

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MELATONİN ANALOGU YENİ İNDOL TÜREVİ
BİLEŞİKLERİN SENTEZLERİ, ANTİOKSİDAN VE
KEMOPREVENTİF ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Kübra DURGUN

FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEKLİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Sibel SÜZEN

ANKARA
2018

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans olarak hazırlayıp sunduğum “Melatonin analogu yeni indol türevi bileşiklerin sentezleri, antioksidan ve kemopreventif etkilerinin değerlendirilmesi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Kübra DURGUN

Tarih:

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda

Kübra DURGUN tarafından hazırlanan

“Melatonin analogu yeni indol türevi bileşiklerin sentezleri, antioksidan ve kemopreventif etkilerinin değerlendirilmesi” adlı tez çalışması

aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ/ OY ÇOKLUĞU ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 12.10.2018

Prof. Dr. Hakan GÖKER

Ankara Üniversitesi

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Sibel SÜZEN

Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Hande Gürer-Orhan

Ege Üniversitesi

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet Akan

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller	xi
Çizelgeler	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	2
1.1.1. Serbest Radikallerin Özellikleri	4
1.1.2. Serbest Radikallerin Oluşumu	5
1.1.3. Biyolojik Sistemde Önemli Radikal Türleri	6
1.1.3.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)	7
1.1.3.1.1. Süperoksik Anyonu Radikali	9
1.1.3.1.2. Hidrojen Peroksit	10
1.1.3.1.3. Hidroksil Radikali	11
1.1.3.1.4. Peroksil Radikali	12
1.1.3.2. Reaktif Azot Türleri (RAT)	13
1.1.3.2.1. Peroksinitrit	13
1.1.3.2.2. Nitrik Oksit Radikali	14
1.1.4. Oksidatif Hasar	15
1.1.4.1. Lipidlerde Oksidatif Hasar	15
1.1.4.2. Proteinlerde Oksidatif Hasar	16
1.1.4.3. DNA’da Oksidatif Hasar	17
1.1.5. Oksidatif Stres ve Neden Olduğu Hastalıklar	17
1.1.5.1. Oksidatif Stres ve Kardiyoasküler Hastalıklar	18
1.1.5.2. Oksidatif Stres ve Yaşlanma	19
1.1.5.3. Oksidatif Stres ve Kanser	19
1.1.5.4. Oksidatif Stres ve Nörodejeneratif Hastalıklar	22
1.2. Antioksidanlar	23
1.2.1. Antioksidan Koruma Sistemi	23
1.2.2. Antioksidan Etkinin Seviyeleri	24
1.2.3. Doğal Antioksidan Çeşitleri	25
1.2.3.1. Enzimatik Antioksidanlar	28
1.2.3.1.1. Glutasyon Peroksidaz	28
1.2.3.1.2. Katalaz (CAT)	29
1.2.3.1.3. Süperoksit Dismutaz (SOD)	29
1.2.3.2. Non-Enzimatik Antioksidan Moleküller	30
1.2.3.2.1. Glutasyon (GSH)	30
1.2.3.2.2. A Vitamini	30
1.2.3.2.3. Koenzim Q10	31
1.2.3.2.4. Ürik Asit	31
1.2.3.2.5. Melatonin (MLT)	31
1.2.3.2.6. Askorbik Asit (C Vitamini)	32
1.2.3.2.7. E Vitamini	32

1.2.3.2.8.	β - Karoten	33
1.2.3.2.9.	Flavonoidler	33
1.2.4.	Sentetik Antioksidanlar	33
1.3.	Melatonin	34
1.3.1.	Melatonin Sentezi	36
1.3.2.	Melatonin Metabolizasyonu	39
1.3.3.	Melatoninin Kimyasal Özellikleri	41
1.3.4.	Melatoninin Antioksidan Özellikleri	42
1.3.5.	Melatonin Metabolitlerinin Antioksidan Özellikleri	43
1.3.5.1.	Siklik 3-hidroksimelatonin (c3OHM)	46
1.3.5.2.	N1-asetil-N2-formil-5-metoksikinuramin (AFMK)	46
1.3.5.3.	N-asetil-5-metoksikinuramin (AMK)	47
1.3.5.4.	5-Hidroksitriptofan (5HTP)	48
1.3.5.5.	Serotonin (5-HT)	49
1.3.5.6.	N-asetilserotonin (NAS)	50
1.3.5.7.	6- Hidroksimelatonin (6-OHM)	51
1.3.6.	Melatoninin Hastalıklara Faydaları	52
1.3.6.1.	Melatoninin Anti-Enflammatuvar Etkisi	52
1.3.6.2.	Melatonin ve Sedef Hastalığı	53
1.3.6.3.	Multipl Skleroz (MS) ve Melatonin	53
1.3.6.4.	Alzheimer Hastalığı (AD) ve Melatonin	54
1.3.6.5.	Parkinson Hastalığı (PD) ve Melatonin	55
1.3.6.6.	Bipolar Hastalık ve Melatonin	56
1.3.6.7.	Diyabet ve Melatonin	56
1.3.6.8.	Kanser ve Melatonin	57
1.3.7.	Sentetik Melatonin Analogları	59
1.4.	İndoller	60
1.4.1.	İndolün Fiziksel ve Spektroskopik Özellikleri	60
1.4.2.	Başlıca İndol Sentezi Reaksiyonları	62
1.4.2.1.	Fischer- İndolizasyon Yöntemi	62
1.4.2.2.	Wender Sentezi	63
1.4.2.3.	Leimgruber-Batcho Sentezi	64
1.4.3.	İndolün Elektrofilik Sübstitüsyon Reaksiyonları	64
1.4.3.1.	3 Numaralı Konumdan Sübstitüsyon	64
1.4.3.2.	Vilsmeier Formilasyonu	65
1.4.3.3.	Mannich Reaksiyonu	66
1.4.4.	İndol Türevi Sentetik MLT Analogları ve Antioksidan Özellikleri	67
1.4.4.1.	Anti-Enflammatuvar İndol Türevleri	68
1.4.4.2.	İndole Yapışık Halka İçeren Türevler	70
1.4.4.3.	Antioksidan Moleküllerle Kondanse İndol Türevleri	72
1.4.4.4.	Alkil ve Aril Sübstitüe İndol Türevleri	75
1.4.4.5.	Diğer Antioksidan Sentetik İndol Türevleri	83
1.5.	Melatonin Analogu Antioksidan Bileşikler Üzerindeki Çalışmaların Gerekliliği	87
1.6.	Tez Çalışmasının Amacı	88
2.	GEREÇ VE YÖNTEM	90
2.1.	1-Etil-3-((2-hidraziniliden)metil)-1H-indollerin Genel Sentezi	91
2.2.	Gereç ve Yöntem	93
2.2.1.	Kullanılan Araç ve Gereçler	93

2.2.2.	Kullanılan Kimyasal Maddeler	93
2.2.3.	Sentezlenen Maddelere Uygulanan Analitik Yöntemler	93
2.2.3.1.	Kromatografik Analizler	93
2.2.3.2.	Erime Noktası Tayinleri	94
2.2.3.3.	Elementel Analiz Tayini	94
2.2.3.4.	Spektral Analizler	94
3.	BULGULAR	95
3.1.	Başlangıç Maddesi	95
3.2.	1 <i>H</i> -indol-3-karbaldehit Sentezi (A)	95
3.3.	1-Etil-1 <i>H</i> -indol-3-karbaldehit Sentezi (B)	96
3.4.	1-etil-3-((2-fenilhidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -indol Türevlerinin Genel Sentezi (C)	96
3.4.1.	1-etil-3-((2-fenilhidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -indol (C1)	97
3.4.2.	1-etil-3-((2-(2-florofenil)hidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -indol (C2)	100
3.4.3.	1-etil-3-((2-(3-florofenil)hidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -indol (C3)	102
3.4.4.	1-etil-3-((2-(4-florofenil)hidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -indol (C4)	104
3.4.5.	1-etil-3-((2-(3,5-diflorofenil)hidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -indol (C5)	107
3.4.6.	1-etil-3-((2-(2,4-diflorofenil)hidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -indol (C6)	109
3.4.7.	1-etil-3-((2-(2-klorofenil)hidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -indol (C7)	111
3.4.8.	1-etil-3-((2-(3-klorofenil)hidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -indol (C8)	114
3.4.9.	1-etil-3-((2-(4-klorofenil)hidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -indol (C9)	117
3.4.10.	1-etil-3-((2-(3,5-diklorofenil)hidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -indol (C10)	120
3.4.11.	1-etil-3-((2-(2,4-diklorofenil)hidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -indol (C11)	123
3.4.12.	1-etil-3-((2-(3,4-diklorofenil)hidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -indol (C12)	126
3.4.13.	1-etil-3-((2-(2,5-diklorofenil)hidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -indol (C13)	129
3.4.14.	1-etil-3-((2-(2-bromofenil)hidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -indol (C14)	132
3.4.15.	1-etil-3-((2-(3-bromofenil)hidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -indol (C15)	135
3.4.16.	1-etil-3-((2-(4-bromofenil)hidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -indol (C16)	138
3.4.17.	1-etil-3-((2-(3,4-dimetilfenil)hidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -indol (C17)	141
3.4.18.	1-etil-3-((2-(2,4-dimetilfenil)hidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -indol (C18)	144
3.4.19.	1-etil-3-((2-(<i>o</i> -tolilfenil)hidraziniliden)metil)-1 <i>H</i> -indol (C19)	147
3.5.	Sentezlenen Bileşiklerin İn Vitro Biyolojik Aktivite Tayinleri	150
3.5.1.	Sentezlenen Melatonin Analöğü İndol Türevi Bileşiklerin Antioksidan Etki Profilleri	150
3.5.1.1.	Antioksidan Deneylerde Kullanılan Kimyasallar	150
3.5.1.2.	Radikal Süpürücü Aktivitenin DPPH Deneyi ile Araştırılması	150
3.5.1.3.	DCFH Yöntemi ile Hücre İçi ROT Ölçümü	151
3.5.2.	Sitooksisite Çalışmasında Kullanılan Kimyasallar	152
3.5.2.1.	Çin Hamsteri Over Hücre Hattında Sitotoksitenin MTT Yöntemi ile Araştırılması	152
3.5.3.	Biyolojik Aktivitenin Sonuçlarının Değerlendirilmesi	153
3.5.3.1.	Radikal Süpürücü Aktivitenin DPPH Deneyi ile Araştırılması	153
3.5.3.2.	DCFH Yöntemi ile Hücre İçi ROT Ölçümü	154
3.5.3.3.	Çin Hamsteri Over Hücre Hattında Sitotoksitenin MTT Yöntemi ile Araştırılması	155
4.	TARTIŞMA	156
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	159
	ÖZET	162

SUMMARY	163
KAYNAKLAR	164
ÖZGEÇMİŞ	193

163
164
193



ÖNSÖZ

Ortadoğu Teknik Üniversitesi'nde gördüğüm kimya eğitimi sırasında organik kimya en çok ilgimi çeken alandı. Bunun üzerine son sınıfta organokatalitik enantiyoselektif sentez üzerine çalıştım ve bu çalışmalar ileride çalışacağım alanın organik sentez içermesi gerektiğini çünkü bu işten keyif aldığımı farketmeme neden oldu. Lise yıllarından gelen ilaç alanına duyduğum ilgi beni Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans yapmaya yöneltti. Tez konumun esasını oluşturan indol türevi bileşiklerin sentezleri sayesinde ilaç etken maddesi geliştirebilme alanında çalışma 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 bir karar oldu. Bileşiklerin sentezlenmesi sırasında bazı zorluklar ile karşılaşsam da sonuç olarak 18'i literatürde bulunmayan toplam 19 adet melatonin analogu indol hidrazon türevini sentezlemeyi başardım ve yapılarını ileri enstrümental tekniklerle aydınlattım. Antioksidan ve kemopreventif aktiviteleri araştırılan bu indol hidrazon türevlerinin standart madde olarak alınan melatoninden daha aktif özellik göstermesi tez çalışmamın başarı ile sonuçlandığını göstermektedir.

Kanser benim için her zaman hassas bir konu olmuştur. Kanserlin aileme ve bana geçmişimizde yaşattığı acılar bana bir gün her ne alanda olursa olsun kanserli insanlar için birşeyler yapma motivasyonunu kazandırmıştı. Danışman hocamla karar verdiğimiz indol türevlerinin antioksidan ve kemopreventif etkilerini araştırmak bana kendi kendime yıllar önce verdiğim bir sözü tutmama sebep oldu.

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 teşekkürlerimi sunarım.

Sentezlediğim bileşiklerin ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve MASS analizlerinin ölçülmesinde bana yardım eden Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Hakan Göker'e ve elementel analizlerimi yapan Doç. Dr. Mehmet Alp'e teşekkürlerimi sunarım.

Aktivite tayin çalışmalarını yapan Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Hande Gürer-Orhan, ve ekibine teşekkürlerimi sunarım.

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

SİMGELER VE KISALTMALAR

4-HNE	4-hidroksinonenal
5-HT, SRT	Serotonin
5-HTP	5-hidroksitriptofan
5-MTA	5-metoksitriptamin
6OHM	6-Hidroksimelatonin
8-OHG	8-Hidroksiguanin
A	Adenin
ABTS ⁺	2,2'-azino-bis(3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit
AD	Alzheimer's Hastalığı
AFMK	N1-asetil-N2-formil-5-metoksikinuramin
ALS	Amyotropik Latera Skleroz
AMK	N1-asetil-5-metoksikinuramin
ATP	Adenozin Trifosfat
AOC	Antioksidan kapasite
BHA	Hidroksianizol
BHT	Bütillenmiş hidroksi tolüen
C	Sitozin
C3OHM	Siklik 3-hidroksimelatonin
CAT	Katalaz Enzimi
CHO-K1	Çin hemstırı over hücresi
COX	Siklooksigenaz
DCFH-DA	5-(-6)-klorometil-2',7'-diklorodihidro-floresin diasetat
DMEM:F12	Dulbecco's Modified Eagle Serum/F12
DMF	N,N-Dimetilformamid
DMFDMA	N,N-dimetilformamid dimetil asetal
DMPD	N,N-dimetil-p-fenilendiamin
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPPH	α,α -Difenil- β -pikrihidrazil
DTBHB	N-[2-(5-metoksi-1H-indol-3-il)etil]-3,5-di-tert-butil-4-
hidroksibenzamid	
ESR	Elektron spin rezonans
EtOH	Etanol
FBS	Fetal sığır serumu
G	Guanin
GPx	Glutasyon peroksidaz
GSH	Glutasyon
GR	Glutasyon redüktaz
GST	Glutasyon-s-transferaz
GWC20	(R,S)-1-(3-metoksifenil)-2-propil-1,2,3,4-tetrahidro- β -karbonil
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
IDO	İndolamine-2,3-dioksigenaz
IPA	İndol-3-propiyonik asit
İTK	İnce tabaka kromatografisi
LDH	Laktat dehidrojenaz

MDA	Malondialdehit
MDA-MB-231	Meme kanseri hücre hattı
MLT	Melatonin
MS	Multipl skleroz
MTT	3-(4,5-dimetil-2-tiyazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazolyum bromür
NADPH	Nikotinamit Adenin Dinükleotit Fosfat
NaOH	Sodyum Hidroksit
NAS	N-asetilserotoni
ND	Nörodejeneratif hastalıklar
NE	Norepinefrin
·NO	Nitrik oksit
NSAID	Nonsteroidal Antienflamatuvar İlaçlar
O ₂ ⁻	Süperoksit anyonu radikali
⁻¹ O ₂	Singlet oksijen
O ₃	Ozon
·OH	Hidroksil radikali
·OOR	Peroksil Radikali
ONOO ⁻	Peroksinitrit
OS	Oksidatif Stres
PBS	Fosfat tampon tuzu (phosphat buffered saline)
PD	Parkinson's Hastalığı
POCl ₃	Fosforil klorür
PUFA	Poly unsaturated fatty acids
REM	Hızlı Göz hareketi
RAT	Reaktif Azot Türleri
RKT	Reaktif Kükürt Türleri
RNA	Ribonükleik asit
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SNAT	N-asetiltransferaz
SOD	Süperoksit Dismutaz Enzimi
T	Timin
THF	Tetrahidrofur
TPBIA	1-p-Toluensülfonil-6,7,8,9-tetrahidro-N,N-di-n-propil-1H-benz[g]indol-7-amin)
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER

Şekil 1.1 Serbest radikallerin oluşum kaynakları	1
Şekil 1.2 Serbest radikallerin antioksidanlarca nötralizasyonu	3
Şekil 1.3 Reaktif oksijen türlerinin oluşumu	6
Şekil 1.4 Dioksijen molekülünden süperoksit ve H_2O_2 eldesi	8
Şekil 1.5 Hücrede süperoksit anyon radikali üretilen bölümler	9
Şekil 1.6 Süperoksit anyon radikali sentezi	10
Şekil 1.7 Süperoksit anyon radikalinin H_2O_2 'e dismutasyonu	10
Şekil 1.8 -CH- radikali oluşumu	12
Şekil 1.9 Peroksil radikali oluşumu	13
Şekil 1.10 Peroksil radikalinin zincirleme reaksiyon başlatması	13
Şekil 1.11 Peroksinitrit anyonu oluşumu	14
Şekil 1.12 Lipid peroksidasyonu başlangıcı	15
Şekil 1.13 Lipid peroksidasyonunun triklorometil radikali ile başlaması	16
Şekil 1.14 Çoklu çift bağı olan yap asitlerinin hidroperoksil radikali ile lipid peroksidasyonu	16
Şekil 1.15 Oksidatif stres kaynaklı oluşabilen hastalıklar	18
Şekil 1.16 ROT'un kanser oluşumundaki rolü	20
Şekil 1.17 Lipid peroksidasyonu ürünleri	21
Şekil 1.18 8-OHG oluşumu	22
Şekil 1.19 Antioksidanlar ve serbest radikaller arasındaki reaksiyonların mekanizmaları	24
Şekil 1.20 Antioksidanların sınıflandırılması	26
Şekil 1.21 Antioksidanların hücre içindeki konumları	27
Şekil 1.22 Organik peroksitlerin su ve ya alkolle GSH varlığında indirgenmesi	28
Şekil 1.23 GSSH'nin GSH'a indirgenmesi	29
Şekil 1.24 Katalaz enziminin H_2O_2 'yi su ve oksijene parçalaması reaksiyonu	29
Şekil 1.25 Süperoksit anyon radikalinin H_2O_2 'e dismutasyonu	29
Şekil 1.26 Melatonin salgılanmasının gece ve gündüz döngüsüne göre değişimi	35
Şekil 1.27 Melatonin molekülünün bitkilerde ve hayvanlarda sentezlenişi	36
Şekil 1.28 Melatonin molekülünün bitkilerde ve hayvanlarda sentezlenişi	37
Şekil 1.29 Bitkilerde serotonin molekülünün triptofandan sentezi	37

Şekil 1.30 Serotonin molekülünden melatonin sentezi	38
Şekil 1.31 Melatonin metabolizasyon çeşitleri	39
Şekil 1.32 Melatonin Sentezi ve Metabolizasyonu	40
Şekil 1.33 Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin, MLT)	41
Şekil 1.34 Melatonin Antioksidan Zincirinin Serbest Radikallerle Etkileşimi	44
Şekil 1.35 Melatonin ve analogu olan bazı bileşikler	45
Şekil 1.36 Agomelatin	53
Şekil 1.37 Kimyasal karsinogenezde MLT'in muhtemel rolleri	58
Şekil 1.38 İndol molekülü	60
Şekil 1.39 İndol Molekülünün Rezonans Formları	61
Şekil 1.40 İndol Molekülüne Elektrofilik Sübstitüsyon Şekilleri	61
Şekil 1.41 Fischer-İndolizasyonu Mekanizması	62
Şekil 1.42 Fenilhidrazin Yerine Fenilhidroksilamin Kullanıldığında Görülen Mekanizma	63
Şekil 1.43 Wender Sentezi Mekanizması	63
Şekil 1.44 Leimgruber-Batcho Sentezi Mekanizması	64
Şekil 1.45 İndol Halkasına 3 Numaralı Konumdan Gerçekleştirilebilecek Sübstitüsyon Seçenekleri	65
Şekil 1.46 Vilsmeier Reaksiyonu Mekanizması	66
Şekil 1.47 Mannich Reaksiyonu Mekanizması	67
Şekil 1.48 İndometazin, asemetazin ve etodolak yapısı	68
Şekil 1.49 N-Sübstitüe indol-2-karboksamit ve indol-3-asetamitler	69
Şekil 1.50 N-H ve N-sübstitüe indol türevleri	70
Şekil 1.51 Stobadin türevleri	71
Şekil 1.52 TPBIA (1- <i>p</i> -Toluensülfonil-6,7,8,9-tetrahidro-N,N-di-n-propil-1 <i>H</i> -benz[<i>g</i>]indol-7-amin)	71
Şekil 1.53 GWC20 [(R,S)-1-(3-metoksifenil)-2-propil-1,2,3,4-tetrahidro- β -karbonil] ve DTBHB (N-[2-(5-metoksi-1 <i>H</i> -indol-3-il)etil]-3,5-di-tert-butil-4-hidroksibenzamit)	72
Şekil 1.54 Tetrahidronaftalen-indol türevleri	73
Şekil 1.55 İndol α -lipoik asit türevleri	73
Şekil 1.56 İndol-benzimidazol türevleri	74
Şekil 1.57 Bisindolilmaleimid türevi analogları	74

Şekil 1.58 N-H ve N-sübstitüe indol-3-propanamit türevleri	75
Şekil 1.59 N-H ve N-sübstitüe indol türevleri	76
Şekil 1.60 Triazol yapısı içeren indol türevleri	76
Şekil 1.61 5-Metoksi ve açilamino gruplarında değişiklik olan indol türevleri	77
Şekil 1.62 2-N-açilaminoetil türevleri	77
Şekil 1.63 Triptamin ve N-alkil sübstitüe melatonin analogları	78
Şekil 1.64 N-alkil 2-sübstitüe melatonin analogları	78
Şekil 1.65 2-Fenilindol türevleri	79
Şekil 1.66 MLT molekülü üzeride yapılan değişiklikler	81
Şekil 1.67 Hidrazinkarbotiyoamid ve 1,2,4-triazol-3-tiyol türevleri	82
Şekil 1.68 İndol-3-aldehit hidrazin ve hidrazid türevleri	83
Şekil 1.69 2-Metil indol hidrazon türevleri	83
Şekil 1.70 Zolpidem ([N,N,6-trimetil-2-p-tolil-imidazo(1,2-a)piridin-3-asetamit L-(+)])	84
Şekil 1.71 2,3-Dihidromelatonin yapısı	84
Şekil 1.72 Fluvastatin (7-[3-(4-florofenil)-1-(1-metiletil)-1H-indol-2-il]-3,5-dihidroksihept-6-enoik asit	85
Şekil 1.73 İndolin-2-on ve indolin-2-tiyon türevleri	85
Şekil 1.74 Tasarlanmış hibrit hidroksiindol türevleri	85
Şekil 1.75 Sübstitüe 2-indolil karbohidrazitler	86
Şekil 1.76 3-Sübstitüe-2-oksindol türevleri	86
Şekil 1.77 Melatonin üzerinde yapılan modifikasyonlar	90
Şekil 2.1 1-Etil-3-(2-fenilhidraziniliden)metil-1H-indol türevlerinin sentezi	91
Şekil 2.2 Sentezlenen 1-Etil-3-(2-fenilhidraziniliden)metil-1H-indol türevlerinin kimyasal formülleri	92
Şekil 3.1 Bileşik C1'in Kütle Spektrumu	98
Şekil 3.2 Bileşik C1'in ¹ H-NMR Spektrumu	98
Şekil 3.3 Bileşik C1'in ¹³ C-NMR Spektrumu	99
Şekil 3.4 Bileşik C2'nin Kütle Spektrumu	101
Şekil 3.5 Bileşik C2'nin ¹ H-NMR Spektrumu	101
Şekil 3.6 Bileşik C3'ün Kütle Spektrumu	103
Şekil 3.7 Bileşik C3'ün ¹ H-NMR Spektrumu	103
Şekil 3.8 Bileşik C4'ün Kütle Spektrumu	105

Şekil 3.9 Bileşik C4'ün ^1H -NMR Spektrumu	105
Şekil 3.10 Bileşik C4'ün ^{13}C -NMR Spektrumu	106
Şekil 3.11 Bileşik C5'in Kütle Spektrumu	108
Şekil 3.12 Bileşik C5'in ^1H -NMR Spektrumu	108
Şekil 3.13 Bileşik C6'nın Kütle Spektrumu	110
Şekil 3.14 Bileşik C6'nın ^1H -NMR Spektrumu	110
Şekil 3.15 Bileşik C7'nin Kütle Spektrumu	112
Şekil 3.16 Bileşik C7'nin ^1H -NMR Spektrumu	112
Şekil 3.17 Bileşik C7'nin ^{13}C -NMR Spektrumu	113
Şekil 3.18 Bileşik C8'in Kütle Spektrumu	115
Şekil 3.19 Bileşik C8'in ^1H -NMR Spektrumu	115
Şekil 3.20 Bileşik C8'in ^{13}C -NMR Spektrumu	116
Şekil 3.21 Bileşik C9'un Kütle Spektrumu	118
Şekil 3.22 Bileşik C9'un ^1H -NMR Spektrumu	118
Şekil 3.23 Bileşik C9'un ^{13}C -NMR Spektrumu	119
Şekil 3.24 Bileşik C10'un Kütle Spektrumu	121
Şekil 3.25 Bileşik C10'un ^1H -NMR Spektrumu	121
Şekil 3.26 Bileşik C10'un ^{13}C -NMR Spektrumu	122
Şekil 3.27 Bileşik C11'in Kütle Spektrumu	124
Şekil 3.28 Bileşik C11'in ^1H -NMR Spektrumu	124
Şekil 3.29 Bileşik C11'in ^{13}C -NMR Spektrumu	125
Şekil 3.30 Bileşik C12'nin Kütle Spektrumu	127
Şekil 3.31 Bileşik C12'nin ^1H -NMR Spektrumu	127
Şekil 3.32 Bileşik C12'nin ^{13}C -NMR Spektrumu	128
Şekil 3.33 Bileşik C13'ün Kütle Spektrumu	130
Şekil 3.34 Bileşik C13'ün ^1H -NMR Spektrumu	130
Şekil 3.35 Bileşik C13'ün ^{13}C -NMR Spektrumu	131
Şekil 3.36 Bileşik C14'ün Kütle Spektrumu	133
Şekil 3.37 Bileşik C14'ün ^1H -NMR Spektrumu	133
Şekil 3.38 Bileşik C14'ün ^{13}C -NMR Spektrumu	134
Şekil 3.39 Bileşik C15'in Kütle Spektrumu	136
Şekil 3.40 Bileşik C15'in ^1H -NMR Spektrumu	136
Şekil 3.41 Bileşik C15'in ^{13}C -NMR Spektrumu	137
Şekil 3.42 Bileşik C16'nın Kütle Spektrumu	139

Şekil 3.43 Bileşik C16'nın ^1H -NMR Spektrumu	139
Şekil 3.44 Bileşik C16'nın ^{13}C -NMR Spektrumu	140
Şekil 3.45 Bileşik C17'nin Kütle Spektrumu	142
Şekil 3.46 Bileşik C17'nin ^1H -NMR Spektrumu	142
Şekil 3.47 Bileşik C17'nin ^{13}C -NMR Spektrumu	143
Şekil 3.48 Bileşik C18'in Kütle Spektrumu	145
Şekil 3.49 Bileşik C18'in ^1H -NMR Spektrumu	145
Şekil 3.50 Bileşik C18'in ^{13}C -NMR Spektrumu	146
Şekil 3.51 Bileşik C19'un Kütle Spektrumu	148
Şekil 3.52 Bileşik C19'un ^1H -NMR Spektrumu	148
Şekil 3.53 Bileşik C19'un ^{13}C -NMR Spektrumu	149
Şekil 3.54 C Kodlu Bileşiklerin Radikal Süpürücü Aktivitelerinin DPPH Yöntemi ile Ölçülmesi	153
Şekil 3.55 C Kodlu Bileşiklerin (10 μM) CHO-K1 Kümen Hidrojen Peroksit (CH_2O_2) ile İndüklenen DCFH Oksidasyonu Üzerine Etkileri	154
Şekil 3.56. C Kodlu Bileşiklerin (10 μM) CHO-K1 Hücrelerinde, Sitotoksik Etki Potansiyelinin MTT Yöntemi ile Değerlendirilmesine Ait Bulgular	155
Şekil 5.1 Melatonin ve yüksek antioksidan ve kemopreventif aktivite gösteren bileşiklerin genel formülleri	160
Şekil 5.2 Düşük antioksidan aktivite gösteren bileşiklerin genel formülü	160

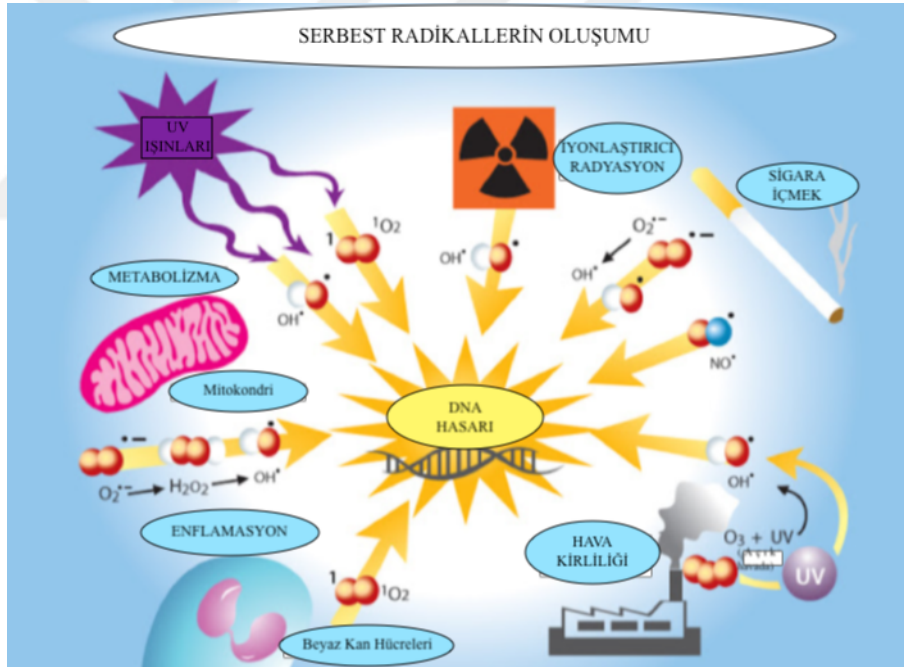
ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Önemli Reaktif Oksijen Türleri	8
Çizelge 1.2. Reaktif Azot Türleri	13
Çizelge 1.3. Çeşitli Serbest Radikaller ile Oksidanlar ve Alakalı Antioksidan İsimleri	27
Çizelge 1.4. Sentezlenen Melatonin Analogları	80



1. GİRİŞ

Canlı organizmaları mükemmel şekilde ayarlanmış, karmaşık ve hassas cihazlar olarak düşünebiliriz. Bu cihazların beklenen sağlıklı fonksiyonları gösterebilmeleri için yapılarında bulunan kimyasalların mükemmel bir denge içinde olması gerekir. Fakat bu dengeyi tehdit eden bazı durumlar vardır. Bunların başında oksidatif hasar gelir ve bu aerobik solunum yapan her canlının maruz kaldığı bir olaydır. Ek olarak bazı çevresel ve fizyolojik faktörler oksidan miktarını artırarak bu riskin artmasına katkı sağlayabilirler (Galano ve ark., 2017). Bu faktörlerden bazıları; radyasyon, hava kirliliği, sigara ve alkol tüketimi, bazı ilaçların yan etkileri ya da metabolik ürünlerine maruziyet, stres, enfeksiyonlar, iskemi, yaşlanmadır (Lobo et al., 2010; Valko ve ark., 2006 ve 2007; Galano ve ark., 2017)



Şekil 1.1 Serbest Radikal Oluşum Kaynakları¹

Kaynağı ne olursa olsun, oksidanlar miktarları fazla olduğu zaman kimyasal hasara sebep olup lipidler, proteinler ve DNA gibi önemli biyomoleküllerde kalıcı hasara sebep olabilmektedirler. Moleküllerde oluşan oksidatif hasara oksidatif stres denilmektedir (OS) ve birçok hastalığın sebebi olarak görülmektedir. Bu

¹ www.mommysheefa.blogspot.com.tr

hastalıklardan bazıları hayati tehlike teşkil edecek türdendir. Bunlardan bazıları; Alzheimer's (Swomley ve ark., 2015; Mota ve ark., 2015; Meraz- Ríos) ve Parkinson's (Blesa ve ark., 2015; Sharma ve ark., 2015; Gaki ve ark., 2014) gibi dejeneratif nörolojik hastalıklar, ateroskleroz (Tousoulis ve ark., 2015; Li ve ark., 2014; Peluso ve ark., 2012), kardiyovasküler hastalıklar (Siti ve ark., 2015; Popolo ve ark., 2013; Miller ve ark., 2012), kanser (Thanan ve ark., 2014; Filaire ve ark., 2013; Paschos ve ark., 2013) ve diyabettir (Rosales-Corral ve ark., 2015; Zephy ve ark., 2015). Sonuç olarak OS karşı korunma hayati önem taşımaktadır.

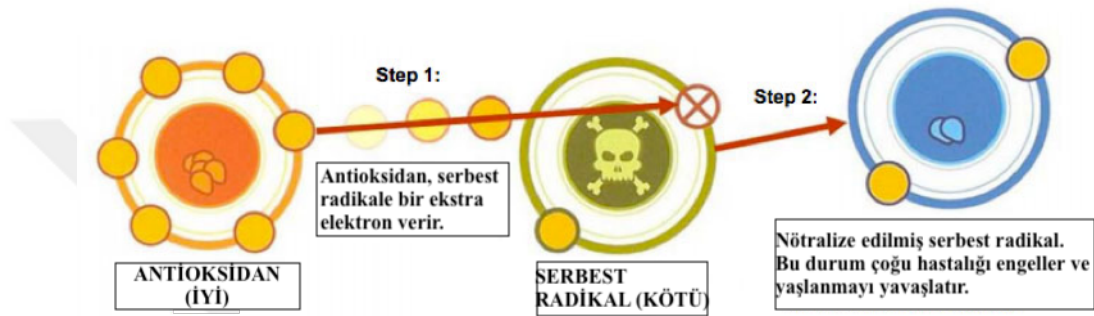
Organizmamızda ihtiyacımız olan korumayı sağlayacak moleküller bulunmaktadır ve bunlara antioksidanlar denilmektedir. Vücudumuzda görev yapan başlıca hücre içi antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimleridir. SOD yapısında bakır, çinko ve manganez; GPx ise selenyum iyonu içerdiğinden dolayı bu enzimler metaloenzim adı ile sınıflanmaktadır. Hücre dışı antioksidanlara karşı ise başlıca E ve C vitamini, transferrin, albumin, bilirubin, betakaroten gibi maddeler görev yapar (Halliwell, 1991).

Bunlar dışında 70 li yıllarda antioksidan aktivitesi keşfedilen bir nörohormon olan melatonin (MLT) vücudumuzda antioksidan aktivite gösteren önemli bileşiklerden biridir.. Bu tez çalışmasında MLT analogu yeni indol türevi antioksidan etkiye sahip moleküllerin sentezi yapılarak, kimyasal yapılarının aydınlatılması, antioksidan aktivite ve kansere karşı kemopreventif etkileri araştırılmıştır.

1.1. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Oksijen, yaşamımız için gerekli bir elementtir. Hücreler enerji üretmek için oksijen kullanırken, ATP üretimi sonucu mitokondrilerde serbest radikaller açığa çıkar. Bu yan ürünler genellikle hücrelerin redoks reaksiyonları sonucu ortaya çıkan reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif azot türleridir (RAT). Bu türler, hem yararlı hem de zararlı özellikleri olabilen bileşiklerdir. Bu özellikler arasındaki hassas denge hayati önem taşımaktadır (Pham-Huy ve ark., 2008).

Son yörüngesinde bir veya birden fazla eşleşmemiş elektronu bulunan atom, molekül ve iyonlara serbest radikal denilmektedir. Serbest radikaller tek elektron taşıdıkları için çok reaktif olup kimyasal reaksiyonlara karşı çok duyarlıdırlar. Bu moleküller zincirleme reaksiyonların oluşumunu tetikler ve biyolojik önemi olan lipid, protein ve DNA yapılarının dahi etkilenebileceği moleküler hasara sebep olurlar (Galano ve ark., 2017).



Şekil 1.2 Serbest Radikallerin Antioksidanlarca Nötralizasyonu ²

Serbest radikaller üç elementten türemektedir. Bu elementler; oksijen, azot ve kükürttür. Oksijen merkezli radikaller, reaktif oksijen türleri (ROT) olarak anılmaktadır. Azot merkezli radikaller, reaktif azot türleri (RAT) ve kükürt merkezli olanlar ise reaktif kükürt türleridir (RKT) (Caracho ve ark., 2012). *In vivo* ortamda bulunan radikaller çoğunlukla ROT ve reaktif azot türlerindendir. En önemli reaktif oksijen türleri; hidroksil ($\cdot\text{OH}$), alkoksil ($\cdot\text{OR}$), peroksil ($\cdot\text{OOR}$) radikalleri, süperoksit anyon radikali ($\text{O}_2^{\cdot-}$) dir. En önemli reaktif azot türlerine ise peroksinitrit ($\text{ONOO}^{\cdot-}$), nitrik oksit ($\cdot\text{NO}$) ve nitrojen dioksit ($\cdot\text{NO}_2$) örnek olarak gösterilebilir (Galano ve ark., 2017).

² www.glycansforlife.com

1.1.1. Serbest Radikallerin Özellikleri

ROT ve RAT, serbest radikalleri tanımlamak için kullanılan terimlerdir. Bunların dışında radikal formunda olmayan reaktif türler de bulunmaktadır. Radikaller, bu radikal olmayan reaktiflerden daha az stabil ve daha çok reaktiftir. Bu moleküller; kimyasal bağların kırılıp her atomun bağdan gelen 1 elektronu almasıyla (homolitik bağ kırılması), radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı ile ya da radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi sonucu oluşur. Eşleşmemiş elektronları bulunduğu için serbest radikaller stabil değildir ve lipid, protein ve DNA gibi organik yapılara zarar verebilir.

Düşük ve yeterli konsantrasyonlarda ROT ve RAT hücrelerin gelişmesi için gerekli yapılardır ve hatta vücudun koruma sisteminde kullanılan silahlardır diyebiliriz. Örnek vermek gerekirse, fagositler (nötrofiller, makrofajlar, monositler), patojenik mikropların yok edilmesi için ortama serbest radikal salarlar. Granulomatus hastalığına sahip kişiler süperoksit anyon radikalini üretemezler ve bu yüzden birçok kalıcı enfeksiyona maruz kalırlar. Bunun yanında fizyolojik görevi hücrelerarası sinyal iletimi olan radikaller bulunmaktadır ve bu radikaller sinyal kaskadları oluşmasını sağlarlar. Nitrik oksit kan akışını, trombosisi ve nöron aktivitesini düzenler ve ek olarak hücreler arası patojenleri ve tümörleri yok etmede görevlidir. Bu örneklerden de çıkarabileceğimiz gibi, zararlı olmayacak düşüklükteki konsantrasyonlarda serbest radikaller hayati önem taşımaktadır.

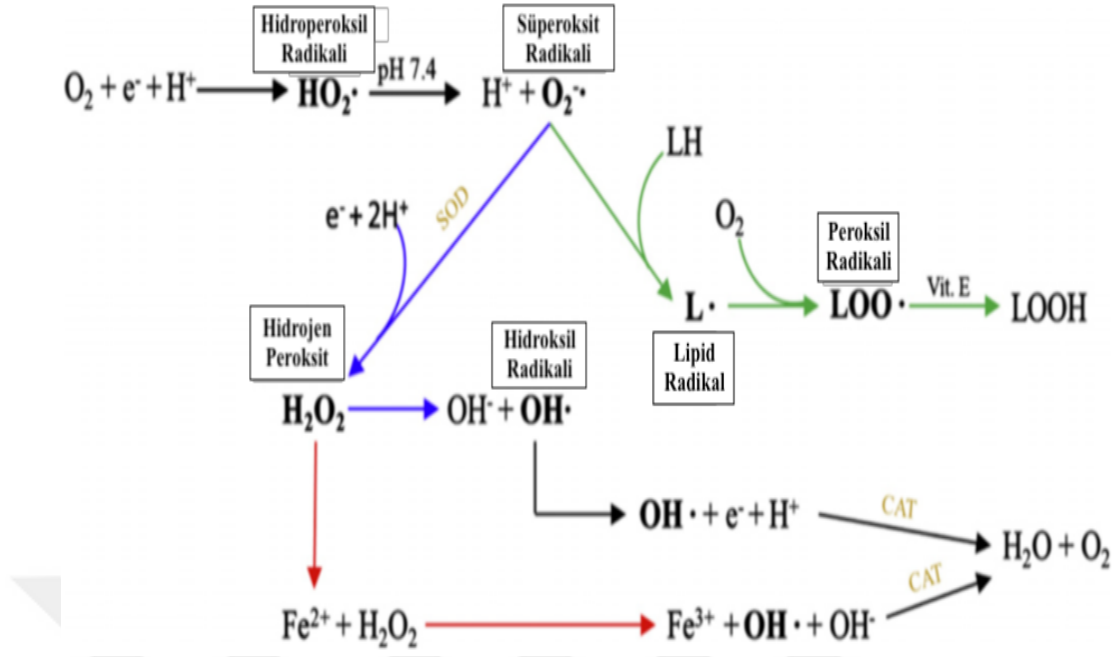
OS, fazla üretilen serbest radikallerin nötralizasyonu gerçekleşemediğinde oluşur. Sağlığa zararlı olan bu olay hücre membranlarında ve protein, lipid, lipoprotein ve DNA gibi yapıları değiştirebilir. Örneğin hidroksil radikali ve peroksinitrit fazlalığında bu yapılar hücre membranlarına ve lipoproteinlere zarar verebilir ve bu olaya lipid peroksidasyonu denilmektedir. Lipid peroksidasyonu zincirleme radikal reaksiyonları sonucu oluşur. Bu da çok hızlı yayıldığı ve birçok lipid molekülünün etkilendiği anlamına gelmektedir (Pham-Huy ve ark., 2008).

1.1.2. Serbest Radikallerin Oluşumu

Hücre içinde ROT ve RAT oluşumu ya enzimatik ya da non-enzimatik yolla gerçekleşir. Enzimatik yolla üretilen serbest radikallere solunum sistemi, fagositoz, prostaglandin sentezi ve sitokrom P450 sisteminde karşılaşılır. Örneğin süperoksit anyonu radikali $O_2^{\cdot -}$ hücresel oksidaz sistemleri olan NADPH oksidaz, ksantin oksidaz ve peroksidaz gibi hücresel oksidaz sistemleri yolu ile sentezlenir. Oluştugu andan itibaren birçok reaksiyona katılıp ROT ve RAT oluşumunu sağlar.

Serbest radikaller aynı zamanda non-enzimatik yolla, oksijen molekülünün organik materyal ile ya da iyonlaştırıcı radyasyon ile etkileşimi sonucu gerçekleşebilir. Ek olarak non-enzimatik oksidatif fosforilasyon sırasında (aerobik solunum) mitokondride de gerçekleşir.

ROT oluşumu Şekil 1.3. de özetlenmektedir. Hidroperoksil radikali, pH 7’de süperoksit anyonu radikaline ($O_2^{\cdot -}$) parçalanır. Bu anyon oldukça reaktiftir ve birçok molekül ile enzimatik ya da metal katalizi yolu ile etkileşerek başka RAT oluşumuna zemin hazırlar. Süperoksit iyonu süpeoksit dismutaz enzimi (SOD) ile yapılan dismutasyon reaksiyonu sonucu hidrojen peroksit detoksifiye edilmiş olur. B olay Haber-Weiss reaksiyonu olarak anılmaktadır. Hidrojen peroksit ise ardından katalaz (CAT) enzimi yolu ile su molekülüne dönüşür. Eğer hidrojen peroksit, Fe^{2+} gibi bir demir katalizörü ile etkileşir ise Fenton reaksiyonu meydana gelir ($Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^{\cdot} + OH^-$) ve sonuç olarak hidroksil radikali oluşur (Flora, 2009). RAT moleküllerinden olan peroksinitrit ($ONOO^{\cdot -}$) sentezi ise $NO^{\cdot} + O_2^{\cdot -} \rightarrow ONOO^{\cdot -}$ şeklinde gerçekleşir (Squadrito ve ark., 1998). $NO^{\cdot}$ ise L- arginin molekülünün sitrulin molekülüne oksidasyonu sırasında nitrik oksit sentetaz enzimi sayesinde olur (Valko ve ark., 2004).



Şekil 1.3 Reaktif Oksijen Türlerinin Oluşumu (Carocho ve ark., 2013)

ROT ve RAT molekülleri ya endojen ya da egzogen kaynaklar dolayısı ile oluşurlar. Endojen serbest radikallerin oluşumuna; immün hücre aktivasyonu, enflamasyon, stres, aşırı egzersiz, iskemi, enfeksiyon, kanser ve yaşlanma sebep olur. Egzogen serbest radikalleri oluşturan nedenler arasında ise; hava ve su kirliliği, sigara ve alkol tüketimi, metallere maruziyet (Cd, Hg, Pb, Fe, As), bazı ilaçlar (siklosporin, takrolimus, gentamisin, bleomisin), endüstriyel solvanlar, çeşitli zararlı yemek pişirme yöntemler (aynı yağı tekrar kullanmak, ızgara yapmak gibi) ve radyasyon örnek verilebilir (Valko ve ark., 2007; Pham-Huy ve ark., 2008).

1.1.3. Biyolojik Sitemde Önemli Radikal Türleri

Her insan hücresi günde ortalama 10000 ila 20000 arasında serbest radikalin saldırısına maruz kalır (Valko ve ark., 2004). Serbest radikaller, OSe sebep olan moleküllerdendir. Bu moleküllerin taşıdıkları eşleşmemiş elektronlar, onları oldukça reaktif ve zararlı moleküller yapar. Hatta bu zarar biyolojik açıdan çok önemli olan yapılara dahi, lipidler, proteinler ve DNA gibi, zarar verebilir (Galano ve ark., 2017).

ROT ve RAT serbest radikalleri tanımlamak için kullanılan terimlerdir. Bunların dışında radikal formda olmayan türevler de bulunmaktadır. Radikaller, bu radikal

olmayan reaktif moleküllerden hem daha az stabil hem de daha çok reaktiftir. Serbest radikal kaynaklı oksidatif hasar çeşitli mekanizmalar ile gerçekleşebilir. Bunlardan bazıları elektron transferi, hidrojen transferi ve doymamış kısımlara adisyondur. Bu mekanizmalar sonucu oluşan moleküller kimyasal olarak modifiye edilmiş moleküllerdir ve bu yapısal modifikasyonlar biyomoleküllerin fonksiyonlarını sağlıklı bir şekilde yerine getirmesini engeller (Galano ve ark., 2017).

1.1.3.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

Oksijen, fotosentez ve aerobik solunumdan dolayı canlılar için en önemli moleküllerdendir. Aerobik solunum yapan canlıların paradoksu şudur ki; oksijensiz yaşayamazlar fakat oksijen hayatları için aynı zamanda tehlikelidir (Andonova ve ark., 2015). Oksijen hayati fonksiyonların gerçekleşmesi için gerekli olmakla beraber dokuların yıkımına ve fonksiyonların normal şekilde işlememesine de sebep olabilir (Valko ve ark., 2004).

18. yüzyılın sonlarında, oksijenin sağlığa yararlı olduğu ve mental güçlülük kazandırdığı söylendi. Fakat Paul Bert'in de dediği gibi, en iyi şeyin bile fazlası zararlıdır. Oksijenin de fazlası beyin, ciğerler ve çoğu diğer organ için zararlıdır (Choudhari ve ark., 2014). 1954'te Gershman ve Gilbert (Gershman ve ark., 1954) oksijenin bilinen negatif etkilerinin serbest radikallerden kaynaklandığını söyledi fakat bu teori 1969 yılında süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit'e dönüşmesini sağlayan süperoksit dismutaz (SOD) enziminin bulunmasıyla kabul edildi ve serbest radikal çalışmalarında yeni bir devir açıldı (McCord ve ark., 1969). Serbest radikal çalışmalarındaki bir diğer önemli gelişme de hidroksil radikalının keşfidir (Mittal ve ark., 1977).

Reaktif oksijen türleri; bazı durumlarda biyolojik fonksiyonları yerine getirmeleri için, bazen de metabolizma yan ürünleri olarak üretilirler (Shen ve ark., 1996). DNA ve proteinlere verilen radikal kaynaklı hasarların yaşa bağlı olarak ortaya çıkan kanser, arteriyoskleroz, artrit, nörodejeneratif hastalıklar ve daha başka hastalıkların sebebi olduğu öne sürülmektedir (Ames ve ark., 1993; Halliwell ve ark., 1992). Tüm ROT molekülleri DNA'nın baz kısmı ya da deoksiribozil kısmı ile etkileşerek, hasarlı bazlar

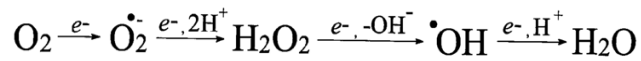
ya da zincir kırılması gibi hasarlara sebep olabilir (Ward ve ark., 1988). Oksijenli radikaller, aynı zamanda lipid ve proteinleri oksitleyerek oluşan ürünlerin de DNA'ya zarar verecek yapılar olmasına sebep olurlar (Esterbauer, 1990).

Çizelge 1.1 Önemli Reaktif Oksijen Türleri

Radikal Yapıda	Diğer Oksijenli Oksidanlar
Hidroksil (OH·)	Peroksinitrit ONOO ⁻
Süperoksit (O ₂ ^{-·})	Hipokloröz Asit HOCl
Nitrik Oksit (NO·)	Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)
Peroksil (ROO·)	Singlet Oksijen (¹ O ₂)
Lipid Peroksil (LOO·)	Ozon (O ₃)
Alkoksil (RO·)	Lipid Peroksit (LOOH)
Hidroperoksil (OOH·)	

Moleküler oksijenin kendisi (dioksijen) bir bi-radikaldir. Bir atomun en düşük enerjiye sahip olduğu durumda oksijen biradikali iki tane paralel yönlü elektronu farklı Π* orbitallerinde içerir. Normalde atomlar bu elektronları birbirine anti-paralel yönde taşırlar. Bu durum dioksijen molekülünün diğer moleküllerle reaktivitesini açıklamaktadır.

Dioksijen molekülüne bir elektron eklenmesi ile süperoksit anyonu radikali (O₂^{-·}) elde edilmektedir. Bir elektron daha eklendiğinde ise peroksit dianyonu elde edilir (O₂²⁻). Dioksijen molekülünden süperoksit anyonu oluşumu ve nasıl H₂O₂ elde edildiği Şekil 1.4 de görülmektedir (Valko ve ark., 2004).



Şekil 1.4 Dioksijen Molekülünden Süperoksit ve H₂O₂ Eldesi

1.1.3.1.1. Süperoksit Anyonu Radikali

Ultraviolet ışınlar ya da iyonlaştırıcı radyasyon gibi yüksek enerjiye maruziyet içeren olağan dışı durumlar hariç, serbest radikaller genellikle elektron transfer reaksiyonları sonucu oluşurlar. Bu işlemler elektron transport zincirinden sızan

elektronlar sayesinde gerçekleşir. (Fridovich ve ark., 1986). Canlılarda olduğu belirlenen ilk radikal süperoksit anyonu radikalidir (Cathcart, 2004).

Süperoksit anyonu radikali birçok farklı mekanizma sonucu oluşabilir. Bunlardan ilki mitokondrideki üretimdir. Biyolojik sistemlerde en çok bulunan radikal olan süperoksit anyonu radikali çoğunlukla mitokondrilerde bulunur. Mitokondri enerji üretiminden ve hücre solunumundan sorumlu küçük bir organeldir. Bu organel belirtilen görevleri elektron transport zinciri denilen bir mekanizma ile gerçekleştirir. Bu mekanizmada moleküller arasında elektron geçişi olur ve her elektron geçişi kullanılabilir kimyasal enerji ortaya çıkartır. Oksijen bu zincirin son basamağında yer alır (Salvador ve ark., 2001; Hanukoglu ve ark., 1993). Bazen bu zincirden elektron kaçıışı olur. Kaçan elektron, oksijen ile etkileşerek süperoksit anyonu radikalini oluşturur. Tüketilen oksijen moleküllerinin genel olarak % 1-3 kadarı süperoksit anyonuna dönüştürülür (Brookes ve ark., 2002; Benzi ve ark., 1992).

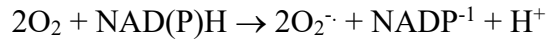


Şekil 1.5 Hücrede Süperoksit Anyon Radikali Üretilen Bölümler

Memelilerin endoplazmit retikulumlarında bulunan sitokrom P-450 süperoksit anyonu radikali oluşumu için başka bir yoldur. Toksik moleküllerin detoksifikasyonu sırasında oksijen kullanılarak bu moleküller oksitlenir. Oksitlenme ve ya sitokrom P-450'nin görev aldığı hidroksilasyon reaksiyonlarından sızan elektronlar süperoksit anyonu radikalinin oluşumuna sebep olur (Butler ve ark., 1993).

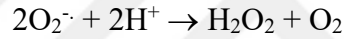
Başta dehidrogenaz ve oksidazlar olmak üzere birçok enzimin katalitik etkisi sırasında süperoksit radikali bir ürün olarak oluşabilir (Valko ve ark., 2004).

Son olarak süperoksit anyon radikali lökosit NADPH oksidaz enzimi sayesinde de üretilabilmektedir. Bu enzim en fazla lökositlerde ve B- lenfositlerde bulunur. Nötrofil gibi bir fagosit hücresi bir uyarıcı ile karşılaştığında yabancı molekülleri tanıma özelliği vardır ve hemen solunum patlaması denilen işlemi gerçekleştirir (Thannickal ve ark., 2000). NAD(P)H oksidaz aktive olduğunda sitoplazmadan NAD(P)H alır ve mikroorganizmaları yok etmek için süperoksit anyon radikalini üretilmesini sağlar (Vignais., 2002; Heerebeek ve ark., 2002).



Şekil 1.6 Süperoksit anyon radikali sentezi

Süperoksit anyon radikali çok tehlikeli bir oksidan olmak ile birlikte, vücutta dismutasyon reaksiyonuna girebilir. Bu reaksiyon süperoksit dismutaz enzimi (SOD) sayesinde gerçekleşir.



Şekil 1.7 Süperoksit anyon radikalini H_2O_2 'e dismutasyonu

1.1.3.1.2. Hidrojen Peroksit

Dioksijen molekülünden iki elektron indirgenmesi ile peroksit iyonu elde edilir (O_2^{2-}). Hidrojen peroksit ise bu iyonun protonlanmış formudur. Bu oksidan bir serbest radikal değildir fakat hücrelere zararlı etkileri vardır. Hidrojen peroksit hücresel membranlardan hızla difüze olarak geniş alanlara yayılabilir ve daha önemlisi çok reaktif olan hidroksil radikalini oluşturabilir (Andonova ve ark., 2015). Dismutasyon reaksiyonu sonucu süperoksit anyonu radikalinden SOD enzimi aracılığı ile oluşur. Bunun dışında peroksitlerin in vivo ortamda oluşumunun % 80'inden mikrozomlar sorumludur (Fahl ve ark., 1984). Peroksizomlar hidrojen peroksit üretir ve bu üretim en çok karaciğerde gerçekleşir. Yağ asitlerinin peroksizomlar aracılığı ile oksidasyonu sonucu hidrojen peroksit moleküllerinin üretimine sebep olmaktadır (Valko ve ark., 2004).

1.1.3.1.3. Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali, biyolojik sistemler için en reaktif radikal türüdür. Yarı ömrü 1 ns'den kısadır, bu yüzden üretildiği bölgede hemen reaksiyona girer. Bu radikal çeşitli mekanizmalar ile üretilir. Bu mekanizmalardan ilki olan iyonlaştırıcı radyasyon yolu ile H₂O molekülü dekompozisyona uğrar ve bunun sonucu olarak OH[•] radikali ve hidrojen atomları oluşur. Hidroksil radikali aynı zamanda alkilhidroperoksitlerin fotolitik dekompozisyonu sonucu da oluşabilir. OH[•]'in DNA'ya yakın üretilmesi, bu radikalin DNA bazı ya da DNA'nın deoksiribozil kısmı ile etkileşmesine, bu da hasarlı DNA bazı oluşumu ya da zincir kırılması yaşanmasına sebep olabilir (Balasubramanian ve ark., 1998).

Biyolojik sistemler için en reaktif radikal olan hidroksil radikali, su dahil rastladığı her biyomolekülle tepkimeye girer. Hidroksil radikalının tepkimeleri başlıca:

- Hidrojen çıkartma tepkimeleri
- Elektron transfer tepkimeleri
- Katılma tepkimeleri olarak sınıflandırılabilir.

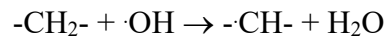
Bütün bu reaksiyonlar, hidroksil radikalının paylaşılmamış elektron içeren dış orbitaline elektron alma ilgisinden kaynaklanmaktadır (Valko ve ark., 2004). Katılma tepkimeleri özellikle elektronca zengin moleküllerle (pürin ve pirimidin bazıları, aromatik aminoasitler) gerçekleşir. Hidroksil radikalının 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. Elektronca zengin moleküller hidroksil radikalının ilk hedefleridir. Bu bileşikler başlıca nükleik asitler, proteinler ve lipidlerdir.

1.1.3.1.4. Peroksil Radikali

Peroksil radikalleri ($\text{ROO}\cdot$) R grubuna bağılı olarak yüksek enerjili moleküllerdir. En basit peroksil radikali dioksil radikalidir ($\text{HOO}\cdot$), süperoksit anyonu radikalinin ($\text{O}_2\cdot$) konjuge asididir. Sitozolda bulunan $\cdot\text{OOH}/\text{O}_2\cdot$ karışımının %3'ünün protonlanmış form olmasına rağmen (Grey ve ark., 2002), $\cdot\text{OOH}$ radikalının yağ asidi peroksidasyonunu başlatan molekül olduğu (Aikens & Dix., 1991) ve doymamış yağ asitlerinin, $\text{O}_2\cdot$ radikaline kıyasla, $\text{HOO}\cdot$ radikali ile 5 kat daha hızlı reaksiyona girdiği görülmüştür (Bielski, Arudi & Sutherland., 1983). Bu gözlemlerden yola çıkarak, $\cdot\text{OOH}/\text{O}_2\cdot$ ikilisinden en çok zararın peroksil radikali tarafından oluşturulduğunu söyleyebiliriz (Galano ve ark., 2017).

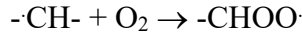
$\cdot\text{OOR}$ radikalleri, lipid peroksidasyonu reaksiyonlarının ana ürünleridir ve üretildikleri yerlerden uzak konumlara difüze olabilirler (Marnett., 1987). Bunun yanında, $\cdot\text{OOR}$ radikallerinin başarılı bir şekilde süpürölüp OSe neden olabilecek etkileri ortadan kaldırılabilen moleküller olduğu öne sürülmüştür (Terpinc & Abramovič., 2010). Bunun sebebi ise yarı ömürlerinin yeterince uzun olması ve bu sayede antioksidanların bu radikallere etki edebilmeleridir (Sies., 1997).

Peroksil radikalleri; DNA kırılması (Kanazawa ve ark., 2002), protein arka iskeletinde modifikasyonlara (Razskazovskii & Sevilla., 1996) sebep olur. Ek olarak süperoksit radikalının zararlı etkilerini artırır (Basaga., 1990). Bu radikaller zincirleme reaksiyonlar ile oluşurlar. Zinciri başlatıcı grubun metilen grubundan bir hidrojen atomu koparabilecek elektronegatiflikte olması gerekmektedir ve bu durumu en iyi hidroksil radikali sağlar.



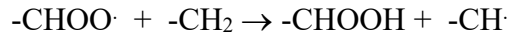
Şekil 1.8 $-\text{CH}-$ radikali oluşumu

Aerobik koşullar altında oluşan $-\text{CH}-$ radikali, dioksijen ile etkileşir ve peroksil radikalini oluşturur.



Şekil 1.9 Peroksil radikali oluşumu

Şekil 1.9 da oluşan peroksil radikali, herhangi bir komşu lipid molekülünden hidrojen kopararak aynı işlemin tekrarı ile zincirleme reaksiyonların devamını sağlar (Şekil 1.10).



Şekil 1.10 Peroksil radikalının zincirleme reaksiyon başlatması

1.1.3.2. Reaktif Azot Türleri (RAT)

Reaktif azot türlerinin en önemlileri olarak, nitrik oksit radikali ($\text{NO}\cdot$), peroksinitrit ($\text{ONOO}\cdot$), ve azot dioksit radikali ($\text{NO}_2\cdot$)'ni söyleyebiliriz. RAT, radikaller ve non-radikaller olarak iki grup altında aşağıdaki Çizelge 1.2.' de görülmektedir.

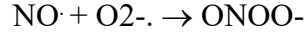
Çizelge 1.2 Reaktif Azot Türleri

Non-Radikaller	Radikaller
Peroksinitrik ($\text{ONOO}\cdot$)	Nitröz Oksit, $\text{NO}\cdot$.
Peroksinitröz Asit, ONOOH	Azot Dioksit, NO_2 .
Nitroksil, $\text{NO}\cdot$	Peroksinitrit, $\text{ONOO}\cdot$.
Nitril Klorür, NO_2Cl	
Nitrotil Katyonu, NO^+	
Dinitrojen trioksit, N_2O_3	
Nitröz Asit, HNO_2	

1.1.3.2.1. Peroksinitrit

RAT'ın fazla üretimi nitrosatif strese sebep olur (Klatt ve Lamas, 2000; Ridnour ve ark., 2004). Bu durum oluşan RAT moleküllerinin biyolojik sistem tarafından nötralize yada elimine edilemeyecek miktara ulaşması ile olur. Nitrosatif stres, proteinlerin yapısını değiştirebilir ve onların normal fonksiyonlarını inhibe edebilir.

İmmün sistem hücreleri hem süperoksit anyonu radikalini hem de nitrik oksit radikalini oksijenli solunum sırasında oluşturur. Bu koşullar altında süperoksit anyonu radikali, nitrik oksit radikali ile reaksiyona girer ve oksidatif açıdan çok daha aktif olan peroksinitrit anyonunu oluştururlar (ONOO⁻). Bu radikal oksidasyon yapma potansiyeline sahiptir ve DNA fragmentasyonu ile lipid peroksidasyonuna sebep olabilmektedir (Carr ve ark., 2000).



Şekil 1.11 Peroksinitrit anyonu oluşumu

1.1.3.2.2. Nitrik Oksit Radikali

Nitrik oksit, NO[·], bir eşleşmemiş elektron içeren küçük bir moleküldür. NO[·] Biyolojik dokularda nitrik oksit sentetaz (NOSs) adında özel bir enzim tarafından sentezlenir. Bu enzim arjinin amino asidini sitrullin molekülüne metabolize eder ve bu sırada NO[·] radikali oluşur (Ghafourifar ve Cadenas, 2005). Nitrik oksit, çok bulunan bir reaktif radikaldir ve çeşitli fizyolojik reaksiyonlarda görevli bir biyolojik sinyal molekülüdür. Bu reaksiyonlara örnek olarak; nörotransmisyon, kan basıncı düzenlenmesi, savunma mekanizması ve immün sistemdeki düzenlemeler verilebilir (Bergendi ve ark., 1999). Bu olağanüstü özelliklerinden dolayı NO[·], 1992 yılında yılın molekülü olarak *Science Magazine* dergisinde ilan edilmiştir (Koshland, 1992).

NO[·], sulu ortamda çok kısa bir yarı ömre sahiptir. Oksijen konsantrasyonu daha az olan ortamlarda NO[·] Yarı ömrü daha uzundur (15 saniyeden uzundur). Hem sulu hem de lipid fazda çözünebilir olduğu için sitoplazma ve plazma membranlarında difüzyona uğrar (Chiueh, 1999). Ekstraselüler ortamda, NO[·] oksijen ve su ile reaksiyona girer ve nitrat ve nitrit anyonlarını oluşturur.

1.1.4. Oksidatif Hasar

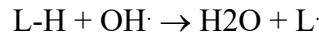
Reaktif oksijen türlerinin üretimi ve nötralizasyonu arasındaki denge çok önemlidir. Eğer ki bu oluşan denge ROT'nin fazla üretimi yönünde bozulursa hücreler OSin zararları ile yüzleşirler (Wiernsperger, 2003).

Tahminlere göre bir insan hücresi günde hidroksil radikali ve onun gibi diğer serbest radikaller tarafından yaklaşık 10^5 kere saldırıya uğrar. (Valko ve ark., 2004). ROT ve RAT moleküllerinin asıl hedefleri DNA, RNA, proteinler, lipidler, karbonhidratlardır. (Lü ve ark., 2010; Craft ve ark., 2012)

1.1.4.1. Lipidlerde Oksidatif Hasar

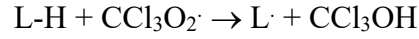
Lipid peroksidasyonu olarak da bilinen lipid moleküllerinin oksidasyonu işlemi, yağ asitlerinin yan zincirlerinden 1 hidrojen atomu koparma yolu ile bir radikal tarafından başlatılır. Yağ asidinde ne kadar çok çifte bağ var ise, hidrojen koparma işlemi bir o kadar kolaylaşır. Bu durumda bir tek çift bağı olan ya da çift bağı olmayan yağ asidi yan zincirleri lipid peroksidasyonuna karşı dirençlidir diyebiliriz. H atomu koparıldıktan sonra molekül oksijen ile reaksiyona girip peroksit radikalini oluşturur. Bu reaktif yapı, çevresindeki moleküllerden 1 H atomu koparıp aynı işlemin tekrarına yani zincirleme reaksiyonlara sebep olur (Carocho ve ark., 2013).

Lipid peroksidasyonunu başlatan ana radikal hidroksil radikali (Şekil 1.12). Bu radikal, Fenton reaksiyonu ile hidrojen peroksidin metal iyonlarıyla tepkimeye girmesi sonucu oluşur.



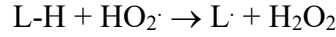
Şekil 1.12 Lipid Peroksidasyonu Başlangıcı

Karbontetraklorür'ün oksijen ile birleşmesi sonucu oluşan troklorometil radikali de lipid peroksidasyonunu başlatan radikallerdendir (Şekil 1.13)



Şekil 1.13 Lipid peroksidasyonunun triklorometil radikali ile başlaması

Çoklu çift bağı olan yağ asitleri, hidroperoksil radikali dolayısı ile lipid peroksidasyonunun zararlarını Şekil 1.14’de gösterildiği şekilde görebilirler.



Şekil 1.14 Çoklu çift bağı olan yap asitlerinin hidroperoksil radikali ile lipid peroksidasyonu

Son olarak, lipidlere verilen oksidatif hasara singlet oksijen de sebep olabilmektedir fakat bu reaksiyon zincirleme reaksiyonlar oluşturmaz (Halliwell ve ark., 1993).

1.1.4.2. Proteinlerde Oksidatif Hasar

Proteinler üç farklı şekilde oksidatif modifikasyona uğrayabilirler:

- Spesifik bir aminoasidin oksidatif modifikasyonu ile
- Serbest radikal kaynaklı peptit bölünmesi ile
- Lipid peroksidasyonu ürünleri ile reaksiyon sonucu çapraz bağ oluşumu ile

Metiyonin, sistein, fenilalanin, triptofan, tirozin, arjinin ve histidin aminoasitlerini içeren proteinlerin oksidasyona karşı duyarlı olduğu görülmüştür (Freeman ve ark., 1982; Cecarini ve ar., 2007; Goodglick ve ark., 1992). Serbest radikallerden dolayı proteinlerde meydana gelen değişimler, enzim proteolizinin artması ile doğru orantılı değişim gösterir. Proteinlerde görülen oksidatif hasar enzimleri, reseptörleri ve membran transport mekanizmalarını etkileyebilir. Oksidatif yollarla hasar gören proteinler çok reaktif gruplar taşıyor olabilirler ve bu gruplar hücre zarını ve daha birçok hücresel işlevi etkileyebilir. Protein moleküllerinin oksidasyonuna genellikle peroksil radikalleri sebep olur. Proteinlerin oksidasyonu sinyal iletim mekanizmasında, enzimlerin aktivitesinde, ısı kararlılığında, proteoliz

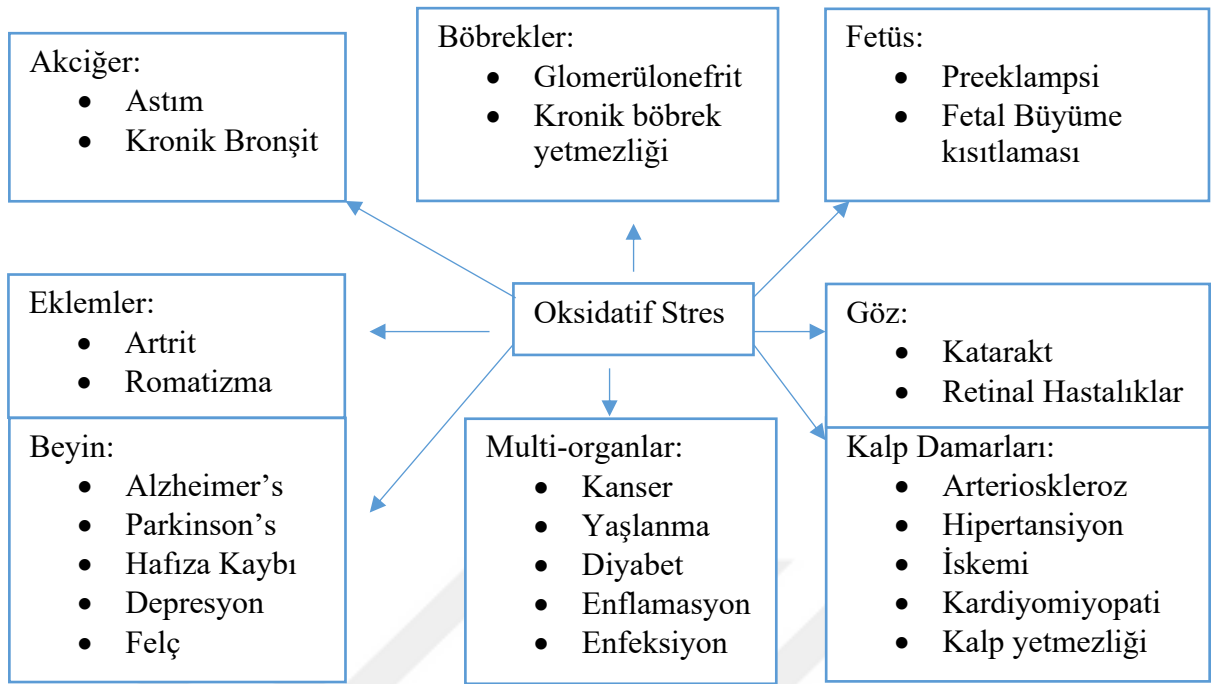
duyarlılığında değişimler oluşmasına ve dolayısıyla yaşlanmaya sebep olur (Lobo ve ark., 2010)

1.1.4.3. DNA’da Oksidatif Hasar

Birçok deneyin sonucunda da görüldüğü üzere DNA ve RNA oksidatif hasara duyarlı yapılardır. Hidroksil radikalının tüm DNA parçaları ile reaksiyona girebildiği, hem pürin hem pirimidin bazlarına, hem de deoksiriboz omurgasına zarar verebildiği bilinmektedir (Dizdaroglu ve ark., 2002; Valko ve ark., 2004). Genetik materyalde meydana gelen kalıcı değişiklikler mutagenез, kanser ve yaşlanmanın ilk adımıdır. Araştırmalara göre mitokondri DNA’sı OSe daha çok maruz kalır ve bu durumun kanser dahil birçok hastalığın oluşumunda etkisi görülmektedir. Oksidatif nükleotidler olan glikol, dTG ve 8-hidroksi-2-deoksiguanozin’in DNA’da UV ışınları ya da serbest radikaller dolayısıyla oluşan oksidatif hasar sırasında miktarının arttığı gözlenmiştir. Bu sebeple 8-hidroksi-2-deoksiguanozin molekülünün OS için bir biyolojik belirteç olabileceği öne sürülmüştür (Hattori ve ark., 1997).

