



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**YENİ İNDOL TÜREVİ BİLEŞİKLERİN SENTEZLERİ,
YAPISAL ANALİZLERİ, ANTİOKSİDAN AKTİVİTE,
SİTOTOKSİSİTE VE KEMOPREVENTİF ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

HANIF SHIRINZADEH

**FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. SİBEL SÜZEN**

2014- ANKARA

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YENİ İNDOL TÜREVİ BİLEŞİKLERİN SENTEZLERİ,
YAPISAL ANALİZLERİ, ANTİOKSİDAN AKTİVİTE,
SİTOTOKSİSİTE VE KEMOPREVENTİF ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

HANİF SHIRINZADEH

**FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. SİBEL SÜZEN**

2014- ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmasötik Kimya Doktora Programı

çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 25/06/2014

Prof. Dr. Sibel A. ÖZKAN

Ankara Üniversitesi

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Erden BANOĞLU

Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Meral TUNÇBİLEK

Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Sibel Süzen

Ankara Üniversitesi

Doç. Dr. P. Betöl TEKİNER GÖLBAŞ

Ankara Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	viii
Çizelgeler	xii
1. GİRİŞ	1
1.1.İndol Halkası:	5
1.1.1.İndol Halkasının Aromatikliği	6
1.1.2.İndol Halkası ve İndol Halkasına İzoster Olan Halklar:	8
1.1.3.İndol Halkasının Kimyasal Özellikleri:	8
1.1.4. İndollerin Elektrofillerle Reaksiyonları:	10
1.1.5. İndol Halkasının Genel Sentez Yöntemleri	13
1.2.İndol halkası taşıyan ilaçlar	15
1.2.1.Antipisikotik Etkili İndol Halkası İçeren İlaçlar	15
1.2.2. Antidepresan Etkili İndol Halkası İçeren İlaçlar	16
1.2.3. İndol Halkası Taşıyan Non-Steroid Anti-İnflamatuvar (NSAİD) Etkili İlaçlar	17
1.2.5. Seksüel Disfonksiyonel Hastalıkların Tedavisinde Kullanılan İndol İçeren İlaçlar	19
1.2.6. Kalp ve Damar Hastalıklarının Tedavisinde Kullanılan İndol Halkası İçeren İlaçlar	19
1.2.7. Antilipidemik Etkili İndol Halkası İçeren İlaçlar	20
1.2.8. Antiemetik Etkili İndol Halkası Taşıyan İlaçlar	21
1.3. Serbest Radikaller	23
1.3.1.Serbest Radikallerin Tanımı ve Kimyasal Özellikleri	24
1.3.2.Radikallerin Oluşum Mekanizmaları	25
1.3.3. Serbest Radikal Oluşumunda Etkin Olan Dış ve İç Kaynaklar	27
1.3.4. Biyolojik Sistemde Önemli Radikal Türleri	30
1.3.5. Oksidatif Hasar	39
1.3.6. Oksidatif Stres ve Neden Olduğu Hastalıklar	44
1.4. Antioksidan Maddeler	47
1.4.1. Antioksidan Maddelerin Biyolojik Önemi	47
1.4.2. Antioksidan Maddelerin Sınıflandırılması	49
1.5. Melatonin	55
1.5.1. Melatoninin Biyosentezi	57
1.5.2. Melatoninin Kimyasal Yapısı ve Antioksidan Özellikleri	58
1.5.3. Melatoninin Serbest Radikallerle Etkileşimi	61
1.5.4. Melatonin ve Melatonin Analogu Bileşikler ile ilgili yapılan Antioksidan Aktivite Çalışmaları	64
1.6. 1,2,4-Triazol Halkasının Kimyasal Özellikleri	68

1.6.1. Triazol ve tiyadiazol halkasi içeren bileşiklerle ilgili yapılan antioksidan çalışmalar:	69
2. GEREÇ VE YÖNTEMLER	73
2.1. İndol Türevi Yeni Bileşiklerin Genel Sentez Yöntemleri	73
2.2. Gereç ve yöntem	77
2.2.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	77
2.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	77
2.2.3. Sentez Edilen Maddelerin Analitik İncelemelerinde Uygulanan Yöntemler	77
3. BULGULAR	79
3.1. Başlangıç Maddesi	79
3.2. 2-(1H-İndol-3-il-asetil)-N-(Aril veya alkil)hidrazinkarbotiyoamid türevlerinin genel sentezi (Yöntem A):	79
3.2.1. 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-etilhidrazinkarbotiyoamid (1a)	80
3.2.2. 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-propilhidrazinkarbotiyoamid (1b)	83
3.2.3. 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-benzilhidrazinkarbotiyoamid (1c):	86
3.2.4. 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-fenilhidrazinkarbotiyoamid (1d):	89
3.2.5. 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-(2,4-diflorofenil)hidrazinkarbotiyoamid (1e):	92
3.2.6. 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-(3-florofenil)hidrazinkarbotiyoamid (1f):	94
3.2.7. 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-(2,4-diklorofenil)hidrazinkarbotiyoamid (1g):	97
3.2.8. 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-(3-klorofenil)hidrazinkarbotiyoamid (1h):	100
3.3. 5-(1H-indol-3-il)metil-N-(süstitüe aril veya alkil)-1,2,4-tiyadiazol-2-süstitüe amin türevlerinin genel sentezi (Yöntem B):	103
3.3.1. 5-((1H-İndol-3-il)metil)-2-etilamino-1,3,4-tiyadiazol (2a):	104
3.3.2. 5-((1H-İndol-3-il)metil)-2-propilamino-1,3,4-tiyadiazol (2b):	107
3.3.3. 5-((1H-İndol-3-il)metil)-2-amino-1,3,4-tiyadiazol(2c):	110
3.3.4. 5-((1H-İndol-3-il)metil)-2-fenilamino-1,3,4-tiyadiazol (2d):	113
3.3.5. 5-((1H-İndol-3-il)metil)-2-(2,4-diflorofenil)amino-1,3,4-tiyadiazol (2e):	116
3.3.6. 5-((1H-İndol-3-il)metil)-2-(3-florofenil)amino-1,3,4-tiyadiazol (2f):	118
3.3.7. 5-((1H-İndol-3-il)metil)-2-(2,4-Diklorofenil)amino-1,3,4-tiyadiazol (2g):	121
3.3.8. 5-((1H-İndol-3-il)metil)-2-(3-klorofenil)amino-1,3,4-tiyadiazol (2h):	124
3.4. 5-((1H-indol-3-il) metil)-4-(süstitüe aril veya alkil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol türevlerinin genel sentezi (Yöntem C):	127
3.4.1. 5-((1H-indol-3-il)metil)-4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol (3a):	128
3.4.2. 5-((1H-indol-3-il)metil)-4-propil-4H-1,2,4-tiyadiazol-3-tiyol (3b):	131
3.4.3. 5-((1H-indol-3-il)metil)-4-benzil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol (3c):	134
3.4.4. 5-((1H-indol-3-il)metil)-4-Fenil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol (3d):	137
3.4.5. 5-((1H-indol-3-il)metil)-4-(2,4-diflorofenil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol (3e):	140
3.4.6. 5-((1H-indol-3-il)metil)-4-(3-florofenil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol (3f):	142
3.4.7. 5-((1H-indol-3-il)metil)-4-(2,4-diklorofenil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol (3g):	145
3.4.8. 5-((1H-indol-3-il)metil)-4-(3-klorofenil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol (3h):	148
3.5. 5-((1H-İndol-3-il) metil)-4-(süstitüe aril veya alkil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyolun S-aklılasyonunun genel sentezi (Yöntem D)	151
3.5.1. 2-(5-((1H-İndol-3-il)metil)-4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-iltiyo)-N-fenilacetamid (4a):	152

3.5.2. 2-(5-((1H-indol-3-il)metil)-4-propil-4H-1,2,4-triazol-3-iltiyo)-N-propilasetamid(4b):	155
3.5.3. 2-(5-((1H-İndol-3-il)metil)-4-benzil-4H-1,2,4-triazol-3-iltiyo)-N-(2-florofenil) asetamid (4c):	158
3.5.4. 2-(5-((1H-İndol-3-il)metil)-4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-iltiyo)-N-propilasetamid (4d):	161
3.5.5. 2-(5-((1H-İndol-3-il)metil)-4-(2,4-diflorofenil)-4H-1,2,4-triazol-3-iltiyo)-N- propilasetamid (4e):	164
3.5.6. 2-(5-((1H-İndol-3-il)metil)-4-(3-florofenil)-4H-1,2,4-triazol-3-iltiyo)-N-propil asetamid (4f):	166
3.5.7. 2-(5-((1H-indol-3-il)metil)-4-(2,4-diklorofenil)-4H-1,2,4-triazol-3-iltiyo)-N-fenil asetamid (4g):	169
3.6. Sentez Edilen Bileşiklerin İnvitro Biyolojik Aktivite Tayinleri	172
3.6.1. Sentezlenen İndol Türevi Bileşiklerin Sitotoksik Etki Tayinleri	172
3.6.2 Sentezlenen İndol Türevi Bileşiklerin Antioksidan Etki tayinleri	174
4. TARTIŞMA	178
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	182
6. ÖZET	184
SUMMARY	185
KAYNAKLAR	186
ÖZGEÇMİŞ	198

ÖNSÖZ

Eczacılık eğitimim boyunca ilaç sentezleri en çok ilgimi çeken konuların başında gelmiştir. Bu nedenle Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans ve doktora eğitimimi yapmayı tercih ettim. Tez konumun esasını oluşturan indol türevi bileşiklerin sentezleri sayesinde ilaç etken maddesi geliştirebilme imkanı buldum. İndol türevi bileşiklerin Medisinal Kimyadaki tartışılmaz önemi nedeniyle bu konuda bir tez çalışması gerçekleştirmek ve bu bileşiklerin antioksidan aktivitelerini araştırmak danışman hocam ile birlikte verdiğimiz ortak bir karar oldu. Bu doğrultuda 31 adet indol türevi bileşiği başarı ile sentezleyerek saflaştırdıktan sonra yapılarını ileri enstrümental tekniklerle aydınlattım. Biyolojik değerlendirmeleri için antioksidan aktivite testleri yapılan yeni bileşiklerin antioksidan etkilerinin değerlendirmesini gerçekleştirdim.

Doktora tezimin hazırlanması ve çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübesiyle bana her zaman yol gösteren, sorunlarımla yakından ilgilenen, her zaman, her konuda destek ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Sibel SÜZEN'e tüm içtenliğimle teşekkürlerimi sunarım.

Doktora tez çalışmalarım sırasında her zaman, her konuda destek ve yardımlarını esirgemeyen Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Maksut COŞKUN'a, değerli hocam Sayın Prof. Dr. Seçkin ÖZDEN'e ve Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Meral TUNÇBİLEK'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın 6 aylık bölümünü Ankara Üniversitesi Erasmus Değişim programı ile gittiğim Wales Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda tamamladım. Bu imkandan dolayı Ankara Üniversitesi'ne ve İngiltere'de çalışmalarımı yürüttüğüm Dr. Andrew D. WESTWELL'e sonsuz şükranlarımı sunarım.

Sentezlediğim bileşiklerin $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ ve MASS analizlerinde bana yardım eden sayın Prof. Dr. Hakan Göker'e ve elementel analizlerimi yapan sayın Doç. Dr. Mehmet Alp'a teşekkürlerimi sunarım.

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

Biyolojik aktivite tayin çalışmalarımı yapan Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Hande GÜRER-ORHAN'a ve ekibine teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın konusu Tübitak 112S559 nolu proje ile desteklenmiştir. Bu imkandan dolayı Tübitak'a teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

5-HT	5-Hidroksi Triptamin
5-HTP	5-Hidroksi Triptofan
6-OHM	6-Hidroksi Melatonin
AFMK	N-Asetil-N'-formil-5-metoksikinuramin
CAT	Katalaz
CDK	Sikline bağımlı kinazlar (Cyclin Dependent kinase)
CRF	Kronik böbrek yetmezliği (Cronic Renal Failure)
DIM	3,3' -Diindolilmetan
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribo nükleik asit
GP _x	Glutation Peroksidaz
GSH	Glutasyon
GSSG	Glutasyon disülfid formu
HD	Hemodiyaliz
HIF	Hipoksiya indükleyici faktörü
I3K	İndol-3-karbinol
IPA	İndol-3-propiyamik asit
MAO	Monoaminoksidaz
MDA	Malondialdehit
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
POCl ₃	Fosforoksiklorür
RAT	Reaktif Nitrojen Türleri
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SAH	Subaraknoid hemoraji
SOD	Süperoksitdismutaz
LDA	Lityum diizopropilamid
COMT	Kateşol-O-metil transferaz
LTRA	Lökotrien reseptör antagonistleri
CysLT1	Sisteinil lökotrien reseptör 1
HMG-koA	3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A

ŞEKİLLER

Şekil 1.1 2-Fenil indol türevi bileşiklerin genel formülü	3
Şekil 1.2 İndol hidrazid / hidrazon türevi bileşiklerin genel formülü	3
Şekil 1.3 1-metil-indol hidrazid/hidrazon türevi bileşiklerin genel formülü	4
Şekil 1.4 Melatonin Molekülü Üzerinde Yapılan Modifikasyonlar	5
Şekil 1.5 İndol, indigo ve L-triptofan'ın kimyasal yapısı	5
Şekil 1.6 İndolün iki totomer formları	6
Şekil 1.7 İndolün rezonans yapıları	7
Şekil 1.8 İndol halkası ve indol halkasına izoster olan halkalar	8
Şekil 1.9 Protonlanmış indol halkası	9
Şekil 1.10 İndolün protonlanması	9
Şekil 1.11 İndolün 2.konumdan elektrofillerle reaksiyonu	10
Şekil 1.12 İndolün elektrofilik süstitüsyon reaksiyonu	11
Şekil 1.13 İndol atomlarının elektron yoğunluğu	11
Şekil 1.14 İndol'de elektrofilik süstitüsyon için rezonans formları	12
Şekil 1.15 İndolün 2.konumdan elektrofilik süstitüsyonu	13
Şekil 1.16 Fischer indol sentezi	13
Şekil 1.17 Leimrruber-Batcho indol sentezi	14
Şekil 1.18 İndol Reissert sentezi	14
Şekil 1.19 İndol halkası taşıyan antipsikotik etkili ilaçlar	16
Şekil 1.20 İndol halkası taşıyan antidepresan ilaçlar	17
Şekil 1.21 İndol halkası taşıyan nsaid etkili ilaçlar	18
Şekil 1.22 İndol halkası taşıyan astım tedavisinde kullanılan zafirlulast	19
Şekil 1.23 İndol halkası taşıyan sexual disfonksiyonel tedavisinde kullanılan ilaçlar	19
Şekil 1.24 İndol halkası taşıyan kalp ve damar hastalıklarının tedavisinde etkili ilaçlar	20
Şekil 1.25 İndol halkası taşıyan antilipidemik etkili ilaçlar	21
Şekil 1.26 İndol halkası taşıyan antiemetik etkili ilaçlar	21
Şekil 1.27 İndol halkası içeren antimigren etkili ilaçlar	22
Şekil 1.28 Serbest radikal oluşum kaynakları	24
Şekil 1.29 Serbest radikallerin antioksidanlar ile nötralize edilmesi	25
Şekil 1.30 Moleküler oksijen elektron transferi sonucu süperoksit anyon radikali oluşumu	27
Şekil 1.31 Fenton – Haber Weiss reaksiyonu	28
Şekil 1.32 Süperoksit ve H ₂ O ₂ oluşumu	31
Şekil 1.33 Moleküler oksijen	32
Şekil 1.34 Oksijenin suya indirgenmesi ve diğer oksijen türlerinin oluşumu	33
Şekil 1.35 Singlet oksijen	37
Şekil 1.36 Lipid peroksidasyonu	40
Şekil 1.37 Hidroksil radikalının guanin bazı ile reaksiyonu	43
Şekil 1.38 C8-OH ürün radikalinden, guanin son ürünlerinin oluşum mekanizması	44

Şekil 1.39 Antioksidan maddelerin Organizmadaki Fonksiyonları	48
Şekil 1.40 Antioksidan maddelerin gruplandırılması	50
Şekil 1.41 SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz aktivitesi	51
Şekil 1.42 Pineal bezin beyindeki lokasyonu	56
Şekil 1.43 Melatonin biyosentezi	57
Şekil 1.44 N-asetil seratonin	58
Şekil 1.45 6-Hidroksimelatonin	60
Şekil 1.46 Melatoninin serbest radikalleri yakalama mekanizması	61
Şekil 1.47 Tez maddelerine benzer tiadiazol türevi bileşikler	70
Şekil 1.48 Triazol türevi	70
Şekil 1.49 Triazol türevi	70
Şekil 1.50 Triazol türevi	71
Şekil 2.1 İndol türevi yeni bileşiklerin genel sentez yolları	73
Şekil 2.2 Sentezlenen bileşiklerde kullanılan R ve R1 grupları	74
Şekil 2.3 Sentezlenen indol türevi yeni bileşikler	76
Şekil 3.1 Bileşik 1a'nın ¹ H-NMR spektrumu	81
Şekil 3.2 Bileşik 1a'nın ¹³ C-NMR spektrumu	81
Şekil 3.3 Bileşik 1a'nın kütle spektrumu	82
Şekil 3.4 Bileşik 1b'nin ¹ H-NMR spektrumu	84
Şekil 3.5 Bileşik 1b'nin ¹³ C-NMR spektrumu	84
Şekil 3.6 Bileşik 1b'nin kütle spektrumu	85
Şekil 3.7 Bileşik 1c'nin ¹ H-NMR spektrumu	87
Şekil 3.8 Bileşik 1c'nin ¹³ C-NMR spektrumu	87
Şekil 3.9 Bileşik 1c'nin kütle spektrumu	88
Şekil 3.10 Bileşik 1d'nin ¹ H-NMR spektrumu	90
Şekil 3.11 Bileşik 1d'nin ¹³ C-NMR spektrumu	90
Şekil 3.12 Bileşik 1d'nin kütle spektrumu	91
Şekil 3.13 Bileşik 1e'nin ¹ H-NMR spektrumu	93
Şekil 3.14 Bileşik 1e'nin kütle spektrumu	93
Şekil 3.15 Bileşik 1f'nin ¹ H-NMR spektrumu	95
Şekil 3.16 Bileşik 1f'nin ¹³ C-NMR spektrumu	95
Şekil 3.17 Bileşik 1f'nin kütle spektrumu	96
Şekil 3.18 Bileşik 1g'nin ¹ H-NMR spektrumu	98
Şekil 3.19 Bileşik 1g'nin ¹³ C-NMR spektrumu	98
Şekil 3.20 Bileşik 1g'nin kütle spektrumu	99
Şekil 3.21 Bileşik 1h'nin ¹ H-NMR spektrumu	101
Şekil 3.22 Bileşik 1h'nin ¹³ C-NMR spektrumu	101
Şekil 3.23 Bileşik 1h'nin kütle spektrumu	102
Şekil 3.24 1,2,4-tiyadiazol halka sistemi siklizasyon mekanizması	103
Şekil 3.25 Bileşik 2a'nın ¹ H-NMR spektrumu	105
Şekil 3.26 Bileşik 2a'nın ¹³ C-NMR spektrumu	105
Şekil 3.27 Bileşik 2a'nın kütle spektrumu	106

Şekil 3.28 Bileşik 2b'nin ^1H -NMR spektrumu	108
Şekil 3.29 Bileşik 2b'nin ^{13}C -NMR spektrumu	108
Şekil 3.30 Bileşik 2b'nin kütle spektrumu	109
Şekil 3.31 Bileşik 2c'nin ^1H -NMR spektrumu	111
Şekil 3.32 Bileşik 2c'nin ^{13}C -NMR spektrumu	111
Şekil 3.33 Bileşik 2c'nin kütle spektrumu	112
Şekil 3.34 Bileşik 2d'nin ^1H -NMR spektrumu	114
Şekil 3.35 Bileşik 2d'nin ^{13}C -NMR spektrumu	114
Şekil 3.36 Bileşik 2d'nin kütle spektrumu	115
Şekil 3.37 Bileşik 2e'nin ^1H -NMR spektrumu	117
Şekil 3.38 Bileşik 2e'nin kütle spektrumu	117
Şekil 3.39 Bileşik 2f'nin ^1H -NMR spektrumu	119
Şekil 3.40 Bileşik 2f'nin ^{13}C -NMR spektrumu	119
Şekil 3.41 Bileşik 2f'nin kütle spektrumu	120
Şekil 3.42 Bileşik 2g'nin ^1H -NMR spektrumu	122
Şekil 3.43 Bileşik 2g'nin ^{13}C -NMR spektrumu	122
Şekil 3.44 Bileşik 2g'nin kütle spektrumu	123
Şekil 3.45 Bileşik 2h'nin ^1H -NMR spektrumu	125
Şekil 3.46 Bileşik 2h'nin ^{13}C -NMR spektrumu	125
Şekil 3.47 Bileşik 2h'nin kütle spektrumu	126
Şekil 3.48 1,2,4-triazol halka sistemi siklizasyon mekanizması	127
Şekil 3.49 Bileşik 3a'nın ^1H -NMR spektrumu	129
Şekil 3.50 Bileşik 3a'nın ^{13}C -NMR spektrumu	129
Şekil 3.51 Bileşik 3a'nın kütle spektrumu	130
Şekil 3.52 Bileşik 3b'nin ^1H -NMR spektrumu	132
Şekil 3.53 Bileşik 3b'nin ^{13}C -NMR spektrumu	132
Şekil 3.54 Bileşik 3b'nin kütle spektrumu	133
Şekil 3.55 Bileşik 3c'nin ^1H -NMR spektrumu	135
Şekil 3.56 Bileşik 3c'nin ^{13}C -NMR spektrumu	135
Şekil 3.57 Bileşik 3c'nin kütle spektrumu	136
Şekil 3.58 Bileşik 3d'nin ^1H -NMR spektrumu	138
Şekil 3.59 Bileşik 3d'nin ^{13}C -NMR spektrumu	138
Şekil 3.60 Bileşik 3d'nin kütle spektrumu	139
Şekil 3.61 Bileşik 3e'nin ^1H -NMR spektrumu	141
Şekil 3.62 Bileşik 3e'nin kütle spektrumu	141
Şekil 3.63 Bileşik 3f'nin ^1H -NMR spektrumu	143
Şekil 3.64 Bileşik 3f'nin ^{13}C -NMR spektrumu	143
Şekil 3.65 Bileşik 3f'nin kütle spektrumu	144
Şekil 3.66 Bileşik 3g'nin ^1H -NMR spektrumu	146
Şekil 3.67 Bileşik 3g'nin ^{13}C -NMR spektrum	146
Şekil 3.68 Bileşik 3g'nin kütle spektrumu	147
Şekil 3.69 Bileşik 3h'nin ^1H -NMR spektrumu	149

Şekil 3.70 Bileşik 3h'ın ^{13}C -NMR spektrumu	149
Şekil 3.71 Bileşik 3h'ın kütle spektrumu	150
Şekil 3.72 Bileşik 4a'nın ^1H -NMR spektrumu	153
Şekil 3.73 Bileşik 4a'nın ^{13}C -NMR spektrumu	153
Şekil 3.74 Bileşik 4a'nın kütle spektrumu	154
Şekil 3.75 Bileşik 4b'nin ^1H -NMR spektrumu	156
Şekil 3.76 Bileşik 4b'nin ^{13}C -NMR spektrumu	156
Şekil 3.77 Bileşik 4b'nin kütle spektrumu	157
Şekil 3.78 Bileşik 4c'nin ^1H -NMR spektrumu	159
Şekil 3.79 Bileşik 4c'nin ^{13}C -NMR spektrumu	159
Şekil 3.80 Bileşik 4c'nin kütle spektrumu	160
Şekil 3.81 Bileşik 4d'nin ^1H -NMR spektrumu	162
Şekil 3.82 Bileşik 4d'nin ^{13}C -NMR spektrumu	162
Şekil 3.83 Bileşik 4d'nin kütle spektrumu	163
Şekil 3.84 Bileşik 4e'nin ^1H -NMR spektrumu	165
Şekil 3.85 Bileşik 4e'nin kütle spektrumu	165
Şekil 3.86 Bileşik 4f'nin ^1H -NMR spektrumu	167
Şekil 3.87 Bileşik 4f'nin ^{13}C -NMR spektrumu	167
Şekil 3.88 Bileşik 4f'nin kütle spektrumu	168
Şekil 3.89 Bileşik 4g'nin ^1H -NMR spektrumu	170
Şekil 3.90 Bileşik 4g'nin ^{13}C -NMR spektrumu	170
Şekil 3.91 Bileşik 4g'nin kütle spektrumu	171
Şekil 3.92 MTT ve formazon formu	172
Şekil 3.93 Sentezlenen İndol Türevi Bileşiklerin Sitotoksik Etki Profilleri	173
Şekil 3.94 DCFA-DA'nın intrasellüler esterase ve ROT leri ile verdiği reaksiyon	174
Şekil 3.95 Sentezlenen İndol Türevi Bileşiklerin Antioksidan Etki Profilleri	176
Şekil 3.96 1b ve 2e Bileşiklerinin Konsantrasyona Bağlı Antioksidan Etki Profilleri	177
Şekil 4.1 En yüksek aktivite gösteren bileşikler	180

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1 İndol halkası taşıyan ilaçlar	15
Çizelge 1.2 Önemli reaktif oksijen türleri	31
Çizelge 1.3 Başlıca reaktif azot türleri	37
Çizelge 1.4 Bazı kanser tiplerinde önemli rol oynayan ROT'lar	45
Çizelge 1.5 Serbest radikal hasarlarının etkili olduğu hastalıklar	46

1. GİRİŞ

Reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif azot türlerinin (RAT) son yıllarda yapılan araştırmalarda hayati önemi olan çok sayıda hastalığın oluşumunda rol oynadıkları belirlenmiştir (Turrens 2003, Siegel ve ark. 2009). ROT'ların hayvan ve bitki hücre ve dokularında sebep oldukları hasara oksidatif stres denmektedir. Oksidatif stresin çok sayıda hastalığın oluşumunda rol oynadığına dair deliller vardır (Gürkök ve ark. 2009, Uttara ve ark. 2009).

Son yıllarda oksidatif hasarı önlemek için yapılan antioksidatif çalışmalarda, indol halkası içeren bileşikler önemli yer tutmaktadır. İndol türevi bileşikler medisinale kimya da önemli bir terapötik ajan sınıfını oluşturmaktadırlar (Süzen ve ark. 1998, Li ve ark. 2007, Vine ve ark. 2009). Bu bileşikler hayvanlarda, bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunan geniş bir bileşik sınıfını teşkil ederler. İndol türevlerinin antioksidan aktiviteleriyle ilgili son gelişmeler bu bileşiklerin antioksidan özelliklerinin dikkate alınmasının gerekliliğini ve önemini gözler önüne sermektedir. Doğada bulunan besinler içerisindeki antioksidan maddelere baktığımızda indol türevi bileşiklerin önemli bir yere sahip olduğunu görmekteyiz. Örneğin; brokoli, kabak ve karnabahar içerisinde bulunan indol-3-karbinol oldukça yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir ve yapılan araştırmalar sonucunda bu maddenin özellikle meme ve prostat kanserinin tedavisinde etkili olduğu belirlenmiştir (Jump ve ark. 2008). Vücudumuzda doğal olarak sentezlenen ve bioritmi düzenlemesinin yanı sıra yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan melatonin de yapısında indol halkası taşıyan bir nöro-hormondur.

Antioksidanlar, elektronca zengin bileşikler olup organizmamızda dış etkenlerin etkisiyle veya normal hücre aktivitesi sonucu yan ürün olarak oluşan serbest radikalleri nötralize eden maddelerdir. Serbest radikaller son yörüngesinde ortaklanmamış elektron taşıyan ve bu nedenle kimyasal açıdan çok reaktif atom, molekül veya iyon parçaları olup organizmada karşılaştıkları birçok biyomoleküllerle reaksiyona girebilecek

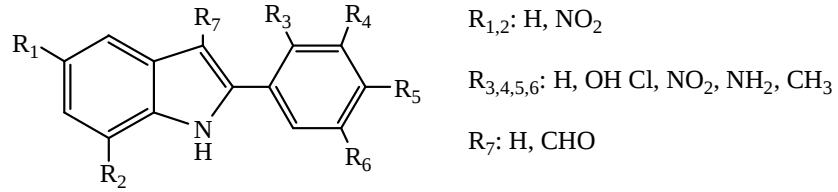
aktiviteye sahip bileşiklerdir. Organizmada serbest radikal oluşumuna neden olan en önemli dış etkenler olarak Sigara kullanımı ve radyasyon gibi çevresel kirleticileri söyleyebiliriz. İnsanda en sık maruz kalınan serbest radikal formu oksijen türevleridir. Oksijen molekülü/türevleri radikal haline geldiğinde başka moleküllerden electron almaya çalışır bu da DNA ve diğer hayati önemi olan moleküllere hasar verir. Zaman içinde bu hasar geri dönüşümsüz hal alır ve başlıca kanser gibi birçok hastalığa neden olabilir (Valko ve ark. 2006). Antioksidanlar ise elektronca zengin bileşikler olduğundan serbest radikallere bir elektron aktararak onların elektriksel yüklerini nötralize ederler, bu olaya da antioksidanları süpürücü etkisi denir.

Antioksidan ilaçlar kanser tedavisi süresince antikanser ilaçlar beraber kullanılırsa tedaviye yardım edebileceği düşünülmektedir. Bu doğrultuda yapılan bilimsel çalışmalar antioksidan moleküllerin kanser gelişimini önleyebileceği ya da yavaşlatabileceğini göstermektedir. Antioksidanlar ayrıca kanser hücresi büyümesinde etkili olan oksidatif stresi de önleyebilirler (Poeggeler ve ark. 1999). Doğal antioksidanlar ile ilgili çeşitli biyolojik aktivite çalışması bulunmasına karşın ilaç adayı sentetik bileşiklerin antioksidan çalışmaları tatmin edici sonuçlar vermemektedir. Son araştırmalar indol türevleri gibi melatonin analogu bileşiklerin önemli antioksidan ve antikanser etkileri olduğunu göstermektedir. Bu görüşten hareketle bu tez çalışması ile bazı yeni indol türevi ilaç etken maddelerinin sentezinin yapılıp kimyasal yapılarının aydınlatılması, antioksidan aktiviteleri ile sitotoksik etkilerinin tayini yapılmıştır.

Günümüzde yapılan araştırmalar kanser başta olmak üzere Alzheimer (Guglielmotto ve ark. 2009), Parkinson(Yan ve ark. 2013), Huntington gibi nörodejeneratif hastalıklar(Szasz ve ark. 2007), ateroskleroz, diyabet, romatoid artirit, yaşlanma, otoimmün hastalıklar (Fernandez ve ark. 2006) gibi birçok önemli rahatsızlığın patofizyolojisinde serbest radikallerin rolü olduğunu göstermektedir. İndol halkası taşıyan melatonin molekülünün hücreleri oksidatif stresten koruyan, serbest radikal yakalama aktivitesi yüksek antioksidan ve antikanser etkilerinin olduğunun

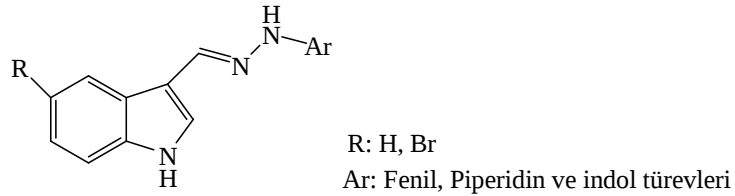
anlaşılmasından sonra bu halka sistemini içeren antioksidan ve antikanser aktiviteli türevlerin sentezlenmesi çalışmaları da önemli bir yer tutmaya başlamıştır.

Fischer indol sentez yöntemi kullanılarak sentezlenen 2-fenil indol türevleri (Şekil 1.1) melatonine karşı denendiklerinde yüksek oranda lipid peroksidasyonunu önleyen etkiler göstermiştir (Süzen ve ark. 2006). 2. Konumda yer alan fenil üzerinde F, Cl, NO₂ gibi elektron çekici gruplar bulunduğu en yüksek aktivite elde edilmiştir. Deneyler sonucunda melatonin ve 2-fenil indol türevi bileşiklerin hidroksil radikali yakalayıcısı olduğu belirlenmiştir.



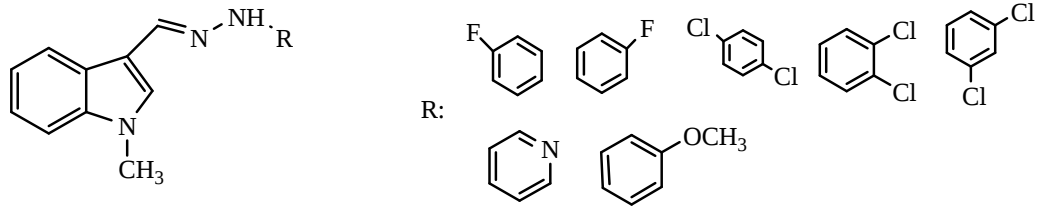
Şekil 1.1 2-Fenil indol türevi bileşiklerin genel formülü

Melatoninden hareketle, 5. konumundaki metoksi grubu yerine hidrojen veya brom yerleştirilerek sentezlenen indol hidrazid/ hidrazon türevlerinin (Şekil 1.2), melatonin ile kıyaslandığında daha fazla antioksidan aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir (Gürkök ve ark. 2009). 5. konumda H veya brom bulunmasının antioksidan aktivitede anlamlı bir değişime neden olmadığı görülmüştür. Aromatik yan zincirde fenil halkasının p konumunda klor veya brom içeren bileşiklerde en yüksek antioksidan aktivite elde edilmiştir. İzonikotinik asit ve anisik asit türevlerinde ise antioksidan aktivite gözlenmemiştir.



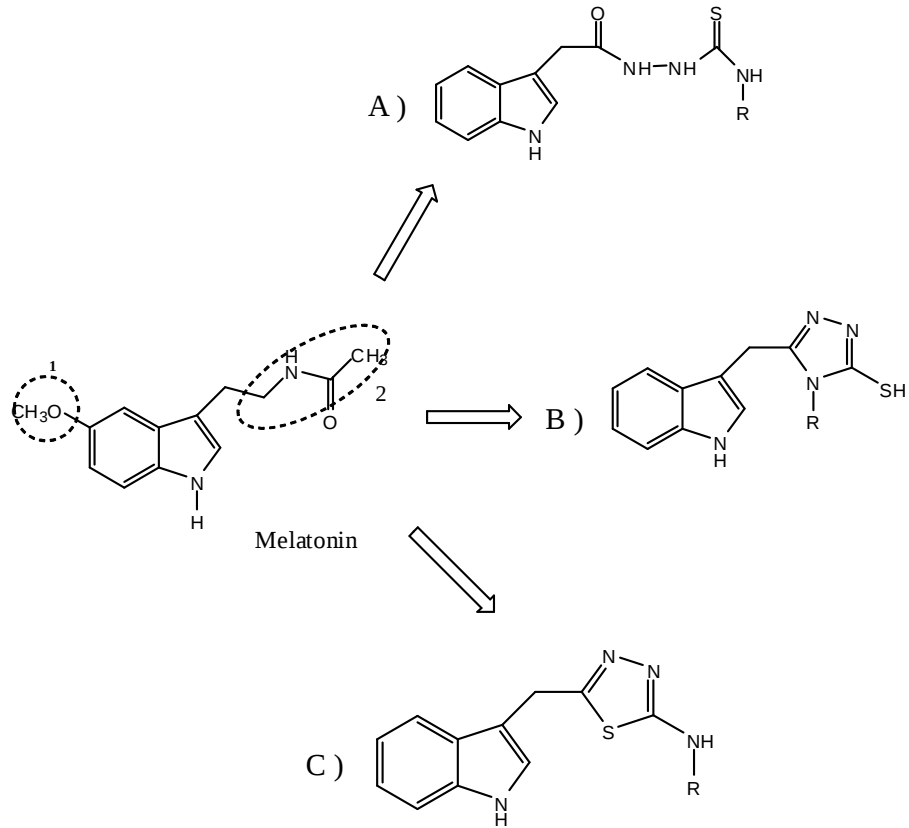
Şekil 1.2 İndol hidrazid / hidrazon türevi bileşiklerin genel formülü

Melatoninden hareketle, 5. konumundaki metoksi grubu kaldırılarak ve indol azotu metillenerek, sentezlenen indol hidrazid/ hidrazon türevlerinin (Şekil 1.3), melatonine karşı denendiklerinde daha güçlü antioksidan aktivite gösterdikleri belirlenmiştir (Shirinzadeh ve ark. 2010). o-m halojen aromatik yan zincir içeren bileşiklerde en yüksek antioksidan aktivite elde edilmiştir. Halojen atom içermeyen izonikotinik asit ve anisik asit türevlerinde ise antioksidan aktivite gözlenmemiştir.



Şekil 1.3 1-metil-indol hidrazid/hidrazon türevi bileşiklerin genel formülü

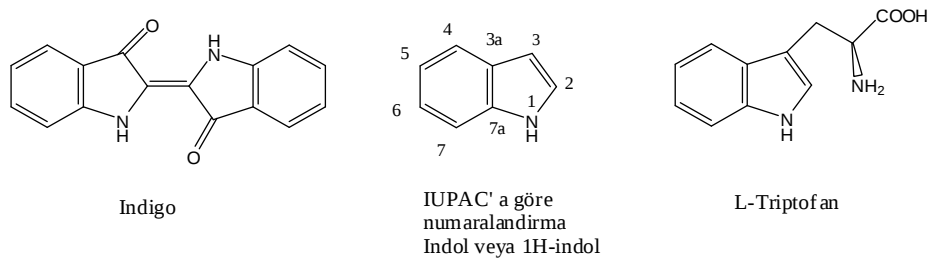
Antioksidan ve antikanser etkili bileşik geliştirme çalışmaları devam etmektedir. Bu tez çalışmasında melatonin üzerinde değişik konumlarda gerçekleştirdiğimiz modifikasyonlarla yeni antioksidan ilaç etken maddeleri olabilecek bileşiklerin geliştirilmesi gerçekleştirdik. Bu amaçla indol halkasının 5. konumunda melatonin yapısında bulunan metoksi grubu kaldırılarak hidrojen ile değiştirilmiştir. Bu değişikliğin yanısıra melatonin molekülünün 3. konumunda bulunan yan zincir olan asetilaminoetil grubu değiştirilerek Asetil-N-(Aril veya alkil)hidrazinkarbotiyoamid, 1,2,4-triazol ve 1,2,4-tiadiazol yapıları eklenerek sentezleri yapılmıştır. Planlanan bu bileşiklerin sentezlenmeleri amacıyla (1H-indol-3-il)asetohidrazin başlangıç maddesinden hareketle 3. konumdaki yan zincire farklı gruplar takılarak yeni bileşikler sentezlenmiştir. Melatonin molekülü üzerinde yapılan değişiklikler Şekil 1.4’de gösterilmektedir.



Şekil 1.4 Melatonin Molekülü Üzerinde Yapılan Modifikasyonlar

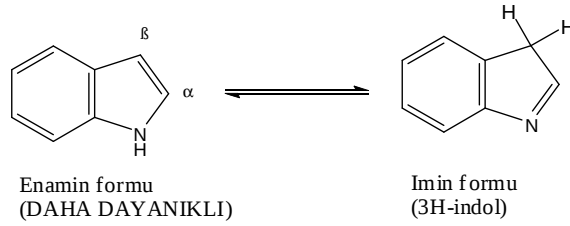
1.1.İndol Halkası:

İndol organik heteroaromatik bir halkadır (Şekil 1.1). İndol ismi, indigodan türetilmiştir. İndigo mavi bir pigment olup 2. konumdan birbirine bağlı iki tane indolin-3-on yapısı içerir.



Şekil 1.5 İndol, indigo ve L-triptofan'ın kimyasal yapısı

İndol yapısı 1869 da Baeyer tarafından aydınlatılmıştır. Basitçe bir benzen ve bir pirol halkasının birbiriyle kaynaşmasıyla oluşmuş bir halka sistemi olarak tarif edilebilir. Baeyer tarafından teklif edilen ve Fischer tarafından daha sonra kullanılan isimlendirme benzo[b]pirol'dür. İndol 2 totomer (şekil 1.2), formuna sahiptir (Hickman ve ark. 2000).

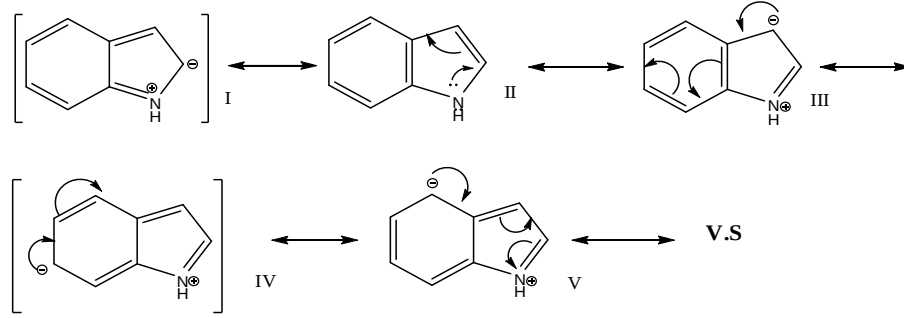


Şekil 1.6 İndolün iki totomer formları

Katı halde iken kristaller halinde (E.N: 52°C) ve hoş olmayan kokuya sahiptir. Bununla beraber çok dilüe çözeltileri, menekşe kokusunda olup, parfümeri sanayisinde kullanılır. Bir aminoasit olan triptofanın dışında, Birçok bitkinin yapısında rastladığımız indol, ayrıca bir nöromediyatör olan serotonin, melatonin ve heterooksin gibi hormonların yanısıra bir β-bloker olan pindolol, antienflamatuvar etkili indometazin, asemetazin, antidepresan oksipertin, ziprasidon gibi daha birçok bileşiğin de yapısında yer almaktadır.

1.1.1.İndol Halkasının Aromatikliği

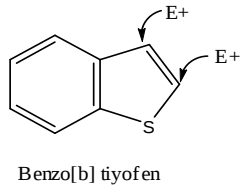
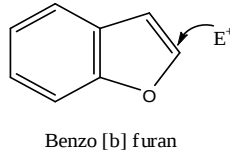
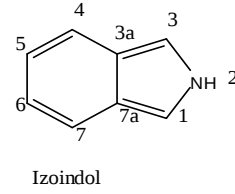
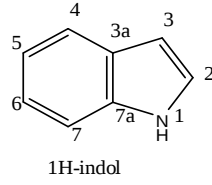
Konjuge ve düzlemsel iki halka içeren indolün karbon atomlarının her biri, bir π elektronuna sahiptir. Azot atomu ise serbest bir elektron dubleti taşır. Böylece indol 10 elektronlu bir π sistemi içeren hückel kuralına uyan aromatik bir yapıdır. Pirolda olduğu gibi azot atomunun elektron dubletinin delokalizasyonu aromatiklik açısından gereklidir. Bu elektron çiftinin delokalizasyonunu rezonans yapıları ile göstermek mümkündür (şekil 1.7). Bu gösterimde benzenin 6 π elektronlu siklik yapısı bozulmakla birlikte heteroatomun elektron verici etkisi açıklanabilmektedir (Gokel 2007).



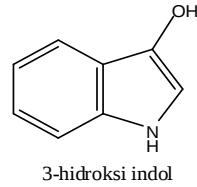
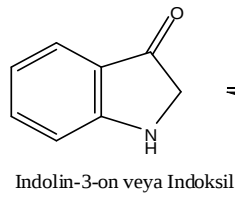
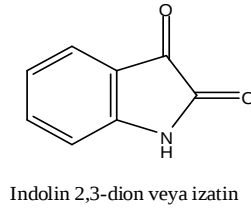
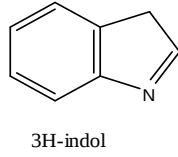
Şekil 1.7 İndolün rezonans yapıları

Şekil 1.7. de görüldüğü gibi, limit formüllerden **I** (ortokinonik yapı) ve **IV** (parakinonik yapı) nolu yapılar normalde yok denecek kadar az oluşur. Zira bu formların oluşumu için yüksek enerji gerekir ki, bu da benzen halkasının aromatikliğini etkiler. İndolün gerçek elektronik yapısı **II** ile belirtilen tek bir formülle gösterilebilir. **III** Nolu rezonans yapı ise benzen halkası üzerinde negatif yükün olmadığı tek bir formüldür. İndolün dipolar rezonans yapılarına bakıldığında, heteroatom üzerinde hep bir pozitif yükün yerleştiği görülür. Buna karşılık karbon atomları negatif yük taşımaktadır. Kısacası heteroatom elektron açısından fakir iken karbon atomları elektron yoğunluğu bakımından zenginleşmiştir. İndol bu yönden de pirole benzerlik göstererek elektron yönünden zengin bir heterohalka olarak kolayca aromatik elektrofilik sübstitüsyon reaksiyonlarını verir ve aynı şekilde oksidanlar karşısında da oldukça dayanıksızdır. Buna karşılık pirol ile indol arasında önemli farklılık, pirol elektrofillerle öncelikle 2 ve 5 nolu karbonlar üzerinden reaksiyona girerken, indol selektif olarak 3 nolu karbon atomu üzerinden reaksiyona girer.

1.1.2.İndol Halkası ve İndol Halkasına İzoster Olan Halklar:



Elektrofilik reaktifler 2 veya 3 nolu konumlara hücum ederler.
Dominant olan 3 nolu konumdur ve karışım elde edilir.

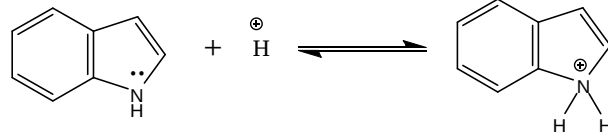


Şekil 1.8 İndol halkası ve indol halkasına izoster olan halkalar

1.1.3.İndol Halkasının Kimyasal Özellikleri:

- Naftalen ile izoelektroniktir. 10 π elektronundan 2 tanesini azot atomu verir.
- İndol, benzene göre daha yüksek stabilizasyon enerjisine sahiptir.

- İndol, azot atomunun elektron çiftinin aromatikliğe dahil olması nedeniyle, diğer bir değişle halka delokalizasyonuna katılması nedeniyle çok zayıf bazdır.
- İndolün bazik formu, asit formuna (protonlanmış) göre çok daha dayanıklıdır. Zira protonlanmış formunda aromatiklik kaybolmuştur (Şekil 1.9).

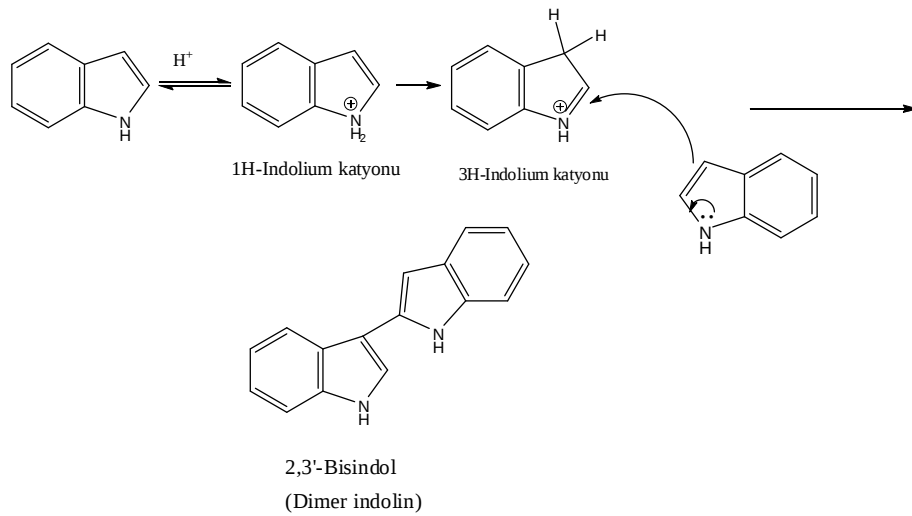


Şekil 1.9 Protonlanmış indol halkası

İndolün, 1 nolu konumundaki azot atomu, indol HCl gibi kuvvetli asitlerle muamele edilirse, ancak o zaman önemli bir miktarda protonlanabilir.

1.1.3.1. İndol Protonlanması

Kuvvetli mineral asitlerle önce 1H-indolium katyonu oluşur. Daha az stabil olan bu katyon hızlı bir şekilde, çok dayanıklı olan 3H- indolium katyonuna dönüşür. Fakat ikinci bir indolün etkisi ile bir dimer yapısına hatta yeni reaksiyonlarla oligomerler dönüşürler (şekil 1.10).



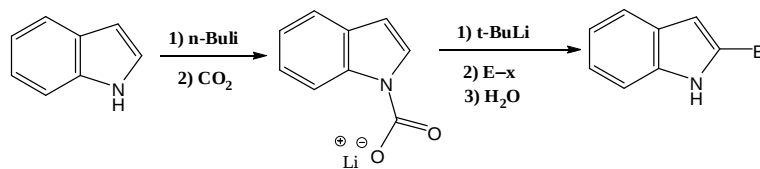
Şekil 1.10 İndolün protonlanması

1.1.3.2.İndol Azotuna Bağlı Hidrojenin Asitliği:

İndol azotunun taşıdığı hidrojen atomu zayıf asit karakter gösterir. DMSO içinde asitlik sabitesi $P_{ka} = 21$ dir. Azot atomunun deprotonasyonu ancak tamamen susuz ortamda butil lityum veya sodyum hidrür ve potasyum hidrür gibi çok kuvvetli bazlarla mümkün olabilir. Oluşan ajanda en fazla nükleofil olan konum 1 nolu konumdur.

1.1.3.3. İki Nolu Konumdaki Karbona Bağlı Hidrojenin Asitliği:

İndol halkası hidrojenleri asitlik yönünden incelenirse, 2 nolu karbon atomuna bağlı olan hidrojen atomu, azot atomuna bağlı olan hidrojen atomuna oranla çok daha fazla asittir. Bu hidrojeni kopartmak için önce azotlu yapının korunması gerekir. Sonra, örneğin lityum diizopropilamid (LDA) veya butil lityum ile reaksiyona sokulur. Oluşan karbanyon çok kuvvetli nükleofildir. Kolayca elektrofillerle reaksiyona girer (Şekil 1.11).

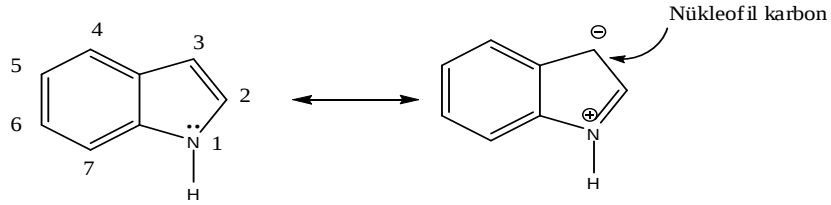


Şekil 1.11 İndolün 2.konumdan elektrofillerle reaksiyonu

1.1.4. İndollerin Elektrofillerle Reaksiyonları:

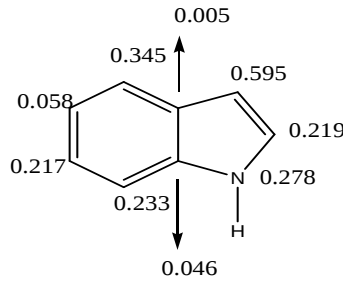
Bütün elektronca zengin heterosiklik yapılar da olduğu gibi, indol kimyasında da elektrofilik süstitüsyon reaksiyonları, özellikle kolay yürümeleri açısından son derece önemli reaksiyonlardır. Özel şartlar dışında elektrofili daima 5 üyeli hetero halkaya hücum eder. Hetero halkanın mevcut 3 konumundan, azota olan hücum halkanın aromatikliğini bozar ve katyon oluşturur. Bu nedenle tercih edilmez. Geriye kalan 2 ve 3

nolu konumlardan, tercih edileni 3 nolu konumdur (Tois ve ark. 2003). İndolün elektrofilik süstitüsyon reaksiyonları için aktif olan konumunu şekil 1.12'daki basit rezonans formu ile de görebiliriz;



Şekil 1.12 İndolün elektrofilik süstitüsyon reaksiyonu

Bu gösterimden anlaşıldığı gibi 3 nolu konum en yüksek elektron yoğunluğuna sahiptir. Şekil 1.13' da indol atomlarının her biri için hesaplanan elektron yoğunluğu verilmektedir.

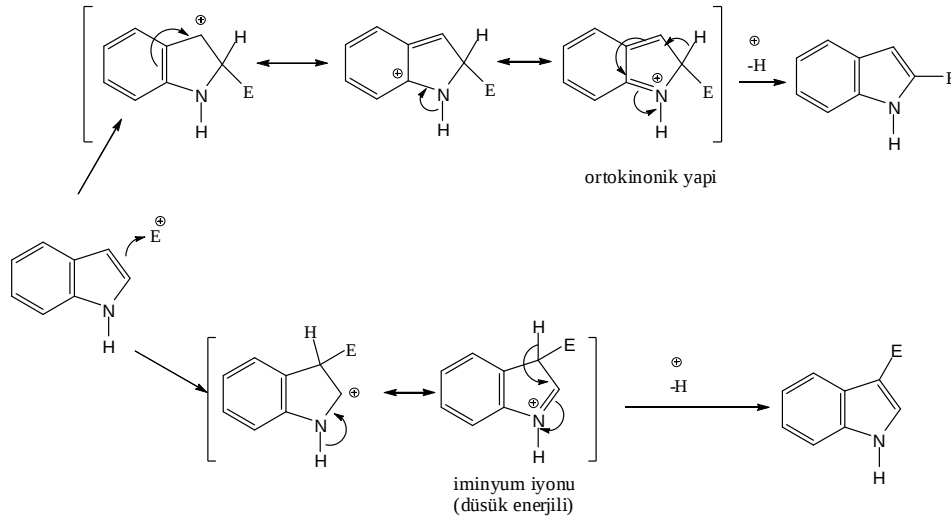


Şekil 1.13 İndol atomlarının elektron yoğunluğu

İndol atomlarının, moleküler orbital yöntemi ile saptanan elektron yoğunlukları da 3 nolu konumun en yüksek elektron yoğunluğuna sahip olduğunu doğrulamaktadır. Bu nedenle 3 nolu konum en fazla nükleofilik olan konumdur. Diğer taraftan indol karbon atomlarının tümünün elektron yoğunluğu açısından zengin olduğu düşünülürse indol halkasının bütünü için nükleofil karaktere sahip bir yapıdır denebilir(Sundberg 1970).

Yapılan hesaplamalar indolde 3 nolu karbon atomunun elektrofilik ataklar karşısında benzene oranla çok daha reaktif olduğunu ortaya koymuştur. Esasında indol,

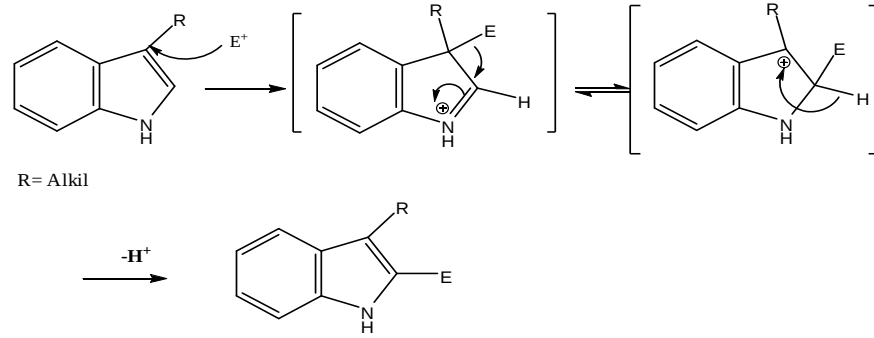
elektrofiller karşısında bir enamin gibi hareket etmeye meyillidir. $N_1-C_2-C_3$, yapısı enamin özelliği gösterir. İndol'de, elektrofilik sübstitüsyonun pirolda gözlenen aksine 2 nolu konumdan değil 3 nolu konumdan kolay yürüdüğünü, reaksiyon sırasında da oluşan farklı ara ürünlerin rezonans formları incelenerek açıklanabilir (Şekil 1.14).



Şekil 1.14 İndol'de elektrofilik sübstitüsyon için rezonans formları

Görüldüğü gibi, sübstitüsyon, 2. konumdan olduğunda, yüklerin delokalizasyonu sırasında benzen halkasının aromatikliği bozulmaktadır. Ayrıca 3 nolu konuma hücum ile oluşan ara üründe, artı yüke komşu azot atomunun elektron dubleti ile aromatiklik bozulmadan etkileşebilmektedir.

Eğer 3 nolu konumda bir sübstitüent varsa, bu durumda, elektrofilik sübstitüsyon 2. konumdan gerçekleşir. Aslında reaksiyon, elektrofilin 3 nolu konuma hücumu ile başlar, fakat devamında yeniden bir düzenleme ile 2. konumdan sübstitüe türevler elde edilir (şekil 1.15). Eğer elektrofil ile reaksiyon devam ederse bu durumda 6.konumdan sübstitüsyon gerçekleşir. ($6 > 4 > 5 > 7$)



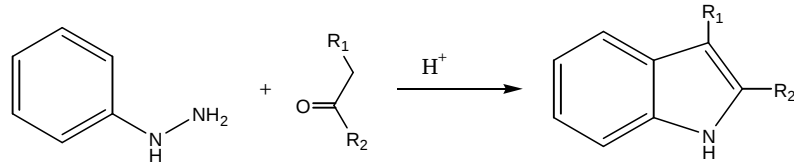
Şekil 1.15 İndolün 2.konumdan elektrofilik sübstitüsyonu

1.1.5. İndol Halkasının Genel Sentez Yöntemleri

İndol halkasının sentezi için birçok sentez yöntem geliştirilmiştir. Bunlardan en önemli olan üç yöntem aşağıda verilmiştir.

1.1.5.1.Fischer İndol Sentezi

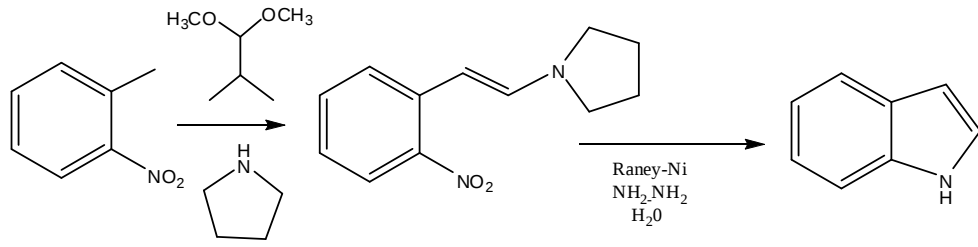
En eski indol sentez yöntemlerinden biridir. 2. ve 3. konumda sübstitüentler istenen indol türevlerinin sentezi için idealdir (Carlin ve ark. 1948, Büyükbingol ve ark. 1994)



Şekil 1.16 Fischer indol sentezi

1.1.5.2 Leimrruber-Batcho İndol Sentezi

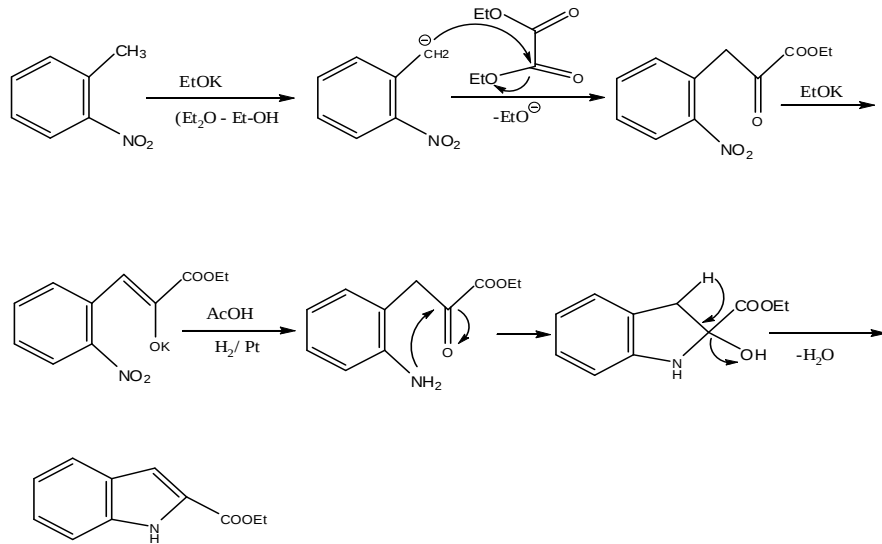
İndol ve sübstitüe indollerin sentezi için etkili ve yüksek verimli bir yöntemdir.



Şekil 1.17 Leimruber-Batcho indol sentezi

1.1.5.3. Reissert Sentezi

o-Nitrotoluen, bir molekül etil oksalat ile potasyum etilatlı ortamda reaksiyona girer. Nitro grubunun elektron çekici özelliği, reaksiyonun yürümesini kolaylaştırır. Ortamın asitlendirilmesinden sonra, nitro grubu amine redüklenir. Reaksiyon indolü vererek sonlanır. Bu yöntemle 2. konumdan karbonil grubu içeren indoller elde edilir (Şekil 1.18), (Butin ve ark. 2001).



Şekil 1.18 İndol Reissert sentezi

1.2.İndol halkası taşıyan ilaçlar

İndol türevi bileşikler medisinal kimya da önemli bir terapötik ajan sınıfını oluşturmaktadırlar (Süzen ve Büyükbingöl, 1998 ve 2000 Li ve ark., 2009; Vine ve ark., 2009). Bu bileşikler hayvanlarda, bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunan geniş bir bileşik sınıfını teşkil ederler. İndol halkası içeren ilaçlar çok değişik ilaç gruplarında görülmektedirler. Bu ilaçlar Çizelge 1.1’de verilmiştir.

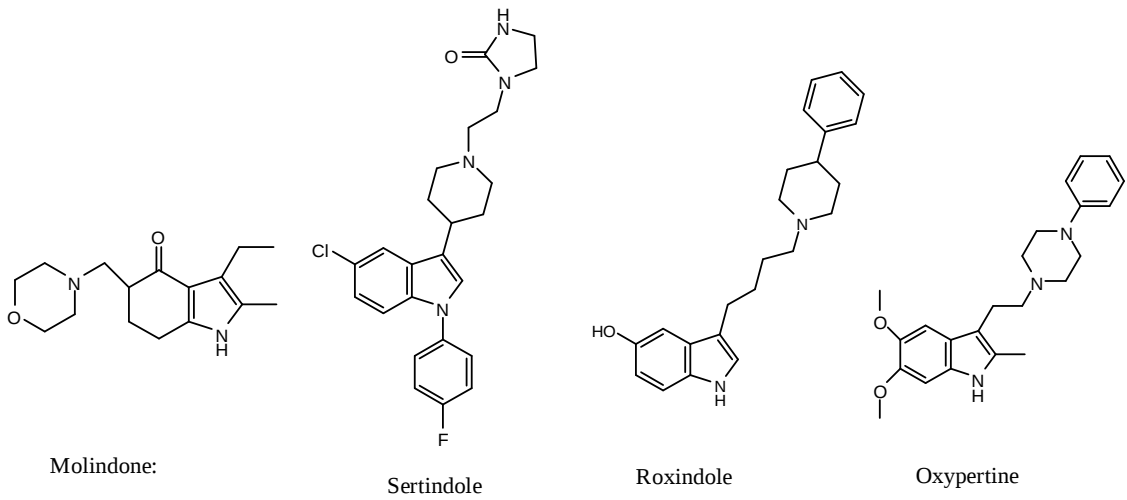
Çizelge 1.1 İndol halkası taşıyan ilaçlar

İlaç Grubu	İlaçlar (Jenerik İsim)
Anti-pisikotikler	Roxindole; Oxypertine; Sertindole; Molindone
Anti-depresanlar	İndalpin ; İprindole; Vilazodone
Non-steroidal Anti-enflamatuvarlar	İndometacin (İndomethacin);Acemetacin; Etodolac Proglumetacin; Oxametacin; Tenidap
Astıma Tedavisinde Kullanılanlar	Zafirlukast
Sexual Disfonksiyon Tedavisinde kullanılanlar	Yohimbine; Tadalafil
Anti-hipertansifler	İndapamide; Perindopril; Trandolapril; Bopindolol; Pindolol
Anti-lipidemikler	Fluvastatin; Laropiprant
Anti-emetikler	Romasetron; Alosetron ; Ondansetron;Dolasetron; Tropisetron
Anti-migrenler	Sumatriptan; Naratriptan; Zolmitriptan; Frovatriptan; Rizatriptan; Almotriptan

1.2.1.Antipsikotik Etkili İndol Halkası İçeren İlaçlar

Antipsikotik ilaçlar beyinde Dopamin ve Serotonin etkilerini değiştirerek görev yaparlar. Pisikotik semptomların tedavisinde kullanılan antipsikotik ilaçların tamamında bulunan ortak özellik merkezi sinir sistemdeki dopamin reseptörlerini bloke etmeleridir. Birçok hayvan deneyinden yola çıkarak 5-HT agonistleri anksiyolitik etki gösterdikleri

söylenmektedir. Bu anksiyolitik etki 5-HT antagonistleri tarafında bloke edilebilmektedir. Ayrıca fare deneylerinde, 5-HT reseptörleri izole edilen ve 5-HT den yoksun farelerde farklı davranış testlerinde anksiyetenin çok arttığı gözlenmiştir. Özetle 5-HT reseptörlerin stimulasyonu ile anksiyete azalırken 5-HT reseptörlerinin inhibisyonu anksiyeteni artırmaktadır (Knight 1982).

