PD enzimi için 3 sabit tiyokolşikosid için 5 farklı substrat konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği



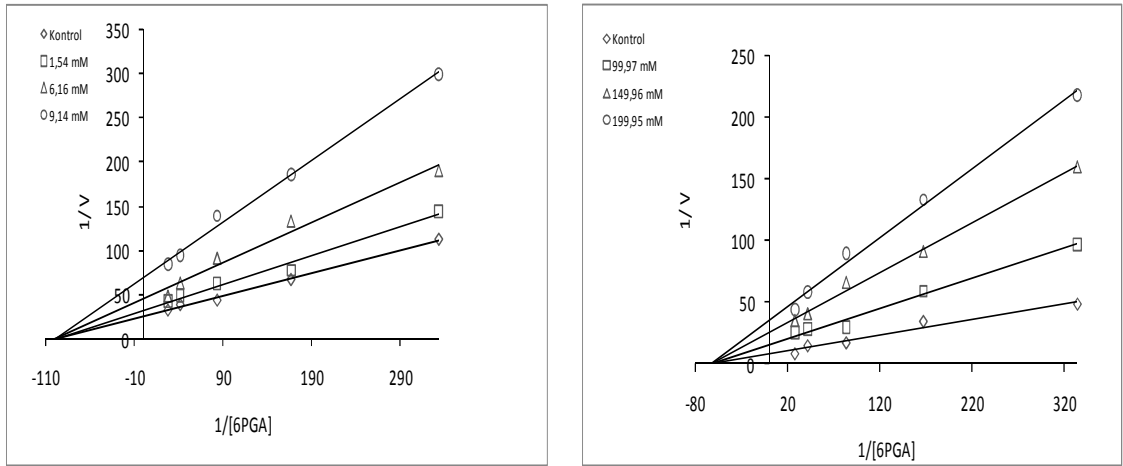
Şekil 4.19. İnsan 6PGD enzimi için 3 sabit ketotifen ve metotrexat için 5 farklı substrat konsantrasyonlarında çizilen Lineweaver-Burk grafikleri



Şekil 4.20 İnsan 6PGD enzimi için 3 sabit dakarbazine ve furosemid için 5 farklı substrat konsantrasyonlarında çizilen Lineweaver-Burk grafikleri



Şekil 4.21. İnsan 6PGD enzimi için 3 sabit meloksikam ve metoklopramid HCl için 5 farklı substrat konsantrasyonlarında çizilen Lineweaver-Burk grafikleri



Şekil 4.22. İnsan 6PGD enzimi için 3 sabit ritodrin HCl ve gadopentetik asit için 5 farklı substrat konsantrasyonlarında çizilen Lineweaver-Burk grafikleri

Çizelge 4.3. İnsan G6PD enzimi için %Aktivite-[I] ve Lineweaver-Burk grafiklerinden elde edilen I_{50} değerleri, K_i sabitleri ve inhibisyon tipleri tablosu

İnhibitör	I_{50} Değeri (mM)	[I] mM	K_i (mM)	K_i Sabiti (mM)	İnhibisyon Tipi
Ketotifen	0,008	0,0018	$K_{i1}=0,0039$	0,0052±0,0012	Yarışmasız
		0,0094	$K_{i2}=0,0053$		
		0,0188	$K_{i3}=0,0063$		
Dakarbazin	0,021	0,0276	$K_{i1}=0,0162$	0,0154±0,0011	Yarışmasız
		0,0532	$K_{i2}=0,0158$		
		0,0803	$K_{i3}=0,0141$		
Tiyokolşikosid	0,056	0,0711	$K_{i1}=0,0471$	0,0397±0,0063	Yarışmasız
		0,1242	$K_{i2}=0,0363$		
		0,1791	$K_{i3}=0,0359$		
Meloksikam	0,067	0,0285	$K_{i1}=0,0593$	0,0579±0,0061	Yarışmasız
		0,0571	$K_{i2}=0,0633$		
		0,0852	$K_{i3}=0,0512$		
Metotreksat	0,114	0,1101	$K_{i1}=0,1100$	0,0910±0,0166	Yarışmasız
		0,2203	$K_{i2}=0,0843$		
		0,4404	$K_{i3}=0,0791$		
Furosemid	0,315	0,0305	$K_{i1}=0,1921$	0,1874±0,0136	Yarışmasız
		0,1516	$K_{i2}=0,1981$		
		0,3021	$K_{i3}=0,1721$		
Olanzapin	0,53	0,3201	$K_{i1}=0,5532$	0,4972±0,0710	Yarışmasız
		0,6402	$K_{i2}=0,5212$		
		0,9606	$K_{i3}=0,4173$		
Metilprednizolan Asetat	2,23	0,2886	$K_{i1}=0,5750$	0,5405±0,1528	Yarışmalı
		0,7789	$K_{i2}=0,6732$		
		0,9612	$K_{i3}=0,3734$		
Parikalsitol	2,28	1,2123	$K_{i1}=5,0000$	4,2867±1,0670	Yarışmasız
		2,4890	$K_{i2}=4,8000$		
		4,8020	$K_{i3}=3,0601$		
Ritodrin HCl	8,11	6,1612	$K_{i1}=8,4386$	8,2081±1,3522	Yarışmasız
		9,2432	$K_{i2}=9,4303$		
		15,445	$K_{i3}=6,7555$		
Gadobenat Dimeglumin	115	50,063	$K_{i1}=45,926$	48,4380±2,176	Yarışmasız
		124,93	$K_{i2}=49,761$		
		200,00	$K_{i3}=49,627$		

Çizelge 4.4. İnsan G6PD enzimi üzerinde herhangi bir inhibisyon ve aktivasyon etkisi göstermeyen ilaçların tablosu.

Atropin sülfat	Pantoprazol sodyum	Siklosporin
Karboplatin	Pentoksifilin	Vinkristin sülfat
Karnitine	Flumazenil	Paklitaksel
Sisplatin	Fluorourasil	Eskitalopram okzalrat
Dekspantenol	Metoprolol tartarat	

Çizelge 4.5. İnsan 6PGD enzimi için %Aktivite-[I] ve Lineweaver-Burk grafiklerinden elde edilen I_{50} değerleri, K_i sabitleri ve inhibisyon tipleri tablosu

İnhibitör	I_{50} (mM)	[I] mM	K_i (mM)	K_i Sabiti (mM)	İnhibisyon tipi
Ketotifen	0,0084	0,0018	$k_{i1}=0,0096$	0,0091±0,00186	Yarışmasız
		0,0094	$k_{i2}=0,0106$		
		0,0188	$k_{i3}=0,0070$		
Dakarbazine	0,012	0,0078	$k_{i1}=0,0118$	0,0112±0,00067	Yarışmasız
		0,0134	$k_{i2}=0,0105$		
		0,0276	$k_{i3}=0,0114$		
Meloksikam	0,055	0,0280	$k_{i1}=0,0381$	0,0509±0,0132	Yarışmasız
		0,0712	$k_{i2}=0,0645$		
		0,1425	$k_{i3}=0,0503$		
Furosemid	0,125	0,0300	$k_{i1}=0,1151$	0,127±0,0378	Yarışmasız
		0,1510	$k_{i2}=0,1692$		
		0,3156	$k_{i3}=0,0961$		
Metotreksat	0,142	0,1101	$k_{i1}=0,1641$	0,1403±0,02512	Yarışmasız
		0,2202	$k_{i2}=0,1142$		
		0,4407	$k_{i3}=0,14310$		
Metoklopramid HCl	3,27	0,8301	$k_{i1}=2,8615$	2,1113±0,69790	Yarışmasız
		1,6672	$k_{i2}=1,4813$		
		3,3343	$k_{i3}=1,9912$		
Ritodrin HCl	3,66	1,5481	$k_{i1}=5,3145$	6,0353±1,27831	Yarışmasız
		6,1612	$k_{i2}=7,5112$		
		9,2423	$k_{i3}=5,2801$		
Gadopentetik Asit	209,1	99,971	$k_{i1}=98,213$	73,4±21,9	Yarışmasız
		149,96	$k_{i2}=66,187$		
		199,95	$k_{i3}=56,201$		

Çizelge 4.6. İnsan 6PGD enzimi üzerinde herhangi bir inhibisyon ve aktivasyon etkisi göstermeyen ilaçların tablosu

Fenoksikam	Eskitalopram okzalat
Atropin sülfat	Traneksamik asit
Karboplatin	Hiyosin N-bütil bromür
Karnitin	Teofilin etilendiamin
Siklosporin	Flumazenil
Dekspantenol	Lidokain HCl
Digoksin	Metoprolol tartarat
Olanzapin	

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

G6PD enzimi nükleik asit sentezi, beş karbonlu şeker, çeşitli biyosentez ve detoksifikasyon tepkimeleri için gerekli NADPH'ı sağlayan pentoz fosfat yolunun ilk ve kilit enzimidir. G6PD eksikliği halinde birçok klinik tablo oluşmaktadır. Bu enzim eksikliğinden dolayı bugün dünyada 400 milyon insan olumsuz yönde etkilenmektedir (Segel 1968; Stryer 1985; Telefoncu 1986; Lehninger 2000; Keha ve Küfrevioğlu 2004).

