

T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YENİ BİR SERİ 1, 2, 4-TRİAZOL TÜREVLERİNİN BAKIR
İNDİRGEME ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİ (CUPRAC) VE
ANTIELASTAZ AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Öğrencinin Adı SOYADI : Hülya DİRİ

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih :

Enstitü Anabilim Dalı : Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Bahar BİLGİN SÖKMEN

MAYIS 2024
GİRESUN

T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YENİ BİR SERİ 1, 2, 4-TRİAZOL TÜREVLERİNİN BAKIR
İNDİRGEME ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİ (CUPRAC) VE
ANTİELASTAZ AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hülya DİRİ

Enstitü Anabilim Dalı : Kimya Anabilim Dalı

Bu tez .././20.. tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği / oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr.
Nurhan
GÜMRÜKÇÜOĞLI
Jüri Başkanı

Prof.Dr.
Bahar BİLGİN
SÖKMEN
Üye

Dr.Öğr. Üyesi
Canan ALBAY
Üye

Prof. Dr.
Bahadır KOZ
Enstitü Müdürü

BEYAN

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

Hülya DİRİ
12/07/2024

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca, tez çalışmalarımın yürütülmesi ve değerlendirilmesinde yardım ve desteğini hiç esirgemeyen çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Bahar BİLGİN SÖKMEN' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu zamana kadar benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, her zaman yanımda olan ve bana her koşulda cesaret veren anneme ve babama, eşim Özkan DİRİ'ye ve biricik kızım Sine Nehir DİRİ'ye en içten duygularıyla teşekkürlerimi sunarım.

Tez dönemim öncesinde ve tez çalışmam süresince bilgi birikimini ve teknik desteğini benden hiç esirgemeyen kıymetli arkadaşım Volkan KARAHAN'a çok teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VI
TABLolar LİSTESİ	VII
ÖZET.....	VIII
SUMMARY	IX
BÖLÜM 1 GİRİŞ.....	1
1.1. Heterosiklik Bileşikler	1
1.1.1. Triazoller.....	2
1.1.2. 1,2,4-Triazol	3
1.2. Serbest Radikaller (Oksidanlar)	5
1.2.1. Serbest Radikal Kaynakları.....	6
1.2.1.1. Endojen Kaynaklar.....	7
1.2.1.1.1. Mitokondriyal Elektron Transport Zinciri.....	7
1.2.1.1.2. Mikrozomal Elektron Transport Zinciri	7
1.2.1.1.3. Proteinler.....	8
1.2.1.1.4. Araşidonik Asid Döngüsünün Aktivasyonu	8
1.2.1.1.5. Oksidatif Stres Yapıcı Durumlar (Travma, İskemi, Reperfüzyon).....	8
1.2.1.1.6. Fagositik Hücreler.....	8
1.2.1.1.7. Peroksizomlar.....	9
1.2.1.1.8. Plazma Membranı	9
1.2.1.1.9. Transizyon Metalleri	10
1.2.1.2. Eksojen Kaynaklar	10
1.2.1.2.1. İlaçlar.....	10
1.2.1.2.2. Metal İyonları.....	10

1.2.1.2.3. Kirleticiler	10
1.2.1.2.4. Radyasyon	11
1.2.2. Serbest Radikallerin Oluşumları	11
1.2.3. Serbest Radikal Türleri.....	12
1.2.4. Oksijenin Reaktif Türleri	13
1.2.5. Hücrenin Reaktif Oksijen Kaynakları	15
1.2.5.1. Biyolojik Kökenli Kaynakları	16
1.2.5.1.1. Oksidatif Patlama	16
1.2.5.1.2. Çevresel Faktörler Ve Radyasyon	17
1.2.5.1.3. Antineoplastik Faktörler.....	17
1.2.6. Hücre İçi Kaynaklar	18
1.2.7. Serbest Radikallerin İnsan Vücuduna Etkileri	19
1.2.7.1. Oksidatif Stres.....	19
1.2.7.2. Lipidlere Serbest Radikal Etkisi	21
1.2.7.3. Proteinlere Serbest Radikal Etkisi.....	23
1.2.7.4. Nükleik Asitlere Ve Dna'ya Serbest Radikal Etkisi.....	24
1.2.7.5. Karbonhidratlara Serbest Radikal Etkisi.....	25
1.3. Antioksidanlar	26
1.3.1. Antioksidanların Sınıflandırılması	27
1.3.2. Kaynaklarına Göre Antioksidanlar.....	28
1.3.3. Enzimatik Savunma	29
1.3.3.1. Süperoksit Dismutaz (Sod)	29
1.3.3.2. Mangan Süperoksit Dismutaz	30
1.3.3.3. Cu/Zn Süperoksit Dismutaz	30
1.3.3.4. Ekstrasellüler Süperoksit Dismutaz	30
1.3.3.5. Nikel Süperoksit Dismutaz	31
1.3.3.6. Katalaz	31
1.3.3.7. Glutasyon Peroksidaz (Gpx).....	31
1.3.3.8. Glutasyon -S-Transferaz (Gst).....	31
1.3.3.9. Glutasyon Redüktaz.....	32
1.3.4. Non-Enzimatik Antioksidan Savunma.....	32
1.3.4.1. E Vitamini	33

1.3.4.2. C Vitamini.....	34
1.3.4.3. Karotinoidler	34
1.3.4.4. Polifenoller.....	36
1.3.4.5. Flavonoidler	36
1.4. Genel Özellikleri İle Enzimler	37
1.4.1. Enzim İnhibisyonu	38
1.4.1.1. Geri Dönüşümlü Enzim İnhibisyonu	39
1.4.1.1.1. Yarışmalı Enzim İnhibisyonu	39
1.4.1.1.2. Yarışmasız Enzim İnhibisyonu.....	40
1.4.1.1.3. Yarı Yarışmalı Enzim İnhibisyonu	40
1.4.1.2. Geri Dönüşümsüz Enzim İnhibisyonu	41
1.5. Elastaz Enzimi.....	41
 BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	 44
 BÖLÜM 3. MATERYAL VE METOD	 46
3.1. Materyal.....	46
3.1.1. Deneylerde Kullanılan Cihazlar.....	46
3.1.2. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	46
3.2. Metod.....	47
3.2.1. Cuprac İndirgeme Gücü Yöntemi İle Antioksidan Kapasite Tayini.....	47
3.2.2. Anti-Elastaz Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi.....	48
 BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI	 49
4.1. Cuprac İndirgeme Gücü Metodu Sonuçları.....	49
4.2. Anti-Elastaz Aktivitesi Tayini Sonuçları.....	50
 BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ	 52
 KAYNAKLAR.....	 55
ÖZGEÇMİŞ	677

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

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

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. 1,2,3-triazol ve 1,2,4-triazol halkası	2
Şekil 1.2. 1,2,4-Triazol halkasının tautomerik yapıları.....	3
Şekil 1.3. 1,2,4-triazol halkası içeren farklı bileşik ilaçlar.....	4
Şekil 1.4. Oksijenin Suya İndirgenmesi ve Diğer Oksijen Türlerinin Oluşumu.....	15
Şekil 1.5. Nötrofil Membranı	17
Şekil 1.6. Serbest Radikallerin Hücreye Etkisi	19
Şekil 1.7. Reaktif Oksijen ve Azot Türleri.....	21
Şekil 1.8. Lipid Peroksidasyonu Parçalanma Ürünleri	23
Şekil 1.9. Protein Bağı ve Peptid Bağı Kırılımı	24
Şekil 1.10. Serbest Radikallerin Nükleik Asitlere ve DNA'ya Etkileri	25
Şekil 1.11. α -Tokoferol	33
Şekil 1.12. Tokotrienollerin Genel Yapısı	34
Şekil 1.13. C Vitamininin Kimyasal Yapısı.....	34
Şekil 1.14. β -Karoten, Likopen, Lutein ve Zeaksantin	35
Şekil 1.15. Temel Flavonoid Yapısı.....	37
Şekil 1.16. Enzim Substrat İlişkisi	38
Şekil 1.17. Kompetitif Enzim İnhibisyonu	39
Şekil 1.18. Nonkompetitif Enzim İnhibisyonu	40
Şekil 1.19. Yarı Yarışmalı Enzim İnhibisyonu	41
Şekil 1.20. Tropokollojen Üçlü Heliks Yapısı	42
Şekil 1.21 Elastin Fibrilleri	43
Şekil 3.1. 1,2,4-Triazol bileşiklerinin açık yapıları.....	47

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. Serbest Radikal Türleri	12
Tablo 1.2. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	27
Tablo 1.3. Kaynaklarına Göre Antioksidanlar	28
Tablo 1.4. Vitamin Olan Antioksidanlar.....	33
Tablo 4.1. 1,2,4-Triazol Bileşiklerinin CUPRAC Aktiviteleri Sonuçları.....	49
Tablo 4.2. İlk Defa Sentezlenen 1,2,4-Triazol Bileşiklerinin Elastaz Aktivitesi.....	51

Yeni Bir Seri 1, 2,4-Triazol Türevlerinin Bakır İndirgeme Antioksidan Kapasiteleri (CUPRAC) ve Anti-elastaz Aktivitelerinin İncelenmesi

ÖZET

Triazol bileşikleri heterosiklik yapıda olan azot atomu içeren önemli bileşiklerdir. Triazollerin etkili olduğu çok sayıda biyolojik aktivite vardır. Bu bileşiklerin bir kısmının kanser hastalarının tedavisinde kullanılan kimyasal tedavi ilaçlarında, sedef hastalığı için kullanılan ilaçlarda ve kaslardaki gerilimi azaltmak amacıyla kas gevşetici ilaçların yapımında kullanıldığı bilinmektedir.

Antioksidanlar vücudun doğal sürecinde üretilmediği gibi dışarıdan gıda yoluyla alınabilmektedir. Yaş alımı ile ortaya çıkan yaşlanma belirtilerini yavaşlatmak ve bağışıklık sistemini sağlamlaştırmak amacıyla da kullanılırlar. İnsan sağlığı için büyük önem taşıyan antioksidanlar aynı zamanda gıdaların raf ömrünü uzatmaya ve besin değerlerindeki kaybı azaltmaya yardımcı olmaktadır.

Bu çalışmanın amacı yeni bir seri olan 1, 2, 4-triazol türevlerinin bakır indirgeme antioksidan kapasiteleri (CUPRAC) ve anti-elastaz aktivitelerini incelemektir.

Anahtar kelimeler: 1, 2, 4-Triazol, Antioksidan Aktivite, Anti-elastaz Aktivite, CUPRAC

The Investigation of the Copper Reducing Antioxidant Capacities (CUPRAC) and Antielastase Activities of New a Series 1,2,4-Triazole Derivatives

SUMMARY

Triazole compounds are important compounds containing nitrogen atoms in a heterocyclic structure. There are a number of biological activities on which triazoles are effective. It is known that some of these compounds are used in chemical therapy drugs used in the treatment of cancer patients, drugs used for psoriasis, and muscle relaxants to reduce tension in the muscles.

Antioxidants can be produced naturally in the body or can be obtained externally through food. They are also used to slow down the signs of aging that occur with age and strengthen the immune system. Antioxidants, which are of great importance for human health, also help to extend the shelf life of foods and reduce the loss of nutritional values.

The aim of this study is to examine the copper reduction antioxidant capacities (CUPRAC) and antielastase activities of a new series of 1, 2, 4-triazole derivatives.

Keywords: 1, 2, 4-Triazole, Antioxidant Activity, Antielastase Activity, CUPRAC

BÖLÜM 1. GİRİŞ

1.1. Heterosiklik Bileşikler

Bir halkadaki bütün atomlar karbon ise, böyle bileşiklere karboksilik adı verilen homosiklik bileşikler denir. Oysa gerek doğadan gerekse sentetik olarak elde edilen öyle bileşikler vardır ki, halka atomlarından bir ya da birkaçı karbondan başka atomlardan oluşmaktadır. Böyle halkalara heterosiklik ya da heterohalkalı bileşikler adı verilir [1,2]. Heterosiklik yapıdaki bileşiklerin yapısında halkada karbon atomlarının yanı sıra genellikle azot, oksijen ve kükürt atomları bulunur.

Heterohalkalı bileşikler sayıca fazla olan organik bileşiklerin büyük bir çoğunluğunu oluşturan önemli bir bileşik grubudur. Doğada pek çok yerde bulunan ve yaşam için vazgeçilmez olduğu bilinen bileşiklerdir [3].

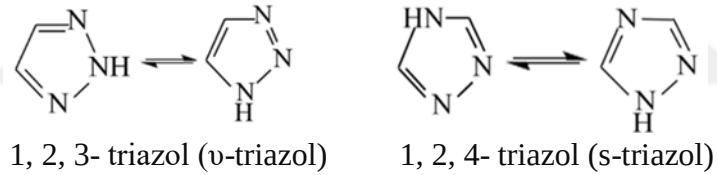
Heterohalkalı bileşiklerin bu denli önem arz etmesinin temel nedenlerinden biri insan vücudunda hayati önem taşıyan olaylarda etkin rol almasıdır. Heterosiklik bileşiklerde bulunan farklı fonksiyonel yapılar bir bileşiğin aynı anda birçok kimyasal reaksiyona eşlik etmesini sağlamaktadır [4]. Biyomoleküller olarak adlandırılan ve hayat için önemli olan kanın kırmızı olmasını sağlayan hemoglobinin, fotosentez için gerekli olan klorofillerin, DNA ve RNA'nın temel bileşenleri olan nükleotidlerin yapısında heterosiklik bileşikler yer almaktadır [5,6]. Prolin, histidin, triptofan gibi amino asitlerin C vitamini olan askorbik asitin, B2 vitamini olan riboflavinin, E vitamini olan α -tokoferolün, enzimlerin yapısında heterohalkalı bileşikler mevcuttur [7]. Heterosiklik bileşiklerin kimyasal aktivitelerindeki avantajları onların kullanım alanlarının da oldukça geniş olmasını sağlamıştır. Bu bileşikler kozmetik, boya, polimer ve ilaç sektörlerinde sıkça kullanılmaktadır. Bunlarla birlikte güneşten yayılan ışınları absorbe eden ve elektrik akımı meydana getiren yarı iletken malzemelerden yapılan fotovoltatik hücrelerde, organik ışık yayan diyotlarda (OLED), en önemli kimyasal sensörlerden biri olan floresan sensörlerde, optik veri taşıyıcılarda

kullanılmaktadır [8]. Özellikle azot içeren heterohalkalı bileşikler farklı uygulama alanlarının olmasından ötürü bilim insanları tarafından ilgi çekmektedir.

1.1.1. Triazoller

Triazol, üç azot atomu ve iki karbon atomu taşıyan beş üyeli heterosiklik bir halka yapısıdır. Triazol halkası ile yapılan çalışmalar 19. Yüzyılın sonuna doğru başlamıştır. “Triazol” ismi ilk olarak kapalı formülü $C_2H_3N_3$ olan karbon-azot halka sistemine Bladin tarafından 1885 yılında verilmiştir. Bu halka sistemi için “pirodiazol” alternatif bir isim olarak 1889 yılında Andreocci tarafından önerilmiştir [9].

Triazoller genellikle 1, 2, 3-triazol (v-triazol) ve 1, 2, 4-triazol (s-triazol) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Kimyasal formülleri aynı ancak düzlemdeki atom konumları farklı triazol türevi bileşiklerinin bu yapıları birbirinin izomeridir [10]. Bu iki tür triazolün yapısı Şekil 1.1'de gösterilmiştir.



Şekil 1.1. 1, 2, 3-triazol ve 1, 2, 4-triazol halkası

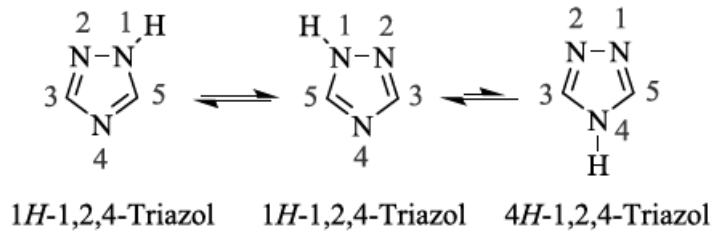
Triazol halkası hoş kokulu yapıya sahiptir, elektronca zengindir. Triazol ve türevleri birçok reseptör ve enzimle etkileşime girmeye yol açan benzersiz bir yapıya sahiptir, bu nedenle canlı sistemde yüksek aralıkta aktivitelere sahiptir ve çok sayıda bulunmaktadır. Hidrojen bağları, iyon-dipol, van der waals kuvveti ve diğerleri gibi aralarında farklı zayıf etkileşimler vardır. Günümüzde triazol bileşikleri mantar enfeksiyonu olan hastaların tedavisinde geniş bir çeşitlilikte kullanılmaktadır. Triazoller, düşük toksisiteye, zararsızlığa, parlak biyoaktiviteye ve diğer farmakolojik bileşiklerde bulunan özelliklere sahip özelliklere sahiptir. Başlangıçta, flukonazol gibi bir triazol antifungal ajanı, *Candida Albicans* gibi mantar yoluyla bulaşıcı hastalıklara yakalanan insanların tedavisinde ilaç olarak kullanılmıştır. Azol grupları önemli heterosiklik bileşiklerdir ve tıbbi alanlarda rol oynarlar [11].

Triazoller, antifungal ve diğer önemli biyolojik aktivitelere sahip bir gruptur. Flukonazol, *Candida* ve diğer mantar enfeksiyonlarına karşı antifungal aktivite gösterirken, itrakonazol de flukonazol gibi çeşitli mantar enfeksiyonlarına karşı önemli bir ajan olarak rol oynar, ancak bazı yan etkilere sahiptir. Her ikisi de beş üyeli heterosiklik bileşiğin ilk nesli olan bu ilaçlar, birçok önemli karaktere sahiptir [12].

Triazol türevlerinin geniş bir tıbbi uygulama alanına sahip olması, yeni türevlerin sentezine ve bunların farmakolojik kullanım kapasitelerinin değerlendirilmesine daha da fazla dikkat edilmesini gerektirir. Anti-kanser, toplam antioksidan, antimikrobiyal gibi çeşitli biyolojik aktivitelere kullanılabilen 1, 2, 4-triazoller, Mannich bazına bağlanarak biyolojik sistemdeki aktivitelerini artırabilirler. Ancak, kükürt bağlı 1, 2, 4-triazoller gibi yeni bileşiklerin sentezi değerlendirilmiş ve çeşitli farmakolojik aktiviteler sergilenmiştir [13, 14]. Araştırmacılar, düşük toksisiteye ve güvenli ilaçlara daha fazla odaklanarak yeni terapötik ajanlar sentezlemeye daha fazla ilgi göstermektedirler. Bu özellikler, nitrojen içeren heterosiklik bileşiklerde bulunabilir ve tıbbi ajanlar arasında özellikle yüksek uygulama alanına sahip olan triazoller gibi bileşiklerde sıklıkla görülür [15].

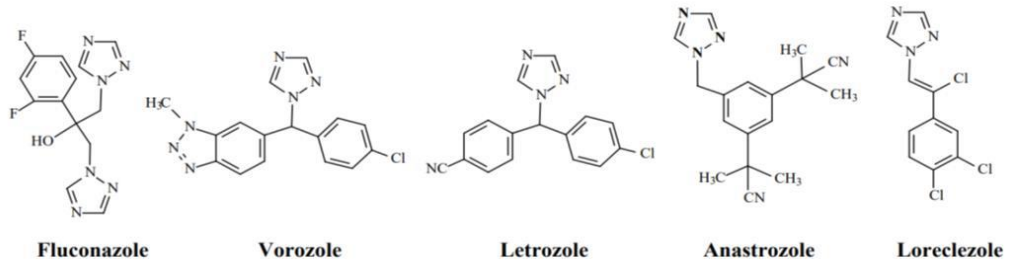
1.1.2. 1, 2, 4-Triazol

1, 2, 4- triazol üç farklı tautomerik yapıya sahiptir. Aromatik yapısı olan 1, 2, 4- triazolün rezonans enerjisi 205.9 kJ/mol olarak bulunmuştur. Üç tautomerisi arasındaki enerji farklılığı nedeniyle 1H tautomeri daha baskın olan formudur. 1, 2, 4- triazol bileşiğinin tautomerik yapıları Şekil 1.2.' de gösterilmiştir.



Şekil 1.2. 1, 2, 4-Triazol halkasının tautomerik yapıları

1, 2, 4-triazol adı verilen heterosiklik bileşikler, tıbbi kimyanın önemli bir rol oynadığı antimikrobiyallerin ve diğer aktivitelerin bulunmasına olanak tanır. Bu özellikleri sayesinde, biyolojik sistemde çeşitli alanlarda kullanılacak yeni ilaçların sentezinde kritik bir rol oynamaktadırlar [16]. 1, 2, 4-triazollerin çeşitli biyolojik hedeflere bağlanma yeteneği, hidrojen benzeri bağ oluşturma aktivitelerinden kaynaklanır ve bu özellikleri, sentezlenen yeni ilaçlarda kullanılmalarını önemli kılar. Bu bağlantılar, biyolojik sistemle etkileşimlerinde kritik bir rol oynar [13]. Çeşitli ilaçlar, pek çok patojenin tedavisinde sentezlenmektedir ve bu ilaçların birçoğunun yapısında 1, 2, 4-triazol bileşiği bulunmaktadır. Örneğin, kanser hastalıklarında kullanılan vorozol, bu yapıya sahipken, mikrobiyal antifungal ilaç olan flukonazol da 1, 2, 4-triazol içeren ilaçlardandır. Triazol ilaçlarının çeşitli yapıları Şekil 1.3' de gösterilmektedir [17].