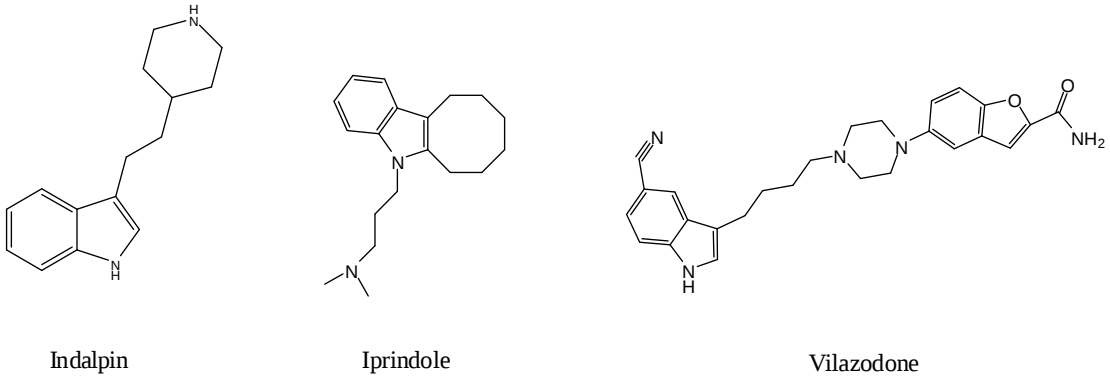


Şekil 1.19 İndol halkası taşıyan antipsikotik etkili ilaçlar

1.2.2. Antidepresan Etkili İndol Halkası İçeren İlaçlar

Depresyon, MSS’inde yeterli düzeyde impals bulunmaması halinde ortaya çıkan duruma depresyon denilmektedir. Depresyona eşlik eden semptomlar ise derin üzüntü, keder, mutsuzluk, ilgi ve konsantrasyon azalması gibi semptomlardan bahsedebiliriz. Beyinde yeterli uyarı (impals) yoksa (MSS deprese olduğunda) nörotransmitterler salgılanarak nöronlar arası impals iletimini artırır. Nöronlar birbirleri ile temas halinde değildir. Arada sinaptik boşluk bulunmaktadır. Beyinden gelen uyarılar buradan iletilir. Bu uyarı taşıma görevini noradrenalin, seratonin ve dopamin gibi nörotransmitterler sağlar (Bondy 2009). Nörotransmitterler presinaptik nöron içerisindeki keselerde depolanmış haldedir. Konsantrasyonları düştükçe sentezlenirler. Presinaptik nörondaki keseciklerde depo haldeki noradrenalin ve seratonin sinaptik boşluğa boşaltılır. Buradanda postsinaptik

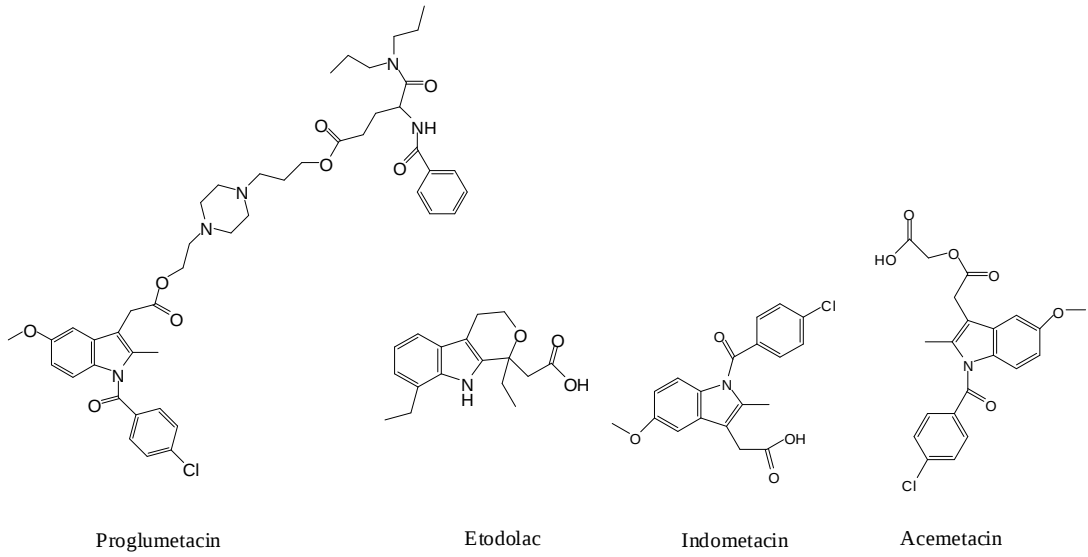
nöron reseptörlerine reversible olarak bağlanır ve gerekli sinyali oluşturduktan sonra geri dönerler. Geri dönen nörotransmitterler presinaptik nörondaki porlardan içeri girerler. Sinaptik boşlukta nörotransmitterlerin konsantrasyonunun artması durumunda monoamino oksidaz A (MAO A) ve kateşol O-metil transferaz (COMT) enzimleri görev yapar. MAO A, konsantrasyonu yükselmiş olan serotonin ve noradrenalinin oksidatif deaminasyon ile yıkarken COMT enzimin bu nörotransmitterlerdeki hidroksil grubuna bir metil transfer ederek yıkımı gerçekleştirir (St Hilaire ve ark. 1984).



Şekil 1.20 İndol halkası taşıyan antidepresan ilaçlar

1.2.3. İndol Halkası Taşıyan Non-Steroid Anti-İnflamatuvar (NSAİD) Etkili İlaçlar

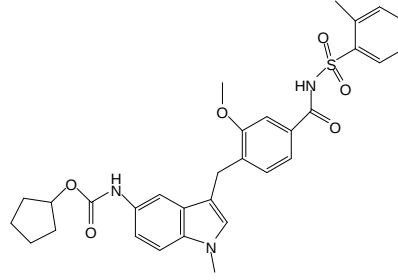
İskemi, antijen-antikor etkileşmesi, termal veya fiziksel hasarlanma, enfeksiyon ajanları gibi oldukça değişik uyaranlar tarafından başlatılan ve belirli bir sıraya göre gelişen patolojik bir durum sonucu ödem, hiperaljezi ve ağrı ile karakterize olan enflamatuvar yanıt oluşmaktadır. Siklooksigenaz, araşidonik asitten prostanooidlerin sentezi sırasında rol oynayan bir enzimdir. NSAİ İlaçlar siklooksigenaz enzimi inhibe ederek antienflamatuvar etki göstermektedirler (Suemasu ve ark. 2012). Bunun yanı sıra nötrofil lökositlerin çeşitli uyaranlar tarafından aktivasyonunun inhibisyonu, aktif oksijen radikallerinin bağlanması ve lizozom membranının stabilizasyonunu sağlayarak da etki gösterirler.



Şekil 1.21 İndol halkası taşıyan nsaid etkili ilaçlar

1.2.4. Astım Tedavisinde Kullanılan İndol Halkası İçeren İlaçlar

Astımın tipik karakteristiği bronşların mukoza ödemiyle daralmasından ötürü olan episodik dispnedir (nefes darlığı). Bu durum, polijenik bir kalıtım biçiminde genetik kökenli olabilir; fakat enfeksiyon, alerji ve emosyonel faktörler de rol oynayabilir. Zafirlukast Oral leukotrien reseptör antagonistidir (LTRA), astma tedavisinde kullanılan indol içeren preparattır. Genellikle bir inhale steroid veya uzun etkili bronkodilatörlerle birlikte kullanılır. Zafirlukast, CysLT1 reseptörü üzerindeki sistein1 leukotrien aktivitesini bloke ederek, havayolunun daralmasını, akciğerlerde mukus salgılanmasını ve nefes borusunun inflamasyonunu redükler (Goverdhan ve ark.).

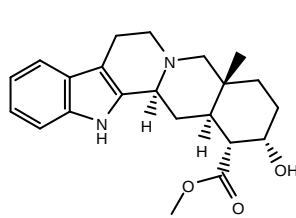


Zafirlukast

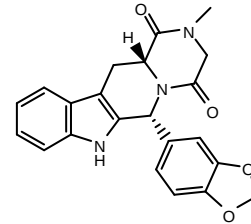
Şekil 1.22 İndol halkası taşıyan astım tedavisinde kullanılan zafirlulast

1.2.5. Seksüel Disfonksiyonel Hastalıkların Tedavisinde Kullanılan İndol İçeren İlaçlar

Seksüel disfonksiyonel hastalıkların tedavisinde kullanılan ve indol halkası ihtiva eden Yohimbine, Tadalafil preparatlarını bu gruba girmektedir (Porst ve ark.).



Yohimbine



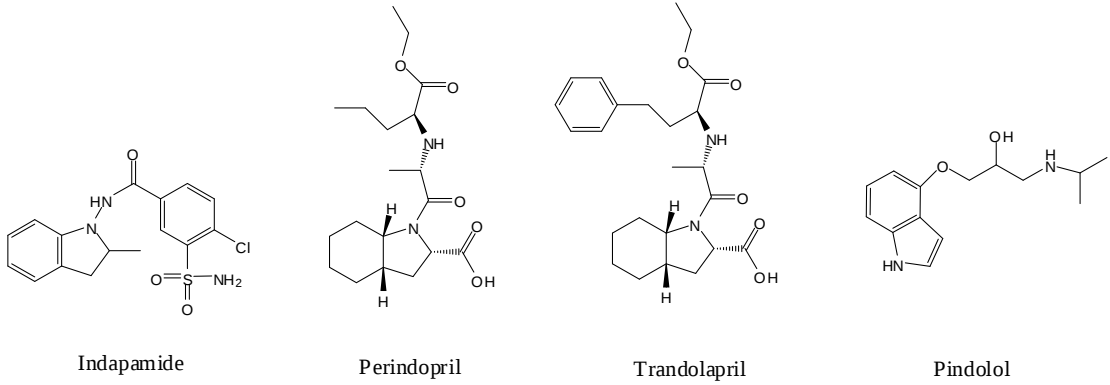
Tadalafil

Şekil 1.23 İndol halkası taşıyan sexual disfonksiyonel tedavisinde kullanılan ilaçlar

1.2.6. Kalp ve Damar Hastalıklarının Tedavisinde Kullanılan İndol Halkası İçeren İlaçlar

Arteriyel kan basıncının yüksek sayılabilmesi için belirlenen sınırlar her ne kadar tartışmalı ise de genel olarak sistolik kan basıncının 140 mmHg, diyastolik kan basıncının da 90 mmHg veya üzerinde olması ya da kişinin antihipertansif ilaç kullanıyor olması hipertansiyon olarak tanımlanır. Hipertansiyon aterosklerotik koroner

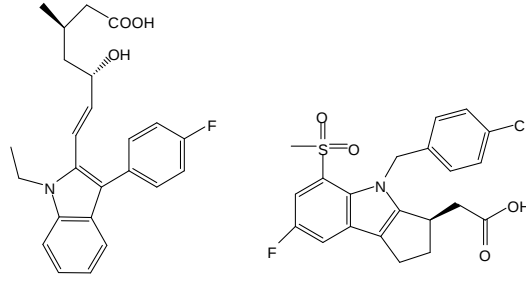
arter hastalığı gelişiminde en önemli risk faktörüdür. Ayrıca konjestif kalp yetmezliği, iskemi ve böbrek yetmezliği gelişiminde de önemli rol oynar. İndol halkası içeren Perindopril, Tandolapril, Pindolol ve İndapamide İlaçlarını kalp ve damar hastalıklarında kullanılan ilaçlardır. İndapamide ise vazodilatör ve diüretik etkilerini birlikte göstererek antihipertansif etki gösteren ilaçtır (Ren ve ark. 2009).



Şekil 1.24 İndol halkası taşıyan kalp ve damar hastalıklarının tedavisinde etkili ilaçlar

1.2.7. Antilipidemik Etkili İndol Halkası İçeren İlaçlar

Antilipidemik ilaçlar, hiperlipidemili hastalarda ağızdan uygulanmak suretiyle lipideyi azaltan ilaçlardır. Arterlerde ateroskleroz gelişmesini önlemek, oluşmuşsa ilerlemesini yavaşlatmak ve koroner kalp hastalığı riskini azaltmak amacıyla kullanılırlar (Agarwal 2006). Mevastatin, lovastatin, simvastatin, provastatin, atorvastatin, laropirant ve fluvastatin HMG-KoA(3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A) redüktaz enzimini kompetitif olarak inhibe eder. İnsanda hepatik ve ekstrahepatik kolesterol biyosentezinde hız-kısıtlayan basamağı oluşturan HMG-KoA'nın mevalonat'a dönüşmesini katalize eder. Bu olay sonucu, karaciğer hücrelerindeki kolesterol ve lipoprotein düzeyinin düşmesine neden olurlar (Kosch ve ark. 2003).



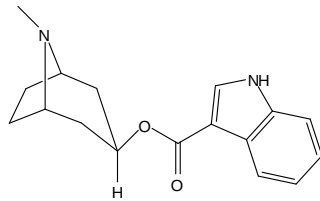
Fluvastatin

Laropiprant

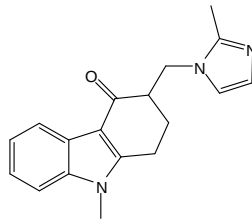
Şekil 1.25 İndol halkası taşıyan antilipidemik etkili ilaçlar

1.2.8. Antiemetik Etkili İndol Halkası Taşıyan İlaçlar

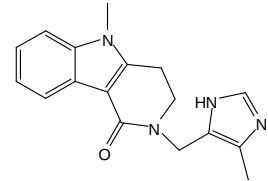
5-HT₃ reseptörlerini bloke eden ilaçlar antiemetik ilaçların bir grubunu oluştururlar. Klinik kullanım olarak da; Kemoterapiye bağlı emezis; Radyoterapiye bağlı emezis; Postoperatif emezis’de kullanılmaktadırlar. İndol halkası taşıyan ve antiemetik etki gösteren ilaçların tamamı 5-HT₃ reseptör antagonistidirler (Jeong *ve ark.* 2005).



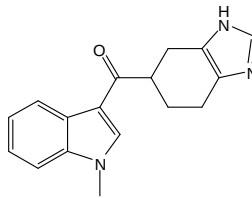
Tropisetron



Ondansetron



Alosetron



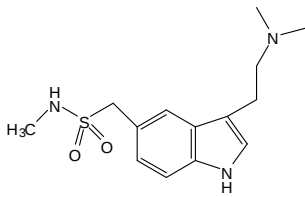
Romasetron

Şekil 1.26 İndol halkası taşıyan antiemetik etkili ilaçlar

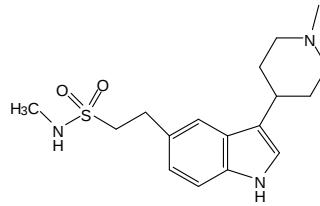
1.2.9. Antimigren Etkli İndol Halkası Taşıyan İlaçlar

Migren atakları sonucu oluşan baş ağrılarının 2 temel nedeni bulunmaktadır; bunlar, beyine giden damarların genişlemesi (dilatasyonu) ve beyinde oluşan inflamasyon. Beyin kan damarlarının genişlemesi ile kan ve diğer sıvıların kan damarlarından beyine sızmasına neden olur, böylelikle beyinde sıvı birikmesi olur bu da duyuşal sinirler etrafında inflamasyonu tetikleyerek MSS'e ağrı sinyali olarak yansıtmaktadır (Gori ve ark. 2005).

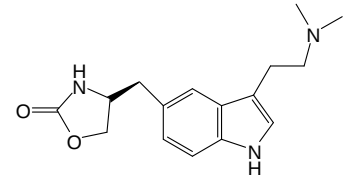
Serotonin veya 5-hidroksitriptamin (5-HT), bir nerotransmitandır. Nerotransmitanlar bir nerondan diğer nerona veya bir nerondan herhangi bir kasa biyolojik sinyal taşıyan kimyasallardır. Beyinde serotonin stimülasyonu beyin damarlarının konstriksiyonuna neden olur ve böylelikle migren ağrılarında neden olan damar genişlemesi ve inflamasyon ortan kalkar (Dahlof ve ark. 1999).



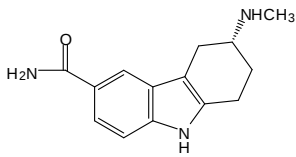
Sumatriptan



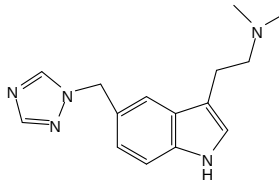
Naratriptan



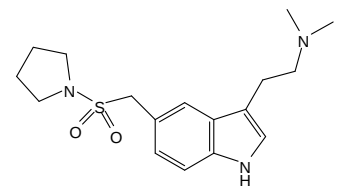
Zolmitriptan



Frovatriptan



Rizatriptan



Almotriptan

Şekil 1.27 İndol halkası içeren antimigren etkili ilaçlar

1.3. Serbest Radikaller

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

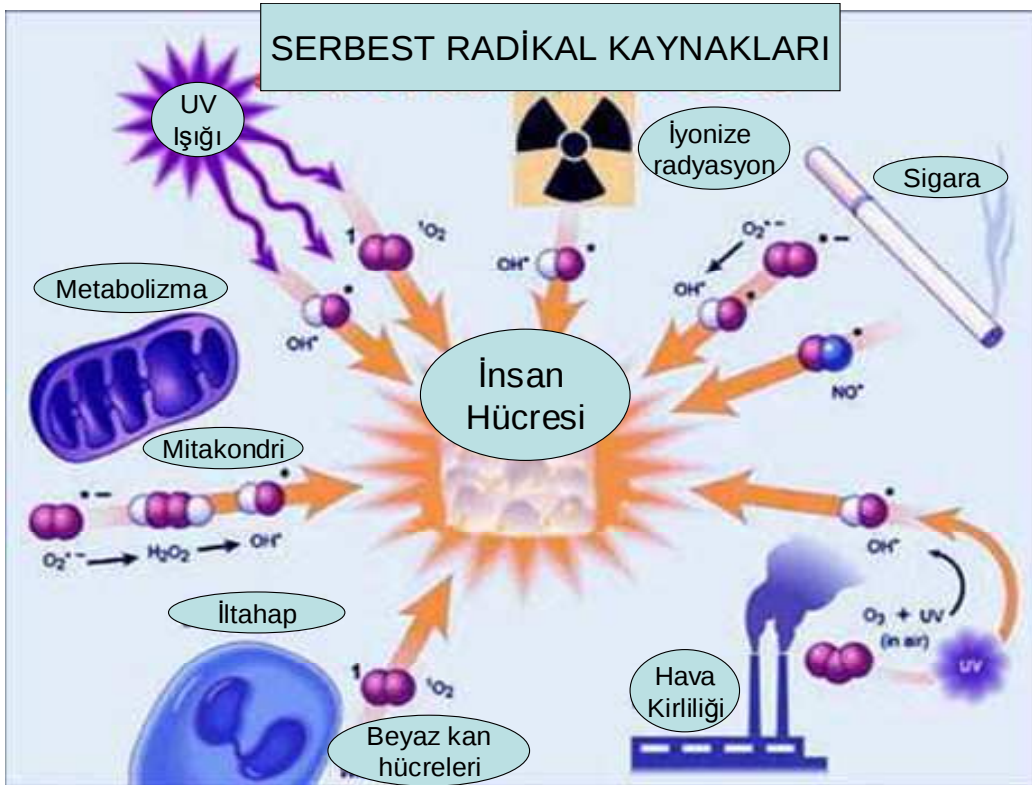
ROT ların organizmada oluşturabileceği başlıca zararlı etkiler aşağıdaki gibi özetlenebilir.

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

Günümüzde yapılan araştırmalar Alzheimer (Guglielmotto *ve ark.* 2009), Parkinson (Ikeda *ve ark.* 2001, Zhou *ve ark.* 2008), Huntington (Dong *ve ark.* 2009) gibi nörodejeneratif hastalıklar başta olmak üzere, arteroskleroz (Szasz *ve ark.* 2007), diyabet (Yim *ve ark.* 2007), romatoid arterit (Remans *ve ark.* 2005, Surapaneni *ve ark.* 2007), yaşlanmaya bağlı bazı hastalıklar (Alexeyev 2009), otoimmün hastalıklar (Fernandez *ve ark.* 2006) ve çeşitli kanser türleri (Poeggeler *ve ark.* 1999, Valko *ve ark.* 2006), otizm hastalığının (Gu *ve ark.* 2013) gibi birçok önemli hastalığın oluşumunda serbest radikallerin büyük bir rolü olduğunu göstermektedir (Süzen *ve ark.* 2006, Süzen 2007).

Hücreler normal şartlar altında kendilerini ROT lara karşı organizmada bulunan süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimler aracılığı ile savunurlar. Askorbik asit (C vitamini), tokoferol (Evitamini), ürik asit ve glutatyon da

hücresel antioksidan olarak önemli rola sahiptir. Ancak sigara ve alkol kullanımı (Faux ve ark. 2009), radyasyon (Wan ve ark. 2006) ve çevresel kirliliklere (kimyasal atıklar vb) maruziyetin artmasıyla (Drew ve ark. 2002, De Luca ve ark. 2009) vücudun korunma sistemleri serbest radikallerin zararlı etkilerini yok etmede yetersiz kalmakta, organizmadaki antioksidan seviyesinde düşme meydana gelmekte ve bunun sonucu olarak da birçok hastalık ortaya çıkabilmektedir (Şekil 1.28).



Şekil 1.28 Serbest radikal oluşum kaynakları ¹

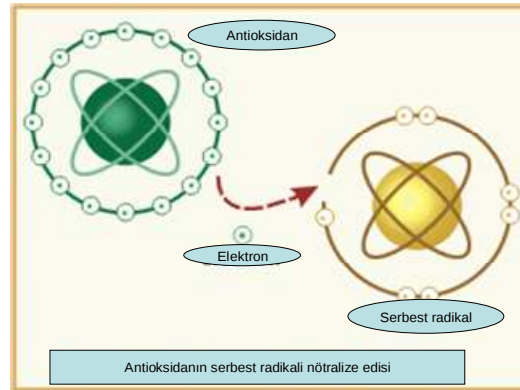
1.3.1.Serbest Radikallerin Tanımı ve Kimyasal Özellikleri

Eşleşmemiş (tek) elektron içeren atom, molekül veya iyon'a serbest radikal denir. Serbest radikaller çok aktif olup kimyasal reaksiyonlara karşı çok duyarlı kimyasal parçalarlardır. Organizmada oksidanlarla antioksidanlar arasında oluşan dengesizliğin

¹ www.passionforhealth.co.nz

oksidanlardan yana ağır basmasıyla lipid, protein, DNA gibi önemli yapı taşlarında hasarlar ve buna bağlı hastalıklar oluşabilmektedir (Mergener ve ark. 2009). Serbest radikaller orbitallerinde tek elektron içerdikleri için güçlü birer oksidan bileşikler olup çevrelerindeki bileşiklerden tek elektron kopararak oksidasyon reaksiyonu başlatabilirler (Şekil 1.29). Bu nedenle de oldukça reaktiftirler.

Radikaller organizmada gerçekleşen metabolik olaylarda, kimyasal etkileşimlerde (polimer oluşumu vb), fagositik hücreler aracılığı ile bakterilerin yok edilmesinde, hücre sinyallerinin iletilmesinde (Pacher ve ark. 2007), gerçekleşen yaşamsal olaylarda önemli rol oynayan parçacıklardır. Örneğin süperoksit ve nitrik oksit radikalleri damar fonksiyonlarımızı ilgilendiren biyolojik etkileşimlerde görev alırlar (Napoli ve ark. 2009). Ayrıca nitrik oksit mikrosirkülasyonda kan akışını düzenleyen ve doku metabozimasından sorumlu önemli bir gazdır (Yamashita ve ark. 2013).



Şekil 1.29 Serbest radikallerin antioksidanlar ile nötralize edilmesi²

1.3.2.Radikallerin Oluşum Mekanizmaları

İçinde yaşadığımız çevrede çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle sürekli olarak serbest radikallere maruz kalırız. Hücresel fonksiyonların gerçekleşmesi sırasında

² www.gmvirtual.com

da ciddi miktarda ve çeşitlilikte radikal üretilmektedir. Bu radikaller genel olarak üç temel mekanizma ile oluşur;

1.3.2.1. Kovalan Bağların Homolitik Kırılması

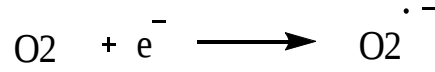
Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar, güneş ışığına maruziyet, peroksitler ve yüksek sıcaklık kovalan bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalır ve bu tür kırılmalar homolitik kırılma olarak adlandırılır. Homolitik bağ kırılmaları genellikle benzer elektronegatiflik taşıyan atomlar arasında gerçekleşir. En sık rastlananları O-O ve O-N arasında görülen homolitik yarılmadır.

1.3.2.2. Molekülün Elektron Kaybetmesi

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

1.3.2.3. Moleküle Elektron Transferi

Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi sonucu, dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa bu tür indirgenme, radikal oluşumuna neden olabilir. Örneğin moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan süperoksidin oluşumuna neden olur. Süperoksit radikalinin yapımındaki artış da, oksijenin diğer radikal türlerinin oluşumu için tetik fonksiyonu görür (Şekil 1.30) .



Şekil 1.30 Moleküler oksijen elektron transferi sonucu süperoksit anyon radikali oluşumu

Vücudumuzda meydana gelen birçok reaksiyonda oksijenin rolü büyüktür. Bu yüzden, oksijen radikallerinin oluşumu da kaçınılmazdır. Bu radikallerin bir bölümünün oluşumu bazı biyokimyasal tepkimeler için gereklidir. Oksijen radikallerinin ihtiyacın üzerinde üretilmesiyle birlikte çeşitli sorunlar başlar (Wu ve ark. 2013).

1.3.3. Serbest Radikal Oluşumunda Etkin Olan Dış ve İç Kaynaklar

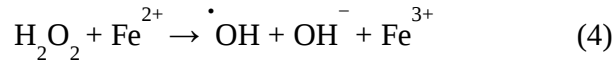
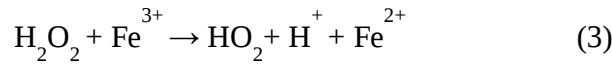
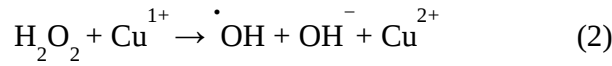
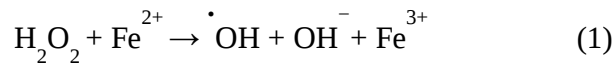
Hücrede reaktif oksijen türevlerinin (ROT) kaynağı iç ve dış etkenli olarak iki kısımda incelenir.

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

Fenton – Haber Weiss reaksiyonu: Canlı hücrelerde cereyan eden ve hidrojen peroksit ile süperoksit anyonundan hidroksil radikalini oluşturan bir reaksiyondur. Dolayısıyla da oksidatif strese neden olan önemli kaynaklardan biridir. Süperoksit radikali, hücre içi demir depolarından demiri serbest hale getirir. +3 değerli ferritin süperoksit tarafından +2 değerlikli demire dönüşür. Serbest hale geçen demir iyonu Haber-Weiss reaksiyonu gibi demir bağımlı olan radikal üreten reaksiyonlarda

kullanılabilir. $O_2^{\bullet-}$ ve H_2O_2 , Fe ve Cu gibi geçiş metallerinin varlığında, güçlü bir reaktif olan $\bullet OH$ üretimine katkıda bulunur.

Aşağıda verilen denklemde (Şekil 1.31); 1 ve 2 numaralı reaksiyonlar demir/bakır katalizli Haber-Weiss reaksiyonları, 3 ve 4 numaralı reaksiyonlar ise Fenton reaksiyonları olarak adlandırılmaktadır.



Şekil 1.31 Fenton – Haber Weiss reaksiyonu

Nükleusta $\bullet OH$ radikali Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları ile oluşur. $\bullet OH$ radikalinin DNA'ya hasar verebilmesi için DNA'da veya çok yakınında oluşması gerekmektedir. Bilindiği gibi, $\bullet OH$ çok reaktif olduğundan hücre içinde oluştuğu yerden diffüze olarak nükleusa geçmesi olası değildir. Olası mekanizma membranı kolayca geçebilen H_2O_2 'nin nükleusta Fe-Cu iyonları ile reaksiyona girerek hidroksil radikallerini oluşturmasıdır. DNA çok sayıda negatif yüklü fosfat grupları içerdiğinden, çeşitli katyonları bağlama yeteneğine sahip büyük bir anyon durumundadır. $Fe^{+2/+3}$ ve $Cu^{+1/+2}$ iyonları ya negatif yüklü DNA'ya sürekli bağlı bulunurlar ya da oksidatif stres altında intraselüler demirli ve bakırlı proteinlerden ayrılarak DNA'ya bağlanırlar. Bu bağlanma ile DNA'yı H_2O_2 in hedefi haline getirirler. Hidrojen peroksit bir radikal değildir. Ancak aktivitesi ve etkileri bakımından radikallere benzer, hidroksil radikali üretiminden büyük ölçüde sorumludur (Sharpe ve ark. 2003).

Ksantin oksidaz (XOD) : Ksantin oksidaz bir enzimatik kaynak olarak canlı sistemlerde ROT oluşturan önemli kaynaklardan biridir. XOD, hipoksantini, pürin katabolizmasında bir ara bileşik iken önce ksantine daha sonra da ürik aside okside edip NAD^+ 'ye elektron transferini gerçekleştiren bir dehidrogenaz enzimi olmasının yanısıra, dokuda belli stres koşulları altında tiyol gruplarını okside eden ve proteolizise neden olan bir oksidaz enzimine dönüşür. XOD'ın faaliyeti sonucunda süperoksit anyonu ve hidroperoksit radikalleri oluşmaktadır (Kelley ve ark. 2010).

NADPH oksidaz: Serbest radikal oluşturan bir diğer enzim ise nötrofillerin plazma zarında bulunan NADPH oksidaz enzimidir. Mitokondri tarafından alınan oksijenin yaklaşık %1-4'ü süperoksit anyonu üretimi için kullanılır ve üretilen süperoksit anyonunun yaklaşık %20'si hücrelere verilir. Makrofajlar ve monositleri barındıran fagosit hücrelerde oksijen alımının artması ile aktiflik kazanan NADPH oksidaz, bu oksijeni süperoksit anyonuna dönüştürerek ekstraselüler sıvılardaki miktarını artırmaktadır (Li ve ark. 2014).

Nötrofil Miyeloperoksidaz (MPO): Hidrojen peroksit tarafından klorid iyonlarının oksidasyonu yoluyla hipoklorik asit üretimini katalizleyen “Nötrofilik miyeloperoksidaz”, enzimi canlı sistemde güçlü oksidan kaynaklarından biridir. Bu reaksiyonun toksisitesi savunma sisteminde bakterilerin öldürülmesine katkıda bulunur. Buna karşılık, oluşan hipoklorik asit aynı zamanda 1-antiproteinaz'ı inaktive etmekte ve sağlıklı insan dokusunu zarara uğratarak iltihaplanmalara neden olmaktadır (Saed ve ark. 2010).

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

1.3.4. Biyolojik Sistemde Önemli Radikal Türleri

Serbest radikaller paralel spinlerde bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron içerir yani atomik orbitalde tek bir elektron bulunur. Bir ya da birden çok çiftlenmemiş elektronun bulunması o maddenin manyetik bir alana çekilmesine yol açar. Radikal oluştuktan sonra tek elektronunu bir başka moleküle verebilir ya da bir başka molekülden elektron alıp çift hale gelebilir ya da radikal olmayan bir yapıya eklenebilir. Her durumda radikal olmayan yapı radikal hale gelir. Eşleşmemiş elektronlar, atom ya da molekülü daha reaktif yaparak bunların kimyasal aktivitesini değiştirir. Eşleşmemiş bu elektron herhangi bir atom ile kolaylıkla birleşebilir (Wu ve ark. 2013).

Serbest radikaller yaşam için gereklidir. Elektron transferi enerji üretimi ve pek çok diğer metabolik işlevde temel oluşturur. Ama eğer zincir reaksiyonu kontrolsüz bir davranış gösterirse hücrelere ve hatta bunların DNA'sına bile zarar veren, kimyasal zincir reaksiyonlarını başlatabilir ve kanser oluşturacak bir dizi olay meydana gelebilir. Biyolojik sistemde, reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif azot türleri (RAT), olarak bilinen, radikaller ve non-radikaller şekilde bulunabilen iki grup mevcuttur (Wu ve ark. 2013).

1.3.4.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

Reaktif Oksijen Türleri (ROT); oksijen taşıyan reaktif parçacıklardır ve organizmada birçok fizyolojik olayda rol oynarlar. Ancak bu parçacıkların çoğu radikal halde olduğu için, gereğinden fazla bulunması, DNA başta olmak üzere organizma için önemli birçok biyomoleküle hasar vererek yıkımına yol açar. Aşağıdaki verilen Çizelge 1.2 de önemli reaktif oksijen türleri verilmiştir.

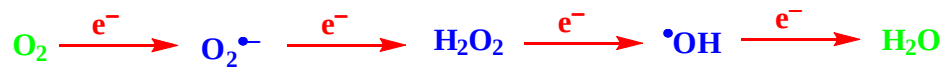
Çizelge 1.2 Önemli reaktif oksijen türleri

Reaktif Oksijen Türleri (ROT)	
Radikaller	Non-Radikaller
Hidroksil $\text{OH}^\bullet$	Peroksinitrit ONOO^-
Süperoksit $\text{O}_2^{\bullet -}$	Hipokloröz Asit HOCl
Nitrik oksit $\text{NO}^\bullet$	Hidrojen Peroksit H_2O_2
Peroksil $\text{RO}_2^\bullet$	Singlet Oksijen $^1\text{O}_2$
LipidPeroksil $\text{LOO}^\bullet$	Ozon O_3
Alkoksil $\text{RO}^\bullet$	Lipid Peroksit LOOH
Hidroperoksil $\text{OOH}^\bullet$	

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

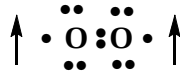
$\text{O}_2^{\bullet -}$, H_2O_2 , $\text{OH}^\bullet$ ve singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) önemli reaktif oksijen türleridir. Genellikle hücrelerde kullanılan oksijenin % 95'i mitokondrilerde kademeli olarak dört elektron eklenmesiyle suya indirgenir. Normal şartlarda bu mitokondriyal olay esnasında oksijenin % 1-2'si de süperoksit radikale dönüştürülür. Süperoksit anyonuna ikinci bir elektron eklenirse aslında bir radikal olmayan hidrojen peroksit H_2O_2 'e indirgenir.

H_2O_2 'e üçüncü bir elektron eklenirse ($\text{OH}^\bullet$) oluşur Aşağıda verilen Şekil 1.32 de bu reaksiyon görülmektedir.

Şekil 1.32 Süperoksit ve H_2O_2 oluşumu

Oksijen dört elektron alarak tümüyle indirgendiğinde su oluşur. Eğer ardı ardına bir elektron indirgenmesine uğrarsa biyolojik sistemlere zarar veren reaktif türevler oluşur(Nordberg ve ark. 2001).

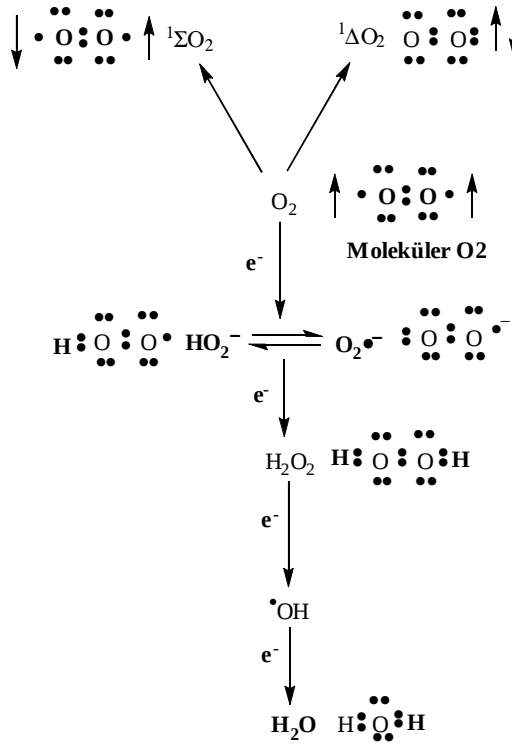
Moleküler oksijen (O_2), iki kovalent bağ yapmasına rağmen, molekülün paramanyetik özellikte olması eşleşmemiş elektron içerdiğini gösterir. Dış orbitallerinde bulunan iki elektron, spinleri aynı yönde ve farklı orbitallerde iken molekül minimum enerji seviyesindedir (şekil 1.33). Serbest radikal tanımına göre oksijen bir “diradikal” olarak değerlendirilir. Diradikal oksijen, spin kısıtlanmasından dolayı radikal olmayan maddelerle yavaş reaksiyona girdiği halde, diğer serbest radikaller ile kolayca reaksiyona girer.



Moleküler O_2

Şekil 1.33 Moleküler oksijen

Organizmada, pek çok oksidaz ve oksijenazın aktif merkezlerinde bulunan geçiş metalleri (Cu^{2+} , Fe^{3+} gibi) vasıtasıyla moleküler oksijene tek elektron transferi suretiyle oksijenin spin kısıtlaması aşılabilir. O_2 'nin reaktivitesini arttırmak için spin kısıtlamasını aşmanın diğer bir yolu, enerji absorpsiyonu ile oksijenin uyarılmış hale geçmesidir (Halliwell ve ark. 1990). Bunun sonucu singlet oksijen oluşur (şekil 1.34).



Şekil 1.34 Oksijenin suya indirgenmesi ve diğer oksijen türlerinin oluşumu

Süperoksit Anyon radikali ($O_2^{\bullet -}$) : Canlılarda oluştuğu belirlenen ilk radikal süperoksit anyon radikalidir (Cathcart 2004). Bu radikalın oluşumu dört farklı mekanizma ile gerçekleşebilir:

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

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

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

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

Süperoksit radikalleri hücrede enerji metabolizmasında oksidasyon sırasında ya da oksidazlar gibi bazı enzimlerin aktivitesi sonucu oluşurlar. Süperoksit radikalleri süperoksit dismutaz adı verilen bir enzimle inaktive edilirler. Süperoksit anyonu büyük ölçüde, NADPH oksidaz enzim aracılığı ile fagositoz hücrelerde patojenik mikroorganizmaları yok etmek için üretilir.

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

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

Hidroksil Radikali ($\bullet\text{OH}$) :Biyolojik ve kimyasal sistemlerde üretilen hidroksil radikali($\bullet\text{OH}$) canlılarda iyonlaştırıcı radyasyonun etkisi ile sulu ortamda su moleküllerinin iyonlaşması ile meydana gelir. Bu tepkimeler çok kısa sürede gerçekleşir ve üretilen $\bullet\text{OH}$, radyasyonun canlılardaki toksik etkisinden sorumlu başlıca kimyasal türdür (Bisby ve ark. 2009, Davis ve ark. 2009).

Hidroksil radikalının bir diğer oluşum şekli ise hidrojen peroksitin eksik indirgenmesi ile oluşur. Hidrojen peroksitin iki elektron ile indirgenmesi sonucu su oluşurken, tek elektron ile indirgenmesi $\bullet\text{OH}$ yapımına neden olur. Bu tür indirgenme Fe, Cu gibi metal iyonları tarafından katalizlenir (Rossi ve ark. 2013). Askorbik asit, süperoksit gibi indirgeyici bileşiklerin de bulunduğu ortamda oksitlenen metal iyonu, tekrar indirgendiğinden hidrojen peroksitten, $\bullet\text{OH}$ yapımı sürekli bir duruma gelir. Haber-Weiss tepkimesi ya da Fenton tepkimesi (Hong ve ark. 1993), olarak adlandırılan bu tepkime ile $\bullet\text{OH}$, vücutta üretilen H_2O_2 değişimi ve serbest metal iyonunun varlığına bağlı olarak oluşur. Süperoksit hem H_2O_2 'in öncülü hem de metalleri indirgeyici bir tür olduğundan ve proteinlere bağlı metallerin indirgenip serbest kalmasına da neden olabildiğinden, biyolojik koşullarda süperoksit oluşumunun arttığı ortamda $\bullet\text{OH}$ üretimi kaçınılmazdır. Fenton tepkimesini katalizleyen en aktif metal iyonları demir ve bakırdır.

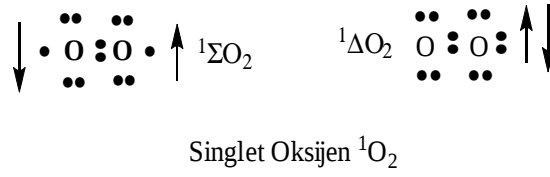
Biyolojik sistemler için en reaktif tür olan $\bullet\text{OH}$, su dahil tüm ortamlarda rastladığı her biyomolekülle tepkimeye girer. Hidroksil radikalının tepkimeleri başlıca:

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

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

1.3.4.1.4. Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$)

Moleküler oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitale yer değiştirmesiyle singlet oksijen oluşur. Singlet oksijen ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal değildir. Oksijenin ortaklanmamış elektronları paralel spinli olduğundan oksijendeki spin kısıtlaması singlet oksijende yoktur ve oldukça reaktif bir oksijen bileşiğidir Delta ve sigma olmak üzere iki şekli vardır (şekil 1.35). Delta şekli daha düşük enerjili (92 kJ) olduğundan sigma şekline (155 kJ) göre daha uzun yarıömürlüdür (Agnez-Lima ve ark. 2012).



Şekil 1.35 Singlet oksijen

1.3.4.2. Reaktif Azot Türleri (RAT):

Reaktif azot türlerinin en önemlileri olarak, nitrik oksit radikali ($NO^\bullet$), peroksinitrit radikali ($ONOO^\bullet$) ve azot dioksit radikali ($NO_2^\bullet$)'ni söyleyebiliriz. Reaktif azot türleri, radikaller ve non-radikaller olarak iki grup altında aşağıdaki Şekil 1.3'de görülmektedir.

Çizelge 1.3 Başlıca reaktif azot türleri

Non-Radikaller	Radikaller
Peroksinitrit, $ONOO^-$	Nitröz oksit, $NO^\bullet$
Peroksinitröz Asit, $ONOOH$	Azot Dioksit, $NO_2^\bullet$
Nitroksil, NO^-	Peroksinitrit, $ONOO$
Nitril Klorür, NO_2Cl	
Nitrotil Katyonu, NO^+	
Dinitrojen trioksit, N_2O_3	
Nitröz Asit, HNO_2	

Peroksinitritin Oluşumu: Süperoksit radikalının beyindeki nöronal ve endotelial nitrik oksit sentaz (NOS) aracılığı ile sürekli oluşan ve bir gaz radikal olan nitrik oksit ile girdiği reaksiyon sonucu peroksinitrit oluşur (Beckman ve ark. 1990, Chan 1996). Fizyolojik pH da $ONOO^-$ derhal OH^- ve azot dioksit ($NO_2^\bullet$) parçalanır. Çok güçlü bir prooksidan olan $ONOO^-$, SOD ile reaksiyona girerek güçlü bir nitratlayıcı ajan oluşturur. Sonuçta hücrel proteinlerin tirozin kalıntılarının nitratlanması hücrel disfonksiyon ve ölüme yol açabilir (Beckman ve ark. 1993, Patel ve ark. 1999). $ONOO^-$ in iskemik

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

Nitrik oksit radikali (NO·) : Nitrik oksit, çok önemli biyolojik fonksiyonları yerine getirmek üzere üretilen bir radikaldır. Paylaşılmamış elektron aslında nitrojen atomuna ait ise de, bu elektronun hem nitrojen hem de oksijen atomu üzerinde delokalize olması nedeniyle tam radikal özelliği taşımaz. Bunun sonucu, bilinen diğer radikallere göre reaktivitesi baskılandığından oldukça uzun ömürlüdür. Vücudumuzda NO sentezini sağlayan mekanizmalar çok fazla değildir. Organizmaya alınan nitro bileşiklerinin metabolizma ürünü olarak oluşumunun yanı sıra, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi NO oluşturan başlıca kaynaktır (Poyton ve ark. 2009, Suga ve ark. 2009).

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

1.3.5. Oksidatif Hasar

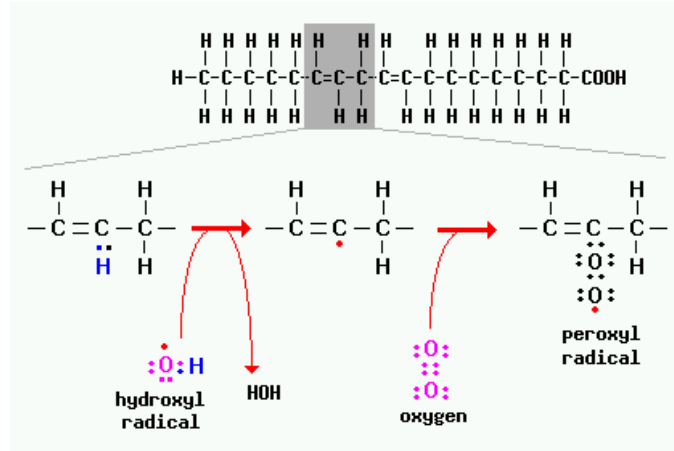
Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içindedir ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Prooksidan/antioksidan dengenin prooksidanlar lehine kayması sonucunda gelişen oksidatif stres, çeşitli mekanizmalar ile biyomoleküllerde hasara neden olur (Velkov ve ark. 2009).

ROT, RAT ve özellikle $\cdot\text{OH}$ radikali lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitler gibi tüm hücrel moleküllerle reaksiyona girerler. Genelde bu reaksiyonlar sonucu ikinci bir radikal oluşur ve bu radikal diğer moleküller ile radikal zincir reaksiyonları meydana getirir. Oksidatif hasar, genellikle ROT'lerin lipidler, proteinler ve DNA ile reaksiyona girmeleri sonucu oluşmaktadır (Kalyanaraman 2013). Bunların en önemlileri;

1.3.5.1. Lipitlerde oksidatif hasar

ROT'a duyarlı hedef moleküller arasında çoklu doymamış yağ asitleri önemlidir. İki ya da çok sayıda çift bağ içeren bu moleküllerde bis-allilik metilen pozisyonlarına komşu çift bağın varlığı, karbon allilik hidrojen bağını zayıflatır.

Lipit peroksidasyonunun ilerlemesi ile başta membran akışkanlığı olmak üzere, taşıyıcı ve reseptör fonksiyonlu membran proteinlerinin aktiviteleri azalır. Membran potansiyeli değişime uğrar ve sonuçta membranların yapısal bütünlükleri bozulur (Şekil 1.36).



Şekil 1.36 Lipid peroksidasyonu ³

Lipit alkoksil (LO•) ve peroksil (LOO•) radikalleri, •OH radikalinden daha düşük reaktiviteye sahip olduğundan lipit radikallerinin reaksiyonları daha özgündür. Lipitler, membranın integral ya da periferik proteinlerine ve DNA'ya çok yakın mesafede olduğundan, lipit radikalleri hücrenin kritik önem taşıyan moleküllerine •OH radikalinden daha etkin olarak hasar yapabilirler (Halliwell ve ark. 1984).

1.3.5.2. Proteinlerde oksidatif hasar

ROT ve RAT'lar, oksidasyona yatkın olan, histidin, tirozin, fenil alanin gibi amino asitler ile oksidasyon reaksiyonu oluştururlar. Oksidatif hasarlı olan reseptör, enzim ve transport proteinlerinin fonksiyonlarında bozulma olabilir, immün sistemi uyaran yeni antijenik yapılar oluşabilir.

1.3.5.3. DNA'da Oksidatif Hasar ve Klinik Önemi

DNA stabil bir molekül olmasına rağmen yaşam boyunca fizyolojik şartlarda kimyasal oksidatif hasara uğrayabilir. Örneğin pürin kaybı ile apürinik alanların oluşması insan

³ <http://www.vivo.colostate.edu>

genomunda gün içinde 10^4 kez meydana gelebilmektedir. DNA hasarına neden olan sayısız farklı etken vardır. Hasar kaynakları dış veya iç kaynaklı olabilir. Dış kaynaklar olarak ultraviole radyasyon, iyonize radyasyon, sigara içimi ve birçok kemoterapötikler sayılabilir. Gama ve X ışınları, biyolojik moleküllerle reaksiyona girdiklerinde reaktif iyonlar oluştururlar. DNA da ise baz hasarına ve kaybına, tek veya çift zincir kırıklarına neden olurlar. Özellikle, DNA tarafından absorblanan UV ışınları pirimidin dimerleri oluştururlar, bu dimerler replikasyonu bloke ederler. Mitokondriyal solunum sonucu oluşan serbest radikaller DNA da tek zincir kırıklarına ve 8-oksoguanin ve timin glikol gibi hasarlı bazların oluşmasına sebep olur (Croteau ve ark. 1997). DNA onarımındaki bozukluklar, meme, kolon ve cilt kanseri gibi birçok kanser türüne neden olduğu gibi, ayrıca, büyüme ve beyin anomalilerine de sebep olur.

1.3.5.3.1. Hidroksil Radikalinin Guanin ile Reaksiyonu

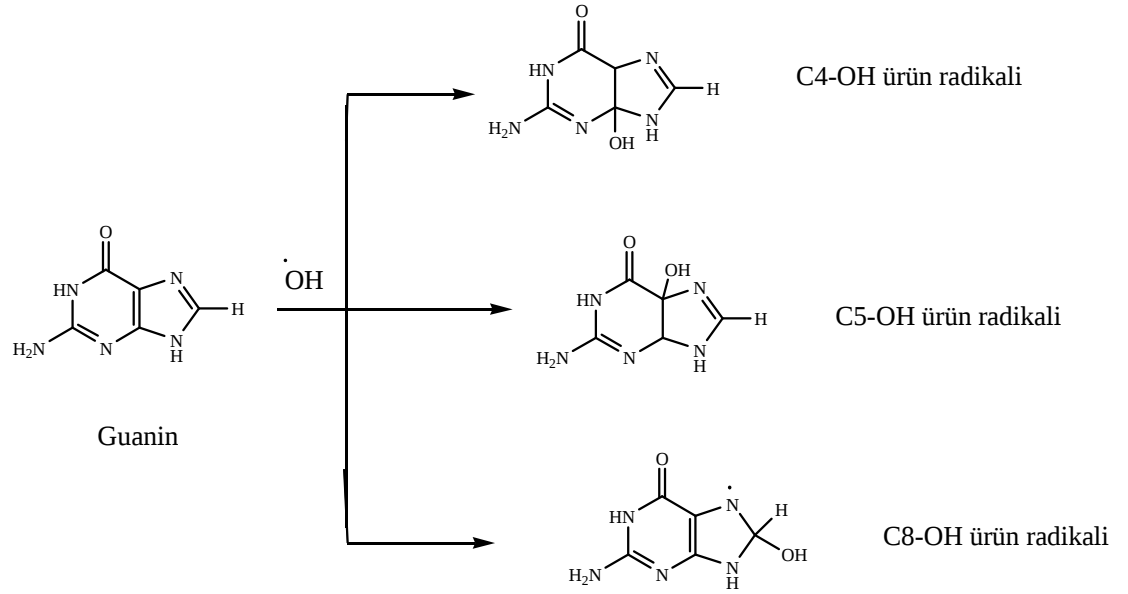
ROT ve RAT'ların sebep olduğu Oksidatif stresin, farklı mekanizmalar ile DNA'da baz ve şeker modifikasyonları, tek ve çift zincir kırıkları, abazik bölgeler, DNA-Protein çapraz bağlanması gibi bir takım hasarlara neden olmaktadır. Mutagenезisin, karsinogenезisin ve yaşlanmanın ortaya çıkması DNA'da oluşan bu oksidatif hasarın belirtilerinden sayılabilir.

Oksidatif stresin DNA, lipidler ve proteinler gibi biyolojik makromoleküller üzerinde oluşturduğu değişiklikler sonucu hücre hasarına neden olmaktadır. ROT'lar DNA'da farklı mekanizmalar ile; baz ve şekerde lezyonlara, tek ve çift zincir kırıklarına, DNA-protein çapraz bağlanması gibi bir takım modifikasyonlara neden olur (Dizdaroglu 1998). DNA'da ROT'lar tarafından oluşan oksidatif hasar, kanser, immune sistem hastalıkları, kardiyovasküler hastalıklar, dejeneratif hastalıklar ve yaşlanma, gibi doku fonksiyonlarının bozulması ile ortaya çıkan hastalıkların başlıca nedeni ve belirtisi olarak söylenmektedir.

Oksidatif hasara uğramış hücre ve dokularda yapılan hasar tespiti analizlerinde 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), ROT'un DNA'da yaptığı oksidatif baz hasar ürününden en sık karşılaşılan ve mutajenitesi en iyi bilinen bileşiktir (Fraga ve ark. 1990, Farinati ve ark. 1998). Zira Guanin DNA bileşenleri içerisinde en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip olduğundan ROT'un başlıca hedefidir. İlk defa 1984 yılında Kasai ve Nishimura tarafından, oksidatif DNA hasarının bir belirteci olarak tespit edilmiştir (Kasai ve ark. 1984).

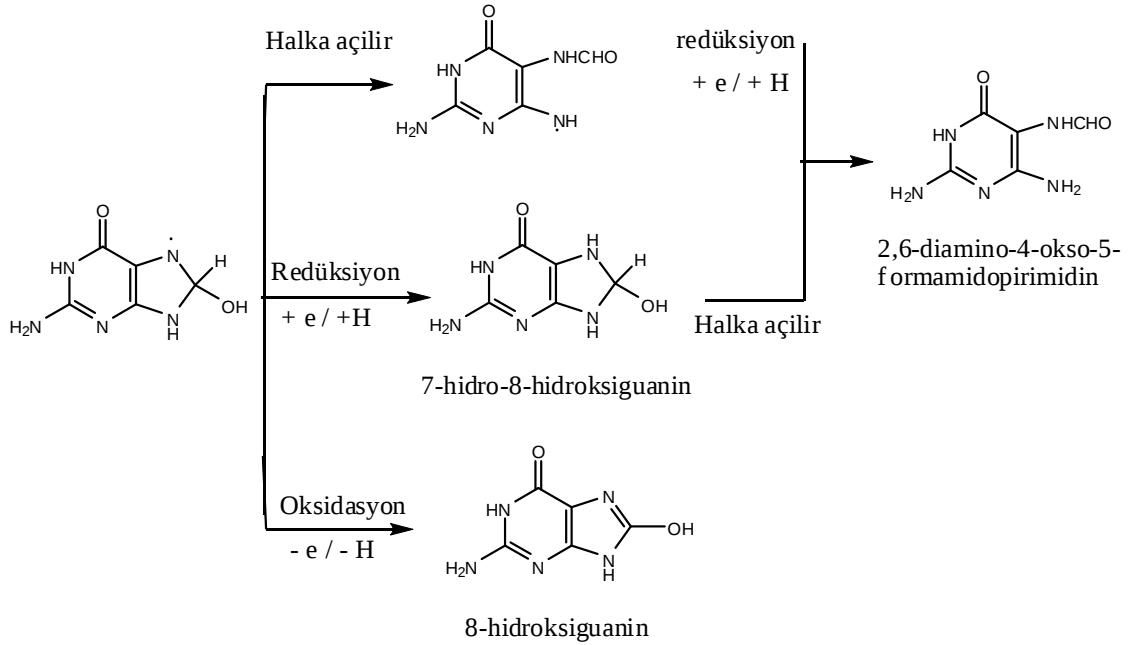
8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), DNA replikasyonu sırasında GC'den AT'ye dönüşüme neden olarak mutasyona eğilimi arttırır. Bu nedenle 8-OHdG ölçümü, DNA'daki oksidatif hasarın doğrudan göstergesi olarak kabul edilmekte ve oksidatif DNA hasarını belirlemede en sık kullanılan yöntem olarak uygulanmaktadır (Fraga ve ark. 1990).

8-OHdG, normal endojen kaynaklı ROT veya eksojen kaynaklı ROT tarafından DNA'da şekillenen bir mutajendir (Kasai ve ark. 1986). Hidroksil radikali, guanin'in 4, 5 ve 8. Pozisyonlarındaki karbon atomları ile reaksiyona girer ve DNA ürün radikallerini oluştururlar (şekil 1.37). 4. ve 5. Karbon atomunun OH ürün radikalleri dehidrate olmuş, 8. Karbon OH ürün radikalinin ise imidazol halkası açılmaya maruz kalmıştır. Oluşan DNA modifikasyon ürünün türü (son ürünler); reaksiyon partneri, redoks potansiyeli, radikal üreten sistem ve oksijenin mevcudiyeti gibi reaksiyon şartlarına bağlıdır.



Şekil 1.37 Hidroksil radikalının guanin bazı ile reaksiyonu

Radikaller sahip oldukları redoks potansiyellerine ve reaksiyona girdikleri maddelere göre indirgenebilirler ya da yükseltgenebilirler. Purinlerin C8-OH ürün radikalleri halka açılmadan bir elektron oksidasyonuna maruz kalarak, 8-hidroksipurinleri ve bir elektron redüksiyonuna maruz kalarak formapirimidinleri verirler (Dizdaroglu ve ark. 2001). (şekil 1.38).



Şekil 1.38 C8-OH ürün radikalinden, guanin son ürünlerinin oluşum mekanizması

1.3.6. Oksidatif Stres ve Neden Olduğu Hastalıklar

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

Süperoksit anyon radikali; değişik hücre türleri tarafından, solunum zinciri, ksantin oksidaz, siklo-oksijenaz ve NADPH-oksidadz gibi enzimatik sistemler üzerinden moleküler oksijenden üretilebilir. Hidrojen peroksit ise süperoksit dismutasyonunun bir ürünü olarak meydana gelir. Ayrıca mono amin oksidaz gibi bazı enzimler substratlarından doğrudan hidrojen peroksit üretebilirler. Fenton ve Haber – Weiss reaksiyonlarında; demir gibi geçiş metalleriyle katalizlenen reaksiyon sırasında miyeloperoksidazın hidrojen peroksitten hipokloröz asit üretmesi sonucunda hidrojen peroksidin oldukça kuvvetli hidroksil radikale dönüştüğü görülür. Bu radikaller;

lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi hassas hücreleri hedef alarak bu hücrelerin inhibisyonuna neden olur ve degradasyonunu hızlandırır. Böylelikle oksidatif stres gittikçe artan hücresel hasarlara yol açar.

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

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

Oksidatif stresin; birçok hastalığın gelişimine moleküler anlamda temel oluşturduğu görülmektedir (Waris ve ark. 2006). Buna göre metabolizmada üretilen radikallerin fazlasının oluşmaması için çok erken safhalarda indirgenmesi biyomoleküllerin korunması bakımından hayati öneme sahiptir. Radikaller tepkimelerin sonlanması için ise ya oluşan radikallerin antioksidanlar ile indirgenmesi, ya radikallerin birbirleri ile tepkimeleri ya da ortamda tepkimeye girebilecek bileşik kalmaması gerekmektedir. Çeşitli kanser tiplerinin oluşumunda etkili olan oksidatif stres ve ROT çeşitleri Çizelge 1.4 de, serbest radikallerin bazı hastalıkların oluşumundaki rolü de Çizelge 1.5 de görülmektedir.

Çizelge 1.4 Bazı kanser tiplerinde önemli rol oynayan ROT'lar

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

Çizelge 1.5 Serbest radikal hasarlarının etkili olduğu hastalıklar

HASTALIK	SERBEST RADİKALLERİN PATO FİZYOLOJİK ROLÜ
Arteroskleroz (Szasz ve ark. 2007)	Endotelyal disfonksiyon, makrofajların aktivasyonu
Miyokardiyal Enfaktüs (Weinbrenner ve ark. 2003)	İskemik reperfüzyon hasarı sonucunda miyosit nekroz ve/veya apoptosis
Hiper Tansiyon (Banday ve ark. 2007)	Vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonu, NADP/NADPH oksidaz üzerinden oksidan üretimi
Diyabet (Yim ve ark. 2007)	ROT'nin oluşumunu hızlandırdığı, süperoksidin neden olduğu endotelyal disfonksiyon
Yaşlanma (Miquel 2002, Alexeyev 2009)	Hücre hasarları ve metabolik abnormaliteler
Kanser tipleri (Poeggeler ve ark. 1999, Valko ve ark. 2006)	Gen mutasyonu ve hücresel faaliyetlerin ileri derecede bozulması
Parkinson (Ikeda ve ark. 2001, Zhou ve ark. 2008)	Mitokondriyal disfonksiyon
Alzheimer (Varadarajan ve ark. 2000, Guglielmotto ve ark. 2009)	Beyinde amiloid peptid ürünleri oluşumu
Huntington (Schapira 1999, Dong ve ark. 2009)	Mitokondrial zayıflık
Otoimmün Bozukluklar (Fernandez ve ark. 2006)	Enflamasyon ve doku yıkımları
Yaşa Bağlı Dejenerasyon (Milante ve ark. 2004)	Fotokimyasal reaksiyonlar
Akut solun yetersizliği, enflamasyon ve hiperoksiya (Remans ve ark. 2005, Geronikaki ve ark. 2006, Surapaneni ve ark. 2007)	Enflamasyon ve endotelyal disfonksiyon

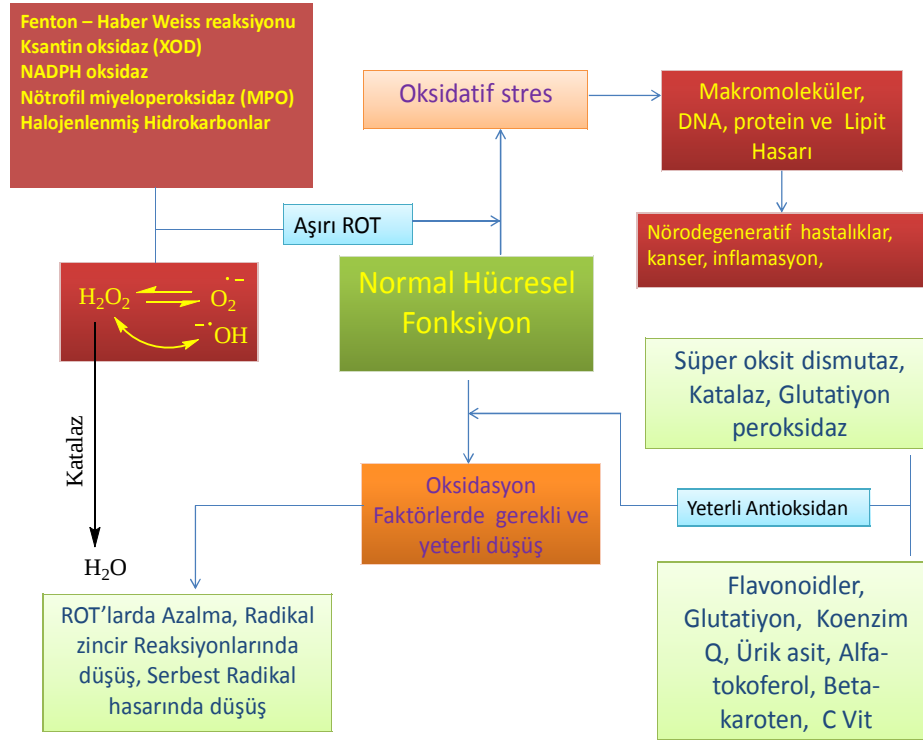
1.4. Antioksidan Maddeler

Antioksidanlar, başka moleküllerin oksitlenmesini yavaşlatma veya önleyebilme kapasitesine sahip moleküllerdir. Oksidasyon substrattan oksitleyici ajana elektron transferi ile gerçekleşen kimyasal bir reaksiyondur. Oksidasyon reaksiyonu sonucu, zincir reaksiyonları başlatarak hücreye zarar veren serbest radikaller oluşabilir.

İnsan antioksidan savunma sistemi; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GP) gibi enzimatik; ürat, askorbat, glutatyon ve flavonoidler gibi hidrofilik; tokoferoller, karotenoidler ve ubikinol gibi lipofilik yakalayıcılarla donatılmıştır. Bu savunma sistemi ayrıca glutatyon redüktaz ve dehidroaskorbat redüktaz gibi moleküler antioksidanların okside olmuş biçimlerini azaltan enzimler de içermektedir. Bu yakalayıcıların dışında, glukoz-6-fosfat dehidrojenazın NADPH'ın rejenerasyonunu gerçekleştirmesi gibi hücresel savunma sistemleri de mevcuttur. Bunlardan bazıları hücrenin kendisi tarafından sentezlenirken askorbik asit, lipoik asit, polifenoller ve karotenoidler gibi büyük bir kısmı ise beslenme yoluyla alınan besinlerden sentezlenir. Hastalık durumunda vücudun ROT'ne karşı koruma sistemi zayıflar ya da hasar görür ve böylece vücuttaki oksidan seviyesinde artış gözlenir. Bu durumlar karşısında dışarıdan alınacak antioksidanlar, oksidatif stresin yol açabileceği hasarları önleme açısından hayati önem taşırlar (Yan ve ark. 2013).

1.4.1. Antioksidan Maddelerin Biyolojik Önemi

Antioksidan maddeler, oksidanların biyolojik hedeflerle reaksiyona girmesini, radikal zincir reaksiyonları oluşturmalarını ya da oksijenin oldukça reaktif ürünlere dönüşmesini önleyerek serbest radikallerin vereceği hasarı en aza indirmeye çalışırlar (Şekil 1.39) (Azzi ve ark. 2004).



Şekil 1.39 Antioksidan maddelerin Organizmadaki Fonksiyonları

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

Alzheimer ve parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkların oluşumunda serbest radikallerin önemli rolü olduğu bilinmektedir (Zhou ve ark. 2008, Guglielmotto ve ark.

2009). Dolayısıyla bu hastalıkların önlenmesi için kan-beyin bariyerlerini kolay aşabilen antioksidan maddelerin gerekliliği bir kez daha ortaya çıkmaktadır.

Vücudun antioksidan seviyesinin düşmesini önlemek ve/veya yeterli düzeyde tutmak için vücuda dışarıdan doğal antioksidan takviyesi almak, sağlıklı ve düzenli beslenmeye dikkat etmek, spor yapmak, temiz havalı yerleşim bölgelerinde yaşamak, havasız ortamlardan kaçınmak, sigara içmemek gibi doğal önlemler alınmalıdır (Yan ve ark. 2013).

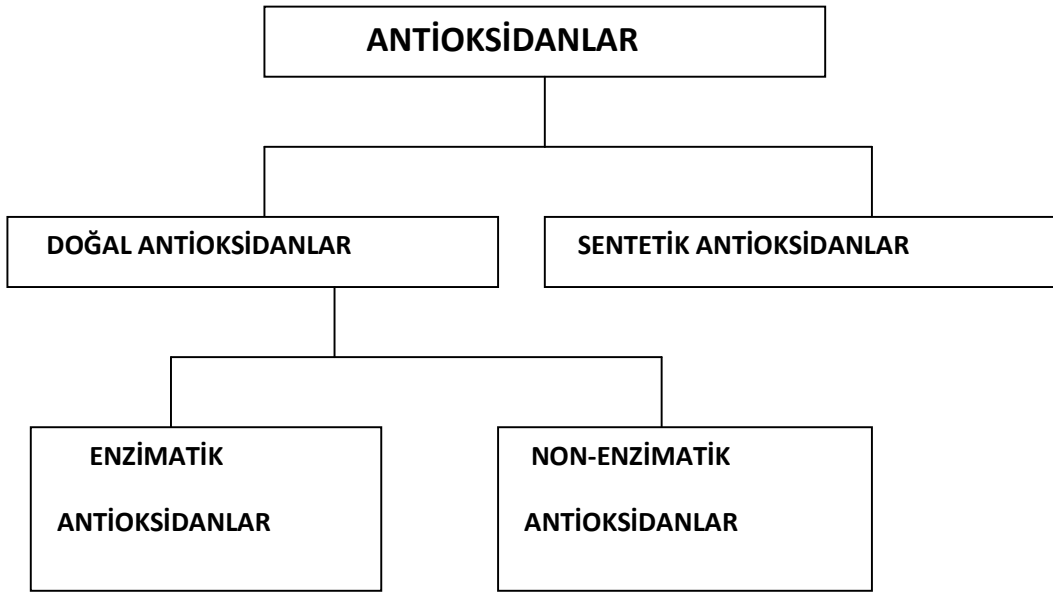
Bunun yanı sıra metabolizmaya dışardan alınan doğal desteklerin bazı durumlarda yetersiz kaldığı da göz önüne alınarak son yıllarda sentetik antioksidan maddeler üzerine yapılan çalışmalar gittikçe artmakta ve daha etkili, doğal antioksidanlara en yakın özelliklere sahip, yan etkisi en az düzeye indirilmiş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

1.4.2. Antioksidan Maddelerin Sınıflandırılması

1.4.2.1. Doğal Antioksidan Maddeler

Antioksidanlar, doğal ve sentetik antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılırlar. Doğal antioksidanlar ise temel olarak enzimatik antioksidanlar ve non-enzimatik antioksidanlar olarak iki ana grupta toplanmaktadır (Şekil 1.40).

Enzimatik antioksidanlar organizma tarafından üretilirken non-enzimatikler gıdalar aracılığıyla beslenme yoluyla vücuda alınmaktadır. Beslenme yoluyla alınan antioksidan maddelerin başında polifenoller gelir. Bunun dışında vitaminler, karotenoidler, organosülfürlü bileşikler ve mineraller de diğer non-enzimatik antioksidan madde sınıflarını oluşturmaktadır.

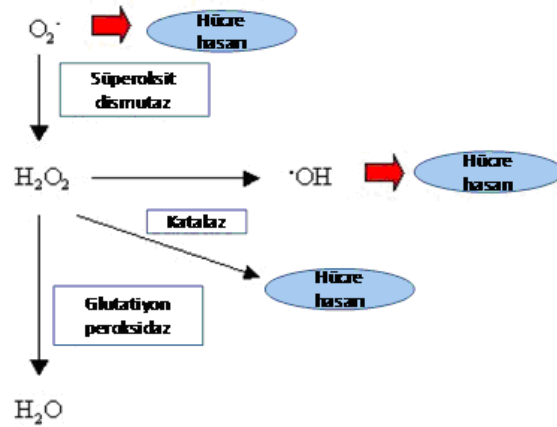


Şekil 1.40 Antioksidan maddelerin gruplandırılması

Enzimatik Antioksidan Maddeler: Enzimatik antioksidan maddeler; başlıca süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) enzimlerini içerir. SOD ve CAT gibi antioksidan enzimler vücutta tükenmezler ve ROT ile reaksiyona girecek yüksek ilgiye sahiplerdir (Christofidou-Solomidou ve ark. 2006) ve doğada da bilinen en etkili antioksidan maddelerin başında gelmektedirler.