1.1.5. Oksidatif Stres ve Neden Olabileceği Hastalıklar

Serbest radikal oluşumu ve antioksidan koruma sistemi arasındaki denge bozulunca OS meydana gelmektedir. Bu olay sırasında lipid, protein ve DNA gibi birçok yapıya hasar gelebilir. Kısa süreli OS; travma, enfeksiyon, hipertansiyon, toksinler ve çok fazla egzersiz yapmaktan dolayı hasar almış dokularda oluşabilir. Bu dokular ksantin oksidaz, lipogenaz, siklooksigenaz gibi radikal üretici enzimler üretirler. Ardından fagosit oksidasyonunu sağlar, serbest demir ve kobalt salınımını sağlar, oksidatif fosforilasyon sırasında elektron taşıma zincirini engellerler ve fazladan ROT üretirler (Stefanis, Burke & Grenee., 1997). Kanserin başlangıç ve ilerleyişi, radyasyonun yan etkileri, ROT ve antioksidan koruma sistemi arasındaki dengenin bozulmasından kaynaklanır (Lobo ve ark., 2010). OS’in rol aldığı düşünülen hastalıklar Şekil 1.15 de görülmektedir.



Şekil 1.15 Oksidatif Stres Kaynaklı Oluşabilen Hastalıklar

1.1.5.1. Oksidatif Stres ve Kardiyovasküler Hastalıklar

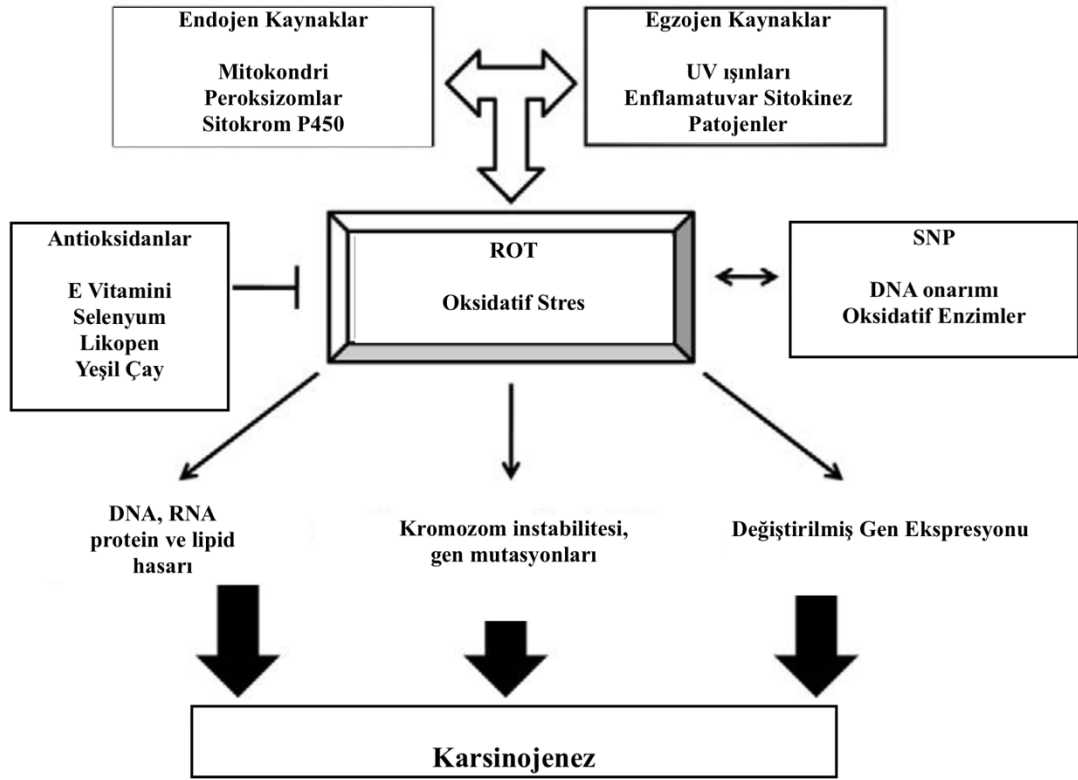
Kalp hastalıkları tüm ölümlerin yarısının kaynağı olarak, en çok ölüme sebep olan rahatsızlıklar listesinde birinciliğini hala korumaktadır. Oksidatif olaylar kardiyovasküler hastalıkları tetikleyebilir, bu yüzden ömür uzunluğu ve sağlık üzerinde bu olayların önemli bir yeri vardır. Çoklu çiftbağı olan yağ asitleri (Poly unsaturated fatty acids- PUFA) düşük yoğunluklu lipoproteinlerin büyük bir kısmını oluşturur (*Low Density Lipoprotein*- LDL) ve bu lipid moleküllerinin oksidasyonu arteriosklerozda önemli rol oynar (Esterbauer, Pubi & Dieber-Rothender., 1991). Kan damarı duvarlarında üç çeşit hücre bulunmaktadır. Bunlar; endotel hücreler, kas hücreleri ve makrofajlardır. Bu hücreler serbest radikal salgırlar ve bu durum da lipid peroksidasyonunun başlamasına sebep olur (Neuzil, Thomas & Stocker., 1997). Yüksek miktarlardaki oksitlenmiş lipid hücreleri, kan damarı duvarlarının hasar görmesini sağlar ve köpük hücreleri oluşur. Oksitlenmiş LDL molekülleri aterojendir ve arterioskleroz plaklarının oluşmasını sağlar. Dahası, oksitlenmiş LDL yapıları sitotoksiktir ve direkt olarak endotel hücrelere hasar verirler (Lobo ve ark, 2010).

1.1.5.2. Oksidatif Stres ve Yaşlanma

İnsan vücudu yaşlanma durumu ile sürekli bir savaş içerisinde. Araştırmalara göre, serbest radikallerin hücrelere verdiği hasar yaşlanmaya sonuçlanan patolojik değişimlere sebep olur (Ashok ve Ali, 1999). Yaşlanma mekanizmasının etkisi en çok DNA’da ya da hücresel ve fonksiyonel hasar olarak görülür (Cantuti-Castelvetri ve ark., 2000). Serbest radikallerin redüksiyonu ve ya üretiminin azaltılması, yaşlanmayı geciktirip hastalıkları önleyebilir ya da geciktirebilir.. Çalışmalara göre OS, yaşlanma sürecinde daha fazla gerçekleşmektedir. Bu durumda antioksidan koruması ile yaşlanma durumu geciktirilebilir.

1.1.5.3. Oksidatif Stres ve Kanser

Kanser, hücrelerin denetimsiz ve anormal çoğalması durumunun olduğu bir hastalıklar grubudur (Todd ve Wong, 1999). Araştırmalardaki gelişmelere ve tedavi yöntemlerine rağmen, dünyada en çok ölümün sebebi olan ikinci hastalıktır (Awadallah ve ark., 2013). Kanserin gelişimi karsinogenez olarak adlandırılır ve inisiasyon (başlangıç), promosyon (artma) ve progresyon (ilerleme) safhalarından oluşur. Başlangıç safhası gen dizilimini düzenleyen epigenom, kromozom ve DNA moleküllerinde meydana gelen hasarlar ile kendini gösterir. Enflamasyon ile genomik olarak kararsız hücrelerin büyüdüğü görülür. İlerleme safhasında ise hücreler çoğalırken kötü huylu tümörlere dönüşür (Poirier, 1987). Şekil 1.16’da ROT’tan başlayarak karsinogenez kadar giden mekanizma görülmektedir.



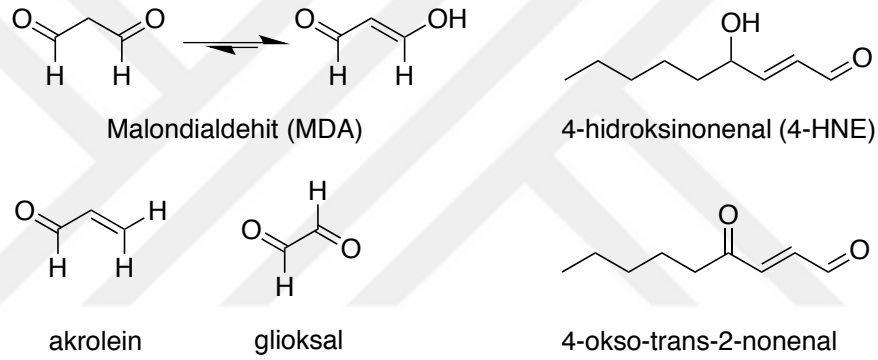
Şekil 1.16 ROT'un kanser oluşumundaki rolü

Araştırmalara göre oksidatif DNA hasarı, kanserin gelişmesine neden olan başlıca sebeptir (Valko ve ark., 2007). Kanser başlanması ve ilerlemesi, kromozomal bozukluklar ve serbest radikaller tarafından onkojen aktivasyonu ile alakalıdır. Çok sık görülen hasarlardan biri de hidroksillenmiş DNA bazlarıdır, bu durum kimyasal karsinogenezde önemlidir (Valko ve ark., 2004; Halliwell., 2007). Bu ürünün üretimi normal hücre gelişmesi ile çatışmaktadır ve sonuç olarak genetik mutasyonlar ve normal gen transkripsiyonunda değişimler meydana gelir. Oksidatif DNA hasarları çeşitli şekillerde gerçekleşebilir. Bunlara örnek olarak;

- DNA yapısında (baz ve karbonhidrat kısmı) modifikasyonlar
- Bağ kırılmaları
- DNA- protein çapraz bağları oluşumu
- Baz olmayan DNA yapıları örnek verilebilir.

ROT, indirekt yol ile DNA ile reaksiyona girer ve bunu DNA yerine örneğin fosfolipid yapıları ile etkileşerek yapar. Fosfolipid yapılarının yoğunluğu diğer

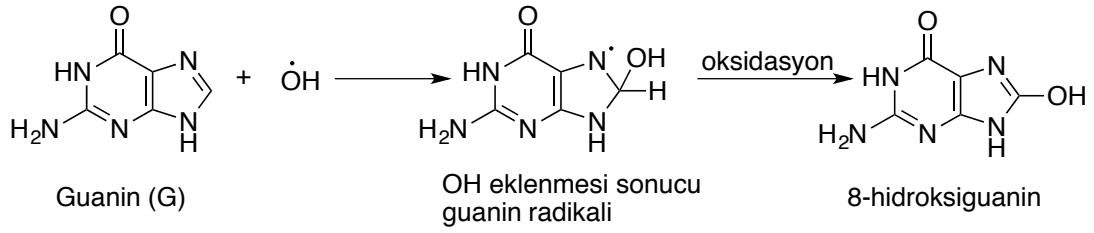
yapılara kıyasla daha fazladır ve ROT'un ilk hedefidir. Bu yapılar ile verilen lipid peroksidasyonu reaksiyonları sonucu reaktif karbonil ara ürünleri oluşur. Bunlara örnek olarak; 4-hidroksinonenal (4-HNE) ve akrolein aldehyitleri ve malondialdehit (MDA) ve glioksal dialdehyitleri, 4-okso-trans-2-nonenal ketoaldehyiti gibi ürünler elde edilir. Oluşan karbonil ürünleri serbest radikaller ile karşılaştırıldığında, bu aldehyitler yüksüz oldukları için hidrofobik membranlardan ve hidrofilik sitozollerden daha rahat geçerler ve dolayısıyla ROT'un ulaşım alanını daha ileriye taşımış olurlar. Sadece bu özelliğe dayanarak bile karbonil bileşiklerinin ROT'tan daha yıkıcı olduklarını söyleyebiliriz. Bu sayede, oluşan bileşikler nükleofilik makromoleküller olan protein, DNA, aminofosfolipid gibi yapılarla reaksiyona girip onların kimyasal, non-enzimatik ve irreversibl modifikasyonuna sebep olurlar (Negre- Salvayre ve ark., 2010).



Şekil 1.17 Lipid Peroksidasyonu Ürünleri

Hem malondialdehit hem de 4-hidroksinonenal DNA'nın azot içeren bazlarına geri dönüşümsüz olarak bağlanabilir. Bu sayede hücre koruması mekanizmasına rağmen hücrede bulunabilir ve sonuç olarak mutasyonlara sebep olurlar (Andonova ve ark., 2015).

ROT tümör başlangıcına katkıda bulunan bir mutajenlendire ve DNA ve RNA'daki guanin bazını oksitleyerek 8-hidroksiguanin oluşumunu sağlar (Floyd, 1990). 8-OHG, DNA replikasyonu sırasında adenin ile eşleşir ve sonrasında G'nin T ile C ise A ile substitüsyonu gerçekleşir (Cheng ve ark., 1992). Sonuç olarak gen transkripsiyonu değişir ve DNA mutasyona uğramış olur. Oluşan 8-OHG molekülü kanserin en önemli biyolojik işaretlerindendir (Andonova ve ark., 2015).



Şekil 1.18 8-OHG oluşumu

Örnek olarak, sigara tüketimi ve asbestos gibi bulaşıcı olmayan hastalıklardan kaynaklanan kronik enflamasyonlar akciğer kanseri ve tümörlerin gelişmesinde önemli katkı sağlar (Willcox, Ash & Catignani., 2004). Başka bir örnek ise, çokça yağ tüketimi ile lösemi, göğüs, yumurtalık ve rektum kanseri arasındaki ilişkinin lipid peroksidasyonundaki artış olduğu söylenebilir (Young & Woodside., 2001).

1.1.5.4. Oksidatif Stres ve Nörodejeneratif Hastalıklar

Alzheimer's, Parkinson's hastalıkları, çoklu skleroz, amiotropik latera skleroz (ALS), hafıza kaybı ve depresyon gibi hastalıklarda OSin etkisi araştırılmaktadır (Halliwell., 2001). Örneğin Alzheimer's hastalığı kapsamındaki yapılan araştırmalarda şu görülmüştür ki, OS nöron kaybında ve dementia gelişmesinde önemli rol oynamaktadır (Christen., 2000). Toksik bir peptid olup Alzheimer's hastası olan kişilerin beyinlerinde bulunan β - Amyloid'in üretimi OS kaynaklıdır ve nörodejeneratif proseste önemli rol oynar. (Butterfield., 2002).

Parkinson's hastalığı Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) bulgularına göre 6 ila 10 milyon insanın sahip olduğu Alzheimer's hastalığından sonra en çok rastlanan nörodejeneratif hastalıktır. Bu hastalık beyindeki nöronların kaybına sebep olmaktadır. Yaşlanma, genetik faktörler ve çevresel faktörler hastalığın ilerlemesini sağlayabilecek riskler arasındadır. Dopaminerjik nöronların kaybolmasının başlıca sebebi olarak OS görülmektedir. Lipid peroksidasyonunun özellikle Parkinson's hastalığı dışında Huntington hastalığı, ALS ve Alzheimer hastalığı ile de ilişkili olduğu bilinmektedir (Tsang & Chung., 2009).

1.2. Antioksidanlar

Biyolojik sistemlerin, OSe karşı koymak için kullandığı moleküller antioksidanlar olarak bilinmektedir. Antioksidanlar, bir serbest radikale bir elektron bağışlayabilen ve bu sayede radikalın zararlı etkisini azaltan moleküldür. Düşük moleküler ağırlığa sahip olan antioksidan moleküller, serbest radikallerle güvenli bir şekilde etkileşirler ve hayati önemi olan moleküller zarar görmeden zincir reaksiyonlarını engellerler. Bu moleküller ya endojen antioksidanlar olarak, glutatyon ve ürik asit gibi, vücutta bulunurlar veya egzogen antioksidanlar olarak yiyecekler yardımı ile dışarıdan temin edilirler. Antioksidanların görevi, serbest radikallerin fazlasını nötralize etmek, hücreleri serbest radikallerin toksik etkilerinden korumak ve hastalıklardan korunmasını sağlamaktır (Pham- Huy ve ark., 2008).

Halliwell ve arkadaşlarının (1995) yaptığı tanımda göre antioksidan kelimesi, düşük konsantrasyonlarda bulunmasına rağmen oksidasyonu erteleyen ya da engelleyen molekül olarak belirtilmiştir ama sonrasında ‘‘hedef moleküle gelecek oksidatif hasarı erteleyen, önleyen ve ya düzelten moleküller’’ olarak tanımlamışlardır (Halliwell, 2007). Aynı yıl Khlebnikov ve arkadaşlarına göre (2007) antioksidanlar ‘‘direkt olarak ROT molekülleri süpüren, antioksidan koruma sistemini indirekt olarak yoluna sokan, düzenleyen, ya da ROT üretimini engelleyen moleküllerdir’’. Antioksidan moleküllerin sahip olması gereken bir başka özellik ise, radikal molekülü süpürdükten sonra oluşan radikalın stabil bir molekül olmasıdır (Halliwell, 1990).

1.2.1. Antioksidan Koruma Sistemi

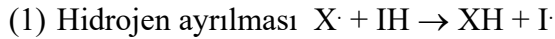
Antioksidanlar; radikal süpürücü, hidrojen donörü, elektron donörü, peroksit ayrıştırıcı, singlet oksijen söndürücü, enzim inhibitörü, sinerjist ve metal şelatları oluşturucu olarak görev yapabilir. (Frie, Stocker & Ames., 1988). Antioksidanlar, bir serbest radikali yok ettiğinde, kendisi oksitlenir. Bu yüzden antioksidan kaynakları her zaman yenilenmelidir. Bir antioksidan bazı sistemlerde antioksidan etki gösterirken, diğerlerinde pro-oksidan yani toksik ROT ve ya RAT üreten bir molekül olarak işlev görebilir (Young & Woodside., 2001).

Antioksidanlar, iki farklı mekanizma ile etkilerini gösterirler. Bunlardan ilki zincir-kırıcı mekanizmadır. Bu mekanizmaya göre bir serbest radikal elektron saldıığında ya da bir elektron aldığıında, başka bir serbest radikal oluşur. Bu işlem ya bir zincir kırıcı antioksidan tarafından (Vitamin C, E, karotenoidler gibi) oluşan radikal stabil hala getirilene, ya da radikal molekül zararsız bir moleküle disintegre olana kadar devam eder. Bu mekanizmaya en güzel verilebilecek örnek lipid peroksidasyonudur. ROT ve RAT moleküllerinin ortadan kaldırılmasını sağlayan ikinci mekanizma ise koruyucu mekanizmadır. Bu mekanizmada süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimler ya zincirleme reaksiyonu başlatan serbest radikalleri süpürerek ya da yine bu reaksiyonlara sebep olabilecek Fe ve Cu gibi geçiş metallerini stabilize ederek zincir reaksiyonların başlangıcını önleyerek gerçekleştirir (Young & Woodside., 2001).

1.2.2. Antioksidan Etkinin Seviyeleri

Antioksidanlar, diğer kimyasalların oksidasyonunu yavaşlatan ya da engelleyen moleküllerdir ve böylece oksidasyonun vücutta oluşturduğu zararlı etkilere karşı çıkarlar. Oksidasyon reaksiyonları, daha sonrasında zincirleme reaksiyonlara sebep olabilecek serbest radikallerin oluşumuna neden olabilir. Antioksidanlar, bu zincirleme reaksiyonlara radikal ara ürünleri ortamdan uzaklaştırarak ve başka oksidasyon reaksiyonlarına da kendileri oksitlenerek engel olabilir.

Antioksidanlar, radikaller ile Şekil 1.19'da görülen yollardan biri ile etkileşirler.



Şekil 1.19 Antioksidanlar ve Serbest Radikaller Arasındaki Reaksiyonların Mekanizmaları

Antioksidanların etki seviyeleri sıra ile; koruyucu, radikal süpürücü, tamir edip baştan başlatan ve adaptasyon seviyeleridir. Bu etkinin ilk seviyesi, ilk savunma hattı,

olan koruyucu antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engellerler. *In vivo* ortamda serbest radikallerin oluşumlarının mekanizması ve oluştukları yerler kesin olarak bilinmemesine rağmen, metal kaynaklı hidroperoksit ve hidrojenperoksit dekompozisyonu radikallerin oluşum sebebi olarak görülmektedir. Bu reaksiyonları bastırmak için bazı antioksidanlar, hidroperoksit ve hidrojenperoksitleri alkol ve suya radikal molekülü oluşturmada indirger.

İkinci savunma hattı, zincirleme reaksiyonların başlamasını ya da zincirleme reaksiyonların ilerlemesini önlemek için serbest radikalleri süpüren antioksidanlardır. Endojen radikal süpürücü bazıları hidrofilik bazıları lipofilik birçok antioksidan molekül bilinmektedir. Vitamin C, ürik asit, bilirubin, albümin ve tiyoller hidrofilik, vitamin E ve ubiquinol ise lipofilik radikal süpürücü antioksidanlardır.

Üçüncü savunma hattını ise tamir edici antioksidanlar oluşturur. Proteolitik enzimler, proteinazlar, proteazlar ve peptidazlar memeli hücrelerinin sitozolünde ve mitokondrilerinde bulunur. Bunlar oksidatif yollarla modifiye edilmiş proteinleri tanıyarak ayırır ve uzaklaştırır ve bu yolla onların birikmesini engellemiş olurlar.

Bunların dışında DNA koruma sistemi oksidatif hasara karşı koruma sisteminde etkilidir. Glikozilaz ve nükleazlar gibi birçok enzim hasarlı DNA'ları onarır.

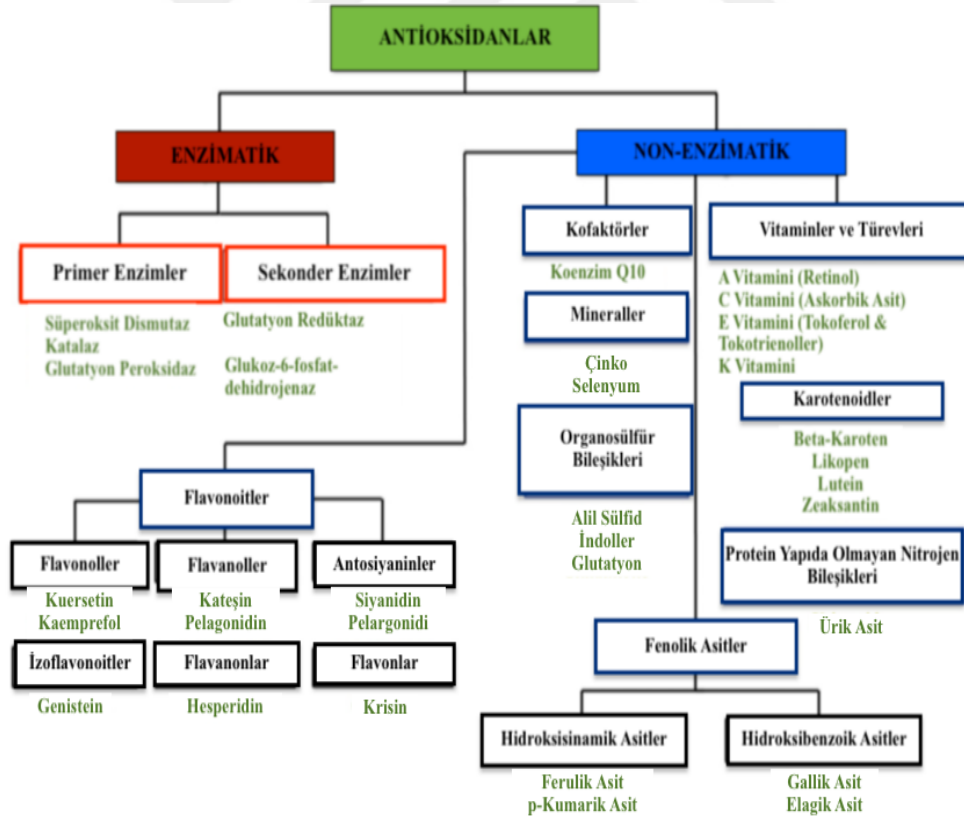
Adaptasyon denilen bir fonksiyon da vardır ki, bazı antioksidanlar, serbest radikallerin üretimi ve reaksiyonları için gönderilen sinyaller, doğru bölgede antioksidanların oluşumu ve bölgeye antioksidan transportasyonuna sebep olurlar (Lobo ve ark., 2010; Niki., 1993).

1.2.3. Doğal Antioksidanların Çeşitleri

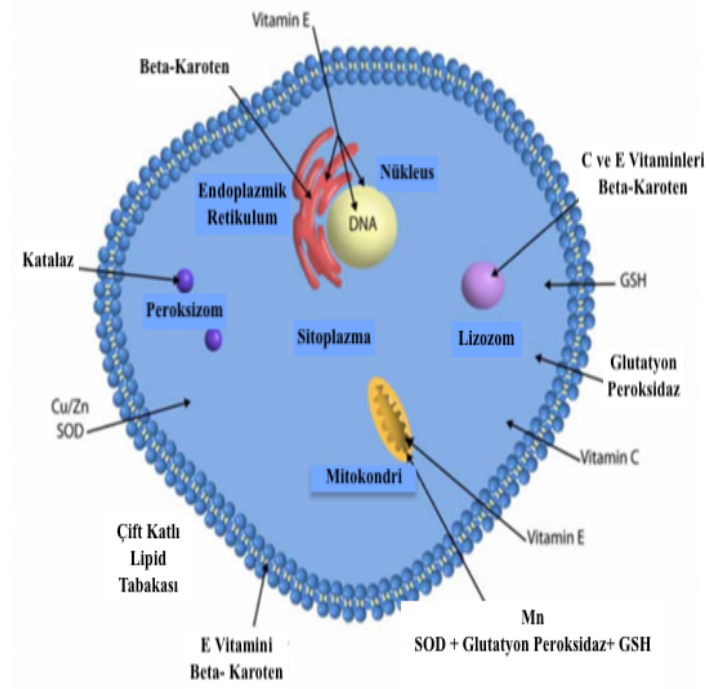
Doğada bulunan antioksidanlar enzimatik ve non-enzimatik olarak iki farklı gruba ayrılır. Enzimatik antioksidanlar ise primer ve sekonder enzimatik antioksidanlar olarak iki ayrı gruba bölünür. En etkili antioksidan enzimler olan primer enzimler; glutatyon peroksidaz (GPx), Süperoksit dismutaz (SOD) ve Katalaz (CAT) enzimleridir, bu enzimler serbest radikallerin ya oluşumunu engeller ya da nötralizasyonunu sağlar. Oksitlenmiş glutatyonu (GSSG) redükleyen glutatyon

redüktaz (GR) ve NADPH rejenerasyonunda görevli olan glukoz-6-fosfat dehidrojenaz serbest radikalleri direkt olarak nötralleştirmezler fakat diğer endojen antioksidanların etkilerini destekleyici özellikleri vardır (Carocho., 2013).

Non-enzimatik antioksidanlar ya metabolik ya da besin kaynaklı antioksidanlardır. Metabolik antioksidanlar, metabolik yollarla endojen olarak vücut içerisinde üretilen antioksidanlardır. Bunlara örnek olarak; glutatyon, lipoic asit, L-arjinin, koenzim Q10, melatonin (MLT), ürik asit, bilirubin, metallerle çelat oluşturan proteinler, transferrin verilebilir. Besin kaynaklı antioksidanlar ise vücutta üretilemeyen moleküllerdir. Bunlar besinler aracılığı ile dışarıdan takviye ile alınır. Bunlara örnek olarak; vitamin E, vitamin C, karotenoidler, bazı metaller (Selenyum, magnezyum, çinko), flavanoidler, omega-3 ve omega-6 yağ asitleri verilebilir (Droge., 2002; Willcox, Ash & Catignani., 2004). Antioksidanların sınıflandırılması Şekil 1.20’de görülmektedir.



Şekil 1.20 Antioksidanların Sınıflandırılması



Şekil 1.21 Antioksidanların Hücre İçindeki Konumları

Şekil 1.21’de hangi antioksidan sistemlerinin hangi radikal ya da oksidana karşı etkili olduğu görülmektedir.

Çizelge 1.3 Çeşitli serbest radikaller ile oksidanlar ve alakalı antioksidan sistemleri

Serbest Radikal ya da Oksidan

Süperoksit Anyonu
Hidroksil Radikali
Singlet Oksijen
Peroksit Radikali
Hidrojen Peroksit
Hidroperoksitler
Geçiş Metalleri

Antioksidan Sistem

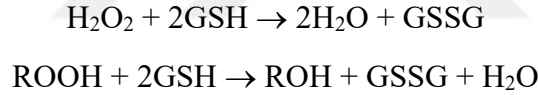
Süperoksit Dismutaz (SOD)
SOD, Mn-SOD, Cu, Zn-SOD, Glutasyon
Tokoferoller, Ubikininler
Karotenoidler
Katalaz, Se-glutasyon peroksidaz
Glutasyon peroksidaz/ redüktaz
Çelatlayıcılar

1.2.3.1. Enzimatik Antioksidanlar

Hücreler OS'ten antioksidanlarla birbirleriyle etkileşim içinde olan antioksidan enzimlerin ağı sayesinde korunurlar (Sies., 1997). Örneğin, süperoksit anyon radikali oksidatif fosforilasyon işlemi sırasında üretilir, ilk olarak hidrojen peroksit'e dönüşür ve sonrasında indirgenerek su molekülü elde edilir. Bu detoksifikasyon mekanizması birçok enzimin sayesinde gerçekleşir. İlk olarak süperoksit dismutaz enzimi ilk basamağı katalizler ve sonrasında katalaz ve çeşitli peroksidaz enzimleri hidrojen peroksidi ortamdan uzaklaştırmayı sağlar.(Magenat, Garganoam& Cao., 1998).

1.2.3.1.1. Glutatyon Peroksidaz

Bu enzim iki farklı şekilde bulunmaktadır; selenyuma bağlı olarak (GPx), ve selenyumdan bağımsız olan glutatyon-s-transferaz (GST). Bu antioksidan enzimler birbirinden farklıdır. GPx H₂O₂ ve ya organik peroksitlerin (ROOH) su ve ya alkole indirgenmesini sağlar (Şekil 1.22) (Rahman, 2007).



Şekil 1.22 Organik peroksitlerin su ve ya alkole GSH varlığında indirgenmesi

Bu süreç, hücrelerde bulunan bir tripeptid olan GSH varlığında gerçekleşir. GSH, GPx'in katalitik reaksiyonu sırasında GSSG molekülüne dönüşür (Rahman, 2007).

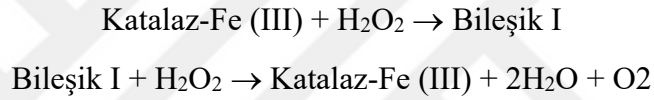
Böbrekler glutatyon peroksidazın plazma formunun sentezlendiği ana organdır. Bu enzim her dokuda bulunmaktadır fakat en çok karaciğer hücrelerinin glutatyon peroksidaz açısından en zengin hücreler olduğu tespit edilmiştir (Young & Woodside., 2001). GSH tripeptidinin GPx aktivitesi için ortamda bulunması zorunludur. Bu da glutatyon redüktaz enzimi ile oluşan GSSG moleküllerinin tekrardan GSH'a indirgenmesi sırasında sağlanır (Şekil 1.23) (Young & Woodside., 2001).



Şekil 1.23 GSSH'nin GSH'a indirgenmesi

1.2.3.1.2. Katalaz (CAT)

Katalaz, antioksidan enzim olduğu ilk tanımlanan moleküldür (Young ve Woodside., 2001). Bu enzim bitkilerde, hayvanlarda ve aerobik solunum yapan bakterilerde hücrelerin peroksizom organelinde bulunur (Mates, Perez-Gomez & De Castro., 1999). Hidrojen peroksit oksidanını su ve moleküler oksijene iki basamaklı bir reaksiyon ile dönüştürür (Denklem 16,17) (Young ve Woodside., 2001). Bu enzimin 1 molekülü yaklaşık 6 milyon hidrojen peroksidi su ve oksijene dönüştürebilmektedir (Valko ve ark., 2006).

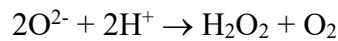


Şekil 1.24 Katalaz enziminin H₂O₂'i su ve oksijene parçalaması reaksiyonu

Katalaz enzimi bütün dokularda bulunur fakat en fazla aktivitesi karaciğer ve eritrositlerde görülmektedir (Young ve Woodside., 2001).

1.2.3.1.3. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Bir metaloenzim olan süperoksit dismutaz (SOD) vücuttaki en etkili antioksidan enzimlerdendir ve hatta vücudun reaktif oksijen türlerine karşı ilk savunması bu enzim ile olur (Pham-Huy ve ark., 2008). Süperoksit Dismutaz (SOD) enzimi hidrojen peroksit oksidanının hidrojen perokside dismutasyonunun gerçekleşmesini sağlar (Şekil 1.25). Oluşan hidrojen peroksit daha sonra katalaz ya da glutatyon peroksidaz ile uzaklaştırılabilir.



Şekil 1.25 Süperoksit anyon radikalının H₂O₂' e dismutasyonu

Memeli hücrelerinde süperoksit dismutaz üç farklı şekilde bulunur, her biri hücrelerin farklı bölümlerinde ve farklı dokularda yer alır (Liou, Chang, Geuze., 1993; Karlsson, Sandstrom & Edlung., 1993; Weisiger & Fridovich., 1973). Bunlar Bakır Çinko Süperoksit Dismutaz (CuZnSOD), Manganez Süperoksit Dismutaz (MnSOD). Hücre dışı Süperoksit Dismutaz (ECSOD). dır.

1.2.3.2. Non- Enzimatik Antioksidan Moleküller

Non-enzimatik antioksidanlar metabolik ve besin kaynaklı olarak ikiye ayrılırlar. Endojen antioksidanlardan olan metabolik antioksidanlar vücutta üretilirler. Egzojen antioksidanlardan olan besin kaynaklı antioksidanlar ise vücutta üretilemezler ve bu yüzden dışarıdan takviye ile ya da besinlerle alınırlar. Bazı önemli antioksidanlar aşağıda özetlenmiştir.

1.2.3.2.1. Glutasyon (GSH)

Bir düşük moleküler ağırlığına sahip bir tripeptit olan glutasyon (L- γ -glutamil-L-sisteinil-glisin), genel olarak sitozolde bulunur fakat onun dışında mitokondri, peroksizomlar, nüklear matriks ve ER'da da bulunur (Li & Schellhorn., 2007). GSH tüm hücrelerde bulunur, fakat ana olarak karaciğerden üretilir ve salınır. Glutasyon, $\cdot\text{OH}$, $\text{LOO}\cdot$, $\text{ONOO}\cdot$ ve H_2O_2 serbest radikal ve reaktif oksijen türlerinin potansiyel süpürücü antioksidanı olarak göre yapar (Wu ve ark., 2004). Protein disülfid bağlarının düzenlenmesi, elektrofil ve oksidan moleküllerin yapısındaki sistein amino asidi sayesinde ortamdan uzaklaştırılması gibi görevleri vardır (Mari ve ark., 2009). Ek olarak en önemli özelliklerinden bir başkası da yükseltgenmiş C ve E vitaminlerini aktif formlarına geri indirgeyebilirler (Valko ve ark., 2006). Molekülün yapısındaki sistein indirgeyici bir ajandır ve ona antioksidan özelliğini kazandırır (Meister., 1988).

1.2.3.2.2. A Vitamini

Bir diğer adı retinol olan A vitamini karaciğerde üretilen bir karotenoittir ve β -karoten molekülünün yıkımı sonucu oluşur. A vitaminin izole edilebilecek çok fazla formu bulunmaktadır. Deri, göz ve iç organlara faydası olduğu bilinmektedir.

Antioksidan olmasını sağlayan özellik ise peroksil radikalleri ile birleşip lipid peroksidasyonunu önlemeleridir (Palace ve ark., 1999; Jee ve ark., 2006).

1.2.3.2.3. Koenzim Q10

Bütün hücrelerde ve membranlarda bulunur. Solunum zincirinde ve diğer hücresel metabolizmalarda önemli görevi vardır. Bu enzim lipid peroksil radikallerinin oluşumunu önler. Oluşan lipid peroksil radikallerini nötralize etme özellikleri de bulunmaktadır. Bunların dışında vitamin E rejenerasyonunu sağlayamadır (Turunen ve ark., 2004).

1.2.3.2.4. Ürik Asit

Ürik asit, pürin nükleotid metabolizmasının insanlardaki sonuç ürünüdür. Böbrek filtrasyonundan sonra ürik asidin %90'ı vücut tarafından reabsorbe edilir. Bu durum ürik asidin vücut için gerekli ve önemli bir görevi olduğunu gösterir. Ürik asit oksohem oksidanlarının fazla üretimini, hemoglobinin peroksitlerle reaksiyonu sonucu engeller. Ek olarak ürik asit, peroksidasyon ile eritrositlerin lizisini engeller ve singlet oksijen ve hidroksil radikallerinin potansiyel süpürücüsüdür (Kand'ar ve ark., 2006).

1.2.3.2.5. Melatonin (MLT)

Bir indolamin olan MLT (N-asetil-5-metoksitriptamin) nörohormondur, triptofan molekülünden türemektedir ve ağırlıklı olarak omurgalı canlıların beyin epifizinden sentezlenir (Rahman., 2007). MLT salgılanması sirkadiyen yol ile gerçekleşir ve en çok gece vakti salgılanır. Multifonksiyonel bir molekül olan MLT'in OSe karşı savaştan çok önemli bir antioksidandır (Reiter ve ark., 2003). Bu molekülün hücre zarlarını lipid peroksidasyonuna karşı vitamin E'nin iki katı kadar güçte koruduğu ve ·OH süpürme yeteneğinin GSH'dan beş kata daha fazla olduğu kanıtlanmıştır (Miller ve ark., 2010; Solkoff ve ark., 1998). Daha fazlası, MLT'in antioksidan aktivitesinin vitamin C, vitamin E ve β-karoten'den daa fazla olduğu gösterilmiştir. MLT'in bir başka özelliği ise kendisi gibi metabolitleri de radikal süpürücü özellik taşımaktadır (Korkmaz ve ark., 2009). Bunun dışında antioksidan enzimleri OSe karşı koruyabilir.

Mitokondriden ETC sırasında elektron sızmasını ve serbest radikal oluşumunu azaltır (Anisimov ve ark., 2006).

1.2.3.2.6. Askorbik Asit (C Vitamini)

Aynı zamanda askorbik asit olarak da anılan C vitamini suda çözünen çok güçlü bir antioksidandır. Genellikle taze meyvelerde ve sebzelerde bulunur (Pham-Huy ve ark., 2008). Sentezi çoğu bitkide ve hayvanda D-glukoz ve D-galaktoz'dan olur. İnsan vücudunda L-gulonolakton oksidaz enzimi bulunmadığı için C vitaminini sentezleyemez, bu yüzden besin kaynaklı olarak dışarıdan alması gerekmektedir (Naidu., 2003; Padayatty ve ark., 2003). Askorbik asit antioksidan aktivitesi olan iki bileşik içermektedir: L-askorbik asit ve L-dehidroaskorbik asit. Bu asit süperoksit anyonu radikali, hidrojen peroksit, hidroksil radikali, singlet oksijen, HOCl ve nitrojen oksit (NO) oksidanlarını süpürebilir (Barros ve ark., 2011). Bu asidin asıl aktif formu olan L-askorbik asit yüksek elektron-bağışlayıcı özelliğinden dolayı çok güçlü antioksidandır (Valente ve ark., 2011). Serbest radikalleri E vitamini ile ortak olarak süpürür ve ayrıca hücredeki GSH miktarını artırır (Valko ve ark., 2006).

1.2.3.2.7. E Vitamini

E vitamini, yağda çözünen yüksek antioksidan potansiyeli olan bir vitamindir. Kiral bir bileşiktir ve sekiz stereoizomeri bulunmaktadır. Bunların içinde α -tokoferol insanlarda en biyoaktif olanıdır. İnsanlarda ve hayvanlarda yapılan çalışmalara göre d- α -tokoferol, rasemik karışımından iki kat daha etkili antioksidan aktivite göstermektedir (Nyugen, He & Pham-Huy., 2006). Yağda çözünebilir olduğu için E vitamini hücre zarlarını lipid peroksidasyonundan korur. E vitaminin kolon, prostat, göğüs kanseri, bazı kardiyovasküler hastalıklar, iskemi, katarakt, artritis ve bazı nörodejeneratif hastalıklardan korunmada etkili olduğu söylenmektedir (Pham-Huy ve ark., 2008).

1.2.3.2.8. β -Karoten

β -Karoten, yağda çözünen bir karotenoittir. Provitamin olarak kabul edilir çünkü sonrasında aktif A vitaminine (retinol) dönüştürülürler. Çok güçlü ve singlet oksijeni en iyi yakalayan antioksidandır. Genellikle sebzelerde, tahıllarda, yağ ve havuç, yeşil bitkiler, ıspanak, kabak gibi sebzelerde bulunur (Pham-Huy ve ark., 2008; Willcox, Ash, Catignani., 2004).

1.2.3.2.9. Flavonoidler

Flavonoidler çoğu bitkide bulunan polifenolik bileşiklerdir. Bunların bazı hastalıkları önledikleri ya da erteledikleri öne sürülmektedir. Bu hastalıklardan bazıları kanser, kardiyovasküler hastalıklar, artritis, yaşlanma, katarakt, hafıza kaybı, felç, Alzheimer's hastalığı, enfalamasyonlar ve bazı enfeksiyonlardır. Çoğu bitki flavonoidlerin farklı kombinasyonlarını içermektedir. Bu yüzden farklı bitkiler insan üzerinde farklı etkiler göstermektedir (Hanneken ve ark., 2006). Flavonoidlerin ana kaynakları; yeşil çay, üzüm (kırmızı şarap), elma, kakao (çikolata), ginkgo biloba, soya fasulyesi, zerdeçal, soğan ve brokolidir (Pham-Huy ve ark., 2008).

1.2.4. Sentetik Antioksidanlar

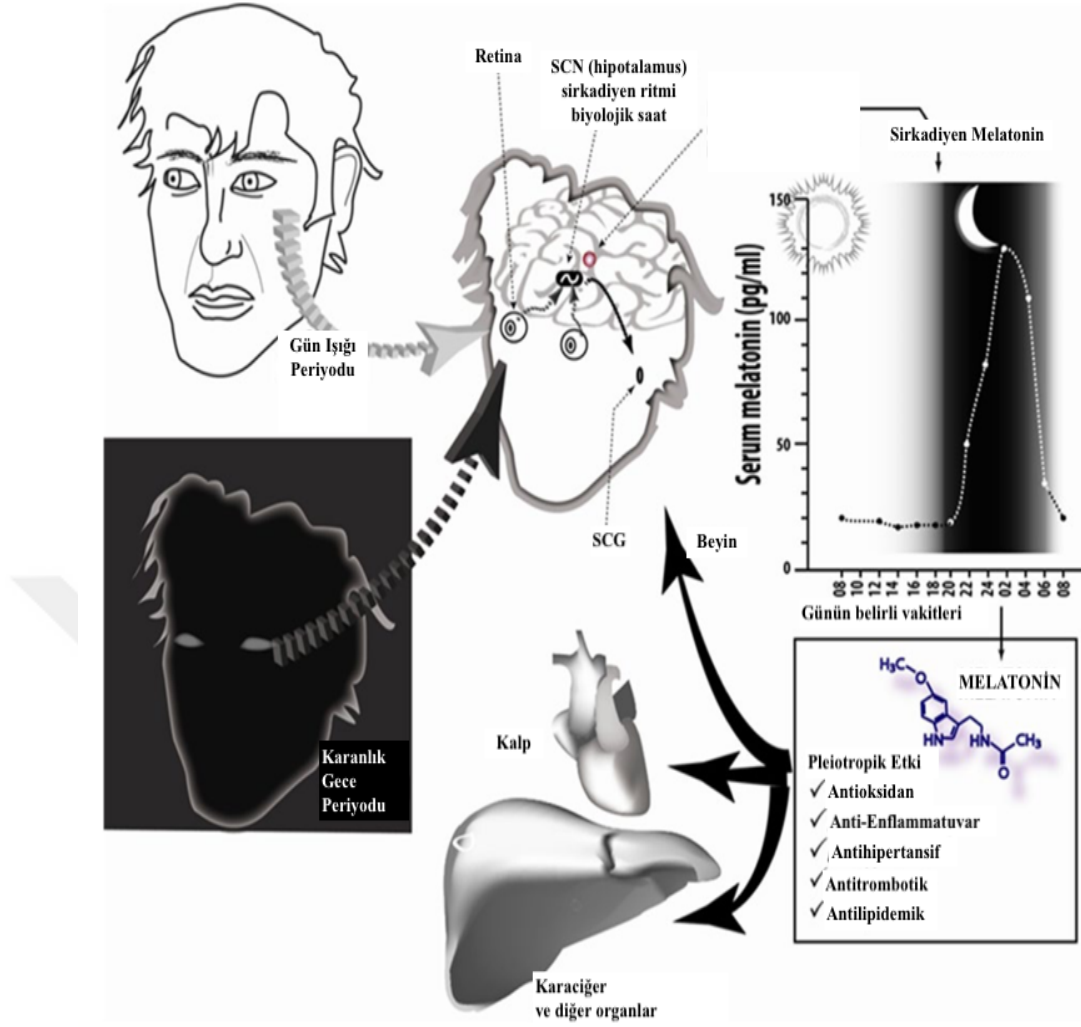
Vücudumuzun ürettiği doğal besinler aracılığı ile alınan antioksidanlar bazen yeterli gelmemekte ve bunun sonucunda da çeşitli hastalıklar ortaya çıkabilmektedir. Antioksidanların yetersizliğinin temel nedenleri; çevresel etmenler, yetersiz ve dengesiz beslenme, kötü ve sağlıksız yaşam koşulları, vücut direncinin zayıflaması, genetik hastalıklar gibi kişinin içinde bulunduğu ortama, yaşam şekline ve bünyesine bağlı olarak oksidan/antioksidan dengesi bozulabilir. Bununla birlikte yaşlanma ile azalan vücuttaki antioksidan miktarı da beraberinde dışarıdan takviye ihtiyacını doğurmaktadır. Bütün bu nedenler ve ihtiyaçlar göz önüne alındığında sentetik antioksidanlara duyulan ihtiyaç ortaya çıkmaktadır. Günümüzde bu konuda birçok çalışma yapılmakta ve 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 azı birden çok hastalığa etki edebilecek, doğala en yakın bileşikler sentezlenmektedir.

1.3. Melatonin

MLT (*N*-asetil-5-metoksitriptamin), bir triptofan metabolitidir. İlk olarak ineklerin beyin epifizinde keşfedilen MLT küçük bir moleküldür (Lerner ve ark., 1958). Bu molekülün ilk gözlenen fonksiyonu hem karada hem suda yaşayan canlıların dermal melanozomlarında bulunan melanin granüllerinin, kurbağa deri hücresi nükleusunun etrafına toplanarak deri renginde açılmaya sebep olmasıdır (Lerner ve ark., 1959a). Sonuç olarak yeni keşfedilen molekülün adı MLT olarak kararlaştırılmıştır. Bu isimdeki ‘mela-‘ molekülün melanin üzerindeki etkisinden, ‘-tonin’ ise molekülün serotonin molekülünden sentezlenmesinden dolayı eklenmiştir (Axelrod & Weissbach., 1960). Pineal gland yani beyin epifizinin bir organ olarak tanımlanması, Lerner ve arkadaşları tarafından MLT molekülünün izolasyonu ve keşfinin yapıldığı (1958, 1959b) 1950’li yılların sonlarına dayanır.

MLT ile ilgili en erken bulgulardan biri, pineal gland’dan öncelikle geceleri sentezlenip salgılanmalarıdır. Buradan şunu çıkarabiliriz: MLT hormonunun salgılanmasına güneşin dünyanın etrafında dönüşü sayesinde oluşan karanlık ve aydınlık döngünün o anki durumuna göre karar verilir (Axelrod ve ark., 1965). Sonuç olarak MLT seviyesi geceleri, gündüzlere kıyasla daha çoktur. MLT hormonunun bu özelliği onu çevresel fotoperiyodik değişimler hakkında iç organlara bilgi vermesi için iyi bir sinyal molekülü yapar (Tan ve ark., 2015).



Şekil 1.26 Melatonin Salgılanmasının Gece Gündüz Döngüsüne Göre Değişimi

Bu doğal hormon vücutta pineal gland dışında aynı zamanda retinada, gastrointestinal sistemde, kemik iliğinde, lökositlerde, lenfositlerde ve deride büyük miktarı günün karanlık dönemi olan gece vakti kana ve beyin-omurilik sıvısına salınır (Bonfont-Rousselot & Collin, 2010). MLT, beyin omurilik sıvısını kolayca geçebilir ve bütün hücrelere girebilir. Bunun sebebi ise hem lipofilik hem de hidrofilik yapısıdır.

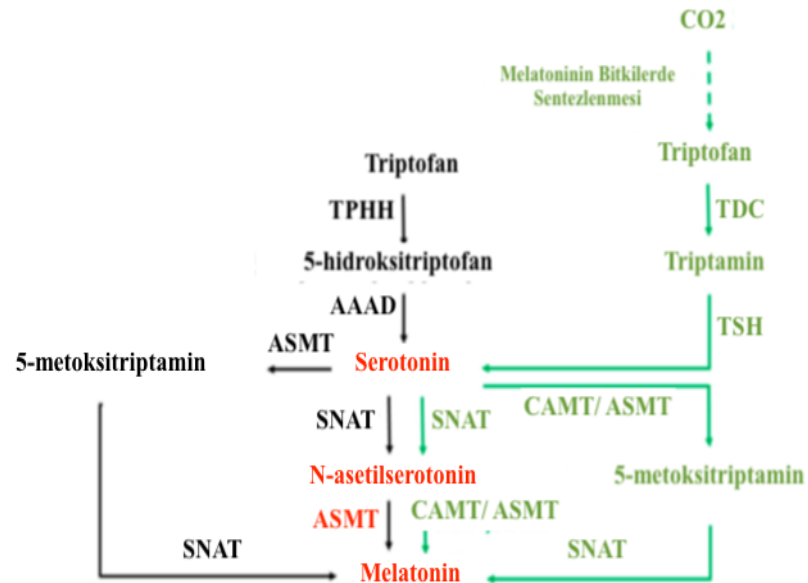
MLT'in birçok fizyolojik fonksiyonu bulunmaktadır (Ateş-Alagoz & Suzen., 2001). Başlıca fonksiyonları sirkadyen ritmi düzenlemek, serbest radikallerin zararlarını düzeltmek, immün sistemi güçlendirmek ve biyomoleküllerin oksidasyonunu direkt ya da indirekt yollarla önlemektir (Suzen ve ark., 2000). Vücutta bu molekülün eksikliği ya da indirgenmesi, birçok fonksiyonun kontrolünü elinde

bulundurduğu için zararlı etkilere sebep olabilir. İnsülin direnci, glukoz intoleransı, uyku bozuklukları, metabolik sirkadyen sisteminde düzensizlikler ve metabolik hastalıklar MLT eksikliği sonucu oluşabilecek komplikasyonlardan bazılarıdır (Hardeland ve ark., 2011; Cippola-Neto ve ark., 2014).

Bu molekülün en önemli özelliklerinden biri ise antioksidan etkisidir. Öyle ki, MLT'in antioksidan kapasitesi (AOC) üzerinde o kadar çok bilgi toplanmıştır ki, bu molekülün asıl görevinin canlı organizmaları OS'ten korumak olduğu bir hipotez ile öne sürülmüştür (Tan ve ark., 2010).

1.3.1. Melatonin Sentezi

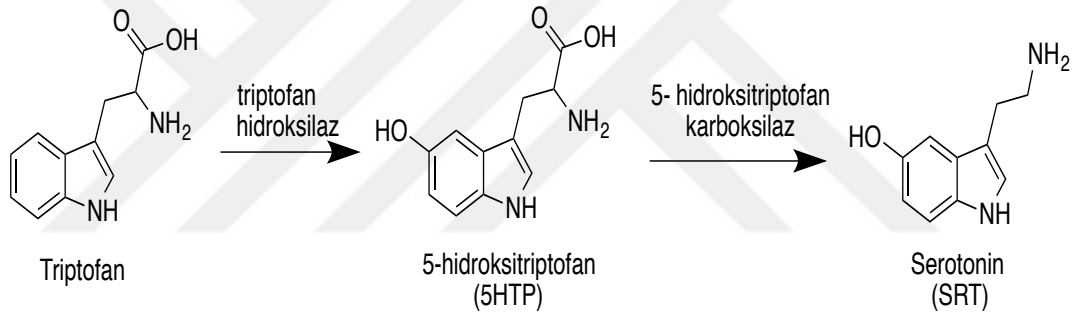
MLT sentezi ile ilgili çalışmaların çoğunluğu omurgalılar üzerinde özellikle memelilerde yapılmıştır. Memelilerde, MLT sentezinin başlangıç prekürsörü gerekli amino asitlerden triptofandır. Triptofan, ileriki adımlarda MLT sentezi ile sonuçlanacak serotonin molekülünün miktarını belirler ve özellikle gece vakti maksimum miktarına ulaşır (Sugden, 2003). MLT sentezinin memelilerdeki klasik yolağı Şekil 1.27'de görülmektedir. Denklemdeki siyahlar sadece hayvanlarda görülen mekanizmayı, yeşil sadece bitkilerde görüleni, kırmızı ise hem hayvan hem bitkilerde görülen adımları ifade etmektedir.



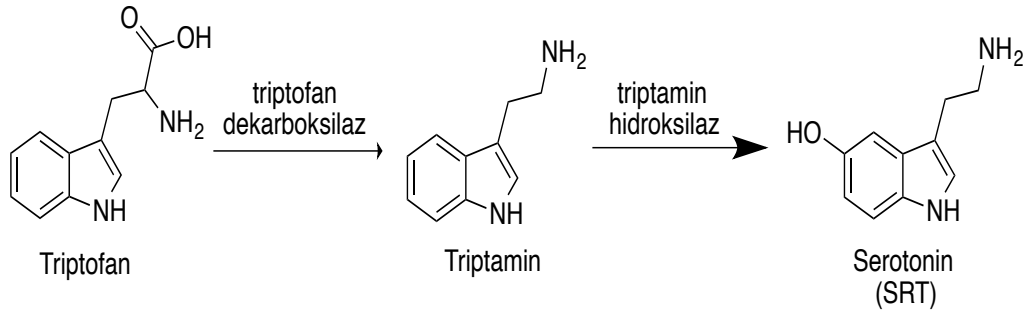
Şekil 1.27 Melatonin molekülünün bitkilerde ve hayvanlarda sentezlenişi

Memelilerdeki triptofan molekülünün metabolizasyonu sırasında, triptofan hidroksilaz enzimi bu molekülü 5-hidroksitriptofan bileşiğine dönüştürür (5-HTP). Oluşan 5-HTP, 5-hidroksitriptofan dekarboksilaz enzimi aracılığı ile de serotonin (SRT) molekülüne dönüşür. Diğer taraftan bitkilerde triptofanın SRT'e dönüşümü bitkilerde farklı bir mekanizma ile gerçekleşir. İlk olarak triptofan molekülü, triptofan dekarboksilaz ile triptamine dönüşür. Sonrasında ise oluşan triptamin, triptamin hidroksilaz enzimi yardımı ile SRT'e dönüştürülür. SRT molekülü elde edildikten sonra bitkilerde ve memelilerde önce N-asetilserotonin (NAS- normelatonin olarak da bilinir) sonrasında da MLT molekülüne dönüştürülür (Galano ve ark., 2017).

Memelilerde ve bitkilerde serotoninin sentez mekanizmasında görülen farklılıklar Şekil 1.28 ve 1.29'da görülmektedir.

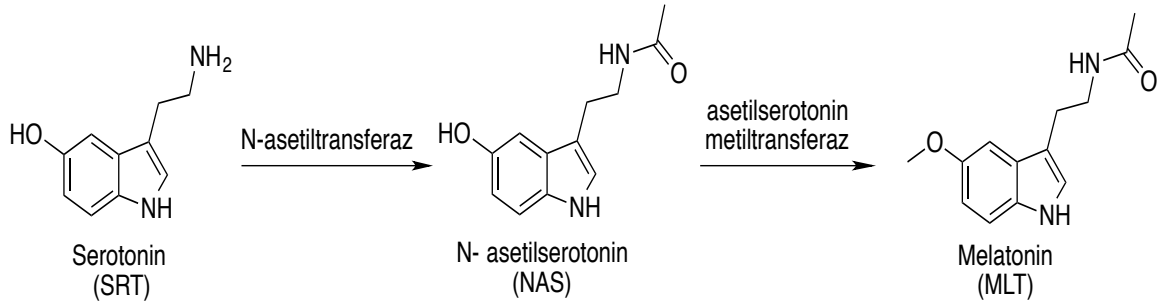


Şekil 1.28 Memelilerde serotonin molekülünün triptofandan sentezi



Şekil 1.29 Bitkilerde serotonin molekülünün triptofandan sentezi

Serotonin molekülünden ise MLT sentezi bitkilerde ve memelilerde aynı mekanizma ile gerçekleşir. Bu mekanizma Şekil 1.30' da görülmektedir.



Şekil 1.30 Serotonin molekülünden melatonin sentezi

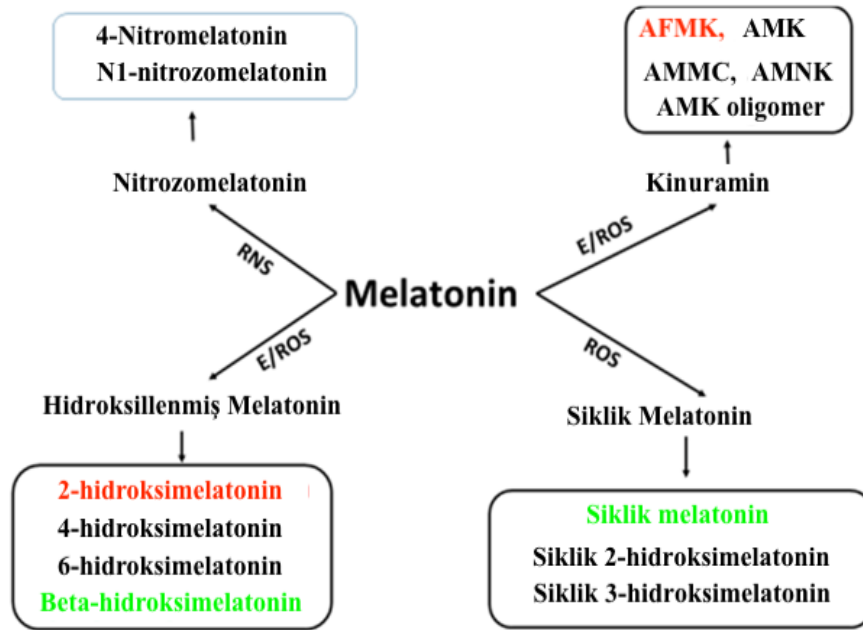
Bu mekanizmada serotonin *N*-asetiltransferaz (SNAT) MLT sentezinde üzerinde en çok çalışılan enzimdir. SNAT, MLT'in üretim reaksiyonlarında hız belirleyici enzim olarak kabul edilmiştir. Bu düşünce SNAT enziminin aktivitesinin belirgin bir sirkadyen ritim göstermesi ve bağlı olduğu ritmin MLT miktarı ile bağlantı göstermesinden ortaya çıkmıştır.

Bu yirmidört saatlik döngüde, SNAT ve MLT üretimi ön hipotalamusta bulunan büyük sirkadyen saati sayesinde gerçekleşir, bu bölgeye suprakiazmatik çekirdek (SCN) denilmektedir (Hastings ve ark., 2008). Her gece SCN, pineal gland'e elektriksel sinyal gönderir, post-gangliyonik sempatik sinirlerden pinealositlere norepinefrin (NE) salgılanması gerçekleşir. β 1-adrenerjik reseptörlerine gelen NE , arttırılmış MLT üretimi ve sekresyona sebep olur (Maronde & Stehle, 2007).

MLT molekülünün geceleyin en yüksek değerine ulaşan üretimi tüm omurgalılarda görülen bir özelliktir. İnsanlarda MLT ritmi doğum ile gelen bir özellik değildir fakat doğumdan sonra gelen altı ay içerisinde gerçekleşir. Orta yaşlara kadar devam eden MLT miktarının geceleri maksimum değerini göstermesi, orta yaşlardan sonra yaşlılığa doğru hem diğer memeliler hem de insanlarda bozulmalar göstermeye başlar (Reiter ve ark., 2010). MLT sentezinde belli yaşlardan itibaren görülen azalma negatif sonuçlar doğurabilir.

1.3.2. Melatonin Metabolizasyonu

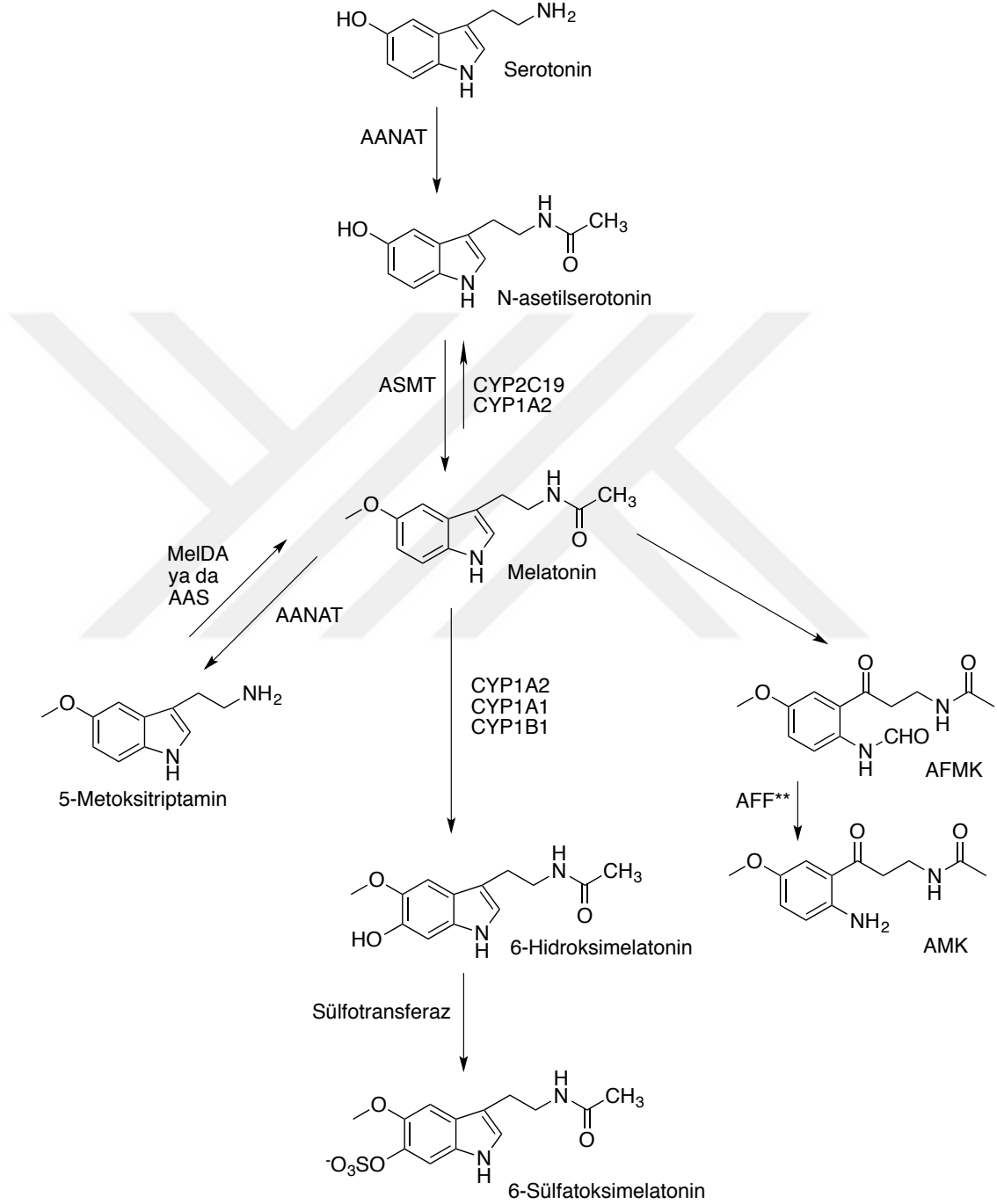
MLT genel olarak enzimatik, non-enzimatik yollarda ya da ROT ve ya RAT oksidanları ile reaksiyon sonucu gibi üç farklı yol ile metabolize olabilir (Tan ve ark., 2007a). MLT molekülünün mitokondrilerdeki metabolizması şöyledir: Burada MLT non-enzimatik yol ile parçalanır. Bu işlem sırasında kullanılan enzim sitokrom C olarak bilinmektedir ve MLT molekülünü *N*1-asetil-*N*2-formil-5-metoksikinuramin (AFMK)'e dönüştürür (Semak ve ark., 2008). Bu enzim aynı zamanda bakterilerde de görülmektedir. Bu bilgi ile bakterilerin de sitokrom C yardımı ile MLTi AFMK'e dönüştürebileceği öngörüsünde bulunabiliriz. Buradan sitokrom C'nin MLTi ilk parçalayan enzim, AFMK'nın non-enzimatik proses ile MLT metabolizmasının ilk ürünü olduğunu çıkarabiliriz (Tesoriere ve ark., 2001).



Şekil 1.31 Melatoninin metabolizasyon çeşitleri

MLT genel olarak karaciğerde mikrozomal sitokrom P450 tarafından 6-hidroksimelatonin (6-HMLT)'e metabolize edilir. CYP1A1 ve CYP1A2 genleri, bu metabolizma işleminden sorumludur. 6-HMLT daha sonrasında faz II reaksiyonlarından olan sülfat ya da glukuronik asit konjugasyonu reaksiyonlarına girerler. 6-Sulfatoksi MLT sülfotransferaz enzimi sonucu elde edilen üründür ve idrar

ile vücuttan atılır. Glukuronik asit ile konjugasyonu sonucu oluşan ürün, 6-hidroksi MLT glukuronid, ise 5'-difosfo-glukuronosiltransferaz enziminin aktivitesi sonucu oluşur (Chowdhury & Maitra, 2012).



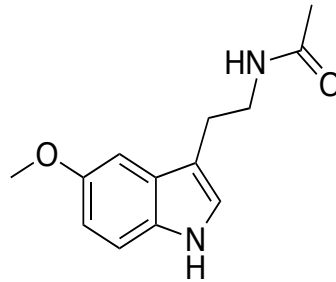
Şekil 1.32 Melatonin sentezi ve metabolizasyonu

Enzimatik reaksiyonlar dışında, MLT hücrelerde non-enzimatik yol ile de metabolize edilebilir. MLT molekülü 2 tane hidroksil radikali ile etkileştiği zaman, siklik 3-hidroksimelatonin metabolitinin oluşması muhtemeldir (Hardeland, 2005). Bunun yanında MLT'in non enzimatik reaksiyonları sonucu; 2-hidroksimelatonin, 4-hidroksimelatonin, *N*-nitrosomelatonin, *N*-(1-formil-5-metoksi-3-okso-2,3-dihidro-1*H*-indol-2-ilidenmetil) asetamid, AFMK ve AMK molekülleri de metabolit olarak oluşurlar (Tan ve ark., 2015) .

Beyinde, MLT kinuramin türevlerine, AFMK ve indolamine-2,3-dioksigenaz gibi (IDO), metabolize edilir. AFMK daha sonrasında deformilasyon reaksiyonu ile enzimatik yol ile ya da kendi kendine daha stabil bir metabolit olan N1-asetil-5-metoksikinuramin (AMK)'e dönüştürülür. Bu molekül MLT'in ilkel ve birincil aktif metabolitidir (Tan ve ark., 2007).

1.3.3. Melatoninin Kimyasal Özellikleri

MLT, beşinci konumunda metoksi grubu, üçüncü konumunda ise bir amin grubu taşıyan bir indolamindir. Moleküler ağırlığı 232.2 g/mol'dür ve logP değeri 1.4'e eşittir. Bu molekülün suda az çözünebilirlik ve yağda yüksek çözünürlük özelliği vardır bu da MLT'e fizyolojik bariyerleri kolaylıkla geçme özelliği kazandırır. Dört hidrojen bağı akseptörü, 2 bağı donörü ve 4 yönü değiştirilebilir bağı bulunmaktadır. Molar refraktivite değeri 65.6'dır, topolojik polar yüzey alanı 54.12 Å² ve pKa değeri 12.3'tür. Fizyolojik pH'da (7.4) MLT'in nötral formu asit-baz formlarına kıyasla daha fazla bulunmaktadır (Galano ve ark, 2016).



