

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

**SİKLOBÜTAN HALKASI İÇEREN BAZI 2,5-DİAÇİL TİYOFEN
BİLEŞİKLERİNİN ANTİOKSİDAN VE ANTİTÜMÖR ÖZELLİKLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Alpay GÜLER**

**Anabilim Dalı: Kimya
Programı: Biyokimya**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Mustafa KARATEPE**

EKİM-2011

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

**SİKLOBÜTAN HALKASI İÇEREN BAZI 2,5-DİAÇİL TİYOFEN
BİLEŞİKLERİNİN ANTİOKSİDAN VE ANTİTÜMÖR ÖZELLİKLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Alpay GÜLER
Enstitü No: 091117114**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 22.08.2011
Tezin Savunulduğu Tarih: 16.09.2011**

**Tez Danışmanı : Doç. Dr. Mustafa KARATEPE
Diğer Jüri Üyeleri: Prof. Dr. Memet ŞEKERCİ
Yrd. Doç. Dr. Mehmet TUZCU**

EKİM-2011

ÖNSÖZ

Tiyofen türevi bileşikler çeşitli farmakolojik aktivitelerinden dolayı kimya, biyoloji ve farmakoloji bilim dallarında ilgi görmektedir.

Tiyofen bileşiklerinin biyolojik aktiviteleri *in vitro* olarak birçok çalışmaya konu olmuştur. İlgili literatürlere dayanarak yaptığımız tez çalışmasında, siklobütan halkası içeren tiyofen bileşiklerinin *in vitro* olarak antitümör ve antioksidan özellikleri araştırılmıştır.

İlgili bilgiler ışığında bu tezi hazırlamamda yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Mustafa KARATEPE'ye teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Ayrıca Tiyofen türevi bileşiklerin sentezini gerçekleştiren Doç. Dr. Metin KOPARIR'a, aynı zamanda antioksidan çalışmalarımızdaki yardımlarından dolayı, Arş. Gör. Serhat KESER ve doktora öğrencileri Sibel SELÇUK ile Naci Ömer ALAYUNT'a teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmalarım sırasında bana her türlü desteği veren, çalışmalarım süresince göstermiş oldukları sabır ve desteklerinden dolayı aileme teşekkürlerimi sunarım.

Alpay GÜLER
ELAZIĞ-2011

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VII
TABLolar LİSTESİ.....	VIII
KISALTMALAR.....	IX
1. GİRİŞ	1
1.1. Çalışmanın Amacı.....	3
1.2. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar.....	3
1.2.1. Serbest Radikaller.....	3
1.2.2. Reaktif Oksijen Partiküllerinin Oluşumu.....	3
1.3. Antioksidan Tanımı ve Çeşitleri.....	4
1.3.1. E Vitamininin Antioksidan Etkisi.....	5
1.3.2. A Vitamininin Antioksidan Etkisi.....	6
1.4. Lipid Peroksidasyonu ve Malondialdehit (MDA).....	7
2. MATERYAL ve METOT	9
2.1. Uygulamalarda Kullanılan Bileşikler.....	9
2.2. Uygulamalarda Kullanılan Hücreler.....	10
2.3. L 1210 Hücrelerinin Çözdürülmesi, Flasklara Ekimi, Beslenmesi ve Bölünmesi.....	10
2.4. Kullanılacak Hücre Sayısı ve Madde Dozlarının Belirlenmesi.....	11
2.5. <i>In vitro</i> Antioksidan Aktivite Ölçümleri.....	11
2.5.1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ile Ölçüm.....	11
2.5.2. MDA Analizi.....	12
2.5.3. A ve E Vitamini Analizi.....	12
2.5.4. DPPH Radikal İndirgeme Metodu ile Ölçüm.....	12
2.5.5. Deoksiriboz Degredasyonu ile Hidroksil Radikali Yakalama Aktivitesi.....	12

2.6. İstatistiksel Değerlendirme.....	13
3. BULGULAR.....	14
4. TARTIŞMA.....	19
5. KAYNAKLAR	22
ÖZGEÇMİŞ.....	28

ÖZET

Bu araştırmada, tiyofen ve siklobütan gruplarını içeren bileşiklerin hücre kültürü ortamına ilave edilmesi ile lipid peroksidasyonunun derecesini gösteren MDA, antioksidan A ve E vitamini düzeyleri üzerine olan etkisi, *in vitro* şartlarda antioksidan özelliği ve antitümör aktivitesi araştırıldı.

Deney grupları arasındaki karşılaştırılmalarda MDA ve vitamin A düzeylerinin istatistiksel olarak ($P<0.05$) değiştiği gözlemlendi. Ölçülen parametreler ve deney süresince canlı hücre sayısına bakıldığında bileşiklerin L 1210 hücre tipinde etkili bir sitotoksik aktiviteye sahip olduğu görüldü.

Sonuç olarak, ölçülen parametrelere bakıldığında kullanılan bütün maddelerin oksidatif stres oluşturduğu görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: HPLC, Tiyofen, Siklobütan, MDA, Antioksidan Aktivite, Antitümör Aktivite

ABSTRACT

Investigation of the Antioxidant and Antitumour Properties of Some Cyclobutane Ring Containing 2,5-thiophene Diacyl Compounds.

In this research, the effect of thiophene derivatives on the MDA concentration which is an indicator of Lipid peroxidation, antioxidant vitamins A, E and *in vitro* antioxidant activity and antitumour activity were investigated in cell culture media.

In the comparison done among groups, it was observed that MDA and vitamin A concentrations were statistically ($P < 0.05$) changed. Looking at the measured parameters during the experiment, the number of live cells, the compounds is seen an effective antitumour activity in the L 1210 cell types.

In conclusion, the parameters measured here in the show that all used compounds caused a considerable oxidative stress.

Key Word: HPLC, Thiophene, Cyclobutane, MDA, Antioxidant Activity, Antitumour Activity.

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1: 2,5-Di[1-metil-1-fenilsiklobütan-3-iloil]tiyofen (I).....	9
Şekil 2: 2,5-Di[1-metil-1-mezitilsiklobütan-3-iloil]tiyofen (II).....	9
Şekil 3: 2,5-Di[1-metil-1-(-2-tetralin)siklobütan-3-iloil]tiyofen (III)	9

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1: Endojen ve Eksojen Antioksidanlar.....	5
Tablo 2: Maddelerle muamele edilmiş L 1210 hücrelerinin süreye ve doza göre % de oranında canlılık durumları.....	14
Tablo 3: Maddelerle muamele edilmiş <i>Saccharomyces cerevisiae</i> maya hücrelerinin MDA (mg/4.10 ⁶ hücre) düzeylerinin dozlara göre ortalama değerleri.....	16
Tablo 4: Maddelerle muamele edilmiş <i>Saccharomyces cerevisiae</i> maya hücrelerinin E vitamini (mg/4.10 ⁶ hücre) düzeylerinin dozlara göre ortalama değerleri.....	17
Tablo 5: Maddelerle muamele edilmiş <i>Saccharomyces cerevisiae</i> maya hücrelerinin A vitamini (mg/4.10 ⁶ hücre) düzeylerinin dozlara göre ortalama değerleri.....	17
Tablo 6: DPPH radikal indirgeme metodu ile ölçüm sonuçları (%).....	17
Tablo 7: Hidroksil radikali yakalama aktivitesi ölçüm sonuçları (%).....	18

KISALTMALAR

CAR	: Karoten
CDKs	: Siklin Bağımlı Kinaz
DDP	: Diamin dikloroplatin
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DMF	: Dimetil Formamid
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DPPH	: 2-2 difenil-1-pikrilhidrazil radikali
DC ₅	: Fetal Bovin serum, L-Glutamin, Penisilin, Streptomisin ve insülin karışımı
DTA	: Differansiyel Termal Analiz
ESR	: Elektron Spin Rezonans
HClO ₄	: Perklorik asit
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
MDA	: Malondialdehit
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
RNA	: Ribonükleik asit
SOD	: Süperoksit dismutaz
TGA	: Termogravimetrik Analiz

1. GİRİŞ

Tiyofen türevi bileşikler çeşitli farmakolojik aktivitelerinden dolayı kimya, biyoloji ve farmakoloji bilim dallarında ilgi görmektedir. Bu tür bileşiklerin metaller ile kompleksleri de hazırlanmış ve çalışılmıştır.

Molekülün yapısının ve konformasyonunun bu tür bileşiklerin biyolojik aktivitelerini oldukça değiştirdiği belirtilmektedir [1]. Bu gibi çalışmalar daha aktif bileşiklerin sentezini veya doğal bileşiklerin davranışını anlamaya yardımcı olacaktır.

Bu tür maddeler herpes simplex virüs tip 1' in replikasyon inhibitörleri olarak, anti mitotik, sistein veya serin proteazların inhibitörleri, uyuşturucu reseptör analjezikleri ve 5-HT antagonistleri olarak farmakolojik kimya açısından yoğun bir şekilde araştırılmaktadır [2].

Farklı süstitüe Benzo [b] Tiyofenler östrojen reseptör modülatörleri olarak seçilmiş, osteoporozun tedavisinde Raloksifen'in yapısında kullanılmıştır [3,4]. Benzo [b] Tiyofen kalıntıları biyolojik aktif küçük moleküllerde önemli bir merkez olarak belirlenmiştir. Zileuton, anti astım ilaç olarak kullanılmaktadır [5], 5-lipogenazın potansiyel bir inhibitörüdür [6].

