

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİYOLOJİK ÖNEMİ OLAN İNDOL TÜREVİ BİLEŞİKLERİN  
SENTEZLERİ, YAPI AYDINLATMALARI VE  
AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Ayşe Gökçe GÜRKÖK**

**FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Sibel Süzen**

**2007- ANKARA**

## İÇİNDEKİLER

İçindekiler .....	ii
Önsöz .....	v
Simgeler ve Kısaltmalar .....	ix
Şemalar Dizini .....	x
Tablolar Dizini .....	xi
Formüller Dizini .....	xii
Denklemler Dizini .....	xiii
Spektrumlar Dizini .....	xiv

### 1.GİRİŞ

1.1. Serbest Radikaller ve Antioksidan Maddelerin Önemi .....	1
1.1.1. Serbest Radikallerin Tanımı ve Kimyasal Özellikleri .....	2
1.1.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROT) .....	4
1.1.3. Reaktif Azot Türleri (RAT) .....	8
1.1.4. Oksidatif Stres ve Serbest Radikallerin Neden Olduğu Hastalıklar .....	9
1.2. Antioksidan Maddeler .....	12
1.2.1. Antioksidan Maddelerin Tanımı ve Biyolojik Önemi .....	12
1.2.2. Antioksidan Maddelerin Sınıflandırılması .....	13
1.2.2.1. Enzimatik Antioksidan Maddeler .....	14
1.2.2.2. Non-Enzimatik Antioksidan Maddeler .....	16
1.2.2.3. Sentetik Antioksidan Maddeler .....	17
1.3. Melatonin .....	18
1.3.1. Melatoninin Kimyasal Yapısı ve Antioksidan Özellikleri .....	18
1.3.2. Melatoninin Serbest Radikallerle Etkileşimi .....	25
1.3.3. Melatonin Analogu Sentetik Antioksidan Bileşikler .....	27
1.3.3.1. Antioksidan Etki Gösteren Non-Steroidale Anti-enflamatuvar İndol Türevi Bileşikler .....	27
1.3.3.2. İndole Yapılı Halka Sistemi İçeren Antioksidan Bileşikler.....	28

1.3.3.3. Bilinen Antioksidan Moleküllerle Kondanse İndol Türevi Bileşikler .....	30
1.3.3.4. Alkil ve/veya Aril Substitüe İndol Türevi Bileşikler .....	33
1.3.3.5. Antioksidan Etkili Diğer Sentetik İndol Türevi Bileşikler .....	37
1.4. İndol Halkasının Kimyasal Özellikleri .....	39
1.4.1. İndol Halkasının Genel Sentez Yöntemleri .....	39
1.4.2. İndol-3-karboksaldehit Sentezi .....	41
1.5. Melatonin ve Analogu Olan Maddelerin Gerekliliği .....	41
1.6. Tez Çalışmasının Amacı ve Önemi .....	43

## 2. GEREÇ VE YÖNTEMLER

2.1 Tasarlanan İndol-3-karboksaldehit Hidrazon Türevlerinin Genel Sentezi.....	48
2.2. Materyal ve Yöntem .....	50
2.2.1. Kullanılan Araç ve Gereçler .....	50
2.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	51
2.2.3 Sentez Edilen Maddelerin Analitik İncelemelerinde Kullanılan Yöntemler ...	51
2.2.3.1 Kromatografik Analizler .....	51
2.2.3.2 Erime Noktası Tayinleri.....	52
2.2.3.3. Elementel Analiz Tayini.....	52
2.2.3.4 Spektral Analizler.....	52

## 3. BULGULAR

3.1. Başlangıç Maddesinin Sentezi .....	53
3.1.1. 1 <i>H</i> -İndol-3-karboksaldehit Sentezi ( <b>1</b> ) .....	53
3.2. 1 <i>H</i> -İndol-3-karboksaldehit fenilhidrazon Türevlerinin Genel Sentezi ( <b>1a-j</b> ) ....	54
3.2.1. 1 <i>H</i> -İndol-3-karboksaldehit fenilhidrazon ( <b>1a</b> ) .....	54
3.2.2. 1 <i>H</i> -İndol-3-karboksaldehit (4-bromofenil)hidrazon ( <b>1b</b> ) .....	56
3.2.3. 1 <i>H</i> -İndol-3-karboksaldehit (4-florofenil)hidrazon ( <b>1c</b> ) .....	58
3.2.4. 1 <i>H</i> -İndol-3-karboksaldehit (4-klorofenil)hidrazon ( <b>1d</b> ) .....	61
3.2.5. 1 <i>H</i> -İndol-3-karboksaldehit (3,4-diklorofenil)hidrazon ( <b>1e</b> ) .....	63
3.2.6. 5-Bromo-1 <i>H</i> -indol-3-karboksaldehit fenilhidrazon ( <b>1f</b> ) .....	66
3.2.7. 5-Bromo-1 <i>H</i> -indol-3-karboksaldehit (4-bromofenil)hidrazon ( <b>1g</b> ) .....	68
3.2.8. 5-Bromo-1 <i>H</i> -indol-3-karboksaldehit (4-florofenil)hidrazon ( <b>1h</b> ) .....	71

3.2.9. 5-Bromo-1 <i>H</i> -indol-3-karboksaldehit (4-klorofenil)hidrazon ( <b>1i</b> ) .....	73
3.2.10. 5-Bromo-1 <i>H</i> -indol-3-karboksaldehit (3,4-diklorofenil)hidrazon ( <b>1j</b> ) .....	76
3.3. 1 <i>H</i> -İndol-3-aldehit anisik asit hidrazidi ( <b>1k, 1m</b> ) / izonikotinic asit hidrazidi Türevlerinin Genel Sentezi ( <b>1l, 1n</b> ) .....	78
3.3.1. N-(4-Metoksibenzoil)-N'-(indolil-3-metilen) hidrazin ( <b>1k</b> ) .....	79
3.3.2. 1 <i>H</i> -İndol-3-karboksaldehit izonikotinoilhidrazon ( <b>1l</b> ) .....	81
3.3.3. N-(4-Metoksibenzoil)-N'-(5-Bromo-indolil-3-metilen) hidrazin ( <b>1m</b> ) .....	83
3.3.4. 5-Bromo-1 <i>H</i> -indol-3-karboksaldehit izonikotinoilhidrazon ( <b>1n</b> ) .....	85
3.4. N,N'-Bis-(1 <i>H</i> -indol-3-ilmetilen) hidrazin Türevlerinin Genel Sentezi ( <b>1o-ö</b> ) ...	87
3.4.1. N,N'-Bis-(1 <i>H</i> -indol-3-ilmetilen) hidrazin ( <b>1o</b> ) .....	87
3.4.2. N,N'-Bis-(5-bromo-1 <i>H</i> -indol-3-ilmetilen) hidrazin ( <b>1ö</b> ) .....	90
3.5. Sentez Edilen Bileşiklerin <i>In vitro</i> Biyolojik Aktivite Tayinleri .....	92
3.5.1. <i>In vitro</i> Antioksidan Aktivite Tayini .....	92
3.5.1. DPPH Üzerinden Serbest Radikal Yakalama Etki Tayini .....	92
3.5.2. Süperoksit Anyon Radikali Üzerinden Serbest Radikal Yakalama Etki Tayini .....	96
3.5.3. Sentez Edilen Bileşiklerin Antioksidan Aktivitelerinin Değerlendirilmesi ...	99
<b>4. TARTIŞMA</b> .....	101
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b> .....	104
<b>ÖZET</b> .....	107
<b>SUMMARY</b> .....	108
<b>KAYNAKLAR</b> .....	109
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	124

## ÖNSÖZ

Tez çalışmalarımı iş hayatım çoğu zaman çakışsa da en sonunda yüksek lisansımı tamamlayabildim. Bu süreç içerisinde A.Ü. Eczacılık Fakültesi Dekanı Prof. Dr. Seçkin Özden'e, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri hocalarıma ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma ilgi ve destekleri için çok teşekkür ederim. Tez çalışmamdaki biyolojik analizleri gerçekleştiren A.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Tülay Çoban'a ve spektral analizlerimin gerçekleştirilmesi sırasındaki yardımlarından dolayı A.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyesi ve Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı sorumlusu Prof. Dr. Hakan Göker'e içten teşekkürlerimi sunarım.

Tüm bunların yanı sıra bileşiklerim sentezlenene kadar defalarca yapılan deneylerde, bozulan, saflaşmayan, parçalanan bileşiklerimin yarattığı moral bozukluklarında hiçbir zaman benden ümidini kesmeyen, her zaman güler yüzüyle bana destek olan, bütün mesleki bilgi ve becerilerini ihtiyacım olduğu her an benimle paylaşan, beni yönlendiren, hayal kırıklığı yaşadığım zamanlarda 'Sen yaparsın!' diyerek yüreklendiren ve gerçekten de bunu başarmamı sağlayan, kışın kar yağarken bile benim yanımda kalıp bana güç veren, iş yaşantım dolayısıyla yetiştiremediğim, yapamadığım işlerde bana yardımcı olan, her şeyden önemlisi bu işi başarmam için bana İNANAN, mesleki anlamda gelişmem için beni seminer, sempozyum gibi bilimsel etkinliklere katılmaya yönlendiren, mesleki paylaşımımız dışında her türlü sorunuma kendi kızıyla ilgilenir gibi yaklaşıp bana ikinci bir anne olan canım hocam Doç. Dr. Sibel Süzen'in hakkını ödeyemem. O olmasaydı bu yüksek lisans sanırım yarıda kalırdı.

Tabi birde yüksek lisansı bırakmamam için bana sürekli baskı (!) yapan, vazgeçtiğim anlarda kolumdan sürükleyerek okula getiren, mesleğime olan aşkıma gördüğünde yıllardır özenle sakladığı, aransa da dünyanın en iyi laboratuvarlarında bile bulunamayacak güzellikteki geri soğutucusunu hiç düşünmeden bana hediye eden (04.05.06), bunaldığım anlarda beni bu şehirden kaçırarak nefes almamı ve yenilenmemi ve böylece de daha istekle yüksek lisansıma devam etmemi sağlayan, oburluğumdan bıkmayan, her zaman maddi ve manevi desteğini yanımda hissettiğim, bir araya gelince kimyanın, kimyacılığın, kozmetik dünyasının altını üstüne getirecek hayaller kurabildiğim yegane insan Kim. Müh. İlker Dursun. Sen olmasan 2006 daha 25 yaşında olmama(!) rağmen çok zor geçirdi.

Yüksek lisansım sırasında aynı evi paylaştığım, bu işin zorluklarını birlikte yaşayıp birlikte göğüs gerdiğimiz, dert ortağım, hastalandığımda bana ilaç alıp koşu koşu eve gelerek çorba yapan, o tez yazarken ben uyusam da bana kıyamayan, ailesinin yanına dönerek burada beni yalnız bıraktığı için hep yokluğunu hissettiğim, üniversite hayatımın yedi senesini birlikte geçirdiğim kardeşim Yük. Kim. Müh. Birgül Şentürk'ün de desteğini unutamam.

Pazar gününü evde uyuyarak geçirmek yerine okula gelip ben deney yaparken başımda bekleyen ve onun geldiği her zaman, hiç bilgisi olmadığı halde nasıl olduğunu anlamadığım bir şekilde sentezlediğim indol-3-karboksaldehiti saf olarak elde etmemi sağlayan Mehmet Karaodabaşı'na da ayrıca teşekkür ederim. Maddi manevi elinden gelenin en fazlasını vermeye uğraştığın ve bundan asla şikayet etmediğin için.

Ayrıca bana her zaman okulla ilgili olarak müsamaha gösteren, deneylerim yada seminerim olduğunda hep anlayışla karşılayarak izin veren, yüksek lisansıyla iş hayatımı birlikte götürebilmemi sağlayan Çağ Kozmetik San. Tic. Ltd, Şti. ve Derviş Deterjan Kimya San. Tic. Ltd Şti.'ne de anlayışları ve destekleri için teşekkür ederim.

Ve son olarak; bana her zaman güvenen, bu işin altından kalkabileceğimi bilen, her an maddi – manevi desteğini yanımda hissettiğim aileme, ama en önemlisi bana şu yada bu mesleği seç demeyerek kararı bana bırakan ve böylece hayallerimdeki şehirde hayallerimdeki bölümlerde okumamı sağlayan, bana hep inanan, ne iş yaparsam yapayım önemli olanın mutlu olmak ve mesleğini severek yapmak olduğunu gösteren, mesleğine aşık bir kimyager dünyaya getiren biricik **Anneme** sonsuz teşekkürlerimle...

## SİMGELER ve KISALTMALAR

3-OHM	Siklik 3-Hidroksimelatoninin
5BrI3KA	5-Bromoindol-3-karboksaldehit
5-HT	5 – Hidroksi triptamin
5-HTP	5 – Hidroksi triptofan
6-OHM	6–Hidroksimelatonin
A.Ü.E.M.L	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı
AAPH	2,2 <sup>2</sup> -Azo-Bis (2-Amidinopropan) Dihidroklorid
AFMK	N <sup>1</sup> -asetil-N <sup>2</sup> -formil-5-metoksikinuramin
CAT	Katalaz
DIM	6-metoksi-diindolilmetan
DMF	N,N-Dimetilformamid
DMPO	5,5-Dimetil pirolin N-Oksit
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH	1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
EDTA	Etilendiamin tetraasetikasit
EtOH	Etanol
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GSH	Glutasyon
GSSG	Glutasyon disülfid formu
HPLC	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
I3KA	İndol-3-karboksaldehit
IAA	İndol-3-asetik asit
Iald	İndol-3-aldehit
IBA	İndol-3-bütirik asit
Iet	İndol-3-etanol
IM	İndol-3-metanol
IPA	İndol-3-propiyonik asit
ITK	İnce Tabaka Kromatografisi

MAO	Monoaminoksidaz
MDA	Malondialdehit
mRNA	Mesajcı Ribo Nükleik Asit
NADPH	Nikotinamit Adenin Dinükleotid Fosfat
NaOH	Sodyum Hidroksit
NBT	Nitroblue tetrazolyum
NO <sub>2</sub> ·	Azotdioksit Radikali
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
ONOO·	Peroksinitrit Radikali
POCl <sub>3</sub>	Fosforoksiklorür
RAT	Reaktif Azot Türleri
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit dismutaz



## ŞEKİLLER DİZİNİ

**Şekil 1.** Melatonin salgılanmasından sorumlu pineal bezin beyindeki konumu .....19

## ŞEMALAR DİZİNİ

<b>Şema 1.</b> Serbest radikallerin oluşum nedenleri ve verdiği hasarlar .....	1
<b>Şema 2.</b> İç ve dış etkenlerin yarattığı oksidatif hasarın oluşumu .....	5
<b>Şema 3.</b> Antioksidan maddelerin gruplandırılması .....	14
<b>Şema 4.</b> Melatonin biyosentezi .....	19
<b>Şema 5.</b> Melatonin molekülü üzerinde gerçekleştirilen değişiklikler .....	45
<b>Şema 6.</b> İndol-3-karboksaldehit hidrazon türevlerinin sentezi .....	48

## TABLOLAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Başlıca reaktif oksijen ve nitrojen türleri .....	3
<b>Tablo 2.</b> Bazı kanser tiplerinde önemli rol oynayan ROT .....	10
<b>Tablo 3.</b> Serbest radikal hasarlarının etkili olduğu hastalıklar .....	11
<b>Tablo 4.</b> Yolak A ürünü bileşikler .....	49
<b>Tablo 5.</b> Yolak B ürünü bileşikler .....	49
<b>Tablo 6.</b> Yolak C ürünü bileşikler .....	49
<b>Tablo 7.</b> Sentezlenen maddelerin DPPH radikali yakalama etkileri <sup>a</sup> (IC <sub>50</sub> µM) .....	95
<b>Tablo 8.</b> Sentezlenen maddelerin DPPH radikali yakalama etkileri <sup>a</sup> (IC <sub>50</sub> mM) .....	96
<b>Tablo 9:</b> Sentezlenen maddelerin süperoksit anyon radikali yakalama etkileri <sup>a</sup> (IC <sub>50</sub> µM ) .....	98
<b>Tablo 10:</b> Sentezlenen maddelerin süperoksit anyon radikali yakalama etkileri <sup>a</sup> (IC <sub>50</sub> mM) .....	99

## FORMÜLLER DİZİNİ

<b>Formül 1.</b> N-Asetil serotonin .....	20
<b>Formül 2.</b> 6-Hidroksimelatonin .....	22
<b>Formül 3.</b> İndometazin (1), asemetazin (2) ve etodolak (3) .....	28
<b>Formül 4.</b> Stobadine türevi antioksidan bileşiklerin genel formülü (R:çeşitli alkil grupları) .....	29
<b>Formül 5.</b> TPBIA (1-p-toluensülfonil-6,7,8,9-tetrahidro-N,N-di-n-propil- 1H-benz [g] indol-7-amin) .....	30
<b>Formül 6.</b> GWC20 and DTBHB .....	30
<b>Formül 7.</b> Tetrahidronaftalen-indol türevi bileşiklerin genel formülü .....	31
<b>Formül 8.</b> İndol-lipoik asit türevi bileşikler .....	31
<b>Formül 9</b> İndol-benzimidazol türevi bileşiklerin genel formülü .....	32
<b>Formül 10.</b> Bisindolilmaleimid türevi bileşiklerin genel formülleri .....	33
<b>Formül 11.</b> N-H ve N-süstitüe indol-3-propanamid türevlerinin genel formülü ....	34
<b>Formül 12.</b> N-H ve N-süstitüe indol ester türevlerinin genel formülü .....	34
<b>Formül 13.</b> Triazol yapısı içeren indol türevi bileşiklerin genel formülü .....	35
<b>Formül 14.</b> 5-Metoksi ve açilamino grupları değiştirilen indol türevi bileşikler .....	35
<b>Formül 15.</b> 2-N-açilaminoetil türevi bileşikler .....	35
<b>Formül 16.</b> Triptamin ve N-alkil süstitüe melatonin analogları .....	36
<b>Formül 17.</b> 2-Fenil indol türevi bileşiklerin genel sentezleri .....	36
<b>Formül 18.</b> Zolpidem [N,N,6-trimetil-2-p-tolil-imidazo (1,2-a) piridin -3-asetamid L-(+)] .....	37
<b>Formül 19.</b> 2,3-Dihidromelatonin türevi bileşiklerin genel formülü .....	37
<b>Formül 20.</b> Fluvastatin (7-[3-(4-florofenil)-1-(1-metiletil)-1H-indol-2-il]-3,5- dihidroksi-hept-6-enoik asit) .....	38
<b>Formül 21.</b> İndolin-2-on ve indolin-2-tiyon türevi bileşiklerin genel formülü .....	38

**DENKLEMLER DİZİNİ**

<b>Denklem 1.</b> Melatoninin serbest radikalleri yakalama mekanizması .....	24
<b>Denklem 2.</b> Fischer indol sentezi .....	40
<b>Denklem 3.</b> Leimrruber-Batcho indol sentezi .....	40
<b>Denklem 4.</b> Vilsmeier-Haack formilasyonu .....	41

## SPEKTRUMLAR DİZİNİ

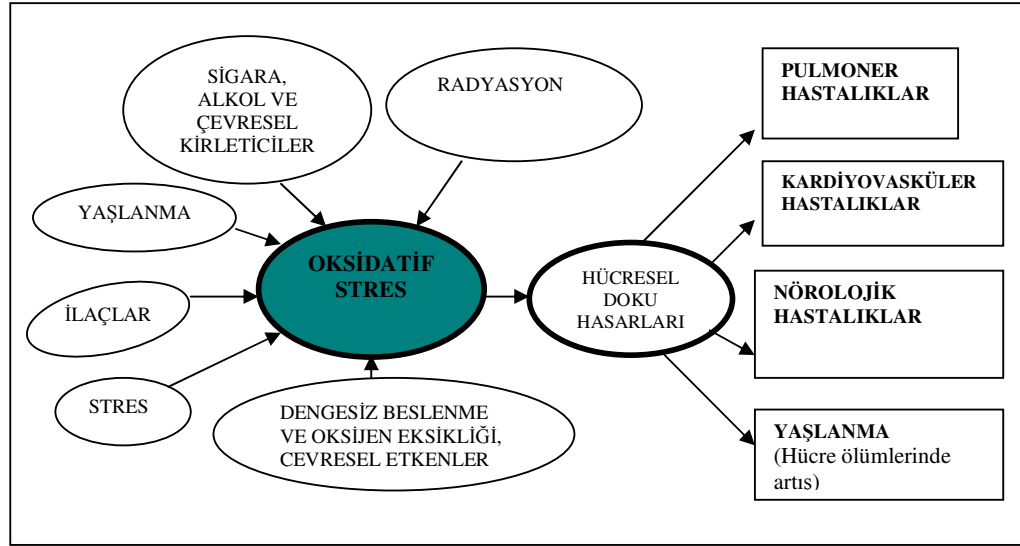
<b>Spektrum 1.</b> Bileşik <b>1a</b> 'nın kütle spektrumu .....	55
<b>Spektrum 2.</b> Bileşik <b>1a</b> 'nin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....	55
<b>Spektrum 3.</b> Bileşik <b>1a</b> 'nin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu .....	56
<b>Spektrum 4.</b> Bileşik <b>1b</b> 'nin kütle spektrumu .....	57
<b>Spektrum 5.</b> Bileşik <b>1b</b> 'nin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....	57
<b>Spektrum 6.</b> Bileşik <b>1b</b> 'nin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu .....	58
<b>Spektrum 7.</b> Bileşik <b>1c</b> 'nin kütle spektrumu .....	59
<b>Spektrum 8.</b> Bileşik <b>1c</b> 'nin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....	59
<b>Spektrum 9.</b> Bileşik <b>1c</b> 'nin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu .....	60
<b>Spektrum 10.</b> Bileşik <b>1c</b> 'nin IR spektrumu .....	60
<b>Spektrum 11.</b> Bileşik <b>1d</b> 'nin kütle spektrumu .....	61
<b>Spektrum 12.</b> Bileşik <b>1d</b> 'nin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....	62
<b>Spektrum 13.</b> Bileşik <b>1d</b> 'nin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu .....	62
<b>Spektrum 14.</b> Bileşik <b>1d</b> 'nin IR spektrumu .....	63
<b>Spektrum 15.</b> Bileşik <b>1e</b> 'nin kütle spektrumu .....	64
<b>Spektrum 16.</b> Bileşik <b>1e</b> 'nin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....	64
<b>Spektrum 17.</b> Bileşik <b>1e</b> 'nin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu .....	65
<b>Spektrum 18.</b> Bileşik <b>1e</b> 'nin IR spektrumu .....	65
<b>Spektrum 19.</b> Bileşik <b>1f</b> 'nin kütle spektrumu .....	66
<b>Spektrum 20.</b> Bileşik <b>1f</b> 'nin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....	67
<b>Spektrum 21.</b> Bileşik <b>1f</b> 'nin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu .....	67
<b>Spektrum 22.</b> Bileşik <b>1f</b> 'nin IR spektrumu .....	68
<b>Spektrum 23.</b> Bileşik <b>1g</b> 'nin kütle spektrumu .....	69
<b>Spektrum 24.</b> Bileşik <b>1g</b> 'nin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....	69
<b>Spektrum 25.</b> Bileşik <b>1g</b> 'nin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu .....	70
<b>Spektrum 26.</b> Bileşik <b>1g</b> 'nin IR spektrumu .....	70
<b>Spektrum 27.</b> Bileşik <b>1h</b> 'nin kütle spektrumu .....	71
<b>Spektrum 28.</b> Bileşik <b>1h</b> 'nin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....	72

<b>Spektrum 29.</b> Bileşik <b>1h</b> 'nin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu .....	72
<b>Spektrum 30.</b> Bileşik <b>1h</b> 'nin IR spektrumu .....	73
<b>Spektrum 31.</b> Bileşik <b>1i</b> 'nin kütle spektrumu .....	74
<b>Spektrum 32.</b> Bileşik <b>1i</b> 'nin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....	74
<b>Spektrum 33.</b> Bileşik <b>1i</b> 'nin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu .....	75
<b>Spektrum 34.</b> Bileşik <b>1i</b> 'nin IR spektrumu .....	75
<b>Spektrum 35.</b> Bileşik <b>1j</b> 'nin kütle spektrumu .....	76
<b>Spektrum 36.</b> Bileşik <b>1j</b> 'nin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....	77
<b>Spektrum 37.</b> Bileşik <b>1j</b> 'nin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu .....	77
<b>Spektrum 38.</b> Bileşik <b>1j</b> 'nin IR spektrumu .....	78
<b>Spektrum 39.</b> Bileşik <b>1k</b> 'nin kütle spektrumu .....	79
<b>Spektrum 40.</b> Bileşik <b>1k</b> 'nin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....	80
<b>Spektrum 41.</b> Bileşik <b>1k</b> 'nin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu .....	80
<b>Spektrum 42.</b> Bileşik <b>1l</b> 'nin kütle spektrumu .....	81
<b>Spektrum 43.</b> Bileşik <b>1l</b> 'nin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....	82
<b>Spektrum 44.</b> Bileşik <b>1l</b> 'nin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu .....	82
<b>Spektrum 45.</b> Bileşik <b>1m</b> 'nin kütle spektrumu .....	83
<b>Spektrum 46.</b> Bileşik <b>1m</b> 'nin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....	84
<b>Spektrum 47.</b> Bileşik <b>1m</b> 'nin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu .....	84
<b>Spektrum 48.</b> Bileşik <b>1m</b> 'nin IR spektrumu .....	85
<b>Spektrum 49.</b> Bileşik <b>1n</b> 'nin kütle spektrumu .....	86
<b>Spektrum 50.</b> Bileşik <b>1n</b> 'nin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....	86
<b>Spektrum 51.</b> Bileşik <b>1n</b> 'nin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu .....	87
<b>Spektrum 52.</b> Bileşik <b>1o</b> 'nin kütle spektrumu .....	88
<b>Spektrum 53.</b> Bileşik <b>1o</b> 'nin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....	89
<b>Spektrum 54.</b> Bileşik <b>1o</b> 'nin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu .....	89
<b>Spektrum 55.</b> Bileşik <b>1ö</b> 'nin kütle spektrumu .....	90
<b>Spektrum 56.</b> Bileşik <b>1ö</b> 'nin $^1\text{H}$ NMR spektrumu .....	91
<b>Spektrum 57.</b> Bileşik <b>1ö</b> 'nin $^{13}\text{C}$ NMR spektrumu .....	91
<b>Spektrum 58.</b> Bileşik <b>1ö</b> 'nin IR spektrumu .....	92

## 1.GİRİŞ

### 1.2. Serbest Radikaller ve Antioksidan Maddelerin Önemi

Günümüzde yapılan araştırmalar Alzheimer (Varadarajan ve ark., 2000), Parkinson (Kedar ve ark., 1999), Huntington (Schapira ve ark.,1999; Tabrizi SJ ve ark., 2000) gibi nörodejeneratif hastalıklar başta olmak üzere, arteroskleroz (Szasz ve ark., 2007), diyabet (Yim ve ark., 2007), romatoid arterit (Remans ve ark., 2005; Surapaneni ve ark., 2007), yaşlanmaya bağlı bazı hastalıklar (Miquel, 2002) otoimmün hastalıklar (Fernandez ve ark., 2006) ve çeşitli kanser türleri (Poeggeler ve ark., 1999; Valko ve ark., 2006) gibi bir çok önemli hastalığın oluşumunda serbest radikallerin büyük bir rolü olduğunu göstermektedir (Süzen 2006 ve 2007). (şema 1.)



**şema 1.** Serbest radikallerin oluşum nedenleri ve verdiği hasarlar

İnsan vücudunda doğal olarak bulunan birçok antioksidan madde ve antioksidan enzimler serbest radikallerin etkilerini büyük ölçüde önlese de sigara ve alkol kullanımı (Wu ve Cederbaum, 2003; Kumar ve Vasudevan, 2005), radyasyon (Wan ve ark., 2006; Öztürk ve ark., 2005), stres ve özellikle çevresel etkenlerin de



artmasıyla (Drew ve Leeuwenburgh, 2002; Kelly ve Sandstrom, 2004) vücudun korunma sistemi serbest radikallerin etkilerini yok etmede yetersiz kalmakta, organizmadaki antioksidan seviyesinde düşme meydana gelmekte ve bunun sonucu olarak da bir çok hastalık ortaya çıkmaktadır.

Vücudun antioksidan seviyesinin düşmesini önlemek ve/veya yeterli düzeyde tutmak için vücuda dışarıdan doğal antioksidan takviyesi almak, sağlıklı ve düzenli beslenmeye dikkat etmek, spor yapmak, temiz havalı yerleşim bölgelerinde yaşamak, havasız ortamlardan kaçınmak, sigara içmemek gibi doğal önlemler alınmalıdır.

Bunun yanı sıra metabolizmaya dışardan alınan doğal desteklerin yetersiz kaldığı da göz önüne alınarak son yıllarda sentetik antioksidan maddeler üzerine yapılan çalışmalar gittikçe artmakta ve daha etkili, doğal antioksidanlara en yakın özelliklere sahip, yan etkisi en az düzeye indirilmiş bileşiklerin sentezlenmesi amaçlanmaktadır (Süzen, 2006).

### **1.1.1. Serbest Radikallerin Tanımı ve Kimyasal Özellikleri**

Serbest radikaller; paylaşılmamış elektron çifti bulunduran, oksidatif strese neden olan, kimyasal reaksiyonlara karşı çok duyarlı, aktif kimyasal parçalardır. Organizmada oksidanlarla antioksidanlar arasında oluşan dengesizliğin oksidanlardan yana ağır basmasıyla lipid, protein, DNA gibi önemli yapı taşlarında hasarlar ve buna bağlı hastalıklar oluşmaktadır (Poeggeler ve ark., 1999).

Bu tanımdan da anlaşılacağı gibi serbest radikaller hücreyi hasara uğratar, kolaylıkla okside olarak hücrenin yapısını bozarlar. Orbitalerinde bulundurdukları paylaşılmamış elektron sayesinde kolaylıkla reaksiyon verebilirler ve bu yüzden de oldukça reaktiftirler. Tablo 1. de başlıca reaktif oksijen ve azot türleri görülmektedir.

Reaktif Oksijen Türleri (ROT)		Reaktif Azot Türleri (RAT)	
<i>Radikaler</i>	<i>Non-Radikaler</i>	<i>Radikaler</i>	<i>Non-Radikaler</i>
Hidroksil OH <sup>•</sup>	Peroksinitrit ONOO <sup>-</sup>	Nitröz oksit NO <sup>•</sup>	Peroksinitrit OONO <sup>-</sup>
Süperoksit O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>	Hipokloröz asit HOCl	Azot dioksit NO <sub>2</sub> <sup>•</sup>	Peroksinitröz asit ONOOH
Nitrik oksit NO <sup>•</sup>	Hidrojen peroksit H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		Nitroksil NO <sup>-</sup>
Peroksil RO <sub>2</sub> <sup>•</sup>	Singlet oksijen <sup>-1</sup> O <sub>2</sub>		Nitril klorür NO <sub>2</sub> Cl
Lipid peroksil LOO <sup>•</sup>	Ozon O <sub>3</sub>		Nitrotil katyonu NO <sup>+</sup>
Alkoksil RO <sup>•</sup>	Lipid peroksit LOOH		Dinitrojen trioksit N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
Hidroperoksil OOH <sup>•</sup>			Nitröz asit HNO <sub>2</sub>

**Tablo 1.** Başlıca Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri.

İçinde yaşadığımız çevrede çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle sürekli olarak serbest radikallere maruz kalırız. Hücresel fonksiyonların gerçekleşmesi sırasında da ciddi miktarda ve çeşitlilikte radikal üretilmektedir. Bu radikaller genel olarak üç temel mekanizma ile oluşur;

**a) Kovalent Bağların Homolitik Kırılması:**

Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalır ve bu tür kırılmalar homolitik kırılma olarak adlandırılır.

**b) Normal Bir Molekülün Elektron Kaybetmesi:**

Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kalıyorsa radikal formu oluşur. Örneğin askorbik asit, glutatyon ve tokoferoller gibi hücresele antioksidanlar, radikal türlere tek elektron verip radikalleri indirgerken, kendilerinin radikal formu oluşur.

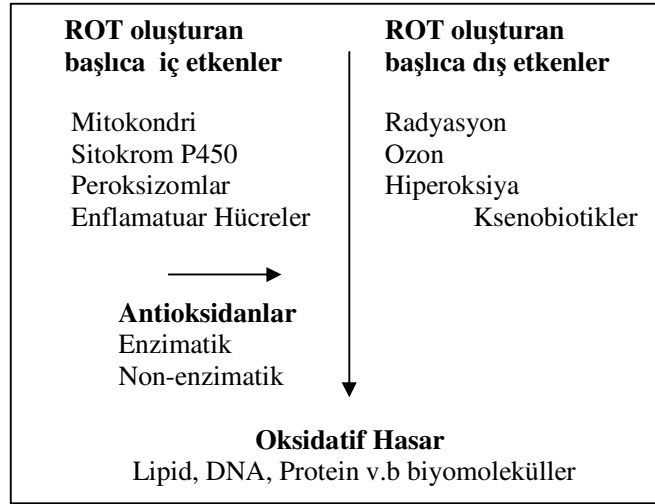
**c) Normal Bir Moleküle Elektron Transferi:**

Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi sonucu, dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa bu tür indirgenme, radikal oluşumuna neden olabilir. Örneğin moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan süperoksidin oluşumuna neden olur. Süperoksit radikalinin yapımındaki artış da, oksijenin diğer radikal türlerinin oluşumu için tetik fonksiyonu görür.

Vücudumuzda meydana gelen bir çok reaksiyonda oksijenin rolü büyüktür. Bu yüzden oksijen radikallerinin oluşumu da kaçınılmazdır. Bu radikallerin bir bölümünün oluşumu bazı biyokimyasal tepkimeler için gereklidir. Oksijen radikallerinin ihtiyacın üzerinde üretilmesiyle birlikte çeşitli sorunlar başlar. Oksidatif stres olarak adlandırılan oksijen radikallerinin gereğinden fazlasının üretimi sonucu oluşan hücresele hasarlara bölüm 1.1.4 de ayrıca değinilmektedir.

**1.1.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)**

Reaktif Oksijen Türleri (ROT); oksijen taşıyan reaktif parçacıklardır ve organizmada bir çok fizyolojik olayda rol oynarlar. Ancak bu parçacıkların çoğu radikal halde olduğu için, gereğinden fazla bulunması, DNA başta olmak üzere organizma için önemli bir çok biyomolekülün hasar görerek yıkımına yol açar (Şema 2.)



**Şema 2.** İç ve dış etkenlerin yarattığı oksidatif hasarın oluşumu

Normal fizyolojik şartlar altında ROT'nin üretimi ve yıkımı denge halindedir (Huang ve ark. 2005). Ancak herhangi bir iç ya da dış faktör bu dengeyi bozabilir. Ayrıca bu denge ilerleyen yaşla birlikte doğal olarak olumsuz yöne doğru kaymaktadır. Dengenin bozulmasıyla olumsuz yönde artan oksidatif stres, bir çok hastalığa sebebiyet verebilir.

Canlılarda oluştuğu belirlenen ilk radikal; süperoksit anyon radikalidir (Cathcart, 2004). Bu radikalın oluşumu dört farklı mekanizma ile gerçekleşebilir:

1.) İndirgeyici özellikteki biyomoleküller, oksijene tek elektron verip kendileri oksitlenirken süperoksit radikali oluşur. Hidrokinonlar, flavonlar, tiyoller, kateşolaminler, ferrodoksinler, indirgenmiş nükleotidler gibi çok sayıda biyolojik molekül aerobik ortamda oksitlenirken süperoksit yapımına neden olurlar.

2.) Başta çeşitli dehidrogenazlar ve oksidazlar olmak üzere, bir çok enzimin katalitik etkisi sırasında süperoksit radikali bir ürün olarak oluşabilir.

3.) Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin % 1-5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanır. Buradaki radikal oluşumu NADH-dehidrogenaz ve koenzim-Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene elektron verilmesi ile olur.

4.) Aktive edilen fagositik lökositler bol miktarda süperoksit üreterek fagozom içine ve buldukları ortama verirler. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatır. Yani radikal yapımı bazı hücrel fonksiyonlar için gerekli de olabilir.

Hücrel koşullarda üretilen süperoksit, oksitleyici veya indirgeyici olarak davranabilir. Aldığı elektronu metal iyonuna, sitokrom c'ye veya bir radikale verirse tekrar oksijene oksitlenir. Oksijenden daha oksitleyici olan süperoksit bir elektron daha alırsa peroksi anyonuna indirgenir. Bu tepkime biyolojik moleküllerin oksidasyonuna neden olduğundan tercih edilmez. Aerobik canlılarda süperoksitlerin hidrojen peroksite çevrilmesi katalitik aktivitesi çok yüksek bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) tarafından katalizlenir. SOD tarafından katalizlenen bu tepkime “dismutasyon tepkimesi” olarak adlandırılır. Süperoksit, özellikle hafif asidik koşullarda SOD olmadan kendiliğinden dismutasyonla da hidrojen peroksite çevrilebilir. SOD enziminin yüksek katalitik etkisi nedeniyle hücrelerde süperoksit birikimine izin verilmez.

Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi ya da süperoksitlerin enzimatik ve non-enzimatik dismutasyonu tepkimeleri sonucu oluşur. Yapısında paylaşılmamış elektron içermediğinden radikal özelliği taşımaz (Subhashinee ve ark., 2005). Hidrojen peroksit tek başına serbest radikal olmamasına rağmen yüksek konsantrasyonlarda toksik olabilir ve daha da önemlisi hidroksil radikali üretebilir ki bu da oksijen yapısındaki radikallerin en toksik olanıdır ve hücrelerde ve makromoleküllerde hasara yol açar. Hidrojen peroksit hücrel membranlardan hızla difüze olarak geniş alanlara yayılabilir. Hidroksil radikali hücreler için tek yıkıcı tür olmamakla birlikte kimyasal yapısı sayesinde kendisine komşu molekülleri kolaylıkla okside edebilir. Ayrıca aktivitesi de yüksek olduğundan herhangi bir molekülle hızla reaksiyon vererek mitokondrial DNA, membran lipidleri ve karbonhidratlara da zarar verir.

Hidrojen peroksidin oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin nedeni, demir, bakır gibi metal iyonlarının varlığında hidroksil radikalinin öncülü olarak davranmasıdır. Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturur. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir. Oksitleyici özelliği nedeniyle, biyolojik sistemlerde oluşan hidrojen peroksidin derhal ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Bu görevi hücrelerdeki önemli antioksidan enzimler olan katalaz ve peroksidaz enzimleri yerine getirir.

Biyolojik ve kimyasal sistemlerde üretilen hidroksil radikali ( $\cdot\text{OH}$ ) canlılarda iyonlaştırıcı radyasyonun etkisi ile sulu ortamda su moleküllerinin iyonlaşması ile meydana gelir. Bu tepkimeler çok kısa sürede gerçekleşir ve üretilen  $\cdot\text{OH}$ , radyasyonun canlılardaki toksik etkisinden sorumlu başlıca kimyasal türdür (Biaglow ve ark., 1997).

Hidroksil radikalinin bir diğer oluşum şekli ise hidrojen peroksidin eksik indirgenmesi ile oluşur. Hidrojen peroksidin iki elektron ile indirgenmesi ile su oluşurken, tek elektron ile indirgenmesi  $\cdot\text{OH}$  yapımına neden olur. Bu tür indirgenme demir, bakır gibi metal iyonları tarafından katalizlenir. Askorbik asit, süperoksit gibi indirgeyici bileşiklerin de bulunduğu ortamda oksitlenen metal iyonu, tekrar indirgenmediğinden hidrojen peroksitten  $\cdot\text{OH}$  yapımı sürekli bir duruma gelir. Haber-Weiss tepkimesi ya da Fenton tepkimesi (Hong ve ark., 2007) olarak adlandırılan bu tepkime ile  $\cdot\text{OH}$ , vücutta üretilen  $\text{H}_2\text{O}_2$  derişimi ve serbest metal iyonunun varlığına bağlı olarak oluşur. Süperoksit hem  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'in öncülü hem de metalleri indirgeyici bir tür olduğundan ve proteinlere bağlı metallerin indirgenip serbest kalmasına da neden olabildiğinden, biyolojik koşullarda süperoksit oluşumunun arttığı ortamda  $\cdot\text{OH}$  üretimi kaçınılmazdır. Fenton tepkimesini katalizleyen en aktif metal iyonları demir ve bakırdır.

Biyolojik sistemler için en reaktif tür olan  $\cdot\text{OH}$ , su dahil tüm ortamlarda rastladığı her biyomolekülle tepkimeye girer. Hidroksil radikalının tepkimeleri başlıca:

- a) Elektron transfer tepkimeleri
- b) Hidrojen çıkarma tepkimeleri
- c) Katılma tepkimeleri olarak sınıflanabilir

Bütün bu tepkimeler,  $\cdot\text{OH}$  radikalının paylaşılmamış elektron içeren dış orbitaline elektron alma ilgisinden kaynaklanır. Katılma tepkimeleri, özellikle elektronca zengin moleküllerle (pürin ve primidin bazları, aromatik amino asitler gibi) gerçekleşir. Hidroksil radikalının organik moleküllerden hidrojen atomu alarak suya indirgendiği tepkime, hidrojen çıkarma tepkimesi olarak bilinir. Hidroksil radikali ile oluşan en iyi tanımlanmış biyolojik hasar, lipid peroksidasyonu olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur. Her tür biyolojik molekül  $\cdot\text{OH}$  in bir hedefi ise de özellikle elektronca zengin bileşiklerdir. Bu bileşikler başlıca nükleik asitler, proteinler ve lipidlerdir.

### 1.1.3. Reaktif Azot Türleri (RAT)

Reaktif azot türlerinin başlıcaları; nitrik oksit radikali ( $\text{NO}\cdot$ ), peroksinitrit radikali ( $\text{ONOO}\cdot$ ) ve azot dioksit radikalidir ( $\text{NO}_2\cdot$ ). Süperoksit radikalının beyindeki nöronal ve endotelial nitrik oksit sentaz (NOS) aracılığı ile sürekli oluşan ve bir gaz radikal olan nitrik oksit ile girdiği reaksiyon sonucu peroksinitrit oluşur (Beckman ve ark., 1990; Hue ve Padmaja, 1993; Chan, 1996). Fizyolojik pH da  $\text{ONOO}\cdot$  derhal  $\cdot\text{OH}$  ve azot dioksit ( $\text{NO}_2$ ) parçalanır.

Çok güçlü bir prooksidan olan  $\text{ONOO}\cdot$ , SOD ile reaksiyona girerek güçlü bir nitratlayıcı ajan oluşturur. Sonuçta hücrel proteinlerin tirozin kalıntılarının nitratlanması hücrel disfonksiyon ve ölüme yol açabilir (Beckman ve ark., 1993; Patel ve ark., 1999).  $\text{ONOO}\cdot$  in iskemik beyin hasarındaki rolü son yıllarda

araştırılmaya başlanmıştır. Diğer yandan NO<sup>•</sup> in hem serebral vazodilatatör rolü, hem de nöronal hasar yapıcı serbest radikal özelliği nedeniyle, iskemik nöron hasarındaki yeri konusunda çelişkili görüşler bulunmaktadır ( Tominaga ve ark., 1993). NO<sup>•</sup> in nöronal koruyucu şeklinde mi yoksa N-metil-D-aspartat reseptör aktivasyonu ardından hasar verici mediatör olarak mı rol oynayacağını radikal in redoks durumu tarafından belirleneceği öne sürülmektedir. Nitrik oksit ve yan ürünleri nitrit, nitrat, peroksinitrit ve 3-nitrotirosin yapılarının vazodilatasyon, immün cevap geliştirme ve hücreler arası iletişimde rolü olduğu bulunmuştur (Drew ve Leeuwenburgh, 2002). Hücrelerde nitrik oksit sentetaz enzimleri ile nitrik oksit oluşur. Oluşan nitrik oksit diğer formlarına dönüşebilir. Bu formlar da hücrede oksidatif hasarlara yol açabilirler.

#### **1.1.4. Oksidatif Stres ve Serbest Radikallerin Neden Olduğu Hastalıklar**

Oksidatif stres; süperoksit anyon radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türleri tarafından başlatılır. Her iki reaktif oksijen türü de güçlü oksidanlardır, ancak dokularda oluşan zararlı reaksiyonlar sonucunda daha da tehlikeli oksidanlar haline dönüşebilmektedirler (Jain 2006).

Süperoksit anyon radikali; değişik hücre türleri tarafından, solunum zinciri, ksantin oksidaz, siklo-oksijenaz ve NADPH-oksidad gibi enzimatik sistemler üzerinden moleküler oksijenden üretilebilir. Hidrojen peroksit ise süperoksit dismutasyonunun bir ürünü olarak meydana gelir. Ayrıca mono amin oksidaz gibi bazı enzimler substratlarından doğrudan hidrojen peroksit üretebilirler. Fenton ve Haber – Weiss reaksiyonlarında; demir gibi geçiş metalleriyle katalizlenen reaksiyon sırasında miyeloperoksidazın hidrojen peroksitten hipokloröz asit üretmesi sonucunda hidrojen peroksidin oldukça kuvvetli hidroksil radikale dönüştüğü görülür. Bu radikaller; lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi hassas hücreleri hedef alarak bu hücrelerin inhibisyonuna neden olur ve degradasyonunu hızlandırır. Böylelikle oksidatif stres gittikçe artan hücreler arası hasarlara yol açar.



Oksidatif stresin; neden olduğu sonuçlara bakılarak, bir çok hastalığın gelişimine moleküler anlamda temel oluşturduğu görülmektedir (Waris ve Ahsan 2006). Buna göre metabolizmada üretilen radikallerin fazlasının oluşmaması için çok erken safhalarda indirgenmesi biyomoleküllerin korunması bakımından hayati öneme sahiptir. Radikaller tepkimelerin sonlanması için ise ya oluşan radikallerin antioksidanlar ile indirgenmesi, ya radikallerin birbirleri ile tepkimeleri ya da ortamda tepkimeye girebilecek bileşik kalmaması gerekmektedir. Çeşitli kanser tiplerinin oluşumunda etkili olan oksidatif stres ve ROT çeşitleri Tablo 2. de, serbest radikallerin bazı hastalıkların oluşumundaki rolü de Tablo 3. de görülmektedir.

