



Journal of Ata-Chem Ata-Kimya Dergisi

Official Journal of Atatürk University Faculty of Science

Volume 3 • Issue 1 • May 2023



EISSN 2822-3926
dergipark.org.tr/en/pub/atakim



FEN FAKÜLTESİ
Faculty of Science

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ / ATATÜRK UNIVERSITY

ATA-KİMYA DERGİSİ
JOURNAL OF ATA-CHEM

ISSN : 2822-3926

JOURNAL OF ATA-CHEM
(J Ata-Chem)

ATA-KİMYA DERGİSİ
(Ata-Kim Derg)

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/atakim>

MAYIS / MAY

YIL / YEAR 2023

CİLT / VOLUME: 03

SAYI / ISSUE: 01



FEN FAKÜLTESİ
Faculty of Science

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ / ATATÜRK UNIVERSITY

ATA-KİMYA DERGİSİ
JOURNAL OF ATA-CHEM

ISSN : 2822-3926

EDITORIAL BORD

EDITOR-in-CHIEF

Associate Professor Elif ŞENKUYTU

Atatürk University, Faculty of Science, Department of Chemistry, Erzurum, Turkey

e-mail: jof.atachem@atauni.edu.tr

Phone: +904422314114

ASSİSTANT EDİTOR

Prof. Dr. Ömer İrfan KÜFREVİOĞLU

e-mail: okufrevi@atauni.edu.tr

TECHNICAL COMMUNICATION

Prof. Dr. Esra TANRVERDİ EÇİK

e-mail: esra.ecik@atauni.edu.tr

HAKEM VE DANIŞMAN LİSTESİ / LIST OF REFEREES

- Prof. Dr. Gönül YENİLMEZ ÇİFTÇİ (Gebze Teknik Üniversitesi, Temel Bilimler Fakültesi, Kocaeli)
- Prof. Dr. Tuba ÖZNÜLÜER (Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Erzurum)
- Prof. Dr. Tuba YILDIRIM (Amasya Üniversitesi, Fen- Edebiyat Fakültesi, Amasya)
- Doç. Dr. Aytuğ OKUMUŞ (Ankara Üniversitesi)
- Doç. Dr. Derya DAVARCI SUCİ (Gebze Teknik Üniversitesi, Gebze Teknik Üniversitesi, Temel Bilimler Fakültesi, Kocaeli)
- Doç. Dr. Erdinç DOĞANCI (Kocaeli Üniversitesi)
- Doç. Dr. Ertuğrul Gazi SAĞLAM (Marmara Üniversitesi)
- Doç. Dr. Gamze ELMAS (Ankara Üniversitesi)
- Doç. Dr. Kenan KORAN (Fırat Üniversitesi)
- Doç. Dr. Mehmet PİŞKİN (Çanakkale Üniversitesi)
- Doç. Dr. Murat BİNGÜL (Dicle Üniversitesi)
- Dr. Öğr. Üy. Baybars KÖKSOY (Bursa Teknik Üniversitesi)
- Dr. Öğr. Üy. Deryanur KILIÇ (Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Erzurum)
- Dr. Öğr. Üy. Melike SEVİM (Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Erzurum)

YAYIN KURULU LİSTESİ / EDITORIAL BOARD LIST

- Prof. Dr. Nurhan KISHALI (Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Erzurum/Türkiye)
- Prof. Dr. Semra KARACA (Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Erzurum/Türkiye)
- Doç. Dr. Elif ŞENKUYTU (Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Erzurum/Türkiye)
- Doç. Dr. Haydar KILIÇ (Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Erzurum/Türkiye)

* Hakem ve Yayın Kurulu sıralaması unvan ve isime göre alfabetik olarak verilmiştir.



JOURNAL OF ATA-CHEM / ATA-KİMYA DERGİSİ
(*J Ata-Chem /Ata-Kim Derg*)

CONTENTS / İÇİNDEKİLER

ARTICLES / MAKALELER	Page /Sayfa
Gülşen AKGÜL, Serkan ÖZTÜRK “Synthesis of two cationic surfactants containing different functional groups linked to pyridinium nitrogen and their corrosion inhibition properties in 1.0 M HCl” “Piridinyum azotuna bağlı farklı fonksiyonel grup içeren iki adet katyonik yüzey aktif maddenin sentezi ve 1.0 M HCl ortamındaki korozyon inhibisyon özellikleri”	1-8
Adem ERTÜRK “Determination of Anticholinergic Effects of p-Nitroaniline” “p-Nitroanilin'in antikolinergik etkilerinin belirlenmesi”	9-15
Özkan AÇIŞLI, Eylül Miray CEYLAN, Rüstem BİLMEZ “Removal of Crude Oil Pollution in Water Using Expanded Perlite, Corn cob and Fiber” “Genleşmiş Perlit, Mısır Koçanı ve Elyaf Kullanılarak Sudaki Ham Petrol Kirliliğinin Giderilmesi”	16-21
Nurhan KİSHALI “Cyclic Polyalcohols: Inositol, Quercitol, Conduritol, Carba-Sugar and Gabosine” “Siklik Polialkoller: İnositol, Quersitol, Konduritol, Karba-Şeker ve Gabosin”	22-30
Pınar GÜLLER “Some phenolic compounds as inhibitors of glutathione S-transferase and glutathione reductase: an in vitro and in silico analysis” “Bazı fenolik bileşiklerle glutatyon s-transferaz ve glutatyon redüktaz inhibisyonu: in vitro ve in siliko analiz”	31-37



Synthesis of two cationic surfactants containing different functional groups linked to pyridinium nitrogen and their corrosion inhibition properties in 1.0 M HCl

Gülşen AKGÜL^{1a}, Serkan ÖZTÜRK^{1b,*}

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi, Kimya Bölümü, Bursa, Türkiye

(ORCID: ^a 0000-0003-1231-8385, ^b 0000-0002-9396-1403)

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
26.04.2023	26.05.2023	15.06.2023

Abstract: Pyridinium derivatives are among the surfactants widely used in the field of corrosion prevention. These derivatives can be used in various applications to improve the durability of metal materials, provide long-lasting protective coatings and combat corrosion. Based on this property of pyridinium surfactants, in this study, two cationic surfactants with different functional groups (one amide and one ester group) attached to pyridinium nitrogen were synthesized and their structures were confirmed by spectroscopic method (FT-IR). The inhibitory activities of these synthesized products against corrosion of mild steel in 1.0 M HCl medium were determined and compared among themselves. The weight loss method on metal plates was used to determine the inhibitory activity. For this, metal plates were immersed for 24 hours in 1.0 M HCl solutions without inhibitors and with different concentrations of inhibitors. At room temperature of 25 °C, the corrosion inhibition of both synthesized compounds was found to be close to each other. However, at the lower inhibitor concentrations studied, the inhibitor containing the ester functional group showed slightly better inhibition activity. Adsorption isotherm studies were performed to obtain accurate information about the corrosion inhibition mechanism. Isotherm studies based on gravimetric measurements revealed that the adsorption of the synthesized compounds was consistent with the Langmuir isotherm. In addition, in order to support the corrosion inhibition efficiency results, at the end of the corrosion tests, the morphological changes of the surface were observed by taking images of the metal surface with an optical microscope camera.

Keywords: Synthesis, Corrosion inhibitor, Weight loss, Adsorption isotherm, Acidic medium

Piridinyum azotuna bağlı farklı fonksiyonel grup içeren iki adet katyonik yüzey aktif maddenin sentezi ve 1.0 M HCl ortamındaki korozyon inhibisyon özellikleri

Özet: Piridinyum türevleri, korozyon önleme alanında yaygın olarak kullanılan yüzey aktif maddeler arasındadır. Bu türevler, metal malzemelerin dayanıklılığını artırmak, uzun ömürlü koruyucu kaplamalar sağlamak ve korozyonla mücadele etmek için çeşitli uygulamalarda kullanılabilir. Piridinyum yüzey aktif maddelerin bu özelliğinden yola çıkarak, bu çalışmada, piridinyum azotuna bağlı farklı fonksiyonel gruplara (biri amit diğeri ester grubu) sahip iki pozitif yüklü sürfaktanın sentezi gerçekleştirilmiş ve FT-IR yöntemiyle yapısındaki fonksiyonel grupları doğrulanmıştır. Sentezlenen bu ürünlerin 1.0 M hidroklorik asit ortamında düşük karbonlu çeliğin korozyonuna karşı inhibitör aktiviteleri belirlenmiş ve kendi aralarında karşılaştırılmıştır. İnhibitör aktiviteyi belirlemek için metal plakalar üzerinde kütle kaybı yöntemi kullanılmıştır. Bunun için metal plakalar 24 saat boyunca inhibitörsüz ve farklı konsantrasyonlarda inhibitör içeren 1.0 M HCl çözeltilerine daldırılmıştır. Oda sıcaklığı olan 25 °C'de, sentezlenen her iki bileşiğin korozyon inhibisyonunun birbirine yakın olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, çalışılan daha düşük inhibitör konsantrasyonlarında, ester fonksiyonel grubu içeren inhibitör biraz daha iyi inhibisyon etkinliği göstermiştir. Korozyon inhibisyon mekanizması hakkında doğru bilgi edinmek için adsorpsiyon izoterm çalışmaları yapılmıştır. Gravimetrik ölçümlere dayanan izoterm çalışmaları, sentezlenen bileşiklerin adsorpsiyonunun Langmuir izotermi ile uyumlu olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca korozyon önleme etkinliği sonuçlarını desteklemek amacıyla korozyon testleri sonunda optik mikroskop kamerası ile metal yüzeyinin görüntüleri alınarak yüzeyin morfolojik değişimleri gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Sentez, Korozyon inhibitörü, Kütle kaybı, Adsorpsiyon izotermi, Asidik ortam

1 GİRİŞ

Korozyon olayı, malzemelerin çevresel etkiler ve kimyasal/elektrokimyasal reaksiyonlar sonucunda fiziksel, kimyasal ve mekanik özelliklerinde değişime yol açan istenmeyen bir durumdur [1]. Bu durum, her ülkenin ekonomik açıdan büyük kayıplar yaşamasına sebep olan bir durumdur. Eğer malzeme özellikle metallere ve alaşımlardan oluşuyorsa, bu durumda metal korozyonu terimi kullanılır ve metalik korozyon, metal endüstrisini olumsuz yönde etkiler. Korozyonun etkilediği sadece demir ve çelik endüstrisi değil, aynı zamanda bu endüstriden yararlanarak gerçekleştirilen tüm yatırımların verimini olumsuz etkiler. Bu durum, malzeme, enerji ve emek kayıplarına neden olur. Ülkemiz için bu kayıpların gayri safi milli hasılanın % 4.5 dolayında olduğu belirlenmiştir [2,3]. Korozyonun maddi kayıplara neden olması bir yana, çevre kirliliğine ve insan sağlığına zarar vermesi de gözardı edilmemelidir.

Endüstride, metal yüzeyindeki pasın, kirecin ve yabancı maddelerin temizlenmesi için, çoğunlukla HCl ve H₂SO₄ çözeltilerinin kullanıldığı, etkili bir yüzey temizleme yöntemi olan asitle temizleme (pikling) işleminin uygulanmaktadır [4]. Bu işlem sırasında asitle temas eden metal yüzeyinde zamanla yükseltgenme sonucu metal korozyonu meydana gelmektedir. Asidik ortamda meydana gelen metalik korozyonun anot reaksiyonunda metal yükseltgenirken, katot reaksiyonunda da asitten gelen hidrojen iyonları metalin verdiği elektronları alıp indirgenerek H₂ gazı oluşturmaktadır [5].

Asidik ortamda hızlı bir şekilde seyreden korozyonu engellemek veya azaltmak için inhibitör kullanmak, en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. Düşük konsantrasyonlarda korozif elektrolit çözeltilisine ilave edilerek korozyon olayının hızını dikkate değer bir şekilde azaltan maddeler olan korozyon inhibitörleri, korozif elektrolit ortamda yeterince iyi çözünerek, yüzeye iyi tutunup yüzeyin veya aktif merkezlerin çözeltiliyle temasını keserek anti-korozyon etkilerini göstermektedirler [5].

Son zamanlardaki araştırmalar, metal korozyonunu önlemek için kullanılan önemli bir bileşik sınıfının yüzey aktif maddeler olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle yapısında piridinyum iyonu barındıran katyonik yüzey aktif maddeler ile ilgili araştırmalar dikkat çekmektedir [6-12]. Tüm bu araştırmalarda, çalışılan piridinyum yüzey aktif maddelerin metal yüzeyler üzerinde koruyucu tabakalar oluşturdukları ve bu şekilde korozyon sürecini etkileyerek metallere dayanıklılığını artırıp korozyona bağlı hasarı azalttıkları bildirilmiştir. Bu araştırmaların çoğalmasına adına, bu çalışmada, piridinyum azotuna bağlı farklı fonksiyonel gruplara (biri amit ve diğeri ester grubu) sahip iki katyonik yüzey aktif madde sentezlenmesi ve bu bileşiklerin 1.0 M HCl çözeltilisinde meydana gelen

metal korozyona karşı inhibitörlük özelliklerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Bununla birlikte, korozyon inhibisyon mekanizması hakkında elle tutulur değerlendirmeler yapabilmek adına adsorpsiyon izoterm çalışmalarının yapılması ve metal yüzeyini korozyona karşı koruduklarını görsel olarak ortaya koyabilmek için ise optik mikroskop kamera Bushman, İstanbul, Türkiye) ile metal yüzeyi görüntülerinin alınması hedeflenmiştir.

2 MATERYAL VE METOD

Sentezlerde kullanılan reaktif ile çözücülerden laurik asit (dodekanoik asit), 2-aminopiridin, trietilamin (TEA), kloroform ve asetonitril Merck (Merck, Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir. Etil-kloroasetat ile 2-kloroasetamid reaktifleri Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, ABD), tıyonil klorür bileşiği ise Acros Organics firmasından (Thermo Fisher Scientific Geel, Belçika) satın alınmıştır. Korozyon ortam olarak kullanılan 1.0 M HCl çözeltilisi, yine Merck firmasından (Merck, Darmstadt, Almanya) satın alınan kütlece %37'lik HCl çözeltilisinden hazırlanmıştır.

Sentezlenen son ürünlerin FT-IR spektrumları, Perkin-Elmer firmasına ait Spectrum Two FT-IR spektrometresinde (Shelton, Connecticut, ABD) alınmıştır. Element analizleri bir LECO CHNS-932 element analizörü (Saint Joseph, Michigan, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Metal kuponların sabit tartıma gelene kadar kurutulmaları için NUVE EV 018 marka vakum etüvü (Ankara, Türkiye) kullanılmıştır. Korozyon testinden hemen sonra metal plakaların 1000 kat büyütölmüş yüzey görüntüleri Bushman marka dijital mikroskop kamera (İstanbul, Türkiye) ile alınmıştır.

2.1 Bileşiklerin Sentezi

Reaksiyonun ilk aşamasında laurik asit, tıyonil klorür ile asetonitril ortamında asit klorürüne dönüştürölmüş ve hemen ardından 2-amino piridin ile amit türevi (**1**) sentezlenmiştir. **1** nolu bileşik daha sonra, ayrı ayrı olarak 2-kloroasetamid ve etil kloroasetat reaktifleri ile asetonitril içerisinde 24 saat geri soğutucu altında kaynatılması suretiyle son ürünler (**2** ve **3**) elde edilmiştir. 2-kloroasetamid ile reaksiyonundan **2** nolu amit fonksiyonel grubu içeren, etil kloroasetat ile reaksiyonundan ise **3** nolu ester fonksiyonel grubu içeren katyonik yüzey aktif madde sentezlenmiştir. Sentezlere ait reaksiyon şeması Şekil 1'de gösterilmiştir.

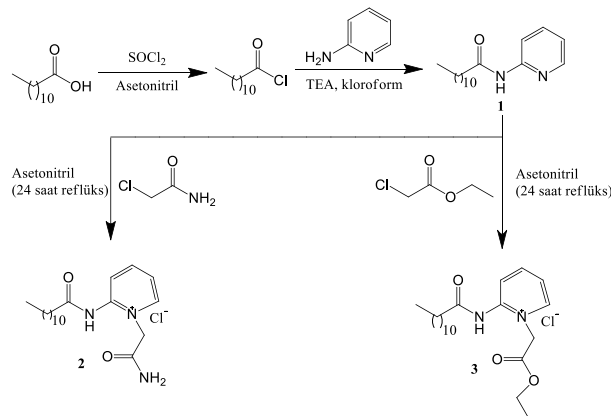
2.1.1. 1-(2-amino-2-oksoetil)-2-dodekanamidopiridin-1-ium klorür (**2**) bileşiğinin sentez ve karakterizasyon verileri

Aynı mol oranında **1** nolu bileşik ile 2-kloroasetamid 100mL'lik reaksiyon balonuna alındı ve içerisine

çözücü olarak yaklaşık 30 mL asetonitril eklenerek 24 saat boyunca geri soğutucu altında kaynatıldı. Sürenin sonunda çözücü evaporatörde buharlaştırıldı ve balonda kalan kalıntı, eter ile iki sefer yıkandı. Son ürün olarak elde edilen yağimsı katı vaks tarzında madde kurutuldu ve miktarı belirlendi. Verim: % 27. $C_{19}H_{32}ClN_3O_2$ (M_A : 369.93 g mol⁻¹) için Elem. Anal. (hesaplanan): C, 61.69; H, 8.72; Cl, 9.58; N, 11.36; O, 8.65. (Bulunan): C, 61.82; H, 8.78; N, 11.25. FT-IR (ATR, cm⁻¹) v: 3378, 3290 (primer amit, N-H), 3163 (sekonder amit, N-H), 3013 (aromatik C-H), 2958, 2919 (alifatik C-H), 1640 (sekonder amit C=O), 1614 (primer amit C=O).

2.1.2. 2-dodekanamido-1-(2-etoksi-2-oksoetil)piridin-1-ium klorür (3) bileşiğinin sentez ve karakterizasyon verileri

2 nolu madde için kullanılan sentez prosedürünün aynısı uygulanmıştır. Ürün olarak elde edilen yağimsı katı vaks tarzında madde kurutuldu ve miktarı belirlendi. Verim: % 69. $C_{21}H_{35}ClN_2O_3$ (M_A : 398.97 g mol⁻¹) için Elem. Anal. (hesaplanan): C, 63.22; H, 8.84; Cl, 8.89; N, 7.02; O, 12.03. (Bulunan): C, 63.32; H, 8.96; N, 6.95. FT-IR (ATR, cm⁻¹) v: 3354, (amit, N-H), 3064 (aromatik C-H), 2955, 2916, 2850 (alifatik C-H), 1727 (ester C=O), 1683 (amit C=O).



Şekil 1. Katyonik yüzey aktif maddelerin sentez şeması

2.2. Asidik Ortamda Gerçekleştirilen Korozyon Testleri

Düşük karbon içerikli soğuk haddelenmiş çelikten yapılan metal plakalar, asidik ortamda gerçekleştirilen korozyon testlerinde kullanılmıştır. Bu çelik malzeme, DIN EN 10130 [13] standardına uygun olarak hazırlanmıştır ve kimyasal bileşimi Tablo 1'de verilmiştir. Metal plakalar, 0.1 cm kalınlığında, 2.2 cm genişliğinde ve 5.0 cm uzunluğunda dikdörtgen şeklinde kesilmiştir.

Tablo 1. Korozyon testlerinde kullanılan çelik malzemenin elementel bileşim yüzdeleri

Elementel Bileşim Yüzdeleri (%)				
C	Mn	P	S	Fe
0.07	0.35	0.015	0.015	Geri kalanı

Kütle kaybı yöntemine dayalı korozyon testlerinin hazırlık aşaması, daha önce literatürde bildirilen yöntem [5] doğrultusunda gerçekleştirildi. 0.1 x 2.2 x 5.0 cm boyutlarında (kalınlık x genişlik x uzunluk) kesilen metal plakalar, üzerlerinde var olabilecek pas ve oksit tabakalarının giderilmesi adına %15'lik HCl çözeltisinde 5 dakika boyunca bekletildi. Akabinde metal kuponlar saf su ile temizlendi. Kurutulan metal plakaların yüzeyi 180 numaralı zımpara kağıdıyla zımparalanmış ve ardından bir süre boyunca aseton içinde tutulmuştur. Asetondan çıkarılan plakalar, bir vakum fırınında (NUVE EV 018 vakum etüvü, Ankara, Türkiye) ve daha sonra sabit tartıma kadar kısa bir süre açık havada kurutuldu ve test öncesi metal plakanın kütlesi tartıldı.

1.0 M HCl çözeltisi, korozyon testlerinden hemen önce, taze bir şekilde hazırlanmıştır. Teste sokulan tek pozitif yüklü sürfaktanlar, belirli miktarlarda tartılarak 100 mL 1.0 M HCl içinde çözündürüldü ve daha sonra 150 mL'lik kapaklı cam kaplara yerleştirildi. Böylelikle inhibitörlerin asidik ortamda 5, 25, 50, 100 ve 250 ppm çözeltileri hazırlanmıştır. Diğer taraftan kontrol testi ve karşılaştırma için 100 mL 1.0 M HCl başka bir cam kaba konuldu ve içerisine inhibitör eklenmedi. Hazırlanan inhibitörsüz ve inhibitörlü asidik çözeltilere, ön test tartımı yapılan metal plakalar ip ile bağlanarak daldırıldı. Bu plakalar karıştırılmadan 24 saat boyunca oda sıcaklığında bekletildi. 24 saatlik test süresinden sonra aşındırıcı ortamdan çıkarılan metal plakalar, bir piset kullanılarak damıtılmış su ile durulanmıştır. Plakalar daha sonra aseton ile temizlendi; önce bir vakumlu fırında (NUVE EV 018 vakum etüvü, Ankara, Türkiye), daha sonra kısaca açık havada kurutuldu ve testten sonra metalin kütlesi tartıldı.

2.3. Dijital Mikroskop Kamera ile Metal Yüzeyi Görüntüsü Alma

Asidik ortamda gerçekleştirilen korozyon testlerinin ardından metal plakalar aseton ile yıkayıp vakum desikatöründe kurutulduktan sonra dijital mikroskop kamera (Bushman, İstanbul, Türkiye) ile metal yüzeylerin 1000 kat büyütülmüş ortamlarına ait görüntüleri elde edildi.

