

**YENİ BİS-1,2,4-TRIAZOL TÜREVLERİNİN
ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ**

Hüseyin KARCI

**Yüksek Lisans Tezi
Kimya Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. Ahmet ÇETİN
OCAK-2013**

**T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YENİ BİS-1,2,4- TRIAZOL TÜREVLERİNİN
ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hüseyin KARCİ

(Enstitü No:.....)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 31 Aralık 2012

Tezin Savunulduğu Tarih : 22 Ocak 2013

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Ahmet ÇETİN (B.Ü.)

Diğer Jüri Üyeleri : Yrd. Doç. Dr. Alpaslan KOÇAK (B.Ü.)

Yrd. Doç. Dr. Semih YAŞAR (B.Ü.)

OCAK-2013

Doç. Dr. Ahmet ÇETİN'in danışmanlığında Yüksek Lisans Öğrencisi Hüseyin KARCİ'nin hazırladığı "Yeni Bis-1,2,4-triazol Türevlerinin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi" konulu bu çalışma 22/01/2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : **Doç. Dr. Ahmet ÇETİN (B.Ü.)**

Üye : **Yrd. Doç. Dr. Alpaslan KOÇAK (B.Ü.)**

Üye : **Yrd. Doç. Dr. Semih YAŞAR (B.Ü.)**

Bu tezin Kimya Anabilim Dalı'nda yapıldığını ve Enstitümüz kurallarına göre düzenlendiğini onaylıyorum.

Doç. Dr. Ramazan SOLMAZ

Enstitü Müdürü

Bu çalışma BÜBAP 136-106-2011 'nolu proje tarafından desteklenmiştir.

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ

Bu tez çalışması, Bingöl Üniversitesi Kimya Bölümü Organik Kimya Araştırma Laboratuvarı ve Merkezi Araştırma Labovatuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışmam süresince, danışmanlığımı üstlenen, çalışmalarımın planlanmasında, yürütülmesinde ve sonuçlandırılmasında yardımlarını esirgemeyen derin bilgi ve tecrübesinden yararlandığım Sayın Hocam; Doç. Dr. Ahmet ÇETİN'e sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarım da bana yardımcı olan ve yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. İbrahim GEÇİBESLER' e teşekkür ederim.

Yine çalışmalarımda maddi ve manevi desteğini esirgemeyen eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu çalışmayı finanse eden Bingöl Üniversitesi Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (Proje No: BAP-136-106-2011) teşekkür ederim.

Hüseyin KARCİ
BİNGÖL- 2013

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	V
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VII
TABLolar LİSTESİ.....	VIII
SEMBOLLER LİSTESİ.....	X
1. GİRİŞ.....	1
1.1. SERBEST RADİKALLER.....	2
1.1.1. Süperoksit Anyon Radikali ($O_2^{\cdot-}$).....	4
1.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2).....	5
1.1.3. Hidroksil Radikali ($\cdot OH$).....	5
1.1.4. Singlet Oksijen (1O_2).....	6
1.2. ANTİOKSİDANLAR.....	6
1.2.1. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	7
1.2.1.1. Enzimatik Antioksidanlar.....	8
1.2.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	9
1.2.1.2.1. Sentetik Antioksidanlar.....	9
1.2.1.2.2. Doğal Antioksidanlar.....	13
1.3. TRİAZOLLER.....	15
2. MATERYAL VE METOT.....	21
2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	21
2.2. Kullanılan Cihazlar.....	21
2.3. Çözeltilerin Hazırlanması.....	21
2.3.1. Stok Çözeltiler.....	21
2.3.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi.....	21
2.3.3. İndirgeme Gücü.....	22
2.3.4. ABTS ⁺ Giderme Aktivitesi.....	22

Sayfa No

2.3.5.	Metal Şelatlama Aktivitesi	22
2.4.	Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri	22
2.4.1.	Serbest Radikal Giderme Aktivitesi	22
2.4.2.	İndirgeme Gücü	24
2.4.3.	ABTS ⁺⁺ Giderme Aktivitesi	24
2.4.4.	Metal Şelatlama Aktivitesi	26
3.	SONUÇ VE DEĞERLENDİRME	29
3.1.	Serbest Radikal Giderme Aktivitesi	29
3.2.	İndirgeme Gücü	37
3.3.	ABTS ⁺⁺ Giderme Aktivitesi	45
3.4.	Metal Şelatlama Aktivitesi	46
	KAYNAKLAR	49
	ÖZGEÇMİŞ	58

ÖZET

Bu çalışmada; sentezlenmiş bis-hidrazinkarbotiyoamit türevleri ve bu bileşiklerin halkalaşmasında oluşan bis-1,2,4-triazol türevlerinin antioksidan aktiviteleri 4 farklı parametre ile incelenmiştir. Her bir maddenin in-vitro antioksidan aktiviteleri, Serbest Radikali Giderme aktivitesi, İndirgenme Gücü, ABTS^{•+} Giderme Aktivitesi, Metal Şelatlama parametreleri ile tayin edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan metodlar; DPPH serbest radikal giderme aktiviteleri Blois metoduna göre, İndirgeme gücü tayini Oyaizu metoduna göre, ABTS^{•+} radikali giderme aktivitesi Re ve arkadaşlarının yaptığı yöntemeye göre, Metal Şelatlama aktivitesi ise Dinis metoduna göre yapıldı.

Bu bileşiklerin antioksidan aktiviteleri incelenirken her bir numune sentetik antioksidan maddeler olan BHT, BHA, α tokoferol ve trolox ile karşılaştırıldı. Elde edilen veriler değerlendirildi.

Bu tez çalışmasında elde edilen veriler, bu alanda çalışan bilim adamlarının daha sonraki çalışmalarına önemli katkılar sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Tiyosemikarbazit, Triazol, Hidrazinkarbotiyoamit, DPPH, İndirgenme Gücü, ABTS, Metal Şelatlama.

ABSTRACT

The Investigation of Antioxidant Activity of Bis-1,2,4-triazole Derivatives

Master Thesis
Hüseyin KARCI
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ahmet ÇETİN

University of Bingöl
Faculty of Art and Science
Department of Chemistry

2013, Page: XII+57

In this study, the previously synthesized of bis-hydrazinecarbothioamide and bis-1,2,4-triazole derivatives, that formed by cyclization of these compounds examined antioxidant activity with four different parameters. Each in-vitro antioxidant activity of a substance, Free Radical Reduction Activity, Reduction Power, ABTS \cdot^+ Reduction Activity, Metal Chelating Parameters were determined. The methods used in this study, reduction of free radical scavenging activity according to the method of Blois, reduction according to the method Determination of power Oyaizu, ABTS \cdot^+ radical, the method of removal activity Re et al., metal chelating activity was performed according to the method of Dinis.

Antioxidant activities of these compounds were examined for each sample with synthetic antioxidants BHT, BHA, α -tocopherol and Trolox were compared. The data obtained were evaluated.

The results of this thesis will make significant contributions to scientists working in this field for further studies.

Key Words: Thiosemicarbazide, 1,2,4-triazole, Hydrazinecarbothioamide, Free Radical Reduction, Reduction Power, ABTS \cdot^+ Reduction, Metal Chelating.

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. 1. BHT 'nin farklı türleri	9
Şekil 1. 2. BHT 'nin yağ ve yağ asitlerinin oksidasyonuna etkisi.....	10
Şekil 1. 3. BHA 'nın farklı türleri.....	10
Şekil 1. 4 BHT ve BHA' nın DPPH ile meydana gelen reaksiyonları	11
Şekil 1. 5. BHA ve BHT nin peroksit radikallerine etkileri	12
Şekil 1. 6. α - tokoferol radikalinin oluşumu.....	14
Şekil 1. 8. α - tokoferol ve troloxun yapısı	15
Şekil 3. 1. ABST kimyasal yapısı.....	25
Grafik 3. 1. ABTS ⁺⁺ radikali için standart grafik.....	26
Grafik 3. 2. 1 maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği	30
Grafik 3. 3. 2 maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği	30
Grafik 3. 4. 3A maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği	31
Grafik 3. 5. 3B maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği	31
Grafik 3. 6. 3C maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği	32
Grafik 3. 7. 3D maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği	32
Grafik 3. 8. 3E maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği.....	33
Grafik 3. 9. 4A maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği	33
Grafik 3. 10. 4B maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği	34
Grafik 3. 11. 4C maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği	34
Grafik 3. 12. 4D maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği	35
Grafik 3. 13. 4E maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği.....	35
Grafik 3. 14. 1 maddesinin indirgeme gücü, absorbans-konsantrasyon grafiği	38
Grafik 3. 15. 2 maddesinin indirgeme gücü, absorbans-konsantrasyon grafiği	38
Grafik 3. 16. 3A maddesinin indirgeme gücü, absorbans-konsantrasyon grafiği	39
Grafik 3. 17. 3B maddesinin indirgeme gücü, absorbans-konsantrasyon grafiği	39
Grafik 3. 18. 3C maddesinin indirgeme gücü, absorbans-konsantrasyon grafiği	40
Grafik 3. 19. 3D maddesinin indirgeme gücü, absorbans-konsantrasyon grafiği	40
Grafik 3. 20. 3E maddesinin indirgeme gücü, absorbans-konsantrasyon grafiği.....	41
Grafik 3. 21. 4A maddesinin indirgeme gücü, absorbans-konsantrasyon grafiği	41

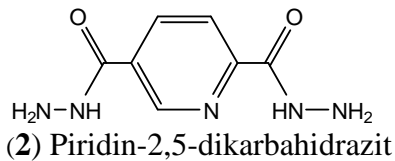
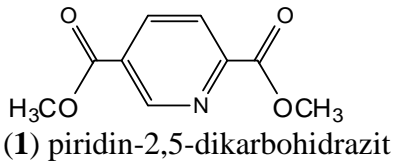
Grafik 3. 22. 4B maddesinin indirgeme gücü, absorbans-konsantrasyon grafiği	42
Grafik 3. 23. 4C maddesinin indirgeme gücü, absorbans-konsantrasyon grafiği	42
Grafik 3. 24. 4D maddesinin indirgeme gücü, absorbans-konsantrasyon grafiği	43
Grafik 3. 25. 4E maddesinin indirgeme gücü, absorbans-konsantrasyon grafiği.....	43

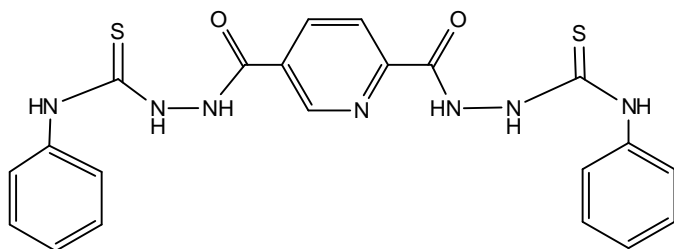
TABLULAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. 1. Bazı serbest radikaller, bazı reaktif oksijen türleri ve temel özellikleri.....	4
Tablo 1. 2. Antioksidanların sınıflandırılması.....	7
Tablo 3. 1. Serbest radikal giderme aktivitesi ve % inhibisyon değerleri	36
Tablo 3. 2. İndireme gücü absorbans (700 nm) değerleri.....	44
Tablo 3. 3. ABTS ⁺⁺ giderme aktivitesi EC ₅₀ değerleri	46
Tablo 3. 4. Metal Şelatlama (% inhibisyon) değerleri.....	47

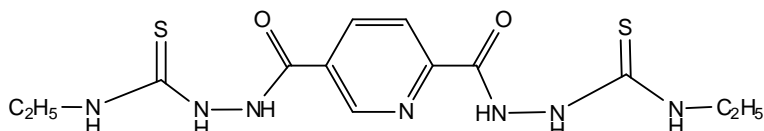
SEMBOLLER LİSTESİ

$^{13}\text{C-NMR}$: Karbon-13 Nükleer Manyetik Rezonans
$^1\text{H-NMR}$: Proton Nükleer Manyetik Rezonans
ABTS	: 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
ABTS ^{•+}	: 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit radikali)
BHA	: Bütillenmişhidroksianisol
BHT	: Bütillenmişhidroksitoluen
CrO ₃	: Krom trioksidin
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DPPH	: 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
EC ₅₀	: Yüzde elli inhibisyon
FeCl ₂ .4H ₂ O	: Demir(II) klor tetrahidrat
FeCl ₃	: Demir (III) klorür
Ferrozin	: 3-(2-piridil)-5,6-bis (4-fenil-sülfonik asit)-1,2,4-triazin
IR	: Infrared spektrumu
K ₂ O ₈ S ₂	: Dipotasyum sülfonat oksisülfat
K ₃ Fe(CN) ₆	: Potasyumferrisiyanür
KMnO ₄	: Potasyum permanganat
LDL	: Düşük dansite lipoprotein
NaH ₂ PO ₄	: Sodyum fosfat
TCA	: Triklorasetik asit
Trolox	: (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit)

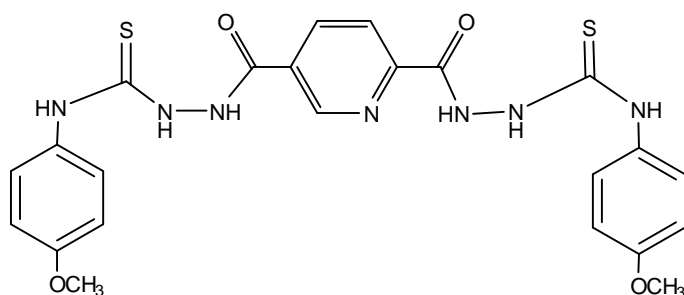




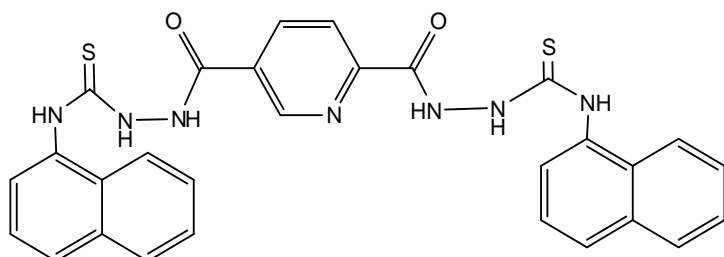
(3A) 2,2'-(piridin-2,5-diildikarbonil)bis(N-fenilhidrazinkarbotiyoamit)



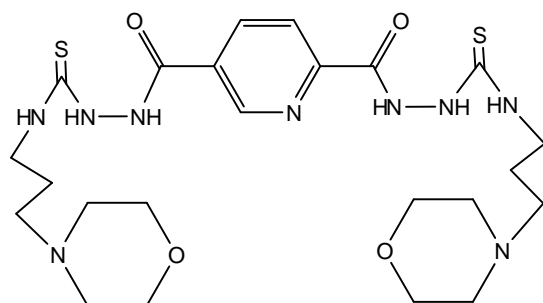
(3B) 2,2'-(piridin-2,5-diildikarbonil)bis(N-etilhidrazinkarbotiyoamit)



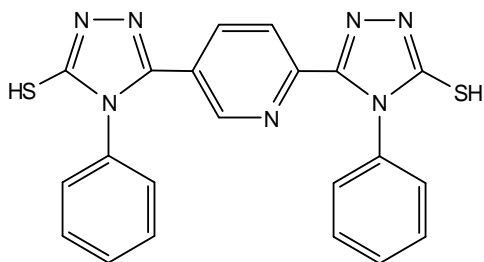
(3C) 2,2'-(piridin-2,5-diildikarbonil)bis[N-(p-metoksifenil)hidrazinkarbotiyoamit]



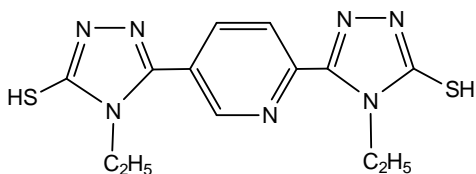
(3D) 2,2'-(piridin-2,5-diildikarbonil)bis[N-(1-naftil)hidrazinkarbotiyoamit]



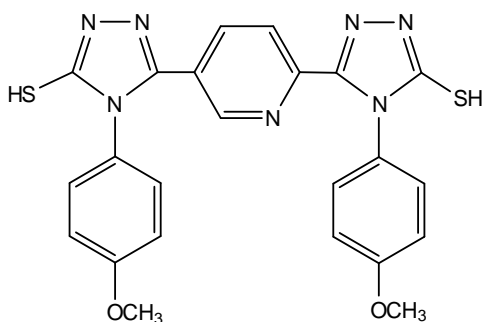
(3E) (piridin-2,5-diildikarbonil)bis[N-4-(3-izotiyosiyanatopropil)morfolin hidrazinkarbotiyoamit]



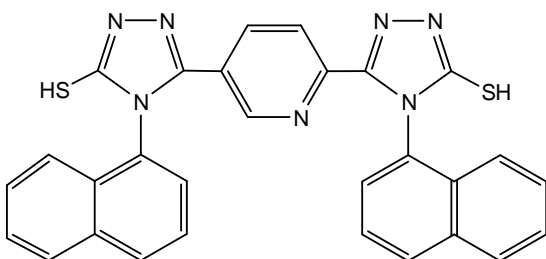
(4A) piridin-2,5-diilbis(4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol)



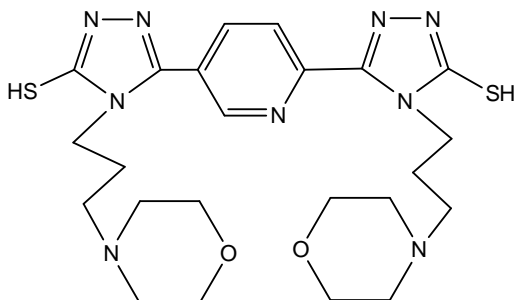
(4B) piridin-2,5-diilbis(4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol)



(4C) 5,5'-piridin-2,5-diilbis[4-(4-metoksifenil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol]



(4D) 5,5'-piridin-2,5-diilbis(4-(1-naftil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol)



(4E) 5,5'-piridin-2,5-diilbis[4-(3 morfolin-4-ilpropil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol]

1. GİRİŞ

1,2,4-triazol kimyası ve onların heterosiklik türevlerinin biyolojik öneminden dolayı son yıllarda önemi giderek artmaktadır (Çetin, 2009). 1,2,4-triazol halkası içeren birçok bileşik; uyarıcı, yatıştırıcı, rahatlatıcı, antimikrobiyal etki (Heindel, 1980; Holla, 1994) ve fulukonazol, intrakonazol, vorikonazol (Merck Index, 1996; Haber, 2001) gibi antimikotik özellik gösteren ilaçları gibi tedavi edici olarak kabul edilmiştir. 1,2,4-triazol bileşiklerinin antibakteriyel ve antifungal etkilerinin yanı sıra antiviral, antienflamatuar, antitüberküloz ve antitümör, antikonvüsan, diüretik, antitüberküler ve platelet agregasyonunu inhibe edici etkileri olduğu bilinmektedir. Triazol halkasının süstitüsüyonu ile biyolojik aktivitesi modifiye edilir. Amin, tiyon ve alkil süstitüe triazoller antiülser ve kan basıncını düşürücü aktiviteler gösterdiği gözlenmiştir (Cavalito, 1973; Prasad, 1989; Gates, 1988; Meguro, 1975; Ditttrich, 1989; Kacaaliler, 2008).

Yüksek aktiviteye sahip bileşikler olan serbest radikaller, yaşamsal faaliyetler sırasında veya solunum, enzim reaksiyonları, otooksidasyon reaksiyonları gibi endojen kaynaklar ile sigara dumanı, hava kirliliği, UV ışınları, iyonize radyasyon ve ksenobiyotikler gibi çeşitli çevresel kaynakların etkisiyle meydana gelebilmektedirler. Serbest radikaller nötrale edilmediklerin de vücutta hücre membranı proteinlerini yıkarak hücreleri öldürmek, membran lipid ve proteinlerini yok ederek hücre membranını sertleştirip hücre fonksiyonunu engellemek, çekirdek membranını yararak nükleustaki genetik materyale etki edip DNA'yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirmek, bağışıklık sistemindeki hücreleri yok ederek bağışıklık sisteminin etkisini azaltmak yoluyla ciddi hasarlara neden olabilirler (Serteser ve Gök, 2003). Bu dengelenmemiş serbest radikal saldırısı ve hücre zarının tahribatı "**oksidatif stres**" olarak adlandırılır. Oksidatif stres, oksidatif lezyonlara, doku hasarına, mutasyonlara ve hücre ölümlerine yol açabilen reaktif oksijen ve reaktif azot türlerinin (çoğunlukla serbest radikallerin) aşırı üretimiyle tetiklenir (Halliwell, 1994).

Oksidatif strese karşı güncel tıp bilminde büyük ölçüde sınaama-yanılma yöntemiyle bazı tedaviler önerilmekte ise de aslında tedavi yaklaşımlarının moleküler mekanizmalara (yani moleküler tıba ve biyokimyaya) dayandırılması gittikçe önem kazanmaktadır. Bu da gerek hastaların ve gerekse sağlıklı insanların diyetlerinin koruyucu ve tedavi edici

hekimlik bağlamında doğal ve yapay antioksidanlarla takviye edilmesini gerekli kılmaktadır (Ardağ, A.,2008).

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya mevcut radikalleri süpürerek hücrenin zarar görmesini engelleyen ve yapısında genellikle fenolik fonksiyon taşıyan moleküllerdir (Nagai *vd.*, 2005).

Antioksidanların özelliği, kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötralize etmeleri ve bu sırada serbest radikal haline gelmemeleridir.

Antioksidanların insan sağlığındaki yerini belirleyen en önemli faktörler, onların kimyasal yapıları, çözünürlükleri, yapı aktivite ilişkileri ve doğal kaynaklardan elde edilebilmeleridir (Kaur ve Kapoor, 2001).

Antioksidanlarla ilgili bilimsel makaleler incelendiğinde farklı araştırmacılar tarafından antioksidan kapasiteyi tanımlamak için farklı terimlerin kullanıldığı görülür. Karşılaşılabilecek terimler “**total antioksidan**”, “**kapasite**”, “**etkinlik**”, “**güç**”, “**parametre**”, “**potansiyel**”, “**potens**” ve “**aktivite**” dir. Bir kimyasalın “aktivitesi” basınç, sıcaklık, reaksiyon ortamı, diğer reaktifler gibi spesifik reaksiyon koşulları belirtilmedikçe anlamsızdır. Tek bir analiz yöntemi ile ölçülen “**antioksidan aktivite**” o yöntemde uygulanan spesifik koşullardaki kimyasal reaktiviteyi yansıttığından verileri “total antioksidan aktivitenin” göstergesi olarak genellemek uygun olmayabilir ve yanıltıcı olabilir. Bu nedenle “aktivite” terimi yerine farklı deneylerde elde edilen sonuçları “kapasite” olarak sunmak önerilmektedir. Yada “peroksil radikal süpürücü kapasite”, “süperoksit süpürücü kapasite”, “demir iyonu indirgeme kapasitesi” gibi ölçüm yöntemini daha spesifik olarak belirten terimlerin kullanılması da önerilmektedir (Koleva *vd.*, 2002).

1.1. SERBEST RADİKALLER

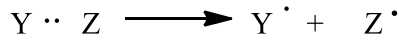
Radikaller, dış orbitallerinde bir veya daha fazla paylaşılmamış elektron içeren kimyasal yapılardır. Böyle bir kimyasal tür basit bir atom ya da kompleks yapılı bir organik molekül olabilir. Dış orbitaller de paylaşılmamış elektron bulunması, söz konusu kimyasal türün reaktivitesini olağanüstü arttırdığı için, radikaller reaktivitesi çok yüksek olan kimyasal türlerdir (Kılınç, 2002).

Kuantum kimyasına göre iki elektron bir bağın yapısına girebilir. Ayrıca iki elektronun ters dönüş doğrultusunda olması gerekir. Yani yukarıya doğru dönen bir elektronun eşi, aşağıya doğru dönen bir elektrondur. Elektron çiftleri oldukça kararlıdır. Bir bağ koptuğunda elektronlar ya birlikte kalır ya da ayrılırlar. Eğer birlikte kalırlarsa

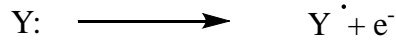
oluşan atom bir iyon olur, yok eğer ayrılırlarsa da serbest radikaller oluşur. Bu eşleşmemiş elektronlar yüksek enerjilidir ve eşleşmiş elektronları ayırıp işlerine engel olurlar. Bu işlem serbest radikalleri hem tehlikeli hem kullanışlı yapar. Radikaller yüksek enerjili, çok etkin, kısa ömürlü, izole edilemeyen ara ürünlerdir (Akkuş, 1995).

İçinde bulunduğumuz çevrede çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle devamlı bir radikal yapımı vardır. Nerede ve nasıl üretildiklerine bakılmaksızın, radikaller başlıca 3 temel mekanizma ile oluşurlar (Kılınç, 2002).

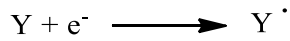
Kovalent Bağların Homolitik Kırılması: Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık (500 - 600 °C) kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalıyorsa, bu tür kırılmaya homolitik kırılma denir ve her iki atom üzerinde de paylaşılmamış elektron kalır. Paylaşılmamış elektron taşıyan türler radikalik özellik gösterirler (Kılınç, 2002).