Oksidatif Stres Etkenleri	Serbest Radikal Tipi	Oluşan Kanser Türü
Sigara tüketimi	NO-x, $\cdot$ OH	Bronşiyal Karsinoma
Ultraviyole Işınları	$\cdot$ OH, Organik Radikaller	Melanoma ve diğer cilt kanseri türleri
Yiyeceklerdeki Yağ Asitleri	Lipid Peroksitler	Göğüs ve kolon kanseri
Demir ve Bakır İyonları	$\cdot$ OH	Kolon kanseri
Etanol	Lipid Peroksitler	Göğüs kanseri, hepato hücresel karsinoma

**Tablo 2.** Bazı Kanser Tiplerinde Önemli Rol Oynayan ROT

HASTALIK	SERBEST RADİKALLERİN PATOFİZYOLOJİK ROLÜ
Arteroskleroz (Szasz ve ark., 2007)	Endotelial disfonksiyon, makrofajların aktivasyonu
Miyokardiyal Enfaktüs (Weinbrenner ve ark., 2003)	İskemik reperfüzyon hasarı sonucunda miyosit nekroz ve/veya apoptozis
Hiper Tansiyon (Anees ve ark., 2007)	Vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonu, NADP/NADPH oksidaz üzerinden oksidan üretimi ve endotelial disfonksiyon
Diyabet (Yim ve ark., 2007)	ROT'nin oluşumunu hızlandırdığı, süperoksidin neden olduğu endotelial disfonksiyon
Yaşlanma (Miquel, 2002)	Hücre hasarları ve metabolik abnormaliteler
Kanser tipleri (Poeggeler ve ark., 1999; Valko ve ark. 2006)	Gen mutasyonu ve hücrel faaliyetlerin ileri derecede bozulması
Parkinson (Kedar ve ark., 1999)	Mitokondriyal disfonksiyon
Alzheimer (Varadarajan ve ark., 2000; Zhu ve ark., 2000)	Amiloid peptid ürünleri oluşumu, beyin hücrelerinde oluşan nörotoksisite
Huntington (Schapira, 1999; Tabrizi ve ark., 2000)	Mitokondriyal zayıflık
Otoimmün Bozukluklar (Fernandez ve ark., 2006)	Enflamasyon ve doku yıkımları
Yaşa Bağlı Dejenerasyon (Milante ve Lombardini, 2004)	Fotokimyasal reaksiyonlar
Akut solun yetersizliği, enflamasyon ve hiperoksiya (Remans ve ark., 2005; Geronikaki ve ark. 2006; Surapaneni ve ark., 2007)	Enflamasyon ve endotelial disfonksiyon

**Tablo 3.** Serbest radikal hasarlarının etkili olduğu hastalıklar

## 1.2. Antioksidan Maddeler

İnsan antioksidan savunma sistemi; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimatik; ürat, askorbat, glutatyon ve flavonoidler gibi hidrofilik; tokoferoller, karotenoidler ve ubikinol gibi lipofilik yakalayıcılarla donatılmıştır. Bu savunma sistemi ayrıca glutatyon redüktaz ve dehidroaskorbat redüktaz gibi moleküler antioksidanların okside olmuş biçimlerini azaltan enzimler de içermektedir. Bu yakalayıcıların dışında, glukoz-6-fosfat dehidrojenazın NADPH'ın rejenerasyonunu gerçekleştirmesi gibi hücrel savunma sistemleri de mevcuttur. Bunlardan bazıları hücrenin kendisi tarafından sentezlenirken askorbik asit, lipoik asit, polifenoller ve karotenoidler gibi büyük bir kısmı ise beslenme yoluyla alınan besinlerden sentezlenir. Hastalık durumunda vücudun ROT'ne karşı koruma sistemi zayıflar ya da hasar görür ve böylece vücuttaki oksidan seviyesinde artış gözlenir. Bu durumlar karşısında dışarıdan alınacak antioksidanlar, oksidatif stresin yol açabileceği hasarları önleme açısından hayati önem taşırlar.

Kan-beyin bariyerlerine nüfuz eden antioksidan maddelerin gerekliliği bir çok önemli nörodejeneratif hastalıkta ortaya çıkmaktadır. Bu durumda yapılması gereken; vücutta uygun şekilde dağıtılabilen, etkisi yüksek ve hastalıklara spesifik etkili, düşük yan etkilere sahip yeni antioksidan maddelerin sentezlenmesidir.

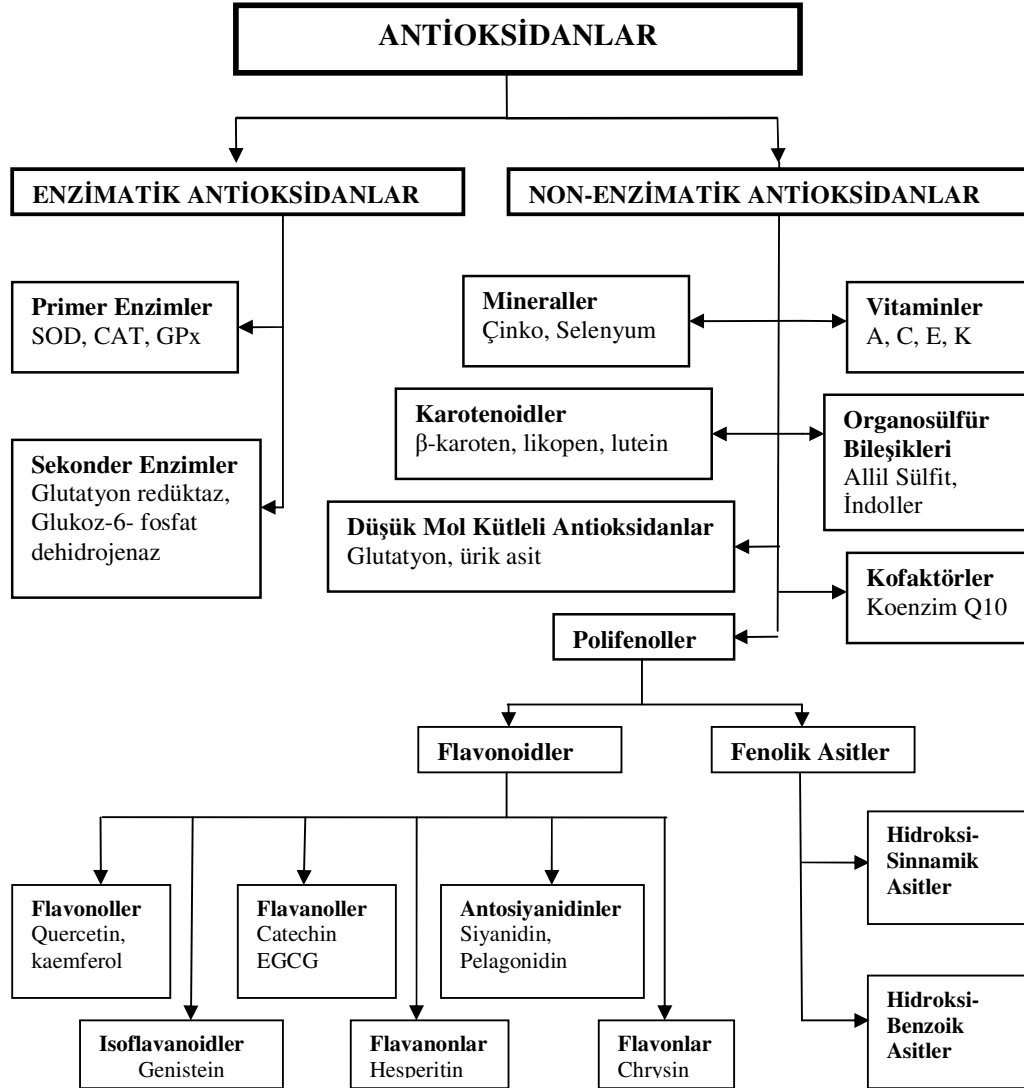
### 1.2.3. Antioksidan Maddelerin Tanımı ve Biyolojik Önemi

Antioksidanlar; serbest radikallerin oluşumunu yok eden ya da azaltan ve zararlı etkilerini yok etmeye çalışarak oluşabilecek biyolojik hasarları önlemeye çalışan bileşiklerdir. Bu bileşikler; oksidanların biyolojik hedeflerle reaksiyona girmesini, radikal zincir reaksiyonları oluşturmalarını ya da oksijenin oldukça reaktif ürünlere dönüşmesini önleyerek serbest radikallerin vereceği hasarı en aza indirmeye çalışırlar (Azzi ve ark., 2004; Bagchi ve Puri, 1998).

Anaerob canlılar hariç oksijen, tüm sistemler için yaşamsal öneme sahiptir. Bu yüzden de aerobik sistemlerde ROT; anahtar rolü oynar ve biyomoleküllerin fonksiyonlarını değiştiren oksidatif hasarlar meydana getirebilir. Oksidatif hasarlar vücudumuzdaki antioksidanların oksidanlarla dengesizliğine ya da yetersizliğine bağlı olduğu gibi atmosferimizde bulunan oksijen seviyesiyle de alakalıdır (Benzi, 2003). Vücudumuz gerekli antioksidan maddeleri kendisi sentezlediği gibi dışardan beslenme yoluyla da alabilir. Burada önemli olan oksidan/antioksidan seviyesinin vücudun yaşamsal fonksiyonlarını düzgün bir şekilde yerine getirecek oranda olmasıdır.

### **1.2.2. Antioksidan Maddelerin Sınıflandırılması**

Doğal antioksidanlar; temel olarak enzimatik antioksidanlar ve non-enzimatik antioksidanlar olarak iki ana grupta toplanmaktadırlar. Bunların dışında sentetik olarak üretilen antioksidanlarda mevcuttur. Enzimler, düşük mol kütleli moleküller ve enzim kofaktörleri vücutta üretilmektedirler yani enzimatik antioksidanlardır. Non-enzimatik antioksidanlar ise vücuda beslenme yoluyla alınmaktadır. Beslenme yoluyla alınan antioksidan maddelerin başında polifenoller gelir. Bunun dışında vitaminler, karotenoidler, organosülfürlü bileşikler ve mineraller de diğer non-enzimatik antioksidan madde sınıflarını oluşturmaktadır. (Şema 3.)



Şema 3. Antioksidan maddelerin gruplandırılması

### 1.2.2.1. Enzimatik Antioksidan Maddeler

Enzimatik antioksidan maddeler; başlıca süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutasyon peroksidaz (GPx) enzimlerini içerir. SOD ve CAT gibi antioksidan enzimler vücutta tükenmezler ve ROT ile reaksiyona girecek yüksek ilgiye sahiptirler. Bu yüzden de enzimlerin oksidatif hasarlara karşı daha etkili bir koruma

sağladıkları düşünülmektedir (Christofidou ve ark., 2006). SOD ve CAT doğada da bilinen en etkili antioksidan maddelerin başında gelmektedir. İnsan vücudunda üç çeşit SOD vardır. Bunlar; CuZn-SOD, mitokondriyal Mn-SOD, ve ekstrasellüler SOD. CAT da eritrositlerden akciğerlere kadar canlı hücrelerinde bolca bulunur. SOD doğada yaygın olarak ökaryotik ve prokaryotik organizmalarda da bulunur ve oksijen ve hidrojen peroksitten süperoksit dismutasyonu ile katalizlenir (McCord, 1986). CAT ise hücreleri hidrojen peroksitin moleküler oksijen ve suya parçalanmasıyla oluşan serbest radikallerin etkilerinden korur. Buna ek olarak CAT peroksidatif reaksiyonların oluşturduğu alkoller, formaldehit, formik asit ve fenoller gibi toksik bileşiklerin etkilerini azaltmada da rol oynar. Bu serbest radikal yakalayıcı enzimler bir çok doku, organ ve hücre yapısında bulunmaktadır. Mitokondri en önemli enzimatik antioksidan üretici olmakla birlikte reaktif oksijen türlerinin de en başta gelen hedefidir. Mitokondride aşırı ROT ve serbest radikal birikimi sonucunda Mn-SOD miktarı yükselmektedir. Bu da mitokondrinin kendini serbest radikallerin etkilerinden korumak için Mn-SOD' yi kendi ürettiği bir savunma sistemi olarak kullandığını göstermektedir. Yaşlanma ya da mitokondrial hastalıkların neden olduğu oksidatif stresin üstesinden gelmek için Mn-SOD üretimiyle eş zamanlı olarak CAT ve/veya GPx'in de hidrojen peroksit birikimini önlemek için üretilmesi gerekmektedir. ROT mitokondride birikerek mitokondriyal geçirgenliği azaltır ve mitokondriyal membranların potansiyelini düşürür. Bu da hücrelerde apoptosis ve nekroz oluşumuna neden olur.

Yapılan çalışmalar SOD ve CAT'ın yetersiz dağılımı ve elverişsiz farmakokinetik oluşumlar sonucu etkilerini gösteremediği durumlarda hastalıkların ortaya çıktığını kanıtlamaktadır. Örneğin; CAT tümör hücrelerinin metastazında hidrojen peroksit seviyesini düşürecek şekilde hücrelere ulaşmalıdır. Ancak bu şekilde hücre metastazını önleyebilir veya azaltabilir (Nishikawa, 2005).

Oksidatif hücresel metabolizmalarda üretilen fazla miktarda hidrojen peroksitin neden olduğu süperoksit anyon radikali ROT'nin verdiği hasarların başında gelir. Süperoksit; süperoksit dismutaz tarafından hidrojen peroksit ve oksijene parçalanır.

### 1.2.2.2. Non-Enzimatik Antioksidan Maddeler

İnsanların beslenme şekilleri ve alışkanlıkları yıllardan beri sürekli değişmektedir. Bu gelişim süreci geçmişten bugüne kadar dışarıdan beslenme yoluyla antioksidan maddeler aldığımızı kanıtlamaktadır. Yüzyıllardan beri teşvik edilen organize tarım bizleri antioksidanlarca zengin beslenme şekline yoksun bırakmaya başlamıştır. İnsanların antioksidan savunma sistemi dışardan non-enzimatik antioksidanlar almadıkları sürece zayıf düşmektedir.

Askorbik asit biyolojik sıvılarda çözünebilen önemli bir antioksidandır. İnsan metabolizması askorbik asidi endojen olarak sentezleyememektedir. Ancak metabolizmamız askorbik aside büyük ihtiyaç duymaktadır. Askorbik asit ancak besinler yoluyla vücuda alınabilmektedir. Askorbik asit dışında; E vitamini, koenzim Q10, karotenoidler ve polifenoller gibi dışarıdan besin yoluyla vücuda alınan antioksidanlar da insan sağlığı için önem taşımaktadırlar. Gen mutasyonu ile oluşan kanser türlerinin bir çoğunun hayat şartlarının ve beslenme şeklinin değişime uğramasıyla ortaya çıktığı tahmin edilmektedir.

Non-enzimatik antioksidanların gerekliliği ve önemi her ne kadar biliniyor olsa da bu antioksidanların koruyucu ve/veya terapötik ajan olarak etkileri fizikokimyasal ve biyofarmasötik özelliklerinden kaynaklanan bazı problemler içermektedir. Bazı vitaminleri de içeren bir çok antioksidan madde düşük çözünürlükleri, düşük geçirgenlikleri, stabiliteleri ve/veya sistemik sirkülasyona karışan ilaç biyotransformasyonları yüzünden düşük oral biyoyararlanıma sahiplerdir. Bu nedenle bir çok durumda vücuda dışardan antioksidan takviyesi gerekmektedir.

### 1.2.2.3. Sentetik Antioksidan Maddeler

Vücudumuzun ürettiği doğal antioksidanlar ve besinler yoluyla alınan antioksidanlar bazen yeterli gelmemekte ve bunun sonucunda da çeşitli hastalıklar ortaya çıkabilmektedir. Antioksidanların yetersizliğinin temel nedenleri; çevresel etmenler, yetersiz ve dengesiz beslenme, kötü ve sağlıksız yaşam koşulları, vücut direncinin başka hastalıklar yüzünden zayıflaması, genetik hastalıklar gibi kişinin içinde bulunduğu ortama, yaşam şekline ve bünyesine bağlı olarak gelişen oksidan/antioksidan dengesinin bozulmasıdır. Bununla birlikte yaşlanmayla ortaya çıkan doğal bir dengesizlik de antioksidan ihtiyacını doğurmaktadır. Bütün bu nedenler ve ihtiyaçlar göz önüne alındığında sentetik antioksidanlara duyulan ihtiyaç ortaya çıkmaktadır. Günümüzde bu konuda bir çok çalışma yapılmakta ve gerek antioksidan eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkan hastalıkları önlemede gerekse bu nedenle oluşan hastalıkları tedavi etmede bir çok sentetik antioksidan madde sentezlenmeye çalışılmakta ve gün geçtikçe yan etkisi daha az, birden çok hastalığa etki edebilecek, doğala en yakın bileşikler sentezlenmektedir.

Doğada bulunan besinler içerisindeki antioksidan maddelere baktığımızda indol türevi bileşiklerin önemli bir yere sahip olduğunu görmekteyiz. Örneğin; brokoli, kabak ve karnabahar içerisinde bulunan indol-3-karbinol oldukça yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir ve yapılan araştırmalar sonucunda bu maddenin özellikle göğüs ve prostat kanserini önlediği belirlenmiştir (Süzen ve Büyükbingöl, 2000). Bölüm 1.3 de anlatılacak olan ve vücudumuzda doğal olarak sentezlenen melatonin de yapısında indol halkasına sahip bir hormondur. Yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir.

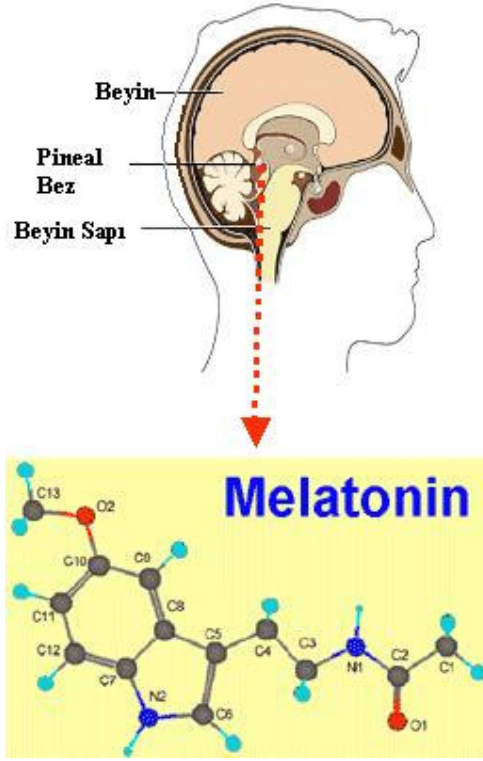


### 1.3. Melatonin

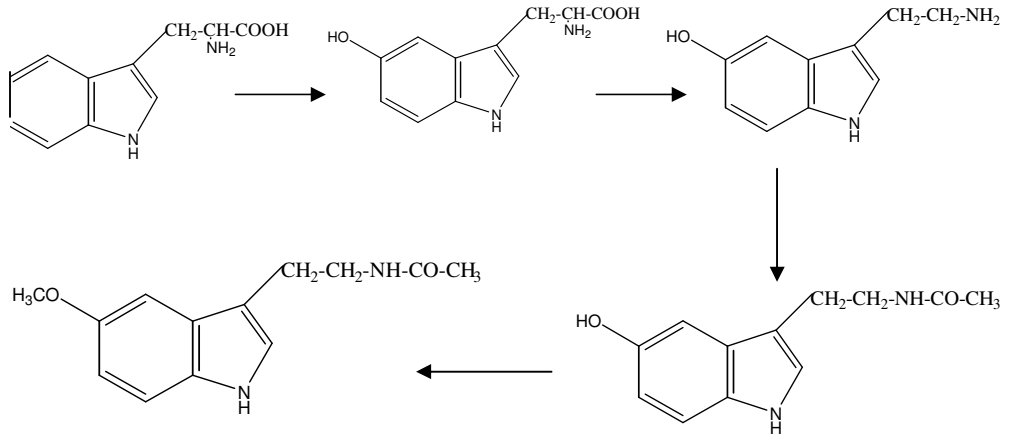
#### 1.3.1. Melatoninin Kimyasal Yapısı ve Antioksidan Özellikleri

Melatonin (N-metoksitriptamin); beyinde bulunan pineal salgı bezinden salgılanan bir hormondur (Şekil 1.). Karanlıkla birlikte pineal salgı bezinin uyarılmasıyla salgılanmaya başlar ve bu yüzden de geceleri maksimum konsantrasyona ulaşır (Reiter, 1991; Mor ve ark., 2004). Melatonin başta uykunun düzenlenmesi (Haimov ve ark., 1995) olmak üzere bir çok fizyolojik olayda rol alır. Kardiovasküler sistemde (Arangio ve ark., 1999), sindirim sisteminde (Motilva ve ark., 2001) ve özellikle de vücudun biyolojik ritminin (Martin ve ark., 2002; Reiter, 1980) düzenlenmesinde yer alan önemli bir hormondur. Ayrıca beyin hücrelerinin yenilenmesinde ve korunmasında etkili bir antioksidandır (Lezoualch ve ark., 1996). Melatonin ayrıca hücreleri oksidatif strese koruyan, serbest radikal yakalama aktivitesi yüksek bir moleküldür (Maharaj ve ark., 2002). Pineal bezler dışında retinada ve gastrointestinal bölge gibi vücudun çeşitli kısımlarında üretilir.

Melatonin biyosentezi beyindeki pineal bezde triptofandan başlar. Triptofan, triptofan-5-hidroksilaz enzimi tarafından 5-hidroksitriptofana (5-HTP), 5-HTP ise aromatik aminoasit-dekarboksilaz ile serotonine, serotonin arilalkilamin-N-tranferaz ile N-asetilserotonine ve N-asetilserotonin ise hidroksiindol-O-metiltransferaz enzimi ile melatonine dönüştürülür (Şema 4.).



**Şekil 1.** Melatonin salgılanmasından sorumlu pineal bezin beyindeki konumu.

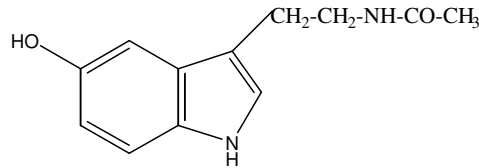


**Şema 4.** Melatonin biyosentezi

Triptofandan melatonin sentez yolağında yer alan tüm bileşiklerin belli düzeylerde antioksidan aktiviteleri vardır. 5-HTP'nin melatonin ve C vitaminiyle karşılaştırıldığında en etkili radikal yakalayıcı olduğu belirlenmiştir. Ayrıca melatoninin de serotoninden daha potansiyel hidroksil radikal yakalayıcı olduğu bilinmektedir. 5-hidroksitriptamin (5-HT, serotonin) ksantinoksidaz sistemi ile okside olarak triptamin-4,5-dion yapısını verir. Triptamin-4,5-dion ve benzeri intranöronal metabolitler nörodejeneratif beyin hastalıklarının başlıca nedenidir (Wrona ve Dryhurst, 1998).

N-Asetil-serotonin, melatoninin pineal bezlerden salgılanması sırasındaki sentez basamaklarından birinde yer alır ve melatonin gibi antioksidan etkiye sahiptir. Ayrıca N-asetil-serotoninin lipid peroksidasyonunu azaltıcı ve serbest radikal yakalayıcı özellikleri öne çıkmaktadır. N-asetil-serotonin ve melatonin askorbat\_ $Fe^{++}$  iyonları üzerindeki koruyucu etkisi in vitro deneylerle test edildiğinde (Gavazza ve Catala, 2004) N-asetil-serotoninin melatonininden 20 kat daha fazla etkili olduğu gözlenmiştir.

Melatonin ve N-asetil-serotonin gibi triptofan türevleri serbest radikal yakalama aktivitesine sahiplerdir. Deneysel çalışmalar melatoninin öncelikli olarak hidroksil radikaline daha sonra ise peroksinitrit anyonuna ve süperoksit anyonuna karşı etkili olduğunu göstermiştir (Allegra ve ark., 2003). N-Asetil-serotonin (Formül 1.); oksidatif strese karşı biyolojik membranları stabilize etme kabiliyetindedir (Garcia ve ark., 2001).



**Formül 1.** N-Asetil serotonin

Melatoninin suda ve yağda çözünürlüğü oldukça yüksek olduğundan bütün hücre zarlarından kolayca geçerek hücrelere ve hücre organellerine hızla ulaşır (Reiter ve ark., 1998). Bu özelliği lipidlerin, proteinlerin ve DNA'nın korunmasında oldukça etkilidir.

Yapılan çalışmalar melatoninin hidroksil radikalini, süperoksit anyon radikalini, peroksil radikalini, peronitril anyonunu, singlet oksijeni, hidrojen peroksiti, nitrik oksiti ve hipokloröz asiti nötralize edebildiğini göstermektedir (Gupta ve ark., 2003). Ayrıca peroksil ve hidroksil radikali yakalayıcı olarak da E vitamininden daha etkilidir (Antunes ve ark., 1999).

In vivo çalışmalarda melatoninin, glutasyon peroksidaz, glutasyon redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidatif enzimlerin aktivitelerini arttırdığı, nitrit oksit sentetazın aktivitesini ise azalttığı bulunmuştur (Reiter ve ark., 2000; Tan ve ark., 2003). Ayrıca Alzheimer's hastalığının seyrinde oluşan nöronal kayıpların oksidatif strese bağlı olabileceği düşünülmektedir (Oliveri ve ark., 2000; Smith ve ark., 2000 ). Melatonin oksidatif hasara karşı nöroprotektif etkilere sahiptir. Yapılan çalışmalar bu düşüncüyü doğrulamaktadır. Fareler üzerinde yapılan denemelerde melatoninin beyin hücrelerini nörodejeneratif etkilerden koruduğu saptanmıştır.

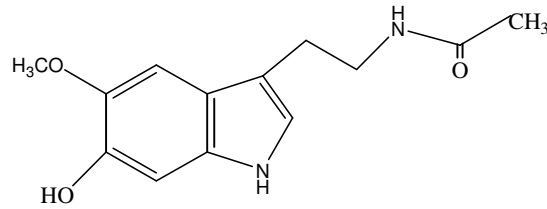
Melatonin DNA moleküllerini, proteinleri ve biyolojik membran lipidlerini serbest radikallerin zararlı etkilerinden korur (Reiter ve ark., 1998). Melatoninin oldukça kolay difüze olabilmesi serbest radikal yakalama kapasitesini arttıran bir etkidir. Çünkü moleküler yapısı, tüm hücre organellerine ulaşmaya müsaittir ve DNA'yı koruyan hücre çekirdeğine bile etki edebilir. *In vivo* ve *in vitro* deneylerle melatonin ve benzeri indolaminlerin DNA ve hücresel membranları karsinojenlerin meydana getirdiği oksidatif hasardan koruduğu da belirlenmiştir. Bu çalışmalar melatoninin makromolekülleri oksidatif hasardan ve kanserden korumada ve bu hasarları azaltmada oldukça etkili olduğunu da göstermiştir (Reiter, 1997). Hücresel hasarlara karşı melatonin ve diğer antioksidanların sahip olduğu bu koruma etkisi, karsinojenler yüzünden kanser riskinin arttığı durumlarda, indol türevi bu bileşikleri

potansiyel terapötik ajan durumuna getirmektedir (Karbownik, 2002; Tarzia ve ark., 2004).

Diğer indol türevleri (Jovanovich, 1992) gibi melatonin de elektronca zengin bir halka sistemine sahiptir. Bu özelliğinden dolayı indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonlarını kolaylıkla verebilir (Süzen ve ark., 2001 ve 2003) ve elektron donörü olarak davranabilir (Paez ve ark., 1998; Zoulis ve ark., 1990).

Kütle spektroskopisi ve  $^1\text{H}$  NMR analizleriyle siklik 3-hidroksimelatoninin, (3-OHM) melatoninin metaboliti olduğu belirlenmiştir (Tan ve ark., 1998). Bu metabolite insan ve sıçan idrarında rastlanmıştır. Metabolizma reaksiyonları sırasında melatoninin 2 OH $\cdot$  yakalaması sonucu 3-OHM oluşmaktadır. Bu sonuçlar *in vitro* ortamda üretilen OH $\cdot$  ile 3-OHM üretimi doğru orantılıdır. Melatonin gerçekte tüm hayvan türlerinde var olduğundan 3-OHM'nin idrarda bulunması şaşırtıcı bir sonuç değildir. Bu yüzden 3-OHM, insan ve hayvan türlerinde OH $\cdot$  radikalini *in vivo* olarak görüntülemeyi sağlayan önemli bir göstergedir.

6-hidroksimelatonin (6-OHM) (Formül 2.) ve N-asetil-N-formil-5-metoksikinurenamin, melatoninin vücuttaki enzimatik metabolitlerindendir. Özellikle 6-OHM'nin oksidatif strese karşı ideal bir nöroprotektif olduğu düşünülmektedir.



**Formül 2.** 6-Hidroksimelatonin

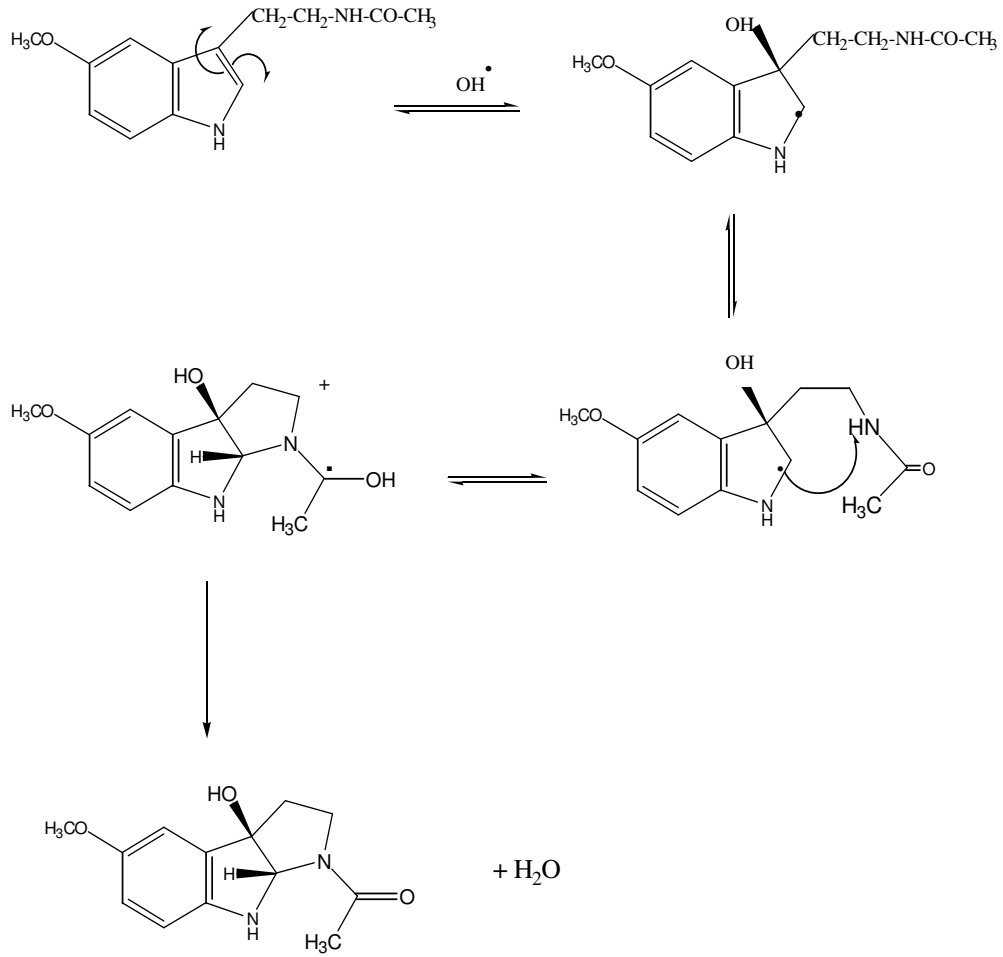
6-OHM'nin serbest radikal yakalama aktivitesi beyin hücrelerinde *in vitro* (Maharaj ve ark., 2003) olarak test edilmiş ve lipid peroksidasyonunu azalttığı,

süperoksit anyon oluşumunu yavaşlattığı ve potansiyel bir nöroprotektan olduğu sonucuna varılmıştır.

Melatonin canlılarda hızla ana metaboliti olan 6-OHM'ye dönüşür. Bu ana metabolit hidroksil yakalama yeteneğine sahiptir (Matuszak ve ark., 1997). 6-OHM'nin kimyasal yapısı melatoninden sadece 6. karbon üzerinde fazladan bir hidroksil grup içermesiyle farklılaşmakta olmasına rağmen antioksidan etkisi melatoninden daha güçlüdür.

Pineal bir hormon olan melatonin,  $Fe^{+3}$  iyonlarını da içeren bir dizi metal iyonuna bağlanabilir. (Limson ve ark., 1998). 6-OHM'nin demire bağlanabilirliği denenmiş ve melatoninden daha güçlü serbest radikal yakalayıcı olduğu görülmüştür (Maharaj ve ark., 2003).

Melatoninin radikal yakalama kapasitesi bilinmekle beraber, serbest radikallere ne şekilde etki ettiğinin mekanizması henüz tam olarak açıklanamamaktadır (Allegra ve ark., 2003). Melatoninin serbest radikallerle ve reaktif türlerle ne şekilde etkileştiğini gösteren mekanizma (Denklem 1) Tan ve arkadaşları tarafından açıklanmıştır (Tan ve ark., 1998; Süzen, 2007; Bozkaya ve ark., 2006).



**Denklem 1.** Melatoninin serbest radikalleri yakalama mekanizması (Tan ve ark., 1998)

Yapı-aktivite ilişkilerini belirleyen analiz sonuçları değerlendirildiğinde, melatonin molekülünün serbest radikal reaksiyonlarına karşı bariyer oluşturan indol halkasının; yüksek rezonans stabilitesine ve düşük aktivasyon enerjisine rağmen oksidanlar etkileştiğinde reaktif merkez olarak görev yaptığı belirlenmiştir. Sahip olduğu metoksi ve amid grupları melatoninin antioksidan kapasitesine katkıda bulunmaktadır. Ayrıca N-C=O yapısındaki karbonil grubu melatoninin ikincil reaktif türler yakalamasında anahtar rolü oynamaktadır (Tan ve ark., 2002).

### 1.3.2. Melatoninin Serbest Radikallerle Etkileşimi

Melatonin direkt (süperoksit anyon radikali)  $O_2^-$  yakalayıcı olarak düşük yeteneğe sahip görünmektedir. Melatonin prekürsörü serotoninin  $O_2^-$  üzerinde melatoninde gözlenmeyen bazı reaktiviteleri görülmüştür. Ancak melatoninin  $O_2^-$  nin dismutasyonunda önemli rol oynayan enzim familyası olan SOD için mRNA'yı arttırdığını ileri sürülmektedir (Kotler ve ark., 1998; Saran ve ark., 1990).

$H_2O_2$  nin toksisitesi  $O_2^-$  nin ki ile benzerdir.  $H_2O_2$ , Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları sonucu  $OH^-$  radikaline dönüşmektedir. Melatoninin  $H_2O_2$  üzerinde direkt reaktivitesinin olmadığı preoksidaz-gayakol yöntemi ile saptanmıştır. Enzimler  $H_2O_2$  yi  $OH^-$  radikaline redükleyerek non toksik ürünler oluşturarak hücrelerin yaşamasını sağlarlar (Barlow-Walden ve ark., 1995).

Tan ve arkadaşları (1993) melatoninin  $OH^-$  radikalinin yakalayıcı özelliğini ilk saptayan araştırmacılar.  $H_2O_2$  yi ultraviyole ışıklarına (254 nm) maruz bırakarak  $OH^-$  radikalini üretmişler ve melatoninin spin trapping ajan olan 5,5-dimetil pirolin N-oksit (DMPO) ile çok toksik olan  $OH^-$  radikalini nötralize etmek için yarıştırmışlardır.

Matuszak ve arkadaşları (1997) başka bir sistem kullanarak Fenton reaksiyonu ile  $OH^-$  radikalini oluşturmuşlar ve indol aminlerin çok etkili  $OH^-$  yakalayıcısı olduğunu tespit etmişlerdir. Yapı aktivite çalışmaları ile melatoninin yan zincirinde asetil grubu ve indol çekirdeğinin beşinci konumunda metoksil grubu olduğunda melatonin  $OH^-$  yakalayıcı aktivitesinin arttığı gözlenmiştir. Susa ve arkadaşları (1997)  $OH^-$  ın sebep olduğu DNA hasarlarının melatonin varlığında azaldığını rapor etmişlerdir. Sonuçlara göre melatonin etkili bir serbest radikal yakalayıcıdır ve bu radikal DNA üzerinde yaptığı tipik hasarları azaltmaktadır. Bu nedenle melatonin, sitotoksite, lipid peroksidasyon ve DNA zincir kırılmalarına karşı etkili bir koruyucudur.  $OH^-$  radikalinin detoksifikasyonunda melatonin elektron



donörü olarak rol oynamaktadır. Bunu yaparken oluşan yapı, indolil katyon ya da melatonil radikal olarak adlandırılır.

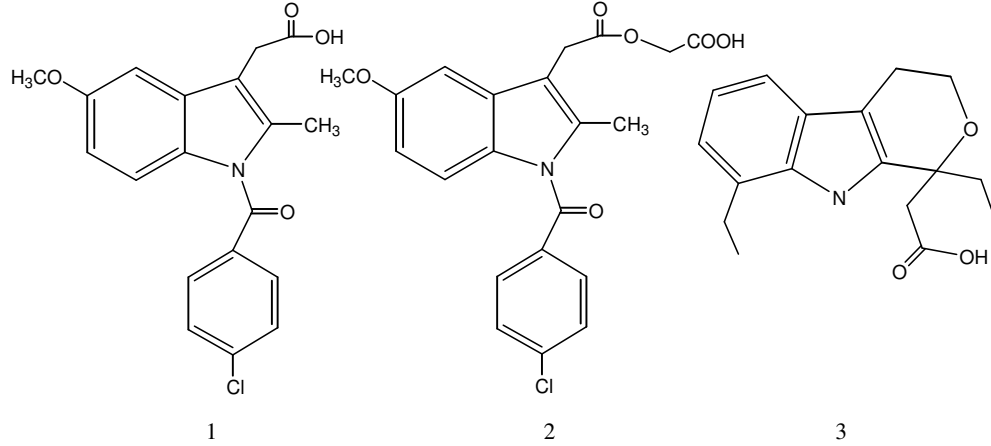
Melatonin singlet oksijen (Cagnoli ve ark., 1995) ve peroksil radikali üzerine de yakalayıcı olarak etki gösterir.  $LOO^-$  oldukça yıkıcı bir radikaldir. Bu sadece reaktivitesinden değil aynı zamanda lipid oksidasyonunu başlatması ve arttırmasından kaynaklanmaktadır. Lipid peroksidasyonu özellikle santral sinir sisteminde hasarlara neden olmaktadır. Melatoninin  $LOO^-$  yu detoksifiye etme yeteneği ilk olarak Pierri ve arkadaşları tarafından (1995) ortaya atılmıştır. Melatonin, E Vitamini, C Vitamini, GSH ve mannitolü karşılaştırdıklarında, Melatonin > E Vitamini > C Vitamini > GSH > mannitol şeklinde bir sıralama bulunmuştur. Scaiano'ya göre de (1995) melatonin serbest radikalleri yakalama açısından E vitamini kadar etkilidir. Sonuç olarak melatoninin bir lipid peroksidasyon inhibitörü olduğu herkesçe kabul edilen bir olgudur.

Nitrik Oksit ( $NO^-$ ), nöronlarda önemli bir ikinci mesajcıdır.  $O_2^-$  ile etkileşimi sonucu Peroksi Nitrit Anyonu ( $ONOO^-$ ) nu oluşturmaktadır. Bu durumda bu işlemlerde görev alan nitrik oksit sentetaz (NOS) bir prooksidatif enzim olarak sınıflandırılmaktadır. Son yıllarda melatoninin fizyolojik konsantrasyonlarının hipotalamik NOS aktivitesini inhibe ettiği rapor edilmiştir. Bu çalışmalar NOS'in melatonin ile inhibisyonunun doza bağımlı olduğunu göstermiştir. NOS kalmodulin tarafından aktive edilen bir enzimdir. Melatonin kalmoduline bağlanarak NOS'in aktivitesini baskılamaktadır. Böylece  $NO^-$  sentezi azalmakta ve  $ONOO^-$  oluşumu baskılanmaktadır. (Szabo, 1996). Ayrıca Cuzzocrea ve arkadaşları da (1998) çeşitli şekillerde melatoninin NOS aktivitesini inhibe ettiği ve  $ONOO^-$  ve  $OH^-$  radikali için yakalayıcı olduğunu tespit etmişlerdir.

### 1.3.3. Melatonin Analöü Sentetik Antioksidan Bileşikler

#### 1.3.3.1. Antioksidan Etki Gösteren Non-SteroidaI Anti-enflamatuvar İndol Türevi Bileşikler

Siklooksigenaz (COX), araşidonik asitten prostanoidlerin sentezi sırasında rol oynayan bir enzimdir. Siklooksigenaz-1 ve 2 olmak üzere iki izoformu vardır. Bir indol türevi olan indometazin siklooksigenaz-1 ve 2 yi inhibe eder (Niwa ve ark., 2001). Ayrıca serbest radikal oluşumunu önlediği saptanmıştır (Torres ve ark., 2004). Siklooksigenaz-2 inhibisyonu enflamasyonun önlenmesinde kritik bir rol oynarken bu inhibisyon nörodejeneratif hastalıklar ve bazı kanser tiplerinin önlenmesi ile de ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle ROT lerine karşı anti-enflamatuvar bileşiklerin kullanılması terapötik bir değer ifade etmektedir. Organizmada siklooksigenaz aktivitesinin uyarılması sonucunda biyolojik sıvılarda peroksit radikallerinin oluştuğu saptanmıştır. Bununla beraber enflamasyon sırasında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluştuğu belirlenmiştir. Tüm bu bulgular nonsteroidal anti-enflamatuvar ilaçların serbest radikalleri yakalama kapasitesi olabileceğini göstermiştir. Elektron spin rezonans çalışmaları ile etodolak (1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano-[3,4-b]indol-1-asetik asit) ve indometazin (2-[1-(4-klorobenzoil)-5-metoksi-2-metil-indol-3-yl]asetik asit) (Formül 3) yapılarının direk süperoksit yakalama aktivitesi olduğu belirlenmiştir (Ikeda ve ark., 2001). Başka bir çalışmada indometazin, asemetazin (1-[p-klorobenzoil]-5-metoksi-2-metilindol-3-asetik asit karboksimetil ester) ve etodolakin anti-enflamatuvar etkilerinin bir ölçüde de ROT ve RAT yakalama kapasitesine bağlı olduğu belirlenmiştir (Mouithys-Mickalad ve ark., 2000; Dannhardt ve ark., 2001).



**Formül 3.** İndometazin (1), asemetazin (2) ve etodolak (3)

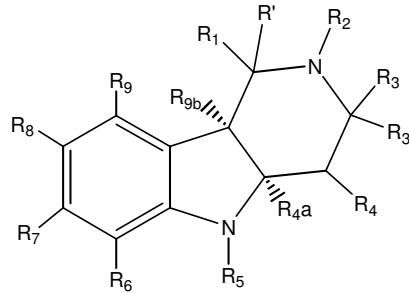
Non-steroidal anti-enflamatuvar bileşiklerin  $H_2O_2$  yakalama kapasitelerini araştırmak için yapılan başka bir çalışmada indol türevi (indometazin, asemetazin, etodolak), pirol türevi (tolmetin, ketorolak), oksazol türevi (oksaprozin), indene türevi (sulindak) ve metabolitleri (sulindak sülfid ve sulindak sülfon) kullanılmıştır (Costa ve ark., 2005). Sonuçlar endojen antioksidanlar melatonin ve GSH ile karşılaştırıldığında, antioksidan aktivite sırasının sulindak sülfon>sulindak sülfid>GSH>sulindak>indometazin>asemetazin>etodolak>oksaprozin>ketorolak>melatonin>tolmetin şeklinde olduğu görülmüştür. Bu sonuç da anti-enflamatuvar aktivitenin ROT ve RAT yakalama kapasitesi aracılığı ile olduğunu gösteren diğer bir bulgudur (Mouithys-Mickalad ve ark., 2000; Fernandes ve ark., 2004).

### 1.3.3.2. İndole Yapılı Halka Sistemi İçeren Antioksidan Bileşikler

İndol halkası taşıdığı terapötik değer nedeniyle medisinal kimya için önemli kondanse halkalardan biridir (Borza ve ark., 2005). İndol azotu süstitütle olsun ya da olmasın, halkanın 3. konumu her zaman reaksiyonlara açık bir durumdadır. Bu konumun bir elektrofil ile süstitüsyonu benzenin aromatisasyonunu bozmadan stabil bir ara ürün oluşmasını sağlar. İndol halkası iki totomerik formda bulunur. Bunlar daha stabil olan enamin ve 3*H*-indol ya da imin formlarıdır. İndol

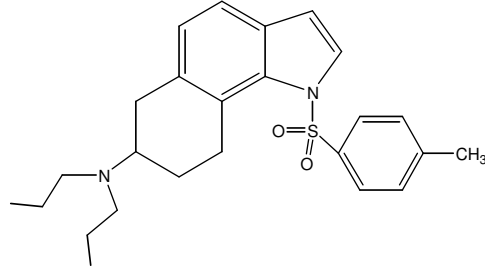
halkasındaki 2. ve 3. karbonlar arasında yer alan pi bağı sikloadisyon reaksiyonlarına imkan sağlar. İnamoleküler sikloadisyonlar, intermoleküler olanlara karşı daha kolay oluşur. İndol halkasının bu özelliklerinden faydalanılarak sentezlenen bir çok bileşikte antioksidan aktivite gözlenmiştir.

Stobadin ((-)-*cis*-2,8-dimetil-2,3,4,4a,5,9b-hekzahidro-1H-pirido[4,3-b]indol) (Formül 4.) piridoindol yapısı taşıyan kardiyoprotektif ve antioksidan özellikde bir bileşiktir (Majekova ve ark., 2006). Stobadin yapısı esas alınarak yüksek antioksidan etkili, serbest radikal yakalayıcı ve nöroprotektif etkili türevler geliştirilmiştir (Stolc ve ark., 2006).



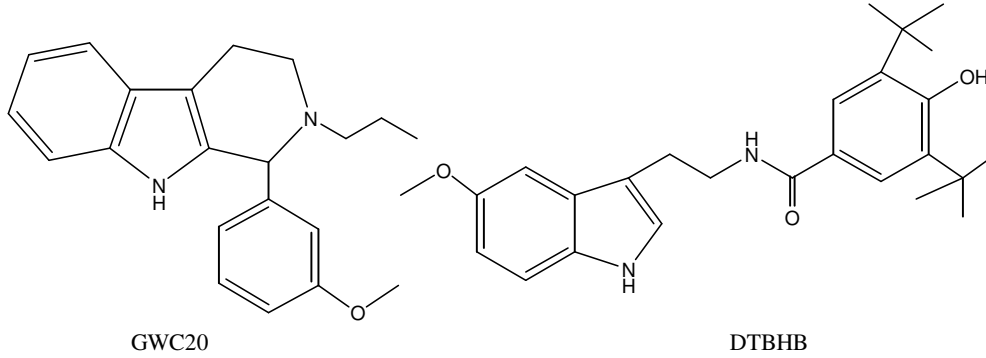
**Formül 4.** Stobadin türevi antioksidan bileşiklerin genel formülü (R: çeşitli alkil grupları)

TPBIA (1-p-Toluensülfonil-6,7,8,9-tetrahidro-N,N-di-n-propil-1H-benz [g]indol-7-amin) (Formül 5.) dopamin reseptörleri ile etkileşerek antioksidan aktivite göstermektedir (Demopoulos ve ark., 1995). TPBIA bileşiğinin lipofil özellikde olması kan-beyin engelini geçmesini sağlar ve böylece nöroprotektif etki gösterebilir (Zika ve ark., 2004).



**Formül 5.** TPBIA (1-p-toluensulfonil-6,7,8,9-tetrahidro-N,N-di-n-propil-1H-benz [g]indol-7-amin)

Ayrıca DTBHB (N-[2-(5-metoksi-1H-indol-3-il)etil]-3,5-di-ter-butil-4-hidroksibenzamid) ve GWC20 [(R,S)-1-(3-metoksifenil)-2-propil-1,2,3,4-tetrahidro-β-karbolin] (Formül 6.) melatoninden daha etkili antioksidan bileşikler olduğu saptanmıştır (Gozzo ve ark., 1999).