Ferreira ve arkadaşları, raloksifen'in yapısına benzeyen benzo [b] tiyofen türevlerinin, menopoz sonrası kadınlarda akciğer kanseri riskini azalttığı düşünülen östrojen reseptör modülatörü olarak belirlemişler ve sentezlemişlerdir. Aynı zamanda bu bileşiklerin *in vitro* antitümör aktivitesi incelenmiştir. Bu maddelerin bazılarının, östrojen reseptörüne karşı iyi bir affinite sergilediği ve faydalı antitümör özellikler gösterdiği belirtilmiştir [7].

Di aril amin iskeleti ve Benzo [b] Tiyofen sistemler, biyolojik aktif bileşikler olarak oldukça ilgi çekmektedir [8].

Pinto ve arkadaşları, di hetero aril aminlerin Benzo [b] Tiyofen türevlerini hazırlayarak antifungal aktivitelerini araştırmışlardır. Aril türevlerinde hidroksil grubunun varlığının antifungal aktivite için gerekli olduğunu bulmuşlardır. Yine piridin türevlerinde bu etkinin arttığını gözlemişlerdir [9].

Ortokloro diaril aminlerin ve heteroaromatik tetrasiklik sistemlerin Benzo [b] Tiyofen bileşiklerinin sentezlendiği bir çalışmada, antimikrobiyal özellikleri de incelenmiştir [10].

Romagnoli ve arkadaşları, tiyofenlerin kalkon ve 2 ve 3 amino Benzo [b] Tiyofen türevlerini hazırlayarak biyolojik özelliklerini incelemişlerdir. Bütün bileşiklerin mikromolar konsantrasyonlarda kanser hücrelerinin gelişimini inhibe ettiğini bulmuşlardır [11, 12].

Radwan ve arkadaşları, ise C5 süstitüe Benzo [b] Tiyofen alkil, siklo alkil, aril ve heterosiklik aminlerle türevlerini hazırlayarak bu bileşiklerin anti-inflammatuar aktivitesini incelemişler ve yüksek derecede biyolojik aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir [13].

Jiao ve arkadaşları, fenil propan amido benzamid'in tiyofen türevlerini sentezlemiş ve birkaç insan kanser hücresi üzerinde antiproliferatif aktivitesini incelemişlerdir. Bileşiklerin iyi bir aktivite sergilediğini gözlemlemişlerdir. İlave olarak bu bileşiklerin hücre döngüsünde G2 fazını azaltıcı yönde etki gösterdiğini belirtmişlerdir [14].

Stolic ve arkadaşları, tiyofen merkezli bis benzimidazol amidinleri sentezlemiş ve bunların DNA ve RNA ile etkileşimlerini incelemişlerdir. Bu bileşiklerden bazılarının aynı zamanda iyi antitümör ve antiparazidik aktivite gösterdiklerini belirlemişlerdir [15].

Piparizin tiyofenlerin sentezlendiği başka bir çalışmada, bu bileşiklerin adenoazin A1 reseptörlerini güçlendirici allosterik özellikleri incelenmiştir [16].

Parai ve arkadaşları, triarilmetan içeren tiyofenleri sentezlemiş ve bunların 3,12 ile 12,5 mikrogram/mililitre konsantrasyonlarında antitüberküler özellik gösterdiğini belirlemişlerdir [17].

Singh ve arkadaşları, tiyofen 2 karboksi aldehit tiyosemikarbazon'un siklo oktadien ile Ru(II) komplekslerini hazırlamış antiamoebik aktivitesini test etmişlerdir [18].

Sharma ve arkadaşları, tiyofen-2-karboksi aldehit'in tiyosemikarbazon türevlerinin Bakır-2 komplekslerini sentezlemişler, antiamoebik özelliklerini test etmişler ve bu komplekslerden bazılarının ticari ilaç olan metronidazol'den daha etkili olduğunu göstermişlerdir [19].

Tiyofen-2-karboksi aldehit'in tiyosemikarbazon türevlerinin antilösemik aktivitesi birkaç çalışmaya konu olmuştur [20].

Mohammed ve arkadaşları, 2-tiyofen karboksi aldehit aminobenzoik asitten türevlendirilmiş Schiff bazının bazı metal komplekslerini sentezlemiş ve antibakteriyel aktivitesini incelemişlerdir. Liganda nazaran metal komplekslerinin daha etkili bir aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir [21].

Brault ve arkadaşları, kenpaullonun yeni tiyofen analoglarını sentezlemişler ve

akciğer kanserine karşı biyolojik aktivitesini incelemişlerdir. Kenpaullon hücre bölünmesinde önemli bir rol oynayan siklin bağımlı kinaz (CDKs) enziminin inhibe edilmesinde kullanılan bir inhibitördür. Bu ve benzeri bileşikler sentezlenmiş ve özellikle antikanser çalışmalarda kullanılmıştır [22].

Ayrıca siklobütan halkasının biyolojik aktivite gösteren başka diğer bileşiklerle olan türevlerinin antiviral, antineoplastik, antiproliferatif etkileri ve siklobütan grubunun bu özelliklerin zenginleşmesindeki katkıları açıklanmaya çalışılmaktadır [23, 24].

Bu amaçla yapılan bir çalışmada, cis-diamin-1,1-siklobütan dikarboksilat platin (II) komplekslerinin, cis-diamin dikloroplatin (II) (cis-DDP) kompleksine benzer etkilere sahip olabileceği ve bu kompleksin hayvan ve insanlarda cis-DDP'den daha az nefrotoksik etki gösterdiği rapor edilmektedir [25].

Yukarıdaki literatürlerden de anlaşılacağı gibi bu konu oldukça fazla sayıda çalışmaya konu olmuş ve olmaya devam etmektedir.

1.1. Çalışmanın Amacı

F.Ü. Fen Fakültesi Kimya Bölümünde sentezlenmiş ve karakterize edilmiş olan [26, 27], tiyofen ve siklobütan gruplarını içeren bileşiklerin *in vitro* olarak antitümör ve antioksidan özellikleri araştırılmıştır. Burada tiyofen ve siklobütan gruplarını içeren bileşikler hücre kültür ortamına ilave edilerek antioksidan ve antitümör aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca bu maddelerin *in vitro* olarak süperoksit radikal indirgeme ve hidroksil radikali yakalama özelliklerinin olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

1.2. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

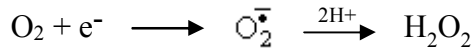
1.2.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, hücre metabolizması sırasında cereyan eden biyokimyasal redoks reaksiyonları ile ortaya çıkan çiftleşmemiş elektrona sahip, reaktif ve kısa ömürlü kimyasal bileşiklerdir. Serbest radikallere, oksidan moleküller veya en doğru adlandırma ile "Reaktif Oksijen Partikülleri" de denilmektedir [28].

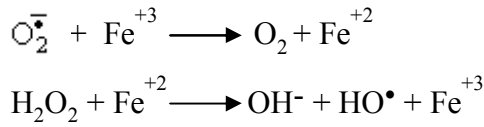
1.2.2. Reaktif Oksijen Partiküllerinin Oluşumu

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler.

Bir serbest radikalın başlangıç ürünü moleküler oksijenin indirgenmesiyle oluşan süperoksit anyon radikalidir ($O_2^{\bullet -}$). Bir serbest radikal, çiftleşmemiş elektrona sahip bir atom veya moleküldür. Bu ürün kararsız bir yapıdır ve çevresindeki bir organik veya inorganik yapıya saldırabilir. Peroksit anyonu çözeltiden iki proton alarak hidrojen perokside dönüşür.



Canlı sistemlerde oksijen radikalinin zararlı etkilerine dikkat edilmesi ve bu radikallerin oluşumu ile hemen etkilerinin uzaklaştırılması gerekir. Aksi halde bunlar Fe veya Cu gibi iki değerli katyonları katalizleyerek daha etkili bir serbest radikal olan hidroksil radikalini oluştururlar [29].



$HO^{\bullet}$ radikali, canlı sistemlere çok zararlı olabilecek çok güçlü bir radikaldir. Birçok hastalıklara sebebiyet verebilecek biyokimyasal değişimleri oluşturulabilir [30]. Serbest radikaller belli miktarlarda hücreler tarafından bazı hücre içi redoks ve sinyal farklılıklarını göstermek gibi fizyolojik faydalar için kullanılabilir [31].

1.3. Antioksidan Tanımı ve Çeşitleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler.

Antioksidanlar, okside olabilir bir substratla mukayese edildiğinde, düşük konsantrasyonlarda bulunan ve substratın oksidasyonunu önemli derecede geciktiren ya da

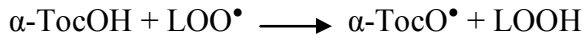
inhibe eden "herhangi bir substrat" olarak tanımlanmaktadır. Endojen (doğal) ve eksojen (ilaçlar) antioksidanlar olmak üzere başlıca 2 ana gruba ayrılırlar. Hücrelerin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler [31,32].

