

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PİPERAZİN HALKASI İÇEREN BENZİMİDAZOL TÜREVİ
BİLEŞİKLERİN α -GLUKOZİDAZ İNHİBİTÖR ÖZELLİKLERİNİN
VE ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

MEHMET YAZICI

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. NİMET BALTAŞ
TEZ JÜRİLERİ
DOÇ. DR. ZEHRA CAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ BARBAROS DİNÇER

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

RİZE-2019

Her hakkı saklıdır

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PİPERAZİN HALKASI İÇEREN BENZİMİDAZOL TÜREVİ BİLEŞİKLERİN
 α -GLUKOZİDAZ İNHİBİTÖR ÖZELLİKLERİNİN VE ANTİOKSİDAN
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

Doç. Dr. Nimet BALTAŞ danışmanlığında, Mehmet YAZICI tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 25/06/2019 tarihinde Kimya Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Unvanı Adı Soyadı
Başkan	: Dr. Öğr. Üyesi Barbaros DİNÇER
Üye	: Doç. Dr. Nimet BALTAŞ
Üye	: Doç. Dr. Zehra CAN

İmzası
Zehra
Nimet
Z. Can

Ferhat Kalayci
Doç. Dr. Ferhat KALAYCI
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ



ÖNSÖZ

“Piperazin Halkası İçeren Benzimidazol Türevi Bileşiklerin α -Glukozidaz İnhibitör Özelliklerinin ve Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi” konulu bu çalışma, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır. Tezde yer alan deneysel çalışmalar, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmalarım boyunca bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren, ilgi, sabır ve anlayışını esirgemeyen, laboratuvar çalışmalarım da maddi ve manevi desteğini gördüğüm kıymetli hocam sayın Doç. Dr. Nimet BALTAŞ 'a teşekkür ederim.

Çalıştığım maddeleri temin eden sayın Doç. Dr. Emre MENTEŞE 'ye, Yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım kıymetli hocalarım sayın Dr. Öğr. Üyesi Barbaros DİNÇER ve sayın Doç. Dr. Özlem FAİZ 'e çalışmalarım boyunca desteklerini esirgemeyen Mustafa ÖZYANIK, Yeliz BEKİROĞLU ve Cabir ÇAKIR 'a teşekkür ederim.

Bu günlere gelmeme vesile olan ANNEM ve BABAMA bu süreçte desteğini sürekli yanımda hissettiğim sevgili eşim Ayla YAZICI 'ya şükranlarımı sunarım.

Mehmet YAZICI

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımca hazırlanan ‘‘Piperazin Halkası İçeren Benzimidazol Türevi Bileşiklerin α -Glukozidaz İnhibitör zelliklerinin ve Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi’’ başlıklı bu tezin, Yükseköğretim Kurumu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etięi Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi kabul ederim. 25/06/2019



Mehmet YAZICI

Uyarı: Bu tezde kullanılan özgün ve /veya başka kaynaklardan sunulan içeriğin kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

PİPERAZİN HALKASI İÇEREN BENZİMİDAZOL TÜREVİ BİLEŞİKLERİN α -GLUKOZİDAZ İNHİBİTÖR ÖZELLİKLERİNİN VE ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Mehmet YAZICI

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi
Danışmanı: Doç. Dr. Nimet BALTAŞ

Bu çalışmada piperazin halkası içeren benzimidazol türevi bileşiklerin α -glukozidaz inhibitör özellikleri, antioksidan aktiviteleri ve serbest radikal temizleme aktiviteleri incelendi. α -glukozidaz ezimine karşı en etkili inhibitör aktivitesi gösteren 12 numaralı bileşiğin IC_{50} değeri $2,340 \pm 0,014 \mu\text{g/mL}$ bulundu. Ayrıca, yarışmalı inhibisyon gösteren 12 numaralı bileşiğin K_m ve V_{maks} değeri sırasıyla $1,031 \text{ mg/mL}$ ve $153,846 \text{ U/mL}$ olarak hesaplandı. Antioksidan aktivite tayini için CUPRAC ve FRAP yöntemleri kullanıldı. Bileşiklerin TEAC değerleri $2,378 \pm 0,059 - 3,529 \pm 0,035 \text{ mM Trolox/mg}$ bileşik aralığında olduğu hesaplandı. Bileşiklerin FRAP değeri $\text{mM FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} / \text{mg}$ bileşik olarak belirlendi. Bileşiklerin serbest radikal temizleme aktivitelerinin tayini için DPPH ve ABTS yöntemleri kullanıldı. Bileşiklerin 800, 200 ve 50 $\mu\text{g/mL}$ son konsantrasyonlar da iyi derecede DPPH radikali temizleme aktivitesi gösterdiği bulundu.

2019, 39 sayfa

Anahtar Kelimeler: Benzimidazol Türevi Bileşikler, α -Glukozidaz İnhibisyonu, Antioksidan

ABSTRACT

INVESTIGATION OF α -GLUCOSIDASE INHIBITORY PROPERTIES AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF BENZIMIDAZOLE DERIVATIVE COMPOUNDS CONTAINING PIPERAZINE RING

Mehmet YAZICI

Recep Tayyip Erdogan University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry
Master Thesis
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Nimet BALTAŞ

In this study, α -glucosidase inhibitory properties, antioxidant activities and free radical scavenging activities of benzimidazole derivatives containing piperazine ring was investigated. IC_{50} value of compound 12 showing the best inhibitory activity against α -glucosidase enzyme was found $2,340 \pm 0,014 \mu\text{g/mL}$. Also, K_m and V_{max} values of compound 12 were calculated as $1,031 \text{ mg/mL}$ and $153,846 \text{ U/mL}$, respectively. CUPRAC and FRAP methods were used for antioxidant activity determination. TEAC values of compounds were calculated to be in the range of $2,378 \pm 0,059 - 3,529 \pm 0,035 \text{ mM Trolox /mg compound}$. FRAP values of compounds were determined as $\text{mM FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} / \text{mg compound}$. DPPH and ABTS methods were used for determination of free radical scavenging activities of the compounds. The compounds were found to exhibit good DPPH radical scavenging activity at final concentrations of 800, 200 and $50 \mu\text{g/mL}$.

2019, 39 pages

Keywords: Benzimidazol Derivative Compounds, α -Glucosidase Inhibition, Antioxidant

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	II
ÖZET.....	III
ABSTRACT.....	VI
İÇİNDEKİLER.....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
TABLolar DİZİNİ.....	VIII
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	IX
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Literatür Özeti.....	2
1.3. α -Glukozidaz Enzimi.....	8
1.4. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar.....	11
1.5. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri.....	12
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	13
2.1 Kullanılan Cihazlar.....	13
2.2 Kullanılan Kimyasal Madde ve Malzemeler.....	13
2.3 Çalışmada Kullanılan Çözeltiler.....	15
2.4. α -Glukozidaz Enzim İnhibisyonu ve Kinetik Çalışmalar.....	17
2.5. Toplam Antioksidan Aktivite Çalışmaları.....	17
2.5.1. Bakır (II) İndirgeme Antioksidan Kapasite Yöntemi (CUPRAC) Aktivite Tayini.....	18
2.5.2. Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) Aktivite Tayini.....	18
2.6. Serbest Radikal Temizleme Aktivite Yöntemleri.....	19
2.6.1. DPPH [•] Radikal Temizleme Aktivite Tayini.....	19
2.6.2. ABTS ^{•+} Radikal Temizleme Aktivite Tayini.....	20
3. BULGULAR.....	22
3.1. Bileşiklerin α -Glukozidaz Enzim İnhibisyonu Sonuçları.....	22
3.2. Bileşiklerin CUPRAC Antioksidan Aktivite Sonuçları.....	25
3.3. Bileşiklerin FRAP Antioksidan Aktivite Sonuçları.....	26
3.4. Bileşiklerin DPPH [•] Radikali Temizleme Sonuçları.....	27

3.5. Bileşiklerin ABTS ⁺ Radikali Temizleme Sonuçları .	28
4. TARTIŞMA ve SONUÇLAR	29
4.1. α -Glukozidaz Enzim İnhibisyonu Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	29
4.2. Antioksidan Aktivite Sonuçlarının Değerlendirilmesi	30
5. ÖNERİLER.....	32
KAYNAKLAR.....	33
ÖZGEÇMİŞ.....	39



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Benzimidazol yapısı	1
Şekil 2.	α -Glukozidaz (Maltoz) yapısı.....	9
Şekil 3.	Akarboz molekül yapısı	9
Şekil 4.	Nişastanın enzimlerle hidrolizi sonucu oluşan maltooligosakkaritler ve glukoz molekülleri	10
Şekil 5.	DPPH [•] Radikali ve DPPH molekülü	20
Şekil 6.	Kontrol, akarboz, 12 ve 13 nolu maddeye ait Lineweaver-Burk grafiği.....	23
Şekil 7.	Kontrol ve akarboza ait Lineweaver-Burk grafiği	24
Şekil 8.	Kontrol ve 12 numaralı maddeye ait Lineweaver-Burk grafiği	24
Şekil 9.	Kontrol ve 13 numaralı maddeye ait Lineweaver-Burk grafiği	25
Şekil 10.	Troloks [®] standart grafiği	25
Şekil 11.	Fe ₂ SO ₄ .7H ₂ O standart grafiği.....	26

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1.	Başlıca antioksidan kapasite tayin yöntemleri	12
Tablo 2.	Çalışmalarda kullanılan cihazlar ve markaları.....	13
Tablo 3.	Çalışma sırasında kullanılan kimyasallar ve markaları	14
Tablo 4.	Çalışma sırasında kullanılan sentez maddeleri	14
Tablo 5.	CUPRAC tayininde yapılan pipetleme işlemi	18
Tablo 6.	FRAP aktivite tayininde yapılan pipetleme işlemi.	19
Tablo 7.	DPPH [•] radikal temizleme tayininde yapılan pipetleme işlemi	20
Tablo 8.	ABTS ^{•+} katyonik radikal temizleme aktivitesi tayininde yapılan pipetleme işlemi.....	21
Tablo 9.	Bileşiklerin α -glukozidaz enzim inhibisyonunda elde edilen IC ₅₀ değerleri.	22
Tablo 10.	α -Glukozidaz enzimi için akarboz, 12 ve 13 numaralı bileşik varlığında elde edilen bazı kinetik parametreler	23
Tablo 11.	Bileşiklerin CUPRAC (mM Trolox / mg bileşik) yönteminde elde edilen antioksidan aktivite sonuçları.....	26
Tablo 12.	Bileşiklerin FRAP (mM FeSO ₄ .7H ₂ O / mg bileşik) yönteminde elde edilen antioksidan aktivite sonuçları.....	27
Tablo 13.	Bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda DPPH [•] radikal temizleme aktiviteleri	27
Tablo 14.	Bileşiklerin % ABTS ^{•+} radikal temizleme aktiviteleri.....	28

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

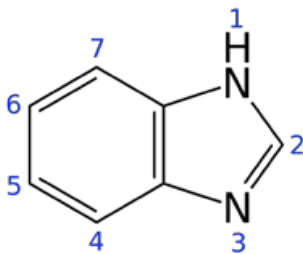
TEAC	Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite
DPPH	1,1difenil -2-pikrilhidrazil
ABTS	2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
FRAP	Demir (III) İyonu İndirgeme Antioksidan Güç
CUPRAC	Bakır (II) İyonu İndirgeme Kapasitesi
BHT	Bütillenmiş Hidroksi Toluen
ROS	Reaktif Oksijen Türevleri
HAT	Hidrojen Atomu Transfer
TET	Tek Elektron Transfer
ORAC	Oksijen Radikali Antioksidan Kapasite
IOU	İnhibe Edilmiş Oksijen Alımı
LDH	Laktat Dehidrogenaz
IC ₅₀	Enzim Aktivitesini Yarıya Düşüren İnhibitör Konsantrasyonu
TPTZ	Tripiridiltriazin
DMSO	Dimetilsülfoksit

1.GENEL BİLGİLER

1.1.Giriş

Heterosiklik bileşikler, biyolojik sistemlerdeki fonksiyonları nedeniyle önemli bir bileşik sınıfını oluşturur. Bu bileşiklerin için debenzimidazol halkası üzerinde yapılan farklı substitüsyonlarla çok farklı farmakolojik etkiler ortaya çıkmakta olup bu durum araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Bu ilginin nedeni, benzimidazol yapısının kimyasal olarak aktif olması ve türevlerinin farklı biyolojik etki göstermesidir. Benzimidazol çekirdeği de yapısal olarak pürin bazlarının yapısına benzemektedir ve vitamin B₁₂ türevlerinin yapısında bulunmaktadır (Townsend ve Revankar,1970). Organizmanın tanıdığı düşük toksidite, yüksek stabilite, metaller ile bağlanma, elektronik ve sterik özellikleri nedeni ile benzimidazol halkası kimyacılar için önem taşımaktadır (Alpan vd.,2009 ; Keri vd., 2015).

1,3-Benzodiazol imidazol halkasının 4. ve 5. konumlarından benzene bağlanması ile meydana gelmiş heteroaromatik bir halka sistemidir (Şekil 1) (Devivar vd., 1994). Benzimidazol halka yapısı iki farklı yapıda azot atomu taşımaktadır. Üzerinde hidrojen atomu taşıyan azot “imino azotu” veya “pirol azotu”, tersiyer yapıdaki diğer azot ise “piridin azotu” veya “tersiyer azot” olarak adlandırılmaktadır. İmino azotunun taşıdığı hidrojen atomuna da, “imino hidrojeni” denir. Numaralandırmaya imino azotundan başlanır ve tersiyer azot atomuna 3 numara verilerek devam edilir (Sundberg ve Martin, 1974).



Şekil 1. Benzimidazol yapısı.