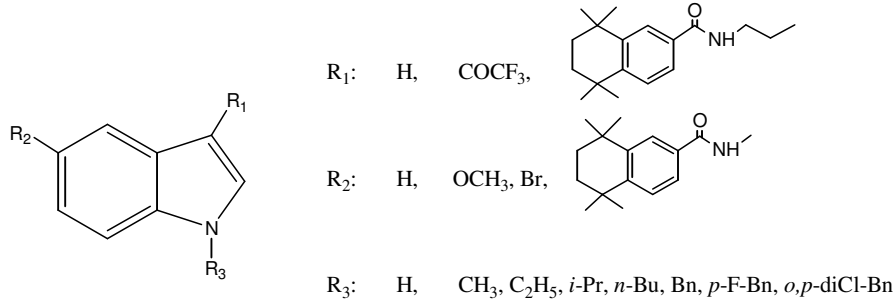


**Formül 6.** GWC20 ve DTBHB

### 1.3.3.3. Bilinen Antioksidan Moleküllerle Kondanse İndol Türevi Bileşikler

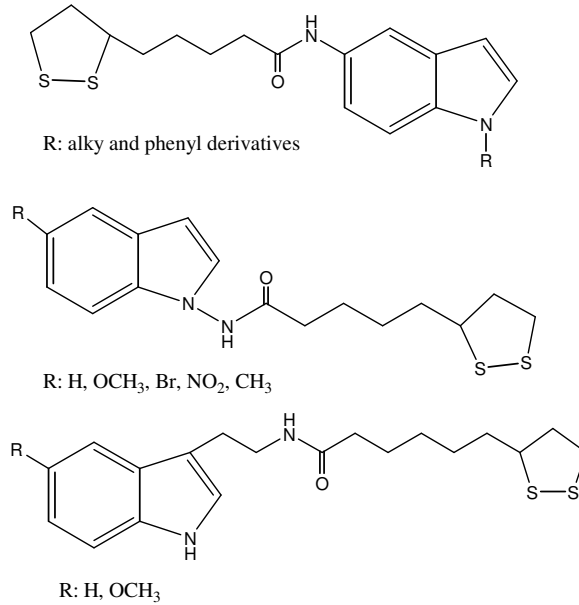
Antioksidan bileşikler değişik kimyasal yapıya sahiptirler. Bilinen doğal yada sentetik antioksidan bileşiklerle kondanse edilen indol yada melatonin halkası, antioksidan aktivitede artış sağlamaktadır.

Retinoid türevi bileşikler antioksidan aktiviteye sahip önemli bir sınıfı oluşturur. Bir seri retinoid-melatonin türevi bileşik tetrahidrotetrametilnaftalen karboksilik asitten hareketle sentezlenmiş (Formül 7.) ve etkili lipid peroksidasyon inhibe edici etkide oldukları bulunmuştur (Ateş-Alagöz ve ark., 2006).



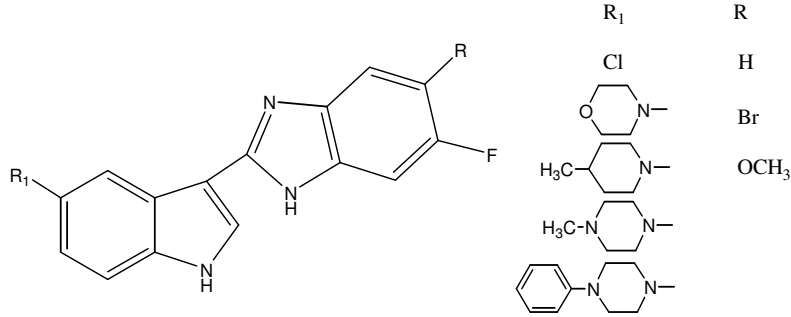
**Formül 7.** Tetrahidronaftalen-indol türevi bileşiklerin genel formülü

Ayrıca indol ve lipoik asit türevi bileşikler (Formül 8.) ile yapılan çalışmalarda da önemli antioksidan aktivite belirlenmiştir (Gürkan ve ark., 2005). Bazı türevler lipoik asitten daha etkili antioksidan aktivite göstermiştir.



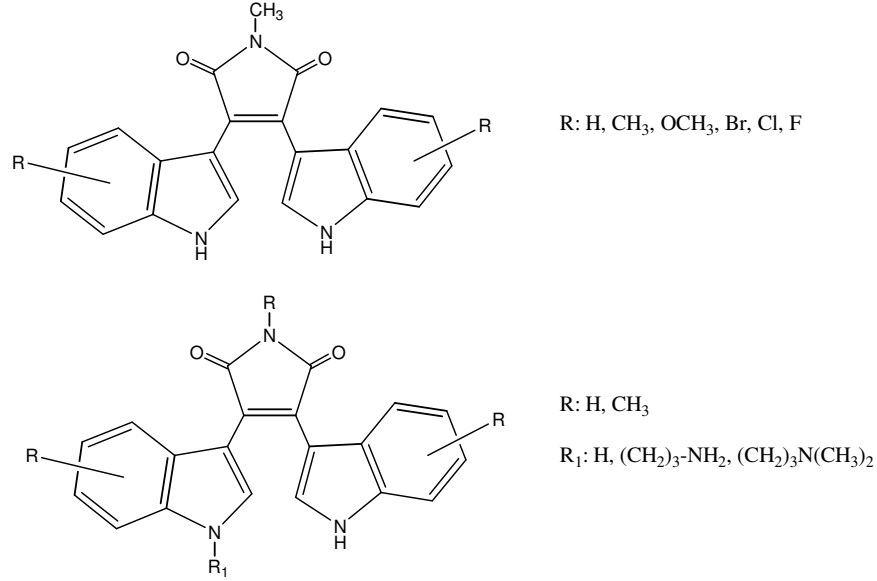
**Formül 8.** İndol-lipoik asit türevi bileşikler

Benzimidazol ve indol halkalarının kondanse formları da antioksidan aktivite gösteren bileşikler sınıfındadır. 6-Floro-5-süstitüe-benzimidazol türevlerinin indol ve 1,1,4,4-tetrametil-1,2,3,4-tetrahidro-naftalen grupları ile birleştirildiği bileşikler çok etkili süperoksit anyon yakalayıcısı olarak bulunmuştur (Formül 9.). İndol halkasının 5. konumunda p-fenil piperazin bulunan türevlerde en yüksek aktivite gözlenmiştir (Ateş-Alagöz ve ark., 2005).



**Formül 9.** İndol-benzimidazol türevi bileşiklerin genel formülü

Bisindolilmaleimid türevi bileşiklerin (Formül 10.) oksidatif strese bağlı hücre ölümlerini önlediği belirlenmiştir (Asakai ve ark., 2002; Katoh ve ark., 2005). Yapı aktivite ilişkileri bisindolilmaleimidlerdeki indol halkasının ko-planar olması aktivite için önemli olduğunu göstermiştir. İndolilmaleimid analogları ile yapılan çalışmalarda 2-(1*H*-İndol-3-il)-3-pentilamino-maleimid yapısının en etkili antioksidan türev olduğu görülmüştür (Dado ve ark., 2005).



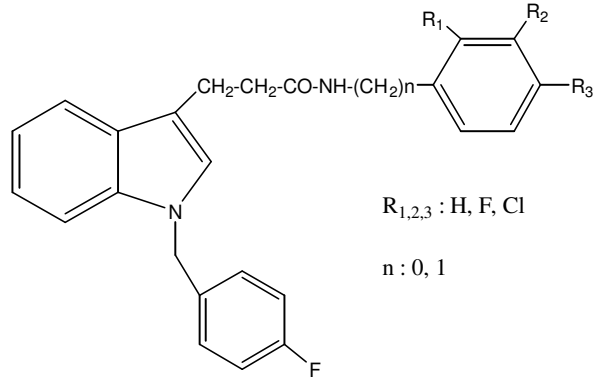
**Formül 10.** Bisindolilmaleimid türevi bileşiklerin genel formülleri

#### 1.3.3.4. Alkil ve/veya Aril Substitüe İndol Türevi Bileşikler

İndol türevi bileşiklerin antioksidan aktiviteleri taranırken indole-3-propiyonik asitin (IPA) oksidatif stresi engellediği bulunmuştur (Morita ve ark., 1992; Karbownik ve ark., 2005). IPA endojen elektron donörü gibi davranarak ROT detoksifikasyonunu sağlar. IPA ayrıca güçlü bir hidroksil yakalayıcı ve oldukça bilinen bir antioksidan olan glutasyon (Hardeland ve ark., 1999) gibi davranmaktadır. Melatoninin ortamda bulunmadığı durumlarda IPA güçlü bir oksidandır (Chyan ve ark., 1999; Poeggeler ve ark. 1999).

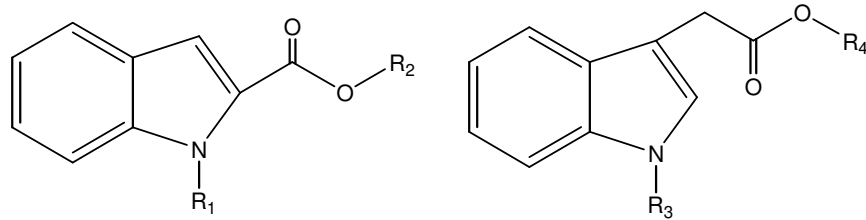
IPA'nın radikal yakalama kapasitesi melatonin de dahil olmak üzere bir çok bilinen antioksidan bileşikten fazla çıkmıştır. IPA (OXIGON)nın etkili bir antioksidan bir bileşik olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca beta-amiloid fibril oluşumunu inhibe ettiği için nöroprotektif aktivitesi de görülmüştür (Bendheim ve ark., 2002). IPA esas alınarak sentezlenen *N*-H ve *N*-süstitüe indol-3-propanamid türevleri (Formül 11.) yüksek etkili antioksidan aktivite göstermişlerdir (Olgen ve ark., 2007).





**Formül 11.** *N*-H ve *N*-süstitüe indol-3-propanamid türevlerinin genel formülü

Ayrıca anti lipid peroksidaz etkili ve süperoksit oluşumunu engelleyen bazı *N*-H ve *N*-süstitüe indol ester türevleri de (Olgen ve ark., 2003) Formül 12. de görülmektedir. *N*-süstitüe indol 2- ve 3-karboksamid türevlerinin ROT ları yakalama kapasitesinin yüksek olduğu da belirtilmiştir (Olgen ve Çoban, 2002; Aboul-Anein ve ark., 2004).

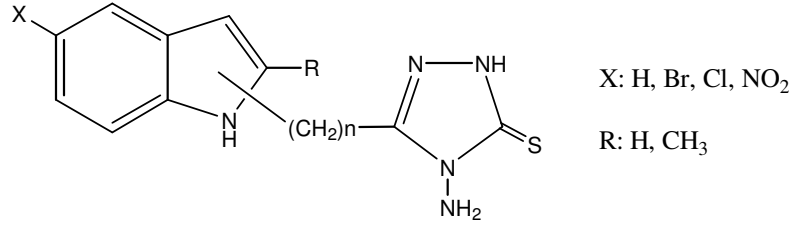


$R_1, R_3 : H, \text{benzoil türevleri}$

$R_2, R_4 : \text{Fenil, pirolidin, siklopropil, piperidin türevleri}$

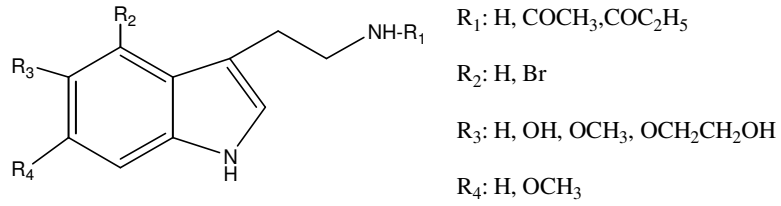
**Formül 12.** *N*-H ve *N*-süstitüe indol ester türevlerinin genel formülü

Bir çok çalışmada antioksidan bileşiklerin ROT lerini azalttığı için miyokardial enfarktüsü engellediği belirtilmektedir (Das ve ark., 2006; Riccioni ve ark., 2007). Triazol yapısı içeren indol türevleri (Andreadou ve ark., 2000; Varvaresou ve ark., 2000) etkili antioksidan aktivite gösteren bileşikler olarak tanımlanmıştır (Formül 13.) (Andreadou ve ark., 2002; Andreadou ve ark., 2003).



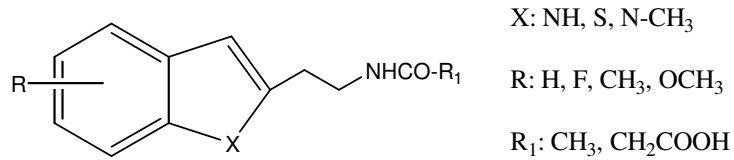
**Formül 13.** Triazol yapısı içeren indol türevi bileşiklerin genel formülü

İndol halkasının 5. konumunda metoksi ve açilamino grupları taşıyan türevlerinde (Formül 14.) halkanın 3. konumuna bağlı lipofilik/hidrofilik gruplara bağlı olarak gösterdikleri antioksidan aktivite ölçülmüştür (Mor ve ark., 2004). Melatonin analogu *N*-[2-(5-metoksi-1*H*-indol-2-il)etil]asetamid en etkili türev olarak bulunmuştur.



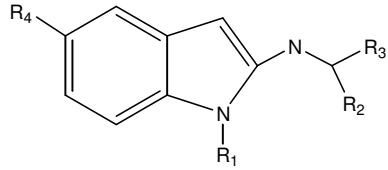
**Formül 14.** 5-Metoksi ve açilamino grupları değiştirilen indol türevi bileşikler

Melatonin halkasının 5. konumundaki metoksi grubunun yerinin değiştirilmesi ya da kaldırılması ve indol azotunun başka hetero atomlarla yer değiştirmesi halinde de antioksidan etkili türevlere ulaşılmıştır (Formül 15.) (Spadoni ve ark., 2006). 5-Alkoksi-2-(*N*-açilaminoetil)indol en etkili türev olarak belirlenmiştir.



**Formül 15.** 2-*N*-açilaminoetil türevi bileşikler

MAO inhibitörü olarak bilinen N-(2-propinil)2-(5-benziloksi-indol)metilamin (PF 9601N) bileşiğinin nöroprotektif ve antioksidan etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır (Sanz ve ark., 2004). Bu bileşikten hareketle sentezlenen yeni türevlerde (Formül 16.) yapılan yapı aktivite ilişkilerine göre indol halkasının 5. konumunda yer alan benziloksi, hidroksil veya metoksi gruplarının antioksidan aktiviteyi etkilediği belirlenmiştir. Ayrıca 2. konuma takılan amin grupları ele alındığında en etkili türevler primer amin taşıyanlar olarak belirlenmiştir.

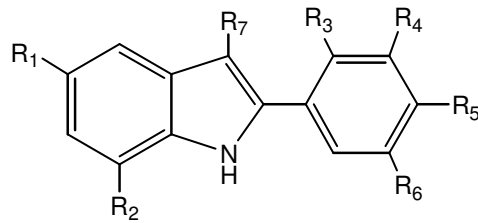


R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>: H, alkil türevleri

R<sub>4</sub>: benziloksi, OCH<sub>3</sub>, OH

**Formül 16.** Triptamin ve *N*-alkil süstitüe melatonin analogları

Fischer indol sentez yöntemi kullanılarak sentezlenen 2-fenil indol türevleri (Formül 17.), melatonine karşı denediklerinde yüksek oranda lipid peroksidasyonunu önleyen etkiler göstermiştir (Süzen 2006; Süzen ve ark., 2006). 2. Konumda yer alan fenil üzerinde F, Cl, NO<sub>2</sub> gibi elektron çekici gruplar bulunduğu en yüksek aktivite elde edilmiştir. Deneyler sonucunda melatonin ve 2-fenil indol türevi bileşiklerin hidroksil radikali yakalayıcısı olduğu belirlenmiştir.



R<sub>1,2</sub>: H, NO<sub>2</sub>

R<sub>3,4,5,6</sub>: H, OH Cl, NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>

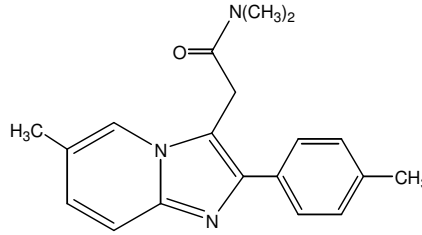
R<sub>7</sub>: H, CHO

**Formül 17.** 2-Fenil indol türevi bileşiklerin genel sentezleri

### 1.3.3.5. Antioksidan Etkili Diğer Sentetik İndol Türevi Bileşikler

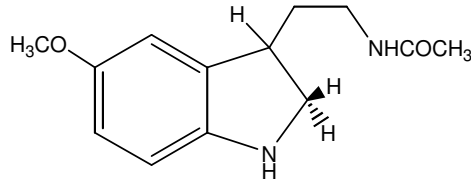
Çalışmalar melatonin metabolite ve analogu olan bir çok bileşiğin de antioksidan etkisi olduğunu göstermektedir (Ximenes ve ark., 2006). Örneğin melatonin metaboliti AFMK, etkili bir antioksidan türevdir (Ressmeyer ve ark., 2003). Ayrıca melatonin prekürsörü *N*-asetilserotonin, ve diğer bir melatonin metaboliti 6-hidroksimelatonin de melatoninden daha etkili antioksidan bileşikler olarak gösterilmektedir (Zhang ve ark., 1999).

Hipnotik bir bileşik olan Zolpidem [N,N,6-trimetil-2-*p*-tolil-imidazo (1,2-a) piridin-3-asetamid L-(+)] (Formül 18.) bileşiğinin tartarat tuzu melatonin kadar etkili bir lipid peroksidasyonu önleyici bileşik olarak bulunmuştur (Garcia-Santos ve ark., 2004).



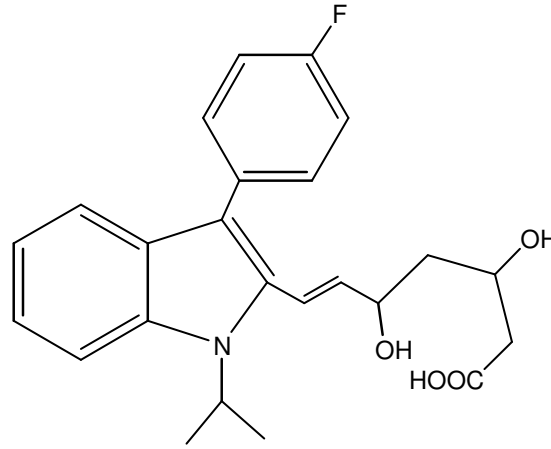
**Formül 18.** Zolpidem [N,N,6-trimetil-2-*p*-tolil-imidazo (1,2-a) piridin-3-asetamid L-(+)]

İndol halkasında yapılan selektif hidrojenasyon sonucunda elde edilen 2,3-dihidromelatonin (Formül 19) DPPH radikalini yakalanmada ve lipid peroksidasyonu önlemede etkili bir antioksidan olarak bulunmuştur (Gasparova ve ark., 2006).



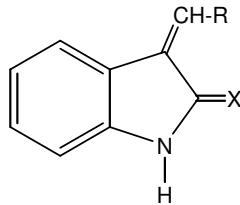
**Formül 19.** 2,3-dihidromelatonin türevi bileşiklerin genel formülü

Statin sınıfı bir ilaç olan Fluvastatin (Formül 20.) hiperkolesterolemi ve kardiovasküler hastalıkların önlenmesinde kullanılır. Bu bileşiğin ROT leri yakalama kapasitesinin olduğu belirlenerek antioksidan kapasitesi olduğu bulunmuştur. Serbest radikalleri yakalama yeteneği olan bu bileşiğin NADPH oksidaz aktivitesini inhibe edebildiği ve oksidatif stresi önlediği bulunmuştur. Bu özellikleri nedeniyle fluvastatin atherosklerozun önlenmesinde kullanılması gereken önemli ilaçlardan biri olduğunu kanıtlamıştır (Bandoh ve ark., 2003)



**Formül 20.** Fluvastatin (7-[3-(4-florofenil)-1-(1-metiletil)-1H-indol-2-il]-3,5-dihidroksi-hept-6-enoik asit)

Antioksidan özellikleri incelendiğinde substitüe indolin-2-on ve indolin-2-tiyon türevi bileşiklerin (Formül 21.) iyi bir serbest radikal yakalayıcı oldukları bulunmuştur (Aboul-Enein ve ark., 2005).



X: Okso ve tiyo

R: Floro, kloro, nitro, metoksi ve amino fenil türevleri, imidazol, fenil propenil

**Formül 21.** İndolin-2-on ve indolin-2-tiyon türevi bileşiklerin genel formülü

#### **1.4. İndol Halkasının Kimyasal Özellikleri**

İndol (2,3-benzopirol) bir çok doğal maddenin yapısında bulunan heterosiklik bir halkadır. Bir çok terapötik maddenin içeriğinde yer aldığı için farmasötik açıdan önemli bir halka sistemidir (Süzen ve Büyükbingöl, 1998 ve 2000; Süzen ve ark., 2000). Triptofan, serotonin, melatonin gibi önemli endojen maddelerin ana yapısını oluşturur.

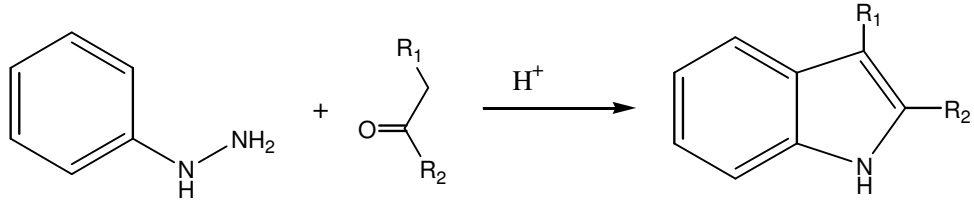
İndol halkası yapısındaki azot atomu nedeniyle baz gibi düşünülse de sadece zayıf bazik karakterdir ve asitler karşısında tuzlarını zorlukla oluşturur. Azot atomunun elektronları halka içinde delokalize olur. Bu delokalizasyon nedeniyle indol halkası 3. konumundan elektrofilik süstitüsyonlara açıktır. İnsanda melatonin hormonuna karşılık bitkide indol-3-asetik asit bulunmaktadır.

Elektronca zengin yapısı nedeniyle indol kolayca okside olur. 2. ve 3. karbonları arasındaki çifte bağ nedeniyle sikloadisyon reaksiyonlarına açıktır. İndol ve türevi bileşikler karbon bazlı elektrotlar aracılığı ile oksitlenebilirler. Elektrokimyasal çalışmalar ile geliştirilen voltametrik yöntem sonucu indol yapısının oksidasyonunun azot atomundan başladığı ve benzen halkasının hidroksilasyonu ile sonlandığı gösterilmiştir (Süzen ve ark., 2001 ve 2003; Bozkaya ve ark., 2006). Bu yöntem ile in vitro olarak indol ve türevi bileşiklerin olası metabolitleri tespit edilebilir.

##### **1.4.1. İndol Halkasının Genel Sentez Yöntemleri**

İndol halkasının sentezi için yaklaşık on çeşit sentez yöntemi geliştirilmiştir. Bunlar içinde en çok kullanılan iki tanesi aşağıda belirtilmektedir.

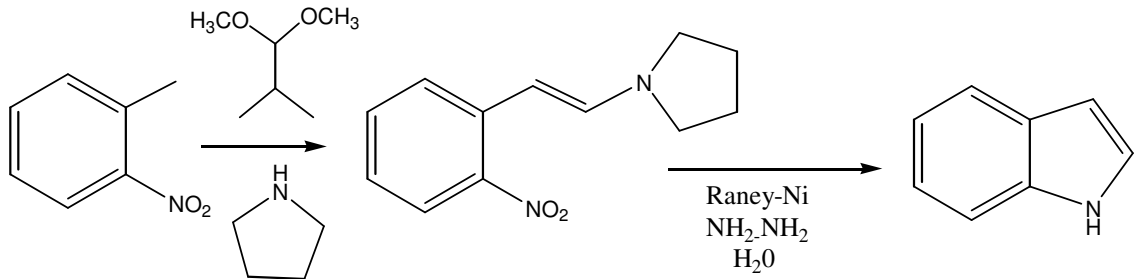
### Fischer İndol Sentezi



**Denklem 2.** Fischer indol sentezi

En eski indol sentez yöntemlerinden biridir. 2. ve 3. konumda süstitüentler istenen indol türevlerinin sentezi için idealdir (Büyükbingöl ve Süzen, 1994).

### Leimrruber-Batcho İndol Sentezi



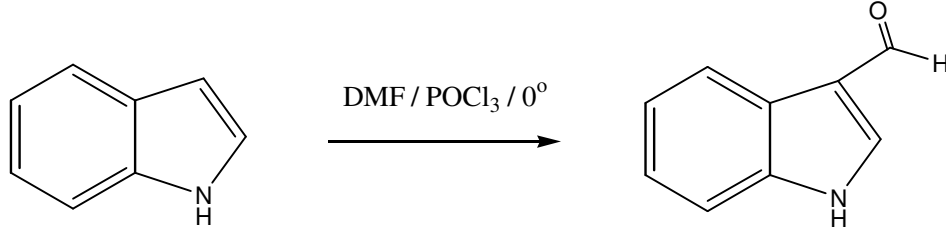
**Denklem 3.** Leimrruber-Batcho indol sentezi

İndol ve süstitüe indollerin sentezi için etkili bir yöntemdir. Yüksek verimli bir reaksiyondur ilaç endüstrisinde tercih edilir.

#### 1.4.2. İndol-3-karboksaldehit Sentezi

### Vilsmeier-Haack Formilasyonu

Çok kullanılan bir yöntemdir. İndol 3. karbondan elektrofilik sübstütüsyona açık olduğu için kolay yürür (Büyükbingöl ve Süzen, 1994).



**Denklem 4.** Vilsmeier-Haack formilasyonu

### 1.5. Melatonin ve Analöü Olan Maddelerin Gerekliliği

İndol türevi bileşikler medisinal kimya da önemli bir terapötik ajan sınıfını oluşturmaktadırlar (Süzen ve Büyükbingöl, 1998 ve 2000). Bu bileşikler hayvanlarda, bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunan geniş bir bileşik sınıfını teşkil ederler.

İndol türevlerinin antioksidan aktiviteleriyle ilgili son gelişmeler bu bileşiklerin antioksidan özelliklerinin dikkate alınmasının gerekliliğini ve önemini gözler önüne sermektedir. Potansiyel antioksidan olarak geliştirilmekte olan ilaçlarda dikkat edilmesi gereken en önemli nokta *in vivo* ortamda oksidatif hasarı azaltması ve istenmeyen yan etkilere sebep olmamasıdır.

Endojen bir antioksidan olan melatonin yağda kolaylıkla çözünebildiği için hücresel membranlara kolaylıkla girerek yağ asitlerinin polar başları ile bağlanabilir. Melatoninin bu özelliği lipidlerdeki oksidatif hasarı azaltmasını sağlar. Çoğu çalışma



melatoninin nöroprotektif etkisinin antioksidan aktivitesine dayandığını göstermektedir.

Diğer melatonin analogu bileşiklerin çoğunda antioksidan aktiviteye sahip oldukları bilinmektedir ve melatoninin serbest radikal yakalama özelliğinin de kimyasal yapısıyla alakalı olduğu bulunmuştur (Oosthuizen ve Greyling, 1999; Poeggeler ve ark., 2002). Bu indolamin, elektronca zengin bir indol hetero halkasından meydana gelmekte ve ayrıca metoksi ve aminoasetil zincirleri içermektedir. Bu gruplar melatoninin serbest radikal yakalama özelliği için temel oluşturmaktadır.

Melatonin serbest radikal yakalama özelliklerinden dolayı en çok araştırılan indol türevi bileşiklerin başında gelir. Bu bileşik E vitamininin hidroksil radikal yakalama aktivitesinden daha fazla aktiviteye sahiptir (Reiter ve ark., 2000). İndol türevi bileşiklerin oksidasyonu süresince pirol halkasının azot atomundan bir elektron ayrılır ve bir radikal katyon meydana gelir. Pirol halkasının bu kapasitesinden dolayı 3-sübstitüe-indolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi moleküldeki diğer fonksiyonel gruplardan da etkilenmektedir. Reaktif hidroksil grubuna sahip antioksidanlar genellikle hidrojen donörleridir. Bu yüzden serbest radikalleri azaltırlar. Bu da radikal zincir reaksiyonlarını destekleyerek lipid peroksidasyonunu azaltır.

Melatonin bir çok fizyolojik olayın düzenlenmesinde yer alır ama iki önemli problem (Süzen, 2006 ve 2007; Ateş ve Süzen, 2001) melatoninin terapötik ajan olarak kullanımını kısıtlamaktadır. Birincisi; yarılanma ömrünün çok kısa (15-30 dakika) olması, ikincisi ise hedef bölgelerde seçiciliğinin olmamasıdır. Melatonin gibi indol türevleri, yüksek rezonans stabilitesine ve halka üzerinde bir çok değişik sübstitüente sahip heterosiklik aromatik bir halka yapısına sahiplerdir. *In vivo* ve *in vitro* çeşitli deneyler bir çok melatonin analogu bileşiğinin melatoninden daha iyi antioksidan özelliklere sahip olduklarını göstermiştir. Bu da yan etkisi az, sitotoksik

etkileri giderilmiş, serbest radikal yakalama aktivitesi yüksek yeni bileşiklerin sentezlenmesinin gerekliliğini göstermektedir.

### **1.6. Tez Çalışmasının Amacı ve Önemi**

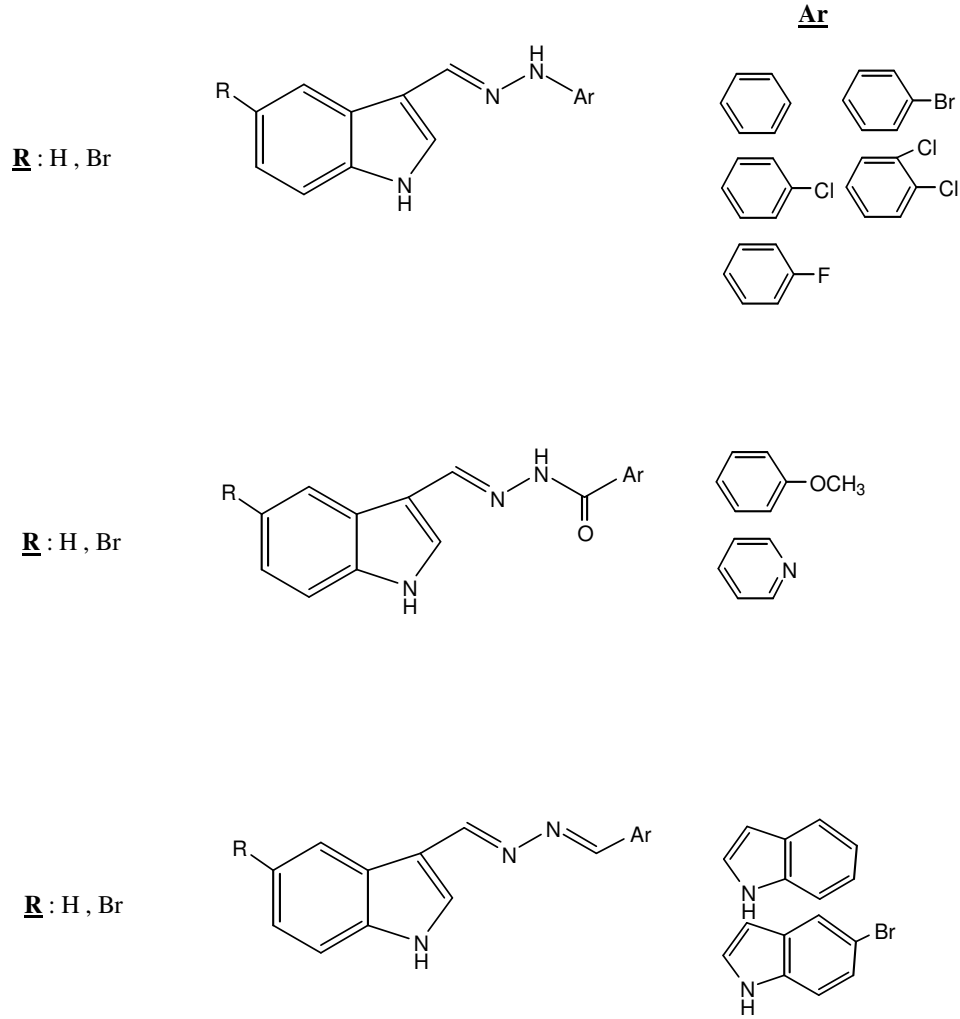
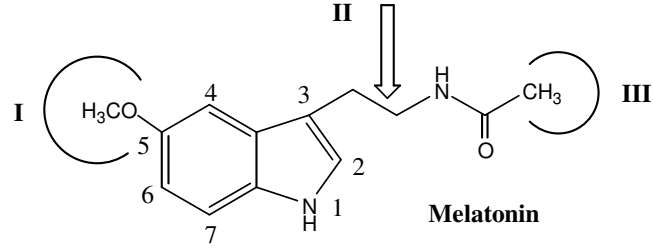
Organizmamızın yüksek oranda oksidatif strese maruz kalması sonucunda bir çok kardiyovasküler, romatizmal, oto-immün ve nörolojik hastalığın gelişmesinde serbest radikallerin rol oynadığı bilinmektedir (Maccarrone ve ark., 2004). Organizmamız enzimatik ve non-enzimatik yoldan bu zararlı etkilerden korunmaya çalışır. Ancak günümüz koşullarındaki endüstriyel gelişmeler, şehir hayatı ve çevresel kirlilik faktörleri organizmanın bu koruma silahlarını yetersiz bırakmakta ve bir çok durumda dışarıdan takviye antioksidan madde kullanımına gerek görülmektedir (Kelly, 1998).

Bilinen en etkili endojen antioksidan maddelerden biri de melatonindir (Tomas-Zapico ve Coto-Montes, 2007). Melatonin aktivitesini serbest radikalleri yakalayarak bazı mekanizmalarla gösterir. Etki mekanizması ile ilgili araştırmalar halen devam etmekte ancak melatonin molekülü başta hidroksil radikali olmak üzere bir çok radikali etkisiz hale getirerek organizmayı korumaktadır. Bu güçlü etkisine rağmen melatonin kullanımı bir çok durumda yetersiz kalmaktadır. Uzun süreli kullanımı libido ve düşük tansiyona neden olmakta, nörolojik, oto immün, kanser gibi hastalıkları ve alerjisi bulunan kişilerde kullanılamamaktadır. Ayrıca çok kısa yarı ömrü olması etki yerine ulaşmadan parçalanmasına neden olmakta ve melatonin hedef organlara seçici etki gösterememektedir. Bu nedenlerden dolayı son yıllarda melatoninin ana halka sistemi indol ele alınarak melatonin analogu bileşiklerin sentezlenmeleri ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır (Süzen 2007).

İndol halkası antioksidan aktivitenin görülmesi için bulunması gereken esas yapıdır. Benzofuran ve naftalen halkaları ile karşılaştırıldığında daha iyi antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Gozzo ve ark., 1999). İndol halkası yüksek

rezonans stabilitesi ve düşük aktivasyon enerji bariyeri nedeniyle serbest radikaller ile reaksiyona girmek için çok uygundur (Tan ve ark., 2002). Radikal yakalama mekanizması incelendiğinde karşılaşılan varsayımlar: serbest radikali yakalamak amacı ile indol halkasının bir elektron vererek indolil katyon radikali oluşturduğu ve indol halkasının 3. konumunda bulunan grupların radikali yakaladığı şeklindedir.

Bu tez çalışmasında indol halkası üzerinde 3. ve 5. konumda antioksidan aktivite göstermesi beklenen grupların yerleştirilmesi ile yeni bileşiklerin sentezlenmesi, bu bileşiklerin yapılarının ileri enstrümental tekniklerle aydınlatılması ve *in vitro* antioksidan aktivitelerinin DPPH ve süperoksit radikalini yakalama kapasiteleri ölçülerek test edilmesi planlanmıştır.



**Şema 5.** Melatonin molekülü üzerinde gerçekleştirilen değişiklikler

Tez çalışmamızda melatonin molekülünün 3. ve 5. konumlarını kapsayan 3 ana bölgede değişiklikler gerçekleştirdik. Yapılan değişiklikler ve nedenleri aşağıdaki gibidir:

**I. Bölge :** Melatoninin ana halkası olan indolün 5. konumunu oluşturur. Bu konumda metoksi grubu bağlıdır. Yapılan çalışmalar halen metoksi grubunun antioksidan aktivitedeki fonksiyonu üzerinde fikir birliğine varılmadığını göstermektedir. Bazı araştırmalar bu grubun antioksidan aktivitede direk bir etkisi olmadığını göstermekte (Ateş-Alagöz ve ark., 2005), bazı araştırmacılar ise bu grubun halka üzerinde bulunmasının gerekli olduğu ya da hidroksil grubu ile yer değiştirebileceği görüşündedir (Gozzo ve ark., 1999). 5. Konumda klor taşıyan melatonin türevlerinde antioksidan aktivite melatonine eşdeğer çıkarken iyot bulunan türevlerde aktivitenin düştüğü gözlenmektedir (Poeggeler ve ark., 2002). Sentezlenen bileşiklerde bu konumda süstitüent bulunmadığında ve brom gibi bir halojen bulunduğunda aktivitenin nasıl etkileneceği araştırılmak istenmiştir. Brom bağlı olan türevlere ilişkin detaylı bir çalışma bulunmadığı için uygun bir fonksiyonlu grup olduğu düşünülmüştür.

**II. Bölge :** Bu bölgeyi indol halkasının 3. konumundan bağlı olan amid zinciri (asetamidoetil) oluşturur. Araştırmalar antioksidan aktivite gösteren indol bileşiklerinde yaklaşık 5 karbon uzunluğunda bir zincirin varlığını göstermektedir. Amid grubunun keton ile yer değiştirdiği türevlerde aktivite değişmemiştir (Gozzo ve ark., 1999). Amid karbonili aktivite için çok önemli bulunmuştur (Tan ve ark., 2002). Sentez edilen bileşiklerin bir grubunda bu karbonil yapısı korunmuş ve zincir üzerinde oluşturulan imin yapısı ile çifte bağlar arasında konjugasyon sağlanmış (Yolak A), diğer grubunda ise sadece imin yapısına yer verilmiştir (Yolak B). Üçüncü grup bileşiklerde ise konjugasyon iki imin yapısı ile sağlanmıştır (Yolak C). Bu grup bileşiklerde farklı olarak aromatik yan zincir indol halkası olarak seçilmiştir.

**III. Bölge :** İndol halkasının 3. konumuna bağlı yan zincirin ucunda bulunan metil yada asetil yapısıdır. Amid grubu yerine amin grubu yer aldığındaki prooksidan aktivite gözlenmiştir (Gozzo ve ark., 1999). Metil ya da asetil yapısının hacimli aromatik yapılarla değiştirildiği yapılarda yüksek antioksidan aktivite gözlenmiştir (Varvaressou ve ark., 2000), ancak halojenli türevler ile ilgili araştırmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle halojen taşıyan aromatik yapılar seçilmiştir. Ayrıca indol halkasının bilinen diğer antioksidan bileşiklerle verdiği kondanse ürünlerin de

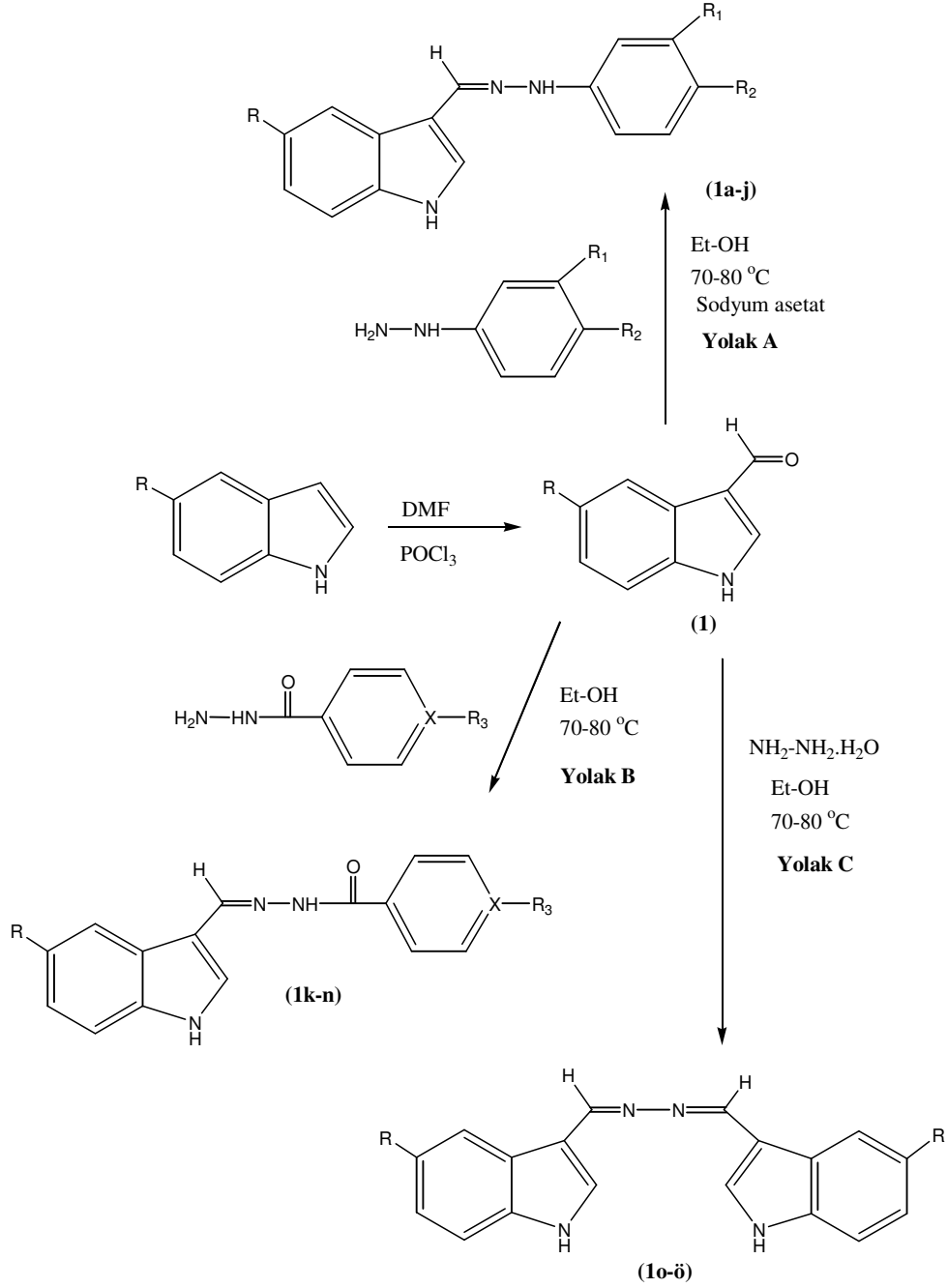
yüksek antioksidan özelliklerinin bulunması nedeniyle (Gürkan ve ark., 2005; Ateş-Alagöz ve ark., 2006) iki indol halkası imin köprüleri ile birbirine bağlanarak sentez edilmesi uygun görülmüştür

İndol türevi bileşiklerin çok etkili antioksidan özelliğe sahip olduğunun belirlenmesi dolayısı ile bu tez çalışması ile indol halka sistemi taşıyan melatonin analogu bileşiklerin sentezlerinin yapılarak antioksidan aktivitelerinin araştırılması gerçekleştirilecektir. Bu aktiviteler melatonin ile karşılaştırılarak yapı-aktivite ilişkileri gözden geçirilecektir. Sentezlenen bileşiklerin daha önce tasarlanmamış olan indole 3. konumdan bağlanan hidrazin türevleri olması teze orijinallik katmaktadır. Ayrıca indolün 5. konumunda sübstitüent bulunmadan ya da Br bulunduğunda aktivitenin ne şekilde etkilendiği araştırılacaktır. Tez çalışmasında sentezlenen orijinal olmayan bileşiklerin de daha önce antioksidan aktivite yönünden araştırılmamış olması da sentezlenen seri bileşiklere değişik bir bakış açısı getirmektedir.

Bu araştırma indol türevi melatonin analogu antioksidan maddelerin geliştirilmesine ışık tutacak ve çalışmalarımız bu maddelere ait yeni türevlerin sentezini ve daha ileri testleri içeren projelerle devam edecektir.

## 2. GEREÇ VE YÖNTEMLER

### 2.1 Tasarlanan 1*H*-İndol-3-karboksaldehit hidrazon Türevlerinin Genel Sentezi



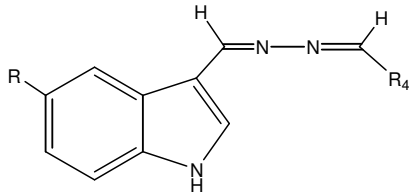
Şema 6. 1*H*-İndol-3-karboksaldehit hidrazon türevlerinin sentezi

Bileşik	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
1a	H	H	H
1b	H	H	Br
1c	H	H	F
1d	H	H	Cl
1e	H	Cl	Cl
1f	Br	H	H
1g	Br	H	Br
1h	Br	H	F
1i	Br	H	Cl
1j	Br	Cl	Cl

**Tablo 4.** Yolak A ürünü bileşikler

Bileşik	R	R <sub>3</sub>	X
1k	H	OCH <sub>3</sub>	C
1l	H	H	N
1m	Br	OCH <sub>3</sub>	C
1n	Br	H	N

**Tablo 5.** Yolak B ürünü bileşikler



Bileşik	R	R <sub>4</sub>
1o	H	indol
1ö	Br	5-Br-indol

**Tablo 6.** Yolak C ürünü bileşikler



Sentezlenmesi planlanan 1*H*-indol-3-karboksaldehit hidrazon türevlerine ulaşmak için birinci basamakta indol molekülünün 3. konumuna, Vilsmeier yöntemi ile N,N'-Dimetil formamid (DMF) ve fosforoksiklorürü (POCl<sub>3</sub>) kullanarak aldehit grubu takılmıştır (Büyükbingöl ve Süzen 1994).

İkinci basamaklarda ise ticari olarak temin edilen 5-bromo-1*H*-indol-3-karboksaldehit ve sentezi yapılan 1*H*-indol-3-karboksaldehit bileşiklerinin (**1**) üzerinden etanollü ortamda 70-80 °C da fenil hidrazin türevleri (Yolak A), anisik asit hidrazidi, izonikotinic asit hidrazidi (izoniyazid) (Yolak B) ve hidrazin hidrat (Yolak C) kullanılarak, fenil hidrazon (**1a-j**), anisik asit hidrazidi (**1k, 1m**), izonikotinic asit hidrazidi (**1l, 1n**) N,N'-bis-(indol-3-ilmetlen)hidrazin türevleri (**1o-ö**) elde edilmiştir (Şema 5).

## 2.2. Materyal ve Yöntem

### 2.2.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

Hassas terazi (Sartorius – CP 2245), geri çeviren soğutucu, döner buharlaştırıcı (Büchi Heating Bath B – 490 ve Rotavapor R-200), kurutma etüvü (Specac), Vakum etüvü (Vaciotem – Selecta), çeşitli cam laboratuvar malzemeleri, çeşitli boyda spatüller, alüminyum silika gel plakları (Merck), desikatör, eppendorf tüpler, İTK yürütme tankı, süzgeç kağıdı (Orta gözenek) (Merck), çeşitli boyda magnet, ısıtıcılı manyetik karıştırıcı (Bunsen Agitador Megnetico MC8 ve ARE magnetic stirrer).

