

Geçirilen güzel ve hoş  
günlerin ürünü olan bu tezin  
devamının gelmesi ditesi ile.....

S. Büyükbıngöl

ANKARA ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ 28 AGUSTOS 1990

11081

**DIABETİK KOŞULLARDA KATARAKT OLUŞUMUNA NEDEN  
OLAN ALDOZ REDÜKTAZ ENZİMİNİ İNHİBE EDEN YENİ  
HİDANTOİN TÜREVİ BİLEŞİKLERİN SENTEZLERİ  
VE ENZİMATİK AKTİVİTELERİNİN TAYİNİ  
ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR**

Ecz. Sibel SÜZEN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Dr. S. Büyükbıngöl  
Dokümantasyon Merkezi

**FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN**  
Doç. Dr. Erdem BÜYÜKBİNGÖL

1990 - ANKARA

1. İÇİNDEKİLER .....	1
2. ÖNSÖZ.....	4
3. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER .....	6
3.1. Giriş ve Amaç .....	6
3.2. Genel Bilgiler .....	10
3.2.1. Glüköz ve Diabet hastalığı .....	10
3.2.2. Diabetik Komplikasyonlar ve Sorbitol .....	13
3.2.3. Aldoz Redüktaz Enzimini inhibe Eden Bileşikler..	21
3.2.3.1. Asit Grubu Taşıyan Türevler .....	21
3.2.3.2. Flavonoidler .....	25
3.2.3.3. Benzopiranlar, Anti-allerji Ajanları ve Benzofenonlar .....	28
3.2.3.4. Spirohiantoin ve Türevleri .....	34
3.2.3.5. Heterosiklik Alkonik Bileşikler .....	42
3.2.3.6. Nonsteroidal Antienflamatuvar Ajanlar ...	47
3.2.3.7. Alkaloidler .....	50
3.2.3.8. Diğer Aldoz Redüktaz inhibitörü Bileşikler.....	52
3.2.4. Aldoz Redüktaz Enziminin inhibitör Bölgesinin modeli .....	53
3.2.5. Tolrestatin Gelişimi .....	55
4. MATERYAL VE METOD .....	60
4.1. Materyaller .....	60
4.1.1. Kullanılan Araç ve Gereçler .....	60

4.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	61
4.2. Metodlar .....	62
4.2.1. Elde Edilen Bileşiklerin Sentez Yöntemleri .....	62
4.2.1.1. 2-Fenil indol Sentezi .....	62
4.2.1.2. Sübstitüye indol-3-karboksaldehitlerin Sentezi .....	63
4.2.1.3. 1-Asetil-2-Tiyohidantoin Sentezi .....	65
4.2.1.4. 2-Tiyohidantoin Sentezi .....	65
4.2.1.5. 5-(3'-indolal)-1-sübstitüe-2-tiyohidantoin sentezi.....	66
4.2.2. Elde Edilen Bileşiklerin Safliklarının Araştırılması .....	67
4.2.3. Sentezlenen Bileşiklerin Spektral incelemeleri..	68
4.2.3.1. Ultraviyole Spektral Analizleri .....	68
4.2.3.2. infrared Spektral Analizleri .....	69
4.2.3.3. NMR Spektral Analizleri .....	70
4.2.3.4. Elementel Analizleri .....	71
4.2.4. Sentezlenen Bileşiklerin in Vitro Biyolojik Aktivitelerinin Tayini .....	71
4.2.4.1. Aldoz Redüktaz Enziminin Elde Ediliş Yöntemi .....	71
5. BULGULAR .....	73
5.1. Elde Edilen Bileşiklerin Sentez ve Analiz Bulguları .	73
5.1.1. 5-[(5'-siyano)-3'-indolal]-1-asetil-2 tiyohidantoin .....	73

5.1.2. 5-[(2'-fenil)-3'-indolal]-1-asetil-2-tiyohidantoin.....	76
5.1.3. 5-(3'-indolal)-2-tiyohidantoin .....	79
5.1.4. 5-[(5'-bromo)-3'-indolal]-2-tiyohidantoin .....	82
5.1.5. 5-[(5'-nitro)-3'-indolal]-2-tiyohidantoin .....	85
5.1.6. 5-[(5'-siyano)-3'-indolal]-2-tiyohidantoin .....	88
5.1.7. 5-[(2'-fenil)-3'-indolal]-2-tiyohidantoin .....	91
5.2. Sentezlenen Bileşiklerin Aldoz Redüktaz Enzim inhibisyon Tayini .....	94
6. SONUÇ ve TARTIŞMA .....	96
7. ÖZET .....	111
8. İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY) .....	113
9. KAYNAKLAR .....	115
ÖZGEÇMİŞ .....	130

Çalışmalarımın ürünü olan Yüksek Lisans Tezi'min hazırlanmasında bilimsel katkıları ile her konuda destek ve yardımını gördüğüm, özveri ile çalışmalarımı yönlendiren, bilimsel yetişmeye katkıda bulunan, iyi bir dost olarak örnek alacağım hocam sayın Doç. Dr. Erdem Büyükbingöl'e teşekkürlerimi sunarım.

Araştımlarımın yürütülmesi sırasında bana destek olan ve problemlerimle ilgilenen A.. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı başkanı sayın Prof. Dr. Rahmiye Ertan başta olmak üzere tüm ğretim üyelerine ve Araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında her konuda ilgi ve yardımlarını gördüğüm, sorunlarımı paylaşarak özveri ile daıranan, en büyük desteğim, eşim sayın Uzm. Ecz. Sinan Szen'e (♥) ve aileme teşekkür ederim.

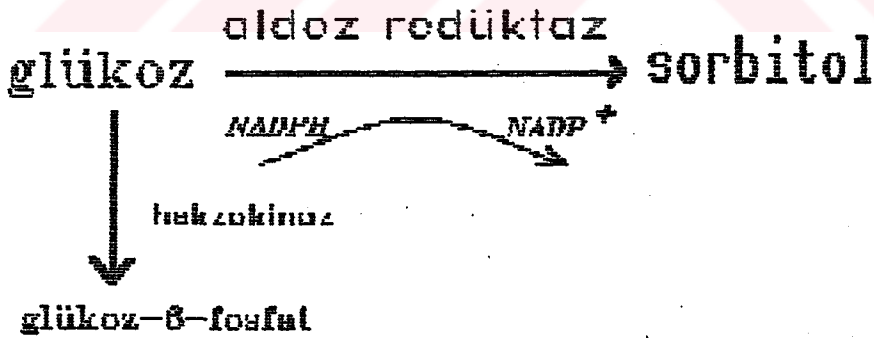
Tez çalışmam sırasında, UV lmlerinin yapılmasında yardımcı olan sayın Dr. Cem Yücesoy'a, <sup>1</sup>H NMR spektrumlarının alınmasında yardımlarını esirgemeyen G. Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Araç. Gör. sayın Dr. Yılmaz Yıldırım'a, IR spektrumlarının alınmasında yardımını gördüğüm Jandarma Narkotik Laboratuvarı amiri sayın Yzb. M. Ali Yılman'a, sentezlenen bileşiklerin enzim inhibisyonlarının ölçümünde yardımcı olan sayın Uzm. Ecz. Net Daş'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamda proje kanalıyla maddi açıdan destek gördüğüm A. Araştırma Fonu Kurumuna Teşekkür ederim.

### 3. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER

#### 3.1. Giriş ve Amaç

Bilim dünyasındaki hızlı gelişmelere rağmen, diabet hastaları için ömür boyu insülin kullanımı dışında kesin bir tedavi bulunamamıştır. insülin tedavisi, diabetik kişilerde ölüme sebebiyet veren keto asidik komanın oluşumunu önlemesine rağmen, kronik diabet hastalarında görülen komplikasyonları önleyememektedir (84). Bu komplikasyonların oluşumunda aldoz redüktaz (AR) enziminin büyük rolü vardır. NADPH'ı kofaktör olarak kullanan aldoz redüktaz, organizmada sorbitol yolağında (Şema 3.1) yer alan ve memelilerde glükoz metabolizmasında düzenleyici fonksiyonu bulunan bir enzimdir (57).



Şema 3.1. Sorbitol yolağı

Aldoz redüktaz enzimi, lenslerde, korneal epitelyumda, retinada, optik sinirlerde, plasentada (87), beyinde, böbreklerde, kaslarda ve spermada bulunmaktadır (84). Bunların yanı sıra, omurilikte (64) ve eritrositlerde (107) de bulunduğu bildirilmiştir. Yaşlı kişilerde ve özellikle diabetik kişilerde oynadığı fizyolojik rol ile önemli komplikasyonlara neden olabilmektedir.

Normal koşullar altında aldoz redüktaz enziminin glükoz üzerinde çok az bir affinitesi vardır. Glükoz, sağlıklı kişilerde daha çok hekzokinaz enzimine yüksek affinite göstermekte ve glükoz-6-fosfata dönüşmektedir (104). Ancak, diabetik koşullarda bu durum değişir ve glükoz, aldoz redüktaz enzimi ile sorbitole dönüşür (40). Sorbitol ise çeşitli dokularda birikerek, bu bölgelerde harabiyet ve diabetik komplikasyonlara yol açar (73).

Aldoz redüktaz enzimini inhibe eden bileşikler üzerinde yapılan çalışmalar, diabetik komplikasyonların önlenmesi ve tedavisinde oldukça yararlı olabilmektedir (62). Enzime karşı inhibitör etki gösteren bileşikler, oldukça çeşitli sınıflara ait moleküler yapıları içermektedir. Bu bileşikler arasında alifatik ve keto asitler (41), oksokroman halka sistemine sahip bileşikler (66), oksazol türevleri (147), 7-sülfamoilksanton-2-karboksilik asit türevleri (103), hidroksietilazoller (116), flavonoidler (159), hidantoinler



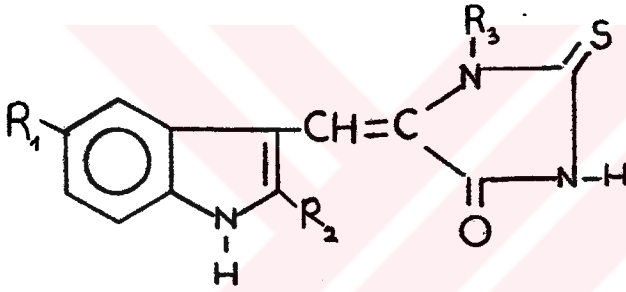
(88) ve spirohidantoin (120) türevi bileşikler bulunmaktadır. Aldoz redüktaz enzimini inhibe eden farklı moleküler yapıya sahip olan bileşiklerin bulunması, bu enzimin aktif yöresine stereosfesifik olarak etkileşmede bulunabilecek farmakoforik grupların araştırılmasına yol açmış ve farklı moleküler sınıflara ait olan bileşiklerde ortak noktaların aranmasına başlanılmıştır (80). Elde edilen verilerin ışığı altında, hem siklik, hem de non-siklik hidantoin yapısı taşıyan bileşiklerin, aldoz redüktaz enzimine karşı oldukça etkin inhibisyon yaptıkları saptanmıştır (49, 108, 109, 141). Bu araştırmada, hidantoin çekirdeğinin aldoz redüktaz enzimi üzerindeki etkisi ele alınarak, daha önce sentezi yapılmamış hidantoin bileşiklerinin sentezleri ve bu bileşiklerin aldoz redüktaz enzimi üzerindeki inhibitör etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda, aldoz redüktaz enzimini inhibe eden bileşikler içinde tiyohidantoin yapısının yer almaması, bizi, hidantoin çekirdeği yerine, tiyohidantoin yapısının sentezlenmesi düşüncesine götürdü. indol yapısının tasarlanan bu bileşiklerde kullanılmasında ise iki yaklaşım esas olarak düşünülmüştür. Bunlardan birinci, indol yapısının biyolojik organizma tarafından iyi tanınan bir moleküler yapı olması ve triptofan amino asiti gibi fizyolojik önemi olan bir molekülün esasını oluşturmasıdır ki, hidantoin çekirdeği için iyi bir taşıyıcı görevi görebileceği varsayılmaktadır. Bunun yanı sıra indol, medisinal olarak kullanılan bir çok

antibiyotiğin, örneğin, mitomisin grubu antibiyotiklerin yapısında bulunmaktadır ki, bu grup antibiyotiklerin kanser kemoterapisinde etkili oldukları (82) ve DNA ile etkileşimde buldukları bildirilmiştir (19). Mitomisin grubu antibiyotiklerin yanı sıra, diğer bazı antibiyotiklerin (indolmisin, gliotoksin) de yapılarında indol halkası yer almaktadır. indol yapısının fizyolojik olarak önemi, triptofan amino asitinin ve bundan türeyen seratonin bileşiğinin yapısında yer almasından ileri gelmektedir. Seratonin bilindiği gibi vasokonstrüktör bir bileşik olup, memeli organizmasında fizyolojik önemi olan ve merkezi sinir sisteminde rol oynayan bir bileşiktir. Bu iki bileşiğin yanı sıra, indol yapısı taşıyan ve seratonine yapısal benzerliği bulunan ve hormonal özellik taşıyan bir diğer bileşik de melatonindir. indol yapısı içeren medisinal önemlilik gösteren diğer bileşikler ise şu şekilde sıralanabilir. Reserpin, yohimbin, aspidoşpermin, striknin, vinkristin, vinblastin, ergotamin, liserjik asit ve ergonovin.

ikinci olarak, indol yapısı, aldoz redüktaz enzimi üzerinde yapılan moleküler orbital çalışmaları sonunda ortaya konulan inhibitörlerin enzimin aktif yöresi ile etkileşmesi için gerekli olan planariteyi sağlamaktadır (61). Bilindiği gibi indol, planar heteroaromatik bir moleküldür. Bir no lu pozisyonda bulunan azot üzerindeki serbest elektron çiftini de sayarsak 10- $\pi$ -elektron sistemine sahiptir. Heterosiklik azot

atomu, serbest elektron çiftinin delokalizasyona katılması nedeniyle zayıf bazik özellik de göstermektedir. Dolayısıyla, aldoz redüktaz enziminin aktif yoresi ile etkileşmesinde önemli bir fonksiyon olarak karşımıza çıkan planar aromatik bölgeyi temsil edebilecek bir özelliğe sahiptir (65).

Elde edilen veriler sonucunda, aşağıda genel formülü verilen bir seri yeni 5-(3'-indolal)-2-tiyohidantoin türevi bileşik sentezlenmesi ve spektroskopik yapı aydınlatılması çalışmaları yapılarak, aldoz redüktaz enzimi üzerindeki inhibisyon aktiviteleri çalışılması amaçlandı.



## 3.2 Genel Bilgiler

### 3.2.1 Glükoz ve Diabet hastalığı

Diabetes Mellitus, insülin yetersizliğinden ve/veya etkisizliğinden kaynaklanan karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki bir bozukluk hastalığı olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu hastalık, yükselmiş kan glükoz düzeyleri ile

kendini belli etmektedir. insülin gereksimine göre, bu hastalık iki ana kategoride ele alınmaktadır (1).

1) insülin-Bağımsız Diabet: En sık rastlanılan ve Tip-II olarak adlandırılan bir diabet tipidir. Çoğunlukla obesite (şişmanlık) ile birlikte ortaya çıkmakta ve genellikle 35 yaşın altında teşhis edilememektedir. Bu kategori içinde yer alan hastalarda bir miktar insülin salgısı kan dolaşımına karışmaktadır ve hastalar ya diet uygulaması ile ya da oral antidiabetik ilaçlarla kontrol altında tutulabilmektedirler.

2) insülin-Bağımlı Diabet: Tip-I olarak adlandırılan bu kategori, tüm diabetik hastaların % 10-12 sini oluşturmaktadır ve genellikle gençlik yaşlarında gelişmeye başlamaktadır. Hastaların insülin sekresyon yetenekleri yoktur ve dışardan insülin alınmasına gereksinim duyarlar.

Organizmada insülinin yokluğu ya da inaktif halde bulunması durumunda, glükozun periferik hücrelerde yanması bozulmaktadır. Çünkü, insülin sayesinde hücre dışındaki glükoz, glükoz-6-fosfat halini alarak hücre içine girmektedir. insülin, hem bu fosforilasyonu temin etmekte, hem de hücre zarının glükoz geçirgenliğini artırmaktadır. Hücre içine giren glükoz, ihtiyaca göre yakılır veya glikojen halinde depolanır. insülin noksanlığında glükoz, karaciğer hücresi içine giremez ve dolayısıyla da işlevlerini yerine getiremez. Bu durumda organizma, iki yola başvurur. Birincisi kalori ihtiyacını sağlamak için proteinleri ve yağları yakmak, ikincisi ise, kan

glükoz seviyesini yükselterek hücreye glükoz girmesini temin etmektedir.

insülin metabolizmasındaki bozukluklar nedeniyle spesifik olarak hiperglisemi ve bunun doğal sonucu olarak da ortaya çıkan diabetik komplikasyonların fizyopatolojik etkileri görülür. Organizmaya dışardan insülin verilmesi, bazı bozuklukları ortadan kaldırabilmektedir, ancak, kronik diabet hastalarında ortaya çıkan ikincil komplikasyonları yeterince önleyememektedir (1). Yeni geliştirilen bir tedavi yöntemine göre, mekanize ve kompüterize bir pompa sayesinde organizmaya 24 saat süre ile insülin verilmektedir (sürekli subkutan insülin infüzyonu). Bu yöntemin daha başarılı olarak glisemik kontrol gerçekleştirdiği savunulmakta ise de, diabetik komplikasyonlar açısından yararlı (152) ve yararlı (81) yönlerinin olup olmadığı henüz bilinmemektedir. Ayrıca, sıkı bir şekilde glisemik kontrolün sağlanmasının da, ölümlerle sonuçlanabilecek ketoasidozis gelişmesine açık hastalarda bir takım risklerin de olduğu bir gerçektir (155). Pankreas transplantasyonu ise , henüz başarı düzeyi düşük bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır.

Diabetik hastalarda insülin uygulaması, kan glükoz düzeylerini kontrol altında tutmasına rağmen diabetik komplikasyonları önleyememektedir. Bu komplikasyonların oluşum mekanizması sorbitol yolağında yer alan aldoz redüktaz enziminin glükoza olan affinitesi ile açıklanabilmektedir.

### 3.2.2 Diabetik Komplikasyonlar ve Sorbitol

Bir çok dokuda aldoz redüktaz enzimi, sorbitol yolağında yer alan heksokinaz enzimi ile glükozun biyotransformasyonu için bir yarış halindedir. Normal fizyolojik şartlar altında heksokinazın glükoza olan affinitesi, aldoz redüktaza göre çok daha fazladır ve glükoz heksokinaz enzimi tarafından fosforilasyona uğratılarak glükoz-6-fosfata dönüştürülür. Hipergliseminin fizyolojik olmayan koşulları altında ya da diabet hastalığında aldoz redüktaz enziminin glükoza affinitesinde büyük bir artış görülmektedir. Bunun sonucunda da glükoz büyük bir hızla sorbitole dönüşür. Glükozun sorbitole dönüşüm hızı, sorbitolün fruktoza dönüşümünden fazla olduğu için de sorbitol dokularda birikir. Bu birikim sorbitolün polaritesi ile artar. Membranlardan kolayca geçerek dokudan difüzyon yolu ile uzaklaşması zorlaşır. Sorbitolün hücre içinde birikmesi, hiperozmotik etkiye neden olur ve hücre içine sıvı girişi başlar. Dokularda şişme meydana gelir ve membran geçirgenliğinde değişim söz konusu olarak hücresel patoloji başlar (77). Son yıllarda yapılan NMR çalışmaları, sorbitolle oluşan bu tip patolojinin, NADPH in hızla tükenmesi sonucu hücresel redoks potansiyelindeki değişimlerle de arttığı görüşünü ortaya koymuştur (37). Hiperozmotik etki sonucu

oluşan hücre şişmesinin bir çok yan etkileri vardır. Hücre zarının geçirgenliğinin artması sonucu, hücre içinde  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$  iyonlarının, amino asitlerin, glutationun ve inositolün konsantrasyonu artarken, ATP konsantrasyonu düşmektedir. Bu hücre sel dengesizlik devam ederken, sodyum ve klor iyonlarının konsantrasyonunun artması nedeniyle ikinci bir ozmotik değişim meydana gelmektedir. Katarkt oluşumunda bu olay çok açık bir şekilde gözlenebilmektedir (76).

Aldoz redüktaz enzimine bağlı olarak gelişen en önemli komplikasyon, diabetik katarakt oluşumudur (64). Özellikle 1930 lu yıllardan bu yana, konu üzerinde oldukça ayrıntılı çalışmalar yapılmaktadır. Kullanılan hayvan modellerinden elde edilen sonuçlara göre , yapay olarak hayvanlarda katarakt oluşumu mümkün olmaktadır. Pankreasın çıkartılması ya da alloxan veya streptozotosin enjeksiyonu ile pankreatik beta hücrelerinin hasara uğratılması sonucu katarakt oluşumu sağlanabilmektedir. HEYNINGEN'in 1959 yılında diabetik sıçan lenslerinde bulduğu sorbitolden sonra, aldoz redüktaz enzimini içeren sorbitol yolağının diabetik katarakt gelişimindeki önemi daha iyice anlaşılmıştır (156).

Diabetik kataraktan başka, diğer komplikasyonlar arasında vasküler kaynaklı olanlar gelmektedir. Diabetik hastalarda arterioskleroz, çok sık olarak görülmektedir. Damar bozukluğu ile diabetin süre ve ağırlığı arasında paralellik vardır. Orta ve büyük arterleri tutan

arterioskleroz obliteransının (damar tıkanıklığı) yanı sıra sadece diabete has olan diabetik anjiopati (diabetik damar rahatsızlığı) en önemli komplikasyonlardandır. Mikroanjiopati adı da verilen bu komplikasyon, küçük arterlerin tıkanıklığına yol açtığı için lokal gangrenlere neden olabilmektedir (1).

Retina arterlerinin diabetik anjiopatisi sonucu, diabetik ve arteriosklerotik retinit oluşabilir. ilerlemiş vakalarda korneal epiteliopati, retinopati ve katarakt oluşur (1).

Diabet hastalarında böbrek lezyonlarına da sık rastlanır. interkapiller glomerüloskleroz sonucu hastalarda proteinüri görülür. Bu da nefrotik sendroma yol açar. Özelliği hipertansiyona ve azotemiye yol açmasıdır. Diabetik hastalarda görülen bu tabloya Kimmelstiel-Wilson sendromu denir (1).

Nöropatiler de diabetin çok sık rastlanan komplikasyonlarından. Daha çok alt ekstremitelerde görülmektedir. Bu komplikasyonda hem motor, hem de hissi bozukluklar ortaya çıkmaktadır. Oluşan ağrı, uyuşma ve yanma ile karakterizedir (1).

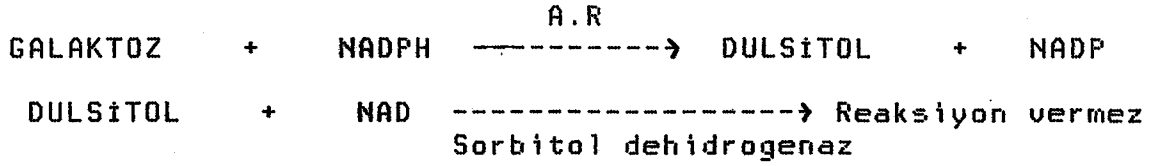
Diabetik komplikasyonlar, bir çok dokuda meydana gelebilmekte ve çeşitli duyu organlarını, sinir sistemini, kan dolaşımını ve renal atılımı etkilemektedir (73). Oküler diabetik komplikasyonlar içinde katarakt oluşumundan başka, retinopati, korneal epiteliopati (keratopati), en sık olarak rastlanılanlarıdır. Aldoz redüktaz enzimi, retinal kapillerin



mural hücrelerinde lokalize olmuşlardır. İnsan retinopatisi sırasında bu hücrelerin dejenere olduğu gözlenmiştir (2). Deneysel olarak galaktozemik köpeklerde retinopatinin klinik belirtilerini elde etmek mümkün olabilmektedir (31). Keropati durumunda ise, korneal epitelyum, oküler maniplasyonlara son derece az tolerans gösterir birduruma gelmektedir. Hatta böyle bir durumda kontakt lens kullanımı bile şiddetli reaksiyona neden olmaktadır. Diabetik koşulların oluşması ile etkilenen sinir sisteminde ise görülen bozukluklar arasında, sinir motor fonksiyonlarının ve duysal algılamanın değişmesini ve ağrı oluşumu ile birlikte ortaya çıkan diabetik nöropatiyi örnek olarak verebiliriz (73). Burada, motor sinir iletim hızı, aksonal transport, ve duysal algılamada azalma görülmektedir (165). Diabetik mikroanjiyopati ise, diabetle ilgili genel vasküler abnormalitelerin sonucunda ortaya çıkmaktadır ve kapiller mikroanürizm ile platelet agregasyonunu da içermektedir (35). Glomerüler kalınlaşma ve proteinürea ise, diabetik nefropatinin birer sonucu olarak karşımıza çıkmaktadır (63). Bu komplikasyonlar sonucu görme işlevinde bozukluklar, duysal algılama kaybı ve prematüre ölümler meydana gelmektedir. Bu komplikasyonların ana nedenleri henüz bilinmez olarak kalırken, dokulardaki insülin-bağımsız glükozun biyokimyasal dönüşüm mekanizmasının oldukça etkili olduğu anlaşılmıştır (77). Sorbitol yolağında yer alan aldoz redüktaz enziminin ise, yukarda sayılan diabetik

komplikasyonların pek çoğunun patojenezinde biyokimyasal bağlantı rolü oynadığı ortaya konulmuştur (77). Sorbitol yolağında bilindiği gibi, aldoz redüktaz (alditol:NADP<sup>+</sup> oksido redüktaz) ve sorbitol dehidrogenaz (1-iditol dehidrogenaz) enzimleri yer almaktadır. Aldoz redüktaz enzimi, stereospesifik olarak NADPH den glükozun aldehit formuna bir hidrür transferi yaparak sorbitol oluşmasını sağlamaktadır. Sorbitol dehidrogenaz enzimi ise, NAD<sup>+</sup> i kullanarak, oluşan bu ara ürünü fruktoza dönüştürmektedir. Aldoz redüktaz enzimi ve sorbitol yolağı ilk kez 1956 yılında HERS tarafından spermler için fruktoz üretimi yapan seminal keselerinde bulunmuştur (43). Lenslerde enzimin bulunması ise 1958 yılında HEYNINGEN tarafından olmuştur (156). Bugün ise, sorbitol yolağının çeşitli dokularda bulunduğunu ve diabet-ilişkili patolojilerden sorumlu olduğunu biliyoruz. Aldoz redüktaz enzimi bir çok dokulardan elde edilip saflaştırılmıştır. Bunlar arasında lens (9, 26, 146) plasenta (59), beyin (101, 162), böbrek (72), kas (21) ve seminal kesecikler (85) yer almaktadır. Bu çalışmalar göstermiştir ki, aldoz redüktaz enzimi sülfhidril grubu taşıyan monomerik yapıda bir enzimdir ve molekül ağırlığı 28 ile 45 K arasında değişmektedir (146). Aldoz redüktaz bir metaloprotein yapısında değildir ve ne fosfata, ne de glikoprotein gruplarına bağlanmıştır (146). Lenslerde aldoz redüktazla ortaya çıkan yan etkiler, ilk kez KINOSHITA tarafından açıklanmaya çalışılmıştır (74). Katarakt

oluşumunun ozmotik hipotezini temel olarak aldığımızda, aldoz redüktazın glükoza olan affinitesi sonucu oluşan aşırı miktardaki sorbitolün intrasellüler olarak birikmesi ile doku harabiyeti meydana gelmektedir. Bu da, hücre-içi ozmotik dengenin değişmesine neden olmaktadır (73). Daha önce de belirtildiği gibi, diabetik patoloji gösteren diğer dokularda da görülmektedir (92). Sorbitol oluşumu, sorbitolün fruktoza dönüşümünden daha hızlı bir biyokimyasal işlev ile olmaktadır. Bu da, yukarıda belirtilen patolojileri açıklamaktadır. Aldoz redüktaz, glükozun yanı sıra, diğer bazı aromatik ve alifatik aldehitleri de redüklemektedir. Bunlar arasında, galaktoz, ksiloz ve arabinoz sayılabilir. Şeker galaktozu, enzim için glükozdan daha iyi bir substrat özelliği göstermektedir. Bunun nedeni, hücre içinde konsantrasyonu artmış galaktozun, glükozun sorbitole dönüşümünden çok daha hızlı bir şekilde galaktikole (dulcitol) redüklenmesidir (Şema 3.2). Bunun da ötesinde, oluşan galaktikol, sorbitol dehidrogenaz enzimi ile metabolize olamadığından hücre-içi konsantrasyonu oldukça yüksek olarak kalmaktadır ki, bu nedenle klinik çalışmalarda galaktosemik hayvan modellerinin kullanılması, aldoz redüktaz enzimi ile diabetik komplikasyonlar arasındaki ilişkileri belirlemede oldukça yararlı olmaktadır (31).



Şema 3.2. Galaktozun dulsitole dönüşümü

Çeşitli hayvan deneyleri ve yapılan klinik çalışmalarda görülmüştür ki, aldoz redüktaz enziminin inhibisyonu, nöropati (36), korneal epiteliopati (76), retinopati (105) ve mikroanjiyopati (111) gibi diabetik komplikasyonların başlangıcını önlemesinin yanı sıra, diabetiklerde katarakt oluşumunu da ya geciktirmekte, ya da önlemektedir (102). Aldoza redüktaz enzimini direkt olarak inhibe eden bileşiklerin, belli diabetik komplikasyonların önlenmesinde kullanılmasının oldukça yararlı sonuçlar vereceği ve insülin-bağımsız kan-glükoz düzeylerinin kontrolünde yeni bir tedavi şekli olarak ortaya konulabileceği belirlenmiştir (45). Aldoza redüktaz enziminin inhibisyon çalışmalarında çeşitli dokular kaynak olarak kullanılmıştır. Bunlar arasında en çok kullanılanları, sığır, sıçan, tavşan ve insan lensleridir. Bunlardan başka, insan plasentasından da elde edilen enzim, inhibisyon çalışmalarında kullanılmıştır. Çeşitli dokulardan elde edilen enzimin inhibisyonunda dokunun cinsi ve türüne bağlı olarak farklılıklar görülmektedir (63). İnsan plasental aldoz

redüktaz enziminin genellikle inhibisyona daha az duyarlı olduğu saptanmıştır (63). Ayrıca çok saflaştırılmış ve uzun süre bekletilmiş enzimin de inhibisyon çalışmalarına duyarlılığı azalmaktadır (62).

Aldoz redüktaz enzimi ile yapılan kinetik çalışmalar göstermiştir ki, enzim, çeşitli substratlardaki aldehit grubunu redüklemeye spesifite göstermektedir. Bunlar içinde bazı steroidler, aromatik aldehitler, alifatik aldehitler ve aldoz şekerler yer almaktadır (59). Bu aktivite, sülfat iyonlarının varlığı ile artmaktadır (59). Kinetik çalışmalar sonunda elde edilen bulgulara göre, aldoz redüktaz inhibitörleri, substrat ile ya da kofaktör olan NADPH ile kompetitif değildirler (158).

Kinetik ve inhibisyon çalışmaları sonunda enzim üzerinde üç önemli bölge saptanmıştır (65).

- 1) Substrat Yöresi
- 2) Nükleotid Sarmal
- 3) inhibitör bölgesi

Protein modifikasyon çalışmaları, nükleotid sarmalda arjinin amino asit kalıntısının ve inhibitör bölgesinde ise, tirozin kalıntısının inhibitör madde ile birleşmede önemli rol oynadığını göstermiştir (65).

### 3.2.3 Aldoz Redüktaz Enzimini İnhibe Eden Bileşikler

Aldoz redüktaz inhibitörleri ile ilgili çalışmalar, 1965 yılında HAYMAN ve KINOSHITA'nın deney hayvanlarının lenslerini kullanarak enzimi elde etmeleriyle başlamıştır. Tarihsel olarak aldoz redüktaz enzim inhibitörlerinin gelişmesi bu inhibitörlerin katarakt oluşumuna karşı araştırılmasıyla başlamıştır denilebilir. İlk kullanılan inhibitör bileşik, tetrametilenglutarik asittir. Enzim inhibisyon çalışmalarında kullanılan uygun hayvan modelleri arasında özellikle sığır, sıçan, insan lensleri ve plasentaları için enzim eldesinde kullanılmaktadır (58). Ayrıca çeşitli hayvan modelleri aldoz redüktaz inhibitörleriyle çalışmak için uygundur (13, 58, 64)

Diabetik kişilerde görülen ciddi komplikasyonların önlenememesi bir çok araştırmacıyı aldoz redüktaz inhibitörü bileşiklerle çalışmaya yöneltmiştir.