Süperoksit Dismutaz: süperoksitin oksijen ve hidrojen peroksite dismutasyonunu sağlayan enzimdir (Şekil 1.41). Oksijene maruz kalan tüm hücreler için antioksidan savunma sağlar. Bilinen çeşitli SOD formları vardır. Bunlar bakır, çinko, mangan, demir ve nikel ko-faktörlü protein yapılarıdır. İnsanlar da üç çeşit SOD bulunmaktadır. sitoplazmik SOD1 (CuZn-SOD), mitokondrial SOD2 (Mn-SOD), ekstraselluler SOD3 (Fe-SOD). SOD doğada yaygın olarak ökaryotik ve prokaryotik organizmalarda da bulunur. Bir özelliği de peroksinitrit oluşturabilen NO radikali gibi hedeflere çok hızlı ulaşabilmektedir (Tengattini ve ark. 2008). Mitokondri en önemli enzimatik antioksidan

üretici olmakla birlikte reaktif oksijen türlerinin de en başta gelen hedefidir. Mitokondride aşırı ROT ve serbest radikal birikimi sonucunda Mn-SOD miktarı yükselmektedir. Bu da mitokondrinin kendini serbest radikallerin etkilerinden korumak için Mn-SOD' yi kendi ürettiği bir savunma sistemi olarak kullandığını göstermektedir (Nordberg ve ark. 2001).



Şekil 1.41 SOD, katalaz ve glutatiyon peroksidaz aktivitesi ⁴

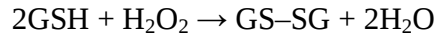
SOD enzimi her zaman H_2O_2 dönüştürücü enzimi, katalaz ve glutathion peroksidaz'la konjuge halde çalışmaktadır. Katalaz enzimi H_2O_2 'yi H_2O ve O_2 'ye dönüştürür. SOD1 enziminde mutasyon oluşması sonucu mekanizması tam olarak aydınlatılamamış olan ALS (Amiyotropik lateral skleroz) olarak bilinen motor nöron hastalığı oluşur (Pouilletier de Gannes ve ark. 2009). Ayrıca SOD1 inaktivasyonu sonucunda hepatosellüler karsinoma görülmektedir.

Katalaz: ise hücreleri hidrojen peroksitin moleküler oksijen ve suya parçalanmasıyla oluşan serbest radikallerin etkilerinden korur. Oksijene maruz kalan tüm canlı organizmalarda bulunur. Dört polipeptid zincirinin oluşturduğu tetramer şeklindedir. Her zincirde 500 den fazla amino asit bulunmaktadır. H_2O_2 ile reaksiyon vermesini sağlayan 4 demir grubu taşımaktadır. H_2O_2 organizmada metabolik olaylar

⁴ www.ebi.ac.uk

sonucu oluşan zararlı bir atık üründür. Katalaz H_2O_2 nin su ve oksijene dekompoze edilmesini katalizler. Genellikle peroksizom adı verilen organellerde bulunur.

Glutation peroksidaz (GP): GP nin esas görevi organizmayı oksidatif hasardan korumaktır. Ttripeptid glutation (GSH) ile konjuge halde çalışır. GSH hücrelerde yüksek konsantrasyonda (mikromolar) bulunur. GSH da hidrojen peroksidi suya dönüştürürken kendisi de glutation disülfid'e (GSSG) dönüşür. Oluşan GSSG ise glutatyon redüktaz ile tekrar glutation'a indirgenir. Biyokimyasal olarak lipid hidroperoksitlerin alkollere ve H_2O_2 in suya dönüşümünü sağlar.



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

Non-Enzimatik Antioksidan Maddeler: Non-enzimatik antioksidanlar ise vücuda beslenme yoluyla alınmaktadır. Beslenme yoluyla alınan antioksidan maddelerin başında polifenoller gelir. Bunun dışında vitaminler, karotenoidler, organosülfürlü bileşikler ve mineraller de diğer non-enzimatik antioksidan madde sınıflarını oluşturmaktadır (Choudhari ve ark. 2014). Önemli non-enzimatik antioksidanlar aşağıda özetlenmektedir.

E vitamini: Yağda çözünen en önemli non-enzimatik antioksidandır. Membranların oksidatif hasardan korunmasında hayati önemi vardır. Peroksi radikalini hücre membranlarında yakalayarak primer aktivitesini gösterir. E vitamini içinde alfa,

beta, gama ve delta tokoferoller bulunur. Bunların içinden özellikle Alfa tokoferol önemli bir antioksidandır. Özellikle buğday, mısır, darı, pirinç gibi tahıllarda çok bulunur.

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

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

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

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

KoenzimQ: Özellikle kanser ve belli nörolojik hastalıklara olan pozitif etkileriyle uzun süredir gündemde olan koenzim q önemli bir antioksidandır. Hem vücut tarafından üretilir hem de beslenme yoluyla alınabilir. Her ne kadar ciğer, kalp ve böbrek gibi et ürünlerinde ve balıkta yüksek oranda bulunsa da, diyetle takviye amaçlı alınan koenzim q hapları ile vücutta alınması daha etkilidir

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

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

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

1.4.2.2. Sentetik Antioksidan Maddeler

Vücudumuzun ürettiği doğal antioksidanlar ve besinler yoluyla alınan antioksidanlar bazen yeterli gelmemekte ve bunun sonucunda da çeşitli hastalıklar ortaya çıkabilmektedir. Antioksidanların yetersizliğinin temel nedenleri; çevresel etmenler, yetersiz ve dengesiz beslenme, kötü ve sağlıksız yaşam koşulları, vücut direncinin başka hastalıklar yüzünden zayıflaması, genetik hastalıklar gibi kişinin içinde bulunduğu ortama, yaşam şekline ve bünyesine bağlı olarak gelişen oksidan/antioksidan dengesinin bozulmasıdır. Bununla birlikte yaşlanmayla ortaya çıkan doğal bir dengesizlik de antioksidan ihtiyacını doğurmaktadır. ROT ve RAT'ların neden oldukları olumsuzluklara karşı korunmayı enzimatik ve non-enzimatik olarak bilinen antioksidanlar sağlamaya çalışmaktadır (Almeida ve ark. 2011). Bütün bu nedenler ve ihtiyaçlar göz önüne alındığında sentetik antioksidanlara duyulan ihtiyaç ortaya

çıkılmaktadır. Günümüzde bu konuda birçok çalışma yapılmakta ve gerek antioksidan eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkan hastalıkları önlemede gerekse bu nedenle oluşan hastalıkları tedavi etmede birçok sentetik antioksidan madde sentezlenmeye çalışılmakta ve gün geçtikçe yan etkisi daha az, birden çok hastalığa etki edebilecek, doğala en yakın bileşikler sentezlenmektedir.

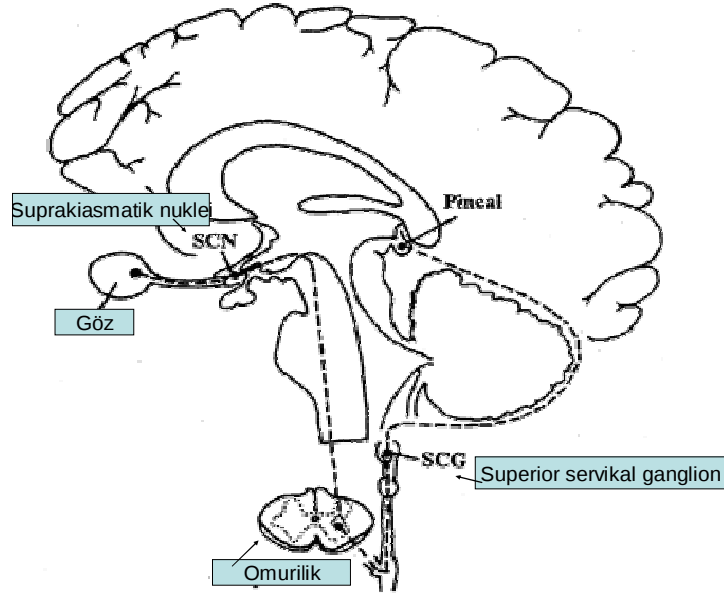
Doğada bulunan besinler içerisindeki antioksidan maddelere baktığımızda indol türevi bileşiklerin önemli bir yere sahip olduğunu görmekteyiz. Örneğin; brokoli, kabak ve karnıbahar içerisinde bulunan indol-3-karbinol oldukça yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir ve yapılan araştırmalar sonucunda bu maddenin özellikle göğüs ve prostat kanserini önlediği belirlenmiştir (Jump ve ark. 2008). Bölüm 1.5’de anlatılacak olan ve vücudumuzda doğal olarak sentezlenen melatonin, de yapısında indol halkasına sahip bir hormondur. Yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir.

1.5. Melatonin

Melatonin ilk olarak 1960 yılında Lener tarafından, sığır pineal gland bezinden izole edilerek tanımlanmıştır. Bir indolamin olan melatonin, N-asetil-5-metoksitriptamin formülü ile memelilerde serotonininden sentezlenen bir hormondur (Favero ve ark. 2014). Çoğunlukla pineal gland’da olmak üzere az miktarda da retina, kemik iliği, deri ve gastrointestinal sistem de sentezlenebilmektedir. Pineal gland ve retinada ışıksız ortamda örneğin gece veya karanlık yerlerde sentezlenir (Şekil 1.42). Diğer dokularda ışık melatonin sentezini inhibe etmezken pineal ve retinadaki sentezi ışık inhibe eder. Yeşil ışık (505 nm), melatonin üretimini bastıran en etkili ışık dalgasıdır (Brainard ve ark. 2001).

Melatonin çok önemli ve yararlı bir antioksidandır. Vitamin C ve glutatyon farklı olarak, (Vit. C ve glutatyon, sadece sulu fazda; Vit. E yalnız lipid fazda aktive

iken) melatonin hem sulu hemde lipid fazda aktivite gösterebilmektedir. Bu özelliği sayesinde melatonin kan-beyin engelini geçebilir (Reiter ve ark. 2005).



Şekil 1.42 Pineal bezin beyindeki lokasyonu⁵

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

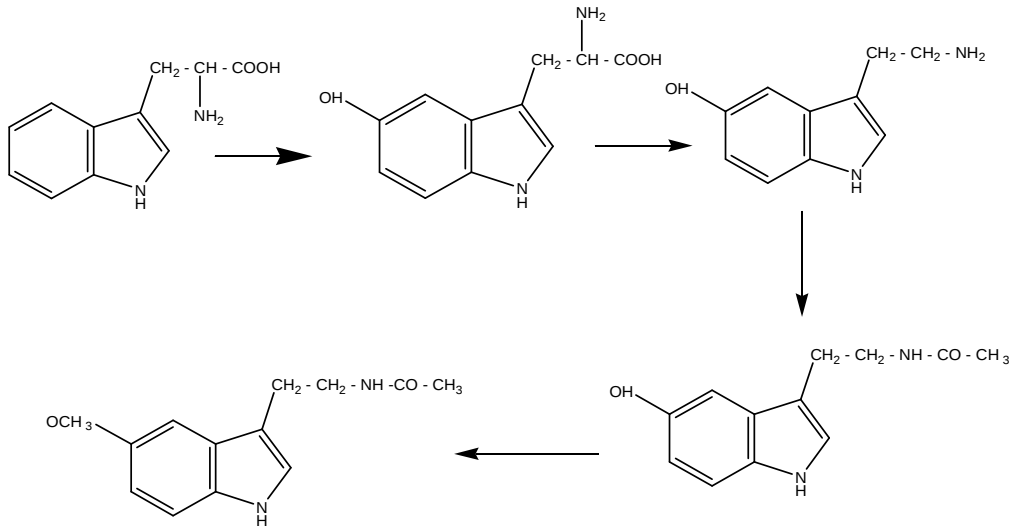
Melatonin'in uykuyu sağlayan ve düzenleyen bir hormondur. Kandaki miktarı geceleri en yüksek düzeyde iken gündüzleri minimum düzeye inmektedir. Gün ışığı ve suni ışık melatonin üretimini düşürür. Normal saatlerde uyuyan kişilerde, gece saat 2 ile 4 arasında doğal melatonin üretimi pik noktadadır. Ama karanlık odalarda gözü kapalı olarak uyuyan vardiya işçileri, melatonin üretimini gündüz saatlerinde de sağlayabilirler. Melatonin sentezi çocukluk evresinde maksimum düzeydeyken ilerleyen yaşla beraber

⁵ www.thesis.helsinki.fi

melatonin'in sentez düzeyinde düşüş görülür. Yaşlı insanlarda plazma melatonin düzeyinin düşük olması bu insanları enfeksiyonel hastalıklara karşı daha zayıf ve hassas konuma gelmelerinin nedenlerinden biri olabilir. Yaşları 60 ve üzeri olan kişilerde gece saatlerinde melatonin düzeyinde artış gözlenmemektedir. Kısa ömürlü fare ve kemirgenlerde yapılan çalışmalarda (özellikle yaşlı olanlarda) dışarıdan melatonin verilmesiyle yaşam sürelerinde artış gözlenmiştir. Gece saatlerinde verilen melatonin daha etkili olmuştur (Pierpaoli ve ark. 1997).

1.5.1. Melatoninin Biyosentezi

Melatonin biyosentezi beyindeki pineal bezde triptofandan başlar. Triptofan, triptofan-5-hidroksilaz enzimi tarafından 5-hidroksitriptofana (5-HTP), 5-HTP ise aromatik aminoasit-dekarboksilaz ile serotonine, serotonin arilalkilamin-N-tranferaz ile N-asetilserotonine ve N-asetilserotonin ise hidroksiindol-O-metiltransferaz enzimi ile melatonine dönüştürülür (Favero ve ark. 2014), (Şekil 1.43).

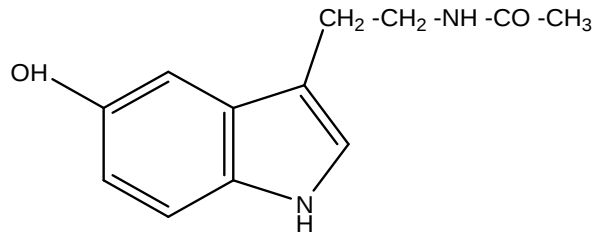


Şekil 1.43 Melatonin biyosentezi

Triptofandan melatonin sentez yolağında yer alan tüm bileşiklerin belli düzeylerde antioksidan aktiviteleri vardır. 5-HTP'nin melatonin ve C vitaminiyle karşılaştırıldığında daha etkili radikal yakalayıcı olduğu belirlenmiştir. Melatoninin serotonininden daha potansiyel hidroksil radikal yakalayıcı özellikde olduğu saptanmıştır (Wrona ve ark. 1998).

1.5.2. Melatoninin Kimyasal Yapısı ve Antioksidan Özellikleri

Melatonin ve N-asetil-serotonin gibi triptofan türevleri serbest radikal yakalama aktivitesine sahiplerdir. Deneysel çalışmalar melatoninin öncelikli olarak hidroksil radikaline daha sonra ise peroksinitrit anyonuna ve süperoksit anyonuna karşı etkili olduğunu göstermiştir (Allegra ve ark. 2003). Melatonin, lipid peroksidasyonu etkili bir şekilde inhibe eder ve bunu da $\cdot\text{OH}$ ve $\text{O}_2^{\cdot-}$ radikalleri inaktive ederek gösterir (Cardinali ve ark. 2013). N-asetil-serotonin (Şekil 1.44) oksidatif strese karşı biyolojik membranları stabilize edebilir (Garcia ve ark. 2001).



Şekil 1.44 N-asetil serotonin

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

Yapılan çalışmalar melatoninin hidroksil radikalini, süperoksit anyon radikalini, peroksil radikalini, peroksinitril anyonunu, singlet oksijeni, hidrojen peroksiti, nitrik

oksiti ve hipokloröz asiti nötralize edebildiğini göstermektedir (Gupta ve ark. 2003). Ayrıca peroksil ve hidroksil radikali yakalayıcı olarak da E vitamininden daha etkilidir (Antunes ve ark. 1999).

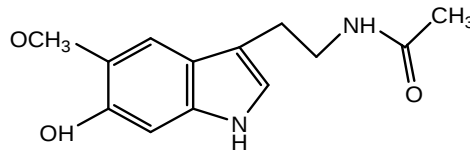
In vivo çalışmalarda melatoninin, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidatif enzimlerin aktivitelerini arttırdığı, nitrit oksit sentetazın aktivitesini ise azalttığı bulunmuştur (Reiter ve ark. 2000, Tan ve ark. 2003, Tengattini ve ark. 2008). Ayrıca Alzheimer hastalığının seyrinde oluşan nöronal kayıpların oksidatif strese bağlı olabileceği düşünülmektedir (Guglielmotto ve ark. 2009). Melatonin oksidatif hasara karşı nöroprotektif etkilere sahiptir. Fareler üzerinde yapılan denemelerde melatoninin beyin hücrelerini nörodejeneratif etkilerden koruduğu saptanmıştır.

Melatonin DNA moleküllerini, proteinleri ve biyolojik membran lipidlerini serbest radikallerin zararlı etkilerinden korur (Reiter ve ark. 1998). Melatoninin oldukça kolay difüze olabilmesi serbest radikal yakalama kapasitesini arttıran bir etkidir. Çünkü moleküler yapısı, tüm hücre organellerine ulaşmaya müsaittir ve DNA'yı koruyan hücre çekirdeğine bile etki edebilir (Reiter ve ark. 2005). İn vivo ve in vitro deneylerle melatonin ve benzeri indolaminlerin DNA ve hücrel membranları karsinojenlerin meydana getirdiği oksidatif hasardan koruduğu da belirlenmiştir. Bu çalışmalar melatoninin makromolekülleri oksidatif hasardan ve kanserden korumada ve bu hasarları azaltmada oldukça etkili olduğunu da göstermiştir (Reiter 1997). Hücrel hasarlara karşı melatonin ve diğer antioksidanların sahip olduğu bu koruma etkisi, karsinojenler yüzünden kanser riskinin arttığı durumlarda, indol türevi bu bileşikler potansiyel terapötik ajan durumuna getirmektedir (Karbownik 2002, Mor ve ark. 2004).

Tüm indol içeren maddeler yüksek elektroaktivite ve heteroatom halka sistemine sahip maddelerdir. Yan zincirlerde farklı fonksiyonel gruplar taşırlar. Bu fonksiyonel gruplar büyük ölçüde maddenin reaksiyonlarını ve serbest radikal yakalama gücü ve etkinliklerini belirlerler. Triptofan metabolitleri ve diğer indol türevlerinde olduğu gibi

melatoninde elektronca zengin aromatik bir halka sisteminde olduğu için redoks özeliğine sahip bir maddedir. Bu nedenle indol aminler kolay elektron verici (donor) olarak davranırlar. Buna göre de çeşitli deneysel sistemlerde oksijen içeren radikaller ve diğer etkin radikallerin melatonin'i okside ettikleri görülmüştür. İster doğal ister suni olsun ışığa maruz kalma melatoninin yıkımını ciddi derecede hızlandırır (Suzen ve ark. 2001).

6-hidroksimelatonin (6-OHM) (Şekil 1.45) ve N-asetil-N-formil-5-metoksikinurenamin(AFMK), melatoninin vücuttaki enzimatik metabolitlerindendir (Favero ve ark. 2014). Özellikle 6-OHM'nin oksidatif strese karşı ideal bir nöroprotektif olduğu düşünülmektedir.



Şekil 1.45 6-Hidroksimelatonin

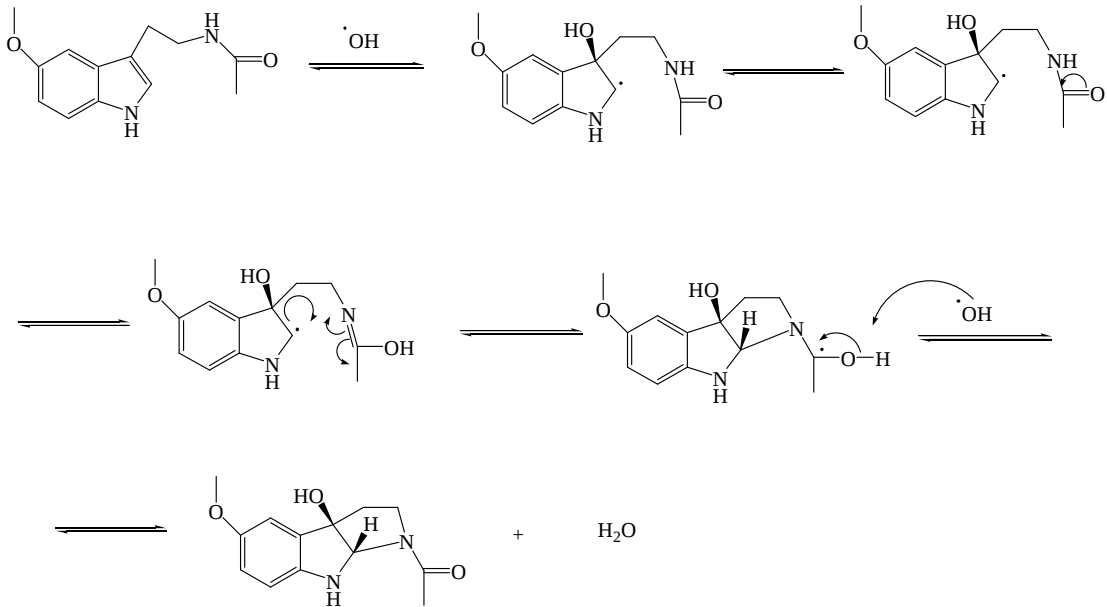
6-OHM'nin serbest radikal yakalama aktivitesi beyin hücrelerinde in vitro (Maharaj ve ark. 2003) olarak test edilmiş ve lipid peroksidasyonunu azalttığı, süperoksit anyon oluşumunu yavaşlattığı ve potansiyel bir nöroprotektan olduğu sonucuna varılmıştır.

Melatonin canlılarda hızla ana metaboliti olan 6-OHM'ye dönüşür. Bu ana metabolit hidroksil yakalama yeteneğine sahiptir (Matuszak ve ark. 1997, Maharaj ve ark. 2005). 6-OHM'nin kimyasal yapısı melatoninden sadece 6. karbon üzerinde fazladan bir hidroksil grup içermesiyle farklılaşmakta olmasına rağmen antioksidan etkisi melatoninden daha güçlüdür.

Melatoninin radikal yakalama kapasitesi bilinmekle beraber, serbest radikallere ne şekilde etki ettiğinin mekanizması henüz tam olarak açıklanamamaktadır (Allegra ve ark. 2003). Melatoninin serbest radikallerle ve reaktif türlerle ne şekilde etkileştiğini

gösteren mekanizma (Şekil 1.46) Tan ve arkadaşları tarafından açıklanmıştır (Süzen 2007).

Yapı-aktivite ilişkilerini belirleyen analiz sonuçları değerlendirildiğinde, melatonin molekülünün serbest radikal reaksiyonlarına karşı bariyer oluşturan indol halkasının; yüksek rezonans stabilitesine ve düşük aktivasyon enerjisine rağmen oksidanlarla etkileştiğinde reaktif merkez olarak görev yaptığı belirlenmiştir (Gürkök ve ark. 2009). Sahip olduğu metoksi ve amid grupları melatoninin antioksidan kapasitesine katkıda bulunmaktadır. Ayrıca N-C=O yapısındaki karbonil grubu melatoninin ikincil reaktif türler yakalamasında anahtar rolü oynamaktadır (Tan ve ark. 2002).



Şekil 1.46 Melatoninin serbest radikalleri yakalama mekanizması

1.5.3. Melatoninin Serbest Radikallerle Etkileşimi

Melatonin direkt (süperoksit anyon radikali) $O_2^{\cdot-}$ yakalayıcı olarak düşük yeteneğe sahip görünmektedir. Melatonin prekürsörü serotoninin $O_2^{\cdot-}$ üzerinde melatoninde

gözlenmeyen bazı reaktiviteleri görülmüştür. Ancak melatoninin $O_2^{\bullet-}$ nin dismutasyonunda önemli rol oynayan enzim familyası olan SOD için mRNA'yı arttırdığını ileri sürülmektedir (Saran ve ark. 1990, Kotler ve ark. 1998).

H_2O_2 nin toksisitesi $O_2^{\bullet-}$ nin ki ile benzerdir. H_2O_2 , Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları sonucu $\cdot OH$ radikaline dönüşmektedir. Melatoninin H_2O_2 üzerinde direkt reaktivitesinin olmadığı preoksidaz-gayakol yöntemi ile saptanmıştır. Enzimler H_2O_2 yi $OH^{\bullet}$ radikaline redükler, melatonin de şekil 1.46' verildiği mekanizma ile $OH^{\bullet}$ radikalini suya indirger (Barlow-Walden ve ark. 1995).

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

Matuszak ve arkadaşları (1997) başka bir sistem kullanarak Fenton reaksiyonu ile $OH^{\bullet}$ radikalini oluşturmuşlar ve indolaminlerin çok etkili $OH^{\bullet}$ yakalayıcısı olduğunu tespit etmişlerdir. Yapı aktivite çalışmaları ile melatoninin yan zincirinde asetil grubu ve indol çekirdeğinin beşinci konumunda metoksi grubu olduğunda melatonin $OH^{\bullet}$ yakalayıcı aktivitesinin arttığı gözlenmiştir. Susa ve arkadaşları (1997) $OH^{\bullet}$ radikalın sebep olduğu DNA hasarlarının melatonin varlığında azaldığını rapor etmişlerdir. Bu sonuçlara göre melatonin etkili bir serbest radikal yakalayıcı olduğu kanıtlanmış ve radikallerin DNA üzerinde yaptığı hasarları azalttığı belirlenmiştir. Melatonin, sitotoksosite, lipid peroksidasyon ve DNA zincir kırılmalarına karşı etkili bir koruyucudur. Melatonin ayrıca hidroksil, peroksil ve süperoksit anyon radikallerinin yanısıra peroksinitril anyonunu da süpürücü ve temizleyici etki göstermektedir (Favero ve ark. 2014). $OH^{\bullet}$ radikalinin detoksifikasyonunda melatonin elektron donörü olarak rol oynamaktadır. Bunu yaparken oluşan yapı, indolil katyon ya da melatonil radikal olarak adlandırılır.

Melatonin singlet oksijen (Cagnoli ve ark. 1995) ve peroksil radikali üzerine de yakalayıcı olarak etki gösterir. $LOO^{\cdot}$ oldukça aktif bir radikaldir. Lipid oksidasyonunu başlatır ve artmasından sorumludur. Lipid peroksidasyonu özellikle santral sinir sisteminde hasarlara neden olmaktadır. Melatoninin $LOO^{\cdot}$ yu detoksifiye etme yeteneği ilk olarak Pierri ve arkadaşları tarafından (1995) ortaya atılmıştır. Melatonin, E Vitamini, C Vitamini, GSH ve mannitolü karşılaştırdıklarında, antioksidan aktiviteleri Melatonin > E Vitamini > C Vitamini > GSH > mannitol şeklinde bir sıralama ile bulunmuştur. Scaiano'ya göre de (1995) melatonin serbest radikalleri yakalama açısından E vitamini kadar etkilidir.

Nitrik Oksit ($NO^{\cdot}$), nöronlarda önemli bir ikinci mesengerdır. $O_2^{\cdot-}$ İle etkileşimi sonucu peroksi nitrit anyonu ($ONOO^{\cdot-}$) oluşturmaktadır. Bu durumda bu işlemlerde görev alan nitrik oksit sentaz (NOS) bir prooksidatif enzim olarak sınıflandırılmaktadır. Son yıllarda melatoninin fizyolojik konsantrasyonlarının hipotalamik NOS aktivitesini inhibe ettiği rapor edilmiştir. Bu çalışmalar NOS'in melatonin ile inhibisyonunun doza bağımlı olduğunu göstermiştir. NOS kalmodulin tarafından aktive edilen bir enzimdir. Melatonin kalmoduline bağlanarak NOS'in aktivitesini baskılamaktadır. Böylece $NO^{\cdot}$ sentezi azalmakta ve $ONOO^{\cdot-}$ oluşumu baskılanmaktadır (Szabo 1996).

Melatonin hem hipnotik hemde kronobiyotik (chronobiotic) özellik gösterdiği için son zamanlarda, melatonin ve analogları yaşa bağlı insomnia tedavisinde kullanılmaktadır. İngiliz Psikofarmakoloji Derneği (British Association for Psychopharmacology), 55 üstü yaşlı insanlarda insomnia, parasomnia ve sirkadyen ritim'e bağlı uyku bozukluklarında tedavi için başvurulacak ilk preparatın melatonin ve melatonin analogu bileşikler olduğunu kanıta dayalı olarak söylemektedir. Melatonin ilaç olarak kullanımı önündeki en önemli sakıncası melatoninin yarılanma ömrünün kısa olmasıdır. Bu sorunu gidermek için İsrailde, Circadin adıyla, 2 mg melatonin içeren yavaş salımlı preparat hazırlanmıştır. Ayrıca bunun yanısıra Ramelteon (Rozerem®,

Takeda Pharmaceuticals, Kyoto, Japan) 2005 de FAD tarafından hipnotik tedavisi için onaylanmış diğer melatonin analogu preparattır. Ramelteon selektif MT₁/MT₂ reseptör agonisi olup diğer reseptörlere önemli afinitesi yoktur. İnvitro çalışmalar Ramelteon'un MT₁/MT₂ reseptörlerine afinitesi melatoninden 3-16 kat daha fazla olup 8 ile 32 mg/gün şeklinde dozaj formları bulunmaktadır. Bir diğer preparat da Agomelatine (Valdoxan®, Servier, Neuilly-sur-Seine, France) dir ve etkisini de MT₁/MT₂ reseptörleri üzerinden göstermektedir (Cardinali ve ark. 2013).

1.5.4. Melatonin ve Melatonin Analogu Bileşikler ile ilgili yapılan Antioksidan Aktivite Çalışmaları

Enflamasyon, çok sayıda hücrel ve moleküler etkileşim sonucu kompleks bir olay olarak ortaya çıkar. Siklooksijenaz-2(COX2), araşidonik asitten prostaglandin-2 sentezini katalizleyen önemli bir enzimdir. Ayrıca COX2 bu fonksiyonun yanısıra enflamasyonun oluşumunda da rol oynadığı gibi nörodejeneratif ve kanser gibi patolojik olaylara da eşlik eder. Melatonin ve metabolitleri olan N₁-asetil-N₂-formil-5-metoksikinurenamin(AFMK) ve N₁-asetil-5-metoksikinurenamin(AMK) siklooksijenaz-1(COX1)'in etkisi ve düzeyini etkilemeden COX2'in aktivitesini önler. Melatonin NOS ve COX2 enzimlerinin aktivitesini düşürerek hem nitrik oksit (NO) hemde prostaglandin-2 üretimini ve konsantrasyonunu azaltır. Günümüzdeki çalışmalar melatonin'in anti-enflamatuvar etkili ajan olabileceğini doğrulamaktadır. COX2 ve NOS, melatonin ve metabolitleri olan AFMK ve AMK moleküllerinin hedefi olduğu söylenebilir. Dolayısıyla melatonin ve metabolitleri COX1 i inhibe etmeyen yeni sınıf anti-enflamatuvar bileşikler olarak üzerinde çalışılması gereken maddeler olarak düşünülebilir. (Mayo ve ark. 2005).

Brassica (lahana) ailesine ait sebzelerin tüketimi insanlarda çeşitli kanserlerin oluşumunu engellediği ve deney hayvanlarında kanser insidansını azalttığı bilinmektedir. Brassica ailesi sebzelerde indol-3-karbinol'un esas bileşiği olduğu kanıtlanmış ve indol-3-karbinolun (İ3K) hücre siklusundaki G1 fazının durdurulmasını

indüklediği bunu da insan meme kanserinde, kanserli hücrelerde hücre çoğalması yolağında CDK6 transkripsiyonu düşürüp CDK2 kinaz'ın aktivitesini inhibe ederek göstermektedir.

Kültür ortamında oluşturulan meme kanseri hücrelerine İ3K eklenmesi sonucu ortamda hem İ3K bulunur hemde İ3K kondanse haline dönüşerek 3,3'-diindolilmetan (DİM) oluşturur. İ3K ve kanserli hücrede İ3K den oluşan DİM'in kombinasyonu güçlü anti-proliferatif etki göstermektedir. DİM çoğalma niteliğindeki kanser hücrelerinin çoğalma yolağını inhibe etmektedir. Ana bileşik olan İ3K'nın Yapı-aktivite ilişkilerinin anti-proliferatif etkiyle olan ilişkilerini aydınlatmak için indol çekirdeği içeren bileşiklerin biyolojik aktiviteler üzerindeki çeşitli etkilerine bakılmıştır. Hücre siklusu üzerine spesifik etkili olan İ3K bileşiklerden N-alkoksi türevi bileşikler sentezlendi. İndol halkası içindeki azot atomuna yan zincir olarak bir ile dört arası uzunlukta karbon içeren değişik sübstitüent alkoksi gruplar takılmış ve sentezlenen bu türevlerin hücre siklusunda G1fazı bloke etmelerine, DNA sentezini inhibe etme özelliklerine ve türevlerin doz-yanıt deneylerine bakılmıştır. Tüm türevler meme kanseri hücrelerine, içerdikleri İ3K çekirdeği dolayısıyla anti-proliferatif etki göstermektedirler. Ama N-sübstitüent bileşikler İ3K'ye göre daha etkili olmuştur. Bu etki nitrojen üzerinde alkoksi grubunun karbon uzunluğu ile doğru orantılıdır. Yapılan testlerde N-metoksi İ3K den 23 kat daha düşük konsantrasyonda İ3K yaptığı anti-proliferatif etkiye eşdeğer etki göstermektedir (Jump ve ark. 2008).

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

Melatonin çeşitli patolojik durumlarda koruyucu rol oynadığı çok sayıda bilimsel çalışmada belirtilmektedir. Son zamanlarda melatoninin normal hücreler üzerinde anti-apoptotik ve kanserli hücrelerde apoptotik süreci hızlandığını kanıtlayan çalışmalar yayınlanmıştır. Melatoninin İn vitro ve in vivo preklinik çalışmalarda farklı tümörlerde onkostatik etki gösterdiği görülmektedir (Margheri ve ark. 2012). Bu çalışmalar ışığında melatoninin kanser tedavisinde etkisi üzerine olan ilgi daha da artmıştır. Meme kanseri, overyum kanseri ve kolon kanserlerine melatonin onkostatik etki göstermiştir. Melatonin kanserli hücrelerde, hücre ölümünü hızlandığı ve hücre siklusunu durdurabildiği için kanser tedavisinde yararlı olabileceği belirtilmiştir (Carbajo-Pescador ve ark. 2011).

Bazı kardiyak durumlar, serbest radikallerin kalpte meydana getirdikleri hasar ve enflamatuvar oluşumlar sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Bu durumlarda dışarıdan melatonin ve agonistlerinin alınması yararlıdır. Zira melatonin doğrudan serbest radikalleri süpürücü etkisi ve dolaylı olarak antioksidan etkisi ile anti-enflamatuvar etkileri sayesinde oksidan kökenli kardiyak hastalıklarda koruyucu etki göstermektedir. Dışarıdan alınan melatonin hızlı olarak tüm organlara dağılmaktadır. Çünkü melatonin tüm morfofizyolojik baryerleri kolaylıkla aşarak kalp hücrelerine hızlı bir şekilde girebilmektedir. Melatonin en yüksek konsantrasyonda mitokondride bulunur. Mitokondri serbest radikallerin ve oksidatif stresin yoğun olduğu bir interasellüler bölge olduğundan melatoninin bu bölgede yüksek konsantrasyonda bulunması çok önemli ve yararlıdır. Sonuç olarak kardiyak hastalıklarda melatonin, kardiyak ilaçlarla birlikte koruyucu ajan olarak belli dozlarda verilebilir (Tengattini ve ark. 2008).

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

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

Organizmada antioksidan-oksidan dengesi oksidanlar lehine değişmesiyle meydana gelen duruma oksidatif stres denilir. Bu durum, hücrelerde, dokularda ve organizmada çok sayıda istenmeyen olaylara neden olmaktadır. Oksidatif stres, iskemi-reperfüzyon, ateroskleroz, kronik böbrek yetmezliği (CRF) gibi birçok hastalıktan sorumlu ana etkidir. CRF tedavisinde uygulanan hemodiyaliz (HD) sürecinde karşılaşılan birçok komplikasyonda oksidatif stres esas rol oynamaktadır. Hemodiyalizde, kanla HD membrani arasında tekrarlanan temas neticesinde endogenik inflamatuvar mekanizması aktifleşir ve bunun sonucu olarak ROT miktarında artış gözlenir. Ayrıca HD uygulaması sırasında kanda bulunan ürik asit, vitaminler v.s antioksidanların elimine olması da oksidatif stresi artırmaktadır. Dolayısıyla CRF hastalığında yukarıda belirttiğimiz nedenlerden dolayı lipit peroksidasyonu artmaktadır. HD sırasında bu oksidatif stresden kaynaklanan hasarları minimuma indirmek için son zamanlarda sık aralıklarla antioksidan etkili bazı vitaminler (vit. C v.s) verilmektedir ki bu da çok yüksek dozlarda bazı antioksidanların prooksidanlara dönüşebileceği ihtimali nedeniyle sakıncalı olmaktadır. Bu nedenle HD sırasındaki oksidatif hasarları önleyebilmek için antioksidan olarak melatonin verilmesi diğer antioksidanlara kıyasla daha uygun görülmüştür (Velkov ve ark. 2009).

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

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

Günümüzde melatonin kullanımı iki önemli problem nedeniyle sınırlanmaktadır;

1. Melatoninin 6-Hidroksimelatonin ve N(1)-asetil-N(2)-formil-5-metoksikinuramin'e (AFMK) hızla metabolize olduğundan çok kısa biyolojik yarılanma ömre sahip olması(Vakkuri ve ark. 1985).
2. Hedef organ ya da doku seçiciliğinin olmamasıdır(Marco Mor1 ve ark. 2004).

İndol halkasının sahip olduğu yüksek rezonans stabilite ve düşük aktivasyon enerjisi serbest radikal reaksiyonlarına karşı bariyer oluşturmaktadır. Günümüzde indol halkası içeren bileşiklerin sentezi ve geliştirilmesi sonucu olarak melatoninin çok sayıda fizyolojik özellikleri tanımlanmakta ve tartışılmaktadır. Çünkü bu bileşikler yapısal olarak melatonine benzerlik göstermektedirler. Bununla birlikte oksidatif strese bağlı hastalıkların klinik tedavisinde yeterli ölçüde bu bileşiklere başvurulmamaktadır. Bu da yeterince etkin preparatın bulunmayışı, terapötik kullanıma elverişsiz farmakokinetik özelliklere sahip olması, yan etkileri ve bu maddelerin toksisitesi ile ilgili olabilir (Gürkök ve ark. 2009).

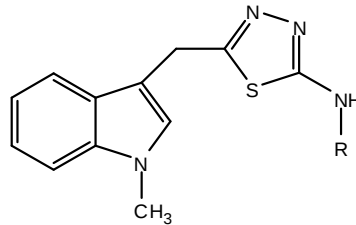
1.6. 1,2,4-Triazol Halkasının Kimyasal Özellikleri

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, 1,2,4-triazol halkasının yaygın biyolojik aktivite, düşük toksisite, iyi farmakokinetik ve farmakodinamik profil göstermesi nedeniyle

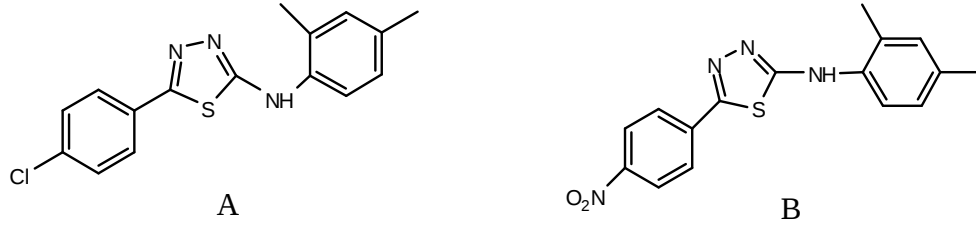
farmasötik çalışmalarda önem kazanmıştır (Varvaresou ve ark. 2000). Bu halka sisteminden yola çıkarak yeni bileşiklerin tasarımı ve sentezini amaçlayan bir çok çalışma yapılmaktadır. Özellikle bu halkaya bağlı diğer heterosiklik türevlerinin sentezlenmesi ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi yeni ilaç etken maddesi geliştirilmesi açısından önem kazanmıştır. Triazol halkasının azot atomunun halkadaki konumu itibariyle iki farklı izomeri bulunmaktadır. Bu iki izomerden 1,2,4-triazol daha geniş biyolojik aktivite gösterdiği için diğer izomerine kıyasla daha da önem arz etmektedir. Literatür araştırmalarında, 1,2,4-triazol halkası ve bu halka sistemini içeren türevlerin, antibakteriyel (Varvaresou ve ark. 2000, Gokce ve ark. 2001, Pintilie ve ark. 2007), antifungal (Chen ve ark. 2000, Zou ve ark. 2002), antitümör, antiinflamatuvar, analjezik (Mathew ve ark. 2009) ve antioksidan (Kharadi 2013), aktivite gösterdiği görülmektedir.

1.6.1. Triazol ve tiyadiazol halkası içeren bileşiklerle ilgili yapılan antioksidan çalışmalar:

Literatür araştırmalarında çok sayıda, triazol ve tiyodiazol türevi bileşiğin sentezi ve antioksidan aktiviteleri ile ilgili çalışmalar mevcuttur (Andreadou ve ark. 2002, Khan ve ark. 2010). Bu çalışmalarda yüksek antioksidan etki gösteren triazol ve tiyodiazol türevi bileşiklerden, aşağıdaki formülü verilen bileşikler tez çalışmasında sentezlenen maddeler için örnek alınmıştır. (Şekil 1.47). Özellikle de B maddesi çok yüksek antioksidan etki göstermiştir (Khan ve ark. 2010).

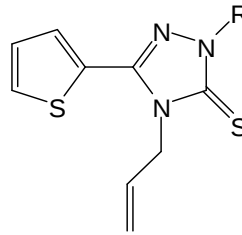


Tezde sentezlenen maddenin genel formülü



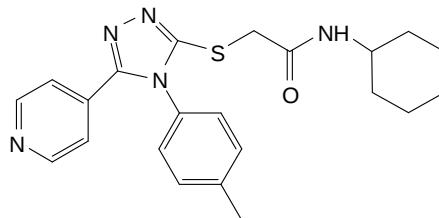
Şekil 1.47 Tez maddelerine benzer tiadiazol türevi bileşikler

Yapılan bir çalışmada sentezlenen 4-aliil-1-substitüe -3-(tiyofen-2-il)-1H-1,2,4-triazol-5(4H)-tiyon türevi bileşikler (Şekil 1.48), antibakterial , antifungal ve antioksidan etki göstermişlerdir. Çalışmada Triazol ve tiyadiazol türevi bileşiklerin çeşitli *invitro* deneylerde askorbik aside kıyasla daha güçlü antioksidant etkiye sahip olduğu ve lipid peroksidasyon deneylerinde de çok iyi antioksidan özellik gösterdiği saptanmıştır (Koparır ve ark. 2013).



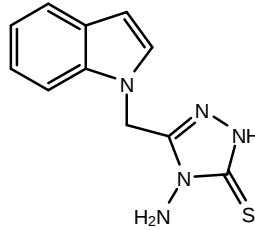
Şekil 1.48 Triazol türevi

Orek ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, aşağıdaki formülü verilen madde (Şekil 1.49), sentezlenerek antioksidan etkisi DPPH test yöntemi kullanılarak incelenmiştir ve oksidan yapılara karşı etkili bileşik olduğu kaydedilmiştir. Bu molekülün tez çalışmasında sentezlenen maddelerinin kimyasal yapılarına benzerliği görülmektedir (Orek ve ark. 2012).



Şekil 1.49 Triazol türevi

Başka bir çalışmada 3-[(1H-1-indolil)metil] -4-amino 4,5-dihidro-1H,1,2,4 triazol-5-tiyon (C6458) ile (Şekil 1.50) tavşanlar üzerinde iskemia reperfizyon sonrası durumlarda infarktüs büyüklüğü ve miyokardinin oksidatif hasarına karşı koruyucu ve önleyici etki, incelenmiştir. Antioksidan aktivite lipit peroksidasyonu sırasında meydana gelen malondialdehit (MDA) miktarının klorimetrik yöntemle ölçülmesi ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sonucunda MDA miktarında ciddi düşüş görülmüştür. Ayrıca, C6458 bileşiğinin *invitro* ortam da serbest radikal süpürücü etkisi de 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) yöntemi kullanılarak hidroksil radikale karşı test edilmiş ve iyi hidroksil radikal süpürücü etki gösterdiği görülmüştür (Andreadou ve ark. 2002).



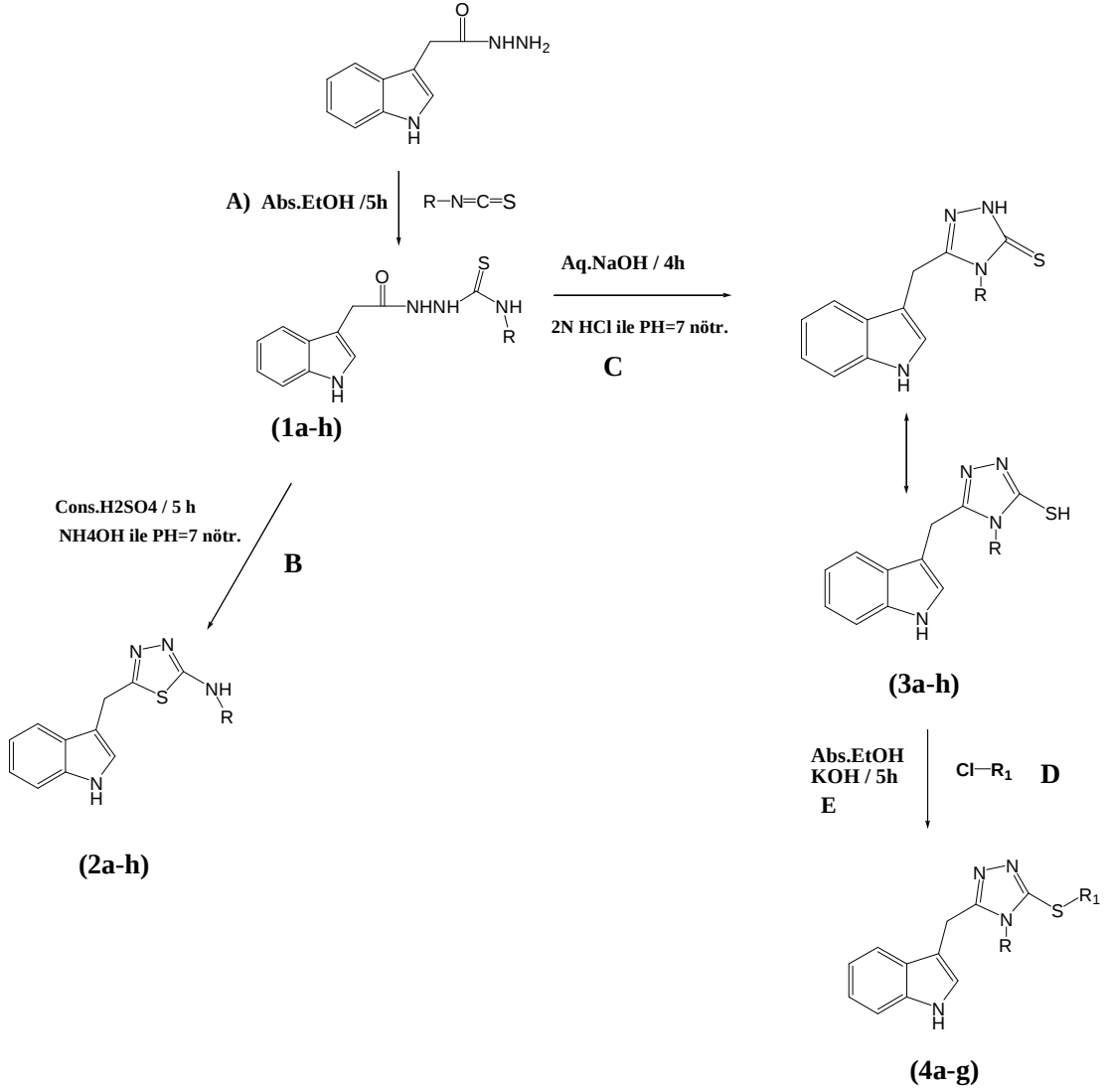
Şekil 1.50 Triazol türevi

Son on yıldır Anabilim Dalımızda melatonin analogu indol halkası taşıyan bileşiklerin sentezleri, yapı aydınlatmaları ve antioksidan ve antibakterial etkileri üzerine çeşitli projeler yürüterek çalışmalar yapmaktayız. Bu amaçla melatonin analogu indol halkası taşıyan bir çok yeni bileşikler sentezledik ve antioksidan ve antibakteriyel aktivite sonuçlarını yayınladık. Bileşiklerimizin büyük bir çoğunluğunda kayde değer güçlü antioksidan etki saptamamızın yanısıra bir çok bileşikde antibakteriyel ve antifungal etki elde ettik (Shirinzadeh ve ark. 2010, Shirinzadeh ve ark. 2011). Triazol ve indol halka sistemlerinin aynı molekül yapısında kullanılmasının bazı avantajlar getireceği düşünülmektedir. Triazol halkasının elektronca zengin halka olup oksidan ve serbest radikallerin ilgi alanı olmaya aday bir halka sistemi olmasının yanısıra indol halkasının antioksidan etkisine katkıda bulunarak sinerjik etki yapacağını düşünmekteyiz. Triazol halkası içeren bazı bileşiklerin antimikrobiyal etki gösterdiğini

de göz önüne bulundurarak, bu tez çalışmasında iki halka sistemini (indol ve triazol) içeren daha aktif yeni bileşiklerin sentezlenmesi amaçlanmıştır. Bunun yanısıra triazol halkası analogu olan tiyodiazol halkasının da indol halkasına süstitüe şekilde sentezlenmesini de planlayarak elde edilen verilerin daha kapsamlı yorumlanmasına, yapı-aktivite ilişkileri ve etkilerindeki farklılıkların saptanması planlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEMLER

2.1. İndol Türevi Yeni Bileşiklerin Genel Sentez Yöntemleri



Şekil 2.1 İndol türevi yeni bileşiklerin genel sentez yolları

R							
R ₁							

Şekil 2.2 Sentezlenen bileşiklerde kullanılan R ve R₁ gruplar

Yöntem A: 2-(1H-indol-3-il-asetil)-N-(Aril veya alkil)hidrazinkarbotiyoamid sentezi (1a-h):
 2-(1H-indol-3-il)asetohidrazin ile aril veya alkilisotiyosiyonat eşit miktarda tartılır 20 ml absolu etanolde çözünür 4 saat geriçeviren soğutucuda (80°C) karıştırılır. Reaksiyon tamamlandıktan sonra reaksiyon karışımı ısıtılarak konsantre edilir ve bir gece oda sıcaklığında saklanır. Elde edilen kristaller petrol eteri ile yıkanarak temiz ve saf madde elde edilir(Siddiqui ve ark. 2008).

Yöntem B: 5-((1H-indol-3-il)metil)-N-(sübstütüe aril veya alkil)amino-1,2,4-tiyadiazol (2a-h):

Yeterli miktarda (2-3 ml) konsantre (%98) sülfürik asit bir balona eklenir ve üzerine 2-(1H-İndol-3-il-asetil)-N-(aril veya alkil)hidrazinkarbotiyoamid (1 mmol) ilave edilir. Karışım oda sıcaklığında 4 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılır. Reaksiyon tamamlandıktan sonra karışım kırılmış buz üzerine dökülür. Oluşan katı çökelek süzülür ve distile su ile yıkanarak ayrılır.

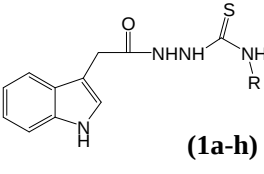
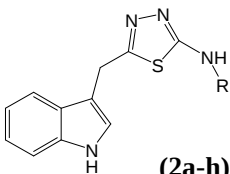
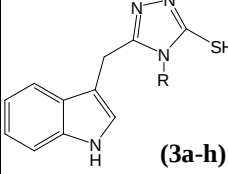
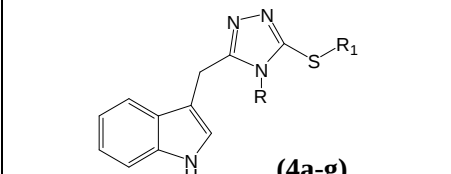
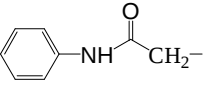
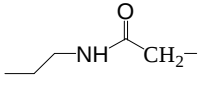
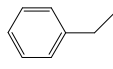
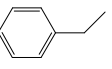
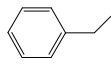
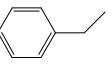
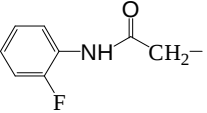
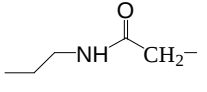
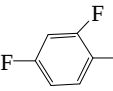
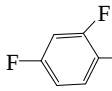
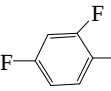
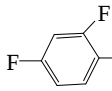
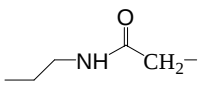
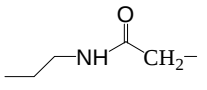
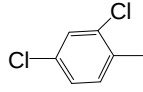
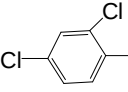
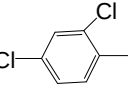
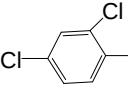
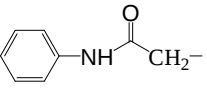
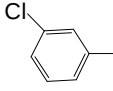
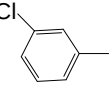
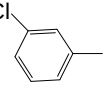
Çökelek oda sıcaklığında kurutulur ve absolu etanolde rekristalize edilerek saf bileşik elde edilir(Siddiqui ve ark. 2008).

Yöntem C: 5-((1H-indol-3-il) metil)-4-(süstitüe aril veya alkil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol(3a-h):

2-(1H-indol-3-il-asetil)-N-(Aril veya alkil)hidrazinkarbotiyoamid (4mmol) ile 30 ml, %2 NaOH çözeltisi bir balon'a alınır ve 6 saat geriçeviren soğutucuda (80-90°C) karıştırılarak reaksiyona tabi tutulur. Reaksiyon bitiminde karışım 2N, HCl ile damla damla dikkatlice PH=7 oluncaya kadar nötralize edilir. Daha sonra karışım bir kaç dakika dinlendirilir ve elde edilen çökelek distile su ile yıkandıktan sonra süzülerek ayrılır. Son olarak da (80/20) etanol/su karışımından oluşan solvan sistemi ile rekristalize edilerek saf madde elde edilir(Siddiqui ve ark. 2008).

Yöntem D: 5-((1H-indol-3-il) metil)-4-(süstitüe aril veya alkil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyolun S-aklilasyonu:

5-((1H-indol-3-il) metil)-4-(süstitüe aril & alkil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol ile alkilhalojen birebir oranda 2 ml 2N NaOH varlığında 20 ml absolu etanol ile çözülür ve karışım oda sıcaklığında 3-4 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılır ve reaksiyon tamamlandıktan sonra karışım kırılmış buz üzerine dökülür, Çökelek oluşursa süzülerek ayrılır, çökelek oluşmadıysa 100 ml etilasetat ile ekstraksiyon yapılarak ürün elde edilir(Orek ve ark. 2012).

 (1a-h)		 (2a-h)		 (3a-h)		 (4a-g)	
R		R		R		R	R₁
1a	CH ₃ -CH ₂ -	2a	CH ₃ -CH ₂ -	3a	CH ₃ -CH ₂ -	4a	CH ₃ -CH ₂ - 
1b	CH ₃ -CH ₂ CH ₂ -	2b	CH ₃ -CH ₂ CH ₂ -	3b	CH ₃ -CH ₂ CH ₂ -	4b	CH ₃ -CH ₂ CH ₂ - 
1c		2c		3c		4c	 
1d		2d		3d		4d	 
1e		2e		3e		4e	 
1f		2f		3f		4f	 
1g		2g		3g		4g	 
1h		2h		3h			

Şekil 2.3 Sentezlenen indol türevi yeni bileşikler

2.2. Gereç ve yöntem

2.2.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

Hassas terazi (Sartorius – CP 224S), geri çeviren soğutucu, çeşitli cam laboratuvar malzemeleri, rotovapor (VACIOTEM), etüv (BUCHI), İTK tankı, süzgeç kağıdı (orta gözenek, Merck), çeşitliboyda magnet, ısıtıcılı manyetik karıştırıcı (Bunsen Agitador Megnetico MC8 ve ARE magnetic stirrer).

2.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

İndol-3-asetik hidrazid, propilizotiyosiyanat, etilizotiyosiyanat, 2,4-diflorofenilizotiyosiyanat, 3-florofenilizotiyosiyanat, 2,4-diklorofenilizotiyosiyanat, 3-klorofenilizotiyosiyanat, fenilizotiyosiyanat, benzilizotiyosiyanat, 2-kloro-N-propilasetamid, 2-kloro-N-(2-florofenil)asetamid, 2-bromo-N-fenilasetamid, sodyum hidroksit, potasyum hidroksit, sülfürik asit, amonyum hidroksit, d6-DMSO, silikagel (Merck). Deneyler sırasında kullanılan solvanların tamamı Aldrich veya Merck firmasından temin edilmiştir. Markası belirtilmemiş maddelerin markası Aldrich'tir.

2.2.3. Sentez Edilen Maddelerin Analitik İncelemelerinde Uygulanan Yöntemler

2.2.3.1. Kromatografik analizler

Tez çalışması süresince, sentez reaksiyonları gerçekleştirilirken, reaksiyonların izlenmesi, bitiş sürelerinin saptanması ve saflıklarının değerlendirilmesi amacıyla “İnce Tabaka Kromatografisi” (İTK) yönteminden yararlanılmıştır. Bu amaçla Kieselgel 60 GF 254 (Merck) ile kaplanmış 0,2 mm kalınlığında hazır alüminyum plaklar

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

İTK da kullanılan solvan sistemi ; Etilasetat:Petroleteri (2:1) olmuştur.

2.2.3.2. Erime Noktası Tayinleri

Sentezlenen tüm bileşiklerin erime noktası ölçümleri BÜCHI melting point B-540 ile gerçekleştirilmiş ve sonuçlar düzeltilmeden verilmiştir.

2.2.3.3. Elementel Analiz Tayini

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

2.2.3.4. Spektral Analizler⁶

NMR Spektra (¹H ve ¹³C)

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

Kütle (Mass) Spektra

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

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

3. BULGULAR

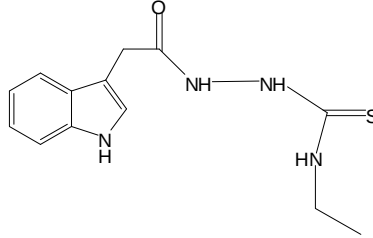
3.1. Başlangıç Maddesi

Sentez alışmaları sırasında başlangıç maddesi olarak kullanılan İndol-3-asetilhidrazid ticari olarak temin edilmiştir.

3.2. 2-(1H-İndol-3-il-asetil)-N-(Aril veya alkil)hidrazinkarbotiyoamid türevlerinin genel sentezi (Yöntem A):

2-(1H-İndol-3-il)asetohidrazin ile aril veya alkilisotiyosiyanat eşit miktardaki karışımları 20 ml absolu etanolde çözünür 4 saat geriçeviren soğutucuda (80-85°C) karıştırılır. Reaksiyon tamamlandıktan sonra reaksiyon karışımı ısıtılarak konsantre edilir ve bir gece oda sıcaklığında saklanır. Elde edilen ürün petrol eteri ile yıkanarak temiz ve saf kristaller elde edilir (Siddiqui ve ark. 2008).

3.2.1. 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-etilhidrazinkarbotiyoamid (1a)



5 mmol 0.95 gr , 2-(1H-indol-3-il)asetohidrazin ile 5 mmol 0.44 gr etilizotiyosiyonat A yöntemine göre reaksiyona tabi tutuldu. Reaksiyon sonunda %95 verimle 1.34 gr madde elde edilir. E.n 132 °C

Elementel Analiz: C₁₃H₁₆N₄OS•0,25H₂O

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	55.59	5.92	19.95
Analiz :	55.21	6.24	19.66

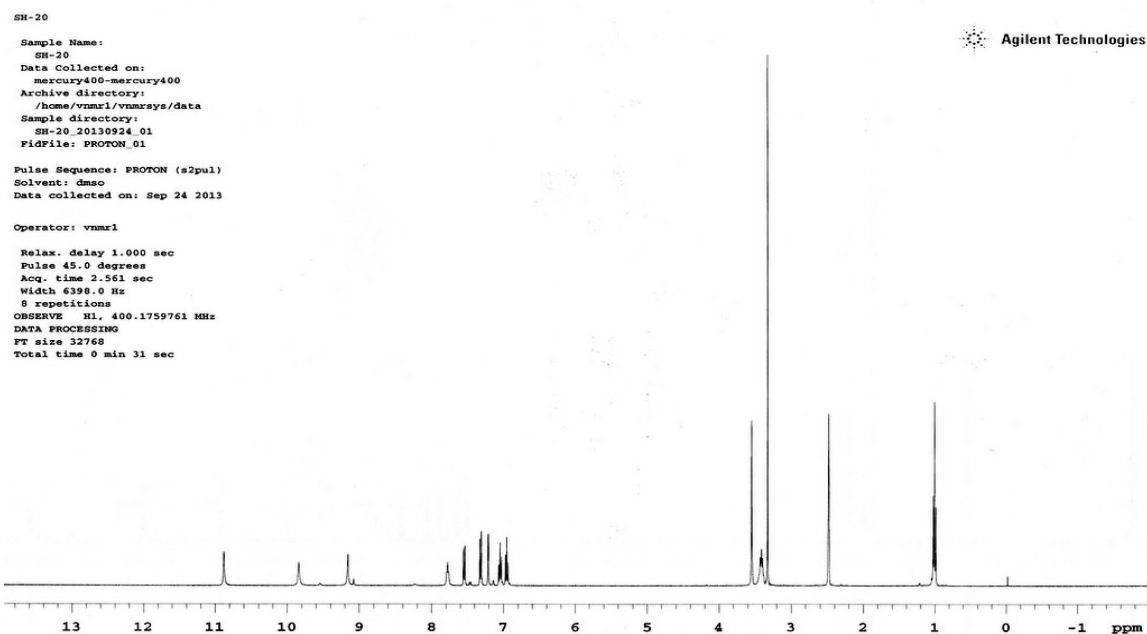
¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

1.01 (t, 3H, CH₃); 3.42(q, 2H, CH₂); 3.55 (s, 2H, CO-CH₂); 6.96 (m, 1H, H-5); 7.05 (m, 1H, H-6); 7.21 (d, 1H, H-2); 7.32 (d, 1H, H-7); 7.55 (d, 1H, H-4); 10.88 (t, 1H, NH indol); 7.78; 9.16; 9.84 (s, 3H, NH-NH-CS-NH).

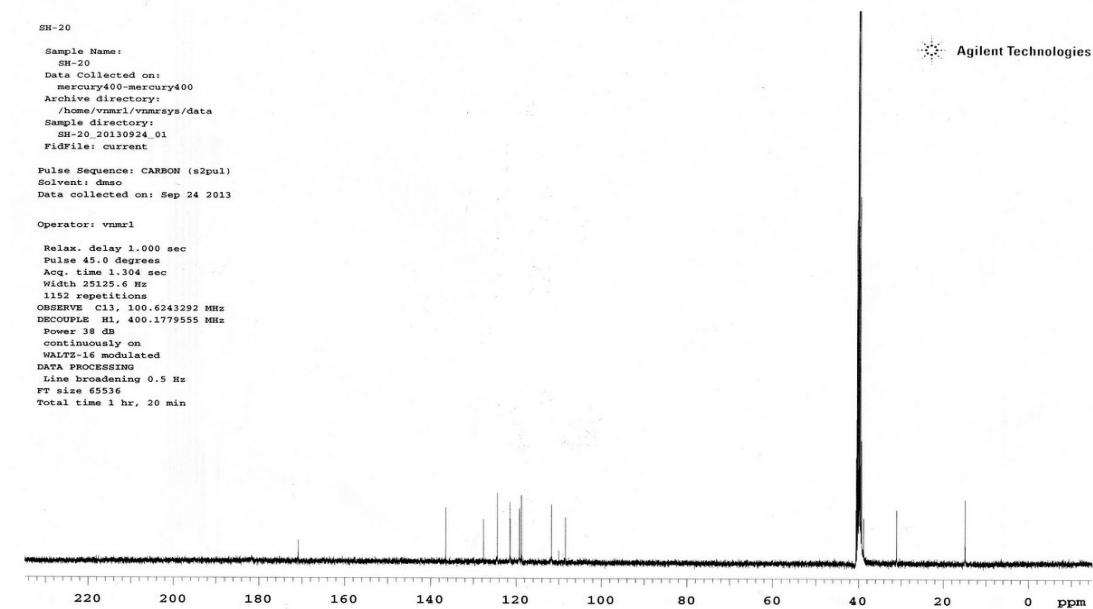
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

14.87; 31.07; 38.85; 108.44; 110.00; 111.73; 118.76; 119.19; 121.42; 124.38; 127.65; 136.46; 170.84 (C=O).