Normal Bir Molekülün Elektron Kaybetmesi: Radikal özellik göstermeyen bir molekülden elektron kaybetmesi sonucu dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kalıyorsa, radikal formu oluşur (Kılınç, 2002).



Normal Bir Moleküle Elektron Transferi: Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşturuluyorsa, bu tür indirgenme radikal oluşumuna neden olabilir (Kılınç, 2002).



En sık karşılaşılan serbest radikaller, bazı reaktif oksijen türleri ve onların bazı temel özellikleri tablo 1.1. de verilmiştir (Dündar ve Aslan, 1999). Hücrel koşullarda önemli miktar ve çeşitlilikte serbest radikal üretilir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijen ve azottan oluşan radikallerdir (Halliwell ve Auroma, 1998).

Biyolojik sistemdeki radikallerin çoğunluğunu serbest oksijen radikalleri oluşturur. Bunların büyük kısmı aerobik solunum sırasında mitokondrilerde indigenmiş karbon birimlerinden alınan elektronların çeşitli elektron taşıyıcılarından geçerek en son elektron

alıcısı olan moleküler oksijene transferi esnasında meydana gelir. Oksijenin kısmi indirgenmesi sonucu serbest oksijen radikalleri oluşur. Oksijenin tam olarak indirgenmediği reaksiyonlarda ise son ürün daima sudur.

Tablo 1. 1. Bazı serbest radikaller, bazı reaktif oksijen türleri ve temel özellikleri

Adı	Simgesi	Özelliği
Hidrojen Radikali	H•	Bilinen en basit radikal
Süperoksit Radikali	O ₂ • ⁻	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünü
Hidroksil Radikali	•OH	En toksik oksijen metaboliti radikali
Hidrojen Peroksit	H ₂ O ₂	Reaktivitesi düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf
Singlet Oksijen	¹ O ₂	Yarılanma ömrü kısa, güçlü oksidatif form
Peroksil Radikali	ROO• ⁻	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipitlere lokalize olma yeteneği güçlü
Triklorometil Radikali	CCl ₃ •	CCl ₄ metabolizması ürünü, karaciğerde üretilen bir radikal
Tiyil Radikali	RS•	Sülfürlü ve çiftlenmemiş elektron içeren türlerin genel adı
Alkoksil Radikali	RO•	Organik peroksitlerin parçalanması ile oluşan oksijen metaboliti
Azot Monoksit	NO	L-arjininden vücut içinde üretilir
Azot Dioksit	NO ₂	NO'nin oksijen ile reaksiyonundan üretilir

1.1.1. Süperoksit Anyon Radikali (O₂•⁻)

Moleküler oksijen (O₂), iki çiftleşmemiş elektron içerir, bu sebeple kendisi de bir di radikaldir. Bu özelliğinden dolayı diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girebilir. Moleküler oksijenin bir elektron indirgenmesiyle süperoksit (O₂•⁻), iki elektron indirgenmesiyle hidrojen peroksit (H₂O₂) ve üç elektron indirgenmesiyle hidroksil radikali

(•OH) meydana gelir. Hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hipoklorik asit (HOCl) gibi bazı oksijen türevleri radikalik özellik göstermemesine rağmen son derece aktif olmaları sebebiyle diğer oksijen radikalleri ile birlikte sınıflandırılırlar.

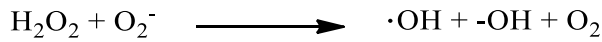
Süperoksit radikali aerobik hücrelerde oldukça sık oluşur. Fakat daha çok elektron transfer sistemlerinde meydana gelir. Bunu yanında pek çok enzimatik ve enzimatik olmayan yollarla da meydana gelebilir (Tekkes, 2006).

Hem çevresel etkenler, hem de organizmalardaki enzimatik ve enzimatik olmayan tepkimelerle en çok ve en kolay oluşan oksijen radikali süperoksit radikalidir. Serbest süperoksit radikal anyonu (O₂^{•-}) hemen hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu meydana gelir. Süperoksit anyonu ve hidroksil radikali diğer moleküllerden elektronları çektiğinden, oksitleyici ajanlar olarak kabul edilirler. Ayrıca süperoksit radikali aldığı elektronu başka bir elektron alıcıya vererek tekrar oksijene oksitlenebilir ve böylece bir indirgeyici (redüktör) olarak da davranabilir (Tekkes, 2006).

1.1.2. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksit meydana gelir. Peroksit molekülü de iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksidi (H₂O₂) oluşturur.

H₂O₂, membranlardan geçebilen uzun ömürlü oksidandır. Kendisi bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Geçiş metal iyonları varlığında daha da hızla gerçekleşen bir reaksiyonla süperoksit anyon radikali ile birlikte en reaktif radikal olan hidroksil radikalini oluşturur.



Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir. “Haber-Weiss” reaksiyonu katalizörlü veya katalizörsüz oluşabilir. Fakat, katalizörsüz reaksiyon oldukça yavaş ilerler. Katalizör olmayınca ortamdaki H₂O₂ ve O₂^{•-} antioksidanlar tarafından kolayca ortamdan uzaklaştırılır.

1.1.3. Hidroksil Radikali (•OH)

Hidroksil radikali, kimyada en aktif radikal olarak bilinir. Bu nedenle vücut içerisinde oluşan bir •OH radikali hemen her moleküle saldırır ve etkileştiği yerde de büyük hasara neden olur.

Hidroksil radikali, hidrojen peroksitin geçiş metalleri varlığında indirgenmesi ile (Fenton reaksiyonu) oluşan son derece reaktif bir radikaldir. Ayrıca hidrojen peroksitin süperoksit radikali ile reaksiyonu sonucunda da Haber-Weiss reaksiyonu meydana gelir. Bu reaksiyon katalizörsüz çok yavaş olduğu halde Fe⁺³ katalizörlüğünde çok hızlı oluşur.

1.1.4. Singlet Oksijen (¹O₂)

Singlet oksijen, ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Oksijenin yüksek enerjili ve mutajenik formudur. Oksijenin eşleşmemiş elektronlardan birinin verilen enerji sonucu bulunduğu orbitalden başka bir orbitale veya kendi spininin ters yönünde yer değiştirmesiyle oluşur (Tekkes 2006).

1.2. ANTIOKSİDANLAR

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya mevcut radikalleri süpürerek hücrenin zarar görmesini engelleyen ve yapısında genellikle fenolik fonksiyon taşıyan moleküllerdir (Nagai, 2005).

Antioksidanların özelliği, kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötralize etmeleri ve bu sırada serbest radikal haline gelmemeleridir.

Antioksidanların insan sağlığındaki yerini belirleyen en önemli faktörler, onların kimyasal yapıları, çözünürlükleri, yapı aktivite ilişkileri ve doğal kaynaklardan elde edilebilmeleridir (Kaur ve Kapoor, 2001).

Canlı sistemlerde gerçekleşen bütün fizyolojik süreçler; enzim, hormon ve izolemler gibi farklı ajanlar tarafından yönetilen oksidasyon ve indirgenme reaksiyonlarının kompleks kombinasyonlarını içerir. Canlılarda redoks dengesinde meydana gelebilecek herhangi bir değişiklik, hücrelerin ve doku fonksiyonlarının bozulmasına sebep olabilir. Antioksidan maddeler dokularda doğal olarak bulunur ve farklı oksidasyon reaksiyonlarını düzenler. Ayrıca, antioksidan maddeler veya antioksidan savunma sistemlerinde bulunan bazı bileşenlerin endojen sentezinde meydana gelebilecek bir yetersizlik, farklı hastalık türlerini meydana getirebilir (Cuttler ve Pryor, 1984).

Besin endüstrisinde antioksidanların kullanılmasının nedeni genellikle istenmeyen kokuşmaların ve bozunmaların önlenmesidir. Bu istenmeyen özellikler bitkilerde enzimatik olmayan peroksidasyon veya lipoksigenaz enzimlerinin çalışması sonucu ortaya çıkan hidrojen peroksit nedeniyle görülür. Bu nedenlerle antioksidanlar lipid peroksidasyonunu engelleyen ve böylece besin bozunmasını önleyen maddelere eşdeğer

tutulmuştur. Ancak, insan gastrointestinal sisteminde ve vücut dokularında protein ve DNA’larda oluşturulacak oksidatif hasar da en az besin bozunması kadar önemlidir. DNA’nın oksidatif olarak hasar görmesi kanser oluşumu için önemli bir risk faktörü oluşturabilir. Bu nedenle diyetle bulunan ve bu tür hasarları engelleyebilen maddeler antikanser etkileri nedeniyle önemlidir. Bunun sonucu olarak antioksidan tanımı genişletilmiş ve “oksitlenebilen substratlarla karşılaştığında, düşük derişimlerde, substratın oksidasyonunu geciktiren veya önleyen madde” olarak tanımlanmıştır. “Oksitlenebilen madde” terimi besin ve canlı dokulardaki proteinler, lipitler, karbohidratlar ve DNA’da dahil olmak üzere her şeyi (su hariç) içerir (Karagözler ve Aktaş, 2005).

1.2.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

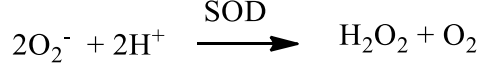
Antioksidanları birçok kategoride sınıflandırabiliriz. Yapılarına göre, enzimatik ve nonenzimatik; çözünürlüklerine göre, suda ve yağda çözünenler; yerleşimlerine göre, intrasellüler (hücre içi) ve ekstrasellüler (hücre dışı), kaynaklarına göre endojen ve eksojen olarak sınıflandırılabilirler. Normal fizyolojik koşullarda hücreler, serbest radikal ürünleri ve peroksitler gibi moleküllerin neden olabileceği oksidatif hasara karşı, antioksidan savunma sistemleri tarafından korunur. Antioksidan savunma sistemleri enzimatik ve enzimatik olmayan iki kategoride incelenebilir (Rice-Evans, 1997).

Tablo 1. 2. Antioksidanların sınıflandırılması

<u>Enzimatik Antioksidanlar</u>	<u>Enzimatik Olmayan Antioksidanlar</u>	
	<u>Doğal Antioksidanlar</u>	<u>Yapay (Sentetik) Antioksidanlar</u>
Süperoksit dismutaz (SOD) Selenyum bağımlı glutasyon peroksidaz (GPx) Glutasyon- S- transferz (GST) Katalaz Glutasyon redüktaz (GR)	Vitamin C α - tokoferol Polifenolik bileşikler Karotenoidler	Bütillenmiş hidroksiasinol (BHA) Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) Gallik asit türevleri Tersiyer bütihidrokinon (TBHQ) Nordihidroguareyetik asit (NDGA)

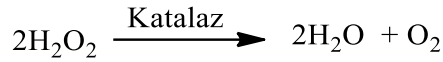
1.2.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

a) Süperoksit dismutaz (SOD): Süperoksiti hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çeviren reaksiyonu katalizleyen bir metaloenzimdir.



Bu reaksiyon “oksidatif strese karşı ilk savunma” olarak da isimlendirilir. Çünkü, süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki O_2^- düzeyleri kontrol altında tutulur.

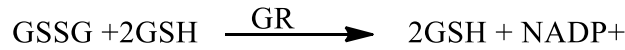
b) Katalaz: Katalaz, peroksizomlarda lokalize ve yapısında 4 “hem” grubu bulunan bir hemoproteindir. Karaciğer ve eritrositlerde en yüksek aktiviteye sahiptir. SOD aracılığı ile oluşan hidrojen peroksit bir radikal olmamasına karşın en reaktif tür olan $\bullet\text{OH}$ radikalinin öncüsü olması nedeniyle en fazla oksidatif hasara sebep olur. Katalaz hidrojen peroksiti su ve oksijene parçalar.



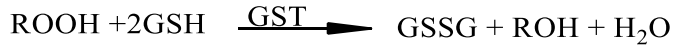
c) Glutasyon peroksidaz (GPx): Glutasyon peroksidaz, hidrojen peroksit ve büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerinin indirgenmesinden sorumludur. GPx, aşırı hidrojen peroksit varlığında glutasyonun (GSH) okside glutatyona (GSSG, glutasyon disülfür) oksidasyonunu katalize ederken, hidrojen peroksiti de suya dönüştürür (Demirsoy *vd.*, 2003).



d) Glutasyon redüktaz (GR): GPx tarafından H_2O_2 ve diğer lipid peroksitlerin indirgenmesi esnasında glutasyon okside glutatyona dönüşmektedir. Bu okside halin tekrar redükte GSH’a dönüştürülmesi gereklidir. Çünkü organizmanın glutasyon deposu sınırlıdır. GR, NADPH varlığında glutasyon disülfiti (GSSG) tekrar redükte glutatyona (GSH) çevirir.



e) Glutasyon-S-transferaz (GST): Lipid hidroperoksitlere (ROOH) karşı GST’ lar Se-bağımsız glutasyon peroksidaz aktivitesi gösterirler.

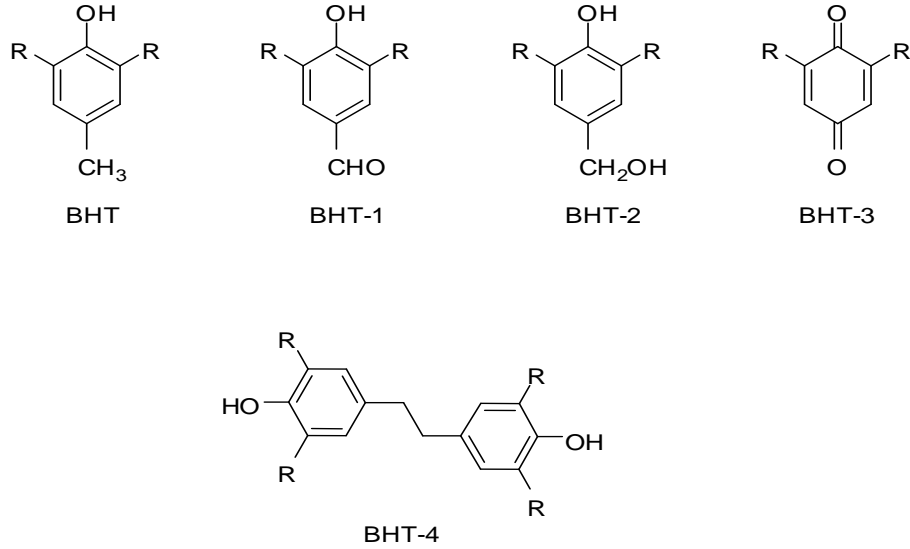


1.2.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

1.2.1.2.1. Sentetik Antioksidanlar

Kimyasal prosesler sonucu üretilen antioksidanlardır. Besinlerdeki sıvı ve katı yağların oksitlenerek bozunması istenmeyen koku ve tatların oluşmasını takiben sekonder olarak besin kalitesinde ve güvenliğinde azalmaya neden olan toksik potansiyel taşıyan bileşiklerin oluşmasına neden olur. Besinlerin tat, renk ve vitamin değerlerinin korunması için antioksidan ilavesi gerekir. Endüstride daha çok aşağıda açıklanan sentetik antioksidanlar kullanılır.

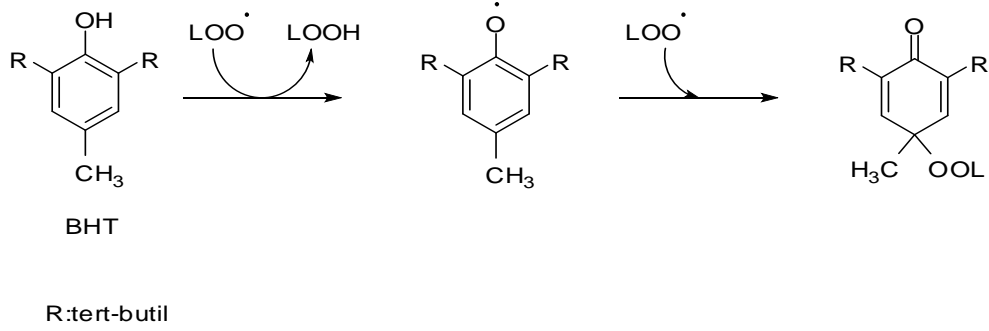
a) Bütilenmişhidroksitoluen (BHT): Bütilenmişhidroksitoluen en çok kullanılan antioksidanlardandır. BHT ilk defa soya yağının otoksidasyonunda bozunma ürünleri tayin edilerek fark edildi. BHT içeren soya yağı ultraviyole ışığına maruz bırakılacak olursa bozunma ürünleri olan BHT-1, BHT-2, BHT-3 ve BHT-4 oluşur (Hudson,1990).



R:tert-butil

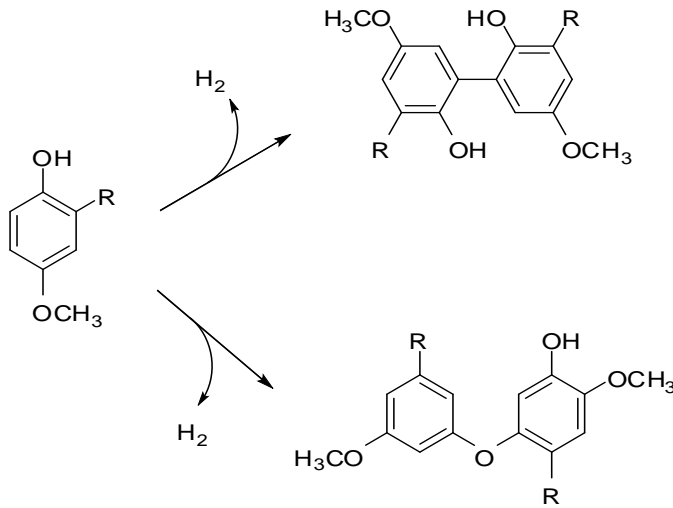
Şekil 1. 1. BHT 'nin farklı türleri

BHT yağlar ve yağ asitlerinin oksidasyonunda okside olmuş lipidlerle verdiği reaksiyon sonucu peroksit radikallerinin etkisini yok eder (Hudson,1990).



Şekil 1. 2. BHT 'nin yağ ve yağ asitlerinin oksidasyonuna etkisi

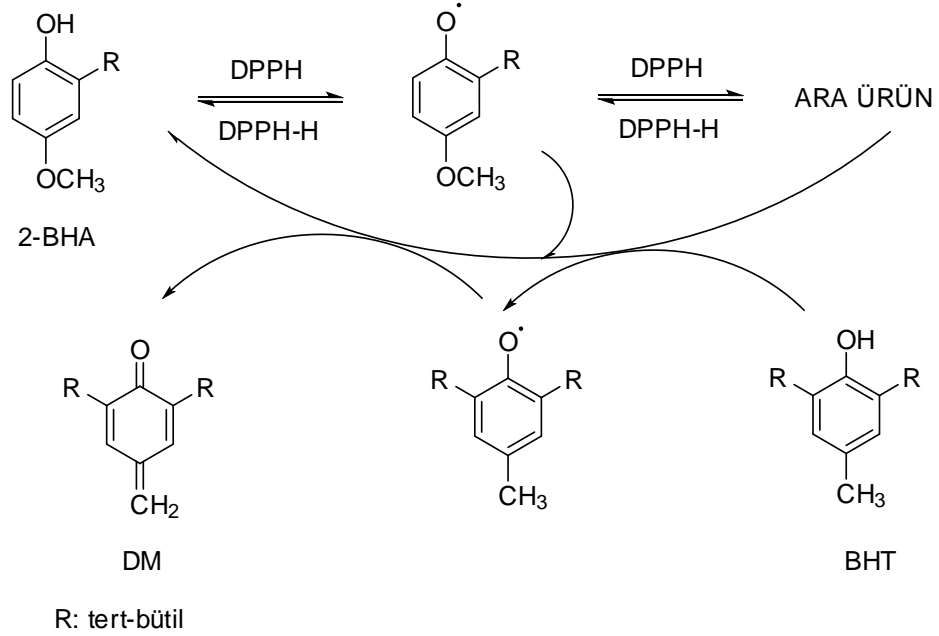
b) Bütilenmişhidroksianisol (BHA): Yiyeceklerde antioksidan olarak kullanılan bütilenmişhidroksianisol(2-BHA ve 3-BHA) 2- ve 3-izomerlerinin 9:1 karışımıdır. 2-BHA'nın kimyasal oksidasyonunda bifenil tipi dimeri olan BHA-1 oluşur. Alkolde 2-BHA ve 3-BHA izomerleri ultraviyole ve görünür ışıktan etkilenir. Benzende 2- BHA ultraviyole ışıpta iki farklı oksidasyon ürünleri olan ve BHA-2 oluşturur (Hudson,1990).



Şekil 1. 3. BHA 'nın farklı türleri

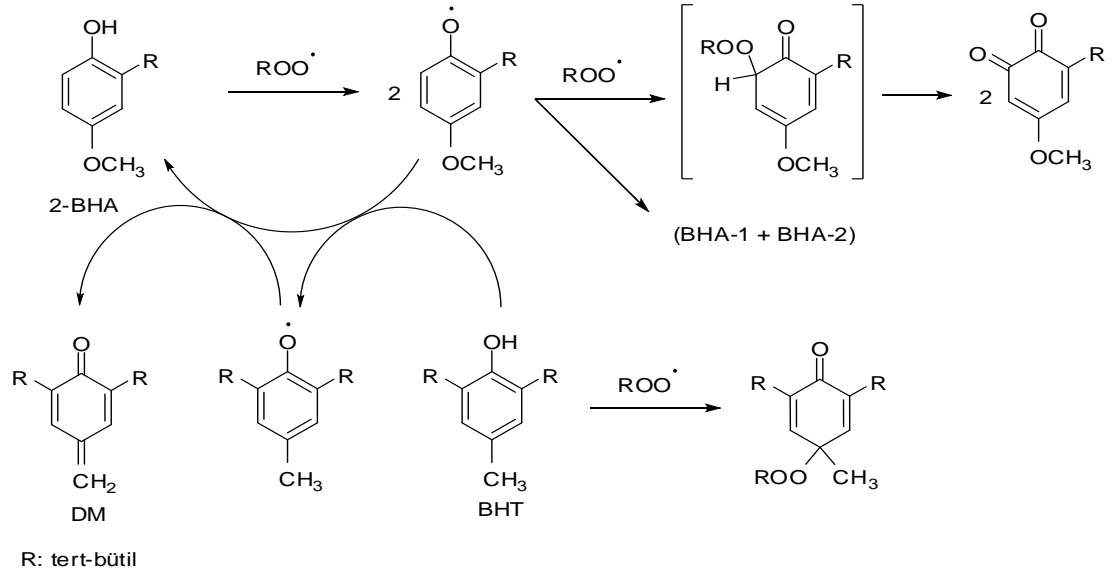
c) BHT ve BHA' nın Antioksidan Aktiviteleri: BHT ve BHA sentetik antioksidan madde olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Şekilde BHT ve BHA ile DPPH arasında meydana gelen reaksiyonlar gösterilmiştir. 2-BHA ve BHT ortama hidrojen atomu

verebilmesi sonucu farklı radikalik ürünler meydana gelir. DPPH ve 2-BHA DPPH'ın aşırı miktarda 2-BHA ile reaksiyonundan DPPH, 2-BHA ve DM (2,6-diterbütilkinon metit) meydana gelir. 2-BHA ve DPPH arasındaki reaksiyondan kararlı ara ürün oluşur. Bu ara ürün peroksit radikalleri 2-BHA'nın tekrar oluşumu için BHT reaksiyona girer. Bu proses DPPH'ın hidrojeni tutması 2-BHA ve BHT arasındaki etkilere bağlıdır (Hudson,1990).



Şekil 1. 4 BHT ve BHA'nın DPPH ile meydana gelen reaksiyonları

BHT ve 2-BHA karışımı, lipid peroksidasyonuna karşı birlikte etki göstererek, peroksit radikalleri ile olan reaksiyonları engeller ve etkili reaksiyon verir. BHT ve 2-BHA'nın hidrojen verici olması BHT ve 2-BHA karışımının antioksidatif etkisinin sonucudur (Hudson,1990).



Şekil 1. 5. BHA ve BHT nin peroksit radikallerine etkileri

d) Tersiyerbütülhidrokinon (TBHQ): Kızartma yağlarını oksidasyona karşı korumak için en iyi antioksidan olarak bilinmektedir. Kızartma işlemi bitmiş ürünleri de korumaktadır. Bej renkli bir toz olan TBHQ, katı ve sıvı yağlarda çözünür. Diğer sentetik antioksidanların aksine bitkisel yağlar için en etkili sentetik antioksidandır. Yüksek sıcaklıklara dayanıklıdır (Keskin ve Erkmen, 1987).