#### 3.2.3.1 Asit Grubu Taşıyan Türevler

HAYMAN ve KINOSHITA'nın (40) enzimi elde etmelerinden sonra, alifatik ve keto asitlerin çeşitli türevlerinin in vitro çalışmalarda aldoz redüktaz enzimini inhibe ettiğini bulmalarıyla 1966 yılında bir çok asit denenmiştir. Bu bileşikler içinde oktanoik asit  $1 \times 10^{-4}$  M ile % 59 inhibisyon yaparak en potent seçilmiştir. Ancak sitotoksik bir bileşiktir.

Alifatik karboksilik asitler, dana lenslerinden elde edilen enzime karşı denendiğinde Tablo 3.1. deki sonuçlar alınmıştır.

Tablo 3.1. Alifatik Karboksilik Asitlerin Aldoz Redüktaz inhibitör Aktivitesi

R-COOH		
R	Asit	% inhibisyon $1 \times 10^{-4}$ M
C1	asetik	0
C2	propiyonik	0
C3	butirik	1
C4	valerik	11
C5	kaproik	27
C6	enantik	35
C7	kaprilik	48
C8	pelargonik	56
C9	kaprik	47
C10	undekanoik	56
C11	laurik	56
C12	tridekanoik	52
C13	miristik	44
C15	palmitik	31
C16	margarik	28
C17	stearik	7
C18	nonadekanoik	0
C19	ekosanoik	0
C20	henikosanoik	4
C23	lignoserik	0

Bu bileşiklerde zincir uzunluğu ile aktivite arasında bir korrelasyon gözlenmiştir. Maksimum etki 8 ila 12 karbonlu türevler arasındadır. Dikarboksilik asitlerle yapılan çalışmada ise, aynı korelasyona rastlanmıştır ve maksimum etki 7

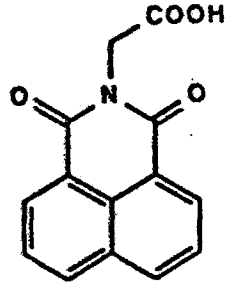
ila 12 karbonlu bileşikler arasında gözlenmiştir. Tablo 3.2. de bu bileşikler yer almaktadır.

Tablo 3.2. Dikarboksilik Asitlerin Aldoz Redüktaz inhibitör Aktivitesi

HOOC-X-COOH		
X	Asit	% inhibisyon $1 \times 10^{-4}$ M
-	oksalik	0
C1	malonik	0
C2	süksinik	0
C3	glutarik	2
C4	adipik	2
C5	pimelik	7
C6	suberik	34
C7	azelaik	40
C8	sebasik	56
C9	undekanoik	48
C10	dodekanoik	55
C11	tridekanoik	63
C12	tetradekanoik	63

Maksimum etki görülen karbon sayısı göz önüne alınarak, bu karbon sayısındaki halkalı dikarboksilli türevler ile çalışma yapılmıştır. Bu bileşikler Tablo 3.3. de görülmektedir. Bu grupta  $1.0 \times 10^{-6}$  M konsantasyonla % 30 inhibisyon gösteren tetrametilglutarik asit (TMG) en potent bileşik olmuştur. Bu bileşik oral kullanımında inaktif olmasına rağmen (48) in vitro çalışmalarda etki göstermiştir (75). Klinikte kullanılmış ilk aldoz redüktaz inhibitörü şekil 3.1 de formülü görülmekte olan alrestatindir.



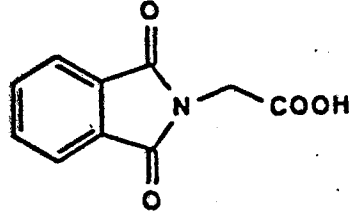


Şekil 3.1. Alrestatin

Tablo 3.3. Glutarik Asit Türevlerinin Aldoz Redüktaz inhibitör Aktiiviteleeri

No	Bileşik	% inhibisyon (M)		
		$1 \times 10^{-4}$	$1 \times 10^{-5}$	$1 \times 10^{-6}$
1 (TMG)		90	60	30
2		65	30	-
3		55	33	-
4		51	-	-
5		11	-	-
6		55	28	-

Karboksil grubu taşıyan yüzlerce türeyle çalışma yapılmıştır. Bunlar içinde fitaloglisin  $IC_{50}$   $2.5 \times 10^{-6}$  M ile in vitro olarak potent bulunmuştur (154). Fakat oral kullanımda inaktiftir (Şekil 3.2).

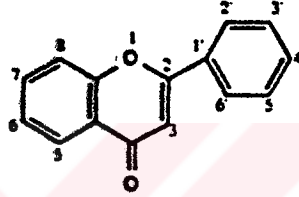


Şekil 3.2. Ftaloglisin

## 3.2.3.2 Flavonoidler

Aldoz redüktaz inhibitörü olarak 1975 yılında rapor edilen ilk gruptur (159). Sıçan lenslerinden elde edilen enzime karşı flavonoidlerle yapılan çalışmada Tablo 3.4 de görülen değerler elde edilmiştir.

Tablo 3.4. Flavonoidlerin Aldoz Redüktaz inhibisyonları



No	Süstitüsyon	IC <sub>50</sub> (M)	Ref
1	3',4',5,7-(OH) <sub>4</sub> -3'6-(OMe) <sub>2</sub>	2.6x10 <sup>-8</sup>	95
		3x10 <sup>-8</sup>	96
2	3',4',6-(OH) <sub>3</sub> -5,7,8-(OMe) <sub>3</sub>	3.6x10 <sup>-8</sup>	95
		3.4x10 <sup>-8</sup>	96
3	3',4',3,5,7-(OH) <sub>5</sub> -3-ramnosid	4.9x10 <sup>-7</sup>	95
		1x10 <sup>-7</sup>	158
		1x10 <sup>-6a</sup>	15
4	3',4',3,5,7-(OH) <sub>5</sub> -3-ramnoz-2''-OAc	4x10 <sup>-8</sup>	158
5	5-OH-3',4',3,7-(OSO <sub>3</sub> H) <sub>4</sub>	~10 <sup>-8b</sup>	157
6	5-OH-3-OAc-3',4',7-(OSO <sub>3</sub> H) <sub>3</sub>	~10 <sup>-9b</sup>	157
		1x10 <sup>-7a</sup>	15
7	3',4'-(OH) <sub>2</sub> -5,6,7-(OMe) <sub>3</sub>	9x10 <sup>-8</sup>	96
8	3',4',5,6,7-(OH) <sub>5</sub> -3-(OMe)	5.8x10 <sup>-8</sup>	96
9	3',4',5-(OH) <sub>3</sub> -7,8-(OMe) <sub>2</sub>	7.8x10 <sup>-8</sup>	96
10	3',4',7-(OH) <sub>3</sub> -5,8-(OMe) <sub>2</sub>	7.4x10 <sup>-8</sup>	96
11	3',4'-(OH) <sub>2</sub> -5,7,8-(OMe) <sub>3</sub>	4.5x10 <sup>-8</sup>	96
12	3',4',5,7-(OH) <sub>4</sub> -6-(OMe)-8-CH <sub>2</sub> Ph	3.4x10 <sup>-8</sup>	96
13	3',4',5-(OH) <sub>3</sub> -6,7,8-(OMe) <sub>3</sub>	3.9x10 <sup>-8</sup>	96
14	3',4'-(OH) <sub>2</sub> -5,6,7,8-(OMe) <sub>4</sub>	3.2x10 <sup>-8</sup>	96

a : insan lenslerinden elde edilen aldoz redüktaz enzimi

b : Diğer kaynaklardan elde edilen aldoz redüktaz enzimi (157).

Bu grupta en potent bileşik diğlerlerinden farklı olarak in vivo etki gösterebilen kuersitrindir (157, 15). Tablo da 3. sırada yer alan kuersitrinin 3-L-ramnosid türevi  $1.0 \times 10^{-7}$  M  $IC_{50}$  değeri ile aldoz redüktaz enzimini % 55 inhibe edebilmiştir. Ayrıca yüksek galaktoz diyetine maruz kalmış sıçan lenslerinde ksilitol birikimini % 80 azaltabilmiştir (159).

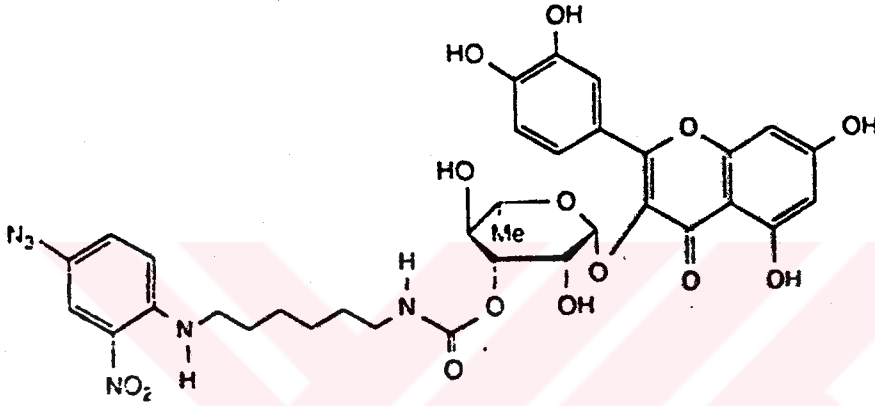
Kuersitrinin diyetle oral kullanımı sonucu, lenslerde sorbitol birikimi % 50 azaltılarak katarakt oluşumu geciktirilebilmiştir (160). Kuersitrinde in vivo ve in vitro etki gözlenebilmesi için, günde 3.2-3.5 g/kg gibi yüksek bir dozda kullanılması gerekmektedir.

Tablo da 4. sırada yer alan kuersitrin-2'-asetat türevi ile yapılan çalışmada, sıçan lensinde  $1.0 \times 10^{-5}$  M ile poliol birikimini % 58 azalttığı tespit edilmiştir (158). Bir çok flavonoidden farklı olarak suda çözünme özelliği vardır. Bu nedenle diabetik katarakta topik uygulanma olanağı vardır.

Bu bulgulardan sonra 60 kadar flavonoidin yapı aktivite-ilişkilerine yönelik çalışmalar yapılmıştır (95, 96). *Kannabis sativa* L den izole edilen 3 flavon glikozitinde orta derecede inhibitör aktivite gözlenmiştir (129). KADOR ve SHARPLESS adlı araştırmacılar, 12 flavonoidde daha aktivite saptamışlardır (66). Bunlardan 3 tanesi *Brikella arguta* adlı bitkiden izole edilmiştir (113). Ayrıca bir çok seriden 73

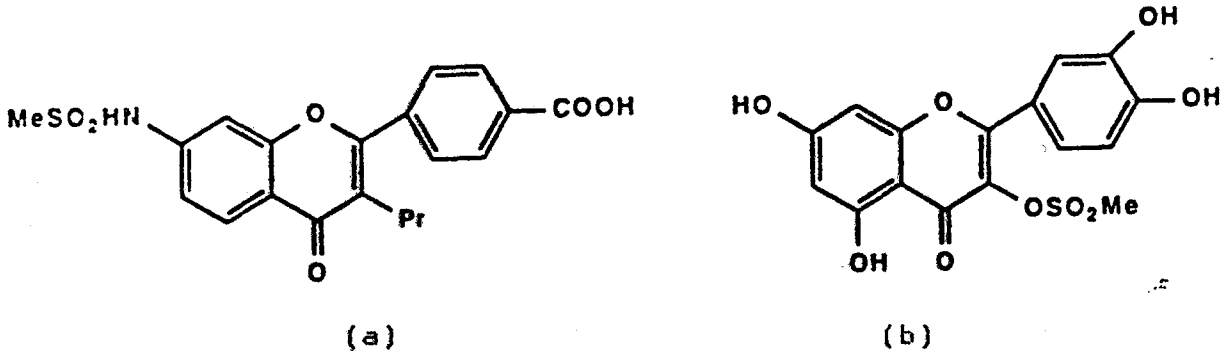
flavonoidle de çalışma yapılmıştır (137).

Kuersitrin türevi olan NAP-HEX-Q adlı bileşik (17, 45), radyoaktif özellikte olan 2-nitro-4-azido fenil grubu taşımaktadır (şekil 3.3.). Bu bileşiğin hayvanlarda incelenmesi sonucu ilaç-enzim kovalent bağının ve aldoz redüktaz enziminin irreversibl inaktivasyonu açıklanmıştır (7).



Şekil 3.3. NAP-HEX-Q

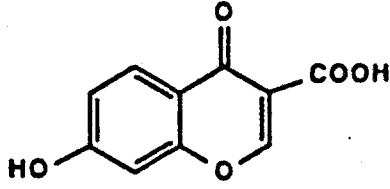
Sentetik flavon serisinden olan 7-metilsülfonamido-3-propilflavon-4-karboksilik asit (22) aldoz redüktaz enzimine  $IC_{50}$   $1.3 \times 10^{-7}$  değeri göstermiştir. Diabetik şartlarda, 100 mg/kg dozda siyatik sınırlardaki sorbitol birikimini % 57, inositol düzeyini % 28 azaltabilmiştir. Kuersitrinin 3-metansülfonil türevi aldoz redüktazı  $IC_{50}$   $1.6 \times 10^{-7}$  M ile inhibe edebilmiştir (22). Siyatik sınırlardaki sorbitol birikimini, 100 mg/kg dozda % 41.2 azaltmıştır (23). Şekil 3.4. de bu bileşikler yer almaktadır.



Şekil 3.4. 7-metilsülfonamido-3-propilflavon-4-karboksilik asit (a), kuersitrinin 3-metansülfonil türevi (b)

### 3.2.3.3 Benzopiranlar, Anti-allerji Ajanları ve Benzofenonlar

KADOR ve SHARPLESS, 4H-kromen-4-on (4H-1-benzopiran-4-on) sistemi içeren bir seri flavonoidle çalışmışlardır (66). Bu çalışmalarda zayıf aktivite gözlenmiştir. Sadece Şekil 3.5. da yer alan bileşikte  $1.0 \times 10^{-6}$  M konsantrasyonda enzime % 33 inhibisyon gözlenmiştir. Bu bileşikte karboksil grubu yerine tetrazol halkası getirildiğinde aktivitede artış gözlenmiştir. 4-H-kromen-4-on yapısı içeren flavonoidler ve 4-okso-4H-kromen-2-karboksilik asit derivelerinde bu maddelerin en düşük işgal-edilmemiş molekül orbital enerjileri ile (LUMO), aldoz redüktaz inhibisyonu arasında korelasyon gözlenmiştir. Bu gözlem karbonil grubunun reseptöre nükleofilik atağı sırasında oluşan yük transferine dayanır.

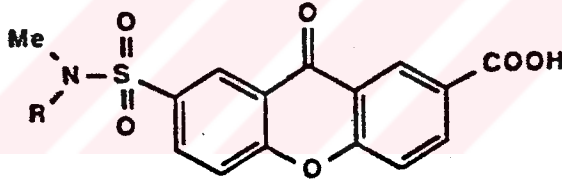


Şekil 3.5. 4H-1-Benzopiran-4-on türevi

Benzer şekilde bir reseptör etkileşmesi (16) oksanilik asit, 1,4-dihidro-4-oksokinaldik asit ve 4-okso-4H-1-benzopiran-2-karboksilik asit gibi grupları taşıyan türevlerde de gözlenmiştir. Anti-allerji ajanı olarak kullanılan 60 kadar madde üzerinde çalışmalar yapılmıştır (67, 63). Bunlar içine Şekil 3.7. görülen, başta kromoglikat ve analogları (a) olmak üzere 4-okso-4H-kinolin-2-karboksilik asitler (b), oksanilik asitler (X=N,CH) (c), 3,4-dihidro-4-oksotiyeno[2,3-d] pirimidin karboksilik asit ve analogları (X=O,NH) (d), 4-hidroksikumarinler (e), ksanton-2-karboksilik asitler (f), 11-okso-11H-pirido[2,1-b]kinazolin-2-karboksilik asitler ve analogları (g), 1,6-dihidro-6-okso-2-fenilpirimidin-5-karboksilik asitler (h) ve  $IC_{50}$  değeri  $1.0 \times 10^{-7}$  M ile sıçandan elde edilen enzime en etkin inhibisyon gösteren oksanilik asit esterleri (i) sayılabilir. En etkin türeve ait in vivo bir çalışma yapılmamıştır.

Anti-allerji ajanı olan 29 kadar sübstitüe ksanton-2-karboksilik türevi aldoz redüktaza karşı denenmiştir (103). Ksanton karboksilik asitin dimetil sülfamoil türevi (Şekil 3.6) suda çözünmeyen bir bileşiktir.  $1.0 \times 10^{-6}$  M ile aldoz

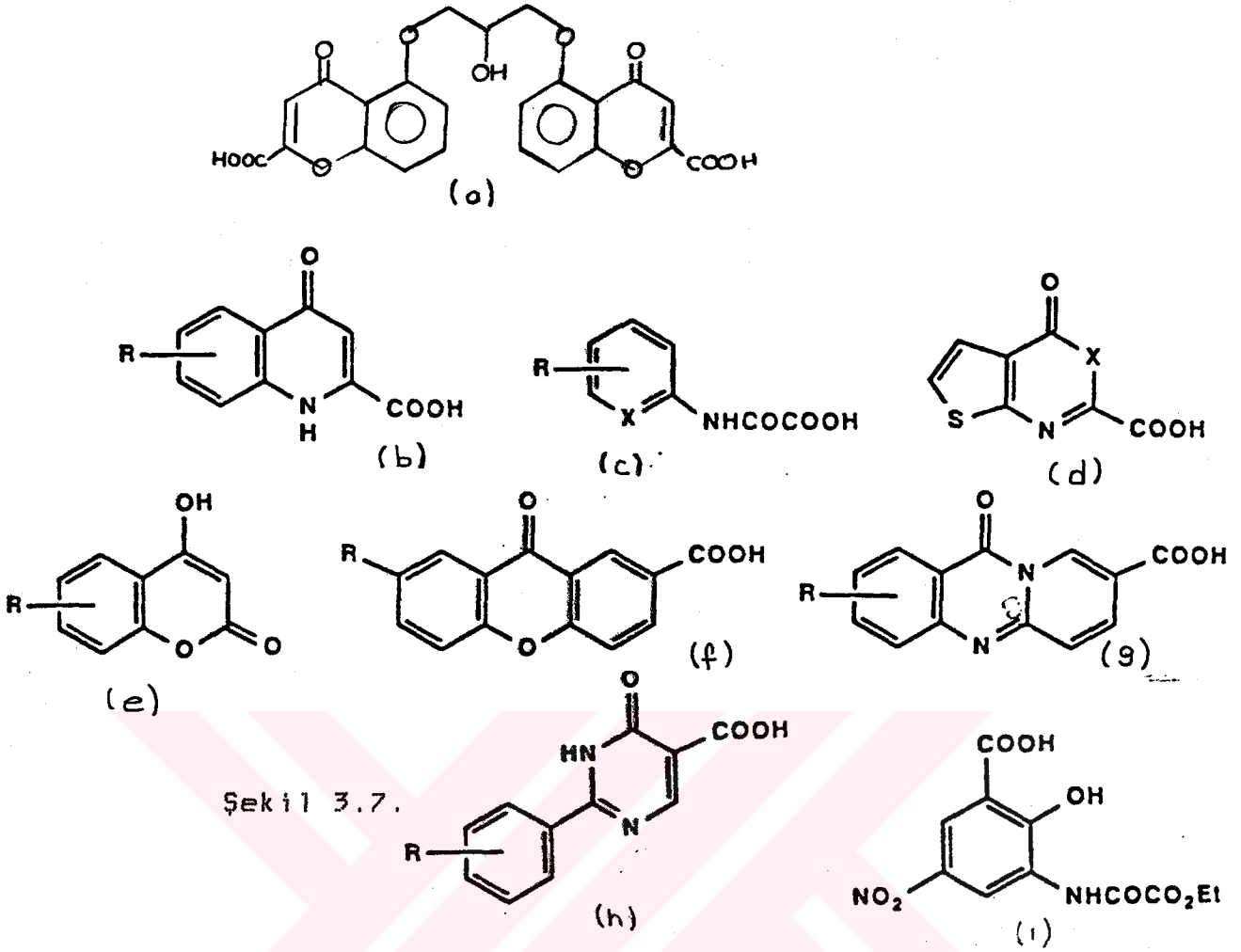
redüktazı % 67 oranında inhibe edebilir. Farelerde katarakt oluşumunu hem topik hemde oral kullanımda geciktirebilmiştir. N-metil grubu hidroksietil grubu ile yer değiştirdiğinde bileşik suda çözünürlük kazanır ve  $1.0 \times 10^{-6}$  M ile enzimi % 83 oranında inhibe edebilir. Araştırmacılar flavonoidlerin sarı renkte olmalarından dolayı göze topik uygulamalarda dezavantajlı olduğunu, renksiz olan ksanton karboksilik asitlerin ise topik uygulamalara uygun olduğunu düşünmektedirler.



Şekil 3.6. Ksanton karboksilik asit türevleri

R : Me

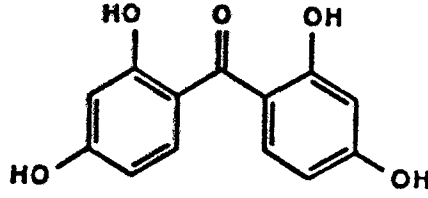
R : CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH



Şekil 3.7.

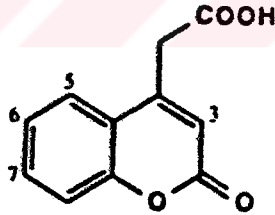
Flavonoidler gibi polihidroksilatlı ve ksantolara benzer özellikleri olan benzofenonlar ile çalışmalar yapılmıştır. Bu bileşiklerden biri olan EISAI 70-A-196 kod numarası verilmiş olan (99) 2,2',4,4'tetrahidroksi benzofenondur (şekil 3.8.). Sıçan lenslerinden elde edilen enzimi  $IC_{50}$   $1.0 \times 10^{-7}$  M ile inhibe edebilir. Oral olarak da kullanılabilir (99).





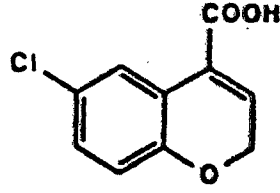
Şekil 3.8. EISAI 70-A-196

Başka bir çalışma şekil 3.9. da görülen kumarin-4-asetik asit türevi içeren 2 grupla yapılmıştır. Kumarin-4-asetikasitin 3,6,7-trimetil türevi inek lens aldoz redüktazını  $1.0 \times 10^{-4}$  M ile % 81 oranında inhibe edebilmiştir. Günde 3 defa 25 mg/kg dozda verildiğinde siatik sinirlerdeki sorbitol birikimini % 21 oranında inhibe edebilmiştir (118). Yine kumarin-4-asetik asitin 5,6-sikloheksano türevi  $IC_{50}$   $2 \times 10^{-8}$  M ile aldoz redüktazı inhibe edebilmiştir. Bu konuda in vivo bir çalışma yapılmamıştır (12).



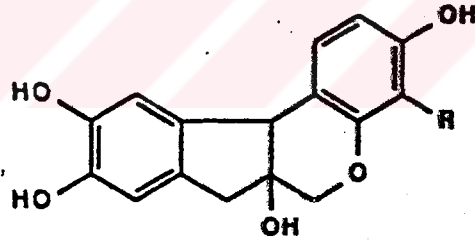
Şekil 3.9.

Benzopiran ve benzotiyopiran karboksilik asit yapıları (şekil 3.10) ile yapılan çalışmada, bileşik enzime  $1.0 \times 10^{-4}$  M ile % 80 inhibisyon yapmıştır (6).



Şekil 3.10. Benzopiran türevi

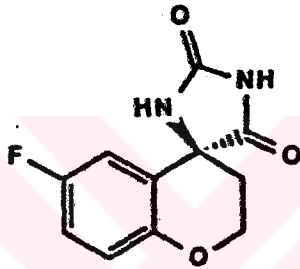
Kore'de diabetik komplikasyonlarda halk ilacı olarak kullanılan bitkilerden elde edilen 2 madde ile çalışma yapılmıştır. Bunlar şekil 3.11 de görülen brazilin ve hematoksilindir. Her ikisinde de umulanın aksine zayıf aktivite görülmüştür. Dana lens aldoz redüktazını  $1.0 \times 10^{-4}$  M ile brazilin % 48, hematoksilin % 57 inhibisyon görülmüştür (89).



Şekil 3.11. R : H Brazilin  
R : OH Hematoksilin

### 3.2.3.4 Spirohidantoin ve Türevleri

ilk olarak 1978 yılında şekil 3.12 de görülen sorbinil bulunmuştur (124). Aldoz redüktaz inhibitörü olarak spirohidantoin grubunun bilinen en iyi üyesidir (78, 119). Bileşiğin yapısındaki pıran halkası nedeniyle psödo sandalye konumunda bulunduğu tespit edilmiştir. NMR çalışmaları solusyonunda her iki konformasyonunda varlığını göstermiştir (119).

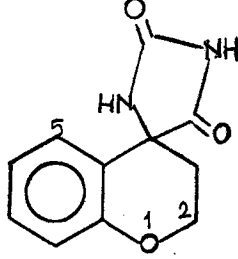


Şekil 3.12 Sorbinil

Tablo 3.5. de sorbinilin enantiyomerlerinin ve rasemik formunun, manda lensinden elde edilen aldoz redüktaz karşısındaki in vitro çalışmaları yer almaktadır.

Sorbinilin (-) formu  $1.0 \times 10^{-6}$  M ile % 23 gibi aktivite gösterirken, (+) Sorbinil % 98 inhibisyon yapmıştır. Rasemik 6,7-kloro, 6,8-dikloro ve 6-kloro analogları in vitro olarak rasemik sorbinilden daha potent çıkmıştır. Bu çalışmaların yanısıra sorbinilin geliştirilmesi ve yapı-aktivite ilişkileri araştırılarak açıklanmıştır (120).

Tablo 3.5. 2,3-dihidro[4H]-1-benzopiran-4,4'-imidazolidin  
2',5'-dionlarının in Vitro inhibitör Aktivitesi



No	Ref	Süstitüsyon	Aldoz redüktazın % inhibisyonu			
			10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>
1(±)	124	6-F	85	85	52	3
2(+)	124	6-F	100	100	98	39
3(-)	124	6-F	88	63	23	-
4	115	6-OMe	100	92	35	7
5	115	6,7-Cl <sub>2</sub>	59	96	91	84
6	115	6,8-Cl <sub>2</sub>	85	90	78	81
7	115	6-Cl	73	81	77	64
8	115	8-Cl	87	85	52	6
9	115	6-Br	74	-	-	-
10	115	6,8-Me <sub>2</sub>	71	84	54	17
11	114	6-Ph	IC <sub>50</sub> < 1x10 <sup>-4</sup> M			
12	114	8-Ph	IC <sub>50</sub> = 1x10 <sup>-6</sup> M			
13	114	6-OPh	IC <sub>50</sub> = 1x10 <sup>-5</sup> M			
14	114	6-Ph-8-Cl	IC <sub>50</sub> = 1x10 <sup>-5</sup> M			
15	121	6-Cl-8-NH <sub>2</sub>		58		
16	121	6-F-8-NH <sub>2</sub>		40		
17	91	2-Me-6-F	IC <sub>50</sub> = 6.5x10 <sup>-8</sup> M			
18	91	2-Me-6-F-8-NO <sub>2</sub>	IC <sub>50</sub> = 5.0x10 <sup>-8</sup> M			
19	91	2-Me-6-F-8-NH <sub>2</sub>	IC <sub>50</sub> = 1.7x10 <sup>-8</sup> M			
20	91	2-Me-6-Cl	IC <sub>50</sub> = 4.7x10 <sup>-8</sup> M			
21	91	2-Me-6-Cl-8-NH <sub>2</sub>	IC <sub>50</sub> = 8.3x10 <sup>-8</sup> M			
22	91	2-Me-6-F- 1'-((CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub> )		0		
23	164	6-SMe	IC <sub>50</sub> = 6.6x10 <sup>-7</sup> M			
24	164	6-SOMe	IC <sub>50</sub> = 1.2x10 <sup>-5</sup> M			

Sorbinilin 2-metil analogu EISAI M-79-175 kodlu

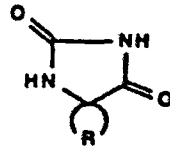
metsorbinildir. Tavşan lens aldoz redüktazına karşı IC<sub>50</sub>

değeri 6.5x10<sup>-8</sup> M dir. Stereokimyası tam olarak

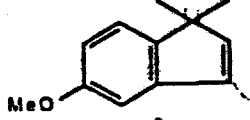
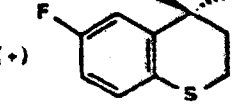
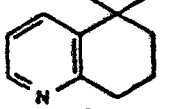
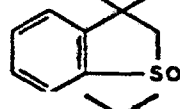
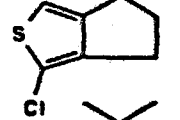

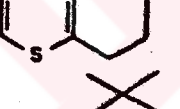

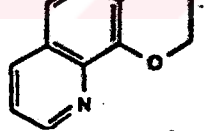
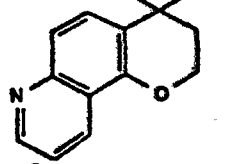
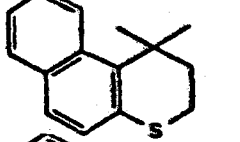
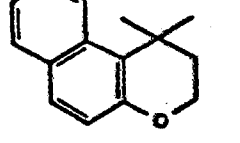
aydınlatılamamıştır (91). Aynı şartlar altında sorbinil  $1.1 \times 10^{-7}$  M  $IC_{50}$  değeri göstermiştir. Metsorbinil 0.1-1 mg/kg dozda oral tatbik edildiğinde sorbitol düzeyinde azalma gerçekleşmiştir (98).

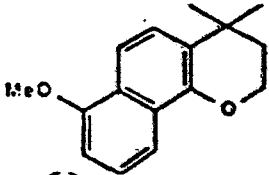
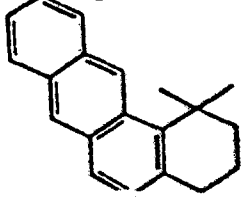
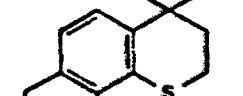
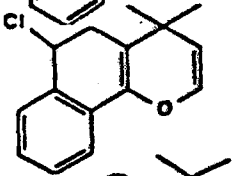
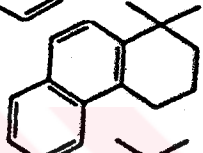
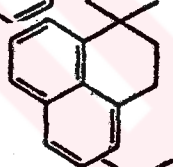

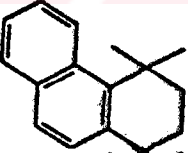
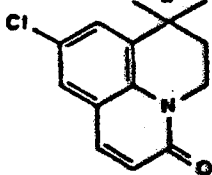
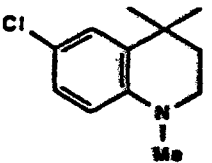
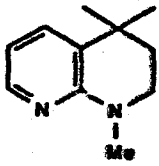
Tablo 3.6. da spiro imidazolidin 2'-5'dion türevlerinin in vivo ve in vitro enzim inhibitör aktiviteleri görülmektedir.  $IC_{50}$  değerleri  $1 \times 10^{-7}$  M dan az olan tiyokroman, spiroindolinon ve flurenon ( Tabloda 3, 25, 26 no'lu bileşikler ) adlı bileşikler dikkat çekmiştir. AL-1567 ( alkonil ) adlı bileşiğin 12 analogunun aldoz redüktaz aktivitesi denenmiştir (163). Geniş ölçüde in vivo çalışmalar yapılmıştır. Oral kullanımda siyatik sinirlerde sorbitol birikiminin azaldığı, kataraktın önlenebildiği tespit edilmiştir (38, 39).

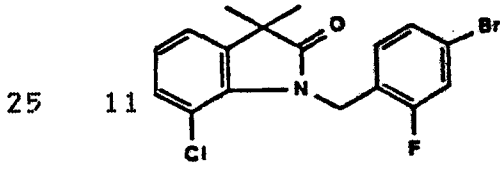
Tablo 3.6. Çeşitli Spiro-imidazolidin-2',5'-dionların in Vivo ve in Vitro Aldoz Redüktaz inhibitör Aktiviteleri.