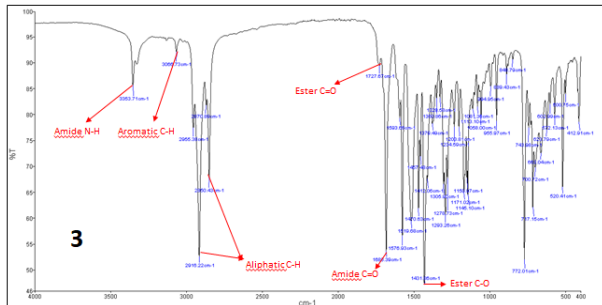
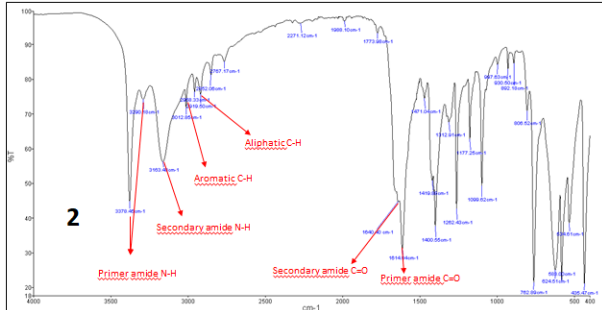
3 BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Sentezlenen Yüzey Aktif Maddelerin FT-IR Spektrumları

Sentezlenen son ürünlere ait (2 ve 3) FT-IR spektrumları Şekil 2’de verilmiştir. Şekillerde görülen amit N-H, aromatik C-H, amit C=O ile ester C=O gerilmelerine ait pikler, bileşiklerin başarılı bir şekilde sentezlendiklerine dair kuvvetli bir delil teşkil etmektedir. Her ne kadar 2 nolu bileşiğin verimi düşük çıkmış olsa da (% 27), ki eter ile yıkama esnasında bir kısmı eter fazına geçtiği için böyle olduğu düşünülmekte, hem primer hem de sekonder amit gruplarına ait karakteristik piklerin görülmesi bileşiklerin yapılarının doğrulanmasındaki kanıtı güçlendirmektedir.

3.2. 1,0 M HCl Çözeltilerinde Korozyon Testleri

Tablo 2’de, 1.0 M asidik korozif ortamda metal yüzeyine tutturulmuş farklı konsantrasyonlardaki 2 ve 3 nolu katyonik yüzey aktif maddelerin, 24 saat boyunca 1.0 M HCl asit çözeltisine daldırılması sonucu metal plakalardaki kütle kaybından hesaplanan korozyon hızı ve inhibisyon etkinliği sonuçları verilmiştir.



Şekil 2. Sentezlenen inhibitörlerin FT-IR spektrumları

Tablo 2 Oda sıcaklığında 24 saat boyunca 1.0 M hidroklorik asit çözeltisi içerisinde farklı inhibitör konsantrasyonlarına maruz bırakılan metal kuponlarda kütle kaybı ölçümüyle hesaplanan korozyon hızı ile korozyon önleme verimlilikleri (% IE).

İnhibitör Konsantrasyonu (ppm)	Korozyon Hızı (mg cm ⁻² sa ⁻¹) x 10 ⁻²		İnhibisyon Etkinliği (% IE)	
	2	3	2	3
0	21.06	21.06	-	-
5	3.79	3.07	82.01	85.43
25	3.11	2.69	85.25	87.23
50	2.42	2.27	88.49	89.21
100	2.95	2.12	85.97	89.93
250	1.48	1.55	92.98	92.63

Korozyon inhibitörlerini doğrudan 1.0 M HCl çözeltisinde çözerek ve metal kuponları 24 saat boyunca oda sıcaklığında bu aşındırıcı asit çözeltisine daldırarak yapılan inhibisyon testlerinin ardından korozyon hızını (K.H.) hesaplamak için denklem 1 kullanılmıştır [14,15].

$$K.H. = \frac{\Delta W}{A \times t} \quad (1)$$

ΔW mg cinsinden kütle kaybı, A cm² cinsinden metal plaka yüzey alanı ve t saat cinsinden daldırma süresidir. Korozyon inhibisyon etkinliği (IE) sonuçları aşağıda verilen denklem 2 ile belirlenmiştir [16].

$$IE (\%) = \left(\frac{W_o - W}{W_o} \right) \times 100 \quad (2)$$

Burada; $IE (\%)$: yüzde inhibisyon etkinliği, W_o : inhibitör olmayan korozif çözeltideki metalin kütle kaybı, W : inhibitör içeren korozif çözeltideki metalin kütle kaybıdır. Tablo 2’deki değerlere bakıldığında, her iki inhibitörün çalışılan inhibitör konsantrasyonlarda korozyon hızını düşürdükleri ve ayrıca inhibisyon etkinliği sonuçlarının birbirine yakın olduğu görülmektedir. Bu sonuç ise, sentezlenen katyonik yüzey aktif maddelerin çalışılan inhibitör konsantrasyonlarında etkin birer korozyon inhibitörleri olduklarını göstermektedir. Bununla birlikte, daha düşük inhibitör konsantrasyonlarında ester fonksiyonel grubu içeren 3 nolu bileşiğin 2 nolu bileşiğe nazaran biraz daha iyi korozyon inhibisyon etkinliği sağladığı görülmüştür.

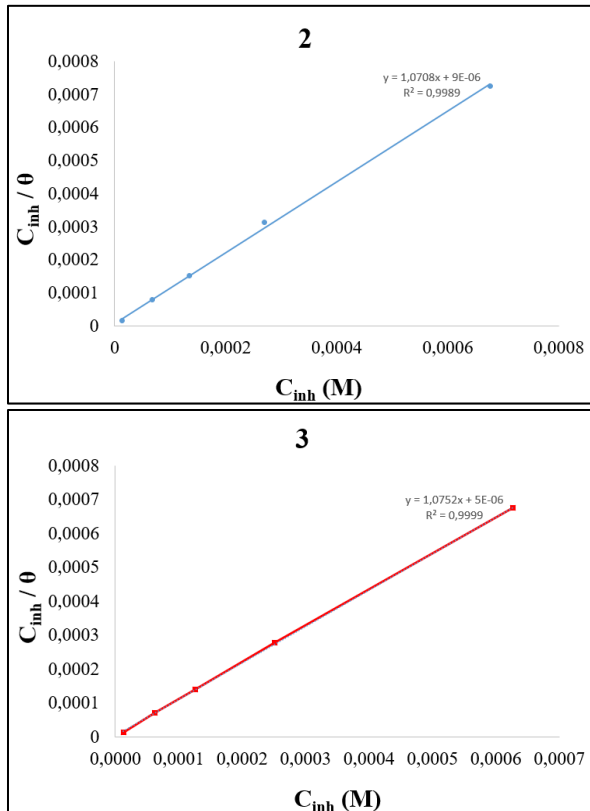
3.3. Adsorpsiyon İzotermi

Korozyon inhibisyon mekanizması hakkında bilgi edinmek için yapılan adsorpsiyon izoterm deneyleri, adsorbe olmuş moleküllerin metal yüzeyindeki aktif bölgelerle etkileşimi hakkında bilgi verir [17,18]. Kabul edilen görüşe göre, organik inhibitörler tarafından korozyon inhibisyonu, adsorbe edilmiş su moleküllerini metal yüzeyinden uzaklaştırır. Bunu yapmak için, organik inhibitör molekülleri bir metal yüzeyine iki şekilde adsorbe olabilir. Bunlar elektrostatik çekim sonucu olan fiziksel adsorpsiyon ve kimyasal bağlanma sonucu olan kimyasal adsorpsiyondur [19-21].

Çeşitli standart adsorpsiyon izotermi arasında en iyi uyum Langmuir izoterminde elde edilmiştir. Çünkü en yüksek doğrusal korelasyon katsayısı (2 nolu bileşik için $R^2 = 0.9989$, 3 nolu bileşik için ise $R^2 = 0.9999$) Langmuir izoterm grafiklerinde elde edilmiştir. Söz konusu bu grafikler Şekil 3'te görülmektedir. İki katyonik yüzey aktif maddenin 1.0 M HCl çözeltisindeki düşük karbonlu çeliğin yüzeyindeki adsorpsiyonu, Langmuir modeline uyduğu için, büyük olasılıkla tek tabakalı bir adsorpsiyon olacaktır [22].

Langmuir adsorpsiyon izotermi denklem 3 ile karakterize edilir [23].

$$\frac{C_{inh}}{\theta} = \frac{1}{K_{ads}} + C_{inh} \quad (3)$$



Şekil 3. Langmuir adsorpsiyon izotermi grafikleri

Burada C_{inh} M cinsinden inhibitör konsantrasyonu, θ yüzey kaplaması ve K_{ads} adsorpsiyon-desorpsiyon sürecinin denge sabitidir. Elde edilen kütle kaybı değerleri kullanılarak, yüzey kaplaması (θ) 4 nolu bağıntı ile belirlenir [24].

$$\theta = \left(\frac{W_o - W}{W_o} \right) \quad (4)$$

Burada; W_o : inhibitör olmayan korozif çözeltideki metalin kütle kaybı, W : inhibitör içeren korozif çözeltideki metalin kütle kaybıdır. Şekil 3, C_{inh} 'e karşı C_{inh}/θ grafiğini göstermektedir. Katyonik yüzey aktif maddelerin K_{ads} değerleri Şekil 3'teki doğrusal grafiklerin kesişiminden hesaplanmıştır ve bu değerler Tablo 3'te verilmiştir. Tablo 3'de görüldüğü gibi, K_{ads} değerleri 2 bileşiği için $11.90 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ve 3 bileşiği için $21.50 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. K_{ads} değerlerinden elde edilen sonuca göre, yapısında ester fonksiyonel grubu bağlı katyonik yüzey aktif maddenin (3) metal yüzeyinde adsorbe olma kabiliyeti daha yüksektir. Bu sonuç, adsorbe edilen 3 nolu inhibitör molekülü ile metal yüzeyi arasındaki bağı daha güçlü olduğunu göstermektedir [16]. Bu noktayı açıklığa kavuşturmak için, katyonik yüzey aktif maddelerin adsorpsiyonunun Gibbs serbest enerji değerleri (ΔG_{ads}^0) aşağıdaki denklem 5'te gösterildiği gibi hesaplanmıştır [25].

$$\Delta G_{ads}^0 = -RT \ln(55.5 \times K_{ads}) \quad (5)$$

Burada R evrensel gaz sabiti, T mutlak sıcaklık ve 55,5 çözeltideki suyun molar konsantrasyonudur. Hesaplanan ΔG_{ads}^0 değerleri bileşik 2 için $-38.91 \text{ kJ mol}^{-1}$ ve bileşik 3 için $-40.37 \text{ kJ mol}^{-1}$ 'dir (Tablo 3). Negatif Gibbs serbest enerji değerleri, her iki yüzey aktif maddenin metal yüzeyine adsorpsiyonunun kendiliğinden gerçekleştiğini göstermektedir. Bununla birlikte, genel bir yaklaşımda, yüklü moleküller ve yüklü metal arasındaki elektrostatik etkileşimler (fiziksel adsorpsiyon) -20 kJ mol^{-1} 'e kadar Gibbs serbest enerji değerlerinde yer alırken, inhibitör moleküllerinden metal yüzeyine elektron paylaşımı veya transferini içeren kimyasal adsorpsiyon -40 kJ mol^{-1} 'den daha negatif değerlerde geçerlidir [26]. Mevcut çalışmada, Tablo 3'te verilen ΔG_{ads}^0 değerlerine bakıldığında, her iki bileşiğin de metal yüzeyine bağlanmasının çoğunlukla kimyasal adsorpsiyon yoluyla olduğunu söylemek mümkündür. 3 nolu bileşik için daha büyük negatif Gibbs serbest enerji değeri, ester grubu içeren bu katyonik yüzey aktif maddenin kimyasal adsorpsiyon yoluyla metal yüzeyine daha fazla bağlandığını gösterir. Bu sonuç ise, 3 nolu katyonik yüzey aktif maddenin metal yüzeyine

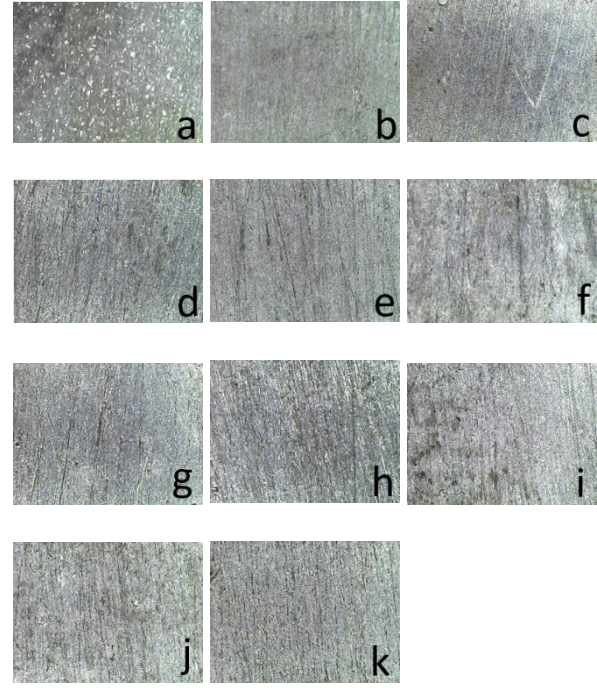
biraz daha sağlam adsorbe olduğunu göstermektedir ki, bu husus, inhibisyon etkinliği sonuçlarını açıklamaktadır.

Tablo 3 2 ve 3 nolu bileşiklerin, Langmuir izotermine göre belirlenen, adsorpsiyon denge sabitleri (K_{ads}) ve Gibbs serbest enerji değerleri (ΔG^0_{ads})

Bileşikler	K_{ads} ($\times 10^4 M^{-1}$) ^a	ΔG^0_{ads} ($kJ mol^{-1}$)
2	11.90	- 38.91
3	21.50	- 40.37

3.4. Metal Yüzeyi Görüntüleri

İnhibitör içeren ve içermeyen asit çözeltisinde 24 saat bekletilen çelik kupon yüzeylerinin dijital mikroskop kamera cihazı (Bushman, İstanbul, Türkiye) ile alınan 1000 kat büyütülmüş yüzey görüntüleri Şekil 4'te gösterilmektedir. Şekil 4-a'daki görüntü inhibitörsüz asit çözeltisine daldırılmış metal yüzeyini göstermektedir. Metalin, içerisinde inhibitör olmayan asit çözeltisine daldırılmış olan tüm yüzeyinin oksit tabakası ile kaplandığı ve pürüzlü bir hal aldığı gözlemlenmiştir. Bu da, metal yüzeyinde korozyon meydana geldiğini ve yüzeyde korozyon ürünlerinin oluştuğunu göstermektedir. Şekil 4-b,c,d,e,f'de gösterilen yüzey görüntüleri, sırasıyla 5, 25, 50, 100, 250 ppm **2** nolu inhibitör konsantrasyonlu asit çözeltisine 24 saat daldırılmış metal yüzeylere aittir. Şekil 4-g,h,i,j,k'da gösterilen metal yüzey görüntüleri ise sırasıyla aynı inhibitör konsantrasyonlu **3** nolu yüzey aktif madde içeren asit çözeltisine daldırılmış metal yüzeylerini işaret etmektedir. Görülmektedir ki, metaller inhibitörlü asit ortamına maruz kaldıklarında, yüzeylerinde aşınma ve pürüzlülük oluşmuyor, yüzeyleri daha düz bir görünüm kazanıyor. Metal yüzeylerde, sadece, test öncesinde uygulanan zımparalama işleminden kaynaklı, çizik izleri fark edilmektedir. Katyonik yüzey aktif maddeler için elde edilen bu metal yüzey görüntüleri, yüzey aktif maddelerin yüzeye adsorbe olduğunu ve metali korozyona karşı koruduğunu desteklemektedir.



Şekil 4. Dijital mikroskop kamera ile çekilen metal yüzeyi görüntüleri; (a) inhibitörsüz, (b) 5 ppm **2**, (c) 25 ppm **2**, (d) 50 ppm **2**, (e) 100 ppm **2**, (f) 250 ppm **2**, (g) 5 ppm **3**, (h) 25 ppm **3**, (i) 50 ppm **3**, (j) 100 ppm **3** (k) 250 ppm **3**

4. SONUÇLAR

1) Piridin azotuna bağlı birinde amit fonksiyonel grubu diğerinde ester fonksiyonel grubu içeren iki adet monokasyonik yüzey aktif madde sentezlendi ve yapıları spektroskopik yöntemle aydınlatıldı.

2) Bu iki maddenin, metal plakalardaki kütle kaybı değerlerinden yola çıkılarak, farklı inhibitör konsantrasyonlarındaki korozyon hızları ve inhibisyon etkinlikleri hesaplanmıştır. Hesaplamalar sonucunda ester fonksiyonel grubu içeren bileşiğin (**3**), diğerine göre korozyon hızını biraz daha fazla düşürdüğünü, buna bağlı olarak da daha iyi inhibisyon etkinliği gösterdiği tespit edilmiştir.

3) Bu sonucu destekler nitelikte, **3** nolu bileşiğin metal yüzeyine daha baskın bir şekilde kimyasal adsorpsiyonla tutunduğu, Langmuir izoterm çalışmalarından anlaşılmıştır. Kimyasal adsorpsiyon türü daha sağlam bir tutunmayı ortaya koyduğundan, ester fonksiyonel grubu içeren inhibitörün metal yüzeyine daha sağlam adsorbe olduğunu söylemek mümkündür.

4) İnhibitörlerin korozyon inhibisyon etkinlikleri, optik mikroskop kamerayla metal yüzeyi görüntüleri alınarak görsel olarak da kanıtlanmıştır.

Çıkar çatışmaları

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Etik Onay: Bu çalışma için Etik Onayı gerekmemektedir.

Teşekkür / Acknowledgements

Bu çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birliği tarafından FLO-2023-1452 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

Kaynakça

- [1] Görenler, A., 2007. "Al-Si matrisli kompozit malzemelerin korozyon davranışlarının incelenmesi", Yüksek Lisans Tesi, *Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Entüsü*, İstanbul (2007).
- [2] Çakır, A. F., "Progress in the understanding and prevention of corrosion, The Priority of Corrosion and Protection in the Turkish Economy," 671, Vol. 11, Costa, J. M., Mercer, A.D., ed. The Institute of Materials, (1993-a).
- [3] Çakır, A. F., "Türk ekonomisinde korozyon kaybının boyutları ve irdemeler," VII. Uluslararası Metalurji ve Malzeme Kongresi Bildiriler Kitabı, 1347, 4-8 Mayıs, Ankara, (1993-b).
- [4] Bereket, G., Pinarbasi, A., "Inhibition effect of some heterocyclic compounds on pure aluminium in 0.1 M hydrochloric acid solution," *Corrosion*, (2008), 16, 17-22.
- [5] Öztürk, S., "Düşük karbon çeliğinin asidik ortamdaki korozyonuna karşı inhibitör özelliği gösteren 4-okso-kinazolin türevi katyonik yüzey aktif maddelerin sentezi," *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, (2018), 22, 986-1000.
- [6] Tu, S., Jiang, X., Zhou, L., Duan, M., Wang, H., Jiang, X., "Synthesis of N-alkyl-4-(4-hydroxybut-2-ynyl) pyridinium bromides and their corrosion inhibition activities on X70 steel in 5 M HCl," *Corrosion Science*, (2012), 65, 13-25.
- [7] Yıldırım, A., Öztürk, S., Çetin, M., "Novel amide-based cationic surfactants as efficient corrosion inhibitors for carbon steel in HCl and H₂SO₄ media," *Journal of Surfactants and Detergents*, (2013), 16, 13-23.
- [8] Öztürk, S., Yıldırım, A., Çetin, M., Tavaslı, M., "Synthesis of quaternary, long-chain N-alkyl amides and their corrosion inhibition in acidic media," *Journal of Surfactants and Detergents*, (2014) 17, 471-481.
- [9] Gu, T., Chen, Z., Jiang, X., Zhou, L., Liao, Y., Duan, M., Wang, H., Pu, Q., "Synthesis and inhibition of N-alkyl-2-(4-hydroxybut-2-ynyl) pyridinium bromide for mild steel in acid solution: Box-Behnken design optimization and mechanism probe," *Corrosion Science*, (2015), 90, 118-132.
- [10] Öztürk, S., "Synthesis and corrosion inhibition effects of quinazolin-(3H)-4-one derivatives containing long-chain pyridinium salts on carbon steel in 1.5 M HCl," *Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces*, (2017), 53(5), 920-927.
- [11] Han, T., Guo, J., Zhao, Q., Wu, Y., Zhang, Y., "Enhanced corrosion inhibition of carbon steel by pyridyl gemini surfactants with different alkyl chains," *Materials Chemistry and Physics*, (2020), 240, 122156.
- [12] Öztürk, S., Özkazanlı, M. M., Akyıldız, İ., Kara, T., Çelik, F., "Asidik ortamda korozyon inhibitörü görevi üstlenen üç pozitif azot atomu içeren trikatyonik yüzey aktif maddelerin sentezi," *European Journal of Science and Technology*, (2021), 21, 669-679.
- [13] Anonymous, "Cold rolled low carbon steel flat products for cold forming-technical delivery conditions," German version EN10130:2006, DIN (Deutsches Institut für Normung e.V.) Standard, (2007).
- [14] Abdelrazik, H., Mona, M., Rehim, H. A., "Surface active hyperbranched polyamide-ester as a corrosion inhibitor for carbon steel in both neutral and acidic media," *Anti-Corrosion Methods and Materials*, (2015), 62, 95-102.
- [15] Lashgari, M., Arshadi, M. R., Biglar, M., "Comparative studies of some heterocyclic compounds as corrosion inhibitors of copper in phosphoric acid media," *Chemical Engineering Communications*, (2010), 197, 1303-1314.
- [16] Gerengi, H., Solomon, M. M., Öztürk, S., Yıldırım, A., Gece, G., Kaya, E., "Evaluation of the corrosion inhibiting efficacy of a newly synthesized nitrene against St37 steel corrosion in acidic medium: experimental and theoretical approaches," *Materials Science and Engineering: C*, (2018), 93, 539-553.
- [17] Shaban, S. M., Aiad, I., El-Sukkary, M. M., Soliman, E. A., El-Awady, M. Y., "Evaluation of

- some cationic surfactants based on dimethylaminopropylamine as corrosion inhibitors,” *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, (2015), 21, 1029-1038.
- [18] Tawfik, S. M., “Ionic liquids based gemini cationic surfactants as corrosion inhibitors for carbon steel in hydrochloric acid solution,” *Journal of Molecular Liquids*, (2016), 216, 624-635.
- [19] Ituen, E., Akaranta, O., James, A., “Evaluation of performance of corrosion inhibitors using adsorption isotherm models: an overview,” *Chemical Science International Journal*, (2017), 18, 1-34.
- [20] Wang, C., Zou, C., Cao, Y., “Electrochemical and isothermal adsorption studies on corrosion inhibition performance of β -cyclodextrin grafted polyacrylamide for X80 steel in oil and gas production,” *Journal of Molecular Structure*, (2021), 1228, 129737.
- [21] Abd El Rehim, S. S., Sayyah, S. M., El-Deeb, M. M., Kamal, S. M., Azooz, R. E., “Adsorption and corrosion inhibitive properties of P(2-aminobenzothiazole) on mild steel in hydrochloric acid media,” *International Journal of Industrial Chemistry*, (2016), 7, 39-52.
- [22] Zhang, Q., Gao, Z., Xu, F., Zou, X., “Adsorption and corrosion inhibitive properties of gemini surfactants in the series of hexanedyl-1,6-bis-(diethyl alkyl ammonium bromide) on aluminium in hydrochloric acid solution,” *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, (2011), 380, 191-200.
- [23] Abd El-Lateef, H. M., Abu-Dief, A. M., Abdel-Rahman, L. H., Sañudo, E. C., Aliaga-Alcalde, N. N., “Electrochemical and theoretical quantum approaches on the inhibition of C1018 carbon steel corrosion in acidic medium containing chloride using some newly synthesized phenolic Schiff bases compounds,” *Journal of Electroanalytical Chemistry*, (2015), 743, 120-133.
- [24] El-Tabei, A. S., Hegazy, M. A., Bedair, A. H., El Basyony, N., Sadeq, M. A., “Experimental and theoretical (DFT&MC) studies for newly synthesized cationic amphiphilic substance based on a naphthol moiety as corrosion inhibitor for carbon steel during the pickling process,” *Journal of Molecular Liquids*, (2021), 331, 115692.
- [25] Liu, A., Tian, H., Li, W., Wang, W., Gao, X., Han, P., Ding, R., “Delamination and selfassembly of layered double hydroxides for enhanced loading capacity and corrosion protection performance,” *Applied Surface Science*, (2018), 462, 175-186.
- [26] Alizadeh, A., Khamsehchi, E., “A model for predicting size distribution and liquid drainage from micro-bubble surfactant multi-layer fluids using population balance,” *Colloid and Polymer Science*, (2015), 293, 3419-3427.