Elde edilen bileşiklerin yapı aydınlatılması için kullanılan enstrümantal cihazlar bölüm 2.2.3.2, 2.2.3.3 ve 2.2.3.4 de ayrıca belirtilmiştir.

## 2.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

POCl<sub>3</sub> (Fluka), 1*H*-indol (Aldrich) , 5-bromo-1*H*-indol-3-karboksaldehit (Aldrich), fenil hidrazin hidroklorür (Aldrich), 4-bromo-fenil hidrazin hidroklorür (Aldrich), 4-floro-fenil hidrazin hidroklorür (Aldrich), 4-kloro-fenil hidrazin hidroklorür (Aldrich), 3,4-dikloro-fenil hidrazin hidroklorür (Aldrich), isonikotinic asit hidrazidi (Merck), anisik asit hidrazidi (Aldrich), sodyum asetat (Aldrich), hidrazin hidrat (Aldrich), silikagel (Merck), potasyum bromür (KBr) (Aldrich), DPPH (Sigma), ksantin oksidaz (Sigma), ksantin (Sigma), EDTA (Sigma), NBT (Sigma), melatonin (Sigma),  $\alpha$ -tokoferol (Sigma). Deneyler sırasında kullanılan tüm solvanlar Aldrich ya da Merck firmasından temin edilmiştir.

## 2.2.3 Sentez Edilen Maddelerin Analitik İncelemelerinde Kullanılan Yöntemler

### 2.2.3.1 Kromatografik Analizler

Sentez reaksiyonları gerçekleştirilirken, reaksiyonların izlenmesi, bitiş sürelerinin saptanması ve saflıklarının değerlendirilmesi amacıyla İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) yönteminden yararlanılmıştır. Bu amaçla Kieselgel 60 GF 254 (Merck) ile kaplanmış 0.2 mm kalınlığında hazır alüminyum plaklar kullanılmıştır. Plaklardaki madde lekelerinin belirlenmesi için UV (254 nm dalga boyu) ışığından faydalanılmıştır.

Sentezlenen ürünlerin saflaştırılması amacıyla gerektiğinde Kolon Kromatografisi yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla durgun faz olarak Silicagel 60, 230-400 mesh (Merck) hareketli faz olarak da İTK için belirlenen solvan sistemi kullanılmıştır.

İTK ve Kolon Kromatografisi yöntemlerinde kullanılan solvan sistemi ;  
Etil asetat:Hekzan (1:1)

### **2.2.3.2 Erime Noktası Tayinleri**

Sentezlenen tüm maddelerin erime noktası tayinleri Electrothermal 9100 cihazı ile gerçekleştirilmiş ve sonuçlar düzeltilmeden verilmiştir.

### **2.2.3.3. Elementel Analiz Tayini\***

Sentezlenen sonuç ürünlerin Elementel Analizleri LECO CNHS 932 cihazı kullanılarak yapılmıştır.

### **2.2.3.4 Spektral Analizler**

#### **FT-IR Spektra\***

Sentezlenen ürünlerin FT-IR spektral analizleri Jasco 420 Fourier FT-IR Spektrofotometresinde gerçekleştirilmiştir.

#### **NMR Spektra\* (<sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C)**

Sentezlenen ürünlerin <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C NMR spektral analizlerinde Varian Mercury 400 FT-NMR Spektrometresi kullanılmıştır.

#### **Kütle (Mass) Spektra\***

Sentezlenen ürünlerin Mass analizleri, Waters ZQ mikromass LC-MS spektrometresinde, Elektrosprey iyonizasyon (ESI) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

\* Elementel, NMR ve Mass Analizleri A.Ü. Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

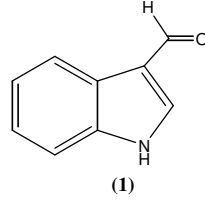
## 3.BULGULAR

### 3.1. Başlangıç Maddesinin Sentezi

#### 3.1.1. 1*H*-İndol-3-karboksaldehit Sentezi (1)

Başlangıç maddelerinin ilki olan 5-bromo-1*H*-indol-3-karboksaldehit ticari olarak temin edilmiş, ikinci başlangıç maddesi olan 1*H*-indol-3-karboksaldehit ise Vilsmeier yöntemi kullanılarak 1*H*-indol molekülünün 3. konumuna aldehit grubu takılarak elde edilmiştir (Shabica ve ark., 1946; James ve Snyder, 1959; Büyükbingöl ve Süzen 1994).

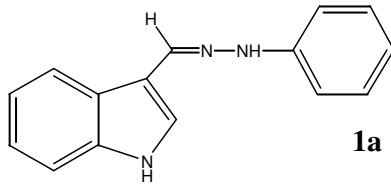
Vilsmeier yöntemini ile aldehit sentezini gerçekleştirmek için havanın neminden korunmayı sağlayacak şekilde ağzı lastik tıpa ile kapatılmış bir balon içine 21 mmol (1.5348 g ~ 1.63 ml) DMF konarak buz banyosu üzerinde manyetik karıştırıcı yardımı ile magnet varlığında karışması sağlanarak soğutuldu. Soğutulmuş DMF içeren balona şırınga yardımı ile 6 mmol (0.92 g ~ 0.55 ml) POCl<sub>3</sub> damla damla 30 dakika süre içinde katıldı. Reaksiyondan gaz çıkışının sağlanması için lastik tıpa boş bir şırınga ucu takıldı. POCl<sub>3</sub> ilavesinden sonra, reaksiyon 5 dakika buz banyosu üzerinde karıştırıldı ve 5 mmol 1*H*-indol (0.585 g), 6 mmol (0.4385g ~ 0.5 ml) DMF içerisinde çözülerek şırınga yardımı ile yavaş yavaş ortama ilave edildi. Ortam sıcaklığı 20–30°C'yi geçmeyecek şekilde ayarlanarak reaksiyon 30 dakika karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı kırılmış buza (~30g) döküldü. Ekzotermik reaksiyonun bitiminden sonra ortam % 40'lık NaOH ile alkalileştirildi. Oluşan açık sarı kristaller süzüldü ve bol su ile defalarca yıkandıktan sonra vakum etüvünde kurutuldu. Sonuçta 0.11 g madde elde edildi. Verim % 77.24, E.n. 196-197 °C (E.n.193–198 °C, James ve Snyder, 1959 )



### 3.2. 1H-İndol-3-karboksaldehit fenil hidrazon Türevlerinin Genel Sentezi (1a-j)

Bu amaçla 1H-indol-3-karboksaldehit (0.145 g, 0.1 mmol) veya 5-bromo-1H-indol-3-karboksaldehit (0.224 g, 0.1 mmol) 5 ml EtOH içinde çözülerek 0.13 mmol fenil hidrazin hidroklorür veya türevi bileşiklerle 0.4 g sodyum asetatın 5 ml su içerisindeki çözeltisi varlığında karıştırılarak 30 dakika su banyosu içerisinde, geri soğutucu altında reaksiyona sokuldu (Kidwai ve ark., 1994). Reaksiyon sonunda oluşan çökelek süzülerek ayrıldı. Elde edilen kristaller etanolden tekrar kristallendirilerek saflaştırıldı. Maddelerin saflığı İTK ile kontrol edilerek, rekristalizasyonun gerçekleştirilemediği durumlarda kolon kromatografisi ile saflaştırma işlemi yapıldı.

#### 3.2.1. 1H-indol-3-karboksaldehit fenil hidrazon (1a)

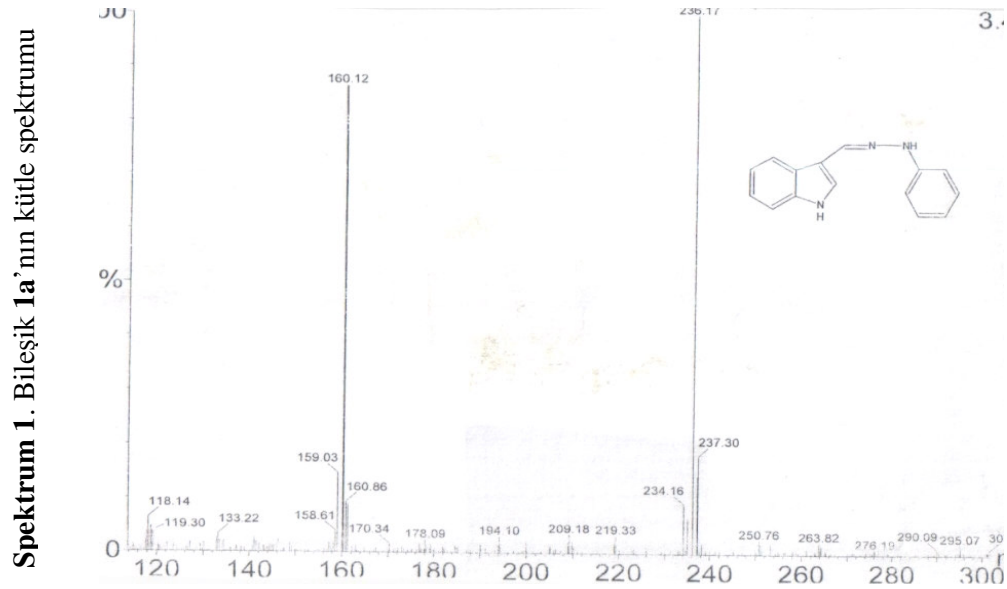


0.14 g (0.1 mmol) 1H-indol-3-karboksaldehit, 5 ml EtOH içerisinde çözülüp içerisinde 0.2 g (0.13 mmol) fenil hidrazin ve 0.4 g sodyum asetatın 5 ml sudaki çözeltisi ilave edilerek su banyosu içerisinde, 30 dakika geri soğutucu altında reaksiyona sokuldu. Reaksiyon sonunda çözelti soğutulmuş olarak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı. Sonuçta %71.4 verimle 0.17 g madde elde edildi. E.n. 196-198 °C (E.n 196-197 °C Kidwai ve Ark., 1994).

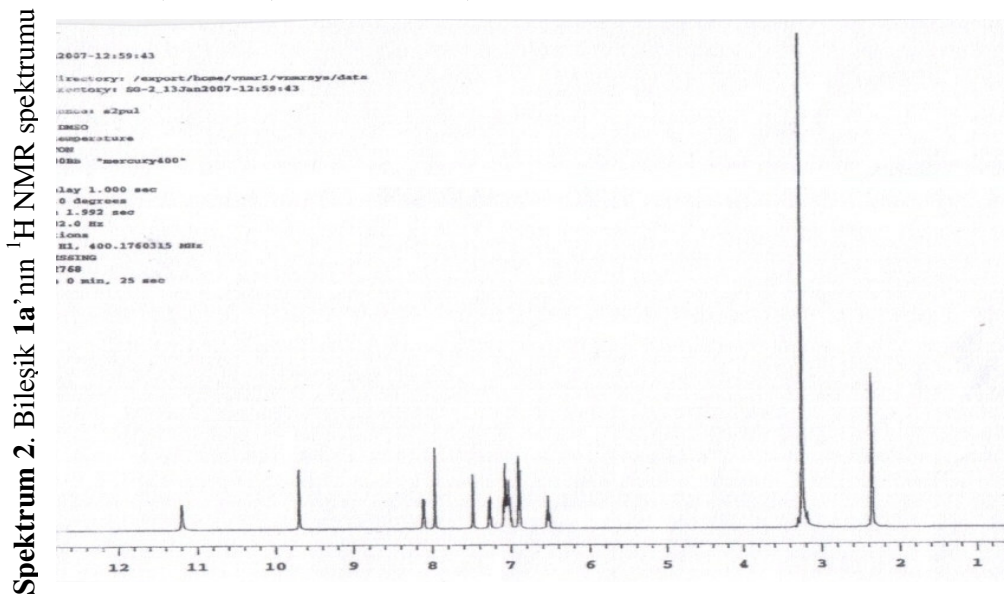
**Elementel Analiz:** C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub> ; 235.27

	% C	% H	% N
Hesaplanan:	76.57	5.56	17.86
Bulunan:	76.27	5.13	17.68

**Kütle m/z (ESI)+ :** 236 (M+1), 237 (M+2)

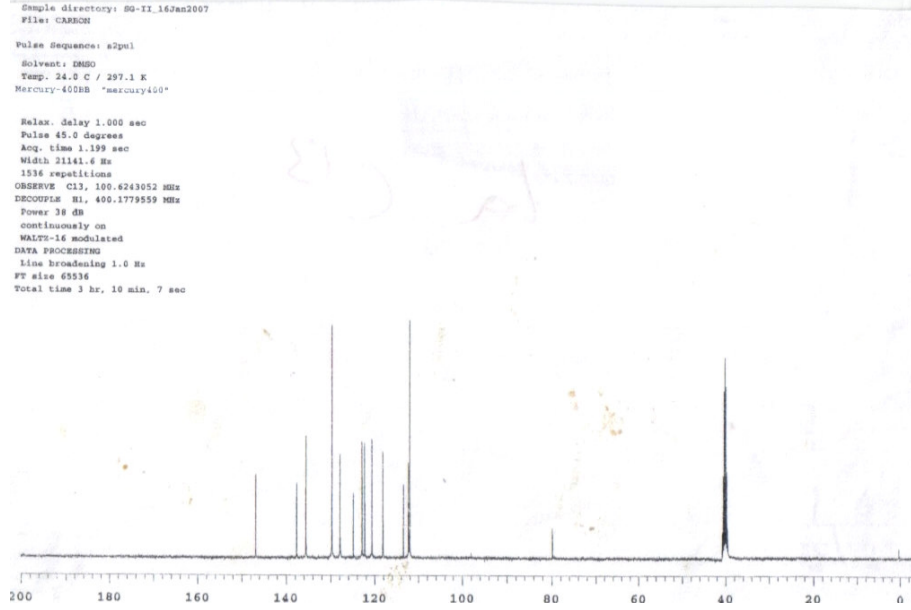


**<sup>1</sup>H NMR δ ppm (d<sub>6</sub>-DMSO+D<sub>2</sub>O):** 6.53 (1H, t), 6.89 (2H, d), 7.01-7.07 (4H, m), 7.27 (1H, d), 7.48 (1H, s), 7.97 (1H, s, azometin-CH), 8.11 (1H,d), 9.70 (1H, s, hidrazin-NH), 11.19 (1H, s, indol-NH)

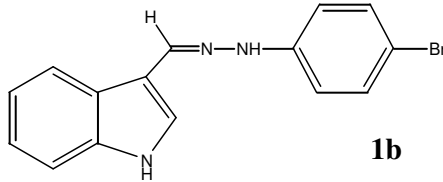


$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  ppm ( $d_6$ -DMSO+ $\text{D}_2\text{O}$ ): 79.84, 112.06, 112.35, 113.49, 118.17, 120.66, 122.32, 122.93, 124.92, 127.91, 129.74, 135.60, 137.69, 146.87 (azometin C=N).

Spektrum 3. Bileşik 1a'nın  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



### 3.2.2. 1*H*-Indol-3-karboksaldehit (4-bromofenil)hidrazon (1b)



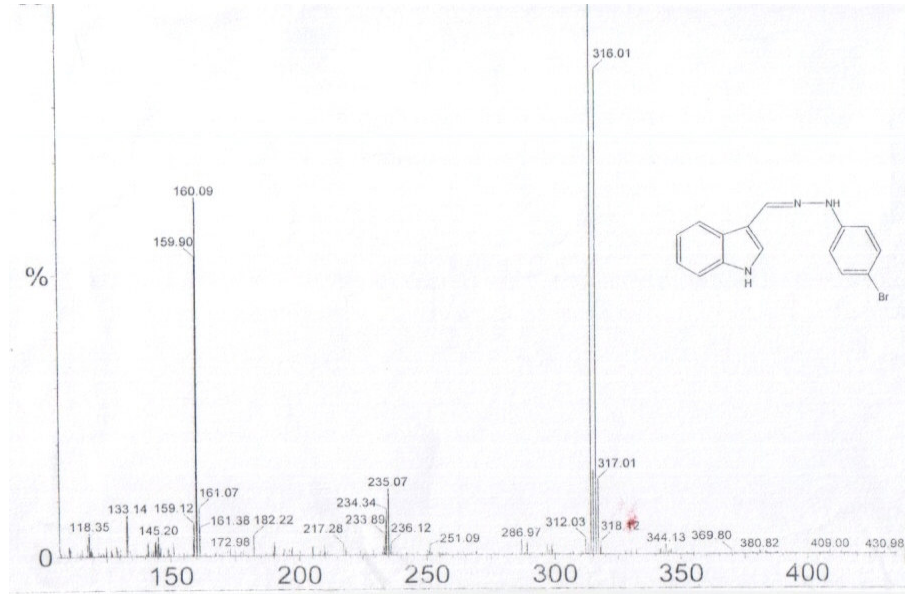
0.14 g (0.1 mmol) 1*H*-indol-3-karboksaldehit, 5 ml EtOH içerisinde çözümlenip içerisinde 0.29 g (0.13 mmol) 4-bromofenil hidrazin ve 0.4 g sodyum asetatın 5ml sudaki çözeltisi ilave edilerek su banyosu içerisinde, 30 dakika geri soğutucu altında reaksiyona sokuldu. Reaksiyon sonunda çözelti soğutulurak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı. Sonuçta % 65.8 verimle 0.21 g madde elde edildi. E.N. 180-183 °C (E.n 182 °C, Clevenger, 1962)

**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{Br}$  ; 314.17

	% C	% H	% N
Hesaplanan:	57.35	3.84	13.37
Bulunan:	57.65	3.73	13.41

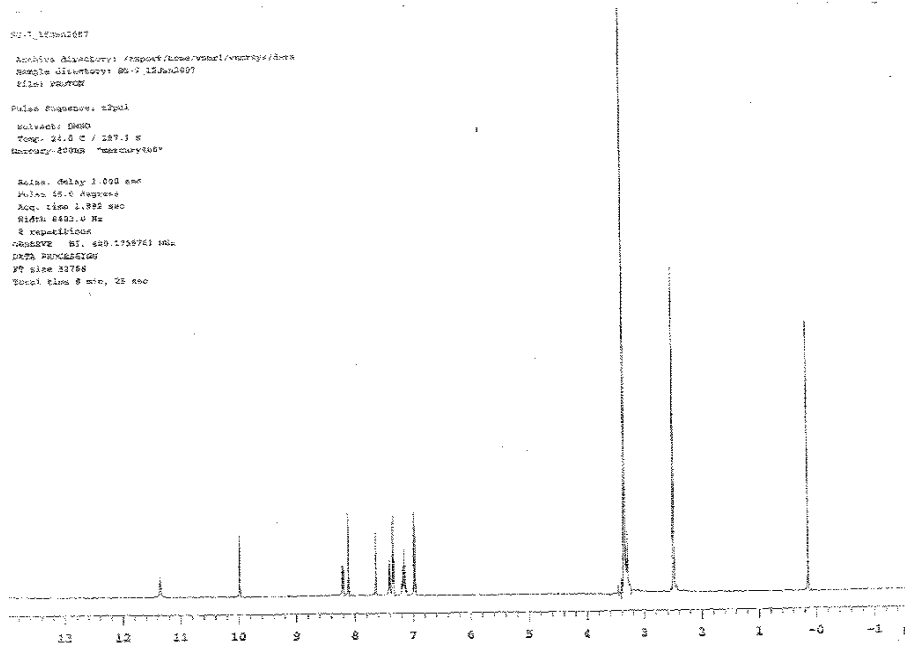
**Kütle m/z (ESI)+ : 314 (M<sup>+</sup>, %100), 316 (M+2)**

**Spektrum 4.** Bileşik **1b**'nin kütle spektrumu



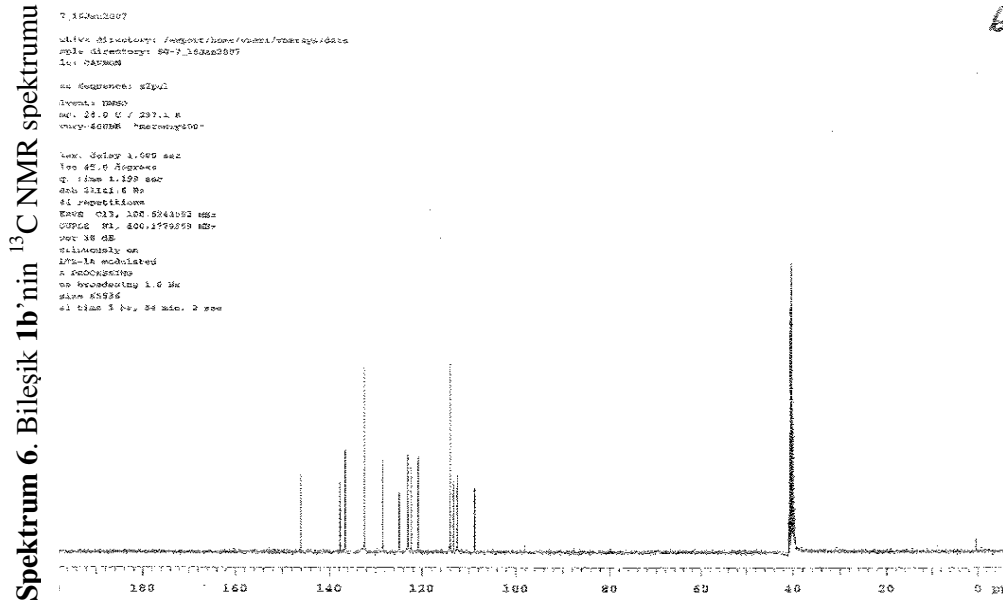
**<sup>1</sup>H NMR δ ppm (d<sub>6</sub>-DMSO+D<sub>2</sub>O):** 6.97 (2H, d), 7.15 (2H, m), 7.35 (2H, d), 7.40 (1H, d), 7.64 (1H, s), 8.10 (1H, s, azometin-CH), 8.20 (1H, d), 9.98 (1H, s, hidrazin-NH) 11.35 (1H, brs, indol-NH)

**Spektrum 5.** Bileşik **1b**'nin <sup>1</sup>H NMR spektrumu

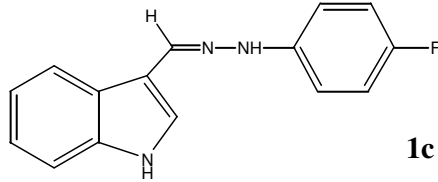




$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  ppm ( $\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$ ): 108.72, 112.43, 113.24, 113.96, 120.78, 122.27, 123.02, 124.86, 128.47, 132.37, 136.60, 137.72, 146.10 (azometin C=N).



### 3.2.3. 1H-indol-3-karboksaldehit (4-florofenil)hidrazon (1c)

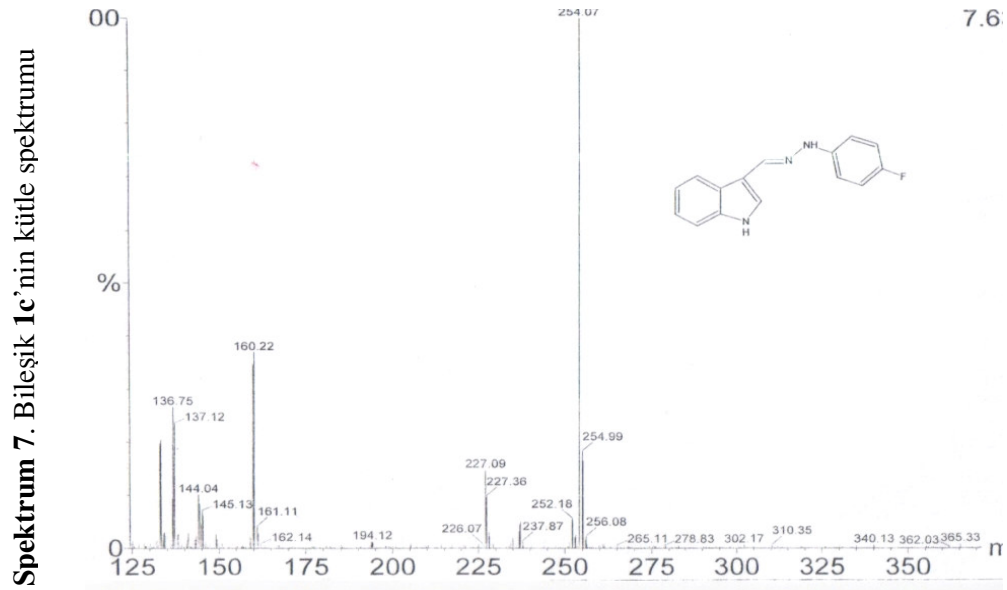


0.14 g (0.1 mmol) 1H-indol-3-karboksaldehit, 5 ml EtOH içerisinde çözümlü içerisinde 0.21 g (0.13 mmol) 4-florofenil hidrazin ve 0.4 g sodyum asetatın 5ml sudaki çözeltisi ilave edilerek su banyosu içerisinde, 30 dakika geri soğutucu altında reaksiyona sokuldu. Reaksiyon sonunda çözelti soğutulurak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı. Sonuçta % 57.51 verimle 0.15 g madde elde edildi. E.n. 115–117 °C.

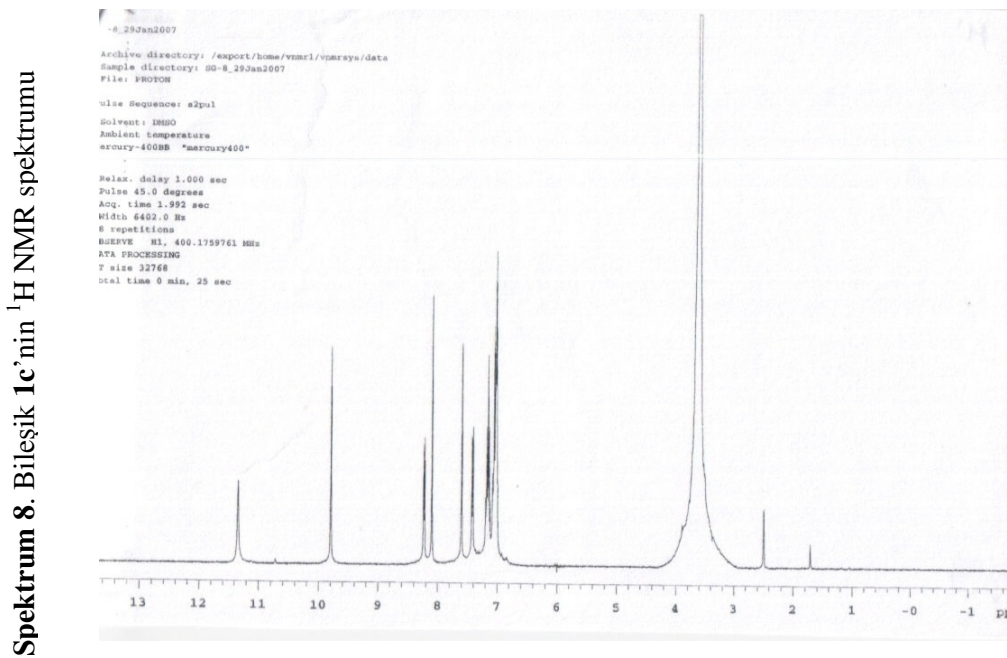
**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{F}$ ; 253.28

	% C	% H	% N
Hesaplanan:	71.13	4.77	16.59
Bulunan:	70.72	4.71	15.98

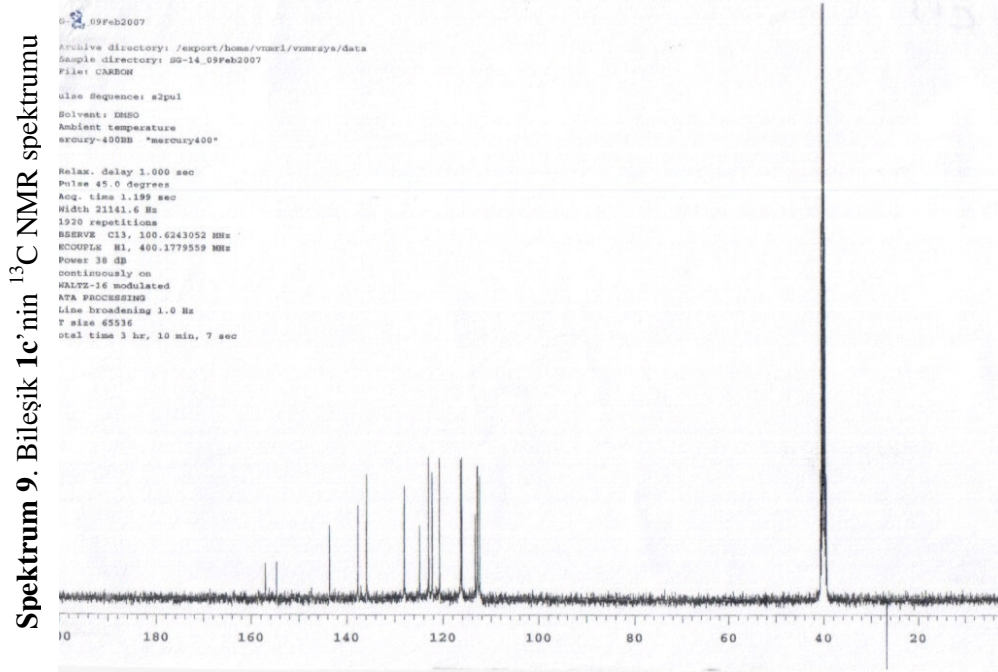
**Kütle m/z (ESI)+ : 254 (M+1, %100), 255 (M+2)**



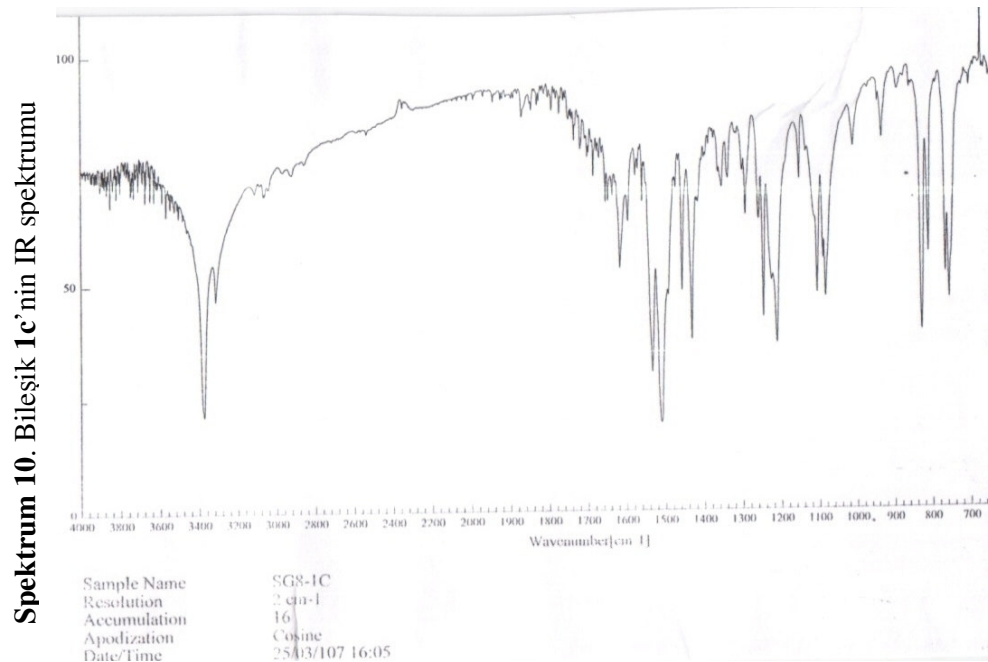
**$^1\text{H NMR } \delta \text{ ppm (d}_6\text{-DMSO+D}_2\text{O): 6.90 (4H, m), 7.02 (2H, m), 7.27 (1H, d), 7.49 (1H, s), 7.96 (1H, s, azometin-CH), 8.09 (1H, d), 9.69 (1H, s) 11.22 (1H, brs)}$**



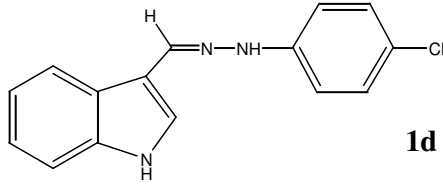
$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  ppm ( $\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$ ): 112.40, 112.87, 113.37, 116.14, 116.35, 120.72, 122.25, 123.00, 124.85, 128.01, 135.87, 137.67, 143.62 (azometin C=N), 154.75, 157.06



**IR Spektrumu (KBr Disk)  $\text{cm}^{-1}$ :** 1615 C=N (azometin) gerilim bandı, 3373 N-H gerilim bandı.



### 3.2.4. 1*H*-indol-3-karboksaldehit (4-klorofenil)hidrazon (1d)

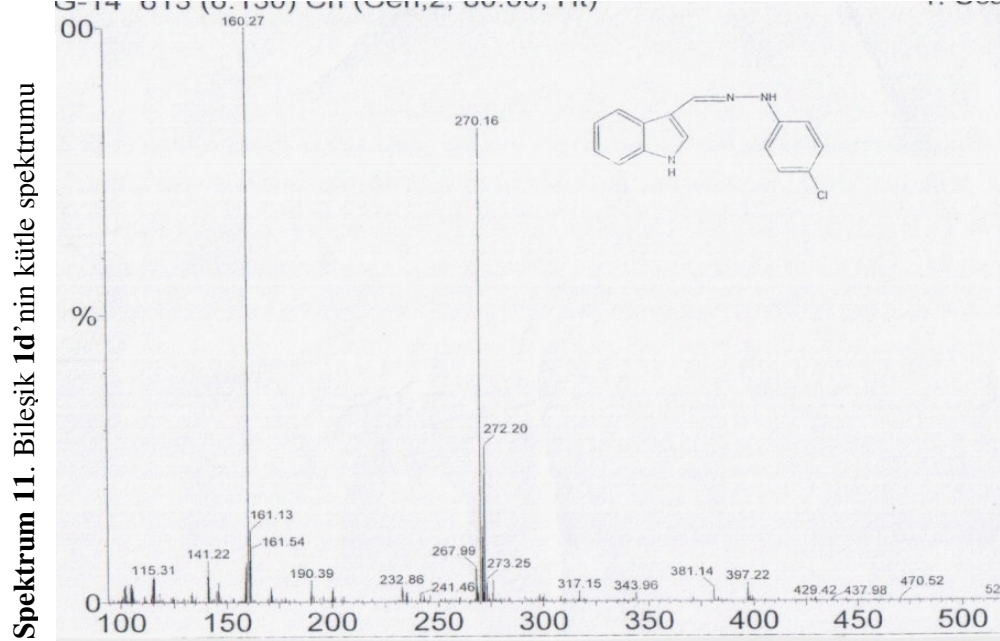


0.14 g (0.1 mmol) 1*H*-indol-3-karboksaldehit, 5 ml EtOH içerisinde çözümlenip içerisinde 0.23 g (0.13 mmol) 4-klorofenil hidrazin ve 0.4 g sodyum asetatın 5 ml sudaki çözeltisi ilave edilerek su banyosu içerisinde, 30 dakika geri soğutucu altında reaksiyona sokuldu. Reaksiyon sonunda çözelti soğutulmuş **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı. Sonuçta % 88.9 verimle 0.24 g madde elde edildi. E.n. 168–171 °C.

**Elementel Analiz:** C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>N<sub>3</sub>Cl; 269.73

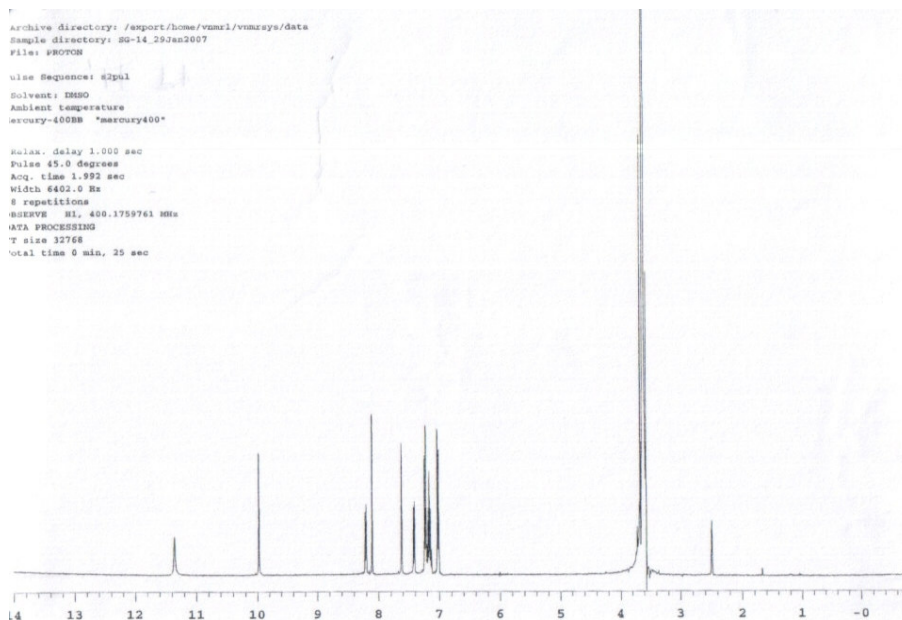
	% C	% H	% N
Hesaplanan:	66.79	4.48	15.58
Bulunan:	66.21	4.42	15.52

**Kütle m/z (ESI)<sup>+</sup> :** 270 (M+1), 272 (M+2), 160 (%100)



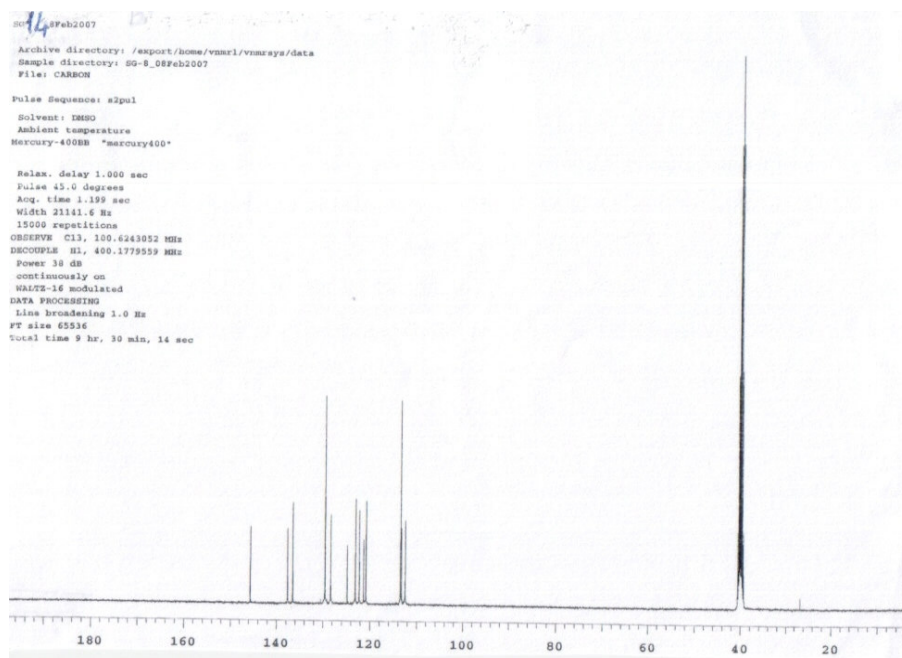
**$^1\text{H}$  NMR  $\delta$  ppm ( $d_6$ -DMSO+ $\text{D}_2\text{O}$ ):** 7.02 (2H, d), 7.16 (2H, m), 7.24 (2H, d), 7.41 (1H, d), 7.62 (1H, s), 8.10 (1H, s, azometin-CH), 8.21 (1H, d), 9.79 (1H, s, hidrazin-NH) 11.36 (1H, brs, indol-NH)

Spektrum 12. Bileşik 1d'nin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu

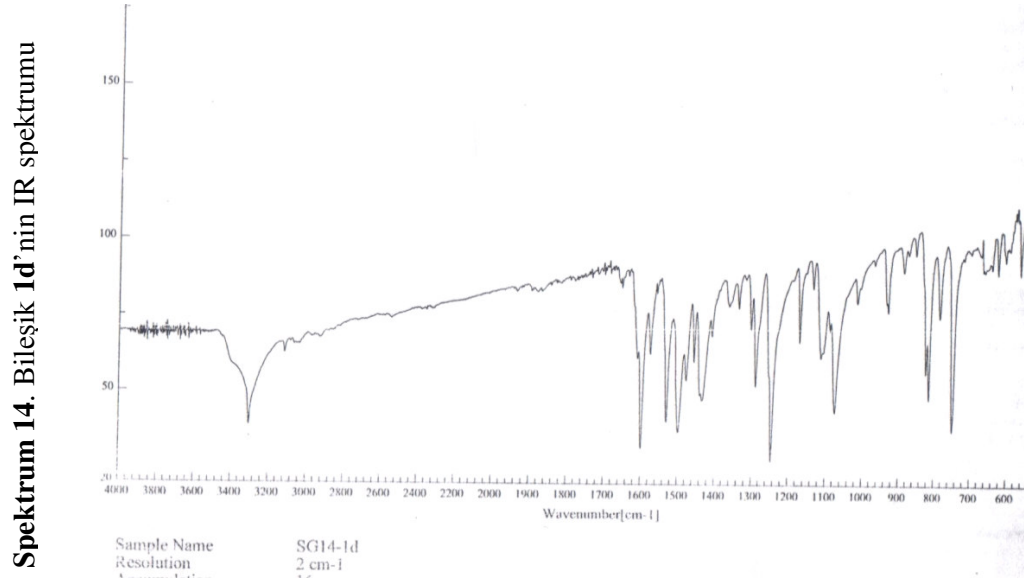


**$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  ppm ( $d_6$ -DMSO+ $\text{D}_2\text{O}$ ):** 112.42, 112.21, 113.42, 120.81, 121.31, 122.22, 123.05, 124.79, 128.31, 129.54, 136.54, 137.66, 145.68 (azometin C=N).

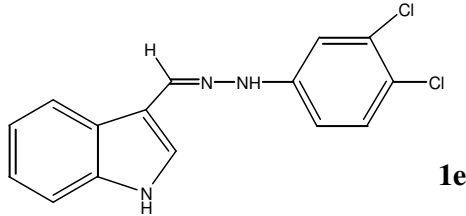
Spektrum 13. Bileşik 1d'nin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



**IR Spektrumu (KBr Disk)  $\text{cm}^{-1}$ :** 1599 C=N (azometin) gerilim bandı, 3302 N-H gerilim bandı



### 3.2.5. 1H-indol-3-karboksaldehit (3,4-diklorofenil)hidrazon (1e)



0.14 g (0.1 mmol) 1H-indol-3-karboksaldehit, 5 ml EtOH içerisinde çözümlü içerisinde 0.28 g (0.13 mmol) 3,4-diklorofenil hidrazin ve 0.4 g sodyum asetatın 5 ml sudaki çözeltisi ilave edilerek su banyosu içerisinde, 30 dakika geri soğutucu altında reaksiyona sokuldu. Reaksiyon sonunda çözelti soğutularak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı. Sonuçta % 94.5 verimle 0.29 g madde elde edildi. E.n. 193–196 °C.

