

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİYOTEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**İNDOL-AMİNO ASİT TÜREVİ YENİ İLAÇ ETKEN MADDELERİNİN
SENTEZLERİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Seyhan Sezen CİHANER

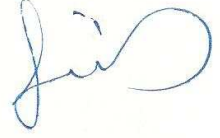
**Danışman Öğretim Üyesi
Prof. Dr. Sibel SÜZEN**

2009- ANKARA

Prof.Dr. Sibel Süzen danışmanlığında Seyhan Sezen CİHANER tarafından hazırlanan bu çalışma ,
09/07/2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoteknoloji Anabilim Dalı' nda Yüksek Lisans tezi
olarak kabul edilmiştir.

Başkan :Prof.Dr. Sibel SÜZEN

İmza:



Üye :Prof.Dr. Erdem BÜYÜKBİNGÖL

İmza:



Üye :Prof.Dr. Süreyya ÖLGEN

İmza:



Üye :Prof. Dr. Tülay ÇOBAN

İmza:



Üye :Doç.Dr. Özlem YILDIRIM

İmza:



Yukarıdaki sonucu onaylarım

(İmza)



Prof.Dr.Asuman KARAKAYA

Enstitü Müdürü

ÖZET

İndol –Amino Asit Türevi Yeni İlaç Etken Maddelerinin Sentezleri ve Biyolojik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

Günümüzde sürekli artış gösteren serbest radikal kaynakları maruz kaldığımız oksidatif stresi de artırmaktadır. Diyabet, hipertansiyon, astım gibi bir çok hastalıkla ilişkisi yapılan çalışmalarla her gün daha fazla ortaya çıkan reaktif oksijen türlerinin (ROT) organizmada yol açtığı oksidatif hasarı önlemek için değişik mekanizmalarla enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar devreye girer. Ancak vitamin E, melatonin gibi doğal yollardan edinilen antioksidanlar artan ROT miktarı karşısında yetersiz kalmaktadır. Bu durum yüksek aktivite ve düşük toksisiteye ve yan etkiye sahip yeni antioksidan türlerinin sentezini gerekli kılmaktadır.

Bu çalışma iki ara basamağı ve sonuç ürünlerinin tümü orijinal olan melatonin analogu indol-amino asit türevi maddelerin sentezini, sentezlenen maddelerin yapılarının NMR, Mass ve IR spektrumlarıyla yapı aydınlatılmasını; sonuç ürünlerin antioksidan etkilerinin ortaya konulmasını içerir. Bu çalışma ile altı adet amino asit metil esteri (**1a-f**), altı adet azot korumalı amino asit metil esteri (**2a-f**), sekiz adet azot korumalı amino asit hidrazidi (**3a-f**, **5a-b**), dokuz adet indol-amino asit hidrazidi (**4a-f**, **6a-b**, **7a**) olmak üzere toplam yirmidokuz adet bileşik sentezlenmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. Elde edilen orijinal bileşikler aşağıdaki gibi sıralanabilir;

- N-Benzoil-D-serin Hidrazid (**3c**)
- N-Benzoil-L-prolin Hidrazid (**3f**)
- N-Benzoil- glisin(1H-indol-3-il)hidrazid (**4a**)
- N-Benzoil-L-alanin(1H-indol-3-il)hidrazid (**4b**)
- N-Benzoil-D-serin(1H-indol-3-il)hidrazid (**4c**)
- N-Benzoil-L-metiyonin(1H-indol-3-il)hidrazid (**4d**)
- N-Benzoil-L-triptofan(1H-indol-3-il)hidrazid (**4e**)
- N-Benzoil-L-prolin(1H-indol-3-il)hidrazid (**4f**)
- N-t-bütoksikarbonil-L-alanin(1H-indol-3-il)hidrazid (**6a**)
- N-t-bütoksikarbonil-L-serin(1H-indol-3-il)hidrazid (**6b**)
- N-t-bütoksikarbonil-L-histidin(1H-indol-3-il)hidrazid (**7a**)

Sentezlenen bileşiklerin antioksidan aktiviteleri, DPPH ve Lipid Peroksidasyonu İnhibisyonu yöntemleriyle test edildi. Sentezlenen tüm sonuç ürünlerde antioksidan etki görülmüştür. Maddelerin aktiviteleri vitamin E ve melatoninle karşılaştırıldığında genelde bu maddelere ya yakın ya da ikisinden yüksek aktivite bulunmuştur. DPPH testinin sonuçları çok dikkat çekici değilken Lipit Peroksidasyonu İnhibisyonu testinde bileşiklerden bir kısmının (**4e**, **6a**) yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: antioksidan aktivite, melatonin analogu, indol, aminoasit, sentez

ABSTRACT

Synthesis and Biological Activity Evaluation of Drug Candidate new Indole-Amino Acid Derivatives

At the present day, continuously increasing sources of free radicals makes oxidative stress that we are exposed to get increased too. To prevent the damage of Reactive Oxygen Species (ROS) - of which the relation to very much of diseases like diabetes, hypertension, asthma is being discovered via studies day by day – enzymatic and non-enzymatic antioxidants step in with different mechanisms. However naturally acquired antioxidants like vitamin E and melatonin becomes inadequate over against increasing ROS amount. This situation makes synthesis of new antioxidant species with high activity and low toxicity and side effect possibility necessary.

This study includes synthesis and structural analysis of substances - of which two of intermediate steps and all final products are original- and antioxidant activity evaluation of final products. By this study; in the aggregate twenty-nine compounds containing, six amino acid methyl esters (**1a-f**), six N-protected amino acid hydrazides (**2a-f**), eight N-protected amino acid hydrazides (**3a-f**, **5a-b**) and nine indole-amino acid hydrazides (**4a-f**, **6a-b**, **7a**) were synthesized and their structure was evaluated. Synthesized original compounds are listed below;

N-Benzoyl-D-serine Hydrazide (**3c**)
N-Benzoyl-L-proline Hydrazide (**3f**)
N-Benzoyl- glycine(1H-indole-3-yl)hydrazide (**4a**)
N-Benzoyl-L-alanine(1H-indole-3-yl)hydrazide (**4b**)
N-Benzoyl-D-serine(1H-indole-3-yl)hydrazide (**4c**)
N-Benzoyl-L-methionine(1H-indole-3-yl)hydrazide (**4d**)
N-Benzoyl-L-tryptophane(1H-indole-3-yl)hydrazide (**4e**)
N-Benzoyl-L-proline(1H-indole-3-yl)hydrazide (**4f**)
N-t-butoxycarbonyl-L-alanine(1H-indole-3-yl)hydrazide (**6a**)
N-t-butoxycarbonyl-L-serine(1H-indole-3-yl)hydrazide (**6b**)
N-t-butoxycarbonyl-L-histidine(1H-indole-3-yl)hydrazide (**7a**)

Antioxidant activities of synthesized compounds are tested via DPPH and Lipid Peroxydation Inhibition methods. All compounds showed antioxidant activity. Comparing the activity results with vitamin E and melatonin showed that, the compounds were equally active to or more active than these two molecules. While the results of DPPH test are not significant, Lipid Peroxydation Inhibition method indicated that some of the substances (**4e**, **6a**) have high activity.

Key words: antioxidant activity, melatonin analogues, indole, amino acids, synthesis

ÖNSÖZ

Ankara Üniversitesi'nde geçirdiğim üç uzun seneye birlikte yüksek lisans programımı nihayet sonlandırıyorum. Yüksek lisansa başladığımda kimya altyapımı göz önüne aldığımda tez çalışmalarımı yapabileceğim en uygun alanın Farmasötik Kimya olduğunu düşünmüştüm. Geriye dönüp baktığımda bunun ne kadar isabetli bir karar olduğunu görüyorum. Çünkü Farmasötik Kimya Laboratuvarı benim için sadece mesleki bilgi aldığım bir yer değil aynı zamanda (özellikle son üç aydır!) bir yuva oldu.

Yardıma ihtiyaç duyduğum anlarda yanımda olan ve bana her türlü laboratuvar olanağını sunan, başta Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Erdem Büyükbingöl ve Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Eski Başkanı Prof. Dr. Doğu Nebioğlu'na olmak üzere öğretim üyesi değerli hocalarıma, sevgili araştırma görevlisi ve öğrenci arkadaşlarıma, Farmasötik Kimya Anabilim Dalında emek veren diğer tüm çalışanlara teşekkürlerimi sunuyorum.

Zor bir öğrenci olmama rağmen yardımını, bilgisini ve hoşgörüsünü benden esirgemeyen, en ümitsiz anlarımda bana destek olan sevgili danışmanım Prof. Dr. Sibel Süzen'e sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'da deneylerime başladığım ilk anlardan, son ana kadar en çok başını ağrıttığım insan olan Prof. Dr. Hakan Göker'e ve tez çalışmamı sonlandırmama biyolojik aktivite testlerini yaparak çok büyük katkıda bulunan olan Prof. Dr. Tülay Çoban'a emeklerinden dolayı çok teşekkür ediyorum.

En son olarak aflarına sığınarak tek tek isimlerini yazamayacağım tüm laboratuvar arkadaşlarıma her şey için teşekkürler; en çok da bana sunduğunuz sıcacık arkadaşlık için. En kasvetli günlerinde laboratuvarı aydınlattınız.

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
DENKLEMLER DİZİNİ.....	xiv
ŞEMALAR DİZİNİ.....	xv
SPEKTRUMLAR DİZİNİ	xvi
SİMGELER ve KISALTMALAR	xix

1.GİRİŞ

1

1.1. Serbest Radikaller ve Kimyasal Özellikleri	1
1.1.1 Serbest Radikallerin Türleri	2
1.1.1.1 Reaktif Oksijen Türleri (ROT).....	3
1.1.1.2. Reaktif Azot türleri (RAT).....	6
1.1.2. Serbest Radikallerin Kaynakları.....	7
1.1.2.1. Endojen Kaynaklar	7
1.1.2.2. Eksojen Kaynaklar	9
1.1.3. Serbest Radikallerin Zararlı Reaksiyonları	9
1.1.4. Oksidatif Stres ve Buna Bağlı Gelişebilen Hastalıklar	11
1.1.4.1 Oksidatif Stresin Neden Olduğu Hastalıklar	13

1.2.	Antioksidan Kimyası ve Biyolojik Önemi	15
1.2.1	Antioksidan Maddelerin Sınıflandırılması	17
1.2.1.1.	Enzimatik Antioksidanlar	18
1.2.1.2.	Non-Enzimatik Antioksidanlar	20
1.3.	Melatonin: Kimyasal Yapısı ve Antioksidan Özellikleri	21
1.3.1.	Melatoninin Serbest Radikallerle Etkileşimi.....	22
1.3.1.1.	Direkt Antioksidan Etki	22
1.3.1.2.	Antioksidan enzim Aracılı etki	24
1.3.1.3.	Prooksidan enzim aracılı etki	24
1.4.	İndol Halkasının Kimyasal Özellikleri	25
1.4.1.	İndol Halkasının Genel Sentez Yöntemleri	26
1.4.2.	İndol-3-karboksaldehit sentezi	27
1.5.	Amino Asitlerin Kimyasal Özellikleri	27
1.5.1	Amino Asitlerin Yan Zincir Polaritelerine Göre Sınıflandırılması.....	28
1.5.1.1.	Nonpolar yan zincire sahip amino asitler	28
1.5.1.2.	Yüksüz polar yan zincire sahip amino asitler.....	30
1.5.1.3.	Yüklü polar yan zincire sahip amino asitler.....	32
1.5.2.	Amino Asitlerin Laboratuvar sentezleri	33
1.5.2.1.	Bir α -Halo Asitin Doğrudan Aminlenmesi (Ammonoliz)	33
1.5.2.2.	Potasyum Ftalimitten.....	33
1.5.2.3.	Strecker Sentezi	35
1.5.3.	Amino Grubunun Korunması.....	35
1.6.	Melatonin ve Analogu Olan Maddelerin Gerekliği	37
1.7.	Tez Çalışmasının Amacı ve Önemi.....	39

2. KURAMSAL TEMELLER..... 43

2.1	Melatonin Analogu Sentetik Antioksidan Bileşikler	43
2.1.1.	Antioksidan Etki Gösteren Non-Steroidale Anti-enflamatuvar İndol Türevi Bileşikler	43
2.1.2.	İndole Yapışık Halka Sistemi İçeren Antioksidan Bileşikler.....	44
2.1.3.	Bilinen Antioksidan Moleküllerle Kondanse İndol Türevi Bileşikler	46
2.1.4.	Alkil ve/veya Aril Substitüe İndol Türevi Bileşikler	49
2.1.5.	Antioksidan Etkili Diğer Sentetik İndol Türevi Bileşikler	53
2.2	Amino Asitlerin Antioksidan Özellikleri ile İlgili Çalışmalar	55

3. MATERYAL VE YÖNTEM..... 59

3.1.	Materyal	59
3.1.1.	Sentez ve Saflaştırma Aşamasında Kullanılan Araç ve Gereçler	59
3.1.2.	Sentez ve Saflaştırma Aşamasında Kullanılan Kimyasal Maddeler	59
3.1.3.	Sentezlenen Maddelerin Analitik İncelemelerinde Kullanılan Araç ve Gereçler	60
3.1.3.1.	Kromatografik Analizler	60
3.1.3.2.	Erime Noktası Tayini;	60
3.1.3.3.	Spektral Analizler.....	60
3.1.3.3.1.	FT-IR Spektra.....	60
3.1.3.3.2.	NMR Spektra.....	61
3.1.3.3.3	Kütle (Mass) Spektra.....	61
3.2.	Yöntem	62
3.2.1.	H-İndol-3-karboksaldehit Hidrazon Türevlerinin Genel Sentez Yöntemi	62

4. BULGULAR 68

4.1.	Başlangıç Maddesinin Sentezi	68
4.1.1	1 <i>H</i> -İndol-3-karboksaldehit Sentezi (1).....	68
4.2.	Ara Basamak Maddelerinin Sentezleri.....	69
4.2.1.	Amino Asitlerin Ester Oluşturma Tepkimeleri [1(a,f)]	69
4.2.1.1.	Glisin metil ester hidroklorür Sentezi (1a).....	69
4.2.1.2	L-alanin metil ester hidroklorür Sentezi (1b).....	71
4.2.1.3	D-serin metil ester hidroklorür Sentezi (1c).....	72
4.2.1.4	L-metiyonin metil ester hidroklorür Sentezi (1d).....	74
4.2.1.5	L-triptofan metil ester hidroklorür Sentezi (1e)	75
4.2.1.6	L-prolin metil ester hidroklorür Sentezi (1f).....	76
4.2.2.	Amino Asit Esterlerine NH üzerinden Koruyucu Grup Takılması	78
4.2.2.1.	N-Benzoil-glisin metil ester Sentezi (2a).....	79
4.2.2.2.	N-Benzoil-L-alanin metil ester Sentezi (2b)	80
4.2.2.3.	N-Benzoil-D-serin metil ester Sentezi (2c).....	82
4.2.2.4.	N-Benzoil-L-metiyonin metil ester Sentezi (2d).....	83
4.2.2.5.	N-Benzoil-L-triptofan metil ester Sentezi (2e)	85
4.2.2.6.	N-Benzoil-L-prolin metil ester Sentezi (2f)	86
4.2.3.	NH-korumalı Amino Asit Esterlerinin Hidrazidlerinin Sentezleri	88
4.2.3.1.	N-Benzoil glisin Hidrazid Sentezi (3a)	88
4.2.3.2.	N-Benzoil-L-alanin Hidrazid Sentezi (3b).....	89
4.2.3.3.	N-Benzoil-D-serin Hidrazid Sentezi (3c).....	91
4.2.3.4.	N-Benzoil-L-metiyonin Hidrazid Sentezi (3d)	93
4.2.3.5.	N-Benzoil-L-triptofan Hidrazid Sentezi (3e)	94
4.2.3.6	N-Benzoil-L-prolin Hidrazid Sentezi (3f).....	96
4.2.3.7	N-t-Bütoksikarbonil-L-alanin Hidrazid Sentezi (5a)	98
4.2.3.8.	N-t-Bütoksikarbonil-L-serin Hidrazid Sentezi (6a)	99
4.2.4.	1 <i>H</i> -indol-3-karboksaldehit Hidrazonlarının Sentezleri.....	101

4.2.4.1	N-Benzoil- glisin(1 <i>H</i> -indol-3-il)hidrazid sentezi (4a)	101
4.2.4.2	N-Benzoil-L-alanin(1 <i>H</i> -indol-3-il)hidrazid sentezi (4b)	104
4.2.4.3	N-Benzoil-D-serin(1 <i>H</i> -indol-3-il)hidrazid Sentezi (4c).....	106
4.2.4.4	N-Benzoil-L-metiyonin(1 <i>H</i> -indol-3-il)hidrazid Sentezi (4d)	109
4.2.4.5	N-Benzoil-L-triptofan(1 <i>H</i> -indol-3-il)hidrazid Sentezi (4e).....	111
4.2.4.6	N-Benzoil-L-prolin(1 <i>H</i> -indol-3-il)hidrazid Sentezi (4f).....	114
4.2.4.7	N-t-bütoksikarbonil-L-alanin(1 <i>H</i> -indol-3-il)hidrazid Sentezi (6a)	117
4.2.4.8	N-t-bütoksikarbonil-L-serin(1 <i>H</i> -indol-3-il)hidrazid Sentezi (6b).....	119
4.2.4.9	N-t-bütoksikarbonil-L-histidin(1 <i>H</i> -indol-3-il)hidrazid Sentezi (7a)....	122
4.3	Sentez Edilen Bileşiklerin <i>In vitro</i> Biyolojik Aktivite Tayinleri	125
4.3.1.	<i>In vitro</i> Antioksidan Aktivite Tayini	125
4.3.1.1.	DPPH Üzerinden Serbest Radikal Yakalama Etki Tayini	125
4.3.1.2.	Lipid Peroksidasyonu Üzerine İnhibitör Etki Tayini	130
4.3.2.	Sentez Edilen Bileşiklerin Antioksidan Aktivitelerinin Değerlendirilmesi	135

5. TARTIŞMA 136

6. SONUÇ ve ÖNERİLER 138

KAYNAKLAR..... 139

ÖZGEÇMİŞ 159

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Mitokondride Serbest Radikal Oluşumu	8
Şekil 1.2.	Oksidatif stresin hücre üzerine etkisi	11
Şekil.1.3.	ROT – Antioksidan dengesi	12
Şekil 1.4	Melatonin molekülü	21
Şekil 1.5.	Pineal Bez.....	22
Şekil 1.6	Genel Amino Asit Yapısı	27
Şekil 1.7.	Amino Asitlerin Fizyoloji pH'ta Gösterimi	28
Şekil 2.1.	İndometazin (1), asemetazin (2) ve etodolak (3).....	44
Şekil 2.2.	Stobadin türevi antioksidan bileşiklerin genel formülü (R: çeşitli alkil grupları)	45
Şekil 2.3.	TPBIA (1-p-toluensülfonil-6,7,8,9-tetrahidro-N,N-di-n-propil-1H- benz [g]indol-7-min)	46
Şekil 2.4..	GWC20 ve DTBHB	46
Şekil 2.5.	Tetrahidronaftalen-indol türevi bileşiklerin genel formülü.....	47
Şekil 2.6 .	İndol-lipoik asit türevi bileşikler	47
Şekil2.7.	İndol-benzimidazol türevi bileşiklerin genel formülü.....	48
Şekil 2.8.	Bisindolilmaleimid türevi bileşiklerin genel formülleri.....	49
Şekil 2.9.	N-H ve N-süstitüe indol-3-propanamid türevlerinin genel formülü	50
Şekil 2.10.	N-H ve N-süstitüe indol ester türevlerinin genel formülü	50
Şekil 2.11.	Triazol yapısı içeren indol türevi bileşiklerin genel formülü	51
Şekil 2.12.	5-Metoksi ve açıl amino grupları değiştirilen indol türevi bileşikler.	51
Şekil 2.13.	2-N-açıl aminoetil türevi bileşikler	51
Şekil 2.14.	Triptamin ve N-alkil süstitüe melatonin analogları.....	52
Şekil 2.15.	2-Fenil indol türevi bileşiklerin genel sentezleri	52
Şekil 2.16.	5-bromo/5-H indol-3-karboksaldehit fenil hidrazon ve N,N'-bis-(5-bromo/5-H indol-3-ilmetilen)hidrazin türevleri	53
Şekil 2.17.	Zolpidem [N,N,6-trimetil-2-p-tolil-imidazo (1,2-a) piridin-3- asetamid L-(+)].....	54
Şekil 2.18.	2,3-dihidromelatonin türevi bileşiklerin genel formülü	54

- Şekil 2.19.** Fluvastatin (7-[3-(4-florofenil)-1-(1-metiletil)-1H-indol-2-il]-3,5-dihidroksi-hept-6-enoik asit)..... 54
- Şekil 2.20.** İndolin-2-on ve indolin-2-tiyon türevi bileşiklerin genel formülü.... 55

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1.	Başlıca Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri.....	2
Çizelge 1.2	Önemli fizyolojik antioksidanlar.....	16
Çizelge 1.3	Nonpolar yan zincire sahip amino asitler	29
Çizelge 1.4	Yüksüz polar yan zincire sahip amino asitler.....	31
Çizelge 1.5.	Yüklü polar yan zincire sahip amino asitler.....	32
Çizelge 3.1.	Yolak A Ürünü Bileşikler	65
Çizelge 3.2.	Yolak B Ürünü Bileşikler	66
Çizelge 3.3.	Yolak C Ürünü Bileşikler.....	66
Çizelge 4.1.	Sentezlenen sonuç maddelerin ve bazı ara basamak maddelerinin DPPH radikali yakalama etkileri	126
Çizelge 4.2.	Sentezlenen sonuç maddelerin ve bazı ara basamak maddelerinin anti-lipid peroksidasyon etkileri	131

DENKLEMLER DİZİNİ

Denklem 1.1.	Fenton Tepkimesi	5
Denklem 1.2.	Haber-Weiss Tepkimesi	5
Denklem 1.3.	Fischer indol sentezi	26
Denklem 1.4.	Leimrruber-Batcho indol sentezi	26
Denklem 1.5.	Vilsmeier-Haack formülasyonu	27
Denklem 1.6.	Ammonoliz	33
Denklem 1.7.	Potasyum Ftalimitten amino asit sentezi	34
Denklem 1.8.	Potasyum Ftalimitten dietil α -bromomalonat üzerinden amino asit sentezi	34
Denklem 1.9.	Strecker Sentezi	35
Denklem 1.10.	Benziloksi karbonil grubu takılması	36
Denklem 1.11.	<i>ter</i> -bütoksi karbonil grubu takılması	36
Denklem 1.12.	Benzoil grubu takılması	36

ŞEMALAR DİZİNİ

Şema 1.1.	Lipit Peroksidasyonu	10
Şema 1.2.	Oksisatif Stresin Etkileri	14
Şema 1.3.	Antioksidan maddelerin gruplandırılması	18
Şema 1.4.	Melatoninin serbest radikallerle etkileşimi	23
Şema 1.5.	Melatoninin antioksidan özellikleri.....	25
Şema 1.6.	Melatonin molekülü üzerinde gerçekleştirilen değişiklikler.....	40
Şema 2.1.	Glutasyonun Yapısı	57
Şema 3.1.	Yolak A	62
Şema 3.2.	Yolak B	63
Şema 3.3.	Yolak C	64

SPEKTRUMLAR DİZİNİ

Spektrum 1.	Bileşik 1a'nın kütle spektrumu	70
Spektrum 2.	Bileşik 1a'nın ¹ H NMR spektrumu	70
Spektrum 3.	Bileşik 1b'nin kütle spektrumu	71
Spektrum 4.	Bileşik 1b'nin ¹ H NMR spektrumu	72
Spektrum 5.	Bileşik 1c'nin kütle spektrumu	73
Spektrum 6.	Bileşik 1c'nin ¹ H NMR spektrumu	73
Spektrum 7.	Bileşik 1d'nin kütle spektrumu	74
Spektrum 8.	Bileşik 1d'nin ¹ H NMR spektrumu	75
Spektrum 9.	Bileşik 1e'nin kütle spektrumu	76
Spektrum 10.	Bileşik 1e'nin ¹ H NMR spektrumu	76
Spektrum 11.	Bileşik 1f'nin kütle spektrumu	77
Spektrum 12.	Bileşik 1f'nin ¹ H NMR spektrumu.....	78
Spektrum 13.	Bileşik 2a'nın kütle spektrumu	79
Spektrum 14.	Bileşik 2a'nın ¹ H NMR spektrumu	80
Spektrum 15.	Bileşik 2b'nin kütle spektrumu	81
Spektrum 16.	Bileşik 2b'nin ¹ H NMR spektrumu	81
Spektrum 17.	Bileşik 2c'nin kütle spektrumu	82
Spektrum 18.	Bileşik 2c'nin ¹ H NMR spektrumu	83
Spektrum 19.	Bileşik 2d'nin kütle spektrumu	84
Spektrum 20.	Bileşik 2d'nin ¹ H NMR spektrumu	84
Spektrum 21.	Bileşik 2e'nin kütle spektrumu	85
Spektrum 22.	Bileşik 2e'nin ¹ H NMR spektrumu	86
Spektrum 23.	Bileşik 2f'nin kütle spektrumu	87
Spektrum 24.	Bileşik 2f'nin ¹ H NMR spektrumu.....	87
Spektrum 25.	Bileşik 3a'nın kütle spektrumu	88
Spektrum 26.	Bileşik 3a'nın ¹ H NMR spektrumu	89
Spektrum 27.	Bileşik 3b'nin kütle spektrumu	90
Spektrum 28.	Bileşik 3b'nin ¹ H NMR spektrumu	90
Spektrum 29.	Bileşik 3c'nin kütle spektrumu	91
Spektrum 30.	Bileşik 3c'nin ¹ H NMR spektrumu	92
Spektrum 31.	Bileşik 3c'nin IR spektrumu	92

Spektrum 32.	Bileşik 3d'nin kütle spektrumu	93
Spektrum 33.	Bileşik 3d'nin ^1H NMR spektrumu	94
Spektrum 34.	Bileşik 3e'nin kütle spektrumu	95
Spektrum 35.	Bileşik 3e'nin ^1H NMR spektrumu	95
Spektrum 36.	Bileşik 3f'nin kütle spektrumu	96
Spektrum 37.	Bileşik 3f'nin ^1H NMR spektrumu.....	97
Spektrum 38.	Bileşik 3f'nin IR spektrumu	97
Spektrum 39.	Bileşik 5a'nın kütle spektrumu	98
Spektrum 40.	Bileşik 5a'nın ^1H NMR spektrumu	99
Spektrum 41.	Bileşik 5b'nin kütle spektrumu	100
Spektrum 42.	Bileşik 5b'nin ^1H NMR spektrumu	100
Spektrum 43.	Bileşik 4a'nın kütle spektrumu	102
Spektrum 44.	Bileşik 4a'nın ^1H NMR spektrumu	102
Spektrum 45.	Bileşik 4a'nın ^{13}C NMR spektrumu	103
Spektrum 46.	Bileşik 4a'nın IR spektrumu	103
Spektrum 47.	Bileşik 4b'nin kütle spektrumu	104
Spektrum 48.	Bileşik 4b'nin ^1H NMR spektrumu	105
Spektrum 49.	Bileşik 4b'nin ^{13}C NMR spektrumu.....	105
Spektrum 50.	Bileşik 4b'nin IR spektrumu	106
Spektrum 51.	Bileşik 4c'nin kütle spektrumu	107
Spektrum 52.	Bileşik 4c'nin ^1H NMR spektrumu	107
Spektrum 53.	Bileşik 4c'nin ^{13}C NMR spektrumu	108
Spektrum 54.	Bileşik 4c'nin IR spektrumu	108
Spektrum 55.	Bileşik 4d'nin kütle spektrumu	109
Spektrum 56.	Bileşik 4d'nin ^1H NMR spektrumu	110
Spektrum 57.	Bileşik 4d'nin ^{13}C NMR spektrumu.....	110
Spektrum 58.	Bileşik 4d'nin IR spektrumu	111
Spektrum 59.	Bileşik 4e'nin kütle spektrumu	112
Spektrum 60.	Bileşik 4e'nin ^1H NMR spektrumu	113
Spektrum 61.	Bileşik 4e'nin ^{13}C NMR spektrumu	113
Spektrum 62.	Bileşik 4e'nin IR spektrumu	114
Spektrum 63.	Bileşik 4f'nin kütle spektrumu	115
Spektrum 64.	Bileşik 4f'nin ^1H NMR spektrumu.....	115
Spektrum 65.	Bileşik 4f'nin ^{13}C NMR spektrumu	116

Spektrum 66.	Bileşik 4f'nin IR spektrumu	116
Spektrum 67.	Bileşik 6a'nın kütle spektrumu	117
Spektrum 68.	Bileşik 6a'nın ^1H NMR spektrumu	118
Spektrum 69.	Bileşik 6a'nın ^{13}C NMR spektrumu	118
Spektrum 70.	Bileşik 6a'nın IR spektrumu	119
Spektrum 71.	Bileşik 6b'nin kütle spektrumu	120
Spektrum 72.	Bileşik 6b'nin ^1H NMR spektrumu	120
Spektrum 73.	Bileşik 6b'nin ^{13}C NMR spektrumu	121
Spektrum 74.	Bileşik 6b'nin IR spektrumu	121
Spektrum 75.	Bileşik 7a'nın kütle spektrumu	122
Spektrum 76.	Bileşik 7a'nın ^1H NMR spektrumu	123
Spektrum 77.	Bileşik 7a'nın ^{13}C NMR spektrumu	123
Spektrum 78.	Bileşik 7a'nın IR spektrumu	124

SİMGELER ve KISALTMALAR

3-OHM	Siklik 3-Hidroksimelatoninin
5BrI3KA	5-Bromoindol-3-Karboksaldehit
5-HT	5 – Hidroksi Triptamin
5-HTP	5 – Hidroksi Triptofan
6-OHM	6–Hidroksimelatonin
A.Ü.E.M.L	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı
AAPH	2,2 ² -Azo-Bis (2-Amidinopropan) Dihidroklorid
AFMK	N ¹ -acetyl-N ² -formyl-5-methoxykynuramine
BHT	Bütihidroksi toluen
CAT	Katalaz
DIM	6-metoksi-diindolilmetan
DMF	N,N-Dimetilformamid
DMPO	5,5-Dimetil Pirolin N-Oksit
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH	1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
EDTA	Etilendiamin tetraasetikasit
EtOH	Etanol
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GSH	Glutasyon
GSSG	Glutasyon disülfid formu
HPLC	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
I3KA	İndol-3-Karboksaldehit
IAA	İndol-3-Asetik Asit
Iald	İndol-3-Aldehit
IBA	İndol-3-Bütirik Asit
Iet	İndol-3-Etanol
IM	İndol-3-Metanol
IPA	İndol-3-Propiyonik Asit
ITK	İnce Tabaka Kromatografisi
MAO	Monoaminoksidaz
MDA	Malondialdehit
mRNA	Mesajcı Ribo Nükleik Asit
NADPH	Nikotinamit Adenin Dinükleotid Fofat

NaOH	Sodyum Hidroksit
NBT	Nitroblue tetrazolyumun
NO ₂ ·	Azot Dioksit Radikali
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
ONOO·	Peroksinitrit Radikali
POCl ₃	Fosforoksiklorür
RAT	Reaktif Azot Türleri
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksitdismutaz,
TBA	Tiyobarbitürik asit
TBARS	Tiyobarbitürik asit reaktant madde
TMS	Tetrametil silan

1. GİRİŞ

Antioksidanlar, serbest radikalleri, bir başka deyişle reaktif oksijen türlerini (ROT), uzaklaştıran ve bunlar tarafından oluşturulabilecek hasarları önleyen ajanlar olmaları nedeniyle birçok hastalığın önlenmesinde ve tedavisinde hayati öneme sahiptir (Ratnam ve ark., 2006).

1.1. Serbest Radikaller ve Kimyasal Özellikleri

Serbest radikaller dış kabuk orbitallerinde eşlenmemiş elektronlara sahip çok reaktif kimyasal türlerdir, hücre bileşenleri ile kolayca etkileşime girerler, oksidatif strese neden olurlar (Ratnam ve ark., 2006).

Bir atomun en önemi kimyasal özelliği dış kabuk orbitallerindeki elektron sayısının kimyasal davranışlarında belirleyici olmasıdır. Dış kabuk orbitalleri dolu olan türler, kimyasal reaksiyon vermez, inerttirler. Maksimum stabil duruma geçmek için atomlar elektron alarak ya da vererek dış kabuk orbitallerini doldurur ya da boşaltırlar (iyonik bağ) ya da başka atomlarla elektron paylaşırlar (kovalent bağ).

Kovalent bağlar homolitik olarak parçalanarak serbest radikal oluştururlar. Molekül iki fragmana ayrılır ve eşleşmiş elektronlardan her biri bir fragmanda kalır. Homolitik parçalanmalar UV, yüksek ısı ya da iyonlaştırıcı radyasyon gibi kuvvetli bir enerji kaynağına ihtiyaç duydukları için biyolojik sistemlerde sıkça görülmezler.

İyonik tepkimelerde bağlar heterolitik olarak parçalanır. Bir türde ya bağ elektronlarının ikisi kalır ve eksi yüklenir ya da bağ elektronlarının hiç biri kalmaz ve pozitif yüklenir.

Serbest radikaller bir molekülün tek elektron kaybetmesi ya da kazanmasıyla da oluşabilir. Ortaya çıkan radikaller çok reaktiftir. Karşılaştıkları moleküllerle reaksiyona girerek elektron eksikliklerini tamamlarlar. Sonuç yeni bir radikaldir. Tepkime bu nedenle zincirlemedir.

Serbest radikallerle ilgili önemli bir bilgi de dış kabukta bulunan eşleşmemiş elektronların sonuç molekülün yüküne bir etkisinin olmamasıdır. Serbest radikaller negatif yüklü, pozitif yüklü ya da elektronik olarak nötr olabilirler.

1.1.1. Serbest Radikallerin Türleri

Canlı organizmalarda bulunan serbest radikallerin çoğu oksijen içerir ve 'reaktif oksijen türleri' olarak bilinirler. Organik moleküllerin yükseltgen radikallere maruz kalmasıyla oluşurlar. Aşağıda verilen **Çizelge 1.1.** de bilinen başlıca reaktif oksijen ve azot türleri görülmektedir.

Çizelge 1.1. Başlıca Reaktif Oksijen ve Azot Türleri (Cooper ve ark., 2002)

Reaktif Oksijen Türleri (ROT)		Reaktif Azot Türleri (RAT)	
Radikaler	Non-Radikaler	Radikaler	Non-Radikaler
Hidroksil OH [•]	Peroksinitrit ONOO ⁻	Nitröz oksit NO [•]	Peroksinitrit OONO ⁻
Süperoksit O ₂ ^{•-}	Hipokloröz Asit HOCl	Azot Dioksit NO ₂ [•]	Peroksinitröz Asit ONOOH
Nitrik oksit NO [•]	Hidrojen Peroksit H ₂ O ₂		Nitroksil NO ⁻
Peroksil RO ₂ [•]	Singlet Oksijen - ¹ O ₂		Nitril Klorür NO ₂ Cl
Lipid Peroksil LOO [•]	Ozon O ₃		Nitrotil Katyonu NO ⁺
Alkoksil RO [•]	Lipid Peroksit LOOH		Dinitrojen trioksit N ₂ O ₃
Hidroperoksil OOH [•]			Nitröz Asit HNO ₂

1.1.1.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

Reaktif Oksijen Türleri (ROT); oksijen taşıyan reaktif parçacıklardır ve organizmada bir çok fizyolojik olayda rol oynarlar. Aerobik canlılar, yaşamsal açıdan gerekli kimyasal ve ısı enerjisini sağlayabilmek amacıyla, karbon ve hidrojen atomlarınca zengin molekülleri oksitlemek için oksijen molekülünü kullanırlar. Oksijenin kullanımı sırasında bazı ara bileşikler meydana gelebilir. Bu bileşiklerin çoğu radikal haldedir. Gereğinden fazla bulunması, DNA başta olmak üzere organizma için önemli bir çok biyomolekülün hasar görerek yıkımına yol açar.

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

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

I. 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.

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

III. 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 gerçekleşir.

IV. Aktive edilen fagositik lökositler bol miktarda süperoksit üreterek fagozom içine ve buldukları ortama radikal verirler. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu

radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatır. Yani radikal yapımı bazı hücrel fonksiyonlar için gerekli de olabilir.

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

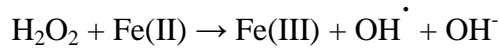
Hidrojen peroksit (H_2O_2), oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi ya da süperoksitlerin enzimatik ve non-enzimatik dismutasyonu tepkimeleri sonucu oluşur. Yapısında paylaşılmamış elektron içermediğinden radikal özelliği taşımaz (Subhashinee ve ark., 2005). Hidrojen peroksit tek başına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

Hidrojen peroksidin oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin nedeni, demir, bakır gibi metal iyonlarının varlığında hidroksil radikalinin öncülü olarak davranmasıdır. Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturur. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir. Oksitleyici özelliği nedeniyle, biyolojik sistemlerde oluşan

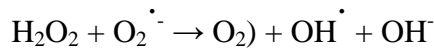
hidrojen peroksitin derhal ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Bu görevi hücrelerdeki önemli antioksidan enzimler olan katalaz ve peroksidaz enzimleri yerine getirir.

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

Hidroksil radikalının bir diğer oluşum şekli ise hidrojen peroksitin eksik indirgenmesi ile oluşur. Hidrojen peroksitin iki elektron ile indirgenmesi ile su meydana gelirken, tek elektron ile indirgenmesi OH^\cdot yapımına neden olur. Bu tür indirgenme Fe, Cu gibi metal iyonları tarafından katalizlenir ya da $\text{O}_2^{\cdot-}$ varlığında medya meydana gelir. Askorbik asit, süperoksit gibi indirgeyici bileşiklerin de bulunduğu ortamda oksitlenen metal iyonu, tekrar indirgendiğinden hidrojen peroksitten $\cdot\text{OH}$ yapımı sürekli bir duruma gelir. Demir ya da bakır kataliziyle oluşan tepkime Fenton tepkimesi olarak adlandırılır (**Denklem 1.1.**), $\text{O}_2^{\cdot-}$ varlığında oluşan tepkime ise Haber-Weiss tepkimesi olarak adlandırılır (**Denklem 1.2.**) (Halliwell ve Gutteridge, 1984).



Denklem 1.1. Fenton Tepkimesi



Denklem 1.2. Haber-Weiss Tepkimesi

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 $\cdot\text{OH}$ üretimi kaçınılmazdır.

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

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

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

1.1.1.2. Reaktif Azot Türleri (RAT)

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

Çok güçlü bir prooksidan olan $\text{ONOO}\cdot$, SOD ile reaksiyona girerek güçlü bir nitratlayıcı ajan oluşturur. Sonuçta hücrel proteinlerin tirozin kalıntılarının nitratlanması hücrel disfonksiyon ve ölüme yol açabilir (Beckman ve ark., 1993; Patel ve ark., 1999). $\text{ONOO}\cdot$ in iskemik beyin hasarındaki rolü son yıllarda araştırılmaya başlanmıştır. Diğer yandan $\text{NO}\cdot$ in hem serebral vazodilatör rolü, hem de nöronal hasar yapıcı serbest radikal

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

1.1.2. Serbest radikallerin kaynakları:

1.1.2.1. Endojen kaynaklar:

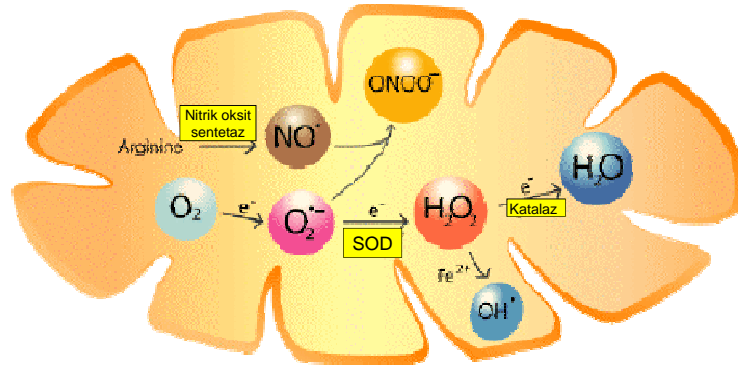
a) **Otooksidasyon:** Aerobik solunumun yan ürünü olarak meydana gelir. Koteşolamin, hemoglobin, myoglobin, indirgenmiş sitokrom c ve tiyolün otooksidasyonu ve oksijen radikallerinin indirgenmesi ve reaktif oksijen türlerinin ortaya çıkmasıyla sonuçlanır (Fridovich ve ark., 1983,1995).

b) **Enzimatik oksidasyon:** Bir çok enzim sistemi önemli miktarda serbest radikal üretme potansiyeline sahiptir. Ksantin oksidaz, prostaglandin sentaz, lipoksigenaz, aldehit oksidaz, amino asit oksidaz gibi bir çok enzim sistemi önemli miktarda serbest radikal ortaya çıkarır. Örneğin aktive olmuş nötrofillerde üretilen myeloperoksidaz enziminin hidrojen peroksitle klorür iyonlarını okside ederek kuvvetli bir oksidan olan hipoklorik asit (HOCl) oluşturduğu bilinmektedir (Halliwell ve ark., 1995).

c) **Solunum sırasındaki parçalanmalar:** Fagositoz sırasında büyük miktarda oksijen tüketilir. Tüketilen bu oksijenin büyük kısmı (% 70-% 90) son ürün olarak süperoksite dönüşebilir. Fagositik hücreler zara bağlı flavoprotein sitokrom-b-245 NADPH oksidaz sistemine sahiptir. NADPH- oksidaz gibi membran enzimleri inaktiftir. Ancak fagositik hücreler, hücre duvarında immunoglobulin bulunan bakterilere maruz kaldığında, immün kompleksi, komplement 5a veya lökotrienler, NADPH- oksidazı aktive eder ve hücre zarında solunum yapılmasıyla süperoksit radikali oluşur (Baboir B. M., 1978).

d) **Subselüler organeller:** Mitokondri, mikrozom, kloroplast, peroksizom ve çekirdek gibi organeller süperoksit radikali oluştururlar (Asada ve ark., 1973). Mitokondri hücresel oksidasyon reaksiyonlarının meydana geldiği organeldir. Bu nedenle hücrelerdeki indirgenmiş oksijen türlerinin kaynağıdır. Mitokondriyal elektron taşıma sistemindeki sızıntılar oksijen molekülünün süperoksite dönüşmesine neden olur (Kalra ve ark., 1994, Halliwell, 1995).

Mitokondride Serbest Radikal oluşumu



Şekil 1.1. Mitokondride Serbest Radikal Oluşumu

e) **Geçiş metali iyonları:** Demir ve bakır serbest radikal hasarı ve lipid peroksidasyonunun kolaylaşmasında önemli rol oynarlar. Haber- Weiss reaksiyonuyla süperoksit ve hidrojen peroksitten hidroksil radikali oluşur (Halliwell, 1999).

f) **İskemi reperfüzyon hasarı:** İskemi kavramı metabolik artıkların temizlenmemesi ve oksijen yetmezliği sonucu kalpte ölümcül aritmi ve miyokard infarktüsüne neden olan bir durumdur. İskemi sonrası kan akımının yeniden sağlanmasına reperfüzyon denir. Reperfüzyon sırasında sağlanan oksijen elektron akseptörü olarak davranır, sonuçta süperoksit ve hidrojen peroksit oluşur. Ağır egzersizler, miyokard ve iskelet kaslarında ksantin oksidaz katalizli reaksiyonlara neden olduğundan serbest radikal artışına neden olur (Şahna ve ark, 2006).

1.1.2.2. Eksojen kaynaklar:

a) **İlaçlar:** Quinoid ya da metal bağlı antibiyotikler (nitrofurantein), atineoplastik ajanlar (bleomisin), sülfasalazinin amino salisilat bileşikleri proteazı inaktive ederek askorbik asit metabolizmasını yavaşlatarak lipit peroksidasyonunu hızlandırır, prooksidan aktiviteye neden olurlar (Gressier ve ark, 1994; Grisham ve ark., 1992; Halliwell, 1992; Evans ve ark., 1994).

b) **Radyasyon:** Radyoterapi ya da uzun süre güneş ışınına maruz kalma doku hasarıyla serbest radikallere neden olabilir. X-ray, gamma ray, UV, partikül radyasyonu (elektron, foton, nötron, alfa-beta partikülleri) yüksek enerjilerini hücrelere aktararak primer radikallere neden olabilirler.

c) **Sigara kullanımı:** Duman içeriğinde aldehit, epoksit, peroksit gibi alveollere zarar verici oksidan maddeler vardır. Katranındaysa daha kararlı serbest radikaller bulunur (Agarwal, 2005).

d) **İnorganik partiküller:** Asbes, quartz, silika gibi mineral tozlarının inhalasyonu serbest radikal oluşumuna ve akciğer hasarına neden olur (Vallyathan, 1988; Heffner ve Repine, 1989)

e) **Gazlar:** Nitrojen oksitler ve ozon (kendisi radikal olmasa da) hidroksil ve süperoksit radikallerini ortaya çıkarır, lipit peroksidasyonuna sebep olur.

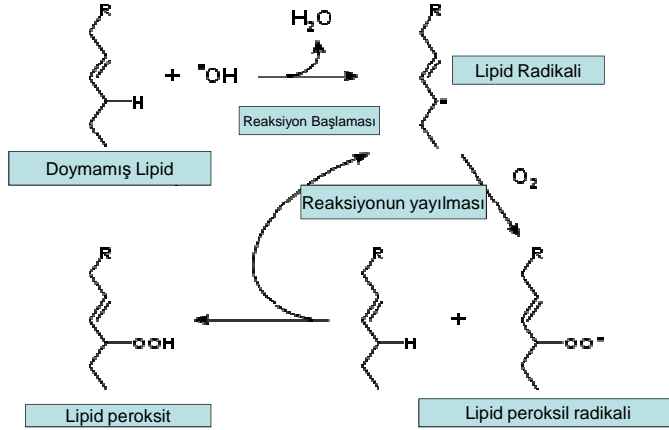
Bunun dışında yüksek ateş, depresyon, anestezipler, solvanlar, pestisit gibi çevre kirleticileri de serbest radikallere neden olabilir.

1.1.3. Serbest Radikallerin Zararlı Reaksiyonları:

a) **Lipit peroksidasyonu:** Hücre membranları çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) adıyla bilinen bir yağ da daha fazla çift bağ içeren, doymamış uzun zincirli yağ asitleri içerirler. Bu yapılar oksitleyici ajanlarla kolayca reaksiyona girerek lipit

peroksidasyonuna uğrarlar. Genelde bu reaksiyon geçiş metal iyonlarının kataliziyle olur (Cheeseman, 1993).

Lipid Peroksidasyon Oluşum Mekanizması



Şema 1.1. Lipit Peroksidasyonu

b) Protein hasarı: Protein ve nükleik asitler, lipitlerle karşılaştırınca serbest radikallerden daha az etkilenirler. Zincir reaksiyonlarının olasılığı daha düşüktür. Glutasyon (GSH) gibi tiyollerin (R-SH) oksidasyonu tiyol ve oksijen radikallerinin oluşmasına neden olur. Proteinlerdeki homolitik disülfid bağlarını oluşturup protein konfigürasyonunu bozarak vücuttaki aktiviteyi engellerler. Hasar, serbest radikallerin bir noktada toplanması ya da duyarlı bir noktaya saldırmasıyla olur. Proteinlerin metal iyonlarıyla bağ yapmasıyla da oluşabilir (Marx ve Chevion, 1986; Stadtman ve Oliver, 1991).

Lipit ve protein yapısı bozulunca membran seçici geçirgenliğini yitirir, hücre fonksiyonu engellenir.

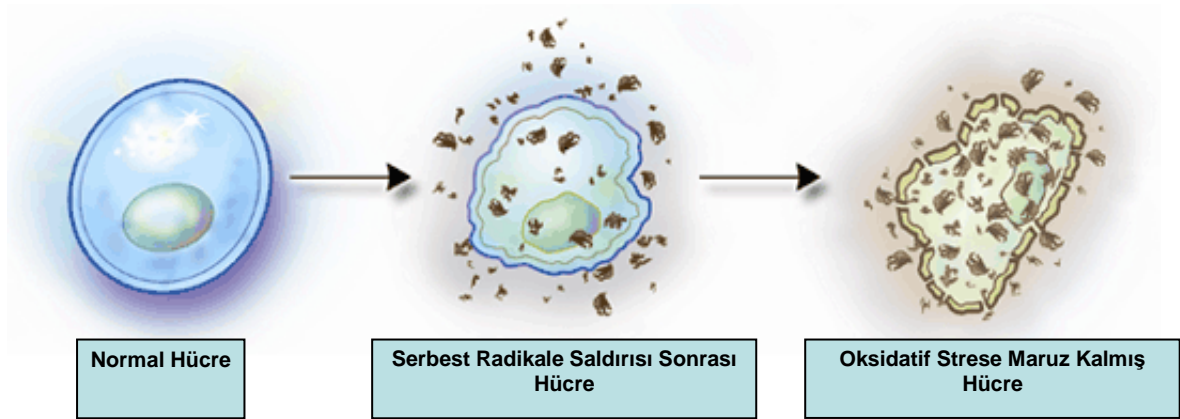
c) DNA hasarı: Yükseltgeyici radikaller DNA çevresinde oluşursa, DNA'ya hızla saldırır. DNA hasar görmeye açık ve önemli bir hedefdir. Proteinlerden farklı olarak zincir reaksiyonları daha olasıdır. Tamir mekanizması replikasyondan önce devreye girmezse mutasyonlar oluşabilir (Cheesman ve Slater, 1993).

1.1.4. Oksidatif Stres ve Buna Bağlı Gelişebilen Hastalıklar

Oksidatif stres basit bir şekilde, vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir. Oksidatif stres, toksisitenin olası bir mekanizması olarak son on yıldır toksikolojik araştırmaların odağı haline gelmiştir.

Oksidatif stres, lipitler, proteinler, enzimler, karbonhidratlar ve DNA gibi makromoleküllere zarar vererek;

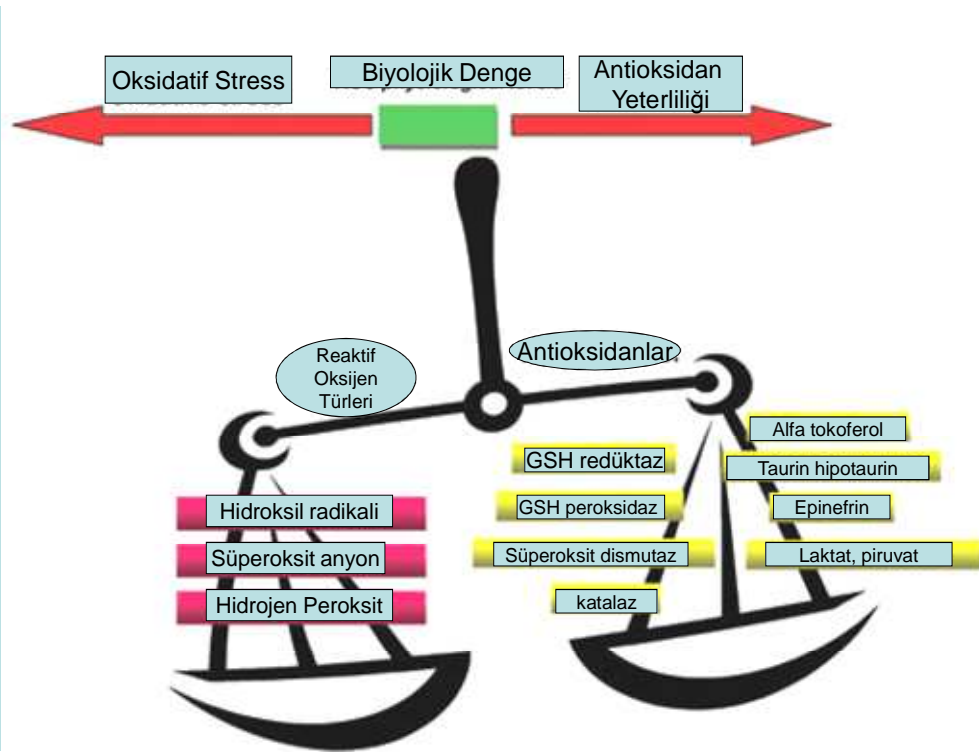
- a) Hücre membranı hasarına,
 - b) Parçalanmaya,
 - c) DNA, enzim ve proteinlerde rastgele çapraz bağlanmalara.
 - d) DNA fragmentasyonu ve lipit peroksidasyonu ile hücre ölümüne neden olabilir
- (Şekil 1.2.).



