



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**MELATONİN ANALOGU İNDOL TÜREVİ YENİ
BİLEŞİKLERİN SENTEZLERİ, YAPI AYDINLATMALARI
VE AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ayşe Didem YILMAZ

**FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Sibel SÜZEN**

2010- ANKARA

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MELATONİN ANALOĞU İNDOL TÜREVİ YENİ
BİLEŞİKLERİN SENTEZLERİ, YAPI AYDINLATMALARI
VE AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ayşe Didem YILMAZ

**FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Sibel SÜZEN**

2010- ANKARA

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	vii
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	ix
Denklemler	xiii
Çizelgeler	xiv
1.GİRİŞ	1
1.1. Serbest Radikallerin Tanımı ve Kimyasal Özellikleri	2
1.1.1. Radikallerin Oluşum Mekanizmaları	3
1.1.1.1. Kovalan Bağların Homolitik Kırılması	3
1.1.1.2. Molekülün Elektron Kaybetmesi	3
1.1.1.3. Moleküle Elektron Transferi	4
1.1.2. Serbest Radikal Oluşumunda Etkin Olan Dış ve İç Kaynaklar	5
1.1.3. Biyolojik Sistemde Önemli Radikal Türleri	7
1.1.4. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)	8
1.1.4.1. Süperoksit Anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$)	10
1.1.4.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	11
1.1.4.3. Hidroksil Radikali ($OH^{\cdot}$)	12
1.1.5. Reaktif Azot Türleri (RAT)	13
1.1.5.1. Nitrikoksit radikali	14
1.1.5.2. Peroksinitritin oluşumu	16
1.1.6. Oksidatif Hasar	17
1.1.6.1. Lipitlerde oksidatif hasar	19
1.1.6.2. Proteinlerde oksidatif hasar	21
1.1.6.3. DNA’da Oksidatif Hasar ve Klinik Önemi	22
1.1.7. Oksidatif Stres ve Neden Olduğu Hastalıklar	23
1.2. Antioksidan Maddeler	26
1.2.1. Antioksidan Maddelerin Biyolojik Önemi	26
1.2.2. Antioksidan Maddelerin Sınıflandırılması	28
1.2.2.1. Doğal antioksidan maddeler	29
1.2.2.2. Sentetik Antioksidan Maddeler	34
1.3. Melatonin	35
1.3.1. Melatoninin Biyosentezi	37
1.3.2. Melatoninin Kimyasal Yapısı ve Antioksidan Özellikleri	39
1.3.3. Melatoninin Serbest Radikallerle Etkileşimi	43

1.3.4.	Melatonin ve Melatonin Analogu Bileşikler ile ilgili yapılan Antioksidan Aktivite Çalışmalar	45
1.3.5.	Melatonin Analogu Sentetik Antioksidan Bileşikler	50
1.3.5.1.	Antioksidan Etki Gösteren Non-Steroid Anti-enflamatuvar İndol Türevi Bileşikler	50
1.3.5.2.	İndole Yapışık Halka Sistemi İçeren Antioksidan Bileşikler	51
1.3.5.3.	Bilinen Antioksidan Moleküllerle Kondanse İndol Türevi Bileşikler	53
1.3.5.4.	Alkil ve/veya Aril Substitüe İndol Türevi Bileşikler	56
1.3.5.5.	Antioksidan Etkili Diğer Sentetik İndol Türevi Bileşikler	61
1.4.	İndol Halkasının Kimyasal Özellikleri	64
1.4.1.	İndol Halkasının Genel Sentez Yöntemleri	64
1.4.2.	İndol-3-karboksaldehit Sentezi	67
1.5.	Melatonin Analogu Antioksidan Bileşiklerin Gerekliliği	68
1.6.	Tez Çalışmasının Amacı ve Önemi	69
2.	GEREÇ VE YÖNTEM	72
2.1.	5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit hidrazon Türevlerinin Genel Sentezi	72
2.2.	Gereç ve yöntem	75
2.2.1.	Kullanılan Araç ve Gereçler	75
2.2.2.	Kullanılan Kimyasal Maddeler	75
2.2.3.	Sentez Edilen Maddelerin Analitik İncelemelerinde Uygulanan Yöntemler	76
2.2.3.1.	Kromatografik Analizler	76
2.2.3.2.	Erime Noktası Tayinleri	76
2.2.3.3.	Elementel Analiz Tayini	76
2.2.3.4.	Spektral Analizler	77
3.	BULGULAR	78
3.1.	Başlangıç Maddesi	78
3.2.	5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit fenil hidrazon türevlerinin genel sentezi	78
3.2.1.	5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit fenil hidrazon (1a)	78
3.2.2.	5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 2,4-dimetilfenil hidrazon (1b)	82
3.2.3.	5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 2,3-dimetilfenil hidrazon (1c)	85
3.2.4.	5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 2-florofenil hidrazon (1d)	88
3.2.5.	5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 3-florofenil hidrazon (1e)	91
3.2.6.	5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 4-florofenil hidrazon (1f)	94
3.2.7.	5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 2,4-diflorofenil hidrazon (1g)	97
3.2.8.	5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 2,5-diflorofenil hidrazon (1h)	99
3.2.9.	5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 3,5-diflorofenil hidrazon (1i)	102
3.2.10.	5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 2-klorofenil hidrazon (1j)	105
3.2.11.	5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 3-klorofenil hidrazon (1k)	108

3.2.12. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 4-klorofenil hidrazon (1l)	111
3.2.13. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 2,4-diklorofenil hidrazon (1m)	114
3.2.14. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 2,5-diklorofenil hidrazon (1n)	117
3.2.15. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 3,4-diklorofenil hidrazon (1o)	120
3.2.16. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 3,5-diklorofenil hidrazon (1p)	123
3.2.17. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 2-bromofenil hidrazon (1r)	126
3.2.18. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 3-bromofenil hidrazon (1s)	129
3.2.19. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 4-bromofenil hidrazon (1t)	132
3.3. 5-Kloro-1-H-indol-3-karboksaldehit fenil hidrazon izonikotinik asit hidrazonu (1u) / anisik asit hidrazonu (1v) Türevlerinin Genel Sentezi	135
3.3.1. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit izonikotinoilhidrazon (1u) [izonikotinik asit (5-Kloro-1-Hindol-3-ilmetilen)hidrazid]	135
3.3.2. N-(4metoksibenzoil)-N'-(5-Kloro-1H-indolil-3-metilen)-hidrazon(1v) [4-metoksi benzoik asit (5-Kloro-1H-indol-3-ilmetilen)hidrazid]	139
3.4. N,N'-bis-(5-kloro-1H-indol-3-ilmetilen) hidrazin Türevlerinin Genel Sentezi	142
3.4.1. N,N'-bis-(5-kloro-1H-indol-3-ilmetilen) hidrazin (1y)	142
3.5. İzomer Oranlarının Belirlenmesi	145
3.5.1. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(2-floro fenil) hidrazon (1d) bileşiğinin izomer oranlarının belirlenmesi	146
3.5.2. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(2-kloro fenil) hidrazon (1j) bileşiğinin izomer oranlarının belirlenmesi	147
3.5.3. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(2-bromo fenil) hidrazon (1r) bileşiğinin izomer oranlarının belirlenmesi	148
3.6. Sentez Edilen Bileşiklerin İn vitro Biyolojik Aktivite Tayinleri	149
3.6.1. <i>In vitro</i> Antioksidan Aktivite Tayini	149
3.6.1.1. DPPH Üzerinden Serbest Radikal Yakalama Etki Tayini	149
3.6.1.2. Süperoksit Anyon Radikali Üzerinden Serbest Radikal Yakalama Etki Tayini	152
3.6.2. Sentez Edilen Bileşiklerin <i>İn-Vitro</i> Antioksidan Aktivitelerin Değerlendirilmesi	155

4. TARTIŞMA	157
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	161
ÖZET	164
SUMMARY	166
KAYNAKLAR	168
ÖZGEÇMİŞ	185

ÖNSÖZ

İlaç etken maddelerinin sentezi ve kimyasal özellikleri ilgimi çektiği için eczacılık fakültesinde öğrenim görmeyi tercih ettim. Eczacılık eğitimim sırasında Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans yapmaya karar verdim. Tez konumun esasını oluşturan indol türevi bileşiklerin sentezleri sayesinde ilaç etken maddesi geliştirebilme imkanı buldum. İndol türevi bileşiklerin Medisinal Kimyadaki tartışılmaz önemi nedeniyle bu konuda bir tez çalışması gerçekleştirmek ve bu bileşiklerin antioksidan aktivitelerini araştırmak danışman hocam ile birlikte verdiğimiz ortak bir karar oldu. Bileşiklerin sentezlenmesi sırasında bazı zorluklarla karşılaştım da 22 adet indol hidrazid ve hidrazon türevi bileşiği başarı ile sentezleyerek yapılarını ileri enstrümental tekniklerle aydınlatım. Antioksidan aktiviteleri değerlendirilen bileşiklerimin standart madde olan melatoninden çok daha fazla aktif olması tez çalışmamın başarı ile sonuçlandığını göstermektedir.

Yüksek lisans çalışmalarım sırasında bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, her zaman, her konuda destek olan ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, bilgi ve tecrübesini benimle paylaşan, güler yüz ve sabırla beni dinleyen ve yönlendiren değerli danışmanım sevgili hocam sayın Prof. Dr. Sibel Süzen'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı başkanı sayın Prof. Dr. Erdem Büyükbingöl'e, sentezlediğim bileşiklerin ^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve MASS analizlerinde bana yardım eden sayın Prof. Dr. Hakan Göker'e ve elementel analizlerimi yapan Dr. Ecz. Mehmet Alp'a teşekkürlerimi sunarım.

Aktivite tayin çalışmalarımı yapan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Toksikoloji Anabilim öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Tülay Çoban' a teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman ilgi ve desteklerini gördüğüm Farmasötik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyesi hocalarıma, çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen doktora ve Y.lisans öğrencisi olan arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, TÜBİTAK Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı (2210) çerçevesinde yüksek lisans eğitimim süresince sağladıkları burs desteği için TÜBİTAK' a teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

5-HT	5-Hidroksi Triptamin
5-HTP	5-Hidroksi Triptofan
6-OHM	6-Hidroksi Melatonin
AAPH	2,2'-Azo-Bis (2-Amidinopropan) Dihidroklorid
AFMK	N-Asetil-N'-formil-5-metoksikinuramin
AİS	Amiyotropik Lateral Skleroz
CAT	Katalaz
CDK	Sikline bağımlı kinazlar (Cyclin Dependent kinase)
CRF	Kronik böbrek yetmezliği (Cronic Renal Failure)
DİM	3,3'-diindolilmetan
DMF	N,N-Dimetilformamid
DMPO	5,5-dimetil pirolin N-oksit
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	deoksiribo nükleik asit
Et-OH	Etanol
GP _x	Glutation Peroksidaz
GSH	Glutasyon
GSSG	Glutasyon disülfid formu
HD	Hemodiyaliz
HİF	Hipoksiya indükleyici faktörü
İ3K	İndol-3-karbinol
IPA	İndol-3-propiyamik asit
ITK	İnce Tabaka Kromatografi
LP	Lipid peroksidasyonu
MAO	Monoaminoksidaz
MDA	Malondialdehit
mRNA	Mesajcı Ribo Nükleik Asit
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NO ₂ [•]	Azot dioksit radikali
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
ONOO [•]	Peroksinitrit radikali
PBS	Fosfat tampon tuzu (phosphat buffered saline)
POCl ₃	Fosforoksiklorür
RAT	Reaktif Nitrojen Türleri
ROB	Reaktif oksijen Bileşikleri
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SAH	Subaraknoid hemoraji
SOD	Süperoksitdismutaz
TBA	Tert-butanol
TCA	Trikloro asetik asit
TEA	Trietil amin

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	Serbest radikal oluşum kaynakları ve antioksidanlarla ilişkisi	5
Şekil 1.2.	Oksidatif stres	17
Şekil 1.3.	Lipid Peroksidasyonu	20
Şekil 1.4.	Malondialdehit	21
Şekil 1.5.	Antioksidanların organizmaya faydaları	28
Şekil 1.6.	Antioksidan maddelerin gruplandırılması	29
Şekil 1.7.	SOD, Katalaz ve Glutatyon peroksidaz aktivitesi	30
Şekil 1.8.	Pineal bezin beyindeki lokasyonu	36
Şekil 1.9.	Melatonin	39
Şekil 1.10.	N-Asetil Serotonin	41
Şekil 1.11.	6-Hidroksimelatonin	41
Şekil 1.12.	İndometazin (1), asetmetazin (2) ve etodolak (3)	51
Şekil 1.13.	Stobadin türevi antioksidan bileşiklerin genel formülü	52
Şekil 1.14.	TPBIA (1-p-toluensülfonil-6,7,8,9-tetrahidro-N,N-di-n-propil-1H-benz [g]indol-7-amin)	53
Şekil 1.15.	GWC20 ve DTBHB	53
Şekil 1.16.	Tetrahidronaftalen-indol türevi bileşiklerin genel formülü	54
Şekil 1.17.	İndol-lipoik asit türevi bileşikler	55
Şekil 1.18.	İndol-benzimidazol türevi bileşiklerin genel formülü	55
Şekil 1.19.	Bisindolilmaleimid türevi bileşiklerin genel formülleri	56
Şekil 1.20.	N-H ve N-süstitüe indol-3-propanamid türevlerinin genel formülü	57
Şekil 1.21.	N-H ve N-süstitüe indol ester türevlerinin genel formülü	58
Şekil 1.22.	Triazol yapısı içeren indol türevi bileşiklerin genel formülü	58
Şekil 1.23.	5-Metoksi ve açilamino grupları değiştirilen indol türevi bileşikler	59
Şekil 1.24.	2-N-açilaminoetil türevi bileşikler	59
Şekil 1.25.	Triptamin ve N-alkil süstitüe melatonin analogları	60
Şekil 1.26.	2-Fenil indol türevi bileşiklerin genel formülü	60
Şekil 1.27.	İndol hidrazid / hidrazon türevi bileşiklerin genel formülü	61
Şekil 1.28.	1-metil-indol hidrazid/hidrazon türevi bileşiklerin genel formülü	61
Şekil 1.29.	Zolpidem [N,N,6-trimetil-2-p-tolil-imidazo (1,2-a) piridin-3-asetamid L-(+)]	62
Şekil 1.30.	2,3-dihidromelatonin türevi bileşiklerin genel formülü	62
Şekil 1.31.	Fluvastatin (7-[3-(4-florofenil)-1-(1-metiletil)-1H-indol-2-il]-3,5-dihidroksi-hept-6-enoik asit)	63
Şekil 1.32.	İndolin-2-on ve indolin-2-tiyon türevi bileşiklerin genel formülü	63
Şekil 1.33.	Melatonin üzerinde yapılan modifikasyonlar	71
Şekil 2.1.	5-Kloro-1-H-indol-3-karboksaldehit fenil hidrazon türevlerinin sentezi	72
Şekil 2.2.	Sentezlenen 5-Kloro-1-H-indol-3-karboksaldehit fenil hidrazon türevlerinin kimyasal formülleri	74

Şekil 3.1. Bileşik 1a 'nın ^1H -NMR spektrumu	80
Şekil 3.2. Bileşik 1a 'nın ^{13}C -NMR spektrumu	80
Şekil 3.3. Bileşik 1a 'nın kütle spektrumu	81
Şekil 3.4. Bileşik 1a 'nın IR spektrumu	81
Şekil 3.5. Bileşik 1b 'nin ^1H -NMR spektrumu	83
Şekil 3.6. Bileşik 1b 'nin ^{13}C -NMR spektrumu	83
Şekil 3.7. Bileşik 1b 'nin kütle spektrumu	84
Şekil 3.8. Bileşik 1b 'nin IR spektrumu	84
Şekil 3.9. Bileşik 1c 'nin ^1H -NMR spektrumu	86
Şekil 3.10. Bileşik 1c 'nin ^{13}C -NMR spektrumu	86
Şekil 3.11. Bileşik 1c 'nin kütle spektrumu	87
Şekil 3.12. Bileşik 1c 'nin IR spektrumu	87
Şekil 3.13. Bileşik 1d 'nin ^1H -NMR spektrumu	89
Şekil 3.14. Bileşik 1d 'nin ^{13}C -NMR spektrumu	89
Şekil 3.15. Bileşik 1d 'nin kütle spektrumu	90
Şekil 3.16. Bileşik 1d 'nin IR spektrumu	90
Şekil 3.17. Bileşik 1e 'nin ^1H -NMR spektrumu	92
Şekil 3.18. Bileşik 1e 'nin ^{13}C -NMR spektrumu	92
Şekil 3.19. Bileşik 1e 'nin kütle spektrumu	93
Şekil 3.20. Bileşik 1e 'nin IR spektrumu	93
Şekil 3.21. Bileşik 1f 'nin ^1H -NMR spektrumu	95
Şekil 3.22. Bileşik 1f 'nin ^{13}C -NMR spektrumu	95
Şekil 3.23. Bileşik 1f 'nin kütle spektrumu	96
Şekil 3.24. Bileşik 1f 'nin IR spektrumu	96
Şekil 3.25. Bileşik 1g 'nin ^1H -NMR spektrumu	98
Şekil 3.26. Bileşik 1g 'nin kütle spektrumu	98
Şekil 3.27. Bileşik 1g 'nin IR spektrumu	99
Şekil 3.28. Bileşik 1h 'nin ^1H -NMR spektrumu	100
Şekil 3.29. Bileşik 1h 'nin kütle spektrumu	101
Şekil 3.30. Bileşik 1h 'nin IR spektrumu	101
Şekil 3.31. Bileşik 1i 'nin ^1H -NMR spektrumu	103
Şekil 3.32. Bileşik 1i 'nin ^{13}C -NMR spektrum	103
Şekil 3.33. Bileşik 1i 'nin kütle spektrumu	104
Şekil 3.34. Bileşik 1i 'nin IR spektrumu	104
Şekil 3.35. Bileşik 1j 'nin ^1H -NMR spektrumu	106
Şekil 3.36. Bileşik 1j 'nin ^{13}C -NMR spektrumu	106
Şekil 3.37. Bileşik 1j 'nin kütle spektrumu	107
Şekil 3.38. Bileşik 1j 'nin IR spektrumu	107
Şekil 3.39. Bileşik 1k 'nin ^1H -NMR spektrumu	109

Şekil 3.40. Bileşik 1k 'nin ^{13}C -NMR spektrumu	109
Şekil 3.41. Bileşik 1k 'nin kütle spektrumu	110
Şekil 3.42. Bileşik 1k 'nin IR spektrumu	110
Şekil 3.43. Bileşik 1l 'nin ^1H -NMR spektrumu	112
Şekil 3.44. Bileşik 1l 'nin ^{13}C -NMR spektrum	112
Şekil 3.45. Bileşik 1l 'nin kütle spektrumu	113
Şekil 3.46. Bileşik 1l 'nin IR spektrumu	113
Şekil 3.47. Bileşik 1m 'nin ^1H -NMR spektrumu	115
Şekil 3.48. Bileşik 1m 'nin ^{13}C -NMR spektrum	115
Şekil 3.49. Bileşik 1m 'nin kütle spektrumu	116
Şekil 3.50. Bileşik 1m 'nin IR spektrumu	116
Şekil 3.51. Bileşik 1n 'nin ^1H -NMR spektrumu	118
Şekil 3.52. Bileşik 1n 'nin ^{13}C -NMR spektrum	118
Şekil 3.53. Bileşik 1n 'nin kütle spektrumu	119
Şekil 3.54. Bileşik 1n 'nin IR spektrumu	119
Şekil 3.55. Bileşik 1o 'nin ^1H -NMR spektrumu	121
Şekil 3.56. Bileşik 1o 'nin ^{13}C -NMR spektrum	121
Şekil 3.57. Bileşik 1o 'nin kütle spektrumu	122
Şekil 3.58. Bileşik 1o 'nin IR spektrumu	122
Şekil 3.59. Bileşik 1p 'nin ^1H -NMR spektrumu	124
Şekil 3.60. Bileşik 1p 'nin ^{13}C -NMR spektrumu	124
Şekil 3.61. Bileşik 1p 'nin kütle spektrumu	125
Şekil 3.62. Bileşik 1p 'nin IR spektrumu	125
Şekil 3.63. Bileşik 1r 'nin ^1H -NMR spektrumu	127
Şekil 3.64. Bileşik 1r 'nin ^{13}C -NMR spektrum	127
Şekil 3.65. Bileşik 1r 'nin kütle spektrumu	128
Şekil 3.66. Bileşik 1r 'nin IR spektrumu	128
Şekil 3.67. Bileşik 1s 'nin ^1H -NMR spektrumu	130
Şekil 3.68. Bileşik 1s 'nin ^{13}C -NMR spektrum	130
Şekil 3.69. Bileşik 1s 'nin kütle spektrumu	131
Şekil 3.70. Bileşik 1s 'nin IR spektrumu	131
Şekil 3.71. Bileşik 1t 'nin ^1H -NMR spektrumu	133
Şekil 3.72. Bileşik 1t 'nin ^{13}C -NMR spektrum	133
Şekil 3.73. Bileşik 1t 'nin kütle spektrumu	134
Şekil 3.74. Bileşik 1t 'nin IR spektrumu	134
Şekil 3.75. Bileşik 1u 'nun ^1H -NMR spektrumu	136
Şekil 3.76. Bileşik 1u 'nun ^{13}C -NMR spektrumu	137
Şekil 3.77. Bileşik 1u 'nun kütle spektrumu	137
Şekil 3.78. Bileşik 1u 'nun IR spektrumu	138
Şekil 3.79. Bileşik 1v 'nin ^1H -NMR spektrumu	139
Şekil 3.80. Bileşik 1v 'nin ^{13}C -NMR spektrumu	140
Şekil 3.81. Bileşik 1v 'nin kütle spektrumu	140
Şekil 3.82. Bileşik 1v 'nin IR spektrumu	141
Şekil 3.83. Bileşik 1y 'nin ^1H -NMR spektrumu	143

Şekil 3.84. Bileşik 1y 'nin ^{13}C -NMR spektrumu	143
Şekil 3.85. Bileşik 1y 'nin kütle spektrumu	144
Şekil 3.86. Bileşik 1y 'nin IR spektrumu	144
Şekil 3.87. Bileşik 1d 'nin HPLC kromotogramı	146
Şekil 3.88. Bileşik 1j 'nin HPLC kromotogramı	147
Şekil 3.89. Bileşik 1r 'nin HPLC kromotogramı	148
Şekil 3.90. Sentez edilen maddelerin DPPH radikal süpürücü aktivite üzerinden hesaplanan IC_{50} değerleri grafiği	152

DENKLEMLER

Denklem 1.1. Fenton – Haber Weiss reaksiyonu	6
Denklem 1.2. Süperoksit ve H_2O_2 oluşumu	9
Denklem 1.3. Nitrik oksit oluşumu	15
Denklem 1.4. Melatonin biyosentezi	38
Denklem 1.5. Melatoninin serbest radikalleri yakalama mekanizması	43
Denklem 1.6. Fischer indol sentezi	65
Denklem 1.7. Leimrruber-Batcho indol sentezi	65
Denklem 1.8. 2-Etinilanilin siklizasyonu ile indol sentezi	66
Denklem 1.9. 2-Alkinilanilin türevlerinden hareketle indol sentezi	66
Denklem 1.10. 2-bromotrifloroasetanilid ile 1-alkinin CuI/L -proline varlığında indol sentezi	67
Denklem 1.11. 2-etinilanilin türevlerinin siklizasyonu ile indol sentezi	67
Denklem 1.12. Vilsmeier-Haack formilasyonu	68

1.GİRİŞ

Reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif azot türlerinin (RAT) hem yararlı hem de zararlı etkileri bulunmaktadır. ROT' ların yararlı etkileri düşük ve orta konsantrasyonda meydana gelmektedir. ROT'lar hücrel yaşlanma ve apoptosise neden olur, bu yüzden anti-tümörjenik tür gibi rol oynarlar (Valko ve ark., 2006) .

Son yıllarda yapılan araştırmalarda, reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif azot türlerinin (RAT) hayati önemi olan çok sayıda hastalığın oluşumunda rol oynadıkları belirlenmiştir (Turens, 2003; Siegel ve ark., 2009). ROT'ların hayvan ve bitki hücre ve dokularında sebep oldukları hasara oksidatif stres denmektedir. Vücuttaki ROT oluşumu ile bunları detoksifiye eden antioksidanlar denge halindedir. Bu dengenin ROT'ların lehine bozulmasıyla meydana gelen oksidatif stres çok sayıda hastalığa neden olabilmektedir (Gürkök ve ark., 2009; Uttara ve ark., 2009).

ROT ların organizmada oluşturabileceği başlıca zararlı etkiler aşağıdaki gibi sınıflanabilir.

1. DNA hasarları
2. Lipidlerde bulunan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu (lipid peroksidasyonu)
3. Proteinlerin yapısında bulunan aminoasitlerin oksidasyonu
4. Enzimlerin ko-faktörlerinin oksitlenme yoluyla inaktive edilmesi

Günümüzde yapılan araştırmalar Alzheimer (Guglielmotto ve ark., 2009), Parkinson (Kedar ve ark., 1999, Zhou ve ark., 2008), Huntington gibi nörodejeneratif hastalıklar başta olmak üzere, arteroskleroz (Szasz ve ark., 2007), diyabet (Yim ve ark., 2007), romatoid artrit (Remans ve ark., 2005; Surapaneni ve Venkataramana, 2007), yaşlanmaya bağlı bazı hastalıklar (Alexeyev, 2009),

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).

Hücreler normal şartlar altında kendilerini ROT' lara karşı organizmada bulunan süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimler aracılığı ile savunurlar. Askorbik asit (C vitamini), tokoferol (E vitamini), ürik asit ve glutatyon da hücrel antioksidan olarak önemli role sahiptir. Ancak sigara ve alkol kullanımı (Faux ve ark., 2009), radyasyon (Wan ve ark., 2006; Öztürk ve ark., 2005) ve çevresel kirliliklere (kimyasal atıklar vb) maruziyetin artmasıyla (Drew ve Leeuwenburgh, 2002; DeLuca ve ark., 2009) vücudun korunma sistemleri serbest radikallerin zararlı etkilerini yok etmede yetersiz kalmakta, organizmadaki antioksidan seviyesinde düşme meydana gelmekte ve bunun sonucu olarak da bir çok hastalık ortaya çıkabilmektedir.

1.1.Serbest Radikallerin Tanımı ve Kimyasal Özellikleri

Eşleşmemiş (tek) elektron içeren atom, molekül veya iyonlar serbest radikal olarak adlandırılır. Serbest radikaller sahip oldukları eşleşmemiş elektron nedeniyle kararsız(reaktif) halde bulunurlar; kararlı hale geçmek için çevrelerindeki bileşiklerden tek elektron koparırlar ve böylece oksidasyon reaksiyonunu başlatırlar.

Organizmada oksidanlarla antioksidanlar arasında oluşan dengesizliğin oksidanlardan yana ağır basmasıyla lipid, protein, DNA gibi önemli yapı taşlarında hasarlar ve buna bağlı hastalıklar oluşabilmektedir (Mergener ve ark., 2009).

Radikaller organizmada gerçekleşen metabolik olaylarda, kimyasal etkileşimlerde (polimer oluşumu vb), fagositik hücreler aracılığı ile bakterilerin yok edilmesinde, hücre sinyallerinin iletilmesi (Pacher ve ark., 2007) gibi yaşamsal olaylarda önemli rol oynayan parçacıklardır. Örneğin süperoksit ve nitrik oksit

radikalleri damar fonksiyonlarımızı ilgilendiren biyolojik etkileşimlerde görev alırlar (Napoli ve Ignarro, 2009).

1.1.1.Radikallerin Oluşum Mekanizmaları

Serbest radikallere maruziyet ve serbest radikal üretimi sürekli ve kaçınılmazdır. Çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle sürekli olarak serbest radikallere maruz kalırız. Hücresel fonksiyonların gerçekleşmesi sırasında da ciddi miktarda ve çeşitlilikte radikal üretilmektedir.

Serbest radikaller; kovalan bağların homolitik kırılması,molekülün elektron kaybetmesi, moleküle elektron transferi olmak üzere üç temel mekanizma ile oluşur.

1.1.1.1.Kovalan Bağların Homolitik Kırılması

Kovalan bir bağ, bağı oluşturan atomların birer elektron alacağı şekilde kırılırsa buna homolitik kırılma denir. Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar, güneş ışığına maruziyet, peroksitler ve yüksek sıcaklık kovalan bağların kırılmasına neden olur. Homolitik bağ kırılmaları genellikle benzer elektronegatiflik taşıyan atomlar arasında gerçekleşir. En sık rastlananları O-O ve O-N arasında görülen homolitik yarılmadır.

1.1.1.2. Molekülün Elektron Kaybetmesi

Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında dış orbitalinde eşleşmemiş tek elektron kalıyorsa radikal formu oluşur. Örneğin askorbik asit,

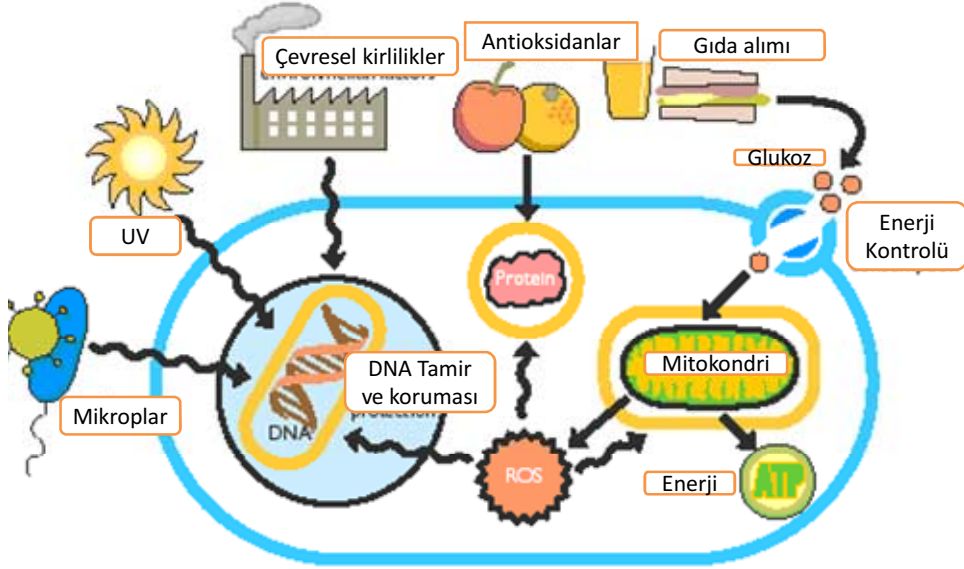
glutasyon ve tokoferoller gibi hücresele antioksidanlar, radikal türlere tek elektron vererek radikalleri indirgerken, kendilerinin radikal formu oluşur.

1.1.1.3. Moleküle Elektron Transferi

Radikal özelliğı taşımayan bir moleküle tek elektron transferi sonucu, dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa bu tür indirgenme, radikal oluşumuna neden olabilir. Örneğın moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan süperoksidin oluşumuna neden olur. Süperoksit radikalının yapımındaki artış da, oksijenin diğere radikal türlerinin oluşumunu tetikler.

Vücudumuzda meydana gelen birçok 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. Serbest Radikal Oluşumunda Etkin Olan Dış ve İç Kaynaklar



Şekil 1.1. Serbest radikal oluşum kaynakları ve antioksidanlarla ilişkisi ¹

Dış kaynaklar: Başlıca çevresel kirlilikler, radyasyon, sigara, ultraviyole ışığına maruziyet, pestisitler, anestezik ilaçlar, endüstriyel solvanlar, ozon ve hipoksiya sayılabilir.

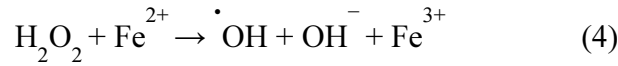
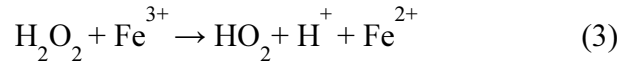
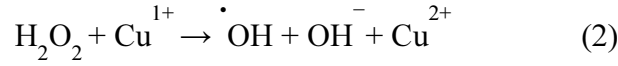
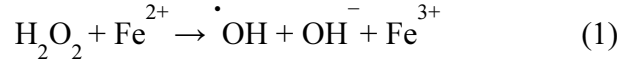
İç kaynaklar : Başlıca iç kaynaklar olarak ise hücrelerdeki mitokondri faaliyetleri, fagositler, ksantin oksidaz, demir vb gibi geçiş metallerini içeren kimyasal olaylar, ağrı oluşumunda rol alan araşidonat yolağı, peroksizomlar, egzersiz, iltahap oluşumu ve iskemik reperfüzyon olarak verilebilir (Mısra ve ark., 2009; Handerson ve ark., 2009). Geçiş metallerinden demirin yer aldığı Fenton–Haber Weiss reaksiyonu sonucunda oluşan $\cdot\text{OH}$ radikali organizma için zararlı etkileri olan önemli bir radikaldir.

¹ www.heattreat.ca/Degenerative-Disease

Fenton – Haber Weiss reaksiyonu, canlı hücrelerde cereyan eden ve hidrojen peroksit ile süperoksit anyonundan hidroksil radikalini oluşturan bir reaksiyondur. Dolayısıyla da oksidatif strese neden olan önemli kaynaklardan biridir.

Süperoksit radikali, hücre içi demir depolarından demiri serbest hale getirir. +3 değerli demir süperoksit tarafından +2 değerlikli demire dönüşür. Serbest hale geçen demir iyonu Haber-Weiss reaksiyonu gibi demir bağımlı olan radikal üreten reaksiyonlarda kullanılabilir. $O_2^{\bullet -}$ ve H_2O_2 , Fe ve Cu gibi geçiş metallerinin varlığında, güçlü bir reaktif olan $\bullet OH$ üretimine katkıda bulunur.

Aşağıda verilen denklemde (**Denklem 1.1.**); 1 ve 2 numaralı reaksiyonlar demir/bakır katalizli Haber-Weiss reaksiyonları, 3 ve 4 numaralı reaksiyonlar ise Fenton reaksiyonları olarak adlandırılmaktadır.



Denklem 1.1. Fenton – Haber Weiss reaksiyonu

Nükleusta $\bullet OH$ radikali Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları ile oluşur. $\bullet OH$ radikalinin DNA'ya hasar verebilmesi için DNA'da veya çok yakınında oluşması gerekmektedir. Bilindiği gibi, $\bullet OH$ çok reaktif olduğundan hücre içinde oluştuğu yerden diffüze olarak nükleusa geçmesi olası değildir. Ancak membranı kolayca geçebilen H_2O_2 'nin nükleusta Fe-Cu iyonları ile reaksiyona girerek hidroksil

radikallerini oluşturabilir. DNA çok sayıda negatif yüklü fosfat grupları içerdiğinden, çeşitli katyonları bağlama yeteneğine sahip büyük bir anyon durumundadır. $\text{Fe}^{+2/+3}$ ve $\text{Cu}^{+1/+2}$ iyonları ya negatif yüklü DNA'ya sürekli bağlı bulunurlar ya da oksidatif stres altında intraselüler demir ve bakır taşıyan proteinlerden ayrılarak DNA'ya bağlanırlar. Bu bağlanma ile DNA'yı H_2O_2 in hedefi haline getirirler. Hidrojen peroksit bir radikal değildir. Ancak aktivitesi ve etkileri bakımından radikallere benzer ve hidroksil radikali üretiminden büyük ölçüde sorumludur (Sharpe ve ark. 2003).

1.1.3. Biyolojik Sistemde Önemli Radikal Türleri

Serbest radikaller paralel spinlerde bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron içerir yani atomik orbitalde tek bir elektron bulunur. Bir ya da birden çok çiftlenmemiş elektronun bulunması o maddenin manyetik bir alana çekilmesine yol açar. Radikal oluştuktan sonra tek elektronunu bir başka moleküle verebilir ya da bir başka molekülden elektron alıp çift hale gelebilir ya da radikal olmayan bir yapıya eklenebilir. Her durumda radikal olmayan yapı radikal hale gelir. Eşleşmemiş elektronlar, atom ya da molekülü daha reaktif yaparak bunların kimyasal aktivitesini değiştirir. Eşleşmemiş bu elektron herhangi bir atom ile kolaylıkla birleşebilir.

Serbest radikaller yaşam için gereklidir. Elektron transferi enerji üretimi ve pek çok diğer metabolik işlevde temel oluşturur. Ama eğer zincir reaksiyonu kontrolsüz bir davranış gösterirse hücrelere ve hatta bunların DNA'sına bile zarar veren, kimyasal zincir reaksiyonlarını başlatabilir ve kanser oluşturacak bir dizi olay meydana gelebilir. Biyolojik sistemde, reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif azot türleri (RAT), olarak bilinen, radikaller ve non-radikaller şekilde bulunabilen iki grup mevcuttur.

1.1.4. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

Reaktif Oksijen Türleri (ROT); oksijen taşıyan reaktif parçacıklardır ve organizmada birçok fizyolojik olayda rol oynarlar. Ancak bu parçacıkların çoğu radikal halde olduğu için, gereğinden fazla bulunması, DNA başta olmak üzere organizma için önemli birçok biyomoleküle hasar vererek yıkımına yol açar. Aşağıdaki verilen **Çizelge 1.1.** de önemli reaktif oksijen türleri verilmiştir.

Çizelge 1.1. Önemli Reaktif Oksijen Türleri

Reaktif Oksijen Türleri (ROT)	
Radikaler	Non-Radikaler
Hidroksil ($\text{OH}^\bullet$)	Peroksinitrit (ONOO^-)
Süperoksit ($\text{O}_2^{\bullet -}$)	Hipokloröz Asit (HOCl)
Nitrik oksit ($\text{NO}^\bullet$)	Hidrojen Peroksit (H_2O_2)
Peroksil ($\text{RO}_2^\bullet$)	Singlet Oksijen (O_2)
LipidPeroksil ($\text{LOO}^\bullet$)	Ozon (O_3)
Alkoksil ($\text{RO}^\bullet$)	Lipid Peroksit (LOOH)
Hidroperoksil ($\text{OOH}^\bullet$)	

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 birçok hastalığa sebebiyet verebilir.

Çizelge 1.2. ROT oluşturan başlıca iç ve dış etkenler

ROT oluşturan başlıca İç etkenler	ROT oluşturan başlıca Dış etkenler
Mitakondri	Radyasyon
Sitokrom P450	Ozon
Peroksizom	Hiperoksiya
İnflamatuvar hücreler	Ksenobiyotikler

$O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , $\cdot OH$ ve singlet oksijen (1O_2) önemli reaktif oksijen türleridir. Genellikle hücrelerde kullanılan oksijenin % 95'i mitokondrilerde kademeli olarak dört elektron eklenmesiyle suya indirgenir. Normal şartlarda bu mitokondriyal olay esnasında oksijenin % 1-2'si de süperoksit radikaline dönüştürülür. Süperoksit anyonuna ikinci bir elektron eklenirse aslında bir radikal olmayan hidrojen peroksit H_2O_2 'e indirgenir. H_2O_2 'e üçüncü bir elektron eklenirse ($\cdot OH$) oluşur Aşağıda verilen **Denklem 1.2** de bu reaksiyon görülmektedir.



Denklem 1.2. Süperoksit ve H_2O_2 oluşumu

Oksijen dört elektron alarak tümüyle indirgendiğinde su oluşur. Eğer ard arda elektron indirgenmesine uğrarsa biyolojik sistemlere zarar veren reaktif türevler oluşur (Halliwell and Gutteridge 2005).

1.1.4.1.Süperoksit Anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Canlılarda oluştuğu belirlenen ilk radikal süperoksit anyon radikalidir (Cathcart, 2004). Süperoksit radikalleri hücrede oksidasyon reaksiyonu sırasında ya da oksidazlar gibi bazı enzimlerin aktivitesi sonucu oluşurlar. 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, birçok 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 bulundukları ortama verirler. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatır. Yani radikal yapımı bazı hücresel fonksiyonlar için gerekli de olabilir.

Süperoksit radikalleri, 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.

Süperoksit radikalleri süperoksit dismutaz adı verilen bir enzimle inaktive edilirler. Katalitik aktivitesi çok yüksek bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) enzimi aerobik canlılarda süperoksitlerin hidrojen peroksite çevrilmesini katalizler. 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.

Süperoksit anyonu büyük ölçüde, NADPH oksidaz enzim aracılığı ile fagositoz hücrelerde patojenik mikroorganizmaları yok etmek için üretilir.

1.1.4.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit 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 hasara yol açar. Hidrojen peroksit hücresel 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 mitokondriyal DNA, membran lipidleri ve karbonhidratlara da zarar verir.

Hidrojen peroksidin oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin nedeni, demir, bakır gibi metal iyonlarının varlığında hidroksil radikalının 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 peroksitin derhal ortamdaki uzaklaştırılması gerekir. Bu görevi hücrelerdeki önemli antioksidan enzimler olan katalaz ve peroksidaz enzimleri yerine getirir.

1.1.4.3. Hidroksil Radikali (OH[•])

Biyolojik ve kimyasal sistemlerde üretilen hidroksil radikali (OH[•]) canlılarda iyonlaştırıcı radyasyonun etkisi ile sulu ortamda su moleküllerinin iyonlaşması ile meydana gelir. Bu tepkimeler çok kısa sürede gerçekleşir ve üretilen OH[•], radyasyonun canlılardaki toksik etkisinden sorumlu başlıca kimyasal türdür (Bisby ve ark., 2009; Davis ve ark., 2009).

Hidroksil radikalının bir diğer oluşum şekli ise hidrojen peroksitin eksik indirgenmesi ile oluşur. Hidrojen peroksitin iki elektron ile indirgenmesi sonucu su oluşurken, tek elektron ile indirgenmesi OH[•] yapımına neden olur. Bu tür indirgenme Fe, Cu gibi metal iyonları tarafından katalizlenir. Askorbik asit, süperoksit gibi indirgeyici bileşiklerin de bulunduğu ortamda oksitlenen metal iyonu, tekrar indirgendiğinden hidrojen peroksitten, OH[•] yapımı sürekli bir duruma gelir. Haber-Weiss tepkimesi ya da Fenton tepkimesi (Huong ve ark., 2007) olarak adlandırılan bu tepkime ile OH[•], vücutta üretilen H₂O₂ derişimi ve serbest metal iyonunun varlığına bağlı olarak oluşur. Süperoksit hem H₂O₂'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 bileşikler ilkin hedeflerdir. Bu bileşikler başlıca nükleik asitler, proteinler ve lipidlerdir.

1.1.5. Reaktif Azot Türleri (RAT)

Reaktif azot türleri, radikaller ve non-radikaller olarak iki grup altında aşağıdaki **Çizelge 1.3.**'de görülmektedir.

Çizelge 1.3. Başlıca Reaktif Azot Türleri

Reaktif Azot Türleri (RAT)	
Non-Radikaler	Radikaler
Peroksinitrit, OONO^-	Nitröz oksit, $\text{NO}^\bullet$
Peroksinitröz Asit, ONOOH	Azot Dioksit, $\text{NO}_2^\bullet$
Nitroksil, NO^-	Peroksinitrit, $\text{ONOO}^\bullet$
Nitril Klorür, NO_2Cl	
Nitrotil Katyonu, NO^+	
Dinitrojen trioksit, N_2O_3	
Nitröz Asit, HNO_2	

1.1.5.1. Nitrik oksit radikali ($\text{NO}^\bullet$)

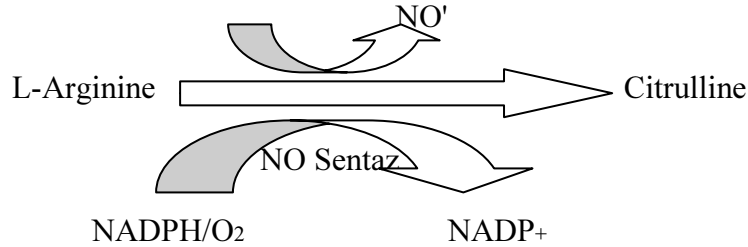
Nitrik oksit, hem fizyolojik hem patofizyolojik süreçlerde önemli role sahip bir serbest radikaldir.

Paylaşılmamış elektron aslında nitrojen atomuna ait ise de, bu elektronun hem nitrojen hem de oksijen atomu üzerinde delokalize olması nedeniyle tam radikal özelliği taşımaz. Bunun sonucu, bilinen diğer radikallere göre reaktivitesi baskılandığından oldukça uzun ömürlüdür.

Vücudumuzda $\text{NO}^\bullet$ sentezini sağlayan mekanizmalar çok fazla değildir. Organizmaya alınan nitro bileşiklerinin metabolizma ürünü olarak oluşumunun

yanısıra, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi NO oluşturan başlıca kaynaktır (Poyton ve ark., 2009; Suga ve ark., 2009).

NO sentezi bazı hücrelerde bir reseptöre bir stimülatörün bağlanmasına veya nöronlarda bir sinir uyarısına yanıt olarak meydana gelir. Nitrik oksit (NO) muskarinik veya histamin reseptörleri gibi çeşitli reseptörlerin aktivasyonu sonucu L-arjinin ve oksijenden, **nitrik oksit sentaz** etkisiyle sentezlenir.



Denklem 1.3. Nitrik oksit oluşumu

Nitrik oksit, Fe-S proteinlerinden demiri çıkararak yerine kendisi bağlanır, böylece Fenton reaksiyonunu stimüle eder ve bu mekanizma ile karsinogeneziye rol oynar.

Radikal olarak reaktivitesi çok yüksek olmayan NO[•], metal içeren merkezler ve radikaller ile büyük bir hızla tepkimeye girer. Oksijen radikallerindeki durumun aksine, nitrik oksidi ortamdaki temizleyen herhangi bir özel enzim yoktur. Aerobik ortamda ise stabil değildir.

1.1.5.2. Peroksinitritin oluşumu

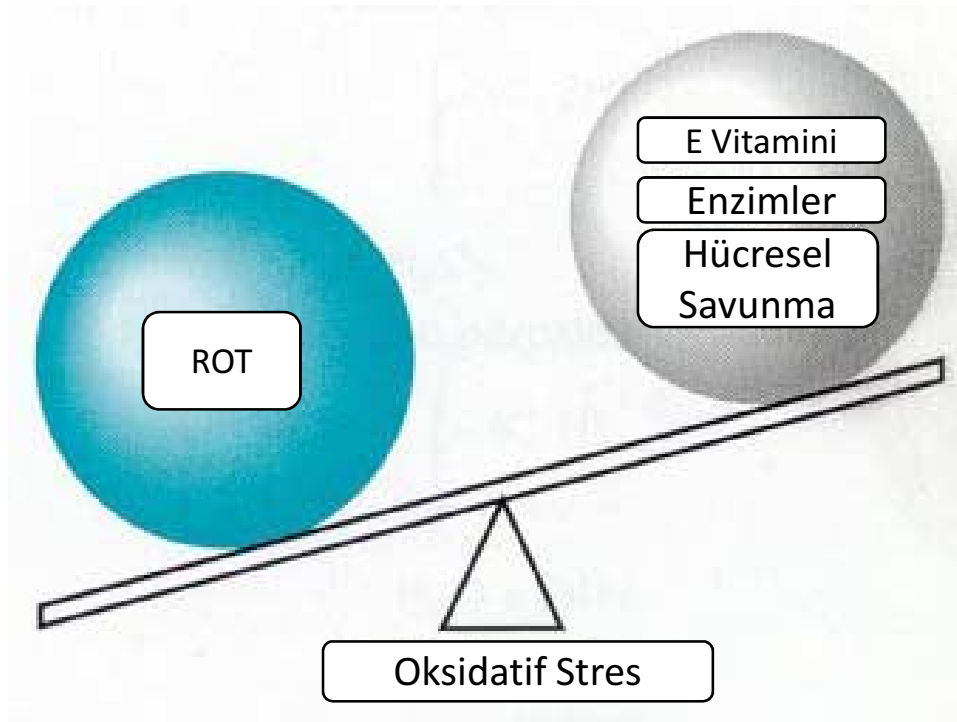
Süperoksit radikalının beyindeki nöronal ve endotelial nitrik oksit sentaz (NOS) aracılığı ile sürekli oluşan nitrik oksit ile girdiği reaksiyon sonucu peroksinitrit oluşur (Beckman ve ark., 1990; Huie ve Padmaja, 1993; Chan, 1996). Fizyolojik pH da ONOO^- derhal $\cdot\text{OH}$ ve azot dioksit ($\text{NO}_2\cdot$) parçalanır. Böylece nitrik oksitin fizyolojik etkisi inhibe edilir, oksidatif etkisi ortaya çıkar.

Peroksinitrit, nitrik oksit toksisitesinin başlıca sorumlusudur. Peroksinitritin proteinlere doğrudan zararlı etkileri vardır ve azot dioksit ($\text{NO}_2\cdot$), hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$), nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi toksik ürünlere dönüşür.

Çok güçlü bir prooksidan olan ONOO^- , 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). ONOO^- in iskemik beyin hasarındaki rolü son yıllarda araştırılmaya başlanmıştır. Diğer yandan, $\text{NO}\cdot$ in hem serebral vazodilatör rolü, hem de nöronal hasar yapıcı serbest radikal özelliği nedeniyle, iskemik nöron hasarındaki yeri konusunda çelişkili görüşler bulunmaktadır (Tominaga ve ark., 1993). $\text{NO}\cdot$ in nöronal koruyucu şeklinde mi yoksa N-metil-D-aspartat reseptör aktivasyonu ardından hasar verici mediatör olarak mı rol oynayacağının radikalın redoks durumu tarafından belirleneceği öne sürülmektedir. Nitrik oksit ve yan ürünleri nitrit, nitrat, peroksinitrit ve 3-nitrotirosin yapılarının vazodilatasyon, immün cevap geliştirme ve hücrel iletişimde rolü olduğu bulunmuştur (Drew ve Leeuwenburgh, 2002). Hücrelerde nitrik oksit sentaz enzimleri ile nitrik oksit oluşur. Oluşan nitrik oksit diğer formlarına dönüşebilir. Bu formlar da hücrede oksidatif hasarlara yol açabilirler.

1.1.6. Oksidatif Hasar

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içindedir ve bu duruma oksidatif denge denir. Oksidatif dengenin prooksidanlar lehine kayması sonucu oksidatif hasar meydana gelir. (Velkova ve ark, 2009).



Şekil 1.2. Oksidatif stres

Oksidatif stres, çeşitli mekanizmalar ile biyomoleküllerde hasara neden olur. Oksidatif stres radikaller reaksiyonlar ile meydana gelir. Bu reaksiyonlar zincir reaksiyonlar olup, genel olarak üç basamakta gerçekleşir. Başlama basamağı, radikalin oluşumunu kapsar. İlerleme basamağı ara ürün olan serbest radikaller

üzerinden yürür. İlerleme reaksiyonları, ya sonsuza kadar devam eder ya da radikal yakalayıcı maddeler yardımı ile sonlanır. Eğer, serbest radikaller, radikal yakalayıcı maddeler ile yakalanmazlar ise, sitotoksiste ortaya çıkar. Aşağıda **Çizelge 1.4** de serbest radikallerin etkilediği moleküller ve sonuçları verilmiştir.