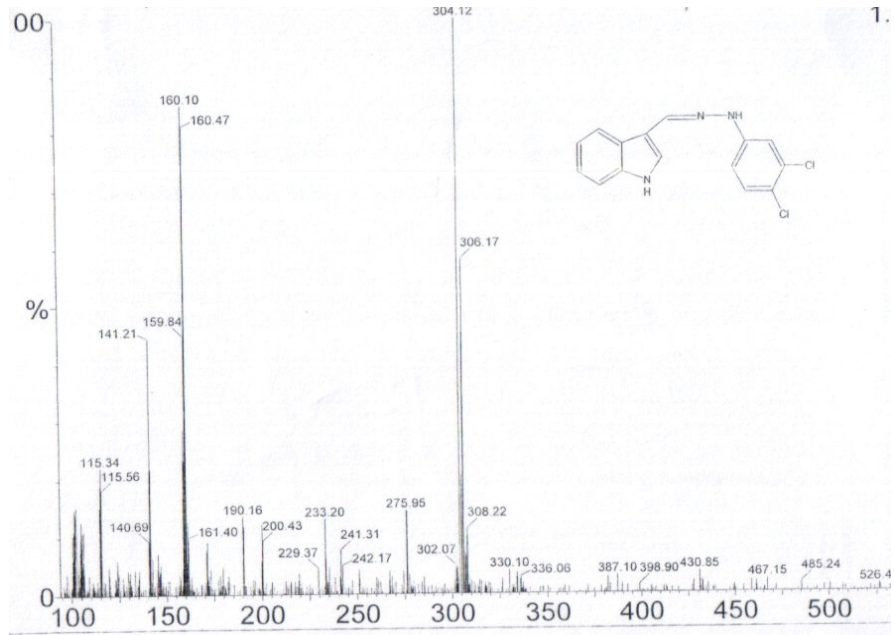
**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{Cl}_2$ ; 304.18

	% C	% H	% N
Hesaplanan:	59.23	3.64	13.81
Bulunan:	58.41	3.66	14.19



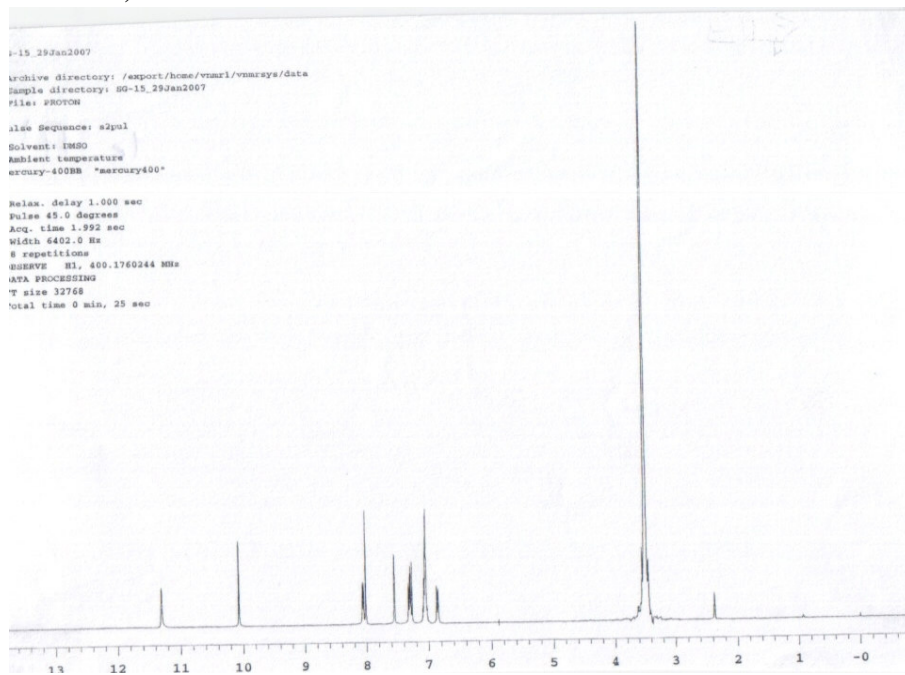
**Kütle m/z (ESI)+ : 304 (M<sup>+</sup>, %100), 306 (M+2)**

**Spektrum 15.** Bileşik **1e**'nin kütle spektrumu



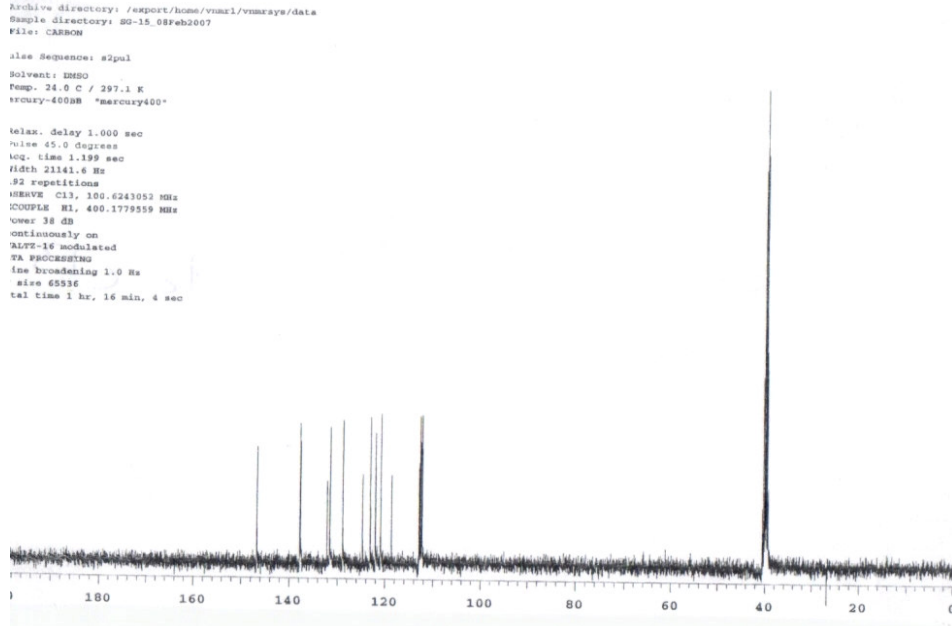
**<sup>1</sup>H NMR δ ppm (d<sub>6</sub>-DMSO+D<sub>2</sub>O):** 6.86 (1H, dd), 7.04 (3H, m), 7.29 (2H, d), 7.55 (1H, s), 8.01 (1H, s, azometin-CH), 8.06 (1H, d,), 10.07 (1H, s, hidrazin-NH) 11.30 (1H, s, indol-NH)

**Spektrum 16.** Bileşik **1e**'nin <sup>1</sup>H NMR spektrumu



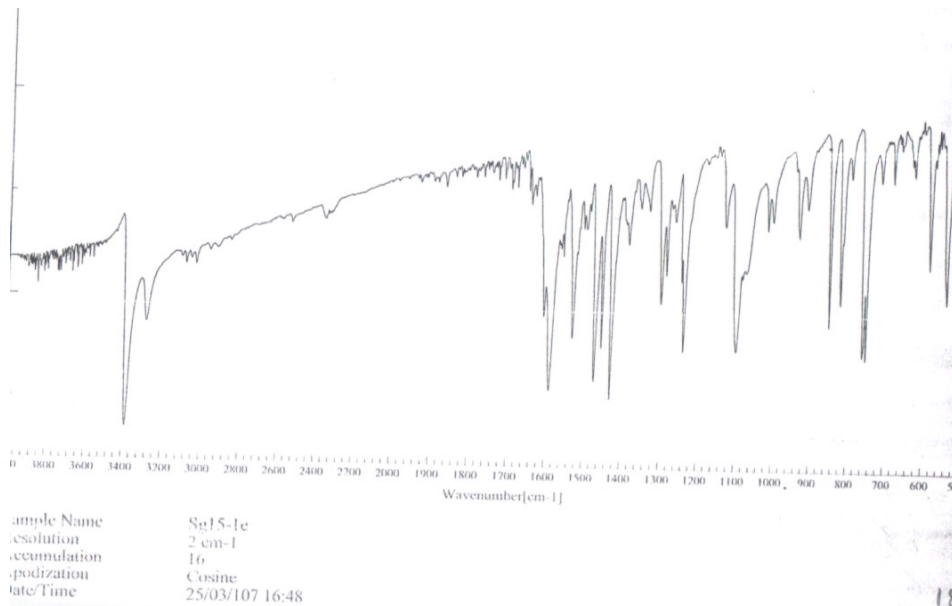
$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  ppm ( $\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$ ): 112.31, 112.52, 112.75, 112.90, 118.66, 120.94, 122.05, 123.14, 124.75, 128.93, 131.57, 132.17, 137.70, 146.72 (azometin C=N).

Spektrum 17. Bileşik 1e'nin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



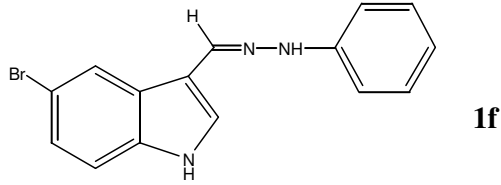
IR Spektrumu (KBr Disk)  $\text{cm}^{-1}$ : 1590 C=N (azometin) gerilim bandı, 3384 N-H gerilim bandı

Spektrum 18. Bileşik 1e'nin IR spektrumu





### 3.2.6. 5-bromo-1*H*-indol-3-karboksaldehit fenil hidrazon (1f)

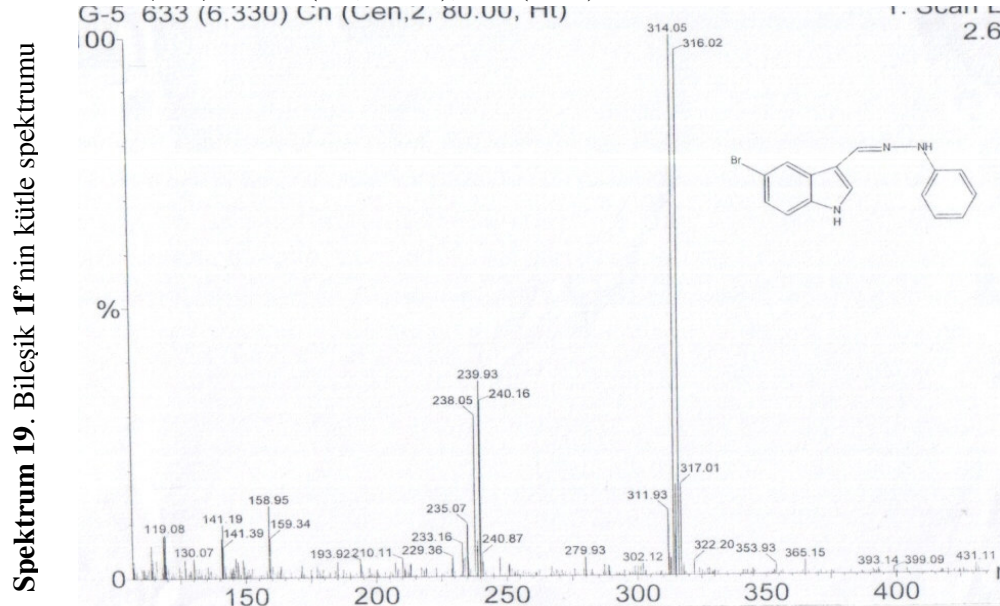


0.22 g (0.1 mmol) 5-Bromo-1*H*-indol-3-karboksaldehit, 5 ml EtOH içerisinde çözülüp içerisine 0.2 g (0.13 mmol) fenil hidrazin ve 0.4 g sodyum asetatın 5 ml sudaki çözeltisi ilave edilerek su banyosu içerisinde, 30 dakika geri soğutucu altında reaksiyona sokuldu. Reaksiyon sonunda çözelti soğutulurak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı. Sonuçta % 70.4 verimle 0.22 g madde elde edildi. E.n. 114–116 °C.

**Elementel Analiz:** C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>N<sub>3</sub>Br ; 314.18

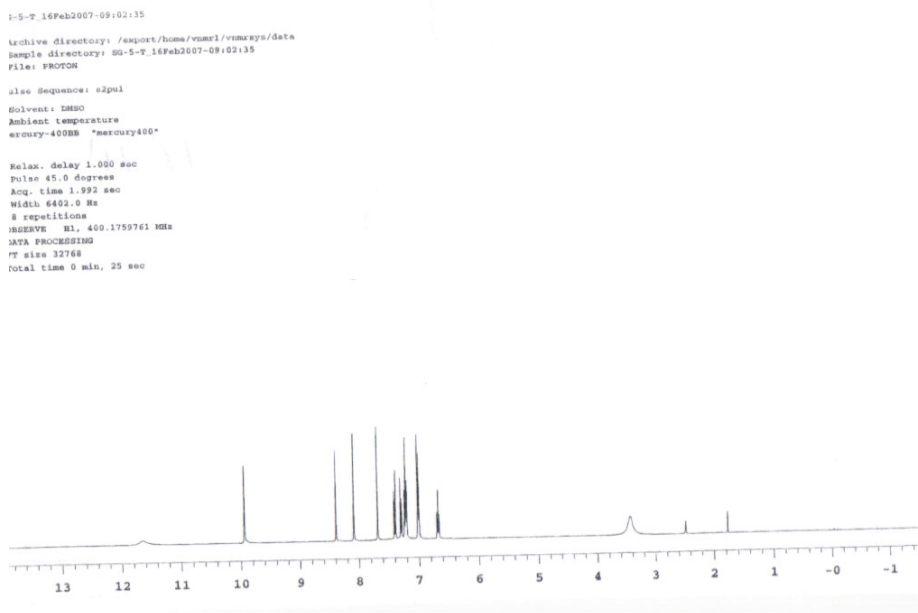
	% C	% H	% N
Hesaplanan:	57.34	3.85	13.37
Bulunan:	57.10	3.91	13.01

**Kütle m/z (ESI)+ :** 314 (M<sup>+</sup>, %100), 326 (M+2)



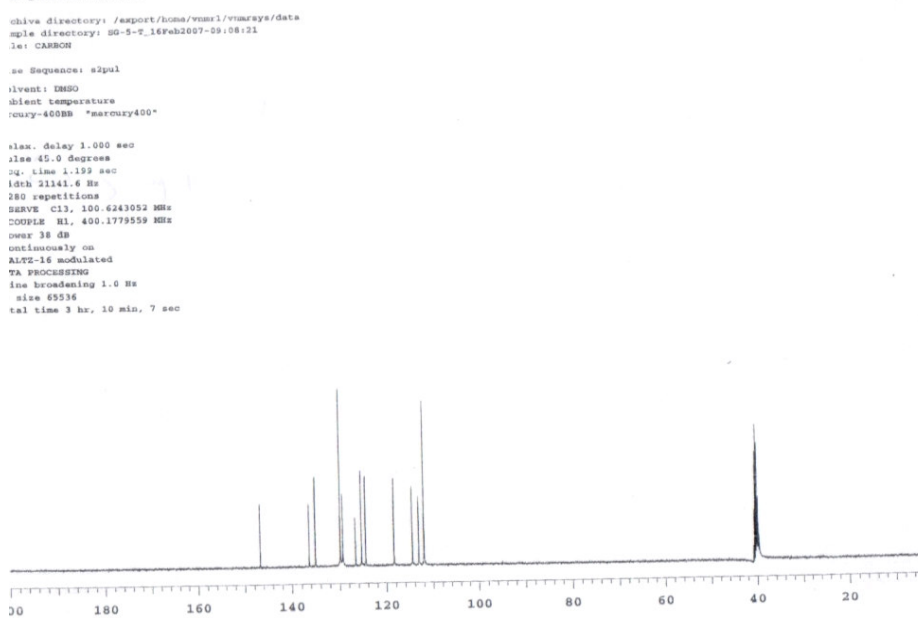
**$^1\text{H}$  NMR  $\delta$  ppm ( $\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$ ):** 6.67 (1H, t), 7.01 (2H, d), 7.21 (2H, m), 7.28 (1H, m), 7.39 (1H, d), 7.68 (1H, s), 8.09 (1H, s, azometin-CH), 8.39 (1H, s), 9.94 (1H, s, hidrazin-NH) 11.65 (1H, brs, indol-NH)

Spektrum 20. Bileşik 1f'nin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu

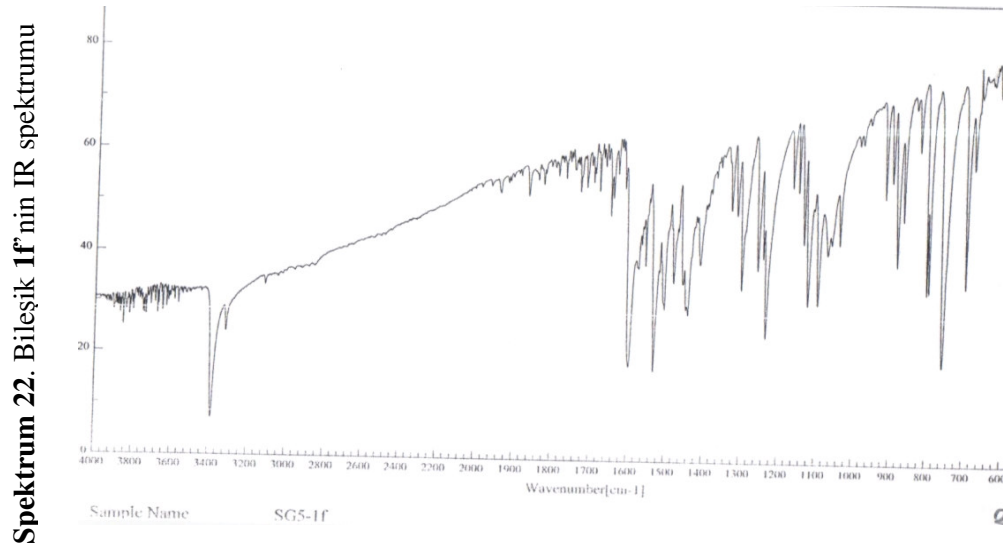


**$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  ppm ( $\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$ ):** 112.01, 113.08, 113.15, 114.46, 118.41, 124.46, 125.36, 126.63, 129.28, 129.81, 135.07, 136.40, 146.73 (azometin C=N).

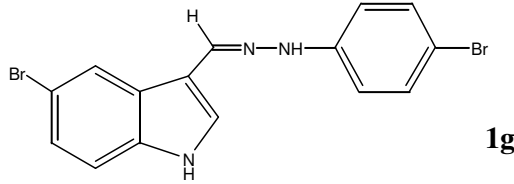
Spektrum 21. Bileşik 1f'nin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



**IR Spektrumu (KBr Disk)  $\text{cm}^{-1}$ :** 1598 C=N (azometin) gerilim bandı, 3385 N-H gerilim bandı



### 3.2.7. 5-bromo-1H-indol-3-karboksaldehit (4-bromofenil)hidrazon (1g)

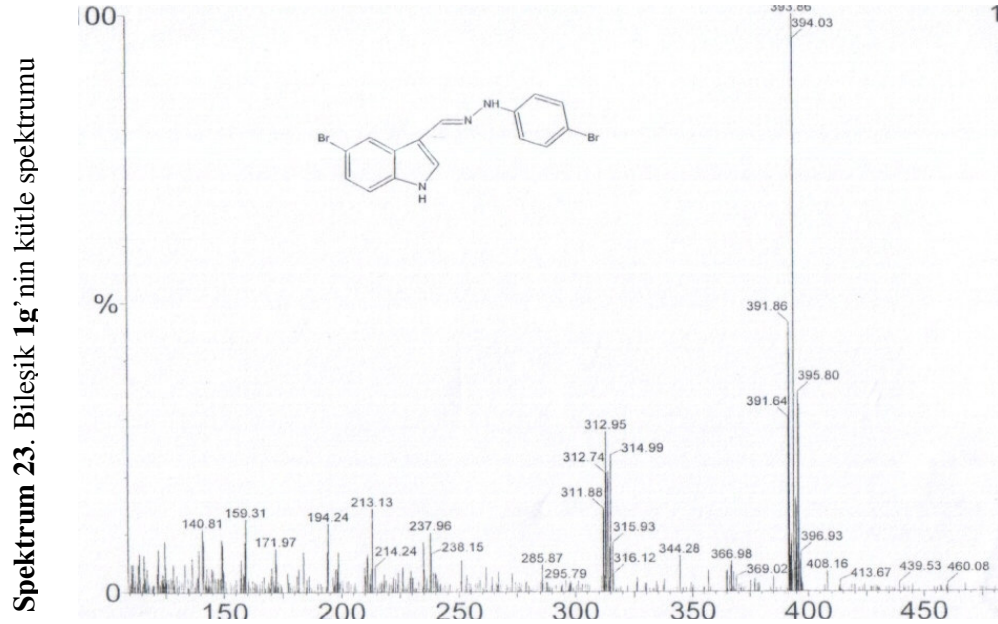


0.22 g (0.1 mmol) 5-Bromo-1H-indol-3-karboksaldehit, 5 ml EtOH içerisinde çözümlü içerisinde 0.29 g (0.13 mmol) 4-bromofenil hidrazin ve 0.4 g sodyum asetatın 5 ml sudaki çözeltisi ilave edilerek su banyosu içerisinde, 30 dakika geri soğutucu altında reaksiyona sokuldu. Reaksiyon sonunda çözelti soğutularak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı. Sonuçta % 62.1 verimle 0.24 g madde elde edildi. E.n. 193–196 °C.

**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{Br}_2$ ; 393.08

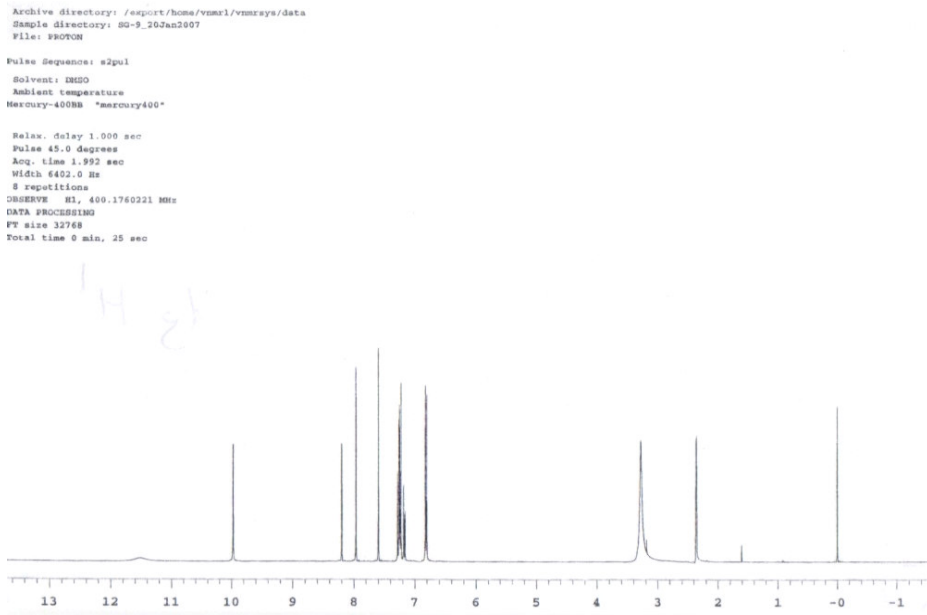
	% C	% H	% N
Hesaplanan:	45.83	2.82	10.69
Bulunan:	45.58	2.70	10.67

**Kütle m/z (ESI)+ : 393 (M<sup>+</sup>, %100), 394 (M+1) 395 (M+2) 396 (M+3)**



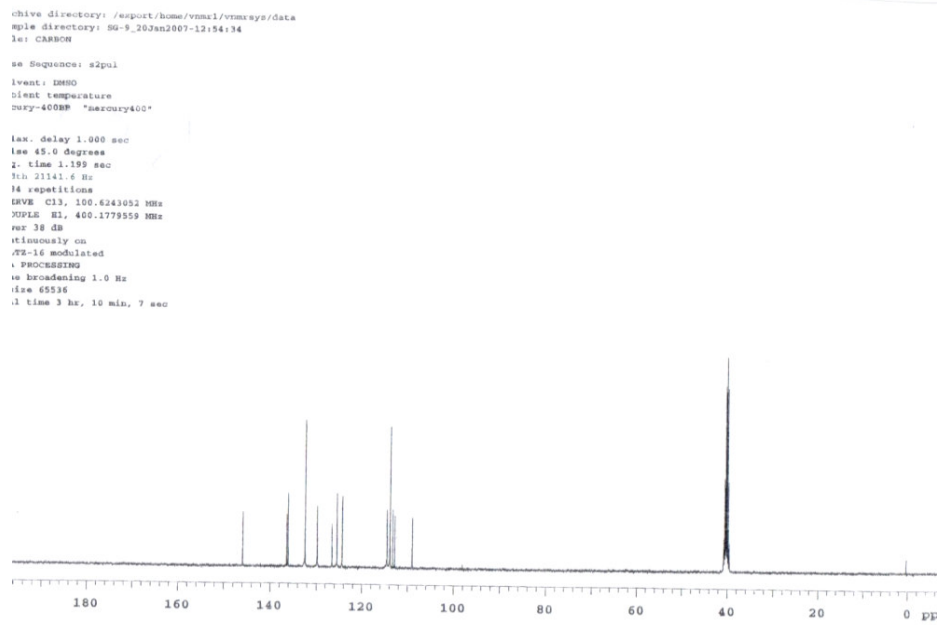
**<sup>1</sup>H NMR δ ppm (d<sub>6</sub>-DMSO+D<sub>2</sub>O): 6.81 (2H, d), 7.17 (1H, dd), 7.25 (3H, m), 7.59 (1H, s), 7.96 (1H, s, azometin-CH), 8.20 (1H, d), 9.97 (1H, s, hidrazin-NH) 11.55 (1H, brs, indol-NH)**

**Spektrum 24. Bileşik 1g'nin <sup>1</sup>H NMR spektrumu**



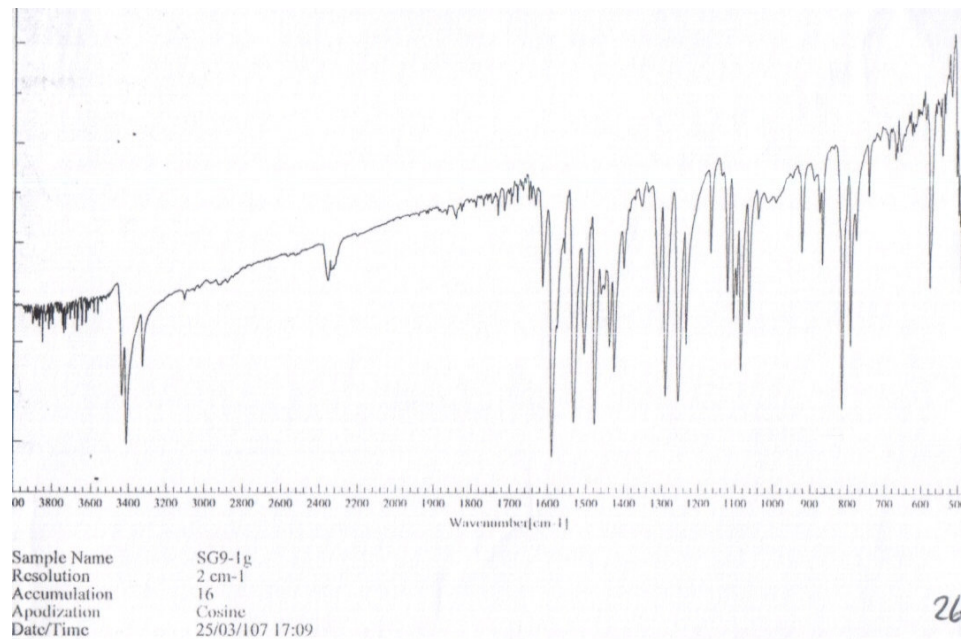
$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  ppm ( $d_6$ -DMSO+ $\text{D}_2\text{O}$ ): 108.99, 112.81, 113.27, 113.89, 114.53, 124.32, 125.48, 126.55, 129.78, 132.43, 136.11, 136.40, 145.95 (azometin C=N).

Spektrum 25. Bileşik 1g'nin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

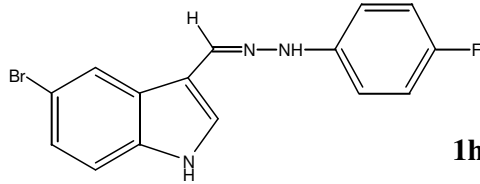


IR Spektrumu (KBr Disk)  $\text{cm}^{-1}$ : 1590 C=N (azometin) gerilim bandı, 3412 N-H gerilim bandı

Spektrum 26. Bileşik 1g'nin IR spektrumu



### 3.2.8. 5-bromo-1*H*-indol-3-karboksaldehit (4-florofenil)hidrazon (1h)

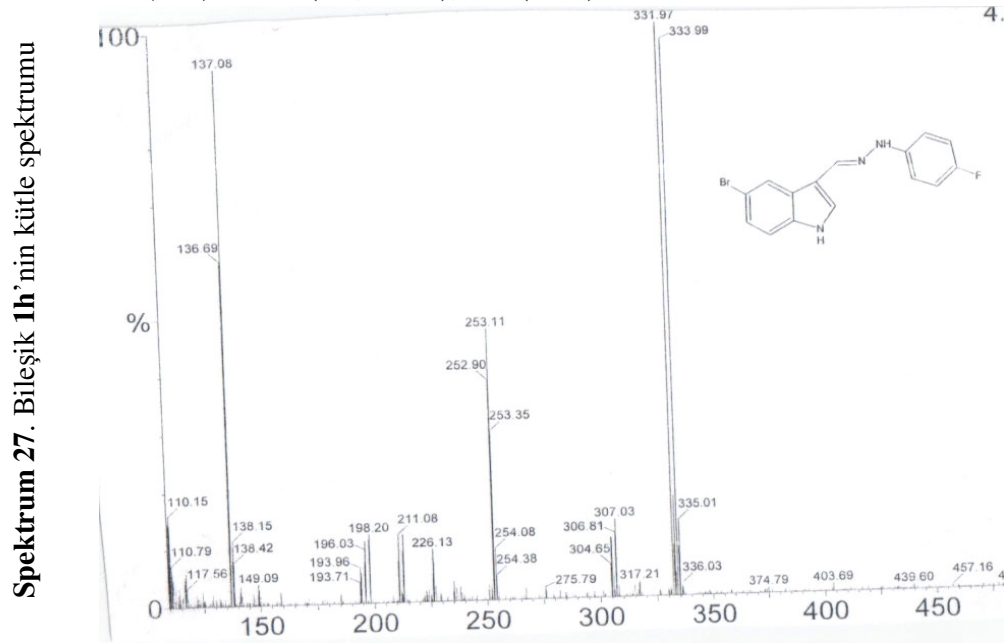


0.22 g (0.1 mmol) 5-Bromo-1*H*-indol-3-karboksaldehit, 5 ml EtOH içerisinde çözümlü içerisinde 0.21 g (0.13 mmol) 4-florofenil hidrazin ve 0.4 g sodyum asetatın 5 ml sudaki çözeltisi ilave edilerek su banyosu içerisinde, 30 dakika geri soğutucu altında reaksiyona sokuldu. Reaksiyon sonunda çözelti soğutularak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı. Sonuçta % 45.2 verimle 0.15 g madde elde edildi. E.n. 168–170 °C.

**Elementel Analiz:** C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>BrF; 332.17

	% C	% H	% N
Hesaplanan:	54.23	3.34	12.65
Bulunan:	54.11	3.28	12.75

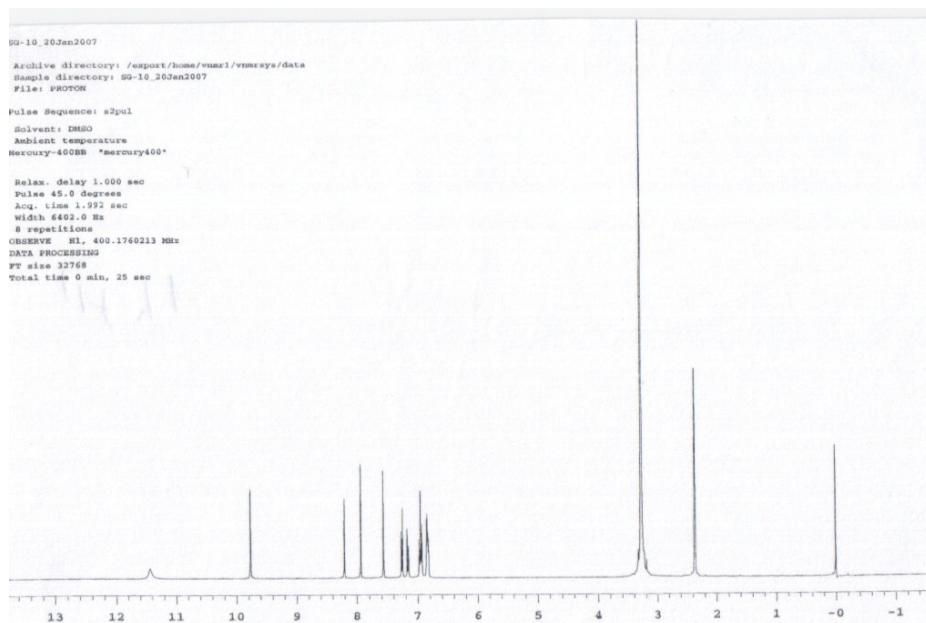
**Kütle m/z (ESI)+ :** 332 (M<sup>+</sup>, %100), 334 (M+2)





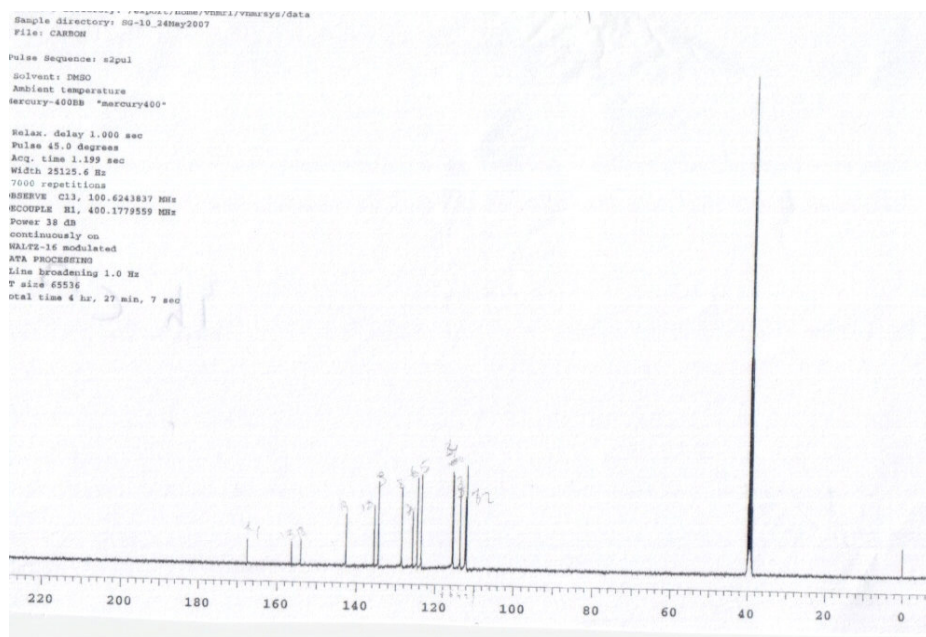
**$^1\text{H}$  NMR  $\delta$  ppm ( $d_6$ -DMSO+ $\text{D}_2\text{O}$ ):** 6.82 (2H, m), 6.95 (2H, m) 7.16 (1H, d), 7.26 (1H, d), 7.56 (1H, s), 7.93 (1H, s), 8.20 (1H, s), 9.97 (1H, s) 11.43 (1H, brs)

Spektrum 28. Bileşik 1h'nin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



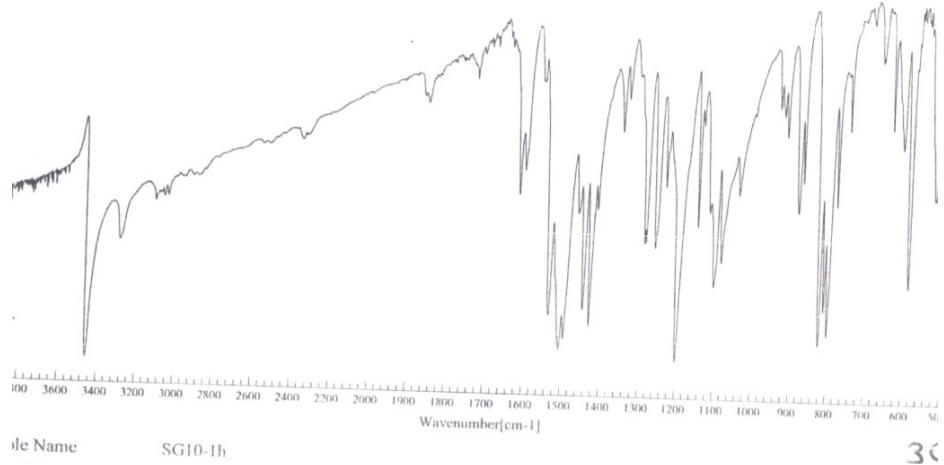
**$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  ppm ( $d_6$ -DMSO+ $\text{D}_2\text{O}$ ):** 112.0, 112.29, 113.67, 115.51, 123.56, 124.61, 125.79, 128.58, 134.51, 135.59, 142.72 (azometin C=N), 154.07, 156.38. 168.66

Spektrum 29. Bileşik 1h'nin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

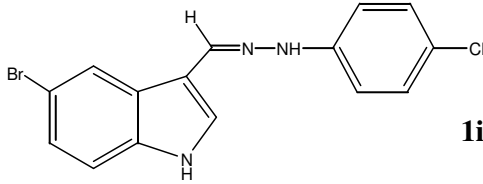


**IR Spektrumu (KBr Disk)  $\text{cm}^{-1}$ :** 1617 C=N (azometin) gerilim bandı, 3456 N-H gerilim bandı

**Spektrum 30. Bileşik 1h'nin IR spektrumu**



### 3.2.9. 5-bromo-1H-indol-3-karboksaldehit (4-klorofenil)hidrazon (1i)



0.224 g (0.1 mmol) 5-Bromo-1H-indol-3-karboksaldehit, 5 ml EtOH içerisinde çözümlü içerisinde 0.23 g (0.13 mmol) 4-klorofenil hidrazin ve 0.4 g sodyum asetatın 5 ml sudaki çözeltisi ilave edilerek su banyosu içerisinde, 30 dakika geri soğutucu altında reaksiyona sokuldu. Reaksiyon sonunda çözelti soğutulurak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı. Sonuçta % 45.75 verimle 0.16 g madde elde edildi. E.n. 165–167 °C.

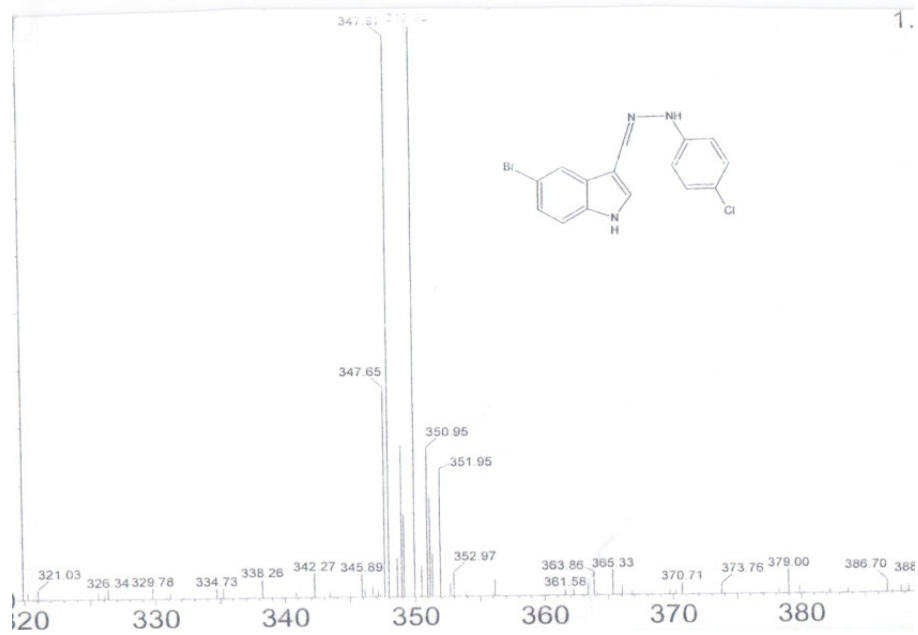
**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{BrCl}$ ; 348.63

	% C	% H	% N
Hesaplanan:	51.68	3.18	12.05
Bulunan:	51.66	3.17	12.08



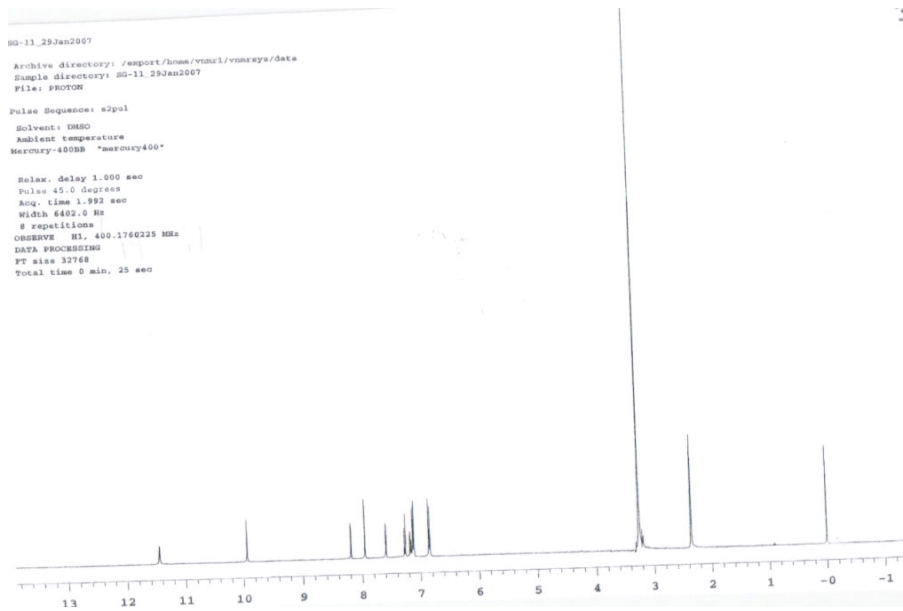
**Kütle m/z (ESI)+ : 348 (M<sup>+</sup>, %100), 350 (M+2) 352 (M+4)**

**Spektrum 31. Bileşik 1i'nin kütle spektrumu**



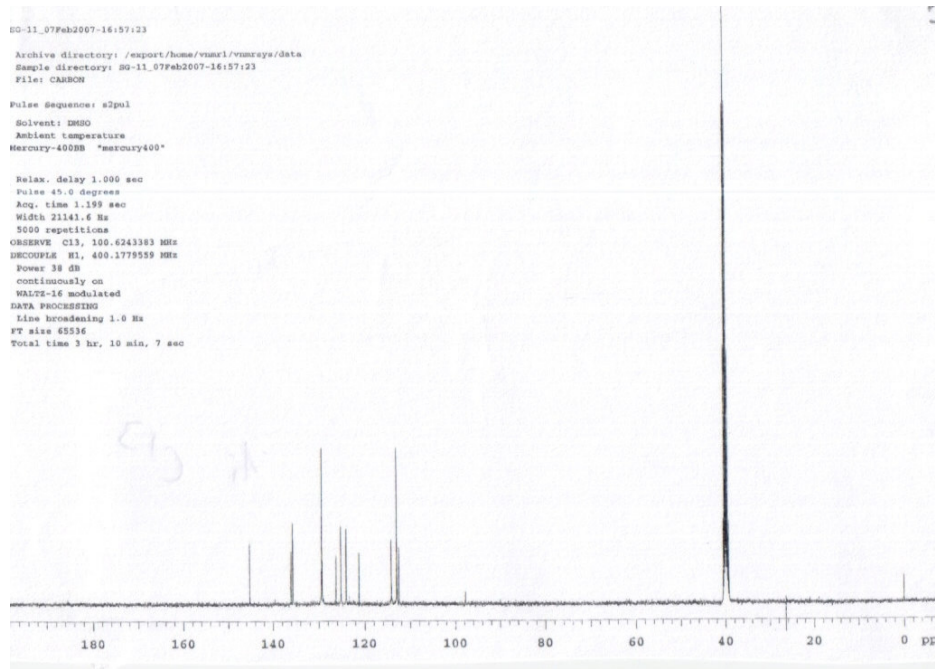
**<sup>1</sup>H NMR δ ppm (d<sub>6</sub>-DMSO+D<sub>2</sub>O): 6.84 (2H, d), 7.12 (1H, d), 7.16 (1H, d), 7.18 (1H, d), 7.26 (1H, d), 7.59 (1H, d), 7.94 (1H, s, azometin-CH), 8.19 (1H, d), 9.93 (1H, s, hidrazin-NH) 11.45 (1H, brs, indol-NH)**

**Spektrum 32. Bileşik 1i'nin <sup>1</sup>H NMR spektrumu**



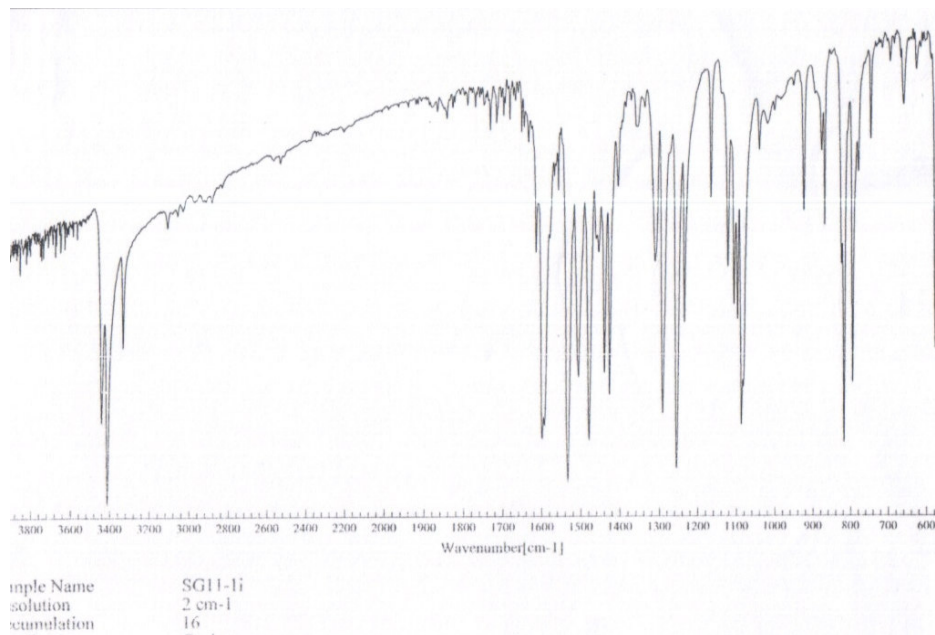
$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  ppm ( $d_6$ -DMSO+D<sub>2</sub>O): 112.50, 112.93, 113.02, 114.18, 121.21, 123.99, 125.15, 126.22, 129.29, 129.38, 135.67, 136.06, 145.26 (azometin C=N).

Spektrum 33. Bileşik 1i'nin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu

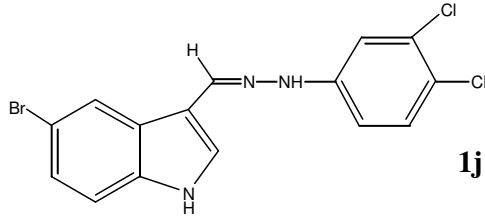


IR Spektrumu (KBr Disk)  $\text{cm}^{-1}$ : 1599 C=N (azometin) gerilim bandı, 3411 N-H gerilim bandı

Spektrum 34. Bileşik 1i'nin IR spektrumu



### 3.2.10. 5-bromo-1*H*-indol-3-karboksaldehit (3,4-diklorofenil)hidrazon (1j)



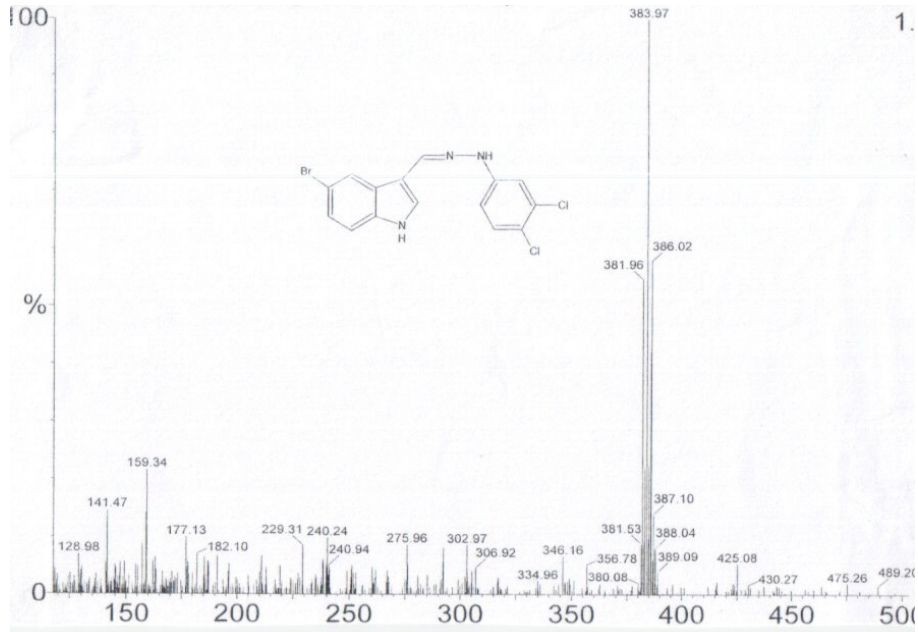
0.22 g (0.1 mmol) 5-Bromo-1*H*-indol-3-karboksaldehit, 5 ml EtOH içerisinde çözülüp içerisine 0.28 g (0.13 mmol) 3,4-diklorofenil hidrazin ve 0.4 g sodyum asetatın 5 ml sudaki çözeltisi ilave edilerek su banyosu içerisinde, 30 dakika geri soğutucu altında reaksiyona sokuldu. Reaksiyon sonunda çözelti soğutularak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı. Sonuçta % 56.3 verimle 0.22 g madde elde edildi. E.n. 135–137 °C.