Şekil 1.2. Oksidatif stresin hücre üzerine etkisi

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 miyeloperoksidadzın hidrojen peroksitten hipokloröz asit üretmesi sonucunda hidrojen peroksitin oldukça kuvvetli hidroksil radikaline dönüştüğü görülür. Bu radikaller; lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi hassas hücreleri hedef alarak bu hücrelerin inhibisyonuna neden olur ve degradasyonunu hızlandırır. Böylelikle oksidatif stres gittikçe artan hücresel hasarlara yol açar.



Şekil.1.3. ROT – Antioksidan dengesi

Oksidatif stres bir çok hastalığın gelişimine moleküler anlamda temel oluşturur. Metabolizmada üretilen serbest 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.

1.1.4.1 Oksidatif Stresin Neden Olduğu Hastalıklar (Ratnam ve ark., 2006)

a. **Atheroskloresis:** Süperoksit nedenli endotelial fonksiyon kaybıdır. Sonucunda makrofajlar aktive olur.

b. **Myokardiyal enfarktüs:** Reaktif oksijen türleri iskemi reperfüzyon hasarına yol açar. Buna bağlı olarak kas inflamasyonu sonucu hücreler, dolayısıyla doku geri dönülemez şekilde hasar görür (miyozit nekroz) ve /veya apoptosis meydana gelir.

c. **Hipertansiyon:** Reaktif oksijen türleri iskemi nedenli vasküler düz kas hücrelerinin NADH / NADPH oksidaz yoluyla poliferasyonuna neden olur. Bunun sonucunda oksidan üretimi artar ve endotelial fonksiyonsuzluk meydana gelir.

d. **Diyabet:** Reaktif oksijen türlerinin hızlandırdığı ileri glikolizlenme son ürünleri (AGEs*) oluşumu diyabete neden olur.

e. **Yaşlanma:** Reaktif oksijen türlerinin oluşturduğu hücre hasarı ve metabolik anormallikler yaşlanmaya neden olur. Oksidatif strese aşırı maruz kalma yaşlanma hızını arttırır.

f. **Kanser:** Reaktif oksijen türlerinin neden olduğu gen mutasyonları (piridin ve pürin bazlarında modifikasyonlar) ve hücrenel süreçlerde bozulma başlatan post-translasyonel modifikasyonlar hücre fonksiyonu hasarlarına dolayısıyla kansere yol açmaktadır.

g. **Parkinson Hastalığı:** Reaktif oksijen türlerinin neden olduğu mitokondri fonksiyonsuzluğu Parkinson hastalığına neden olabilir.

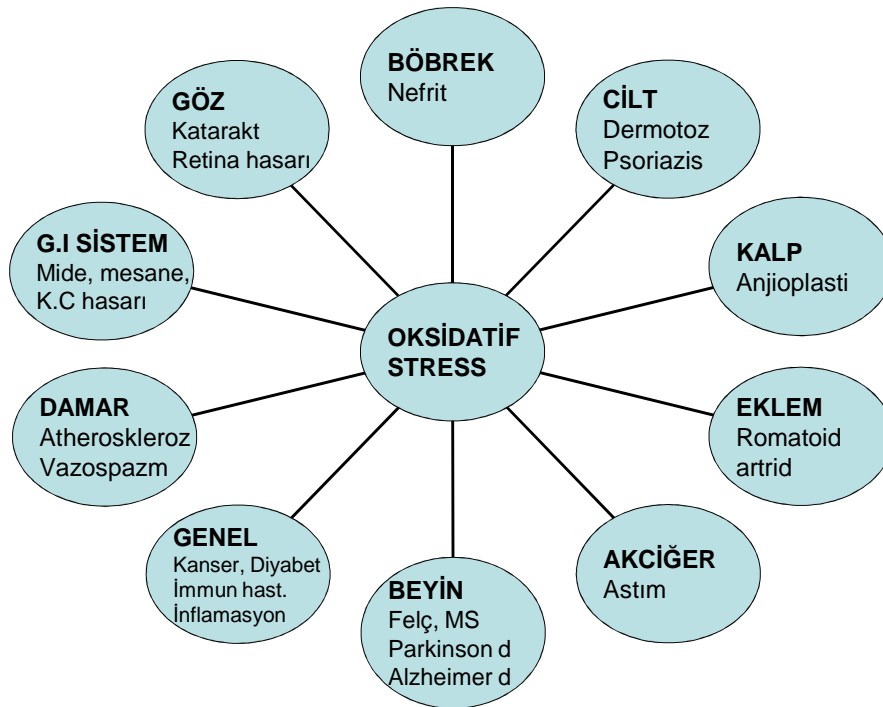
h. **Alzheimer Sendromu:** Amiloid peptid ve ileri glikolizlenme son ürünlerinin, hippokampus hücrelerinde ve sinaptosomal zarlarda yol açtığı reaktif oksijen türleri aracılı nörotoksisiteye bağlı olarak ortaya çıkar.

* AGEs 'glukasyon son ürünleri' terimlerinin İngilizce karşılığı olan 'advanced glycation end products'ın kısaltmasıdır.

i. **Huntington Sendromu:** Reaktif oksijen türleri aracılı transkripsiyonel düzensizlik ve mitokondriyal eksiklik nedeniyle meydana gelir.

j. **Otoimmün bozuklukları:** ROT ların neden olduğu inflamasyon ve doku tahribatıdır.

k. **Akut akciğer hasarı, akut solunum zorluğu, inflamasyon ve hiperoksi:** Reaktif oksijen türleri nedenli inflamasyon ve endotelial fonksiyonsuzluk sonucunda oluşan bozukluklardır.



Şema 1.2. Oksidatif Stresin Etkileri

ROT'lar çok güçlü oksidan olmasa da dokularda tehlikeli reaksiyonlara neden olan çok zararlı oksidanlara dönüşebilirler.

Oksidatif strese tedavi olarak kullanılan bir çok anti oksidan vardır. Bunların bir kısmı vücudumuzda bulunurken ya da beslenme sırasında alınırken bir kısmı sentetik olarak üretilir. Birçok antioksidan ters etki göstermeden serbest radikal hasarlarıyla savaşırlar.

1.2. Antioksidan Kimyası ve Biyolojik Önemi

İnsan antioksidan savunma sistemi; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutasyon peroksidaz (GPx) gibi enzimatik; ürat, askorbat, glutasyon ve flavonoidler gibi hidrofilik; tokoferoller, karotenoidler ve ubikinol gibi lipofilik yakalayıcılarla donatılmıştır (**Çizelge 1.2.**). Bu savunma sistemi ayrıca glutasyon redüktaz ve dehidroaskorbat redüktaz gibi moleküler antioksidanların okside olmuş biçimlerini azaltan enzimler de içermektedir (Wozniak ve ark., 2007). Bu yakalayıcıların dışında, glukoz-6-fosfat dehidrojenazın NADPH'ın rejenerasyonunu gerçekleştirmesi gibi hücrel savunma sistemleri de mevcuttur. Bunlardan bazıları hücrenin kendisi tarafından sentezlenirken askorbik asit, lipoik asit, polifenoller ve karotenoidler gibi büyük bir kısmı ise beslenme yoluyla alınan besinlerden sentezlenir. Hastalık durumunda vücudun ROT'ne karşı koruma sistemi zayıflar ya da hasar görür ve böylece vücuttaki oksidan seviyesinde artış gözlenir. Bu durumlar karşısında dışarıdan alınacak antioksidanlar, oksidatif stresin yol açabileceği hasarları önleme açısından hayati önem taşırlar.

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

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

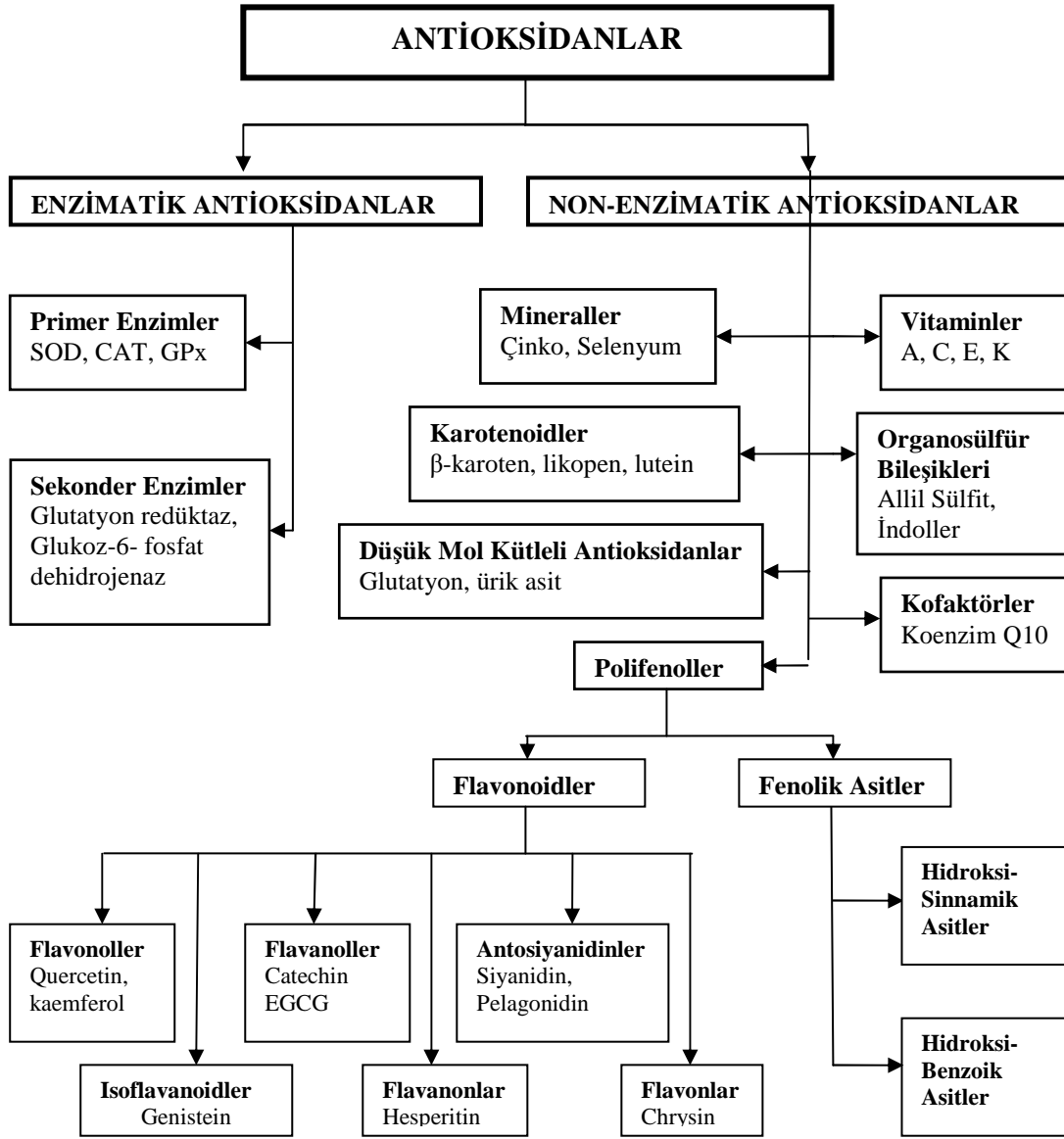
Çizelge 1.2. Önemli fizyolojik antioksidanlar (http://www.iama.gr/ethno/eie/neda_en.htm)

Antioksidan	Vücutta Bulunduğu Yer	Özellikleri
Süperoksit Dismutaz (SOD)	Mitokondri, sitozol	Çok etkili enzimatik antioksidandır.
Glutatyon Peroksidaz (GPx)	Mitokondri, sitozol	Hücre içi indirgen ajandır. Hidrojen peroksit ve organik peroksitleri uzaklaştırır.
Katalaz (KAT)	Mitokondri, sitozol	Hidrojen peroksiti uzaklaştırır.
Vitamin C	Hücresin su fazı	Serbest radikal yakalayıcı olarak davranır ve Vitamin E'yi geri kazandırır.
Vitamin E	Hücre membranı	Hücre membranındaki en önemli zincir kırıcı antioksidandır.
Ko-enzim Q ₁₀	Tüm hücre zarlarında ve yağları taşıyan proteinlerin yapısında	Yağ asidi ve glukoz metabolizması sırasında elektron yakalayarak diğer elektron alıcılarına iletir.
Ürik Asit	Pürin metabolizması ürünü	OH ⁻ radikallerini yakalar.
Glutatyon (GSH)	Hücredeki nonprotein tiyol	Hücre sel antioksidan savunmasında çoklu rol oynar.
α-lipoik asit	Endojen tiyol	Vitamin C'yi geri kazandırır; aynı zamanda biyolojik sistemlerde glutatyon yerine kullanılabilir.
Karotenoidler	Hücre membranı	Lipit çözebilen antioksidanlardır; ROT ları tutarlar.
Bilirubin	Kan	Heme metabolizması ürünüdür; hücre dışı antioksidandır.
Ubiquinonlar	Mitokondri	İndirgenmiş hali etkili antioksidanlardır.
Metal iyonları sekestrasyonları: Transferin, ferritin, clactoferrin	Extrasellüler ve intrasellüler sıvılar	Metal iyonlarını şelat haline getirir. Fenton reaksiyonundan sorumludurlar.
Nitrik Oksit	Extrasellüler ve intrasellüler sıvılar	LP inhibitörü ve serbest radikal yakalayıcıdır.

Anaerob canlılar hariç oksijen, tüm sistemler için yaşamsal öneme sahiptir. Bu yüzden de aerobik sistemlerde ROT anahtar rolü oynayan biyomoleküllerin fonksiyonlarını değiştiren 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.

1.2.1 Antioksidan Maddelerin Sınıflandırılması

Doğal antioksidanlar; etki mekanizmalarına göre temel olarak enzimatik antioksidanlar ve non-enzimatik antioksidanlar olarak iki ana grupta toplanmaktadır. Bunların dışında sentetik olarak üretilen antioksidanlarda mevcuttur. Bu antioksidanlardan enzimler, düşük mol kütleli moleküller ve enzim kofaktörleri vücutta üretilmektedirler yani enzimatik antioksidanlardır. Non-enzimatik antioksidanlar ise vücuda beslenme yoluyla alınmaktadır. Beslenme yoluyla alınan antioksidan maddelerin başında polifenoller gelir. Bunun dışında vitaminler, karotenoidler, organosülfürlü bileşikler ve mineraller de diğer non-enzimatik antioksidan madde sınıflarını oluşturmaktadır. (**Şema 2.1.**)



Şema 1.3. Antioksidan maddelerin gruplandırılması (Ratnam ve ark., 2006)

1.2.1.1. Enzimatik antioksidanlar

a. **Süperoksit dismutaz (SOD):** Organizmada tüm hücrelerde üretilir. Metalloenzim şeklinde bulunur. SOD ROT'ları elimine ederken süperoksiti hidrojen peroksite çevirir. Katalaz ve selenyum-bağlı glutasyon peroksidaz hidrojen peroksiti suya çevirir.

SOD doğada yaygın olarak ökaryotik ve prokaryotik organizmalarda da bulunur ve oksijen ve hidrojen peroksitten süperoksit dismutasyonu ile katalizlenir (McCord, 1986).

İnsan vücudunda üç çeşit SOD vardır. Bunlar; CuZn-SOD, mitokondriyal Mn-SOD, ve ekstrasellüler SOD olarak sıralanabilir. Cu-Zn SOD (bakır-çinko) sitoplazmada bulunur. Mn SOD mitokondride bulunur. (Warner ve ark., 1991). 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. Mitokondride bulunan Mn SOD ve Cu SOD (bakır) hücre dışı SOD'dur (Warner ve ark., 1991).

b. Glutasyon peroksidaz (GPx): Seleno-sistein şeklinde selenyum içerikli tetrametrik bir proteindir. Glutasyonu okside ederek hidrojen peroksiti suya dönüştürür. Glutasyonun okside formu (GSSG) daha sonra glutasyon redüktazla katalizlenerek indirgenir.

c. Katalaz enzimi (KAT): KAT eritrositlerden akciğerlere kadar canlı hücrelerinde bolca bulunur. Hücreleri hidrojen peroksitin moleküler oksijen ve suya parçalanmasıyla oluşan serbest radikallerin etkilerinden korur. Buna ek olarak KAT peroksidatif reaksiyonların oluşturduğu alkoller, formaldehit, formik asit ve fenoller gibi toksik bileşiklerin etkilerini azaltmada da rol oynar. Bu serbest radikal yakalayıcı enzimler bir çok doku, organ ve hücre yapısında bulunmaktadırlar. Mitokondri en önemli enzimatik antioksidan üretici olmakla birlikte reaktif oksijen türlerinin de en başta gelen hedefidir. Aerobik hücrelerin hemen hepsinde bulunur. Karaciğer ve eritrositlerde oldukça fazla, kalp iskelet kası ve beyinde az bulunur. Glutasyon peroksidazla birlikte hidrojen peroksiti su ve diatomik oksijene çevirirler. SOD'dan gelen hidrojen peroksit mevcut katalaz ve glutasyon peroksitin çok üstüneyse hidroksil radikaline dönüşür.

Yaşlanma ya da mitokondrial hastalıkların neden olduğu oksidatif stresin üstesinden gelmek için Mn-SOD üretimiyle eş zamanlı olarak KAT ve/veya GPx'in da hidrojen peroksit birikimini önlemek için üretilmesi gerekmektedir. ROT mitokondride birikerek mitokondriyal geçirgenliği azaltır ve mitokondriyal membranların potansiyelini düşürür. Bu da hücrelerde apoptosis ve nekroz oluşumuna neden olur (Ratnam ve ark., 2006).

Yapılan çalışmalar SOD ve KAT'ın yetersiz dağılımı ve elverişsiz farmakokinetik oluşumlar sonucu etkilerini gösteremediği durumlarda hastalıkların ortaya çıktığını

kanıtlamaktadır. Örneğin; KAT tümör hücrelerinin metastazında hidrojen peroksit seviyesini düşürecek şekilde hücrelere ulaşmalıdır. Ancak bu şekilde hücre metastazını önleyebilir veya azaltabilir (Nishikawa ve ark., 2005).

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

1.2.1.2.Non-enzimatik antioksidanlar

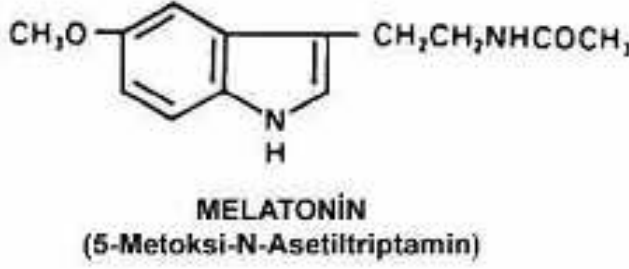
Bir kısmını günlük diyetimizde alabildiğimiz antioksidanlardır. Ancak son yüzyılda değişen beslenme alışkanlıkları ve çevre şartları nedeniyle günlük diyetle alınan antioksidan miktarını yetersiz kılmaktadır. Non enzimatik antioksidan türleri aşağıdaki gibi listelenebilir:

1. Mineraller (çinko, selenyum)
2. Vitaminler (vitamin C, vitamin A, vitamin K, vitamin E)
3. Karotenoidler (likopen, lutein)
4. Organosulfür bileşikleri (allilsülfür)
5. Polifenoller
6. Düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar (ürük asit)
7. Antioksidan kofaktörle (koenzim Q10)
8. Melatonin ve indol türevleri

İnsanlarda ortaya çıkan çoklu genlerdeki mutasyonlarından kaynaklanan kanserlerin üçte ikisinin günlük diyetlerin düzenlenmesi bu antioksidanların listeye alınmasıyla önlenebileceği düşünülmektedir. Önerilen mekanizmalar hastalık önlemede zararlı bileşiklerden enzimatik detoksifikasyonla ve bu bileşiklerin DNA'ya bağlanmasının önlenmesi şeklindedir. Son 200 yılda maruz kaldığımız serbest radikal kaynaklarındaki artış sentetik antioksidanları hayatımızda daha önemli bir yere getiriyor.

1.3. Melatonin: Kimyasal Yapısı ve Antioksidan Özellikleri

Melatonin (N-metoksitriptamin) karanlıkta pineal bezden salgılanan, uyku, üreme, sirkadiyen ritim ve immünite gibi pek çok fonksiyonun düzenlenmesinde rol alan bir hormondur (Yazıcı ve Köse, 2004). Melatonin sentezi, retinal hücrelerin depolarize olmasıyla karanlıkta olur ve geceleri maksimum konsantrasyona ulaşır (Reiter, 1991; Mor ve ark., 2004).



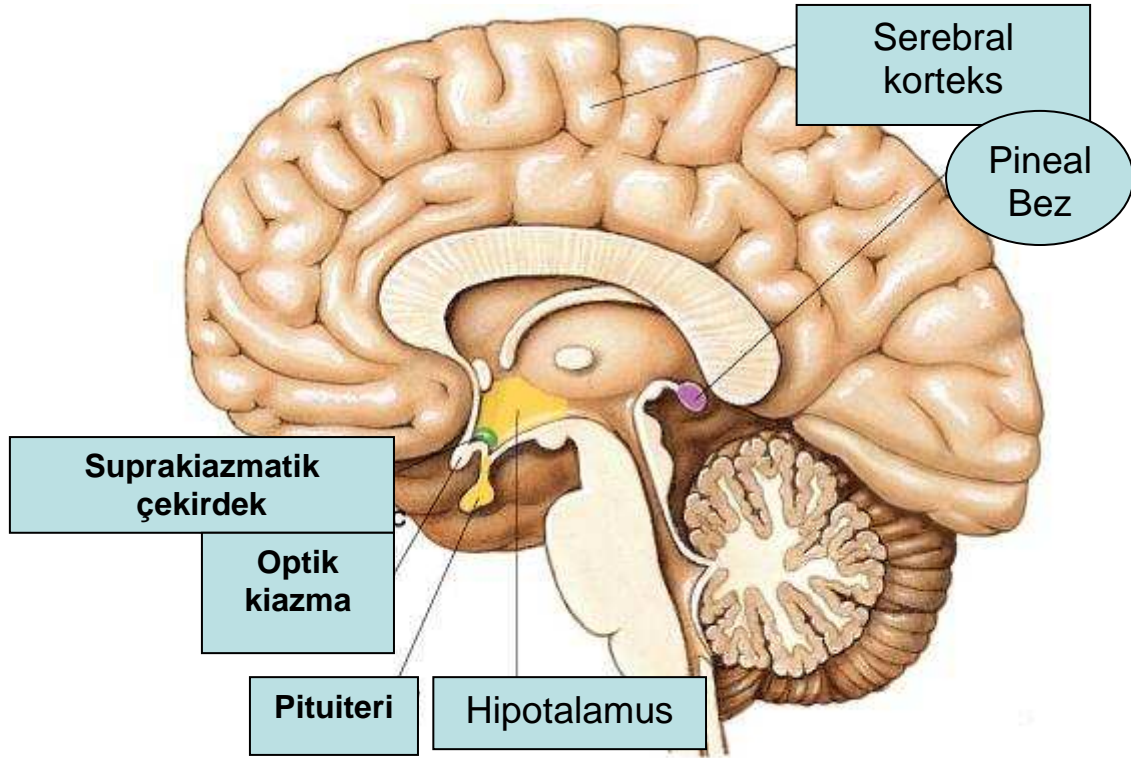
Şekil 1.4 Melatonin molekülü

Memelilerde fotik informasyonları nöroendokrin sinyallere dönüştürebilen pineal bez, retinadan gelen uyarılara cevap olarak, başta melatonin olmak üzere birçok hormon salgılayabilir (Şekil.1.4) (Brzezinski, 1997, Reiter 1993). Pineal bezler dışında retinada ve gastrointestinal bölge gibi vücudun çeşitli kısımlarında üretilir.

Melatonin sentezi, memelilerde biyolojik saatlerin en önemlilerinden biri olan ve biri gece-gündüz ritmini sağlayan sirkadiyen ritme uygun olarak meydana gelir. Bu canlılarda sirkadiyen ritmin düzenlenmesinde başlıca pineal bez ve suprakiazmatik nükleus (SCN) görev alır (Cassone, 2005) Aydınlıkta hiperpolarize olan retinal hücreler, karanlıkla beraber depolarize olarak, pineal bezde melatonin sentezini başlatırlar. Gün batımıyla fotoreseptör hücrelerden salgılanan norepinefrin, hem triptofanın dolaşımdan beze girişini artırmakta hem de b1 reseptörleri aracılığıyla membrandaki adenil siklazı aktive ederek, intraselüler cAMP seviyelerini artırmaktadır (Arendt, 1988). Dolaşımdaki triptofanın aktif taşımayla pinealosit içine alınmasıyla başlayan melatonin sentezi, dört ardışık enzimatik reaksiyon sonucunda tamamlanır.

İlk aşamada hidrosilasyon reaksiyonuyla oluşan 5-OH triptofan, dekarboksilasyonla serotonine dönüşmekte ve daha sonra sırasıyla N-asetilasyon ve O-

metilasyon reaksiyonlarıyla, serotoninden melatonin (5-metoksi-N-asetiltriptamin) oluşmaktadır (Sugden ve Baichwal, 1989; Reiter 1991).



Şekil 1.5. . Pineal Bez

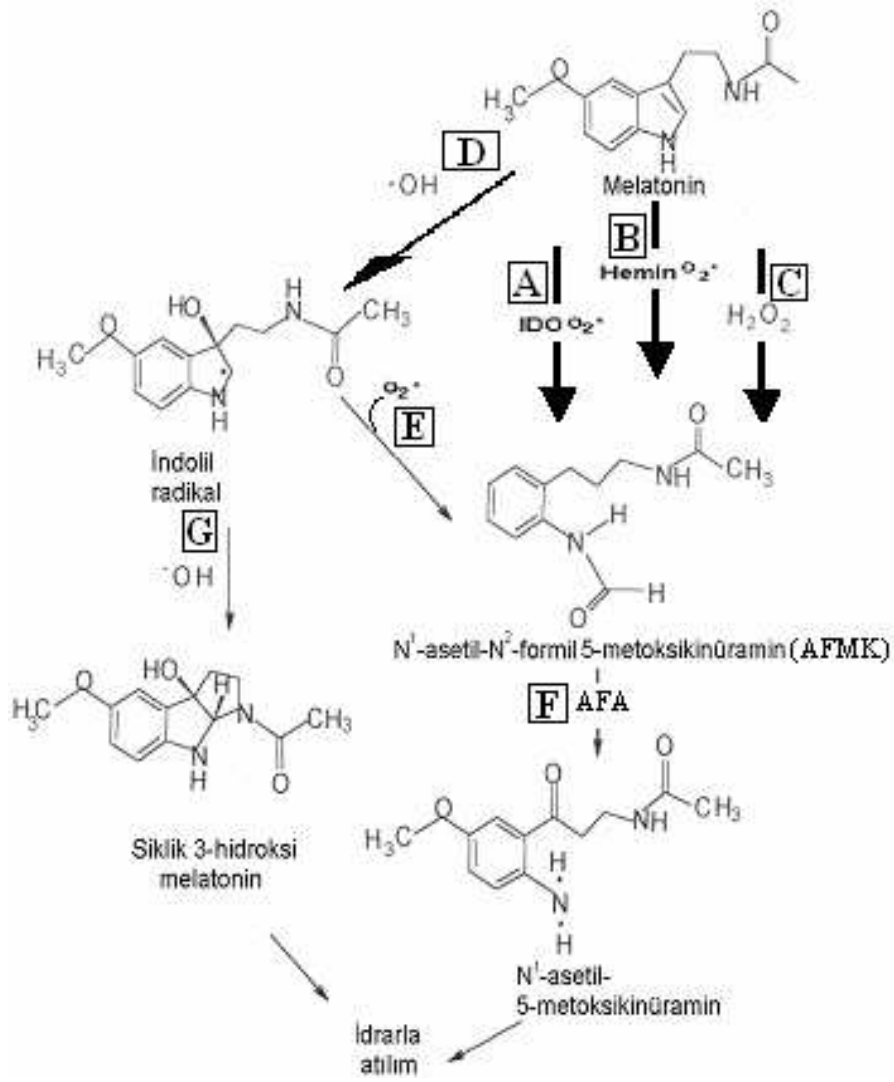
1.3.1. Melatoninin Serbest Radikallerle Etkileşimi

1.3.1.1. Direkt Antioksidan Etki

Melatonin oksidatif strese yol açabilen serbest radikalleri detoksifiye eder ve böylece onların biyomoleküller üzerindeki zararlı etkilerini önleyebilir. Melatoninin antioksidan etkisi yapısında bulunan pirol halkasından ileri gelir. Süpeoksit varlığında pirol halkası yıkılır, yüksek radikal tutma özelliğine sahip N-asetil-N-formil-5 metoksikinüramin (AFMK) oluşturulur.

Askorbat, alfa-tokoferol ve GSH gibi zincir reaksiyonlarını kırabilen diğer antioksidanlardan üstün bir özelliği lipid peroksidasyonunu peroksit radikalini yakalayarak sonlandırmasıdır.

Hidroksil radikalini GSH den 5 kat daha hızlı yakalar.



Şema 1.4. Melatoninin serbest radikallerle etkileşimi (Kotler ve ark., 1998; Thomas ve ark., 1998)

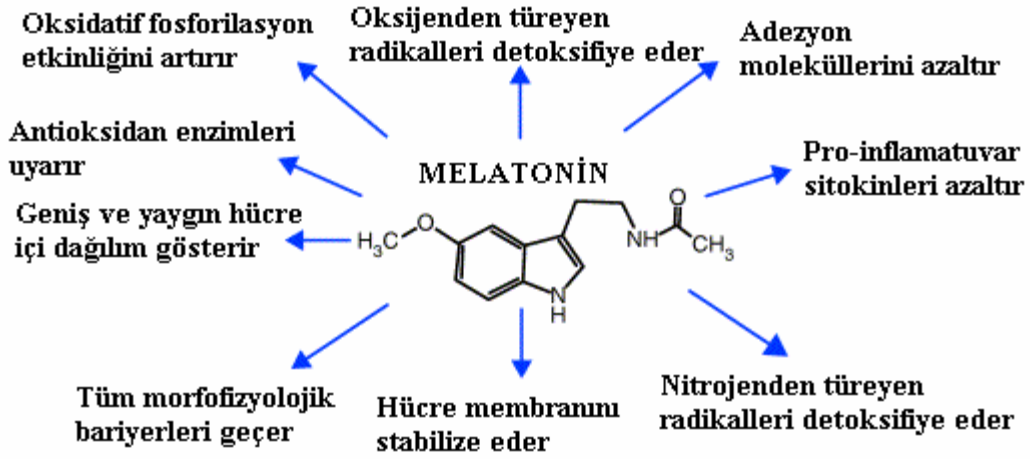
1.3.1.2. Antioksidan enzim Aracılı etki

Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz, glutatyon redüktaz, glukoz 6 fosfat dehidrojenaz gibi bazı antioksidan enzimlerin gen ekspresyonunu ya da aktivitelerini artırarak oksidatif stresi baskılayabilir.

1.3.1.3. Prooksidan enzim aracılı etki

Melatonin bazı prooksidan enzimleri inhibe ederek, serbest radikal oluşumunu azalttığı ve bu yollarda antioksidan sistemi desteklediği düşünülmektedir (Beyer, 1998). Nitrik oksit sentez aktivitesini inhibe ettiği beyin iskemi reperfüzyon modelinde görülmüştür (Guerrero ve ark., 1997).

Melatonin hem suda hem de lipit fazda çözünür. Bu yüzden, organizmada çok geniş alanda anti oksidan özellik gösterir. Kolaylıkla kan-beyin bariyerini ve plasentayı geçebildiği için morfofizyolojik engeli yoktur; intraselüler komponentlere kolayca ulaşır. Böylece hücre zarını, organelleri ve çekirdeği etkin bir şekilde serbest radikal hasarından koruyabilir. Hücre membranıyla temas ettiğinde, fosfolipit tabakanın dış yüzeyine tutunan melatonin radikallerle membrandan önce temasa geçerek onları detoksifiye eder ve membranı korur. Melatonin varlığında, mitokondriyal solunum zincirinden kaynaklanan radikal oluşumu azalır, çekirdeğe kadar ulaşır DNA'yı korur (Arendt, 1988). Melatonin ve melatonin analogları diğer antioksidanların aksine yüksek dozajlarda (300 mg/ gün) ve uzun süre kullanımlarda bile toksik etkisi yoktur. Serbest radikallerin yol açtığı bir çok hastalıkta kullanım alanı bulmuştur (Reiter, 1993).



Şema 1.5. Melatoninin antioksidan özellikleri (Reiter, 2003)

1.4. İndol Halkasının Kimyasal Özellikleri

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

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

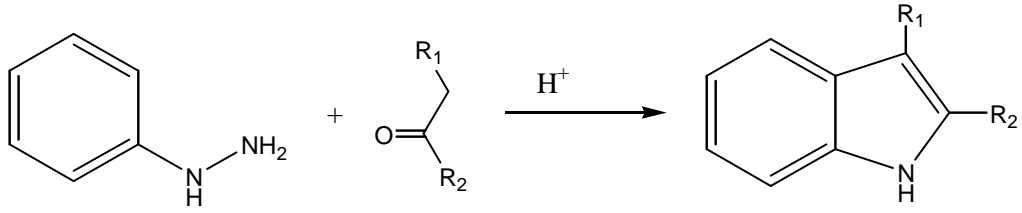
Elektronca zengin yapısı nedeniyle indol kolayca okside olur. 2. ve 3. karbonları arasındaki çifte bağ nedeniyle sikloadisyon reaksiyonlarına açıktır. İndol ve türevi bileşikler karbon bazlı elektrotlar aracılığı ile oksitlenebilirler. Elektrokimyasal çalışmalar ile geliştirilen voltametrik yöntem sonucu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

1.4.1. İndol Halkasının Genel Sentez Yöntemleri

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

Fischer İndol Sentezi

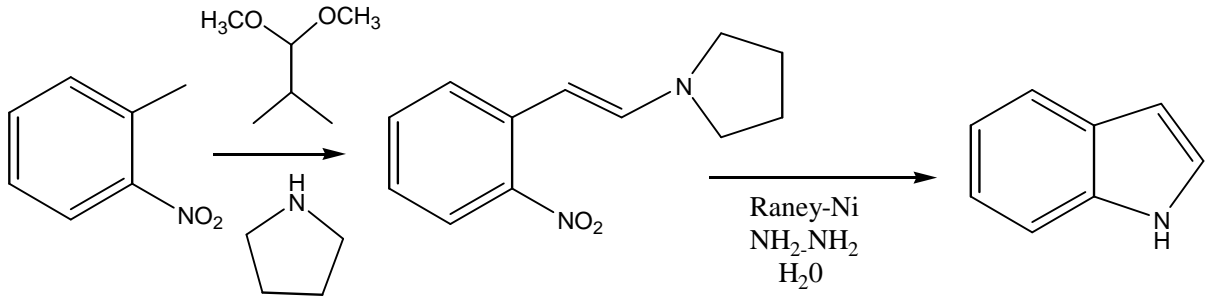
En eski indol sentez yöntemlerinden biridir. 2. ve 3. konumda süstitüentler istenen indol türevlerinin sentezi için idealdir (Büyükbingöl ve ark., 1994).



Denklem 1.3. Fischer indol sentezi

Leimrruber-Batcho İndol Sentezi

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

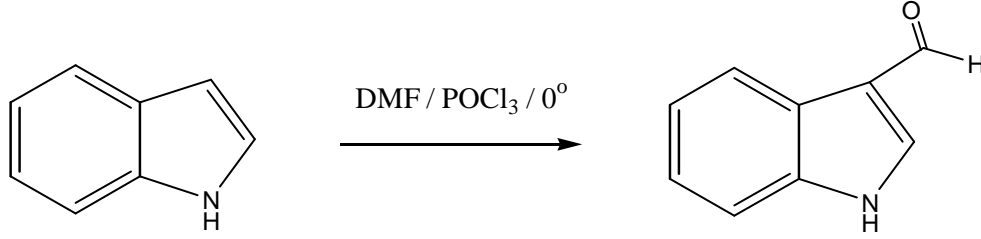


Denklem 1.4. Leimrruber-Batcho indol sentezi

1.4.2. İndol-3-karboksaldehit Sentezi

Vilsmeier-Haack Formilasyonu

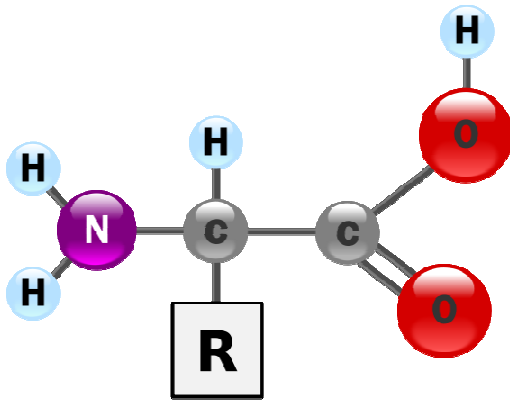
Çok kullanılan bir yöntemdir. İndol 3. karbondan elektrofilik süstitüsyona açık olduğu için kolay yürür (Büyükbingöl ve ark., 1994).



Denklem 1.5. Vilsmeier-Haack formilasyonu

1.5. Amino Asitlerin Kimyasal Özellikleri

Amino asitler, yapılarında hem amino grubu (-NH₂) hem de karboksilik asit grubu (-COOH) içeren bileşiklerdir. Hem asidik hem bazik grup içerdikleri için amfoter bileşiklerdir. (-COOH) grubundaki hidrojen -NH₂ grubundaki nitrojene bağlanarak zwitter iyon oluşturur. Bu yapıları nedeniyle dipol momentleri ve erime noktaları yüksektir, suda çözünürler. Doğada 300 kadar farklı aminoasit bulunmaktadır. Bunlardan *standart amino asit* denilen 20 tanesi, karakteristik sayı ve diziliş sırasında bir düz zincirde birbirlerine kovalent olarak bağlanarak DNA tarafından kodlanan proteinleri oluştururlar.

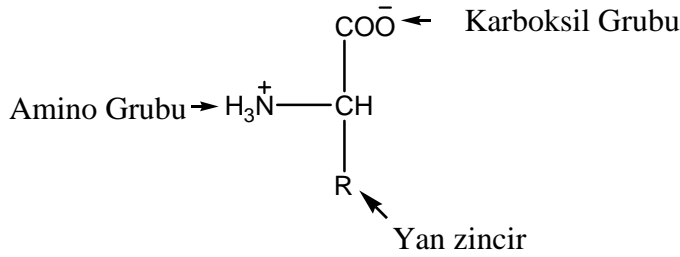


Şekil 1.6. Genel Amino Asit Yapısı

Bir amino asit polipeptit zinciri yapısında girdikten sonra modifikasyona uğrarsa *nonstandart amino asitler* diye bilinen türler oluşur.

Proteinlerin yapısında bulunmayan ancak hücrede değişik biyolojik fonksiyonlara sahip amino asitler de vardır.

Standart amino asitler, aynı karbon atomuna bağlanmış bir amino grubu ve bir karboksil grubu içerir. Fizyolojik pH'ta amino grubu hidrojen taşır ve pozitif yüklüdür; karboksilik asit grubundan ise proton ayrılmıştır ve negatif yüklüdür. Amino ve karboksil gruplarının bağlı olduğu karbon atomu α -karbon atomu olarak adlandırılır. R grubu bir zincirde başka karbonlar içeriyorsa β , γ , δ , ϵ gibi harflerle belirtilirler.



Şekil 1.7. Amino Asitlerin Fizyoloji pH'ta Gösterimi

Fizyolojik pH'da (yaklaşık $\text{pH} = 7.4$) karboksil grubu dissosiyasyon olarak negatif yüklü karboksil iyonu ($-\text{COO}^-$) oluşturur ve amino grubu protonlanır ($-\text{NH}_3^+$). Proteinlerde bu karboksil ve amino grupları peptid bağının yapısında yer alır, kimyasal reaksiyona girmez. (hidrojen bağı oluşumu hariç). Bu yüzden, amino asitin proteindeki rolünü belirleyen yan zincirinin yapısıdır.

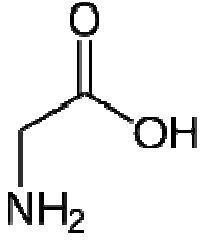
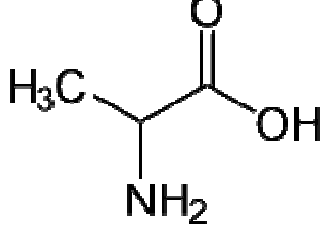
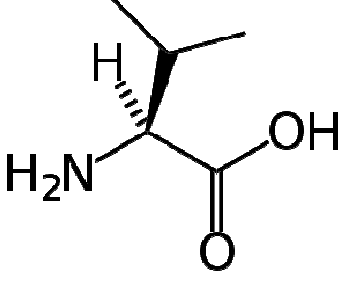
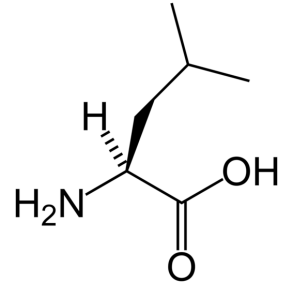
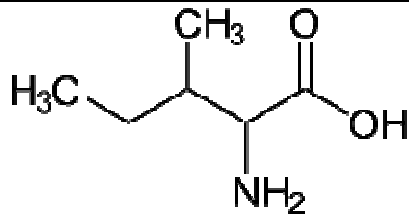
1.5.1 Amino Asitlerin Yan Polaritelerine Göre Sınıflandırılması

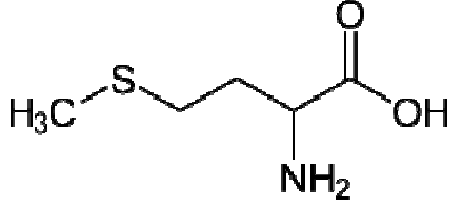
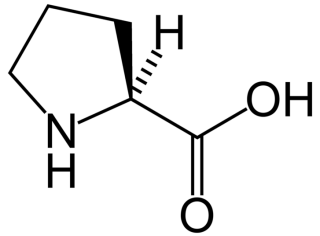
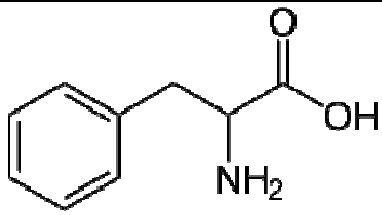
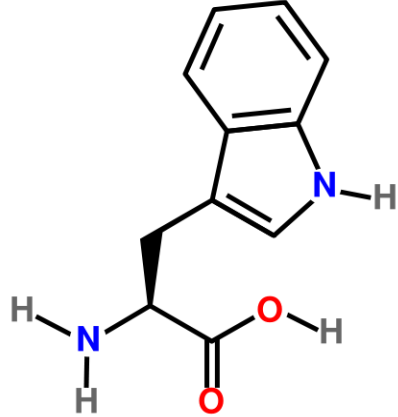
1.5.1.1. Nonpolar yan zincire sahip amino asitler

Bu gruba giren amino asitler glisin, alanin, valin, lösin, izölösin, metiyonin, prolin, fenilalanin ve triptofandır (**Çizelge 1.3**). Bu gruptaki amino asitlerin, proton bağlamayan ya da vermeyen, hidrojen bağı yapmayan ve iyonik bağlara katılmayan yan zincirleri vardır.

Hidrofobik özeliğe sahiptirler. Özellikle sulu çözeltilerde protetinlerin iç kısmında bir araya geldikleri için üç boyutlu yapının kazanılmasında önemlidirler. Membran yapısında non-polar -R grupları lipid çevreyle hidrofobik olarak etkileşir. Protein yapısını stabil hale getirir.

Çizelge 1.3. Nonpolar yan zincire sahip amino asitler

Amino Asit	Kimyasal Yapısı
Glisin Gly G	
Alanin Ala A	
Valin Val V	
Lösin Leu L	
İzolösin Ile I	

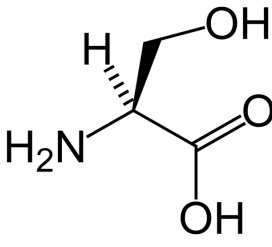
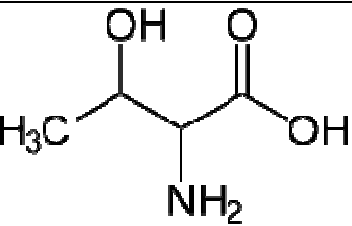
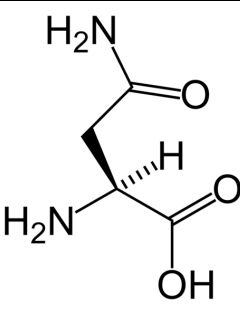
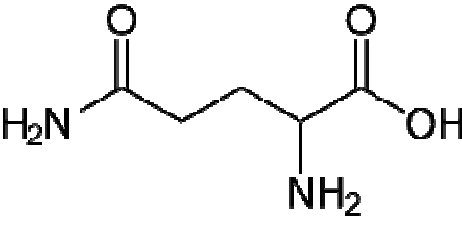
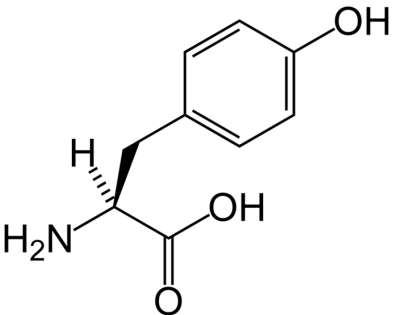
Metiyonin Met M	
Prolin Pro P	
Fenilalanin Phe F	
Triptofan Trp W	

1.5.1.2. Yüksüz polar yan zincire sahip amino asitler

Bu grup amino asitler serin, treonin, asparajin, glutamin, tirozin ve sisteindir (**Çizelge 1.4.**). Nötral pH'da yüksüzdürler. Serin, treonin ve tirozin hidrojen bağı oluşumuna katılan polar bir hidroksil grubu içerir. Asparajin ve glutamin ise taşıdıkları birer karboksil ve amid

grubuyla hidrojen bağına katılabilirler. Bu gruptan sistein içerdiği sülfhidril (-SH) grubu nedeniyle protein yapısındaki başka bir sisteinle, disulfid bağı (-S-S-) oluşturur.

Çizelge 1.4. Yüksüz polar yan zincire sahip amino asitler

Amino Asit	Kimyasal Yapısı
Serin Ser S	
Treonin Thr T	
Asparagin Asn N	
Glutamin Gln Q	
Tirosin Try T	

Sistein Cys C	
---------------------	--

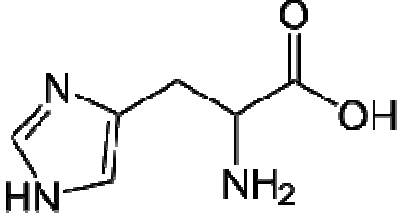
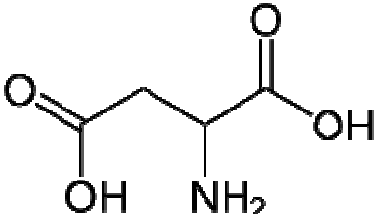
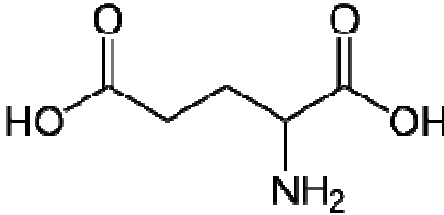
1.5.1.3. Yüklü polar yan zincire sahip amino asitler

Bu gruba ise lizin, arginin, histidin, aspartik asit ve glutamik asit girer (**Çizelge 1.5.**). Bu gruptan histidin, lizin ve arginin bazik yan zincire sahiptir. Fizyolojik pH'ta yan zincirleri iyonize olur ve pozitif yüklenirler. Ancak histidin protein yapısında yer aldığı polipeptit zincirindeki iyonik çevreye göre pozitif yüklü ya da yüksüz olabilir. Bu özelliği nedeniyle protein fonksiyonu ve enzimlerin katalitik reaksiyonlarında rol alır.

Aspartik asit ve glutamik asit asidik yan zincire sahiptirler ve nötral pH'ta yan zincirleri tamamen iyonize olur, negatif yüklenirler. Bu durumda Aspartik asit aspartat ve glutamik asit glutamat olarak adlandırılır.

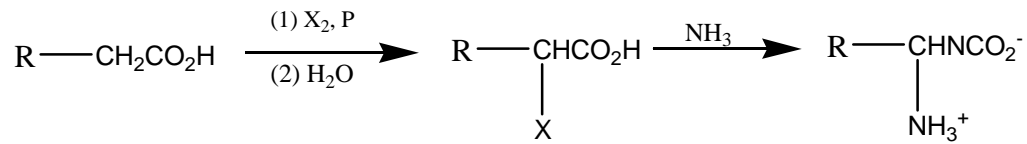
Çizelge 1.5. Yüklü polar yan zincire sahip amino asitler

Amino Asit	Kimyasal Yapısı
Lizin Lys K	
Arginin Arg R	

Histidin His H	
Aspartik asit Asp D	
Glutamik asit Glu E	

1.5.2. Amino Asitlerin Laboratuvar sentezleri

1.5.2.1. Bir α -Halo Asitin Doğrudan Aminlenmesi (Ammonoliz)

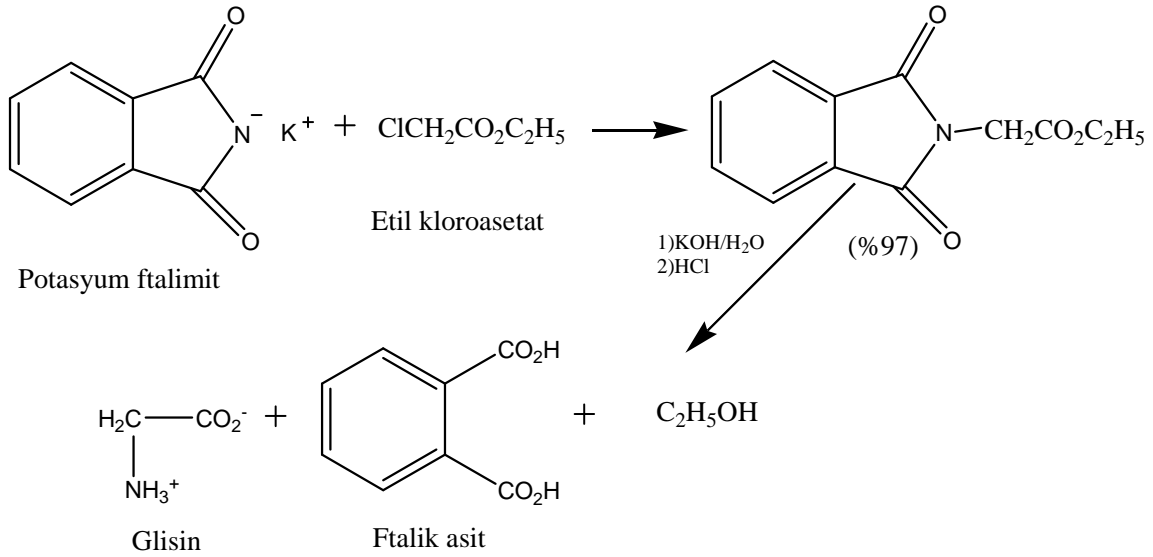


Denklem 1.6. Ammonoliz

Yöntemin verimi düşük olduğundan çok kullanılmamaktadır.