Tek başına veya BHA, BHT ile birlikte kullanımı vardır. Sitrik asit ile karıştırıldığında, stabilize edici özellik kazanmaktadır. Avrupa Birliği ülkelerinde kullanımı yasaklanmıştır (Çakmakçı ve Çelik, 2000).

e) Gallatlar: Gallik asitin en fazla kullanılan esterleri, propil gallat, oktil gallat, dodesil gallat ve lauril gallattır. Bunlar suda çözünmezler, yağda yalnız oktil ve dodesil gallatlar iyi çözünür. Propil galat, beyaz kristal toz olarak satılır ve suda çok az çözünür. Erime noktası 148 °C olup, bu derecenin üzerinde etkisini kaybeder. ABD Gıda ve İlaç İdaresinin (FDA)'nın izniyle gıdalarda 1947'den beri kullanımı giderek yaygınlaşmış sentetik bir antioksidandır. (URL-1)

Gallatların kullanılmasında toplum sağlığı ve gıda hijyeni açısından olumsuz hiçbir bilgi ileri sürülmemektedir (Çakmakçı ve Çelik, 2000).

f) Nordihidroguareyetik asit (NDGA): NDGA, toksik etkisi yüksek, yağdaki çözünürlüğü az olan bir antioksidandır. Gıdalara % 0,01 oranında katılır, pişirilmiş besinlerde bile etkisini korur (Keskin ve Erkmen, 1987).

1.2.1.2.2. Doğal Antioksidanlar

Doğal antioksidanlar hemen hemen tüm bitkilerde, meyvelerde, sebzelerde, mikroorganizmalarda, mantarlarda hatta hayvansal dokularda da bulunmaktadır.

Son yıllarda sentetik antioksidanların kendilerinin ya da bulundukları ortamda oluşturdukları yan ürünlerinin kanserojen olduğu veya sağlığa olumsuz etkilere neden olduğu pek çok araştırmacı tarafından gözlemlenmiştir. Bunun sonucu olarak da doğal kaynaklı antioksidanlara olan eğilim gittikçe artmaktadır.

a) C-Vitamini (L-askorbik asit): C vitamini suda çözünen vitaminlerden olan askorbik asit özellikle taze yeşil sebze, meyve ve turunçgillerde bol miktarda bulunur. Çok güçlü bir indirgeyici ajan olan C vitamini, süperoksit ve hidroksil radikalleri ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler.

Askorbik asit bitkisel ve hayvansal dokularda bulunur, mikroorganizmalarda bulunmaz. İnsanlarda askorbik asit sentezlenemez, dışarıdan alınması gerekir. C vitamininin koenzim şekli yoktur ve vitamin şekliyle etkisini gösterir, oldukça güçlü bir asit ve güçlü bir indirgeyicidir, anyon halinde indirgenme gücü kat kat artar. Bu nedenle metabolizmada antioksidan olarak etkindir.

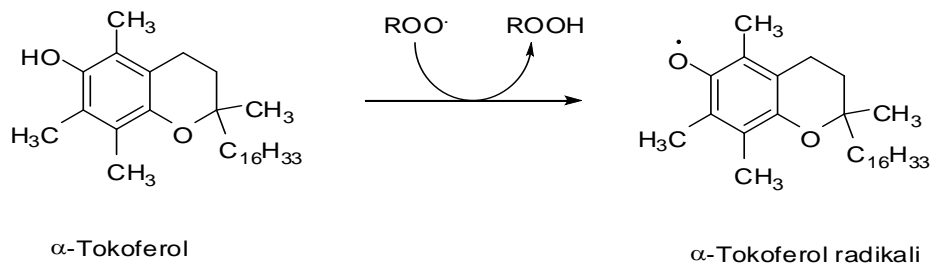
Çeşitli besin maddelerinde acılaşıma, ekşime ve renk değişimini önler. C vitamininin koroner kalp hastalıklarına karşı koruyucu olduğu düşünülür. Çünkü LDL oksidasyonunu önler. Ayrıca doku yapımında ve onarımında rol alır, bağışıklık sistemini güçlendirir, kanserin önlenmesinde etkilidir, demirin vücutta kullanılmasına yardımcı olur ve sigaranın olumsuz etkilerini azaltır (Tütem ve Apak, 1991).

b) E-Vitamini (α -tokoferol) ve Trolox: Doğada en yaygın bulunan antioksidanlardandır. Bitkisel yağlardaki en önemli antioksidanları oluşturlar. Hayvansal yağlarda daha az miktarda tokoferol bulunur. Bu tokoferoller de hayvanlara bitkisel bazlı beslenmeleri sonucu bitkilerden hayvanlara geçer. E vitamini doğada α -, β -, δ -, γ -, tokoferol ve tokotrienollerin oluşturduğu 8 farklı izomerik yapıda bulunmaktadır. Özellikle α -tokoferol, yüksek biyolojik aktivite göstermektedir. α -Tokoferol vitaminlerin en güçlüsü ve yiyeceklerde en geniş şekilde yayılmış olanıdır (Landvik vd.,1998).

E vitamini, hücre membran fosfolipitlerindeki, poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur (Ünlü, 2001). Bir molekül α - tokoferol 100 molekül poliansatüre yağ asidinin peroksidasyonunu engelleyebilir (Akkuş, 1995).

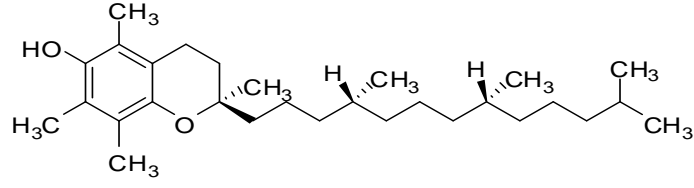
Hemen hemen tüm gıdalarda eser miktarda bulunurlar. Bu gruptaki en önemli antioksidan E vitamininin en aktif formu olan α -tokoferoldür. Tokoferoller, hidroksil grubunun hidrojeni lipid peroksil radikaline vererek antioksidatif aktivite göstermektedirler. Tokoferoller ısıya karşı oldukça dayanıklıdırlar. α -tokoferolün oksidatif stabiliteyi arttırmada ve sıcaklık arttıkça oksidasyon hızını azaltmada etkili olduğu bildirilmiştir.

Güçlü ve doğal bir antioksidan olan E vitamini, membran lipidlerini serbest oksijen radikallerinden koruyan ilk savunmayı gerçekleştirir. Süperoksit ve hidroksi radikallerini, singlet oksijeni ve lipid peroksit radikallerini süpürme yeteneği vardır. Taşıdığı fenolik hidrojeni peroksidasyona uğramış çok doymamış yağ asidindeki serbest peroksit radikallerine aktararak serbest radikal zincir reaksiyonlarını sonlandırmaktadır. Oluşan serbest fenoksi radikali daha sonra bir serbest peroksit radikali ile reaksiyona girer ve böylece geriye dönüşümlü oksidasyona uğramayan α -tokoferol, kroman halkası ve yan zinciri serbest radikal olmayan ürünlere yükseltgenmektedir. Oluşan oksidasyon ürünü, halka üzerindeki hidroksil grubu üzerinden glukuronik asit ile konjuge olarak safra salgısı ile atılmaktadır (Şekil 1. 6). Özellikle yer fıstığı, badem, pamuk gibi bitkilerin yağlarında ve keten tohumlarında bol bulunan E vitamini antioksidan özelliğinin yanı sıra, hücrede sinyal iletim mekanizmasındaki bazı basamaklar üzerinden hücre çoğalmasını da etkilemektedir. Ayrıca E vitamininin kalp hastalığı oluşma riskini azalttığı birçok araştırma ile gösterilmiştir (Hudson,1990).

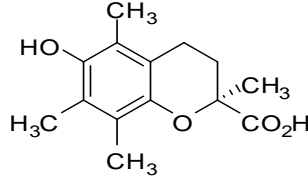


Şekil 1. 6. α -tokoferol radikalinin oluşumu

α -tokoferolün suda çözünen analogu troloxtur.



Tokoferol



Troloks

Şekil 1. 7. α -tokoferol ve troloxun yapısı

c) Polifenolik Bileşikler: En az bir aromatik halka ve buna bağlı bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren kimyasal yapılardır. Bu maddeler bitkilerde yaygındırlar ve bitki metabolizmasında ikincil metabolit olarak ortaya çıkarlar. Bu bileşikler ve özellikle bir alt sınıf olan flavonoidler sahip oldukları ekolojik rol, antioksidan, kansere karşı gösterdiği aktivite ve gıda kalitesine olan katkılarından dolayı önemlidirler. Polifenolik bileşikler potansiyel antioksidan bileşiklerdir ve serbest radikalleri önleyerek, metalleri tutuklayarak ve lipid peroksidasyonunu önleyerek işlev görürler (Durmaz, 2002).

d) Karotenoidler: Birçok bitki, alg ve küçük organizmalarda bulunan karotenoidler yağda çözünebilen doğal antioksidanlardır. 600'den fazla karotenoid çeşidinin var olduğu bilinmektedir. Karatenoidlerin çoğunun temel yapısı poliizoprenoidden oluşmaktadır (Deming *vd.*,2002). Yapıda bulunan çifte bağlardan dolayı sarı, portakal veya kırmızı renktedirler. Karotenoidler, oldukça etkili reaktif oksijen türleri süpürücüleridir. Karotenoidlerin antioksidan aktivitesi, yapısındaki konjuge çifte bağlardan ileri gelmektedir. Karoten, karotendioksigenaz enziminin merkezdeki çift bağı koparmasıyla A vitaminine dönüşür.

Besinlerde bulunan en önemli karotenoidler β -karoten, α -karoten, likopen, lutein ve β -kriptoksantindir.

1.3. TRIAZOLLER

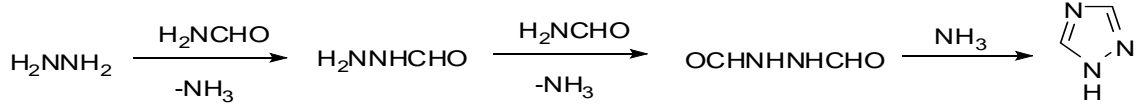
Triazoller ilk olarak 1880'li yıllarda Bladin (1885) ve Andreocci (1889) tarafından bilim dünyasına tanıtılmış ve bu konudaki çalışmalar günümüze dek yoğun bir

şekilde devam etmiştir. Konuyla ilgili olarak Potts tarafından 1961 yılında bir “Derleme” (Pott, 1961) Temple tarafından da 1981 yılında “Triazols” adlı kitap yayınlanmıştır (Temple, 1981)

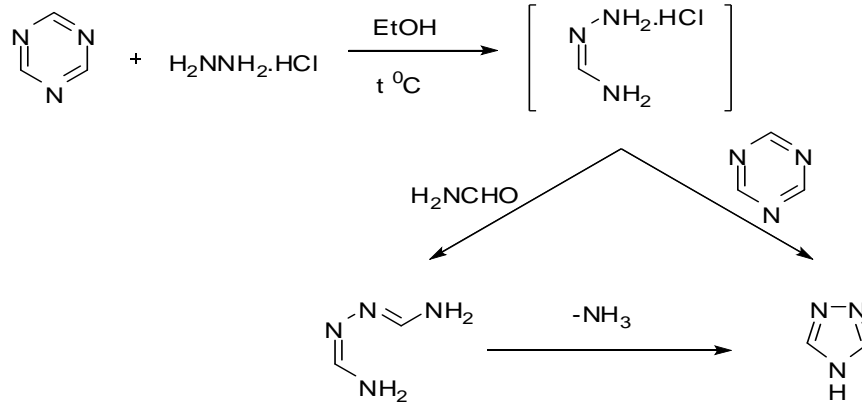
Triazoller, zayıf bazik karakter gösteren bileşiklerdir. 1,2,4-triazoller, aromatik özelliklerinde, bazlıklarında ve stabilliklerinde 1,2,3-triazollere benzerler. Oksitleyiciler yan zinciri oksitler, halkayı parçalayamazlar. Triazoller, KMnO_4 , CrO_3 , vs. gibi oksidanlara karşı genellikle dayanıklı bileşiklerdir, ancak redükleyicilere karşı hassastır. Azot atomundaki hidrojen metaller ile yer değiştirir (İkizler, 1996; Çetin, 2004).

Aromatik karakterdeki 1,2,4-triazol halkasında hidrojen taşıyan azot atomunun elektronik durumu pirol halkasının azot durumuyla aynıdır. Halkadaki diğer azot atomlarının elektronik durumu ise diazollerdeki hidrojen taşımayan azot atomuna benzer (Fessenden, 1992; Çetin, 2004).

Triazol halkası üzerinde çalışmalar, 1885’de Bladin ve Pelizzari’nin hidrazin ve formamidi reaksiyona sokarak ana halkayı sentezlemeleriyle başlar (Bladin, 1885; Fülöp, 1990; Çetin, 2004)



Bu reaksiyonda, verimin düşük ve değişken olması nedeniyle 1,2,4-triazol yapısının sentezi için farklı yöntemler denenmiştir. Sonraki yıllarda, hidrazin sülfat ile formamid reaksiyona sokularak verim % 53’e kadar yükseltilmiştir (Walker, 1990). Grundman ve Ratz (Grundmann, 1956), triazin ve hidrazin hidroklorürün reaksiyonu ile % 95 verimle 1,2,4-triazol elde ettiklerini bildirmektedirler. Bu reaksiyonda iki ayrı yöntem kullanılmıştır. İlkinde, oluşan ara ürün (amidrazon) bir mol s-triazin ile muamele edilerek direkt olarak s-triazol elde edilmiş; ikincisinde ise amidrazonun formamid ile reaksiyonu sonucunda oluşan üründen bir mol amonyanın uzaklaşmasıyla 1,2,4-triazol yapısı kazanılmıştır (Kocaaliler, 2008)



Literatürde triazol türevleriyle yapılan çalışmalarda antimikrobiyal (Doub, 1958), virostatik (Rusinov, 1990), sitostatik (Reader, 1987), antienflamatuar (Kathari, 1980), analjezik (Lewenstein, 1954), antikalzunvan (Gall, 1976), merkezi sinir sistemi depresanı (Tantwy, 1988), antihistaminik (Bonjean, 1987), hipotansif (Rusinov, 1990), diüretik (Shah, 1969), herbisit (Karyotikis, 1993), antihelmintik (El-Dawy, 1983), antifungal (Al Nakib, 1994), pestisit (Dedek, 1991), ve insektisital (Inaba, 1981) aktivitelere ulaşılmıştır. Bohm ve Karow (Böhm, 1981), farmakolojik etki verebilen triazol türevleri üzerinde yapılan araştırmaları bir “Derleme” de toplamıştır.

Triazol çekirdeği içeren herhangi bir doğal bileşiğe rastlanamamıştır. Ancak triazol yapısı, pek çok bileşiğin yapısında yer alan ve bazı önemli fizyolojik olaylarda rol oynayan maddelerin (Histamin, Histedin, B_{12} vitamini) yapısında bulunan imidazolün bir izo esteri sayılabilir (Kocaaliler, 2008).

Son yıllarda, antibakteriyel, fungusit, tuberkulostatik ve bitki büyüme özellikleri gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri içeren bis-heterosiklik bileşiklerin sentezi oldukça önem kazanmıştır. Ayrıca, son raporlar bisheterosiklik bileşiklerin, mono-heterosiklik bileşiklerden daha iyi antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu gösterilmiştir (Reddy, 2010).

Azol bileşikleri içinde S-süstitue triazoltiyonlar da antitüberküloz ve antibakterial özelliklere sahip bileşikler olarak bilinmektedir (Reddy, 2010).

Özellikle günümüzde mantar ilaçlarına karşı gelişen direnç sebebiyle bu tür triazol veya imidazol içerikli yeni bileşiklerin dizaynına yönelik pek çok çalışma yapılmaktadır. Senteze yönelik olarak yapılan çalışmalarda hemen hemen tüm triazol ve imidazol içerikli antimantar ilaçlarda triazol N-1 azotuna β - pozisyonunda bağlı bir hidroksi yada epoks

grubunun varlığı göze çarpmaktadır. Yani pek çok antimantar ilacın karbinol türevi olduğu dikkat çekmektedir. Buna yönelik bir çalışmada α -kloroasetofenon ile triazolün sodyum tuzunun reaksiyonundan bazı asetofenon türevleri elde edilmiş ve daha ileri basamaklarda grignard bileşikleri üzerinden flukonazol benzeri triazol türevlerinin sentezi gerçekleştirilmiştir (Itoh, 2004).

Özellikle triazol bileşiklerinin suda çözünme özelliklerinin son derece düşük oluşu sebebiyle suda çözünabilir özellikte antimantar aktiviteye sahip triazol türevlerinin dizaynına yönelik çalışmalara hız vermiştir (Narayanan, 1993).

Son yıllarda ağırlıklı imidazol halka sistemi ve daha düşük oranda 1,2,4-triazol halka sistemi esas alınarak çevreye uyumlu, son derece ‘‘ilginç çözücüler’’ olarak adlandırılan iyonik sıvıların dizaynına yönelik pek çok sentetik çalışma yapılmıştır (Nicholas, 2002; Xue, 2005; Harjani, 2006; Düğdü, 2007)

Son yıllarda yapılan çalışmalarda iyonik sıvılar yapısal olarak imidazol ve triazol bileşiklerinin en yoğunlukla kullanıldığı hetero halkaların kuarterner tuzlarını içermektedir. Bu tuzlar genellikle alkil amonyum, alkil fosfonyum, alkil 1,2,4-triazolyum, N,N-dialkilimidazolyum ve N,N-dialkiltriazolyum katyonlarıdır. Bu bileşiklerin sentezine ilişkin ana yol triazol ya da imidazol halkasının birincil olarak alkilenmesi, ikincil olarak oluşan N-alkil azol bileşiğinin kuarterner katyon oluşturmak üzere yeniden alkilenmesini içerir (Jin, 2005; Düğdü, 2007).

Tiyosemikarbazid yapısı içeren bileşiklerin siklizasyonunun 1,2,4-triazollerin sentezinde kullanılabileceği gösterilmiştir. Örneğin bu tür bileşiklerin bazik ortamda halka kapanması 1,2,4-triazol’lerin oluşumu ile sonuçlanmaktadır (Çetin, 2004; Çetin, 2009).

Aromatik gruplar içeren asit hidrazidlerin potasyum rodanür ile reaksiyonundan 1,2,4-triazol-5-tyon halkasını içeren bileşiklerin elde edildiği bildirilmiştir (Amir, 2004; Ceylan, 2006).

Günümüzde en çok ölümlerle sonuçlanan hastalıklardan biri olan kanserin tedavisi için de bugüne kadar değişik yöntemler geliştirilmiş ve bu bağlamda değişik yapılara sahip bileşikler tedavi edilme amaçlarıyla sentez edilmiştir. Yakın zamanlarda yapılan bir çalışmada, 1,2,4-triazol-5-on halkası içeren tipi arilidenhidrazidler, karşılık gelen hidrazidlerin uygun aldehitlerle reaksiyonundan elde edilmiş ve bu bileşiklerin meme kanserine karşı etkili oldukları belirlenmiştir (Ceylan, 2006).

Triazoller başlıca fungusid ve herbisid olarak kullanılan ve ekonomik olarak önemli olan tarımsal kimyasallardandır (Robin, 1950; Mir, 1970; Kane, 1990). Triadimefon ve triadimenolün, memelilerin merkezi sinir sistemleri (MSS) üzerinde biyolojik aktivitesi bulunduğundan sonra diğer triazollerin de benzer özellikleri gösterebileceği düşünülerek çalışmalar bu yöne kaydırılmıştır. O nedenle tarım kimyasalı olarak kullanımları bir ölçüde azalmıştır (Hakan, 1989; Lagorce, 1992).

1,2,4-triazol halkası içeren bileşikler pek çok faydalı pestisid aktiviteler ile sıklıkla ilişkilidir. 1970'lerin başlarında azol mantar öldürücüler sentezlenmiş ve çeşitli ürünlerin korunması için kullanılmıştır. Bu fungusitlerin bulunışundan bu yana çeşitli diğer 1,2,4-triazol bileşikleri keşfedilmiştir. Bu 1,2,4-triazol sterol biyosentez inhibitörlerinin tanıtımı, mantar hastalıklarının kimyasal kontrolünde önemli bir ilerlemeyi temsil ediyordu. Diğer taraftan, 1,2,4-triazol halkası içeren bazı yapılar, aynı zamanda mükemmel zararlı ot öldürücü aktivite göstermiştir (Wang, 2010).

1,2,4-triazol bileşiklerinin antibakteriyel ve antifungal etkilerinin yanısıra antiviral, antienflamatuar, antitüberküloz, antitümör, antikonvüsan, diüretik, antitüberküler ve platelet agregasyonunu inhibe edici etkileri olduğu bilinmektedir. Triazol halkasının süstitüsüyonu ile biyolojik kaktivitesi modifiye edilir. Amin, tiyon ve alkil süstitüe triazoller antiülser ve kan basıncını düşürücü aktiviteler gösterdiği gözlenmiştir (Cavalito, 1973; Prasad, 1989; Gates, 1988; Meguro, 1975; Dittich, 1989).

1,2,4-triazoller ve türevlerinin, antikonvüsan, antifungal, antikanser, antiinflamatuar ve antibakteriyel gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri ile ilişkili olduğu elde edilmiştir. 1,2,4-triazol halkası içeren çeşitli bileşikler de ilaç olarak bilinir. Örneğin, flukonazol antimikrobiyal bir ilaç olarak kullanılmıştır, vorozole, letrozol ve anastrozol kanser tedavisinde kullanılan non-steroidal ilaçlar iken loreclezole, antikonvulsan olarak kullanılır. Ayrıca, son yıllarda, 1,2,4-triazollerin bazı Schiff bazı türevleri ve bunların indirgenmiş türevleri, farmakolojik aktivitelere sahip olduğu tespit edilmiştir (Bekircan, 2006).

1,2,4-triazollerin bazı schiff bazı türevlerinin ve onların indirgenmiş türevlerinin de farmakolojik aktivitelere sahip olduğu bulunmuştur. Bu biyolojik veriler, Bekircan ve arkadaşlarını, bazı yeni bis-1,2,4-triazollerin türevlerinin sentezlemesine teşvik etmiştir. Çalışmalarında 1-bis-aldehit ile 4-amino-3-aril-5-fenil-4H-1,2,4-triazollerin reaksiyonlarının sonucu olan bis-schiff bazı türevlerin bir serisini ve bunların indirgenmiş

türevlerini IR, H-NMR, C-NMR ve kütle spektrometrisi ile sentezlemiş ve karakterize etmişlerdir (Bekircan, ve Bektaş, 2006).

Ayrıca 1,2,4-triazolün, tebuconazole, flutriafol, hexaconazole and cyproconazole gibi pek çok türevleri, potansiyel pestisit, herbisit ve antifungal özelliklere sahiptir (Yu, 2009).

1,2,4-triazol halka sisteminin değişik halka sistemleri ile kondanse edildiği türevlerde de antiinflamatuvar, antihelmintik, herbisit, sedatif ve kas gevşetici etkiler gözlenmiştir (Atkinson, 1954; Gall, 1976; George, 1984; Mori, 1985; Prasad, 1989).

1,2,4-triazoller tütün de haşarat kontrolü olarak kullanılmaktadır. Bu tür bileşikler haşaratın oluşmasını % 98 oranında azaltmıştır (Fülöp, 1990).

3-amino-1,2,4-triazol bileşiği ve türevleri birçok biyolojik ve fizyolojik etki gösterdiğinden geniş bir kullanım alanına sahiptirler (Yazıcı, 1998).

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada 3-amino-1,2,4-triazol bileşiğinin hücrelere zararlı etkileri olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, fareler üzerinde yapılan başka bir çalışmada, 6 ay süresince farelerin içme suyuna belirli bir oran da amitrol ilave edilmiş ve bu süre sonunda farelerin karaciğerinde kanserli hücrelerin varlığı saptanmıştır (Yazıcı, 1998; Erturan, 1997; Tezcan, 1974).

Yine fareler üzerinde yapılan bir çalışmada 3-aminotriazolün kolesterol biyosentezine ve safra asitine etkisi *invivo* olarak incelenmiştir. Sonuç olarak, 3-amino-1,2,4-triazolün farelere verilmesiyle safra asiti miktarının % 70'e düştüğü fakat karaciğerde değişmediği gözlenmiştir. Ayrıca, aynı çalışmada safradaki kolesterol miktarının yaklaşık % 80'e kadar önemli bir düşüş gösterdiği, fakat karaciğerdeki ve serumdaki miktarının önemli oranda değişmediği gözlenmiştir (Yazıcı, 1998; Hadjoudis, 1979).

Son yıllarda yapılan iki ayrı çalışmadan birinde, amitrolün H₂O₂ varlığında laktoperoksidazlara inhibitör olarak etki ettiği diğerinde ise 3-amino-1,2,4-triazol bileşiğinin beyindeki katalaz aktivitesini önlediği bildirilmiştir (İkizler, 1996; Yazıcı, 1998; Pandeya, 2000).

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Trolox, 2, 2'-Azino-bis(3-etilbenztiyoazolin-6-sülfonik asit) (ABTS), butillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmişetilhidroksitoluen (BHT), 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH·) radikali, 3-(2-piridil)-5,6-bis (4-fenil-sülfonik asit)-1,2,4-triazin (ferrozin), α - tokoferol, ve trikloroasetik asit (TCA), $[K_3Fe(CN)_6]$, $FeCl_3$, $FeCl_2 \cdot 4H_2O$, metanol, dimetil sülfoksit (DMSO), etanol, NaH_2PO_4 , KH_2PO_4 , $K_2O_8S_2$.