Çizelge 1.4. Serbest radikallerin etkilediği moleküller ve sonuçları

Etkilenen bileşik	Sonuçlar
Amino asitler ve kükürt içeren Amino asitler	Protein denaturasyonu Çarpaz bağlanma Enzim inhibisyonu Organ ve Hücre geçirgenliğinde değişimler
Nükleik asit bazları	Hücre gelişiminde değişim Mutasyon
Karbonhidratlar	Hücre yüzey reseptörlerinde değişim
Doymamış lipidler	Kolesterol ve yağ asitlerinin oksidasyonu
Kofaktörler	Nikotinamid ve flavin içeren kofaktörlerin aktifliğinde azalma Askorbat ve porfirin oksidasyonu
Antioksidanlar	Alfa-tokoferol ve Beta-karoten gibi antioksidanların aktifliğinin azalması
Proteinler	Denaturasyon Peptit zincirinde kırılmalar
DNA	Baz modifikasyonları Zincirde kırılmalar
Hyaluronik asit	Synovial sıvının viskozitesinde değişim

ROT, RAT ve özellikle $\cdot\text{OH}$ radikali lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitler gibi tüm hücrel moleküllerle reaksiyona girerler (Halliwell and

Gutteridge 2005). Oksidatif hasar, genellikle ROT'lerin lipidler, proteinler ve DNA ile reaksiyona girmeleri sonucu oluşmaktadır. Bunların en önemlileri;

Lipitlerde Oksidatif Hasar

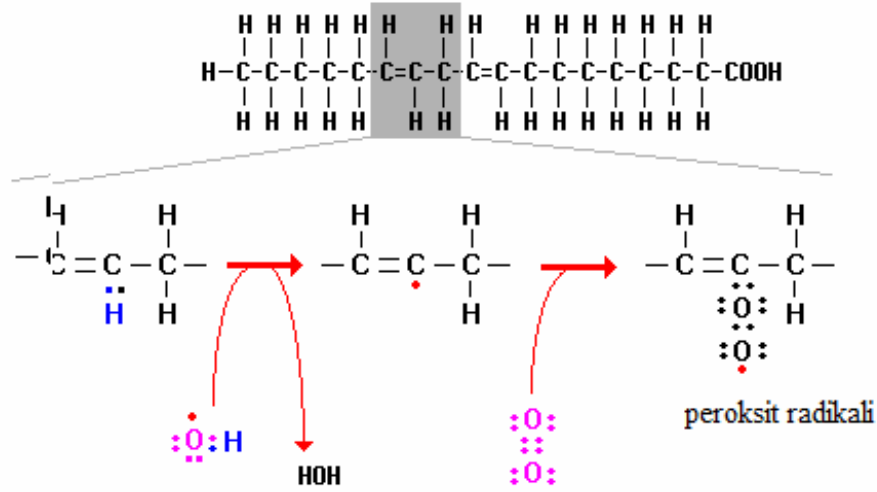
Proteinlerde Oksidatif Hasar

DNA da Oksidatif Hasardır.

1.1.6.1. Lipitlerde oksidatif hasar

Lipitler, serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar.

Lipit peroksidasyonunun ilerlemesi ile başta membran akışkanlığı olmak üzere, taşıyıcı ve reseptör fonksiyonlu membran proteinlerinin aktiviteleri azalır. Membran potansiyeli değişime uğrar ve sonuçta membranların yapısal bütünlükleri bozulur (**Şekil 1.3**).



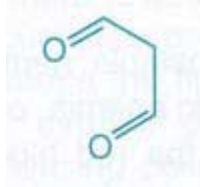
Şekil 1.3. Lipid Peroksidasyonu²

Lipitler, membranın integral ve periferik proteinlerine ve DNA'ya çok yakın mesafede olduğundan, lipit radikalleri hücrenin kritik önem taşıyan moleküllerine OH radikalinden daha etkin olarak hasar verebilirler (Halliwell and Gutteridge 1984).

Lipit peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde devam eder ve oldukça zararlıdır. Reaktif oksijen türleri (ROT) hücre membranlarında lipit serbest radikalleri (L•) ve lipit peroksi radikallerinin (LOO•) oluşmasını sağlar. Hücre membranlarında lipit peroksidasyonuna uğrayan başlıca yağ asitleri poliansatüre yağ asitleridir. Lipit peroksidasyonu genellikle yağ asitlerindeki konjuge çift bağlardan bir elektron içeren hidrojen atomlarının çıkarılması ve bunun sonucunda yağ asidi zincirinin bir lipit radikali niteliği kazanmasıyla başlar. Lipit radikali (L•) dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Lipit radikallerinin (L•) moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipit peroksit radikalleri (LOO•) oluşur. Lipit peroksit radikalleri (LOO•), membran

² <http://www.vivo.colostate.edu>

yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid peroksitlerine (LOOH) dönüşürler. Lipid peroksitleri (LOOH) yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler yada başlangıçtaki etki yörelerinden difüze olup hasarı hücrenin diğer bölümlerine yayarlar. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehit (MDA) oluşur. Malondialdehit idrarda ve kanda ortaya çıkar. Bu nedenle, biyolojik materyalde malondialdehit (MDA) ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin indikatörü olarak kullanılır.



Şekil 1.4. Malondialdehit

1.1.6.2. Proteinlerde oksidatif hasar

Proteinler, serbest radikallerin etkilerine lipitlere göre daha dayanıklıdırlar. Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme derecesi aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Kükürt içeren ve doymamış bağ içeren aminoasitlere (triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein) sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucu özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur. Aktifliği bu amino asitlere bağlı olan çeşitli enzimler radikallere maruz kalındığında inhibe olurlar. Oksidatif hasarlı olan reseptör, enzim ve transport proteinlerinin fonksiyonlarında bozulma olabilir, immün sistemi uyaran yeni antijenik yapılar oluşabilir.

1.1.6.3. DNA’da Oksidatif Hasar ve Klinik Önemi

DNA hasarına neden olan sayısız farklı etken vardır. Hasar kaynakları dış veya iç kaynaklı olabilir. Dış kaynaklar olarak ultraviole radyasyon, iyonize radyasyon, sigara içimi ve birçok kemoterapötikler sayılabilir (Debeleç-Bütüner ve Kantarcı, 2006).

Her türlü radyasyon (UV,görünür ışık, ısı ve X ışınları vb) hücrelerde iyonların, serbest radikallerin ve enerji kazanmış moleküllerin oluşmasına neden olur.

Hidroksil radikalleri, DNA daki heterosiklik bazlarla ve deoksiriboz-fosfatlarla reaksiyon verirler. Reaksiyon sonucu, DNA bazlarını modifiye eder ve riboz-fosfat zincirinin kırılmasına yol açar. İnvitro olarak sulu çözeltilerde yapılan çalışmalarda, hidroksil radikalının, deoksiriboz ve tetrasiklik bazlarla kolaylıkla reaksiyon verdiği gözlenmiştir. Fakat çift zincirli DNA molekülünde, heterosiklik bazlar hidroksil radikale karşı sterik olarak çok iyi korunmuşlardır. Ayrıca enzimatik antioksidanlar da, hidroksil radikalının konsantrasyonunu düşürerek DNA yı korurlar.

Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek hücre çekirdeğine ulaşır DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne neden olabilir.

Süperoksit maruz kalan DNA molekülleri hayvanlara enjekte edildiğinde daha fazla antijenik özellik gösterir. Bu oldukça önemli bir etkidir, çünkü otoimmün bir hastalık olan sistemik lupus eritematozus (SLE) ve romatoid artrit (RA) dolaşımda anti-DNA antikorlar bulunur.

Gamma ışınları ve X ışınları, biyolojik moleküllerle reaksiyona girdiklerinde reaktif iyonlar oluştururlar. DNA da ise baz hasarına ve kaybına, tek veya çift zincir kırıklarına neden olurlar. Özellikle, DNA tarafından kuvvetlice absorblanan UV ışınları pirimidin dimerleri oluştururlar, bu dimerler replikasyonu bloke ederler. Mitokondriyal solunum sonucu oluşan serbest radikaller DNA da tek zincir kırıklarına ve 8-oksoguanin ve timin glikol gibi hasarlı bazların oluşmasına sebep olur (Croteau ve Bohr, 1997). DNA onarımındaki bozukluklar, meme, kolon ve cilt kanseri gibi birçok kanser türüne neden olduğu gibi, ayrıca, büyüme ve beyin anomalilerine de sebep olur.

1.1.7. Oksidatif Stres ve 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-oksidadz gibi enzimatik sistemler üzerinden moleküler oksijenden üretilir. 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 miyeloperoksidadzın hidrojen peroksitten hipokloröz asit üretmesi sonucunda hidrojen peroksitin oldukça kuvvetli hidroksil radikaline 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 hücresel hasarlara yol açar.

Oksidatif stres sonucunda görülebilen rahatsızlıklar genel olarak üç grup altında toplanabilir:

1. Genetik hastalıkların oluşumu
2. Çevresel etkenlerle oluşabilen hastalıklar (meslek hastalıkları, zehirlenmeler, virüs ve bakteri enfeksiyonları)
3. Hem genetik hem de çevresel (bronşial astım, diabetes mellitus, kanser, kardiovasküler hastalıklar ve diğerleri)

Oksidatif stresin; birçok 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 **Çizelge 1.5** de, serbest radikallerin bazı hastalıkların oluşumundaki rolü de **Çizelge 1.6** de görülmektedir.

Çizelge 1.5. Bazı Kanser Tiplerinde Önemli Rol Oynayan ROT

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 hücrel karsinoma

Çizelge 1.6. Serbest radikal hasarlarının etkili olduğu hastalıklar

HASTALIK	SERBEST RADİKALLERİN PATO FİZYOLOJİK ROLÜ
Arterosikleroz (Szasz ve ark., 2007)	Endotelyal disfonksiyon, makrofajların aktivasyonu
Miyokardiyal Enfaktüs (Weinbrenner ve ark., 2003)	İskemik reperfüzyon hasarı sonucunda miyosit nekroz ve/veya apoptosis
Hiper Tansiyon (Anees ve ark., 2007)	Vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonu, NADP/NADPH oksidaz üzerinden oksidan üretimi
Diyabet (Yim ve ark., 2007)	ROT'nin oluşumunu hızlandırdığı, süperoksidin neden olduğu endotelyal disfonksiyon
Yaşlanma (Miquel, 2002; Alexeyev ve ark., 2009)	Hücre hasarları ve metabolik abnormaliteler
Kanser tipleri (Poeggeler ve ark., 1999; Valko ve ark. 2006)	Gen mutasyonu ve hücresel faaliyetlerin ileri derecede bozulması
Parkinson (Kedar ve ark., 1999; Zhou ve ark., 2008)	Mitokondriyal disfonksiyon
Alzheimer (Varadarajan ve ark., 2000; Guglielmotto ve ark., 2009)	Beyinde amiloid peptid ürünleri oluşumu
Huntington (Schapira, 1999; Dang ve ark., 2009)	Mitokondrial 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 Gavalas, 2006; Surapaneni ve Venkataramana, 2007)	Enflamasyon ve endotelyal disfonksiyon

1.2. Antioksidan Maddeler

Canlılarda, yaşam için gerekli biyolojik ve kimyasal aktivitelerin gerçekleşmesi sırasında (özellikle oksidasyon) serbest radikaller oluşur. Serbest radikaller oldukça aktif bileşiklerdir, farklı moleküllerle kolayca reaksiyona girer ve bulundukları hücreye zarar verebilirler. Antioksidan savunma sistemi bu sırada devreye girer ve antioksidanlar serbest radikallerle reaksiyona girerek serbest radikallerin hücreye zarar vermelerini önlerler.

İnsan antioksidan savunma sistemi; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GP) 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 hücresel 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.

1.2.1. Antioksidan Maddelerin Biyolojik Önemi

Antioksidan maddeler, 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).

Oksidatif hasarlar vücudumuzdaki antioksidanların oksidanlarla dengesizliğine ya da yetersizliğine bağlı olduğu gibi atmosferimizde bulunan oksijen seviyesiyle de alakalıdır (Benzie, 2003). Vücudumuz gerekli antioksidan maddeleri kendisi sentezlediği gibi dışarıdan beslenme yoluyla da alabilir. Burada önemli olan oksidan/antioksidan seviyesinin vücudun yaşamsal fonksiyonlarını düzgün bir şekilde yerine getirecek oranda olmasıdır.

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 yanısıra metabolizmaya dışardan alınan doğal desteklerin bazı durumlarda 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).

Alzheimer ve parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkların oluşumunda serbest radikallerin önemli rolü olduğu bilinmektedir (Guglielmotto ve ark., 2009; Zhou ve ark., 2008). Dolayısıyla bu hastalıkların önlenmesi için kan-beyin bariyerlerini kolay aşabilen, etkisi yüksek ve hastalıklara spesifik, yan etkisi az antioksidan maddelerin gerekliliği bir kez daha ortaya çıkmaktadır.

Vücudumuzdaki oksidan-antioksidan dengesi oksidanlar lehine bozulması durumunda, oksidatif stres artar. Protein, karbonhidrat, DNA, nükleik asit, doymamış lipidler gibi pek çok yapının oksidanlarla reaksiyona girmesi sonucu yapısı bozulur ve hücre gelişiminde değişme, mutasyonlar, antioksidanların aktifliğinin azalması, protein denaturasyonu, hücre geçirgenliğinde değişimler gibi

pek çok bozukluk meydana gelebilir. Antioksidanların varlığı bu bozuklukların meydana gelmesini önleyerek pek çok hastalığın oluşumunu önler. Ayrıca, tüm sistemlerimizin düzenli bir şekilde çalışmasını sağlar.

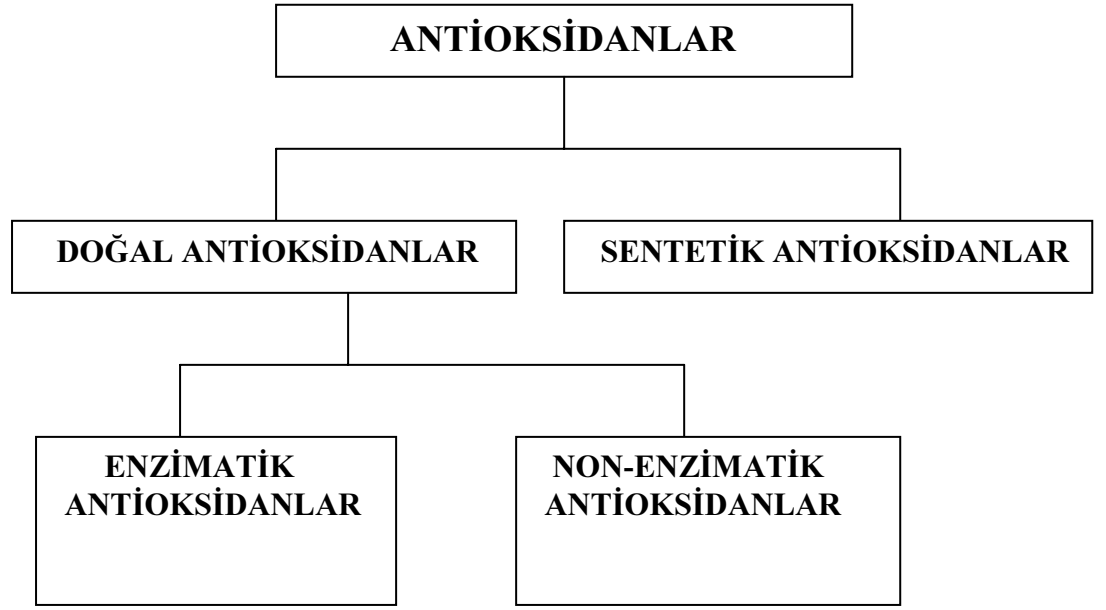


Şekil 1.5. Antioksidanların organizmaya faydaları³

1.2.2. Antioksidan Maddelerin Sınıflandırılması

Antioksidanlar, doğal ve sentetik antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılırlar. Doğal antioksidanlar ise temel olarak enzimatik antioksidanlar ve non-enzimatik antioksidanlar olarak iki ana grupta toplanmaktadırlar. (Şekil 1.6)

³ bnsopp.blogspot.com/



Şekil 1.6. Antioksidan maddelerin gruplandırılması

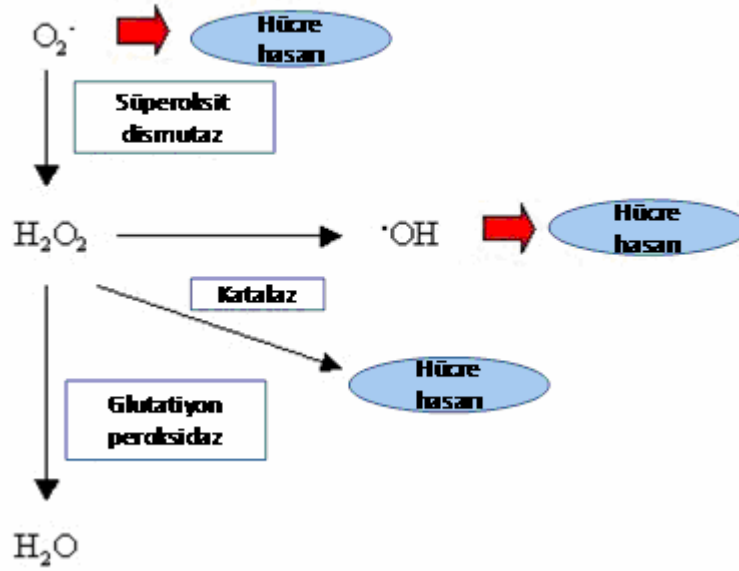
1.2.2.1. Doğal Antioksidan Maddeler

Doğal antioksidanlar; temel olarak enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar olmak üzere iki grupta toplanırlar. Enzimatik antioksidanlar organizma tarafından üretilirken non-enzimatikler gıdalar aracılığıyla beslenme yoluyla vücuda 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.

A. Enzimatik Antioksidan Maddeler

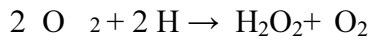
Enzimatik antioksidan maddeler; başlıca süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) enzimlerini içerir. SOD ve CAT gibi antioksidan enzimler vücutta tükenmezler ve ROT ile reaksiyona girecek yüksek ilgiye

sahiplerdir (Christofidou ve ark., 2006) ve doğada da bilinen en etkili antioksidan maddelerin başında gelmektedirler. Aşağıda Şekil 1.7. de Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz enzimlerinin aktivitesi gösterilmiştir.



Şekil 1.7. SOD, Katalaz ve Glutatyon peroksidaz aktivitesi ⁴

Süperoksit Dismutaz: SOD doğada yaygın olarak ökaryotik ve prokaryotik organizmalarda da bulunur. Süperoksit dismutaz; süperoksit radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Böylelikle oksijene maruz kalan tüm hücreler için antioksidan savunma sağlar.



Bir özelliği de peroksinitrit oluşturabilen NO radikali gibi hedeflere çok hızlı ulaşabilmektedir (Tengattini ve ark., 2000). Bilinen çeşitli SOD formları vardır. Bunlar bakır, çinko, mangan, demir ve nikel ko-faktörlü protein yapılarıdır. İnsanlar da üç çeşit SOD bulunmaktadır.

⁴ www.ebi.ac.uk

- 1) sitoplazmik SOD1 (CuZn-SOD)
- 2) mitokondrial SOD2 (Mn-SOD)
- 3) ekstraselluler SOD3 (Fe-SOD)

Mitokondri en önemli enzimatik antioksidan üretici olmakla birlikte reaktif oksijen türlerinin de en başta gelen hedefidir. Reaktif oksijen türleri, mitokondride geçirgenliği azaltır. Membran geçirgenliğinin azalması hücrelerde apoptosis ve nekroz oluşumuna neden olur. Bu durumu engellemek için mitokondride aşırı ROT ve serbest radikal birikimi olduğunda Mn-SOD miktarı yükselmektedir. Bu da mitokondrinin kendini serbest radikallerin etkilerinden korumak için Mn-SOD' yi kendi ürettiği bir savunma sistemi olarak kullandığını göstermektedir.

SOD enzimi her zaman H_2O_2 dönüştürücü enzimi, katalaz ve glutation peroksidaz'la konjuge halde çalışmaktadır. Hidrojen peroksit birikimini önlemek için Mn-SOD üretimiyle eş zamanlı olarak CAT ve/ veya GPx' in de üretilmesi gerekir.

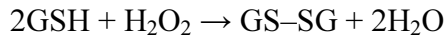
SOD1 enziminde mutasyon oluşması sonucu mekanizması tam olarak aydınlatılamamış olan ALS (Amiyotropik lateral skleroz) olarak bilinen motor nöron hastalığı oluşur (Poulletier ve ark., 2009). Ayrıca SOD1 inaktivasyonu sonucunda hepatosellüler karsinoma görülmektedir. SOD kolon iltihabı olarak bilinen kolit tedavisinde oldukça etkilidir.

Katalaz: Oksijene maruz kalan tüm canlı organizmalarda bulunur. Genellikle peroksizomlarda, daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Dört polipeptid zincirinin oluşturduğu tetramer şeklindedir. Her zincirde 500' den fazla amino asit bulunmaktadır. Hidrojen peroksit ile reaksiyon vermesini sağlayan dört demir grubu taşımaktadır. Hidrojen peroksit organizmada metabolik olaylar sonucu oluşan zararlı bir atık ürünüdür. Hidrojen peroksitin moleküler oksijene ve suya parçalanmasını sağlayarak hücreleri serbest radikallerin etkilerinden korur. Ayrıca;

peroksidatif reaksiyonlar sonucu oluşan alkol, fenol, formaldehit ve formik asit gibi toksik bileşiklerin etkilerini azaltmada da rol oynar.

Yapılan çalışmalar SOD ve CAT'ın yetersiz dağılımı ve elverişsiz farmakokinetik oluşumlar nedeniyle etkilerini gösteremediği durumlarda çeşitli 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).

Glutatyon peroksidaz (GPx): GP nin esas görevi organizmayı oksidatif hasardan korumaktır. Sitozolde bulunur, tetramerik yapıdadır ve yapısında dört selenyum atomu içerir. Hidrojen peroksitin indirgenmesinden sorumludur. Tripeptid glutation (GSH) ile konjuge halde çalışır. GSH hücrelerde yüksek konsantrasyonda (mikromolar) bulunur. GSH, hidrojen peroksidi suya dönüştürürken kendisi de glutation disülfid'e (GSSG) dönüşür. Oluşan GSSG ise glutatyon redüktaz ile tekrar glutation'a indirgenir. Biyokimyasal olarak lipid hidroperoksitlerin alkollere ve H₂O₂ in suya dönüşümünü sağlar.



B. Non-Enzimatik Antioksidan Maddeler

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. Önemli non-enzimatik antioksidanlar aşağıda özetlenmektedir.

E vitamini: Yağda çözünen en önemli non-enzimatik antioksidandır. Membranların oksidatif hasardan korunmasında hayati önemi vardır. Peroksi radikalini hücre membranlarında yakalayarak primer aktivitesini gösterir. E vitamini içinde alfa, beta, gama ve delta tokoferoller bulunur. Bunların içinden özellikle Alfa tokoferol önemli bir antioksidandır. Özellikle buğday, mısır, darı, pirinç gibi tahıllarda çok bulunur.

C vitamini: Suda çözünen en önemli non-enzimatik antioksidandır. Radikalleri redükleyerek etki gösterir. Ayrıca E vitamininin radikal formunun düzenlenmesinde de görev alır.

Glutasyon: ROT lara karşı intrasellüler düzeyde aktivite gösteren en önemli non-enzimatik antioksidandır. Bir tri peptid yapısındadır (glutamil-sisteinil-glisin). Sistein taşıdığı serbest sülfidril grubu (-SH) radikal yakalanmasında kullanılmaktadır.

Beta-karoten- Vücutta depolanarak A vitaminine de dönüştürülen bu kırmızımsı-turuncu pigment çok güçlü bir antioksidandır ve birçok kanser türüne yakalanma riskini azaltmasıyla ünlüdür. Havuç, ıspanak ve brokoli gibi yeşil yapraklı sebzeler ile kayısı ve şeftali gibi meyvelerde fazlasıyla bulunur.

Flavonoid - Birçok meyve ve sebzede yüksek oranlarda bulunan sarı-beyaz pigmentlerdir. Bitkilerin çoğunda bulunan bu antioksidan, yine antioksidan olan C ve E vitamininden çok daha fazla miktarlarda bulunduğu için özellikle meyve ve sebze ağırlıklı bir diyet ile vücuda fazla miktarlarda alınabilir. Elma, çilek, üzüm gibi meyveler, çikolata ve özellikle çay, belli oranlarda flavonoid ihtiva eder.

KoenzimQ- Özellikle kanser ve belli nörolojik hastalıklara olan pozitif etkileriyle uzun süredir gündemde olan koenzim Q önemli bir antioksidandır. Hem vücut tarafından üretilir hem de beslenme yoluyla alınabilir. Her ne kadar ciğer, kalp ve

böbrek gibi et ürünlerinde ve balıkta yüksek oranda bulunsa da, diyetle takviye amaçlı alınan koenzim q hapları ile vücuda alınması daha etkilidir.

Ürik asit – Heterosiklik pürin türevidir. Güçlü redüksiyon ajanı ve elektron donörüdür. Bu nedenle güçlü antioksidan maddeler arasında sayılmaktadır. İnsanda kan plazmasındaki antioksidan etkinin %50 sinden sorumludur (Baillie ve ark., 2007).

Bilirubin – Hem katbolizmasının ürünüdür.Yapısında dört adet pirol halkası içerir. Organizmada oluşan oksidasyon zincirini kırarak güçlü antioksidan aktivite sağlayan doğal bir bileşiktir (Yeşilkaya ve ark., 1998)

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 birçok antioksidan madde düşük çözünürlükleri, düşük geçirgenlikleri, stabiliteyi ve/veya sistemik dolaşıma karışan ilaç biyotransformasyonları yüzünden düşük oral biyoyararlanıma sahiplerdir. Bu nedenle birçok durumda vücuda dışardan antioksidan takviyesi gerekmektedir.

1.2.2.2. 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 sağlıklı 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

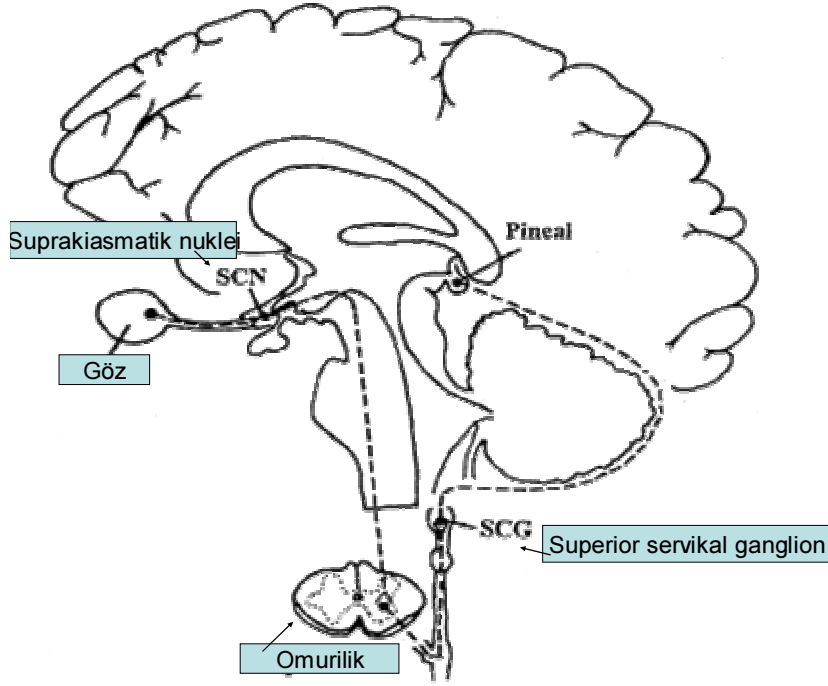
çıkan doğal bir dengesizlik de antioksidan ihtiyacını doğurmaktadır. Bütün bu nedenler ve ihtiyaçlar göz önüne alındığında sentetik antioksidanlara duyulan ihtiyaç ortaya çıkmaktadır. Günümüzde bu konuda birçok çalışma yapılmakta ve gerek antioksidan eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkan hastalıkları önlemede gerekse bu nedenle oluşan hastalıkları tedavi etmede birçok 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 karnıbahar içerisinde bulunan indol-3-karbinol oldukça yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir ve yapılan araştırmalar sonucunda bu maddenin özellikle göğüs ve prostat kanserini önlediği belirlenmiştir (Jump ve ark., 2008). 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

Melatonin, serotonininden hareketle çoğunlukla pineal bez de az miktarda da retina, kemik iliği, deri ve gastrointestinal sistem de sentezlenen bir hormondur. Pineal bezde ve retinadaki melatonin sentezini ışık inhibe eder, diğer dokularda ışık melatonin sentezini inhibe etmez. (**Şekil 1.8**). Yeşil ışık (505 nm), melatonin üretimini bastıran en etkili ışık dalgasıdır (Brainard ve ark., 2001). Melatonin sentezi bu nedenle gece veya karanlık yerlerde artar. Melatonin; akşam saat 21:00'den sonra salgılanmaya başlar, gece saat 02:00-04:00 arası en fazla salgılanır, sabah saat 07:00'de salgılanması azalır. Kandaki melatonin miktarı geceleri en yüksek düzeyde iken gündüzleri minimum düzeye inmektedir. Melatonin'in etkisi uykuyu sağlayıp ve düzenlemesidir. Gün ışığı ve suni ışık melatonin üretimini

düşürür. Ama karanlık odalarda gözü kapalı olarak uyuyan vardiya işçileri, melatonin üretimini gündüz saatlerinde de sağlayabilirler.



Şekil 1.8. Pineal bezin beyindeki lokasyonu ⁵

Melatonin sentezi çocukluk evresinde maksimum düzeydeyken ergenlik oluşmasından hemen önce azalır ve ergenlik başlar. Melatonin ergenliğin başlamasında da önemli rol oynamaktadır. Melatonin sentez düzeyi 35-40 yaşına kadar sabit kalır, ilerleyen yaşla beraber melatonin'in sentez düzeyinde düşüş görülür. Yaşlı insanlarda plazma melatonin düzeyinin düşük olması bu insanları enfeksiyonel hastalıklara karşı daha zayıf ve hassas konuma gelmelerinin nedenlerinden biri olabilir. Yaşları 60 ve üzeri olan kişilerde gece saatlerinde melatonin düzeyinde artış gözlenmemektedir. Kısa ömürlü fare ve kemirgenlerde yapılan çalışmalarda (özellikle yaşlı olanlarda) dışarıdan melatonin verilmesiyle yaşam sürelerinde artış gözlenmiştir. Gece saatlerinde verilen melatonin daha etkili olmuştur (Pierpaoli ve ark, 1999).

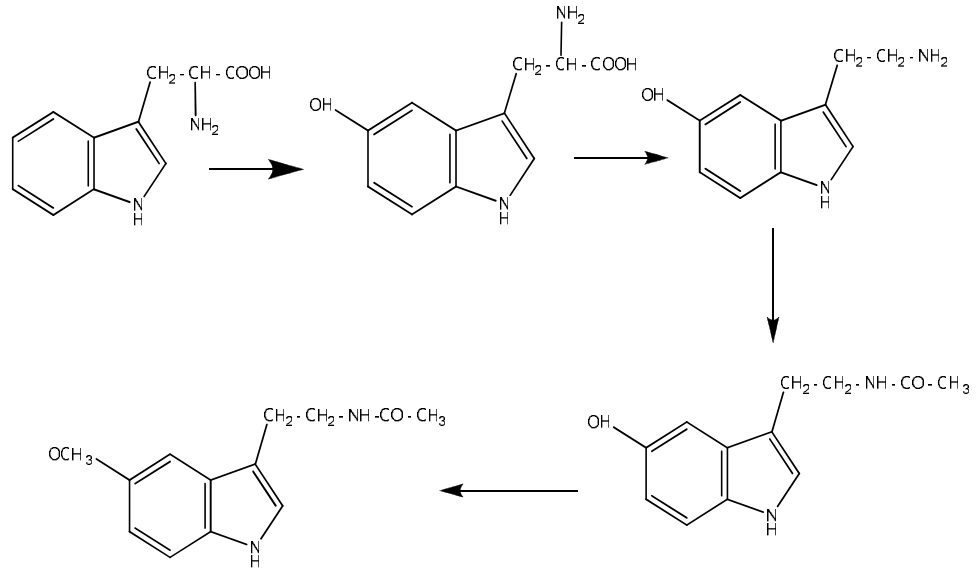
⁵ www.thesis.helsinki.fi

Melatonin çok önemli ve yararlı bir antioksidandır. Vitamin C ve glutatyondan farklı olarak, (Vit. C ve glutasyon, sadece sulu fazda; Vit. E ise sadece lipit fazda aktive iken) melatonin hem sulu hemde lipit fazda aktivite gösterebilmektedir. Bu özelliği sayesinde melatonin kan-beyin engelini geçebilir (Reiter ve ark., 2005).

Melatonin özellikle mitokondri ve hücre nükleusunda daha yoğundur. Mitokondriyal DNA az miktarda DNA hasarı onaran enzim içerdiği için hasarlara karşı daha savunmasızdır. Ayrıca mitokondrial DNA, nükleus DNA'dan daha az koruyucu protein içermektedir. Melatonin mitokondri'ye kolaylıkla penetere olup hem direk olarak mitokondrial DNA'yı hemde mitokondrial antioksidan enzimleri indükleyerek ciddi ölçüde mitokondri'yi oksidatif hasara karşı korur (Mansouri ve ark, 2001).

1.3.1. Melatoninin Biyosentezi

Pineal bezden iki grup endojen madde salınmaktadır. Bunlar, indolaminler ve peptitlerdir. İndolaminler içerisinde en önemlisi 232 molekül ağırlıklı N-asetil-5-metoksitriptamin (melatonin) dir. Melatonin sentezi için öncelikle triptofan aminoasitinin hücre içine alınması gerekmektedir. Hücre içerisine alınan 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 (**Denklem 1.4**).

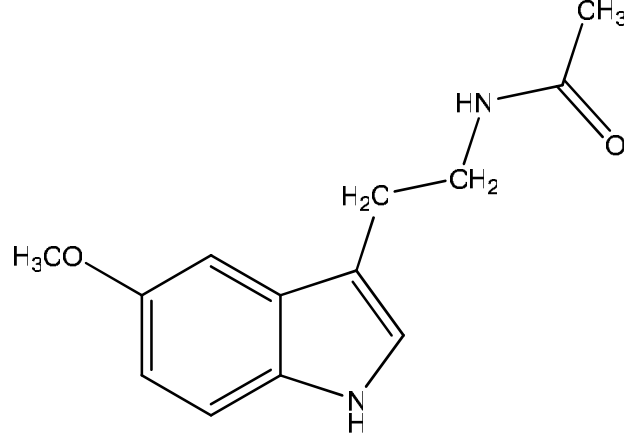


Denklem 1.4. Melatonin biyosentezi

Melatonin sentezlendikten sonra organizmada depolanmaz. Molekül ağırlığının düşük olması ve lipofilik-hidrofilik özelliklerinden dolayı pasif difüzyon ile hızlı bir şekilde hücre dışına atılır. Kanda bulunan melatoninin yaklaşık % 70' i plazma albüminine bağlıdır. Dolaşımdaki melatonin, tüm biyolojik sıvılara ve tüm dokulara dağılır (Cagnacci, 1996).

Triptofandan melatonin sentez yolağında yer alan tüm bileşiklerin belli düzeylerde antioksidan aktiviteleri vardır. 5-HTP'nin melatonin ve C vitaminiyle karşılaştırıldığında daha etkili radikal yakalayıcı olduğu belirlenmiştir. Melatoninin serotonininden 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 metabolitlerin ise nörodejeneratif beyin hastalıklarının başlıca nedeni olduğu saptanmıştır (Wrona ve Dryhurst, 1998).

1.3.2. Melatoninin Kimyasal Yapısı ve Antioksidan Özellikleri



Şekil 1.9. Melatonin

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.

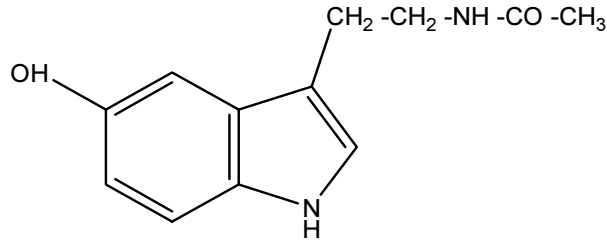
Yapılan çalışmalar melatoninin hidroksil radikalini, süperoksit anyon radikalini, peroksil radikalini, peroksinitril anyonunu, singlet oksijeni, hidrojen peroksiti, nitrik oksiti ve hipokloröz asiti nötralize edebildiğini göstermektedir (Gupta ve ark., 2003). Ayrıca peroksil ve hidroksil radikali yakalayıcı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

Deneysel çalışmalar melatoninin öncelikli olarak hidroksil radikale daha sonra ise peroksinitrit anyonuna ve süperoksit anyonuna karşı etkili olduğunu göstermiştir (Allegra ve ark., 2003).

In vivo çalışmalarda melatoninin, glutatyon peroksidaz, glutatyon 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; Tengattini ve ark., 2000). Ayrıca Alzheimer hastalığının seyrinde oluşan nöronal kayıpların oksidatif strese bağlı olabileceği düşünülmektedir (Guglielmotto ve ark., 2009). Melatonin oksidatif hasara karşı nöroprotektif etkilere sahiptir. 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 etkindir. Çünkü moleküler yapısı, tüm hücre organellerine ulaşmaya müsaittir ve DNA'yı koruyan hücre çekirdeğine bile etki edebilir (Reiter ve ark., 2005). *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 bileşikler potansiyel terapötik ajan durumuna getirmektedir (Karbownik, 2002; Tarzia ve ark., 2004).

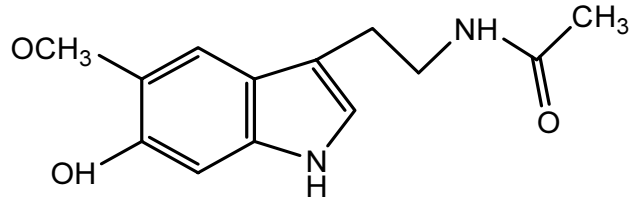
N-asetil-serotonin (**Şekil 1.9**) oksidatif strese karşı biyolojik membranları stabilize edebilir (Garcia ve ark., 2001).



Şekil 1.10. N-Asetil Serotonin

Tüm indoller yüksek elektroaktivite ve heteroatom halka sistemine sahip maddelerdir. Yan zincirlerde farklı fonksiyonel gruplar taşırlar. Bu fonksiyonel gruplar büyük ölçüde maddenin reaksiyonlarını ve serbest radikal yakalama gücü ve etkinliklerini belirlerler. Triptofan metabolitleri ve diğer indol türevlerinde olduğu gibi melatoninde elektronca zengin aromatik bir halka sisteminde olduğu için redoks özeliğine sahip bir maddedir. Bu nedenle indol aminler kolay elektron verici (donor) olarak davranırlar. Buna göre de çeşitli deneysel sistemlerde oksijen içeren radikaller ve diğer etkin radikallerin melatonin'i okside ettikleri görülmüştür. İster doğal ister suni olsun ışığa maruz kalma melatoninin yıkımını ciddi derecede hızlandırır (Süzen ve ark., 2001 ve 2003).

6-hidroksimelatonin (6-OHM) (**Şekil 1.10**) ve N-asetil-N-formil-5-metoksikinurenamin (AFMK), melatoninin vücuttaki enzimatik metabolitlerindendir. Özellikle 6-OHM'nin oksidatif strese karşı ideal bir nöroprotektif olduğu düşünülmektedir.



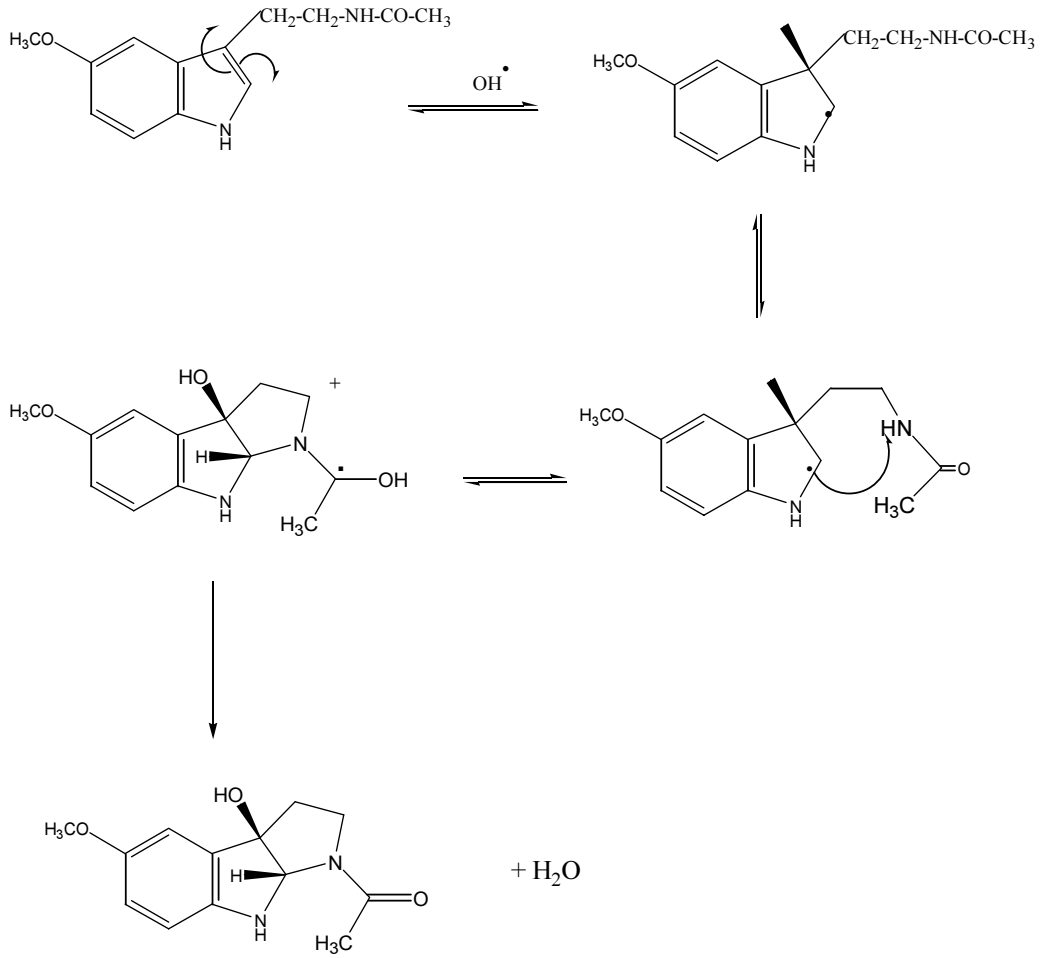
Şekil 1.11. 6-Hidroksimelatonin

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, Maharaj ve ark., 2005). 6-OHM'nin kimyasal yapısı melatoninden sadece 6. karbon üzerinde fazladan bir hidroksil grup içermesiyle farklılaşmakta olmasına rağmen antioksidan etkisi melatoninden daha güçlüdür.

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 1.5**) Tan ve arkadaşları tarafından açıklanmıştır (Tan ve ark., 1998; Süzen, 2007; Bozkaya ve ark., 2006).

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 oksidanlarla etkileştiğinde reaktif merkez olarak görev yaptığı belirlenmiştir (Gürkök ve ark., 2009). 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).



Denklem 1.5. Melatoninin serbest radikalleri yakalama mekanizması (Tan ve ark., 1998)

1.3.3. Melatoninin Serbest Radikallerle Etkileşimi

Melatonin direkt (süperoksit anyon radikali) $\text{O}_2^{\bullet-}$ yakalayıcı olarak düşük yeteneğe sahip görünmektedir. Melatonin prekürsörü serotoninin $\text{O}_2^{\bullet-}$ üzerinde melatoninde gözlenmeyen bazı reaktiviteleri görülmüştür. Ancak melatoninin $\text{O}_2^{\bullet-}$ 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 $\text{O}_2^{\bullet-}$ nin ki ile benzerdir. H_2O_2 , Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları sonucu $\text{OH}^\bullet$ radikaline dönmektedir. Melatoninin H_2O_2 üzerinde direkt

reaktivitesinin olmadığı preoksidaz-gayakol yöntemi ile saptanmıştır. Enzimler H_2O_2 yi $OH^\bullet$ radikaline redükleyerek non-toksik ürünler oluşturarak hücrelerin yaşamasını sağlarlar (Barlow-Walden ve ark., 1995).

Tan ve arkadaşları (1993) melatoninin $OH^\bullet$ radikalini yakalayıcı özelliğini ilk saptayan araştırmacılarıdır. Bunu belirlemek amacıyla H_2O_2 yi ultraviyole ışıklarına (254 nm) maruz bırakarak $OH^\bullet$ radikalini üretmişler ve melatoninin spin trapping ajan olan 5,5-dimetil pirolin N-oksit (DMPO) ile $OH^\bullet$ radikalini nötralize etmek için kullanmışlardır.

Matuszak ve arkadaşları (1997) başka bir sistem kullanarak Fenton reaksiyonu ile $OH^\bullet$ radikalini oluşturmuşlar ve indolaminlerin çok etkili $OH^\bullet$ yakalayıcısı olduğunu tespit etmişlerdir. Yapı aktivite çalışmaları ile melatoninin yan zincirinde asetil grubu ve indol çekirdeğinin beşinci konumunda metoksi grubu olduğunda melatonin $OH^\bullet$ yakalayıcı aktivitesinin arttığı gözlenmiştir. Susa ve arkadaşları (1997) $OH^\bullet$ radikalini sebep olduğu DNA hasarlarının melatonin varlığında azaldığını rapor etmişlerdir. Bu sonuçlara göre melatonin etkili bir serbest radikal yakalayıcı olduğu kanıtlanmış ve radikallerin DNA üzerinde yaptığı hasarları azalttığı belirlenmiştir. Melatonin, sitotoksiste, lipid peroksidasyon ve DNA zincir kırılmalarına karşı etkili bir koruyucudur. $OH^\bullet$ radikalini detoksifikasyonunda melatonin elektron donörü olarak rol oynamaktadır. 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. $LOO^\bullet$ oldukça aktif bir radikaldir. Lipid oksidasyonunu başlatır ve artmasından sorumludur. Lipid peroksidasyonu özellikle santral sinir sisteminde hasarlara neden olmaktadır. Melatoninin $LOO^\bullet$ yu detoksifiye etme yeteneği ilk olarak Pierri ve arkadaşları tarafından (1995) ortaya atılmıştır. Melatonin, E Vitamini, C Vitamini, GSH ve mannitolü

karşılaştırdıklarında, antioksidan aktiviteleri Melatonin > E Vitamini > C Vitamini > GSH > mannitol şeklinde bir sıralama ile bulunmuştur. Scaiano'ya göre de (1995) melatonin serbest radikalleri yakalama açısından E vitamini kadar etkilidir.

Nitrik Oksit ($\text{NO}^\cdot$), nöronlarda önemli bir ikinci mesengerdir. $\text{O}_2^\cdot$ ile etkileşimi sonucu peroksi nitrit anyonu ($\text{ONOO}^\cdot$) oluşturmaktadır. Bu durumda bu işlemlerde görev alan nitrik oksit sentaz (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 $\text{NO}^\cdot$ sentezi azalmakta ve $\text{ONOO}^\cdot$ oluşumu baskılanmaktadır. (Szabo, 1996). Ayrıca Cuzzocrea ve arkadaşları da (1998) çeşitli şekillerde melatoninin NOS aktivitesini inhibe ettiği ve $\text{ONOO}^\cdot$ ve $\text{OH}^\cdot$ radikali için yakalayıcı olduğunu tespit etmişlerdir.

1.3.4. Melatonin ve Melatonin Analogu Bileşikler ile ilgili yapılan Antioksidan Aktivite Çalışmalar

Enflamasyon, çok sayıda hücrel ve moleküler etkileşim sonucu kompleks bir olay olarak ortaya çıkar. Siklooksijenaz-2(COX2), araşidonik asitten prostaglandin-2 sentezini katalizleyen önemli bir enzimdir. Ayrıca COX2 bu fonksiyonun yanısıra enflamasyonun oluşumunda da rol oynadığı gibi nörodejeneratif ve kanser gibi patolojik olaylara da eşlik eder. Melatonin ve metabolitleri olan N_1 -asetil- N_2 -formil-5-metoksikinurenamin (AFMK) ve N_1 -asetil-5-metoksikinurenamin (AMK) siklooksijenaz-1(COX1)'in etkisi ve düzeyini etkilemeden COX2'in aktivitesini önler. Melatonin NOS ve COX2 enzimlerinin aktivitesini düşürerek hem nitrik oksit (NO) hemde prostaglandin-2 üretimini ve konsantrasyonunu azaltır. Günümüzdeki

çalışmalar melatonin'in anti-enflamatuvar etkili ajan olduğunu doğrulamaktadır. COX2 ve NOS, melatonin ve metabolitleri olan AFMK ve AMK moleküllerinin hedefi olduğu söylenebilir. Dolayısıyla melatonin ve metabolitleri COX1 i inhibe etmeyen yeni sınıf anti-enflamatuvar bileşikler olarak üzerinde çalışılması gereken maddeler olarak görülmektedir (Mayo ve ark., 2005).

Brassica (lahana) ailesine ait sebzelerin tüketimi insanlarda çeşitli kanserlerin oluşumunu engellediği ve deney hayvanlarında kanser insidansını azalttığı bilinmektedir. Brassica ailesi sebzelerde indol-3-karbinol'un esas bileşiği olduğu kanıtlanmış ve indol-3-karbinolun (İ3K) hücre siklusundaki G1 fazının durdurulmasını indüklediği bunu da insan meme kanserinde, kanserli hücrelerde hücre çoğalması yolağında CDK6 transkripsiyonu düşürüp CDK2 kinaz'ın aktivitesini inhibe ederek göstermektedir.

Kültür ortamında oluşturulan meme kanseri hücrelerine İ3K eklenmesi sonucu ortamda hem İ3K bulunur hemde İ3K kondanse haline dönüşerek 3,3'-diindolilmetan (DİM) oluşturur. İ3K ve kanserli hücrede İ3K den oluşan DİM'in kombinasyonu güçlü anti-proliferatif etki göstermektedir. DİM çoğalma niteliğindeki kanser hücrelerinin çoğalma yolağını inhibe etmektedir. Ana bileşik olan İ3K'nın Yapı-aktivite ilişkilerinin anti-proliferatif etkiyle olan ilişkilerini aydınlatmak için indol çekirdeği içeren bileşiklerin biyolojik aktiviteler üzerindeki çeşitli etkilerine bakılmıştır. Hücre siklusu üzerine spesifik etkili olan İ3K bileşiklerden N-alkoksi türevi bileşikler sentezlendi. İndol halkası içindeki azot atomuna yan zincir olarak bir ile dört arası uzunlukta karbon içeren değişik sübstitüent alkoksi gruplar takılmış ve sentezlenen bu türevlerin hücre siklusunda G1fazı bloke etmelerine, DNA sentezini inhibe etme özelliklerine ve türevlerin doz-yanıt deneylerine bakılmıştır. Tüm türevler meme kanseri hücrelerine, içerdikleri İ3K çekirdeği dolayısıyla anti-proliferatif etki göstermektedirler. Ama N-sübstitüent bileşikler İ3K'ye göre daha etkili olmuştur. Bu etki nitrojen üzerinde alkoksi grubunun karbon uzunluğu ile doğru orantılıdır. Yapılan testlerde N-metoksi

İ3K den 23 kat daha düşük konsantrasyonda İ3K yaptığı anti-proliferatif etkiye eşdeğer etki göstermektedir. (Jump ve ark., 2008).

