

Atf İçin: Özaslan M S, 2022. Bazı Fenolik Bileşiklerin Glutasyon S-Transferaz Enzim İnhibitörleri Olarak Değerlendirilmesi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 12(2): 882-889.

To Cite: Özaslan M S, 2022. Evaluation of Some Phenolic Compounds as Inhibitors of Glutathione S-Transferase Enzyme. Journal of the Institute of Science and Technology, 12(2): 882-889.

Bazı Fenolik Bileşiklerin Glutasyon S-Transferaz Enzim İnhibitörleri Olarak Değerlendirilmesi

Muhammet Serhat ÖZASLAN^{1*}

ÖZET: Glutasyon S-transferazlar (GSTs) önemli antioksidan enzim sınıfındadırlar ve glutasyonun toksik metabolitlerle konjugasyonunu katalize ederler. Yapılan bu çalışmada, bazı fenolik bileşiklerin GST enziminin aktivitesi üzerine potansiyel inhibisyon etkileri in vitro olarak test edilmiştir. Morin hidrat, eskuletin hidrat, p-kumarik asit ve siringaldehit fenolik bileşiklerinin GST enzimi üzerine IC₅₀ değerleri sırasıyla 0.718 µM, 0.713 µM, 0.701 µM ve 0.699 µM olarak bulunmuştur. K_i değerleri ise sırasıyla 1.610±0.120, 0.179±0.019, 4.590±0.480, 0.999±0.070 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre en iyi inhibisyon etkisini eskuletin hidrat göstermiş olup yarışmalı inhibisyon türü sergilemiştir.

Anahtar Kelimeler: Glutasyon S-transferaz, inhibisyon, fenolik bileşik

Evaluation of Some Phenolic Compounds as Inhibitors of Glutathione S-Transferase Enzyme

ABSTRACT: Glutathione S-transferases (GSTs) are important antioxidant enzyme and catalyze the conjugation of glutathione with toxic metabolites. In this study, potential inhibitory effects of some phenolic compounds on the activity of GST enzyme were tested in vitro. The IC₅₀ values of morine hydrate, esculetin hydrate, p-coumaric acid and syringaldehyde phenolic compounds are found as 0.718 µM, 0.713 µM, 0.701 µM, and 0.699 µM, respectively. K_i values are found as 1.610±0.120, 0.179±0.019, 4.590±0.480, 0.999±0.070, respectively. According to these results, esculetin hydrate showed the best inhibition effect and competitive inhibition.

Keywords: Glutathione S-transferase, inhibition, phenolic compound

¹Muhammet Serhat ÖZASLAN ([Orcid ID: 0000-0002-5060-2048](https://orcid.org/0000-0002-5060-2048)), Ardahan Üniversitesi Nihat Delibalta Göle Meslek Yüksek Okulu Eczane Hizmetleri Bölümü, Ardahan, TÜRKİYE

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Muhammet Serhat ÖZASLAN, e-mail: serhatozaslan@ardahan.edu.tr

GİRİŞ

Reaktif oksijen türleri (ROS), dış yörüngelerinde ortaklaşmamış elektron bulundurduğu için kararsız bir yapı gösterir, etrafındaki moleküllerden elektron alıp kararlı bir yapı oluşturmaları ve diğer moleküller ile oldukça reaktivlik göstermeleri açısından serbest radikallerin önemli bir bileşenidir (Demir 2019; Gülçin ve Beydemir 2013). Genellikle gen ekspresyonu, hücre sinyalizasyonu, apoptoz ve iyon taşınması sırasında üretilir (Demir ve ark. 2017; Özasan ve ark. 2017). Ancak yüksek konsantrasyonda ROS birikmesi oksidatif strese yol açar ve proteinler, lipitler ve DNA gibi hayati biyomoleküllerin oksidatif bozunmalarına neden olurlar. (Gülçin ve ark. 2006; Kırıcı ve ark. 2016)

Glutasyon (GSH) hücrede yüksek konsantrasyonlarda (5 milimolar) bulunan glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden oluşan tripeptit yapılı bir moleküldür (Pizzorno, 2014). GSH enzimatik olmayan mekanizmalarla serbest radikal önleyici ve indirgeyici görev üstlenerek koruma sağlar. Ayrıca fibrogenez, apoptoz ve hücre proliferasyonu gibi bağışıklık sistemi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Mazzetti ve ark. 2015; Türkan ve ark. 2019).