1.5.2.2. Potasyum Ftalimitten

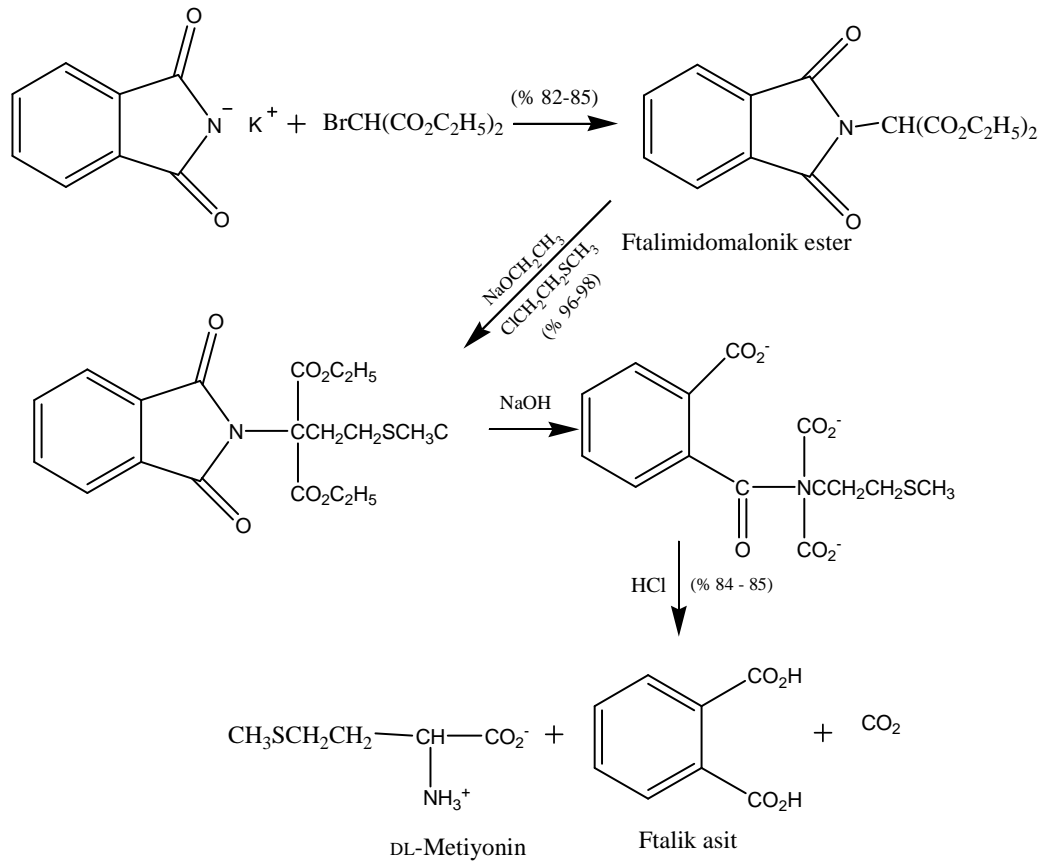
Verimi genelde yüksektir ve oluşan ürünler kolay saflaştırılır.



Denklem 1.7. Potasyum Ftalimitten amino asit sentezi

Bu yöntemde etil kloroasetat yerine dietil α -bromomalonat da kullanılabilir.

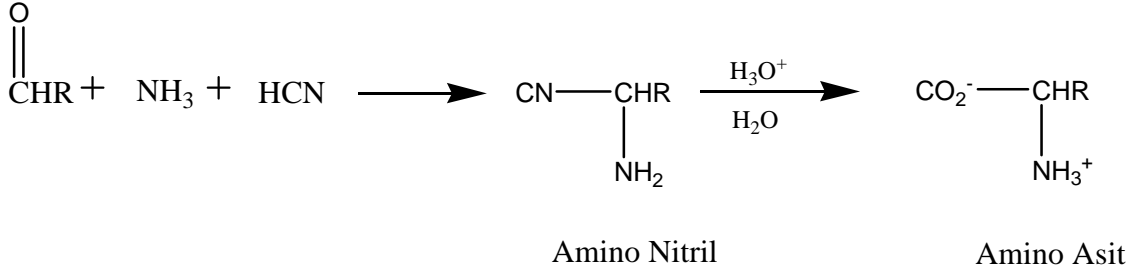
Denklem 1.8.'de metiyoninin bu yöntemle sentezlenişi verilmiştir.



Denklem 1.8. Potasyum Ftalimitten dietil α -bromomalonat üzerinden amino asit sentezi

1.5.2.3. Strecker Sentezi

Bir Aldehitin amonyak ve hidrojen siyanür ile etkileştirilmesi bir α -aminonitril ara ürününü verir. Bu α -aminonitrilin nitril grubunun hidroliziyle amino asit elde edilir.



Denklem 1.9. Strecker Sentezi

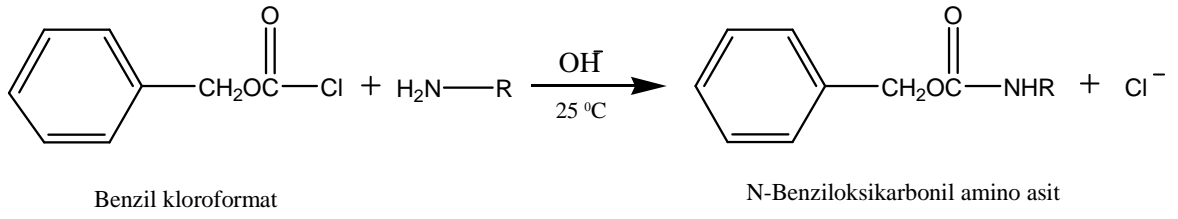
1.5.3. Amino Grubunun Korunması

Molekül yapısında bulunan amino ve hidroksil grupları kuvvetli etkinleştirici gruplardır ve istenmeyen tepkimelerin meydana gelmesine neden olabilirler. Örneğin benzene bağlılarsa halkayı elektrofilik yer değiştirmeye ve yükseltgenmeye karşı etkinleştirirler. İstenmeyen tepkimelerin önlenmesinde *koruyucu grup* kullanılır. Bir koruyucu grup, amaçlanan reaksiyonda reaktantın gerekli tepkime koşullarında uyumsuz bir grup içermesi durumunda, yani amaçlanan tepkimeyle yarışan başka bir tepkime olduğunda kullanılır.

Amino grubu, düşük nükleofilik özellikteki başka bir grup haline dönüştürülerek korunur. Bu amaçla en çok kullanılan iki reaktant benzil kloroformat ve di-ter-bütül karbonattır. Ancak deney aşamasında benzoil klorür kullanıldığı için kısaca bahsedilecektir.

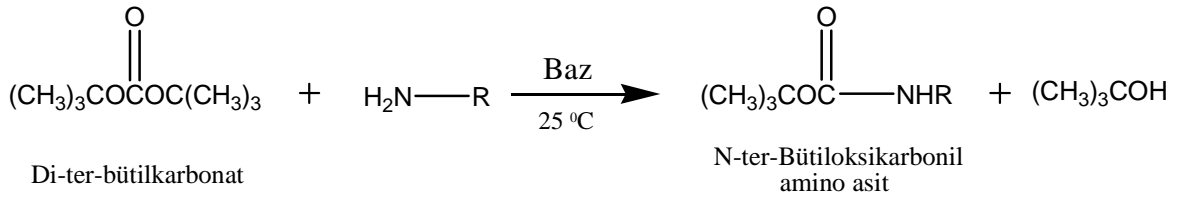
Bu bileşikler amino grubuyla etkileşime girerek etkin olmayan amino asit türevleri verirler. Amino grubuna bağlanan benziloksikarbonil grubu 'Z' ve ter-bütüloksikarbonil grubu 'Boc' olarak kısaltılır.

Benziloksi karbonil grubu



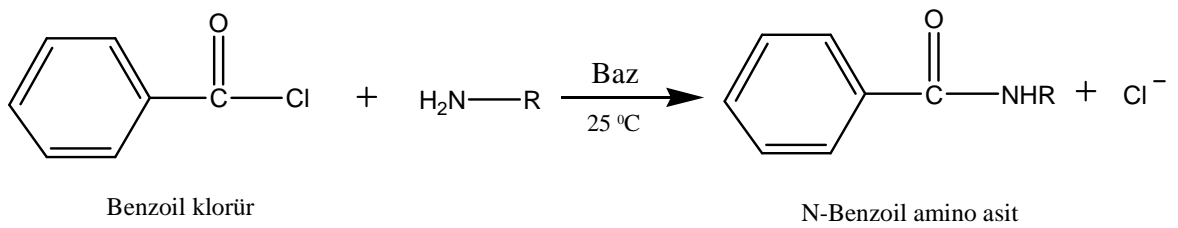
Denklem 1.10. Benziloksi karbonil grubu takılması

ter-bütoksi karbonil grubu



Denklem 1.11. ter-bütoksi karbonil grubu takılması

Benzoil grubu



Denklem 1.12. Benzoil grubu takılması

1.6. Melatonin ve Analogu Olan Maddelerin Gerekliliği

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

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

Endojen bir antioksidan olan melatonin yağda kolaylıkla çözünebildiği için hücrel membranlara kolaylıkla girerek yağ asitlerinin polar başları ile bağlanabilir. Melatoninin bu özelliği lipidlerdeki oksidatif hasarı azaltmasını sağlar. Çoğu çalışma melatoninin nöroprotektif etkisinin antioksidan aktivitesine dayandığını göstermektedir.

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

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

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

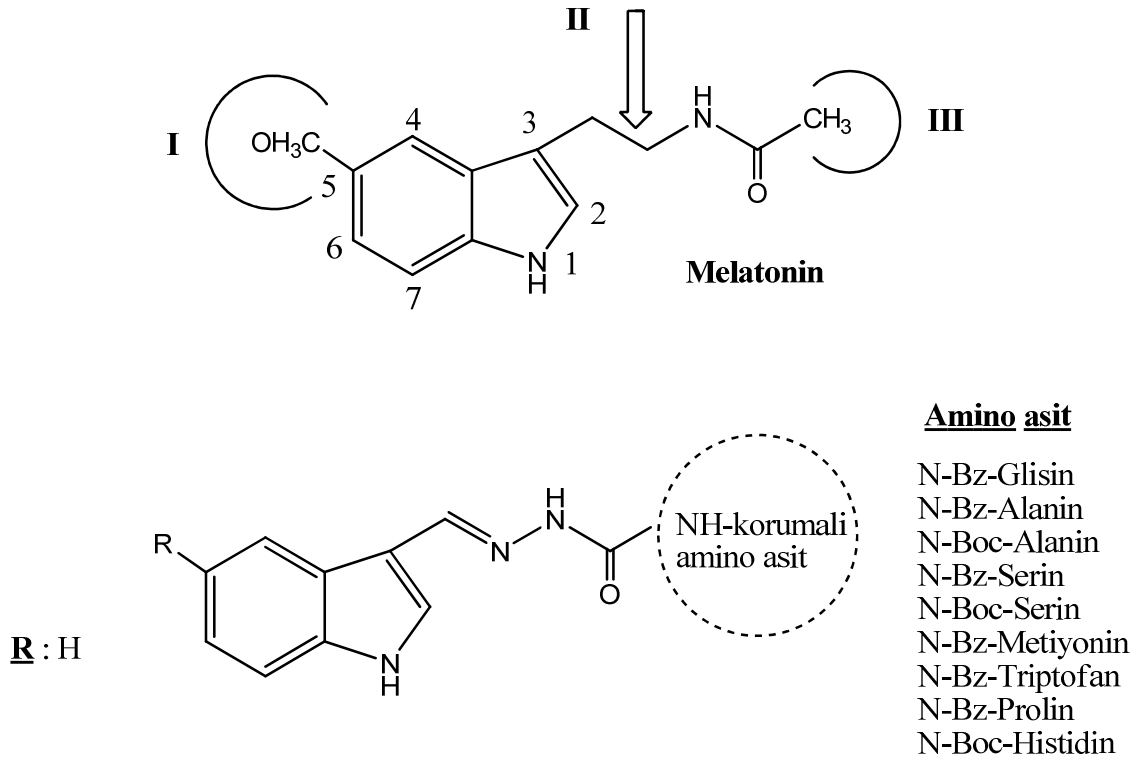
1.7. Tez Çalışmasının Amacı ve Önemi

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

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

İndol halkası antioksidan aktivitenin görülmesi için bulunması gereken esas yapıdır. Benzofuran ve naftalen halkaları ile karşılaştırıldığında daha iyi antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Gozzo ve ark., 1999). İndol halkası yüksek rezonans stabilitesi ve düşük aktivasyon enerji bariyeri nedeniyle serbest radikaller ile reaksiyona girmek için çok uygundur (Tan ve ark., 2002). Radikal yakalama mekanizması incelendiğinde karşılaşılan varsayımlar: serbest radikali yakalamak amacı ile indol halkasının bir elektron vererek indolil katyon radikali oluşturduğu ve indol halkasının 3. konumunda bulunan grupların radikali yakaladığı şeklindedir.

Bu tez çalışmasında indol halkası üzerinde 3. konuma antioksidan aktivite göstermesi beklenen grupların yerleştirilmesi ve 5. konumdaki metoksi grubunun H ile yer değiştirmesi ile yeni bileşiklerin sentezlenmesi, bu bileşiklerin yapılarının ileri enstrümental tekniklerle aydınlatılması ve *in vitro* antioksidan aktivitelerinin DPPH Üzerinden Serbest Radikal Yakalama Etki Tayini ve Lipid Peroksidasyonu Üzerine İnhibitör Etki Tayini yöntemleri kullanılarak test edilmesi planlanmıştır.



Şema 1.6. Melatonin molekülü üzerinde gerçekleştirilen değişiklikler

Bu çalışmada melatonin molekülünün 3. ve 5. konumlarını kapsayan 3 ana bölgede değişiklikler gerçekleştirilmiştir. Yapılan değişiklikler ve nedenleri aşağıda özetlenmektedir:

I. Bölge : Melatoninin ana halkası olan indolün 5. konumunu oluşturur. Bu konumda metoksi grubu bağlıdır. Yapılan çalışmalar halen metoksi grubunun antioksidan aktivitedeki fonksiyonu üzerinde fikir birliğine varılmadığını göstermektedir. Bazı araştırmalar bu grubun antioksidan aktivitede direk bir etkisi olmadığını göstermekte

(Ateş-Alagöz ve ark., 2005), bazı araştırmacılar ise bu grubun halka üzerinde bulunmasının gerekli olduğu ya da hidroksil grubu ile yer değiştirebileceği görüşündedir (Gozzo ve ark., 1999). 5. Konumda klor taşıyan melatonin türevlerinde antioksidan aktivite melatonine eşdeğer çıkarken iyot bulunan türevlerde aktivitenin düştüğü gözlenmektedir (Poeggeler ve ark., 2002). Buna nazaran 5. Konumda Br taşıyan melatonin analogu bileşiklerde süstitüent direk olarak aktiviteyi etkilememekle beraber, aktivite görülmesine yardımcı olduğu bulunmuştur (Gürkük ve ark., 2008). Bu nedenle sentezlenen bileşiklerde bu konumda süstitüent bulunmadığında aktivitenin nasıl etkileneceği araştırılmak istenmiştir.

II. Bölge : Bu bölgeyi indol halkasının 3. konumundan bağlı olan amid zinciri (asetamidoetil) oluşturur. Araştırmalar antioksidan aktivite gösteren indol bileşiklerinde yaklaşık 5 karbon uzunluğunda bir zincirin varlığını göstermektedir. Amid grubunun keton ile yer değiştirdiği türevlerde aktivite değişmemiştir (Gozzo ve ark., 1999). Amid karbonili aktivite için çok önemli bulunmuştur (Tan ve ark., 2002). Sentez edilen bileşiklerin bir grubunda bu karbonil yapısı korunmuş ve zincir üzerinde oluşturulan imin yapısı ile çifte bağlar arasında konjugasyon sağlanmıştır.

III. Bölge : İndol halkasının 3. konumuna bağlı yan zincirin ucunda bulunan metil ya da asetil yapısıdır. Amid grubu yerine amin grubu yer aldığında prooksidan aktivite gözlenmiştir (Gozzo ve ark., 1999). Metil ya da asetil yapısının hacimli aromatik yapılarla değiştirildiği yapılarda yüksek antioksidan aktivite gözlenmiştir (Varvaresou ve ark., 2000), ancak halojenli türevler ile ilgili araştırmaya rastlanmamıştır. Ayrıca indol halkasının bilinen diğer antioksidan bileşiklerle verdiği kondanse ürünlerin de yüksek antioksidan özelliklerinin bulunması nedeniyle (Gürkan ve ark., 2005; Ateş-Alagöz ve ark., 2006) indol halkasının amino asit yapıları ile birleştirilmesi uygun bulunmuştur.. İmin yapısı oluşturması amacıyla NH üzerinde benzoil yada Boc taşıyan amino asit türevleri seçilmiştir. Bunun nedeni amino asitlerin üzerinde son yıllarda yapılan antioksidan aktivite çalışmalarınıdır. İndoller ve amino asitlerin birlikte oluşturduğu antioksidan yapılara literatürde rastlanmaması bu grup bileşiklerin seçiminde büyük rol oynamıştır.

İndolik bileşiklerin çok etkili antioksidan özelliğe sahip olduğunun belirlenmesi dolayısı ile bu tez çalışması ile indol halka sistemi taşıyan melatonin analogu bileşiklerin sentezlerinin yapılarak antioksidan aktivitelerinin araştırılması gerçekleştirilecektir. Bu

aktiviteler melatonin ile karşılaştırılarak yapı-aktivite ilişkileri gözden geçirilecektir. Sentezlenen bileşiklerin daha önce tasarlanmamış olan indole 3. konumdan bağlanan amino asit hidrazin türevleri olması teze orijinallik katmaktadır. Ayrıca indolün 5. konumunda süstitüent bulunmadan aktivitenin ne şekilde etkilendiği araştırılacaktır. Tez çalışmasında sentezlenen orijinal olmayan bileşiklerin de daha önce antioksidan aktivite yönünden araştırılmamış olması da sentezlenen seri bileşiklere değişik bir bakış açısı getirmektedir.

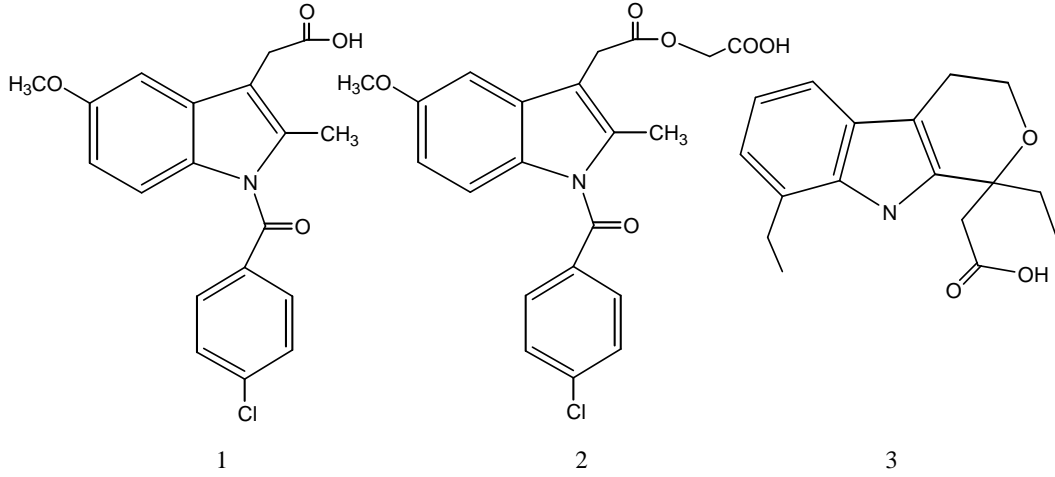
Bu araştırma indol-amino asit türevi melatonin analogu antioksidan maddelerin geliştirilmesine ışık tutacak ve çalışmalarımız bu maddelere ait yeni türevlerin sentezini ve daha ileri testleri içeren projelerle devam edecektir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1 Melatonin Analogu Sentetik Antioksidan Bileşikler

2.1.1. Antioksidan Etki Gösteren Non-Steroidall Anti-enflamatuvar İndol Türevi Bileşikler

Siklooksigenaz (COX), araşidonik asitten prostanoidlerin sentezi sırasında hız sınırlayan bir enzimdir. COX-1 ve COX-2 olmak üzere iki izoformu vardır. Uzun zamandır siklooksigenaz reaksiyon ürünlerinin selebral döngünün düzenlenmesinde rol aldığı düşünülmektedir. Bir indol türevi olan indometazin COX-1 ve COX-2'yi inhibe eder (Niwa ve ark, 2001). Ayrıca serbest radikal oluşumunu önlediği saptanmıştır (Torres ve ark, 2004). COX-2 enflamasyon oluşumunda kritik rol oynar. Aşırı ekspresyonu nörodejeneratif hastalıklar ve bazı kanser tiplerini de içeren bir dizi patolojik durumun ortaya çıkmasında etkilidir. Siklooksigenaz aktivitesinin uyarılması, biyolojik sıvılarda peroksit oluşumuna neden olmaktadır. Yine enflamasyon sırasında hidrojen peroksit oluştuğu gözlenmiştir. Bu nedenle ROT lerine karşı anti-enflamatuvar etkili ilaçların kullanılması büyük terapötik değere sahiptir. Bu bulgular nonsteroidal anti-enflamatuvar ilaçların serbest radikalleri yakalama kapasitesi olabileceğine işaret etmektedir. Elektron spin rezonans çalışmaları ile Etodolak (1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano-[3,4-b]indol-1-asetik asit) ve indometazin (2-[1-(4-klorobenzoil)-5-metoksi-2-metil-indol-3-yl]asetik asit) (Şekil 2.1) yapılarının direk süperoksit yakalama aktivitesi olduğu belirlenmiştir (Ikeda ve ark, 2001). Başka bir çalışmada indometazin, asemetazin (1-[p-klorobenzoil]-5-metoksi-2-metilindol-3-asetik asit karboksimetil ester) ve etodolak ((±)-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano-(3,4-b)indol-1-asetik asit) değişik ROT üretici sistem üzerinde denenmiş, anti-enflamatuvar etkilerinin bir ölçüde de ROT ve RAT yakalama kapasitesine bağlı olduğu belirlenmiştir (Mouithys-Mickalad ve ark, 2000; Dannhardt ve ark, 2001). Üzerinde bulunan eşleşmemiş elektronları nedeniyle indolik nitrojen indollerin aktif redoks merkezidir (Fernandes ve ark, 2004; Stolc ve ark, 2006). İndol halkasındaki nitrojenin oksijenle yer değiştirmesi sonucu oluşan benzofuran yapısının antioksidan aktivitesinin indole göre oldukça düşük olduğu gözlenmiştir. (Poeggeler ve ark, 2002).



Şekil 2.1. İndometazin (1), asetmetazin (2) ve etodolak (3)

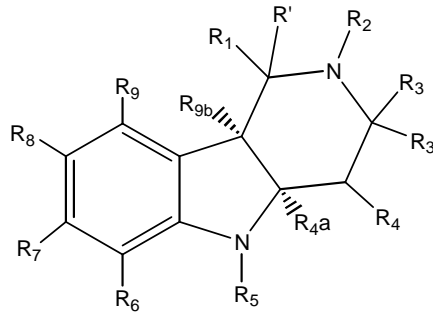
Non-steroidal anti-enflamatuvar bileşiklerin H_2O_2 yakalama kapasiteleri indol türevi (indometazin, asetmetazin, etodolak), pirol türevi (tolmetin, ketorolak), oksazol türevi (oksaprozin), inden türevi (sulindak) ve metabolitleri (sulindak sülfid ve sulindak sülfon) kullanılarak Costa ve arkadaşları tarafından araştırılmıştır (Costa ve ark, 2005). Sonuçlar endojen antioksidanlar melatonin ve GSH ile karşılaştırıldığında, antioksidan aktivite sırasının sulindak sülfon>sulindak sülfid > GSH >sulindak > indometazin > asetmetazin > etodolak > oksaprozin > ketorolak > melatonin > tolmetin şeklinde olduğu görülmüştür. Prostaglandin sentezinin inhibisyonu bu bileşiklerin anti-enflamatuvar etkilerini birincil mekanizmasıdır. Ortaya çıkan sonuç, non-steroidal anti-enflamatuvar ilaçların anti-enflamatuvar aktivitesinin ROT ve RAT yakalama kapasitesinden ileri gelebileceğini işaret eder (Mouithys-Mickalad ve ark, 2000; Fernandes ve ark, 2004).

2.1.2. İndole Yapışık Halka Sistemi İçeren Antioksidan Bileşikler

İndol halkası taşıdığı terapötik değer nedeniyle medisinal kimya için önemli kondanse halkalardan biridir (Borza ve ark, 2005). İndol azotu süstitüte olsun ya da olmasın, reaksiyonlar için aktif bölge, heterosiklik halkanın 3. konumudur. Bu konumun bir elektrofil ile süstitüsüyonu benzenin aromatisasyonu bozulmadan nitrojen üzerinden stabil bir ara ürünün oluşmasını sağlar. İndol halkası iki tautomerik formda bulunur. Bunlar daha stabil olan enamin ve 3*H*-indol ya da imin formlarıdır. İndol halkasındaki 2. ve 3. karbonlar arasında yer alan II bağı sikloadisyon reaksiyonlarına imkan sağlar. Molekül içi

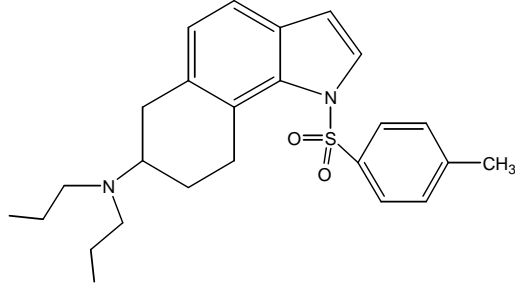
sikloadisyonlar, moleküller arası sikloadisyonlara karşı daha tercih edildir ve tepkime verimleri daha yüksektir. İndol halkasının bu özelliklerinden faydalanılarak sentezlenen bir çok bileşikte antioksidan aktivite gözlenmiştir.

Stobadin ((-)-*cis*-2,8-dimetil-2,3,4,4a,5,9b-hekzahidro-1H-pirido[4,3-b]indol) (**Şekil 2.2.**) piridoindol yapısı taşıyan kardiyoprotektif ve antioksidan özellikte moleküller için bir modeldir. (Majekova ve ark, 2006). Stobadin yapısı esas alınarak yüksek antioksidan etkili, serbest radikal yakalayıcı ve nöroprotektif etkili türevler geliştirilmiştir. Stobadin molekülünün genelde benzen halkası üzerinden elektrofilik süstitüsyonla ya da 2. nitrojen konumundaki alkoksi karbonil süstitüsyonuyla türevleri elde edilir. Bu türevlerin serbest radikalleri daha kararlı ve daha az reaktif nitrojen merkezli olmayan radikallere dönüştürdüğü gözlenmiştir (Stolc ve ark, 2006).



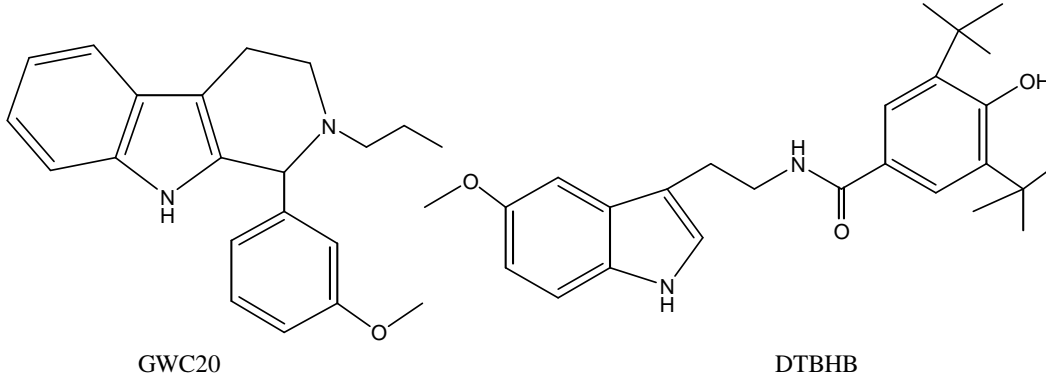
Şekil 2.2. Stobadin türevi antioksidan bileşiklerin genel formülü (R: çeşitli alkil grupları)

TPBIA (1-p-Toluensülfonil-6,7,8,9-tetrahidro-N,N-di-n-propil-1H-benz [g]indol-7-amin) (**Şekil 2.3.**) dopamine reseptörleri ile etkileşerek antioksidan aktivite göstermektedir (Demopoulos ve ark, 1995). TPBIA bileşiğinin lipofil özellikde olması kan-beyin engelini büyük ölçüde geçmesini sağlar. Bileşiğin sıçan karaciğer mikrozom oluşumunda peroksidasyonu tamamen engellediği bulunmuştur (Zika ve ark, 2004).



Şekil 2.3. TPBIA (1-p-toluensülfonil-6,7,8,9-tetrahidro-N,N-di-n-propil-1H-benz [g]indol-7-amin)

Çalışmalar, DTBHB (N-[2-(5-metoksi-1H-indol-3-il)etil]-3,5-di-ter-butil-4-hidroksibenzamid) ve GWC20 [(R,S)-1-(3-metoksifenil)-2-propil-1,2,3, 4-tetrahidro-β-karbolin] (Şekil 2.4.) bileşiklerinin Cu^{++} ve serbest radikal tarafından indüklenen LDL oksidasyonunu inhibe ederek, melatonininden daha fazla antioksidan etki gösterdiğini ortaya koymuştur. (Gozzo ve ark, 1999).

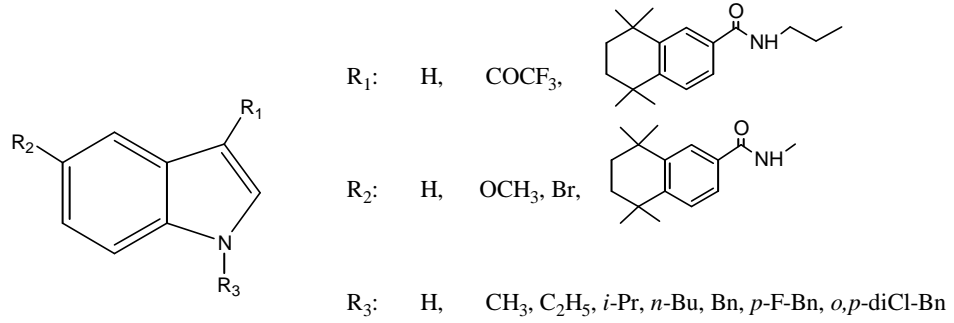


Şekil 2.4. GWC20 ve DTBHB

2.1.3. Bilinen Antioksidan Moleküllerle Kondanse İndol Türevi Bileşikler

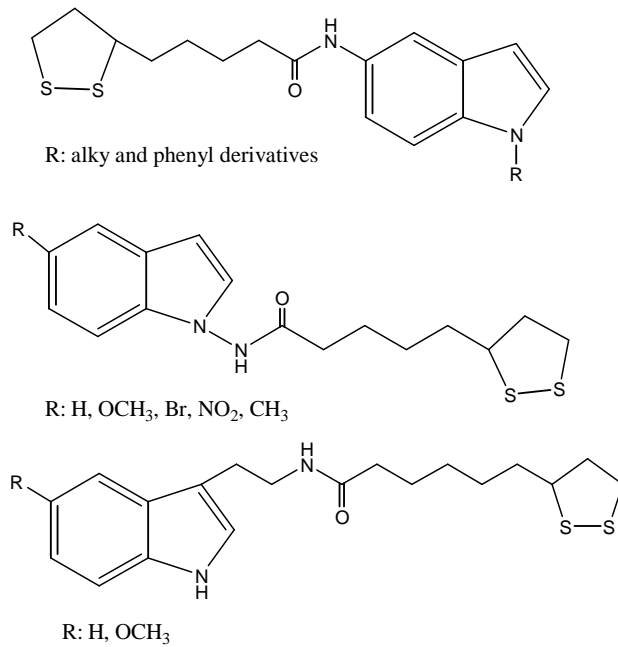
Değişik kimyasal özelliklere sahip antioksidanlar, yalnız başına ya da Farklı kombinasyonlarla terapötik kullanım için araştırılmıştır. Bilinen doğal yada sentetik antioksidan bileşiklerle kombine edilen edilen indol yada melatonin halkası, antioksidan kimyasına yönelik çalışmalarda önem kazanmaktadır.

Retinoid türevi bileşikler antioksidan aktivite potansiyeline sahip olduğu düşünülür. Bir seri retinoid-melatonin türevi bileşik tetrahidrotetrametilnaftalen karboksilik asitten hareketle sentezlenmiş (**Şekil 2.5.**) ve etkili lipid peroksidasyon inhibe edici etkiye oldukları bulunmuştur (Ateş-Alagöz ve ark, 2006).



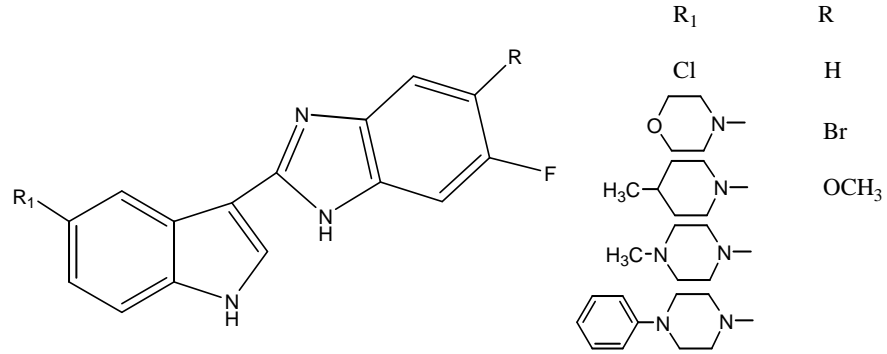
Şekil 2.5. Tetrahidronaftalen-indol türevi bileşiklerin genel formülü

Ayrıca indol ve lipoik asit türevi bileşikler (**Şekil 2.6.**) ile yapılan çalışmalarda da önemli antioksidan aktivite belirlenmiştir (Gürkan ve ark, 2005). Bazı türevler lipoik asitten daha etkili antioksidan aktivite göstermiştir.



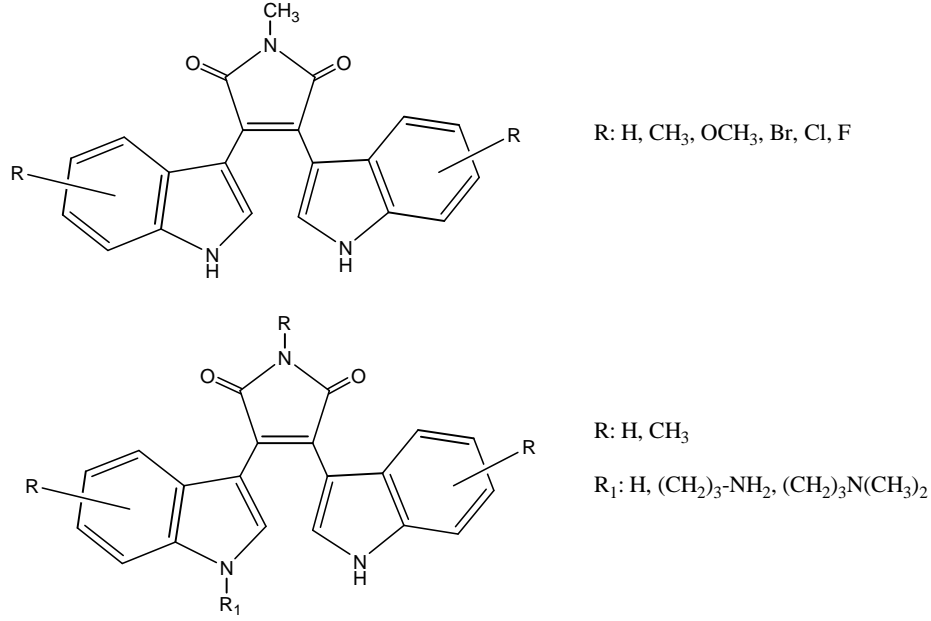
Şekil 2.6. İndol-lipoik asit türevi bileşikler

Benzimidazol ve indol halkalarının ve 6-Floro-5-sübstitüe-benzimidazol türevlerinden, özellikle indol ve 1,1,4,4-tetrametil-1,2,3,4-tetrahidro-naftalen gruplarının 2. konumdan benzimidazol ile birleştirildiği bileşikler anti oksidan aktivite için test edilmiş ve çok etkili süperoksit anyon yakalayıcısı olarak bulunmuştur (**Şekil 2.7**) İndol halkasının 5. konumunda p-fenil piperazin bulunan türevlerde en yüksek aktivite gözlenmiştir (Ateş-Alagöz ve ark, 2005).



Şekil2.7. İndol-benzimidazol türevi bileşiklerin genel formülü

Bisindolilmaleimid türevi bileşiklerin (**Şekil 2.8.**) oksidatif stres tarafından indüklenen hücre ölümlerini önlediği belirlenmiştir (Asakai ve ark, 2002). Bisindolilmaleimid türevlerinin yapı aktivite ilişkisinin hidrojen peroksitçe indüklenen nekrotik hücre ölümünü inhiye ettiği gözlenmiştir (Kato ve ark, 2005). İndol halkasının, maleimid halkasıyla ko-planar olması aktivite için önemli olduğu düşünülmektedir. İndolilmaleimid analogları ile yapılan çalışmalarda 2-(1*H*-İndol-3-il)-3-pentilamino-maleimidin sentezlenen bileşikler içinde en etkili antioksidan türev olduğu ve nekrotik hücre ölümlerini büyük ölçüde inhiye ettiği gözlenmiştir. (Dado ve ark, 2005).

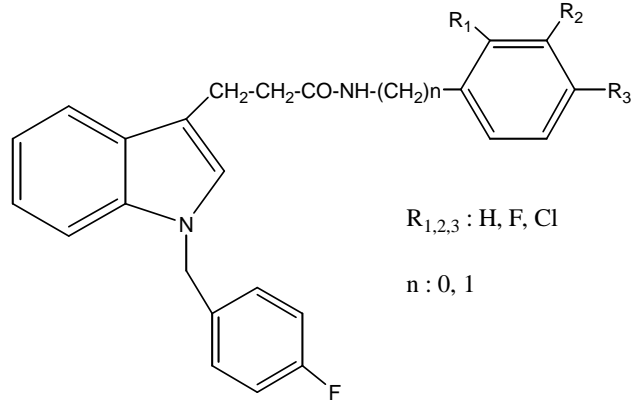


Şekil 2.8. Bisindolilmaleimid türevi bileşiklerin genel formülleri

2.1.4. Alkil ve/veya Aril Substitüe İndol Türevi Bileşikler

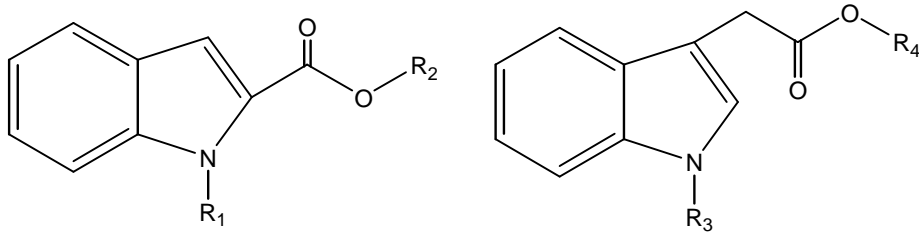
İndol türevi bileşiklerin antioksidan aktiviteleri taranırken indole-3-propionik asitin (IPA) oksidatif stresi engellediği bulunmuştur (Morita ve ark, 1992; Karbownik ve ark, 2005). IPA endojen elektron donörü gibi davranarak ROT detoksifikasyonunu sağlar. IPA ayrıca güçlü bir hidroksil yakalayıcı ve oldukça bilinen bir antioksidan olan glutatyon (Hardeland ve ark, 1999) gibi davranmaktadır. IPA melatonin de dahil olmak üzere bilinen birçok antioksidan bileşikten daha fazla serbest radikal yakalama aktivitesine sahiptir (Chyan ve ark, 2002).

IPA (OXIGON) nın etkili bir antioksidan bileşik olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca beta-amiloid fibril oluşumunu inhibe ettiği için oksitotoksinlere karşı nöroprotektif aktivitesi de görülmüştür (Bendheim ve ark, 2002). IPA esas alınarak sentezlenen *N*-H ve *N*-süstitüe indol-3-propanamid türevleri (Şekil 2.9) süperoksit dismutaz ve lipid peroksidasyonuna yüksek etkili antioksidan aktivite göstermişlerdir (Ölgen ve ark, 2007).



Şekil 2.9. *N*-H ve *N*-süstitüe indol-3-propanamid türevlerinin genel formülü

Ayrıca anti lipid peroksidaz etkili ve süperoksit oluşumunu engelleyen bazı *N*-H ve *N*-süstitüe indol ester türevleri de (Ölgen ve Çoban 2003) (**Şekil 2.10.**) de sentezlenmiş ve incelenmiştir.. *N*-süstitüe indol 2- ve 3-karboksamid türevlerinin ROT ları yakalama kapasitesinin yüksek olduğu da belirtilmiştir (Ölgen ve Çoban, 2002; Aboul-Enein ve ark, 2004).

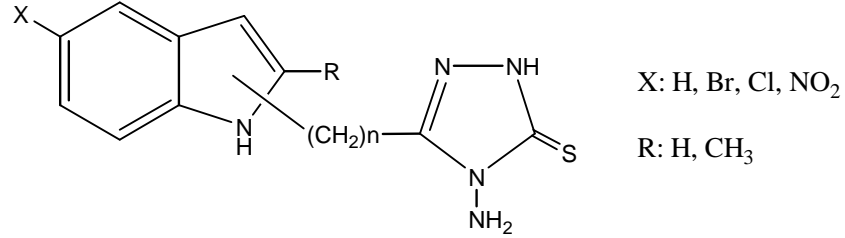


$R_1, R_3 : H, \text{benzoil türevleri}$
 $R_2, R_4 : \text{Fenil, pirolidin, siklopropil, piperidin türevleri}$

Şekil 2.10. *N*-H ve *N*-süstitüe indol ester türevlerinin genel formülü

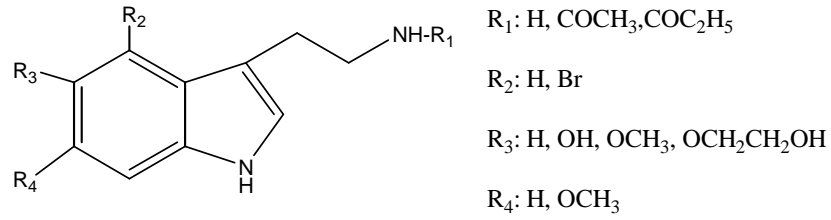
Bir çok çalışmada antioksidan bileşiklerin ROT lerini azalttığı için miyokardial enfarktüsü engellediği belirtilmektedir (Das ve ark, 2006; Riccioni ve ark, 2007). Triazol fonksiyonel grubu içeren indol türevleri sentezlenmiş (Varvaresou ve ark, 2000) ve reaktif oksijen türleriyle etkileşimlerini araştırmak için invitro çalışmalar yapılmıştır (Andreadou

ve ark, 2000; Andreadou ve ark, 2003). Bütün bileşikler triazol grubunun indol halkası üzerindeki konumuna bağlı olarak antioksidan aktivite göstermiştir (Şekil 2.11.) (Andreadou ve ark, 2003).



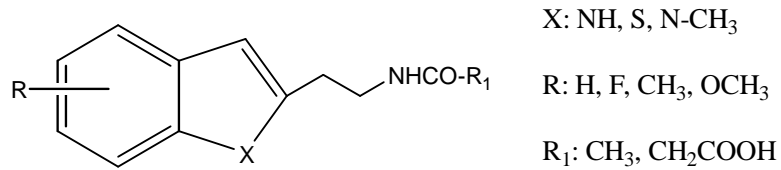
Şekil 2.11. Triazol yapısı içeren indol türevi bileşiklerin genel formülü

İndol halkasının 5. konumunda metoksi ve açilamino grupları taşıyan türevlerinde (Şekil 2.12.) halkanın 3. konumuna bağlı lipofilik/hidrofilik gruplara bağlı olarak gösterdikleri antioksidan aktivite ölçülmüştür (Mor ve ark, 2004). Melatonin analogu *N*-[2-(5-metoksi-1*H*-indol-2-il)etil]asetamid en etkili türev olarak bulunmuştur.



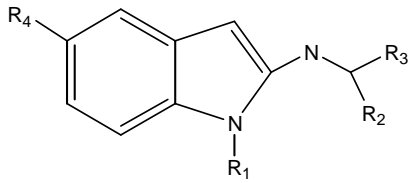
Şekil 2.12. 5-Metoksi ve açilamino grupları değiştirilen indol türevi bileşikler

Melatonin halkasının 5. konumundaki metoksi grubunun yerinin değiştirilmesi ya da kaldırılması ve indol azotunun başka hetero atomlarla yer değiştirmesi halinde de antioksidan etkili türevlere ulaşılmıştır (Şekil 2.13.) (Spadoni ve ark, 2006). 5-alkoksi-2-(*N*-açilaminoetil)indol en etkili türev olarak belirlenmiştir.



Şekil 2.13. 2-*N*-açilaminoetil türevi bileşikler

MAO inhibitörü olarak bilinen N-(2-propinil)2-(5-benziloksi-indol)metilamin (PF 9601N) bileşiğinin nöroprotektif ve antioksidan etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır (Sanz ve ark, 2004). Bu bileşikten hareketle sentezlenen yeni türevlerde (**Şekil 2.14.**) yapılan yapı aktivite ilişkilerine göre indol halkasının 5. konumunda yer alan benziloksi, hidroksil veya metoksi gruplarının antioksidan aktiviteyi etkilediği belirlenmiştir. Ayrıca 2. konuma takılan amin grupları ele alındığında en etkili türevler primer amin taşıyanlar olarak belirlenmiştir.

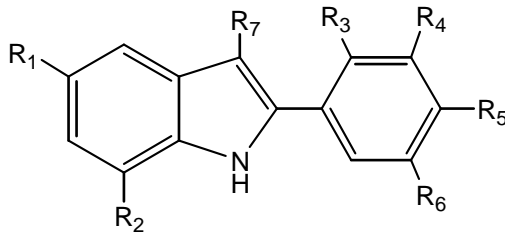


R₁, R₂, R₃: H, alkil türevleri

R₄: benziloksi, OCH₃, OH

Şekil 2.14. Triptamin ve N-alkil süstitüe melatonin analogları

Fischer indol sentez yöntemi kullanılarak sentezlenen 2-fenil indol türevlerinin (**Şekil 2.15.**) melatoninle karşılaştırmalı antioksidan aktivite testlerinde lipid peroksidasyonuna karşı yüksek aktivite bulunmuştur. (Süzen 2006; Süzen ve ark, 2006). 2. Konumda yer alan fenil üzerinde F, Cl, NO₂ gibi elektron çekici gruplar bulunduğunda en yüksek aktivite elde edilmiştir. Deneyler sonucunda 2-fenil indol türevi bileşiklerin hidroksil radikali yakalayıcısı olduğu belirlenmiştir.



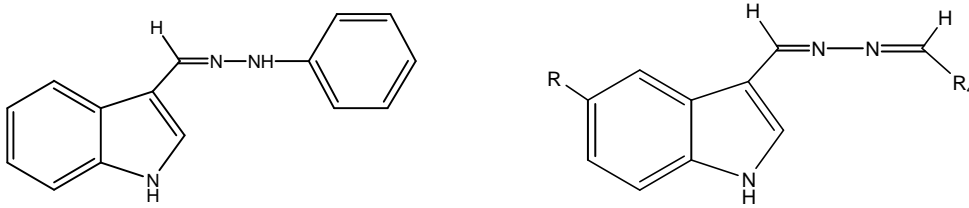
R_{1,2}: H, NO₂

R_{3,4,5,6}: H, OH Cl, NO₂, NH₂, CH₃

R₇: H, CHO

Şekil 2.15. 2-Fenil indol türevi bileşiklerin genel sentezleri

Melatonin analogu yeni indol hidrazid/hidrazon türevlerinde yüksek antioksidan aktiviteye rastlanmıştır. 5-bromo/5-H indol-3-karboksaldehit fenil hidrazon ve N,N'-bis-(5-bromo/5-H indol-3-ilmetlen)hidrazin türevlerinin sentezlendiği çalışmada bileşiklerin antioksidan aktiviteleri DPPH ve süperoksit radikali yakalama aktiviteleri yönünden test edilmiştir. Sonuçlara göre bileşiklerin önemli kısmında 10^{-3} M ve 10^{-4} M konsantrasyonda çok iyi aktivite gözlenmiştir. Bu bileşiklerin serbest radikal yakalama kapasiteleri melatoninden dikkat çekici bir şekilde yüksek bulunmuştur. Bütün aktif türevlerin yapısında halojen atomu taşıması dikkat çekmektedir (Gürkök ve ark., 2008).

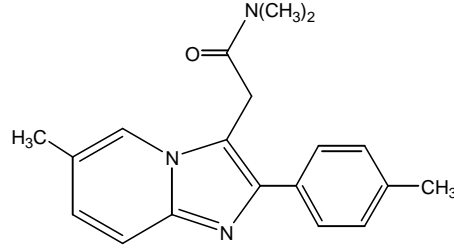


Şekil 2.16. 5-bromo/5-H indol-3-karboksaldehit fenil hidrazon ve N,N'-bis-(5-bromo/5-H indol-3-ilmetlen)hidrazin türevleri

2.1.5. Antioksidan Etkili Diğer Sentetik İndol Türevi Bileşikler

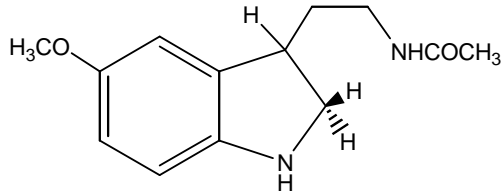
Çalışmalar melatonin metabolite ve analogu olan bir çok bileşiğin de antioksidan etkisi olduğunu göstermektedir (Ximenes ve ark, 2005) . Örneğin melatonin metaboliti AFMK, etkili bir antioksidan türevdir (Ressmeyer ve ark, 2003). Ayrıca melatonin prekürsörü *N*-asetilserotonin, ve diğer bir melatonin metaboliti 6-hidroksimelatonin de melatoninden daha etkili antioksidan bileşikler olarak gösterilmektedir (Zhang ve ark, 1999).

Hipnotik bir bileşik olan Zolpidem [N,N,6-trimetil-2-*p*-tolil-imidazo (1,2-a) piridin-3-asetamid L-(+)] (**Şekil 2.16**) bileşiğinin tartarat tuzu melatonin kadar etkili bir lipid peroksidasyonu önleyici bileşik olduğu bulunmuştur (Garcia-Santos ve ark, 2004).



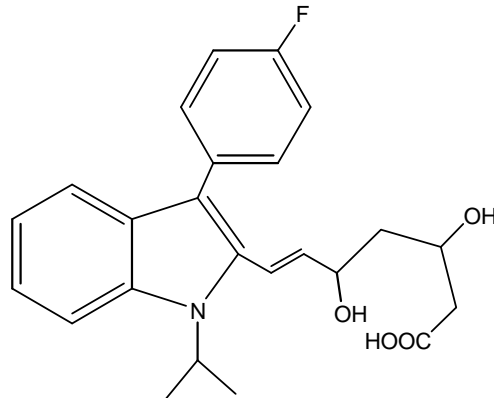
Şekil 2.17 Zolpidem [N,N,6-trimetil-2-*p*-tolil-imidazo (1,2-a) piridin-3-asetamid L-(+)]

İndol halkasında yapılan selektif hidrojenasyon sonucunda elde edilen 2,3-dihidromelatonin (**Şekil 2.17.**) DPPH radikalini yakalanmada ve lipid peroksidasyonu önlemede etkili bir antioksidan olarak bulunmuştur (Gasparova ve ark., 2006).



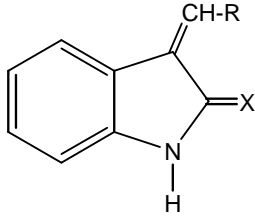
Şekil 2.18. 2,3-dihidromelatonin türevi bileşiklerin genel formülü

Statin sınıfı bir ilaç olan Fluvastatin (**Şekil 2.17.**) kardiovasküler hastalıkların önlenmesinde kullanılır. Bu bileşiğin reaktif oksijen türlerini yakalama kapasitesinin olduğu belirlenerek antioksidan kapasitesi olduğu bulunmuştur. Serbest radikalleri yakalama yeteneği olan bu bileşiğin NADPH oksidaz aktivitesini inhibe edebildiği ve oksidatif stresi önlediği bulunmuştur. Bu özellikleri nedeniyle fluvastatin aterosklerozun önlenmesinde kullanılması gereken önemli ilaçlardan biri olduğunu kanıtlamıştır (Bandoh ve ark, 2003)



Şekil 2.19. Fluvastatin (7-[3-(4-florofenil)-1-(1-metiletil)-1H-indol-2-il]-3,5-dihidroksi-hept-6-enoik asit)

Antioksidan özellikleri incelendiğinde substitüe indolin-2-on ve indolin-2-tiyon türevi bileşiklerin (**Şekil 2.19.**) iyi bir serbest radikal yakalayıcı oldukları bulunmuştur (Aboul-Enein ve ark, 2005).