2.2. Kullanılan Cihazlar

UV-VIS Spektrofotometre	: Shimadzu, UV-1208.
pH-metre	: Thermo Scientifik Orion 3 Star PH Benchtop.
Hassas terazi	: DenveSI-234.
Etüv	: Nüve Dry Heat Sterilizer FN 120
Otomatik pipetler	: Biohit, Socorex ve Oxford Pipettors.
Vorteks	: Fisons.
Saf su cihazı	: Firstream Calypso MK 1 Glass Still.
Magnetik karıştırıcı	: IKA C-MAG HS7.
UV-Spektrofotometre küveti	: 3 cm ³ 'lük Kuartz Küvet.

2.3. Çözeltilerin Hazırlanması

2.3.1. Stok Çözeltiler

1 ve 2 nolu maddelerin her birinden 10 mg tartıldı. Bu maddelerin üzerine 100 mL DMSO eklendi ve çözüldü. 3 ve 4 serili maddelerin tamamında 10 mg madde ve 100 mL etanol eklenerek stok çözeltiler hazırlandı.

2.3.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

1. DPPH çözeltisinin hazırlanması: 10mg DPPH 400 mL etil alkolde karanlıkta çözüldü. Alüminyum folyo ile sarıldı ($M_A=394,5g/mol$).

2.3.3. İndirgeme Gücü

1. 0,2 M Fosfat tamponu hazırlanması (pH:6,6) : 2,400 gr NaH_2PO_4 , 100 mL destile suda çözünerek toplam hacmi 100 mL tamalandı ve 1 M'lık NaOH çözeltisi ile pH'sı 6,6'ya ayarlandı.

2. % 1'lik $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ Çözeltisi Hazırlanması: 1,000 gr $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ destile suda çözünerek toplam hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

3. % 10'luk TCA Çözeltisi Hazırlanması: 7,500 gr TCA destile suda çözünerek toplam hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

4. % 0,1'lik FeCl_3 Çözeltisi Hazırlanması: 0,100 gr FeCl_3 destile suda çözünerek toplam hacmi 10 mL'ye tamamlandı.

5. 1 M NaOH Çözeltisi Hazırlanması: 4,000 gr NaOH alındı destile suda çözünerek 100 mL tamamlandı.

2.3.4. ABTS^{•+} Giderme Aktivitesi

1. 0,1 M'lık fosfat tamponunun hazırlanması (pH:7,4): 2,730 g. KH_2PO_4 , 180 mL destile suda çözüldü. 1 M'lık NaOH çözeltisi ile pH'sı 7,4'e ayarlandı. Toplam hacim destile su ile 200 mL'ye tamamlandı.

2. ABTS çözeltisinin hazırlanması: 11 mg ABTS 0,1 M'lık ve pH'sı 7,4 olan fosfat tamponunda tamamen çözününceye kadar bir gece boyunca karıştırıldı.

3. 2,45 mM'lık potasyum persülfat çözeltisinin hazırlanması: 66,250 mg $\text{K}_2\text{O}_8\text{S}_2$, 0,1 M'lık ve pH'sı 7,4 olan fosfat tamponunda tamamen çözününceye kadar manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Toplam hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

2.3.5. Metal Şelatlama Aktivitesi

1. 2 mM'lık FeCl_2 çözeltisinin hazırlanması: 0,014 g $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ alındı ve 50 mL metanolde çözüldü.

2. 5 mM'lık ferrozin çözeltisinin hazırlanması: 0,0062 g Ferrozin 25 mL mutlak etanolde tamamen çözününceye kadar karıştırıldı.

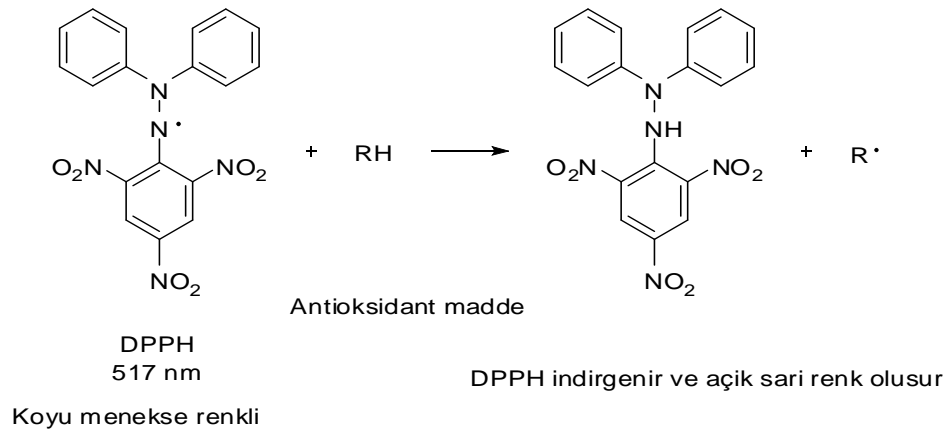
2.4. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

2.4.1. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

Numunelerin serbest radikal giderme aktiviteleri Blois metoduna göre DPPH• kullanılarak çalışıldı (Blois, 1958). Metod prensibi serbest radikal toplayıcıların renkli serbest radikal olan DPPH•'ı indirgenmesine dayanır. DPPH• kırmızı renkli kararlı bir

serbest radikaldir. Serbest radikaller, antioksidanlar tarafından giderildiğinde renk kırmızıdan sarıya döner. Reaksiyon karışımının 517 nm'deki absorbansın düşmesi yüksek serbest radikal aktivitesinin göstergesidir.

DPPH radikali 517 nm dalga boyunda spektrofotometrede koyu menekşe bir renk verir. DPPH radikali şekil 2.1'de görüldüğü gibi antioksidan bir madde ile reaksiyona girdiği zaman redüklenecek koyu menekşe olan rengi açık sarıya dönüşmekte ve bu renk değişimi de UV visible spektrofotometrede 517 nm'de belirlenebilmektedir.



Şekil 2. 1. DPPH radikalinde renk değişimi

Serbest radikal olarak DPPH'nin 1 mM'lık çözeltisi kullanıldı. Deney tüplerine sırası ile 25, 50, 100 ve 200 µg/µl konsantrasyonlarında çözelti oluşturacak şekilde stok çözeltiler aktarıldı ve toplam hacimleri 1 mL olacak şekilde destile etanol ile tamamlandı. Daha sonra her bir numune tüpüne stok DPPH• çözeltisinden 1 mL ilave edildi. 30 dakika oda sıcaklığı ve karanlıkta inkübe edildikten sonra etanolden oluşan köre karşı 517 nm'de absorbanları kaydedildi. Kontrol, numune ve sentetik antioksidan madde yerine 1 mL etanol kullanılarak aynı şartlarda çalışıldı. Azalan absorbans geriye kalan DPPH• çözeltisi miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini verdi.

% DPPH radikali giderme aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\% \text{ DPPH Giderme aktivitesi} = \left[1 - \frac{\text{Örneğin Absorbansı}(517\text{nm})}{\text{Kontrolün Absorbansı}(517\text{nm})} \right] \times 100$$

2.4.2. İndirgeme Gücü

Triazollerin indirgeme gücü Oyaizu metoduna göre tayin edildi (Oyaizu, 1986). Bu metodun prensibi antioksidan bileşiklerin $K_3Fe(CN)_6$, TCA ve $FeCl_3$ ile oluşturduğu prusya mavisi rengindeki kompleksin absorbandsının 700 nm’de ölçümüne dayanmaktadır. Reaksiyon karışımının absorbandsındaki artış numunenin indirgeme gücü ile doğru orantılıdır. Ortamdaki indirgen madde Fe^{3+} iyonlarını Fe^{2+} iyonlarına indirger ve $FeCl_3$ ilavesiyle oluşan yüksek absorbands değeri yüksek indirgeme kapasitesinin göstergesidir.

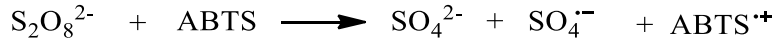
Bu amaçla hazırlanan stok çözeltilerden 25, 50, 100 ve 200 $\mu g/mL$ olacak şekilde çözeltiler alındı, deney tüplerine aktarıldı ve hacim tampon çözelti ile 1 mL’ye tamamlandı. Daha sonra her bir tüpe 1 mL, % 1’lik potasyum ferrisiyanür [$K_3Fe(CN)_6$] ilave edildikten sonra karışım 50 °C’de 20 dakika inkübe edildi. Bu işlemlerden sonra reaksiyon karışımına 1 mL % 10’luk triklorasetik asit (TCA) çözeltisi ilave edildi. Vortex ile karıştırıldı. Daha sonra 3000 rpm 10 de dakika santrifüj edildi. Ve çözeltinin süpernatant kısmında 1 mL alındı ve bunun üzerinede 1 mL destile su ve % 0,1’lik 100 μl $FeCl_3$ ilave edildikten sonra absorbands 700 nm’de köre karşı okundu. Kör (TCA çözeltisi, $FeCl_3$ çözeltisi ve deiyonize su) ve kontrol numuneler gibi hazırlandı. Bu işlemden sonra tüm maddelerin absorbandsları kaydedildi.

2.4.3. ABTS^{•+} Giderme Aktivitesi

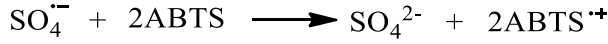
ABTS radikali giderme aktivitesi Re ve arkadaşlarının (1999) yaptığı çalışmaya göre yapıldı. ABTS^{•+} radikal giderme aktivitesi de saf maddelerin radikal giderme aktivitelerinin hesaplanmasında sıklıkla kullanılmaktadır (Miller, 1996). Bunun için öncelikle ABTS ’den ABTS^{•+} radikallerinin elde edilmesi gerekmektedir.

Bu metotta öncelikle ABTS radikali oluşturmak gerekmektedir. Burada tanımlanan ABTS oluşumu şekil 3.1. için geliştirilen yöntem, ABTS ve potasyum persülfat arasındaki reaksiyon sonucu mavi yeşil ABTS kromoforunun doğrudan oluşumu ve oluşan bu radikal kationun spektrofotometrik olarak ölçülmesini içerir. Bu metodun esası oluşturulan ABTS^{•+} kationik radikalinin 734 nm’de maksimum absorbands göstermesi esasına dayanır.

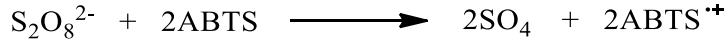
ABTS radikal kasyonu $K_2S_2O_8$ kullanılarak hazırlandı. ABTS radikalleri şu şekilde oluşmaktadır.



Burada peroksidisülfatın yıkımı elektron transferinden sonra meydana gelebilir. Aşırı ABTS varlığında, sülfat radikali aşağıdaki reaksiyona göre tepkime verir.

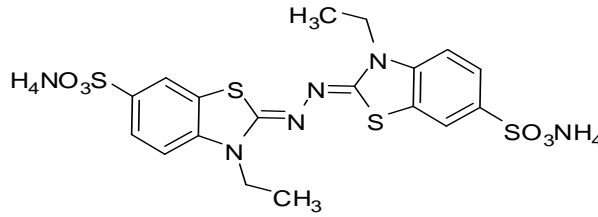


net reaksiyon ise şöyle cereyan eder.



ABTS radikalleri DPPH radikallerinden daha reaktifdirler ve bir H atom transferini gerektiren DPPH ile reaksiyonları farklıdır. ABTS radikalleri bir elektron transferini içerir (Kaviarasan, 2007).

ABTS^{•+} radikali oluşturmak için bir erlen içerisinde 0,1 M, pH 7,4 olan 200 mL fosfat tamponu içerisine 11 mg ABTS eklendi. Çözelti bir gece magnetik karıştırıcıda karıştırıldı. Daha sonra bu çözeltiye 2,45 mM'lık 100 mL potasyum persülfat çözeltisi ilave edildi. Erlenin dış yüzeyi aliminyum folyo ile kaplandı, manyetik karıştırıcıyla oda sıcaklığında 16 saat boyunca karıştırıldı.

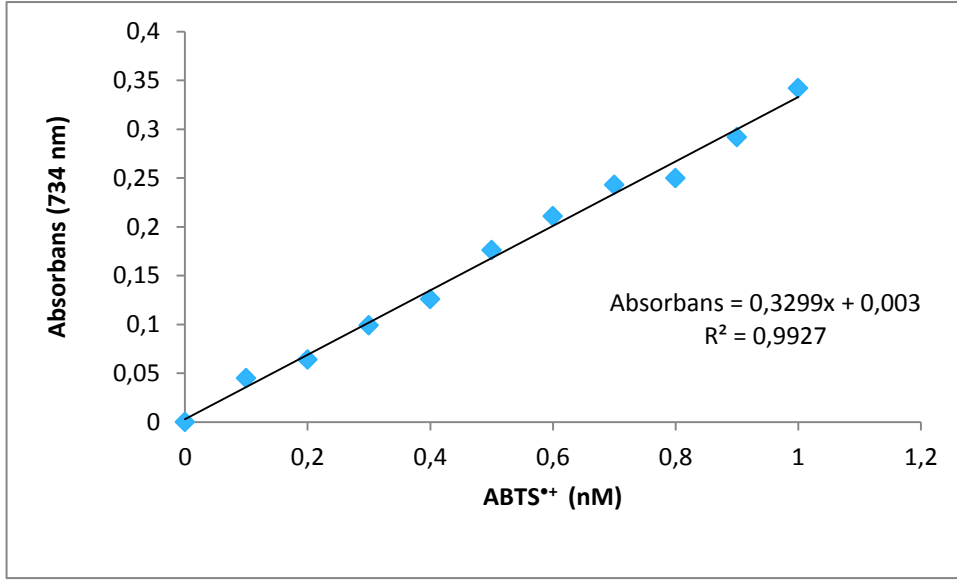


ABTS

Şekil 3. 1. ABST kimyasal yapısı

ABTS radikal çözeltisi kullanılmadan önce çözeltisinin 734 nm'de absorbanısı 0,1 M ve pH 7,4 olan fosfat tamponu ile 0,700±0,025 nm'ye ayarlandı. Farklı konsantrasyonlar da numune çözeltilerine stok çözeltilerden 2, 4, 8 ve 16 µg/µL olacak şekilde çözeltiler alındı, ABTS radikal çözeltisi ile 1 mL'ye tamamlandı. Sonra 30 dakika inkübe edildi. Tampondan oluşan köre karşı 737 nm'de absorbanları kaydedildi.

Bu aşamadan sonra çalışmalarda kullanılan BHA, BHT, α-tokoferol ve troluks gibi sentetik antioksidan bileşiklerin ABTS^{•+} radikali giderme aktiviteleri tayini için öncelikle grafik 3.1'deki standart grafik oluşturuldu.



Grafik 3. 1. ABTS^{•+} radikali için standart grafik

ABTS^{•+} radikali giderme aktivitesi tayininden sonra geriye kalan ABTS^{•+} miktarı standart grafikten elde edilen aşağıdaki denklemden hesaplandı.

$$\text{Absorbans} = 0,3299 \cdot [\text{ABTS}^{\bullet+}] + 0,003$$

ABTS^{•+} kalibrasyon grafiklerinden faydalanılarak EC₅₀ değerleri (ortamdaki serbest radikallerin konsantrasyonunun yarısını inhibe ettiği konsantrasyon) hesaplanmıştır. Çalışılan maddelerin, α tokoferol, trolox, BHA ve BHT ye göre EC₅₀ değerleri Tablo 3. 3'de verilmiştir.

2.4.4. Metal Şelatlama Aktivitesi

Tiyosemikarbazit ve triazollerin metal şelatlama aktivitesi Dinis ve arkadaşlarının belirledikleri metoda göre yapıldı (Dinis 1994). Metal şelatlama özelliği olan antioksidan maddeler serbest demiri bağlamak suretiyle onu etkisizleştirirler ve böylece fenton reaksiyonları sonucu oluşan hidroksil ve peroksit gibi radikal oluşumunu inhibe ederler. Antioksidan aktiviteleri incelenilen bis-hidrazinkarbotiyoamit türevleri ve bu bileşiklerin halkalaşmasında oluşan bis-1,2,4-triazol türevlerinin Fe⁺² şelatlama etkisi incelenmiştir. Bu amaçla FeCl₂ çözeltisi kullanılmıştır. Fe⁺² iyonu ve ferrozinin oluşturduğu kompleksin 562 nm'de mor renk oluşturmasına dayanılarak şelatlama aktivitesi belirlenmiştir.

Ferrozin Fe^{+2} ile kompleks oluşturur. Şelat oluşturan ajanların varlığında ise Ferrozin- Fe^{+2} kompleks oluşumu bu bileşikler tarafından inhibe edilir. Şelatör maddelerin inhibisyonuna bağlı olarak renkteki azalmanın ölçülmesi bileşiklerin şelatlama aktivitelerini ortaya koyar (Duh, 1999). Geçiş metalleri canlı organizmalarda oksijen serbest radikallerinin üretiminde önemli rol oynar. Fe^{+3} , Haber-Weiss reaksiyonları ile Fe^{+2} 'ye indirgenerek aktif hale ve dolayısıyla süperoksit iyonlarının oluşumuna, Fenton reaksiyonları ile de tekrar okside olarak hidroksil radikallerinin üretimine sebep olur. Canlı sistemlerde bu radikallerin üretimi lipid peroksidasyonuna, protein modifikasyonuna ve DNA hasarına sebep olur. Şelatör ajanlar, metal iyonlarının inaktivasyonuna ve potansiyel olarak metal-bağımlı olaylarının inhibisyonuna sebep olur. Aynı zamanda reaktif oksijen türlerinin üretimini de engellerler.

Bu işlem için, 25, 50, 100 ve 200 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ konsantrasyonlar da numuneler alındı. Daha sonra sırası ile 1850, 1825, 1775 ve 1675 μl etanol ilave edildi. Vortexte karıştırıldı. Her bir maddeye 25 μl stok $FeCl_2$ çözeltisi ilave edildi ve tekrar vortexte karıştırıldı. 10 dakika oda şartlarında bekletildi. Daha sonra 100 μl ferrozin çözeltisi eklendi. Ve vortexte tekrar karıştırıldı. Oda şartlarında 25 dakika bekletildi ve 562 nm'de absorbansları ölçüldü.

Sentetik antioksidanlar: BHT, BHA α -tokoferol ve trolox numuneler gibi hazırlandı.

Kör : Ferrozin dışındakiler ($FeCl_2$ çözeltisi +etil alkol).

Kontrol : Ekstre dışındakiler (1,875 mL etil alkol + 0,025 mL $FeCl_2$ çözeltisi + 0,1 mL ferrozin çözeltisi) kullanıldı.

Metal şelatlama aktivitesinde azalan absorbans ferrozin bağlanmadan önce metal iyonlarının şelatlandığını gösterir. Şelatlanan metal iyonu miktarı aşağıda verilen denklemden yararlanılarak % inhibisyon değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplandı. Veriler tablo 3.6'ya aktarıldı.

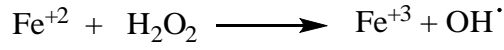
$$\text{Metal şelatlama \% inhibisyon} = \left[1 - \frac{\text{Numunenin Absorbansı}(562\text{nm})}{\text{Kontrolün Absorbansı}(562\text{nm})}\right] \times 100$$

Bu metotta, numuneler ve sentetik antioksidan maddeler ferrozin ve demir kompleksiyle yarışır, ferrozinden önce demir iyonlarını yakalayarak onunla kompleks yaparlar.

Metal şelatlama aktivitesini etkileyen en önemli özellik, fenolik bileşiklerin yapısında bulunan fonksiyonel gruplara ve bu fonksiyonel grupların pozisyonuna ve bulunma miktarına bağlıdır. Yapısında, -OH, -SH, -COOH, - PO_3H_2 , C=O, - NR_2 , -S ve -O-

fonksiyonel gruplarından en az iki tane bulunduran ve bunların uygun yapı ve fonksiyonel konfügrasyonundaki fenolik bileşiklerin, şelatlama özelliklerinin daha iyi olduğu görülmüştür (Arora ve diğ., 1998; Gülçin, 2005).

Metal şelatlama özelliği olan antioksidan maddeler serbest demiri bağlamak suretiyle onu etkisizleştirirler ve böylece fenton reaksiyonları sonucu oluşan hidroksil ve peroksit gibi radikal oluşumunu inhibe ederler. Bu nedenle metal şelatlama özelliği antioksidan aktiviteyi belirlemede önemli rol oynamaktadır (Arora vd, 1998).



3. SONUÇ VE DEĞERLENDİRME

Çalışmalarda kullanılan tüm tablo, grafikler ve hesaplamalar Microsoft Office 2010 programı ile yapılmıştır.

Yapılan tüm deneyler 3 tekrarlı olarak çalışılarak sonuçların ortalaması alınmıştır.

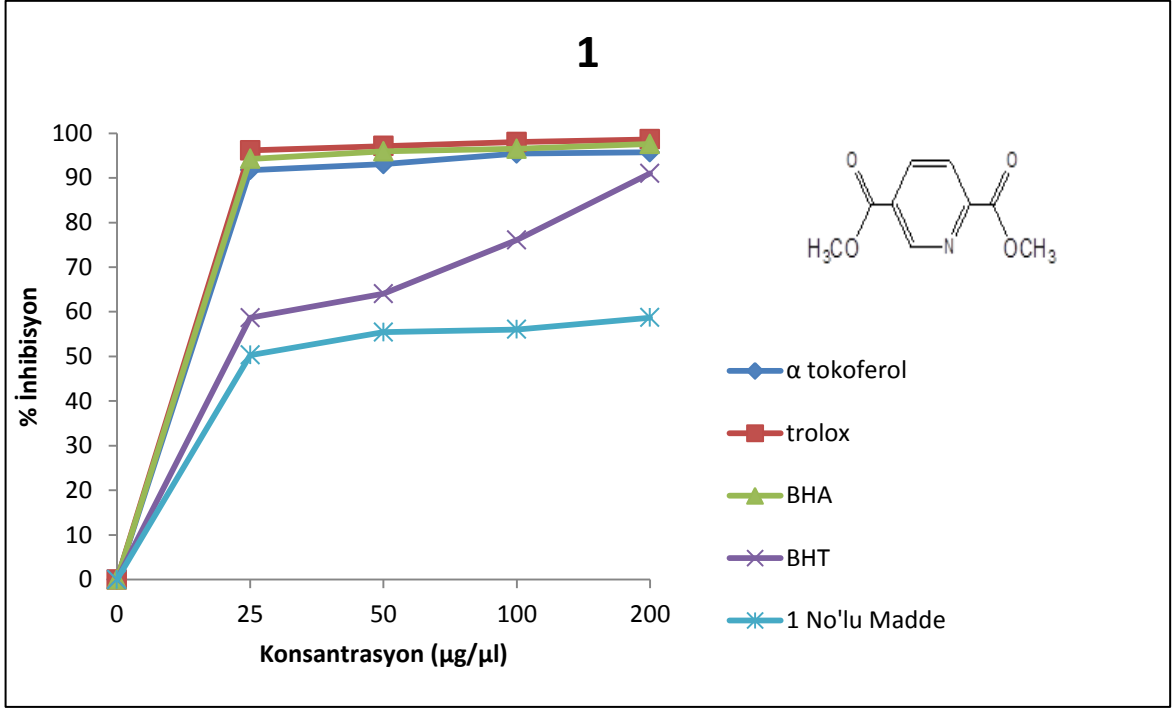
3.1. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

Serbest DPPH• radikallerini giderme aktivitesi tayin metodu antioksidan aktivitenin değerlendirmesinde kullanılan en yaygın metotlardan biridir. DPPH• kararlı bir serbest radikaldir ve bir elektron veya hidrojen radikali alarak kararlı bir diamağnetik moleküle dönüşür (Yıldırım, 2001). Antioksidanlar vasıtasıyla DPPH• radikallerinin indirgenmesi 517 nm'de absorbanstaki azalmaya göre değerlendirilir. DPPH• serbest radikali etanolde 517 nm'de maksimum absorban verir. Antioksidan ve oksidan molekülleri arasındaki reaksiyonlar esnasında hidrojen vermesi vasıtasıyla radikaller giderildiğinden antioksidan moleküller DPPH• radikalinin absorbanın da azalmaya sebep olurlar. DPPH•'ın kararlı serbest bir radikal olmasından dolayı antioksidan maddelerin antioksidan aktivitelerinin değerlendirilmesinde substrat olarak kullanılırlar (Soares, 1997).