Glutasyon S-transferazlar (GSTs) merkezinde bulunan kükürt atomuna GSH'ın elektrofilik, nükleofilik ve çok çeşitli hidrofobik moleküllerinin eklenmesini katalize eder. GSTs katalitik rollerinin yanı sıra, ayrıca bir dizi eksojen ve endojen bileşiği katalitik olmayan bir şekilde bağlayabilir. Bunlara hormonlar, yağ asitleri, flavonoidler, bilirubin ve ksenobiyotikler dahildir. (Türkes ve ark. 2021a,b)

GSTs oksidatif stres ve oksijen toksisitesinin etkilerini en aza indirmek için sinyal iletimine aracılık eder. Bu nedenle, GSTs hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda bulunur ve dört aileye ayrılabilir bunlar: sitozolik GST, mitokondriyal GST, mikrozomal GST'dir (Ozaslan ve ark. 2018a).

Fenolik bileşikler antimikrobiyal, antikanserojenik, antiobezite ve antidiyabetik gibi önemli biyolojik ve farmakolojik özelliklere sahiptir (Aslan ve ark. 2020). Meyve, sebze ve tahıllara tat ve renk veren yapısal çeşitliliğe sahip ikincil metabolitlerdir. Bu bileşiklerin yapısal, özelliği, en az bir tane aromatik halkaya bağlı bir veya daha fazla hidroksil grubuna sahip olmalarıdır. Fenolik bileşiklerin hidroksil gruplarının sayısı ve konumu antioksidan aktivitelerini etkileyen önemli özelliklerdir. Bu bileşiklerin koruyucu etkileri, yalnızca antioksidan aktivitelerine değil, aynı zamanda oksidatif stres tepkilerini düzenleyen mitojenle aktive olan protein kinaz basamakları dahil olmak üzere hücre sinyal yollarının modülasyonuna da atfedilmiştir. (Ozaslan ve ark. 2018b; Bayrak ve ark. 2020)

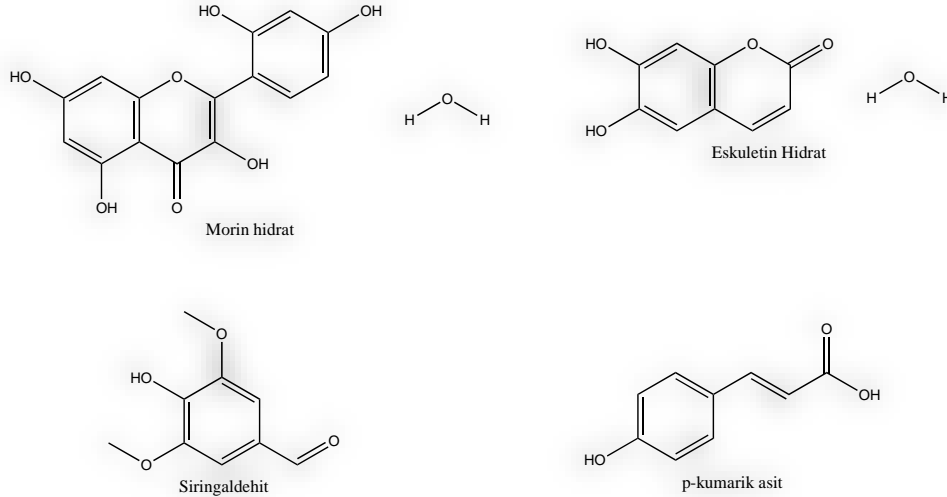
Flavonoidler, insan sağlığı üzerinde önemli bir etkiye sahip, doğal bitki kaynaklı diyet biyoaktif bileşiklerdir. Morin hidrat, esas olarak Moraceae familyası bitkilerinin meyvelerinden, gövdesinden ve yapraklarından elde edilen bir biyoflavonoiddir. Morin hidratın çeşitli kronik ve yaşamı tehdit eden dejeneratif hastalıklara karşı yararlı etkilerini gösterdiğini destekleyen çok sayıda çalışma vardır (Rajput ve ark. 2021). Ayrıca, bu flavonun *in vitro* oksidatif stresin neden olduğu nöronal hasara karşı koruyucu etkisine ilişkin yayınlarda, Morin hidrat'ın oksidatif stres ile çeşitli nörolojik durumların tedavisi için umut verici bir doğal ilaç olabileceğini düşündürmektedir (Olonode ve ark. 2019).