Determination of Anticholinergic Effects of *p*-Nitroaniline

Adem ERTÜRK

Ataturk University, Hınıs Vocational School, Erzurum, Türkiye

(ORCID: 0000-0002-1750-1966)

Geliş Tarihi/Received 27.04.2023	Kabul Tarihi/Accepted 28.04.2023	Yayın Tarihi/Published 15.06.2023
-------------------------------------	-------------------------------------	--------------------------------------

Abstract: Cholinesterases allow the nervous system to function properly by catalyzing the breakdown of the neurotransmitter acetylcholine (ACh), a naturally occurring neurotransmitter, into choline and acetic acid. Cholinesterases in the human body are of two types: acetylcholinesterase (AChE; E.C.3.1.1.7) and butyrylcholinesterase (BChE; E.C.3.1.1.8). In this study, the anticholinergic effect of *p*-Nitroaniline was investigated experimentally and theoretically and compared with tacrine, which is known as an AChE inhibitor. As a result of experimental inhibition studies, IC₅₀ values were calculated as 17.77 nM against AChE and 18.73 nM against BCE for *p*-nitroaniline, and 15.06 nM against AChE and 15.75 nM against BChE for tacrine. In addition, K_i values; for *p*-nitroaniline it was calculated as 1.80 ± 0.16 nM against AChE, 6.49 ± 1.63 nM against BCHE, and for tacrine it was calculated as 2.59 ± 0.90 nM against AChE and 7.08 ± 0.90 nM against BChE. Docking Score values were -4.631 against AChE and -3.779 against BChE for *p*-nitroaniline and -12.908 against AChE and -6.090 against BChE for tacrine. The results of the study showed that *p*- nitroaniline has an effective inhibition against ACHE and BCHE enzymes associated with global metabolic AD disease.

Keywords: Alzheimer's disease, enzyme inhibition, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase.

p-Nitroanilin'in antikolinergik etkilerinin belirlenmesi

Özet: Kolinesterazlar, doğal olarak oluşan bir nörotransmitter olan nörotransmitter asetilkolinin (ACh) kolin ve asetik aside parçalanmasını katalize ederek sinir sisteminin düzgün çalışmasına izin verir. İnsan vücudunda kolinesterazlar, asetilkolinesteraz (AChE; EC3.1.1.7) ve butirikolinesteraz (BChE; EC3.1.1.8) dahil olmak üzere iki tiptir. Bu çalışmada, *p*-Nitroanilin'in antikolinergik etkisi deneysel ve teorik olarak araştırıldı ve AChE inhibitörü olarak bilinen takrin ile karşılaştırıldı. Deneysel inhibisyon çalışmaları sonucunda IC₅₀ değerleri *p*-nitroanilin için AChE'ye karşı 17.77 nM ve BCE'ye karşı 18.73 nM, takrin için AChE'ye karşı 15.06 nM ve BChE'ye karşı 15.75 nM olarak hesaplanmıştır. Ayrıca K_i değerleri; *p*-nitroanilin için AChE'ye karşı 1.80 ± 0.16 nM, BCHE'ye karşı 6.49 ± 1.63 nM, takrin için AChE'ye karşı 2.59 ± 0.90 nM ve BChE'ye karşı 7.08 ± 0.90 nM olarak hesaplandı. Yerleştirme skoru değerleri *p*-nitroanilin için AChE'ye karşı -4.631, BChE'ye karşı -3.779 ve takrin için AChE'ye karşı -12.908, BChE'ye karşı -6.090 idi. Çalışmanın sonuçları, *p*-nitroanilin'in global metabolik AD hastalığı ile ilişkili ACHE ve BCHE enzimlerine karşı etkili bir inhibisyona sahip olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer hastalığı, enzim inhibisyonu, asetilkolinesteraz, butirikolinesteraz

1. INTRODUCTION

Alzheimer's disease (AD) is a slowly progressive neurodegenerative brain disease that affects approximately 5-10% of the elderly population, for which no current treatment has yet been found and the mechanism of which is not fully known [1, 2]. According to the cholinergic hypothesis, the cerebral cortex's acetylcholine level decreases with cholinergic neurons' loss in AD [3]. Characteristic pathological symptoms with decreased acetylcholine (ACh), β -protein amyloid aggregation, and tau-hyperphosphorylation are observed in patients, and studies show that the cholinergic hypothesis is a clinically appropriate strategy [4]. The level of acetylcholine (an important neurotransmitter associated with memory) in the hippocampus and cortex region of the brain has been reported to have a direct effect on AD [5]. Cholinesterase enzymes including acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) can convert acetylcholine (ACh) and butyrylcholine (ACh) to acetate, butyrate and choline (Ch). Therefore, Alzheimer's disease can be treated with the use of pharmaceuticals that restore acetylcholine levels through the inhibition of cholinesterase enzymes [6-8]. N-forms heterocyclic compounds that are widely distributed in nature, have physiological and pharmacological properties, and are components of many biologically important molecules, including many vitamins, nucleic acids, drugs, and antibiotics [9]. They also form an integral part of many pharmacologically active molecules. Base pairs of DNA and RNA (guanine, cytosine, adenine, and thymine), purines, and pyrimidines are also heterocyclic compounds containing N [10].

It was determined that p-nitraniline has high inhibitory activity on AChE and BChE enzymes by preliminary in silico molecular chelation studies. As a result, in this study, the inhibitory effects of p-nitraniline on AChE and BChE enzymes, whose inhibitory effects have not been studied before, on these enzymes were investigated experimentally and theoretically. Tacrine, known as an AChE inhibitor, used to treat Alzheimer's disease, was used as a reference molecule in studies.

2. MATERIALS AND METHOD

2.1. AChE and BChE enzymes inhibition assays

The inhibition effects of p-nitroaniline on the activities of AChE and BChE enzymes were determined according to the Ellman method [11]. Acetylthiocholine iodide (AChI) for AChE enzyme activity, butyryl thiocholine iodide (BChI) for BChE enzyme activity, and 5,5'- Dithio-bis(2-nitro-benzoic) acid (DTNB) were used as a substrate for activity measurements. Briefly, by mixing 100 mL of Tris/HCl buffer (1.0 M and pH 8.0), 10 mL of p-nitroaniline and tacrine solution dissolved in deionized water at

different concentrations, and 50 mL of AChE/BChE (5.32 ± 10^{-3} EU) solution. It was incubated for 10 minutes at 25 °C. Then, the reaction was started by adding 50 mL, 0.5 mM DTNB and 50 mL, 10 mM AChI/BChI. The formation of yellow 5-thio-2-nitrobenzoate anion as a result of the reaction of DTNB with thiocholine released by enzymatic hydrolysis of AChI/BChI was monitored spectrophotometrically at 412 nm wavelength and the results were recorded [12-14]. From the recorded results, activity (%) concentration and Line weaver-Burk plots were drawn for tacrine and p-nitroaniline. IC_{50} , r^2 and K_i values were calculated and inhibition types were determined.

2.2. Molecular modeling studies

Theoretically, there are many programs in bioinformatic chemistry for the design of new drugs and active substances. Molecular placement is one of the methods developed for this (15). Experimental inhibition studies have also been supported theoretically by molecular placement studies. The Schrödinger Molecular Modeling Suite (the docking program of Maestro 20.3) was used to predict the binding affinity and possible interactions between ligands (p-Nitroaniline and tacrine) and corresponding proteins (AChE and BChE) [16]. In the first phase of molecular studies, the molecular structure of p-Nitroaniline was drawn with the chem-draw program, and the pdb extension file was created. Crystal structures of acetylcholinesterase and butyrylcholine esterase with 2 Å resolution (TJH (PDB ID: 4TVK), 3F9 (PDB ID: 4TVK)) were obtained from the protein database [17, 18]. The ligands were prepared using Lig Prep at pH 7.0. The energy minimization was done by using an OPLS3e force field. Based on the calculated Glide score the best pose was ranked [19].

3. RESULTS AND DISCUSSION

Alzheimer's disease (AD) is one of the most common forms of dementia for older people. A chronic disease that causes a decline in central nervous system, language ability, and cognitive function [20]. As a result of irregularities in acetylcholine metabolism, AChE activity increases. These increases increase amyloid protein formation and hydrolysis of acetylcholine, resulting in neurodegenerative diseases such as AD. Synthesis and detection of molecules that reduce AChE activity are extremely important to prevent these diseases caused by damage to the cholinergic system [21]. Enzyme inhibition studies are effective therapeutic approaches for the pharmaceutical and cosmetic industries [22]. When the K_i values were compared as a result of experimental studies conducted for this purpose, it was determined that p-nitroaniline had a stronger inhibitory effect against the AChE and BChE enzymes associated with global metabolic AD disease than the positive control compound tacrine (Table 1).

The results of the molecular insertion simulations are given in Table 2. When the experimental inhibition results and free binding energy scores were evaluated, it was observed that the results were compatible. The results showed that p-Nitroaniline had a weaker

insertion score and higher free binding energy than tacrine, the positive control compound.

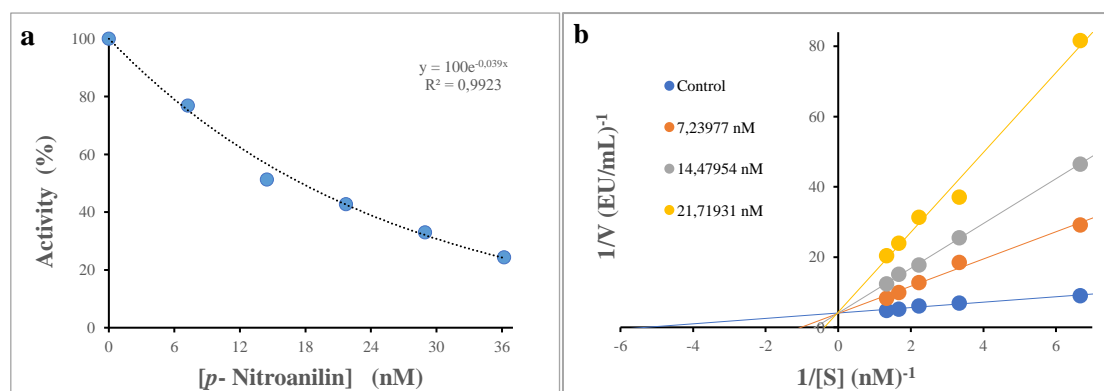


Figure 1. Plotted to determine the inhibitory effect of p-nitroaniline on AChE enzyme at different concentrations; a) Activity (%)-[p-Nitroaniline] and b) Lineweaver-Burk (Ki) plots

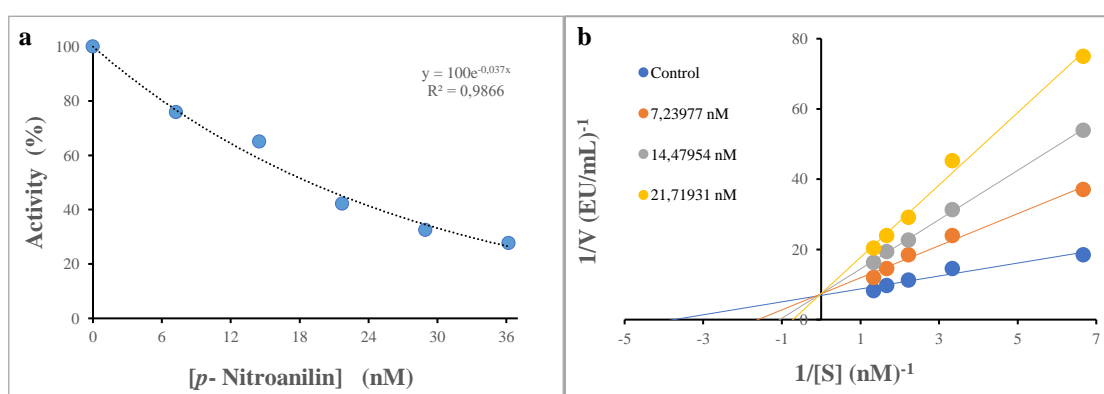


Figure 2. Plotted to determine the inhibitory effect of p-nitroaniline on BChE enzyme at different concentrations; a) Activity (%)-[p-Nitroaniline] and b) Lineweaver-Burk (Ki) plots

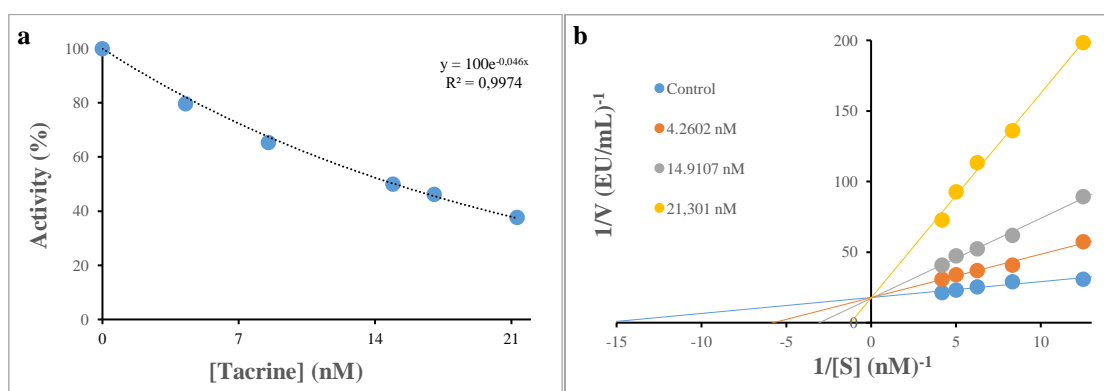


Figure 3. Plotted to determine the inhibitory of p-nitroaniline on AChE enzyme at different concentrations; a) Activity (%)-[Tacrine] and b) Lineweaver-Burk (Ki) plots

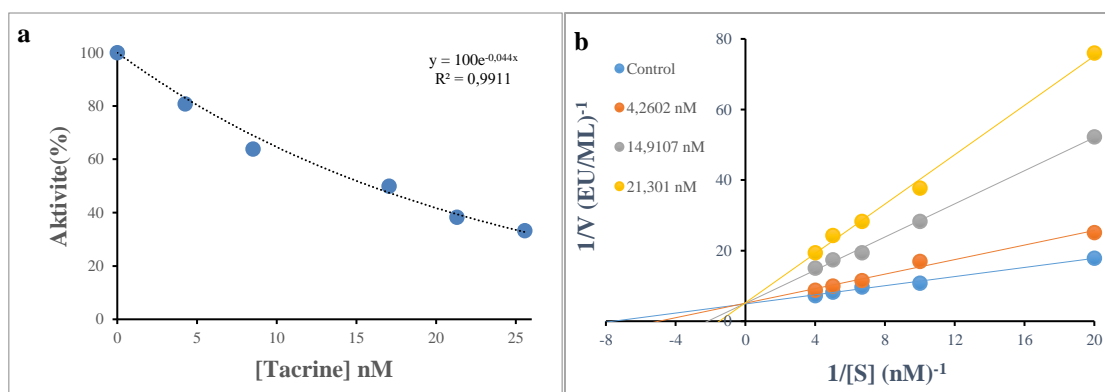


Figure 4. Plotted to determine the inhibitory of p-nitroaniline on BChE enzyme at different concentrations; a) Activity (%)-[Tacrine] and b) Lineweaver-Burk (Ki) plots

Table 1. The enzyme inhibition results of p-Nitroaniline against acetylcholinesterase (AChE), and butyrylcholine esterase (BChE) enzymes

Compounds	IC ₅₀ (nM)				Ki (nM)	
	AChE	r ²	BChE	r ²	AChE	BChE
<i>p</i> Nitroaniline	17.77	0.9918	18.73	0.9840	1.80 ± 0.16	6.49 ± 1.63
Tacrine	15.06	0.9965	15.75	0.9890	2.59 ± 0.90	7.08 ± 0.90

*Tacrine (TAC) was used as a positive control for AChE and BChE enzymes.

Table 2. Docking scores and binding energies of the compounds for acetylcholinesterase (AChE), and butyrylcholinesterase (BChE) enzymes

Enzymes	Compounds	Docking Score	XP GScore	Glide gscore	Glide emodel
Acetylcholinesterase (PDB: 4TVK)	<i>p</i> -Nitroaniline	-4.631	-4.631	-4.631	-35.412
	Tacrine	-12.908	-12.909	-12.909	-62.350
Butyrylcholinesterase (PDB: 4TPK)	<i>p</i> -Nitroaniline	-3.779	-3.779	-3.779	-31.096
	Tacrine	-6.090	-6.091	-6.091	-42.653

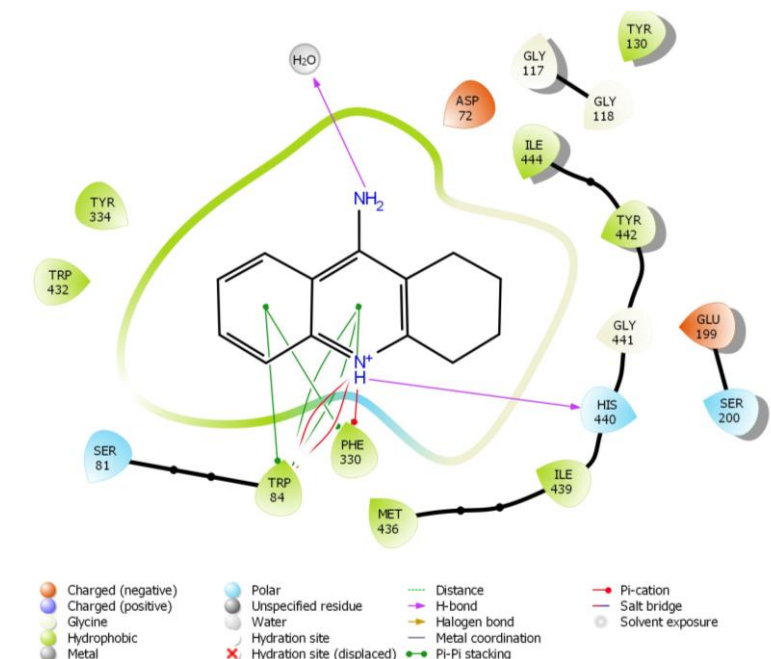


Figure 5. Two-dimensional (2D) ligand interactions of tacrine with AChE enzyme

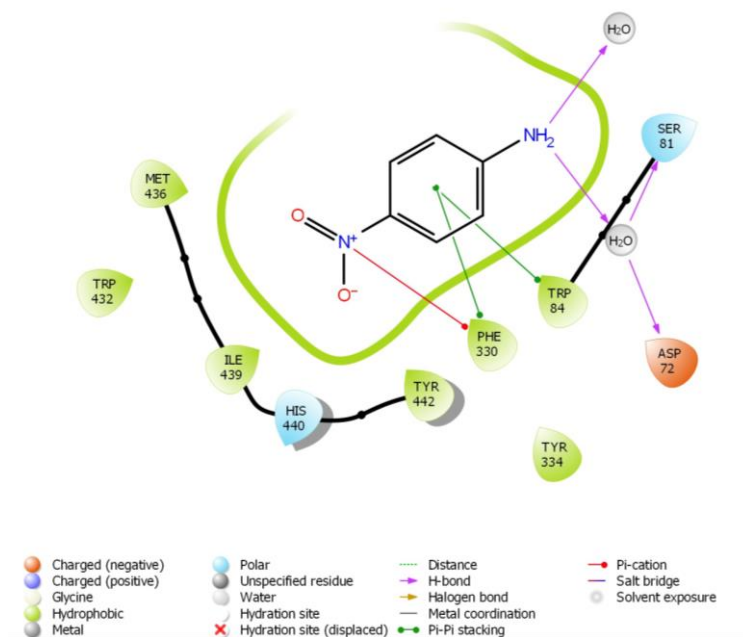


Figure 6. Two-dimensional (2D) ligand interactions of p-nitroaniline with AChE enzyme

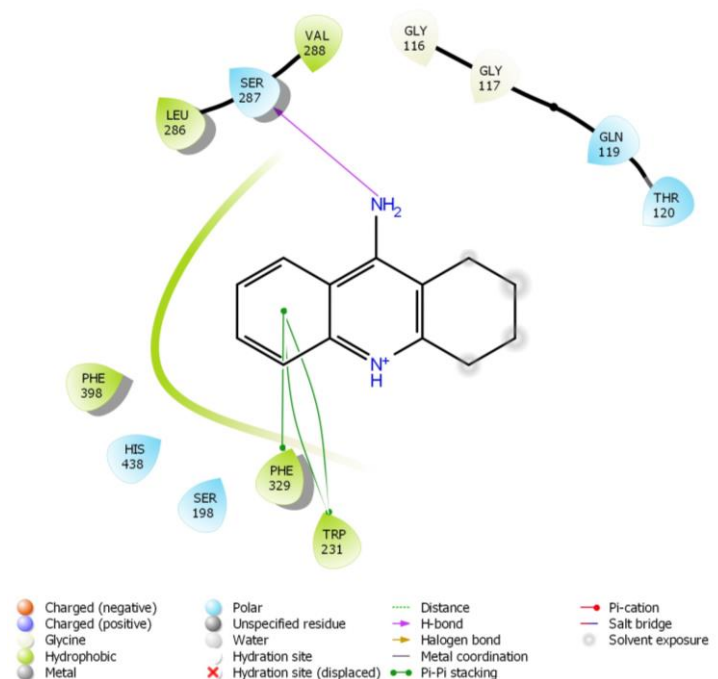


Figure 7. Two-dimensional (2D) ligand interactions of tacrine with BChE enzyme

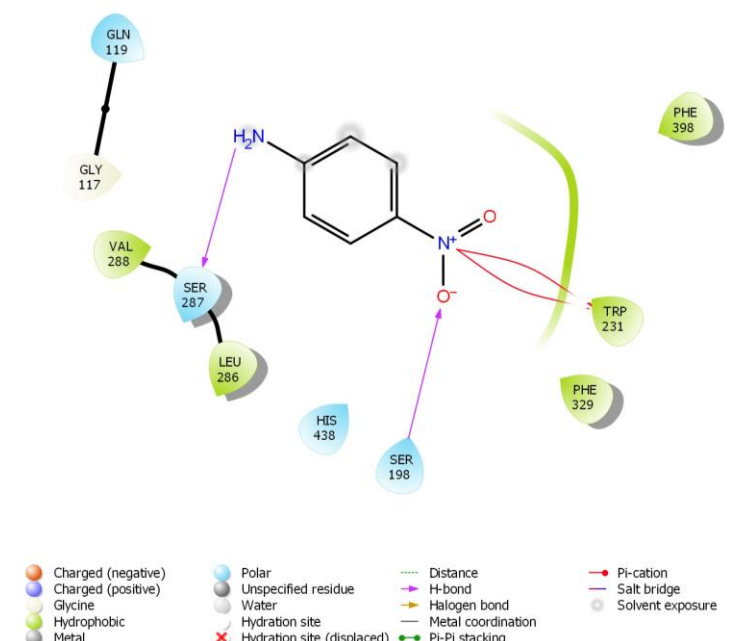


Figure 8. Two-dimensional (2D) ligand interactions of p-nitroaniline with BChE enzyme