Melatonin kanserli hücrelerde onkostatik etki gösterebilmektedir. Birçok çalışmada, kanser oluşturan genlerin aktivasyonu, tümörlerin gelişimini durduran ve yavaşlatan genlerin inaktivasyonun'a, tümörlerde büyüme faktörlerin stimülasyonun'a HİF-1 Alfa protein ekspresiyonu eşlik eder. Dolayısıyla HİF-1 Alfa proteinin miktarının azaltılması kanser oluşumunu azaltabilir. Melatonin HİF-1 Alfa proteini inhibe etme özelliğine sahiptir ve prostat kanserlerine karşı kullanılması yararlı olabilir (Park ve ark., 2009).

Melatonin çeşitli patolojik durumlarda koruyucu rol oynadığı çok sayıda bilimsel çalışmada belirtilmektedir. Son zamanlarda melatoninin normal hücreler üzerinde anti-apoptotik ve kanserli hücrelerde apoptotik süreci hızlandırdığını kanıtlayan çalışmalar yayınlanmıştır. Bu çalışmalar ışığında melatoninin kanser tedavisinde etkisi üzerine olan ilgi daha da artırmıştır. Meme kanseri, ovaryum kanseri ve kolon kanserlerine melatonin onkostatik etki göstermiştir. Melatonin kanserli hücrelerde, hücre ölümünü hızlandırdığı ve hücre siklusunu durdurabildiğini için kanser tedavisinde yararlı olabileceği belirtilmiştir (Martin-Renedo ve ark., 2008).

Bazı kardiyak durumlar, serbest radikallerin kalpte meydana getirdikleri hasar ve enflamatuvar oluşumlar sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Bu durumlarda dışarıdan melatonin ve agonistlerinin alınması yararlıdır. Zira melatonin doğrudan serbest radikalleri süpürücü etkisi ve dolaylı olarak antioksidan etkisi ile anti-enflamatuvar etkileri sayesinde oksidan kökenli kardiyak hastalıklarda koruyucu etki göstermektedir. Dışarıdan alınan melatonin hızlı olarak tüm organlara dağılmaktadır. Çünkü melatonin tüm morfofizyolojik baryerleri kolaylıkla aşarak kalp hücrelerine hızlı bir şekilde girebilmektedir. Melatonin en yüksek konsantrasyonda mitokondride bulunur. Mitokondri serbest radikallerin ve oksidatif stresin yoğun olduğu bir interasellüler bölge olduğundan melatoninin bu bölgede

yüksek konsantrasyonda bulunması çok önemli ve yararlıdır. Sonuç olarak kardiyak hastalıklarda melatonin, kardiyak ilaçlarla birlikte koruyucu ajan olarak belli dozlarda verilebilir (Tengattini ve ark., 2000).

Melatonin, subaraknoid hemoraji (SAH) ve bu durumlarda beyinde oluşan hasara karşı koruyucu etki göstermektedir. Melatonin bu etkiyi SAH'ın indüksiyonunu, vazospazmı ve endotellium hücrelerde apoptosis'i inhibe ederek gösterdiği düşünülmektedir. SAH'a eşlik eden enflamatuvarın da, önlenmesinde melatonin kullanılmasında fayda var. Zira melatonin diğer anti-enflamatuvarlardan farklı olarak daha az yan etkiye sahiptir. Hemde kan-beyin baryerini kolaylıkla aşabildiği için daha avantajlıdır (Ersahin ve ark., 2009).

Melatonin hayvanlar ve insanlarda hipnotik etki gösteren bir bileşiktir ve uyku üzerinde terapötik etkisine büyük ilgi gösterilmektedir. Yaşlı insanlarda genelde yaygın olarak görülen uyku problemlerinin yaş ilerlemesiyle birlikte melatonin miktarındaki düşüşle ilgili olduğu düşünülmektedir. Melatonin sirkadiyen ritmin düzenlenmesini sağlar. Ayrıca, alzheimer, parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklarda, önemli kanserlerde antioksidatif etkisinden dolayı protektiftir (Garratt ve Tsotinis, 2007).

Organizmada antioksidan-oksidan dengesi oksidanlar lehine değişmesiyle meydana gelen duruma oksidatif stres denilir. Bu durum, hücrelerde, dokularda ve organizmada çok sayıda istenmeyen olaylara neden olmaktadır. Oksidatif stres, iskemi-reperfüzyon, ateroskleroz, kronik böbrek yetmezliği (CRF) gibi birçok hastalıktan sorumlu ana etkidir. CRF tedavisinde uygulanan hemodiyaliz (HD) sürecinde karşılaşılan birçok komplikasyonda oksidatif stres esas rol oynamaktadır. Hemodiyalizde, kanla HD membrani arasında tekrarlanan temas neticesinde endogenik inflamatuvar mekanizması aktifleşir ve bunun sonucu olarak ROT miktarında artış gözlenir. Ayrıca HD uygulaması sırasında kanda bulunan ürik asit, vitaminler v.s antioksidanların elimine olması da oksidatif stresi artırmaktadır. Dolayısıyla CRF hastalığında yukarıda belirttiğimiz nedenlerden dolayı lipit

peroksidasyonu artmaktadır. HD sırasında bu oksidatif stresden kaynaklanan hasarları minimuma indirmek için son zamanlarda sık aralıklarla antioksidan etkili bazı vitaminler (vit. C v.s) verilmektedir ki bu da çok yüksek dozlarda bazı antioksidanların prooksidanlara dönüşebileceği ihtimali nedeniyle sakıncalı olmaktadır. Bu nedenle HD sırasındaki oksidatif hasarları önleyebilmek için antioksidan olarak melatonin verilmesi diğer antioksidanlara kıyasla daha uygun görülmüştür (Velkova ve ark, 2009).

Melatonin bazı yan etkileri olsa da farmasötik uyku haplarına kıyasla daha az yan etkiye sahiptir ancak uzun süreli kullanımının güvenilirliği bilinmemektedir. Melatonin mental hastalıklarda, alerjik kişilerde, oto-immun hastalıkları olanlarda, lösemi hastalarında kullanılması sakıncalı olabilir.

Melatonin farmakolojik konsantrasyonda hem mRNA düzeyini hem de önemli antioksidan enzimlerin aktivitesini yükseltebilir. Melatoninin serbest radikalleri yakalama etkisi reseptörden bağımsızdır. Yapı-aktivite ilişkilerinde yapılan araştırmalara istinaden melatonin molekülünde, indol halkası oksidan maddelere karşı aktif merkez olarak görülmektedir.

Günümüzde melatonin kullanımı iki önemli problem nedeniyle sınırlanmaktadır;

1. Melatoninin, 6-Hidroksimelatonin ve N(1)-asetil-N(2)-formil-5-metoksikinuramin'e (AFMK) hızla metabolize olduğundan çok kısa biyolojik yarılanma ömre sahip olması
2. Hedef organ ya da doku seçiciliğinin olmamasıdır.

İndol halkasının sahip olduğu yüksek rezonans stabilite ve düşük aktivasyon enerjisi serbest radikal reaksiyonlarına karşı bariyer oluşturmaktadır. Günümüzde indol halkası içeren bileşiklerin sentezi ve geliştirilmesi sonucu olarak melatoninin çok sayıda fizyolojik özellikleri tanımlanmakta ve tartışılmaktadır. Çünkü bu

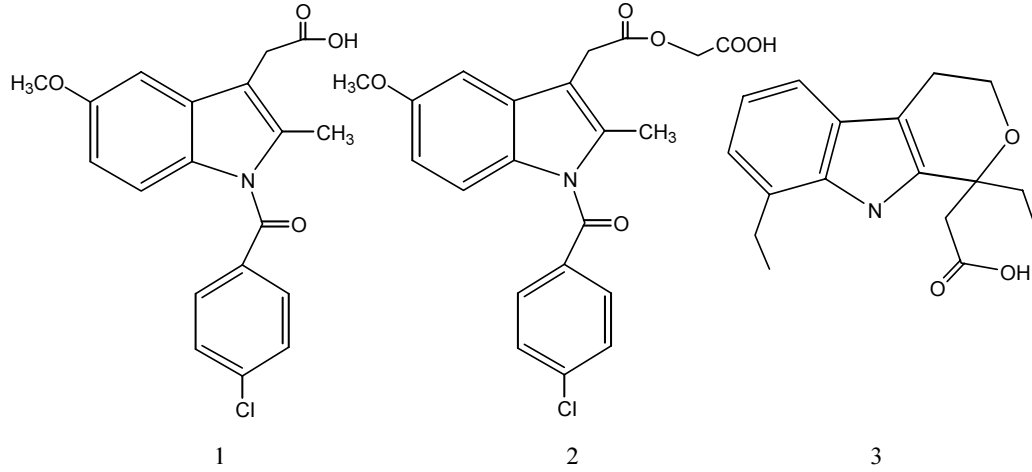
bileşikler yapısal olarak melatonine benzerlik göstermektedirler. Bununla birlikte oksidatif strese bağlı hastalıkların klinik tedavisinde yeterli ölçüde bu bileşiklere başvurulmamaktadır. Bu da yeterince etkin preparatın bulunmayışı, terapötik kullanıma elverişsiz farmakokinetik özelliklere sahip olması, yan etkileri ve bu maddelerin toksisitesi ile ilgili olabilir (Gürkök ve ark., 2009).

1.3.5. Melatonin Analogu Sentetik Antioksidan Bileşikler

1.3.5.1. Antioksidan Etki Gösteren Non-Steroidale Anti-enflamatuvar İndol Türevi Bileşikler

Siklooksigenaz, araşidonik asitten prostanooidlerin 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_2O_2 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-il]asetik asit) (**Şekil 1.12**) 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 etodolak'ın ((±)-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano-(3,4-b)indol-1-asetik asit) anti-

enflamatuvar etkilerinin bir ölçüde de ROT ve RAT yakalama kapasitesine bağlı olduğu belirlenmiştir (Mouithys-Mickalad ve ark., 2000; Dannhardt ve ark., 2001).



Şekil 1.12. İndometazin (1), asemetazin (2) ve etodolak (3)

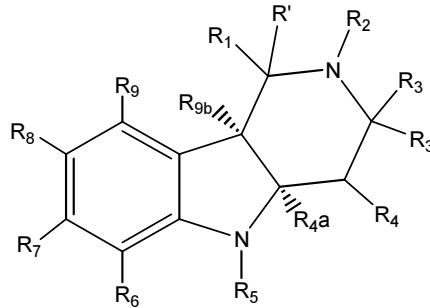
Non-steroidal anti-enflamatuvar bileşiklerin H_2O_2 yakalama kapasitelerini araştırmak için yapılan başka bir çalışmada indol türevi (indometazin, asemetazin, etodolak), pirol türevi (tolmetin, ketorolak), oksazol türevi (oksaprozin), indene türevi (sulindak) ve metabolitleri (sulindak sülfid ve sulindak sülfon) kullanılmıştır (Costa ve ark., 2005). Sonuçlar endojen antioksidanlar melatonin ve glutation ile karşılaştırıldığında, antioksidan aktiviteleri sırasıyla sulidak 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).

1.3.5.2. İndole Yapışık Halka Sistemi İçeren Antioksidan Bileşikler

İndol halkası taşıdığı terapötik değer nedeniyle medisinal kimya için önemli kondanse halkalardan biridir (Borza ve ark., 2005). İndol azotu süstitüte olsun ya

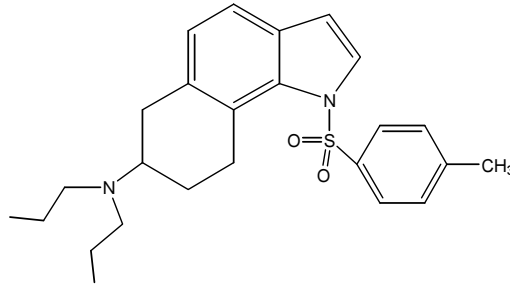
da olmasın, halkanın 3. konumu her zaman reaksiyonlara açık bir durumdadır. Bu konumun bir elektrofil ile süstitüsüyonu benzenin aromatisasyonunu bozmadan kararlı bir ara ürün oluşmasını sağlar. İndol halkası iki totomerik formda bulunur. Bunlar daha kararlı olan enamin ve 3*H*-indol ya da imin formlarıdır. İndol halkasındaki 2. ve 3. karbonlar arasında yer alan pi bağı sikloadisyon reaksiyonlarına olanak sağlar. İntamoleküler sikloadisyonlar, intramoleküler olanlara karşı daha kolay oluşur. İndol halkasının bu özelliklerinden faydalanılarak sentezlenen birçok bileşikte antioksidan aktivite gözlenmiştir.

Stobadin ((-)-*cis*-2,8-dimetil-2,3,4,4a,5,9b-hekzahidro-1*H*-pirido[4,3-*b*]indol) (**Şekil 1.13**) 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).



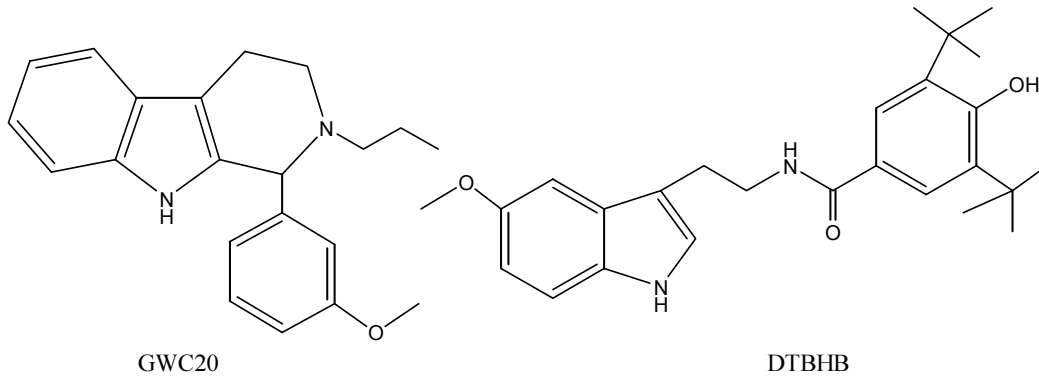
Şekil 1.13. Stobadin türevi antioksidan bileşiklerin genel formülü (R: çeşitli alkil grupları)

TPBIA (1-*p*-Toluensülfonil-6,7,8,9-tetrahidro-*N,N*-di-*n*-propil-1*H*-benz[*g*]indol-7-amin) (**Şekil 1.14**) 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).



Şekil 1.14. TPBIA (1-p-toluensülfonil-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] (**Şekil 1.15**) melatoninden daha etkili antioksidan bileşikler olduğu saptanmıştır (Gozzo ve ark., 1999).

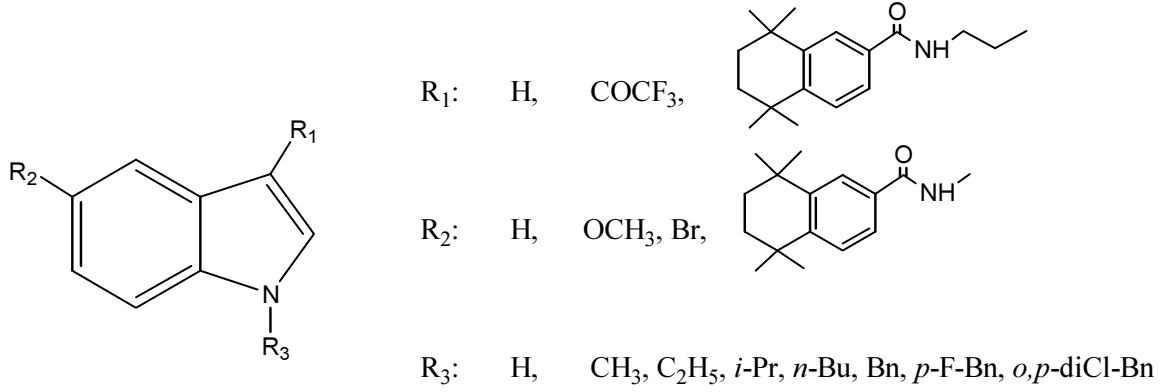


Şekil 1.15. GWC20 ve DTBHB

1.3.5.3. Bilinen Antioksidan Moleküllerle Kondanse İndol Türevi Bileşikler

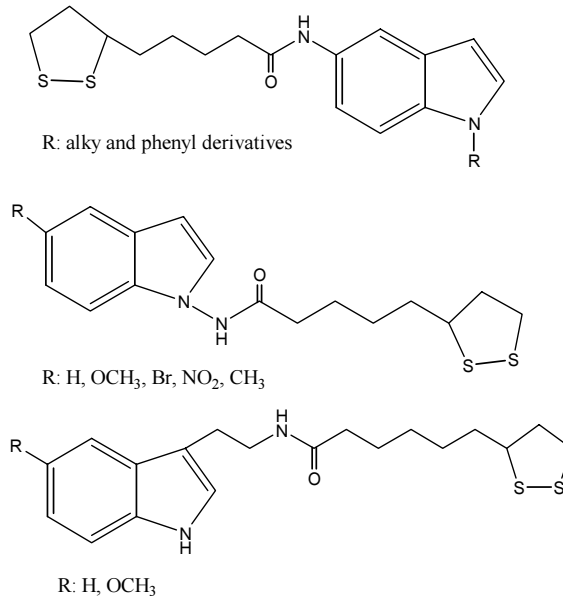
Antioksidan bileşikler değişik kimyasal yapılar sahiptirler. Bilinen doğal ya da sentetik antioksidan bileşiklerle kondanse edilen indol ya da melatonin halkası, antioksidan aktivitede artış sağlamaktadır.

Retinoid türevi bileşikler antioksidan aktiviteye sahip önemli bir sınıfı oluşturur. Bir seri retinoid-melatonin türevi bileşik tetrahidrotetrametilnaftalen karboksilik asitten hareketle sentezlenmiş (**Şekil 1.16**) ve etkili lipid peroksidasyon inhibe edici etkide oldukları bulunmuştur (Ateş-Alagöz ve ark., 2006).



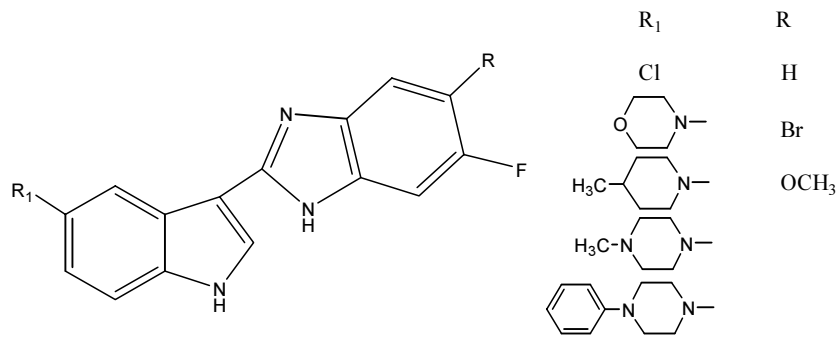
Şekil 1.16. Tetrahidronaftalen-indol türevi bileşiklerin genel formülü

Ayrıca indol ve lipoik asit türevi bileşikler (**Şekil 1.17**) ile yapılan çalışmalarda da önemli antioksidan aktivite belirlenmiştir (Gürkan ve ark., 2005). Bazı türevler lipoik asitten daha etkili antioksidan aktivite göstermiştir.



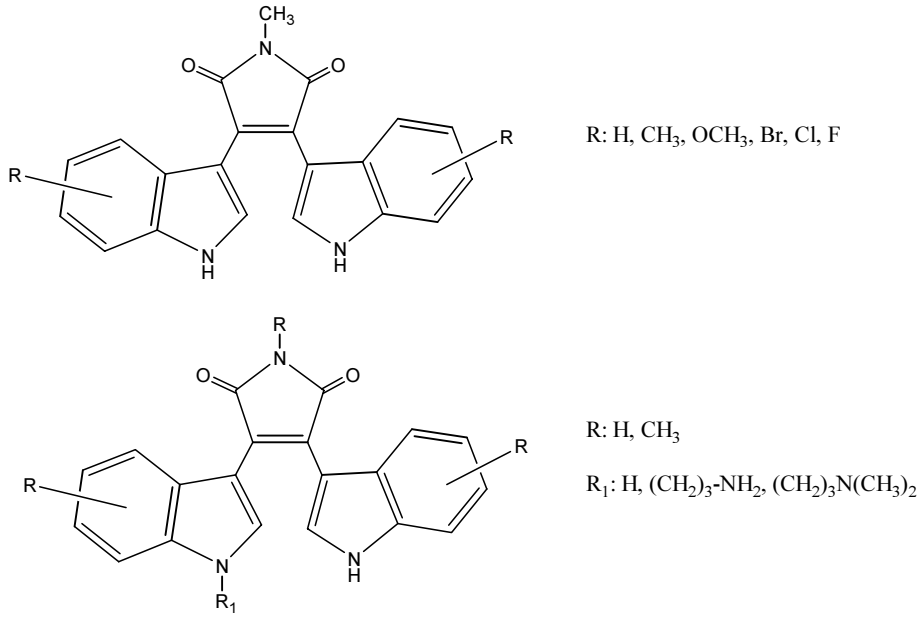
Şekil 1.17. İndol-lipoik asit türevi bileşikler

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 (**Şekil 1.18**). İndol halkasının 5. konumunda p-fenil piperazin bulunan türevlerde en yüksek aktivite gözlenmiştir (Ateş-Alagöz ve ark., 2005).



Şekil 1.18. İndol-benzimidazol türevi bileşiklerin genel formülü

Bisindolilmaleimid türevi bileşiklerin (**Şekil 1.19**) 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*-Indol-3-il)-3-pentilamino-maleimid yapısının en etkili antioksidan türev olduğu görülmüştür (Dado ve ark., 2005).



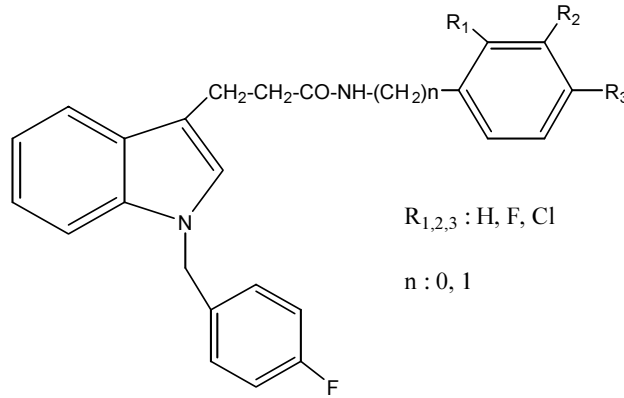
Şekil 1.19. Bisindolilmaleimid türevi bileşiklerin genel formülleri

1.3.5.4. Alkil ve/veya Aril Substitüe İndol Türevi Bileşikler

İndol türevi bileşiklerin antioksidan aktiviteleri taranırken indole-3-propionik 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 glutatyon (Hardeland ve ark., 1999) gibi davranmaktadır. Melatoninin ortamda

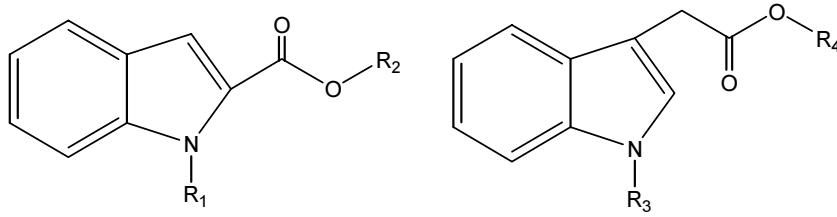
bulunmadığı durumlarda IPA güçlü bir oksidandır (Chyan ve ark., 1999; Poeggeler ve ark. 1999).

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 (Şekil 1.20) yüksek etkili antioksidan aktivite göstermişlerdir (Olgen ve ark., 2007).



Şekil 1.20. *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 Çoban, 2003) (Şekil 1.20) de görülmektedir. *N*-süstitüe indol 2- ve 3-karboksamid türevlerinin ROT ları yakalama kapasitesinin yüksek olduğu da belirtilmiştir (Olgen ve Çoban, 2002; Aboul-Enein ve ark., 2004).

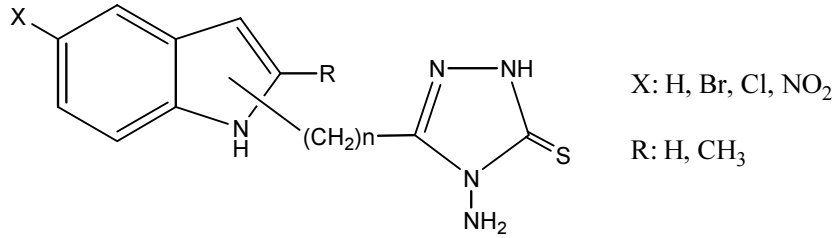


R_1, R_3 : H, benzoil türevleri

R_2, R_4 : Fenil, pirolidin, siklopropil, piperidin türevleri

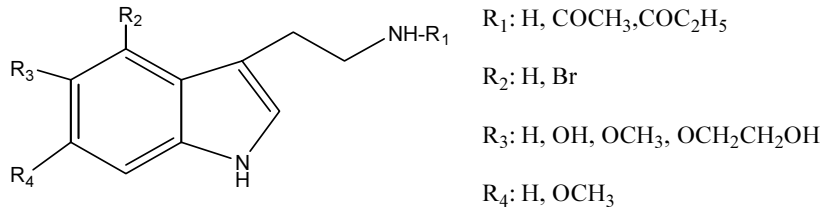
Şekil 1.21. *N*-H ve *N*-süstitüe indol ester türevlerinin genel formülü

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., 2002; Varvaresou ve ark., 2000) etkili antioksidan aktivite gösteren bileşikler olarak tanımlanmıştır (Şekil 1.22) (Andreadou ve ark., 2002; Andreadou ve ark., 2003).



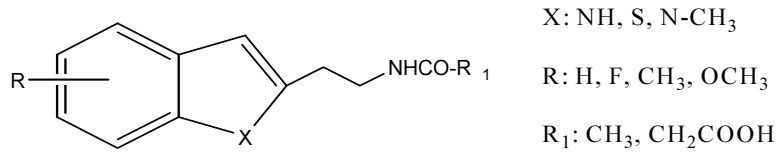
Şekil 1.22. Triazol yapısı içeren indol türevi bileşiklerin genel formülü

İndol halkasının 5. konumunda metoksi ve açilamino grupları taşıyan türevlerinde (Şekil 1.23) 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.



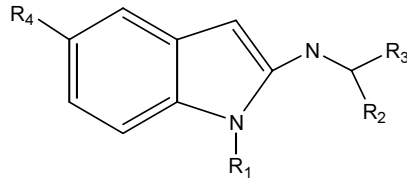
Şekil 1.23. 5-Metoksi ve açilamino grupları değiştirilen indol türevi bileşikler

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 (**Şekil 1.24**) (Spadoni ve ark., 2006). 5-alkoksi-2-(*N*-açilaminoetil)indol en etkili türev olarak belirlenmiştir.



Şekil 1.24. 2-*N*-açilaminoetil türevi bileşikler

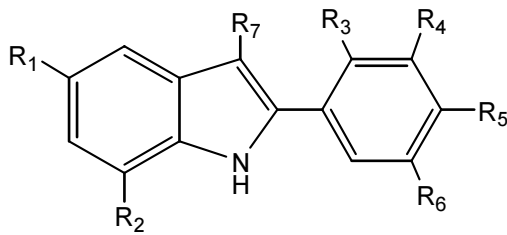
MAO inhibitörü olarak bilinen N-(2-propinil)2-(5-benziloksi-indol)metilamin (PF 9601N) bileşiğinin nöroprotektif ve antioksidan etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır (Sanz ve ark., 2004). Bu bileşikten hareketle sentezlenen yeni türevlerde (**Şekil 1.25**) yapılan yapı aktivite ilişkilerine göre indol halkasının 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_1, R_2, R_3 : H, alkil türevleri
 R_4 : benziloksi, OCH_3 , OH

Şekil 1.25. Triptamin ve *N*-alkil süstitüe melatonin analogları

Fischer indol sentez yöntemi kullanılarak sentezlenen 2-fenil indol türevleri (**Şekil 1.26**), melatonine karşı denendiklerinde yüksek oranda lipid peroksidasyonunu önleyen etkiler göstermiştir (Süzen ve ark., 2006). 2. Konumda yer alan fenil üzerinde F, Cl, NO_2 gibi elektron çekici gruplar bulunduğu en yüksek aktivite elde edilmiştir. Deneyler sonucunda melatonin ve 2-fenil indol türevi bileşiklerin hidroksil radikali yakalayıcısı olduğu belirlenmiştir.



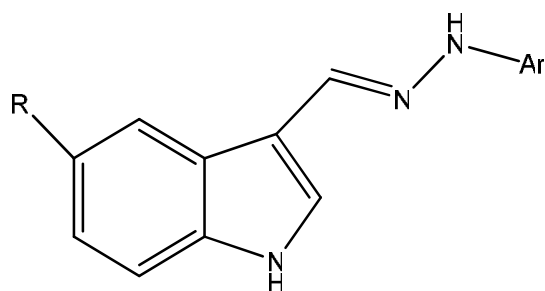
$R_{1,2}$: H, NO_2

$R_{3,4,5,6}$: H, OH Cl, NO_2 , NH_2 , CH_3

R_7 : H, CHO

Şekil 1.26. 2-Fenil indol türevi bileşiklerin genel formülü

Melatoninden hareketle, 5. konumundaki metoksi grubu yerine hidrojen veya brom yerleştirilerek sentezlenen indol hidrazid/ hidrazon türevlerinin (**Şekil 1.27**), melatonin ile kıyaslandığında daha fazla antioksidan aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir (Gürkök ve ark., 2009). 5. konumda H veya Brom bulunmasının antioksidan aktivitede anlamlı bir değişime neden olmadığı görülmüştür. Aromatik yan zincirde fenil halkasının p konumunda klor veya brom içeren bileşiklerde en yüksek antioksidan aktivite elde edilmiştir. İzonikotinik asit ve anisik asit türevlerinde ise antioksidan aktivite gözlenmemiştir.

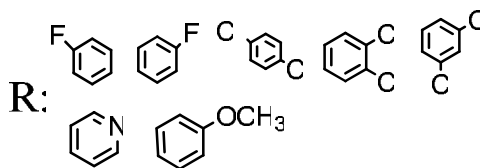
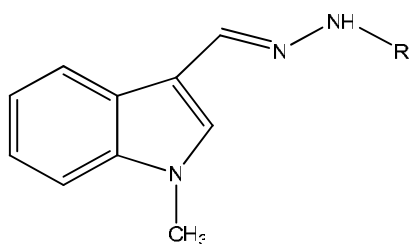


R: H, Br

Ar: Fenil, Piperidin ve indol türevleri

Şekil 1.27. İndol hidrazid / hidrazon türevi bileşiklerin genel formülü

Melatonininden hareketle, 5. konumundaki metoksi grubu kaldırılarak ve indol azotu metillenerek, sentezlenen indol hidrazid/ hidrazon türevlerinin (**Şekil 1.28**), melatonine karşı denendiklerinde daha güçlü antioksidan aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. (Shirinzadeh ve ark., 2010). o-m halojen aromatik yan zincir içeren bileşiklerde en yüksek antioksidan aktivite elde edilmiştir. Halojen atom içermeyen izonikotinik asit ve anisik asit türevlerinde ise antioksidan aktivite gözlenmemiştir.



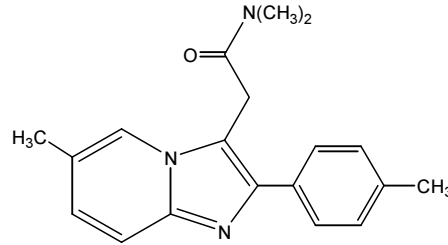
Şekil 1.28. 1-metil-indol hidrazid/hidrazon türevi bileşiklerin genel formülü

1.3.5.5. Antioksidan Etkili Diğer Sentetik İndol Türevi Bileşikler

Çalışmalar melatonin metabolite ve analogu olan bir çok bileşiğin de antioksidan etkisi olduğunu göstermektedir (Ximenes ve ark., 2005) . Örneğin melatonin

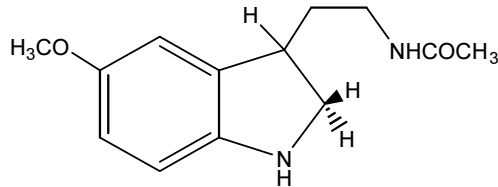
metaboliti AFMK, etkili bir antioksidan türevdir (Ressmeyer ve ark., 2003). Ayrıca melatonin prekürsörü *N*-asetilserotonin, ve diğer bir melatonin metaboliti 6-hidroksimelatonin de melatoninden daha etkili antioksidan bileşikler olarak gösterilmektedir (Zhang ve ark., 1999).

Hipnotik bir bileşik olan Zolpidem [N,N,6-trimetil-2-*p*-tolil-imidazo (1,2-a) piridin-3-asetamid L-(+)] (**Şekil 1.29**) bileşiğinin tartarat tuzu melatonin kadar etkili bir lipid peroksidasyonu önleyici bileşik olarak bulunmuştur (Garcia-Santos ve ark., 2004).



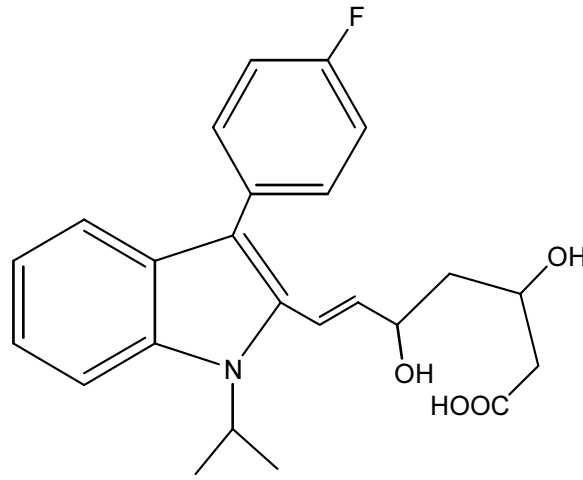
Şekil 1.29. Zolpidem [N,N,6-trimetil-2-*p*-tolil-imidazo (1,2-a) piridin-3-asetamid L-(+)]

İndol halkasında yapılan selektif hidrojenasyon sonucunda elde edilen 2,3-dihidromelatonin (**Şekil 1.30**) DPPH radikalini yakalanmada ve lipid peroksidasyonu önlemede etkili bir antioksidan olarak bulunmuştur (Gasparova ve ark., 2006).



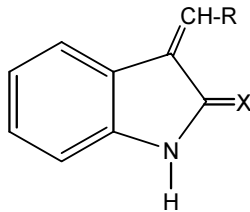
Şekil 1.30. 2,3-dihidromelatonin türevi bileşiklerin genel formülü

Statin sınıfı bir ilaç olan Fluvastatin (**Şekil 1.31**) 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 aterosklerozun önlenmesinde kullanılması gereken önemli ilaçlardan biri olduğunu kanıtlamıştır (Bandoh ve ark., 2003).



Şekil 1.31. 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 (**Şekil 1.32**) 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

Şekil 1.32. İndolin-2-on ve indolin-2-tiyon türevi bileşiklerin genel formülü

1.4. İndol Halkasının Kimyasal Özellikleri

İndol (2,3-benzopirol) birçok 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.

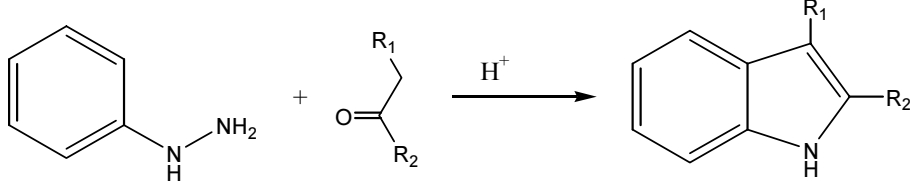
İndol halkası yapısındaki azot atomu nedeniyle baz gibi düşünülse de sadece zayıf bazik karakterdedir ve asitler karşısında tuzlarını zorlukla oluşturur. Azot atomunun elektronları halka içinde delokalize olur. Bu delokalizasyon nedeniyle indol halkası 3. konumundan elektrofilik süstitüsyonlara açıktır. 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 birçok sentez yöntem geliştirilmiştir. Bunlardan en önemli olan iki yöntem aşağıda verilmiştir.

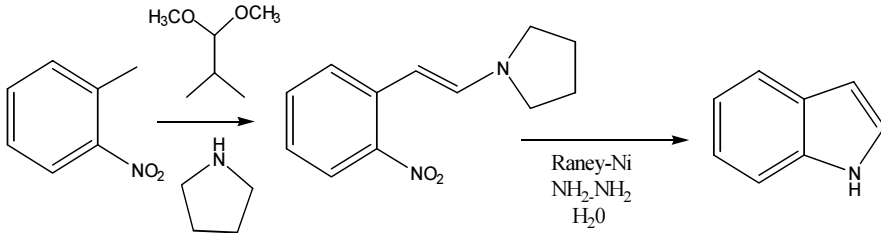
Fischer İndol Sentezi



Denklem 1.6. Fischer indol sentezi

En eski indol sentez yöntemlerinden biridir. 2. ve 3. konumda süstitüentler istenen indol türevlerinin sentezi için idealdir .

Leimgruber-Batcho İndol Sentezi

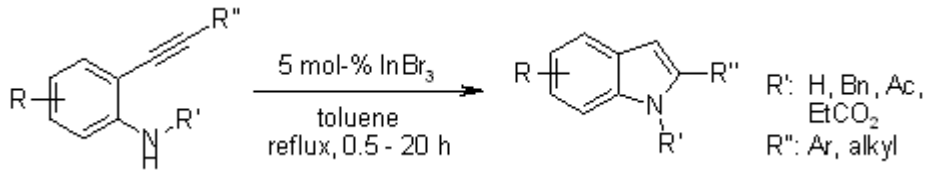


Denklem 1.7. Leimrruber-Batcho indol sentezi

İndol ve süstitüe indollerin sentezi için etkili ve yüksek verimli bir yöntemdir.(Batcho ve Leimgruber, 1984)

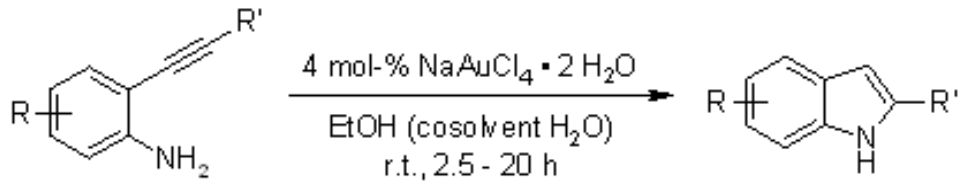
Bu yöntemlerin yanısıra son yıllarda yapılmış yeni indol sentez yöntemleri aşağıda belirtilmektedir.

1. 2-Etinilanilin sıklizasyonu ile 1. ve 2. konumlardan ve ayrıca indolün fenil halkası üzerinde sübstitüentler bulunan indol halkası sentezi Sakai ve arkadaşları (2008) tarafından gerçekleştirilmiştir.



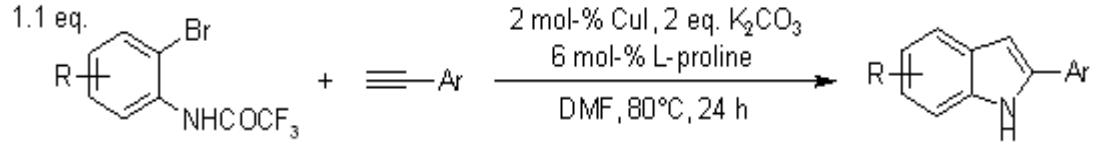
Denklem 1.8. 2-Etinilanilin sıklizasyonu ile indol sentezi

2. 2-alkinilanilin türevlerinden hareketle diğer bir indol sentez metodu Arcadi ve arkadaşları (2004) tarafından gerçekleştirilmiştir.



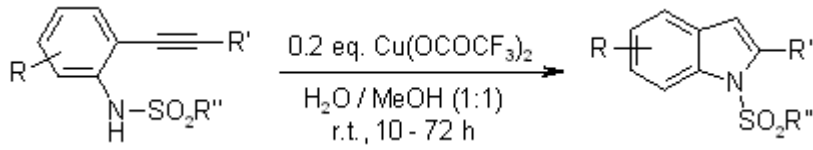
Denklem 1.9. 2-Alkinilanilin türevlerinden hareketle indol sentezi

3. 2-bromotrifloroasetanilid ile 1-alkinin CuI/L-prolin varlığında verdiği reaksiyon ürünü indol türevlerini vermektedir (Liu ve Ma 2007).



Denklem 1.10. 2-bromotrifloroasetanilid ile 1-alkinin CuI/L-proline varlığında indol sentezi

4. 2-etinilanilin türevlerinin bakır katalizörlüğünde verdiği siklizasyon ürünü indollerdir (Hiroya ve ark., 2004).

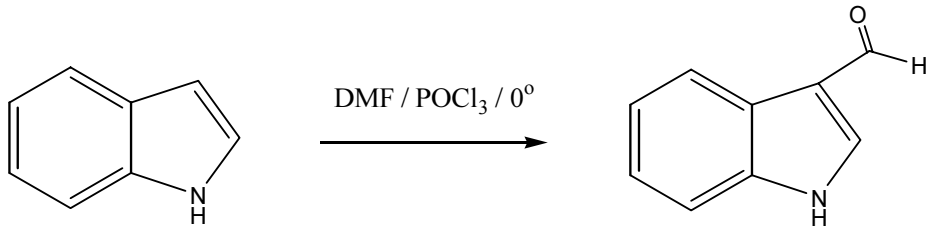


Denklem 1.11. 2-etinilanilin türevlerinin siklizasyonu ile indol sentezi

1.4.2. İndol-3-karboksaldehit Sentezi

Vilsmeier-Haack Formilasyonu

Çok kullanılan bir yöntemdir. İndol 3. karbondan elektrofilik süstitüsyona açık olduğu için kolay yürür.



Denklem 1.12. Vilsmeier-Haack formilasyonu

1.5. Melatonin Analogu Antioksidan Bileşiklerin Gerekliği

İndol türevi bileşikler medisinale kimya da önemli bir terapötik ajan sınıfını oluşturmaktadırlar (Süzen ve Büyükbingöl, 1998 ve 2000 Li ve ark., 2009; Vine ve ark., 2009). 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 çözünebildiği için hücresel membranlara 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-süstitüe-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 birçok fizyolojik olayın düzenlenmesinde yer alır ama iki önemli problem (Süzen, 2006 ve 2007; Ateş-Alagöz 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 süstitüente sahip heterosiklik aromatik bir halka yapısına sahiplerdir. *In vivo* ve *in vitro* çeşitli deneyler birçok 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 kardiyovaziküler, romatizmal, oto-immün ve nörolojik hastalığın gelişmesinde

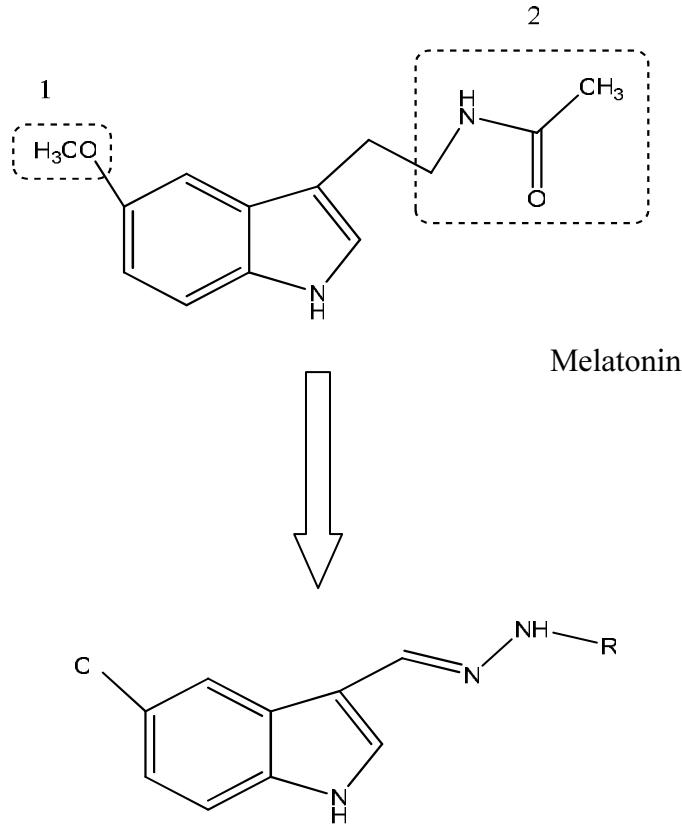
serbest radikallerin rol oynadığı bilinmektedir (Maccarrone ve Ullrich, 2004). Organizmamız enzimatik ve non-enzimatik birçok antioksidan yardımı ile bu zararlı etkilerden korunmaya çalışır. Ancak günümüz koşullarındaki endüstriyel gelişmeler, şehir hayatı ve çevresel kirlilik faktörleri organizmanın bu koruma silahlarını yetersiz bırakmakta ve birçok 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; Reiter ve ark., 2009). Bu aktivitesini serbest radikalleri yakalayarak bazı mekanizmalarla gösterir. Etki mekanizması ile ilgili araştırmalar halen devam etmekte ancak melatonin molekülü başta hidroksil radikali olmak üzere birçok radikali etkisiz hale getirerek organizmayı korumaktadır. Bu güçlü etkisine rağmen melatonin kullanımı birçok durumda yetersiz kalmaktadır. Uzun süreli kullanımı libido ve düşük tansiyona neden olmakta, nörolojik, otoimmün, 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 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 melatonin yapısı esas alınarak molekül üzerinde bazı değişiklikler yapılmıştır. Bu amaçla indol halkasının 5. konumunda melatonin yapısında bulunan metoksi grubu kaldırılarak klor ile değiştirilmiştir. Böylece

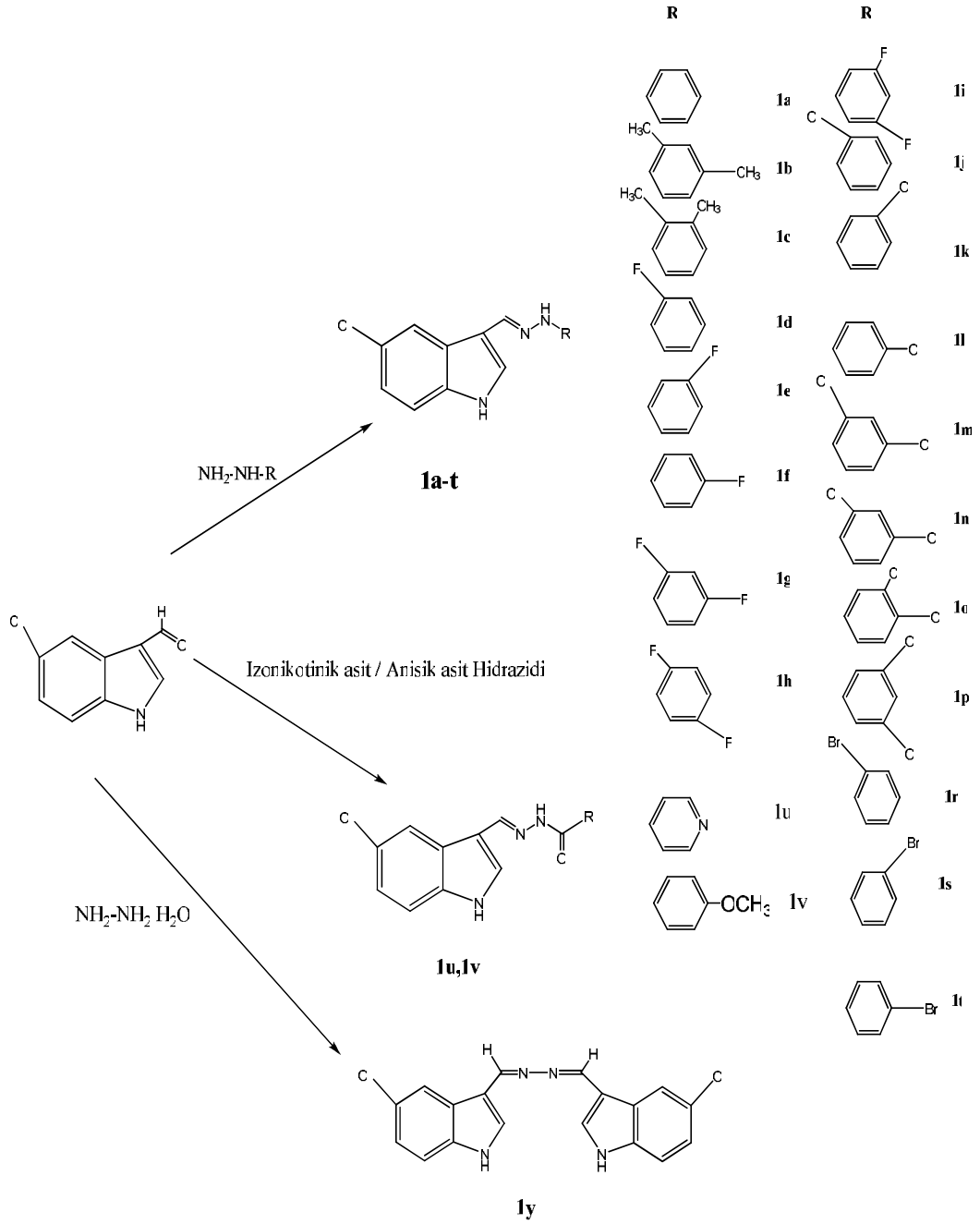
sentezlenecek türevlerde melatoninde bulunan metoksi grubunun yokluğu ve yerinde bir klor atomu bulunmasının antioksidan aktiviteye etkilerinin araştırılması planlanmıştır. Bu değişikliğin yanısıra melatonin molekülünün 3. konumunda bulunan yan zincir olan asetilamino grubu değiştirilerek halojenli ve/veya halojensiz aromatik yapıların eklenmesi planlanmıştır. Bu değişiklik gerçekleştirilirken aromatik yapıların hidrazinleri kullanılarak indol halkasının 3. Konumundan hidrazonlar oluşturulması amaçlanmıştır. Planlanan bu bileşiklerin sentezlenmeleri amacıyla 5-Kloro-1*H*-indol-3-karboksaldehit başlangıç maddesinden hareketle 3. konumdaki yan zincire farklı gruplar takılarak yeni bileşikler sentezlenmesi planlanmıştır. Melatonin molekülü üzerinde yapılması planlanan değişiklikler aşağıda gösterilmektedir. Sentezlenecek bu bileşiklerin yapılarının ileri enstrümental tekniklerle aydınlatılması ve *in vitro* antioksidan aktivitelerinin ölçülerek test edilmeleri tez çalışmasının ana konusunu oluşturmaktadır.