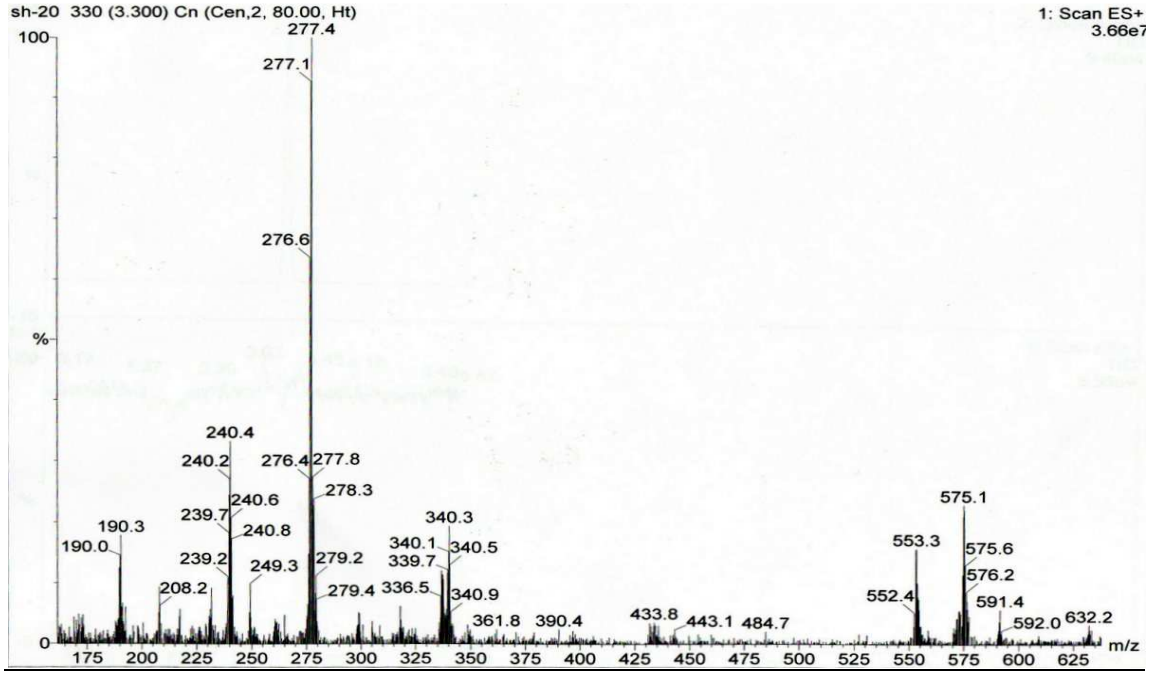
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 277 (M+H, %100)



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

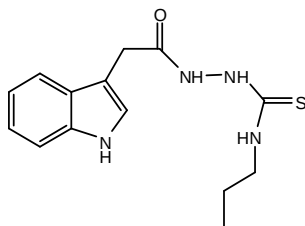


Şekil 3.2 Bileşik 1a'nın ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.3 Bileşik 1a'nın kütle spektrumu

3.2.2. 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-propilhidrazinkarbotiyoamid (1b)



5 mmol 0.95 gr , 2-(1H-indol-3-il)asetohidrazin ile 5 mmol 0.51 gr propilizotiyosiyanat A yöntemine göre reaksiyona tabi tutuldu. Reaksiyon sonunda %86 verimle 1.25 gr madde elde edilir. E.n 143.5 °C

Elementel Analiz: C₁₄H₁₈N₄OS

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	57.91	6.24	19.29
Analiz :	58.19	6.75	19.14

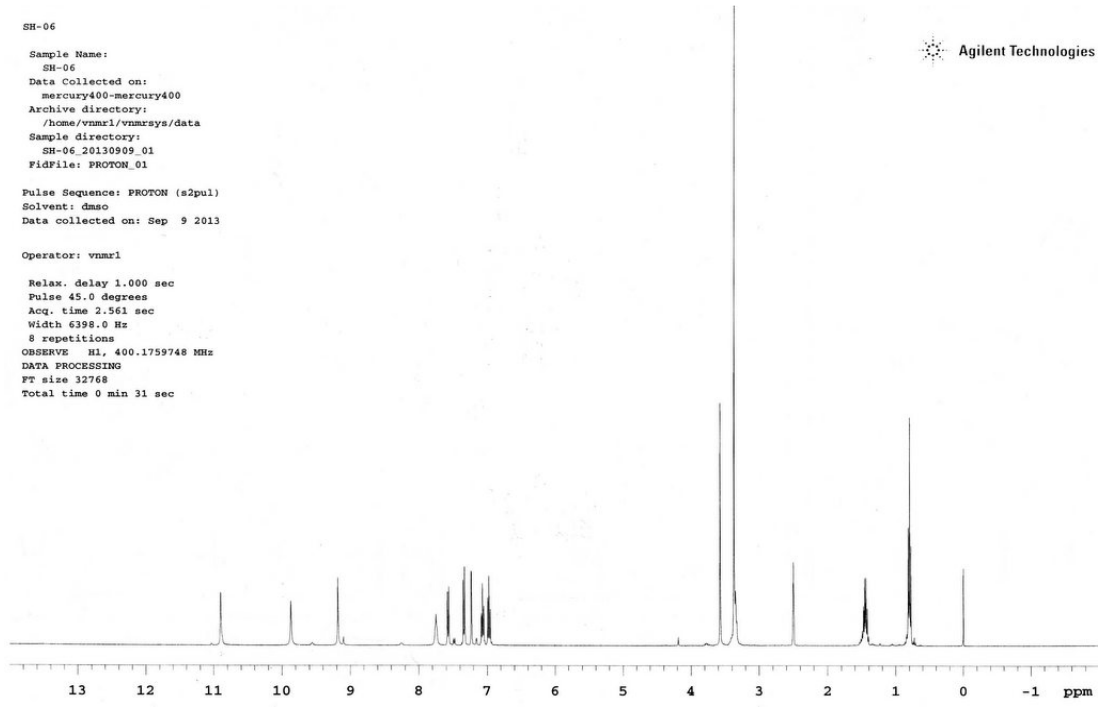
¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

0,80 (t, 3H, CH₃); 1.46 (m, 2H, CH₂); 3.37 (t, 2H, NH-CH₂); 3.57 (s, 2H, COCH₂); 6.98 (t, 1H, H-5); 7.07 (t, 1H, H-6); 7.23 (d, 1H, H-2); 7.34 (d, 1H, H-7); 7.57 (d, 1H, H-4); 10,90 (s, 1H, NH-indol); 7,75; 9,18; 9,87; (s, 3H, NH-NH-CS-NH).

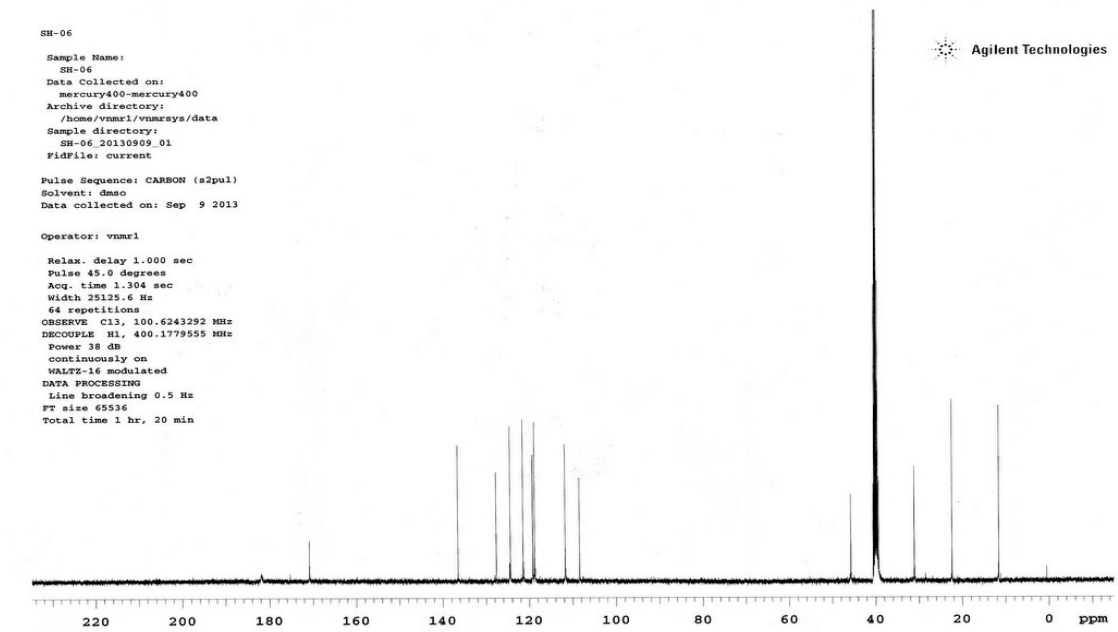
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

11.60, 22.40, 31.10; 45.72 (NH-C), 108.46, 111.75, 118.77, 119.19, 121.44, 124.40, 127.65, 136.49, 170.86 (C=O), 175.28 (S=C).

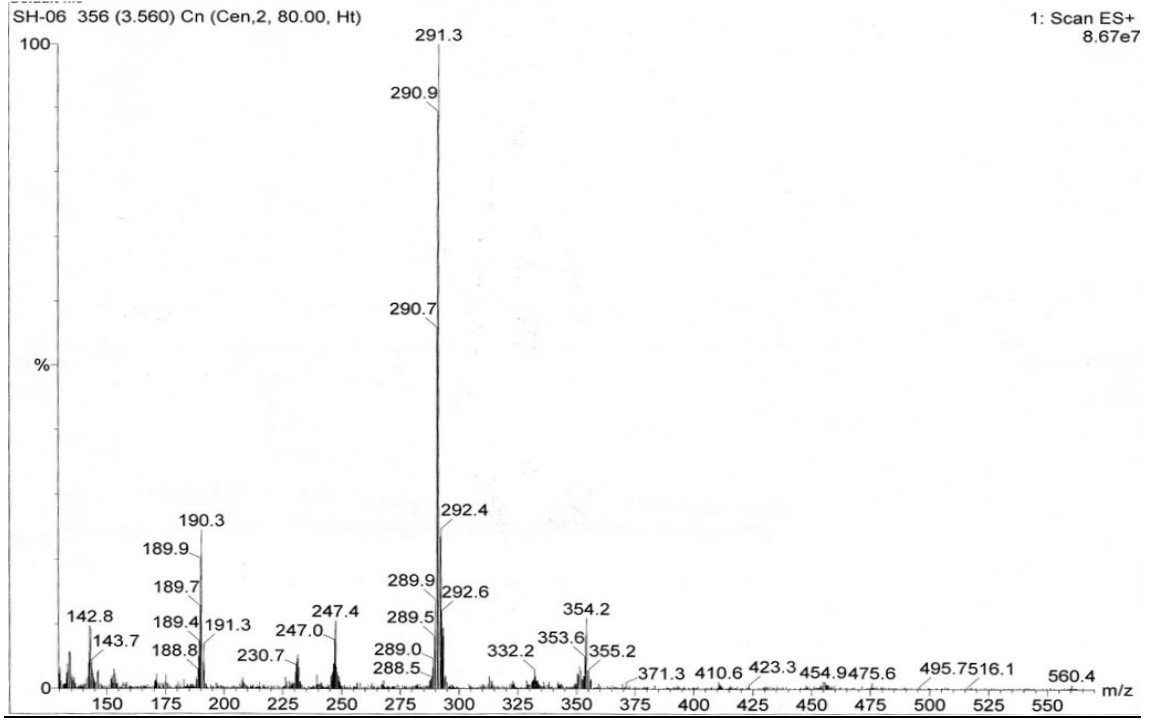
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 291 (M+H, %100).



Şekil 3.4 Bileşik 1b'nin ^1H -NMR spektrumu

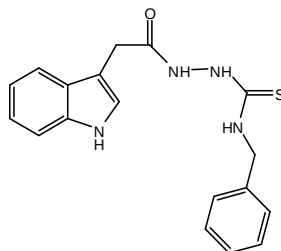


Şekil 3.5 Bileşik 1b'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.6 Bileşik 1b'nin kütle spektrumu

3.2.3. 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-benzilhidrazinkarbotiyoamid (1c):



5 mmol 0.95 gr , 2-(1H-indol-3-il)asetohidrazin ile 5 mmol 0.75 gr benzilizotiyosiyanat A yöntemine göre reaksiyona tabi tutuldu. Reaksiyon sonunda %78 verimle 1.32 gr madde elde edilir. E.n 142.5 °C

Elementel Analiz: C₁₈H₁₈N₄OS•0,25H₂O

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	63.04	5.44	16.35
Analiz :	63.07	6.10	21.61

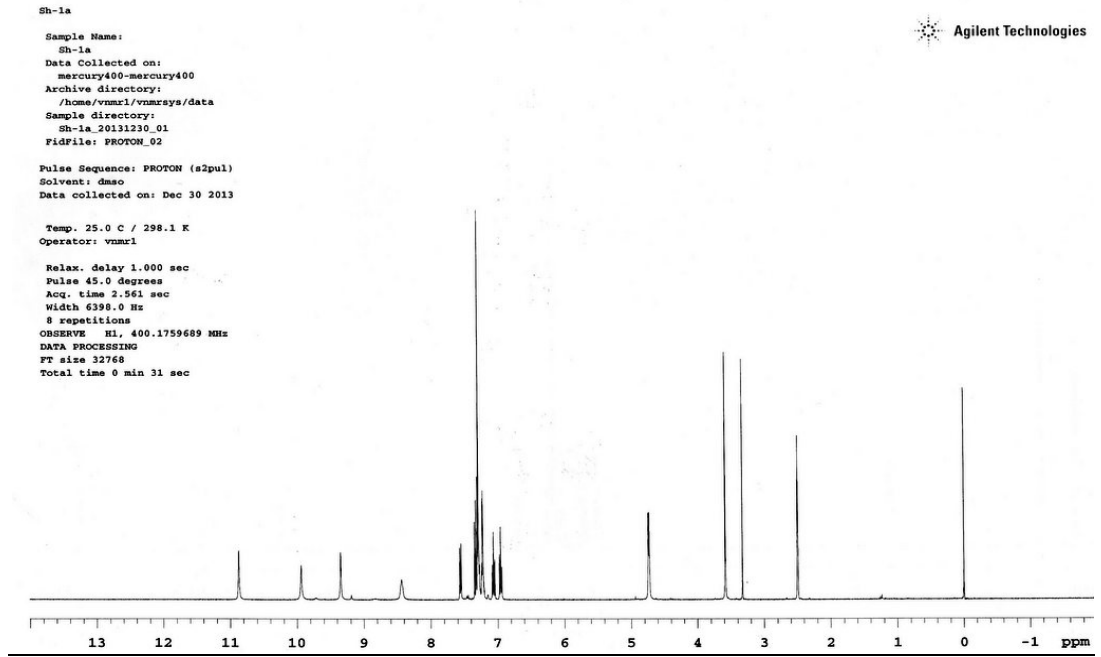
¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

3.58 (s, 2H, COCH₂); 4.74 (d, 2H, benzil-CH₂); 6.96 (m, 1H, H-5); 7.06 (m, 1H, H-6); 7.23 (d, 1H, H-2); 7.21-7.35 (m, 6H, Ar-H); 7.56 (d, 1H, H-4); 10.88 (s, 1H, NH-indol); 8.44; 9.35; 9.94; (s, 3H, NH-NH-CS-NH).

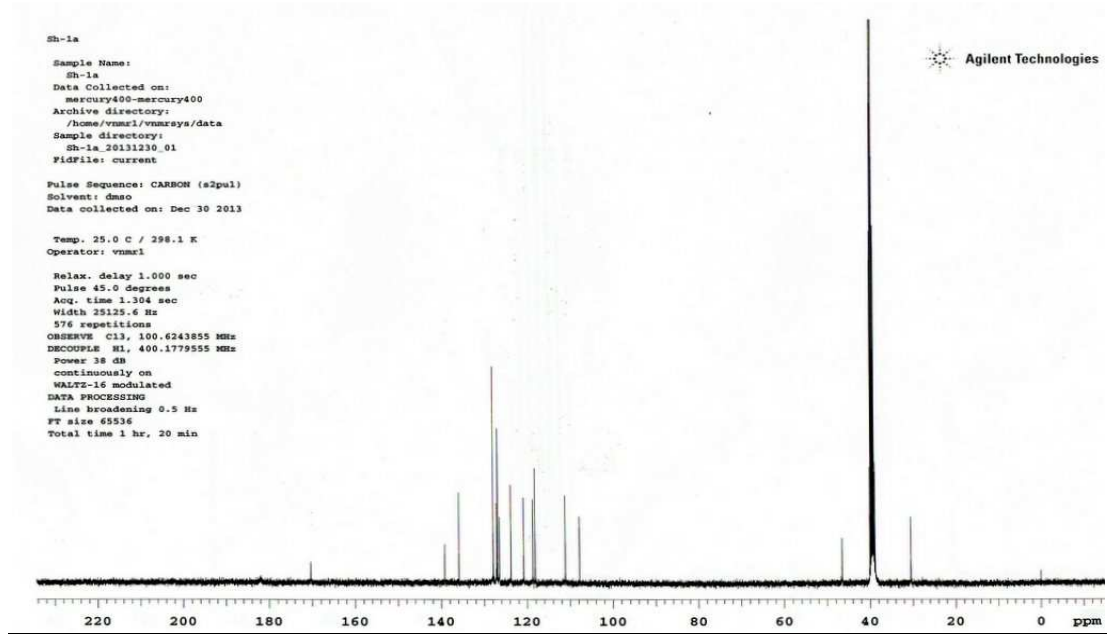
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

30.50; 46.54 (NH-C); 107.84; 111.15; 118.17; 118.68; 120.84; 123.80; 126.50; 126.88; 127.15; 127.94; 135.91; 139.20; 170.36 (C=O).

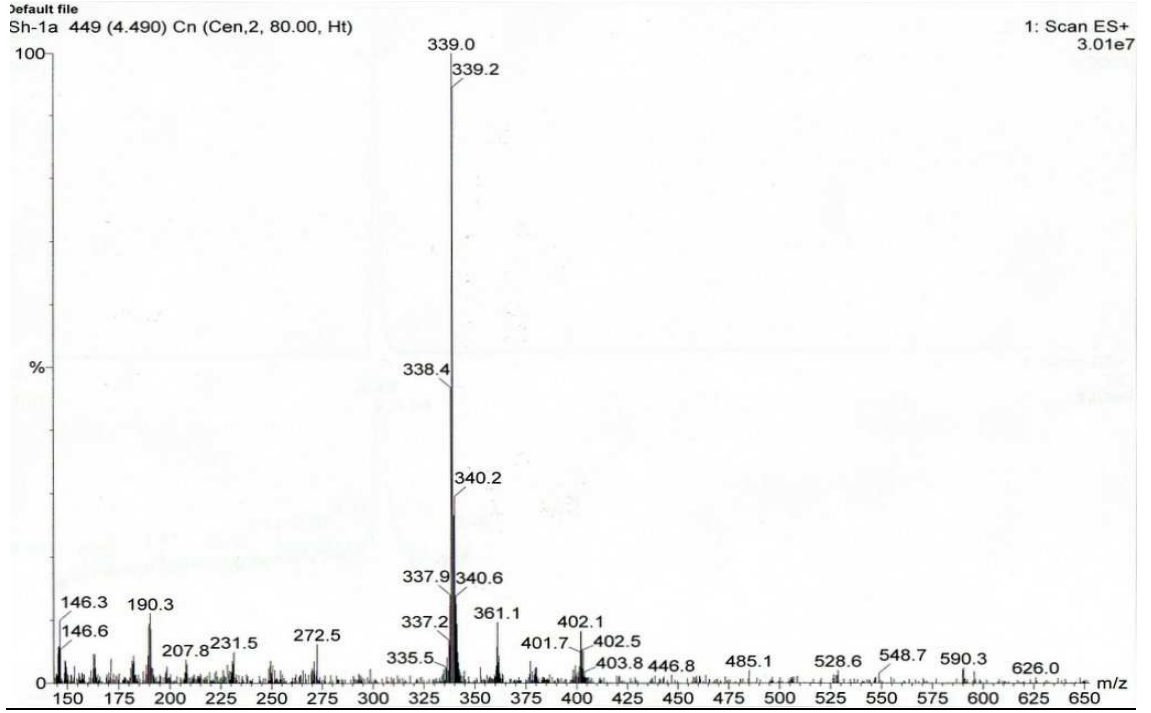
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 339 (M+H, %100).



Şekil 3.7 Bileşik 1c'nin ^1H -NMR spektrumu

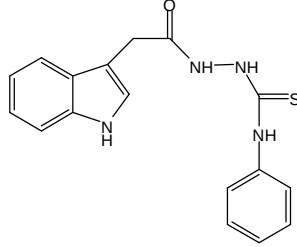


Şekil 3.8 Bileşik 1c'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.9 Bileşik 1c'nin kütle spektrumu

3.2.4. 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-fenilhidrazinkarbotiyoamid (1d):



5 mmol 0.95 gr , 2-(1H-indol-3-il)asetohidrazin ile 5 mmol 0.68 gr fenilizotiyosiyanat A yöntemine göre reaksiyona tabi tutuldu. Reaksiyon sonunda %90 verimle 1.46 gr madde elde edilie(Siddiqui *ve ark.* 2008). E.n 178.5 °C

Elementel Analiz: C₁₇H₁₆N₄OS

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	62.94	4.97	17.27
Analiz :	63.05	5.33	17.05

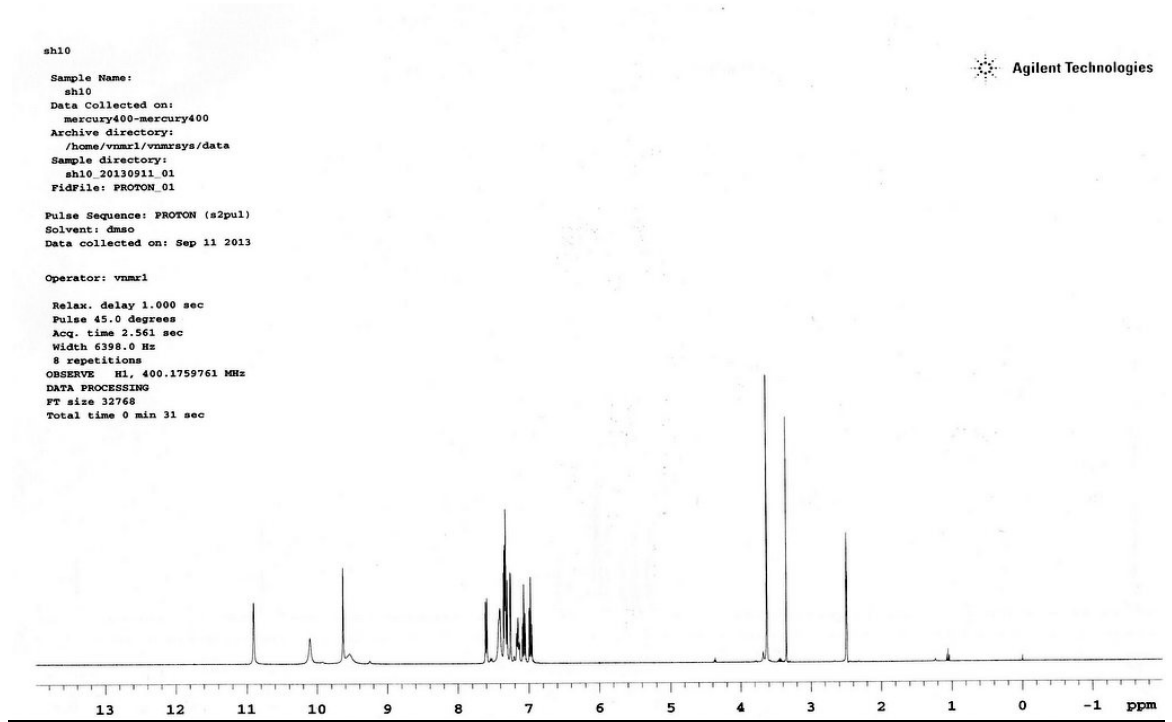
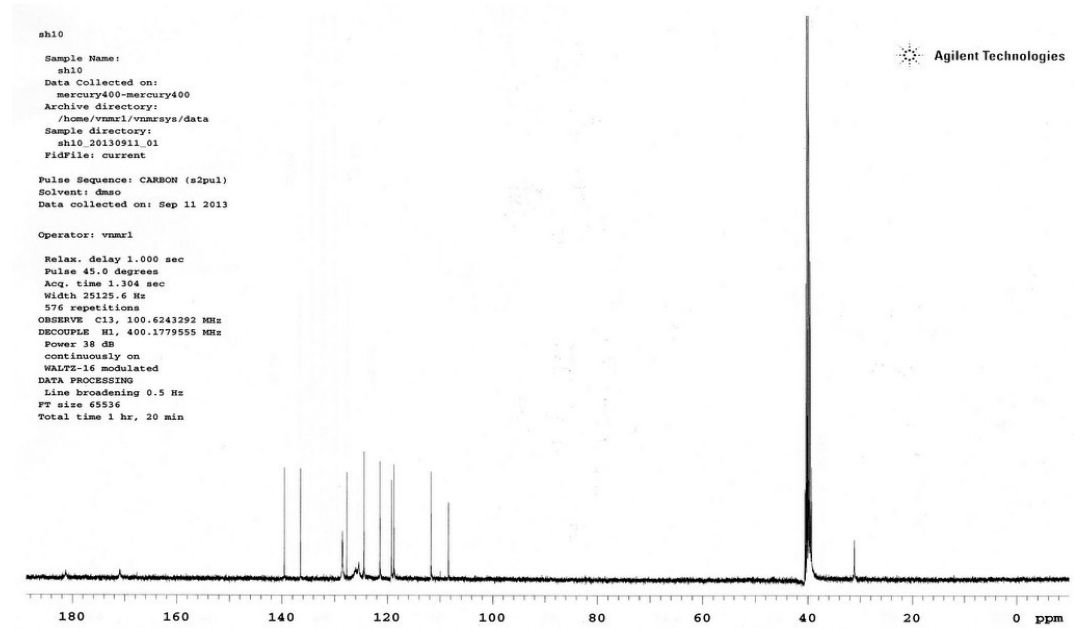
¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

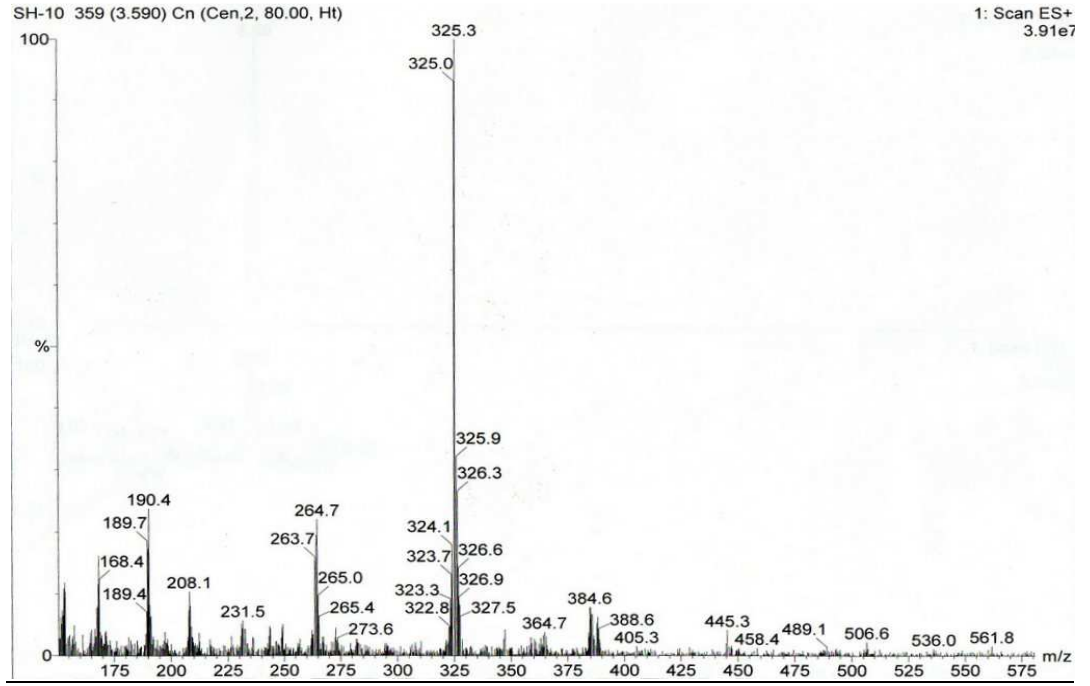
3.63 (s, 2H, CO-CH₂); 6.98 (m, 1H, H-5); 7.07 (m, 1H, H-6); 7.26 (d, 1H, H-2); 7.60 (d, 1H, H-4); 7.14-7.41 (m, 6H, Ar-H); 10.91 (s, 1H, NH indol); 9.54; 9.64; 10.11; (s, 3H, NH-NH-CS-NH).

¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

31.17; 108.45; 110.00; 111.75; 118.80; 119.27; 121.44; 124.45; 125.44; 126.04; 127.71; 128.55; 136.50; 139.57; 167.71; 171.01 (C=O); 181.33 (S=C).

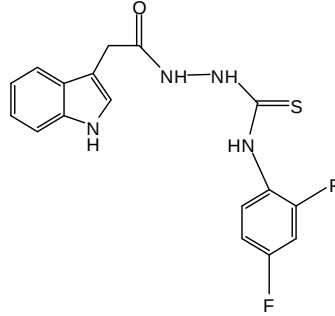
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 325 (M+H, %100).

Şekil 3.10 Bileşik 1d'nin ^1H -NMR spektrumuŞekil 3.11 Bileşik 1d'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.12 Bileşik 1d'nin kütle spektrumu

3.2.5. 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-(2,4-diflorofenil)hidrazinkarbotiyoamid (1e):



5 mmol 0.95 gr, 2-(1H-indol-3-il)asetohidrazin ile 5 mmol 0.86 gr 2,4-diflorofenilizotiyosiyanat A yöntemine göre reaksiyona tabi tutuldu. Reaksiyon sonunda %81 verimle 1.48 gr madde elde edilir. E.n 169 °C

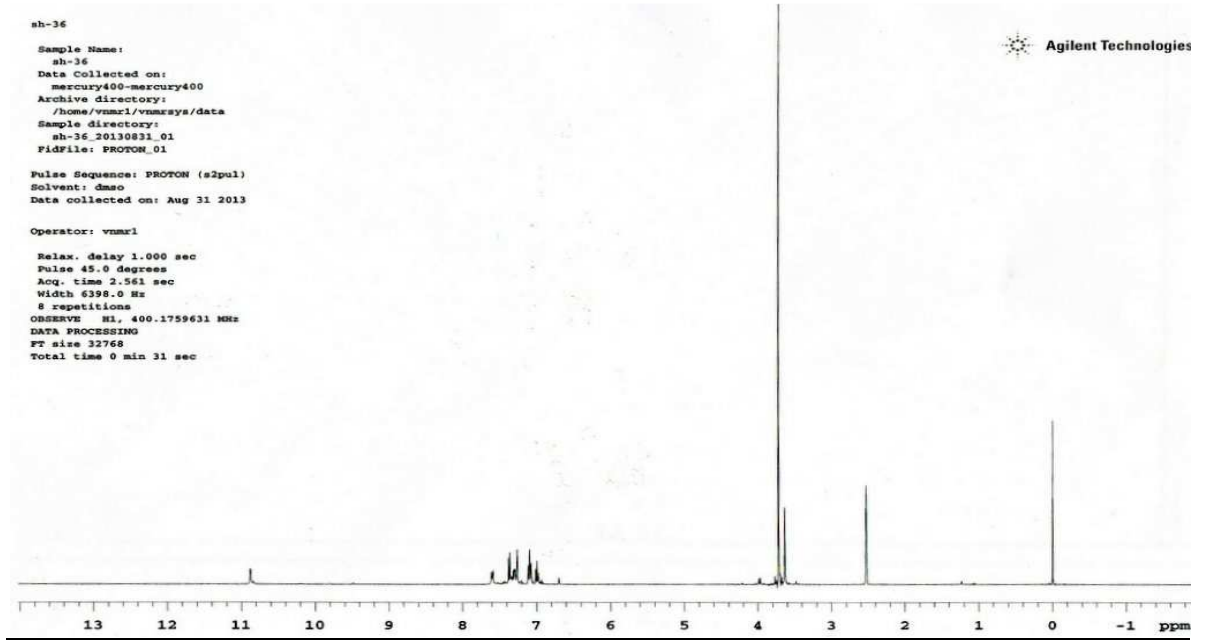
Elementel Analiz: C₁₇H₁₄ F₂N₄OS

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	56.66	3.92	15.55
Analiz :	56.68	4.14	15.66

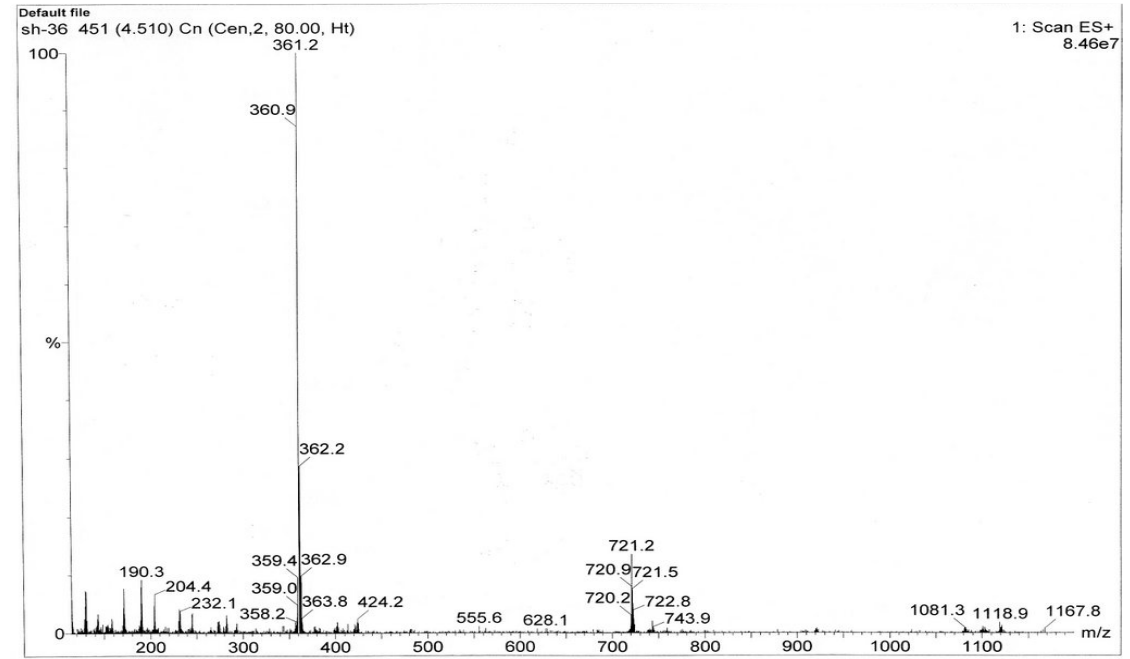
¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

3.64 (s, 2H, Ar-CH₂); 6.98-7.61 (m, 8H, Ar-H); 9.60 (s, 1H, NH indol).

Kütle Spektrumu m/z (ESI): 361 (M+H, %100).

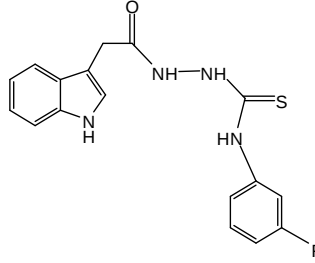


Şekil 3.13 Bileşik 1e'nin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.14 Bileşik 1e'nin kütle spektrumu

3.2.6. 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-(3-florofenil)hidrazinkarbotiyoamid (1f):



5 mmol 0.95 gr, 2-(1H-indol-3-il)asetohidrazin ile 5 mmol 0.77 gr 3-florofenilizotiyosiyanat A yöntemine göre reaksiyona tabi tutuldu. Reaksiyon sonunda %92 verimle 1.58 gr madde elde edilir (Sathi ve ark. 1979). E.n 183.5 °C

Elementel Analiz: C₁₇H₁₅FN₄OS

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	59.63	4.42	16.36
Analiz :	59.91	4.51	16.51

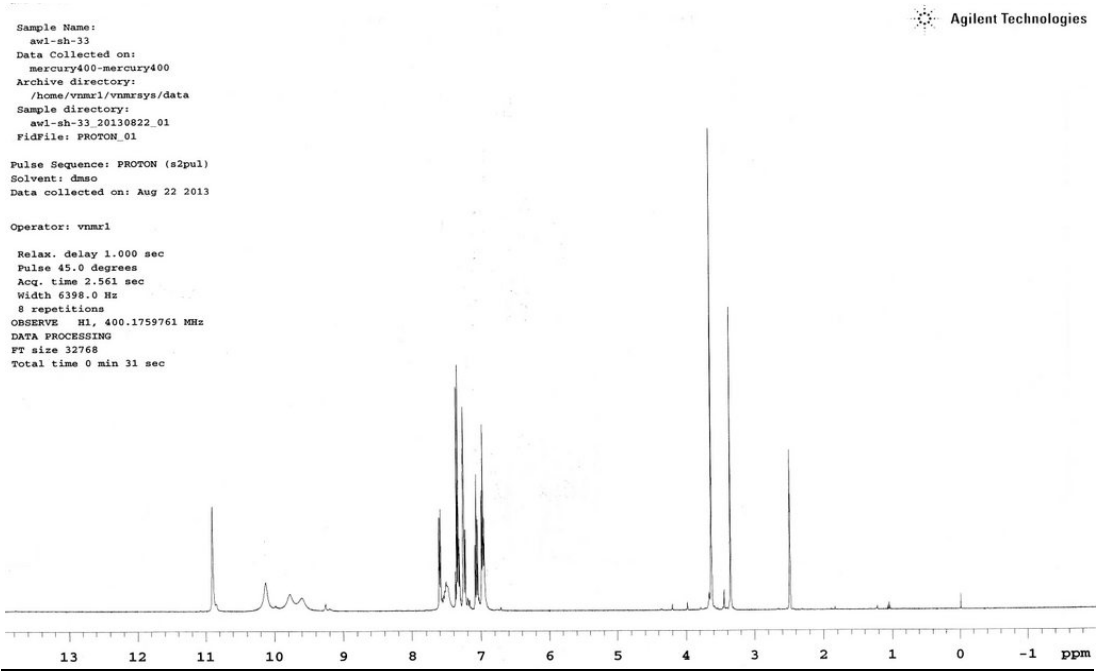
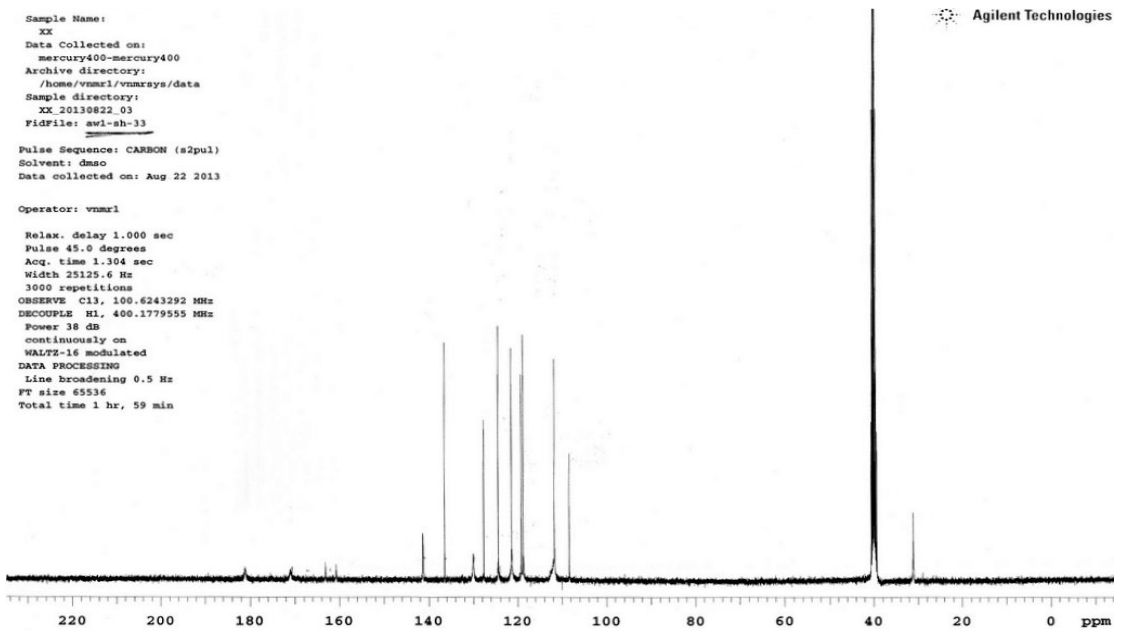
¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

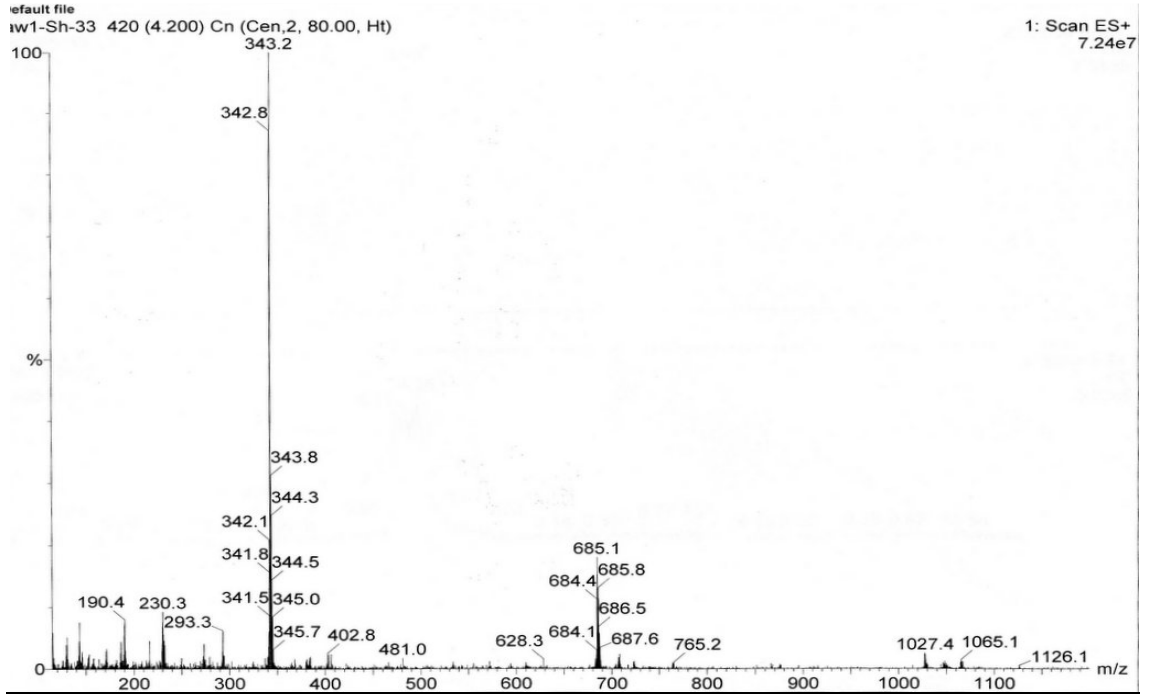
3.63 (s, 2H, CO-CH₂); 6.97 (m, 1H, H-5); 7.07 (t, 1H, H-6); 7.23-7.61 (m, 7H, Ar-H); 10.90 (s, 1H, NH indol); 9.60; 9.78; 10.13; (s, 3H, NH-NH-CS-NH).

¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

31.15; 108.38; 111.76; 118.75; 119.25; 121.41; 124.46; 127.68; 130.10; 136.50; 141.33; 141.44 160;76; 163.15; 164.568; 165.87; 167.30; 168.76; 170.22 (C=O); 175.49; 181.17(C=S).

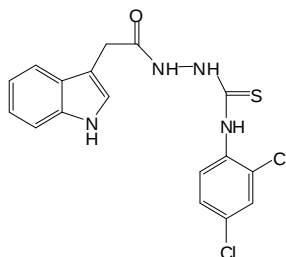
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 343 (M+H, %100).

Şekil 3.15 Bileşik 1f'nin ^1H -NMR spektrumuŞekil 3.16 Bileşik 1f'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.17 Bileşik 1f'nin kütle spektrumu

3.2.7. 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-(2,4-diklorofenil)hidrazinkarbotiyoamid (1g):



5 mmol 0.95 gr, 2-(1H-indol-3-il)asetohidrazin ile 5 mmol 1.02 gr 2,4-diklorofenilizotiyosiyanat A yöntemine göre reaksiyona tabi tutuldu. Reaksiyon sonunda %91 verimle 1.79 gr madde elde edilir. E.n 172.5 °C

Elementel Analiz: C₁₇H₁₄ Cl₂N₄OS

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	51.92	3.59	14.25
Analiz :	52.30	3.92	14.51

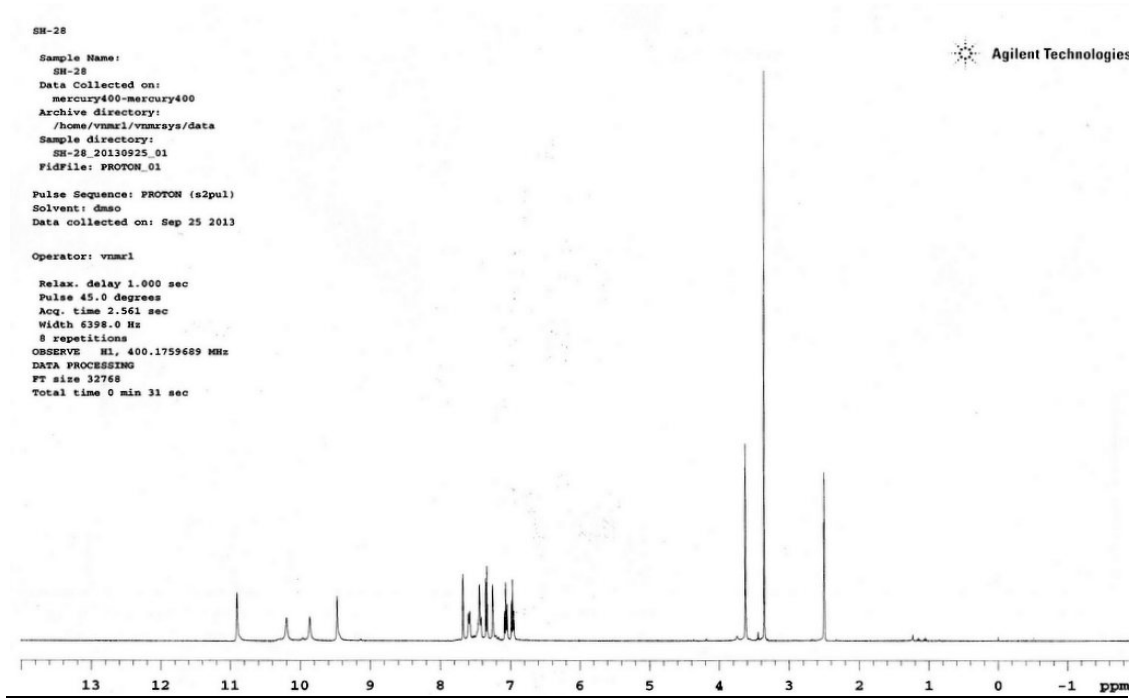
¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

3.62 (s, 2H, CO-CH₂); 6.97 (m, 1H, H-5); 7.07 (m, 1H, H-6); 7.59 (d, 1H, H-4); 7.25-7.68 (m, 5H, Ar-H); 10.90 (s, 1H, NH indol); 9.47; 9.87; 10.20; (s, 3H, NH-NH-CS-NH).

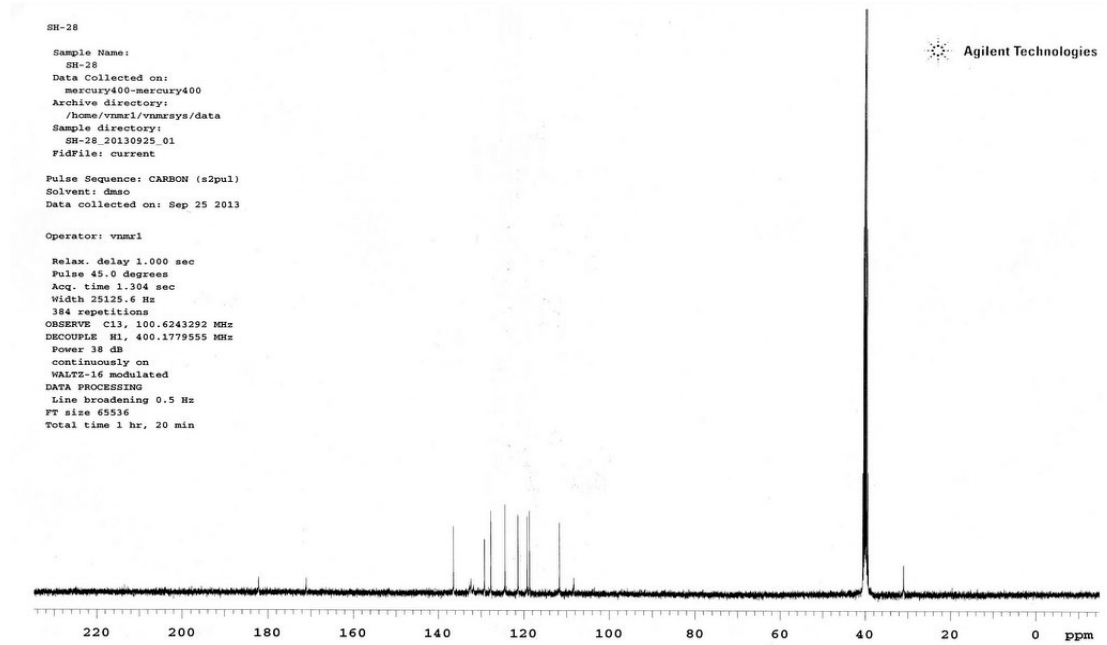
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

31.01; 108.31; 111.71; 118.72; 119.29; 121.41; 124.45; 127.73; 129.23; 132.34; 136.46; 171.07 (C=O); 182.14 (C=S).

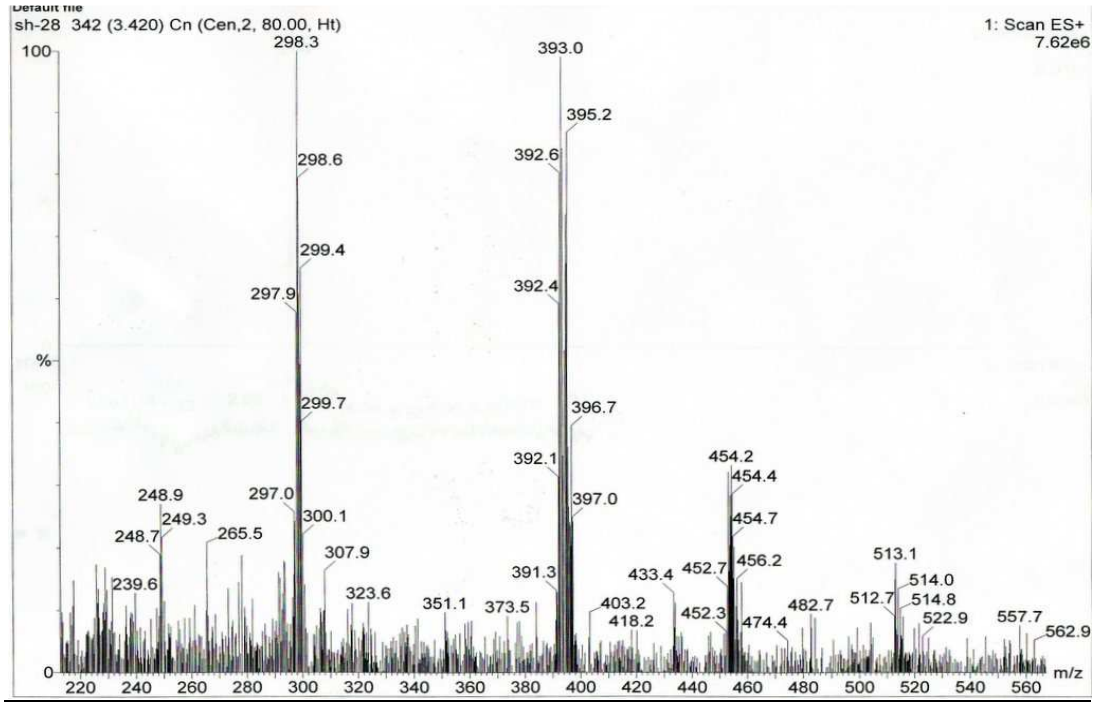
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 393 (M⁺, %100); 395 (M+2, %85); 397 (M+4, %38).



Şekil 3.18 Bileşik 1g'nin ^1H -NMR spektrumu

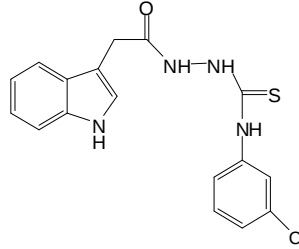


Şekil 3.19 Bileşik 1g'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.20 Bileşik 1g'nin kütle spektrumu

3.2.8. 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-(3-klorofenil)hidrazinkarbotiyoamid (1h):



5 mmol 0.95 gr, 2-(1H-indol-3-il)asetohidrazin ile 5 mmol 0.85 gr 3-klorofenilizotiyosiyanat A yöntemine göre reaksiyona tabi tutuldu. Reaksiyon sonunda %84 verimle 1.66 mg madde elde edilir. E.n 168 °C

Elementel Analiz: C₁₇H₁₅N₄SOCl

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	56.90	4.21	15.61
Analiz :	57.26	4.41	15.31

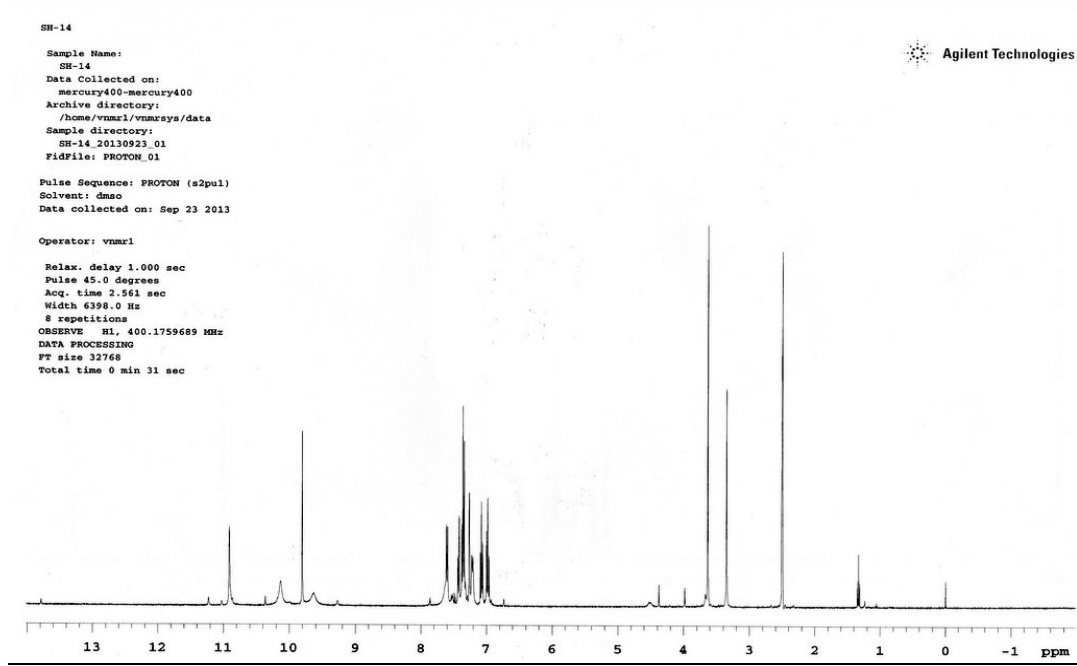
¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

3.66 (s, 2H, CO-CH₂); 6.98 (t, 1H, H-5); 7.07 (t, 1H, H-6); 7.21 (d, 1H, H-2); 7.60 (d, 1H, H-4); 7.26-7.44 (m, 5H, Ar-H); 10.91 (s, 1H, NH indol); 9.63; 9.81; 10.13; (s, 3H, NH-NH-CS-NH).

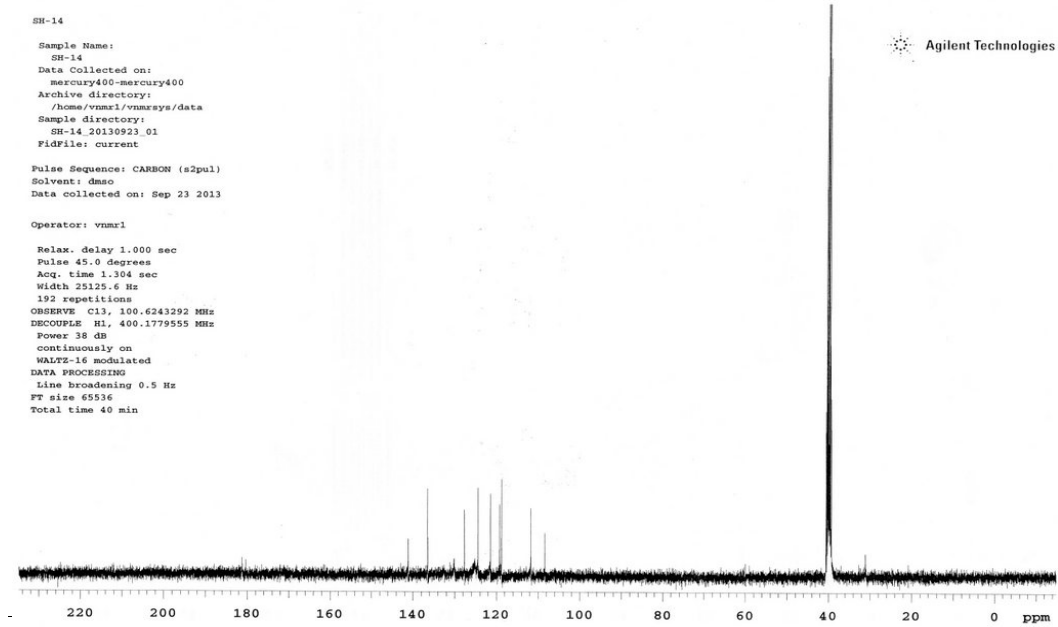
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

25.81; 31.15; 108.35; 111.74; 118.78; 119.24; 121.44; 124.45; 125.18; 127.68; 130.13; 136.49; 141.12.

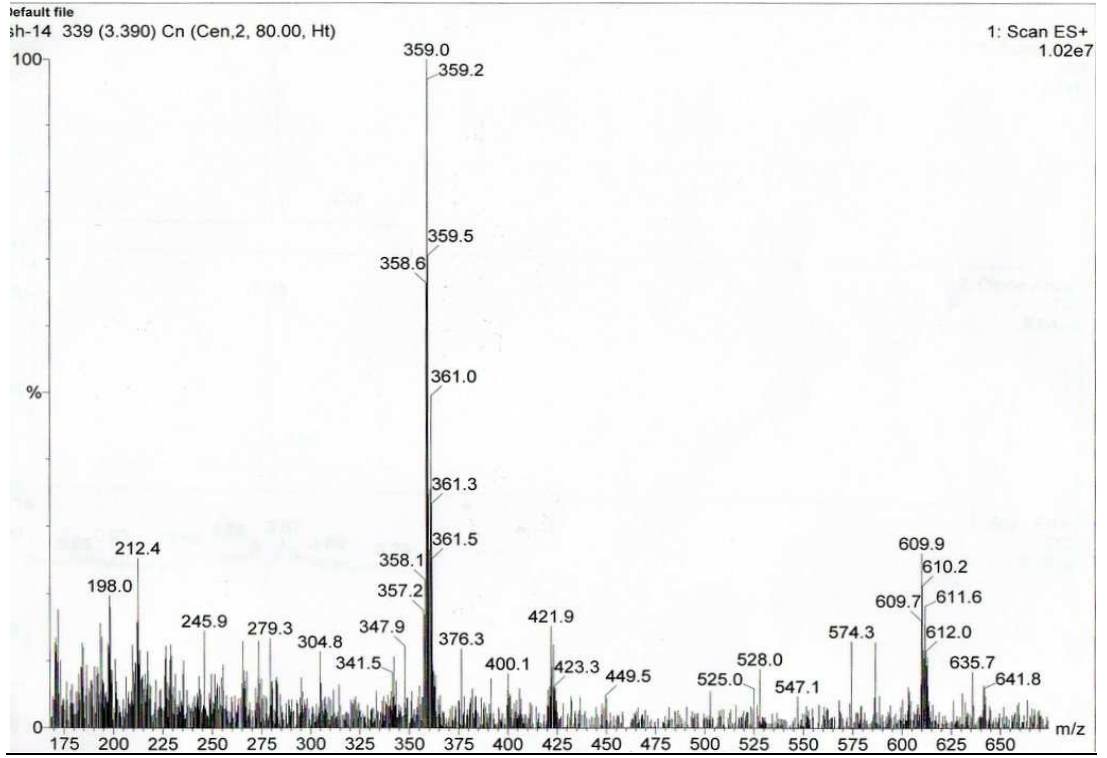
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 359.5 (M+H, %72), 361 (M+H+2, %28).



Şekil 3.21 Bileşik 1h'n ^1H -NMR spektrumu



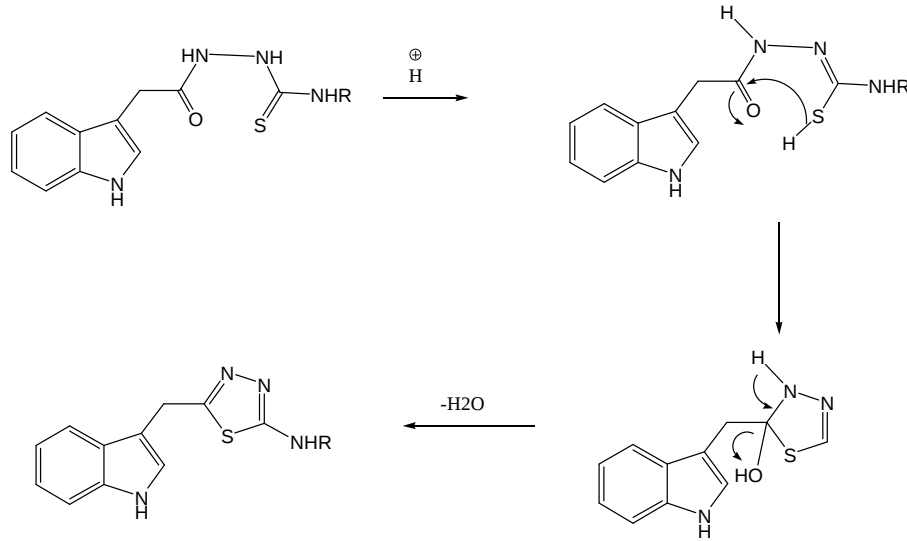
Şekil 3.22 Bileşik 1h'n ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.23 Bileşik 1h'ın kütle spektrumu

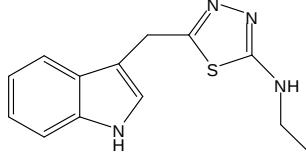
3.3. 5-(1H-indol-3-il)metil-N-(süstitüe aril veya alkil)-1,2,4-tiyadiazol-2-süstitüe amin türevlerinin genel sentezi (Yöntem B):

Yeterli miktarda (2-3 ml) konsantre (%98) sülfürik asit bir balona eklenir ve üzerine 2-(1H-İndol-3-il-asetil)-N-(aril veya alkil)hidrazinkarbotiyoamid (1 mmol) ilave edilir. Karışım oda sıcaklığında 4 saat manyetik karıştırıcıda karıştırarak reaksiyona sokulur. Reaksiyon tamamlandıktan sonra karışım kırılmış buz üzerine dökülür. Daha sonra 2N, NH_4OH 'la pH=7 oluncaya kadar yavaş yavaş nötralize edilir. Oluşan katı çökelek süzülür ve distile su ile yıkanarak ayrılır. Çökelek oda sıcaklığında kurutulur ve absolu etanolde rekristalize edilerek saf bileşik elde edilir (Siddiqui ve ark. 2008). Reaksiyon mekanizması Şekil 3.24 verilmiştir.



Şekil 3.24 1,2,4-tiyadiazol halka sistemi siklizasyon mekanizması

3.3.1. 5-((1H-İndol-3-il)metil)-2-etilamino-1,3,4-tiyadiazol (2a):



Yaklaşık (2-3 ml) konsantre (%98) sülfürik asit yuvarlak dipli bir balona eklenip üzerine 1 mmol 0.28 gr 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-etilhidrazinkarbotiyoamid ilave edilir ve B yöntemine göre raksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %42 verimle 0.11 gr saf madde elde edilir. En 125 °C

Elementel Analiz: $C_{13}H_{14}N_4S \cdot 0,75H_2O$

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	57.43	5.75	20.61
Analiz :	57.55	5.66	20.23

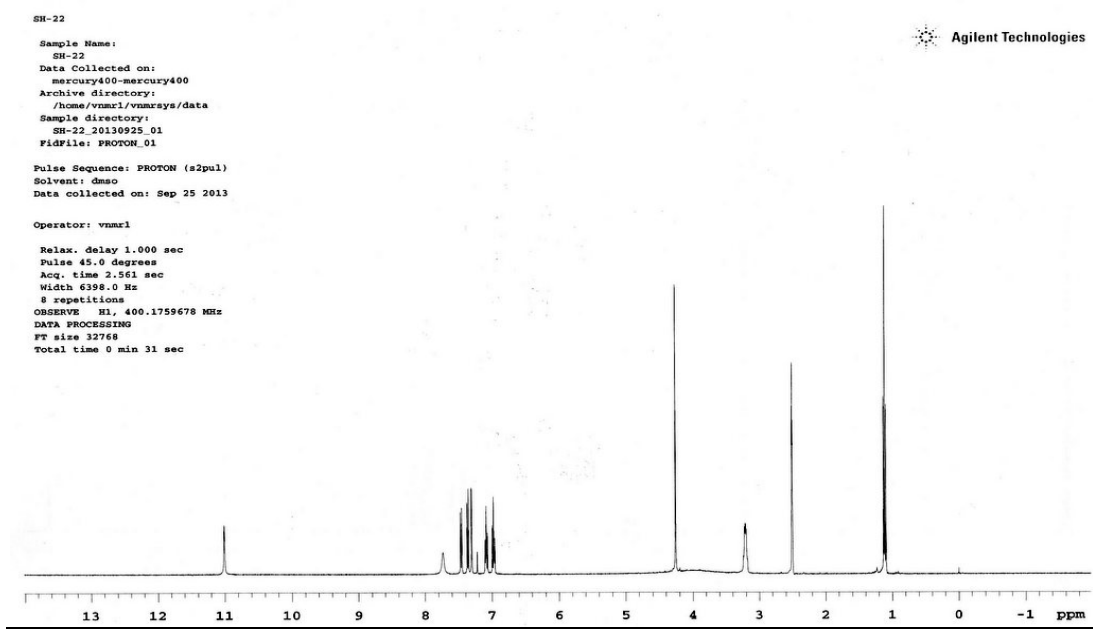
1H -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

1.12 (t, 3H, CH_3); 3.21 (q, 2H, CH_2); 4.26 (s, 2H, Ar- CH_2); 6.96 (m, 1H, H-5); 7.07 (m, 1H, H-6); .28 (d, 1H, H-2); 7.34 (d, 1H, H-7); 7.44 (d, 1H, H-4); 11.01 (s, 1H, NH indol); 7.73 (s, 1H, NH).

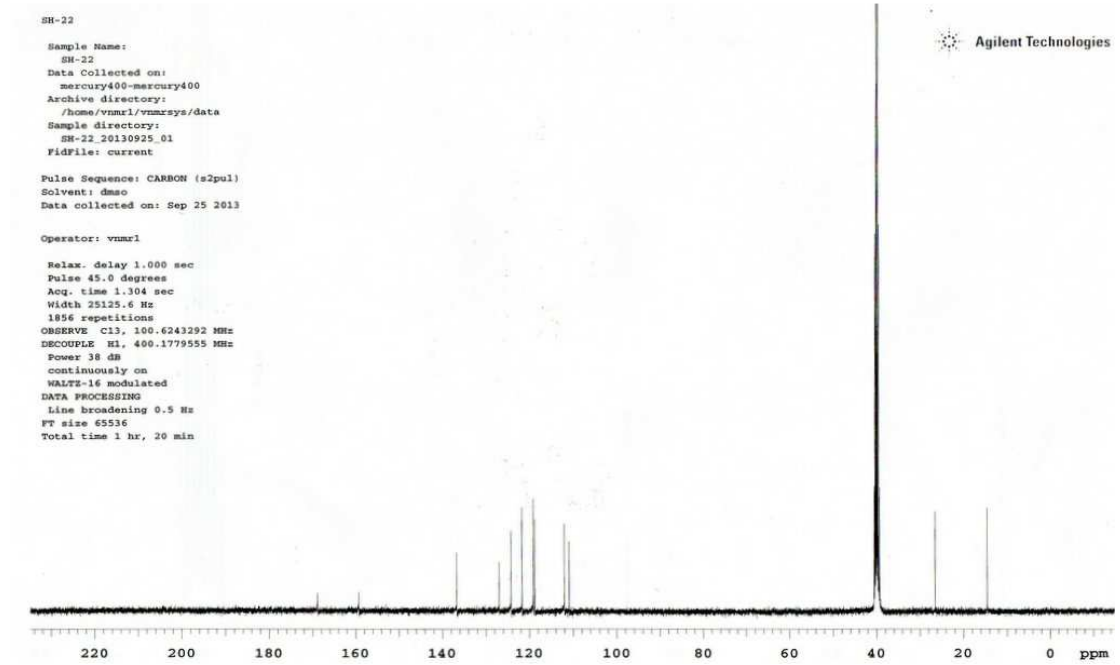
^{13}C -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

14.62; 26.51; 39.31; 110.94; 112.02; 118.76; 119.11; 121.73; 124.25; 126.99; 136.75; 159.29; 168.89 (S-C-N).