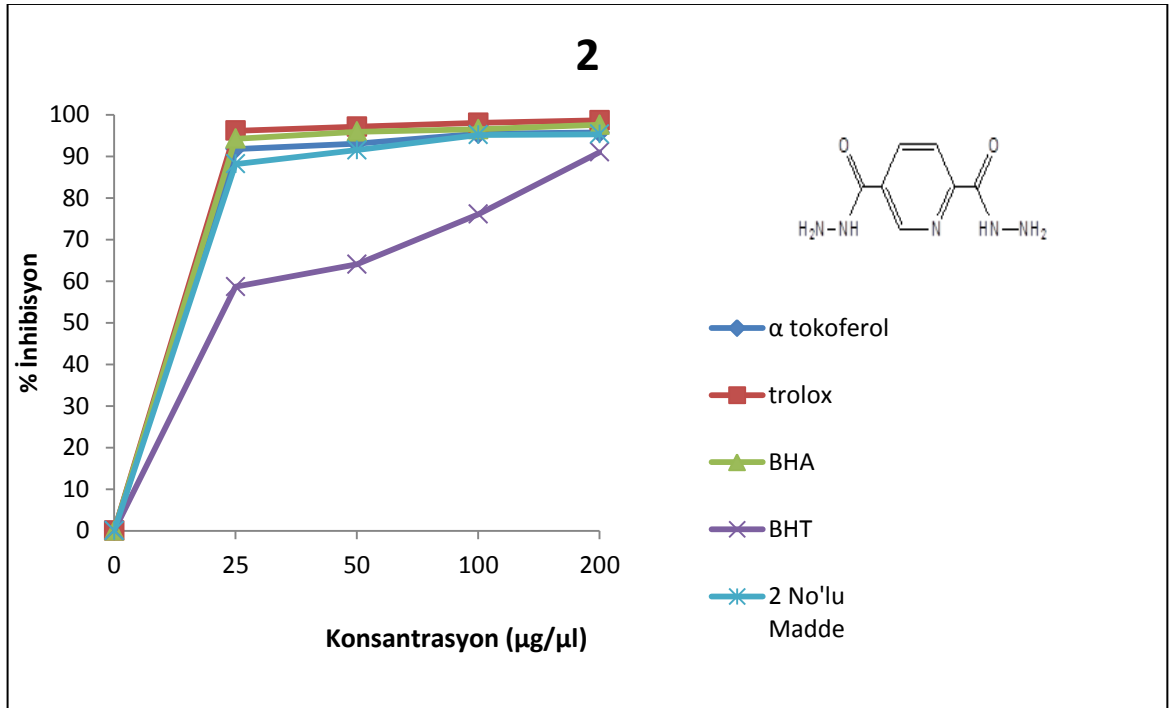
Antioksidan aktiviteleri incelenilen bis-hidrazinkarbotiyoamit türevleri ve bu bileşiklerin halkalaşmasında oluşan bis-1,2,4-triazol türevlerinin sentetik antioksidan bir maddeye karşı DPPH redükleme kapasitesi renk azalımına göre çalışılıp sonuçlar değerlendirilmiştir.

Bis-hidrazinkarbotiyoamit türevleri ve bu bileşiklerin halkalaşmasında oluşan bis-1,2,4-triazol türevlerinin antioksidan aktiviteleri serbest radikal giderici etkileri DPPH radikali üzerinden tayin edildi. Sentetik antioksidan maddeler olarak BHT, BHA, α -tokoferol ve trolox kullanıldı.

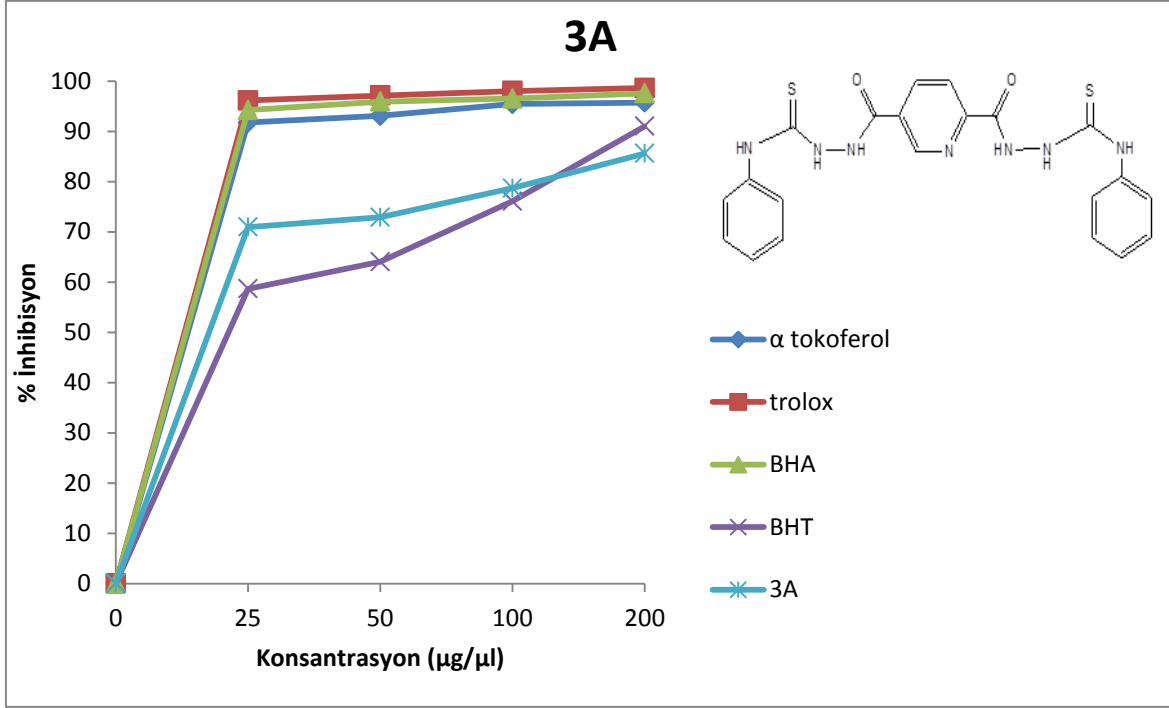
Bis-hidrazinkarbotiyoamit türevleri ve bu bileşiklerin halkalaşmasında oluşan bis-1,2,4-triazol türevlerinin DPPH serbest radikali giderme aktivitelerine ait konsantrasyon - % inhibisyon grafikleri çizildi (Grafik 3.2-13), (Tablo 3. 1).



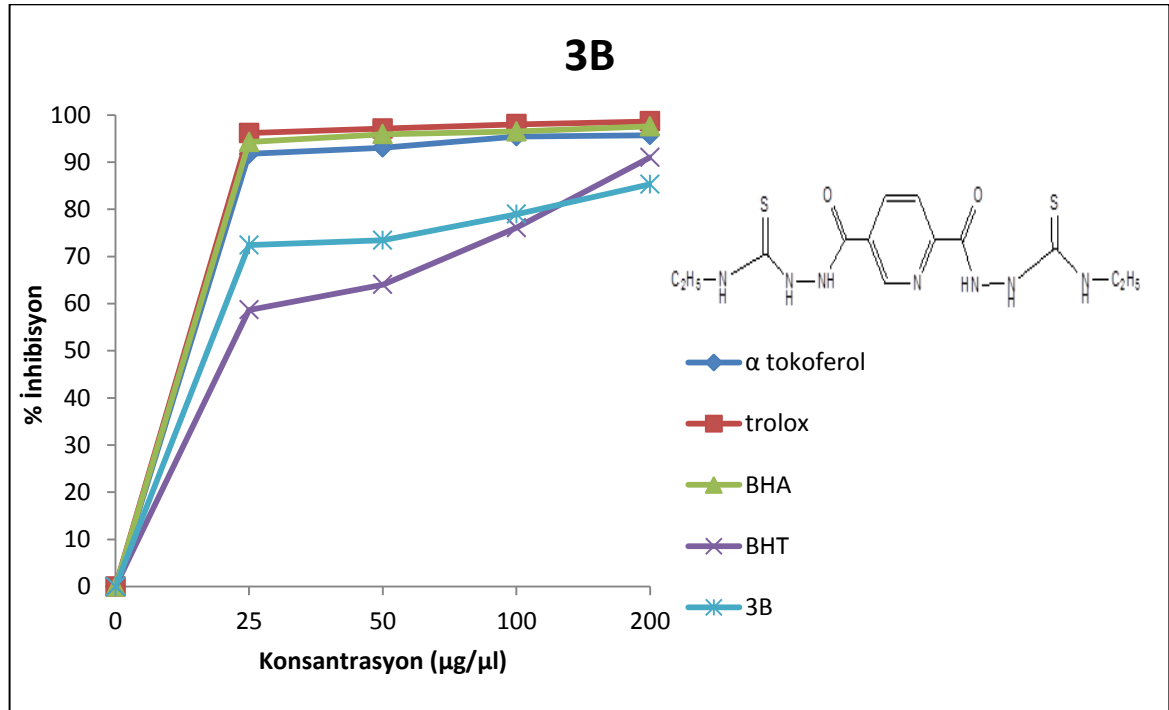
Grafik 3. 2. **1** maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği



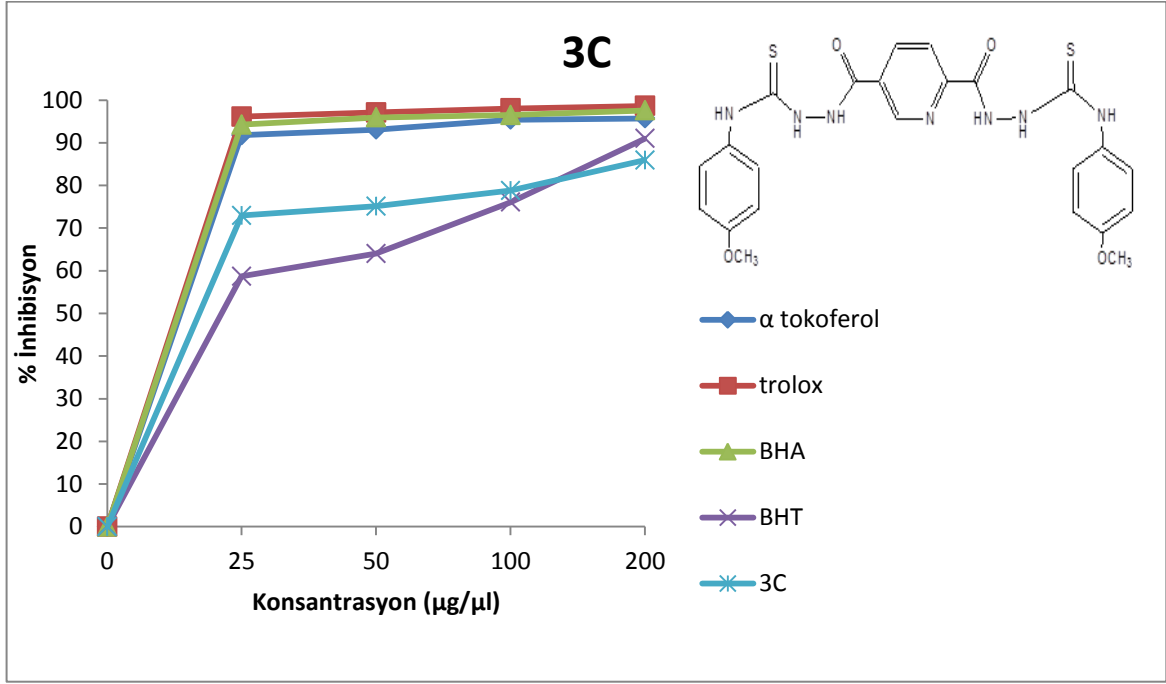
Grafik 3. 3. **2** maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği



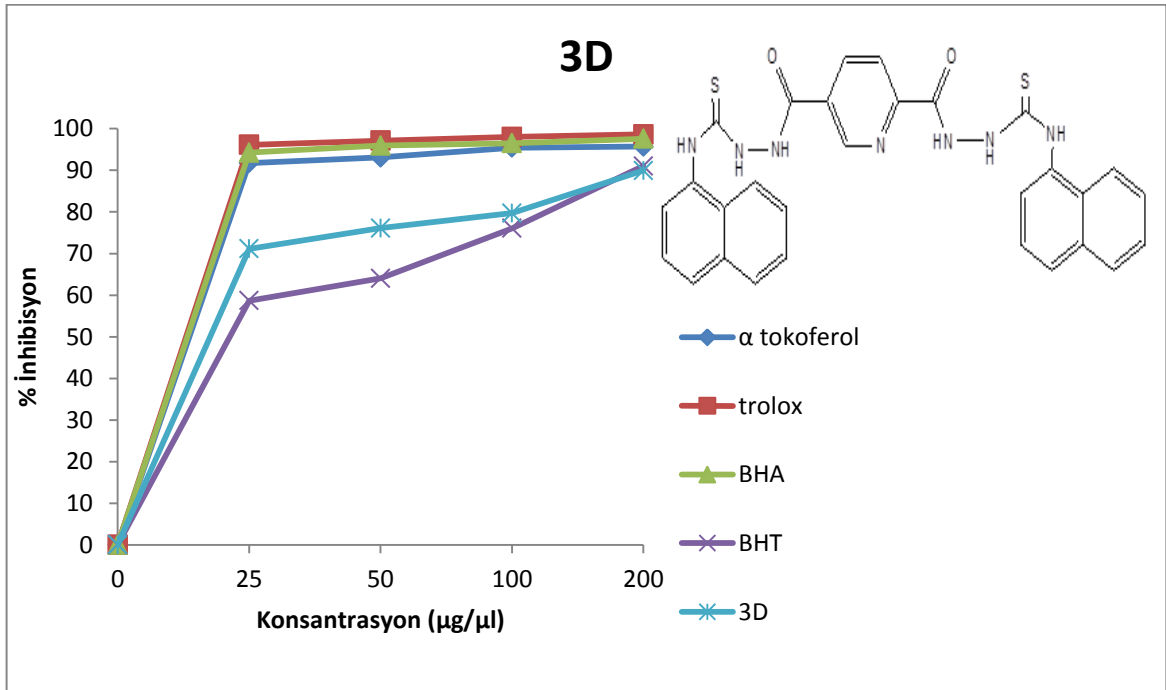
Grafik 3. 4. **3A** maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği



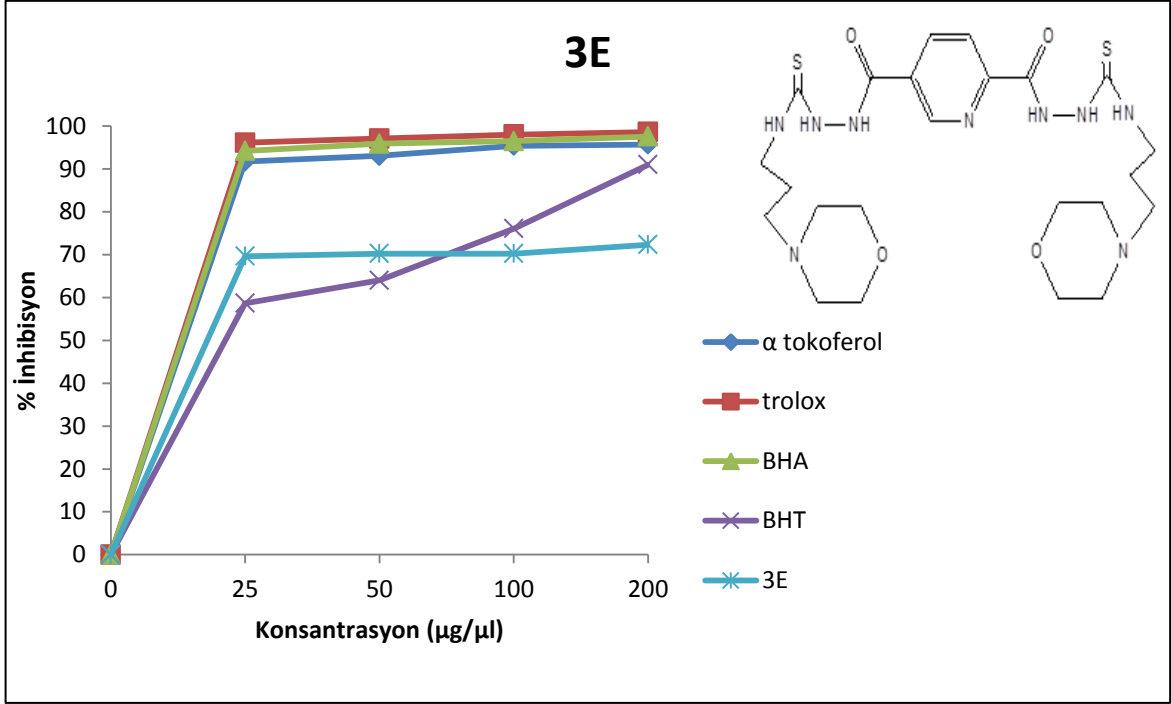
Grafik 3. 5. **3B** maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği



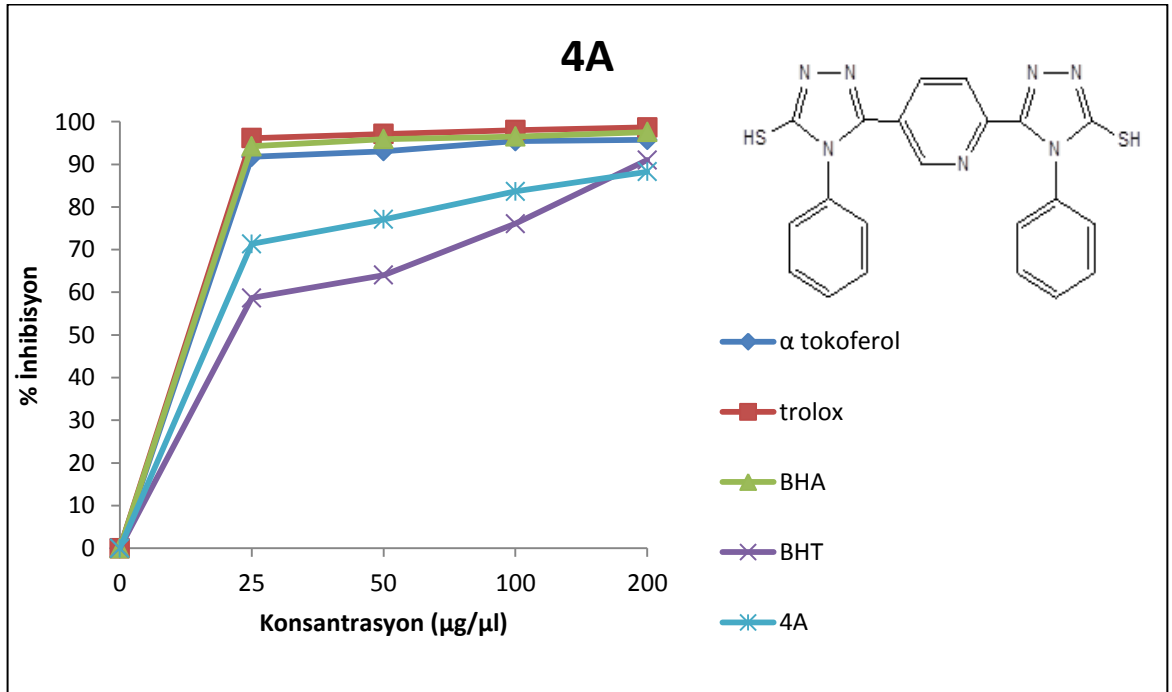
Grafik 3. 6. **3C** maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği



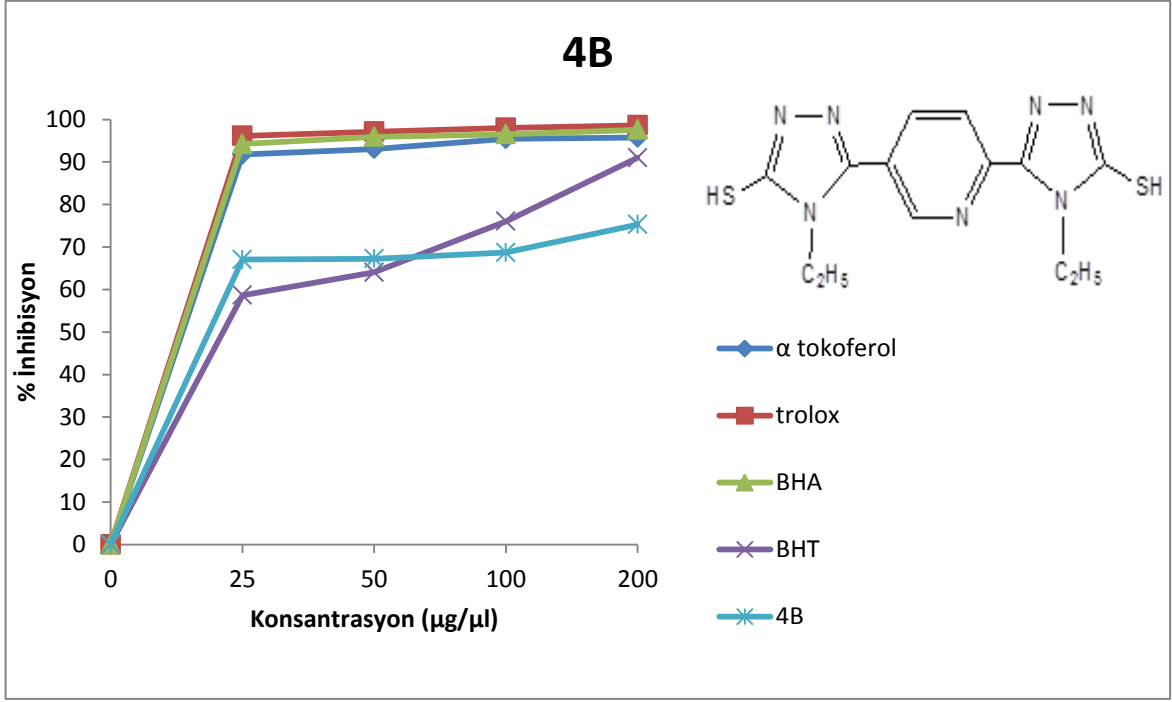
Grafik 3. 7. **3D** maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği



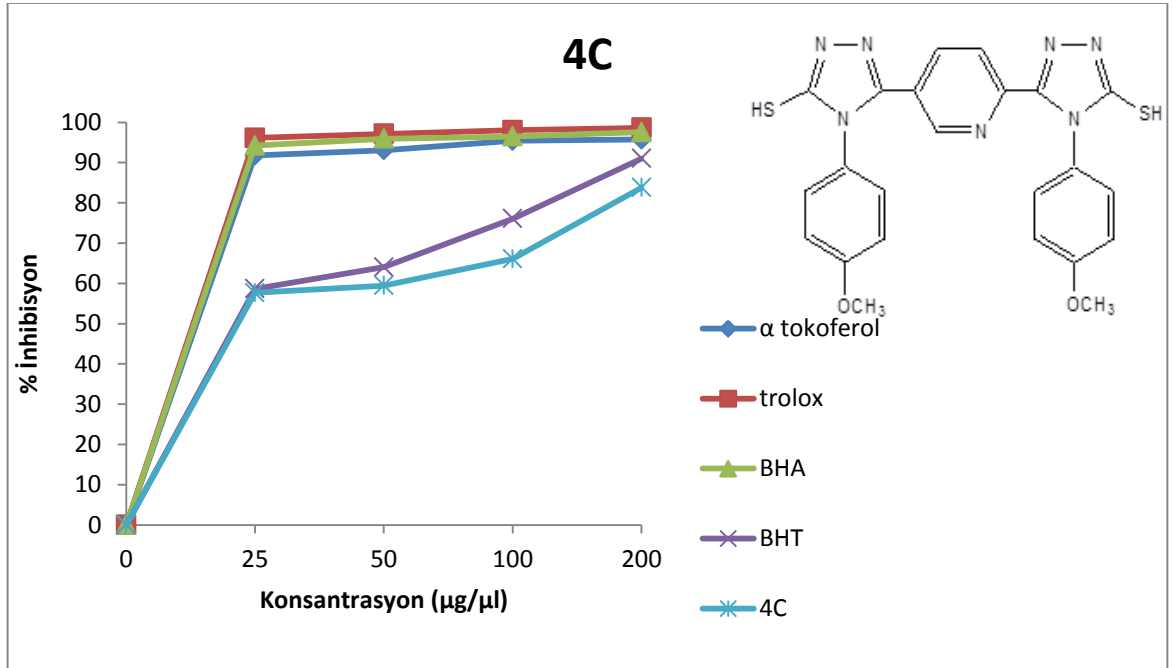
Grafik 3. 8. **3E** maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği



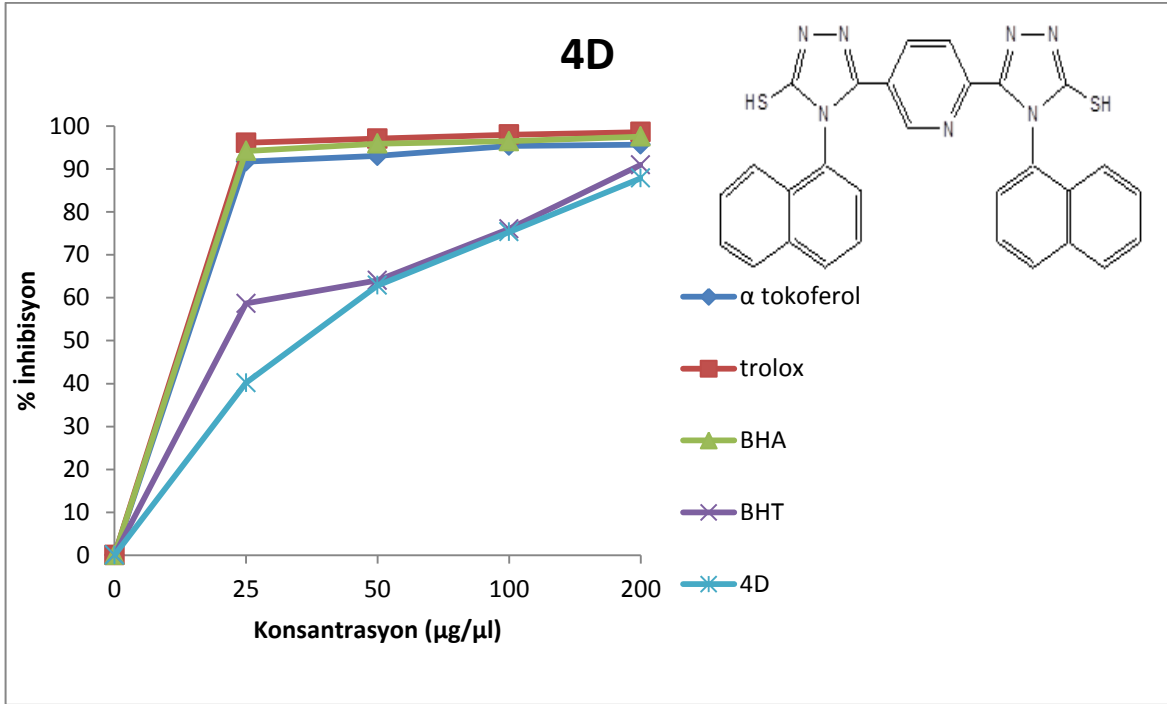
Grafik 3. 9. **4A** maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği



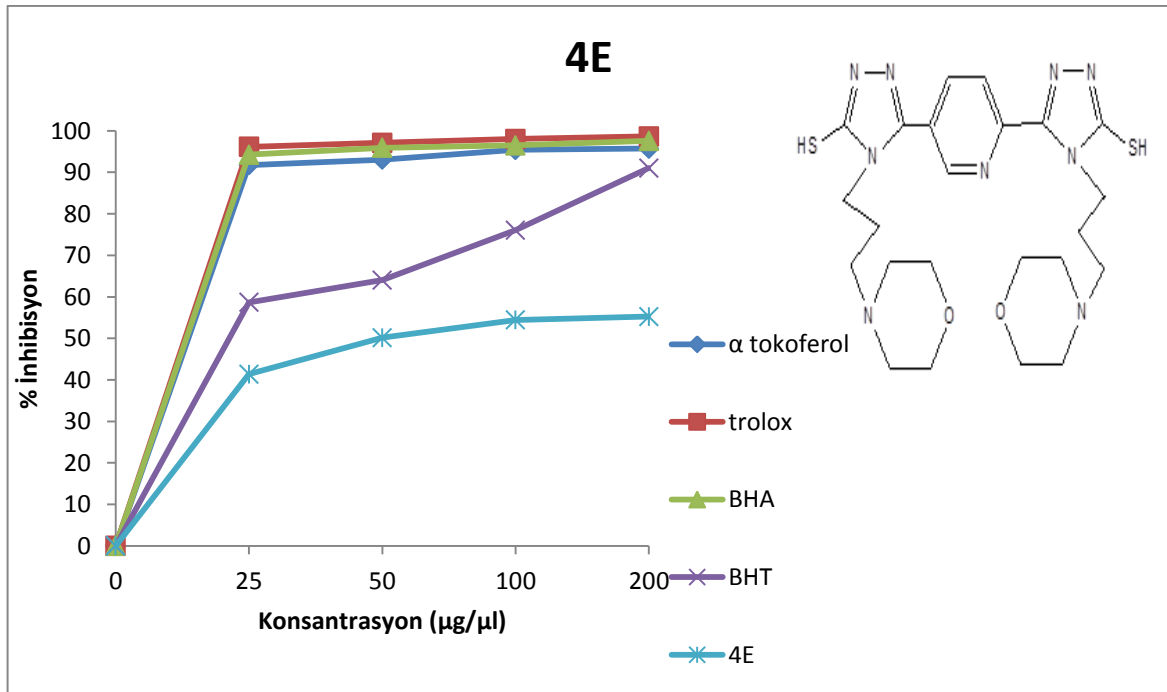
Grafik 3. 10. **4B** maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği



Grafik 3. 11. **4C** maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği



Grafik 3. 12. **4D** maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği



Grafik 3. 13. **4E** maddesinin DPPH radikali giderme aktivite grafiği

Tablo 3. 1. Serbest radikal giderme aktivitesi ve % inhibisyon değerleri

SERBEST RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ (% inhibisyon)				
MADDE ADI	25 µg/µl	50 µg/µl	100 µg/µl	200 µg/µl
α-tokoferol	91,76	93,08	95,43	95,72
trolox	96,14	97,11	98,03	98,64
BHA	94,24	95,93	96,51	97,58
BHT	58,67	64,03	76,06	91,00
1	50,32	55,42	56,05	58,70
2	88,17	91,51	95,16	95,30
3A	70,96	72,91	78,69	85,60
3B	72,41	73,42	78,94	85,29
3C	72,93	75,11	78,79	85,93
3D	71,14	76,09	79,69	89,92
3E	69,64	70,23	70,26	72,35
4A	71,34	77,09	83,63	88,27
4B	67,04	67,23	68,72	75,31
4C	57,66	59,45	66,09	83,78
4D	40,17	62,89	75,36	87,90
4E	41,37	50,14	54,45	55,23

Antioksidan aktiviteleri incelenen bis-hidrazinkarbotiyoamit türevleri ve bu bileşiklerin halkalaşmasından oluşan bis-1,2,4-triazol türevlerinin 25, 50, 100 ve 200 µg/µl konsantrasyonlarında ki maddelerin serbest radikal giderme aktivite testi sonucunda elde edilen bulgulara göre % inhibisyon değerleri şöyle çıkmıştır.

25 µg/µl konsantrasyon da;

trolox>BHA>α tokoferol>2>3C=3B>4A=3D>3A>3E>4B>BHT>4C>1>4E>4D

50 µg/µl konsantrasyon da;

α tokoferol> trolox>BHA>2>4A>3D>3C>3B>3A>3E>4B>BHT>4D>4C>1>4E

100 µg/µl konsantrasyon da;

α tokoferol> trolox>BHA>2>4A>3D>3B=3C=3A>BHT>4D>3E>4B>4C>1>4E

200 µg/µl konsantrasyon da;

α tokoferol> trolox>BHA>2>BHT>3D>4A>4D>3B=3C=3A>4C>4B>3E>1>4E

Triazollerin ve sentetik antioksidan maddelerin 517 nm'deki absorbands değerleri incelediğinde DPPH giderme aktivitelerinin % inhibisyonun değerlendirilmesinde 2 no'lu maddenin her dört konsatrasyonda maksimum, 4E maddesinde minimum antioksidan aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir.

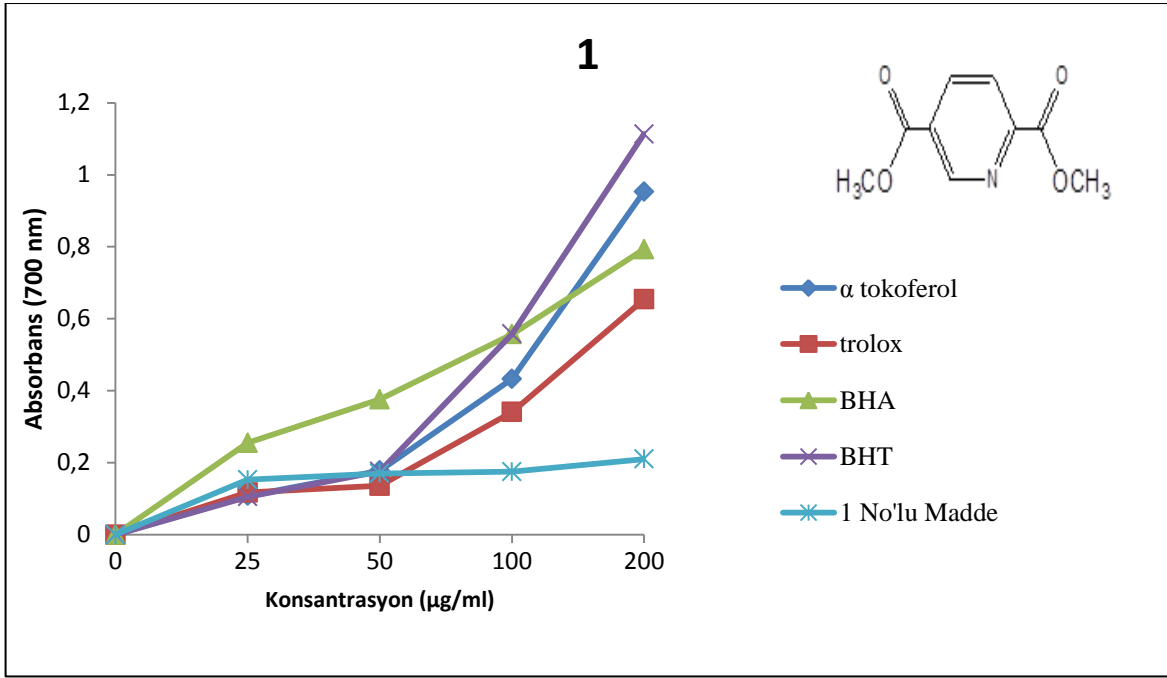
Bu bulgulara göre; antioksidan özellikleri araştırılan bis-hidrazinkarbotiyoamit türevleri ve bu bileşiklerin halkalaşmasında oluşan bis-1,2,4-triazol türevlerinin absorbandsı kontrol maddesinden daha düşük absorbands vermişlerdir. Sentetik antioksidan olan BHA, trolox ve α-tokoferolden daha yüksek absorbands vermiştir. Üzerinde çalışılan bileşiklerini absorbands değerleri BHT'nin absorbands değerlerine yakın çıkmıştır. Radikal toplayıcı olarak, diğer sentetik antioksidanlar kadar etkin bir aktiviteye sahip olmadıkları bu bileşiklerin hidrojen vericiler olarak dikkate değer düzeyde aktiviteye sahip oldukları saptanmıştır.

3.2. İndirgeme Gücü

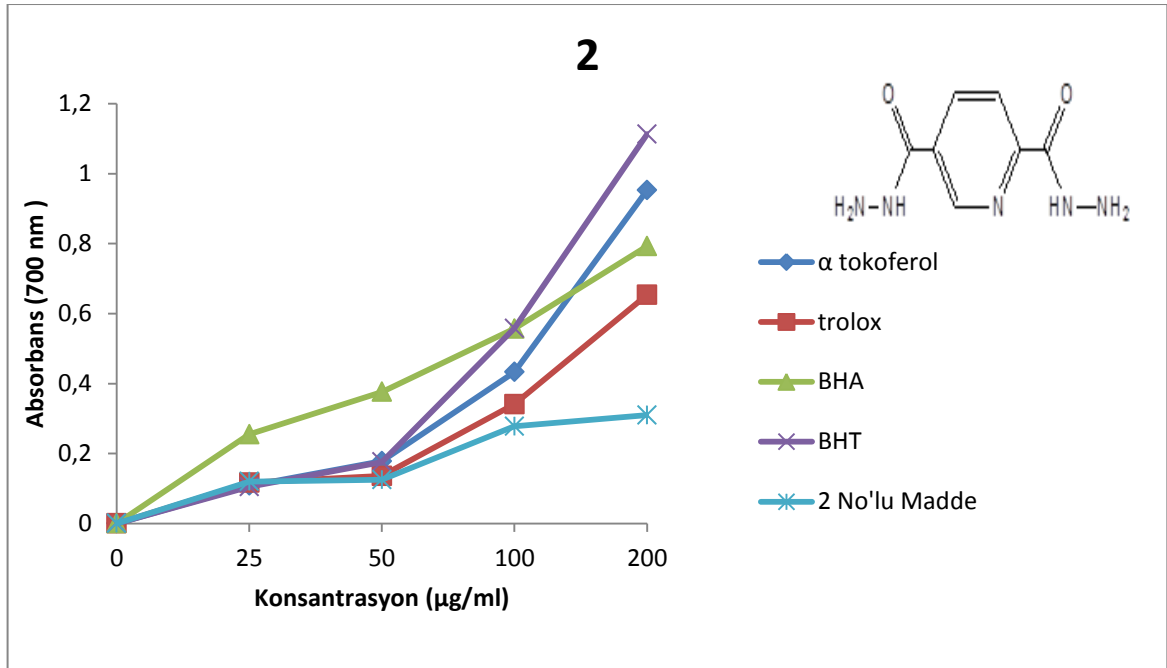
Bu çalışmada sentezlenen bileşiklerin indirgeyici özellikleri Oyaizu metoduna göre yapıldı. Bileşiklerin indirgeme kapasiteleri, potansiyel antioksidan aktivitelerinin anlamlı bir belirleyicisi olarak kullanılabilir (Meir, 1995). Antioksidan aktivite gösteren bileşikler çeşitli oksidan mekanizmalar üzerinde etkili olabilir. Bunlar arasında radikal toplama ve oksidan maddelerin indirgenmesi gibi mekanizmalar sayılabilir (Soares,1997).

Fe³⁺ iyonlarının indirgenmesi, bir maddenin antioksidan aktivite gösterebilmesi için önemli bir mekanizma olan elektron verebilme yeteneğinin göstergesidir. Bis-hidrazinkarbotiyoamit türevleri ve bu bileşiklerin halkalaşmasında oluşan bis-1,2,4-triazol türevleri ortamdaki Fe⁺³ ü indirgeme yeteneğini belirlemek üzere dört farklı konsantrasyon da çalışıldı ve oluşan komplekslerin absorbandsı 700 nm'de ölçüldü (Tablo 3. 2). BHA,

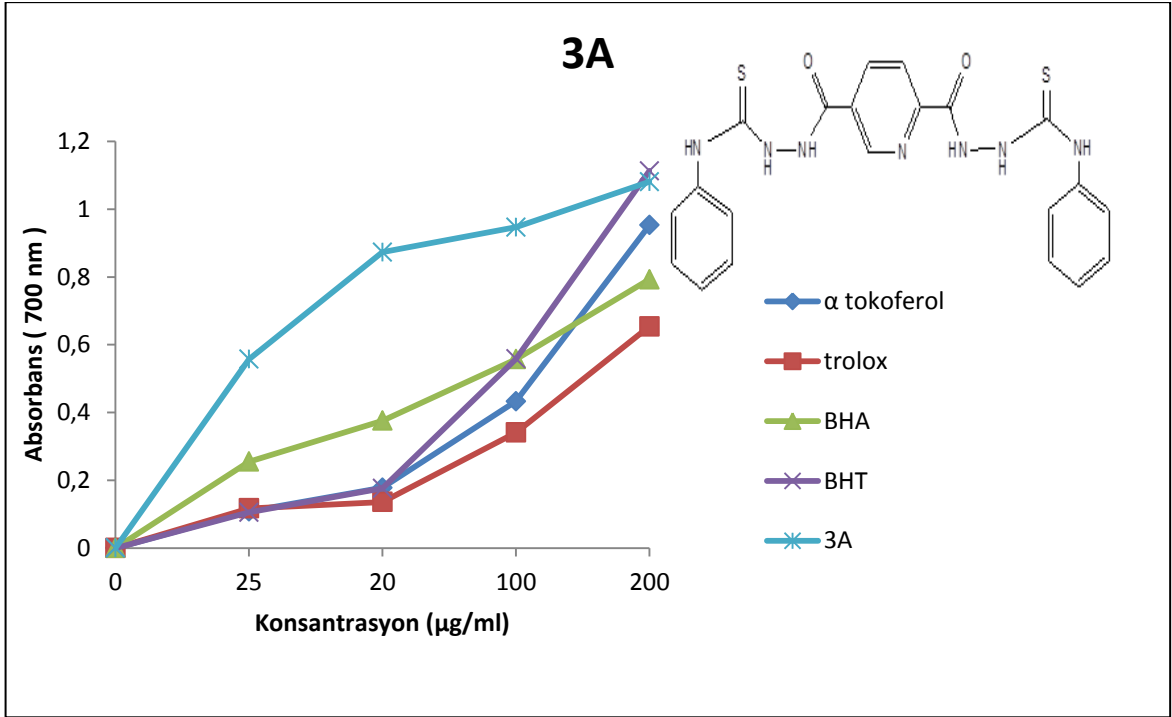
BHT, α tokoferol ve trolox sentetik antioksidanlarla karşılaştırılarak her bir madde için absorbans-konsantrasyon grafikleri çizildi (Grafik 3. 14-25).



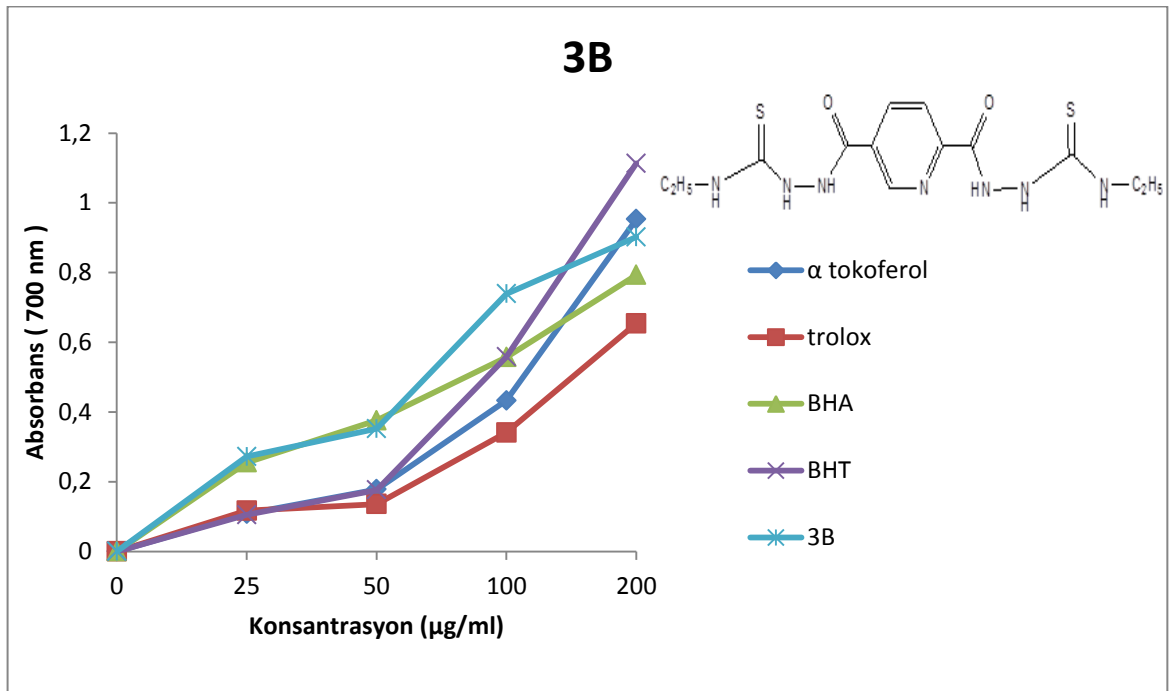
Grafik 3. 14. 1 maddesinin indirgeme gücü, absorbans-konsantrasyon grafiği



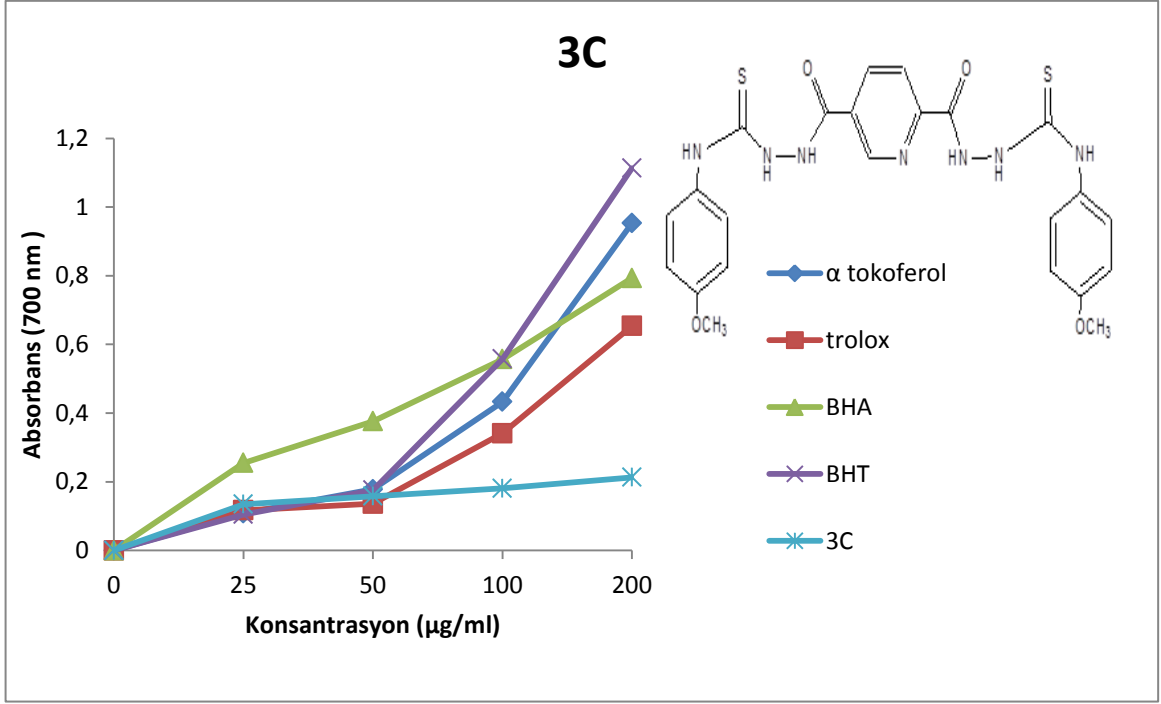
Grafik 3. 15. 2 maddesinin indirgeme gücü, absorbans-konsantrasyon grafiği



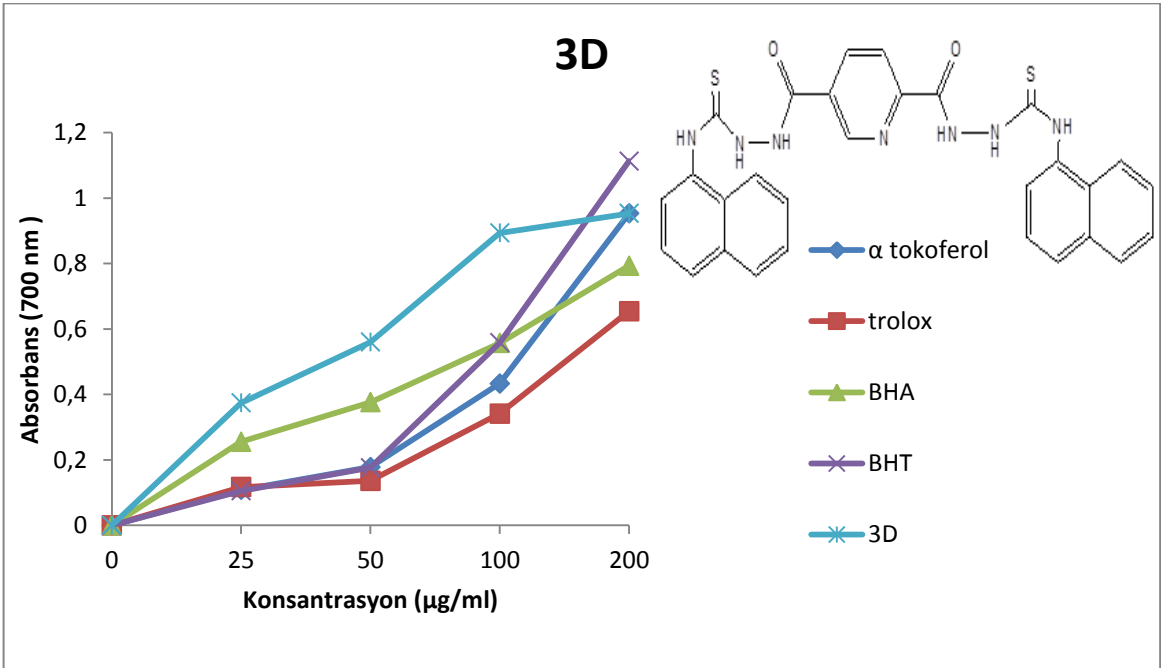
Grafik 3. 16. **3A** maddesinin indirgeme gücü, absorbans-konsantrasyon grafiği