G6PD aktivitesinin azalması, hücrenin NADPH oluşturma yeteneğini bozar. NADPH ise redükte glutatyon havuzunun sürdürülmesi için mutlaka gereklidir. Bunun sonucunda, hücre içinde oluşan serbest radikallerin ve peroksitlerin hücresel detoksifikasyonlarında azalma olur. Glutatyon, hemoglobin dahil, proteinlerin sülfhidril gruplarının redükte durumda kalmalarını da sağlar. Bu sülfhidril gruplarının oksidasyonları sonucunda denatüre proteinler oluşur. Bunlar da çözünmez kütleler (Heinz cisimcikleri denir) oluşturarak eritrositlerin membranlarına tutunurlar. Membran proteinlerinin daha ileri oksidasyonu ile eritrositler rijit ve deforme edilemez (şekillerini değiştiremez) hale gelirler. Böylece eritrositler dolaşımında, karaciğer ve dalak makrofajları tarafından uzaklaştırılırlar. G6PD eksikliği, olan şahıslarda eritrositler diğer hücrelere göre daha çok etkilenir, çünkü burada NADPH üreten tek yol pentoz fosfat yoludur. Diğer dokular, glutatyonu indirgenmiş halde tutabilmek için alternatif NADPH üretim kaynaklarına (NADP⁺ bağımlı malat dehidrogenaz gibi) sahiptir. Eritrosit nükleus ve ribozomu bulunmadığından enzimi tekrar elde edemez. Bu nedenle, eritrositler düşük stabiliteli enzim varyantlarına karşı özellikle savunmasızdırlar (Lippincott W and Lippincott W 2007).

G6PD mutasyonlarından birine sahip kişilerin bir çoğu klinik bulgular göstermez. Ancak G6PD eksikliği olan bazı hastalar oksidan ilaçlarla tedavi edildiklerinde, bakla yediklerinde veya ağır bir enfeksiyona yakalandıklarında hemolitik anemi görülebilir (Lippincott W and Lippincott W 2007).

G6PD eksikliğinin bazı formları, örneğin Akdeniz varyantı, Akdeniz bölgesinin bir besin maddesi olan baklanın hemolitik etkilerine çok duyarlıdır. Favizm olarak adlandırılan bakla yenmesi sonucu görölen hemolitik etki G6PD eksikliği olan kişilerin tümünde görülmez fakat favizmi olan hastaların tümünde G6PD eksikliği vardır. Enfeksiyon G6PD eksikliğinde hemolizin açığa çıkmasına neden olan en önemli faktördür. Enfeksiyona karşı meydana gelen inflamatuvar cevap makrofajlarda serbest radikallerin oluşumuyla sonuçlanır ve bunlar eritrositlerin içine difüze olarak oksidatif harabiyete neden olurlar. G6PD eksikliği ile doğan bebeklerde doğumdan bir ila dört gün sonra yeni doğan sarılığı görülebilir (Lippincott W and Lippincott W 2007).

Sıklıkla kullanılan ve G6PD eksikliği olan hastalarda hemolitik anemiye sebep olan ilaçlar vardır: antibiyotikler (örneğin, sulfametaksazol ve kloramfenikol), antimalaryal ilaçlar (örneğin, primakain) ve antipiretikler (örneğin, asetanilid) (Lippincott W and Lippincott W 2007).

G6PD geninin klonlanması ve komplementer DNA sekansının belirlenmesi G6PD eksikliğine neden olan mutasyonlarının tanımlanmasını sağlamıştır. Bu gene ait 300'den fazla mutasyon veya mutasyon kombinasyonları bulunmuştur. Bu da bugüne kadar tanımlanan çok çeşitli biokimyasal varyantları açıklar. Bu DNA değişikliklerinin çoğu "misense" ve nokta mutasyonlarıdır. Hem G6PD A⁻ hem de G6PD Akdeniz, mutant enzimleri temsil ederler. Bunların her ikisinde de normal varyantlarından bir amino asit farklıdır. Büyük delesyonlar veya gen yapısını kaydıran mutasyonlara rastlanmamıştır. Böyle mutasyonlarda G6PD aktivitesi hiç bulunmayacağı için, ölümcül olacağı ileri sürölmektedir (Lippincott W and Lippincott W 2007).

Canlı organizmalarda direkt veya indirekt antioksidan etki gösteren birçok enzimler bulunmaktadır. 6PGD bu enzimlerden biridir. (Reiter *et al.* 1997; Jakobasch *et al.* 1996). Bu enzim, eritrositlerde yüksek miktarda bulunmaktadır (Dalocchio *et al.* 1985). Enzim eksikliğinde glutasyon eksikliği meydana gelir. Dolayısıyla hücrede oluşan peroksitlerin ve Fe⁺³'ün indirgenemesinden dolayı, oluşan radikaller hücre zarındaki yağlara zarar verip hücrenin parçalanmasına neden olabilir (Soysal ve Bakan 1984).

Alzheimer hastalığında korteks tabakasında G6PD ve 6PGD'nin belirgin artışları belirlenmiştir. Pentoz fosfat yolu oksidatif basamaklarını katalizleyen bu enzimlerin yüksek aktivitesi oksidan aktivitesine cevap olarak oluşmaktadır (Palmer 1999). G6PD eksikliğinde olduğu gibi 6PGD eksikliğinde de hemolitik anemi oluşur (Caprari *et al.* 2001). Bu öneminden dolayı 6PGD enzimini birçok kaynaktan saflaştırılmış, yapısı, inhibitörleri, amino asit dizilimi, reaksiyon mekanizması ve X-ray çalışmaları yapılmıştır. Ayrıca enzimin gen yapısı aydınlatılmış ve enzimi şifreleyen gen tespit edilmiştir (Adem 2006).

G6PD, glikolitik yola ve pentoz fosfat yoluna giren glukoz 6-fosfat dengesinin korunmasında önemli bir noktada bulunmaktadır (Del Mar *et al.* 1986). Enzim eksikliği 6-PG'nin birikmesine, bu da fosfoglukoz izomerazın ve glukoz metabolizmasının tamamen inhibisyonuna neden olmaktadır (Hanau *et al.* 1996). Bu durumda hücrede toksik etki oluşmaktadır. Enzim eksikliğinde retikulosit sayısında değişme, eritrosit piruvat kinaz aktivitesinde artma belirlenmiştir. Hücrede 6-PG'nin birikimi glikoliz metabolizmasını da olumsuz etkilediği hesaba katıldığında enzimin önemi ortaya çıkmaktadır. Bu önemli konumundan dolayı kemoterapilerde hedef enzim olarak seçilebileceği çeşitli çalışmalarda öne sürülmüştür (Barrett 1997).

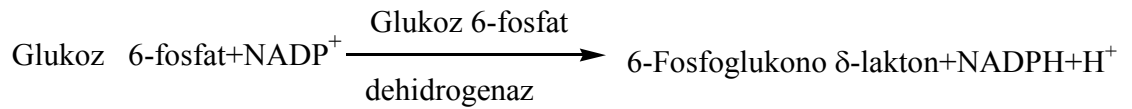
G6PD varyantlarında olduğu gibi, eritrosit 6PGD varyantlarının da sıtmaya karşı direnç sağladığı belirtilmiştir (Bayoumi *et al.* 1986).