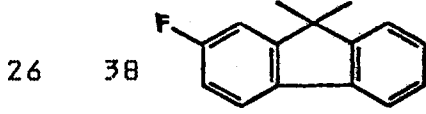
No	Ref	R	Aldoz redüktaz % inhibisyonu (in vitro)	Sorbitol akümülyasyonunun % inhibisyonu (in vivo)
1	115		34% ( $1 \times 10^{-5}$ M)	3% (5 mg/kg)

2	115		81% ( $1 \times 10^{-5}$ M)	33% (5 mg/kg)
3	124	(+) 	74% ( $1 \times 10^{-7}$ M)	55% (0.75 mg/kg)
4	115		54% ( $1 \times 10^{-5}$ M)	5% (5 mg/kg)
5	115		64% ( $1 \times 10^{-5}$ M)	5% (5 mg/kg)
6	122		67% ( $1 \times 10^{-5}$ M)	-
7	122		55% ( $1 \times 10^{-5}$ M)	20% (2.5 mg/kg)
8	122		52% ( $1 \times 10^{-4}$ M)	56% (25 mg/kg)
9	71		50% ( $1 \times 10^{-4}$ M)	46% (25 mg/kg)
10	125		75% ( $1 \times 10^{-4}$ M)	27% (1.5 mg/kg)
11	117		94% ( $1 \times 10^{-4}$ M)	92% (10 mg/kg)
12	117		59% ( $1 \times 10^{-4}$ M)	-
13	117		78% ( $1 \times 10^{-4}$ M)	inactive at 1.5 mg/kg

14	117		94% ( $1 \times 10^{-4}$ M)	
15	117		26% ( $1 \times 10^{-4}$ M)	-
16	117		100% ( $1 \times 10^{-4}$ M)	32% (1.5 mg/kg)
17	117		78% ( $1 \times 10^{-4}$ M)	-
18	117		86% ( $1 \times 10^{-4}$ M)	
19	117		71% ( $1 \times 10^{-4}$ M)	28% (5 mg/kg)
20	117		72% ( $1 \times 10^{-4}$ M)	30% (1.5 mg/kg)
21	117		60% ( $1 \times 10^{-4}$ M)	-
22	127		94% ( $1 \times 10^{-6}$ M)	32% (1.5 mg/kg)
23	123		$IC_{50} = 1 \times 10^{-6}$ M	80% (10 mg/kg)
24	123		$IC_{50} = 1 \times 10^{-5}$ M	-



$$IC_{50} = 9.8 \times 10^{-9} \text{ M} \quad ED_{50}: 0.62 \text{ mg/kg}$$

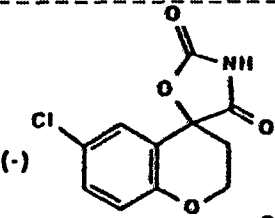
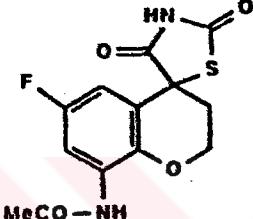
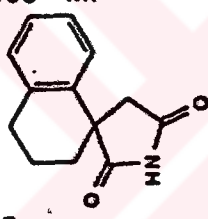
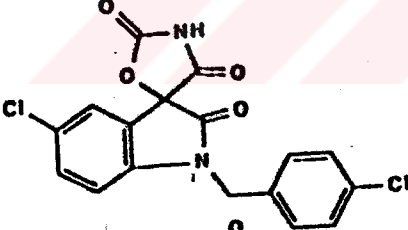
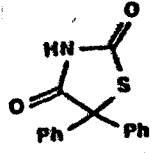
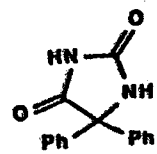
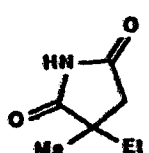


$$IC_{50} = 4.3 \times 10^{-8} \text{ M}$$

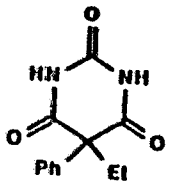
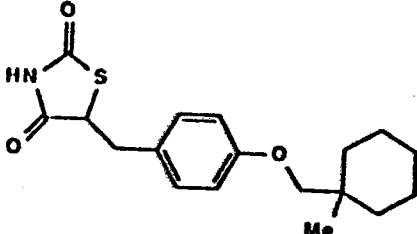
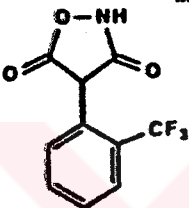
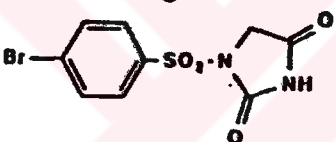
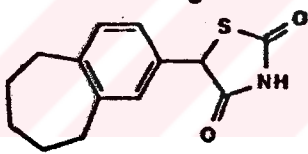
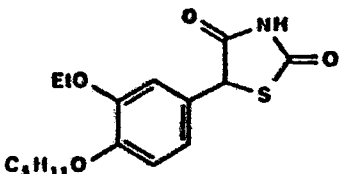
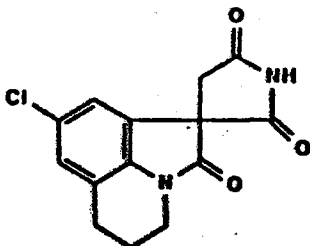
Tablo 3.7. de spirohidantoin benzeri çeşitli heterosiklik formların enzim inhibisyonları görülmektedir. No:1 de yer alan spirooksazolidindion (128) yapısının  $IC_{50}$  değeri  $1 \times 10^{-7}$  M iken, no:2 de yer alan spirotiyazolidindion  $IC_{50}$   $3 \times 10^{-9}$  M ile daha potent bir bileşik olduğunu göstermiştir (42). Spirosüksinimidler için (no:3) in vivo aktivite saptanmıştır (5). Tiyazolidin 2-4 dion yapısında spiro, difenilmetan grubu ile süstitüe edilerek çalışmalar yapılmıştır (142). Bu grubun en potent örneği no:5 de yer alan yapıdır. Plazental aldoz redüktazı  $1 \times 10^{-7}$  M ile % 40 inhibe edebilmiştir. No:6 daki yapı O'BRIEN ve SCHEFIELD tarafından (101) geliştirilmiştir. insan beyninden elde edilen aldoz redüktazı  $5 \times 10^{-4}$  M  $IC_{50}$  değeri göstererek % 71 oranında inhibe edebilmiştir. Aynı araştırmacılar çalışmalarında no:7 de yer alan etosüksinimidleride kullanmışlar (101), ancak düşük inhibitör aktivite bulmuşlardır.



Tablo 3.7. Spirohidantoinden Farklı, Asidik Heterosiklik Halka içeren Aldoz Redüktaz inhibitörleri

No	Ref	Bileşik	Aldoz redüktazın % inhibisyonu	Sorbitol akümüilasyonunun % azalışı(in vivo)
1	128		IC50=1x10 <sup>-7</sup> M	ED50=1.5-2.5mg/kg
2	42		IC50=8x10 <sup>-9</sup> M	-
3	5		-	% 46 (5 mg/kg)
4	47		% 60 (1x10 <sup>-7</sup> M)	-
5	142		% 40 (1x10 <sup>-7</sup> M)	-
6	101		% 71 (1x10 <sup>-4</sup> M)	-
7	101		% 15 (1x10 <sup>-4</sup> M)	-

Tablo 3.7. devam

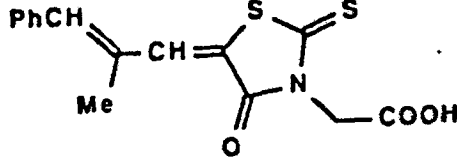
8	149		% 73 ( $1 \times 10^{-3}$ M)	-
9	140		% 39 ( $1 \times 10^{-4}$ M)	-
10	108		% 80 ( $5 \times 10^{-5}$ M)	-
11	49		IC50= $3.7 \times 10^{-7}$ M	-
12	70		% 34 ( $1 \times 10^{-6}$ M)	% 83 (25mg/kg)
13	142		% 35 ( $1 \times 10^{-6}$ M)	-
14	50		IC50= $4 \times 10^{-7}$ M	-

Hipnotik barbitüratlarla yapılan çalışmalarda tavşan lenslerinden elde edilen aldoz redüktaz kullanılmıştır (101, 149). Barbitüratların çok zayıf aldoz redüktaz enzim inhibisyonu yaptığı saptanmıştır. Bu grubun en potent bileşiği olan fenobarbital (no:8)  $1 \times 10^{-3}$  M konsantrasyon ile % 73 inhibisyon yapabilmiştir (140, 14). İzoksazolidindionların en potent bileşiği 10. sıradaki yapıdır (108). Fenilsülfonil hidantoin (no:11), bu serideki 54 bileşikle yapılan çalışmada en iyi etkiyi göstermiştir (49). Oral olarak galaktosemik ratlarda 50 mg/kg dozda galaktitol akümülyasyonunu azaltmıştır. Aynı dozda katarakt oluşumunu da geriletmiştir (97). Fenil sübstitüe tiyazolidindion serisinde yapılan çalışmalarda (no:12) 25 mg/kg dozda % 83 oranında siyatik sinirlerde sorbitol birikimini inhibe etmiştir (70). No:13 de yer alan 3-etoksi-4-pentiloksitiyazolidindion (CT 112) ile ilgili çalışmalar sonunda bileşiğin  $1 \times 10^{-6}$  M ile % 35 oranında insan plasentasındaki aldoz redüktazı inhibe edebildiği saptanmıştır (142).

### 3.2.3.5 Heterosiklik Alkonik Bileşikler

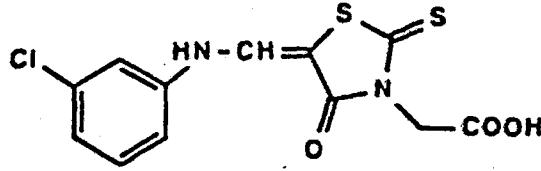
Aldoz redüktaz inhibitör aktiviteleri açısından bir çok heterosiklik alkonik bileşikle çalışılmıştır. Rodanın grubu bileşikler bu gruba ilk örnektir (145, 144). Klinikte

ilk olarak epalrestat (şekil 3.13) adlı bileşik denenmiştir. Bu bileşik  $1 \times 10^{-8}$  M  $IC_{50}$  değeri ile rat lens aldaz redüktazına,  $2.6 \times 10^{-8}$  M ile insan plasental aldaz redüktazına etki edebilir (150).



şekil 3.13. Epalrestat

Diğer rodanin serilerinden en potent olanı epalrestatın aminometilen türevidir (Şekil 3.14.). Sıçandan elde edilen lens aldaz redüktazına  $IC_{50}$   $2.3 \times 10^{-8}$  M ile etki göstermiştir. Bu konuda in vivo çalışma yapılmamıştır (93).

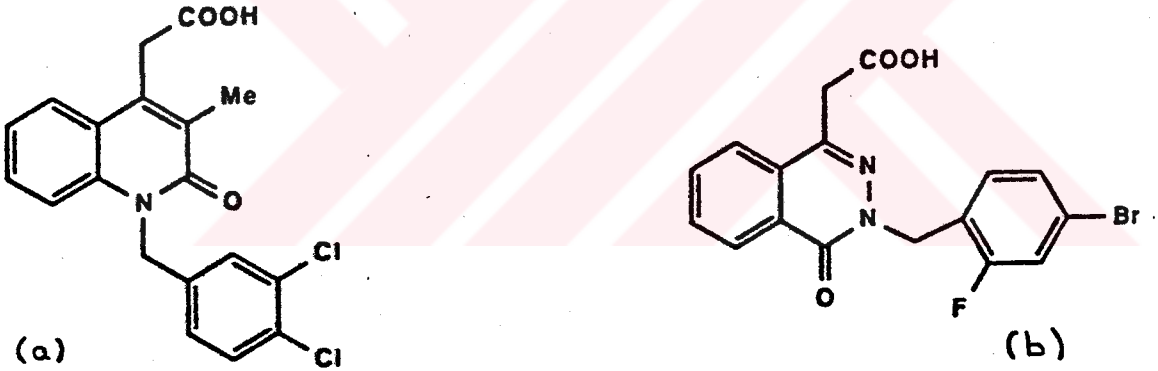


Şekil 3.14 Epalrestatın aminometilen türevi

Kinolin asetik asit (ICI-105,552), (106) ve fitalazino asetik asit (ICI-128,436,29), (143) ile (Şekil

3.15.) laboratuvar hayvanları kullanılarak çalışılmıştır. invitro çalışmalarda kinolin asetik asit, maymun epiteliyal hücre kültürlerinde sorbitol birikimini önlemiştir (8). in vivo çalışmalarda oral olarak günde 50 mg/kg kinolinasetik asite maruz kalan ratlarda siyatik sinirlerde sorbitol seviyesi % 86 azaltılmıştır (106).

Fitalazinoasetik asit (stalil), insan lens aldöz redüktazını  $IC_{50} 2 \times 10^{-8}$  M konsantrasyonda inhibe etmiştir (34). Diabetik ratlarda 3 hafta günde 25 mg/kg dozda uygulandığında siyatik sinirlerde sorbitol seviyelerini azaltmıştır (153). Her iki bileşik içinde yapı aktivite ilişkilerini veren çalışmalar yapılmıştır (10).

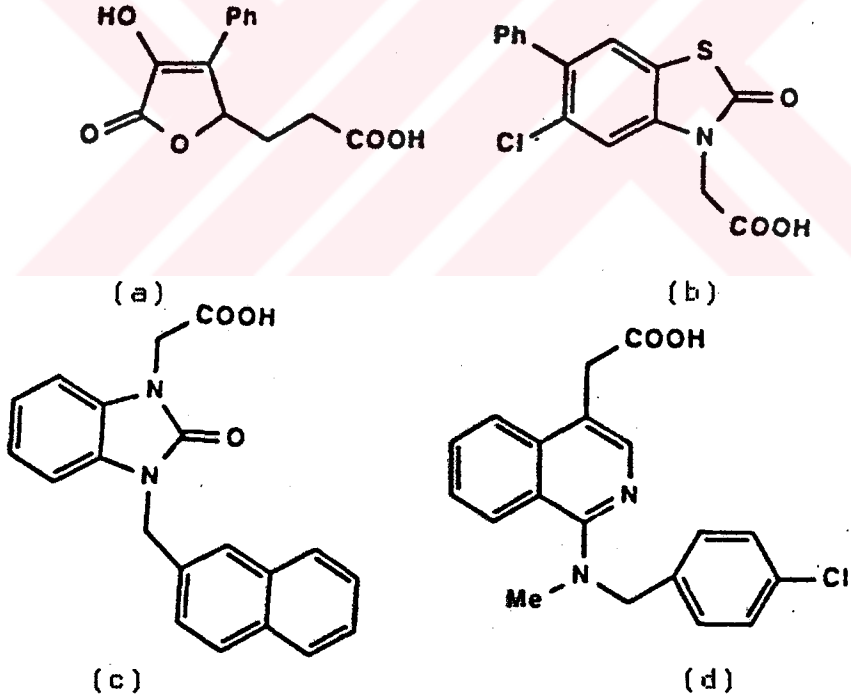


Şekil 3.15. (a) Kinolin asetik asit  
(b) Fitalazino asetik asit

*Chaetomella raphigera* kültüründen izole edilen (Şekil 3.16) furanopropionik asit (FR-51785), tavşan lens aldöz redüktazını  $IC_{50} 1.6 \times 10^{-7}$  M ile inhibe etmiştir (94). Bu

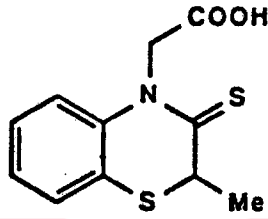
bileşiğin sentetik analogları incelenmiştir. En potent türev 3,4-dikloro analogudur.  $IC_{50}$  değeri  $3.1 \times 10^{-7}$  M dir ve in vivo olarak aktiftir. Oral olarak 10 mg/kg dozda uygulandığında diabetik sıçanlarda sorbitol akümülyasyonunu % 41 inhibe etmiştir (51).

Benzotiyazolinil alkonik asit deriveleri tavşan lenslerine karşı denenmiştir. En potent üye Şekil 3.16 daki yapıdır.  $IC_{50}$  oranı  $2.9 \times 10^{-8}$  M dir (154). Benzimidazolün türevi  $1 \times 10^{-4}$  M konsantrasyonda % 92 oranında inhibisyon sağlamıştır (63). izokinolinasetik asit yapısı ise  $1 \times 10^{-5}$  M konsantrasyonda % 97 inhibisyon göstermiştir (126).



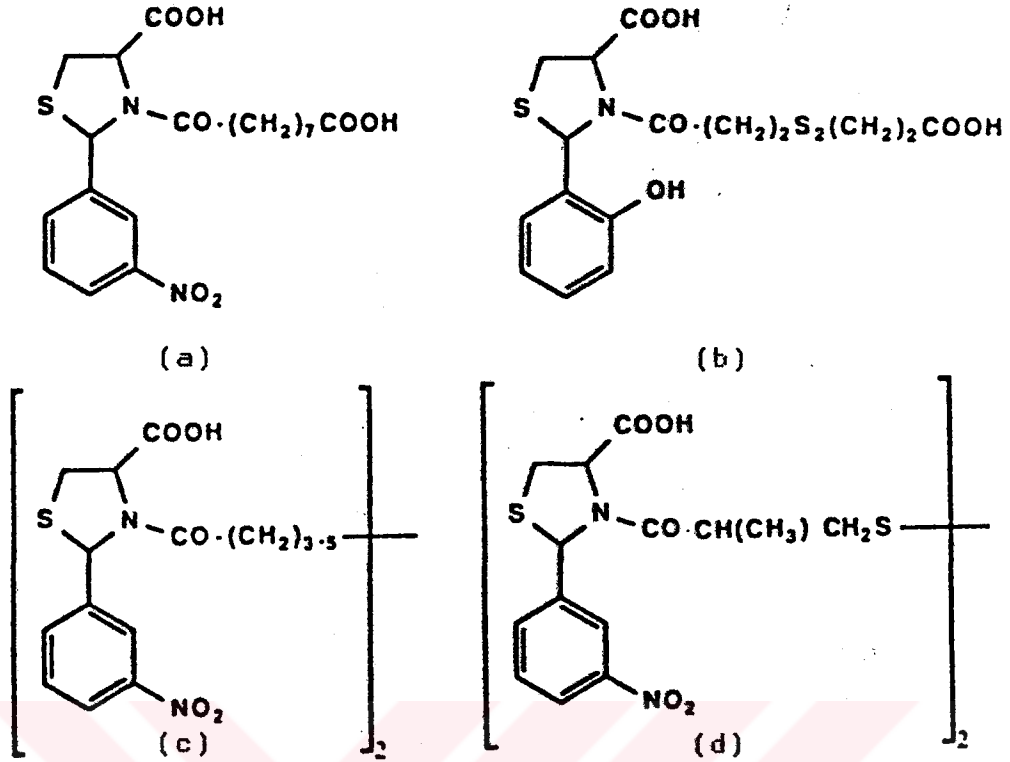
Şekil 3.16. (a) Furanopropionik asit  
 (b) Benzotiyazonil  
 (c) Benzimidazolün türevi  
 (d) izokinolin asetikasit

Tiyookso benzotiyazin bileşiğinin 3-okso ve 3-tiyo türevleri, sıçan aldoz redüktazına karşı denenmiştir. Etki potansiyeli en yüksek bileşik Şekil 3.17. de görülmektedir,  $IC_{50}$   $4.2 \times 10^{-8}$  M ile inhibisyon göstermiştir. Bu konuda in vivo bir çalışma yapılmamıştır (151).



Şekil 3.17.

Çeşitli çalışmalarda, N-açiltiyazolidin karboksilik asit türevlerinde aldoz redüktaz enzim inhibitör aktivitesi saptanmıştır (69, 100). Bu grupta 60 dan fazla analogla çalışılmıştır. En yüksek etki şekil 3.18. (a) daki bileşikte görülmektedir (100). Bileşiğin  $IC_{50}$  değeri  $1.6 \times 10^{-10}$  M dir. Ayrıca diğer yapısal varyasyonlardada yüksek inhibitör aktivite gözlenmiştir. Bunlar simetrik disülfid (b) (68), bileşiğin sade formu (c) (69) ve simetrik olmayan disülfid (d) (68) yapılarıdır. Bu grup bileşiklere ait in vivo bir çalışma yapılmamıştır.



Şekil 3.18. (a) N-açiltiyazolidin karboksilik asit  
 (b) Simetrik disülfid türevi  
 (c)  
 (d) Bileşiğin dimer formları

### 3.2.3.6 Nonsteroidal Antienflamatuvar Ajanlar

Bu bileşiklerden ilk olarak denenen maddeler şöyle sıralanabilir. Aspirin, salisilik asit, fenil butazon, indometazin, piroksikam, prodalik asit, etodolak, ibuprofen, flurbiprofen, suprofen, benoksoprofen, furobufen, naproksen, tolmetin, mefenemik asit, sülindak ve metabolitleri olan sülindak sülfid ile sülindak sülfon.



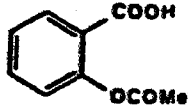
Tablo 3.8. de bu bileşiklere ait aldoz redüktaz enzim inhibisyon oranları görülmektedir. Bu grupta sulindak,  $IC_{50}$  değeri  $1 \times 10^{-7}$  ile  $4 \times 10^{-7}$  M arasında değişen konsantrasyonları ile aldoz redüktaz enziminin membranına en potent bileşiktir. Sulindak sülfid yapısında in vitro çalışmalarda sulindak gibi aktivite gösterebilmiştir.

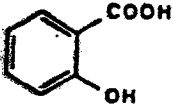
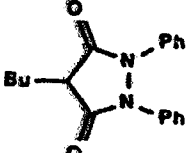
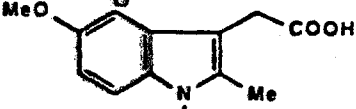
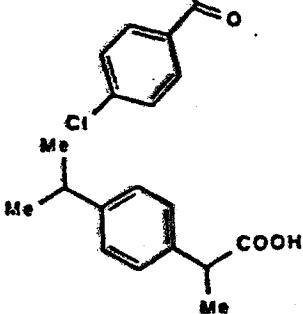
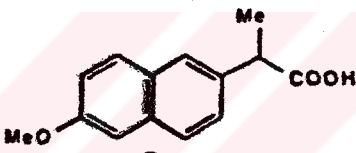
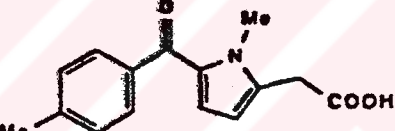
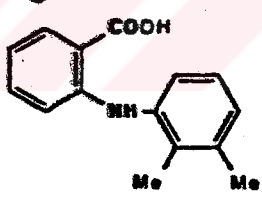
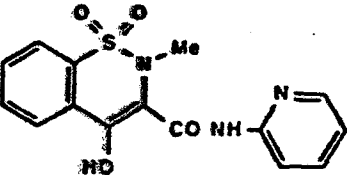
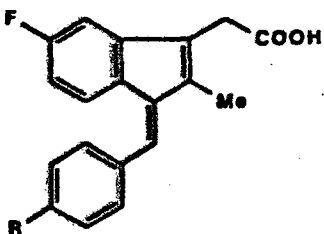
Sulindak günde 62 mg/kg dozda galaktosemik sıçanlarla çalışıldığında (27) lens ve siatik sinirlerde galaktitol seviyesini önleyici zayıf aktivite göstermiştir (28).

Diğer nonsteroidal antiinflamatuvar bileşiklerle yapılan çalışmalarda zayıf aktivite gözleendiği için, bu grup bileşiklerin aldoz redüktaz enzim inhibitörü olarak kullanışlı olmadığı düşünülmektedir.

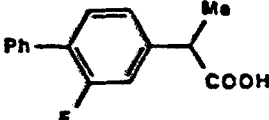
Ayrıca aspirin ile yapılan bir çalışmada, aspirin, kullanan romatoid artridi olan diabet hastalarında katarakt insidansının azaldığı tespit edilmiştir. Ancak aspirinde aldoz redüktazı inhibe eden aktiviteye rastlanmamıştır (20).

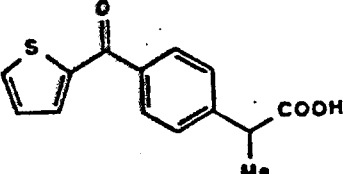
Tablo 3.8. Nonsteroidal Anti-Enflamatuvar ilaçların Aldoz Redüktaz Enzim inhibisyonları

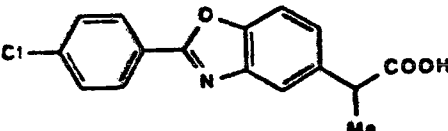
No	Ref	İsim	Yapı	Aldoz Redüktazın % inhibisyonu
1	45 15	Aspirin		%2 ( $1 \times 10^{-4}$ M) %18 ( $1 \times 10^{-5}$ M)

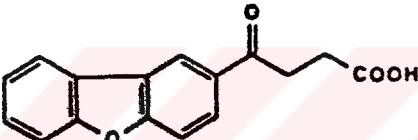
2	45	Salisilik asit		216 (1x10 <sup>-4</sup> M)
3	45	Fenilbutazon		214 (1x10 <sup>-4</sup> M)
4	45 39	indometazin		252 (1x10 <sup>-5</sup> M) IC50=5x10 <sup>-4</sup> M
5	45	ibuprofen		26 (1x10 <sup>-5</sup> M)
6	45	Naproxen		20 (1x10 <sup>-5</sup> M)
7	45	Tolmetin		244 (1x10 <sup>-5</sup> M)
8	45	Mefenemik asit		21 (1x10 <sup>-5</sup> M)
9	45	Piroksikam		20 (1x10 <sup>-5</sup> M)
				

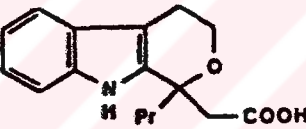
10	15	Sulindak	R SOMe	IC <sub>50</sub> =4x10 <sup>-7</sup> M
	28	"	"	IC <sub>50</sub> =1x10 <sup>-7</sup> M
11	28	Sulindak sülfid	SMe	%50 (1x10 <sup>-6</sup> M)
12	28	Sulindak sülfon	SO <sub>2</sub> Me	%50 (1x10 <sup>-7</sup> M)

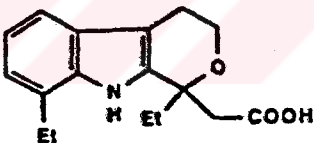
13	45	Flurbiprofen		%27 (1x10 <sup>-5</sup> M)
----	----	--------------	---	----------------------------

14	45	Suprofen		%8 (1x10 <sup>-5</sup> M)
----	----	----------	---	---------------------------

15	45	Benoksaprofen		%32 (1x10 <sup>-5</sup> M)
----	----	---------------	--	----------------------------

16	45	Furobufen		%46 (1x10 <sup>-5</sup> M)
----	----	-----------	--	----------------------------

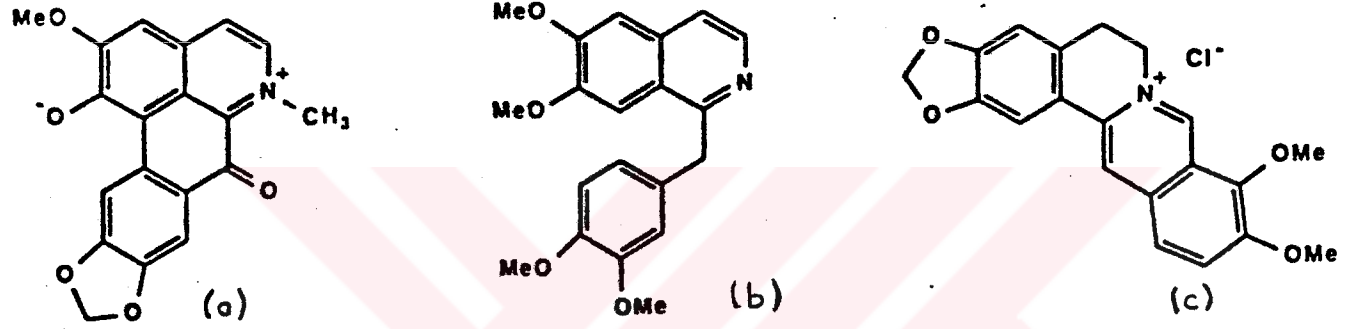
17	45	Prodolik asit		%4 (1x10 <sup>-5</sup> M)
----	----	---------------	---	---------------------------

18	45	Etodolak		%3 (1x10 <sup>-5</sup> M)
----	----	----------	---	---------------------------

### 3.2.3.7 Alkaloidler

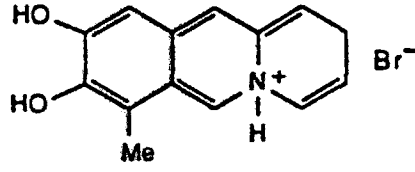
Tauşan lenslerinden elde edilen enzim ile alkaloidlerle çalışmalar yapılmıştır (91). Şekil 3.19 da görülen nandazurin ve aporfinin IC<sub>50</sub> değeri 2.0x10<sup>-4</sup> M iken benzilizokinolin ve papaveriniki 1.4x10<sup>-4</sup> M, berberinin 5.2x10<sup>-5</sup> M dir (91). Bu bileşikleri içeren in vivo bir çalışma

Kinetik çalışmalarda, papaverin ve berberinin DL-gliseraldehidi substrat olarak kullandığı tespit edilmiştir. Önemli bir bulguda berberin ve papaverinin aldoz redüktaz inhibisyonu yaparken kompetitif davranmasıdır (91). Diğer kinetik çalışma yapılan aldoz redüktaz inhibitörleri ile non-kompetitif yada ankompetitif inhibisyon yapan bileşiklerin yapısında substrat yada diğer aldoz redüktaz inhibitörlerine benzerlik tespit edilememiştir.



Şekil 3.19 (a) Nandazurin (b) Aporfin  
(c) Benzilizokinolin

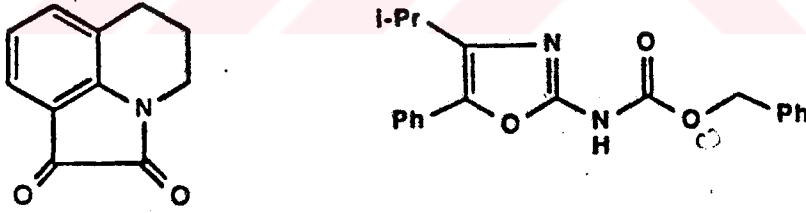
Yapısı tam olarak aydınlatılamamış olan GPA-1734 kod numaralı bileşik 8,9-dihidroksi-7-metilbenzo[b]kinozilinum bromür formülü ile gösterilmektedir (86). Şekil 3.20. deki bileşik olduğu sanılmaktadır. Aldo redüktazı IC<sub>50</sub> değeri 1x10<sup>-5</sup> ile 7x10<sup>-6</sup> M arası konsantrasyonlarda inhibe edebilmiştir. Bu konuda in vivo bir çalışma yapılmamıştır.



Şekil 3.20. GPA-1734

### 3.2.3.8 Diğer Aldoz Redüktaz inhibitörü Bileşikler

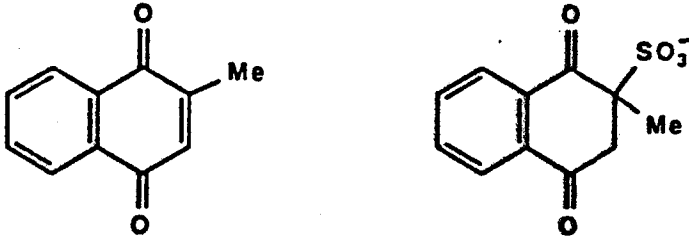
Bu grupta bir kaç özel madde yer almaktadır. Bunlardan ilki pirolokinolidin (AHR-5191) adlı bileşiktir. Günde 100 mg/kg dozda oral olarak 3 gün uygulandığında (56) sıçanlarda galaktitol seviyesini % 43 oranında, sığırlar lensindeki galaktitol seviyesini  $8 \times 10^{-5}$  M konsantrasyon ile düşürebilmiştir. Oksazollerle yapılan çalışmada karbamat türevi, tavşan lenslerinden elde edilen enzime  $1.5 \times 10^{-5}$  M  $IC_{50}$  değeri göstermiştir (148) (Şekil 3.21).