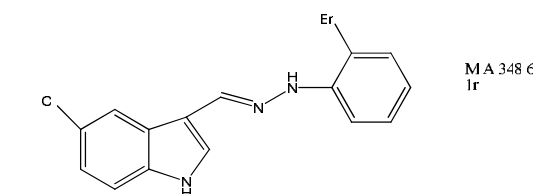
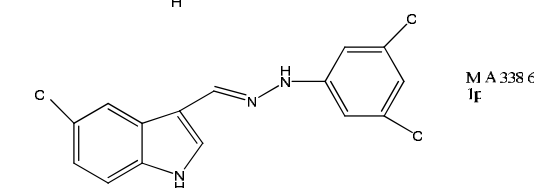
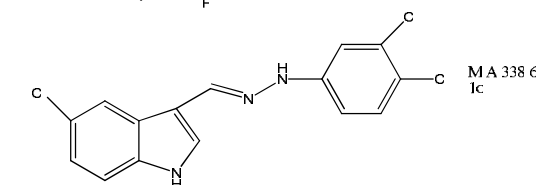
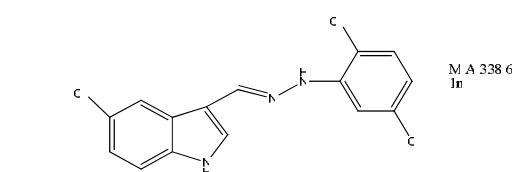
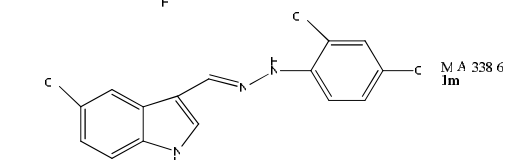
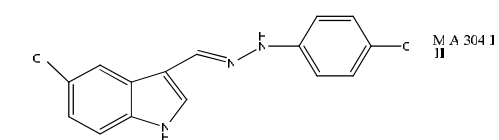
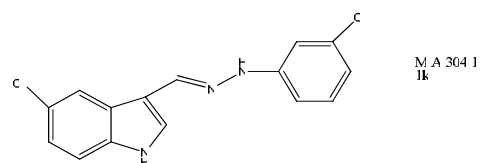
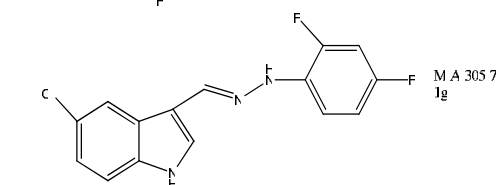
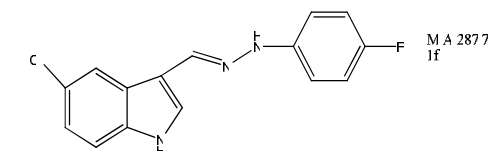
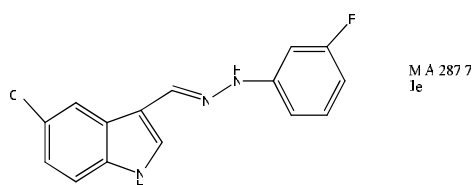
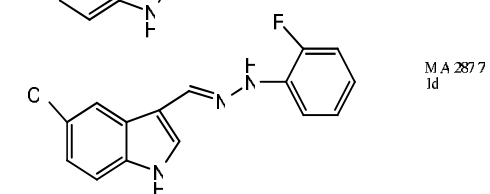
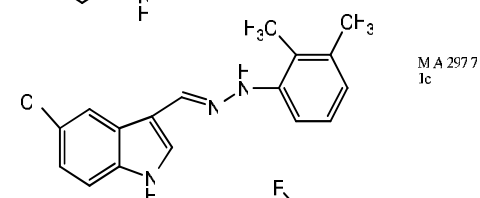
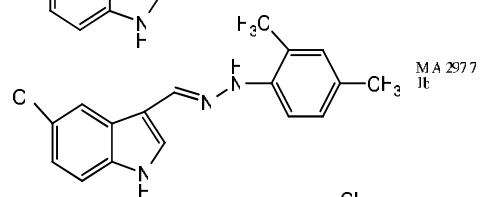
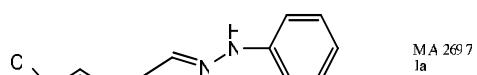
Şekil 1.33. Melatonin üzerinde yapılan modifikasyonlar

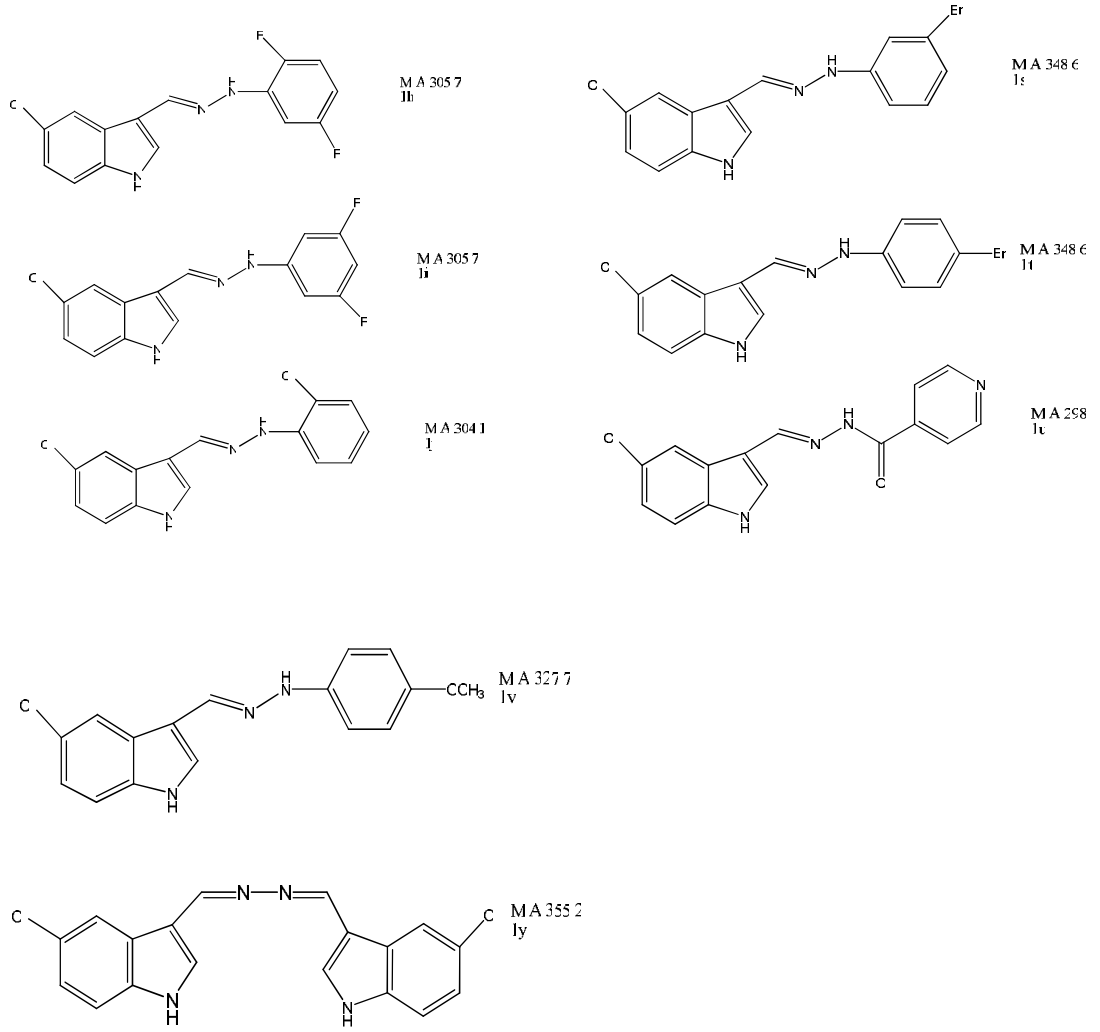
2. GEREÇ VE YÖNTEMLER

2.1. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit hidrazon Türevlerinin Genel Sentezi



Şekil 2.1 : 5-Kloro-1H- indol-3-karboksaldehit hidrazon türevlerinin sentezi





Şekil 2.2. Sentezlenen 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit hidrazon türevlerinin kimyasal formülleri

2.2. Gereç ve yöntem

2.2.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

Hassas terazi (Sartorius – CP 2245), Geri çeviren soğutucu, vakum etüvü (Vacioten-Selecta), çeşitli cam laboratuvar malzemeleri, İTK tankı, süzgeç kağıdı (orta gözenek) (Merck), çeşitli boyda magnet, ısıtıcılı manyetik karıştırıcı (Bunsen Agitador Megnetico MC8 ve ARE magnetic stirrer).

2.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit, fenil hidrazin hidroklorür, 2,3-dimetilfenil hidrazin hidroklorür, 2,4-dimetilfenil hidrazin hidroklorür, 2-florofenil hidrazin hidroklorür, 3-florofenil hidrazin hidroklorür, 4-florofenil hidrazin hidroklorür, 2,4-diflorofenil hidrazin hidroklorür, 2,5-diflorofenil hidrazin hidroklorür, 3,5-diflorofenil hidrazin hidroklorür, 2-klorofenil hidrazin hidroklorür, 3-klorofenil hidrazin hidroklorür, 4-klorofenil hidrazin hidroklorür, 2,5-diklorofenil hidrazin hidroklorür, 3,4-diklorofenil hidrazin hidroklorür, 3,5-diklorofenil hidrazin hidroklorür, 2-bromofenil hidrazin hidroklorür, 3-bromofenil hidrazin hidroklorür, 4-bromofenil hidrazin hidroklorür, izonikotinik asit hidrazidi, anisik asit hidrazidi, hidrazin hidrat, KBr, d₆-DMSO ve sodyum asetat Aldrich firmasından, silikagel (Merck), melatonin, 5-(-6)-klorometil-2',7'-diklorodihidro-floresin diasetat (DCFH-DH), fosfat tampon tuzu (PBS), Trikloro asetik asit (TCA), Tert-butanol (TBA), N-Hekzan, İzopropil alkol, Trietilamin(TEA) Sigma firmasından temin edilmiştir. Deneyler sırasında kullanılan solvanların tamamı Aldrich veya Merck firmasından temin edilmiştir. Markası belirtilmemiş maddelerin markası Aldrich'tir.

2.2.3.Sentez Edilen Maddelerin Analitik İncelemelerinde Uygulanan Yöntemler

2.2.3.1. Kromatografik analizler

Tez çalışması süresince, 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) ışıktan faydalanılmıştır.

İTK da kullanılan solvan sistemi ; Etilasetat:Hekzan (1:1) olmuştur.

İzomeri olan bileşiklerde izomer oranının belirlenmesi için “Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi”(YBSK) yönteminden faydalanılmıştır. Bu amaçla cihaz olarak WATERS LC MODULE UV, kolon olarak ChiralPak AD kolon kullanılmıştır. Hareketli faz; Hekzan:İzopropil alkol:Trietilamin (87:13:1) olmuştur.

2.2.3.2. Erime Noktası Tayinleri

Sentezlenen tüm bileşiklerin erime noktası ölçümleri electrothermal 9100 cihazı ile gerçekleştirilmiş ve sonuçlar düzeltilmeden verilmiştir.

2.2.3.3. Elementel Analiz Tayini⁶

Sentezlenen sonuç ürünlerin elementel analizleri LECO CNHS 932 cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

2.2.3.4. Spektral Analizler⁶

FT-IR Spektra

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

NMR Spektra (¹H ve ¹³C)

Sentezlenen ürünlerin ¹H ve ¹³C NMR spektral analizleri Varian Mercury 400 FT-NMR Spektrometresi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Kütle (Mass) Spektra

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

⁶ Elementel, NMR, FT-IR ve Mass Analizleri A.Ü. Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3. BULGULAR

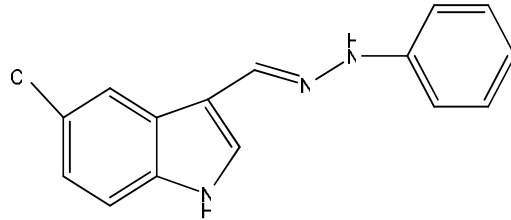
3.1. Başlangıç Maddesi

Sentez çalışmaları sırasında başlangıç maddesi olarak kullanılan 5-kloro-1H-indol-3-karboksaldehit ticari olarak temin edilmiştir.

3.2. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit fenil hidrazon Türevlerinin Genel Sentezi

1 mmol 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 5 ml EtOH içinde çözülerek hazırlanan çözeltiye, 1.3 mmol fenil hidrazin hidroklorür veya türevleri ile 0.4 g (4.88 mmol) sodyum asetat'ın distile suda hazırlanan çözeltisi eklendi. Reaksiyon su banyosu içinde geri çeviren soğutucu altında 70-80 °C da 30 dakika karıştırıldı ve reaksiyonun bitiş süresi İTK ile kontrol edilerek belirlendi (Kidwai, 1994). Reaksiyon sonunda oluşan çökelek süzülerek ayrıldı. Gerektiğinde elde edilen kristaller EtOH dan tekrar kristallendirilerek saflaştırıldı. Kristaller vakum etüvde kurutularak işlem tamamlandı.

3.2.1. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit fenil hidrazon (1a)



179.6 mg (1 mmol) 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehitin 5 ml EtOH içindeki çözeltisine, 260.1 mg (1.8 mmol) fenil hidrazin ile 4 g (4.88 mmol) sodyum asetatın 5 ml distile suda hazırlanan çözeltisi eklendi. Oluşan çökelekli karışım su banyosu içinde geri çeviren soğutucu altında 70-80 °C da 30 dakika karıştırıldı. Sonunda çözelti soğutulurak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı ve % 78 verimle 210 mg madde elde edildi. E.n 118-119 °C (Bulatova ve ark, 1969).

Elementel Analiz: C₁₆H₁₅N₃

	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan:	66.79	4.48	15.58
Analiz:	66.30	4.37	15.02

¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

6.69 (1H, t), 7.02 (2H, d), 7.18-7.25 (3H, m), 7.45 (1H, d), 7.72 (1H, s), 8.09 (1H, s, azometin-CH), 8.22 (1H, d), 9.91 (1H, s, hidrazin-NH), 11.54 (1H, s, indol-NH) .

¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

111.97, 113.17, 113.97, 118.37, 121.34, 122.84, 125.12, 125.88, 129.49, 129.82, 135.05, 136.12, 146.69 (azometin-C).

Kütle Spektrumu m/z (ESI): 270 (M+1, %100), 272 (M+2)

IR Spektrumu (KBr Disk) cm⁻¹:

1598 C=N (azometin) gerilim bandı. 3391 NH, gerilim bandı.

```

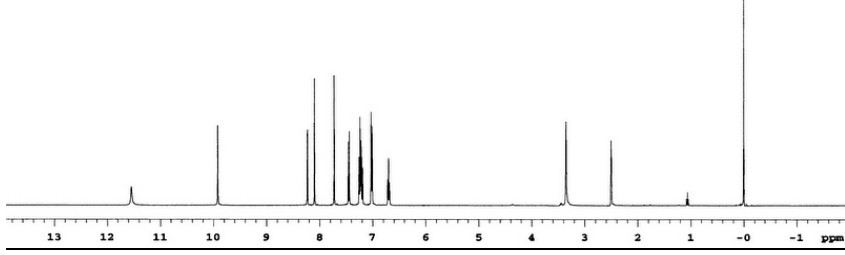
Didem-1_25Nov2009

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrdata
Sample directory: Didem-1_25Nov2009
File: PROTON

Pulse sequence: s2pul
Solvent: DMSO
Temp. 22.0 C / 295.1 K
Mercury-400BB "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.592 sec
Width 6400.0 Hz
8 repetitions
OBSERVE H1, 400.1759550 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 0 min. 25 sec

```



Şekil 3.1. Bileşik 1a'nın ^1H -NMR spektrumu

```

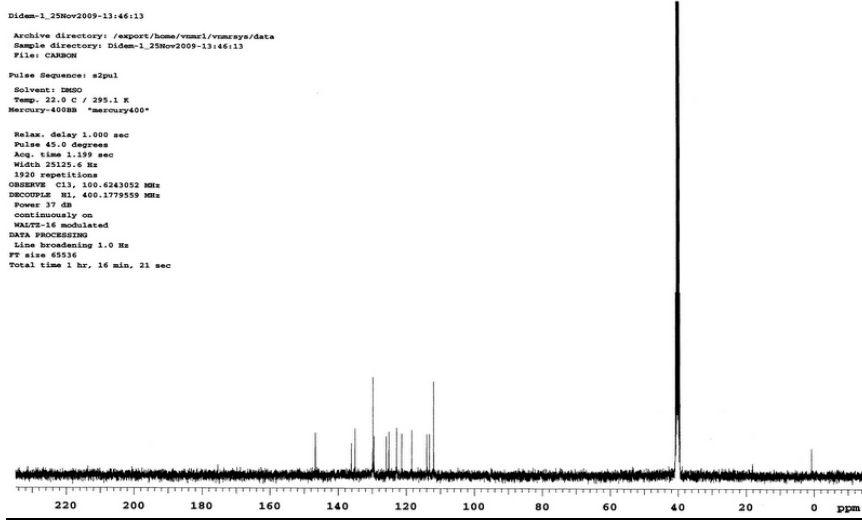
Didem-1_25Nov2009-13:46:13

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrdata
Sample directory: Didem-1_25Nov2009-13:46:13
File: CARBON

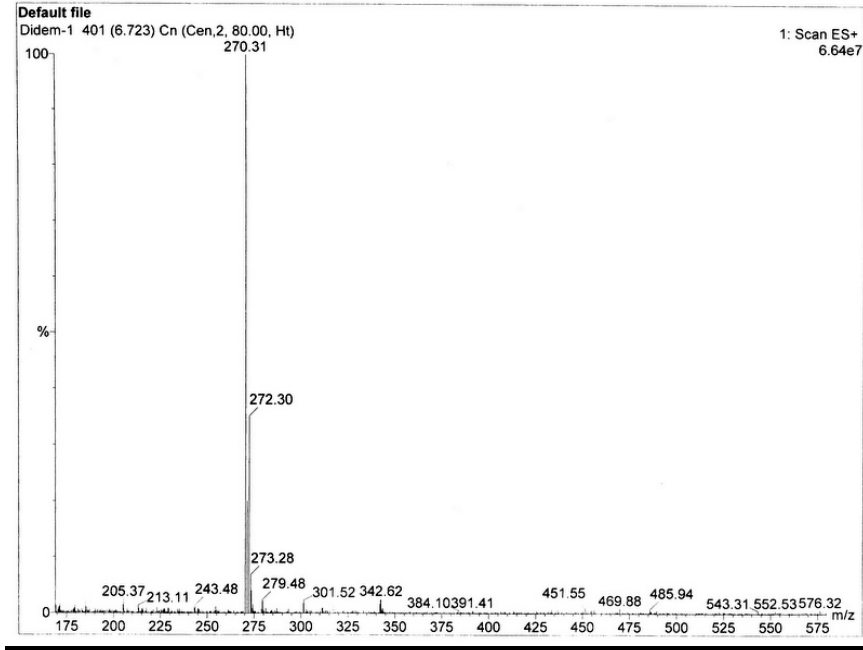
Pulse sequence: s2pul
Solvent: DMSO
Temp. 22.0 C / 295.1 K
Mercury-400BB "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.199 sec
Width 25125.6 Hz
1920 repetitions
OBSERVE C13, 100.6243052 MHz
DECOUPLE H1, 400.1759559 MHz
Power 37 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 65536
Total time 1 hr. 16 min. 21 sec

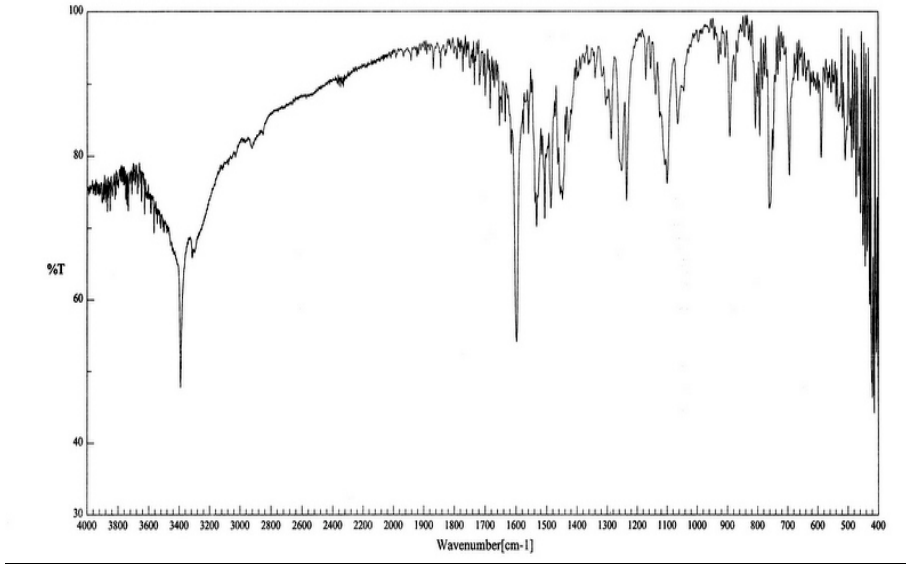
```



Şekil 3.2. Bileşik 1a'nın ^{13}C -NMR spektrumu

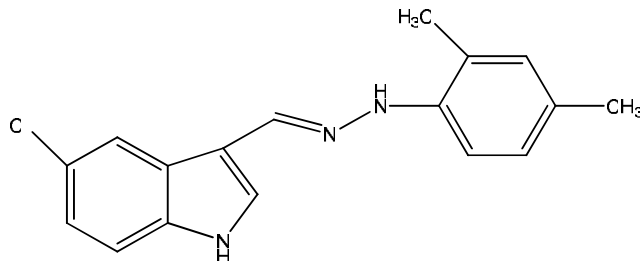


Şekil 3.3. Bileşik 1a'nın kütle spektrumu



Şekil 3.4. Bileşik 1a'nın IR spektrumu

3.2.2. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(2,4-dimetilfenil) hidrazon (1b)



179.6 mg (1 mmol) 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehitin 5 ml EtOH içindeki çözeltisine, 310.8 mg (1.8 mmol) 2,4-dimetilfenil hidrazin ile 4 g (4.88 mmol) sodyum asetatın 5 ml distile suda hazırlanan çözeltisi eklendi. Oluşan çökelekli karışım su banyosu içinde geri çeviren soğutucu altında 70-80 °C da 30 dakika karıştırıldı. Sonunda çözelti soğutularak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı ve % 77.8 verimle 231.7 mg madde elde edildi. E.n 148-149 °C.

Elementel Analiz: C₁₇H₁₆N₃Cl

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	68.57	5.42	14.11
Analiz:	68.87	5.08	13.51

¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

2.19 (6H, d), 6.86 (1H, s), 6.96 (1H, d), 7.18-7.21 (2H, dd), 7.26 (1H, d), 7.44 (1H, d), 7.71 (1H, d), 8.23 (1H, d), 8.31 (1H, s, azometin-CH), 8.98 (1H, s, hidrazin-NH), 11.53 (1H, s, indol-NH).

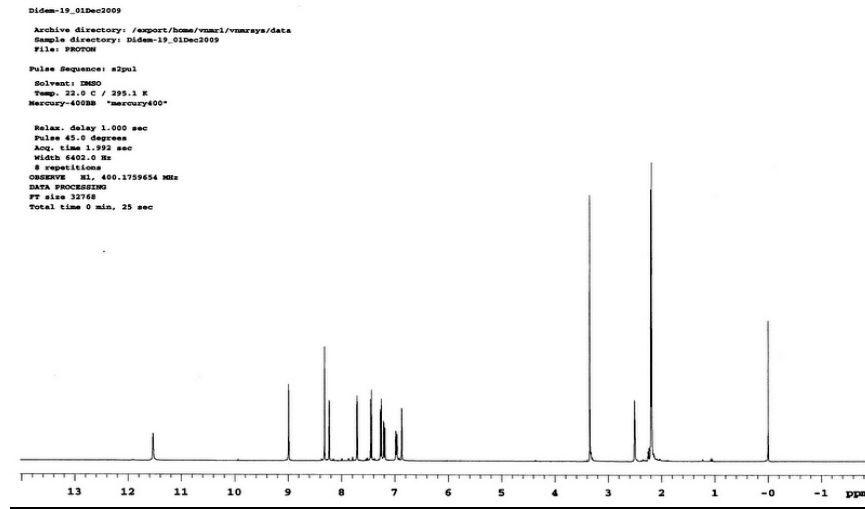
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

17.38, 20.06, 111.14, 112.54, 113.18, 120.21, 120.57, 122.03, 124.31, 125.16, 126.15, 127.04, 128.53, 130.78, 135.37, 141.63 (azometin-C).

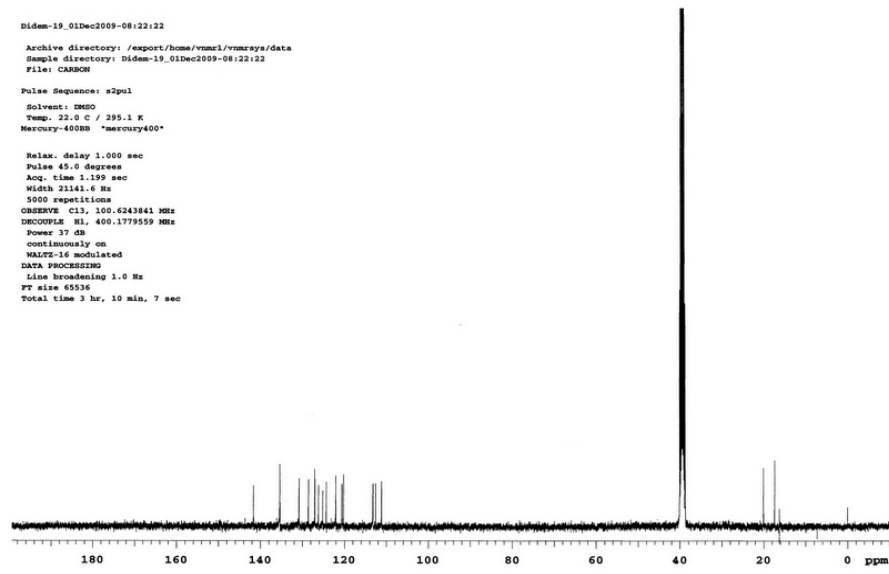
Kütle Spektromu m/z (ESI): 298 (M+1, %100), 300 (M+2)

IR Spektromu (KBr Disk) cm^{-1} :

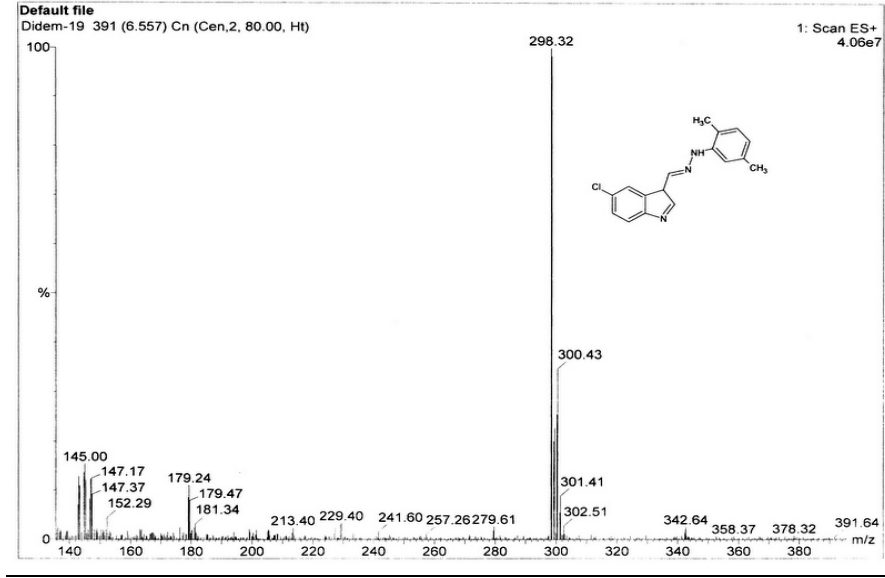
1609 C=N (azometin) gerilim bandı. 3316 NH, gerilim bandı.



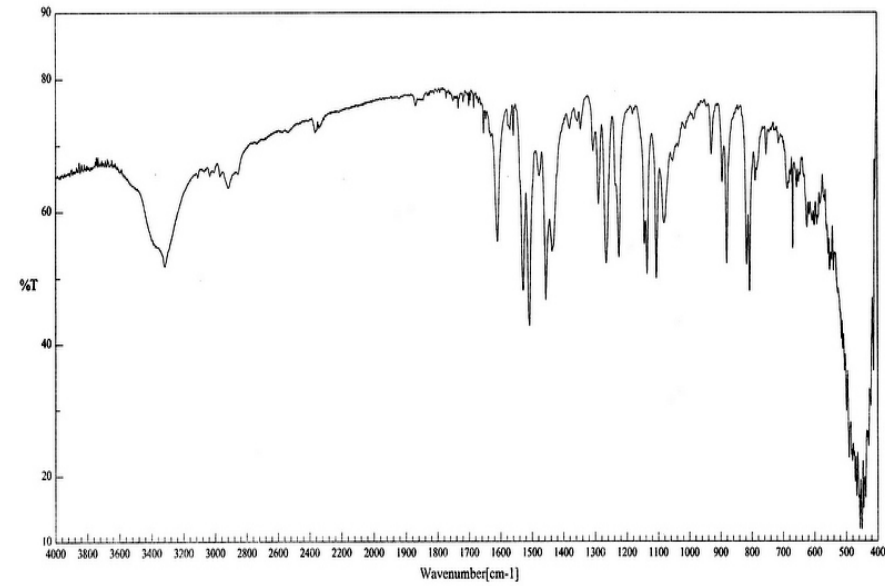
Şekil 3.5. Bileşik **1b**'nin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.6. Bileşik **1b**'nin ^{13}C -NMR spektrumu

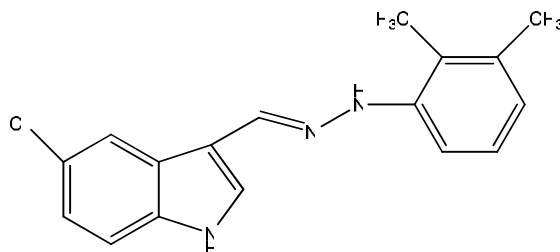


Şekil 3.7. Bileşik 1b'nin kütle spektrumu



Şekil 3.8. Bileşik 1b'nin IR spektrumu

3.2.3. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(2,3-dimetilfenil) hidrazon (1c)



179.6 mg (1 mmol) 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehitin 5 ml EtOH içindeki çözeltisine, 310.78 mg (1.8 mmol) 2,4-dimetilfenil hidrazin ile 4 g (4.88 mmol) sodyum asetatın 5 ml distile suda hazırlanan çözeltisi eklendi. Oluşan çökelekli karışım su banyosu içinde geri çeviren soğutucu altında 70-80 °C da 2 saat karıştırıldı. Sonunda çözelti soğutularak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı ve % 80.5 verimle 239.7 mg madde elde edildi. E.n 145-146 °C.

Elementel Analiz: C₁₇H₁₆N₃Cl

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	68.57	5.42	14.11
Analiz:	69.00	5.73	13.84

¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

2.12 (3H, s), 2.23 (3H, s), 6.60 (1H, d), 7.04 (1H, t), 7.18-7.21 (1H, dd), 7.26 (1H, dd), 7.45 (1H, d), 7.72 (1H, s, azometin-CH), 8.23 (1H, d), 8.35 (1H, s), 9.07 (1H, s, hidrazin-NH), 11.55 (1H, s, indol-NH)

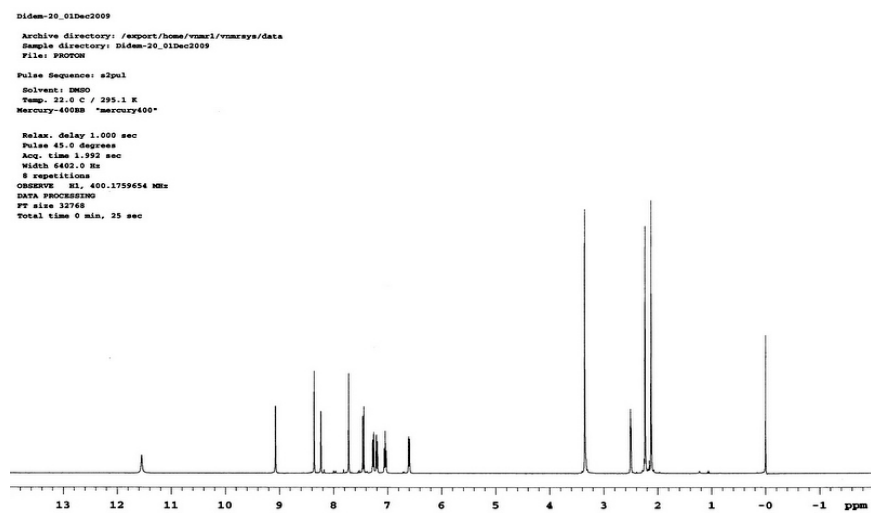
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

12.61, 20.16, 109.42, 112.51, 113.19, 118.56, 119.93, 120.56, 122.06, 124.34, 125.15, 125.85, 128.67, 135.37, 135.71, 136.05, 143.79 (azometin-C).

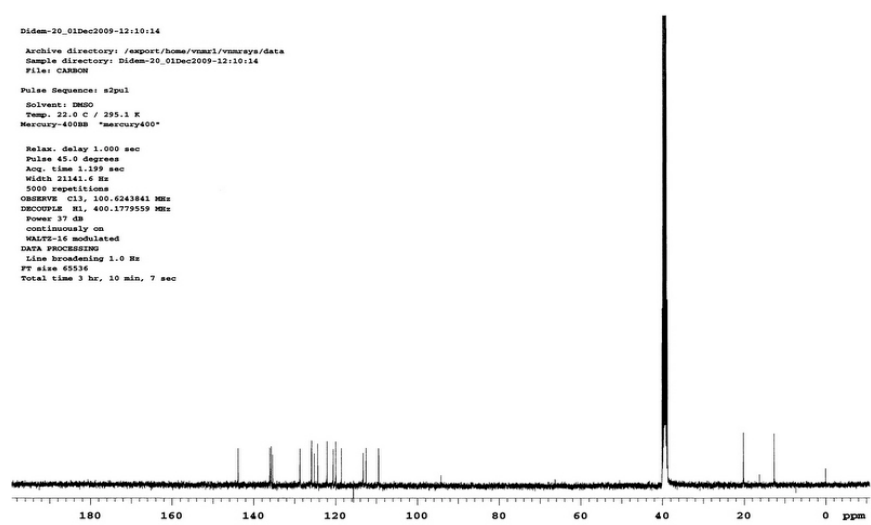
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 298 (M+1, %100), 300 (M+2)

IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} :

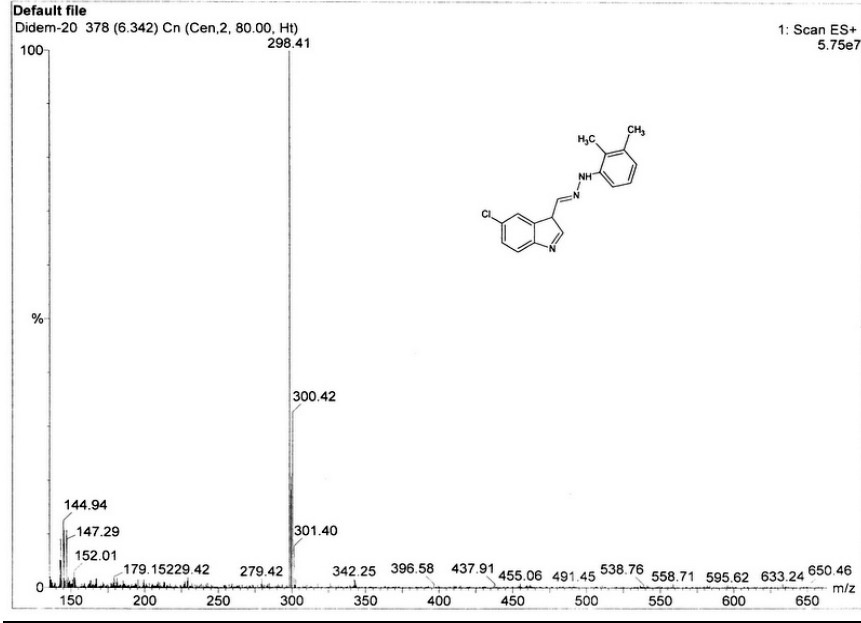
1582 C=N (azometin) gerilim bandı. 3410 NH, gerilim bandı.



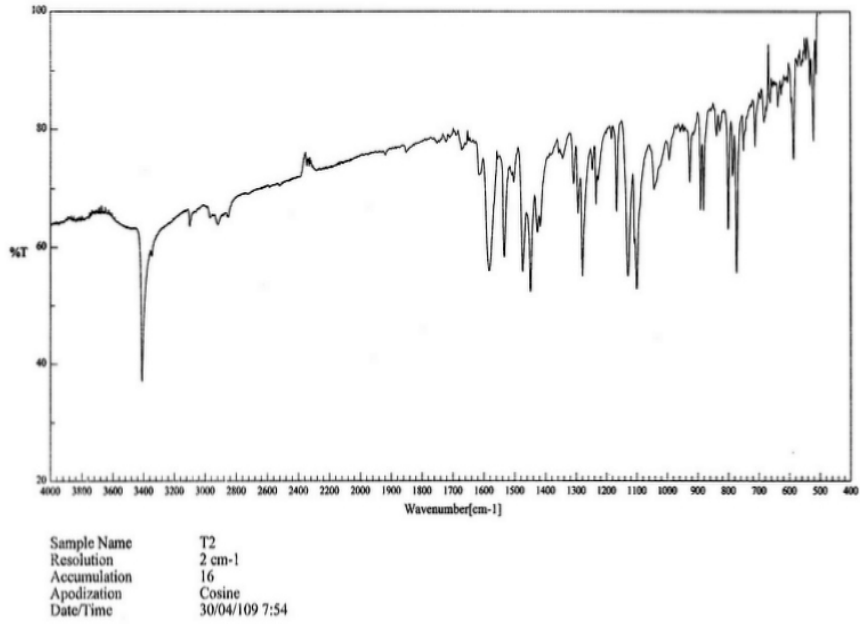
Şekil 3.9. Bileşik 1c'nin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.10. Bileşik 1c'nin ^{13}C -NMR spektrumu

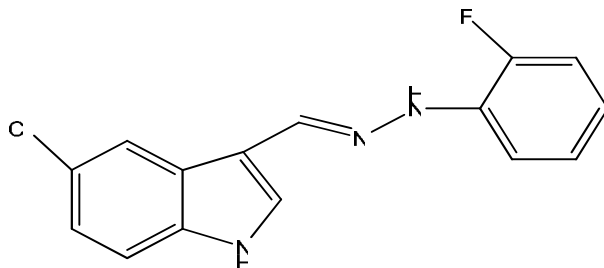


Şekil 3.11. Bileşik 1c'nin kütle spektrumu



Şekil 3.12. Bileşik 1c'nin IR spektrumu

3.2.4. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(2-floro fenil) hidrazon (1d)



179.6 mg (1 mmol) 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehitin 5 ml EtOH içindeki çözeltisine, 292.7 mg (1.8 mmol) 2-florofenil hidrazin ile 4 g (4.88 mmol) sodyum asetatın 5 ml distile suda hazırlanan çözeltisi eklendi. Oluşan çökelekli karışım su banyosu içinde geri çeviren soğutucu altında 70-80 °C da 4 saat karıştırıldı. Sonunda çözelti soğutulurak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı ve % 48 verimle 137.7 mg madde elde edildi. E.n 198-199 °C.

Elementel Analiz: C₁₅H₁₁N₃F Cl

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	62.62	3.85	14.60
Analiz:	62.70	3.96	14.11

¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

6.69-6.74 (1H, m), 7.10-7.18 (2H, m), 7.19 (1H, d), 7.22 (1H, d), 7.41-7.47(1H, m), 7.75 (1H, d), 8.22 (1H, s, azometin-CH), 8.34 (1H, s), 9.82 (1H, s, hidrazin-NH), 11.59 (1H, s, indol-NH).

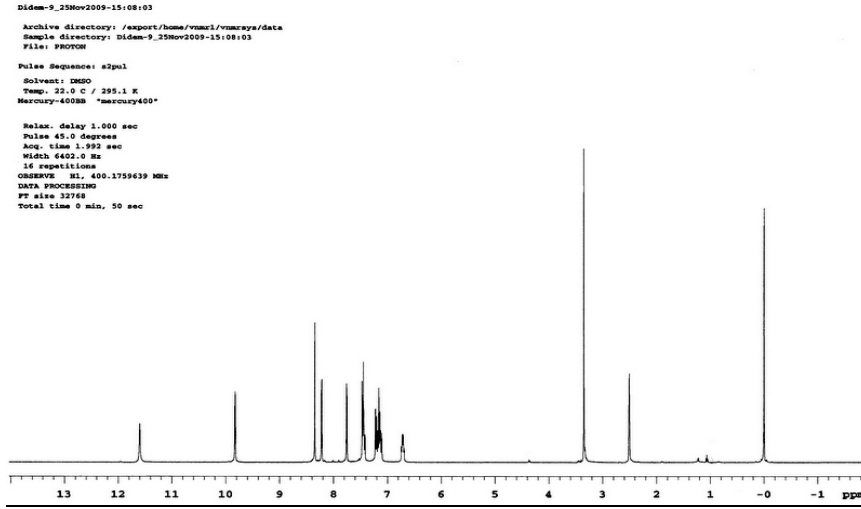
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

112.94, 113.51, 114.04, 115.50, 115.68, 118.09, 118.16, 121.31, 122.94, 125.27, 125.75, 125.86, 130.08, 134.84, 134.94, 136.16, 137.94 (azometin-C).

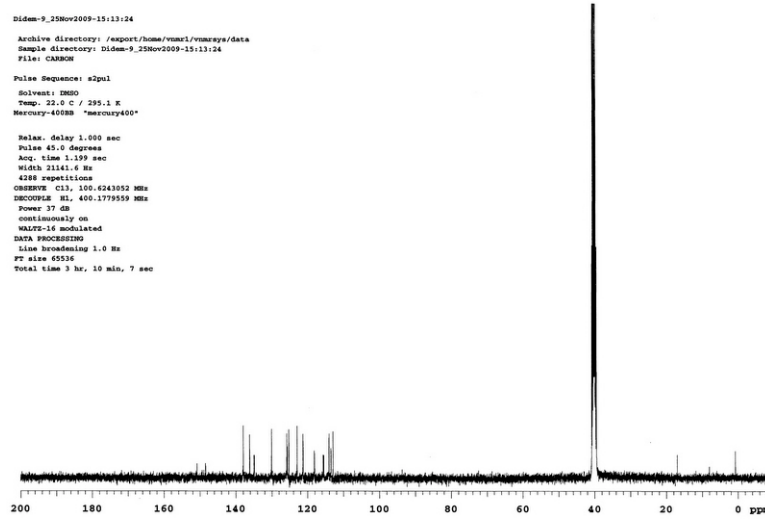
Kütle Spektromu m/z (ESI): 288 (M+1, %100), 290 (M+2)

IR Spektromu (KBr Disk) cm^{-1} :

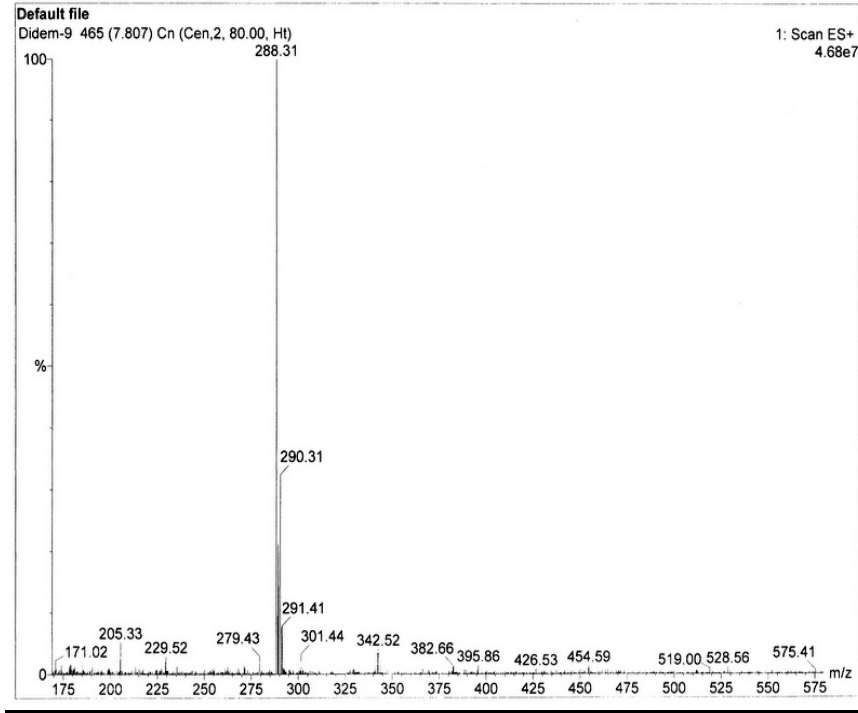
1622 C=N (azometin) gerilim bandı. 3751 NH, gerilim bandı.



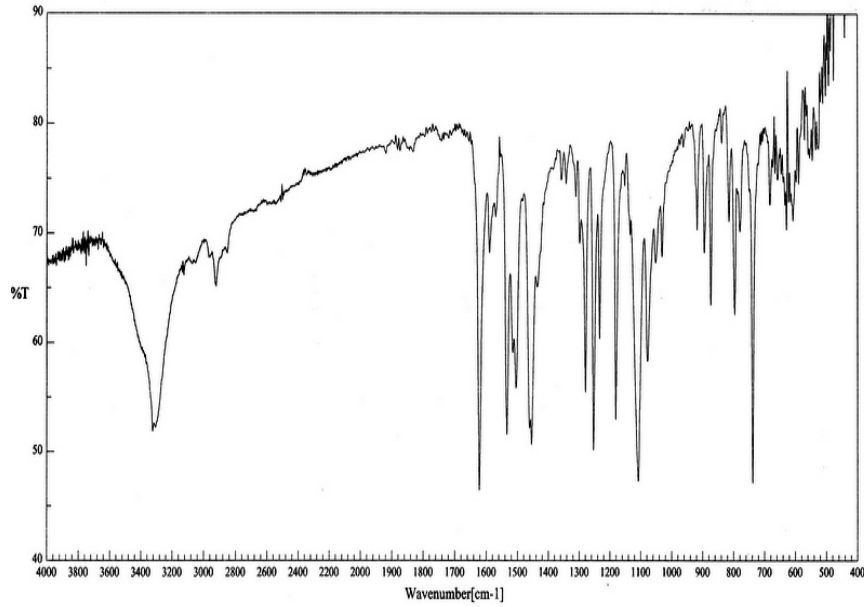
Şekil 3.13. Bileşik 1d'nin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.14. Bileşik 1d'nin ^{13}C -NMR spektrumu

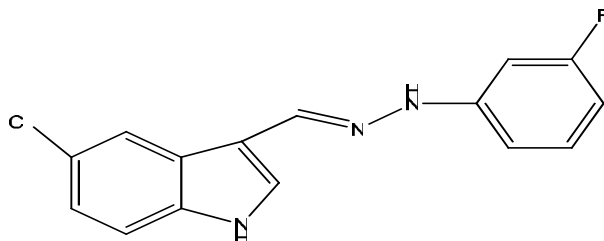


Şekil 3.15. Bileşik 1d'nin kütle spektrumu



Şekil 3.16. Bileşik 1d'nin IR spektrumu

3.2.5. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(3-floro fenil) hidrazon (1e)



179.6 mg (1 mmol) 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehitin 5 ml EtOH içindeki çözeltisine, 292.7 mg (1.8 mmol) 3-florofenil hidrazin ile 4 g (4.88 mmol) sodyum asetatın 5 ml distile suda hazırlanan çözeltisi eklendi. Oluşan çökelekli karışım su banyosu içinde geri çeviren soğutucu altında 70-80 °C da 4 saat karıştırıldı. Sonunda çözelti soğutulurak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı ve % 35.1 verimle 101 mg madde elde edildi. E.n 176-177 °C

Elementel Analiz: C₁₅H₁₁N₃F Cl

	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan:	62.62	3.85	14.60
Analiz:	62.71	3.85	13.37

¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

6.48 (1H, t), 6.79 (2H, d), 7.23 (2H, t), 7.46 (1H, d), 7.77 (1H, s, azometin-CH), 8.16 (2H, d), 10.18 (1H, s, hidrazin-NH), 11.59 (1H, s, indol-NH).

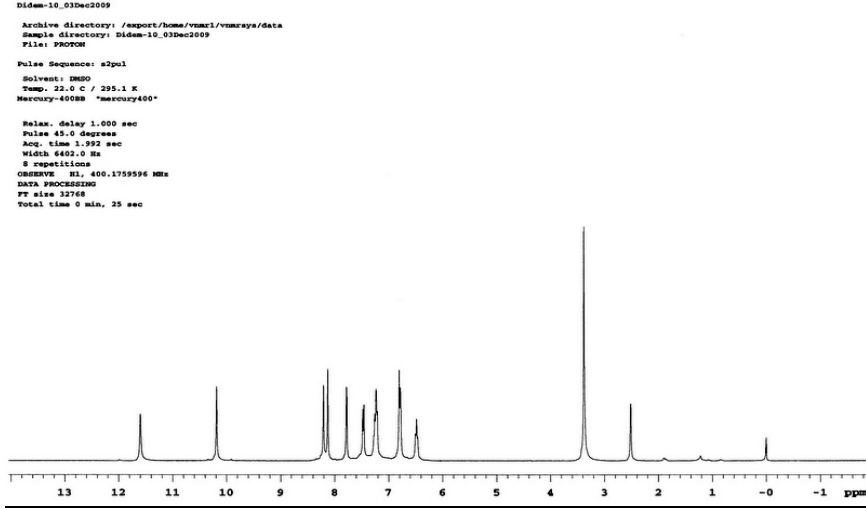
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

98.17, 98.43, 104.25, 104.46, 108.17, 112.83, 114.05, 121.24, 122.93, 125.26, 125.84, 130.09, 131.32, 131.42, 136.14, 136.22, 148.57, 148.68 (azometin-C), 162.94, 165.32

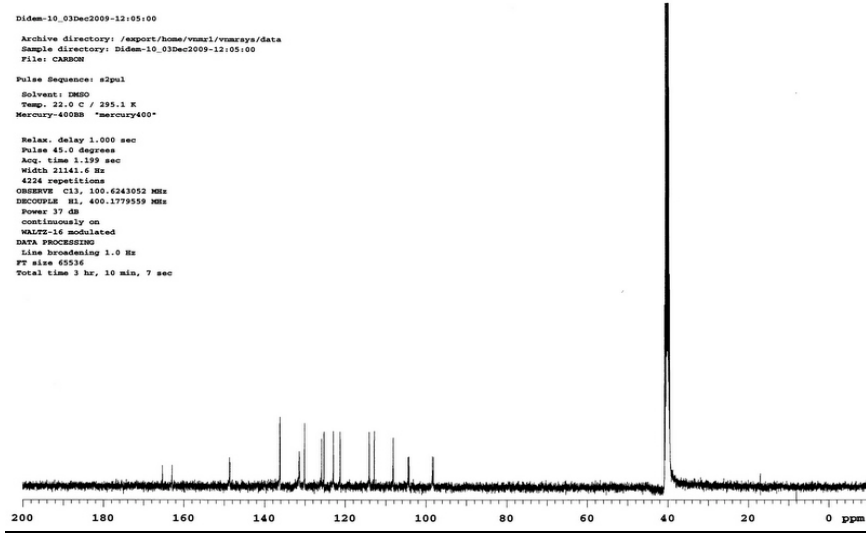
Kütle Spektromu m/z (ESI): 288 (M+1, %100), 290 (M+2)

IR Spektromu (KBr Disk) cm^{-1} :

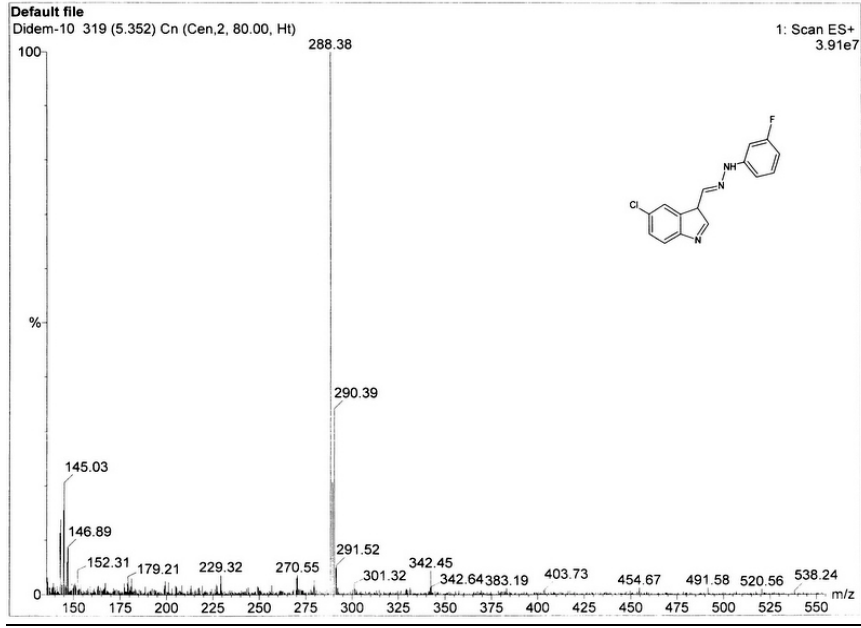
1616 C=N (azometin) gerilim bandı. 3675 NH, gerilim bandı.