Bu çalışmada insan eritrosit G6PD ve 6PGD enzimleri afinite kromatografisi ile saflaştırılarak tedavide kullanılan bazı ilaçların bu enzimler üzerindeki etkileri belirlenmeye çalışılmıştır.

Afinite kromatografisi ile G6PD enzimi saflaştırılırken üç basamak kullanılmıştır; bunlar, hemolizatin hazırlanması, amonyum sülfat çöktürmesi ve afinite kromatografisidir. Elde edilen hemolizatta %35-65 arası amonyum sülfat çöktürmesi yapıldı. Yapılan amonyum sülfat çöktürmesinde çok değerlikli

elektrolitler olan proteinler iyonlar gibi hareket ederler. Protein moleküllerini çevreleyen ve çözünür halde tutan su moleküllerinin yüksek tuz konsantrasyonlarında, tuzdaki iyonlar tarafından çekilmesi ile proteinler çöker. Bu çökmede iyonik şiddet ve molekül kütleleri önemli ayırma unsurlarıdır. Bu nedenle değişik tuz konsantrasyonlarında farklı proteinler çökerler (Lehninger 2000; Keha ve Küfrevioğlu 2004). $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ çöktürmesinde proteinlerin bu özelliklerinden yararlanır. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ yüksek iyonik şiddet oluşturması ve çözünürlüğünün yüksek olmasından dolayı tercih edildi. Afinite kromatografisinden önce, amonyum sülfat çöktürmesi ile kısmi saflaştırma yapılması, afinite kolonuna tatbik edilecek çözeltideki G6PD konsantrasyonunun yüksek olması bakımından önemlidir. Bu çalışmada kullanılan 2',5'-ADP Sepharose-4B afinite jelinin G6PD ve 6PGD gibi NADPH ve NADP^{+} ya spesifik enzimlerin tümüne ilgisi vardır. Bu nedenle bu enzimlerin tümünü bağlayabilir. Burada afiniteyi sağlayan G6PD ve 6PGD enzimlerinin kuvvetli inhibitörü olan orto fosfattır (Çiftçi 1998; Adem 2006). Ayrıca afinite kromatografisinin seçilmesinin bir diğer sebebi ise diğer tekniklere göre daha kısa sürede, daha yüksek verim ve katsayıda enzimleri saf olarak elde etmemizdir (Keha ve Küfrevioğlu 2004). Çalışma sonucunda insan eritrosit G6PD enzimi %44,22 verimle 2256 kat saflaştırıldı (Çizelge 4.1) ve saflık kontrolü SDS-PAGE ile kontrol edildi (Şekil 4.2.).

G6PD enziminin aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan spektrofotometrik yöntem aşağıdaki reaksiyona dayanmaktadır.

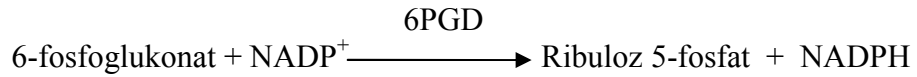


Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADP^{+}), G6PD tarafından G-6P varlığında indirgenir. NADPH'ın oluşum oranı G6PD aktivitesine bağlı olup 340 nm'de absorbans artışı ile ölçülebilir (Beutler, 1971).

Saflaştırma işlemleri yapılırken sıcaklığın kontrol altında tutulması gerekiyordu. Bundan dolayı saflaştırma işlemleri +4°C'de gerçekleştirildi. Böylece mümkün olduğu kadar aktivite kaybı önlendi.

İnsan eritrositlerinden 6PGD enzimini saflaştırmak için önce hemolizat hazırlandı, literatür bilgilerine dayanılarak %35-65 aralığında amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz yapıldıktan sonra numune 2',5'-ADP Sepharose-4B afinite kolonuna tatbik edilerek saf enzim elde edildi. Çalışma sonucunda insan eritrosit 6PGD enzimi %58,33 verimle 3364 kat saflaştırıldı (Çizelge 4.2) ve saflık kontrolü SDS-PAGE ile kontrol edildi (Şekil 4.2.).

6-fosfoglukonat dehidrogenaz, 6-fosfoglukonat varlığında; NADP⁺'yi NADPH'a, 6-fosfoglukonat'ı ribuloz 5-fosfat'a indirgemektedir.



Reaksiyonundan da görüldüğü gibi NADPH'ın oluşumu 6-fosfoglukonat dehidrogenaz enziminin aktivitesine bağlıdır (Beutler 1971). NADP⁺, 6-PG varlığında 6PGD tarafından indirgenir. NADPH'ın oluşum oranı 6PGD aktivitesine bağlı olup 340 nm'de absorbans artışı ile ölçülebilir.

Saflaştırılan enzim çözeltileri mg mertebesinde elde edildiğinden, bu çözeltilerdeki protein miktarları Coomassie-Blue yöntemiyle belirlendi. Bu yöntemin hassasiyeti daha iyi olup, daha az zaman alıcı ve daha az reaktif gerektirici bir yöntemdir. Aynı zamanda da her defasında standart çalışmayı gerektirmeyen bir yöntemdir.

İlaç ve diğer kimyasal maddelerin enzimler üzerinde olan inhibisyon etkileri I₅₀ değeri ve K_i sabitleri bulunarak belirlenir. K_i sabitlerinin bulunmasında Lineweaver-Burk grafikleri kullanıldı. Bu yöntem hemen hemen bütün enzim

kinetiği çalışanlar tarafından kullanılmaktadır. Sonuçların hassas bulunabilmesi için, her inhibitörlü çalışmada 3 sabit inhibitör, 5 farklı substrat konsantrasyonunda $V-[S]$ değerleri bulunmuştur. Grafik çiziminde en küçük kareler regresyon doğru denklemi kullanılmıştır.

Enzimlerin saflaştırılmaları esnasında I_{50} değerleri ve K_i sabitlerinin bulunmasına yönelik çalışmalarda yukarıda anlatılan aktivite tayin metotları kullanıldı. Çalışmalarda kullanılan ilaçlar tespit edilirken çok kullanılıp kullanılmadığına bakıldı ve mümkün olduğu kadar tedavide kullanılan ilaçlar tercih edildi. Kullanılan bu ilaçların insan eritrositlerinden saflaştırılan söz konusu enzimler (G6PD ve 6PGD) üzerine etkilerine dair literatürlerde herhangi bir *in vitro* çalışmaya rastlanmadı.

İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerine ketotifen, dakarbazin, tiyokolşikosid, meloksikam, metotreksat, furosemid, olanzapin, metilprednizolan asetat, parikalsitol, ritodrin HCl, gadobenat dimeglumin, atropin sülfat, karboplatin, karnitin, sisplatin, dekspentenol, pantoprazol sodyum, pentoksifilin, flumazenil, metaprolol tartarat, siklosporin vinkristina sülfat, paklitaksel ve esitalopram okzalat olmak üzere toplam 25 ilaç ile çalışıldı. Bu ilaçlardan G6PD enzimi üzerine inhibisyon etkisi gösteren ilaçların etkilerine göre büyükten küçüğe doğru sıralanışı; ketotifen, dakarbazin, tiyokolşikosid, meloksikam, metotreksat, furosemid, olanzapin, metilprednizolan asetat, parikalsitol, ritodrin HCl ve gadobenat dimeglumin şeklindedir. İnhibe eden ilaçlar için I_{50} değerleri sırasıyla; 0,008, 0,021, 0,056, 0,067, 0,114, 0,315, 0,53, 2,23, 2,28, 8,11, 115 mM'dır. İnhibisyon etkisi gösteren ilaçlar için Lineweaver-Burk grafikleri çizildi. Grafikler yardımıyla K_i sabitleri ve inhibisyon tipleri belirlendi. İnhibisyon etkisi gösteren ilaçlar için K_i sabitleri ise sırasıyla $0,0052 \pm 0,0012$, $0,0154 \pm 0,0011$, $0,0397 \pm 0,0063$, $0,0579 \pm 0,0061$, $0,0910 \pm 0,0166$, $0,1874 \pm 0,0136$, $0,4972 \pm 0,0710$, $0,5405 \pm 0,1528$, $4,2867 \pm 1,0670$, $8,2081 \pm 1,3522$, $48,4380 \pm 2,176$ mM'dır. Bilindiği gibi K_i sabiti ve I_{50} değeri küçük olan inhibitörün enzime ilgisi büyük, inhibisyon etkisi de yüksektir. Bu sonuçlara göre en yüksek inhibisyon etkisini ketotifen gerçekleştirdi.