Şekil 1.33 Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin, MLT)

1.3.4. Melatoninin Antioksidan Özellikleri

MLT'nin en önemli özelliklerinden biri ROT ve RAT moleküllerinin önemli bir kısmını süpürebilmesidir. MLT molekülü $\cdot\text{OH}$ (Yoshida ve ark., 2003), $\text{RO}\cdot$ (Scaiano., 1995; Reiter ve ark., 2001), $\text{CCl}_3\text{OO}\cdot$ (Galano., 2011), $^1\text{O}_2$ (Cagnoli ve ark., 1995; Matuszak ve ark., 2003) ve $\cdot\text{NO}$ (Escames ve ark., 1997; Siu ve ar., 2004) gibi radikalleri etkili bir şekilde süpürebilmektedir. Sonuç olarak, in vivo serbest radikal oluşumu kaynaklı moleküler hasarı azaltır (Melchiorri ve ark., 1994). MLT aynı zamanda lipid peroksidasyonunu da önler (Zavodnik ve ark., 2006). Ek olarak MLT metabolize olduktan sonra oluşan metabolitleri de antioksidan aktivite gösterirler. Yani antioksidan aktivitede bir azalma olmaz. Metabolitleri ile birlikte gösterdiği bu antioksidan etki antioksidan zinciri olarak bilinmektedir (Tan ve ark., 2000; Rosen ve ark., 2006; Tan ve ark., 2007). Bu durum da MLT'i düşük konsantrasyonlarda bile OSe karşı koruyucu etkisini olağanüstü başarılı kılar.

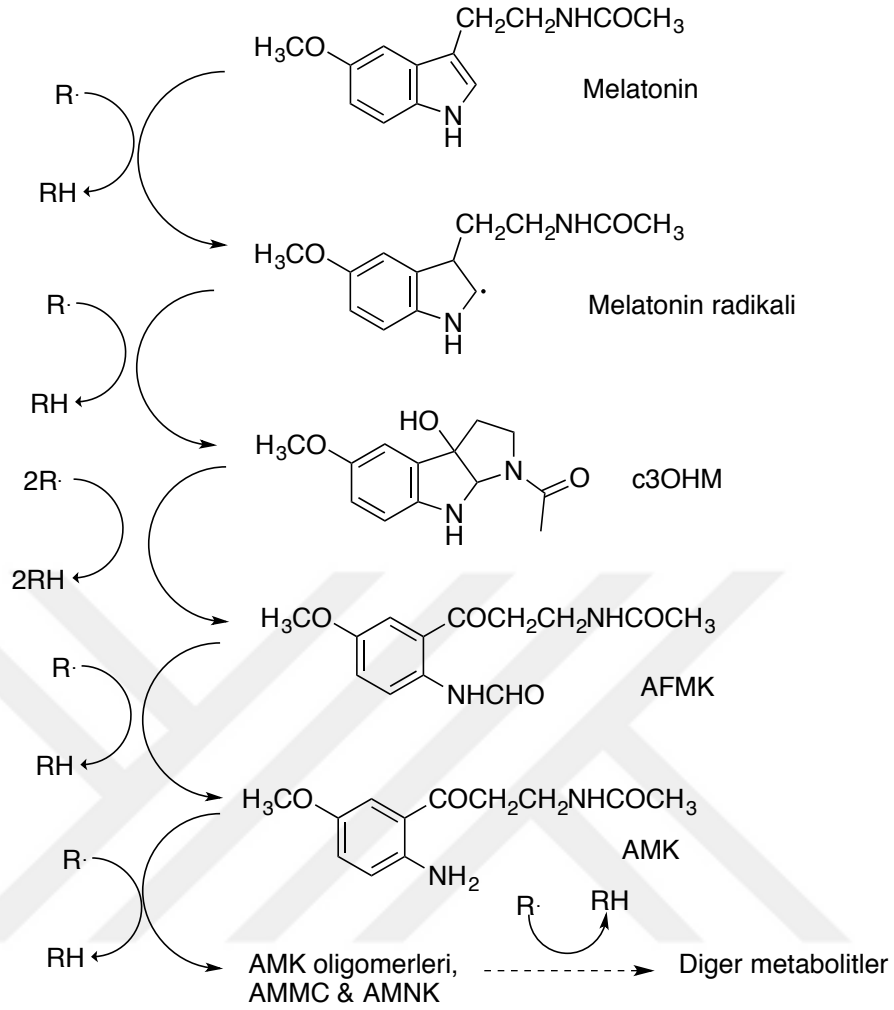
Bir diğer yandan MLT; glutatyon, askorbik asit ve Trolox'un antioksidan koruyucu etkilerini artırır (Poeggeler ve ark., 1995; Gitto ve ark., 2001). Bu durum, MLT'in belirtilen antioksidanların elektron transferi ile rejenerasyonunu sağlamasından ileri gelmektedir. Hasar almış biyolojik hedeflerin onarımını yapmak da ikinci derece antioksidan kapasiteye dahildir. MLT molekülü oksitlenmiş DNA'nın onarımına destek olur (Tan ve ark., 2002). Bu durum MLT'in guanozin radikalini guanozine elektron transferi ile dönüştürmesinden kaynaklanmaktadır. İkinci derece antioksidan özelliği de gösteren bir molekül olarak MLT, aynı zamanda singlet oksijenin ($^1\text{O}_2$) sitotoksik etkilerine karşı çıkmaktadır (Cagnoli ve ark., 1995).

MLT molekülü; Al, Cd, Pb, Zn, Fe ve Cu metalleri ile birleşerek çelat oluşturur (Limson ve ark., 1998) ve Cu(II), Fe(II), Zn(II), Al(III) ve Mn(II) metallerinin amyloid- β proteini ile etkileşimi sonucu serbest radikal oluşumunu azaltırlar (Zatta ve ark., 2003). MLT aynı zamanda Cu(II)/ H_2O_2 kaynaklı protein hasarını azaltır (Mayo ve ark., 2003) ve Cu kaynaklı lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağlar (Parmar ve ark., 2002). Bu bilgilere dayanarak MLT'in çok işlevli bir molekül olduğunu sonucuna varabiliriz.

1.3.5. Melatonin Metabolitlerinin Antioksidan Özellikleri

MLTin direkt radikal süpürücü aktivitesinin olduğu yaklaşık 25 yıldır bilinmektedir (Tan & Chen ve Poeggeler, 1993). MLT bir radikal süpürücü olarak etki gösterdiğinde, 2 serbest radikal süpürdüğü zaman, siklik 3-hidroksimelatonin (c3OHM) molekülü oluşur (Tan, Manchester & Reiter, 1998). Antioksidan aktivitesi test edildiği zaman c3OHM molekülünün de radikal detoksifikasyonunda kullanılabilecek antioksidan etkiye sahip olduğu ortaya çıktı (Galano ve ark., 2014; Tan ve ark., 2014). Sonrasında aynı özelliği c3OHM'in metabolizasyonu sonucu ortaya çıkan N1-Asetil-N2-formil-metoksikinuramin (AFMK) ve N-Asetil-5-metoksikinuramin (AMK) moleküllerinin de taşıdığı belirlendi (Tan ve ark., 2000; Tan ve ark., 2002). MLT molekülüne özel bu durum, metabolitlerinin de antioksidan aktivite taşıması durumu, MLTin antioksidan zinciri olarak bilinmektedir.

Bir serbest radikal süpürücü ve antioksidan molekül olan MLT molekülünün antioksidan zinciri, onu diğer klasik antioksidanlardan ayırmaktadır. Öyle ki, molekülün birincil, ikincil ve hatta üçüncü jenerasyon metabolitleri antioksidan etki taşımaktadır. Bu demektir ki, 1 MLT molekülü 10'a yakın ROT molekülünü süpürebilirken, klasik antioksidanlar ise en fazla bir ROT'e kadar oksidan süpürebilir. MLTin antioksidan aktivitesi vitamin C, vitamin E, glutatyon ve NADH gibi antioksidanlar ile in vivo ve in vitro ortamda karşılaştırılmıştır (Tan ve ark., 2003; Lowes ve ark., 2013; Gitto ve ark., 2001). Buradaki dikkat çekici nokta, MLTin hücreleri diğer antioksidanlara kıyasla in vivo ortamda daha iyi koruyabilmesi olmuştur (Sharma & Haldar, 2006; Ortiz ve ark., 2013). Bunun önemli sebeplerinden biri de MLTin antioksidan zinciridir.



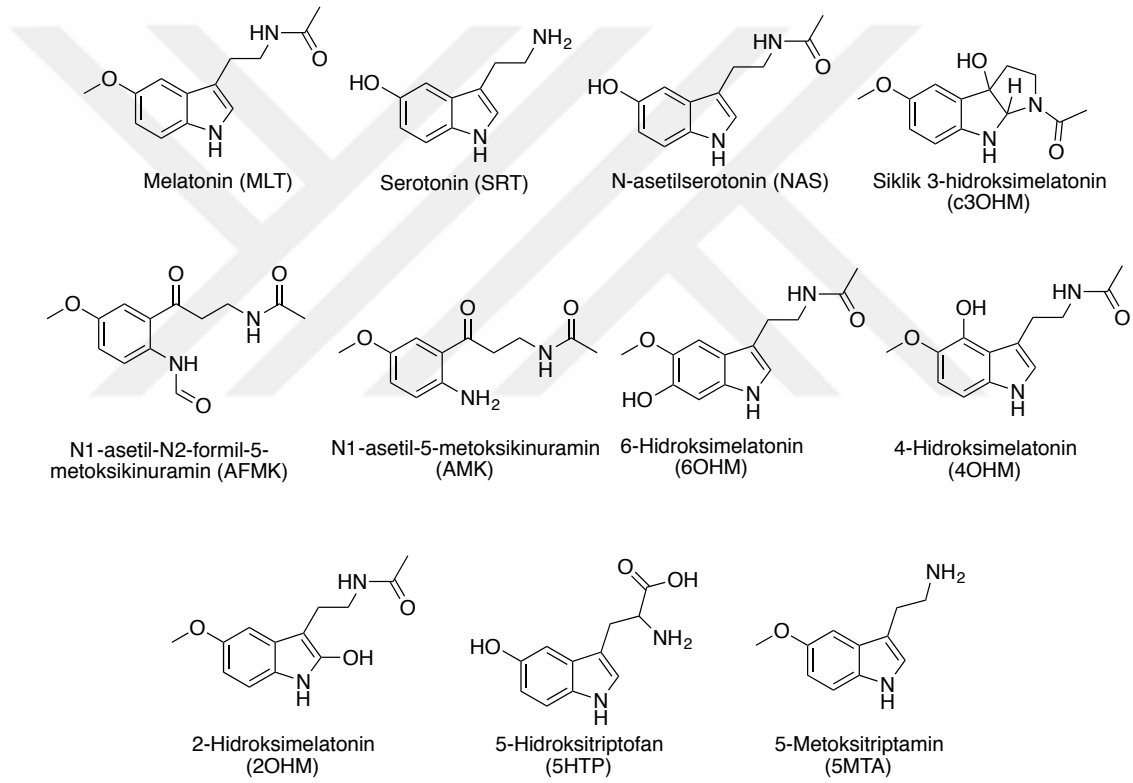
Şekil 1.34 Melatonin Antioksidan Zincirinin Serbest Radikallerle Etkileşimi

Birçok çalışma göstermiştir ki, siklik-3-hidroksimelatonin, MLT molekülünün kendisinden daha fazla antioksidan aktivite göstermektedir (Tan ve ark., 2014). Metabolitinin kendisinden daha fazla antioksidan aktivite göstermesi durumu aynı zamanda üçüncü jenerasyon metabolit olan AMK için de geçerlidir (Ressmeyer ve ark., 2003). AFMK'in etkisi ise diğer metabolitlere göre daha azdır fakat bu metabolit 2 elektron birden bağışlayabilme özelliğine sahiptir.(Tan ve ark., 2001)

MLT ve metabolitlerinin birleşmiş antioksidan kapasiteleri bir birimden fazla radikali ya da oksidantı süpürmelerinin sebebidir. Daha öncesinde de belirtildiği gibi MLT çoklu fonksiyon gösteren bir moleküldür. Radikal süpürmenin yanında, ikincil antioksidan aktivite olarak bilinen etkileri de gösterirler. Bu duruma örnek olarak

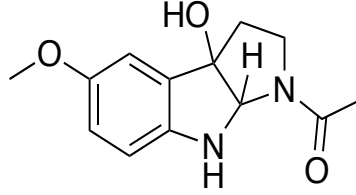
metal çelatları oluşturmaları verilebilir. Bu oluşturulan çelatlar hidroksil gibi radikallerin inhibisyonuna sebep olabilir ve böylece onunla gelen OS önlenmiş olur. Burada önemli olan nokta ise MLT ve metabolitlerinin antioksidan aktivitede “iş bölümü” yapmalarıdır. Bazıları radikal süpürücü olarak etki gösterirken, diğerleri metal çelatlayıcılar olarak etkili olabilirler (Alvarez-Diduk ve ark., 2015). Bu sayede metallerin sebep olabileceği OSin önüne geçilir ve protein, lipid oksidasyonu, mitokondri ve DNA hasarı gibi sorunlar önlenmiş olunur (Galano ve ark., 2016).

MLT analoğu biyolojik önemi olan bazı moleküller Şekil 1.35’de görülmektedir.



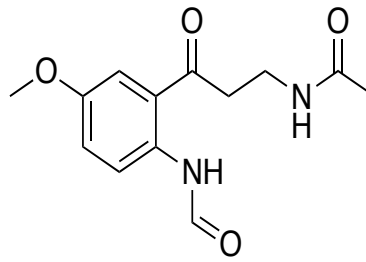
Şekil 1.35 Melatonin ve analoğu olan bazı bileşikler

1.3.5.1. Siklik 3-hidroksimelatonin (c3OHM)



Siklik 3-hidroksimelatonin (c3OHM), ilk olarak insan ve farelerin idrarında MLT'nin bir metaboliti olarak bulunmuştur (Tan ve ark., 1998). MLT'nin birçok ROT ve RAT ile etkileşimi sonucu c3OHM üretilir. Bu metabolitin her bir molekülü, iki ABTS katyon radikalini indirgeyebilir (Tan ve ark., 2003) ve böylece Fenton reaktanları dolayısıyla oluşabilecek OS önlenmiş olunur (Lopez-Burillo ve ark., 2003). C3OHM hipervalent hemoglobini indirgemedi MLT'e kıyasla 2 ile 3 kat arasında daha etkilidir (Tan & Reiter, yayınlanmamış gözlemler). Bu metabolit aynı zamanda $\cdot\text{OH}$ (Tan ve ark., 2014; Lopez-Burillo ve ark., 2003; Galano ve ark., 2014) ve $\cdot\text{OOR}$ (Galano ve ark., 2014) radikallerini de süpürebilmektedir. Ek olarak Cu(II)-askorbat karışımlarından kaynaklanan OSi engeller ve bu yol ile $\cdot\text{OH}$ oluşumunu önler (Galano ve ark., 2015).

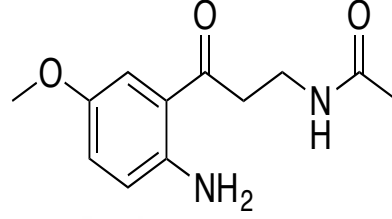
1.3.5.2. N1-asetil-N2-formil-5-metoksikinuramin (AFMK)



Bu metabolitin bir molekülü 2 elektron bağışlama özelliğine sahiptir (Tan ve ark., 2001). Analizler göstermiştir ki, düşük konsantrasyonlarda bu elektron sayısı dört ve daha fazlası dahi olabilmektedir (Rosen ve ark., 2006). AFMK'in, O_2^- Radikalini süpürebilme yeteneği MLT ile aynı olduğu görülmüştür (Maharaj ve ark., 2002). Bu metabolit; lipid peroksidasyonunu, oksidatif DNA hasarını ve H_2O_2 ve amyloid- β kaynaklı nöron hücresi hasarını engeller. Cu(II)-askorbat karışımından kaynaklanan

OSi Cu metali ile çelat oluşturarak önler (Galano ve ark., 2015). Bu metabolitin aynı zamanda anti-eşlammatuvar ve immünregülatör aktivitesi bulunmaktadır (Tan ve ark., 2007).

1.3.5.3. N-asetil-5-metoksikinuramin (AMK)

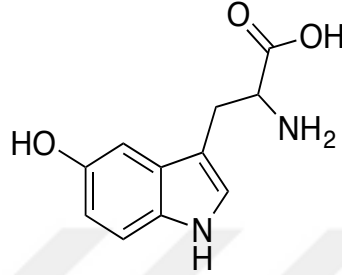


AMK, MLT'in AFMK metabolitinin deformil formudur ve hem enzimatik hem de non-enzimatik yollar ile üretilebilir (Shida ve ark., 1994). ROT süpürmede ve protein oksidasyonunu önlemede AMK, AFMK'den daha üstündür (Ressmeyer ve ark., 2003). Bunun yanında; RAT (Guenther ve ark., 2005; Tapias ve ark., 2009) ve diğer oksidanları (Behrends ve ar., 2004; Kuesel ve ark., 2010) süpürmede iyi bir antioksidandır. Direkt antioksidan etkilerinin yanında, AMK nöronal nitrik oksit sentetaz enzimini inhibe eder ve bu yolla hücre içi NO seviyesini düşürür (Entrena ve ark., 2005 Leon ve ark., 2006). Tıpkı prekürsörü MLT gibi AMK de, mitokondriden elektron sızmasını azaltarak ATP üretimini artırır (Hardeland, 2005). Hem AFMK hem de AMK'nın $\cdot\text{OH}$ radikalini süpürmekte etkili olmasının en önemli sebebi, ortam polaritesinden bağımsız olarak bu radikale karşı gösterdikleri aktivitedir. Bu iki metabolit aynı zamanda $\cdot\text{OOC}\text{Cl}_3$ radikalini süpürmekte de yüksek aktivite gösterir iken, $\cdot\text{OOH}$ radikalini süpürmek açısından etkisizdirler.

AFMK ile AMK ortam polaritesinden bağımsız olarak birbiri ile karşılaştırıldığında, AFMK'in AMK'den daha güçsüz bir radikal süpürücü olduğunu görmekteyiz. Bu yüzden MLT AFMK'e metabolize olduğunda radikal süpürebilme etkisi azalmaktadır. Bunun yanında AMK'in radikal süpürebilme aktivitesi ortam polaritesine bağımlıdır. Sulu solüsyonlarda AMK MLT'den daha hızlı etki gösterir. Dolayısı ile MLT sulu ortamda AMK'e metabolize edildiğinde radikal süpürme aktivitenin arttığı görülür. Non-polar ortamlarda ise AMK ve MLT'in relatif radikal

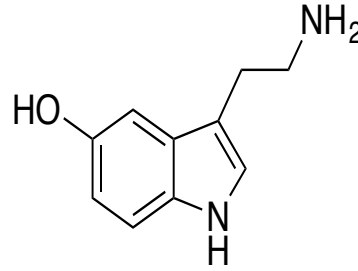
süpürme aktiviteleri radikale bağlıdır. Araştırmalara göre, lipid ortamlarda, MLT $\cdot\text{OOH}$ ve $\cdot\text{OCCl}_3$ radikallerini süpürmekte iyi iken, AMK ise $\cdot\text{OH}$ süpürmekte iyi aktivite gösterir (Galano ve ark., 2013).

1.3.5.4. 5-Hidroksitriptofan (5HTP)



5-HTP OS-kaynaklı hasarı inhibe etmede önemli bir antioksidandır. Antioksidan özelliklerinden ilki enflamasyon hastalıklarında faydalı olmasıdır (Christen ve ark., 1990). Bu antioksidan Fe-kaynaklı lipid peroksidasyonunu engeller (Cadenas ve ark., 1987) ve Fe-askorbat karışımından kaynaklanan lipid ve protein oksidasyonunu engeller (Millán-Plano ve ark., 2010). Bu aktiviteleri oksidasyona sebep olan metaller ile şelat oluşturarak gösterir (Weber ve ark., 1971). Aynı zamanda insanlarda UV-ışığı kaynaklı monosit apoptozisini engeller (Lysen ve ark., 2003), insan fibroblastlarında tert-butilhidroperoksit kaynaklı oksidatif hasarı engeller (Bae ve ark., 2010), membranın akışkan yapısını OS durumuna karşı korur (Reyes-Gonzales ve ark., 2009) ve pro-enflamatuvar mediyatörlerin üretimini azaltarak enflamasyon ve kolajen-kaynaklı artritisi engeller (Yang ve ark., 2015). In vitro ortamda yapılan araştırmalara göre, 5-HTP $\cdot\text{OH}$ süpürmekte MLT, Trolox (Herraiz ve ark., 2004) ve askorbik asitten (Keithahn ve ark., 2005) daha iyidir. Bunun yanında 5-HTP metaboliti, α,α -difenil- β -pikrihidrazil (DPPH) radikalini süpürmekte de etkilidir ve linoleik asidin peroksidasyonunu %95 oranında önleyebilir (Siddhuraju ve ark., 2003). Ek olarak $\cdot\text{NO}$ radikalini süpürmekte (Noda ve ark., 1999), hiperglisemi kaynaklı OSi önlemede (Derlacz ve ark., 2007), etkilidir fakat bu etki MLT'in etkisinden daha azdır.

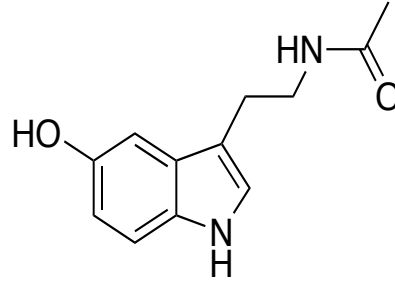
1.3.5.5. Serotonin (5-HT)



Serotoninin sulu fazda ya da su-membran arayüzünde, membranları lipid peroksidasyonuna karşı serbest radikal süpürücü özelliği ile koruduğu ileri sürülmüştür (Daniels ve ark., 1996). Koruyucu aktivitesi sayesinde, beyinde hasar olan ya da enflamasyon bölgelerinde serotonin salgılandığında merkezi sinir sisteminde ikincil doku hasarı engellenmiş olunur (Huether ve ark., 1997). 5-HT'nin antioksidan aktivitesinin kıyaslanmasında farklı metodolojiler ve referans bileşikler olarak hidroksianizol (BHA), bütillenmiş hidroksi toluen (BHT), alfa-tokoferol ve Trolox kullanılmıştır (Sarıkaya ve ark., 2015). Sonuçlarda 5-HT'in lipid peroksidasyonunu önlemede etkili olduğu ve bu etkinin referans moleküllerdekinden daha fazla olduğu görülmüştür. Bunun yanında 5-HT antioksidanı DPPH, 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit (ABTS⁺), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve *N,N*-dimetil-p-fenilendiamin (DMPD) radikallerini süpürebilme yeteneğine sahiptir (Gülçin ve ark., 2008). DMPD süpürebilmede 5-HT'in aktivitesi, MLTden daha fazladır.

5-HT'in nöronal hücreler üzerindeki antioksidan kapasitesi, beyin sinaptosomal parçalarında meydana gelen Fe(II) ve askorbat kaynaklı oksidatif hasar araştırılarak incelendi. Oksidasyonun 5-HT tarafından başarılı bir şekilde azaltıldığı görüldü ve bunun yanında ·OH radikali üretimi de azaltılmış oldu. Ek olarak, 5-HT ferrik iyonu (Fe(III)) redükleyici özellik ve Fe(II) şelatlayıcı aktivite de gösterir (Sarıkaya ve Gülçin, 2008).

1.3.5.6. N-Asetilserotonin (NAS)

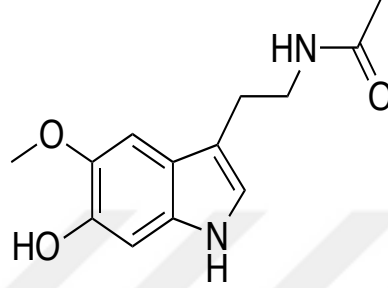


NAS, MLT'in hem prekürsörü hem de bir metabolitidir (García ve ark., 2001). MLT molekülünün %15'inin NAS'e demetilasyon ile metabolize edildiği hipotez edilmiştir, bu sırada MLT'in bazı yararlı etkilerinin NAS'e geçtiği düşünülmektedir. Ayrıca NAS'in ROT karşı antioksidan aktivitesinin, MLT'den daha fazla olduğu görülmüştür (Wölfler ve ark., 1999). Bu molekül, 6-hidroksidopamin kaynaklı nörotoksositeye karşı koruma sağlar (Aguiar ve ark., 2005). NAS aynı zamanda antioksidan ve aktiviteler taşımaktadır (Oxenkrug ve ark., 2001). Bunun yanında amyloid- β kaynaklı nörotoksositeye karşı koruma sağlar (Bachurin ve ark., 1999) ve ışık ile dejenerasyona uğrayan retinal fotoreseptör hücrelerini korur (Tosini ve ark., 2012). H_2O_2 kaynaklı hücre ölümlerini inhibe eder ve hepatosit hücrelerde ROT üretimini engeller (Jiang ve ark., 2014). Demir, H_2O_2 ve 2,2'-azobis-(2-amidinopropan) (AAPH) oksidanları sayesinde oluşan lipid peroksidasyonunu engeller (Galano ve ark., 2016). Araştırmalar sonucu görülmüştür ki, farelere yapılan NAS takviyesi sonucunda, lipid peroksidasyonunda azalma ve böbrek ve beyinde glutatyon peroksidaz miktarında artış görülmüştür (Oxenkrug ve ark., 2001).

NAS, bakır kaynaklı lipid oksidasyonunu (Seeger ve ark., 1997; Siu ve ark., 2001) ve Cr(III) kaynaklı DNA oksidatif hasarlarını inhibe eder (Qi ve ark., 2000). Aynı zamanda Fe-askorbat karışımlarından kaynaklanan lipid peroksidasyonunu, Fe-kaynaklı lipid peroksidasyonunu ve de lipid otooksidasyonunu inhibe eder (Karbownik ve ark., 2001). NAS'in antioksidan etkilerinin; yaşlanma karşıtı, antihipertansif, antidepresan ve antitümör etkilerini pekiştirebileceği düşünülmektedir (Oxenkrug ve ark., 2005). Bunun dışında NAS ve metabolitlerinin; OS kaynaklı hücre ölümü, mutagenез ve kanser, sepsis, post-iskemik travma, Parkinson's ve Alzheimer's

hastalıklarında faydalı olabileceği düşünülmektedir. NAS'ın aynı zamanda kendi kendini koruyan retinanın antioksidan sisteminde, fotoreseptör hücrelerde etkili bir serbest radikal süpürücü olabileceği düşünülmektedir (Longoni ve ark., 1997).

1.3.5.7. 6-Hidroksimelatonin (6-OHM)



6-OHM, etkili bir antioksidan olmanın yanında, NAS ile birlikte MLT'in vücuttaki antioksidan aktivitesinin büyük bir kısmından sorumlu olan moleküllerden biridir. Aynı zamanda NAS ve 6-OHM, MLT'den daha hidrofiliktir, serbest radikal süpürme işlemlerini genellikle sulu ortamda gerçekleştirebilirler, su-lipid arayüzünde. MLT ise lipid çift tabakaları arasında pozisyon alır ve membran proteinlerini OSin zararlı etkilerine karşı korur (Slominski ve ark., 2014).

6-OHM, tiyobarbitürik asitten kaynaklanan lipid peroksidasyonunu inhibe eder (Pierrefiche ve ark., 1993). Bu molekülün antioksidan kapasitesinin MLT'den daha fazla olduğu düşünülmektedir. Bunun sebebi ise MLT'den farklı olarak fenil halkasında ek bir hidroksil grubu bulundurmasıdır. Siyanür kaynaklı OSe karşı koruma sağlar (Maharaj ve ark., 2003). Bu molekül, $1O_2$ 'i hızlı bir şekilde söndürebilir (Matuszak ve ark., 2003), bu durum da 6-OHM'in nöroprotektif etkilerinin olabileceği çıkarımını yapmamızı sağlar (Maharaj ve ark., 2005).

İkincil antioksidan aktivite kapsamında ise, 6-OHM, UV-radyasyonu temelli oluşan OSe karşı koruma sağlamaktadır (Maharaj ve ark., 2002). Hatta, 6-OHM'in, güneş kremlerinin içine katılan MLT'in korumasını sağlayan molekül olduğu ileri sürülmüştür. Ayrıca araştırmalara göre bu molekül, Fe-kaynaklı lipid

peroksidasyonunu azaltabilir (Maharaj ve ark., 2006). Görüldüğü üzere 6-OHM ben birincil hem de ikincil antioksidan aktivite gösterebilmektedir (Álvarez-Diduk ve ark., 2015).

1.3.6. Melatoninin ve hastalıklar üzerine etkileri

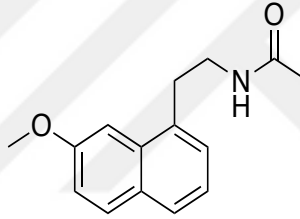
1.3.6.1. Melatoninin Anti-Enflammatuvar Etkisi

Önceden de bahsedildiği gibi, MLT beyin epifizi dışında immün sistem hücrelerinin de dahil olduğu birçok dokudan sentezlenebilmektedir. MLT'in immün sistem hücrelerini, reseptörleri aracılığı ile etkilediğine inanılmaktadır. Lökositler üzerinde MLT'in hem membran hem de nükleer reseptörleri bulunmaktadır. Uyarılmış lenfositlerin proliferatif yanıtları bu reseptörler üzerinden MLT düzenler (Szczezanik, 2007). MLT aynı zamanda T lenfositlerin , monositlerin, doğal öldürücü hücrelerin, granülositlerin ve hücrelere bağlı olan sitotoksitenin aktivasyonunu sağlar ve in vivo antikor kaynaklı cevapların oluşmasını sağlar (Lissoni ve ark., 2008). İn vitro ortamda, glukokortikoidlerin immün sistem üzerindeki etkisi MLT tarafından düzenlendiği görülmüştür. Bu molekülün hücresel bağışıklığın düzenlenmesinde immünomodülatör etki gösterdiği bilinmektedir. MLT'in immün sistem üzerindeki düzenleyici özelliği mevsimlere bağımlıdır (Esposito ve Cuzzocrea, 2010; Kostoglou-Athanassiou, 2013). Buradan sonuç olarak, immün sistem ve endojen sirkadyen sistem arasındaki iletişimin MLT sayesinde sağlandığını çıkartabiliriz (Karaaslan ve Suzen, 2015).

İmmün sistemin birçok özelliği günlük bir ritme dayalı olarak gerçekleşir. Bu durum bağışıklığın sağlıklı devamlılığı için ve doğru immün sinyallerinin cevap olarak gönderilmesi için önemlidir. Bir diğer taraftan ise, bağışıklık sisteminin cevapları sirkayden ritimde değişikliklere sebep olur, var olan hassas dengeyi bozar ve hastalıklarda da kendini belli eder (Cermakian ve ark., 2014). MLT bunun yanında hem pro-enflammatuvar hem de anti-enflammatuvar özelliğe sahip bir moleküldür. Bu özelliklerin ikisini de gösteren molekül etki şeklini etkileyeceği hücre türüne göre belirler (Mauriz ve ark., 2013). MLT, lökoasit çoğalmasının günlük (diurnal) ritmini, sitokin üretimini, NK hücre aktivitesini etkiler.

1.3.6.2. Melatonin ve Sedef Hastalığı

Sedef hastalığı, psoriasis, yaygın görülen, kronik, tekrarlayabilen iltihaplı bir deri hastalığıdır ve çeşitli sebepler ile beraber kişilerin genetik geçmişinden kaynaklanarak ortaya çıkar. Bazı endokrinopatilerde; Cushing's hastalığı, Klinefelter's sendromu, Turner's sendromu, sarcoidosis ve sedef hastalığı MLT hormonunun metabolizmada yetersiz bulunması ile ilişkilendirilmiştir (Grivas ve Savvidou, 2007). Enflamatuvar etiyolojisi olan bu hastalıkların tedavisinde MLT, hastalığın gidişatını iyileştirir. Bu kapsamda, hastaların geceleri sentezledikleri MLT miktarı ile hastalığı taşımayan kişilerin geceleri sentezledikleri MLT miktarı karşılaştırılmış ve hastalarda MLT miktarının az olduğu görülmüştür (Morrey ve ark., 1994). Bu tür MLT eksikliğinden kaynaklanan hastalıkların tedavisinde, bu molekülün agonisti olan agomelatin (Şekil 1.36) ya da MLT salgılanmasını düzenleyen ajanlar kullanılır.



Şekil 1.36 Agomelatin

1.3.6.3. Multipl Skleroz ve Melatonin

Multipl skleroz (MS) hastalığı, merkezi sinir sistemi hastalıklarından genç yetişkinlerde en çok görüleni olan demiyelinizan hastalıktır. MS etiyolojisinde çevresel faktörler çok önemli yer taşımaktadır. Yapılan çalışmalarda OSin bu hastalığa sebep olabilecek etmenlerden olduğu görülmüştür (Adamczyk-Sowa ve ark., 2014). Bilindiği üzere MLT antioksidan özellik taşır ve bu yüzden MS hastalığı tedavisi kapsamında MLT üzerinde çalışmalar yapılmıştır (Mehta ve ark., 2010; Golan ve ark., 2013). Araştırmalar sonucunda, MLT'in MS hastalığı sebebi ile ilerlemiş insomniası bulunan hastalarda kullanılabileceği görülmüştür. Uyku bozuklukları olan bir hastalıkta sirkadyen ritmin düzenlenmesi faydalı olabilir bu nedenle bu alanda daha fazla çalışmalar yapılmalıdır. (Karaaslan ve Suzen, 2015).

MLT'in antioksidan özelliği dışında kuvvetli bir nöroprotektan oluşu MLT üzerinde daha çok araştırmalar yapılmasını sağlamıştır. MLT'in OSi ve lipid peroksidasyonunu azaltması ve kırmızı kan hücrelerindeki antioksidan enzimlerin aktivitelerini arttırmasını incelemek için MS hastaları test edilmiştir. Hastalara 30 gün boyunca 10 mg MLT verildi. Sonunda; hastaların SOD, GPx miktarlarında artış ve hastaların eritrositlerinde MDA miktarlarında azalma görüldü. Bu sonuçlar MLT'in MS hastalığı tedavisinde ciddiye alınarak araştırılması gereken bir konu olduğunu göstermektedir (Miller ve ark., 2013).

1.3.6.4. Alzheimer Hastalığı ve Melatonin

Nörodejeneratif hastalıklar (ND), nöron kaybı ile meydana gelen kronik ve ilerleyen bir hastalıklardır. Alzheimer's hastalığı (AD) bu hastalıkların en çok karşılaşılan türlerindendir. Bu hastalığa sebep olan spesifik nörodejenerasyonun kaynağı bilinmemekle birlikte, serbest radikal hasarı, mitokondri fonksiyon bozuklukları ve eksitotoksikite mekanizmalarının nöronların ölümünden sorumlu olduğu düşünülmektedir (Reiter ve ark., 1998).

Yaşlanmanın en bilinen etkilerinden biri MLT seviyesinde oluşan azalmadır. Bu yüzden yaşlanma ile gelen, serbest radikal kaynaklı nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi için dışarıdan düzenli şekilde antioksidan alınmalıdır (Johnson ve ark., 2013). MLT ile tedavinin AD dışında bipolar bozukluk ve depresyon gibi birçok hastalıkta etkili olduğu görülmüştür. Özellikle MLT ve prekürsörü olan N-asetilserotonin bu hastalıkta kullanılırlar (Anderson ve Maes, 2014).

Bir hastanın AD olduğunu anlamanın bir yolu amyloid- β (A β) peptidlerinden oluşan plakların görülmesidir. Özellikle kolesterol miktarındaki değişimler ve beyindeki MLT miktarının azalmasından dolayı yaşlanma da AD gelişmesinde önemli bir etmendir. 30 mol % MLT'in anyonik membranlara eklenmesinin, A β plağını azalttığı görülmüştür (Dies ve ark., 2014).

Kurkumin-MLT türevleri üzerinde AD kapsamında araştırmalar yapılmıştır ve (Chojnacki ve ark., 2014) üretilen türev ciddi nörolojik koruma etkisi göstermiştir. Bunun yanında yeni nörojenik, antioksidan, kolinerjik ve nöro koruma sağlayan MLT-N,N-dibenzil(N-metil)amin türevleri geliştirilmiştir (López-Iglesias ve ark., 2014). Bunlar düşük konsantrasyonlarda nöron hücrelerini mitokondri kaynaklı OSe karşı korumakta, antioksidan özellikler göstermekte ve insan asetilkolinesteraz enzimini inhibe etmektedir. Düşük toksisiteleri bulunur ve merkezi sinir sistemine sızabilirler. Bu prototip moleküller, AD araştırmalarında faydalı olabilir (Karaaslan ve Suzen, 2015) .

1.3.6.5. Parkinson Hastalığı ve Melatonin

Parkinson hastalığı, merkezi sinir sisteminin dejeneratif bir hastalığıdır. Bu hastalıkta beyinin bir bölümü zamanla hasar alır. Zamanla beyin sapı, bazal önbeyin ve hipotalamusta (Abbott ve ark., 2005) nörotransmitter eksikliği ile oluşan nöron kaybı görülür.

Uyku bozuklukları PD hastalarında önemli bir sorundur. Bu sorun hastaların yaklaşık 2/3 inde insomnia, hızlı göz hareketi (REM), uyku alışkanlığı bozukluğu ve gün içinde uyuklama gibi özellikler ile görölmektedir. Bu özelliklerin kognitif bozukluklara ve bunaklığa sebep olduğu ileri sürölmüştür. (De Cock ve ark., 2008; Postuma ve ark., 2012).

Sirkadiyen ritim bozuklukları, PD hastalarında görölen önemli sorunlardandır. Yapılan çalışmalarda dopaminerjik tedavi uygulanan hastalarda MLT salgısında iyileşmeler ile birlikte sirkadiyen ritimde düzelme görölmüştür (Fertl ve ark., 1991). Fakat bunun yanında MLT uygulanan hastaların sirkadiyen ritmi (DLMO) ve uyku düzeni (HSO) arasında uyumsuzluklar ortaya çıkmıştır (Bolitho ve ark., 2014).

1.3.6.6. Bipolar Hastalık ve Melatonin

Yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden kronik bir hastalık olan Bipolar Hastalığı (BD), çok sık görülen dünya nüfusunun % 1-4'ünü etkisi altına alan bir hastalıktır (Leboyer ve ark., 2010). Olanzapine bipolar hastalarına genellikle verilen ve yan etkileri bulunan bir ilaçtır. MLT'in olanzapin ilacının yan etkilerini azaltması hedeflenen bir çalışmada, olanzapin ve lityum karbonat ile yapılan MLT takviyesinin, kolesterol seviyesindeki artışı inhibe ettiği ve plaseboya kıyasla sistolik kan basıncını kontrol ettiği görülmüştür (Mostafavi ve ark., 2014). Ek olarak başka bir çalışmada da MLT takviyesinin, ikinci-jenerasyon antipsikotiklerin yan etkilerini azalabileceği hipotezi öne sürülmüştür (Romo-Nava ve ark., 2014).

Başka bir çalışmada ise MLT'in koruyucu etkileri üzerinde çalışılmış, uvabain maddesinden kaynaklanan manik durum incelenmiştir. MLT, uvabain kaynaklı hiperlokomosyon ve beyinde oluşan OSe karşı fareleri koruduğu görülmüştür. Bu çalışmadan, antioksidan etkilerinden dolayı MLT'in antimanik-benzeri etki gösterdiğini ve bipolar hastalığı çalışmalarında dikkat edilmesi ve araştırılması gereken bir molekül olduğunu çıkarabiliriz (Souza ve ark., 2014).

1.3.6.7. Diyabet ve Melatonin

Diyabet, yüksek kan şekeri değeri taşıyan yaygın bir hastalıktır. Araştırmalar göstermiştir ki hiperglisemi MLT sentezini negatif yönde etkilemektedir. Diyabetin negatif etkilerini düzeltebilmek için MLT kullanılabileceği öne sürülmüştür. Diyabetin en önemli sonuçlarından biri de OSe sebep olmasıdır. MLT üretiminin azalması ROT ve RAT oksidanlarının hücrelere zarar vermesine sebep olabilir (Amaral ve ark., 2014). Bu yüzden MLT desteği diyabetik hayvanlarda OSi azaltmak için faydalıdır (Tan ve ark, 2007; Niedowicz ve ark., 2005).

MLT miktarında çeşitli sebeplerle meydana gelen azalma; insülin rezistansı, glukoz intoleransı, uyku bozukluğu, metabolik sirkadiyen bozukluğuna sebep olup

obezite ile sonuçlanabilir. Araştırmalara göre MLT takviyesi vücudun yeniden sağlıklı bir yapıya kavuşmasını sağlayabilir (Cippola-Neto ve ark., 2014).

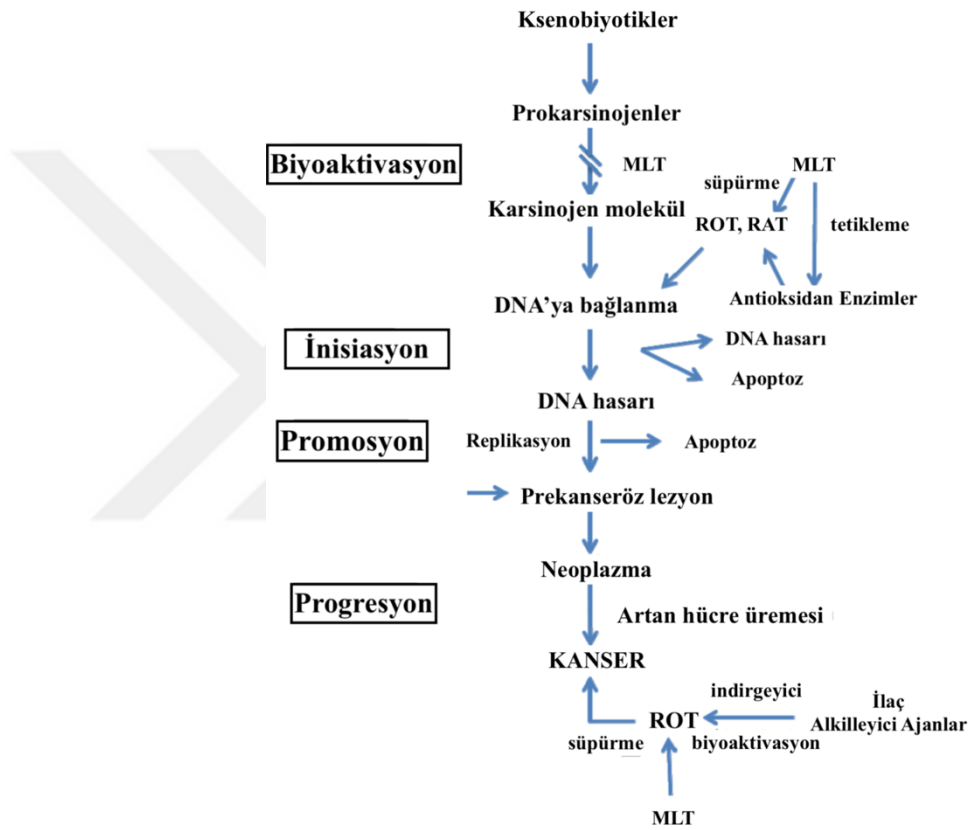
Bunlara ek olarak, MLT'in metabolik risk faktörlerini azalttığı yönündeki çalışmalarda, diyabetik hastaların kalplerinin çok sayıda apoptotik hücreye sahip olduğu görülmüştür. Bu kapsamda MLT'in kardiyomiyopatiye karşı iyileştirici özelliği olabileceği ileri sürülmüştür (Amin ve ark., 2014). Yaşlanma durumu belli pankreatik genlerde değişime ve insülin salgılanması ile glukoz metabolizması gibi sistemlerde değişime sebep olur. Bu durumlar da sonuç olarak enflamasyonlara ve OSe sebep olur. Yaşlı farelere MLT verilmesi farelerin pankreatik işlevlerinin iyileşmesine ve enflamasyon ile OSin azalmasına sebep olmuştur (Tresguerres ve ark., 2013).

1.3.6.8. Kanser ve Melatonin

Son on yılda yapılan araştırmalarda sirkadiyen ritmi değiştirmek ya da bozmanın insanlarda kansere sebep olabileceği ileri sürülmektedir. MLT'in onkostatik etkisi antikanser korumaya katkıda bulunmaktadır (Kostoglou-Athanassiou ve ark., 2013). MLT'in birçok insan kanseri türünde antitümör etki gösterdiği bilinmektedir (Paroni ve ark., 2014). MLT'in; prostat, kolorektal, sinirsel, yumurtalık, meme, serviks, sarkoma, hepatoselüler karsinom, melanom, larenks karsinomu ve deri karsinomu tümörlerinde onkostatik etkisi görülmüştür (Mediavilla ve ark., 2010).

Son yıllarda yapılan çalışmalar göstermiştir ki MLT; tümör başlama, büyüme ve gelişmesini önleyebilir. ROT ve RAT bilindiği üzere kanserin başlamasına sebep olabilirler ve tümörün gelişmesini büyüme ile ilişkili genlerin değişmesini sağlayacak sinyallerin gönderilmesi ile gerçekleştirebilir (Cerutti ve ark., 1994, Karbownik ve ark., 2001). Dolayısıyla, MLT'in iyi bilinen bir antioksidan olarak serbest radikal kaynaklı kanser oluşumuna karşı koruyucu etkilerinin olması beklenmektedir. Bu hipoteze dayalı olarak, MLT'in, serbest radikallerden kaynaklandığı bilinen iyonlaştırıcı radyasyon temelli DNA hasarına karşı koruyucu etki gösterdiği bulunmuştur (Karbownik ve ark., 2000, Vijayalaxmi ve ark., 2004).

Serbest radikal süpürme özelliğinin yanında, MLT'in hücrelerarası antioksidan korumayı süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimleri ve GSH gibi antioksidan molekülleri tetikleyerek (Sanchez-Sanchez ve ark., 2011), ek olarak da nitrik oksit sentetaz gibi prooksidan enzimlerin ekspresyonunu engelleyerek gerçekleştirebilir (Crespo ve ark., 1999). MLT'in bu antioksidan aktivitelerinin antikanser aktivitesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Karbownik ve ark., 2001, Di Bella ve ark., 2013, Chowdhury ve ark., 2013).



Şekil 1.37 Kimyasal karsinogeneizde MLT'in muhtemel rolleri

Östrojenler normal meme bezlerinin gelişme, büyüme ve farklılaşması için gerekli bir hormondur. Menstrüel döngüyü kontrol eder ve aynı zamanda kalp ve kemiklere de etki ederler. Aynı zamanda bir kadının meme kanseri olmasının sebebi de uzun süre östrojene maruz kalmış olmasıdır (Cos ve ark., 2014). Çoğu çalışma göstermiştir ki, MLT meme bezindeki kötü huylu hücrelerin çoğalmasını engeller (Cos ve ark., 2000).

MLT, meme kanserinde tümör çoğalmasını ve östrojen kaynaklı meme tümörlerinin büyümelerini önleme işlemini iki yolla gerçekleştirebilir. Bunlardan ilki, nöroendokrin üreme eksenini azaltarak östrojen miktarının azalmasını sağlamak, diğeri ise tümör hücreleri arasında farklı sinyal yolları oluşturmaktır (Cos ve ark., 2014; Gürer-Orhan ve ark., 2017).

MLT'in kanser inhibisyonu mekanizması; MLT'in antioksidan etkisi, östrojenin lokal sentezlendiği bölgelerde bulunan enzimlerin modülasyonu, anti-anjiyojenez, immün sistem aktivasyonu ve epigenetik faktörleri içermektedir. Bu molekülün tümör baskılayıcı etkisi ve MT1 reseptörü içeren çeşitli tümörün bulunması, bu reseptörün oral kanser gelişiminde önemli rol oynayabileceğini göstermektedir (Cutando ve ark., 2014).

Lissoni ve arkadaşlarının yaptığı araştırmalara göre, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) olan hastalarda, MLT tümörün büyümesini bir anti-anjiyojenik molekül olarak engelleyebilir (Lissoni ve ark., 2001). Başka bir çalışmada ise, MLT'in hücre büyümesini engelleyen ve apoptoz oluşmasına sebep olan etkileri incelenmiştir (Cui ve ark., 2006). Sonuç olarak MLT hücre ölümü ve hücre siklusu arrestine sebep olmuş ve bu yüzden hepatokarsinoma terapisinde MLT'in faydalı olabileceği görülmüştür (Martin-Renedo ve ark., 2008).

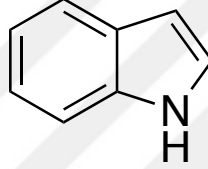
1.3.7. Sentetik Melatonin Analogları

MLT molekülünün terapötik açıdan ilgi çekici birçok özelliği bulunmaktadır. Sağlığa olan çeşitli faydalarının yanında, MLT toksisitesi çok düşük (Jahnke ve ark., 1999) ve fizyolojik bariyerleri geçebilen bir moleküldür. Ek olarak antioksidan kapasitesi, metabolizasyon sonrası azalmaz. Bu sebeplere bakıldığında MLT'in sentetik türevlerinin araştırılması kaçınılmaz olmuştur. Bu araştırmalarda genel strateji, MLT'de bulunan indol halkası sabit tutularak bağlı olan grupların değiştirilmesi ve çeşitlendirmeler olmuştur (Galano ve ark., 2017; Süzen, 2013; Süzen ve ark., 2006; Süzen ve ark., 2012; Ateş-Alagöz ve ark., 2005c; Gürkök ve ark., 2009; Shirinzadeh ve ark., 2010; Yılmaz ve ark., 2012; Süzen ve ark., 2013).

1.4. İndoller

İndol molekülü ilk olarak 1866 yılında oksindolün, toz formdaki çinko ile distillasyonu reaksiyonundan elde edildi. Doğal olarak bulunan indigo boyası ile olan ilişkisinden dolayı kimyada önemli bir yeri vardır. Bu boyanın kimyasal yollarla indirgenmesi ile indoksil, oksindol ve en sonunda indol molekülü elde edilir.

İndol kömür katranında ve aynı zamanda çoğu bitkinin esansiyel yağlarında bulunur. Aynı zamanda amino asitlerden trptofan, bitkilerin büyüme hormonu olan indol 3-asetik asit, “brucine” ve “psilecene” alkaloidlerinde ve boyalarda bulunur. İndol halkası (Şekil 1.38) bir benzen halkasının pirol halkasına 2 ve 3 numaralı konumlardan bağlanması ile oluşur.



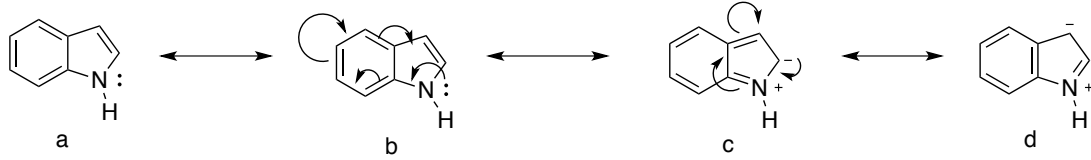
Şekil 1.38 İndol Molekülü

İndol halkasının IUPAC adı 1H-benzo [b] pirol'dür. Atomların numaralandırılması şekilde görüldüğü gibi azot atomundan başlayıp saat yönünün tersi yönde birleşmiş halkaların çevresinde ilerlemektedir. Köprübaşı karbonları 3a ve 7a olarak numaralandırılmıştır (Bansal, 2005).

1.4.1. İndolün Fiziksel ve Spektroskopik Özellikleri

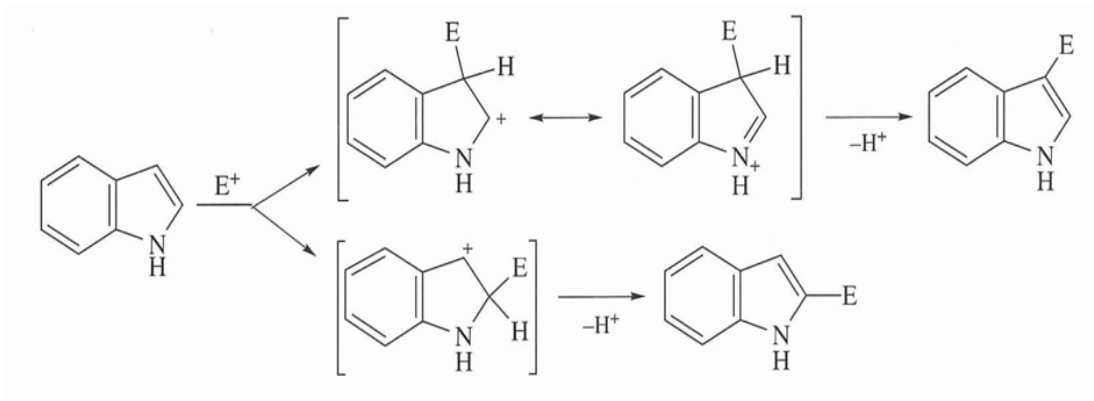
İndol ve alkil indoller renksiz katı halde kristallerdir. İndol 52°C'de erir ve 254°C'de kaynar. Çoğu organik solvanda çözünür. Hoş bir kokusu vardır ve parfüm bazı olarak kullanılır, saf olmaya indol ve skatol (2-metilindol) ise hoş olmayan kokulara sahiptirler. Çoğu indol stabildir. 2 numaralı konumda alkil taşıyan indoller sadece stabil değildir. Örneğin 2-metilindol koyu kahverengi şişelerde bile saklansa otooksidasyon reaksiyonu verir. İndoller Ehrlich testine cevap verir ve mavi renk verirler.

İndol molekülü planar yapıdadır ve 10 π elektronuna sahiptir, bunların sekizi halka sisteminde ikisi ise azot atomu üzerindeki elektronlardır. Bu yüzden bu molekül aromatik yapıdır diyebiliriz. Molekülün rezonans formları Şekil 1.39’da görülmektedir.



Şekil 1.39 İndol Molekülünün Rezonans Formları

Rezonans yapılarında görüldüğü üzere sadece Denklem 1.23’de a,b ve d yapılarında benzen halka sistemi bozulmamıştır, bu da belirtilen yapıları daha kararlı yapar. Dolayısıyla yapılacak herhangi bir elektrofilik atak elektron yoğunluğunun fazla olduğu 3 numaralı konumda gerçekleşir. Bu durumu daha iyi anlayabilmek için 3 numaralı konumdan elektrofilik sübstitüsyon mekanizması Şekil 1.40’ta görülmektedir.



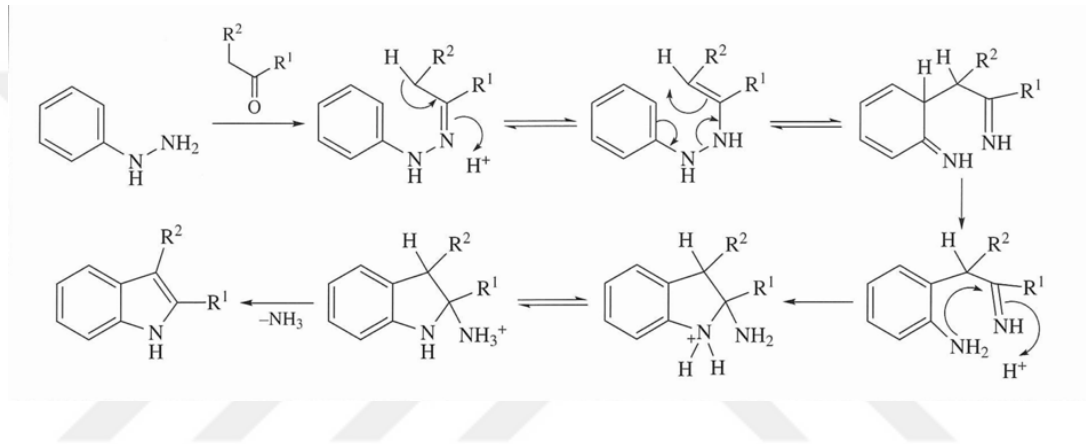
Şekil 1.40 İndol Molekülüne Elektrofilik Sübstitüsyon Şekilleri

Şekil 1.40’ta da görüldüğü üzere, 3 numaralı konumda yapılan bir sübstitüsyonu için gereken aktivasyon enerjisi düşüktür çünkü ara üründe oluşan pozitif yükün rezonans yolu ve nitrojenin serbest elektronları ile stabilize edilmesi söz konusudur. 2 numaralı konumdan yapılacak herhangi bir sübstitüsyon ise benzen halkasının bütünlüğünü bozar (Sainsbury, 2002).

1.4.2. Başlıca İndol Sentezi Reaksiyonları

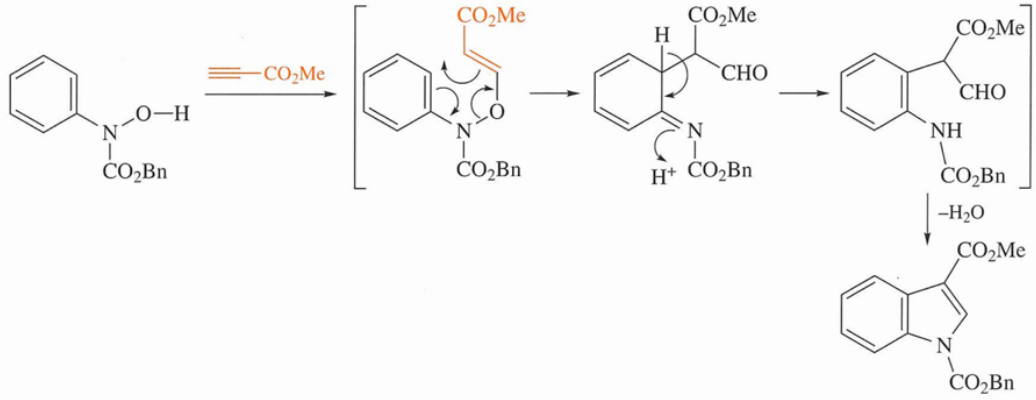
1.4.2.1. Fischer-İndolizasyon Yöntemi

Bu yöntem indol sentezinin en çok kullanılan yoludur. Bu yöntemde önce bir fenil hidrazin molekülü α -metilen grubu taşıyan bir aldehit ve ya keton ile reaksiyona girer. Oluşan hidrazon asit ile, genellikle hidroklorik asit, tepkimeye sokulur. [3,3]-Sigmatropik değişim ile halka kapanması gerçekleşir ve amonyum katyonu molekülden ayrılır. Sonuç olarak indol molekülü elde edilir.



Şekil 1.41 Fischer-İndolizasyonu Mekanizması

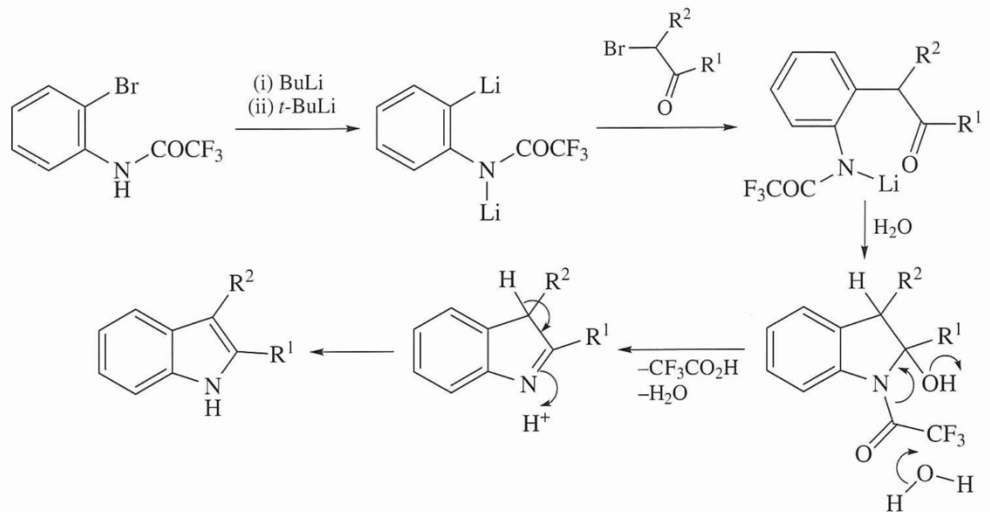
Bu yöntem dışında fenil hidrazin yerine fenilhidroksilamin kullanımı da tercih edilen bir yöntemdir. Örneğin, N-(benziloksikarbonil)-fenilhidroksilamin molekülünün metil propiyonat ile reaksiyona sokulması ile oluşan ürün kendiliğinden [3,3]-sigmatropik kayması ile sonuç olarak 1-(benziloksikarbonil)-3-(metoksikarbonil)indol molekülünü oluşturur (Sainsbury, 2002).



Şekil 1.42 Fenilhidrazin yerine Fenilhidroksilamin Kullanıldığında Görülen Mekanizma

1.4.2.2. Wender Sentezi

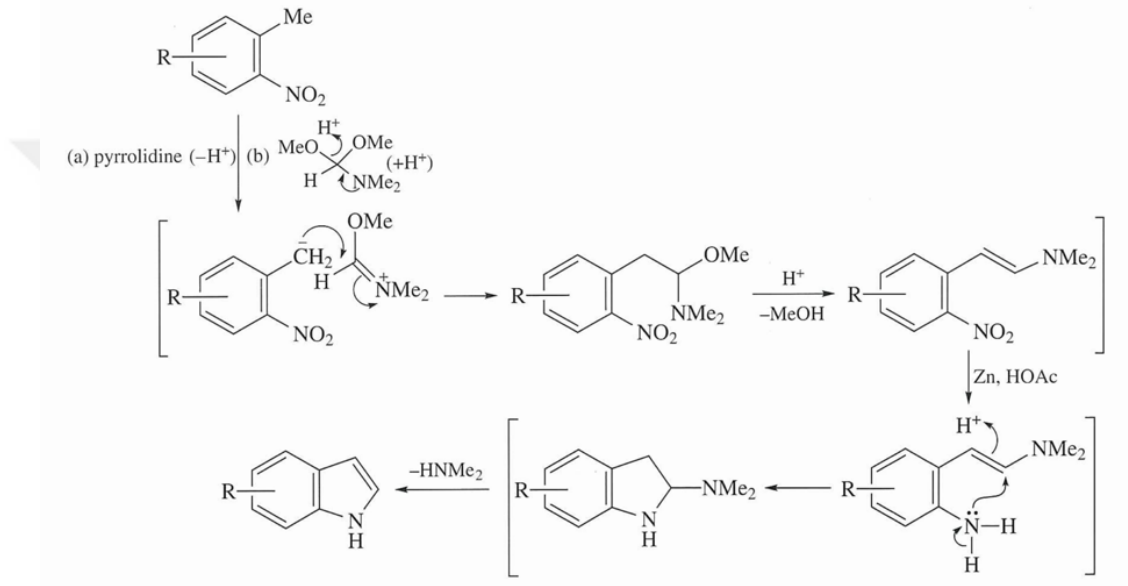
İndol sentezinin birçok farklı yolu bulunmaktadır. Bunlardan biri de Wender sentez yöntemidir. Bu yöntemde bir 2-bromo-N-(trifloroasetil)anilin THF içerisinde BuLi ile deprotonlanır ve sonrasında tert-BuLi ile dilityum ürünü vermek üzere metal-halojen yerdeğiştirmesi gerçekleşir. Bu ara ürüne α -bromo keton eklenir. Reaktanlar arasında bir α - α karbon bağı oluşur, sonrasında da hidroksiindolin ürününü oluşturmak üzere siklizasyon gerçekleşir. En son basamak olarak dehidrasyon sonucu indol üretilir (Sainsbury, 2002).



Şekil 1.43 Wender Sentezi Mekanizması

1.4.2.3. Leimgruber-Batcho Sentezi

Heterosiklik halkada sübstütüsyonu olmayan indol molekülüleri istiyorsak Leimgruber-Batcho yöntemi kullanılır. 2-Nitrotoluen, pirolidin bazı ve N,N-dimetilformamid dimetil asetal (DMFDMA) içeren bir karışımda ısıtılır ve sonuç olarak β -(N,N-dimetilamino)-feniletlen molekülü elde edilir. Bu molekülün çinko ve asetik asit ile redüksiyonu ile indol molekülü elde edilir (Sainsbury, 2002).



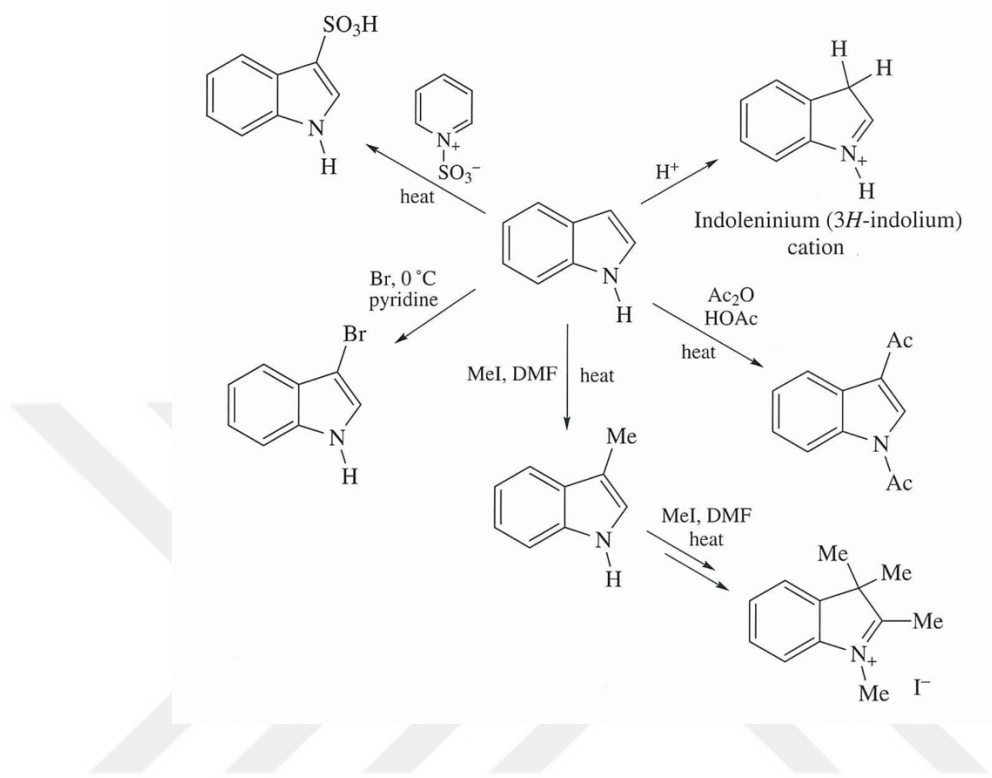
Şekil 1.44 Leimgruber-Batcho Sentezi Mekanizması

1.4.3. İndolün Elektrofilik Sübstütüsyon Reaksiyonları

1.4.3.1. 3 Numaralı Konumdan Sübstütüsyon

İndol halkasının piridinium-N-sülfonat ile sülfonasyonu, indolil-3 sülfonik asit ile sonuçlanır iken, piridin ile 0 °C'de bromlanması sonucu 3-bromoindol molekülü oluşur. Isıtılmış asetik anhidrid ve asetik asit karışımı ile asetilasyonu 1,3-diasetilindol ürünü ile sonuçlanır. Metilasyon reaksiyonu için, DMF içerisinde metil iyodürü 80-90 °C'ye kadar ısıtma gereklidir ve 3-metilindol ürünü oluşur. Bu molekül önce 2,3-dimetilindol ve en sonunda 1,2,3,3-tetrametil-3H-indoleninyum ürünlerini oluşturana kadar reaksiyona devam eder. İndol molekülünün 3 numaralı konumda

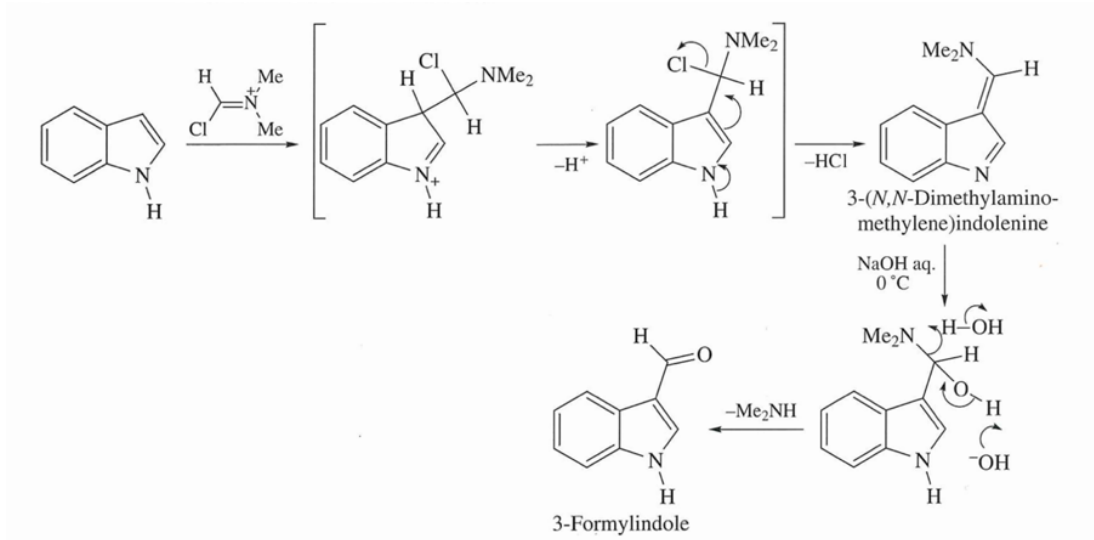
gerçekleştirdiği belli elektrofilik süstitüsyon reaksiyonları Şekil 1.45 'te görülmektedir (Sainsbury, 2002).



Şekil 1.45 İndol halkasına 3 numaralı konumdan gerçekleştirilebilecek süstitüsyon seçenekleri

1.4.3.2. Vilsmeier Formilasyonu

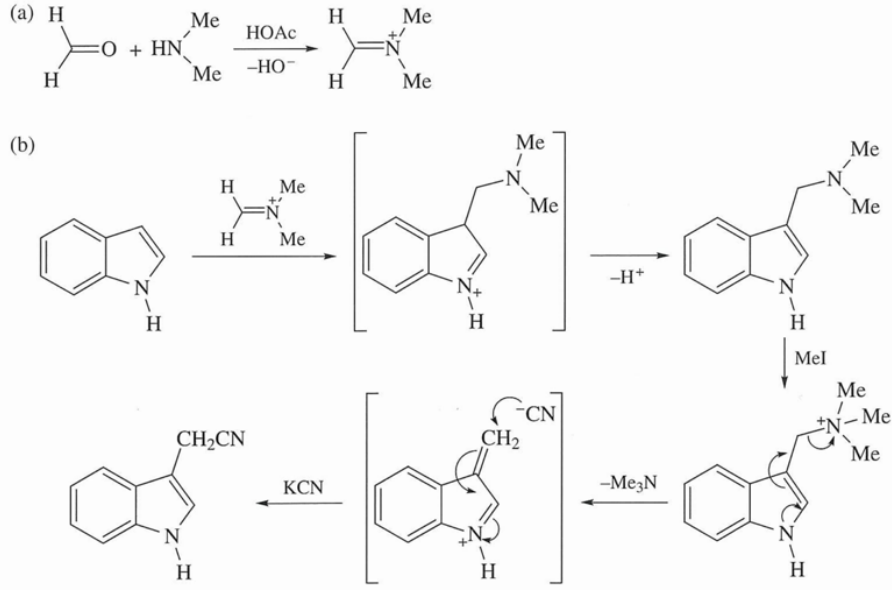
DMF ve fosfor oksiklorid Vilsmeier reaksiyonuna girdiği zaman, N,N-dimetilamino(kloro)metileniminium katyonu oluşur ve bu ara ürün 5 °C'de indol ile reaksiyona girerek 3-(N,N-dimetilaminometilen)indolenin molekülünü oluşturur. Oluşan ürün seyrek NaOH çözeltisi ile hidrojenlenir ise 3-formilindol molekülü elde edilir (Denklem 1.30) (Sainsbury, 2002).