Şekil 1.3. 1, 2, 4-triazol halkası içeren farklı bileşik ilaçlar

1, 2, 4-triazol heterosiklik bileşiği, azot içeren bir biyolojik bileşiktir ve bu bileşiklerin çeşitli biyolojik aktivitelerde ve farmakolojik uygulamalarda kullanılması söz konusudur [18, 19]. 1, 2, 4-triazoller ve türevleri üzerine yapılan araştırmalar, bu bileşiklerin biyolojik aktiviteleri ve ilaçların bileşim yapıları gibi tıbbın çeşitli alanlarındaki önemini vurgulamıştır. 1, 2, 4-triazollerin ve bunların heterosiklik türevlerinin antifungal aktiviteleri, itrakonazol, flukonazol gibi mantar hastalıklarına karşı kullanılan çeşitli ilaçların sentezinde kritik bir rol oynamaktadır [20, 21]. Ayrıca, 1, 2, 4-triazol, mantarlara ve virüslere karşı kullanılan ilaçlar olan flukonazol ve ribavirin gibi çeşitli biyolojik aktivitelerde kullanılmıştır [22, 23].

1.2. Serbest Radikaller (Oksidanlar)

Bir atom, protonlar ve nötronlardan oluşan bir çekirdek etrafında dönen elektronlara sahiptir. Elektronlar belirli enerji seviyelerinde bulunur ve her orbital, en fazla iki elektron tutabilir, bunlar zıt spinlidir. Atomlar, yörüngelerindeki elektron sayılarını tamamlayarak stabil hale gelirler veya stabilitesini korumak için bu sayıyı tamamlamaya çalışırlar. Serbest radikaller, en dış yörüngesinde eşleşmemiş bir veya birden daha fazla elektron içeren atomlar, iyonlar veya moleküller olarak tanımlanabilirler [24]. Serbest radikalın çiftleşmemiş elektronu, atom veya grubun (OH gibi) üzerinde ya da yanında bir nokta (.) ile belirtilir [25, 26]. Radikallerin reaktivitesi çok yüksektir çünkü dış orbitallerinde paylaşılmamış elektron bulunması, bu kimyasal türlerin reaktivitesini olağanüstü derecede artırır [27]. Serbest radikallerin genellikle ömürleri kısa olup elektriksel olarak pozitif yüklü, negatif yüklü ya da yüksüzdürler [28, 29]. Serbest radikallerin kimyasal yapıları kararsız ve stabil bir yapıya geçebilmek için eşleşmemiş elektronlarını paylaşmak şartıyla diğer bir moleküle seri bir şekilde reaksiyona girerler. Serbest radikallerle reaksiyona girdiği için moleküllerin bir elektronu eksilir ve onlar da reaktif hale gelerek reaksiyonu zincirleme şekilde gerçekleştirir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijen kaynaklı olanlardır [28]. Oksijenin önemi genellikle serbest oksijen radikalleriyle ilişkilidir. Bu radikaller, kovalent bağlı bir molekülün herhangi bir parçasının ortak kullanılan elektronlarından birini alarak bölünmesi, elektron eklenmesi veya elektron transferiyle oluşabilir. Biyolojik sistemlerde ise daha çok elektron geçişi sonucu serbest oksijen radikalleri meydana gelir [30]. Oksijen kullanan her canlı hücresinde (Aerobik) gerçekleşen reaksiyonların sonucunda serbest radikaller oluşmaktadır. Kaynağı oksijen ya da azot olan serbest radikaller, biyolojik sistemlerde çift yönlü etkiye sahiptir; yani hem yararlıdır hem de zararlıdır diyebiliriz. Yüksek konsantrasyonlarda oluştuklarında, serbest radikaller membran lipidleri, proteinler ve nükleik asitlerin yıkımına yol açabilirler, bu da zararlı olabilir. Ancak, antioksidan enzimlerin yanı sıra non-enzimatik antioksidan sistemler de bu etkileri dengeleyebilir [31, 32].

Radyasyona uğrayan hayvanların ve bakterilerin hücre kültürlerinde oksijenin radyasyon hasarını arttırdığı belirlenmiştir [33]. Moleküler oksijenlerin oksidasyon yeteneği çoğunlukla düşük olmasına karşın; süperoksit ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin (ROT) aktivitesi, çok daha yüksek olur. Yüksek radikal konsantrasyonlarında, bahsedilen reaktif türlerini uzaklaştıracak antioksidan sistemleri yetersiz kalabilir ve özellikle doymamış yağ asitleri oksidasyona uğrayabilir. Bu nedenle, içeriğinde yüksek lipid olan sinir ve membran dokuları, oksijen konsantrasyonu yüksek olduğunda kolaylıkla oksidatif hasara uğrayabilir [34]. Serbest radikallerin üstünlüğüyle dengenin bozulmasına oksidatif stres adı verilir.

1.2.1. Serbest Radikal Kaynakları

Oksijen molekülleri, doğası gereği reaktif değildir çünkü elektron konfigürasyonu stabildir. Ancak, oksijen molekülüne enerji veya elektron sağlandığında bu kısıtlama kalkarak reaktif türlerinin oluşumu kendiliğinden gerçekleşir. Bu süreç, ağır metal iyonları gibi elektron donörleri aracılığıyla gerçekleşir. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu hem enzimatik hem de non-enzimatik yollarla gerçekleşebilir.

Reaktif oksijen türleri (ROT'lar), kloroplastta, mitokondri yapısında ve plazma membranındaki elektron taşıma zincirinde yan ürünler olarak oluşabilirler [35].

Oksijenin bulunduğu ortamda yaşam, oksidatif fosforilasyon aracılığıyla adenozintrifosfat (ATP) üretiminde önemli bir avantaj sağlar, ancak aynı zamanda bazı riskleri de beraberinde getirir. Serbest radikaller biyolojik, hücre içi sıvılardan veya toksik maddelerden meydana gelebilir. Bu kaynaklar, endojen ve eksojen olarak iki ana kategoriye ayrılabilir.

Serbest radikaller, metabolik reaksiyonlar, hücrelerin gıdaları ATP'ye dönüştürmesi, yoğun egzersiz, çevresel kirlilik ve iyonlaştırıcı radyasyon gibi dış etkenlerin etkisiyle üretilir. Ayrıca, kararlı bir moleküle bir elektron eklenmesi gibi farklı yollarla da oluşabilirler. [24]. Yapılan araştırmalar, çevresel olarak kalıcı serbest radikallerin, oksijen içeren veya oksijen merkezli serbest radikaller gibi tek bir elektron içerdiğini

ve son dönemlerde uzun süreli ve tehlikeli maddeler olarak incelendiğini göstermiştir [31].

Vücuttaki serbest radikallerin asıl kaynağı fizyolojik metabolizmadır, ancak reaktif oksijen türleri ve oral bakterilerin yanı sıra iyonlaştırıcı ve ultraviyole radyasyon, gıda ve hava kirliliği, alkol ve sigara gibi dış etkenler de serbest radikallerin oluşumuna katkıda bulunabilir. Ağız dokuları, içecekler ve gıda tüketiminden sonra sıklıkla reaktif oksijen türlerine maruz kalır ve bu durum ağız boşluğunda olumsuz sağlık etkilerine neden olabilir [32].

Oksijen varlığıyla yaşam, oksidatif fosforilasyon yoluyla adenozintrifosfat (ATP) üretimiyle önemli bir avantaj sağlar. Ancak, bu durum beraberinde bazı riskleri de getirebilir. Bu riskler biyolojik, hücre içi sıvılar ya da toksik maddeler olabilir. Bu kaynaklar genel olarak endojen veya eksojen olarak iki genel kategoriye ayrılır.

1.2.1.1. Endojen Kaynaklar

Endojen kaynaklar, organizmanın kendi içinden veya içsel süreçlerden kaynaklanan faktörleri ifade eder.

1.2.1.1.1. Mitokondriyal Elektron Transport Zinciri

Hücre solunumunun gerçekleştiği mitokondri, enerji metabolizmasında oksijenin büyük bir kısmını suya indirgerken, küçük bir kısmını (%1-5) süperoksit üretiminde kullanır. Bu durumun sebebi, NADH dehidrojenaz ve koenzim Q benzeri elektron taşıyıcılarından oksijene doğru elektron kaçığının olmasıdır [36, 37].

1.2.1.1.2. Mikrozomal Elektron Transport Zinciri

Birçok P₄₅₀ ve flavin monooksijenaz (FMO) enzim sistemi, endoplazmik retikulumda ve nükleer membranlarda yer alır. Enzim sistemleri, doymamış yağ asitlerini ve organizmada yabancı olan maddeleri oksitleyerek serbest radikal oluşturur [38].

1.2.1.1.3. Proteinler

Reaktif oksijen türevleri, proteinler ile etkileşime girerek prolin, histidin, arginin, glisin gibi birçok amino asit kalıntısından ya da peptid omurgasında meydana gelen oksidatif hasar sonrasında protein karbonil türevleri oluşturur. Aynı zamanda serbest radikaller, proteinlerde bulunan tiyollerin (-SH) oksidasyonuna neden olarak oksidatif protein hasarına yol açarlar [39].

1.2.1.1.4. Araşidonik Asit Döngüsünün Aktivasyonu

Araşidonik asit döngüsü, reaktif oksijen türlerinin sentezlendiği önemli bir mekanizmadır. Fagositik hücrelerin uyarılmasıyla fosfolipaz ve protein kinaz enzimlerinin aktivasyonu ve plazma membranından arşidonik asit salınımı gerçekleşir. Araşidonik asitlerin enzimatik oksidasyonu sonucunda serbest radikal ürünler oluşur [40].

1.2.1.1.5. Oksidatif Stres Yapıcı Durumlar (Travma, İskemi, Reperfüzyon)

Metabolizma sürecinde her zaman serbest radikal üretimi meydana gelir. Ancak, oluşan serbest radikaller endojen ve eksojen antioksidan sistemler ile etkisiz hale getirilir ve bir denge sağlanır. Eğer bu denge serbest radikallerin aleyhine bozulursa, buna oksidatif stres denir. Travma genellikle kinetik, termal veya kimyasal enerjinin dokulara transferiyle yapısal hasar oluşturur. Bu, normal homeostatik mekanizmalarda kayıba ve fizyolojik gereksinimlerde artışa ve bozulmaya yol açabilir.

1.2.1.1.6. Fagositik Hücreler

Enfeksiyonlara karşı vücutta hücresel cevabı başlatan fagositik hücre, nötrofil, monosit ve makrofaj, eozinofil, lenfosit ve endotelial hücreler gibi çeşitli hücre

tiplerini içerir. Bu hücreler, fagositoz gerçekleşirken bakterileri yok etmek için hidrojen peroksit ya da hipokloröz asit gibi bileşikler üretebilirler.

1.2.1.1.7. Peroksizomlar

Yüksek düzeyde bulunan oksidazlar, hücresel hidrojen peroksit üretiminin ana kaynağı haline gelir. Bu yapılar arasında D-amino asit, ürat, L-alfa-hidroksi asit ve asil CoA (koenzim A) bileşiklerinin oksidaz enzimleri bulunur ve bunlar oldukça yüksek miktarlarda mevcuttur. [41].

1.2.1.1.8. Plazma Membranı

İntrasellüler olarak oluşan serbest radikaller, hücrenin diğer bölgeleriyle etkileşime girebilmek için ya plazma membranını geçmek veya membranda toksik reaksiyonlara neden olmak zorundadırlar. Membranda bulunan doymamış yağ asitleri, fosfolipid, glikolipid, gliserol ve sterol gibi bileşenler ile okside olabilen amino asit içeren membran proteini, serbest radikal zararına karşı hassastır. Serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonu ya da yapı proteinlerinin oksidasyonu, membranın iyon geçirgenliğini bozabilir, sekresyon fonksiyonlarında hasarlara ve hücresel metabolik olayların inhibisyonuna yol açabilir.

Plazma membran yapısında olan lipoksijenaz, prostaglandin sentetaz, fagositlerde yer alan NADPH oksidaz, lipid peroksidasyonunu tetikleyen serbest radikal kaynaklarıdır. Fagositoz esnasında, artan oksijen tüketimiyle birlikte süperoksiti ve dolayısıyla hidrojen peroksit üretimini artırır. Bu şekilde, fagositik hücrelerin plazma membranları, NADPH oksidaz aracılığıyla serbest radikal oluşumunda önemli bir kaynak haline gelir. Lipoksijenaz ve siklooksijenaz benzeri mikrozomal yapılı aynı zamanda plazma membranında olan enzimlerin, araşidonik asidin biyolojik açıdan etkin ürünlere (prostaglandin, lökotrien, tromboksan) dönüştürülmesi esnasında serbest radikaller oluşur [40].

1.2.1.1.9. Transizyon Metalleri

Bakır ve demir gibi ağır metaller indirgenme-yükseltgenme reaksiyonlarında rol alırlar. DNA (Deoksiribonükleik asid), protein ve lipidler için elektron taşıyarak oksidatif zararı hızlandırarak, hücre lizisi neticesinde hücre içinde ferritin ve hemosiderin şeklinde toplanan demir ile bakır bulunduran seruloplazmin proteinlerinin yıkımı ile demir ve bakır elementel hale gelir. Bu durumda etraftaki dokulara salınan Fe ve Cu katalizör işlevi göstererek oksidatif harabiyeti arttırır [38]. Metal iyonları ayrıca lipid peroksidlerinin (LOOH) parçalanmasını ve lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonunu katalizler. Böylece radikal zararı artar.

1.2.1.2. Eksojen Kaynaklar

Eksojen kaynaklar, organizmanın dışından gelen veya dış etkenlerden kaynaklanan faktörleri ifade eder.

1.2.1.2.1. İlaçlar

Herbisit, pestisit ve parasetamol, aminotriazoller, asetaminofen, bleomisin, doksorubisin, klonazin, klosapin, MDMA, nitrofurantoinler, siprofloksasinler, siklosporinler, trisiklik yapıli antidepresan ve troglitazonlar serbest radikal oluşumuna neden olan ilaçlardır [42].

1.2.1.2.2. Metal İyonları

Serbest radikal oluşumuna özellikle demir, bakır, kadmiyum, nikel, krom ve civa geçiş metallerinin iyonları sebep olur [42].

1.2.1.2.3. Kirleticiler

Asbest yapısında bulunan lifler, mineral partiküller, ozon, karbonmonoksit radikali, nitrik oksid, azot dioksit, silika ve bazı çözücüler, toksinler, hipoklorid iyonu, kükürt

dioksit ve birer keton grubu bileşici olan plumbagin ve juglone benzeri kirleticiler serbest radikallere kaynak oluşturmaktadır. [42].

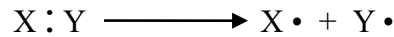
1.2.1.2.4. Radyasyon

Ultraviyole ışık, X ışınları ve gama ışınları radikal oluşumunu tetikleyebilir.

1.2.2. Serbest Radikallerin Oluşumları

Hücrel şartlarda ve çevrede sürekli olarak serbest radikaller oluşur, bu oluşum fiziksel etkenlerden ve kimyasal olaylardan kaynaklanır. Serbest radikaller, üç farklı mekanizma ile ortaya çıkarlar [43].

- **Homolitik kırılma ile:** Kovalent bağların homolitik olarak ayrılması sonucu radikaller oluşabilir. Bu durumda, bağın kırılması sırasında bağa ait elektronlar eşit olarak her iki atom arasında dağılır. Bu, her atomun birer radikal haline gelmesine neden olur.



- **Tek elektron transferi ile:** Radikalik özelliğe sahip olmayan bir molekülün, normalde çift olan bir elektronunu kaybetmesi veya kazanması sonucu radikal oluşumu meydana gelebilir. Bu durum, bir molekülün elektron kaybettiğinde dış orbitalinde eşleşmemiş bir elektron bırakması veya bir molekülün elektron kazandığında dış orbitaline ek bir elektron almasıyla gerçekleşir.
- **Elektron kaybetme ile:** Bir molekülün radikal özelliği olmayan bir şekilde indirgenmesiyle, dış orbitalinde eşleşmemiş bir elektronun bulunması, radikal oluşumunu tetikleyebilir.

Biyolojik sistemlerde, serbest radikallerin en yaygın oluşum mekanizması, elektron taşınması sonucu meydana gelir. Serbest radikalın yükü pozitif, negatif olabilir veya serbest radikaller nötr olabilirler. Biyolojik bir sistemde

bulunana en önemli radikaller genellikle serbest oksijen radikalleridir, ancak C, N, S gibi atomlardan türeyen radikallerde ve inorganik moleküllerde bulunur. Geçiş metalleri Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Mo^{5+} gibi, eşleşmemiş elektronları olsa da genellikle serbest radikal olarak kabul görmezler. Bunun yanı sıra, bu iyonların, reaksiyonları katalizleyerek serbest radikal oluşumuna katkıları çok önemlidir [28].

1.2.3. Serbest Radikal Türleri

Serbest radikaller ve radikal olmayan reaktif türlerine ait bazıları Tablo 1.1’de gösterilmiştir.

Tablo 1.1. Serbest Radikal Türleri

Serbest Radikaller	Radikal Olmayan Reaktif Türleri
Reaktif Oksijen Türleri	Reaktif Oksijen Türleri
Singlet Oksijen (O_2^1)	Ozon (O_3)
Süperoksid Radikali ($\text{O}_2^{\bullet-}$)	Hidrojen Peroksid (H_2O_2)
Hidroksi Radikali ($\text{HO}^{\bullet}$)	Organik Peroksidler (ROOH)
Alkoksil Radikali ($\text{RO}^{\bullet}$)	Peroksinitrit Radikali ($\text{ONOO}^{\bullet}$)
Peroksil Radikali ($\text{ROO}^{\bullet}$)	Peroksinitrik asid (ONOOH)
Hidroperoksil Radikali ($\text{HO}_2^{\bullet}$)	Peroksonitrat ($\text{O}_2\text{NOO}^{\bullet}$)
Karbonat Radikali ($\text{CO}_3^{\bullet-}$)	Peroksomono karbonat ($\text{HOOCO}_2^{\bullet-}$)
Karbondioksit Radikali ($\text{CO}_2^{\bullet-}$)	Hipobromik asid (HOBr)
	Hipoklorik asid (HOCl)
Reaktif Klorür Türleri	Reaktif Klorür Türleri
Klor radikali ($\text{Cl}^{\bullet}$)	Hipoklorik Asid (HOCl)
	Nitril klorit (NO_2Cl)
	Kloraminler
	Klor gazı (Cl_2)
	Brom klorür (BrCl)
	Klordioksit (ClO_2)
Reaktif Brom Türleri	Reaktif Brom Türleri
Brom radikali ($\text{Br}^{\bullet}$)	Hipobromik Asid (HOBr)
	Brom gazı (Br_2)
	Brom klorür (BrCl)

Tablo 1.1.' in devamı

Reaktif Azot Türleri	Reaktif Azot Türleri
Azot Dioksit (NO_2^*)	Nitrik asid (HNO_3)
Nitrat Radikali (NO_3^*)	Nitrosil katyonu (NO^+)
Nitrik Oksid (NO^*)	Nitrosil anyonu (NO^-)
Diazot Trioksit (N_2O_3^*)	Nitronyum katyonu (NO^{2+})
	Dinitrojen tetraoksit (N_2O_4)
	Alkil peroksinitritler (ROONO)
	Alkil peroksinitratlar (RO_2NO_2)
	Peroksiasetil nitrat ($\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{O}_2\text{NO}_2$)
	Peroksinitrik asid (ONOOH)
	Peroksinitrat (OONOO^-)
	Nitril klorit (ClNO_2)
	Peroksinitrit (OONO^-)
	Dinitrojen trioksit (N_2O_3)

1.2.4. Oksijenin Reaktif Türleri

Oksijenin reaktif türleri, Mitokondrideki hücre solunum sürecinde, O_2 molekülüne bir serbest elektron eklendiğinde, reaktif oksijen türleri oluşur. Farklı biyokimyasal reaksiyonlar ise oksijen iyonları, serbest radikaller, süperoksit anyonları, nitrik oksit ve hidrojen peroksitler gibi çeşitli molekülleri üretmektedir [45]. Hücre solunum metabolizmadan ve diğer dış kaynaklardan türeyen, eşleşmemiş elektronlara sahip son derece reaktif küçük moleküllerdir. Reaktif oksijen türleri (ROT), sabit moleküllerin dengesini bozarak organizmalarda zararlı hasara yol açarlar; bu nedenle, düşük seviyede antioksidan ve yüksek seviyede ROT varlığı, oksidatif stresin ortaya çıkmasına neden olabilir [46].