Benzimidazol türevi bileşikler kristal yapıya sahip, genellikle yüksek erime ve kaynama sıcaklığına sahip, polar çözücülerde iyi çözünen, apolar çözücülerde az çözünen

bileşiklerdir. İmino hidrojeni taşıyan benzimidazollerin zayıf bazik özelliğinin yanı sıra, zayıf asit özelliğe de sahip olması amfoter karakter kazandırır. Bazik karakterlerin asit karakterlerinden daha fazla olan benzimidazollerin bazik özellikleri, üzerlerindeki ortaklaşmamış elektron çiftini, reaksiyona girdikleri atom veya gruba verebilme özelliğinde olan tersiyer azot atomundan kaynaklanmaktadır. Asit özelliklerini, taşıdıkları imino hidrojenini ortama proton halinde vererek gösteren benzimidazoller, elektron çekici gruplar ile substitüe edilirse asit özellikleri artar (Sundberg ve Martin, 1974 ; Curini vd.,1990).

Çalışmalar sonucu elde edilen pek çok benzimidazol bileşiği endüstride, tıp ve farmasötik kimyada geniş bir kullanım alanına sahiptir. Tespit edilen bu farmakolojik aktiviteler arasında antihelmintik (Habernickel, 1992), antibakteriyel (Nofal ve Ark, 2002), antiviral (Keurulainen vd.,2010), antifungal (Going ve Mayer, 1995), antihistaminik (Meanwell ve Krystal, 2007), antiprotozol (Kazimierczuk vd., 2002), antiülser (Patil vd., 2008), antikanser (Demirayak vd., 2011), antikonvülzan (Ramya vd., 2010), antidiyabetik (Hemalatha vd., 2006), antihipertansif (Kuba vd., 1993), antioksidan (Kuş vd., 2008), analjezik (Alagöz vd., 2004), anti-inflamatuar (Savall vd., 2010), üreaz inhibitörü (Karaali vd., 2018), ksantin oksidaz inhibitörü (Baltaş vd., 2017) ve lipaz inhibitörü (Menteşe vd., 2018) özelliklerisayılabılır.

Farmakolojik endüstride, fonksiyonel özellikteki değerli bileşiklerin hızlı ve ekonomik olarak sentezlenmesine ilişkin teknolojiye ilgi gittikçe artmaktadır. Bu bağlamda yapılan bu tez çalışmasının amacı biyolojik aktiviteleri incelenmemiş piperazin halkası içeren benzimidazol türevi bileşiklerin α -glukozidaz inhibitör özelliklerini ve farklı antioksidan aktivite tayin yöntemleri ile antioksidan kapasitelerini tayin etmektir.

1.2. Literatür Özeti

Bektaş vd. (2018), bazı yeni 2-(3-florobenzil)-1 H- benzimidazol türevi bileşikleri sentezledikten sonra antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir. Bileşiklerin 250-1000 $\mu\text{g/mL}$ aralığında farklı konsantrasyonlar da DPPH radikal temizleme aktivitelerinin ölçülmüştür. En yüksek ve en düşük SC_{50} değerlerinin 6390,64

$\pm 228,71$ ve $1317,13 \pm 161,39$ olduğunu saptamışlardır. Ayrıca sentezlenen bileşiklerin antioksidan aktiviteleri metal şelatlama aktivitesi yöntemleri kullanılarak tayin edilmiştir. Çalışmada sentezlenen bileşiklerin orta derecede antibakteriyel aktivite gösterdiği belirtilmiştir.

Baltaş vd. (2016), bir seri tetra-substitüe benzimidazol türevi sentezledikten sonra bileşiklerin üreaz inhibisyonu, anti-ksantin oksidaz (anti-XO) ve antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Bazı bileşiklerin önemli derecede ABTS^{•+} radikal katyon temizleme aktivitesi (SC₅₀: 9,51-70,43 µg/mL) ve bakır indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) tayininde yüksek derecede aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. 6d kodlu bileşiğin, 125 µg/mL derişimde en yüksek anti-ksantin oksidaz (XO) aktivitesi gösterdiğini ve en aktif üreaz inhibisyonuna sahip bileşiğin $7,41 \pm 0,13$ µg/mL IC₅₀ değeriyle (5b) olduğunu tespit etmişlerdir.

Bekircan vd. (2016), bazı yeni florür içeren 1,2,4-triazol-5-on türevi bileşiklerini sentezleyip anti-üreaz, anti-ksantin oksidaz ve antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Bileşiklerin ABTS^{•+} radikal katyon temizleme ve CUPRAC antioksidan aktivite yöntemine göre çok güçlü antioksidan aktivite sergilediğini belirtmişlerdir. Sentezlenen bileşikler içerisinde 3a, 3b, 5a, 5b, 6a, 6b, 8a, 8b, 9a ve 9b kodlu bileşiklerin çok güçlü antioksidan aktivite gösterdiğini, 4a bileşiğinin iyi derecede ksantin oksidaz ve 9a ve 9b bileşiğinin oldukça güçlü üreaz inhibisyonu gösterdiğini ifade etmişlerdir.

Yılmaz vd. (2017), triazol çekirdeği içeren yeni benzimidazol türevi bileşiklerini sentezleyip, yapılarını aydınlattıktan sonra antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Bileşiklerin radikal temizleme aktivitelerini ölçmek için DPPH ve ABTS yöntemlerini, antioksidan kapasitesini değerlendirmek için CUPRAC yöntemini kullanmışlardır. Sentezlenen bileşiklerin ABTS yönteminde 3 µg/mL konsantrasyon da oldukça iyi radikal temizleme aktivitesi (%52,46 - %83,30) gösterdiklerini bulmuşlardır. Ayrıca DPPH yöntemine göre 2b, 2c, 3a, 3c ve 3f bileşiklerinin SC₅₀ değerinin standart olarak kullanılan bütillenmiş hidroksi tolüen den (BHT) daha etkin olduğunu göstermişlerdir. Çalışmada kullanılan ABTS radikal temizleme sonuçları ile antioksidan aktivite yöntemi olan CUPRAC sonuçları arasında pozitif bir ilişki olduğunu ($R^2 = 0,8896$) ifade etmişlerdir. Ayrıca DPPH yönteminde elde edilen SC₅₀ değerleri ile CUPRAC

yönteminde hesaplanan TEAC (Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite) değerleri arasında negatif bir ilişkinin olduğunu ($R^2 = 0,9260$) belirtmişlerdir.

Karaali vd. (2018), triazol, oksadiazol ve tiyadiazol içeren benzimidazol türevi bir grup bileşik sentezledikten sonra bileşiklerin *in vitro* olarak anti-ürez, antioksidan oksidaz ve antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Sentezlenen bileşikler arasında 9c bileşiğinin en etkili ksantin oksidaz inhibisyonu gösterdiğini ve IC_{50} değerinin $12,30 \pm 0,33$ olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, 7a kodlu bileşiğin çalışmada kullanılan tiyüre ve asetohidroksamik asit standartlarına alternatif olarak çok etkin ürez inhibitörü ($IC_{50} = 13,04 \pm 0,89$) olabileceğini ifade etmişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin antioksidan aktivitesi CUPRAC yöntemi, serbest radikal temizleme aktiviteleri DPPH ve ABTS radikal temizleme yöntemleri kullanılarak tayin edilmiştir. CUPRAC yönteminde oldukça iyi aktivite gösteren 4 ve 7a kodlu bileşiklerin TEAC değerlerini sırası ile 9,31 ve 9,44 mM Troloks/ mg madde olarak hesaplamışlardır. Ayrıca, 4 ve 7a kodlu bileşiklerin DPPH yönteminde de SC_{50} değerlerini sırasıyla 6,37 ve 6,58 $\mu\text{g/mL}$ olarak hesaplamışlar ve standart olarak kullanılan askorbik asitten daha etkin radikal temizleme aktivitesi gösterdiğini belirtmişlerdir. ABTS yönteminde bileşiklerin 6,0 $\mu\text{g/mL}$, 1,5 $\mu\text{g/mL}$ ve 0,38 $\mu\text{g/mL}$ son konsantrasyon da radikal temizleme aktivitelerini ölçmüşler ve CUPRAC metodunda aktif olduğu tespit edilen bütün bileşiklerin 1,5 $\mu\text{g/mL}$ son konsantrasyonda ortamda var olan radikalın %50' sinden fazlasını temizlediğini hesaplamışlardır.

Baltaş vd. (2017), bir seri 5,6-dimetil-2-(4-floro/kloro/bromo/metil/nitrobenzil)-1H benzimidazol türevi bileşiklerin antioksidan aktivitesini, antimikrobiyal aktivitesini ve ksantin oksidaz inhibitör özelliklerini incelemişlerdir. Bileşiklerin kullanılan *Bacillus cereus* 702 Roma, *Bacillus megaterium* DSM-32, *Bacillus subtilis* C41015, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Enterococcus cloaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 43088, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Yersinia pseudota* ATCC911 suşlarına karşı iyi antimikrobiyal aktivite gösterdiğini ifade etmişlerdir. CUPRAC metoduna göre en iyi antioksidan aktiviteyi 4c bileşiğinin gösterdiğini ve DPPH yönteminde 10,21 $\mu\text{g/mL}$ IC_{50} değeri ile en aktif bileşiğin 4c olduğunu hesaplamışlardır. Sentezlenen bileşikler arasında IC_{50} değeri $18,83 \pm 0,22$ olan 2f bileşiğinin en etkin ksantin oksidaz inhibitörü olduğunu belirtmişlerdir.

Menteşe vd. (2015), benzimidazol, tiyofen ve 1, 2, 4 triazol yapılarını içeren yeni bir seri triheterosiklik bileşikler sentezlemişlerdir. Sentezlenen ve yapıları farklı yöntemlerle aydınlatılan bileşiklerin antioksidan aktivitesini CUPRAC yöntemi ile serbest radikal temizleme aktivitesini ise DPPH ve ABTS yöntemlerini kullanarak incelemişlerdir. CUPRAC yönteminde en aktif olan 5c bileşiğinin TEAC değerini $1,476 \pm 0,025$ olarak hesaplamışlardır. DPPH radikal temizleme aktivitesi en etkin olan 5c bileşiğinin SC_{50} değeri $9,89 \pm 0,07 \mu\text{g/mL}$ olarak bulmuşlardır. Sentezlenen bileşiklerin çalışılan beş farklı konsantrasyon da ($6,25 \mu\text{g/mL}$, $3,13 \mu\text{g/mL}$, $1,56 \mu\text{g/mL}$, $0,78 \mu\text{g/mL}$ ve $0,39 \mu\text{g/mL}$) iyi derecede $ABTS^{*+}$ radikal temizleme aktivitesi gösterdiğini belirtmişlerdir.

Usta vd. (2015), sentezledikleri bir seri yeni benzimidazol türevi bileşiklerin radikal süpürme aktivitelerini DPPH ve ABTS yöntemlerini kullanarak incelemişlerdir. DPPH yönteminde kullanılan BHT standardından daha etkin aktiviteyi gösteren 7a ve 7b bileşiklerinin SC_{50} değerini sırasıyla $13,46 \pm 0,02$ ve $13,27 \pm 0,09 \mu\text{g/mL}$ olarak hesaplamışlardır. ABTS metodunda ise en etkili radikal temizleme aktivitesini $9,51 \pm 0,06 \mu\text{g/mL}$ SC_{50} değeri ile 4b bileşiğinin gösterdiğini ifade etmişlerdir. Sentezlenen bileşikler arasında 4b, 6a, 6b, 7a ve 7b bileşiklerinin iyi derecede radikal temizleme aktivitesi gösterdiğini belirtmişlerdir.

Özil vd. (2018), C-6 pozisyonunda morfolin ve piperazin içeren benzimidazol türevi bileşikleri sentezledikten sonra α -glukozidaz inhibitör özelliklerini ve antioksidan aktivitesini incelemişlerdir. α -glukozidaz enzimi üzerine akarbozdan daha etkili inhibisyon gösteren 1e ve 2e bileşikleri için IC_{50} değerini sırasıyla $7,02 \pm 0,78$ ve $6,94 \pm 0,68 \mu\text{M}$ olarak hesaplamışlardır. Bileşiklerin antioksidan aktivite çalışmaları sonucunda, FRAP değerlerini $1,141-12,943 \text{ mM FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/\text{mg}$ bileşik konsantrasyon aralığında olduğunu bulmuşlardır. CUPRAC yöntemi aktivite sonuçlarını ise $5,511$ ile $19,703 \text{ mM Trolox}/\text{mg}$ bileşik aralığında olduğunu hesaplamışlardır. Bileşiklerin radikal temizleme aktivitesi ABTS ve DPPH yöntemlerini kullanarak farklı konsantrasyonlar da incelemişler ve oldukça iyi aktivite gösterdiklerini belirtmişlerdir.

Menteşe vd. (2018), bir seri benzimidazol ve bisbenzimidazol türevi bileşikleri sentezleyip, obezite ile birinci dereceden ilişkili olan lipaz enzimi üzerine inhibitör

etkilerini incelemişlerdir. Sentezlenen bileşikler içerisinde, 7a, 8a ve 8c bileşiklerinin en etkili anti-lipaz aktivitesi gösterdiğini ifade etmişlerdir. 7a, 8a ve 8c bileşikleri için IC₅₀ değerini sırasıyla 1,72±0,12 µM, 1,92±0,28 µM ve 0,98 ±0,07 µM olarak hesaplamışlardır.

Khanapostani vd. (2018), akridin bağlı tiyoasetamid türevi bir seri yeni bileşikler sentezledikten sonra, sitotoksik aktivitesi ve α-glukozidaz enzimi üzerine inhibisyon etkilerini incelemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin çok iyi derecede α-glukozidaz inhibisyonu gösterdiğini ve IC₅₀ değerlerinin 80,0±2,0 ile 383,1±2,0 µM aralığında değiştiğini bildirmişlerdir. IC₅₀ değeri 80,0±2,0 µM olan 9b bileşiğinin en etkili inhibitör aktivitesi gösterdiğini hesaplamışlardır. Sitotoksikite çalışmaları sonucunda 9c, 9d ve 9n bileşiklerinin normal insan hücre HDF serisine karşı toksik etki göstermediğini ifade etmişlerdir.