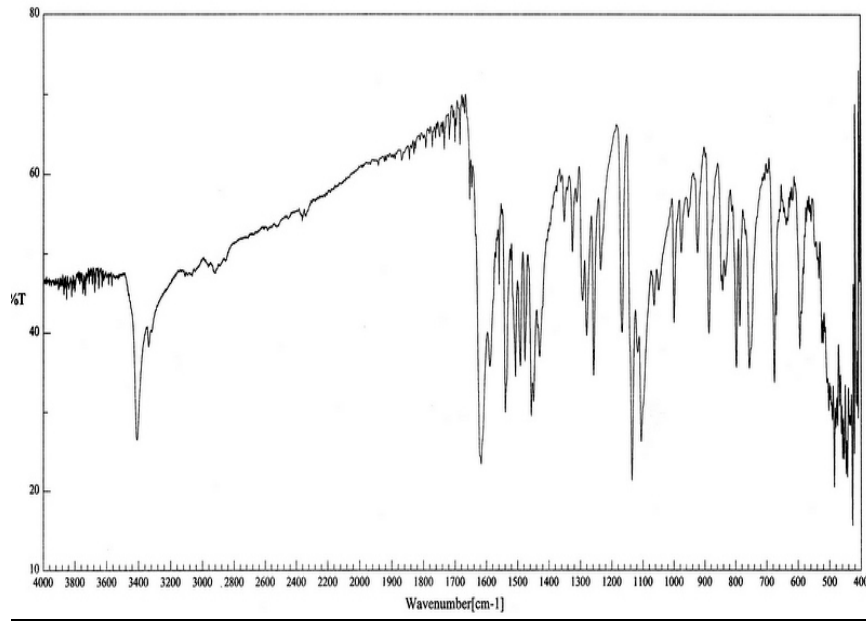
Şekil 3.17. Bileşik 1e'nin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.18. Bileşik 1e'nin ^{13}C -NMR spektrumu

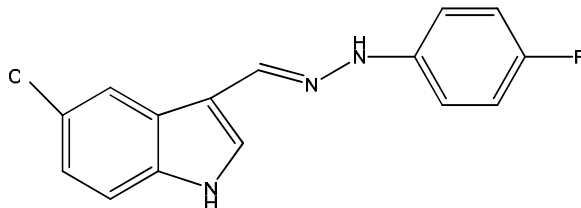


Şekil 3.19. Bileşik 1e'nin kütle spektrumu



Şekil 3.20.Bileşik 1e'nin IR spektrumu

3.2.6. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(4-floro fenil) hidrazon (1f)



179.6 mg (1 mmol) 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehitin 5 ml EtOH içindeki çözeltisine, 292.7 mg (1.8 mmol) 4-florofenil hidrazin ile 4 g (4.88 mmol) sodyum asetatın 5 ml distile suda hazırlanan çözeltisi eklendi. Oluşan çökelekli karışım su banyosu içinde geri çeviren soğutucu altında 70-80 °C da 1 saat karıştırıldı. Sonunda çözelti soğutulurak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı ve % 35.4 verimle 101.9 mg madde elde edildi. E.n 153-154 °C.

Elementel Analiz: C₁₅H₁₁N₃F Cl

	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan:	62.62	3.85	14.60
Analiz:	62.46	3.70	14.44

¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

6.95-6.98 (2H, m), 7.04-7.09 (2H, t), 7.15-7.18 (1H, dd), 7.42 (1H, s), 7.70 (1H, d), 8.06 (1H, s, azometin-CH), 8.17 (1H, d), 9.85 (1H, s, hidrazin-NH), 11.51 (1H, s, indol-NH).

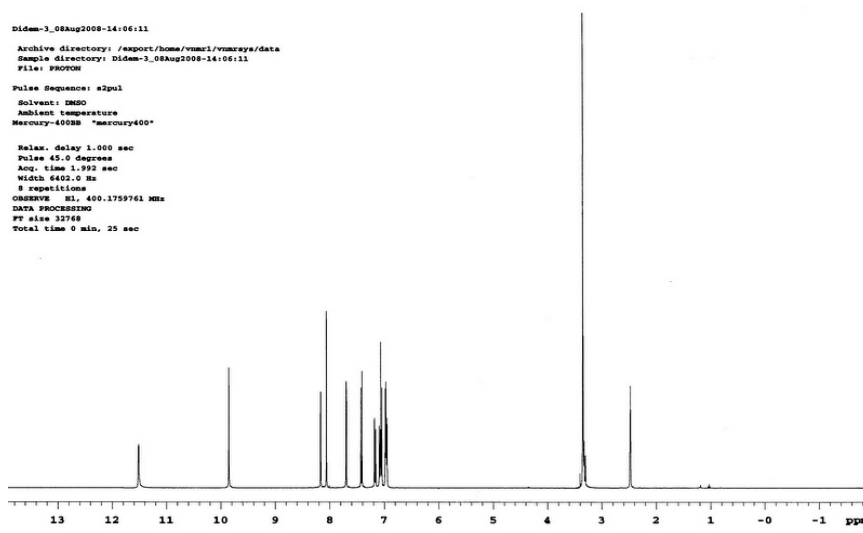
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

112.75, 112.81, 113.06, 113.99, 116.21 116.43, 121.25, 122.87, 125.14, 125.85, 129.58, 135.29, 136.12, 143.47 (azometin-C), 154.82, 157.13

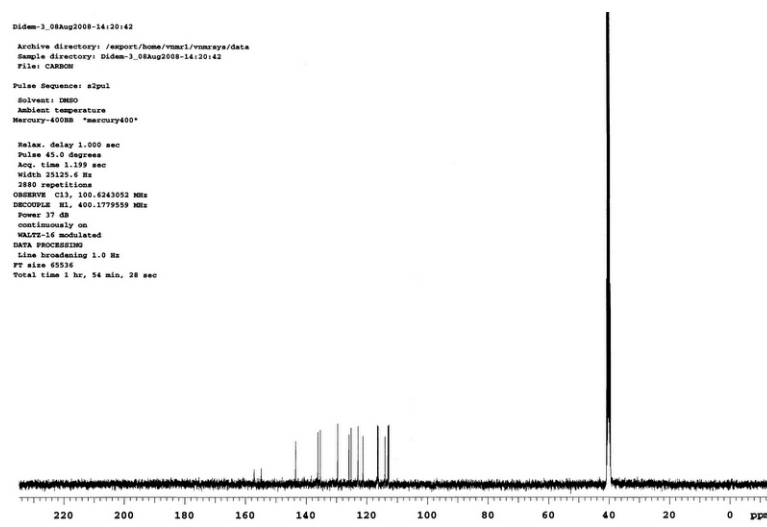
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 288 (M+1, %100), 290 (M+2)

IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} :

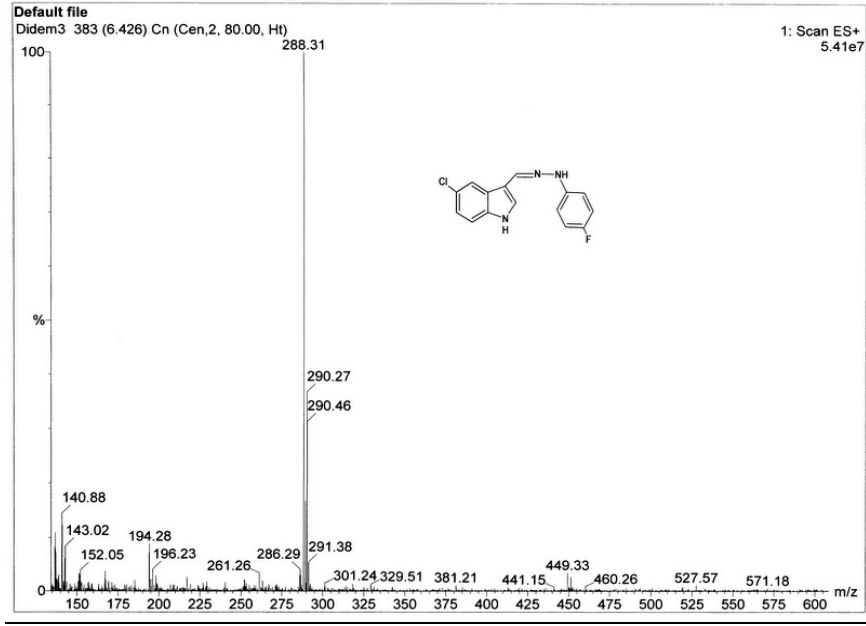
1507 C=N (azometin) gerilim bandı. 3462 NH, gerilim bandı.



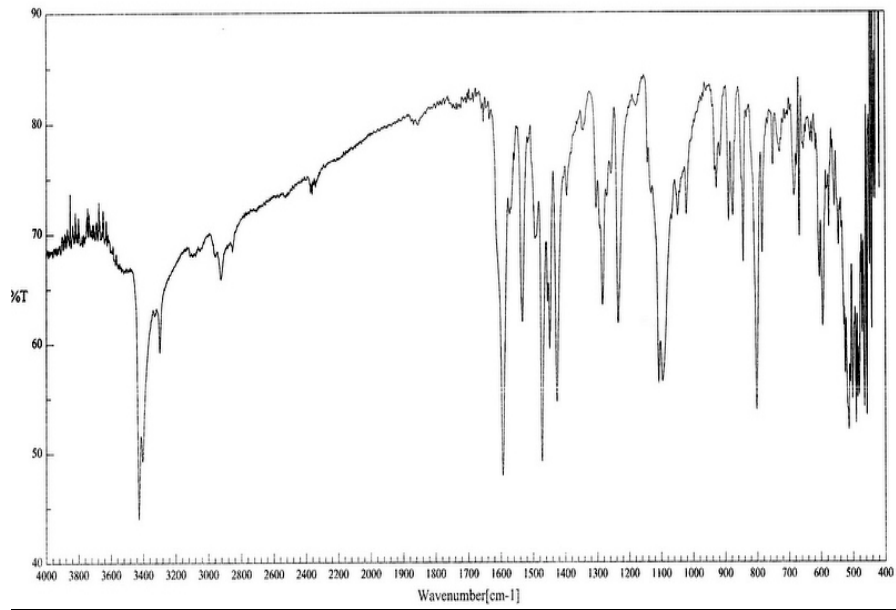
Şekil 3.21. Bileşik **1f**'nin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.22. Bileşik **1f**'nin ^{13}C -NMR spektrumu

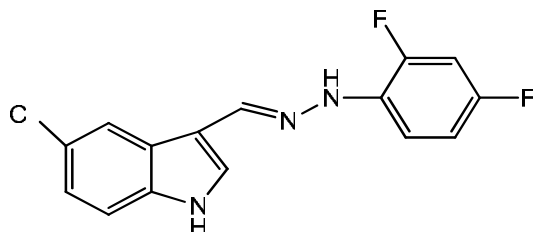


Şekil 3.23. Bileşik 1f 'nin kütle spektrumu



Şekil 3.24. Bileşik 1f'nin IR spektrumu

3.2.7. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(2,4-diflorofenil) hidrazon (1g)



179.6 mg (1 mmol) 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehitin 5 ml EtOH içindeki çözeltisine, 325.0 mg (1.8 mmol) 2,4-diflorofenil hidrazin hidroklorür ile 4 g (4.88 mmol) sodyum asetatın 5 ml distile suda hazırlanan çözeltisi eklendi. Oluşan çökelekli karışım su banyosu içinde geri çeviren soğutucu altında 70-80 °C da 3 saat karıştırıldı. Sonunda çözelti soğutularak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı ve % 87.2 verimle 266.6 mg madde elde edildi. E.n 128-129 °C.

Elementel Analiz: C₁₅H₁₀N₃F₂Cl

	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan:	58.93	3.30	13.75
Analiz:	58.87	3.07	13.35

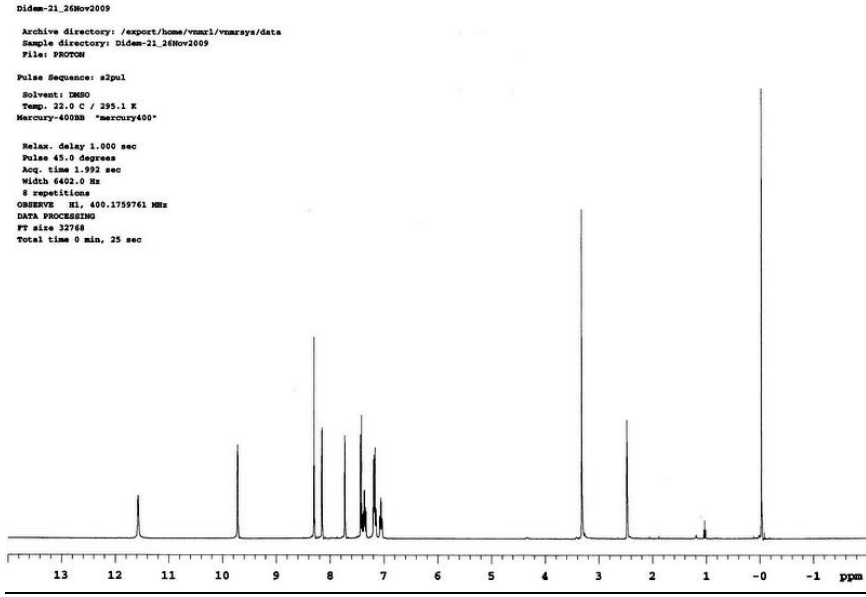
¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

7.03-7.08 (1H, m), 7.14-7.20 (2H, m), 7.33-7.43 (2H, m), 7.72 (1H, d), 8.15 (1H, d), 8.30 (1H, s), 9.72 (1H, s, hidrazin-NH), 11.57 (1H, s, indol- NH).

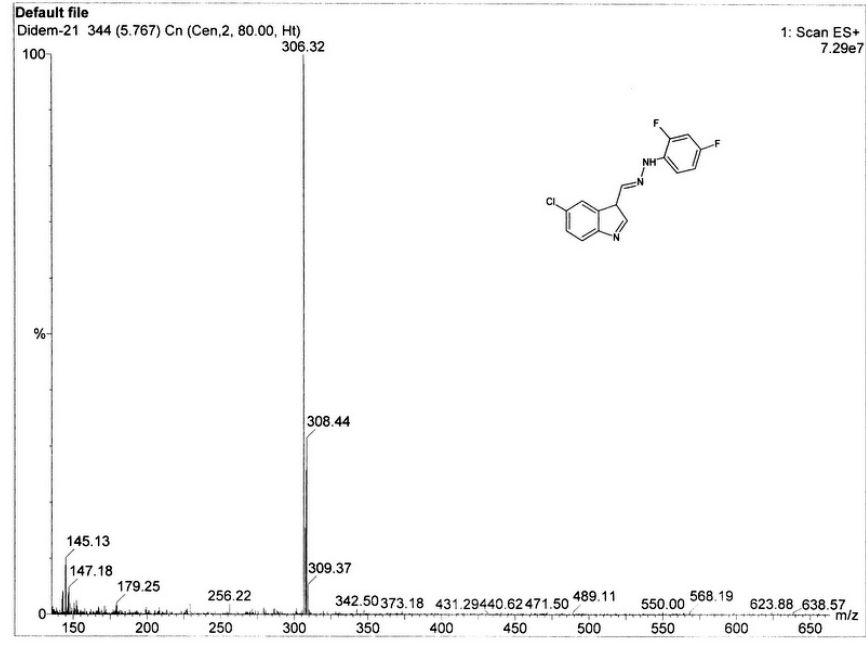
Kütle Spektrumu m/z (**ESI**): 306 (M+1, %100), 308 (M+3)

IR Spektrumu (KBr Disk) cm⁻¹:

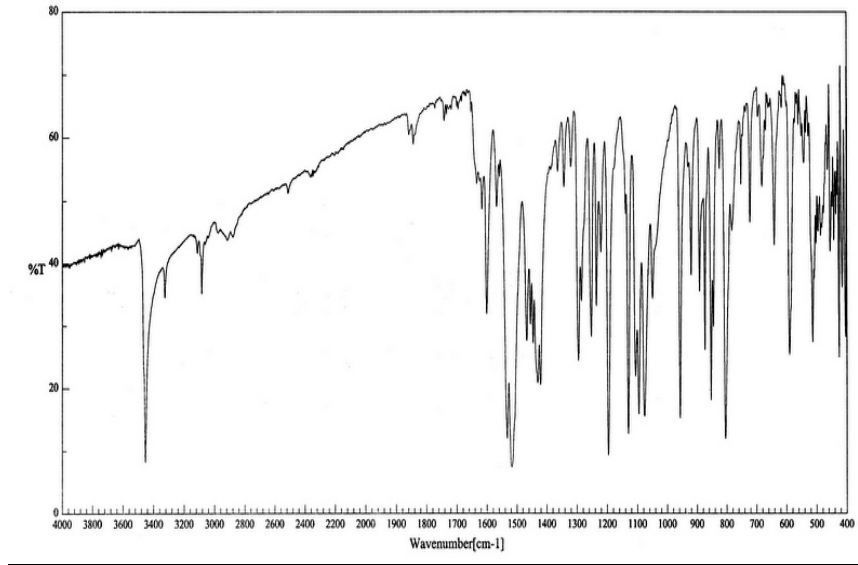
1517 C=N (azometin) gerilim bandı. 3452 NH, gerilim bandı.



Şekil 3.25. Bileşik 1g'nin ^1H -NMR spektrumu

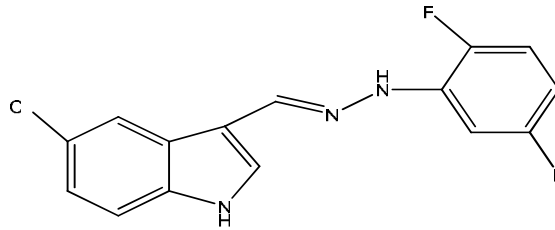


Şekil 3.26. Bileşik 1g'nin kütle spektrumu



Şekil 3.27. Bileşik 1g'nin IR spektrumu

3.2.8. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(2,5-diflorofenil) hidrazon (1h)



179.6 mg (1 mmol) 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehitin 5 ml EtOH içindeki çözeltisine, 259.4 mg (1.8 mmol) 2,5-diflorofenil hidrazin ile 4 g (4.88 mmol) sodyum asetatın 5 ml distile suda hazırlanan çözeltisi eklendi. Oluşan çökelekli karışım su banyosu içinde geri çeviren soğutucu altında 70-80 °C da 5 saat karıştırıldı. Sonunda çözelti soğutularak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı ve % 10.4 verimle 31.8 mg madde elde edildi. E.n 152-153 °C.

Elementel Analiz: C₁₅H₁₀N₃F₂Cl

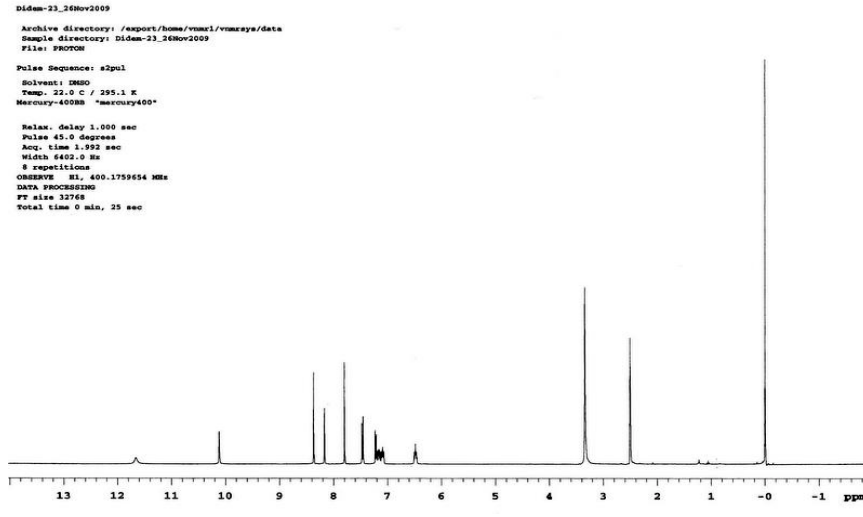
	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan:	58.93	3.30	13.75
Analiz:	58.78	3.17	13.48

¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

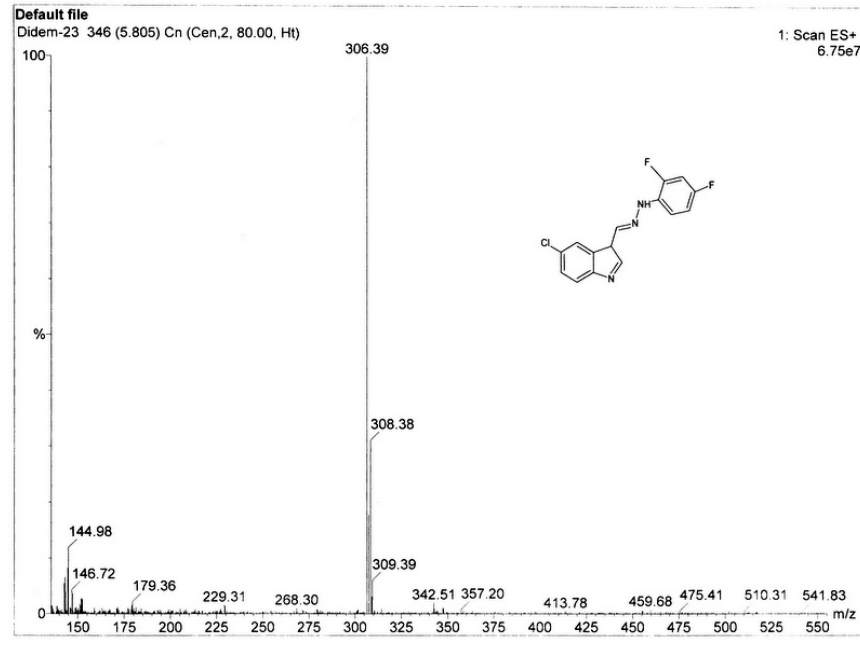
6.40-6.45 (1H, m), 6.57-6.60 (2H, dd), 7.20-7.23 (1H, dd), 7.47 (1H, d), 7.81 (1H, s, azometin-CH), 8.14 (1H, d), 9.78 (1H, s, hidrazin-NH), 10.40 (1H, s, indol-NH), 11.64 (1H, s, indolamin).

Kütle Spektrumu m/z (ESI): 306 (M+1, %100), 308 (M+3)**IR Spektrumu** (KBr Disk) cm⁻¹:

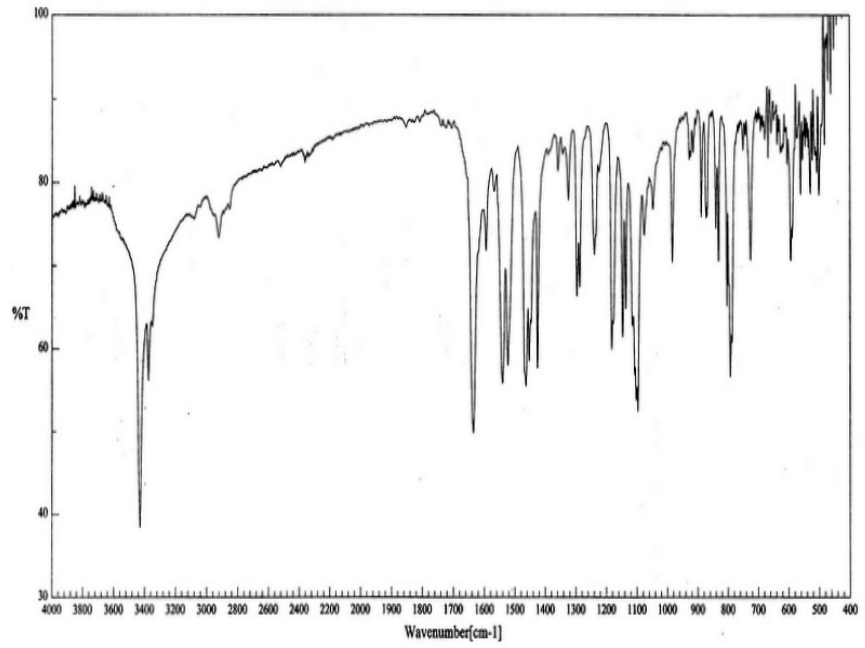
1517 C=N (azometin) gerilim bandı. 3407 NH, gerilim bandı.



Şekil 3.28. Bileşik **1h**'nin ¹H-NMR spektrumu

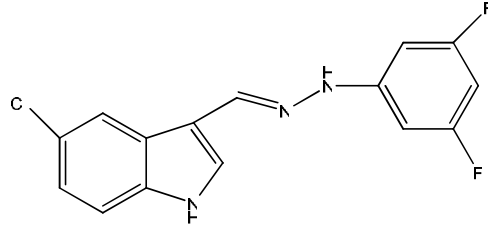


Şekil 3.29. Bileşik 1h'nin kütle spektrumu



Şekil 3.30. Bileşik 1h'nin IR spektrumu

3.2.9. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(3,5-diflorofenil) hidrazon (1i)



179.6 mg (1 mmol) 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehitin 5 ml EtOH içindeki çözeltisine, 325.0 mg (1.8 mmol) 3,5-diflorofenil hidrazin hidroklorür ile 4 g (4.88 mmol) sodyum asetatın 5 ml distile suda hazırlanan çözeltisi eklendi. Oluşan çökelekli karışım su banyosu içinde geri çeviren soğutucu altında 70-80 °C da 5 saat karıştırıldı. Sonunda çözelti soğutularak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı ve % 90 verimle 275.1 mg madde elde edildi. E.n 159-160 °C.

Elementel Analiz: C₁₅H₁₀N₃F₂Cl

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	58.93	3.30	13.75
Analiz:	59.12	2.98	13.47

¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

6.48 (1H, m), 7.07-7.23 (3H, m), 7.46 (1H, d), 7.79 (1H, s), 8.17 (1H, d), 8.36 (1H, s), 10.12 (1H, s, hidrazin-NH), 11.66 (1H, s, indolamin).

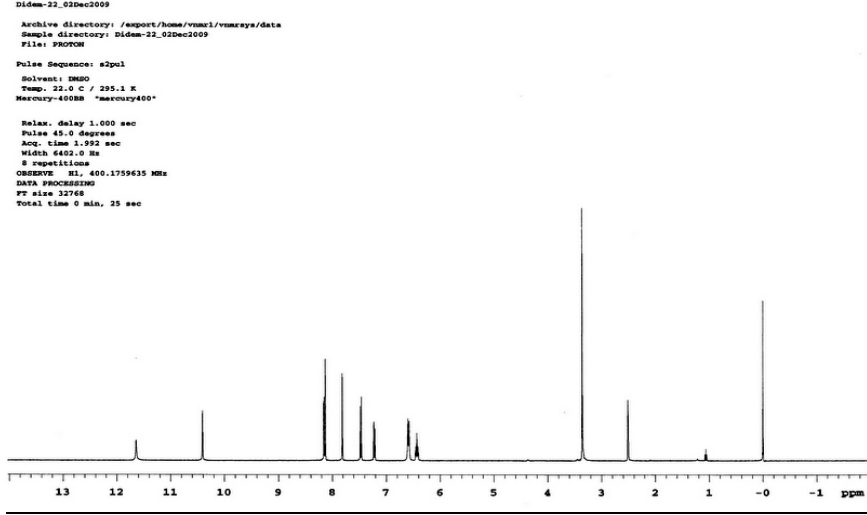
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

92.49, 92.76, 93.02, 94.48, 94.76, 112.51, 114.13, 116.40, 121.17, 123.01, 125.39, 125.79, 130.68, 136.15, 137.33, 148.38, 148.74, 148.98, 149.14, 149.27 (azometin-C), 150.69, 153.38, 162.92, 163.09, 165.33, 165.49

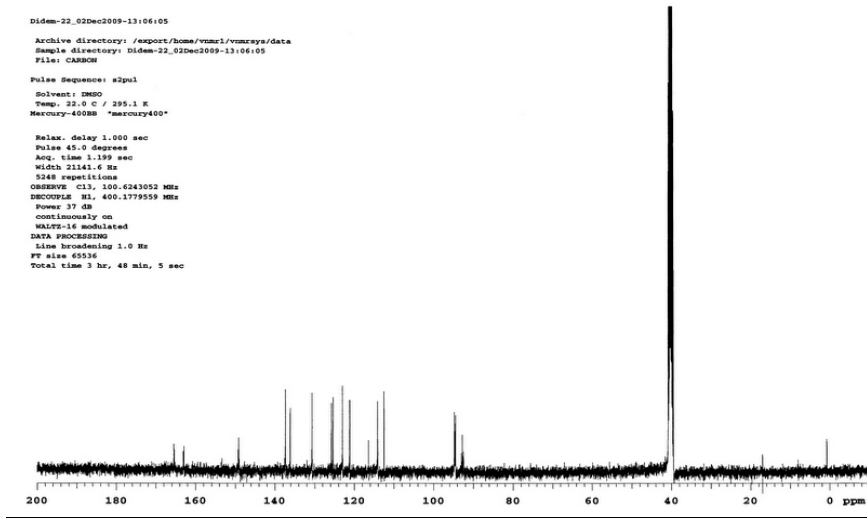
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 306 (M+1, %100), 308 (M+3)

IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} :

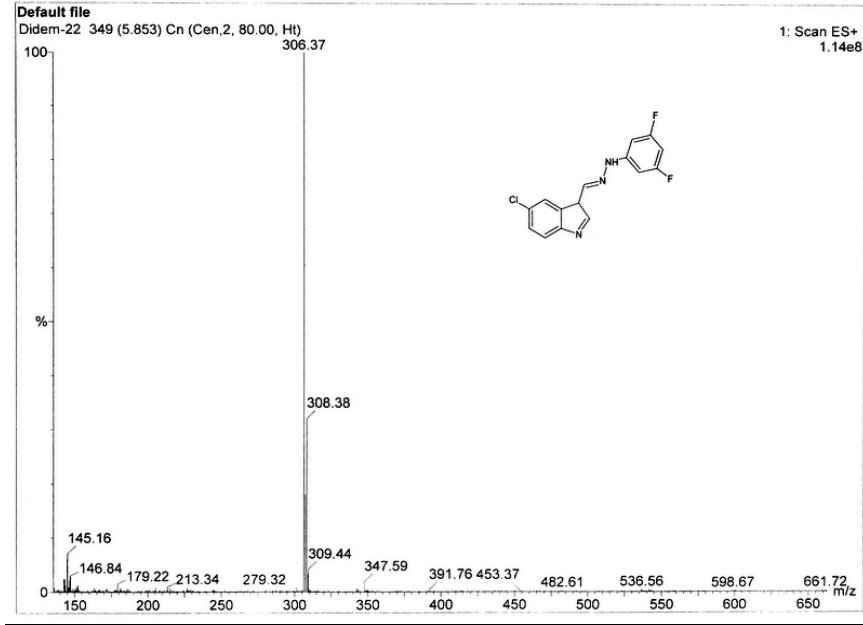
1635 C=N (azometin) gerilim bandı. 3428 NH, gerilim bandı.



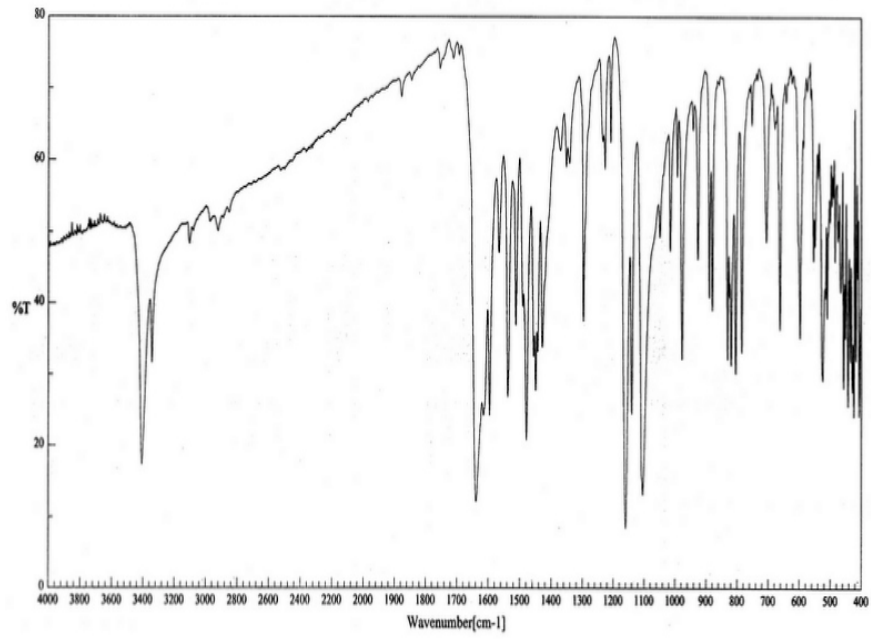
Şekil 3.31. Bileşik 1i'nin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.32. Bileşik 1i'nin ^{13}C -NMR spektrumu

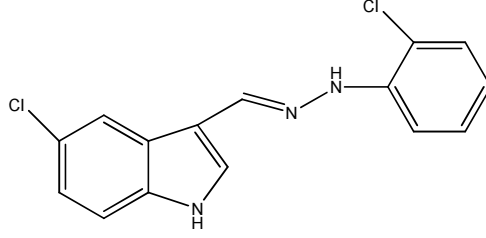


Şekil 3.33. Bileşik 1i'nin kütle spektrumu



Şekil 3.34. Bileşik 1i'nin IR spektrumu

3.2.10. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(2-klorofenil) hidrazon (1j)



179.6 mg (1 mmol) 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehitin 5 ml EtOH içindeki çözeltisine, 322.3 mg (1.8 mmol) 2-klorofenil hidrazin ile 4 g (4.88 mmol) sodyum asetatın 5 ml distile suda hazırlanan çözeltisi eklendi. Oluşan çökelekli karışım su banyosu içinde geri çeviren soğutucu altında 70-80 °C da 2 saat karıştırıldı. Sonunda çözelti soğutularak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı ve % 62.3 verimle 189.4 mg madde elde edildi. E.n 144-145 °C.

Elementel Analiz: C₁₅H₁₁N₃Cl₂

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	59.23	3.65	13.81
Analiz:	59.29	3.42	13.67

¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

6.73-6.77 (1H, t), 7.20-7.23 (1H, dd), 7.31 (2H, t), 7.48 (2H,t), 7.77 (1H, s, azometin-CH), 8.20 (1H, d), 8.48 (1H, s), 9.48 (1H, s, hidrazin-NH), 11.64 (1H, s, indol-NH).

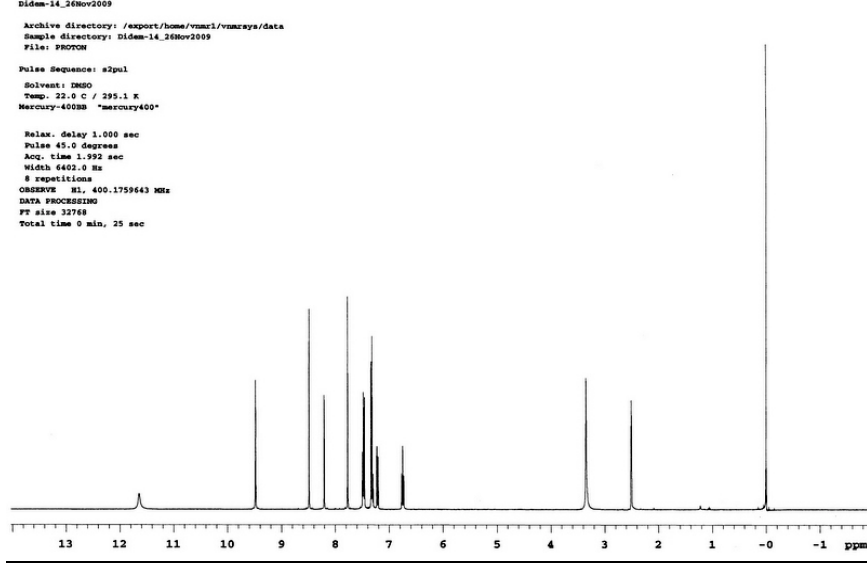
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

112.78, 113.59, 114.10, 116.40, 119.23, 121.23, 122.99, 125.34, 125.85, 128.80, 130.01, 130.38, 136.17, 138.96, 142.63 (azometin-C)

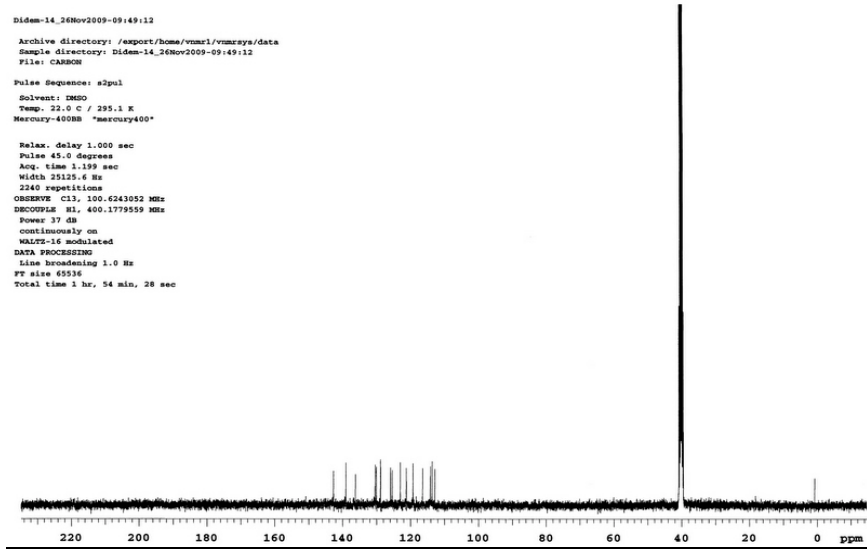
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 304 (M⁺, %100), 306(M+2).

IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} :

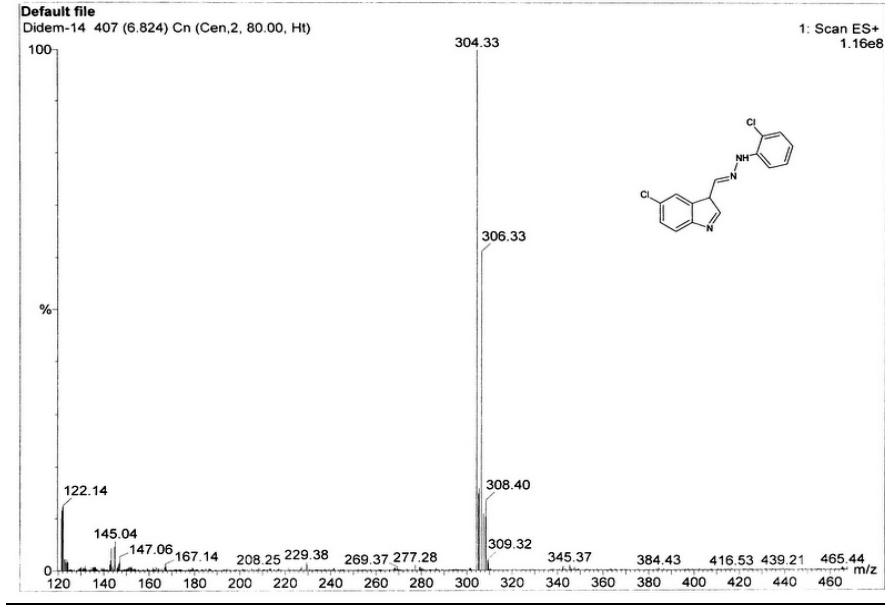
1598 C=N (azometin) gerilim bandı. 3323 NH, gerilim bandı.



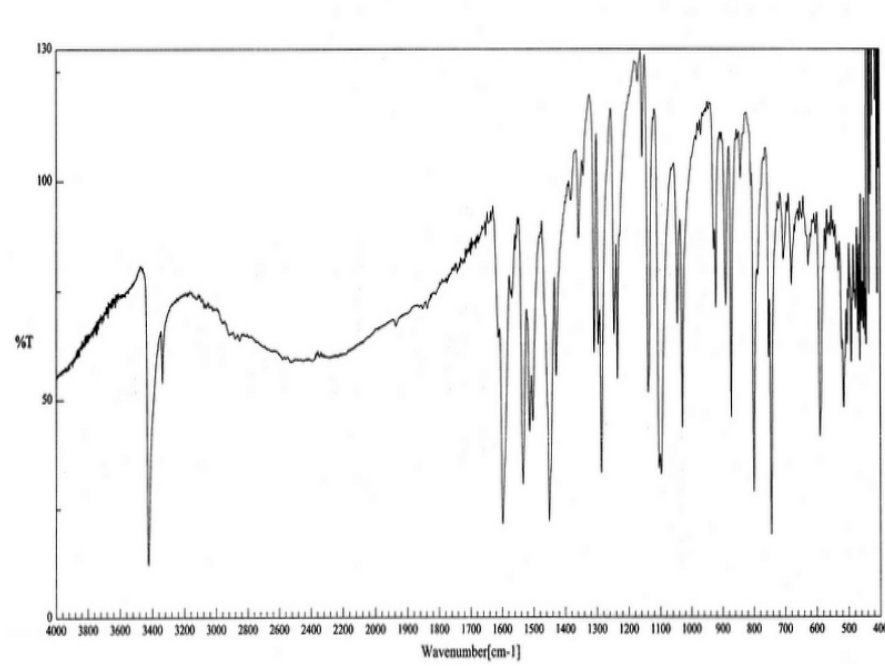
Şekil 3.35. Bileşik 1j'nin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.36. Bileşik 1j'nin ^{13}C -NMR spektrumu

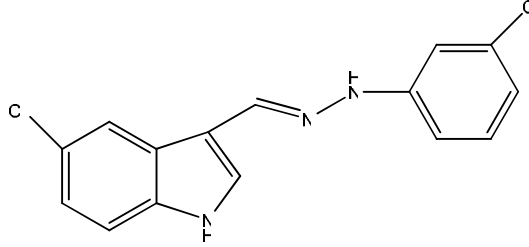


Şekil 3.37. Bileşik 1j'nin kütle spektrumu



Şekil 3.38. Bileşik 1j'nin IR spektrumu

3.2.11. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(3-klorofenil) hidrazon (1k)



179.6 mg (1 mmol) 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehitin 5 ml EtOH içindeki çözeltisine, 322.3 mg (1.8 mmol) 3-klorofenil hidrazin ile 4 g (4.88 mmol) sodyum asetatın 5 ml distile suda hazırlanan çözeltisi eklendi. Oluşan çökelekli karışım su banyosu içinde geri çeviren soğutucu altında 70-80 °C da 2 saat karıştırıldı. Sonunda çözelti soğutularak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yönteme göre reaksiyon tamamlandı ve % 57.2 verimle 174.1 mg madde elde edildi. E.n 123-124 °C.

Elementel Analiz: C₁₅H₁₁N₃Cl₂

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	59.23	3.65	13.81
Analiz:	59.29	3.80	13.52

¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

6.69-6.72 (1H, d), 6.87-6.90 (1H, d), 7.02 (1H, t), 7.17-7.23 (2H, m), 7.42-7.44 (1H, d), 7.77 (1H, d), 8.09 (1H, s, azometin-CH), 8.16 (1H, d), 10.16 (1H, s, hidrazin-NH), 11.59 (1H, s, indol-NH).

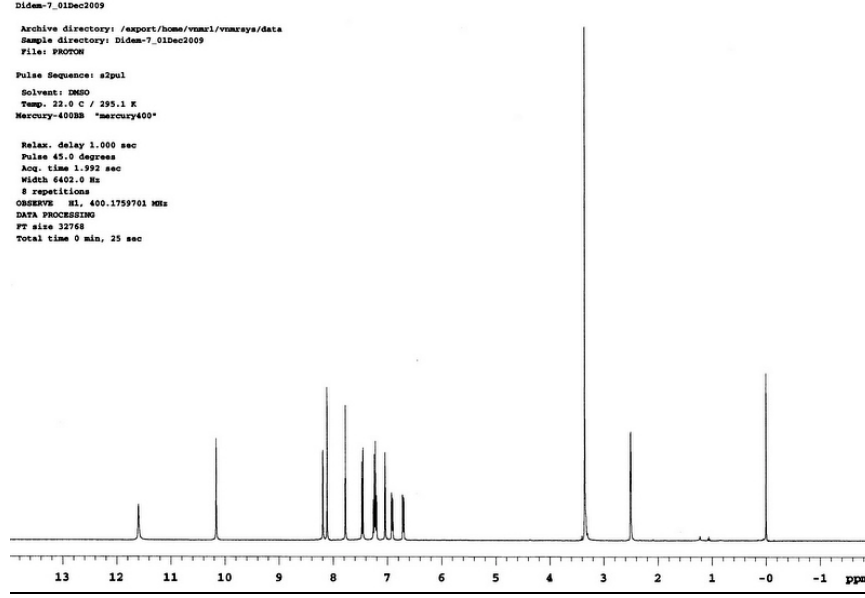
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

110.69, 111.27, 112.83, 114.09, 117.68, 121.27, 122.96, 125.30, 125.86, 130.16, 131.46, 134.54, 136.15, 136.43, 148.08 (azometin-C)

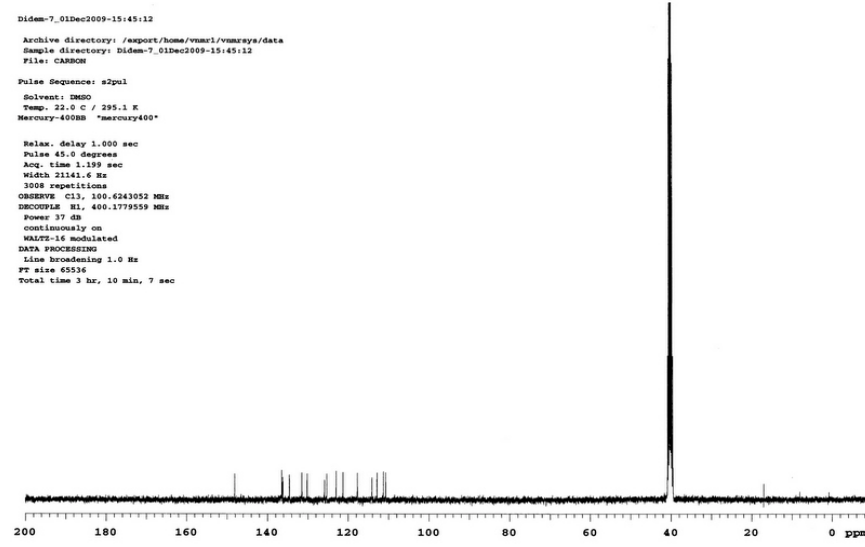
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 304 (M⁺, %100), 306(M+2).

IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} :

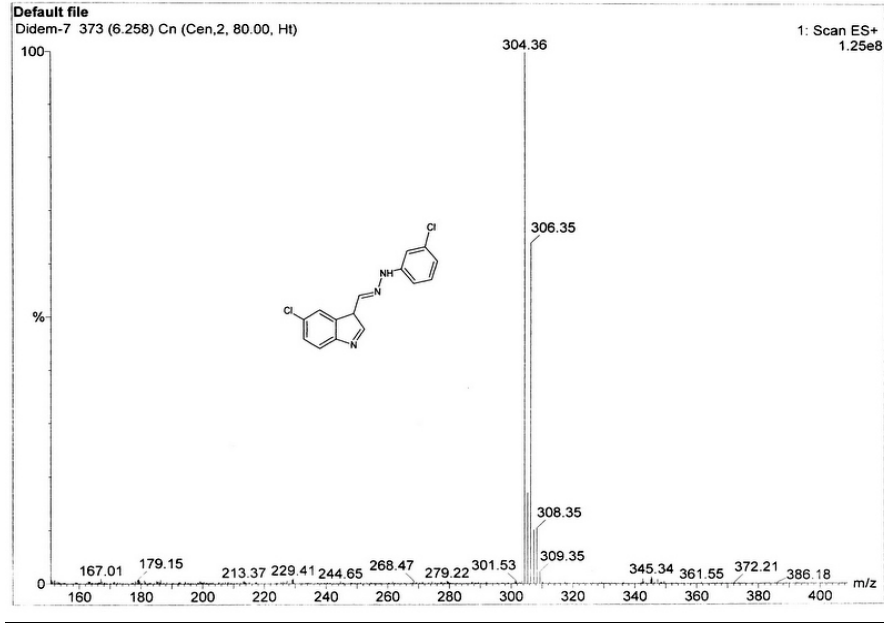
1594 C=N (azometin) gerilim bandı. 3444 NH, gerilim bandı.