X: Okso ve tiyo

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

Şekil 2.20. İndolin-2-on ve indolin-2-tiyon türevi bileşiklerin genel formülü

2.2 Amino Asitlerin Antioksidan Özellikleri ile İlgili Çalışmalar

Amino asitler ve Proteinler, bütün canlı organizmaların en önemli yapı taşıdır. Canlıların büyümeleri, üremeleri, kalıtım özelliklerinin bir nesilden diğer bir nesile taşınması bu maddeler aracılığı ile olmaktadır. Bundan başka canlı organizmadaki metabolizma olaylarını kataliz eden enzimler, fizyolojik etki gösteren hormonların bir kısmı ve canlı varlıkları bazı hastalıklara karşı koruyan antikorlar gibi önemli maddeler de amino asit / protein yapısındadırlar. Alyuvarlara rengini veren hemoglobin bir protein bileşiğidir. Kasların büyük kısmı miyozin ve aktin denen protein türlerinden meydana gelir. Proteinler bir taraftan çözünmüş halde hücrenin sitozollerinde bulunurlar, diğer yandan çözünmemiş halde hücrenin iskeletini teşkil ederler. Proteinler, büyük moleküllü maddeler olup, molekül ağırlıkları yaklaşık on binden milyonlara değişik büyüklükte olabilir. Amino asitler kimyasal yapı blokları olup, vücutta protein üretirler. Bütün yaşayan canlıların yapılarını oluşturan proteinlerdir. Proteinler insan vücudunda adale, bağlar, tendonlar, organlar, hormon bezleri tırnaklar, saç, safra ve idrar hariç tüm vücut sıvılarının üretiminde direkt sorumludur. Amino asitlerin önemi sadece proteinlerin yapı birimleri olmalarından ileri gelmez. Metabolizmada amino asitler diğer bir çok reaksiyona da iştirak ederler. Özetle denilebilir ki amino asitler olmaksızın vitamin ve mineraller vücutta görev yapamazlar. Amino asitlerin serbest formları en saf olan hallederidir. Serbest formda

amino asitler daha hızlı absorbe olurlar. Her bir amino asit spesifik bir fonksiyona sahip olup çeşitli hastalık semptomlarının gelişmeden önlenmesinde çok önemli ihtiyaçtırlar.

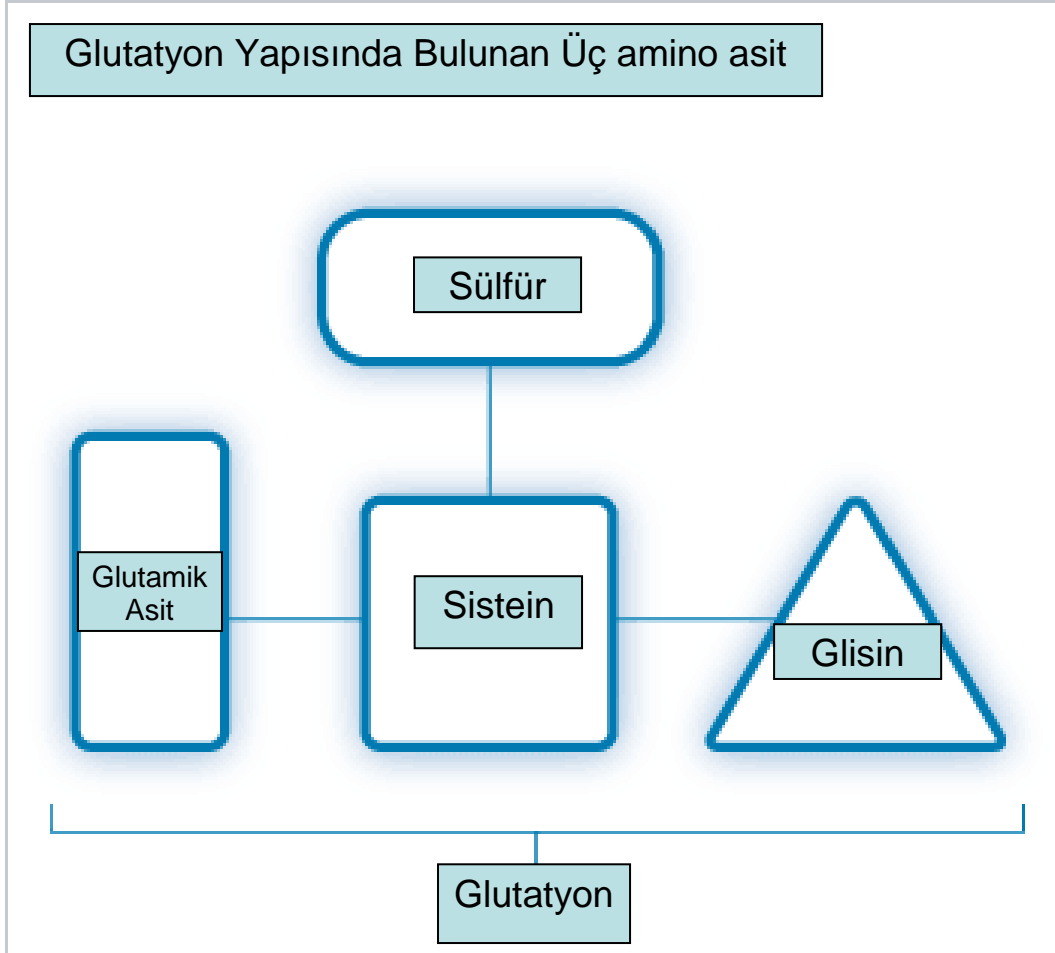
Aminoasitlerin antioksidan kapasiteleri, etkili iki antioksidan madde olarak bilinen askorbik asit ve troloks ile karşılaştırılmak suretiyle araştırılmıştır. (Meucci ve Mele, 1997). Bazik ve asidik amino asitler ile yüksüz aminoasitlerin çoğu antioksidan aktivite göstermezken, triptofan, tirozin, sistein ve homosistein genelde fizyolojik değer olarak belirtilen konsantrasyonlarda antioksidan aktivite göstermiştir.

Kükürt amino asit, protein ve diğer biyomoleküllere katılımı nedeniyle biyolojik açıdan temel bir elemettir. Kükürt atomları aynı zamanda demir içeren flavoenzimler için de önemli bir bileşendir. Kükürt içeren bileşikler tüm vücut hücrelerinde bulunur ve yaşam için vazgeçilmezdirler. Kükürt içeren bazı önemli antioksidan maddeler sistein, metiyonin, taurin, glutatyon, lipoik asit, merkaptopropiyonilglisin, N-asetilsistein ve sarımsak yağında bulunan organosülfür bileşikleri diallilsülfit, diallildisülfit ve dialliltrisülfittir. Yapı-işlev ilişkisi bakımından bu antioksidan maddeler arasında bir karşılaştırma yapıldığında, dihidrolipoik asitin (LA'nın indirgenmiş hali) en etkin antioksidan olduğu gözlenmiştir. Dihidrolipoik ait iki sülfhidril grubu içerir ve lipoik asit oluşturmak için ileri oksidasyon tepkimelerine girebilir. Kükürt içeren bileşiklerin antioksidan etkisi genel bir yol izler; daha indirgenmiş halde olanlar daha güçlü antioksidanlardır ve kükürt atomlarının sayısı bu maddelerin glutatyon ilişkili antioksidan enzimler üzerindeki düzenleyici etkilerini belirler. Kükürt içeren amino asitlerin antioksidan etkileri ve antioksidatif aktiviteleri Atmaca tarafından incelemiştir (Atmaca, 2004).

Deneysel çalışmalar, kükürt içeren antioksidanların kurşunun zararlı özelliklerine karşı yararlı etkileri olduğunu göstermiştir. Sıçanlarla yapılan bir çalışmada kanda (hemoglobin, Hb), serumda (malondialdehit, MDA), eritrositlerde (süperoksidaz dismutaz, SOD ve glutatyon peoksidaz, GSH-Px) ve plazmada (E ve A vitaminleri) oksidatif stres belirteçleri araştırılmıştır. Sonuç olarak, kükürt içeren bileşiklerin kurşunun uyardığı oksidatif stresi azalttığı gözlenmiştir.

Glutatyon (GSH) en iyi antioksidanlardan biridir. Glutatyon kendisi bir tripeptittir. Bu da üç amino asit tarafından oluşturulan bir yapıdır. Glutatyon vücudumuzda her hücrede doğal olarak üretilen küçük bir proteindir; glutamik asit, sistein ve glisinden

oluşur. Sistein amino asidi, glutatyon proteininin tüm kimyasal özelliklerinden sorumlu olan bir kükürt grubu içerir. Hücredeki toksik bileşiklere fiziksel olarak bağlanarak glutatyon çözünür ve zararsız yapar.



Şema 2.1. Glutatyonun yapısı

Vücut bu zararlı toksinleri safra ve ürinde elimine edebilir. Glutatyon hücrelerimizde sentezlenir. Sistein amino asit olarak sindirim sistemine tek başına yolculuk eder ve absorbe edilir. Çok küçük bir miktarı yendikten sonra hücrelere kadar ulaşır. Sistein molekülleri bağ yaparak ikili olarak hareket ettiklerinde bu işlemde parçalanmadan çıkarlar. Bunu kükürt atomları arasında bir bağ kurarak yaparlar. Sisteinle bağlanmış bu amino asitlere sistin denir. Bu sülfür bağı sindirime dayanıklı olsa da ısı ve mekanik şiddete maruz kaldığında kolayca kırılır.

Serbest radikallerin harabiyetine karşı hücrel savunma, oksijen türevlerine karşı savunma sağlayan küçük moleküller ve enzim sistemleri, serbest radikallerin düşük konsantrasyonlarda kalmalarını sağlar. Bu savunma mekanizmalarının aerobik hücrelerin canlılığını sürdürmede ne derece kritik bir öneme sahip oldukları çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Vitamin E, superoksit, hidroksil ve lipid peroksi radikallerini bu şekilde etkiler. Benzer şekilde askorbat, suda çözünebilir bir redüktan ve radikal temizleyici olup ayrıca tokoferollerini indirgenmiş aktif formda tutar. Yine beta-karoten de lipid peroksidasyonunu önler ve radikalleri ortadan kaldırır. Şekerler, doymamış amino asitler, sülfür içeren amino asitler, doymamış yağ asitleri de serbest radikallerle reaksiyona girerler ve bu nedenle hücre de serbest radikalleri temizleyici moleküller olarak kabul edilirler (Kavas, 1989).

Sonuç olarak; son on yılda yapılan çalışmalar değişik kimyasal özelliklere sahip antioksidan moleküllerin farklı kombinasyonlarla birbirleri ile birleştirildiklerinde daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduklarını göstermektedir. Bilinen doğal yada sentetik antioksidan bileşiklerle kombine edilen edilen indol yada melatonin halkası, antioksidan kimyasına yönelik çalışmalarda önemli sonuçlar alınmıştır. Bu tez çalışmasında da güçlü antioksidan aktivitesi gösteren melatoninin ana halkası olan indol yapısı melatonin molekülü model alınarak aminoasit grupları ile birleştirilmesi ve antioksidan özellikleri zenginleştirilmiş yeni bileşiklerin geliştirilmesi, yapılarının aydınlatılması ve antioksidan aktivitelerinin *in vitro* olarak test edilmesi hedeflenmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Sentez ve Saflaştırma Aşamasında Kullanılan Araç ve Gereçler:

Hassas terazi (Sartorius – CP 2245), geri çeviren soğutucu, döner buharlaştırıcı (Büchi Heating Bath B – 490 ve Rotavapor R-200), kurutma etüvü (Specac), Vakum etüvü (Vaciotem – Selecta), alüminyum silika gel plakları (Merck), desikatör, muhtelif cam ve metal laboratuvar malzemeleri, flakon, basit ve üç yollu (Superior Marienfeld) puar, eppendorf tüpler, rubber septum, muhtelif boyda enjektör, İTK yürütme tankı, süzgeç kağıdı (Orta gözenek) (Merck), muhtelif boyda magnet, ısıtıcılı manyetik karıştırıcı (Bunsen Agitador Megnetico MC8, VELP Scientifica ARE magnetic stirrer, IKA Labortechnik RTC Basic).

3.1.2. Sentez ve Saflaştırma Aşamasında Kullanılan Kimyasal Maddeler:

Sentez ve sentez sonrası izolasyon ve saflaştırma aşamalarında; N,N-dimetilformamit, Metil Alkol, Kloroform, Hidroklorik Asit (HCl), Anhidroz Sodyum Sülfat, Etil Asetat, n-Hekzan, Diklorometan (Riedel-de Haen), Fosforoksiklorür (POCl₃), L-Metiyonin (Fluka), 1H-İndol, Hidrazin Hidrat, N-t-bütoksikarbonil-L-alanin metil ester Glisin, L-Prolin (Aldrich), Tiyoniklorür (SOCl₂) (Acros Organics), Benzoiklorür, Sodyum bikarbonat (NaHCO₃), L-alanin, Etanol, Silikagel, Potasyum Bromür (KBr) (Merck), N-t-bütoksikarbonil-L-histidil Hidrazit (Bachem), D-Serine, N- t-bütoksikarbonil-L-serin-metil ester (Sigma), L-Triptofan (BDH Biochemical), kullanılmıştır.

3.1.3. Sentezlenen Maddelerin Analitik İncelemelerinde Kullanılan Araç ve Gereçler

3.1.3.1. Kromatografik Analizler

Deneyleer sırasında, reaktantların ve oluşan ürünlerin izlenmesi, yaklaşık reaksiyon sürelerinin saptanması ve sonuç ürünlerin saflığının ortaya konulması, gerekli saflaştırma yönteminde kullanılacak solvan ve (veya) solvan karışımlarının belirlenmesi amacıyla İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) kullanılmıştır. Reaksiyon çözeltisi ve çözünmüş başlangıç maddelerinin 0.2 mm kalınlığında alüminyum plaklar (Silikagel 60 F₂₅₄ – Merck) üzerinde uygun solvan karışımları aracılığıyla sürüklenmesi sonucunda plaklar 254 nm (gerekli durumlarda 366 nm de kullanılmıştır.) dalga boyu altında (CAMAG Universal UV-Lampe 254 – 366) incelenerek oluşan pikler yorumlanmıştır.

Gereklili durumlarda oluşan ürünlerin saflaştırılması amacıyla kolon kromatografisi yöntemine başvurulmuştur. Mobil faz olarak kullanılan solvan sistemi İTK yardımıyla belirlenirken sabit faz olarak silikajel (Silikagel 60 ; 0.040 – 0.063 mm) kullanılmıştır.

3.1.3.2. Erime Noktası Tayini;

Sentezlenen katı maddelerin erime noktası tayinleri Electrothermal 9100 cihazı kullanılarak ISO Therm (Sodyum heparinlenmiş, iç çap: 1.1-1.2 mm, dış çap: 1.4-1.6 mm, uzunluk: 75 mm) kılcal tüplerle yapılmıştır.

3.1.3.3. Spektral Analizler

3.1.3.3.1. FT-IR Spektra¹

Orijinal ürünlerin FT-IR Jasko FT/IR-420 spektrofotometre cihazında KBr peleti hazırlanarak yapılmıştır.

3.1.3.3.2. NMR Spektra²

Sentezlenen ürünlerin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektral analizleri, Varian Mercury 400 High Performance Digital FT-NMR Spektrometre cihazı ile 400 MHz.'de yapılmıştır. İç standart madde olarak (TMS), çözücü olarak (DMSO-*d*₆) ve CDCl₃ kullanılmıştır.

3.1.3.3.3 Kütle (Mass) Spektra³

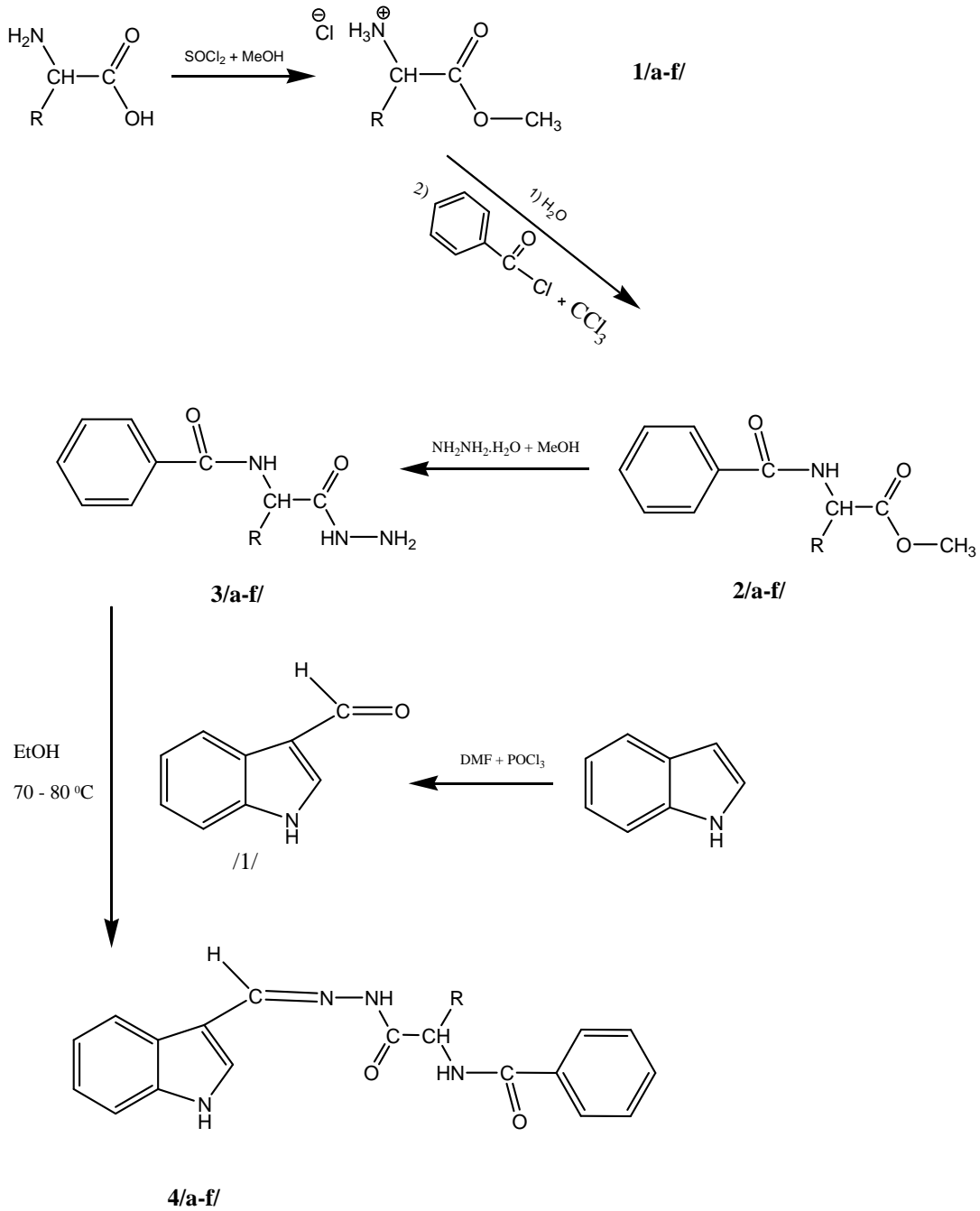
Sentezlenen ürünlerin Mass (Kütle) analizleri, Waters 2695 Alliance Mikromass ZQ marka LC/MS spektrometre cihazında, Elektrosprey İyonizasyonu (ESI) yöntemi uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

¹ FT-IR Analizleri A.Ü. Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı – I'de yapılmıştır.
^{2,3} NMR ve Mass Analizleri A.Ü. Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı – II'de yapılmıştır.

3.2. Yöntem

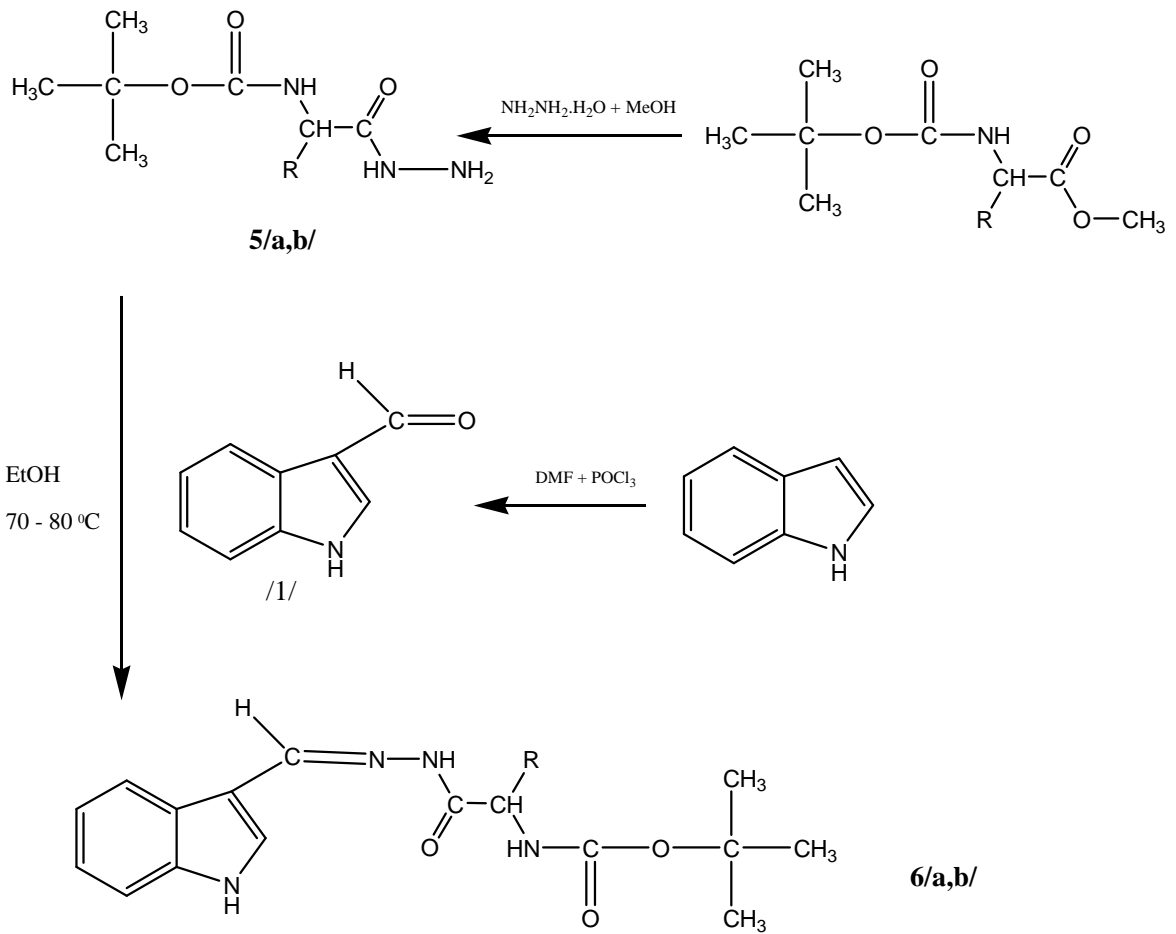
3.2.1. 1H-İndol-3-karboksaldehit Amino Asit Hidrazon Türevlerinin Genel Sentez Yöntemi

YOLAK A



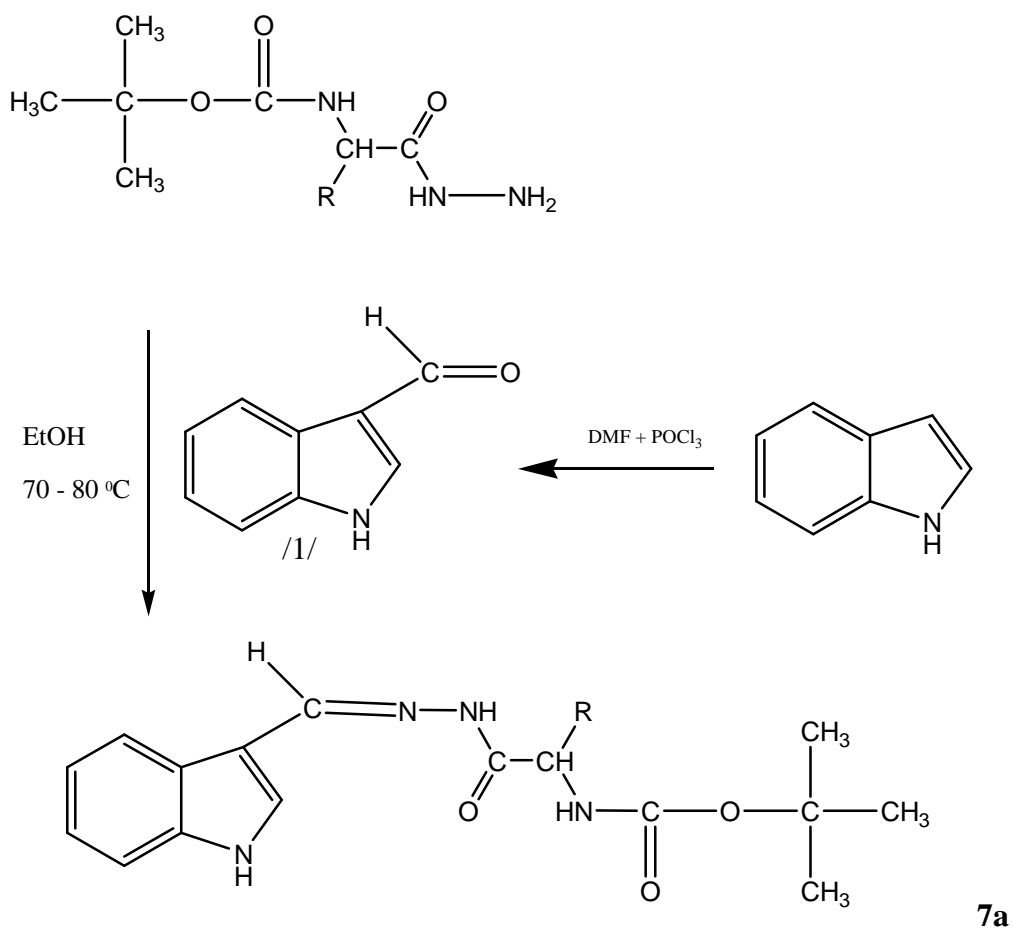
Şema 3.1. Yolak A

YOLAK B



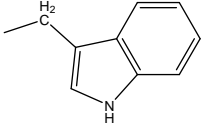
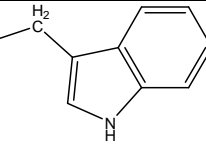
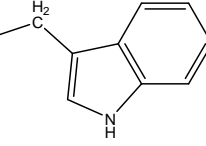
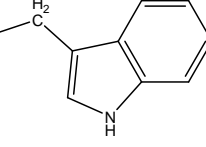
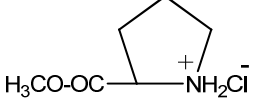
Şema 3.2. Yolak B

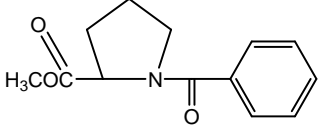
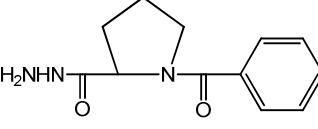
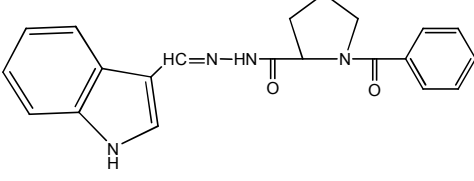
YOLAK C



Şema 3.3. Yolak C

Çizelge 3.1.Yolak A Ürünü Bileşikler

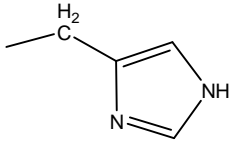
Bileşik	R
1a	-H
2a	-H
3a	-H
4a	-H
1b	-CH ₃
2b	-CH ₃
3b	-CH ₃
4b	-CH ₃
1c	-CH ₂ OH
2c	-CH ₂ OH
3c	-CH ₂ OH
4c	-CH ₂ OH
1d	-CH ₂ CH ₂ SCH ₃
2d	-CH ₂ CH ₂ SCH ₃
3d	-CH ₂ CH ₂ SCH ₃
4d	-CH ₂ CH ₂ SCH ₃
1e	
2e	
3e	
4e	
1f*	

2f*	
3f*	
4f*	

Çizelge 3.2. Yolak B Ürünü Bileşikler

5a	-CH ₃
6a	-CH ₃
5b	-CH ₂ OH
6b	-CH ₂ OH

Çizelge 3.3. Yolak C Ürünü Bileşikler

7a	
-----------	---

Hedef moleküllere ulaşmak için önce ticari olarak temin edilen 1H-indol molekülünün 3. konumu Vilsmeier yöntemi ile aldehit haline /1/ getirildi.

Yolak A ile 1H-indol-3-karboksaldehitte reaksiyona girecek olan amino asit bileşiklerinin indol halkasına hedef molekülleri oluşturacak şekilde takılabilmesi amacıyla aminoasitler öncelikle SOCl₂ ve MeOH kullanılarak ester hidroklorürlerine dönüştürüldü /1a-f/. Amino asitin amin ucunun reaksiyona girmesini önlemek amacıyla benzoil klorür

ile korundu /**2a-f**/. Oluşan ürünlerin hidrazit türevi oluşturularak son basamağa hazır hale getirildi /**3a-f**/.

Son olarak elde edilen N-benzoil amino asit hidrazitler 1H-indol-3-karboksaldehit ile reaksiyona sokularak hedef moleküller elde edildi /**4a-f**/.

Yolak B ile hedef molekül etmek için N-t-bütoksikarbonil amino asit esteri halinde ticari olarak temin edilen bileşiklerin /**5a,b**/ hidrazit türevleri oluşturularak son basamak için hazırlandı. Elde edilen N-t-bütoksikarbonil amino asit hidrazitler 1H-indol-3-karboksaldehit ile reaksiyona sokularak hedef moleküller elde edildi /**6a,b**/.

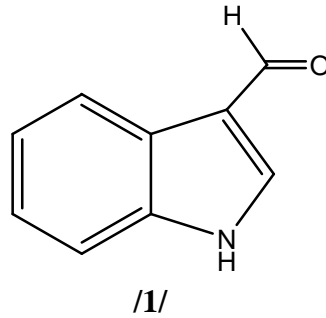
Yolak C ile hedef molekül etmek için N-t-bütoksikarbonil amino asit hidraziti ticari olarak temin edilen bileşik 1H-indol-3-karboksaldehit ile reaksiyona sokulmuştur /**7a**/.

İlgili tepkimelerin ayrıntıları ve analiz değerlendirme sonuçları 4. BULGULAR kısmında detaylı olarak anlatılmaktadır.

4. BULGULAR

4.1. Başlangıç Maddesinin Sentezi

4.1.1. 1*H*-İndol-3-karboksaldehit Sentezi (1)



1*H*-indol-3-karboksaldehit /1/ Vilsmeier yöntemi kullanılarak 1*H*-indol molekülünün 3. konumuna aldehit grubu takılarak elde edilmiştir (Shabica ve ark, 1946; James ve Snyder, 1959; Büyükbingöl ve ark, 1994).

Vilsmeier yöntemini ile aldehit sentezini gerçekleştirmek için havanın neminden korunmayı sağlayacak şekilde ağız gaz çıkışının sağlanması için bir adet enjektör iğnesi batırılmış rubber septum ile kapatılmış bir balon içine 2.88 ml (2.74 g, 0.037 mol) DMF konarak buz banyosu üzerinde manyetik karıştırıcı yardımı ile magnet varlığında karışması sağlanarak yarım saat soğutuldu. Soğutulmuş DMF içeren balona şırınga yardımı ile 0.86 ml POCl₃ damla damla 30 dakika süre içinde katıldı. POCl₃ ilavesinden sonra, reaksiyon 15 dakika buz banyosu üzerinde karıştırıldı ve 1.0 g 1*H*-indol (8.5 mmol), 1.0 ml (13 mmol, 0.95 g) DMF içerisinde çözülerek şırınga yardımı ile damla damla yarım saatte ortama ilave edildi. Bu süre içinde ortam sıcaklığının 10 derecenin üstüne çıkmaması sağlandı. Oluşan viskoz sıvının sıcaklığı 35 °C'ye çıkartıldı. 1 saat 15 dakika sonunda oluşan sarı viskoz pastaya bir miktar kırılmış buz eklendi. Bir behere alınan karışıma üçte biri damla damla, geri kalanı hızlıca 10 ml % 40'lık NaOH eklendi. Oluşan karışımın

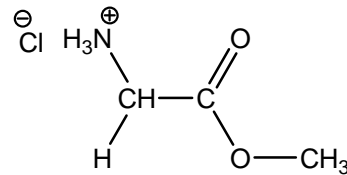
sıcaklığı magnet ve magnetik ısıtıcı yardımıyla kaynama noktasına getirildi. Oda sıcaklığına kadar soğuyan karışım 1 gece buzdolabında bekletildikten sonra süzüldü ve bol saf suyla yıkandı. Oluşan çökelek kurutulduktan sonra etanolden kristallendirildi. % 82.7 verimle 1.02 g krem rengi 1*H*-indol-3-karboksaldehit kristalleri elde edildi. E.n. 196.7 °C (E.n.193–198 °C, James ve Snyder, 1959)

4.2. Ara Basamak Maddelerinin Sentezleri

4.2.1. Amino Asitlerin Ester Oluşturma Tepkimeleri /1a-f/

Bu basamakta 10 ml (7.91 g; 0.247 mol) metanol içeren bir balonun ağzına rubber-septum geçirilerek 10 – 15 dakika buz banyosunda soğutuldu. HCl çıkışını sağlamak için rubber-septumuna 1 adet enjektör iğnesi batırıldı. Başka bir enjektör aracılığıyla 2.54 ml (4.17 g; 0.035 mol) tiyonil klorür (SOCl₂) damla damla 15 dakika sürede metanol üzerine eklendi. Tüm tiyonil klorür boşaltıldıktan sonra reaksiyon karışımı 10 -15 dakika daha buz banyosunda bekletildi. Bu süre sonunda karışıma 0.01 mol amino asit eklendi ve rubber-septum yerine kalsiyum klorür (CaCl₂) tüpü takıldı. Reaksiyon karışımı hızlı bir şekilde karıştırılarak 24 saat oda sıcaklığında tutuldu. Bu süre sonunda solvanlar rotavaporda uçuruldu. Tiyonil klorürün tamamen ortamdaki uzaklaştırılması için 3 kez 5'er ml metanol eklenerek uçurma işlemi tekrarlandı (Chamber ve Carpenter, 1995; Süzen ve ark, 1997).

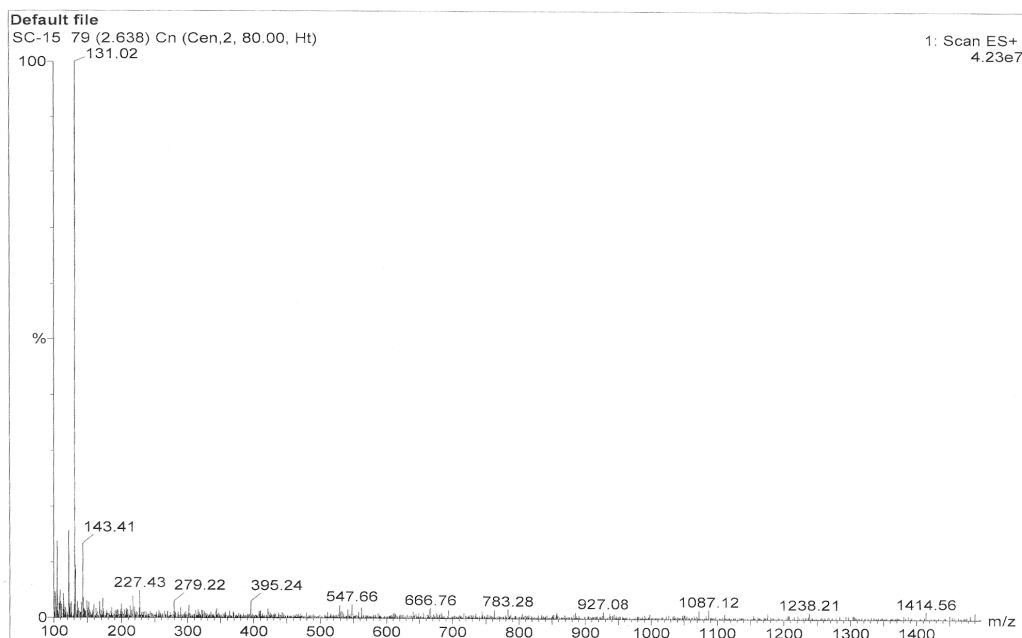
4.2.1.1. Glisin metil ester hidroklorür Sentezi /1a/



Bölüm 4.2.1'de tanımlanan yöntemle, 20 ml (15.82 g; 0.494 mol) metanol buz banyosunda soğutulularak üzerine 5.08 ml (8.33 g; 0.07 mol) tiyonil klorür eklendi. Reaksiyon karışımına 1.50 g (0.02mol) glisin ilavesiyle, 24 saat sonunda % 97.7 verimle

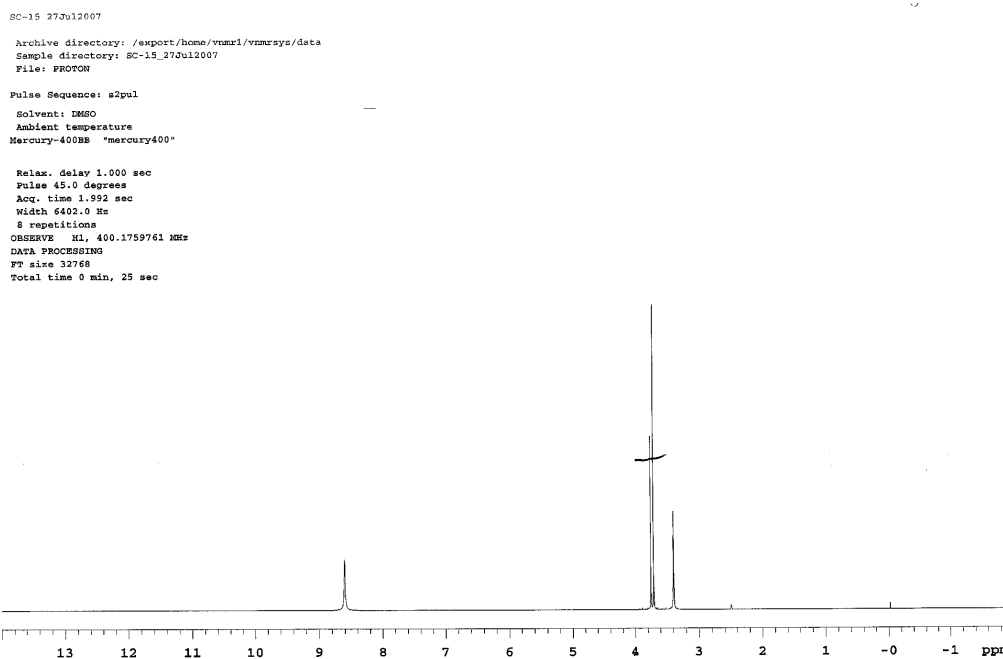
2.45 g (0.019 mol) beyaz glisin metil ester hidroklorür kristalleri elde edildi. (Erime noktası: 174.6-175.4 °C) (173-175 °C, Mancilla ve ark., 2001)

Kütle m/z (ESI)+ : 131 (M+6, %100),



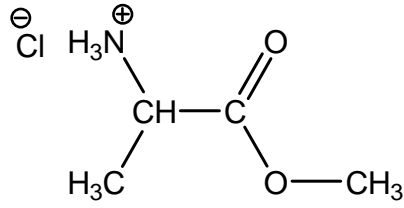
Spektrum 1. Bileşik 1a'nın kütle spektrumu

¹H NMR δ ppm (d₆-DMSO+D₂O): 3.75 (2H, d, CH₂), 3.94 (3H, s, OCH₃), 8.60 (3H, s NH)



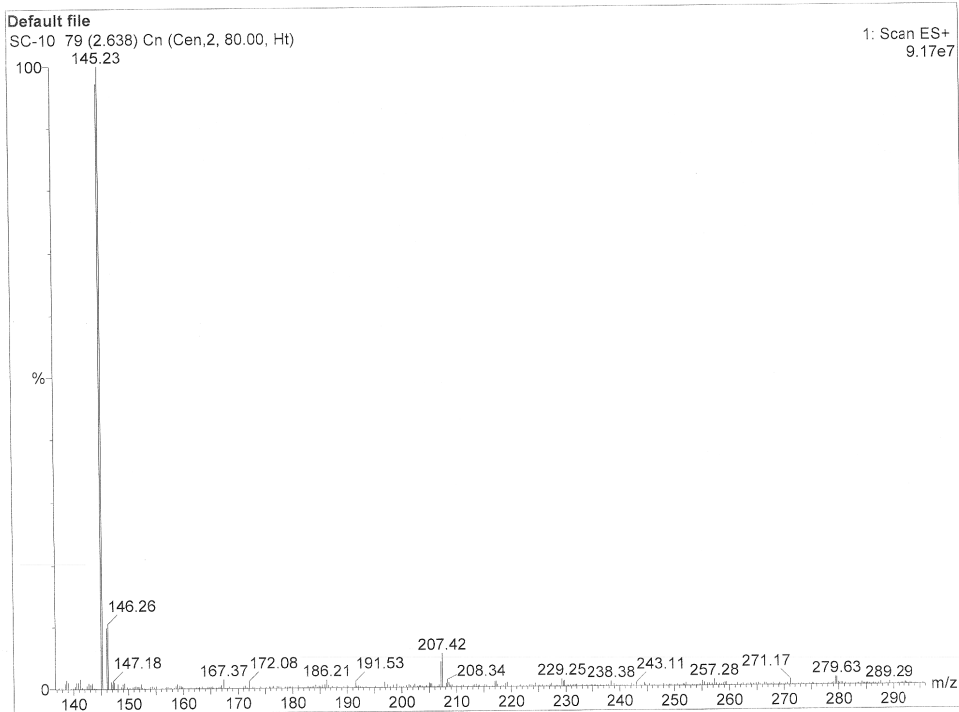
Spektrum 2. Bileşik 1a'nın ¹H NMR spektrumu

4.2.1.2 L-alanin metil ester hidroklorür Sentezi /1b/



Bölüm 4.2.1'de ayrıntılı olarak verilen şekilde, 20 ml (15.82 g; 0.494 mol) metanol buz banyosunda soğutulmuş üzerine 5.08 ml (8.33 g; 0.07 mol) tiyonil klorür eklendi. Reaksiyon karışımına 1.78 g (0.02mol) L-alanin ilavesiyle, 24 saat sonunda % 96.2 verimle 2.68 g (0.019 mol) beyaz L-alanin metil ester hidroklorür kristalleri elde edildi. (Erime noktası: 108 °C) (Lit. 109-111 °C, Mancilla ve ark, 2002)

Kütle m/z (ESI)+ : 145 (M+6, % 100)



Spektrum 3. Bileşik 1b'nin kütle spektrumu

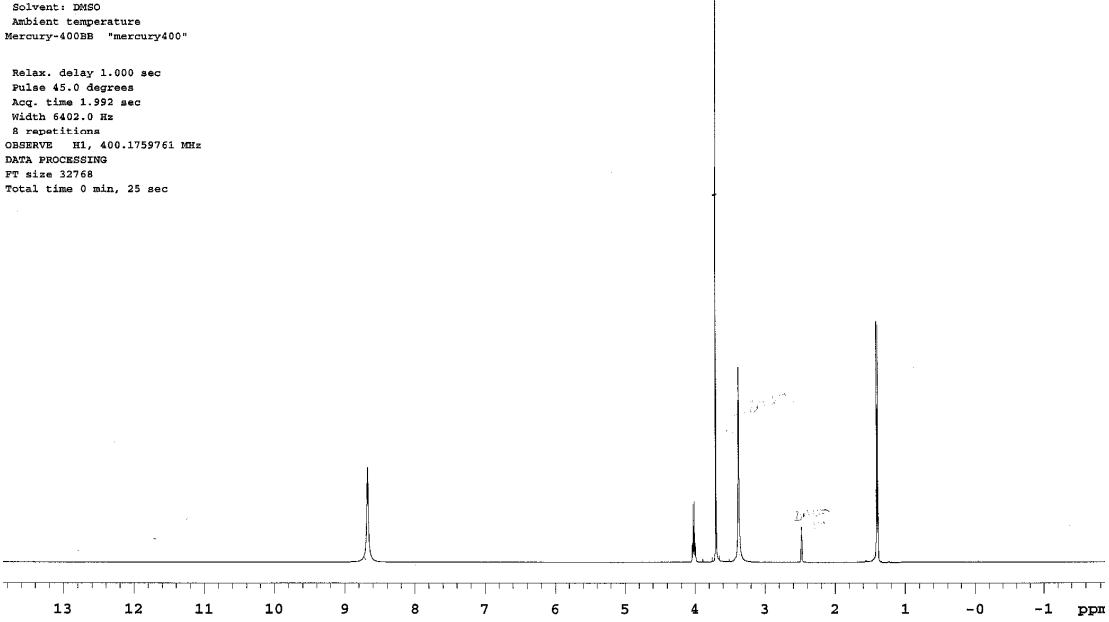
^1H NMR δ ppm (d_6 -DMSO+D₂O): 1.40 (3H, d, CH₃), 3.65 (3H, s, OCH₃), 4.0 (1H, m, CH), 8.70 (3H, s NH)

SC-10_06Jul2007

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory: SC-10_06Jul2007
File: PROTON

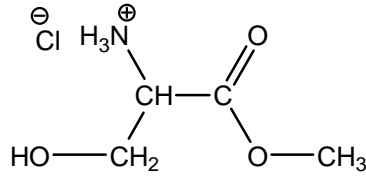
Pulse Sequence: s2pul
Solvent: DMSO
Ambient temperature
Mercury-400BB "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.992 sec
Width 6402.0 Hz
S repetitions
OBSERVE H1, 400.1759761 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 0 min, 25 sec



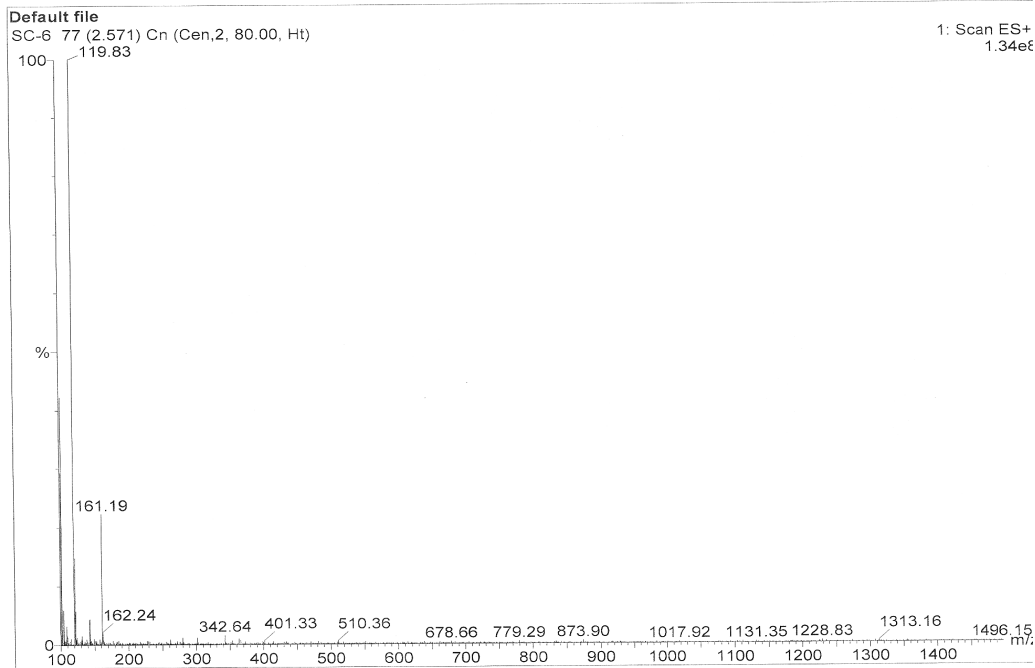
Spektrum 4. Bileşik 1b'nin ^1H NMR spektrumu

4.2.1.3 D-serin metil ester hidroklorür Sentezi /1c/



Bölüm 4.2.1'de tanımlanan yöntemle, 10 ml (7.9 g; 0.247 mol) metanol buz banyosunda soğutulmuş üzerine 2.54 ml (4.17 g; 0.004 mol) tiyonil klorür eklendi. Reaksiyon karışımına 1.05 g (0.01mol) D-serin ilavesiyle, 24 saat sonunda % 92.3 verimle 1.44 g (9.23×10^{-3} mol) beyaz D-serin metil ester hidroklorür kristalleri elde edildi. (E.n: 156 °C'de kararmaya başladı, 161 °C'de eridi.) (Lit. 161 – 162 °C, Gu ve ark, 2007)

Kütle m/z (ESI)+ : 119 (M-Cl, %100), 161 (M+6)



Spektrum 5. Bileşik 1c'nin kütle spektrumu

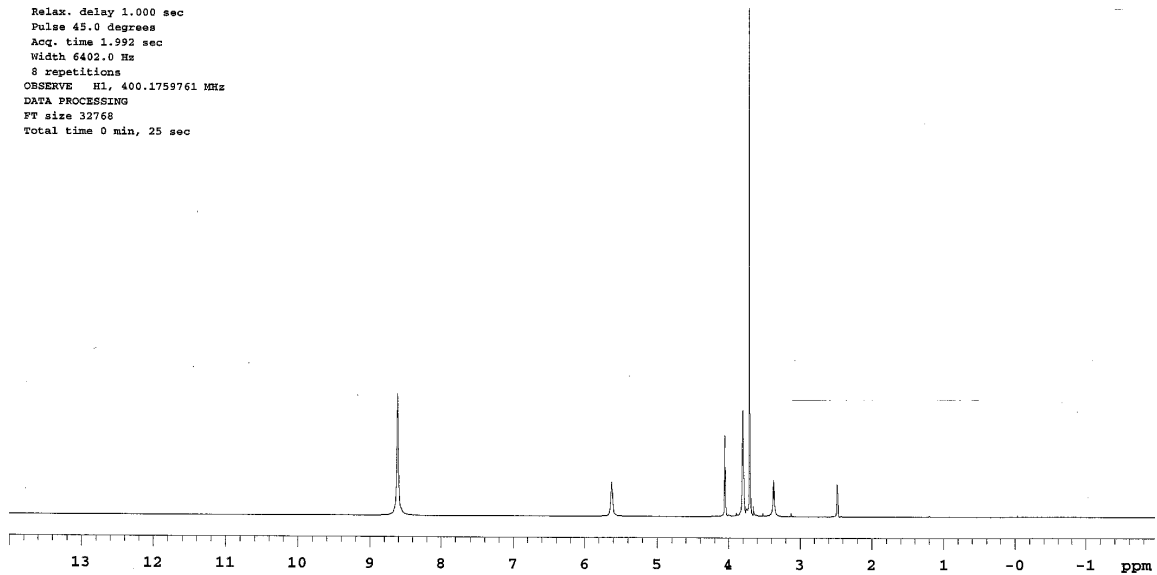
^1H NMR δ ppm (d_6 -DMSO+ D_2O): 3.70 (3H, s, OCH_3), 3.80 (2H, s, CH_2), 4.05 (1H, t, CH), 5.62 (1H, s, OH), 8.61 (3H, s NH)

SC-6_31May2007

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory: SC-6_31May2007
File: PROTON