Şekil 3.21. AHR-5191 ve Oksazol türevi

Murphy ve Davidson adlı araştırmacılar menadion (25) ve menadion bisülfid (90) ile çalışmalar yapmışlardır (şekil 3.22). Sığırlar lensleri kullanılan çalışmada menadion  $1 \times 10^{-5}$  M ile % 27,  $1 \times 10^{-6}$  M ile % 17 oranında inhibisyon yapmıştır (45). Piridin-3-karboksaldehidin substrat olarak kullanıldığı

çalışmada, aldoz redüktaz enziminin musküler distrofi patojenezisinde rolü olduğu saptanmıştır (30). Papaverin ve berberinin (91) kompetitif inhibisyon gösterirken, menadion ve menadion bisülfid substrat ile yarışmalı olarak inhibisyon yapar.



Şekil 3.22.

#### 3.2.4 Aldoz Redüktaz Enziminin inhibitör Bölgesinin modeli

Araştırmacılar bir çok aldoz redüktaz inhibitörü ile inhibisyon kinetiği üzerine çalışmışlardır. Etki yerine ulaşmada bazılarının ankompetitif bazılarınınınsa nonkompetitif davrandığı gözlenmiştir. örneğin; kuersitrin (158) ve aksillarin (95) flavonoidleri, sulindak (136) ve p-bromofenilsülfonil hidantoin (49) adlı bileşikler nonkompetitif özellik göstermişlerdir. Epalrestat (150), sorbinil (102, 60), TMG (53), 7-hidroksi-4-okso-4H-kromen-6-karboksilik asit (66), statil (34) adlı bileşikler ise karışık olarak hem ankompetitif hem de nonkompetitif inhibisyon gözlenmiştir. Bu bileşikler dışında kalan yapılar enzimin etki

yöresi için kompetitif özellik göstermezler (65). Daha sonra yapılan çalışmalarda da aldoz redüktaz inhibitörlerinin, nükleotid-kofaktör-bağlanma bölgesine yarışmalı inhibisyon yapmadığı saptanmıştır (60, 65).

KADOR ve SHARPLESS adlı araştırmacılar (65) inhibitör bileşiklerin büyük enzim üstünde genel bir inhibitör yöreye bağlandığını önesürmüşlerdir. Bu temelde inhibitör bileşiklerin LUMO'su, inhibitör potansiyeli ve yapılarındaki polarize karbonil grubu arasında pozitif bir korelasyona dayanmaktadır. Araştırmacıların inhibitörlerin en uygun pozisyonları için önerdikleri modelde, inhibitörün bağlanma yerine yakın civarda tirozin kalıntısı söz konusudur. Tirozinin hidroksil grubu, inhibitör bileşiklerin polarizabl karbonil grubu ile reversibl etkileşen nükleofil kabul edilmektedir.

Bu araştırmacılar aldoz redüktaz inhibisyonu için gerekli minimal yapısal çehreyi tanımladıklarına ve yaklaşımlarının, daha potent ve aldoz redüktaza spesifik inhibitörlerin rasyonel tasarımına katkıda bulunacağına inanmaktadır. Halen klinik çalışmaları devam eden (Tablo 3.9.) 6 tane aldoz redüktaz inhibitörü bileşikten yalnızca spirohidantoin tipinin model geliştirilmede dikkate alındığı belirtilmektedir.

## 3.2.5 Tolrestatin Gelişimi

Alrestatinin tanınmasından sonra diabetin kronik komplikasyonlarının tedavisinde (32, 24) klinik etkinin yüksek dozla ilgili olduğu bulunmuştur. Alrestatinin ve

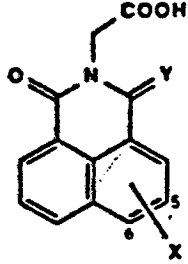
Tablo 3.9. Klinik Çalışmaları Devam Eden  
Aldoz Redüktaz inhibitörleri

No	Yapı	İsim
1		AY-27,773 Tolrestat Alredase <sup>®</sup>
2		CP-45,634 Sorbinil
3		M-79,175 Methosorbinil
4		ONO-2235 Epalrestat
5		AL-1567 Alconil
6		ICI-128,436 Statil



analogları sentezlenerek (131) türevlerin inhibisyon yüzdelerine bakılmıştır (Tablo 3.10).

Tablo 3.10. Alrestatin Analoglarının Aldoz Redüktaz inhibitör Aktivitesi



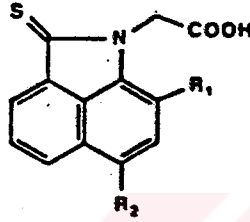
No	Y	X	% inhibisyon		
			$1 \times 10^{-5}$ M	$1 \times 10^{-6}$ M	$1 \times 10^{-7}$ M
1	O	H	74	32	-
2	O	5-NO <sub>2</sub>	64	46	-
3	O	5-NH <sub>2</sub>	62	20	-
4	O	6-Cl	86	42	-
5	O	6-Br	70	40	-
6	O	6-COPh	85	65	22
7	O	6-SPh	92	71	22
8	O	6-(2-COOH)-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S-	91	61	17
9	O	6-Me(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> S-	60	33	26
10	S	H	89	75	28

Molekülde 6. pozisyonun süstitüsüyonu genellikle etki potansiyelini arttırır. Tiyo analogu ile de (no:10) en yüksek in vitro etki elde edilmiştir. Oral kullanımında

galaktosemik sıçanların galaktikol seviyelerini düşürmede alrestatinden 6 kez daha etkili bulunmuştur (131).

Molekülde modifikasyon sonucu Tablo 3.11. de yer alan tiyonaftostirilasetik asit yapısına geçilebilir (130).

Tablo 3.11. Naftostiril Türevlerinin Aldoz Redüktaz inhibitör Aktivitesi



No	R1	R2	$1 \times 10^{-5}$ M	$1 \times 10^{-6}$ M	$1 \times 10^{-7}$ M
1	H	H	93	87	61
2	H	Br	95	91	79
3	H	Cl	96	91	66
4	H	F	94	88	56
5	H	I	93	91	81
6	Br	Br	89	56	13
7	Cl	Cl	94	76	30

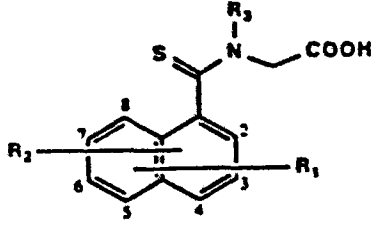
Sistemdeki halojen türevi, hem in vivo hemde in vitro olarak aktivitede artışa neden olmuştur. Alrestatinin tiyo analogundan daha potent olduğu düşünülmektedir. No:2 de yer

alan bromo türevi 131 mg/kg dozda  $1 \times 10^{-7}$  M konsantrasyonda % 79 inhibisyon göstermiştir. Galaktosemik ratlarda (130) sinirlerdeki galaktitol seviyesini düşürmüştür. Ancak dokularda renklenmeye neden olduğu için tercih edilmemektedir.

Daha sonraki modifikasyonlar sistemdeki beş üyeli halkada yapılmıştır. Tablo 3.12. de naftoglisin derivelerinin (133, 132), belli konsantrasyonlardaki % inhibisyonları görülmektedir. *in vivo* ve *in vitro* aktiviteleri yüksek çıkmıştır. Birinci sıradaki süstitüe olmamış derive  $1.0 \times 10^{-6}$  M ile % 51 gibi orta derecede aktivite gösterirken, maksimum inhibitör aktivite 4. dsıradaki 5-bromo türevinden elde edilmiştir. Yapıdaki N-metil grubunun hidrojen yada hidrokarbon grubu ile yer değiştirmesi sonucu oluşan yapılar incelenmiş (no:26), etki potansiyelinde düşüş gözlenmiştir. Tablodaki dikkate değer bileşik 24. sıradaki tolrestat (Aldredase, AY-27,773) adlı bileşiktir. Sığır lenslerinden elde edilen enzime karşı  $IC_{50}$  değeri  $3.5 \times 10^{-8}$  M dir (134). Bileşikle ilgili farmokolojik ve biyokimyasal çalışmalar geniş ölçüde devam etmektedir (6, 97, 8).

Aldoz redüktaz enziminin diabetik komplikasyonlardaki önemli rolünün anlaşılması araştırmacıları bir çok bileşiğin inhibitör etkisini saptamaya ve bir çok yeni bileşiği sentezlemeye yöneltmiştir. Bir çok molekülde *in vitro* olarak aktivite saptanmıştır. Ancak etkin türevlerin hazırlanabilmesi çok sayıda klinik çalışmayı gerektirmektedir.

Tablo 3.12. Naftoglisin Türevlerinin Aldoz Redüktaz inhibitör Aktivitesi



No	R1	R2	R3	% inhibisyon		
				$1 \times 10^{-5}$ M	$1 \times 10^{-6}$ M	$1 \times 10^{-7}$ M
1	H	H	Me	85	51	13
2	3-Br	H	Me	90	74	28
3	4-Br	H	Me	91	77	32
4	5-Br	H	Me	93	87	47
5	6-Br	H	Me	91	75	18
6	7-Br	H	Me	86	58	15
7	8-Br	H	Me	88	75	24
8	5-OMe	H	Me	83	64	17
9	5-Br	H	Me	89	74	26
10	5-CN	H	Me	89	79	32
11	5-NO <sub>2</sub>	H	Me	91	83	43
12	5-Cl	H	Me	91	83	40
13	5-COMe	H	Me	92	74	19
14	5-Pr	H	Me	91	72	21
15	5-CF <sub>3</sub>	H	Me	93	84	33
16	3-Cl	4-OMe	Me	85	78	33
17	5-Br	6-O(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> Me	Me	93	91	55
18	5-Br	6-OMe	Me	99	91	72
19	5-Br	6-Me	Me	92	88	55
20	5-Cl	7-Cl	Me	88	75	29
21	5-I	6-OMe	Me	98	95	72
22	5-CN	6-OMe	Me	98	93	74
23	5-Br	6-O(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> OMe	Me	92	87	38
24	5-CF <sub>3</sub>	6-OMe	Me	98	94	65
25	5-SCF <sub>3</sub>	6-OMe	Me	-	94	73
26	5-Br	H	H	54	14	-
27	5-Br	H	Pr	91	70	19
28	5-Br	H	CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>	92	77	27
29	5-Br	H	Et	85	72	24
30	5-Br	H	Bu	86	65	19
31	5-Br	H	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	86	69	20

## 4. MATERYAL VE METOD

### 4.1 Materyal

#### 4.1.1 Kullanılan Araç ve Gereçler

Ergime noktası tayini yapılırken Buchi SMP 20 ve Mettler FP 61 aletleri kullanıldı ve sonuçlar düzeltilmeden verildi.

Ultraviyole ölçümleri Shimadzu UV-160 spektrofotometresinde yapıldı. Etanol içinde çözülerek hazırlanmış maddelerin, maksimum absorbanları ve  $\log \epsilon$  değerlerinin hesapları 200-800 nm arası taranarak gerçekleştirildi.

Enzim inhibisyon tayini çalışmasında Pye-Unicom SP8.100 spektrofotometresi kullanıldı.

infrared ölçümleri Perkin Elmer 782 I.R spektrofotometresinde,  $400-4000 \text{ cm}^{-1}$  arasında KBr diski kullanılarak yapıldı.

NMR ölçümleri Varian E.M 360L spektrometresinde, çözücü olarak  $d_6$ -DMSO kullanılarak gerçekleştirildi.

Elementel analiz sonuçları, karbon, hidrojen ve azot yüzdeleri saptanmak suretiyle Carlo-Erba Analiz Cihazı ile elde edilmiştir.

#### 4.1.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Fenil hidrazin (Merck), asetofenon (Aldrich), susuz  $ZnCl_2$  (Aldrich), konsantre HCl (Merck), etanol (Merck), N,N-dimetilformamid (Merck), fosforoksiklorür (Merck), NaOH (Aldrich), glisin (Aldrich), potasyumtiyosiyanat (Aldrich), dietanolamin (Merck), metanol (Merck), toluen (Merck), etilformat (Merck), formikasit (Merck), isopropil (Merck), amonyak (Merck), indol (Aldrich), 5-bromoindol (Aldrich), 5-siyanoindol (Aldrich), 5-nitroindol (Aldrich), 5-metoksiindol (Aldrich), Amonyum sülfat (Merck), NADPH (Sigma), NaCl (Merck), DL-Gliseraldehit (Sigma), Dimetilşülfoksit (Merck),  $d_6$ -DMSO (Aldrich).

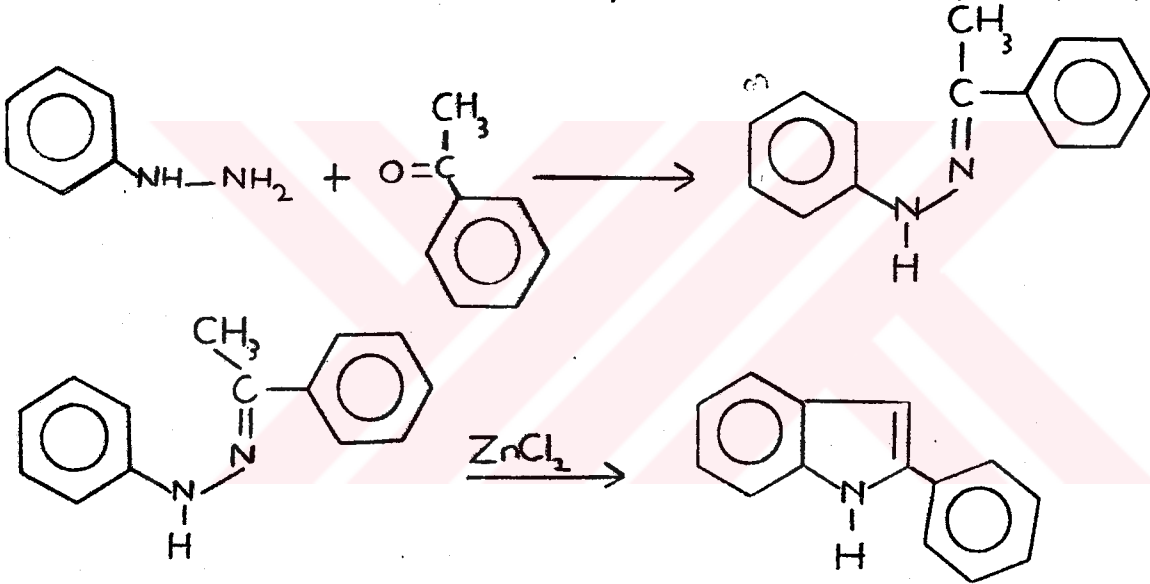
Tarafımızdan sentezlenen başlangıç maddeleri 2-fenilindol, 2-fenilindol-3-karboksaldehit, indol-3-karboksaldehit, 5-bromoindol-3-karboksaldehit, 5-nitroindol-3-karboksaldehit, 5-siyanoindol-3-karboksaldehit, 5-metoksiindol-3-karboksaldehit, 2-tiyohidantoin, 1-asetil-2-tiyohidantoin

## 4.2 Metod

## 4.2.1 Elde Edilen Bileşiklerin Sentez Yöntemleri

## 4.2.1.1 2-Fenil indol Sentezi

Fischer indol sentez yöntemi kullanılmıştır (138,79).



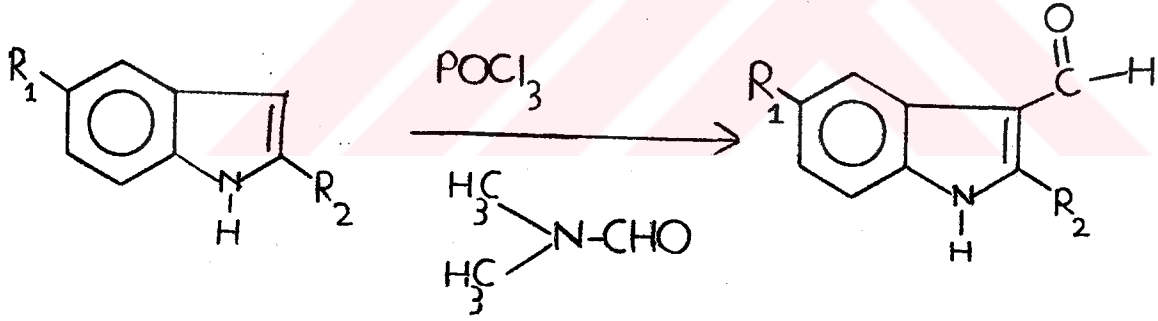
Birinci basamakta fenil hidrazin 4g (0.037 mol) ve asetofenon 3.6g (0.03 mol) bir saat kaynar su banyosunda bekletilip, soğutulmuş etanol içine dökülerek oluşan asetofenonfenilhidrazon kristalleri Buchner hunisinden süzüldü. Vakumlu etüde kurutuldu. Ergime noktası  $105^{\circ}C$  bulundu. Literatürdeki ergime noktası  $105-106^{\circ}C$  (138)-

ikinci basamakta 6g hidrazon kristali (0.028 mol) ve

bunun beş misli miktardaki, toz halde kuru  $ZnCl_2$   $170^{\circ}C$  lik yağ banyosunda 5 dakika mekanik karıştırıcı ile karıştırıldı. Katılaştıran ürün seyreltik HCl ilavesi ile kaynar su banyosunda 4 saat çözünene kadar beklendi. Karışım alkol ile kaynatıldı, alkole geçen madde bu çözeltilerden kristallendirildi. Işık ve havada bozunabilen kristaller  $50^{\circ}C$  de vakumlu etüvde kurutuldu. İTK ile saf oldukları kontrol edildi,  $R_f$  değeri 0.82 (solvan 1), ergime noktası  $186^{\circ}C$  bulundu. Literatürdeki ergime noktası  $186-188^{\circ}C$  (138).

#### 4.2.1.2 Sübstitüe indol-3-karboksaldehitlerin Sentezi

indol türevlerinin 3. konumuna N,N-dimetilformamid ve fosforoksiklorür ile aldehit grubu bağlandı (52, 135).



BİLEŞİĞİN ADI	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>f</sub> (Sol.1)	E.N(°C)
A <sub>1</sub> - indol-3-karboksaldehit	-H	-H	0.85	195-196
A <sub>2</sub> - 5-Bromoindol-3-karboksaldehit	-Br	-H	0.68	205
A <sub>3</sub> - 5-Nitroindol-3-karboksaldehit	-NO <sub>2</sub>	-H	0.75	285-290
A <sub>4</sub> - 5-Siyanoindol-3-karboksaldehit	-CN	-H	0.57	240
A <sub>5</sub> - 2-Fenilindol-3-karboksaldehit	-H	-Ph	0.65	170-173

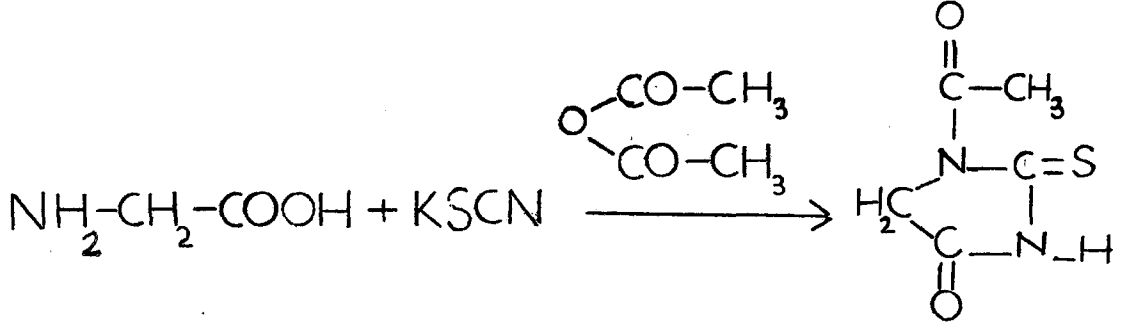


indol-3-aldehit türevlerinin sentezlerine ait veriler aşağıda tablo halinde verilmiştir.

Reaksiyona Giren Maddeler					
Bileşik	indol (5 mmol)	POCl <sub>3</sub> (6 mmol)	N,N-Dimetil formamid (22 mmol)	Ürün (g)	Verim (%)
A <sub>1</sub>	0.58 g	0.55 ml	1.6 ml	0.54	75
A <sub>2</sub>	0.98 g	0.55 ml	1.6 ml	0.95	84.8
A <sub>3</sub>	0.81 g	0.55 ml	1.6 ml	0.61	64.2
A <sub>4</sub>	0.71 g	0.55 ml	1.6 ml	0.60	60.6
A <sub>5</sub>	0.95 g	0.55 ml	1.6 ml	0.75	68.8

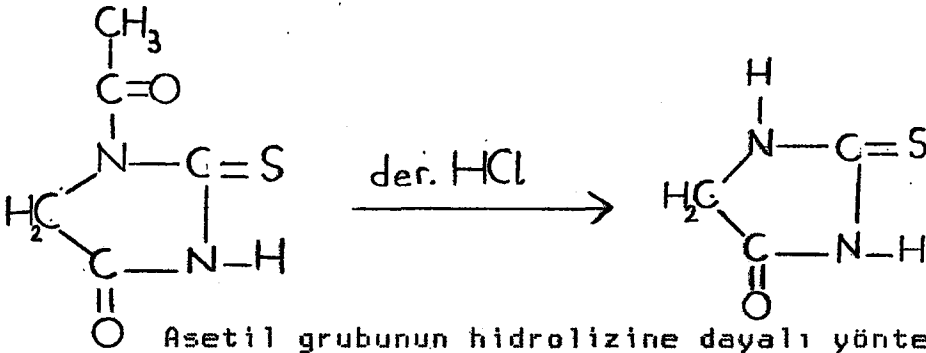
Ağızı kapalı bir balonda 1.5 ml (21 mmol), dimetilformamid buz banyosunda, magnet ile sürekli karışması sağlanarak 10-20° C soğutuldu. Havanın neminden korunmayı sağlayacak şekilde 5 ml (6 mmol) fosforoksiklorür damla damla 30 dakikada ortama katıldı. Reaksiyon 5 dakika karıştırıldı ve indol ve/veya türevi (6 mmol) 0.5 ml dimetilformamid içinde çözülerek damla damla reaksiyon ortamına ilave edildi. Ortam sıcaklığı 20-30°C yi geçmeyecek şekilde 30 dakika süre ile karıştırıldı. Karışım kırılmış buza döküldü. Oluşan ekzotermik reaksiyonun bitiminden sonra ortam bazik olana kadar, % 40 lık NaOH çözeltisi damla damla ilave edildi. Oluşan kristaller süzüldü ve bol su ile yıkandı, vakumlu etüde kurutuldu. Oluşan bileşiklerin ergime noktaları bulunarak, ince tabaka kromatografisi ile saflıkları kontrol edildi ve R<sub>f</sub> değerleri hesaplandı.

## 4.2.1.3 1-Asetil-2-Tiyohidantoin Sentezi



Bir beher içinde 2 g glisin (0.026 mol) ve 2.5 g potasyumtiyosiyanat (0.026 mol) üzerine 10 ml asetik asit anhidriti ilave edilerek kaynar su banyosunda şiddetli reaksiyon gözlenene kadar karıştırıldı. Geri çeviren soğutucuda 30 dakika reflaks edildi. Hacminin 6 katı kadar soğuk suya dökülerek asetiltiyohidantoin kristalleri elde edildi (54,55,161). Ergime noktası 175°C olan (literatürdeki ergime noktası 175-176°C) 2.4 g madde elde edildi ve R<sub>f</sub> değeri 0.62 (solvan I) bulundu (161).

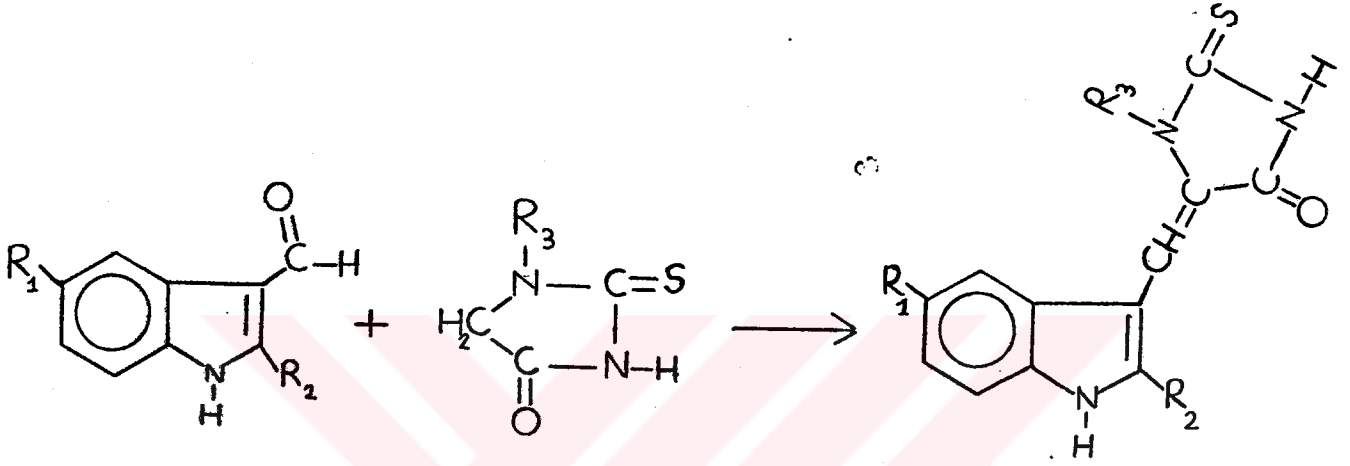
## 4.2.1.4. 2-Tiyohidantoin Sentezi



Asetil grubunun hidrolizine dayalı yöntem uygulandı (54,55,161). Bir balona alınan 5g (0.031 mol) 3-asetil-2-tiyohidantoin 3 defa aşırı miktarda konsantre HCl ile kaynar suda ısıtarak, rotovaporda kuruluğa kadar uçuruldu. Balonda

kalan artık, etanol ile kaynatılarak süzüldü. Süzüntüden 2-tiyohidantoin kristallendirildi. Ergime noktası 229°C olan (literatürdeki ergime noktası 229-231°C) 3.2 g madde % 88 verimle elde edildi.  $R_f$  değeri 0.74 bulundu (Solvan 1).

#### 4.2.1.5 5-(3'-indolal)-1-sübstitüe-2-tiyohidantoin Sentezi



No	$R_1$	$R_2$	$R_3$	$R_f$ (Solvan 2)	Ergime Noktası(°C)
1	-CN	-H	-COCH <sub>3</sub>	0.58	345
2	-H	-Ph	-COCH <sub>3</sub>	0.69	255
3	-H	-H	-H	0.71	258-260
4	-Br	-H	-H	0.60	310-315
5	-NO <sub>2</sub>	-H	-H	0.75	305-310
6	-CN <sup>2</sup>	-H	-H	0.55	335-340
7	-H	-Ph	-H	0.65	275

indol ve hidantoin halkalarının kondansasyonuna dayalı sentez yöntemi uygulandı (83). indol karboksaldehit ve/veya türevi (0.050 mol), tiyohidantoin ve/veya asetiltiyohidantoin (0.0050 mol), dietanolamin (0.014 mol) ve metanol (0.06 mol) 2 saat kaynar su banyosunda, geri çeviren

soğutucu altında reflax edildi. Reaksiyon sonunda kendi hacmi kadar su ilave edilerek seyreltilip, 15 dakika kaynatıldı. Oluşan çökelek süzülerek bol su ile yıkandı. İnce tabaka kromatografi ile  $R_f$  değerleri, ergime noktaları belirlendi ve spektral analizleri yapıldı. Sonuçlar bulgular kısmında yer almaktadır.

#### 4.2.2 Elde Edilen Bileşiklerin Safliklarının Araştırılması

Sentez çalışmalarını sırasında reaksiyonlardaki gelişmeyi izlemek, elde edilen maddelerin saflık derecelerini saptamak ve  $R_f$  değerlerini belirlemek amacıyla ince tabaka kromatografisinden yararlanıldı. Bu amaçla kieselgel 60 F 254 ile kaplanmış, 0.2 mm kalınlığındaki hazır (Merck) alüminyum plaklar kullanıldı. Çalışmada kullanılan solvan sistemleri aşağıda verilmiştir.

1. Toluen-Etilformat-Formik asit (5:4:1)
2. isopropilalkol-Amonyak-Su (10:1:2)

Sürükleme işlemi tamamlandıktan sonra plaklar açık havada kurutulup, lekeler UV lambası altında 254 nm dalga boyunda incelendi.

#### 4.2.3. Sentezlenen Bileşiklerin Spektral İncelemeleri

##### 4.2.3.1. Ultraviyole Spektral Analizleri

Sentezlenen bileşiklerin etanol içerisinde aşağıda gösterilen konsantrasyonda hazırlanan çözeltileri 200-800 nm arasında tarama yapılarak UV analizleri gerçekleştirilmiştir.

Bileşik	Konsantrasyon
S <sub>3</sub>	: 2.0x10 <sup>-5</sup> M
S <sub>1</sub> , S <sub>2</sub> , S <sub>4</sub> , S <sub>6</sub> , S <sub>7</sub>	: 1.0x10 <sup>-5</sup> M
S <sub>5</sub>	: 5.0x10 <sup>-6</sup> M

Sentezlenen türevlerden S<sub>1</sub>, S<sub>5</sub>, S<sub>6</sub> de indol halkasının 5. konumunda -NO<sub>2</sub> ve -CN gibi kromofor gruplar yer aldığı için spektrumdaki bazı maksimum absorpsiyon bantları etkilenerek genişlemiş ve dalga boylarının değişmesi nedeniyle diğerlerini örtmüştür. Bu durumda, bu türevlerde gözlenen maksimum absorpsiyon bant sayısı azalmaktadır

Sentezlenen her bileşiğin maksimum absorpsiyon bantları ( $\lambda_{maks}$ ) ve bu dalga boyunda hesaplanan molar ekstinksiyon katsayılarının logaritması (logE) bulgular kısmında verilmiştir.

#### 4.2.3.2. Infrared Spektral Analizleri

Sentezlenen bileşiklerde gerçekleştirilen IR ölçümleri sonucunda, tiyohidantoin halkasının C=O gerilimi (yaklaşık  $1650\text{ cm}^{-1}$ ), N-H gerilimi ( $3100-3350\text{ cm}^{-1}$  arasında) C=S gerilimi (yaklaşık  $1240\text{ cm}^{-1}$ ) ile indol halkasının N-H gerilim bantları dikkati çekmektedir. Ayrıca indol halkasının 5. konumundaki sübstitüentlerin gerilim bantları gözlenmektedir. Bu türevlerde C≡N grubu  $2220\text{ cm}^{-1}$  civarında, NO<sub>2</sub> grubu  $1550-1340\text{ cm}^{-1}$  civarında asimetric ve simetric gerilme gözlenmektedir. ikinci konumda fenil bulunan türevde fenil halkasına ait  $690\text{ cm}^{-1}$  de ve  $730\text{ cm}^{-1}$  de 2 keskin C-H eğilim bantı gözlenmektedir. Asetiltiyohidantoin grubu bulunan türevlerde ise -CH<sub>3</sub> grubu  $1430-1350\text{ cm}^{-1}$  civarında asimetric ve simetric gerilme titreşimleri göstermektedir.

Sentezlenen bileşiklerde başlangıç maddesi olan 2. ve 5. konumdan sübstitüe indol-3-karboksaldehitlerde  $2830-2700\text{ cm}^{-1}$  de aldehitler için spesifik olan 2 kuvvetli C-H gerilim bantları gözlenmektedir (4). Diğer başlangıç maddesi olan tiyohidantoin halkasında  $2850-2950\text{ cm}^{-1}$  arasında C-H gerilim bantları yer almaktadır (4). Başlangıç maddelerine ait olan bu bantlar sentezlenen türevlerde bulunmamaktadır.

Elde edilen bileşiklerin IR spektrumları incelendiğinde aşağıda görülen ortak absorpsiyon bantları

dikkat çekmektedir.

- 3300-3100  $\text{cm}^{-1}$  : N-H gerilimi
- 3100-3000  $\text{cm}^{-1}$  : =C-H gerilimi (Aromatik Hidrojenler)
- 1700-1600  $\text{cm}^{-1}$  : C=O gerilimi
- 1600-1500  $\text{cm}^{-1}$  : C=C gerilimi
- 1290-1100  $\text{cm}^{-1}$  : C=S gerilimi

#### 4.2.3.3. NMR Spektral Analizleri

Sentezlenen bileşiklerin % 1 tetrametilsilan (TMS) içeren DMSO- $d_6$  içinde çözülerek  $^1\text{H}$  NMR spektrumu alındı.