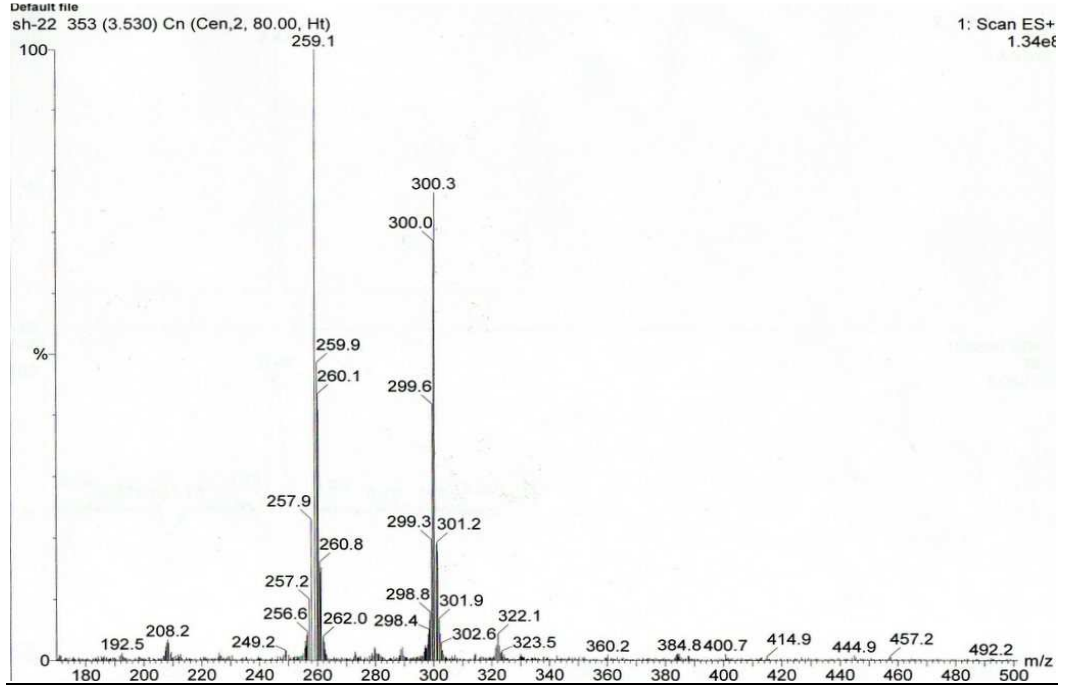
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 259 ($M+H$, %100), 300 ($M+H+CH_3CN$, %76).



Şekil 3.25 Bileşik 2a'nın ^1H -NMR spektrumu

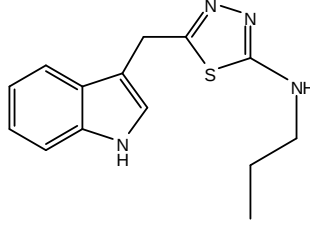


Şekil 3.26 Bileşik 2a'nın ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.27 Bileşik 2a'nın kütle spektrumu

3.3.2. 5-((1H-İndol-3-il)metil)-2-propilamino-1,3,4-tiyadiazol (2b):



Yaklaşık (2-3 ml) konsantre (%98) sülfürik asit yuvarlak dipli bir balona eklenip üzerine 1 mmol 0.29 gr 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-propilhidrazinkarbotiyoamid ilave edilir ve B yöntemine göre raksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %44 verimle 0.12 gr saf madde elde edilir. En 148 °C

Elementel Analiz: $C_{14}H_{16}N_4S \cdot 3H_2O$

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	51.51	6.79	17.16
Analiz :	51.23	5.57	16.78

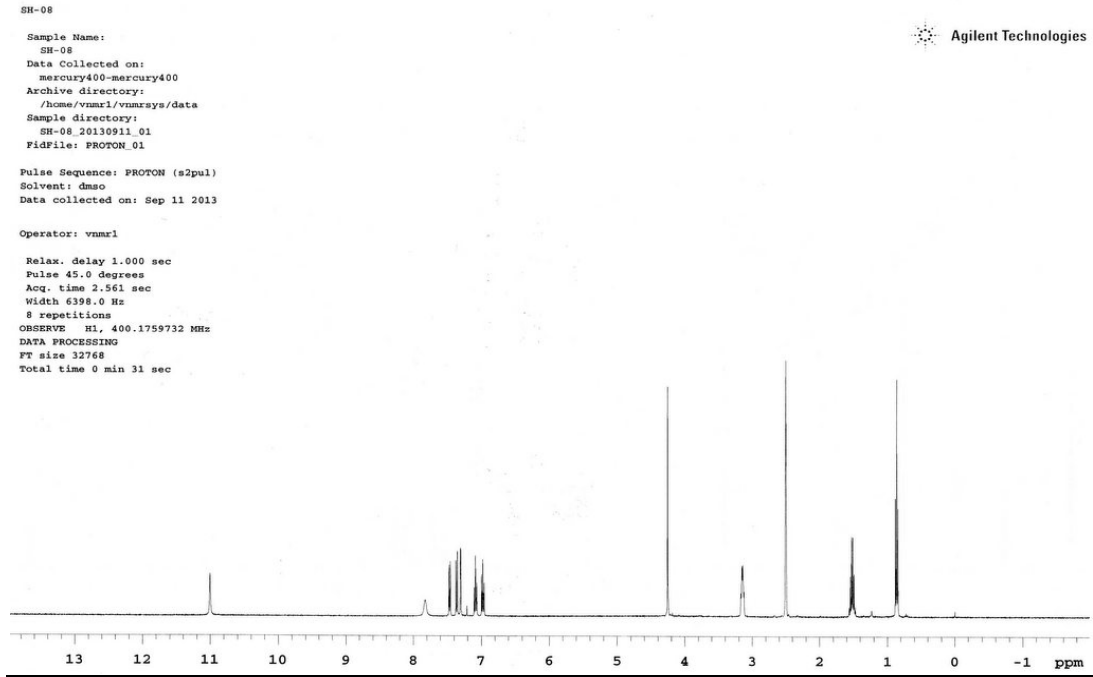
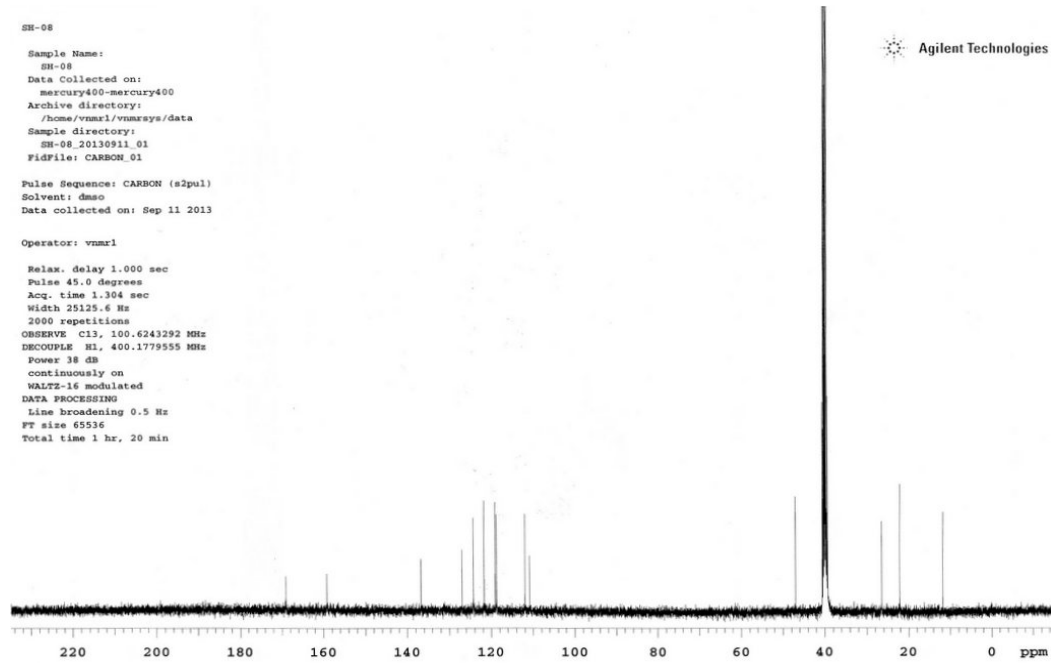
1H -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

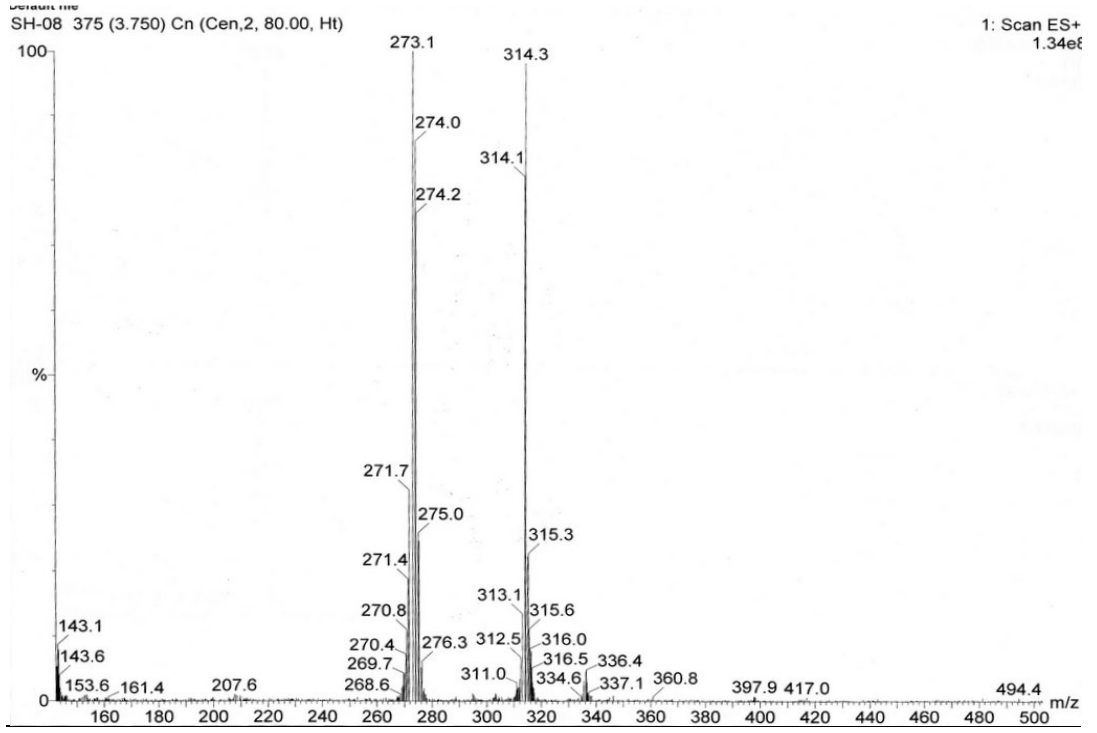
0,86 (t, 3H, CH_3); 1.52 (m, 2H, CH_2); 3.15 (q, 2H, $NH-CH_2$); 4.26 (s, 2H, $Ar-CH_2$); 6.98 (t, 1H, H-5); 7.09 (t, 1H, H-6); 7.31 (d, 1H, H-2); 7.36 (d, 1H, H-7); 7.46 (d, 1H, H-4); 7,82 (s, 1H, NH); 11.00 (s, 1H, NH -indol).

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

11.78, 22.16; 26.51; 47.05 ($NH-C$); 110.91; 112.03; 118.77; 119.12; 121.74; 124.29; 127.01; 136.76; 159.22; 169.06 ($N-C-S$).

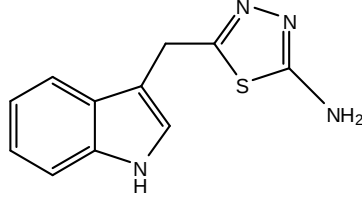
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 273 ($M+H$, %100), 314 ($M+H+CH_3CN$, %100).

Şekil 3.28 Bileşik 2b'nin ^1H -NMR spektrumuŞekil 3.29 Bileşik 2b'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.30 Bileşik 2b'nin kütle spektrumu

3.3.3. 5-((1H-İndol-3-il)metil)-2-amino-1,3,4-tiyadiazol(2c):



Yaklaşık (2-3 ml) konsantre (%98) sülfürik asit yuvarlak dipli bir balona eklenip üzerine 1 mmol 0.32 gr 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-benzilhidrazinkarbotiyoamid ilave edilir ve B yöntemine göre reaksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %39 verimle 0.09 gr saf madde elde edilir. En 177 °C (Siddiqui ve ark. 2009). En 198.5 °C

Elementel Analiz: C₁₁H₁₀N₄S•0,5H₂O

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	55.21	4.63	23.41
Analiz :	54.90	4.58	23.35

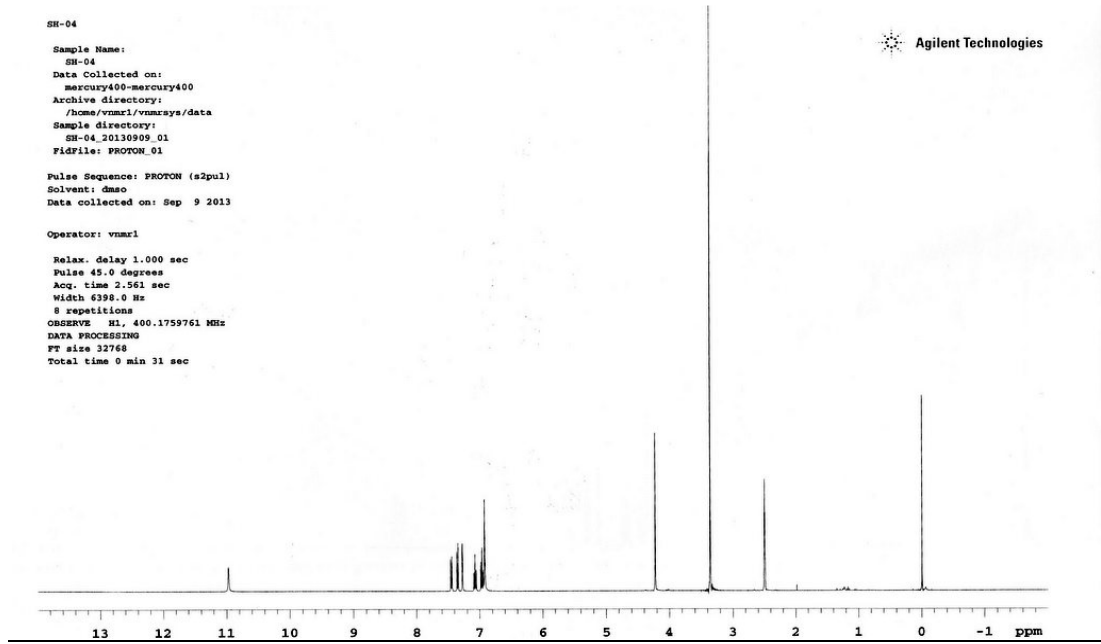
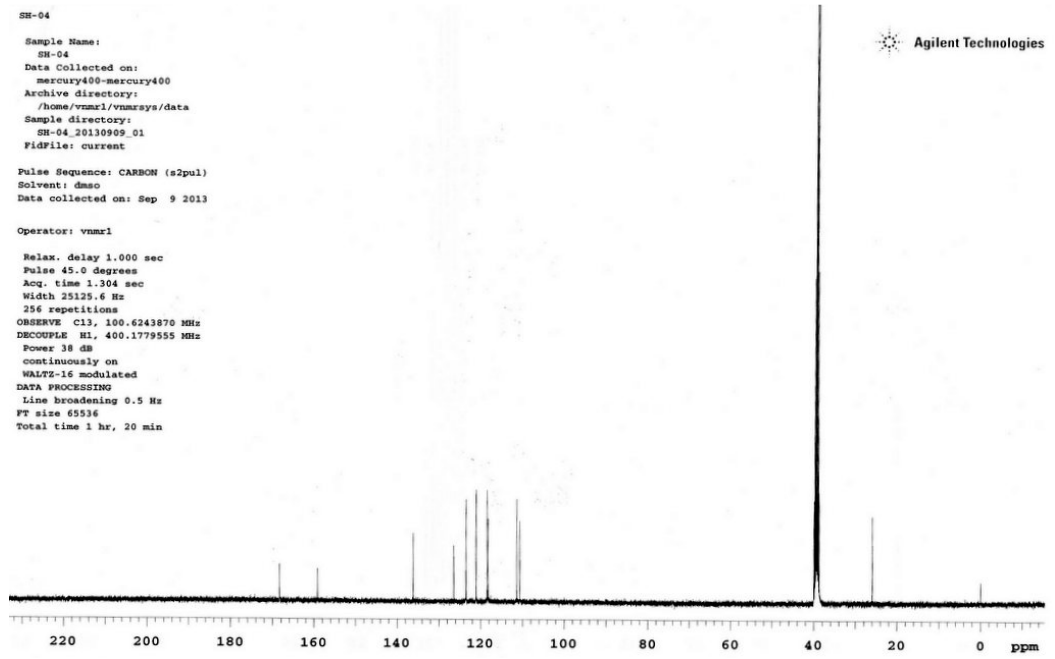
¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

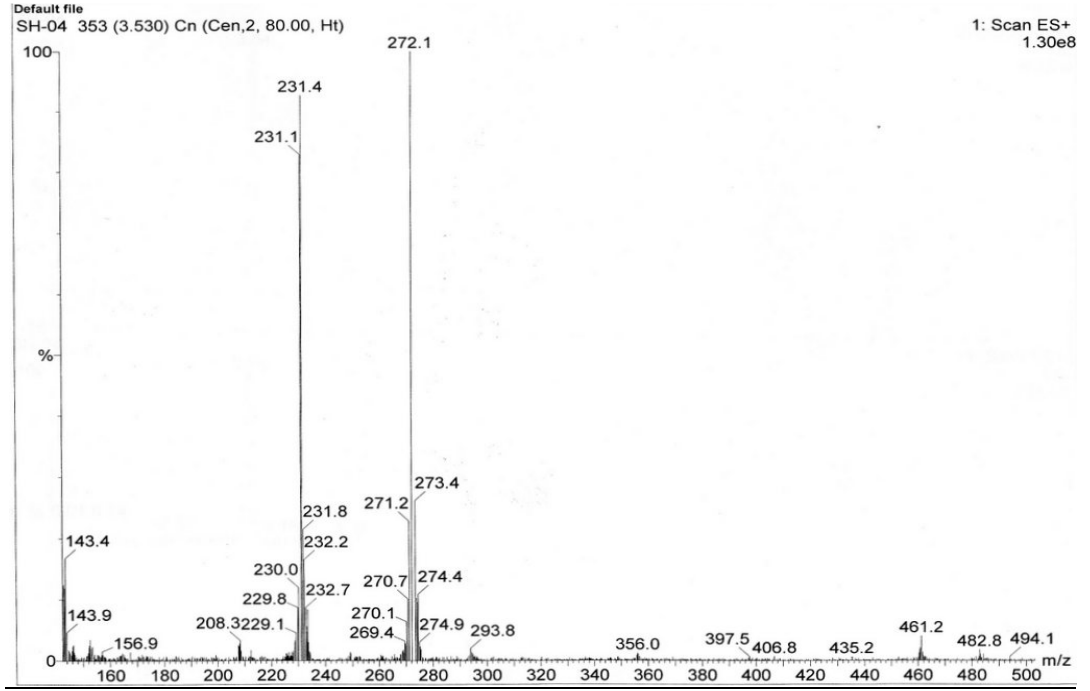
4.22 (s, 2H, Ar-CH₂); 6.92 (s, 2H, NH₂); 6.97 (m, 1H, H-5); 7.07 (m, 1H, H-6); 7.27 (d, 1H, H-2); 7.35 (d, 1H, H-7); 7.45 (1H, d, H-4); 10.97 (s, 1H, NH-indol).

¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

25.98; 110.98; 111.42; 118.24; 118.48; 121.11; 123.52; 126.47; 136.18; 159.21; 168.41 (N-C-S).

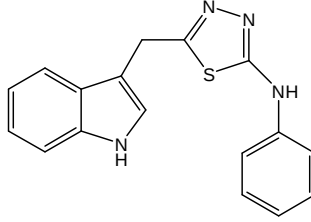
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 231 (M+H, %37), 272 (M+H+CH₃CN, %100).

Şekil 3.31 Bileşik 2c'nin ^1H -NMR spektrumuŞekil 3.32 Bileşik 2c'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.33 Bileşik 2c'nin kütle spektrumu

3.3.4. 5-((1H-İndol-3-il)metil)-2-fenilamino-1,3,4-tiyadiazol (2d):



Yaklaşık (2-3 ml) konsantre (%98) sülfürik asit yuvarlak dipli bir balona eklenip üzerine 1 mmol 0.32 gr 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-Fenilhidrazinkarbotiyoamid ilave edilir ve B yöntemine göre raksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %41 verimle 0.13 gr saf madde elde edilir. En 136-139(Siddiqui ve ark. 2008) . En 213.5 °C

Elementel Analiz: C₁₇H₁₄N₄S•0,25H₂O

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	65.68	4.70	18.02
Analiz :	65.56	5.09	17.62

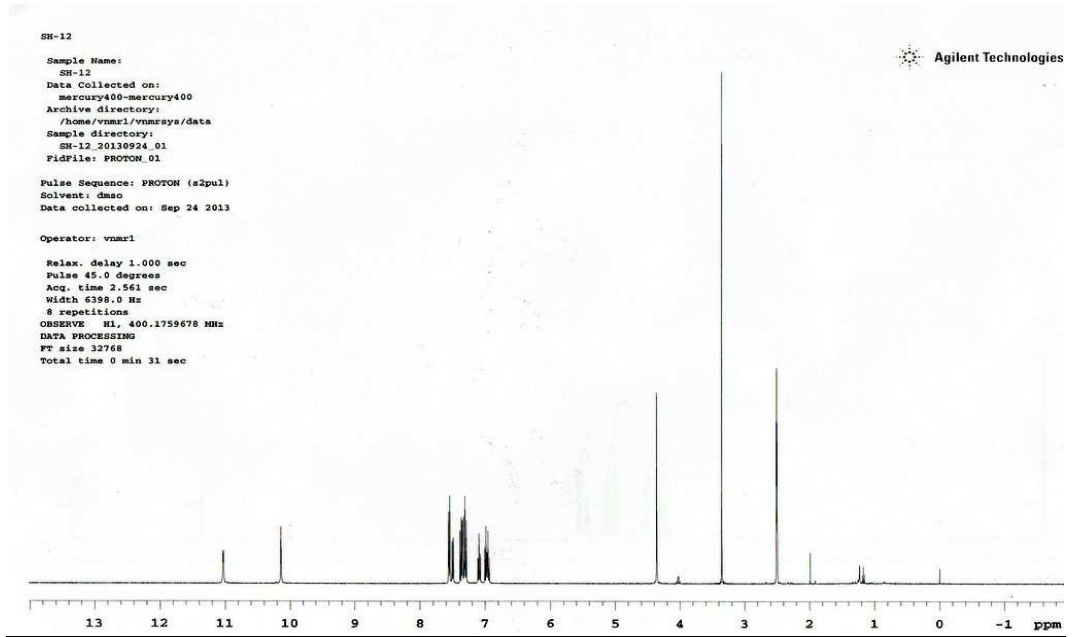
¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

4.36 (s, 2H, Ar-CH₂); 7.09 (m, 1H, H-6); 7.37 (d, 1H, H-7); 7.56 (d, 1H, H-4); 6.94-7.54 (m, 7H, Ar-H); 10.14 (s, 1H, NH indol); 11.17 (s, 1H, NH).

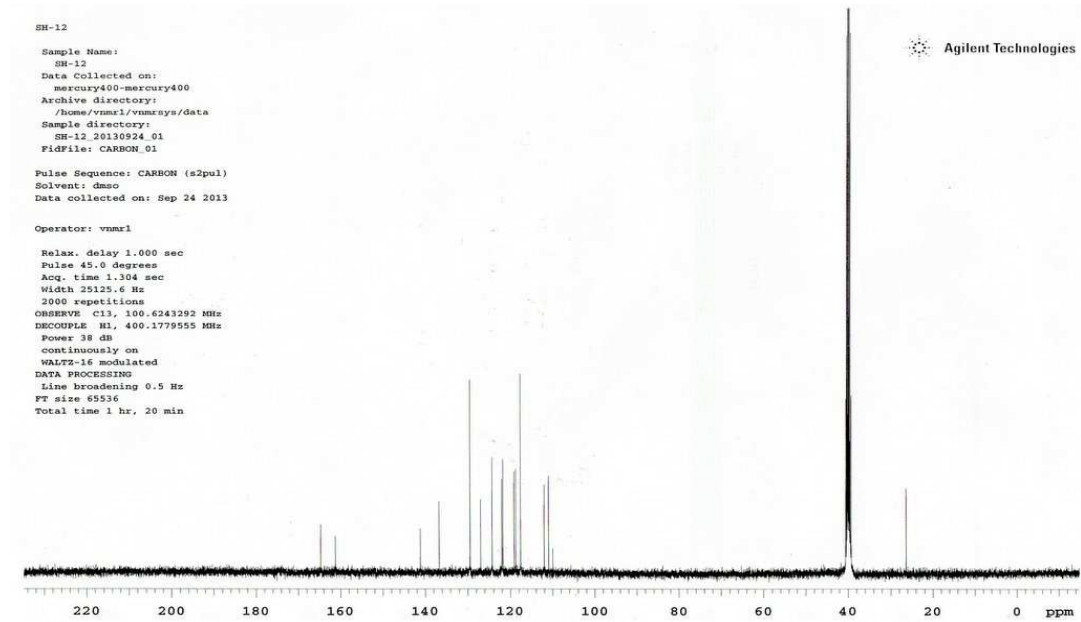
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

26.40; 110.00; 111.02; 112.05; 117.62; 118.78; 119.14; 121.75; 122.02; 124.30; 126.98; 129.47; 136.76; 141.18; 161.25; 164.71 (N-C-S).

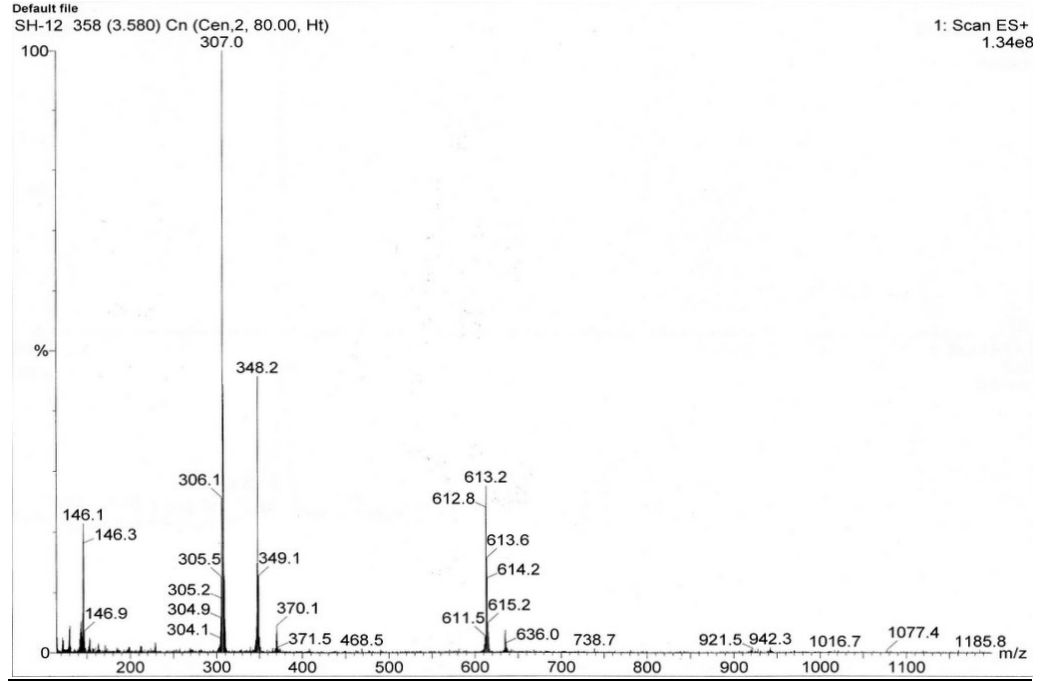
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 307 (M+H, %100), 348 (M+H+CH₃CN, %46).



Şekil 3.34 Bileşik 2d'nin ^1H -NMR spektrumu

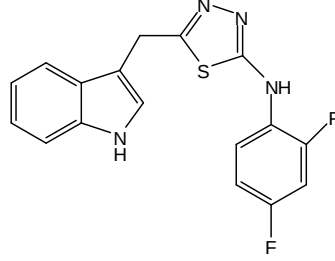


Şekil 3.35 Bileşik 2d'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.36 Bileşik 2d'nin kütle spektrumu

3.3.5. 5-((1H-İndol-3-il)metil)-2-(2,4-diflorofenil)amino-1,3,4-tiyadiazol (2e):



Yaklaşık (2-3 ml) konsantre (%98) sülfürik asit yuvarlak dipli bir balona eklenip üzerine 1 mmol 0.36 gr 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-(2,4-difloroFenil)-hidrazinkarbotiyo-amid ilave edilir ve B yöntemine göre reaksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %26 verimle 0.09 gr saf madde elde edilir. En 141 °C

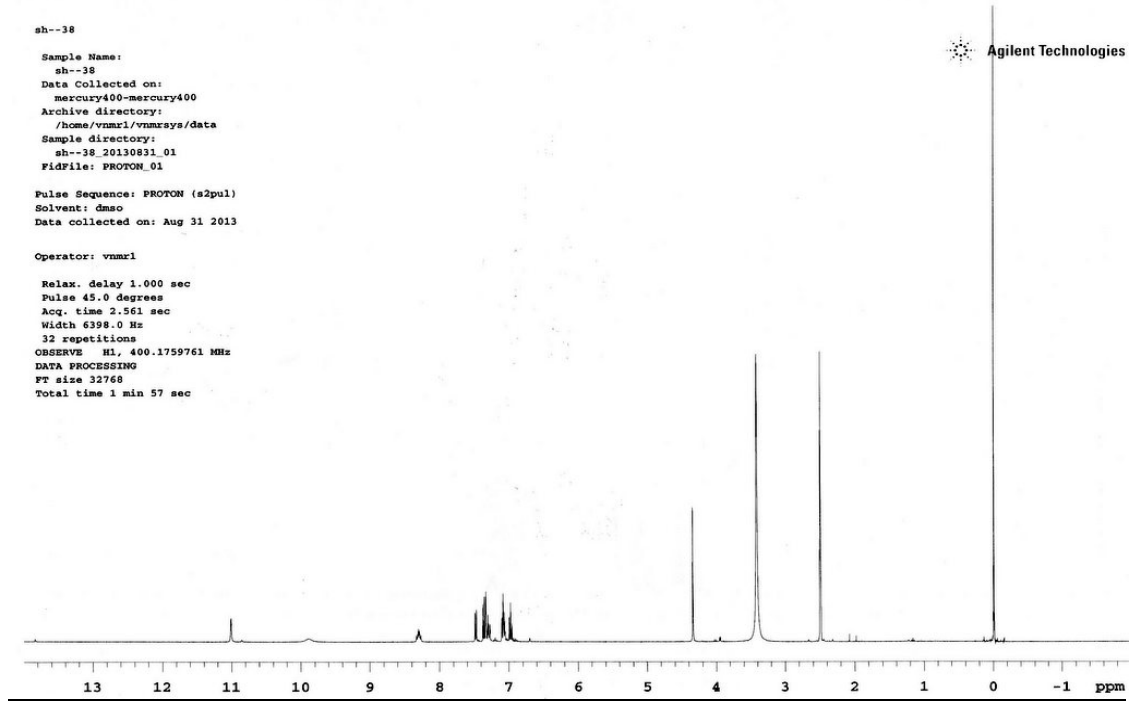
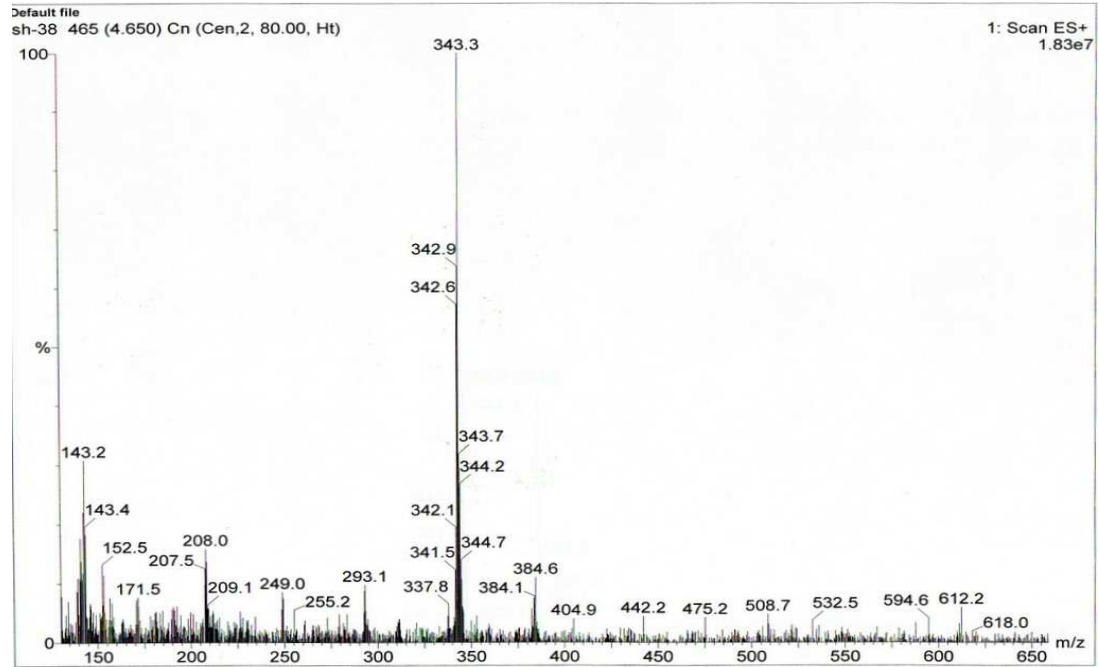
Elementel Analiz: C₁₇H₁₂ F₂N₄S•0,5H₂O

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	58.11	3.73	15.94
Analiz :	57.98	3.63	15.80

¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

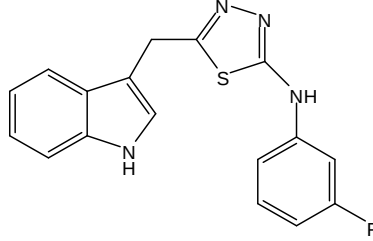
4.34 (s, 2H, Ar-CH₂); 6.70-8.33 (m, 8H, Ar-H); 9.89 (s, 1H, NH indol); 11.01 (s, 1H, NH).

Kütle Spektrumu m/z (ESI): 343 (M+H, %100), 384 (M+H+CH₃CN,%44).

Şekil 3.37 Bileşik 2e'nin ^1H -NMR spektrumu

Şekil 3.38 Bileşik 2e'nin kütle spektrumu

3.3.6. 5-((1H-İndol-3-il)metil)-2-(3-florofenil)amino-1,3,4-tiyadiazol (2f):



Yaklaşık (2-3 ml) konsantre (%98) sülfürik asit yuvarlak dipli bir balona eklenip üzerine 1 mmol 0.34 gr 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-(3-floroFenil)hidrazinkarbotiyoamid ilave edilir ve B yöntemine göre reaksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %22 verimle 0.07 gr saf madde elde edilir. En 183 °C

Elementel Analiz: C₁₇H₁₃FN₄S•0,5H₂O

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	61.24	4.23	16.81
Analiz :	61.16	4.07	16.69

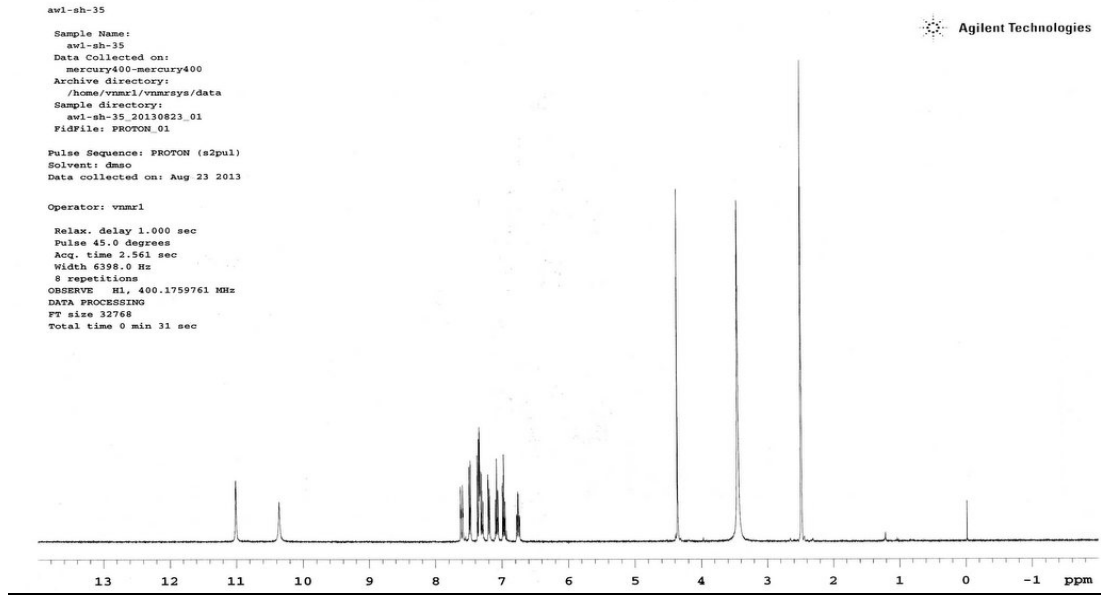
¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

4.36 (s, 2H, Ar-CH₂); 6.73-7.63 (m, 9H, Ar-H); 11.01 (s, 1H, NH indol); 10.36 (s, 1H, NH).

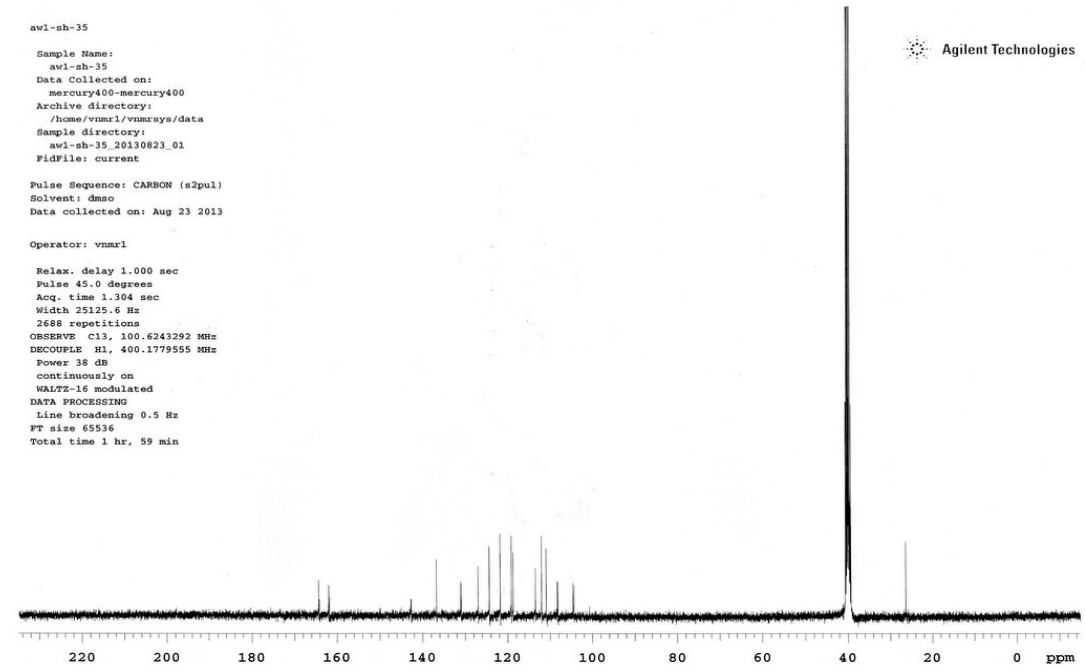
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

26.36; 104.38; 104.64; 108.28; 110.94; 112.06; 113.51; 118.76; 119.18; 121.77; 124.34; 126.97; 131.02; 136.77; 124.75; 161.88; 164.25(S-C-N).

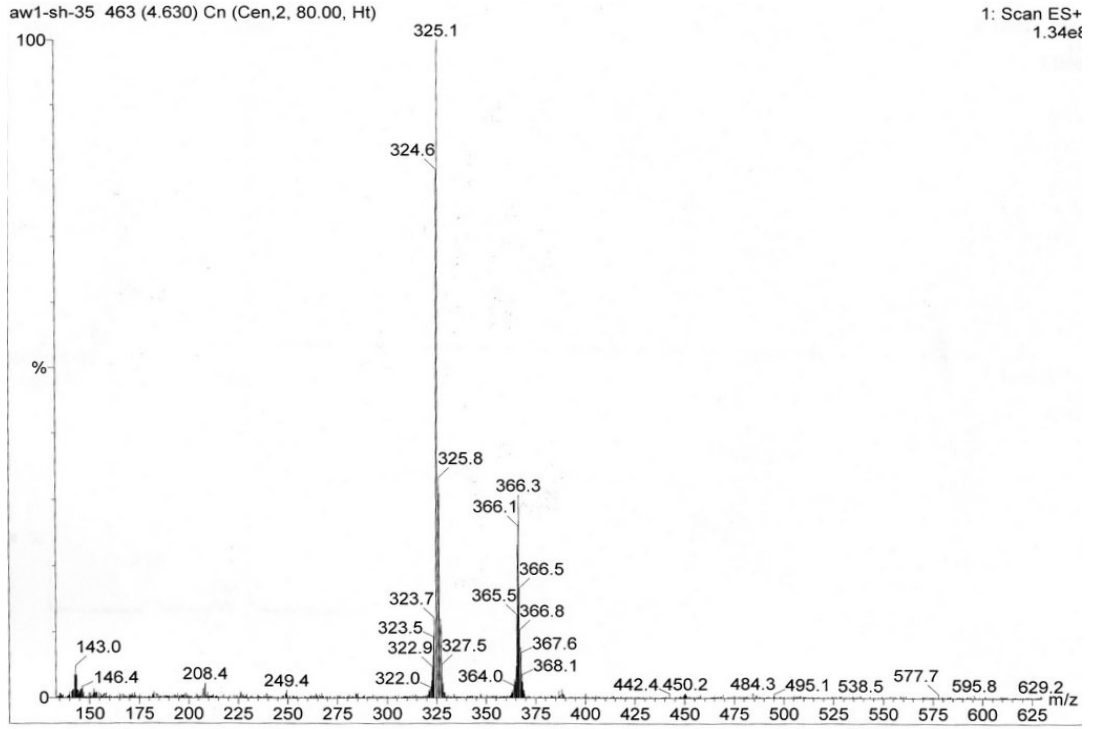
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 325 (M+H, %100), 366 (M+H+CH₃CN, %33).



Şekil 3.39 Bileşik 2f'nin ^1H -NMR spektrumu

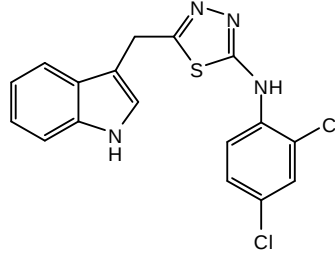


Şekil 3.40 Bileşik 2f'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.41 Bileşik 2f'nin kütle spektrumu

3.3.7. 5-((1H-İndol-3-il)metil)-2-(2,4-Diklorofenil)amino-1,3,4-tiyadiazol (2g):



Yaklaşık (2-3 ml) konsantre (%98) sülfürik asit yuvarlak dipli bir balona eklenip üzerine 1 mmol 0.39 gr 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-(2,4-dikloroFenil) hidrazinkarbotiyoamid ilave edilir ve B yöntemine göre raksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %50 verimle 0.19 gr saf madde elde edilir. En 112 °C

Elementel Analiz: $C_{17}H_{12}Cl_2N_4S \cdot 2,10H_2O$

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	49.43	3.95	13.56
Analiz :	49.03	3.54	14.03

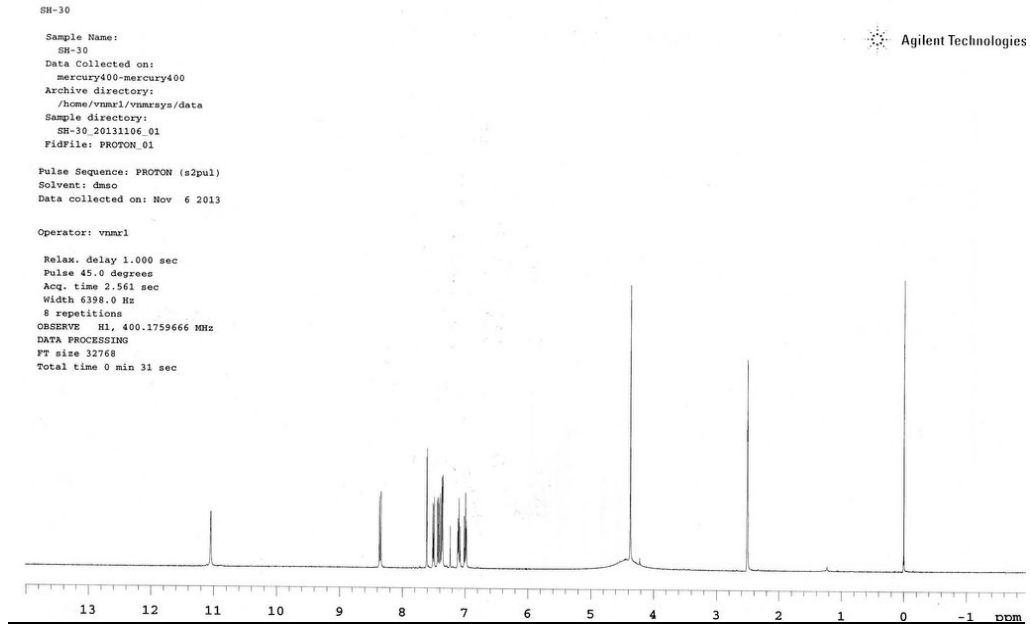
1H -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

4.35 (s, 2H, Ar-CH₂); 6.97 (m, 1H, H-5); 7.07 (m, 1H, H-6); 7.39 (d, 1H, H-7); 7.48 (d, 1H, H-4); 7.21-7.59 (m, 4H, Ar-H); 11.02 (s, 1H, NH indol); 8.33 (d, 1H, NH).

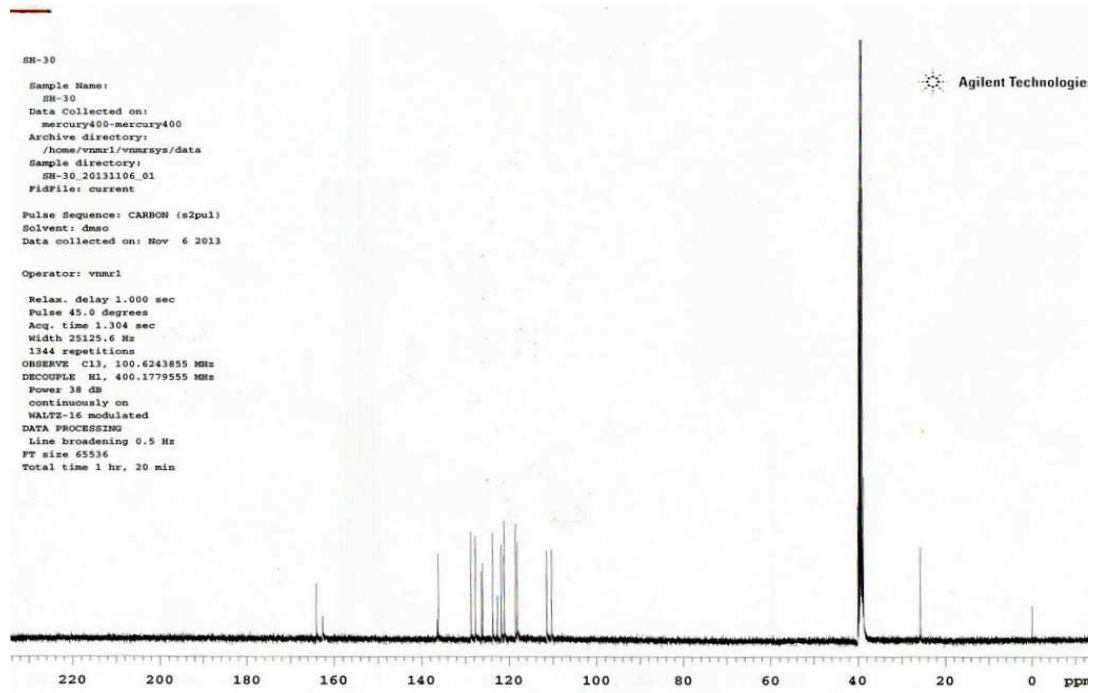
^{13}C -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

25.78; 110.38; 111.51; 118.22; 118.61; 121.21; 121.89; 122.74; 123.81; 126.08; 126.38; 127.74; 128.76; 136.21; 136.48; 162.66; 164.11 (S-C-N).

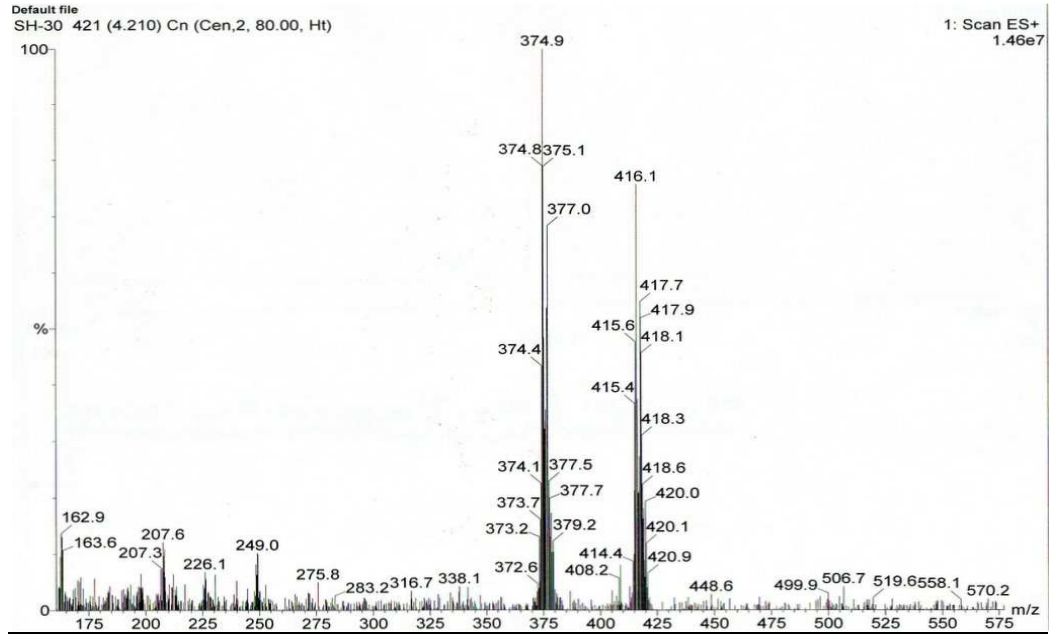
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 375 (M^+ , %100), 377 ($M+2$, %68), 379 ($M+4$, %13), 416 ($M^+ + CH_3CN$, %77).



Şekil 3.42 Bileşik 2g'nin ^1H -NMR spektrumu

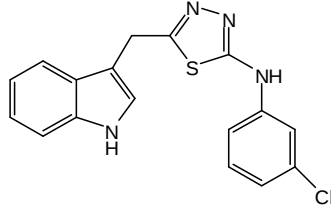


Şekil 3.43 Bileşik 2g'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.44 Bileşik 2g'nin kütle spektrumu

3.3.8. 5-((1H-İndol-3-il)metil)-2-(3-klorofenil)amino-1,3,4-tiyadiazol (2h):



Yaklaşık (2-3 ml) konsantre (%98) sülfürik asit yuvarlak dipli bir balona eklenip üzerine 1 mmol 0.36 gr 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-(3-kloroFenil) hidrazinkarbotiyoamid ilave edilir ve B yöntemine göre raksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %70 verimle 0.19 gr saf madde elde edilir. En 165-168 (Siddiqui ve ark. 2009). En 135 °C

Elementel Analiz: $C_{17}H_{13}ClN_4S \cdot 1,5H_2O$

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	55.51	4.38	15.23
Analiz :	55.22	4.09	15.34

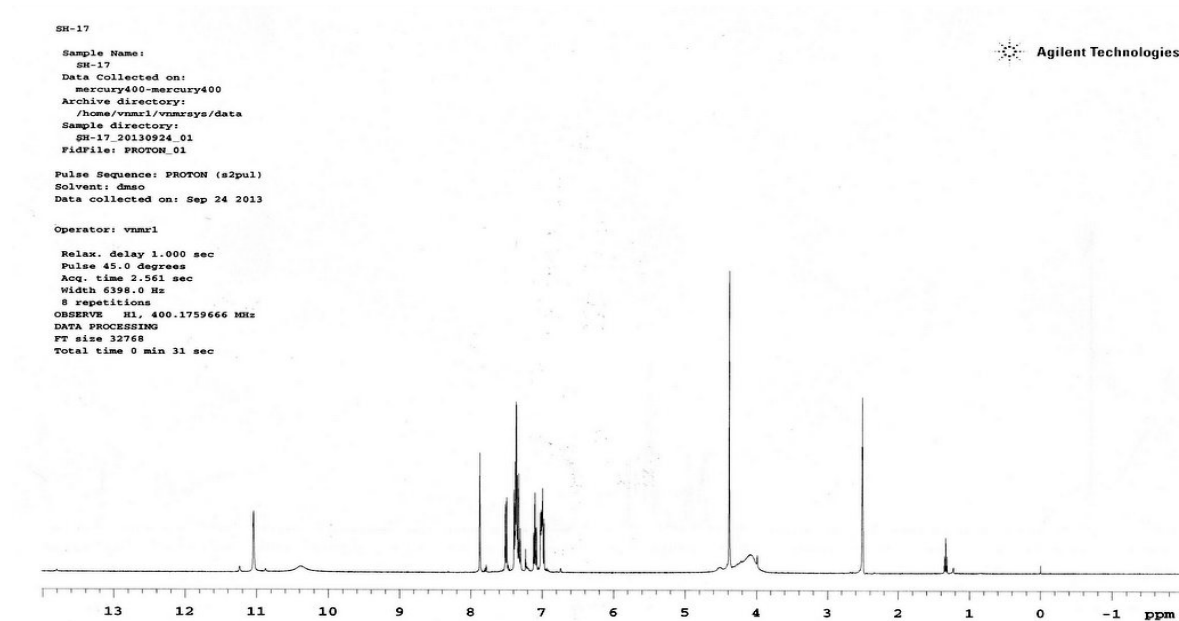
1H -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

4.38 (s, 2H, Ar-CH₂); 7.10 (m, 1H, H-6); 7.50 (d, 1H, H-4); 6.97-7.88 (m, 7H, Ar-H); 11.04 (s, 1H, NH indol); 10.39 (s, 1H, NH).

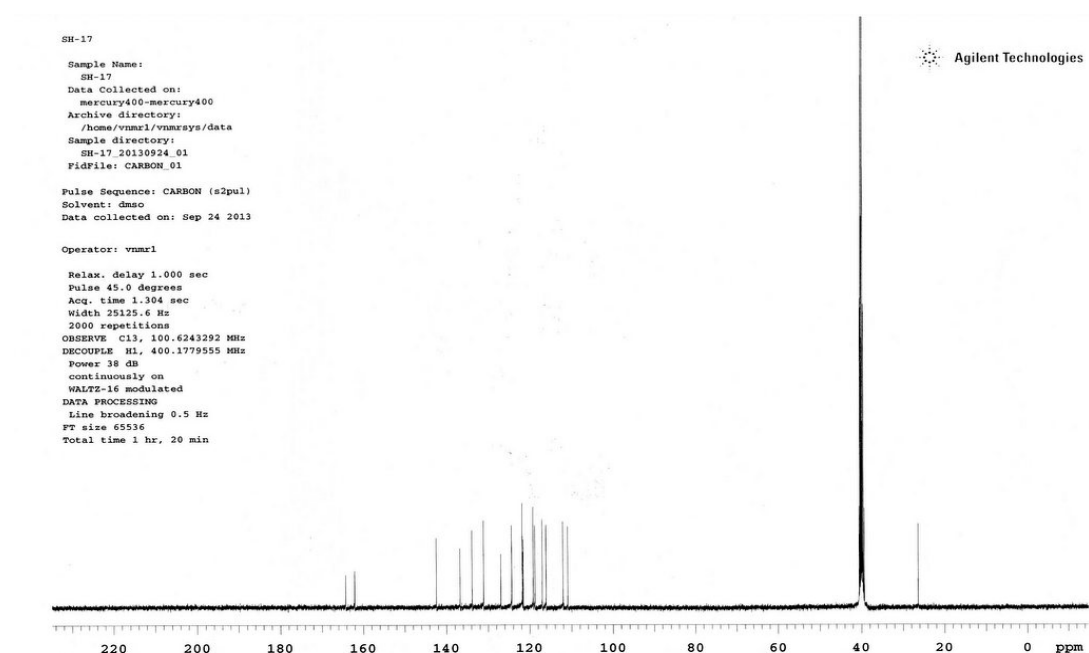
^{13}C -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

26.38; 110.92; 112.06; 116.07; 117.03; 118.76; 119.17; 121.56; 121.77; 124.35; 126.95; 131.07; 133.87; 136.77; 142.42; 162.10; 164.27 (S-C-N).

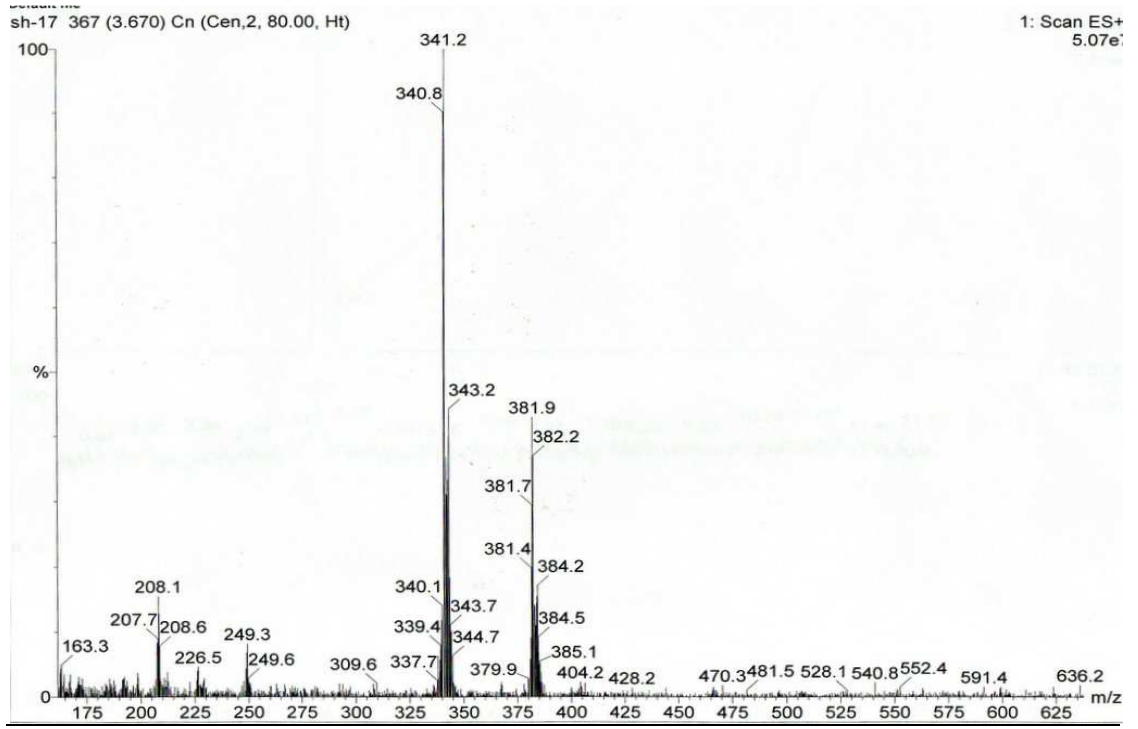
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 341.2 (M+H, %100), 343 (M+H+2, %45), 382.2 (M+H+CH₃CN, %38).



Şekil 3.45 Bileşik 2h'nin ^1H -NMR spektrumu



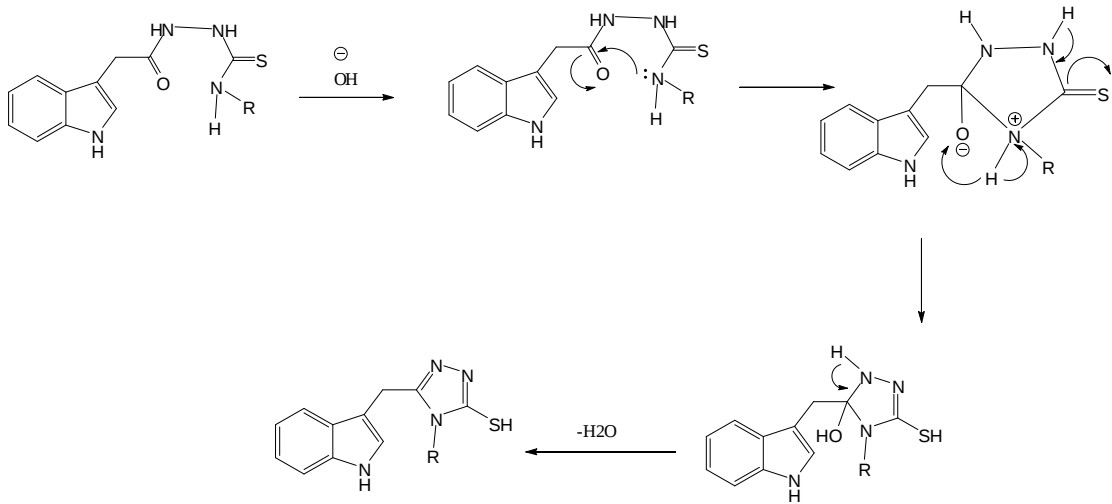
Şekil 3.46 Bileşik 2h'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.47 Bileşik 2h'ın kütle spektrumu

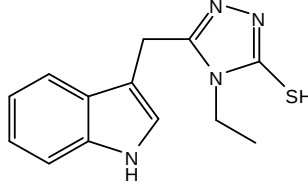
3.4. 5-((1H-indol-3-il) metil)-4-(süstitüe aril veya alkil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol türevlerinin genel sentezi (Yöntem C):

2 mmol 2-(1H-indol-3-il-asetil)-N-(Aril veya alkil)hidrazinkarbotiyoamid 25 ml 2N NaOH çözeltisi bir balona alınır ve 4-5 saat geriçeviren soğutucuda (80-90°C) karıştırılarak reaksiyona tabi tutulur. Reaksiyon bitiminde karışım 2N, HCl ile damla damla dikkatlice pH=7 oluncaya kadar nötralize edilir. Daha sonra karışım bir kaç dakika dinlendirilir ve elde edilen çökelek süzülüp distile su ile yıkanarak elde edilir. Son olarak da (80/20) etanol/su karışımından oluşan solvan sistemi ile rekrystalize edilerek saf madde elde edilir (Siddiqui ve ark. 2008). Raksiyom mekanizması Şekil 3.48’de verilmiştir.



Şekil 3.48 1,2,4-triazol halka sistemi siklizasyon mekanizması

3.4.1. 5-((1H-indol-3-il)metil)-4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol (3a):



2 mmol 0.55 gr 2-(2-(1H-indol-3-il)asetil)-N-etilhidrazinkarbotiyoamid 25 ml 2N NaOH çözeltisi ile bir balona alınır ve C yöntemine göre reaksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %91 verimle 0.50 gr saf madde elde edilir. En 191.5 °C

Elementel Analiz: $C_{13}H_{14}N_4S \cdot 0,70H_2O$

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	57.63	5.73	20.68
Analiz :	57.93	5.96	20.51

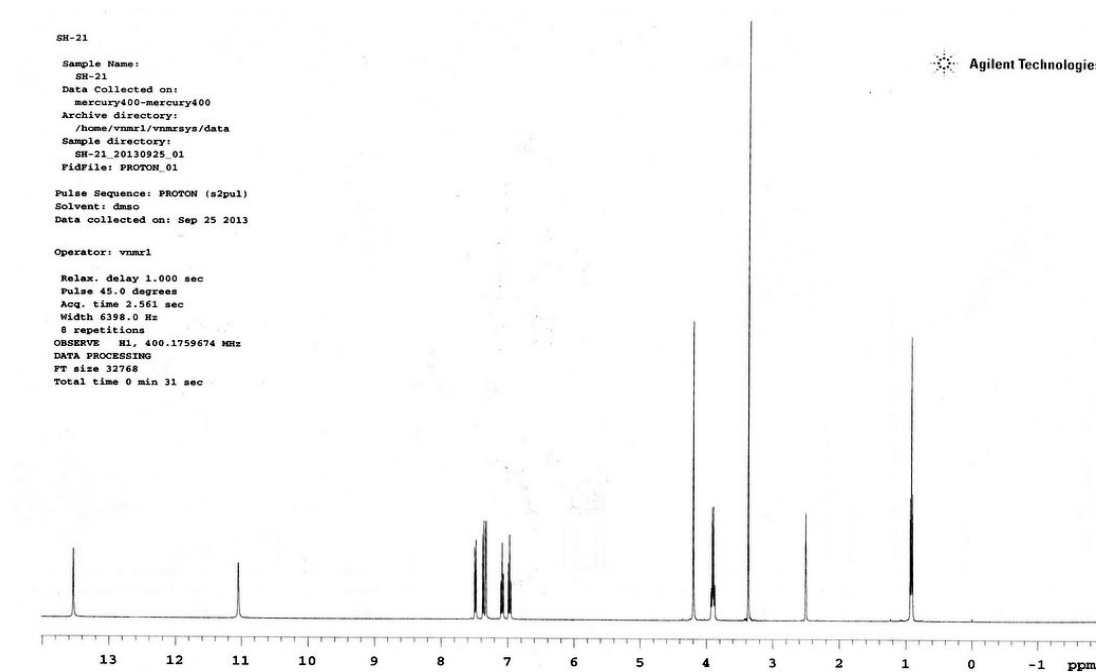
1H -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

0.92 (t, 3H, CH_3); 3.90 (q, 2H, CH_2); 4.20 (s, 2H, Ar- CH_2); 6.98 (m, 1H, H-5); 7.09 (m, 1H, H-6); 7.33 (d, 1H, H-2); 7.37 (d, 1H, H-7); 7.49 (d, 1H, H-4); 11.05 (s, 1H, NH indol); 13.54 (s, 1H, SH).