Nikookar vd. (2018), bir seri yeni dihidroprano[3,2-c] kuinolin türevi bileşiklerini sentezleyip çeşitli spektrofotometrik yöntemler ile karakterize ettikten sonra in-vitro olarak maya α-glukozidazı üzerine inhibisyon etkilerini çalışmışlardır. Sentezlenen bileşiklerin oldukça iyi inhibitör aktivitesi gösterdiğini belirtmişlerdir. İnhibisyon çalışmasında standart olarak kullanılan akarboz için IC₅₀ değerini 750,0±1,5 µM olarak hesaplamışlardır. Akarboza nazaran oldukça güçlü inhibitör aktivitesi gösteren 6d ve 6e bileşikleri için IC₅₀ değerini ise sırasıyla 10,3±0,3 µM ve 15,7±0,5µM olarak bulmuşlardır. Ayrıca 6a, 6d, 6e, 6g, 6j ve 6l bileşiklerinin MDA-MB231, MCF-7 ve T-47D göğüs kanseri hücre hatlarında toksik etki göstermediğini ifade etmişlerdir.

Adib vd. (2018), 6-amino-pirido[2,3-d]pirimidin türevi bir grup bileşik sentezledikten sonra α-glukozidaz enzimi üzerine inhibisyon etkilerini incelemişler ve moleküler modellemesini yapmışlardır. Sentezlenen bileşikler içerisinde 3a-s serisi bileşiklerin maya α-glukozidazına karşı mükemmel inhibisyon gösterdiğini ifade etmişlerdir. Bileşiklerin IC₅₀ değerlerinin 78,0±2,0µM ile 252,4±1,0µM aralığında değiştiğini ve en aktif bileşik olan 3o' nun akarbozdan 10 kat daha aktif olduğunu belirtmişlerdir.

Ding vd. (2018), oksalksanton türevi bileşikleri sentezledikten sonra, bu bileşiklerin α -glukozidaz enzimi üzerine inhibisyon etkilerini, inhibisyon çeşidini ve sinerjetik etkisini incelemişlerdir. En etkili inhibisyon gösteren 15 numaralı bileşiğin IC_{50} değerini $6,3\pm 0,4$ μM olarak bulmuşlardır. 4, 15, 16 ve 20 numaralı bileşikler için inhibisyon çeşidini yarışmalı, yarışmasız, yarışmasız ve yarışmasız inhibisyon olarak bulmuşlardır. Moleküler modelleme çalışmasında ise sentezledikleri ksanton türevi bileşiklerin enzime farklı bölgelerden bağlanabildiği sonucuna varmışlardır.

Arshad vd. (2017), 5-bromo-2-aryl benzimidazol türevi bileşikleri bileşiklerini sentezledikten sonra üreaz ve α -glukozidaz inhibitör özelliklerini ve sitotoksik aktivitelerini incelemişlerdir. Bileşiklerin üreaz enzim inhibisyon çalışmaları sonucunda IC_{50} değerlerinin $8,15\pm 0,03$ - $354,67\pm 0,19$ μM aralığında değiştiğini bulmuşlardır. Kullanılan tiyoüre standardı ile kıyaslandığında, en etkin anti-üreaz aktivitesi gösteren bileşikler ve IC_{50} değerlerini 7 ($12,07\pm 0,05$ μM), 8 ($10,57\pm 0,12$ μM), 11 ($13,76\pm 0,02$ μM), 14 ($15,70\pm 0,12$ μM) ve 22 ($8,15\pm 0,03$ μM) olarak hesaplamışlardır. Sentezlenen 25 adet bileşiğin farklı konsantrasyonlar da ve orta derecede α -glukozidaz inhibisyon aktivitesi gösterdiğini ve 3T3 fare fibroblast hücreleri üzerine nontoksik olduğunu ifade etmişlerdir. IC_{50} değeri $24,96\pm 0,09$ μM olan 12 numaralı bileşiğin en aktif α -glukozidaz inhibitörü olduğu belirtilmiştir.

Özil vd. (2016-a), benzimidazol türevi bir grup yeni bileşik sentezleyip maya α -glukozidazı üzerine inhibisyon çalışmaları yapmışlardır. Sentezlenen bileşikler içerisinde 6a, 8a, 4b, 5b, 6b ve 7b kodlu bileşiklerin güçlü inhibitör etkisi sergilediğini belirtmişlerdir.

Zawawi vd. (2016), bir seri yeni benzimidazol hidrazon türevi bileşiklerini sentezledikten sonra farklı spektroskopik yöntemlerle karakterize ederek α -glukozidaz inhibitör özelliklerini incelemişlerdir. Sentezlenen 26 yeni bileşiğin farklı konsantrasyonlar da enzimi inhibe ettiğini ve bileşiklerin IC_{50} değerinin $8,40\pm 0,76$ μM ile $179,71\pm 0,76$ μM aralığında değiştiğini bulmuşlardır.

Özil vd. (2016-b), bisbenzimidazol türevi bileşiklerini mikrodalga tekniği kullanarak sentezledikten sonra, anti α -glukozidaz aktivitesini incelemişlerdir. Enzim inhibisyonu

çalışmasında standart olarak kullanılan akarbozun IC_{50} değerini $13,34 \pm 1,26 \mu M$ olarak bulunmuştur. Sentezlenen bileşikler içerisinde en etkin inhibitör aktivitesini IC_{50} değeri olan $0,44 \pm 0,04 \mu M$ IC_{50} değeri ile 3b bileşiğinin gösterdiğini bulmuşlardır. Ayrıca 1b, 2b, 4b, 5b ve 6b bileşiklerinin de iyi derecede inhibisyon gösterdiğini ifade etmişlerdir.

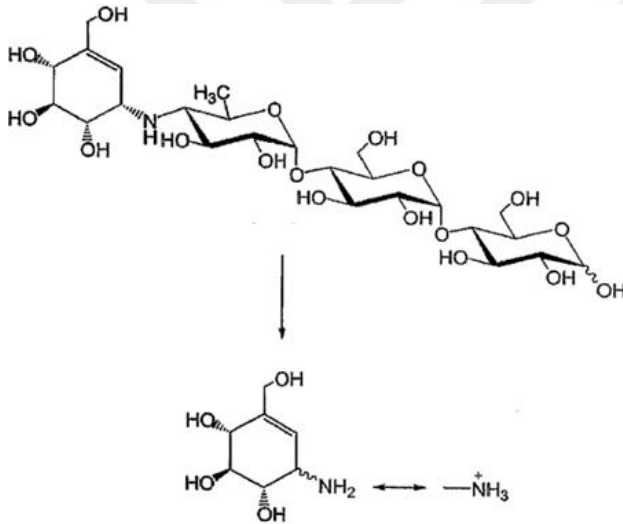
Kahveci vd. (2013), mikrodalga yöntemini kullanarak bir seri benzimidazol türevi bileşikler sentezledikten sonra antiviral, anti-tümör ve obezite ile yakından ilişkili lipaz enzimi üzerine inhibisyon etkilerini incelemiştir. Sentezlenen bileşiklerden altı tanesinin farklı konsantrasyonlar da anti-lipaz aktivitesi gösterdiğini ve %6 geriye kalan aktivite değeri ile en etkili bileşiğin 3c olduğunu belirtmişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin hepsinin adenokarsinoma (CT26) ve melanoma (B16F10) kanser hücre serilerine karşı etkin aktivite gösterdiğini ifade etmişlerdir.

1.3. α -Glukozidaz Enzimi

α -Glukozidaz enzimleri ince barsağın fırçamsı yüzeyinde bulunurlar ve kompleks karbonhidratların parçalanmasından sorumludurlar. Bu enzimler oligo ve disakkaridleri monosakkaridlere yıkarlar. Monosakkaridler de bağırsak duvarından kolayca emilip kana geçerler. α -Glukozidaz enzim inhibitörleri bu enzimleri yarışmalı olarak inhibe ederler. α -glukozidaz enzimi sukraz, maltaz, (şekil 2) izomaltaz, laktaz olarakta bilinirler. Ülkemizde piyasada bulunan ve tıbbi olarak kullanılan tek α -glukozidaz inhibitörü akarbozdur (şekil 3). Akarboz sukroz, nişasta, maltoz ve kompleks karbonhidratların ince bağırsaktaki emilimini belirgin olarak geciktirir ve azaltır. Bu yüzden akarboza alternatif inhibitörlerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar yapılmaktadır.



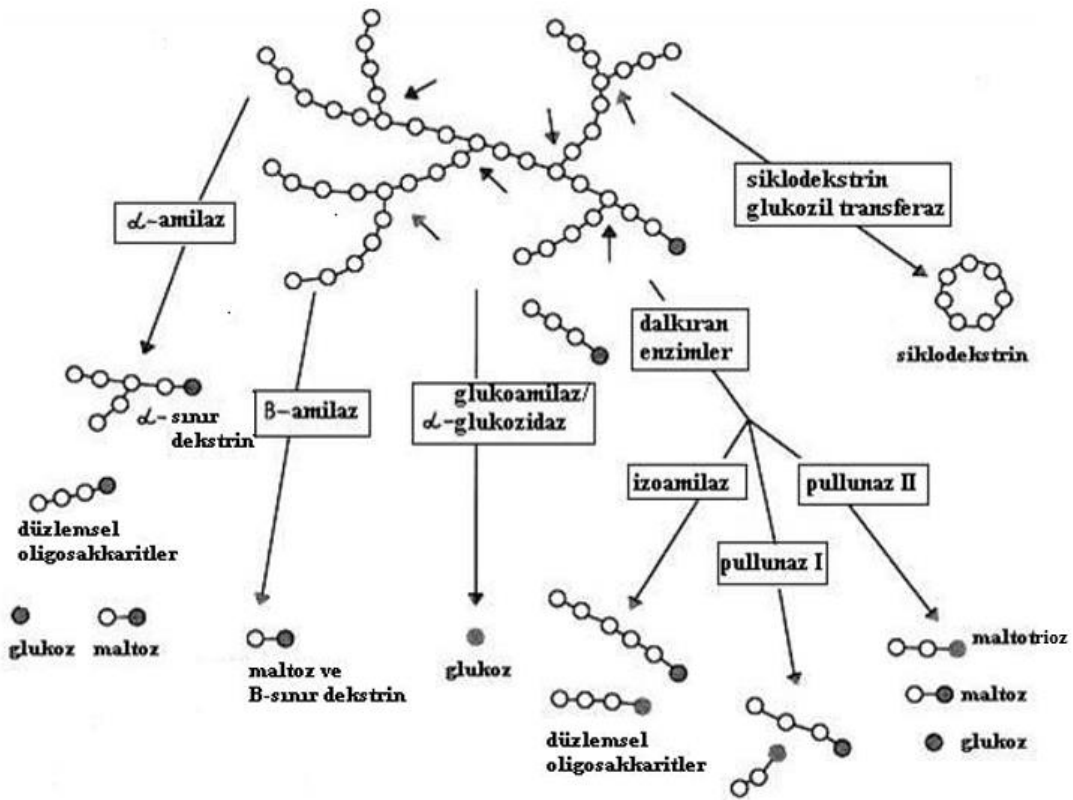
Şekil 2. α -Glukozidaz (Maltoz) yapısı



Şekil 3. Akarbozun molekül yapısı

α -Glukozidazlar (α -D-glukozit glukohidrolaz, ekzo- α -1,4-glukozidaz) bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalardakarbonhidratmetabolizmasında anahtar rol oynarlar. Mikroorganizmalarda oldukça yaygın olup çeşitli bakteri, maya ve küflerden hücre dışı, hücre içi veya hücreye bağlı formları saflaştırılarak karakterize edilmiştir (Bourne ve Henrissat, 2001). İzole edilerek saflaştırılan Ökaryotik α -glukozidazlarına; bir maya olan *Saccharomyces italicus* Y1225 (Halvorson ve Ellias, 1958), bir küf olan *Aspergillus niger* (Lee, Y.E., 2000.) ve insan lizozomal α -glukozidazı (Hermans vd., 1991) örnek verilebilir.

Mikroorganizmalar tarafından nişasta parçalanmasının son basamağı α -glukozidazlar ile gerçekleştirilir. α -Amilaz, amiloglukozidaz ile pullunaz gibi nişastaya etki eden diğer glukozil hidrolaz enzimlerinin katalizi ile oluşan kısa zincirli maltooligosakkaritlerdeki α -1,4 glukozidik bağlarını spesifik olarak parçalayıp α -D-glukoz monomerlerini oluştururlar (şekil 4). Nişasta ve glukojen gibi α -glukanları da hidrolize edebilme yeteneğine sahiptirler. Glukozil hidrolazların 13. ve 31. familyalarına dahil olan α -glukozidazlar, substrat spesifikliğine, etki mekanizmasına, substrata etki şekline ve aminoasit dizisinin benzerliğine göre sınıflandırılırlar. Enzim kaynağına göre α -glukozidazların hücredeki konumları, sıcaklık ve pH istekleri ile substrat spesifiklikleri değişiklik göstermektedir. Bu da organizmaların kullandığı farklı metabolik yollardan kaynaklanmaktadır (Çelik, 2007).



Şekil 4. Nişastanın enzimlerle hidrolizi sonucu oluşan maltooligosakkaritler ve glukoz molekülleri.

İnhibitör varlığındaki enzimatik reaksiyonlar geri dönüşümlü ve dönüşümsüz olmak üzere ikiye ayrılır. Geri dönüşümlü reaksiyonlar ise yarışmalı ve yarışmasız olmak üzere iki grupta toplanır. Yarışmalı inhibitörler substrata çok yakın bir yapıya

sahip olduğundan enzime bağlanmaları aynı substrat gibidir. Ancak ortamdaki substrat miktarı yükseltildiğinde inhibitörün etkisi azalarak reaksiyon hızı artar. Yarışmasız inhibitörler ise enzimin ya aktif bölgesine ya da aktif merkez dışında kalan bir bölgeye bağlanarak enzimde yapısal olarak değişikliğe sebep olur. Bu nedenle substrat miktarı arttırılsa da enzimin üç boyutlu yapısı bozulduğu için inhibisyon derecesi azalmaz.