Tablo 1: Endojen ve Eksojen Antioksidanlar [31]

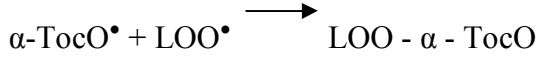
A- Endojen (Doğal) Antioksidanlar		
I. Enzimler	II. Makromoleküller	III. Mikromoleküller
- Süperoksid dismutaz	- Seruloplazmin	- E vitamini ve analogları
- Katalaz	- Transferrin	- C vitamini
-Glutasyon peroksidaz	- Ferritin	- Tiyo içerener: GSH
- Glutasyon redükaz	- Hemoglobin	-N-asetil sistein, Metiyonin kaptopril
- Hidroperoksidaz	- Miyoglobin	- A vitamini-β-karoten
- Sitokrom -C oksidaz		- Glikoz
		- Ürik asit
		- Ubikinon
		- Bilirubin
B - Eksojen Antioksidanlar (İlaçlar)		Gıda Antioksidanları
- NADPH oksidaz inhibitörleri		- Bütil Hidroksitoluen (BHT)
-Endojen antioksidan aktiviteyi artıran maddeler		- Bütil Hidroksianisol (BHA)
- Non-enzimatik serbest radikal toplayıcıları		- Sodyum benzoat
- Demir redoks döngüsü inhibitörleri		- Etoksikuin
- Nötrofil adezyon inhibitörleri		- Propilgalat
- Rekombinant h-SOD		
- 21 - Aminosteroidler, Indopamid		
- Sitokinler, Flavonoidler		
- Ksantin oksidaz inhibitörleri		
- Barbitüratlar, Trimetazidin		

1.3.1. E Vitamininin Antioksidan Etkisi

E vitamininin normal fizyolojik süreçlerde ve farklı hastalık durumlarındaki rolü sürekli olarak araştırılmıştır. E vitamini diğer biyolojik moleküllerden daha fazla peroksit radikalleriyle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu önler ve hücre yapısını koruyarak güçlü bir antioksidan etki gösterir [31]. Lipid peroksidasyonunda oluşan peroksit radikalleriyle reaksiyona girerek çok fazla zayıf ve etkisiz bir radikal olan tokoferoksil radikalini oluşturur.



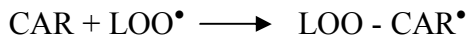
Daha sonra tekrar ikinci bir radikalle reaksiyona girerek radikal olmayan bir ürün olan LOO - TocO'yi oluşturur.



Böylece her tokoferol molekülü, lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını önleyerek antioksidan etkisini gösterir [29].

1.3.2. A Vitamininin Antioksidan Etkisi

Konjuge polienlerin büyük kısmı benzer biyolojik aktiviteye sahiptir. Karotenoitler, lipid peroksidasyonu esnasında ortaya çıkan radikalleri önlemede etkilidir ve aktif oksijen çeşitlerini durdurmada etkili olan pigmentler olarak görülürler. Karotenoitlerin uzun, konjuge, çift bağlı sistemleri radikal saldırılarına karşı onları üstün hale getirmektedir. β -karotenin (CAR) peroksil radikali ile direkt olarak reaksiyona girebileceği ve karbon merkezli radikal oluşturarak rezonans kararlı hale geleceği belirtilmektedir [33].



Karotenoitler α - tokoferollerde görüldüğü gibi iki peroksil radikali ile reaksiyona girebilir [34].



Bununla birlikte bu antioksidan etki burada bitmez. Aşağıda gösterildiği gibi çoklu rezonans kararlılığı ile bir karoten molekülü, karbon merkezli radikaller oluşturarak iki peroksil radikale daha etki eder.



β -karoten ile peroksil radikalının reaksiyonundan oluşan ürünlerin bazıları son zamanlarda ESR ile tarif edilmiştir. Ürünler bazı epoksitler ile β -karotenin karbonil türevleridir. [35].

1.4. Lipid Peroksidasyonu ve Malondialdehit (MDA)

Lipid peroksidasyonu membranda bulunan fosfolipid, glikolipid, gliserit ve sterol yapısında yer alan doymamış yağ asitlerinin, serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Serbest radikaller reaktif yapıları nedeniyle, başta lipidler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere yükseltgenebilen tüm hücre elemanları ile etkileşirler [31].

Hücreleri saran membranlar ve hücre organelleri, geniş miktarlarda poliansature yağ asiti ihtiva ederler. Serbest radikaller hücre membranındaki bu poliansature yağ asitlerine saldırır ve lipid peroksitlerin teşekkülüne yol açan lipid radikallerinin oluşumuna sebep olurlar. Lipid peroksidasyonundaki artış serbest radikal aktivasyonunun indirekt bir işaretidir. Biyolojik membranların en önemli unsurları lipid ve proteinlerdir. Lipid peroksidasyonu, lipidler kadar mebran proteinlerini de hasara uğratabilir [39].

Çeşitli patolojik durumlar sırasında birçok hücre tipinde O_2 'nin redüksiyonundan oluşan türlerin olağan dışı ve şiddetli üretimiyle karakterize oksidatif stresin meydana geldiği günümüzde iyi bilinmektedir. Bu oksidatif stresin genel bir sonucu, hücre organizasyonunun az yada çok degradasyonu ile sonuçlanan hücre lipidlerinin peroksidasyonudur [31].

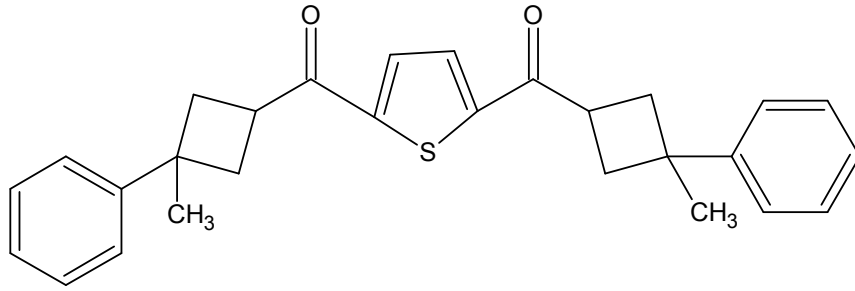
Oksijen molekülü lipidlere karşı yüksek afiniteye sahiptir. Bu molekül hemoglobinden ayrıldıktan sonra plazmadaki lipoproteinler ile eritrosit zarındaki lipidlerde çözünmekte ve daha sonra dokularda kullanılmaktadır. Bu sırada dokularda bulunan doymamış yağ asitlerindeki çift bağlara oksijen bağlanması sonucu lipid peroksidasyonu kimyasal reaksiyonu meydana gelmektedir. Lipid peroksidasyonunun zar yapı ve bütünlüğünün bozulması, oluşan serbest radikallerin çeşitli hücre bileşenleri üzerine zararlı etkileri ve son ürünlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına neden oldukları düşünülmektedir [40].

Lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak reaktif aldehytler üreterek diğ er hücre bileşenlerine zarar verir. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğ er bölümlerine hasarı yayarlar. Böylece, birçok hastalığa ve doku hasarına sebep olurlar. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna sebep olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini de i tirir. Bu etkiler, MDA'nın niçin mutajenik, genotoksik ve karsinogenik olduğunu açıklar. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri d n   ms zdir. Hem insanlardaki ve hem de doğadaki lipid peroksidasyonunu kontrol etmek ve azaltmak için antioksidanlar kullanılmaktadır [41].

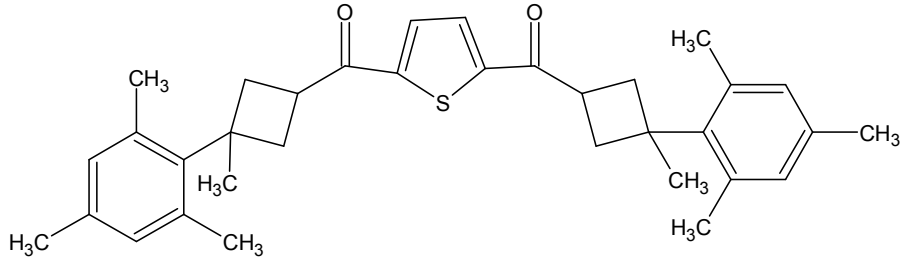
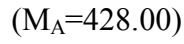
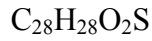
2. MATERYAL ve METOT

2.1. Uygulamalarda Kullanılan Bileşikler

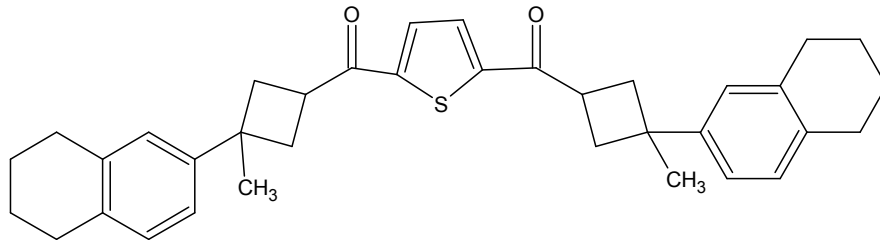
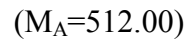
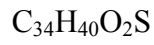
Bölümümüzde sentezlenmiş ve karakterize edilmiş olan [26,27], tiyofen ve siklobütan gruplarını içeren bileşiklerin yapısı aşağıdaki gibidir.