References

- [1] Tugrak, M., Gul, H. İ., & Gulcin, İ. "Acetylcholinesterase inhibitory potencies of new pyrazoline derivatives," *Journal of Research in Pharmacy*, (2020) 24(4).
- [2] Gulcin, İ., Petrova, O. V., Taslimi, P., Malysheva, S. F., Schmidt, E. Y., Sobenina, L. N., ... & Sujayev, A. R. "Synthesis, Characterization, Molecular Docking, Acetylcholinesterase and α -Glycosidase Inhibition Profiles of Nitrogen-Based Novel Heterocyclic Compounds," *ChemistrySelect*, (2022), 7(19), e202200370.
- [3] Bilginer, S., Gul, H. I., Anil, B., Demir, Y., & Gulcin, I. "Synthesis and in silico studies of triazene-substituted sulfamerazine derivatives as acetylcholinesterase and carbonic anhydrases inhibitors," *Archiv der Pharmazie*, (2021) 354(1), 2000243.
- [4] Craig, L. A., Hong, N. S., & McDonald, R. J. "Revisiting the cholinergic hypothesis in the development of Alzheimer's disease." *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, (2011) 35(6), 1397-1409.
- [5] Gülçin, İ., Bingöl, Z., Taslimi, P., Gören, A. C., Alwasel, S. H., & Tel, A. Z. "Polyphenol contents, potential antioxidant, anticholinergic and antidiabetic properties of mountain mint (*Cyclotrichium leucotrichum*)." *Chemistry & Biodiversity*, (2022) 19(3), e202100775.
- [6] Burmaoglu, S., Yilmaz, A. O., Polat, M. F., Kaya, R., Gulcin, İ., & Algul, O. "Synthesis and biological evaluation of novel tris-chalcones as potent carbonic anhydrase, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, and α -glycosidase inhibitors." *Bioorganic chemistry*, (2019) 85, 191-197.
- [7] Aksu, K., Akıncioğlu, H., Akıncioğlu, A., Goksu, S., Tuemer, F., & Gulcin, I. "Synthesis of novel sulfonamides incorporating phenethylamines and determination of their inhibition profiles against some metabolic enzymes." *Archiv der pharmazie*, (2018) 351(9), 1800150.
- [8] Turkan, F., Cetin, A., Taslimi, P., & Gulçin, İ. "Some pyrazole derivatives: Potent carbonic anhydrase, α -glycosidase, and cholinesterase enzyme inhibitors." *Archiv der pharmazie*, (2018) 351(10), 1800200.
- [9] Vitaku, E., Smith, D. T., & Njardarson, J. T. "Analysis of the structural diversity, substitution patterns, and frequency of nitrogen heterocycles among US FDA approved pharmaceuticals: mini perspective." *Journal of medicinal chemistry*, (2014). 57(24), 10257-10274.
- [10] Kerru, N., Gummidi, L., Maddila, S., Gangu, K. K., & Jonnalagadda, S. B. "A review of recent advances in nitrogen-containing molecules and their biological applications." *Molecules*, (2020) 25(8), 1909.
- [11] Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. "A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity." *Biochemical pharmacology*, (1961) 7(2), 88-95.

- [12] Garibov, E., Taslimi, P., Sujayev, A., Bingol, Z., Cetinkaya, S., Gulcin, I., ... & Supuran, C. T. "Synthesis of 4, 5-disubstituted-2-thioxo-1, 2, 3, 4-tetrahydropyrimidines and investigation of their acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, carbonic anhydrase I/II inhibitory and antioxidant activities." *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, (2016) 31(sup3), 1-9.
- [13] Mao, F., Li, J., Wei, H., Huang, L., & Li, X. "Tacrine-propargyl amine derivatives with improved acetylcholinesterase inhibitory activity and lower hepatotoxicity as a potential lead compound for the treatment of Alzheimer's disease." *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, (2015) 30(6), 995-1001.
- [14] Taslimi, P., Erden, Y., Mamedov, S., Zeynalova, L., Ladokhina, N., Tas, R., ... & Gulcin, I. "The biological activities, molecular docking studies, and anticancer effects of 1-arylsulphonylpyrazole derivatives." *Journal of biomolecular structure and dynamics*, (2021) 39(9), 3336-3346.
- [15] Schrödinger Release Glide; Schrödinger, LLC: New York, NY, USA. (2020-3)
- [16] Nepovimova, E., Uliassi, E., Korabecny, J., Pena-Altamira, L. E., Samez, S., Pesaresi, A., ... & Bolognesi, M. L. "Multitarget drug design strategy: quinone-tacrine hybrids designed to block amyloid- β aggregation and to exert anticholinesterase and antioxidant effects." *Journal of medicinal chemistry*, (2014) 57(20), 8576-8589.
- [17] Brus, B., Kosak, U., Turk, S., Pislari, A., Coquelle, N., Kos, J., ... & Gobec, S. "Discovery, biological evaluation, and crystal structure of a novel nanomolar selective butyrylcholinesterase inhibitor." *Journal of medicinal chemistry*, (2014) 57(19), 8167-8179.
- [18] Işık, M. "The binding mechanisms and inhibitory effect of intravenous anesthetics on AChE in vitro and in vivo: kinetic analysis and molecular docking." *Neurochemical research*, (2019) 44(9), 2147-2155.
- [19] Ozgun, D. O., Yamali, C., Gul, H. I., Taslimi, P., Gulcin, I., Yanik, T., & Supuran, C. T. "Inhibitory effects of isatin Mannich bases on carbonic anhydrases, acetylcholinesterase, and butyrylcholinesterase." *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, (2016) 31(6), 1498-1501.
- [20] Aksu, K., Topal, F., Gulcin, I., Tümer, F., & Göksu, S. "Acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant activities of novel symmetric sulfamides derived from phenethylamines." *Archiv der Pharmazie*, (2015) 348(6), 446-455.
- [21] Ökten, S., Ekiz, M., Koçyiğit, Ü. M., Tutar, A., Çelik, İ., Akkurt, M., ... & Gülçin, İ. "Synthesis, characterization, crystal structures, theoretical calculations and biological evaluations of novel substituted tacrine derivatives as cholinesterase and carbonic anhydrase enzymes inhibitors." *Journal of Molecular Structure*, (2019) 1175, 906-915.



Removal of Crude Oil Pollution in Water Using Expanded Perlite, Corncob and Fiber

Özkan AÇIŞLI^{1,2a*}, Eylül Miray CEYLAN^{2b}, Rüstem BİLMEZ^{2c}

¹ Atatürk Üniversitesi, Kimya Bölümü, Erzurum, Türkiye

² Atatürk Üniversitesi, Petrol ve Doğalgaz Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye

(ORCID: ^a 0000-0002-4465-0916, ^b 0009-0001-7438-3230, ^c 0009-0007-6987-6747)

Geliş Tarihi/Received 27.04.2023	Kabul Tarihi/Accepted 05.06.2023	Yayın Tarihi/Published 15.06.2023
-------------------------------------	-------------------------------------	--------------------------------------

Abstract: It is aimed to remove crude oil in water by adsorption process by using expanded perlite, corncob and fiber as adsorbent materials in this study. The BET method was used to determine the specific surface areas of the adsorbent materials. According to ASTM F726-06 standard, the capacities of adsorbent materials on adsorption of Batman-Garzan oil in water and in salty water were assessed for short-term tests of 30 minutes and long-term testing of 180 minutes. As a result of the test revealed that each adsorbent's highest specific adsorption capacity was found to be 5.0 g/L adsorbent amount. The short-term test revealed that expanded perlite, corncob, and fiber each had an adsorbing capacity of 45.78, 51.95, and 82.52 mg of adsorbed oil/g adsorbent, respectively. In the long-term test results, the adsorption capacities of the adsorbents for expanded perlite, corncob and fiber were found to be 130.63, 173.01 and 134.16 mg of adsorbed oil/g adsorbent, respectively. Crude oil removal percentages of the short-term test were determined as 21.16 for expanded perlite, 21.79 for corncob and 24.18 for fiber. It was found that the crude oil removal percentage was 63.06 for expanded perlite, 38.22 for corncob and 43.71 for fiber the long-term test results. Crude oil removal percentages of long-term tests in salty water were calculated at 30.28 for expanded perlite, 34.78 for corncob and 17.42 oil for fiber. In short and long-term test studies investigating the specific crude oil adsorption capacity; the highest adsorption capacity was observed in fiber with 18 mg/g adsorbent in the short-term test, while it was observed in expanded perlite with 2588 mg/g adsorbent in the long-term test.

Keywords: Oil pollution, adsorption, expanded perlite, corncob, fiber

Genleşmiş Perlit, Mısır Koçanı ve Elyaf Kullanılarak Sudaki Ham Petrol Kirliliğinin Giderilmesi

Özet: Bu çalışmada adsorpsiyon prosesi ile sudaki ham petrolün temizlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla adsorban malzeme olarak genleşmiş perlit, mısır koçanı ve elyaf kullanılmıştır. Kullanılan adsorbanların özgül yüzey alanları BET metodu ile belirlenmiştir. Kullanılan adsorbanların, Batman-Garzan sahası ham petrolünü, su ve tuzlu su ortamından adsorplama kapasiteleri ASTM F726-06 standartlarına göre 30 dakikalık kısa süreli ve 180 dakikalık uzun süreli testler ile belirlenmiştir. Test sonuçlarında, her bir adsorbanın en yüksek adsorpsiyon kapasitesine 5.0 g/L'lik adsorban miktarında sağlandığı görülmüştür. Adsorbanların kısa süreli test sonucunda adsorplama kapasiteleri sırasıyla, genleşmiş perlitin 45.78 mısır koçanının 51.95 ve elyafın 82.52 mg/g olarak bulunmuştur. Uzun süreli test sonuçlarında ise sırasıyla, genleşmiş perlitin 130.63; mısır koçanının 173.01 ve elyafın 134.16 mg/g olarak bulunmuştur. Kısa süreli testin (%) ham petrol giderim miktarları; genleşmiş perlit için 21.16, mısır koçanı için % 21.79 ve elyaf için 24.18 olarak bulunmuştur. Uzun süreli test sonuçlarında ham petrolün % gideriminde genleşmiş perlitin % 63.06, mısır koçanının % 38.22 ve elyafın ise % 43.71 olarak bulunmuştur. Tuzlu su kullanılarak yapılan uzun süreli test çalışmalarında (%) ham petrol gideriminin; genleşmiş perlitin 30.28; mısır koçanının 34.78 ve elyafın 17.42 olarak bulunmuştur. Özgül ham petrol adsorpsiyon kapasitesinin araştırıldığı kısa ve uzun süreli test çalışmasında, kısa süreli test için 918 mg/g ile elyafın, uzun süreli test için ise 2588 mg/g ile genleşmiş perlitin en yüksek adsorpsiyon potansiyeline sahip olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Petrol kirliliği, adsorpsiyon, genleşmiş perlit, mısır koçanı, elyaf

1. GİRİŞ

Dünya’da artan endüstrileşmeden dolayı enerjiye duyulan ihtiyacı karşılanmasında, ham petrol ve türevlerinin kullanımında büyük artış olmuştur [1]. Ham petrol üretiminin yapıldığı alanlardan diğer alanlara taşınması çok büyük oranda deniz ulaşımı ile yapılmaktadır [2]. Ham petrolün taşınması sırasında, başta insan hatasından kaynaklı birçok deniz kazası ve buna bağlı olarak petrol kirliliği meydana gelmektedir [1-3]. Ayrıca petrolün üretimi, depolanması, rafinerisi, taşınması ve ulaştırılması alanlarında yönetimsel ve bazı teknik konulardan kaynaklanan eksiklikler nedeni ile bu türden kazaların oluşturdukları atıklar, su kaynaklarına karışarak kirliliğe yol açmaktadır [1-3]. Ancak bu olumsuz etki petrolün miktarına, dağılım oranına, dağılan alanın yapısına bağlı olarak değişiklik gösterir. Büyük petrol kirliliklerine neden olan kazalar nispeten az olmasına karşın, sonuçları olumsuz çevresel etkiden dolayı oldukça büyük olabilmektedir. Devletler bu kazaların önlenmesi için etkin çözümler üretmeye ihtiyaç duymaktadırlar. Dökülen petrol miktarını minimum düzeye indirecek çözümlerin bulunması ile çevrenin korunması sağlanmış olacaktır [4]. Yüksek hidrokarbonlu yapıya sahip olan bu organik kirliliği önlemek ve olumsuz etkilerini minimize etmek için küresel çapta ciddi çalışmalar ve yatırımlar yapılmakta ve çeşitli arıtım metotları geliştirilmektedir [1]. Arıtım için uygulanan kimyasal ve fiziksel yöntemler arasında elektrokimyasal arıtım, kimyasal koagülasyon/flokülasyon, biyolojik oksidasyon, ozonlama, adsorpsiyon, membran filtreleme ve biyolojik arıtım gibi geleneksel metotlar yer almaktadır [5-7]. Atık petrol giderimi için uygulanan geleneksel metotlardan ikisi flotasyon ve koagülasyondur. Flotasyon prosesi, sudan daha az yoğunluğa sahip olan petrolün suyun yüzeyinde yüzdürülmesi işlemine dayanır. Koagülasyon prosesinde ise, stabilize edilen askıdaki partiküller, kolloidler ve petrol atıkları bir araya gelerek daha büyük floklar oluşturularak sudan daha yoğun ve ağır hale getirilip çöktürülerek bertaraf edilir [1]. Atık petrolün sulu ortamdan arıtılması geleneksel yöntemler ile giderilemeyecek kadar zor ve karmaşık olduğu bilinmektedir. Geri kazanım için kullanılan geleneksel yöntemler zaman alıcı ve pahalıdır [8]. Dökülen petrolün tümünü uzaklaştırma işlemi sadece zaman alıcı olmakla kalmaz, aynı zamanda geri kazanılan petrolün çoğu büyük bir enerji kaybı olan adsorbanla birlikte atılır [9]. Bu nedenle işlenmesi kolay, petrolü hızlı bir şekilde adsorbe edebilen ve büyük bir adsorpsiyon kapasitesine sahip adsorbanlara olan ihtiyaç son yıllarda artmıştır [8-10]. Çalışmamızda Batman Garzan Petrol Sahasından alınan ham petrol atığı adsorpsiyon yöntemiyle giderilmeye çalışılmıştır. Adsorban madde olarak mısır koçanı, elyaf ve genleşmiş perlit kullanılmıştır. Sodyum klorür tuzu kullanılarak deniz suyuna benzer koşullar elde edilmeye çalışılarak; tuz etkisi, adsorban madde

miktarı, kısa ve uzun süreli testler ile incelemeler yapılmıştır.

2. Materyal ve metod

Bu çalışmada; adsorban malzeme olarak genleşmiş perlit, mısır koçanı ve elyaf kullanılarak petrolü adsorplama kapasiteleri araştırılmıştır. Kullanılan Adsorban malzemelerin bir takım fiziksel özellikleri Tablo 1’de verilmiştir. Kullanılan perlit Taşper Perlit San. Ve Tic. Ltd. Şti firmasından, mısır koçanı ve elyaf ise yerel marketlerden temin edilmiştir. Ham petrol örnekleri ise Batman Garzan Sahası bölgesinden temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan mısır koçanı laboratuvar ortamında el ile öğütülerek ince taneli boyutlara getirilmiştir. Genleşmiş perlit ve elyaf ise herhangi bir işleme tabii tutulmadan doğrudan kullanılmıştır. Tablo 2’de deneysel çalışmada kullanılan ham petrolün özellikleri verilmiştir.

Tablo 1. Adsorban malzemelerin fiziksel özellikleri

Adsorban	Yoğunluk (kg/m ³)	Boyut (cm)	Spesifik yüzey alanı (m ² /g)
Genleşmiş Perlit	70–130	0.07 (75%) 0.43 (25%)	1.88
Mısır Koçanı	721	0.5-1.0	0.51
Elyaf	1.31	4-5	0.17 ± 0,06

Tablo 2. Batman-Garzan Sahası ham petrolünün özellikleri

Özellik	Batman-Garzan Sahası
API gravite	19
Özgül Ağırlık (g/cm ³)	0.894
Viskozite (20 °C, cSt)	9.676

Yüzey alanı ölçümleri ZEISS SİGMA 300 model cihazı kullanılarak adsorban malzemelerin yüzey alanları BET yöntemi ile hesaplanmıştır. Yapılan hesaplamada, farklı relatif basınçlarda azot gazı gönderilerek adsorpsiyon ve desorpsiyon ölçümleri yapılmış ve BET izotermine göre yüzey alan değerleri hesaplanmıştır. Daha sonra adsorban numuneler içerisindeki gözeneklerdeki oluşmuş olabilecek tıkanmaların temizlenmesi için vakum altında 50 °C’da 1 saat süreyle gaz giderme işlemi uygulanmıştır.

Adsorbanların petrolü adsorplama kapasitelerinin belirlenmesi için yapılan deneyler ASTM F726-06 standartlarına göre gerçekleştirilmiştir [11]. Deneyler

20 °C’de termostatik çalkalayıcıda 120 devir /dakika karıştırma hızında 100 mL çalışma numuneleri ile 30 dakika kısa süreli ve 180 dakika uzun süreli testlere tabii tutularak yapılmıştır. Çalışmada kullanılan ham petrolden 1 mL alınıp (0.894 g) 100 ml suya konularak deneysel çalışmalar yapılmıştır. Çalışmada belirlenen optimal miktar (5.0 g/L) kullanılarak deneysel işlemler yapılmıştır. Ayrıca adsorbanlardan çöken miktarlar kurutulup tartılarak hesaplama dışı bırakılmıştır. Adsorplama işleminden sonra numuneler örgü sepette 30 saat süzölmüş ve tartımları hassa terazi ile yapılarak hesaplamalara geçilmiştir. Deneyler her bir test üç kez tekrarlanmış ve bu testlerin aritmetik ortalaması alınmıştır.

Ölçüm hesaplamalarında kullanılan denge adsorpsiyon miktarı (q_e), ve % giderim bağıntıları madde miktarları esas alınarak aşağıdaki denklemlere göre hesaplandı [12]:

$$q_e = \frac{(m_0 - m_t)V}{W} \dots \dots \dots 1$$

$$\text{Tutulan petrol (\%)} = \frac{(m_0 - m_t)}{m_0} \times 100 \dots \dots \dots 2$$

Burada, q_e bir gram adsorban başına adsorbe edilen ham petrol miktarıdır (mg/g), m_0 : Başlangıç petrol miktarını m_t : Herhangi bir t anında ortamda kalan petrol miktarını, V: çözeltinin hacmini (L) ve W: eklenen adsorbanın (g) kuru ağırlığını vermektedir.

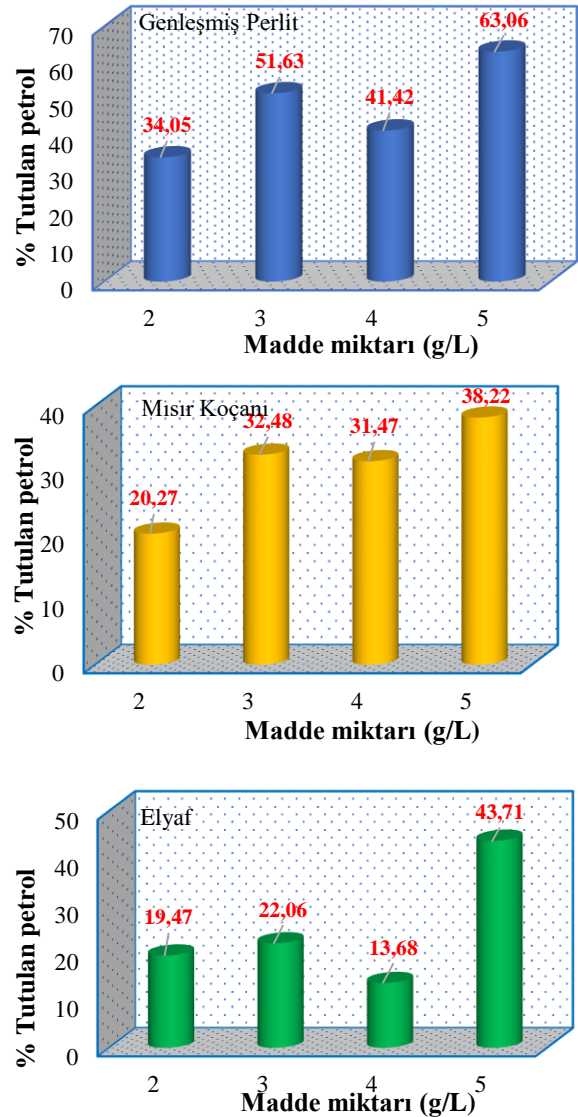
3.BULGULAR

3.1. Optimal adsorbent miktarının belirlenmesi

Şekil 1’de görüldüğü üzere, optimal adsorban miktarlarını belirlemek için, 30 dakikalık kısa süreli deney sürecinde, adsorban dozajı 2.0, 3.0, 4.0 ve 5.0 g/L gibi farklı miktarlardaki adsorban miktarları ile bir dizi deneysel çalışma gerçekleştirildi.