1.4. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

Serbest radikal molekülleri eşlenmemiş elektron içeren, çok kararsız, diğer moleküllerle çok hızlı reaksiyona giren ve kimyasal olarak kararlı hale gelebilmek için elektron almaya gereksinim duyan moleküllerdir. Bir moleküle saldırdığında onun elektronunu çalarak yükseltir ve bu yeni molekülün kendisi bir serbest radikal haline dönüşür. ROS ile oluşan serbest radikaller aerobik organizmaların elektron taşıma zinciri ya da aktif fagositoz gibi metabolik yollarla devamlı oluşmakta olup bu süreçlerde süperoksit anyon ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (HO^{\cdot}), peroksil radikali (ROO^{\cdot}), alkoksil radikali (RO^{\cdot}), hidroklorikasit ($OHCl^{\cdot}$) ve peroksinitri ($ONOO^{\cdot}$) gibi ROS'larda meydana gelebilmektedir (Albayrak vd.,2010). Bunlar hücre zarlarından elektron çalarak eşlenir, hücre zarını ve sonuç olarak hücre yapısını bozar (Gökpınar vd., 2006). Serbest radikaller vücuttaki hücrelerin membranına, hücre yapısında bulunan lipitlere, proteinlere, nükleikasitlere ve DNA'ya zarar vermekte olup bunun sonucunda başta kanser, koroner hastalıklar, diyabet, karaciğer tahribatı ve pek çok hastalığa neden olmaktadır.

Serbest radikaller genellikle antioksidanlar tarafından *in-vivo* ortamda uzaklaştırılır veya antioksidanlar tarafından inaktive edilirler. (Benzei ve Strain, 1996). Antioksidanlar, prooksidan oluşumunu ve lipid oksidasyonunu engelleyen veya geciktiren onları toksin olmayan ürünlere çeviren, vücut hücreleri tarafından üretildiği gibi gıdalarla da alınan bir grup kimyasal maddelerdir. Antioksidan, sağlık üzerine olumlu etkileri nedeniyle modern toplumda popülaritesi giderek artan bir kavram olup, oksidasyonu önleyen yapılardır.

1.5. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Antioksidan aktivitenin belirlenmesi amacıyla birçok yöntem geliştirilmiştir. Bunlar genel anlamda, hidrojen atomu transfer (HAT) reaksiyonu esaslı analizler ve elektron transfer (ET) reaksiyonu esaslı analizler olarak incelenmektedir (Halliwell vd.,1990). Antioksidan kapasitenin belirlenmesi amacıyla kullanılan başlıca tayin yöntemleri Tablo 1’de gösterilmiştir. Genellikle, ET esaslı yöntemler, HAT esaslı yöntemlere kıyasla daha pratik ve geniş kullanım alanına sahiptir. Çünkü bu yöntemler, ucuz, daha az zahmetli ve basit laboratuvar cihazları gerektiren ve doğal ürünlerin rutin analizleri için yaygın bir şekilde kullanılan yöntemlerdir. Çalışmamızda bileşiklerimizin antioksidan aktiviteleri belirlenmesinde ET reaksiyonu esaslı yöntemler olan CUPRAC, FRAP, ABTS ve DPPH yöntemleri kullanıldı.

Tablo 1. Başlıca antioksidan kapasite tayin yöntemleri.

Hidrojen atomu transferine dayalı yöntemler	- ORAC (Oksijen radikal absorban kapasitesi)
	- TRAP (Toplam Radikal yakalama antioksidan parametresi)
	- Krozin ağartma yöntemi
	- IOU (İnhibe edilmiş oksijen alımı)
	- LDH oksidasyonunun inhibisyonu
Elektron transferine dayalı yöntemler	- TEAC (Troluks eşdeğeri antioksidan kapasitesi)
	- DPPH (2-2 Difenil -1-pikrilhidrazil)
	- FRAP (Demir (III) iyonu indirgenme antioksidan gücü)
	- CUPRAC (Bakır (II) iyonu indirgeme kapasitesi)
- Folin-Ciocalteu ayracı ile toplam fenol tahini	

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Kullanılan Cihazlar

Çalışmada kullanılan tüm cihazlar, üretici firmalar ve modelleriyle birlikte markaları Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Çalışmalarda kullanılan cihazlar ve markaları.

Cihaz Adı	Firma	Model
Spektrofotometre	Shimadzu	UV-1601UV-Visible Spektrophotometer
Santrifüj	ThermoFisher Scientific	Heraeus Multifuge 3 SR+ Centrifuge
Saf Su Cihazı	SartoriusStedim Biotech	Arium 61316 ProUV
Su Banyolu Çalkalayıcı	Memmert	WNB 7-45
pH Metre	Thermo Scientific	ORION 3 Star pH Benchtop
Vorteks	Velp Scientifica	Vortex Mixer
Terazi	Precisa	XB 220A
Steril Kabin	Tezsan	—
Mikrodalga Fırın	Regal	RMD-17
Güç Kaynağı	Thermo Scientific	EC 300 XL

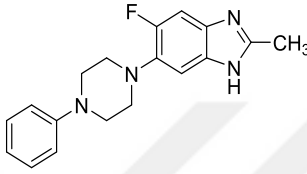
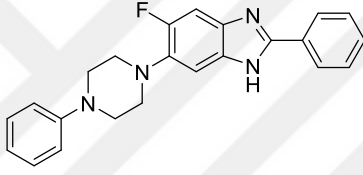
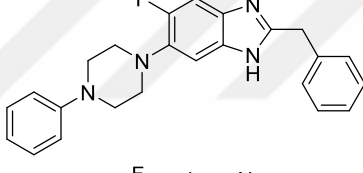
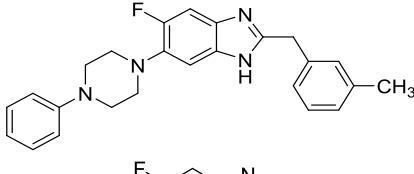
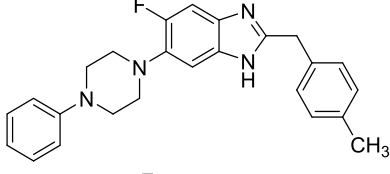
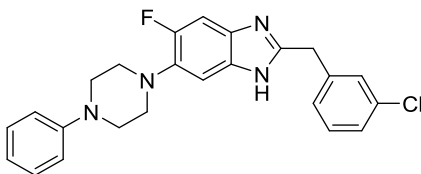
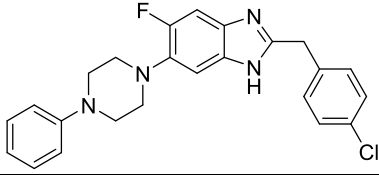
2.2. Kimyasal Madde ve Malzemeler

“Piperazin Halkası İçeren Benzimidazol Türevi Bileşiklerin α -Glukozidaz İnhibitör Özelliklerinin ve Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi” konulu çalışma sırasında kullanılan kimyasallar ve markaları aşağıdaki tabloda verildi (Tablo 3). Çalışmada Menteşe vd., (2015). tarafından sentezlenen Journal of Chemical Research dergisinde yayınlanan 13 tane kimyasal madde kullanıldı ve formülleri Tablo 4’de verildi.

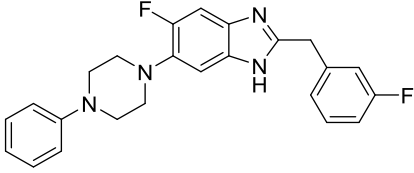
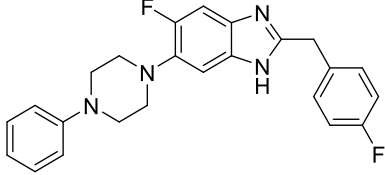
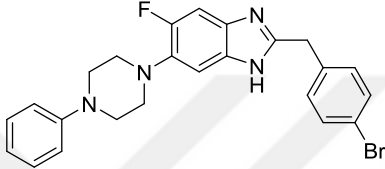
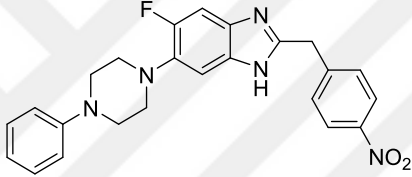
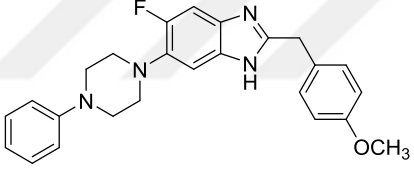
Tablo 3. Çalışma sırasında kullanılan kimyasallar ve markaları.

Firma Adı	Kimyasal Adı
Sigma /Aldrich Chem.Co (St.Louis.MO.USA)	CH ₃ COOH, NaOH, Neokuproin, CH ₃ COONH ₄ , CuCl ₂ .H ₂ O, TPTZ, FeCl ₃ .6H ₂ O, ABTS, FeSO ₄ .7H ₂ O, ABTS, K ₂ S ₂ O ₈ ,DPPH, α-Glukozidaz p-nitrofenil-D- glukopiranosit,NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O, Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O, NaCH ₃ COO.3H ₂ O, HCl.

Tablo 4. Çalışma sırasında kullanılan sentez maddeleri.

Madde No	Kimyasal Yapı	Kimyasal Adı
1		5-Floro-2-metil-6-(4-fenilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol
2		5-Floro-2-fenil-6-(4-fenilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol
3		2-benzil-5-floro-6-(4-fenilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol
4		5-floro-2-(3-metilbenzil)-6-(4-fenilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol
5		5-Floro-2-(4-metilbenzil)-6-(4-fenilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol
6		2-(3-Klorobenzil)-5-floro-6-(4-fenilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol
7		2-(4-Klorobenzil)-5-floro-6-(4-fenilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol

Tablo 4 (devam). Çalışma sırasında kullanılan sentez maddeleri.

Madde No	Kimyasal Yapı	Kimyasal Adı
8		5-Floro-2-(3-florobenzil)-6-(4-fenilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol
9		5-Floro-2-(4-florobenzil)-6-(4-fenilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol
11		2-(4-Bromobenzil)-5-floro-6-(4-fenilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol
12		5-Floro-2-(4-nitrobenzil)-6-(4-fenilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol
13		5-Floro-2-(4-metoksibenzil)-6-(4-fenilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol

2.3. Çalışmada Kullanılan Çözeltiler

Bu çalışmada kullanılan çözeltiler ve hazırlanış biçimleri aşağıda verildi.

Amonyum asetat tamponu (1 M, pH:7,0) (M_A: 77,08): 19,27 g amonyum asetat 150 mL kadar saf suda çözülür. pH'sı asetik asit ile 7,0'a ayarlanır ve hacmi 250 mL'ye tamamlanır.

Asetat tamponu (300 mM pH:3,6): 0,775 g NaCH₃COO.3H₂O (sodyum asetat trihidrat) ve 4 mL glasiyel asetik asit distile suyla 250 mL'ye tamamlanır.

Fosfat tamponu (500 mM, pH:6,8): 39,01 gram NaH₂PO₄.2H₂O tartılır yaklaşık 400 mL suda çözülür. pH' sı ayarlandıktan sonra hacmi 500 mL' ye tamamlanır.

7,5 mM Alkolik Neokuproin: 390,5 mg neokuproin etanolle 250 mL'ye tamamlanır.

10 mM CuCl₂(bakır (II) klorür hidrat): 336,25 mg CuCl₂.H₂O tartılır, bir miktar suda çözülür ve hacmi 250 mL'ye tamamlanır.

40 mM HCl: % 37'lik 340 µL HCl distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

10 mM TPTZ: 7,8083 mg TPTZ 2,5 mL 40 mM HCl'de çözündürülür.

20 mM FeCl₃.6H₂O: 324,4 mg FeCl₃.6H₂O distile suyla 100 mL'ye tamamlanır.

FRAP reaktifi: 25 mL Asetat Tamponu: 2,5 mL TPTZ: 2,5 mL FeCl₃ (10:1:1) ile hazırlanır. Bu çözelti günlük olarak hazırlanmalı ve karanlıkta muhafaza edilmelidir.

1000 µM FeSO₄.7H₂O: 27,8 mg FeSO₄.7H₂O distile suyla 100 mL'ye tamamlanır. Distile su ile seyreltilerek farklı konsantrasyonlar da hazırlanır.

7 mM ABTS: 36 mg ABTS tartılır, bir miktar suda çözülerek hacmi 10 mL' ye tamamlanır.

2.45 mM K₂S₂O₈: 3,312 mg K₂S₂O₈tartılır ve 5 mL suda çözülür.

ABTS⁺ Radikal Çözeltisi: 7 mM ABTS çözeltisinden 10 mL ve 2,45 mM K₂S₂O₈ çözeltisinden 5 mL karıştırılır ve 18 saat sonunda ABTS⁺radikal çözeltisi kullanıma hazır hale gelir.

100 µM DPPH' Radikal Çözeltisi: 4 mg DPPH tartılır yaklaşık 80 mL metanolde iyice çözülür ve hacmi 100 mL'ye tamamlanır.

2 mM p-nitro fenil α-D-glukopiranosit: 60,25 mg p-nitro fenil α- D-glukopiranosit tartılır ve bir miktar 500 mM pH'sı 6,8 olan fosfat tamponunda çözülür ve hacmi 100 mL' ye tamamlanır.

2.4. α -Glukozidaz Enzim İnhibisyonu Yöntemi ve Kinetik Çalışmalar

Sentezlenen bileşiklerin α -glukozidaz inhibisyon aktivitesi spektrofotometrik olarak ölçüldü ve ticari olarak satılan *Saccharomyces cerevisiae* α -glukozidazı kullanıldı (Palanisamy vd.,2011). Deney tüpü içerisine 200 μ L test bileşiği (%70' lik metanol içerisinde), 5 μ L α -glukozidaz enzimi ve 1245 μ L fosfat tamponu (50 mM, pH: 6,8) ilave edildi. Reaksiyon karışımı vortekslendi ve oda sıcaklığında 15 dakika inkübasyona bırakıldı. Reaksiyon karışımına 2 mM p-nitrofenil- α -D-glukopiranosit (4-pNPG) çözeltisinden 250 μ L ilave edildi, vortekslendi ve 30 dakika sonra 400 nm'de tüplerin absorbansları okundu. Bileşiklerin α -glukozidaz inhibisyon yüzdesi aşağıdaki formülden belirlendi ve IC₅₀ değerleri (kontrol tüpündeki enzim aktivitesini yarıya düşüren bileşik konsantrasyonu) hesaplandı.

$$\% \text{ inhibisyon} = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad (1)$$

Kinetik çalışmalar aynı enzim konsantrasyonunda (5 μ L, 20 U/mL) ve aynı tampon (50 mM fosfat tamponu, pH: 6,8) içerisinde yapıldı. İnhibitör aktivitesi akarbozdan daha etkin olan bileşikler için α -glukozidaz enzimi kinetik çalışmaları 4-pNPG substratı (0,2 mg/mL - 0,4 mg/mL - 0,8 mg/mL -1,6mg/mL -mg/mL-2,4 mg/mL) varlığında gerçekleştirildi.