**Elementel Analiz:** C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>N<sub>3</sub>BrCl<sub>2</sub>; 383.07

	% C	% H	% N
Hesaplanan:	47.03	2.63	10.97
Bulunan:	46.44	2.67	11.17

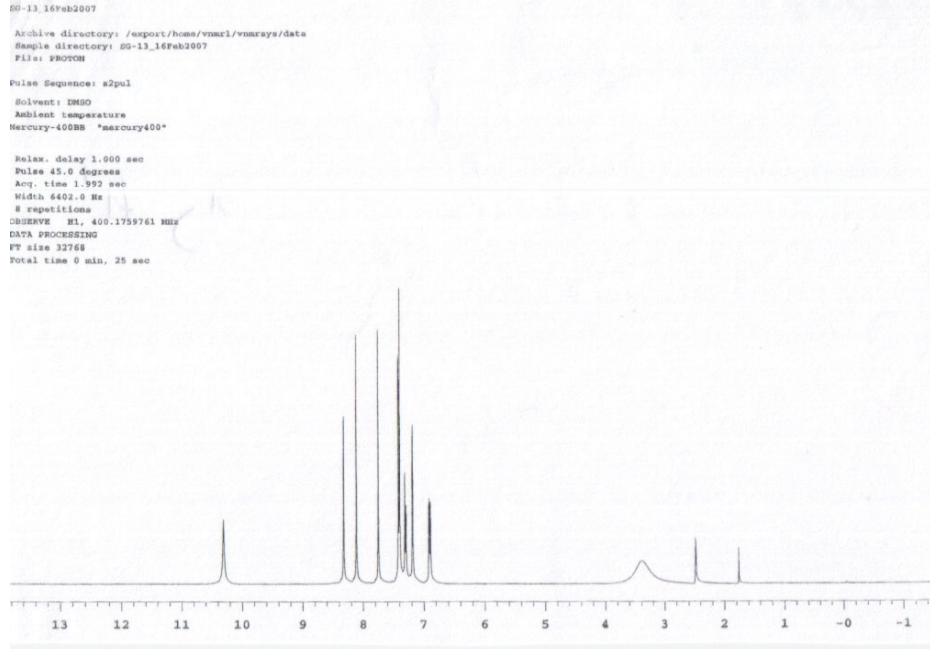
**Kütle m/z (ESI)<sup>+</sup> :** 384 (M<sup>+</sup>, %100), 386 (M+2) 387, 388, 389

**Spektrum 35.** Bileşik **1j**'nin kütle spektrumu



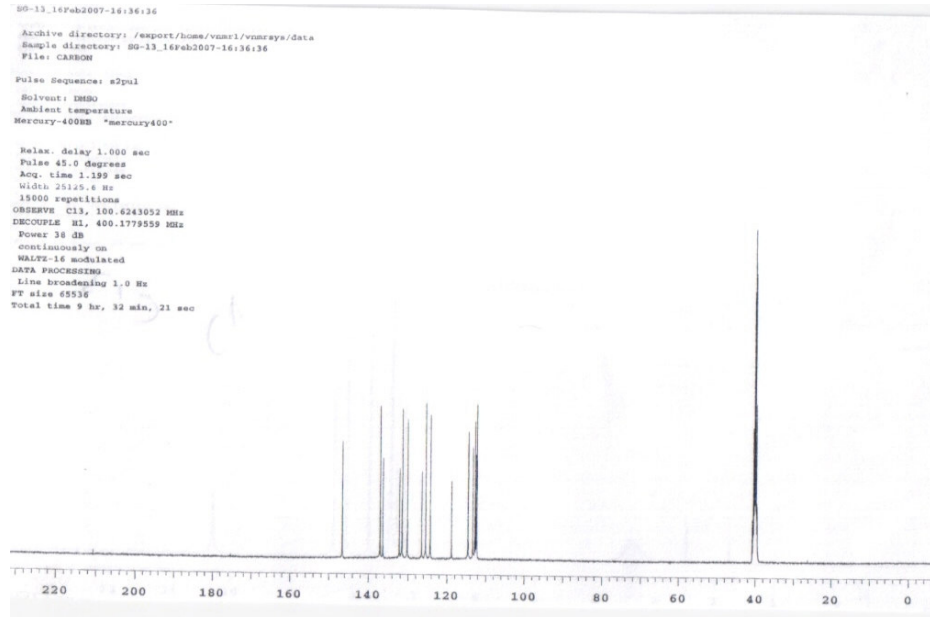
**$^1\text{H}$  NMR  $\delta$  ppm ( $d_6$ -DMSO+ $\text{D}_2\text{O}$ ):** 6.90 (1H, dd), 7.18 (1H,d), 7.29 (1H, d), 7.40 (2H, d), 7.47 (1H, s), 8.11 (1H, s, azometin-CH), 8.32 (1H, s), 10.30 (1H, brs, hidrazin-NH), indol-NH gözlenmedi.

Spektrum 36. Bileşik 1j'nin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu

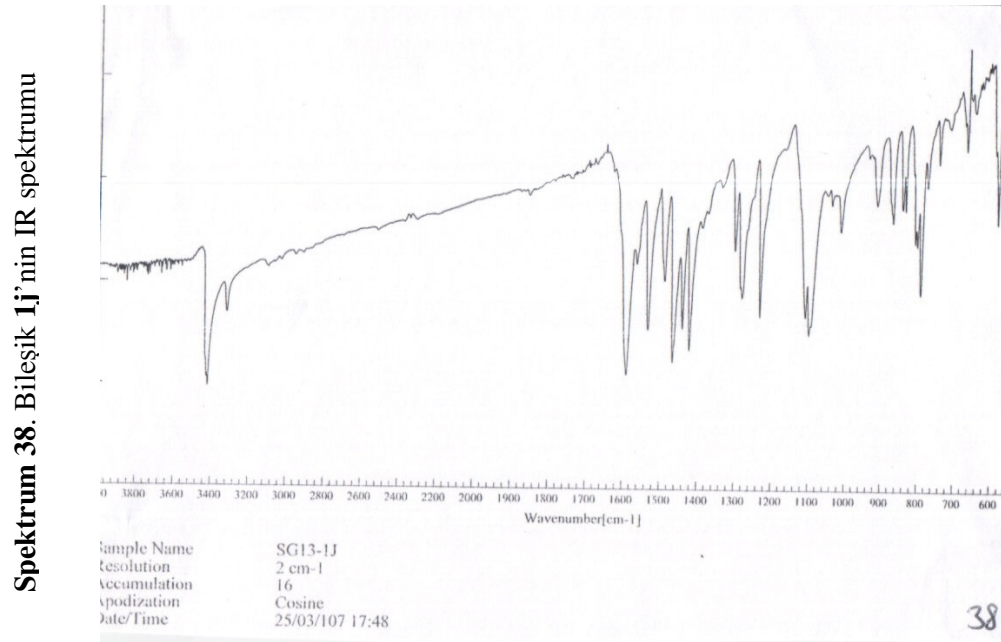


**$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  ppm ( $d_6$ -DMSO+ $\text{D}_2\text{O}$ ):** 112.32, 112.56, 112.81, 113.37, 114.58, 118.85, 124.33, 125.49, 126.53, 130.22, 131.58, 132.28, 136.41, 137.11, 146.66 (azometin C=N).

Spektrum 37. Bileşik 1j'nin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



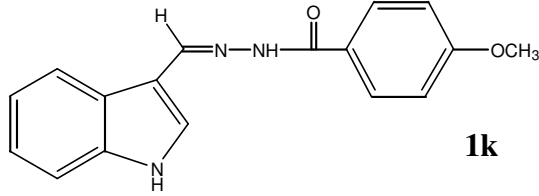
**IR Spektrumu (KBr Disk)  $\text{cm}^{-1}$ :** 1591 C=N (azometin) gerilim bandı, 3420 N-H gerilim bandı



### 3.3. 1H-indol-3-aldehit anisik asit hidrazonu (1k, 1m) / izonikotinic asit hidrazonu Türevlerinin Genel Sentezi (1l, 1n)

Bu sentez yönteminde ise 0.05 mmol 1H-indol-3-karboksaldehit (0.073 g) veya 5-bromo-1H-indol-3-karboksaldehit (0.112 g) EtOH (10 ml) içerisinde çözülür. Bu çözeltinin içerisine; 0.05 mmol izonikotinic asit hidrazidi (isoniazid) (0.083 g) veya anisik asit hidrazidinin (0.069 g) 50 ml EtOH içerisindeki çözeltisi ilave edilir ve 2.5 saat su banyosunda, geri soğutucu altında reaksiyona sokulur. Reaksiyonun durumu ince tabaka kromatografisi ile kontrol edilir ve gerekirse su banyosunda ısıtma işlemine bir süre daha devam edilebilir. Karışım soğuduktan sonra çökelek süzülür ve EtOH'den tekrar kristallendirilerek saflaştırılır. Eğer reaksiyon sonucunda çökelek oluşmamış ise karışımın içerisindeki solvan döner buharlaştırıcı vasıtasıyla uçurulur ve kalan madde uygun çözücü ile kristallendirilerek saflaştırılır (Koçyiğit ve ark., 2006).

**3.3.1. N-(4-metoksibenzoil)-N'-(indolil-3-metilen)-hidrazin (1k)**  
**[4-metoksi benzoik asit (1H-indol-3-ilmetilen)hidrazid]**



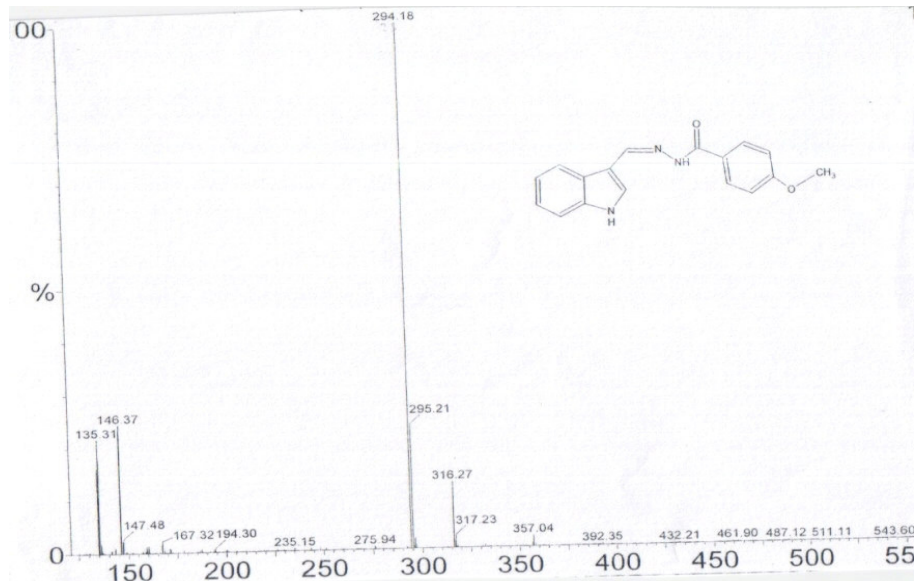
0.05 mmol (0.073 g) 1H-indol-3-karboksaldehit EtOH (10 ml) içerisinde çözüldü. Bu çözelti içerisinde 0.05 mmol (0.085 g) anisik asit hidrazidinin 50 ml EtOH içerisindeki çözeltisi ilave edilerek 2.5 saat su banyosunda, geri soğutucu altında reaksiyona sokuldu. Daha sonra reaksiyon **Bölüm 3.3** de tarif edildiği şekilde tamamlandı. Reaksiyon sonunda 0.068 g madde % 46.42 verimle elde edildi, E.n. 255-257 °C, (E.n. 254-256 °C, Alemany ve ark., 1967).

**Elementel Analiz:** C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>; 293.32

	% C	% H	% N
Hesaplanan:	69.61	5.15	14.33
Bulunan:	68.88	5.55	14.51

**Kütle m/z (ESI)+ :** 294 (M+1, %100), 295 (M+2) 316 (M+Na)

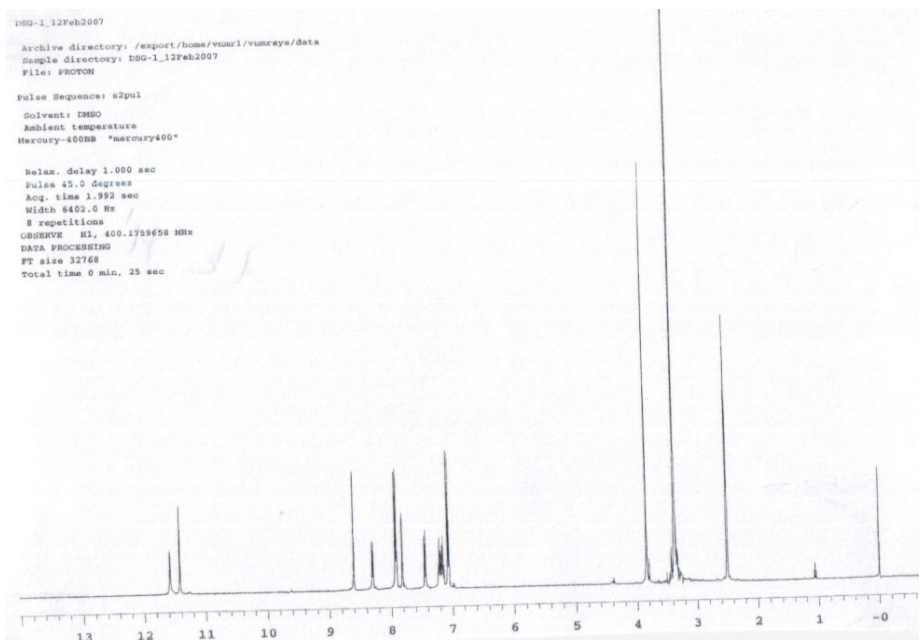
**Spektrum 39.** Bileşik 1k'nin kütle spektrumu





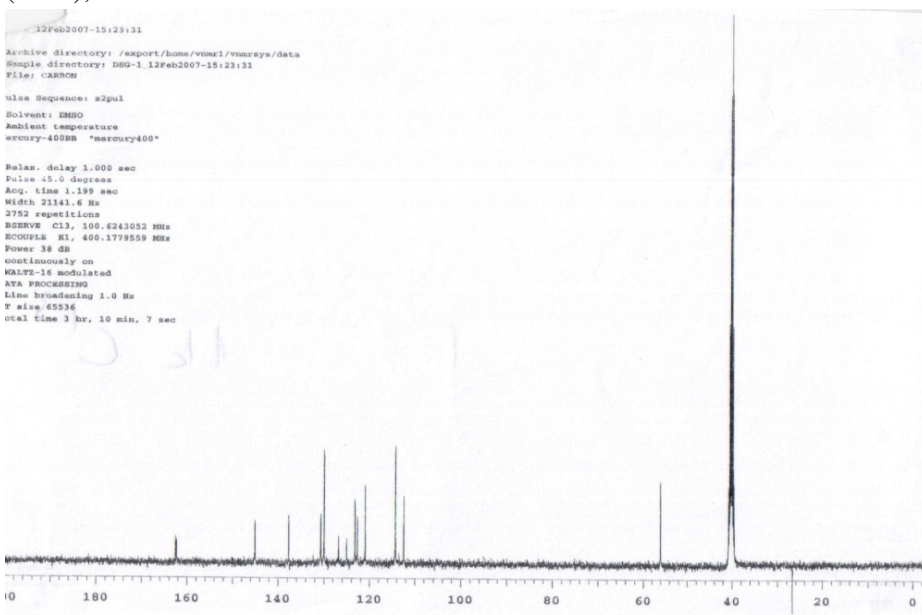
**$^1\text{H}$  NMR  $\delta$  ppm ( $\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$ ):** 3.83 (3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 7.06 (2H, d), 7.18 (2H, m), 7.44 (1H, d), 7.81 (1H, s), 7.91 (2H, d), 8.30 (1H, d), 8.60 (1H, s, azometin-CH) 11.42 (1H, s, hidrazin-NH) 11.58 (1H, brs, indol-NH)

Spektrum 40. Bileşik 1k'nin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu

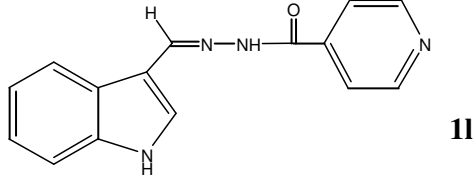


**$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  ppm ( $\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$ ):** 56.07 ( $\text{CH}_3$ ), 112.46, 114.31, 120.99, 122.71, 123.25, 125.05, 126.79, 129.97, 130.70, 137.70, 145.09 (azometin  $\text{C}=\text{N}$ ), 162.37 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 162.64

Spektrum 41. Bileşik 1k'nin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



**3.3.2. 1*H*-indol-3-karboksaldehit izonikotinoilhidrazon (11)**  
**[izonikotinik asit 1*H*-İndol-3-ilmetilen)hidrazid]**



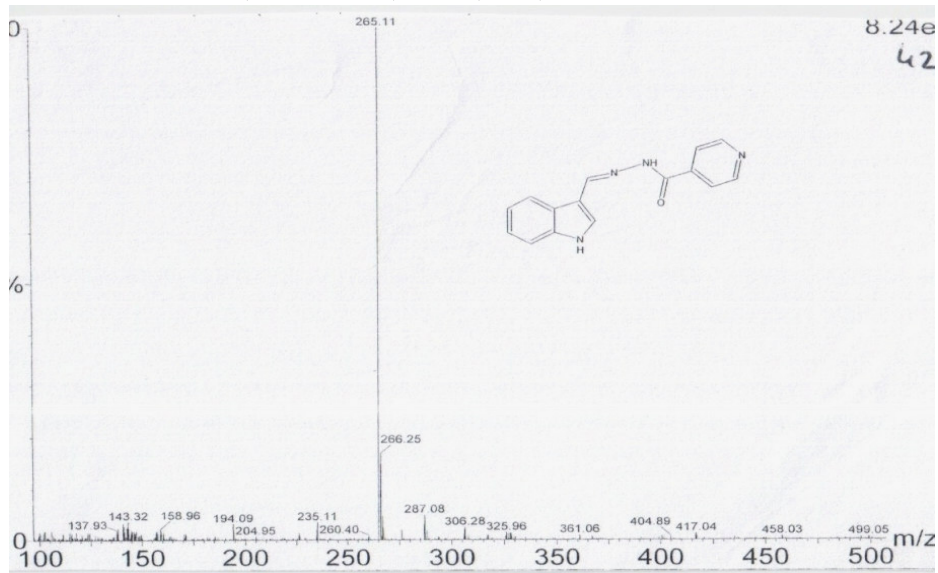
0.05 mmol (0.07 g) 1*H*-indol-3-karboksaldehit EtOH (10 ml) içerisinde çözüldü. Bu çözelti içerisinde 0.05 mmol (0.068 g) isonikotinik asit hidrazidinin 50 ml EtOH içerisindeki çözeltisi ilave edilerek 2.5 saat su banyosunda, geri soğutucu altında reaksiyona sokuldu. Daha sonra reaksiyon **Bölüm 3.3** de tarif edildiği şekilde tamamlandı. Reaksiyon sonunda 0.08 g madde % 62.4 verimle elde edildi. E.n. 230–232 °C (E.n 230-232 °C, Popp, 1984)

**Elementel Analiz:** C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O; 264.29

	<u>% C</u>	<u>% H</u>	<u>% N</u>
Hesaplanan:	68.17	4.58	21.19
Bulunan:	68.42	5.36	14.05

**Kütle m/z (ESI)+ :** 265 (M+1, %100), 266 (M+2)

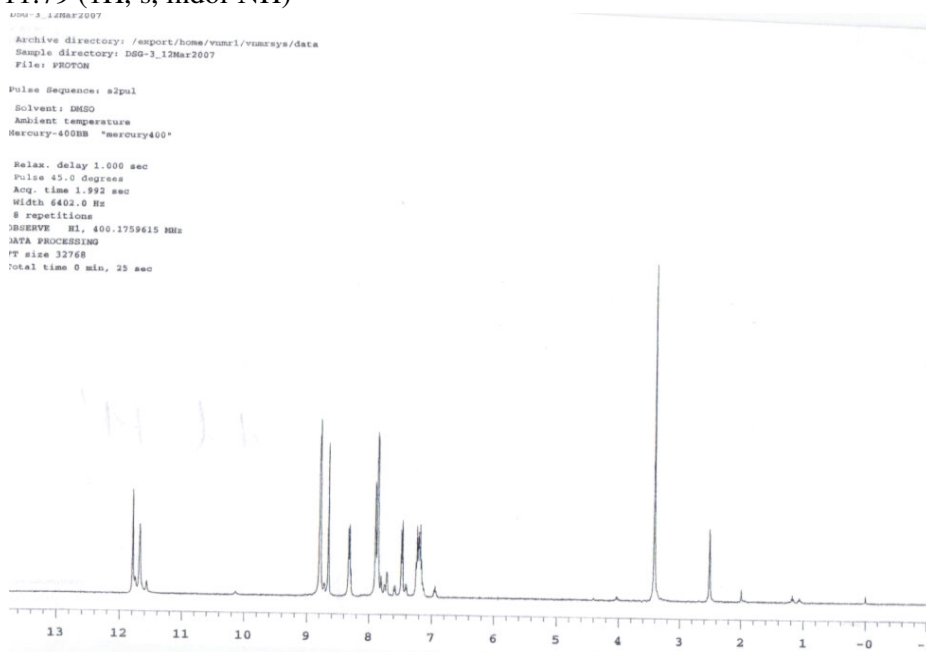
**Spektrum 42. Bileşik 11'nin kütle spektrumu**





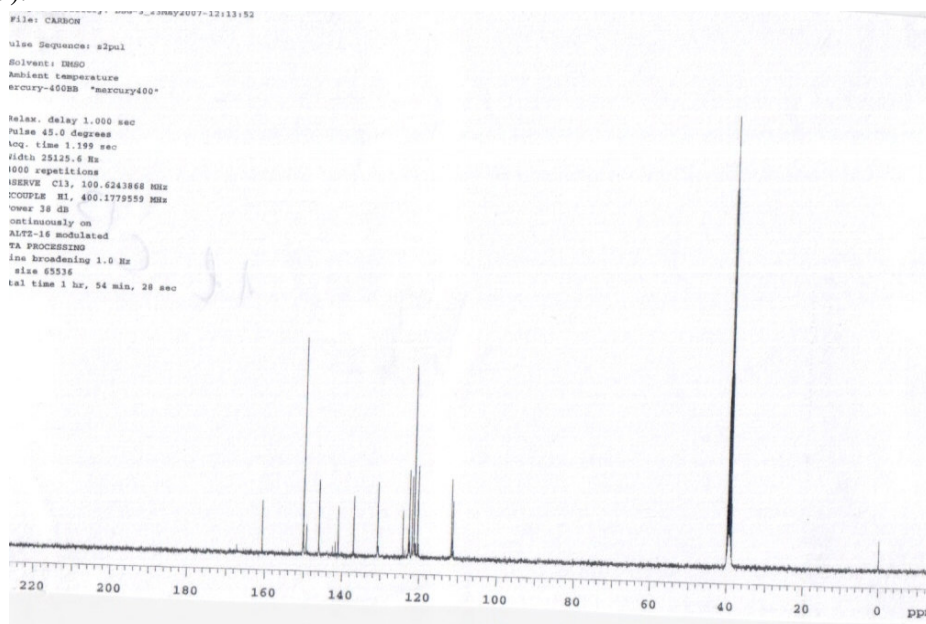
**$^1\text{H}$  NMR  $\delta$  ppm ( $d_6$ -DMSO+ $\text{D}_2\text{O}$ ):** 7.20 (2H, m), 7.47 (1H, d), 7.47 (1H, d), 7.86 (3H, t), 8.32 (1H, d), 8.65 (1H, s, azometin-CH), 8.78 (1H, d,) 11.68 (1H, s, hidrazin-NH) 11.79 (1H, s, indol-NH)

Spektrum 43. Bileşik 1'in  $^1\text{H}$  NMR spektrumu

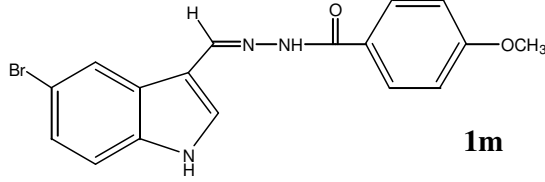


**$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  ppm ( $d_6$ -DMSO+ $\text{D}_2\text{O}$ ):** 111.41, 111.77, 120.43, 121.38, 121.88, 122.61, 124.23, 130.78, 136.98, 140.99, 146.08 (azometin C=N), 150.14, 160.76 (C=O).

Spektrum 44. Bileşik 1'in  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



**3.3.3. N-(4-metoksibenzoil)-N'-(5-Bromo-indolil-3-metilen) hidrazin (1m)**  
**[4-metoksi benzoik asit (5-bromo-1H-indol-3-ilmetilen)hidrazid]**

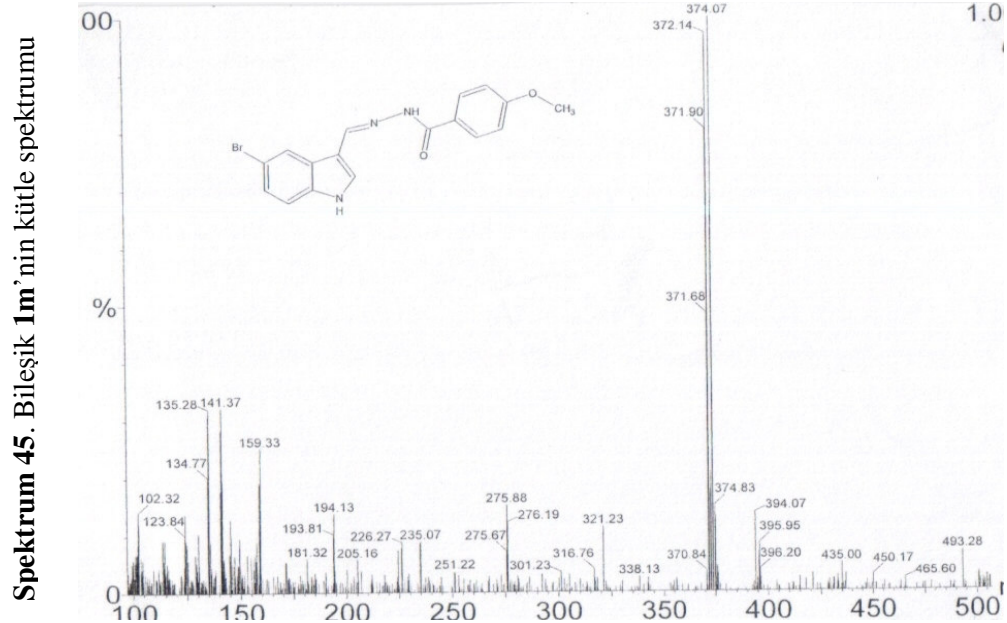


0.05 mmol (0.11 g) 5-bromo-1H-indol-3-karboksaldehit EtOH (10 ml) içerisinde çözüldü. Bu çözelti içerisinde 0.05 mmol (0.085 g) anisik asit hidrazidinin 50 ml EtOH içerisindeki çözeltisi ilave edildi 2.5 saat su banyosunda, geri soğutucu altında reaksiyona sokuldu. Daha sonra reaksiyon **Bölüm 3.3** de tarif edildiği şekilde tamamlandı. Reaksiyon sonunda 0.13 g madde % 68.3 verimle elde edildi. E.n. 266–269 °C.

**Elementel Analiz:** C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>Br; 372.22

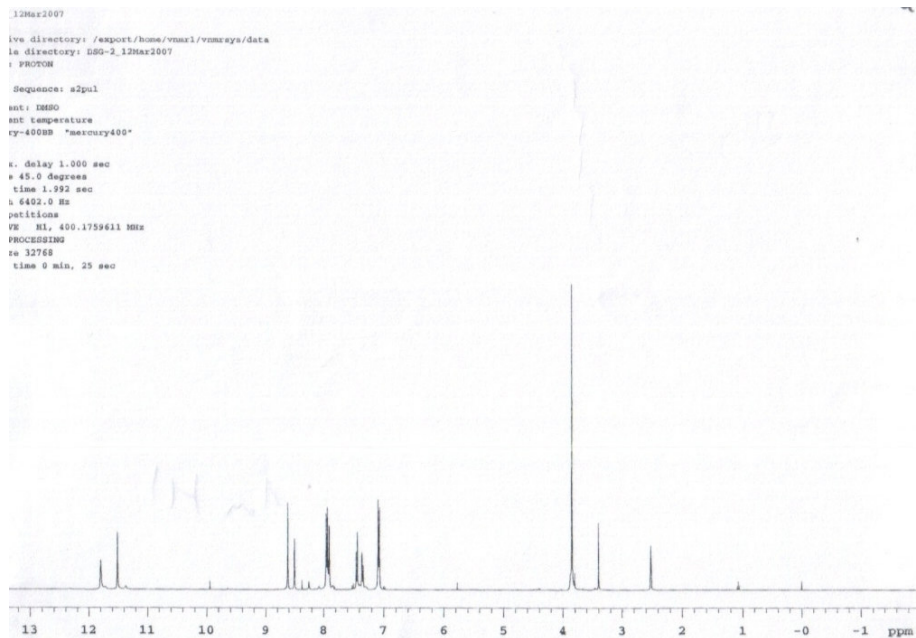
	<u>% C</u>	<u>% H</u>	<u>% N</u>
Hesaplanan:	54.86	3.79	11.29
Bulunan:	54.23	4.00	11.33

**Kütle m/z (ESI)+ :** 371 (M<sup>+</sup>), 372 (M+1), 374 (M+3, %100)



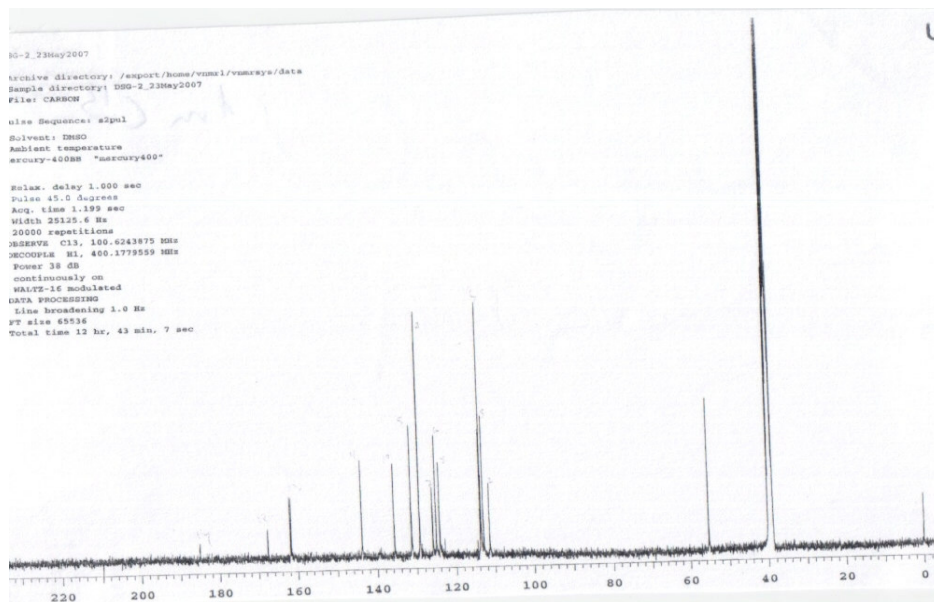
**$^1\text{H}$  NMR  $\delta$  ppm ( $\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$ ):** 3.85 (3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 7.08 (2H, d), 7.34 (1H, dd), 7.44 (1H, d), 7.93 (3H, t), 8.50 (1H, s), 8.61 (1H, s, azometin-CH), 11.51 (1H, brs, hidrazin-NH), 11.79 (1H, brs, indol-NH)

Spektrum 46. Bileşik 1m'nin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu

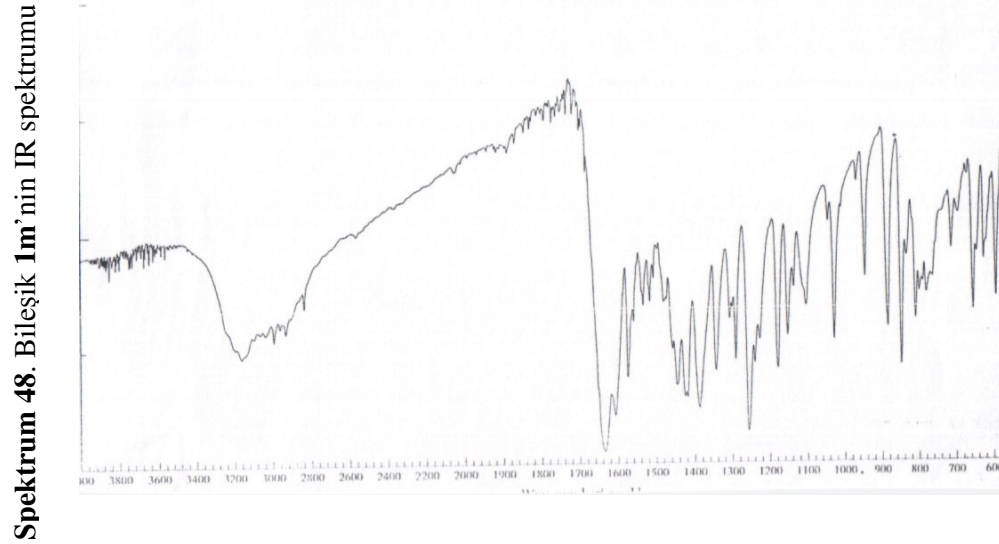


**$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  ppm ( $\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$ ):** 55.30 ( $\text{CH}_3$ ), 111.38, 112.94, 113.56, 113.75, 124.09, 125.0, 125.88, 129.21, 131.31, 135.67, 143.81 (azometin  $\text{C}=\text{N}$ ), 161.65 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 161.92, 167.63

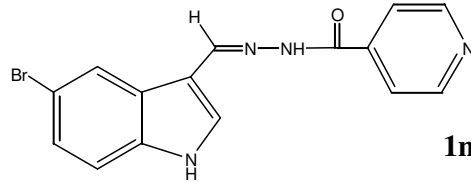
Spektrum 47. Bileşik 1m'nin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



**IR Spektrumu (KBr Disk)  $\text{cm}^{-1}$  :** 1617 C=N (azometin) gerilim bandı, 1653 C=O (NH-CO) gerilim bandı.



**3.3.4. 5-Bromo-1*H*-İndol-3-karboksaldehit izonikotinoil hidrazon (1n)**  
**[izonikotininik asit 5-bromo-1*H*-İndol-3-iletillen)hidrazid]**

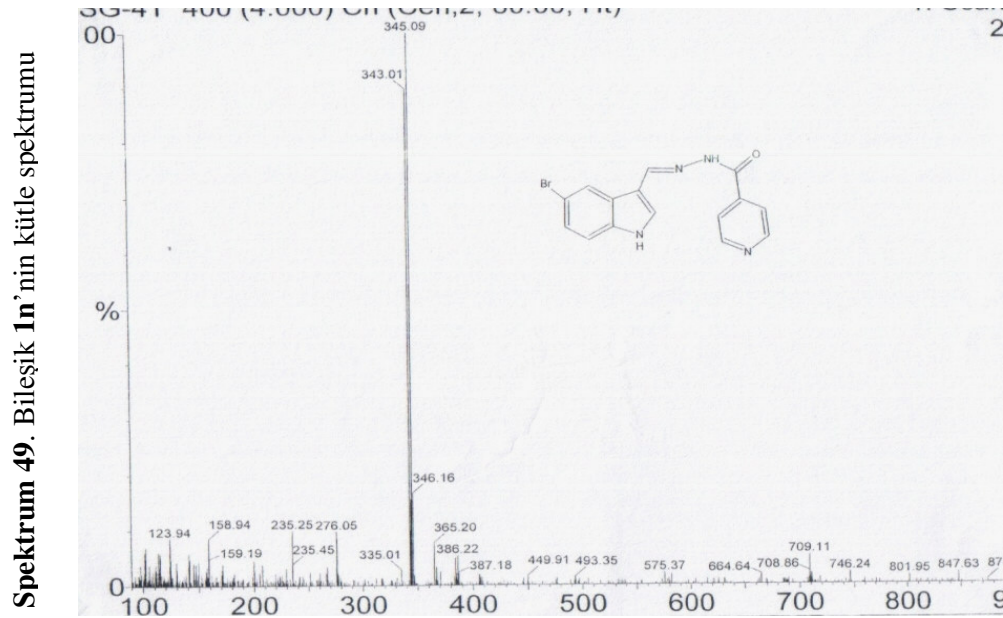


0.05 mmol (0.112 g) 5-bromo-1*H*-indol-3-karboksaldehit EtOH (10 ml) içerisinde çözüldü. Bu çözelti içerisinde 0.05 mmol (0.068 g) izonikotininik asit hidrazidinin 50 ml EtOH içerisindeki çözeltisi ilave edildi ve saat su banyosunda, geri soğutucu altında reaksiyona sokulur. Daha sonra reaksiyon **Bölüm 3.3** de tarif edildiği şekilde tamamlandı. Reaksiyon sonunda 0.14 g madde % 80.41 verimle elde edildi. E.n. 325–327 °C. (Lit. E.n. ulaşamadı. Patent: Rector ve ark., 1987)

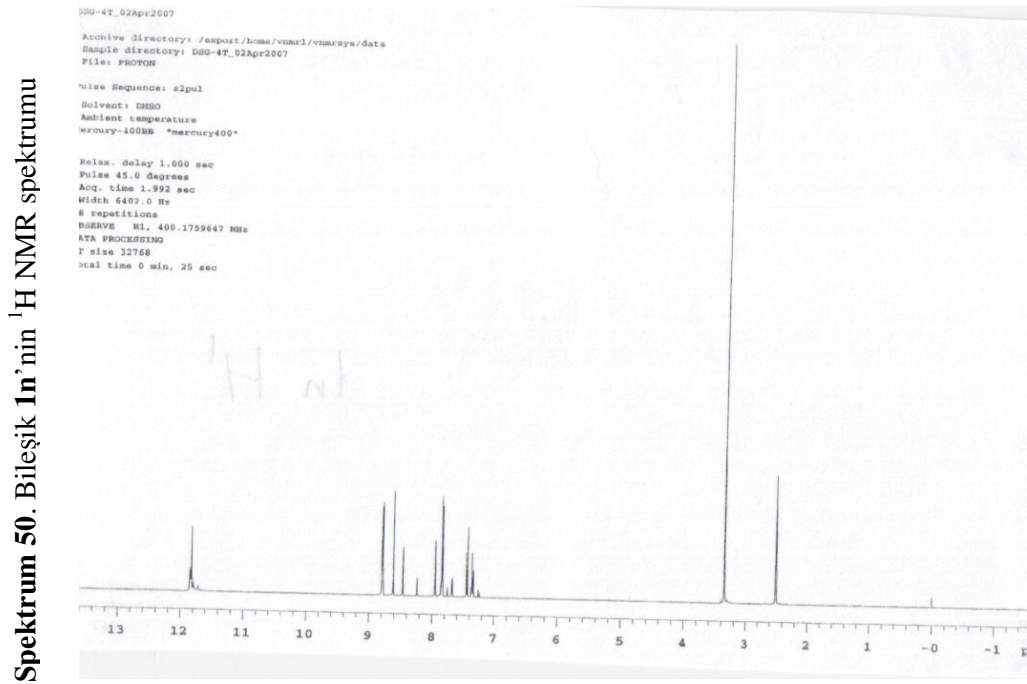
**Elementel Analiz:** C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>N<sub>4</sub>OBr; 343.18

	<u>% C</u>	<u>% H</u>	<u>% N</u>
Hesaplanan:	52.50	3.23	16.32
Bulunan:	52.55	3.16	16.37

**Kütle m/z (ESI)+ : 343 (M+1), 345 (M+2, %100), 346 (M+3)**



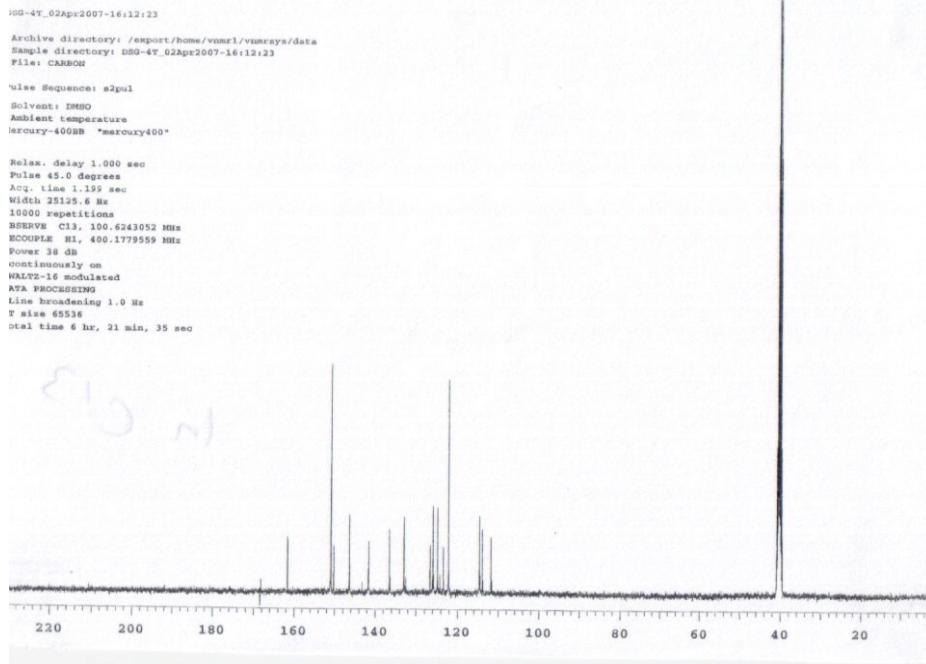
**$^1\text{H NMR } \delta \text{ ppm (d}_6\text{-DMSO+D}_2\text{O):}$  7.35 (1H, dd), 7.44 (1H, d), 7.84 (2H, dd), 7.95 (1H, d), 8.46 (1H, d), 8.61 (1H, s, azometin-CH), 8.78 (2H, dd,) 11.82 (1H, s, hidrazin-NH) 11.84 (1H, brs, indol-NH)**





$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  ppm ( $d_6$ -DMSO+D<sub>2</sub>O): 111.82, 113.92, 114.64, 122.15, 123.39, 124.82, 125.93, 126.65, 132.92, 136.50, 141.62, 146.36 (azometin C=N). , 150.25, 150.95, 161.63 (C=O)

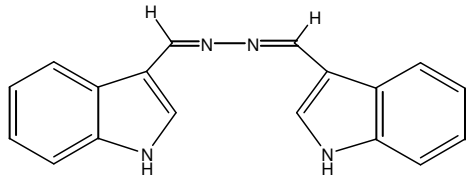
Spektrum 51. Bileşik 1n' nin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



### 3.4. N,N'-bis-(1H-indol-3-iletillen)hidrazin Türevlerinin Genel Sentezi (1o-ö)

0.1 mmol (0.032 g) Hidrazin hidrat; 0.1 mmol 1H-indol-3-karboksaldehit (0.145 g) veya 5-bromo-1H-indol-3-karboksaldehit (0.224 g) ile etanollü ortamda (20 ml), su banyosunda 4 saat süre ile reaksiyona sokuldu. Reaksiyon sonunda oluşan çökelek süzüldü ve etenolden kristallendirildi.

#### 3.4.1. N,N'-bis-(1H-indol-3-iletillen)hidrazin (1o)



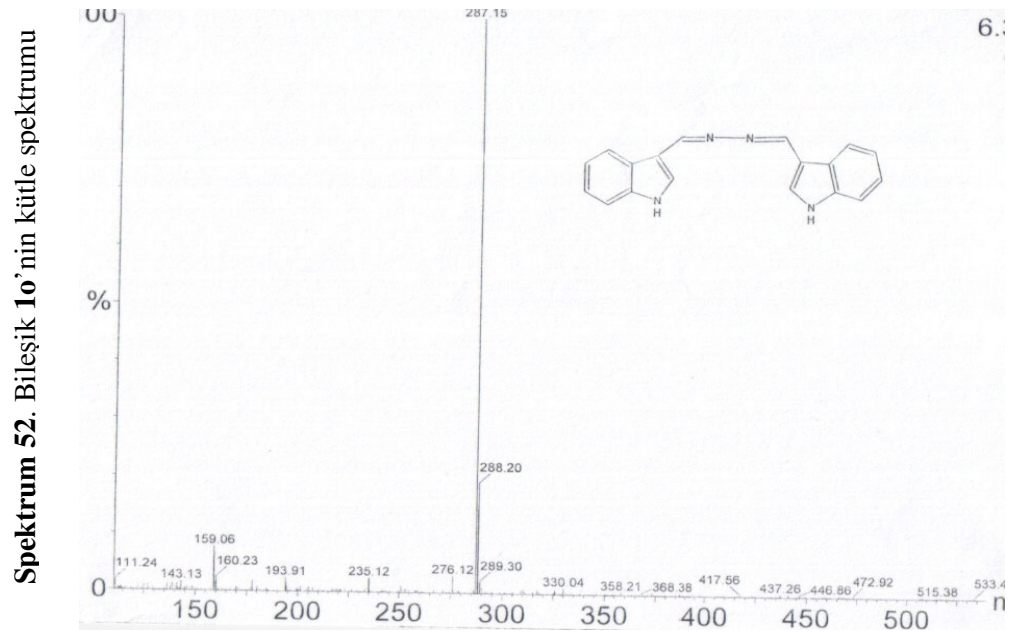
1o

0.1 mmol (0.032 g) Hidrazin hidrat; 0.1 mmol 1*H*-indol-3-karboksaldehit (0.145 g) 20 ml etanol içinde çözüldü ve su banyosunda 4 saat süre ile reaksiyona sokuldu. Oluşan çökelek diklorometan: etilasetat (2:1) solvan karışımında çözüldü. Süzülerek çözünmeyen kısım ayrıldı. İTK ile kontrol edilerek çözünen kısmın başlangıç maddesi olduğu kesinleştirildi. Çözünmeyen kısım etanolden kristallendirildi. 0.07 g ürün % 23.9 verimle elde edildi. E.n. 324–326 °C, (E.n 320-324 °C, Buu-Hoi ve Saint-Ruf, 1967).

**Elementel Analiz:** C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>; 286.32

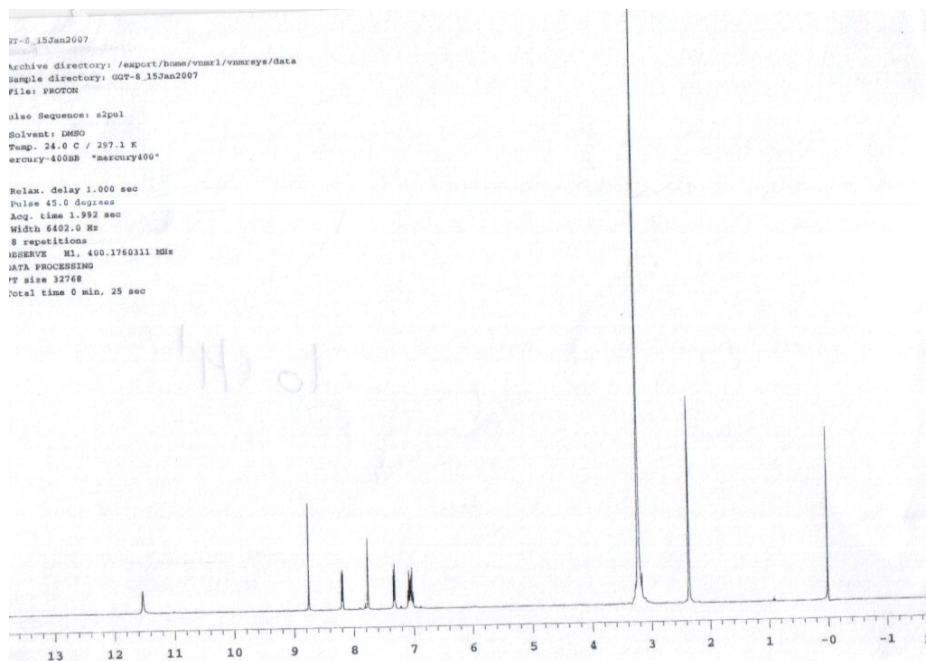
	%C	%H	%N
Hesaplanan:	75.51	4.92	19.56
Bulunan:	74.79	4.94	19.51

**Kütle m/z (ESI)+ :** 287 (M+1, %100), 288 (M+2)



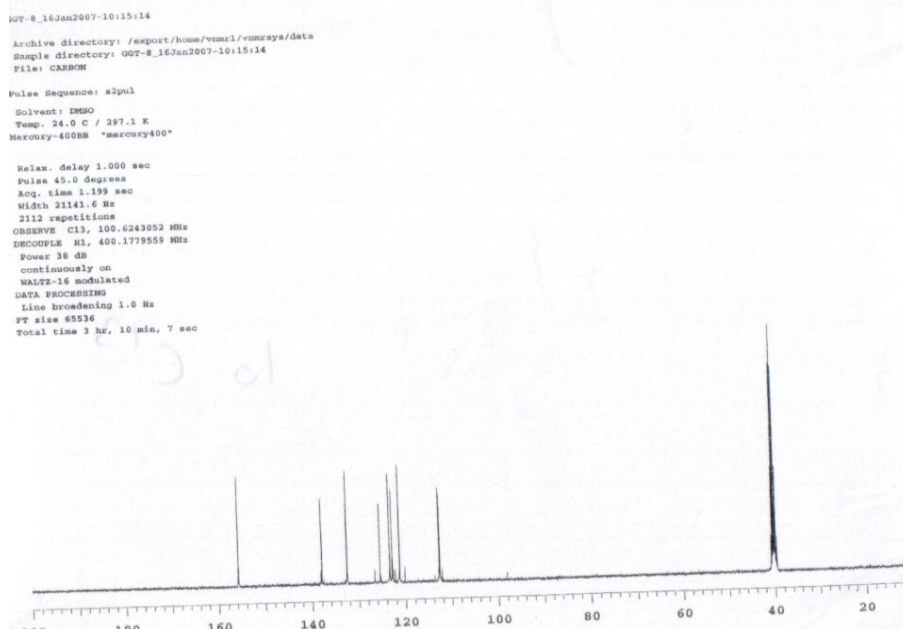
**$^1\text{H}$  NMR  $\delta$  ppm ( $\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$ ):** 7.05 (4H, m), 7.32 (2H, d), 7.62 (2H, s), 8.19 (2H, d), 8.75 (2H, s, azometin-CH), 11.52 (1H, brs, indol-NH), diğ er indol-NH göz lenmedi.