Grafik incelendiğinde optimal adsorban dozajının belirlenen süre için, 5.0 g/L ile en yüksek adsorplanma kapasitesine sahip olduğu görülmektedir. Adsorban miktarının dozajı 2.0 g/L’den 5.0 g/L’ye artırıldığında, adsorpsiyon verimliliğinde her üç numune içinde yaklaşık olarak %50’ye yakın oranda bir artış gözlemlendi. Bunun nedeni, adsorban malzemenin miktarı arttıkça, katı/sıvı oranındaki değişime bağlı olarak adsorbent-adsorbat etkileşimlerin daha fazla olabileceği ve buna bağlı olarak adsorplanan madde miktarında artışa bağlanabilir [13,14]. Bu nedenle optimal adsorban miktarı 5.0 g/L olarak belirlendi ve

bundan sonra gerçekleştirilen deneylerde bu miktar baz alındı.

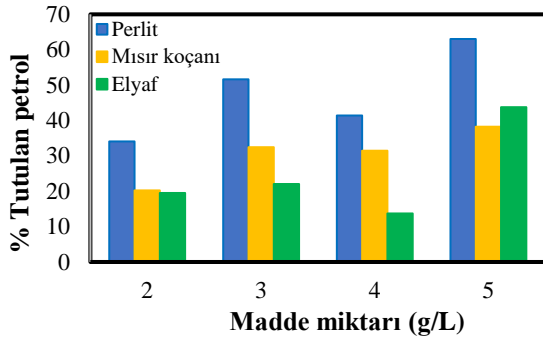


Şekil 1. Kısa süreli testte farklı adsorbent miktarlarının Batman-Garzan petrolünün % adsorplanma verimi (Deneysel Koşullar: T:293 K, pH: Doğal pH)

3.2. Adsorpsiyon prosesi üzerine farklı adsorbanların etkisi

Adsorpsiyon prosesinde olay adsorbanın yüzeyinde gerçekleştiği için adsorpsiyon kapasitesi yüzey alanı ile doğrudan orantılıdır. Gözenekli yapıların yüzey alanları büyüktür. Küçük gözenek çapına sahip olan katıların yüzey alanı büyük, yoğunlukları ise düşüktür buna karşın büyük gözenek çapına sahip olan katıların, yüzey alanı daha düşük ve yoğunlukları ise daha yüksektir. Bunun sonucunda adsorbanın partikül boyutunun küçük, yüzey alanının geniş ve gözenekli

yapıda olması adsorpsiyonu artıracaktır [2,15,16]. Şekil 2'deki grafikte farklı adsorbanların, petrolü adsorplama kapasitelerinin yüzdesi verilmiştir.



Şekil 2. Uzun süreli teste farklı adsorban miktarlarının Batman-Garzan petrolünü % adsorplanma verimi (Deneysel Koşullar: T:293 K, pH: Doğal pH)

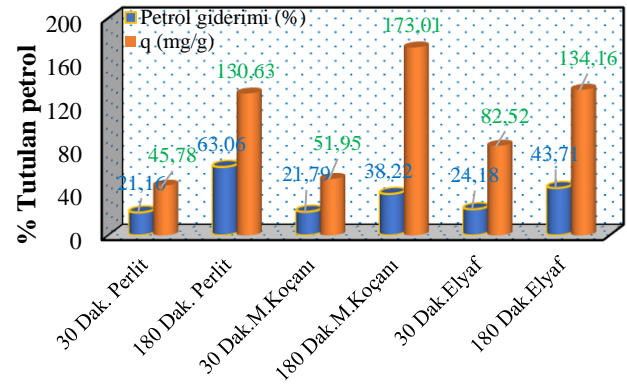
Şekil 2'den görüldüğü üzere, perlit ile yapılan testlerin daha iyi sonuç verdiği gözlemlenmiştir. Bunun nedeni genişmiş perlitin yüksek oranda mezo (orta) ve mikro (küçük) gözeneklere sahip olduğu bilinmektedir. Ayrıca mezo gözenek yapısına sahip adsorbanların organik kökenli bileşiklerin adsorpsiyonunda daha etkin olduğu bilinmektedir [17]. Dolayısıyla daha büyük bir yüzey alanına sahip olan genişmiş perlit bu çalışmada daha etkin bir adsorpsiyon verimine sahip olmuştur. Yapılan çalışmada mısır koçanı elyafa göre daha aktif bir adsorpsiyon sergilediği gözlemlenmiştir. Fakat adsorban miktarı arttığında elyafın daha etkin olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak yapılan çalışmalarda; organik atık gideriminde hidrofobik özelliğe sahip olan adsorbanlar tercih edilmiş, bunun yanında hidrofilik karakterli adsorbanlara ise hidrofobik karakter kazandırılmaya çalışılmıştır. Ayrıca nisbi hidrofilik özelliğe sahip selülozik elyaf ve organokil gibi adsorbanlarında kullanıldığı çalışmalarda mevcuttur [18,19]. Farklı adsorbanların petrol tutma kapasiteleri şekil 4'te verilmiştir.

3.3. Sürenin adsorpsiyon prosesi üzerine etkisi

Adsorpsiyon prosesinde süre önemli parametrelerden biridir. Sürenin proses üzerine olan etkisi Şekil 4'de verilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde, artan süre ile adsorpsiyon kapasitesinin arttığı belirlenmiştir. Artan süre, genişmiş perlitin Batman-Garzan petrolünün adsorpsiyonunda en iyi sonucu vermiştir. Kısa süreli test neticesinde elde edilen sonuçta ise elyafın en yüksek verimi sergilediği gözlemlenmiştir.



Şekil 3. Farklı adsorbanların petrol tutma kapasiteleri



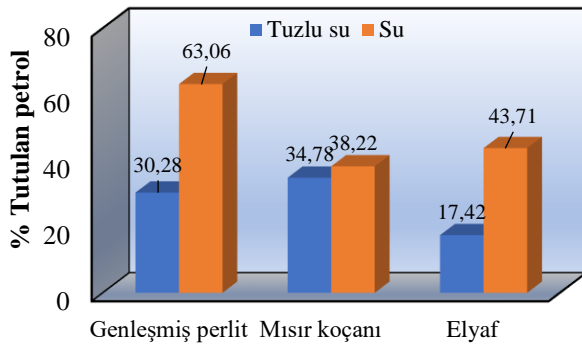
Şekil 4. Farklı adsorbanlar üzerine Batman-Garzan petrolünün adsorpsiyon prosesinde sürenin etkisi (Deneysel Koşullar: T:293 K, pH: Doğal pH, Adsorbent miktarı: 5 g/L)

3.4. Petrol Adsorpsiyonunda Tuzlu Suyun Etkisi

Tuz adsorpsiyon prosesini olumsuz etkileyen bir etken olduğu bilinmektedir. Yapılan deneysel çalışmalarda üç tür adsorban malzemenin de tuzlu suyu adsorplama kapasitelerinin, tatlı suya göre daha düşük olduğu görülmüştür. Bu çalışmada bulunan sonuç Çubuk ve arkadaşları tarafından farklı adsorbanlar kullanılarak yapılan çalışma ile benzer bir sonucu vermiştir [2]. Tuzlu suda adsorpsiyonun düşük olmasının nedeni, tuz ilavesinin su yoğunluğunu ve iyon yükünü artırdığı bunun sonucunda prosesteki adsorpsiyon prosesinde difizyonu azalttığı düşünülmektedir. Literatürde çözüldüğü iyon yükünün artmasının adsorpsiyon hızını düşürdüğü bildirilmektedir [20]. Benzer çalışmalarda olduğu gibi, bu çalışmada da deniz suyunu simüle edebilmek için NaCl içeren su kullanılmıştır [21,22].

Kütlece %2.5'lük NaCl içeren su numunesi ve uzun süreli teste göre petrolün adsorbentler tarafından % tutulma kapasiteleri Şekil 5'de verilmiştir.

Grafikten görüldüğü üzere, adsorbantların tuzlu suyu adsorplama kabiliyetlerinin tatlı suya göre daha düşük olduğu literatür ile uyumludur. Bu duruma sudaki iyon yükünün artışından kaynaklı olarak, prosesin difüzyona olan olumsuz etkisinden dolayı, adsorplanma hızının düşmesinden kaynaklanmaktadır [20]. Ayrıca tuzun adsorbentlerin aktif bölgelerine adsorplanması ve buna bağlı olarak zeta potansiyelinin değişmesi sonucunda adsorbent performansında bir azalmanın olabileceği düşünülmektedir. Bu durumda kullanılan adsorban malzemelerin denizde petrol kaynaklı kirliliklerin uzaklaştırılmasında tatlı suya göre daha az etkin olduğu görülmektedir. Petrol gideriminin amaçlandığı benzer bir çalışmada, organokil gibi tam hidrofobik olmayan malzemeler ile yapılan giderimde, ham pamuk elyafına yakın sonuçlar elde edilmiştir [18].



Şekil 5. Uzun süreli test sonucunda adsorbantların tuzlu suda ve suda ham petrolü (%) adsorplama kapasitesi (Deneysel Koşullar: T:293 K, pH: Doğal pH, Adsorbent miktarı: 5 g/L)

3.5. Adsorban malzemelerin özgül petrol adsorplama kapasiteleri

ASTM F726-06 test standardına göre yapılan petrol adsorplama test sonuçları Tablo 3'de verilmiştir. Özgül petrol adsorplama kapasiteleri aşağıdaki bağıntıya göre belirlenmiştir [8].

$$OSC = \frac{(m_1 - m_0)}{m_0} \dots \dots \dots 3$$

Burada;

OSC: Özgül petrol adsorplama kapasitesi

m₀: Test öncesi adsorban ağırlığı

m₁: Test sonrası adsorban ağırlığı

Tablo 3'de kısa ve uzun süreli test verilerine göre, farklı adsorbantların, kısa süreli teste göre özgül petrol adsorplama kapasitesinde en düşük verimin genleşmiş perlitte en yüksek verimin ise elyaf da olduğu görülmüştür. Aynı şekilde uzun süreli test verileri göz önüne alındığında en yüksek verimin genleşmiş perlitte ve en az verimin ise mısır koçanında olduğu belirlenmiştir. Adsorbantların petrol ile birlikte suyu da adsorplaması, adsorbantların hidrofilik yapıda olduklarını göstermektedir.

Tablo 3. Adsorban malzemelerin özgül petrol adsorplama kapasiteleri

Ads. Malzeme	Kısa süreli test			Uzun süreli test		
	m ₀ (g)	m ₁ (g)	OSC	m ₀ (g)	m ₁ (g)	OSC
Genleşmiş Perlit	0.432	0.762	0.764	0.262	0.940	2.588
Mısır Koçanı	0.412	0.750	0.820	0.413	1.118	1.707
Elyaf	0.414	0.794	0.918	0.375	1.074	1.864

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Yapılan deneyler neticesinde, optimal adsorban miktarının her bir malzeme için için 5.0 g/L olarak bulunmuştur. Diğer taraftan, Adsorban olarak kullanılan perlit, mısır koçanı ve elyaf malzemelerinin petrol giderimi etkinliğinin değerlendirilmesinde, uzun süreli test için genleştirilmiş perlitin en iyi sonucu verdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca kullanılan her üç adsorbantın da petrol kirliliklerinin giderilmesinde temizleme sorbentleri olarak kullanılabilmelerine imkan sağlanacağı düşünülmektedir. Ayrıca malzemelerin modifikasyon ile hidrofobitesi artırılarak daha etkin oranlarda ham petrol adsorplanma veriminin artırılacağı düşünülmektedir.

Çıkar çatışmaları

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Etik Onay: Bu çalışma için Etik Onayı gerekmektedir.

Kaynakça

- [1] Erol Nalbur, B., Karaelli, E., "Petrol İçeren Atık Suların Arıtılabilirliği Ve Arıtım Sisteminin Tasarlanması", Uludağ Univ. J. Fac. Eng., (2019), 24, 231-242.
- [2] Çubuk, M., Metin, G., Uğurlu, E.L., "Atık Strafor, Çay Lifi Ve Polistiren Köpük Kullanılarak Sudaki Petrol Kirliliğinin Giderilmesi", Gazi Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Derg., (2014), 29, 281-287.
- [3] Xu, X., Liu, W., Tian, S., Wang, W., Qi, Q., Jiang,

- P., Gao, X., Li, F., Li, H., "Petroleum Hydrocarbon-Degrading Bacteria for the Remediation of Oil Pollution Under Aerobic Conditions: A Perspective Analysis", *J. F. in microbiology*, (2018), 1-11.
- [4] Baylan, Ü., "Deniz Ulaşımında Petrol Kirliliğine Müdahale Sistemi: Türkiye Ve Avrupa Uygulamaları", Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara (2011).
- [5] Chen, G., He, G., "Separation of water and oil from water-in-oil emulsion by freeze/thaw method", *Sep. Purif. Technol.*, (2003), 31, 83-89.
- [6] Açışlı, Ö., "Asit mavisi 185 boyar maddesinin bozunma veriminin; farklı miktarlarda demir içeren doğal hematit, siderit ve manyetit minerallerinin adsorpsiyon, Fenton ve Foto-Fenton benzeri proseslerdeki verimliliklerinin karşılaştırılması", *Eur. J. Sci. Technol.*, (2019) 199-209.
- [7] Ikhlak, A., Brown, D.R., Kasprzyk-Hordern, B., "Catalytic ozonation for the removal of organic contaminants in water on alumina", *Appl. Catal. B Environ.*, (2015), 165, 408-418.
- [8] Choi, H.J., "Agricultural bio-waste for adsorptive removal of crude oil in aqueous solution", *J. Mater. Cycles Waste Manag.*, (2019), 21, 356-364.
- [9] Suni, S., Kosunen, A.L., Hautala, M., Pasila, A., Romantschuk, M., "Use of a by-product of peat excavation, cotton grass fibre, as a sorbent for oil-spills", *Mar. Pollut. Bull.*, (2004), 49, 916-921.
- [10] Afenyo, M., Khan, F., Veitch, B., Yang, M., "A probabilistic ecological risk model for Arctic marine oil spills", *J. Environ. Chem. Eng.*, (2017), 5, 1494-1503.
- [11] ASTM Standard F726-06. "Standard Test Method for sorbent Performance of Adsorbent" In 2006 Annual Book of ASTM Standards; American Society for Testing and Materials (ASTM): West Conshohocken, PA., (2006).
- [12] Açışlı, Ö., Karaca, S., Gürses, A., "Investigation of the alkyl chain lengths of surfactants on their adsorption by montmorillonite (Mt) from aqueous solutions", *Appl. Clay Sci.*, (2017), 142, 90-99.
- [13] Açışlı, Ö., "Preparation of Fe₃O₄/organo-montmorillonite nanocomposite and its use as an adsorbent for removal of an anionic dye", (2019), 139, 369-378.
- [14] Kiransan, M., Soltani, R.D.C., Hassani, A., Karaca, S., Khataee, A., "Preparation of cetyltrimethylammonium bromide modified montmorillonite nanomaterial for adsorption of a textile dye", *J. TAIWAN Inst. Chem. Eng.*, (2014), 45, 2565-2577.
- [15] Karaboyacı M., "Modifiye edilmiş lignoselülozikler ile ağır metal adsorpsiyonu" Doktora Tezi, Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, (2010).
- [16] Kayacan, S., "Kömür ve koklarla sulu çözeltilerden boyar maddelerin uzaklaştırılması" Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, (2007).
- [17] Türkoğlu, S., "Sudaki Fenolik Kirleticilerin Farklı Adsorplayıcılara Adsorpsiyonu ve Katının Mikrodalga Rejenerasyonu", Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, (2010).
- [18] Carmody, O., Frost, R., Xi, Y.F., Kokot, S., "Surface characterisation of selected sorbent materials for common hydrocarbon fuels", *Surface Science*, (2007), 601, 2066-2076.
- [19] Teas, C., Kalligeros, S., Zankos, F., Stournas, S., Lois, E., Anastopoulos, G., "Investigation of the effectiveness of absorbent materials in oil spills clean up", *Desalination*, (2001), 140, 259-264.
- [20] Duran, C., Şentürk, H.B., Bulut, V.N., Gündoğdu, A., Özdeş D., "Rodamin 6g Boyarmaddesinin Pirinç Kabukları Üzerine Adsorpsiyonu", *D.Ü.F.B.E. Dergisi*, (2009), 19-30.
- [21] Karakasi, O.K., Moutsatsou, A., "Surface modification of high calcium fly ash for its application in oil spill clean up", *Fuel*, (2010), 89, 3966-3970.
- [22] Zhang, H., Khatibi, M., Zheng, Y., Lee, K., Li, Z., V Mullin, J., "Investigation of OMA formation and the effect of minerals", *Mar. Pollut. Bull.*, (2010), 60, 1433-1441.



Cyclic Polyalcohols: Inositol, Quercitol, Conduritol, Carba-Sugar and Gabosine

Nurhan KİSHALI

Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya bölümü-25240-Eraurum-Türkiye

(ORCID: 0000-0003-0262-1540)

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
02.05.2023	27.05.2023	15.06.2023

Abstract: In the literature, the general name cyclitol is used to describe all cyclic alcohols. Thus, cyclitols are defined as cyclic compounds with more than one hydroxy group in their structure. The use of cyclitols in the treatment of cancer, ulcers and fractures and the biological activity of its derivatives as antileukemic, antitumor and enzyme inhibitors have increased the importance of stereospecific and short-cut synthesis of these compounds. In this review, general information is given about the six-ringed cyclitols inositol, quersitol, conduritol, carba-sugar, gabosins, which are stated as the main cyclitols.

Keywords: Inositol, quercitol, conduritol, carba-sugar, gabosin.

Siklik Polialkoller: İnositol, Quersitol, Konduritol, Karba-Şeker ve Gabosin

Özet: Literatürde tüm siklik alkollerini belirtmek için genel olarak siklitol adı kullanılmaktadır. Böylece siklitoller yapısında birden fazla hidroksi grubu bulunan siklik yapıdaki bileşikler olarak tanımlanmışlardır. Siklitollerin kanser, ülser ve kırıkların tedavisinde kullanılması ve türevlerinin ise antilösemik, antitümör ve enzim inhibitörü olarak biyolojik aktivite göstermesi bu bileşiklerin stereospesifik ve kısa yoldan sentezinin önemini artırmıştır. Bu incelemede temel siklitoller olarak belirtilen altı halkalı siklitoller inositol, quersitol, konduritol, karba-şeker ve gabosinler hakkında genel bilgi verilmiştir.

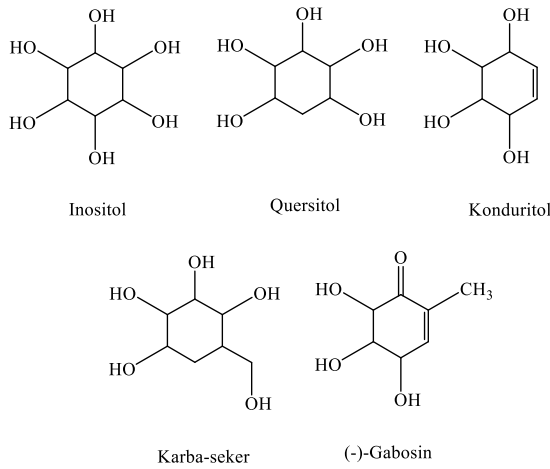
Anahtar Kelimeler: İnositol, quercitol, konduritol, karba-şeker, gabosin.

1. GİRİŞ ve GELİŞME

Siklitol kelimesi, bir halkada hidroksil gruplarının doğrudan bağlı olduğu karbosiklik polialkoller için kullanılır [1]. Bütün siklitoller doğal ürün olarak tanımlanmaktadır. Karbonhidrat grubunda olan inositoller, quersitoller, konduritoller, karba-şekerler ve gabosinler [2] (Şekil 1) biyolojik sistemlerde etkili reaktifler olarak önemlidir. Karbonhidratlar ise glikoprotein ve glikolipitlerin bileşenlerinden olan önemli biyomoleküller olup geniş bir yelpazede biyolojik aktivite göstermektedir. Bu bileşiklerin biyolojik sistemlerdeki rolleri sebebiyle sentezi ve geliştirilmesine büyük önem verilmiştir [3].

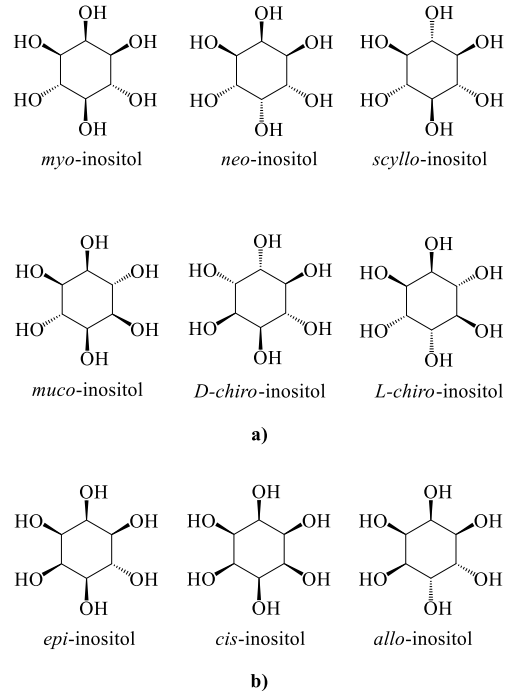
1.1 İnositoller

Siklitoller arasında, glikosidaz inhibitörleri, hücreler arası iletişim, protein bağlama, fosfat depolama vb. dahil olmak üzere dikkat çekici, kapsamlı ve önemli biyolojik işlevleri nedeniyle inositoller büyük öneme sahiptirler. İnositoller, sikloheksanheksol yapısına sahip dokuz izomeri olan bir siklitol sınıfıdır. Bu izomerlerden myo-, chiro-, scyllo-, muco- ve neo-inositoller doğal olan ve cis-, epi- ve allo-inositoller de doğal olmayan izomerlerdir (Şekil 2). Posternak myo-inositol için, bitkilerin temel bir bileşeni olup tespiti için yeterli tekniklerin kullanılması koşuluyla her yerde bulunabileceğini ifade etmiştir [4a].



Şekil 1. İnositol, quersitol, konduritol, karba-şeker ve gabosin moleküllerinin organik yapısı

Doğada en çok bulunan siklitol olan miyo-İnositol, ökaryotik hücrelerde bir dizi ikincil haberci için önemli bir rol oynar [4a]. Son yıllarda, hücre büyümesi gibi çeşitli hücre işlevlerinde önemli rol oynayan inositol fosfatlar, apoptoz, hücre migrasyonu, endositoz ve hücre farklılaşması özellikle araştırılmış ve hücrel sinyal olaylarında hayati biyolojik ve fizyolojik işlevlere sahip olan yeni türler keşfedilmiştir [4].



Şekil 2. a) Doğal olan inositoller; b) Doğal olmayan inositoller

1.2. Quersitoller

Quersitoller (Şekil 3), siklitol ailesinin bir üyesi olup sikloheksan pentol yapısına sahip doğal ürünlerdir [5]. Quersitol, sikloheksan halkası üzerindeki hidroksi gruplarının konfigürasyonuna göre 10 farklı stereoizomer ile gösterilmiştir. Adını bu bileşiğin bol miktarda bulunduğu *Quercus* cinsi bitkilerden almıştır. Genel olarak sikloheksanpentol veya deoksiinositol için kullanılan genel bir isimdir [6].