Eskuletin, çeşitli doğal bitki ürünlerinde bulunan ve çeşitli biyolojik ve farmasötik özelliklere sahip, ödem önleyici, iltihap önleyici ve tümör önleyici etkileri olan bir kumarin türevidir (Subramaniam ve ark. 2013).

Syringaldehit flavonoidler grubuna ait bir polifenolik bileşiktir ve *Manihot esculenta* ve *Magnolia officinalis* gibi farklı bitki türlerinde bulunur. Değerli biyoaktif özelliklere sahip olması nedeniyle ilaç, gıda, kozmetik, tekstil, kağıt hamuru ve kağıt endüstrilerinde hatta biyolojik kontrol uygulamalarında kullanılmaktadır. Anti-hiperglisemik ve anti-inflamatuar aktiviteye sahiptir. (İbrahim ve ark. 2012; Yancheva ve ark. 2016)

P-kumarik asit sinamik asidin bir hidroksi türevidir, ikincil bitki metabolitleri olarak sınıflandırılır. Bu asitlerin omurgasını oluşturan bileşiklere çeşitli doğal kaynaklarda sıklıkla rastlanır. Bu maddeler antioksidan, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. (Buravlev ve ark. 2019)

Bu çalışmada, insan eritrosit hücrelerinden saflaştırılan GST enziminin aktivitesi üzerine eskulin hidrat, siringaldehit, morin hidrat ve *p*-kumarik asit gibi fenolik bileşiklerin inhibisyon etkilerine bakılarak bu maddelerin ilaç etken madde olabilme potansiyellerinin araştırılması amaçlanmıştır.



Şekil 1. Çalışmada kullanılan fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları

MATERYAL VE METOT

Kimyasallar

Tüm kimyasallar Sigma-Aldrich Co.'dan (Sigma-Aldrich Chemie GmbH İhracat Departmanı Eschenstrasse 5, 82024 Taufkirchen, Almanya) temin edilmiştir.

Numune Hazırlama ve Enzim Saflaştırma

Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastanesi kan merkezinden atık eritrositler temin edildi. Daha sonra eritrositler buzlu su ile hemoliz edilerek 15.000 x g'de ve 4°C'de 30 dakika santrifüj edildi. GSH - agaroz afinite kolonuna hemolizat uygulandı. Bağlı GST enzimi elüsyon tamponu (50 mM Tris-HCl pH 9.0 ve 10 mM'ye kadar GSH) ile ayrıştırıldı ve 2 mL hacimde ayrıştırılan fraksiyonlar toplandı. Protein ve enzim aktiviteleri ölçüldü ve 4°C'de inhibisyon çalışmaları için saklandı. (Aksoy ve ark. 2016; Aksoy ve Küfrelioğlu 2017; Özasan ve ark. 2017).

Enzim Aktivitesi

GST aktivitesi, model substrat olarak 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) kullanılarak önceki yapılan prosedüre göre gerçekleştirilmiştir (Aksoy ve ark. 2016).

In Vitro İnhibisyon Çalışmaları

Çalışmada kullanılan fenolik bileşiklerin, GST üzerindeki en az beş farklı inhibitör konsantrasyonunda inhibisyon etkileri araştırıldı. IC₅₀, %50 inhibisyona neden olan bileşik konsantrasyonu olarak tanımlandı ve her bir bileşik için Aktivite (%)–[Fenolik bileşik] grafiklerinden hesaplandı. K_i değerleri ve inhibisyon tipleri Lineweaver ve Burk eğrileri (1934) kullanılarak bulundu.