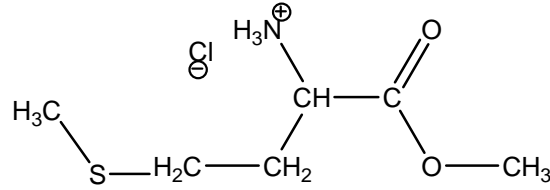
Pulse Sequence: s2pul
Solvent: DMSO
Ambient temperature
Mercury-400BB "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.992 sec
Width 6402.0 Hz
8 repetitions
OBSERVE H1, 400.1759761 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 0 min, 25 sec



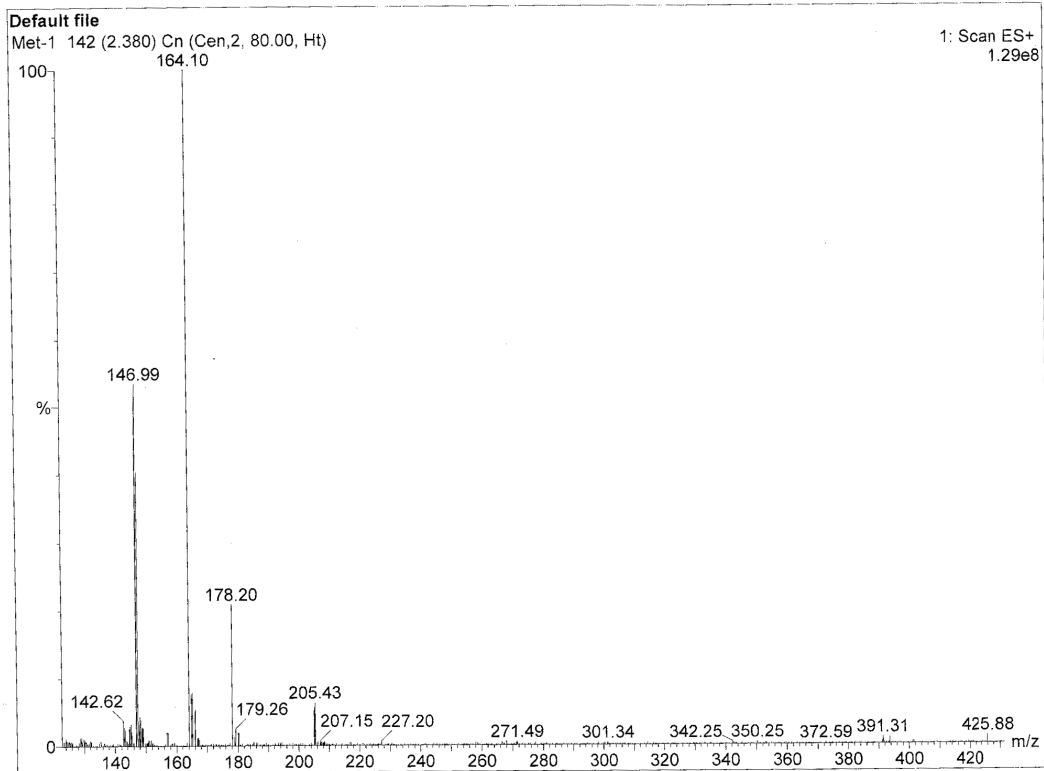
Spektrum 6. Bileşik 1c'nin ^1H NMR spektrumu

4.2.1.4 L-metiyonin metil ester hidroklorür Sentezi (1d)



Bölüm 4.2.1'de tanımlanan yöntemle, 10 ml (7.9 g; 0.247 mol) metanol buz banyosunda soğutulmuş üzerine 2.54 ml (4.17 g; 0.004 mol) tiyonil klorür eklendi. Reaksiyon karışımına 1.49 g (0.01mol) L-metiyonin ilavesiyle, 24 saat sonunda % 99.6 verimle 1.99 g (9.96×10^{-3} mol) sarıya çalan beyaz bir katı olan L-metiyonin metil ester hidroklorür elde edildi. (Erime noktası: 147 – 148.8 °C) (Lit.150-151 °C, Mancilla ve ark, 2001)

Kütle m/z (ESI)+ : 164 (M-Cl, % 100), 205 (M+6),



Spektrum 7. Bileşik 1d'nin kütle spektrumu

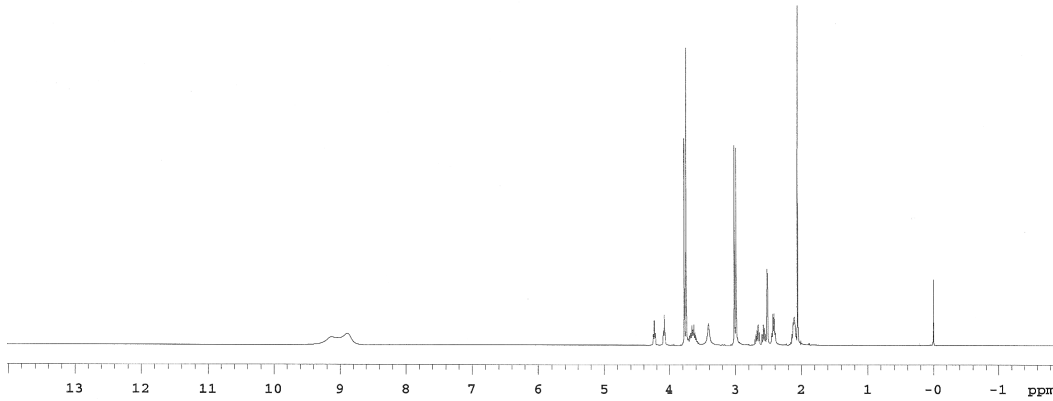
^1H NMR δ ppm (d_6 -DMSO+D₂O):2.00 (3H, s, S-CH₃), 2.42-2.50 (2H, m, S-CH₂), 2.55-2.65 (1H, m, CH₂, Tek proton), 3.40 (1H, s, CH₂, Tek proton), 3.64 (1H, m, CH), 3.75 (3H, d, OCH₃), 9.00 (3H, brs NH)

MFT-1_30May2009

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory: MFT-1_30May2009
File: PROTON

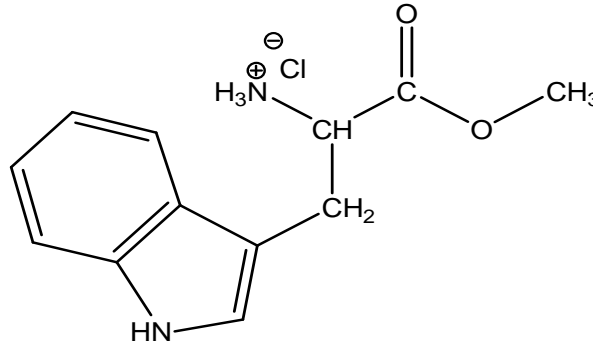
Pulse Sequence: s2pul
Solvent: DMSO
Ambient temperature
Mercury-400BB "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.992 sec
Width 6402.0 Hz
repetitions
OBSERVE H1: 400.1759611 MHz
DATA PROCESSING
PR size 32768
Total time 0 min, 25 sec



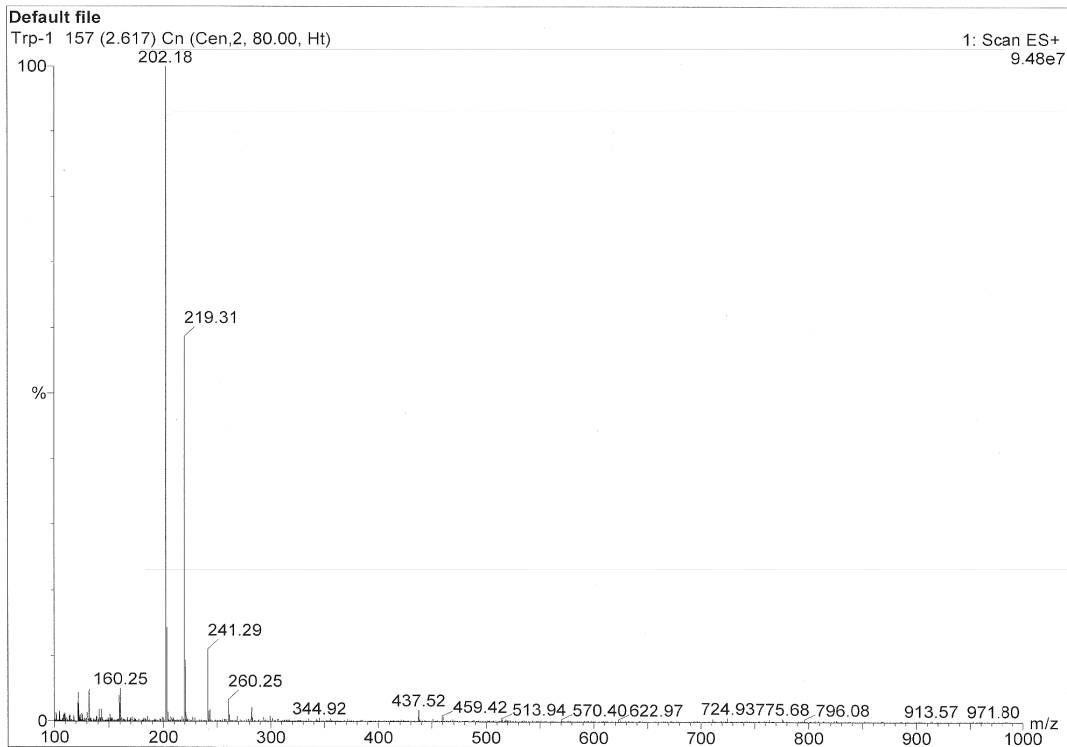
Spektrum 8. Bileşik 1d'nin ^1H NMR spektrumu

4.2.1.5 L-triptofan metil ester hidroklorür Sentezi (1e)



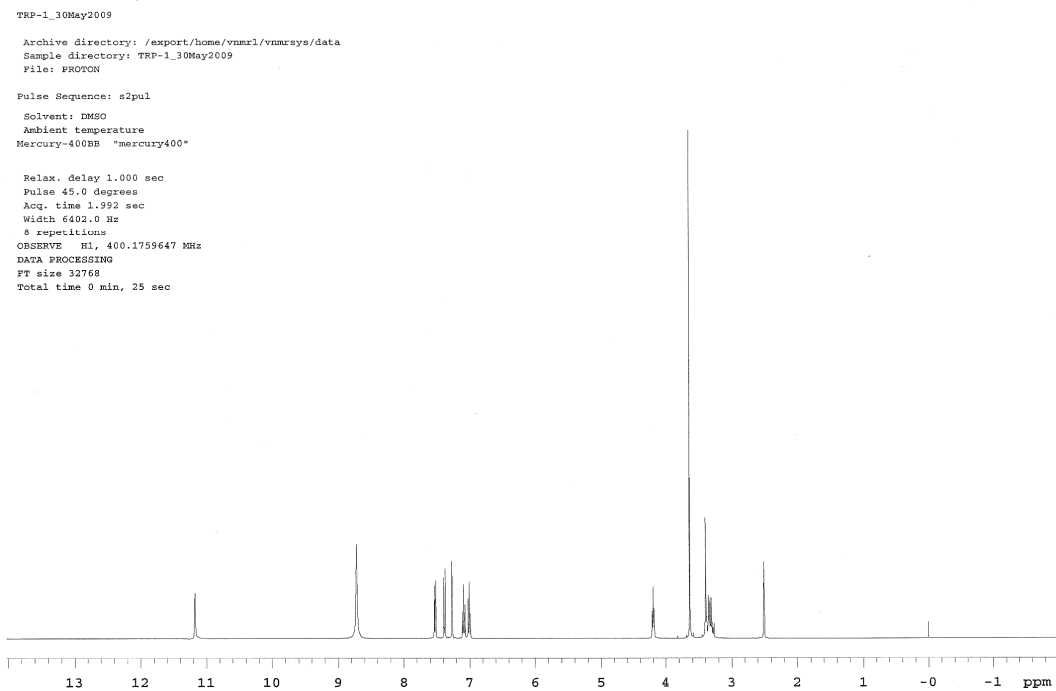
Bölüm 4.2.1'de ayrıntısı verilen şekilde, 10 ml (7.9 g; 0.247 mol) metanol buz banyosunda soğutulurak üzerine 2.54 ml (4.16 g; 0.004 mol) tiyonil klorür eklendi. Reaksiyon karışımına 2.04 g (0.01mol) L-triptofan ilavesiyle, 24 saat sonunda % 99.7 verimle 2.54 g (9.97×10^{-3} mol) beyaz L-triptofan metil ester hidroklorür çökeleği elde edildi. (Erime Noktası: 215.6 – 216 °C) (Lit.217 - 219 °C, Mancilla ve ark, 2001)

Kütle m/z (ESI)+ :202 [M-(Cl + NH₃), % 100], 219 (M-Cl),



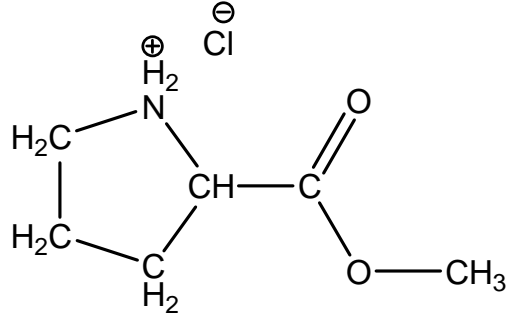
Spektrum 9. Bileşik 1e'nin kütle spektrumu

¹H NMR δ ppm (d₆-DMSO+D₂O): 3.26 (2H, m, , CH₂) , 3.62 (3H, s, OCH₃), 4.20 (1H, t, CH), 7.05-7.50 (4H, m, Ar-H), 8.90 (1H, s, NH), 11.17 (1H, s, NH-ind),



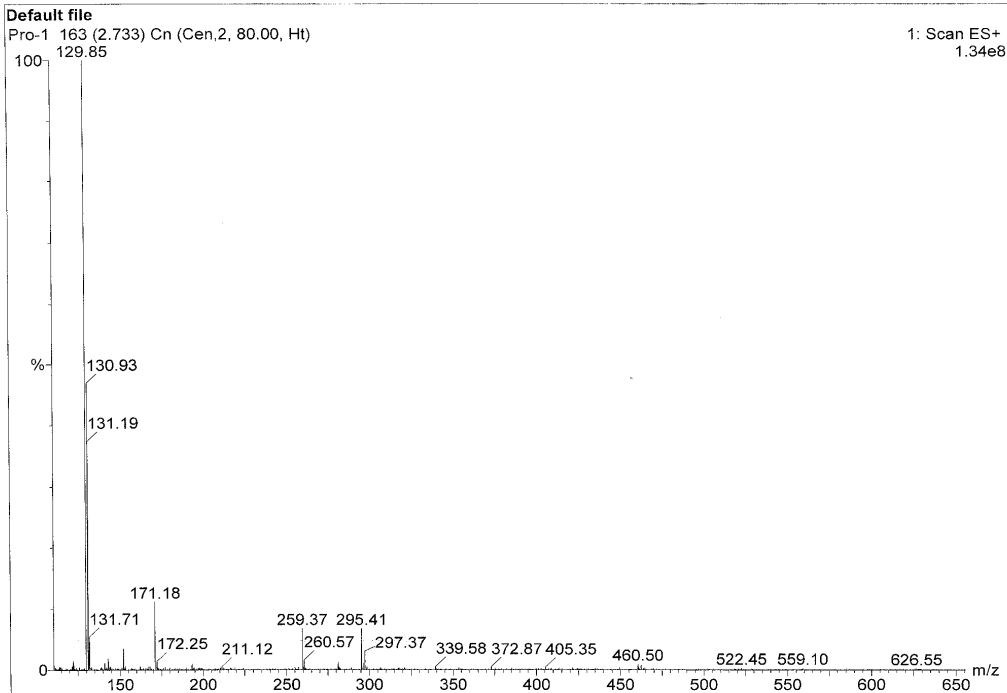
Spektrum 10. Bileşik 1e'nin ¹H NMR spektrumu

4.2.1.6 L-prolin metil ester hidroklorür Sentezi (1f)



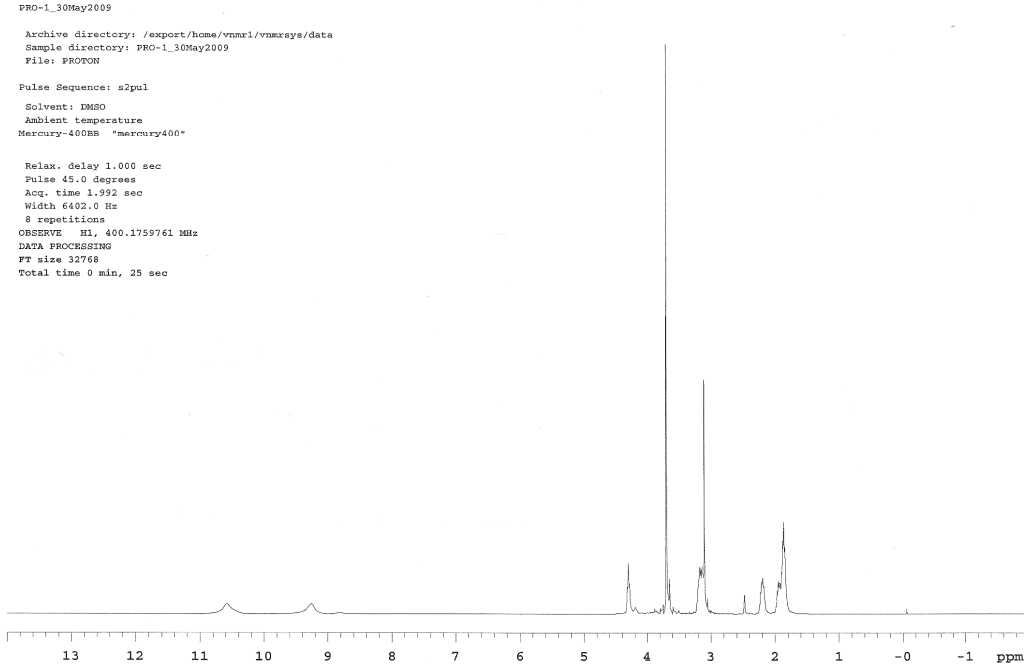
Bölüm 4.2.1'de tanımlanan yöntemle, 10 ml (7.92 g; 0.247 mol) metanol buz banyosunda soğutulurak üzerine 2.54 ml (4.16 g; 0.004 mol) tiyonil klorür eklendi. Reaksiyon karışımına 1.15 g (0.01mol) L-prolin ilavesiyle, 24 saat sonunda % 97.3 verimle 1.61 g (9.73×10^{-3} mol) açık yeşil ve çok viskoz sıvı olan L-prolin metil ester hidroklorür elde edildi. (Trotter ve ark, 2005)

Kütle m/z (ESI)+ :129 (M-Cl +, % 100)



Spektrum 11. Bileşik 1f'nin kütle spektrumu

^1H NMR δ ppm (d_6 -DMSO+D₂O): 1.79-2.48 (6H, m, (CH₂)₃), 3.71 (3H, s, OCH₃), 4.30 (1H, t, CH), 9.23 (1H, s, NH),

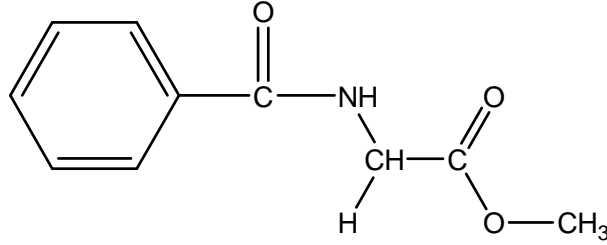


Spektrum 12. Bileşik 1f'nin ^1H NMR spektrumu

4.2.2. Amino Asit Esterlerine NH üzerinden Koruyucu Grup Takılması

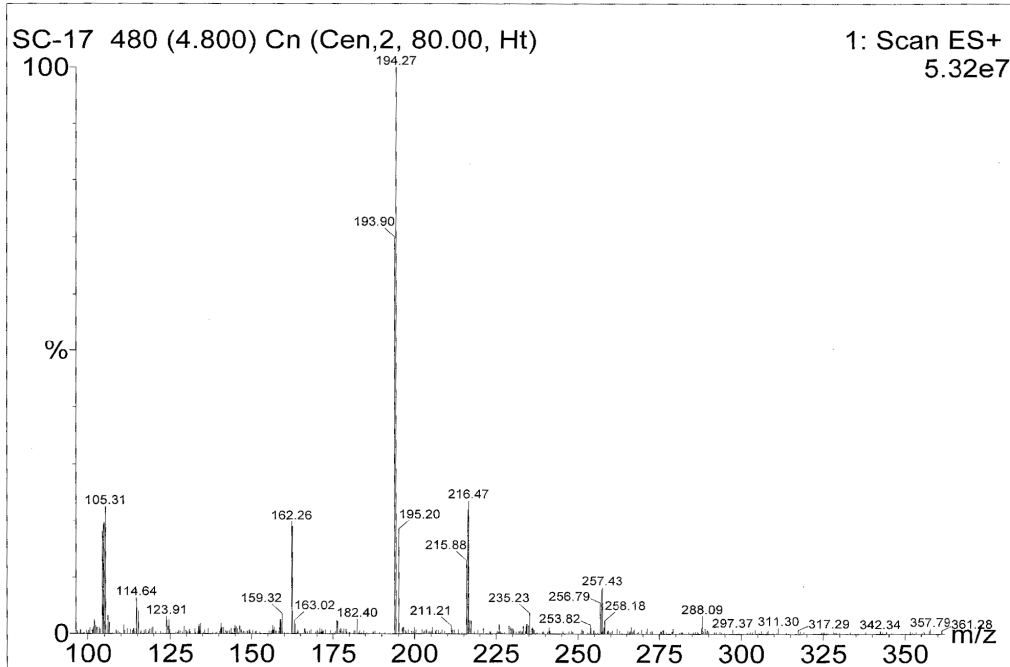
0.005 mol amino asit metil ester hidroklorür 9.5 ml (9.5 g; 0.525 mol) saf suyun içinde çözülerek üzerine 0.7 ml (0.85 g; 0.006 mol) benzoil klorürün 18.55 ml (27.3 g; 0.23 mol) kloroform içindeki çözeltisi eklendi. İki fazlı karışım hızlı bir şekilde karıştırıldı. Karışıma ortam bazik olana kadar küçük miktarlar halinde NaHCO₃ eklendi. Balonun ağzı CaCl₂ tüpüyle kapatıldı. 5-6 saat sonunda reaksiyon karışımına ortam nötr olana kadar damla damla % 5'lik HCl eklendi. Reaksiyon karışımı ayırma hunisine alınarak altta kalan kloroform fazı ayrıldı. Su fazı 5 kez 7 – 8 ml kloroformla ekstrakte edildi. Ayrılan kloroform fazına 1-2 spatül susuz Na₂SO₄ eklendi. Na₂SO₄ karışımı süzüldü. Kloroform rotavaporda uçuruldu. Kalan madde karışımı uygun etilasetat –hekzan ve etilasetat-diklorometan solvan sistemleri kullanılarak silikajel kolonundan geçirmek suretiyle saflaştırıldı (Wharton ve ark, 1974; Süzen ve ark, 1997).

4.2.2.1. N-Benzoil-glisin metil ester Sentezi (2a)



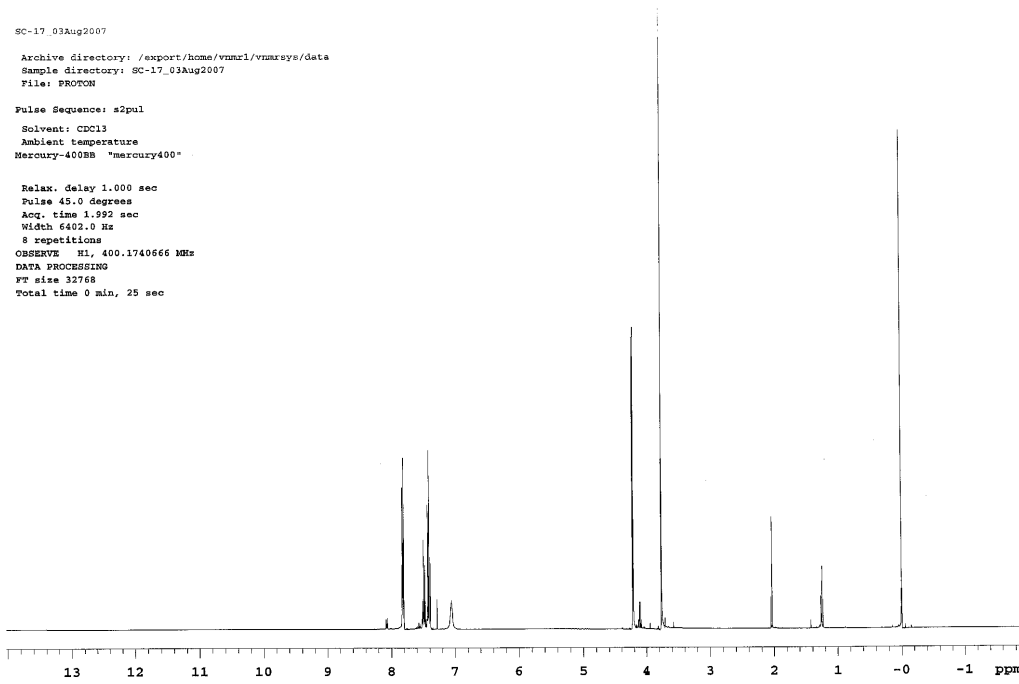
1.26 g (0.01 mol) glisin metil ester hidroklorürün 18.9 ml (1.05 mol) saf sudaki çözeltisine, 1.4 ml (1.69 g; 0.012 mol) benzoil klorürün 37.1 ml (54.6 g; 0.46 mol) kloroform içindeki çözeltisi eklenerek ve kolon solvanı olarak 4:1 hekzan / etil asetat kullanılarak **Bölüm 4.2.2**'de ayrıntılı biçimde verilen yöntemle, % 45.4 verimle 0.88 g (4.54×10^{-3} mol) beyaz N-benzoil glisin metil ester kristalleri elde edildi. (Erime Noktası: 119,7 °C)

Kütle m/z (ESI)+ : 194 (M+1 , % 100), 193 (M), 216 (M+Na)



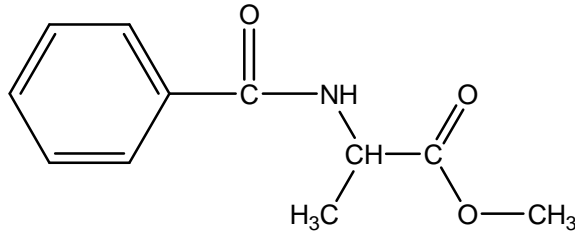
Spektrum 13. Bileşik 2a'nın kütle spektrumu

^1H NMR δ ppm (CDCl_3): 3.74 (3H, s, OCH_3), 4.21 (2H, d, CH_2), 7.06 (1H, s, NH), 7.30-7.80 (5H, m, Ar-H)



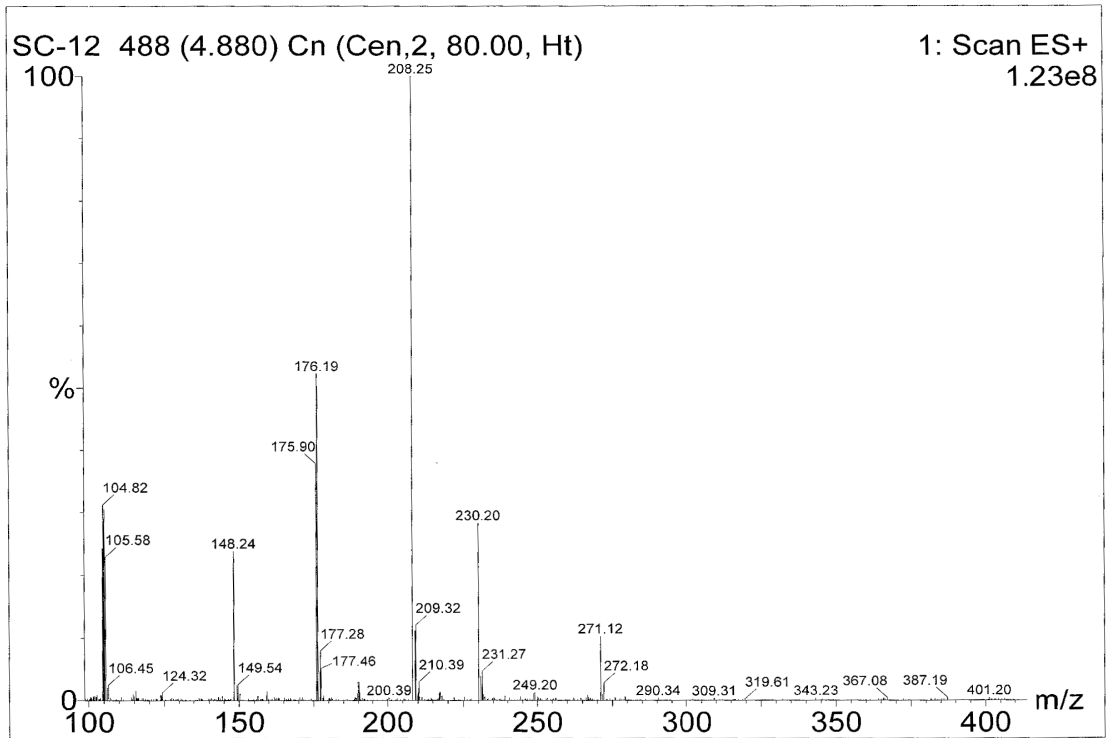
Spektrum 14. Bileşik 2a'nın ^1H NMR spektrumu

4.2.2.2. N-Benzoil-L-alanin metil ester Sentezi /2b/



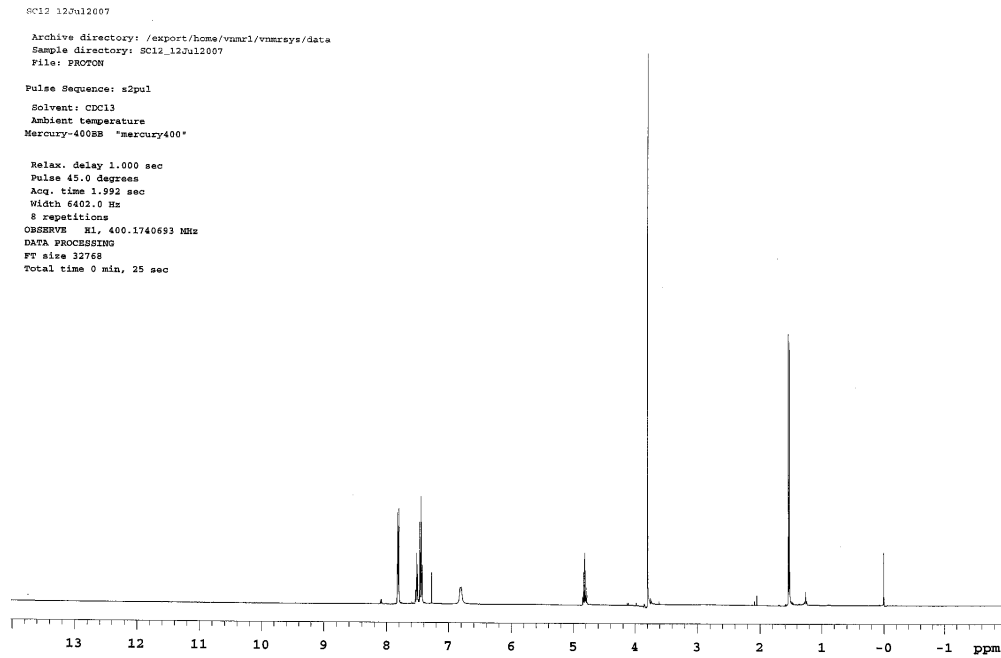
1.39 g (0.01 mol) L-alanin metil ester hidroklorürün 18.9 ml (1.05 mol) saf sudaki çözeltisine, 1.4 ml (1.69 g; 0.012 mol) benzoil klorürün 37.1 ml (54.6 g ; 0.457 mol) kloroform içindeki çözeltisi eklenerek ve kolon solvanı olarak 5:1 hekzan / etil asetat kullanılarak **Bölüm 4.2.2**'de ayrıntılı biçimde verilen yöntemle, % 26.2 verimle 0.54 g (2.615×10^{-3} mol) çok viskoz bir sıvı olan N-benzoil-L-alanin metil ester elde edildi.

Kütle m/z (ESI)+ :208 (M+1 , % 100), 230 (M+Na)



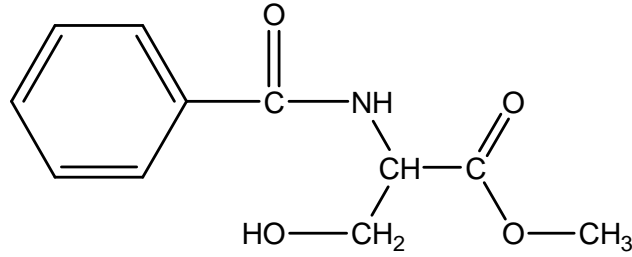
Spektrum 15. Bileşik 2b'nin kütle spektrumu

^1H NMR δ ppm (CDCl_3): 1.53 (3H, d, CH_3), 3.80 (3H, s, OCH_3), 4.81 (1H, m, CH), 6.80 (1H, s, NH), 7.41- 7.80 (5H, m, Ar-H)



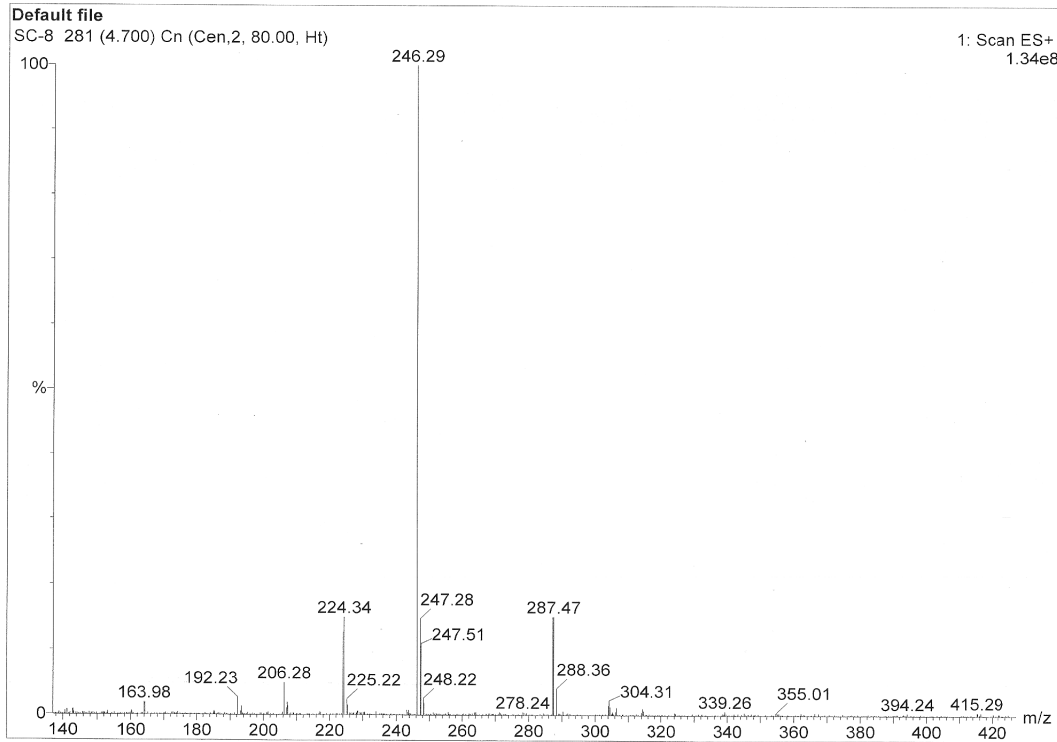
Spektrum 16. Bileşik 2b'nin ^1H NMR spektrumu

4.2.2.3. N-Benzoil-D-serin metil ester Sentezi /2c/



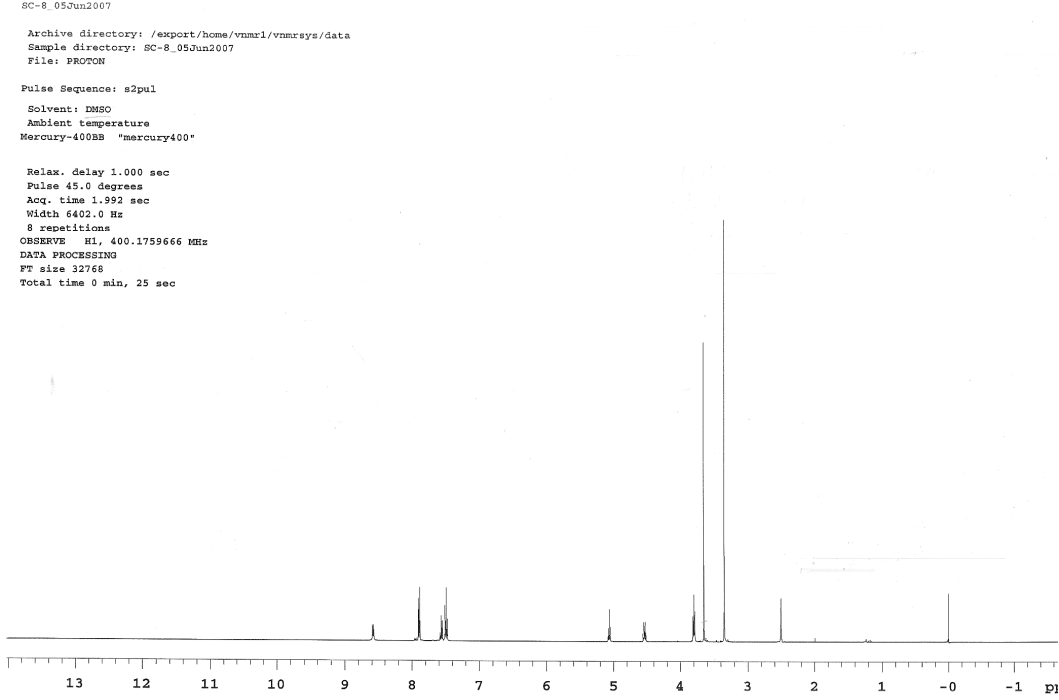
0.78 g (5 mmol) D-serin metil ester hidroklorürün 9.5 ml (9.5 g; 0.525 mol) saf sudaki çözeltisine 0.7 ml (0.85 g; 6 mmol) benzoil klorürün 18.55 ml (27.3 g; 0.223 mol) kloroform içindeki çözeltisi eklenerek ve kolon solvanı olarak 1:1 diklorometan / etil asetat kullanılarak **Bölüm 4.2.2**'de tanımlanan yöntemle, % 45.6 verimle 0.51 g (2.62 mmol) beyaz bir katı olan N-benzoil-D-serin metil ester elde edildi. (Erime noktası: 78 -79.5 °C) (Lit. 75-77 °C, Gu ve ark, 2007)

Kütle m/z (ESI)+ :246 (M+Na, % 100), 224 (M+1)



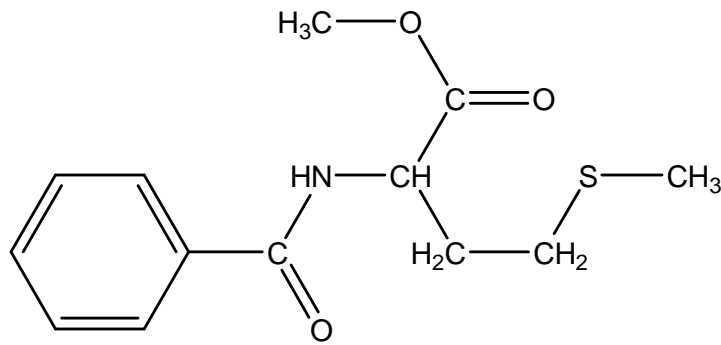
Spektrum 17. Bileşik 2c'nin kütle spektrumu

¹H NMR δ ppm (d₆-DMSO+D₂O): 3.65 (3H, s, OCH₃), 3.80 (2H, t, CH₂) 4.53 (1H, m, CH), 5.06 (1H,t, OH), 7.46- 7.88 (5H, m, Ar-H), 8.58(1H, d, NH)



Spektrum 18. Bileşik 2c'nin ¹H NMR spektrumu

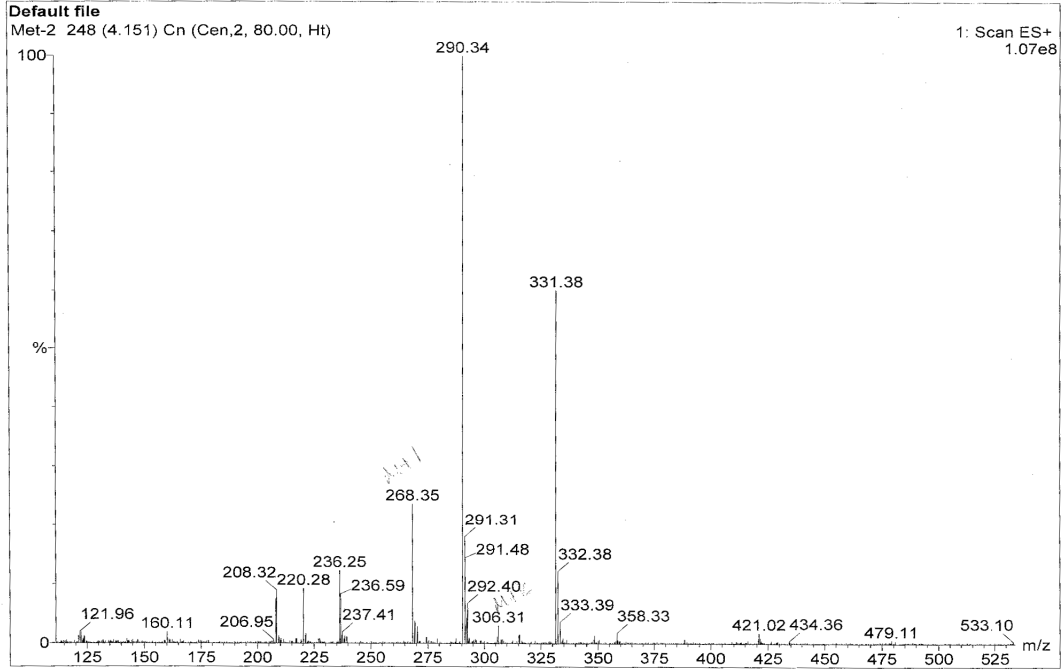
4.2.2.4. N-Benzoil-L-metiyonin metil ester Sentezi /2d/



1 g (5 mmol) L-metiyonin metil ester hidroklorürün 9.5 ml (9.5 g; 0.525 mol) saf sudaki çözeltilisine 0.7 ml (0.85 g; 6 mmol) benzoil klorürün 18.55 ml (27.3 g; 0.223 mol) kloroform içindeki çözeltilisi eklenerek ve kolon solvanı olarak 2:1 hekzan / etil asetat kullanılarak **Bölüm 4.2.2'**de tanımlanan yöntemle, % 41.7 verimle 0.56 g (2.083 mmol)

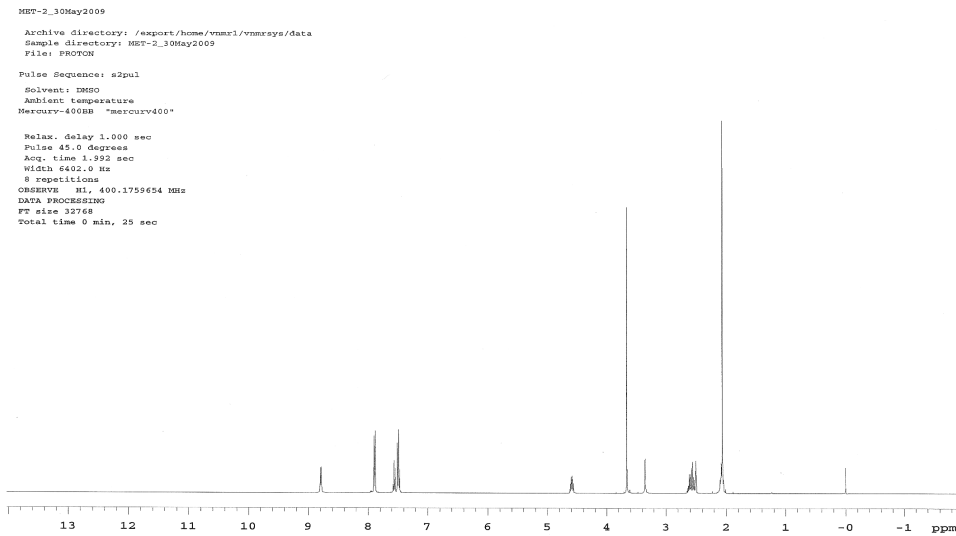
beyaz bir katı olan N-benzoil-L-metiyonin metil ester elde edildi. (Erime noktası: 81 °C)
(Meddour ve ark, 1997)

Kütle m/z (ESI)+ :290 (M+Na, % 100), 268 (M+1)



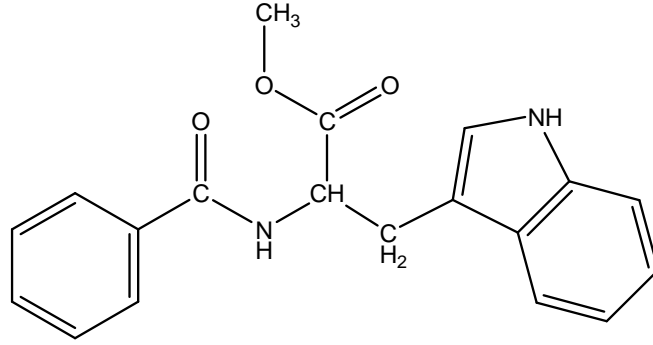
Spektrum 19. Bileşik 2d'nin kütle spektrumu

¹H NMR δ ppm (d₆-DMSO+D₂O): 2.06 (3H, s, S-CH₃), 2.07 (2H, m, S-CH₂); 2.58 (3H, m, CH₂), 3.66 (3H, s, OCH₃), 4.60 (1H, m, CH), 7.48- 7.88 (5H, m, Ar-H), 8.58(1H, d, NH)



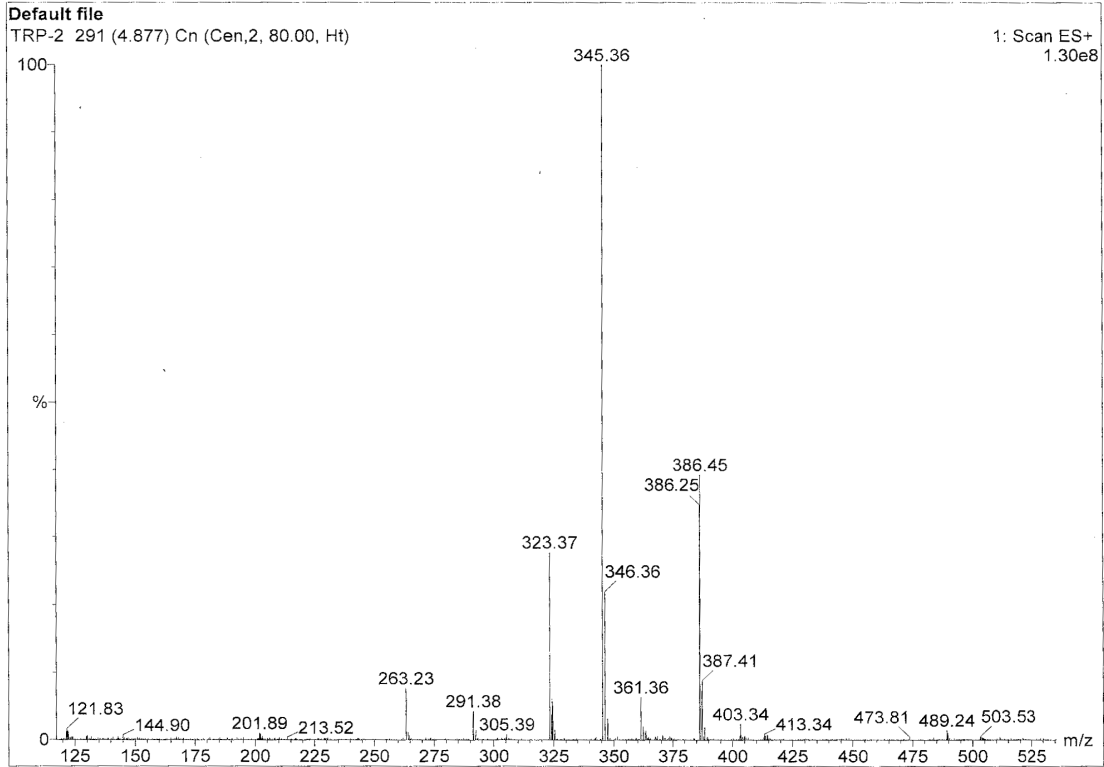
Spektrum 20. Bileşik 2d'nin ¹H NMR spektrumu

4.2.2.5. N-Benzoil-L-triptofan metil ester Sentezi /2e/



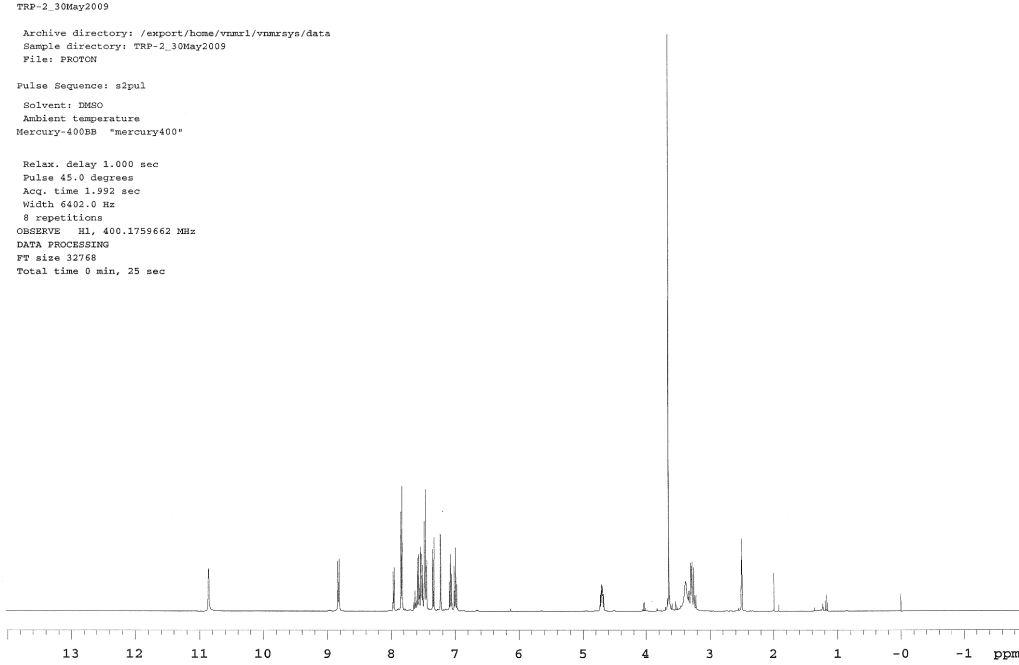
1.28 g (5 mmol) L-triptofan metil ester hidroklorürün 9.5 ml (9.5 g; 0.525 mol) saf sudaki çözeltisine 0.7 ml (0.85 g; 6 mmol) benzoil klorürün 18.55 ml (27.3 g; 0.223 mol) kloroform içindeki çözeltisi eklenerek ve kolon solvanı olarak 1:3 hekzan / etil asetat kullanılarak **Bölüm 4.2.2**'de ayrıntılı biçimde verilen yöntemle, % 47.6 verimle 0.77 g (2.382 mmol) sarı ve viskoz bir sıvı olan N-benzoil-L-triptofan metil ester elde edildi. (Gu ve ark, 2007)

Kütle m/z (ESI)+ :345 (M+Na, % 100), 323 (M+1)



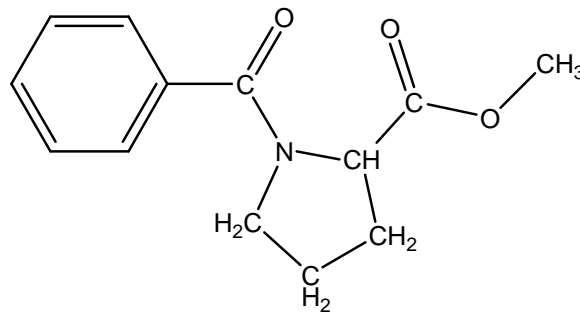
Spektrum 21. Bileşik 2e'nin kütle spektrumu

^1H NMR δ ppm ($\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$): 2.50-3.26 (2H, m, CH_2), 3.63 (3H, s, OCH_3), 4.70 (1H, m, CH), 7.05- 7.83 (10H, m, Ar-H), 8.82 (1H, d, NH), 10.86 (1H,d, NH-ind.)