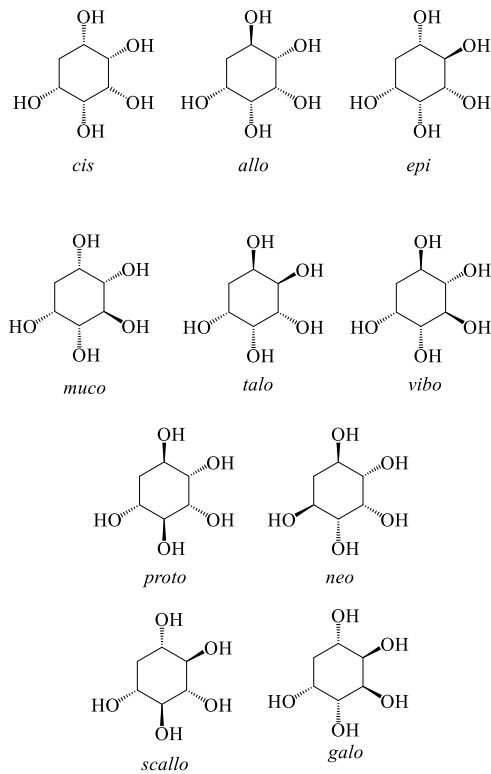
Quersitoller *Chamaerops humilis* [7] gibi birçok bitki türünde de tespit edilmiştir. *Stephania hernandifolia* [8], *Mimusops hexandra* [9,10], *Acetabularia crenulata* [11], *Pachygone ovate* [12], ve *Eucalyptus sp.* [13] türleride quersitol bileşikleri içerdiği belirlenmiştir. Bu bitkilerde quersitol'ün diğer siklitollerle birlikte görülmesi, *Quercus* [14-16] ve *Eucalyptus* [17] türlerinin taksonomik belirteci olarak tespit edilmiştir.

Quersitollerin bitkilerde fizyolojik olarak stres toleransında ve kimyasal savunmasında önemli rolleri vardır. Meşe ağaçlarında (*Quercus robur L.*) uzun süreli kuraklık stresi (glikoz, fruktoz ve galaktoz gibi kolayca metabolize olabilen karbonhidratlar yerine) quersitol ve manitol gibi daha kararlı ve koruyucu osmolitlerin oluştuğu gözlenmiştir [18]. Ayrıca Pırnal Meşe olarak bilinen Akdeniz sklerofil meşe ağacının (*Quercus ilex*) yaralanma tedavisi üzerine yapılan çalışmada otçul zararlıların saldırısıyla quersitol ve kinik asit gibi karbon açısından zengin ikincil metabolitlerin miktarında artış gözlenmiştir [19].

Meşe ağacından yapılan fiçılarda geleneksel olarak mayalanan şaraplarda tespit edilen quersitol, şarapçılık endüstrisinde de hızlandırılmış olgunlaştırmada kullanılan meşe talaşı uygulamasında bir belirteç olarak kullanılması için alternatif bir teknik olarak önerilmiştir [16]. Benzer şekilde quersitol ve siklitollerin miktar tayini yaklaşımı, meşe ballarını farklı çiçeklerinin nektar ballarından ayırt etmek için de önerilmiştir [20].

Quersitoller, glukozun endosiklik oksijenin bir metilen grubu ile değiştirilmesiyle üretilen siklik monosakarit analoglarıdır. Bu metilen, kondiritoller glikosidaz enzimleri tarafından bozunmaya karşı hidrolitik olarak kararlı hale getirmektedir [21]. Quersitol, glukozu benzer yapısal özelliklere sahip olduğu için, glukozidaz enzimine bağlanırken bu şekeri taklit etmesi beklenmektedir. Bu yaklaşım yeni antidiyabetik ajanların sentezine yön vereceği umuduyla, glukozidaz ve diğer glikosidaz inhibitörlerini sentezlemek için bir öncü olarak Quersitol'ün daha fazla tanıtılmasına katkıda bulunmuştur [22,23].

Quersitoller glikosidazların potansiyel inhibitörleri olmasının yanı sıra sekonder metabolit olarak da farklı biyolojik aktivitelere sahiptirler. Örneğin son araştırmalar, quersitolün bazı *okaliptüs* türlerinde ozmotik potansiyelin ayarlanmasına önemli ölçüde katkıda bulunduğunu göstermiştir [24].



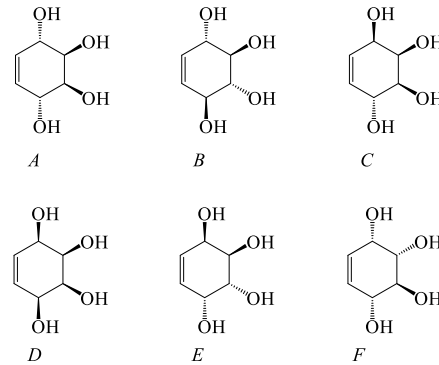
Şekil 3. Quersitol diastereomerlerinin yapıları.

Quersitol'ün 16 stereoizomeri vardır. Bunların 4'ü simetrik ve diğer 12'si 6 çift optik ayna görüntüsünde gruplandırılmıştır. Bitkilerde Quersitol'ün yalnızca üç optikçe aktif formu bulunmuştur. Bunlar (+)-proto-quersitol, (-)-proto-quersitol ve (-)-vibo-quersitoldür. [25]. Bilinen ilk sikloheksanpentol, polarize ışığı sağa çeviren siklitol (+)-proto-Quersitol 1800 lü yılların ortalarında meşe (*quercus*) palamudundan saflaştırılmıştır [25a]. Daha sonra 1961 yılına kadar bilinmeyen ve *eucalyptus populnea* ağacının yapraklarında da polarize ışığı sola çeviren izomer (-)-proto-Quersitol bulunmuştur [25d].

1.3. Konduritol

Konduritol terimi, siklo(heks)-5-en-1,2,3,4-tetrollerin izomerleri için kullanılan bir isimdir. Siklitoller, üç veya daha fazla halka atomunun her biri üzerinde bir hidroksil grubu içeren sikloalkanlar olarak tanımlanır; yani sikloalkan poliollerdir [26]. Polisiklik olanlar da dahil olmak üzere diğer halka yapılarına uygulanmıştır. Bu nedenle, yukarıdaki tanıma göre konduritoller sikloalkanlar değil de sikloalkanlar oldukları için siklitol değildir, ancak literatürde siklitol terimi genellikle bir polihidroksillenmiş siklik bileşik anlamında kullanılmaktadır. Ancak sikloalkan olmalarına rağmen quersitol ve inositolün sentezinde de yaygın olarak kullanıldıkları için siklitol olarak sınıflandırılmıştır.

Kübler, 1908'de *Marsdema Condurango* asmasının kabuğundan yeni bir alkol izole etmiş ve adını bitkinin isminden dolayı konduritol olarak adlandırmıştır. Kübler saflaştırdığı bileşik üzerine yaptığı incelemelerde optikçe aktif olmadığını ve doymamış siklik yapıya sahip olduğunu belirlemiştir [27]. İlerleyen zamanda Dangschat, Fisher [28] ve Kern [29] tarafından yapısının araştırılması sonucu saflaştırılan bileşiğin konduritol A yapısında olduğunu göstermişlerdir. Konduritolün altı diastereomerinin oluşması mümkündür. Diastereoisomerler A, B, C, D, E ve F olarak etiketlenmiştir (Şekil 4). Konduritol A-F'den oluşan konduritol ailesi, ikisi mezo (A ve D) ve dördü D,L çifti (B, C, E ve F) olduğundan, 10 izomerik form içerir [4,30]. Tüm olası konduritol izomerleri sentezlenmiş ve biyolojik önemleri incelenmiştir.



Şekil 4. Konduritol yapıları.

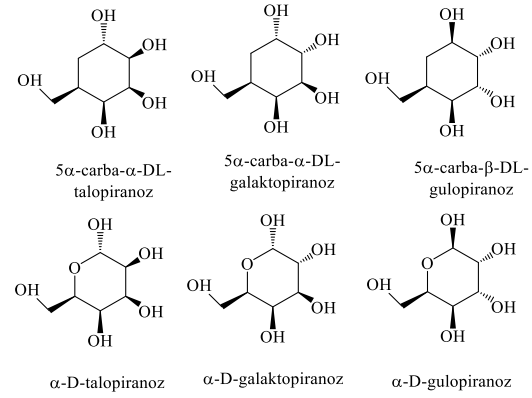
Dangschat, Fisher [28] ve Kern [29] tarafından konduritol-A'nın keşfi, çok sayıda izomerin yanı sıra inositol türevlerinin sentezinin yolunu açmıştır. Doğada, sadece konduritol A ve F' nin oluşumu tespit edilmiştir [30]. Bunlardan konduritol F, yeşil bitkilerde küçük miktarlarda bulunurken, konduritol A belirli tropikal bitki aileleriyle sınırlıdır ve özellikle Hindistan ve Asya'da yaklaşık 2000 yıldır diyabete karşı kullanılan popüler bir ilacın temelidir. Bir çalı olan *Gymnena sylvestre*'den izole edilmektedir [31]. Diğer dört konduritol, sentez yoluyla elde edilen ve doğada bulunmayan izomerlerdir [32, 33].

Konduritoler (sikloheks-5-en-1,2,3,4-tetroller), biyolojik olarak aktif bileşiklerin sentezi için başlangıç malzemeleri olarak değerli bir polioller sınıfıdır. Bu sebeple, inositol fosfat, quersitoller, siklofellitol, *pseudo*-şekerler, pankratistatin, likoridin, aminoglikozid antibiyotikler, şeker amino asit analogları, vb. ile örneklenen biyolojik öneme sahip siklitollerin hazırlanması için sentetik öncü olarak kullanılmıştır [32]. Bazı konduritol türevleri antifeedant (bazı bitkilerde doğal olarak bulunan ve onları yiyen böcekleri veya diğer hayvanları olumsuz yönde etkileyen bir madde), antibiyotik, tümör önleyici, lösemi önleyici ve büyüme düzenleyici aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir [32].

Konduritol A, bağırsak glikoz emilimini önleme kabiliyeti obezite ve diyabet tedavisinde bir ajan olarak kullanımı nedeniyle bu bileşikler arasında oldukça önemlidir bir yere sahiptir. Etki mekanizması belirsiz kalsa da Miyatake [34] konduritol A' nın hipoglisemik etkisinin, aldozları şeker alkollerine dönüştüren enzim olan lens aldoz redüktazının inhibisyonunun bir sonucu olarak diyabetik sıçanlarda katarakt gelişimini önlediğini göstermiştir. Ayrıca, konduritol A' nın hipoglisemik aktivitesi, tümü trans hidroksil konfigürasyonuna sahip olan konduritol B tarafından da gösterilmiş ve ayrıca izole edilmiş pankreatik adacıklardan insülin salınımını modüle ettiği belirlenmiştir.

1.4. Karba-Şeker

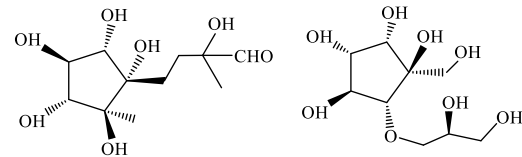
"Karbohidrat mimetiği" terimi, sıklıkla, birden fazla hidroksi grubuna sahip olan ve bu nedenle bir sakkarite benzeyen herhangi bir karbonhidrat türevini veya başka bir bileşiği ifade etmek için kullanılır. 1966 [35] ve 1968 [36] yılları arasında McCasland araştırma grubu, bir monosakkaritin halka oksijeninin bir metilen grubu ile değiştirildiği bir dizi türev geliştirdi (Şekil 5). Bu tür bileşiklere şu anda "karba-şekerler" denmesine rağmen, bu tür bileşikler ailesi için "sözde şekerler" terimini genel kullanılır hale getirdiler.



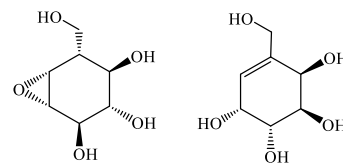
Şekil 5. McCasland ve grubu tarafından sentezlenen bazı karba-şekerler [44] ve karşılık gelen "gerçek" şekerler.

Araştırmacılar, karba şekerlerin orijinal şekerlere yapısal benzerliğinin, ilgili gerçek şekerler yerine enzimler veya diğer biyolojik sistemler tarafından tanımlanmalarını sağlayacağını varsaydılar. Daha da önemlisi, gerçek doğal şekerlerle yüksek bir benzerliği garanti ederken, hafif değişiklik, endojen parçalayıcı enzimlere karşı daha fazla kararlılığa sahip bileşikler sağladığı görüşünü benimseyerek bunu destekleyen çalışmalar yapmışlardır [37].

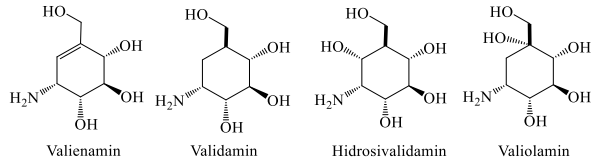
5a-karba-R-d-galaktopiranoz, *Streptomyces*'in fermantasyon suyundan doğal bir ürün olarak izole edilmiştir [38]. Günümüze kadar olan çalışmalarda da karba şekerlerin kimyasal, biyolojik ve konformasyonel yönleri kapsamlı bir şekilde incelenmiş [39, 40] ve enzim inhibisyonu, lektin bağlama ve hatta HIV ve kanser tedavisi üzerine araştırmalar yapılmıştır [41-43]. Furanoz yapıları karba şekerlerde [45-46] piranoz yapıları karba şeker gibi başarılı bir şekilde doğal kaynaklardan saflaştırılmıştır [47-50].



Şekil 6. Doğal olarak oluşan karba-furanozlar [45-46]



Şekil 7. Doğal kaynaklardan saflaştırılan karba-piranoz türevleri [47-50]

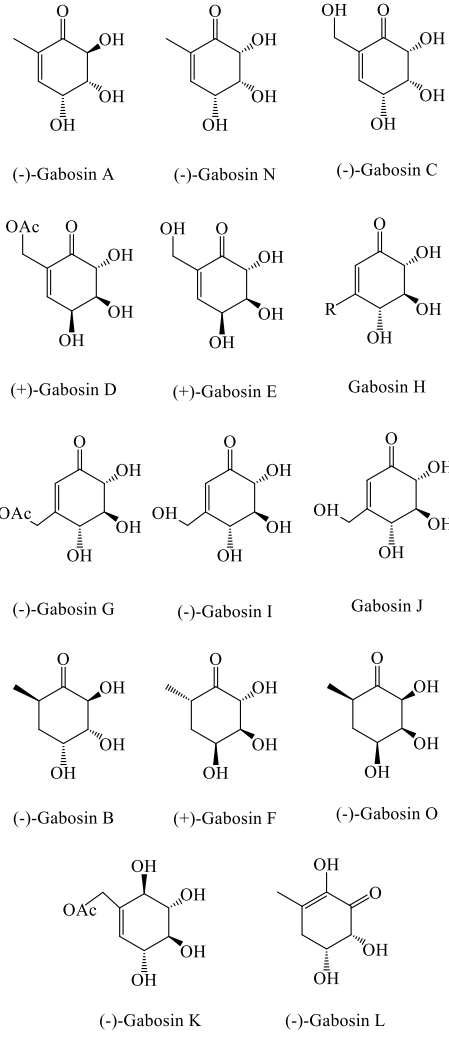


Şekil 8. Doğal olarak oluşan amino karbonhidrat piranozlar [51-55]

İnositollerle yakından alakalı karba-şekerler önceden de belirtildiği gibi pseudo-şeker olarak da bilinirler. Bir α -D-galaktopiranoz türevi *Klebsiella* bakterilerinin büyüme inhibitörü özelliği gösterir ve *streptomyces* fermantasyonunda bulunurlar. α -D-galaktopiranozun bir analogu olan validanın ve valienamin sırasıyla antibiyotik validamisin B ve akarbozun N-bağlı bileşikleridir [56]. Zirai bir antibiyotik olan validamisin A doğada bulunan karba-şekerlerden oluşan bir biyolojik aktif doğal üründür. 1970 de pseudo-şekerlerin bir trisakkariti olarak saflaştırılmıştır. Bunların yedi tane daha homoloğu olan antibiyotikler (validamysin B-H) ve yeni karba-amino şeker türevi bileşikler: validamin, hidroksivalidamin, valienamin ve valiolaminde sentezlenmiştir (Şekil 8). Daha sonra 1976-1982 yılları arasında birçok çalışma grubu α -amilaz inhibitörü akarboz ve türevlerini pseudo-seker inhibitörü olarak izole etmişlerdir. 1973 yılında ise zayıf bir antibiyotik olan 5a-karba- α -D-galaktopiranoz *Streptomyces* den izole edilmiştir [56].

1.5. Gabosin

Gabosinler (Şekil 9), antibiyotik, antikanser ve DNA bağlama özellikleri gibi ilginç biyoaktiviteler gösteren hidroksillenmiş sikloheksenonlar ve sikloheksanonlar ailesine ait ikincil bir metabolittir. 1974' te *Streptomyces* tür bakterilerden gabosin C' nin ilk izolasyonundan [57] bu yana 15 başka gabosin izole edilmiştir [58]. Bu doğal ürünler, karba-şekerler familyasında sınıflandırılabilir [59]. Bu baza duyarlı ketokarba-şekerlerin her biri, bir metil veya hidroksimetil sübstitüentli bir trihidroksillenmiş sikloheksanon veya sikloheksenon çekirdeği içerir. Yapısal çeşitlilikleri, iki ila dört asimetrik merkezlerindeki bağıl ve mutlak konfigürasyon varyasyonlarından ve/veya karbon zincirindeki metil veya hidroksimetil gruplarından kaynaklanmaktadır.



Şekil 9. İkincil metabolitler olarak gabosin ailesi.

2. SONUÇ

Karbonhidratlar genellikle gıda kaynakları olarak düşünülür. Oligosakkaritlerin biyolojik rolleri, proteinlerin ve nükleik asitlerin rollerine kıyasla geçmişte birçok yönden göz ardı edilmiştir. Örneğin kan gruplarının antijenik belirleyicilerinin karbonhidrat yapıları olduğu uzun yıllardır bilinmesine rağmen, genel olarak karbonhidratların önemi tam olarak anlaşılamamıştır. Son yıllarda oligosakkaritlerin biyolojik rolü hakkında çok şey öğrenildi ve bu, glikobiyoloji adı verilen yeni bir alana yol açtı.

Bu derlemede, siklitol olarak sınıflandırmanın ilk üyeleri olarak kabul edilen inositol, quersitol ve konduritoller ve bunlarla ilgili türevler olan karba-şekerler ve gabosinleri hakkında genel bilgi içermektedir. Bu derleme ile yukarıda belirtilen bileşikler tanımak için bilgi verilmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] (a) W. Pigman; D. Horton, "The Carbohydrates Chemistry and Biochemistry" 519-579, Academic: New York, NY, (1972); (b) D. C. Billington, "Recent developments in the synthesis of myo-inositol phosphates" *Chem. Soc. Rev.* (1989), 18, 83-122; (c) G. Legler, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* (1990), 48, 319-384; (d) T. Hudlicky, D. A. Entwistle, K. K. Pitzer, A. J. Thorpe, *Chem. Rev.* (1996), 96, 1195-1220; (e) M. T. Rudolf; W. H. Li, N. Wolfson, A. E. Traynor-Kaplan, C. J. Schultz, "2-Deoxy Derivative Is a Partial Agonist of the Intracellular Messenger Inositol 3,4,5,6-Tetrakisphosphate in the Epithelial Cell Line T₈₄" *Med. Chem.* (1998), 41, 3635-3644; (f) G. F. Busscher, F. P. J. T. Rutjes, F. L. van Delft, "2-Deoxystreptamine: Central Scaffold of Aminoglycoside Antibiotics" *Chem. Rev.* (2005), 105, 775-791; (g) O. Arjona, A. M. Gomez, J. C. Lopez, J. Plumet, *Chem. Rev.* (2007), 107, 1919-2036; (h) G. P. Moss, P. A. S. Smith, D. Tavernier, *Pure App. Chem.*, 1. (1995) 67, 1307-1375.
- [2] (a) K. Tatsuta, T. Tsuchiya, N. Mikami, S. Umezawa, H. Umezawa, H. Naganawa, "KD 16-U1, a new metabolite of *Streptomyces*: isolation and structural studies", *J. Antibiot.* (1974), 27, 579-86; (b) G. Bach, M. S. Breiding, S. Grabley, P. Hammann, K. Hutter, R. Thiericke, H. Uhr, J. Wink, A. Zeeck, "Secondary metabolites by chemical screening 22. Gabosines, new carbasugars from *Streptomyces*", *Liebig. Ann. Chem.* (1993), 3, 241-50; (c) Y. Q. Tang, C. Maul, R. Hofs, I. Sattler, S. Gabley, X-Z. Feng, A. Zeeck, R. Thiericke, "Gabosines L, N and O: New Carba-Sugars from *Streptomyces* with DNA-Binding Properties", *Eur. J. Org. Chem.* (2000), 1, 149-53.
- [3] K. Tatsuta, (1998) "Carbohydrate Mimics: Concepts & Methods Chepleur", Y. Ed. Wiley-VCH: Weinheim, 283-305.
- [4] (a) T.H. Posternak, *The Cyclitols*, 284. Holden-Day, Inc., San Francisco, California, (1965); (b) J.R. Thomas, R.A. Dwek, T.W. Rademacher, *Biochemistry* (1990), 29, 5413-5422; (c) A. Varki, *Glycobiology* (1993), 3, 97-130; (d) A. Dwek, *Chem. Rev.* (1996), 96, 683-720; (e) K. Hinchliffe, R. Irvine, *Nature* (1997), 390, 123-124; (f) S. Ogawa, In *Carbohydrate Mimics: Concept and Methods*; Chapeur, Y., Ed.; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, (1998); p 87; (g) C. Schultz, M.T.Rudolf, H.H.Gilland, A.E.Traynor-Kaplan, K.S. Bruzik, Ed.; *Am. Chem. Soc. Symp. Ser.*; (1999); 718, 232-243; (h) T. D. Heightman, A.T.Vasella, *Angew. Chem., Int. Ed.* (1999), 38, 750-770; (i) N. Asano, *Glycobiology* (2003), 13, 93R-104R; (j) R.F.Irvine, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* (2003), 4, 586-590; (k) Z. Guo, L. Bishop, *Eur. J. Org. Chem.* (2004), 3585-3596; (l) R.H. Michell, *Biochem. Soc. Symp.* (2007), 74, 223-246; (m) J.D. York, D.J. Lew, *Nat. Chem. Biol.* (2008), 4, 16-17; (n) E.J. Chenette, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2009, 10, 238-239.
- [5] G. E. McCasland, S. Furuta, F. L. Johnson, N. J. Shoolery, "Synthesis of Two New Quercitol (Deoxyinositol) Stereoisomers. Nuclear Magnetic Resonance and Optical Rotatory Configurational Proofs", *J. Am. Chem. Soc.*, (1961), 83, 2335.
- [6] V. Plouvier, "Sur la recherché des itols a chaine droite et des cyclitols chez les vegetaux- Relations entre leur repartition et la classification systematique Bull. Soc. Chim. Biol. (1963), 11, 1079-1118.
- [7] H. Müller, "CLXV-The occurrence of quercitol (quercite) in the leaves of *Chamaerops humilis*" *J. Chem. Soc., Trans.* (1907), 91, 1766-1767.
- [8] J. Ewing, G. K. Hughes, E. Ritchie, "A new source of L-quercitol (viburnitol)". *Aust. J. Chem.* (1950), 3, 514-516.
- [9] C. R. Mitra, G. Misra, "Mimusops hexandra-I. Constituents of fruit and seed" *Phytochemistry* (1965), 4, 345-348.
- [10] G. Misra, C. R. Mitra, "Mimusops hexandra-III. Constituents of root, leaves and mesocarp" *Phytochemistry* (1968), 7, 2173-2176.
- [11] E. J. Bourne, E. Percival, B. Smestad, "Carbohydrates of *Acetabularia* species. Part I," *Carbohydr. Res.* (1972), 22, 75-82.
- [12] S. Dasgupta, A. B. Ray, S. K. Bhattacharya, R. Bose, "Constituents of *Pachygone ovata* and pharmacological action of its major leaf alkaloid," *J. Nat. Prod.* (1979), 42, 399-406.
- [13] A. Merchant, M. Tausz, S. K. Arndt, M. A. Adams, "Cyclitols and carbohydrates in leaves and roots of 13 *Eucalyptus* species suggest contrasting physiological responses to water deficit," *Plant, Cell Environ.* (2006), 29, 2017-2029.
- [14] J. A. P. Passarinho, P. Lamosa, J. P. Baeta, H. Santos, C. P. P. Ricardo, "Annual changes in the concentration of minerals and organic compounds of *Quercus suber* leaves," *Physiol. Plant.* (2006), 127, 100-110.
- [15] S. Rodríguez-Sánchez, A. I. Ruiz-Matute, M. E. Alañón, M. S. Pérez-Coello, L. F. de Julio-Torres, R. Morales, I. Martínez-Castro, "Analysis of cyclitols in different *Quercus* species by gas chromatography-mass