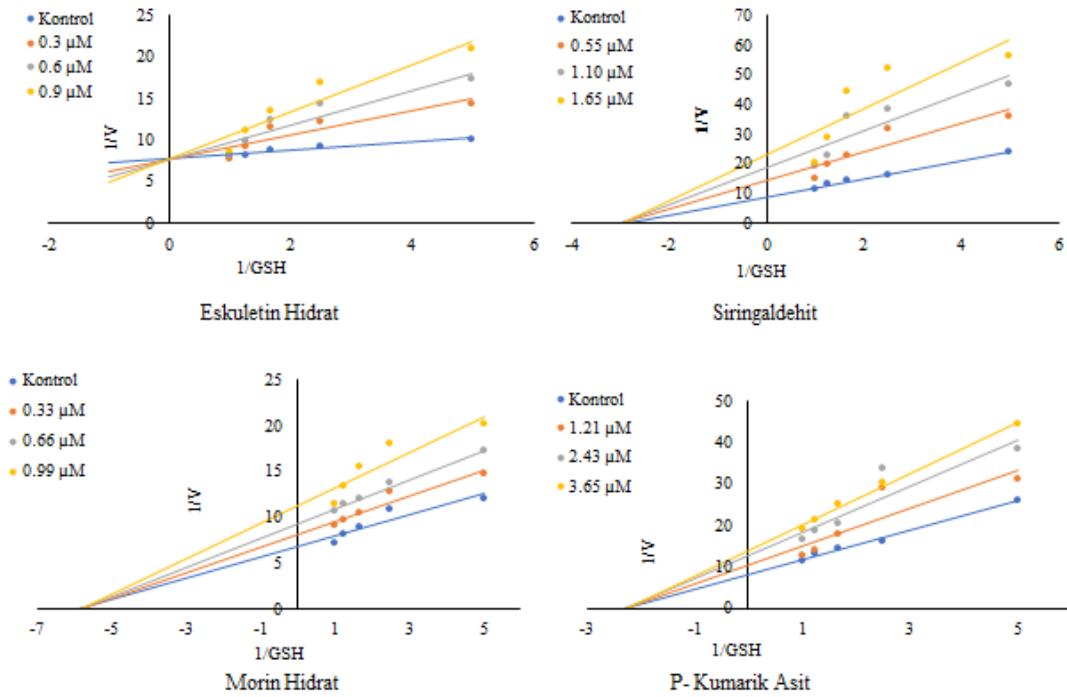
BULGULAR VE TARTIŞMA

GSH ile ilişkili enzimler, hücrelerin zarar görmemesi için detoksifikasyon sistemi ile serbest radikaller tarafından indüklenmesinde önemli bir rol üstlenirler. GSH'la ilişkili enzimlerden olan GST'ler, ilaçları metabolize etmede etkili hücrel enzimler olup, esas olarak faz II metabolizmasında görev alırlar (Erat ve ark. 2013). Bu enzimler, toksik bileşikleri kovalent ve kovalent olmayan bağlanma ve azaltılmış GSH yoluyla dolaşımdan uzaklaştırmak için eksojen ve endojen elektrofilik ksenobiyotiklerin sentezini ve metabolizmasını katalize edebilir. GST'ler ayrıca hücrel sinyalleşme ve redoks homeostazında önemli bir role sahiptir (Board ve ark. 2013).

GST inhibitörleri, antikanser ajanlar arasında direnç gelişimini yönetmek için umut verici terapötik ajanlar olarak ortaya çıkmaktadır. Bu amaçla, GST inhibitörleri olarak bu sistemi hedefleyen çeşitli bileşik grupları belirlenmiş ve etkileri deneysel ve klinik olarak araştırılmıştır (Townsend ve ark. 2003; Mahajan, 2005) Bununla birlikte çeşitli onkogenlerde kanser kemoterapötik ajanlara direnç, belirli GST enzimlerinin aşırı eksprese edilmesi ve bunların GSH'a ilaç konjugasyonunu katalize edebilmesiyle bağlantılıdır. Örneğin GSTP1-1'in birçok insan tümör hücre hattında aşırı eksprese edildiği bilinmektedir. Bu nedenle, tümör kemosensitizörleri olarak düşük moleküler ağırlıklı GST inhibitörlerinin geliştirilmesi önemlidir (Yang ve ark. 2010). Literatürde tanımlanan GSTP1-1 inhibitörleri, küçük organik moleküller, GSH analogları, doğal ürünler ve GSH konjugatları olarak gruplandırılabilir (Mahajan ve Atkins 2005, Zhao ve ark. 2007, Morales ve Laborde 2007).