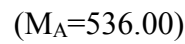
Şekil 1: 2,5-Di[1-metil-1-fenilsiklobütan-3-iloil]tiyofen (I)



Şekil 2: 2,5-Di[1-metil-1-mezitilsiklobütan-3-iloil]tiyofen (II)



Şekil 3: 2,5-Di[1-metil-1-(2-tetralin)siklobütan-3-iloil]tiyofen (III)



2.2. Uygulamalarda Kullanılan Hücreler

Antitümör aktivitenin belirlenmesi için L 1210 HÜCRE KÜLTÜRÜ (kemirgen lösemi hücresi) ve antioksidan aktivitenin belirlenmesi için *Saccharomyces cerevisiae* maya hücreleri kullanıldı.

Fungi alemine dahil olan *Saccharomyces Cerevisiae* tek hücreli bir mikroorganizmadır. *Saccharomyces Cerevisiae* askomisetik bir mayadır. Maya terimi tomurcuklanma ve enine bölünme gibi aseksüel (eşeysiz) olarak üreyen veya eşeyli üreyen mikroorganizmadır. *Saccharomyces Cerevisiae* diğer mayalar gibi karbohidratları fermente eder. Bira yapımı ve fırıncılıkta kullanılır. Mayaların yüksek vitamin içeriği, besin olarak değerlerini artırır. Birçok *Saccharomyces Cerevisiae* türü diğer vitaminler yanında özellikle B vitaminini sentezlerler [42]. *Saccharomyces cerevisiae* malt extract broth'da aşılınıp etüvde 25 °C'de inkübe edildi ve ekponensiyel fazda 10⁶ hücre/mL alınarak deneysel çalışmalar gerçekleştirildi. Bu hücreler sıklıkla moleküler düzeyde metabolizmanın oksidatif strese cevabı çalışmalarında bir model olarak kullanılmaktadır [43].

2.3. L 1210 Hücrelerinin Çözdürülmesi, Flasklara Ekimi, Beslenmesi ve Bölünmesi

Hücre kültür bankasından (sigma, ABD) aldığımız donmuş haldeki L 1210 kemirgen lösemi hücreleri oda sıcaklığında çözdürülerek 75 ml flask içerisine aktarıldı. Flask'ın içerisine daha önceden hazırlanmış olan DC₅ (25 ml) ilave edildi ve flasklar, Nuaire marka, %5 CO₂ ortamlı inkübatöre (Playmouth, MN, ABD) yerleştirildi. Günlük olarak hücrelerin durumu Soif marka (Soif Optical Inc., Çin) bir inverted mikroskop kullanılarak kontrol edildi ve üçüncü günün sonunda flasklarda bulunan DC₅ çekilerek taze siyle değiştirildi. Bu işlem üç gün aralıklarla sürekli tekrar edildi.

Sayıları artmaya devam eden hücreler flaskın tabanını tamamen kaplayarak üst üste tabakalar oluşturmaya başladılar. 15. günün sonunda flasklardaki medyum çekildi ve yerine 3 ml tripsin ilave edilerek inkübatöre yerleştirildi. 2-3 dakikada bir flasklar hafifçe sallanarak hücrelerin yapıştıkları yüzeyden ayrılmaları sağlandı. Tüm hücreler flaskın yüzeyinden ayrıldıktan sonra flaskların içerisine 12 ml DC₅ ilave edildi ve dikkatli şekilde tritürasyon (süspansiyonun pipet içerisine çekilip boşaltılarak yapılan ayrıştırma işlemi) yapılarak hücrelerin homojen olarak solüsyona dağılması sağlandı.

Hücreler bir hemositometre kullanılarak sayıldı. Her flaska 1×10^5 hücre olacak şekilde hücre süspansiyonu konulup üzerlerine DC_5 ilave edildi (toplam hacim 25 ml olacak şekilde) ve tüm flasklar inkübatöre yerleştirildi. Hücrelerin ekimleri, beslenmeleri ve deneyler steril bir Class II Laminair Flow (Biolaf, Ankara) içerisinde gerçekleştirildi [43,44].

2.4. Kullanılacak Hücre Sayısı ve Madde Dozlarının Belirlenmesi

L 1210 lösemi hücre süspansiyonu 2000 rpm devirde 5 dakika santrifüj edildi. Hemositometre kullanılarak hücreler sayıldı ve hücre sayısı L 1210 hücre deneyleri için 1×10^5 /ml, hücreye ayarlandı. Dozların belirlenmesinde ön denemeler yapıldı ve aşağı yukarı yöntemi kullanıldı. Hücre süspansiyonundan birer ml deney tüplerine aktarıldı ve üzerine test edilecek ajanlar 30, 60 μ M, konsantrasyonlarda ilave edildi. Negatif kontrol tüplerine aynı miktarda serum fizyolojik, *Vehicle* tüplerine de aynı miktarda DMSO ilave edildi ve tüpler inkübatöre yerleştirildi. Hücre süspansiyonlarındaki DMSO miktarı % 1 den fazla değildi. 24 saat sonra tüpler inkübatörden çıkarılarak tritürasyon yapıldı ve hücre süspansiyonu % 0,4 tryphan blue ile 1:1 (v/v) oranında rastgele seçilen 100 adet hücre hemositometrede sayıldı. Hücre canlılığı yüzde olarak ifade edildi. Aynı işlem 48 saat sonra tekrar edildi ve deney sonlandırıldı [45].

2.5. *In vitro* Antioksidan Aktivite Ölçümleri

2.5.1. *Saccharomyces cerevisiae* Örneklerindeki Ölçüm

Maddelerin antioksidan özelliğinin belirlenmesinde, kromatografik yöntemlerden HPLC kullanıldı. Antioksidan vitaminler A, E, MDA ölçümleri için birer deney tüpüne 2'şer ml hücre içeren çözelti konuldu. Maddeler DMSO da çözülerek belirli konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlandı ve son derişimler 50 μ M ve 100 μ M olacak şekilde tüplere ilave edildi. Tüm denemeler için tüplerdeki DMSO miktarı eşit olacak şekilde ilaveler yapıldı. Kontrol grubu olarak eşit hacimde DMSO ilave edilen tüpler kullanıldı. Madde ilavesinden sonra belirli süreler beklendi. İlgili literatürlerle kıyaslanarak [46,47,48] ml deki hücre sayısının 10^6 hücre/mL olmasına ve maddelerin çözünürlüğü de göz önüne alınarak dozlara karar verildi.

2.5.2. MDA Analizi

MDA analizi için kimyasal maddelerle muamele edilmiş hücrelere %15'lik trikloroasetik asitten 250µL ve 0.5 M HClO₄'den 750 µL ilave edilerek çalkalandı. Hücreler küçük parçalara ayrıldı ve lizat 4500 devirde 5 dakika santrifüjlendikten sonra berrak kısım alınarak HPLC'de analizlendi [49].

2.5.3. A ve E Vitamini Analizi

A ve E Vitamini analizi için kimyasal maddelerle muamele edilmiş hücrelere %15'lik trikloroasetik asitten 250µL ve 0.5 M HClO₄'den 750 µL ilave edilerek çalkalandı. Böylece hücreler lize edildi. Daha sonra % 1'lik H₂SO₄ ihtiva eden etil alkolden 2 ml ilave edilerek proteinler çöktürüldü. Karışım vorteks ile iyice karıştırıldıktan sonra 4500 devirde 5 dakika santrifüjlendi, sonra örnekler üzerine 0.3 ml n-hekzan ilave edildi. Hekzan ilavesiyle ortamdaki yağda çözünen vitaminler hekzan fazına ekstrakte edilmektedir. Hekzan ilave edildikten sonra tekrar vorteksde karıştırıldı ve tüpler santrifüjlendi. Santrifüj sonunda hekzan fazı dikkatli bir şekilde ayrılarak cam tüpe alındı. Örnek üzerine tekrar 0.3 ml n-hekzan ilave edilerek karıştırılıp santrifüjlendi ve n-hekzan fazı cam tüpteki hekzan fazı ile birleştirildi. Ekstrakte edilen hekzan, kuru azot altında dikkatlice uzaklaştırıldı. Kalıntı 100 µl metanolde çözüldü. HPLC'de analiz edildi [50].

2.5.4. DPPH Radikal İndirgeme Metodu ile Ölçüm

Antioksidan aktivitenin belirlenmesi için diğer bir yöntem olan DPPH radikal indirgeme metodu kullanıldı [51]. Metanolde 5 mg/L DPPH olacak şekilde hazırlanan çözeltiden 4 ml alınarak her madde için ayrı ayrı tüplere kondu. Derişimleri 4000µM olarak hazırlanan DMSO'da çözülmüş test maddelerinden her bir grup için son derişimleri 100, 250, 500 ve 1000 µM olacak şekilde ilaveler yapıldı. Reaksiyonun oluşması için bu karışım oda sıcaklığında karanlık ortamda 30 dk bekletildi. Renk açılımına bakılarak 517 nm'de spektrofotometrede okutulup okutulmayacağına karar verildi. Renk açılımı olduğundan spektrofotometrede okutma yapıldı.

2.5.5. Deoksiriboz Degredasyonu ile Hidroksil Radikali Yakalama Aktivitesi

Bu yöntemde enzimatik olmayan, Deoksiriboz degredasyonu ile oluşan Hidroksil radikallerinin yakalanması esasına dayalı olan metod kullanıldı [52]. bunun için deoksiriboz, hidrojen peroksit, sodyum askorbat ve FeSO₄.7H₂O, KH₂PO₄ tamponunda

(pH: 7.4) karıştırılarak hazırlandı ve oluşan MDA miktarı spektrofotometrik olarak tayin edildi.