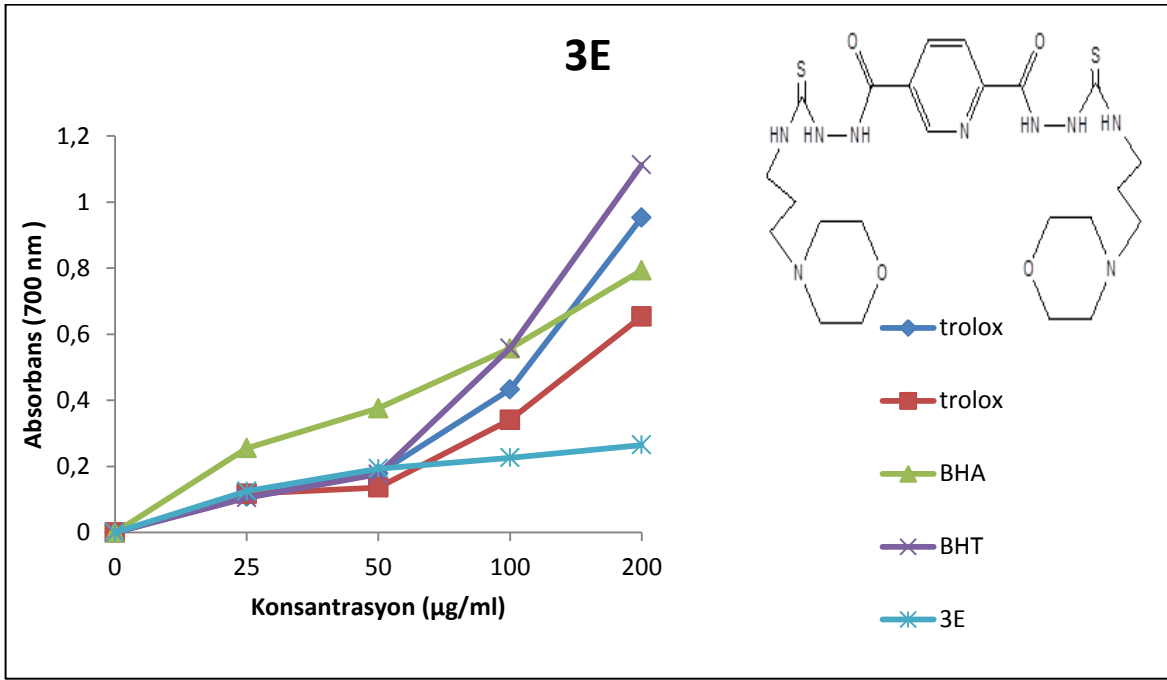
Grafik 3. 17. **3B** maddesinin indirgeme gücü, absorbans-konsantrasyon grafiği



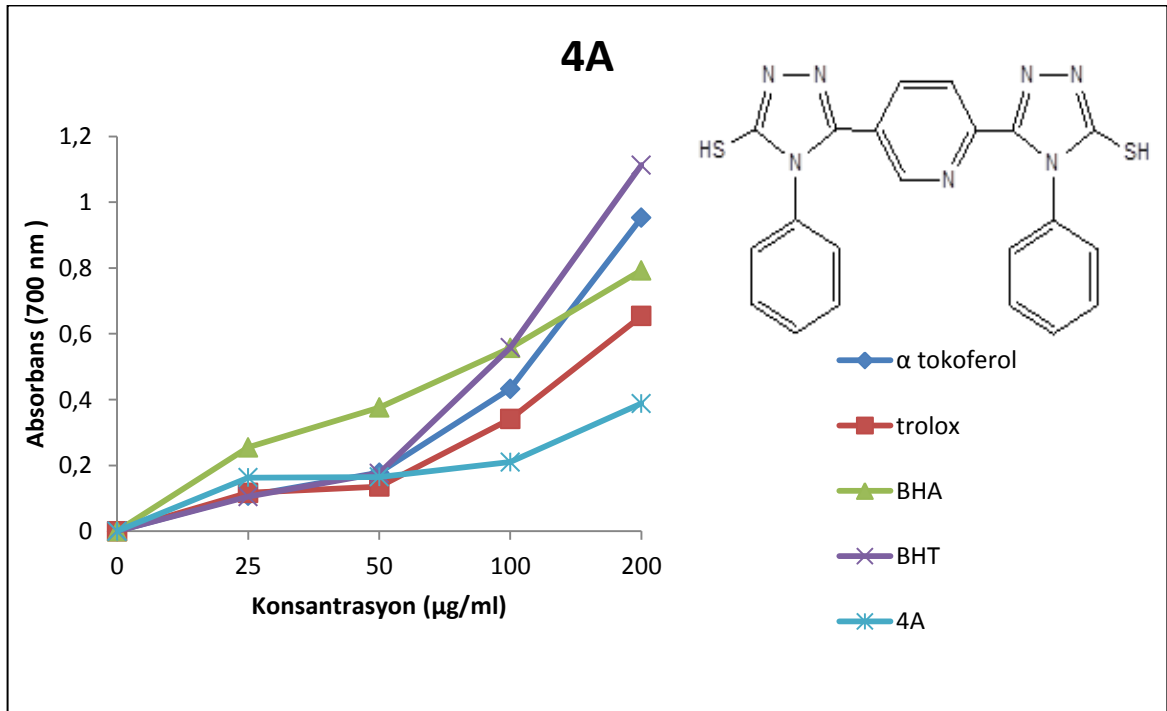
Grafik 3. 18. **3C** maddesinin indirgeme gücü, absorbands-konsantrasyon grafiği



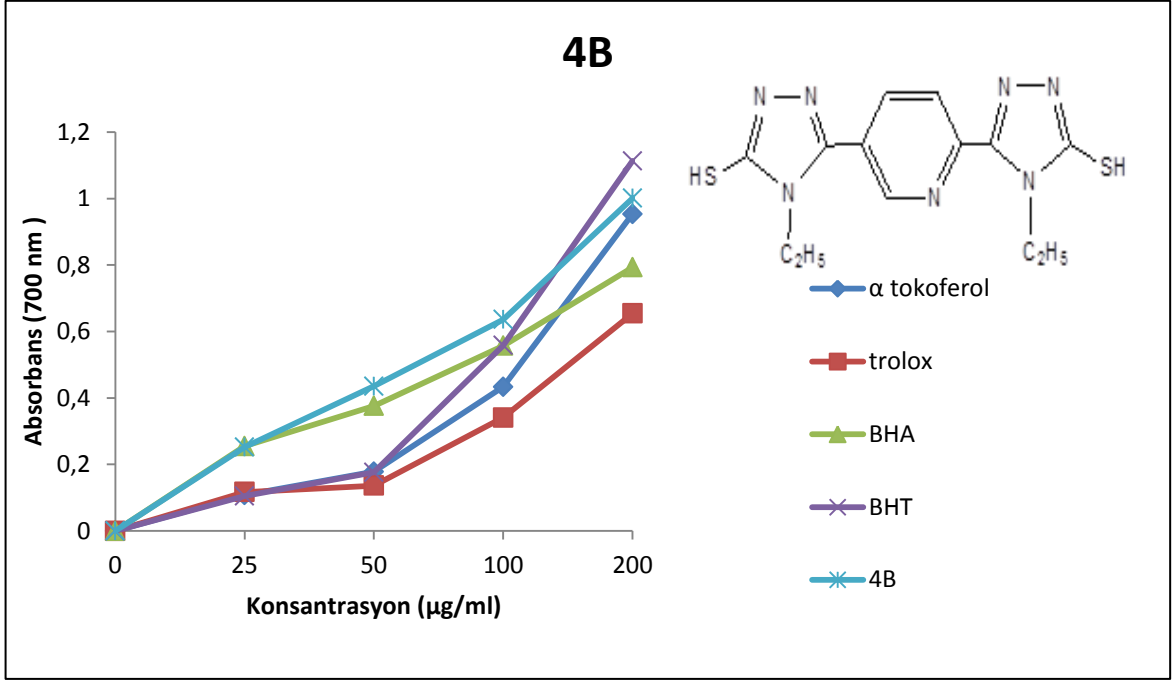
Grafik 3. 19. **3D** maddesinin indirgeme gücü, absorbands-konsantrasyon grafiği



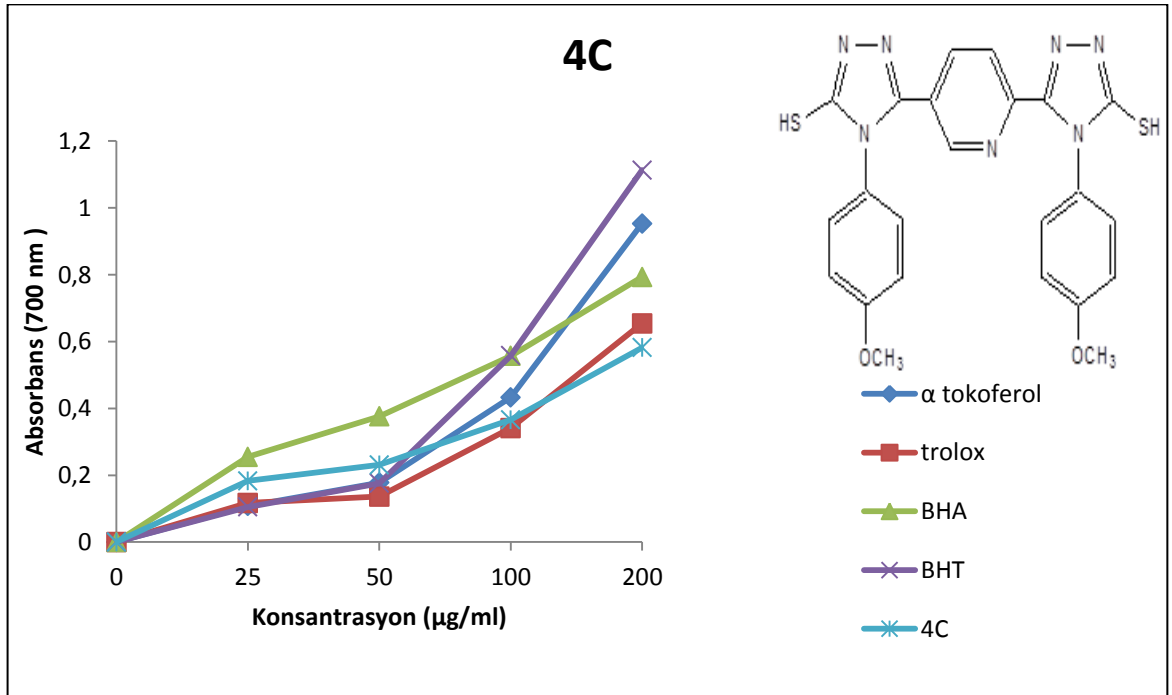
Grafik 3. 20. **3E** maddesinin indirgeme gücü, absorbands-konsantrasyon grafiği



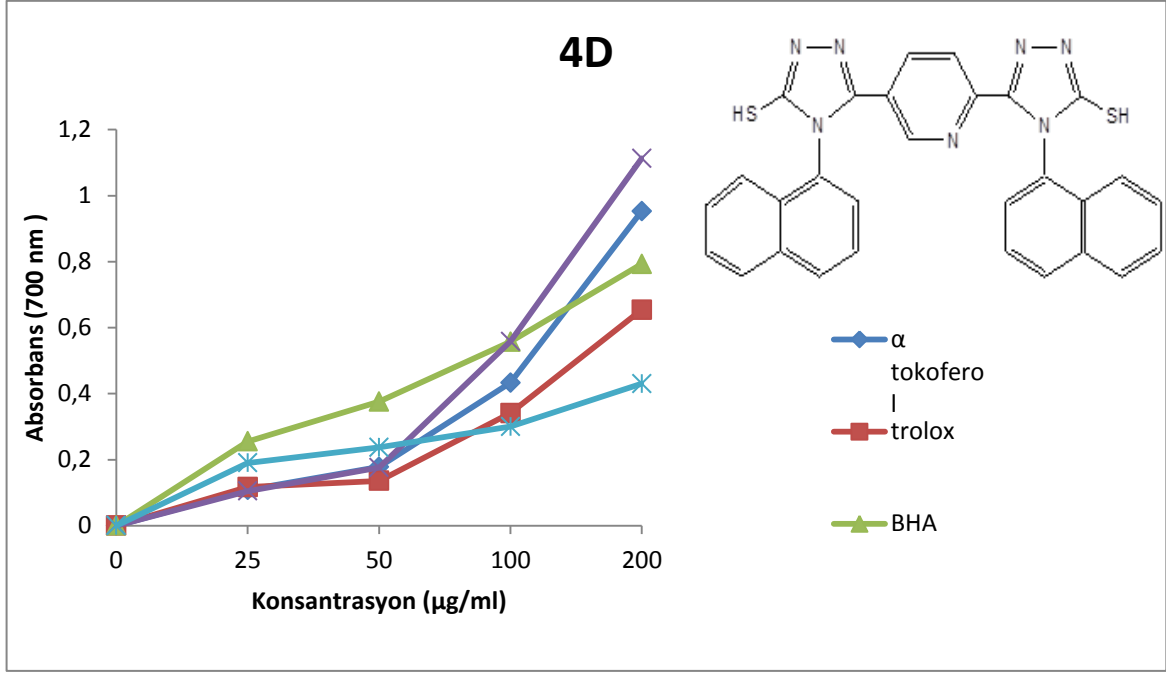
Grafik 3. 21. **4A** maddesinin indirgeme gücü, absorbands-konsantrasyon grafiği



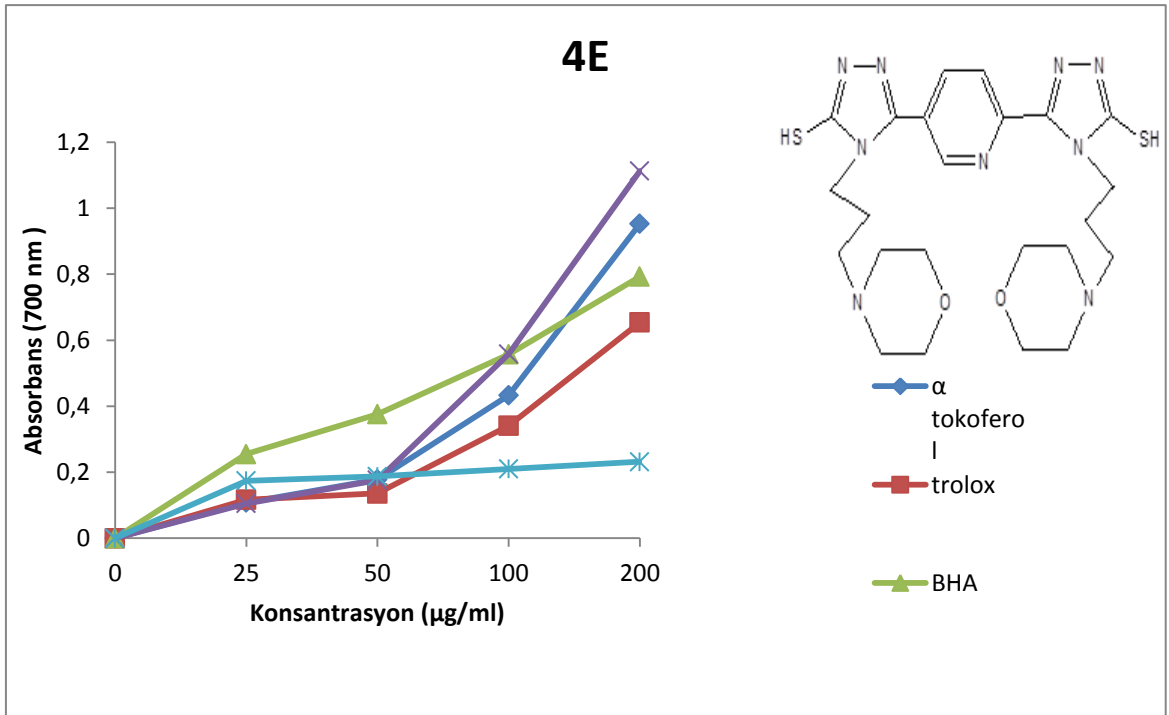
Grafik 3. 22. **4B** maddesinin indirgeme gücü, absorbans-konsantrasyon grafiği



Grafik 3. 23. **4C** maddesinin indirgeme gücü, absorbans-konsantrasyon grafiği



Grafik 3. 24. **4D** maddesinin indirgeme gücü, absorbans-konsantrasyon grafiği



Grafik 3. 25. **4E** maddesinin indirgeme gücü, absorbans-konsantrasyon grafiği

Tablo 3. 2. İndireme gücü absorbands (700 nm) değerleri

İNDİRENME GÜCÜ (700 nm Absorbans)					
MADDE ADI	Kontrol	25 µg/µl	50 µg/µl	100 µg/µl	200 µg/µl
α- tokoferol	0,184	0,108	0,178	0,433	0,953
trolox	0,184	0,117	0,136	0,341	0,654
BHA	0,184	0,255	0,376	0,557	0,793
BHT	0,184	0,105	0,176	0,558	1,113
1	0,184	0,153	0,170	0,175	0,210
2	0,184	0,120	0,125	0,278	0,310
3A	0,184	0,557	0,873	0,947	1,081
3B	0,184	0,272	0,352	0,739	0,902
3C	0,184	0,135	0,158	0,181	0,213
3D	0,184	0,374	0,560	0,893	0,953
3E	0,184	0,125	0,193	0,226	0,265
4A	0,184	0,163	0,165	0,210	0,388
4B	0,184	0,252	0,435	0,636	1,001
4C	0,184	0,183	0,231	0,366	0,582
4D	0,184	0,190	0,237	0,300	0,430
4E	0,184	0,174	0,187	0,210	0,232

İndirgeme gücü tayininde yüksek absorbands değerinin yüksek indirgenme kapasitesinin göstergesi olduğu kabul edilmektedir. Bu yöntemde, çalışılan bileşiklerin antioksidan aktiviteleri incelenmiştir.

700 nm'de yapılan ölçümlerde çalışılan bileşiklerin absorbandsları, sentetik antioksidanlara göre özellikle düşük konsantrasyonlarda daha iyi ölçüde sonuç vermesi incelenen bileşiklerin indirgeyici özelliklerinin çok iyi düzeyde olduğunu göstermektedir.

Antioksidan aktiviteleri incelenen maddelerin 25, 50, 100 ve 200 µg/µl konsantrasyonlarda ki maddelerin indirgeme gücü kapasitesi değerleri;

25 µg/µl konsantrasyon da;

3A>3D>3B>BHA>4B>4D>4C>4E>4A>1>3C>3E>2>trolox>α tokoferol>BHT

50 µg/µl konsantrasyon da;

3A>3D>4B>BHA>3B>4D>4C>3E>4E> α tokoferol>BHT>1>4A>3C>trolox>2

100 µg/µl konsantrasyon da;

3A>3D>3B>4B>BHT>BHA>α tokoferol>4C>trolox>4D>2>3E>4E>4A>3C >1

200 µg/µl konsantrasyon da;

BHT>3A>4B>α tokoferol>3D>3B>BHA >trolox>4C>4D>4A>2>3E>4E>3C>1

şeklinde sıralanmıştır.

İndirgenme gücü metoduyla antioksidan aktiviteleri incelenen bileşiklerin antioksidan aktivite sonuçlarında genel olarak 3A maddesinin maksimum absorbans gösterdiği, yani bu maddenin en yüksek antioksidan aktivite sahip olduğu, 2 no'lu maddenin 25 µg/µl ve 50 µg/µl konsantrasyonda minimum absorbans gösterdiği, 1 no'lu maddenin ise 100 µg/µl ve 200 µg/µl konsantrasyonda minimum absorbans gösterdiği yani minimum antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmektedir.

Dolayısıyla bu bileşikler indirgeyici özelliğe sahiptirler ve serbest radikallerin temizlenmesinde elektron vericisi olarak görev alabilirler.

3.3. ABTS^{•+} Giderme Aktivitesi

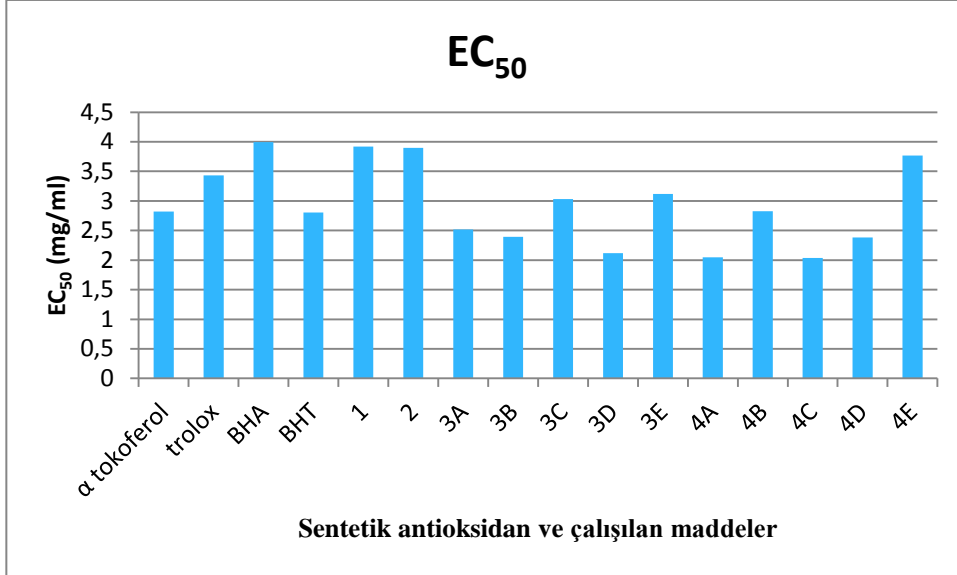
Bis-hidrazinkarbotiyoamit türevleri ve bu bileşiklerin halkalaşmasında oluşan bis-1,2,4-triazol türevlerinin ABTS^{•+} giderme aktivitesini tayini için ilk önce stok çözeltilerde çalışıldı. α tokoferol, trolox, BHA, 1, 3D, 3E, 4A, 4C, 4D ve 4E maddeleri stok çözeltilerin absorbansları ölçüldü. Stok çözeltilerde iyi verim alınamayan diğer maddelerin etanol ile 1/10 oranında seyrelmesi sonucu oluşan çözeltilerin absorbansları ölçüldü.

Çalışılan bileşiklerin, ABTS^{•+} giderme aktivite testleri sonucunda elde edilen absorbanslar birer sentetik antioksidanlar olan BHA, BHT, α-tokoferol ve trolox ile karşılaştırıldı. Absorbanstaki düşme antioksidanın aktif olduğunun göstergesidir.

ABTS^{•+} kalibrasyon grafiklerinden faydalanılarak EC₅₀ değerleri (ortamdaki serbest radikallerin konsantrasyonunun yarısını inhibe ettiği konsantrasyon) hesaplanmıştır. Triazollerin, α-tokoferol, trolox, BHA ve BHT ye göre EC₅₀ değerleri Tablo 3. 3 'de

hesaplanarak verilmiştir. Bu tabloda verilen EC₅₀ değerleri her bir maddenin absorbanstans-konsantrasyon grafiklerinden yararlanılarak çizilmiştir.

Tablo 3. 3. ABTS⁺⁺ giderme aktivitesi EC₅₀ değerleri



Aynı miktarda serbest radikali en düşük konsantrasyon da süpürebilen maddeler daha kuvvetli aktivite gösterir (Pourmorad, 2006).

Başlangıçtaki ilk ABTS⁺⁺ konsantrasyonunu % 50 azaltmak için gerekli antioksidan miktarı antiradikal etkinliğini ifade eder ve EC₅₀ (mg/mL) olarak isimlendirilir (Frankel ve Meyer, 2000).

EC₅₀ değerleri;

4C<4A<3D<4D<3B<3A<BHT<α-tokoferol<4B<3C<3E<trolox<4E<2<1<BHA

şeklinde sıralanır.

ABTS⁺⁺ giderme aktivite testleri sonucunda elde edilen bulgulara göre; EC₅₀ değeri en düşük çıkan 4C'nin maksimum antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. 1 no'lu maddenin ise minimum antioksidan aktivite gösterdiği görülmüştür.

3.4. Metal Şelatlama Aktivitesi

Metal şelatlama aktivitesi, ortamda bulunan Fe⁺² iyonlarının inhibisyonuna dayanır. Aktivite kendini şelat ajanlarının demir iyonlarını şelatlaması sonucu kırmızı renkteki azalmayla gösterir (Mathew ve Abraham, 2006).

Tablo 3. 4. Metal Şelatlama (% inhibisyon) değerleri

METAL ŞELATLAMA (% inhibisyon)				
MADDE ADI	25 µg/µl	50 µg/µl	100 µg/µl	200 µg/µl
α tokoferol	28,13	11,25	7,50	4,38
trolox	80,63	73,75	60,63	30,00
BHA	86,88	73,13	56,88	38,75
BHT	92,50	90,00	86,88	86,25
1	93,75	90,63	88,75	83,13
2	34,38	26,88	24,38	20,00
3A	12,50	10,63	6,88	3,13
3B	50,63	37,50	13,13	3,75
3C	23,75	13,75	6,25	4,38
3D	34,38	15,00	10,63	5,63
3E	37,50	17,50	14,38	3,13
4A	79,38	70,63	68,75	48,13
4B	85,00	82,50	76,88	75,00
4C	81,88	69,38	54,38	48,13
4D	81,25	80,63	76,88	47,50
4E	83,75	82,50	81,25	79,38

Antioksidan aktiviterleri çalışılan maddelerin ve sentetik antioksidanların metal selatlama aktiviteleri % inhibisyon olarak tablo 3.4’de görülmektedir.