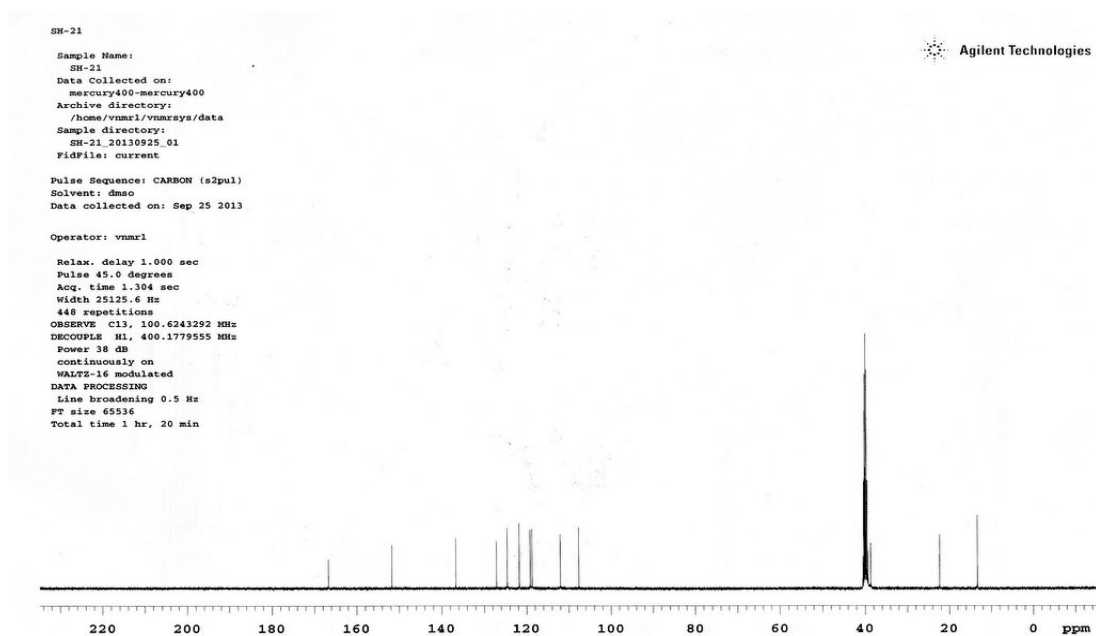
^{13}C -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

13.31; 22.34; 38.72; 107.70; 112.057; 118.73; 119.16; 121.76; 124.61; 127.14; 136.70; 151.70; 166.67(N-C-S).

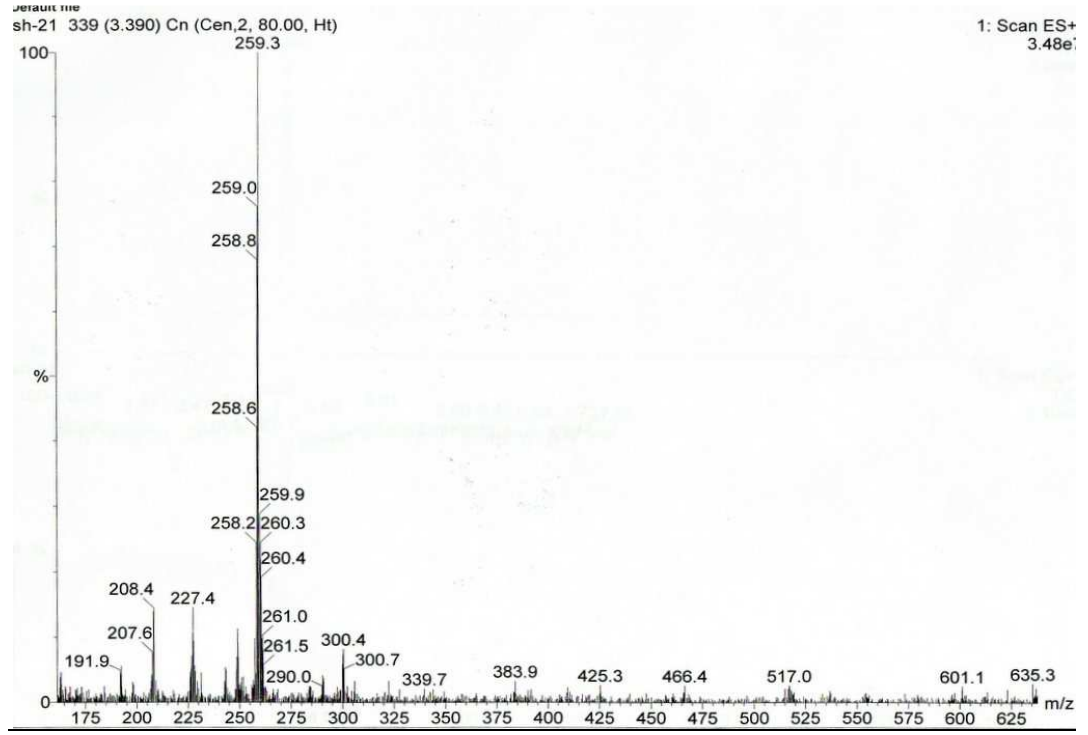
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 259 ($M+H$, %100), 300 ($M+H+CH_3CN$, %8).



Şekil 3.49 Bileşik 3a'nın ^1H -NMR spektrumu

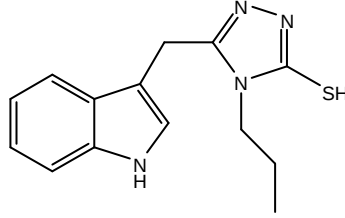


Şekil 3.50 Bileşik 3a'nın ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.51 Bileşik 3a'nın kütle spektrumu

3.4.2. 5-((1H-indol-3-il)metil)-4-propil-4H-1,2,4-tiyadiazol-3-tiyol (3b):



2 mmol 0.58 gr 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-propilhidrazinkarbotiyoamid 25 ml 2N NaOH çözeltisi ile bir balona alınır ve C yöntemine göre reaksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %76 verimle 0.41 gr saf madde elde edilir. En 151.5 °C

Elementel Analiz: $C_{14}H_{16}N_4S \cdot 0,25H_2O$

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	60.73	6.01	20.23
Analiz :	60.25	5.79	19.77

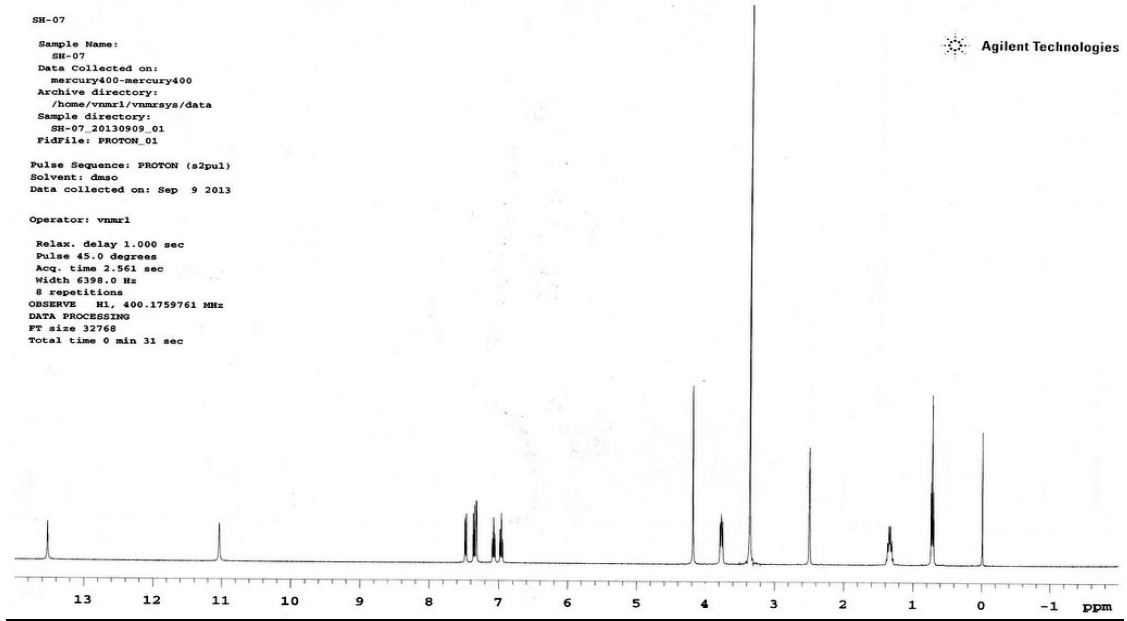
1H -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

0.73 (t, 3H, CH_3); 1.35 (m, 2H, CH_2); 3.78 (t, 2H, $NH-CH_2$); 4.19 (s, 2H, $Ar-CH_2$); 6.98 (t, 1H, H-5); 7.09 (t, 1H, H-5); 7.33 (d, 1H, H-2); 7.37 (d, 1H, H-4); 11.047 (s, 1H, NH indol); 13.54 (s, 1H, SH).

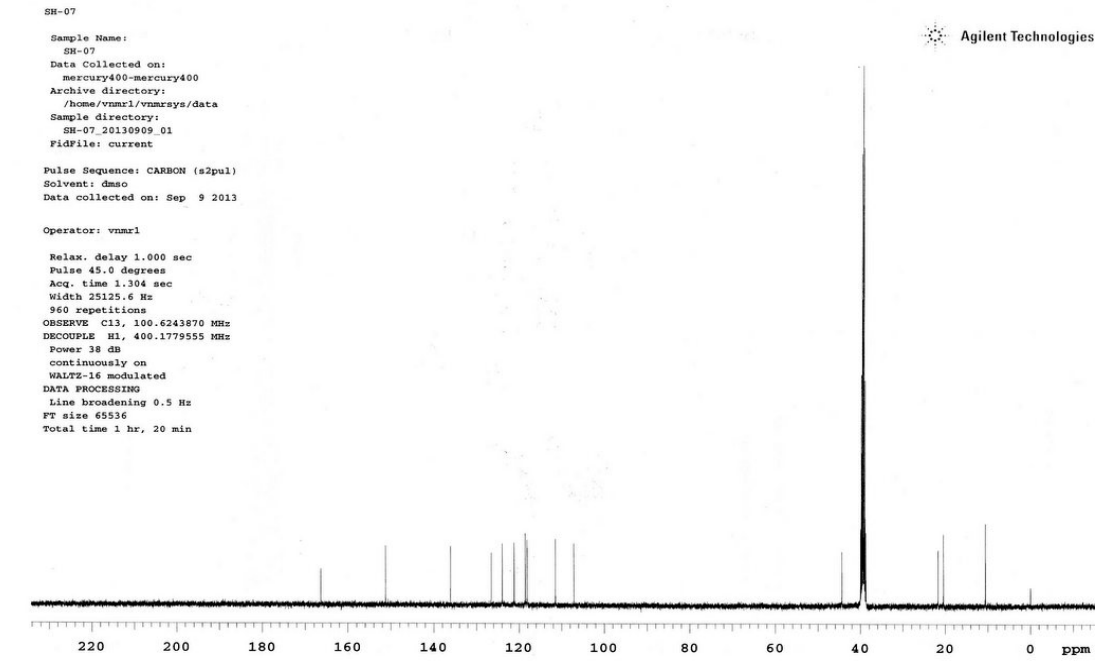
^{13}C -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

10.59; 20.51; 21.77; 44.42 (N-C); 107.12; 111.50; 118.14; 118.58; 121.20; 124.00; 126.57; 136.13; 151.27; 166.40 (N-C-S).

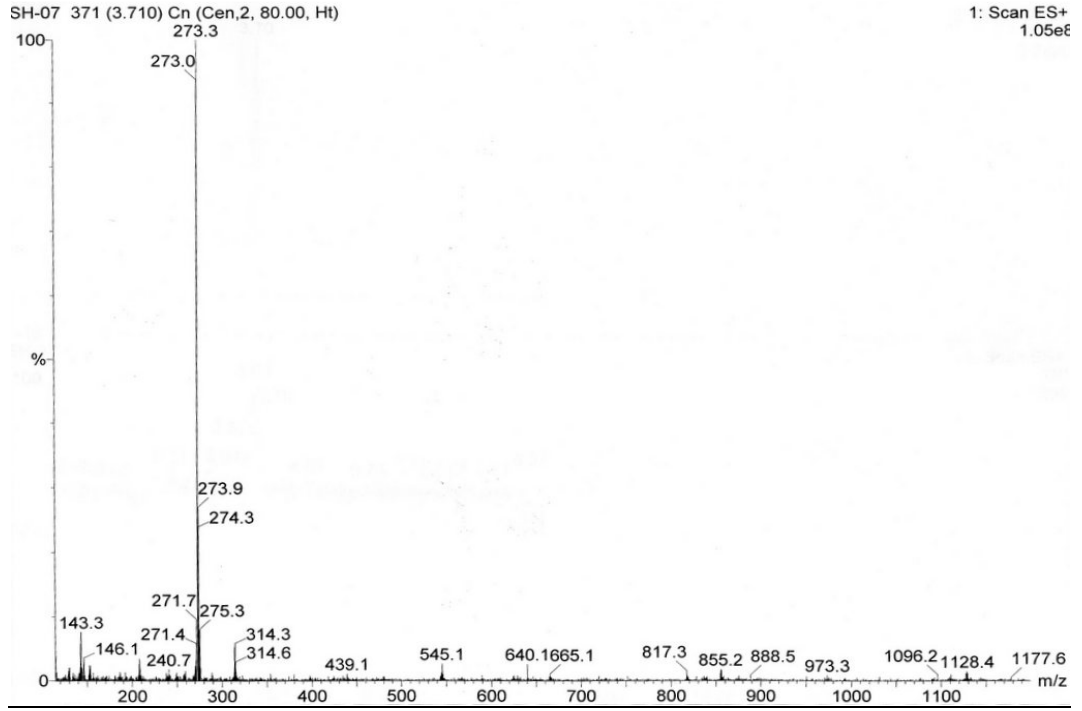
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 273 ($M+H$, %100).



Şekil 3.52 Bileşik 3b'nin ^1H -NMR spektrumu

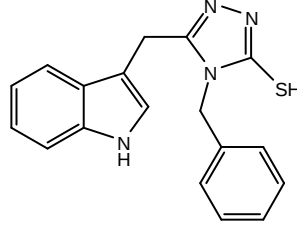


Şekil 3.53 Bileşik 3b'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.54 Bileşik 3b'nin kütle spektrumu

3.4.3. 5-((1H-indol-3-il)metil)-4-benzil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol (3c):



2 mmol 0.68 gr 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-benzilhidrazinkarbotiyoamid 25 ml 2N NaOH çözeltisi ile bir balona alınır ve C yöntemine göre reaksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %73 verimle 0.50 gr saf madde elde edilir. En 138-141 °C (Siddiqui ve ark. 2008) En 192 °C

Elementel Analiz: $C_{18}H_{16}N_4S \cdot 0,25H_2O$

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	66.54	5.12	17.24
Analiz :	66.12	5.04	16.93

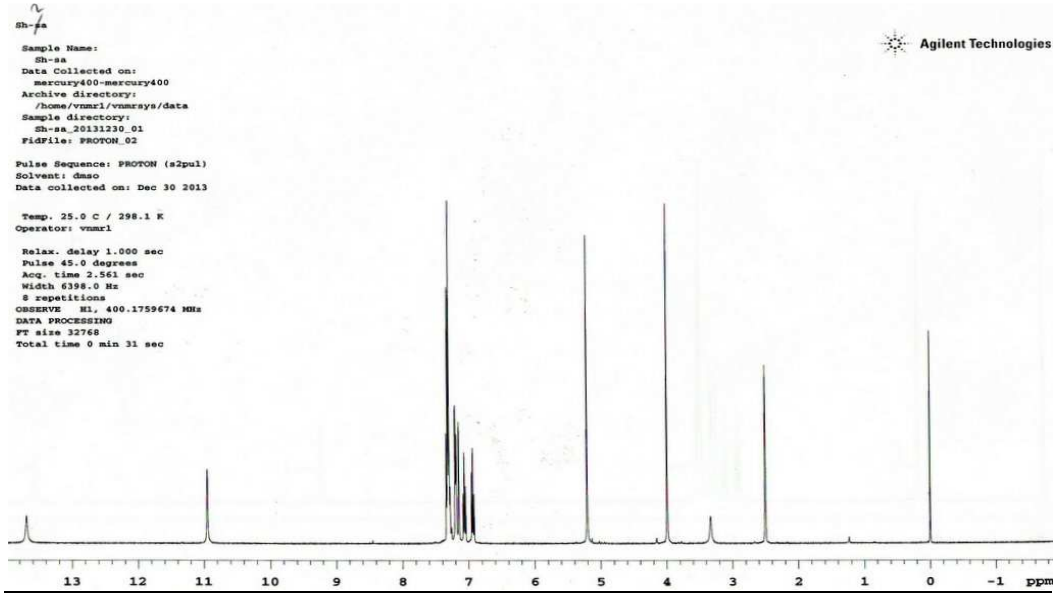
1H -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

3.99 (s, 2H, indol-CH₂); 5.20 (s, 2H, Fenil-CH₂); 6.94 (t, 1H, H-5); 7.06 (t, 1H, H-6); 7.15 (d, 1H, H-2); 7.19-7.34 (m, 7H, Ar-H); 10.95 (s, 1H, NH-indol); 13.70 (s, 1H, SH).

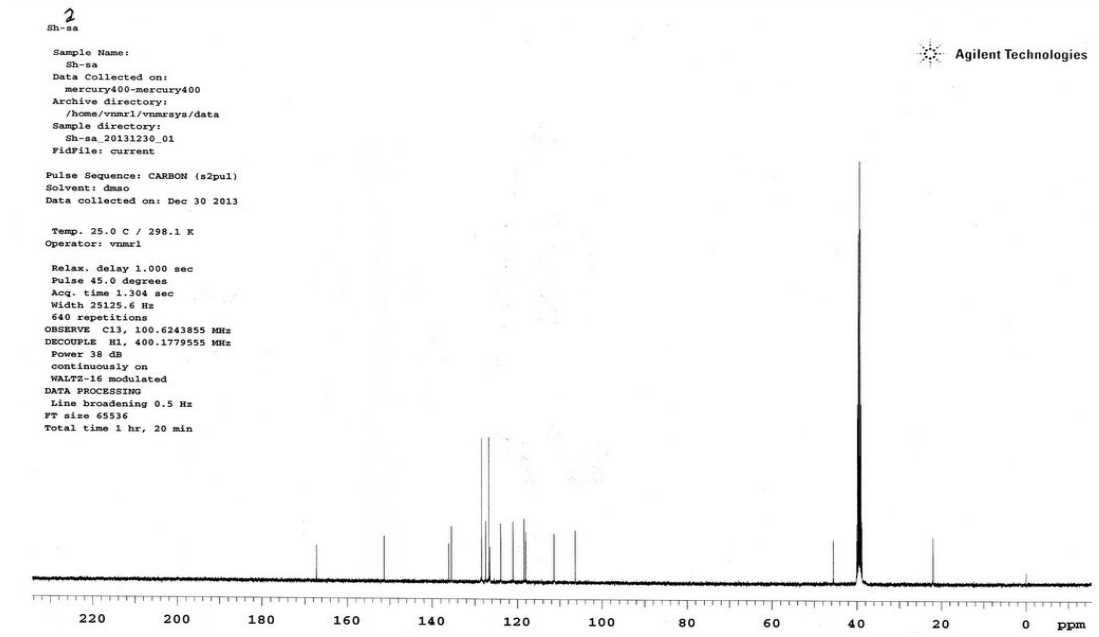
^{13}C -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

21.99; 45.54 (NH-C); 106.39; 111.41; 118.07; 118.48; 121.11; 123.99; 126.49; 126.75; 127.50; 128.45; 135.52; 136.13; 151.39; 167.28 (S-C-N).

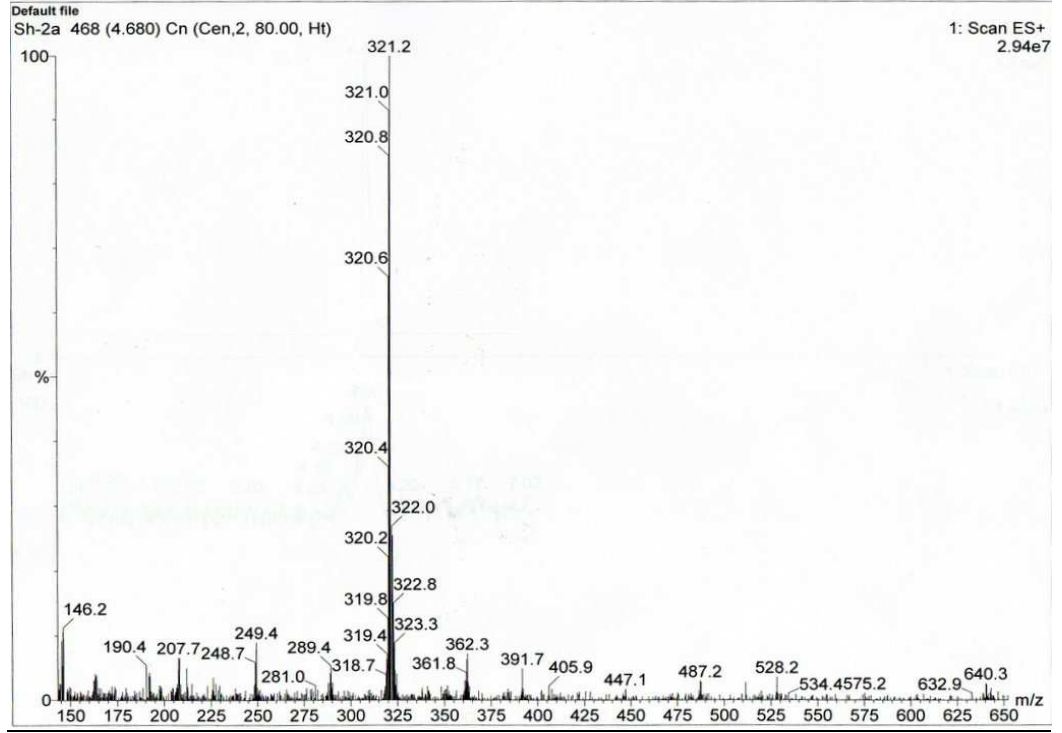
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 321 (M+H, %100).



Şekil 3.55 Bileşik 3c'nin ^1H -NMR spektrumu

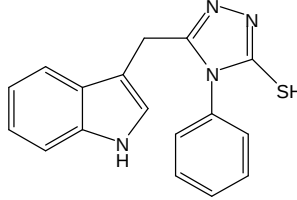


Şekil 3.56 Bileşik 3c'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.57 Bileşik 3c'nin kütle spektrumu

3.4.4. 5-((1H-indol-3-il)metil)-4-Fenil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol (3d):



2 mmol 0.65 gr 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-fenilhidrazinkarbotiyoamid 25 ml 2N NaOH çözeltisi ile bir balona alınır ve C yöntemine göre reaksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %82 verimle 0.53 gr saf madde elde edilir. En 138-141 °C (Siddiqui ve ark. 2008). En 263.5 °C

Elementel Analiz: $C_{17}H_{14}N_4S \cdot 0,10H_2O$

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	66.25	4.64	18.18
Analiz :	66.03	4.59	17.85

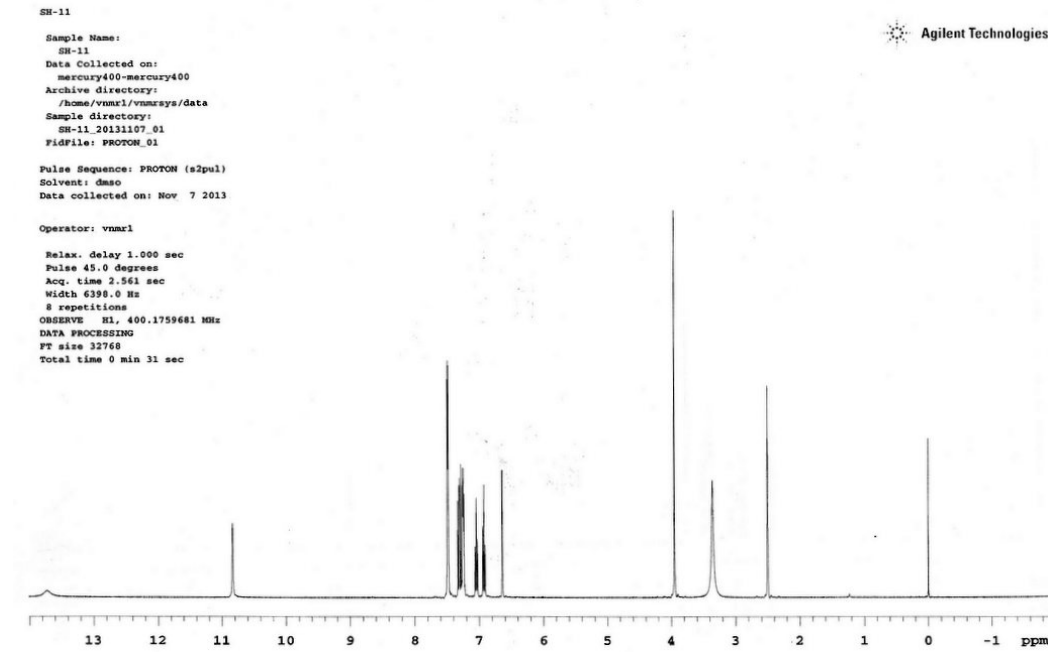
1H -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

3.95 (s, 2H, Ar-CH₂); 6.93 (m, 1H, H-5); 7.05 (m, 1H, H-6); 7.31 (d, 1H, H-2); 6.64-7.49 (m, 7H, Ar-H); 10.84 (s, 1H, NH indol); 13.737 (s, 1H, SH).

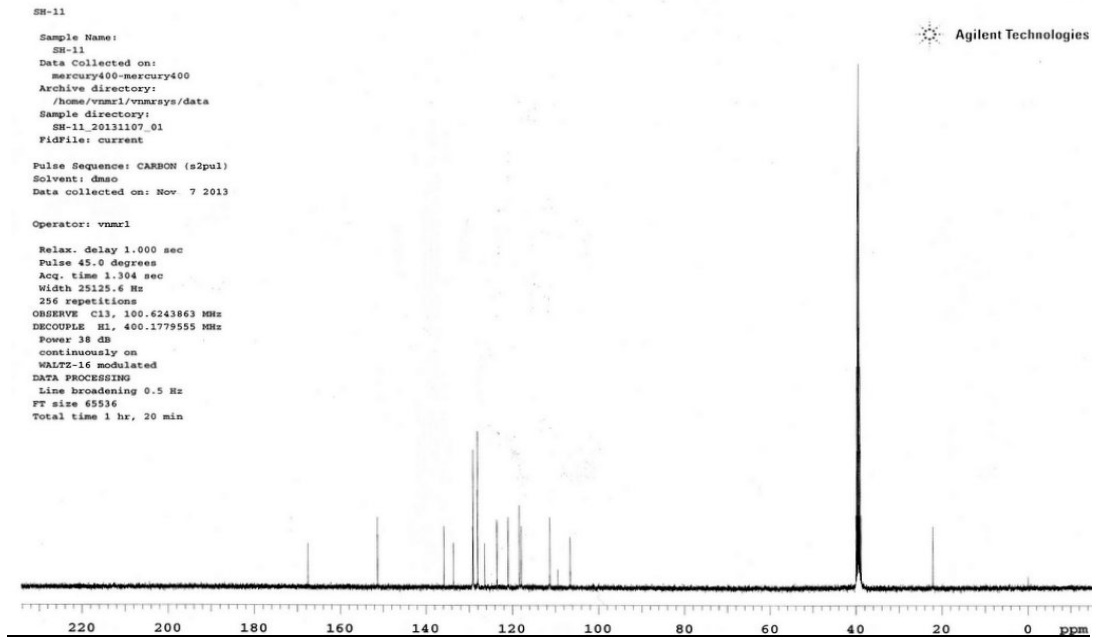
^{13}C -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

22.09; 106.57; 109.43; 111.31; 117.97; 118.41; 121.00; 123.58; 126.41; 128.06; 129.06; 129.17; 133.80; 135.95; 151.18; 167.58 (N-C-S).

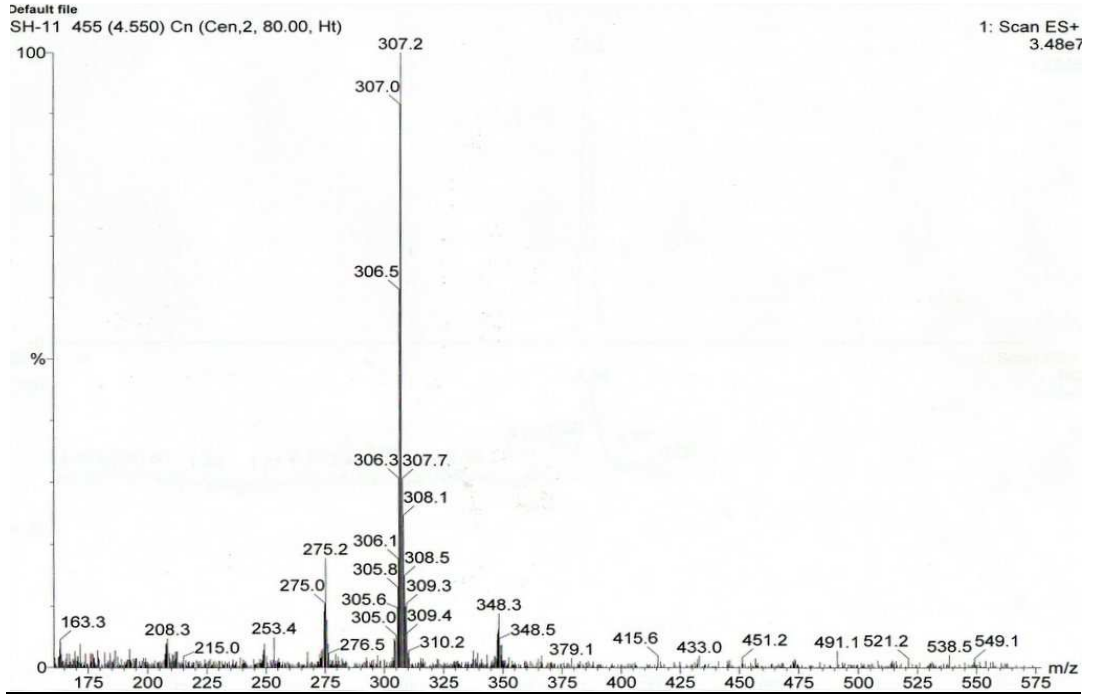
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 307 (M+H, %100).



Şekil 3.58 Bileşik 3d'nin ^1H -NMR spektrumu

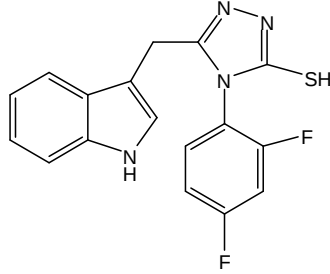


Şekil 3.59 Bileşik 3d'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.60 Bileşik 3d'nin kütle spektrumu

3.4.5. 5-((1H-indol-3-il)metil)-4-(2,4-diflorofenil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol (3e):



2 mmol 0.72 gr 2-(2-(1H-indol-3-il)asetil)-N-(2,4-diflorofenil)hidrazinkarbotiyoamid 25 ml 2N NaOH çözeltisi ile bir balona alınır ve C yöntemine göre reaksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %85 verimle 0.58 gr saf madde elde edilir. En 242.5 °C

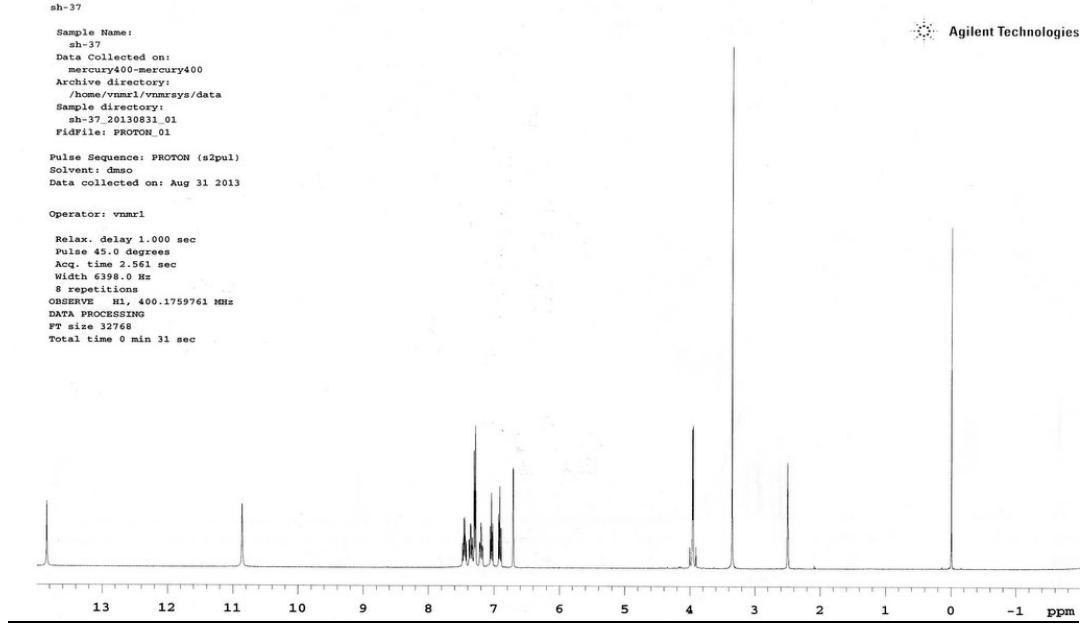
Elementel Analiz: C₁₇H₁₂ F₂N₄S

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	59.63	3.53	16.36
Analiz :	59.50	3.77	16.21

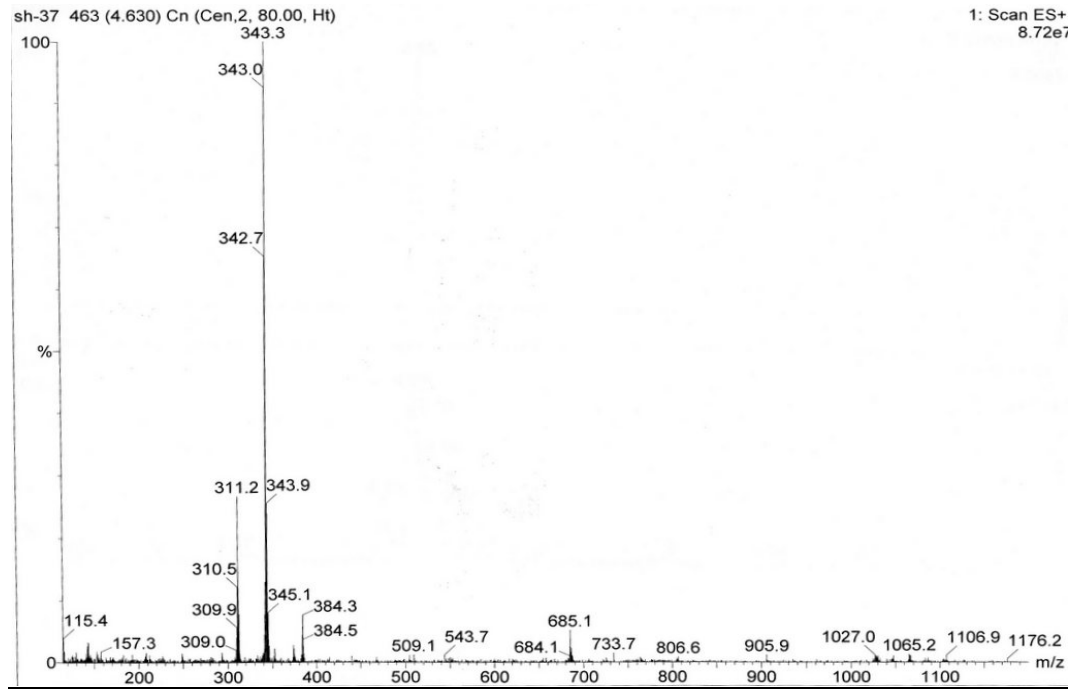
¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

3.96 (q, 2H, Ar-CH₂); 6.70-7.48 (m, 8H, Ar-H); 10.86 (s, 1H, NH indol); 13.85 (s, 1H, SH).

Kütle Spektrumu m/z (ESI): 343 (M+H, %100).

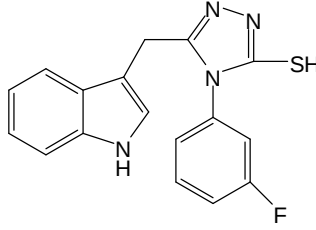


Şekil 3.61 Bileşik 3e'nin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.62 Bileşik 3e'nin kütle spektrumu

3.4.6. 5-((1H-indol-3-il)metil)-4-(3-florofenil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol (3f):



2 mmol 0.68 gr 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-(3-florofenil)hidrazinkarbotiyoamid 25 ml 2N NaOH çözeltisi ile bir balona alınır ve C yöntemine göre reaksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %94 verimle 0.61 gr saf madde elde edilir. En 134 °C

Elementel Analiz: C₁₇H₁₃FN₄S•2,40H₂O

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	55.54	4.88	15.24
Analiz :	55.03	3.96	15.04

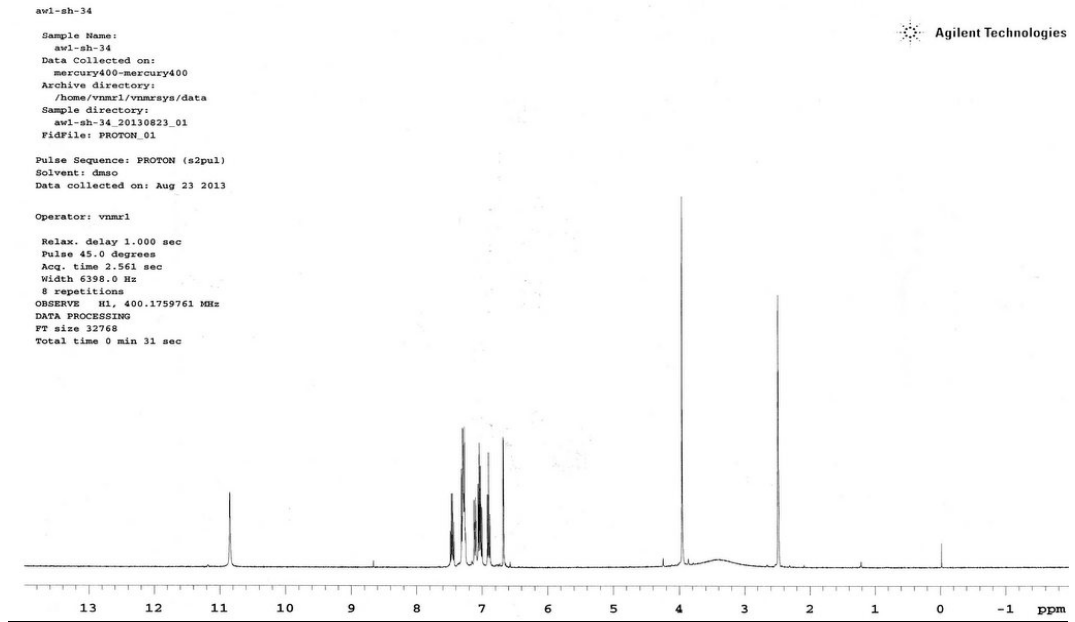
¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

3.96 (s, 2H, Ar-CH₂); 6.67-7.49 (m, 9H, Ar-H); 10.85 (s, 1H, NH indol); Bu pik görünmemiştir(s, 1H, SH).

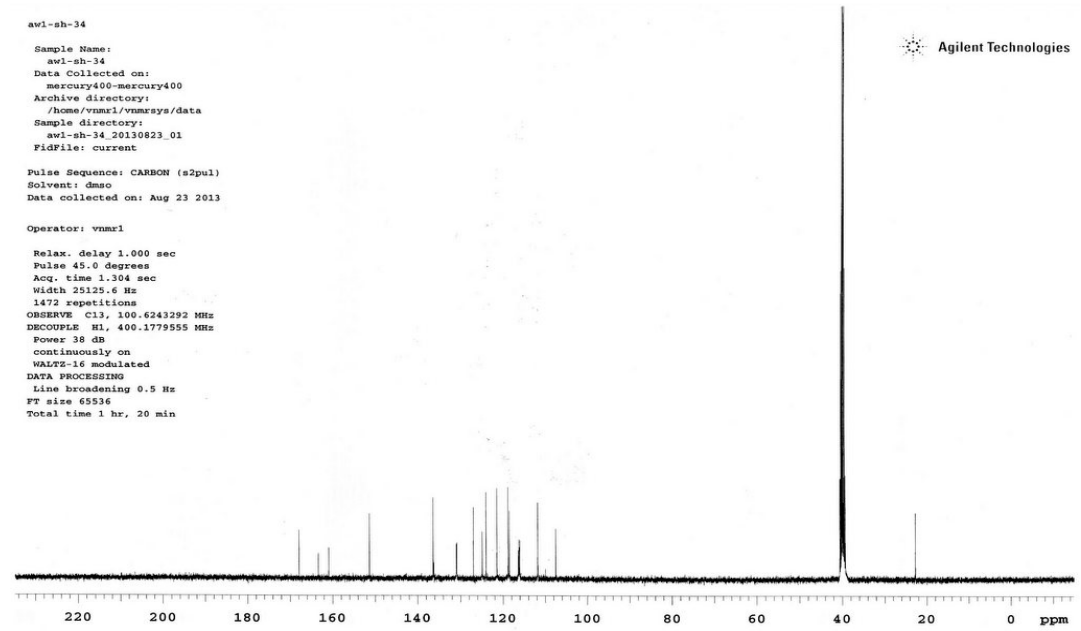
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

22.76; 107.56; 111.84; 116.08; 116.24; 116.32; 116.45; 118.58; 118.89; 121.51; 124.07; 124.98; 127.04; 130.92; 131.02; 136.28; 136.43; 151.38; 160.98; 163.41; 167.94 (N-C-S).

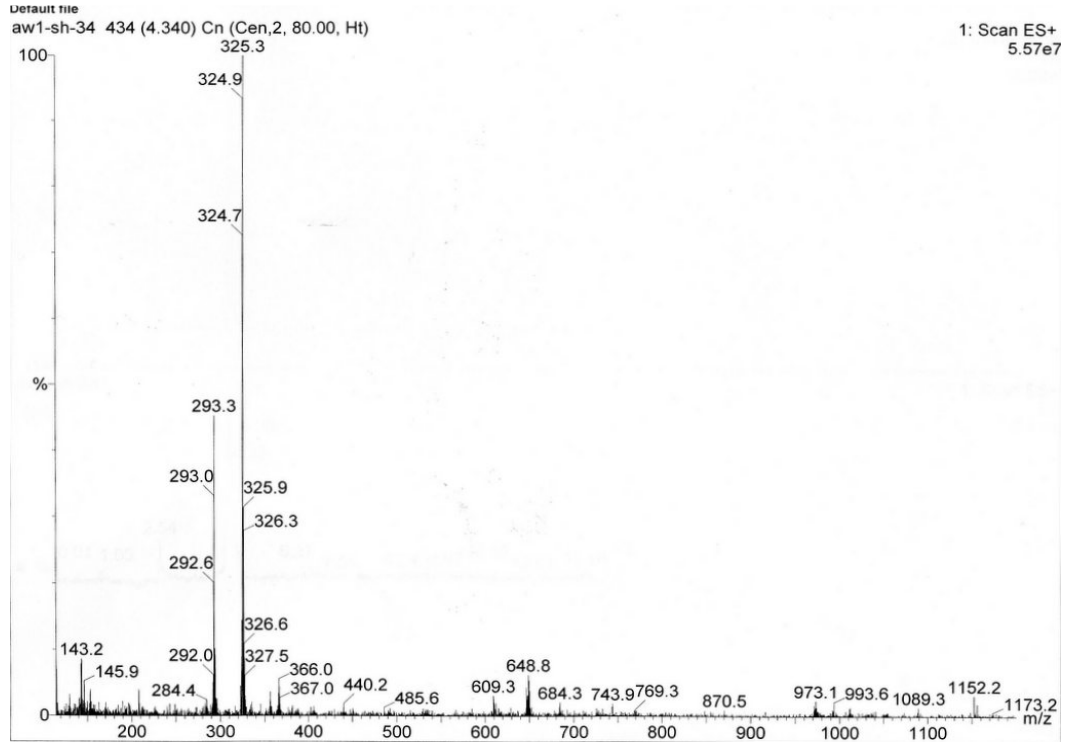
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 325 (M+H, %100).



Şekil 3.63 Bileşik 3f'nin ^1H -NMR spektrumu

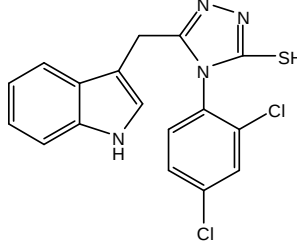


Şekil 3.64 Bileşik 3f'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.65 Bileşik 3f'nin kütle spektrumu

3.4.7. 5-((1H-indol-3-il)metil)-4-(2,4-diklorofenil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol (3g):



2 mmol 0.79 gr 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-(2,4-diklorofenil)hidrazinkarbotiyoamid 25 ml 2N NaOH çözeltisi ile bir balona alınır ve C yöntemine göre reaksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %89 verimle 0.67 gr saf madde elde edilir. En 254.5 °C

Elementel Analiz: $C_{17}H_{12}Cl_2N_4S \cdot 0,25H_2O$

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	53.76	3.32	14.75
Analiz :	53.57	3.29	14.69

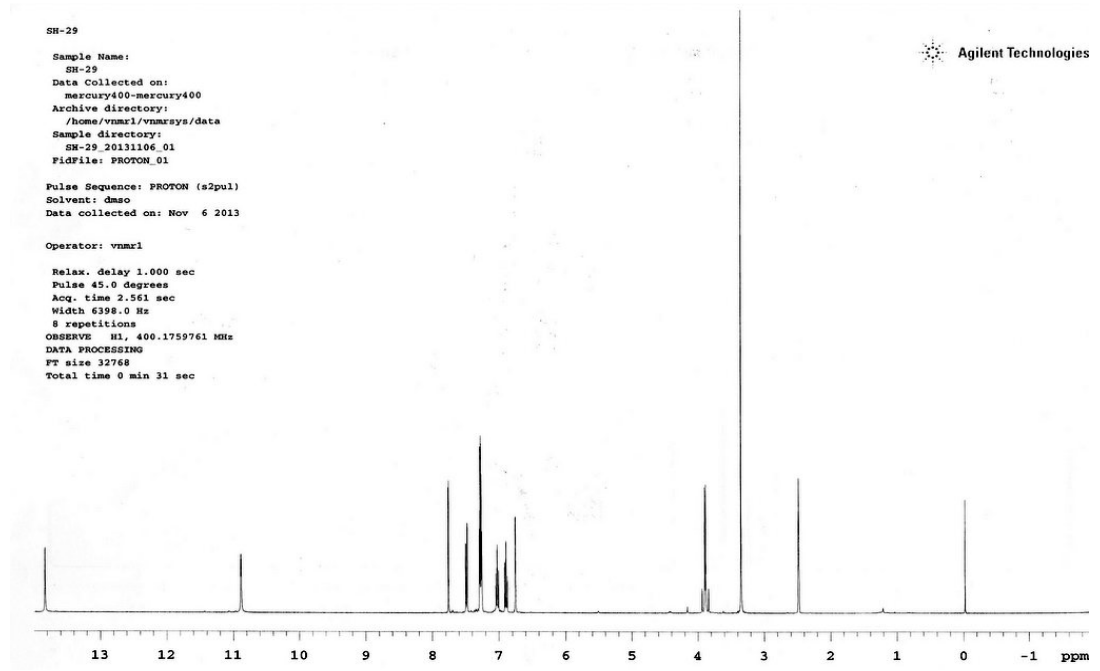
1H -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

3.91 (q, 2H, Ar-CH₂); 6.92 (q, 1H, H-5); 7.05 (q, 1H, H-6); 7.497 (d, 1H, H-7); 7.52 (d, 1H, H-4); 6.77-7.78 (m, 4H, Ar-H); 10.91 (s, 1H, NH indol); 13.86 (s, 1H, SH).

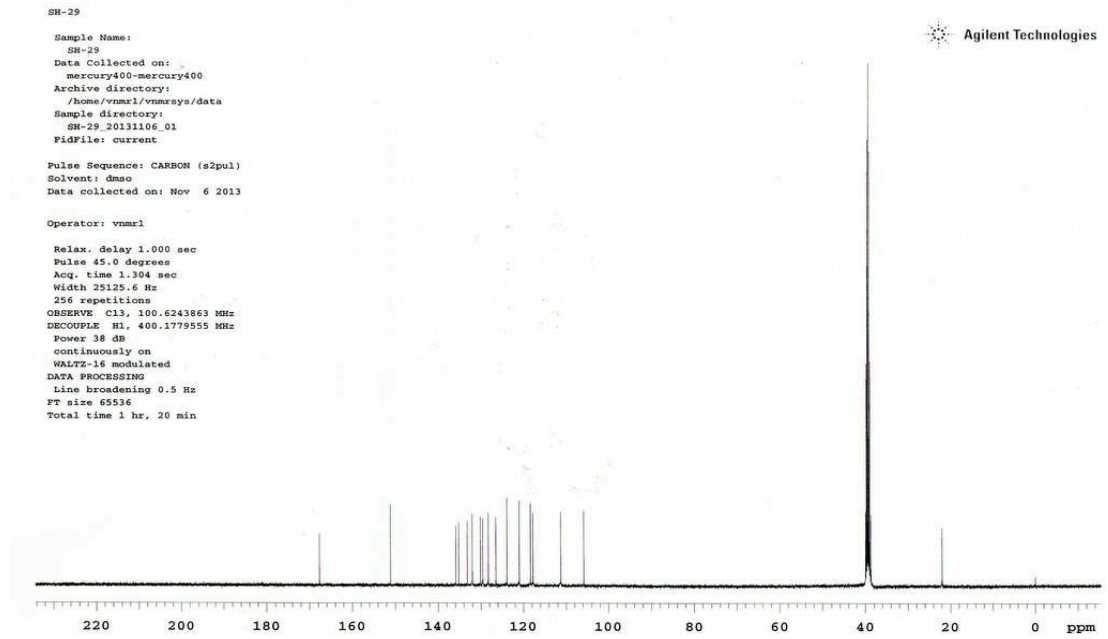
^{13}C -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

22.01; 105.87; 111.30; 117.80; 118.39; 120.99; 123.90; 126.52; 128.28; 129.60; 130.13; 132.05; 133.22; 135.23; 135.91; 151.11; 167.735 (N-C-S).

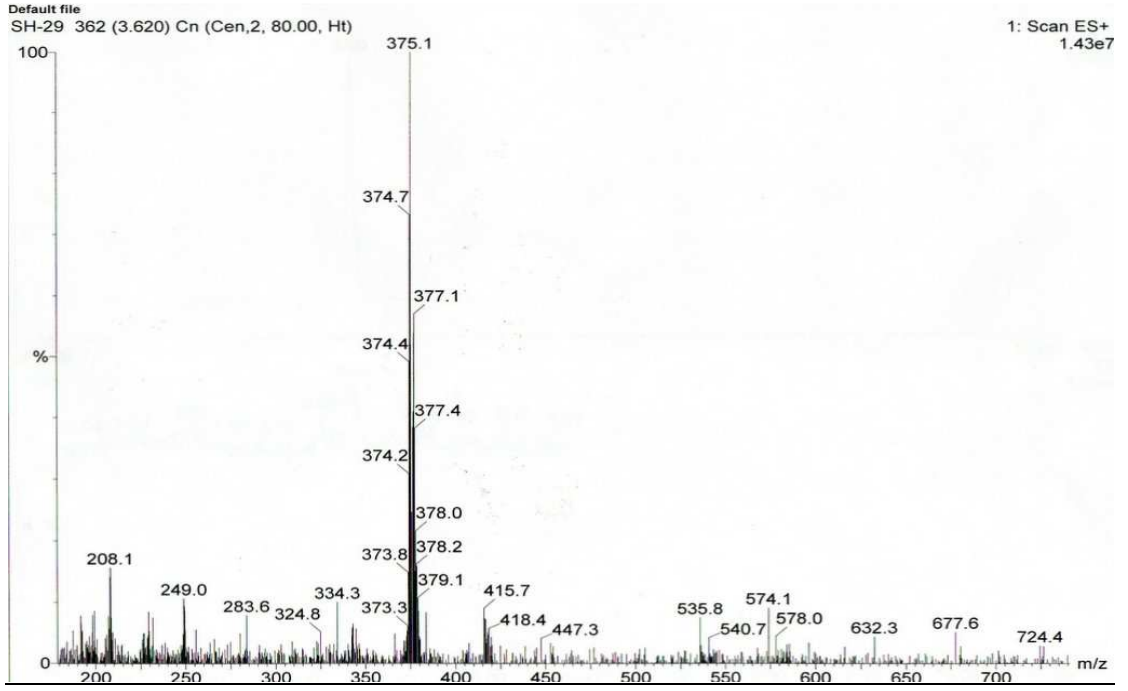
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 375 (M^+ , %100), 377 ($M+2$, %58), 379 ($M+4$, %13), 426 ($M+CH_3CN$, %11).



Şekil 3.66 Bileşik 3g'nin ^1H -NMR spektrumu

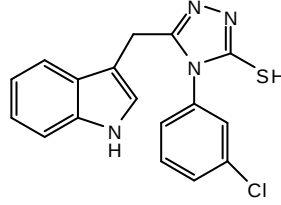


Şekil 3.67 Bileşik 3g'nin ^{13}C -NMR spektrum



Şekil 3.68 Bileşik 3g'nin kütle spektrumu

3.4.8. 5-((1H-indol-3-il)metil)-4-(3-klorofenil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol (3h):



2 mmol 0.72 gr 2-(2-(1H-İndol-3-il)asetil)-N-(3-klorofenil)hidrazinkarbotiyoamid 25 ml 2N NaOH çözeltisi ile bir balona alınır ve C yöntemine göre reaksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %83 verimle 0.57 gr saf madde elde edilir. En 140 °C

Elementel Analiz: $C_{17}H_{13}ClN_4S \cdot 0.5H_2O$

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	58.36	4.03	16.01
Analiz :	58.54	4.01	15.70

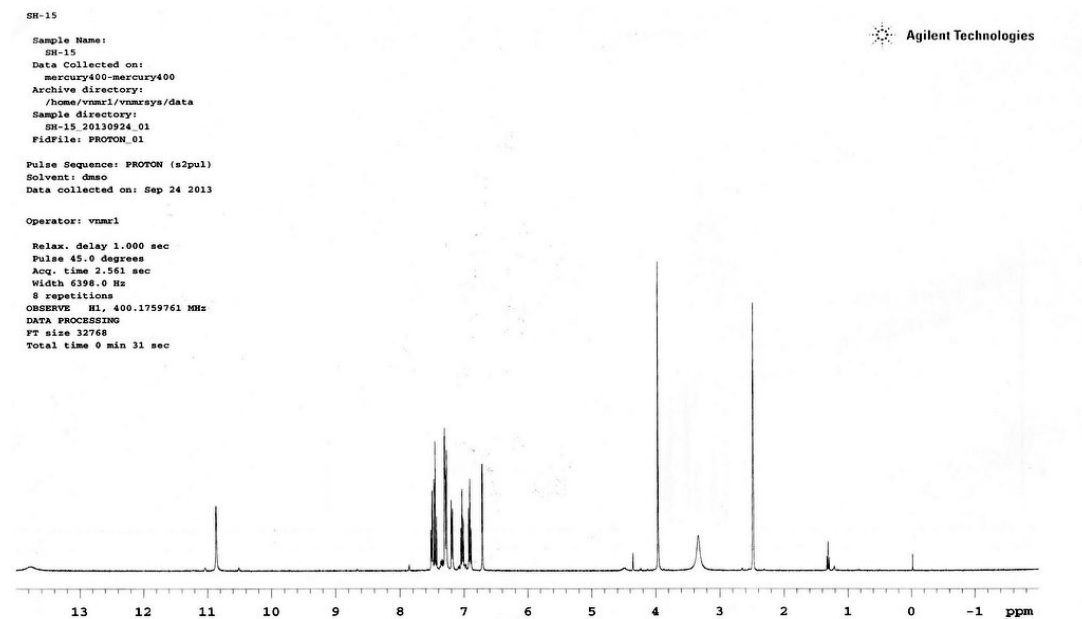
1H -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

3.96 (s, 2H, Ar-CH₂); 6.91 (t, 1H, H-5); 7.028 (t, 1H, H-6); 7.189 (d, 1H, H-2); 6.71-7.58 (m, 6H, Ar-H); 10.86 (s, 1H, NH indol); 13.77 (s, 1H, SH).

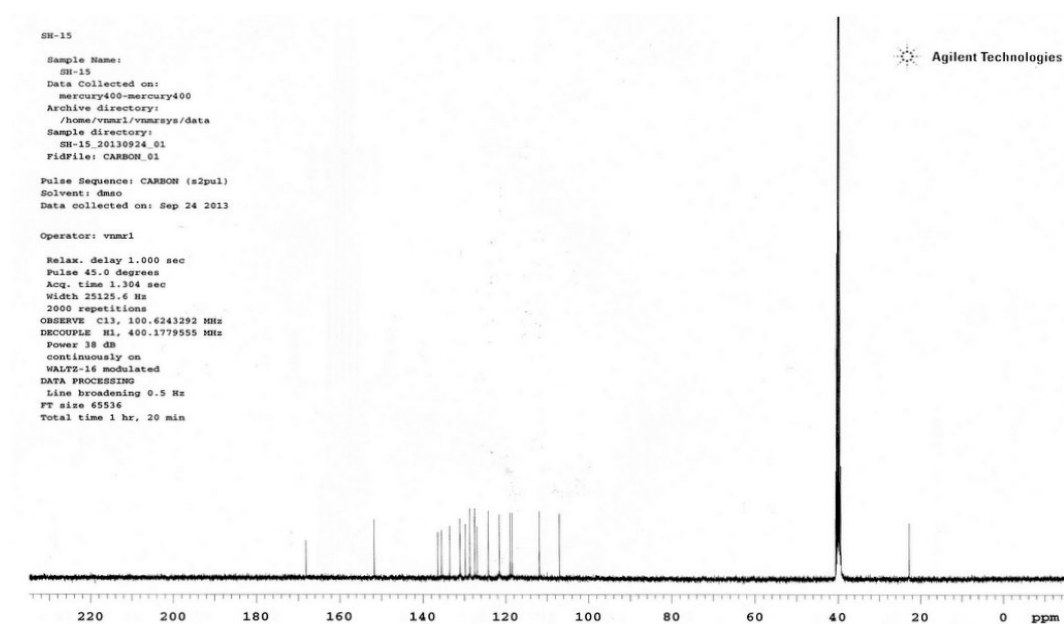
^{13}C -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

22.73; 107.03; 111.88; 118.50; 118.97; 121.57; 124.26; 126.99; 127.56; 128.74; 129.78; 131.09; 133.57; 135.56; 136.43; 151.72; 168.14 (S-C-N).

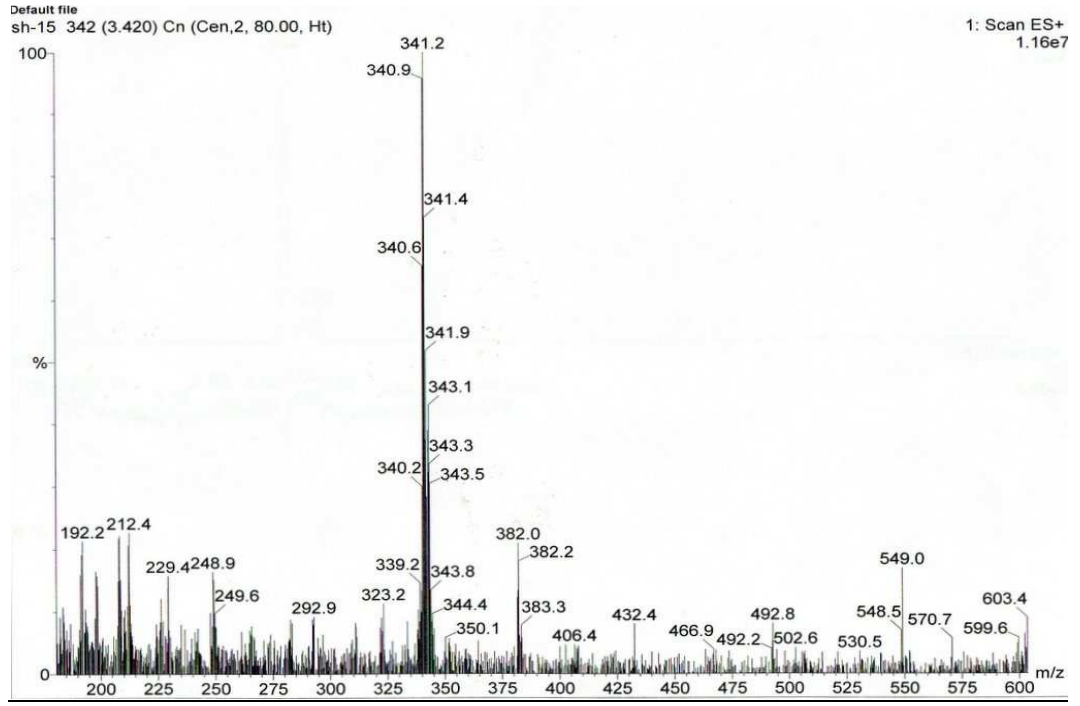
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 341.2 (M⁺, %100); 343.3 (M+2,30), 382 (M+CH₃CN,%20).



Şekil 3.69 Bileşik 3h'nin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.70 Bileşik 3h'nin ^{13}C -NMR spektrumu

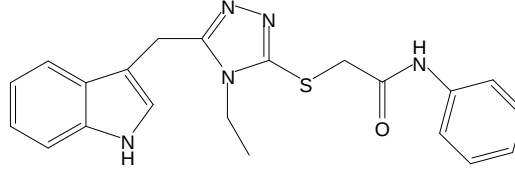


Şekil 3.71 Bileşik 3h'n kütle spektrumu

3.5. 5-((1H-İndol-3-il) metil)-4-(süstitüe aril veya alkil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyolun S-aklilasyonunun genel sentezi (Yöntem D)

5-((1H-İndol-3-il) metil)-4-(süstitüe aril veya alkil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol ile R-X bileşikleri birebir oranda 2 ml 2N, KOH varlığında 20 ml absolu etanol ile çözülür ve karışım oda sıcaklığında 3-4 saat karıştırılarak reaksiyona sokulur. Reaksiyon bitiminde karışım kırılmış buz üzerine dökülür. Çökelek oluşursa süzülerek ayrılır, çökelek oluşmadıysa 100 ml etilasetat ile ekstraksiyon yapılarak ürün elde edilir(Orek ve ark. 2012).

3.5.1. 2-(5-((1H-İndol-3-il)metil)-4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-iltiyo)-N-fenilacetamid (4a):



1 mmol 0.26 gr 5-((1H-İndol-3-il)metil)-4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol ile 1 mmol 0.21 gr 2-bromo-N-fenilasetamid 2 ml, 2N, KOH varlığında D yöntemine göre reaksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %17 verimle 0.07 gr saf madde elde edilir. En 120 °C

Elementel Analiz: $C_{21}H_{21}N_5OS \cdot 3,25H_2O$

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	56.04	6.15	15.56
Analiz :	55.68	5.60	14.22

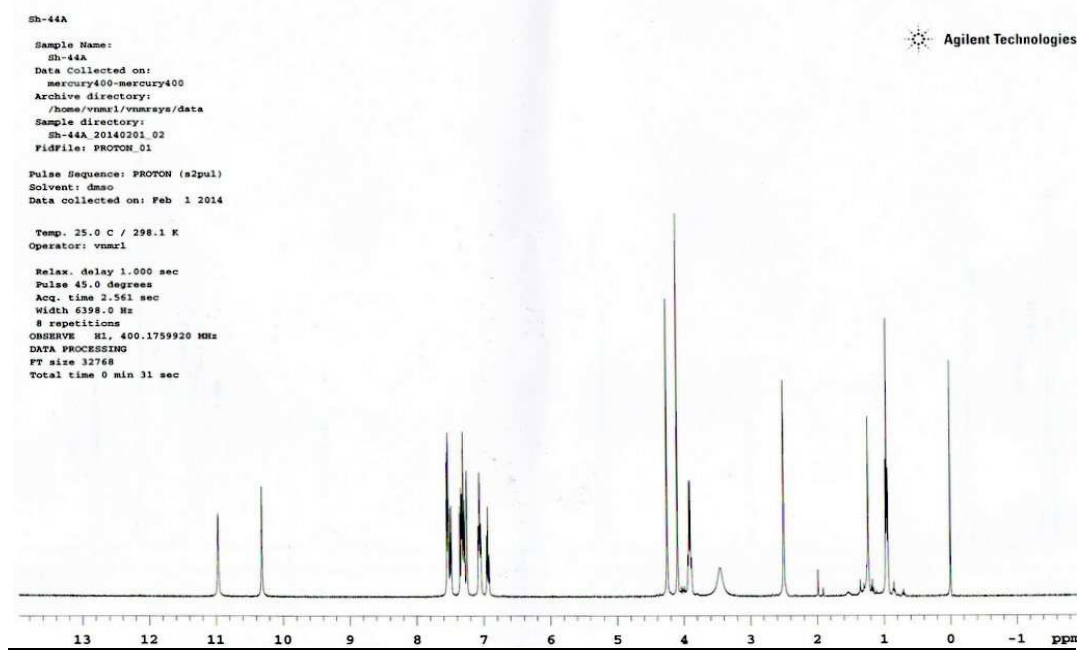
1H -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

0.96 (t, 3H, CH_3); 3.91 (q, 2H, CH_2); 4.09 (s, 2H, Ar- CH_2); 4.25 (s, 2H, S- CH_2 -CO); 6.92-7.55 (10H, m, Aromatik-H); 10.32 (t, 1H, amid-NH); 10.97 (s, 1H, NH indol).

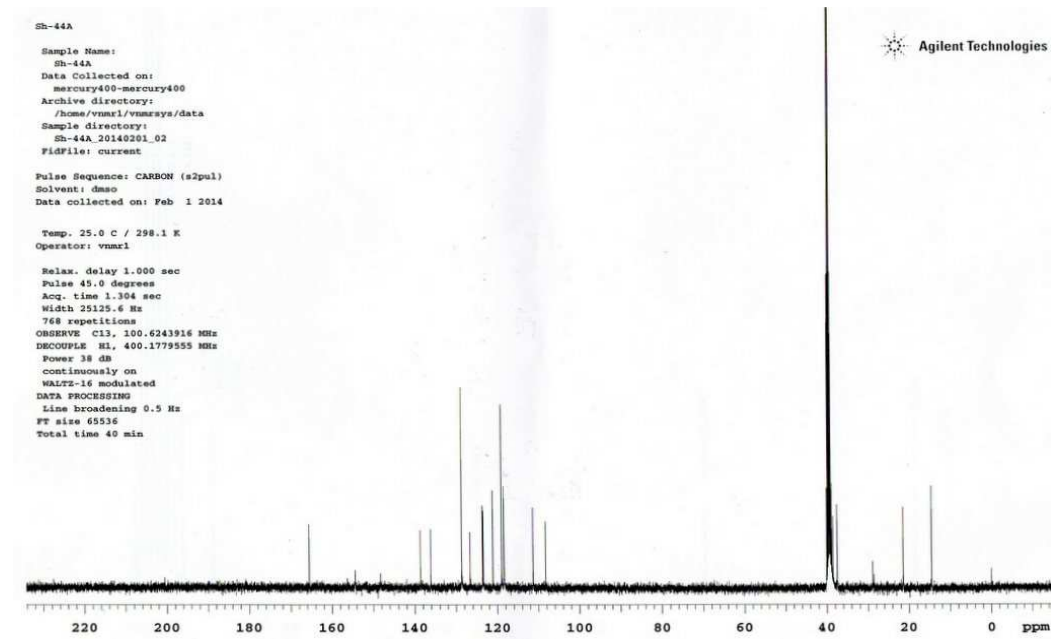
^{13}C -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

14.55; 21.43; 28.90; 37.51; 108.30; 111.37; 118.40; 118.45; 119.01; 121.11; 123.42; 123.61; 126.65; 128.69; 136.16; 138.66; 148.32; 154.44 (N-C-S); 165.62 (C=O).