Şekil 1.46 Vilsmeier Reaksiyonu Mekanizması

1.4.3.3. Mannich Reaksiyonu

Mannich reaksiyonunun mekanizması Vilsmeier mekanizması ile benzerlik gösterir. İki reaksiyonda da elektrofil olarak metileniminium kasyonu kullanılır. Metileniminium ise formaldehit ile dimetilamin kondenzasyonu sonucu elde edilebilir. Oluşan metileniminium indol ile reaksiyona girerek 3-(N,N-dimetilaminometil)indol molekülünün eldesini sağlar. Ek olarak, yan zincirdeki azot atomuna bir metil daha katılarak trimetilamin eliminasyonu yapılması sağlanabilir. Oluşan ürün, 3-metilenindoleninium tuzu, bir nükleofil ile reaksiyona sokularak nükleofilik süstitüsyon gerçekleştirilebilir. Denklem 1.31' de verilen örnekte KCN bazı nükleofil kaynağı olarak kullanılmıştır ve oluşan nitrilin redüksiyonu önemli aminlerden triptamin oluşumunu sağlar (Sainsbury, 2002).



Şekil 1.47 Mannich Reaksiyonu Mekanizması

1.4.4. İndol Türevi Sentetik Melatonin Analogları ve Antioksidan Özellikleri

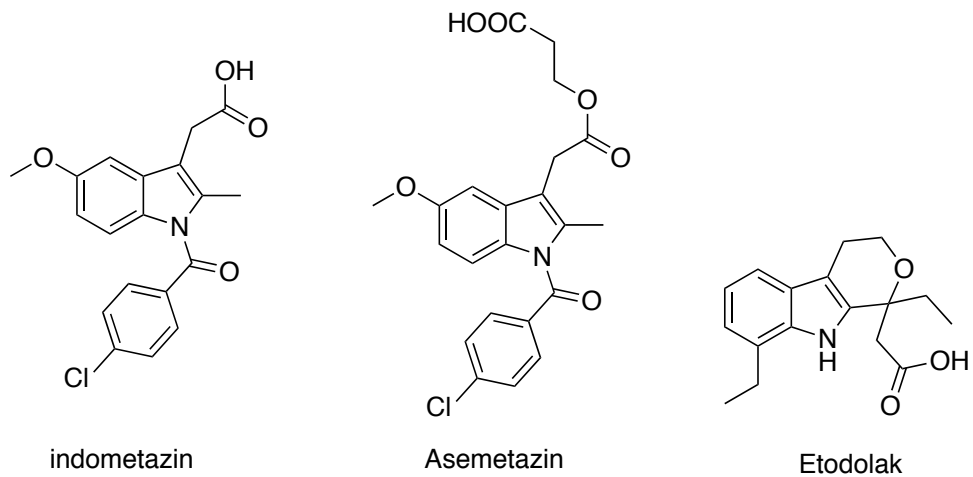
İndol türevleri biyolojik önemi olan kimyasallardır ve mikroorganizmalarda, bitkilerde ve hayvanlarda bulunup medisinal kimyada terapötik ajanların önemli bir kısmını oluştururlar. Sentetik indol türevlerinin en önemli aktiviteleri; antikanser, antioksidan, anti-romatoid, aldoz redüktaz inhibitörü, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antimalaryal ve anti-HIV aktiviteleridir. İndolik bileşikler etkili antioksidanlardır ve lipid ve proteinleri peroksidasyondan korurlar.

Son yıllarda MLT üzerinde yapılan çalışmalar, bu moleküle olan ilginin daha da artmasını sağlamış ve sentetik MLT analogu indol türevi bileşiklerin araştırılmasına sebep olmuştur (Süzen ve ark., 2000).

1.4.4.1. Anti-Enflamatuvar İndol Türevleri

Siklooksigenaz (COX) araziinoid asitten protanoid sentezinde hız belirleyici enzimdir. İki izoformu bulunmaktadır: COX-1 ve COX-2. Bir indol türevi olan indometazin molekülünün COX-1 ve COX-2 moleküllerini inhibe ettiğı ve ön-muamelesi ile serbest radikal oluşumunun önlendiğı bilinmektedir (Niwa ve ark., 2001, Torres ve ark., 2004). COX-2'nin enflamasyonların oluşumunda ve hatta çok fazla bulunduğu zaman kanser ve nörodejeneratif hastalıklarda rol aldığı bilinmektedir. Bu nedenle radikal süpürücü etkili anti-enflamatuvar ilaçların bu hastalıklarda kullanılması terapötik açıdan önemli olabilir. COX aktivitesinin stimulasyonu ile biyolojik sıvılarda peroksitlerin oluştuğı görülmüştür. Hidrojen peroksitler bilindiğı üzere enflamatuvar prosesler sırasında üretilir. Bu bulgulara göre, nonsteroidal antienflamatuvar (NSAID) ilaçların çeşitli radikalleri süpürebilir.

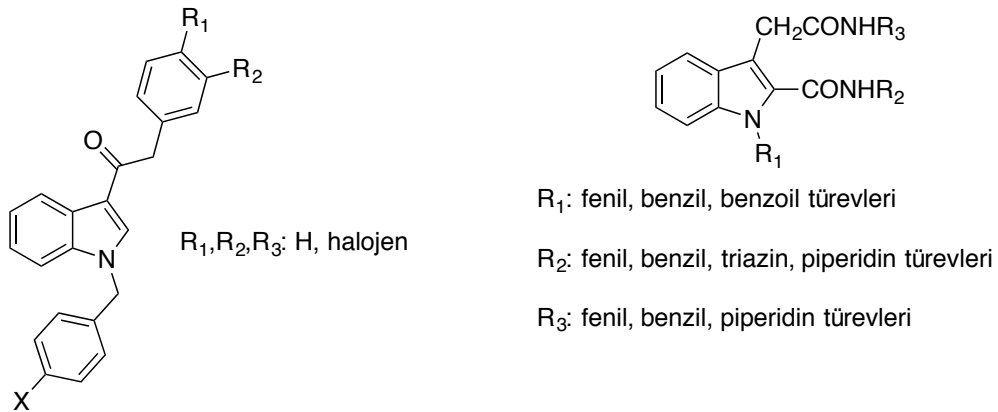
Elektron spin rezonans çalışmalarına göre (ESR), etodolak ve indometazin moleküllerinin direkt süperoksit süpürebilme aktiviteleri bulunmaktadır (İkeda ve ark., 2001). Yapılan bir çalışmada NSAID ilaçlardan indometazin, asemiatazin ve etodolak farklı ROT sistemlerinde test edilmiş ve bu moleküllerin anti-enflamatuvar etkilerinin ROT ve RAT süpürebilmelerinden kaynaklandığı sonucu ortaya çıkmıştır (Dannhardt ve ark., 2001; Mouithys-Mickalad ve ark., 2000).



Şekil 1.48 İndometazin, Asemetazin ve Etodolak Yapısı

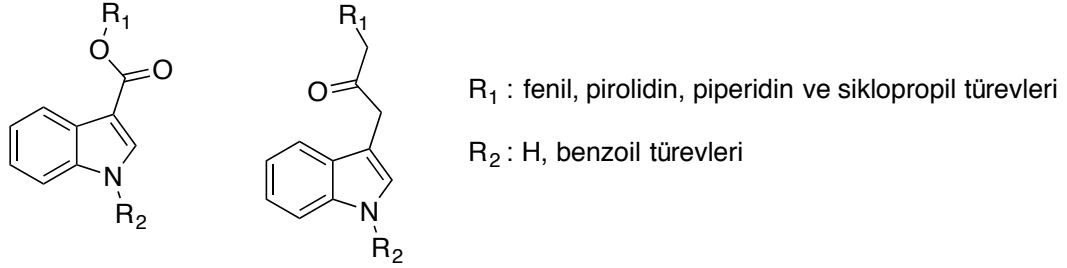
Costa ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2005), non steroid al anti-enflamatuvar ilaçlardan indol türevleri (indometazin, asemiatazin, etodolak), pirol türevleri (tolmetin, ketorolak), oksazol türevi (oksaprozin), indene türevi (sulindak) ve metabolitlerinin (sulindak sulfit ve sulindak sülfon) H₂O₂ süpürücü aktivitelemi araştırılmıştır. MLT ve GSH ile radikal süpürücü aktivitelemi karşılaştırılmasının sonucunda bütün NSAID ilaçlarının H₂O₂ süpürücü aktivitelemi olduğu ortaya çıkmıştır. İlaçları etkileri birbirleri ile karşılaştırıldığında eti sırası fazla olandan az olana doğru sulindak sülfon > sulindak sülfid > GSH > sulindak > indometazin > asemiatazin > etodolak > oksaprozin > ketorolak > MLT > tolmetindir. Bu sonuçlar, NSAID ilaçların anti-enflamatuvar etkilerinin sebebinin, ROT ve RAT süpürücü özellikleri olabileceğini gösterir (Mouithys-Mickalad ve ark., 2000; Fernandes ve ark., 2004).

İndol molekülünün 1 numaralı konumunda sübstütüsyonu bulunan indol-2 ve 3-karboksamit moleküllerinin radikal süpürücü özellikleri araştırılmıştır ve COX-2 inhibitörü oldukları görülmüştür (Olgen ve ark., 2002). Bunun yanında indol-3-asetamitler de antioksidan aktivite taşırlar (Ölgen ve Çoban, 2002; Ölgen ve Çoban, 2004). Özellikle yan zincirinde klorofenil ve kloropiperidin taşıyanlar süperoksit anyonu radikalini süpürmede en etkili olanlardır. İndol-2-karboksamit türevlerinin üçüncü konumdan sübstütüe indol-3-karboksamitten lipid peroksidasyonunda daha etkilidir. İkinci konumda sübstütüsyonun lipid peroksidasyonunda daha etkili olmasının sebebi indol halkasına lipofilik grupların 1 numaralı konumdan bağlanmaları olabilir (Suzen, 2007).



Şekil 1.49 N-Sübstütüe İndol-2-karboksamit ve İndol-3-asetamitler

Ek olarak N-H ve N- süstitüe indol esterler COX-2 inhibitörüdür ve lipid peroksidasyonu ile süperoksit anyonu inhibitörü etkiler gösterirler (Ölgen ve Çoban, 2002). Özellikle pirolidin ve o-metilfenil grupları indol esterlerde iki etkinin de artışını sağlar.

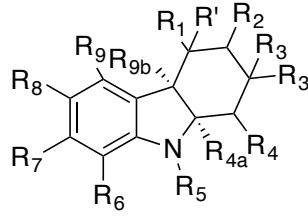


Şekil 1.50 N-H ve N-Süstitüe İndol Türevleri

1.4.4.2. İndole Yapışık Halka İçeren Türevler

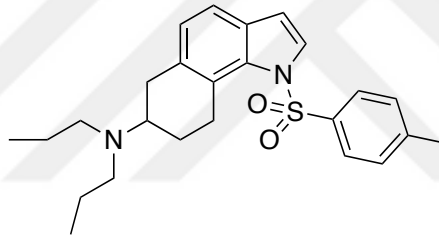
En önemli kondanse halka sistemlerinden biri indollerdir. N atomunda süstitüsyon olsun ya da olmasın, moleküle bağlanacak olan elektrofilik özellikteki gruplar 3 numaralı konumdan bağlanırlar. Elektrofilin bu konumdan bağlanması benzen halkasının aromatikliğinin bozulmadan azot atomundaki serbest elektronlar sayesinde ara ürünün stabilizasyonunun sağlanabilmesinden kaynaklanır. İndol halkasının iki totomerik formda bulunabilir. Bunlar daha stabil olan enamin formu ve 3-H-indol ya da imin formlarıdır. C-2 ve C-3 karbonları arasındaki pi-bağı sikloadisyon reaksiyonlarına daha açıktır (Suzen, 2007).

Stobadin ((-)-cis-2,3 dimetil-2,3,4,4a,5,9b-heksahidro-1H-pirido(4,3b) indol) yapısında piridoindol taşıyan kardiyoprotektif ve antioksidan aktiviteleri bulunan bir ilaç modelidir (Majekova ve ark., 2006). Stobadinden yola çıkılarak daha iyi farmakodinamik özelliklerde ve daha az toksisite içeren türevleri sentezlenmiştir (Stolc ve ark., 2006). Sentezlenen bileşiklerde antioksidan, nöroprotektif aktivite gözlenmiştir. Stobadine kıyasla moleküllerin toksisitesi daha azaltılmıştır.



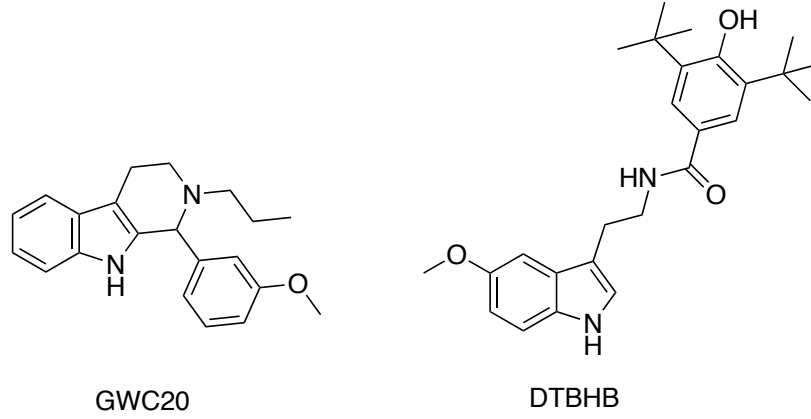
Şekil 1.51 Stobadin Türevleri

TPBIA (1-p-Toluensülfonil-6,7,8,9-tetrahidro-N,N-di-n-propil-1H-benz[g]indol-7-amin) molekülü, farelerdeki merkezi dopamin reseptörleri ile etkileşerek antioksidan aktivite göstermektedir (Demopoulos ve ark., 1995). TPBIA lipifilik özelliğinden dolayı kan-beyin bariyerini belli ölçüde geçebilmektedir ve bunun sayesinde fare karaciğerlerinde peroksidasyonun önlendiği gözlenmiştir (Zika ve ark., 2004).



Şekil 1.52 TPBIA (1-p-Toluensülfonil-6,7,8,9-tetrahidro-N,N-di-n-propil-1H-benz[g]indol-7-amin)

İki MLT analogu olan DTBHB (N-[2-(5-metoksi-1H-indol-3-il)etil]-3,5-di-tert-butil-4-hidroksibenzamid) ve GWC20 [(R,S)-1-(3-metoksifenil)-2-propil-1,2,3,4-tetrahidro-β-karbonil] moleküllerinin Cu²⁺ inhibitörü, serbest radikal kaynaklı LDL oksidasyonu inhibisyon aktiviteleri MLT ile karşılaştırılmış ve bu moleküllerin inhibisyon aktivitelerinin MLT'den daha fazla olduğu ortaya çıkmıştır. Bu sonuçtan da çıkarabileceğimiz gibi, asetamidoetil yan zincirinin modifikasyonu ile lipid peroksidasyonu inhibisyonu aktivitesi arasında bir ilişki bulunmaktadır. Asetamido grubunun benzoil grubu ile yer değiştirmesi daha antioksidan moleküller vermektedir (Gozzo ve ark., 1999; Bonnefont-Rousselot ve ark., 2002).

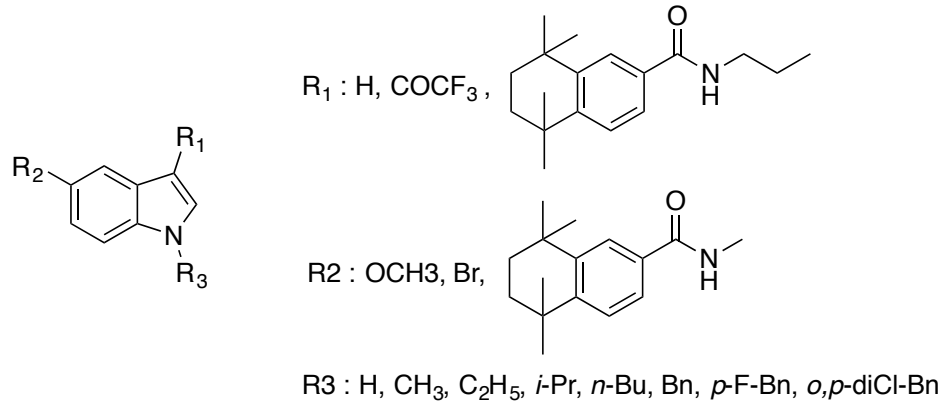


Şekil 1.53 GWC20 [(R,S)-1-(3-metoksifenil)-2-propil-1,2,3,4-tetrahidro-β-karbonil] ve DTBHB (N-[2-(5-metoksi-1H-indol-3-il)etil]-3,5-di-tert-butyl-4-hidroksibenzamid)

1.4.4.3. Antioksidan Moleküllerle Kondanse İndol Türevleri

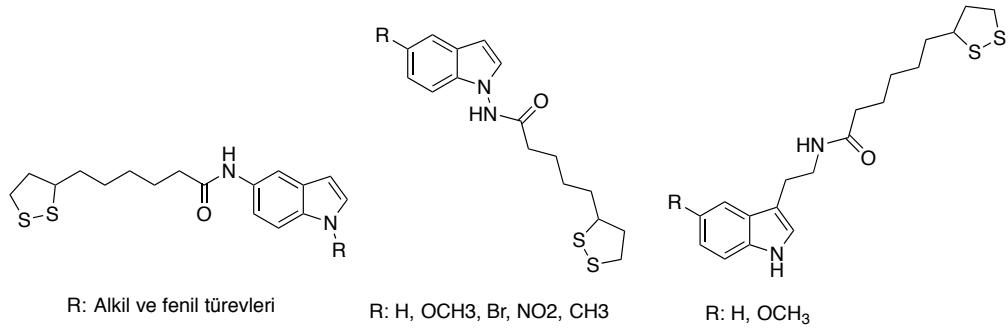
Terapötik ajanlar olarak değişik kimyasal yapıya sahip birçok antioksidan araştırılmıştır ve araştırılmaktadır. Bilinen bir antioksidanın indol halkası ya da bir MLT analogu ile kombinasyonu antioksidan kimyasında yeni bir araştırma alanıdır.

Retinoid-kaynaklı bileşiklerin antioksidan aktivite gösterdiği bilinmektedir. Tetrahidrotetrametilnaftalen karboksilik asit ve uygun MLT analogundan hareketle bir seri MLT analogu sentezlenmiştir (Ates-Alagoz ve ark., 2006). Bu bileşiklerin lipid peroksidasyonu inhibisyonunda çok etkili oldukları görülmüştür. Bu deneyden çıkarılabilecek en önemli sonuçlardan biri ise bir alkil grubunun indol halkasının 1 numaralı konumunda bulunması lipid peroksidasyonunu azaltan özelliklerden biridir (Suzen, 2015).



Şekil 1.54 Tetrahidronaftalen-indol Türevleri

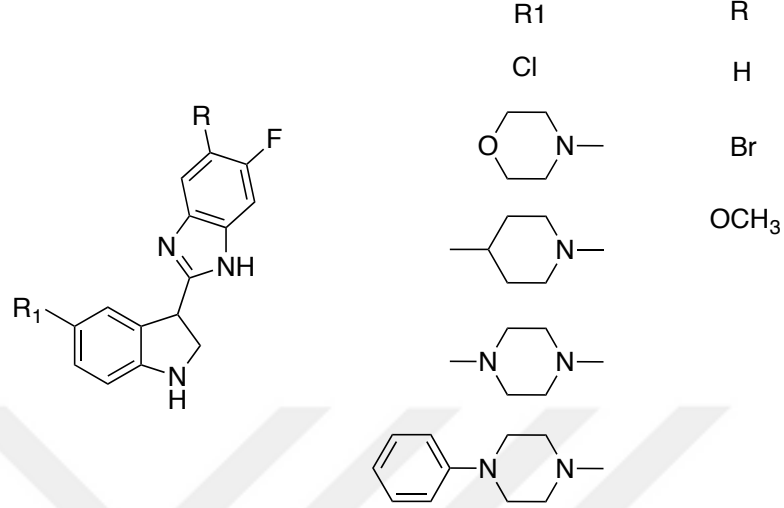
Aynı zamanda, indol ve lipoik asit birleşimi ile oluşan türevler üzerine çalışılmıştır (Şekil 1.54). Ürünler lipid peroksidasyonu inhibisyonunda yüksek aktivite göstermiştir. Özellikle indol halkasının 5 numaralı konumundan sübstitüsyonu olan ürünlerden bazıları lipoi asitten daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Azot atomuna bağlı alkil gruplarının uzaklaştırılması inhibitör aktiviteyi azaltmıştır. 5 numaralı konumda bağlı grup olmaması durumundaki ürünler, yine 5 numaralı konumda elektron bağışlayıcı grupların bağı olduğu ürünlerden daha fazla aktivite göstermiştir (Gürkan ve ark., 2005).



Şekil 1.55 İndol α-Lipoik Asit Türevleri

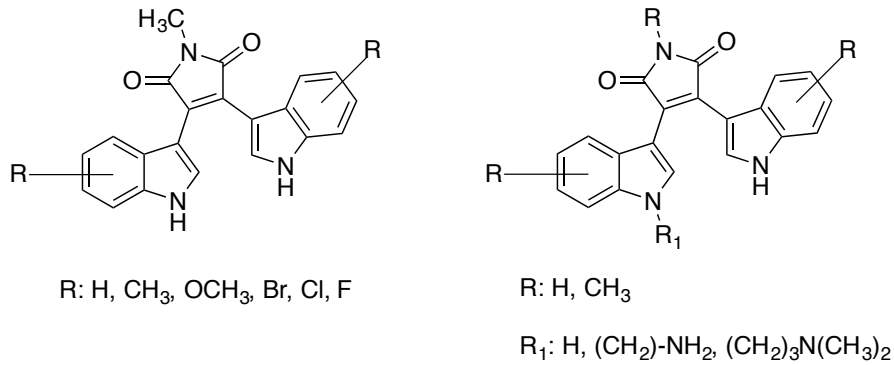
Benzimidazol halkasının 2 numaralı konumdan indol halkasının 3 numaralı konumuna bağlanması ile moleküller sentezlenmiş ve antioksidan aktiviteleri test edilmiştir (Ateş-Alagöz ve ark., 2005b). Kullanılan indol türevi ile benzimidazol halkası, 5-sübstitüe-6-floro-2-(5-sübstitüe-1H-indol-3-il)-1H-benzimidazol türevlerini vermektedir. Bu bileşikler in vitro ortamda süperoksit anyonu radikalini

süpürmede çok iyi antioksidan aktivite göstermişlerdir. 5 numaralı konumda p-fenil piperazin içeren indol halkaları daha çok antioksidan aktivite göstermişlerdir.



Şekil 1.56 İndol-benzimidazol Türevleri

Asakai ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, bisindolilmaleimid molekülünün OS kaynaklı hücre nekrotik ölümlerini inhibe ettiği öğrenilmiştir (Asakai ve ark.,2002; Katoh ve ark., 2005). Bisindolilmaleimid molekülünün yapı aktivite çalışmalarında görülmüştür ki, maleimid yapısının indol halkası ile koplanır olması aktivite için önemli olduğu öne sürülmüştür. Sonuçlarda, 2-(1H-indol-3-il)-3-pentilaminomaleimit molekülü en etkili hücre ölümü önleyici inhibitörü olarak tespit edilmiştir (Dodo ve ark., 2005). Ek olarak 3 numaralı karbon atomunda heteroatom süstitüsyonunun önemli olduğu, heteroatomdaki serbest elektronların maleimid halkasının delokalizasyonu için gerekli olduğu belirtilmiştir.

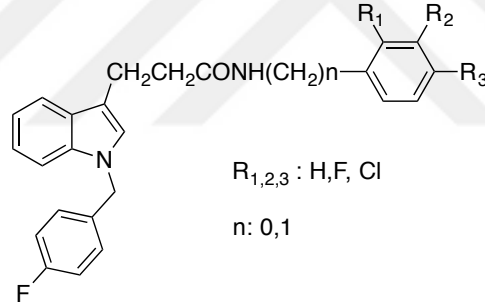


Şekil 1.57 Bisindolilmaleimid Türevi Analogları

1.4.4.4. Alkil ve ya Aril Sübstitüe İndol Türevleri

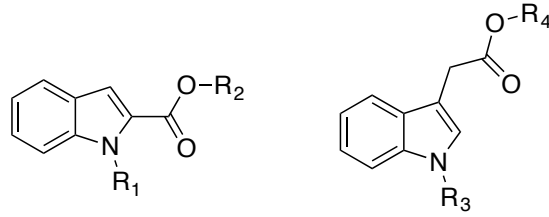
İndol bileşiklerinin antioksidan özellikleri taranırken, insanların plazma ve beyin-omurilik sıvısında indol-3-propiyonik asit (IPA)'ın bulunduğu ve IPA'nın OSi önlediği görülmüştür. Hatta IPA'nın radikal süpürücü aktivitesinin MLTden daha fazla olduğu görülmüştür. IPA'nın beta-amiloid fibril formasyonunu inhibe ettiği ve oksidotoksinlere karşı nöroprotektif etki gösterdiği görülmüştür (Bendheim ve ark., 2002).

IPA'den yola çıkarak N-H Ve N-sübstitüe indol-3-propanamit türevleri sentezlenmiştir (Şekil 1.58) ve faydaları SOD enzimi ve lipid peroksidasyonu inhibisyonu üzerinden araştırılmıştır. Sonuçlarda bu moleküllerin SOD enzimi ve lipid peroksidasyonu inhibisyonuna aktivitelerinin yüksek olduğu görülmüştür (Ölgen ve ark., 2007).



Şekil 1.58 N-H ve N-Sübstitüe İndol-3-propanamit Türevleri

Bir başka çalışmada N-H ve N-sübstitüe indol türevleri sentezlenmiş ve bunların antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Sonuçlarda görülmüştür ki moleküllerin çoğu lipid peroksidasyonunu inhibe edici aktivite göstermektedir (Ölgen ve Çoban, 2003).

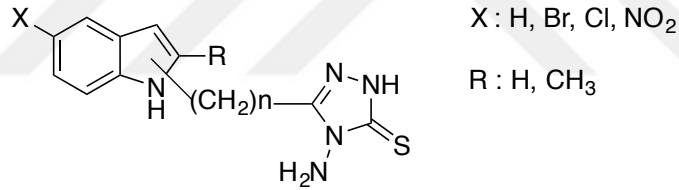


R_1, R_3 : H, benzoil türevleri

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

Şekil 1.59 N-H ve N-Süstitüe İndol Türevleri

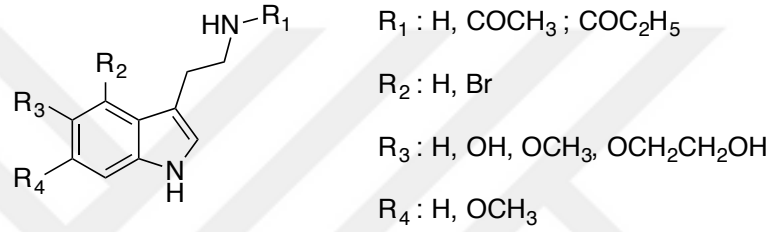
Çoğu çalışmada belirtildiği gibi, antioksidanlar miyokardiyal enfarktüsü azaltabilmektedir ve bu sayede ROT üretimi ya da etkileri azaltılmış olunur (Das ve ark., 2006; Riccioni ve ark., 2007). Triazol yapısı içeren indol türevleri sentezlenmiştir ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır (Varvaressou ve ark., 2000, Andreadou ve ark., 2002), Tüm bileşikler triazol yapısından dolayı antioksidan aktivite göstermiştir.



Şekil 1.60 Triazol Yapısı İçeren İndol Türevleri

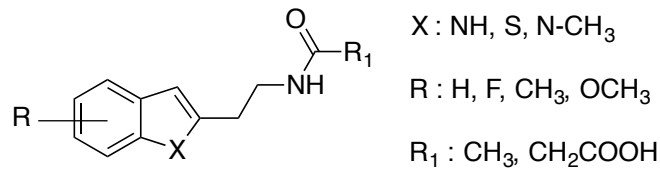
MLT ve analoglarının antioksidan aktivitelerini kıyaslayan bir çalışmada (Poeggeler ve ark., 2002) MLT, triptamin, N-asetiltriptamin, serotonin, N-asetilserotonin, 5-metoksitriptamin, 6-kloromelatonin ve 2-iyodomelatonin moleküllerinin hidroksil radikali süpürme etkileri kıyaslanmıştır. Sonuçlarda görülmüştür ki, 5-metoksi grubunun oksijen merkezli radikallerin oluşumunun tıpkı serotoninde olduğu gibi (Perez-Reyes ve Mason, 1981) engellenmesinde önemli olduğu görülmüştür. Dikkat çeken başka bir nokta ise triptamin molekülünün hidroksil radikalini süpürmekte N-asetiltriptamin ve 5-metoksitriptamin moleküllerinden daha etkili olmasıdır. Bu sonuçlardan, MLT ve analogu olan indol temelli bileşiklerin radikal süpürme aktivitesinin indol nükleusundan çok bu nükleusa bağlı fonksiyonel gruplardan kaynaklandığını söyleyebiliriz (Suzen, 2015).

İndol halkasında 5-metoksi ve açilamino gruplarında değişikliklerle, yan zincirin bulunduğu konumun önemi ve lipofilik/hidrofilik denge antioksidan ve sitoprotektif aktivite açısından test edilmiştir (Mor ve ark., 2004). Metoksi grubunun 5 numaralı karbon atomundan 6 numaralı karbon atomuna yer değiştirmesi, 2 numaralı konumdan brom sübstitüsyonu ve asetaminoetil grubunun 3 numaralı karbon atomundan 2 numaralı karbon atomuna kayması gibi yapısal değişiklikler mevcut olan antioksidan aktivitede değişime sebep olmamıştır. MLT analogu N-[2-(5-metoksi-1H-indol-2-il)etil]asetamit molekülü araştırılan türevler arasında antioksidan aktivitesi en yüksek olanıdır.



Şekil 1.61 5-Metoksi ve Açilamino Gruplarında Değişiklik Olan İndol Türevleri

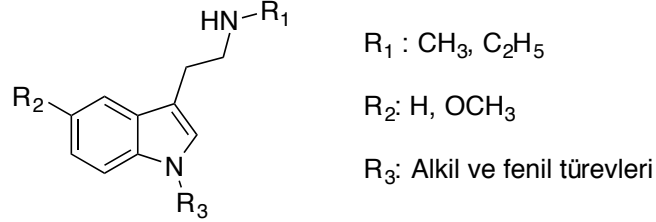
MLT molekülündeki 5-metoksi grubunun başka değişik elektronik ve lipofilik özellikte sübstitüentler ile yer değiştirmesi ve indoldeki azot atomunun metillenmesi ya da azot atomunun kükürt atomu ile değiştirilmesi gibi değişiklikler, 5-metoksi grubunun indol halkasının 4 numaralı konumuna yer değiştirmesini sağlar ve en etkili radikal süpürücü etki bu molekülde görülür fakat sitoprotektif etkileri azalmıştır (Spadoni ve ark., 2006). 5-alkoksi-2-(N-açilaminoetil)indol (Şekil 1.62) ise hem antioksidan hem de sitoprotektif aktivite gösteren bir türev olarak öne sürülmüştür.



Şekil 1.62 2-N-açilaminoetil Türevleri

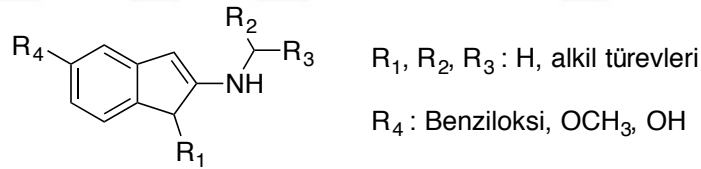
Bazı triptamin ve N-alkil-sübstitüe MLT analogları, lipid peroksidasyonuna karşı önemli derecede aktivite gösterirler (Ateş-Alagöz ve ark., 2005a). Azot

atomundan yapılan alkil sübstitüsyonları 5 numaralı konumdaki sübstitüsyondan dolayı önemlidir ve antioksidan aktiviteyi değiştirebilir.



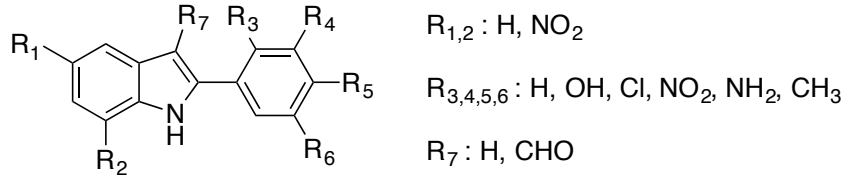
Şekil 1.63 Triptamin ve N-alkil Sübstitüe MLT Analogları

Bir MAO B inhibitörü olan N-(2-propil)-2-(5-benziloksi-indol)metilamin, nöroprotektif antioksidan aktivite göstermektedir (Sanz ve ark., 2004). Yapı-aktivite ilişkisi araştırmalarına göre, indol halkasının 5 numaralı konumunda benziloksi, hidroksi ve metoksi gruplarından birinin bulunması antioksidan aktiviteyi artırmaktadır. Molekülün 2 numaralı konumundan yapılan amin sübstitüsyonlarında ise en çok aktivite amin primer ise gözlenmiştir ve en az aktivite de tersiyer aminlerde gözlenmiştir.



Şekil 1.64 N-alkil 2-sübstitüe Melatonin Analogları

Fischer indol sentezi yöntemi ile 2-fenil-indol türevleri sentezlenmiş ve bunların lipid peroksidasyonu, süperoksit anyonu radikali oluşumu ve DPPH stabil radikal süpürme aktiviteleri MLT, BHT ve alfa-tokoferol ile karşılaştırılmıştır (Suzen ve ark., 2006). Bileşikler lipid peroksidasyonunu tamamen inhibe etmektedirler. Elektron çekici gruplar taşıyan bileşikler, F, Cl, NO₂ gibi, lipid peroksidasyonu inhibisyonunda en yüksek aktiviteyi gösterenler oldu çünkü bu grupların elektronları çekme özelliği indol halkasının radikaller ile daha kolay etkileşmesini sağlar. Araştırmalar sonucu görülmüştür ki, MLT ve 2-fenil-indol türevleri potansiyel hidroksil radikali süpürücüleridir.

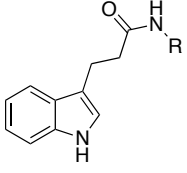
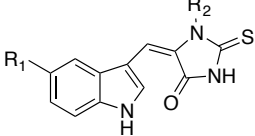
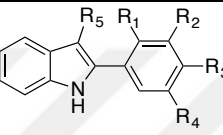
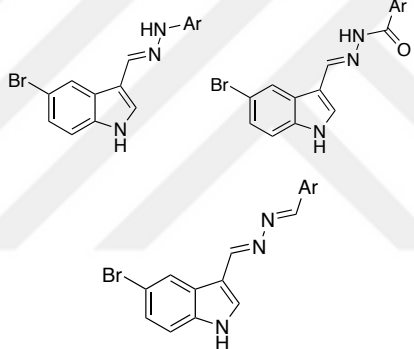
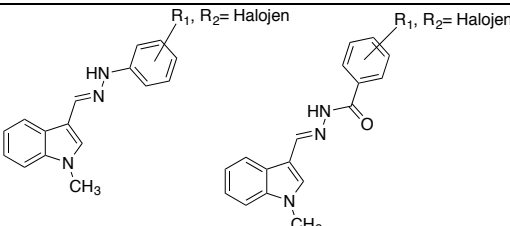
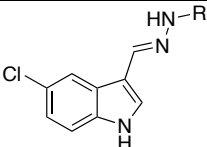
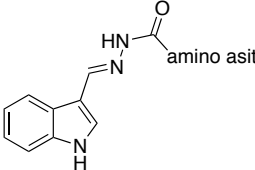


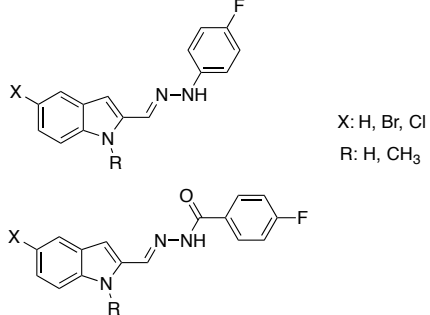
Şekil 1.65 2-Fenilindol Türevleri

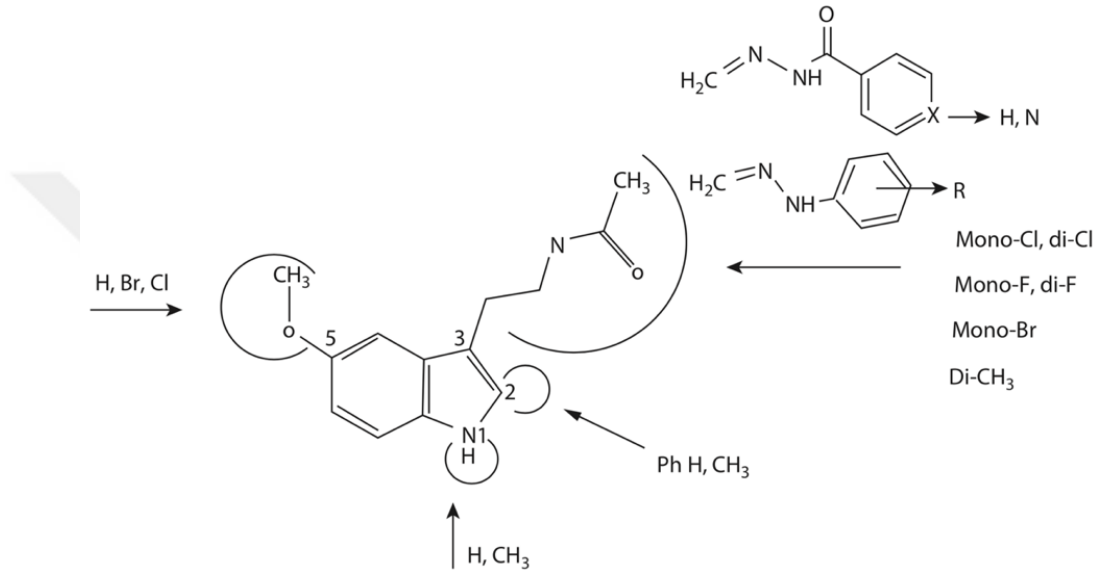
Karaaslan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise (2013) 2-(4-aminofenil)-1H-indol ve 2-(metoksifenil)-1H-indol türevleri sentezlenmiştir. Bileşikler, DPPH ve süperoksit radikal süpürme testlerinde MLT ile kıyaslanabilir değerlerde antioksidan aktivite göstermiştir .

Süzen ve arkadaşları MLT molekülünün analoğu yeni bileşikler sentezleyerek, bunların radikal süpürücü aktivitelerini ve oksidatif hasara karşı koruyucu etkilerini değerlendirmiştir (Şekil 1.36). Bu kapsamda indol-3-propionamit türevleri (Süzen ve ark., 2001; Ateş-Alagöz ve ark., 2005b), 5-bromoindol türevleri (Gürkök ve ark., 2009), 2-*p*-florofenilindol türevleri (Süzen ve ark., 2013), N-metilindol türevleri (Shirinzadeh ve ark., 2010), indolil-2-tiyohidantoin türevleri (Süzen ve ark., 2003), 5-kloroindol türevleri (Yılmaz ve ark., 2012) indol amino asitleri (Süzen ve ark., 2012) ve 2-fenilindol türevleri (Bozkaya ve ark., 2006; Süzen ve ark., 2006) üzerinde incelemeler yapılmıştır. Çalışmalar göstermiştir ki, üzerinde çalışılan çoğu molekül yüksek antioksidan aktivite göstermiştir (Ateş-Alagöz ve ark., 2005a; Süzen ve ark., 2006; Gürkök ve ark., 2009; Shirinzadeh ve ark., 2010; Yılmaz ve ark., 2012). Anisik ve nikotinik asit hidrazid bileşikleri antioksidan aktivite göstermeyen bileşikler olmuşlardır (Gürkök ve ark., 2009; Yılmaz ve ark., 2012) ve hatta bu bileşikler prooksidan aktivite göstermişlerdir. MLT molekülünün 5 numaralı karbon atomuna metoksi grubu yerine F, Cl süstitüsüyonu (Gürkök ve ark., 2009; Yılmaz ve ark., 2012) değişik elektrofilik ve lipofilik özelliklere sahip bir molekül oluştursa da antioksidan aktiviteyi değiştirememiştir.

Çizelge 1.4. Sentezlenen Melatonin Analogları

İndol Türevleri	Formülü	Literatür
İndol-3-propionamit		Süzen ve ark., 2001; Ateş-Alagöz ve ark., 2005b
İndolil-2-tiyohidantoin		Süzen ve ark., 2003
2-fenilindol		Bozkaya ve ark., 2006; Süzen ve ark., 2006
5-Bromo indol		Gürkök ve ark., 2009
N-metil indol		Shirinzadeh ve ark., 2010
5-Kloroindol		Yılmaz ve ark., 2012
İndol aminoasitleri		Süzen ve ark., 2012

2- <i>p</i> -florofenil indol	 X: H, Br, Cl R: H, CH₃	Süzen ve ark., 2013
-------------------------------	---	------------------------



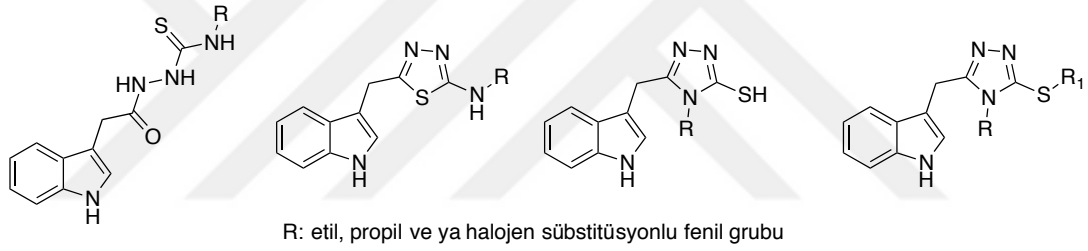
Şekil 1.66 MLT Molekülü Üzerinde Yapılan Değişiklikler

Yeni sentezlenmiş bir dizi indol türevi MLT analogları üzerinde değerlendirmeler yapılmıştır (Shirinzhadeh ve ark., 2010). Azot atomundan metillenmiş türevler, azot atomunda H atomu bulunan türevlere kıyasla daha fazla antioksidan aktivite göstermişlerdir. Ek olarak, MLT analoglarının membran stabilizasyonu etkileri üzerinde yapılan araştırmalarda, laktat dehidrojenaz (LDH) aktivitesinde hiçbir artış görülmemiştir ve test edilen bileşiklerin hiçbirinde sitotoksik etki görülmemiştir.

Süzen ve arkadaşlarının (2013) yeni indol türevi MLT analogu bileşikler üzerinde yaptıkları antioksidan aktivite çalışmalarında, insan eritrositlerinde meydana gelen oksidasyonu azaltabilecek moleküller üzerinde çalışmıştır. Hidrazid bileşikleri

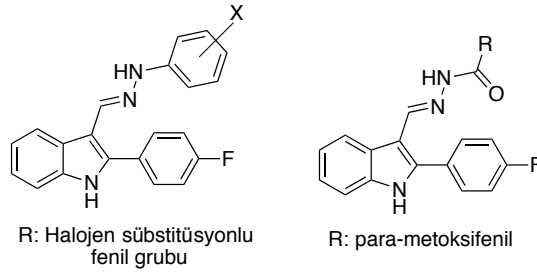
dışında tüm sentezlenen ürünler antioksidan aktivite göstermiştir. Sübstitüe halojen bulunan bileşiklerde F olanlar en etkili olanlar olmuş, Cl ve Br bulunanlarda ise etki benzer değerlerde fakat F bulunan türevlerinkinden daha az çıkmıştır. Difloro bileşikleri ise en aktif olanlar olmuştur.

Triazoller ve türevlerinin üzerinde yapılan çalışmalarda 1,3,4-tiyadiazol moleküllerinin özellikle antibakteriyel ve antioksidan aktivite gösterdikleri görülmüştür (Bansod ve Kamble, 2012). Bu verilerden yola çıkarak 1,2,4-triazol ve 1,3,4-tiyadiazol türevleri sentezlenerek indol halkasının aktivitesine etkileri incelenmiştir (Shirinzhadeh ve ark., 2016). Sentezlenen bileşiklerin çoğunluğu radikal süpürücü aktivite gösterirken 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-propilhidrazinkarbotiyoamid molekülünün en yüksek aktiviteyi gösterdiği görülmüştür.



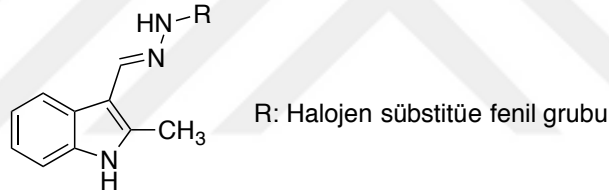
Şekil 1.67 Hidrazinkarbotiyoamid ve 1,2,4-triazol-3-tiyol türevleri

Halojenli aromatik yan zincir taşıyan indol türevlerinin MLT'den daha antioksidan olduklarının görülmesi üzerine, Gürer-Orhan ve arkadaşları (2016) daha çok indol-3-aldehit hidrazon ve hidrazid türevleri üzerinde araştırma yapmıştır. Sonuçlarda orto-halojenfenil ve 3,5-diflorofenil taşıyan indollerin amiloid-beta kaynaklı hasarlara karşı en iyi korumayı sergileyen moleküller oldukları görülmüştür.



Şekil 1.68 İndol-3-aldehit hidrazin ve hidrazid türevleri

Aromataz, androjenlerin östrojenlere dönüşmesini katalizleyen bir enzimdir ve postmenapozal kadınlarda meme kanseri taşıya dokularda lokal östrojen üretimini sağlar. Östrojen inhibisyonunda etkili olduğu bilinen indol halkasının 2-metil indol hidrazon türevleri (Özcan-Sezer ve ark., 2018) incelenmiş ve özellikle m- ve p-konumlarında Cl atomu bulunan 2-metil indol hidrazon türevlerinin en yüksek aromataz inhibitörü etki gösterdikleri gözlenmiştir.



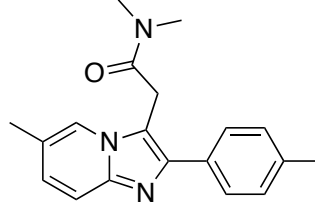
Şekil 1.69 2-Metil İndol Hidrazon Türevleri

1.4.4.5. Diğer Antioksidan Sentetik İndol Türevleri

Birçok çalışmada MLT molekülün etkilerinin, MLT metabolitlerinden ya da analoglarından kaynaklandığını belirtmiştir (Ressmeyer ve ark., 2003). Örneğin, AFMK, MLT antioksidan zincirinin bir ürünü, potansiyel radikal süpürücü bir moleküldür (Reiter ve ark., 2002). MLT prekürsörü, N-asetilserotonin ya da 6-hidroksimelatonin moleküllerinin MLT'den daha iyi antioksidanlar olduğu söylenmiştir (Zhang ve ark., 1999).

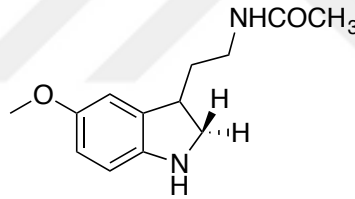
Zolpidem, [N,N,6-trimetil-2-p-tolil-imidazo (1,2-a)piridin-3-asetamit L-(+)], hipnotik bir imidazopiridin yapısıdır. MLT ve Zolpidem'in koruyucu aktiviteleri kıyaslandığında Zolpidem tartarat tuzunun lipid peroksidasyonunda MLT kadar etkili

olduğu fakat in vitro ortamda protein oksidasyonuna karşı koruyucu etki göstermediği görülmüştür (Garcia-Santos ve ark., 2004).



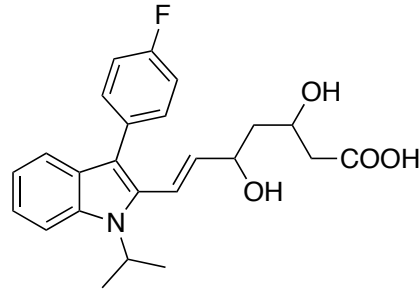
Şekil 1.70 Zolpidem ([N,N,6-trimetil-2-p-tolil-imidazo (1,2-a)piridin-3-asetamit L-(+)])

MLT molekülünün indol nükleusuna yapılan bir çifte bağın redüksiyonu, 2,3-dihidromelatonin molekülü ile sonuçlanır (şekil). Bu molekül DPPH radikalini söndürmede ve lipid peroksidasyonunu inhibe etmekte MLT'den daha fazla iyi antioksidan aktivite göstermiştir (Gasparova ve ark., 2006).



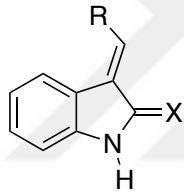
Şekil 1.71 2,3-Dihidromelatonin Yapısı

Bir statin grubu ilaç olan Fluvastatin, hiperkolesterolemi ve kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. ROT miktarını azaltabilme özelliğine sahiptir. Antioksidan aktivitesi, radikal süpürmek ile sınırlı olmayıp, aynı zamanda ROT üretimini NADPH oksidaz aktivitesini inhibe ederek engellemesini de kapsar. Fluvastatin'in bu özellikleri, onun ateroskleroz önlenmesinde faydalı olabileceğini gösterir (Bandoh ve ark., 2003).



Şekil 1.72 Fluvastatin (7-[3-(4-florofenil)-1-(1-metiletil)-1H-indol-2-il])-3,5-dihidroksihept-6-enoik asit

Bir grup indolin-2-on ve indolin-2-tiyon'un antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Sonuçlara göre incelenen indolin türevlerinin radikal süpürmede ve belki de OSe karşı savaşmada etkili olabilecek kaynaklar oldukları görülmüştür (Aboul-Enein ve ark., 2005).

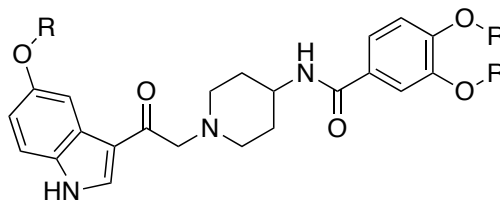


X : O, S

R: F, Cl, NO₂, OCH₃, amino fenil türevleri, imidazol, fenilpropenil

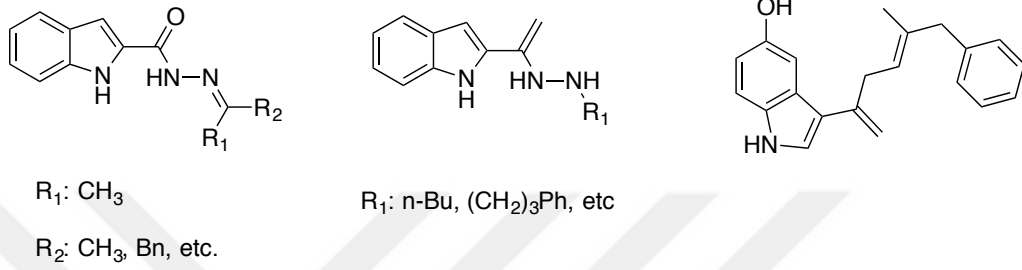
Şekil 1.73 İndolin-2-on ve indolin-2-tiyon Türevleri

Radikal oluşumunu azaltan antioksidanlar, eksitotoksit yaraların oluşumunu engellemede koruyucu etki gösterebilirler. Hidroksiindollerin etkili radikal süpürücüler olduğu bilindiği için, önceden sentezlenmiş bazı moleküller üzerinde çalışılmıştır (Buemi ve ark., 2013). Araştırılan moleküller içinden en çok antioksidan özellik gösteren molekül 3,4-dihidroksi-N-[1-[2-(5-hidroksi-1H-indol-3-il)-2-oksoetil]piperidin-4-il]benzamid olmuştur.



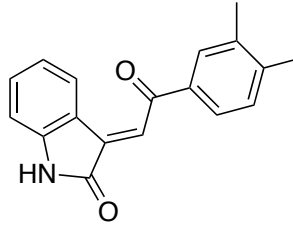
Şekil 1.74 Tasarlanmış Hibrit Hidroksiindol Türevleri

Antioksidan aktivite araştırması yapılan bir başka çalışmada 2-İndolil-karbohidrazit ve 3-indolil karbohidrazit türevleri, 3-(3-hidrazinilpropil)-1H-indol, 3-(1H-indol-3-il)propanhidrazit moleküllerinin DPPH testi ve lipid peroksidasyonunu inhibisyonu aktiviteleri incelenmiştir (Hadjipavlou-Litina ve ark., 2013). Bu moleküllerin yapısının yeni Alzheimer's hastalığı tedavisinde kullanılabilecek ilaçların dizaynına ışık tutacak yapılar olduğu ileri sürülmüştür.



Şekil 1.75 Sübstitüe 2-İndolil Karbohidrazitler

2-oksindol türevleri ile çalkonların aynı yapıda birleştirilmesi, yen farmakolojik yönden aktif antioksidanların ortaya çıkışını sağlamıştır. Knoevenagel reaksiyonu ile sentezlenen asetofenon ile sübstitüe edilmiş izatinlerin antioksidan özellikleri araştırılmıştır (Gupta ve ark., 2012) ve 3-aroil-metilen-indol-2on türevlerinin büyük bir kısmı antioksidan aktivite göstermiştir. Sonuçlar göstermiştir ki, oksindol nükleusuna sahip heterosiklik sistemler düşük konsantrasyonlarda ortadan iyiye antioksidan aktivite göstermektedir. Bu antioksidan aktivite keto laktam halkasının N-H ve C=O gruplarının serbest radikal süpürme özelliklerinden kaynaklanmaktadır.



Şekil 1.76 3-Sübstitüe-2-oksindol Türevleri

1.5. Melatonin Analogu Antioksidan Bileşikler Üzerindeki Çalışmaların Gerekliliği

İndol türevleri ilaç araştırmalarında çok önemli heterosiklik bileşiklerdir. Hücre biyolojisinde önemli görevleri vardır ve doğal ortamlarda bulunan bileşiklerdir. Antioksidan etkileri gözlemlenen indol halkasının MLT türevleri üzerindeki ilgi gittikçe artmaktadır. Yapılan araştırmalar göz önüne alındığında, antioksidan etki gözlemlenen indol türevi MLT analogları üzerinden yeni antioksidan indol türevlerinin araştırılmasının gerekliliği kaçınılmazdır.

MLT molekülünün antioksidan aktivitesi üzerinde yapılan çalışmalar çok sayıda olmasına rağmen, bu aktivitenin kimyası ile ilgili hala çalışmalar yapılması gereken alanlar bulunmaktadır. OS ve antioksidan koruma sistemleri kompleks fenomenlerdir ve birçok faktörden etkilenebilirler. Bunlardan bazıları, moleküllerin bulunduğu ortamın polaritesi, sulu ortamların pH değerleri ve diğer kimyasal bileşiklerin ortamda bulunması olabilir. Bu gibi nedenlerin de detaylı araştırmalarının yapılması ve tanımlanması gerekmektedir.

Antioksidan aktivite birçok kimyasal yol ile gerçekleşebilir. Bunlardan bazıları; metal çelasyonu, singlet oksijen deaktivasyonu, UV radyasyonu absorpsiyonu, hidrojen peroksidin radikal olmayan bileşiklere dekompozisyonu ve serbest radikal süpürmedir. Bütün bu bahsedilen reaksiyon mekanizmaları bir yarışma içinde olup antioksidan aktiviteye katkı sağlıyor olabilir. Ek olarak bu metodlar da yukarıda bahsedilen çevresel etmenlerden etkilenebilirler.

Bu konu günümüzde yaşanan zorluklardan biri değişik fizyolojik koşullarda MLT analoglarının antioksidan aktiviteleri kapsamında oluşan ya da oluşabilecek tüm bileşiklerin tanımlanmasıdır. Aynı zamanda oluşan bileşiklerin özelliklerinin, oksidan olup olmadıkları, öğrenilip DNA, protein ve lipid gibi yapılara zarar verip veremeyeceğinin öğrenilmesi gerekmektedir. Başka bir araştırılması gereken konu ise sentezlenen antioksidanların sık kullanılan ilaçlarla muhtemel etkileşimleri ve oluşan ürünlerin araştırılmasıdır. Bunların dışında MLT molekülünün terapötik amaçlarla

kullanımını kısıtlayan 2 dezavantajı bulunmaktadır. Bunlardan ilki, MLT molekülünün yarılanma ömrünün çok kısa olmasıdır. İkincisi ise MLT'in reseptör seçiciliğinin olmamasıdır (Süzen, 2006; Süzen, 2007; Ateş ve Süzen;2001).

Antioksidan çalışmalarındaki ana hedef ve MLT ailesi üzerindeki çalışmalarda, OSi ve onun zararlı etkilerini inhibe edebilecek stratejilerin dizaynıdır. Bu konu detaylı araştırma gerektirir ve bu da multidisipliner çalışmaların yapılması zorunluluğunu beraberinde getirir. Bu durumda birbirinden farklı analizlerin gerçekleştirildiği koşulların farklılığından dolayı değişik trendler ile sonuçlanması görülebilir.

Genel olarak sentetik indol türevi MLT analogları üzerinde toplanan bilgi doğal MLT türevlerinden daha azdır. Bir diğer taraftan da, şimdiye kadar yapılan çalışmalar OSe karşı savaşma ve korunmada faydalı olabilecek moleküller sentezlendiğini göstermektedir. Dolayısıyla indol türevi MLT analogları üzerindeki çalışmaların devam etmesi ilgi duyulan bir konu olmuştur (Galano ve ark., 2017).

1.6. Tez Çalışmasının Amacı

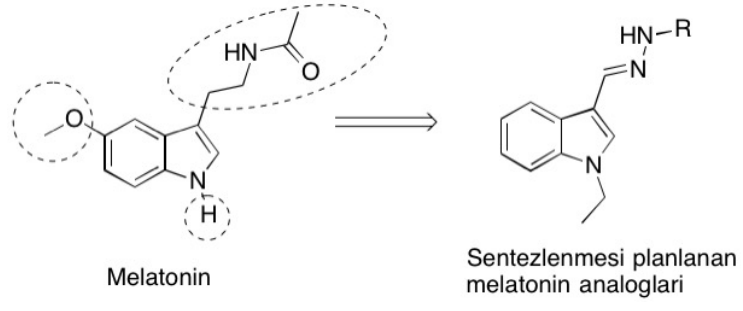
Günümüzde yapılan araştırmalar kanser başta olmak üzere Alzheimer, Parkinson, Huntington gibi nörodejeneratif hastalıklar, ateroskleroz, diyabet, romatoid artirit, yaşlanma, otoimmün hastalıklar gibi birçok önemli hastalığın patofizyolojisinde serbest radikallerin rolü olduğunu göstermektedir (Süzen, 2006; Karaaslan ve ark., 2015). Serbest radikaller; paylaşılmamış elektron çifti bulunduran, OSe neden olan, kimyasal reaksiyonlara karşı çok duyarlı, aktif kimyasal yapılarıdır. Organizmada oksidanlarla antioksidanlar arasında var olan dengenin oksidanlar lehine bozulması ile lipid, protein, DNA gibi önemli biyolojik yapı taşlarında hasarlar ve buna bağlı hastalıklar oluşmaktadır (Poeggeler vd. 1999; Kehrer vd. 2015).

İndol halkası taşıyan MLT molekülünün hücreleri OSten koruyan, serbest radikal yakalama aktivitesi yüksek antioksidan ve antikanser etkilerinin olduğunu anlaşıldığından sonra (Martin ve ark., 2002; Maharaj ve ark., 2002) bu halka sistemini

içeren antioksidan ve antikanser aktiviteli türevlerin sentezlenmesi çalışmaları da önemli bir yer tutmaya başlamıştır (Süzen vd. 2006; Karaaslan vd. 2013).

MLT ve N-asetil-serotonin gibi triptofan türevleri serbest radikal yakalama aktivitesine sahiplerdir. Deneysel çalışmalar MLTin öncelikli olarak hidroksil radikale daha sonra ise peroksinitrit anyonuna ve süperoksit anyonuna karşı etkili olduğunu göstermiştir (Allegra vd. 2003). İndol çekirdeği taşıyan MLT ve N-asetil-serotonin, OS' e karşı biyolojik membranları stabilize etme kabiliyetindedir (Garcia vd. 2001). Antioksidan etkilerinin yanı sıra antiaging, antidepresan, antihipertansif ve antitümör etkileri de saptanmıştır (Oxenkrug, 2005).

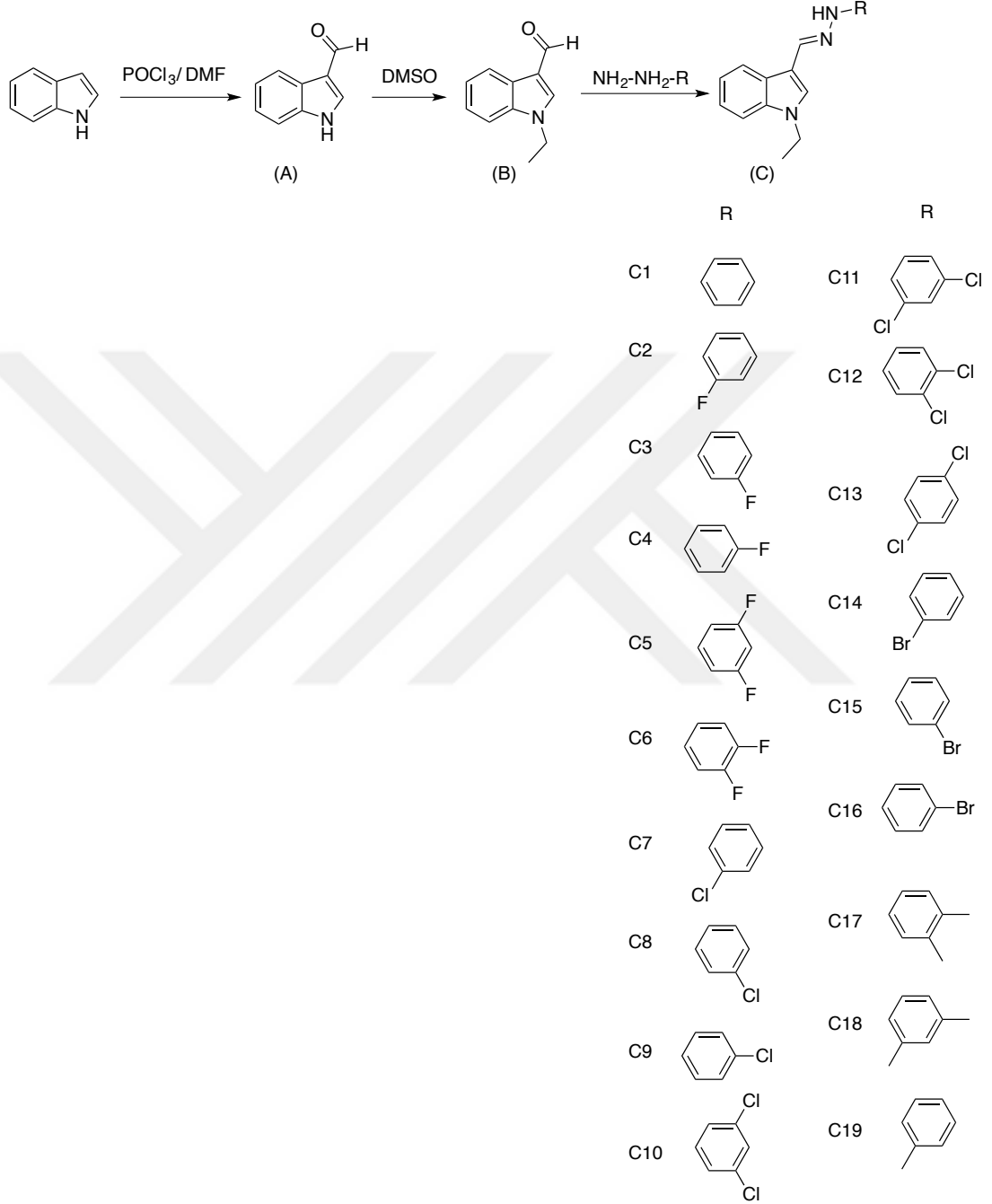
Bu tez çalışmasında MLT yapısı esas alınarak molekül üzerinde bazı değişiklikler yapılmıştır. Bu amaçla öncelikle indol halkasının 5 numaralı konumunda bulunan metoksi grubunun olmadığı türevler ile çalışılması planlanmıştır. Bir numaralı konumda bulunan azot atomuna ise etil grubu süstitüe edilmiştir. Böylece sentezlenecek türevlerde MLTde bulunan metoksi grubunun yokluğu ve azot atomu üzerinde bulunan bir etil grubunun antioksidan aktiviteye etkilerinin karşılaştırılması hedeflenmektedir. Bu değişikliklere ek olarak MLT molekülünde indol halkasının 3 numaralı konumunda bulunan asetilaminoetil grubu değiştirilmiştir. Bu grup yerine halojenli ve halojensiz fenil hidrazin grupların takılması ve indol halkasının 3 numaralı konumunda hidrazonların oluşturulması hedeflenmiştir. Planlanan bu değişikliklerin gerçekleştirilmesi amacıyla ilk olarak başlangıç ürünü olan 1*H*-indol molekülüne 3 numaralı konumda ilk basamakta aldehit grubu takılmış ve 1*H*-indol-3-karbaldehit bileşiği elde edilmiştir. Sonraki basamakta 1*H*-indol-3-karbaldehit molekülüne indol halkasının 1 numaralı konumundan etil grubu eklenmiş ve 1-etil-1*H*-indol-3-karbaldehit molekülü elde edilmiştir. 1-Etil-1*H*-indol-3-karbaldehit molekülüne ise 3 numaralı konumdan fenil hidrazin türevleri takılarak hidrazon türevleri oluşturulması planlanmıştır. MLT molekülü üzerinde yapılan fonksiyonel grup değişiklikleri Şekil 1.77 de görülmektedir. Sentezlenen tüm bileşiklerin yapılarının ileri enstrümental tekniklerle aydınlatılması ve *in vitro* antioksidan aktivitelerinin, sitotoksitelerinin ölçülerek test edilmeleri bu tez çalışmasının ana amacını oluşturmaktadır.



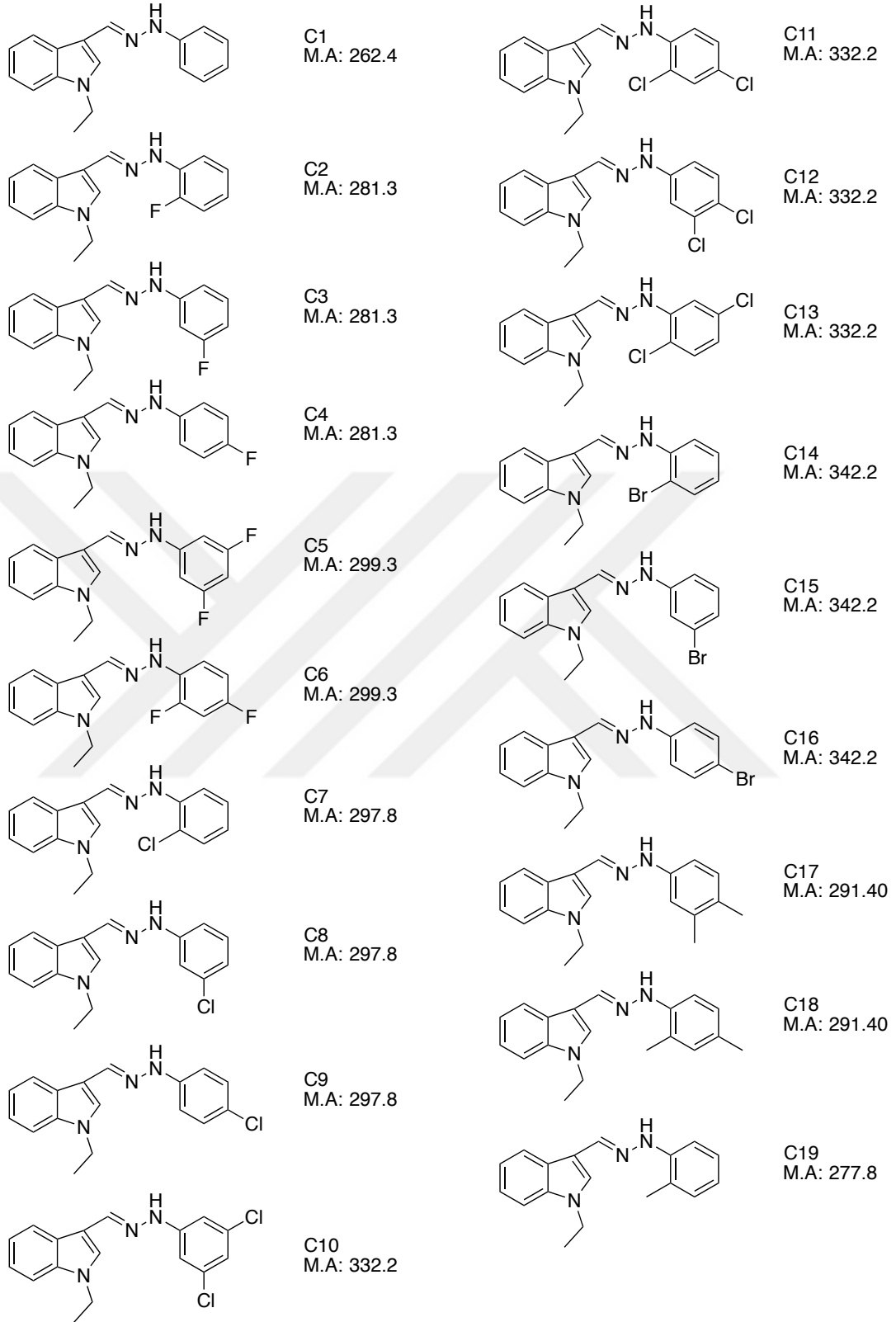
Şekil 1.77 Melatonin üzerinde yapılan modifikasyonlar

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. 1-Etil-3-((2-hidraziniliden)metil)-1*H*-indollerin Genel Sentezi



Şekil 2.1 1-Etil-3-(2-hidraziniliden)metil-1*H*-indol Türevlerinin Sentezi



Şekil 2.2 Sentezlenen 1-etil-3-(2-hidraziniliden)metil-1*H*-indol 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 (Isolab magnetic stirrer).