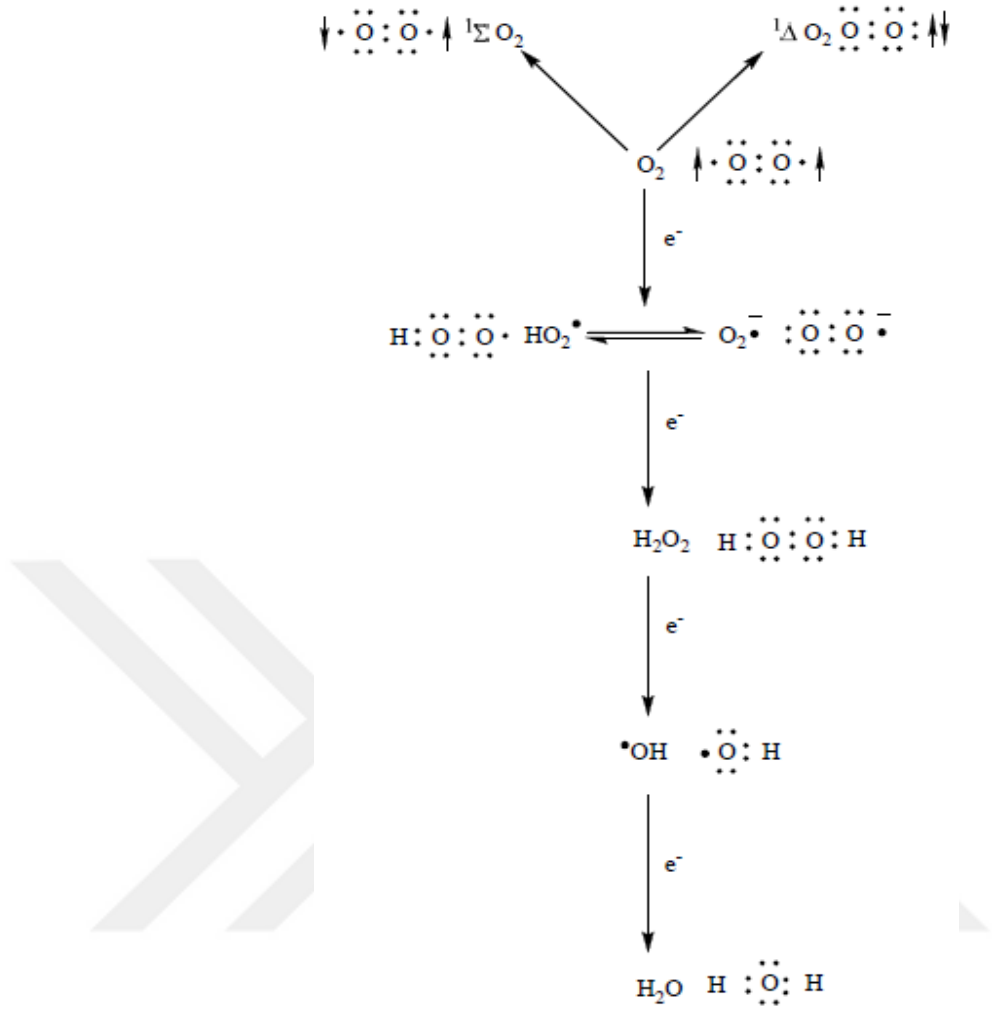
Bazı durumlarda, yüksek reaktivite gösteren ve dengesiz enerjiye sahip olan serbest radikaller ortaya çıkar. Bu reaktif oksijen çeşitleri ya da serbest radikal yapıları, lipid peroksidasyonu, radyasyon, pro-oksidatif enzim sistemleri, sigara içimi, glikasyon ve hava kirliliği gibi faktörler sonucunda oluşabilirler [43,44].

Oksijenin moleküler aktifliği farklı fiziksel, kimyasal ve biyolojik olaylar ile gerçekleştirilebilir [47]. Tabi bu yöntemlerin yüksek enerji harcama ve düşük verim gibi olumsuzlukları olabilir [48]. Son yıllarda, pratik bir yöntem olarak ışık katalizli moleküler oksijen aktivasyonu, araştırmacıların oldukça dikkatini çekmektedir. Güneş enerjisi kullanılarak gerçekleştirilen bu süreç, taşıyıcı veya elektron boşluk çifti etkisi ile yüksek faydada reaktif oksijen türleri üretirken spin-yasak reaksiyonları da bozmaktadır [49]. Işık-uyarılma ile sürekli olarak aktive olması ve oksijen aktivasyonu sürecinde yer almamasına rağmen, ışık katalizli, ışık katalitikli moleküler oksijen aktivasyonunda önemli bir rol oynar [50].



Organizmada çok sayıda oksidaz ve oksijenazın aktif merkezinde yer alan ağır metaller (Cu^{+2} , Fe^{+3} gibi) yardımıyla oksijen molekülüne tek elektron taşınması ile oksijenin spin kısıtlaması aşılabılır. Spin kısıtlamasını aşmanın bir diğer yoluda enerji absorpsiyonuyla oksijenin uyarılmış hale geçmesidir [51]. Bu olayın sonucunda singlet oksijen oluşur.

Oksijen olduğu ortamda fiziksel ve kimyasal etkilerle, mecburi gerçekleşen metabolik reaksiyonlar neticesinde oksijen radikalleri elde edilir. Oksijen radikalleri biyolojik yapılarda bulunan çok önemli birer serbest radikaldir. Bu radikallerden süperoksit ve hidroksil radikalleri ve radikal özellik göstermeyen hidrojen peroksit bileşiği reaktif oksijen türü (ROT) olarak bilinmektedir. Oksijenin suya indirgenmesi ve diğer oksijen türlerinin oluşumu Şekil 1.4'te gösterilmiştir.



Şekil 1.4. Oksijenin Suyu İndirgenmesi ve Diğer Oksijen Türlerinin Oluşumu

1.2.5. Hücrenin Reaktif Oksijen Kaynakları

Reaktif oksijen türleri (ROS - Reactive Oxygen Species), oksijenin yüksek reaktivitesinden kaynaklanan çeşitli moleküllerdir ve hücre içinde farklı kaynaklardan üretilirler.

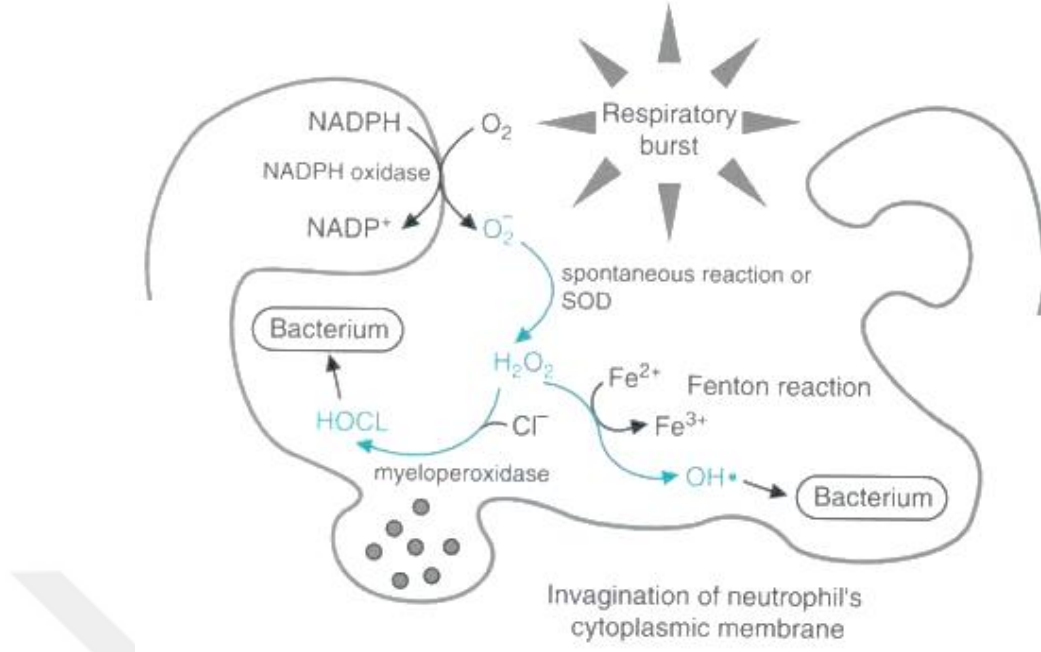
1.2.5.1. Biyolojik Kökenli Kaynakları

1.2.5.1.1. Oksidatif Patlama

Solunumsal patlama (respiratory burst), bağışıklık sisteminin bir bileşeni olan fagosit hücrelerinin (nötrofiller, makrofajlar ve dendritik hücreler gibi) mikroplarla etkileşiminde ortaya çıkan önemli bir fenomendir. Bu süreç, mikropların fagositoz yoluyla içine alındığı veya fagosit hücreleriyle etkileşime girdiği zaman gerçekleşir. Solunumsal patlama sırasında, fagosit hücreleri mikropları yok etmek için reaktif oksijen türleri (ROS) adı verilen moleküllerin hızlı bir şekilde salınımını gerçekleştirir. Süperoksit radikalleri (O_2^-), hidrojen peroksitler (H_2O_2) ve hidroksil radikalleri ($\bullet OH$) reaktif oksijen türlerindendir.

Bu reaktif oksijen türleri, mikropların içine alındıkları veya etkileşime girdikleri fagosom içinde üretilir ve mikropların yok edilmesinde kritik bir rol oynarlar. Reaktif oksijen türleri, mikropların zarar görmesine ve hücre içinde oksidatif stresin oluşmasına neden olur. Bu süreç, bağışıklık sisteminin hızlı bir savunma mekanizması olarak işlev görür ve enfeksiyonun kontrol altına alınmasına yardımcı olur.

Ancak, aşırı reaktif oksijen türleri üretimi hücrelerde hasara yol açabilir. Bu nedenle, solunumsal patlama sürecinin sıkı bir şekilde düzenlenmesi ve kontrol edilmesi önemlidir. Ayrıca, solunumsal patlama süreci, bağışıklık sisteminin normal fonksiyonu için hayati bir öneme sahiptir, ancak aşırı veya kontrolsüz olması durumunda patolojik durumlara yol açabilir. Bu olay Şekil 1.5.'te gösterilmiştir.



Şekil 1.5. Nötrofil Membranı

1.2.5.1.2. Çevresel Faktörler ve Radyasyon

Zararlı ilaçlar, kirli hava, duman, arenler, çözücüler, uyuşturucular gibi etkenler oksidan oluşumunu tetikleyebilirler.

1.2.5.1.3. Antineoplastik Faktörler

Bu tür ilaçlar, kanser tedavisinde kullanılan kimyasal tedavi ilaçlarının bir alt grubunu oluşturur. Antineoplastik ilaçlar, kanser hücrelerinin DNA replikasyonunu engelleyerek veya hücre bölünmesini durdurarak kanser hücrelerini öldürebilir veya büyümelerini kontrol altına alabilirler. Bu tür ilaçlar, kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan birçok farklı kimyasal madde içerebilir [52, 53].

1.2.5.1.4. Stres

Katekolaminler, adrenal bezler ve sinir uçlarında sentezlenen ve stres yanıtını düzenleyen kimyasal bileşiklerdir. Bunlar arasında adrenalin (epinefrin), noradrenalin (norepinefrin) ve dopamin bulunur. Sinirsel uyarılar veya stres durumlarında, vücut bu hormonları üretir ve salgılar. Bu hormonlar, vücuttaki çeşitli sistemlerin stresle başa

ıkmasına ve uyum sağlamasına yardımcı olur. Stres katekolaminlerin artışına buda serbest radikallerin oluşumuna neden olur. Bu durum hastalığın bu durumda ilerleme seyriyle serbest radikal oluşumu arasındaki ilişkiyi vermesi açısından önemlidir [28].

1.2.6. Hücre İçi Kaynaklar

Serbest radikaller, hücre içinde çeşitli süreçler sonucunda oluşabilir. Hücre içi kaynakların bazıları ve bunların sınıflandırması aşağıda verilmiştir.

Mitokondriyal Kaynaklar: Elektron transport zinciri (ETZ) reaksiyonları sırasında mitokondride meydana gelen redoks reaksiyonları, serbest radikal oluşumuna neden olabilir. Özellikle ETZ'in karmaşık I ve karmaşık III' ünde meydana gelen yarıçap serbest radikaller, mitokondriyal kaynaklı serbest radikallerin ana kaynağıdır.

Peroksizomlar: Peroksizomlar, hücre içinde hidrojen peroksit (H_2O_2) üretiminde rol oynarlar. Hidrojen peroksit, serbest radikal olmayan bir molekül olmasına rağmen, peroksizomlar içinde metal katalizörlüğünde serbest radikallerin oluşumuna neden olabilir.

Sitoplazma Kaynakları: Sitoplazma içinde bulunan redoks reaksiyonları, özellikle proteinlerin oksidasyonu veya lipid peroksidasyonu gibi süreçler serbest radikal oluşumuna yol açabilir.

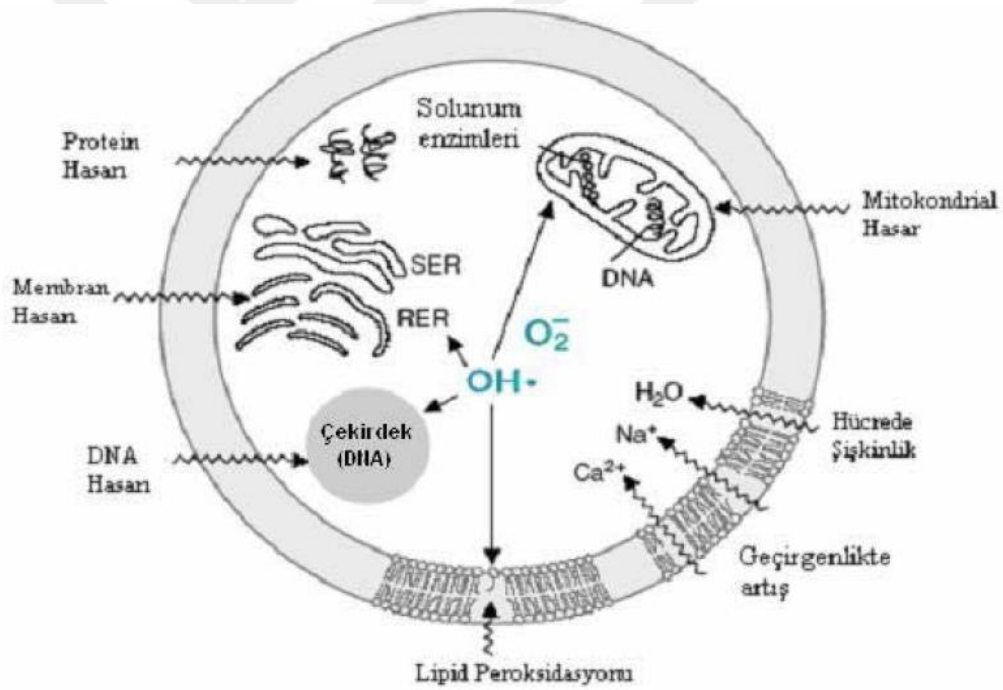
Endoplazmik Retikulum (ER): Endoplazmik retikulum, hücre içinde protein sentezi ve lipid metabolizması gibi önemli işlevleri yerine getirir. Bu süreçler sırasında oluşan yan ürünler serbest radikal oluşumuna katkıda bulunabilir.

NADPH Oksidaz: NADPH oksidaz enzim kompleksi, hücre zarında bulunur ve sitoplazmadaki oksijeni indirgeyerek süperoksit radikali (O_2^-) üretir. Bu enzim, özellikle bağışıklık hücrelerinde (nötrofiller ve makrofajlar gibi) bulunur ve patojenlerle etkileşim sırasında serbest radikal üretiminde önemli bir rol oynar.

Bu kaynaklar, hücre içinde meydana gelen çeşitli süreçler sonucunda serbest radikal oluşumuna katkı sağlar. Bu mekanizmaların anlaşılması, serbest radikal kaynaklarının kontrol edilmesi ve oksidatif stresin önlenmesi açısından önemlidir.

1.2.7. Serbest Radikallerin İnsan Vücuduna Etkileri

Serbest radikallerin yoğun reaktif özellikleri, tüm hücre yapılarıyla hızlıca etkileşime girebilir. Bu radikaller, hücrenin savunma mekanizmaları tarafından temizlenmediği takdirde, biyolojik moleküllerle etkileşime girerek zincirleme bir tepkime başlatarak yeni serbest radikallerin üretimine neden olabilirler. Serbest radikallerin hücreye etkisi Şekil 1.6’ da gösterilmiştir.



Şekil 1.6. Serbest Radikallerin Hücreye Etkisi

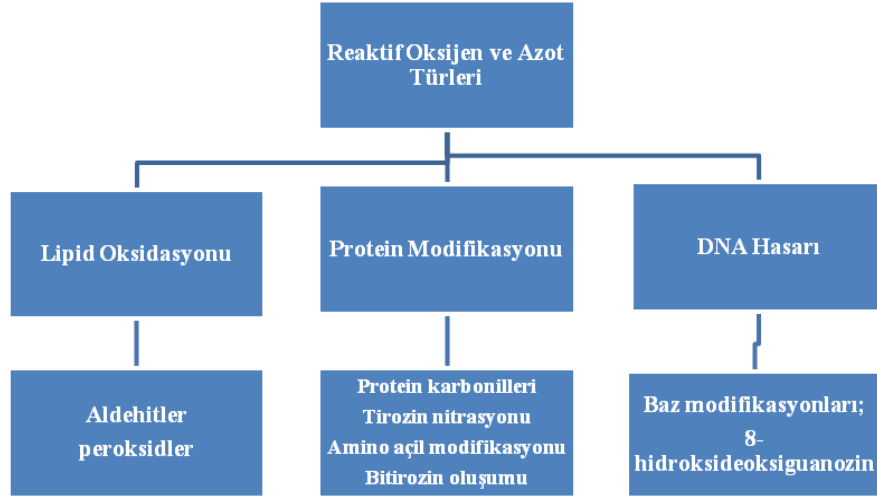
1.2.7.1. Oksidatif Stres

Sürekli olarak vücutta reaktif oksijen ve azot türleri (ROT ve RAT) üretilir ve bunların istenmeyen etkilerini antioksidan sistem dengelemeye çalışılır. Ancak, bu denge oksidanlar lehine bozulduğunda ortaya oksidatif stres çıkar. Oksidatif stres halinde,

ROT ve RAT miktarında artış gerçekleşir ve dolayısıyla bu türlerin reaksiyon hızlarında da artma olur. Bu durum, metabolizmadaki birçok sistem, özellikle lipidler, proteinler ve nükleik asitler üzerinde olumsuz etkiler yaratabilir. Etki altında kalan sistemler diğer periferik sistemleri de olumsuz olarak etkiler. Bu durum, radikal zincir reaksiyonunun antioksidan sistem tarafından durdurulana kadar zincirleme olarak devam etmektedir. Aksi takdirde, bu reaktifler hücrenin doğrudan veya dolaylı yoldan ölmesine neden olabilir [54].

Reaktif oksijen türlerinin yüksek konsantrasyonlarda varlığı, hücre yapıları, nükleik asitler, lipidler ve proteinlerde önemli hasarların bir göstergesi olabilir. Hidroksil radikalının DNA molekülünün tüm elemanlarıyla etkileşime girdiği bilinmektedir ve bu etkileşim sonucunda purin ve pirimidin bazlarına ve aynı zamanda deoksiriboz iskeletine zarar verebilir [55]. Yeni araştırmalar, oksidatif DNA hasarının belirteci olarak baz hasarlarının önemini vurgulamaktadır. G-C zengin bölgelerinde bulunan Cu^{2+} iyonları, DNA'da en fazla oksidatif hasara maruz kalan guanin bazını etkiler. Bu nedenle, en yaygın ölçülen baz tahribatı, oksidatif DNA baz tahribatının göstergesi olarak kabul edilen 8-hidroksi-2-deoksiguanozdur (8-OHdG) [56]. Oksidatif zarar, genetik materyalin kalıcı zararına, mutasyonlara, kanser oluşumuna ve yaşlanmanın başlangıcına yol açabilen bir sürecin ilk aşamasıdır.

Metal kaynaklı reaktif oksijen türleri, sadece DNA'ya değil, oksidasyona büyük ölçüde hassas olan çeşitli doymamış yağ asitleri ve fosfolipid kalıntıları benzeri diğer hücresel bileşenlere de zarar verebilirler [57]. Lipid peroksidasyonda ana aldehit ürün, malondialdehit yerine 4-hidroksi-2-nonenal (HNE)'dir. Monoaldehit, bakterilerin ve memelilerin hücrelerinde, ayrıca sıçanlarda karsinogenik özellikler sergileyen bir maddedir. HNE, zayıf mutajenik özellikler gösterse de, lipid peroksidasyonunda temel toksik bir üründür. Reaktif oksijen ve azot türleri Şekil 1.7.' de gösterilmiştir.