2.6. İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmadaki bütün istatistiksel analizler; SPSS istatistik programı ile yapıldı. Deneysel çalışmalar sonunda elde edilen veriler, antitümör özellik için One-way Anova analizi Tukey testi ve MDA, A ve E vitamini analizleri için ise LSD testi kullanıldı. Test sonuçlarının değerlendirilmesinde, tablolarda ifade edilen P değerleri, anlamlılık değeri olup 0,05'den küçük olduğu durumlar da anlamlılık ifade etmektedir. (n) değerleri ise çalışılan örnek sayısını belirtmektedir.

3. BULGULAR

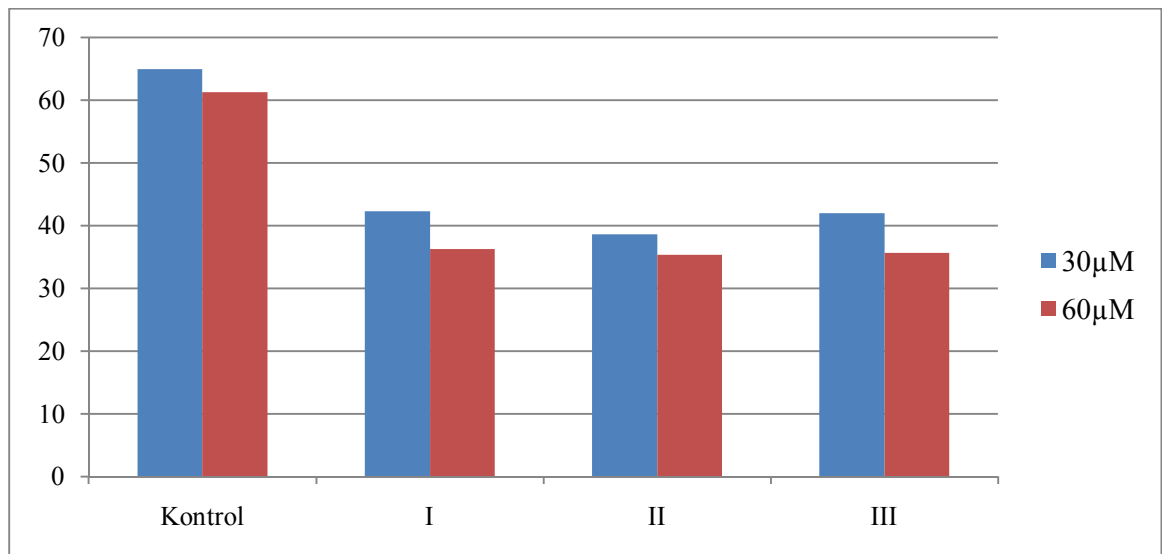
Elde edilen bulgular parametrelerin her birinde uygulama boyunca grupların kontrol grubu ile kıyaslarını gösterecek tablolar halinde verildi. Maddelerle muamele edilmiş L 1210 hücrelerine ait canlı hücre sonuçları Tablo 2’de, yine maddelerle muamele edilmiş *Saccharomyces cerevisiae* maya hücrelerinin MDA düzeylerine ait sonuçlar Tablo 3’de, E ve A vitamini düzeylerine ait sonuçlar Tablo 4 ve Tablo 5’de, DPPH radikal indirgeme metodu ile ölçüm sonuçları Tablo 6’da ve hidroksil radikali yakalama aktivitesi Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 2: Maddelerle muamele edilmiş L 1210 hücrelerinin süreye ve doza göre %’de oranında canlılık durumları

a) 24 saat

Grup (n = 6)	30µM	60µM
Kontrol	65.00 ± 1.53	61.33 ± 1.20
I	42.33 ± 1.67 ^c	36.33 ± 1.66 ^c
II	38.67 ± 1.20 ^c	35.33 ± 0.88 ^c
III	42.00 ± 1.16 ^c	35.67 ± 0.88 ^c

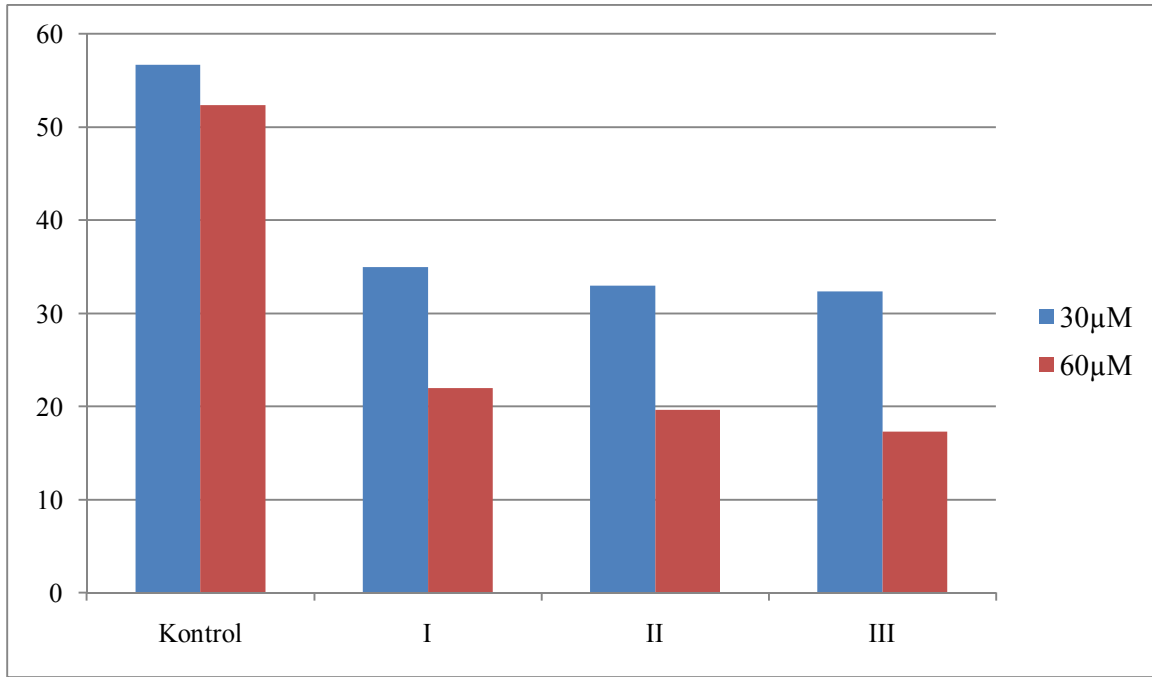
a: P<0.05; b: P<0.01; c: P<0.001



b) 48 Saat

Grup (n = 6)	30µM	60µM
Kontrol	56.67 ± 1.76	52.33 ± 2.03
I	35.00 ± 1.00 ^c	22.00 ± 2.00 ^c
II	33.00 ± 1.53 ^c	19.67 ± 0.67 ^c
III	32.33 ± 1.86 ^c	17.33 ± 0.67 ^c

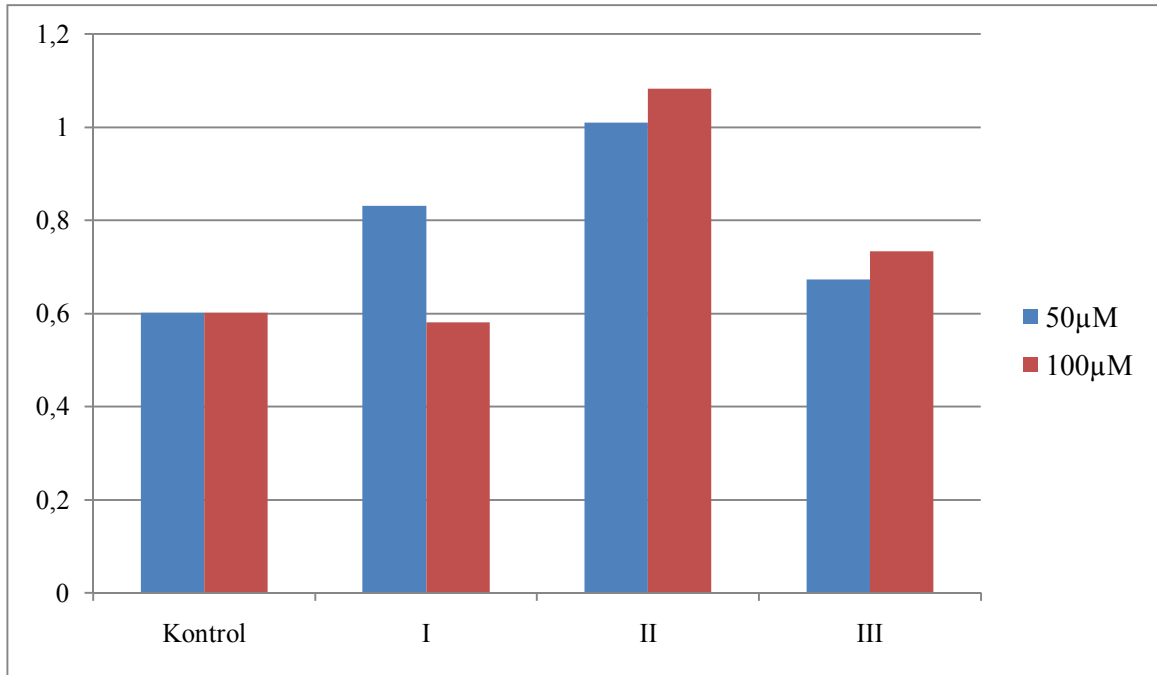
a: P<0.05; b: P<0.01; c: P<0.001



Tablo 3: Maddelerle muamele edilmiş *Saccharomyces cerevisiae* maya hücrelerinin MDA (mg/4.10⁶ hücre) düzeylerinin dozlara göre ortalama değerleri