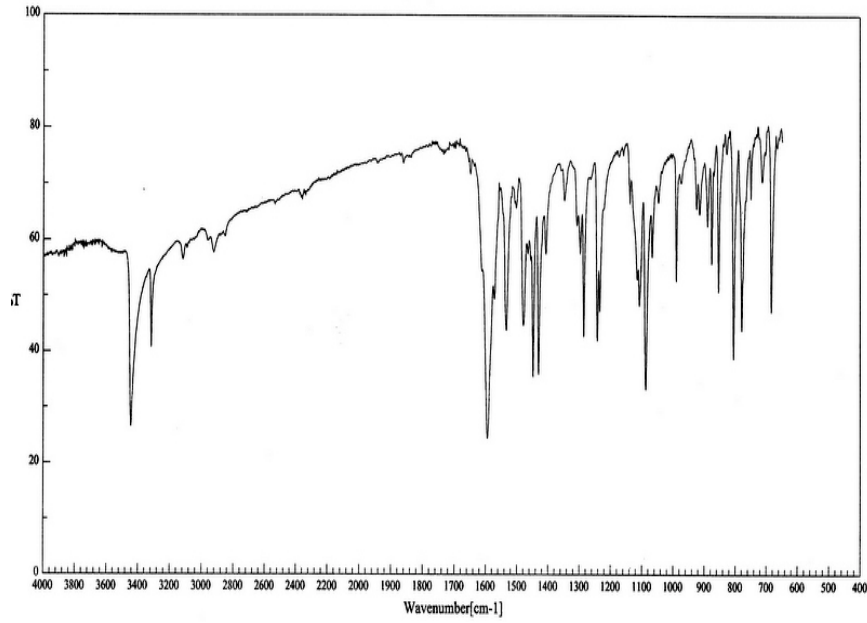
Şekil 3.39. Bileşik 1k'nın ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.40. Bileşik 1k'nın ^{13}C -NMR spektrumu

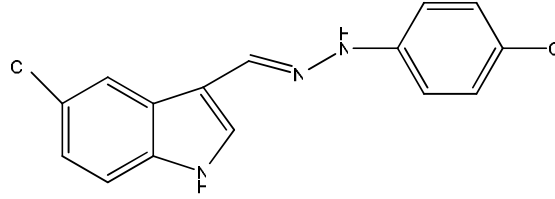


Şekil 3.41. Bileşik 1k'nın kütle spektrumu



Şekil 3.42. Bileşik 1k'nın IR spektrumu

3.2.12. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(4-klorofenil) hidrazon (11)



179.6 mg (1 mmol) 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehitin 5 ml EtOH içindeki çözeltisine, 322.3 mg (1.8 mmol) 4-klorofenil hidrazin ile 4 g (4.88 mmol) sodyum asetatın 5 ml distile suda hazırlanan çözeltisi eklendi. Oluşan çökelekli karışım su banyosu içinde geri çeviren soğutucu altında 70-80 °C da 2 saat karıştırıldı. Sonunda çözelti soğutularak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı ve % 76.8 verimle 233.7 mg madde elde edildi. E.n 185-186 °C.

Elementel Analiz: C₁₅H₁₁N₃Cl₂

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	59.23	3.65	13.81
Analiz:	59.03	3.41	13.62

¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

7.00 (2H, m), 7.18-7.21 (3H, dd), 7.25-7.28 (2H, d), 7.45 (1H, d), 7.75 (1H, s), 8.10 (1H, s, azometin-CH), 8.18 (1H, d), 10.06 (1H, s, hidrazin-NH), 11.58 (1H, s, indol-NH).

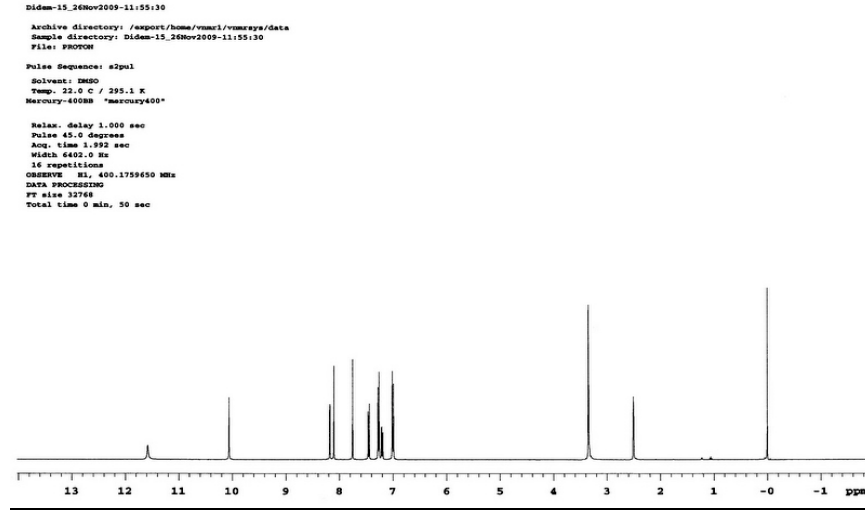
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

112.11, 112.52, 113.24, 120.42, 120.67, 122.14, 124.42, 125.03, 128.82, 129.14, 135.20, 135.34, 144.78 (azometin-C)

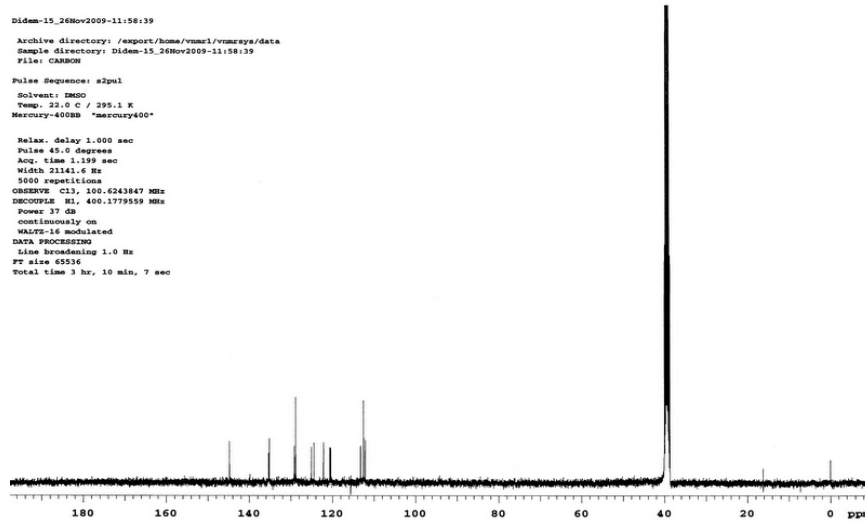
Kütle Spektrumu m/z (**ESI**): 304 (M⁺, %100), 306(M+2).

IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} :

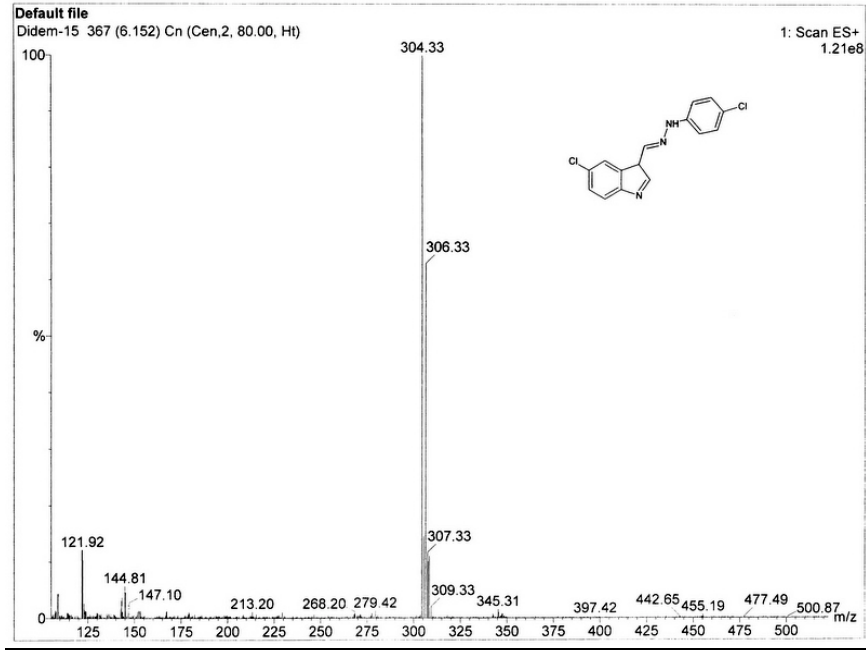
1595 $\text{C}=\text{N}$ (azometin) gerilim bandı. 3448 NH , gerilim bandı.



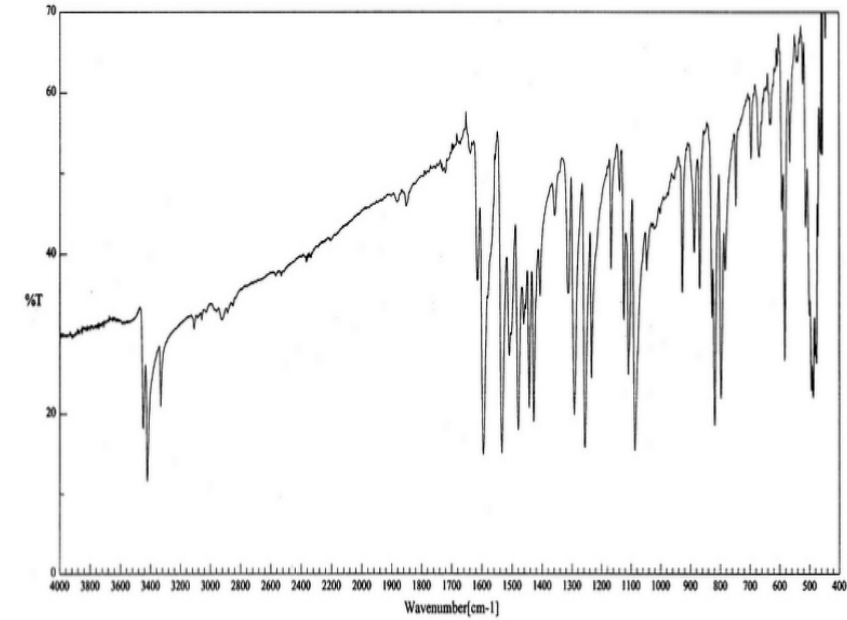
Şekil 3.43. Bileşik 1I'nin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.44. Bileşik 1I'nin ^{13}C -NMR spektrumu

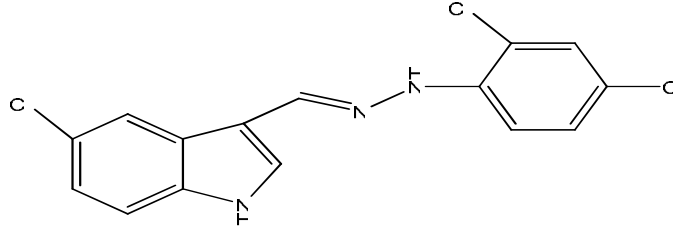


Şekil 3.45. Bileşik 11'nin kütle spektrumu



Şekil 3.46. Bileşik 11'nin IR spektrumu

3.2.13. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(2,4-diklorofenil) hidrazon (1m)



179.6 mg (1 mmol) 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehitin 5 ml EtOH içindeki çözeltisine, 384.3 mg (1.8 mmol) 2,4-diklorofenil hidrazin ile 4 g (4.88 mmol) sodyum asetatın 5 ml distile suda hazırlanan çözeltisi eklendi. Oluşan çökelekli karışım su banyosu içinde geri çeviren soğutucu altında 70-80 °C da 2 saat karıştırıldı. Sonunda çözelti soğutularak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı ve % 57 verimle 214.0 mg madde elde edildi. E.n 197-198 °C.

Elementel Analiz: C₁₅H₁₀N₃Cl₃

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	53.20	2.98	12.42
Analiz:	53.34	2.82	12.12

¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

7.20-7.23 (1H, dd), 7.37-7.48 (4H, m), 7.79 (1H, s, azometin-CH), 8.15 (1H, d), 8.49 (1H, s), 9.63 (1H, s, hidrazin-NH), 11.67 (1H, s, indol-NH).

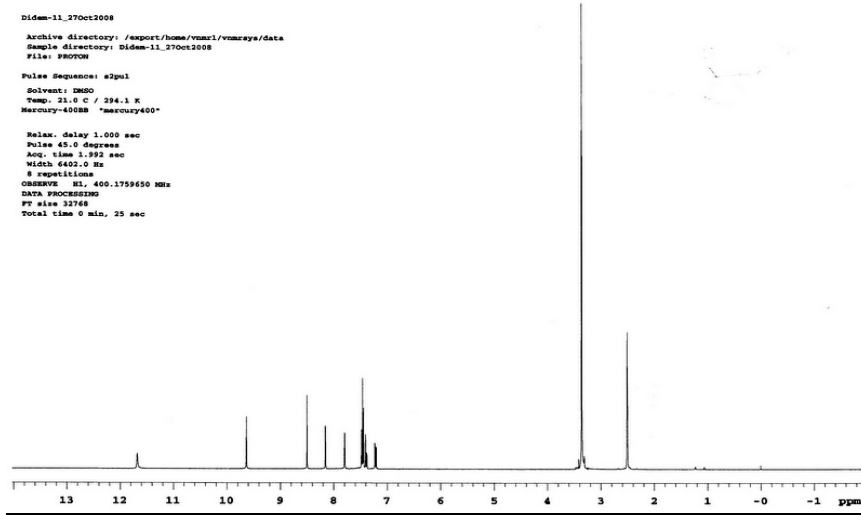
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

112.60, 114.19, 114.51, 116.84, 121.15, 121.69, 123.09, 125.46, 125.81, 128.88, 129.27, 130.81, 136.22, 139.84, 141.80 (azometin-C)

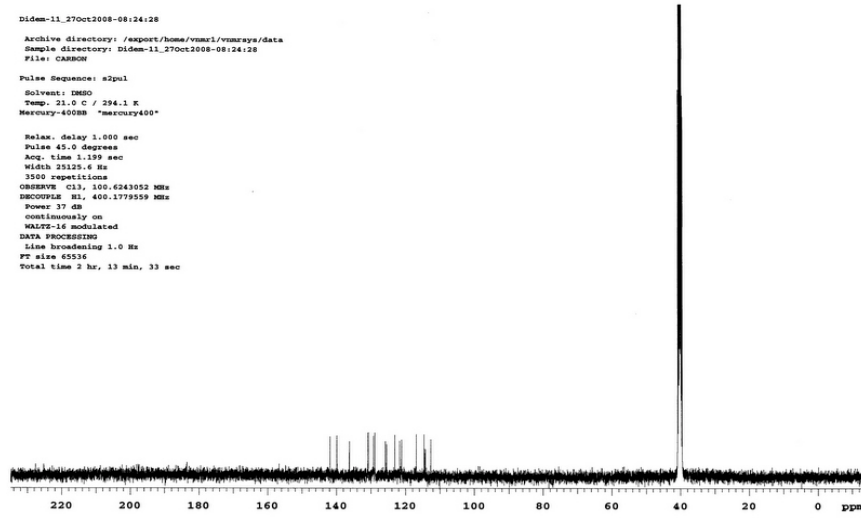
Kütle Spektrumu m/z (**ESI**): 338 (M⁺, %100), 340 (M+2, %100), 342 (M+4).

IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} :

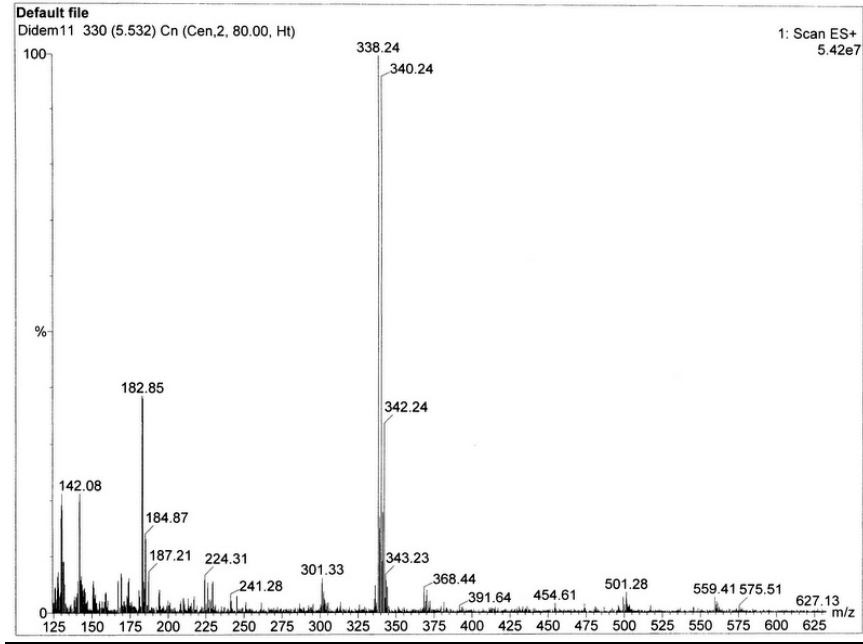
1596 C=N (azometin) gerilim bandı. 3442 NH, gerilim bandı.



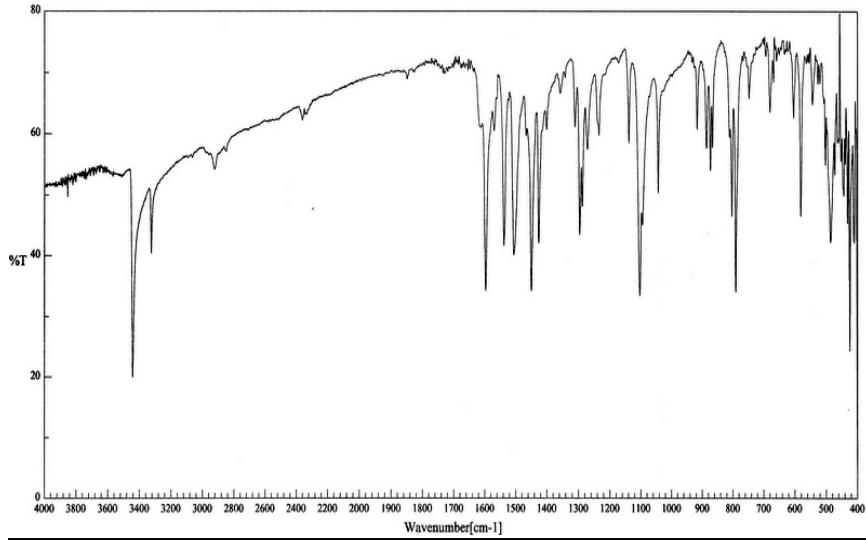
Şekil 3.47. Bileşik 1m'nin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.48. Bileşik 1m'nin ^{13}C -NMR spektrumu

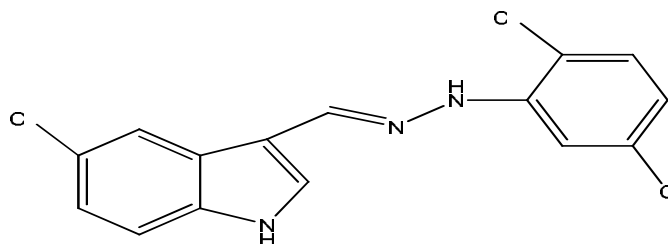


Şekil 3.49. Bileşik 1m'nin kütle spektrumu



Şekil 3.50. Bileşik 1m'nin IR spektrumu

3.2.14. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(2,5-diklorofenil) hidrazon (1n)



179.6 mg (1 mmol) 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehitin 5 ml EtOH içindeki çözeltisine, 384.3 mg (1.8 mmol) 2,5-diklorofenil hidrazin ile 4 g (4.88 mmol) sodyum asetatın 5 ml distile suda hazırlanan çözeltisi eklendi. Oluşan çökelekli karışım su banyosu içinde geri çeviren soğutucu altında 70-80 °C da 2 saat karıştırıldı. Sonunda çözelti soğutularak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı ve % 68 verimle 230.1 mg madde elde edildi. E.n 171-172 °C.

Elementel Analiz: C₁₅H₁₀N₃Cl₃

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	53.20	2.98	12.42
Analiz:	52.50	2.78	12.48

¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

6.76-6.79 (1H, dd), 7.21-7.24 (1H, dd), 7.35 (1H, d), 7.43-7.49 (2H, m), 7.82 (1H, s), 8.18 (1H, d), 8.52 (1H, s), 9.77 (1H, s, hidrazin-NH), 11.68 (1H, s, indol-NH).

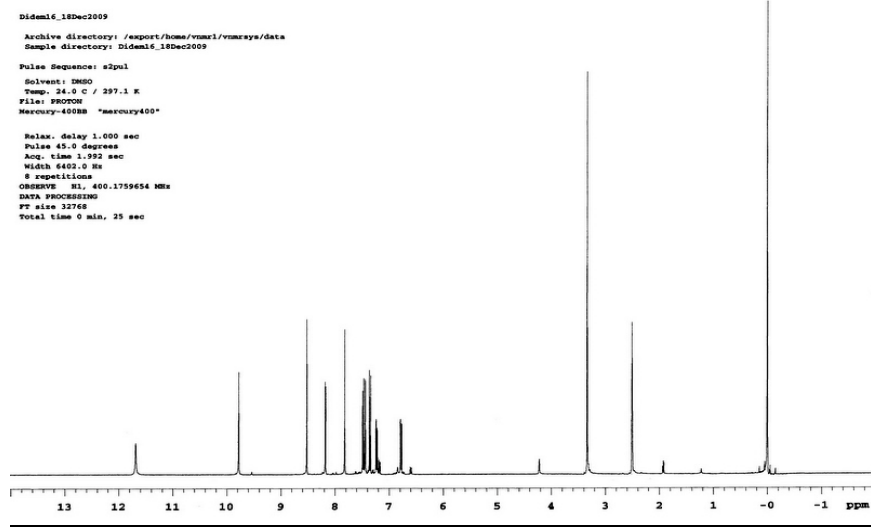
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

112.54, 112.93, 114.22, 114.95, 118.41, 121.21, 123.07, 125.52, 125.86, 130.95, 131.43, 133.43, 136.22, 140.15, 143.74 (azometin-C)

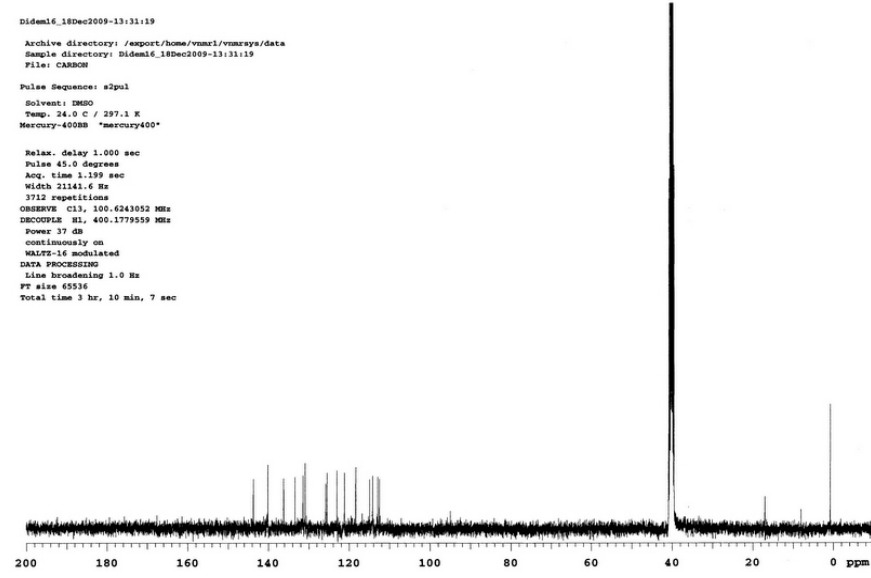
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 338 (M⁺, %100), 340 (M+2, %100), 342 (M+4).

IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} :

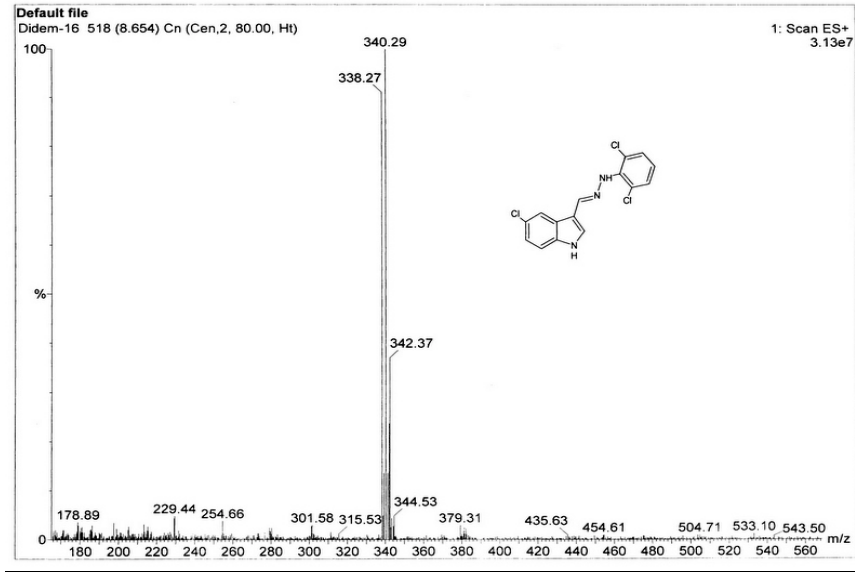
1596 C=N (azometin) gerilim bandı. 3428 NH, gerilim bandı.



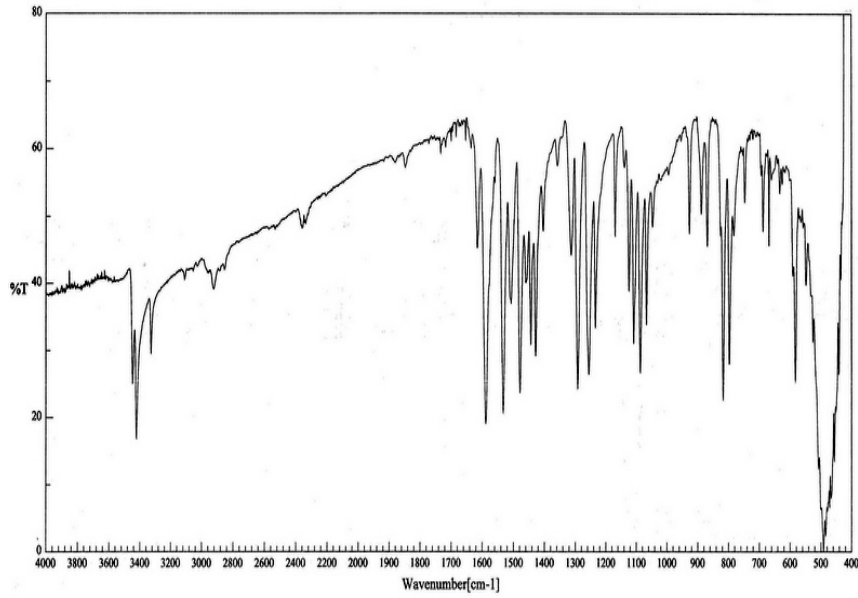
Şekil 3.51. Bileşik 1n'nin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.52. Bileşik 1n'nin ^{13}C -NMR spektrumu

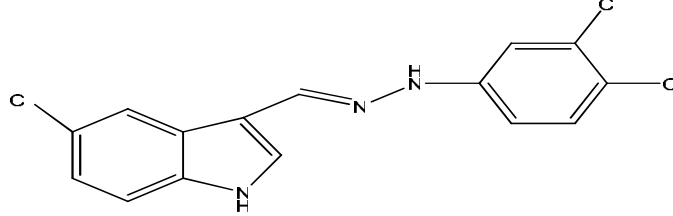


Şekil 3.53. Bileşik 1n'nin kütle spektrumu



Şekil 3.54. Bileşik 1n'nin IR spektrumu

3.2.15. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(3,4-diklorofenil) hidrazon (1o)



179.6 mg (1 mmol) 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehitin 5 ml EtOH içindeki çözeltisine, 384.3 mg (1.8 mmol) 3,4-diklorofenil hidrazin ile 4 g (4.88 mmol) sodyum asetatın 5 ml distile suda hazırlanan çözeltisi eklendi. Oluşan çökelekli karışım su banyosu içinde geri çeviren soğutucu altında 70-80 °C da 2 saat karıştırıldı. Sonunda çözelti soğutularak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı ve % 65 verimle 220.3 mg madde elde edildi. E.n 142-143 °C.

Elementel Analiz: C₁₅H₁₀N₃Cl₃

	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan:	53.20	2.98	12.42
Analiz:	52.90	2.92	12.24

¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

6.89-6.92 (1H, dd), 7.15-7.20 (2H, m), 7.42 (2H, t), 7.77 (1H, d), 8.10 (1H, s, azometin-CH), 8.14 (1H, d), 10.24 (1H, s, hidrazin-NH), 11.59 (1H, s, indol-NH).

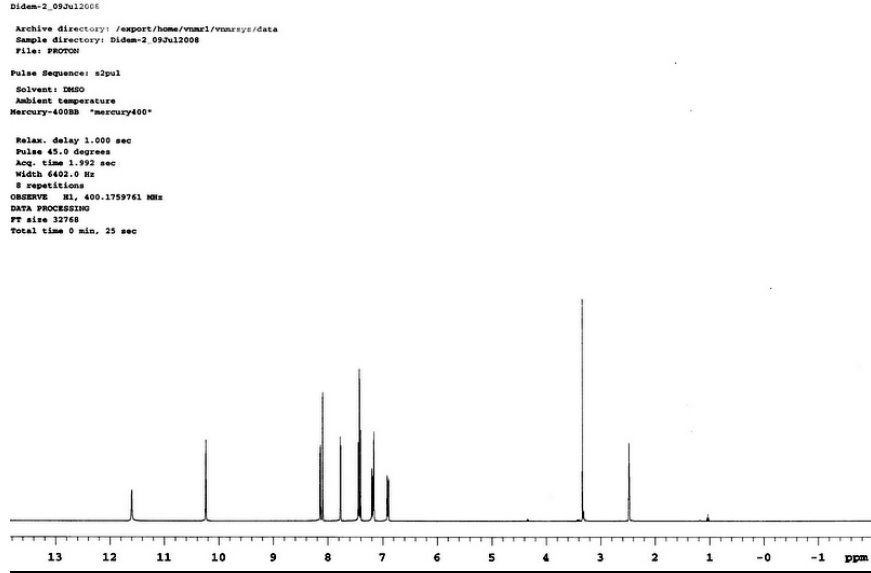
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

112.29, 112.63, 112.77, 114.11, 118.82, 121.20, 123.00, 125.36, 125.80, 130.47, 131.64, 132.24, 136.15, 137.12, 146.63 (azometin-C)

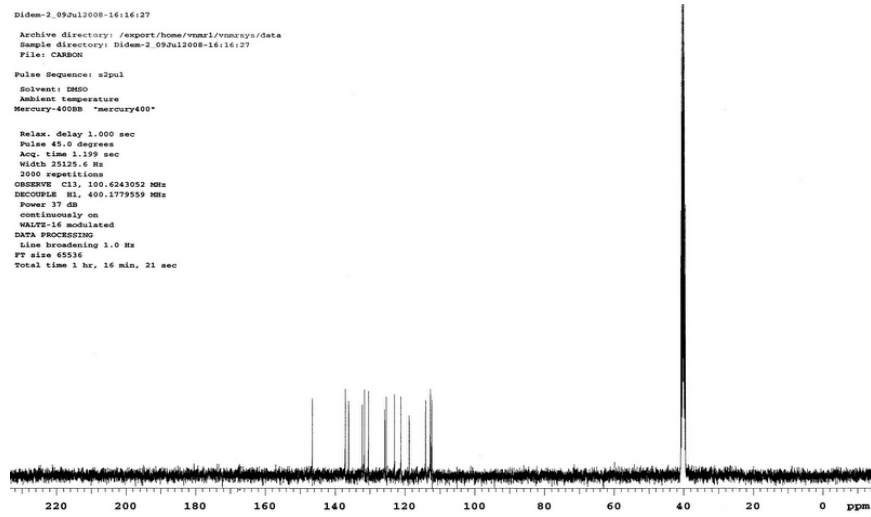
Kütle Spektrumu m/z (**ESI**): 338 (M⁺, %100), 340 (M+2, %100), 342 (M+4).

IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} :

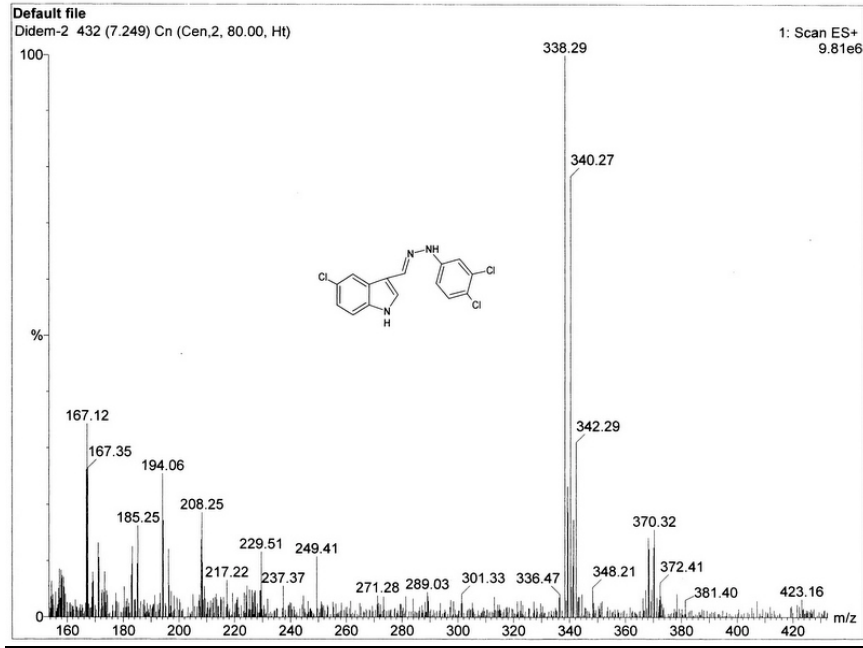
1593 C=N (azometin) gerilim bandı. 3426 NH, gerilim bandı.



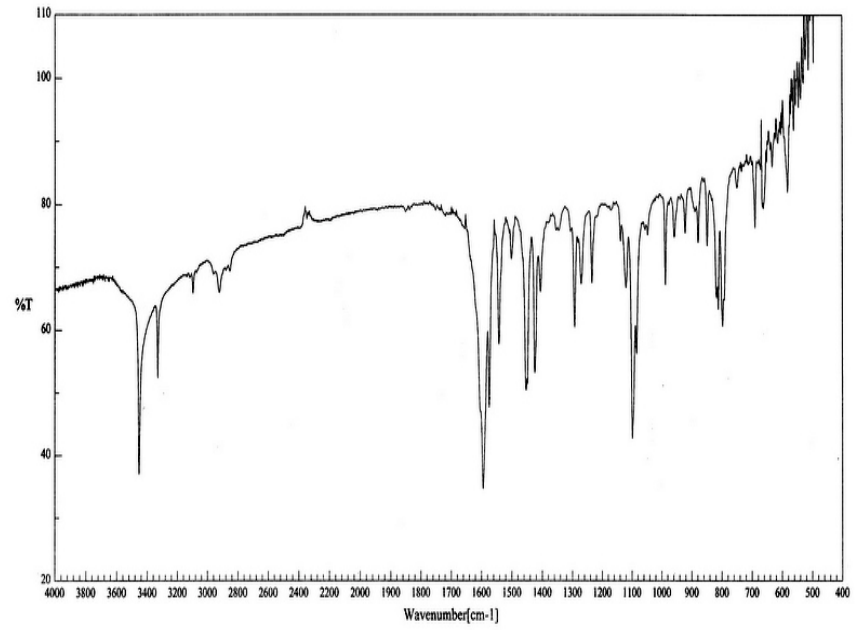
Şekil 3.55. Bileşik 1o'nun ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.56. Bileşik 1o'nun ^{13}C -NMR spektrumu

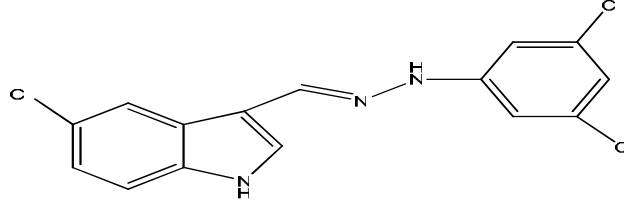


Şekil 3.57. Bileşik 1o'nun kütle spektrumu



Şekil 3.58. Bileşik 1o'nun IR spektrumu

3.2.16. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(3,5-diklorofenil) hidrazon (1p)



179.6 mg (1 mmol) 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehitin 5 ml EtOH içindeki çözeltisine, 384.3 mg (1.8 mmol) 3,4-diklorofenil hidrazin ile 4 g (4.88 mmol) sodyum asetatın 5 ml distile suda hazırlanan çözeltisi eklendi. Oluşan çökelekli karışım su banyosu içinde geri çeviren soğutucu altında 70-80 °C da 2 saat karıştırıldı. Sonunda çözelti soğutularak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı ve % 61 verimle 206.8 mg madde elde edildi. E.n 168-169 °C.

Elementel Analiz: C₁₅H₁₀N₃Cl₃

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	53.20	2.98	12.42
Analiz:	53.32	2.89	12.30

¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

6.79 (1H, t), 6.95 (2H, d), 7.20-7.23 (1H, dd), 7.47 (1H, d), 7.82 (1H, s), 8.15 (2H, t), 10.37 (1H, s, hidrazin-NH), 11.64 (1H, s, indol-NH).

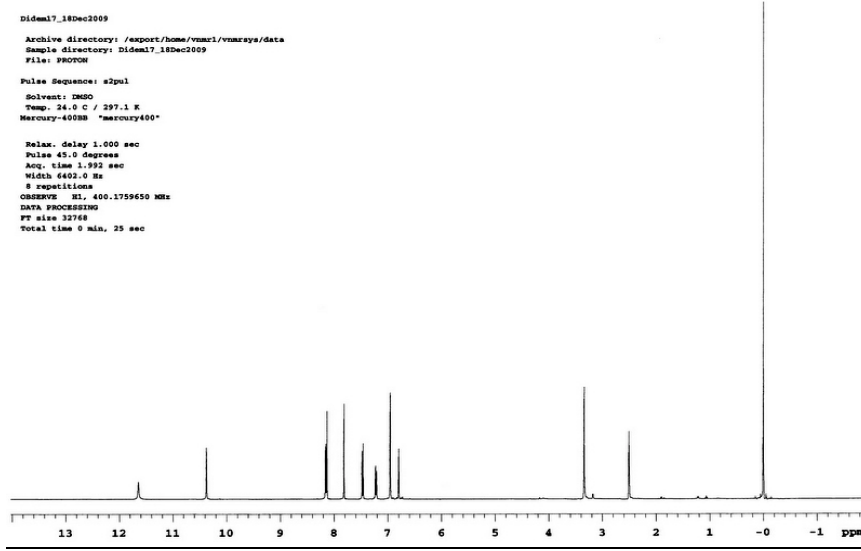
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

109.36, 111.71, 113.38, 116.03, 120.40, 122.24, 124.64, 125.03, 129.96, 134.54, 135.37, 136.95, 147.90 (azometin-C)

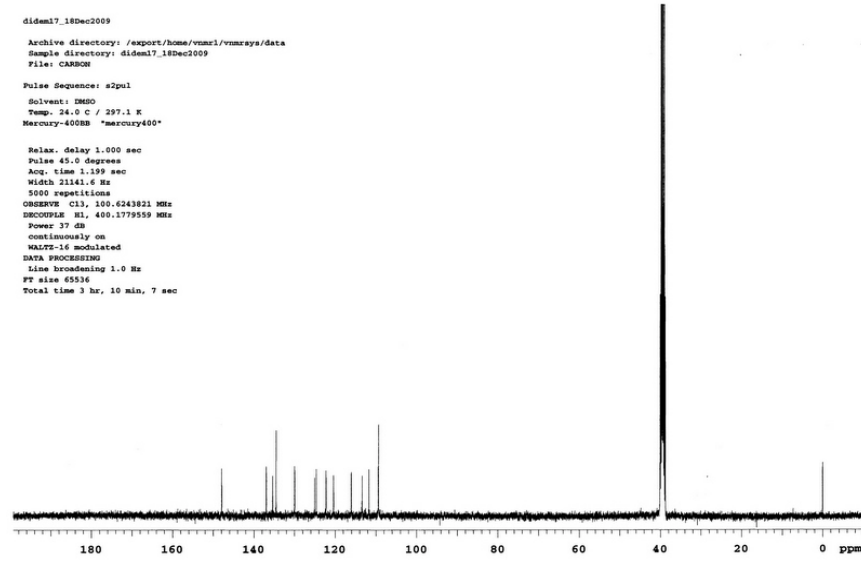
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 338 (M⁺, %100), 340 (M+2, %100), 342 (M+4).

IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} :

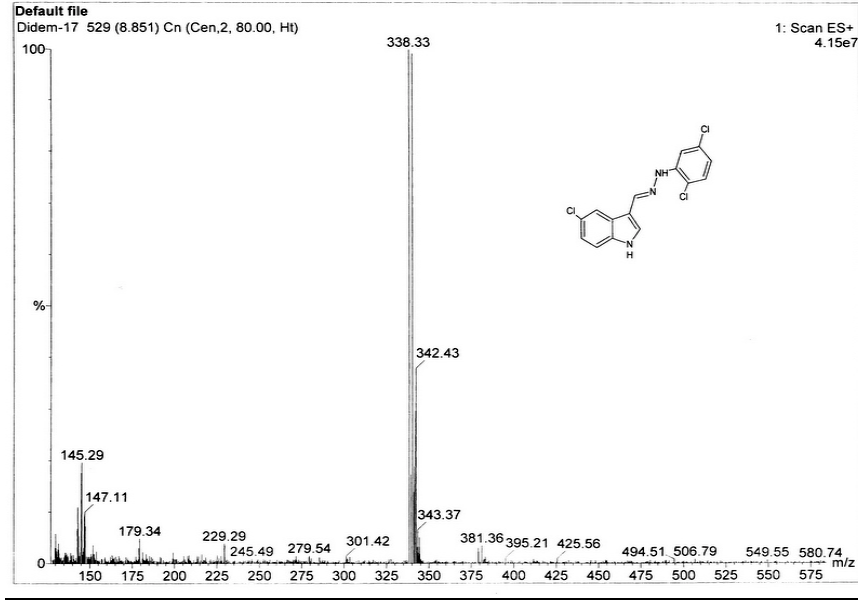
1594 C=N (azometin) gerilim bandı. 3453 NH, gerilim bandı.



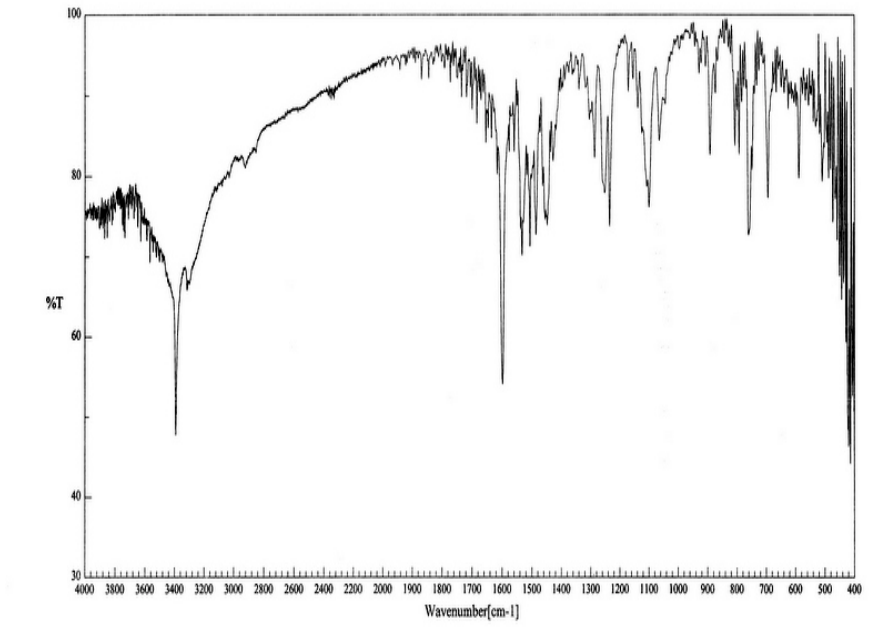
Şekil 3.59. Bileşik 1p'nin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.60. Bileşik 1p'nin ^{13}C -NMR spektrumu

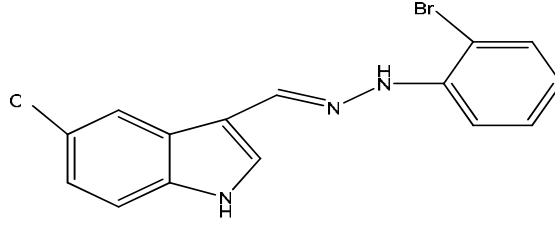


Şekil 3.61.Bileşik 1p'nin kütle spektrumu



Şekil 3.62.Bileşik 1p'nin IR spektrumu

3.2.17. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(2-bromofenil) hidrazon (1r)



179.6 mg (1 mmol) 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehitin 5 ml EtOH içindeki çözeltisine, 223.5 mg (1 mmol) 2-bromofenil hidrazin ile 4 g (4.88 mmol) sodyum asetatın 5 ml distile suda hazırlanan çözeltisi eklendi. Oluşan çökelekli karışım su banyosu içinde geri çeviren soğutucu altında 70-80 °C da 1 saat karıştırıldı. Sonunda çözelti soğutularak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı ve % 77.3 verimle 269.4 mg madde elde edildi. E.n 183-184 °C.

Elementel Analiz: C₁₅H₁₀N₃Cl₃

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	51.68	3.18	12.05
Analiz:	51.32	3.22	11.85

¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

6.64-6.68 (1H, m), 7.18-7.21 (1H, dd), 7.30-7.34 (1H, m), 7.44-7.47 (3H, m), 7.74 (1H, s, azometin-CH), 8.19 (1H, d), 8.48 (1H, s), 9.21 (1H, s, hidrazin-NH), 11.5 (1H, s, indol-NH).

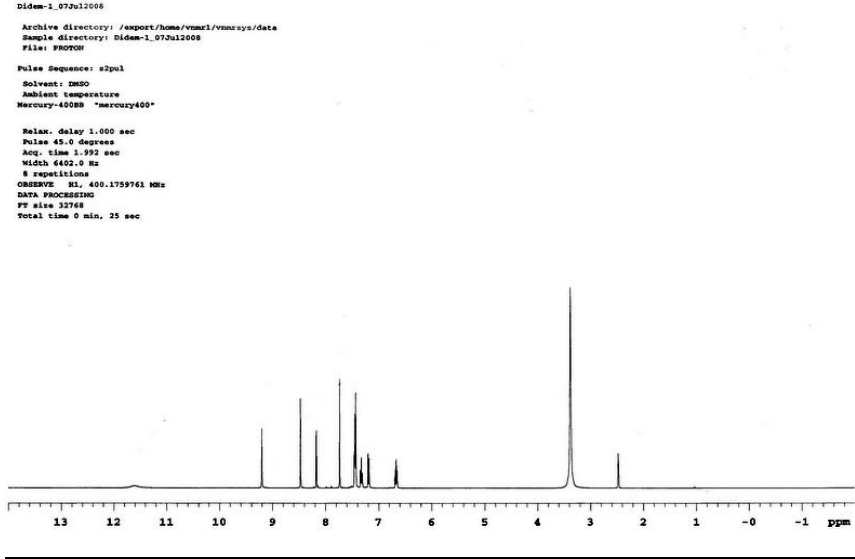
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

106.41, 112.77, 114.08, 114.12, 119.99, 121.24, 123.02, 125.40, 125.87, 129.34, 130.39, 133.24, 136.18, 139.14, 143.62 (azometin-C)

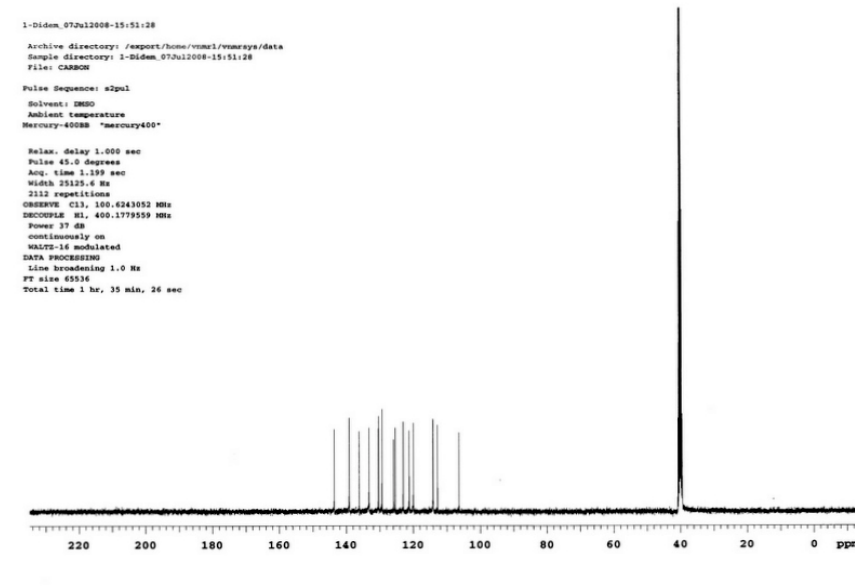
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 348 (M⁺, %100), 350 (M+2, %100), 352 (M+4).

IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} :

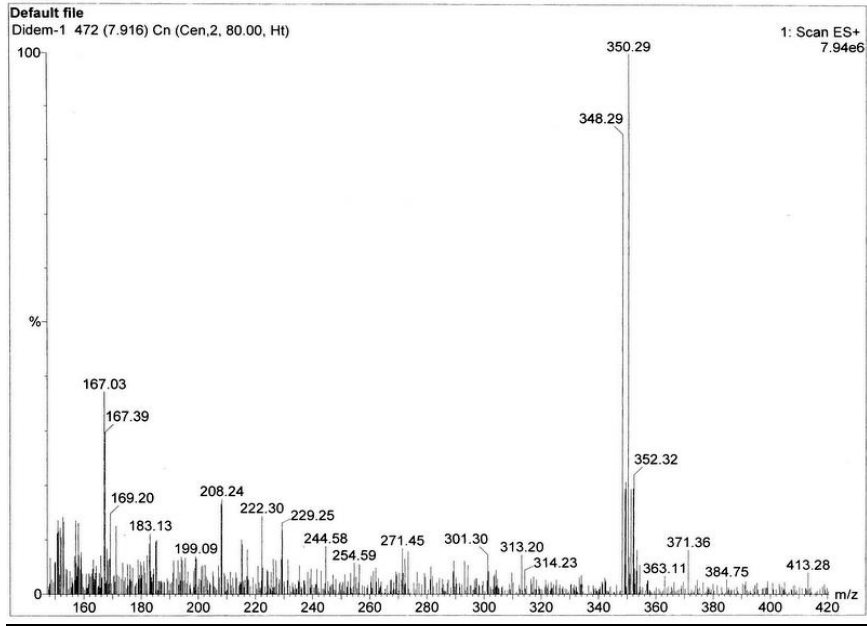
1588 C=N (azometin) gerilim bandı. 3447 NH, gerilim bandı.