Şekil 1.7. Reaktif Oksijen ve Azot Türleri

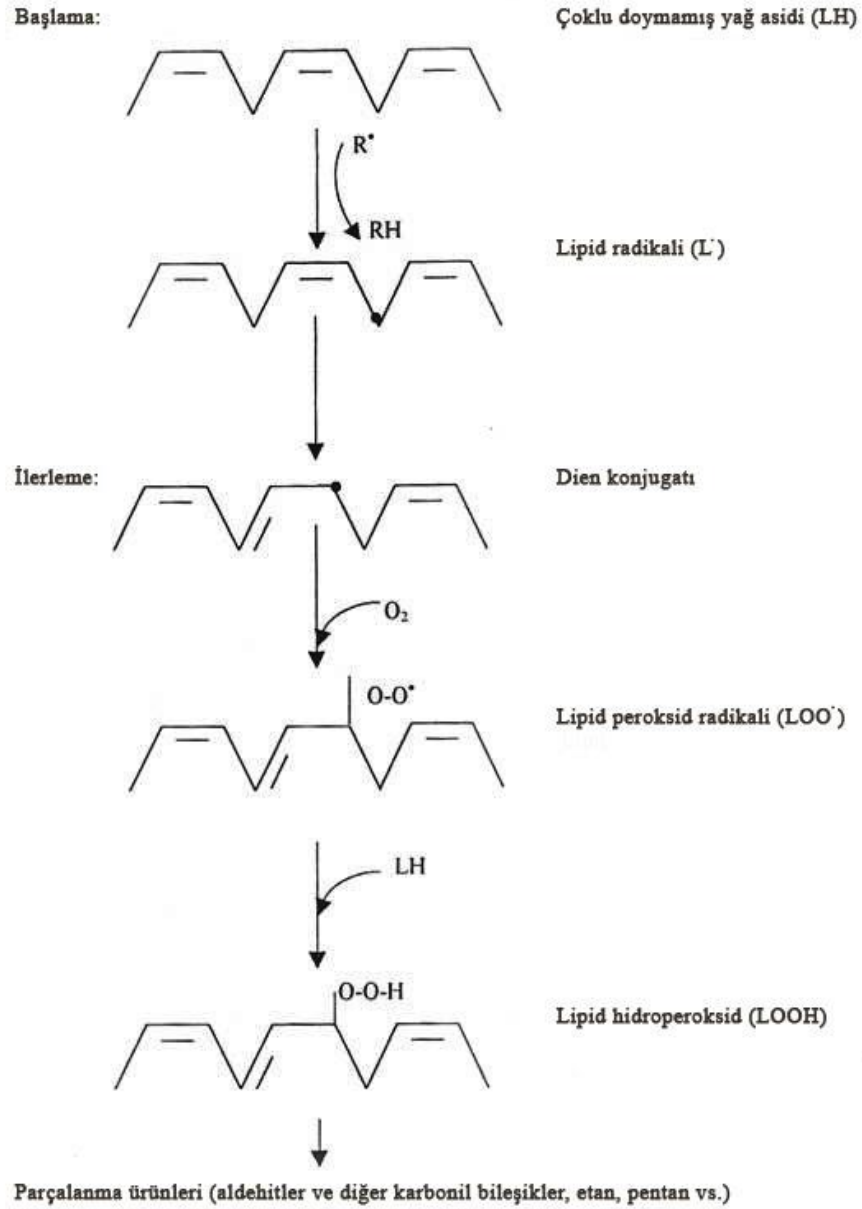
1.2.7.2. Lipidlere Serbest Radikal Etkisi

Lipidler, serbest radikallerin etkisine en duyarlı yapıdaki biyomoleküllerdir. Hücre membranlarında ve gıdalarda olan kolesterol ile yağ asitleri, serbest radikallerle hızla reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri meydana getirir. Çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerin etkisiyle oksidatif yıkımı, enzimatik olmayan lipid peroksidasyonu şeklinde adlandırılır ve zincir reaksiyonu olarak ilerler.

Organizmada lipid peroksidasyonu, özellikle hidroksil radikalının, membran yapısında var olan çoklu doymamış yağ asitlerinde (PUFA) bulunan eşlenik çift bağlardan bir hidrojen atomunu kaybetmesi ile başlar. Bu, radikalik olarak gerçekleşen reaksiyonun başlangıç aşamasını oluşturur. Bu süreçte, yağ asidinin zinciri bir lipid radikali ($L\bullet$) haline gelir ve daha kararlı yapıdaki eşlenik dienler oluşur. Aerobik koşullarda, eşlenik dienin oksijen molekülü ile birleşmesi sonucunda lipid peroksil radikalleri ($LOO\bullet$) meydana gelir. $LOO\bullet$ oluşumu oldukça önemli hale gelir. Çünkü membran yapısında bulunan diğer çoklu doymamış yağ asitlerinin de etkisi altına alarak yeni lipid radikalleri ($L\bullet$) oluşturur. Ayrıca, kendisi de hidrojen atomu alarak lipid peroksitlere ($LOOH$) dönüşür ve membran proteinlerine saldırıda bulunabilir. Bu şekilde reaksiyon otokatalitik biçimde ilerler. Bu, lipid peroksidasyonunun ilerleyen aşamasını temsil eder [51].

Lipid peroksidasyonu, lipid peroksitlerinin aldehitlere ve diğ er karbonil bileşiklerine parçalanmasıyla sonlanır. Bu son aşamada, genellikle biyolojik olarak etkili aldehit bileşikleri meydana gelir. Bu bileşikler hücre içinde metabolize edilir ya da ilk oluştuğu bölgeden hücreye yayılarak diğ er bölgelere zarar verir. Üç veya daha fazla ikili bağ bulunduran yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucunda, lipid peroksidasyon seviyesinin bir göstergesi olarak kabul gören MDA meydana gelir. Lipid peroksidasyonu, doğrudan hücre zarına zarar veren ve meydana getirdiği reaktif aldehitler aracılığıyla başka hücre bileşenlerine dolaylı olarak zarar getiren geri dönüşümü olmayan bir süreçtir [58].

Serbest radikallerin etkisiyle, özellikle redüksiyon-oksidasyon olaylarının katalisti olarak görev yapan ağır metallerin varlığında, hücre zarındaki ve hücre içi zarlardaki lipid peroksidasyonu artar. Bu durum şekil 1.8' de gösterilmiştir.

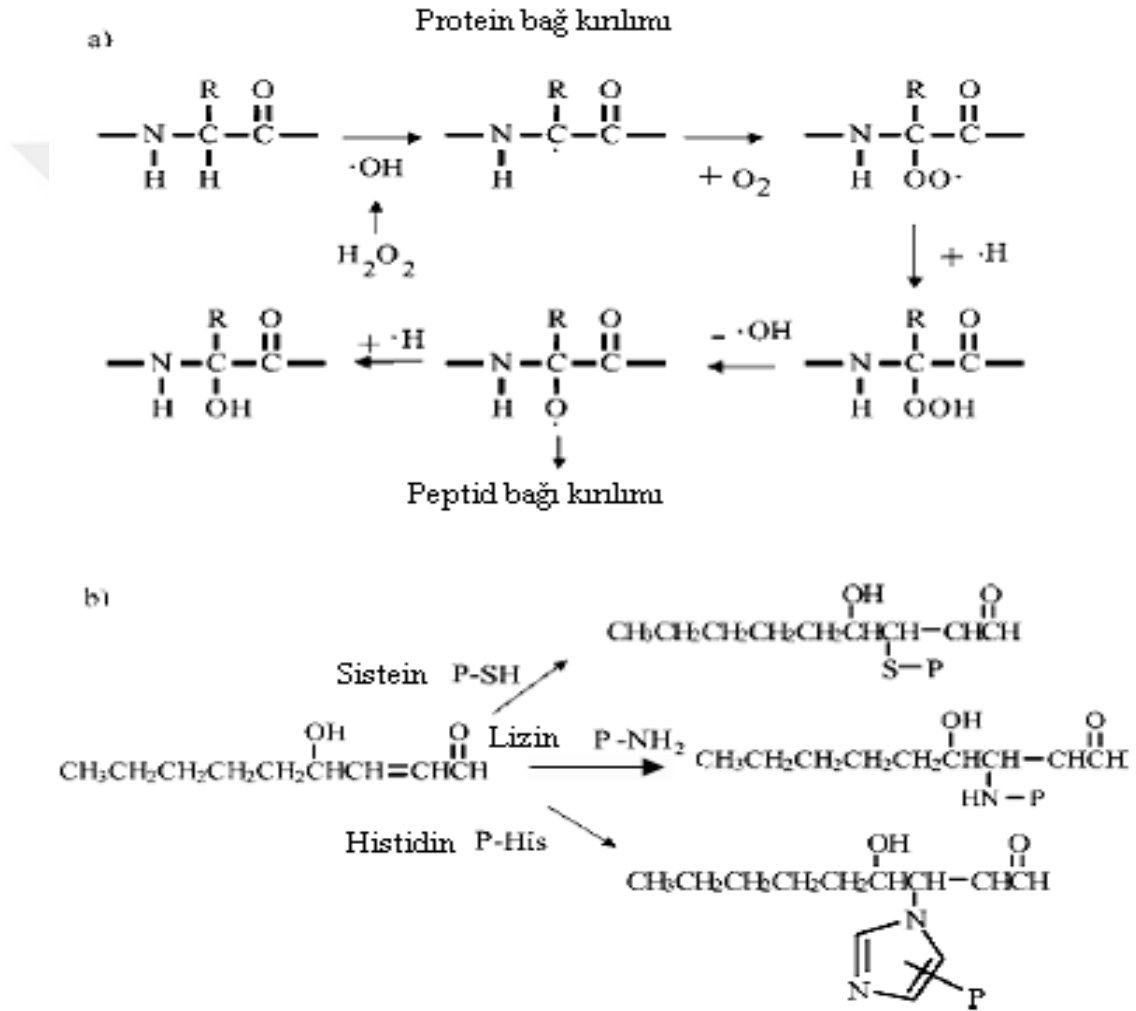


Şekil 1.8. Lipid Peroksidasyonu Parçalanma Ürünleri

1.2.7.3. Proteinlere Serbest Radikal Etkisi

Proteinler, çoklu doymamış yağ asitlerinden daha az hassas olabilir, ancak radikal hasardan etkilenme dereceleri proteinin amino asit içeriğine bağlı olarak değişir. Özellikle triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin gibi çift bağ içeren ve metiyonin, sistein gibi yapısında kükürt bulunduran amino asitler, proteinlerin serbest radikallere olan hassasiyetini artırır [59].

Bu reaksiyonların neticesinde, merkezi karbon olan organik radikal ve sülfür radikal yapıları meydana gelir. Bu reaksiyonlar albümin ve immünglobulin G (IgG) gibi birçok disülfid bağı içeren proteinlerin tersiyer yapısını bozar. Ayrıca, hemoglobinin ferro demiri (Fe^{+2}), süperoksit ve diğer bazı oksitleyici ajanlarla reaksiyona girerek oksitlenir ve oksijen taşıma yeteneğini kaybederek methemoglobin oluşturur [60]. Protein bağı ve peptid bağı kırılımı Şekil 1.9.' da gösterilmiştir.

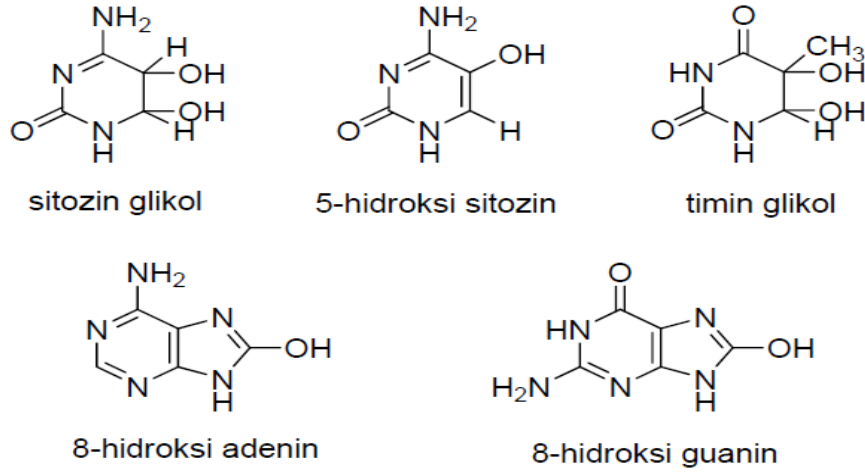


Şekil 1.9. Protein Bağı ve Peptid Bağı Kırılımı

1.2.7.4. Nükleik Asitlere ve DNA'ya Serbest Radikal Etkisi

Serbest radikallerin hemen etkilediği bir hedef olan DNA, iyonlaştırıcı radyasyonun neden olduğu radikaller tarafından etkilenebilir, bu da hücre değişimine ve kaybına

neden olabilir. Aktive olmuş nötrofillerden salınan H_2O_2 , hücre zarlarını geçerek hücre çekirdeğine ulaşabilir, burada oluşan hidroksil radikali DNA bazlarıyla hızlıca reaksiyona girer ve baz dönüşümüne neden olur [61]. DNA tahribatının önüne geçilmezse hücre bozukluğuna ve hatta hücrenin ölümüne yol açabilir. Serbest radikallerin nükleik asitlere ve DNA'ya etkileri Şekil 1.10.'da gösterilmiştir.



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

1.2.7.5. Karbonhidratlara Serbest Radikal Etkisi

Serbest radikal yapıların karbonhidratlar üzerindeki etkileri arasında polisakkarit depolimerizasyonu ve özellikle tek şekerlerin oto-oksidasyonu yer alır. Tek şekerlerin oto-oksidasyonu sonucunda oluşan süperoksitler ve oksalaldehitler, diyabet ve sigara kullanımı ile ilişkilendirilen hastalıklarda rol oynarlar. Oksalaldehitler aynı zamanda DNA, RNA ve proteinlere bağlanma özelliklerinden dolayı hücre bölünmesini engelleyici etki göstermektedirler. Bu nedenle kanser ve yaş alma süreçlerinde de etkili olabilirler.

Bağ dokunun anlamlı bir mukopolisakkaridi olan hiyalüronik asit hücre içi sıvıda fazlaca mevcuttur. Romatoid artrit benzeri enflamatuvar eklem hastalıklarında hiyalüronik asidin serbest radikallerce oksidasyonu kesinlik kazanmıştır [62, 63].

Canlılarda normal metabolik davranışlar esnasında ve patolojik evrelerde serbest radikaller ortaya çıkar. Böyle serbest radikaller, hücrel koruma mekanizmaları tarafından temizlendiğinden, ROT üretimi antioksidan koruma sistemleri tarafından kontrol edilmektedir. Ancak bazen toksinlerin metabolizması, aşırı oksijen maruziyeti, fagositik aktivasyonun dengesizliği, yetersiz antioksidan bileşik alımı gibi nedenlerle hücrelerde çok daha fazla reaktif oksijen çeşitleri meydana gelebilir. Hücrel savunma mekanizmaları ROT'ları temizleme sürecinde daha çok ROT üretildiğinde "oksidatif stres" olayı ortaya çıkar. Oksidatif stres, oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengeyi bozarak hücre hasarına neden olan bir durumdur. ROT'ların neden olduğu hücre hasarlarının yanı sıra, oksidatif stresin birçok hastalığa katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Gerçekleştirilen çalışmalarda bağırsak iltihabı[64], iskele/reperfüzyon harabesi [65, 66], arteroskleroz, yaşlılık[67], şeker hastalığı, Alzheimer demansı hastalığı; Parkinson sendromu [68, 69] sigara kullanımının ve hava kirliliğinin sebep olduğu sorunlar ve Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı [70] gibi akciğer hastalıkları; çeşitli kanserler; felç; tansiyon yüksekliği; romatoid artrit ve multiple sklerosis benzeri otoimmün rahatsızlıklar; alerji; astım; septik şok; inflamasyon; akut pankreatit; yaşlılık kaynaklı rahatsızlıklar ve katarakt [71, 61, 51] gibi klinik vakalarda serbest oksijen radikallerin önemine dikkat çekilmiştir. Ancak serbest radikallerin bu hayati önem taşıyan rahatsızlıklardaki ehemmiyeti ve etkisi araştırılırken, serbest radikal oluşumunun rahatsızlıkların kaynağı mı, ya da sonucu mu olduğunun ayrımının önemi üzerinde durulmaktadır.

1.3. Antioksidanlar

Redoks reaksiyonları, yükseltgenme ve indirgenmenin bir arada gerçekleştiği kimyasal reaksiyonlardır. Redükten, elektron vererek diğer reaktanın indirgenmesine neden olurken, oksidan ise elektron alarak diğer reaktanın yükseltgenmesini sağlar. Bu sistemin kimyasal terimleri olarak indirgen madde ve yükseltgen madde kullanılırken, biyolojik sistemlerde antioksidan ve prooksidan terimleri tercih edilir.

Antioksidanlar, düşük konsantrasyonlarda bulunan ve yükseltgenebilen substratlara karşı substratın oksidasyonunu önleyen veya geciktiren maddelerdir. Prooksidanlar ise lipidlerin, proteinlerin ve nükleik asitlerin yapısında oksidatif hasar oluşturan ve buna

bağlı olarak çeşitli patolojik durumlara veya hastalıklara neden olan toksik yapıdaki maddelerdir.

Antioksidanlar, organizmadaki zararlı prooksidan maddelerin (örneğin, ROT ve RAT gibi) indirgenmesini sağlayarak düşük toksisiteye sahip veya toksik özellik göstermeyen ürünlere dönüşümünü gerçekleştirirler. Bu zararlı maddelerin varlığı, vücutta antioksidan maddelerin bulunmasını gerektirir.

1.3.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Genel olarak, antioksidanlar iki gruba ayrılır; enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar. Bunun yanı sıra içsel (doğal kaynaklı) ve dışsal (doğal olmayan kaynaklı) olarak sınıflandırılabilir [73] İnsan vücudunda olan önemli antioksidan maddeler enzimle, suda ve yağda çözünebilen, metal tutucular ve metal iyonları bağlamaya yarayan proteinlerdir [74]. Tablo 1.2.' de antioksidanların sınıflandırılması gösterilmiştir.

Tablo 1.2. Antioksidanların Sınıflandırılması

Enzimler	Radikal Yağda çözünenler	Tutucular Suda çözünenler	Metala iyonlarını bağlayan proteinler
Süperoksiddismutaz	E vitamini	C vitamin	Ferritin (Fe)
Katalaz	B-karoten	Glutasyon	Transferrin (Fe)
Glutasyon Peroksidaz	Bilirubin	Ürikasit	Laktoferrin (Fe)
Glutasyon Redüktaz	Ubikinon	Sistein	Albumin (Cu)
Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz	Melatonin		Miyogloblin (Fe)
Glutasyon S Transferaz	Flavonidler	Mannitol	Seuloplazmin (Cu)
	Lipoik Asit		

1.3.2. Kaynaklarına Göre Antioksidanlar

Antioksidanlar doğal olmayan (eksojen) ve doğal (endojen) olarak iki gruba ayrılırlar. Endojen antioksidanlar enzimatik ve nano boyutlu enzimatik olarak iki grupta incelenmektedir. Kaynaklarına göre antioksidanlar Tablo 1.3. ile gösterilmiştir.

Tablo 1.3. Kaynaklarına Göre Antioksidanlar

ENDOJEN	EKSOJEN
<u>Enzimatik</u>	Asetil Sistein
Süperoksid Dismutaz (SOD)	Aneztezikler
Peroksidaz	Albumin
MitokondriyalSitokromOksidaz(Solunum zinciri son enzimi)	Besinlere Eklenenler
Katalaz (CAT)	-BHT (Bütillenmiş Hidroksil Toluen)
Glutasyon-S-Transferaz (GST)	- Propil Gallat
Glutasyon Redüktaz (GSH-R)	- Etoksiguin
Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)	- Sodyum Benzoat
Hidroperoksidaz	- Fe Süperoksid Dismutaz (SOD)
<u>Nonenzimatik</u>	-BHA (Bütillenmiş Hidroksil Anilin)
Ürat	Flavonoidler
Sistein	Ksantin Oksidaz İnhibitörleri
Glutasyon	- Pterin Aldehit
Ferritin	- Folik asid
Albumin	- Allopürinol
Transferrin	-Oksipürinal
Seruloplazmin	Desferroksamin (Fe tutucu)
Hemoglobin	Taurin
Bilirubin	DMSO (Dimetil Sülfoksit)
Ubikinol	Troloks
Laktoferrin	Serüloplazmin
Retinoik asid	Antioksidan Enzimler (r-SOD)
Beta-Karoten	Ebselen
Melatonin	Kalsiyum Kanal Blokerleri
Alfa- Tokoferol (E vitamini)	Mannitol
Haptoglobin	Probukol
Askorbik asid (C vitamini)	Steroid Yapıda Olmayan Antienflamatuarlar
	Rekombinant

1.3.3. Enzimatik Savunma

Hücre içerisinde oksijenin metabolizması sırasında serbest radikaller gibi zararlı oksijen ara ürünleri oluşabilir. Bu serbest radikaller, hücrelerde oksidatif stresi artırarak DNA, protein ve lipidlere zarar verebilirler. Antioksidanlar, bu serbest radikalleri nötralize ederek hücrelerin korunmasına yardımcı olurlar.