2.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

1*H*-indol, fenil hidrazin hidroklorür, 2-florofenil hidrazin hidroklorür, 3-florofenil hidrazin hidroklorür, 4-florofenil hidrazin hidroklorür, 3,5-diflorofenil hidrazin hidroklorür, 2,4-diflorofenil hidrazin hidroklorür, 2-klorofenil hidrazin hidroklorür, 3-klorofenil hidrazin hidroklorür, 4-klorofenil hidrazin hidroklorür, 3,5-diklorofenil hidrazin hidroklorür, 2,4-diklorofenil hidrazin hidroklorür, 3,4-diklorofenil hidrazin hidroklorür, 2,5-diklorofenil hidrazin hidroklorür, 2-bromofenil hidrazin hidroklorür, 3-bromofenil hidrazin hidroklorür, 4-bromofenil hidrazin hidroklorür, 3,4-dimetilfenil hidrazin hidroklorür, 2,4-dimetilfenil hidrazin hidroklorür, *o*-tolilfenil hidrazin hidroklorür, NaOH, d₆-DMSO, sodyum asetat, MLT, MTT, Triton X-100, PBS, DPPH, BHT, DCFH-DA, tripsin ve tetrazolyum tuzu Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir. CHO-K1 hücre hattı ATCC, fetal sığır serumu olan FBS Gibco (Grand Island, NY), sodyum piruvat Santa Cruz Biotech. Inc (Dallas, TX) firmalarından temin edilmiştir. Deneylerde kullanılan solvanların tamamı Aldrich veya Merck firmasından temin edilmiştir.

2.2.3. Sentezlenen Maddelere Uygulanan Analitik Yöntemler

2.2.3.1. Kromatografik Analizler

Tez çalışması sürecinde, sentez reaksiyonları gerçekleştirilirken, reaksiyonların izlenmesi, bitiş sürelerinin saptanması ve saflıklarının değerlendirilmesi amacıyla “İnce Tabaka Kromatografisi” (İTK) yönteminden yararlanılmıştır. Bu amaçla Kieselgel 60 GF (Merck) ile kaplanmış 0.2 mm kalınlığında hazır alüminyum plaklar

kullanılmıştır. Plaklardaki madde lekelerinin belirlenmesi için UV (254 nm dalga boyu) ışığından faydalanılmıştır.

İTK’da kullanılan solvan sistemi; Etilasetat: Hekzan (3:1), (2:1), (1:1) olmuştur.

2.2.3.2. Erime Noktası Tayinleri

Sentezlenen tüm bileşiklerin erime noktası ölçümleri Electrothermal 9100 cihazı ile gerçekleştirilmiştir ve sonuçlar düzeltilmeden verilmiştir.

2.2.3.3. Elementel Analiz Tayini³

Sentezlenen sonuç ürünlerinin elementel analizi LECO CNHS 932 cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

2.2.3.4. Spektrel Analizler³

NMR Spektra (¹H ve ¹³C)

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

Kütle (Mass) Spektra

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

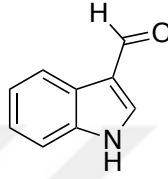
³ Elementel, NMR ve Mass Analizleri A.Ü. Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Başlangıç Maddesi

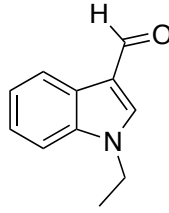
Sentez çalışmaları sırasında başlangıç maddesi olarak kullanılan 1*H*-indol ticari olarak temin edilmiştir.

3.2. 1*H*-indol-3-karbaldehit sentezi (A)



Bu bileşiğin sentezi Vilsmeier- Haack formilasyonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ağzı kapalı bir balonda 10 mmol (2.6 ml) DMF buz banyosunda magnetle sürekli karışması sağlanarak 10-20 °C'ye soğutulur. 1.2 ml POCl₃ damla damla ortama 30 dakika içerisinde katılır. Reaksiyon 5 dakika karıştırılır. 8 mmol 1*H*-indol (937.2 mg), 0.64 ml DMF içerisinde çözülerek damla damla reaksiyon ortamına ilave edilir. Reaksiyon yağ banyosu içerisinde 30°C'de 4 saat karıştırılır ve reaksiyonun bitiş süresi İTK ile kontrol edilerek belirlenir. Reaksiyonun ortamı kuru buza dökülür. %40 NaOH ortam bazik olana kadar ilave edilir. Oluşan çökelek süzülerek ayrılır. Gerektiğinde elde edilen kristaller EtOH dan tekrar kristallendirilerek saflaştırılır. Kristaller vakum etüvünde kurutulur. Ortalama verim %92 dir. E.n: 193-195 °C (Büyükbingöl, 1994).

3.3. 1-Etil-1*H*-indol-3-karbaldehit sentezi (B)

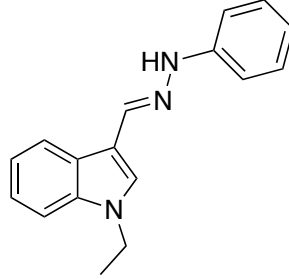


2 mmol (0.290 mg) bileşik **A**, 2.4 mmol (0.6 ml) dimetilsülfoksit (DMSO) içerisinde 40°C de çözülür. Reaksiyon ortamı buz banyosunda soğutulur ve %50 NaOH çözeltisinden 0.1 ml eklenir. Devamlı karıştırılan çözeltiye 30 dakika içerisinde 3 mmol (0.4 ml) dietilsülfat eklenir. Reaksiyon yağ banyosu içerisinde, oda sıcaklığında 1 saat karıştırılır, daha sonra reaksiyon ortamının ısısı 1 saat içerisinde yavaş yavaş arttırılarak 50°C ye getirilir. Bu sıcaklığa ulaşan çözeltinin rengi koyu kırmızıya döner ve reaksiyonun bitimi İTK ile kontrol edilerek belirlenir. Elde edilen karışım 6 ml su içerisine dökülür ve oluşan çökelek süzülerek ayrılır. Gerekğinde elde edilen kristaller EtOH dan tekrar kristallendirilerek saflaştırılır.. Kristaller vakum etüvünde kurutulur. Tekrarlanan reaksiyonlar sonucu gözlenen ortalama verim % 73 olarak bulunmuştur. E.n. :103- 105 °C (Suzdalev & Babakova, 2015).

3.4. 1-Etil-3-((2-fenilhidraziniliden)metil)-1*H*-indol Türevlerinin Genel Sentezi (C)

1 mmol (0.173 mg) Bileşik **B** nin 10 ml EtOH içinde çözülmesi ile hazırlanan çözeltiye, 1.3 mmol fenil hidrazin hidroklorür veya türevleri ile 0.4 g (4.88 mmol) sodyum asetat'ın distile suda hazırlanan çözeltisi eklenir. Reaksiyon yağ banyosu içerisinde geri çeviren soğutucu altında 70-80 °C da 3 saat karıştırılır ve reaksiyonun bitiş süresi İTK ile kontrol edilerek belirlenir (Kidwai, 1994). Reaksiyon sonucu oluşan çökelek süzülerek ayrılır. Gerekğinde elde edilen kristaller EtOH dan tekrar kristallendirilerek saflaştırılır ve vakum etüvde kurutulur. % 36 - 92 Arası verimle hidrazon türevleri elde edilir.

3.4.1. 1-Etil-3-((2-fenilhidraziniliden)metil)-1*H*-indol (C1)



1 mmol (0.173 mg) Bileşik **B** ile 1.3 mmol (0.14 ml) fenil hidrazin hidroklorür kullanılarak **Bölüm 3.4** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı. % 57 verimle 149 mg madde elde edildi. E.n: 139-142 °C (Kalir ve Szara, 1966).

Elemental Analiz: C₁₇H₁₇N₃

	% C	% H	% N
Hesaplanan	77.54	6.51	15.96
Analiz:	77.07	7.10	15.91

¹H-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

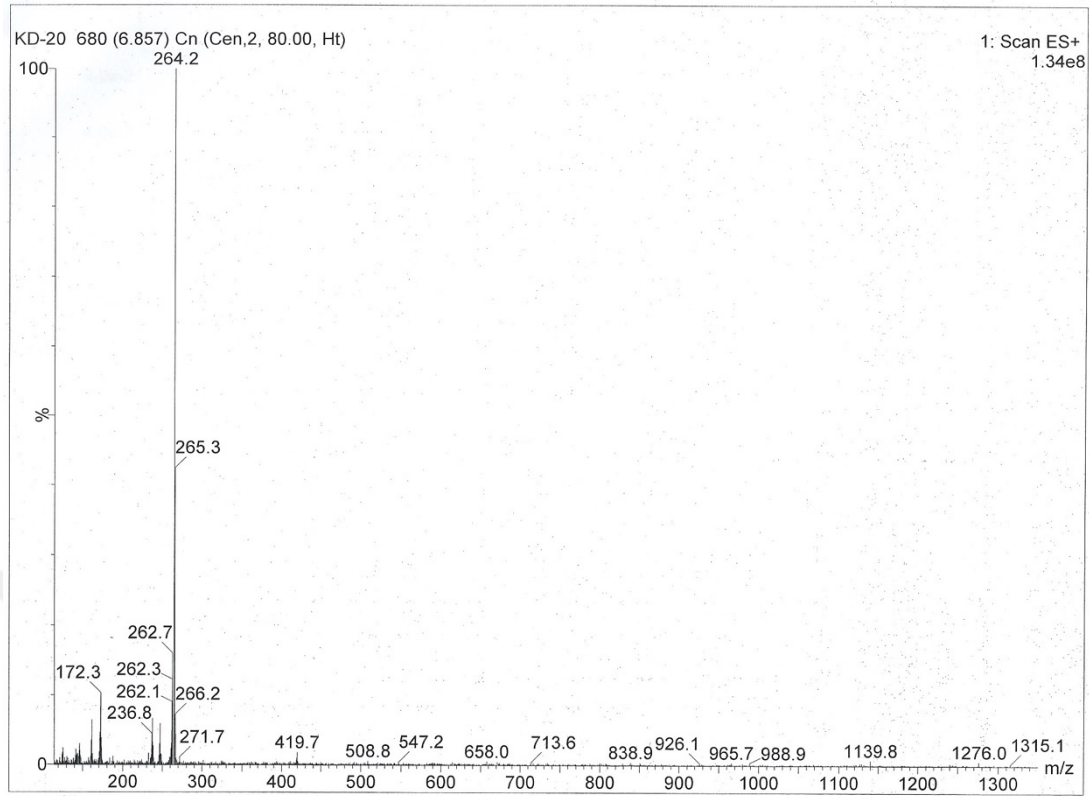
1.36 (3H, t, CH₃), 4.20 (2H, q, CH₂), 6.65 (1H, t, Ar-H), 7.01 (2H, d, J=7.6 Hz, Ar-H), 7.14-7.23 (4H, m, Ar-H), 7.48 (1H, d, J=8.4 Hz, Ar-H), 7.66 (1H, s, H-2), 8.07 (1H, s, azometin-CH), 8.24 (1H, d, J=8.0 Hz, Ar-H), 9.82 (1H, s, hidrazin- NH)

¹³C-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

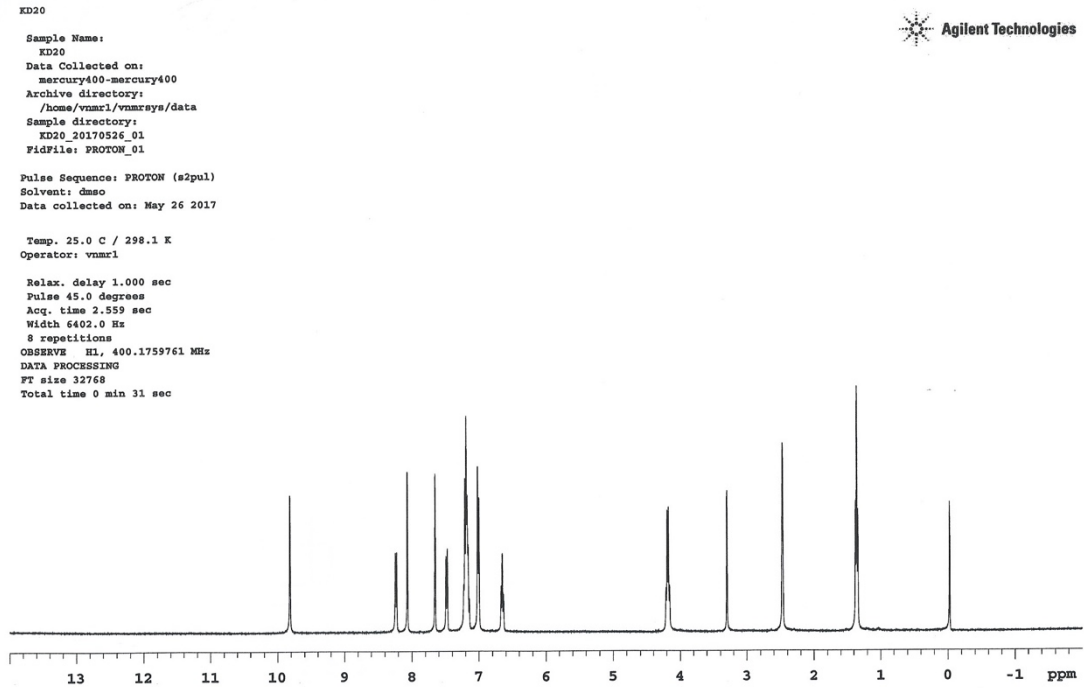
15.25, 40.38, 109.95, 111.33, 112.06, 117.48, 120.11, 121.84, 122.24, 124.73, 129.04, 129.46, 134.39, 136.45, 146.09

Kütle Spektrumu m/z (ESI):

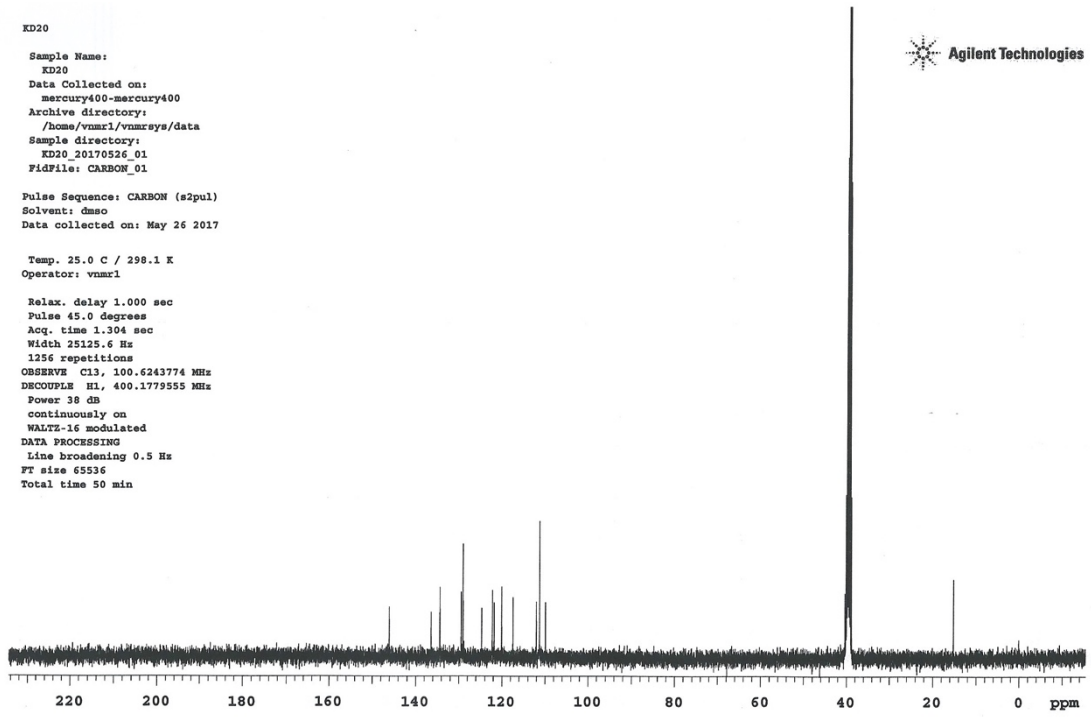
264 (M+1, %100)



Şekil 3.1 Bileşik C1'in kütle spektrumu

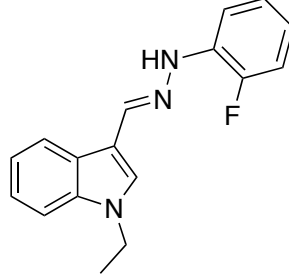


Şekil 3.2 Bileşik C1'in ¹H-NMR spektrumu



Şekil 3.3 Bileşik C1'in ^{13}C -NMR spektrumu

3.4.2. 1-Etil-3-((2-(2-florofenil)hidraziniliden)metil)-1*H*-indol (C2)



1 mmol (0.173 mg) Bileşik **B** ile 1.3 mmol (0.211 g) 2-fenil hidrazin hidroklorür kullanılarak **Bölüm 3.4** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı. % 83 verimle 232.3 mg madde elde edildi. E.n: 119-122 °C

Elemental Analiz: C₁₇H₁₆FN₃ - 0.5H₂O

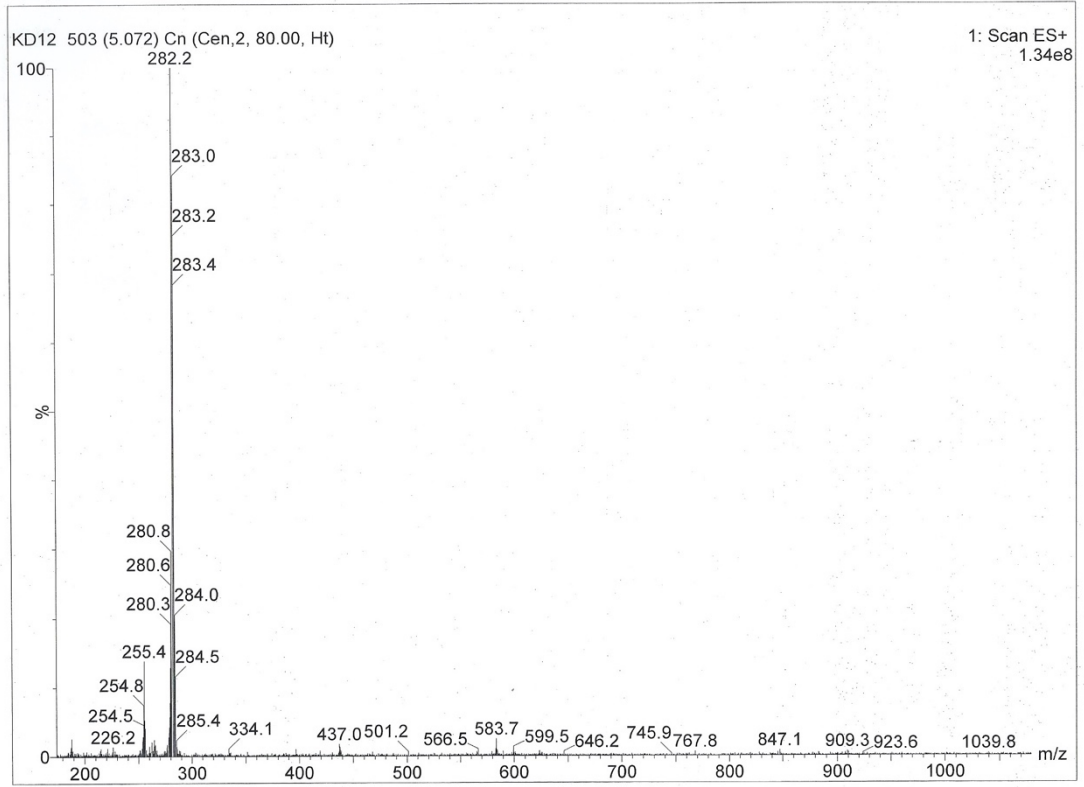
	% C	% H	% N
Hesaplanan	70.33	5.90	14.47
Analiz:	70.55	5.95	15.09

¹H-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

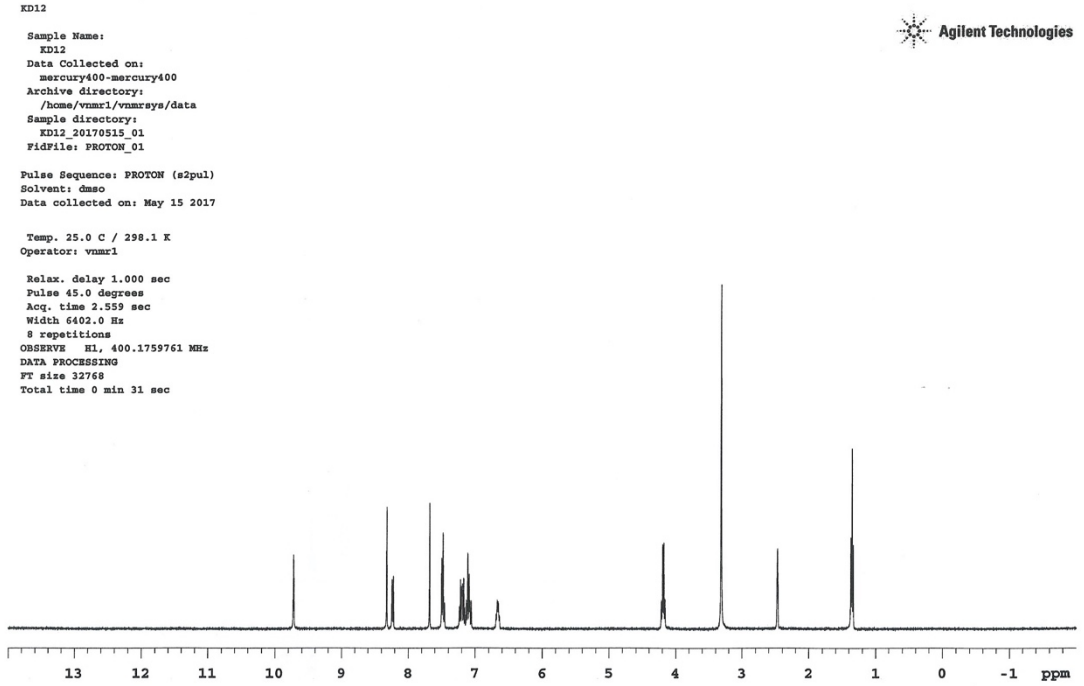
1.35 (3H, t, CH₃), 4.19 (2H, q, CH₂), 6.66-6.69 (1H, m, Ar-H), 7.06-7.24 (4H, m, Ar-H), 7.48 (2H, t, J=8.4 Hz, Ar-H), 7.68 (1H, s, H-2), 8.23 (1H, d, J=8.0 Hz, Ar-H), 8.32(1H, s, azometin-CH), 9.72 (1H, s, hidrazin-NH)

Kütle Spektrumu m/z (ESI):

282 (M+1, %100)

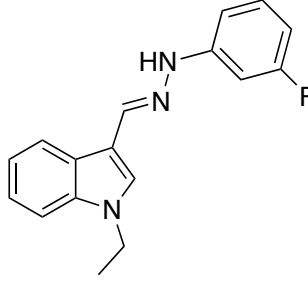


Şekil 3.4 Bileşik C2'nin kütle spektrumu



Şekil 3.5 Bileşik C2'nin ¹H-NMR spektrumu

3.4.3. 1-Etil-3-((2-(3-florofenil)hidraziniliden)metil)-1*H*-indol (C3)



1 mmol (0.173 mg) Bileşik **B** ile 1.3 mmol (0.211 g) 3-florofenil hidrazin hidroklorür kullanılarak **Bölüm 3.4.** de tanımlanan yönteme göre reaksiyon tamamlandı. % 72 verimle 202.7 mg madde elde edildi. E.n: 124-125 °C

Elemental Analiz: C₁₇H₁₆FN₃ - 0.5H₂O

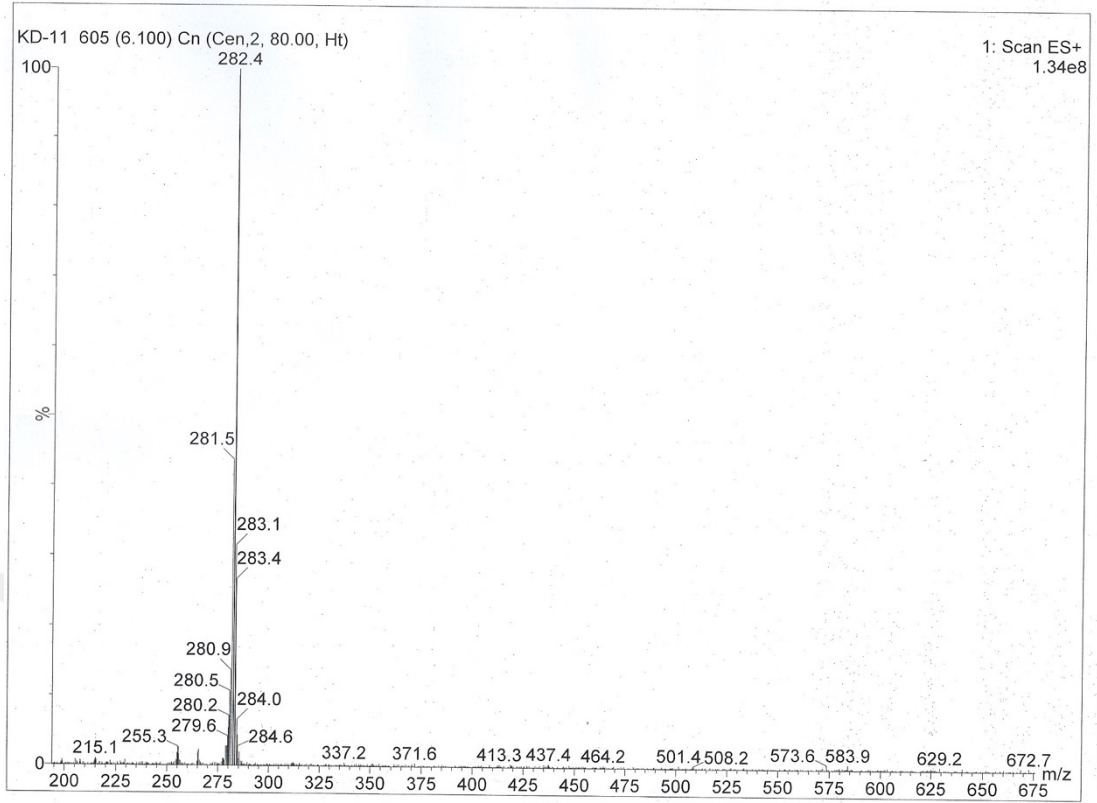
	% C	% H	% N
Hesaplanan	70.33	5.90	14.47
Analiz:	70.88	5.88	14.83

¹H-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

1.37 (3H, t, CH₃), 4.21 (2H, q, CH₂), 6.41- 6.46 (1H, m, Ar-H), 6.76- 6.80 (2H, m, Ar-H), 7.17- 7.25 (3H, m, Ar-H), 7.50 (1H, d, J= 7.6 Hz, Ar-H), 7.71 (1H, s, H-2), 8.09 (1H, s, azometin-CH), 8.20 (1H, dd, J₁= 7.6 Hz, J₂= 1.6 Hz, Ar-H), 10.09 (1H, s, hidrazin-NH)

Kütle Spektrumu m/z (ESI):

282 (M+1; %100)



Şekil 3.6 Bileşik C3'ün kütle spektrumu

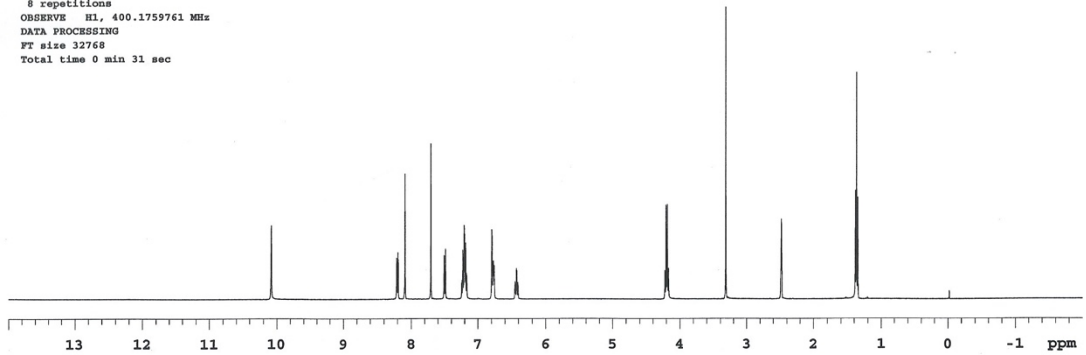
KD-11

Sample Name:
KD-11
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vmarsys/data
Sample directory:
KD-11_20170417_01
FidFile: PROTON_02



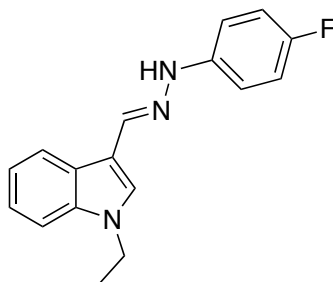
Pulse Sequence: PROTON (s2pul)
Solvent: dmsc
Data collected on: Apr 17 2017

Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: vnmr1
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 2.559 sec
Width 6402.0 Hz
8 repetitions
OBSERVE H1, 400.1759761 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 0 min 31 sec



Şekil 3.7 Bileşik C3'ün ¹H-NMR spektrumu

3.4.4. 1-Etil-3-((2-(4-florofenil)hidraziniliden)metil)-1*H*-indol (C4)



1 mmol (0.173 mg) Bileşik **B** ile 1.3 mmol (0.211 g) 4-florofenil hidrazin hidroklorür kullanılarak **Bölüm 3.4.** de tanımlanan yönteme göre reaksiyon tamamlandı. % 73 verimle 205.1 mg madde elde edildi. E.n: 105-107  C

Elemental Analiz: C₁₇H₁₆FN₃ -0.5H₂O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	70.33	5.90	14.47
Analiz:	70.62	5.90	13.36

¹H-NMR Spektrumu (d₆- DMSO)  ppm

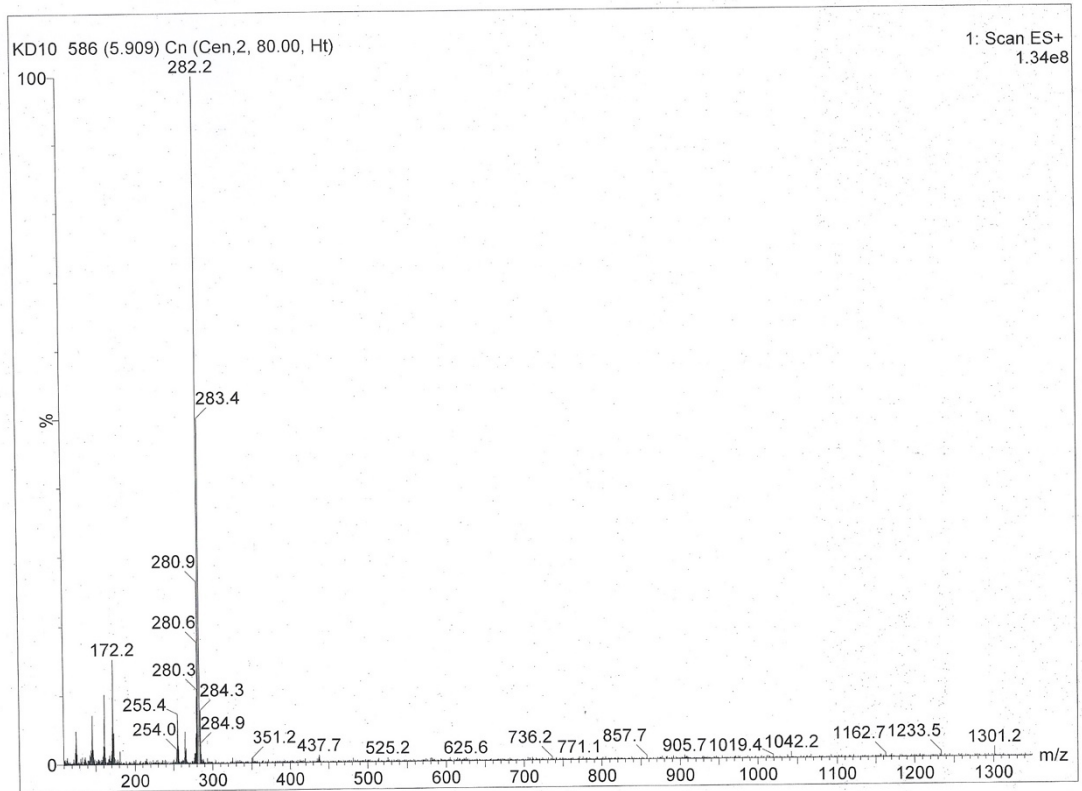
1.37 (3H, t, CH₃), 4.18 (2H, q, CH₂), 7.01- 7.06 (4H, m, Ar-H), 7.14- 7.23 (2H, m, Ar-H), 7.47 (1H, d, J= 7.6 Hz, Ar-H), 7.63 (1H, s, H-2), 8.08 (1H, s, azometin-CH), 8.22 (1H, d, J=7.6 Hz, Ar-H), 9.70 (1H, s, hidrazin-NH)

¹³C-NMR Spektrumu (d₆- DMSO)  ppm

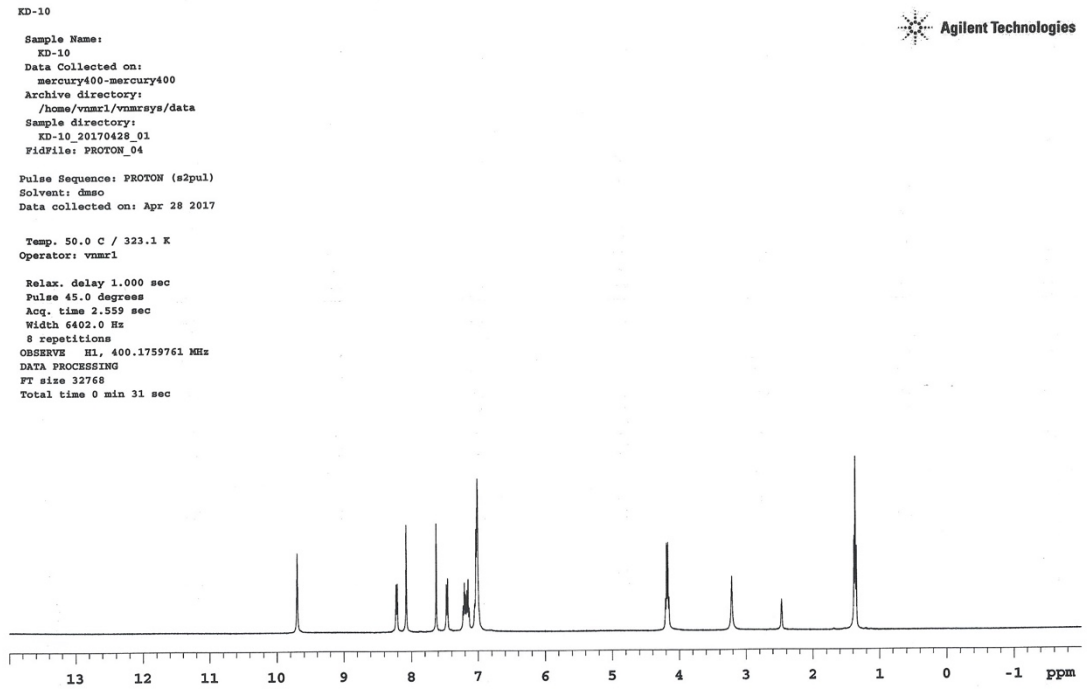
15.11, 40.31, 109.85, 111.95, 112.34, 115.23, 115.51, 120.03, 121.70, 122.16, 124.69, 129.38, 134.55, 136.42, 142.84, 154.00, 156.31

K tle Spektrumu m/z (ESI):

282 (M+1, %100)



Şekil 3.8 Bileşik C4'ün kütle spektrumu



Şekil 3.9 Bileşik C4'ün ¹H-NMR spektrumu

KD-10

Sample Name:

KD-10

Data Collected on:

mercury400-mercury400

Archive directory:

/home/vnmr1/vnmrsys/data

Sample directory:

KD-10_20170428_01

FidFile: CARBON_01

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)

Solvent: dmsc

Data collected on: Apr 28 2017

Temp. 37.0 C / 310.1 K

Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.550 sec

Width 21141.6 Hz

1000 repetitions

OBSERVE C13, 100.6243846 MHz

DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz

Power 38 dB

continuously on

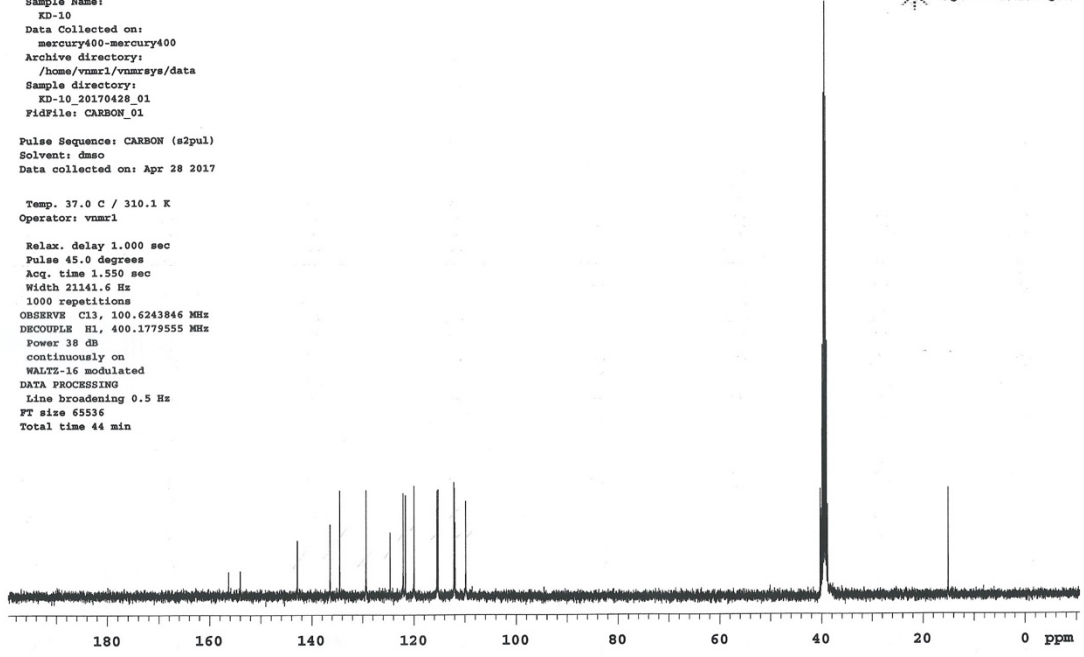
WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 0.5 Hz

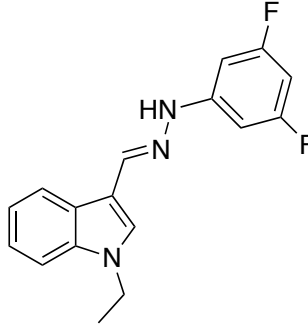
FT size 65536

Total time 44 min



Şekil 3.10 Bileşik C4'ün ^{13}C -NMR spektrumu

3.4.5. 1-Etil-3-((2-(3,5-diflorofenil)hidraziniliden)metil)-1*H*-indol (C5)



1 mmol (0.173 mg) Bileşik **B** ile 1.3 mmol (0.235 g) 3,5-diflorofenil hidrazin hidroklorür kullanılarak **Bölüm 3.4.** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı. % 83 verimle 249.3 mg madde elde edildi. E.n: 128- 130 °C

Elemental Analiz: C₁₇H₁₅F₂N₃

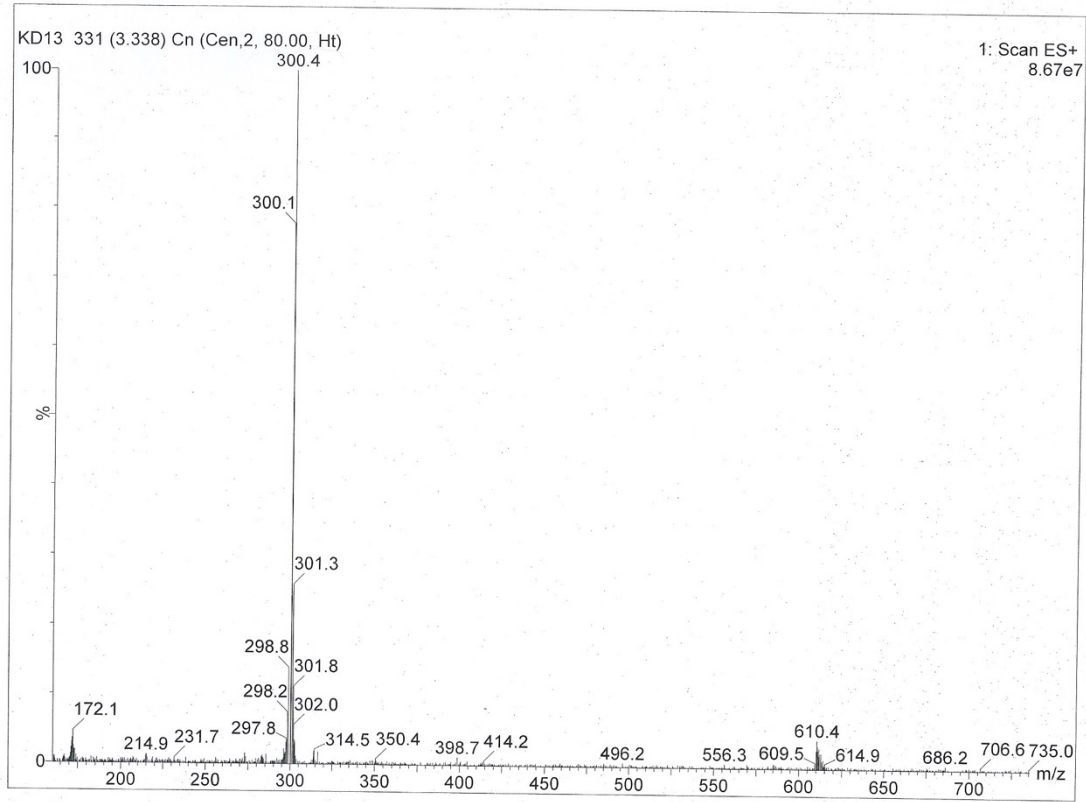
	% C	% H	% N
Hesaplanan	68.22	5.05	14.04
Analiz:	67.85	5.56	14.05

¹H-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

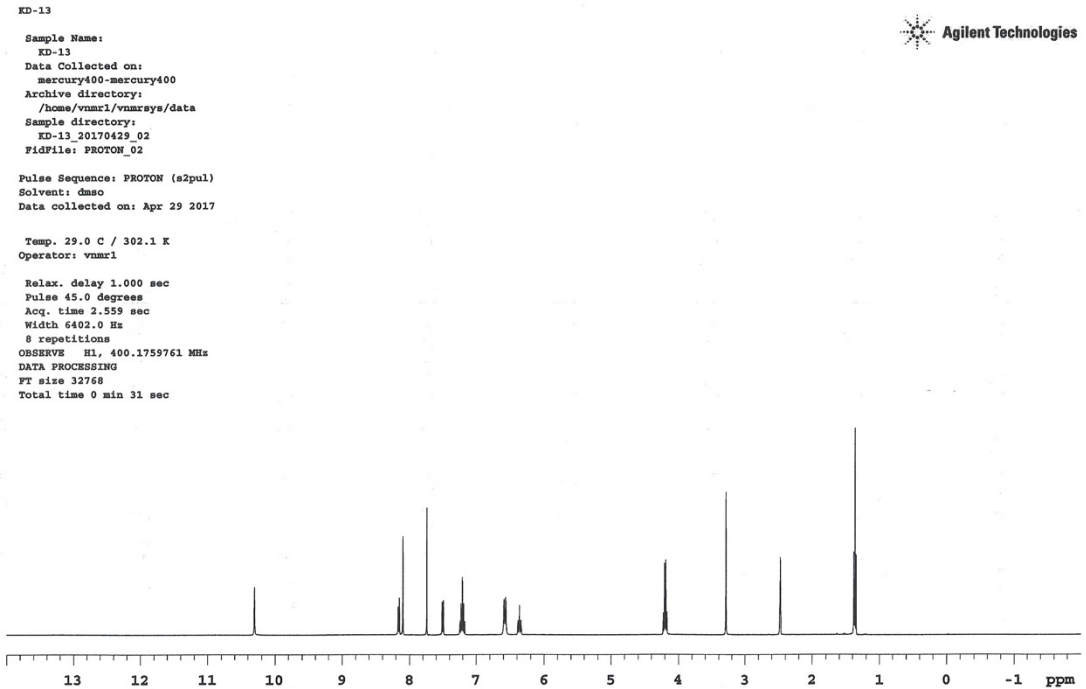
1.37 (3H, t, CH₃), 4.21 (2H, q, CH₂), 6.37 (1H, tt, J₁=9.2 Hz, J₂=2.0 Hz, Ar-H), 6.58 (2H, dd, J_{ab}= 10.4 Hz, J_{bc}= 2.0 Hz, Ar-H), 7.21 (2H, pd, J_{ab}=7.6 Hz, J_{bc}= 1.6 Hz, Ar-H), 7.50 (1H, dd, J₁=6.4 Hz, J₂= 0.8 Hz, Ar-H), 7.74 (1H, s, H-2), 8.10- 8.17 (2H, m, azometin-CH), 10.31 (1H, s, hidrazin-NH)

Kütle Spektrumu m/z (ESI):

300 (M+1, %100)

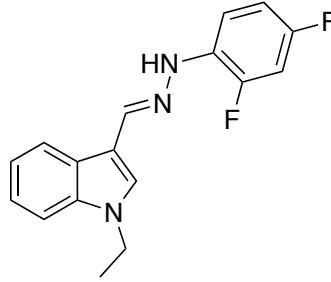


Şekil 3.11 Bileşik C5'in kütle spektrumu



Şekil 3.12 Bileşik C5'in ¹H-NMR spektrumu

3.4.6. 1-Etil-3-((2-(2,4-diflorofenil)hidraziniliden)metil)-1*H*-indol (C6)



1 mmol (0.173 mg) Bileşik **B** ile 1.3 mmol (0.235 g) 2,4-diflorofenil hidrazin hidroklorür kullanılarak **Bölüm 3.4.** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı. % 89 verimle 266.1 mg madde elde edildi. E.n: 97- 100 °C

Elemental Analiz: C₁₇H₁₅F₂N₃ – 0.25H₂O

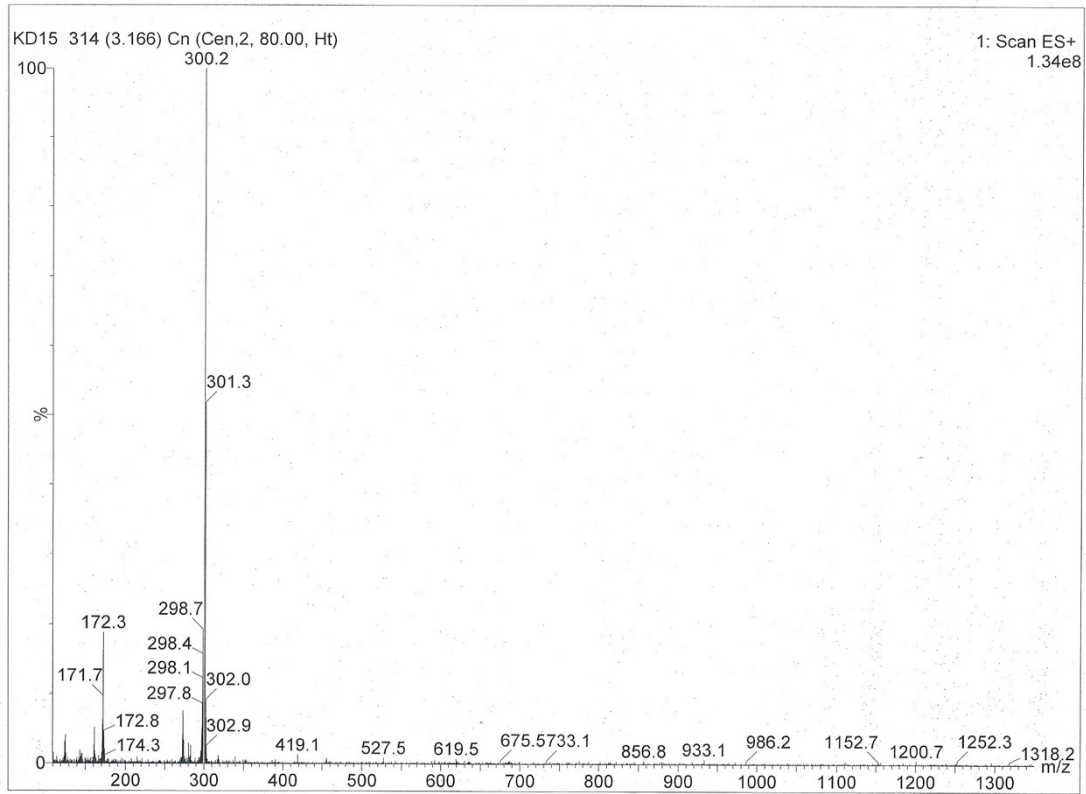
	% C	% H	% N
Hesaplanan	67.20	5.14	13.83
Analiz:	67.04	5.13	14.23

¹H-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

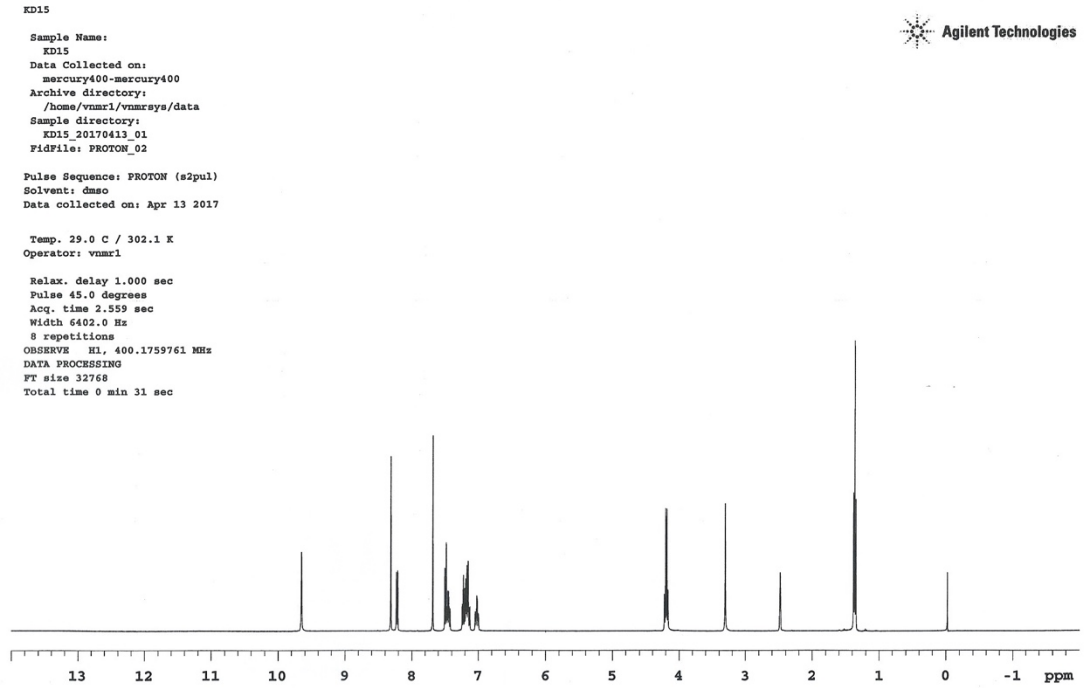
1.37 (3H, t, CH₃), 4.20 (2H, q, CH₂), 7.00- 7.05 (1H, m, Ar-H), 7.13- 7.25 (3H, m, Ar-H), 7.42- 7.50 (2H, m, Ar-H), 7.69 (1H, s, H-2), 8.22 (1H, d, J= 7.2 Hz, Ar-H), 8.32 (1H, s, azometin-CH), 9.65 (1H, s, hidrazin-NH)

Kütle Spektrumu m/z (ESI):

300 (M+1, %100)

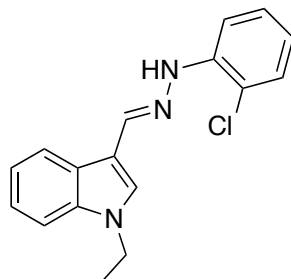


Şekil 3.13 Bileşik C6'nın kütle spektrumu



Şekil 3.14 Bileşik C6'nın ¹H-NMR spektrumu

3.4.7. 1-Etil-3-((2-(2-klorofenil)hidraziniliden)metil)-1*H*-indol (C7)



1 mmol (0.173 mg) Bileşik **B** ile 1.3 mmol (0.233 g) 2-klorofenil hidrazin hidroklorür kullanılarak **Bölüm 3.4.** de tanımlanan yönteme göre reaksiyon tamamlandı. % 53 verimle 156.4 mg madde elde edildi. E.n: 123-124 °C

Elemental Analiz: C₁₇H₁₆ClN₃

	% C	% H	% N
Hesaplanan	68.75	5.42	14.11
Analiz:	68.42	5.83	14.15

¹H-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

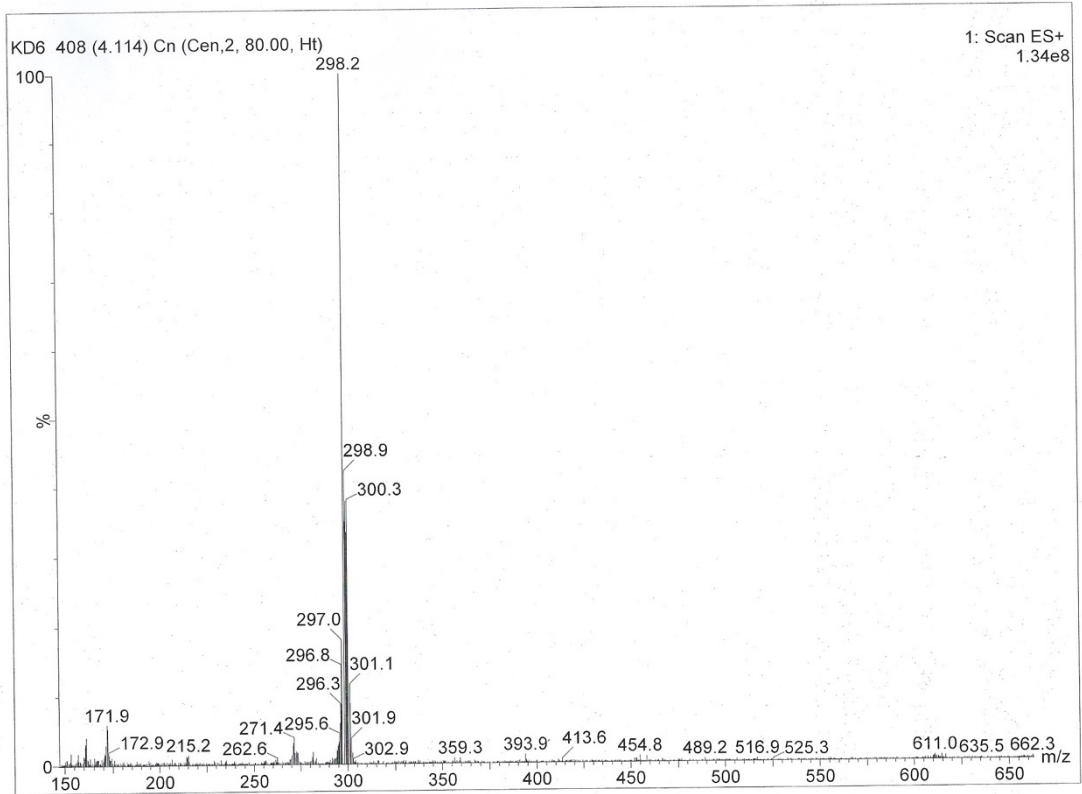
1.38 (3H, t, CH₃), 4.21 (2H, q, CH₂), 6.72 (1H, td, J₁=7.6 Hz, J₂ = 1.6 Hz, Ar-H), 7.17-7.30 (4H, m, Ar-H), 7.49- 7.55 (2H, m, Ar-H), 7.70 (1H, s, H-2), 8.23 (1H, d, J= 7.6 Hz, Ar-H), 8.46 (1H, s, azometin-CH), 9.34 (1H, s, hidrazin-NH)

¹³C-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

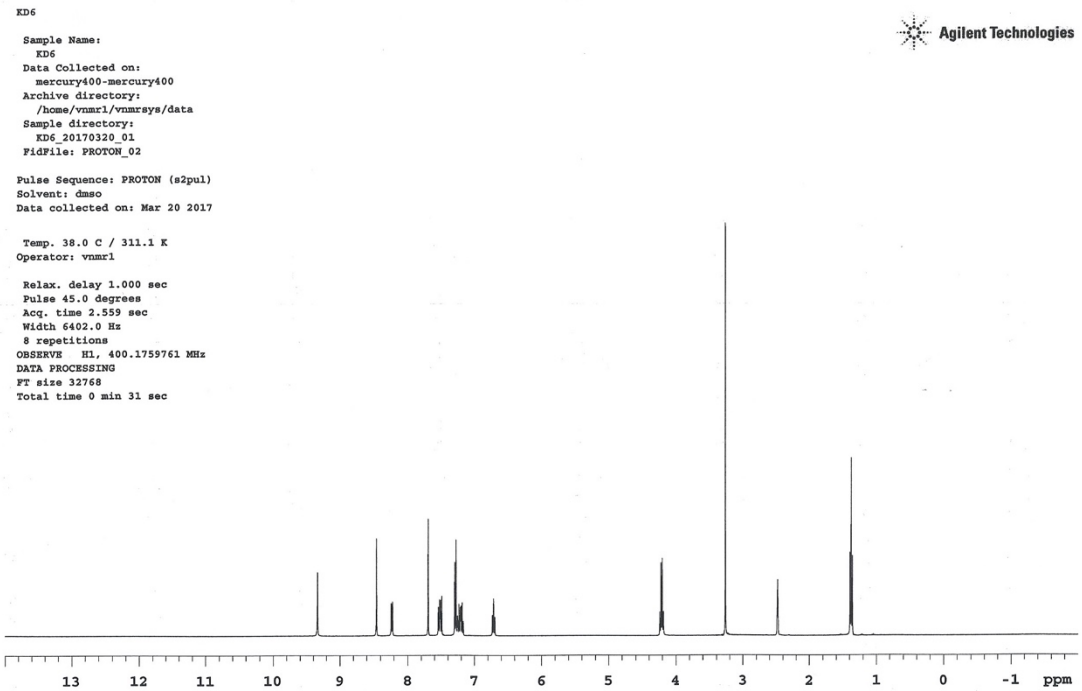
24.82, 50.08, 119.66, 121.33, 122.84, 125.22, 127.96, 129.95, 131.35, 131.96, 134.39, 137.66, 138.78, 139.90, 146.15, 147.89, 151.64

Kütle Spektrumu m/z (ESI):

298 (M⁺, %100), 300 (M+2)



Şekil 3.15 Bileşik C7'nin kütle spektrumu



Şekil 3.16 Bileşik C7'nin ¹H-NMR spektrumu

KD6

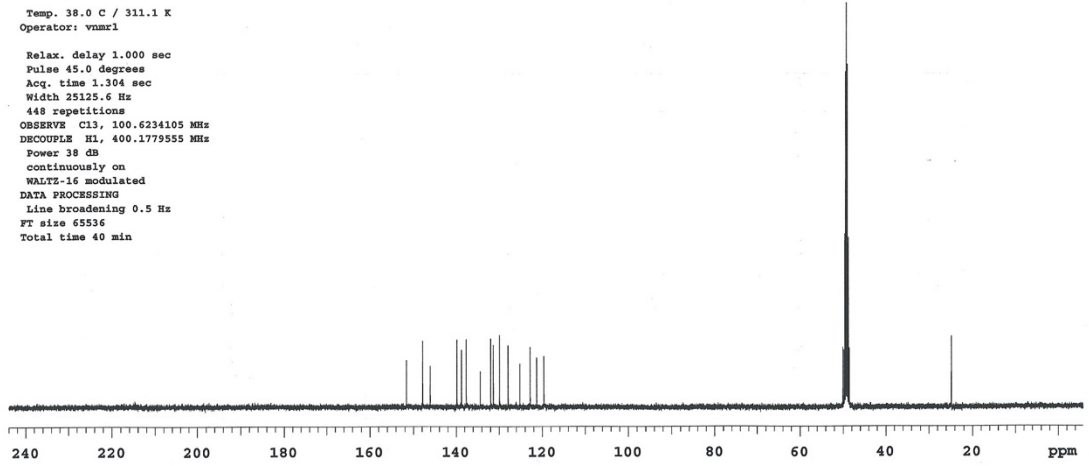


Sample Name:
KD6
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory:
KD6_20170320_01
FidFile: current

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsc
Data collected on: Mar 20 2017

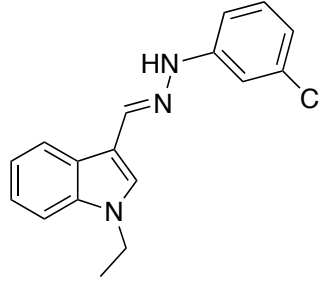
Temp. 38.0 C / 311.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.304 sec
Width 25125.6 Hz
440 repetitions
OBSERVE C13, 100.6234105 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 40 min



Şekil 3.17 Bileşik C7'nin ^{13}C -NMR spektrumu

3.4.8. 1-Etil-3-((2-(3-klorofenil)hidraziniliden)metil)-1*H*-indol (C8)



1 mmol (0.173 mg) Bileşik **B** ile 1.3 mmol (0.233 g) 3-klorofenil hidrazin hidroklorür kullanılarak **Bölüm 3.4.** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı. % 36 verimle 107.4 mg madde elde edildi. E.n: 112-115 °C

Elemental Analiz: C₁₇H₁₆ClN₃

	% C	% H	% N
Hesaplanan	68.75	5.42	14.11
Analiz:	67.16	5.42	14.04

¹H-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

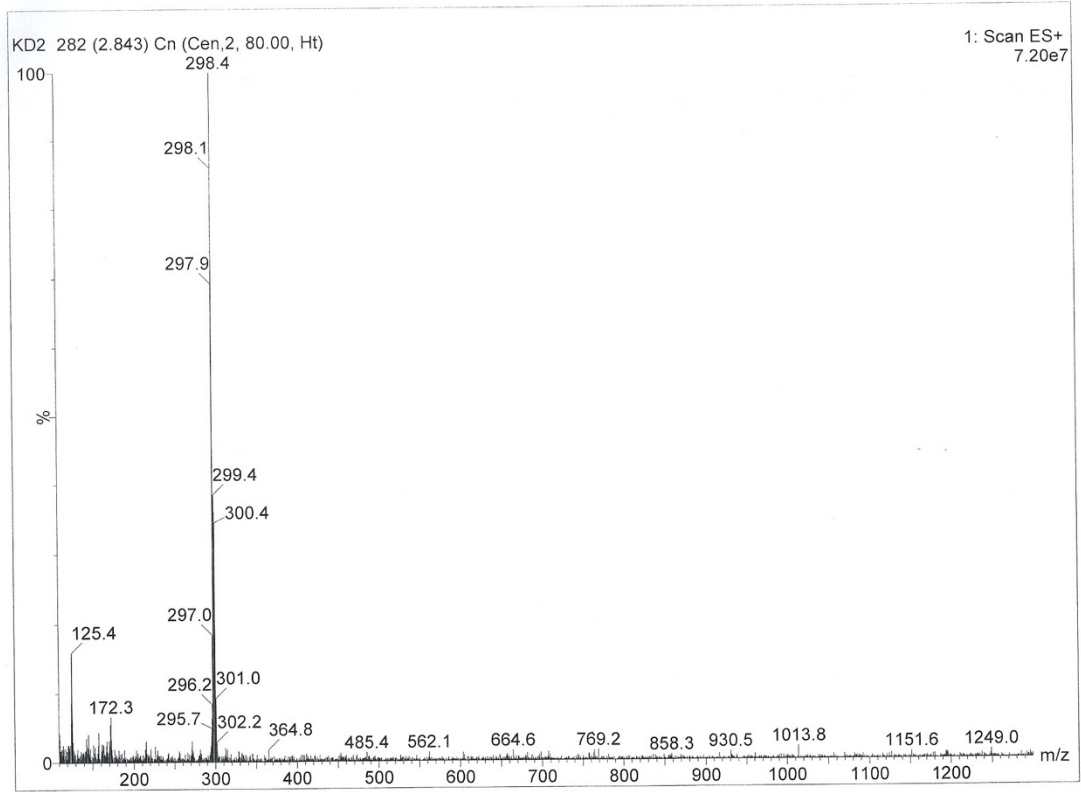
1.38 (3H, t, CH₃), 4.21 (2H, q, CH₂), 6.69 (1H, dd, J₁= 7.6 Hz, J₂=1.2 Hz, Ar-H), 6.95-7.04 (2H, m, Ar-H), 7.19-7.26 (3H, m, Ar-H), 7.52 (1H, d, J= 7.6 Hz, Ar-H), 7.73 (1H, s, H-2), 8.12 (1H, s, azometin-CH), 8.22 (1H, d, J= 6.8 Hz, Ar-H), 10.09 (1H, s, hidrazin-NH)

¹³C-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

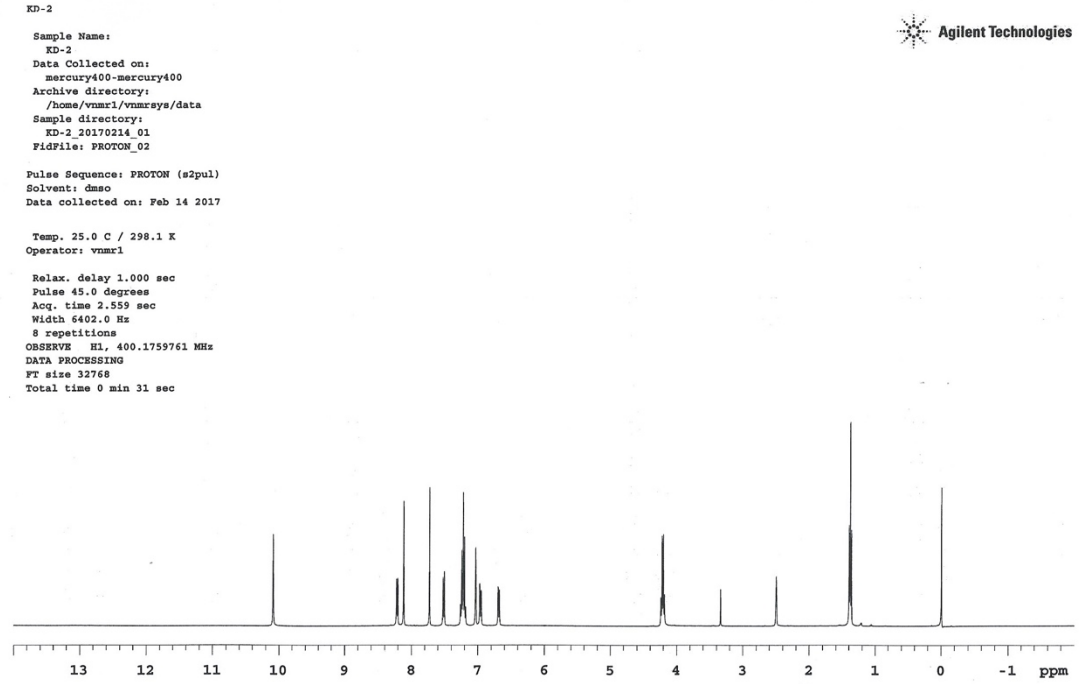
15.16, 40.37, 109.43, 109.97, 110.45, 111.60, 116.73, 120.23, 121.56, 122.28, 124.62, 130.05, 130.61, 133.69, 135.77, 136.42, 147.39

Kütle Spektrumu m/z (ESI):

298 (M⁺, %100), 300 (M+2)



Şekil 3.18 Bileşik C8'in kütle spektrumu



Şekil 3.19 Bileşik C8'in ¹H-NMR spektrumu

KD-2

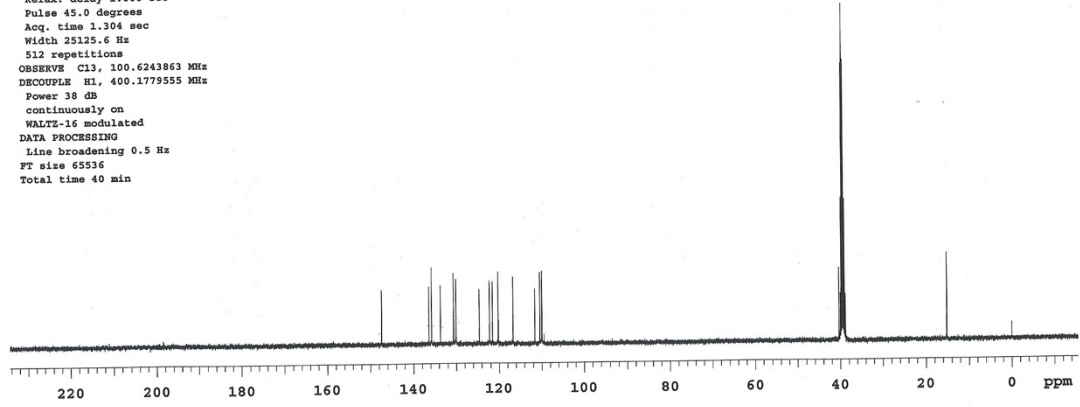


Sample Name:
KD-2
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory:
KD-2_20170214_01
FidFile: current

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsc
Data collected on: Feb 14 2017