K_i sabitlerine göre elde edilen bu sıralamanın, I_{50} değerlerine göre elde edilen sıralamayla aynı olması ilaçların enzim üzerindeki etkilerine göre sıralanışının doğru olduğunu desteklemektedir. Çizilen Lineweaver-Burk grafiklerine bakarak inhibisyon tiplerini belirlediğimizde ise metilprednizolan asetat'ın yarışmalı bir inhibisyon sergilediği yani enzimin substratıyla aktif bölgeye yarış halinde olduğu ortaya çıktı. Diğer ilaçların ise yarışmasız inhibisyon sergilediği anlaşıldı. Yarışmasız inhibisyonda da inhibitörler aktif bölge haricinde bir yere bağlanarak inhibisyon etkisi gösterirler. Çalışılan diğer 14 ilaç ise inhibisyon etkisi göstermedi (Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4).

Değişik kaynaklardan saflaştırılan G6PD enzimi üzerine bazı ilaçların etkileri araştırılmıştır. Örneğin; Özdemir ve Çiftci insan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzim aktivitesi üzerine; omeprazol, morfin sülfat, remifentanil, ketamin ve vankomisin'in gibi sıklıkla kullanılan ilaçların *in vitro* etkilerini incelemiştir. İncelenen bu ilaçlar için I_{50} değerleri sırasıyla; 3,24, 43,58, 97,6, 64,16 ve 0,903 mM olarak belirlenmiştir. Omeprazol, morfin ve vankomisin için K_i sabitleri ise sırasıyla; $8,22 \pm 2,055$, $25,93 \pm 6,482$ ve $2,71 \pm 0,677$ mM ve inhibisyon tipleri yarışmasız olarak belirlenmiştir (Özdemir and Çiftci 2006). Yapılan bu çalışmada vankomisin'in düşük I_{50} değeri ve K_i sabitine sahip olması nedeniyle en yüksek inhibisyonu gösterdiğini anlıyoruz. Bu çalışmada ise en yüksek inhibisyona sahip ilacın ketotifenin I_{50} değeri 0,008 ve K_i sabiti ise $0,0052 \pm 0,0012$ olarak bulunmuştur. Görüldüğü gibi ketotifen vankomisine göre G6PD için daha güçlü bir inhibitördür.

Yine aynı şekilde insan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerine dantrolen sodyum'un *in vitro* etkileri sıçan kanında ise *in vivo* etkileri incelenmiş *in vitro* şartlarda 0,91 mM'lık bir I_{50} değerine sahip olan dantrolen sodyum'un hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak G6PD'yi inhibe ettiği gözlenmiştir (Beydemir *et al.* 2003).

İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzimi üzerine yapılan bir diğer çalışmada ise; halotan, izofuran, ketamin, sevofuran, pirolokain, diazepam ve midazolam'ın *in vitro* inhibisyon etkileri incelenmiş izofuran, sevofuran, diazepam, midazolamın inhibe ettiği gözlenmiştir. İnhibe eden ilaçlar için I_{50} değerleri sırasıyla 0,72, 1,82, 0,38, 0,0019 mM olarak belirlenmiştir. Altıkat ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada midazolamın oldukça yüksek bir inhibisyona sebep olduğu belirlenmiştir (Altıkat *et al.* 2002). Midazolam ketotifene göre daha güçlü inhibitördür.

İnsan eritrositlerinden saflaştırılan 6PGD enzimi üzerine ise ketotifen, dakarbazin, meloksikam, furosemid, metotreksat, metoklopramid HCl, ritodrin HCl, gadopentetik asit, fenoksikam, atropin sülfat, karboplatin, karnitin, siklosporin, dekspentenol, digoksin, olanzapin, esitalopram okzalate, traneksamik asit, hiyosin N-bütül bromür, teofilin etilendiamin, flumazenil, lidokain HCl ve metoprolol tartarat olmak üzere toplam 23 ilaç ile çalışıldı. Bu ilaçlardan 6PGD enzimi üzerine inhibisyon etkisi gösteren ilaçların etkilerine göre büyükten küçüğe doğru sıralanışı; ketotifen, dakarbazin, meloksikam, furosemid, metotreksat, metoklopramid HCl, ritodrin HCl ve gadopentetik asit şeklindedir. İnhibisyon etkisi gösteren ilaçların I_{50} değerleri ise sırasıyla; 0,0084, 0,012, 0,055, 0,125, 0,142, 3,27, 3,66, 209,1 mM'dır. İnhibisyon etkisi gösteren ilaçlar için Lineweaver-Burk grafikleri çizildi. Grafikler yardımıyla K_i sabitleri ve inhibisyon tipleri belirlendi. İnhibisyon etkisi gösteren ilaçlar için K_i sabitleri ise sırasıyla: $0,0091 \pm 0,00186$, $0,0112 \pm 0,00067$, $0,0509 \pm 0,0132$, $0,127 \pm 0,0378$, $0,1403 \pm 0,02512$, $2,1113 \pm 0,69790$, $6,0353 \pm 1,27831$, $73,4 \pm 21,9$ mM'dır. Bu sonuçlara göre burada da en yüksek inhibisyon etkisini ketotifen gerçekleştirdi. K_i sabitlerine göre elde edilen bu sıralamanın, I_{50} değerlerine göre elde edilen sıralamayla aynı olması ilaçların enzim üzerindeki etkilerine göre sıralanışının doğru olduğunu desteklemektedir. Çizilen Lineweaver-Burk grafiklerine bakarak inhibisyon tiplerini belirlediğimizde ise bütün ilaçların enzimi yarışmasız olarak inhibe ettiği anlaşıldı. Çalışılan diğer 15 ilaç ise inhibisyon etkisi göstermedi (Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6).

Değişik kaynaklardan saflaştırılan 6PGD enzimi üzerine bazı ilaçların etkileri araştırılmıştır. Örneğin; Adem ve Çiftci insan eritrositlerinden saflaştırılan 6PGD enzim aktivitesi üzerine; larnoksikam, metronidazol, imipenem, ornidazol, vankomisin, klindamisin, amoksisilin'in *in vitro* inhibisyon etkilerini incelemiştir. Bu inceleme sonunda tamamının inhibisyon etkisi gösterdiği anlaşılmıştır. İnhibisyon etkileri gösteren ilaçların I_{50} değerleri sırasıyla; 0,17, 0,23, 0,43, 21,79, 46,39, 117,43, 287,35 mM K_i sabitleri ise sırasıyla; $0,40 \pm 0,04$, $0,57 \pm 0,06$, $0,77 \pm 0,11$, $42,40 \pm 2,89$, $65,60 \pm 4,03$, $130,22 \pm 9,21$, $287,58 \pm 10,56$ mM olarak belirlenmiştir. Vankomisin, klindamisin, amoksisilin yarışmalı inhibisyon gösterirken diğer ilaçlar yarışmasız inhibisyon gösterdiği belirlenmiştir (Adem and Çiftci 2007). Yapılan çalışmada en yüksek inhibisyonu en düşük I_{50} değerine ve K_i sabitine sahip larnoksikam ilacının yaptığını gözlemliyoruz. Bu çalışmada ise en yüksek inhibisyona sahip ilacın ketotifenin I_{50} değeri 0,0084 ve K_i sabiti ise $0,0091 \pm 0,00186$ olarak bulunmuştur. Görüldüğü gibi ketotifen larnoksikam göre G6PD için daha güçlü bir inhibitördür.

İnsan eritrositlerinden saflaştırılan 6PGD enzimi üzerine yapılan bir diğer çalışmada ise; bir çok ilacın inhibisyon etkileri araştırılmıştır. Netilmisin sulfat, sefepim, amikasin, izepamisin, kloramfenikol, seftazidim, teokoplanin, ampisilin, ofloksasin, levoflaksasin, sefotaksim, penisilin G, gentamisin sulfat ve ciprofloksasin, *in vitro* olarak enzimi inhibe ettiği belirlenmiştir. Bu çalışmada düşük I_{50} değeri ve K_i sabitine sahip olan netilmisin sulfat ve sefepim sıçan kanında *in vivo* etkileri incelenmiş enzimi *in vivo* olarak ta inhibe ettiği gözlenmiştir (Akyüz *et al.* 2004).