İnhibitör içermeyen (kontrol) ve inhibitörlü tüpler için artan substrat konsantrasyonuna karşı (1/[S]), 405 nm' de elde edilen hız değerleri (1/ V) grafiğe geçirildi. Elde edilen Lineweaver-Burk grafiklerinden hem kontrol (inhibitörsüz) hemde inhibitör bileşikler için K_m ve V_{max} değerleri hesaplandı ve inhibisyon çeşidi belirlendi.

2.5. Toplam Antioksidan Aktivite Çalışmaları

Bu çalışmada bileşiklerin antioksidan kapasitesi, bakır (II) indirgeme antioksidan kapasitesi yöntemi (CUPRAC) ve demir (III) indirgeme antioksidan güç tayini (FRAP) yöntemleri kullanılarak belirlendi.

2.5.1. Bakır (II) İndirgeme Antioksidan Kapasite Yöntemi (CUPRAC)

Aktivite Tayini

Metot, bakır(II)-neokuproin kompleksinin ortama antioksidan çözeltisi ilave edilmesi sonucunda bakır(I)-neokuproine indirgenmesi esasına dayanır (Apak vd., 2004; Apak vd., 2013). Deney tüpü içerisine, 10 mM Cu (II) klorür, 7,5 mM neokuproin ve 1 M, pH sı 7,0 Amonyum asetat tamponu çözeltilerinin herbirinden 1000 er µL pipetlendi. Her bir maddenin çözeltisinden kendi deney tüpüne 5 µL ilave edildi ve vortekslendi (Tablo 5). Son hacmi 4100 µL ye tamamlamak için 1095 µL saf su ilave edildi ve tekrar vortekslendi. Aynı işlemler Troloks® standardı içinde gerçekleştirildi. Oda sıcaklığında ve karanlıkta 50 dakika inkübasyona bırakılan deney tüplerinin absorbansı 450 nm de ölçüldü ve standart Troloks eğrisinden her bir madde için mg madde başına düşen mg troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (mg TEAC/mg madde) olarak hesaplandı.

Tablo 5. CUPRAC tayininde yapılan pipetleme işlemi.

	Numune	Renk körü	Reaktif körü
10 mM CuCl ₂	1000µL		1000µL
Amonyum asetat tamponu 1M pH 7,0	1000µL		1000µL
7,5 mM etanollü neokuproin	1000µL		1000µL
Numune	5µL	200µL	-
Distile su	1095µL	3900µL	900µL
DMSO	-		200µL

2.5.2. Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) Aktivite Tayini

Yöntemin esası spektrofotometrede 593 nm'de Fe²⁺ –TPTZ kompleksinin oluşturduğu absorbansın ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Benzie vd., 1999). Demir (III) iyonu indirgeme antioksidan güç tayini yöntemi total antioksidan kapasitenin belirlenmesinde sıkça kullanılan bir metottur (Guo vd., 2003).

Deney tüplerine antioksidan aktivitesi belirlenecek örneklerden 100' er µL aktarılarak her bir örnek tüpüne 3000 µL FRAP reaktifi ilave edildi ve vortekslendi. Oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilen reaksiyon karışımlarının 593 nm'de absorbansları

okundu. Aynı işlemler 15,63 –31,25– 62,5 – 125 – 250 – 500 –1000 μM konsantrasyonlar da hazırlanan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ standardi içinde gerçekleştirildi. Elde edilen standart $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ eğrisinden her bir madde için mg madde başına düşen μM $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ eşdeğeri antioksidan kapasite (μM $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ / mg madde) hesaplandı. FRAP tayininde yapılan pipetleme işlemi Tablo 6’da verildi.

Tablo 6. FRAP aktivite tayininde yapılan pipetleme işlemi.

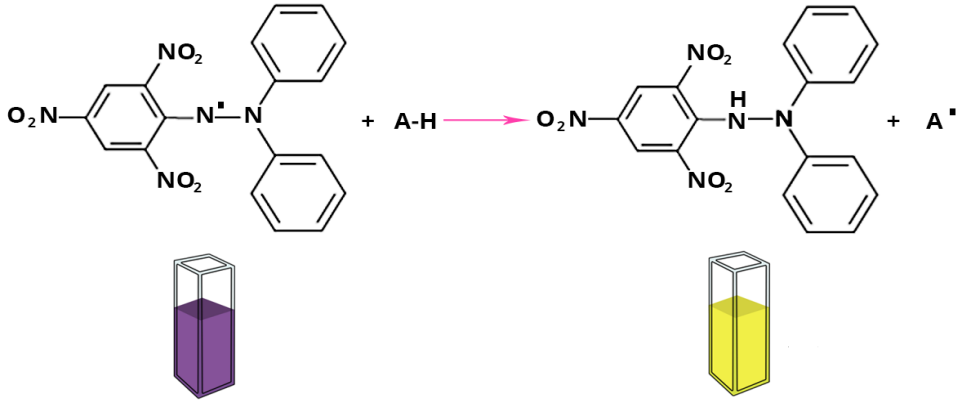
	Kör_{DMSO}	Numune	Renk körü	Standart ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
FRAP Reaktifi	3000 μL	3000 μL	-	3000 μL
Numune	-	100 μL	100 μL	-
Standart (FeSO_4 ‘ın Değişen kons.)	-	-	-	100 μL
Distile su	-	-	-	-
DMSO	100 μL	-	3000 μL	-

2.6. Serbest Radikal Temizleme Aktivite Yöntemleri

Bu çalışmada bileşiklerin serbest radikal temizleme aktiviteleri ise ABTS (2,2-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sulfonik asit) ve (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) yöntemleri kullanılarak belirlendi.

2.6.1. DPPH’ Radikal Temizleme Aktivite Tayini

DPPH’ (2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil) stabil bir serbest radikal olup ticari olarak satın alınabilen birkaç radikalden biridir (Alam vd., 2013). Serbest radikal temizleme aktivite yöntemlerine model olarak en çok kullanılan radikal olup 517 nm’de maksimum absorbans vermektedir. Yöntem (şekil 5) antioksidan madde varlığında bir proton veya elektron verebilme yeteneğinin, koyu mor renkli DPPH’ çözeltilisinin rengini açması esasına dayanır (Alam vd., 2013).



Şekil 5. DPPH• radikali ve DPPH molekülü.

Sentezlenen bileşiklerin DPPH• radikali temizleme aktivitesi literatürde var olan metot kullanılarak gerçekleştirildi (Brandwilliams vd., 1995). Taze olarak metanol içerisinde hazırlanan 0.1 mM DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) çözeltisinden 1000 µL deney tüplerinde bulunan (DMSO içerisinde çözülmüş olan) 500 µL test bileşiği üzerine ilave edildi ve vortekslendi (Menteşe vd., 2015). Karanlıkta 50 dakika inkübe edilen reaksiyon karışımının 517 nm’de absorbansları okundu (Tablo 7) ve her bir madde konsantrasyonu için % radikal temizleme aktiviteleri aşağıdaki formülden hesaplandı. Çalışma her bir madde için üç tekrarlı yapıldı.

$$\% \text{ Radikal Süpürme} = \frac{[(OD_{\text{kontrol}} - OD_{\text{test}}) / (OD_{\text{kontrol}})] \times 100}{(2)}$$

Tablo 7. DPPH• radikal temizleme tayininde yapılan pipetleme işlemi.

	Örnek tüpü	Kontrol tüpü	Standart tüpü
Örnek (Değişen kons.)	500 µL	–	–
Standart (Değişen kons.)	–	–	500 µL
Örnek Çözücüsü	–	500 µL	–
DPPH• (100 µM)	1000 µL	1000 µL	1000 µL

2.6.2. ABTS^{•+} Radikal Temizleme Aktivite Tayini

Sentezlenen bileşiklerin ABTS^{•+} [2,2’-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)] radikal temizleme aktivitesi literatürde var olan metoda göre çalışıldı (Re vd.,

1999). ABTS nin su içerisinde 7 mM'lık çözeltisi hazırlandı ve bu çözeltinin 10 mL'si 2.45 mM 5 mL potasyum persülfat çözeltisi ile karıştırılarak ve ABTS^{•+} katyonik radikalın oluşumu için 18 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Oluşan radikal çözeltisi 734 nm'de 0,700± 0,020 absorbans verecek şekilde, pH'sı 7,4 fosfat tamponu (PBS) ile seyreltildi. 400 µL test bileşiği (DMSO içerisinde çözünmüş) 1600 µL radikal çözeltisine eklendi, vortekslendi ve 5 dakika sonra UV-Visible spektrofotometrede 734 nm dalga boyunda absorbansları okundu. Bileşiklerin radikal temizleme değeri aşağıdaki formülden hesaplandı. ABTS^{•+} radikal temizleme yöntemine ait pipetleme miktarları Tablo 8'de verildi.

$$\% \text{ Radikal Süpürme} = [(OD_{\text{kontrol}} - OD_{\text{test}}) / (OD_{\text{kontrol}}) \times 100]. \quad (3)$$

Tablo 8. ABTS^{•+} katyonik radikal temizleme aktivitesi tayininde yapılan pipetleme işlemi.

	Örnek tüpü	Kontrol tüpü	Standart tüpü
ABTS ^{•+} Reaktif karışımı	1600 µL	–	1600 µL
Örnek	400 µL	–	–
Saf su	–	2000 µL	–
Troloks (Değişen kons.)	–	–	400 µL

3. BULGULAR

3.1. Bileşiklerin α -Glukozidaz Enzim İnhibisyonu Sonuçları

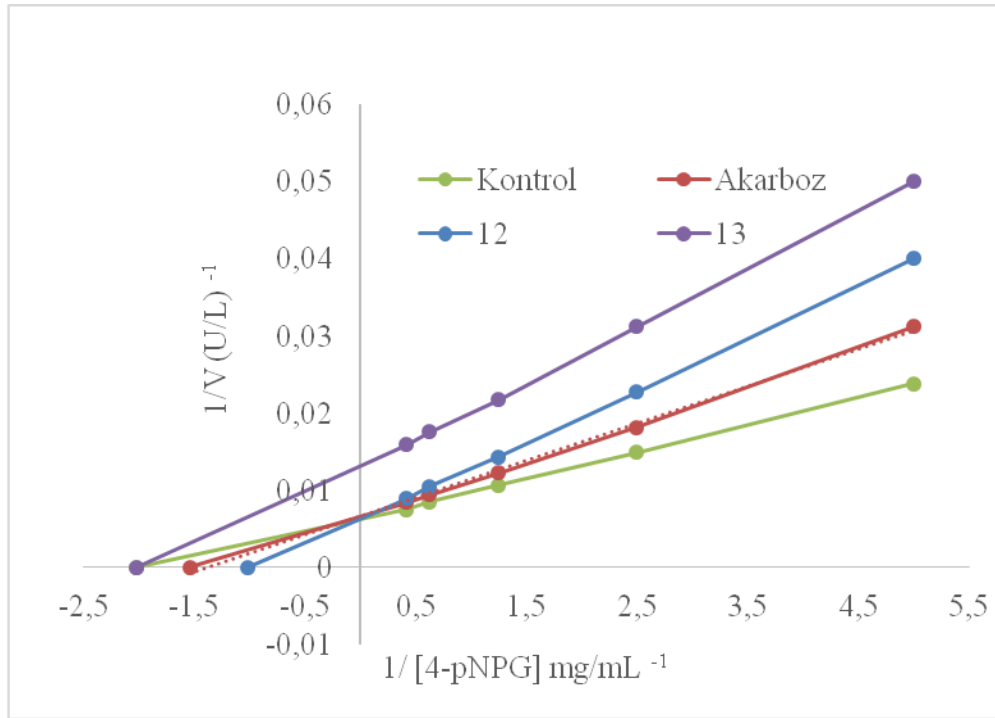
Bileşiklerin α -glukozidaz enzim inhibisyonu çalışmasında, IC_{50} değerini belirlemek amacıyla her bileşik için beş farklı konsantrasyonda inhibisyon çalışması yapıldı. Hesaplanan % inhibisyon değerlerine karşı çalışılan konsantrasyon değerleri grafiğe geçirilerek Tablo 9’da verilen IC_{50} değerleri hesaplandı. Ayrıca en iyi enzim inhibisyonu gözlenen yani en küçük IC_{50} değerine sahip olan 12 numaralı 5-Floro-2-(4-nitrobenzil)-6-(4-fenilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol bileşiği için kinetik parametreler hesaplandı ve inhibisyon çeşidi belirlendi (Tablo 9).

Tablo 9. Bileşiklerin α -glukozidaz enzim inhibisyonunda elde edilen IC_{50} değerleri.