Türevlerin NMR spektrumu incelendiğinde, indol ve tiyohidantoin halkasına ait protonların magnetik rezonans sinyalleri, aromatik sistemden kaynaklanan anizotropik etki nedeniyle paramagnetik kayma göstererek düşük alanda görülmektedir. Bu protonların düşük alanda gözlenen sinyallerinin yeri indol halkasının 5. konumunda bulunan sübstitüentlerin indüktif etkisinin özelliğine göre değişmektedir. Sentezlenen bileşiklerde  $S_2$  ve  $S_7$  de 2. konumda bulunan fenil halkasının ve indol halkasında bulunan fenil protonlarının sinyalleri 7.00-8.25 ppm de multiplet olarak gözlenmektedir. Tiyohidantoin halkasının 9.00-12.00 ppm de gözlenen N-H sinyalleri, sentezlenen türevlerde de aynı

aralıkta gözlemlendi. Bileşiklerden  $S_4$ ,  $S_2$  ve  $S_7$  dışındakilerde bir çok indol türevinde olduğu gibi azota bağlı protonun sinyali gözlenememiştir.  $S_4$ ,  $S_2$ ,  $S_7$  de ise 8.60 ve 6.75 ppm değerlerinde beklenen aralıkta gözlenmiştir. Bulgular kısmında elde edilen türevlerin NMR spektrum ve yorumları verilmiştir.

#### 4.2.3.4 Elementel Analizleri

Elde edilen türevlerin elementel analizlerinin sonuçları hesaplanan ve analiz sonunda bulunan C, H, ve N atomlarının molekül içindeki % miktarları şeklinde bulgular kısmında gösterilmiştir.

#### 4.2.4. Sentezlenen Bileşiklerin in Vitro Biyolojik Aktivitelerinin Tayini

##### 4.2.4.1. Aldoz Redüktaz Enziminin Elde Ediliş Yöntemi

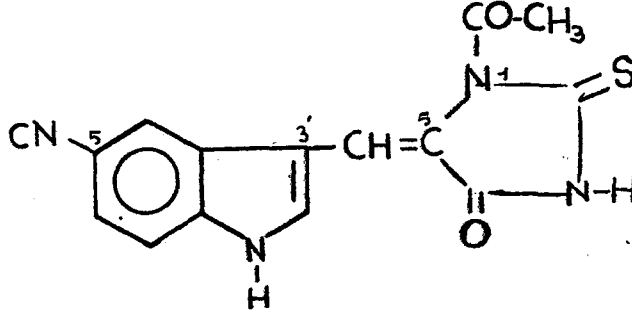
Biyolojik aktivite tayini için gerekli olan aldoz redüktaz enzimi, sığır lenslerinden elde edilmiştir (40). Bu amaçla lensler tartıldı (100-200g) ve ağırlığının 3 misli soğuk su ile homojenize edildi. Homojenat, çözünmeyen materyalin uzaklaştırılması amacıyla 20 dakika süre ile 10000xg de santrifüj edildi. Çözeltiye doymuş amonyum sülfat çözeltisi ilave edilerek % 40 lık doymuşluk sağlandı. Oda



sıcaklığında 15 dakika süreyle kendi haline bırakılarak çökmesi sağlandı, 10000xg de 20 dakika santrifüj edilerek çöken ve çözünen kısımlar birbirinden iyice ayrıldı. Çökelek atıldı, çözünen kısım, üzerine doymuş amonyum sülfat ilave edilerek % 50 lik doymuşluk sağlandı. Yeniden 15 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 10000xg de 20 dakika santrifüj yapıldı ve elde edilen çözelti, doymuş amonyum sülfat çözeltisi ile % 75 lik doymuşluğa getirildi. Daha sonra çözelti 10000xg de 20 dakika santrifüj edildi ve çöken enzim ayrıldı. Elde edilen aldoz redüktaz enzimi 10 ml 0.05M NaCl çözeltisi içinde çözülerek 4 L 0.05M NaCl içinde, karıştırılmak suretiyle bir gece diyalize bırakıldı. Elde edilen sonuçlar bulgular kısmında verilmiştir.

## 5. BULGULAR

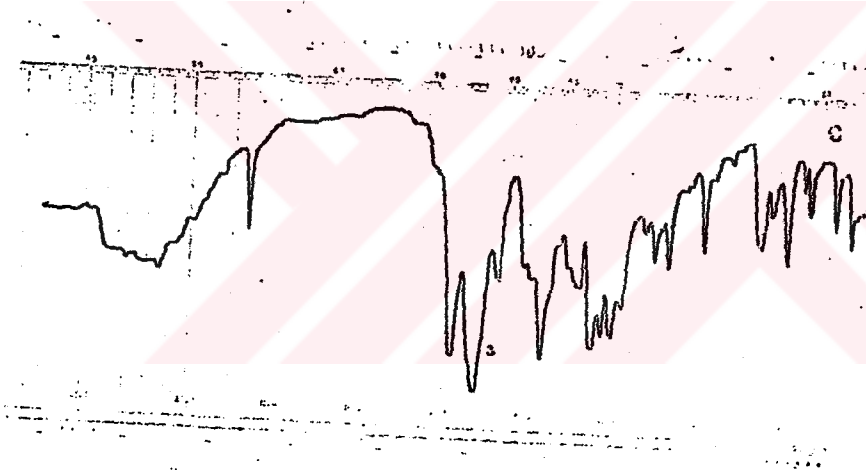
## 5.1. Elde Edilen Bileşiklerin Sentez ve Analiz Bulguları

5.1.1. 5-[(5'-siyano)-3'-indolal]-1-asetil-2-tiyohidantoin  
(S<sub>1</sub>)

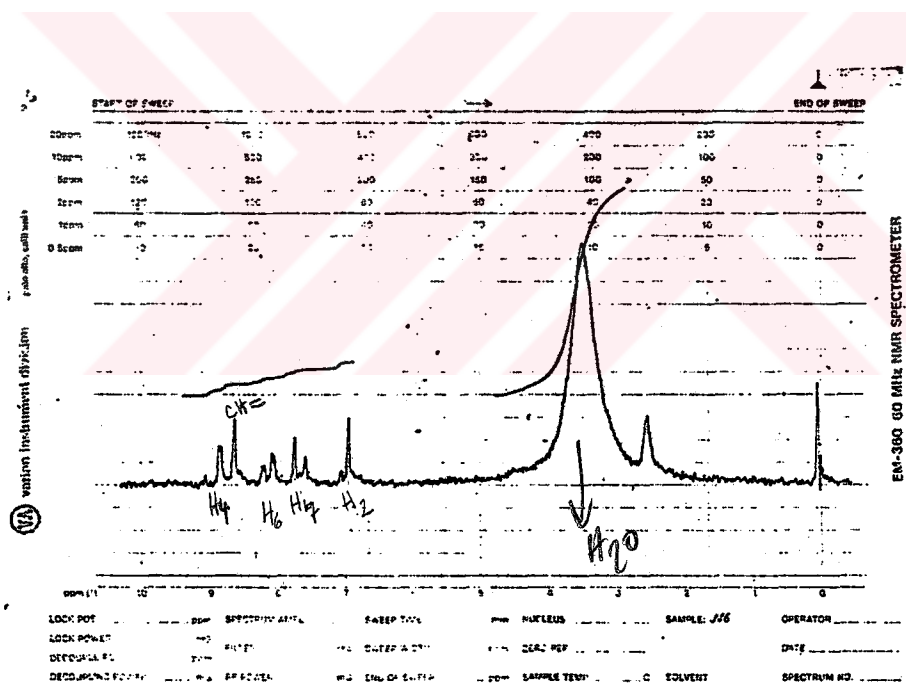
Metod kısmında bahsedilen yöntem uygulanarak gerçekleştirilen sentezde 0.98 g. (0.0050 mol) 5-siyanoindol-3-karboksaldehit ve 0.74 g. (0.0047 mol) 3-asetil-2-tiyohidantoin, 1.34 ml (0.014 mol) dietanolamin ve 2.43 ml (0.06 mol) metanol kullanıldı. Reaksiyon 2 saat süre ile kaynar su banyosunda geriçeviren soğutucu altında yürütüldü. Sentez sonunda % 64.68 verimle 0.87 g. ürün elde edildi.

Ergime noktası	: 340 °C
R <sub>f</sub>	: 0.58 (Solvan 2)
Elementel Analiz	: C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> N <sub>4</sub> S için
Teorik Değer	: C: % 58.00, H: % 3.24, N: % 18.05
Analiz Sonucu	: C: % 55.97, H: % 3.28, N: % 19.64
UV Spekturumu	: λ <sub>maks</sub> (nm) (logε) : 368 (4.91), 238 (5.20), 217 (5.11).

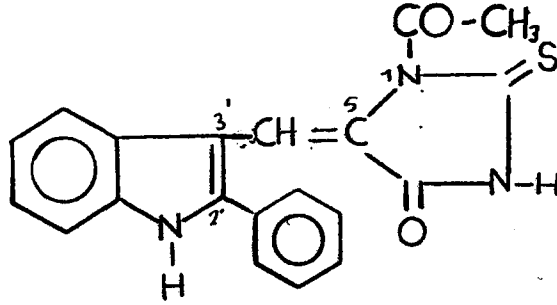
IR Spekturumu ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3200 (N-H gerilimi), 2900 (Aromatik hidrojen gerilimi), 2250 ( $\text{C}\equiv\text{N}$  gerilimi), 1650 ( $\text{C}=\text{O}$  gerilimi), 1590 ( $\text{C}=\text{C}$  gerilimi), 1530 (N-H eğilimi), 1350-1430 (Simetrik ve asimetrik  $\text{CH}_3$  gerilimi), 1260 ( $\text{C}=\text{S}$  gerilimi), 800-870 (Aromatik hidrojenlerin düzlem dışı eğilim titreşimleri)



(S<sub>1</sub>) <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu (TMS, DMSO-d<sub>6</sub>) : ppm; 3.50 (s. 3H, metil protonları), 7.00 (s. 1H, -CH=C-), 7.75 (d. 1H, indol halkasının 6. konumundaki proton), 8.25 (s. 1H, indolün 4. konumundaki proton), 8.35 (s. 1H, indolün 7. konumundaki proton) 8.55 (s. 1H, H<sub>2</sub> protonu), 9.00 (s. hidantoin N-H), indol N-H protonları gözlenmedi.



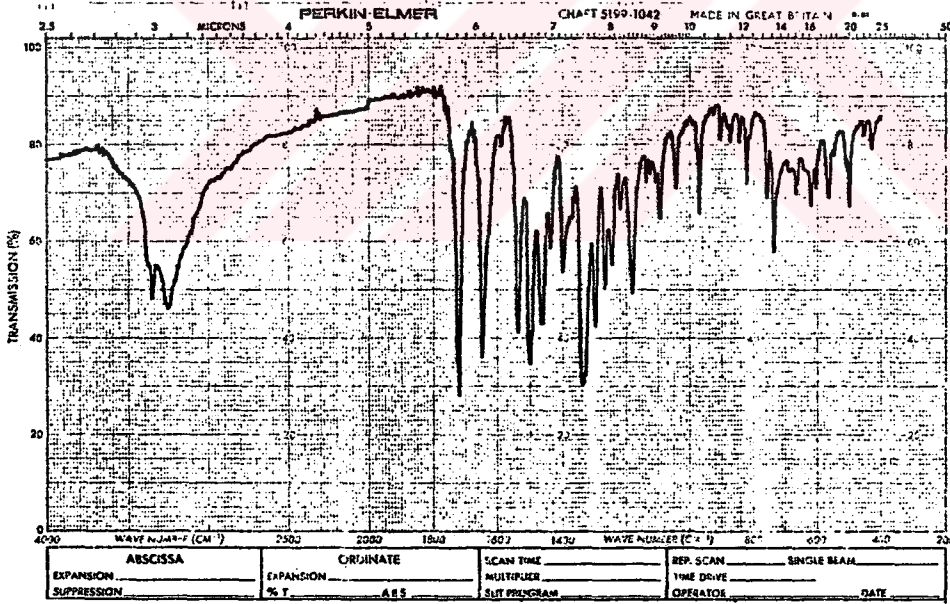
5.3.2. 5-[(2'-fenil)-3'-indolal]-1-asetil-2-tiyohidantoin  
(S<sub>2</sub>)



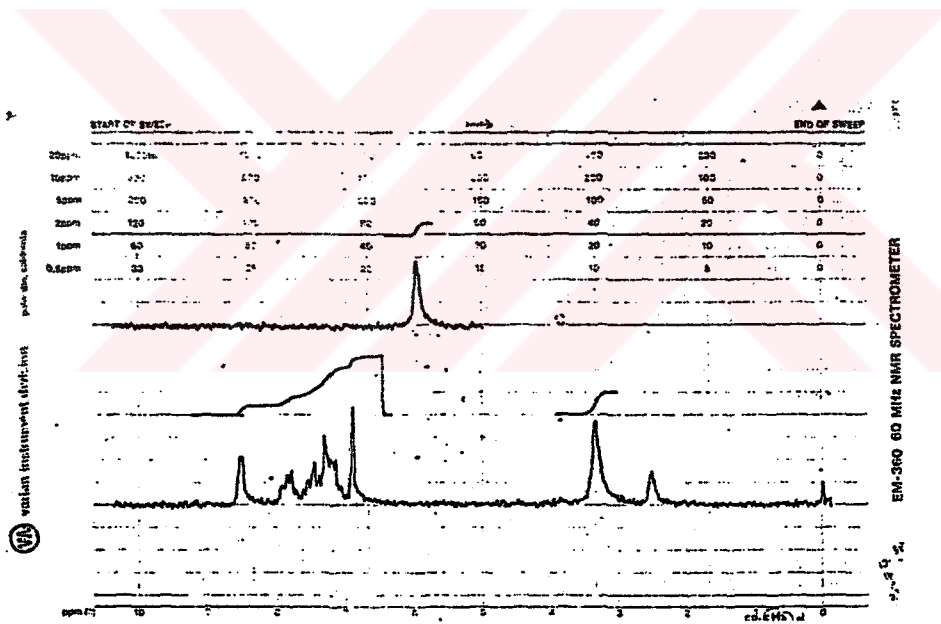
Metod kısmında bahsedilen yöntem uygulanarak gerçekleştirilen sentezde 1.105 g. (0.005 mol), 2-fenilindol-3-karboksaldehit, 0.74 (0.0047 mol) 3-asetil-2-tiyohidantoin, 1.34 ml (0.014 mol) dietanolamin ve 1.34 ml (0.06 mol) metanol kullanıldı. Reaksiyon 2.5 saat süre ile kaynar su banyosunda geriçeviren soğutucu altında yürütüldü. sentez sonunda % 40.44 verimle, 0.73 g madde elde edildi.

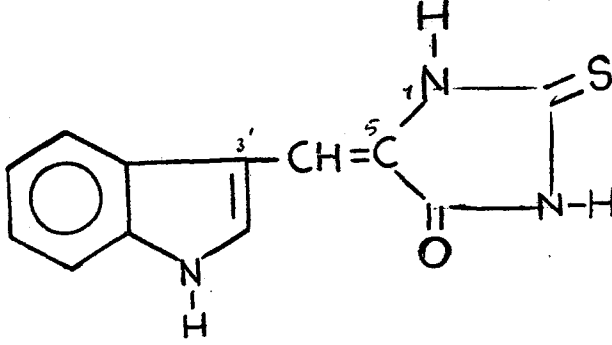
Ergime Noktası	: 254-255 °C
R <sub>f</sub>	: 0.69 (Solvan 2)
Elementel Analiz	: C <sub>20</sub> H <sub>15</sub> O <sub>2</sub> N <sub>3</sub> S için
Teorik Değer	: C: %66.47, H: % 4.18, N: %11.63
Analiz Sonucu	: C: %65.27, H: % 4.12, N: %12.51
UV Spektrumu	: λ <sub>maks</sub> (nm), (logε) : 424 (4.98), 305 (5.00), 244 (5.07), 213 (5.01)

IR Spektrumu ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3320 (N-H gerilimi), 3230 (Aromatik hidrojen gerilimi), 1750 (C=O gerilimi), 1650 (C=C gerilimi), 1500-1460 (N-H eğilimi), 1355-1330 (Simetrik ve asimetrik  $\text{CH}_3$  gerilimi), 1240 (C-S gerilimi), 700-740 (Fenil halkasının düzlem dışı deformasyon bantları).



(S<sub>2</sub>) 1H NMR Spektrumu (TMS, DMSO) : ppm : 3.30 (s. 3H, metil protonları), 6.85 (s. 1H, -CH=C-), 7.00-8.00 (m. 9H, indol halkasındaki fenil ve 2'. konumda bulunan fenil protonları), 8.50 (s. 1H, indol halkasındaki N-H), 11.95 (s. 1H, hidantoin N-H'ı).



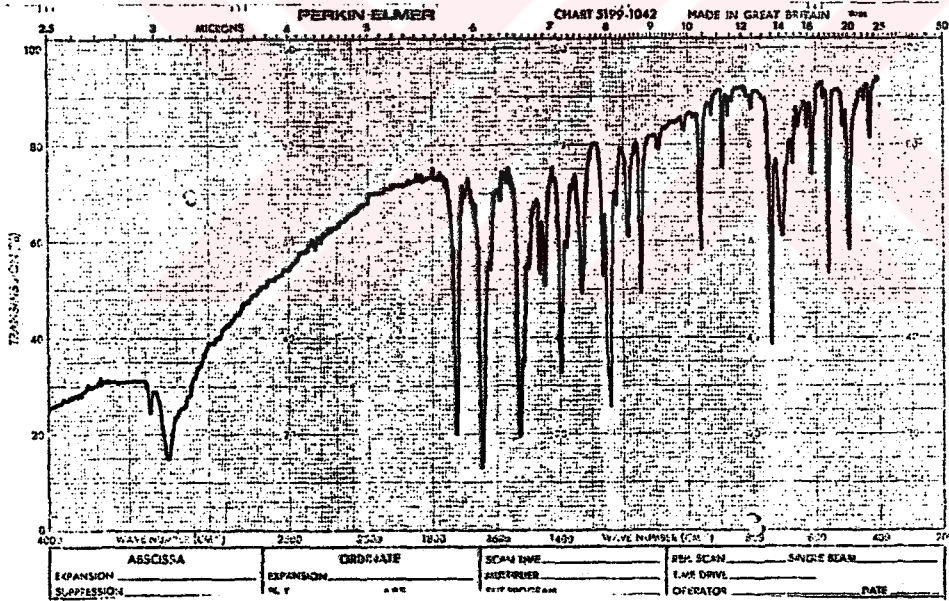
5.1.1.3. 5-(3'-indolal)-2-tiyohidantoin (S<sub>3</sub>)

Metod kısmında bahsedilen yöntem uygulanarak gerçekleştirilen sentezde, 0.72 g (0.0050 mol) indol-3-karboksaldehit, 0.54 g (0.0047 mol) 2-tiyohidantoin, 1.34 ml dietanol amin (0.014 mol) ve 2.43 ml (0.06 mol) metanol kullanıldı. Reaksiyon 2 saat süre ile kaynar su banyosunda, geri çeviren soğutucu altında gerçekleştirildi. Sentez sonunda % 58 verimle 0.71 g madde elde edildi.

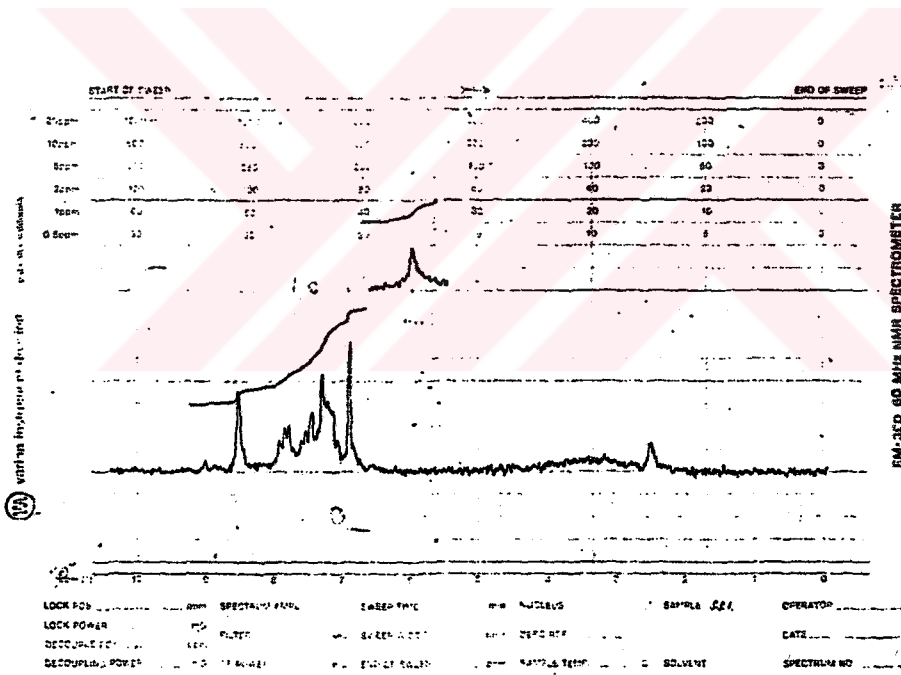
Ergime Noktası	: 258-260 °C
R <sub>f</sub>	: 0.71 (Solvan 2)
Elementel Analiz	: C <sub>12</sub> H <sub>9</sub> ON <sub>3</sub> S
Teorik Değer	: C: % 59.24, H: % 3.72, N: % 17.27
Analiz Sonucu	: C: % 58.41, H: % 3.62, N: % 16.72
UV spektrumu	: λ <sub>maks</sub> (nm), (logε) : 400 (5.01), 298 (4.72), 213 (4.82).

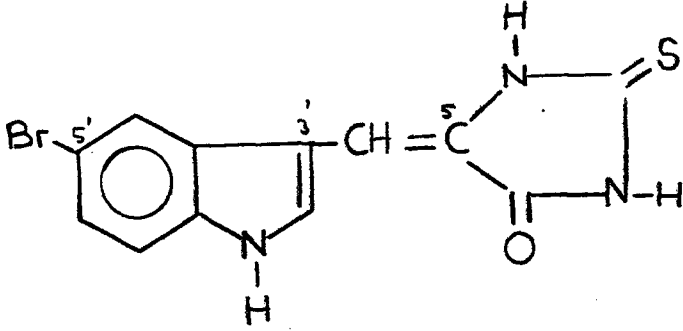


IR Spektrumu ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3320 (N-H gerilimi), 3130 (Aromatik hidrojen gerilimi), 1730 (C=O gerilimi), 1645 (C=C gerilimi), 1500 (N-H eğilimi), 1240 (C-S gerilimi), 850-750 (Aromatik hidrojenlerin düzlem dışı eğilimleri),



(S<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (TMS, DMSO-d<sub>6</sub>) : ppm : 6.90 (s. 1H, -CH=C-), 7-8 arası (m. 4H indolün fenil halkası hidrojenleri), 8.50 (s. 1H, indol halkasının 2. konumundaki proton), 11.90 (hidantoin halkasındaki N-H), indol N-H gözlenmedi.

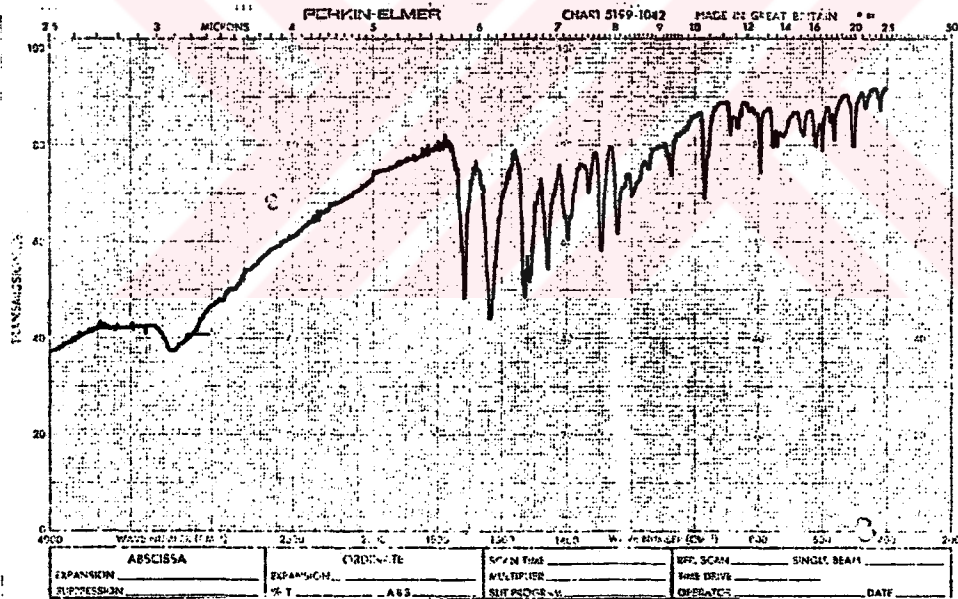


5.1.1.4. 5-[(5'-bromo)-3'-indolal]-2-tiyohidantoin (S<sub>4</sub>)

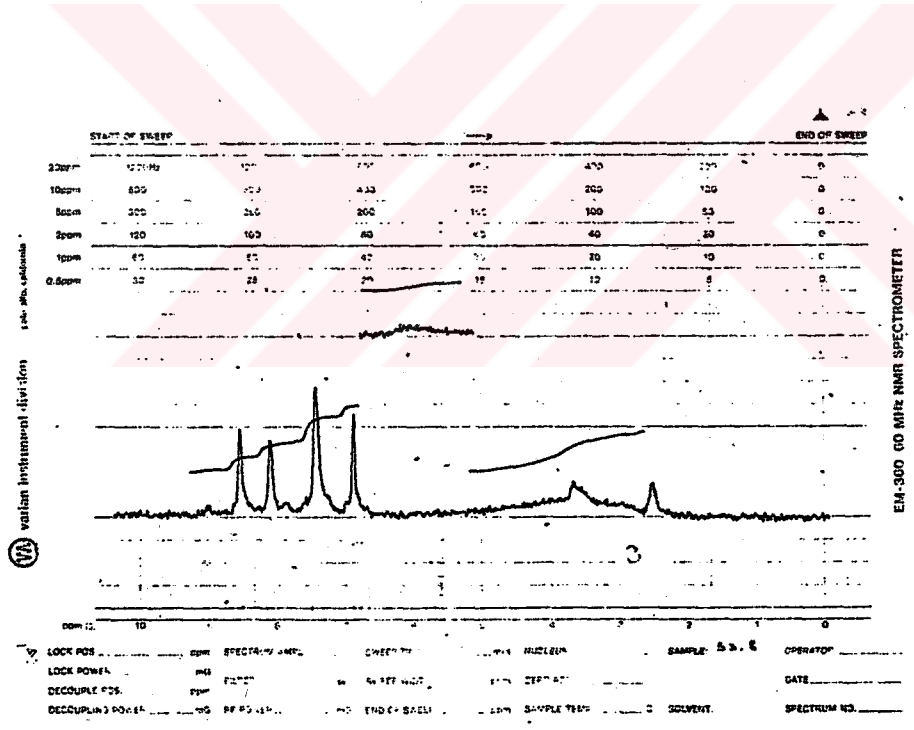
Metod kısmında bahsedilen yöntem uygulanarak gerçekleştirilen sentezde, 1.12 g (0.0050 mol) 5-bromoindol-3-karboksaldehit, 0.54 g (0.0047 mol) 2-tiyohidantoin, 1.34 ml dietanolamin (0.014 mol), 2.43 ml (0.06) metanol kullanıldı. Reaksiyon 2 saat süre ile kaynar su banyosunda, geriçeviren soğutucu altında gerçekleştirildi. Sentez sonunda % 60.86 verimle, 0.98 g ürün elde edildi.

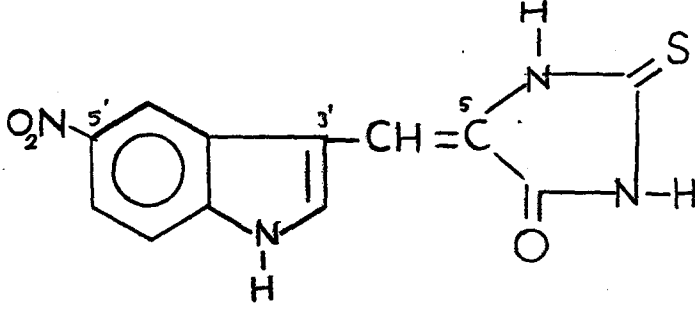
Ergime Noktası	: 310-315 °C
Rf	: 0.60 (Solvan 2)
Elementel Analiz	: C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> ON <sub>3</sub> SBr
Teorik Değerler	: C: % 44.73, H: % 2.50, N % 13.04
Analiz Sonucu	: C: % 43.00, H: % 2.70, N % 12.79
UV Spektrumu	: λ <sub>maks</sub> (nm), (logε) : 385 (5.09), 282 (4.67), 238 (5.02), 213 (4.98).

IR Spektrumu ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3250 (N-H gerilimi), 3100 (Aromatik hidrojen gerilimi), 1715 (C=O gerilimi), 1640 (C=C gerilimi), 1520 (N-H eğilimi), 1240 (C-S gerilimi), 750-790 (Aromatik hidrojenlerin düzlem dışı eğilim titreşimleri), 600-500 (C-Br gerilimi).



(S<sub>4</sub>) 1H NMR Spektrumu (TMS, DMSO-d<sub>6</sub>) : ppm : 6.90 (s. 1H, -CH=C-), 7.50 ( 3H, fenil protonları), 8.20 (s. 1H, indolün ikinci konumundaki proton), 8.60 (s. 1H, indol N-H ), 11.95 ( hidantoin N-H'ına ait yaygın pik ).

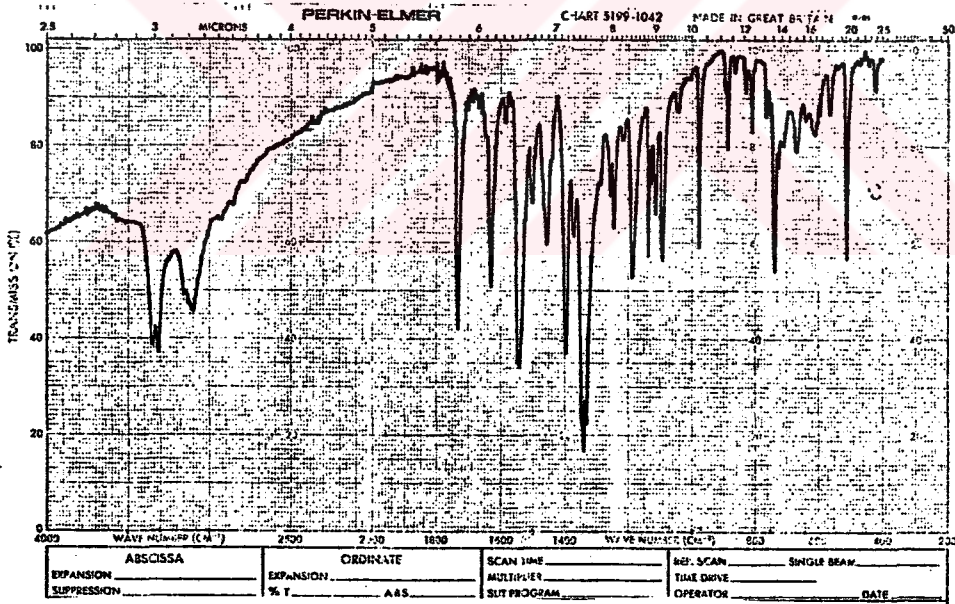


5.1.1.5. 5-[(5'-nitro)-3'-indolal]-2-tiyohidantoin (S<sub>5</sub>)

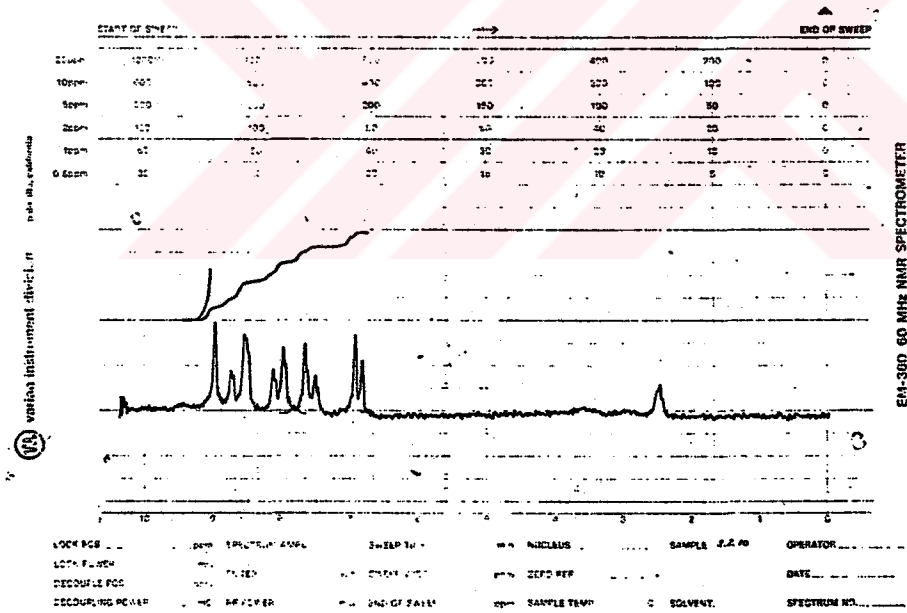
Metod kısmında bahsedilen yöntem uygulanarak gerçekleştirilen sentezde, 0.81 (0.0050 mol) 5-nitroindol-3-karboksaldehit, 0.54 g (0.0047 mol) 2-tiyohidantoin, 1.43 ml (0.014 mol) dietanolamin, 2.43 ml (0.06 mol) metanol kullanıldı. Reaksiyon 2 saat süre ile kaynar su banyosunda geriçeviren soğutucu altında gerçekleştirildi. Sentez sonunda % 51.09 verimle, 0.70 g ürün elde edildi.