Yapılan gözlemler ve çalışmalar doğrultusunda, ilaçların G6PD ve 6PGD enzimlerini inhibe etmesi durumunda NADPH üretimi azalacak ve bu durumda da eritrositler hemoliz olacaktır.

Çalışmamızda yüksek bir inhibisyona sebep olan ketotifenin astım üzerine etkisini incelemek için yapılan bir çalışmada tümör nerosis faktörde (TNT) α -

seviyesindeki artışı ve akciğer serabral kortekste 5-lipoksigenaz enziminin ekspresyonunu inhibe ettiği fakat nitrik oksit, interlemkin ve interferan (IFN) gama seviyelerini etkilemediği bildirilmiştir (Deng *et al.* 2005).

Gebe sıçanlar üzerine yapılan bir başka incelemede metotreksatin süperoksit dismutaz ve glutasyon peroksidaz enzimlerini aktive ettiği ancak toplam antioksidan aktiviteyi de önemli ölçüde düşürdüğü gözlenmiştir (Al-Saleh *et al.* 2009). İnsan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD ve 6PGD enzimleri üzerine yapılan çalışmamızda metotreksatin iki enzimi de önemli oranda inhibe ettiği tespit edildi.

Glutasyon transferaz enzim aktivitesi üzerine olanzapinin etkisinin incelendiği bir çalışmada olanzapinin glutasyon s-transferaz (GST)-M₁ protein seviyesini ve glutasyon s-transferaz enzim aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir (Bakare *et al.* 2009). Ancak yapmış olduğumuz çalışmada olanzapinin insan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD ve 6PGD enzimlerini inhibe ettiği gözlemlendi.

Kalsiyum algılama reseptörlerinin böbrekteki renin enzimine etkisini incelemek için sıçanlar üzerinde *in vivo* ve *in vitro* bir çalışma yapılmış ve sonuç olarak düşük kalsiyum klorür konsantrasyonlarının uygulandığı sıçanlarda furosemidin damardan enjeksiyonunun PRA (plazma renin aktivitesi)'yı 8,7±3,2'den 18,6±2,3'e çıkarttığı belirlenmiştir (Maillard *et al.* 2009). Ancak bu araştırmada furosemidin insan eritrositlerinden saflaştırılan G6PD ve 6PGD enzimlerini *in vitro* olarak inhibe ettiği tespit edildi.

Sonuç olarak; yüksek lisans çalışması kapsamında aşağıdaki bulgular elde edilmiştir;

1. İnsan eritrosit G6PD enzimi, hemolizatın hazırlanması, amonyum sülfat çöktürmesi, 2', 5' ADP Sepharose-4B afinite kromatografisi yöntemleri kullanılarak spesifik aktivitesi 14,44 EÜ/mg protein olan enzim %44,22 verimle 2256 kat saflaştırıldı.

2. İnsan eritrosit 6PGD enzimi hemolizatın hazırlanması, amonyum sülfat çöktürmesi, 2', 5' ADP Sepharose-4B afinite kromatografisi yöntemleri kullanılarak spesifik aktivitesi 13,12 EÜ/mg protein olan enzim %58,33 verimle 3364 kat saflaştırıldı.
3. Enzimlerin saflık dereceleri SDS-PAGE yapılarak kontrol edildi.
4. G6PD enzimi üzerine 25 ilacın etkileri araştırıldı ve inhibisyon etkisi gösteren 11 ilaç için I_{50} değerleri ve K_i sabitleri tespit edildi.
5. 6PGD enzimi üzerine 23 ilacın etkileri araştırıldı ve inhibisyon etkisi gösteren 8 ilaç için I_{50} değerleri ve K_i sabitleri tespit edildi.

Bu sonuçlara göre; sağlıklı insanlarda söz konusu ilaçlar kullanılırken çok dikkatli olunmalı ve mutlaka bu enzimlerin eksikliğinin olup olmadığı tespit edilmelidir. Çünkü enzim eksikliği olan hastalarda düşük ilaç konsantrasyonlarında bile ciddi inhibisyon etkisi olabilir. Bu da neticede alyuvarların hemolizine sebep olur ve ciddi problemler ortaya çıkarır. Bu enzimleri inhibe eden bu ilaçların insan vücudundaki diğer enzimler üzerinde de etkisinin olabileceği düşünülürse çalışmanın öneminin daha iyi anlaşılacağı açıktır.

KAYNAKLAR

- Adams M.J., Gover S., Leaback R., Phillips C., Somers DO'N., 1991. The Structure of 6-phosphogluconate Dehydrogenase Refined at 2.5 Å Resolution, *Acta Crystallogr. Sect B.*, 47, 817-20.
- Adem, Ş., İnsan eritrositlerinden 6-fosfoglukonat dehidrogenaz enzimini saflaştırılması, Bazı ilaç ve kimyasalların enzim aktivitesi üzerine etkilerinin incelenmesi, (Y.Lisans Tezi), Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum (2006).
- Adem Ş and Çiftci M., 2007. Effects of some drugs on human erythrocyte 6-phosphogluconate dehydrogenase: an in vitro study. *Enzyme İnhib Med Chem.* 22(6) 751-4.
- Ajmar, F., Lamedica, D., Garre, C., Ravazzolo, R., (1979), Partial deficiency of red cell 6-phosphogluconate dehydrogenase: a family study, *Hum Genet*, 52(3), 347-51.
- Aksoy K., 1997, Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz enziminin yapısı, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları.
- Akyüz M., Erat M., Çiftci M., Gümüştekin K., Bakan N., 2004. Effects of some antibiotics on human erythrocyte 6-phosphogluconate dehydrogenase: an in vitro and in vivo study. *Enzyme İnhib Med Chem*, 19(4), 361-5
- Akyüz, M., 2004 Bazı Antibiyotiklerin İnsan Eritrositlerinden Saflaştırılan 6-fosfoglukonat dehidrogenaz Enzim Aktivitesi Üzerindeki Etkilerinin Belirlenmesi, (Doktora tezi), Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum
- Alıcıgüzel Y., Yücel G., Özben T., Aksu T.A., Tosun N., Gümüşlü S., Yılmaz R.N., 1989, 2,4- Diklorofenoksiasetik asitin in Vitro eritrosit glukoz 6-fosfat dehidrogenaz ve redükte glutasyon üzerine etkisi, *Biyokimya dergisi*, Kongre özel sayı, XIV, 76.
- Alhama J., Loper-Boreo J. And Toribio F., 1991, High-Performance affinity chromatography of NADP⁺ dehydrogenases from cell-free extracts using a nucleotide analogue as general ligand, *Journal of Chromatography*, 586, 51-59.
- Altıkat S., Çiftci M., Büyükkuroğlu M.E., 2002. In vitro effects of some anesthetic drugs on enzymatic activity of human red blood cell glucose 6-phosphate dehydrogenase. *Polish Journal of Pharmacology* 54(1), 67-71.
- Al-Saleh E., Al- Harmi J., Nandakumaran M., Al-Shammari M., Al-Jassar W., 2009. Effect of methotrexate administration on status of some trace elements and antioxidant enzymes in pregnant rats in late gestation. *Gynecol Endocrinol*, 1-7.
- Anonim <http://www.ilacabak.com/ilacgoster.php?Id=3249> 01.06.2009 Gadobenat dimeglumin
- Anonim http://www.bayerscheringharm.com.tr/Magnevistflakon_181203.onayli-240306_tr.pdf. 23.06.2009 Gadopentetik asit
- Anonim <http://www.dailymed.nlm.nih.gov.tr.23.06.2009> Furosemid.
- Anonim <http://www.ilacabak.com/ilacgoster.php?Id=6082> 23.06.2009 Parikalsitol
- Anonim http://saglik.ege.edu.tr/files/tanersenyigit_tr.htm 26.06.2009 Metaprolol tartarat
- Atalay A., Aker A., 1984, Maya Glukoz 6-fosfat Dehidrogenaz enziminin dietilnitrozamin tarafından inhibisyonu, *Biyokimya dergisi*, IX, 3, 71.
- Bairocg A., 2000, The enzyme database in 2000, *Nucleic Acids Research*, 1, 304-305.