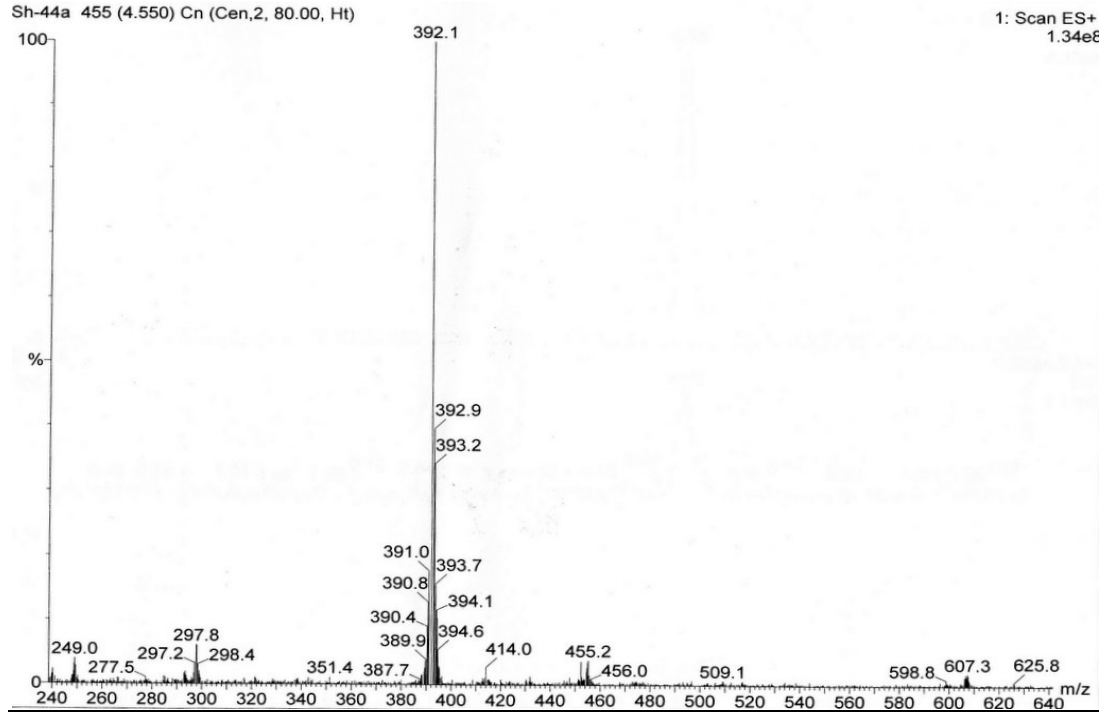
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 392 ($M+H$, %100).



Şekil 3.72 Bileşik 4a'nın ^1H -NMR spektrumu

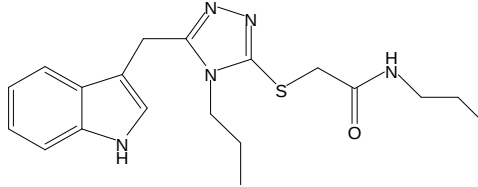


Şekil 3.73 Bileşik 4a'nın ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.74 Bileşik 4a'nın kütle spektrumu

3.5.2. 2-(5-((1H-indol-3-il)metil)-4-propil-4H-1,2,4-triazol-3-iltiyo)-N-propilasetamid(4b):



1 mmol 0.27 gr 5-((1-indol-3-il)metil)-4-propil-4H-1,2,4-tiyadiazol-3-tiyol ile 1 mmol 0.14 gr 2-kloro-N-propilasetamidi 2 ml, 2N, KOH varlığında D yöntemine göre reaksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %32 verimle 0.12 gr saf madde elde edilir. En 79 °C

Elementel Analiz: C₁₉H₂₅N₅OS•1,15H₂O

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	58.18	7.02	17.85
Analiz :	58.77	6.96	17.13

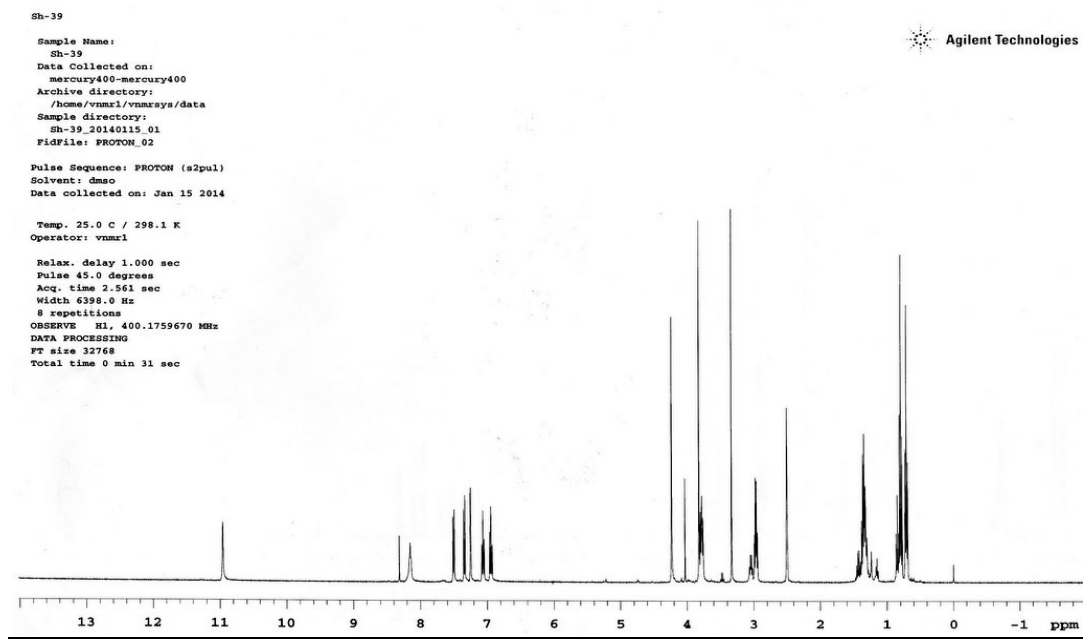
¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

0.71 (t, 3H, CH₃); 0.79 (t, 3H, CH₃); 1.34 (m, 2H, CH₂); 1.43 (m, 2H, CH₂); 2.97 (q, 2H, amid azota bağlı CH₂); 3.78 (t, 2H, triazol azota bağlı CH₂); 3.82 (s, 2H, Ar-CH₂); 4.23 (s, 2H, S-CH₂-CO); 6.94 (t, 1H, H-5); 7.06 (t, 1H, H-6); 7.25 (d, 1H, H-2); 7.34 (d, 1H, H-7); 7.50 (d, 1H, H-4); 8.16 (s, 1H, amid-NH); 10.960 (s, 1H, NH indol).

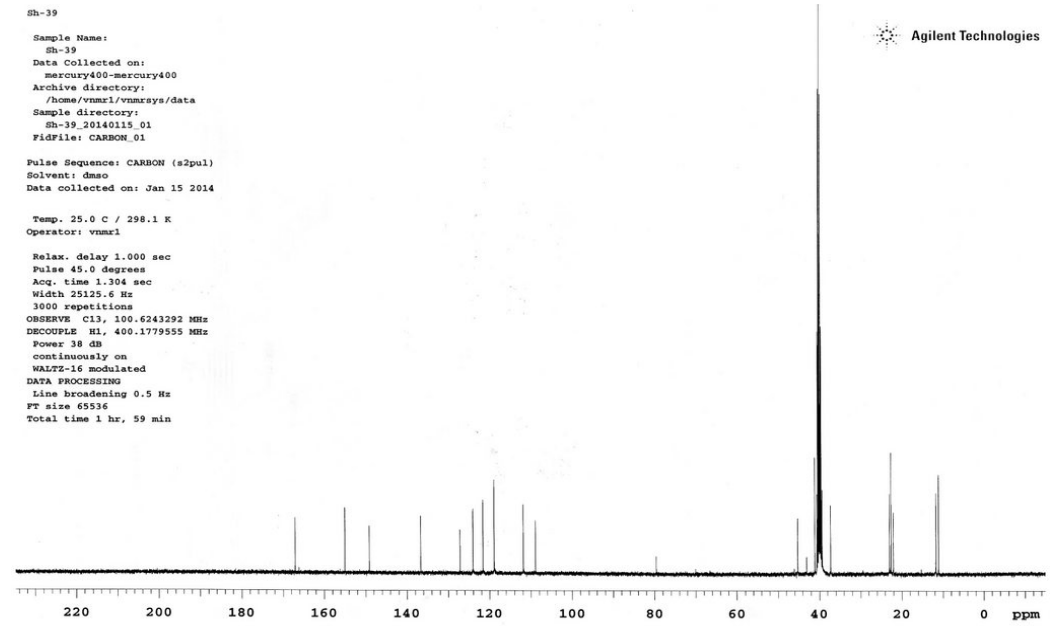
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

11.08; 11.72; 22.06; 22.59; 22.99; 37.29; 43.12; 45.26; 79.63; 108.95; 111.90; 118.95; 121.65; 124.07; 127.21; 136.71; 149.14; 155.04; 167.12 (C=O).

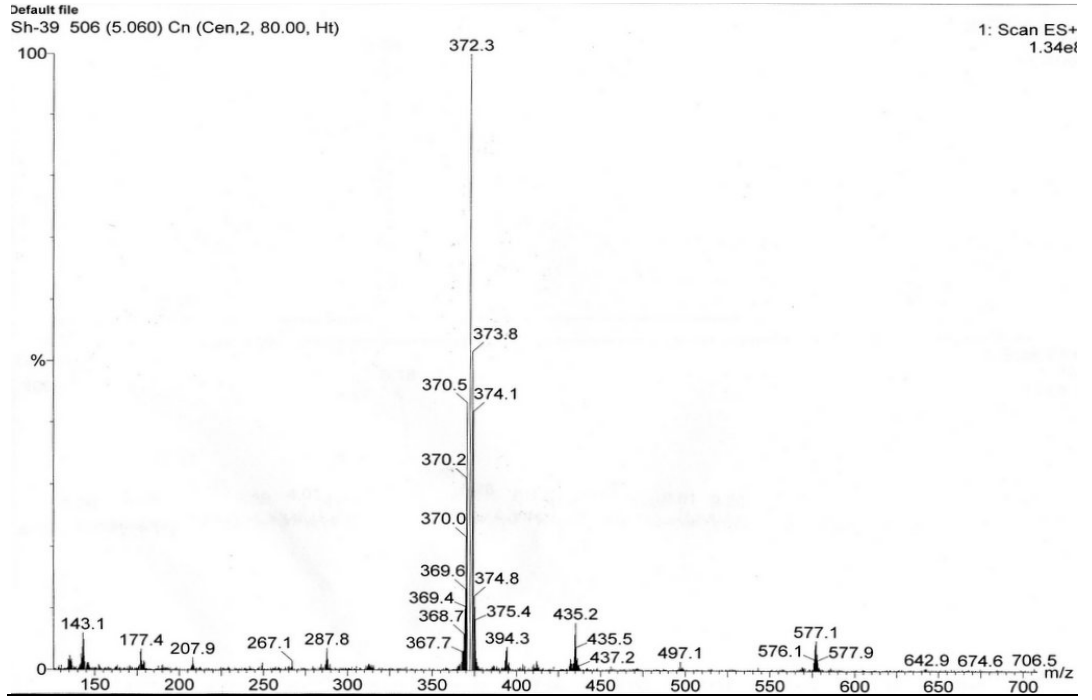
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 372.3 (M+H, %100).



Şekil 3.75 Bileşik 4b'nin ^1H -NMR spektrumu

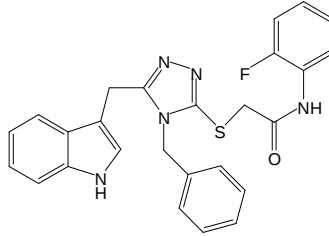


Şekil 3.76 Bileşik 4b'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.77 Bileşik 4b'nin kütle spektrumu

3.5.3. 2-(5-((1H-İndol-3-il)metil)-4-benzil-4H-1,2,4-triazol-3-iltiyo)-N-(2-florofenil)asetamid (4c):



1 mmol 0.32 gr 5-((1-indol-3-il)metil)-4-Benzil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol ile 1 mmol 0.19 gr 2-kloro-N-(2-florofenil)asetamid 2 ml, 2N, KOH varlığında D yöntemine göre reaksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %30 verimle 0.15 gr saf madde elde edilir. En 182.5 °C

Elementel Analiz: C₂₆H₂₂FN₅OS

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	66.22	4.70	14.85
Analiz :	65.73	5.08	14.36

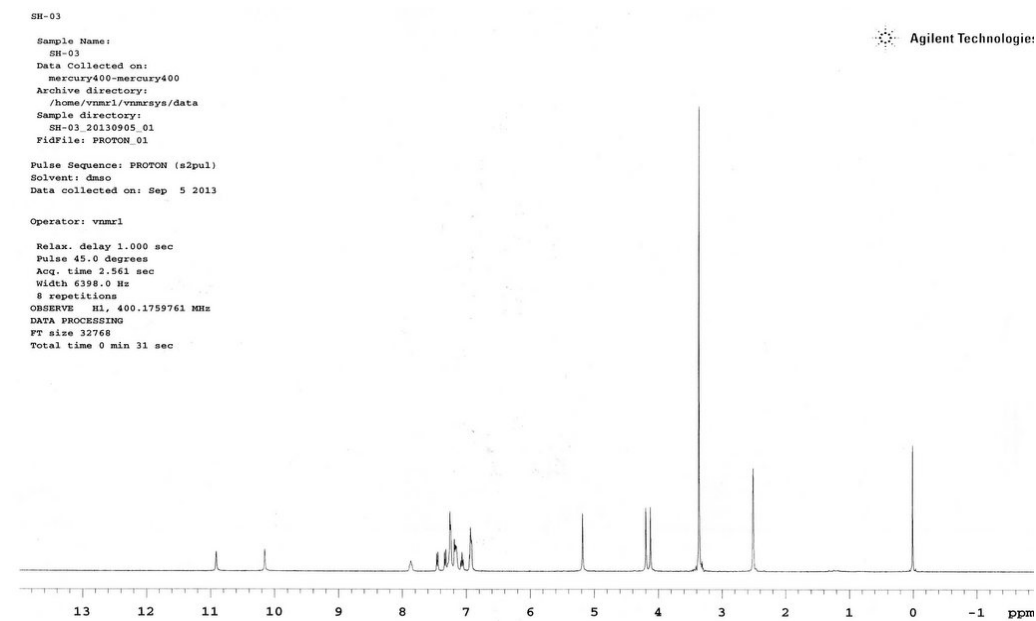
¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

4.13(s, 2H, indol-CH₂); 4.20 (s, 2H, Fenil-CH₂); 5.18 (s, 2H, amid-CH₂); 6.92-7.19 (m, 10H, Ar-H); 7.25 (d, 1H, H-2); 7.33 (d, 1H, H-7); 7.45 (d, 1H, H-4); 7.86 (d, 1H, Ar-H); 10.16 (s, 1H, Amid-NH); 10.91 (s, 1H, NH-indol).

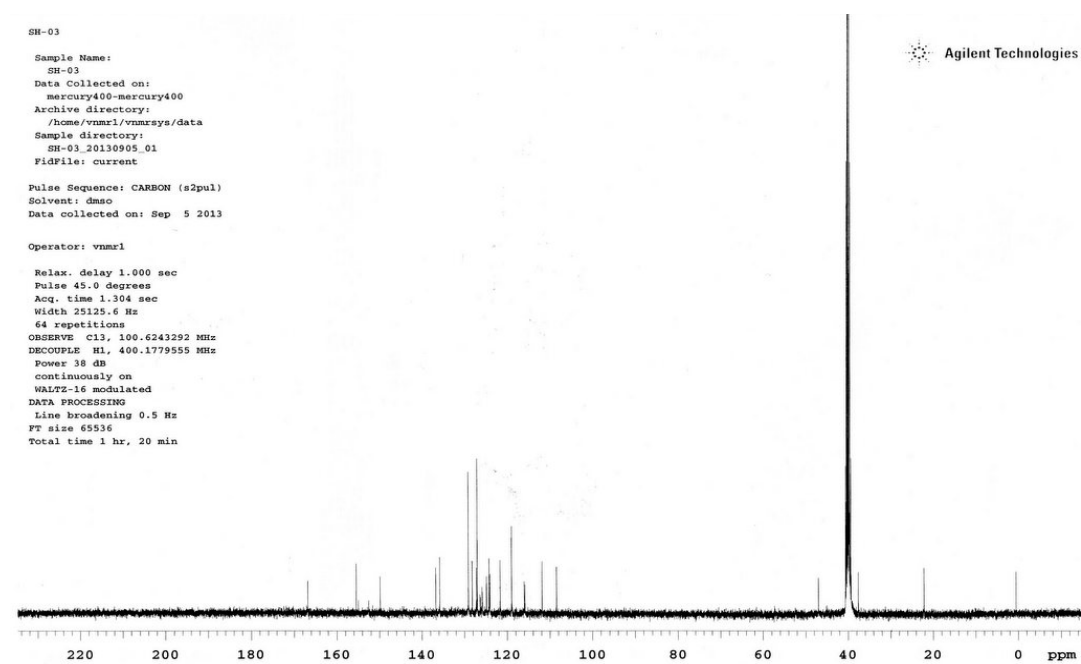
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

22.20; 37.64 (S-C); 47.02 (N-C); 108.48; 111.89; 115.87; 116.07; 118.98; 121.67; 124.09; 124.25; 124.87; 125.86; 126.27; 126.38; 127.02; 127.22; 128.20; 129.08; 135.832; 136.76; 149.86; 152.56; 155.00; 155.46; 166.82 (C=O).

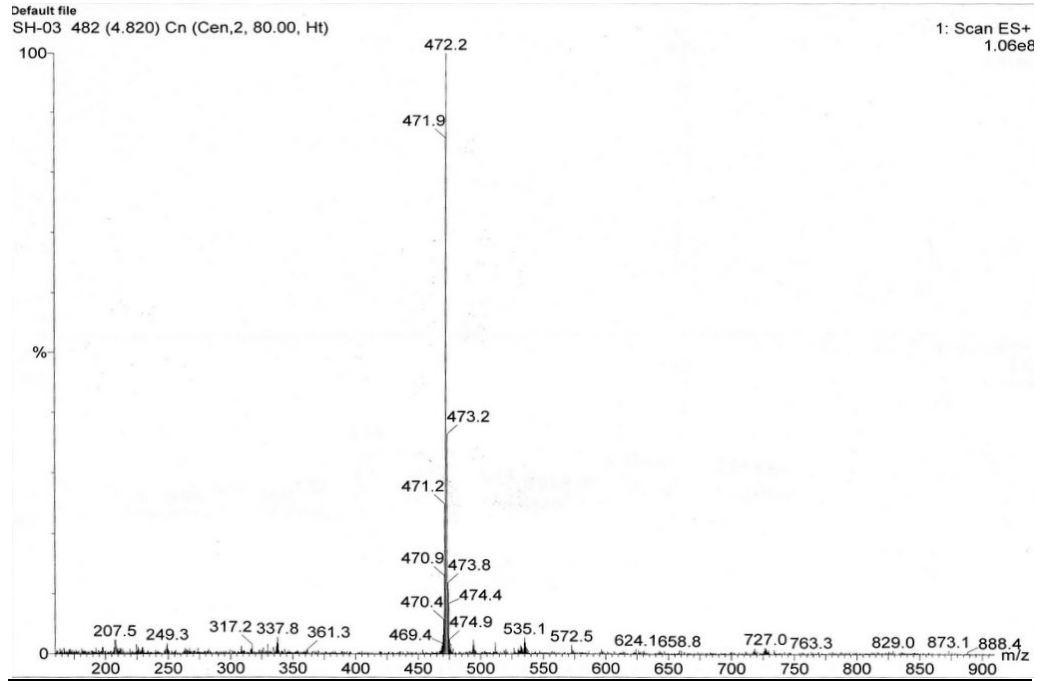
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 472.2 (M+H, %100).



Şekil 3.78 Bileşik 4c'nin ^1H -NMR spektrumu

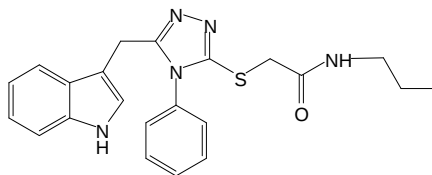


Şekil 3.79 Bileşik 4c'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.80 Bileşik 4c'nin kütle spektrumu

3.5.4. 2-(5-((1H-İndol-3-il)metil)-4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-iltiyo)-N-propilasetamid (4d):



1 mmol 0.31 gr 5-((1H-indol-3-il)metil)-4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol ile 1 mmol 0.14 gr 2-kloro-N-propilasetamid 2 ml, 2N, KOH varlığında D yöntemine göre reaksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %17 verimle 0.07 gr saf madde elde edilir. En 165.5 °C

Elementel Analiz: $C_{22}H_{23}N_5OS \cdot 0,25H_2O$

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	64.44	5.78	17.08
Analiz :	64.21	5.88	16.85

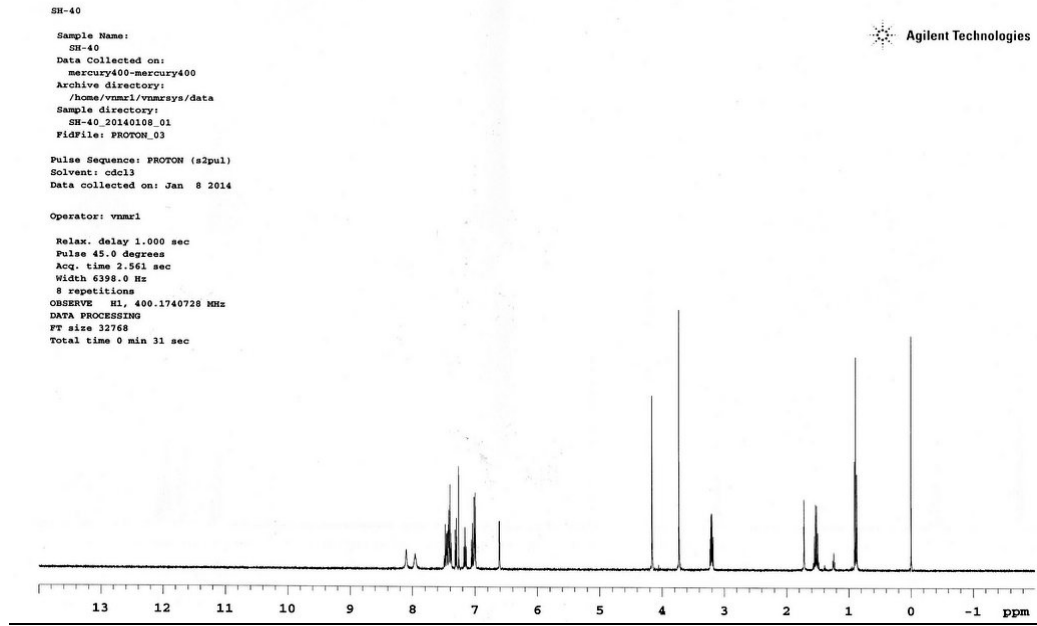
1H -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

0.89 (t, 3H, CH_3); 1.53 (m, 2H, CH_2); 3.20 (q, 2H, amid azota bağlı CH_2); 3.73 (s, 2H, Ar- CH_2); 4.16 (s, 2H, S- CH_2 -CO); 6.61-7.50 (m, 10H, Aromatik-H); 7.96 (s, 1H, amid-NH); 8.10 (s, 1H, NH indol).

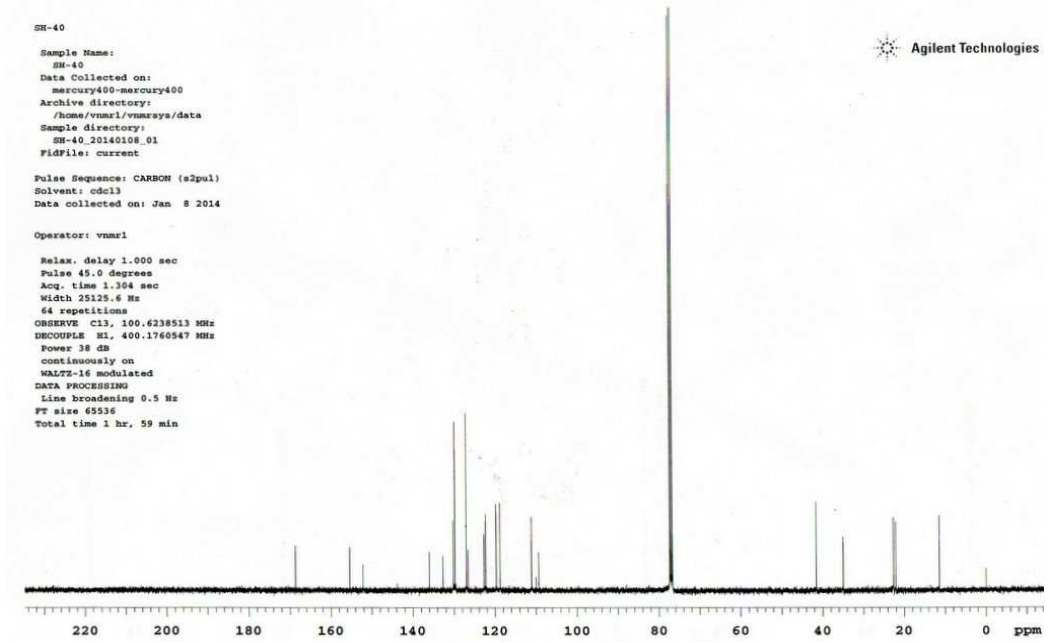
^{13}C -NMR Spektrumu (d_6 -DMSO) δ ppm

11.39; 22.05; 22.56; 34.56; 41.56; 109.34; 110.00; 111.10; 118.78; 119.71; 122.28; 122.69; 126.63; 127.02; 129.78; 130.19; 132.72; 136.02; 152.17; 155.39 (N-C-S); 168.68 (C=O).

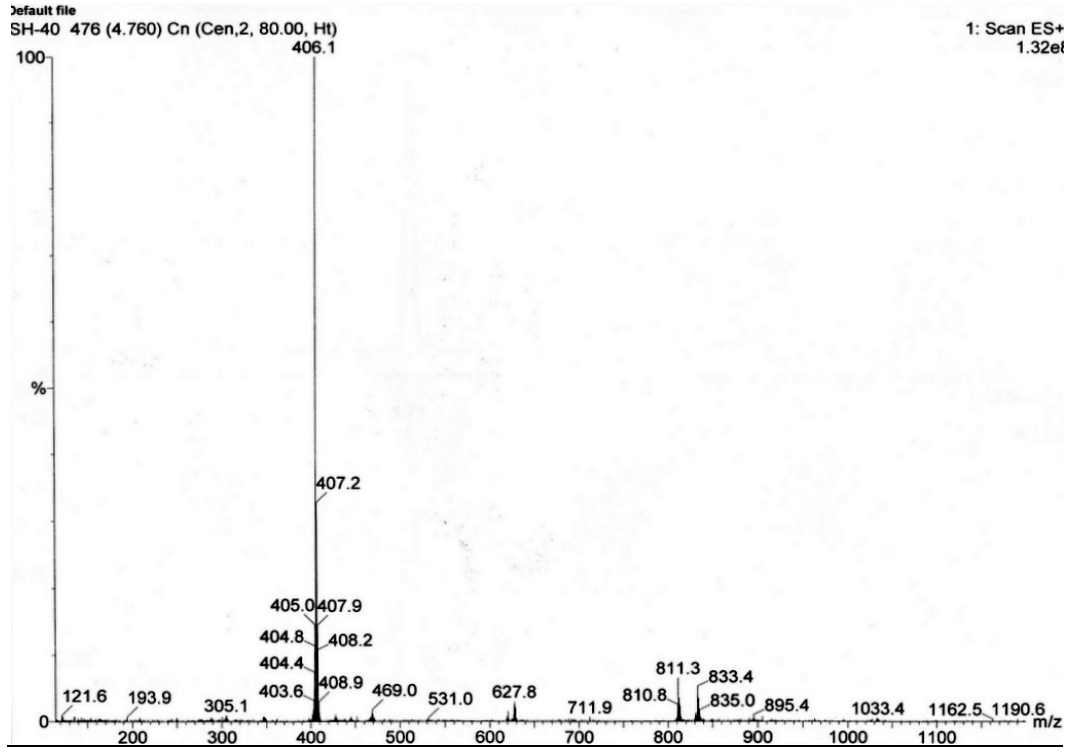
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 406 (M+H, %100).



Şekil 3.81 Bileşik 4d'nin ^1H -NMR spektrumu

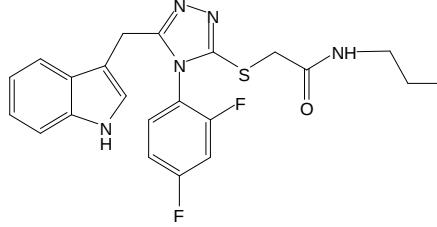


Şekil 3.82 Bileşik 4d'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.83 Bileşik 4d'nin kütle spektrumu

3.5.5. 2-(5-((1H-İndol-3-il)metil)-4-(2,4-diflorofenil)-4H-1,2,4-triazol-3-iltiyo)-N-propilasetamid (4e):



1 mmol 0.34 gr 5-((1H-indol-3-il)metil)-4-(2,4-diflorofenil-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol ile 1 mmol 0.14 gr 2-kloro-N-propilasetamid 2 ml, 2N, KOH varlığında D yöntemine göre reaksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %45 verimle 0.20 gr saf madde elde edilir. En 140 °C

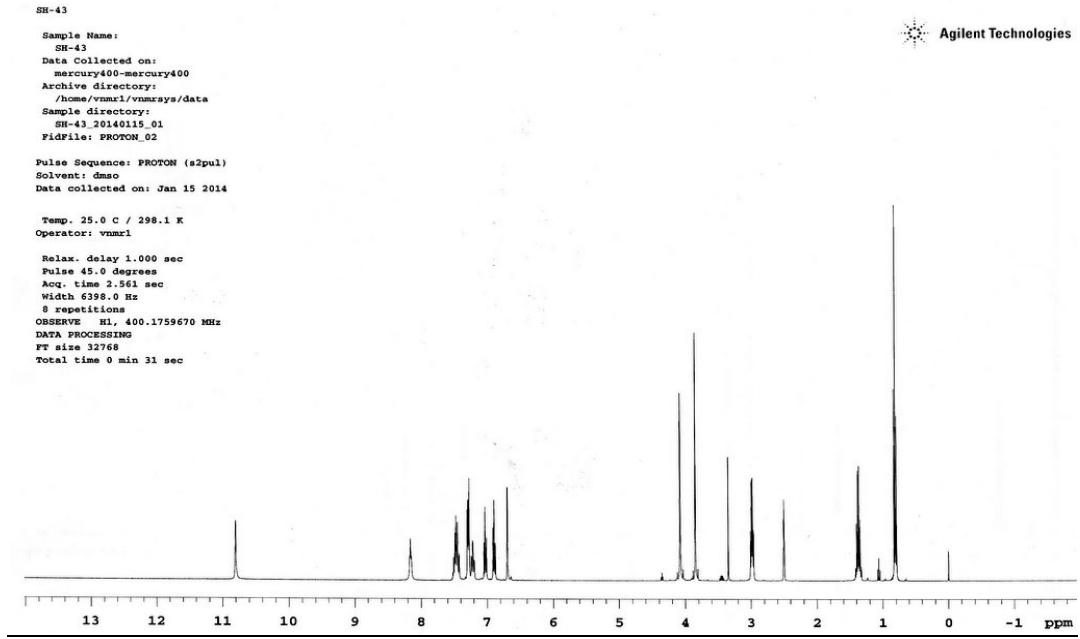
Elementel Analiz: C₂₂H₂₁F₂N₅OS

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	59.85	4.79	15.86
Analiz :	59.70	4.97	15.66

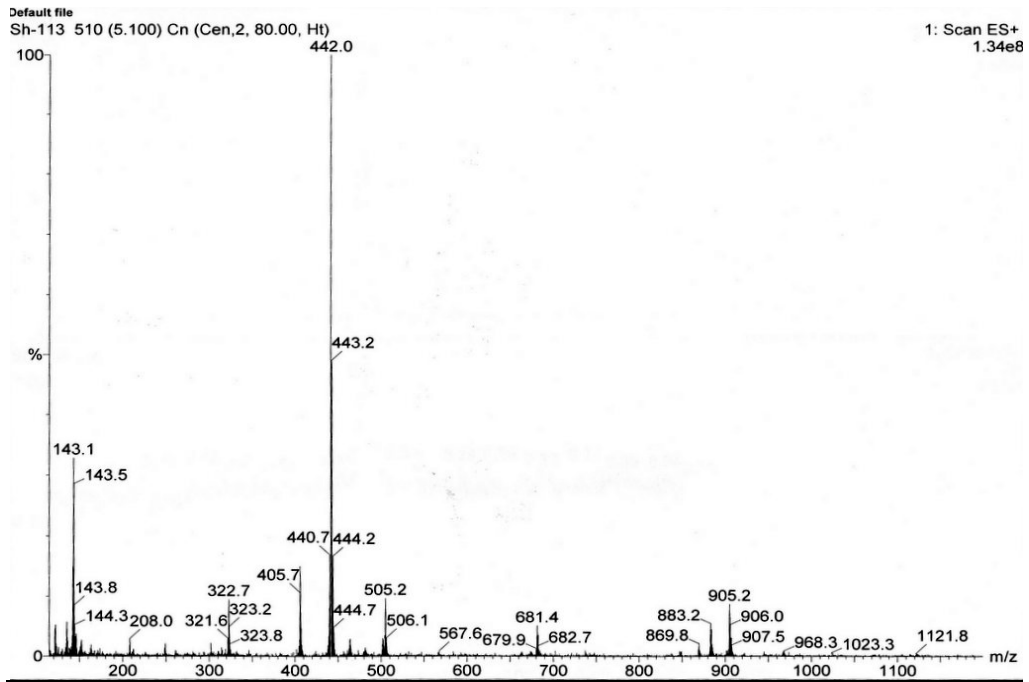
¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

0.81 (t, 3H, CH₃); 1.37 (m, 2H, CH₂); 2.99 (q, 2H, amid azota bağlı CH₂); 3.85 (s, 2H, Ar-CH₂); 4.08 (s, 2H, S-CH₂-CO); 6.69-7.51 (m, 8H, Aromatik-H); 8.16 (t, 1H, amid-NH); 10.81 (s, 1H, NH indol).

Kütle Spektrumu m/z (ESI): 442 (M+H, %100).

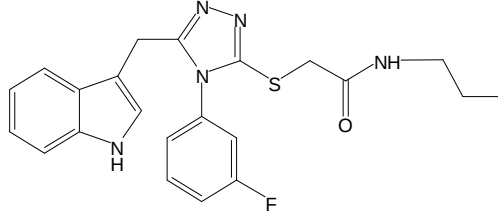


Şekil 3.84 Bileşik 4e'nin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.85 Bileşik 4e'nin kütle spektrumu

3.5.6. 2-(5-((1H-İndol-3-il)metil)-4-(3-florofenil)-4H-1,2,4-triazol-3-iltiyo)-N-propilasetamid (4f):



1 mmol 0.32 gr 5-((1H-indol-3-il)metil)-4-(3-florofenil)-4H-1,2,4-tiyadiazol-3-tiyol ile 1 mmol 0.14 gr 2-kloro-N-propilasetamid 2 ml, 2N, KOH varlığında D yöntemine göre reaksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %40 verimle 0.17 gr saf madde elde edilir. En 145 °C

Elementel Analiz: C₂₂H₂₂FN₅OS

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	62.39	5.24	16.54
Analiz :	62.32	5.28	16.35

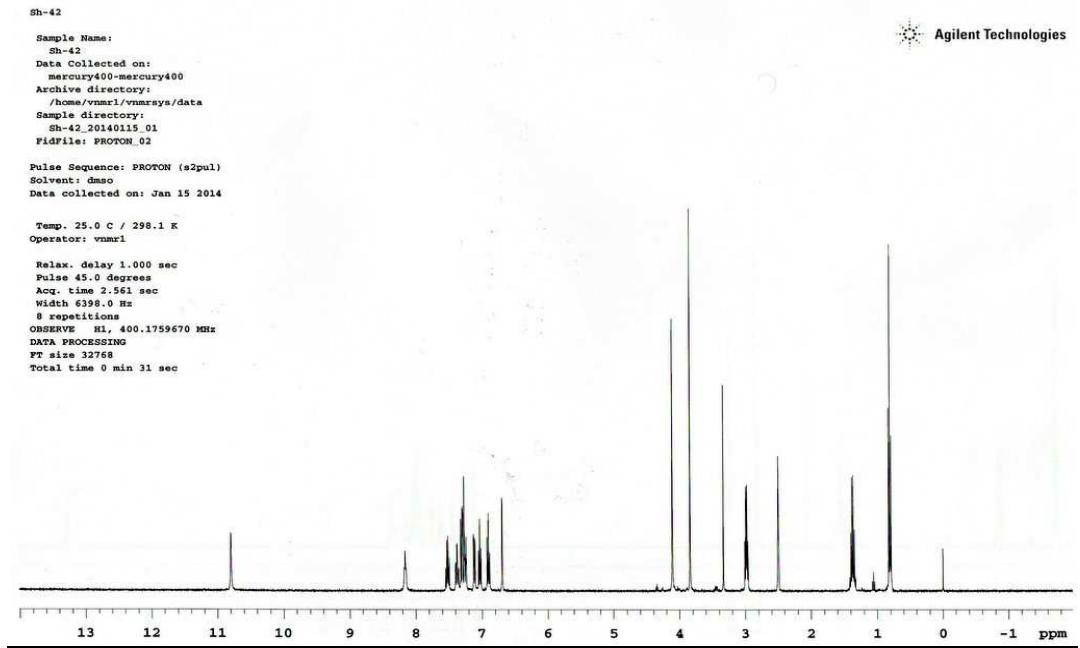
¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

0.81 (t, 3H, CH₃); 1.37 (m, 2H, CH₂); 2.98 (q, 2H, amid azota bağlı CH₂); 3.84 (s, 2H, Ar-CH₂); 4.11 (s, 2H, S-CH₂-CO); 6.69-7.55 (m, 9H, Aromatik-H); 8.16 (t, 1H, amid-NH); 10.80 (s, 1H, NH indol).

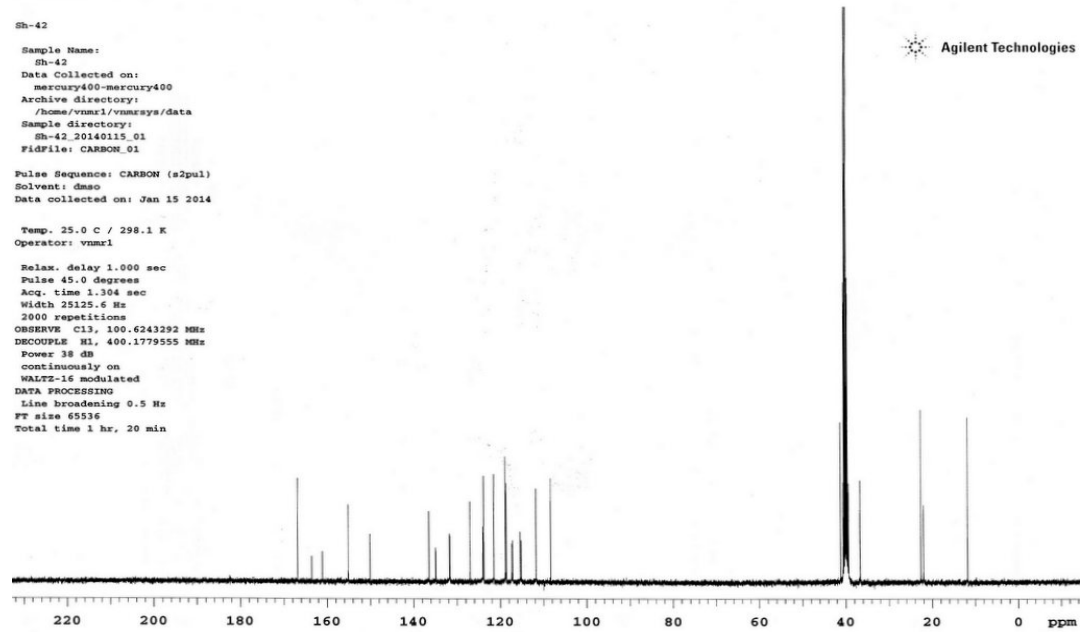
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

11.75; 22.025; 22.61; 36.69; 41.16; 108.36; 111.77; 115.19; 115.43; 117.18; 117.38; 118.63; 118.87; 121.53; 123.84; 124.03; 124.06; 127.02; 131.66; 131.75; 134.87; 134.97; 136.45; 150.10; 155.134; 161.13; 163.58 (N-C-S); 166.85 (C=O).

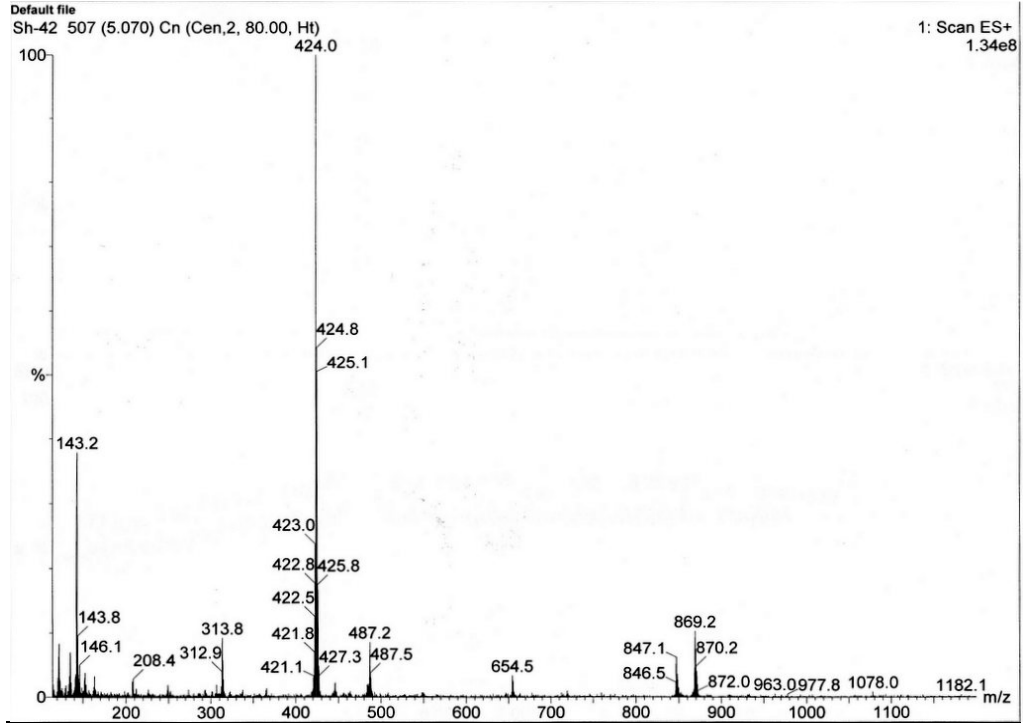
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 424 (M+H, %100).



Şekil 3.86 Bileşik 4f'nin ^1H -NMR spektrumu

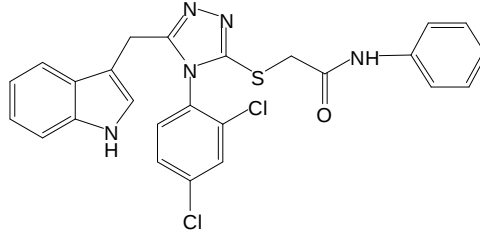


Şekil 3.87 Bileşik 4f'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.88 Bileşik 4f'nin kütle spektrumu

3.5.7. 2-(5-((1H-indol-3-il)metil)-4-(2,4-diklorofenil)-4H-1,2,4-triazol-3-iltiyo)-N-fenilasetamid (4g):



1 mmol 0.38 gr 5-((1H-indol-3-il)metil)-4-(2,4-diklorofenil)-4H-1,2,4-triyadiazol-3-tiyol ile 1 mmol 0.14 gr 2-kloro-N-propilasetamid 2 ml, 2N, KOH varlığında D yöntemine göre reaksiyona tabi tutulur. Reaksiyon sonunda %15 verimle 0.08 gr saf madde elde edilir. En 219 °C

Elementel Analiz: C₂₅H₁₉Cl₂N₅OS

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	59.06	3.77	13.77
Analiz :	60.60	4.57	12.60

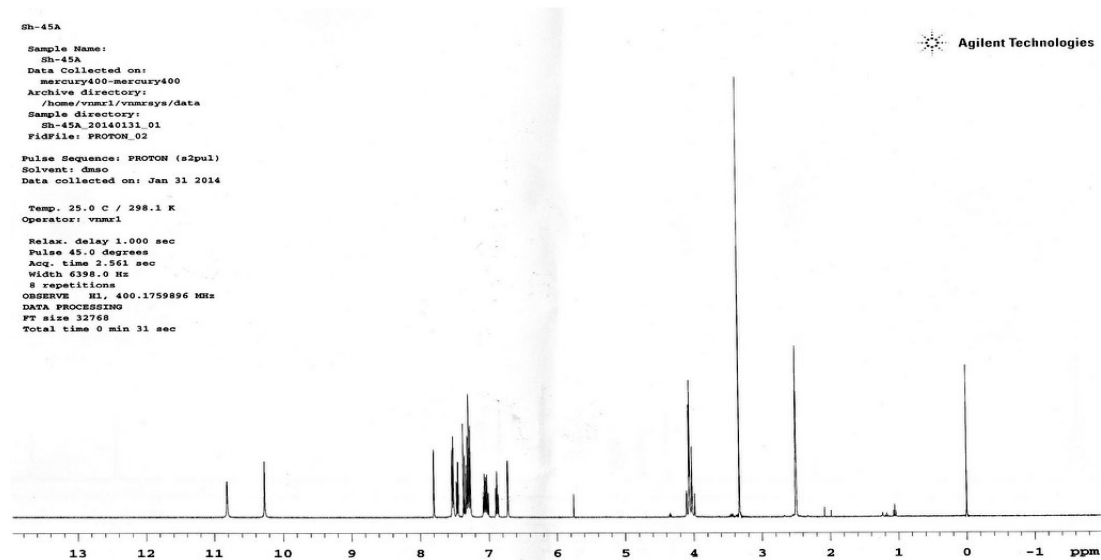
¹H-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

4.03 (s, 2H, Ar-CH₂); 4.12(s, 2H, S-CH₂-CO); 6.72-7.80 (m, 13H, Aromatik-H); 10.27 (t, 1H, amid-NH); 10.82 (s, 1H, NH indol).

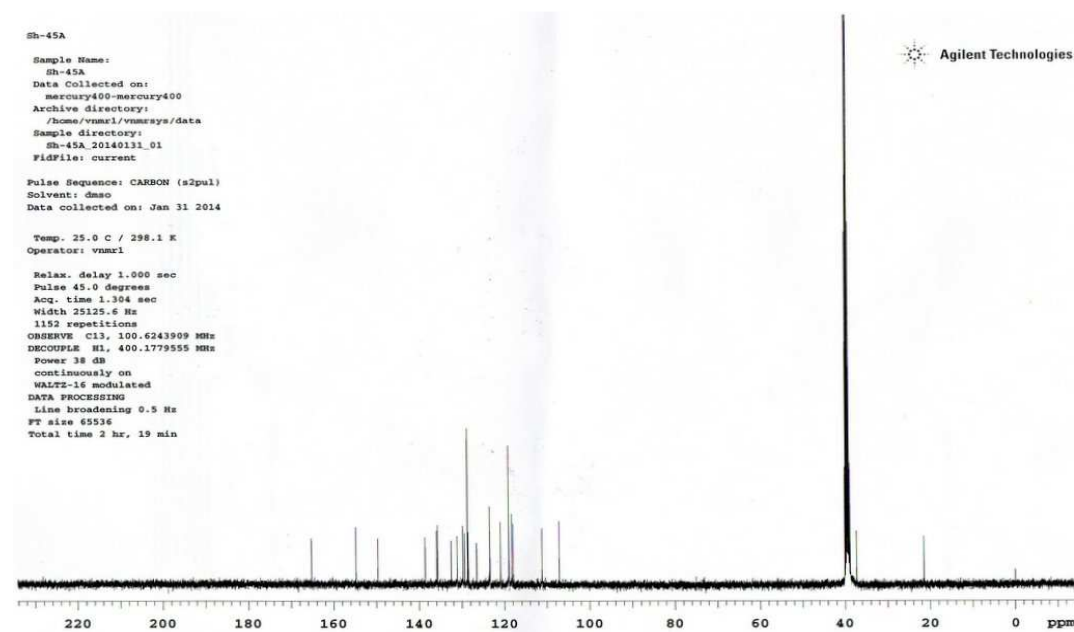
¹³C-NMR Spektrumu (d₆-DMSO) δppm

21.47; 37.30; 107.15; 111.19; 117.96; 118.28; 118.99; 120.93; 123.43; 123.47; 126.56; 128.51; 128.69; 129.36; 129.76; 131.13; 132.53; 135.68; 135.90; 138.61; 149.66; 154.80 (N-C-S); 165.26 (C=O).

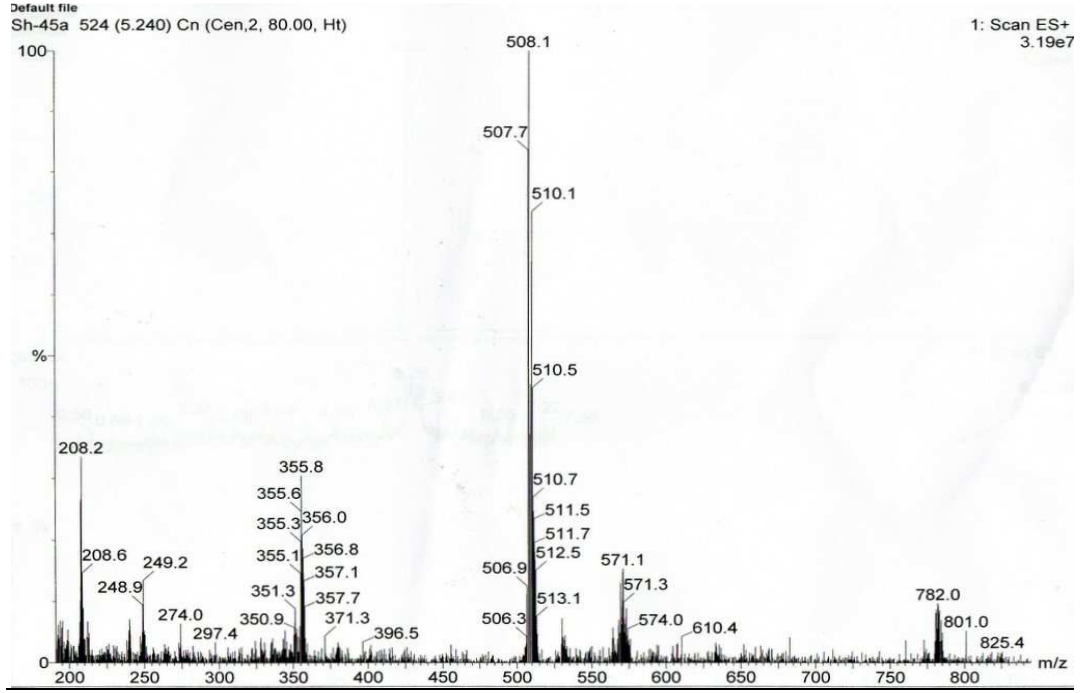
Kütle Spektrumu m/z (ESI): 508 (M⁺, %100), 510 (M+2, %75), 512 (M+4, %16).



Şekil 3.89 Bileşik 4g'nin ^1H -NMR spektrumu



Şekil 3.90 Bileşik 4g'nin ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.91 Bileşik 4g'nin kütle spektrumu

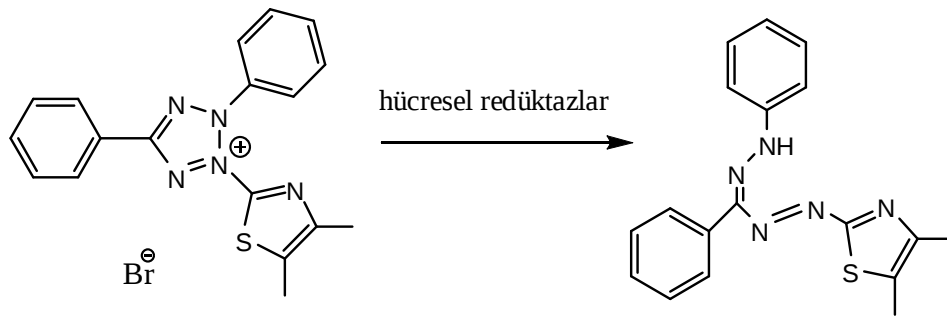
3.6. Sentez Edilen Bileşiklerin İnvitro Biyolojik Aktivite Tayinleri

Örneklerin en son (final) konsantrasyonları 10 μ M olacak şekilde DMSO içinde çözülerek hazırlanmıştır. Ortamdaki DMSO oranı % 0.1'dir. Kontrol grubu diğer örnek gruplarında olduğu gibi % 0.1 DMSO ihtiva etmektedir.

3.6.1. Sentezlenen İndol Türevi Bileşiklerin Sitotoksik Etki Tayinleri

MTT DENEYİ

Deneyin Esası: MTT (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromür) deneyi yaşayabilen hücrelerin tespiti esasına dayanan bir yöntemdir. NAD(P)H bağımlı enzimler yaşayan hücrelerde sarı renkli MTT bileşiğini mor renkli formazan yapısına redukledebilirler. Bu işlem MTT ile intrasellüler gerçekleşir. Mor renk genellikle 500 ve 600 nm de spektrofotometre ile ölçülerek tayin edilir. MTT nin redüksiyonu NAD(P)H miktarını arttırdığı için hücresel metabolik aktiviteyi de artırır. Bu duruma direnebilen hücreler az miktarda MTT redükler. Bunun tersine çok çoğalan hücreler yüksek oranda MTT redükler. Sonuçlar yorumlanırken yaşayan hücre kaybı gözlenmesi sitotoksosite açısından değerlendirilir.

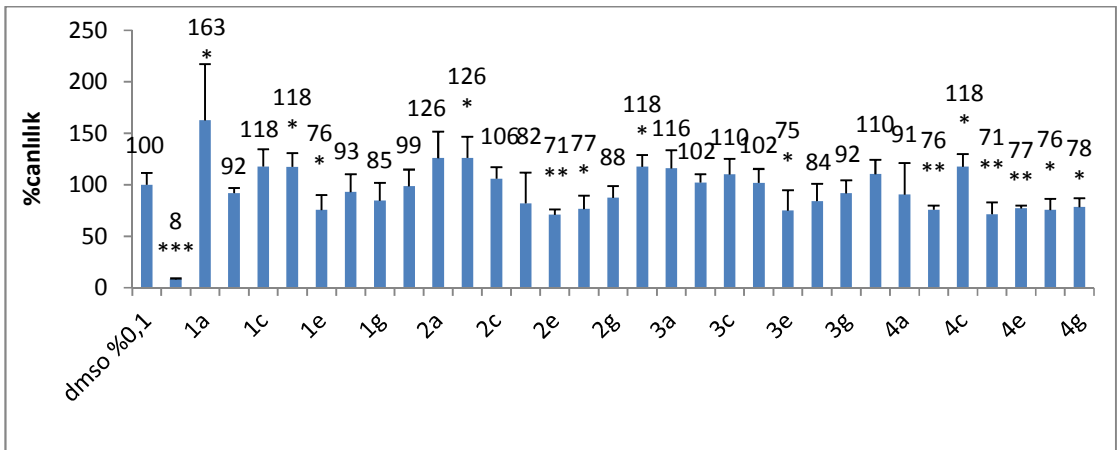


Şekil 3.92 MTT ve formazon formu

Gereç Ve Yöntem: Çalışmada bir grup Çin hamster over (CHO) hücresi normal büyüme vasatı (%10 FBS (Fetal bovine serum) ile takviye edilmiş Ham's F-12 içerisinde inkübe edilmiş (kontrol grubu), negatif kontrol grubu olarak adlandırılan hücreler ise vasat içerisine sitotoksik etki gösterdiği bilinen Triton X-100 (15 mM) eklenerek inkübe edilmişlerdir. Kontrol grubu diğer örnek gruplarında olduğu gibi % 0.1 DMSO ihtiva etmektedir.

Hücreler tripsinlenmeyi takiben normal büyüme vasatı içinde 96 kuyucuklu plakalara 5000 hücre/kuyucuk olacak şekilde ekilmiş, 24 saat 37 °C, %5 CO₂'li ortamda inkübasyonu takiben vasatlar içerisine yukarıda belirtildiği şekilde örnek ve/veya standart maddeler eklenmiştir. Maddelerin hücrelerle 24 saat inkübe edilmesini takiben ise MTT testi ile hücrelerin canlılığı mor renkli formazan boyasının oluşması ile spektrofotometrik olarak (550 nm) değerlendirilmiştir.

Bulgular: Şekil 3.93'de görüldüğü üzere $p < 0,05$ anlamlılık derecesinde **4c**, **2b**, **1d**, **2h**, **1a** maddelerinin hücre proliferasyonunu artırıcı etkileri olduğu gözlenmiştir. $p < 0,05$ anlamlılık derecesinde **2f**, **1e**, **3e**, **4f**, **4g** maddelerinin; $p < 0,005$ anlamlılık derecesinde ise **2e**, **4b**, **4d**, **4e** maddelerinin sitotoksik etki potansiyeline sahip olduğu bulunmuştur.



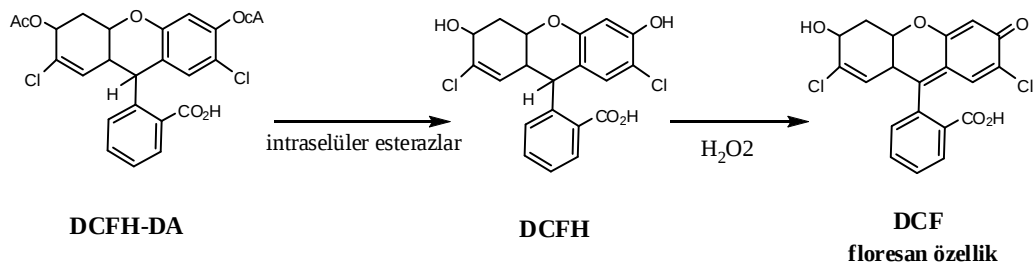
Şekil 3.93 Sentezlenen İndol Türeveli Bileşiklerin Sitotoksik Etki Profilleri

Şekil 3.93 Çin hamster over (CHO) hücrelerinde örneklerin sitotoksik etki potansiyelinin MTT deneyi ile değerlendirilmesine ait bulgular. Barlar beş farklı (n=5) çalışmanın “ortalama $\pm$ standart sapma” değerlerini göstermektedir. Barların üzerinde yer alan değerler ise yüzde olarak kontrole kıyasla absorbans değerlerini ifade etmektedir. * $p<0,05$, ** $p<0,005$, *** $p<0.0005$ grubun ortalaması kontrol grubu ortalaması ile kıyaslandı. Triton-x 100 negatif kontrol olarak kullanıldı. Örneklerin konsantrasyonları 10 μM ’dır.

3.6.2 Sentezlenen İndol Türevi Bileşiklerin Antioksidan Etki tayinleri

DCFH-DA Deneyi:

Deneyin Esası: Hücrelerde reaktif oksijen bileşiklerinin varlığını göstermek amacıyla çeşitli floresan probalar kullanılmaktadır. Bunlardan 5-(-6)-klorometil-2',7'-diklorodihidro-floresin diasetat (DCFH-DA) floresan özelliğe sahip olmayan, lipid-çözünür bir moleküldür ve kolaylıkla hücre membranlarından hücre içine difüze olabilir. Hücre içine girdikten sonra intraselüler esterazlar tarafından suda-çözünür, floresan olmayan 2',7' -diklorofloresin (DCFH)'e hidroliz olur. DCFH ise ROB varlığında floresan özelliğe sahip 2',7' diklorofloresin (DCF)'e okside olur (Lautraite S. ve ark. 2003). Oluşan DCF'in floresans şiddetinin 488nm eksitasyon, 530nm emisyon dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile ortamdaki ROB' inin varlığı değerlendirilir (Puntarulo ve ark. 1998, Lautraite ve ark. 2003).

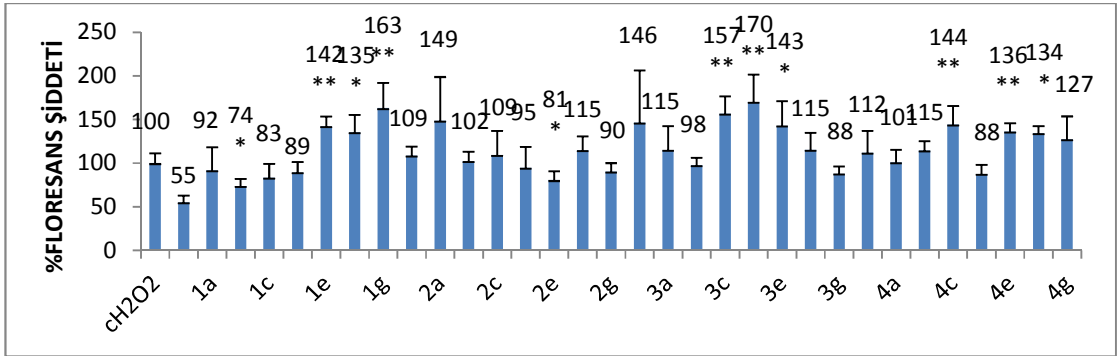


Şekil 3.94 DCFA-DA nın intrasellüler esteraz ve ROT leri ile verdiği reaksiyon

Gereç ve Yöntem: Çalışmada normal büyüme vasatı (%10 FBS ile takviye edilmiş Ham's F-12) içerisinde DCFH-DA yüklenen bir grup Çin hamster over (CHO) hücresi kullanılmıştır. Örnekler 10 μ M kümen hidrojen peroksit (cH_2O_2) varlığında inkübasyona bırakılmıştır. Örneklerin floresans şiddeti 60 dakika boyunca 488 nm eksitasyon, 530 nm emisyon dalga boyunda izlenerek reaktif oksijen bileşikleri oluşumu değerlendirilmiştir. Bu modelde örneklerin bir oksidatif sataşma durumunda olası antioksidan etkilerinin gözlenmesi amaçlanmıştır.

Hücreler tripsinlenmeyi takiben normal büyüme vasatı içinde siyah 96 kuyucuklu plakalara 5000 hücre/kuyucuk olacak şekilde ekilmiş, 24 saat 37 °C, nemli ve %5 CO_2 'li ortamda inkübe edilmiştir. Kuyucukların içerisindeki besi ortamı atılıp DCFH-DA ihtiva eden besi ortamı ile 30 dakika inkübasyona bırakılıp PBS ile yıkanmıştır. Kuyucuklara 10 μ M konsantrasyondaki örnekler ve 10 μ M cH_2O_2 besi ortamı içinde eklenmiştir. Örneklerin floresans şiddeti 60 dakika boyunca 488 nm eksitasyon, 530 nm emisyon dalga boyunda izlenerek reaktif oksijen bileşikleri oluşumu değerlendirilmiştir.

Bulgular: Şekil 3.95'de görüldüğü gibi **1f**, **4f**, **3e** maddelerinin $p < 0,05$ anlamlılık derecesinde; **3c**, **4c**, **3d**, **1g**, **1e**, **4e** maddelerinin $p < 0,005$ anlamlılık derecesinde DCFH oksidasyonunu artırdığı görülmüştür. $p < 0,05$ anlamlılık derecesinde, cH_2O_2 varlığında **1b** ve **2e** maddelerinin sırasıyla % 74 ve % 81 değerleri ile en yüksek antioksidan etkiyi gösterdiği saptanmıştır. Bunu 1c, 3g, 4e, 1d ve 2g maddeleri sırasıyla %83, %88, %89 ve %90 oranları ile takip etmiştir. Bu antioksidan etki değerleri askorbik aside kıyasla daha düşük düzeydedir.

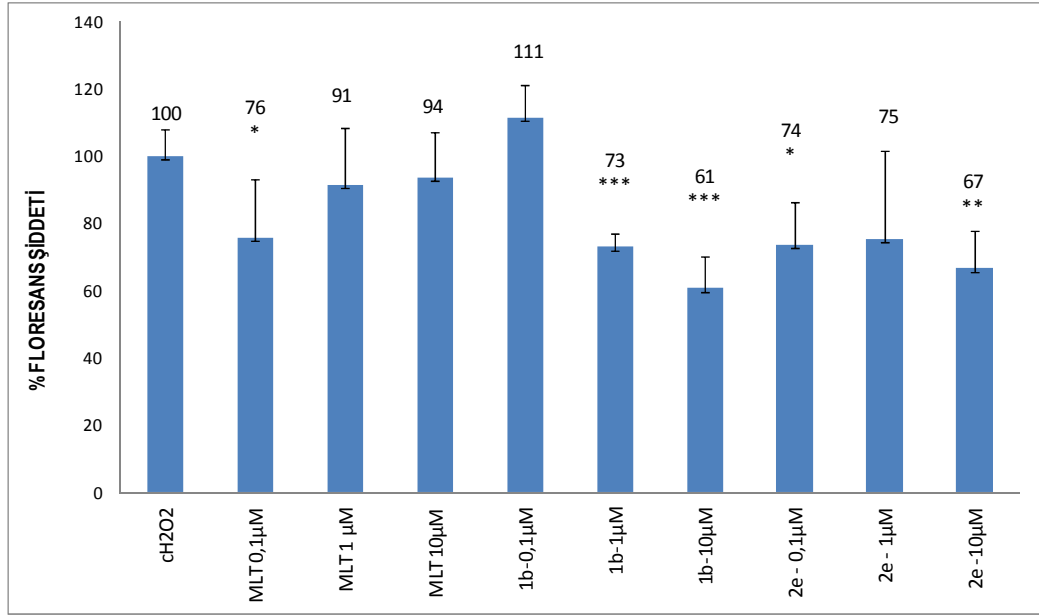


Şekil 3.95 Sentezlenen İndol Türevi Bileşiklerin Antioksidan Etki Profilleri

Şekil 3.95 CHO hücrelerinde kümen hidrojen peroksit (CH_2O_2) ile indüklenen DCFH oksidasyonu üzerine yeni sentezlenen melatonin analoglarının etkisi. Barlar beş farklı ($n=5$) çalışmanın “ortalama $\pm$ standart sapma” değerlerini göstermektedir. Barların üzerinde yer alan değerler ise yüzde olarak kontrole kıyasla absorbands değerlerini ifade etmektedir. CH_2O_2 kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Örneklerin istatistikleri kontrol grubuna kıyasla yapılmıştır. * $p<0.05$, ** $p<0.005$, *** $p<0.0005$ (AA: Askorbik asit)

1b ve **2e**’nin gözlenen antioksidan etkisinin konsantrasyona bağımlılığı da araştırılmış ve aynı konsantrasyonlarda melatoninin neden olduğu antioksidan etki ile karşılaştırılmıştır (Şekil 3.96). **1b**’nin doza bağımlı bir şekilde, artan konsantrasyonuna bağlı olarak antioksidan etkisinin de arttığı ve bu etkisinin 1 ve 10 μM konsantrasyonda aynı konsantrasyondaki MLT’e kıyasla daha güçlü olduğu gözlenmiştir. **2e** maddesinin ise söz konusu modelde in vitro antioksidan etkisinin her üç konsantrasyonda da melatonine kıyasla daha güçlü olduğu gözlenmiştir.