Ergime Noktası	: 306-310 °C
Rf	: 0.75 (Solvan 2)
Elementel Analiz	: C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub> N <sub>4</sub> S
Teorik Değerler	: C: % 50.00, H: %2.77, N: % 19.44
Analiz Sonuçları	: C: % 50.81, H: %2.77, N: % 18.49
UV Spektrumu	: λ <sub>maks</sub> (nm), (loge) : 381 (4.95), 284 (4.86), 219 (5.07).

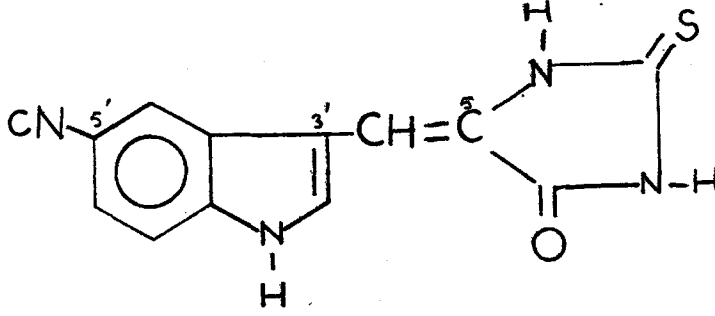
IR Spektrumu ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3360 (N-H gerilimi), 3100 (Aromatik hidrojen gerilimi), 1730 (C=O gerilimi), 1630 (C=C gerilimi), 1550-1340 (Simetrik ve asimetrik  $\text{NO}_2$  gerilimleri), 1460 (N-H eğilimi), 1190 (C-S gerilimi), 760-720 (Aromatik hidrojenlerin düzlem dışı eğilim titreşimleri).



(S<sub>5</sub>) <sup>1</sup>H NMR Spektrumu (TMS, DMSO-d<sub>6</sub>) : ppm ; 6.90 (d. 1H, -CH=C-), 7.75 (d. 1H, indol halkasında H<sub>7</sub>), 8.00 (d. 1H, indol halkasında H<sub>6</sub>), 8.60 (s. 1H, indol halkasında H<sub>4</sub>) , 8.80 (d. 1H, indol halkasının 2. konumundaki proton), 9.00 (s. 1H, indol N-H), hidantoin N-H gözlenmedi.



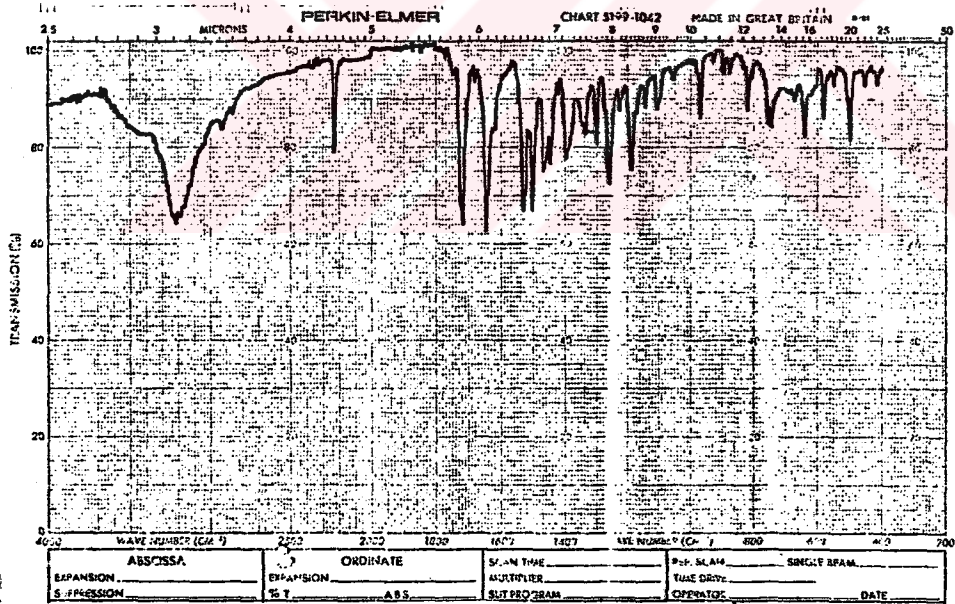


5.1.1.6. 5-[(5'-siyano)-3'-indolal]-2-tiyohidantoin (S<sub>6</sub>)

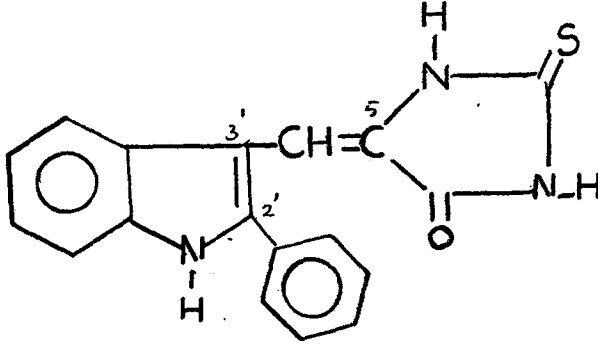
Metod kısmında bahsedilen yöntem uygulanarak gerçekleştirilen sentezde, 0.98 g (0.0050 mol) 5-siyanoindol-3-karboksaldehit, 0.54 g (0.0047 mol) 2-tiyohidantoin, 1.34 ml (0.014 mol) dietanolamin, 2.43 ml (0.06) metanol kullanıldı. Reaksiyon 2 saat süre ile kaynar su banyosunda, geri çeviren soğutucu altında gerçekleştirildi. Sentez sonunda % 63.19 verimle, 0.85 g madde elde edildi.

Ergime Noktası	: 334 °C
Rf	: 0.55 (Solvan 2)
Elementel Analiz	: C <sub>13</sub> H <sub>8</sub> ON <sub>4</sub> S
Teorik Değerler	: C: %58.19, H: %3.00, N: % 20.88
Analiz Sonuçları	: C: %58.67, H: %2.97, N: % 19.86
UV Spektrumu	: λ maks, (nm) (loge) : 387 (5.05), 254 (5.06), 215 (5.11)

IR Spektrumu ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3200 (N-H gerilimi), 2900 (Aromatik hidrojen gerilimi), 2215 (C≡N gerilimi), 1715 (C=O gerilimi), 1645 (C=C gerilimi), 1530 (N-H eğilimi), 1190 (C=S gerilimi), 760-720 (Aromatik hidrojenlerin düzlem dışı eğilim titreşimleri).



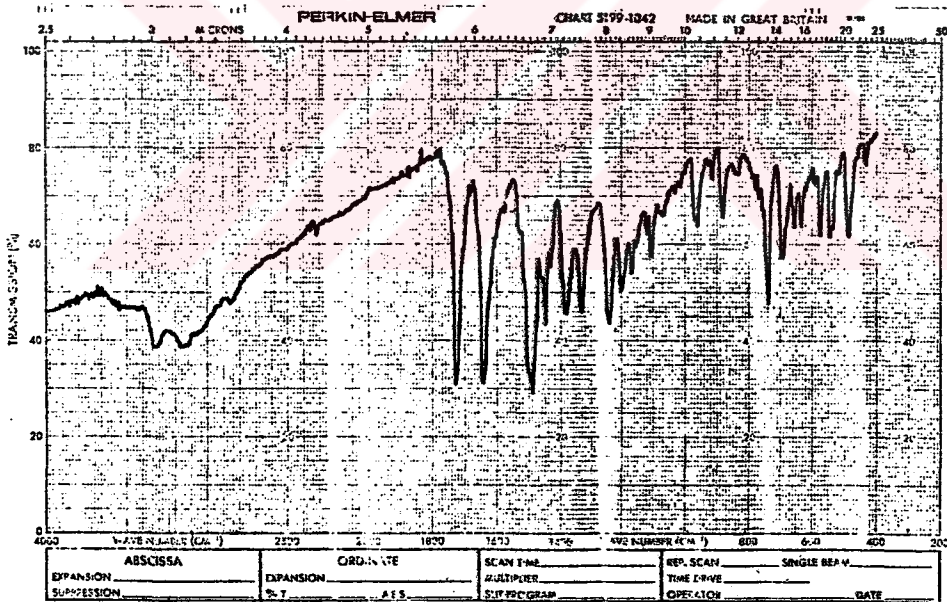


5.1.1.7. 5-[(2'-fenil)-3'-indolal)-2-tiyohidantoin (S<sub>7</sub>)

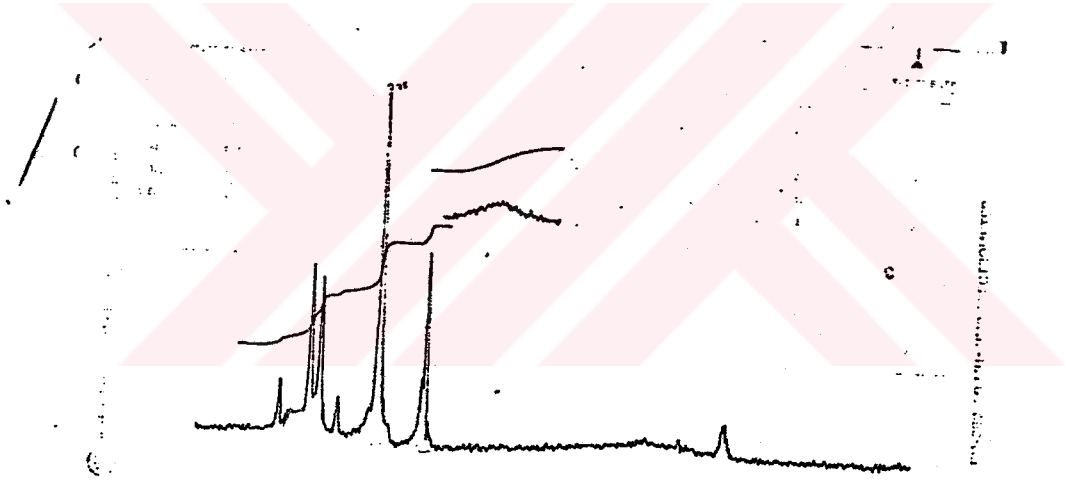
Metod kısmında bahsedilen yöntem uygulanarak gerçekleştirilen sentezde, 1.105 (0.0050 mol) 2-fenilindol-3-karboksaldehit, 0.54 g (0.0047 mol) 2-tiyohidantoin, 1.34 ml (0.014 mol) dietanolamin, 2.43 ml (0.06 mol) metanol kullanıldı. Reaksiyon 2.5 saat süre ile kaynar su banyosunda, geri çeviren soğutucu altında gerçekleştirildi. Sentez sonunda % 47.12 verimle, 0.75 g ürün elde edildi.

Ergime Noktası	: 275 °C
Rf	: 0.65 (Solvan 2)
Elementel Analiz	: C <sub>18</sub> H <sub>13</sub> ON <sub>3</sub> S
Teorik Değerler	: C: % 67.7, H: % 4.10, N: % 13.13
Analiz Sonuçları	: C: % 66.85, H: % 4.16, N: % 12,70
UV Spektrumu	: $\lambda_{maks}$ (nm), (log $\epsilon$ ) : 392 (5.04), 283 (4.71), 265 (4.70), 229 (4.99)

IR Spektrumu ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3320 (N-H gerilimi), 3130 (Aromatik hidrojen gerilimi), 1730 (C=O gerilimi), 1645 (C=S gerilimi), 1500 (N-H eğilimi), 1240 (C=S gerilimi), 850-750 (Aromatik hidrojenlerin düzlem dışı eğilim titreşimleri).



(S7)  $^1\text{H}$  NMR Spektrumu ( TMS,  $\text{DMSO-d}_6$  ) : ppm ; 6.90 (s. 1H,  $-\text{CH}=\text{C}-$ ), 7.75 ( 4H, indolün fenil kısmındaki 4 hidrojen), 8.50-8.80 arası(5H indol halkasının 2. konumundaki fenilin 5 hidrojeni), 8.95 (s. 1H, indol N-H), 11.95 ( hidantoin N-H ina ait yaygın pik ).



## 5.2. Sentezlenen Bileşiklerin Aldoz Redüktaz Enzim inhibisyon Tayini

Sentezlenen bileşiklerin aldoz redüktaz enzimi üzerindeki inhibitör etkileri UV spektrofotometresi kullanılarak saptandı. Bu amaçla hazırlanan çözeltiler aşağıda gösterilmiştir.

- 1) Fosfat tamponu (pH=6.2)
- 2)  $5 \times 10^{-5} \text{M}$  NADPH (kofaktör) çözeltisi
- 3)  $5 \times 10^{-4} \text{M}$  DL-Gliseraldehit (substrat) çözeltisi
- 4) Sentezlenen bileşiklerin 250 lik dimetilsülfoksit içindeki  $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$  çözeltileri

Deneyin yapılışı: UV ölçümleri için referans ve deney küvetleri aşağıdaki gibi hazırlandı.

	Referans Küveti	Deney Küveti
Enzim	0.20 ml	0.20 ml
DL-Gliseraldehit	(0.17 ml H <sub>2</sub> O)	0.17 ml
NADPH	0.13 ml	0.13 ml
Fosfat tamponu	1.30 ml	1.30 ml
Bileşik ya da H <sub>2</sub> O	0.20 ml	0.20 ml

ölçümler 340 nm dalga boyunda gerçekleştirildi.

öncelikle enzim aktivliği, deney küvetinde sentezlenen bileşik yerine distile su konularak saptandı. Daha sonra sentezlenen bileşikler ayrı ayrı ve yukarıda gösterilen hacimlerde distile su yerine konularak enzim üzerinde yaptıkları inhibisyonlar saptandı. Sentezlenen tüm bileşikler,  $1 \times 10^{-3} \text{M}$  konsantrasyonda aldoz redüktaz enzimi üzerinde % 100 inhibisyon aktivitesi gösterdi (40).



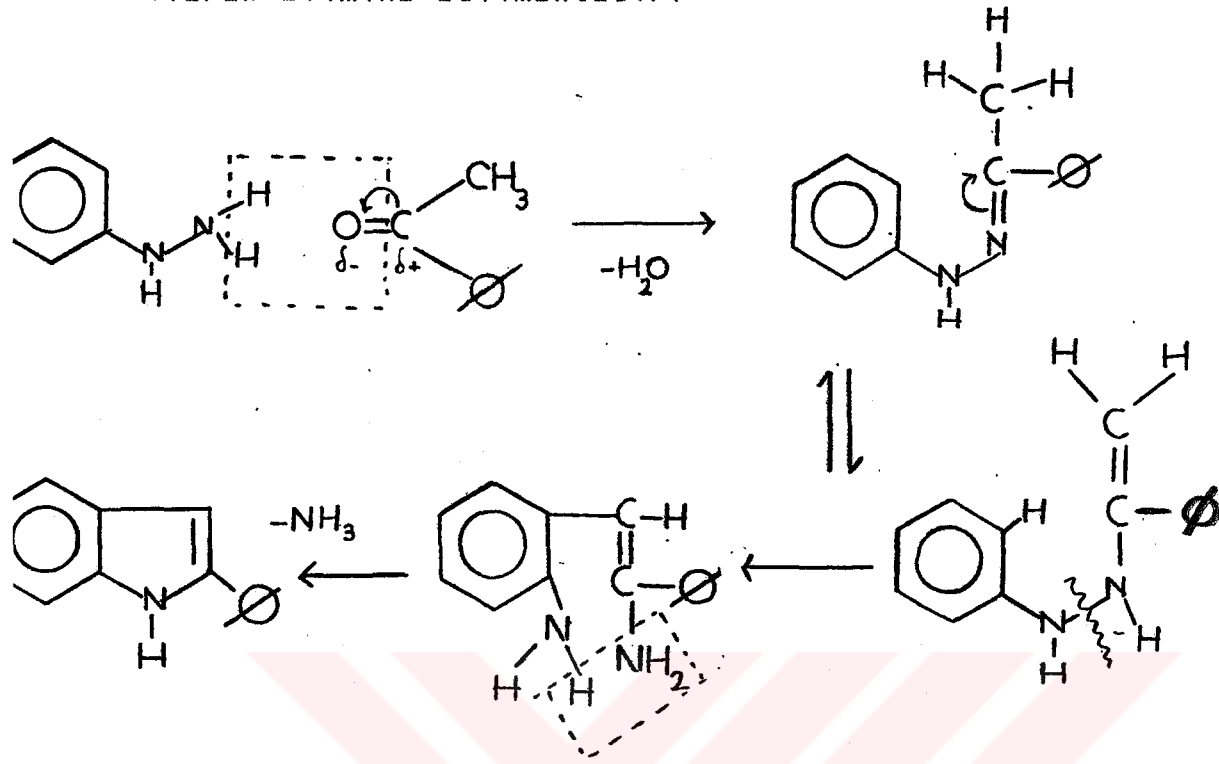


## 6. SONUÇ ve TARTIŞMA

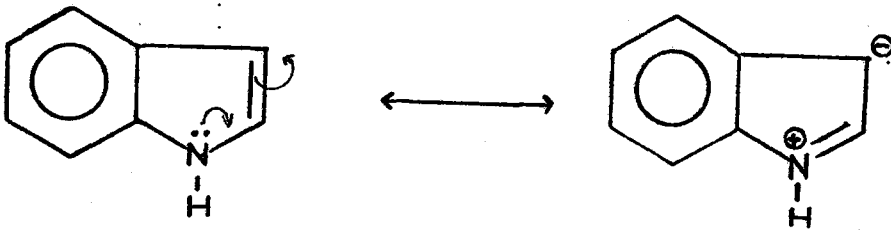
Bu Araştırmada, diabetik komplikasyonlarda oldukça önemli rol oynayan aldoz redüktaz enzimini inhibe eden bileşiklerin sentezleri, yapı aydınlatılması ve enzim üzerindeki in vitro inhibisyon aktivitelerinin incelenmesi amaçlandı. Yapılan çalışmalar sonunda sentezlenen 7 bileşik incelendi, ultraviyole, infrared ve NMR spektroları çekilerek elementel analizleri yapıldı ve bileşiklerin yapı aydınlatılmaları gerçekleştirildi. Sentezlenen bileşikler içinde 6 tanesi orjinal, yeni bileşiktir. Bunlar, S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>4</sub>, S<sub>5</sub>, S<sub>6</sub> ve S<sub>7</sub> no lu bileşiklerdir. Yalnızca 3 no lu bileşik daha önce triptofan sentezinde bir ara ürün olarak sentezlenmiştir (18).

Bu araştırmada sentezlenen bileşikler literatürde verilen yöntemlere göre gerçekleştirildi . 2-Fenilindol sentezinde, FISCHER indol sentezi yöntemi kullanıldı (138). Arilhidrazonların siklizasyon sonucunda indole dönüştürülmesi Fischer sentezi olarak bilinmektedir. Reaksiyonun mekanizması ilk kez ROBINSON tarafından ortaya konulmuştur (110) ve aşağıda gösterilmiştir. Buna göre fenilhidrazonun ikinci azotu, siklizasyon sırasında amonyak

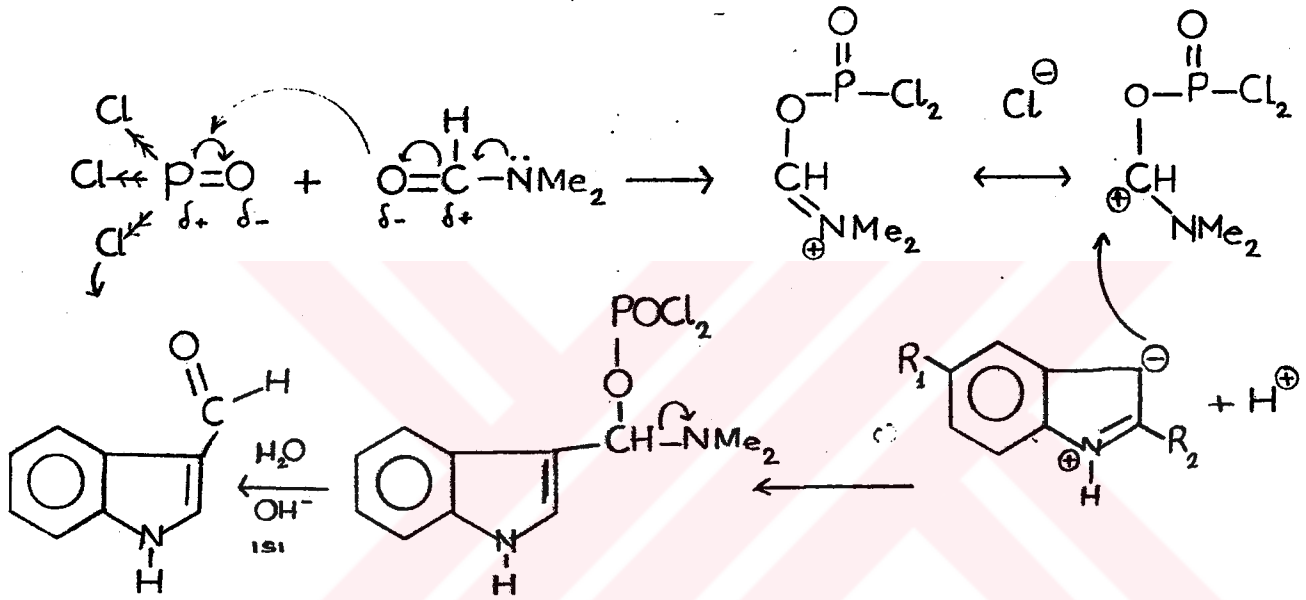
olarak elimine edilmektedir.



Sentez başlangıç maddesi olarak kullanılan bir diğer bileşik, indol halkasına 3 no lu pozisyona aldehit grubu takılmasıyla elde edilen indol-3-karboksaldehittir. Elektrofilik bir süstitüsyon reaksiyonu ile aldehit grubunun 3 no lu pozisyona takılmasının mekanizmasını daha iyi açıklayabilmek için aromatik özellik gösteren indol halkasının rezonans formunu şu şekilde gösterebiliriz.

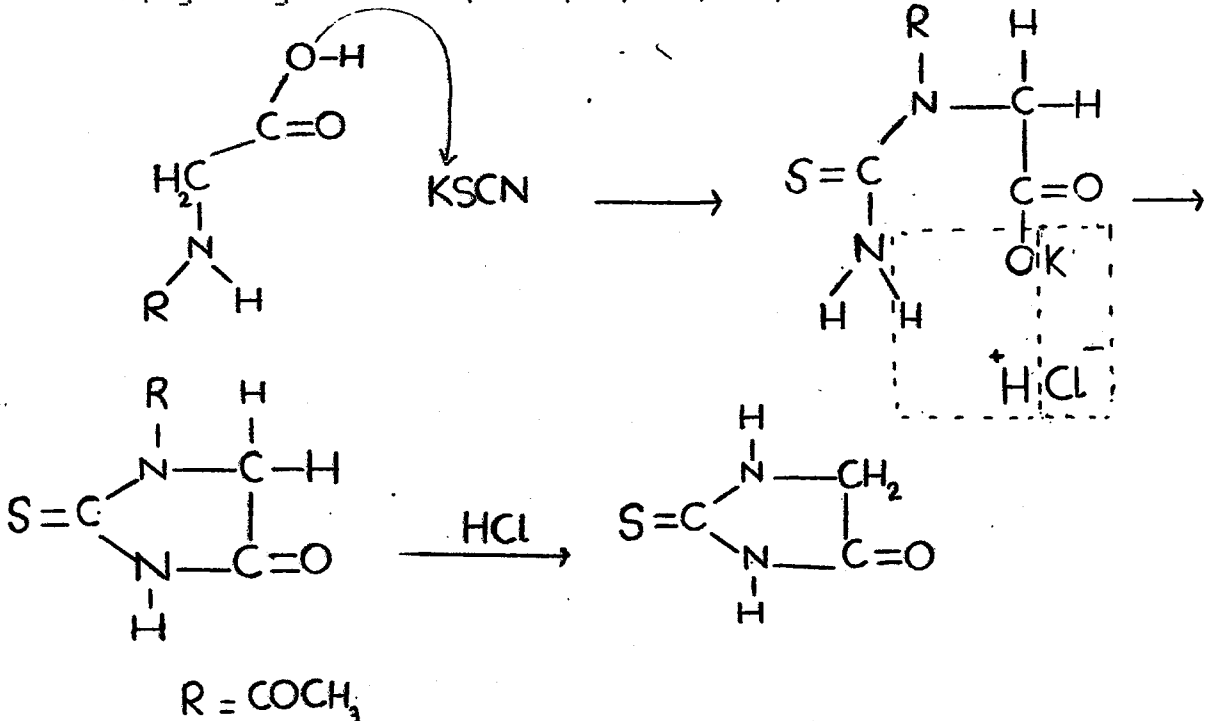


Burada heterosiklik azot atomu çok zayıf bazik özellik göstermektedir. Çünkü, azot üzerindeki ortaklanmamış elektronlar pi-sistemi içindeki delokalizasyona dahil olmaktadır. Bu halkanın pKa değeri, -2.5 olarak bulunmuştur ve protonasyon azot üzerinden değil, 3 no daki karbon atomu üzerinden olmaktadır (44). indol-3-karboksaldehit sentezinde VILSMEIER-HAACK reaksiyonu kullanılmıştır (139).



1-asetil- 2-tiyohidantoin ve 2-tiyohidantoinin mekanizması

ise aşağıda gösterilmiştir (54, 55,161).



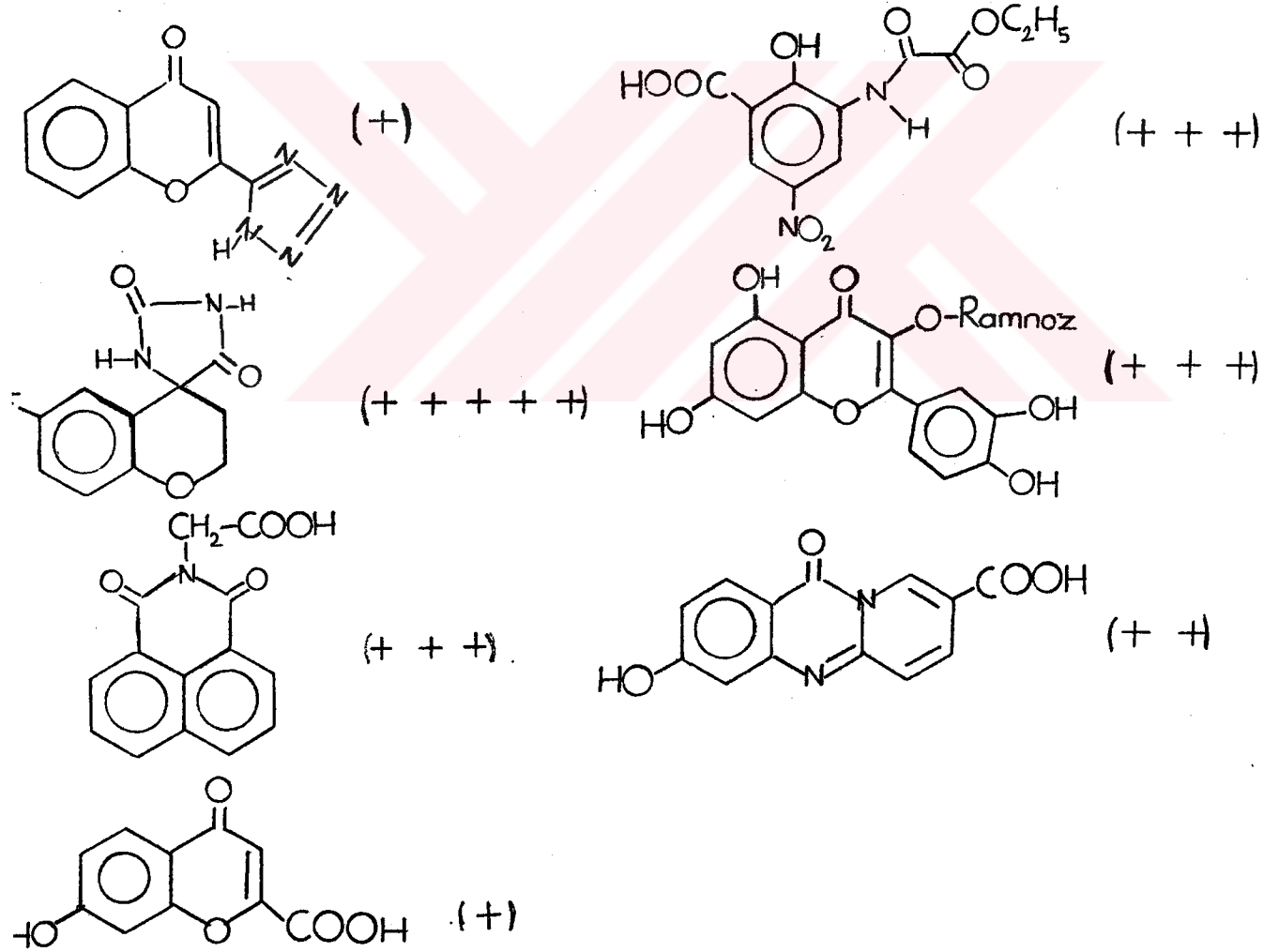
indol ve türevi bileşikler daha sonra 1-asetil-2-tiyohidantoin ve tiyohidantoin ile muamele edilerek sonuç bileşiklere geçildi. Bu bileşiklerin saflıkları, ergime noktası ve ince tabaka kromatografisi ile kontrol edildi ve UV, IR, NMR ve Elementel analizleri yapılarak spektral olarak da bileşikler kanıtlandı.