- Bakare A., Shao L., Cui J., Young L.T., Wang J.F., 2009. Mood stabilizing drugs lamotrigine and olanzapine increase expression and activity of glutathione transferase in primary cultured rat cerebral cortical cells, *Neuroscience Letters*, 455(1), 70-3.
- Barengi L., Ceriotti F., Ripamonti M., Luzzana M., Bonini P., Erythroic 6-phosphogluconate dehydrogenase Measured by a Differential pH Technique, *Clin. Chem.*, 33,4, 579-82, (1987).
- Barrett. P., (1997), The pentose phosphate pathway and parasitic protozoa, *Parasitol Today*, 13 (1), 11-16.
- Bautista J.M., Fuentes J.M., Diez A., Merino G.C., Soler G., 1992, Unfolding and trypsin inactivation studies reveal a conformation drift of glucose 6-phosphate dehydrogenase upon binding of NADP, *Biochim. Biophys. Acta*, 1112, 99-112.
- Bayoumi, R.A., Bashir, A.H., Abdulhadi, H., (1986), Resistance to falciparum malaria among adults in Central Sudan, *Am J.Trop Med.Hyg*, 35 (1), 45-55.
- Beitner R., Nordenberg J., Inhibition of 6-PGD by Glucose 1,6-bisphosphate, *Biochim Biophys Acta*, 583, 266-69, (1979).
- Betts, S.A., Mayer, J.R. 1975, Purification and properties of 6-PGD from rabbit mammary gland, *Biochem J*, 151, 263-270.
- Beutler, E., *Red Cell Metabolism*, Manual of biochemical methods, Academic pres, London, (1971). Pp: 68-70.
- Beutler E., 1983, Glucose 6-phosphate dehydrogenase, *The Metabolic Basis of the Inherited Diseases*, Mc Grow-Hill Book Company, New York, 1626-1659
- Beutler E., 1991, Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency, *N. Engl. J. Med.*, 324, 169.
- Beydemir S., Gülçin I., Küfrevioğlu O.I., Çiftci M., 2003. Glucose 6-phosphate dehydrogenase: *In vitro* and *in vivo* effects of dantrolene sodium. *Polish Journal of Pharmacology*, 55(5):7, 87-92.
- Beydemir Ş., Kulaçoğlu D.N., Çiftci M., Küfrevioğlu Ö.İ., The effects of Some Antibiotics on Sheep Lens Glucose 6-phosphate dehydrogenase *in vitro*, *Eur. J. Ophthalmol*, 13, 155-61, (2003).
- Bianchi, D., Bertrand, O., (2001), Effect of gluconic acid as a secondary carbon source on non-growing L-lysine producers cells of *Corynebacterium glutamicum*. Purification and properties of 6-PGD, *Enzyme Microb Technol* 28, 754-759.
- Bilgi C., Ünsal İ., Özer N., Erbil M.K., Karaca L., 1995, Purification of glucose 6-phosphate dehydrogenase from dog liver, *Tr.J.of Medical Sciences*, 24, 291-295.
- Borregaard N, Schwartz JH, Tauber A. Proton secretion by stimulated neutrophils. *J Clin Invest* 1984; 74:455-9.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248.
- Cacciapuoti A.F. and Lessie T.G., 1977, Characterization of the fatty acid-sensitive glucose 6-phosphate dehydrogenase from *Pseudomonas Cepacia*, *Journal of Bacteriology*, s, 555-563.
- Caprari P., Caforio M.P., Cianciulli P., Maffi D., Pasquino M.T., Tarzia A., Amadori S., Salvati A.M., 6 -Phosphogluconate dehydrogenase Deficiency in an Italian Family, *Ann Hematol.*, 80, 41-4, (2001).

- Cappellini M.D., Tavazzi D., Martiner Di Monstemuros F., Sampietro M., Gaviraghi A., Carandini D., Fiorelli G., 1993, Alternative Splicing of Human G6PD Messenger RNA in K562 Cells but not in cultured erythroblast, *Eur. J. Clin. Invest*, 23, 188-191.
- Ceyhan, S., Güngör, S., Göktolga, Ü., Keskin, U., Ergün, A., İskender, B., 2007. Erken doğumun önlenmesinde nifedipin ve ritodrinin karşılaştırılması. *Gülhane Tıp Dergisi* 49, 87-90
- Ciftci M., Beydemir Ş., Yılmaz H., Bakan E., Effects of some drugs on rat erythrocyte 6- phosphogluconate dehydrogenase: an *in vitro* and *in vivo* study, *Polish Journal of Pharmacol*, 54, 275-80, (2002)
- Ciftci, M., Bazı İlaçların İnsan Eritrositlerinde Bulunan Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz Enzimi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi, (Doktora Tezi), Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum (1998).
- Corpas F.J., Garca-Salguero L., Barroso J.B., Aranda F., Lupitez J.A., Kinetic Properties of Hexose-monophosphate dehydrogenases II, Isolation and Partial Purification of 6-phosphogluconate dehydrogenase from Rat Liver and Kidney Cortex, *Moll Cell Biochem.*, 144 (2), 97-104, (1995).
- Cottreau D., Boivin P., Kahn A., Milani A., Marie J., Human granulocyte 6-phosphogluconate dehydrogenase. Purification by elective elution with NADP immunological and kinetic properties, *Biochimie (Biochimie)* 57 (3), 325-35, (1975).
- Comerdella L., Caruso C., Rutigliano B., Romano M., Di Prisco G., Cancedda F.D., 1988, Human erythrocyte glucose 6-phosphate dehydrogenase, Identification of a reactive lysyl residue labelled with pyridoxal 5'- phosphate, *Eur. J. Biochem*, 171, 485.
- Cristina Delgado M., Cristina tejedor and Jose Luque, 1990, Partial purification of glucose 6-phosphate dehydrogenase and phosphofructokinase from rat erythrocyte haemolysate by partitioning in aqueous two-phase systems, *Journal of Chromatography*, 498, 159-168.
- Dalocchio F., Matteuzzi M., Bellini T., Half-site reactivity in 6-phosphogluconate dehydrogenase from human erythrocytes, *Biochem J.*, 227, 305-10, (1985).
- David S. Shreve and H. Richard Levy, 1977, On the molecular weight of human glucose 6-phosphate dehydrogenase, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 78, 1369-1375.
- Del Mar M., Puerta M., Perlierra A.G., 1986, Purification and properties of the enzyme 6-Phosphogluconate dehydrogenase from *Dicentrarchus labrax* 1.liver, *Comp Biochem Physiol*, 83 B (1), 215-20.
- Deng Y.M., Xie Q.M., Zhang S.J., Chen J.Q., Yang Q.H., Bian R.L., 2005. Changes of 5-lipoksigenase pathway and proinflammatory mediators in cerebral cortex and lung tissue of sensitized rats. *Acta Pharmacologica Sinica*. 358-8.
- Deutsch J., 1983, *Methods of Enzymatic Analysis*, 3, 199-196
- Dikmen N., Yüregir T.G., 1989, Kordon kanından izole edilen galaktoz 6-fosfat kullanımı ile ilginç iki glukoz 6-fosfat dehidrogenaz varyantı, *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 14, 212-219.
- Dyson J.E., D'Orazio R., 6-phosphogluconate dehydrogenase from sheep liver, *Biochem Biophys Res Com*, 43(1), 183-88, (1971).