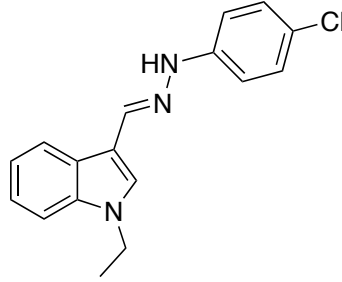
Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.304 sec
Width 25125.6 Hz
512 repetitions
OBSERVE C13, 100.6243863 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 40 min



Şekil 3.20 Bileşik C8'in ^{13}C -NMR spektrumu

3.4.9. 1-Etil-3-((2-(4-klorofenil)hidraziniliden)metil)-1*H*-indol (C9)



1 mmol (0.173 mg) Bileşik **B** ile 1.3 mmol (0.233 g) 4-klorofenil hidrazin hidroklorür kullanılarak **Bölüm 3.4.** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı. % 64 verimle 190.9 mg madde elde edildi. E.n: 136-138 °C

Elemental Analiz: C₁₇H₁₆ClN₃ – 0.25H₂O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	67.55	5.50	13.90
Analiz:	67.24	5.68	13.64

¹H-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

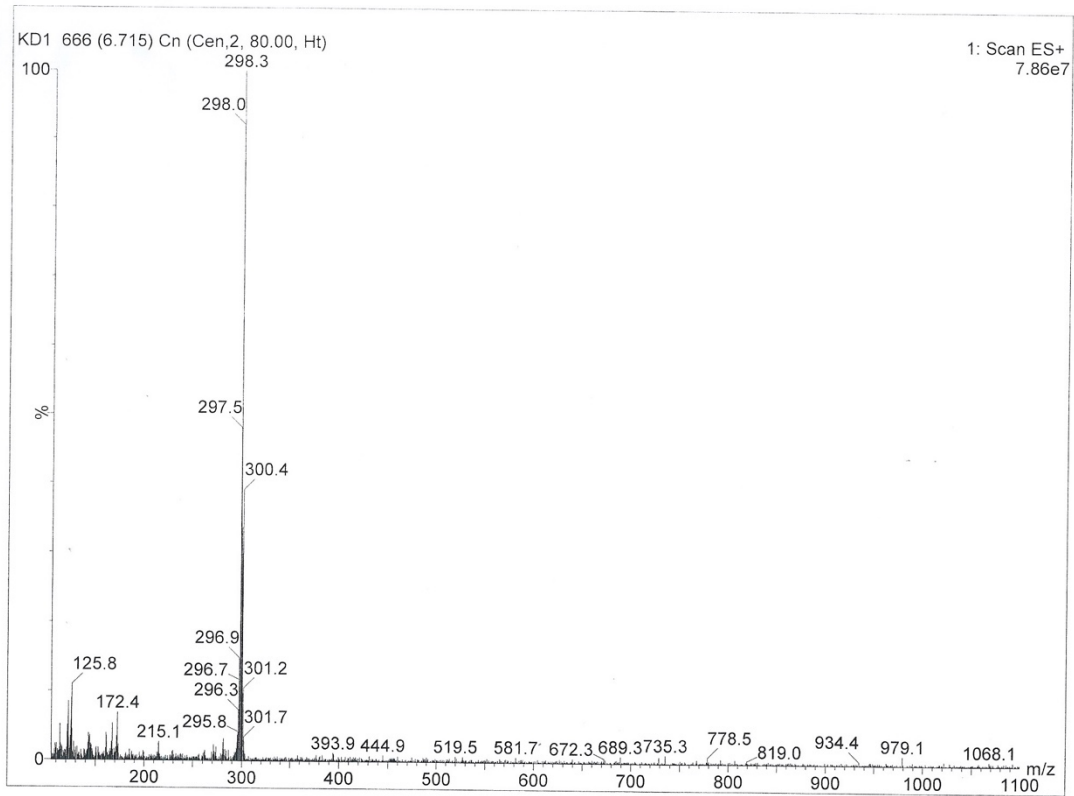
1.38 (3H, t, CH₃), 4.20 (2H, q, CH₂), 7.03 (2H, d, J=8.4 Hz, Ar-H), 7.16-7.24 (4H, m, Ar-H), 7.50 (1H, d, J=8.0 Hz, Ar-H), 7.68 (1H, s, H-2), 8.10 (1H, s, azometin-CH), 8.22 (1H, d, J=7.6 Hz, Ar-H), 9.95 (1H, s, hidrazin-NH)

¹³C-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

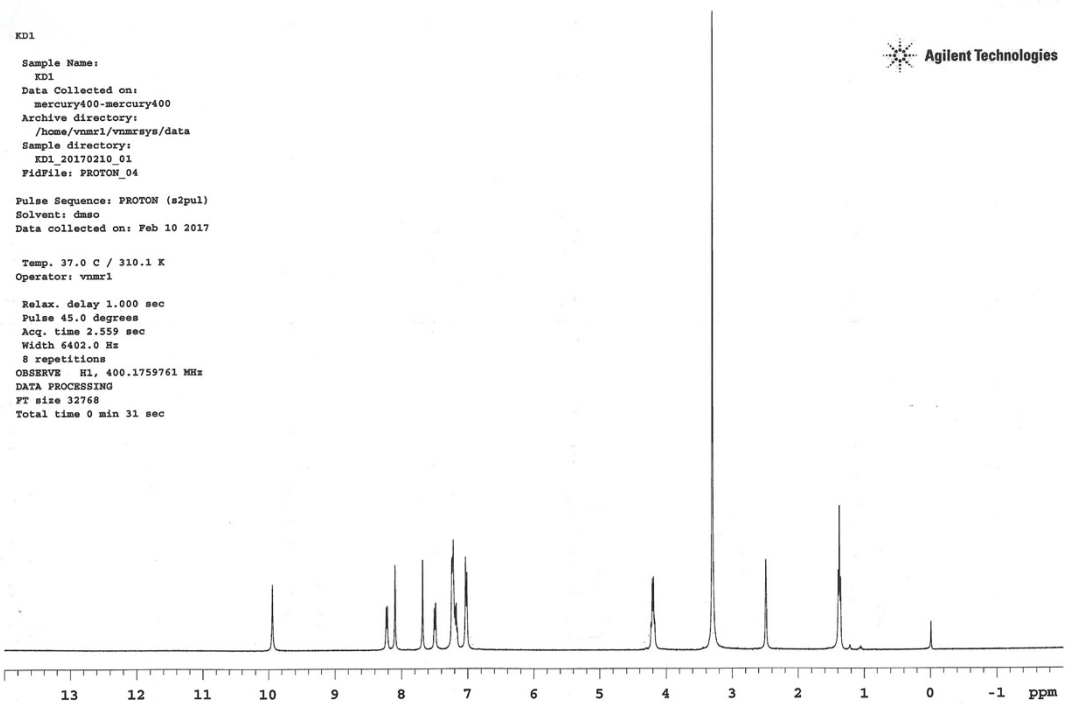
15.12, 40.36, 109.92, 111.79, 112.68, 120.14, 120.56, 121.71, 122.24, 124.68, 128.75, 129.73, 135.255, 136.44, 144. 94

Kütle Spektrumu m/z (ESI):

298 (M⁺, %100), 300 (M+2)



Şekil 3.21 Bileşik C9'un kütle spektrumu



Şekil 3.22 Bileşik C9'un ¹H-NMR spektrumu

KD1

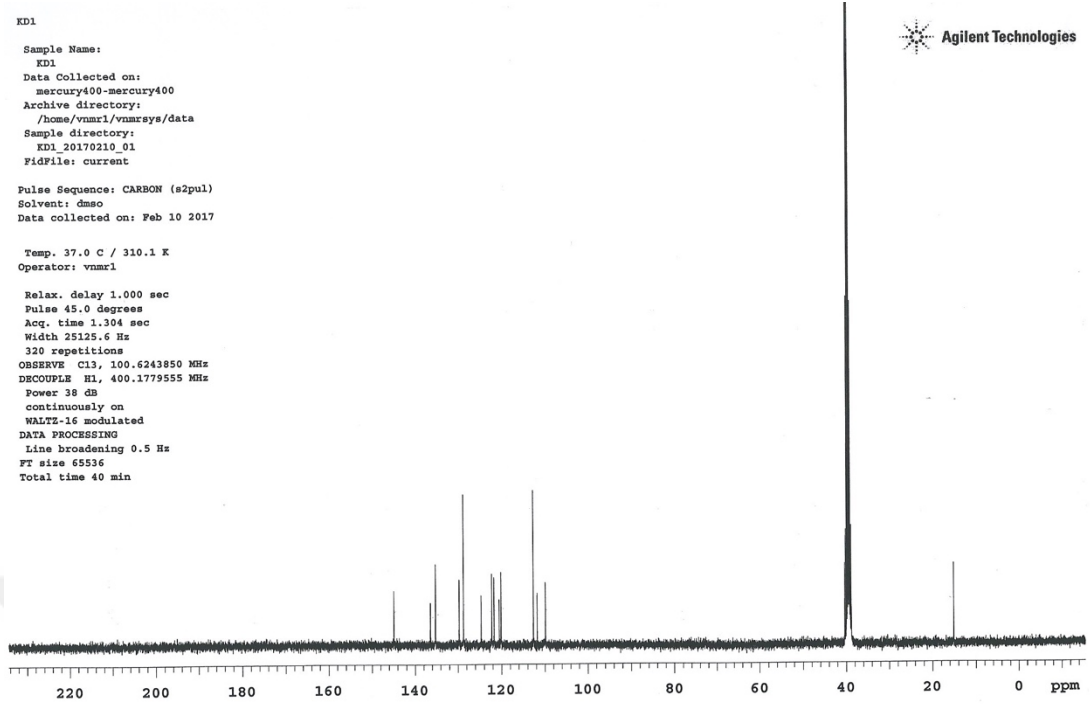
Sample Name:
KD1

Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory:
KD1_20170210_01
FidFile: current

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsd
Data collected on: Feb 10 2017

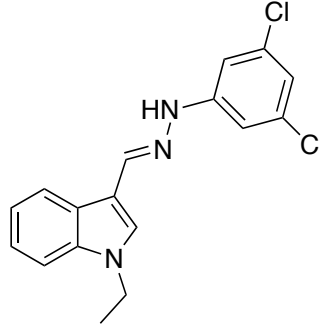
Temp. 37.0 C / 310.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.304 sec
Width 25125.6 Hz
320 repetitions
OBSERVE C13, 100.6243850 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 40 min



Şekil 3.23 Bileşik C9'un ^{13}C -NMR spektrumu

3.4.10. 1-Etil-3-((2-(3,5-diklorofenil)hidraziniliden)metil)-1*H*-indol (C10)



1 mmol (0.173 mg) Bileşik **B** ile 1.3 mmol (0.278 g) 3,5-diklorofenil hidrazin hidroklorür kullanılarak **Bölüm 3.4.** de tanımlanan yönteme göre reaksiyon tamamlandı. % 74 verimle 245.2 mg madde elde edildi. E.n: 167-168 °C

Elemental Analiz: C₁₇H₁₅Cl₂N₃ – 0.25H₂O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	60.64	4.64	12.48
Analiz:	60.49	4.67	12.84

¹H-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

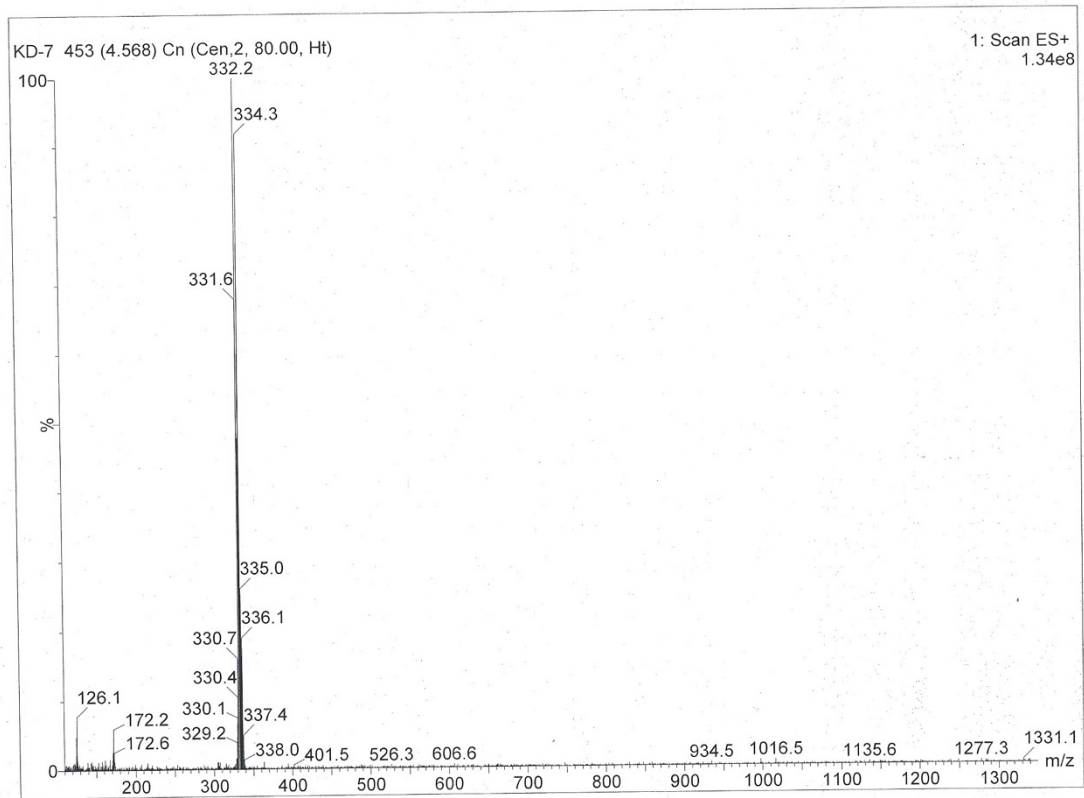
1.38 (3H, t, CH₃), 4.20 (2H, q, CH₂), 6.75 (1H, s, Ar-H), 6.94 (2H, s, Ar-H), 7.21 (2H, p, J= 7.2, Ar-H), 7.51 (1H, d, J= 7.2 Hz, Ar-H), 7.76 (1H, s, H-2), 8.11-8.15 (2H, m, azometin-CH), 10.30 (1H, s, hidrazin-NH)

¹³C-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

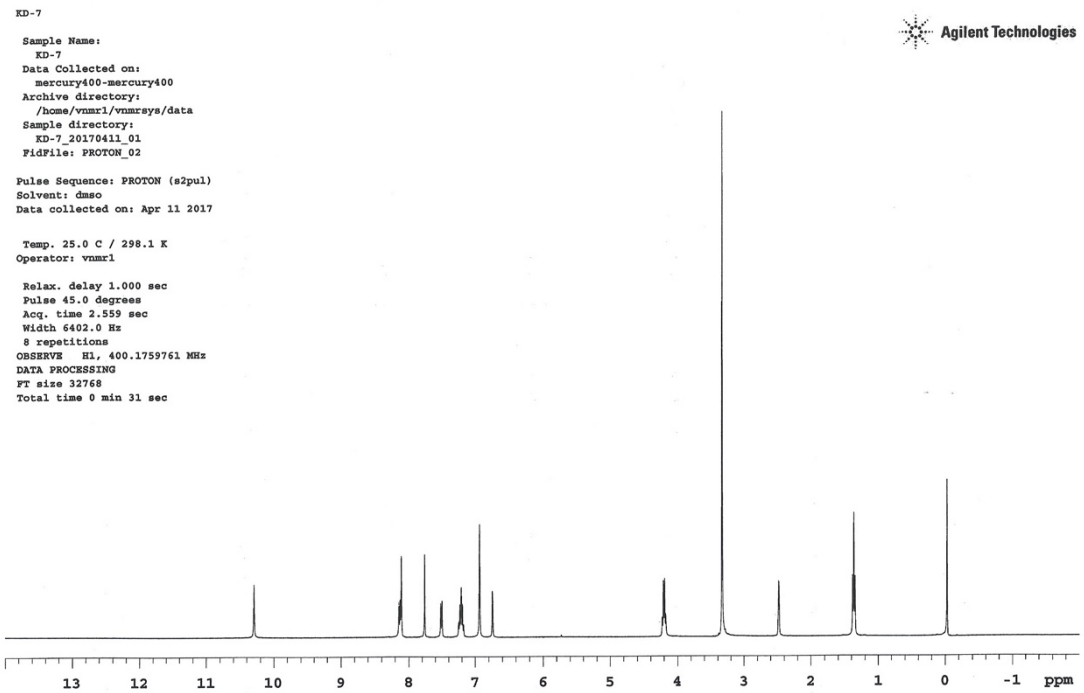
15.16, 40.44, 109.30, 110.13, 111.22, 115.87, 120.41, 121.37, 122.38, 124.57, 130.68, 134.53, 136.45, 137.18, 147.98

Kütle Spektrumu m/z (ESI):

332 (M⁺, %100), 334 (M+2), 336 (M+4)



Şekil 3.24 Bileşik C10'un kütle spektrumu



Şekil 3.25 Bileşik C10'un ¹H-NMR spektrumu

KD-7

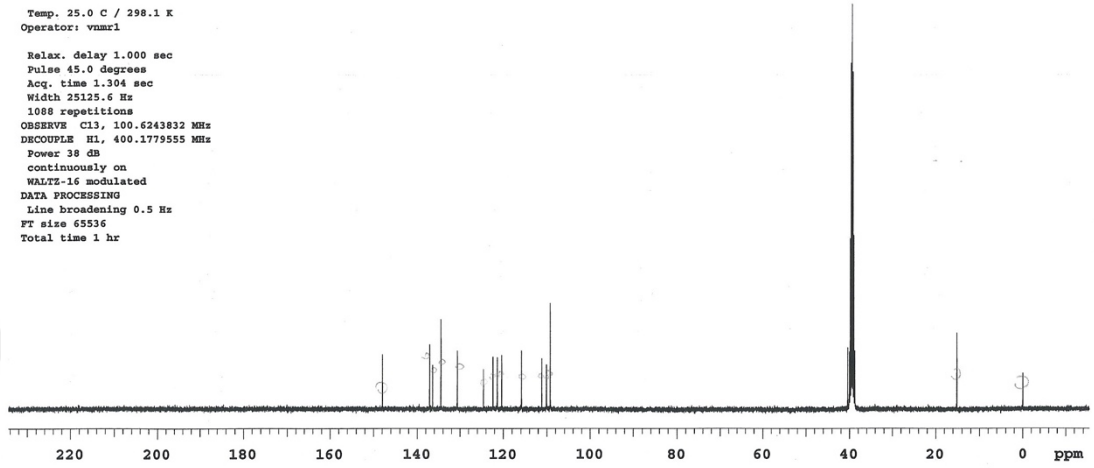


Sample Name:
KD-7
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory:
KD-7_20170411_01
FidFile: current

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsd
Data collected on: Apr 11 2017

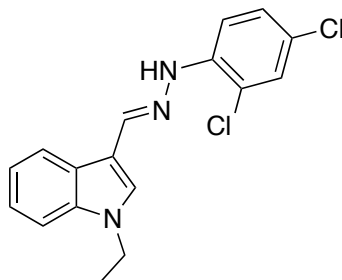
Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.304 sec
Width 25125.6 Hz
1088 repetitions
OBSERVE C13, 100.6243832 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 1 hr



Şekil 3.26 Bileşik C10'un ^{13}C -NMR spektrumu

3.4.11. 1-Etil-3-((2-(2,4-diklorofenil)hidraziniliden)metil)-1*H*-indol (C11)



1 mmol (0.173 mg) Bileşik **B** ile 1.3 mmol (0.278 g) 2,4-diklorofenil hidrazin hidroklorür kullanılarak **Bölüm 3.4.** de tanımlanan yönteme göre reaksiyon tamamlandı. % 53 verimle 176.4 mg madde elde edildi. E.n: 152-153 °C

Elemental Analiz: C₁₇H₁₅Cl₂N₃

	% C	% H	% N
Hesaplanan	61.46	4.55	12.65
Analiz:	59.86	4.71	12.70

¹H-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

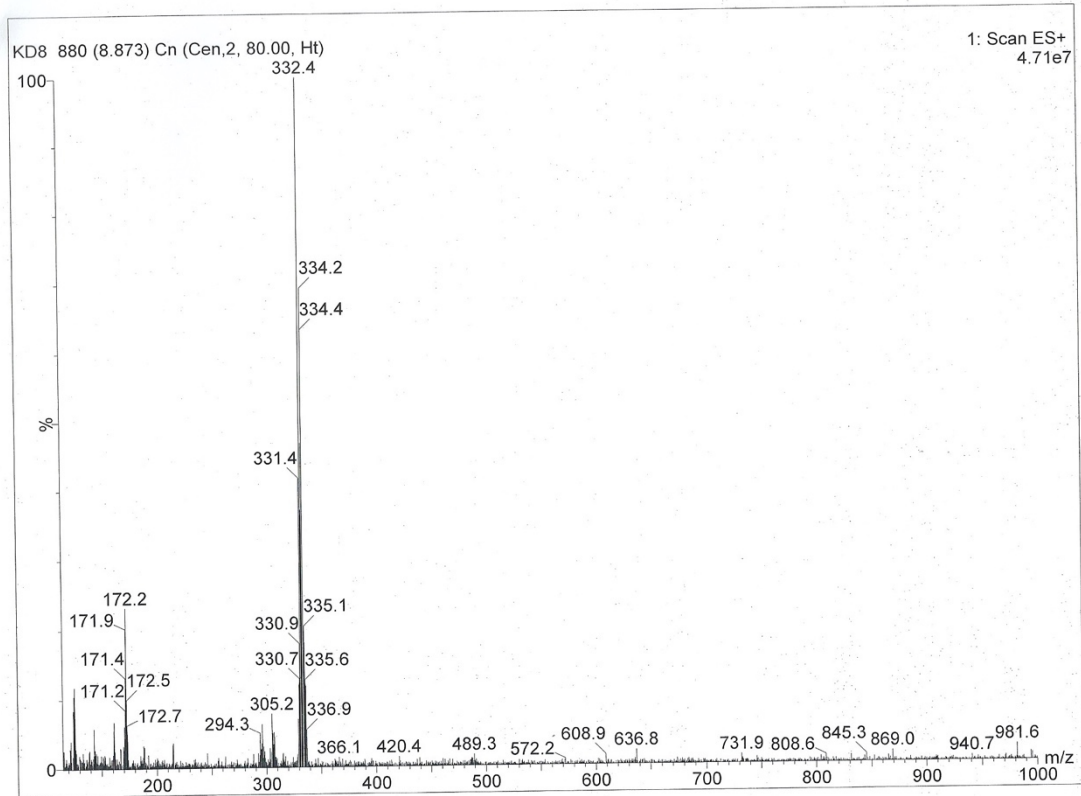
1.37 (3H, t, CH₃), 4.21 (2H, q, CH₂), 7.17-7.25 (2H, m, Ar-H), 7.33 (1H, dd, J₁=9.2 Hz, J₂= 2.4 Hz, Ar-H), 7.40-7.41 (1H, m, Ar-H), 7.51 (2H, d, J= 8.4 Hz, Ar-H), 7.73 (1H, s, H-2), 8.20 (1H, d, J= 7.6 Hz, Ar-H), 8.48 (1H, s, azometin-CH), 9.54 (1H, s, hidrazin-NH)

¹³C-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

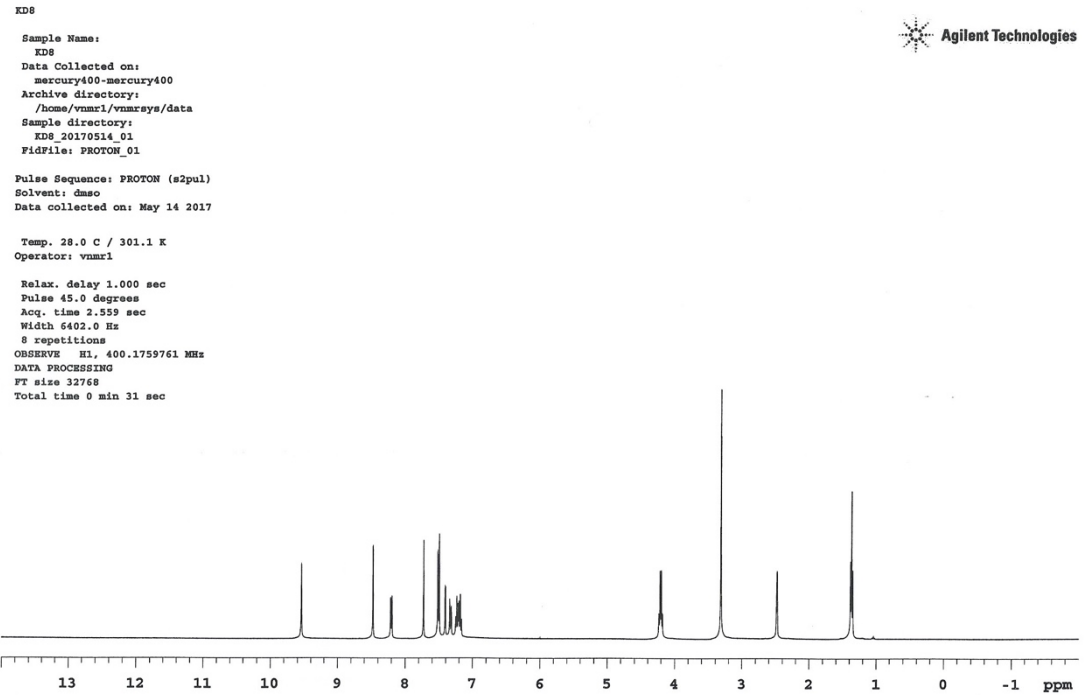
15.22, 40.48, 110.10, 111.47, 114.07, 115.94, 120.41, 120.72, 121.72, 122.39, 124.65, 128.07, 128.39, 130.70, 136.51, 139.03, 141.15

Kütle Spektrumu m/z (ESI):

332 (M⁺, %100), 334 (M+2), 336 (M+4)

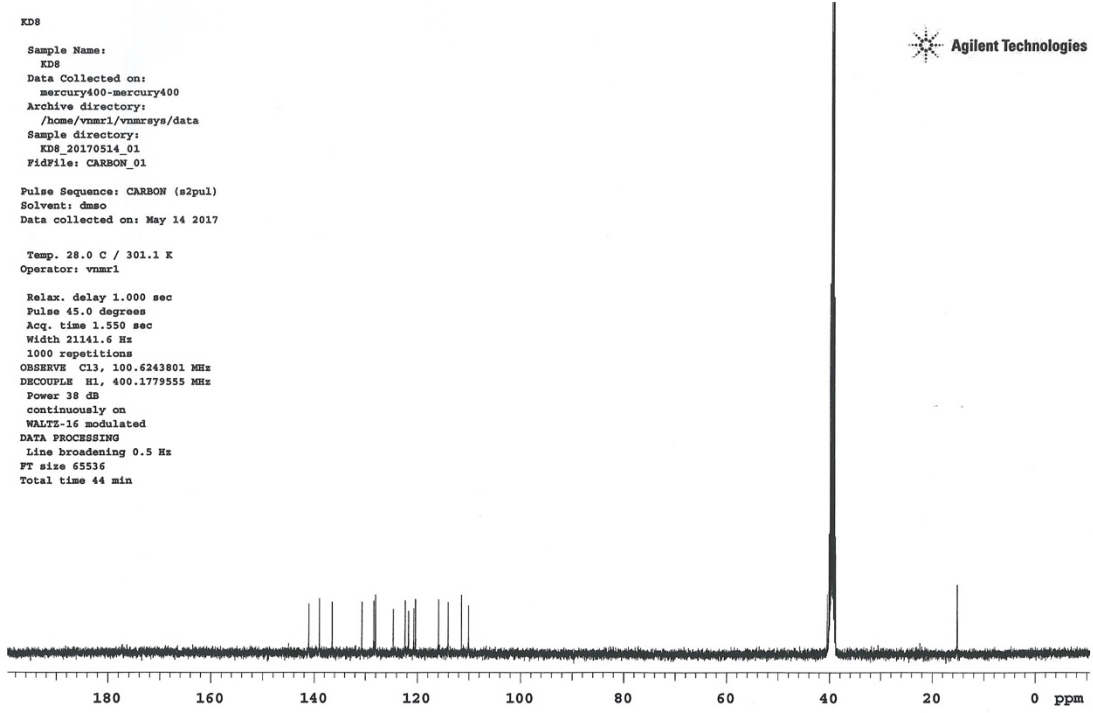


Şekil 3.27 Bileşik C11'in kütle spektrumu



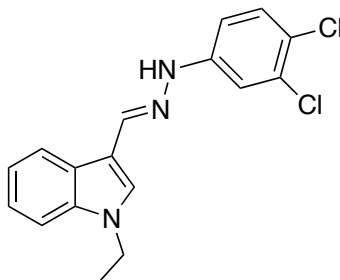
Şekil 3.28 Bileşik C11'in ¹H-NMR spektrumu

KD8
Sample Name:
KD8
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory:
KD8_20170514_01
FidFile: CARBON_01
Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsc
Data collected on: May 14 2017
Temp. 28.0 C / 301.1 K
Operator: vnmr1
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.550 sec
Width 21141.6 Hz
1000 repetitions
OBSERVE C13, 100.6243801 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 44 min



Şekil 3.29 Bileşik C11'in ^{13}C -NMR spektrumu

3.4.12. 1-Etil-3-((2-(3,4-diklorofenil)hidraziniliden)metil)-1*H*-indol (C12)



1 mmol (0.173 mg) Bileşik **B** ile 1.3 mmol (0.278 g) 3,4-diklorofenil hidrazin hidroklorür kullanılarak **Bölüm 3.4.** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı. % 70 verimle 233.3 mg madde elde edildi. E.n: 155-157 °C

Elemental Analiz: C₁₇H₁₅Cl₂N₃

	% C	% H	% N
Hesaplanan	61.46	4.55	12.65
Analiz:	59.59	4.86	13.66

¹H-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

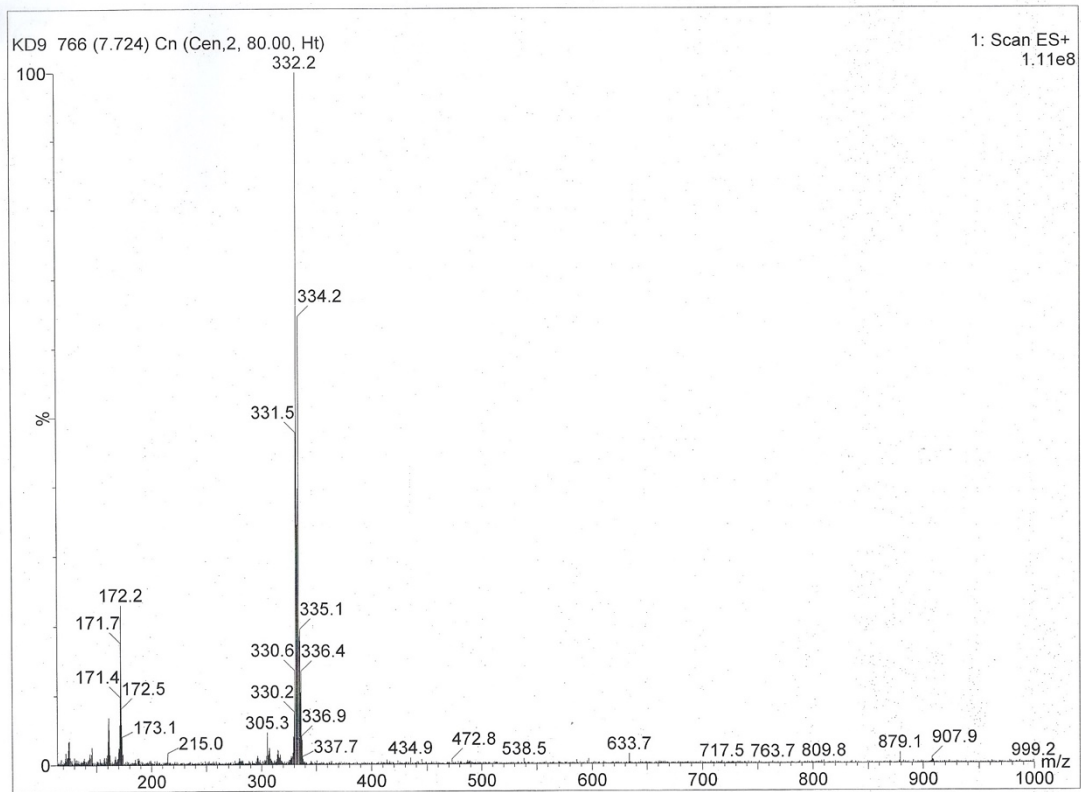
1.37 (3H, t, CH₃), 4.20 (2H, q, CH₂), 6.96 (1H, d, J=8.4 Hz, Ar-H), 7.15-7.25 (3H, m, Ar-H), 7.39 (1H, d, J=8.8 Hz, Ar-H), 7.50 (1H, d, J= 8.0 Hz, Ar-H), 7.73 (1H, s, H-2), 8.10-8.18 (2H, m, azometin-CH), 10.17 (1H, s, hidrazin-NH)

¹³C-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

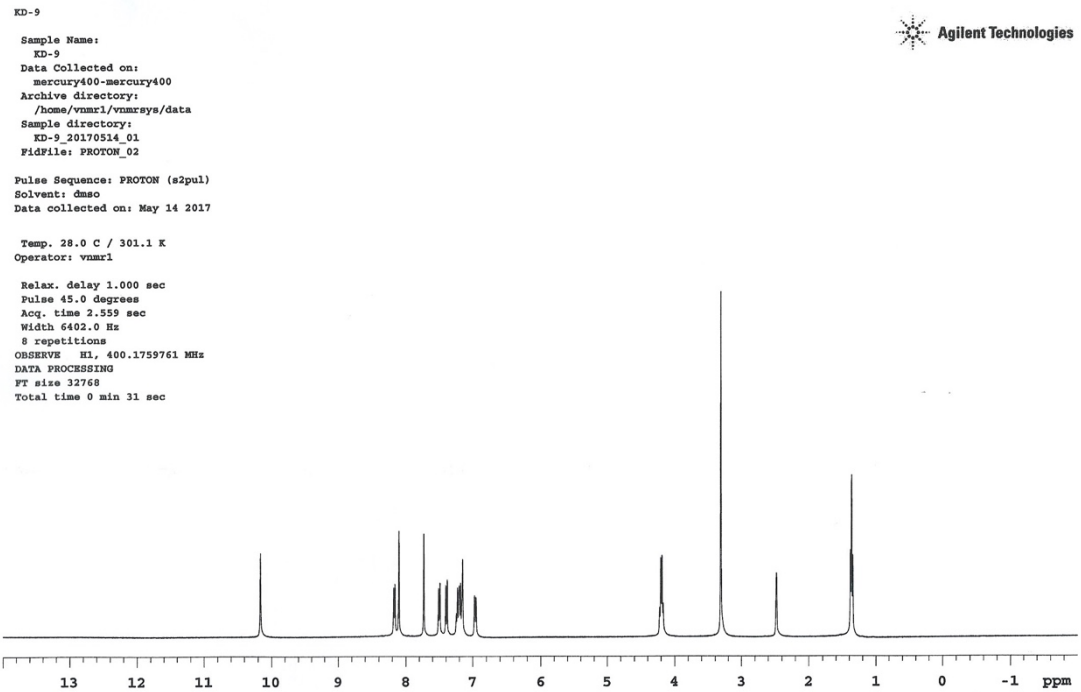
15.19, 40.46, 110.10, 111.47, 111.61, 112.06, 117.92, 120.35, 121.57, 122.37, 124.64, 130.39, 130.86, 131.44, 136.49, 136.52, 146.00

Kütle Spektrumu m/z (ESI):

332 (M⁺, %100), 334 (M+2), 336 (M+4)



Şekil 3.30 Bileşik C12'nin kütle spektrumu



Şekil 3.31 Bileşik C12'nin ¹H-NMR spektrumu

KD-9

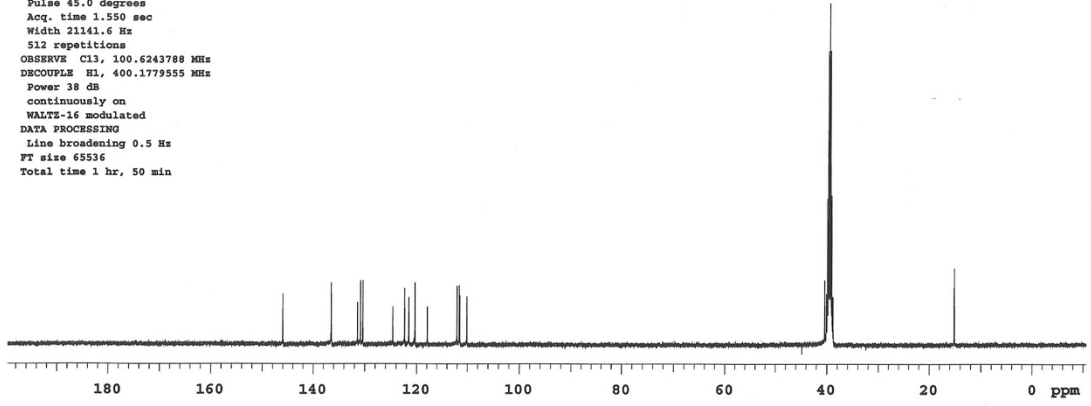


Sample Name:
KD-9
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory:
KD-9_20170514_01
FidFile: current

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsc
Data collected on: May 15 2017

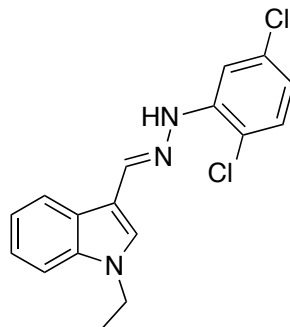
Temp. 28.0 C / 301.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.550 sec
Width 21141.6 Hz
512 repetitions
OBSERVE C13, 100.6243788 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 1 hr, 50 min



Şekil 3.32 Bileşik C12'nin ^{13}C -NMR spektrumu

3.4.13. 1-Etil-3-((2-(2,5-diklorofenil)hidraziniliden)metil)-1*H*-indol (C13)



1 mmol (0.173 mg) Bileşik **B** ile 1.3 mmol (0.278 g) 2,5-diklorofenil hidrazin hidroklorür kullanılarak **Bölüm 3.4.** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı. % 89 verimle 296.7 mg madde elde edildi. E.n: 115-117 °C

Elemental Analiz: C₁₇H₁₅Cl₂N₃

	% C	% H	% N
Hesaplanan	61.46	4.55	12.65
Analiz:	60.95	4.79	12.91

¹H-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

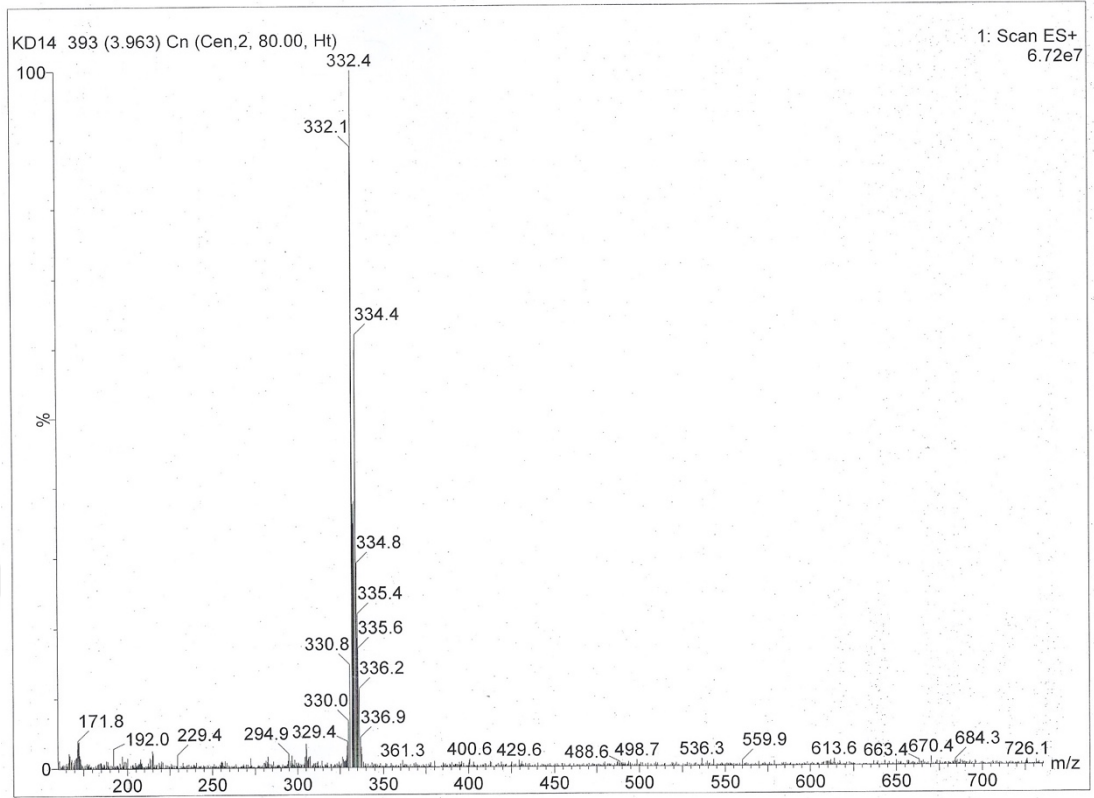
1.38 (3H, t, CH₃), 4.22 (2H, q, CH₂), 6.73 (1H, dd, J_{ab}= 8.8 Hz, J_{bc}=2.8 Hz, Ar-H), 7.19-7.33 (3H, m, Ar-H), 7.44 (1H, d, J=2.8 Hz, Ar-H), 7.52 (1H, d, J= 7.2 Hz, Ar-H), 7.77 (1H, s, H-2), 8.14-8.16 (1H, m, Ar-H), 8.51 (1H, s, azometin-CH), 9.66 (1H, s, hidrazin-NH)

¹³C-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

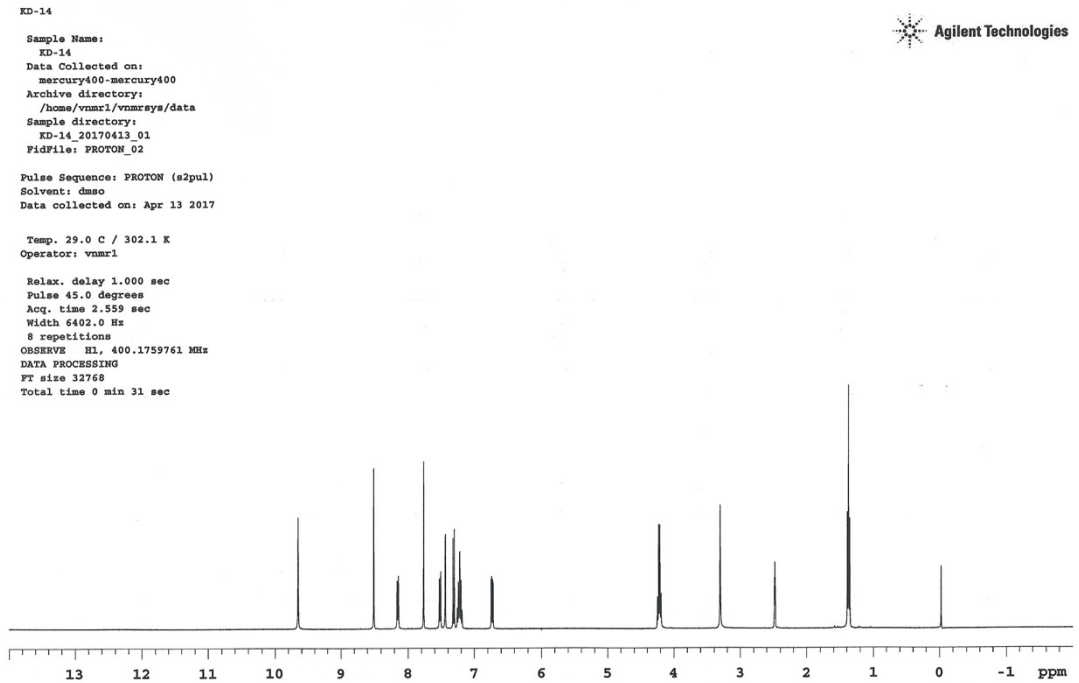
15.21, 40.49, 110.21, 111.27, 112.13, 114.12, 117.48, 120.48, 121.31, 122.41, 124.68, 130.56, 130.87, 132.68, 136.49, 139.64, 143.01

Kütle Spektrumu m/z (ESI):

332 (M⁺, %100), 334 (M+2), 336 (M+4)



Şekil 3.33 Bileşik C13'ün kütle spektrumu



Şekil 3.34 Bileşik C13'ün ¹H-NMR spektrumu

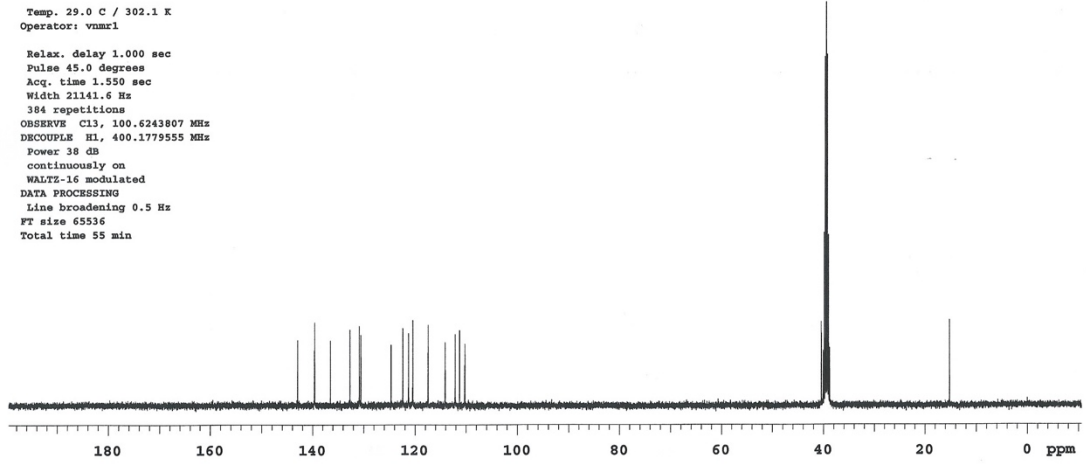
KD-14



Sample Name:
KD-14
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsws/data
Sample directory:
KD-14_20170413_01
FidFile: current

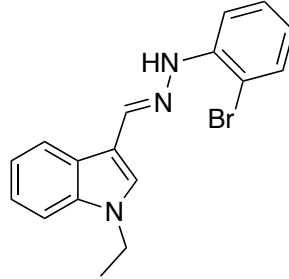
Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsc
Data collected on: Apr 13 2017

Temp. 29.0 C / 302.1 K
Operator: vnmr1
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.550 sec
Width 21141.6 Hz
384 repetitions
OBSERVE C13, 100.6243807 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 55 min



Şekil 3.35 Bileşik C13'ün ^{13}C -NMR spektrumu

3.4.14. 1-Etil-3-((2-(2-bromofenil)hidraziniliden)metil)-1*H*-indol (C14)



1 mmol (0.173 mg) Bileşik **B** ile 1.3 mmol (0.291 g) 2-bromofenil hidrazin hidroklorür kullanılarak **Bölüm 3.4.** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı. % 80 verimle 275.1 mg madde elde edildi. E.n: 126-128 °C

Elemental Analiz: C₁₇H₁₆BrN₃

	% C	% H	% N
Hesaplanan	59.66	4.71	12.28
Analiz:	59.15	4.90	12.47

¹H-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

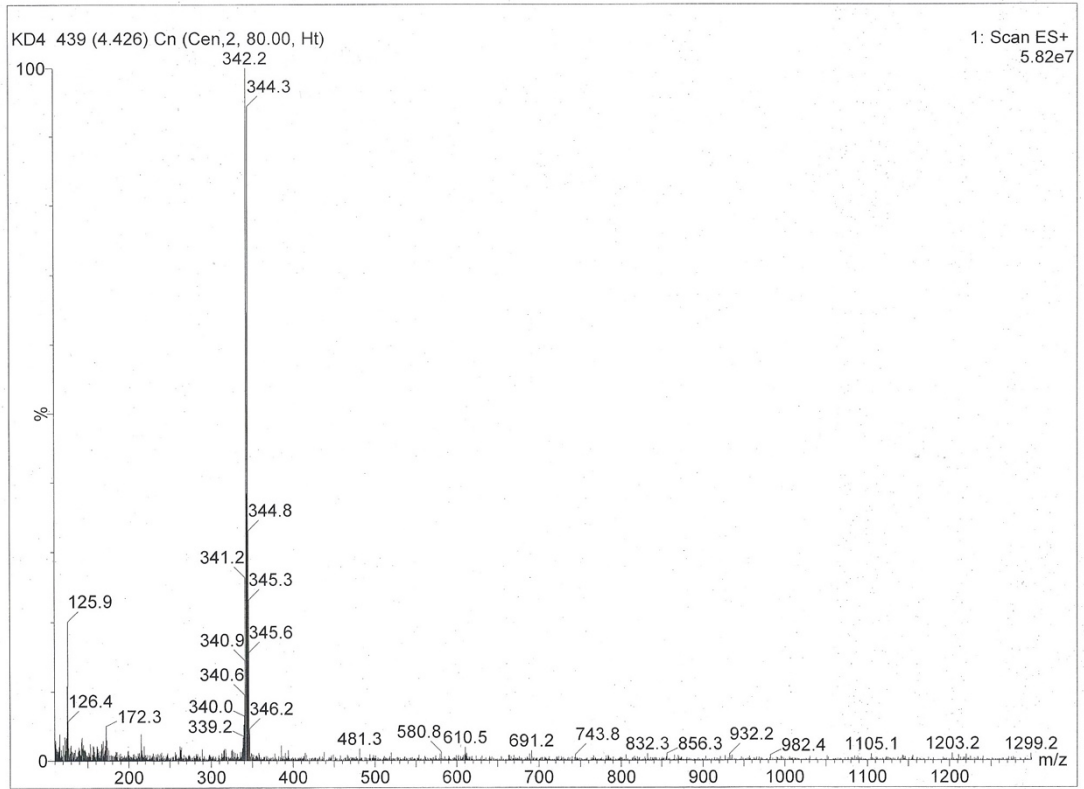
1.38 (3H, t, CH₃), 4.22 (2H, q, CH₂), 6.64-6.68 (1H, m, Ar-H), 7.17-7.34 (3H, m, Ar-H), 7.44-7.53 (3H, m, Ar-H), 7.70 (1H, s, H-2), 8.23 (1H, d, J= 7.2 Hz, Ar-H), 8.47 (1H, s, azometin-CH), 9.11 (1H, s, hidrazin-NH)

¹³C-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

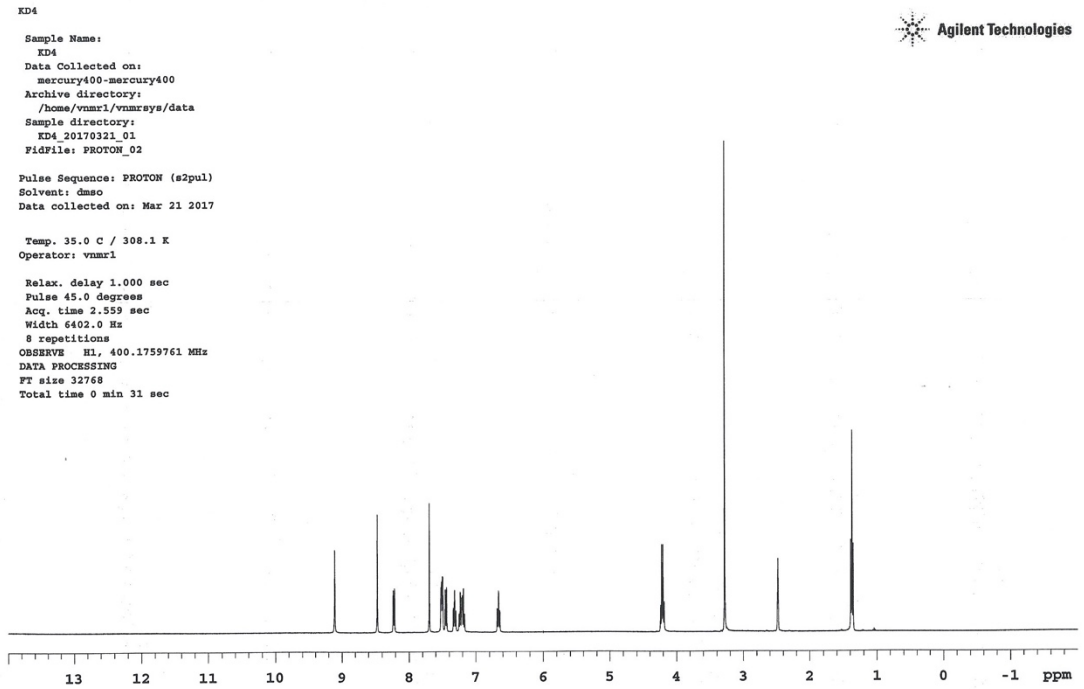
15.17, 40.41, 105.49, 110.00, 111.59, 113.60, 119.03, 120.29, 121.66, 122.29, 124.70, 128.55, 130.28, 132.33, 136.45, 138.38, 142.94

Kütle Spektrumu m/z (ESI):

342 (M⁺, %100), 344 (M+2, %100)



Şekil 3.36 Bileşik C14'ün kütle spektrumu



Şekil 3.37 Bileşik C14'ün ¹H-NMR spektrumu

KD4

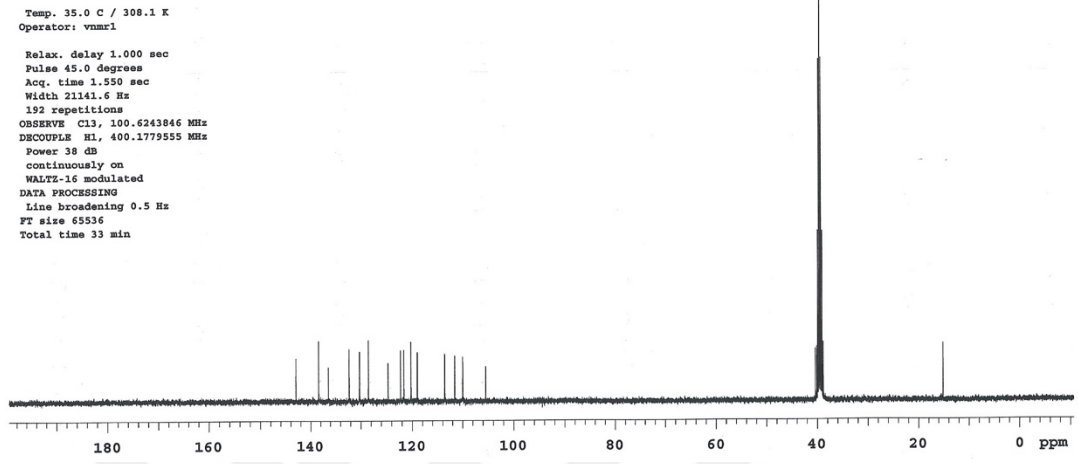


Sample Name:
KD4
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory:
KD4_20170321_01
FidFile: current

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsc
Data collected on: Mar 21 2017

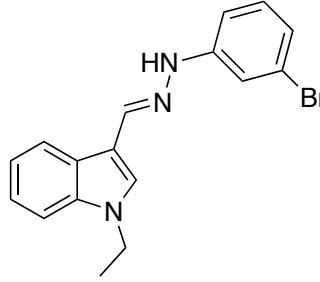
Temp. 35.0 C / 308.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.550 sec
Width 21141.6 Hz
192 repetitions
OBSERVE C13, 100.6243846 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 33 min



Şekil 3.38 Bileşik C14'ün ^{13}C -NMR spektrumu

3.4.15. 1-Etil-3-((2-(3-bromofenil)hidraziniliden)metil)-1*H*-indol (C15)



1 mmol (0.173 mg) Bileşik **B** ile 1.3 mmol (0.291 g) 3-bromofenil hidrazin hidroklorür kullanılarak **Bölüm 3.4.** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı. % 87 verimle 297.4 mg madde elde edildi. E.n: 112-113 °C

Elemental Analiz: C₁₇H₁₆BrN₃ – 0.25H₂O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	58.89	4.90	12.12
Analiz:	58.73	4.95	12.32

¹H-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

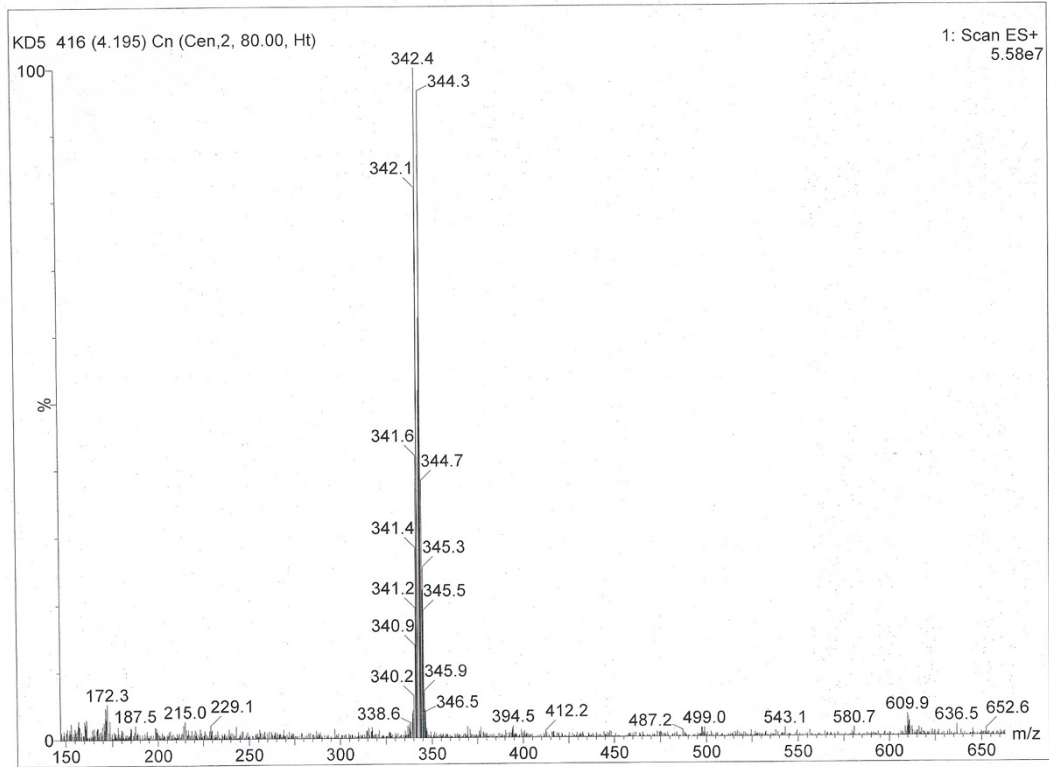
1.37 (3H, t, CH₃), 4.20 (2H, q, CH₂), 6.80 (1H, d, J= 7.6 Hz, Ar-H), 6.98 (1H, d, J= 7.6 Hz, Ar-H), 7.12-7.25 (4H, m, Ar-H), 7.50 (1H, d, J= 6.8 Hz, Ar-H), 7.70 (1H, s, H-2), 8.09-8.19 (2H, m, azometin-CH, Ar-H), 10.0 (1H, s, hidrazin-NH)

¹³C-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

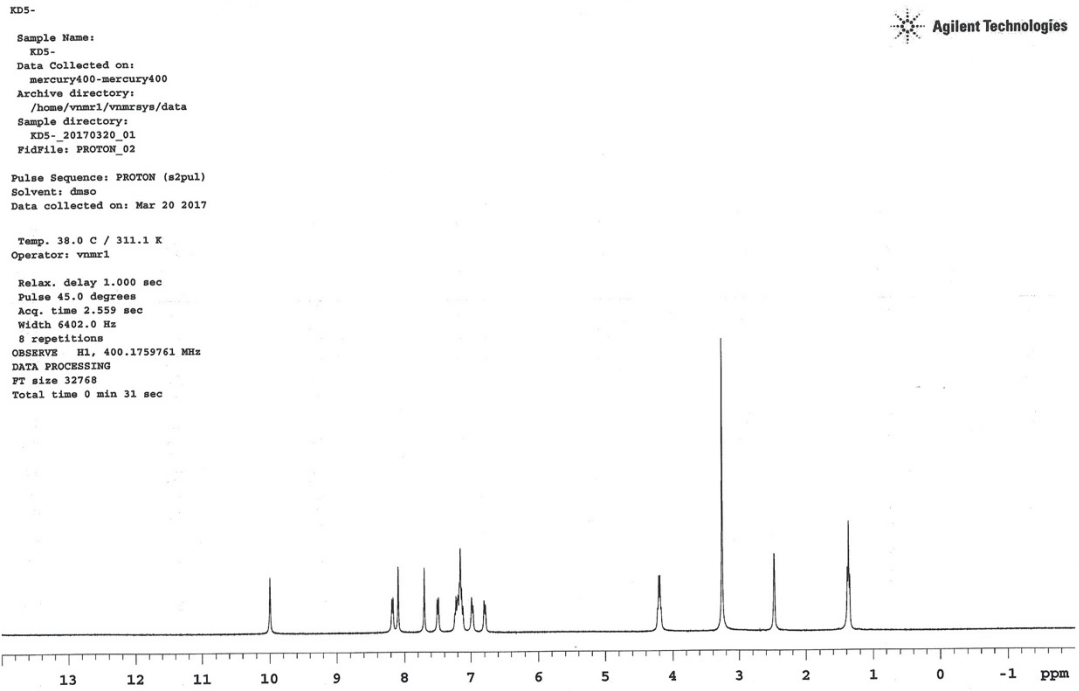
15.09, 40.36, 109.97, 110.31, 111.59, 113.42, 119.62, 120.18, 121.49, 122.25, 124.66, 129.94, 130.87, 135.81, 136.43, 147.53

Kütle Spektrumu m/z (ESI):

342 (M⁺, %100), 344 (M+2, %100)



Şekil 3.39 Bileşik C15'in kütle spektrumu



Şekil 3.40 Bileşik C15'in ¹H-NMR spektrumu

KD5-

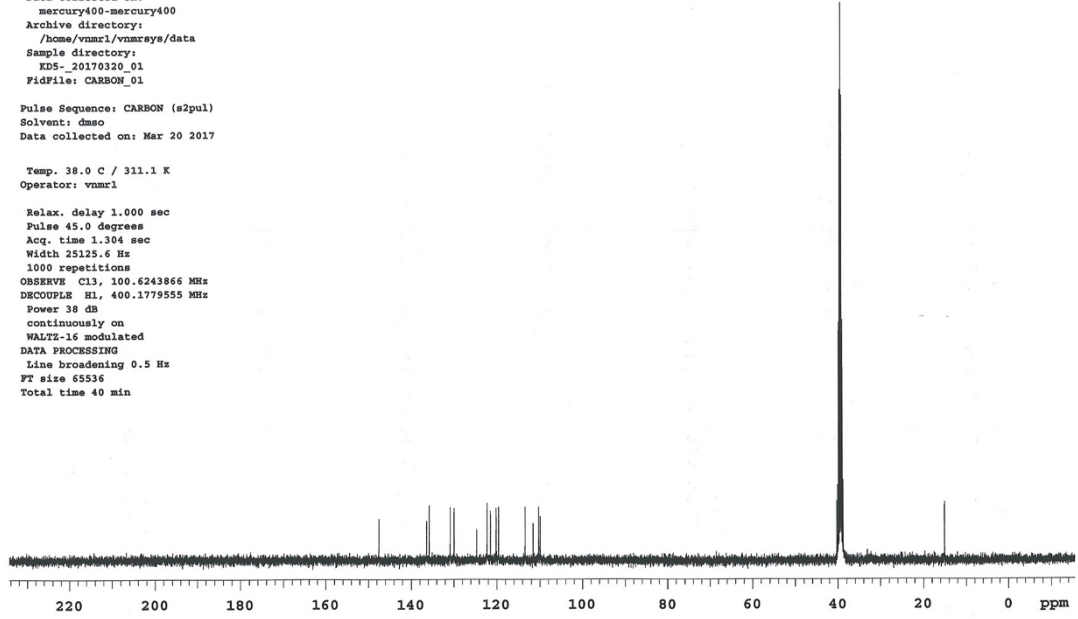


Sample Name:
KD5-
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsws/data
Sample directory:
KD5-20170320_01
FidFile: CARBON_01

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsd
Data collected on: Mar 20 2017

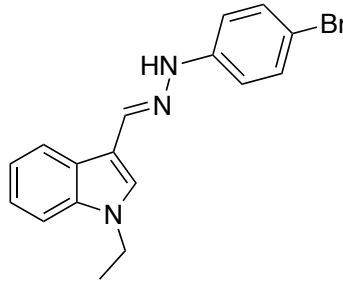
Temp. 38.0 C / 311.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.304 sec
Width 25125.6 Hz
1000 repetitions
OBSERVE C13, 100.6243866 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 40 min



Şekil 3.41 Bileşik C15'in ^{13}C -NMR spektrumu

3.4.16. 1-Etil-3-((2-(4-bromofenil)hidraziniliden)metil)-1*H*-indol (C16)



1 mmol (0.173 mg) Bileşik **B** ile 1.3 mmol (0.291 g) 4-bromofenil hidrazin hidroklorür kullanılarak **Bölüm 3.4.** de tanımlanan yönteme göre reaksiyon tamamlandı. % 70 verimle 238.4 mg madde elde edildi. E.n: 154-157 °C

Elemental Analiz: C₁₇H₁₆BrN₃

	% C	% H	% N
Hesaplanan	59.66	4.71	12.28
Analiz:	59.43	4.83	12.48

¹H-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

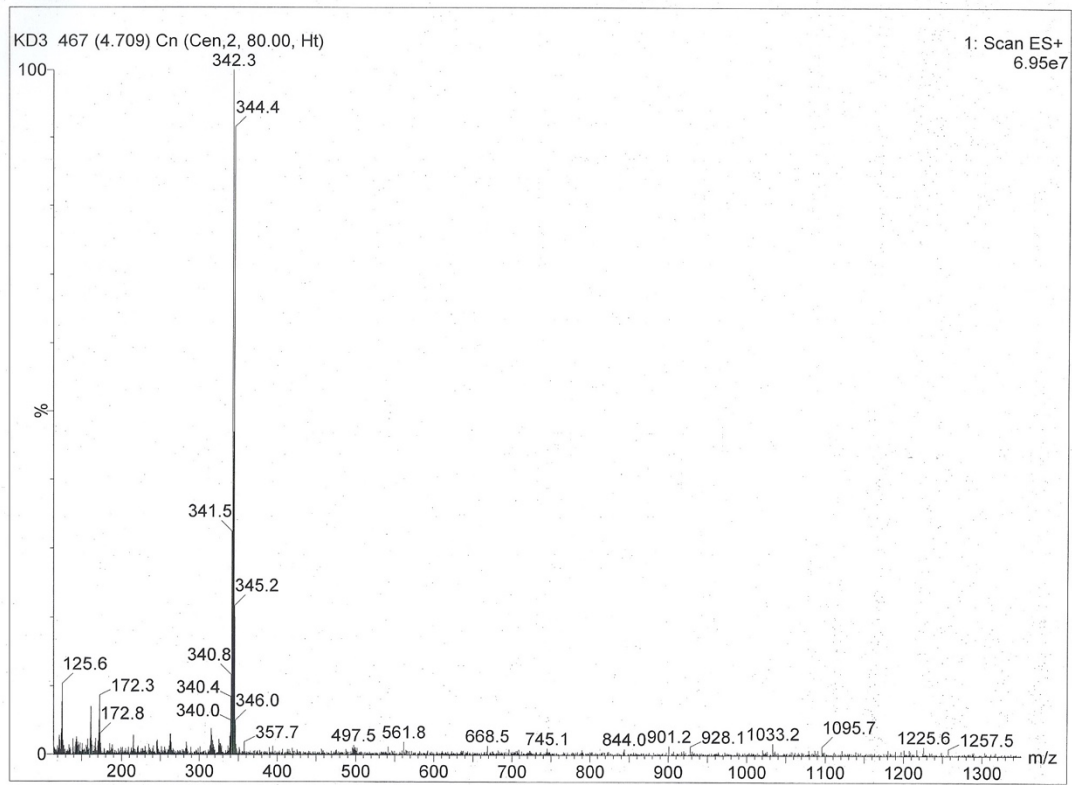
1.36 (3H, t, CH₃), 4.19 (2H, q, CH₂), 6.97 (2H, d, J=8.4, Ar-H), 7.15-7.24 (2H, m, Ar-H), 7.32 (2H, dd, J_{ab}= 11.6 Hz, J_{bc}= 2.8 Hz, Ar-H), 7.49 (1H, d, J= 8, Ar-H), 7.69 (1H, s, H-2), 8.08 (1H, s, azometin-CH), 8.20-8.22 (1H, m, Ar-H), 9.99 (1H, s, hidrazin-NH)

¹³C-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

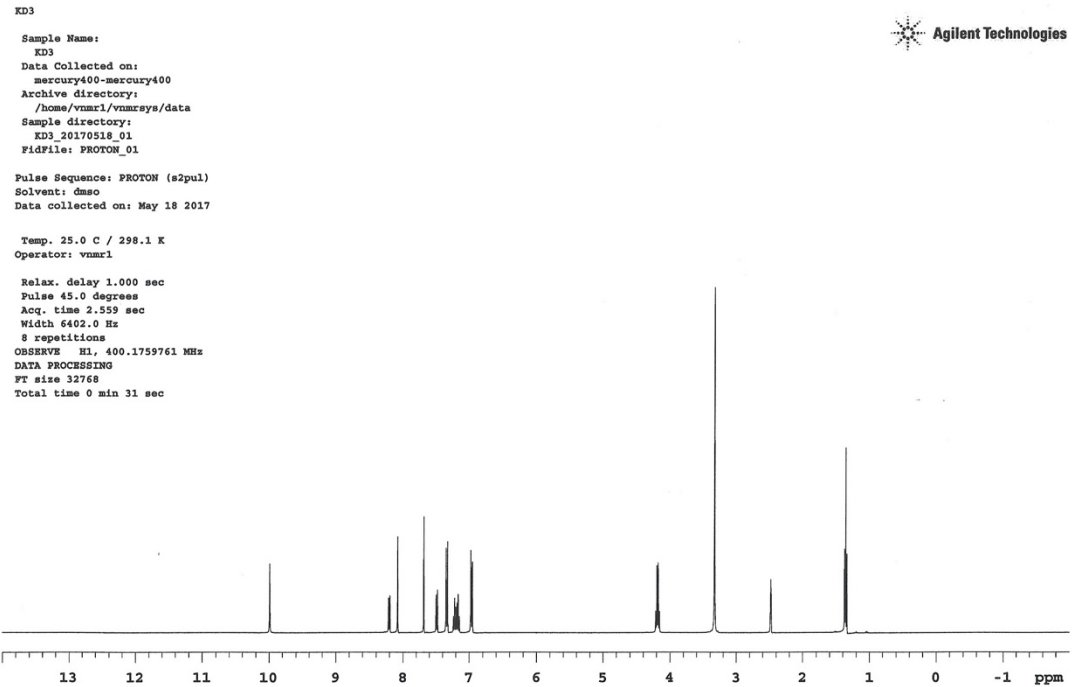
15.24, 40.42, 108.04, 110.02, 111.81, 113.24, 120.24, 121.80, 122.32, 124.68, 129.93, 131.65, 135.38, 136.48, 145.32