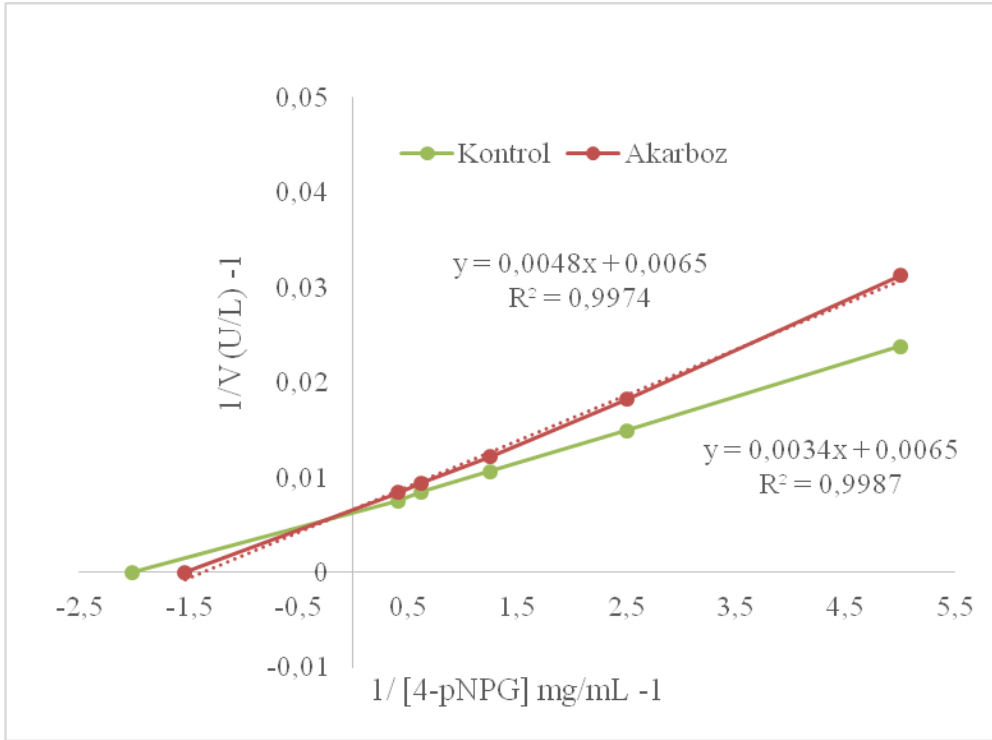
Bileşikler	IC_{50} Değerleri
1	16,310±0,009
2	28,450±0,023
3	26,564±0,003
4	27,892±0,011
5	25,650±0,039
6	43,340±0,011
7	47,452±0,014
8	54,234±0,006
9	58,890±0,016
10	35,326±0,004
11	38,745±0,008
12	2,150±0,014
13	7,824±0,009
Akarboz	11.340±0,026

Tablo 10. α -Glukozidaz enzimi için akarboz,12 ve 13 numaralı bileşik varlığında elde edilen bazı kinetik parametreler.

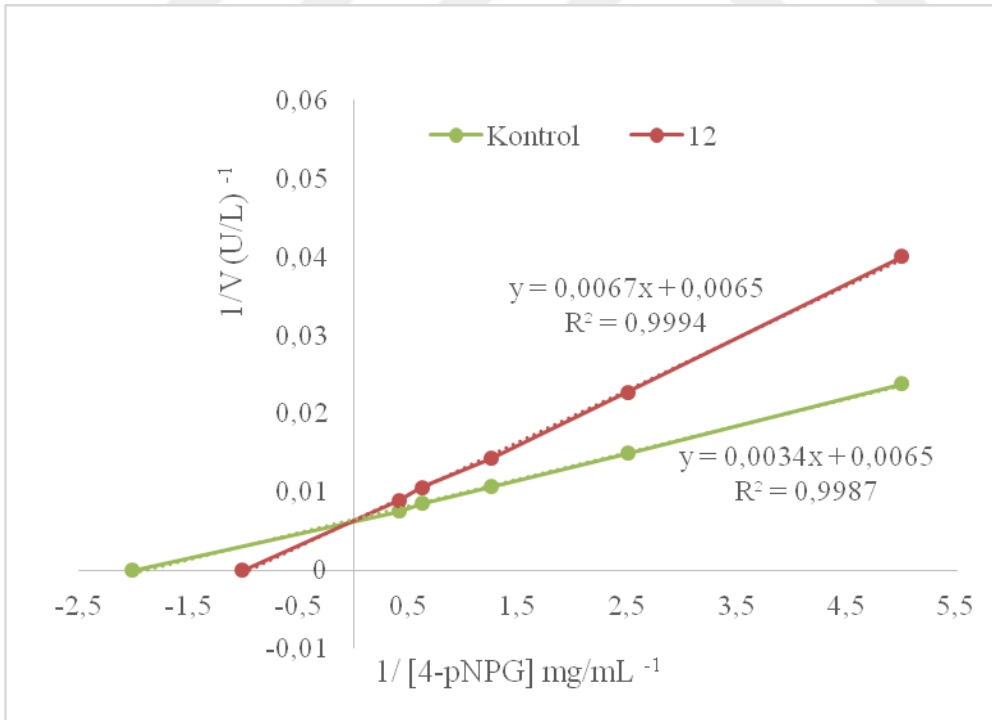
İnhibitör	K_m (mg/mL)	V_{maks} (U/mL)	İnhibisyon Tipi	IC_{50} (μ g/mL)	R^2
Kontrol	0,523	153,846	-	-	0,9987
Akarboz	0,738	153,846	Yarışmalı	11,340 \pm 0,026	0,9974
12	1,031	153,846	Yarışmalı	2,150 \pm 0,014	0,9987
13	0,522	74,627	Yarışmasız	7,824 \pm 0,009	0,9983



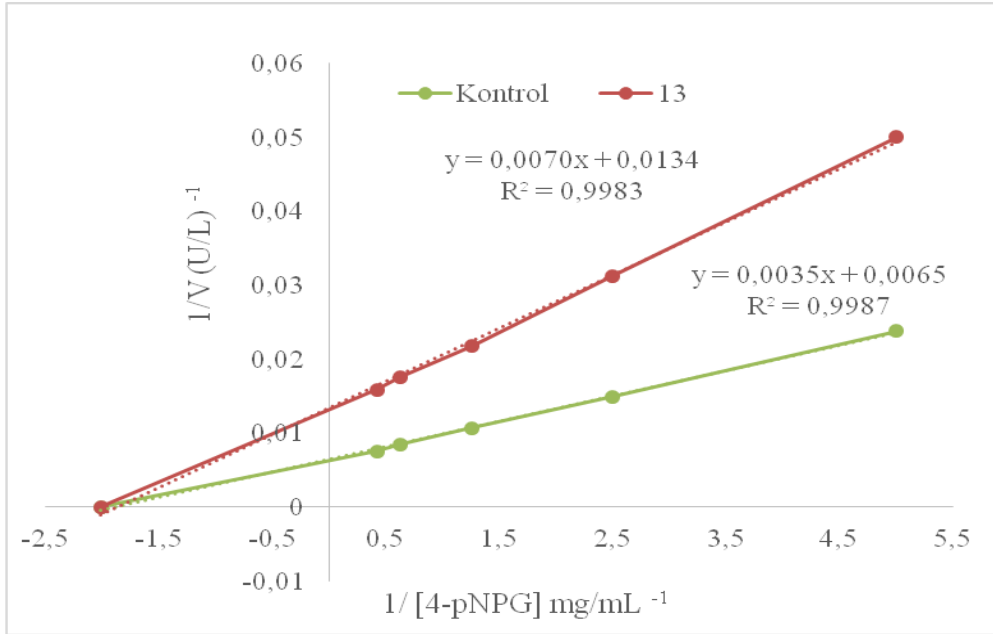
Şekil 6. Kontrol, akarboz, 12 ve 13 nolu maddeye ait Lineweaver-Burk grafiği.



Şekil 7. Kontrol ve akarboza ait Lineweaver-Burk grafiği.



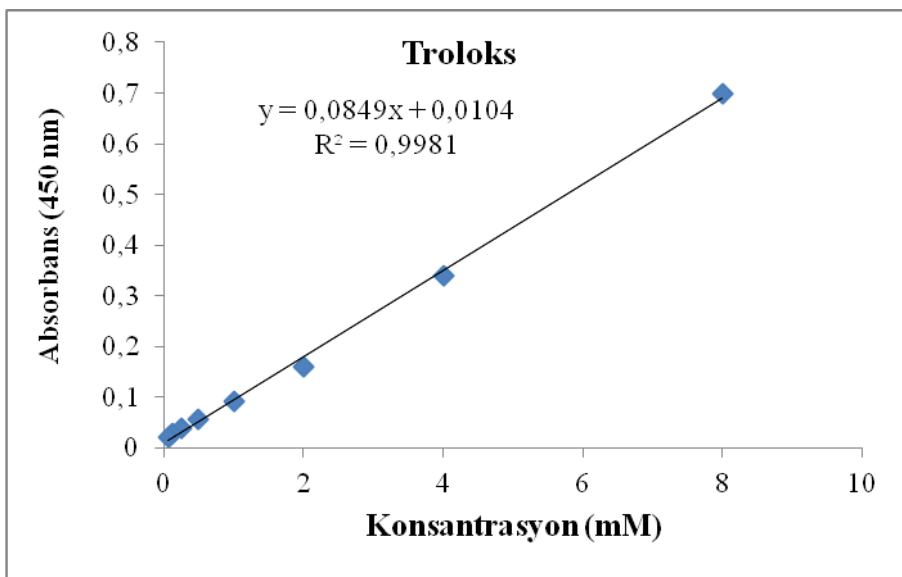
Şekil 8. Kontrol ve 12 numaralı maddeye ait Lineweaver-Burk grafiği.



Şekil 9. Kontrol ve 13 numaralı maddeye ait Lineweaver-Burk grafiği.

3.2. Bileşiklerin CUPRAC Antioksidan Aktivite Sonuçları

Bu yöntemle göre bileşiklerin antioksidan aktiviteleri 450 nm’ de ölçülen absorbans değerleri kullanılarak aynı yöntemle hazırlanan troloks standart grafiğinden (Şekil 10) elde edilen denklemden hesaplandı. Sonuçlar mg bileşik başına düşen mM troloks eşdeğeri olarak Tablo 11’ da verildi.



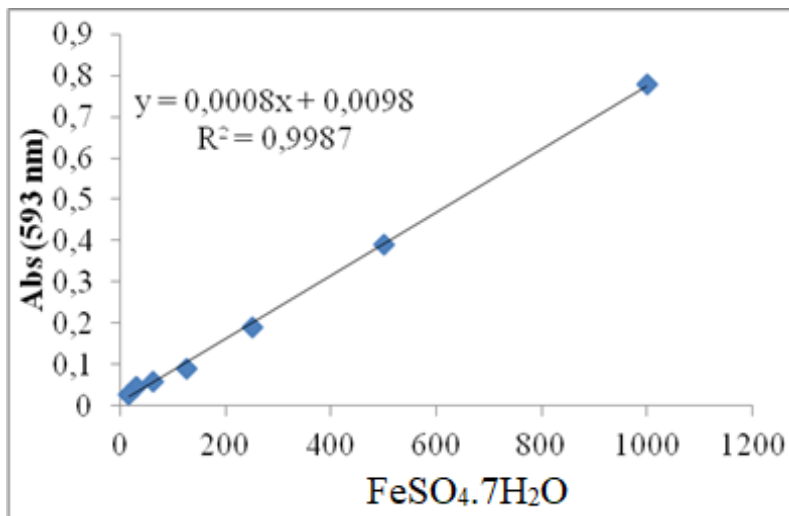
Şekil 10. Troloks® standart grafiği.

Tablo 11. Bileşiklerin CUPRAC (mM Trolox/mg bileşik) yönteminde elde edilen antioksidan aktivite sonuçları.

Bileşikler	TEAC Değerleri (mM Trolox / mg bileşik)
1	2,967±0,038
2	3,227±0,036
3	3,121±0,088
4	3,109±0,048
5	3,034±0,089
6	3,050±0,083
7	3,529±0,035
8	3,140±0,012
9	2,999±0,091
10	2,583±0,018
11	2,378±0,059
12	2,598±0,074
13	2,579±0,030

3.3. FRAP Yöntemi ile Elde Edilen Antioksidan Aktivite Sonuçları

Bileşiklerin bu yonteme göre antioksidan gücünü hesaplamak için $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ standart grafiği (Şekil 11) hazırlandı ve bu grafikten elde edilen denklem kullanılarak mg bileşik başına düşen mM $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ eşdeğeri hesaplandı (Tablo 12).



Şekil 11. $\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ standart grafiği.

Tablo 12. Bileşiklerin FRAP (mM FeSO₄.7H₂O / mg bileşik) yönteminde elde edilen antioksidan aktivite sonuçları.

Bileşikler	FRAP Değerleri (mM FeSO ₄ .7H ₂ O / mg bileşik)
1	2,123±0,009
2	1,990±0,023
3	2,260±0,003
4	1,993±0,011
5	2,031±0,009
6	1,661±0,011
7	1,906±0,014
8	2,127±0,006
9	1,967±0,016
10	1,398±0,004
11	1,311±0,008
12	1,668±0,014
13	1,948±0,009

3.4. Bileşiklerin DPPH' Radikali Temizleme Sonuçları

Bileşiklerin DPPH yöntemine göre 800, 200 ve 50 µg/mL son konsantrasyonlar da DPPH' radikal temizleme aktiviteleri incelendi ve elde edilen sonuçlar Tablo 13'de verildi.

Tablo 13. Bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda DPPH' radikal temizleme aktiviteleri.

Bileşikler	50 µg/mL	200 µg/mL	800 µg/mL
1	3,33 %	40,00 %	58,33 %
2	3,33 %	34,33 %	62,50 %
3	0,83 %	35,33 %	61,67 %
4	1,17 %	30,00 %	60,00 %
5	0,50 %	39,17 %	58,33 %
6	4,33 %	35,00 %	55,83 %
7	6,33 %	11,50 %	50,33 %
8	6,83 %	16,67 %	51,67 %
9	7,33 %	29,67 %	54,17 %
10	3,83 %	22,00 %	52,50 %
11	2,33 %	35,33 %	58,33 %
12	12,67 %	33,67 %	68,33 %
13	1,67 %	24,17 %	53,33 %

3.5. Bileşiklerin ABTS^{•+} Radikali Temizleme Sonuçları

ABTS^{•+}'li Bileşiklerin 6,25, 25 ve 100 µg/mL son konsantrasyon da ABTS^{•+} radikal süpürme aktiviteleri ölçüldü ve hesaplanan sonuçlar Tablo 14' de verildi.

Tablo 14. Bileşiklerin % ABTS^{•+} radikal temizleme aktiviteleri.