Daha önceki çalışmalarımızda da belirlediğimiz gibi melatoninin bifazik etkisi bu çalışmada da görülmüş; düşük konsantrasyonlarında daha güçlü antioksidan etki gösterirken konsantrasyonu arttıkça antioksidan etkisi azalmıştır.



Şekil 3.96 1b ve 2e Bileşiklerinin Konsantrasyona Bağlı Antioksidan Etki Profilleri

Şekil 3.96 CHO hücrelerinde kümen hidrojen peroksit (CH_2O_2) ile indüklenen DCFH oksidasyonu üzerine melatonin ve yeni sentezlenen melatonin analoglarından 1b ve 2e'nin doza-bağımlı etkisi. Barlar beş farklı ($n=5$) çalışmanın "ortalama $\pm$ standart sapma" değerlerini göstermektedir. Barların üzerinde yer alan değerler ise yüzde olarak kontrole kıyasla absorban değerlerini ifade etmektedir. CH_2O_2 kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Örneklerin istatistikleri kontrol grubuna kıyasla yapılmıştır. * $p<0.05$, ** $p<0.005$, *** $p<0.0005$ (MLT: melatonin)

4. TARTIŞMA

Antioksidanlar organizmamızda normal hücre aktivitesi sonucu yan ürün olarak oluşan serbest radikalleri nötralize eden maddelerdir. Serbest radikaller son yörüngesinde eşleşmemiş elektron taşıyan ve bu nedenle kimyasal açıdan çok reaktif atom ya da moleküllerdir. İnsanda en sık maruz kalınan serbest radikal formu oksijen türevleridir. Oksijen molekülü/türevleri radikal haline geldiğinde başka moleküllerden electron almaya çalışır buda DNA ve diğer hayati önemi olan moleküllere hasar verir. Zaman içinde bu hasar geri dönüşümsüz hal alır ve başlıca kanser gibi birçok hastalığa neden olabilir. Antioksidanlar serbest radikalleri “süpürür” yani elektriksel yükü nötralize eder ve serbest radikalın başka moleküllerden elektron almasını önler.

Çalışmalar antioksidan moleküllerin kanser gelişimini önleyebileceği ya da yavaşlatabileceğini göstermektedir. Antioksidan ilaçlar kanser tedavisi süresince kullanılırsa tedaviye yardım edebilirler. Antioksidanlar ayrıca kanser hücresi büyümesinde etkili olan oksidatif stresi de önleyebilirler. Doğal antioksidanlar ile ilgili çeşitli biyolojik aktivite çalışması bulunmasına karşın ilaç adayı sentetik bileşiklerin antioksidan çalışmaları tatmin edici sonuçlar vermemektedir. Son araştırmalar indol türevleri gibi melatonin analogu bileşiklerin önemli antioksidan ve antikanser etkileri olduğunu göstermektedir. Bu görüşten hareketle bu tez çalışmasında bazı yeni indol türevi bileşiklerin sentezinin yapılması, kimyasal yapılarının aydınlatılması, antioksidan aktiviteleri ile sitotoksitelerinin tayini ve kemopreventif etkilerinin araştırılması planlanmaktadır.

Günümüzde yapılan araştırmalar kanser başta olmak üzere Alzheimer (Guglielmotto ve ark. 2009), Parkinson, Huntington (Dong ve ark. 2009) gibi nörodejeneratif hastalıklar, ateroskleroz (Szasz ve ark. 2007), diyabet, romatoid artrit, yaşlanma, otoimmün hastalıklar gibi birçok önemli rahatsızlığın patofizyolojisinde serbest radikallerin rolü olduğunu göstermektedir. İndol halkası taşıyan melatonin

molekölünün hücreleri oksidatif strese koruyan, serbest radikal yakalama aktivitesi yüksek antioksidan ve antikanser etkilerinin olduğunun anlaşılmasından sonra bu halka sistemini içeren antioksidan ve antikanser aktiviteli türevlerin sentezlenmesi çalışmaları da önemli bir yer tutmaya başlamıştır.

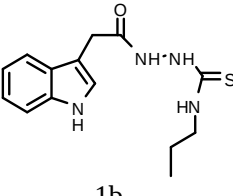
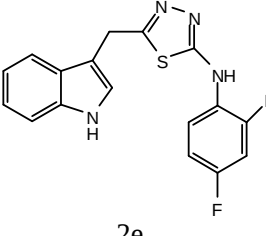
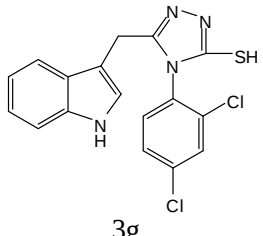
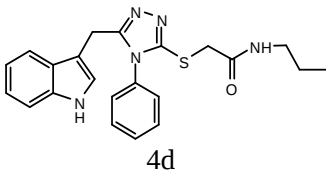
Bu tez çalışmasında melatonin üzerinde değişik konumlarda gerçekleştirilen modifikasyonlarla yeni antioksidan ilaç etken maddeleri olabilecek yeni bileşiklerin geliştirilmesi planlanmıştır. Bu amaçla indol halkasının 5. konumunda melatonin yapısında bulunan metoksi grubu kaldırılarak hidrojen ile değiştirilmiştir. Bu değişikliğin yanı sıra melatonin molekülünün 3. konumunda bulunan yan zincir olan asetilaminoetil grubu değiştirilerek asetil-N-(aril veya alkil)hidrazinkarbotiyoamid, 1,2,4-triazol ve 1,2,4-tiadiazol yapıları eklenmiştir. Bu bileşiklerin sentezlenmeleri amacıyla (1H-indol-3-il)asetohidrazin başlangıç maddesinden hareketle 3. konumdaki yan zincire farklı gruplar takılarak yeni bileşikler sentezlenmiştir.

Birinci grup sonuç ürünleri olarak, 2-(1H-indol-3-il-asetil)-N-(aril veya alkil)hidrazinkarbotiyoamid türevleri (**1a-h**), ikinci grup ürünler 5-((1H-indol-3-il)metil)-N-(süstitüe aril veya alkil)amino-1,2,4-tiyadiazol türevleri (**2a-h**), üçüncü grup olarak 5-((1H-indol-3-il) metil)-4-(süstitüe aril veya alkil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol türevleri (**3a-h**) ve en son grup olarak 5-((1H-indol-3-il) metil)-4-(süstitüe aril/alkil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyollerin S-alkilasyonu ile 5-((1H-indol-3-il) metil)-4-(süstitüe aril/alkil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyo-N-süstitüe türevleri (**4a-g**)’den oluşan yeni indol türevi bileşikler elde edilmiştir. Sentezlenen tüm bileşiklerin saflık kontrolleri, E.n ve İTK incelemeleri yapıldıktan sonra kimyasal yapıları elementel analiz, NMR (¹H, ¹³C) ve Kütle spektroskopisi ile kanıtlanmıştır.

Sentezlenen bileşiklerin antioksidan etki profilleri DCFH-DA deneyi yapılarak belirlendi. Deney sonucunda **1b** ve **2e** maddelerinin en yüksek antioksidan etkiyi gösterdiği saptanmıştır. En yüksek aktivite gösteren moleküller yapısal olarak incelendiğinde **1b** molekülünün indol halkasının 3. konumuna bağlı yan zinciri fenil

halkası içermemekte ve propilhidrazinkarbotiyoamid alifatik zincir yapısından oluşmaktadır. Karbotiyoamid yapısı taşıyan bileşiklerde yüksek antioksidan etki görüldüğü bilinmektedir (Hossain ve ark. 2012). Buna karşın **2e** bileşiği yan zincir olarak indol halkasının 3. konumuna bağlı tiyadiazol halkasına NH köprüsü ile bağlanmış diflorofenil yapısı içermektedir. Önceki çalışmalarımızda da elde ettiğimiz sonuçlarda difloro fenil yan zinciri taşıyan indol türevi bileşiklerde yüksek antioksidan aktivite gözlenmiştir (Gürkök ve ark. 2009, Shirinzadeh ve ark. 2010, Yılmaz ve ark. 2012). Tiyadiazol türevi bileşiklerde antioksidan aktivite gözlenmesi oldukça beklenen bir sonuçtur (Joseph ve ark. 2013). Ancak **2e** bileşiği hem diflorofenil hem de tiyadiazol yapıları taşımasına rağmen beklenenden daha düşük bir antioksidan etki göstermiştir.

Tez çalışmasında sentezlenen 4 farklı molekül grubunun en yüksek antioksidan aktivite gösteren türevleri aşağıdaki gibidir.

Yolak A serisi	Yolak B serisi	Yolak C serisi	Yolak D serisi
 1b	 2e	 3g	 4d

Şekil 4.1 En yüksek aktivite gösteren bileşikler

1b (%74) ve **2e** (% 81) bileşiklerinin en etkili antioksidan moleküller olduğu düşünülürse **3g** (% 88) yapısının 2-klorofenil yan zinciri ile **2e** ye yakın aktivite göstermesi beklenen bir sonuçtur ancak **2e** molekülünden sadece taşıdığı –SH yapısı ile farklılık gösteren **3e** (%115) molekülünün benzer aktivite göstermemesi şaşırtıcıdır. **4d** (%98) molekülünün serisinde en etkili molekül olması taşıdığı yan zincirin **1b** molekülüne olan benzerliği nedeniyle anlamlıdır. Aynı şekilde **4e** (%136) molekülünün

diflorofenil halkası taşımasına rağmen beklenen aktiviteyi göstermemesi şaşırtıcıdır. Bu durum indol halkasındaki yan zincirlerin bağlandığı konumların yerlerinin radikal yakalanması için indol halkasına sağladığı stabilite açısından önemi olduğunu göstermektedir.

En etkili antioksidan bileşikler **1b** ve **2e**'nin gözlenen antioksidan etkisinin konsantrasyona bağımlılığı ve aynı konsantrasyonlarda melatoninin neden olduğu antioksidan etki ile karşılaştırılması (Şekil 3.96) önemli veriler elde edilmesini sağlamıştır. **1b**'nin doza bağımlı bir şekilde, artan konsantrasyonuna bağlı olarak antioksidan etkisi artmaktadır. Bu etki aynı konsantrasyondaki melatonine kıyasla daha güçlüdür. Aynı şekilde **2e** maddesinin de söz konusu modelde in vitro antioksidan etkisinin aynı konsantrasyonda melatonine kıyasla daha güçlü olduğu gözlenmiştir.

Sentezlenen indol türevi bileşiklerin biyolojik aktivite çalışmalarında sitotoksik etki profilleri MTT testi ile yapılmıştır. Bu deney sonucunda **4c**, **2b**, **1d**, **2h**, **1a** maddelerinin hücre proliferasyonunu artırıcı etkileri olduğu gözlenmiştir. Diğer bileşikler sitotoksik etki göstermişlerdir.

Bileşikler kemopreventif etkileri açısından değerlendirildiğinde en aktif antioksidan aktivite gösteren **1b**, **2e**, **3g** ve **4g** bileşikleri serbest radikal yakalamada en aktif bileşikler oldukları için sentezlenen seri içinde de en aktif kemopreventif etki gösteren bileşikler olarak kabul edilebilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması indol molekülü ile ilgili daha önce yapılmış antioksidan çalışmaların incelenmesi ve son on yıldır anabilimdalımızda gerçekleştirilen antioksidan indol türevi bileşikler ile ilgili yapılan çalışmaların değerlendirilmesi sonucunda planlanmıştır. Bu plan dahilinde hedeflenen 25'i orijinal 31 adet indol türevi bileşik sentezlenerek saflaştırılmış ve yapıları aydınlatılarak biyolojik değerlendirilmeleri gerçekleştirilmiştir.

Sentezlenen bileşikler içinde en etkili antioksidan aktiviteyi sırası ile **1b**, **2e**, **3g** ve **4d** moleküllerinin gösterdiği belirlenmiştir. Bu moleküllerin antioksidan etkileri askorbik asite yakın çıkmakla birlikte en etkili moleküller **1b** ve **2e** melatonine karşı incelendiğinde aynı konsantrasyonlarda melatoninden daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Bu nedenle ileri çalışmalarımızın bu moleküllerin modifikasyonları ile devam etmesi planlanmaktadır.

Daha önceki çalışmalarımızda sentezlediğimiz melatonin analogu indol türevi bileşiklerde indolün 3. Konumundan yapılan modifikasyonlarda aromatik halka indol halkasına 3 üyeli ve çifte bağ içeren imin köprüsüyle ile bağlyken bu tez çalışmasında sentezlenen maddeler sadece metil köprüsüyle indol halkasına bağlı bulunmaktadır(Shirinzadeh ve ark. 2010). İleri çalışmalarımızda bu konuyu dikkate alarak yeni modifikasyonlarda 3 üyeli çifte bağ içeren bir köprü ile iki halka sistemi arasında konjugasyonu da sağlayarak daha etkili bileşiklerin ortaya çıkarılması düşünülmektedir.

Serbest radikal etkisiyle DNA'nın yapısının değişmesi sonucu mutasyonlar ve kanser oluşumu gözlenebilir. Bu nedenle antioksidan maddelerin aynı zamanda kemopreventif etkilerinde olduğu kanıtlanmıştır(Khan ve ark. 2008). Bu tez çalışması ile sentezlenen bileşiklerden en yüksek antioksidan aktivite gösteren sırası ile **1b**, **2e**, **3g** ve **4d** molekülleri en yüksek kemopreventif aktiviteye de sahiptir.

MTT deneyi sonuçlarına bakılacak olursa, sentezlenen bileşiklerin birçoğu sitotoksik etki göstermiştir. Sitotoksik etki kanserli hücrelere karşı kullanılan bileşiklerde istenilen bir özellik olduğunda ileride bu bileşiklerin antikanser etkileri ile ilgi çalışma yürütmeği de düşünmekteyiz. Zira bu tez çalışmasında sentezlediğimiz bileşikler, antikanser ilaç olarak kullanılan ve indol halkası taşıyan *Sunitinib*'e yapısal olarak benzerlik göstermektedir.

6. ÖZET

Yeni İndol Türevi Bileşiklerin Sentezleri, Yapısal Analizleri, Antioksidan Aktivite Sitotoksisite ve Kemoproventif Etkilerinin Değerlendirilmesi

Bu çalışma ile 2-(1H-indol-3-il)asetohidrazin ve aril/alkilisotiyosiyanat dan hareketle 2-(1H-indol-3-il-asetil)-N-(aril/alkil)hidrazin karbotiyoamid türevleri (**1a-h**) ve bu bileşiklerin siklizasyon reaksiyonu sonucu 5-(1H-indol-3-il)metil-N-(süstitüe aril/alkil)-1,2,4-tiyadiazol-2-süstitüe amin türevleri (**2a-h**) ve 5-((1H-indol-3-il) metil)-4-(süstitüe aril/alkil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyol (**3a-h**) türevleri ile 5-((1H-indol-3-il) metil)-4-(süstitüe aril/alkil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyollerin S-alkilasyonu ile 5-((1H-indol-3-il) metil)-4-(süstitüe aril/alkil)-4H-1,2,4-triazol-3-tiyo-N-süstitüe türevleri (**4a-g**) sentezlendi. Sonuçta 27 adet orijinal olmak üzere 31 adet indol türevi bileşik sentezlenerek kimyasal yapıları NMR, Mass spektrometresi ve elementel analiz ile yapıları aydınlatıldı.

Sentezlenen bileşiklerin sitotoksik etki profilleri için MTT deneyi, antioksidan etki profilleri için DCFH-DA deneyi yapılarak gözlemlendi. MTT deneyi ile **4c**, **2b**, **1d**, **2h**, **1a** maddelerinin hücre proliferasyonunu artırıcı etkileri olduğu gözlemlenmiştir. $p < 0,05$ anlamlılık derecesinde **2f**, **1e**, **3e**, **4f**, **4g** maddelerinin; $p < 0,005$ anlamlılık derecesinde ise **2e**, **4b**, **4d**, **4e** maddelerinin sitotoksik etki potansiyeline sahip olduğu bulunmuştur. DCFH-DA deneyi sonucunda **1f**, **4f**, **3e** maddelerinin $p < 0,05$ anlamlılık derecesinde; **3c**, **4c**, **3d**, **1g**, **1e**, **4e** maddelerinin $p < 0,005$ anlamlılık derecesinde DCFH oksidasyonunu artırdığı görülmüştür. $p < 0,05$ anlamlılık derecesinde, cH_2O_2 varlığında **1b** ve **2e** maddelerinin sırasıyla % 74 ve % 81 değerleri ile en yüksek antioksidan etkiyi gösterdiği saptanmıştır. Bu bileşiği **1c**, **3g**, **4e**, **1d** ve **2g** maddeleri sırasıyla %83, %88, %89 ve %90 oranları ile takip etmiştir.

En aktif antioksidan etki gösteren **1b** ve **2e**'nin gözlenen etkisinin konsantrasyona bağımlılığı aynı konsantrasyonlarda melatonine karşı araştırılmıştır. **1b**'nin doza bağımlı bir şekilde, artan konsantrasyonuna bağlı olarak antioksidan etkisinin de arttığı ve bu etkisinin 1 ve 10 μM konsantrasyonda aynı konsantrasyondaki melatonine'e kıyasla daha güçlü olduğu gözlemlenmiştir. **2e** maddesinin ise söz konusu modelde in vitro antioksidan etkisinin her üç konsantrasyonda da melatonine kıyasla daha güçlü olduğu gözlemlenmiştir.

Anahtar kelimeler : Antioksidan, İndol türevleri , Sentez, Tiyadiazol ,Triazol

SUMMARY

Synthesis, Structure Elucidation, Antioxidant Activity, Cytotoxicity and Chemopreventative Evaluation of New Indole Derivatives

With this study from 2-(1H-indole-3-yl)acetohydrazine and aryl/alkylisothiocyanate compounds 2-(1H-indole-3-yl-acetyl)-N-(aryl/alkyl)hydrazinecarbothioamide (**1a-h**) derivatives which were cyclised to give 5-(1H-indole-3-yl)methyl-N-(substitute aryl/alkyl)-1,2,4-thiadiazole-2- substitute amine derivatives (**2a-h**) and 5-((1H-indole-3-yl) methyl)-4-(substitute aryl/alkyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol (**3a-h**) derivatives and by the S-alkylation of 5-((1H-indole-3-yl) methyl)-4-(substitute aryl/alkyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiols 5-((1H-indole-3-yl) methyl)-4-(substitute aryl/alkyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thio-N-substitute dervatives (**4a-g**) were synthesised. There were 31 indole derivative compounds that 27 of them are new synthesised and the chemical structures were elucidated by NMR, Mass spectrometry and elemental analysis.

MTT assay for the cytotoxic profiles and DCFH-DA assay for revealing the antioxidant activity were performed on the synthesised compounds. According to the result of MTT assay **4c**, **2b**, **1d**, **2h**, compounds showed increasing effect on cell proliferation. **2f**, **1e**, **3e**, **4f**, **4g** compounds with $p < 0,05$ degree of significance and **2e**, **4b**, **4d**, **4e** compounds with $p < 0,005$ degree of significance were found to have cytotoxic potential. According to the DCFH-DA assay increasing of DCFH oxidation was observed by **1f**, **4f**, **3e** compounds with $p < 0,05$ degree of significance and **3c**, **4c**, **3d**, **1g**, **1e**, **4e** compounds with $p < 0,005$ degree of significance. In the presence of cH_2O_2 with $p < 0,05$ degree of significance **1b** and **2a**, were observed with the highest antioxidant effect respectively with values of 74% and 81%. These antioxidant effects was followed by **1c**, **3g**, **4a**, **1**, respectively, with the rate of %83, %88, %89 and %90.

The concentration dependance effect of the most active compounds **1b** and **2e** was investigated against melatonin at the same concentration. Depending on the dose of **1b** when the concentrations is increasing the antioxidant effect is also increasing and this effect is stronger than melatonin in concentration of 1 and 10 μM . Compound **2e** with the same concentrations showed stronger antioxidant effect when compared to the melatonin.

Key words : Antioxidant, Indole derivatives, Synthesis, Thiadiazole, Triazole,

KAYNAKLAR

- AGARWAL, R. (2006). Effects of Statins on Renal Function. *The American Journal of Cardiology* 97(5): 748-755.
- AGNEZ-LIMA, L. F., J. T. A. MELO, A. E. SILVA, A. H. S. OLIVEIRA, A. R. S. TIMOTEO, K. M. LIMA-BESSA, G. R. MARTÍNEZ, M. H. G. MEDEIROS, P. DI MASCIO, R. S. GALHARDO and C. F. M. MENCK (2012). DNA damage by singlet oxygen and cellular protective mechanisms. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 751(1): 15-28.
- ALEXEYEV, M. F. (2009). Is there more to aging than mitochondrial DNA and reactive oxygen species? *FEBS J* 276(20): 5768-5787.
- ALLEGRA, M., R. J. REITER, D. X. TAN, C. GENTILE, L. TESORIERE and M. A. LIVREA (2003). The chemistry of melatonin's interaction with reactive species. *J Pineal Res* 34(1): 1-10.
- ALMEIDA, I. M. C., J. C. M. BARREIRA, M. B. P. P. OLIVEIRA and I. C. F. R. FERREIRA (2011). Dietary antioxidant supplements: Benefits of their combined use. *Food and Chemical Toxicology* 49(12): 3232-3237.
- ANDREADOU, I., A. TASOULI, E. BOFILIS, M. CHRYSSELIS, E. REKKA, A. TSANTILI-KAKOULIDOU, E. ILIODROMITIS, T. SIATRA and D. T. KREMASTINOS (2002). Antioxidant activity of novel indole derivatives and protection of the myocardial damage in rabbits. *Chemical and pharmaceutical bulletin* 50(2): 165-168.
- ANDREADOU, I., A. TASOULI, E. ILIODROMITIS, A. TSANTILI-KAKOULIDOU, A. PAPALOIS, T. SIATRA and D. T. KREMASTINOS (2002). Reduction of myocardial infarct size in rabbits by a novel indole derivative with antioxidant and free radical scavenging properties. *Eur J Pharmacol* 453(2-3): 271-277.
- ANTUNES, F., L. R. C. BARCLAY, K. U. INGOLD, M. KING, J. Q. NORRIS, J. C. SCAIANO and F. XI (1999). On the antioxidant activity of melatonin. *Free Radical Biology and Medicine* 26(1-2): 117-128.
- AZZI, A., K. J. DAVIES and F. KELLY (2004). Free radical biology - terminology and critical thinking. *FEBS Lett* 558(1-3): 3-6.
- BAILLIE, J. K., M. G. BATES, A. A. THOMPSON, W. S. WARING, R. W. PARTRIDGE, M. F. SCHNOPP, A. SIMPSON, F. GULLIVER-SLOAN, S. R. MAXWELL and D. J. WEBB (2007). Endogenous urate production augments plasma antioxidant capacity in healthy lowland subjects exposed to high altitude. *Chest* 131(5): 1473-1478.
- BANDAY, A. A., A. B. MUHAMMAD, F. R. FAZILI and M. LOKHANDWALA (2007). Mechanisms of oxidative stress-induced increase in salt sensitivity and development of hypertension in Sprague-Dawley rats. *Hypertension* 49(3): 664-671.
- BARLOW-WALDEN, L. R., R. J. REITER, M. ABE, M. PABLOS, A. MENENDEZ-PELAEZ, L. D. CHEN and B. POEGGELER (1995). Melatonin stimulates brain glutathione peroxidase activity. *Neurochem Int* 26(5): 497-502.

- BECKMAN, J. S., T. W. BECKMAN, J. CHEN, P. A. MARSHALL and B. A. FREEMAN (1990). Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87(4): 1620-1624.
- BECKMAN, J. S., M. CARSON, C. D. SMITH and W. H. KOPPENOL (1993). ALS, SOD and peroxynitrite. *Nature* 364(6438): 584.
- BENZIE, I. F. (2003). Evolution of dietary antioxidants. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 136(1): 113-126.
- BISBY, R. H., A. G. CRISOSTOMO, S. W. BOTCHWAY and A. W. PARKER (2009). Nanoscale hydroxyl radical generation from multiphoton ionization of tryptophan. *Photochem Photobiol* 85(1): 353-357.
- BONDY, B. (2009). Chapter 105 - Genomics and Depression. *Genomic and Personalized Medicine*. H. F. Willard and G. S. Ginsburg. New York, Academic Press.: 1289-1298.
- BRAINARD, G. C., J. P. HANIFIN, M. D. ROLLAG, J. GREESON, B. BYRNE, G. GLICKMAN, E. GERNER and B. SANFORD (2001). Human melatonin regulation is not mediated by the three cone photopic visual system. *J Clin Endocrinol Metab* 86(1): 433-436.
- BUTIN, A. V., T. Y. A. STROGANOVA, I. V. LODINA and G. D. KRAPIVIN (2001). Furan ring opening—indole ring closure: a new modification of the Reissert reaction for indole synthesis. *Tetrahedron Letters* 42(10): 2031-2033.
- BUYUKBINGOL, E., S. SUZEN and G. KLOPMAN (1994). Studies on the synthesis and structure-activity relationships of 5-(3'-indolal)-2-thiohydantoin derivatives as aldose reductase enzyme inhibitors. *Farmaco* 49(6): 443-447.
- CAGNOLI, C. M., C. ATABAY, E. KHARLAMOVA and H. MANEV (1995). Melatonin protects neurons from singlet oxygen-induced apoptosis. *J Pineal Res* 18(4): 222-226.
- CARBAJO-PESCADOR, S., A. GARCIA-PALOMO, J. MARTIN-RENEO, M. PIVA, J. GONZALEZ-GALLEGO and J. L. MAURIZ (2011). Melatonin modulation of intracellular signaling pathways in hepatocarcinoma HepG2 cell line: role of the MT1 receptor. *J Pineal Res* 51(4): 463-471.
- CARDINALI, D. P., E. S. PAGANO, P. A. SCACCHI BERNASCONI, R. REYNOSO and P. SCACCHI (2013). Melatonin and mitochondrial dysfunction in the central nervous system. *Hormones and Behavior* 63(2): 322-330.
- CARLIN, R. B. and E. E. FISHER (1948). Studies on the Fischer indole synthesis. *J Am Chem Soc* 70(10): 3421-3424.
- CATHCART, M. K. (2004). Regulation of superoxide anion production by NADPH oxidase in monocytes/macrophages: contributions to atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24(1): 23-28.
- CHAN, P. H. (1996). Role of oxidants in ischemic brain damage. *Stroke* 27(6): 1124-1129.
- CHEN, H., Z. LI and Y. HAN (2000). Synthesis and fungicidal activity against *Rhizoctonia solani* of 2-alkyl (Alkylthio)-5-pyrazolyl-1,3,4-oxadiazoles (Thiadiazoles). *J Agric Food Chem* 48(11): 5312-5315.
- CHOUDHARI, S. K., M. CHAUDHARY, A. R. GADBAIL, A. SHARMA and S. TEKADE (2014). Oxidative and antioxidative mechanisms in oral cancer and precancer: A review. *Oral Oncology* 50(1): 10-18.

- CHRISTOFIDOU-SOLOMIDOU, M. and V. R. MUZYKANTOV (2006).Antioxidant strategies in respiratory medicine. *Treat Respir Med* 5(1): 47-78.
- CROTEAU, D. L. and V. A. BOHR (1997).Repair of oxidative damage to nuclear and mitochondrial DNA in mammalian cells. *J Biol Chem* 272(41): 25409-25412.
- DAHLOF, C. G. H., A. M. RAPOPORT, F. D. SHEFTELL and C. R. LINES (1999).Rizatriptan in the treatment of migraine. *Clinical Therapeutics* 21(11): 1823-1836.
- DAVIS, G. D., J. G. MASILAMONI, V. ARUL, M. S. KUMAR, U. BARANEEDHARAN, S. F. PAUL, I. V. SAKTHIVELU, E. P. JESUDASON and R. JAYAKUMAR (2009).Radioprotective effect of DL-alpha-lipoic acid on mice skin fibroblasts. *Cell Biol Toxicol* 25(4): 331-340.
- DE LUCA, C., I. DEEVA, S. MARIANI, G. MAIANI, A. STANCATO and L. KORKINA (2009).Monitoring antioxidant defenses and free radical production in space-flight, aviation and railway engine operators, for the prevention and treatment of oxidative stress, immunological impairment, and pre-mature cell aging. *Toxicol Ind Health* 25(4-5): 259-267.
- DIZDAROGLU, M. (1998).Facts about the artifacts in the measurement of oxidative DNA base damage by gas chromatography-mass spectrometry. *Free Radic Res* 29(6): 551-563.
- DIZDAROGLU, M., P. JARUGA and H. RODRIGUEZ (2001).Measurement of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in DNA by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry: comparison with measurement by gas chromatography-mass spectrometry. *Nucleic Acids Res* 29(3): E12.
- DONG, X. X., Y. WANG and Z. H. QIN (2009).Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta Pharmacol Sin* 30(4): 379-387.
- DREW, B. and C. LEEUWENBURGH (2002).Aging and the role of reactive nitrogen species. *Ann N Y Acad Sci* 959: 66-81.
- ERSAHİN, M., H. Z. TOKLU, S. CETİNEL, M. YUKSEL, B. C. YEGEN and G. SENER (2009).Melatonin reduces experimental subarachnoid hemorrhage-induced oxidative brain damage and neurological symptoms. *J Pineal Res* 46(3): 324-332.
- FARINATI, F., R. CARDIN, P. DEGAN, M. RUGGE, F. D. MARIO, P. BONVICINI and R. NACCARATO (1998).Oxidative DNA damage accumulation in gastric carcinogenesis. *Gut* 42(3): 351-356.
- FAUX, S. P., T. TAI, D. THORNE, Y. XU, D. BREHENY and M. GACA (2009).The role of oxidative stress in the biological responses of lung epithelial cells to cigarette smoke. *Biomarkers* 14 Suppl 1: 90-96.
- FAVERO, G., L. F. RODELLA, R. J. REITER and R. REZZANI (2014).Melatonin and its atheroprotective effects: A review. *Molecular and Cellular Endocrinology* 382(2): 926-937.
- FERNANDEZ, D., E. BONILLA, P. PHILLIPS and A. PERL (2006).Signaling abnormalities in systemic lupus erythematosus as potential drug targets. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 6(4): 305-311.
- FRAGA, C. G., M. K. SHIGENAGA, J. W. PARK, P. DEGAN and B. N. AMES (1990).Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87(12): 4533-4537.

- GARCÍA, J. J., R. J. REITER, M. KARBOWNIK, J. R. CALVO, G. G. ORTÍZ, D. X. TAN, E. MARTÍNEZ-BALLARÍN and D. ACUNA-CASTROVIEJO (2001). N-acetylserotonin suppresses hepatic microsomal membrane rigidity associated with lipid peroxidation. *Eur J Pharmacol* 428(2): 169-175.
- GARRATT, P. J. and A. TSOTINIS (2007). Synthesis of compounds as melatonin agonists and antagonists. *Mini Rev Med Chem* 7(10): 1075-1088.
- GERONIKAKI, A. A. and A. M. GAVALAS (2006). Antioxidants and inflammatory disease: synthetic and natural antioxidants with anti-inflammatory activity. *Comb Chem High Throughput Screen* 9(6): 425-442.
- GOKCE, M., B. ÇAKIR, K. EROL and M. F. SAHİN (2001). Synthesis and antinociceptive activity of [(2-oxobenzothiazolin-3-yl)methyl]-4-alkyl/aryl-1,2,4-triazoline-5-thiones. *Arch Pharm (Weinheim)* 334(8-9): 279-283.
- GOKEL, G. W. (2007). Indole, the aromatic element of tryptophan, as a pi-donor and amphiphilic headgroup. *International Congress Series* 1304(0): 1-14.
- GORI, S., N. MORELLI, G. BELLINI, E. BONANNI, L. MANCA, G. ORLANDI, A. IUDICE and L. MURRI (2005). Rizatriptan does not change cerebral blood flow velocity during migraine attacks. *Brain Research Bulletin* 65(4): 297-300.
- GOVERDHAN, G., A. RAGHUPATHI REDDY, V. HIMABINDU and G. MAHESH REDDY. Synthesis and characterization of critical process related impurities of an asthma drug – Zafirlukast. *Journal of Saudi Chemical Society*(0).
- GU, F., V. CHAUHAN and A. CHAUHAN (2013). Impaired synthesis and antioxidant defense of glutathione in the cerebellum of autistic subjects: Alterations in the activities and protein expression of glutathione-related enzymes. *Free Radical Biology and Medicine* 65(0): 488-496.
- GUGLIELMOTTO, M., E. TAMAGNO and O. DANNI (2009). Oxidative stress and hypoxia contribute to Alzheimer's disease pathogenesis: two sides of the same coin. *ScientificWorldJournal* 9: 781-791.
- GUPTA, Y. K., M. GUPTA and K. KOHLI (2003). Neuroprotective role of melatonin in oxidative stress vulnerable brain. *Indian J Physiol Pharmacol* 47(4): 373-386.
- GÜRKÖK, G., T. COBAN and S. SÜZEN (2009). Melatonin analogue new indole hydrazide/hydrazone derivatives with antioxidant behavior: synthesis and structure-activity relationships. *J Enzyme Inhib Med Chem* 24(2): 506-515.
- HALLIWELL, B. and J. M. GUTTERIDGE (1984). Free radicals, lipid peroxidation, and cell damage. *Lancet* 2(8411): 1095.
- HALLIWELL, B. and J. M. C. GUTTERIDGE (1990). [1] Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *Methods in Enzymology*. A. N. G. Lester Packer, Academic Press. **Volume 186p.**: 1-85.
- HENDERSON, J. R., H. SWALWELL, S. BOULTON, P. MANNING, C. J. MCNEIL and M. A. BIRCH-MACHIN (2009). Direct, real-time monitoring of superoxide generation in isolated mitochondria. *Free Radic Res* 43(9): 796-802.
- HICKMAN, Z. L., C. F. STURINO and N. LACHANCE (2000). A concise synthesis of 3-hydroxyindole-2-carboxylates by a modified Baeyer–Villiger oxidation. *Tetrahedron Letters* 41(43): 8217-8220.

- HONG, S. M., M. D. ROLLAG, J. RAMÍREZ and M. H. STETSON (1993). A single injection of adrenergic agonists enhances pineal melatonin production in Turkish hamsters. *J Pineal Res* 14(3): 138-144.
- HOSSAIN, G., M. M. ABEDIN and S. C. BACHAR (2012). Synthesis and Characterization of N 1-Phenylhydrazine-1, 2-bis (carbothioamide) and Its Evaluation for Antimicrobial, Antioxidant, and Brine Shrimp Lethality Bioassay. *Organic Chemistry International* 2012.
- HUANG, M. F., W. L. LIN and Y. C. MA (2005). A study of reactive oxygen species in mainstream of cigarette. *Indoor Air* 15(2): 135-140.
- IKEDA, Y., K. MATSUMOTO, K. DOHI, H. JIMBO, K. SASAKI and K. SATOH (2001). Direct superoxide scavenging activity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: determination by electron spin resonance using the spin trap method. *Headache* 41(2): 138-141.
- JAIN, S. K. (2006). Oxidative stress and metabolic diseases: Introduction. *Pathophysiology* 13(3): 127-128.
- JEONG, S. W., J. W. CHO, J. S. HWANG, J. D. SONG, S. SHIN, J. Y. JANG, S.-Y. HWANG, O. KIM, J.-C. KIM, Y.-B. KIM and J.-K. KANG (2005). The antiemetic effect of a novel tropisetron patch in anticancer agents-induced kaolin pica model using rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 20(1): 167-174.
- JOSEPH, A., C. S. SHAH, S. S. KUMAR, A. T. ALEX, N. MALIYAKKAL, S. MOORKOTH and J. E. MATHEW (2013). Synthesis, in vitro anticancer and antioxidant activity of thiadiazole substituted thiazolidin-4-ones. *Acta pharmaceutica* 63(3): 397-408.
- JUMP, S. M., J. KUNG, R. STAUB, M. A. KINSETH, E. J. CRAM, L. N. YUDINA, M. N. PREOBRAZHENSKAYA, L. F. BJELDANES and G. L. FIRESTONE (2008). N-Alkoxy derivatization of indole-3-carbinol increases the efficacy of the G1 cell cycle arrest and of I3C-specific regulation of cell cycle gene transcription and activity in human breast cancer cells. *Biochem Pharmacol* 75(3): 713-724.
- KALYANARAMAN, B. (2013). Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms. *Redox Biology* 1(1): 244-257.
- KARBOWNIK, M. (2002). Potential anticarcinogenic action of melatonin and other antioxidants mediated by antioxidative mechanisms. *Neuro Endocrinol Lett* 23 Suppl 1: 39-44.
- KASAI, H., P. F. CRAIG, Y. KUCHINO, S. NISHIMURA, A. OOTSUYAMA and H. TANOOKA (1986). Formation of 8-hydroxyguanine moiety in cellular DNA by agents producing oxygen radicals and evidence for its repair. *Carcinogenesis* 7(11): 1849-1851.
- KASAI, H. and S. NISHIMURA (1984). Hydroxylation of deoxyguanosine at the C-8 position by ascorbic acid and other reducing agents. *Nucleic Acids Res* 12(4): 2137-2145.
- KELLEY, E. E., N. K. H. KHOO, N. J. HUNDLEY, U. Z. MALIK, B. A. FREEMAN and M. M. TARPEY (2010). Hydrogen peroxide is the major oxidant product of xanthine oxidase. *Free Radical Biology and Medicine* 48(4): 493-498.

- KHAN, I., S. ALI, S. HAMEED, N. H. RAMA, M. T. HUSSAIN, A. WADOOD, R. UDDIN, Z. UL-HAQ, A. KHAN, S. ALI and M. I. CHOUDHARY (2010). Synthesis, antioxidant activities and urease inhibition of some new 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* 45(11): 5200-5207.
- KHAN, I., S. ALI, S. HAMEED, N. H. RAMA, M. T. HUSSAIN, A. WADOOD, R. UDDIN, Z. UL-HAQ, A. KHAN, S. ALI and M. I. CHOUDHARY (2010). Synthesis, antioxidant activities and urease inhibition of some new 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole derivatives. *Eur J Med Chem* 45(11): 5200-5207.
- KHAN, N., F. AFAQ and H. MUKHTAR (2008). Cancer chemoprevention through dietary antioxidants: progress and promise. *Antioxid Redox Signal* 10(3): 475-510.
- KHARADI, G. J. (2013). Antioxidant, tautomerism and antibacterial studies of Fe(III)-1,2,4-triazole based complexes. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 110: 311-316.
- KNIGHT, J. G. (1982). Dopamine-Receptor-Stimulating Autoantibodies: A Possible Cause Of Schizophrenia. *The Lancet* 320(8307): 1073-1076.
- KOPARIR, M., C. OREK, A. E. PARLAK, A. SOYLEMEZ, P. KOPARIR, M. KARATEPE and S. D. DASTAN (2013). Synthesis and biological activities of some novel aminomethyl derivatives of 4-substituted-5-(2-thienyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thiones. *Eur J Med Chem* 63C: 340-346.
- KOSCH, M., M. BARENBRÖCK, B. SUWELACK, R. M. SCHAEFER, K.-H. RAHN and M. HAUSBERG (2003). Effect of a 3-year therapy with the 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase-inhibitor fluvastatin on endothelial function and distensibility of large arteries in hypercholesterolemic renal transplant recipient. *American Journal of Kidney Diseases* 41(5): 1088-1096.
- KOTLER, M., C. RODRIGUEZ, R. M. SAINZ, I. ANTOLIN and A. MENENDEZ-PELAEZ (1998). Melatonin increases gene expression for antioxidant enzymes in rat brain cortex. *J Pineal Res* 24(2): 83-89.
- LAUTRAITE, S., D. BIGOT-LASSERRE, R. BARS and N. CARMICHAEL (2003). Optimisation of cell-based assays for medium throughput screening of oxidative stress. *Toxicol In Vitro* 17(2): 207-220.
- LI, T. R., Z. Y. YANG and B. D. WANG (2007). Synthesis, characterization and antioxidant activity of naringenin Schiff base and its Cu(II), Ni(II), Zn(II) complexes. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 55(1): 26-28.
- LI, Y.-N., M.-M. XI, Y. GUO, C.-X. HAI, W.-L. YANG and X.-J. QIN (2014). NADPH oxidase-mitochondria axis-derived ROS mediate arsenite-induced HIF-1 α stabilization by inhibiting prolyl hydroxylases activity. *Toxicology Letters* 224(2): 165-174.
- MAHARAJ, D. S., J. L. LIMSON and S. DAYA (2003). 6-Hydroxymelatonin converts Fe (III) to Fe (II) and reduces iron-induced lipid peroxidation. *Life Sci* 72(12): 1367-1375.
- MAHARAJ, D. S., H. MAHARAJ, E. M. ANTUNES, D. M. MAREE, T. NYOKONG, B. D. GLASS and S. DAYA (2005). 6-Hydroxymelatonin protects against quinolinic-acid-induced oxidative neurotoxicity in the rat hippocampus. *J Pharm Pharmacol* 57(7): 877-881.

- MANSOURI, A., C. DEMEILLIERS, S. AMSELLEM, D. PESSAYRE and B. FROMENTY (2001). Acute ethanol administration oxidatively damages and depletes mitochondrial dna in mouse liver, brain, heart, and skeletal muscles: protective effects of antioxidants. *J Pharmacol Exp Ther* 298(2): 737-743.
- MARCO MORI, C. S., FEDERICA VACONDIO, S. PIER VINCENZO PLAZZI, G. S. BERTONI, GIUSEPPE DIAMANTINI, G. T. ANNALIDA BEDINI, MORENA ZUSSO, D. F. AND P. GIUSTI (2004). Indole-based analogs of melatonin: in vitro antioxidant and cytoprotective activities. *Journal of Pineal Research* 36: 95-102.
- MARGHERI, M., N. PACINI, A. TANI, D. NOSI, R. SQUECCO, A. DAMA, E. MASALA, F. FRANCINI, S. ZECCHI-ORLANDINI and L. FORMIGLI (2012). Combined effects of melatonin and all-trans retinoic acid and somatostatin on breast cancer cell proliferation and death: Molecular basis for the anticancer effect of these molecules. *European Journal of Pharmacology* 681(1-3): 34-43.
- MATHEW, V., D. GILES, J. KESHAVAYYA and V. P. VAIDYA (2009). Studies on synthesis and pharmacological activities of 1,2,4-triazolo[3,4-b]1,3,4-thiadiazoles and their dihydro analogues. *Arch Pharm (Weinheim)* 342(4): 210-222.
- MATUSZAK, Z., K. RESZKA and C. F. CHIGNELL (1997). Reaction of melatonin and related indoles with hydroxyl radicals: EPR and spin trapping investigations. *Free Radic Biol Med* 23(3): 367-372.
- MAYO, J. C., R. M. SAINZ, D. X. TAN, R. HARDELAND, J. LEON, C. RODRIGUEZ and R. J. REITER (2005). Anti-inflammatory actions of melatonin and its metabolites, N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine (AFMK) and N1-acetyl-5-methoxykynuramine (AMK), in macrophages. *J Neuroimmunol* 165(1-2): 139-149.
- MERGENER, M., M. R. MARTINS, M. V. ANTUNES, C. C. DA SILVA, C. LAZZARETTI, T. O. FONTANIVE, E. S. SUYENAGA, P. G. ARDENGHI, S. W. MALUF and G. D. GAMARO (2009). Oxidative stress and DNA damage in older adults that do exercises regularly. *Clin Biochem* 42(16-17): 1648-1653.
- MILITANTE, J. and J. B. LOMBARDINI (2004). Age-related retinal degeneration in animal models of aging: possible involvement of taurine deficiency and oxidative stress. *Neurochem Res* 29(1): 151-160.
- MIQUEL, J. (2002). Can antioxidant diet supplementation protect against age-related mitochondrial damage? *Ann N Y Acad Sci* 959: 508-516.
- MISRA, M. K., M. SARWAT, P. BHAKUNI, R. TUTEJA and N. TUTEJA (2009). Oxidative stress and ischemic myocardial syndromes. *Med Sci Monit* 15(10): RA209-219.
- MOR, M., C. SILVA, F. VACONDIO, P. V. PLAZZI, S. BERTONI, G. SPADONI, G. DIAMANTINI, A. BEDINI, G. TARZIA, M. ZUSSO, D. FRANCESCHINI and P. GIUSTI (2004). Indole-based analogs of melatonin: in vitro antioxidant and cytoprotective activities. *J Pineal Res* 36(2): 95-102.
- NAPOLI, C. and L. J. IGNARRO (2009). Nitric oxide and pathogenic mechanisms involved in the development of vascular diseases. *Arch Pharm Res* 32(8): 1103-1108.
- NISHIKAWA, M., K. HYODOU, Y. KOBAYASHI, Y. UMEYAMA, Y. TAKAKURA and M. HASHIDA (2005). Inhibition of metastatic tumor growth by targeted delivery of antioxidant enzymes. *J Control Release* 109(1-3): 101-107.

- NORDBERG, J. and E. S. J. ARNÉR (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine* 31(11): 1287-1312.
- OREK, C., P. KOPARIR and M. KOPARIR (2012). N-cyclohexyl-2-[5-(4-pyridyl)-4-(p-tolyl)-4H-1,2,4-triazol-3-ylsulfanyl]-acetamide dihydrate: synthesis, experimental, theoretical characterization and biological activities. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 97: 923-934.
- PACHER, P., J. S. BECKMAN and L. LIAUDET (2007). Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev* 87(1): 315-424.
- PARK, J. W., M. S. HWANG, S. I. SUH and W. K. BAEK (2009). Melatonin down-regulates HIF-1 α expression through inhibition of protein translation in prostate cancer cells. *J Pineal Res* 46(4): 415-421.
- PATEL, R. P., J. MCANDREW, H. SELLAK, C. R. WHITE, H. JO, B. A. FREEMAN and V. M. DARLEY-USMAR (1999). Biological aspects of reactive nitrogen species. *Biochim Biophys Acta* 1411(2-3): 385-400.
- PIERPAOLI, W., D. BULIAN, A. DALL'ARA, B. MARCHETTI, F. GALLO, M. C. MORALE, C. TIROLO and N. TESTA (1997). Circadian melatonin and young-to-old pineal grafting postpone aging and maintain juvenile conditions of reproductive functions in mice and rats. *Exp Gerontol* 32(4-5): 587-602.
- PINTILIE, O., L. PROFIRE, V. SUNEL, M. POPA and A. PUI (2007). Synthesis and antimicrobial activity of some new 1,3,4-thiadiazole and 1,2,4-triazole compounds having a D,L-methionine moiety. *Molecules* 12(1): 103-113.
- POEGGELER, B., M. A. PAPPOLLA, R. HARDELAND, A. RASSOULPOUR, P. S. HODGKINS, P. GUIDETTI and R. SCHWARCZ (1999). Indole-3-propionate: a potent hydroxyl radical scavenger in rat brain. *Brain Res* 815(2): 382-388.
- POEGGELER, B., M. A. PAPPOLLA, R. HARDELAND, A. RASSOULPOUR, P. S. HODGKINS, P. GUIDETTI and R. SCHWARCZ (1999). Indole-3-propionate: a potent hydroxyl radical scavenger in rat brain. *Brain Research* 815(2): 382-388.
- PORST, H., M. GACCI, H. BÜTTNER, C. HENNEGES and F. BOESS Tadalafil Once Daily in Men with Erectile Dysfunction: An Integrated Analysis of Data Obtained from 1913 Patients from Six Randomized, Double-blind, Placebo-controlled, Clinical Studies. *European Urology*(0).
- POULLETIER DE GANNES, F., G. RUFFIE, M. TAXILE, E. LADEVEZE, A. HURTIER, E. HARO, S. DULEU, R. CHARLET DE SAUVAGE, B. BILLAUDEL, M. GEFFARD, B. VEYRET and I. LAGROYE (2009). Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and extremely-low frequency (ELF) magnetic fields: a study in the SOD-1 transgenic mouse model. *Amyotroph Lateral Scler* 10(5-6): 370-373.
- POYTON, R. O., P. R. CASTELLO, K. A. BALL, D. K. WOO and N. PAN (2009). Mitochondria and hypoxic signaling: a new view. *Ann N Y Acad Sci* 1177: 48-56.
- PUNTARULO, S. and A. I. CEDERBAUM (1998). Production of reactive oxygen species by microsomes enriched in specific human cytochrome P450 enzymes. *Free Radic Biol Med* 24(7-8): 1324-1330.

- REITER, R. J. (1997). Antioxidant actions of melatonin. *Adv Pharmacol* 38: 103-117.
- REITER, R. J., J. M. GUERRERO, J. J. GARCÍA and D. ACUNA-CASTROVIEJO (1998). Reactive oxygen intermediates, molecular damage, and aging. Relation to melatonin. *Ann N Y Acad Sci* 854: 410-424.
- REITER, R. J., D. X. TAN, J. LEON, U. KILIĆ and E. KILIĆ (2005). When melatonin gets on your nerves: its beneficial actions in experimental models of stroke. *Exp Biol Med (Maywood)* 230(2): 104-117.
- REITER, R. J., D. X. TAN, W. Qi, L. C. MANCHESTER, M. KARBOWNIK and J. R. CALVO (2000). Pharmacology and physiology of melatonin in the reduction of oxidative stress in vivo. *Biol Signals Recept* 9(3-4): 160-171.
- REMANS, P. H., M. VAN OOSTERHOUT, T. J. SMEETS, M. SANDERS, W. M. FREDERIKS, K. A. REEDQUIST, P. P. TAK, F. C. BREEDVELD and J. M. VAN LAAR (2005). Intracellular free radical production in synovial T lymphocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 52(7): 2003-2009.
- REN, C., L. FANG, L. LING, Q. WANG, S. LIU, L. ZHAO and Z. HE (2009). Design and in vivo evaluation of an indapamide transdermal patch. *International Journal of Pharmaceutics* 370(1-2): 129-135.
- ROSSI, M., F. CARUSO, R. ANTONIOLETTI, A. VIGLIANTI, G. TRAVERSI, S. LEONE, E. BASSO and R. COZZI (2013). Scavenging of hydroxyl radical by resveratrol and related natural stilbenes after hydrogen peroxide attack on DNA. *Chemico-Biological Interactions* 206(2): 175-185.
- SAED, G. M., Z. L. JIANG, N. M. FLETCHER, A. AL ARAB, M. P. DIAMOND and H. M. ABU-SOUD (2010). Exposure to polychlorinated biphenyls enhances lipid peroxidation in human normal peritoneal and adhesion fibroblasts: A potential role for myeloperoxidase. *Free Radical Biology and Medicine* 48(6): 845-850.
- SARAN, M., C. MICHEL and W. BORS (1990). Reaction of NO with O₂⁻. implications for the action of endothelium-derived relaxing factor (EDRF). *Free Radic Res Commun* 10(4-5): 221-226.
- SATHI, G., V. GUJRATI, M. SHARMA, C. NATH, T. K. GUPTA, K. P. BHARGAVA and K. SHANKER (1979). Newer indole derivatives as monoamine oxidase inhibitors. *Curr. Sci.* 48(21): 932-934.
- SCHAPIRA, A. H. (1999). Mitochondrial involvement in Parkinson's disease, Huntington's disease, hereditary spastic paraplegia and Friedreich's ataxia. *Biochim Biophys Acta* 1410(2): 159-170.
- SHARPE, M. A., S. J. ROBB and J. B. CLARK (2003). Nitric oxide and Fenton/Haber-Weiss chemistry: nitric oxide is a potent antioxidant at physiological concentrations. *J Neurochem* 87(2): 386-394.
- SHIRINZADEH, H., N. ALTANLAR, N. YUCEL, S. OZDEN and S. SUZEN (2011). Antimicrobial evaluation of indole-containing hydrazone derivatives. *Z Naturforsch C* 66(7-8): 340-344.
- SHIRINZADEH, H., B. EREN, H. GURER-ORHAN, S. SUZEN and S. OZDEN (2010). Novel indole-based analogs of melatonin: synthesis and in vitro antioxidant activity studies. *Molecules* 15(4): 2187-2202.

- SIDDIQI, N. and M. S. ALAM (2009). 5-[(1H-indol-3-yl)methyl]-N-(phenyl)-1,2,4-thiadiazol-2-amine derivatives: synthesis and biological screening. *Biosci., Biotechnol. Res. Asia* 6(1): 261-264.
- SIDDIQI, N., M. S. ALAM and W. AHSAN (2008). Synthesis, anticonvulsant and toxicity evaluation of 2-(1H-indol-3-yl)acetyl-N-(substituted phenyl)hydrazine carbothioamides and their related heterocyclic derivatives. *Acta Pharm. (Zagreb, Croatia)* 58(4): 445-454.
- SIEGEL, G., A. SCHMIDT, P. SCHÄFER, M. MALMSTEN, L. RINGSTAD, K. WINKLER and S. JUST (2009). The importance of scavenging reactive oxygen species in anti-aging medicine. *Engineering in Life Sciences* 9(5): 363-375.
- ST HILAIRE, S. K.-D., H. MERICA and J.-M. GAILLARD (1984). The effects of indalpine — A selective inhibitor of 5-HT uptake — On rat paradoxical sleep. *European Journal of Pharmacology* 98(3-4): 413-418.
- SUEMASU, S., N. YAMAKAWA, T. ISHIHARA, T. ASANO, K. TAHARA, K.-I. TANAKA, H. MATSUI, Y. OKAMOTO, M. OTSUKA, K. TAKEUCHI, H. SUZUKI and T. MIZUSHIMA (2012). Identification of a unique nsaid, fluoro-loxoprofen with gastroprotective activity. *Biochemical Pharmacology* 84(11): 1470-1481.
- SUGA, A., T. NARITA, L. ZHOU, H. SAKAGAMI, K. SATOH and H. WAKABAYASHI (2009). Inhibition of NO production in LPS-stimulated mouse macrophage-like cells by benzo[b]cyclohept[e] [1,4]oxazine and 2-aminotropone derivatives. *In Vivo* 23(5): 691-697.
- SUNDBERG, R. (1970). *The Chemistry of Indoles*, Publisher by Academic press INC (London).
- SURAPANENI, K. M. and G. VENKATARAMANA (2007). Status of lipid peroxidation, glutathione, ascorbic acid, vitamin E and antioxidant enzymes in patients with osteoarthritis. *Indian J Med Sci* 61(1): 9-14.
- SUZEN, S. (2006). Recent developments of melatonin related antioxidant compounds. *Comb Chem High Throughput Screen* 9(6): 409-419.
- SUZEN, S., Z. ATES-ALAGOZ, B. T. DEMİRCİGİL and S. A. OZKAN (2001). Synthesis and analytical evaluation by voltammetric studies of some new indole-3-propionamide derivatives. *Farmaco* 56(11): 835-840.
- SÜZEN, S. (2007). Antioxidant Activities of Synthetic Indole Derivatives and Possible Activity Mechanisms. *Top Heterocycl Chem* © Springer-Verlag Berlin Heidelberg Published online: 5 July 2007 11: 145-178.
- SÜZEN, S., P. BOZKAYA, T. COBAN and D. NEBİOĞLU (2006). Investigation of the 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.
- SÜZEN, S. and E. BÜYÜKBİNGÖL (1998). Evaluation of anti-HIV activity of 5-(2-phenyl-3'-indolal)-2-thiohydantoin. *Farmaco* 53(7): 525-527.
- SZABO, C. (1996). The pathophysiological role of peroxynitrite in shock, inflammation, and ischemia-reperfusion injury. *Shock* 6(2): 79-88.
- SZASZ, T., K. THAKALI, G. D. FINK and S. W. WATTS (2007). A comparison of arteries and veins in oxidative stress: producers, destroyers, function, and disease. *Exp Biol Med (Maywood)* 232(1): 27-37.

- TAN, D. X., L. C. MANCHESTER, R. HARDELAND, S. LOPEZ-BURILLO, J. C. MAYO, R. M. SAINZ and R. J. REITER (2003). Melatonin: a hormone, a tissue factor, an autocoid, a paracoid, and an antioxidant vitamin. *J Pineal Res* 34(1): 75-78.
- TAN, D. X., R. J. REITER, L. C. MANCHESTER, M. T. YAN, M. EL-SAWI, R. M. SAINZ, J. C. MAYO, R. KOHEN, M. ALLEGRA and R. HARDELAND (2002). Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Curr Top Med Chem* 2(2): 181-197.
- TENGATTINI, S., R. J. REITER, D. X. TAN, M. P. TERRON, L. F. RODELLA and R. REZZANI (2008). Cardiovascular diseases: protective effects of melatonin. *J Pineal Res* 44(1): 16-25.
- TOIS, J., R. FRANZÉN and A. KOSKINEN (2003). Synthetic approaches towards indoles on solid phase recent advances and future directions. *Tetrahedron* 59(29): 5395-5405.
- TOMINAGA, T., S. SATO, T. OHNISHI and S. T. OHNISHI (1993). Potentiation of nitric oxide formation following bilateral carotid occlusion and focal cerebral ischemia in the rat: in vivo detection of the nitric oxide radical by electron paramagnetic resonance spin trapping. *Brain Res* 614(1-2): 342-346.
- TURRENS, J. F. (2003). Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol* 552(Pt 2): 335-344.
- UTTARA, B., A. V. SINGH, P. ZAMBONI and R. T. MAHAJAN (2009). Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Curr Neuropharmacol* 7(1): 65-74.
- VAKKURI, O., J. LEPPÄLUOTO and A. KAUPPIA (1985). Oral administration and distribution of melatonin in human serum, saliva and urine. *Life sciences* 37(5): 489-495.
- VALKO, M., C. J. RHODES, J. MONCOL, M. IZAKOVIC and M. MAZUR (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 160(1): 1-40.
- VARADARAJAN, S., S. YATIN, M. AKSENOVA and D. A. BUTTERFIELD (2000). Review: Alzheimer's amyloid beta-peptide-associated free radical oxidative stress and neurotoxicity. *J Struct Biol* 130(2-3): 184-208.
- VARVARESOU, A., A. TSANTILI-KAKOULIDOU, T. SIATRA-PAPASTAIKOUDI and E. TILIGADA (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(1): 48-54.
- VELKOV, Z. A., Y. VELKOV, B. T. GALUNSKA, D. N. PASKALEV and A. V. TADJER (2009). Melatonin: Quantum-chemical and biochemical investigation of antioxidant activity. *Eur J Med Chem* 44(7): 2834-2839.
- VINE, K. L., L. MATESIC, J. M. LOCKE, M. RANSON and D. SKROPETA (2009). Cytotoxic and anticancer activities of isatin and its derivatives: a comprehensive review from 2000-2008. *Anticancer Agents Med Chem* 9(4): 397-414.
- WAN, X. S., J. H. WARE, Z. ZHOU, J. J. DONAHUE, J. GUAN and A. R. KENNEDY (2006). Protection against radiation-induced oxidative stress in cultured human epithelial cells by treatment with antioxidant agents. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 64(5): 1475-1481.

- WARIS, G. and H. AHSAN (2006). Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions. *J Carcinog* 5: 14.
- WEINBRENNER, T., M. CLADELLAS, M. ISABEL COVAS, M. FITO, M. TOMAS, M. SENTI, J. BRUGUERA and J. MARRUGAT (2003). High oxidative stress in patients with stable coronary heart disease. *Atherosclerosis* 168(1): 99-106.
- WIJERATNE, S. S., S. L. CUPPETT and V. SCHLEGEL (2005). Hydrogen peroxide induced oxidative stress damage and antioxidant enzyme response in Caco-2 human colon cells. *J Agric Food Chem* 53(22): 8768-8774.
- WRONA, M. Z. and G. DRYHURST (1998). Oxidation of serotonin by superoxide radical: implications to neurodegenerative brain disorders. *Chem Res Toxicol* 11(6): 639-650.
- WU, J. Q., T. R. KOSTEN and X. Y. ZHANG (2013). Free radicals, antioxidant defense systems, and schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 46(0): 200-206.
- YAMASHITA, T., K. SAKAMOTO, H. YAMANISHI, N. TOTANI and J. YAMAMOTO (2013). Effect of a free radical scavenger on nitric oxide release in microvessels. *Vascular Pharmacology* 58(1-2): 134-139.
- YAN, M. H., X. WANG and X. ZHU (2013). Mitochondrial defects and oxidative stress in Alzheimer disease and Parkinson disease. *Free Radical Biology and Medicine* 62(0): 90-101.
- YESILKAYA, A., A. YEGIN, S. OZDEM and T. A. AKSU (1998). The effect of bilirubin on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in cumene hydroperoxide-treated erythrocytes. *Int J Clin Lab Res* 28(4): 230-234.
- YILMAZ, A. D., T. COBAN and S. SUZEN (2012). Synthesis and antioxidant activity evaluations of melatonin-based analogue indole-hydrazide/hydrazone derivatives. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry* 27(3): 428-436.
- YIM, S., A. MALHOTRA and A. VEVES (2007). Antioxidants and CVD in diabetes: where do we stand now. *Curr Diab Rep* 7(1): 8-13.
- ZHOU, C., Y. HUANG and S. PRZEDBORSKI (2008). Oxidative stress in Parkinson's disease: a mechanism of pathogenic and therapeutic significance. *Ann N Y Acad Sci* 1147: 93-104.
- ZOU, X. J., L. H. LAI, G. Y. JIN and Z. X. ZHANG (2002). Synthesis, fungicidal activity, and 3D-QSAR of pyridazinone-substituted 1,3,4-oxadiazoles and 1,3,4-thiadiazoles. *J Agric Food Chem* 50(13): 3757-3760.

ÖZGEÇMİŞ

I – Bireysel Bilgiler

Adı : HANİF
 Soyadı : SHİRİNZADEH
 Doğum Yeri ve Tarihi: KALİBER/ GÜNEY AZERBAYCAN – 02. 07. 1974
 Uyruğu : İRAN
 Medeni durumu : BEKAR
 İletişim Adresi : 2.Etap. Şehit Osman Avcı MAH. Cumhuriyet Sitesi
 Apt. No: 2/25, ERYAMAN/ANKARA
 Telefon : 0505 735 12 82
 Email : h_shirinzade@yahoo.com

II- Eğitimi

2010-2012-2013 A. Ü. Eczacılık Fak. Farmasötik Kimya A.B.Dalı(Doktora)
 Cardiff University, Welsch School of Pharmacy,
 (Erasmus programı Eylül 2012-Ocak 2013)
 2008- 2010 A. Ü. Eczacılık Fak. Farmasötik Kimya A.B.Dalı(T.Y.lisans)
 2000-2006 Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
 1993-1996 Şehit Recai Üniversitesi Petrol Kimyası Önlisans/Tahran
 1988-1992 Şehit Recai Fen lisesi Kimya Sanai bölümü
 1985-1988 Şams’i Tabrizi Otaöğretim Okulu
 1980-1985 Mohammad Tegi Cafari İlköğretim Okulu

Yabancı Dili : İngilizce, Farsça,Türkçe, (Ana dil, Azeri türkçesi)

III - Ünvanı : 2006- Eczacı
 2010-Uzman Eczacı

IV- Yayınlar :

- 1) Hanif Shirinzadeh, Ayse Didem Yılmaz, Mehmet Gumustas, Sibel Suzen, Seckin Ozden and Sibel A. Ozkan. Electrochemical Behavior of Indole-3-Carboxaldehyde Isonicotinoyl Hydrazones: Discussion on Possible Biological Behavior, *Com Chem High Through Screen*, 13, 619-627, 2010
- 2) Hanif Shirinzadeh, Burcu Eren , Hande Gurer-Orhan, Sibel Suzen, Seçkin Özden. Novel Indole-Based Analogs of Melatonin: Synthesis and inVitro Antioxidant Activity Studies, *Molecules* 15, 2187-2202, 2010
- 3) Nilufer Yuksel, Meltem Baykara, Hanif Shirinzadeh, SibelSuzen. Investigation of triacetin effect on indomethacin release from poly(methylmethacrylate) microspheres: Evaluation of interactions using FT-IR and NMR spectroscopies, *Int J Pharm*, 404, 102-109, 2011

4) Hanif Shirinzadeh, Nurten Altanlar, Nihal Yucel, Seckin Ozden, Sibel Suzen, Antimicrobial Evaluation of Indole-Containing Hydrazone Derivatives. *Z Naturforsch C*. 66, 340-4, 2011.

5) Suzen S, Tekiner-Gulbas B, Shirinzadeh H, Uslu D, Gurer-Orhan H, Gumustas M, Ozkan SA. Antioxidant activity of indole-based melatonin analogues in erythrocytes and their voltammetric characterization. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2012 Sep 20.

V- Bilimsel Projeler

1) Destekleyen: TÜBİTAK

Proje Kodu:109S099

Proje Adı: Melatonin Analogu Yeni Antioksidan İlaç Etken Maddeleri Geliştirilmesi: Biyolojik Aktivite, Sitotoksikite ve Olası Metabolitlerinin In Vitro Elektrokimyasal Değerlendirilmeleri.

Görev: Bursiyer

Başlangıç ve Bitiş Tarihi: Ocak 2009-Ocak 2011

2) Destekleyen: TÜBİTAK

Proje Kodu: 112S599

Proje adı: İndol ve Karbazol türevi yeni ilaç etken maddesi geliştirilmesi: Antioksidan ve kanserde kemopreventif aktivitelerinin değerlendirilmesi

Başlangıç Tarihi: 01 Mayıs 2013

Görev: Bursiyer

VI- Bildiriler:

1) Hanif Shirinzadeh, Mehmet Gümüştas, Seçkin Özden, Sibel Süzen, Sibel A. Özkan. Synthesis and Investigation of Elektrochemical Behaviour of N-Methylindole-3-carboxaldehyde Isonicotinoyl Hydrazone, 9th International Symposium on Pharmaceutical Sciences(ISOPS), Ankara, Turkey, June 23-26, 2009, P.196 (Poster Sunumu)

2) Hanif Shirinzadeh, Burcu Eren, Hande Gurer-Orhan, Sibel Suzen, Seckin Ozden,. Inhibition of Cellular Ros, Peroxidation of Human Erythrocyte Membranes and Oxidative Hemolysis Effects of New Melatonine Analogues, Analysis of free radicals, radical modifications and redox signalling, Aston University, Birmingham, UK, 18-19 April 2011, P.15 (Poster Sunumu)

3) Shirinzadeh H, Yilmaz AD, Yücel N, Altanlar N, Süzen S, Özden S;. Antimicrobial activity of indole-based melatonin analogues, International Conference for Healthcare and Medical student, Royal College of Surgeons in Ireland, Dublin, Ireland, 4th-5th November 2011, P.81 (Poster Sunumu)

4) Yilmaz AD, Shirinzadeh H, Coban T, Suzen S, Ozden S,. Synthesis and antioxidant activity evaluations of melatonin based analogue indole-hydrazide/hydrazone derivatives, International Conference for Healthcare and Medical student, Royal College of Surgeons in Ireland, Dublin, Ireland, 4th-5th November 2011, P.81 (Poster Sunumu)

- 5) Hanif Shirinzadeh, Çiğdem Karaaslan, Betül Tekiner-Gülbaş, Burcu Eren, Hande Gürer-Orhan, Seçkin Özden, Sibel Süzen, Antioxidant properties of new melatonin analogues: Synthesis and in vitro biological activity studies,. 10th International Symposium on Pharmaceutical Sciences(ISOPS), Ankara, Turkey, June 26-29, 2012, P.118 (Poster Sunumu)
- 6) Çiğdem Karaaslan, Betül Tekiner-Gülbaş, Didem yılmaz, Hanif Shirinzadeh, Hande Gürer-Orhan, Sibel Süzen,. Antioxidant properties of melatonin analogue new indole derivatives,. 10th International Symposium on Pharmaceutical Sciences(ISOPS), Ankara, Turkey, June 26-29, 2012, P.87 (Poster Sunumu)