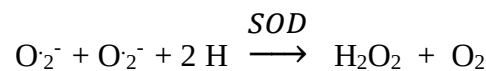
Enzimatik antioksidanlar, özellikle hücre içinde serbest radikalleri etkili bir şekilde temizleyen enzimlerdir. SOD (Süperoksit dismutaz), süperoksit radikallerini nötralize eder. Katalaz, hidrojen peroksiti suya ve oksijene dönüştürür. GPX (Glutasyon peroksidaz), hidrojen peroksit ve organik hidroperoksitleri azaltır. Glutasyon redüktaz ise indirgenmiş glutasyonu yeniden düzenler ve hücrelerdeki antioksidan savunmayı destekler.

Bu enzimatik antioksidanlar, birlikte çalışarak hücrelerin serbest radikallere karşı korunmasını sağlarlar ve oksidatif hasarın önlenmesine yardımcı olurlar. Bu nedenle, sağlıklı bir metabolizmanın devamı için bu antioksidanların etkili işleyişi önemlidir.

1.3.3.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD), hücrelerde bulunan bir enzimdir. Görevi, hücre içinde oluşan süperoksit radikallerini nötralize etmektir. Süperoksit radikalleri, hücrelerin normal metabolizması sırasında ortaya çıkan reaktif oksijen türleridir. Bu radikaller, hücrelerde oksidatif stresin artmasına ve DNA, protein ve lipidlerin hasar görmesine neden olabilir.

SOD, süperoksit radikallerini daha az zararlı olan hidrojen peroksite veya moleküler oksijene dönüştürerek, hücrelerin korunmasına yardımcı olur. Bu şekilde, SOD oksidatif stresi azaltır ve hücrelerin normal fonksiyonlarını sürdürmesine yardımcı olur.



SOD'ın bir diğ er önemli işlevi, süperoksit serbest radikallerinden kaynaklanan inaktivasyona kar   dihidroksi asidi, akonitazı, 6-fosfoglukanozu ve Fumaraz A ve B gibi dehidratazları korumaktır [75].

SOD'lar yardımcı enzimlerine göre çift nükleer Cu, Zn olanlar ve bir nükleer Mn, Fe ve Ni içerenler olarak dört sınıfa ayrılmıştır [76]. Cu/Zn-SOD yoğ nluklu olarak ökaryotların sitosol nde, kloroplastlarında ve bir takım bakteri  e itlerinde, Mn-SOD  karyot mitokondri ve prokaryotunda, Fe-SOD ise prokaryotlarda yer alır [77].

1.3.3.2. Mangan Süperoksit Dismutaz

Mangan Süperoksit Dismutaz (Mn-SOD), her bir alt biriminde bir mangan atomu bulunduran homotetramer (96 kDa) bir molekül yapısındadır. S peroksitlerin iki aşamalı bozunması sırasında önce Mn^{+3} , daha sonra Mn^{+2} 'ye dönüşür ve tekrar Mn^{+2} 'den Mn^{+3} 'e geçer. Mitokondride gerçekleşen solunum zinciri, oksijen radikalinin temel kaynağıdır. Mn-SOD, süperoksid radikallerini uzakla tırmada görev alan, nükleer olarak kodlanmış birincil antioksidandır [78]. Kalp, beyin, karaciğ er ve böbrek benzeri metabolik aktivitesi yüksek dokularda, hücresel Mn-SOD içeriğı daha yüksektir.

1.3.3.3. Cu/Zn Süperoksit Dismutaz

Cu-Zn SOD ağırlıkları 32 kDa olup memelilerin yapısında daha çok karaciğ erde, böbrekte, eritrositte ve merkezi sinir sisteminde yer alır. İki protein alt birimine sahiptir ve her bir alt birimde Cu ve Zn atomları yer alır [79, 80].

1.3.3.4. Ekstrasellüler Süperoksit Dismutaz

Ekstrasellüler SOD, Cu ve Zn bulunduran bir glikoprotein olup tetramerik yapıdadır. Heparin ve heparan sülfat gibi belirli glikozaminoglikanlara yüksek bir bağılanma

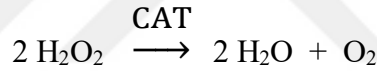
eğilimine sahiptir. Vücut dokularında ve ekstrasellüler sıvılarda bulunup, plazma, lenf ve sinovial sıvıların içerisinde SOD aktivitesinin önemli bir kısmına sahiptir [81].

1.3.3.5. Nikel Süperoksit Dismutaz

Ni-SOD, *Streptomyces* sp. ve *Streptomyces coelicolor*'un hücre içi fraksiyonlarından izole edilmiştir. Her biri 13.4 kDa ağırlığında olan dört alt birimden oluşur. Amino asit bileşimi, Fe-SOD, Mn-SOD ve Cu/Zn-SOD'dan daha farklıdır [82].

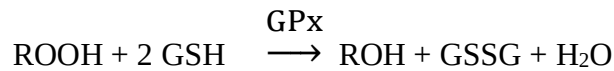
1.3.3.6. Katalaz

Katalaz (CAT) (EC 1.11.1.6), HEM grubu içeren tetramerik bir enzimdir. Peroksizomlarda bulunur ve SOD tarafından üretilen H₂O₂'yi parçalayarak su ve moleküler oksijene dönüştürür. Eritrositlerde, böbreklerde ve karaciğerde yüksek katalaz aktivitesi gözlemlenir [83].



1.3.3.7. Glutasyon Peroksidaz (GPx)

Glutasyon peroksidaz (GPx) (EC 1.11.1.9), H₂O₂ ve lipid peroksidazı suya ve lipid alkollerine indirgeyen bir grup antioksidan enzimdir. GPx enzimleri, hücreyi reaktif oksijen türlerinin (ROS) zararından ve stres sinyallerinden korumak, ayrıca stres altında hücrel redoks dengesini sağlamak için kritiktir [84].



1.3.3.8. Glutasyon -S-Transferaz (GST)

Metabolik bileşiklerin glutasyon ile konjugasyonu, genellikle hücrel bileşenlere kovalent bağlanmayı kısıtlayarak reaktivitesi azalmış bir ürün verir. Metabolik

bileşiklerin glutatyon ile konjugasyonu, enzimatik olmayan bir türde meydana gelebilir veya glutatyon S tarafından enzimatik olarak katalize edilebilir. Glutatyon S-transferazlar, hücreleri potansiyel olarak toksik bileşiklere karşı savunmada önemli bir rol oynayan çok yönlü bir protein ailesidir; bunu, reaktif metabolitlerin glutatyona konjugasyonunu kataliz ederek gerçekleştirirler [85].

1.3.3.9. Glutatyon Redüktaz

Glutatyon redüktaz (EC 1.8.1.7), yükseltgenmiş glutatyonu indirgenmiş şekile dönüştüren ve iki alt birimden oluşan bir dimerdir. Her bir alt ünite NADPH ve FAD bağlayan ve ara yüz olmak üzere 3 yapısal alan içermektedir. Glutatyonun indirgenmesi esnasında elektronlar çoğunlukla NADPH'tan FAD'a taşınır [83]. Bunun için NADPH' e serbest radikal tahribatına karşı ihtiyaç vardır ve majör kaynağında pentoz fosfat yoludur [86].

1.3.4. Non-Enzimatik Antioksidan Savunma

Enzimatik olmayan antioksidanlar, serbest radikalleri yakalayan bir grup suyu sevmeyen yapılardır. Bunlar sitozol, mitokondriyal matris, nükleer ve hücre dışı sıvılarda bulunur [87]. Enzimatik özellik göstermeyen antioksidanlar genellikle vitamin ve moleküllerden oluşur. Vitamin C ve E, enzimatik olmayan ana antioksidanların bir üyesidir.

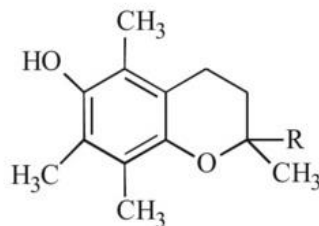
Esansiyel mikro-besinler, non-enzimatik antioksidan savunma sisteminde önemli bir rol oynarlar. Askorbik asit (C vitamini), suda çözünebilen bir antioksidandır ve radikal olan ve radikal olmayan redoks tepkimelerinde indirgeyici güç sağlar. Esansiyel bileşikler, non-enzimatik savunmada önemli bir rol oynarlar. Tablo 1.4' te bazı non-enzimatik antioksidanlardan bahsedilmektedir.

Tablo 1.4. Vitamin Olan Antioksidanlar

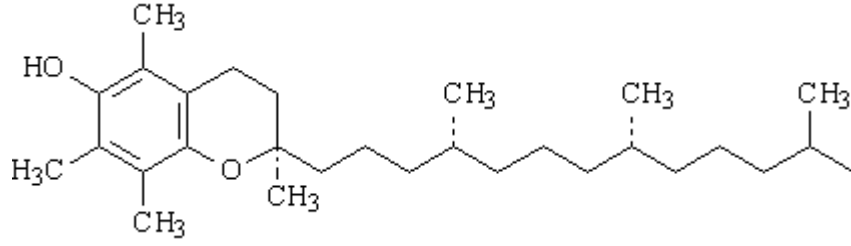
Antioksidan	Reaksiyonu
Vitamin E (α-tokoferol)	Süperoksit, hidroksil radikallerini indirger. Membran lipidlerinde çözünerek peroksidasyon zincirini kırar.
B-karoten	Serbest radikal türlerini toplar.
Vitamin C (askorbik asit)	Hidroksil radikal gidericidir ve tokoferolü indirger. Kollagen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir.
Koenzim Q (ubikinon)	Mitokondriyal enerji metabolizmasında görev alan ve bütün canlılarda çeşitli oranlarda bulunan vitamin benzeri bir antioksidandır. B3 vitamini ile DNA onarımında rol almaktadır. Vücut tarafından sentezlendiği gibi dışarıdan da alınabilir.

1.3.4.1. E Vitamini

E vitamini, serbest radikalleri yakalama konusunda büyük bir yeteneğe sahiptir ve doku lipidlerinin hasarını koruyarak doku oksidasyonunu önler. Bu antioksidan, özellikle peroksil radikallerinin radyal peroksillere hızlı reaksiyonlarını engellediği için etkilidir. E vitamini, bağışıklık sistemi üzerindeki etkileriyle de önemlidir, çünkü sağladığı koruma bağlamında önemli bir rol oynar. E vitamini, hidroksil radikalleri, alkoksil, peroksil, singlet oksijen ve muhtemelen oksijen bağımlı birkaç metal gibi reaktif oksijen türlerinin (ROT) neden olduğu oksidatif hasara karşı belirli bir duyarlılık içerir. E vitamini eksikliği, hücre aracılı bağışıklığın ve interlökin üretiminin azaldığını, bağışıklık sisteminin hücre zarlarının kararsız hale geldiğini, gecikmiş aşırı duyarlılığın azaldığını ve immünoglobulin düzeylerinin azaldığını gösterebilir. Bununla birlikte, E vitamini, tümör hücrelerinde doğrudan veya dolaylı olarak apoptozu indükleyen α - tokoferol süksinatın en aktif formudur [87]. Şekil 1.11.'de α - tokoferol ve Şekil 1.12.'de tokotrienollerin genel yapısı gösterilmiştir.



Şekil 1.11. α -Tokoferol

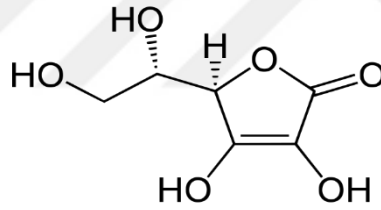


Şekil 1.12. Tokotrienollerin Genel Yapısı

1.3.4.2. C Vitamini

C vitamini ya da L-askorbik asit, suda çözünebilir ve birçok fizyolojik durumda indirgenmiş formda bulunabilir. Hücre dışı sıvılarda oldukça önemli antioksidan özelliği gösterir ve antioksidan özelliğinin yanında çok sayıda hücrel aktiviteye sahiptir. C vitamini, süperoksiti, hidrojen peroksiti, hipokloriti, hidroksil radikalini, peroksil radikalini ve singlet oksijenini etkili bir şekilde yakalayabilir [88].

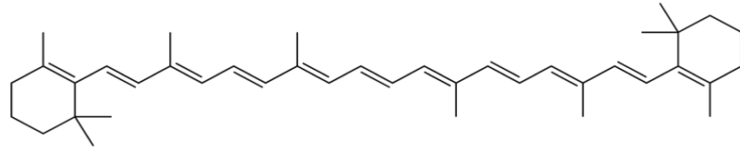
C vitamininin kimyasal yapısı Şekil 1.13'te gösterilmiştir.



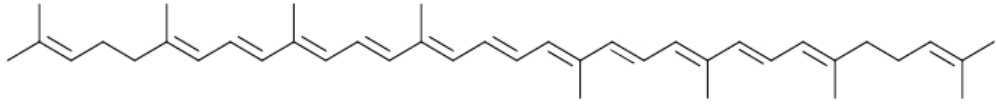
Şekil 1.13. C Vitamininin Kimyasal Yapısı

1.3.4.3. Karotinoidler

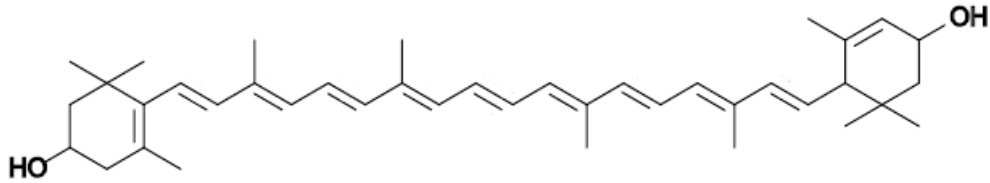
Karotinoid bitkiler ve mikroorganizmalarca yapılabilen, hayvanlarca yapılamayan naturel pigment özelliği gösteren bileşiklerdir. Karotinoidler tetraterpenoidlerin de bir üyesidir. İki tür karotinoid mevcuttur; karotenler ve ksantofiller. Karotenler C ve H' den oluşan hidrokarbon karotinoidleridir. Ksantofillerin hidroksil grubu, metoksil grubu, karboksil grubu, keto veya epoksi yapılarında oksijen bulundurulur. Likopen ve β-karoten bilindik karotenlerdir. Yeşil yapraklarda bulunan lutein ve mısırda bulunan zeaksantin ise ksantofildirler. Şekil 1.14.'te β-Karoten, Likopen, Lutein ve Zeaksantin bileşiklerinin kimyasal yapısı gösterilmiştir.



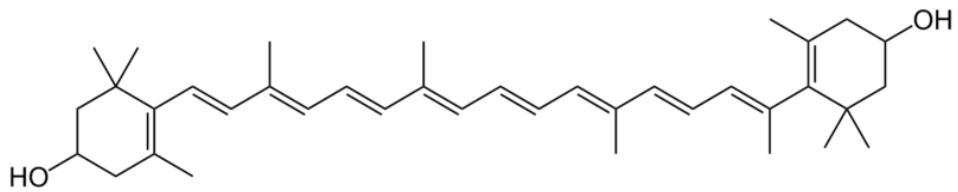
β-Karoten



Likopen



Lutein



Zeaksantin

Şekil 1.14. β-Karoten, Likopen, Lutein ve Zeaksantin

Karotenoidlerin arteroskleroz, katarakt, yaş ile değişen kas harabiyeti ve multipl skleroz gibi birçok radikal oluşumlu hastalıkların önüne geçtiği rapor edilmiştir.

Karotinoidlerin antioksidan işlevlerini peroksil radikallerini ve kararsız singlet oksijeni tutmaları ile sağlamaktadır [89]. Likopen, natürel karotinoidler içinde en etkin singlet oksijen tutuculardandır [90]. β -karoten oksijenin düşük kaynaklı gerilimlerinde peroksil radikali için tutucudur. β -karoten, α -tokoferolden daha düşük seviyede antioksidan işleve sahiptir.

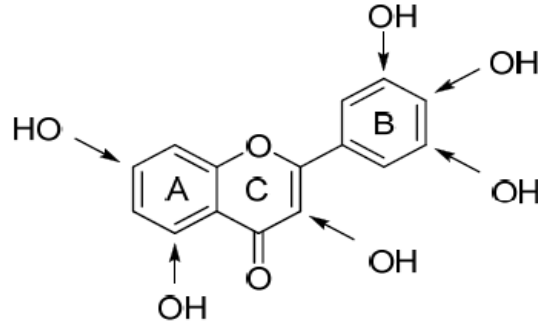
Şeftalide, havuçta, bal kabağında ve patatesten yani α ve β -karoten renkli meyve ve sebzelerde bulunmaktadır. Domateste, kavunda ve greyfurtta ise likopen bol miktarda bulunmaktadır [91].

1.3.4.4. Polifenoller

Polifenoller, bitkilerde doğal olarak bulunan ve bir veya daha fazla fenolik halka içeren organik bileşiklerdir. Genellikle bitkilerin meyve, sebze, çay, kahve, kırmızı şarap gibi kısımlarında yüksek konsantrasyonlarda bulunurlar. Polifenollerin çeşitli alt grupları vardır, bunlar arasında flavonoidler, fenolik asitler, stilbenler ve lignanlar bulunmaktadır. Polifenollerin antioksidan özellikleri vardır ve sağlık üzerinde çeşitli olumlu etkileri olduğu düşünülmektedir. Özellikle anti-enflamatuar, anti-kanser, kardiyoprotektif ve antioksidan etkileri araştırmalar tarafından incelenmektedir. Beslenmede polifenollerin tüketimi, sağlıklı yaşamı desteklemek için önerilen bir beslenme alışkanlığı olabilir [92].

1.3.4.5. Flavonoidler

Bitkilerin ikincil metabolitleri arasında bulunan polifenolik bileşikler, günümüzde 4000'den fazla flavonoid içermektedir. Bu flavonoidler, siklo yapılarına göre flavonoller, flavonlar, flavononlar, antosiyaninler, kateşinler ve izoflavonoidler şeklinde ayrılır. Flavonoidler ve bazı bitki fenolik bileşiklerinin, lipid alkoksil ($RO\bullet$), lipid peroksil ($ROO\bullet$) ve azot monoksit gibi radikalleri temizleme, Fe ve Cu'nun şelatlanması, α -tokoferolün yeniden rejenerasyonu gibi fonksiyonlarda da yer aldığı bildirilmiştir [93, 94]. Flavonoid bileşiklerinin temel yapısı Şekil 1.15'te gösterilmiştir.



Şekil 1.15. Temel Flavonoid Yapısı

Flavonoid ve fenolik antioksidanlar anomerik hidroksil gruplarından lipid radikal yapılarına bir hidrojen atomu göndererek lipid oksidasyonunu önler. Bileşiğin yapısıyla antioksidan seviyesi ilişkilidir, fenolik bileşiklerde hidroksil grubu sayısı, flavonoidlerde B halka yapısının 5-OH, 3-OH ve 4-OH gruplarını içermesi antioksidan işlevleri üzerinde etkilidir [95, 96].

1.4. Genel Özellikleri ile Enzimler

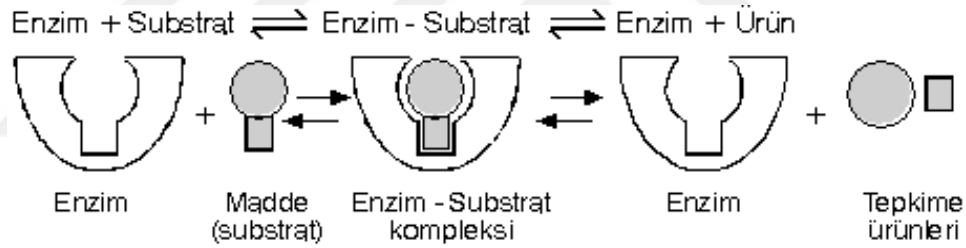
Enzimler, hücre artışı, enerjinin ya da besinlerin dışarıdan temin edilmesi ve enerjinin dönüşümü, ürünlerin taşınması ve kısaca metabolizma olarak ifade edilen tüm hücre görevlerinin gerçekleştirilmesi adına ihtiyaç teşkil eden biyokatalizörlerdir [97]; biyokimyasal olayların vücutta hayatla uyumlu bir şekilde gerçekleşmesine aracı olan kimyasal ajanlardır [98].

Enzimler, yaşayan hücrelerce biyolojik koşullarda sentezlenir. Ancak, etkin olabilmeleri için hücre içerisinde bulunmaları zorunluluk göstermez. Proteinin önemli bir türü olan enzimler, peptid zincirlerinin temel yapı elemanı olan amino asitlerden oluşur ve kendilerine has üç boyutlu yapılarla karakterizedirler. Bu üç boyutlu yapılar, bu biyomoleküllere, bağlanacakları ve etkileyecekleri substrat molekülünü seçme özelliği sağlar.

Enzimler, son derece yüksek seviyede reaksiyon hızları sergilerler. Enzim katalizli reaksiyonların hızları, katalizlenmemiş reaksiyonların hızlarına göre genellikle 10^6 ila 10^{12} kat daha yüksektir. Enzimler genellikle fizyolojik pH değerlerinde, 100°C 'nin

altına sahip sıcaklıkta ve atmosfer basıncında biyolojik sistemde meydana gelen kimyasal reaksiyonları katalizler.