- spectrometry,” *J. Sci. Food Agric.* (2010), 90, 1735-1738.
- [16] M. E. Alañón, M. C. Díaz-Maroto, I. J. Díaz-Maroto, P. Vila-Lameiro, M. S. Pérez-Coello, “Cyclic polyalcohols: Fingerprints to identify the botanical origin of natural woods used in wine aging,” *J. Agric. Food Chem.* (2011), 59, 1269-1274.
- [17] A. Merchant, P. Y. Ladiges, M. A. Adams, “Quercitol links the physiology, taxonomy and evolution of 279 eucalypt species,” *Glob. Ecol. Biogeogr.* (2007), 16, 810-819.
- [18] N. Spieß, M. Oufir, I. Matušíková, M. Stierschneider, D. Kopecky, A. Homolka, K. Burg, S. Fluch, J. F. Hausman, E. Wilhelm, E. “Ecophysiological and transcriptomic responses of oak (*Quercus robur*) to long-term drought exposure and rewatering,” *Environ. Exp. Bot.* (2012), 77, 117-126.
- [19] J. Sardans, A. Gargallo-Garriga, M. Pérez-Trujillo, T. J. Parella, R. Seco, I. Filella, “Peñuelas, J. Metabolic responses of *Quercus ilex* seedlings to wounding analysed with nuclear magnetic resonance profiling. *Plant Biol.* (2014), 16, 395-403.
- [20] M. L. Sanz, M. Gonzalez, C. de Lorenzo, J. Sanz, I. Martínez-Castro, “A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey,” *Food Chem.* (2005), 91, 313-317.
- [21] A. Berecibar, C. Grandjean, A. Sinwardena, “Synthesis and Biological Activity of Natural Aminocyclopentitol Glycosidase Inhibitors: Mannostatins, Trehazolin, Allosamidins, and Their Analogs,” *Chem. Rev.*, (1999), 99, 779-844.
- [22] E. Borges de Melo, A. da Silveira Gomes, I. Carvalho, “ α - and β -Glucosidase inhibitors: Chemical structure and biological activity,” *Tetrahedron* (2006), 62, 10277-10302.
- [23] a) L. Anderson. In *The Carbohydrates, Chemistry and Biochemistry*; Pigman, W.; Horton, D., Eds.; Academic Press: New York, (1972); Vol. IA, pp 519-579; b) G. E. McCasland, “Chemical and physical studies of cyclitols containing four or five hydroxyl groups,” *Adv. Carbohyd. Chem.*, (1965), 20, 11. c) G. E. McCasland, M. O. Naumann, L. J. Durham, “Alicyclic carbohydrates. XXXV. The synthesis of proto-quercitol. 220-MHz proton spectrum with the superconducting solenoid,” *J. Org. Chem.* (1968), 33, 4220-4227; d) G. E. McCasland, S. Furuta, L. F. Johnson, J. N. Shoolery, “Synthesis of Two New Quercitol (Deoxyinositol) Stereoisomers. Nuclear Magnetic Resonance and Optical Rotatory Configurational Proofs,” *J. Am. Chem. Soc.*, (1961), 83, 2335-2343.
- [24] (a) A. Merchant, S. K. Arndt, A. Callister, M. A. Adams, “Quercitol plays a key role in stress tolerance of *Eucalyptus leptophylla* (F. Muell) in naturally occurring saline conditions”, *Environ. Exp. Bot.*, (2009), 65, 296; (b) S. K. Arndt, S. J. Livesley, A. Merchant, T. M. Bleby and P. F. Grierson, “Quercitol and osmotic adaptation of field-grown *Eucalyptus* under seasonal drought stress”, *Plant Cell. Environ.*, (2008), 31, 915.
- [25] M. S. Gultekin, E. Salamci, M. Balci, “A novel and short synthesis of (1,4/2)-cyclohex-5-ene-triol and its conversion to (\pm)-proto-quercitol”, *Carbohyd. Res.* (2003), 338, 1615-1619.
- [26] IUPAC Commission on the Nomenclature of Organic Chemistry and IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature. *Nomenclature of Cyclitols. Recommendations.* *Pure Appl. Chem.* (1974), 37, 285.
- [27] K. Kubler, “Beiträge zur Chemie der Kondurangorinde”, *Arch. Pharm.* (1908), 246, 620-660.
- [28] G. Dangschat, H. O. L. Fisher, “Über die Konstitution des Condurits und über einige Cyclohexantetrole”, *Naturwissenschaften* (1939), 27, 756-757.
- [29] W. Kern, W. Frike, H. Steger, “Die Inhaltsstoffe der Kondurangorinde. III” *Arch. Pharm.* (1940), 278, 145-156.
- [30] (a) M. Balci, Y. Sütbeyaz, H. Seçen, “Conduritols and related compounds”, *Tetrahedron* (1990), 46, 3715-3742.; (b) H. A. J. Carless, “The use of cyclohexa-3,5-diene-1,2-diols in enantiospecific synthesis”, *Tetrahedron: Asymmetry* (1992), 3, 795-826.; (c) T. Hudlicky, M. Cebulak, *Cyclitols and Their Derivatives. A Handbook of Physical, Spectral and Synthetic Data*; VCH: New York, (1993); (d) T. Hudlicky, J. W. Reed, *Advances In Asymmetric Synthesis*; JAI: London, (1995); 1, 271; (e) M. Balci, “Synthesis of conduritols and related compounds”, *Pure Appl. Chem.* (1997), 69, 97-104.
- [31] K. R. Shanmugasundaram, C. Panneerselvam, P. Samudram, E. R. B. Shanmugasundaram, “Enzyme changes and glucose utilisation in diabetic rabbits: the effect of *Gymnema sylvestre*, R.Br.”, *J. Ethnopharmacol.* (1983), 7, 205-234.
- [32] (a) M. S. Gultekin, M. Celik, M. Balci, “Cyclitols: conduritols and related compounds”, *Curr. Org. Chem.* (2004), 8, 1159-1186; (b) Kwon, Y.-U.; Chung, S.-K. “Facile synthetic routes to all possible enantiomeric pairs of conduritol stereoisomers via efficient enzymatic

- resolution of conduritol B and C derivatives”, *Org. Lett.* (2001), 3, 3013-3016.
- [33] A. Patti, C. Sanflippo, M. Piattelli, G. Nicolosi, “Enantioselective Synthesis of (-)- and (+)-Conduritol F via Enzymatic Asymmetrization of cis-Cyclohexa-3,5-diene-1,2-diol”, *J. Org. Chem.*, (1996), 61, 6458-6461.
- [34] K. Miyatake, S. Takenaka, T. Fujimoto, G. Kensho, S. Upadhaya, M. Kirihata, I. Ichimoto, Y. Nakano, “Isolation of conduritol A from *Gymnema Sylvester* and its effects of against intestinal glucose absorption in rats,” *Biosci., Biotech., Biochem.* (1993); 57: 2184-2185.
- [35] G. E. McCasland, S. Furuta, L. J. Durham, “Alicyclic carbohydrates. XXIX. 1,2 The synthesis of a pseudo-hexose (2,3,4,5-tetrahydroxycyclohexanemethanol),” *J. Org. Chem.* (1966) 31:1516-1521.
- [36] G. E. McCasland, S. Furuta, L. J. Durham, “Alicyclic carbohydrates. 33. Epimerization of pseudo-DL-alpha-DL-talopyranose to pseudo-alpha-DL-galactopyranose Proton magnetic resonance studies,” *J. Org. Chem.*, (1968), 33, 2841-2844.
- [37] A. Zorin, L. Klenk, T. Mack, H. P. Deigner, M. S. Schmid, “Current Synthetic Approaches to the Synthesis of Carbasugars from Non Carbohydrate Sources,” *Top. Curr. Chem.* (2022), 380:12.
- [38] T. W. Miller, B. H. Arison, G. Albers-Schonberg “Isolation of a cyclitol antibiotic: 2,3,4,5-tetrahydroxycyclohexanemethanol,” *Biotechnol. Bioeng.* (1973) 15:1075-1080.
- [39] O. Arjona, A. M. Gómez, J. C. López, P. Joaquín “Synthesis and conformational and biological aspects of carbasugars,” *Chem Rev.* (2007) 107:1919-2036.
- [40] S. Roscales, J. Plumet “Biosynthesis and biological activity of carbasugars,” *Int J. Carbohydr. Chem.* (2016) 1-42.
- [41] P. Awolade, N. Cele, N. Kerru, L. Gummidi, E. Oluwakemi, P. Singh, “Therapeutic significance of β -glucuronidase activity and its inhibitors: a review,” *Eur. J. Med. Chem.* (2020), 187:1119–1121.
- [42] R. Lahiri, A. A. Ansari, Y. D. Vankar “Recent developments in design and synthesis of bicyclic azasugars, carbasugars and related molecules as glycosidase inhibitors,” *Chem. Soc. Rev.* (2013) 42, 5102-5118.
- [43] T. Leermann, O. Block, M. A. L. Podeschwa, U. Pfüllerd, H. J. Altenbacha, “De novo synthesis and lectin binding studies of unsaturated carba-pyranoses,” *Org. Biomol. Chem.* (2010) 8, 3965-3974.
- [44] T. W. Miller, B. H. Arison, G. Albers-Schonberg, “Isolation of a cyclitol antibiotic: 2, 3, 4, 5-tetrahydroxycyclohexanemethanol.” *Biotechnol. Bioeng.* (1973), 15, 1075-1080.
- [45] (a) M. Adinolfi, M. M. Corsaro, C. De Castro, A. Evidente, R. Lanzetta, A. Molinaro, M. Parrilli, “Caryose: a carbocyclic monosaccharide from *Pseudomonas caryophylli*.” *Carbohydr. Res.* (1996), 284, 111-118. (b) M. Adinolfi, M. M. Corsaro, C. DeCastro, A. Evidente, R. Lanzetta, P. Lavermicocca, M. Parrilli, “Analysis of the polysaccharide components of the lipopolysaccharide fraction of *Pseudomonas caryophylli*.” *Carbohydr. Res.* (1996), 284, 119-133.
- [46] (a) M. De Rosa, S. De Rosa, A. Gambacorta, “¹³C-NMR assignments and biosynthetic data for the ether lipids of *Caldariella*.” *Phytochemistry* (1977), 16, 1909. (b) M. De Rosa, S. De Rosa, A. Gambacorta, L. Mincle, J. D. Bullock, “Chemical structure of the ether lipids of thermophilic acidophilic bacteria of the *Caldariella* group.” *Phytochemistry* (1977), 16, 1961. (c) Y. Bleriot, E. Untersteller, B. Fritz, P. Sinay, “Total synthesis of calditol: structural clarification of this typical component of Archaea order Sulfolobales.” *Chem. Eur. J.* (2002), 8, 240-246.
- [47] (a) J. Marco-Contelles, M. T. Molina, S. Anjum, “Naturally occurring cyclohexane epoxides: sources, biological activities, and synthesis.” *Chem. Rev.* (2004), 104, 2857-2900. (b) C. Thebtaranonth, Y. Thebtaranonth, Y. “Naturally occurring cyclohexene oxides” *Acc. Chem. Res.* (1986), 19, 84-90.
- [48] J. Marco-Contelles, “Cyclohexane Epoxides—Chemistry and Biochemistry of (+)-Cyclophellitol.” *Eur. J. Org. Chem.* (2001), 1607-1618.
- [49] (a) S. Atsumi, K. Umezawa, H. Iinuma, H. Naganawa, H. Nakamura, Y. Iitaka, T. Takeuchi, “Production, isolation and structure determination of a novel β -glucosidase inhibitor, cyclophellitol, from *Phellinus* sp” *J. Antibiot.* (1990), 43, 49-53. (b) K. Tatsuta, “Total synthesis and chemical design of useful glycosidase inhibitors.” *Pure Appl. Chem.* (1996), 68, 1341-1346.
- [50] (a) Y. Nobuji, C. Noriko, M. Takashi, U. Shigeru, A. Kenzon, I. Michaki, *Jpn. Kokai Tokkyo Koho, JP, 06306000*, (1994). See also: (b) N. Yoshikawa, N. Chiba, T. Mikawa, S. Ueno, K. Harimaya, M. Iwata, *Chem. Abstr.* (1995), 122, 185533e.
- [51] (a) Y. Kameda, S. J. Horii, “The unsaturated cyclitol part of the new antibiotics, the validamycins.” *Chem. Soc., Chem. Commun.*

- (1972), 746-747. (b) Y. Kameda, S. Horii, "Microbial transformation of validamycins." *J. Antibiot.* (1975), 28, 298-306.
- [52] (a) Y. Kameda, N. Asano, M. Teranishi, K. Matsui, "New Cyclitols, Degradation Of Validamycin A By Flavobacterium Saccharophilum." *J. Antibiot.* (1980), 33, 1573-1574. (b) Y. Kameda, N. Asano, M. Teranishi, M. Yoshikawa, K. Matsui, "New intermediates, degradation of validamycin A by Flavobacterium saccharophilum." *J. Antibiot.* (1981), 34, 1237-1240. (c) N. Asano, M. Takeuchi, K. Ninomiya, Y. Kameda, K. Matsui, "Microbial degradation of validamycin A by Flavobacterium saccharophilum Enzymatic cleavage of CN linkage in validoxylamine" *J. Antibiot.* (1984), 37, 859-867.
- [53] (a) S. Ogawa, Y. Miyamoto, A. Nakajima, "Microbial degradation of validamycin A by Flavobacterium saccharophilum Enzymatic cleavage of CN linkage in validoxylamine A." *Chem. Lett.* (1989), 725-867; (b) S. Ogawa, A. Nakajima, Y. Miyamoto, "Cleavage of validoxylamine A derivatives with N-bromosuccinimide: preparation of blocked synthons useful for the construction of carbaoligosaccharides composed of imino linkages." *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, (1991), 3287-3290.
- [54] S. Horii, T. Iwasa, Y. Kameda, "Studies On Validamycins, New Antibiotics. V Degradation Studies." *J. Antibiot.* (1971), 24, 57-58.
- [55] Y. Kameda, N. Asano, M. Yoshikawa, M.; Takeuchi, K. Yamaguchi, K. Matsui, S. Horii, H. Fukase, "Vaholamine, A New A-Glucosidase Inhibiting Aminocyclitol Produced By Streptomyces Hygroscopicus." *J. Antibiot.* (1984), 37, 1301-1307.
- [56] S. Ogawa, "Synthetic studies on pseudo-sugars" *Journal of Synthetic Organic Chemistry, Japan*, (1985), 43(1), 26-39.
- [57] a) T. Tschuyia, M. Mikami, H. Umezawa, H. Naganawa, "KD16-U1, a new metabolite of Streptomyces: Isolation and structural studies." *J. Antibiot.* (1974), 27, 579-586; b) T. Takeuchi, H. Chimura, M. Hamada, H. Umezawa, H. Yoshka, N. Oguchi, Y. Takahashi, A. Matsuda, "A glyoxalase I inhibitor of a new structural type produced by Streptomyces." *J. Antibiot.* (1975), 28, 737-742; c) A. Müller, W. Keller-Schierlein, J. Bielicki, G. Rak, J. Stümpfel, H. Zähler, "Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen. 237. Mitteilung.(2S, 3R, 4R, 6R)-2, 3, 4-Trihydroxy-6-methylcyclohexanon aus zwei Actinomyceten-Stämmen." *Helv. Chim. Acta* (1986), 69, 1829-1832.
- [58] G. Bach, S. Breiding-Mack, S. Grabley, P. Hammam, K. Hütter, R. Thiericke, H. Uhr, J. Wink, A. Zeeck, "Secondary Metabolites by Chemical Screening, 22. Gabosines, New Carbasugars From Streptomyces." *Liebigs Ann. Chem.* (1993), 241-250.
- [59] a) P. Vogel, "Monosaccharide and disaccharide mimics: new molecular tools for biology and medicine." *Chimia* (2001), 55, 359-365; b) O. Arjona, A. M. Gomez, J. C. Lopez, "Synthesis and conformational and biological aspects of carbasugars." *Chem. Rev.* (2007), 107, 1919-2036.

Some phenolic compounds as inhibitors of glutathione S-transferase and glutathione reductase: an *in vitro* and *in silico* analysis

Pınar GÜLLER

Atatürk University, Faculty of Science, Department of Chemistry, 25240, Erzurum-Turkey

(ORCID: 0000-0001-8482-7889)

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
05.05.2023	09.06.2023	15.06.2023

Abstract: It has been determined that Glutathione S-transferases (GSTs) and Glutathione reductase (GR) activities increase in cancer cells and contribute to the progression of cancer by causing multidrug resistance (MDR). The enzyme glutathione reductase catalyzes the transfer of electrons between oxidized glutathione (GSSG) and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, reduced form, (NADPH). The resulting reduced glutathione (GSH) can detoxify various xenobiotics by attacking the electrophilic center in the catalysis of GSTs. Detoxification of anticancer drugs with increased expression of GST and GR in cancer cells reduces the effectiveness of these drugs. GST and GR inhibition is an important approach in cancer treatments. In this study, from human erythrocytes, GR was isolated using 2',5'-ADP Sepharose 4B affinity chromatography method with 16.912 EU/mg protein specific activity, and GST was isolated by using the Glutathione Agarose affinity chromatography method with 4.88 EU/mg protein specific activity. After the isolation of the enzymes, the inhibition effects of vanillin, epicatechin, and catechin on the activities were investigated. None of the three substances inhibited GST. Vanillin and epicatechin were found to inhibit GR with IC₅₀ values of 86.25 µM and 345 µM, respectively. The elucidation of the inhibition mechanism was carried out by molecular docking studies conducted using the AutoDock program. It has been thought that the findings obtained as a result of this study will guide the design of inhibitors in GR and GST targeted therapies.

Keywords: Glutathione, vanillin, epicatechin, catechin, inhibition, molecular docking.

Bazı fenolik bileşiklerle glutatyon s-transferaz ve glutatyon redüktaz inhibisyonu: *in vitro* ve *in silico* analiz

Özet: Glutatyon S-transferazlar (GSTs) ve Glutatyon redüktaz (GR) aktivitelerinin kanser hücresinde arttığı ve çoklu ilaç direncine (MDR) sebep olarak kanserin ilerlemesine katkıda bulunduğu belirlenmiştir. Glutatyon redüktaz okside glutatyon (GSSG) ile indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) arasında elektron transferini katalize eder. Bu reaksiyon sonucu oluşan redükte glutatyon (GSH) GSTs katalizliğinde çeşitli ksenobiyotiklerin elektrofilik merkezine saldırarak detoksifiye eder. Kanser hücrelerinde antikanser ilaçların artan GST ve GR ekspresyonu ile detoksifikasyonu bu ilaçların etkinliğini azaltır. Bu nedenle kanser tedavilerinde GST ve GR inhibisyonu önemli bir yaklaşımdır. Bu çalışmada, insan eritrositlerinden GR izolasyonu 2',5'-ADP Sepharose 4B afinite kromatografisi yöntemiyle 16,912 EÜ/mg protein spesifik aktiviteyle, GST izolasyonu ise Glutatyon Agaroz afinite kromatografisi yöntemiyle 4,88 EÜ/mg protein spesifik aktiviteyle gerçekleştirilmiştir. Enzimlerin izolasyonundan sonra vanilin, epikatekin ve katekinin aktiviteler üzerine inhibisyon etkisi incelenmiştir. Her üç madde de GST'yi inhibe etmezken, vanilin ve epikatekinin GR'yi sırasıyla 86.25 µM ve 345 µM IC₅₀ değerleriyle inhibe ettiği belirlenmiştir. İnhibisyon mekanizmasının aydınlatılması ise AutoDock programı kullanılarak moleküler yerleştirme çalışmaları ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma sonucunda elde edilen bulguların GR ve GST hedefli tedavilerde inhibitör tasarımına yön vereceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Glutatyon, vanilin, epikatekin, katekin, inhibisyon, moleküler yerleştirme.

1. INTRODUCTION

The family of enzymes known as Glutathione S-transferases (GSTs) has a crucial function in protection against oxidative stress and detoxification the cellular environment. These enzymes catalyze the conjugation of glutathione with a wide range of electrophilic compounds, resulting in their neutralization and excretion from the body. GSTs are expressed in various tissues and cell types, with different subtypes showing specific associations with certain cellular functions and tissue types. For example, Due to its involvement in cancer development and drug resistance, GSTP1 has become an appealing target for the treatment of cancer [1,2].

The broad substrate specificity and detoxification function of GSTs make them essential in maintaining cellular homeostasis and protecting against environmental toxins and carcinogens. The expression of GSTs can be influenced by various factors, including genetic polymorphisms, environmental exposures, and disease states [3,4].