Konsantrasyon arttıkça şelatlama aktivitesi artar. Buna bağlı olarak % inhibisyon değerleri azalır (Cansız, 2012)

Maddelerin antioksidan aktiviteleri, metal şelatlama testleri sonucunda elde edilen bulgulara göre 25, 50, 100 ve 200 µg/µl konsantrasyonlarda ki metal şelatlama % inhibisyon değerlerini şöyle sıralayabiliriz.

25 µg/µl konsantrasyon da;

1>BHT>BHA>4B>4E>4C=4D>trolox>4A>3B>3E>3D=2>α tokoferol>3C>3A

50 µg/µl konsantrasyon da;

1>BHT>4E>4B>4D>trolox>BHA>4A>4C>3B>2>3E>3D>3C>α tokoferol>3A

100 µg/µl konsantrasyon da;

1>BHT>4E>4D>4B>4A>trolox>BHA>4C>2>3E>3B>3D>α tokoferol>3A>3C

200 µg/µl konsantrasyon da;

BHT>1>4E>4B>4C=4A>4D>BHA>trolox>2>3D>α tokoferol=3C>3B>4E=3A

Çalışılan maddelerin 562 nm'deki absorbanans değerlerine göre metal şelatlama aktiviteleri maksimum 3A maddesinde, minimum ise 1 maddesinin şelatlama aktivitesi sağladığı gözlemlendi.

562 nm'deki absorbanstaki artış, metal şelatlama aktivitesi ile ters orantılıdır. Sentezlenen bileşiklerin 562 nm'deki absorbanansları sentetik antioksidan olan BHA, BHT, trolox ve α-tokoferole göre tüm bileşikler α-tokoferol daha düşük absorbanans vermişlerdir. Tablo 3. 4'da görüldüğü gibi sentetik antioksidanlarla karşılaştırıldığında etkin metal şelatlama aktivitelerine sahip oldukları görülmektedir. Bu bulgulara göre; demir bağlama kapasitelerinin yüksek olması peroksidasyon engelleyicisi olarak görev yapabileceklerini göstermektedir

Demir şelasyonu, demir fazlalığına ve buna bağlı olarak ortaya çıkan hastalıkların korunması ve tedavisinde önemlidir. Klinik olarak demir fazlalığı patolojilerinin tedavisinde yaklaşık elli yıldır şelatör olarak yaygın olarak deforoksamın B mesilat kullanılmaktadır. Son yıllarda koruma ve tedavi amaçlı daha etkin ve daha az zararlı bileşiklerin kullanıma girmesi amacıyla bu yöndeki çalışmalar artırılmıştır. 1,2,4-triazol türevleri metal şelatörleri olarak kullanım alanına girmiştir (Gray, 2003).

Sonuç olarak; bu tez çalışmasında çalışma grubumuz tarafından sentezi yapılmış olan 12 adet maddenin, antioksidan aktiviteleri 4 farklı parametre ile incelenmiştir. Bu tez çalışmasında elde edilen veriler, bu alanda çalışan bilim adamlarının daha sonraki çalışmalarına önemli katkılar sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Akkuş, I.**, 1995 “Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri” Mimoza Yayinlari, Konya.
- Aktaş, D.**, 2005. Besin ve sağaltım amaçlı kullanılan bitkilerin *in vitro* antioksidan kapasitelerinin incelenmesi. Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Bitirme Raporu (FEF-03014 No’lu Proje), Aydın.
- Al Nakib, T., Megan, M. J., Burke, M.L.**, 1994, Synthesis of 1-[2-(Benzo[b]thiophen 3-yl)-2-benzyloxy-ethyl]-1H-imidazoles and 1-[2(Benzo[b]thiophen 3-yl)-2-benzyloxy-ethyl]-1H-triazoles with Antifungal Activity, J. Chem. Research(s), 170-171.
- Amir, M., Shikha, K.**, 2004, Synthesis and Anti-inflammatory, Analgesic, Ulserogenic and Lipid Peroxidation Activities of Some New 2-[(2,6-Dichloroanilino)phenyl]acetic Acid Derivatives, Eur. J. Med. Chem., 39, 6 535-545.
- Andreocci, A., Ber.**, 1889, 22, 737.
- Ardağ, A.**, 2008, Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemlerinin Analitik Açıdan Karşılaştırılması, Yüksel L,sans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi,Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Arora, A., Nair, M.G., Strasburg, G.M.**, 1998. Structure activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. Free Radical Biology and Medicine, **24**, 1355-1363.
- Atkinson, M. R., Poyla, J.B.**, 1954, N-Substituon of some 1,2,4-Triazoles, J. Chem.Soc., 12 141-145.
- Bekircan, O. and Bektaş, H.**, 2006, Synthesis of New Bis-1,2,4-Triazole Derivatives, Molecules, 11, 469-477
- Bekircan, O., Bektaş, H.**, 2006, Synthesis of New Bis-1,2,4-Triazole Derivatives, Molecules, 11, 469-477.
- Bladin, J.A., Ber.**, 1885, 18, 1544.
- Blois, M.S.**, 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical.Nature, 26, 1199-1200.
- Bonjean, J., Schunanck, W.**, 1987, Arch. Pharm. 320.

- Böhm, R., Karow, C., Pharmazie.,** 1981, *pharmazie* 4, 36, 243-247. [PubMed]
- Bohm, R. Karow, C.,** 1981, *Pharmazie*, 4, 243–247.
- Cansiz, A., Cetin, A., Orek, C., Karatepe, M., Sarac, K., Kus, A., Koparir, P.,** 2012, Phenyl-3-(4-pyridyl)-1,2,4-triazolo-[3,4-b][1,3,4]thiadiazole: Synthesis, experimental, theoretical characterization and biological activities, *Spectrochimica Acta Part A- Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 97, 606-615.
- Cansiz, A., Çetin, A., Kutulay, P., Koparir, M.** 2009, Synthesis of tautomeric forms of 5-(2-hydroxyphenyl)-4-substituted-3h-1,2,4-triazole-3-thione, *asian journal of chemistry*, 617-626,
- Cavallito, C. J., Gray, A. P.,** 1973, Antiinflammatory s-Triazolo[3,4-a] isoquinolines; U.S. 2, 135, 297 (Cl. A 61k, C 07d), 19 Jan 1973, Ref: C. A. 79, 96989.
- Ceylan, Ş.,** 2006, 1,2,4-Triazol İçeren Bazı Karbotiyoamid Türevlerinin Sentezi Ve Reaksiyonlarının İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Cuttler, R.G. and Pryor, W.A.** 1984. In free radical in biology. *Free Radicals in Biology*, 6: 371-423.
- Çakmakçı, S. ve Çelik, I.** 2000. Gıda Katkı Maddeleri. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ders Notu, 249 s., Erzurum.
- Çetin, A., Dayan, O.** 2009, Transfer Hydrogenation Of Acetophenone Catalyzed Generated 2,6-Bis(5-Thioxo-4,5-Dihydro-1,2,4-Triazole-3-Yl)Pyridine-Ruthenium Complexes, *Chinese Journal Of Chemistry*, 1-10.
- Çetin. A.,** 2004, 1,3,4-Oksadiazol, 1,3,4-Tiyadiazol Ve 1,2,4-Triazol Halkası İhtiva Eden Bazı Bileşiklerin Sentezi ve Karakterizasyonu, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
- Çetin. A.,** 2004, 1,3,4-Oksadiazol, 1,3,4-Tiyadiazol Ve 1,2,4-Triazol Halkası İhtiva Eden Bazı Bileşiklerin Sentezi ve Karakterizasyonu, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
- Dedek, W., Wenzel, K. D., Oberlaender, H., Mothes, B., Maennig, J.** (1991). Preconcentration of Hydrophilic and Hydrophobic Pesticides From Aqueous Solutions and Extraction of Residues Using the Polymeric Sorbent Wofatit Y 77: II.

Extension of the Studies to Hydrophobic Pesticides: Aqueous Extraction of Pesticides From Plant Material and Soil. *Fresenius' j anal chem* 339: 201-206.

Deming, D. M., Boileau, TW-M, Heintz, K. H., Atkinson C. A and Erdman, J. W. 2002. Carotenoids: Linking chemistry, absorption, and metabolism to potential roles in human health and disease. *Process Biochemistry*, 1773-1778.

Demirsoy, A., Türkan, İ. ve Gündüz, G. 2003. Genel Biyoloji. 5. baskı 382-383.

Dittrich, B., Michel, H. J., Schulze, F., Lang, S., Wozniak, H., Dittrich, G., Klepel, M. 1989, 1,2,4-triazoles for sucker control in Tobacco, (C1.A01N43/653), 29 Nov. (1989), *Appl.*317,696,08 Jul. (1988); 4pp.

Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C., Almeida, L.M. 1994. Action of phenolic derivatives (acetoaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *archive of biochemistry and biophysics* 315, 161-169.

Doub, L. Richardson, L.M., Bambas, L.L, Youmans, G.P., Youmans, A.S., J. 1958, *Am.Chem.Soc.*80, 2205.

Duh, P.D., Tu, Y.Y. and Yen, W.J. 1999. Antioxidant activity of water extracts of harn g jyr (*Chrysanthemum morifolium Ramat*). *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie*, 32, 269-277.

Durmaz, G. 2002. Kayısı meyvesinin ve kavrulmuş kayısı çekirdeğinin antioksidan özellikleri. İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Malatya.

Düğü, E. 2007, Keton Fonksiyonlu Bis-1,2,4-Triazol ve İndirgenme Reaksiyonları, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Dündar Y., Aslan R. 1999 Hücre moleküler statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller-antioksidanlar. *Cerrahi Tıp Bilim. Derg.* 2(2):134-142.

El-Dawy, M.A., Mohsen, A., Omar, M.E., Ismail, M.A. and Hazza, A.A.B. 1983, *J.Pharm-Sci-*72,45.

Erturan, S., Yalçın, M., Cankurtaran, H. ve Kunt, G. 1997, XI. Kimya kongresi, Kongre Özetleri Kitabı, 494.

Fessenden, R.J. and Fessenden, J.S. 1992, *Organik Chem.*, Çev. Edt. Tahsin Uyar, 4. Baskı, Güneş Kitabevi, Ankara.

- Frankel En., Meyer As.** 2000, "The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants." *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1925-1941.
- Fülöp, F., Semega, E., Dombi, C. and Bernath, G.** 1990, *J. Heterocyclic Chem.*, 27, 951.
- Gall, M., Mitarb., Hester, J.B., Rudzik, A.D. and Lahti, R.A.** 1976, Synthesis and Pharmacology of Novel Anxiolytic Agents Derived from 2-[(Dialkylamino)methyl-4H-triazol-4-yl] benzophenones and Related Heterocyclic Benzophenones: *J. Med. Chem.*, 19, 1057.
- Gary, M., Brittenham.** 2003 *Iron Chelators and Iron Toxicity* Volume 30, *Issue 2*, Pages: 151-158
- Gates, Stuart P.** 1988, Preparation of Thiazolo[3,2-b][1,2,4]-triazolo-2-sulfonamides as Herbicides, *Eur. Pat.* 244, 098 (Cl. CO7D513/04), 4 Nov. 1987, Ref: C.A. 108, 75405t;.
- George, K.** 1984, Longevity of Guard Cell Chloroplasts Under Toxic Action, *Curr.Sci.*, 53, 149-150.
- Grundmann, C., Ratz, R.** 1956, Triazines. XVI. A New Synthesis for 1,2,4-Triazoles, *J. Org. Chem.* 21, 1037
- Gülçin, İ.** 2005. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*. 217, 213-220.
- Haber, J.** 2001. Present status and perspectives on antimycotics with systemic effects, *Cas. Lek.Cesk.*, 140(19), 596-604.
- Hadjoudis, E., Moustakali, M., I., and Xexakis, J.** 1979, Effect of crystal and molecular structure on the thermochromism and photochromism of some salicylidene-2-aminopyridines. (*Srael J. Of Chem.*, 202-207).
- Hakan, E.** 1989, Syn. and Antihypertensive of 5-subst. 4-amino-3-hydrazino-4H-1,2,4-triazoles, *Acta Pharm. Nordica* 2 (1) 67-74
- Halliwell B.** (1994): "Free radicals and antioxidants: A personal view." *Nutrition Reviews*, 52(8), 253-265.
- Halliwell, B. and Aruoma. O. I.** 1998. Free radicals and antioxidants: The need for in vivo Markers of Oxidative stress. *Journal of American Oil Chemistry Society*, 75(2): 199-212.

- Harjani, R., Friscic, T., Mac Gillivray ve Singer, R.** 2006, Metal Chelate Formation Using a Task-Specific Ionic Liquid, *Inorg. Chem.*, 45, 10025-10027.
- Heindel, N. D., and Reid, J.R.** 1980. 4-Amino-3-mercapto-4H-1,2,4-triazoles and propargyl aldehydes: A new route to 3-R-aryl-1,2,4-triazolo[3,4-b]-1,3,4-thiadiazepines, *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 17(5), 1087-1088.
- Holla, B. S., Kalluraya, B., Sridhar, K. R., Drake, E., Thomas, L. M., Bhandary, K. K. and Levine, M.J.** 1994. Synthesis, structural characterization, crystallographic analysis and antibacterial properties of some nitrofuryl triazolo[3,4-b]-1,3,4-thiadiazines, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 29(4), 301-308.
- Hudson, B. J. F., 1990.** Food antioxidants, Elsevier Applied Science, London and New York.
- Inaba, M., Mizuno, Y., Ozaki, M. and Horii, T.** 1981 (C.A.113:97612p)
- Itoh, H., Furukawa, Y., Tsuda, M. and Takeshiba, H.** 2004, Synthesis and fungicidal activity of enantiomerically pure (*R*)- and (*S*)-silicon-containing azole fungicides, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 12 3561-3567.
- İkizler, A.** 1996, Heterohalkalı Bileşikler, K.A.T.Ü., Fen Fakültesi Yayınları No:38, 236-241, Trabzon.
- Jin, C., Twamley, B., Sheeve.** 2005, Low-Melting Dialkyl- and Bis(polyfluoroalkyl)-Substituted 1,1'-Methylenebis (imidazolium) and 1,1'-Methylenebis (1,2,4-triazolium) Bis(trifluoromethanesulfonyl) amides: Ionic Liquids Leading to Bis(*N*-heterocyclic carbene) Complexes of Palladium, *J. Organometallics.*, 24 3020-3023.
June 2003, Pages 151-158
- Kane, J. M., Baron, B. M., Dudley, M. W., Sorensen, S. M., Staeger, M. A., Miller, F.P.** 1990, 2,4-Dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-ones as Anticonvulsant Agents; *İbid.* 33, 2772.
- Karagözler, A.A. ve Aktaş, D.** 2005. Besin ve sağaltım amaçlı kullanılan bitkilerin *in vitro* antioksidan kapasitelerinin incelenmesi. Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Bitirme Raporu (FEF-03014 No'lu Proje), Aydın.
- Karyotikis, N.C., Anaissie, E.J., Hachem, R., Digmani, M.C., Samonis, G.** 1993, *J. Infect. Dis.*, 168, 131.
- Kathari, P.J., Singh, S.P., Parmar, S.S., Stenberg, V.** 1980, *I. Heterocyclic Chem.*, 17, 1993.

- Kaur, C. and Kapoor, H.C.** 2001. Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. *Int. J. Food Sci. Tech.* 36; 703-725.
- Kaviarasan, S., Naik, G.H., Gangabhairathi, R., Anuradha, C.V., Priyadarsini, K.I.** 2007. In vitro studies on antiradical and antioxidant activities of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seeds. *Food Chemistry*, 103, 31–37.
- Keskin, H. ve Erkmen G.** 1987. Besin Kimyası. Güryay Matbaacılık İstanbul, Beşinci basım:25-35.
- Kılınc, K. ve Kılınc, A.** 2002. Oksijen toksisitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen Radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33(2): 110-118.
- Kocaaliler, A.** 2008, 4,5-diamino-2-hidrazino-3-merkapt-1,2,4-triazolün bazı aldehit türevleri ve schiff bazlarının sentezi ve enzim üzerine inhibasyon etkilerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Koleva II, Van Beek TA, Linsen JPH, de Groot A, Evstatieva, LN.** 2002, Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis* 13: 8-17.
- Lagorce, J. F., Moulard, T., Raby, C.** 1992, Synthesis and Inhibitory Effect of 1,2,4-Triazole Derivatives on Platelet Aggregation, *Arzneim, Forsch/DrugRes.* 42 (1), 314
- Landvik, S. V., Diplock, A. T. and Packer, L.** 1998. Efficacy of α -tokoferol in human health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, 121: 1123-1137.
- Lewenstein, M.J., U.S.P.** 1954, 2,683.106 (C.A.48:13175b). lignans from fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.). *European Food Research* lignans from fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.). *European Food Research*
- Luo, Y., Lu, Y., Gan, L.L., Zhou, C.H., Wu, J., Geng, R.X., and Zhang, Y.Y.** 2009, Synthesis, Antibacterial and Antifungal Activities of Novel 1,2,4-Triazolium Derivatives, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, 342, 386–393.
- Luo, Y., Lu, Y., Gan, L.L., Zhou, C.H., Wu, J., Geng, R.X., and Zhang, Y.Y.** 2009, Synthesis, Antibacterial and Antifungal Activities of Novel 1,2,4-Triazolium Derivatives, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, 342, 386–393.
- Mathew, S. and Abraham, T.E.** 2006. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models, *Food Chemistry*, 94, 520-528.

- Meguro, K., Kuwada, Y.** 1975, s-triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepines or their 5-Noxidesuseful as Sedatives, Analgesics, MuscleRelaxants, Hyproticsand Tranquilizers; Japan. 7427, 880 (Cl. C 07d, A61k).
- Meir, S., Kanner, J., Akiri, B., Hadas, S.P.** 1995. Determination and Involvement of Aqueous Reducing Compounds in Oxidative Defense Systems of Various Senescing Leaves. *J. Agri. Food. Chem.*, 43, 1813.
- Merck Index.** 1996. 12th Edn., Merck Co. Inc. Whitehouse Station
- Miller, D.D.** 1996. Mineral. Food Chemistry, Fennema, O. R. (Ed.), Dekker: New York, 618-649.
- Mir, I., Sıdıqui, M. T., Comrie, A.** 1970, AntituberculosisAgents I. W-[5-(2-Furyl)-1,2,4-triazol-3-ylthio] acetohydrazide and Related Compuonds, *Tetrahedron* 26 (22), 5235
- Mori, S., Ttakeuchi, Y. and Toyamo, M.** 1985, Amitrole of The Liver Follwing Subchronic Administionto Mice, *Toxical. Lett.*, 29, 145-142
- Nagai, T., Myoda, T. and Nagashima T.** 2005. Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (tsukushi) *Equisetum arvense*. *Food Chemistry*, 91: 389-394.
- Narayanan, A., Chapman, D.R., Upadhyaya, S.P. and Bauer, L.** 1993, Conversation of 4-Amino-4H-1,2,4-triazole to 1,3-Bis (1H-azol-1-yl)-2-aryl-2-propanols and 1-phenacyl-4-[(benzoylor 4-toluenesulfonyl)-imino]-(1H-1,2,4-triazolium) Ylides [1], *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 301405–1412.
- Nicholas, E.,Torenius, H.** 2002, A Study of the Ionic Liquid Mediated Microwave Heating of Organic Solvents, *J. Org Chem.*, 67 3145-3148.
- Oyaizu M.** 1986: “Studies on product of browning reaction prepared from glucose mine.” *Japan Journal of Nutrition*, 44, 307-315.
- Pandeya, S. N.,Sriram, D., Nath, G.** 2000, Syn-antibacterial, antifungaland, anti-HIV evaluation of Schiff and Mannichbases of Isatin and its derivatives. *Arzneimittelforschung* 50 (1); 55-93.
- Pandeya, S. N.,Sriram, D., Nath, G, De Clercq, E.** 2000, *Arzneim,-Forsch./ DrugRes.*, 50, 55-59.
- Pandeya, S. N.,Sriram, D., Nath, G, Declercq, E.** 1999, *European Journal of pharmaceutical Sciences*, 9, 25-31.

Potts, K.,T. 1961, Chem.Revs., 60,87.

Pourmorad F, Hosseinmehr Sj, Shahabimajd N, 2006, Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants African Journal of Biotechnology. 5 (11), 1142-1145.

Prasad, A. R., Ramalingam, T., Rao, A. B., Diwan, P. V. and Sattur, P. B. 1989, Synthesis and Biological Evaluation of 3-Aryloxyalkyl-6-Aryl-7H-s-triazolo [3,4-b] [1,3,4]thiadiazines, Eur. J. Med. Chem. 24, 199.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice- Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic. Biol. Med., 26, 1231–1237.

Reader, S.C.J., Carroll, B., Robertson, W.R., and Lambert, A. 1987, Biochem.Pharmacol., 36,1825.

Reddy, C.S., Rao, L.S. and Nagaraj, A. 2010, Synthesis and Evaluation of Novel Bis [1,2,4]-triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazoles as Potent Antimicrobial Agents, Acta Chim. Slov., 57, 726-732.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. and Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in Plant Science, 2: 152-159.

Roblin, R. O., Clapp, J. M. 1950, The Preparation of Heterocyclic Sulfonamides, J.Am. Chem. Soc. 72, 4890.

Rusinov, V.L., Ulomkii, E.N., Chupakhin, O.N., Zubairov, M.M., Kapustin, A.B., Mitin, N., Zhiravetskii, M.I., Vinograd, I.A. 1990, Khim-Farm,Zh., 24,41(C.A.).

Serteser, A. ve Gök, V. 2003. Doğal Antioksidanların Biyoyararlılığı. 3. Gıda Mühendisliği Kongresi. (2-4 Ekim 2003), Ankara.

Shah, M.H., Mhasalkar, M.Y., Patki, U.M., Deliwala, C.V. and Sheth, U.K. 1969, J.Pharm.Sci., 58, 1398.

Soares, J.R., Dinis, T.C.P., Cunha, A.P., and Amedia, L.M. 1997, Antioxidant Activities Of Some Extracts Of Thymus Zygis, Free Radical Res., 26 469.

Tantwy, A., Barghash, A.E.M., Alexandria, 1988, J.Pharm.Sci,2,50.

Tekkes, Y., 2006. Streptozotosin ile Diabet Olusturulmuş Farelerde Aspirin ve E Vitaminin Dokularda Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Sisteme Etkisinin

Arastırılması. (Yüksek Lisans Tezi), Kahramanmaraş Sütçüimam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Kahramanmaraş.

Temple, C. 1981, Montgomery, J.A.: "The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Triazoles-1,2,4-" John Wiley and Sons, New York.

Tezcan, İ. 1974, O-O1-Dihidroksi Schiff Bazları ile bunların Cu ve Ni Kompleksleri, İ.T.Ü. Kimya Fak.

Tütem, E. and Apak, R. 1991. Simultaneous spectrophotometric determination of cystine and cysteine in amino acid mixtures using copper(II)-neocuproine reagent. *Analytica Chimica Acta*, 255: 121-125.

URL-1, <http://www.registrarcorp.com/> 17.06.2012

Ünlü M.C. 2001 "Çesitli İçeceklerdeki Antioksidan Kapasitenin Arastırılması" Y.Lisans Tezi, Konya.

Walker, Q. D., Lewis, M. H., Crofton, K. M. and Mailman, R. B. 1990, Triadimefon, a triazole fungicide, induces stereo typed behavior and alters monoamine metabolism in rats, *Toxicol Appl. Pharmacol.* 102, 474-485.

Wang, B.L., Shi, Y.X., Ma, Y., Liu, X.H., Li, Y.H., Song, H.B., Li, B.J., and Li, Z.M. 2010, Synthesis and Biological Activity of Some Novel Trifluoromethyl-Substituted 1,2,4-Triazole and Bis(1,2,4-Triazole) Mannich Bases Containing Piperazine Rings, *J. Agric. Food Chem.*, 58, 5515–5522.

Xue, H., Gao, Y., Twamley, B., Sheeve, J. 2005, Energetic Azolium Azolate Salts, *Inorg. Chem.*, 44 5068-5072.

Yazıcı, A., Karabag, E. T. 1998, Amino asitlerden türeyen Schiff bazlarının metal komplekslerinin araştırılması, İ.Ü. Müh. Fak., Bitirme Projesi.

Yıldırım, A. Mavi and A.A.Kara. 2001, Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *J. Agri. Food. Chem.*, 4083.

Yu, G.P., Xu, L.Z., Yi, X., Bi, W.Z., Zhu, Q., and Zhai, Z.W., 2009, Synthesis and Fungicidal Evaluation of 2-Arylphenyl Ether-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol Derivatives, *J. Agric. Food Chem.*, 57, 4854–4860.

ÖZGEÇMİŞ

İlk ve orta öğrenimini Malatya’da çeşitli okullarda aldı. 2002 yılında Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde mezun oldu. O tarihten itibaren Bingöl ilinde Milli Eğitim Bakanlığına bağlı farklı okullarda idarecilik ve öğretmenlik mesleğini icra etti. Halen Bingöl’de öğretmen olarak görev yapmaktadır.

Evli ve iki çocuk babasıdır.