- Fairbanks V.F., 1967, Copper sulfat-induced hemolytic anemia Arch. Intern. Med., 120, 428.
- Fazi A., Magnani M., Accorsi A., Ninfali P. and Fornaini G., 1988 Simultaneous preparation from human placenta of enzymes of glucose metabolism, preparative biochemistry, 182,153.
- Fickenscher K. and Scheibe R., 1986, Purification and properties of the cytoplasmic glucose 6-phosphate dehydrogenase from pea leaves, Biophysics, 247, 393-402.
- Grunewald, R.W., Weber, I.I., Kinne-Saffran, E, (1993), Control of sorbitol metabolism in renal inner medulla of diabetic rats, Biochim Biophys Acta, 1225, 39-47.
- Gonzale G., Montserrat N., Manuel F., 1988, Purification and characterization of a cofactor that controls the oxidative phase of the pentose phosphate cycle in liver and other tissues of rat, Biochim. Biophys. Acta, 990, 59-65.
- Gupte SA, Li K, Okada T, Sato K, Oka M. Inhibitors of pentose phosphate pathway cause vasodilation: involvement of voltage-gated potassium channels. J Pharmacol Exp Ther 2002; 301:299-305.
- Gülçin İ., Beydemir Ş., The Effects of melatonin on 6-phosphogluconate dehydrogenase: an *in vitro* and *in vivo* study, Turk J Med Sci 34, 295-99, (2004).
- Hanau S., Rippa M., Dallochio F., 1992, NADPH activates a decarboxylation reaction catalysed by lamb liver 6-phosphogluconate dehydrogenase, Biochim Biophys Acta, 1122, 273-7.
- Hanau S, Rippa M, Bertei M, Dallochio F, Barret MP. 6-phosphogluconate dehydrogenase from trypanosoma brucei kinetic analysis and inhibition by trypanodical drugs. Eur J Biochem. 1996; 240: 592-599.
- Hollenberg PF. Mechanisms of cytochrome p-450 and peroxidase-catalyzed xenobiotic metabolism. FASEP J 1992; 6:686-94.
- Hunaiti, A.A. and Soud, M., 2000. Effect of lead concentration on the level of glutathione, glutathione S-transferase, reductase and peroksidase in human blood. The Science of The Total Environment, 248, 45-50.
- Iritani N., Nishimito N., Katsurada A., Fulunda H., 1992, Regulation of hepatic lipogenic enzyme gene expression by diet quantity in rats fed a fat-free, high carbohydrate diet, J.Nutr. ,122, 236.
- Jakobasch G., Rapoport S.M., Hemolytic anemias due to erythrocyte enzyme deficiencies, Mol Asp Med, 17, 143-70, (1996).
- Jeffery J., Persson B., Wood I., Bergman T., Jeffery R., Jörnvall H., 1993, Glucose 6-phosphate dehydrogenase, Structure function relationships and the pichia jadinii enzyme structure, Eur. J. Biochem, 41, 212.
- Karlığa, B. ve Talınlı N., 2004. 3'-N-Tiyokarbamat paklitaksel türevlerinin sentezi ve biyolojik aktivite çalışmaları. İtüdergisi/c fen bilimleri, 2 (1),25-30.
- Kato N., Sham H., Wagner F., Purification and properties of glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase from a methanol-utilizing yeast, *Candida boidinii*, Biochim Biophys Acta, 566, 1-11, (1979).
- Kayaalp, S.O., Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, Haccettepe-Taş, Ankara, 10. Baskı, 2000.
- Keha, E.E., Küfrevioğlu, Ö.İ., *Biyokimya*, Şafak Yayınevi, Erzurum, 2004.
- Krebs HA, Eggleston LV. The regulation of the pentosephosphate cycle in rat liver. In: Weber G (ed). Adv enzymeregul. Oxford: Pergamon Press Ltd, 1978; 12:421-33.
- Kutay F, Onat T. İnsan Biyokimyası. In Onat T, Emerk K, Sözman EY eds. Ankara

- Palme Yayıncılık 2002:198, 243-245.
- Laemmli, D.K., 1970. Cleavage of structural proteins during in assembly of the heat of bacteriophage T4. *Nature*, London, 227,680.
- Lehninger, A.L., Nelson, D.L., Cox, M.M., *Principles of Biochemistry*, Worth Publishers, Inc., New York, Second Edition, (2000).
- Levy H.R., 1979, Glucose 6-Phosphate dehydrogenase. *Adv. Enzymol*, 48, 97-192.
- Lippincott W. and Lippincott W., 2007. Pentoz fosfat yolu ve NADPH. *Lippincott's Illustrated Reviews Serisinden: Biyokimya*, Ed: Champe P.C. Harvey R.A. Ferrier D.R. NOBEL TIP KİTAPEVLERİ, Bursa, 143-151.
- Li J., Ericsson K.O. and Hjerten S., 1990, High-Perfomance liquid chromatography of proteins on deformed nonporous agarose beads. Afinity chromatography of Dehydrogenases basad on cibacron blue-derivatized agarose, *Preparative Biochemistry*, 20,(2),107.
- Lukens JN. *Clinical Hemalology*. Philadelphia: Lea Febiger. 1993; 1: 1006-1022.
- Lu P, Comphell MK. *Biochemistry*. Philadelphia: Saunders College Publishing, 1991; 293: 334.
- Luzzatto L., Battistuzzi G., 1985, Glukose 6-phosphate dehydrogenase *Adv. Hun. Genet*, 14, 217-329.
- Maeda M., Constantoulakis P., Chen C.S., Stamatoyannopoulos G., Yoshida A., 1992, Molcular abnormolities of a human glucose 6-phosphate dehydrogenase variant associated with ndetectable enzyme activity and immunologically crossreacting material, *Am. J. Hum. Genet.* 51, 386-395.
- Maillard M.P., Tedjani A., Perregaux C., Burnier M., 2009. Calcium-sensing receptors modulate renin release in vivo and in vitro in the rat. *Journal of Hypertension*.
- Mayes P.A., 1991, The Pentose Phosphate Patway, Other Pathway of hexose metabolism. *Libraire du Libon, Beirut,s*, 189-198.
- Mathews K.C., Van Holde K.E., 1990, *Biochemistry*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Redwood City, s, 493-501.
- Menezes L., Kelkar S.M., Kaklij G.S., Glucose 6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase from lactobacilius casei: Responses with different modulators, *Ind J of Biochem Biophys*, 26, 329-33, (1989).
- Montgomery Rex, Conway Tomas W., Spector Arthur A., Chappell David., 1996. *Biochemistry A Case-oriented Approach*, Sixth edition. Mosby-Year Book, Inc.
- Moritz B., Striegel K., De Graaf A.A., Sahn H. Kinetic properties of glucose 6-phosphate dehydrogenase and 6-PGDH from corynebacterium glutamicum and their application for predicting pentose phosphate pathway flux *in vivo.*, *Eur J Biochem*, 267, 3442-52, (2000).
- Morelli A., Benatti U., Gaetani G.F and De Flora A., 1978, Biochemical mechanisms of glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 75, 4.
- Mohammed I. Kanji, Myrom L. Toews and Robert Carper W., 1976, A Kinetic study of glucose 6-phosphate dehydrogenase, *The Journal of Biological Chemstry*, 25, 2258.
- Nelson DL, Cox MM. *Lehninger principles of biochemistry*. 3rd ed. USA: Worth Publishers, 2000; 743-4.
- Ninfali P., Orsenigo T., Barociani and S. Rapa., 1990, Rapid purification of glucose 6-phosphate dehydrogenase from mamal's erythrocytes, *Preparative Biochemistry*, 20, 297-309.