Canlı vücuduna giren birçok kimyasal madde ve ilaç enzim yapısını etkileyerek metabolizmada görev alan enzimlerin aktivitesini durdurabilir veya arttırabilir. Günümüzde terapötik olarak kullanılan aktif maddelerin önemli bir kısmını enzim inhibitörleri olarak işlev gören ilaçlar oluşturmaktadır (Demir 2020; Türkes ve ark. 2021c). Bu nedenle, tıbbi olarak aktif bileşiklerin metabolik enzimler üzerindeki etkilerinin belirlenmesi ilaç tasarım çalışmaları için çok önemlidir (Kalaycı ve ark. 2020; Sever ve ark. 2020). Fenolik bileşikler, bitkilerin pigmentasyonunda, büyümesinde ve üremesinde ve ayrıca patojenlere karşı bitki direncinde önemli rol oynayan ikincil bitki metabolitleridir. Ayrıca antioksidan, antimutajenik, antikanser, antikanserojenik, antiviral, antienflamatuar ve antibakteriyel ve biyolojik aktiviteler gibi birçok karakteristik özelliği olan moleküllerdir (Demir ve ark. 2019; Ceylan ve ark 2019). Biyokimyasal aktiviteleri nedeniyle, hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde dikkate değerdirler (Aslan ark. 2017; Demir ve ark. 2021). Bir dizi bilimsel kanıt, diyetle fenolik bileşiklerin eklenmesinin çeşitli hastalıkları iyileştiren ve sağlığı geliştirici etkileri olabileceğini bildirmiştir.

Bu çalışmada, GST enzimi insan eritrositlerinden saflaştırılarak enzimin aktivitesi üzerine morin hidrat, eskuletin hidrat, *p*-kumarik asit ve siringaldehit maddelerinin etkisi incelenmiştir. Sonuçlar kıyaslandığında maddelerin inhibisyon etkisi şu şekildedir: eskuletin hidrat (K_i : $0,179 \pm 0,019$) > siringaldehid (K_i : $0,999 \pm 0,070$) > morin hidrat (K_i : $1,610 \pm 0,120$) > *p*-kumarik asit (K_i : $4,590 \pm 0,480$). Eskuletin hidrat GST enzimi üzerine en iyi inhibisyon etkisi göstermiştir ve inhibisyon tipi yarışmalı olarak bulunmuştur. Bunun sebebi eskuletin hidratın yapısında bulunan OH⁻ iyonlarının pozisyonunun enzimin aktif bölgesine uyumunun diğer fenolik bileşiklere göre iyi olmasından kaynaklanabilir.



Şekil 2. Çalışmada kullanılan inhibitörlerin Lineweaver-Burk grafikleri

Tablo 1. IC₅₀, K_i değerleri ve inhibisyon tiplerini gösteren tablo

Fenolik Bileşikler	IC ₅₀ (µM)	K _i (µM)	İnhibisyon Tipi
Eskuletin Hidrat	0,713	0,179± 0,019	Yarışmalı
Siringaldehid	0,699	0,999±0,070	Yarışmasız
Morin Hidrat	0,718	1,610±0,120	Yarışmasız
p-kumarik Asit	0,701	4,590±0,480	Yarışmasız

Yapılan bu çalışmaya benzer şekilde literatürde ilaç veya kimyasalların GST enziminin aktivitesi ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Örneğin, yapılan bir çalışmada araştırmacılar GST'nin paklitaksel, siklofosamid ve gemitabin tarafından inhibe edildiğini belirlemişlerdir. Paklitakselin diğer bileşiklere kıyasla daha iyi inhibisyon etkisi gösterdiğini bulmuşlardır (Erat ve Şakiroğlu 2013). Gülçin ve ark (2016a) rosmarinik asidin GST enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerini incelemişler ve K_i sabiti değeri 48,74 µM olarak hesaplanmıştır. Başka bir çalışmada, kafeik asit esterinin GST üzerindeki inhibisyon etkileri incelenmiş K_i sabiti 0,453 nM olarak hesaplanmıştır (Gülçin ve ark 2016b).