Enzimler, değiştirdikleri substratlara karşı çeşitli düzeylerde spesifik özellik gösterirler. Bir enzim, yalnızca tek bir substratta etkili olduğunda ve yalnızca tek bir reaksiyonda katalizleme yaptığında "tam spesifik" özellik göstermiş olur. Şöyle ki aktif bölgeye yerleşebilecek tek bir türden substrat molekülüne bağlanabilirler. Bazı enzimler, belirli bir fonksiyonel grubu olan bir takım substrat üzerinde etkili rol oynar, bu "grup özgüllüğü" şeklinde adlandırılır. Bazı enzimlerde belirli bir kimyasal bağa karşı özgündürler, buna da "bağ özgüllüğü" denmektedir. Enzimler hücre içindeki reaksiyonlarla ara ürün oluşturmazlar, reaksiyonların tam verimle netice vermesini sağlarlar. Enzimler reaksiyon anında fiziksel değişiklikler geçirirler de, reaksiyon bittiğinde tekrar ilk hallerine geri dönüşürler [99]. Enzim substrat ilişkisi Şekil 1.16'da gösterilmiştir.



Şekil 1.16. Enzim Substrat İlişkisi

Enzimler, tepkimelerin beklenenden en az milyon kez daha hızlı meydana gelmesinde etkilidirler. Katalizlenmemiş bir tepkimenin dengeye ulaşması yavaşça olmasına karşılık enzimler sayesinde denge çok daha kısa bir sürede sağlanır.

1.4.1. Enzim İnhibisyonu

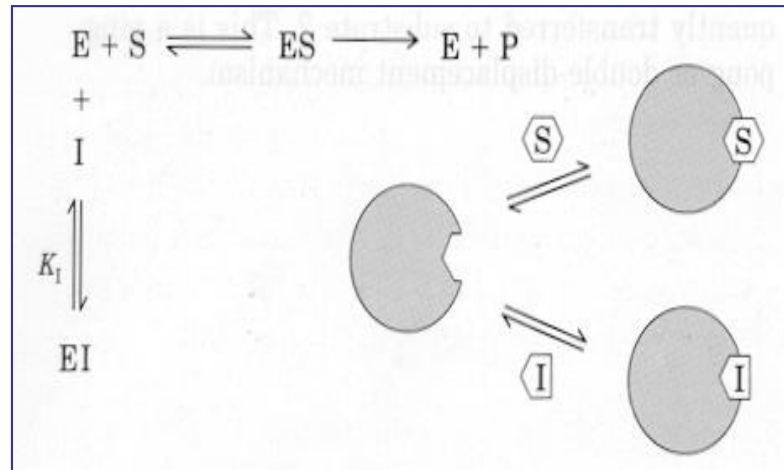
Enzimlerin *in vivo* ve *in vitro* aktivitelerinin birtakım bileşiklerin etkisi ile azaltılması ve hatta kaybolması durumuna "inhibisyon" adı verilir. Bu duruma neden olan bileşiklere ise "inhibitör" denir. Enzim inhibitörleri, enzimlerin işlevselliğini azaltırlar ya da yok ederler.[100]. İnhibitörler çoğunlukla küçük molekül ağırlıkları olan bileşikler ya da iyonlardır. Enzim inhibisyonu iki farklı türde oluşur.

1.4.1.1. Geri Dönüşümlü Enzim İnhibisyonu

Enzim aktivitesinin geri dönüşümlü olarak engellendiği bir mekanizmadır. Bu inhibisyon türü, enzim ve inhibitör arasında zayıf bağlar oluşturur ve inhibitörün enzime bağlanması geçici bir etkidir. Enzim inhibisyonunun bu türü, inhibe edici molekülün enzime bağlandıktan sonra ayrılabilmesi nedeniyle "geri dönüşümlü" olarak adlandırılır.

1.4.1.1.1. Yarışmalı Enzim İnhibisyonu

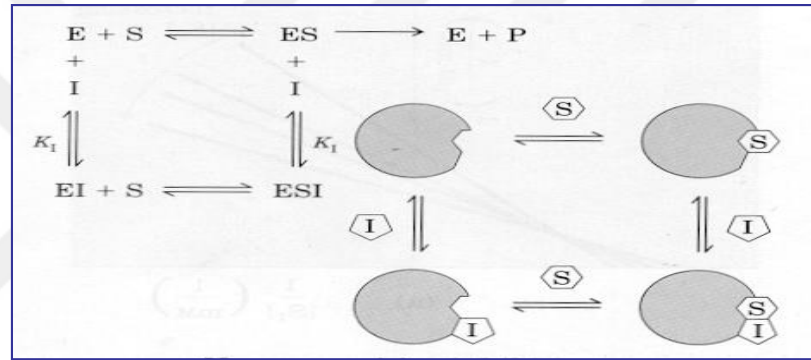
Yarışmalı inhibitör, genellikle substratla benzer yapıya sahip, substrat gibi enzime tersinir şekilde bağlanan bir bileşiktir. Yarışmalı enzim inhibisyonu sırasında, bir rekabetçi inhibitör, enzimin aktif bölgesi için substratla yarışır. Enzimin aktif olan bölgesine inhibitör bağlandığında reaksiyon gerçekleşmez. İnhibitör, aktif bölgeyi işgal ederken substratın da enzime bağlanmasını önler. İnhibitör molekülü ile enzimlerin substratlara olan ilgileri azalır. Enzim-inhibitör (EI) kompleksi oluşturmak için enzimle tersinir şekilde birleşir. Bu duruma örnek olarak, süksinat dehidrogenazın malonik asit ile inhibisyonu gösterilebilir. Süksinik asit, sitrik asit siklusunda süksinat dehidrogenazla zorlanmadan fumarik aside dönüşebilir. Ancak, ortamdaki malonik asit varlığı, formül-yapı benzerliğinden ötürü bu dönüşümü yavaşlatır [100]. Şekil 1.17.' de kompetitif enzim inhibisyonu gösterilmiştir.



Şekil 1.17. Kompetitif Enzim İnhibisyonu

1.4.1.1.2. Yarışmasız Enzim İnhibisyonu

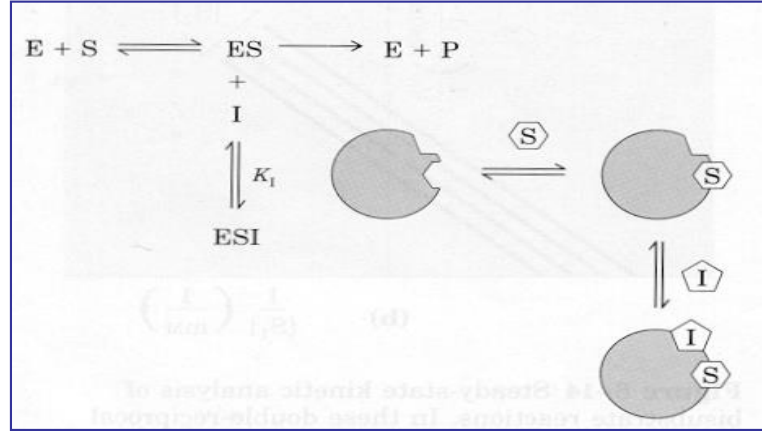
Yarışmasız enzim inhibisyonu, substratın derişimiyle ilişkili değildir. Yarışmasız enzim inhibisyonu sırasında substrat ve inhibitör olan maddeler aynı anda enzime bağlanır. Enzime yarışmasız inhibitörün bağlanması, substratın bağlanmasını engellemez. İnhibitörün, enzimin aktif bölgesinden farklı bir yere bağlanması, o enzim molekülünün substratla reaksiyon gerçekleştirme hızında azalmaya neden olur. Yarışmasız inhibisyonun yaygın kullanım şekli, inhibitörün enzim içinde bulunan fonksiyonel gruplar ile bu grupların yapısına etki etmeden tersinir olarak birleşmesidir. Şekil 1.18.'de nonkompetitif enzim inhibisyonu gösterilmiştir.



Şekil 1.18. Nonkompetitif Enzim İnhibisyonu

1.4.1.1.3. Yarı Yarışmalı Enzim İnhibisyonu

Bu enzimin inhibisyonu sırasında, inhibitör, enzimde substratın bağlandığı faal yerden farklı bir tarafa tersinir olacak şekilde bağlanır; ancak yarışmasız inhibitör serbest enzime ya da ES kompleks yapısına bağlanabilirken, yarı yarışmalı inhibitör sadece ES kompleksi oluşunca substratın enzime bağlandığı faal merkezden farklı bir yere tersinir bağlanarak enzimin faaliyetini ortadan kaldırır. Yarı yarışmalı enzim inhibisyonu Şekil 1.19.'da gösterilmiştir.



Şekil 1.19. Yarı Yarışmalı Enzim İnhibisyonu

1.4.1.2. Geri Dönüşümsüz Enzim İnhibisyonu

Geri dönüşümsüz enzim inhibisyonu, bir inhibitör molekülünün enzime bağlanarak aktif bölgesini kalıcı bir şekilde etkisiz hale getirdiği bir süreçtir. Bu tür inhibisyon, enzim ile inhibitör arasında kovalent bağ oluşmasıyla gerçekleşir ve genellikle kalıcıdır. İnhibitör molekülü, enzimin katalitik aktivitesini engeller veya tamamen durdurur. Bu durumda, inhibitörün etkisi genellikle geri dönüşü mümkün olmayacak şekilde enzimin yapısını değiştirir veya aktif bölgesini tıkar. Geri dönüşümsüz inhibisyon, enzim aktivitesinin uzun süreli olarak modüle edilmesini sağlar ve ilaç geliştirme alanında önemli bir strateji olarak kullanılabilir.

1.5. Elastaz Enzimi

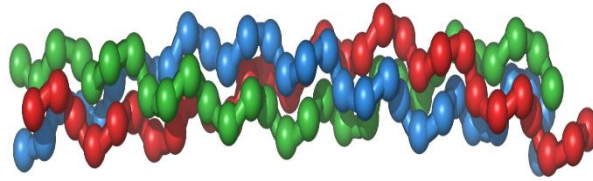
Elastazlar, elastin adlı önemli bağ dokusu proteinini parçalama yeteneğinde olan bir takım serin proteazlardır. Bu serin proteazlar, katalitik mekanizması detaylı olarak bilinen proteolitik enzimlerdir. Bu enzimler, aktif bölgesinde bulunan serin (Ser) birimi nedeniyle bu isimle tanınırlar ve genellikle akciğerlerde, damarlarda, lenflerde ve deride yaygın olarak bulunurlar [101, 102].

Bağ doku, oldukça az sayıda biyolojik hücrelerin ekstrasellüler matriks adı verilen bir ortamda dağılması ile meydana gelmiş dokudur. Bağ doku, deride, tendonlarda, ligamentlerde, kıkırdakta ve kemikte fazlaca bulunmaktadır. Bağ dokunun temel

sorumluluğu, diğer dokulara destek olmaktır ve bu sorumluluğunu ekstrasellüler matrikste bulunan kollojen ile elastin benzeri fibriler proteinler ile tamamlar [103]. Bağ dokuda galaktoz ve mannoz vardır. Bağ doku için mühim olan kollojen, elastin, fibronektin, laminin ve proteoglikan proteinleridir [103]. Kollojen tendonların yapısında, kıkırdakta, kemiklerin organik matriksinde ve kornea yapısında büyük ölçüde var olan karmaşık olmayan, fibriler skleroproteindir. Kollajenleri tanılayan en önemli özellik, üç polipeptid alt yapısından oluşan bükümlenmiş kangal olan üçlü sarmal yapısıdır.

Kollojen, dokulara dayanıklılık kazandırır, doku formunu korur ve dokunun gerilme direncini artırır. Ayrıca, kollojen kanın pıhtılaşmasında önemli bir rol oynar. Kan pıhtısıyla etkileşerek yara bölgesini kapatır; zamanla kan pıhtısı küçülse de, kollojen lifleri yaranın üstünü yeni hücre tabakaları gelişene kadar örter. Kollojen, yaraların iyileşmesinde önemli bir rol oynar.

Kollojen, kondroitin sülfatla 1:1 oranında birleşerek kıkırdaki, 9:1 oranında elastine sahip olarak tendonları, kendinin 4 katından fazla hidrate kalsiyum fosfata sahip olarak kemiği oluşturur; derinin yapısında kendisi kadar dermatin sülfat ve 9:1 oranında elastinle birlikte bulunur [103]. Tropokollejen üçlü heliks yapısı Şekil 1.20.' de gösterilmiştir.

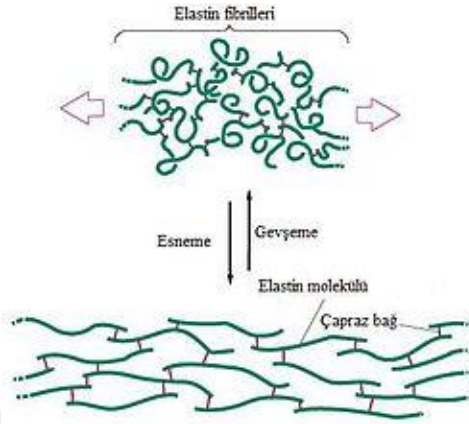


Şekil 1.20. Tropokollojen Üçlü Heliks Yapısı

Elastin fibroplast hücreler tarafından yapılan bir proteindir. Elastik bağ dokusunun en mühim fibriler skleroproteindir. Elastin proteinin yapısında iki bölüm vardır. Bunlar;

1. **Hidrofobik Bölüm:** Molekülün esnek yapısı ile ilgilidir.
2. **Alfa-Heliksidal Bölüm:** Çok fazla çapraz bağların yapımını sağlayan lizin ve alanin amino asitlerini içermektedir [104].

Elastinin mol kütlesi 68 kDa'dır ve 750 amino asit kalıntısından meydana gelir. Bunlardan en önemli olanlar alanin, prolin ve glisin gibi suyu sevmeyen amino asitlerdir. Bu nedenle de elastinin başka bir özelliği suyu sevmeyen ve fibriller bir protein olmasıdır. Daha az miktarda olmasına karşın lizin amnioasiti, proteinin yapısında oldukça önem taşımaktadır. Şekil 1.21' elastin fibrilleri gösterilmiştir.



Şekil 1.21 Elastin Fibrilleri

Elastin yıkımı, elastas aracılığıyla gerçekleşir. Pankreastan salgılanan proelastaz tripsin ile aktive olarak elastaza dönüştürülür. Elastas, özellikle elastin yapısı için proteolitik yapıdaki bir proteazdır; valin ve alanin gibi alifatik yan zincirli amino asitin karboksil grubu bulunduran ucundan moleküllü parçalar ve desmozin ve izodesmozin içeren çapraz bağlı peptitler oluşturur. Elastin, pepsin ile yavaş hidrolize olur; ancak tripsin ve kimotripsin ile parçalanamaz [103].

Elastin proteininin tahribiyeti ya da olmaması bir takım hastalıklara davetiye çıkarabilir. Williams Sendromunda eksik olan yirmi beş genden birisi elastindir ve bu sendromda gözlenen bağ doku kardiyovasküler aksaklıklara sebep olmaktadır. Alfa₁-antitripsin yoksunluğu, elastinin proteazlar sayesinde yıkımına ve akciğer enfizemine sebep olur. Marfan Sendromu fibrillin geni FBN1'de gerçekleşen bir bozukluktan kaynaklanır ve bunun sonucunda orataya çıkan bir enflamasyon tepkimesinde elastin molekülleri proteolize olur [104].

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Yeni bir seri 1,2,4-triazol schiff bazı bileşiklerin anti elastaz aktiviteleri Eş tarafından incelenmiş ve bu bileşiklerin IC_{50} değerlerinin $0,201 \pm 0,005699 \mu M$ ila $3,52773 \pm 1,340179 \mu M$ bu aralıklarda değiştiğini bildirmişlerdir. $IC_{50} = 0,201 \pm 0,005699 \mu M$ değerine sahip olan **1** numaralı bileşiğin elastaz enzimini en yüksek seviyede inhibe ettiğini saptamışlardır [105].

Kurt tarafından yapılan çalışmada; onbir adet benzimidazol bileşiği sentezlenerek anti elastaz aktiviteleri incelenmiştir. Sentezlenen yeni bileşiklerin IC_{50} değerleri, standart ursolik asit ile karşılaştırıldığında ($IC_{50} = 2,3 \times 10^{-2} \pm 1,4 \times 10^{-3} \mu M$) IC_{50} değerlerinin $2,2 \times 10^{-2} \pm 2,6 \times 10^{-3} - 4,1 \times 10^{-2} \pm 1,3 \times 10^{-3} \mu M$ arasında değişiklik gösterdiği ve iyi seviyede elastaz inhibitör aktiviteye sahip oldukları ifade edilmiştir. Bu bileşikler arasında etkililiği en fazla olan elastaz inhibitör aktiviteye sahip oldukları ifade edilmiştir. Bileşikler arasında etkisi en fazla olan elastaz enzim inhibitörü **8** numaralı bileşik ($IC_{50} = 2,2 \times 10^{-2} \pm 2,6 \times 10^{-3} \mu M$) olmuştur [106].

Butt ve ark. tarafından gerçekleştirilen çalışma ile; yeni sentezlenen etillenmiş triazol-triazol asetamid hibritleri için anti-elastaz enzim aktiveleri incelemesi yapılmıştır. Sentezlenen bileşikler standart oleanolik asit ile ($IC_{50} = 13450,5 \pm 13,6 \text{ nM}$) karşılaştırıldığında IC_{50} ölçüm sonuçlarının $9,4 \pm 2,3 \text{ nM}$ ila $2749,10 \pm 345,10 \text{ nM}$ arasında değişiklik gösterdiği gözlenmiştir. 2-metilfenil halka taşıyan bileşik **9h** ($IC_{50} = 0,0094 \pm 0,0023 \mu M$) ve 3-metilfenil grubuna sahip bileşik **9i** ($IC_{50} = 0,0887 \pm 0,0195 \mu M$) değerleriyle çok iyi aktivitede olduğu belirtilmiştir. Neticede, bi-heterosiklik asetamidlerin, elastazla ilişkili hastalıkların tedavisinde önde gelen tıbbi iskeletler olarak kullanılabileceği belirtilmiştir [107].

Menteşe ve ark.'nın 19 madde CUPRAC yöntemindeki maksimum antioksidan kapasitesi bileşik 5c için gözlemlendi. **5b**, **5h** ve **6f** bileşikleri çok iyi antioksidan kapasite gösterdi. Öte yandan **4**, **6a**, **6b**, **6c**, **6d** ve **6g** bileşikleri iyi aktivite gösterirken **2** ve **3** bileşiklerinin çok az aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir [108].



BÖLÜM 3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Deneylerde Kullanılan Cihazlar

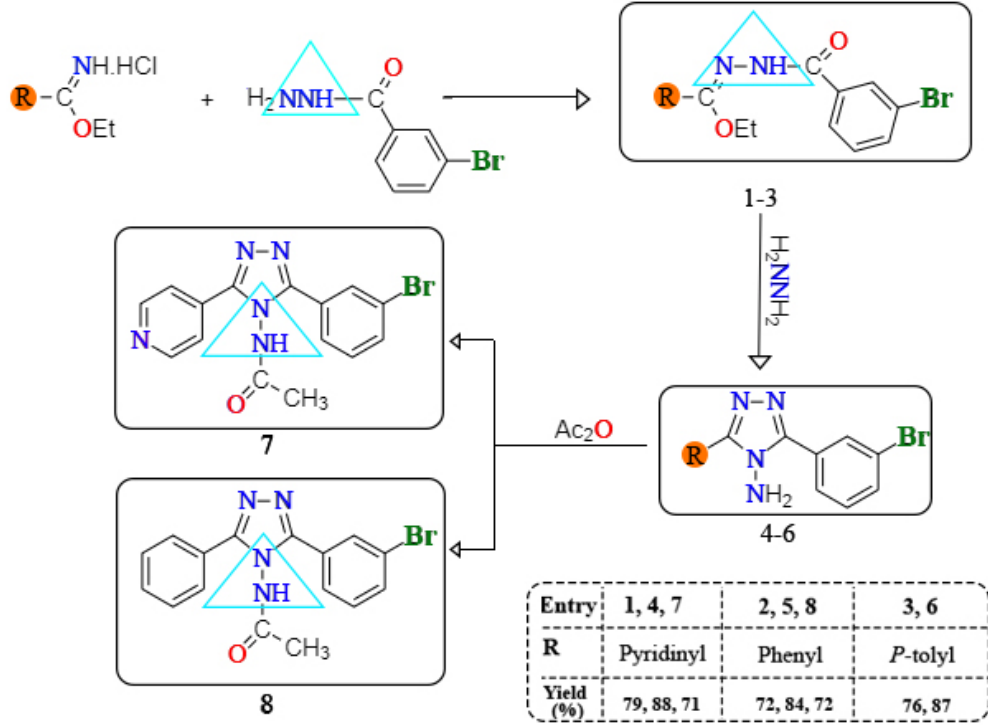
Buzdolabı	: Arçelik
Destile Su Cihazı	: Nüve-NS-108
Etüv	: Binder
pH Metre	: Butech
UV-VIS Spektrofotometre	: T80+PG Instruments
Terazi	: Shimadzu AUx220
Hassas Terazi	: Sartorius
Ultrasonikasyon	: Selecta
Su Banyosu	: Memmert
Otomatik Pipetler	: Brand Pipetleri

3.1.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Triazol bileşlerini çözmek için çözücü madde olarak dimetil sülfoksit (DMSO) (MERCK) kullanılmıştır. Çalışmalarda tampon çözelti için fosfat tamponu, hidroksimetil aminometan (Tris) (MERCK) ve hidrojen klorür (HCl) (MERCK) aynı zamanda çözeltiler için metanol (MERCK) kullanıldı. Yine deneylerde N-süksinil-ala-ala-ala-p-nitroanilit (STANA) (SİGMA) ve L-Tirozin maddeleri substrat olarak; elastaz (SİGMA) ve tirozinaz (SİGMA) ise aktivitesi belirlenecek enzimler olarak kullanıldı.