MDA		
Grup (n=3)	50µM	100µM
Kontrol	0.602 ± 0.014	0.602 ± 0.014
I	0.831 ± 0.241	0.581 ± 0.133
II	1.010 ± 0.024 ^a	1.083 ± 0.005 ^a
III	0.673 ± 0.097	0.734 ± 0.210

a: P<0.05; b: P<0.01; c: P<0.001



Tablo 4: Maddelerle muamele edilmiş *Saccharomyces cerevisiae* maya hücrelerinin E vitamini (mg/4.10⁶ hücre) düzeylerinin dozlara göre ortalama değerleri

Vit E (n=3)	50µM
Kontrol	8.94 ± 0.00
I	6.33 ± 0.63
II	8.15 ± 0.54
III	6.70 ± 0.02

Tablo 5: Maddelerle muamele edilmiş *Saccharomyces cerevisiae* maya hücrelerinin A vitamini (mg/4.10⁶ hücre) düzeylerinin dozlara göre ortalama değerleri

Vit A (n=3)	50µM
Kontrol	2.70 ± 0.00
I	1.84 ± 0.77
II	1.93 ± 0.34 ^a
III	2.36 ± 0.19

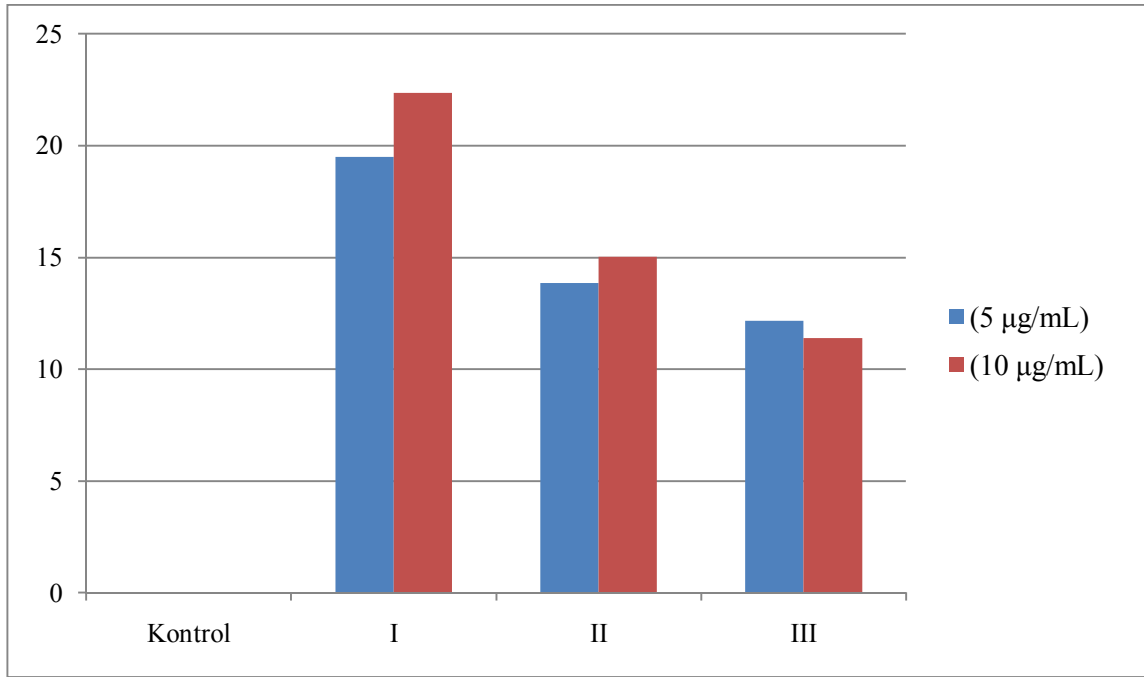
a: P<0.05; b: P<0.01; c: P<0.001

Tablo 6: DPPH radikal indirgeme metodu ile ölçüm sonuçları (%)

Örnekler	1000 µg/mL
Kontrol	0
I	24.21
II	22.63
III	24.66
Tokoferol	88.57

Tablo 7: Hidroksil radikali yakalama aktivitesi ölçüm sonuçları (%)

Örnekler	(5 µg/mL)	(10 µg/mL)
Kontrol	0	0
I	19.51	22.36
II	13.85	15.04
III	12.16	11.38



4. TARTIŞMA

Serbest radikaller son yıllarda üzerinde en çok durulan ve araştırılmaların yoğunlaştığı bir konudur. Serbest radikallerin hücrel kaynakları, rol oynadıkları reaksiyonlar ve serbest radikallere karşı hücrel savunma mekanizmalarının açıklığa kavuşması ile bu moleküllerin kanser, şeker, kalp hastalıkları gibi birçok hastalıkla ilişkisi aydınlatılmaya çalışılmıştır [53].

Biyolojik sistemlerde hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak hem de yabancı maddelerin etkisiyle meydana gelen serbest radikaller hücre membranlarına zarar verirler ve değişik hastalıklarda etkilerini gösterirler. Organizmadaki bu bileşiklerin zararlı etkilerine karşı küçük molekül ağırlıklı radikal tutucuları ve enzimlerden oluşan savunma sistemleri bulunmaktadır. Serbest radikallerin reaktif yapıları ve çok kısa ömürlü olmaları doğrudan tayinlerini güçleştirmektedir. Bu nedenle serbest radikal reaksiyonlarının ürünleri ve savunma sistemlerinin incelenmesi pek çok araştırmacı tarafından tercih edilmektedir [54].

5 üyeli aromatik ve hetereosiklik halka içeren organik bileşikler birçok doğal yapıda bulunmakla birlikte biyokimyasal olayların bir çoğunda önemli bir role sahiptir. Bunun sonucu olarak kimyacılar açısından oldukça önemli ve yeni bir çalışma alanı oluşturmuştur [55].

Tiyofen türevleri sahip oldukları aromatik heterosiklik guruplardan dolayı kimyasal bileşiklerde ve farmasötiklerde önemli bir bileşendir [56, 57].

Tiyofen bileşikleri nematosidal [58], insektisidal [59], antibakteriyel [60], antifungal [61], antiviral [62] ve antioksidan [63] özelliklerinden dolayı birçok çalışmaya konu olmuştur.

Meotti ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, tiyofen bileşiklerinin beyin dokusunda lipit peroksidasyonunu önleme derecesini araştırmışlar ve bazı bileşiklerin 10 mM gibi düşük derişimlerde % 90 oranında bu aktiviteyi gösterdiğini belirtmişlerdir [64].

Süleymanoğlu ve arkadaşları bazı yeni tiyofen bileşiklerini sentezlemiş, karakterize etmiş ve antitümör özelliklerini incelemişlerdir. Sentezledikleri bileşiklerin bazı tümör hücre tiplerine karşı iyi bir antitümör aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir [65].

Basto ve arkadaşları benzo [b] tiyofen bileşiklerini sentezlemişler ve bu bileşiklerin mitokondriyal lipid peroksidasyon düzeylerine etkisini ve antitümör aktivitesini

incelemişlerdir. Kullandıkları bileşiklerin lipid peroksidasyonunu önleyici etkisi olduğunu ve tümör hücrelerine karşı çeşitli konsantrasyonlarda hücre çoğalmasını önleyici bir etkinin olmadığını gözlemlemişlerdir. Yine DPPH radikal temizleme özelliğini de araştırmışlar ve iyi bir radikal tutucu özellik gözlemişlerdir [66].

Diana ve arkadaşları indol tiyofen türevleri sentezlemişler ve farklı çeşitlerde tümör hücrelerine karşı antitümör özelliklerini incelemişlerdir. Bu bileşiklerin bazı kanser türlerine karşı daha fazla aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir [67] .

Bu araştırmada, *in vitro* olarak L 1210 hücrelerine uygulaması yapılan tiyofen ve siklobütan gruplarını içeren bileşiklerin süre ve doza bağımlı antitümör aktivitesinin kontrol grubu ile karşılaştırılmalarında farklı etkilere sahip olduğu görülmüştür.

Tablo 2'ye bakıldığında çalışmada kullanılan bütün maddelerin L 1210 hücre tipinde etkili, birbirine yakın derecede antitümör aktiviteye sahip olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda, maddelerin 30 ve 60 μM 'lık konsantrasyonlarda, 24 ve 48 saatlik değerlerine bakıldığında kontrol grubu ve diğer gruplar arasında önemli ölçüde istatistiksel fark gözlemlendiği görülmektedir. İstatistiksel farklar göz önüne alındığında tiyofen ve siklobütan gruplarını içeren bileşiklerin antitümör aktiviteye sahip olduğu söylenebilir.