Elde edilen bileşiklerin tümü aldoz redüktaz enzimi üzerinde  $1 \times 10^{-3} M$  konsantrasyonda %100 inhibisyon gösterdi. Ancak elde edilen enzimin yetersizliği ve enzim aktivitesinin çok çabuk kaybolması nedeniyle daha seyreltik konsantrasyonlarda aktiviteye bakılamamıştır. Daha sonra yapılacak çalışmalarla bu eksiklik giderilecektir. Bunun yanı sıra sentezlenen bileşiklerin 3-boyutlu uzayda aktivite yöresine olan etkileri moleküler orbital yöntemleriyle araştırılacaktır. Bilindiği gibi aldoz redüktaz enziminin X-Ray kristallografisi ile amino asit sıralanması henüz çözümlenmiş değildir. Ancak bu konuda bazı çalışmalar yapılmaktadır (112). Yalnızca yapılan çalışmalar sonunda elde edilmiş olan bazı hipotezler mevcuttur. Bu hipotezlerin başında, enzimin inhibitör yöresinde 3 farklı bölgenin aktivite ile ilgili olduğu vurgulanmaktadır. Bu hipotez modeline göre inhibitör bileşiklerinin etkileri, hidrofobik bağ yapma yeteneğine ve geri-dönüşümlü yük-trasfer

reaksiyonuna ya da nükleofilik atağa bağlı olmaktadır (65). Bu durum, inhibitör bileşik üzerinde yer alan sübstitüentlerin lipofilisitesiyle enzim inhibisyon aktivitesi arasında doğrusal bir ilişki olduğu varsayımını ortaya koymaktadır. Bu lipofilik faktör bir çok aldoz redüktaz enzim inhibisyonu yapan bileşiklerde, örneğin, alrestatin, sorbinil ve çeşitli fluonoidlerde gösterilmiştir (33, 115, 159). inhibitör bileşiğin lipofilik yöresinde yer alan ve hidrojen bağı yapma kapasitesinde olan sübstituentlerin bir başka etkileşme bölgesini oluşturan nükleotid sarmala bağlanmada etkili olabileceği de belirtilmiştir. Hidrojen bağı yapma yeteneğinde olan hidroksil grubunun bu etkisi, metoksi haline çevrildiğinde ortadan kalkmaktadır. Bu da inhibitör aktivitesinin azalması ile gözlemlenebilmektedir (95). Hidrojen bağının bir önemi de, bazı bileşiklerdeki aktivite farklılıklarında belirginleşmektedir. Aşağıdaki Tablo 6. 13 den de görülebileceği gibi, bazı moleküller üzerinde spesifik pozisyonlarda yer almış hidroksil gruplarını içeren bileşiklerin aldoz redüktaz enzimi üzerinde göstermiş oldukları inhibisyon etkisinin kaybı (yarılanma ömrü), bünyesinde hidroksil grubu taşımayan ve direkt olarak enzimin inhibitör yöresine hidrofobik bağ yapmak suretiyle etki gösteren bileşiklerden daha az olmaktadır. Bu gözlemin en mantıklı açıklaması, hidrojen bağı yapan sübstitüentlerin planar aromatik bir yüzeye bağlı olması, etkinin şiddetini ve

süresini uzatmaktadır. işte bu amaçla, bu çalışmada sentezlenen bileşiklerde, indol halkasının fenil bölgesinde çeşitli sübstitüentler yerleştirildi. Bu sübstitüentler, bu çalışmada 3 tane ile sınırlandı (Br, NO<sub>2</sub> ve CN). Araştırmanın geri kalan kısmında OH, COOH ve NH<sub>2</sub> gibi sübstitüentler de yapıya sokulacaktır.

Tablo 6.13. Hidroksil Grubu içeren ve içermeyen Bileşiklerin Aldoz Redüktaz Enzimi Üzerindeki inhibisyonları

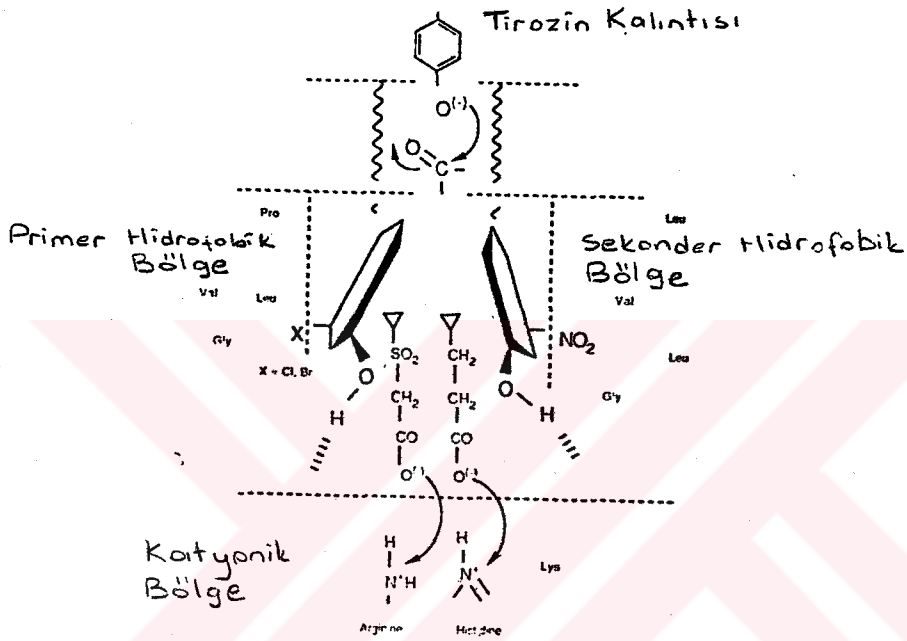


Aldoz redüktaz enzimi ile inhibitör bileşiğin etkileşmesinin diğer bir yönü de, bileşiğin enzimin inhibitör yöresindeki önemli etkileşme merkezlerinden biri olduğu varsayılan tirozin amino asit kalıntısı ile meydana getirdiği tetrahedral araüründür (65). Enzimin inhibitör yöresinin yapısı tam olarak bilinmemesine rağmen, yapılan protein modifikasyonu çalışmalarıyla bu yörede etkin olan amino asit kalıntısının tirozin olduğu anlaşılmıştır (65). Bu etkileşme, bileşik üzerinde yer alan karbonil ya da tiyokarbonil grupları ile gerçekleşmektedir.

Ayrıca, moleküler orbital ve moleküler modelleme ile yapılan hesaplamalarında, geri dönüşümlü nükleofilik atakta maruz olan bir bölgenin varlığı ortaya konulması da bu etkileşim bölgesini doğrulamaktadır (62). Bu bölge, kromen halka sisteminde 4 no lu karbonil grubundan ve 5-sübstitüe hidantoinlerde ise yine 4-karbonil grubundan kaynaklanmaktadır (65). 5-Sübstitüye hidantoin bileşiklerinde 4-karbonil grubunun nükleofilik baza olan reaktivitesi, 3 no lu pozisyonda bulunan imid yapısının iyonizasyonu ile artmaktadır (3).

Tirozin amino asidinin yapısında bulunan hidroksil grubu, karbonil ya da tiyokarbonil üzerine bir nükleofilik atak yaparak sözü edilen tetrahedral araürünü oluşturmaktadır.

Bu hipotetik ilişki Şema 6.3. de gösterilmiştir (80). Ancak, alternatif olarak öne sürülen bir yaklaşım da karbonil ya da tiyokarbonilin yük-transer ile tirozin hidroksil grubuyla etkileşmesidir ki, her iki durumda da enzimde bir konformasyonel değişim olabileceği varsayımı söz konusudur.

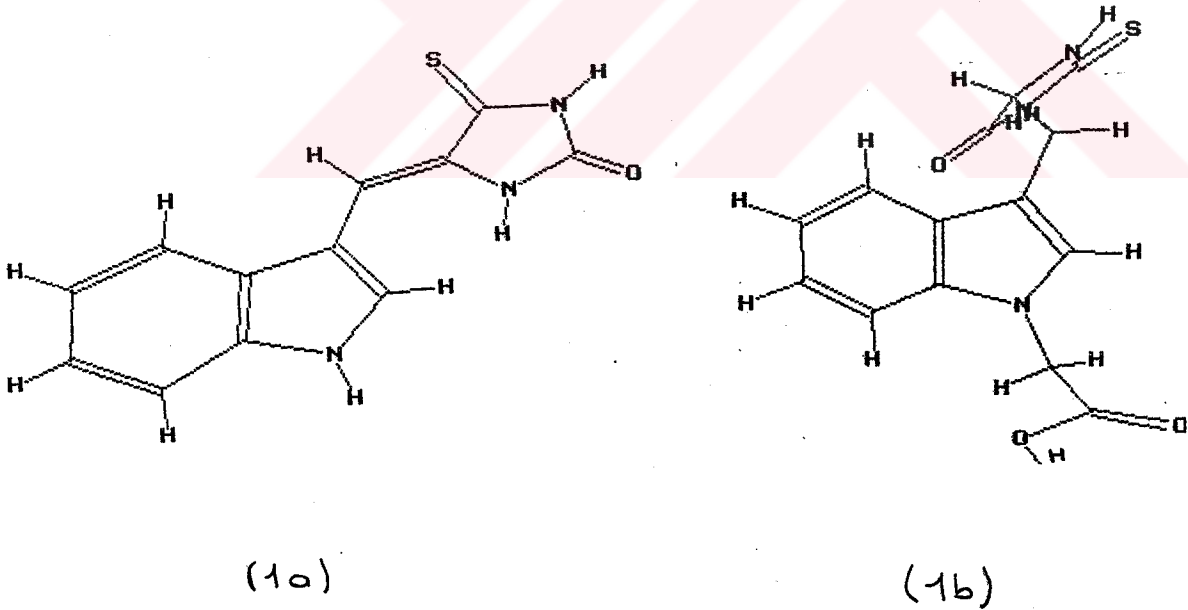


Şema 6.3. Aldoz Redüktaz Enzim inhibisyonun Hipotetik Olarak Gösterimi

Bu araştırmada sentezlenen bileşiklerin, tiyohidantoin yapısına sahip olması nedeniyle tirozin amino asit kalıntısının hidroksil grubuyla nükleofilik atak ya da yük-transfer etkileşimine girme olasılığı yüksek görülmektedir. Ancak sentezlenen bileşiklerin moleküler yapılarına bakıldığında indol halkası ile tiyohidantoin halkası arasında



çifte-bağ içeren bir metilen köprüsü olduğu görülmektedir. Bu köprü, iki halka arasında bir miktar rijid (katı) bir konformasyon sağlamaktadır. Bu nedenle etkileşme nükleotid sarmal bölgesinin yakınında bulunan tirozin kalıntısı üzerinden olacaksa, bu rijid yapının yeterince esnekliğe sahip olmaması nedeniyle etkileşme yeterli düzeyde olmayabilir. Çünkü, enzime yaklaşan molekülün en iyi etkileşmeyi verebilecek bir konformasyona dönüşmesi doğaldır. Burada moleküler boyutların da önemli rol oynayabileceği düşünülmüştür. Sentezlenen bileşiklerin genel konformasyonu (1a) ve sentezlenmesi düşünülen bileşiğin konformasyonu (1b) aşağıda gösterilmiştir (Şema 6.4).



Şema 6.4. Sentezi Düşünülen Bileşiğin Konformasyonu

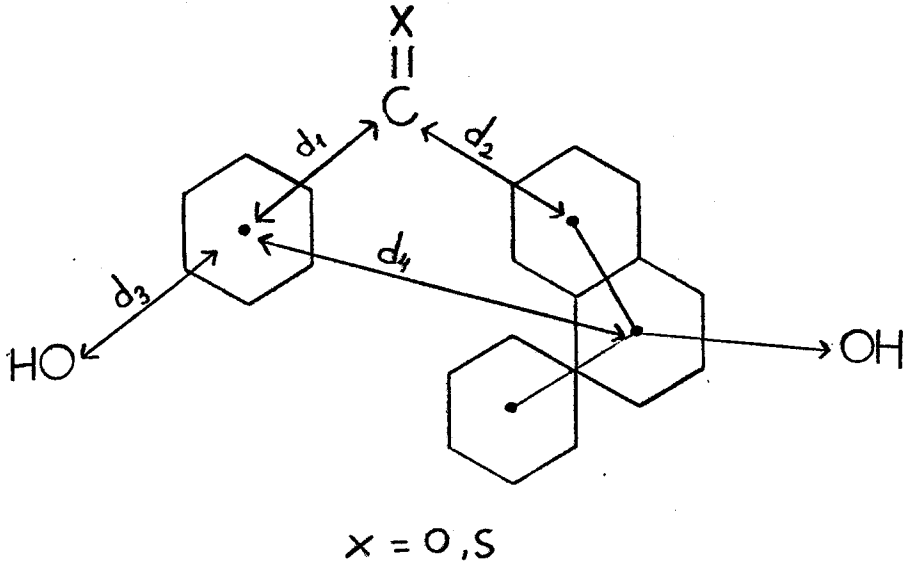
Buradan da anlaşıldığı gibi, aldoz redüktaz enzimi ile etkileşmesi düşünülen inhibitör bileşiğin rijid bir konformasyondan ziyade, daha esnek bir konformasyona sahip olması gerekliliğidir. Çünkü, her hangi bir enzimle etkileşen bileşikde ve enzimde konformasyonel dönüşümlerin olduğu bilinmektedir. Bu nedenle bu tez ile sunulan araştırmada daha ileri sentez basamaklarının düşünülmesi gerekmektedir. Bunların başında indol yapısı ile tiyohidantoin yapısı arasında yer alan çifte-bağ-metilen köprüsünün hidrojenizasyonu gelmektedir. Çifte bağın doyurulması ile oluşacak yapının daha esnek bir konformasyona sahip olacağı kesindir.

inhibitör bileşiklerin aldoz redüktaz enzimi ile etkileşmesinde elde edilen bir diğer önemli yaklaşım da, karboksilik asidik bir yapının moleküldeki varlığıdır (80). Eğer aldoz redüktaz enzim inhibitörü üzerinde negatif yüklü bir bölge söz konusu ise basit iyonik etkileşme ile yük-transfer etkileşmesi gerçekleşebilmektedir. Bilindiği gibi karboksilik asitler fizyolojik  $pK_a$  da negatif yük verirler. Bu da karboksil grubu içeren bileşiklerin inhibitör etkilerinin kısmen de olsa açıklamasının bir parçasını oluşturmaktadır. Eğer aldoz redüktaz inhibitörü üzerinde yer alan negatif yüklü bölge, enzim ile iyonik etkileşmeye girip yük-transfer reaksiyonu oluşturuyorsa, karboksilik asidin esterleşmesi ile

ortaya çıkan bileşiğin inhibitör etkisinin düşmesi beklenirdi. Ancak, 7-hidroksi-kromen-2-karboksilik asit türevlerinde bu durumun oluşmadığını görüyoruz (62). 7-Hidroksi-4-okso-4H-kromen-2-karboksilik asit analoglarıyla yapılan çalışmalarda bu aktivite azalması belirgin olarak ortaya çıkmamaktadır (62). Karboksilik asitteki fizyolojik ortamdaki negatif yük odaklanmasının aktivite üzerindeki belirgin etkisini ele aldığımızda hidantoin ya da tiyohidantoin yapılarının da fizyolojik ortamda negatif yük odaklanmasına maruz kaldığı ve bu suretle de tirozin hidroksili ile tetrahedral araürün oluşturduğu düşünülmüştür. Ancak burada unutulmaması gereken bir durum söz konusudur. Bu da, karboksil fonksiyonunun karbonil ya da tiyokarbonil yapısı bulunmadığı zaman onun yerine geçebileceği varsayımdır. Çünkü, gene protein modifikasyon çalışmalarıyla elde edilen sonuçlara göre, enzimin inhibitör yöresinde bulunan katyonik kafadaki amino asit kalıntılarıyla ki bunlar, arjinin, lizin ve histidindir, etkileştiği sanılmaktadır (76). Arjinin kalıntısı nükleotid sarmalın yakınında yer almaktadır ve NADPH kofaktörünün kullanılmasında rol oynamaktadır (65). Öne sürülen hipoteze göre, katyonik kafa, primer ve sekonder hidrofobik planar yöreye koplanar bir şekilde yer almaktadır (76).

Lipofilik bağlanma yörelerinin ve yük-transfer ya da nükleofilik atak yörelerinin belirlenmesi ile inhibitör

moleküldeki optimum uzaklıklar yaklaşık olarak hesaplanmıştır (65). Buna göre planar lipofilik (aromatik) bölgenin nükleofilik atağa maruz kalacak grup (karbonil ya da tiyokarbonil) ile arasında yaklaşık  $2.8-3.0 \text{ \AA}$  (merkezden merkeze) uzaklık olması gerekliliği ortaya konulmuştur. Hidrofobik etkileşmeyi sağlayacak lipofilik bölge, iki ayrı bölge olarak ele alındığında, primer lipofilik bölgeye koplanar şekilde yerleşmiş bulunan sekonder bölgenin, nükleofilik atak bölgesinden yaklaşık  $2.8-6.1 \text{ \AA}$  uzaklıkta lokalize olduğu söylenebilmektedir. Bu uzaklıklar içerisinde yer alan moleküllerin optimum inhibisyon etkisine sahip olduğu gösterilmiştir (65). Buna benzer olarak hidrojen bağı yapacak hidroksil gruplarının primer lipofilik bölgeden  $2.8-3.8 \text{ \AA}$  ve  $8.9-9.3 \text{ \AA}$  uzaklıkta bulunmalarının inhibitör etkinin şiddetini artırdığı saptanmıştır (65). Yapılan bu çalışmada sentezlenen bileşiklere bakıldığında 5 bileşiğin (no:1, 3, 4, 5 ve 6) hidrofobik etkileşmeyi sağlayacak yalnızca bir tane planar bölgesi olduğunu görmekteyiz. Diğer iki bileşikde ise indol yapısında 2 no lu pozisyonda bulunan fenil grubu sekonder lipofilik bölge olarak düşünülebilir. Hipotetik olarak varsayılan bölgeler-arası optimal uzaklığı aşağıdaki Şema 6.5. den görebiliriz(65).



$d_1$	2.8 - 3.8 Å
$d_2$	2.8 - 6.1 Å
$d_3$	2.8 - 3.8 Å
$d_4$	8.0 - 9.3 Å

Şema 6.5. Aldoz Redüktaz Enzimini inhibe eden bileşiklerden elde edilen moleküler bölgeler arası yaklaşık uzaklıklar.

Bu araştırmada sentezlenen bileşiklerin optimal uzaklıkları ise Tablo 6.14 de gösterilmiştir. Elde edilen bu bulguları hipotetik değerler ile karşılaştırdığımızda karşımıza şu sonuçlar çıkmaktadır.

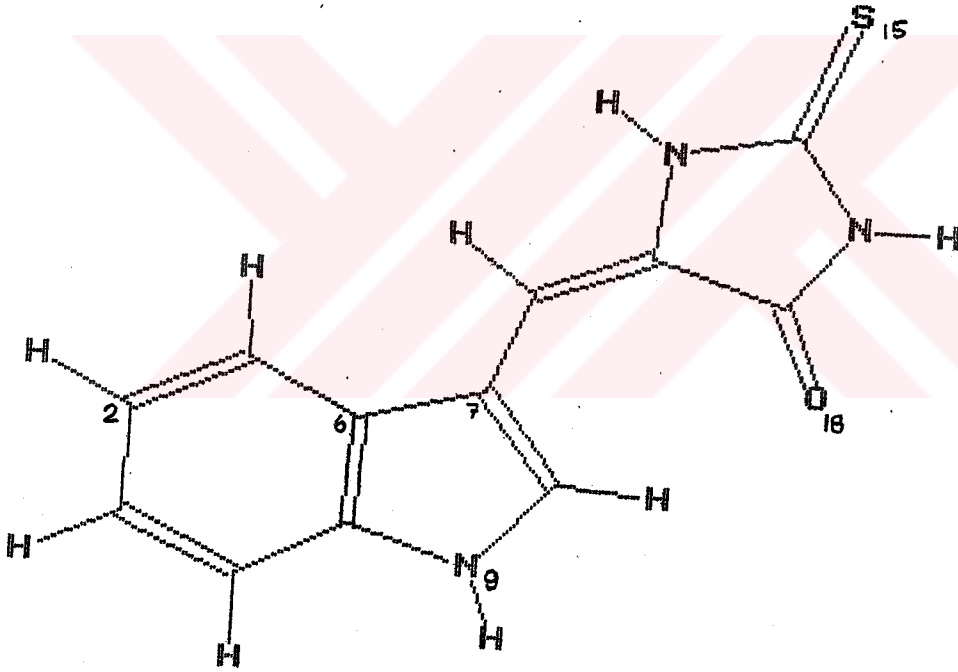
1. Primer lipofilik bölge ile karbonil grubu arasındaki uzaklık ele alındığında sentezlenen bileşiklerde bu uzaklığın hipotetik uzaklıklara oranla 2 misli fazla olduğu görülmüştür.

2. Sekonder aromatik yapı, karbonile oranla hipotetik olarak 2.8 - 6.1 Å olması gerekmektedir. Sentezlenen bileşiklerden

Bunlardan elde edilen uzaklıklar ise  $6.91 - 7.35 \text{ \AA}$  şeklinde bulunmuştur (iki bileşikten elde edilen uzaklıklar Tablo 6.14. de gösterilmemiştir.

3. indol halkasında yer alan -NH- grubu, -OH gibi düşünüldüğünde, bu uzaklığın hipotetik olarak  $5.6 (2.8+2.8) - 7.6 (3.8+3.8) \text{ \AA}$  olduğu görülmektedir. Sentezlenen bileşiklerden elde edilen sonuçlar ise bu uzaklığın  $6.23 - 6.98 \text{ \AA}$  olduğunu göstermektedir.

Tablo 6.14. Sentezlenen Bileşiklerden Elde Edilen Önemli Noktalar Arasındaki Uzaklıklar (Å)



C2 - S15	6.61 - 7.25
C2 - N9	3.96 - 4.01
C6 - S15	5.39 - 6.17
C7 - S15	4.56 - 5.83
N9 - O18	6.23 - 6.98
C7 - O18	4.34 - 5.42

Elde edilen bu sonuçların yanı sıra sentezlenen bileşiklerde tiyokarbonil grubu yerine karbonil grubunun etkileşebileceği varsayımı da söz konusudur. Bu durumda uzaklıklar, birinci nokta için, 5.42 - 6.78, ikinci nokta için, 4.37 - 4.69 ve üçüncü nokta için ise, 4.61 - 5.02 Angstron olarak değişim göstermektedir. Bu ikinci olasılık söz konusu olduğu zaman, elde edilen sonuçların hipotetik verilere daha uyumlu olduğu anlaşılmaktadır. Ancak, bu varsayımın daha fazla kesinlik kazanması, daha ayrıntılı biyolojik deneylerin yapılması ile ortaya çıkabileceği de bir gerçektir.

## 7. ÖZET

Bu çalışmada, yeni 5-(3'-indolal)-2-tiyohidantoin türevleri tasarlandı ve aldoz redüktaz inhibitörleri olarak sentezlendi. Şeker hastalığı ile ilgili komplikasyonlarda önemli rol oynayacağı umulan bileşikler aşağıda gösterilmiştir.

- S<sub>1</sub>- (yeni) 5-[(5'-siyano)-3'-indolal]-1-asetil-2-tiyohidantoin  
 S<sub>2</sub>- (yeni) 5-[(2'-fenil)-3'-indolal]-1-asetil-2-tiyohidantoin  
 S<sub>3</sub>- (83) 5-(3'-indolal)-2-tiyohidantoin  
 S<sub>4</sub>- (yeni) 5-[(5'-bromo)-3'-indolal]-2-tiyohidantoin  
 S<sub>5</sub>- (yeni) 5-[(5'-nitro)-3'-indolal]-2-tiyohidantoin  
 S<sub>6</sub>- (yeni) 5-[(5'-siyano)-3'-indolal]-2-tiyohidantoin  
 S<sub>7</sub>- (yeni) 5-[(2'-fenil)-3'-indolal]-2-tiyohidantoin

Sentezlenen bileşiklerin ergime noktaları ölçüldü sonuçlar düzeltilmeden verildi. Elementel analiz sonuçları karbon, hidrojen ve azot için teorik değerlerin % ±0.4 sınırları içinde bulundu.

IR spektra KBr diskleri kullanarak elde edildi ve cm<sup>-1</sup> olarak ifade edildi. Bileşiklerin <sup>1</sup>H NMR spektrası DMSO-d<sub>6</sub> çözeltisi içinde ve tetrametilsilan standart olarak



kullanılarak elde edildi.

Bileşikler, dana lenslerinden elde edilen kısmen saflaştırılmış aldoz redüktaz enzimine karşı biyokimyasal olarak in vitro test edildi (substrat : DL-gliseraldehit, kofaktör : NADPH ). Bu bileşikler potent bir aldoz inhibitörü olan sorbinil ile kıyaslandığında  $1.0 \times 10^{-3}$  M konsantrasyonda yüksek aktivite gösterdiler.

Yukarıda liste halinde verilen tüm bileşiklerin enzimin inhibitör bölgesine tam olarak uyum sağlayabilmesi için, uzaysal konformasyon davranışlarını daha esnek olmasını sağlayacak bazı kimyasal modifikasyonlara gereksinim olması durumuna bağlı olarak, aldoz redüktaz inhibisyonu göstereceği beklenmektedir. Bu konudaki çalışmalar halen sürdürülmektedir.

## 8. İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY)

In this study, a new series 5-(indolal)-2-tiyohidantoin derivatives were designed and synthesis for testing them as aldose reductase enzyme inhibitors. The compounds which are expected to be playing an important role in the management of the complications related to diabetes mellitus are :

- S<sub>1</sub><sup>-</sup> (new) 5-[(5'-cyano)-3'-indolal]-1-acetyl-2-thiohydantoin
- S<sub>2</sub><sup>-</sup> (new) 5-[(2'-phenyl)-3'-indolal]-1-acetyl-2-thiohydantoin
- S<sub>3</sub><sup>-</sup> (83) 5-(3'-indolal)-2-thiohydantoin
- S<sub>4</sub><sup>-</sup> (new) 5-[(5'-bromo)-3'-indolal]-2-thiohydantoin
- S<sub>5</sub><sup>-</sup> (new) 5-[(5'-nitro)-3'-indolal]-2-thiohydantoin
- S<sub>6</sub><sup>-</sup> (new) 5-[(5'-cyano)-3'-indolal]-2-thiohydantoin
- S<sub>7</sub><sup>-</sup> (new) 5-[(2'-phenyl)-3'-indolal]-2-thiohydantoin

All melting points were taken and were uncorrected except the compound (S<sub>3</sub>) previously synthesized. Spectral data were recorded for all compounds and were in agreement with the structures assigned. Elemental analyses were performed and results obtained for C, H and N, were found to be with in  $\pm 0.4$  per cent of the theoretical values unless otherwise denoted. IR spectra were obtained by using the KBr discs and

were reported in reciprocal centimeters.  $^1\text{H}$  NMR spectra of  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$  solutions of the compounds [ $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$ , 0 ppm] were recorded.

The compounds were assayed in vitro with partially purified aldose reductase enzyme from bovine lenses, using DL-glyceraldehyde as the substrate, and NADPH as cofactor. These drugs were appropriately found to be highly active at  $1.0 \times 10^{-3}$  M concentration via comparing with sorbinil, a potent aldose reductase inhibitor.

All the compounds listed above have showed promising aldose reductase inhibitory activity in spite of the fact that there might be required some chemical modifications on their spatial conformational behaviour in order to obtain more flexible molecules to fit accurately into the enzyme's inhibitory site. This is under investigation.

## 9. KAYNAKLAR

1. ABAOĞLU, C., ALEKSANYAN, V. : Semptomdan Teşhise. Klinik, Bioşimik ve Fizyopatolojik Esasları ile. 5. Baskı, Sermet Matbaası, İstanbul, 1970.
2. AGAKI, Y., YAJIMA, Y., KADOR, P.F., KUWABARA, T., KINOSHITA, J.H. : Localization of Aldose Reductase in the Human Eye. *Diabetes*, 33: 562-566, 1984.
3. ASPELUND, H., WASELUND, H., WASELIUS, P.: Resistance of Hydantoins and 5-Hydroxyhydantoins to Alkalai. *Acta Acad Abo, Math. Phys.* 27: 18-20, 1967.
4. BELLAMY, L.T. : The Infra-Red Spectra of Complex Molecules Great Britain by Richad Clay ltd. 1966.
5. BELLETIRE, J.L., SARGES, R. : Spiro-imides and Lowering Sorbitol Levels. U.S.Pat.4,307,108., *Chem. Abstr.* 96: 181165, 1982.
6. BELLETIRE, J.L.: Halogen-Substituted Benzopyran and Benzothiopyran-4-carboxilik acids and Pharmaceutical Compositions Containing Them. *Eur.Pat.*11,426., *Chem. Abstr.* 94: 121235, 1981.
7. BENTSATH, A., RUSZNYAK, S.T., SZET-GYORRYI, A. : Effect of Flavons on Capillary Permeability of Vitamin-P. *Nature*. 138: 798-800, 1936.
8. BOOT-HENFORD, R., HEATH, H. : The Effect of Aldose Reductase Inhibitors On the Metabolism of Cultured Monkey Kidney Epithelial Cells. *Biochem. Pharmacol.* 30: 3065-7, 1981.
9. BRANLANT, G. : The Substrate Binding Site of Aldehyde Reductase from Pig Liver. Stereochemical Investigation Using NADPH-2-Oxodiacid Adduct as Probe. *Eur. J. Biochem.* 121: 407-411, 1982.
10. BRITTAIN, D.R. : In Proceeding of the Third SCI-RSC Medicinal Chem. Symposium, ed. R.W. Lambert . Aldose Reductase Inhibitors:Structure, Activity, and Their Potential for Therapy in Diabetic Complications. Royal Soc. of. Chem. London. 210-240, 1986.

11. BRITTAİN, D.R., WOOD, R. : In Vitro and In Vivo Aldose Reductase Inhibitory Activities of Miscellaneous Spiro- Imidazolidine-2',5'-diones. Eur.Pat. 125.090. Chem. Abstr. 102: 113493, : 1985.
12. BRUBAKER, A.N., DeREUTIER, J., WHITMER, W.M. : Synthesis and Rat Lens Aldose Reductase Inhibitory Activity of Some Benzopyrane-2-one. J. Med. Chem. 29: 1094-1099, 1986.
13. CANAL, N., COMI, G. : Aldose Reductase Inhibitors: Pharmacological Data and Therapeutic Perspectives. Trends in Pharmacol. Sci. 328-330, 1985.
14. CHANG, A.Y., WYSE, B.M., GILCHRIST. : The Upjhon Colony of Kay Mice : A Model for Obese Typ 2 Diabetes. Diabetes. 32 : 839-843, 1983.
15. CHAUDHRY, P.S., CABRERA, J., JULIANI, H.R., VARMA, S.D. : Inhibition of Human Lens Aldose Reductase by Flavonoids, Sulindac and Indomethacine. Biochem. Pharmacol. 32 : 1995-1998, 1983.
16. CHENEY, B.V., WRIGHT, J.B., HALL, C.M., JOHNSON, J., CHRISTOFFERSEN : Structure-Activity Correlations for a Series of Antiallergy Agents. Oxanilic, Quinaldic and Benzopyran-2-carboxilic Acids. J. Med. Chem. 21 : 936-940, 1978.
17. COHEN, W., CHAU, S. : Prevention of Cataract Development in Severely Galactosemic Rats by the Aldose Reductase Inhibitor, Tolrestat. Fed. Proc. 43 : 599-605, 1984.
18. COKER, J.N., KOLHASE, W.L., FIELDS, M., ROGERS, A.O., STEVENS, M.A. : Synthesis and Resolution of Thryptophan. J. Am. Chem. Soc. 27 : 850-854, 1962.
19. COLLINS, J.F. : Antibiotics, Proteins, and Nucleic Acids. Brit. Med. Bull. 21 : 223-227, 1965.
20. COTLIER, E., SHARMA, Y.R. : Aspirin and Senile Cataract in Rheumatoid Arthritis. Lancet. 1(8215) : 338-347, 1981.
21. CROMLISH, J.A., FLYNN, T.G. : Purification and Characterization of Two Aldehyde Reductase Isoenzymes from Rabbit Muscle. J. Biol. Chem. 258 : 3416-3424, 1983.

22. CREUSRET, M.H., FENIOU, C., GUICHARD, F., MOSSER, J., PONTAGNIER, H. PRAT, G. : Flavone-4'-carboxylic Acids and Their Use in The Treatment of Diabetes. Fr.Pat.2,543,140. Chem. Abstr. 102 : 149115, 1984.
23. CRUESRET, M.H., FENIOU, C., GUICHARD, F., MOSSER, J., PRAT, G., PONTAGNIER, H. : 3-Methanesulphonyl derivative of quersitrin. Eur. Pat. 121,489. Chem. Abstr. 102 : 78724, 1984.
24. CULEBRAS, A., ALIO, J., HERREA, J.L., LOPEZFRAILE, I.P. : Tolrestat in Diabetic Complications. Arch. Neurol. 38 : 133-137, 1981.
25. DAVIDSON, W.S., WALTON, D.J., FLYNN, T.G. : A Comparative Study of the Tissue and Species Distribution of NADPH-dependent Aldehyde Reductase. : Comp. Biochem. Physiol. 606 : 309-315 1978.
26. DOUGHTY, C.G. LEE, S., CONRAD, S., SCHADE. S. : Kinetic Mechanism and Structural Properties of Lens Aldose Reductase. Enzymology of Carbonyl Metabol. 223-242, 1982.
27. DVORNIK, D., SIMARD-DUQUESNE., KRAML. M. : Polyol Accumulation in Galactosemic and Diabetic Rats:Control by Aldose Reductase Inhibitor. Science. 182: 1146-1148, 1973.
28. DVORNIK, D., SIMARD-DUQUESNE, N. : Pharmaceutical Compositions for Treatment of Complications Associated with Diabetes: Belg.Pat 855,368. Chem. Abstr. 95: 103336, 1981.
29. DVORNIK, D., SIMARD-DUQUESNE, N., KRAML, K., SESTANJ,K.H., KINOSHITA, J.H. : Inhibition of Aldose Reductase in vivo. Science (Washington DC). 182 : 1146-1147, 1973.
30. ELLIS, D. : Intermediary Metabolism of Muscle in Dochenne Muscular Dystrophy. Br. Med. Bull. 36 : 165-171, 1980.
31. ENGERMAN, R.L., KERN, T.S. : Experimental Galactosemic Produces Diabetic-Like Retinopathy. Diabetes. 33 : 97-100, 1984.