Bileşikler	6,25 µg/mL	25 µg/mL	100 µg/mL
1	1,14 %	47,00 %	84,29 %
2	0,57 %	46,43 %	83,71 %
3	5,57 %	51,43 %	88,71 %
4	4,00 %	49,86 %	87,14 %
5	5,43 %	51,29 %	88,57 %
6	1,43 %	31,57 %	68,86 %
7	5,29 %	45,57 %	82,86 %
8	3,86 %	37,00 %	74,29 %
9	4,57 %	45,29 %	82,57 %
10	2,74 %	38,57 %	75,86 %
11	1,16 %	30,29 %	67,57 %
12	2,36 %	36,86 %	74,14 %
13	2,14 %	43,71 %	81,00 %

4. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

4.1. α -Glukozidaz Enzim İnhibisyonu Sonuçlarının Değerlendirilmesi

α -Glukozidaz enzim inhibisyonu çalışmasında bileşiklerin beş farklı konsantrasyonu kullanıldı. Çalışılan konsantrasyona karşılık elde edilen % inhibisyon değerleri grafiğe geçirildi ve her bir bileşik için IC_{50} değeri hesaplandı. IC_{50} değeri en düşük olan bileşik, en etkin inhibisyon gösteren bileşiktir. Bu çalışmada, bileşikler içerisinde en etkili α -glukozidaz inhibitörü olan 12 (5-Floro-2-(4-nitrobenzil)-6-(4-fenilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol) numaralı bileşiğin IC_{50} değeri $2,150\pm 0,014$ $\mu\text{g/mL}$ olarak hesaplandı (Tablo 9). Ayrıca 12 (5-Floro-2-(4-nitrobenzil)-6-(4-fenilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol) ve 13 (5-Floro-2-(4-metoksibenzil)-6-(4-fenilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol) numaralı bileşiklerin standart olarak kullanılan akarbozdan daha etkin inhibisyon gösterdiği bulundu (Tablo 9, Şekil 6, Şekil 7, Şekil 8, Şekil 9). Çalışmada kullanılan diğer bileşiklerin akarboza nazaran daha az etkin olduğu görüldü. Kinetik çalışma sonucunda 12 (5-Floro-2-(4-nitrobenzil)-6-(4-fenilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol) numaralı bileşiğin V_{max} değerinin değişmediği (Şekil 6, Şekil 8), K_m değerinin arttığı ve dolayısıyla yarışmalı inhibisyon gösterdiği bulundu (Tablo 10). Yapılan bir çalışmada, C-6 pozisyonunda morfolin ve piperazin içeren benzimidazol türevi bileşiklerin α -glukozidaz enzimi üzerine akarbozdan daha etkili inhibisyon gösterdiğini ve 1e ve 2e bileşikleri için IC_{50} değerinin sırasıyla $7,02\pm 0,78$ ve $6,94\pm 0,68$ μM olduğunubulmuşlardır (Özil vd., 2018). Yapılan başka bir çalışmada, akridin bağlı tiyoasetamit türevi bileşiklerin α -glukozidaz enzimi çok iyi derecede α -glukozidaz inhibisyonu gösterdiğini ve IC_{50} değerlerinin $80,0\pm 2,0$ ile $383,1\pm 2,0$ μM aralığında değiştiğini bildirmişlerdir (Khanaposhtani vd., 2018 ; Nikookar vd.,2018). Bir seri yeni dihidroprano[3,2-c] kuinolin türevi bileşiklerin in-vitro olarak maya α -glukozidazı üzerine oldukça iyi inhibitör aktivitesi gösterdiğini belirtmişlerdir. Akarboz için IC_{50} değerini $750,0\pm 1,5$ μM ve akarboza nazaran oldukça güçlü inhibitör aktivitesi gösteren 6d ve 6e bileşikleri için sırasıyla $10,3\pm 0,3$ μM ve $15,7\pm 0,5$ μM olarak hesaplamışlardır. Yapılan bir çalışmada, 6-amino-pirido[2,3-d] pirimidin türevi bileşiklerin α -glukozidaz enzimi üzerine iyi derecede inhibisyon gösterdiğini, bileşiklerin IC_{50} değerlerinin $78,0\pm 2,0$ μM ile $252,4\pm 1,0$ μM aralığında değiştiğini ve en aktif bileşik olan 3o' nun akarbozdan 10 kat daha aktif olduğunu belirtmişlerdir (Adib vd., 2018). Araştırmacılar

yaptıkları çeşitli çalışmalarda, oksalsanton türevi bileşiklerin (Ding vd., 2018), 5-bromo-2aril benzimidazol türevi bileşiklerin (Arshad vd., 2017), benzimidazol türevi bileşiklerin (Özil vd., 2016) ve benzimidazol hidrazon türevi bileşiklerin (Zawawi vd., 2016) oldukça etkin α -glukozidaz inhibisyonu gösterdiğini belirtmişler ve birçok bileşiğin akarbozdan daha etkin olduğunu bulmuşlardır. Yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde elde edilen enzim inhibisyonu sonuçlarının literatür ile uyumlu olduğunu görmekteyiz.

4.2. Antioksidan Aktivite Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Bakır (II) indirgeme veya CUPRAC yöntemi olarak da adlandırılan bu test (Apak vd.,2003), tarafından geliştirilen bir yöntem olup, FRAP gibi antioksidan bileşik varlığında Cu(II) iyonlarının bazik ortamda indirgenmesi esasına dayanmaktadır. 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (Neocuproin-Nc)'in Cu(II) ile oluşturduğu bakır(II)-neocuproin kompleksinin (Cu(II)-Nc), 450 nm'de maksimum absorbans veren bakır(I)-neocuproin [Cu(I)-Nc] kompleksine indirgenme yeteneğinden yararlanarak antioksidan kapasite hesaplanmaktadır. 7 (2-(4-Klorobenzil)-5-floro-6-(4-fenilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol) numaralı bileşiğin 3.529 ± 0.035 mM Trolox / mg maddedeğeri ile bu yöntemde en iyi antioksidan aktivite gösterdiği bulundu. 2, 3, 4, 5, 6 ve 8 numaralı bileşiklerin neredeyse benzer sonuçlar gösterdiği gözlemlendi (Tablo 11). Yapılan çalışmalarda araştırmacılar, tetra-substitüe benzimidazol türevi bileşiklerin (Baltaş vd., 2016), florür içeren 1,2,4-triazol-5-on türevi bileşiklerin (Bekircan vd., 2016), oksadiazol ve tiyadiazol içeren benzimidazol türevi bileşiklerin (Karaali vd., 2018) ve 1,2,4 triazol yapılarını içeren benzimidazol türevi bileşiklerin (Menteşe vd., 2015). CUPRAC antioksidan aktivite yönteminde oldukça iyi antioksidan aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir (Özil vd.,2018). Yaptıkları çalışmada benzimidazol ve bisbenzimidazol türevi bileşiklerin CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktivite sonuçlarının 5,511 ile 19,703 mM Trolox / mg madde aralığında bulmuşlardır (Menteşe vd.,2015). Benzimidazol, tiyofen ve 1, 2, 4 triazol yapılarını içeren yeni bir seri triheterosiklik bileşiklerin CUPRAC antioksidan aktivite çalışmasında 5c bileşiğinin en aktif olduğunu ve TEAC değerini $1,476 \pm 0,025$ mM Trolox/mg madde olarak bulmuşlardır. Literatürde varolan çalışmalar incelendiğinde elektron verebilecek gruplar içeren benzimidazol

türevi bileşiklerin antioksidan aktivite yönünden etkin olduğu ve TEAC sonuçlarının literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir.

FRAP yönteminin esası spektrofotometrede 593 nm'de Fe^{2+} –TPTZ kompleksinin oluşturduğu absorbansın ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Benzie vd., 1999; Can vd., 2016). Demir (III) iyonu indirgeme antioksidan güç tayini yöntemi total antioksidan kapasitenin belirlenmesinde sıkça kullanılan bir metottur. Sonuçlara bakıldığında en iyi antioksidan aktiviteyi $2,260 \pm 0,003$ mM $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ /mg bileşik değeri ile 3 (2-benzil-5-floro-6-(4-fenilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol numaralı bileşiğin gösterdiği bulundu. Tablo 12' daki sonuçlara bakıldığında 1, 5 ve 8 numaralı bileşiklerin iyi derecede antioksidan aktivite gösterdiği bulundu. Diğer bileşiklerin orta derecede aktivite gösterdiğini söyleyebiliriz. FRAP metoduna göre bileşikleri en aktif molekülden en az aktif olana doğru şu şekilde sıralayabiliriz; $3 > 8 > 1 > 5 > 4 > 2 > 9 > 13 > 7 > 12 > 6 > 10 > 11$. Özil vd. (2018). C-6 pozisyonunda morfolin ve piperazin içeren benzimidazol türevi bileşiklerin CUPRAC ve FRAP yöntemlerini kullanarak antioksidan aktivitesini incelemiştir. Bileşiklerin antioksidan aktivite çalışmaları sonucunda, FRAP değerlerini $1,141-12,943$ mM $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ /mg bileşik konsantrasyon aralığında olduğunu bulmuşlardır.

DPPH[•] (2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil) stabil bir serbest radikal olup ticari olarak satın alınabilen birkaç radikalden biridir (Alam vd., 2013). Serbest radikal scavenging aktivite yöntemlerine model olarak en çok kullanılan radikal olup 517 nm'de maksimum absorbans vermektedir. Yöntem antioksidan madde varlığında bir proton veya elektron verebilme yeteneğinin, koyu mor renkli DPPH[•] çözeltilisinin rengini açması esasına dayanır. Bu çalışmada bileşiklerin DPPH[•] yöntemine göre 800, 200 ve 50 µg/mL son konsantrasyonlar da DPPH[•] radikal temizleme aktiviteleri incelendi. 800, 200 ve 50 µg/mL son konsantrasyonlar da en iyi radikal temizleme aktivitesini sırasıyla 12, 1 ve 12 numaralı bileşiklerin gösterdiği bulundu (Tablo 13). Bektaş vd. (2018), bazı yeni 2-(3-florobenzil)-1 H- benzimidazol türevi bileşiklerin 250-1000 µg/mL aralığında farklı konsantrasyonlar da DPPH radikal temizleme aktivitelerinin ölçmüşler ve SC₅₀ değerlerinin $6390,64 \pm 228,71$ ile $1317,13 \pm 161,39$ µg/mL aralığında olduğunu saptamışlardır. (Yılmaz vd., 2017). Triazol çekirdeği içeren yeni benzimidazol türevi bileşiklerin (2b, 2c, 3a, 3c ve 3f bileşiklerinin) DPPH[•] yöntemine göre SC₅₀ değerinin a

5. ÖNERİLER

1. Bu tez çalışmasında elde edilen antioksidan aktivite ve enzim inhibisyonu sonuçları istatistiksel olarak değerlendirilebilir.
2. Antioksidan aktivite deneyleri çeşitlendirilebilir.
3. Çalışılan maddelerin enzim ile etkileşimleri moleküler modelleme yöntemleri kullanılarak detaylandırılabilir.



KAYNAKLAR

- Adib, M., Peytam, F., Jazi, M., Mahernia, S., Bijanzadeh, H.R., Jahani, M., Khanaposhtani, M., Imanparast, S., Faramarzi, M., Mahdavi, M. ve Larijani, B., 2018.** New 6-amino-pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4-diones as novel agents to treat type 2 diabetes. A simple and efficient synthesis, α -glucosidase inhibition, molecular modeling and kinetic study. *European Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 155, 353-363. DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.05.046.
- Alagöz, Z.G., Eke, B., Coban, T., Iscan, M. ve Büyükbingöl, E., 2004.** Antioxidant properties of novel benzimidazole petinoids. *Archives of Pharmaceutical and Medicinal Chemistry*, 337, 188-192.
- Alam, M., Bristi, J. ve Rafiquzzaman, M., 2013.** Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21, 143-152. DOI: 10.1016/j.jsps.2012.05.002.
- Albayrak, S., Sağdıç, O. ve Aksoy, A., 2010.** Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 26(4), 401-409.
- Alpan, A.S., Zencir, S., Zupko, I., Coban, G., Reathy, B., Gunes, HS. ve Topcu, Z., 2009.** Biological activity of bis-benzimidazole derivatives on DNA topoisomerase I and HeLa, MCF7 and A431 cells. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 24(3), 844-849. DOI: 10.1080/14756360802420831.
- Apak, R., Gorinstein, S., Böhm, V., Schaich, K.M., Özyürek, M. ve Güçlü, K., 2013.** Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 85 (5), 957-998. DOI: 10.1351/PAC-REP-12-07-15.
- Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M. ve Karademir, S.E., 2004.** Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupricionreducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (26), 7970-7981. DOI:10.1021/jf048741x.
- Arshad, T., Khan, K.M., Rasool, N., Salar, U., Hussain, S., Asghar, H., Ashraf, M., Wadood, A., Riaz, M., Perveen, S., Taha, M. ve Ismail, N.H., 2017.** 5-Bromo-2-aryl benzimidazole derivatives as non-cytotoxic potential dual inhibitors of α -glucosidase and urease enzymes. *Bioorganic Chemistry*, 72, 21-31. DOI: 10.1016/j.bioorg.2017.03.007.
- Baltaş, N., Mentese, E. ve Beriş F.Ş., 2017.** Study of Antioxidant, Antimicrobial and Anti-Xanthine Oxidase Activities of Some 5,6-Dimethyl-2-(Substituted)-1H Benzimidazoles and Their Acylhydrazide Derivatives. *Heterocyclic Letters*, 1(7), 45-57.