Bu araştırmada aynı zamanda *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerine uygulaması yapılan tiyofen ve siklobütan gruplarını içeren bileşiklerin MDA düzeyleri üzerinde olan etkilerinin kontrol grubu ile karşılaştırılmalarında farklı etkilere sahip oldukları görülmüştür. Kontrol grubu ile II bileşiğinin kıyaslamalarında MDA düzeylerinde istatistiksel farklılıklar gözlemlendi. Tablo 3'e bakıldığında kullanılan tüm madde gruplarında MDA düzeylerinin kontrolden yüksek çıktığı görülmektedir. Bu sonuç kullanılmış olan test maddelerinin lipid peroksidasyonunu artırarak hasar oluşumuna sebep olduğunun göstergesi olabilir.

Tablo 4 ve Tablo 5'de maddelerle muamele edilmiş *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerine ait vitamin A ve E düzeylerindeki değişimler görülmektedir. Tablolardan anlaşılacağı üzere vitamin A düzeylerinde II nolu madde grubunda istatistiksel olarak azalma olduğu görülmektedir. Ancak tablo 4'deki I ve III nolu madde grupları ile tablo 5'deki I, II, III nolu madde gruplarına ait vitamin E düzeylerinde istatistiksel açıdan önemsiz olmakla birlikte azalmalar görülmektedir.

Tiyofen ve siklobütan gruplarını içeren bileşiklerin DPPH indirgeme metoduyla serbest radikal temizleme özelliği ve hidroksil radikali yakalama aktiviteleri incelendi. Tablo 6 ve Tablo 7'de görüldüğü gibi, bu deneyler sonucunda bileşikler radikal temizleme

ve yakalama özelliği göstermediğinden antioksidan aktiviteye sahip olmadıkları söylenebilir.

Ayrıca sahip oldukları antitümör aktivite ve *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinde MDA düzeyleri üzerine olan etkilerine bakıldığında, maddelerin hücrelerin canlılık durumuna etkisi ile MDA düzeyleri arasında bir ilişki kurulabilir.

Sonuçlar toplu olarak değerlendirildiğinde tüm verilerin birbirini destekleyecek şekilde olduğu görülmektedir.

Bileşiklerin maya hücrelerindeki etkilerinin sonucu olarak, MDA miktarındaki artış ve antioksidan vitamin düzeylerindeki azalma ile birlikte, radikal temizleme ve hidroksil radikali tutma özelliğine sahip olmayışı, maddelerin antitümör aktivitesinin oksidatif hasar oluşturan bir mekanizma ile sitotoksik etki sonucu olabileceği düşüncesine götürebilir.

Sonuç olarak; tez kapsamında incelenen tiyofen ve siklobütan gruplarını içeren bileşiklerin, araştırılan özelliklerinin literatür bilgisine katkıda bulunacağı kanısındayız.

5. KAYNAKLAR

1. Durackova Z, Mendiola, M.A., Sevilla, M.T., Valent, A., 1999. **Bioelect. and Bioener.**, 48; 109-116.
2. Horton, D. A., Bourne, G. T., Smythe, M. L., 2003. **Chem. Rev.**, 103; 893.
3. Jordan, VC, 2003. **J Med. Chem.**, 46; 1081.
4. Ferreira, A. P., Ferreira da Silva, J. L., Duarte, M. T., Minas da Piedade, M. F., Robalo, M.P., Harjivan, S. G., Marzano, C., Gandin, V., Marques, M.M., 2009. **Organometallics**, 28; 5412-5423.
5. Berger, W., De Chandt, M. T., Cairns, C. B., 2007. **Int. J. Clin. Pract.**, 61; 663.
6. Hsiao C.N., Kolasa T., 1992. **Tetrahedron Lett**, 33; 2629.
7. Campaigne, E.. In Comprehensive Heterocyclic Chemistry; Katritzky, A. R., Rees, C.W., Eds.; Pergamon Press: Oxford, 1984. Vol. 2, pp, 863–934.
8. Ronald, K. R.;Jefery, B. P.. In ComprehensiveHeterocyclic Chemistry II;Katritzky, A.R., Rees, C.W., Scriven, E. F. V., Eds.; Pergamon Press: Oxford, 1996. Vol. 2, pp 679–729.
9. Pinto, E., Queiroz, MJ.R.P., Vale-Silva, L.A., Oliveira, J.F., Begouin, A., Jeanne-Marie Begouin, JM., Kirsch, G., 2008. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 16; 8172–8177.
10. Queiroz, M. R. R., Ferreira, I. C. F. R., Gaetano, Y. D., Kirsch, G., Calhelhab, R. C., Estevinhob, L. M., 2006. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 14; 6827–6831.
11. Romagnoli, R., Baraldi, P.G., Carrion, M. D., Cara, C. L., Cruz-Lopez, O., Preti, D., Tolomeo, M., Grimaudo, S., Cristina, A.D., Zonta, N., Balzarini, J., Brancale, A., Sarkar, T., Hamel, E., 2008. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 16; 5367–5376.
12. Romagnoli, R., Baraldi, P.G., Carrion, M. D., Cara, C. L., Cruz-Lopez, O., Preti, D., Fruttarolo, F., Pavani, M.G., Tabrizi, M.A., Tolomeo, M., Grimaudo, S., Cristina, A. D., Balzarini, J., Hadfield, J. A., Brancale, A., Hamel, E., 2007. **J. Med. Chem.** 50; 2273–2277.
13. Radwan, M. A. A., Shehab, M. A., El-Shenawy, S. M., 2009. **Monatsh Chem.**, 140; 445–450.
14. Jiao, J., Fang, H., Wang, X., Guan, P., Yuan, Y., Xu W., 2009. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 44; 4470–4476.

15. Stolic, I., Miškovic, K., Magdaleno, A., Silber, A. M., Piantanida, I., Bajic, M., Glavaš-Obrovac, L., 2009. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 17; 2544–2554.
16. Romagnoli, R., Baraldi, P. G., Carrion, M. D., Cara, C. L., Cruz-Lopez, O., Iaconinoto, M. A., Preti, D., Shryock, J.C., Moorman, A.R., Vincenzi, F., Varani, K., Borea, P. A., 2008. **J. Med. Chem.**, 51; 5875–5879.
17. Parai, M. K., Panda, G., Chaturvedi, V., Manjub, Y. K., Sinhab, S., 2008. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 18; 289–292.
18. Singh, S., Athar, F., Maurya, M. R., Azam, A., 2006. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 41; 592–598.
19. Sharma, S., Athar, F., Maurya, M. R., Azam, A., 2005. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 40; 1414–1419.
20. Garcia-Tojal, J., Garcia-Orad, A., Serra, J. L., Pizarro, J.L., Lezama, L., Arriortua, M.I., Rojo, T., Inorg. J., 1999. **Biochem**, 75; 45–54.
Garcia-Tojal, J., Pizarro, J.L., Garcia-Orad, A., Perez-Sanz, A.R., Ugalde, M.M., Dýaz, A.A., Serra, J.L., Arriortua, M.I., Rojo, T., Inorg, J., 2001. **Bio-Chem**, 86; 627–633.
21. Mohamed, G. G., Omar, M. M., Hindy, A. M. M., 2005. **Spectrochimica Acta Part A**, 62; 1140–1150.
22. Brault, L., Migianu, E., Néguesque, A., Battaglia, E., Bagrel, D., Kirsch, G., 2005. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 40; 757–763.
23. Blanco, J.M., Caamano, O., Fernandez, F., Mera, X.G., Hergueta, A.R., Lopez, C., Borgez, J.E.R., Balzarini, J., de Clercq, E., 1999. **Chem. Pharm. Bull.**, 47; 1314–1317.
24. Christophe, S.G., Caubere, C.K., Renard, P., Pfeiffer, B., Pierre, A., Leonce, S., Caubera, P., 2000. **Bioorganic and Med. Chem. Let.**, 10; 2589–91.
25. Potdevin, S., Gautier, F.C., Ripoché, P., Toutain, H.J., 1998. **Arch. Toxicol.**, 72; 663–670.
26. Koparır, M., Cansız, A., Çetin, A., 2005. **Heteroatom Chemistry**, 16(6); 503–506.
27. Koparır, M., Cansız, A., Çetin, A., Ahmedzade, M., 2004. **Heteroatom Chemistry**, Volume 15(1); 26–31.
28. Stoian, I., Oros, A., Moldoveanu, E., 1996. Apoptosis and Free Radicals, *Biochem. and Mol. Med.*, 59; 93–97.