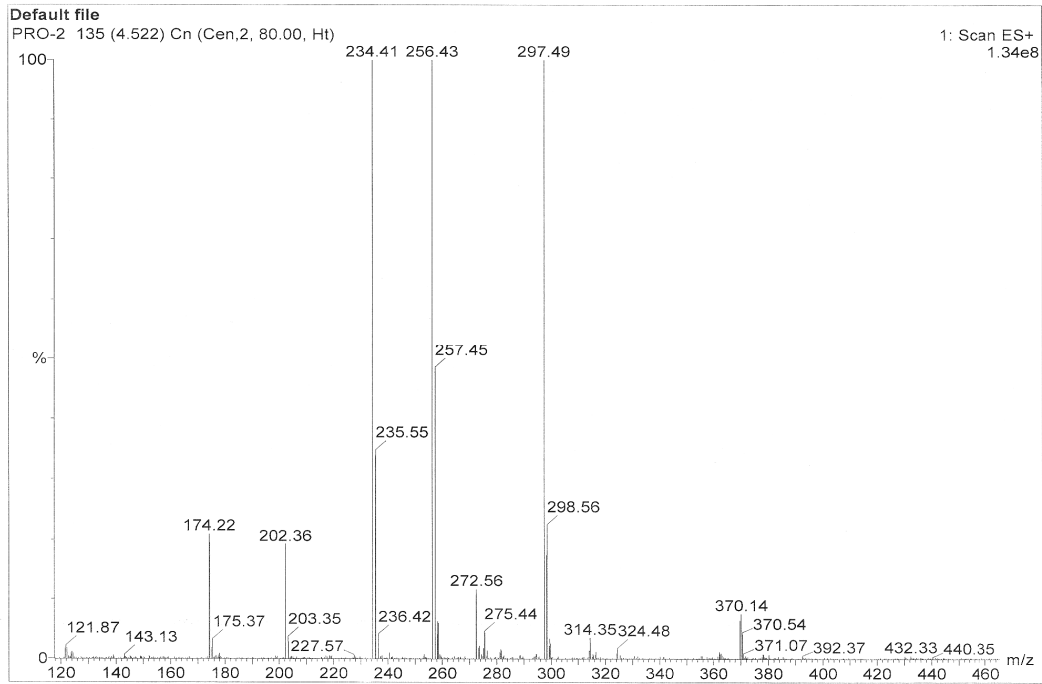
Spektrum 22. Bileşik 2e'nin ^1H NMR spektrumu

4.2.2.6. N-Benzoil-L-prolin metil ester Sentezi /2f/



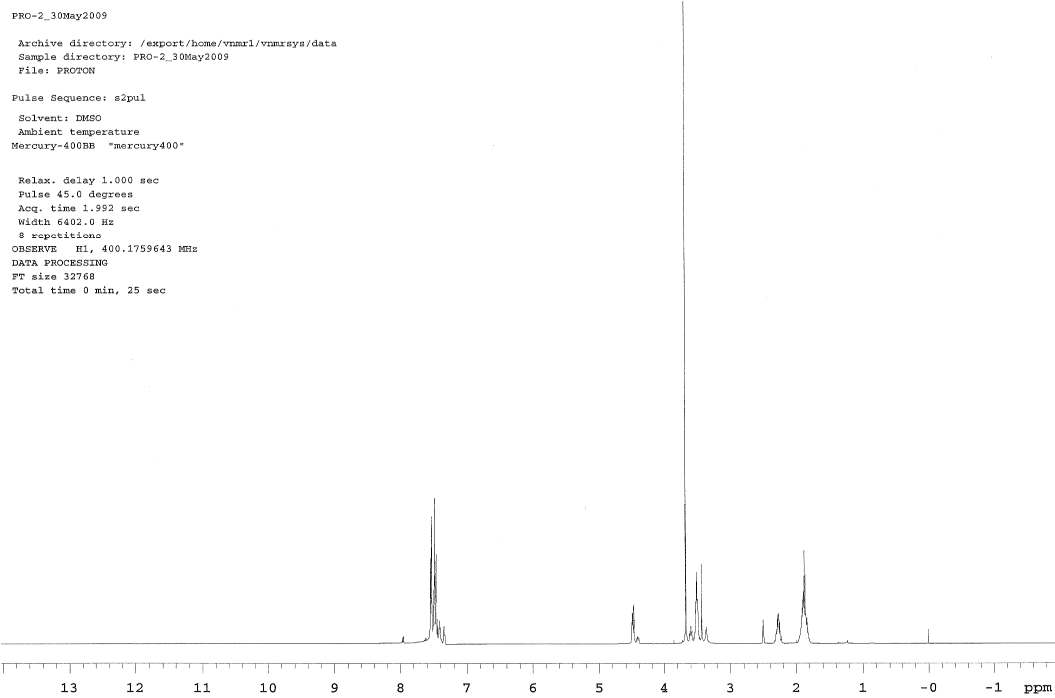
0.83 g (5 mmol) L-prolin metil ester hidroklorürün 9.5 ml (9.5 g; 0.525 mol) saf sudaki çözeltisine 0.7 ml (0.85 g; 6 mmol) benzoil klorürün 18.55 ml (27.3 g; 0.223 mol) kloroform içindeki çözeltisi eklenerek ve kolon solvanı olarak 3:1 hekzan / etil asetat kullanılarak **Bölüm 4.2.2**'de tanımlanan yöntemle, % 68.9 verimle 0.81 g (3.445 mmol) beyaz N-benzoil-L-prolin metil ester kristalleri elde edildi. (Erime noktası: 89.2 – 90.4 $^{\circ}\text{C}$) (Lit. 89-91 $^{\circ}\text{C}$, Li ve ark, 2000)

Kütle m/z (ESI)+ :234 (M+1, % 100), 256 (M+Na, % 100)



Spektrum 23. Bileşik 2f'nin kütle spektrumu

^1H NMR δ ppm (d_6 -DMSO+ D_2O): 1.86 (4H, m, CH_2 - CH_2), 3.50 (2H, m, CH_2 -N), 3.68 (3H, s, OCH_3), 4.49 (1H, m, CH), 7.22 -7.54 (5H, m, Ar-H),

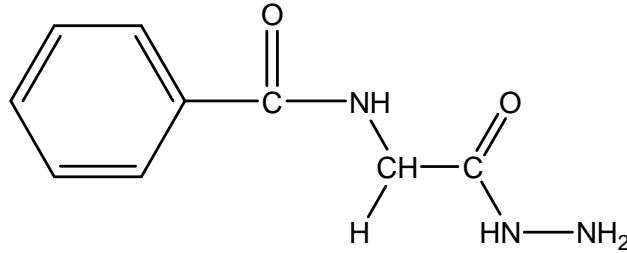


Spektrum 24. Bileşik 2f'nin ^1H NMR spektrumu

4.2.3. NH-korumalı Amino Asit Esterlerinin Hidrazidlerinin Sentezleri

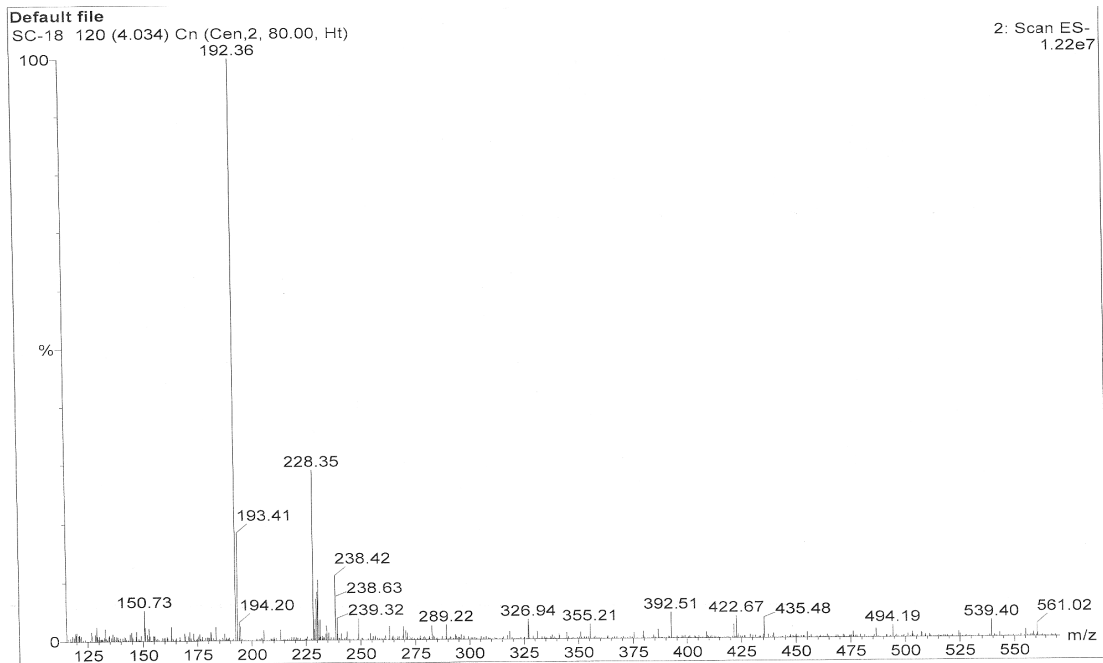
Bu basamakta 5 mmol N-benzoil amino asit metil esterine 3 ml (2.37 g; 0.074 mol) metanol ve 0.31 ml (0.32 g; 0.01 mol) hidrazin hidrat eklendi. Oluşan karışım geri soğutucu altında 3-4 saat reaksiyon verdikten sonra rotavaporda solvan uçuruldu. Oluşan ürün son basamakta kullanılmak üzere toplandı (Koçyiğit-Kaymakçioğlu ve ark, 2006).

4.2.3.1. N-Benzoil glisin Hidrazid Sentezi /3a/



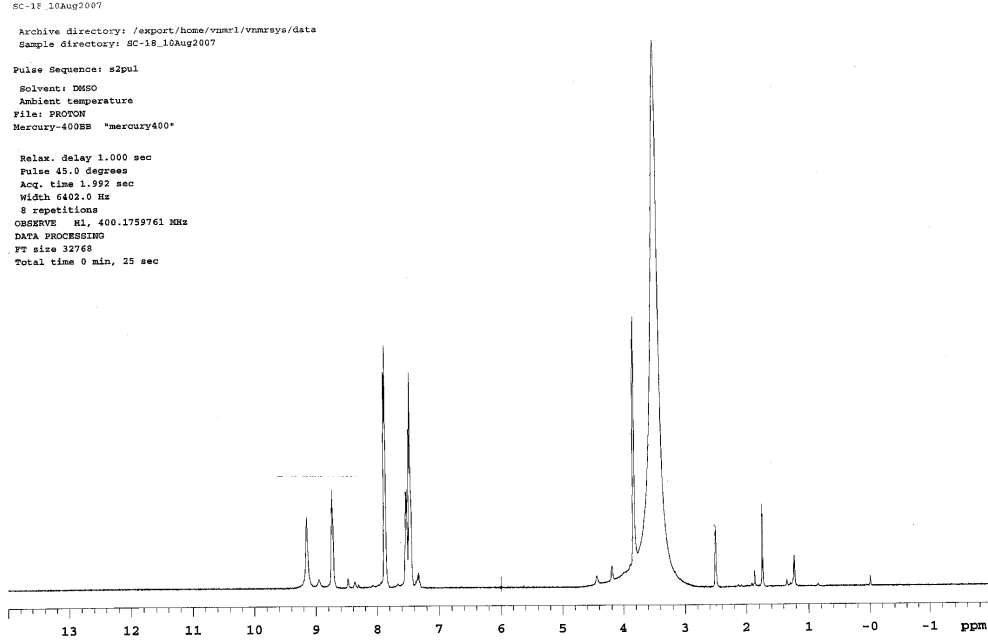
0.97 g (5 mmol) N-benzoil glisin metil esterine 3 ml (2.37 g; 0.074 mol) metanol ve 0.31 ml (0.32 g; 0.01 mol) hidrazin hidrat eklendi. **Bölüm 4.2.3**'te ayrıntılı olarak verilen yöntemle, % 75.5 verimle 0.73 g (3.77 mmol) bej bir çökelek olan N-benzoil glisin hidrazid elde edildi. (Erime noktası: 147 °C)

Kütle m/z (ESI)+ : 192 (M-1, % 100), 193 (M)



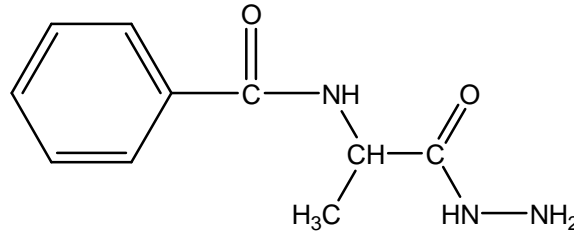
Spektrum 25. Bileşik 3a'nın kütle spektrumu

^1H NMR δ ppm (d_6 -DMSO+D₂O): 3.82 (2H, d, CH₂), 3.50(2H, s, NH₂), 7.46-7.92 (5H, m, Ar-H), 8.74 (1H, s, NH), 9.16 (1H, s, NH)



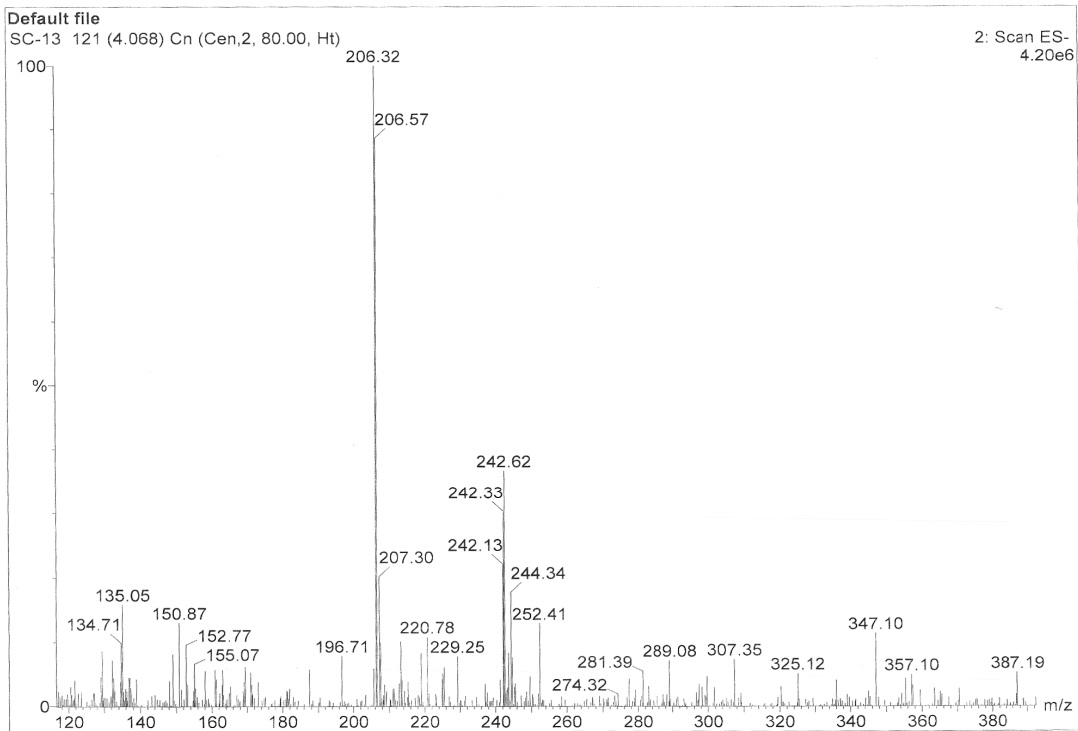
Spektrum 26. Bileşik 3a'nın ^1H NMR spektrumu

4.2.3.2. N-Benzoil-L-alanin Hidrazid Sentezi /3b/



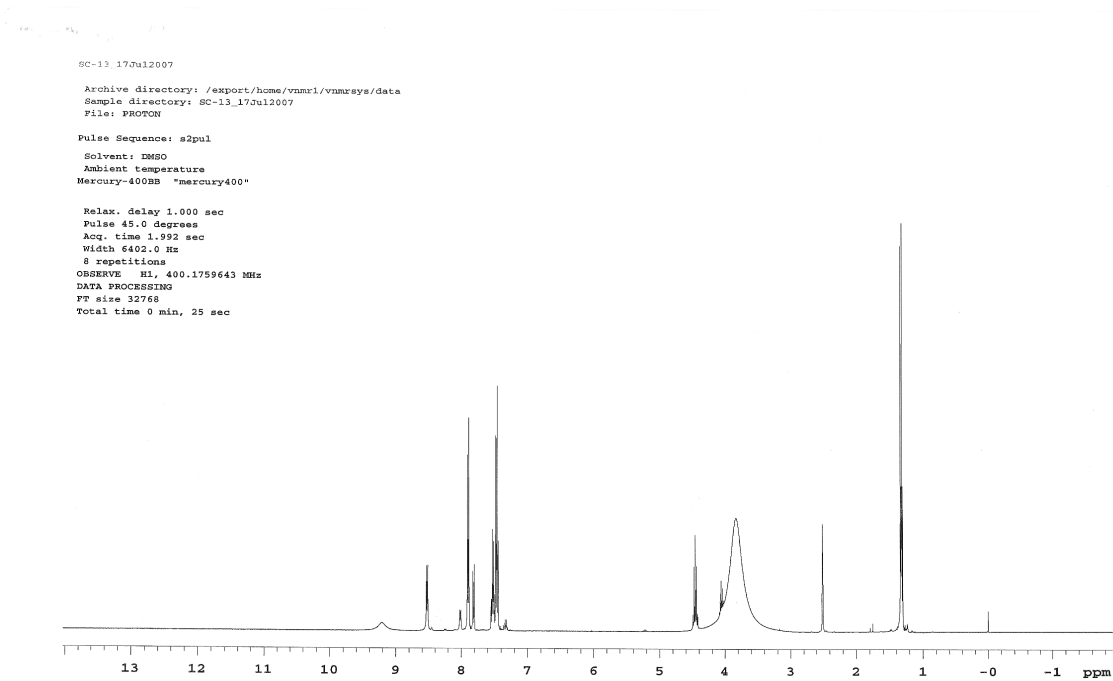
1.04 g (5 mmol) N-benzoyl-L-alanin metil esterin üzerine 3 ml (2.37 g; 0.074 mol) metanol ve 0.31 ml (0.32 g; 0.01 mol) hidrazin hidrat eklendi. **Bölüm 4.2.3**'te tanımlanan yöntemle, % 95.6 verimle 0.99 g (4.78 mmol) beyaz bir çökelek olan N-benzoyl-L-alanin hidrazid elde edildi. (Erime noktası: 138 °C)

Kütle m/z (ESI)+ : 206 (M-1, % 100), 207 (M)



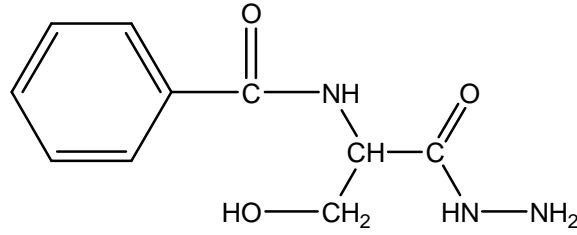
Spektrum 27. Bileşik 3b'nin kütle spektrumu

^1H NMR δ ppm (d_6 -DMSO+ D_2O): 1.32 (3H, d, CH_3), 4.05 (2H, m, NH_2), 4.56 (1H, m, CH), 7.44-7.80 (5H, m, Ar-H), 8.51 (1H, s, NH), 9.20 (1H, s, NH)



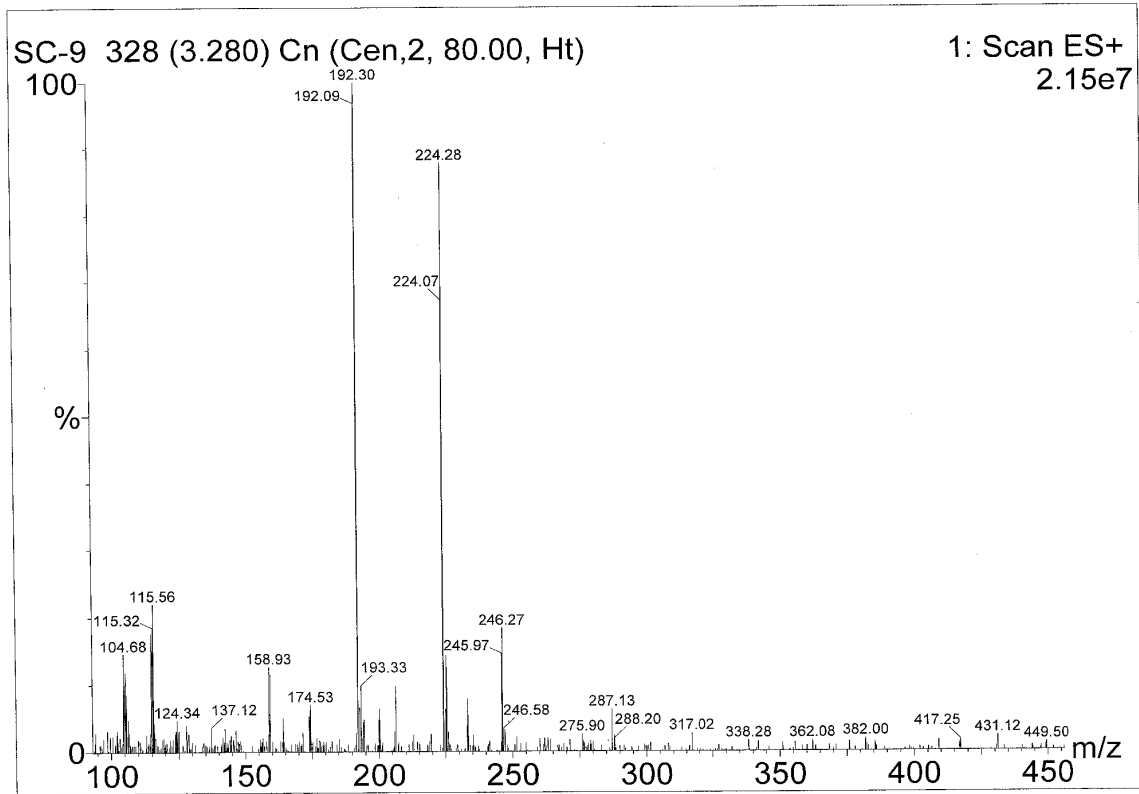
Spektrum 28. Bileşik 3b'nin ^1H NMR spektrumu

4.2.3.3. N-Benzoil-D-serin Hidrazid Sentezi /3c/



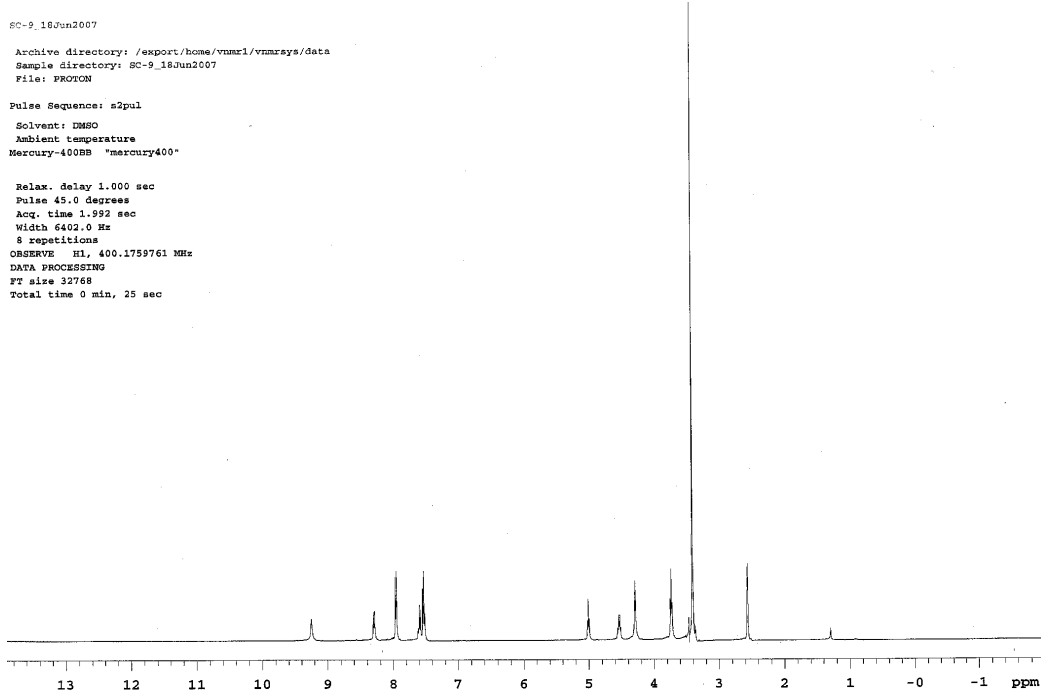
1.12 g (5 mmol) N-benzoil-D-serin metil esterin üzerine 3 ml (2.37 g; 0.074 mol) metanol ve 0.31 ml (0.32 g; 0.01 mol) hidrazin hidrat eklendi. **Bölüm 4.2.3**'te ayrıntılı olarak verilen yöntemle, % 92.4 verimle 1.03 g (4.62 mmol) beyaz bir çökelek olan N-benzoil-D-serin hidrazid elde edildi. (Erime noktası: 196 °C)

Kütle m/z (ESI)+ : 192 (M-CH₂OH, % 100), 224 (M+1)



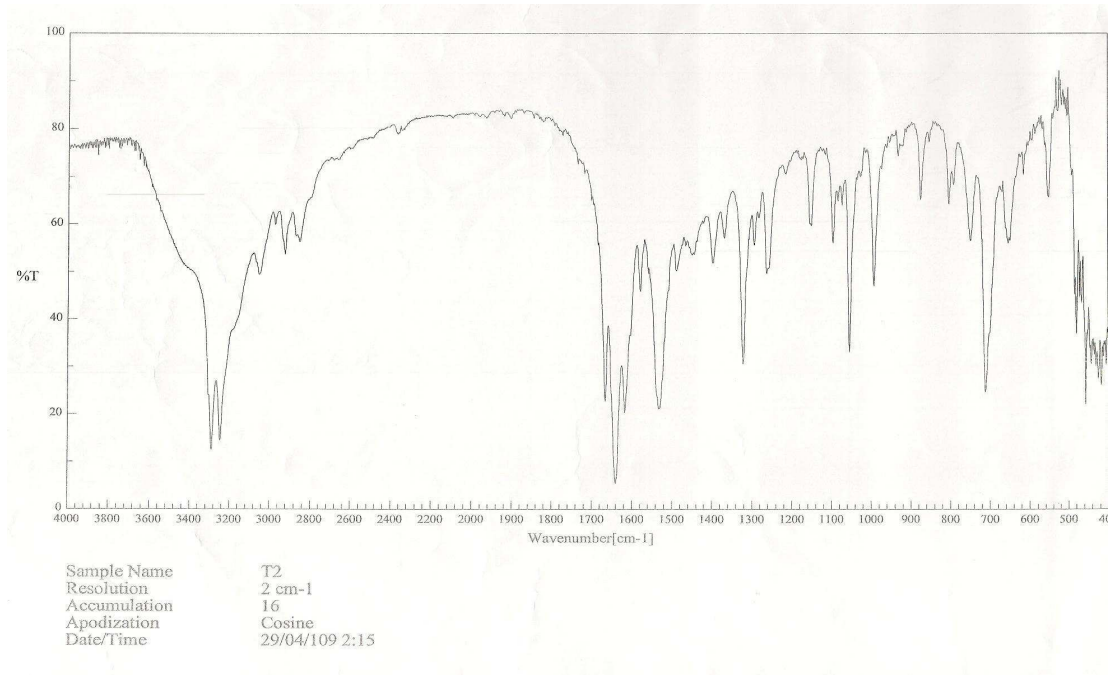
Spektrum 29. Bileşik 3c'nin kütle spektrumu

^1H NMR δ ppm ($\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$): 3.73 (2H, t, CH_2), 4.29 (2H, s, NH_2), 4.52 (1H, m, CH), 5.00 (1H, t, OH), 7.52-7.96 (5H, m, Ar-H), 8.30 (1H, d, NH), 9.24 (1H, s, NH)



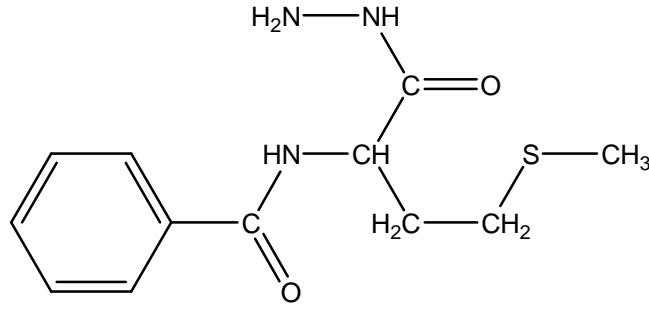
Spektrum 30. Bileşik 3c'nin ^1H NMR spektrum

IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} : 3289-3246 (C-N gerilme bandı), 1640 (N-H eğilme bandı)



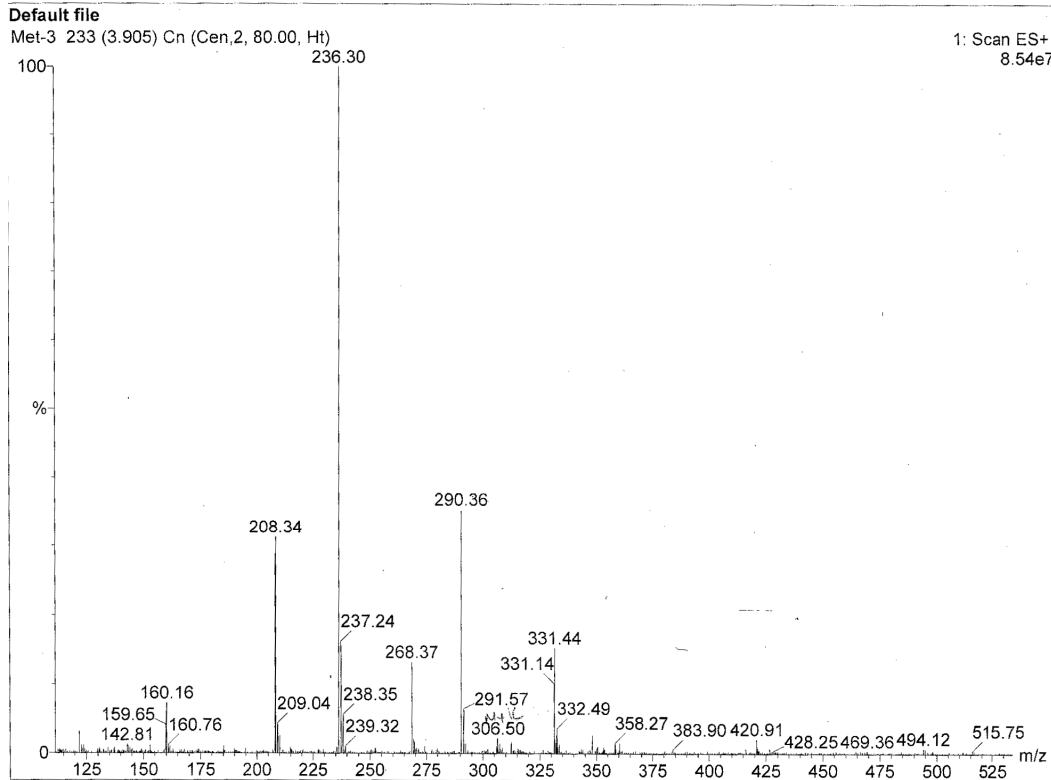
Spektrum 31. Bileşik 3c'nin IR spektrum

4.2.3.4. N-Benzoil-L-metiyonin Hidrazid Sentezi /3d/



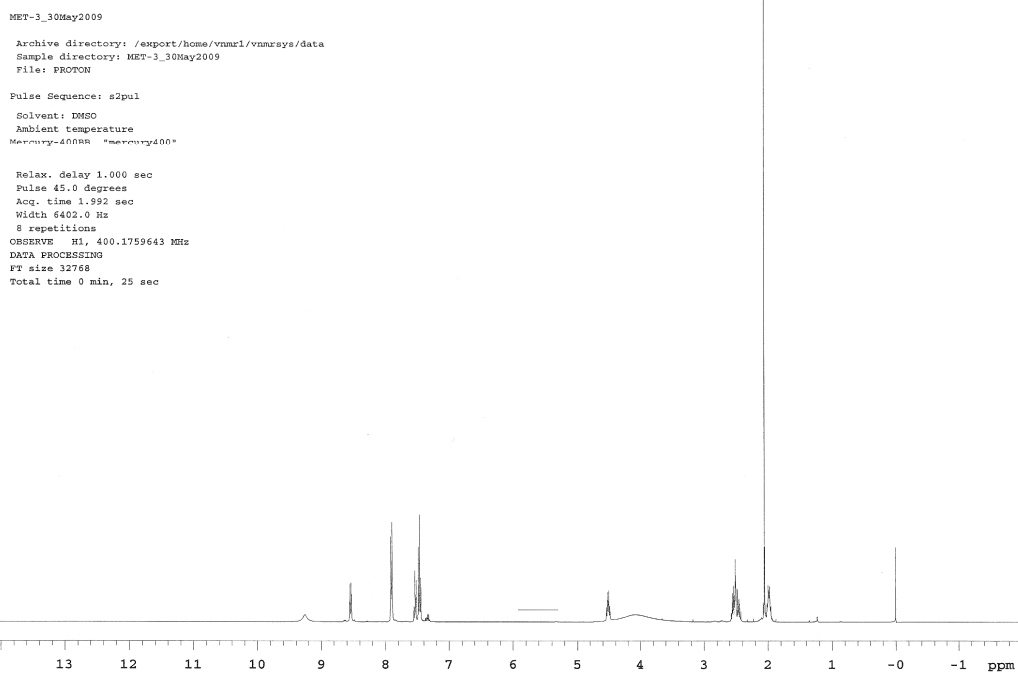
1.34 g (5 mmol) N-benzoil-L-metiyonin metil esterin üzerine 3 ml (2.37 g; 0.074 mol) metanol ve 0.31 ml (0.32 g; 0.01 mol) hidrazin hidrat eklendi. **Bölüm 4.2.3**'te ayrıntılı tanımlanan yöntemle, % 77.4 verimle 1.03 g (3.87 mmol) beyaz N-benzoil-L-metiyonin hidrazid kristalleri elde edildi. (Erime noktası: 146 °C)

Kütle m/z (ESI)+ : 236 (M-NH NH₂, % 100), 224 (M+1), 290 (M+Na)



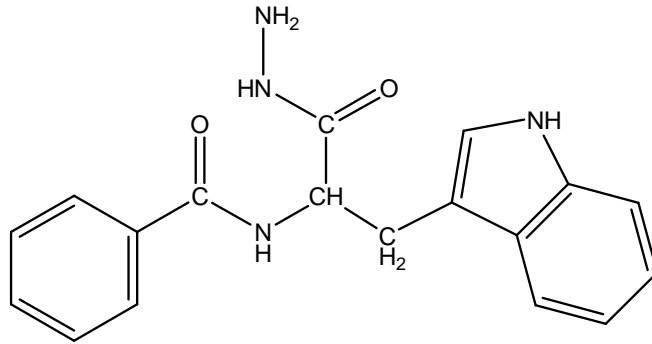
Spektrum 32. Bileşik 3d'nin kütle spektrumu

¹H NMR δ ppm (d₆-DMSO+D₂O): 1.98-2.51 (4H, m, CH₂-CH₂), 2.05 (3H, s, S-CH₃), 4.08 (2H, s, NH₂), 4.50 (1H, m, CH), 7.48-7.89 (5H, m, Ar-H), 8.54 (1H, d, NH), 9.26 (1H, s, NH)



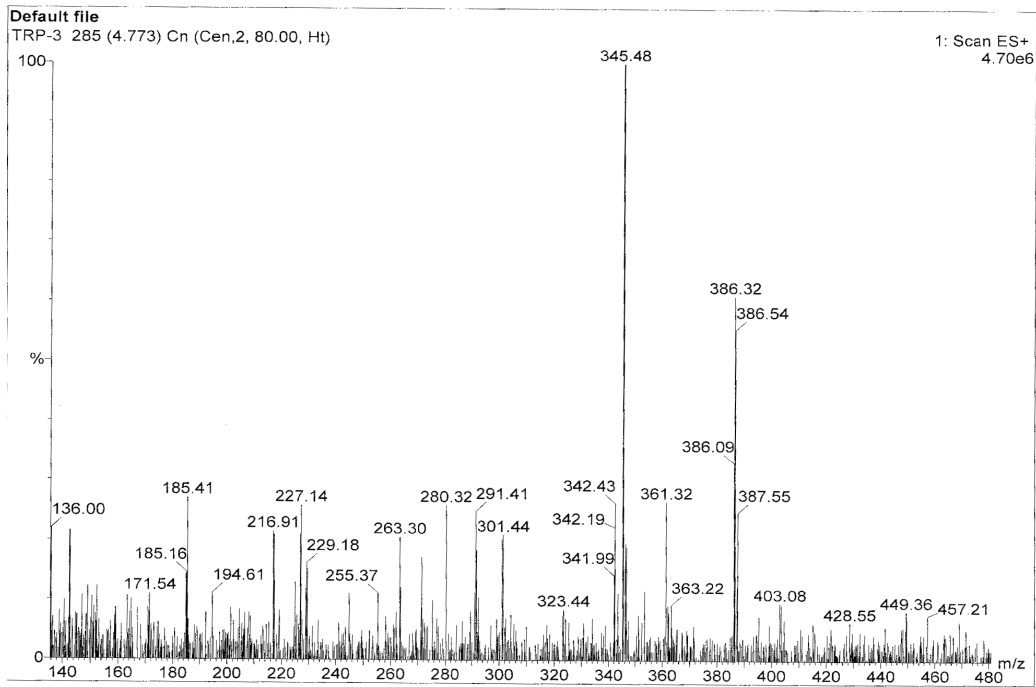
Spektrum 33. Bileşik 3d'nin ¹H NMR spektrumu

4.2.3.5. N-Benzoil-L-triptofan Hidrazid Sentezi /3e/



1.61 g (5 mmol) N-benzoil-L-triptofan metil esterine üzerine 3 ml (2.37 g; 0.074 mol) metanol ve 0.31 ml (0.32 g; 0.01 mol) hidrazin hidrat eklendi. **Bölüm 4.2.3'**te ayrıntılı olarak verilen yöntemle, % 81.6 verimle 1.32 g (4.08 mmol) krem rengi bir çökelek olan N-benzoil- L-triptofan hidrazid elde edildi. (Erime noktası :140 °C'de yanma, 197.7 – 199.1 °C'de erime gerçekleşti.)

Kütle m/z (ESI)+ : 345 (M+Na, % 100), 323 (M+1),



Spektrum 34. Bileşik 3e'nin kütle spektrumu

^1H NMR δ ppm ($\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$): 1.74-2.50 (2H, m, CH_2), 3.15 (2H, m, NH_2), 4.70 (1H, m, CH), 7.80-7.90 (10H, m, Ar-H), 8.56 (1H, d, NH), 9.41 (1H, s, NH), 10.81 (1H, s, NH-ind.)

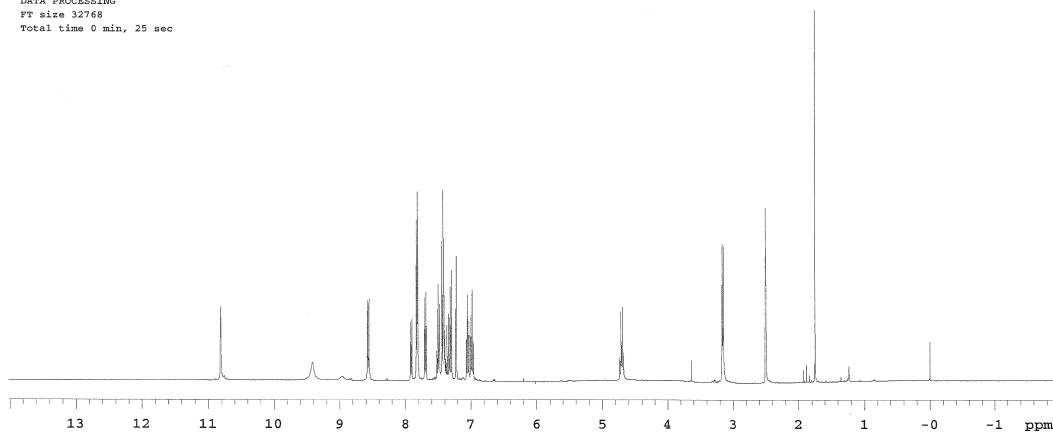
TRP-3_30May2009

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory: TRP-3_30May2009
File: PROTON

Pulse Sequence: s2pul

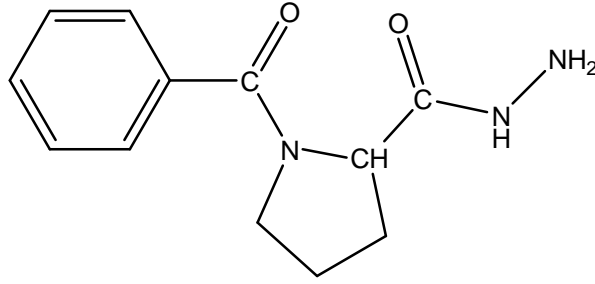
Solvent: DMSO
Ambient temperature
Mercury-400BB "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.992 sec
Width 6402.0 Hz
8 repetitions
OBSERVE H1, 400.1759666 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 0 min, 25 sec



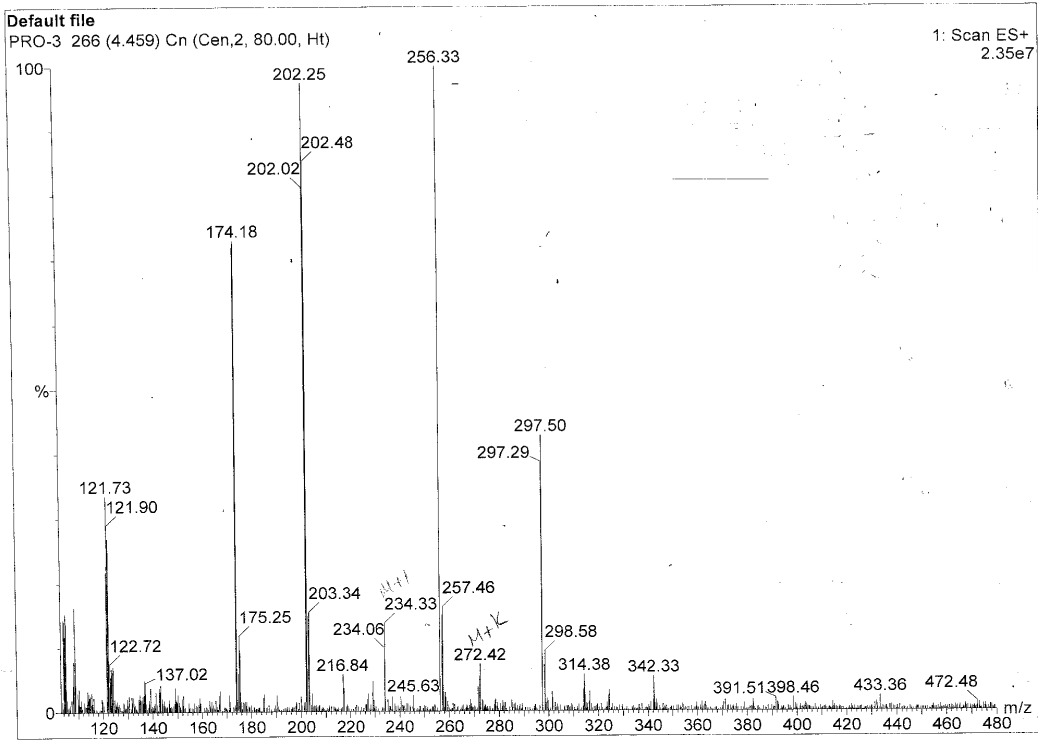
Spektrum 35. Bileşik 3e'nin ^1H NMR spektrumu

4.2.3.6 N-Benzoil-L-prolin Hidrazid Sentezi /3f/



1.17 g (5 mmol) N-benzoil-L-prolin metil esterin üzerine 3 ml (2.37 g; 0.074 mol) metanol ve 0.31 ml (0.32 g; 0.01 mol) hidrazin hidrat eklendi. **Bölüm 4.2.3**'te ayrıntılı olarak verilen yöntemle, % 95.1 verimle 1.11 g (4.08 mmol) yağimsı N-benzoil- L- prolin hidrazid elde edildi.