Gülçin ve ark (2018) yaptıkları çalışmada üsnik asit, psoromik asit, floretin, eupatorin, eupatili ve Gardenin A gibi kimyasal bileşiklerin GST enzim aktivitesi üzerine inhibisyon etkileri araştırmış ve en iyi inhibisyon etkisi gösteren psoromik asitin K_i sabiti değerini 8,34 µM olarak hesaplamıştır.

Başka bir çalışmada *Daucus carota* L. ssp. bitkisinin metanol özütünden elde edilen fenolik bileşiklerin GST enziminin aktivitesi üzerine etkileri incelenmiştir. Klorojenik asit (2,089.096 µg g⁻¹), şikimik asit (193,14 µg g⁻¹) ve kumarin (113,604 µg g⁻¹) fenolik bileşikleri için IC₅₀ değeri belirlenmiştir (Atalar ve ark, 2021).

SONUÇ

Çalışmada kullanılan fenolik bileşik türevlerinin GST enzim aktivitesine karşı *in vitro* inhibisyon çalışması incelenmiş ve enzim aktivitesinde önemli düzeyde azalma görülmüştür. Eskuletin hidrat

bileşiği en iyi inhibisyon etkisi göstermiştir. Elde edilen sonuçlardan GST enzimi radikal giderici etkisi fenolik bileşiklerin ilaç tasarımında veya antikanser çalışmalarında önem arz edebilir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Ardahan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Ofisi tarafından desteklenmiştir (Proje Kimliği: 2019/006).

Çıkar Çatışması

Makalenin yazarı herhangi bir çıkar çatışmasını beyan eder.

Yazar Katkısı

Makaleye yazarlar eşit oranda katkı sağlamışlardır.

KAYNAKLAR

- Aksoy M, Küfrevioğlu OI, 2017. Inhibition of human erythrocyte glutathione S-transferase by some flavonoid derivatives. *Toxin Reviews*, 37: 251–257.
- Aksoy M, Ozaslan MS, Kufrevioğlu OI, 2016. Purification of glutathione S-transferase from Van Lake fish (*Chalcalburnus tarichii* Pallas) muscle and investigation of some metal ions effect on enzyme activity. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31(4): 546-550.
- Aslan HE, Demir Y, Özaslan MS, Türkan F, Beydemir Ş, Küfrevioğlu ÖI, 2020. The behavior of some chalcones on acetylcholinesterase and carbonic anhydrase activity. *Drug and Chemical Toxicology*, 42(6): 634-640.
- Aslan HE, Beydemir S, 2017. Phenolic compounds: the inhibition effect on polyol pathway enzymes. *Chemico-Biological Interactions*, 266: 47 – 55.
- Atalar MN, Aras A, Türkan F, Barlak N, Yıldiko Ü, Karatas OF, Alma MH, 2021. The effects of *Daucus carota* extract against PC3, PNT1a prostate cells, acetylcholinesterase, glutathione S-transferase, and α -glycosidase; an in vitro–in silico study. *Journal of Food Biochemistry*, 45(12): e13975.
- Bayrak S, Öztürk C, Demir Y, Alım Z, Küfrevioğlu ÖI, 2020. Purification of polyphenol oxidase from potato and investigation of the inhibitory effects of phenolic acids on enzyme activity. *Protein and Peptide Letters*, 27(3): 187-192.
- Board PG, Menon D, 2013. Glutathione transferases, regulators of cellular metabolism and physiology. *Biochimica et Biophysica Acta (bba)-General Subjects*, 1830(5): 3267-3288.
- Buravlev EV, Dvornikova IA, Schevchenko OG, Kutchin AV, 2019. Synthesis and Antioxidant Ability of Novel Derivatives Based on para-Coumaric Acid Containing Isobornyl Groups. *Chemistry & Biodiversity*, 16(10): e1900362.
- Ceylan H, Demir Y, Beydemir Ş, 2019. Inhibitory effects of usnic and carnosic acid on some metabolic enzymes: an in vitro study. *Protein and Peptide Letters*. 26 (5): 364 – 370.
- Demir Y, 2019. The behaviour of some antihypertension drugs on human serum paraoxonase-1: an important protector enzyme against atherosclerosis. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 71(10): 1576-1583.
- Demir Y, 2020. Naphthoquinones, benzoquinones, and anthraquinones: Molecular docking, ADME and inhibition studies on human serum paraoxonase-1 associated with cardiovascular diseases. *Drug Development Research*, 81(5): 628-636.
- Demir Y, Ceylan H, Türkeş C, Beydemir Ş, 2021. Molecular docking and inhibition studies of vulpinic, carnosic and usnic acids on polyol pathway enzymes. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-14. <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1967195>
- Demir Y, Durmaz L, Taslimi P, Gulçin İ, 2019. Antidiabetic properties of dietary phenolic compounds: Inhibition effects on α -amylase, aldose reductase, and α -glycosidase. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 66(5): 781-786.