Kütle Spektrumu m/z (ESI):

342 (M⁺, %100), 344 (M+2, %100)



Şekil 3.42 Bileşik C16'nın kütle spektrumu



Şekil 3.43 Bileşik C16'nın ¹H-NMR spektrumu

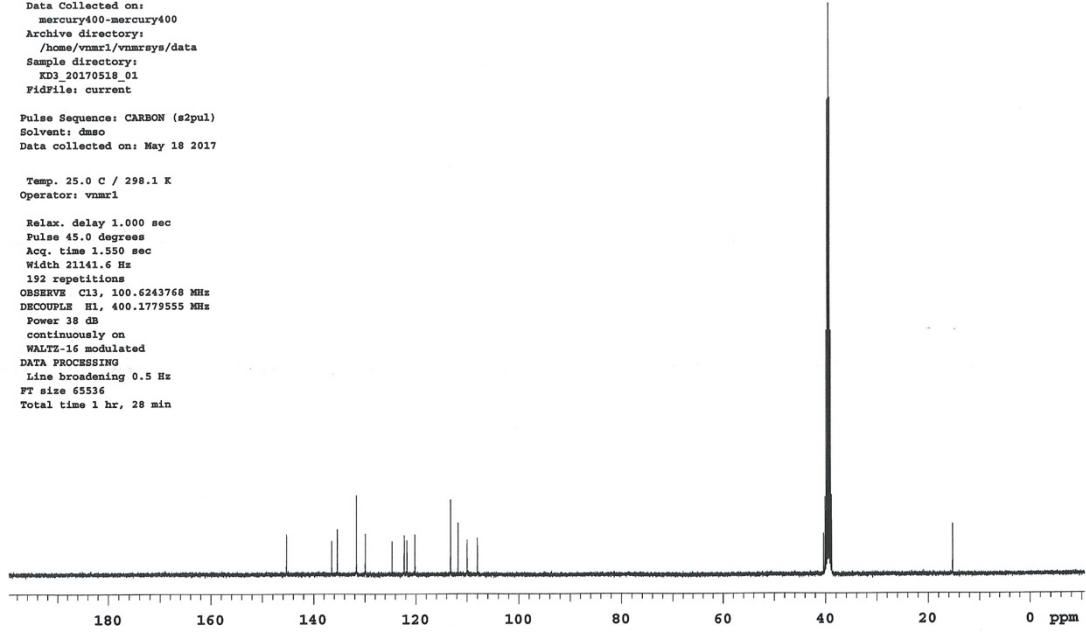
KD3



Sample Name:
KD3
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsws/data
Sample directory:
KD3_20170518_01
FidFile: current

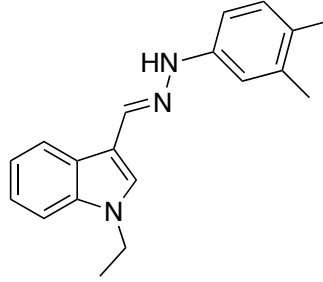
Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsc
Data collected on: May 18 2017

Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: vnmr1
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.550 sec
Width 21141.6 Hz
192 repetitions
OBSERVE C13, 100.6243768 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 1 hr, 28 min



Şekil 3.44 Bileşik C16'nın ^{13}C -NMR spektrumu

3.4.17. 1-Etil-3-((2-(3,4-dimetilfenil)hidraziniliden)metil)-1*H*-indol (C17)



1 mmol (0.173 mg) Bileşik **B** ile 1.3 mmol (0.224 g) 3,4-dimetilfenil hidrazin hidroklorür kullanılarak **Bölüm 3.4.** de tanımlanan yönteme göre reaksiyon tamamlandı. % 64 verimle 186.6 mg madde elde edildi. E.n: 135-137 °C

Elemental Analiz: C₁₉H₂₁N₃

	% C	% H	% N
Hesaplanan	78.32	7.26	14.42
Analiz:	77.73	7.46	14.40

¹H-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

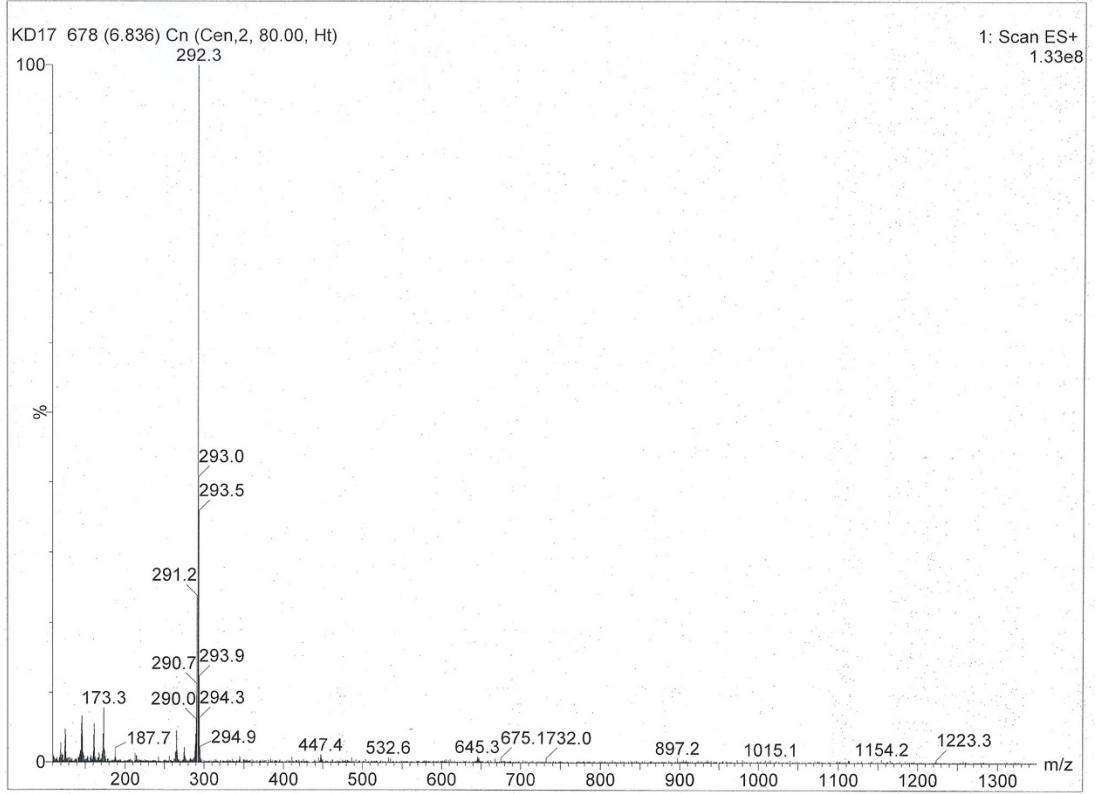
1.36 (3H, t, CH₃), 2.14 (6H, d, fenil-CH₃), 4.18 (2H, q, CH₂), 6.78 (2H, d, J=10.0 Hz, Ar-H), 6.95 (1H, d, J= 8.0 Hz, Ar-H), 7.14-7.22 (2H, m, Ar-H), 7.47 (1H, d, J= 7.6 Hz, Ar-H), 7.61 (1H, s, H-2), 8.03 (1H, s, azometin-CH), 8.23 (1H, d, J= 7.6 Hz, Ar-H), 9.55 (1H, s, hidrazin-NH)

¹³C-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

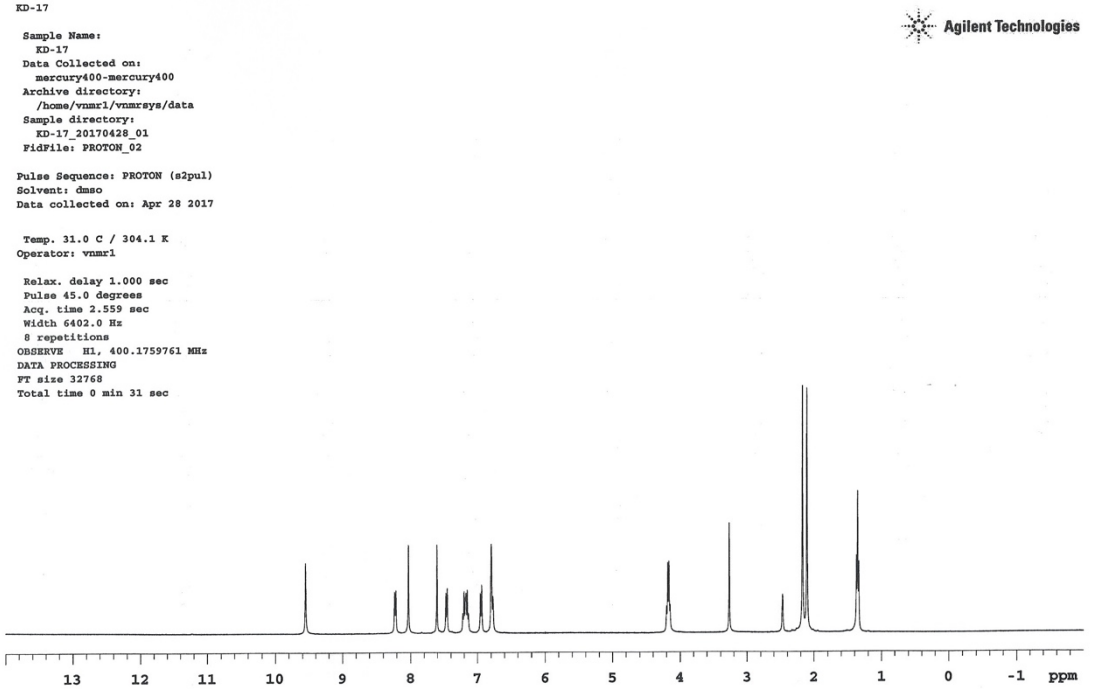
15.18, 18.47, 19.83, 40.32, 108.87, 109.85, 112.18, 112.88, 119.98, 121.75, 122.13, 124.76, 128.97, 129.97, 133.59, 136.31, 136.40, 144.21

Kütle Spektrumu m/z (ESI):

292 (M+1, %100)



Şekil 3.45 Bileşik C17'nin kütle spektrumu



Şekil 3.46 Bileşik C17'nin ¹H-NMR spektrumu

KD-17

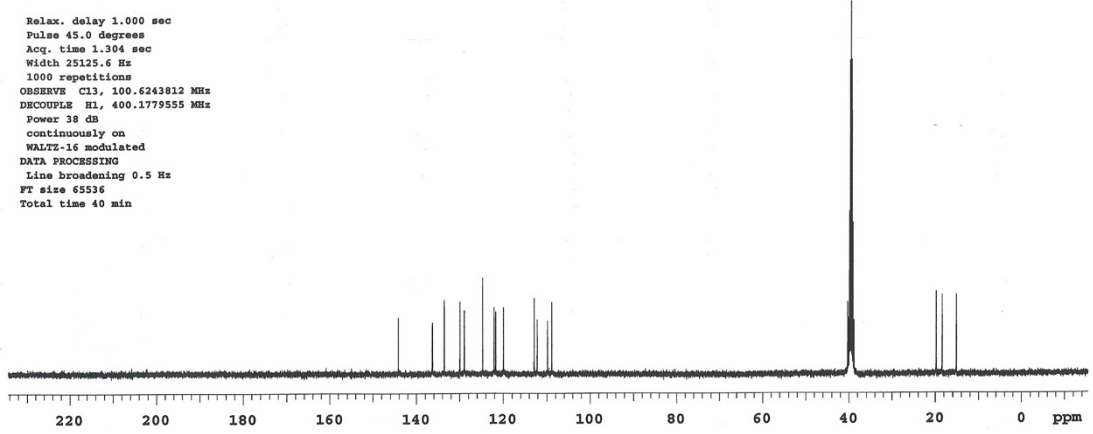


Sample Name:
KD-17
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory:
KD-17_20170428_01
FidFile: CARBON_01

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsc
Data collected on: Apr 28 2017

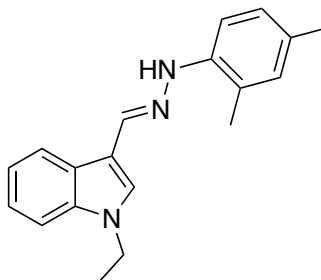
Temp. 31.0 C / 304.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.304 sec
Width 25125.6 Hz
1000 repetitions
OBSERVE C13, 100.6243812 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 40 min



Şekil 3.47 Bileşik C17'nin ^{13}C -NMR spektrumu

3.4.18. 1-Etil-3-((2-(2,4-dimetilfenil)hidraziniliden)metil)-1*H*-indol (C18)



1 mmol (0.173 mg) Bileşik **B** ile 1.3 mmol (0.224 g) 2,4-dimetilfenil hidrazin hidroklorür kullanılarak **Bölüm 3.4.** de tanımlanan yönteme göre reaksiyon tamamlandı. % 65 verimle 190.4 mg madde elde edildi. E.n: 135-139 °C

Elemental Analiz: C₁₉H₂₁N₃ – 0,5H₂O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	75.98	7.38	13.99
Analiz:	76.85	7.42	13.84

¹H-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

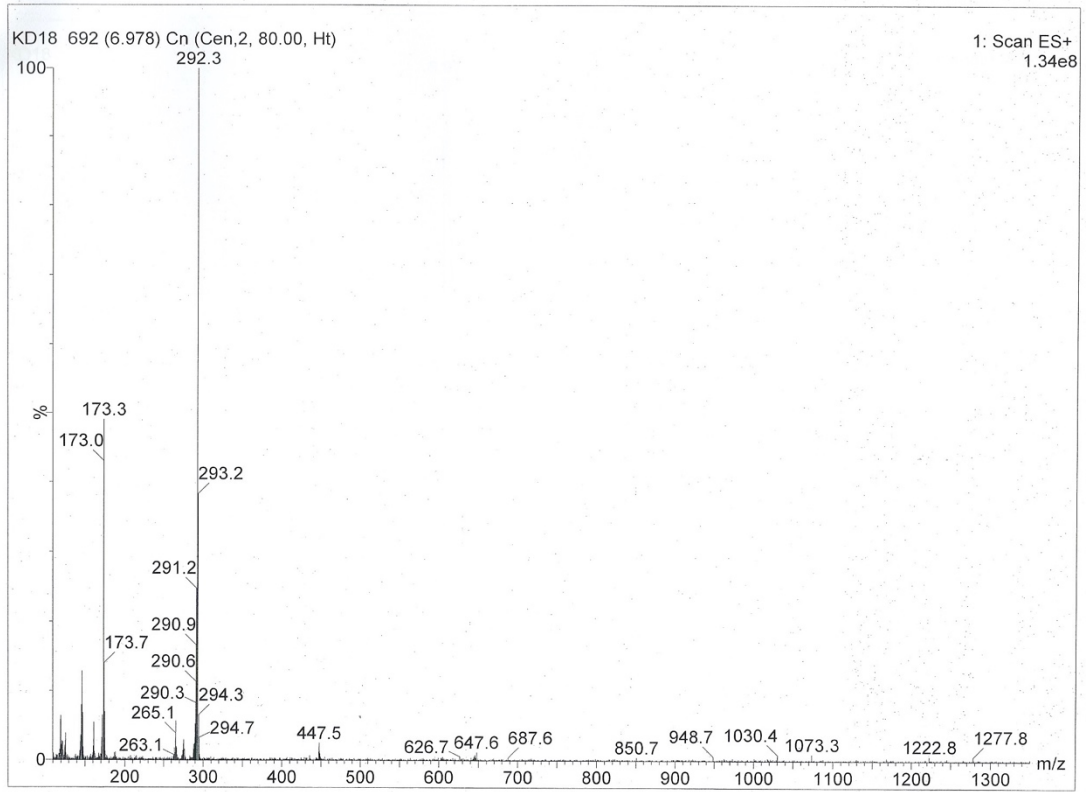
1.36 (3H, t, CH₃), 2.17 (6H, d, J= 4.0 Hz, fenil-CH₃), 4.19 (2H, q, CH₂), 6.83 (1H, s, Ar-H), 6.93 (1H, d, J=8.0 Hz, Ar-H), 7.14-7.23 (2H, m, Ar-H), 7.30 (1H, d, J=8.0 Hz, Ar-H), 7.48 (1H, d, J=7.6 Hz, Ar-H), 7.64 (1H, s, H-2), 8.22-8.30 (2H, m, Ar-H, azometin-CH), 8.89 (1H, s, hidrazin-NH)

¹³C-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

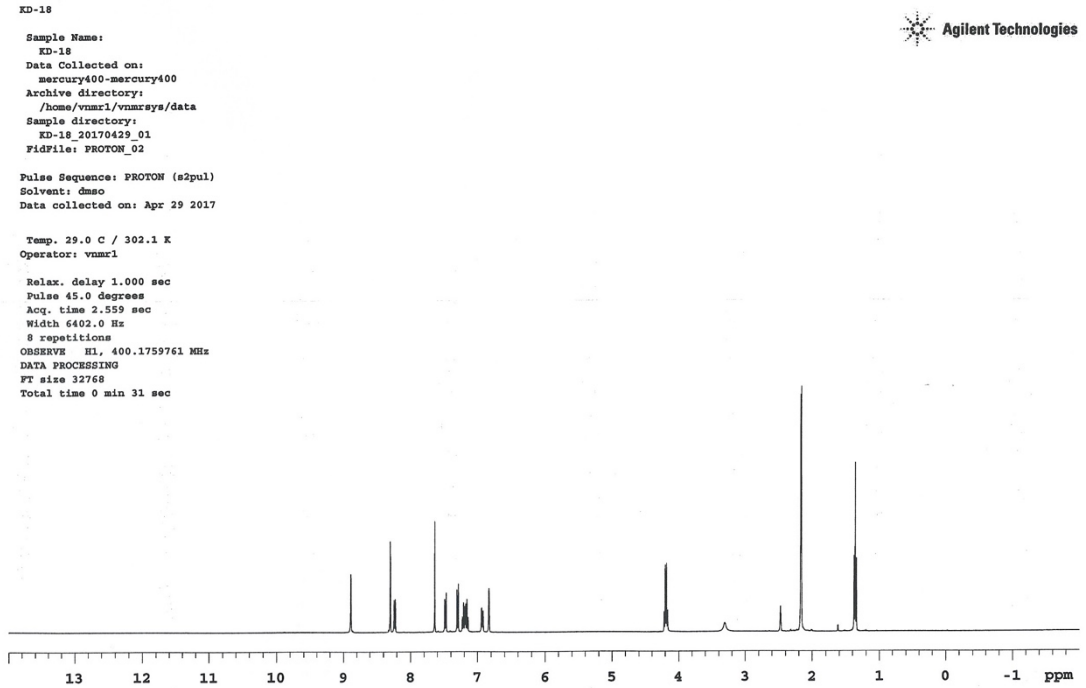
15.24, 17.41, 20.13, 40.36, 109.91, 11.38, 112.19, 120.05, 121.76, 122.18, 124.80, 125.95, 127.07, 129.26, 130.74, 135.50, 136.43, 141.79

Kütle Spektrumu m/z (ESI):

292 (M+1, %100)



Şekil 3.48 Bileşik C18'in kütle spektrumu



Şekil 3.49 Bileşik C18'in ¹H-NMR spektrumu

KD-18

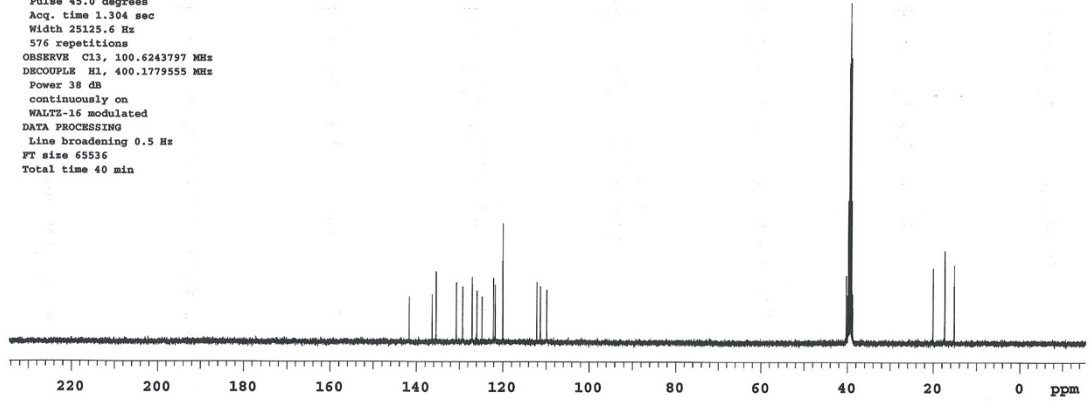
Sample Name:
KD-18
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory:
KD-18_20170429_01
FidFile: current



Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsc
Data collected on: Apr 29 2017

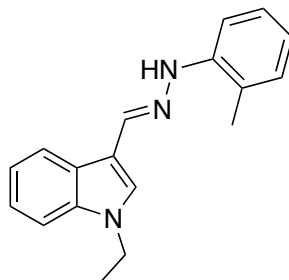
Temp. 29.0 C / 302.1 K
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.304 sec
Width 25125.6 Hz
576 repetitions
OBSERVE C13, 100.6243797 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 40 min



Şekil 3.50 Bileşik C18'in ^{13}C -NMR spektrumu

3.4.19. 1-Etil-3-((2-(*o*-tolilfenil)hidraziniliden)metil)-1*H*-indol (C19)



1 mmol (0.173 mg) Bileşik **B** ile 1.3 mmol (0.159 g) *o*-tolilfenil hidrazin hidroklorür kullanılarak **Bölüm 3.4.** de tanımlanan yöntemle göre reaksiyon tamamlandı. % 92 verimle 255.6 mg madde elde edildi. E.n: 112-115 °C

Elemental Analiz: C₁₈H₁₉N₃ – 0.75H₂O

	% C	% H	% N
Hesaplanan	74.32	7.10	14.45
Analiz:	74.23	6.86	13.60

¹H-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

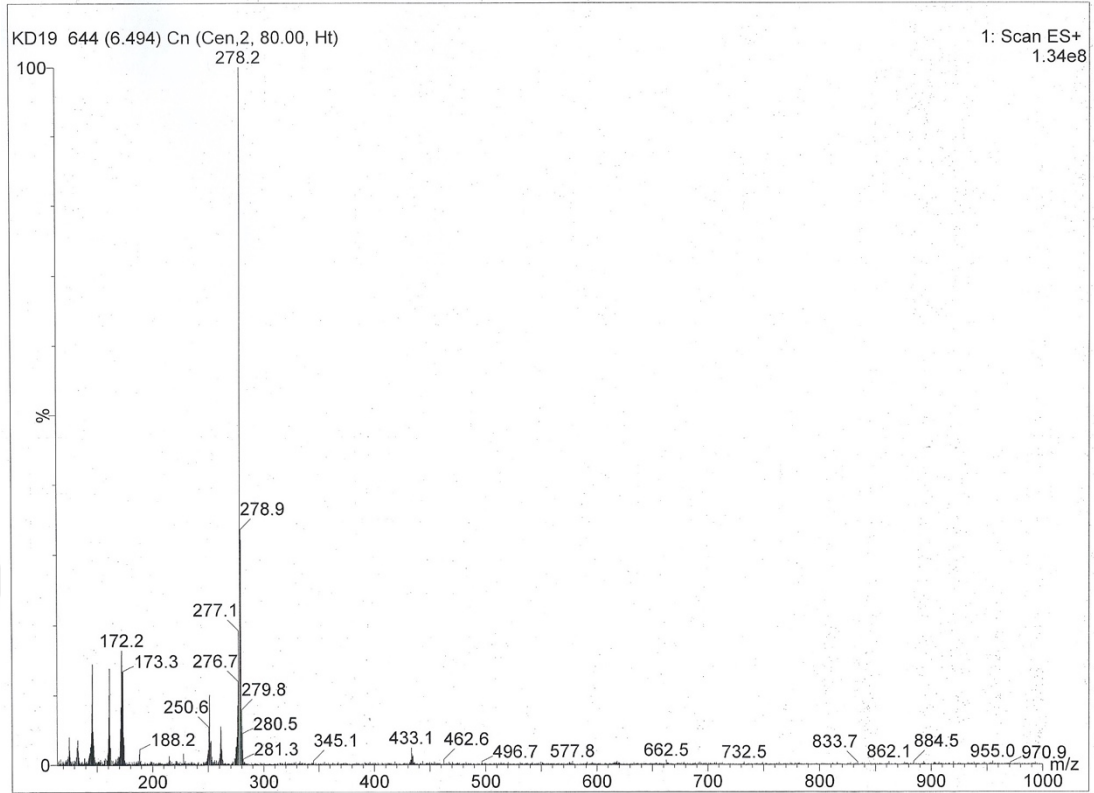
1.36 (3H, t, CH₃), 2.19 (3H, s, fenil-CH₃), 4.20 (2H, q, CH₂), 6.62 (1H, t, J= 7.2 Hz, Ar-H), 7.00 (1H, d, J=7.6 Hz, Ar-H), 7.10-7.23 (3H, m, Ar-H), 7.40 (1H, d, J=8.0 Hz, Ar-H), 7.49 (1H, d, J=8.0 Hz, Ar-H), 7.67 (1H, s, H-2), 8.24 (1H, d, J=7.6 Hz, Ar-H), 8.33 (1H, s, azometin-CH), 9.01 (1H, s, hidrazin-NH)

¹³C-NMR Spektrumu (d₆- DMSO) δppm

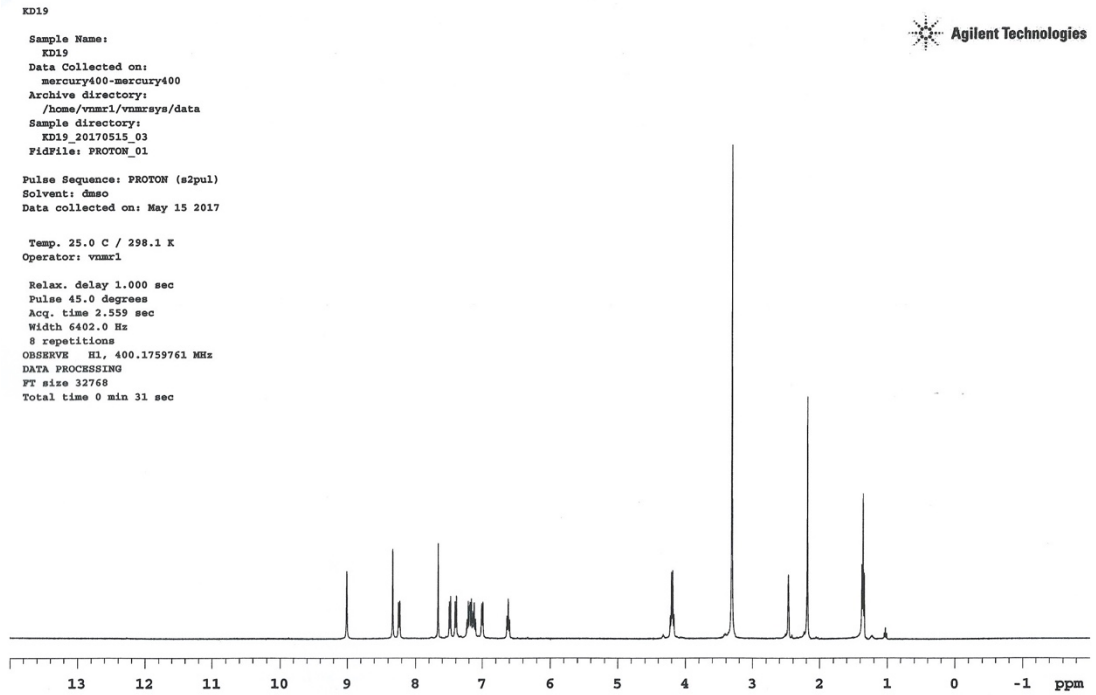
15.28, 17.53, 40.42, 109.99, 111.13, 112.10, 117.58, 119.98, 120.16, 121.80, 122.26, 124.78, 126.75, 129.60, 130.09, 136.11, 136.47, 143.98

Kütle Spektrumu m/z (ESI):

278 (M+1, %100)

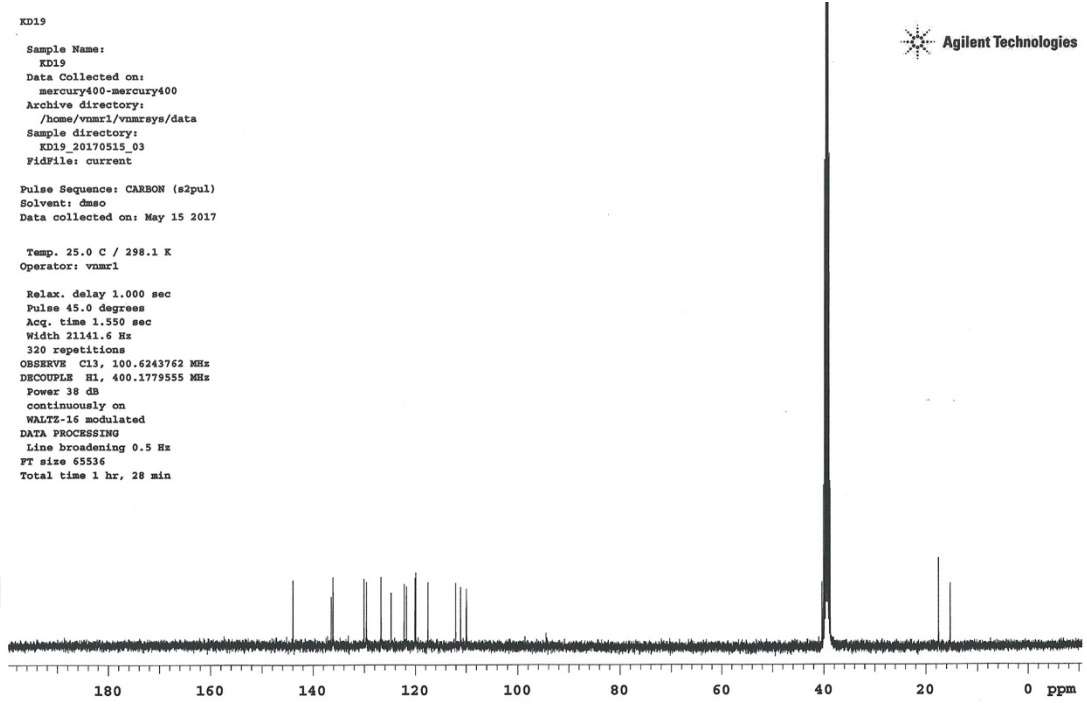


Şekil 3.51 Bileşik C19'un kütle spektrumu



Şekil 3.52 Bileşik C19'un ¹H-NMR spektrumu

KD19
Sample Name:
KD19
Data Collected on:
mercury400-mercury400
Archive directory:
/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory:
KD19_20170515_03
FidFile: current
Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: dmsc
Data collected on: May 15 2017
Temp. 25.0 C / 298.1 K
Operator: vnmr1
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.550 sec
Width 21141.6 Hz
320 repetitions
OBSERVE C13, 100.6243762 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779555 MHz
Power 38 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 1 hr, 28 min



Şekil 3.53 Bileşik C19'un ^{13}C -NMR spektrumu

3.5. Sentezlenen Bileşiklerin *İn Vitro* Biyolojik Aktivite Tayinleri

Sentezlenen bileşiklerin sitotoksisiteleri değerlendirildi. Antioksidan aktiviteleri tayini ve sitotoksik etkileri araştırılarak yorumlandı.

3.5.1. Sentezlenen Melatonin Analogu İndol Türevi Bileşiklerin Antioksidan Etki Profilleri

1. Radikal süpürücü aktivitenin DPPH deneyi ile araştırılması
2. DCFH yöntemi ile hücre içi ROT ölçümü

Yöntemleri ile araştırılmıştır. Yöntemlerin esasları ve bulguları aşağıda özetlenmiştir.

3.5.1.1. Antioksidan Deneylerde Kullanılan Kimyasallar

2,2,difenil-1-pikrilhidrazil, metanol, melatonin, BHT, DCFH-DA, PBS, DMSO Sigma-Aldrich (St. Louis, MO)'dan temin edilmiştir.

3.5.1.2. Radikal Süpürücü Aktivitenin DPPH Deneyi ile Araştırılması

Yeni sentezlenen bileşiklerin radikal süpürücü aktiviteleri stabil bir serbest radikal olan mor renkli 2,2,difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)'in absorbansındaki değişikliğin ölçülmesiyle test edilmiştir. DPPH 515 nm'de maksimum absorbansa sahip stabil serbest radikaldir. DPPH molekülü H^+ kaynağı antioksidan bir molekülle etkileştiğinde absorbans değerinde azalma olur ve bu azalma spektrofotometrik olarak ölçülebilir.

Deneyin Yapılışı:

%80'lik metanol-su(v/v) karışımında hazırlanan 180 μ l DPPH çözeltisi(150 μ M), 96 kuyucuklu plakaya eklenmiş ve 20 μ l test maddesiyle oda sıcaklığında inkubasyona bırakılmıştır. DPPH redüksiyonu 517 nm dalga boyunda 30 dakika boyunca mikroparka okuyucuda izlenmiştir. MLT ve BHT referans madde olarak

kullanılmıştır. Radikal süpürücü aktivite, absorbanstaki azalma oranı olarak ifade edilmiş ve formüldeki gibi hesaplanmıştır:

$$\text{Radikal süpürücü aktivite (\%)} = [(A_0 - A_1 / A_0) \times 100]$$

A₀:kontrol grubunun absorbansı, A₁: test maddesi içeren grubun absorbansı.

3.5.1.3. DCFH Yöntemi ile Hücre İçi ROT Ölçümü

DCFH-DA (5-(-6)-klorometil-2',7'-diklorodihidro-floresin diasetat) floresan özelliğe sahip olmayan, lipid-çözünür bir moleküldür ve kolaylıkla hücre membranlarından hücre içine difüze olabilir. Hücre içine girdikten sonra intraselüler esteraazlar tarafından suda-çözünür, floresan olmayan 2',7' -diklorofloresin (DCFH)'e hidroliz olur. DCFH ise reaktif oksijen bileşikleri varlığında floresan özelliğe sahip 2',7' diklorofloresin (DCF)'e okside olur (Lautraite S. ve ark. 2003). Oluşan DCFH'in floresans şiddetinin 488nm eksitasyon, 530nm emisyon dalga boyunda spektroflorimetrik olarak ölçülmesi ile ortamdaki reaktif oksijen bileşiklerinin varlığı değerlendirilir (Puntarulo ve Cederbaum 1998).

Deneyin Yapılışı:

Hücreler tripsinlenmeyi takiben normal büyüme ortamı içinde siyah 96 kuyucuklu plakalara 5x10³ hücre/kuyucuk olacak şekilde ekilmiş, 37 °C 'de %5 CO₂'li ortamda 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Besi ortamı uzaklaştırılıp hücreler DCFH-DA (20µM) içeren besi ortamı ile 30 dk inkübasyona bırakılmıştır. Sürenin sonunda besi ortamı uzaklaştırılıp PBS ile yıkama yapılarak hücrelere girmeyen DCFH-DA ortamdan uzaklaştırılmıştır. Daha sonra test maddeleri (10 µM) ve cH₂O₂ (10 µM) eklenerek, floresans şiddeti 60 dakika boyunca 488 nm eksitasyon, 530 nm emisyon dalga boyunda izlenmiş ve bileşiklerin DCFH oksidasyonu üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Ortamdaki final DMSO oranı %0.1 olacak şekilde çalışılmıştır.

3.5.2. Sitooksisite Çalışmasında Kullanılan Kimyasallar

MDA-MB-231 Meme kanseri hücre hattı (ATCC HTB-26), %10 fetalbovine serum (FBS), 20 mM L-glutamin ve %1 penicillin/streptomycin içeren Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) hücre besiyerinde 37°C sıcaklık ve %5 CO₂ içeren koşullarda büyütülmüştür.

3.5.2.1. Çin Hamsteri Over Hücre Hattında Sitotoksitenin MTT Yöntemi ile Araştırılması

Sarı renkli bir tetrazolyum tuzu olan MTT (3-(4,5-dimetil-2-tiyazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazolyum bromür) mitokondriyel aktivite varlığında mor renkli formazan kristallerine dönüşür ve renk şiddeti spektrofotometrik olarak 550 nm'de ölçülür (Mosmann, 1983).

Deneyin Yapılışı:

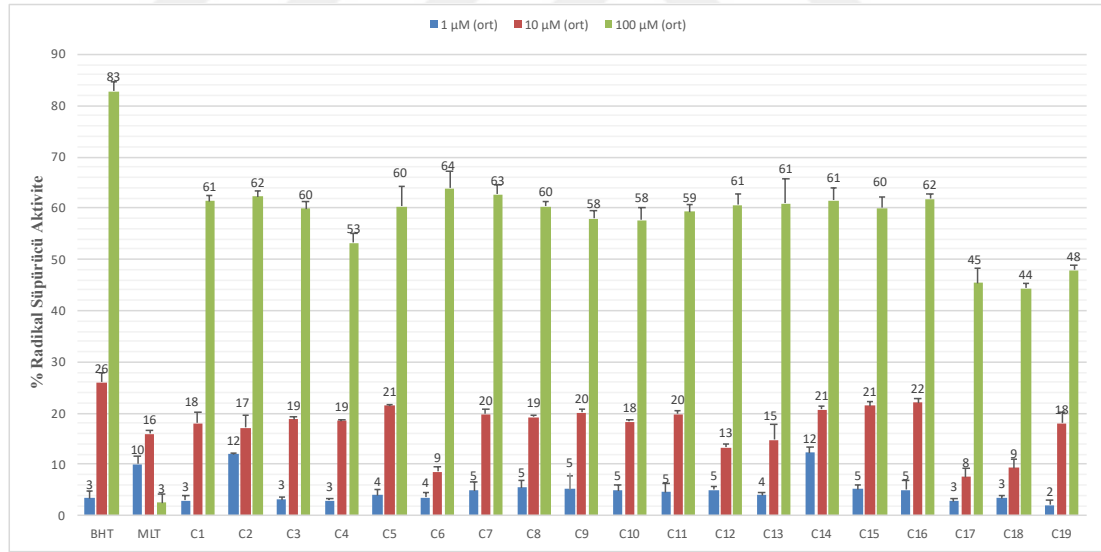
Hücreler tripsinlenmeyi takiben normal büyüme vasatı içinde 96 kuyucuklu plakalara 5x10³ hücre/kuyucuk olacak şekilde ekilmiş, 24 saat 37 °C, %5 CO₂'li ortamda inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra test maddeleri final DMSO oranı %0.1 olacak şekilde 10 µM final konsantrasyonda eklenmiş ve 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol grubu olarak %0,1 DMSO içeren büyüme ortamı, pozitif kontrol grubu olarak Triton X-100 (171 µM) kullanılmıştır. Ortamdaki final DMSO oranı %0.1'dir. İnkübasyon süresinin sonunda hücre canlılığı MTT yöntemi ile değerlendirilmiştir. Deney ortamı uzaklaştırılmış ve kuyucuklar tuzlu fosfat tamponu (Phosphate Buffered Saline (PBS)) ile yıkanmıştır. Final konsantrasyonu 1 mg/ml olan MTT çözeltisi ile 4 saat inkübasyon sonrasında oluşan mor renkli formazan kristalleri DMSO'da çözölmüş ve absorbans değerleri 550 nm dalga boyunda Thermo/Varioskan Flash mikropłaka okuyucuda ölçölmüştür.

3.5.3. Biyolojik Aktivitenin Sonuçlarının Değerlendirilmesi

3.5.3.1. Radikal Süpürücü Aktivitenin DPPH Deneyi ile Araştırılması

Sonuçlar:

Yeni sentezlenen C kodlu bileşiklerin 1 μ M, 10 μ M ve 100 μ M final konsantrasyonlarında radikal süpürücü aktiviteleri DPPH yöntemi ile araştırılmıştır (Şekil 3.54). Buna göre tüm bileşiklerin konsantrasyona bağlı olarak radikal süpürücü aktivite gösterdiği bulunmuştur. C17, C18 ve C19 dışındaki bileşikler benzer oranlarda radikal süpürücü aktivite göstermiştir. Bileşiklerin kimyasal yapıları göz önüne alındığında ana yapıya bağlı fenil halkasında halojen yerine metil sübtütisyonu bulunmasının (C17,C18, C19) radikal süpürücü aktiviteyi azalttığı görülmektedir. Bu bileşikler benzer şekilde diğer deney olan DCFH oksidasyonu üzerinde de indirgeyici etki göstermemiştir.



Şekil 3.54 C kodlu bileşiklerin radikal süpürücü aktivitelerinin DPPH yöntemi ile ölçülmesi.

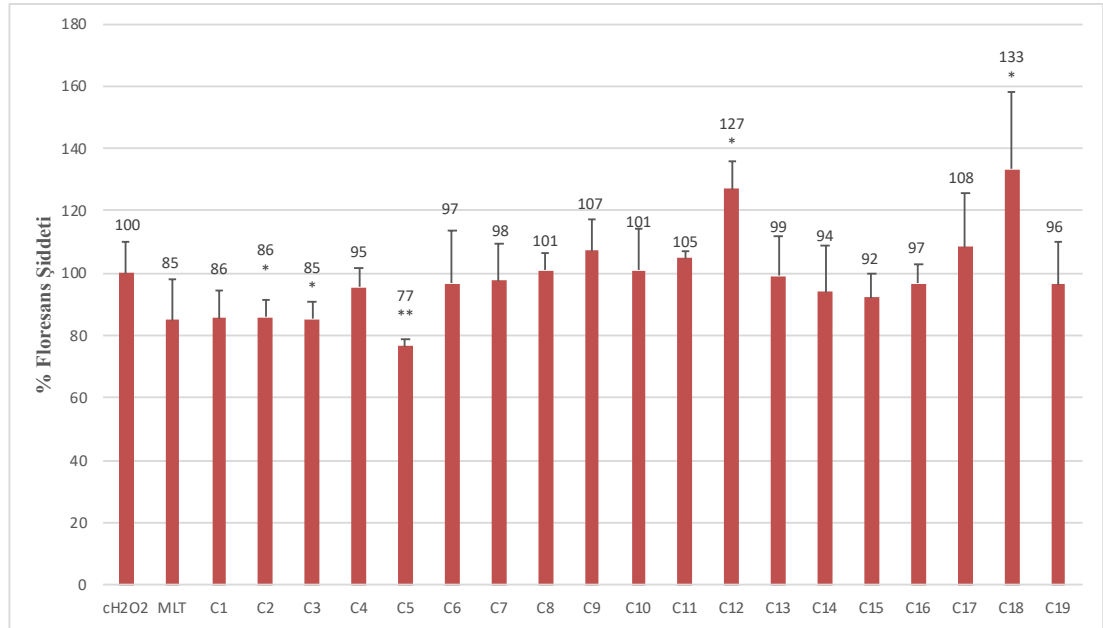
Şekil 3.54'teki barlar dört farklı çalışmanın 'ortamala $\pm$ standart sapma' değerlerini göstermektedir. BHT ve MLT referans olarak kullanılmıştır. (BHT: Butillenmiş hidroksitoluen, MLT)

3.5.3.2. DCFH Yöntemi ile Hücre İçi ROT Ölçümü

Sonuçlar:

Yeni sentezlenen bileşiklerin olası antioksidan etkileri hücre temelli DCFH yöntemi ile araştırılmıştır. Bileşiklerin CHO-K1 hücrelerinde kümen hidroperoksit (cH_2O_2) ile indüklenen DCFH oksidasyonu üzerine olası indirgeyici etkileri **Şekil 3.55.**'de görülmektedir. C2, C3 ve C5 dışındaki bileşikler CH_2O_2 ile indüklenen DCFH oksidasyonunu azaltmamıştır. Hatta C12 ve C18 bileşikler istatistiksel olarak anlamlı şekilde oksidasyonu artırıcı etki göstermiştir.

Yüksek radikal süpürücü aktivite gösteren bileşiklerin DCFH yönteminde etkili olmaması birkaç şekilde yorumlanabilir. Bunlardan ilki çözünürlük problemi nedeniyle DCFH yönteminde 100 μM konsantrasyona çıkılamamış olmasıdır. Radikal süpürücü aktivite değerlerine bakıldığında da bileşiklerin 10 μM konsantrasyondaki etkilerinin çok güçlü olmadığı görülmektedir. Bunun yanında hücre temelli bir yöntem olan DCFH deneyinde bileşiklerin hücre membranından yeterince difüze olamamış olması durumu da aynı etkinin görülmemesini açıklayabilecek bir diğer nedendir.



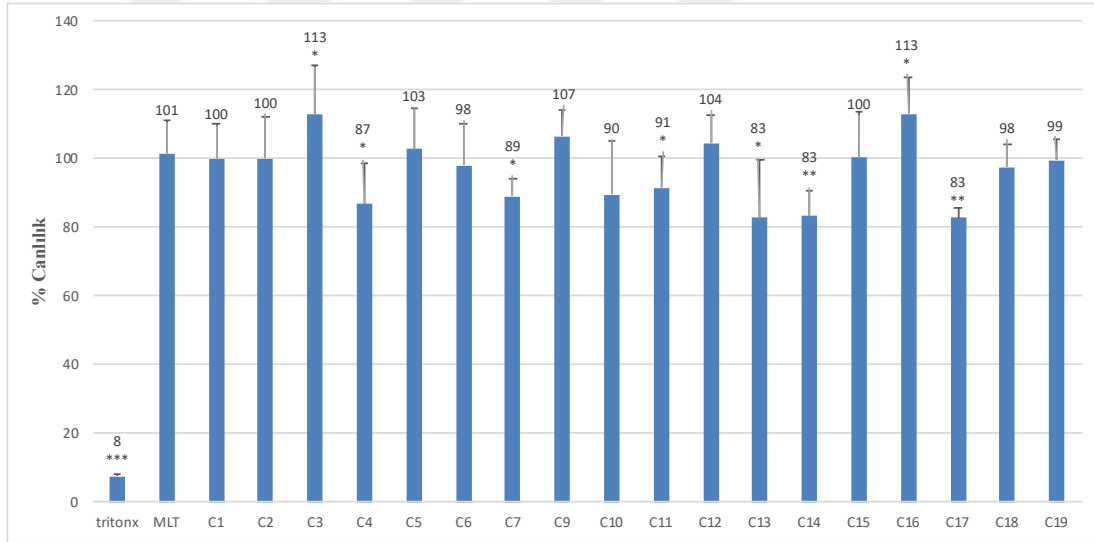
Şekil 3.55 C kodlu bileşiklerin (10 μM) CHO-K1 hücrelerinde kümen hidrojen peroksit (CH_2O_2) ile indüklenen DCFH oksidasyonu üzerine etkileri.

Şekil 3.55'deki barlar dört farklı (n=4) çalışmanın yüzde olarak kontrole kıyasla “ortalama $\pm$ standart sapma” değerlerini göstermektedir. cH_2O_2 kontrol grubu olarak kullanıldı. CH_2O_2 eklenmiş bütün örneklerin istatistikleri kontrol grubuna göre yapılmıştır. * $p<0.05$, ** $p<0.005$ (MLT)

3.5.3.3. Çin Hamsteri Over Hücre Hattında Sitotoksitenin MTT Yöntemi ile Araştırılması

Sonuçlar:

Yeni sentezlenen C kodlu bileşiklerin CHO-K1 hücrelerindeki sitotoksik etki potansiyelleri MTT yöntemiyle değerlendirilmiştir. Şekil 1 de görüldüğü üzere bileşiklerden bazıları hücre canlılığını istatistiksel olarak anlamlı derecede azaltıyor gibi görünse de hücre canlılığının %80'in altına düşmemesi bileşiklerin CHO-K1 hücrelerinde önemli bir sitotoksikite potansiyeline sahip olmadığını göstermektedir.



Şekil 3.56 C kodlu bileşiklerin (10 μM) CHO-K1 hücrelerinde, sitotoksik etki potansiyelinin MTT yöntemi ile değerlendirilmesine ait bulgular.

Şekil 3.56'daki barlar dört farklı (n=4) çalışmanın yüzde olarak kontrole kıyasla “ortalama $\pm$ standart sapma” değerlerini göstermektedir. * $p<0,05$, ** $p<0,005$, *** $p<0,0005$, her grubun ortalaması kontrol grubu ortalaması ile kıyaslanmıştır. Triton-x 100 pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

4. TARTIŞMA

MLT serbest radikal yakalama özelliğinden dolayı en çok araştırılan indol türevi bileşiklerin başında gelmektedir. Bu bileşikler E vitaminin hidroksil yakalama aktivitesinden daha fazla aktiviteye sahiptirler (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-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; Shirinzadeh ve ark., 2010), indol-3-hidrazin türevlerinin sentezleri ve antioksidan aktivitelerine ait yeterli veriye rastlanmamıştır.

Ayrıca son yıllarda yapılan çalışmalarda Schiff bazı (Li ve ark., 2007) ve hidrazon türevi bileşiklerde antioksidan aktivite saptanması, indolün 3 numaralı konumundan hidrazonlarını oluşturma isteğini doğurmuştur.

MLT ve antioksidan aktivitesi üzerine yapılan çalışmalarda tam olarak aydınlığa kavuşturulmayan konulardan biri de indol halkasının 5 numaralı konumunda bulunan metoksi grubunun antioksidan aktivitedeki rolüdür. Bazı araştırmacılar 5 numaralı konumdaki metoksi grubunun aktivite için gerekli olduğunu, geri kalan büyük çoğunluk ise bu grubun antioksidan aktivitede çok önemli etkisi olmadığını ileri sürmektedir (Tan ve ark., 2003; Ateş ve ark., 2005). Halen bu grubun varlığının aktivitedeki önemi belirlenememiştir. Bu durum göze alınarak bu çalışmada sentezlenecek MLT analogu indol türevi bileşiklerin tamamında 5 numaralı konumda bir süstitüent bulundurulmamıştır.

Bu şekilde tasarlanan maddeleri sentezlemek amacı ile 1*H*-indol molekülünden önce 2 basamaklı bir zincirleme reaksiyon ile 1-etilindol-3-karboksaldehit molekülü sentezlenmiştir. Bu molekül etanolü ortamda 80 °C’de fenil hidrazinler ile reaksiyona sokulmuştur ve sonuç ürünleri elde edilmiştir. Sentezlenen indol-fenil hidrazonların

saflık kontrolleri, İTK, erime noktası (E.N.) incelemeleri yapıldıktan sonra, Kütle spektroskopisi, NMR (^1H , ^{13}C) ve elementel analiz ile kanıtlanmıştır.

Bu tez çalışmasında MLT molekülünün ana halka sistemi olan indol halkası ele alınarak 5 numaralı konumda bulunan metoksi grubu yerine Hidrojen atomu, 3 numaralı konumda bulunan amid yan zinciri yerine çeşitli hidrazin türevleri ile beraber imin yapıları oluşturulmuştur. Ek olarak indol halkasında bulunan azot atomu etil grubu ile süstitüe edilmiştir. Böylece elde edilen MLT analogu bileşiklerin antioksidan aktivitelerinin MLT ile kıyaslanabilmesi sağlanmıştır.

Tez çalışması kapsamında sentezlenmesi planlanan moleküller sentezlenmiştir. Bu çalışmada MLT molekülünde gerçekleştirilen modifikasyonlardan en önemli olanı 3 numaralı konumda yapılan modifikasyon olan hidrazin türevlendirmeleridir. İndol halkası 3 numaralı konumdan elektronik süstitüsyona müsait bir moleküldür. Bu kapsamda boş indol molekülüne reaksiyonların ilk basamağında 3 numaralı konumdan karbonil grubu katılmıştır. Bir sonraki adımda ise 1 numaralı konumda bulunan indol halkasının azot atomuna etil grubu katılmıştır ve türevlendirme işlemlerinde kullanılacak olan 1-etilindol-3-karboksaldehit molekülü elde edilmiştir. Bu molekülden hareketle hidrazinler ile verilen katılma reaksiyonları sonucu yüksek verimde sonuç ürünleri elde edilmiştir.

İlk olarak sentezlenen bileşiklerin sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Sitotoksitenin MTT yöntemi ile değerlendirmesinde, sonuçlarda bazı moleküller hücrelerin canlılığını azaltıyor gibi görünse de, hücre canlılığı % 80'in altına düşmediği için sentezlenen moleküllerin önemli bir sitotoksik potansiyele sahip olmadığını söyleyebiliriz.

Radikal süpürücü aktivite kapsamında yapılan çalışmada antioksidan aktivite üzerine yoğunlaşmış ve sentezlenen bileşiklerin hücre temelli DCFH yöntemi ile antioksidan etkileri araştırılmıştır. Sonuç olarak 3-florofenil hidrazin, 2-florofenil hidrazin ve 3,5-diflorofenil hidrazin türevi olan C2, C3 ve C5 bileşiklerinde iyi derecede antioksidan aktivite gözlenmiştir. Dikkat çeken bir sonuç ise 3,4-diklorofenil hidrazin ve 2,4-

dimetilfenil hidrazin türevleri olan C12 ve C18 bileşiklerinde oksidasyonu arttırıcı etki görülmesi olmuştur. Bu durum birkaç farklı şekilde yorumlanabilir. Bunlardan ilki, çözünürlük problemi sebebi ile DCFH yönteminde 100µM konsantrasyona çıkılamamış olmasıdır. Radikal süpürücü aktivite değerleri 10 µM konsantrasyonda etkilerinin düşük olması bu durumu ispatlamaktadır.

Son olarak, antioksidan aktivite incelenmesi kapsamında yapılan bir başka çalışmada, bileşiklerin antioksidan aktiviteleri DPPH yöntemi ile araştırılmış. Buna göre tüm bileşiklerin konsantrasyona bağlı olarak radikal süpürücü aktivite gösterdiği bulunmuştur. Sentezlenen bileşiklerden C17, C18, C19 dışındaki diğerleri benzer oranda ve MLT molekülüne yakın antioksidan aktivite göstermişlerdir. Bu bileşiklerden en yüksek antioksidan aktivite gösterenler 3-florofenil hidrazin, 2-florofenil hidrazin ve 3,5-diflorofenil hidazin türevi olan C2, C3 ve C5 bileşikleridir. Bunu yanında, C17, C18 ve C19 isimli alkil-hidrazin türevleri MLT molekülünden daha az antioksidan aktivite göstermiştir. Buradan şu sonucu çıkarabiliriz ki, kimyasal yapıları göz önüne alındığı zaman süstitüe fenil halkasında elektron çekici halojen bulunması antioksidan aktiviteyi güçlendirmekte ve bu halojenin elektronegativitesi arttıkça antioksidan aktivite en yüksek değerine ulaşmakta, fenil halkası üzerinde elektron verici alkil gruplarının bulunması ise antioksidan aktiviteyi düşürmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

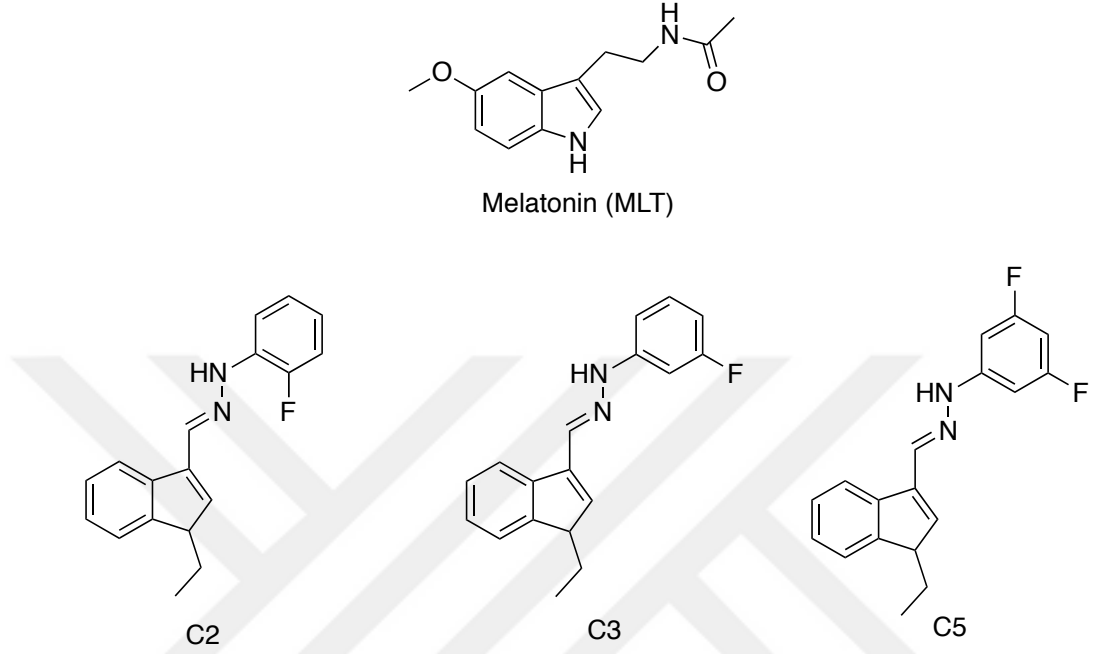
Bu tez çalışmasında, MLT yapısındaki ana halka sistemi olan indol halkası ele alınmıştır. MLT molekülünün 5 numaralı konumunda bulunan metoksi grubu çıkartılmış ve H atomu ile değiştirilmiş, indoldeki azot atomuna etil grubu katılmış ve 3 numaralı konumda bulunan amid yan zinciri yerine çeşitli hidrazin türevleri bağlanarak imin yapısı oluşturulmuştur. Böylelikle sentezlenen MLT analoğu bileşiklerin antioksidan aktiviteleri MLT ile kıyaslaması yapılmıştır.

Yüksek antioksidan aktivite gösteren bileşikler indol halkasının 3 numaralı konumundan yapılan sübstitüsyonda bulunan fenil halkasında en elektronegatif element olan F atomunu içermektedir. Düşük antioksidan aktivite gösteren bileşikler ise yine aynı fenil halkası üzerinde halojen yerine alkil grubu bulundurmaktadır. Tüm bileşikler antioksidan aktivite göstermesine rağmen halojen yerine elektron bağışlayıcı alkil sübstitüsyonu bulunan bileşiklerin antioksidan aktiviteyi düşürdüğünü ve elektronca zengin bir elektronegatif grubun yapıda bulunmasının antioksidan aktiviteyi arttırdığını söyleyebiliriz.

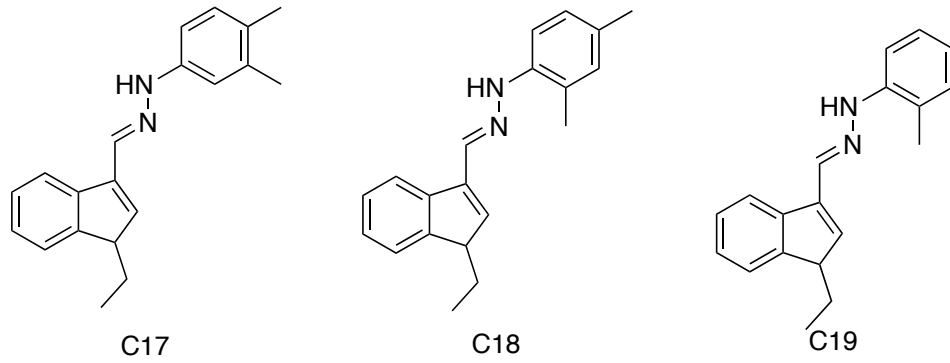
Sentezlenen bileşikler MLT ile kıyaslandığında daha yüksek antioksidan aktivite göstermişlerdir. MLT üzerinde 5 numaralı konumda bulunan metoksi grubunun sentezlenen türevlerde bulunmaması aktiviteyi azaltmamıştır. Benzer bir şekilde indol halkasındaki azot atomunun MLT’de bulundurduğu H atomundan farklı olarak bu türevlerde etil grubu ile sübstitüe edilmiş olması antioksidan aktivitede artışa sebep olduğu düşünülmektedir. Sentezlenen bileşiklerin molekül yapısı üzerinde gerçekleştirilen bu değişikliklerin antioksidan aktivitedeki artıştan sorumlu olduğu düşünülmektedir.

Araştırılan moleküller arasından fenil halkası üzerinde F atomu taşıyan C2, C3 ve C5 molekülleri hem 24 saatlik hem de 48 saatlik sürelerde yapılan deneylerde en sitotoksik ve anti-proliferatif aktiviteyi gösterenler olup antioksidan aktivite araştırmaları ile paralellik göstermiştir. Buradan elektron çekici grupların kemopreventif aktiviteyi arttırdığı sonucunu çıkarabiliriz.

DPPH ve DCFH Deneylerinin sonuçları paralellik göstermekte her iki deneyde de C2,C3 ve C5 bileşikleri yüksek antioksidan aktivite göstermiştir.



Şekil 5.1 Melatonin ve yüksek antioksidan ve kemopreventif aktivite gösteren bileşiklerin genel formülleri



Şekil 5.2 Düşük antioksidan aktivite gösteren bileşiklerin genel formülü

Bu çalışma sonucunda, MLT analoğu bileşiklerin sentez ve antioksidan aktiviteleri araştırılması üzerinde durulması gereken noktalar şu şekilde belirlenmiştir:

1. İndol halkasının 3 numaralı konumunda bulunan yan zincir antioksidan aktivitenin en önemli belirleyicisidir. Bu halkada imin yapısının bulunması antioksidan aktiviteyi arttırdığı gibi ek olarak yapıdaki fenil halkası üzerinde yüksek elektronegativite özelliği olan halojen sübstitüsyonu bulunması antioksidan aktivitenin en fazla olduğu ürünlerin elde edilmesini sağlar.
2. İndol halkasının 5 numaralı konumunda bulunan metoksi grubunun yokluğu aktiviteyi olumsuz olarak etkilememiştir, fakat aktivite görülmesine yardımcı olduğu düşünülmektedir.
3. İndol halkasının 1 numaralı konumundan yapılan etil sübstitüsyonunun antioksidan aktivitede artışa sebep olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmanın ileri safhalarında; yukarıdaki sonuçlar dikkate alınarak yeni bileşiklerin sentezlenmesi ve antioksidan aktivitelerinin incelenmesi hedeflenmektedir.

ÖZET

Melatonin Analogu Yeni İndol Türevi Bileşiklerin Sentezleri, Antioksidan ve Kemopreventif Etkilerinin Değerlendirilmesi

Oksidatif stres (OS) nedeniyle artan reaktif oksijen türleri (ROT); kardiyovasküler ve nörodejeneratif gibi bazı hastalıkların oluşumundan sorumlu tutulmaktadır. Buna karşı, enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar çeşitli mekanizmalarla biyolojik moleküllerin oksidatif hasarını önlemeye çalışır. Endojen bir hormon olan melatonin (MLT), pineal gland (beyin epifizi)'den geceleri salgılanır ve sirkadiyen ritmi düzenler. MLT ve metabolitleri ROT'ları başarı ile yakalayabilen çok etkili serbest radikal süpürücüleri olarak gösterilmektedir. MLT'nin kısıtlı biyoyararlılığı ve çok kısa yarılanma ömrü gibi farmakokinetik davranışları nedeniyle, en yüksek aktivite ve en düşük an etkiye sahip yeni antioksidan bileşikler araştırılmaktadır.

Bu çalışma ile ondokuz adet yeni (C1 hariç) melatonin analogu indol türevi bileşik sentezlenmiş ve Mass, NMR spektrometresi ve elementel analiz ile yapısı aydınlatılmıştır. Sentezlenen bileşikler 3 numaralı konumda halojen ya da alkil fenilhidrazin grubu taşıyan 1-etil-3-((2-fenilhidraziniliden)metil)-1*H*-indol türevleridir.

Sentezlenen türevlerin olası antioksidan ve sitotoksik etkileri 3 farklı yöntemle araştırılmıştır. Bunlar; spektrofotometrik absorbans değerinde meydana gelen azalma ile ölçülmesi hedeflenen sitotoksitenin MTT yöntemi ile araştırılması, sentezlenen maddelerin radikal süpürücü aktivitelerinin DPPH yöntemi ile araştırılması ve DCFH oksidasyonunu önleyici redüktif potansiyellerinin incelenmesi olmuştur. Sentezlenen maddelerin tamamının melatoninden yüksek antioksidan ve kemopreventif aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Aktif bileşiklerin yapılarında bir ya da daha fazla halojen atomu taşıması dikkat çekmektedir.

Anahtar kelimeler: melatonin, indol türevleri, sentez, antioksidan aktivite, sitotoksiste

SUMMARY

Synthesis and evaluation of antioxidant and chemopreventative activity of melatonin analogue new indole derivatives.

Increased levels of reactive oxygen species (ROS) due to oxidative stress (OS) 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. Melatonin (MLT), an endogenous hormone, is secreted from the pineal gland and is released at night. It modulates biological rhythms such as circadian rhythm. MLT and its metabolites successively scavenge ROS and is referred to as a very effective free radical scavenger. Because of MLT's pharmacokinetic and behaviour such as limited bioavailability and a very short 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, nineteen new (except C1), MLT based new indole analogue derivatives were synthesized and elucidated by Mass, NMR spectrometry and elemental analysis. The synthesized compounds are 1-ethyl-3-((2-phenylhydrazinylidene)methyl)-1*H*-indole derivatives which include alkyl or halogen containing phenyl hydrazine groups.

To investigate the antioxidant activity of the synthesized compounds and to compare with melatonin, three different *in vitro* assays were performed by evaluating; the decrease in the spectrophotometric absorbance to investigate cytotoxicity by MTT method, investigation of radical scavenging activity by DPPH test, in cell ROS measurement by DCFH test which measures the reductive potential to prevent oxidation of DCFH. Free radical scavenging and chemopreventative activity of all compounds were found significantly higher than MLT. It is important to note that all the active compounds contain one or more halogen atom in their structure.

Key Words: melatonin, indole derivatives, synthesis, antioxidant activity, cytotoxicity

KAYNAKLAR

- ABBOTT RD, ROSS GW, WHITE LR, TANNER CM, MASAKI KH, NELSON JS (2005). Excessive daytime sleepiness and subsequent development of Parkinson Disease. *Neurology*, **65**: 1442–1446.
- ABOUL-ENEIN HY, Kladna A, Kruk I, LichszteLD K, Michalska T, OlgEn S (2005). Scavenging of reactive oxygen species by novel indolin-2-one and indoline-2-thione derivatives. *Biopolimers*, **78**: 171- 178.
- ADAMCZYK-SOWA M, PIERZCHALA K, SOWA P, MUCHA S, SADOWSKA-BARTOSZ I, ADAMCZYK J, HARTEL M (2014). Melatonin Acts As Antioxidant And Improves Sleep In Ms Patients, *Neurochem. Res*, **39(8)**: 1585-1593.
- ADAWALLAH FM, PIAZZA GA, GARY BD, KEETON AB, CANZONERI JC (2013). Synthesis of some dihydropyrimidine-based compounds bearing pyrazoline moiety and evaluation of their antiproliferative activity. *Eur J. Med Chem*, **70**: 273-279.
- AGUIAR LM, MACEDO DS, DE FREITAS RM. DE ALBUQUERQUE OLIVEIRA A, VASCONCELOS SMM, DE SOUSA FCF, DE BARROS VIANA GS (2005). Protective effects of *N*-acetylserotonin against 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity. *Life Sci*, **76**: 2193–2202.
- AGATSUMA S, NAGOSHİ T, KOBAYASHİ M, USA M, WATANABE H, SEKİNO H, INABA H (1992). Hydroxyl radical-induced characteristic chemiluminescent spectra from plasma of hemodialysis-patients. *Clin Chem*, **38(1)**: 48–55.
- AIKENS J, DIX TA (1991). Perhydroxyl radical (HOO•) initiated lipid peroxidation: The role of fatty acid hydroperoxides. *J. Biol Chem*, **266(23)**: 15091-15098.
- ALLEGRA M, REITER RJ, TAN DX, GENTILE C, TESORIERE L, LIVREA MA (2003). The Chemistry Of Melatonin's Interaction With Reactive Species. *J. Pineal Res*, **34**: 1-10.
- ÁLVAREZ-DIDUK R, GALANO A, TAN, DX, REITER RJ (2015). *N*-Acetylserotonin and 6-hydroxymelatonin against oxidative stress: Implications for the overall protection exerted by melatonin. *J. Phys. Chem. B*, **119**: 8535–8543.
- ÁLVAREZ-DIDUK R, GALANO A, TAN DX, REITER RJ (2015). *N*-Acetylserotonin and 6-hydroxymelatonin against oxidative stress: Implications for the overall protection exerted by melatonin. *J. Phys. Chem. B*, **119**: 8535–8543.

- AMARAL FG, TURATI AO, BARONE M, SCIALFA JH, BUONFIGLIO DC, PERES R, PELICIARI-GARCIA RA, AFECHÉ SC, LIMA L, SCAVONE C, BORDIN S, REITER RJ, MENNA-BARRETO L, CIPOLLA-NETO J (2014). Melatonin Synthesis Impairment As A New Deleterious Outcome Of Diabetes-Derived Hyperglycemia. *J. Pineal Res*, **57**: 67–79.
- AMIN AH, EL-MISSIRY MA, OTHMAN AI (2014). Melatonin ameliorates metabolic risk factors, modulates apoptotic proteins, and protects the rat heart against diabetes-induced apoptosis. *Eur J Pharmacol*, **747**: 166-173.
- AMES NB, SHIGENAGA MK, HAGEN TM (1993). Oxidants, antioxidants, And The Degenerative Disease Of Aging. *Proc Nat Acad Sci USA*, **90**(17): 7915–7922.
- ANDONOVA L, GEORGIEVA M, ZLATKOV A (2015). Free Radicals, Oxidative Stress, And Diseases Associated With Them. *J Bulgarian Pharm Sci Soc*, **62**(2): 26-39.
- ANDERSON G, MAES M (2014). Local melatonin regulates inflammation resolution: a common factor in neurodegenerative, psychiatric and systemic inflammatory disorders. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets*, **13**(5): 817-827.
- 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**: 165-168.
- ANISIMOV VN, POPOVICH IG, ZABEZHINSKI MA, ANISIMOV SM, VESNUSHKIN GM, VINOGRADOVA IA (2006). Melatonin as antioxidant, geroprotector and anticarcinogen. *Biochim Biophys Acta*, **1757**: 573–589.
- ASHOK BT, ALI R (1999). The aging paradox: Free radical theory of aging. *Exp Gerontol.* **34**(3): 293– 303.
- 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**(3): 297-304.
- ATES-ALAGOZ Z, SUZEN S (2001). Structure-activity relationships of melatonin analogues. *J. Fac. Pharm. Ankara Univ.*, **30**: 41-52.
- ATES-ALAGOZ Z, SUZEN S (2001). Oxidative damage in the central nervous system and protection by melatonin. *J Fac Pharm Ankara Univ*, **30**(3): 47–62.
- ATES-ALAGOZ Z, ZBUYUKBINGOL, E BUYUKBINGOL (2005a). Synthesis and Antioxidant Properties of Some Indole Ethylamine Derivatives as Melatonin Analogs. *Die Pharmazie*, 2005a, **60**: 643-647.