32. FAGIUS, J., JAMESON, S. : Effect of Aldose Reductase Inhibitor Treatment in Diabetic Polyneuropathy—a Clinical and Neurophysiological Study. *J. Neurol. Neurosurg. Psychia* 44 : 991,1001, 1981.
33. FAURAN, F., FENION, C., MOSSER, J., PRAT, G. : Acetals Derives de Glycosides de la Quercetine Inhibiteurs de l'aldose Reductase . *Eur. J. Med. Chem.* 13 : 503-508, 1978.
34. FRETTE, P., TOMLINSON, D.R., TOWNSEND, J. : Inhibition Study of Statil on Diabetic Complications Exposed to Aldose Reductase Enzyme. *Br. J. Pharmacol.* 82 : 265P, 1984.
35. GABBAY, K.H. : The Polyol Pathway and the Complications of Diabetes. *N. Eng. J. Med.* 288 : 831-836, 1973.
36. GABBAY, K.H., SNIDER, J.J. : Nerve Conduction Defect in Galactose-fed Rats. *Diabetes.* 21 : 295-307, 1972.
37. GONZALES, R.G., BARNETT, P., AGUAYO, J., CHENG, H.M., CHYLACK, L.T. : Direct Measurement of Polyol Pathway in the Ocular Lens. *Diabetes.* 33 : 196-199, 1984.
38. GRIFFIN, B.W., CHANDER, M.L., DE SANTIS, L. : Aldose Reductase Distribution and Activation in Diabetic and Galactosemic Rat Lens. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 25(Suppl2): 136-138, 1984.
39. GRIFFIN, B.W., CHANDLER, M.L., SHANNON, W.A., DE SANTIS, L. : Prevention of Retinal Capillary Basement Membrane Thickening Diabetic Rats by Aldose Reductase inhibitors. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 25(suppl3): 159-161, 1984.
40. HAYMAN, S., KINOSHITA, J.H. : Isolation and Properties of Lens Aldose Reductase. *J. Biol. Chem.* 240 : 877-880, 1965.
41. HAYMAN, S., LOU, M.F., MEROLA, L.O, KINOSHITA, J.H. : Aldose Reductase in Lens and Other Tissues. *Bio. Chim. Bio. Phys. Acta.* 128 : 474-482, 1966.
42. HEGLER, H., SCHNEIDER, F., LEDERER, F. : Thiazolidine Derivatives, Intermediates Therefore, and Pharmaceutical Preparations. *Eur. Pat.129747.*, *Chem. Abstr.* 102 : 166740, 1985.

43. HERS, H.G. : La Mechanizme de la Transformation de Glucose en Fructose per les Vesicules Seminals. *Biochim. Biophys. Acta.* 22 : 202-203, 1956.
44. HINMAN, R.L., LANG, J. : Protonation of Indoles-basicity Studies- Dependence of Acidity Functions on Indicator Structure. *J. Am. Chem. Soc.* 86: 3796-3798, 1964.
45. HUMBER, L.G. : The Medicinal Chemistry of Aldose Reductase Inhibitors. *Prog. Med. Chem.* 24 : 299-343, 1987.
46. HUNT, R.C., MORRISON A.D. : Inhibition of Aldose Reductase by Ibuprofen. *Clin. Res.* 32 : 398A, 1984.
47. HUTCHINSON, A.J. : Aldose Reductase Inhibitors Containing Heterocycle Other Than Spirohydantoin. *Eur.Pat.* 79,675. *Chem. Abstr.* 99 : 194944, 1983.
48. HUTTON, J.C., SCHOFIELD, P.J., WILLIAMS, J.F., HOLLWS, F.C. : Failure of Aldose Reductase Inhibitor 3,3'-Tetramethyleneglutaric acid to Inhibit in vivo Sorbitol Accumulation in Lens and Retina in Diabetes. *Biochem. Pharmacol.* 23 : 2991-2994, 1974.
49. INAGAKI, K., MIVA, T., YASHIRO, T., OKUDA, J. : Inhibition of Aldose Reductases from Rat and Bovine Lenses by Hydantoin Derivatives. *Chem. Pharm. Bull.* 30: 3244-3254, 1982.
50. IRIKURA, T., TAKAGI, K., FUJIMORI, S., HIRATA, Y. : Spiro-Linked Pyrrolidine-2,5-diones. *Chem. Abstr.* 104 : 5884, 1986.
51. ITO, Y., KITAURO, Y., OKU, T., SAWADWA, K., SUZUKI, Y., HASIMOTO, S. : Furanon Derivatives. *Jap.Pat.* 60/178879. *Chem. Abstr.* 104 : 207131, 1986.
52. JAMES, P.N., SNYDER, H.R. : Indole-3-Aldehyde. *Org. Synthesis.* 539-541, 1930
53. JEDZINIAK, J.A., CHYLACK, L.T., CHENG, H.M., GILLIS, M.K., KALUSTIAN, A.A. : The Sorbitol Pathway in the Human Lens. *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* 20 : 314-326, 1981.
54. JOHNSON, B., BEGIN, R. : The Preparation of Hydantoin from Hippuric Acid. *J. Am. Chem. Soc.* 35 : 1605-1606, 1911.



55. JOHNSON, B., NICOLET, H. : Synthesis of 2-thiohydantoin.  
J. Am. Chem. Soc. 33 : 1973-1978, 1911.
56. JR.MUNSON, H.R. : 4H-Pyrrolo[3,2,1-ij]quinoline-1,2-diones  
U.S.Pat.4,198,414. Chem. Abstr. 93 : 71574, 1980.
57. KADOR, F.P., AKAGI, Y., KINOSHITA, J.H. : The Effect of  
Aldose Reductase and It's Inhibition on Sugar  
CataractFormation. Metabolism. 35(Suppl): 15-19, 1986.
58. KADOR, F.P., KINOSHITA, J.H., DATILES, M. : Aldose  
Reductase Inhibitors: A Potential New Class of Agents  
for the Pharmacological Control Certain Diabetic  
Complication. J. Med. Chem. 28 : 841-849, 1981.
59. KADOR, P.F., CARPER, D., KINOSHITA, J. : Rapid  
Purification of Human Placental Aldose Reductase.  
Anal. Biochem. 114 : 53-58, 1981.
60. KADOR, P.F., GOOSEY, J.D., SHARPLESS, N.E., KOLISH, J.,  
MILLER,D.D. : Stereospecific Inhibition of Aldose  
Reductase. Eur. J. Med. Chem. 16 : 293-298, 1981.
61. KADOR, P.F., KINOSHITA, J.H., SHARPLESS, N.E. : The  
Aldose Reductase Inhibitor Site. Metabolism. 35 : 109-  
113, 1986.
62. KADOR, P.F., KINOSHITA, J.H., SHARPLESS, N.E. : Aldose  
Reductase Inhibitors : A New Class of Agents for the  
Pharmacological Control of Certain Diabetic  
Complications. J. Med. Chem. 28 : 841-849, 1985
63. KADOR, P.F., KINOSHITA, J.H., TUNG, W.H., CHYLACK, L.T. :  
Differences in the Susceptibility of Aldose Reductase  
to Inhibition. Invest Ophthalmol. Visual. Sci. 19 :  
980-982, 1980.
64. KADOR, P.F., ROBINSON, W.G., KINOSHITA, J.H. : The  
Pharmacology of Aldose Reductase Inhibitors.  
Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 25 : 691-714, 1985.
65. KADOR, P.F., SHARPLESS, N.E. : Pharmacophor Requirement  
of the Aldose Reductase Inhibitor Site. Mol.  
Pharmacol. 24 : 521-531, 1983.
66. KADOR, P.F., SHARPLESS, N.E. : Structure-Activity Studies  
of Aldose Reductase Inhibitors Containing the 4-  
oxochoromen Ring System. Biophys. Chem. 8 : 81-85,  
1978.

67. KADOR, P.F., SHARPLESS, N.E., GOOSEY, J.D. : In Progress in Clinical and Biological Research. 114. Workshop on Enzymology of Aldehyde Dehydrogenase and Aldehyde Ketone Reductase : Eds: Weiner, H., Wermuth, B. 243-259, 1982.
68. KATO, E., YAMAMATO, Y., BABA, T., WATANABE, T., KAWASHIMA, Y., MASUDA, H. : Synthesis and Aldose Reductase Inhibitory Activity of Thiazolidine carboxylic Acids Containing a Disulfide Bond. Chem. Pharm. Bull. 33 : 74-83, 1985.
69. KATO, E., YAMAMOTO, K., BABA, T., WATANABE, T., KAWASHIMA, Y., HORIUCHI, M. : Synthesis and Aldose Reductase Inhibitory Activity of N-Acylthiazolidine carboxylic Acid. Chem. Pharm. Bull. 33 : 5341-5350, 1985.
70. KAWAMATSU, Y., FUGITA, T., YAMAMATO, Y. : Thiazolidin Derivatives. Eur. Pat. 91,761. Chem. Abstr. 100 : 103326, 1984.
71. KELBAUGH, P.R., SARGES, R. : Spiro-Furanohydantoin derivatives. U.S. Pat. 4,147,797. Chem. Abstr. 91 : 20511, 1979.
72. KERN, T.S., ENGERMAN, R.L. : Immunohistochemical Distribution of Aldose Reductase. Histochem. 14 : 507-515, 1982.
73. KINOSHITA, J.H. : Mechanism Initiating Cataract Formation. Invest Ophthalmol. 13 : 713-724, 1974.
74. KINOSHITA, J.H. : Cataracts in Galactosemia. The Jones Friedewald Memorial Lecture. Invest Ophthalmol. 4 : 786-799, 1965.
75. KINOSHITA, J.H., DVORNIK, D., KRAML, M., GABBAY, K.H. : The Effects of an Aldose Reductase Inhibitor on Galactose-exposed Rabbit Lens. Biophys. Acta. 158 : 472-475, 1968.
76. KINOSHITA, J.H., FUKUSHI, S., KADOR, P.F., MEROLA, L.D. : Aldose Reductase in Diabetic Complications of the Eye. Metabolism. 28 : 462-469, 1979.
77. KINOSHITA, J.H., KADOR, P.F., DATILES, M.J. : Aldose Reductase in Diabetic Cataracts. J. Am. Med. Assoc. 246 : 257-261, 1981.

78. KISSINGER, C.R., ADMAN, E.T., CLARK, J.I., STENKAMP, R.E.  
Crystal Structure of Sorbinil. *Acta. Crystallogr.*  
41 : 986-989, 1985.
79. KISSMAN, H.M., FARNSWORTH, D.W., WITKOP, B. : Fischer  
Indole Synthesis with Polyphosphoric Acid. *J. Am.  
Chem. Soc.* 74 : 3948-3949, 1952.
80. KLOPMAN, G., BUYUKBINGOL, E. : An Artificial Intelligence  
Approach to the Study of the Structural Moieties  
Relevant to Drug-Receptor Interactions in Aldose  
Reductase Inhibitors. *Mol. Pharmacol.* 34: 852-862,  
1988.
81. LAURITZEN, T., FROST-LARSEN, K., LARSEN, H.W., DECKERT,  
T. Effect of One Year of Near-Normal Blood Glucose  
Levels on Retinopathy in Insulin-Dependent. *Lancet.* 29  
Jan. : 200-204, 1983.
82. LEFEMINE, D.V., DANN, M., BARBATSCHI, F., HAUSMANN, W.K.,  
ZBINOVSKI, V. : Isolation and Characterization of  
Mitromycin and Other Antibiotics Produced by  
*Streptomyces verticillatus*. *J. Am. Chem. Soc.* 84 :  
3184-3185, 1962.
83. LINAR I.L. : Erlenmeyer synthesis. *Org. Chem.* 2: 550-  
553. 1948.
84. LIPINSKI, C.A., HUTSON, J.N. : A New Approach to the  
Treatment of Diabetic Complications. *Ann. Rep. Med.  
Chem.* 19 : 169-177, 1984.
85. LUDVIGSON, M.A., SORENSON, R.L. : Immunohistochemical  
Localization of Aldose Reductase. I. Enzyme  
Purification and Antibody Preparation in Perioheral  
Nerve, Artery and Testis. *Diabetes.* 29 : 438-449,  
1980.
86. MARAGOUDAKIS, M.E., KALINSKY, H., WASVARY, J., HANKIN, H.  
Inhibition of Basement Membrane Biosynthesis and  
Aldose Reductase Activity by GPA 1734. *Fed. Proc.* 35 :  
679-684, 1976.
87. MARAGOUDAKIS, M.E., WASVARY, J., HANKIN, H., GARGIULO,  
P. : Human Placenta Aldose Reductase. : *Mol. Pharmacol.*  
25 : 425-430, 1984.
88. MIWA, I., HIRANO, M., INAGAKI, K., BELBEOCH, C., OKUDA,  
J. : Development of Potent Aldose Reductase Inhibitors  
Having a Hydantoin Structure. *Biochem. Pharmacol.* 36 :  
2789-2794, 1987.

89. MOON, C.K., YUN, Y.P., LEE, H., WAGER, H., SKIN, Y.S.:  
Inhibition of Lens Aldose Reductase Activity by  
Brazilin and Haematoxylin. *Planta Med.* 1 : 66-67,  
1985.
90. MURPHY, D.G., DAVIDSON, W.S. : Inhibition Studies on  
Chicken Muscle Aldose Reductase. *Biochem. Pharmacol.*  
34(16) : 2961-2965, 1985.
91. NAKAI, N., FUJII, Y., KOBASHI, K., NOMURA, K. : Aldose  
Reductase Inhibitor: Flavonoids, Acetophenones,  
Benzophenones and Spirohydantoin of Chromane.  
*Arch. Biochem. Biophys.* 239 : 491-496, 1981.
92. OBAZAWA, H., MEROVA, L.D., KINOSHITA, J.H. : Effects of  
Xylose on the Isolated Lens. *Invest Ophthalmol.* 13 :  
204-209, 1974.
93. OHISHI, Y., NAGAHARA, M., TAKEHISA, Y., YAJIMA, M.,  
KURAKAWA, S., KALKAWA, N. : Rhodanine Derivative.  
*Eur. Pat* 143,461. *Chem. Abstr.* 103 : 996070, 1985.
94. OKOMATO, M., UCHIDA, I., UMAHARA, K., KOHSAKA, M.,  
IMANAKA. : Furanon Derivatives. *Eur. Pat.* 99,692. *Chem.*  
*Abstr.* 100 : 191723, 1984.
95. OKUDA, J., MIWA, I., INAGAKI, K., HORIE, T., NAKAYAMA, M.  
Inhibition of Aldose Reductase from Rat and Bovine  
Lens by Flavonoids. *Biochem. Pharmacol.* 31: 3807-3822,  
1982.
96. OKUDA, J., MIWA, I., INAGAKI, K., HORIE, T., NAKAYAMA, M.  
Inhibition of Aldose Reductase by 3',4'- dihydroxy  
flavone. *Chem. Pharm. Bull.* 32: 767-772, 1984.
97. OKUDA, J., YASHIMA, K., INAGAKI, K., MIWA, I. : Effect of  
an Aldose Reductase Inhibitor 1-[(p-bromophenyl)  
sulfonyl] Hydantoin on Cataract Formation and Tissue  
in Galctosemic Rats. *Chem. Pharm. Bull.* 33(7): 2990-  
2995, 1985.
98. ONO, H., NOZAWA, Y., HAYANO, S. : Effects of M79175. An  
Aldose Reductase Inhibitor on Experimental Sugar  
Cataracts. *Acta Soc. Ophthalmol. Jpn.* 86: 1343-1350,  
1982.
99. ONO, H., HAYANO, S.: 2,2',4,4'-Tetrahydroxybenzophenol  
as a New Aldose Reductase Inhibitor. *Acta Soc.*  
*Ophthalmol. Jpn.* 86(4): 353-357, 1982.

100. OYA, M., ISO, T. : Pyrrolidine-and Thiazolidine Carboxylic Acid Derivatives. Jap.Pat.57/106658. Chem. Abstr. 97 : 182401, 1982.
101. O'BRIEN, M.M., SCHOFIELD, R.J. : Polyol-Pathway Enzymes of Human Brain. Partial Purification and Properties of Aldehyde Reductase and Hexonate Dehydrogenase. Biochim. J. 187: 21-30, 1980.
102. PETERSON, M.J., SARGES, R., ALDINGER, C.E., McDONALD, D.P. A Novel Aldose Reductase Inhibitor that Inhibits Polyol Pathway Activity in Diabetic and Galactosemic Rats. Metabolism. 28(Suppl1): 456-461, 1979.
103. PFISTER, J.R., WYMAN, E.W., MAHONEY, J.M., WATERBURY, L.D. Synthesis and Aldose Reductase Inhibitory Activity of 7-Sulfamoylxanton-2-carboxylic acids. J. Med. Chem. 23 : 1264-1267, 1980.
104. POTTINGER, P.K. : A Study of Three Enzymes Acting on Glucose in the Lens of Different Species. Biochem. J. 104 : 663-668, 1967.
105. POULSOM, R., HEATH, H. : Inhibition of Aldose Reductase in Five Tissues of the Streptozotocine Diabetic Rats. Biochem. Pharmacol. 32 : 1495-1499, 1983.
106. POULSOM, R.: Inhibition of Hexonate Dehydrogenase and Aldose Reductase from Bovine Retina by Sorbinil, Statil, M79175 and Valproate. Biochem. pharmacol. 35 : 2955-2959, 1986.
107. RASKIN, P., ROSENSTOCK, T. : Aldose Reductase Inhibitors and Diabetic Complications. Am. J. Med. 83 : 298-306, 1987.
108. RICHON, A.B., MARAGOUKAKIS, M.E., WASVARY, J.S. : Isoxazolidine-3,5-diones as Lens Aldose Reductase. J. Med. Chem. 25 : 745-747, 1982.
109. RIZZI, J.P., SCHNUR, R.C., HUTSON, N.J., KRAUS, K.G., KELBAUGH, P.R. : Rotationally Restricted Mimics of Rigid Molecules : Nonspirocyclic Hydantoin Aldose Reductase Inhibitors. J. Med. Chem. 32 : 1208-1213, 1989.
- x 110. ROBINSON, T.P., BROWN, R.K.: Mechanism of Fischer-indole Synthesis. Can. J. Chem. 42: 1940-1943, 1964.

111. ROBINSON, W.G., KADOR, P.F., KINOSHITA, J.H. : Retinal Capillaries : Basement Membrane Thickening by Galactosemia Prevented with Aldose Reductase Inhibitory. *Science*. 221 : 1177-1179, 1983.
112. RONDEAU, J.M., SAMAMA, J.P., SAMAMA, B., BARTH, P., MURAS, D., BIELLMANN, J.F. : Crystallization and Preliminary X-Ray Study of Pig Lens Aldose Reductase. *J. Mol. Biol.* 195 : 945-948, 1987.
113. ROSLER, K.H.A., GOODWIN, R.S., MARBRY, T.J., VARMA, S.D., NORIS, J. : Flavonoids from *Brickellia Glutinosa*. *J. Nat. Prod.* 47 : 711-714, 1984.
114. SARGES, R. : Phenyl or Phenoxy Substituted Spiroimidazolidinedione Derivatives. U.S.Pat.4,181,729. *Chem. Abstr.* 92 : 163972, 1980.
115. SARGES, R. : Spirohydantoin Compounds. W. Ger. Pat. 2,746,244. *Chem. Abstr.* 89 : 24308, 1978.
116. SARGES, R., Pharmaceutical Hydroxyethylazoles. U. S. Pat. 4,209,527. *Chem. Abstr.* 93 : 204655, 1980.
117. SARGES, R., BELLETIRE, J.L. : Spiroimidazolidinediones. U. S. Pat. 4,181,728. *Chem. Abstr.* 92 : 146774, 1980.
118. SARGES, R., BELLETIRE, J.L., SCHNUR, R.C. : Pharmaceutical Preparations Containing Coumarin Carboxylic Acid Derivatives. U. S. Pat. 4, 210,667. *Chem. Abstr.* 93 : 245470, 1980.
119. SARGES, R., BORDNER, J., DOMINI, B.W., PETERSON, M.J., WHIPPLE, E.B. : Synthesis Absolute Configuration and of the Aldose Reductase Inhibitor Sorbinil. *J. Med. Chem.* 28 : 1716-1720, 1985.
120. SARGES, R., PETERSON, M.J. : Sorbinil : A Member of the Novel Class of Spirohydantoin Aldose Reductase Inhibitors. *Metabolism*. 35(Suppl1), 101-104, 1986.
121. SARGES, R., SCHNUR, R.C. : Treating Diabetes-Associated Complications with Hydantoin Amines U. S. Pat. 4,248,882. *Chem. Abstr.* 94 : 192339, 1981.
122. SARGES, R., SCHNUR, R.C. : Thienohydantoin Derivatives. U. S. Pat. 4,127,665. *Chem. Abstr.* 90 : 87464, 1979.
123. SARGES, R. : Hydantoin Derivatives. U. S. Pat. 4,235,911. *Chem. Abstr.* 94 : 121540, 1981.

124. SARGES, R.: Hydantoin Therapeutic Agents. U. S. Pat. 4,130,714, Chem. Abstr. 92 : 94401, 1980.
125. SCHNUR, R.C. : Spiro-Quinoline Hydantoins. U. S. Pat. 4,176,185. Chem. Abstr. 92 : 111015, 1980.
126. SCHNUR, R.C. : Isoquinoline Acetic Acids and Containing Them. Eur. Pat. 30,861., Chem. Abstr. 95 : 169009, 1981.
127. SCHNUR, R.C. : Spiroquinoline Hydantoins. U. S. Pat. 4,193,996. Chem. Abstr. 93 : 46449, 1980.
128. SCHNUR, R.C., SARGES, R., PETERSON, M.J. : Spirooxazolidinedione Aldose Reductase Inhibitors. J. Med. Chem. 25 : 1451-1454, 1982.
129. SELEGMAN, A.B., SELEGMAN F.P., VARMA, S.D., WAGNER, H. : Lens Aldose Reductase Inhibitory Activity of Marijuana Flavon C-Glycodides. J. Pharm. Sci. 66 : 1358-1359, 1977.
130. SESTANJ, K. : 2-Thioxobenz[cd]indole-1(2H)-acetic Acid Derivatives. U. S. Pat. 4,254,108. Chem. Abstr. 98 : 179217, 1983.
131. SESTANJ, K. : Thioxo-1H-benz[de]isoquinoline-2(3H)-acetic Acid Derivatives. U. S. Pat. 4,254,108. Chem. Abstr. 95 : 24852, 1981.
132. SESTANJ, K., ABRAHAM, N.A., BELLINI, F., TRASURYWALA. : Polycondensation of Butyl Ester of Glicine in Metyl Methacrylate. Chem. Abstr. 98 : 72727, 1983.
133. SESTANJ, K., ABRAHAM, N.A., BELLINI, F., TREASURYWALA, A. : N-(Naphthylthiocarbonyl)amino Acid Derivatives. Can. Pat. 1,147,739. Chem. Abstr. 100 : 7158, 1984.
134. SESTANJ, K., BELLINI, F., FUNG, S., ABRAHAM, N., TREASURYWALA, A. HUMBER, L.G. : N-[(5-(Triflouromethyl)-6-methoxy-1-naphthalenyl)-thioxomethyl]-N-methylglycine (Tolrestat). A Potent Orally Active Aldose Reductase Inhibitor. J. Med. Chem. 27 : 255-256, 1984.
135. SHABICA, A.C., HOWE, E.E., ZEIGLER, J.B., TISHLER, M. : Improved Synthesis of Indole-3-aldehyde. J. Am. Chem. Soc. 68 : 1156-1157, 1946.

136. SHARMA, Y.R., COTLIER, E. : Inhibition of Lens and Cataract Aldose Reductase by Protein-bound Antirheumatic Drugs:Salicylate, Indomethasine, Oxyphenbutazone, Sulindac. *Exp. Eye. Res.* 35 : 21-27, 1982.
137. SHIMIZU, M., ITO, T., TERASHIMA, S., HAYASHI, T., ARISAWA, M., MORITA, N. : Inhibition of Lens Aldose Reductase by Flavonoids. *Phytochemistry.* 23 : 1885-1889, 1984.
138. SHIRINER, R.L., ASHIES, W.C., WELCH, E. : Synthesis of 2-phenylindole. *Org. Synthesis.* 3: 98-100, 1955.
139. SMITH, G.E.: Formylation of Indoles as Vilsmeier-Haack Type Reaction. *J. Chem. Soc.* 3842-3846, 1954.
140. SOHDA, T., MIZUNO, K., IMAMIYA, E., SUGIYAMA, Y., KUTIKA, T., KAWAMATSU, Y. : Studies on Antidiabetic Agents. II. Synthesis of 5-[4-(1-Methyl-cyclo-hexyl-methoxy)-benzyl] and Its Derivatives. *Chem. Pharm. Bull.* 30 : 3580-3600, 1982.
141. SOHDA, T., MIZUNO, K., IMAMIYA, E., TAWADA, H. MEGURO, K., KAWAMATSU, Y. : Studies on Antidiabetic Agents. III. Synthesis 5-Arylthiazolidine-2,4-diones as Potent Aldose Reductase Inhibitors. *Chem. Pharm. Bull.* 30 : 3601-3616, 1982.
142. SOHDA, T., MIZUNO, K., IMAMIYE, E., TAWADA, H., MEGURO, K., FUKI, T., : Studies on Antidiabetic Agents. I. Synthesis of AL 321 and Related Compounds. *Chem. Pharm. Bull.* 30 : 3563-3565, 1982.
143. STRIBLING, D., MIRRLEES, D.J., EARL, D.C.N. : Properties of ICI 128,436:A Novel Aldose Reductase Inhibitor and its Effects on Diabetic Complications in the Rat. *Diabetologia.* 25 : 196-197, 1983.
144. TADEO, T., MASANORI, K., AKIO, A., TETSUYA, M., MESAHI, M., HIROSHI, T. : Rhodanine Derivatives and an Aldose Reductase Inhibitors Containing the Rhodanine Derivatives as Active Ingredients. *Eur.Pat.* 47,109., *Chem. Abstr.* 97 : 23781, 1982.
145. TADEO, T., SATOGHI, S., MASANORI, K., MASAHI, H., HIROSHI, T. HIRATA, F. : Rhodanine Derivatives and Aldose Reductase Inhibitors Containing Such Derivatives. *Eur. Pat.* 45,165., *Chem. Abstr.* 96 : 217830, 1982.



146. TANIMOTO, T., FUKUDA, T., KAWAMURA, H. :  
Characterization of Aldose Reductase 1a and 1b from  
Rabbit Lens. Chem. Pharm. Bull. 32 : 1025-1031, 1984.
147. TANIMOTO, T., FUKUDA, H., KAWAMURA, J., NAKAO, M.,  
SHIMADA, U. : Inhibition of Aldose Reductase from  
Rabbit Lens by Oxazole Derivatives. Chem. Pharm. Bull.  
32 : 1032- 1039, 1984.
148. TANIMOTO, T., FUKUDA, H., KAWAMURA, J., NAKAO, M.,  
SHIMADA, U., YAMADA, A. : Inhibitory Effect of  
Benzyloxazolecarbamate Analogues on Aldose Reductase.  
Chem. Pharm. Bull. 34 : 2501-2505, 1986.
149. TANIMOTO, T., FUKUDA, H., YAMAHA, T., TANAKA, C. :  
Reaction and Mechanisms of Aldose Reductase from  
Rabbit Lens. Chem. Pharm. Bull. 34 : 4183-4189, 1986.
150. TERASHIMA, H., HAMA, K., YAMAMOTO, R., SUBOSHIMA, M.T.,  
KIKAWA, R. : Effects of New Aldose Reductase  
Inhibitor on Various Tissues in vitro. J. Pharmacol.  
Exp. Ther. 229 : 226-230, 1984.
151. TEULON, J.M. : Benzothiazine Derivatives and Analogs and  
Medicaments Useful as Aldose Reductase. Eur. Pat.  
161,776., Chem. Abstr. 104 : 109668, 1986.
152. THE STENO STUDY GROUP. Effect of 6 Months of Strict  
Metabolic Control on Eye and Kidney Function in  
Insulin-Dependent Diabetics with Background  
Retinopathy. Lancet. 16 Jan. : 121-123, 1982.
153. TOMLINSON, D.R., TOWNSEND, J. FRETEN, P. : Prevention  
of Deffective Axonal Transport in STZ Diabetic Rats  
by Treatment with Statil (ICI 128,436), an Aldose  
Reductase Inhibitor. Diabetes. 34 : 970-972, 1985.
154. UDEA, I., MATSUMO, M., SATOH, S., WATANABE, T. :  
Compounds with Electrophilic Reactivity. VII.  
Synthesis and some Properties of 2-Substituted 5-  
Hydroxymethylamino-1,3-dioxanes. Eur. Pat. 22,317.  
Chem. Abstr. 95 : 7226, 1981.
155. UNGER, R.H. : Meticulous Control of Diabetes : Benefits,  
Risk and Precautions. Diabetes. 31 : 479-483, 1982.
156. VAN-HEYNINGEN, R. : Formation of Polyols by the Lens of  
the Rat with "Sugar" Cataract. Nature. 184 : 194-195,  
1959.

157. VARMA, S.D. : Inhibition of Aldose Reductase by Flavonoids. in Plant Flavonoids in Biology and Medicine: Biochemical, Pharmacological, and Structure-Activity Relationships. Alan R. Liss, Inc. 343-358, 1986.
158. VARMA, S.D., KINOSHITA, J.H. : Inhibition of Lens Aldose Reductase by Flavonoids. Biochem. Pharmacol. 25 : 2505-2513, 1976.
159. VARMA, S.D., MIKUNI, I., KINOSHITA, J.H. : Flavonoids as Inhibitors of Lens Aldose Reductase. Science. 188 : 1215-1216, 1975.
160. VARMA, S.D., MIZUNO, A., KINOSHITA, J.H. : Diabetic Cataracts and Flavonoids. Science. 195 : 205-206, 1977.
161. WAGNER, E.C., SIMONS, J.K. : Preparation of Hydantoin. J. Chem. Educ. 13 : 265-168, 1936.
162. WERMOUTH, B., BURGISSER, H., BOHREN, K., VON-NARTBURG, J.P. : Purification and Characterization of Human-Brain Aldehyde Reductase. Eur. J. Biochem. 127 : 279-284, 1982.
163. YORK, B.M. : Inhibiting Aldose Reductase Activity and Preparation of Spiro-Fluorofluorenes and Spiro-Difluorodifluorenes. Pat. Coop. Treat. Intl. Appl. 8,303,543. Chem. Abstr. 100 : 139108, 1984.
164. YORK, B.M. : Hydantoins for Treatment of Complication from Diabetes Mellitus. Pat. Coop. Treat. Intl. Appl. 8,303,542. Chem. Abstr. 100 : 185790, 1984.
165. YUE, D.K., HANWELL, M.A., SATCHELL, P.M., TURTLE, J.R. : The Effect of Aldose Reductase Inhibition on Motor Nerve Conduction Velocity in Diabetic Rats. Diabetes. 31: 789-794, 1982.

## ÖZGEÇMİŞ

1964 Yılında İstanbul'da doğdum. İlkokulu Ankara Yücetepe ilkokulu, ortaokul ve lise eğitimini ise Ankara Anıttepe Lisesi'nde tamamladıktan sonra, 1981 yılında Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'ne girdim ve 1985 yılında mezun oldum. Daha sonra 1987 yılında A.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladım. 1988 Yılı Güz döneminde başladığım Yüksek Lisans öğrenimini 1990 Yılı Güz döneminde tamamladım. Halen A.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.

T. C.  
Yükseköğretim Kurulu  
Dokümantasyon Merkezi