There is a close relationship between GST and glutathione reductase (GR), as GR plays a critical role in maintaining intracellular levels of reduced glutathione (GSH), which is essential for GST function. The regeneration of GSH from its oxidized form (GSSG), which is produced during some antioxidant enzyme-catalyzed processes, is carried out by GR [5,6].

GR is a ubiquitous enzyme which is essential for preserving the balance of redox inside cells by catalyzing the reduction of GSSG to its reduced form (GSH), which is essential for several cellular processes [6]. GR is highly expressed in various tissues, including liver, erythrocytes, and brain, where it plays a critical role in protecting cells against oxidative stress by regulating the levels of GSH. GR expression can be influenced by various factors, including genetic polymorphisms and environmental exposures, which can lead to altered cellular redox status and increased susceptibility to oxidative damage [6]. Given its central role in redox homeostasis, GR has emerged as a promising drug target for various diseases, including cancer, inflammatory diseases, and parasitic infections [7,8].

Given their involvement in drug metabolism and the detoxification of xenobiotics, GSTs have emerged as a promising drug target for various diseases, including cancer, inflammatory diseases, and parasitic infections. The development of GST inhibitors has the potential to improve treatment outcomes and overcome drug resistance [9,10]. This study will provide an overview of GSTs, their functions and expression, and their potential as a drug target for various diseases. The development of GR inhibitors has the potential to improve treatment outcomes by disrupting redox

balance in diseased cells and increasing their susceptibility to oxidative stress [6].

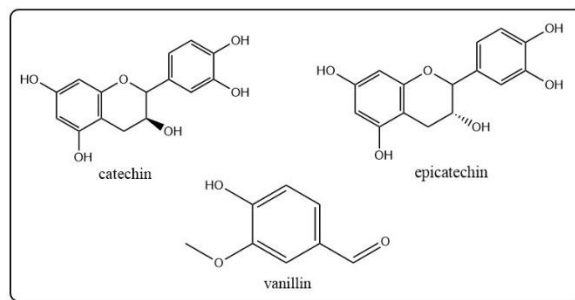


Figure 1. Structures of phenolic compounds that was used in inhibition studies

Phenolic compounds are a class of natural or synthetic compounds characterized by the presence of one or more phenol rings. These compounds exhibit diverse biological functions, such as antioxidative, anti-inflammatory, and antitumor effects. Due to their diverse pharmacological activities, phenolic compounds have become a focus of drug discovery and development [11].

So, in this study it was aimed to investigate the inhibitory effects of phenolics such as vanillin, epicatechin, and catechin on the activities of human erythrocytes GST and GR.

2. MATERIALS AND METHOD

2.1. Materials

Isolation of GR and GST enzymes was carried out using human blood obtained from healthy donors through the Turkish Red Crescent (Erzurum branch). The chemicals used in the experiments for isolating and testing activity were obtained from E. Merk AG, Fluka, and Benzoate derivatives from Fluorochem.

2.2. Activity assays

The activity of GST was determined according to the method proposed by Habig et al., (1974) with slight modifications [12,13]. Activity monitoring was carried out at 340 nm and 25°C using a UV-Vis Spectrophotometer. The reaction medium consisted of 10 mM phosphate buffer (pH 6.5), 2 mM GSH, 2.5 mM CDNB, and enzyme eluate.

The GR activity was determined based on the method proposed by Carlberg and Mannervik, (1981) with slight modifications [14,15]. The activity measurement was conducted using a Beckman Coulter DU 730 UV/Vis Spectrophotometer at 340 nm. The assay medium consisted of 10 mM phosphate buffer (pH 7.5), 2 mM GSSG, enzyme eluate, and 0.2 mM NADPH.

2.3. Inhibition assays

To investigate effects of inhibition of the phenolic compounds on GST and GR enzymes, the proteins were first isolated from human blood using affinity chromatography techniques, as previously described in the literature. Hemolysate was prepared by separating erythrocytes from whole blood using the detailed procedure in Güller, (2021) [16].

GST and GR were isolated using Glutathione Agarose and 2',5'-ADP Sepharose 4B affinity columns, respectively [13,15]. Three different phenolic compounds, namely catechin, epicatechin, and vanillin, listed in Table 1, were tested as inhibitors. Stock solutions of each inhibitor were prepared at a concentration of 1 mg/mL. To determine the IC₅₀ values, enzyme activities were measured at varying concentrations of inhibitors.

2.4. Molecular Docking

The molecular docking study was conducted to investigate the possible types of interactions and energies between the molecules and the enzymes. AutoDock 4.2 was used for the study. The ligands were prepared by drawing the three-dimensional structures of the derivatives as *.sdf files with ChemDraw software. The *.sdf files were then converted to *.pdb format using Avogadro software. The ligands were further prepared by creating rotatable torsions with the Autodock tool and saved as a *.pdbqt file. The receptor protein used in this study was hGR (PDB code: 1XAN) [17] of which crystal structure (*.pdb file type) were obtained from the protein database (<http://www.rcsb.org/pdb>). The AutoDock tool was used to prepare the proteins, and Kollman charges were added to them. The resulting proteins were saved in *.pdbqt format [18,19].

3 RESULTS AND DISCUSSION

To investigate new inhibitors of GST and GR is important because these enzymes play critical roles in maintaining cellular homeostasis and protecting against

oxidative stress and environmental toxins. However, their overexpression has been linked to various diseases, including cancer, inflammatory diseases, and parasitic infections. In particular, GSTs have been implicated in drug resistance, making them an attractive target for cancer treatment. Additionally, inhibition of GR activity can lead to increased levels of oxidized glutathione (GSSG), which has been associated with various diseases, including cancer and Alzheimer's disease [20,21]. Therefore, the development of new inhibitors of GST and GR has the potential to improve treatment outcomes for these diseases and overcome drug resistance [21,22]. One of the important applications of phenolic compounds in drug design is as inhibitors of target enzymes such as GST and GR. These enzymes play critical roles in cellular detoxification and protection against oxidative stress, but they are also involved in drug resistance in cancer and other diseases. Phenolic compounds have been shown to inhibit the activity of GST and GR, which can enhance the efficacy of chemotherapy drugs and overcome drug resistance. Furthermore, phenolic compounds are generally safe and well-tolerated, making them attractive candidates for drug development. Overall, the use of phenolic compounds as inhibitors of target enzymes in drug design offers a promising approach to developing new and effective treatments for a variety of diseases [23,24].

This study was focused on *in vitro* inhibition of human erythrocytes GR and GST by some phenolic compound and inhibition profiles were predicted by molecular docking analysis.

For *in vitro* inhibition studies, firstly, GR and GST were isolated from human erythrocytes with the specific activities of 16.912 EU/mg protein and 4.88 EU/mg protein respectively. Then, solutions of the compounds were prepared at a concentration of 1 mg/mL, and adequate dilutions were made until appropriate concentrations were reached. According to the inhibition studies, it was found that while catechin did not show an inhibitory effect, vanillin and epicatechin inhibited hGR with IC₅₀ values of 86.25 μM and 345 μM, respectively (Figure 2).

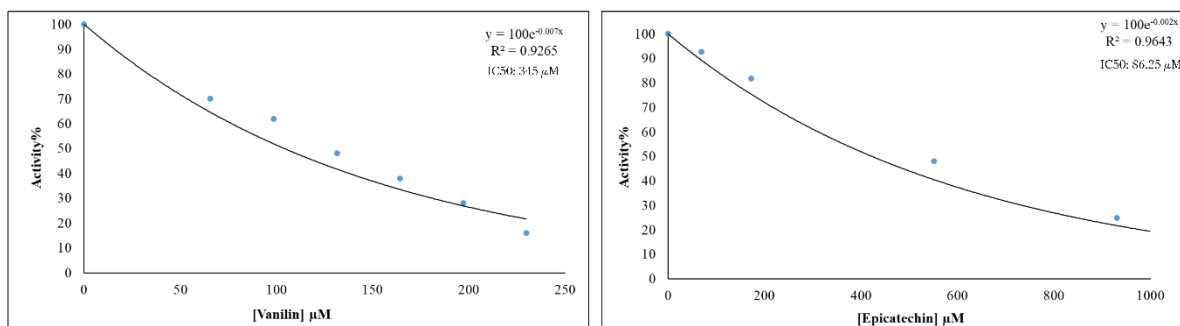


Figure 2. IC₅₀ graphs of vanillin and epicatechin

Similar to this, the results of past studies have demonstrated that some natural substances inhibit GR isolated from various sources. In a study, β -sitosterol, stigmasterol, diosgenin, and jervine were found to have IC_{50} values of 1.2580 μ M, 5.2116 μ M, 0.1916 μ M, and 0.7701 μ M, respectively [25]. Another report revealed that the IC_{50} values of curcumin, quercetin, and resveratrol were 17.25 ± 3.8 mM, 57.8 ± 14.2 mM, and 520 ± 96.7 mM, respectively [26]. Güller, (2021) studied the effects of resorcinol and its derivatives on hGR, and found IC_{50} values to range from 0.014 to 1.500 mM [27]. As for GST inhibition, all three phenolic compounds did not inhibit the activity of hGST. In some studies, the effects of various phenolic compounds on the GST activity were investigated. Appiah-Opong et al., (2009) reported that curcumin and its analogues (diferuloylmethane, bisdemethoxycurcumin, demetoxydiferuloylmethane) showed an inhibitory effect against a number of GST isoenzymes [28]. van Zanden et al., (2003) in *in vitro* experiments, found that quercetin inhibited the hGSTP1-1 enzyme and the IC_{50} value was 4.4 μ M [29].

In this study, the free binding energies of the inhibitors-GR receptor complex were determined using the AutoDock4 tool. The accuracy of the docking process

was confirmed by the redocking of co-crystallized ligands and receptor proteins, which resulted in an RMSD value of 0.076, as depicted in Figure 3.

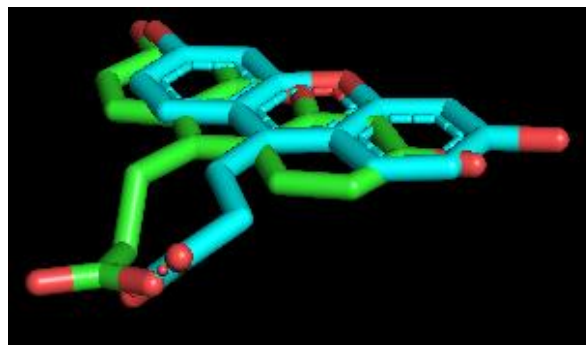


Figure 3. Result of re-docking process on hGR receptor

Following the validation process, docking experiments of ligands into receptor was conducted. According to the results presented in Table 1, all the compounds exhibited lower binding affinities compared to the co-crystallized ligand, HXP, which had a binding affinity of -8.11 kcal/mol.

Table 1. Inhibition results of compounds on hGR.

Compounds	IC_{50} values (μ M)	Estimated Free Energy of Binding (kcal/mol)	Estimated Inhibition Constant, K_i (μ M)
Catechin	-	-	-
Epicatechin	345	-7.00	7.37
Vanillin	86.25	-4.88	263.28
HXP*	-	-8.11	0.978

*HXP: 3,6-dihydroxy-xanthene-9-propionic acid, standard inhibitor of hGR.

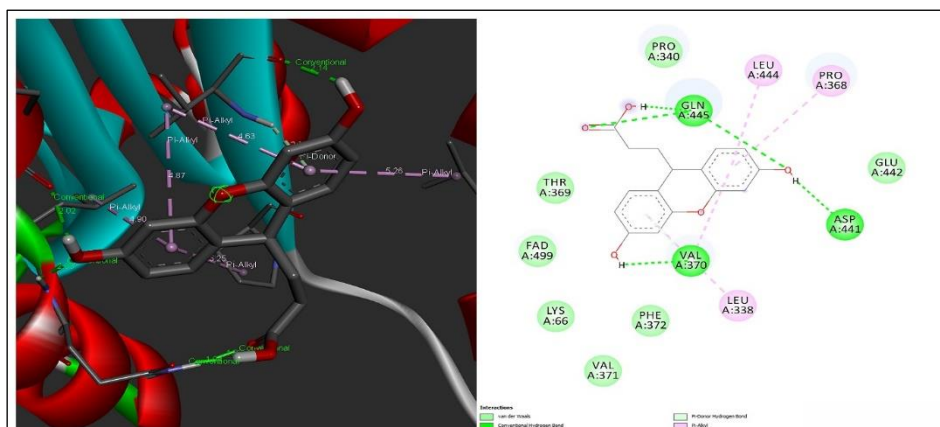


Figure 4. Docking pose of HXP, co-crystallized ligand, into GR receptor.

It was seen from Figure 4 that HXP interacted with Val370, Asp441, and Gln445 residues of receptor via six H-bond. It also showed hydrophobic π -alkyl

interactions upon Leu338, Pro368, and Leu444 amino acids via π bonds of its benzene moieties.

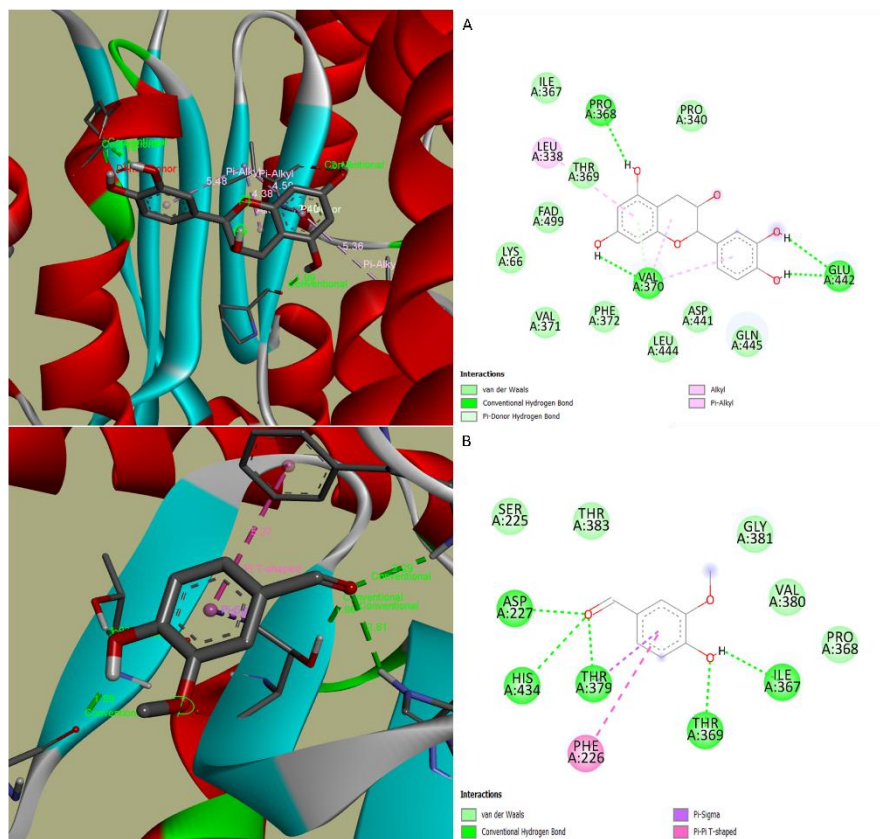


Figure 5. Docking poses of (A) epicatechin and (B) vanillin into GR receptor.

Epicatechin indicated its inhibition effect via four H-bonds. The benzene group of the compound was observed to interact with the active site residues through hydrophobic π -alkyl and alkyl interactions, leading to increased stability of the compound within the binding pocket. As for, vanillin, it had π -sigma and π - π T-shaped interactions with benzene moieties of Phe226 and Thr379 residues with its benzene ring. It has been thought that its inhibition potency could be attributed to five H-bonds indicated with binding pocket residues mostly being as H-acceptor.

4. Conclusion

In conclusion, this study provides an assessment of the inhibitory effects of catechin, epicatechin, and vanillin on human erythrocyte GR and GST, both *in vitro* and *in silico*. The inhibition of these enzymes has been recognized as a viable approach in the treatment of cancer. The results of *in vitro* inhibition study indicated that all three phenolic compounds did not inhibit activity of hGST. While catechin did not show inhibition effect, vanillin and epicatechin inhibited hGR with the IC_{50} values of 86.25 μ M and 345 μ M respectively. Free Binding energies of inhibitors on hGR were estimated as -4.88 kcal/mol and -7.00

kcal/mol. Their inhibitory potency was found lower than standard inhibitor, HXP.

Conflict of Interest

The author declares that there are not any known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this article. This study was presented as an oral presentation at the “11th International Conference on Engineering & Natural Sciences, September 18-19, 2021 / Mus, Turkey”.

Ethical Approval: Ethics Approval is not required for this study.

References

- [1] Hayes, J. D., and Strange, R. C., “Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequences”, *Pharmacology*, (2000), 61(3), 154-166.
- [2] Mannervik, B., and Danielson, U. H., “Glutathione transferases—structure and catalytic activity” *CRC critical reviews in biochemistry*, (1988), 23(3), 283-337.

- [3] Townsend, D. M., Tew, K. D., and Tapiero, H., "The importance of glutathione in human disease" *Biomedicine and pharmacotherapy*, (2003), 57(3-4), 145-155.
- [4] Armstrong, R. N. "Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases", *Chemical research in toxicology*, (1997), 10(1), 2-18.
- [5] Hayes, J. D., Flanagan, J. U., and Jowsey, I. R., "Glutathione transferases. Annual review of pharmacology and toxicology", (2005), 45, 51-88.
- [6] Lu, S. C., "Glutathione synthesis". *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, (2013), 1830(5), 3143-3153.
- [7] Meister, A., Anderson, M. E., and Hwang, O., "Intracellular cysteine and glutathione delivery systems", *The Journal of biological chemistry*, (1983), 258(23), 13955-13960.
- [8] Korkmaz, I. N., Güller, U., Kalın, R., Özdemir, H., and Küfrevioğlu, Ö. İ., "Structure-Activity Relationship of Methyl 4-Aminobenzoate Derivatives as Being Drug Candidate Targeting Glutathione Related Enzymes: in Vitro and in Silico Approaches", *Chemistry and Biodiversity*, (2023), e202201220.
- [9] Demir, Y., Türkeş, C., Küfrevioğlu, Ö.İ., Beydemir, Ş., "Molecular Docking Studies and the Effect of Fluorophenylthiourea Derivatives on Glutathione-Dependent Enzymes", *Chemistry and Biodiversity*, (2022), e202200656.
- [10] Townsend, D. M., and Tew, K. D., "The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance", *Oncogene*, (2003), 22(47), 7369-7375.
- [11] Xu, D.P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J.J., and Li, H.B., "Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment and Resources", *International Journal of Molecular Sciences*, (2017), 18(1), 96.
- [12] Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B., "Glutathione S-Transferases", *Journal of Biological Chemistry*, (1974), 249: 7130-7139.
- [13] Güller, U., Taşer, P., Çiftci, M., Küfrevioğlu, Ö. İ., "Purification of Glutathione S-Transferase From Bonito Sarda Sarda Liver And Investigation of Metal Ions Effects on Enzyme Activity", *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, (2014), 42: 435-442.
- [14] Carlberg, I., Mannervik, B., "Purification and characterization of glutathione reductase from calf liver. An improved procedure for affinity chromatography on 2',5'-ADP-Sepharose 4B", *Analytical Biochemistry*, (1981), 116: 531-536.
- [15] Taşer, P., Çiftci, M., "Purification and Characterization of Glutathione Reductase from Turkey Liver", (2012), *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 36(5), 546-553.
- [16] Güller, P., "The In Vitro and In Silico Inhibition Mechanism of Glutathione Reductase by Resorcinol Derivatives: A Molecular Docking Study", *Journal of Molecular Structure*, (2021), 1228: 129790.
- [17] Savvides, S.N., and Karplus, P.A., "Kinetics and Crystallographic Analysis of Human Glutathione Reductase in Complex with a Xanthene Inhibitor", *Journal of Biological Chemistry*, (1996), 271: 8101-8107.
- [18] Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., and Olson, A. J., "AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility", *Journal of computational chemistry*, (2009), 30(16), 2785-2791.
- [19] El-Hachem, N., Haibe-Kains, B., Khalil, A., Kobeissy, F. H., & Nemer, G., "AutoDock and AutoDockTools for protein-ligand docking: beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1 (BACE1) as a case study", *Neuroproteomics: Methods and Protocols*, (2017), 391-403.
- [20] Dang, D. T., Chen, F., Kohli, M., Rago, C., Cummins, J. M., and Dang, L. H., "Glutathione S-transferase $\pi 1$ promotes tumorigenicity in HCT116 human colon cancer cells", *Cancer research*, (2005), 65(20), 9485-9494.
- [21] Ballatori, N., Krance, S. M., Notenboom, S., Shi, S., Tieu, K., and Hammond, C. L., "Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases", (2009), *Biological Chemistry*, Vol. 390, pp. 191-214.
- [22] Mansoori, B., Mohammadi, A., Davudian, S., Shirjang, S., and Baradaran, B., "The different mechanisms of cancer drug resistance: a brief review", *Advanced pharmaceutical bulletin*, (2017) 7(3), 339.
- [23] Abotaleb, M., Liskova, A., Kubatka, P., and Büsselberg, D., "Therapeutic potential of plant phenolic acids in the treatment of cancer", *Biomolecules*, (2020), 10(2), 221.
- [24] Song, Y. H., Sun, H., Zhang, A. H., Yan, G. L., Han, Y., and Wang, X. J., "Plant-derived natural products as leads to anti-cancer drugs", *Journal of Medicinal Plant and Herbal Therapy Research*, (2014), 2, 6-15.
- [25] Aydin, T. "In vitro and in silico evaluation of some natural molecules as potent glutathione reductase inhibitors", *International Journal of Secondary Metabolite*, (2019), 6(4), 310-316.

- [26] Güller, P., Karaman, M., Güller, U., Aksoy, M., and Küfrevioğlu, Ö. İ., "A study on the effects of inhibition mechanism of curcumin, quercetin, and resveratrol on human glutathione reductase through in vitro and in silico approaches", *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, (2021), 39(5), 1744-1753.
- [27] Güller, P., "The in vitro and in silico inhibition mechanism of glutathione reductase by resorcinol derivatives: a molecular docking study", *Journal of Molecular Structure*, (2021), 1228, 129790.
- [28] Appiah-Opong, R., Commandeur, J. N. M., Istyastono, E., Bogaards, J. J., and Vermeulen, N. P. E., "Inhibition of human glutathione S-transferases by curcumin and analogues", *Xenobiotica*, (2009), 39(4), 302-311.
- [29] Van Zandn, J. J., Hamman, O. B., van Iersel, M. L., Boeren, S., Cnubben, N. H., Bello, M. L., Vervoort, J., van Bladeren, P. J., and Rietjens, I. M., "Inhibition of human glutathione S-transferase P1-1 by the flavonoid quercetin", *Chemico-biological interactions*, (2003), 145(2), 139-148.