- ATES-ALAGOZ Z, COBAN T, SUZEN S. (2005b). Comparative study: Evaluation of antioxidant activity of melatonin and some indole derivatives. *Med Chem Res*, **14(3)**: 169–179.
- ATES-ALAGOZ Z, KUS C, COBAN T (2005c). Synthesis and antioxidant properties of some novel benzimidazoles containing substituted indole or 1,1,4,4-tetramethyl-1,2,3,4-tetrahydro-naphthalene fragments. *J Enzym Inhib Med Chem*, **20(4)**: 325-331.
- 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.
- AWADALLAH FM, PIAZZA GA, GARY BD, KEETON AB, CANZONERI JC (2013). Synthesis of some dihydropyrimidine-based compounds bearing pyrazoline moiety and evaluation of their antiproliferative activity. *Eur J Med Chem*, **70**: 273-279.
- AXELROD J, WEISSBACH H (1960). Enzymatic O-methylation of N-acetylserotonin to melatonin. *Science*, **134(131)**: 1312.
- AXELROD J, WURTMAN RJ, SNYDER SH (1965). Control of hydroxyindole-O-methyltransferase activity in the rat pineal gland by environmental light. *J Biol Chem*, **240(1)**: 949–954.
- BACHURIN S, OXENKRUG GF, LERMONTOVA N, AFANASIEV A, BEZNOSKO B, VANKIN G, SHEVTZOVA E, MUKHINA T, SERKOVA T (1999). N-acetylserotonin, melatonin and their derivatives improve cognition and protect against β -amyloid-induced neurotoxicity. *Ann. N. Y. Acad. Sci*, **890**: 155–166.
- BAE SJ, LEE JS, KIM, JM, LEE EK, HAN YK, KIM HJ, CHOI J, HA YM, NO JK, KIM YH, YU BP, CHUNG HY (2010). 5-hydroxytryptophan inhibits tert-butylhydroperoxide (t-BHP)-induced oxidative damage via the suppression of reactive species (RS) and nuclear factor- κ B (NF- κ B) activation on human fibroblast. *J. Agric. Food Chem*. **2010**, **58**: 6387–6394.
- BALASUBRAMANIAN B, POGOZELSKI WK, TULLIUS TD (1998). DNA strand breaking by the hydroxylradical is governed by the accessible surface areas^[1] of the hydrogen atoms of the DNA backbone. *Proc Natl Acad Sci USA*, **95**: 9738–9743.
- BANDO H, SATO EF, 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.

- BANSAL RK (2005). Bicyclic Ring System Derived from Pyrrole, Furan and Thophene. In *Heterocyclic Chemistry* (4th ed., pp. 299-331). Delhi, India: New Age International (P) Ltd.
- BANSOD S, KAMBLE R (2012). Synthesis of novel 2-(3-aryl-sydnnon-4'-ylidene)-5'-substituted-[1,3,4]-thiadiazolylamines and [1,3,4]-thiadiazol-2'-yl-3-oxo-[1,2,4]-triazoles as antimicrobial agents. *Med Chem Res*, **21**: 867-873.
- BARROS AIRNA, NUNES, F.M., GONÇALVES B, BENNETT RN, SILVA AP (2011). Effect of cooking on total vitamin C contents and antioxidant activity of sweet chestnuts (*Castanea sativa* Mill.). *Food Chem.* **128**: 165–172.
- BASAGA HS (1990). Biochemical aspects of free-radicals. *Biochem Cell Biol*, **68**: 989–998, 1990
- BEHREND S A, HARDELAND R, NESS H, GRUBE S, POEGGELER B, HALDAR C (2004). Photocatalytic actions of the pesticide metabolite 2-hydroxyquinoxaline: Destruction of antioxidant vitamins and biogenic amines- Implications of organic redox cycling. *Redox Report*, **9(5)**: 279-288.
- BENDHEIM PE, POEGGELER B, NERIA E, ZIV V, PAPPOLLA MA, CHAIN DG (2002). Development of indole-3-propionic acid (OXIGON™) for alzheimer's disease. *J Mol Neurosci*, **19(1-2)**: 213-217.
- BENZI G, PASTORIS O, MARZATICO F, VILLA RF, DAGANI F, CURTI D (1992). The mitochondrial electron-transfer alteration as a factor involved in the brain aging. *Neurobiol Aging*, **13**: 361–368.
- BERGENDI L, BENES L, DURACKOVA Z, FERENCÍK M (1999). Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life Sci*, **65**: 1865–1874.
- BIELSKI BHJ, ARUDI RL, SUTHERLAND MW (1983). A study of the reactivity of HO₂/O₂ - with unsaturated fatty acids. *J. Biol. Chem*, **258(8)**: 4759-4761.
- BLOIS MS (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **181**: 1199–1200. (doi: 10.1038/1811199a0).
- BOLITHO SJ, NAISMITH SL, RAJARATNAM SMW, GRUNSTEIN RR, HODGES JR, TERPENING Z, ROGERS N, LEWIS SJG (2014). Disturbances In Melatonin Secretion And Circadian Sleep–Wake Regulation In Parkinson Disease, *Sleep Medicine*, **15**: 342–347.
- BONNEFONY-ROUSSELOT D, CHEVE G, GOZZO A, TAILLEUX A, GUILLOZ V, CAISEY S, TEISSIER E, FRUCHART JC, DELATTRE J, JORE D, LEISEUR D, DURIEZ P, GARDES-ALBERT M (2002). Melatonin related compounds inhibit lipid peroxidation during copper or free radical-induced LDL oxidation. *J Pineal Res.* **33(2)**: 109-117.

- BONNEFONT-ROUSSELOT D, COLLIN F (2010). Melatonin: action as antioxidant and potential applications in human disease and aging. *Toxicology*, **278**: 55–67.
- BOZKAYA P, DOGAN B, SUZEN S, NEBIOGLU D, OZKAN SA (2006). Determination and investigation of electrochemical behaviour of 2-phenylindole derivatives: Discussion on possible mechanistic pathways. *Can J Anal Sci Spec*, **51**: 125–139.
- BROOKES PS, LEVONEN AL, SHIVA S, SARTI P, DARLEY-USMAR VM (2002). Mitochondria: Regulators of signal transduction by reactive oxygen and nitrogen species. *Free Rad Biol Med*, **33**: 755–764.
- BUEMI MR, DE LUCA L, CHIMIRRI A, FERRO S, GITTO R, ALVAREZ-BUILLA J, ALAJARIN R (2013). Indole derivatives as dual-effective agents for the treatment of neurodegenerative diseases: Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling studies. *Bioorg Med Chem*, **21(15)**: 4575–4580.
- BUTLER J, HOEY BM (1993). The one-electron reduction potential of several substrates can be related to their reduction rates by cytochrome-P-450 reductase. *Biochim Biophys Acta*, **1161**: 73–78.
- BUTTERFIELD DA (2002). Amyloid beta-peptide (1-42)-induced oxidative stress ^[1]_{SEP} and neurotoxicity: implications for neurodegeneration in Alzheimer's ^[1]_{SEP} disease brain. A review. *Free Radic. Res*, **36**: 1307-1313.
- CECARINI V, GEE J, FIORETTI E, AMICI M, ANGELETTI M, ELEUTERI AM, KELLER JN (2007). Protein oxidation and cellular homeostasis: emphasis on metabolism. *Biochim Biophys Acta*, **1773**: 93-104.
- CAGNOLI CM, ATABAY C, KHARLAMOVA E, MANEV H (1995). Melatonin protects neurons from singlet oxygen-induced apoptosis. *J Pineal Res*, **18**: 222-226.
- CADENAS E, SIMIC MG, SIES H (1989). Antioxidant activity of 5-hydroxytryptophan, 5-hydroxyindole, and dopa ^[1]_{SEP} against microsomal lipid peroxidation and its dependence on vitamin E. *Free Radic Res*, **6**: 11–17. ^[1]_{SEP}
- CAGNOLI CM, ATABAY C, KHARLAMOVA E, MANEV H (1995). Melatonin protects neurons from singlet oxygen-induced apoptosis. *J Pineal Res*, **18**: 222-226. ^[1]_{SEP}
- CANTUTI-CASTELVETRI I, SHUKITT-HALE B, JOSEPH JA (2000). Neurobehavioral aspects of antioxidants in aging. *Int J Dev Neurosci*, **18**: 367-381.
- CAROCHO M, FERREIRA IC (2013). A review on antioxidants, pro oxidants and

- related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem Toxicol*, **51**: 15-25.
- CARR A, MCCALL MR, FREI B (2000). Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species-reaction pathways and antioxidant protection. *Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol*, **20**: 1716-1723.
- CERMAKIAN N, WESTFALL S, KIESSLING S (2014). Circadian Clocks And Inflammation: Reciprocal Regulation And Shared Mediators, *Arch. Immunol. Ther. Exp*, **62**, 303-318.
- CERUTTI P, GHOSH R, OYA Y, AMSTAD P (1994). The role of the cellular antioxidant defense in oxidant carcinogenesis. *Environ Health Perspect*, **102(10)**: 123-129.
- CHENG KC, CAHILL DS, KASAI H, NISHIMURA S, LOEB LA (1992). 8-Hydroxyguanine, and abundant form of oxidative DNA damage, causes G → T, A → C substitutions. *J. Biol Chem*, **267**: 166- 172.
- CHIUEH CC (1999). Neuroprotective properties of nitric oxide. *Ann. N.Y. Acad. Sci*, **890**: 301-311.
- CHOJNACKI JE, LIU K, YAN X, OLDO S, SELDEN T, ESTRADA M, RODRÍGUEZ-FRANCO MI, HALQUIST MS, YE D, ZHANG S (2014). Discovery of 5-(4-hydroxyphenyl)-3-oxo-pentanoic acid [2-(5- methoxy-1H-indol-3-yl)-ethyl]-amide as a neuroprotectant for Alzheimer's disease by hybridization of curcumin and melatonin. *ACS Chem. Neurosci.*, **5(8)**: 690-699.
- CHOUDHARI SK, CHAUDHARY M, GADBAIL AR, SHARMA A, TEKADE S (2014). Oxidative and antioxidative mechanisms in oral cancer and precancer: A review. *Oral Oncol*, **50**: 10-18.
- CHOWDHURY I, MAITRA SK (2012). In: Melatonin in the promotion of health, Ed.: Watson RR, CRC Press, 2. Baski, s.: 12-13.
- CHOWDHURY I, SENGUPTA A, MAITRA SK (2008). Melatonin; fifty years of scientific journey from the discovery in bovine pineal gland to delineation of functions in human. *Indian J. Biochem Biophys*, **45**: 289-304.
- CHRISTEN S, PETERHANS E, STOCKER R (1990). Antioxidant activities of some tryptophan metabolites: Possible implication for inflammatory diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, **87**: 2506-2510. [L]
[SEP]
- CHRISTEN Y (2000). Oxidative stress and Alzheimer disease. *Am. J. Clin. Nutr.* **71**: 621S-629S.
- CIPOLLA-NETO J, AMARAL FG, AFECHÉ SC, TAN DX, REITER RJ (2014). Melatonin, Energy Metabolism and Obesity: A Review. *J. Pineal Res*, **56**: 371-

- COS S, SANCHEZ-BARCELO EJ (2000). Melatonin and mammary pathological growth. *Front. Neuroendocrinol*, **21**: 133-170.
- COS S, MARTINEZ-CAMPA C, GONZALEZ AV, ALVAREZ-GARCIA V, ALONSO-GONZALEZ C, MEDIAVILLA MD, AND SANCHEZ-BARCELO EJ (2014). Melatonin And Aromatase In Breast Cancer. *Clin. Cancer Drugs*, **1**: 54-64.
- COSTA D, GOMES A, REIS S, LIMA JLFC, FERNANDES E (2005). Hydrogen peroxide scavenging activity by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Life Sci*. **76**: 2841-2848.
- CRAFT BD, KERRIHARD AL, AMAROWICZ R, PEGG RB (2012). Phenol-based antioxidants and the in vitro methods used for their assessment. *Compr. Rev. Food Sci. F*, **11**: 148-173.
- CRESPO E, MACIAS M, POZO D, ESCAMES G, MARTIN M, VIVES F, GUERRERO JM, ACUNA-CASTROVIEJO D (1999). Melatonin inhibits expression of the inducible NO synthase II in liver and lung and prevents endotoxemia in lipopolysaccharide-induced multiple organ dysfunction syndrome in rats. *FASEB J.*, **13**: 1537-1546.
- CUI P, LUO Z, ZHANG H, SU Y, LI A, LI H, ZHANG J, YANG Z, XIU R (2006). Effect and mechanism of melatonin's action on the proliferation of human umbilical vein endothelial cells. *J. Pineal. Res*, **41(4)**: 358-362.
- CUTANDO A, LOPEZ-VALVERDE A, VICENTE J, GIMENEZ JL, CARCIA IA, DIEGO RG (2014). Action of melatonin on squamous cell carcinoma and other tumors of the oral cavity (Review). *Oncology Lett*, **7**: 923-926.
- DANIELS WMU, VANRENSBURG SJ, VANZYL JM, VANDERWALT BJ, TALJAARD JJF (1996). Free radical scavenging effects of melatonin and serotonin: Possible mechanism. *Neuroreport*, **7**: 1593-1596.
- DANNHARDT G, KIEFER W (2001). Cyclooxygenase inhibitors - current status and future prospects. *Eur. J. Med. Chem*, **36(2)**: 109-126
- DAS S, FALCHI M, BERTELLI A, MAULIK N, DAS DK (2006). Attenuation of ischemia/reperfusion injury in rats by the anti-inflammatory action of resveratrol. *Arzneimittelforschung*, **56(10)**: 700-706.
- DE COCK VC, VIDAILHET M, ARNULF I (2008). Sleep disturbances in patients with parkinsonism. *Nat. Clin. Pract. Neurol*, **4**: 254-66.
- DE GREY ADNJ (2002). HO2: The forgotten radical. *DNA Cell Biol*, **21(4)**: 251-257.

- DEMOPOULOS VJ, GAVALAS A, REKATAS G, TANI EK (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.
- DERLACZ RA, SLIWINSKA M, PIEKUTOWSKA A, WINIARSKA K, DROZAK J, BRYLA J (2007). Melatonin is more effective than taurine and 5-hydroxytryptophan against hyperglycemia-induced kidney-cortex tubules injury. *J. Pineal Res*, **42**: 203-209.
- DI BELLA G, MASCIA F, GUALANO L, DI BELLA L (2013). Melatonin anticancer effects: Review. *Int J. Mol Sci*, **14**: 2410-2430.
- DIES H, TOPPOZINI L, RHEINSTADTER MC (2014). The interaction between amyloid- β peptides and anionic lipid membranes containing cholesterol and melatonin. *PLoS One*, **9(6)**: 99-124.
- DIZDAROGLU M, JARUGA P, BIRINCIOGLU M, RODRIGUEZ H (2002). Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Radic. Biol. Med*, **32(11)**: 1102-1115.
- DODO 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.
- DROGE W (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. Review. *Physiol. Rev*. **82**: 47-95.
- ENTRENA A, CAMACHO ME, CARRION MD, LOPEZ-CARA LC, VELASCO G, LEON J, ESCAMES G, ACUNA-CASTROVIEJO D, TAPIAS V, GALLO MA, VIVO A, ESPINOSA A (2005). Kynurenamines as neural nitric oxide synthase inhibitors. *J Med Chem*, **48(26)**: 8174-8181.
- ESCAMES G, GUERRERO JM, REITER RJ, GARCIA JJ, MUNOZ-HOYOS A, ORTIZ GG, OH CS (1997). Melatonin and vitamin E limit nitric oxide-induced lipid peroxidation in rat brain homogenates. *Neurosci. Lett*, **230(3)**: 147-150.
- ESPOSITO E, CUZZOCREA S (2010). Antiinflammatory activity of melatonin in central nervous system. *Curr. Neuropharmacol*, **8(3)**: 228-242.
- ESTERBAUER H, ECK LP, ORTNER A (1990). Possible mutagens derived from lipids and lipid precursors. *Mutat Res*, **238**: 223-233.
- ESTERBAUER H, PUBI H, DIEBER-ROTHENDER M (1991). Effect of antioxidants on oxidative modification of LDL. *Ann Med*, **23**: 573-581.
- FAHL WE, LALWANI ND, WATANABE T, GOEL SK, REDDY JK (1984). DNA damage related to increased hydrogen-peroxide generation by hypolipidemic drug-induced liver peroxisomes. *Proc Natl Acad Sci USA Biol. Sci*, **81**: 7827-

7830.

FERTL E, AUFF E, DOPPELBAUER A, WALDHAUSER F (1991). Circadian secretion pattern of melatonin in Parkinson's disease. *J. Neural. Transm. Park Dis. Dement. Sect*, **3**: 41-47.

FERNANDES E, COSTA D, TOSTE SA, LIMA JLFC, 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.

FLORA SJS (2009). Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and mettaloïd exposure. *Oxid. Med. Cell. Longev*, **2**: 191-206.

FLOYD RA (1990). The role of 8-hydroxyguanine in carcinogenesis. *Carcinogenesis*, **11**: 1447-1450.

FREEMAN BA, CRAPO JD (1982). Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab Invest*, **47**: 412-426.

FRIDOVICH I (1986). Biological effects of the superoxide radical. *Arch. Biochem. Biophys*. **247**: 1-11.

FRIE B, STOCKER R, AMES BN (1988). Antioxidant defences and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci*, **37**: 569-571.

GALANO A (2011). On the direct scavenging activity of melatonin towards hydroxyl and a series of peroxy radicals. *Phys. Chem. Chem. Phys*, **13**: 7178-7188.

GALANO A, TAN DX, REITER RJ (2013). On the free radical scavenging activities of melatonin's metabolites, AFMK and AMK. *J Pineal Res*, **54**(3): 245-257.

GALANO A, TAN DX, REITER RJ (2014). Cyclic 3-hydroxymelatonin, a key metabolite enhancing the peroxy radical scavenging activity of melatonin. *RSC Adv*, **41**(10): 304-316.

GALANO A, MEDINA ME, TAN DX, REITER RJ (2015). Melatonin and its metabolites as copper chelating agents and their role in inhibiting oxidative stress: A physicochemical analysis. *J. Pineal Res*, **58**(1): 107-116.

Galano ve ark., 2016

GALANO A, TAN DX, REITER RJ (2017). Melatonin and Related Compounds: Chemical Insight into Their Protective Effects Against Oxidative Stress. *Curr Org Chem*, **21**(20): 2077-2095.

GARCIA JJ, REITER RJ, KARBOWNIK M, CALVO JR, ORTIZ GG, TAN DX,

- MARTINEZ-BALLARIN E, ACUA-CASTROVIEJO D (2001). *N*-acetylserotonin suppresses hepatic microsomal membrane rigidity associated with lipid peroxidation. *Eur. J. Pharmacol*, **428**: 169-175.
- GARCIA-SANTOS G, HERRERA F, MARTIN V, RODRIGUEZ-BLANCO J, ANTOLIN I, FERNANDEZ-MARI F, RODRIGUEZ C (2004). Antioxidant activity and neuroprotective effects of zolpidem and several synthesis intermediates. *Free Rad. Res.* **3**:1289-99.
- GASPAROVA Z, STOLC S, SNIRC V (2006). In vitro physiological evidence of enhanced antioxidant and neuroprotective action of 2,3-dihydromelatonin, a melatonin analogue. *Pharmacol Res.* **53**: 22-7.
- GERSCHMAN R, GILBERT DL, NYE SW, DWYER P, FENN WO (1954). Oxygen poisoning and x-irradiation: a mechanism in common. *Science*, **119**(3097): 623-626.
- GHAFOURIFAR P, CADENAS E (2005). Mitochondrial nitric oxide synthase. *Trends Pharmacol. Sci*, **26**: 190-195.
- GITTO E, TAN DX, REITER RJ, KARBOWNIK M, MANCHESTER LC, CUZZOCREA S, FULIA F, BARBERI I (2001). Individual and synergistic antioxidative actions of melatonin: Studies with vitamin E, vitamin C, glutathione and desferrioxamine (desferoxamine) in rat liver homogenates. *J. Pharm. Pharmacol*, **53**: 1393-1401.
- GOLAN D, STAUN-RAM E, GLASS-MARMOR L, LAVI I, ROZENBERG O, DISHON S, BARAK M, ISH-SHALOM S, MILLER A (2013). The influence of vitamin D supplementation on melatonin status in patients with multiple sclerosis. *Brain Behav. Immun*, **32**: 180-185.
- GOODGLICK LA, KANE AB (1992). Membrane perturbation by asbestos fibers and disease. *CELLULAR MEMBRANE: A KEY TO DISEASE PROCESSES*, Ohnishi ST, Ohnishi T (Eds). first ed. CRC Press, London 1992, pp. 123–139.
- GRIVAS TB, SAVVIDOU OD (2007). Melatonin the “light of night” in human biology and adolescent idiopathic scoliosis. *Scoliosis*, **2007**, **2**: 1-14.
- GUENTHER AL, SCHMIDT SI, LAATSCH H, FOTSO S, NESS H, RESSMEYER AR, POEGGELER B, HARDELAND R (2005). Reactions of the melatonin metabolite AMK (N1-acetyl-5- methoxykynuramine) with reactive nitrogen species: Formation of novel compounds, 3-acetamidomethyl-6-methoxycinnolinone and 3-nitro-AMK. *J Pineal Res*, **39**(3): 251-260.
- GULCIN I (2008). Measurement of antioxidant ability of melatonin and serotonin by the DMPD and CUPRAC methods as trolox equivalent. *J Enzyme Inhib. Med.*

Chem, **23**: 871-876.

GUPTA AK, KALPANA S, MALIK JK (2012). Synthesis and in vitro antioxidant activity of new 3-substituted- 2-oxindole derivatives. *Indian J Pharm Sci*, **74(5)**: 481-486.

GURER-ORHAN H, INCE E, KONYAR D, SASO L, SUZEN S (2017). The Role Of Oxidative Stress Modulators In Breast Cancer. *Curr Med Chem*. (baskıda) doi: 10.2174/0929867324666170711114336

GURER-ORHAN H, KARAASLAN C, OZCAN S, FİRUZİ O, TAVAKKOLİ M, SASO L, SUZEN S (2016). Novel indole-based melatonin analogues: Evaluation of antioxidant activity and protective effect against amyloid β -induced damage. *Bioorg Med Chem*. 24(8):1658-64.

GURKAN AS, 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.

GURKOK G, COBAN T, SUZEN T (2009). Melatonin analogue new indole hydrazide/hydrazone derivatives with antioxidant behavior: Synthesis and structure-activity relationships. *J Enzyme Inhib Med Chem*, **24**: 506–515.

HADJIPAVLOU-LITINA D, SAMADI A, UNZETA M, MARCO-CONTELLES J (2013). Analysis of the antioxidant properties of differently substituted 2- and 3-indolyl carbohydrazides and related derivatives. *Eur J Med Chem*, **63**: 670-674.

HALLIWELL B (1990). How to characterize a biological antioxidant. *Free Rad. Res. Commun*, **9(1)**: 1-32.

HALLIWELL B (1991). Drug antioxidant effects. *Drugs* **42(4)**: 569 - 605.

HALLIWELL B, GUTTERIDGE JMC, CROSS CE (1992). Free-radicals, antioxidants, and human-disease - Where are we now. *J Lab Clin Med*, **119**: 598-620.

HALLIWELL B, CHIRICO S (1993). Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am. J. Clin. Nutr*, **57**: 715-724.

HALLIWELL B (2001). Role of free radicals in neurodegenerative diseases: therapeutic implications for antioxidant treatment. *Drugs Aging*, **18**: 685-716.

HALLIWELL B (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochem. Soc. Trans*, **35**: 1147-1150.

HANNEKEN A, LIN FF, JOHNSON J, MAHER P (2006). Flavonoids protect human retinal pigment epithelial cells from oxidative-stress-induced death. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **47**: 3164-3177.

- HANUKOGLU I, RAPOPORT R, WEINER L, SKLAN D (1993). Electron leakage from the mitochondrial NADPH-adrenodoxin reductase-adrenodoxin-P450_{scc} (cholesterol side-chain cleavage) system. *Arch Biochem Biophys*, **305**(2): 489-498.
- HARDELAND R (2005). Antioxidative protection by melatonin: multiplicity of mechanisms from radical detoxification to radical avoidance. *Endocrine*, **27**: 119-130.
- HARDELAND R, CARDINALI DP, SRINIVASAN V, SPENCE DW, BROWN GM, PANDI-PERUMAL SR (2011). Melatonin- A Pleiotropic, Orchestrating Regulator Molecule. *Progress in Neurobiology*, **93**: 350-384.
- HASTINGS MH, MAYWOOD ES, REDDY AB (2008). Two decades of circadian time. *J Neuroendocrinol*, **28**(5): 812-819.
- HATTORI Y, NISHIGORI C, TANAKA T, USHIDA K, NIKAIDO O, OSAWA T (1997). 8 Hydroxy-2-deoxyguanosine is increased in epidermal cells of hairless mice after chronic ultraviolet B exposure. *J Invest Dermatol*, **89**: 10405–10409.
- HERRAIZ T, GALISTEO J (2004). Endogenous and dietary indoles: A class of antioxidants and radical scavengers in the ABTS assay. *Free Radic. Res*, **38**: 323-331.
- HUETHER G, FETTKOTTER I, KEILHOFF G, WOLF G (1997). Serotonin acts as a radical scavenger and is oxidized to a dimer during the respiratory burst of activated microglia. *J Neurochem*, **69**: 2096-2101.
- 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.
- JAHNKE G, MARR M, MYERS C, WILSON R, TRAVLOS G, PRICE C (1999). Maternal and developmental toxicity evaluation of melatonin administered orally to pregnant Sprague-Dawley rats. *Toxicol. Sci*, **50**(2): 271-279.
- JEE J, LIM S, PARK J, KIM C (2006). Stabilization of all-trans retinol by loading lipophilic antioxidants in solid lipid nanoparticles. *Eur. J Pharm. Biopharm*, **63**: 134-139.
- JIANG J, YU S, JIANG Z, LIANG C, YU W, LI J, DU X, WANG H, GAO X, WANG X (2014). N-acetyl-serotonin protects HepG2 cells from oxidative stress injury induced by hydrogen peroxide. *Oxid. Med. Cell. Longev*, **2014**: 310504.
- JOHNSON EJ, VISHWANATHAN R, JOHNSON MA, HAUSMAN DB, DAVEY A, SCOTT TM, GREEN RC, MILLER LS, GEARING M, WOODARD J (2013). Relationship between serum and brain carotenoids, α -tocopherol, and retinol concentrations and cognitive performance in the oldest old from the Georgia

Centenarian Study. *J. Aging Res.*, **2013**, doi:10.115 /951786.

KALIR A, SZARA S (1966). 1-Benzyl tryptamine and its a-Me homolog were prepared from 3-indole- aldehyde. *J. Med. Chem*, **9**: 793–794.

KANDAR R, ZAKOVA P, MUZAKOVA V (2006). Monitoring of antioxidant properties of uric acid in humans for a consideration measuring of levels of allantoin in plasma by liquid chromatography. *Clin. Chim. Acta*, **365**: 249-256.

KARAASLAN C, KADRI H, COBAN T, SUZEN S, WESTWELL AD (2013). Synthesis and antioxidant properties of substituted 2-phenyl-1H-indoles. *Bioorg Med Chem Lett*, **23**: 2671-2674.

KARAASLAN C, SUZEN S (2015). Antioxidant properties of melatonin and its potential action in diseases. *Curr Top Med Chem*, **15**: 894-903.

KARBOWNIK M, REITER RJ, QI W, GARCIA JJ, TAN DX, MANCHESTER LC, VIJAYALAXMI (2000). Protective effects of melatonin against oxidation of guanine bases in DNA and decreased microsomal membrane fluidity in rat liver induced by whole body ionizing radiation. *Mol Cell Biochem*, **211**: 137-144.

KARBOWNIK M, GITTO E, LEWINSKI A, REITER RJ (2001a). Relative efficacies of indole antioxidants in reducing autoxidation and iron-induced lipid peroxidation in hamster testes. *J. Cell. Biochem*, **81**: 693-699.

KARBOWNIK M, LEWINSKI A, REITER RJ (2001). Anticarcinogenic actions of melatonin which involve antioxidative processes: comparison with other antioxidants. *Int J. Biochem Cell Biol*, **33**: 735-753.

KARLSSON K, SANDSTROM J, EDLUND A, EDLUND T, MARKLUND SL (1993) . Pharmacokinetics of extracellular superoxide dismutase in the vascular system. *Free Radic Biol Med*, **14(2)**: 185-190.

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**: 3109-3113.

KEHRER JP, KLOTZ LO (2015). Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease: implications for Health. *Crit Rev Toxicol*, **45**: 765-98.

KEITHAHN C, LERCHL A (2005). 5-Hydroxytryptophan is a more potent in vitro hydroxyl radical scavenger than melatonin or vitamin C. *J. Pineal Res*, **38**: 62-66.

KLATT P, LAMAS S (2000). Regulation of protein function by S- glutathiolation in response to oxidative and nitrosative stress. *Eur. J Biochem*, **267**: 4928-4944.

KORKMAZ A, REITER RJ, TOPAL T, MANCHESTER LC, OTER S, TAN DX

- (2009). Melatonin: an established antioxidant worthy of use in clinical trials, *Mol. Med*, **15**: 43-50.
- KOSHLAND DE (1992). The molecule of the year. *Science*, **258**: 1861.
- KOSTOGLU-ATHANASSIOU I (2013). Therapeutic applications of melatonin. *Ther. Adv. Endocrinol. Metab*, **4**(1): 13-24.
- KUESEL JT, HARDELAND R, PFOERTNER H, AECKERLE N (2010). Reactions of the melatonin metabolite N1-acetyl-5- methoxykynuramine with carbamoyl phosphate and related compounds. *J. Pineal Res*, **48**(1): 47-54.
- LAUTRAITE S, BIGOT-LASSERRE D, BARS R, CARMICHAEL N (2003). Optimisation of cell-based assays for medium throughput screening of oxidative stress. *Toxicol In Vitro*. **17**: 207–220.
- LEBOYER M, KUPFER DJ (2010). Bipolar disorder: new perspectives in health care and prevention. *J. Clin. Psychiatry*, **71**: 1689-1695.
- LEON J, ESCAMES G, RODRIGUEZ MI, LOPEZ LC, TAPIAS V, ENTRENA A, CAMACHO E, CARRION MD, GALLO MA, ESPINOSA A, TAN DX, REITER RJ, ACUNA-CASTROVIEJO D (2006). Inhibition of neuronal nitric oxide synthase activity by N¹-acetyl-5-methoxykynuramine, a brain metabolite of melatonin. *J Neurochem*, **98**: 2023-2033.
- LERNER AB, CASE JD, TAKAHASHI Y, LEE Y, MORI W (1958). Isolation of melatonin, the pineal factor that lightens melanocytes. *J Am Chem Soc*, **80**(10): 2587.
- LERNER AB, CASE JD (1959a). Pigment cell regulatory factors. J. Investig. Dermatol. **32**: 211-221.
- LERNER AB, CASE JD, HEINZELMANN RV (1959b). Structure of melatonin. *J Am Chem Soc*, **81**(22): 6084-6085.
- LIY, SCHELLHORN HE (2007). New developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C. Critical Review. *J. Nutr*. **137**: 2171-2184.
- LIMSON J, NYOKONG T, DAYA S (1998).The interaction of melatonin and its precurs or swith aluminium, cadmium, copper, iron, lead, and zinc: An adsorptive voltammetric study. *J. Pineal Res*. **24**: 15-21.
- LIU W, CHANG LY, GEUZE HJ, STROUS GJ, CRAPO JD, SLOT JW (1993). Distribution of CuZn superoxide dismutase in rat liver. *Free Rad Biol Med*, **14**: 201-207.
- LISSONI P, ROVELLI F, MALUGANI F, BUCOVEC R, CONTI A, MAESTRONI GJM (2001). Anti-angiogenic activity of melatonin in advanced cancer patients. *Neuroendocrin Lett*, **22**(1): 45-47.

- LISSEONI P, ROVELLI F, BRIVIO F, FUMAGALLI L, BRERA G (2008). A study of immunoendocrine strategies with pineal indoles and interleukin-2 to prevent radiotherapy-induced lymphocyte openia in cancer patients. *In vivo*, **22(3)**: 397-400.
- LOBO V, PHATAK A, CHANDRA N (2010). Free Radicals, Antioxidants and Functional Foods: Impact on Human Health. *Pharmacogn Rev*, 4(8): 118-126.
- LONGONI B, PRYOR WA, MARCHIAFAVA P (1997). Inhibition of lipid peroxidation by *N*-acetyl serotonin and its role in retinal physiology. *Biochem Biophys Res Commun*, **233**: 778-780.
- LOPEZ-BURILLO S, TAN DX, RODRÍGUEZ-GALLEGO V, MANCHESTER LC, MAYO JC, SAINZ RM, REITER RJ (2003). Melatonin and its derivatives cyclic 3-hydroxymelatonin, N^1 -acetyl- N^2 -formyl-5-methoxykynuramine and 6-hydroxymelatonin reduce oxidative DNA damage induced by Fenton reagents. *J Pineal Res*, **34**: 178-184.
- LOPEZ-IGLESIAS B, PEREZ C, MORALES-GARCIA JA, ALONSO-GIL S, PEREZ-CASTILLO A, ROMERO A, LOPEZ MG, VILLARROYA M, CONDE S, RODRIGUEZ-FRANCO MI (2014). New melatonin-*N,N*-dibenzyl(*N*-methyl)amine hybrids: potent neurogenic agents with antioxidant, cholinergic, and neuroprotective properties as innovative drugs for Alzheimer's disease. *J. Med. Chem*, **57(9)**: 3773-85.
- LOWES DA, WEBSTER NR, MURPHY MP, GALLEY HF (2013). Antioxidants that protect mitochondria reduce interleukin-6 and oxidative stress, improve mitochondrial function, and reduce biochemical markers of organ dysfunction in a rat model of acute sepsis. *Br. J. Anaesth*, **110**: 472–480.
- LU J, LIN PH, YAO Q, CHEN C (2010). Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *J. Cell Mod. Med*, **14**: 840–860.
- LYSEK N, KINSCHERF R, CLAUS R, LINDEL T (2003). L-5-hydroxytryptophan: Antioxidant and anti-apoptotic principle of the intertidal sponge *Hymeniacidon heliophila*. *Z Naturforsch C*, **58**: 568–572.
- MAGNENAT JL, GARGANOAM M, CAO J (1998). The nature of antioxidant defense mechanisms: A lesson from transgenic studies. *Environ Health Perspect*, **106**: 1219–28.
- MAHARAJ DS, ANOOPKUMAR-DUKIE S, GLASS BD, ANTUNES EM, LACK B, WALKER RB, DAYA S (2002). The identification of the UV degradants of melatonin and their ability to scavenge free radicals. *J Pineal Res*, **32**: 257– 261
- MAHARAJ DS, WALKER RB, GLASS BD, DAYA S (2003). 6-Hydroxymelatonin

- protects against cyanide induced oxidative stress in rat brain homogenates. *J Chem Neuroanat*, **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**: 877–881.
- MAHARAJ DS, MAHARAJ H, DAYA S, GLASS BD (2006). Melatonin and 6-hydroxymelatonin protect against iron-induced neurotoxicity. *J Neurochem*, **96**: 78–81.
- 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**: 51-54.
- MARI M, MORALES A, COLELL A, GARCIA-RUIZ C, FERNANDEZ-CHECA JC (2009). Mitochondrial glutathione, a key survival antioxidant. *Antioxid Redox Signal*, **11(11)**: 2685–2700.
- MARNETT LJ (1987). Peroxyl free radicals: Potential mediators of tumor initiation and promotion. *Carcinogenesis*, **8(10)**: 1365-1373.
- MARONDE E, STEHLE J (2007). The mammalian pineal gland: Known facts, unknown facets. *Trends Endocrinol Metab*, **18(4)**: 142–149.
- MARTIN V, SAINZ RM, ANTOLIN I, MAYO JC, HERRERA F, RODRIGUEZ C (2002). Several Antioxidant Pathways Are Involved In Astrocyte Protection By Melatonin. *J Pineal Res*, **33**: 204 -12.
- MARTIN-RENEDO J, MAURIZ JL, JORQUERA F, RUIZ-ANDRÉS O, GONZÁLEZ P, GONZÁLEZ-GALLEGO J (2008). Melatonin induces cell cycle arrest and apoptosis in hepatocarcinoma HepG2 cell line. *J Pineal Res*, **45(4)**: 532–540.
- MATES JM, PEREZ-GOMEZ C, DE CASTRO IN (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem*, **32**: 595–603.
- MATUSZAK Z, BILSKA MA, RESZKAT KJ, CHIGNELL CF, BILSKI P (2003). Interaction of Singlet Molecular Oxygen with Melatonin and Related Indoles. *Photochem Photobiol*, **78**: 449–455.
- MAURIZ JL, COLLADO PS, VENEROSO C, REITER RJ, GONZÁLEZ-GALLEGO J (2013). A review of the molecular aspects of melatonin's antiinflammatory actions: recent insights and new perspectives. *J Pineal Res*, **54**: 1–14.
- MAYO JC, TAN DX, SAINZ RM, NATARAJAN M, LOPEZ-BURILLO S, REITER RJ (2003). Protection against oxidative ^[L]SEP protein damage induced by metal-

- catalyzed reaction or alkylperoxyl radicals: Comparative effects of melatonin and other antioxidants. *Biochim Biophys Acta*, **1620**: 139–150.
- MEDIAVILLA MD, SANCHEZ EJ, TAN DX, MANCHESTER L, REITER RJ (2010). Basic mechanisms involved in the anti-cancer effects of melatonin. *Curr Med Chem*, **17**: 4462-4481.
- MEHTA BK (2010). New hypotheses on sunlight and the geographic variability of multiple sclerosis prevalence. *J. Neurol. Sci.*, **292(1-2)**: 5–10.
- MEISTER A (1988). Glutathione metabolism and its selective modification. *J Biol Chem*, **263**: 17205–8.
- MELCHIORRI D, REITER RJ, ATTIA AM, HARA M, BURGOS A, NISTICO G (1994). Potent protective effect of melatonin on in vivo paraquat-induced oxidative damage in rats. *Life Sci*, **56**: 83–89.
- MILLÁN-PLANO S, PIEDRAFITA E, MIANA-MENA FJ, FUENTES-BROTO L, MARTÍNEZ-BALLARÍN E, LÓPEZ-PINGARRÓN L, SÁENZ MA, GARCÍA JJ (2010). Melatonin and structurally-related compounds protect synaptosomal membranes ^[11]_{SEP} from free radical damage. *Int J Mol Sci* **11**: 312–328.
- MILLER E, MROWICKA M, MALINOWSKA K, MMROWICKI J, SALUK-JUSZCZAK J, KEDZIORA J (2010). The effects of whole-body cryotherapy on oxidative stress in multiple sclerosis patients. *J Therm Biol*, **35**: 406–410.
- MILLER E, WALCZAK A, MAJSTEREK I, KĘDZIORA J (2013). Melatonin reduces oxidative stress in the erythrocytes of multiple sclerosis patients with secondary progressive clinical course. *J Neuroimmunol*, **257(1)**: 97-101.
- MITTAL CK, MURAD F (1977). Activation of guanylate cyclase by superoxide dismutase and hydroxyl radical: a physiological regulator of guanosine 3',5'-monophosphate formation. *Proc Natl Acad Sci USA*. **74(10)**: 4360–4364.
- MCCORD JM, FRIDOVICH I (1969). Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem*, **244(22)**: 6049-55.
- MOR M, SILVA C, VACONDIO F, PLAZZI PV, 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.
- MORREY KM, MCLACHLAN JA, SERKIN CD, BAKOUCHE O (1994). Activation of human monocytes by the pineal hormone melatonin. *J Immunol*, **153**: 2671–2680.
- MOSTAFAVI A, SOLHI M, MOHAMMADI MR, HAMED M, KESHA-VARZI M,

- AKHONDZADEH S (2014). Melatonin decreases olanzapine induced metabolic side-effects in adolescents with bipolar disorder: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Acta Med Iran*, **52(10)**: 734-9.
- MOSSMAN T (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*, **65 (1-2)**: 55-63. ([doi:10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)).
- MOUITHYS-MICKALAD AML, ZHENG SX, DEBY-DUPONT GP, DEBY CMT, LAMY M, REGINSTER JYY, HENROTIN YE (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.
- NAIDU KA (2003). Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutr J*, **2**: 7.
- NEGRE-SALVAYRE A, AUGÉ N, AYALA V, BASAGA H, BOADA J, BRENKE R, CHAPPELLE S, COHEN G, FEHER J, GRUNE T, LENGUEL G, MANN GE, PAMPLONA R, POLI G, PORTERO-OTIN M, RIAHI Y, SALVAYRE R, SASSON S, SERRANO J, SHAMNI Q, SIEMS W, SIOW RCM (2010). Pathological aspects of lipid peroxidation. *Free Radic Res*, **44(10)**: 1125-1171.
- NEUZIL J, THOMAS SR, STOCKER R (1997). Requirement for promotion, or inhibition of α -tocopherol of radical induced initiation of plasma lipoprotein lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med*, **22**: 57–71.
- NIEDOWICZ DM, DALEKE DL (2005). The role of oxidative stress in diabetic complications. *Cell Biochem And Biophys*, **43(2)**: 289-330.
- NILES AL, MORAVEC RA, RISS TL (2008). Update On In Vitro Cytotoxicity Assays For Drug Development. *Expert Opin Drug Discov*, **3**: 655-669.
- NIWA K, HAENSEL C, ROSS ME, IADECOLA C (2001). Cyclooxygenase-1 participates in selected vasodilator responses of the cerebral circulation. *Circ Res*, **88**: 600-8.
- NGUYEN LA, HE H, PHAM-HUY C (2006). Chiral drugs. An overview. *Int. J. Biomed. Sci. (IJBS)*, **2**: 85-100.
- NODA Y, MORI A, LIBURDY R, PACKER L (1999). Melatonin and its precursors scavenge nitric oxide. *J Pineal Res*, **27**: 159–163.
- OLGEN S, COBAN T (2002). Synthesis and Antioxidant Properties of Novel N-Substituted indole 2-carboxamide and 3-acetamide Derivatives. *Arch Pharm*, **335(7)**: 331-338.

- OLGEN S, GUNER E, CRESPO MI, NEBIOGLU D (2002). Syntheses and Biological Evaluation of Indole-2 and 3-Carboxamides: A New Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitors. *Pharmazie*, **57**: 238-242.
- OLGEN S, COBAN T (2003). Antioxidant evaluations of novel N-H and N-substituted indole esters. *Biol Pharm Bull*, **26**: 736 -738.
- OLGEN S, COBAN T (2004). Antioxidant activity of N-Substituted Indole-2- and 3-carboxamides. *J Fac Pharmacy Ankara*, 33(2): 109-116.
- OLGEN S, KILIC Z, ADA AO, COBAN T (2007). Synthesis and Antioxidant Properties of Novel N-H and N-Substituted Propanamide Derivatives. *Arch Pharm*, **340**: 140-146.
- ORTIZ GG, PACHECO-MOISES FP, GOMEZ-RODRIGUEZ VM, GONZALEZ-RENOVATO ED, TORRES-SANCHEZ ED, RAMIREZ-ANGUIANO AC (2013). Fish oil, melatonin and vitamin E attenuates midbrain cyclooxygenase-2 activity and oxidative stress after the administration of 1-methyl-4- phenyl-1,2,3,6- tetrahydropyridine. *Metab Brain Dis*, **28**: 705–709.
- OXENKRUG G, REQUINTINA P, BACHURIN S (2001). Antioxidant and antiaging activity of *N*-acetylserotonin and melatonin in the in vivo models. *Ann N Y Acad Sci*, **939**: 190–199.
- OXENKRUG G (2005). Antioxidant effects of *N*-acetylserotonin: Possible mechanisms and clinical implications. *Ann N Y Acad Sci*, **1053**: 334–347.
- OZCAN-SEZER S, INCE E, AKDEMİR A, CEYLAN ÖÖ, SUZEN S, GURER-ORHAN H (2018). Aromatase inhibition by 2-methyl indole hydrazone derivatives evaluated via molecular docking and in vitro activity studies. *Xenobiotica*. (baskıda) doi: 10.1080/00498254.2018.1482029.
- PADAYATTY SJ, KATZ A, WANG Y, ECK P, KWON O, LEE JH, CHEN S, CORPE C, DUTTA A, DUTTA SK, LEVINE M (2003). Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J Am Coll Nutr*, **22**: 18–35.
- PALACE VP, KHAPER N, QIN Q, SINGAL PK (1999). Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. *Free Radic Biol Med*, **26**: 746–761.
- PARMAR P, LIMSON J, NYOKONG T, DAYA S (2002). Melatonin protects against copper-mediated free radical damage. *J Pineal Res*, **32**: 237–242.
- PARONI R, TERRANEO L, BONOMINI F, FINATI E, VIRGILI E, BIANCIARDI

- P, FAVERO G, FRASCHINI F, REITER RJ, REZZANI R, SAMAJA M (2014). Antitumour Activity Of Melatonin In A Mouse Model Of Human Prostate Cancer: Relationship With Hypoxia Signalling. *J Pineal Res*, **57**: 43–52.
- PEREZ-REYES E, MASON RP (1981). Characterization of the structure and reactions of free radicals from serotonin and related indoles. *J Biol Chem*, **256**: 2427–2432.
- PHAM-HUY LA, HE H, PHAM-HUY C (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci*, **4(2)**: 89-96.
- PIERREFICHE G, TOPALL G, COURBOIN G, HENRIET I, LABORIT H (1993). Antioxidant activity of melatonin in mice.^[1]_{SEP}*Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, **80**: 211–224.
- POEGGELER B, REITER RJ, HARDELAND R, SEWERYNEK E, MELCHIORRI D, BARLOW-WALDEN LR (1995). Melatonin, a mediator of electron transfer and repair reactions, acts synergistically with the chain-breaking antioxidants ascorbate, trolox and glutathione. *Neuroendocrinol Lett*, **17**: 87–92.
- POEGGELER B, PAPPOLLA MA, 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, THUERMANN 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(1)**: 20–30.
- POIRIER LA (1987). Stages in carcinogenesis: alteration by diet. *Am J. Clin Nutr*, **45(1)**: 185-191.
- POSTUMA RB, BERTRAND JA, MONTPLAISIR J, DESJARDINS C, VENDETTE M, ROMENETS SR (2012). Rapid eye movement sleep behavior disorder and risk of dementia in Parkinson's disease: a prospective study. *Mov Disord*, **27**: 720–6.
- PUNTARULO S, CEDERBAUM AI (1998). Production of reactive oxygen species by microsomes enriched in specific human cytochrome P450 enzymes. *Free Radic Biol Med*, **24**: 1324-1330.
- QI W, REITER RJ, TAN DX, MANCHESTER LC, SIU AW, GARCIA JJ (2000). Increased levels of oxidatively damaged DNA induced by chromium(III) and H₂O₂: Protection by melatonin and related molecules. *J Pineal Res*. **29**: 54–61.
- RAHMAN K (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging*, **2(2)**: 219–236.
- RAZSKAZOVSKII Y, SEVILLA MD (1996). Reactions of sulphonyl peroxy radicals with DNA and its components: Hydrogen abstraction from the sugar

- backbone versus addition to pyrimidine double bonds. *Int J Radiat Biol*, **69**: 75–87.
- REITER RJ, GARCIA JJ, PIE J (1998). Oxidative toxicity in models of neurodegeneration: Responses to melatonin. *Restor Neurol Neurosci*, **12**: 135–142.
- REITER RJ, ACUÑA-CASTROVIEJO D, TAN DX, BURKHARDT S (2001). Free radical-mediated molecular damage: Mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system. *Ann N Y Acad Sci*, **939**: 200–215.
- REITER RJ, TAN DX, ALLEGRA M (2002). Melatonin: reducing molecular pathology and dysfunction due to free radicals and associated reactants. *Neuro Endocrinol Lett*, **23**: 3–8.
- REITER RJ, TAN DX, MAYO JC, SAINZ RM, LEON J, CZARNOCKI Z (2003). Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and pathophysiological implications in humans. *Acta Biochim Pol*, **50**: 1129–1146.
- REITER RJ, TAN DX, FUENTES-BROTO L (2010). Melatonin: A Multitasking Molecule. In: *Neuroendocrinology: THE NORMAL NEUROENDOCRINE SYSTEM* (Birinci baskı, Vol. 181, pp. 127–151).
- RESSMEYER AR, MAYO JC, ZELOSKO V, SAINZ RM, TAN DX, POEGGELER B, ANTOLIN I, ZSIZSIK BK, REITER RJ, 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**: 205–213.
- REYES-GONZALES MC, FUENTES-BROTO L, MARTÍNEZ-BALLARÍN E, MIANA-MENA FJ, BERZOSA C, GARCÍA-GIL FA, ARANDA M, GARCÍA JJ (2009). Effects of tryptophan and 5-hydroxytryptophan on the hepatic cell membrane rigidity due to oxidative stress. *J Membr Biol*, **231**: 93–99.
- 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.
- RIDNOUR LA, THOMAS DD, MANCARDI D, ESPEY MG, MIRANDA KM, PAOLOCCI N, FEELISCH M, FUKUTO J, WINK DA (2004). The chemistry of nitrosative stress induced by nitric oxide and reactive nitrogen oxide species. Putting perspective on stressful biological situations. *Biol Chem*, **385**: 1–10.
- ROMO-NAVA F, ALVAREZ-ICAZA GD, FRESÁN-ORELLANA A, SARACCO AR, BECERRA-PALARS C, MORENO J, URIBE OMP, BERLANGA C, HEINZE G, BUIJS RM (2014). Melatonin attenuates antipsychotic metabolic effects: an eight-week randomized, double-blind, parallel-group, placebo-

- controlled clinical trial. *Bipolar Disord*, **16(4)**: 410-21.
- ROSEN J, THAN NN, KOCH D, POEGGELER B, LAATSCH H, HARDELAND R (2006). Interactions of melatonin and its metabolites with the ABTS cation radical: Extension of the radical scavenger cascade and formation of a novel class of oxidation products, C2-substituted 3-indolinones. *J Pineal Res*, **41**: 374–381.
- SAINSBURY M (2002). Benzo(b)pyrrole, Benzo(b)furan and Benzo(b)thiophene. In *Heterocyclic Chemistry* (Birinci Baskı, pp. 97-114). New York, NY: Royal Society of Chemistry.
- SALVADOR A, SOUSA J, PINTO RE (2001). Hydroperoxyl, superoxide and pH gradients in the mitochondrial matrix: A theoretical assessment. *Free Rad Biol Med*, **31**: 1208–1215.
- SANCHEZ-SANCHEZ AM, MARTIN V, GARCIA-SANTOS G, RODRIGUEZ-BLANCO J, CASADO-ZAPICO S, SUAREZ-GARNACHO S, ANTOLIN I, RODRIGUEZ C (2011). Intracellular redox state as determinant for melatonin antiproliferative vs cytotoxic effects in cancer cells. *Free Radic Res*, **45**: 1333-1341.
- SANZ E, ROMERA M, BELLIK L, MARCO JI, UNZETA M (2004). Indolalkylamines derivatives as antioxidant and neuroprotective agents in an experimental model of Parkinson's disease. *Med Sci Monit*, **10**: BR477-84.
- SARIKAYA SBO, GULCIN I (2013). Radical scavenging and antioxidant capacity of serotonin. *Curr Bioact Comp*, **9**: 143–152.
- SCAIANO JC (1995). Exploratory laser flash photolysis study of free radical reactions and magnetic field effects in melatonin chemistry. *J. Pineal Res*. **19**: 189–195.
- SHARMA S, HALDAR C (2006). Melatonin prevents X-ray irradiation induced oxidative damage in peripheral blood and spleen of the seasonally breeding rodent, *Funambulus pennanti* during reproductively active phase. *Int J Radiat Biol*, **82**: 411–419.
- SHEN HM, SHI CY, SHEN Y, ONG CN (1996). Detection of elevated reactive oxygen species level in cultured rat hepatocytes treated with aflatoxin B-1. *Free Radic Biol Med*, 139–146.
- SHIDA CS, CASTRUCCI AML (1994). Lamy-Freund MT. High Melatonin Solubility in Aqueous Medium. *J. Pineal Res*. **16**: 198-201.
- SHIRINZADEH H, EREN B, GURER-ORHAN H, SUZEN S, OZDEN S (2010). Novel indole-based analogs of melatonin: Synthesis and in vitro antioxidant

- activity studies. *Molecules*, **15**(4): 2187-2202.
- SHIRINZADEH H, INCE E, WESTWELL AD, GURER-ORHAN H, SUZEN S (2016). Novel indole-based melatonin analogues substituted with triazole, thiadiazole and carbothioamides: studies on their antioxidant, chemopreventive and cytotoxic activities. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 31(6):1312-21.
- SEEGER H, MUECK AO, LIPPERT TH (1997). Effect of melatonin and metabolites on copper-mediated oxidation of low density lipoprotein. *Br J Clin Pharmacol*, **44**: 283–284.
- SEMAK I, KORIK E, ANTONOVA M, WORTSMAN J, SLOMINSKI A (2008). Metabolism of melatonin by cytochrome P450s in rat liver mitochondria and microsomes. *J Pineal Res*. **45**: 515–523.
- SHIRINZADEH H, GUMUSTAS M, SUZEN S, OZDEN S, OZKAN SA (2010). Synthesis and investigation of electrochemical behaviour of *N*-methylandole-3-carboxaldehyde izonicotinoyl hydrazone. *Molecules*, **15**(4): 2187–2202.
- SIDDHURAJU P, BECKER K (2003). Studies on antioxidant activities of mucuna seed (*Mucuna pruriens varutilis*) extract and various non-protein amino/imino acids through in vitro models. *J Sci Food Agric*, **83**: 1517–1524.
- SIES H (1997). Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. *Exp Physiol*, **82**(2): 291-295.
- SIU AW, CHEUNG JP, TO CH, CHAN EK, CHAN JK, CHEUNG JC (2001). *N*-acetyl-serotonin reduces copper(I) ion-induced lipid peroxidation in bovine retinal homogenates. *Acta Ophthalmol Scand*, **79**: 69–71.
- SIU AW, ORTIZ GG, BENITEZ-KING G, TO CH, REITER RJ (2004). Effect of melatonin on the nitric oxide treated retina. *Br J Ophthalmol*, **88**: 1078–1081. [L]
[SEP]
- SLOMINSKI AT, KLESZCZYN'SKI K, SEMAK I, JANJETOVIC Z, Z MIJEWSKI MA, KIM TK, SLOMINSKI RM, REITER RJ, FISCHER TW (2014). Local melatoninergic system as the protector of skin integrity. *Int J Mol Sci*, **15**: 17705–17732.
- SOUZA LC, WILHELM EA, BORTOLATTO CF, NOGUEIRAC CW, BOEIRA SP, JESS CR (2014). The Protective Effect Of Melatonin Against Brain Oxidative Stress And Hyperlocomotion In A Rat Model Of Mania Induced By Ouabain. *Behav Brain Res*, **271**: 316–332.
- SPADONI G, DIAMANTINI G, BEDINI A, TARZIA G, VACONDIO F, SILVA C, RIVARA M, MOR M, PLAZZI PV, 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.
- SQUADRITO GL, PRYOR WA (1998). Oxidative chemistry of nitric oxide: the roles of superoxide, peroxynitrite and carbon dioxide. *Free Radic Biol Med*, **25**: 392–403.
- STEFANIS L, BURKE RE, GREENE LA (1997). Apoptosis in neurodegenerative disorders. *Curr Opin Neurol*, **10**: 299–305.
- 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**: 1495-1504.
- SUGDEN D (2003). Comparison of circadian expression of tryptophan hydroxylase isoforms mRNAs in the rat pineal gland using real-time PCR. *J Neurochem*, **86**(5): 1308–1311.
- SUZEN S, ATES-ALAGOZ Z, PUSKULLU O (2000). Antioxidant activities of indole and benzimidazole derivatives. *FABAD J Pharm Sci*, **25**(3): 113–119.
- SUZEN S, ATES-ALAGOZ Z, DEMIRCIGIL T, OZKAN SA (2001). Synthesis and analytical evaluation by voltammetric studies of some new indole-3-propionic acid derivatives. *Farmaco*, **56**: 835–840.
- SUZEN S, DEMIRCIGIL T, BUYUKBINGOL E, OZKAN SA (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.
- SUZEN S (2006). Recent developments of melatonin related antioxidant compounds. *Com Chem High T Synt*, **9**(6): 409-419.
- SUZEN S, BOZKAYA P, COBAN T, NEBIOGLU D (2006). Investigation of in vitro antioxidant behaviour of some 2-phenylindole derivatives: Discussion on possible antioxidant mechanisms and comparison with melatonin. *J Enzyme Inhib Med Chem*, **21**(4): 405–411.
- SUZEN S (2007). Antioxidant Activities of Synthetic Indole Derivatives and Possible Activity Mechanisms. Book: Topics in Heterocyclic Chemistry, Bioactive Heterocycles V. Khan, M.T.H. (Ed.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Vol. 11 Page 145-178. DOI: 10.1007/7081_2007_074
- SUZEN S, CIHANER SS, COBAN T (2012). Synthesis and comparison of antioxidant properties of indole-based melatonin analogue indole amino acid derivatives.

Chem Biol Drug Des, **79(1)**: 76–83.

SUZEN S (2013). Melatonin and synthetic analogs as antioxidants. *Curr Drug Del*, **10(1)**: 71-75.

SUZEN S, TEKINER-GULBAS B, SHIRINZADEH H, USLU D, GURER-ORHAN H, GUMUSTAS M, OZKAN SA (2013a). Antioxidant activity of indole-based melatonin analogues in erythrocytes and their voltammetric characterization. *J Enzyme Inhib Med Chem*, **28(6)**: 1143–1155.

SUZEN S. Evaluation of synthetic melatonin analog antioxidant compounds. *MELATONIN: THERAPEUTIC VALUE AND NEUROPROTECTION*. Srinivasan V, Gobbi G, Shillcutt S.D, Suzen S (Eds). Yayınlayan: Boca Raton : Taylor & Francis, (2015), Bölüm 21, p. 259-269. ISBN: 9781482220100 1482220105

SZCZEPANIK M (2007). Melatonin and Its, Influence On Immune System. *J Physiol Pharmacol*, **58(6)**: 115-124.

TAN DX, CHEN LD, POEGGELER B, MANCHESTER LC, REITER RJ (1993). Melatonin: a potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocr J*, **1**: 57–60.

TAN DX, MANCHESTER LC, REITER RJ, PLUMMER BF, HARDIES LJ, WEINTRAUB ST, VIJAYALAXMI, SHERPHERD AM (1998). A novel melatonin metabolite, cyclic 3-hydroxymelatonin: a biomarker of in vivo hydroxyl radical generation. *Biochem Biophys Res Commun*, **253(3)**: 614–620.

TAN DX, MANCHESTER LC, REITER RJ, QI WB, KARBOWNIK M, CALVO JR (2000). Significance of melatonin antioxidant defense system: Reactions and products. *Biol Signals Recept*, **9**: 137–159.

TAN DX, MANCHESTER LC, REITER RJ, PLUMMER BF, LIMSON J, WEINTRAUB ST, QI W (2000). Melatonin directly scavenges hydrogen peroxide: a potentially new metabolic pathway for melatonin biotransformation. *Free Radic Biol Med*, **29(11)**: 1177–1185.

TAN DX, MANCHESTER LC, BURKHARDT S, SAINZ RM, MAYO JC, KOHEN R, SHOHAMI E, HUO YS, HARDELAND R, REITER RJ (2001). N¹-acetyl-N²-formyl-5-methoxykynuramine, a biogenic amine and melatonin metabolite, functions as a potent antioxidant. *FASEB J*, **15**: 2294–2296.

TAN DX, REITER RJ, MANCHESTER LC, YAN MT, EL- SAWI M, SAINZ RM, MAYO JC, 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.

TAN DX, HARDELAND R, MANCHESTER LC, POEGGELER B, LOPEZ-BURILLO S, MAYO JC, SAINZ RM, REITER RJ (2003). Mechanistic and

- comparative studies of melatonin and classic antioxidants in terms of their interactions with the ABTS cation radical. *J Pineal Res*, **34**: 249–259.
- TAN DX, MANCHESTER LC, TERRON MP, FLORES LJ, REITER RJ (2007a). One molecule, many derivatives: A never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? *J Pineal Res*, **42**(1): 28–42.
- TAN DX, MANCHESTER LC, TERRON MP, FLORES LJ, TAMURA H, REITER RJ (2007b). Melatonin as a naturally occurring co-substrate of quinone reductase-2, the putative MT3 melatonin membrane receptor: Hypothesis and significance. *J Pineal Res*, **43**: 317–320.
- TAN DX, HARDELAND R, MANCHESTER LC, PAREDES SD, KORKMAZ A, SAINZ RM, MAYO JC, FUENTES-BROTO L, REITER RJ (2010). The changing biological roles of melatonin during evolution: From an antioxidant to signals of darkness, sexual selection and fitness. *Biol Rev*, **85**: 607–623.
- TAN DX, HARDELAND R, MANCHESTER LC, GALANO A, REITER RJ (2014). Cyclic-3-hydroxymelatonin (C3HOM), a potent antioxidant, scavenges free radicals and suppresses oxidative reactions. *Curr Med Chem*, **21**: 1557–1565.
- TAN DX, MANCHESTER LC, ESTEBAN-ZUBERO E, ZHOU Z, REITER RJ (2015). Melatonin as a potent and inducible endogenous antioxidant: synthesis and metabolism. *Molecules*, **20**: 18886–18906.
- TAPIAS V, ESCAMES G, LÓPEZ LC, LÓPEZ A, CAMACHO E, CARRIÓN MD, ENTRENA A, GALLO MA, ESPINOSA A, ACUÑA-CASTROVIEJO D (2009). Melatonin and its brain metabolite N1-acetyl-5-methoxykynuramine prevent mitochondrial nitric oxide synthase induction in Parkinsonian mice. *J Neurosci Res*, **87**(13): 3002–3010.
- TERPINC P, ABRAMOVIČ H (2010). A kinetic approach for evaluation of the antioxidant activity of selected phenolic acids. *Food Chem*, **121**(2): 366–371.
- TESORIERE L, AVELLONE G, CERAULO L, D'ARPA D, ALLEGRA M, LIVREA MA (2001). Oxidation of melatonin by oxoferryl hemoglobin: A mechanistic study. *Free Radic Res*, **35**: 633–642.
- THANNICKAL VJ, FANBURG BL (2000). Reactive oxygen species in cell signaling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, **279**: L1005–L1028.
- TODD R, WONG DT (1999). Oncogenes. *Anticancer Res*, **29**(6A): 4729–4746.

- TOSINI G, YE K, IUUVONE PM (2012). *N*-acetylserotonin: Neuroprotection, neurogenesis, and the sleepy brain. *Neuroscientist*, **18**: 645–653. [SEP]
- TORRES L, ANDERSON C, MARRO P, MISHRA OP, 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.
- TRESGUERRES JA, CUESTA S, KIREEV RA, GARCIA C, ACUNA-CASTROVIEJO D, VARA E (2013). Beneficial effect of melatonin treatment on age-related insulin resistance and on the development of type 2 diabetes. *Horm Mol Biol Clin Investig*, **16(2)**: 47-54.
- TSANG AH, CHUNG KK (2009). Oxidative and nitrosative stress in Parkinson's disease. *Biochim Biophys Acta*, **1792(7)**: 643–650.
- TURUNEN M, OLSSON J, DALLNER G (2004). Metabolism and function of coenzyme Q. *Biochim Biophys Acta*, **1660**: 171–199.
- VALENTE A, ALBUQUERQUE TG, SANCHES-SILVA A, COSTA HS (2011). Ascorbic acid content in exotic fruits: a contribution to produce quality data for food composition data-bases. *Food Res Int*, **44**: 2237–2242.
- VALKO M, IZAKOVIC M, MAZUR M, RHODES CJ, TELSER J (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem*, **266(1-2)**: 37-56.
- VALKO M, RHODES CJ, MONCOL J, IZAKOVIC M, MAZUR M (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*. **160(1)**: 1-40
- VALKO M, LEIBFRITZ D, MONCOLA J, CRONIN MD, MAZUR M, TELSER J (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Review. *Int J Biochem Cell Biol*, **39(1)**: 44-84.
- VAN HEEREBEEK L, MEISCHL C, STOOKER W, MEIJER CLJM, NIESSEN HWM, ROOS D (2002). NADPH oxidase(s): New source(s) of reactive oxygen species in the vascular system? *J Clin Pathol*, **55**: 561–568.
- 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.
- VIGNAIS PV (2002). The superoxide-generating NADPH oxidase: Structural aspects and activation mechanism. *Cell Mol Life Sci*, **59**: 1428–1459.
- VIJAYALAXMI, REITER RJ, TAN DX, HERMAN TS, THOMAS CR Jr (2004). Melatonin as a radioprotective agent: a review. *Int J. Radiat Oncol Biol Phys*, **59**: 639-653.

- WARD JF, LIMOLI CL, CALABRO-JONES P, EVANS JW (1988). Radiation versus chemical damage to DNA. In: P.A. Ceruti, O.F. Nygaard, M.G. Simic (eds). *Anticarcinogenesis and Radiation Protection*. Plenum, New York, 1988, pp 321–327.
- WEBER OA, SIMEON V (1971). Tryptamine, 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxytryptophan complexes of proton and some divalent metal ions. *J Inorg Nucl Chem*, **33**: 2097–2101.
- WEISIGER RA, FRIDOVICH I (1973). Mitochondrial superoxide dismutase: site of synthesis and intramitochondrial location. *J Biol Chem*, **248**: 4793–6.
- WIERNSPERGER NF (2003). Oxidative stress as a therapeutic target in diabetes: revisiting the controversy. *Diabetes Metab*, **29**: 579–585.
- WILLCOX JK, ASH SL, CATIGNANI GL (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. Review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, **44**: 275-295
- WÖLFLE A, ABUJA PM, SCHAUENSTEIN K, LIEBMANN PM (1999). *N*-acetylserotonin is a better extra and intracellular antioxidant than melatonin. *FEBS Lett*, **449**: 206–210.
- YILMAZ AD, COBAN T, SUZEN S (2012). Synthesis and antioxidant activity evaluations of melatonin-based analogue indole-hydrazide/hydrazone derivatives. *J Enzyme Inhib Med Chem*, **27**: 428–436.
- YOSHIDA M, FUKUDA A, HARA M, TERADA A, KITANAKA Y, OWADA S (2003). Melatonin prevents the increase in hydroxyl radical-spin trap adduct formation caused by the addition of cisplatin in vitro. *Life Sci*, **72**: 1773–1780. [1] [SEP]
- YOUNG IS, WOODSIDE JV, HALLIWELL B, CHRISTEN Y, HALLIWELL B, TSANG AHK, CHUNG KKK, BUTTERFIELD DA, PHAM-HUY LA, HE H, PHAM-HUY C, FREI B (2000). HO₂·: The Forgotten Radical. *J Pineal Res*, **20**(7): 47-54.
- YOUNG I, WOODSIDE J (2001). Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol*, **54**: 176-186.
- YANG TH, HSU PY, MENG M, SU CC (2015). Supplement of 5-hydroxytryptophan before induction suppresses inflammation and collagen-induced arthritis. *Arthritis Res Ther*, **17**: 364.
- ZATTA P, TOGNON G, CARAMPIN P (2003). Melatonin prevents free radical formation due to the interaction between β -amyloid peptides and metal ions [Al(III), Zn(II), Cu(II), Mn(II), Fe(II)]. *J Pineal Res*, **35**: 98–103. [1] [SEP]
- ZAVODNIK IB, DOMANSKI AV, LAPSHINA EA, BRYSEWSKA M, REITER RJ (2006). Melatonin directly scavenges free radicals generated in red blood cells and a cell-free system: Chemiluminescence measurements and theoretical calculations. *Life Sci*, **79**: 391–400.

ZHANG H, SQUADRITO GL, UPPU R, PRYOR W (1999). Reaction of peroxynitrite with melatonin: A mechanistic study. *Chem Res Toxicol*, **12**: 526-34.

ZIKA CA, NICOLAOU I, GAVALAS A, REKATAS GV, TANI E, DEMOPOULOS VJ (2004). Behavioral and antioxidant activity of a tosylbenz[g]indolamine derivative. A proposed better profile for a potential antipsychotic agent. *Ann Gen Hosp Psychiatry*, **3**:1-7.



ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı : KÜBRA
Soyadı : DURGUN
Doğum Yeri ve Tarihi : İSTANBUL- 11.01.1991
Uyruğu : T.C.
Medeni Durumu : BEKAR
İletişim Adresi : Emek Mahallesi.28. Cadde. No:13.
Daire:12. Çankaya/Ankara
Telefon : 0539 9575865
Email : kubradurgun@gmail.com

II- Eğitimi

2015 A.Ü. Eczacılık Fak. Farmasötik Kimya
A.B.D. (Tezli Yüksek lisans)
2009-2015 Ortadoğu Teknik Üniversitesi Kimya B1
2005-2009 İstek Özel Acıbadem Fen Lisesi
1997-2005 Mustafa Noyan İlköğretim Okulu

Yabancı Dili : İngilizce, Fransızca

III- Ünvanı : Kimyager

IV- Mesleki Deneyimi

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu - Kimyager(2014)
Türk Standartları Enstitüsü- Kimyager (2014)

V- Bilimsel Etkinlikleri:

Durgun K, Karaaslan C, Ince E, Gurur-Orhan H, Suzen S. Synthesis And Evaluation of Antioxidant Activity of Melatonin Analogue New Indole Derivatives. (ISOPS-12), 26-29 Haziran, 2018, Ankara.

VI- Özel İlgi Alanları

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Tiyatro Topluluğu (2016-...)