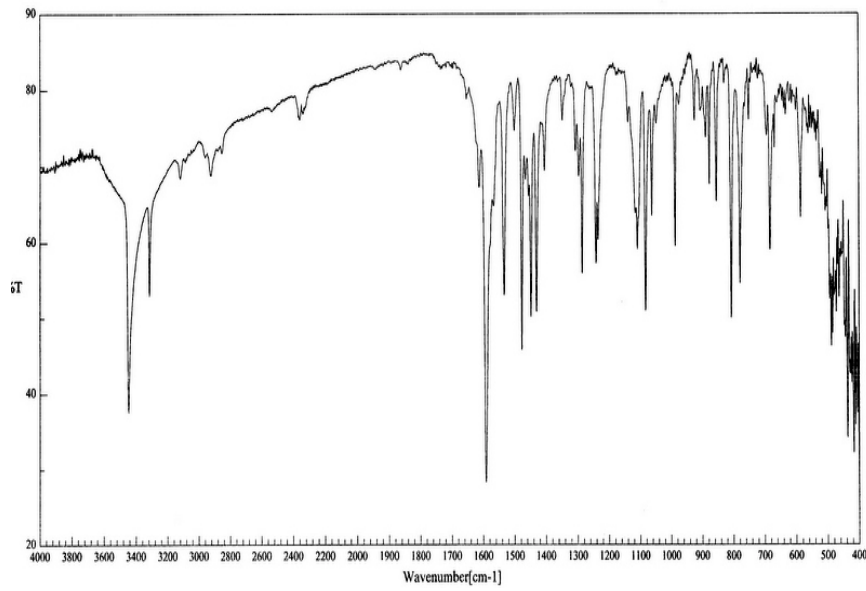
Şekil 3.63.Bileşik 1r'nin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.64.Bileşik 1r'nin ^{13}C -NMR spektrumu

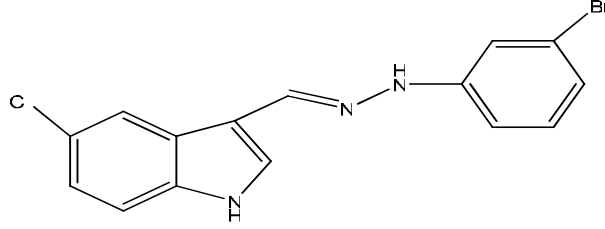


Şekil 3.65. Bileşik 1r'nin kütle spektrumu



Şekil 3.66. Bileşik 1r'nin IR spektrumu

3.2.18. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(3-bromofenil) hidrazon (1s)



179.6 mg (1 mmol) 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehitin 5 ml EtOH içindeki çözeltisine, 402.3 mg (1.8 mmol) 3-bromofenil hidrazin ile 4 g (4.88 mmol) sodyum asetatın 5 ml distile suda hazırlanan çözeltisi eklendi. Oluşan çökelekli karışım su banyosu içinde geri çeviren soğutucu altında 70-80 °C da 1 saat karıştırıldı. Sonunda çözelti soğutularak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı ve % 92 verimle 320.7 mg madde elde edildi. E.n 133-134 °C.

Elementel Analiz: C₁₅H₁₀N₃Cl₃

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	51.68	3.18	12.05
Analiz:	51.34	3.03	11.84

¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

6.82-6.85 (1H, dd), 6.93-6.96 (1H, m), 7.15-7.22 (3H, m), 7.46 (1H, d), 7.77 (1H, s), 8.10 (1H, s, azometin-CH), 8.18 (1H, d), 10.14 (1H, s, hidrazin-NH), 11.59 (1H, s, indol-NH).

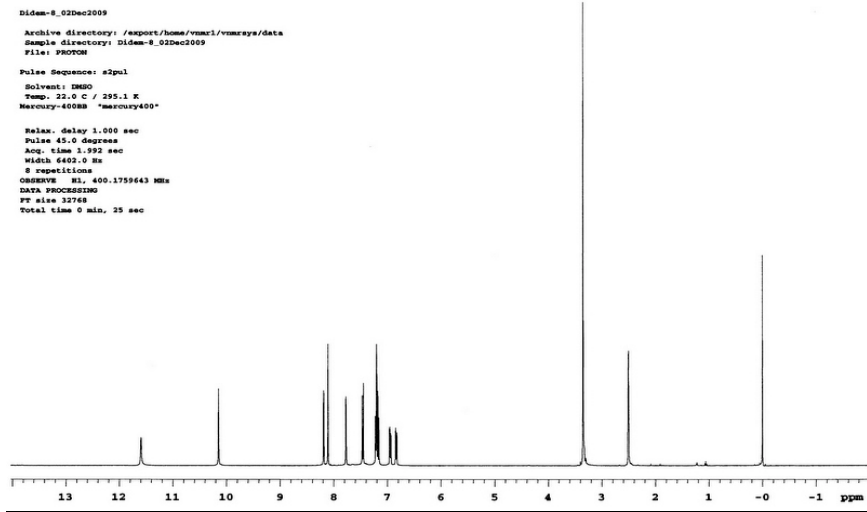
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

111.02, 112.81, 114.07, 114.18, 120.53, 121.26, 122.94, 123.18, 125.28, 125.83, 130.14, 131.75, 136.13, 136.43, 148.18 (azometin-C)

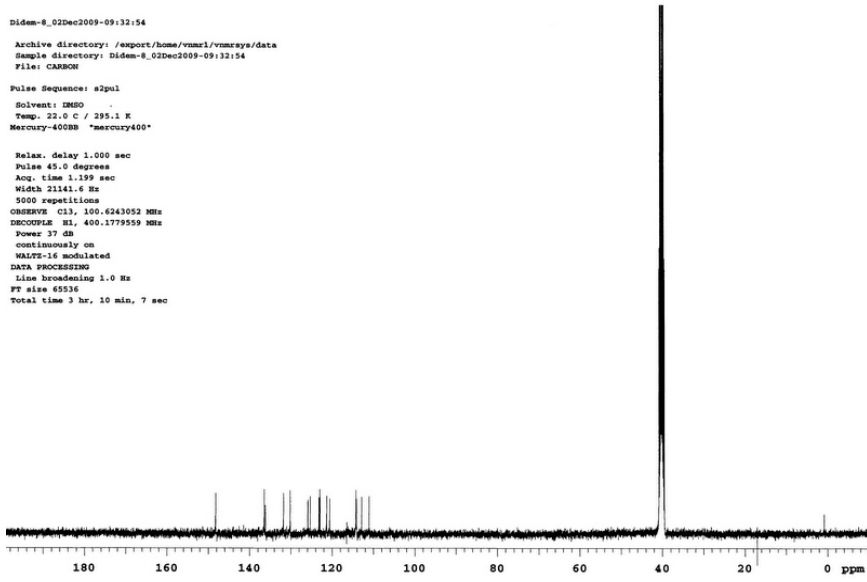
Kütle Spektrumu m/z (**ESI**): 348 (M⁺, %100), 350 (M+2, %100), 352 (M+4).

IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} :

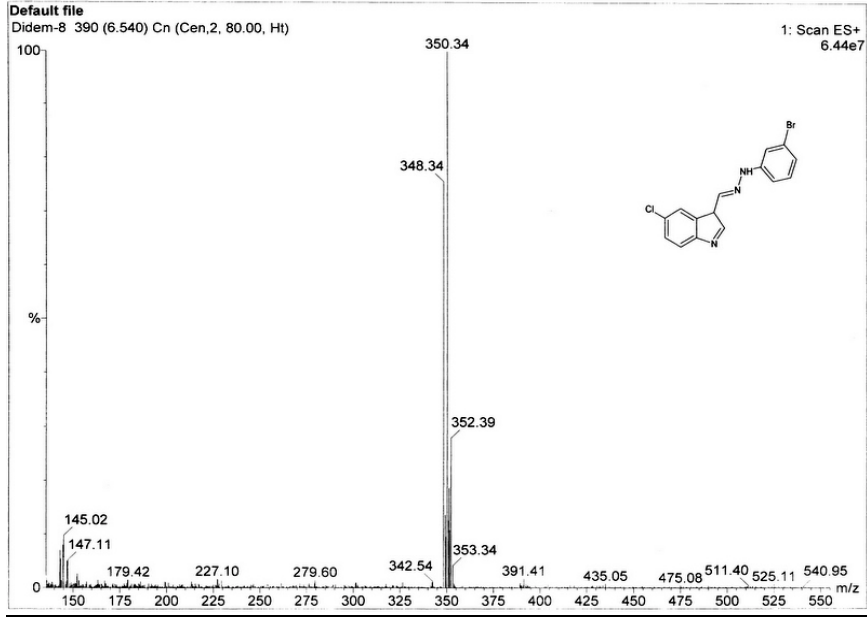
1591 $\text{C}=\text{N}$ (azometin) gerilim bandı. 3446 NH , gerilim bandı.



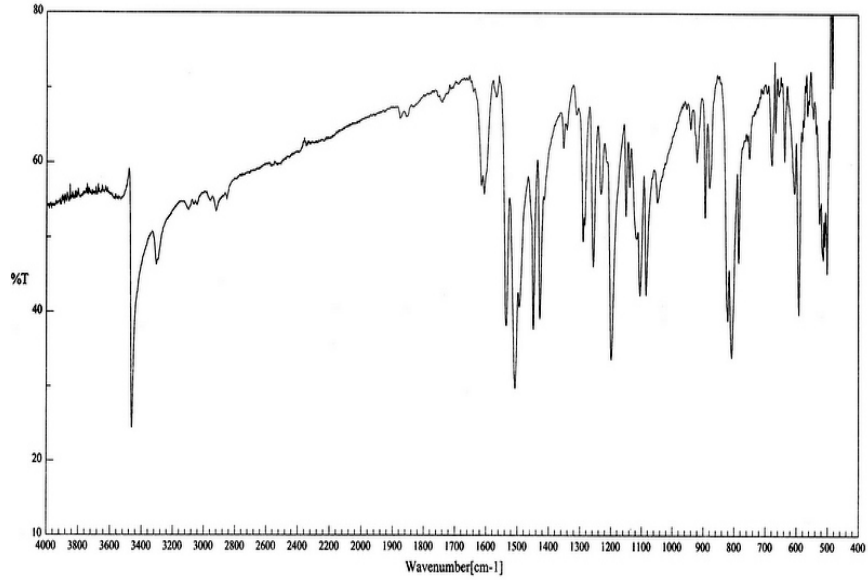
Şekil 3.67. Bileşik 1s'nin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.68. Bileşik 1s'nin ^{13}C -NMR spektrumu

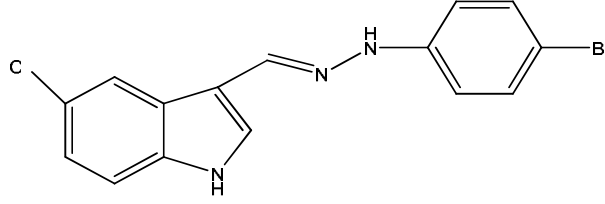


Şekil 3.69. Bileşik 1s'nin kütle spektrumu



Şekil 3.70. Bileşik 1s'nin IR spektrumu

3.2.19. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(4-bromofenil) hidrazon (1t)



179.6 mg (1 mmol) 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehitin 5 ml EtOH içindeki çözeltisine, 402.3 mg (1.8 mmol) 4-bromofenil hidrazin ile 4 g (4.88 mmol) sodyum asetatın 5 ml distile suda hazırlanan çözeltisi eklendi. Oluşan çökelekli karışım su banyosu içinde geri çeviren soğutucu altında 70-80 °C da 1 saat karıştırıldı. Sonunda çözelti soğutulurak **Bölüm 3.2** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı ve % 80.3 verimle 280 mg madde elde edildi. E.n 167-168 °C.

Elementel Analiz: C₁₅H₁₀N₃Cl₃

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	51.68	3.18	12.05
Analiz:	51.35	3.04	11.99

¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

6.93 (2H, d), 7.16-7.19 (1H, dd), 7.34-7.43 (3H, m), 7.72 (1H, d), 8.08 (1H, s, azometin-CH), 8.15 (1H, d), 10.05 (1H, s, hidrazin-NH), 11.55 (1H, s, indol-NH).

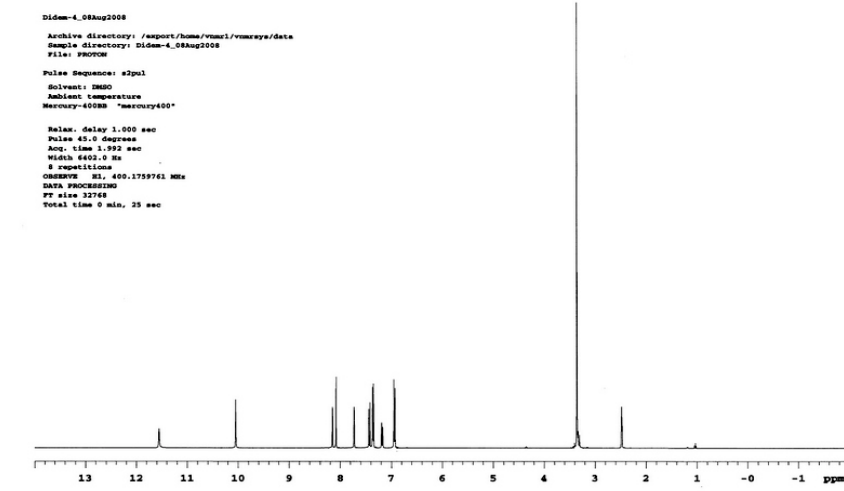
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

108.96, 112.90, 113.87, 114.04, 121.22, 122.94, 125.24, 129.97, 132.43, 136.09, 136.13, 145.92(azometin-C).

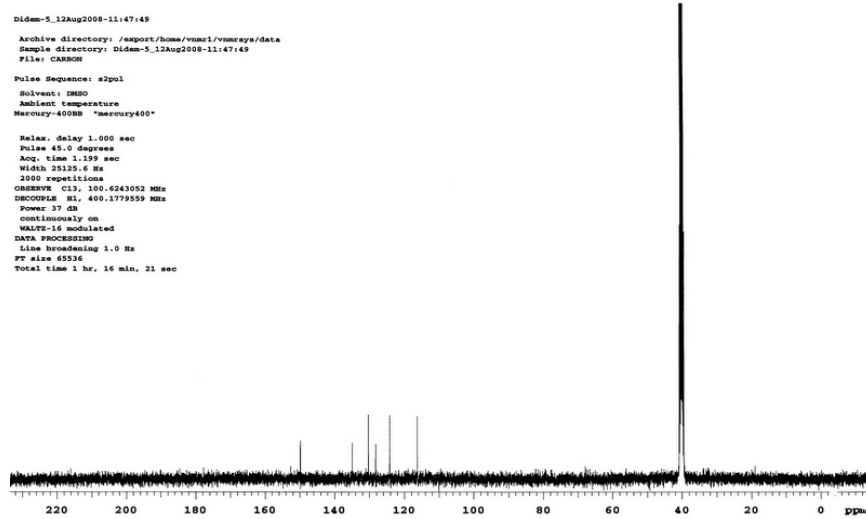
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 348 (M⁺, %100), 350 (M+2, %100), 352 (M+4).

IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} :

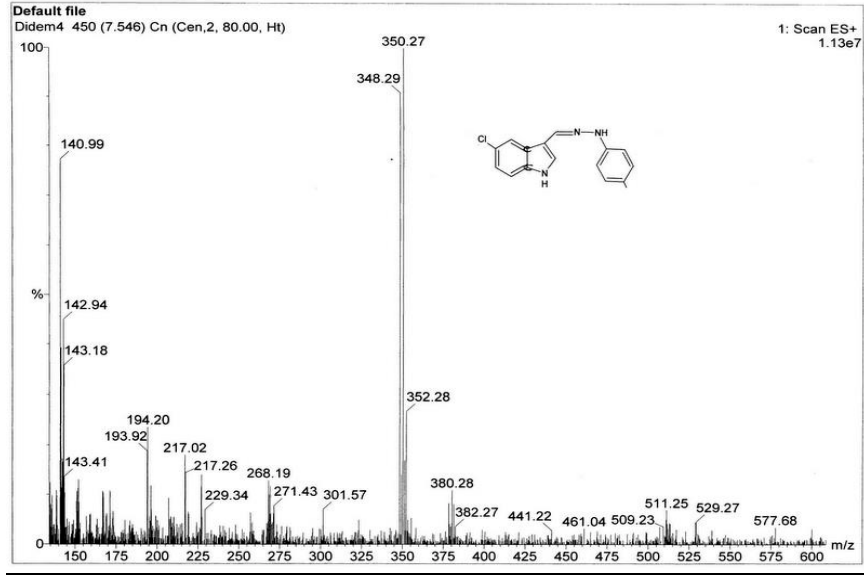
1594 C=N (azometin) gerilim bandı. 3422 NH, gerilim bandı.



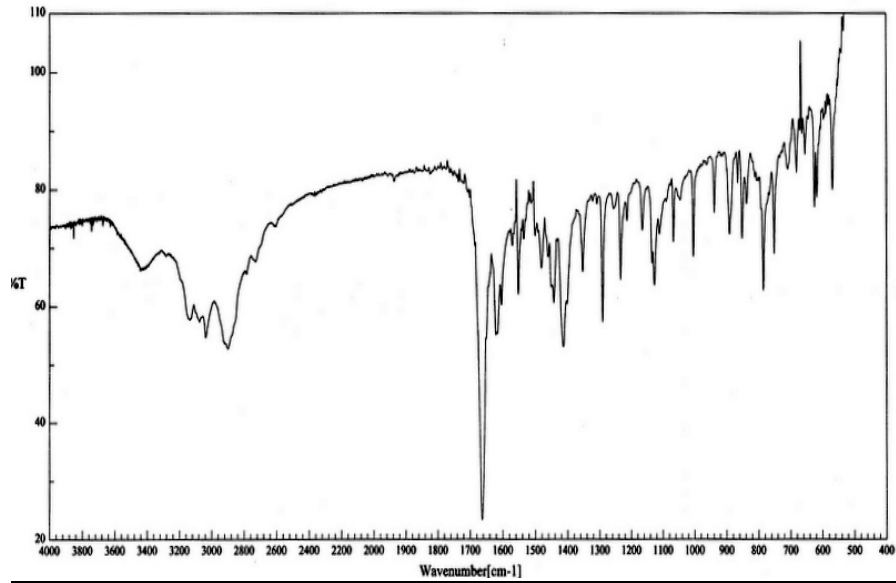
Şekil 3.71.Bileşik 1t'nin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.72.Bileşik 1t'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.73.Bileşik 1t'nin kütle spektrumu

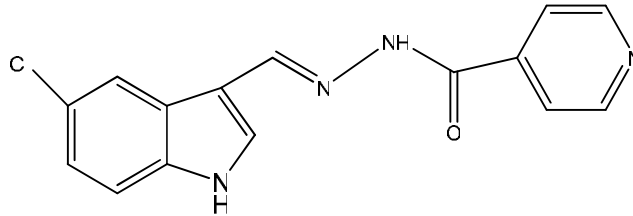


Şekil 3.74.Bileşik 1t'nin IR spektrumu

3.3. 5-kloro-1H-indol-3-karboksaldehit izonikotinik asit hidrazonu (1u) / anisik asit hidrazonu (1v) Türevlerinin Genel Sentezi

Bu sentez yönteminde, 0,5 mmol 5-kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 10 ml EtOH içerisinde çözülür. Bu çözeltinin üzerine bileşik **1u** eldesi için 0,5 mmol izonikotinik asit hidrazidi (isoniazid) veya bileşik **1v** eldesi için 0,5 mmol anisik asit hidrazidinin 50 ml EtOH içerisindeki çözeltisi ilave edilir. Karışım 2,5 saat su banyosunda, geri çeviren soğutucu altında reaksiyona sokulur ve İTK ile kontrol edilir. Reaksiyon sonunda karışım soğutulur ve çökelek süzülerek EtOH dan tekrar kristallendirilerek saflaştırılır. Eğer reaksiyon sonunda çökelek oluşmamış ise karışımın içerisindeki solvan döner buharlaştırıcı ier uçurularak kalan katı madde uygun çözücü ile kristallendirilerek saflaştırılır (Koçyiğit ve ark., 2006).

3.3.1 5-kloro-1H-indol-3-karboksaldehit izonikotinoilhidrazon (1u) [izonikotinik asit (1H-indol-3-ilmetilen)hidrazid]



1 mmol 5-kloro-1H-indol-3-karboksaldehitin 10 ml EtOH içindeki çözeltisine 0,5 mmol izonikotinik asit hidrazidinin 50 ml EtOH de hazırlanan çözeltisi çözeltisi ilave edildi. Karışım 4 saat su banyosunda geri çeviren soğutucu altında reaksiyona sokuldu ve reaksiyon **Bölüm 3.3** de anlatıldığı şekilde tamamlandı. Sonuçta % 20 verimle 59.6 mg madde elde edildi. E.n 315-316 °C.

Elementel Analiz: C₁₅H₁₁N₄OCl

	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan:	60.31	3.71	18.76
Analiz:	60.19	3.45	18.48

¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

7.22-7.25 (1H, dd), 7.48 (1H, d), 7.83-7.85 (2H, d), 7.97 (1H, s, azometin- CH), 8.31 (1H, d), 8.61 (1H, s), 8.78-8.79 (2H, d), 11.83 (1H, brs, indol-NH), Hidrazin NH gözlenmedi.

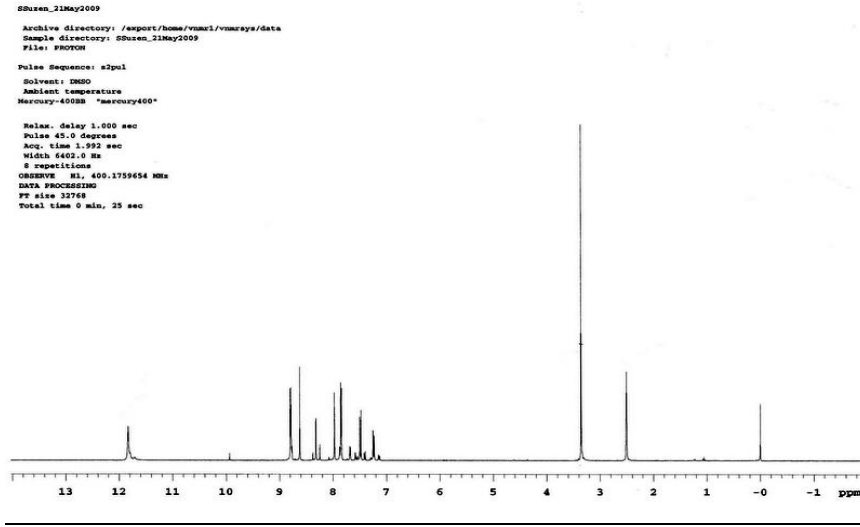
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

111.91, 114.19, 121.79, 122.16, 123.39, 125.88, 126.00, 133.12, 136.24, 141.62, 146.30 (azometin-C), 150.21, 150.96, 161.62

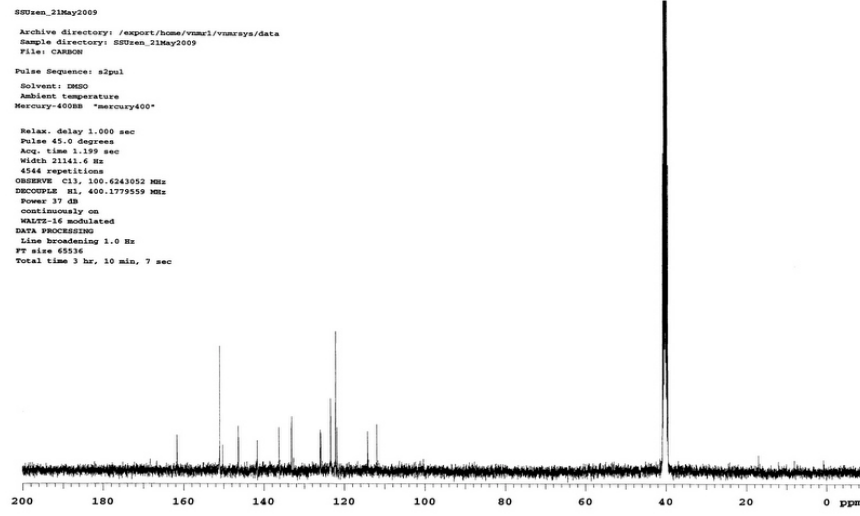
Kütle Spektrumu m/z (**ESI**) : 299 (M+1, %100), 301 (M+2).

IR Spektrumu (KBr Disk) cm⁻¹

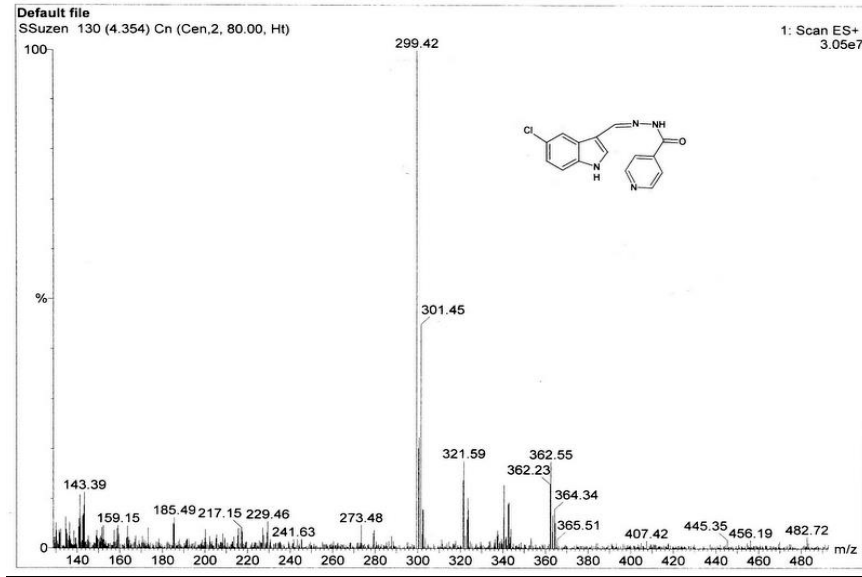
1662 C=N (azometin) gerilim bandı, 3441 N-H gerilim bandı



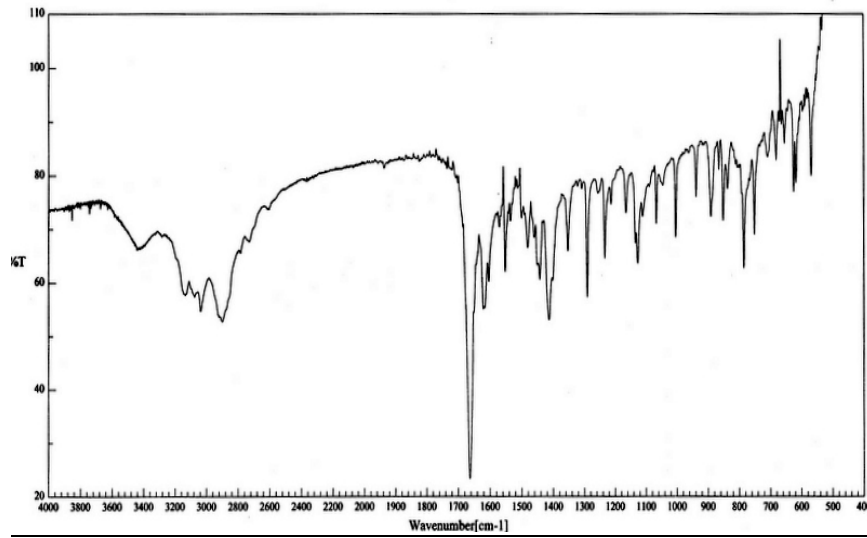
Şekil 3.75. Bileşik **1u**'nun ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.76. Bileşik **1u**'nun ^{13}C -NMR spektrumu

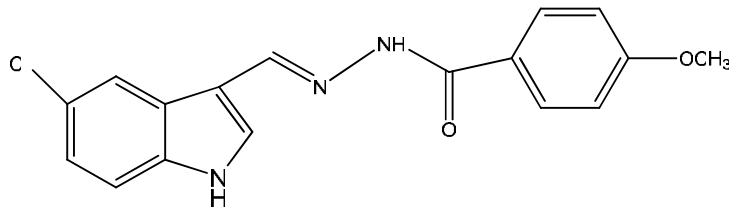


Şekil 3.77. Bileşik 1u'nun kütle spektrumu



Şekil 3.78. Bileşik 1u'nun IR spektrumu

3.3.2. N-(4metoksibenzoil)-N'-(5-kloro-1H-indolil-3-metilen)-hidrazon(1v)
[4-metoksi benzoik asit (5-kloro-1H-indol-3-ilmetilen)hidrazid]



0.5 mmol (89.8 mg) 5-kloro-1H-indol-3-karboksaldehitin 10 ml EtOH deki çözeltilisine 0,5 mmol (83 mg) anisik asit hidrazidinin 50 ml EtOH de hazırlanan çözeltisi ilave edildi. Karışım 4 saat su banyosunda geri çeviren soğutucu altında reaksiyona sokuldu. Daha sonra reaksiyon **Bölüm 3.3** de anlatıldığı şekilde tamamlandı. Reaksiyon sonunda % 42 verimle 68.6 mg madde elde edildi. E.n 249-250 °C.

Elementel Analiz: C₁₈H₁₇N₃O₂

	<u>%C</u>	<u>%H</u>	<u>%N</u>
Hesaplanan:	62.30	4.31	12.82
Analiz:	59.82	4.60	12.09

¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

3.04 (3H, s), 7.07 (2H, d), 7.21-7.23 (1H, dd), 7.47 (1H, d), 7.92 (3H, d), 8.33 (1H, s), 8.59 (1H, s, azometin-CH), 11.49 (1H, s, hidrazin-NH), 11.77 (1H, s, indol-NH).

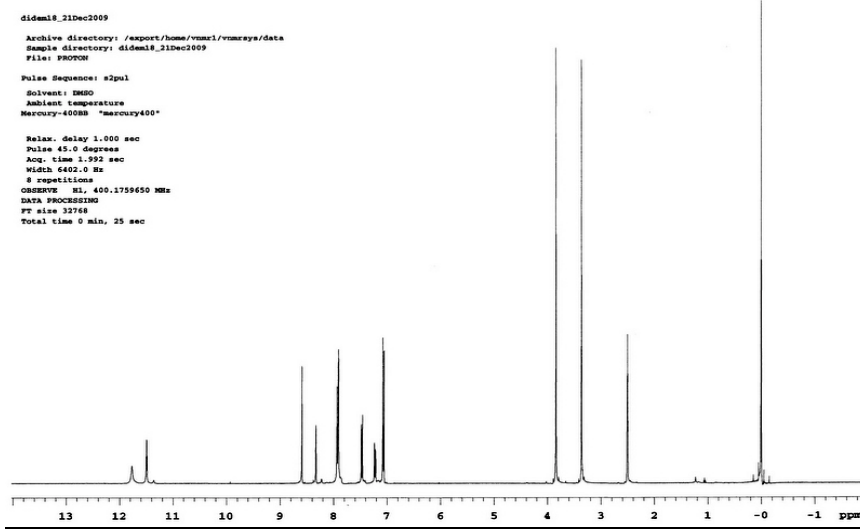
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

56.10, 112.26, 114.10, 114.37, 121.87, 123.28, 125.69, 126.04, 126.61, 130.02, 132.34, 136.21, 144.53 (azometin-C), 162.45 (C=O), 162.71

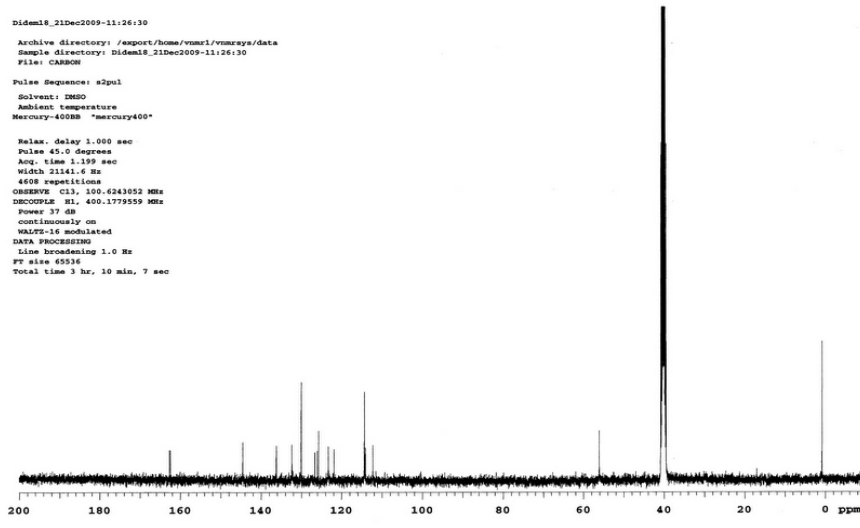
Kütle Spektromu m/z (ESI) : 328 (M+1, %100), 330 (M+3).

IR Spektromu (KBr Disk) cm^{-1}

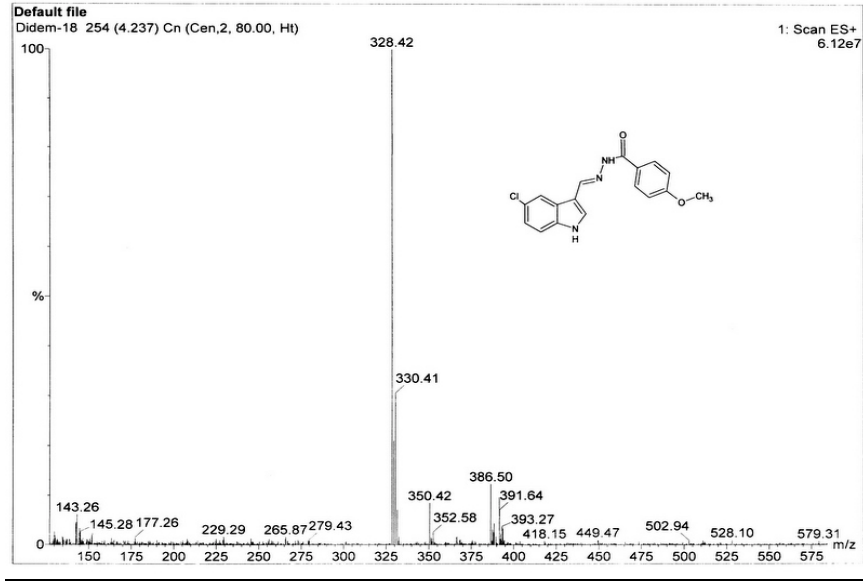
1647 C=N (azometin) gerilim bandı, 3330 NH-CO gerilim bandı.



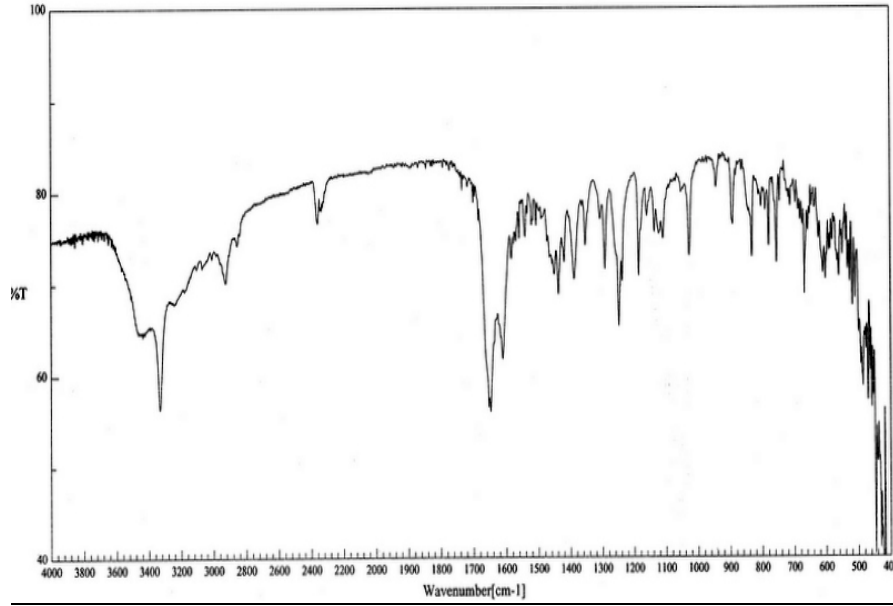
Şekil 3.79. Bileşik 1v'nin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.80. Bileşik 1v'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.81.Bileşik 1v'nin kütle spektrumu

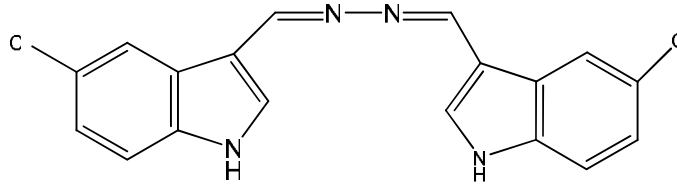


Şekil 3.82.Bileşik 1v'nin IR spektrumu

3.4. N,N'-bis-(5-kloro-1H-indol-3-ilmetilen) hidrazin Türevlerinin Genel Sentezi

1 mmol 5-kloro-1H-indol-3-karboksaldehit ile 0,5 mmol hidrazin hidrat 20 ml etanol içinde su banyosunda 4 saat süre ile reaksiyona sokulur. Reaksiyon sonunda oluşan çökelek süzülür ve etanolden kristallendirilir.

3.4.1. N,N'-bis-(5-kloro-1H-indol-3-ilmetilen) hidrazin (1y)



1 mmol (179.6 mg) 5-kloro-1H-indol-3-karboksaldehit ile 0,5 mmol (25 mg) Hidrazin hidratın 20 ml etanoldeki çözeltisi su banyosunda geri çeviren soğutucu altında 4 saat reaksiyona sokularak, reaksiyonun İTK ile kontrol edildi. Reaksiyon sonunda çökelek oluşmadığı için karışımın içerisindeki solvan döner buharlaştırıcı ile uçuruldu ve kalan katı madde EtOH dan kristallendirilerek ayrıldı. Reaksiyon sonunda % 45.4 verimle 161.2 mg madde elde edildi. E.n 285-286 °C.

Elementel Analiz: C₁₈H₁₂N₄Cl₂

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	60.86	3.41	15.77
Analiz:	60.75	3.28	13.48

¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

7.23-7.26 (2H, dd), 7.51 (2H, d), 8.02 (2H, s, azometin-CH), 8.35 (2H, d), 8.93 (2H, s), 11.90 (2H, brs, indol-NH).

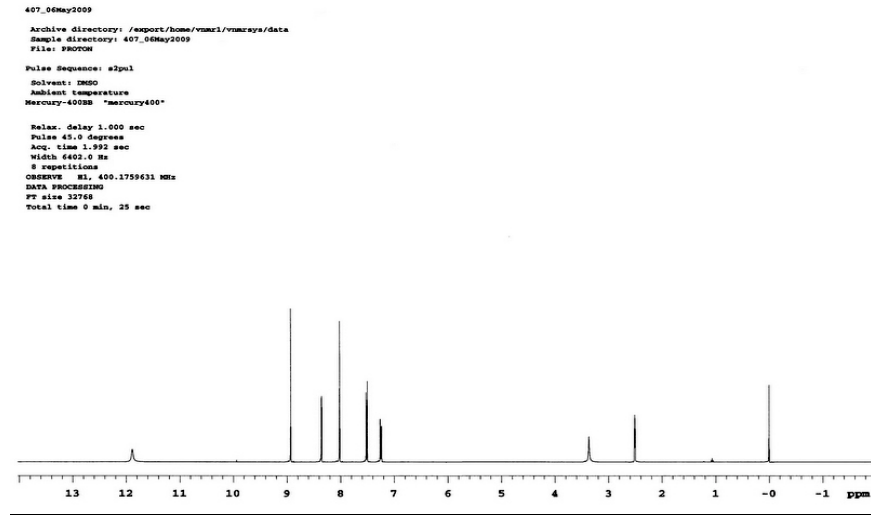
^{13}C -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δppm

112.34, 114.27, 121.85, 123.29, 125.89, 126.41, 134.20, 136.33, 155.95 (azometin-C)

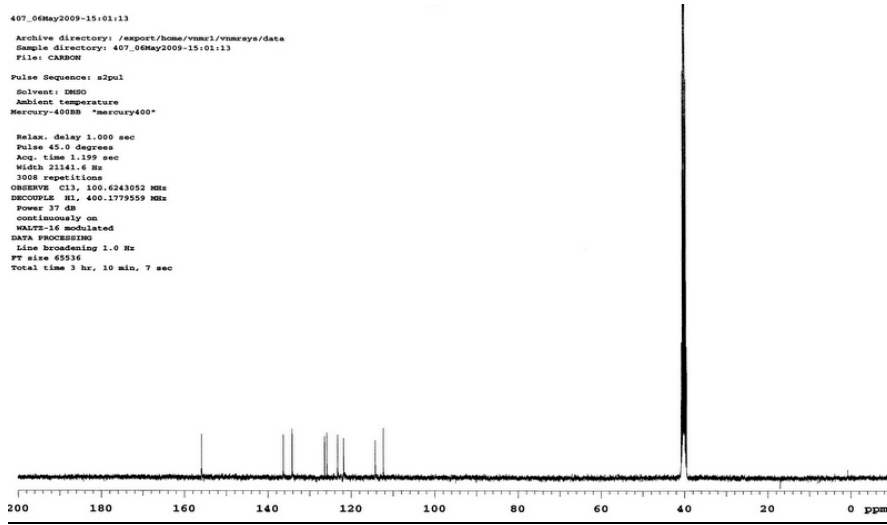
Kütle Spektrumu m/z (ESI) : 355 (M^+ , %100), 357 ($\text{M}+2$, %100), 359 ($\text{M}+4$).

IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1}

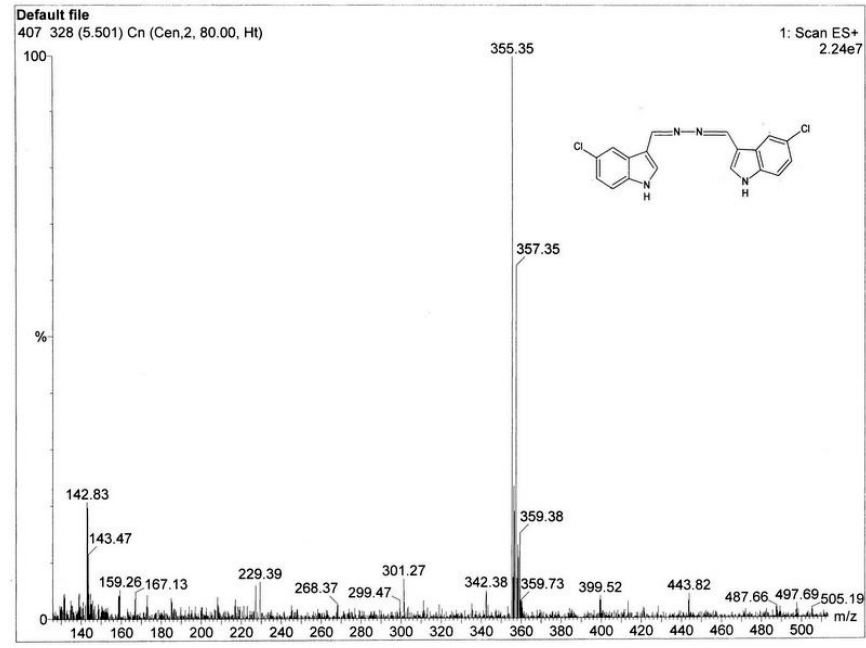
1646 $\text{C}=\text{N}$ (azometin) gerilim bandı, 3420 $\text{N}-\text{H}$ gerilim bandı



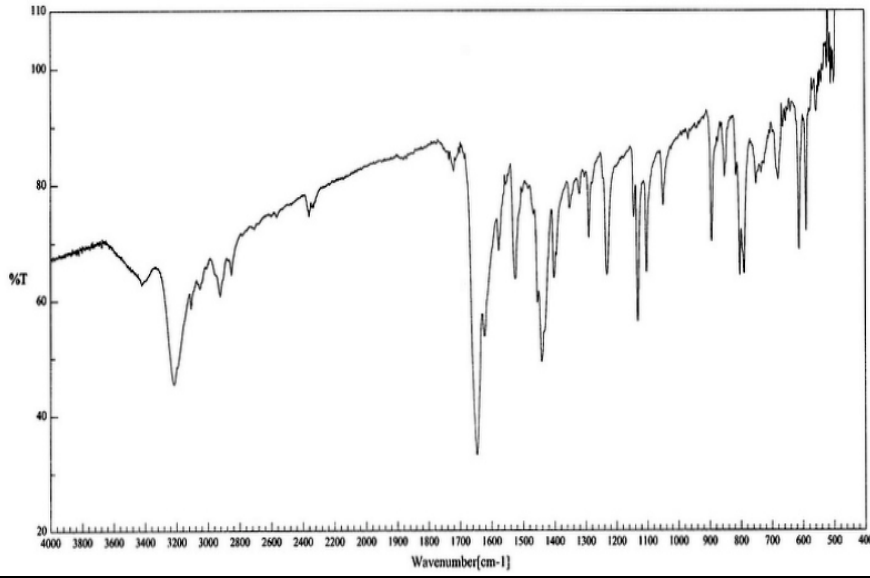
Şekil 3.83.Bileşik 1y'nin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.84.Bileşik 1y'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.85.Bileşik 1y'nin kütle spektrumu



Şekil 3.86. Bileşik 1y'nin IR spektrumu

3.5. İzomer Oranlarının Belirlenmesi

5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(2-floro fenil) hidrazon (**1d**), 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(2-kloro fenil) hidrazon (**1j**) ve 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(2-bromo fenil) hidrazon (**1r**) bileşiklerinin MASS Spektrumları çekilirken izomer şeklinde oldukları belirlenmiştir. Bu maddeler üzerinde izomer ayırımı çalışmaları yapılmış ve izomerlerin oranları % olarak belirlenmiştir.

Sentezlenen melatonin analoglarının enansiyomerlerinin ayırımı için HPLC de kiral sabit faz türevi ayırım yöntemleri kullanılmıştır. Normal faz metodu ile ayırım için hareketli faz olarak farklı oranlarda n-heksan-alkol(metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol) çözeltisi ; sabit faz olarak silika bazlı amilaz tris-(S)-1-feniletikarbamat (Chiralpak AS) veya tris-3,5- dimetilfenilkarbamat (Chiralpak AD) kolonlar kullanılmıştır (Vaccher ve ark., 1998).

Çalışılacak dalga boyuna karar vermek için UV-Spektrofotometre de tarama yapılarak en uygun dalga boyu 254 nm olarak belirlenmiştir.

HPLC kullanarak izomer ayırımı:

Cihaz: Waters LC Module Plus

Kullanılan Mobil Faz: n-heksan: izopropil alkol:triethylamin (87:13:1)

Kolon: Chiralpak AD 250×4,6 mm

Dalga boyu: 254 nm

Akış hızı: 1 ml/ dakika

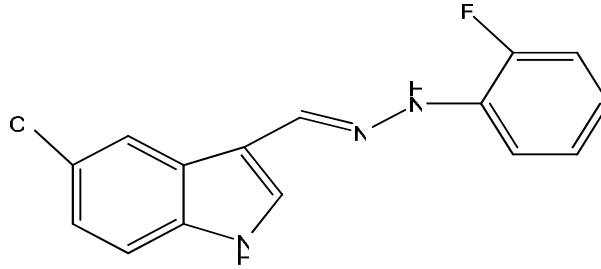
Enjeksiyon hacmi: 50 µl

Çözücü: Etil alkol

Kolon sıcaklığı: Oda sıcaklığı

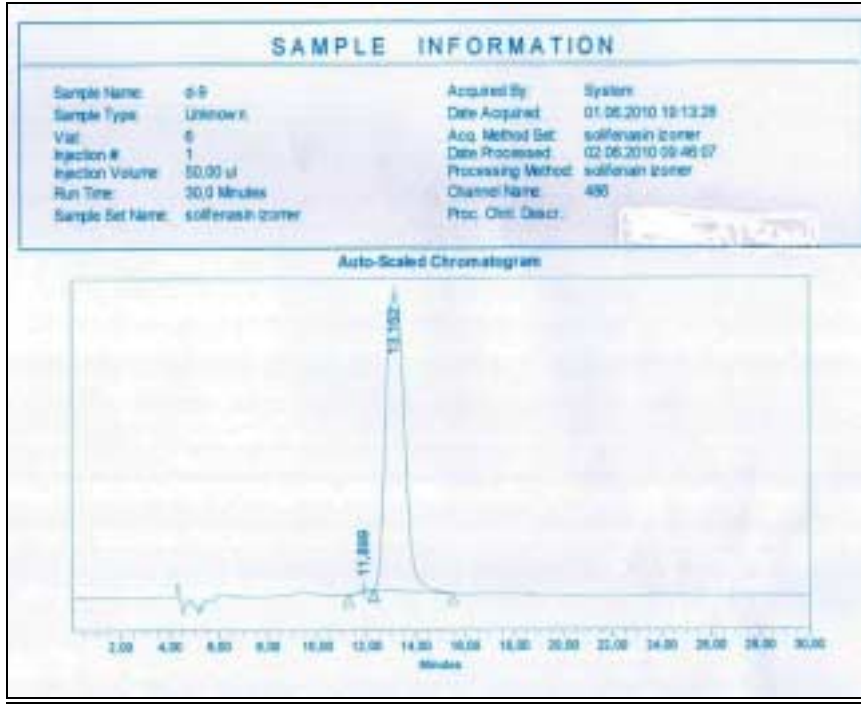
Analiz süresi: 30 dakika

3.5.1. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(2-floro fenil) hidrazon (1d) bileşiğinin izomer oranlarının belirlenmesi



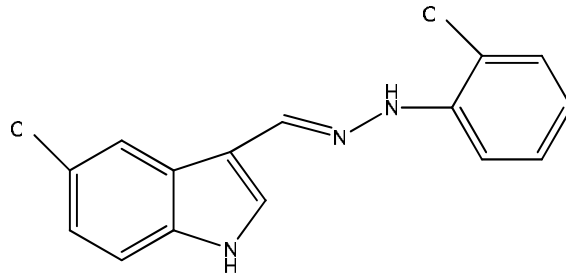
İzomer oranının belirlenmesi **Bölüm 3.5** de tanımlanan yöntemle göre yapılmıştır.

Arka arkaya yapılan üç enjeksiyonda izomer oranı ortalama % 0.50; ana pik ortalama % 99.5 olarak bulundu.

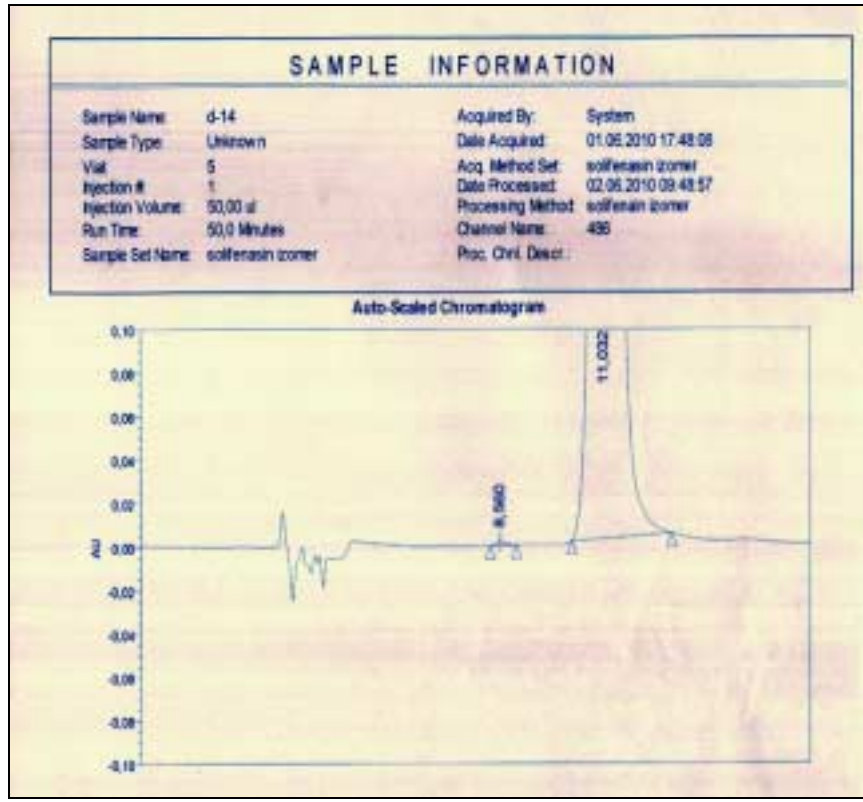


Şekil 3.87. Bileşik **1d**'nin HPLC kromotogramı

3.5.2. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(2-kloro fenil) hidrazon (**1j**) bileşiğinin izomer oranlarının belirlenmesi

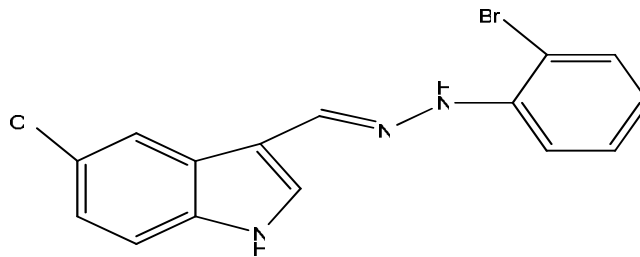


İzomer oranının belirlenmesi **Bölüm 3.5** de tanımlanan yöntemle yapılmıştır. Arka arkaya yapılan üç enjeksiyonda izomer oranı ortalama % 0.09; ana pik ortalama % 99.90 olarak bulundu.