- Demir Y, Isık M, Gulcin I, Beydemir S, 2017. Phenolic compounds inhibit the aldose reductase enzyme from the sheep kidney. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 31(9): e21935.7
- Demir Y, Özasan MS, Duran HE, Küfrevioğlu Öİ, Beydemir, Ş, 2019. Inhibition effects of quinones on aldose reductase: antidiabetic properties. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 70: 103195.
- Erat M, Sakiroglu H, 2013. The effect of some antineoplastic agents on glutathione S-transferase from human erythrocytes. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 28(4): 711.
- Gulcin I, Scozzafava A, Supuran CT, Akıncioğlu H, Koksall Z, Turkan F, Alwasel S, 2016b. The effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on metabolic enzymes including acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, glutathione S-transferase, lactoperoxidase, and carbonic anhydrase isoenzymes I, II, IX, and XII. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31 (6): 1095.
- Gulcin I, Scozzafava A, Supuran CT, Koksall Z, Turkan F, Cetinkaya S, Bingol Z, Huyut Z, Alwasel SH, 2016a. Rosmarinic acid inhibits some metabolic enzymes including glutathione S-transferase, lactoperoxidase, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and carbonic anhydrase isoenzymes. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31(6): 1698.
- Gülçin İ, Taslimi P, Aygün, A, Sadeghian N, Bastem E, Kufrevioğlu Oİ, Şen F, 2018. Antidiabetic and antiparasitic potentials: Inhibition effects of some natural antioxidant compounds on α -glycosidase, α -amylase and human glutathione S-transferase enzymes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 119: 741-746.
- Gülçin İ, Beydemir S, 2013. Phenolic compounds as antioxidants: carbonic anhydrase isoenzymes inhibitors. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 13(3): 408-430.
- Gülçin İ, Elias R, Gepdiremen A, Boyer L, 2006. Antioxidant activity of lignans from fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.) *European Food Research and Technology*, 223: 759.
- Ibrahim MNM, Balakrishnan RS, Shamsudeen S, Bahwani SA, Adam F, 2012. A concise review of the natural existence, synthesis, properties, and applications of syringaldehyde. *BioResources*, 7(3): 4377-4399.
- Kalaycı M, Türkeş C, Arslan M, Demir Y, Beydemir Ş, 2021. Novel benzoic acid derivatives: Synthesis and biological evaluation as multitarget acetylcholinesterase and carbonic anhydrase inhibitors. *Archiv der Pharmazie*, 354(3): 2000282.
- Kirici M, Kirici M, Demir Y, Beydemir S, Atamanalp M, 2016. The effect of Al^{+3} and Hg^{+2} on glucose 6-phosphate dehydrogenase from capoeta umbla kidney. *Applied Ecology and Environmental Research*, 14(2): 253-264.
- Lineweaver H, Burk D, 1934. The determination of enzyme dissociation constants. *Journal of the American Chemical Society*, 56(3): 658-666.
- Mahajan S, Atkins WM, 2005. The chemistry and biology of inhibitors and pro-drugs targeted to glutathione S-transferases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62: 1221 – 1233.
- Mazzetti AP, Maria MC, Primavera A, Bello ML, 2015. Glutathione transferases and neurodegenerative diseases. *Neurochemistry International*, 8: 10–18.
- Morales GA, Laborde E, 2007. Small-molecule inhibitors of glutathione S-transferase P1-1 as anticancer therapeutic agents. *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, 42: 321-335.
- Olonode ET, Aderibigbe AO, Adeoluwa OA, Eduviere AT, Ben-Azu B, 2019. Morin hydrate mitigates rapid eye movement sleep deprivation-induced neurobehavioural impairments and loss of viable neurons in the hippocampus of mice. *Behavioural Brain Research*, 356: 518–525.
- Ozaslan MS, Demir Y, Kufrevioğlu Oİ, Ciftci M, 2017. Some metals inhibit the Glutathione S-transferase from Van Lake fish gills. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 31(11): e21967.
- Özaslan MS, Demir Y, Aksoy M, Küfrevioğlu Öİ, Beydemir Ş, 2018a. Inhibition effects of pesticides on glutathione-S-transferase enzyme activity of Van Lake fish liver. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 32(9): e22196.