3.1.2. Deneylerde Kullanılan Organik Maddeler

Bu tezde incelenen yeni seri 1, 2, 4-triazol türevi bileşikleri, Karadeniz Teknik Üniversitesi Hizmetleri MYO/Tıbbi Teknikerler Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Nurhan GÜMRÜKÇÜOĞLU tarafından sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin açık yapıları Şekil 3.1’de verilmiştir.



Şekil 3.1. 1, 2, 4-Triazol bileşiklerinin açık yapıları.

3.2. Metod

3.2.1. CUPRAC İndirgeme Gücü Yöntemi ile Antioksidan Kapasite Tayini

Bakır (II) indirgeme kapasitesine dayanarak, toplam antioksidan miktarını ölçümüne dayalı bir yöntemdir. Kromojenik özelliğe sahip bir redüksiyon-oksidasyon reaktifi olan bis(neokuproin)-CuCl₂ bileşiği kullanılarak, hem hidrofilik hem de lipofilik olmak üzere toplam antioksidan miktarı kolaylıkla belirlenebilmektedir. Hazırlanan reaktif çözeltisine, antioksidan miktarı belirlenecek numune alınıp çözeltiye ilave edilir. Oluşan sarı-yeşil renkli çözelti, spektrofotometre cihazında absorbans değeri

okunarak rengin şiddetine göre örneklerdeki antioksidan miktarı belirlenmiş olur. Bu yöntemin diğer yöntemlere göre avantajı, kısa sürede doğru sonuçlar almanın yanı sıra analiz sırasında laboratuvar ortamının nem, ışık, ısı gibi fiziksel koşullarının olumsuz etkisi olmadan ölçümlerin gerçekleştirilebilmesidir.

Örneklerin CUPRAC aktivite tayini Özyürek ve arkadaşlarının geliştirdiği metoda göre yapıldı. Örnekler ve BHT (standart antioksidan), DMSO kullanılarak 25-100 µg/mL aralığına seyreltildi. 250'şer µL CuCl₂ susuz alkolde hazırlanmış neokuproin ve amonyum asetatın sulu tamponu (pH: 7,0) deney tüpüne alınıp vortekste karıştırıldıktan sonra üzerine tayin edilecek örnekler veya BHT çözeltisi ilave edildi. Oda sıcaklığında 30 dakika karanlıkta bekletilip, içerisinde antioksidan bulunmayan kör deneye karşı 450 nm'de absorbans değerleri okundu. Sonuç, absorbans - konsantrasyon tablosu şeklinde yorumlandı.

3.2.2. Anti-Elastaz Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi

Elastaz inhibitörünün etkisi, Ji-young ve arkadaşlarının [109] yönteminden faydalanılarak spektrofotometrik olarak belirlendi. Çalışmamızda numunelerin farklı derişimlerdeki çözeltileri (DMSO'te) oluşturuldu. Elde edilen farklı derişimlerdeki çözeltilerden 0,05'er mL hacimlerde alındı. Alınan bu çözeltilerin üzerine elastaz enziminden 0,05 mL hacimlerde ilave edildi ardından 0,9 mL Tris-HCl tamponu (pH: 7,8; 0,2 M) eklendi. Kontrol çözeltisi için 0,1 Ml'lik enzim çözeltisinden ve üzerine 0,9 mL hacimde Tris-HCl karışımı eklendi. Elde edilen bu çözelti 37°C'de 15 dakika boyunca inkübe edildi. Numune tüpleri ve kontrol çözeltilerine inkübasyonun ardından 0,05 mL hacimde N-süksinil-(Ala)₃-nitroanilide (STANA) çözeltisi eklenerek, 30 dakika boyunca 37°C'de inkübe edildi. 410 nm'de köre karşı absorbans değerleri bulundu. % inhibisyon değerleri ise aşağıdaki formülde okunan absorbans değerleri yerine yazılarak hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A_0 = Kontrol absorbans değeri

A_1 = Örnek absorbans değeri

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada ilk defa sentezlenen 1, 2, 4-Triazol bileşiklerinin antioksidan aktiviteleri ve anti elastaz aktiviteleri incelendi.

4.1. CUPRAC İndirgeme Gücü Metodu Sonuçları

1, 2, 4- triazol bileşiklerinin CUPRAC yöntemiyle radikal giderme aktivitesi derişime karşı absorbans olarak değerlendirilirken aynı zamanda BHA ile serbest radikal giderme aktiviteleri karşılaştırıldı. Bulunan değerler Tablo 4.2’de verildi. CUPRAC yöntemi ile radikal giderme aktivitesinin **3** bileşğinde en yüksek seviyede olduğu görüldü. Cuprac yöntemiyle elde edilen antioksidan aktivite sonuçları tablo 4.1. ile gösterilmiştir.

Tablo 4.1. 1,2,4-Triazol Bileşiklerinin CUPRAC Aktiviteleri Sonuçları

Bileşikler	Konsantrasyon (µg/mL)	Absorbans*
1	50	0,026±0,012
	100	0,051±0,012
	150	0,082±0,014
	200	0,106±0,013
2	50	0,298±0,033
	100	0,443±0,076
	150	0,611±0,09
	200	0,925 ±0,082
3	50	0,504±0,078
	100	0,685±0,052
	150	0,843±0,082
	200	1,067±0,115
4	50	0,018±0,01
	100	0,042±0,011

Tablo 4.1.'in devamı

	150	0,074±0,01
	200	0,099±0,015
5	50	0,017±0,002
	100	0,03±0,004
	150	0,066±0,009
	200	0,097±0,016
6	50	0,015±0,006
	100	0,031±0,009
	150	0,051±0,008
	200	0,083±0,016
7	50	0,363±0,054
	100	0,539±0,062
	150	0,691±0,047
	200	0,871±0,076
8	50	0,024±0,008
	100	0,042±0,014
	150	0,078±0,008
	200	0,115±0,018
BHT	50	0,138±0,028
	100	0,194±0,03
	150	0,254±0,035
	200	0,322±0,036

* Ortalama ± Standart sapma

4.2. Anti-Elastaz Aktivitesi Tayini Sonuçları

İlk kez sentezlenen eperezolid bileşikleri arasında anti-elastaz aktivitesi en yüksek **8** nolu ($IC_{50} = 0,038 \pm 0,0043 \mu M$) bileşiğin, diğer bileşiklere göre anti-elastaz aktivitesi daha düşük olan bileşiğin ise **7** nolu ($IC_{50} = 0,099 \pm 0,0251 \mu M$) bileşiğik olduğu gözlemlendi. Tablo 4.2.'de ilk kez sentezlenen 1, 2, 4-triazol bileşiklerinin anti- elastaz aktivitesi sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.2. İlk Defa Sentezlenen 1, 2, 4-Triazol Bileşiklerinin Elastaz Aktivitesi

Bileşik No	Konsantrasyon (µg/mL)	İnhibisyon*	Anti-Elastaz IC ₅₀ (µM) *
1	0,00001	17,89 ± 2,52	0,078 ± 0,0051
	0,0001	26,54 ± 3,07	
	0,001	35,05 ± 3,20	
	0,01	40,31 ± 1,73	
2	0,00001	13,99 ± 1,68	0,067 ± 0,0035
	0,0001	22,62 ± 3,60	
	0,001	31,33 ± 2,92	
	0,01	39,89 ± 1,52	
3	0,00001	17,77 ± 4,86	0,067 ± 0,0004
	0,0001	24,42 ± 5,21	
	0,001	31,11 ± 2,31	
	0,01	39,89 ± 1,51	
4	0,00001	14,99 ± 3,04	0,078 ± 0,0051
	0,0001	21,54 ± 3,31	
	0,001	28,59 ± 4,86	
	0,01	33,99 ± 3,75	
5	0,00001	16,51 ± 4,02	0,041 ± 0,0017
	0,0001	22,21 ± 2,54	
	0,001	31,71 ± 2,97	
	0,01	39,80 ± 1,47	
6	0,00001	15,94 ± 3,99	0,053 ± 0,0011
	0,0001	23,33 ± 3,64	
	0,001	30,99 ± 2,21	
	0,01	39,63 ± 1,27	
7	0,00001	11,98 ± 1,15	0,099 ± 0,0251
	0,0001	18,92 ± 1,45	
	0,001	26,88 ± 2,22	
	0,01	33,84 ± 2,59	
8	0,00001	22,91 ± 2,95	0,038 ± 0,0043
	0,0001	31,20 ± 3,27	
	0,001	38,97 ± 1,53	
	0,01	55,55 ± 2,51	
Ursolik asit	0,00001	19,16 ± 2,07	0,030 ± 0,0091
	0,0001	26,34 ± 0,95	
	0,001	34,28 ± 2,51	
	0,01	43,35 ± 4,89	

*Ortalama ± Standart sapma

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çok hızlı gelişmekte olan ve sürekli ilerleyen teknoloji, radyasyon, çevre kirliliği, ağır metaller, tarımda kullanım alanı olan ilaçlar aynı zamanda canlı hücrelerdeki oksijen metabolizması gibi çok sayıda etken serbest radikallerin oluşumuna sebebiyet verir. Serbest radikaller, oksijenin reaktif halleridir ve vücut hücrelerine zarar vermektedir. Bu nedenle de kalp ve damarlarda meydana gelen hastalıklar, katarakt, kanser, şeker hastalığı, karaciğer hasarı gibi birçok hastalığın ortaya çıkmasına zemin hazırlamaktadır. Bu hastalıklara çözüm bulabilmek için serbest radikallerin vermiş olduğu hasarları bertaraf etmek, böylece hastalıkların ortaya çıkışını engellemekle gerçekleşebilmektedir [110].

Serbest radikallerin ortaya çıkardığı etkileri antioksidanlar yok etmektedirler. Vücutta enzimatik özellik gösteren ve enzimatik özellik göstermeyen birçok endojen antioksidan savunma mekanizması bulunarak ROT'ların oluşumunu ve meydana getirmiş oldukları hasarı önlemeyi sağlamaktadırlar. Bunun yanı sıra vitaminler gibi bazı ilaçlar ve yapay gıda antioksidanları da eksojen antioksidanlar sınıfına girmektedirler [111].

Elastazlar, protez sınıfı enzimlerin kimotripsin ailesine ait olan kollajen ve elastin gibi proteinlerin yapısını bozan enzimlerdir [112]. Başta cilt olmak üzere, akciğerler, bağ doku ve vasküler duvarlarda bulunan elastin, doku ve organlara esneklik sağlayan hücre dışı matris proteinlerinden biridir [113]. Bağ dokusunun sağlamlığından sorumlu ve farklı dokularda çeşitli görevleri olan kollajen ise vücutta en bol bulunan bir proteindir [114].

Uzun süreler güneş ışınlarına maruz kalma, cilt yapısında değişikliklere, cilt kusurlarına ve rahatsızlıklarına neden olmaktadır. UV ve radyasyon gibi etkiler ROT

oluşumunu artırarak elastaz enziminin aşırı üretilmesine yol açmaktadır. Elastaz enzim aktivitesinin artışı kollajen ve elastik liflerin yapısal ve fonksiyonel olarak değişmesine yol açmakta; bu olumsuz durum ise ciltteki esnek yapıların bozulup pürüzlü bir dokunun oluşmasına ve yaşlanmaya yol açmaktadır [115]. Elastaz inhibitörleri, elastaz enzim aktivitesini azaltmak veya durdurmak suretiyle cilt elastikiyetinin korunmasına katkı sağlamakta böylece ciltte kırışıklık ve yaşlanma etkileri azalmaktadır [112]. Vücutta elastaz ile doğal inhibitörleri arasındaki dengesizlik doku hasarlarına neden olmakta ve kistik fibroz, astım, pulmoner amfizem, solunum sıkıntısı sendromu gibi akciğer ve bağ doku hastalıklarının ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Dolayısıyla elastaz spesifik inhibitörlerin gelişimi ile birlikte elastazla ilişkili hastalıkların kontrol edilmesine olanak sağlanacağı düşünülmektedir [116].

Heterosiklik yapıya sahip moleküller, doğada yaygın olarak bulunmaları ve çok çeşitli hayati amaçlarla kullanılmaları nedeniyle büyük öneme sahiptirler. Canlı organizmaların temel yapısını teşkil eden nükleik asitler, proteinler, peptidler ve karbonhidratların yapısında bulunmaktadır. Özellikle azot içeren bu heterosiklik moleküller, birçok biyoaktif bileşiğin temel yapısını oluşturması ve çok çeşitli uygulama alanlarına sahip olmasından dolayı bilim adamlarının oldukça ilgisini çekmektedir.

1,2,4-triazol türevi bileşikler, farmakolojik aktivite gösterdiği gibi herbisit ve fungusit özelliklere [117]. Triazol türevlerinin bir bölümü de kemoterapi ilaçları olarak kullanılır. Bazı triazol türevi olan bileşikler ise antienflamatuar [118], sedef ve kas gevşetici olarak kullanılmaktadır [119].

Yapılan bu çalışmada, yeni sentezlenmiş 1,2,4-triazol türevi bileşiklerin CUPRAC metoduyla bakır indirgeme gücü antioksidan kapasiteleri ve antielastaz aktiviteleri spektrofotometrik olarak incelenmiştir.

CUPRAC metoduna göre indirgeme gücü kapasitesi, çalışılan triazol bileşikleri ve standart madde (BHT)'nin konsantrasyon değerleri arttıkça absorbans değerleri artmıştır. Elde edilen sonuçlara göre CUPRAC aktivitesine en yüksek 3 bileşiğinin; en

düşük **6** bileşiğinin sahip olduğu gözlenmiştir. En yüksek antioksidan etkiyi sırasıyla **3, 2** ve **7** bileşikleri göstermiş olup; aynı konsantrasyonda çalışılan standart antioksidan BHT'den daha yüksek CUPRAC aktivitesine sahip olduğu görülmüştür. Bu durumda çalışılan 1,2,4-triazol bileşiklerinin CUPRAC metodu için iyi düzeyde antioksidan özelliklerinin olduğu sonucuna varılmıştır.

Ayrıca bu yeni seri triazol bileşiklerinin, elastaz enzim inhibisyon aktiviteleri *in vitro* ortamda incelendiğinde; elde edilen inhibisyon sonuçları IC_{50} değerleri olarak ifade edilmiş olup en düşük değere sahip olan **8** bileşiğinin en yüksek, **7** bileşiğinin ise en düşük inhibisyon aktivitesi gösterdiği saptanmıştır. Standart elastaz inhibitörü olan ursolik asit ($IC_{50} = 0,030 \pm 0,0091 \mu M$) ile karşılaştırıldığında, **8** bileşiği ($IC_{50} = 0,038 \pm 0,0043 \mu M$) ile yakın IC_{50} değerine sahip olduğu; diğer bileşiklerin de $0,041 - 0,099 \mu M$ arasında IC_{50} değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlardan bu yeni seri 1,2,4-triazol bileşiklerinin farmakoloji ve kozmetik alanlarındaki çalışmalar için öncülük etmesi beklenmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Gomtsyan, A. (2012). Heterocycles in drugs and drug discovery. *Chemistry of heterocyclic compounds*, 48, 7-10.
- [2] Dua, R., Shrivastava, S., Sonwane, S. K., & Srivastava, S. K. (2011). Pharmacological significance of synthetic heterocycles scaffold: a review. *Advances in Biological Research*, 5(3), 120-144.
- [3] Chen, Z., Wannere, C. S., Corminboeuf, C., Puchta, R., & Schleyer, P. V. R. (2005). Nucleus-independent chemical shifts (NICS) as an aromaticity criterion. *Chemical reviews*, 105(10), 3842-3888.
- [4] Henke, B. R., Aquino, C. J., Birkemo, L. S., Croom, D. K., Dougherty, R. W., Ervin, G. N., ... & Willson, T. M. (1997). Optimization of 3-(1 H-indazol-3-ylmethyl)-1, 5-benzodiazepines as potent, orally active CCK-A agonists. *Journal of medicinal chemistry*, 40(17), 2706-2725.
- [5] Chen, C. Y., Lieberman, D. R., Larsen, R. D., Reamer, R. A., Verhoeven, T. R., Reider, P. J., ... & Houghton, P. G. (1994). Synthesis of the 5-HT_{1D} receptor agonist MK-0462 via a Pd-catalyzed coupling reaction. *Tetrahedron letters*, 35(38), 6981-6984.
- [6] Kang, Y. K., Shin, K. J., Yoo, K. H., Seo, K. J., Hong, C. Y., Lee, C. S., ... & Park, S. W. (2000). Synthesis and antibacterial activity of new carbapenems containing isoxazole moiety. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 10(2), 95-99.
- [7] Talley, J. J., Brown, D. L., Carter, J. S., Graneto, M. J., Koboldt, C. M., Masferrer, J. L., ... & Seibert, K. (2000). 4-[5-Methyl-3-phenylisoxazol-4-yl]-benzenesulfonamide, valdecoxib: a potent and selective inhibitor of COX-2. *Journal of medicinal chemistry*, 43(5), 775-777.
- [8] Tao, Y. T., Balasubramaniam, E., Danel, A., Jarosz, B., & Tomasik, P. (2001). Organic light-emitting diodes based on variously substituted pyrazoloquinolines as emitting material. *Chemistry of materials*, 13(4), 1207-1212.

- [9] Yılmaz, N. (2020). *Yeni Triazol ve Triazolotiyadiazin Türevlerinin Sentezi ve Biyolojik Etki Çalışmaları* (Master's thesis, Anadolu University (Turkey)).
- [10] Shawali, A. S., & Párkanyi, C. (1980). Hydrazidoyl halides in the synthesis of heterocycles. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 17(5), 833-854.
- [11] H Zhou, C., & Wang, Y. (2012). Recent researches in triazole compounds as medicinal drugs. *Current medicinal chemistry*, 19(2), 239-280.
- [12] Basak, A., Chakraborty, R., & Mandal, S. M. (Eds.). (2016). *Recent trends in antifungal agents and antifungal therapy*. New Delhi: Springer India.
- [13] Patel, V. M., Patel, N. B., Chan-Bacab, M. J., & Rivera, G. (2018). Synthesis, biological evaluation and molecular dynamics studies of 1, 2, 4-triazole clubbed Mannich bases. *Computational biology and chemistry*, 76, 264-274.
- [14] Mali, D. A., & Telvekar, V. N. (2017). Synthesis of triazolidines and triazole using DMAP. *Synthetic Communications*, 47(4), 324-329.
- [15] Martin, A. ve Martin, R. (2014). 1, 2, 4-triazol türevlerinin antimikrobiyal aktivitesi üzerine bir inceleme. *Int. J. Life Sci. Pharm. Res* , 3 , 321-329.
- [16] Popiołek, Ł., Rzymowska, J., Kosikowska, U., Hordyjewska, A., Wujec, M., & Malm, A. (2014). Synthesis, antiproliferative and antimicrobial activity of new Mannich bases bearing 1, 2, 4-triazole moiety. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 29(6), 786-795.
- [17] Bekircan, O., & Bektas, H. (2006). Synthesis of new bis-1, 2, 4-triazole derivatives. *Molecules*, 11(6), 469-477.
- [18] Milošev, M. Z., Jakovljević, K., Joksović, M. D., Stanojković, T., Matić, I. Z., Perović, M., ... & Marković, V. (2017). Mannich bases of 1, 2, 4-triazole-3-thione containing adamantane moiety: Synthesis, preliminary anticancer evaluation, and molecular modeling studies. *Chemical biology & drug design*, 89(6), 943-952.
- [19] Wang, B. L., Liu, X. H., Zhang, X. L., Zhang, J. F., Song, H. B., & Li, Z. M. (2011). Synthesis, Structure and Biological Activity of Novel 1, 2, 4-Triazole Mannich Bases Containing a Substituted Benzylpiperazine Moiety. *Chemical biology & drug design*, 78(1), 42-49.