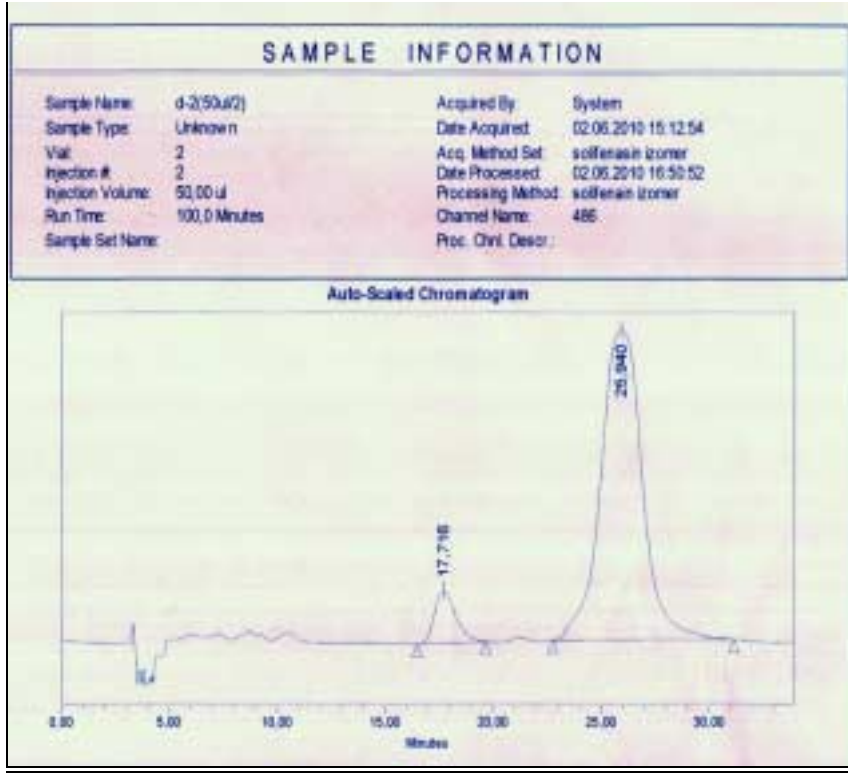


Şekil 3.88. Bileşik 1j'nin HPLC kromotogramı

3.5.3. 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit(2-bromo fenil) hidrazon (1r) bileşiğinin izomer oranlarının belirlenmesi



İzomer oranının belirlenmesi **Bölüm 3.5** de tanımlanan yöntemle yapılmıştır. Arka arkaya yapılan üç enjeksiyonda izomer oranı ortalama % 8.29; ana pik ortalama % 91.71 olarak bulundu.



Şekil 3.89. Bileşik 1r'nin HPLC kromotogramı

3.6. Sentez Edilen Bileşiklerin İn vitro Biyolojik Aktivite Tayinleri

3.6.1. *In vitro* Antioksidan Aktivite Tayini

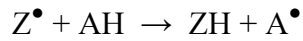
3.6.1.1. DPPH Üzerinden Serbest Radikal Yakalama Etki Tayini

Deneyin Prensipleri :

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'nın 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, 1958).

DPPH çözeltisi, bir hidrojen atomu verebilecek bir madde ile karıştırıldığında, mor-menekşe rengin kaybolması ile birlikte indirgenmiş forma dönüşmektedir. DPPH radikali $Z^{\bullet}$ ile ve donör molekül AH ile gösterilirse, primer reaksiyon şu şekilde gerçekleşir:



ZH, indirgenmiş formu ve $A^{\bullet}$, ilk basamakta oluşan serbest radikali göstermektedir. Bu radikal daha sonra tüm stokiometriyi kontrol eden yani, indirgeyici bir molekül tarafından indirgenen (rengi giderilen) DPPH moleküllerinin sayısı kadar reaksiyona girecektir. Üstteki reaksiyon bu nedenle bir lipidin veya doymamış bir maddenin otooksidasyonu gibi okside edici bir sistem içinde gerçekleşen reaksiyonlar için bir temel oluşturmaktadır. DPPH molekülü $Z^{\bullet}$, sistem içindeki aktiviteleri AH tarafından baskılanan serbest radikalleri temsil etmektedir.

Deneyin Yapılışı:

Sentezlenen maddelerin DMSO içerisinde 0,01M'lık çözeltileri hazırlandı. Bu numunelerin üzerine DPPH (2×10^{-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 α -tokoferol kullanıldı. Sentezlenen bileşiklerin radikal yakalama aktivitesi ölçülürken aşağıdaki denklemden faydalanıldı. Sonuçlar **Çizelge 3.1** de verilmektedir.

$$(A_{\text{Çözücü}} - A_{\text{numune}})$$

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

$A_{\text{Çözücü}}$

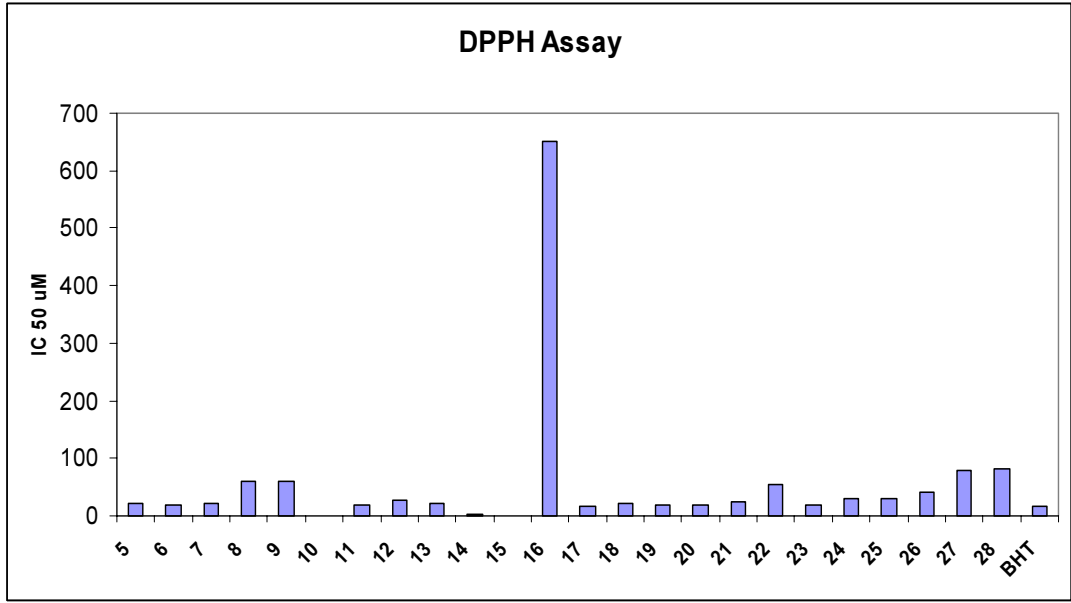
Reaksiyon ortamı: 100 μM DPPH (metanolde) ve değişik konsantrasyonlarda sentez maddesi içermektedir. Her deney 2-4 ölçümün ortalaması olarak verilmiştir.

Çizelge 3.1. Sentez edilen maddelerin DPPH radikal süpürücü aktivite üzerinden hesaplanan IC_{50} değerleri*

Sentez maddeleri	IC_{50} mM	μM
1a	0.042 ± 0.002	42
1b	0.06 ± 0.002	60
1c	0.06 ± 0.001	60
1d	0.019 ± 0.002	19
1e	0.021 ± 0.001	21
1f	0.055 ± 0.004	55
1g	0.022 ± 0.003	22
1h	0.022 ± 0.001	22
1i	0.02 ± 0.002	20
1j	0.002 ± 0.001	2
1k	0.024 ± 0.002	24
1l	0.023 ± 0.001	23
1m	0.015 ± 0.04	15
1n	0.028 ± 0.001	28
1o	0.02 ± 0.004	20
1p	0.0195 ± 0.002	20
1r	0.03 ± 0.005	30
1s	0.019 ± 0.003	19
1t	0.024 ± 0.001	24
1u	0.65 ± 0.02	650
1v	-	-
1y	-	-
BHT	0.015 ± 0.002	15
Melatonin	0.78 ± 0.05	780

*Her değer 2-3 deneyin ortalaması alınarak standart sapmaları ile birlikte gösterilmiştir.

En küçük IC_{50} değeri en aktif bileşiği göstermektedir.

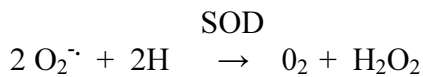


Şekil 3.90. Sentez edilen maddelerin DPPH radikal süpürücü aktivite üzerinden hesaplanan IC₅₀ değerleri grafiği

3.6.1.2. Süperoksit Anyon Radikali Üzerinden Serbest Radikal Yakalama Etki Tayini

Deneyin Prensibi :

Organizmada süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$) 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-Myung ve ark., 2003; Attar ve ark., 2006).



Deneyin Yapılışı:

Yöntem ksantin ve ksantin oksidaz tarafından oluşturulan süperoksit anyonunun sentez edilmiş ve standart madde varlığında Sitokrom c'nin redüksiyonunun inhibisyonunun ölçümüne dayanmaktadır (McCord, 1986)

Reaksiyon ortamı: 100 µl 4 mM ksantin, 400 µl sitokrom c, 0.1 M pH 7.8 fosfat tamponu, değişik konsantrasyonlardaki sentez edilmiş madde ve 40 µl ksantin oksidaz içermektedir. Ksantin oksidaz karışıma eklendikten sonra reaksiyon karışımının absorbanı 550 nm'de ölçülmüştür. Süperoksit anyon radikalini süpürücü etki (%), 60 saniye sonra kontrole karşı, sitokrom c'nin redüksiyonunun inhibisyon derecesi olarak belirtilmiştir.

Sentezlenen maddeleri içermeyen reaksiyon ortamı kontrol olarak alınmıştır. Melatonin pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin radikal yakalama aktivitesi ölçülürken aşağıdaki denklemden faydalanılmıştır. Sonuçlar **Çizelge 3.2** de verilmektedir.

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

(A: absorbanı)

Çizelge 3.2. Sentez maddelerinin süperoksit radikal süpürücü etkisi

Maddeler	% İnhibisyon	
	1mM	0.1 mM
1a	64 ± 3.0	P
1b	P	P
1c	P	P
1d	39 ± 7.5	P
1e	7.0 ± 1.5	P
1f	EG	EG
1g	P	P
1h	45 ± 2.0	EG
1i	93 ± 2.4	P
1j	79 ± 2.5	EG
1k	88 ± 4.8	P
1l	46 ± 1.7	P
1m	93 ± 3.0	P
1n	91 ± 2.0	P
1o	89 ± 5.2	EG
1p	95 ± 1.0	EG
1r	86 ± 4.5	P
1s	81 ± 5.7	P
1t	88 ± 3.5	P
1u	P	P
1v	P	25 ± 1.2
1y	P	EG
Melatonin	80 ± 1.5	20 ± 1.4

- Her değer 2-3 deneyin ortalaması alınarak standart sapmaları ile birlikte gösterilmiştir.
- EG Etki görülmemiştir.
- P prooksidan

3.6.2. Sentez Edilen Bileşiklerin *İn-vitro* Antioksidan Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

DPPH üzerinden serbest radikal yakalama etkilerine bakıldığında (**Çizelge 3.1.**) genel olarak sentezlenen tüm bileşiklerin (**1u** ve **1v** hariç) melatoninden çok daha fazla aktif oldukları görülmektedir. Bileşikler içinde en yüksek aktiviteye sahip olanı IC₅₀ değeri 2 mikromolar olan **1j** dir. Bunu IC₅₀ değerleri 2-20 mikromolar arasında bulunan **1d**, **1i**, **1m**, **1o**, **1p** ve **1s** izlemektedir. Sentezlenen bileşiklerin aktivite sıralaması **1e**, **1g**, **1h**, **1l**, **1t**, **1k**, **1n** ve **1r** şeklinde devam etmektedir. Son sırada yer alan moleküller ise **1a**, **1f**, **1b** ve **1c** olarak bulunmuştur. Ancak son sırada yer alan bileşikler bile melatoninden çok daha aktif bulunmuştur. Melatoninle kıyaslandıklarında çok üstün aktiviteye sahip olan bileşikler BHT ile karşılaştırıldıklarında, BHT ye eşit ya da yakın radikal yakalama kapasitesi göstermişlerdir. **1j** BHT den çok daha aktif bulunmuş, **1m** ise BHT ile aynı derecede antioksidan aktivite göstermiştir. Diğer bileşikler incelendiğinde IC₅₀ değerleri 15-20 mikromolar arasında bulunan **1v**, **1d**, **1o**, **1i** ve **1p** BHT ye yakın aktivite göstermiştir.

Sentezlenen melatonin analogu bileşiklerin süperoksit radikali yakalama özellikleri konsantrasyona göre değişkenlik göstermektedir (**Çizelge 1.2**). 1mM konsantrasyondaki % inhibisyon değerleri incelendiğinde sentezlenen bileşiklerden **1p**, **1m**, **1i**, **1n**, **1o**, **1t**, **1k**, **1r** ve **1s** sırasıyla 95, 93, 93, 91, 89, 88, 88, 86 ve 81 mM konsantrasyonları ile melatoninden (80 mM) daha aktif bulunmuştur. **1j** ve **1a** (79, 64 mM) melatonine yakın aktivite gösterirken **1l**, **1h** ve **1e** (46, 45,7 mM) melatonine göre daha düşük inhibisyon oranları göstermiştir. **1f** antioksidan aktivite göstermemiştir. **1b**, **1c**, **1g**, **1u**, **1v** ve **1y**, bileşikleri 1mM konsantrasyonda prooksidan aktivite göstermiştir.

In vitro antioksidan aktivite sonuçları sentezlenen maddelerin hem DPPH hem de süperoksit radikalini yakalayıcı özellikleri bakımından tam bir paralellik göstermemekle beraber **1a**, **1j**, **1m**, **1o** ve **1s** ve her iki in-vitro deneydede yüksek

aktivite gösterdiği için dikkat çekmektedir. İki biyolojik deney arasında karşılaştırma yapıldığında, sentezlenen maddelerin genel olarak DDPH radikali yakalama kapasiteleri, Süperoksit anyon radikali yakalama etkilerinden çok 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-süstitüe-indol bileşiklerinin antioksidan aktivitesi moleküldeki diğer fonksiyonel gruplardan da etkilenmektedir. Bu bulgulardan hareketle 3-süstitüe 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 araştırmacıda bu grubun antioksidan aktivitede büyük bir öneminin olmadığını ya da bu konumun başka gruplarla süstitüe edildiğinde de yüksek

antioksidan etki gözlemlendiğini göstermektedir (Tan ve ark., 2002; Ateş-Alagöz ve ark., 2005; Keithahn ve Lerchl, 2005). Halen bu grubun varlığının aktivitedeki önemi belirlenememiştir. Bu durum göze alınarak bu çalışmada sentezlenecek melatonin analogu indol türevi bileşiklerin 5. konumunda Cl atomu ile süstitüsyon yapılması düşünülmüştür. Cl atomunun seçilmesindeki başlıca neden bu atomu içeren indol türevi bileşikler ile ilgili antioksidan aktivite çalışmalarının yapılmamış olmasıdır.

Gürkök ve arkadaşlarının (2009), melatonin analogu bileşiklerin sentez ve antioksidan aktivitelerinin araştırılmasında üzerinde yaptığı tez çalışması sonucunda sentezlenen 16 adet melatonin analogu bileşikte melatoninden çok daha yüksek antioksidan aktivite gözlenmiştir. Sentezlenen 16 bileşik şu şekilde listelenebilir. 1*H*-indol-3-karboksaldehit fenil hidrazon (**1a**), 1*H*-indol-3-karboksaldehit(4-bromofenil) hidrazon (**1b**), 1*H*-indol-3-karboksaldehit(4-florofenil) hidrazon (**1c**), 1*H*-indol-3-karboksaldehit(4-klorofenil) hidrazon (**1d**), 1*H*-indol-3-karboksaldehit (2,4-diklorofenil) hidrazon (**1e**), 5-bromo-1*H*-indol-3-karboksaldehit fenil hidrazon (**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'-(1*H*-indolil-3-metilen)-hidrazon (**1k**), 1*H*-indol-3-karboksaldehit izonikotinoilhidrazon (**1l**), N-(4metoksibenzoil)-N'-(5-bromo-indolil-3-metilen)-hidrazon (**1m**), 5-bromo-1*H*-indol-3-karboksaldehit izonikotinoilhidrazon (**1n**), N, N'-bis-(1*H*-indol-3-ilmetilen)-hidrazon (**1o**), N, N'-bis-(5-bromo-1*H*-indol-3-ilmetilen)-hidrazon (**1ö**).

DPPH ve süperoksit radikali yakalama kapasiteleri bakımından yüksek aktivite gösteren bileşikler incelendiğinde yeni sentezlenecek bileşikler için 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 halkası 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.

Shirinzadeh ve arkadaşlarının (2010), yürüttüğü tez çalışması sonucunda melatonin yapısındaki ana halka sistemi olan indol halkası ele alınarak 5. konuma metoksi grubu yerine H, indol azotu üzerine CH₃ ve 3. konuma ise amid yan zinciri yerine çeşitli hidrazid türevleri bağlanarak imin yapısı oluşturulmuştur. Melatonin halkasındaki azot atomunun sentezlenen bileşiklerde metil ile süstitüe edilmiş olması antioksidan etkide belirgin bir artış gözlenmesine neden olmuştur. Sentezlenen 19 adet melatonin analogu bileşik şu şekilde listelenebilir. 1-Metilindol-3-karboksaldehit fenil hidrazon (**1a**), 1-Metilindol-3-karboksaldehit(2-florofenil) hidrazon (**1b**), 1-Metilindol-3-karboksaldehit(3-florofenil) hidrazon (**1c**), 1-Metilindol-3-karboksaldehit(4-florofenil) hidrazon (**1d**), 1-Metilindol-3-karboksaldehit (2,4-diflorofenil) hidrazon (**1e**), 1-Metilindol-3-karboksaldehit (2,5-diflorofenil) hidrazon (**1f**), 1-Metilindol-3-karboksaldehit (3,5-diflorofenil) hidrazon (**1g**), 1-Metilindol-3-karboksaldehit (2-klorofenil) hidrazon (**1h**), 1-Metilindol-3-karboksaldehit (3-klorofenil) hidrazon (**1i**), 1-Metilindol-3-karboksaldehit (4-klorofenil) hidrazon (**1j**), 1-Metilindol-3-karboksaldehit(2,5-diklorofenil) hidrazon (**1k**), 1-Metilindol-3-karboksaldehit(3,4-diklorofenil) hidrazon (**1l**), 1-Metilindol-3-karboksaldehit(3,5-diklorofenil) hidrazon (**1m**), 1-Metilindol-3-karboksaldehit(2-bromofenil) hidrazon (**1n**), 1-Metilindol-3-karboksaldehit (3-bromofenil) hidrazon (**1o**), 1-Metilindol-3-karboksaldehit (4-bromofenil) hidrazon (**1p**), 1-metilindol-3-karboksaldehit izonikotinoilhidrazon (**1r**), N-(4metoksibenzoil)-N'-(1-metilindolil-3-metilen)-hidrazon (**1s**). Bu çalışmada sentezlenen maddelerin çoğunun yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur.

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 halkası içerdiğinde etkili türevler elde edilebilir.

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

Bu veriler ele alındığında bu çalışmanın ileri safhalarında yukarıdaki sonuçlar değerlendirilerek 5. konumda Cl atomu taşıyan melatonin analogu bileşiklerin sentezlenmesi ve antioksidan aktivitelerinin değerlendirilmesi düşünülmüştür.

Birinci grup sonuç ürünleri indol-fenil hidrazon türevleri (**1a-1t**), ikinci grup ürünler indolün izonikotinik asit ile anisik asit hidrazidleri (**1u, 1v**) ve üçüncü grup ürün ise N,N'-bis-(1H-indol-3-ilmetilen)-hidrazin türevi (**1y**) olarak elde edilmiştir. Sentezlenen tüm bileşiklerin saflık kontrolleri, E.n ve İTK incelemeleri yapıldıktan sonra yapıları elementel analiz, NMR (^1H , ^{13}C) ve Kütle spektroskopisi ile kanıtlanmıştır.

Sentezi yapılan bileşiklerin *in vitro* antioksidan aktivite tayinleri DPPH ve süperoksit radikali yakalama kapasiteleri ölçülerek test edilmistir. Sonuçlar incelendiğinde antioksidan aktivite sonuçları, sentezlenen maddelerin hem DPPH hem de süperoksit radikalini yakalayıcı aktiviteleri bakımından yakın bir paralellik saptansa da tam bir uyum gözlenmemiştir.

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 gruplar 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 Cl, 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-1t**) 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 Cl atomu (indolün 5. konumunda) ve 3. konumdaki yan zincirde bulunan fenil halkasında bir ya da iki adet klor atomu (**1j, 1m, 1o**) bulunmasıdır. 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 bulunduğunda en yüksek aktivite elde edilmiştir. Bu sonuçlar da, tez çalışmasında elde edilen Cl taşıyan türevlerde daha yüksek aktivite gözlendiği sonucu ile paralellik göstermektedir.

Yüksek antioksidan aktivite gösteren bileşiklerin 3. konumdaki yan zincirde bulunan fenil halkasında taşıdıkları halojen grubuna göre aktiviteleri sıralandığında; Cl > DiCl > Br ve ya F olduğu görülmektedir.

Çizelge 3.1. ve Çizelge 3.2.' de 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 (**1u**, **1v** ve **1y**). 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 sitotoksikite 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 halkası içerdiğinde etkili türevler elde edilebilir. Fenil halkası p konumunda halojen (özellikle Cl) içerdiğinde aktivite yükselmektedir.

2. İndol halkası 5. konumunda bulunan sübstitüent 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

Melatonin Analogu İndol Türevi Yeni 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 çalışma ile yirmi bir adet (yirmi tanesi orjinal, bir tanesi **1a** daha önce sentezlenmiş) melatonin analogu indol türevi bileşik sentezlenmiş ve IR, NMR, Mass spektrometresi ve elementel analiz ile yapısı aydınlatılmıştır.

5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit fenil hidrazon (**1a**),
 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 2,4-dimetilfenil hidrazon (**1b**),
 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 2,3-dimetilfenil hidrazon (**1c**),
 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 2-florofenil hidrazon (**1d**),
 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 3-florofenil hidrazon (**1e**),
 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 4-florofenil hidrazon (**1f**),
 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 2,4-diflorofenil hidrazon (**1g**),
 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 2,5-diflorofenil hidrazon (**1h**),
 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 3,5-diflorofenil hidrazon (**1i**),
 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 2-klorofenil hidrazon (**1j**),
 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 3-klorofenil hidrazon (**1k**),
 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 4-klorofenil hidrazon (**1l**),
 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 2,4-diklorofenil hidrazon (**1m**),
 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 2,5-diklorofenil hidrazon (**1n**),
 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 3,4-diklorofenil hidrazon (**1o**),
 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 3,5-diklorofenil hidrazon (**1p**),
 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 2-bromofenil hidrazon (**1r**),
 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 3-bromofenil hidrazon (**1s**),
 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit 4-bromofenil hidrazon (**1t**),
 5-Kloro-1H-indol-3-karboksaldehit izonikotinoilhidrazon (**1u**),
 N-(4metoksibenzoil)-N'-(5-Kloro-1H-indolil-3-metilen)-hidrazon (**1v**),
 N,N'-bis-(5-kloro-1H-indol-3-ilmetilen) hidrazin (**1y**).

Sentezlenen bileşiklerin antioksidan aktivitelerini araştırmak ve melatonin ile karşılaştırmak için DPPH ve süperoksit radikali yakalama aktiviteleri test edilmiştir. Sonuçlara göre **1a-1t** arasında yer alan bileşikler DPPH testinde melatoninden çok daha iyi aktivite göstermiştir. Bileşiklerin büyük çoğunluğu süperoksit radikali yakalama kapasitesi bakımından melatonine yakın ya da daha fazla antioksidan aktivite göstermiştir. Bütün

aktif türevlerin yapısında halojen atomu taşıması dikkat çekmektedir. Ancak **1u**, **1v** ve **1y** bileşiklerinde aktivite gözlenmemiş ya da düşük aktivite gözlenmiştir.

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

SUMMARY

Synthesis, Structure Elucidation and Activity Evaluation of New Melatonin Analogue Indole Derivatives

Increased levels of ROS due to oxidative stress have been found responsible in the development of some diseases such as cardiovascular, neurodegenerative and autoimmune diseases. Antioxidants, both enzymatic and non-enzymatic, prevent oxidative damage to biological molecules by various mechanisms. An endogen hormone melatonin is the secretory product of the pineal gland and is released at night. It modulates biological rhythms such as sleep. Melatonin and its metabolites successively scavenge ROS/RNS is referred as very effective free radical scavenger. Because of melatonin's pharmacokinetic behavior such as a limited bioavailability and very short plasma half-life after oral administration, new antioxidant compounds are under investigation to determine which exhibit the highest activity with the lowest side effects.

With this study twenty one (twenty of them are new, one of them (**1a**) formerly synthesized compounds) melatonin analogue indole derivatives were synthesized and elucidated by IR, NMR, Mass spectrometry and elemental analysis.

5-chloro-1H-indole-3-carboxaldehyde phenyl hydrazone (**1a**),
 5-chloro-1H-indole-3-carboxaldehyde (2,4-dimethylphenyl) hydrazone (**1b**),
 5-chloro-1H-indole-3-carboxaldehyde (2,3-dimethylphenyl) hydrazone (**1c**),
 5-chloro-1H-indole-3-carboxaldehyde (2-fluorophenyl) hydrazone (**1d**),
 5-chloro-1H-indole-3-carboxaldehyde (3-fluorophenyl) hydrazone (**1e**),
 5-chloro-1H-indole-3-carboxaldehyde (4-fluorophenyl) hydrazone (**1f**),
 5-chloro-1H-indole-3-carboxaldehyde (2,4-difluorophenyl) hydrazone (**1g**),
 5-chloro-1H-indole-3-carboxaldehyde (2,5-difluorophenyl) hydrazone (**1h**),
 5-chloro-1H-indole-3-carboxaldehyde (3,5-difluorophenyl) hydrazone (**1i**),
 5-chloro-1H-indole-3-carboxaldehyde (2-chlorophenyl) hydrazone (**1j**),
 5-chloro-1H-indole-3-carboxaldehyde (3-chlorophenyl) hydrazone (**1k**),
 5-chloro-1H-indole-3-carboxaldehyde (4-chlorophenyl) hydrazone (**1l**),
 5-chloro-1H-indole-3-carboxaldehyde (2,4-dichlorophenyl) hydrazone (**1m**),
 5-chloro-1H-indole-3-carboxaldehyde (2,5-dichlorophenyl) hydrazone (**1n**),
 5-chloro-1H-indole-3-carboxaldehyde (3,4-dichlorophenyl) hydrazone (**1o**),
 5-chloro-1H-indole-3-carboxaldehyde (3,5-dichlorophenyl) hydrazone (**1p**),
 5-chloro-1H-indole-3-carboxaldehyde (2-bromophenyl) hydrazone (**1r**),
 5-chloro-1H-indole-3-carboxaldehyde (3-bromophenyl) hydrazone (**1s**),
 5-chloro-1H-indole-3-carboxaldehyde (4-bromophenyl) hydrazone (**1t**),
 5-chloro-1H-indole-3-carboxaldehyde isonikotinoylhydrazone (**1u**),
 N-(4-methoxybenzoyl)-N'-(5-chloro-1H-indolyl-3-methylene) hydrazine (**1v**), N,N'-bis-(5-chloro-1H-indole-3-ylmethylene) hydrazine (**1y**),

To investigate antioxidant activity of the synthesized compounds and to compare with melatonin, DPPH and superoxide radical scavenging activities of the synthesized compounds were tested. The results indicated that compounds **1a** to **1t** showed very good activity comparing to melatonin in DPPH assay. Free radical scavenging activity of the compounds was found close or higher than melatonin. It is noteworthy that all the active

compounds contains halogen atom in their structure. However compounds **1u**, **1v** and **1y** showed lower or no activity.

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

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.
- ALEXEYEV, MF. (2009). Is there more to again than mitochondrial DNA and reactive oxygen species? *FEBS J.* 276(20), 5768-87
- 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.
- ARCADI, A., BIANCHI, G., MARINELLI, F (2004). Gold(III)-Catalyzed Annulation of 2-Alkynylanilines: A Mild and Efficient Synthesis of Indoles and 3-Haloindoles. *Synthesis*, 610-618.
- 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.

- ATES-ALAGOZ, Z., COBAN, T., BUYUKBINGOL, E. (2006) Synthesis and antioxidant activity of new tetrahydro-naphthalene-indole derivatives as retinoid and melatonin analogs. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **339**:193-200.
- ATES-ALAGOZ, Z., SUZEN, S. (2001) Structure-activity relationships of melatonin analogues. *J. Fac. Pharm. Ankara Univ.*, **30**: 41-52.
- ATEŞ-ALAGOZ, Z., COBAN, T., SUZEN, 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. *Comms. 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.
- BAILLIE, J.K., BATES, A.A., THAMPSON, W.S., WARING, R.W., PARTRIDGE, M.F., SCHNOPP, A., SIMPSON, F., GULLIVER-SLOAN, S.R., MAXWELL, D.J.(2007). Webb. Endogenous urate production augments plasma antioxidant capacity in healthy lowland subjects exposed to high altitude. *Chest* **131** (5): 1473-1478.
- 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.
- BATCHO, A.D., LEIMGRUBER, W., (1984) *Org. Synth* 63,214.
- 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.
- BISBY, RH., CRISOSTOMO, AG., BOTCHWAY, SW., PARKER, AW (2009). Nanoscale hydroxyl radical generation from multiphoton ionization of tryptophan. *Photochem photobiol.* 58(1), 353-7.
- BLOIS, M.S., (1958) Antioxidant determinations by the use of a 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-carboxamides as novel NR2B selective NMDA receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15(24):5439-5441.
- BOZKAYA, P., DOGAN, B., SUZEN, S., NEBIOGLU, D., OZKAN 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.
- BRAINARD, G.C., HANİFİN, J.P., GRESON, J.M., BYRNE, B., GLİCKMAN, G., GERNER, E., SANFORD, B(2001). Human melatonin regulation is not mediated by the three cone photopic visual system. *Journal of Clinical Endocrinology Metabolism.*,86(1), 433-36
- BULATOVA, N.N., SUVORON, N.N., (1969). Indole derivatives. xxxvi. Reaction of 3-beta-nitrovinylindoles with nucleophilic reagents. *Khimiya geterots klicheskih soedinenii.* (5): 813-17
- BUYUKBINGOL, E., SUZEN, 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.
- CAGNACCI, A. (1996) Melatonin in Relation to Physiology in Adult Humans. *J. Pineal Res.* **21**:200-13.
- 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, T.B., WATSS, R.N., YUAN, J., RICHARDSON, D.R., (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.
- 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.
- CROTEAU, D. L. And BOHR, V. A. (1997) Repair of oxidative damage to nuclear and mitochondrial DNA in mammalian cells, *J. Biol. Chem.* 272, 25409-25412.
- 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.
- DANG, XX., WANG, Y., QIN, ZH.(2009). Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta Pharmacol Sin.* 30(4),379-87.
- 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.

- DAVİS, GD., MASILAMONI, JG., ARUL, V., KUMAR, MS., BARANEEDHARAN, U., PAUL, SF., SAKTHIVELU, IV., JESUDASON, EP., JAYAKUMAR, R. (2009) Radioprotective effect of DL-alpha-lipoic acid on mice skin fibroblasts. *Cell Biol Toxicol.* 25(4), 331-40.
- DEBELEC-BUTUNER, B., KANTARCI, G. (2006) Mutasyon , DNA hasarı, Onarım mekanizmaları ve Kanslerle ilişkisi. *ANKARA Ecz. Fak. Derg.* 35 (2) 149-170.
- DE LUCA, C., DEEVA, I., MARIANI, S., AMIANI, G., STANCATO, A., KORKINA, L. (2009) Monitoring antioxidant defenses and free radical production in space-flight, aviation and railway engine operators, for the prevention and treatment of oxidative stress, immunological impairment, and pre-mature cell aging. *Toxicol Ind Health.* 25(4-5), 259-67.
- DEMOPOULOS, V. J., GAVALAS, A., REKATAS, G., TANI, E. K. (1995) Synthesis of 6,7,8,9-Tetrahydro-N,N-Fi-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.,
- ERSAHIN, M., TOKLU, H.Z., ÇETİLEL, Ş., YÜKSEL, M., YEĞEN, B., ŞENER, G. (2009). Melatonin reduces experimental subarachnoid hemorrhage-induced oxidative brain damage and neurological symptoms. *J. Pineal Res.* 46: 324-332.
- FAUX, SP., TAI, T., THORNE, D., XU, Y., BREHENY, D., GACA, M. (2009). The role of oxidative stress in the biological responses of lung epithelial cells to cigarette smoke. *Biomarkers.* 14 Suppl 1, 90-6.
- 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.
- GARRATT, P.J. TSOTINIS, A. (2007) Synthesis of compounds as melatonin agonists and antagonists. *Medicinal chemistry.* 7: 1075-1088.
- 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.
- 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., TRAKTENBERG, S. (2004) Characterization of antioxidant compounds in Jaffa sweets 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.
- GUGLIELMOTTO M, TAMAGNO E, DANNI O. (2009). Oxidative stress and hypoxia contribute to Alzheimer's disease pathogenesis: two sides of the same coin. *Scientific World Journal.* 11;9:781-91,
- GUPTA, Y. K., GUPTA, M., KOHLI, K. (2003). Neuroprotective role of melatonin in oxidative stress vulnerable brain. *Indian J. Physiol. Pharmacol.*, **47**:373-386.
- GURKOK, G., ÇOBAN, T., SUZEN, S. (2009). Melatonin analogue new indole hydrazide/hydrazone derivatives with antioxidant behavior : Synthesis and structure-activity relationship. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal chemistry.* 24 (2): 506-515.
- GURKAN, A. S., KARABAY, A., BUYUKBINGOL, Z., ADEJARE, A., BUYUKBINGOL, E. (2005) Syntheses of novel indole lipoic acid derivatives and their antioxidant effects on lipid peroxidation. *Arch. Pharm. (Weinheim).* **338**:67-73.
- HALLIWELL, B. And GUITTERIDGE, J.M.C. (2005) Free radical in biology and medicine. 3.ed. Oxford Science Publications Press Inc. LONDON.
- HALLIWELL, B. And GUITTERIDGE, J.M. (1984) Free radical, Lipid Peroxidation, and cell damage. *Lancet*; 2; 1095.

- HANDERSON JR, SWALWELL H, BOULTON S, MANNING P, MCNEIL CJ, BIRCH- MACHIN MA. (2009) Direct, real-time monitoring of superoxide generation in isolated mitochondria. *Free Radic Res.* 43(9):796-802.
- 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.
- HIROYA, K., ITOH, S., SAKAMOTO, T. (2004) Development of an efficient procedure For indole ring synthesis from 2-ethynylaniline derivatives catalyzed by CuII salts and its application to natural product synthesis. *J. Org Chem.* 69(4), 1126-36.
- 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.
- HUONG, S. M., ROLLAG, M. D., RAMÍREZ, J., STETSON, M.H (2007). A single injection of adrenergic agonists enhances pineal melatonin production in Turkish hamsters. *Journal of Pin. Res.* 14(3) : 138-144.
- 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.
- HUONG, N.T.T., MATSOMOTO, 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.
- 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.
- JUMP, S.M., KUNG, J., STAUB, R., KINSETH, M.A., CRAM, E., YUDINA, L.N., PREOBROZHENSAKAYA M.N., BJELDANES, L.F., FIRESTONE, G. (2008) N-Alkoxy derivatization of indole-3-carbinol increases the efficacy of the G1 Cell cycle arrest and of I3C- specific regulation of cell cycle gene transcription and activity in human breast cancer cells. *Biochemical Pharmacology* **75**:713-724.

- 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.
- KEITHAN, 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
- 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.
- 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.
- LI, T. R., YANG, Z. Y., WANG, B. D. (2009) 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.
- LIU, F., MA, D. (2007) Assembly of Conjugated Enynes and Substituted Indoles via Cu/Amino Acid Catalyzed Coupling of 1-Alkynes with Vinyl Iodides and 2-Bromotrifluoroacetanilides. *J. Org. Chem.*, 72, 4844-4850.
- 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 drug 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., 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 DS, MAHARAJ H, ANTUNES EM, MAREE DM, NYOKONG T, GLASS BD, DAYA S. (2005) 6-Hydroxymelatonin protects against quinolinic-acid-induced oxidative neurotoxicity in the rat hippocampus. *J Pharm Pharmacol*. 57(7), 877-81.
- 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.
- MANSOURI, A., DEMEILLIERS, C., AMSELLEM, S., PESSAYRE, D., FROMENTY, B., (2001) Acte ethanol administration oxidatively damages and depletes mitochondrial DNA in mouse liver, and skeletal muscles; protective effect of antioxidant. *Journal of Pharmacology And Experimental Therapeutics*. 298(2):737-743.
- MARTÍN-RENDO, J., MAURÍZ, J.L., JORQUERA, F., RUÍZ-ANDRES, O., GONZALEZ, P., GONZALES-GALLEGO, J. (2008) Melatonin induces cell cycle arrest and apoptosis in hepatocarcinoma Hep G2 cell line. *J.Pineal Res.*45: 532-540.
- 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 isonicotioyl hydrazone inhibits iron-induced ascorbate indoles with hydroxyl radicals: EPR and spin trapping investigations. *Free Rad. Biol. Med.*, **23**:367-372.
- MAYO, J.C., SÁINZ, R.M., TAN, D.X., HARDELAND, R., LEON, J., RODRÍGUEZ, C., REITER, R.J. (2005) Anti-inflammatory action of melatonin and its metabolites, N1-acetyl-N2-formyl-s-methoxykynuramine (AMFK) and N1-acetyl-s-methoxykynuramine (AMK) in macrophages. *Journal of Neuroimmunology*. 165: 139-149.
- McCORD, J.M. (1986) Süperoxide dismutase: rationale for use in reperfusion injury and inflammation. *J. Free Radic. Biol. Med.* **2**:307-310
- MERGNER M, MARTINS MR, ANTUNES MV, DA SILVA CC, LAZZARETTI C, FONTANÍVE TO, SUYENAGA ES, ARDENGHI DG, MALUF SW, GAMARO GD. (2009) Oxidative stress and DNA damage in older adults that do Exercises regularly. *Clin Biochem*. 42(16-17), 1648-53.

- 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.
- MISRA MK, SARWAT M, BHAKUNI P, TUTEJA R, TUTEJA N. (2009) Oxidative stress and ischemic myocardial syndromes. *Med Sci Monit.* 15(10), RA209- 219.
- 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.
- MOUTHYS-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.
- NAPOLI C, IGNARRO LJ. (2009) Nitric oxide and pathogenic mechanisms involved in the Development of vascular diseases. *Arch Pharm Res.* 32(8), 1103-8.
- 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.
- OLGEN, S., ÇOBAN, T. (2003) Antioxidant evaluations of novel N-H and N-substituted indole esters. *Biol. Pharm. Bull.* **26**:736 -738
- OLGEN, 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.
- OLGEN, 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.

- OOSTHUIZEN, M. M., GREYLING, D. (1999) Antioxidants suitable for use with chemiluminescence to identify oxyradical species. *Redox Rep.*, **4**:277-290.
- OZTURK, D., SUZEN, S., SABUNCUOGLU, B., AKKUŞ, B. (2005) Radioprotection of the Rat Kidney with a New Indole Based Compound. *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.* **63**:S437.
- PACHER P, BECKMAN J. S, LIAUDET L(2007). Nitric oxide and peroxynitrite in health and Disease. *Physiol. Rev.* **87** (1), 315–424.
- PARK, J.W., HWANG, M.S., SUH, S., BAEK, W.K. (2009) Melatonin down regulates HIF-1 alfa espression throught inhibition of protein translation in prostate cancer cells. *J.Pineal Res.* **46**:414-421.
- PATEL, R. K., MCANDREW, J., SELLAK, H., WHITE, C. R., JO, H., FREEMAN, B. A., DARLEY-USMAR.. (1999) Biological aspects of reactive nitrogen series. *Biochym. Biophys. Acta.* **1411**:385-400.
- PIERPAOLI, W., DANIELE, B., BULIAN, G., GONZAGUE, K(1999). Thyotropin relasing hormone accelerates and anhances the age-postpanding effects of melatonin. *Journal of Anti-Aging Medicine.*, **2**,(4) 343-348.
- PIERRI, 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.
- POULLETIER DE GANNES F, RUFFIE G, TAXILE M, LADEVEZE E, HURTIER A, HARO E, DULEU S, CHARLET DE SAUVAGE R, BILLAUDEL B, GEFFARD M, VEYRET B, LAGROYE I. (2009) Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) and extremely-low frequency (ELF) magnetic field: a study in the SOD-1 transgenic mouse model. *Amyotroph Lateral Scler.* **10**(5-6),370-3
- POYTON, RO., CASTELLO, PR., BALL, KA., WOO, DK., PAN, N. (2009) Mitochondria and hypoxic signaling: a new view. *Ann N Y Acad Sci.* **1177**, 48-56.

- REITER, R. J., (1997) Antioxidant actions of melatonin. *Adv. Pharmacol.*, **38**:103 - 117.
- REITER, R.J., TAN, D.X., LEON, J., KILIC, Ü., KILIC, E., (2005). When melatonin gets on your nerves : Its beneficial actions in experimental models of stroke. *Experimental Biology And Medicine.*, 230: 104-117.
- 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., QI, W., MANCHESTER, L. C., KARBOWNIK, M., CALVO, J. R. (2000) *Biol. Signals Recept.*, **9**:160-171.
- REITER, R. J., PAREDES S. D., MANCHESTER L. D., TAN D. X. (2009) Reducing oxidative/nitrosative stress: a newly-discovered genre for melatonin. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 44(4), 175-200.
- 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 Derivates 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.
- SAKAI, N., ANNAKA, A., FUJITA, A., SATO, T., NAKAHARA, T. (2008) In-Br₃-Promoted Divergent Approach to Polysubstituted Indoles and Quinolines from 2-Ethynylanilines: Switch from an Intramolecular Cyclization to an Intermolecular Dimerization by a Type of Terminal substituent Group. *J. ORG. Chem.* **73**, 4160-4165.

- SARAN, M., MICHEL, C., BORS, W. (1990) Reaction of NO with O_2^- : 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.
- SHARPE, M.A., ROBB, S.J., CLARCK, J.B. (2003) Nitric oxide and Fenton/Haber-Weiss chemistry: nitric oxide is a potent antioxidant at physiological concentration. *Journal Neurochemical*, **87**; 2: 386-94.
- SHIRINZADEH, H., EREN, B., GURER-ORHAN, H., SÜZEN, S., ÖZDEN, S. (2010) Novel Indole-based Analogs of Melatonin: Synthesis and In-vitro Antioxidant Activity Studies. *Molecules*, **15**, 2187-2202; doi:10.3390.
- SIEGEL, G., SCHMIDT, A., SCHAFER, P., MALMSTEN, M., RINGSTAD L, WINKLER, K., SÖREN, JUST (2009). The importance of scavenging reactive oxygen species in anti-aging medicine. *Engineering in Life Sciences*. **9**(5), 363-375.
- 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):349-358.
- 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.
- SUGA, A., NARITA, T., ZHOU, L., SAKAGAMI, H., SATOH, K., WAKABAYASHI, H. (2009) Inhibition of NO production in LPS-stimulated mouse macrophage-like cells by benzo[b]cyclohept[e] [1,4]oxazine and 2-aminotropone derivatives. *In Vivo*. **23**(5), 691-7.

- 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 hepocytes. *Toxic. Appl. Pharmac.* **144**: 377-384.
- 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.
- SUZEN 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.
- SUZEN, S. (2006) Recent developments of melatonin related antioxidant compounds. *Com Chem High T Synt* **9**(6):409-419.
- SUZEN, S., ATEŞ-ALAGOZ, Z., DEMİRCİGİL, T., OZKAN, S. A. (2001) Synthesis and Analytical Evaluation by Voltammetric Studies of Some New Indole-3-propionic acid Derivatives. *Il Farmaco* **56**:835-840.
- SUZEN, S., ATEŞ-ALAGOZ, Z., PUSKULLU, O. (2000) Antioxidant Activities of Indole and Benzimidazole Derivatives. *FABAD J. Pharm. Sci.*, **25**(3):113-119.
- SUZEN, 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.
- SUZEN, S., BUYUKBİNGÖL, E., (1998) Evaluation of Anti-HIV Activity of 5-(2-phenyl-3'-Indolyl)-2-thiohydantoin. *Il Farmaco* **53**:525-527.
- SUZEN, S., BÜYÜKBİNGÖL, E. (2000) Anti-Cancer Activity Studies of Indolalithiohydantoin (PIT) on certain cancer cell lines. *Il Farmaco* **55**(4):246-248.
- SUZEN, 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.
- 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.
- TENGATTINI, S., REITER, R.J., TAN, D.X., TERRON, M.P., RODELLA, L., REZZANI, R., (2000) Cardiovascular diseases: protective effects of melatonin. *J. Pineal Res.* **44**: 16-25.
- 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.
- TURRENS, J. F(2003). Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *The Journal of Physiology*, **552**, 335-344.
- UTTARA B, SINGH A.V., ZAMBONI P, MAHAJAN RT (2009) Oxidative stress and eurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Curr Neuroparmacol.* **7**(1), 65-74.

- VACCHER, C., FOURMAINTRAUX, E., BELLOLI, E., VACCHER, M. P., BONTE, J. P. (1998) Enantiomeric Resolution of Melatonin Ligands Receptors by Liquid Chromatography on Amylose Chiral Stationary Phases. *Chromatographia*. **48**:11-12.
- VALKO, M., LEIBFRITZ, D., MONCOL, J., CRONIN, M.T.D., MAZUR, M., TELSER, J. (2006) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* **39**:44-84.
- 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.* **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.
- VELKOVA, Z.A., VELKOVA, Z.H., GALUNSKA, B.T., PASKALEV, D.N., TADJER, A.V. (2009) Melatonin and biochemical investigation of antioxidant activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **44**: 2834-2839.
- VINE KL, MATEŠIĆ L, LOCKE JM, RANSON M, SKROPETA D. (2009) Cytotoxic and Anticancer activities of isatin and its derivatives: a comprehensive review from 2000-*Anticancer Agents Med Chem.* **9**(4), 397-414.
- 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 neurodegenerative brain disorders. *Chem. Res. Toxicol.*, **11**: 639-650.

- 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.
- YEŞILKAYA, A., YEGIN, A., ÖZDEN, S., AKSU, T.A. (1998) The effect of bilirubin on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in cumene hydroperoxide-treated erythrocytes. *International Journal of Clinical & Laboratory Research*. 28(4), 230-34.
- 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.
- ZHOU, C., HUANG, Y., PRZEDBORSKI, S. (2008) Oxidative stress in Parkinson's diseases: a mechanism of pathogenic and therapeutic significance. *Ann N Y Acad Sci.* 1147:93-104,.
- 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 DİDEM

Soyadı : YILMAZ

Doğum Yeri ve Tarihi : UŞAK – 22.11.1985

Uyruğu : T.C.

Medeni durumu : BEKAR

İletişim Adresi : Kent-Koop. Mahallesi 7. Cadde TOK-84 Sitesi J Blok
No:6

Batıkent/ ANKARA

Telefon : 0505 2730095

Email : aysedidemyilmaz@mynet.com

II- Eğitimi

2007- A. Ü. Eczacılık Fak. Farmasötik Kimya

A.B.Dalı(T.Y.lisans)

2003-2007 Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

2000-2003 UŞAK Şehit Abdülkadir Kılavuz Anadolu Öğretmen Lisesi

1996-2000 Uşak Orhan Dengiz Anadolu Lisesi

1991-1996 Uşak Cumhuriyet İlkokulu

Yabancı Dili : İngilizce

III - Ünvanı : Eczacı

IV- Mesleki Deneyim:

Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı

İlaç ve Kozmetikler Araştırma Müdürlüğü –Analist (2008-...)

IV- Bilimsel Faaliyetler:

1) Yayınlar:

SHIRINZADEH H, YILMAZ A.D, GUMUSTAS M, SUZEN S, OZDEN S, OZKAN S.A “Electrochemical behavior of indole-3-carboxaldehyde izonicotinoyl hydrazones: discussion on possible biological behavior” Comb. Chem. High T. Synt 13(2), 2010

2) Proje :

Süzen, S., Özden, S., Özkan, S.A., Shirinzade, H., Yilmaz, A.D., Gümüştas, M., Melatonin Analogu Yeni Antioksidan İlaç Etken Maddeleri Geliştirilmesi: Biyolojik Aktivite , Sitotoksosite ve Olası Metabolitlerinin In-vitro Elektrokimyasal değerlendirmeleri- TÜBİTAK, BAP , Proje no:(109S099), Araştırmacı

3) Verilen Seminer: Docking Çalışması: Aldoz-Redüktaz Enzimi ile Tolrestat'ın Etkisi İncelemeleri (A.Ü. Eczacılık Fak. Farmasötik Kimya Anabilim Dalı 2008)

4) Katıldığı Seminerler:

HPLC Kolonları ve İleri Uygulama Teknikleri (RSHMB, 2009)
Kütle Spektrometre Teknikleri ve Kullanım Alanları (RSHMB, 2009)
HPLC ve GC Sistemlerinde Tips & Tricks (Ankara, 2010)
Laboratuvar Güvenliği ve İlk yardım Eğitimi (RSHMB,2010)

5)Aldığı Burslar:

TÜBİTAK Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı-2210 (2007)

V- Özel İlgi Alanları:

Klasik gitar ve solfej eğitimi (Uşak, 1996-2001)
Ankara Üniversitesi Türk Sanat Müziği Korosu (2006,Korist, solist)
Ankara Üniversitesi Heykelcilik Kursu (2006)
TEV Gönüllü Öğretmenlik (Ankara, 2006)
Altı Nokta Körler Derneğinde Gönüllü Yardım (Ankara, 2007)