Kütle m/z (ESI)⁺ : 202 (M-NHNH₂, %100), 256 (M+Na), 234 (M+1),



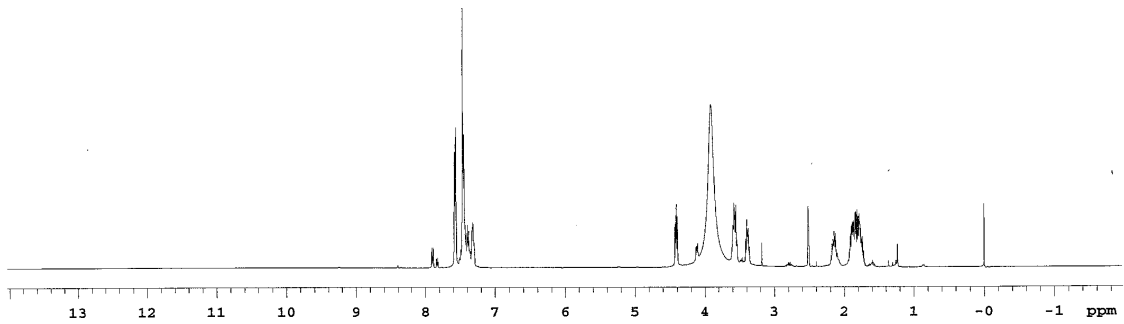
Spektrum 36. Bileşik 3f'nin kütle spektrumu

^1H NMR δ ppm ($\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$): 1.74 (4H, m, CH_2CH_2), 2.17-3.40 (2H, m, CH_2), 3.57 (2H, m, NH_2), 4.41 (1H, t, CH), 7.32-7.56 (5H, m, Ar-H), 7.65 (1H, m, NH),

```
PRO-3_07May2009
Archive directory: /export/home/vmmr1/vnmrns/data
Sample directory: PRO-3_07May2009
File: PROTON

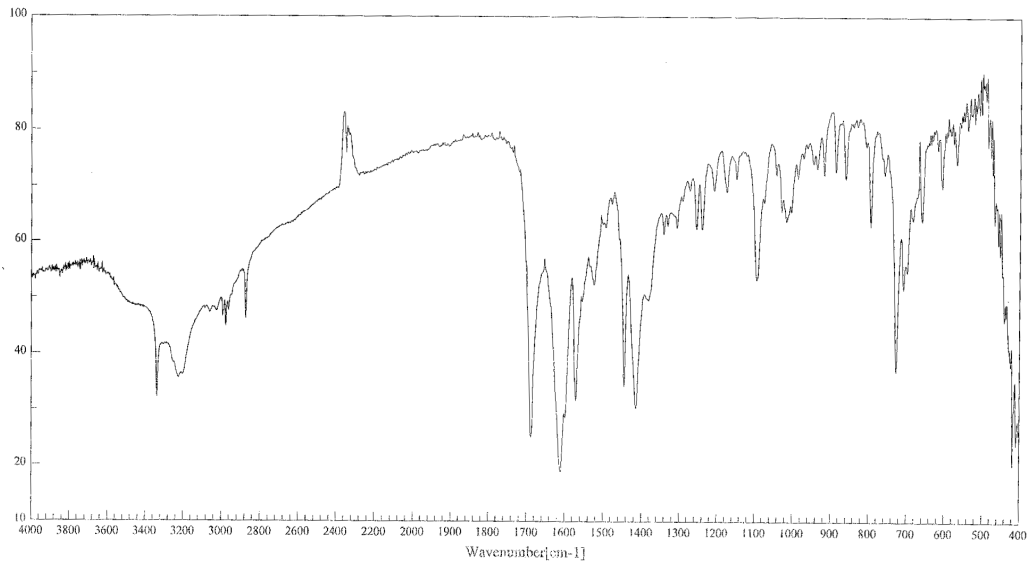
Pulse Sequence: s2pul
Solvent: DMSO
Ambient temperature
Mercury-400SB "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.992 sec
Width 6402.0 Hz
8 repetitions
OBSERVE H1, 400.1759623 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 0 min, 25 sec
```



Spektrum 37. Bileşik 3f'nin ^1H NMR spektrumu

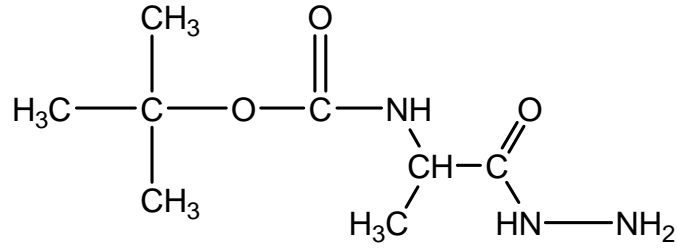
IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} : 3338-3224 (C-N gerilme bandı), 1687 (N-H eğilme bandı)



```
Sample Name      T2
Resolution       2 cm-1
Accumulation     16
Apodization      Cosine
Date/Time        28/04/109 21:35
```

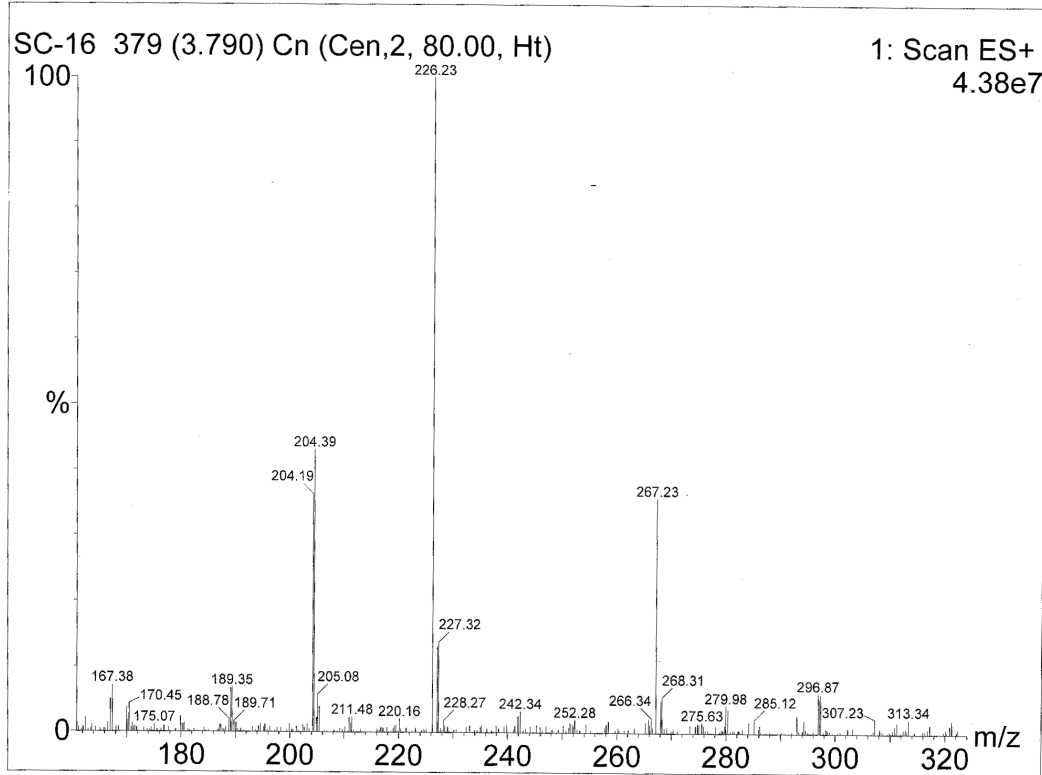
Spektrum 38. Bileşik 3f'nin IR spektrumu

4.2.3.7. N-t-Bütoksikarbonil-L-alanin Hidrazid Sentezi /5a/



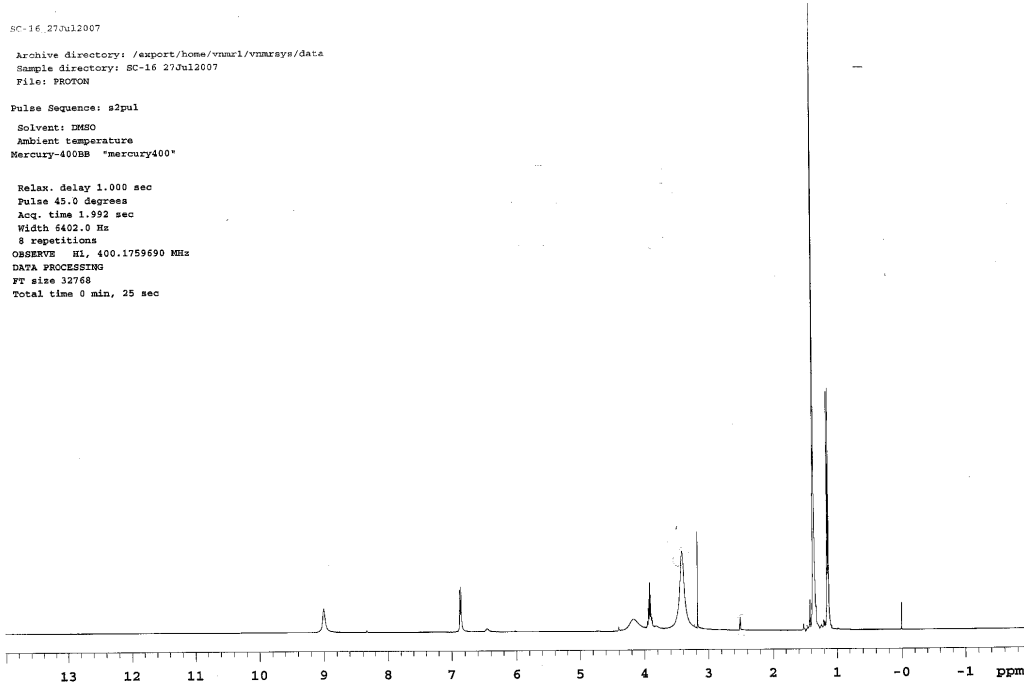
Ticari olarak elde edilen 1.02 g (5 mmol) N-t-Bütoksikarbonil-L-alanin metil esterinin üzerine 3 ml (2.37 g; 0.074 mol) metanol ve 0.31 ml (0.32 g; 0.01 mol) hidrazin hidrat eklendi. **Bölüm 4.2.3**'te tanımlanan yöntemle, % 94.1 verimle 0.96 g (4.71 mmol) beyaz bir çökelek olan N-t-Bütoksikarbonil-L-alanin hidrazid elde edildi. (Erime noktası: 88-91 °C) (Barrett ve ark, 2004)

Kütle m/z (ESI)+ : 226 (M+Na, % 100), 204 (M+1),



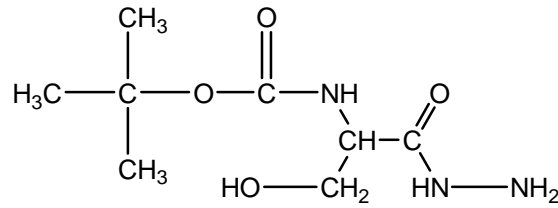
Spektrum 38. Bileşik 5a'nın kütle spektrumu

^1H NMR δ ppm (d_6 -DMSO+ D_2O): 1.14 (3H, d, CH_3), 1.36 [9H, s, $(\text{CH}_3)_3$], 3.92 (1H, m, CH), 4.16 (2H, s, NH_2), 6.86 (1H, d, NH), 9.00 (1H, s, NH)



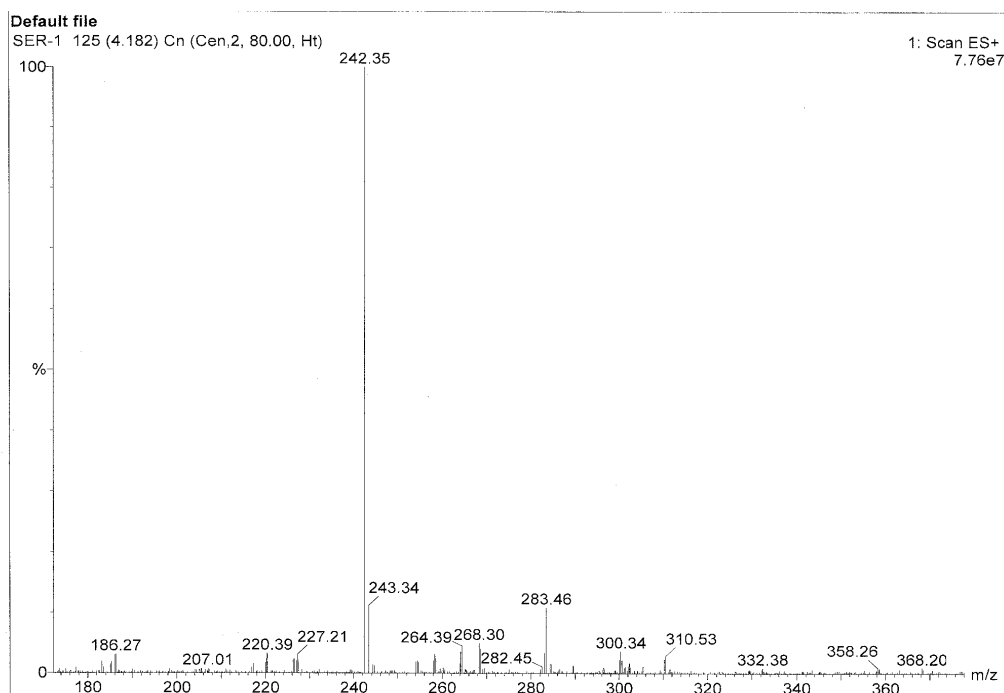
Spektrum 40. Bileşik 5a'nın ^1H NMR spektrumu

4.2.3.8. N-t-Bütoksikarbonil-L-serin Hidrazid Sentezi /5b/



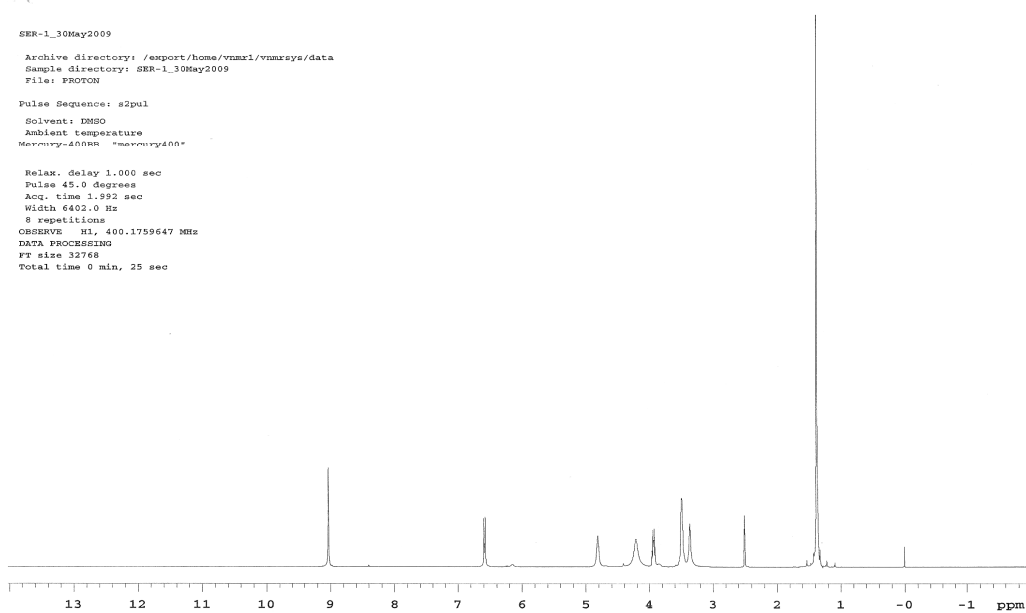
Ticari olarak elde edilen 1.10 g (5 mmol) N-t-Bütoksikarbonil-L-serin metil esterinin üzerine 3 ml (2.37 g; 0.074 mol) metanol ve 0.31 ml (0.32 g; 0.01 mol) hidrazin hidrat eklendi. **Bölüm 4.2.3'**te ayrıntılı olarak verilen yöntemle, % 99 verimle 1.09 g (4.95 mmol) krem rengi çökelek olan N-t-Bütoksikarbonil-L-serin hidrazid çökeleği elde edildi. (Erime noktası: 104 – 105 $^{\circ}\text{C}$) (Lit 106-108 $^{\circ}\text{C}$, Storey ve ark, 1972)

Kütle m/z (ESI)+ : 242 (M+Na, % 100), 220 (M+1),



Spektrum 41. Bileşik 5b'nin kütle spektrumu

^1H NMR δ ppm ($\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$): 1.37 (9H, s, $(\text{CH}_3)_3$), 3.99 (2H, d, CH_2), 3.94 (1H, m, CH), 4.22 (2H, s, NH_2), 4.81 (1H, s, OH), 6.57 (1H, d, NH), 9.02 (1H, s, NH)

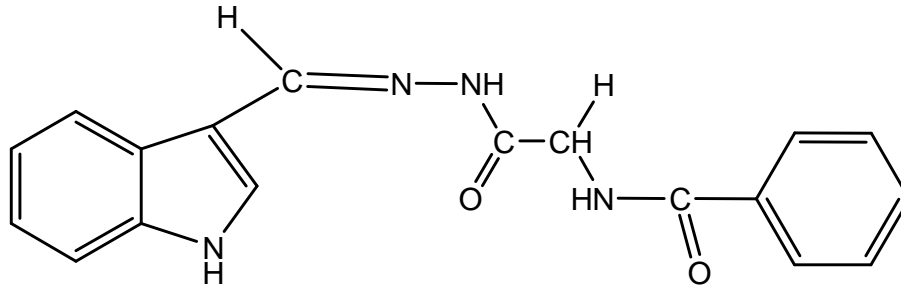


Spektrum 42. Bileşik 5b'nin ^1H NMR spektrumu

4.2.4.1 *H*-indol-3-karboksaldehit Hidrazonlarının Sentezleri

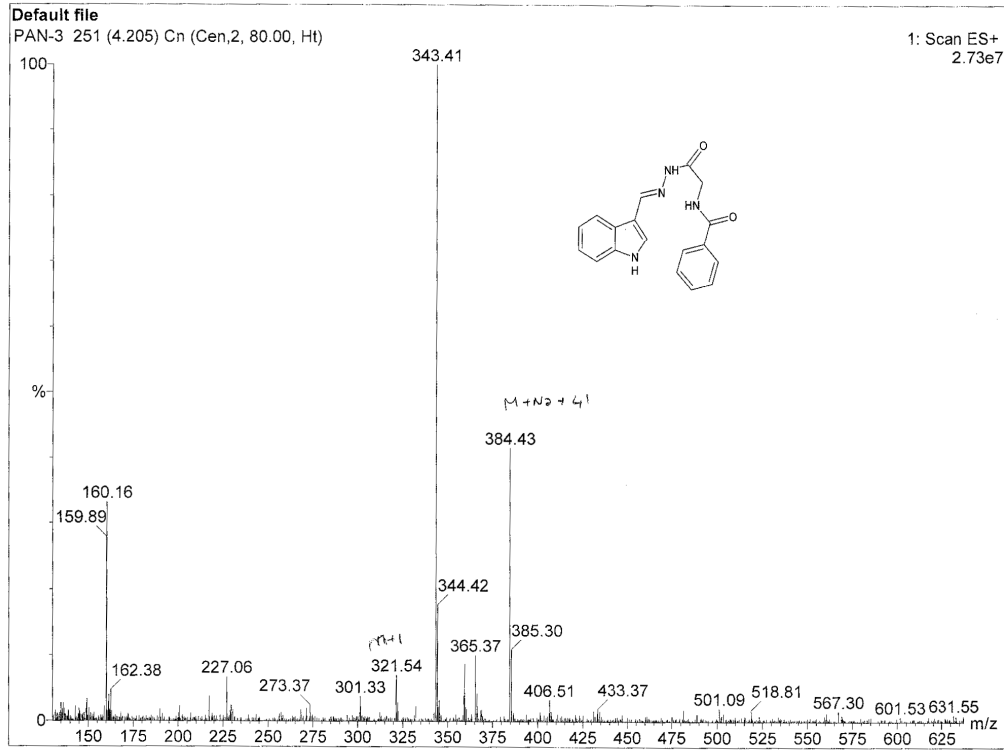
Hedeflenen sonuç ürünlerin sentezi için 1 mmol N-benzoil amino asit hidrazid ya da N-t-bütoksikarbonil amino asit türevi 20 ml (15.76 g; 0.342 mol) etanol (EtOH) içinde çözüldü. Çözeltiye 0.15 g (1 mmol) *1H*-indol-3-karboksaldehitin 10 ml (7.88 g; 0.171 mol) EtOH içindeki çözeltisi eklendi. Reaksiyon karışımı ince tabaka kromatografisiyle takip edilerek etanolün kaynama sıcaklığında (~ 80 °C) geri soğutucu altında başlangıç ürünleri bitene kadar karıştırıldı. Çökelek oluşmuşsa süzülerek ayrıldı.. Solvan rotavaporda uçuruldu. Bu işlem sonunda elde edilen madde etanolden saflaştırıldı. Saflaştırma işlemi gerekli görülen durumlarda tekrarlandı (Koçyiğit-Kaymakçioğlu ve ark, 2006; Gürkök ve ark, 2008).

4.2.4.1 N-Benzoil- glisin(*1H*-indol-3-il)hidrazid sentezi /4a/



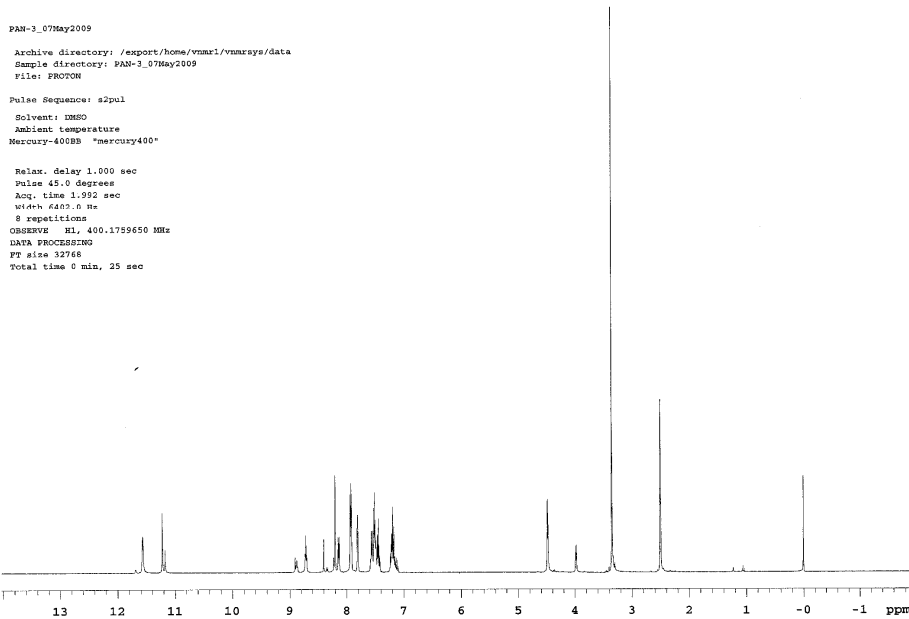
0.19 g (1 mmol) N-benzoil glisin hidrazid 20 ml (15.8 g; 0.342 mol) etanol (EtOH) içinde çözüldü. Çözeltiye 0.15 g (1 mmol) *1H*-indol-3-karboksaldehitin 10 ml (7.88 g; 0.171 mol) EtOH içindeki çözeltisi eklendi. Reaksiyon **Bölüm 4.2.4**'te tanımlanan şekilde sürdürüldü. Reaksiyon sonunda hedef molekül 2:1 etilasetat-hekzan solvan sistemiyle çöktürüldü. % 38.3 verimle 0.13 g (3.825×10^{-4} mol) açık sarı N-Benzoil- glisin(*1H*-indol-3-il)hidrazid çökeleği elde edildi. (Erime noktası: 239 – 239.5 °C)

Kütle m/z (ESI)+ : 321 (M+1), 343 (M+Na, % 100)



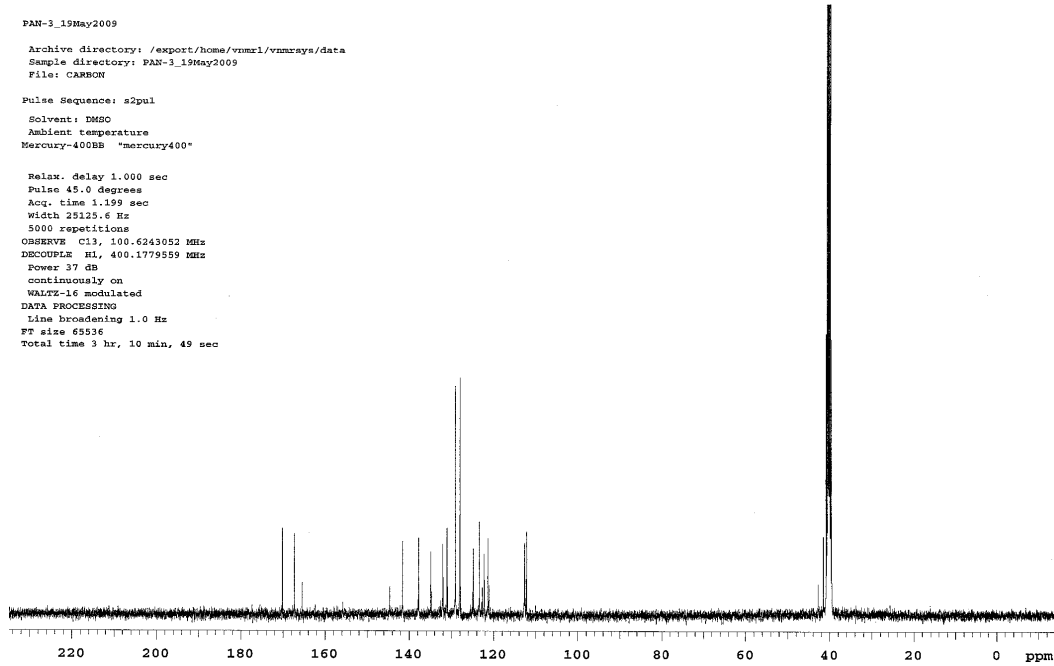
Spektrum 43. Bileşik 4a'nın kütle spektrumu

^1H NMR δ ppm ($\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$): 3.98 (1H, d, NH), 4.48 (2H, d, CH_2), 7.16-8.71 (10H, m, Ar-H), 8.40 (1H, s, azometin-CH), 11.17; 11.22 (1H, 2s, NH), 11.57 (1H, brs, indol-NH)



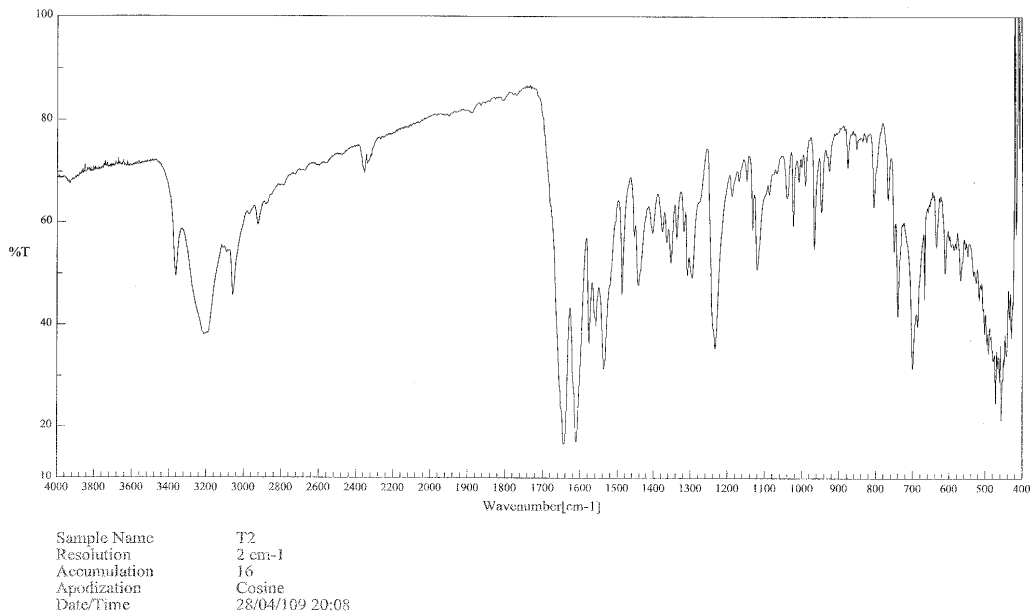
Spektrum 44. Bileşik 4a'nın ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR δ ppm ($\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$): 112.08, 112.61, 121.31, 122.21, 123.32, 124.77, 127.94, 129.03, 131.05, 131.99, 134.87, 137.77, 141.53, 144.57 (azometin C=N), 165.44, 167.29, 170.12



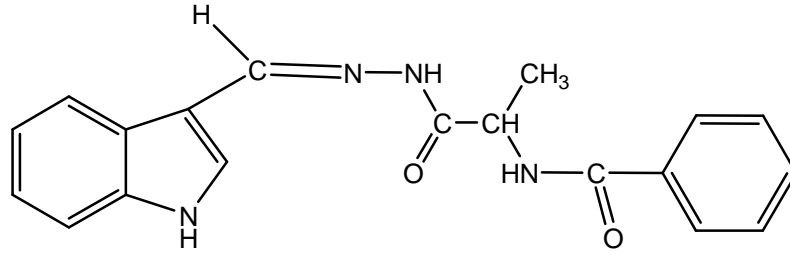
Spektrum 45. Bileşik 4a'nın ^{13}C NMR spektrumu

IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} : 3365 (N-H gerilme bandı), 1611 (Azometin C=N gerilim bandı)



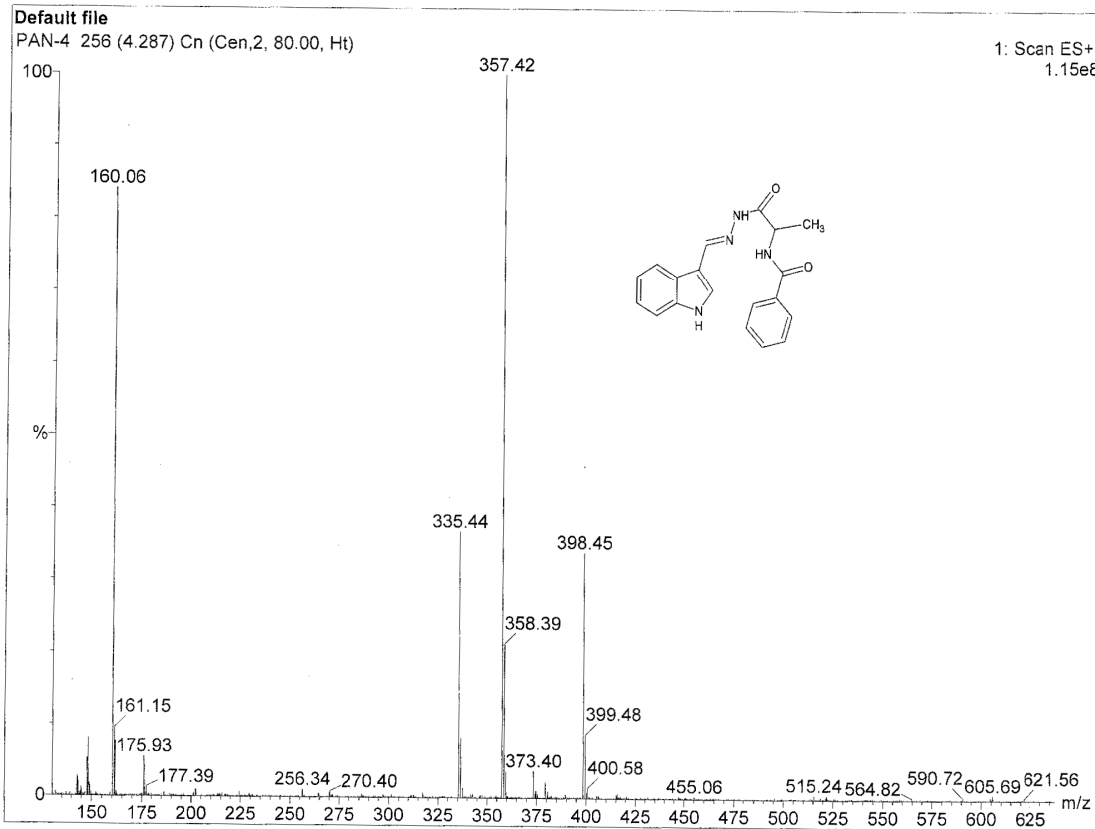
Spektrum 46. Bileşik 4a'nın IR spektrumu

4.2.4.2 N-Benzoil-L-alanin(1H-indol-3-il)hidrazid sentezi /4b/



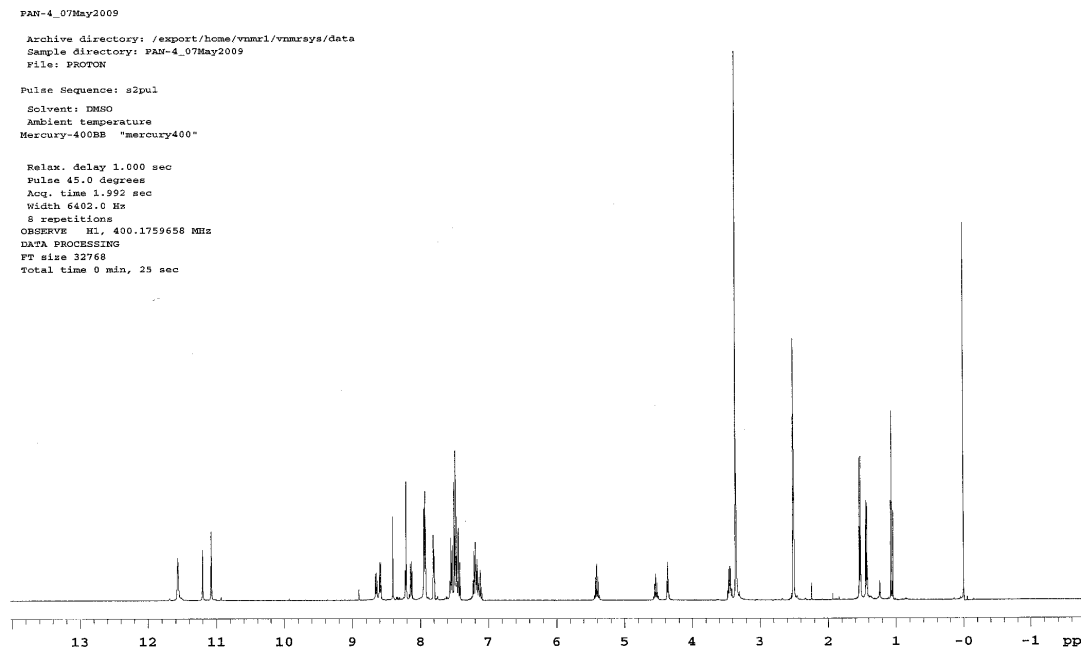
0.21 g (1 mmol) N-benzoil-L-alanin hidrazid 20 ml (15.76 g; 0.342 mol) etanol (EtOH) içinde çözüldü. Çözeltiye 0.15 g (1 mmol) 1H-indol-3-karboksaldehitin 10 ml (7.88 g; 0.171 mol) EtOH içindeki çözeltisi eklendi. Reaksiyon **Bölüm 4.2.4**'te tanımlanan şekilde sürdürüldü.. % 81.16 verimle 0.27 g (8.12×10^{-4} mol) koyu sarı N-Benzoil- L-alanin(1H-indol-3-il)hidrazid kristalleri elde edildi. (Erime noktası: 120 °C'de maddenin renginde koyulaşma oldu.139.7 – 140 °C arasında eridi.)

Kütle m/z (ESI)+ : 335 (M+1), 357 (M+Na, % 100)



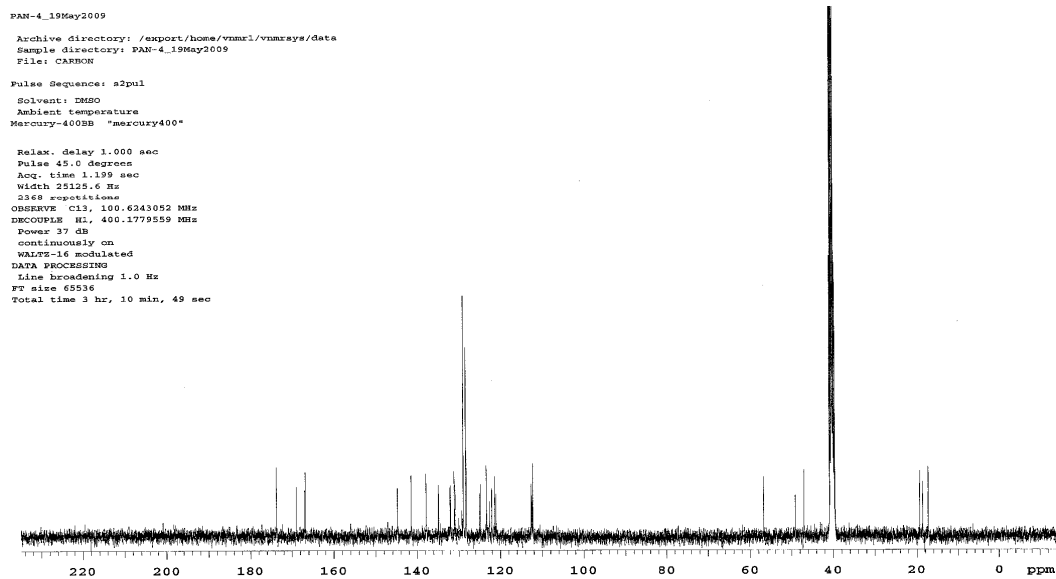
Spektrum 47. Bileşik 4b'nin kütle spektrumu

^1H NMR δ ppm (d_6 -DMSO+ D_2O): 1.42, d; 1.52, d (3H, CH_3), 3.44 (1H, m, NH), 4.54 (1H,m, CH), 7.16-8.65 (10H, m, Ar-H), 8.40 (1H, s, azometin-CH), 11.08; 11.20 (1H, s, NH), 11.56 (1H, s, indol-NH)



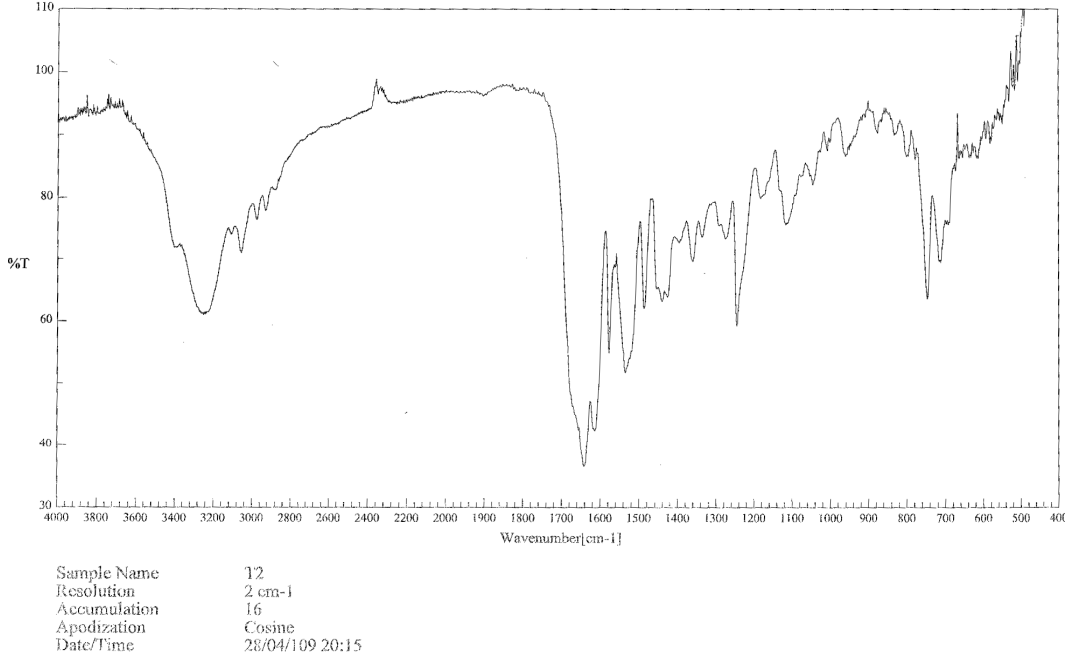
Spektrum 48. Bileşik 4b'nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR δ ppm (d_6 -DMSO+ D_2O): 17.25, 46.93, 40.07, 56.73, 112.14, 120.99, 121.31, 122.02, 122.59, 123.30, 124.77, 128.17, 131.06, 131.92, 134.85, 137.79, 141.45, 144.73 (azometin C=N), 166.77, 168.93, 173.73



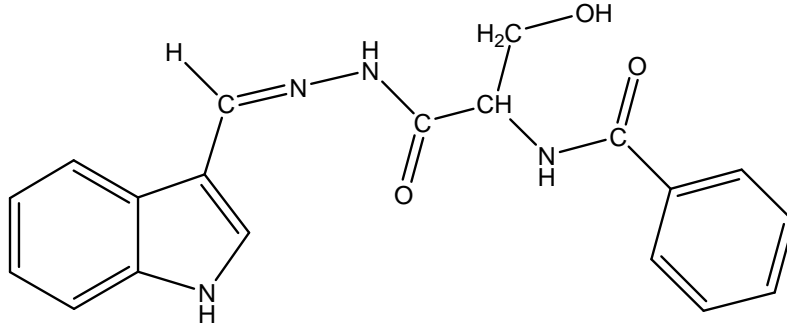
Spektrum 49. Bileşik 4b'nin ^{13}C NMR spektrumu

IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} : 3249 (N-H gerilim bandı), 1641 (Azometin C=N gerilim bandı)



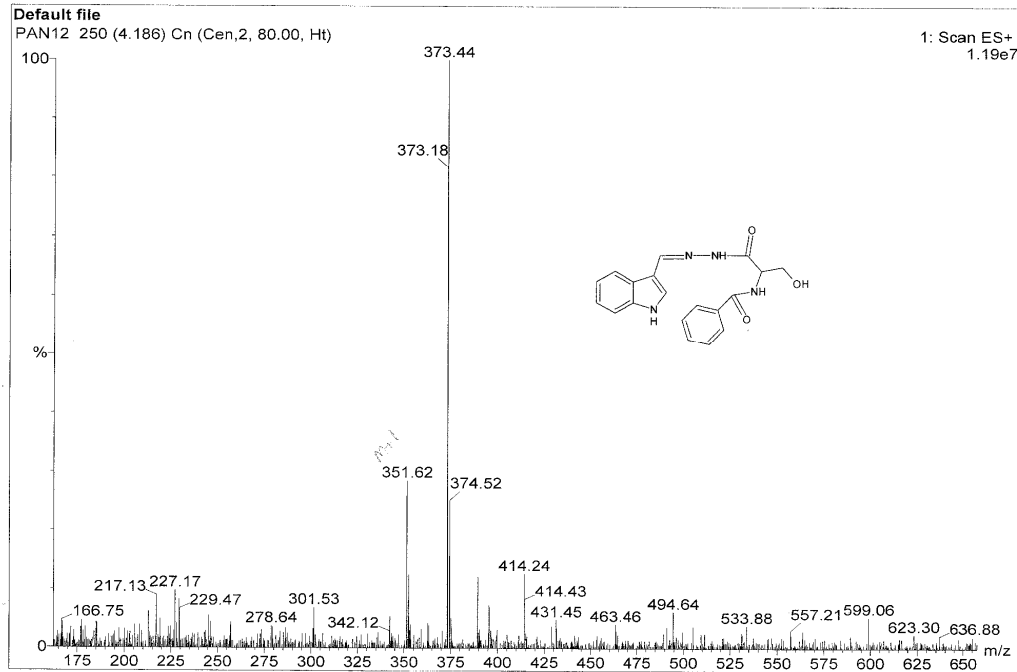
Spektrum 50. Bileşik 4b'nin IR spektrumu

4.2.4.3 N-Benzoil-D-serin(1H-indol-3-il)hidrazid Sentezi /4c/



0.22 g (1 mmol) N-benzoil-L-serin hidrazid 20 ml (15.76 g; 0.342 mol) etanol (EtOH) içinde çözüldü. Çözeltiye 0.15 g (1 mmol) 1H-indol-3-karboksaldehitin 10 ml (7.88 g; 0.171 mol) EtOH içindeki çözeltisi eklendi. Reaksiyon **Bölüm 4.2.4**'te tanımlanan şekilde sürdürüldü. % 60.6 verimle 0.21 g (6.06×10^{-4} mol) yeşilimsi sarı N-Benzoil- L-serin(1H-indol-3-il)hidrazid kristalleri elde edildi. (Erime noktası: 95 °C'de yanma, 123 – 126 °C'de erime gerçekleşti)

Kütle m/z (ESI)+ : 351 (M+1), 373 (M+Na, % 100)



Spektrum 51. Bileşik 4c'nin kütle spektrumu

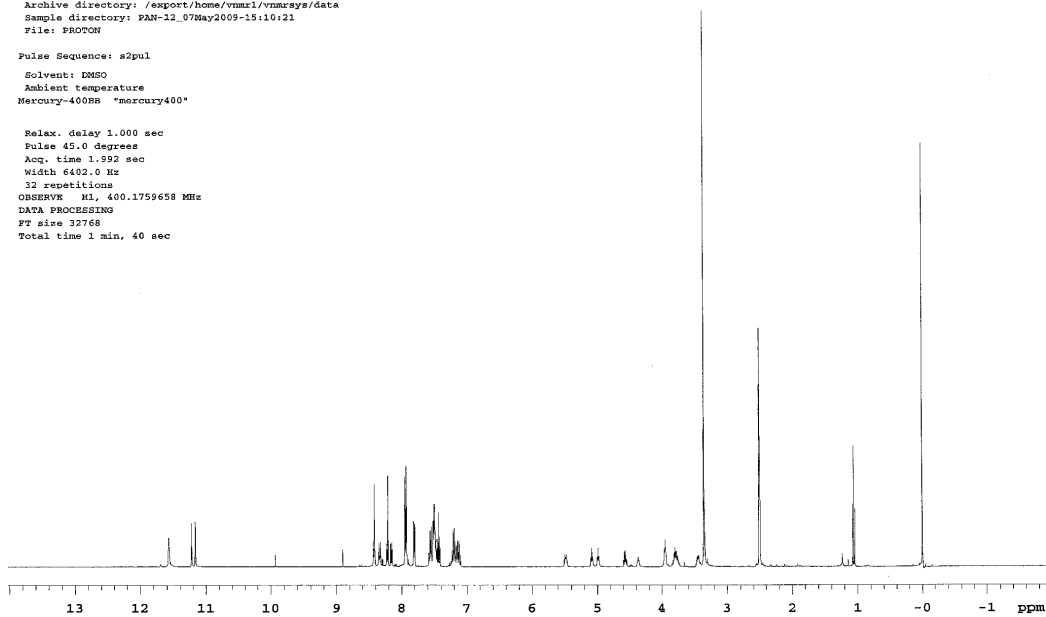
^1H NMR δ ppm (d_6 -DMSO+ D_2O): 3.76 (1H, m, NH), 3.94 (1H, brs, OH), 4.56 (1H, m, CH) 4.99-5.04 (2H, 2m, CH_2), 7.16-8.42 (10H, m, Ar-H), 8.42 (1H, s, azometin-CH), 11.16; 11.22 (1H, 2s, NH), 11.57 (1H, brs, indol-NH)

PAN-12_07May2009-15:10:21

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory: PAN-12_07May2009-15:10:21
File: PROTON

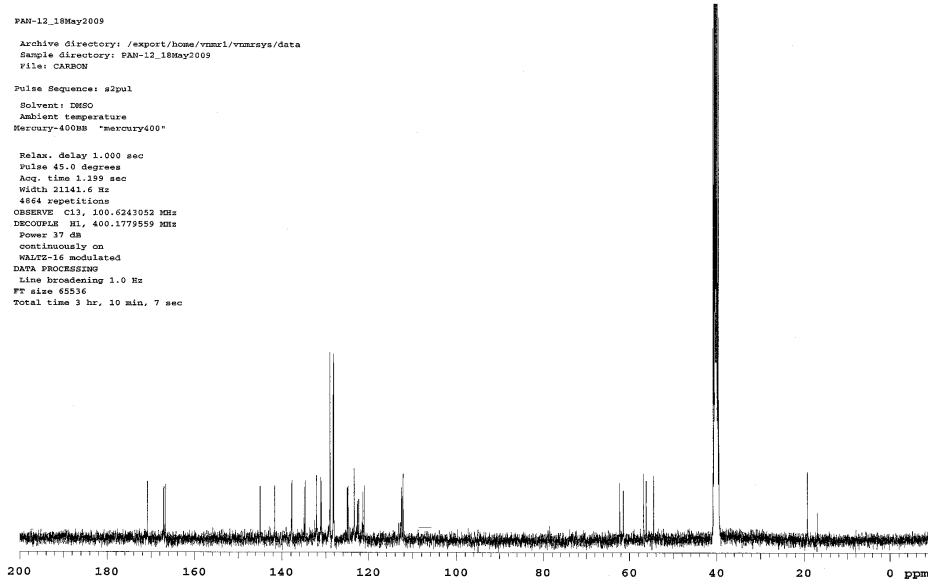
Pulse Sequence: s2pul
Solvent: DMSO
Ambient temperature
Mercury-400SB "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.992 sec
Width 6402.0 Hz
32 repetitions
OBSERVE H1, 400.1759658 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 1 min, 40 sec



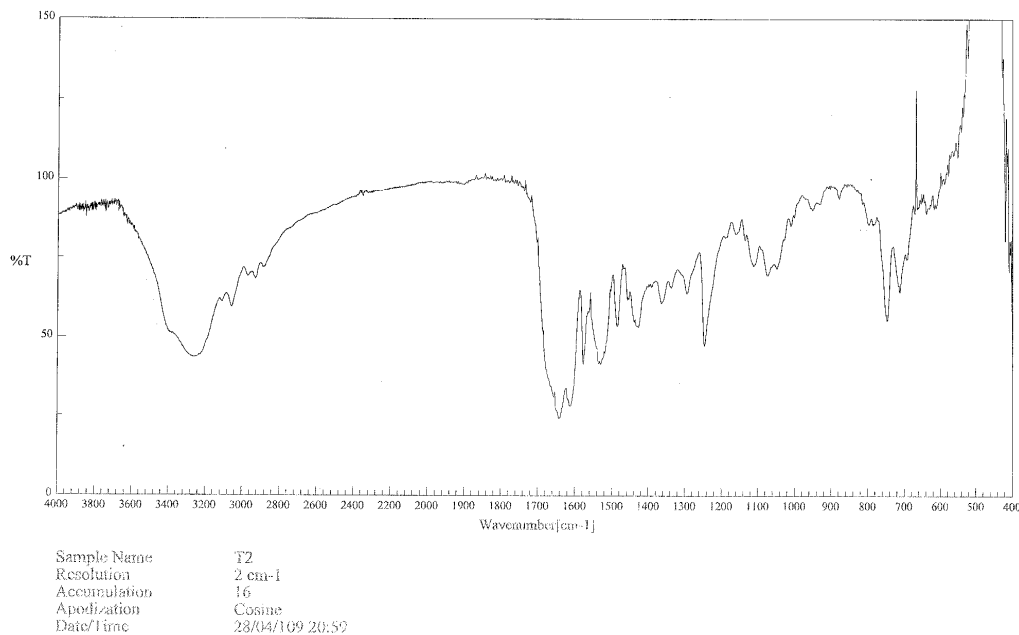
Spektrum 52. Bileşik 4c'nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR δ ppm ($\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$): 54.51, 56.19, 56.73, 61.40, 62.26, 112.107, 121.02, 122.26, 123.27, 124.74, 134.71, 137.68, 141.61, 144.90 (azometin C=N), 166.63, 167.02, 170.87



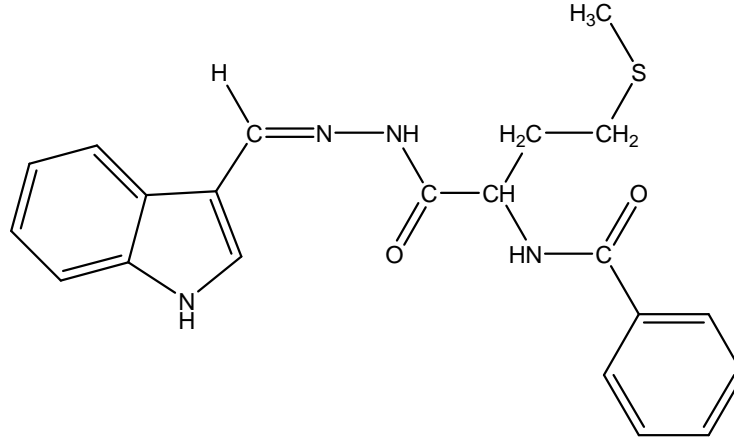
Spektrum 53. Bileşik 4c'nin ^{13}C NMR spektrumu

IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} : 3260 (N-H gerilim bandı), 1642 (Azometin C=N gerilim bandı)



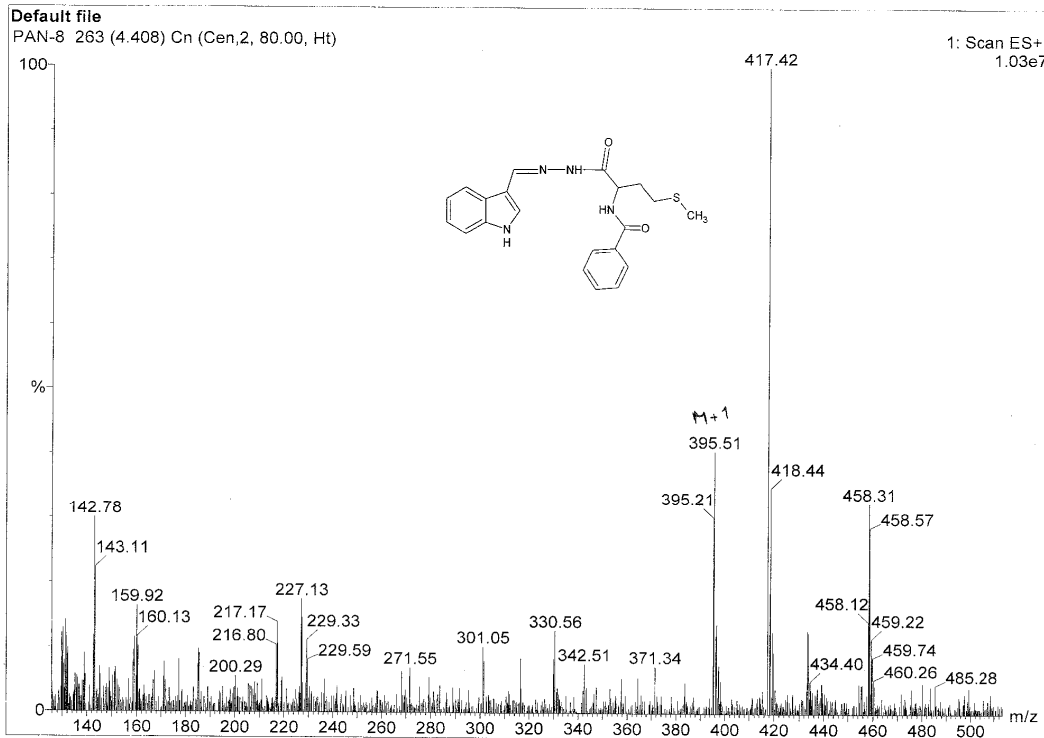
Spektrum 54. Bileşik 4c'nin IR spektrumu

4.2.4.4 N-Benzoil-L-metiyonin(1H-indol-3-il)hidrazid Sentezi /4d/



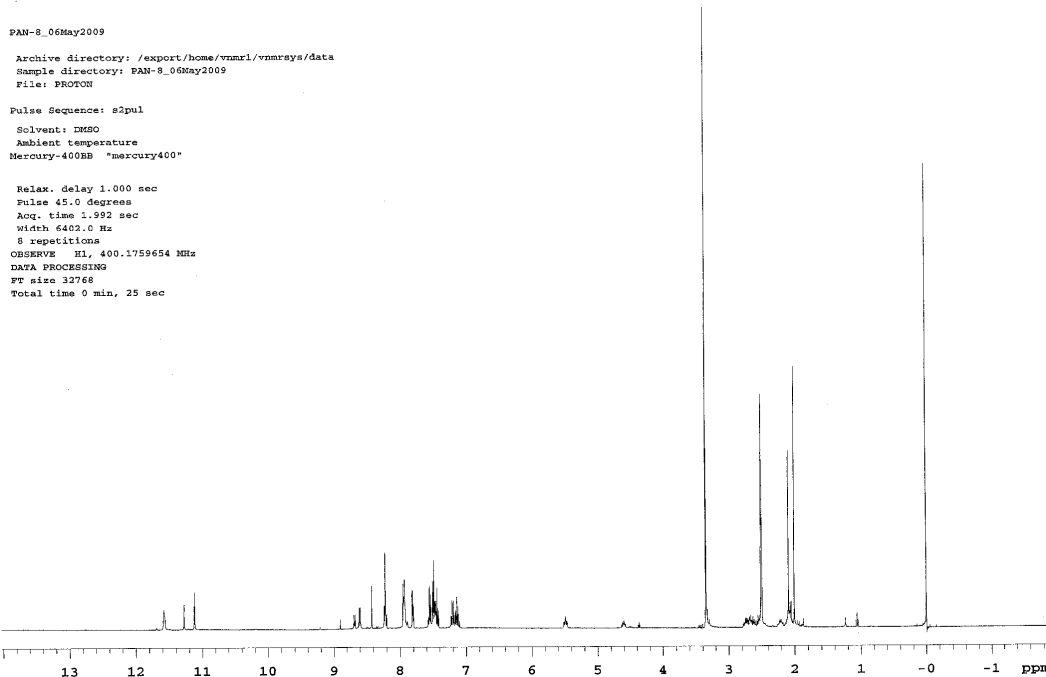
0.27 g (1 mmol) N-benzoil-L-metiyonin hidrazid 20 ml (15.76 g; 0.342 mol) etanol (EtOH) içinde çözüldü. Çözeltiye 0.15 g (1 mmol) 1H-indol-3-karboksaldehitin 10 ml (7.88 g; 0.171 mol) EtOH içindeki çözeltisi eklendi. Reaksiyon **Bölüm 4.2.4**'te detaylı anlatılan şekilde sürdürüldü. %33 verimle 0.13 g (3.30×10^{-4} mol) kanarya sarısı N-benzoil-L-metiyonin (1H-indol-3-il)hidrazid kristalleri elde edildi. (Erime noktası: 107 °C)

Kütle m/z (ESI)+ : 395 (M+1), 417 (M+Na, % 100), 458 (M+Na+asetonitril)