- [20] Ceylan, S. (2016). 1, 2, 4-triazol ve 1, 3, 4-oksadiazol çekirdeği içeren yeni Mannich ve Schiff bazlarının sentezi ve biyolojik değerlendirilmesi. Tıbbi Kimya Araştırmaları , 25 , 1958-1970.
- [21] Aouad, MR (2014). 1, 2, 4-triazol çekirdeği içeren bazı yeni Schiff, Mannich ve asetilenik Mannich bazlarının sentezi, karakterizasyonu ve antimikrobiyal değerlendirmesi. Moleküller , 19 (11), 18897-18910.
- [22] Ünver, Y., Deniz, S., Çelik, F., Akar, Z., Küçük, M., & Sancak, K. (2016). Synthesis of new 1, 2, 4-triazole compounds containing Schiff and Mannich bases (morpholine) with antioxidant and antimicrobial activities. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 31(sup3), 89-95.
- [23] Isloor, AM, Kalluraya, B. ve Shetty, P. (2009). Bölgesel seçici reaksiyon: 1, 2, 4-triazollerden türetilen bazı yeni Mannich bazlarının sentezi, karakterizasyonu ve farmakolojik çalışmaları. Avrupa tıbbi kimya dergisi , 44 (9), 3784-3787.
- [24] Ardoin, S. P., & Sundry, J. S. (2006). Update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Current opinion in rheumatology, 18(3), 221-226.
- [25] Halliwell, B. (1991). Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. The American journal of medicine, 91(3), S14-S22.
- [26] Bast, A. A. L. T., Haenen, G. R., & Doelman, C. J. (1991). Oxidants and antioxidants: state of the art. The American journal of medicine, 91(3), S2-S13.
- [27] TURE, T. (1998). Akut miyokard infarktüsünde SOD ve GSHPx enzimleri ile E ve C vitaminlerinin düzeyleri.
- [28] Akkuş, İ. (1995). Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları, Konya, 1, 57-63.
- [29] Çevrim, E. E. (2000). Sigara içenlerde antioksidan enzimler, ferritin ve hemoglobin düzeylerinin değerlendirilmesi. Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Kütahya: Dumlupınar Üniversitesi, ss, 105.
- [30] Goodyear-Bruch, C. ve Pierce, JD (2002). Kritik hastalarda oksidatif stres. Amerikan Kritik Bakım Dergisi , 11 (6), 543-551.

- [31] Yoshikawa, T., Naito, Y., Kishi, A., Tomii, T., Kaneko, T., Iinuma, S., ... & Kondo, M. (1993). Role of active oxygen, lipid peroxidation, and antioxidants in the pathogenesis of gastric mucosal injury induced by indomethacin in rats. *Gut*, 34(6), 732-737.
- [32] Kise, Y., Yoshimura, S., Akieda, K., Umezawa, K., Okada, K. I., Yoshitake, N., ... & Inokuchi, S. (2004). Acute oral selenium intoxication with ten times the lethal dose resulting in deep gastric ulcer. *The Journal of emergency medicine*, 26(2), 183-187.
- [33] GUTTERIDGE, JM (1989). Demir ve oksijen: biyolojik olarak zararlı bir karışım. *Acta Paediatrica*, 78, 78-85.
- [34] Sohal, R. S. (2002). Role of oxidative stress and protein oxidation in the aging process. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(1), 37-44.
- [35] Blokhina, O., Virolainen, E., & Fagerstedt, K. V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of botany*, 91(2), 179-194.
- [36] Kılınç, K. (2002). Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33(2), 110-8.
- [37] Halliwell, B. ve Gutteridge, JM (1985). *Biyoloji ve tıpta serbest radikaller*.
- [38] Hasani, A. (1999). Sıçanlarda kafa travması sonrası artan serbest oksijen radikalleri üzerine sevofluranın etkisi (Doctoral dissertation, Marmara Üniversitesi (Turkey)).
- [39] Çakatay, U., & Telci, A. (2000). Oksidatif protein hasarı ve saptanmasında kullanılan markerlar. *İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 63, 314-317.
- [40] Çelik, S. (2001). APS ile opere edilen tavşanların kan ve karaciğer dokularındaki serbest oksijen radikalleri ve antioksidan enzim düzeylerinin tayini. *Dumlupınar Üniversitesi*.
- [41] KAVAS, G. Ö. (1989). Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 9(1), 1-8.

- [42] Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., & Rezaie, A. (2004). Pesticides and oxidative stress: a review. *Med Sci Monit*, 10(6), 141-147.
- [43] Halliwell, B., Zentella, A., Gomez, E. O., & Kershenobich, D. (1997). Antioxidants and human disease: a general introduction. *Nutrition reviews*, 55(1), S44.
- [44] Stief, T. W. (2003). The physiology and pharmacology of singlet oxygen. *Medical Hypotheses*, 60(4), 567-572.
- [45] Pham-Huy, LA, He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Serbest radikaller, hastalık ve sağlıkta antioksidanlar. *Uluslararası biyomedikal bilim dergisi: IJBS* , 4 (2), 89.
- [46] Garcia, E. I. C., Elghandour, M. M., Khusro, A., Alcala-Canto, Y., Tirado-González, D. N., Barbabosa-Pliego, A., & Salem, A. Z. (2022). Dietary supplements of vitamins E, C, and β -carotene to reduce oxidative stress in horses: an overview. *Journal of Equine Veterinary Science*, 110, 103863.
- [47] Anglada, JM, Martins-Costa, M., Francisco, JS ve Ruiz-Lopez, MF (2015). Atmosferik, çevresel ve biyolojik süreçlerin arayüzleri boyunca reaktif oksijen türleri kimyasının birbirine bağlanması. *Kimyasal araştırma hesapları* , 48 (3), 575-583.
- [48] Di Mascio, P., Martinez, GR, Miyamoto, S., Ronsein, GE, Medeiros, MH, & Cadet, J. (2019). Nükleik asitler, lipidler ve proteinlerle singlet moleküler oksijen reaksiyonları. *Kimyasal incelemeler* , 119 (3), 2043-2086.
- [49] Li, B., Liu, S., Lai, C., Zeng, G., Zhang, M., Zhou, M., ... & Chen, L. (2020). Unravelling the interfacial charge migration pathway at atomic level in 2D/2D interfacial Schottky heterojunction for visible-light-driven molecular oxygen activation. *Applied Catalysis B: Environmental*, 266, 118650.
- [50] Wisser, FM, Duguet, M., Perrinet, Q., Ghosh, AC, Alves-Favaro, M., Mohr, Y., ... & Canivet, J. (2020). Uzun Vadeli Fotokatalitik CO₂ Azaltımı için Özel Olarak Tasarlanmış Moleküler Gözenekli Fotosistemler. *Angewandte Chemie* , 132 (13), 5154-5160.
- [51] Gutteridge, J. M. C. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods in Enzymology*, 186, 1-85.

- [52] Winterbourn, CC, Gutteridge, JM ve Halliwell, B. (1985). Düşük kısmi O₂ basınçlarında doksorubisin bağımlı lipid peroksidasyonu. *Biyoloji ve tıpta serbest radikaller dergisi* , 1 (1), 43-49.
- [53] Weijl, N. I., Cleton, F. J., & Osanto, S. (1997). Free radicals and antioxidants in chemotherapyinduced toxicity. *Cancer treatment reviews*, 23(4), 209-240.
- [54] Moldovan, L., & Moldovan, N. I. (2004). Oxygen free radicals and redox biology of organelles. *Histochemistry and cell biology*, 122, 395-412.
- [55] Gutteridge, J. M. (1986). *Free radicals in biology and medicine*. Clarendon Press.
- [56] Aruoma, O. I. (1998). Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American oil chemists' society*, 75(2), 199-212.
- [57] Siems, WG, Grune, T. ve Esterbauer, H. (1995). Sıçan ince bağırsağının iskemi ve reperfüzyonu sırasında 4-Hidroksinonenal oluşumu. *Yaşam bilimleri* , 57 (8), 785-789.
- [58] Onat, T., Emerk, K., & Sözmen, E. Y. (2002). *İnsan Biyokimyası*, Palme Yayıncılık. Ankara, 711s.
- [59] van der Vliet, A., O'Neill, CA, Halliwell, B., Cross, CE, & Kaur, H. (1994). Fenilalanin ve tirozinin peroksinitrit tarafından aromatik hidroksilasyonu ve nitrasyonu: peroksinitritten hidroksil radikal üretimine dair kanıt. *Febs Letters* , 339 (1-2), 89-92.
- [60] Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., & Rodwell, V. W. (1996). *Harper'ın biyokimyası* (pp. 978-975-953-311-3). Barış Kitabevi.
- [61] Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition reviews*, 52(8), 253-265.
- [62] Hawkins, C. L., & Davies, M. J. (1998). Degradation of hyaluronic acid, poly- and mono-saccharides, and model compounds by hypochlorite: evidence for radical intermediates and fragmentation. *Free Radical Biology and Medicine*, 24(9), 1396-1410.

- [63] McNeil, JD, Wiebkin, OW, Betts, WH, & Cleland, LG (1985). Oksijen kaynaklı serbest radikallere maruz kaldıktan sonra hyaluronik asidin depolimerizasyon ürünleri. *Annals of the Rheumatic Diseases* , 44 (11), 780-789.
- [64] Dagli, Ü., Balk, M., Yücel, D., Ülker, A., Över, H., Saydam, G., & Şahin, B. (1997). The role of reactive oxygen metabolites in ulcerative colitis. *Inflammatory bowel diseases*, 3(4), 260-264.
- [65] Cruthirds, DL, Novak, L., Akhi, KM, Sanders, PW, Thompson, JA ve MacMillan-Crow, LA (2003). Böbrek iskemisi/reperfüzyonu sırasında oksidatif stresin mitokondriyal hedefleri. *Biyokimya ve biyofizik arşivleri* , 412 (1), 27-33.
- [66] Taşçı, I., Yavuz, N., Caner, M., Göksel, S., & Yılmaz, O. (1995). Karaciğer sıcak iskemisi ve reperfüzyon hasarında dimetilsülfoksil (DMSO), allopurinol ve deferoksamin'in etkileri. *Çağdaş Cerrahi Dergisi*, 9, 198-202.
- [67] Hipkiss, AR (2007). Yaşlanmanın biyolojik yönleri. *Psikiyatri* , 6 (12), 476-479.
- [68] Dauer, W. ve Przedborski, S. (2003). Parkinson hastalığı: mekanizmalar ve modeller. *Nöron* , 39 (6), 889-909.
- [69] Mosley, RL, Benner, EJ, Kadiu, I., Thomas, M., Boska, MD, Hasan, K., ... & Gendelman, HE (2006). Nöroinflamasyon, oksidatif stres ve Parkinson hastalığının patogenezi. *Klinik sinirbilim araştırması* , 6 (5), 261-281.
- [70] Bowler, RP, Barnes, PJ, & Crapo, JD (2004). Kronik obstrüktif akciğer hastalığında oksidatif stresin rolü. *KOAH: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı Dergisi* , 1 (2), 255-277.
- [71] Anderson, R. A. (2007). Prescribing antioxidants. In *Integrative Medicine* (pp. 1083-1094). WB Saunders.
- [72] Becker, EM, Nissen, LR ve Skibsted, LH (2004). Antioksidan değerlendirme protokolleri: Gıda kalitesi veya sağlık etkileri. *Avrupa Gıda Araştırma ve Teknolojisi* , 219 , 561-571.
- [73] Seven, A., & Candan, G. (1996). Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 27(1), 41-50.

- [74] Percival, M. (1997). The importance of optimal nutrition. *Clin Nutr Insights*, 5, 1-6.
- [75] Benov, L., & Fridovich, I. (1998). Growth in iron-enriched medium partially compensates *Escherichia coli* for the lack of manganese and iron superoxide dismutase. *Journal of Biological Chemistry*, 273(17), 10313-10316.
- [76] Whittaker, M. M., & Whittaker, J. W. (1998). A glutamate bridge is essential for dimer stability and metal selectivity in manganese superoxide dismutase. *Journal of Biological Chemistry*, 273(35), 22188-22193.
- [77] Raha, S., & Robinson, B. H. (2000). Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *Trends in biochemical sciences*, 25(10), 502-508.
- [78] Guan, Y., Hickey, MJ, Borgstahl, GE, Hallewell, RA, Lepock, JR, O'Connor, D., ... & Tainer, JA (1998). Y34F mutant insan mitokondriyal manganez süperoksit dismutazının kristal yapısı ve tirozin 34'ün işlevsel rolü. *Biyokimya*, 37 (14), 4722-4730.
- [79] Kinnula, V. L., Pääkkö, P., & Soini, Y. (2004). Antioxidant enzymes and redox regulating thiol proteins in malignancies of human lung. *FEBS letters*, 569(1-3), 1-6.
- [80] Kinnula, V. L., & Crapo, J. D. (2004). Superoxide dismutases in malignant cells and human tumors. *Free Radical Biology and Medicine*, 36(6), 718-744.
- [81] Adachi, T., & Li Wang, X. (1998). Association of extracellular-superoxide dismutase phenotype with the endothelial constitutive nitric oxide synthase polymorphism. *FEBS letters*, 433(1-2), 166-168.
- [82] Youn, H. D., Kim, E. J., Roe, J. H., HAH, Y. C., & KANG, S. O. (1996). A novel nickel-containing superoxide dismutase from *Streptomyces* spp. *Biochemical Journal*, 318(3), 889-896.
- [83] Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M. C., & Mecocci, P. (2005). Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical Biology and Medicine*, 39(7), 841-852.
- [84] Jana, G. A., & Yaish, M. W. (2020). Genome-wide identification and functional characterization of glutathione peroxidase genes in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) under stress conditions. *Plant gene*, 23, 100237.

- [85] Yang, X., Lin, P., Luo, Y., Bai, H., Liao, X., Li, X., ... & Liu, Q. (2022). Lysine decrotonylation of glutathione peroxidase at lysine 220 site increases glutathione peroxidase activity to resist cold stress in chrysanthemum. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 232, 113295.
- [86] Özkan, A., & Fışkın, K. (2004). Serbest oksijen radikalleri, karsinogenez ve antioksidant enzimler. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi*, 14, 52-60.
- [87] Halliwell, B. (1991). Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *The American journal of medicine*, 91(3), S14-S22.
- [88] Stocker, R. (1991). Endogenous antioxidant defences in human blood plasma. *Oxidative stress*, 213-243.
- [89] Stahl, W., & Sies, H. (1996). Lycopene: a biologically important carotenoid for humans?. *Archives of biochemistry and biophysics*, 336(1), 1-9.
- [90] Krinsky, NI (1998). Likopen, karotenoidler ve hastalık önlemeye genel bakış. *Deneysel Biyoloji ve Tıp Derneği Bildirileri* , 218 (2), 95-97.
- [91] Lessin, WJ, Catigani, GL, & Schwartz, SJ (1997). Taze ve işlenmiş meyve ve sebzelerde provitamin A karotenoidlerinin cis-trans izomerlerinin kantifikasyonu. *Tarım ve Gıda Kimyası Dergisi* , 45 (10), 3728-3732.
- [92] Rice-Evans, C. (1999). Antioksidan aktivite için fenoliklerin ve flavonoidlerin taranması. *İnsan sağlığında antioksidan gıda takviyeleri* (s. 239-253). Akademik Basın.
- [93] Miller, NJ ve Ruiz-Larrea, MB (2002). Diyetteki flavonoidler ve diğer bitki fenoller: Antioksidan olarak önemleri. *Beslenme ve çevre tıbbı dergisi* , 12 (1), 39-51.
- [94] Ross, J. A., & Kasum, C. M. (2002). Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual review of Nutrition*, 22(1), 19-34.
- [95] Ross, JA ve Kasum, CM (2002). Diyet flavonoidleri: biyoyararlanım, metabolik etkiler ve güvenlik. *Beslenmenin yıllık incelemesi* , 22 (1), 19-34.
- [96] Çimen, M. B. Y. (1999). Flavonoidler ve antioksidan özellikleri. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 19(5), 296-304.

- [97] Yılmaz, F. (2001). İzmir’de yayıncılık: 1950–1980 (Master's thesis, Dokuz Eylül Üniversitesi (Turkey).
- [98] Altınışık, M. (2009). Enzimler. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi. Retrieved May 9, 2013, from <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-1-09.pdf>
- [99] DİNÇ, Y., & YANARDAĞ, R. (2009). Üreaz Enziminin Bazı Tıbbi Bitkiler Tarafından İnhibisyonu.
- [100] Bingöl, G. (1977). Vitaminler ve enzimler. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları Ders Kitabı Serisi.
- [101] Bode, W., Meyer Jr, E., & Powers, J. C. (1989). Human leukocyte and porcine pancreatic elastase: X-ray crystal structures, mechanism, substrate specificity, and mechanism-based inhibitors. *Biochemistry*, 28(5), 1951-1963.
- [102] Tsuji, N., Moriwaki, S., Suzuki, Y., Takema, Y., & Imokawa, G. (2001). The Role of Elastases Secreted by Fibroblasts in Wrinkle Formation: Implication Through Selective Inhibition of Elastase Activity. *Photochemistry and Photobiology*, 74(2), 283-290.
- [103] Altınışık, M. (2011). Dokular. Retrieved June 13, 2013, from <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-1-23.pdf>
- [104] <http://tr.wikipedia.org/wiki/Elastin>. Web adresinden 28 Nisan 2013 tarihinde edinilmiştir.
- [105] Eş, S. (2013). İlk defa sentezlenen 1, 2, 4-triazol schiff bazı bileşiklerinin antioksidan, anti-elastaz ve anti-tirozinaz aktivitelerinin incelenmesi. *Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 92.
- [106] Sökmen, B. B., Şen, D., Kurt, A., Bektaş, H., & Pusti, H. İlk Defa Sentezlenen Eperezolid Benzeri Bileşiklerin Anti-Üreaz ve Anti-Elastaz Enzim Aktivitelerinin İncelenmesi. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 9(1), 16-21.
- [107] Butt, A. R. S., Abbasi, M. A., Siddiqui, S. Z., Hassan, M., Raza, H., Shah, S. A. A., & Seo, S. Y. (2019). Synthesis and structure-activity relationship of elastase inhibiting novel ethylated thiazole-triazole acetamide hybrids: Mechanistic insights through kinetics and computational contemplations. *Bioorganic chemistry*, 86, 197-209.

- [108] Menteşe, E., Yılmaz, F., Baltaş, N., Bekircan, O., & Kahveci, B. (2015). Synthesis and antioxidant activities of some new triheterocyclic compounds containing benzimidazole, thiophene, and 1, 2, 4-triazole rings. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 30(3), 435-441.
- [109] Moon, J. Y., Yim, E. Y., Song, G., Lee, N. H., & Hyun, C. G. (2010). Screening of elastase and tyrosinase inhibitory activity from Jeju Island plants. *Eurasian journal of biosciences*, 4.
- [110] Kasnak, C., & Palamutoğlu, R. (2015). Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 3(5), 226-234.
- [111] Blois, MS (1958). Kararlı bir serbest radikal kullanılarak antioksidan tayinleri. *Doğa*, 181 (4617), 1199-1200.
- [112] Chiochio, I., Mandrone, M., Sanna, C., Maxia, A., Tacchini, M., & Poli, F. J. I. C. (2018). Screening of a hundred plant extracts as tyrosinase and elastase inhibitors, two enzymatic targets of cosmetic interest. *Industrial crops and products*, 122, 498-505.
- [113] Lescan, M., Perl, R. M., Golombek, S., Pilz, M., Hann, L., Yasmin, M., ... & Avci-Adali, M. (2018). De novo synthesis of elastin by exogenous delivery of synthetic modified mRNA into skin and elastin-deficient cells. *Molecular Therapy-Nucleic Acids*, 11, 475-484.
- [114] Ko, R. K., Kim, G. O., Hyun, C. G., Jung, D. S., & Lee, N. H. (2011). Compounds with tyrosinase inhibition, elastase inhibition and DPPH radical scavenging activities from the branches of *Distylium racemosum* Sieb. et Zucc. *Phytotherapy research*, 25(10), 1451-1456.
- [115] Roy, A., Sahu, R. K., Matlam, M., Deshmukh, V. K., Dwivedi, J., & Jha, A. K. (2013). In vitro techniques to assess the proficiency of skin care cosmetic formulations. *Pharmacognosy reviews*, 7(14), 97.
- [116] Kim, H., Chu, TTT, Kim, DY, Kim, DR, Nguyen, CMT, Choi, J., ... & Kim, KK (2008). Guamerinin kimotripsin ile kompleks halindeki kristal yapısı ve elastaz-spesifik bir inhibitörün geliştirilmesi. *Moleküler biyoloji dergisi*, 376 (1), 184-192.

- [117] Holla, B. S., Sarojini, B. K., Rao, B. S., Akberali, P. M., Kumari, N. S., & Shetty, V. (2001). Synthesis of some halogen-containing 1, 2, 4-triazolo-1, 3, 4-thiadiazines and their antibacterial and anticancer screening studies—Part I. *Il Farmaco*, 56(8), 565-570.
- [118] Atkinson, M. R., & Polya, J. B. (1954). Triazoles. Part II. N-substitution of some 1: 2: 4-triazoles. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 141-145.
- [119] Mori, S., Takeuchi, Y., & Toyamo, M. (1985). Amitrole of the liver following subchronic administration to mice. *Toxicology Letters*, 29(2), 145-142.



ÖZGEÇMİŞ

İlkokulu Giresun Namık Kemal İlkokulunda, ortaokulu Giresun Kanuni İlköğretim okulunda; liseyi Giresun Atatürk Lisesinde tamamladı. Kocaeli Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü 2005 yılında bitirdi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Eğitim Fakültesi'nde pedagojik formasyon eğitimini tamamlayarak Kimya Öğretmenliği unvanını aldı. 2014 yılında ilk görev yeri olan Yağlıdere Çok Programlı Anadolu Lisesine kimya öğretmeni olarak atandı. Halen Giresun Fen Lisesinde kimya öğretmenliği görevine devam etmektedir.