**Spektrum 53.** Bileş ik 10' nin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu



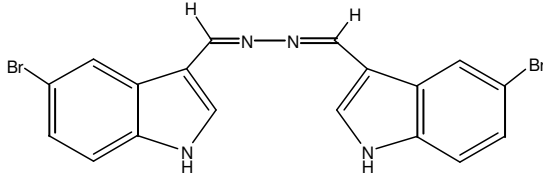
**$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  ppm ( $\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$ ):** 112.63, 112.81, 121.25, 122.82, 123.34, 125.43, 132.51, 137.90, 155.80 (azometin C=N).

**Spektrum 54.** Bileş ik 10' nin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu





### 3.4.2. N,N'-bis-(5-bromo-1H-indol-3-ilmetilen)hidrazin (1ö)



1ö

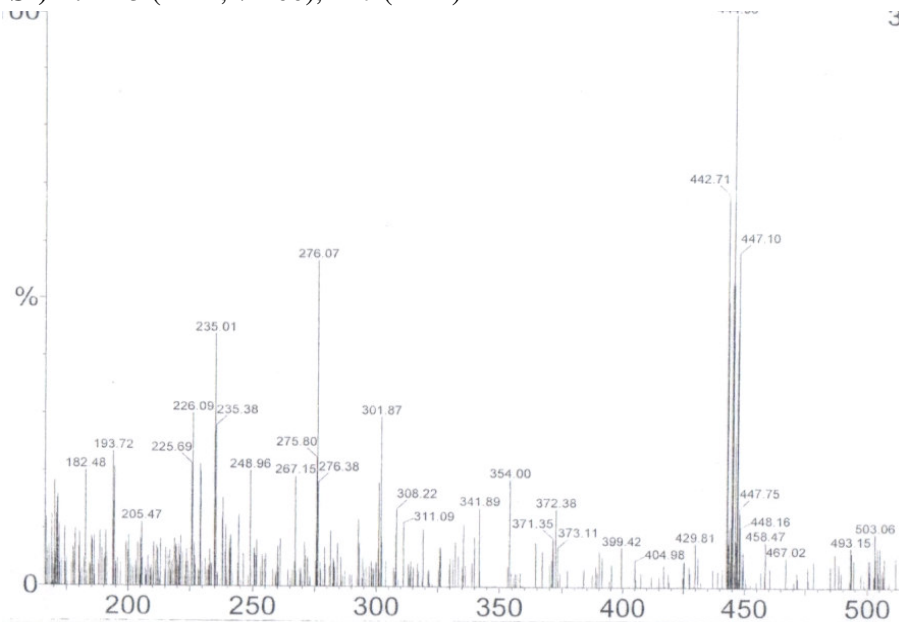
0.1 mmol (0.032 g) Hidrazin hidrat; 0.1 mmol 5-bromo-1H-indol-3-karboksaldehit (0.22 g) 20 ml etanol içinde çözüldü ve su banyosunda 4 saat süre ile reaksiyona sokuldu. Oluşan çökelek ayrılarak EtOAc:Hekzan (1:1) solvan sistemi kullanılarak kolon kromatografisi yöntemiyle saflaştırıldı. 0.05 g. Madde % 11.6 verimle elde edildi. E.n. 315–318 °C.

**Elementel Analiz:** C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>Br<sub>2</sub>; 444.13

	% C	% H	% N
Hesaplanan:	48.68	2.72	12.62
Bulunan:	48.50	2.76	13.11

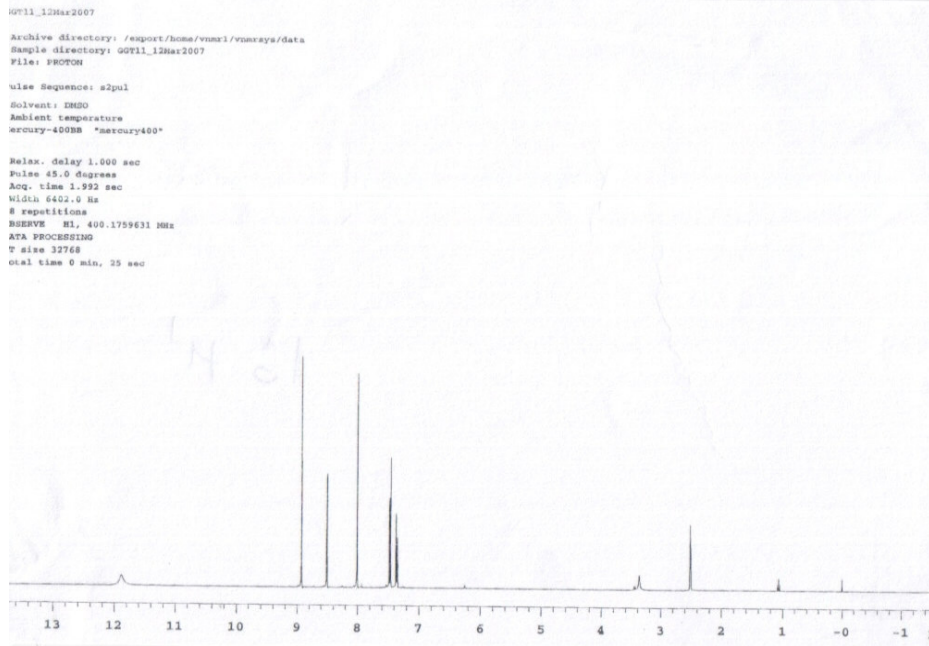
**Kütle m/z (ESI)+ :** 445 (M+1, %100), 447 (M+2)

Spektrum 55. Bileşik 1ö'nin kütle spektrumu



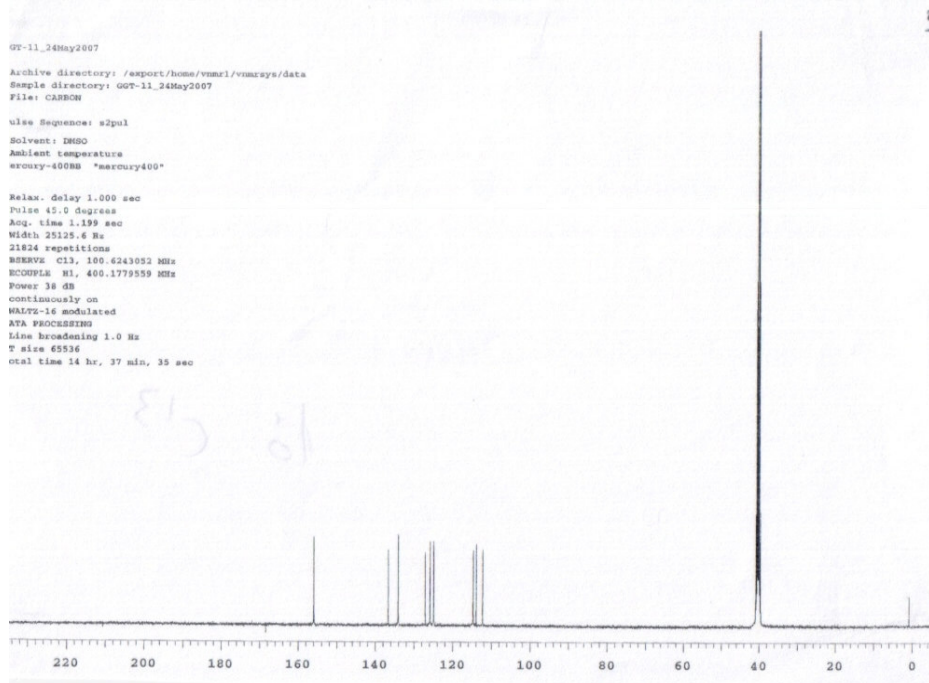
**$^1\text{H}$  NMR  $\delta$  ppm ( $d_6$ -DMSO+ $\text{D}_2\text{O}$ ):** 7.36 (2H, dd), 7.47 (2H, d), 8.00 (2H, s), 8.50 (2H, d), 8.93 (2H, s, azometin-CH), 11.90 (2H, brs, indol-NH)

Spektrum 56. Bileşik 16'nin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu

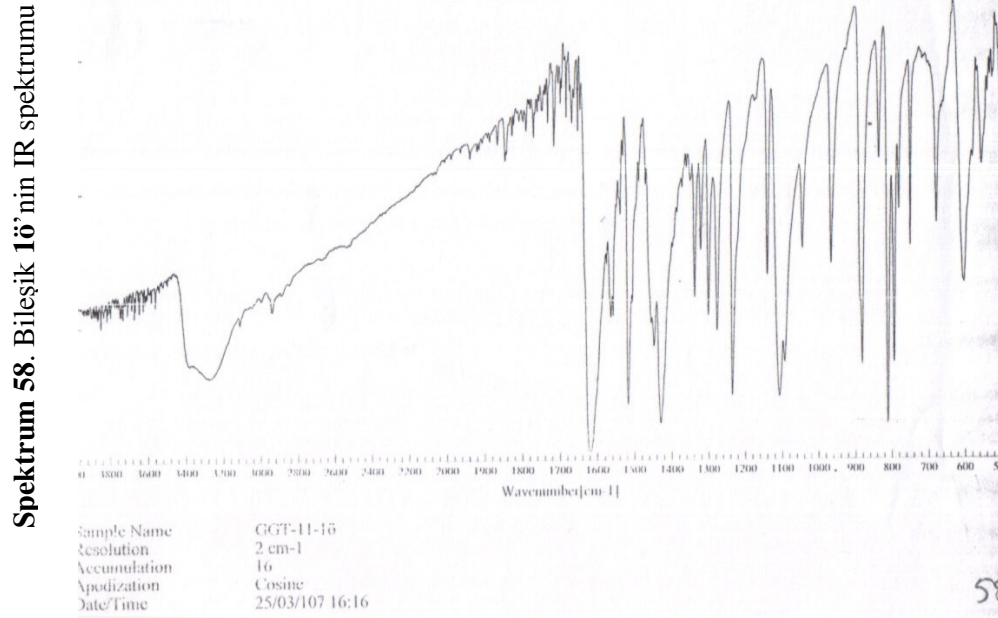


**$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  ppm ( $d_6$ -DMSO+ $\text{D}_2\text{O}$ ):** 112.26, 113.93, 114.72, 124.89, 125.85, 127.07, 134.05, 136.61, 155.92 (azometin C=N).

Spektrum 57. Bileşik 16'nin  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumu



**IR Spektrumu (KBr Disk)  $\text{cm}^{-1}$  : 1634 C=N (azometin) gerilim bandı.**



### 3.5. Sentez Edilen Bileşiklerin *In vitro* Biyolojik Aktivite Tayinleri

#### 3.5.1. *In vitro* Antioksidan Aktivite Tayini

##### 3.5.1. DPPH Üzerinden Serbest Radikal Yakalama Etki Tayini

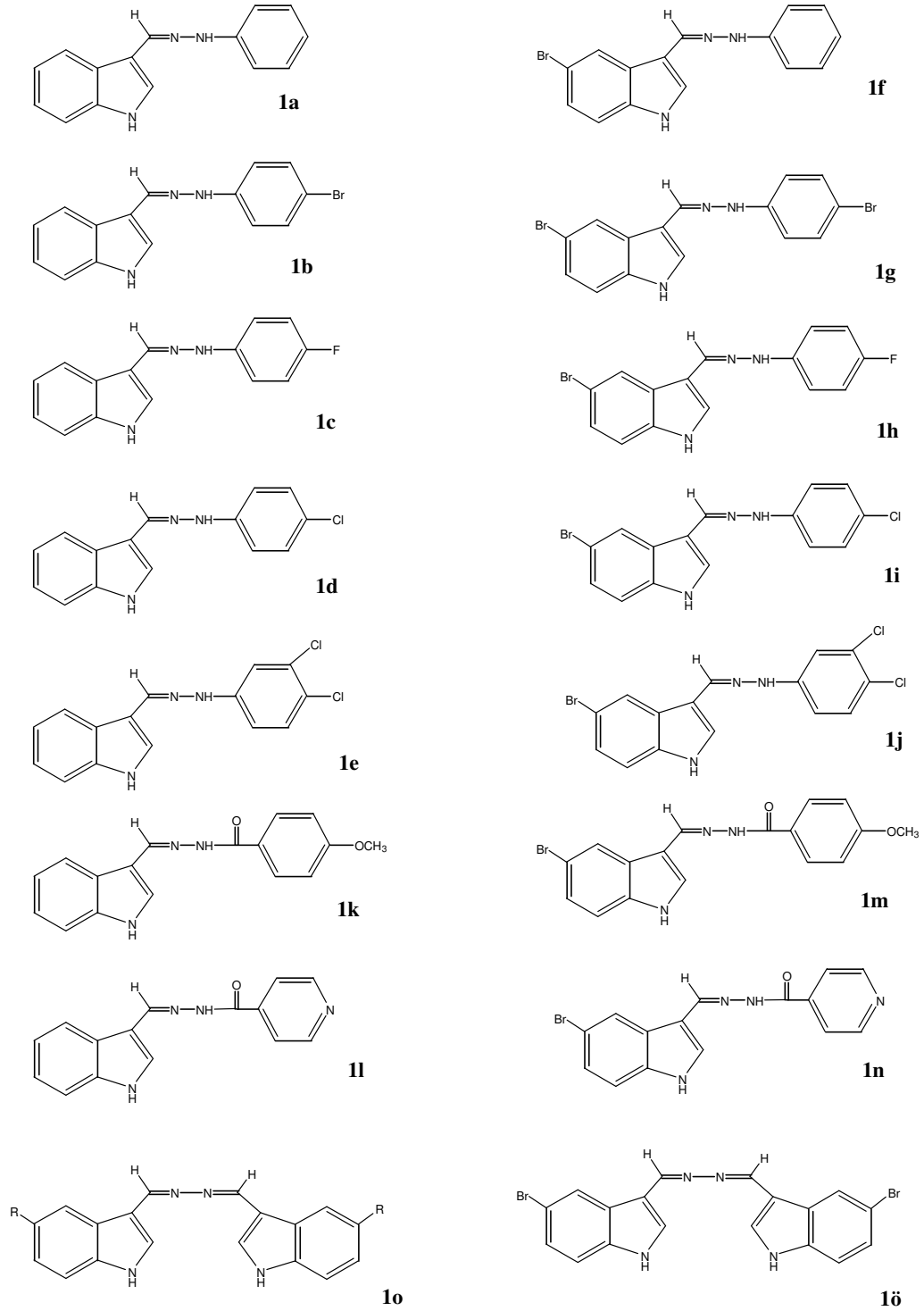
###### **Deneyin Prensibi :**

1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), kararlı bir serbest radikaldir. Kırmızı renklidir ve bu renk 517 nm de absorblanabilir. DPPH serbest radikalleri bir antioksidan madde tarafından yakalandığında rengi kırmızıdan sarıya doğru döner. Bu renk değişimi DPPH'ın antioksidan madde ile etkileşerek 1,1-difenil-2-pikril hidrazine dönüşmesi nedeniyle gözlenir (Sreeyan ve Rao, 1996). Kırmızı renkte oluşan değişiklikler 517 nm de absorbans değerleri halinde okunarak maddelerin radikal yakalama kapasitesi belirlenir (Blois ve ark.,1958).

***Deneyin Yapılışı:***

Sentezlenen maddelerin DMSO içerisinde 0.01M'lık çözeltileri hazırlandı. Bu numunelerin üzerine DPPH ( $2 \times 10^{-2}$  g/L) çözeltisi ilave edilerek vortekste karıştırıldı ve karanlıkta, oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Daha sonra her bir çözeltide oluşan değişiklik 517 nm de absorbans değerleri okunarak kaydedildi. Dört farklı konsantrasyonda hazırlanan numunelerin her bir konsantrasyona karşılık gelen % inhibisyonları hesaplanarak, bu sonuçlardan hareketle  $IC_{50}$  değerleri hesaplandı. Referans bileşik olarak sentezlenen maddelerin analogu ve güçlü bir endojen antioksidan madde olan melatonin ve  $\alpha$ -tokoferol kullanıldı. Sentezlenen bileşiklerin radikal yakalama aktivitesi ölçülürken aşağıdaki denklemden faydalanıldı. Sonuçlar **Tablo 7** ve **8** de verilmektedir.

$$\% \text{ Radikal Yakalama Aktivitesi: } \left[ \frac{(A_{\text{Çözücü}} - A_{\text{numune}})}{A_{\text{Çözücü}}} \right] \times 100 \quad (\text{A: absorbans})$$



Madde	Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	% İnhibisyon	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )
<b>1a</b>	12.5	19 $\pm$ 2.8	47
	25	37 $\pm$ 3.5	
	50	56 $\pm$ 2.8	
	100	78 $\pm$ 3.5	
<b>1b</b>	12.5	42 $\pm$ 2.8	24
	25	57 $\pm$ 0.7	
	50	71 $\pm$ 0.7	
	100	85 $\pm$ 2.1	
<b>1c</b>	12.5	25 $\pm$ 1.4	37
	25	41 $\pm$ 0.7	
	50	56 $\pm$ 2.8	
	100	65 $\pm$ 4.2	
<b>1d</b>	12.5	34 $\pm$ 0.7	20
	25	73 $\pm$ 0.7	
	50	84 $\pm$ 3.5	
	100	84 $\pm$ 3.5	
<b>1e</b>	12.5	28 $\pm$ 1.4	36
	25	32 $\pm$ 0.7	
	50	63 $\pm$ 2.1	
	100	80 $\pm$ 2.8	
<b>1f</b>	12.5	25 $\pm$ 2.4	31
	25	46 $\pm$ 1.2	
	50	65 $\pm$ 0.7	
	100	74 $\pm$ 0.7	
<b>1g</b>	12.5	33 $\pm$ 2.4	26
	25	51 $\pm$ 0.7	
	50	70 $\pm$ 3.5	
	100	80 $\pm$ 2.8	
<b>1h</b>	12.5	21 $\pm$ 2.1	34
	25	41 $\pm$ 0.7	
	50	65 $\pm$ 3.5	
	100	85 $\pm$ 2.8	
<b>1i</b>	12.5	34 $\pm$ 2.1	22
	25	61 $\pm$ 2.1	
	50	80 $\pm$ 2.8	
	100	86 $\pm$ 2.8	
<b>1j</b>	12.5	41 $\pm$ 4.9	20
	25	69 $\pm$ 4.9	
	50	82 $\pm$ 1.4	
	100	84 $\pm$ 0.7	
<b>Melatonin</b>	250	19 $\pm$ 2.8	800
	500	33 $\pm$ 2.1	
	1000	61 $\pm$ 2.8	
<b>Vitamin E</b>	0.009	31 $\pm$ 0.7	13
	0.018	65 $\pm$ 1.4	
	0.036	86 $\pm$ 0.7	

**Tablo 7.** Sentezlenen maddelerin DPPH radikali yakalama etkileri<sup>a</sup> (IC<sub>50</sub>  $\mu\text{M}$ )

<sup>a</sup>Her değer 2-4 bağımsız deneyin ortalamasını vermektedir.

Madde	Konsantrasyon (mM)	% İnhibisyon	IC <sub>50</sub> (mM)
<b>1o</b>	0.125	12 ± 1.4	0.37
	0.25	41 ± 0.7	
	0.5	62 ± 2.1	
	1	81 ± 2.8	
<b>1ö</b>	0.125	EG	0.78
	0.25	EG	
	0.5	31 ± 1.4	
	1	67 ± 2.8	
<b>1I</b>	0.125	30 ± 0.7	0.24
	0.25	60 ± 2.8	
	0.5	73 ± 2.1	
	1	81 ± 2.8	
<b>Melatonin</b>	0.25	19 ± 2.8	0.8
	0.5	33 ± 2.1	
	1	61 ± 2.8	
<b>Vitamin E</b>	0.009	31 ± 0.7	0.013
	0.018	65 ± 1.4	
	0.036	86 ± 0.7	

**Tablo 8.** Sentezlenen maddelerin DPPH radikali yakalama etkileri<sup>a</sup> (IC<sub>50</sub> mM)

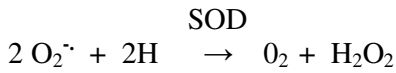
EG: Etki görülmedi

<sup>a</sup>Her değer 2-4 bağımsız deneyin ortalamasını vermektedir.

### 3.5.2. Süperoksit Anyon Radikali Üzerinden Serbest Radikal Yakalama Etki Tayini

#### *Deneyin Prensibi :*

Organizmada süperoksit anyon radikali (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) ksantin oksidaz ve substratı olan ksantin enzimleri tarafından üretilir. Süperoksit dismutaz (SOD) süperoksit anyonundan hidrojen peroksit oluşumunu katalizleyen bir enzimdir. SOD bu şekilde süperoksit anyonunun etkisiz hale getirilmesini sağlayarak organizmada oksijen toksisitesine karşı bir savunma sağlar (Cheng ve ark., 1998; Huong ve ark., 1998; Sang ve ark., 2003; Attar ve ark., 2006).



***Deneyin Yapılışı:***

Yöntem ksantin ve ksantin oksidaz tarafından oluşturulan süperoksit anyonunun kimyasal madde ve standart madde varlığında nitroblue tetrazolyumun (NBT) redüksiyonuna dayanmaktadır (Cheng ve ark., 1998, Huong ve ark., 1998, Sang-Myong ve ark., 2003). Reaksiyon karışımı 250 mikrolitre içinde 0.32 ünite ksantin oksidaz, 50 µl 4 mM ksantin, 50 µl 50 mM fosfat tamponu (pH 7.8, 1 mM EDTA) 50 µl 225 µM NBT ve farklı konsantrasyonlarda sentezlenen kimyasal bileşikleri içermektedir. Reaksiyonu başlatmak için 40 µl ksantin oksidaz reaksiyon ortamına ilave edilmiş ve NBT'nin redüksiyonu her bir madde için spektrofotometrede 550 nm de 3 dk ölçülmüştür. Her deney üç kez tekrar edilmiş ve sonuçlar kontrole karşı % inhibisyon olarak verilmiştir. Sentezlenen maddeleri içermeyen reaksiyon ortamı kontrol olarak alınmıştır. Melatonin pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin radikal yakalama aktivitesi ölçülürken aşağıdaki denklemden faydalanılmıştır. Sonuçlar **Tablo 9** ve **10** da verilmektedir.

$$\% \text{ Radikal Yakalama Aktivitesi: } \left[ \frac{(A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{numune}})}{(A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{blank}})} \right] \times 100 \quad (\text{A: absorbans})$$



Madde	Konsantrasyon (mM)	% İnhibisyon	IC <sub>50</sub> (mM)
<b>1a</b>	0.25	15 ± 1.4	0.83
	0.5	25 ± 2.1	
	1	63 ± 2.8	
<b>1b</b>	0.25	9 ± 2.1	0.75
	0.5	32 ± 4.2	
	1	51 ± 2.8	
<b>1c</b>	0.25	12 ± 2.8	0.69
	0.5	34 ± 6.4	
	1	76 ± 3.5	
<b>1d</b>	0.25	EY	0.66
	0.5	39 ± 4.5	
	1	83 ± 6.0	
<b>1e</b>	0.25	15 ± 4.5	0.86
	0.5	25 ± 4.2	
	1	56 ± 6.0	
<b>1f</b>	0.25	35 ± 1.4	0.68
	0.5	53 ± 0.7	
	1	80 ± 3.5	
<b>1g</b>	0.25	20 ± 1.4	0.59
	0.5	36 ± 5.0	
	1	89 ± 2.8	
<b>1h</b>	0.25	19 ± 4.2	0.82
	0.5	39 ± 4.0	
	1	72 ± 6.0	
<b>1i</b>	0.25	21 ± 3.5	0.58
	0.5	38 ± 4.9	
	1	90 ± 2.8	
<b>1j</b>	0.25	4 ± 1.4	0.98
	0.5	22 ± 2.8	
	1	53 ± 7.0	
<b>Melatonin</b>	0.25	24 ± 1.4	0.64
	0.5	48 ± 4.0	
	1	80 ± 3.5	

**Tablo 9:** Sentezlenen maddelerin süperoksit anyon radikali yakalama etkileri<sup>a</sup> (IC<sub>50</sub> μM )

<sup>a</sup>Her değer 2-4 bağımsız deneyin ortalamasını vermektedir.

Madde	Konsantrasyon(mM)	% İnhibisyon	IC <sub>50</sub> (mM)
<b>1k</b>	0.25	EG	
	0.5	EG	
	1	EG	
<b>1l</b>	0.25	EG	
	0.5	6 ± 0.7	
	1	41 ± 2.8	
<b>1m</b>	0.25	EG	
	0.5	22 ± 3.5	
	1	46 ± 4.0	
<b>1n</b>	0.25	EG	
	0.5	EG	
	1	25 ± 2.4	
<b>1o</b>	0.25	EG	
	0.5	EG	
	1	39 ± 4.2	
<b>1ö</b>	0.25	12 ± 0.7	0.93
	0.5	31 ± 1.4	
	1	52 ± 2.8	
<b>Melatonin</b>	0.25	24 ± 1.4	0.64
	0.5	48 ± 4.0	
	1	80 ± 3.5	

**Tablo 10:** Sentezlenen maddelerin süperoksit anyon radikali yakalama etkileri<sup>a</sup> (IC<sub>50</sub> mM)

<sup>a</sup>Her değer 2-4 bağımsız deneyin ortalamasını vermektedir.

EG: Etki Görülmedi

### 3.5.3. Sentez Edilen Bileşiklerin Antioksidan Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

DPPH üzerinden serbest radikal yakalama etkilerine bakıldığında genel olarak sentezlenen tüm bileşiklerin melatonininden çok daha fazla aktif oldukları görülmektedir. Maddelerin IC<sub>50</sub> değerleri melatoninle karşılaştırıldığında (**Tablo 7**), melatonininden yaklaşık 20–40 kat daha fazla aktif radikal yakalama kapasitesi gösterdikleri bulunmuştur. Bileşikler içinde en yüksek aktiviteye sahip olanları IC<sub>50</sub> değerleri 20-26 mikromolar arasında bulunan **1d**, **1j**, **1i** ve **1b** dir. Sentezlenen bileşiklerden **1ö** melatonine çok yakın, **1o** ve **1l** ise melatoninin 2 katı kadar aktivite göstermekle beraber diğer maddelere kıyasla daha az aktif bulunmuştur (**Tablo 8**). Bileşik **1k** ise belirgin bir aktivite gösteremediği için bu tabloda yer almamaktadır.

Melatoninle kıyaslandıklarında çok üstün aktiviteye sahip olan bileşikler E vitamininden daha düşük serbest radikal yakalama kapasitesi göstermişlerdir. E vitamini ye en yakın aktivite değerlerini bileşik **1d**, **1j**, ve daha sonra bileşik **1i** ve **1b** göstermiştir.

Sentezlenen bileşiklerin süperoksit radikali yakalama özellikleri IC<sub>50</sub> değerleri göz önüne alınarak karşılaştırma yapıldığında bileşiklerden **1k**, **1l**, **1m**, **1n** ve **1o** hariç hepsinin etkili olduğu bulunmuştur. Tüm bileşiklerin süperoksit radikalini yakalama özellikleri melatonine yakın değerde (**1c**, **1d** ve **1f**) veya ondan daha fazla (**1g** ve **1i**) bulunmuştur (**Tablo 9**). **1ö** melatonine göre daha az bir yakalama etkisi göstermiş ancak bu tabloda yer alan diğer bileşiklere göre daha yüksek aktivite göstermiştir (**Tablo 10**).

*In vitro* antioksidan aktivite sonuçları sentezlenen maddelerin hem DPPH hem de süperoksit radikalini yakalayıcı özellikleri bakımından paralellik göstermiştir. Bu açıdan ele alındıklarında **Tablo 7** ve **9** da yer alan maddelerin hemen hepsi serbest radikal yakalama kapasitesi olan maddeler olarak bulunmuşlardır. **Tablo 8** ve **10** da yer alan maddeler serbest radikal yakalama kapasiteleri düşük ya da etkisiz bulunmuşlardır. Etkili bulunan bileşiklerin çoğu melatoninden daha aktiftir. İki biyolojik deney arasında karşılaştırma yapıldığında, sentezlenen maddelerin genel olarak DDPH radikali yakalama kapasiteleri, Süperoksit anyon radikali yakalama etkilerinden daha yüksektir.

#### 4. TARTIŞMA

Melatonin serbest radikal yakalama özelliklerinden dolayı en çok araştırılan indol türevi bileşiklerin başında gelir. Bu bileşik E vitamininin hidroksil radikali yakalama aktivitesinden daha fazla aktiviteye sahiptir (Reiter ve ark., 2000; Tan ve ark., 1993). İndol türevi bileşiklerin oksidasyonu süresince pirol halkasının azot atomundan bir elektron ayrılır ve bir radikal katyon meydana gelir. Pirol halkasının bu kapasitesinden dolayı 3-sübstitüe-indol bileşiklerinin antioksidan aktivitesi moleküldeki diğer fonksiyonel gruplardan da etkilenmektedir. Bu bulgulardan hareketle 3-sübstitüe indol türevlerinin antioksidan özellikleri araştırılmış ve bir çok indol türevi bileşiğe ait çalışma tespit edilmesine rağmen (Poeggeler ve ark., 1999; Politi ve ark., 1996; Matuszak ve ark., 1997) indol-3-hidrazin ve hidrazon türevlerinin sentezleri ve antioksidan aktivitelerine ait veriye rastlanmamıştır.

Ayrıca son yıllarda yapılan çalışmalarda Schiff bazı (Li ve ark., 2007) ve hidrazon (Chaston ve ark., 2004; Duarte ve ark., 2007) türevi bileşiklerde antioksidan aktivite saptanması, indolün 3. konumundan hidrazonlarını oluşturma fikrini geliştirmiştir. Bu arada izonikotinik asit (Loots ve ark., 2005; Mauricio ve ark., 2003; Hermes-Lima ve ark., 2001) ve anisik asit (Gorinstein ve ark., 2004) türevi bileşiklerde de oksidatif strese karşı aktivite olduğunun saptanması bu bileşiklerin hidrazin türevlerinin indolün 3. konumuna bağlandığındaki etkilerinin araştırılabilir olduğunu göstermiştir.

Melatonin ve antioksidan aktivitesi üzerine yapılan çalışmalarda tam olarak aydınlığa kavuşturulamayan konulardan bir de indol halkasının 5. konumunda bulunan metoksi grubunun antioksidan aktivitedeki rolüdür. Bazı araştırmacılar 5. konumda metoksi grubunun aktivite için gerekli olduğunu savunurken (Sofic ve ark., 2005) bir çok araştırmacı da bu grubun antioksidan aktivitede büyük bir öneminin olmadığını ya da bu konumun başka gruplarla sübstitüe edildiğinde de yüksek antioksidan etki gözlendiğini göstermektedir (Tan ve ark., 2002; Ateş ve ark., 2005; Keithahn ve ark., 2005). Halen bu grubun varlığının aktivitedeki önemi

belirlenememiştir. Bu durum göze alınarak bu çalışmada sentezlenecek melatonin analogu indol türevi bileşiklerin yarısında 5. konumda bir süstitüent bulundurulmazken diğer yarısında Br atomu ile süstitüsyon yapılması düşünülmüştür. Br atomunun seçilmesindeki başlıca neden bu atomu içeren indol türevi bileşikler ile ilgili antioksidan aktivite çalışmalarının yapılmamış olmasıdır.

Bu şekilde tasarlanan maddeleri sentezlemek üzere gerekli olan başlangıç maddelerinden 1*H*-indol-3-karboksaldehit Vilsmeier reaksiyonu (DMF/POCl<sub>3</sub>) ile sentezlenmiş, diğer başlangıç maddesi olan 5-bromo-1*H*-indol-3-karboksaldehit ise ticari olarak temin edilmiştir. Başlangıç maddeleri (**1**) etanollü ortamda 70-80 °C de fenil hidrazin türevleri, hidrazin hidrat, anisik asit hidrazidi ve izonikotinic asit hidrazidi ile reaksiyona sokularak sonuç ürünlerine çevrilmiştir.

Birinci grup sonuç ürünleri indol-fenil hidrazonlar (**1a-j**), ikinci grup ürünler indolün anisik asit (**1k, 1m**) ile izonikotinic asit hidrazidleri (**1l, 1n**) ve üçüncü grup ürünler ise N,N'-bis-(1*H*-indol-3-iletillen)-hidrazin türevleri (**1o-ö**) olarak elde edilmiştir. Sentezlenen tüm bileşiklerin saflık kontrolleri, E.n ve İTK incelemeleri yapıldıktan sonra yapıları elementel analiz, NMR (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C) ve Kütle spektroskopisi ile kanıtlanmıştır.

Sentezi yapılan bileşiklerin *in vitro* antioksidan aktivite tayinleri DPPH ve süperoksit radikali yakalama kapasiteleri ölçülerek test edilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde antioksidan aktivite sonuçları, sentezlenen maddelerin hem DPPH hem de süperoksit radikalini yakalayıcı aktiviteleri bakımından büyük bir paralellik içinde bulunmuştur. Bu açıdan ele alındıklarında **Tablo 7** ve **9** da yer alan indol-3-hidrazon türevi bileşiklerin (**1a-1j**) hemen hepsi serbest radikal yakalama kapasitesi olan maddeler olarak bulunmuşlardır. **Tablo 8** ve **10** da yer alan izoniazid, anisik asit hidrazidleri ve bis indol türevi bileşikler serbest radikal yakalama kapasiteleri düşük ya da etkisiz bulunmuşlardır. Sentezlenen bileşiklerin çoğu melatoninden daha aktif bulunmuştur. Buna karşılık E vitamininden daha düşük aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Sentezlenen bileşiklerde melatonin yapısı esas alınmıştır bu nedenle

E vitamininden düşük aktivite gözlenmesi şaşırtıcı bulunmamıştır. İki antioksidan aktivite testi karşılaştırıldığında, bileşiklerin genel olarak DDPH radikali yakalama kapasitelerinin süperoksit anyon radikali yakalama etkilerinden daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar ele alındığında ileri çalışmalarda indol halkasının 3. konumunda süstitüe fenil hidrazon bulunan türevlerinin sentezlenerek biyolojik aktivite değerlendirilmelerinin yapılması uygun görülmektedir.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Melatonin hormonunun radikal yakalama etkisi 1993 yılında tespit edilmiş (Tan ve ark., 1993) ve o günden günümüze değin melatonin ya da melatonin analogu indol türevi bileşikler üzerinde çalışmalar sürmektedir. Yapı aktivite çalışmaları indol halkasının oksidan maddelerle etkileşmede reaktif merkez olarak görev yaptığını göstermektedir. Bu özellik indol halkasının yüksek rezonans stabilitesi ve serbest radikal ataklarına karşı düşük aktivasyonlu enerji bariyerine sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte 5. konumdaki metoksi ve 3. konumdaki amid yan zinciri de antioksidan etkiye yardımcı olmaktadır.

Bu tez çalışması ile melatonin yapısındaki ana halka sistemi olan indol halkası ele alınarak 5. konumda metoksi grubu yerine Br yada H, 3. konumda ise amid yan zinciri yerine çeşitli hidrazid türevleri bağlanarak imin yapısı oluşturulmuştur. Böylelikle sentez edilen melatonin analogu bileşiklerin antioksidan aktivitelerinin melatonin ile kıyaslaması yapılmıştır.

DPPH ve süperoksit radikali yakalama kapasitelerine bakıldığında indol halkasının 3. konumunda süstitüe fenil hidrazon içerdiği türevler (**1a-1j**) çok etkili antioksidan maddeler olarak bulunmuşlardır. Bu bileşiklerin DPPH radikali yakalama kapasiteleri melatoninden çok daha fazla bulunmuş, süperoksit radikali yakalama kapasiteleri ise melatonine çok yakın ya da daha fazla bulunmuştur. Bu bileşiklerin yapılarında görülen ortak özellik yapılarında Br ve Cl atomları bulunmasıdır. En aktif türevler olan **1b** ve **1c** (IC<sub>50</sub> 24 ve 20) indol halkasının 3. konumunda bağlı olan fenil hidrazon yan zincirindeki fenil halkası üzerinde para konumunda Br ve Cl içermektedir ve indol halkasının 5. konumu H dir. Diğer aktif türevler **1i** ve **1j** (IC<sub>50</sub> 22 ve 20) ele alındığında **1i** fenil halkasında para konumunda Cl, **1j** ise fenil halkasında meta ve para konumunda iki Cl atomu içermektedir. Bu bileşikler ayrıca indol halkasının 5. konumunda Br atomu taşımaktadır. Bu sonuçlara göre 5. konumda süstitüent taşıyan türevlerde de süstitüent olmayan türevlerde de benzer yüksek aktivite gözlenmesi bu konumun aktiviteden direkt sorumlu

olmadığını ve yardımcı bir etkisi olabileceğini göstermektedir. Bu sonuç önceki çalışmalarımızla paralellik göstermektedir (Ateş-Alagöz ve Süzen, 2001; Süzen ve ark., 2006). Ayrıca 5. konumda Cl taşıyan melatonin türevlerinde antioksidan aktivitenin melatonine eşdeğer olduğu saptanmıştır (Poeggeler ve ark., 2002). 2-Fenil indol türevleri, melatonine karşı denendiklerinde yüksek oranda lipid peroksidasyonunu önleyen etkiler göstermiştir (Süzen 2006; Süzen ve ark., 2006). 2. Konumda yer alan fenil üzerinde Cl, F gibi elektron çekici gruplar bulunduğu en yüksek aktivite elde edilmiştir. Bu sonuçlar da, tez çalışmasında elde edilen Cl taşıyan türevlerde daha yüksek aktivite gözlemlendiği sonucu ile paralellik göstermektedir.

Yüksek antioksidan aktivite gösteren bileşiklerin 3. konumdaki yan zincirde bulunan fenil halkasında taşıdıkları halojen grubuna göre aktiviteleri sıralandığında; 5. konumda H bulunan türevler : Cl > Br > DiCl > F > H  
5. konumda Br bulunan türevler : Cl > DiCl > Br1 > H > F olduğu görülmektedir.

Tablo 8 ve 10 da yer alan ve düşük aktivite gösteren ya da aktivite göstermeyen bileşikler indol halkasının 3. konumunda izonikotinik asit ve anisik asit hidrazidi içermekte yada bis-(1*H*-indol-3-ilmetilen)hidrazin yapısı taşımaktadır. Bu yan zincir olarak takılan gruplar tek başlarına antioksidan aktivite göstermekle birlikte, indolün 3. konumuna hidrazid şeklinde bağlandıklarında yeni oluşan maddeler etkisiz bulunmuştur. Melatonin ile karşılaştırıldıklarında 3. konuma takılan bu yapılar uzaysal konum itibari ile melatoninin asetaminoetil yan zincirinden daha fazla yer kaplamaktadır ve indol halkasının radikal yakalamak için indolil radikal katyonu oluşturmaya yardımcı olmamaktadır (Poeggeler ve ark., 1999; Politi ve ark., 1996).

Bu çalışmada sentezlenen maddelerin çoğunun yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur. Ancak bu aktivite sadece DPPH ve süperoksit radikali yakalama kapasitelerinin sonuçlarına göre değerlendirilmiştir. Aktivite gösteren



bileşikler üzerinde daha ileri testler ve sitotoksosite testleri de yapılması planlanmaktadır.

Bu çalışma sonucunda, melatonin analogu bileşiklerin sentez ve antioksidan aktivitelerinin araştırılmasında üzerinde durulması gereken noktalar şu şekilde belirlenmiştir.

1. İndol halkasının 3. konumunda bulunan yan zincir antioksidan aktiviteyi direk olarak etkilemektedir. Bu zincirde imin yapısı bulunması aktiviteyi arttırmaktadır. Bu zincir 3 karbon atomu uzunluğunda olduğunda ve ucunda fenil kalkası içerdiğinde etkili türevler elde edilebilir. Fenil halkası p konumunda halojen (özellikle Cl) içerdiğinde aktivite yükselmektedir.

2. İndol halkası 5. konumunda bulunan süstitüent direk olarak aktiviteyi etkilememekle beraber, aktivite görülmesine yardımcı olduğu düşünülmektedir.

Bu veriler ele alındığında bu çalışmanın ileri safhalarında yukarıdaki sonuçlar değerlendirilerek yeni bileşiklerin sentezlenmesi ve antioksidan aktivitelerinin değerlendirilmesi düşünülmektedir.

## ÖZET

### Biyolojik Önemi Olan İndol Türevi Bileşiklerin Sentezleri, Yapı Aydınlatmaları ve Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

Oksidatif stres nedeniyle artan reaktif oksijen türleri (ROT), kardiyovasküler, nörodejeneratif ve otoimmün gibi bazı hastalıkların oluşumundan sorumlu tutulmaktadır. Enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar çeşitli mekanizmalarla biyolojik moleküllerin oksidatif hasarını önlemeye çalışır. Endojen bir hormon olan melatonin pineal bezinden geceleri salgılanır ve uyku gibi biyolojik ritmi düzenler. Melatonin ve metabolitleri ROT/RAT ları başarı ile yakalayabilen çok etkili serbest radikal yakalayıcı olarak gösterilmektedir. Melatoninin kısıtlı biyoyararlılığı ve çok kısa olan yarılanma ömrü gibi farmakokinetik davranışları nedeniyle, en yüksek aktivite ve en düşük yan etkiye sahip yeni antioksidan bileşikler araştırılmaktadır.

Bu tez çalışmasında on tanesi yeni (**1c-1j**, **1m**, **1ö**), diğer altı tanesi daha önceden sentezlenmiş toplam on altı melatonin analogu indol türevi bileşik sentezlenmiş ve IR, NMR, Mass spektrometresi ve elementel analiz ile yapısı aydınlatılmıştır. Sentezi yapılan bileşikler aşağıdaki gibi listelenebilir.

- 1*H*-İndol-3-karboksaldehit fenilhidrazon (**1a**)
- 1*H*-İndol-3-karboksaldehit (4-bromofenil)hidrazon (**1b**)
- 1*H*-İndol-3-karboksaldehit (4-florofenil)hidrazon (**1c**)
- 1*H*-İndol-3-karboksaldehit (4-klorofenil)hidrazon (**1d**)
- 1*H*-İndol-3-karboksaldehit (3,4-diklorofenil)hidrazon (**1e**)
- 5-Bromo-1*H*-indol-3-karboksaldehit fenilhidrazon (**1f**)
- 5-Bromo-1*H*-indol-3-karboksaldehit (4-bromofenil)hidrazon (**1g**)
- 5-Bromo-1*H*-indol-3-karboksaldehit (4-florofenil)hidrazon (**1h**)
- 5-Bromo-1*H*-indol-3-karboksaldehit (4-klorofenil)hidrazon (**1i**)
- 5-Bromo-1*H*-indol-3-karboksaldehit (3,4-diklorofenil)hidrazon (**1j**)
- N-(4metoksibenzoil)-N'-(indolil-3-metilen)-hidrazin (**1k**)
- 1*H*-İndol-3-karboksaldehit izonikotinoilhidrazon (**1l**)
- N-(4metoksibenzoil)-N'-(5-Bromo-indolil-3-metilen)-hidrazin (**1m**)
- 5-Bromo-1*H*-İndol-3-karboksaldehit izonikotinoilhidrazon (**1n**)
- N,N'-bis-(1*H*-indol-3-ilmetilen)-hidrazin (**1o**)
- N,N'-bis-(5-bromo-1*H*-indol-3-ilmetilen)-hidrazin (**1ö**)

Sentezlenen bileşiklerin antioksidan aktivitelerini araştırmak ve melatonin ile karşılaştırmak için DPPH ve süperoksit radikali yakalama aktiviteleri test edilmiştir. Sonuçlara göre **1a-1j** arasında yer alan bileşikler  $10^{-3}$  M ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonda çok iyi aktivite göstermiştir. Bu bileşiklerin serbest radikal yakalama kapasiteleri melatoninden dikkat çekici bir şekilde yüksek bulunmuştur. Bütün aktif türevlerin yapısında halojen atomu taşıması dikkat çekmektedir. Genellikle indol halkasının 5. konumunda ve yan zincirde, aromatik fenil halkasında iki halojen bulunduran türevlerin aktif oldukları gözlenmiştir. (**1ö** hariç) İndol halkasında yada aromatik halkada tek bir halojen içeren yada hiç halojen içermeyen bileşiklerde ise ya hiç aktivite gözlenmemiş yada düşük aktivite gözlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler :** melatonin, indol türevleri, sentez, antioksidan aktivite

## SUMMARY

### Synthesis, Structure Elucidation and Antioxidant Activity Evaluation of Biologically Important Indole Derivatives

Increased levels of ROS due to oxidative stress have been found responsible in the progress of certain diseases such as cardiovascular, neurodegenerative and autoimmune diseases. Antioxidants, both enzymatic and non-enzymatic, prevent oxidative damage to biological molecules by various mechanisms. An endogenous hormone melatonin, secretory product of the pineal gland, is released at night to modulate circadian rhythms including sleepiness and regulating body temperature, and is generally used to protect neurological systems from the severe actions of free radicals occurred by oxidative stress. Therefore, melatonin and its metabolites successively scavenge ROS/RNS which are referred to very hazardous free radicals. Due to the limitations of pharmacokinetic behaviour of melatonin such as lower bioavailability and short plasma half-life after oral administration, new antioxidant compounds are required to possess relatively higher free radical scavenging activities than melatonin.

This thesis consists of synthesis, structure elucidation (IR, NMR, Mass spectrometry, and elemental analyses) and biological activity studies of ten novel melatonin derivatives (**1c-1j**, **1m**, **1ö**) out of sixteen compounds in which the later six compounds were previously synthesized. The list of compounds synthesized in this thesis is listed below.