- Onat T. Eritrosit Biyokimyası. In Emerk K, Onat T ed. Temel Biyokimya İzmir, Saray medikal yayıncılık, 1996: 865-8797
- Ohara H., Uchida K., Yahata M., Kondo K., 1996, NAD⁺-specific 6-phosphogluconate dehydrogenase in lactic acid bacteria, Biosci Biotech Biochem, 60 (4), 692-3.
- Ohara H., Russell, R., Uchida, K., and Kondo H., 2004, Purification and characterization of nad-specific 6-phosphogluconate dehydrogenase from leuconostoc lactis sho-54. Journal of Bioscience and Bioengineering vol. 98, No. 2, 126-128. 2004.
- Ozols J., 1993, Isolation and the complete amino acid sequece of lumenal endoplasmic reticulum glucose 6-phosphate dehydrogenase, Proc. Natl. Acad. Sci., 90, 5302-5306.
- Özer, A., 1985. Pratik hematoloji: Klinik, laboratuar ve tedavi., Bilgehan Basımevi, Bornova-İzmir.
- Özden M. Anatomi ve fizyoloji ders kitabı. Ankara. Kadioğlu Matbaası 1990: 87-92.
- Özabacıgil, F., Bazı antibiyotiklerin insan eritrositlerinden saflaştırılan 6-fosfoglukonat dahidrogenaz enzim aktivitesi üzerindeki *in vivo* ve *in vitro* etkilerinin belirlenmesi, (Doktora tezi), Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, (2005).
- Özdemir H., and Çiftci M., 2006. *In vitro* effects of some drugs on human red blood cell glucose 6-phosphate dehydrogenase enzyme activity. Enzyme Inhib Med Chem, 21(1), 75-80.
- Palmer A.M., The activity of the pentose phosphate pathway is increased in response to oxidative stress in Alzheimer's disease, J Neural Transm, 106, 317-28, (1999).
- Patel M. P., , Marcinkeviciene J., Blanchard J.S., *Enterococcus faecalis* glutathione reductase: purification, characterization and expression under normal and hyperbaric O₂ conditions, FEMS Microbiology Letters, 166, 155-63, (1998).
- Pearse B.M., Rosemeyer M.A., 6-phosphogluconate dehydrogenase from human erythrocytes Methods Enzymol, 41, 220-6, (1975).
- Persico M.G., Viglietto G., Martini G., Toniolo D., Paonessa G., Moscatelli C., Dono R., Vulliamy T., Luzatto L., D'Urso M., 1986, Isolation of human glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD) cDNA clones, primary structure of the protein and 5' noncoding region, Nucleic Acid Res., 14, 2511-2522.
- Pınarbaşı E., ve Çolak A., 1989, 2,4-Diklorofenoksiasetik asit'in fare böbreği glukoz 6-fosfat dehidrogenaz, malat dehidrogenaz ve heksokinaz enzim aktiviteleri üzerine *in vivo* etkisi, Biyokimya dergisi, kongre özel sayısı, XIV, 56.
- Proscal, D., Holten, D., (1972), Purification and properties of rat liver 6-phosphogluconate dehydrogenase. Activity at normal *in vivo* concentration of coenzyme, Biochem, 11(7), 1310-1314.
- Reddon J.R., Giblin M.C., Audit I.M., Rosa J., Rosa R., 1988, The enzymes of the Glycolytic pathway in erythrocytes with Plasmodium Falciparum Malaria Parasites, Blood, 72, 6.
- Reiter R., Tang L., Garcia J.J., Munoz-Hoyos A., Life Sci. Pharmacological actions of melatonin in oxygen radical, Paltophysiology, 60: 2255-71, (1997).
- Reuter R., Naumann M., Metz P., Kopperschlager G., 1990, Purification and characterization of glucose 6-phosphate dehydrogenase from Pseudomonas W6, Biomed. Biochim. Acta, 7, 539-546.
- Sawa Y, Suzuki K, Ochiai H. Purification and Characterization of 6-phosphogluconate

- dehydrogenase from phormidium sp. *Agric Biol Chem.* 1985; 49 (9): 2543-2549.
- Segel IH. *Biochemical calculations.* Newyork: Inc. 1968; 403.
- Siems WG, Sommerburg O, Grune T. Erythrocyte free radical and energy metabolism. *Clin Nephrol* 2000; 53(Suppl 1):9-17.
- Shohet SB, Beutler E. Glutathione metabolism of erythrocyte. *Williams Hematology. The Erythrocyte. Part four.* 1986.
- Soysal T., Bakan E., Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz enzimi, kinetik parametreleri ve klinik önemi. *Doğa Bilim Dergisi* 8 (1), 150-3, (1984).
- Sosa-Saavedra F., Leon-Barrios M., Perez-Galdona R., 2001. Pentose phosphate pathway as the main route for hexose catabolism in *Bradyrhizobium* sp lacking Entner-Doudoroff pathway. A role for NAD⁽⁺⁾-dependent 6-phosphogluconate dehydrogenase (decarboxylating), *Soil Biol Biochem*, 33 (3), 339-343.
- Stryer, L., 1985, *Biochemie*, Vieweg, Braunschweig, Pp: 93.
- Stournaras, C., Maurer, P., Kurz, G., (1983), 6-PGD from *Pseudomonas fluorescens* Properties and subunit structure, *Eur J Biochem*, Feb1, 130(2), 391-6.
- Tsai, C.S., Chen, Q., (1998), Purification and kinetic characterization of 6-PGD from *Schizosaccharomyces pombe*, *Biochem Cell Biol*, 76(4), 637-644.
- Toews, M.L., Kanji, M., Carper, W., (1976), 6-Phosphogluconate Dehydrogenase, *J Biol Chem.*, 251 (22), 7127-7131.3.
- Telefoncu, A (ed.), *Temel ve Uygulamalı Enzimoloji*, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayını, İzmir, (1986), Pp: 59.
- Telefoncu A., ve Telefoncu F., 1989, Glucose 6-fosfat dehidrogenaz aktivitesine Primaquine'in etkisi. *Tr.J.of Medical Sciences*, 14, 57-63.
- Thomas JH, Gillham B. *Wills' Biochemical Basis of Medicine* Wright. London: 1983; 297-302.
- Thomas M, Devlin Ph, D. *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlasyon* 2. baskı 1986.
- Topham C.M., Dalziel K., 1986, The chemical mechanism of sheep liver 6-phosphogluconate dehydrogenase, *Biochem J.* 234, 671-7.
- Ulus N.N., Kus M.S., Acan N.L., Tezcan E.F., A rapid method for the purification of glucose-6-phosphate dehydrogenase from bovine lens, *Int J Biochem Cell Biol*, Jul;31 (7), 787-96, (1999).
- Ünlükurt I., Aksoy K., Yüregir G.T., 1993, Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzimi ile eser elementler arasındaki ilişki, *Çukurova Ün. Tıp Fak. Dergisi*, 2, 141-145.
- Veronese, M.F., Boccu, E., Fontana, A., (1974), Isolation and some properties of 6-PGD from *Bacillus stearothermophilus*, *Biochim Biophys Acta*, 334, 31-44.
- Veronese, F.M., Boccu, E., Fontana, A., (1976) Isolation and properties of 6-PGD from *E.coli*. Some comparisons with the thermophilic enzyme from *Bacillus stearothermophilus*. *Biochem*, Sep 7,15(18), 4026-33.
- Vulliamy T.J., D'Urso M., Battistuzzi G., Estrada M., Foulkes N.S., Martini G., Calabro V., Poggi V., Giordano R., Town M., Luzzatto L., Persico G., 1988, Diverse point mutations in the human glucose 6-phosphate dehydrogenase gene cause enzyme deficiency and mild or severe hemolytic anemia, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 85, 5171-5175.
- Walter G., Niehaus and T. Conn Mallett., 1994, Purification and characterization of glukose 6-phosphate dehydrogenase from *Cryptococcus Neoformans*, *Biophysics*, 313, 304-309.
- Williamson, J.H., Krochko, D., Geer, B., (1980), 6-PGD from *Drosophila melanogaster*

- I. Purification and properties of the A isozyme, *Biochem Genet*, Feb, 18 (1-2), 87-101.
- Williams W.J., Beutler E., Ersleu A.J. and Lichtman M.A., 1986, *Hematology*, New York, McGraw-Hill Book Company, 567
- Weisz K.S., Schofield P.J., Edwards M.R., Human brain 6-phosphogluconate dehydrogenase: Purification and kinetic properties, *J of Neurochem*, 44 (2), 510-7, (1985).
- Wood, W., 1982, 6-phosphogluconate dehydrogenase from gluconobacter suboxydans, *Methods Enzymol*, 89, 291-295, Academic Press.
- Wood T. Distribution of the pentose phosphate pathway in living organisms. *Cell Biochem Funct* 1986; 4:235-40.
- Yüregir G.T., Aksoy K., Arpacı A., Ünlükurt İ., Tuli A., 1994, Studies on red cell Glucose 6-phosphate dehydrogenase, Evaluation of reference values, *Ann Clin. Biochem*, 31, 50-55.
- Yoshida Y., Nakano Y., Yamashita Y., ICoga T., 1997, The and gene encoding a novel 6-PGDH and its adjacent region of actinobacillus acclinomycelemcomitans chrosomal DNA, *Biochem Biophys Res Commun.* 230, 220-5,
- Yoshido A., Huang I.Y., 1986, Structure of human glucose 6-phosphate dehydrogenase, Academic Press Inc. Ltd., London, s, 473-482.
- Yoon H., Anderson C.D., Anderson BM., (1989), Kinetic studies of *Haemophilus influenzae* 6-phosphogluconate dehydrogenase, *Biochim Biophys Acta*, Jan 19;994 (1):75-80

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Erzurum'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini İstanbul'da tamamladı. 2002 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü 2006 yılında tamamladı. 2006 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde başladığı Yüksek Lisans öğrenimini, Ağustos 2009'da tamamladı.