- Baltaş, N., Yılmaz, F. ve Menteşe, E., 2016.** Synthesis Antioxidant Xanthine Oxidase and Urease Inhibitory Activities of Some Chlorine Containing Benzimidazoles. Hacettepe Journal of Biology and Chemistry, 44(3), 293-305.DOI: 10.15671/HJBC.20164420572.
- Bekircan, O., Baltas, N., Menteşe, E. ve Gültekin, E., 2016.** Synthesis of new fluorine containing 1 2 4 triazole 5 on derivatives with their anti urease anti xanthine oxidase and antioxidant activities. Revue Roumaine de Chimie, 61(10), 733-746.
- Bektas, H., Albay, C., Sökmen, B.B., Aydın, S., Menteşe, E., Aydın, G. ve Şen, D., 2018.** Synthesis, Antioxidant, and Antibacterial Activities of Some New 2-(3-fluorobenzyl)-1H-benzimidazole Derivatives. Journal of Heterocyclic Chemistry, 55, 2400-2407. DOI: 10.1002/jhet.3304.
- Benzie, I.F.F. ve Strain, J.J., 1996.** The Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay, Analytical Biochemistry, 239, 70-76.DOI: 10.1006/abio.1996.0292.
- Benzie, I.F.F. ve Strain, J.J., 1999.** Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods in Enzymoloji, 299, 15-27. DOI: 10.1016/S0076-6879(99)99005-5.
- Bourne, Y., ve Henrissat, B., 2001.** Glycoside hydrolases and glycosyl transferases families and functional modules. Current Opinion in Structural Biology, 11(5); 593-600.DOI: 10.1016/S0959-440X(00)00253-0.
- Brandwilliams, W., Cuvelier, M.E. ve Berset, C., 1995.** Use of a Free-Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. Food Science and Technology-Leb, 28(1), 25-30.DOI: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.
- Can, Z. ve Baltas, N., 2016.** Bioactivity and Enzyme Inhibition Properties of Stevia rebaudiana. Current Enzyme Inhibition, 12, 188-194.DOI: 10.2174/1573408012666160402001925.
- Curini, R., Materazzi, S., Dascenzo, G. ve Deangelis, G., 1990.** Thermal-Behavior of Biologically Interesting Coordination-Compounds of Benzimidazole with Divalent Metal-Ions. Thermochimica Acta, 161 (2), 297-307. DOI: 10.1016/0040-6031(86)85289-3.
- Çöleri, A., 2007.** Bazı Termofilik *Bacillus* Türlerinin Termostabil α -glokozidaz Üretim Kapasiteleri ve Enzimlerinin Kısmı Karakterizasyonu. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye 175 1-2.
- Demirayak, S., Kayagil, I. ve Yurttas, L., 2011.** Microwave supported synthesis of some novel 1,3-diarylpyrazino[1,2-a]benzimidazol derivatives and investigation of their anticancer activities. European Journal of Medicinal Chemistry, 46 (1), 411-416.DOI: 10.1016/j.ejmech.2010.11.007.

- Devivar, R.V., Kawashima, E., Revankar, G.R., Breitenbach, J.M., Kreske, E.D., Drach, J.C. ve Townsend, L.B., 1994.** Benzimidazole Ribonucleosides - Design, Synthesis, and Antiviral Activity of Certain 2-(Alkylthio) and 2- (Benzylthio)-5,6-Dichloro-1-(Beta-D-Ribofuranosyl). Benzimidazoles. Journal of Medicinal Chemistry, 37 (18), 2942-2949.DOI: 10.1021/jm00044a015.
- Ding, S.M., Lan, T., Ye, G.J., Huang, J.J., Hu, Y., Zhu, Y.R. ve Wang, B., 2018.** Novel oxazolxanthone derivatives as a new type of α -glucosidase inhibitor: synthesis, activities, inhibitory modes and synergetic effect. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 26,3370-3378.DOI: 10.1016/j.bmc.2018.05.008.
- Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T. ve Durmaz, Y., 2006.** Algal antioksidanlar, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 23, 85-89.
- Going, C.J. ve Mayer, V.W., 1995.** Induction of chromosome loss in *saccharomyces cerevisiae* strain D61.M by selected benzimidazole compounds. Mutation Research 343, 185-199.DOI: 10.1016/0165-1218(95)90014-4.
- Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J. ve Jiang, Y., 2003.** Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. Nutrition Research, 23, 1719-1726.DOI: 10.1016/j.nutres.2003.08.005
- Habernickel, V.J., 1992.** Alkyl-5-heterocyclic-benzimidazolyl-carbamate derivatives. Drugs made in Germany, 35, 97.
- Halliwell, B.,1990.** How to characterize a biological antioxidant. Free Radical Research Communications, 9, 1-32.DOI: 10.3109/10715769009148569.
- Halvorson, H. ve Ellias, L., 1958.** The purification and properties of an α -glucosidase of *Saccharomyces italicus* Y1225. Biochim. Biochimica et Biophysica Acta, 30, 28-40.
- Hemalatha, S., Ayyappan, T., Shanmugam, S., Nagavalli, S. ve Kurubha, T.S., 2006.** Evaluation of antidiabetic and diuretic activity of polyherbal formulation. Indian Journal of Trade Knowledge, 5, 468-470.
- Hermans, M.M., Kross, M.A., Beumen, J., Oostra, B.A. ve Reuser, A.J.J., 1991.** Human lysosomal α -glucosidase. Journal of Biological Chemistry, 266, 13507-13512.
- Kahveci, B., Mentese, E., Özil, M., Ülker, S. ve Ertürk, M., 2013.** An efficient synthesis of benzimidazoles via a microwave technique and evaluation of their biological activities. Monatshefte für Chemie, 144, 993-1001. DOI: 10.1007/s00706-012-0916-0
- Karaali, N., Baltaş, N. ve Mentese, E., 2018.** Synthesis and antioxidant, antiurease and anti-xanthine oxidase activities of some new benzimidazoles bearing triazole, oxadiazole, thiadiazole and imin function. Indian Journal Of Chemistry Section B-Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry, 57, 374-384.

- Kazimierczuk, Z., Upcroft, J.A., Upcroft, P., Gorska, A., Starosciak, B. ve Agnieszka, L., 2002.** Synthesis, Antiprotozoal and Antibacterial Activity of Nitro- and Halogeno-Substituted Benzimidazole Derivatives. *Acta Biochimica Polonica*, 49, 185-195.
- Keri, R.S., Hiremathad, A., Budagumpi, S. ve Nagaraja, B.M., 2015.** Comprehensive review in current developments of benzimidazole-based medicinal chemistry. *Chemical Biology & Drug Design*, 86, 19-65. DOI: 10.1111/cbdd.12462.
- Keurulainen, L., Salin, O., Siiskonen, A., Kern, J. M., Alvesalo, J., Kiuru, P. ve Maass, M., 2010.** Design and synthesis of 2-arylbenzimidazoles and evaluation of their inhibitory effect against *Chlamydia pneumoniae*. *Journal of Medicinal Chemistry*, 53, 7664-7674. DOI: 10.1021/jm1008083.
- Khanaposhtania, M., Rezaei, S., Khalifeh R., Imanparast S., Faramarzi M.A., Bahadorikhalili, S., Safavi, M., Bandarian, F., Esfahani E.N., Mahdavi M. ve Larijani B., 2018.** Design, synthesis, docking study, α -glucosidase inhibition, and cytotoxic activities of acridine linked to thioacetamides as novel agents in treatment of type 2 diabetes. *Bioorganic Chemistry*, 80, 288–295. DOI: 10.1016/j.bioorg.2018.06.035.
- Kuba, K., Kohara, Y., Imamiya, E., Sugiura, Y., Inada, Y., Furukawa, Y., Nishikawa, K. ve Naka, T., 1993.** Nonpeptide angiotensin-I receptor antagonists. synthesis and biological activity of benzimidazoles. *Journal of Medicinal Chemistry*, 36, 2182-2195. DOI:10.1021/jm00068a011.
- Kuş, C., Ayhan, K.G., Ozbey, S., Kaynak, F.B., Kaya, M., Coban, T. ve Can, E.B., 2008.** Synthesis and antioxidant properties of novel n-methyl-1,3,4-thiadiazole-2-amino and 4-methyl-2h-1,2,4-triazole-3(4h)-thione derivatives of benzimidazole class. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 16, 4294-4303. DOI: 10.1016/j.bmc.2008.02.077.
- Lee, Y.E., 2000.** Cloning and characterization of α -glucosidase gene from thermophilic *Bacillus* sp. DG0303. *Journal Microbiology and Biotechnology*, 10, 244-250.
- McBride, C.M., Renhowe, P.A., Heise, C., Jansen, J.M., Lapointe, G., Pineda, R., Vora, J., Wiesmann, M. ve Shafer, C.M., 2006.** Design and Structure. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 16, 3595-3599.
- Meanwell, N.A. ve Krystal, M., 2007.** Respiratory syncytial virus: the discovery and optimization of orally bioavailable fusion inhibitors. *Drugs Future*, 32, 441-445. DOI: 10.1358/dof.2007.032.05.1087141.
- Menteşe, E., Yılmaz, F. ve Baltaş, N., 2017.** Synthesis and Antioxidant Evaluation of Some Novel Benzimidazole Derivatives Containing a Triazole Nucleus. *Letters in Drug Design Discovery*, 14(2), 201-208. DOI:10.2174/1570180813666160609082633.

- Menteşe, E., Yılmaz, F., Baltaş, N., Bekircan, O. ve 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.DOI: 10.3109/14756366.2014.943203.
- Menteşe, E., Yılmaz, F., Emirik, M., Ülker, S. ve Kahveci, B., 2018.** Synthesis, molecular docking and biological evaluation of some benzimidazole derivatives as potent pancreatic lipase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 76, 478–486.DOI: 10.1016/j.bioorg.2017.12.023.
- Menteşe, E., Yılmaz, F., İslamoğlu, F. ve Kahveci B., 2015.** Rapid and efficient synthesis of a new series of 2-aryl-5-fluoro-6- (4-phenylpiperazin-1-yl)-1H-benzimidazoles using microwave heating. *Journal of Chemical Research*, 39, 206–208. DOI: 10.3184/174751915X14268750943001.
- Nikookar, H., Khanaposhtani, M., Imanparast, S., Faramarzi, M.A., Ranjbar, P.R., Mahdavi, M. ve Larijani, B.,2018.** Design, synthesis and in vitro α -glucosidase inhibition of novel dihydropyrano[3,2-c]quinoline derivatives as potential anti-diabetic agents. *Bioorganic Chemistry*, 77, 280-286.DOI: 10.1016/j.bioorg.2018.01.025.
- Nofal, Z.M., Fahmy, H.H. ve Mohamed, H.S., 2002.** Synthesis, antimicrobial and molluscicidal activities of new benzimidazole derivatives. *Archives of Pharmacal Research Journal*, 25, 28-38.
- Özil, M., Emirik, M., Etlik, S.Y., Ülker, S. ve Kahveci, B., 2016a.** A simple and efficient synthesis of novel inhibitors of alpha-glucosidase based on benzimidazole skeleton and molecular docking studies. *Bioorganic Chemistry*, 68, 226–235.DOI: 10.1016/j.bioorg.2016.08.011.
- Özil, M., Emirik, M., Beldüz, A. ve Ülker S., 2016b.** Molecular docking studies and synthesis of novel bisbenzimidazole derivatives as inhibitors of a-glucosidase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 24, 5103–5114.DOI:10.1016/ j.bmc. 2016.08.024.
- Özil, M., Parlak, C. ve Baltaş, N., 2018.** A simple and efficient synthesis of benzimidazoles containing piperazine or morpholine skeleton at C-6 position as glucosidase inhibitors with antioxidant activity. *Bioorganic Chemistry*, 76(null), 468 477.DOI: 10.1016/j.bioorg.2017.12.019.
- Palanisamy, U.D., Ling, L.T., Manaharan, T. ve Appleton, D., 2011.** Rapid isolation of geraniin from *Nephelium lappaceum* rind waste and its anti-hyperglycemic activity. *Food Chemistry*; 127: 217
- Patil, A., Ganguly, S. ve Surana, S., 2008.** A Systematic Review of benzimidazole derivatives as an antiulser agent. *Rasayan Journal of Chemistry*, 1 (3), 447-460.

- Ramya, V.S., Kallappa, M.H. ve Keri, S., 2010.** Derivatives of benzimidazole pharmacophore: synthesis anticonvulsant. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45, 1753-1759. DOI: 10.1016/j.ejmech.2010.01.007.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. Ve Evans, C., 1999.** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237. DOI:10.1016/s0891-5849(98)00315-3.
- Savall, B.M., Edwards, J.P., Venable, J.D., Buzard, D.J., Thurmond, R., Hack, M. ve McGovern, P., 2010.** Agonist/antagonist modulation in a series of 2-aryl benzimidazole h4 receptor ligands. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20, 3367-3371. DOI: 10.1016/j.bmcl.2010.04.017.
- Sundberg, R.J. ve Martin, R.B., 1974.** Interactions of histidine and other imidazole derivatives with transition metal ions in chemical and biological systems. *Chemical Reviews*, 74(4), 471-517. DOI:10.1021/cr60290a003.
- Townsend, L.B. ve Revankar, G.R., 1970.** Benzimidazole nucleosides, nucleotides, and related derivatives. *Chemical Reviews*, 70(3), 389-438. DOI:10.1021 / cr60265a005.
- Usta, A., Yılmaz, F., Kapucu, G., Baltaş, N. ve Menteşe, E., 2015.** Synthesis of Some New Benzimidazole Derivatives with their Antioxidant Activities. *Letters in Organic Chemistry*, 12(4), 227-232. DOI: 10.18596/jotcsa.440202.
- Yılmaz, F., Menteşe, E. ve Baltaş N., 2017.** Synthesis and antioxidant evaluation of some novel benzimidazole derivatives containing a triazole nucleus. *Letters in Drug Design and Discovery*, 14, 201-208. DOI: 10.2174/1570180813666160609082633.
- Zawawi, N.K., 2016.** Benzimidazole derivatives as new α -glucosidase inhibitors anin silico studies. *Bioorganic Chemistry*, 64, 29-36. DOI: 10.1016/j.bioorg.2015.11.006.

ÖZGEÇMİŞ

Mehmet YAZICI 1982 Ardeşen doğumludur. İlkokul, ortaokul ve liseyi Fındıklı da tamamladı. 2005 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü tamamladı. 2013 yılında Anadolu Üniversitesi Sosyoloji Bölümünü Tamamladı. 2014 Yılında Erzincan Üniversitesi Eğitim Fakültesi Pedagojik Formasyon Eğitiminin tamamladı. 2005 Yılında Fındıklı Özel Kalem Dershanesinde kimya Öğretmenliği yaptı. 2006-2011 yılları arasın da Ardeşen Birey Dershanesinde Kimya Öğretmenliği yaptı. 2011 yılından beri kurucusu olduğu Rekor Eğitim Kurumlarının Genel Müdürlüğünü yapmaktadır. 2014 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda başladığı yüksek lisansa devam etmektedir. Mehmet YAZICI evli olup üç çocuk babasıdır.