- Özaslan MS, Demir Y, Aslan HE, Beydemir Ş, Küfrevioğlu Öİ, 2018b. Evaluation of chalcones as inhibitors of glutathione S-transferase. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 32(5): e22047.
- Pizzorno J, 2014. Glutathione!. *Integrative Medicine (Encinitas, Calif.)*, 13(1), 8–12.
- Rajput SA, Wang XQ, Yan HC, 2021. Morin hydrate: A comprehensive review on novel natural dietary bioactive compound with versatile biological and pharmacological potential. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 138: 111511
- Sever B, Türkeş C, Altıntop M. D, Demir Y, Beydemir, Ş. 2020. Thiazolyl-pyrazoline derivatives: In vitro and in silico evaluation as potential acetylcholinesterase and carbonic anhydrase inhibitors. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163: 1970-1988.
- Subramaniam SR, Ellis EM, 2013. Neuroprotective effects of umbelliferone and esculetin in a mouse model of Parkinson's disease. *Journal of Neuroscience Research*, 91(3): 453–461.
- Townsend DM, Tew KD, 2003. The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance. *Oncogene*, 22: 7369 – 7375.
- Türkan F, Huyut Z, Demir Y, Ertuş F, Beydemir Ş, 2019. The effects of some cephalosporins on acetylcholinesterase and glutathione S-transferase: an in vivo and in vitro study. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 125(3): 235-243.
- Türkeş C, Demir Y, Beydemir Ş. 2021c. Calcium channel blockers: Molecular docking and inhibition studies on carbonic anhydrase I and II isoenzymes. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39(5): 1672-1680.
- Türkeş C, Kesebir AÖ, Demir Y, Küfrevioğlu Öİ, Beydemir Ş. 2021b. Calcium Channel Blockers: The Effect of Glutathione S-Transferase Enzyme Activity and Molecular Docking Studies. *ChemistrySelect*, 6(40): 11137-11143.
- Türkeş, C, Demir Y, Beydemir Ş. 2021a. Infection Medications: Assessment In-Vitro Glutathione S-Transferase Inhibition and Molecular Docking Study. *ChemistrySelect*, 6(43): 11915-11924.
- Yancheva D, Velcheva, E, Glavcheva Z, Stamboliyska B, Smelcerovic A, 2016. Insights in the radical scavenging mechanism of syringaldehyde and generation of its anion. *Journal of Molecular Structure*, 1108: 552-559.
- Yang X, Liu G, Li H, Zhang Y, Song D, Li C, Zhao G, 2010. Novel oxadiazole analogues derived from ethacrynic acid: design, synthesis, and structure– activity relationships in inhibiting the activity of glutathione S-transferase P1-1 and cancer cell proliferation. *Journal of Medicinal Chemistry*, 53(3): 1015-1022.
- Zhao G, Liu, C, Wang, R, Song, D, Wang X, Lou H, Jing Y, 2007. The synthesis of α , β -unsaturated carbonyl derivatives with the ability to inhibit both glutathione S-transferase P1-1 activity and the proliferation of leukemia cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15(7): 2701-2707.