29. Wolf, R., Wolf, D., Ruocco, V., 1998. Vitamin E : The Radical Protector, **J. of Eur. Academy of Derm. and Ver.**, 10; 103-117.
30. Betteridge, D.J., 2000. What is Oxidative Stress?, *Metabolizm*, 49; 3-8.
31. Nordberg, J., Arner, E.S.J., 2001. Reactive Oxygen Species, Antioxidants and The Mammalian Thioredoxin System, **Free Rad. Biol. and Med.**, 31(11); 1287-1317.
32. Repine, J.E., 1991. Oxidant - Antioxidant Balance : Some Observation From Studies of Ischemia Reperfusion in Isolated Perfused Rat Hearts, *The Am. J. of Med.*, 91; 45-53.
33. Nikolai, E.P., Tatyana, V.L., Tatyana, A.K., Lowell, P.K., 2001. Carotenoids as Scavengers of Free Radicals in a Fenton Reaction : Antioxidants or Pro - Oxidants? **Free Rad. Bio. and Med.**, 31(3); 398-404.
34. Young, I.S., Woodside, J.V., 2001. Antioxidants in Health and Disease, **J. Clin. Pathol.**, 54 (3); 176-86.
35. Kennedy, T.A., Liebler, D.C., 1991. Peroxyl Radical Oxidation of β -Caratone: Formation of β -Caratone Epoxides, **Chem. Res. Toxicol.**, 4; 290-295.
36. Tüzün, C., 1997, **Biyokimya**, 3. Baskı, Palme Yayıncılık, 151-187, Ankara.
37. Akkuş, İ., 1995. **Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri**, Mimoza Yayınları, Konya.
38. Kılınç, K., 1985. Oksijen Radikalleri, Üretilmeleri, Fonksiyonları, Toksik Etkileri, **Biyokimya Dergisi**, 10; 60-89.
39. Halliwell, B., Gutteridge, W.M.C., 1999. Free Radicals in Biology and Medicine, **Oxford Medicine Press**, 246-351.
40. Tamer, L., Polat, G., Eskandari, G., Ercan, B., Atik, U., 2000. Serbest Radikaller, **Mersin Üniv. Tıp Fak. Dergisi**, 1; 52-58.
41. Köse, K., Doğan, P., 1992. **Lipid Peroksidasyonu**, Erciyes Üniv. Tıp Dergisi, Ek 1; 340-350.
42. Biçici, M., 1990, **Mikrobiyoloji**, Çukurova Ü. Ziraat Fak., Adana
43. Offeing, B.M., Martelli, S., 1997. **Stochemistry and Antitumour Activity of Platinum Metal Complexes of 2- Acetylpyridine Thiosemicarbazones, Transition Metal Chemistry.**, 22; 263-269.
44. Ferrari, B.M.,Capacchi, S., Pelosi, G., Reffo, G., Tarasconi, P., Albertini, R., Pinelli, S., Lungni, P., 1999. **Synthesis, Structural Charaziation and Biological**

- Activity of Helicin Thisemicarbazone Monohydrate and a Copper (II) Complexes of Salisilaldehyde Thiosemicarbazone**, *Inorganica, Chimica Acta.*, 286;134-141.
45. Kumamoto, T., Toyooka, K., Nishida, M., Kuwahara, H., Yashimura, Y., Kawada, J., Kubota, S., 1990. **Effect of 2,4-Dihydro-3H-1,2,4- Triazole-3 – Thiones and Thiosemicarbazones on Iodide Uptake by The Mouse Thyroid , The Relationship Between Their Structure and Antithyroid Activity.**, *Chem. Pharm. Bull.*, 38(9); 2595-2596.
 46. S. A. Esefsi, et. all., 2004. Cytotoxicity, inhibition of DNA and protein syntheses and oxidative damage in cultured cells exposed to zearalenone, *Toxicology in Vitro* 18; 467–474.
 47. Shu-Lan Yeh and Miao-Lin Hu, 2000. **Antioxidant and pro-oxidant effects of lycopene in comparison with b-carotene on oxidant-induced damage in Hs68 cells**, *J. Nutr. Biochem.* 11;548 –554.
 48. J.L. Buss, et. all., 2004. **Oxidative stress mediates of pyridoxal isonicotinoyl hydrazone analogs**. *Arc. Of Biochem. And Biophy.*, 421; 1-9.
 49. Karatepe, M., 2004. **“Simultaneous Determination of Ascorbic Acid and Free Malondialdehyde in Human Serum by HPLC/UV.”** *LC-GC North America.* 22; 362-5 .
 50. Catignani, G.L., 1983. **Simultaneous Determination of Retinol and α -Tocopherol in Serum of Plasma by Liquid Chromatography**, *Clin. Chem.*, 2914; 708-712.
 51. Liyana-Pathirana, C., & Shahidi, F., 2005. **Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology**. *Food Chemistry*, 93; 47-56.
 52. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., Aruoma, O.I., 1987. **The deoxyribose method: a simple ‘test-tube’ assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals**. *Anal. Biochem.* 165;215-219.
 53. Matez, J.M., Gomez, P.C., Casto, N.I., 1999. **Antioxidant Enzymes and Human Diseases**, *Clinical Biochemistry.*, 32;595-603.
 54. Al-Bader, A., Mathew, T.C., Khoursheed, M., Asfar, S., Al-Sayer, H., Dashti, H.M., 2000. **Thioacetamide Toxicity and Spleen: Histological and Biochemical**

Analysis, Anat. Histol. Embryol., 29;3-8.

55. Dalvie, D.K., Kalgutkar, A.S., Khojasteh-Bakht, C.S., Scott Obach,R., O'Donnell, P.O., 2002. **Biotransformation reactions of fivemembered aromatic heterocyclic rings.**, Chem. Res. Toxicol. 15; 269-299.
56. Kagan, J., Arora, S.K., Prakesh, I., Üstünol, A., 1983. **The synthesis of 2,2-5,3-terthiophene.**, Heterocycles 20 (7); 1341-1345.
57. Gribble, G.W., Saulnier, M.G., Sibi, M.P., Obaze-Nutaitis, J.A., 1984. **Synthesis and diels+alder reactions of 1,3-dimethyl-4-(phenylsulfonyl)-4h-furo{3,4-b}indole-a new annulation strategy for the construction of ellipticine and isoellipticine.** J. Org. Chem. 49; 4518-4523.
58. Bakker, J., Gommers, F.J., Nieuwenhuis, I., Wynberg, H., 1979. **Photoactivation of the nematocidal compound alpha-terthienyl from roots of marigolds (tagetes species)-possible singlet oxygen role.** J. Biol. Chem. 254; 1841-1844.
59. Iyengar, S., Arnason, J.T., Philogene, B.J.R., Murand, P., Werstink, N.H., Timmins, G., 1987. **Toxicokinetics of the phototoxic allelochemical alpha-terthienyl in 3 herbivorous Lepidoptera.**, Pestic. Biochem. Phys. 29 (1); 1-9.
60. Matsuura, H., Saxena, G., Farmer, S.W., Hancock, R.E.W., Towers, G.H.N., 1996. **Antibacterial and antifungal polvine compounds from Glehnia littoralis ssp. leiocarpa.** Planta Med. 62 (3); 256-259.
61. Chan, G.F.Q., Towers, G.H.N., Mitchell, J.C., 1975. **Ultravioletmediated antibiomatic activity of thiophene compounds of Tagetes.** Phytochemistry 14; 2295-2296.
62. Hudson, J.B., Graham, E.A., Miki, N., Towers, G.H.N., Hudson, L.L., Rossi, R., Carpita, A., Neri, D., 1989. **Photoactive antiviral and cytotoxic activities of synthetic thiophenes and their acetylenic derivatives.** Chemosphere 19; 1329-1343.
63. Malmström, J., Jonsson, M., Cotgreave, I.A., Hammarström, L., Sjödin, M., Engmann, L., 2001. **The antioxidant profile of 2,3-dihydrobenzo[b]furan-5-ol and its 1-thio, 1-seleno and 1-telluro analogues.** J. Am. Chem. Soc. 123; 3434-3440.
64. Meotti, F. C., Silva, D.O., dos Santos, A.R.S., Zeni, G., Rocha, J.B.T., Nogueira, C. W., 2003. **Thiophenes and furans derivatives: a new class of potential**

- pharmacological agents.**, Environmental Toxicology and Pharmacology 37; 37-44.
65. Süleymanoğlu, N., Ustabaşı, R., Alpaslan, Y.B., Ünver, Y., Turan, M., Sancak, K., 2011. **Synthesis, spectroscopic characterization, calculational studies and in vitro antitumoral activity of 4-(3-(1H-imidazol-1-yl)propyl)-(thiophen-2-ylmethyl)-1H-1,2,4-triazol-5(4H)-one.**, Journal of Molecular Structure 989; 101–108.
66. Basto, D.P., Silva, J.P., Queiroz, M.J.R.P., Moreno, A.J., Coutinho, O.P., 2009. **Antioxidant activity of synthetic diarylamines: A mitochondrial and cellular approach.**, Mitochondrion 9; 17–26.
67. Diana, P., Carbone, A., Barraja, P., Montalbano, A., Martorana, A. Dattolo, G., Gia, O., Viab, L.D., Cirrincionea, G., 2007. **Synthesis and antitumor properties of 2,5-bis(3-indolyl)thiophenes: Analogues of marine alkaloid nortopsentin.**, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 17; 2342–2346.

ÖZGEÇMİŞ

1973 yılında Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimini Elazığ'da tamamladım. 1990 yılında başladığım Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü 1994 yılında bitirdim. Aynı yıl Milli Eğitim Bakanlığı'nda kadrolu öğretmenliğe başladım. Halen Elazığ Merkez 50. Yıl İlköğretim Okulu'nda Fen ve Teknoloji öğretmeni olarak görev yapmaktayım. 2009 yılında Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya (Biyokimya) Anabilim Dalında Tezli Yüksek Lisans öğrenimine başladım ve halen bu öğrenimime devam etmekteyim. Evli ve iki çocuk babasıyım.