1*H*-Indole-3-carboxaldehyde phenylhydrazone (**1a**)  
 1*H*-Indole-3-carboxaldehyde (4-bromophenyl)hydrazone (**1b**)  
 1*H*-Indole-3-carboxaldehyde (4-fluorophenyl)hydrazone (**1c**)  
 1*H*-Indole-3-carboxaldehyde (4-chlorophenyl)hydrazone (**1d**)  
 1*H*-Indole-3-carboxaldehyde (3,4-chlorophenyl)hydrazone (**1e**)  
 5-Bromo-1*H*-indole-3-carboxaldehyde phenylhydrazone (**1f**)  
 5-Bromo-1*H*-indole-3-carboxaldehyde (4-bromophenyl)hydrazone (**1g**)  
 5-Bromo-1*H*-indole-3-carboxaldehyde (4-fluorophenyl)hydrazone (**1h**)  
 5-Bromo-1*H*-indole-3-carboxaldehyde (4-chlorophenyl)hydrazone (**1i**)  
 5-Bromo-1*H*-indole-3-carboxaldehyde (3,4-dichlorophenyl)hydrazone (**1j**)  
*N*-(4-methoxybenzoyl)-*N'*-(indolyl-3-methylene)-hydrazine (**1k**)  
 1*H*-Indole-3-carboxaldehyde isonicotinoylhydrazone (**1l**)  
*N*-(4-methoxybenzoyl)-*N'*-(5-Bromo-indolyl-3-methylene)-hydrazine (**1m**)  
 5-Bromo-1*H*-Indole-3-carboxaldehyde isonicotinoylhydrazone (**1n**)  
*N,N'*-bis-(1*H*-indole-3-ylmethylene)-hydrazine (**1o**)  
*N,N'*-bis-(5-bromo-1*H*-indole-3-ylmethylene)-hydrazine (**1ö**)

In order to investigate the antioxidant activities of the synthesized compounds, the DPPH and superoxide radical scavenging activity studies were performed. The results compared to melatonin and vitamin E to those with synthesized compounds, indicated that **1a-1j** showed significantly higher free radical scavenging activities at  $10^{-3}$  M and  $10^{-4}$  M concentrations when compared to melatonin. It is noteworthy that all the active compounds contain unique molecular patterns related to location of halogen atoms within the molecules. Generally, it can be said that the activity pattern might express the halogens which are mostly located at the 5<sup>th</sup> position of indole ring and the aromatic phenyl ring of the side chain (carboxaldehyde phenyl hydrazone), respectively, except **1ö** consists of bis-indole moiety which is considered as halogen-located of indole-ring pattern. The compounds having only one halogen atom at the indole phenyl ring, and either no halogens at both aromatic rings nor substituents other than halogens showed lower or no biological activities.

**Key words :** melatonin, indole derivatives, synthesis, antioxidant activity

**KAYNAKLAR**

- ABOUL-ENEIN, H.Y., KLADNA, A., KRUK, I., LICHSZTELD, K., MICHALSKA, T., OLGEM, S. (2005). Scavenging of reactive oxygen species by novel indolin-2-one and indoline-2-thione derivatives. *Biopolimers*, **78**: 171-178.
- ABOUL-ENEIN, H. Y., KRUK, I., LICHSZTELD, K., MICHALSKA, T., KLADNA, A., MARCZYNSKI, S., OLGEM, S. (2004) Scavenging of reactive oxygen species by N-substituted indole-2 and 3-carboxamides. *Luminescence*, **9**: 1-7.
- ALEMANY, A., BERNABE, P. M., FERNANDEZ A. E., LORA-TAMAYO, M., NIETO L. O. (1966). *Bull. Soc. Chim. Fr.* **8**:2486-97.
- ALLEGRA, M., REITER, R. J., TAN, D. X., GENTILE, C., TESORIERE, L., LIVREA, M. A. (2003) The chemistry of melatonin's interaction with reactive species. *J. Pineal Res.* **34**: 1-10.
- ANDREADOU, I., TASOULI, A., BOFILIS, E., CHRYSSELIS, M., REKKA, E., TSANTILI-KAKOULIDOU, A., ILIODROMITIS, E., SIATRA, T., KREMASTINOS, D. (2002) Antioxidant activity of novel indole derivatives and protection of the myocardial damage in rabbits. *Chem. Pharm. Bull.* **50**:165-8.
- ANDREADOU, I., TSANTILI-KAKOULIDOU, A., SPYROPOULOU, E., SIATRA, T. (2003) Reactions of indole derivatives with cardioprotective activity with reactive oxygen species. Comparison with melatonin. *Chem. Pharm. Bull.* **51**:1128-31.
- ANEES, B., ABDUL, B. M., FATIMA, R. F., MUSTAFA, L. (2007) Mechanisms of Oxidative Stress-Induced Increase in Salt Sensitivity and Development of Hypertension in Sprague-Dawley Rats. *Hypertension*. **49**:664.
- ANTUNES, F., ROSS, L., BARCLAY, C., INGOLD, K. U., KING, M., NORRIS, J. Q., SCAIANO, J. C., XI, F. (1999) On the antioxidant activity of melatonin - association with nuclear grade and estrogen receptor status. *Free Rad. Biol. Med.*, **26**:117-128.
- ARANGINO, S., CAGNACCI, A., ANGIOLUCCI, M., VACCA, A. M., LONGU, G., VOLPE, A., MELIS, G. B. (1999) Effects of melatonin on vascular reactivity, catecholamine levels, and blood pressure in healthy men. *Am. J. Cardiol.*, **83**:1417-1419.
- ASAKAI, R., AOYAMA, Y., FUJIMOTO, T. (2002) Bisindolylmaleimide I and V inhibit necrosis induced by oxidative stress in a variety of cells including neurons *Neurosci Res.*, **44**:297-304.

- ATEŞ-ALAGÖZ, Z., ÇOBAN, T., BÜYÜKBİNGÖL, E. (2006) Synthesis and antioxidant activity of new tetrahydro-naphthalene-indole derivatives as retinoid and melatonin analogs. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **339**:193-200.
- ATEŞ-ALAGÖZ, Z., SÜZEN, S. (2001) Structure-activity relationships of melatonin analogues. *J. Fac. Pharm. Ankara Univ.*, **30**: 41-52.
- ATEŞ-ALAGÖZ Z, SÜZEN S. (2001) Oxidative damage in the central nervous system and protection by melatonin. *J. Fac. Pharm. Ankara Univ.*, **30**(3):47-62.
- ATEŞ-ALAGÖZ, Z., ÇOBAN, T., SÜZEN, S. (2005) A Comparative Study: Evaluation of Antioxidant Activity of Melatonin and Some Indole Derivatives. *Med. Chem. Res.*, **14**(3), 169-179.
- ATTAR, F., KEYHANI, E., KEYHANI, J. (2006) A comparative study of superoxide dismutase activity assays in *Crocus sativus* L. *Corms. App. Biochem.Microbiol.* **42**(1):101-106.
- AZZI, A.; DAVIES, K.J.A. ; KELLY, F. (2004) Free radical biology – terminology and critical thinking. *FEBS Lett.* **558**: 3 – 6.
- BAGCHI, K., PURI, S. (1998) Free radicals and antioxidants in health and disease. *Eastern Mediterranean Health Journal.* **4**(2):350-360.
- BANDO, T., SATO, E. F., MITANI, H., NAKASHIMA, A., HOSHI, K., INOUE, M. (2003) Antioxidative potential of fluvastatin via the inhibition of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase activity *Biol. Pharm. Bull.* **6**:818-22.
- BARLOW-WALDEN, L.R., REITER, R.J., ABE, M., PABLOS, M. I., CHEN, L.D., POEGGELER, B. (1995) Melatonin stimulates brain glutathione peroxidase activity. *Neurochem. Int.* **26**: 497-502.
- BECKMAN, J.S., BECKMAN, T. W., CHEN, J., MARSHALL, P. A., FREEMAN, B. A. (1990) Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87**:1620-1624.
- BECKMAN, J. S., CARSON, M., SMITH, C. D., KOPPENOL, W. H. (1993) ALS, SOD and peroxynitrite. *Nature.* **18**:195-199.
- BENDHEIM, P. E., POEGGELER, B., NERIA, E., ZIV, V., PAPPOLLA, M. A., CHAIN, D. G. (2002) Development of indole-3-propionic acid (OXIGON) for Alzheimer's disease. *J. Mol. Neurosci.*, **19**:213-7.
- BENZIE, I.F.F. (2003) Evolution of dietary antioxidants. *Comp. Biochem. Physiol.*, **A 136** : 113-126.

- BIAGLOW, J. E., MANEVICH, Y., UCKUN, F., HELD, K. D. (1997) Quantitation of Hydroxyl Radicals Produced by Radiation and Copper-Linked Oxidation of Ascorbate by 2-Deoxy-d-Ribose Method. *Free Radical Biology and Medicine*, 22(7):1129-1138.
- BLOIS, M. S. (1958) Antioxidant determinations by the use of a free free radical. *Nature*, 181:1199-1200.
- BORZA, I., KOLOK, S., IGNACZ-SZENDREI, G., GREINER, I., TARKANYI, G., GALGOCZY, K., HORVATH, C., FARKAS, S., DOMANY, G. (2005) Indole-2-carboxamidines as novel NR2B selective NMDA receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15(24):5439-5441.
- BOZKAYA, P., DOĞAN, B., SÜZEN, S., NEBİOĞLU, D., ÖZKAN S. A. (2006) Determination and investigation of electrochemical behaviour of 2-phenylindole derivatives: discussion on possible mechanistic pathways. *Can. J. Anal. Sci. Spec.* 51(3):125-139.
- BUU-HOI, N. P., SAINT-RUF, G., (1967) *Bull Soc Chim Fr.*, 955-960.
- BÜYÜKBİNGÖL, E., SÜZEN, S., KLOPMAN, G. (1994) Studies on the Synthesis and Structure-Activity Relationships of 5-(3'-indolyl)-2-thiohydantoin Derivatives as Aldose Reductase Enzyme Inhibitors. *Il Farmaco* 49(6):443-447.
- CAGNOLI, C.M. , ATABAY, C., KHARLAMOVA, E., MANEV, H. (1995) Melatonin protect neurons from singlet oxygen induced apoptosis. *J. Pineal Res.* 18:222-226.
- CATHCART, M. K. (2004) Regulation of superoxide anion production by NADPH oxidase in Monocytes/Macrophages. *Arteriosclerosis, Thrombosis, And Vascular Biology.* 24:23-8.
- CHAN, PH. (1996) Role of oxidants in ischemic brain damage. *Stroke.* 27:1124-1129.
- CHASTON TB, WATTS RN, YUAN J, RICHARDSON DR. (2004) Potent antitumor activity of novel iron chelators derived from di-2-pyridylketone isonicotinoyl hydrazone involves fenton-derived free radical generation. *Clin Cancer Res.* 10(21):7365-74.
- CHENG, Z. J., KUO, S. C., CHAN, S. C., KO F. N., TENG, C. M. (1998) Antioxidant properties of butein isolated from *Dalbergia odorifera*. *Biochim. Biophys. Acta*, 1392:291-299.
- CHRISTOFIDOU-SOLOMIDOU, M.; V.R. MUZYKANTOV, V. R. (2006) Antioxidant strategies in respiratory medicine. *Treat. Res. Med.* 5: 47 – 78.
- CHYAN YJ, POEGGELER B, OMAR RA, CHAIN DG, FRANGIONE B, GHISO J, PAPPOLLA MA. (1999) Potent neuroprotective properties against the Alzheimer beta-amyloid by an endogenous melatonin-related indole structure, indole-3-propionic acid. *J Biol Chem.* 30;274(31): 21937-42.

- CLEVENGER R. L (1962) *J Med Pharm. Chem.*, Aldehyde. hydrazone. derivatives. in cancer. *Clinicaltherapy*. 5:1367-1371.
- COSTA, D., GOMES, A., REIS, S., LIMA, J. L. F. C., FERNANDES, E. (2005) Hydrogen peroxide scavenging activity by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Life Sci*. 76:2841-8.
- CUZZOCREA, S., ZINGARELLI, B., CONSTANTINO, G., CAPUTI, A.P. (1998) Protective effect of melatonin in a non-septic shock model induced by zymosan in the rat. *J. Pineal Res.* 25(1): 24-33
- DADO, K., KATOH, M., SHIMIZU, T., TAKAHASHI, M., SODEOKA, M. (2005) Inhibition of hydrogen peroxide-induced necrotic cell death with 3-amino-2-indolylmaleimide derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15:3114-8.
- DANNHARDT, G., KIEFER, W. (2001) Cyclooxygenase inhibitors--current status and future prospects. *Eur. J. Med. Chem.* 36:109126
- DAS, S., FALCHI, M., BERTELLI, A., MAULIK, N., DAS, D. K. (2006) Attenuation of ischemia/reperfusion injury in rats by the anti-inflammatory action of resveratrol. *Arzneimittelforschung*. 56:700-6.
- DEMOPOULOS, V. J., GAVALAS, A., REKATAS, G., TANI, E. K. (1995) Synthesis of 6,7,8,9-Tetrahydro-N,N-Di-Propyl-1H-Benz[g]indol-7-amine. A Potential Dopamine Receptor Agonist. *J. Heterocyclic Chem.* 32:1145.
- DREW, B., LEEUWENBURGH, C. (2002) Aging and the role of reactive nitrogen species. *Ann. NY Acad. Sci.* 959:66-81.
- DUARTE, C. D., TRIBUTINO, J. L., LACERDA, D. I., MARTINS, M. V., ALEXANDRE-MOREIRA, M. S., DUTRA, F., BECHARA, E. J., DE-PAULA, F. S., GOULART, M. O., FERREIRA, J., CALIXTO, J. B., NUNES, M. P., BERTHO, A. L., MIRANDA, A. L., BARREIRO, E. J., FRAGA CA. (2007) Synthesis, pharmacological evaluation and electrochemical studies of novel 6-nitro-3,4-methylenedioxyphenyl-N-acylhydrazone derivatives: Discovery of LASSBio-881, a new ligand of cannabinoid receptors. *Bioorg Med Chem.*, 15(6):2421-33.
- FERNANDES, E., COSTA, D., TOSTE, S. A., LIMA, J. L. F. C., REIS, S. (2004) In vitro scavenging activity for reactive oxygen and nitrogen species by nonsteroidal anti-inflammatory indole, pyrrole, and oxazole derivative drugs. *Free Radic. Biol. Med.* 37:1895-1905.
- FERNANDEZ, D., BONILLA, E., PHILLIPS, P., PERL, A. (2006) Signaling abnormalities in systemic lupus erythematosus as potential drug targets. *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets.* 6:305-11.

- GARCIA, J. J.; REITER, R. J.; KARBOWNIK, M.; CALVO, J. R.; ORTIZ, G. G.; TAN, D. X.; MARTINEZ-BALLARIN, E.; ACUNA-CASTROVIEJO, D. (2001) N-acetyl serotonin suppresses hepatic microsomal membrane rigidity associated with lipid peroxidation. *Eur. J. Pharmacol.*, 428: 169-75.
- GARCIA-SANTOS, G., HERRERA, F., MARTIN, V., RODRIGUEZ-BLANCO, J., ANTOLIN, I., FERNANDEZ-MARI, F., RODRIGUEZ, C. (2004) Antioxidant activity and neuroprotective effects of zolpidem and several synthesis intermediates. *Free Rad. Res.* 3:1289-99.
- GASPAROVA Z, STOLC, S., SNIRC, V. (2006) In vitro physiological evidence of enhanced antioxidant and neuroprotective action of 2,3-dihydromelatonin, a melatonin analogue. *Pharmacol Res.* 53:22-7.
- GAVAZZA, M. B.; CATALA, A. (2004) Protective effect of N-acetyl-serotonin on the nonenzymatic lipid J. *Pineal Res.*, 37:153-160.
- GERONIKAKI, A. A., GAVALAS, A. M. (2006) Antioxidants and inflammatory disease: synthetic and natural antioxidants with anti-inflammatory activity. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* 9(6):425-442.
- GORINSTEIN, S., CVIKROVA, M., MACHACKOVA, I., HARUENKIT, R., PARK, Y. S., JUNG, S. T., YAMAMOTO, K., AYALA, A. L. M., KATRICH, E., TRAKHTENBERG, S. (2004) Characterization of antioxidant compounds in Jaffa sweeties and white grapefruits. *Food Chemistry* , 84:503–510.
- GOZZO, A., LESIEUR, D., DURIEZ, P., FRUCHART, J. C., TEISSIER, E. (1999) Structure-activity relationships in a series of melatonin analogues with the low-density lipoprotein oxidation model. *Free Radic. Biol. Med.* 26:1538-43.
- GUPTA, Y. K., GUPTA, M., KOHLI, K. (2003) Neuroprotective role of melatonin in oxidative stress vulnerable brain. *Indian J. Physiol. Pharmacol.*, 47:373-386.
- GÜRKAN, A. S., KARABAY, A., BÜYÜKBİNGÖL, Z., ADEJARE, A., BÜYÜKBİNGÖL, E. (2005) Syntheses of novel indole lipoic acid derivatives and their antioxidant effects on lipid peroxidation. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. 338:67-73.
- HAIMOV, I., LAVIE, P., LAUDON, M., HERER, P., VIGDER, C., ZISAPEL, N. (1995) Melatonin replacement therapy of elderly insomniacs. *Sleep*. 18:598-603.
- HARDELAND R, ZSIZSIK BK, POEGGELER B, FUHRBERG B, HOLST S, COTOMONTES A. (1999) Indole-3-pyruvic and -propionic acids, kynurenic acid, and related metabolites as luminophores and free-radical scavengers. *Adv Exp Med Biol.* 467:389-95.



- HERMES-LIMA, M., GONCALVES, M. S., ANDRADE, R. G. JR. (2001) Pyridoxal isonicotinoyl hydrazone (PIH) prevents copper-mediated in vitro free radical formation. *Mol Cell Biochem.* 228(1-2):73-82.
- HONG, L., CHUAN, W., XIANGZHONG, L., XIAOLI, X., CHENGCHUN, J., HUA'NAN, C. (2007) A Novel Electro-Fenton Process for Water Treatment: Reaction-controlled pH Adjustment and Performance Assessment *Environ. Sci. Technol.* 41(8): 2937-42.
- HUONG, N. T. T., MATSUMOTO, K., KASAI, R., YAMASAKI K., WATANABE H. (1998) In vitro antioxidant activity of Vietnamese ginseng saponin and its components *Biol. Pharm. Bull.*, 21:978-981.
- HUANG, M. F., LIN, W. L., MA, Y. C. (2005) A study of reactive oxygen species in mainstream of cigarette. *Indoor Air.* 15:135-140.
- HUIE, R. T., PADMAJA, S. (1993) The reaction of NO with superoxide. *Free Radic. Res. Commun.* 18:195-9.
- IKEDA, Y., MATSUMOTO, K., DOHI, K., JIMBO, H., SASAKI, K., SATOH, K. (2001) Direct superoxide scavenging activity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: determination by electron spin resonance using the spin trap method. *Headache.* 41:138-41.
- JAIN, S. K. (2006) Oxidative stress and metabolic diseases: Introduction. *Pathophysiology.* 13(3):127-128.
- JAMES, P. N., SNYDER, H. R. (1959) Indole-3-aldehyde. *Organic Syntheses* 39:30-32.
- JOVANOVIĆ, S. V., STEENKEN, S. (1992) Substituent effect on the spectral acid base and redox properties of indolyl radicals: a pulse radiolysis study *J. Phys. Chem.*, 96:6674 - 6679.
- KARBOWNIK, M. (2002) Potential anticarcinogenic action of melatonin and other antioxidants mediated by antioxidative mechanisms. Potential anticarcinogenic action of melatonin and other antioxidants mediated by antioxidative mechanisms. *Neuro Endocrinol. Lett.*, 1: 39-44.
- KARBOWNIK M, STASIAK M, ZASADA K, ZYGMUNT A, LEWINSKI A. (2005) Comparison of potential protective effects of melatonin, indole-3-propionic acid, and propylthiouracil against lipid peroxidation caused by potassium bromate in the thyroid gland. *J Cell Biochem.* 1;95(1):131-8.
- KATOH, M., DODO, K., FUJITA, M., SODEOKA, M. (2005) Structure-activity relationship of N-methyl-bisindolylmaleimide derivatives as cell death inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15:3109-13.

- KEDAR, N. P., WILLIAM, C. C., BIPIN, K. (1999) Multiple Antioxidants in the Prevention and Treatment of Parkinson's Disease *J. Am. Coll. Nutr.* 18:413.
- KEITHAHN, C., LERCHL, A. (2005) 5-hydroxytryptophan is a more potent in vitro hydroxyl radical scavenger than melatonin or vitamin C. *J. Pineal Res.*, 38:62-66.
- KELLY, F. J. (1998) Use of antioxidants in the prevention and treatment of disease. *J Int Fed Clin Chem.* 10(1):21-3
- KELLY, F. J., SANDSTROM, T. (2004) Air pollution, oxidative stress, and allergic response. *The Lancet* 363:95-6.
- KIDWAI, M., NEGI, N., GUPTA, S. D. (1994) Synthesis and antifertility activity of 1,5-diaryl-3(3'indolyl) formazans. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 42(11): 2363-64.
- KOCYIGIT-KAYMAKCIOGLU, B., ORUC, E., UNSALAN, S., KANDEMIRLI, F., SHVETS, N., ROLLAS, S., ANATHOLY, D. (2006) Synthesis and characterization of novel hydrazide-hydrazones and the study of their structure-antituberculosis activity *Eu. J. Med. Chem.* 41(11): 1253-1261.
- KOTLER, M., RODRIQUEZ, C., SAINZ, R.M., ANTOLIN, I., MENENDEZ-PELAEZ, A. (1998) Melatonin increases gene expression for antioxidant enzymes in rat brain cortex. *J. Pineal Res.* 24: 83-89.
- KUMAR, D. S., VASUDEVAN, D. M. (2005) Monitoring oxidative stress in patients with non-alcoholic and alcoholic liver diseases *Ind. J. Clin. Biochem.* 20:24.
- LEZOUALCH, F., SKUTELLA, T., WIDMANN, M. (1996) Melatonin prevents oxidative stress-induced cell death in hippocampal cells. *Neuroreport*, 7:2071-2077.
- LI, T. R., YANG, Z. Y., WANG, B. D. (2007) Synthesis, characterization and antioxidant activity of naringenin Schiff base and its Cu(II), Ni(II), Zn(II) complexes. *Chem Pharm Bull.*, (Tokyo) 55(1):26-8.
- LIMSON, J., NYOKONG, T., DAYA, S. (1998) The interaction of melatonin and its precursors with aluminium, cadmium, copper, iron, lead, and zinc: an adsorptive voltammetric study. *J. Pineal Res.* 1:15-21.
- LOOTS, D. T., WIID, I. J., PAGE, B. J., MIENIE, L. J., VAN HELDEN, P. D. (2005) Melatonin prevents the free radical and MADD metabolic profiles induced by antituberculosis drugs in an animal model. *J Pineal Res.*, 38(2):100-6.
- MACCARRONE, M., ULLRICH, V. (2004) Redox regulation in disease and ageing. *Nature* 11(8):949-951.
- MAHARAJ, D. S., LIMSON, J. L., DAYA, S. (2003) 6-Hydroxymelatonin converts Fe (III) to Fe (II) and reduces iron-induced lipid peroxidation. *Life Sciences.* 72:1367-1375.

- MAHARAJ, D. S., WALKER, R. B., GLASS, B. D., DAYA, S. (2003) 6-Hydroxymelatonin protects against cyanide induced oxidative stress in rat brain homogenates. *J. Chem. Neuroanatomy*, 26:103-107.
- MAHARAJ, D. S., ANOOPKUMAR-DUKIE, S., GLASS, B. D., ANTUNES, E. M., LACK, B., WALKER, R. B., DAYA, S. (2002) The identification of the UV degradants of melatonin and their ability to scavenge free radicals. *J. Pineal Res.*, 32:257-261.
- MAJEKOVA, M., KOPRDA, V., BOHACIK, L., BOHOV, P., HADGRAFT, J., BEZAKOVA, Z., MAJEK, P. (2006) Skin permeation of acyl derivatives of stobadine. *Pharmacol.Toxicol. Pharm.Pharm.* 13:51-4.
- MARTIN, V., SAINZ, R. M., ANTOLIN, I., MAYO, J. C., HERRERA, F., RODRIGUEZ, C. (2002) Several antioxidant pathways are involved in astrocyte protection by melatonin. *J. Pineal. Res.*, 33:204 -212.
- MATUSZAK, Z., RESZKA, K. J., CHIGNELL, C. F. (1997) Reaction of melatonin and related indoles with hydroxyl radicals: EPR and spin trapping investigations. *Free Rad. Biol. Med.*, 23:367-372.
- MAURICIO, A. Q., LOPES, G. K., GOMES, C. S., OLIVEIRA, R. G., ALONSO, A., HERMES-LIMA, M. (2003) Pyridoxal isonicotinoyl hydrazone inhibits iron-induced ascorbate oxidation and ascorbyl radical formation. *Biochim Biophys Acta.* 1620(1-3):15-24.
- Mc CORD, J. M.(1986) Superoxide dismutase: rationale for use in reperfusion injury and inflammation. *J. Free Radic. Biol. Med.* 2:307 – 310.
- MILITANTE, J., LOMBARDINI, J.B. (2004) Age-related retinal degeneration in animal models of aging: possible involvement of taurine deficiency and oxidative stress. *Neurochemical Research.* 29(1):151-160.
- MIQUEL, J. (2002) Can antioxidant diet supplementation protect against age-related mitochondrial damage? *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 959:508-16.
- MOR, M., SILVA, C., VACONDIO, F., PLAZZI, P. V., BERTONI, S., SPADONI, G., DIAMANTINI, G., BEDINI, A., TARZIA, G., ZUSSO, M., FRANCESCHINI, D., GIUSTI, P. (2004) Indole-based analogs of melatonin: in vitro antioxidant and cytoprotective activities. *J. Pineal Res.*, 36:95-102.
- MORITA, I., KAWAMOTO, M., YOSHIBA, H. (1992) Difference in the concentration of tryptophan metabolites between maternal and umbilical foetal blood. *J. Chromatogr.* 576:334-9.

- MOTILVA, V., CABEZA, J., ALARZON, DE LA, L. C. (2001) New issues about melatonin and its effects on the digestive system. *Curr. Pharm. Design.* 7: 909-931.
- MOUITHYS-MICKALAD, A. M. L., ZHENG, S. X., DEBY-DUPONT, G. P., DEBY, C. M. T., LAMY, M., REGINSTER, J. Y. Y., HENROTIN, Y. E. (2000) In vitro study of the antioxidant properties of non steroidal anti-inflammatory drugs by chemiluminescence and electron spin resonance (ESR). *Free Radic. Res.* 33:607-21.
- NISHIKAWA, M., HYODOU, K., KOBAYASHI, Y., UMEYAMA, Y., TAKAKURA, Y., HASHIDA, M. (2005) Inhibition of metastatic tumor growth by targeted delivery of antioxidant enzyme, *J. Control. Release* 109:101 – 107.
- NIWA, K., HAENSEL, C., ROSS, M. E., IADECOLA, C. (2001) Cyclooxygenase-1 participates in selected vasodilator responses of the cerebral circulation. *Circ. Res.* 88:600-8.
- OLIVERI, G., BRACK, C., MULLER-SPAHN, F., STAHELIN, H. B., HERRMANN, M., RENARD, P., BROCKHAUS, M., HOCK, C. (2000) Mercury induces cell cytotoxicity and oxidative stress and increases beta-amyloid secretion and tau phosphorylation in SHSY5Y neuroblastoma cells. *J. Neurochem.*, 74:231-236.
- OOSTHUIZEN, M. M., GREYLING, D. (1999) Antioxidants suitable for use with chemiluminescence to identify oxyradical species. *Redox Rep.*, 4:277-290.
- ÖLGEN, S., ÇOBAN, T. (2003) Antioxidant evaluations of novel N-H and N-substituted indole esters. *Biol. Pharm. Bull.* 26:736 -738
- ÖLGEN, S., ÇOBAN, T. (2002) Synthesis and antioxidant properties of novel N-substituted indole-2-carboxamide and indole-3-acetamide derivatives. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* 7:331-338.
- ÖLGEN, S., KILIÇ, Z., ADA, A. O., ÇOBAN, T. (2007) Synthesis and antioxidant properties of novel N-H and N-substituted propanamide derivatives. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* 340:140-6.
- ÖZTÜRK, D., SÜZEN, S., SABUNCUOĞLU, B., AKKUŞ, B. (2005) Radioprotection of the Rat Kidney with a New Indole Based Compound. *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.* 63:S437.
- PATEL, R. K., MCANDREW, J., SELLAH, H., WHITE, C. R., JO, H., FREEMAN, B. A., DARLEY-USMAR. (1999) Biological aspects of reactive nitrogen series. *Biochim. Biophys. Acta.* 1411:385-400.
- PIERI, C., MORONI, F., MARRA, M., MARCHESELLI, F., RECCHIONI, R. (1995) Melatonin is a efficient antioxidant. *Arch. Gerontol. Geriatrics.* 20: 159-165.

- POEGGELER, B., PAPPOLLA, M. A., HARDELAND, R., RASSOULPOUR, A., HODGKINS, S., GUIDETTI, P., SCHWARCZ, R. (1999) Indole-3-propionate: a potent hydroxyl radical scavenger in rat brain. *Brain Res.*, 815:382-8.
- POEGGELER, B., THUERMAN, S., DOSE, A., SCHOENKE, M., BURKHARDT, S., HARDELAND, R.(2002) Melatonin's unique radical scavenging properties - roles of its functional substituents as revealed by a comparison with its structural analogs. *J. Pineal Res.*, 33:20-30.
- POLITI, V., D'ALESSIO, S., STAZIO, D., DE LUCA, G. (1996) Antioxidant properties of indole-3-pyruvic acid. *Adv. Biol. Exp. Med.*, 398: 291-298.
- POPP, F. D. (1984) Potential anticonvulsivants. VIII: Some hydrazones of indole-3-carboxaldehyde J. Heterocycl. Chem., 21:617-619.
- RECTOR, D. L., CONDER, G. A., FOLZ, S. D. (1987) Preparation of antihelminthic acylhydrazones, method of use and compositions. PCT Int. Appl. 57 pp. CODEN: PIXXD2 WO 8706133 A1 19871022 CAN 108:101381 AN 1988:101381 caplus.
- REITER, R. J., (1997) Antioxidant actions of melatonin. *Adv. Pharmacol.*,38:103 - 117.
- REITER, R. J. (1991) Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocrine Rev.*, 12:151-180.
- REITER, R. J. (1980) The pineal and its hormones in the control of reproduction in mammals. *Endocrine Rev.*, 1:109-131.
- REITER, R. J., GUERRERO, J. M.; GARCIA, J. J. ACUNA-CASTROVIEJO, D. (1998) Reactive oxygen intermediates, molecular damage, and aging. Relation to melatonin. *Ann. NY. Acad. Sci.*, 854: 410-24.
- REITER, R. J., TAN, D. X., ALLEGRA, M. (2002) Melatonin: reducing molecular pathology and dysfunction due to free radicals and associated reactants. *Neuroendocrinol Lett.* 23(SUPPL 1):3-8.
- REITER, R. J., TAN, D. X., QI, W., MANCHESTER, L. C., KARBOWNIK, M., CALVO, J. R. (2000) *Biol. Signals Recept.*,9:160-171.
- REMANS, P. H., VAN OOSTERHOUT, M., SMEETS, T. J., SANDERS, M., FREDERIKS, W. M., REEDQUIST, K. A., TAK, P. P., BREEDVELD, F.C., VAN LAAR, J. M. (2005) Intracellular free radical production in synovial T lymphocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 52:2003-9.
- RESSMEYER, A. R., MAYO, J. C., ZELOSKO, V., SAINZ, R. M., TAN, D. X., POEGGELER, B., ANTOLIN, I., REITER, R. J., HARDELAND, R. (2003) Antioxidant properties of the melatonin metabolite N1-acetyl-5-methoxykynuramine

- (AMK): scavenging of free radicals and prevention of protein destruction. *Redox Rep.* 8:205-13.
- RICCIONI, G., BUCCIARELLI, T., MANCINI, B., DI ILIO, C., CAPRA, V., D'ORAZIO, N. (2007) The role of the antioxidant vitamin supplementation in the prevention of cardiovascular diseases. *Expert Opin Investig Drugs* 16:25-32.
- SANG-MYUNG, L., MIN-KYUN, N., REN-BO, A., BYUNG-SUN, M., HYEONG-KYU, L. (2003) Antioxidant Activity of Two Phloroglucinol Derivatives from *Dryopteris Crassirhizoma*. *Biol. Pharm. Bull.* 26(9):1354-1356.
- SANZ, E., ROMERA, M., BELLIK, L., MARCO, J. I., UNZETA, M. (2004) Indolalkylamines derivatives as antioxidant and neuroprotective agents in an experimental model of Parkinson's disease. *Med. Sci. Monit.*, 10:BR477-84.
- SARAN, M., MICHEL, C., BORS, W. (1990) Reaction of NO with O<sub>2</sub><sup>-</sup>: implications for the action of endothelium-releasing factor. *Free Radical Res. Commun.* 10: 221-226.
- SCAIANO, J.C. (1995) Exploratory laser flash photolysis study of free radical reactions and magnetic field effects in melatonin chemistry. *J. Pineal Res.* 19: 189-195.
- SCHAPIRA, A.H. (1999) Mitochondrial involvement in Parkinson's disease, Huntington's disease, hereditary spastic paraplegia and Friedreich's ataxia. *Biochim. Biophys. Acta (Bba)/Bioenergetics* 1410:159-70.
- SHABICA, A. C., HOWE, E. E., ZIEGLER, J. B., TISHLER, M. (1946) Improved synthesis of indole-3-aldehyde. *J Am. Chem. Soc* 68:1156-57.
- SMITH, M. A., ROTTCAMP, C. A., NUNOMURA, A., RAINA, A. K., PERRY, G. ( 2000) Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1502:139-144.
- SOFIC, E., RIMPAPA, Z., KUNDUROVIC, Z., SAPCANIN, A., TAHIROVIC, I., RUSTEMBEGOVIC, A., CAO, G. (2005) Antioxidant capacity of the neurohormone melatonin. *J Neural Transm.* 112(3):349-58.
- SPADONI, G., DIAMANTINI, G., BEDINI, A., TARZIA, G., VACONDIO, F., SILVA, C., RIVARA, M., MOR, M., PLAZZI, P. V., ZUSSO, M., FRANCESCHINI, D., GIUSTI, P. (2006) Synthesis, antioxidant activity and structure-activity relationships for a new series of 2-(N-acylaminoethyl)indoles with melatonin-like cytoprotective activity. *J. Pineal Res.*, 40:259-69.
- SREEYAN, N., RAO, M. (1996) Free radical scavenging activity of curcuminoids. *Drug. Res.*, 46: 169-171
- STOLC, S., SNIRC, V., MAJEKOVA, M., GASPAROVA, Z., GAJDOSIKOVA, A., STVRTINA, S. (2006) Development of the new group of indole-derived neuroprotective drugs affecting oxidative stress. *Cell Mol. Neurobiol.* 26:1495-504.

- SUBHASHINEE, S. K., WIJERATNE, SUSAN, L., CUPPETT, VICKY, S. (2005) Hydrogen peroxide induced oxidative stress damage and antioxidant enzyme response in caco-2 human colon cells. *J. Agric. Food Chem.*, 53(22):8768 -8774.
- SURAPANENI, K. M., VENKATARAMANA, G. (2007) Status of lipid peroxidation, glutathione, ascorbic acid, vitamin E and antioxidant enzymes in patients with osteoarthritis. *Indian J. Med. Sci.* 61:9-14.
- SUSA, N., UENO, S., FURUKAWA, Y., UEDA, J., SUGIYAMA, M. (1997) Potent protective effect of melatonin on chromium (VI)-induced DNA single-stand breaks, cytotoxicity and lipid peroxidation in primary cultures of rat hepatocytes. *Toxic. Appl. Pharmac.* 144: 377-384.
- SÜZEN S. (2007) Topics in Heterocyclic Chemistry, Bioactive Heterocycles V, Antioxidant Activities of Synthetic Indole Derivatives and Possible Activity Mechanisms, Khan, M.T.H. (Ed.), Vol. 11.
- SÜZEN, S. (2006) Recent developments of melatonin related antioxidant compounds. *Com Chem High T Synt* 9(6):409-419.
- SÜZEN, S., ATEŞ-ALAGÖZ, Z., DEMİRCİGİL, T., ÖZKAN, S. A. (2001) Synthesis and Analytical Evaluation by Voltammetric Studies of Some New Indole-3-propionic acid Derivatives. *Il Farmaco* 56:835-840.
- SÜZEN, S., ATEŞ-ALAGÖZ, Z., PÜSKÜLLÜ, O. (2000) Antioxidant Activities of Indole and Benzimidazole Derivatives. *FABAD J. Pharm. Sci.*, 25(3):113-119.
- SÜZEN, S., BOZKAYA, P., ÇOBAN, T., NEBİOĞLU, D. (2006) Investigation of *in vitro* antioxidant behaviour of some 2-phenylindole derivatives: discussion on possible antioxidant mechanisms and comparison with melatonin. *J. Enzyme Inh. Med. Chem.* 21(4):405-411.
- SÜZEN, S., BÜYÜKBİNGÖL, E. (2000) Anti-Cancer Activity Studies of Indolalithiohydantoin (PIT) on certain cancer cell lines. *Il Farmaco* 55(4):246-248.
- SÜZEN, S., DEMİRCİGİL, T., BÜYÜKBİNGÖL, E., ÖZKAN, S. (2003) Electroanalytical Evaluation and Determination of 5-(3'-indolyl)-2-thiohydantoin Derivatives by Voltammetric studies: possible relevance to *in vitro* metabolism. *New J. Chem.*, 27:1007-1011.
- SZABO, C. (1996) The role of peroxynitrite in the pathophysiology of shock, inflammation and ischemia-reperfusion injury. *Shock* 6: 79-88.
- SZASZ, T., THAKALI, K., FINK, G. D., WATTS, S. W. (2007) A comparison of arteries and veins in oxidative stress: producers, destroyers, function, and disease. *Exp. Biol. Med. (Maywood)* 232:27-37.

- TABRIZI, S. J., WORKMAN, J., HART, P. E., MANGIARINI, L., MAHAL, A., BATES, G., COOPER, J. M., SCHAPIRA, A. H. (2000) Mitochondrial dysfunction and free radical damage in the Huntington R6/2 transgenic mouse. *Ann. Neurol.* 47:80-6.
- TAN, D. X., CHEN, L. D., POEGGELER, B., MANCHESTER, L. C., REITER, R. J. (1993) Melatonin: a potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocr. J.*, 1:57-60.
- TAN, D. X., MANCHESTER, L. C., HARDELAND, R., LOPEZ-BURILLO, S., MAYO, J. C., SAINZ, R. M., REITER, R. J. (2003) Melatonin: a hormone, a tissue factor, an autocoid, a paracoid, and an antioxidant vitamin. *J. Pineal Res.*, 34:75-78.
- TAN, D. X., MANCHESTER, L. C., REITER, R. J., PLUMMER, B. F., HARDIES, L. J., WEINTRAUB, S.T., SHEPHERD, A. M. (1998) A novel melatonin metabolite, cyclic 3-hydroxymelatonin: a biomarker of in vivo hydroxyl radical generation. *M. Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 253:614-620.
- TAN, D. X., REITER, R. J., MANCHESTER, L. C., YAN, M. T., EL-SAWI, M., SAINZ, R. M., MAYO, J. C., KOHEN, R., ALLEGRA, M., HARDELAND, R. (2002) Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2:181-197.
- TARZIA, G., ZUSSO, M., FRANCESCHINI, D., GIUSTI, P. (2004) Indole-based analogs of melatonin: in vitro antioxidant and cytoprotective activities. *J. Pineal Res.*, 36:95-102.
- TOMAS-ZAPICO, C., COTO-MONTES, A. (2007) Melatonin as Antioxidant Under Pathological Processes. *Recent Patents on Endocrine, Metabol Immune Drug Disc.*, 1(1):63-82.
- TOMINAGA, T., SATO, S., OHNISHI, J., OHNISHI S. T. (1993) Potentiation of nitric oxide formation following bilateral carotid occlusion and focal cerebral ischemia in the rat: in vivo detection of nitric oxide radical by electron paramagnetic resonance spin trapping. *Brain Res.*, 614:342-6.
- TORRES, L., ANDERSON, C., MARRO, P., MISHRA, O. P., DELIVORIA-PAPADOPOULOS, M. (2004) Cyclooxygenase-mediated generation of free radicals during hypoxia in the cerebral cortex of newborn piglets. *Biomed. Life Sci* 29:1825-30.
- VALKO, M., RHODES, C. J., MONCOL, J., IZAKOVIC, M., MAZUR, M. (2006) Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.* 160:1-40.
- VARADARAJAN, S., YATIN, S., AKSENOVA, M., BUTTERFIELD, D. A. (2000) Review: Alzheimer's amyloid beta-peptide-associated free radical oxidative stress and neurotoxicity. *J. Struct. Biol.* (2000) 130:184-208.



- VARVARESOU, A., TSANTILI-KAKOULIDOU, A., SIATRA-PAPASTAIKOUDI, T., TILIGADA, E. (2000) Synthesis and biological evaluation of indole containing derivatives of thiosemicarbazide and their cyclic 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole analogs. *Arzneimittelforschung*. 50:48-54.
- WAN, X. S., WARE, J.H., ZHOU, Z., DONAHUE, J.J., GUAN, J., KENNEDY, A. R. (2006) Protection against radiation-induced oxidative stress in cultured human epithelial cells by treatment with antioxidant agents. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 64:1475-81.
- WARIS, G., AHSAN, H. (2006) Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions. *J. Carcin.* 5:14-22.
- WEINBRENNER, T., CLADELLAS, M., ISABEL COVAS, M., FITO, M., TOMAS, M., SENTI, M., BRUGUERA, J., MARRUGAT, J. (2003) High oxidative stress in patients with stable coronary heart disease. *Atherosclerosis*. 68(1):99-106.
- WRONA, M. Z.; DRYHURST, G. (1998) Oxidation of serotonin by superoxide radical: implications to neuropdegenerative brain disorders. *Chem. Res. Toxicol.*, 11: 639-650.
- WU, D., CEDERBAUM, A. I. (2003) Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol Res. Health* 27:277-84.
- XIMENES, V. F., PAINO, I. M. M., FARIA-OLIVEIRA, O. M. M., FONSECA, L. M., BRUNETTI. I. L. (2005) Indole ring oxidation by activated leukocytes prevents the production of hypochlorous acid. *Braz J Med Biol Res.*, 38(11):1575-83.
- YIM, S., MALHOTRA, A., VEVES, A. (2007) Antioxidants and CVD in diabetes: where do we stand now. *Curr. Diab. Rep.* 7:8-13.
- ZHANG, H., SQUADRITO, G. L., UPPU, R., PRYOR, W. (1999) Reaction of peroxynitrite with melatonin: A mechanistic study. *Chem. Res. Toxicol.* 12:526-34.
- ZHU, X., ROTTKAMP, C. A. (2000) Activation of p38 kinase links tau phosphorylation, oxidative stress, and cell cycle-related events in Alzheimer disease. *Neuropathol. Exp. Neurol.*, 59:880-888.
- ZIKA, C. A., NICOLAOU, I., GAVALAS, A., REKATAS, G. V., TANI, E., DEMOPOULOS, V. J. (2004) Behavioral and antioxidant activity of a tosylbenz[g]indolamine derivative. A proposed better profile for a potential antipsychotic agent. *Annals. of General Hospital Psychiatry* 3:1-7.

## ÖZGEÇMİŞ

### I. Bireysel Bilgiler

*Adı:* Ayşe Gökçe

*Soyadı:* Gürkök

*Doğum yeri ve tarihi:* Ankara – 16.02.1981

*Uyruğu:* T.C.

*Medeni durumu:* Bekar

*İletişim adresi:* B.Merkez Yol – İş Sitesi C1 Blok No:13 Batıkent / Ankara

*Telefonu:* 0 539 288 88 14

### II. Eğitimi

*Lisans:* Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü (1999-2004)

*Lise:* Antalya Karatay Lisesi (Yabancı Dil Ağırlıklı) (1995-1999)

*Ortaokul:* Antalya İstiklal Ortaokulu (1992-1995)

*İlkokul:* İstanbul Emlak Kredi Bankası İlkokulu (1987-1992)

*Yabancı dili:* İngilizce

### III. Ünvanları

Kimyager – 2004

### IV. Mesleki Deneyimi

Çağ Kozmetik Kim. San. Tic. Ltd. Şti. – Üretim Müdürü (2005 – 2006)

Derviş Deterjan Kim. San. Tic. Ltd. Şti. – Kalite Kontrol Müdürü (2006 - ...)

Medisan Sağlık Ev Ürünleri Tanıtım San. Dış Tic. Ltd. Şti. – Mesul Müdür(2006-...)

### V. Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Famasötik ve Medisinal Kimya Derneği

### VI. Bilimsel İlgi Alanları

*Yayınları:*

1. SÜZEN, S., **GÜRKÖK, G.**, ÇOBAN, T. (2006) Novel *N*-acyl dehydroalanine derivatives as antioxidants: Studies on rat liver lipid peroxidation levels and DPPH free radical scavenging activity. *J. Enzyme Inh. Med. Chem* 21(2):179-85.

**Bildirileri:**

1. **GÜRKÖK, G.**, ÇOBAN, T., SÜZEN, S. Antioxidant activity studies of novel *N*-acyl dehydroalanine derivatives” 8<sup>th</sup> International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-8), Abstract P-201, Haziran, 13-16, Ankara, Türkiye, 2006.

**Atıfları:**

GUTIERREZ-CUESTA J, SUREDA FX, ROMEU M, et al. Chronic administration of melatonin reduces cerebral injury biomarkers in SAMP8. J Pineal Res 42 (4): 394-402, 2007.

**VII. Bilimsel Etkinlikler****Aldığı Burslar:**

TÜBİTAK Yurt İçi Bilimsel Etkinliklere Katılma Desteği – DRD 2007

**Projeler:**

Proje No: 2005-08-03-05 (A.Ü Araştırma Fonu) Aldoz Redüktaz Enzimini İnhibe Edecek yeni Bileşiklerin Sentezleri Biyolojik Aktivite Çalışmaları (2005-2007)

**Verdiği Seminerler:**

1. New Molecular Targets For Inhibitions of Bone Resorption (2004- A.Ü Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı)
2. Melatonin ve Melatonin Analogu Bileşiklerin Antioksidan Aktivite Özellikleri (2007-A.Ü Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı)

**Bildirisiz Katılan Kongreler / Sempozyumlar:**

1. 2<sup>nd</sup> International Meeting on Medicinal and Pharmaceutical Chemistry IMMPC-2 Ekim 10-14, Antalya, 2004.
2. Uluslararası İlaç Araştırmaları ve Gelişimi Sempozyumu, DRD, Mayıs, Antalya, 2007.

**VIII. Diğer Bilgiler****Kurs ve eğitim semineri:**

1. İngilizce Kursu: Deulcom English; Intermediate & Upper Intermediate Level
2. Tetra Mühendislik; Netsis Ephesus Programı Eğitimi
3. ISO 9001:2000 Eğitimi

**Diğer Üyelikler:**

1. Ankara Üniversitesi Mezunlar Derneği
2. Ankara Trekking Klübü
3. A.Ü. Yüzme Havuzu