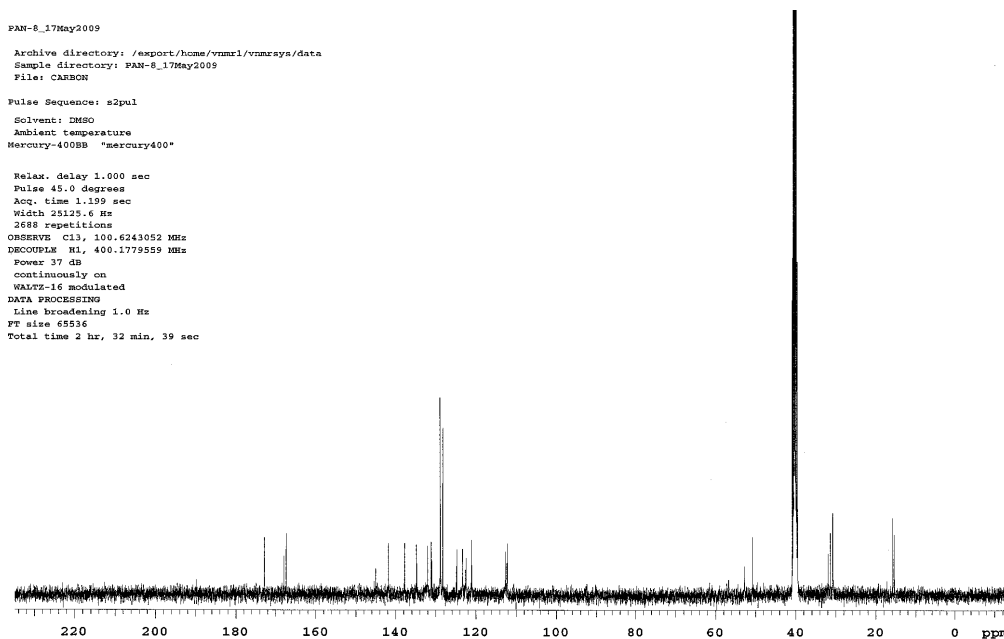
Spektrum 55. Bileşik 4d'nin kütle spektrumu

^1H NMR δ ppm (d_6 -DMSO+D₂O): 1.04 (2H, m, S-CH₂), 2.00 (3H, s, S-CH₃), 2.53-2.74 (2H, m, CH₂-CH₂), 4.37 (1H, t, CH), 4.60 (1H, m, NH), 7.16-8.68 (10H, m, Ar-H), 8.42 (1H, s, azometin-CH), 11.12; 11.27 (1H, 2s, NH), 11.58 (1H, brs, indol-NH)



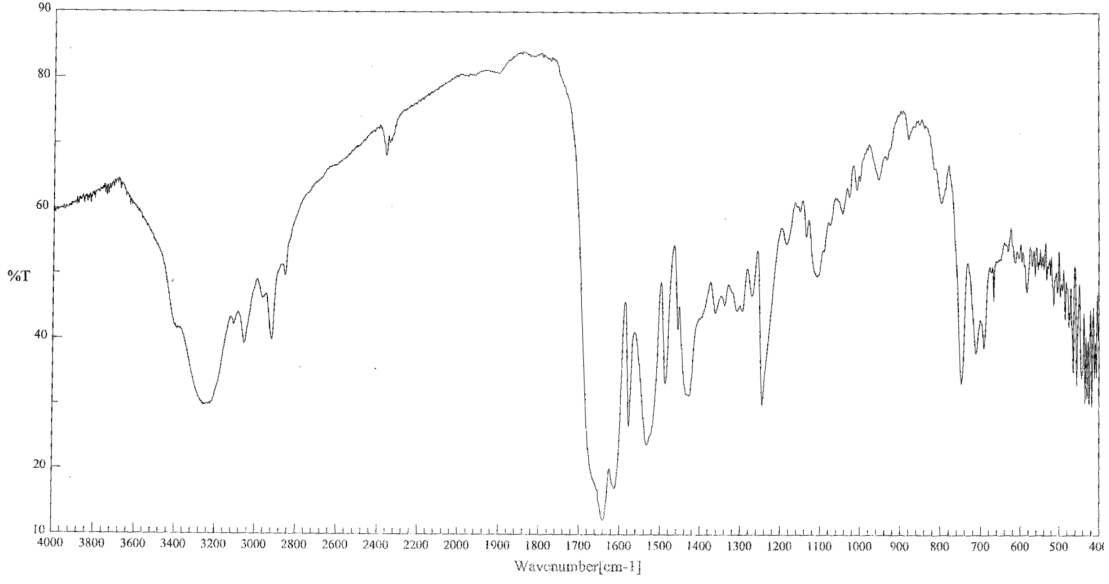
Spektrum 56. Bileşik 4d'nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR δ ppm (d_6 -DMSO+D₂O): 15.36, 30.74, 50.76, 112.06, 121.011, 122.43, 123.35, 124.73, 128.23, 130.98, 134.69, 137.68, 141.77, 144.99 (azometin C=N), 167.36, 172.79



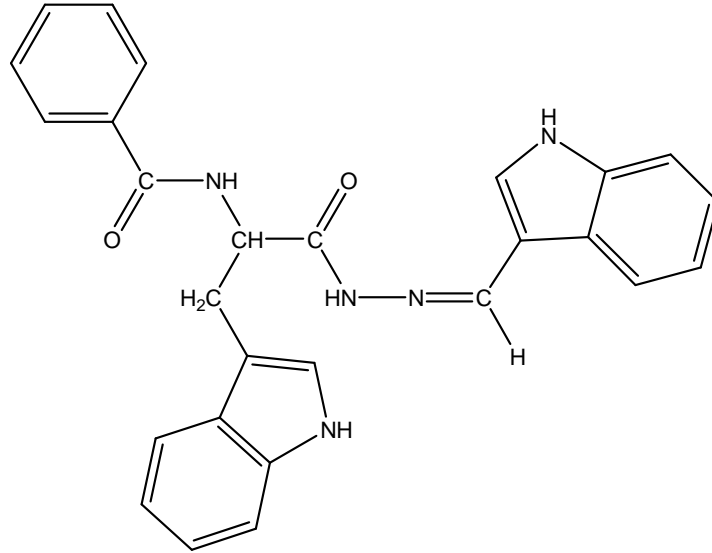
Spektrum 57. Bileşik 4d'nin ^{13}C NMR spektrumu

IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} : 3258 (N-H gerilim bandı), 1639 (Azometin C=N gerilim bandı)



Spektrum 58. Bileşik 4d'nin IR spektrumu

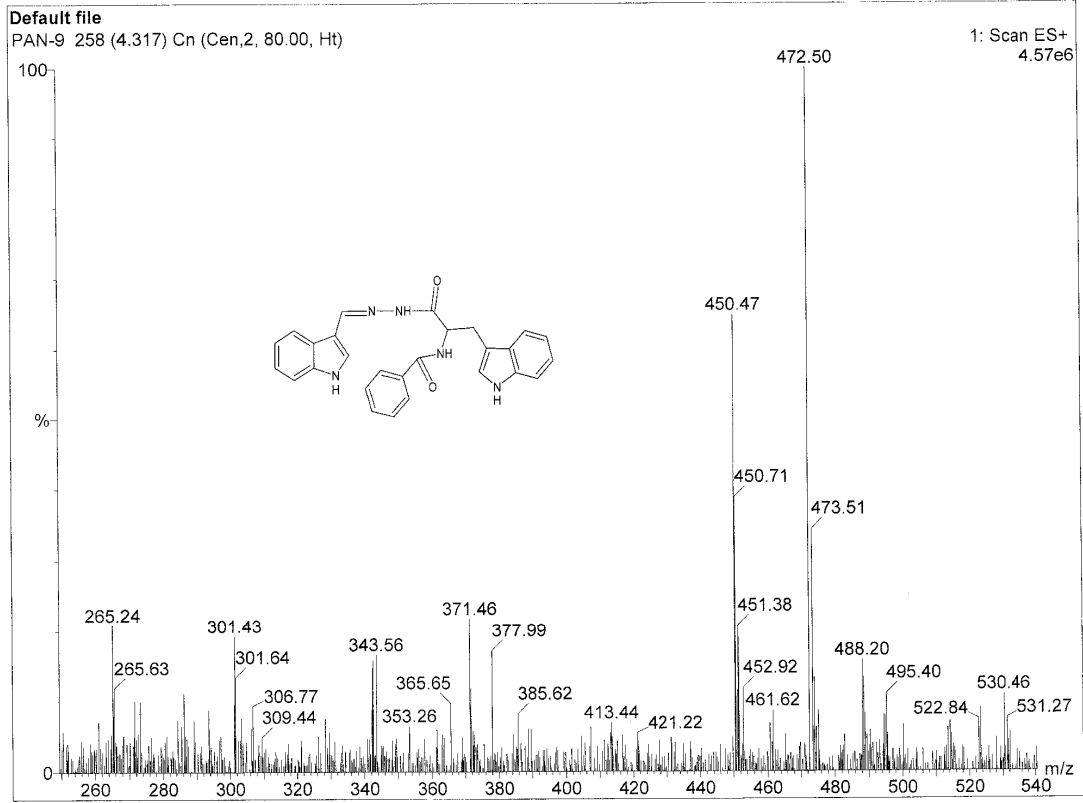
4.2.4.5 N-Benzoil-L-triptofan(1H-indol-3-il)hidrazid Sentezi /4e/



0.32 g (1 mmol) N-benzoil-L-triptofan hidrazid 20 ml (15.76 g; 0.342 mol) etanol (EtOH) içinde çözüldü. Çözeltiye 0.145 g (1 mmol) 1H-indol-3-karboksaldehitin 10 ml (7.88 g;

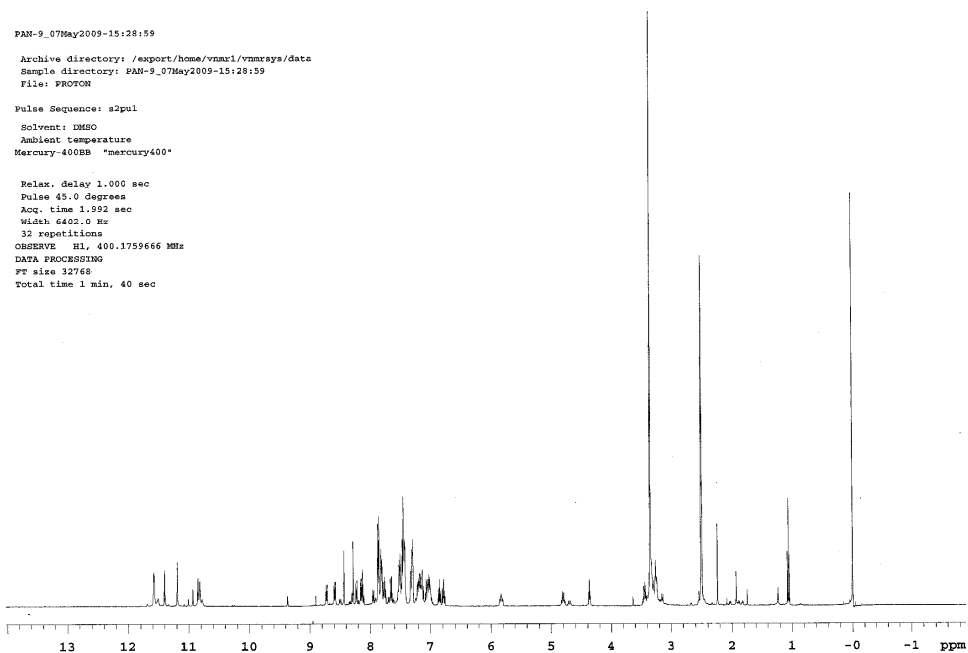
0.171 mol) EtOH içindeki çözeltisi eklendi. Reaksiyon **Bölüm 4.2.4**'te detaylı anlatılan şekilde sürdürüldü. % 55.6 verimle 0.25 g (5.56×10^{-4} mol) açık yeşil N-Benzoil-L-triptofan (1*H*-indol-3-il)hidrazid kristalleri elde edildi. (Erime noktası: 118 °C'de dekompoze olduğu gözlenmiştir)

Kütle m/z (ESI)+ : 450 (M+1), 472 (M+Na, % 100).



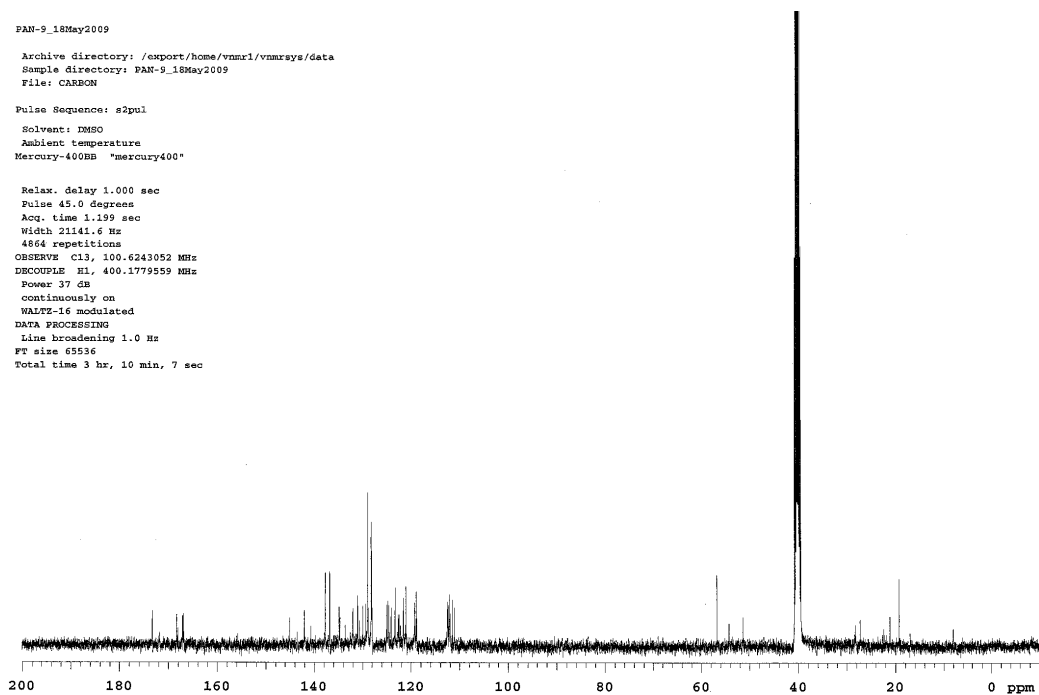
Spektrum 59. Bileşik 4e'nin kütle spektrumu

^1H NMR δ ppm (d_6 -DMSO+D₂O): 3.29 (2H, m, CH₂), 4.36 (1H, m, CH), 4.79 (1H, m, NH), 6.76-8.73 (15H, m, Ar-H), 8.43 (1H, s, azometin-CH), 10.83 (1H, d, NH) 11.19; 11.40 (1H, 2s, NH), 11.58 (1H, brs, indol-NH)



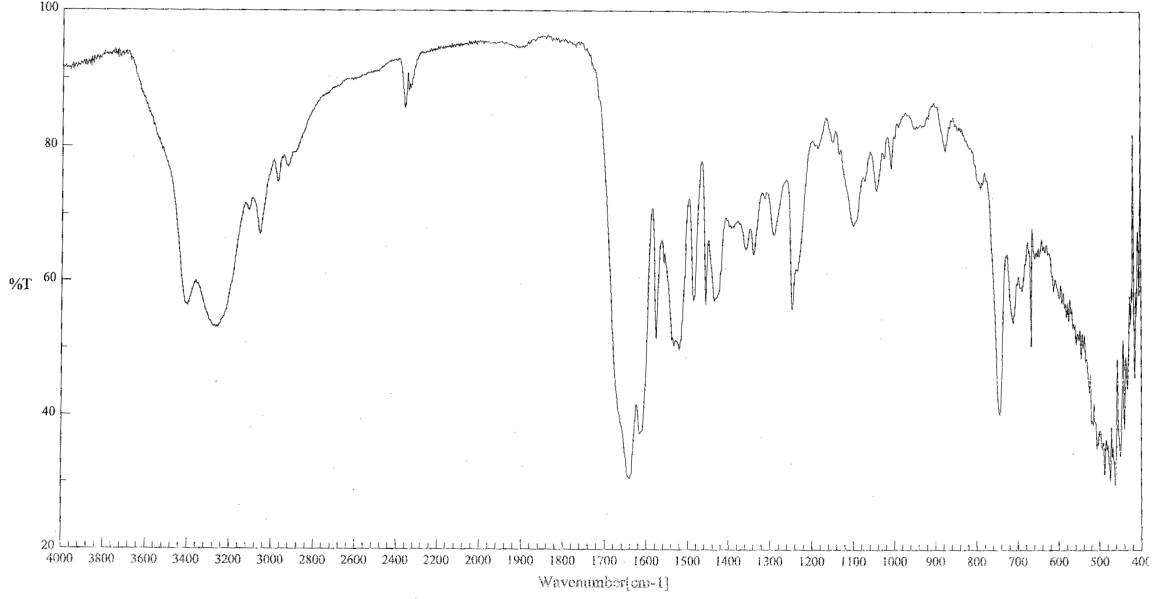
Spektrum 60. Bileşik 4e'nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR δ ppm (d_6 -DMSO+D₂O): 19.22, 56.74, 111.48, 112.22, 118.93, 121.04, 121.55, 122.44, 123.24, 124.05, 124.75, 128.09, 128.87, 131.00, 131.94, 134.84, 136.76, 137.69, 140.70, 142.05, 145.041 (azometin C=N), 66.92, 168.29, 173.30 167.36, 172.79



Spektrum 61. Bileşik 4e'nin ^{13}C NMR spektrumu

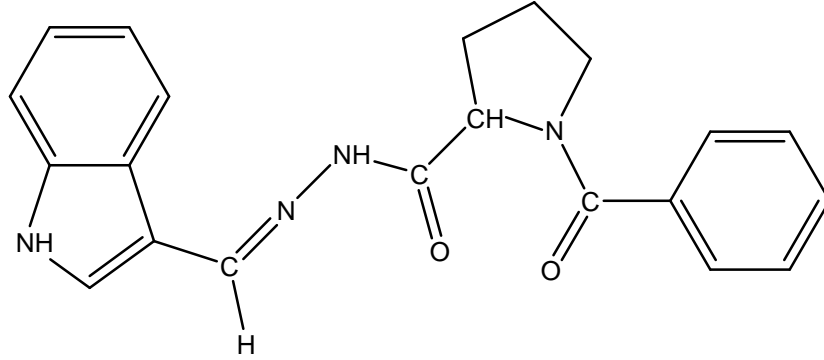
IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} : 3399 (N-H gerilim bandı), 1641 (Azometin C=N gerilim bandı)



Sample Name T2
Resolution 2 cm^{-1}
Accumulation 16
Apodization Cosine
Date/Time 28/04/109 21:08

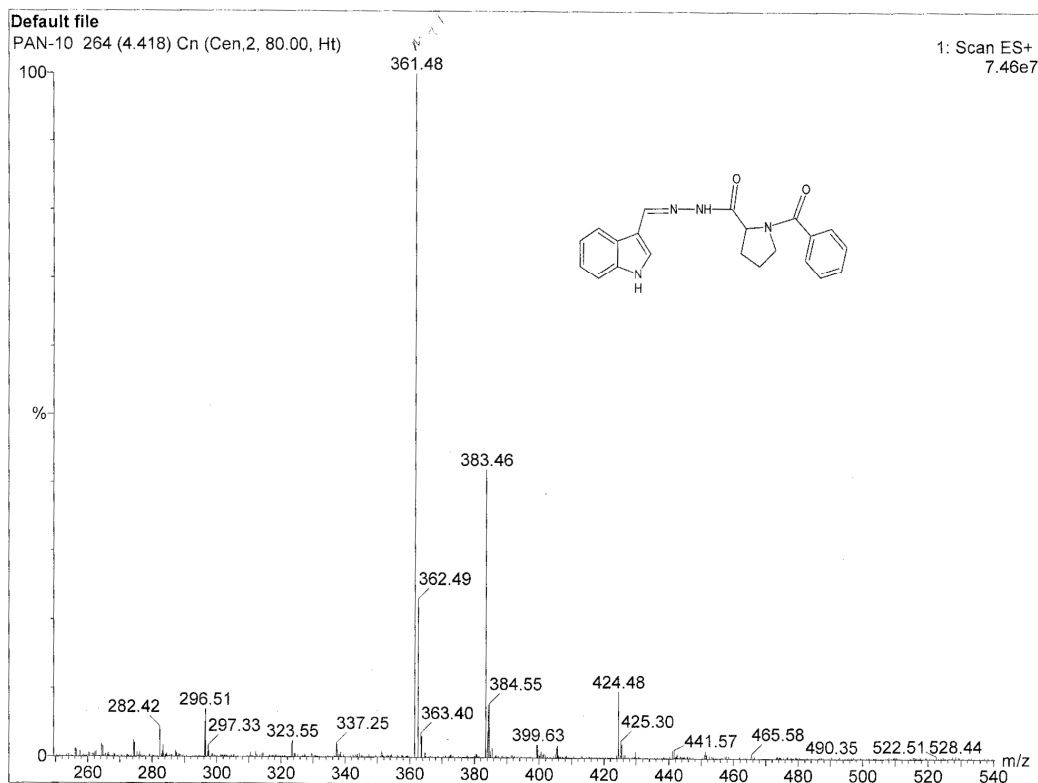
Spektrum 62. Bileşik 4e'nin IR spektrumu

4.2.4.6 N-Benzoil-L-prolin(1H-indol-3-il)hidrazid Sentezi /4f/



0.23 g (1 mmol) N-benzoil-L-prolin hidrazid 20 ml (15.76 g; 0.342 mol) etanol (EtOH) içinde çözüldü. Çözeltiye 0.15 g (1 mmol) 1H-indol-3-karboksaldehitin 10 ml (7.88 g; 0.171 mol) EtOH içindeki çözeltisi eklendi. Reaksiyon **Bölüm 4.2.4**'te tanımlanan şekilde sürdürüldü. % 25.6 verimle 0.09 g (2.56×10^{-4} mol) sarı N-Benzoil-L-prolin (1H-indol-3-il)hidrazid kristalleri elde edildi. (Erime noktası: 105 – 106 °C)

Kütüle m/z (ESI)+ : 361 (M+1, % 100), 383 (M+Na,)



Spektrum 63. Bileşik 4f'nin kütle spektrumu

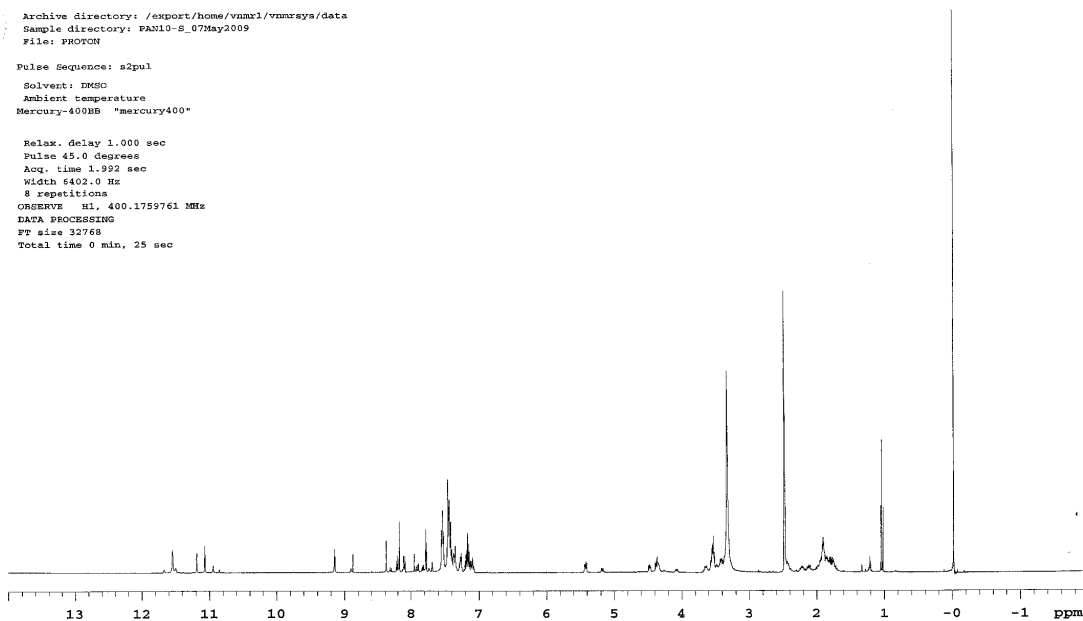
^1H NMR δ ppm (d_6 -DMSO+ D_2O): 1.73-2.12 (6H, m, $(\text{CH}_2)_3$), 5.45 (1H, m, CH), 7.10-8.24 (10H, m, Ar-H), 8.40 (1H, s, azometin-CH), 11.09; 11.21 (1H, 2s, NH), 11.69 (1H, brs, indol-NH)

PAN10-S_07May2009

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory: PAN10-S_07May2009
File: PROTON

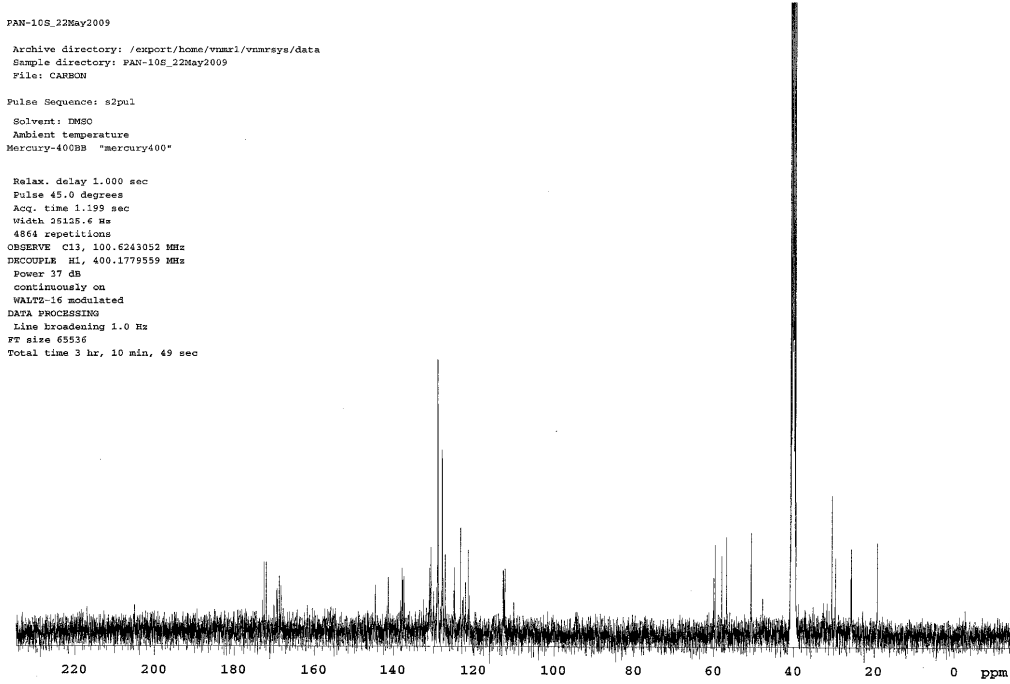
Pulse Sequence: s2pul
Solvent: DMSO
Ambient temperature
Mercury-400NB "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.992 sec
Width 6402.0 Hz
8 repetitions
OBSERVE s1, 400.1759761 MHz
DATA PROCESSING
F2 size 32768
Total time 0 min, 28 sec



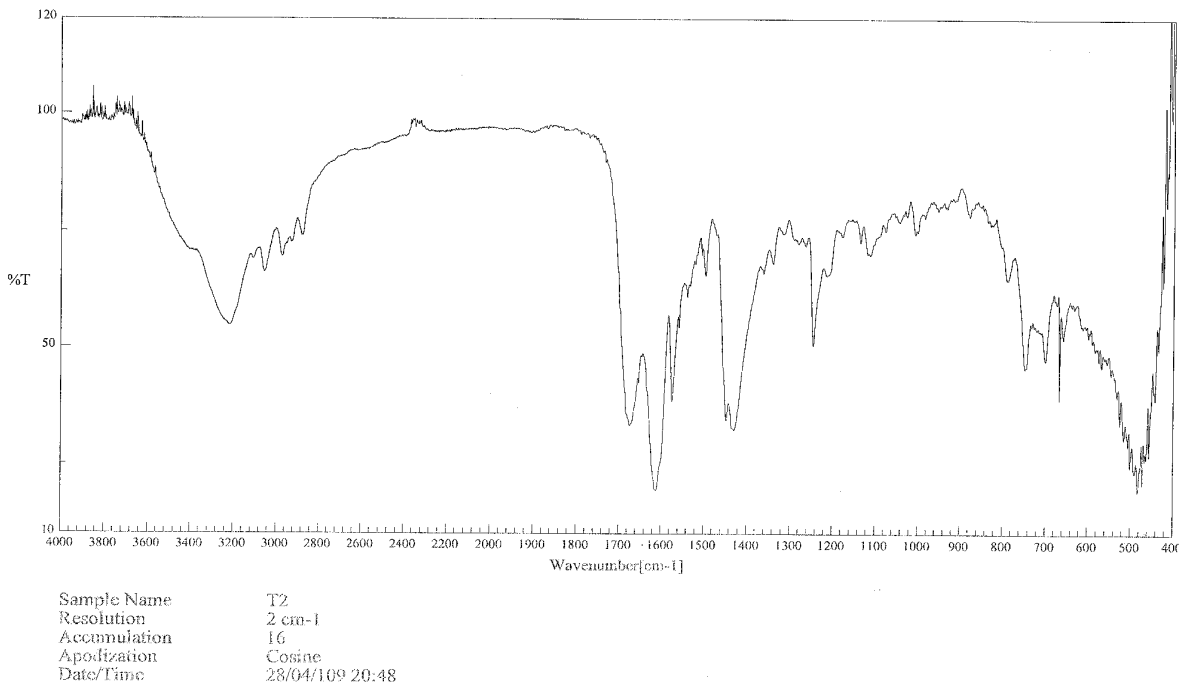
Spektrum 64. Bileşik 4f'nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR δ ppm ($\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$): 112.08, 112.61, 121.31, 122.21, 123.32, 124.77, 127.94, 129.03, 131.05, 131.99, 134.87, 137.77, 141.53, 144.57 (azometin C=N), 165.44, 167.29, 170.12



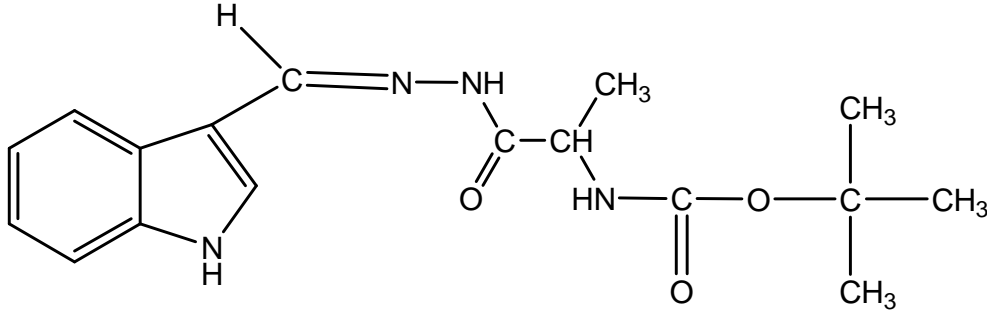
Spektrum 65. Bileşik 4f'nin ^{13}C NMR spektrumu

IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} : 3317 (N-H gerilim bandı), 1611 (Azometin C=N gerilim bandı)



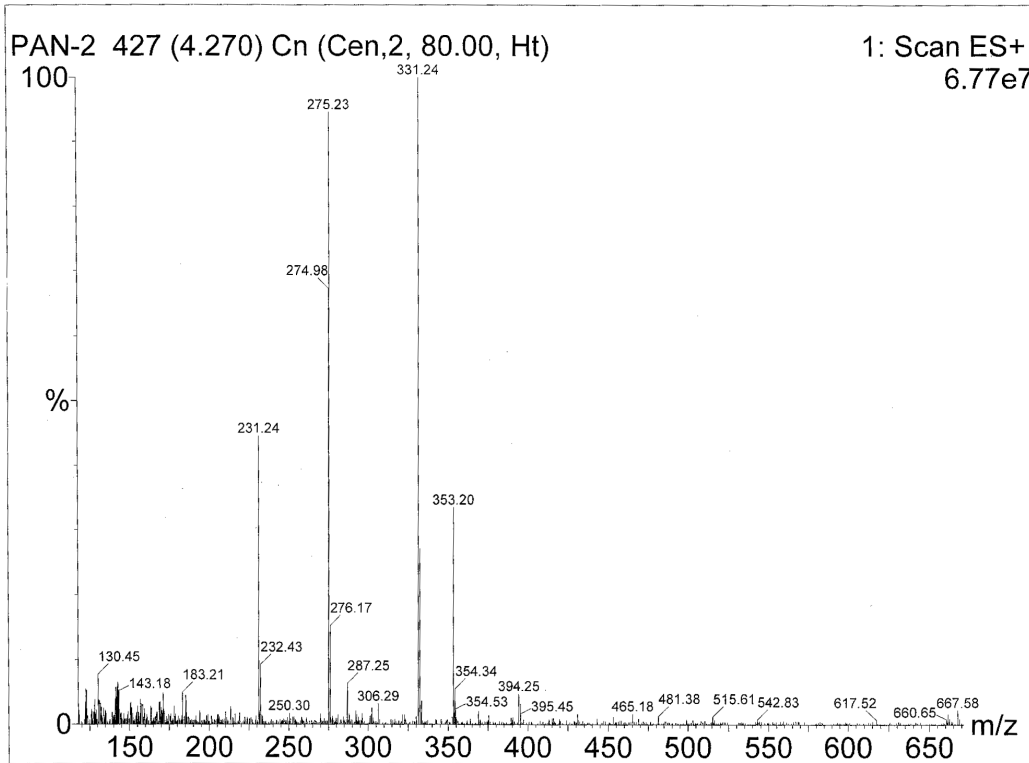
Spektrum 66. Bileşik 4f'nin IR spektrumu

4.2.4.7 N-t-bütoksikarbonil-L-alanin(1H-indol-3-il)hidrazid Sentezi /6a/



0.20 g (1 mmol) N-t-bütoksikarbonil-L-alanin 20 ml (15.76 g; 0.342 mol) etanol (EtOH) içinde çözüldü. Çözeltiye 0.15 g (1 mmol) 1H-indol-3-karboksaldehitin 10 ml (7.88 g; 0.171 mol) EtOH içindeki çözeltisi eklendi. Reaksiyon **Bölüm 4.2.4**'te detaylı anlatılan şekilde sürdürüldü. Reaksiyon sonunda hedef molekül 4:1 etilasetat-hekzan solvan sistemiyle çöktürüldü. % 21.7 verimle 0.072 g (2.17×10^{-4} mol) çok açık sarı N-t-bütoksikarbonil-L-alanin (1H-indol-3-il)hidrazid çökeleği elde edildi. (Erime noktası: 176.5 – 177 °C)

Kütle m/z (ESI)+ : 361 (M+1, % 100), 383 (M+Na)



Spektrum 67. Bileşik 6a'nın kütle spektrumu

¹H NMR δ ppm (d₆-DMSO+D₂O): 1.23;1.32 (3H, 2d, CH₃), 1.38 (9H, s, (CH₃)₃), 4.02 (1H, m, NH), 4.90 (1H, m, CH), 6.95-8.90 (5H, m, Ar-H), 8.36 (1H, s, azometin-CH), 10.96; 11.07 (1H, 2s, NH), 11.55 (1H, brs, indol-NH)

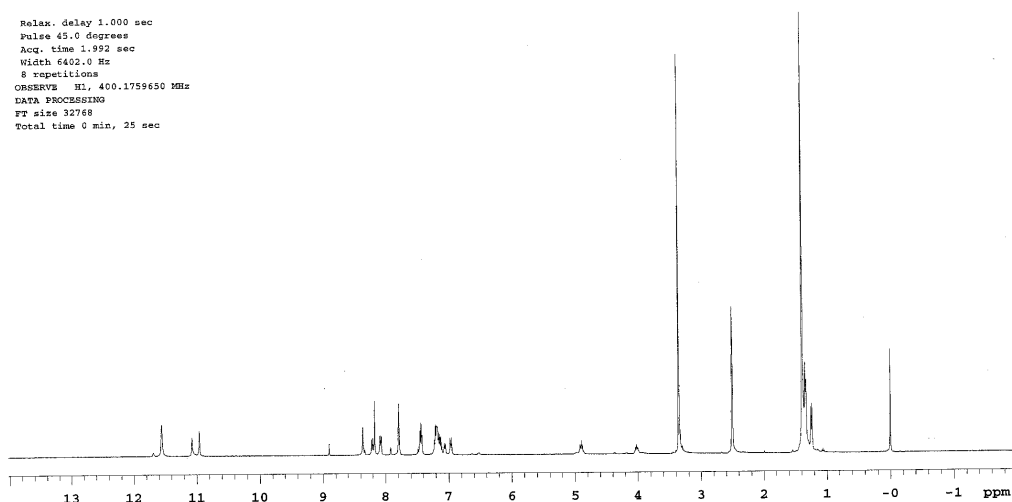
PAN-2_02May2009

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory: PAN-2_02May2009
File: PROTON

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO
Ambient temperature
Mercury-400BB "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.992 sec
Width 6402.0 Hz
S repetitions
OBSERVE H1, 400.1759650 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 0 min, 25 sec



Spektrum 68. Bileşik 6a'nın ¹H NMR spektrumu

¹³C NMR δ ppm (d₆-DMSO+D₂O): 17.49, 24.63, 28.93, 47.44, 56.50, 61.82, 709.70, 78.48, 112.08, 120.97, 121.28, 122.57, 123.27, 131.03, 135.99, 137.66, 141.34, 142.83, 145.41 (azometin C=N), 152.96, 155.79, 157.37

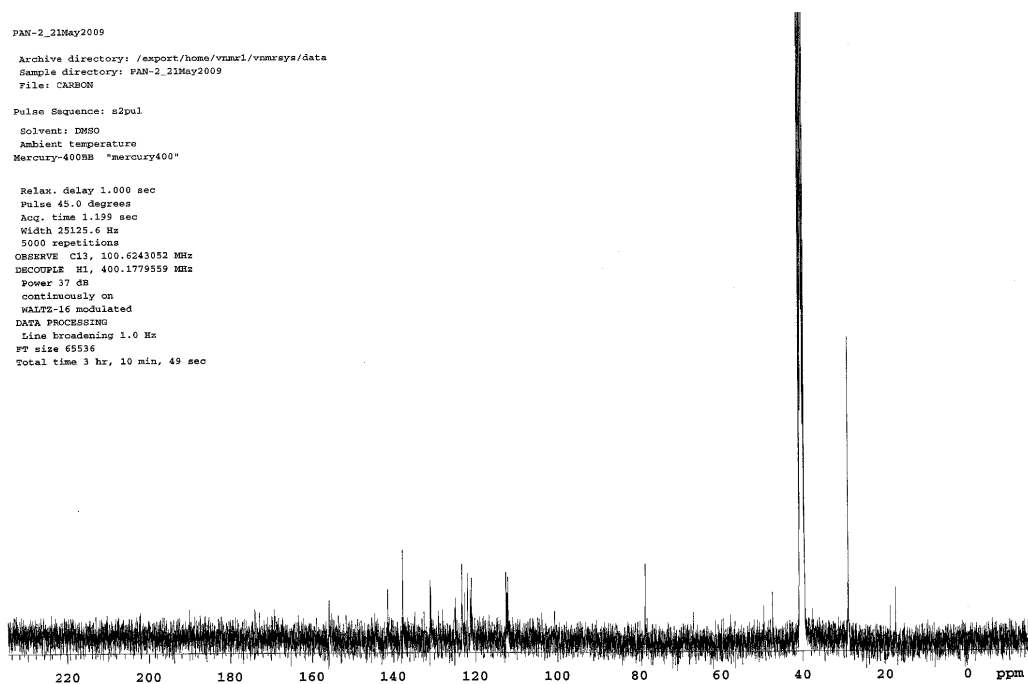
PAN-2_21May2009

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrsys/data
Sample directory: PAN-2_21May2009
File: CARBON

Pulse Sequence: s2pul

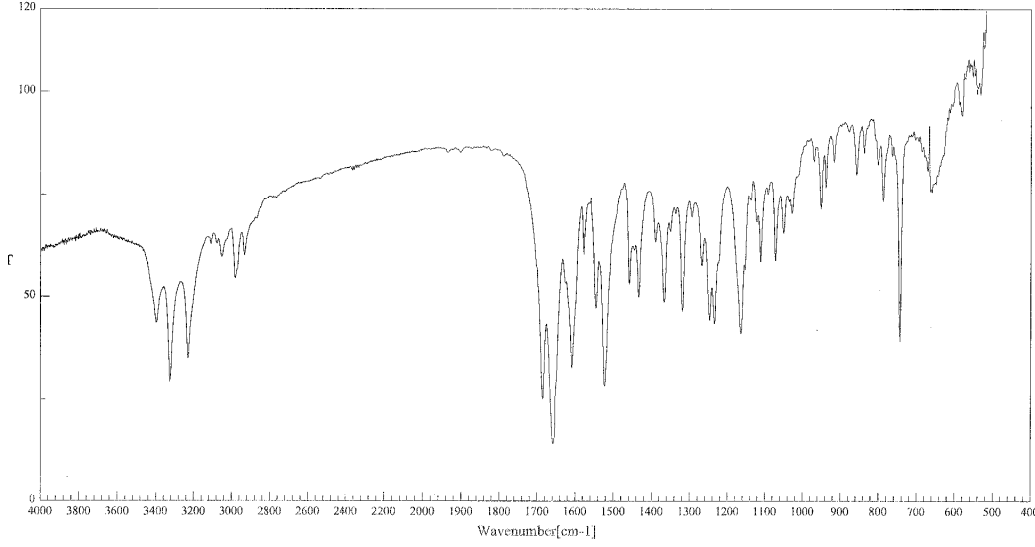
Solvent: DMSO
Ambient temperature
Mercury-400BB "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.199 sec
Width 25125.6 Hz
5000 repetitions
OBSERVE C13, 100.6243052 MHz
DECOUPLE H1, 400.1779559 MHz
Power 37 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 65536
Total time 3 hr, 10 min, 49 sec



Spektrum 69. Bileşik 6a'nın ¹³C NMR spektrumu

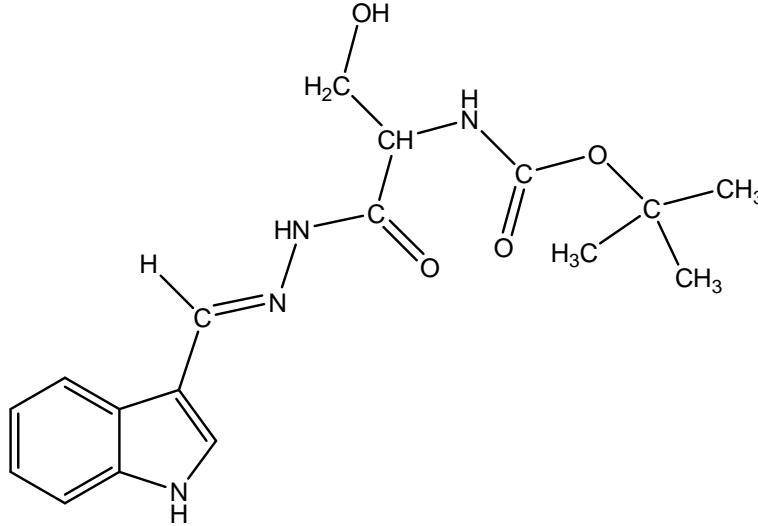
IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} : 3396 (N-H gerilim bandı), 1658 (Azometin C=N gerilim bandı)



Sample Name T2
Resolution 2 cm^{-1}
Accumulation 16
Apodization Cosine
Date/Time 28/04/109 19:53

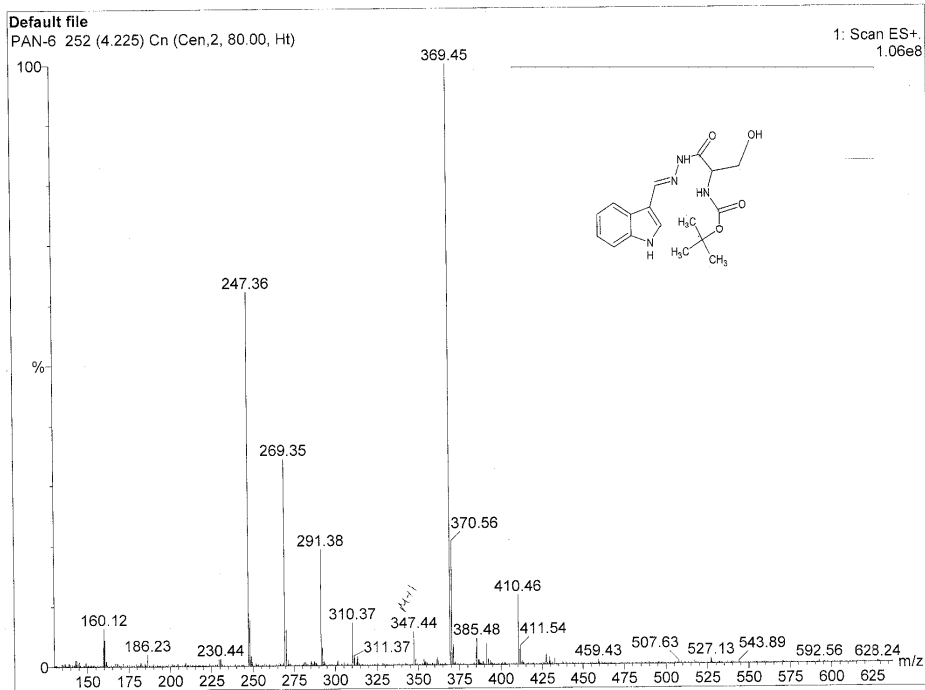
Spektrum 70. Bileşik 6a'nın IR spektrumu

4.2.4.8 N-t-bütoksikarbonil-L-serin(1H-indol-3-il)hidrazid Sentezi /6b/



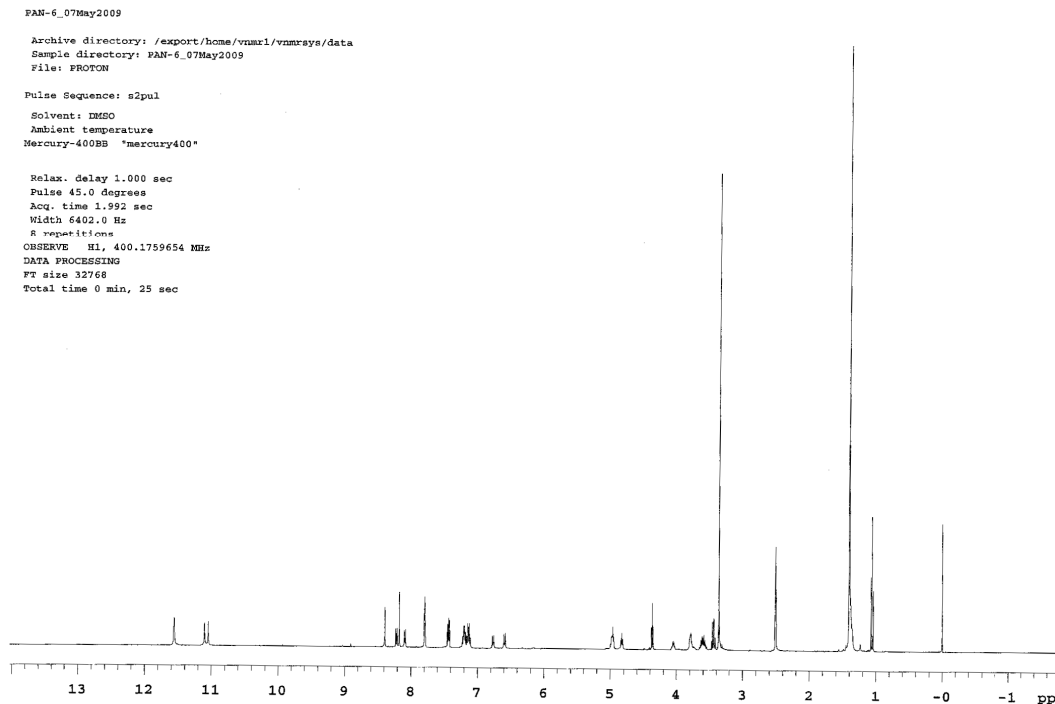
0.22 g (1 mmol) N-t-bütoksikarbonil-L-serin 20 ml (15.76 g; 0.342 mol) etanol (EtOH) içinde çözüldü. Çözeltiye 0.15 g (1 mmol) 1H-indol-3-karboksaldehitin 10 ml (7.88 g; 0.171 mol) EtOH içindeki çözeltisi eklendi. Reaksiyon **Bölüm 4.2.4**'te detaylı anlatılan şekilde sürdürüldü. % 91 verimle 0.32 g (9.11×10^{-4} mol) koyu sarı N-t-bütoksikarbonil-L-serin (1H-indol-3-il)hidrazid çökeleği elde edildi. (Erime noktası: 119 °C)

Kütle m/z (ESI)+ : 347 (M+1), 369 (M+Na, % 100)



Spektrum 71. Bileşik 6b'nin kütle spektrumu

¹H NMR δ ppm (d₆-DMSO+D₂O): 1.38 (9H, s, (CH₃)₃), 3.60 (1H, m, NH), 3.78 (1H,brs, OH), 4.05 (1H, m, CH) 4.81-4.994 (2H, 2m, CH₂), 6.58-8.22 (5H, m, Ar-H), 8.39 (1H, s, azometin-CH), 11.04; 11.10 (1H, 2s, NH), 11.56 (1H, brs, indol-NH)



Spektrum 72. Bileşik 6b'nin ¹H NMR spektrumu

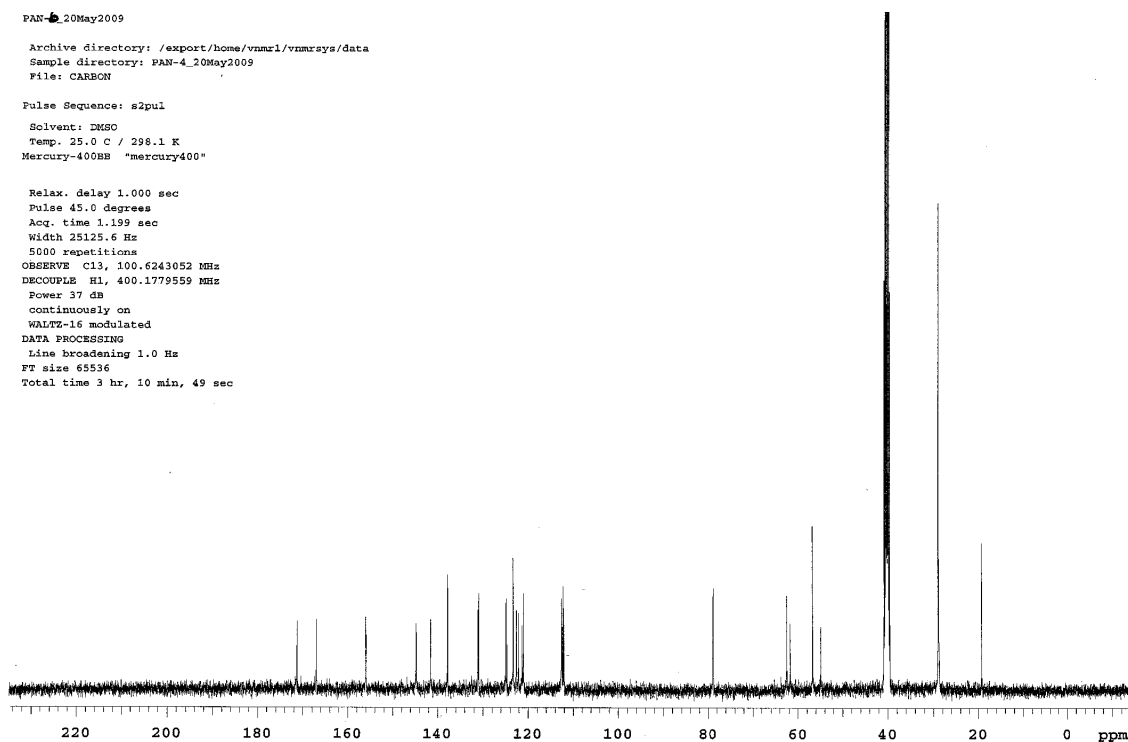
^{13}C NMR δ ppm ($\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$): 19.21, 28.88, 54.88, 56.64, 62.49, 78.89, 112.23, 112.47, 120.99, 122.14, 122.58, 123.29, 124.71, 130.88, 137.76, 141.53, 144.69 (azometin C=N), 151.88, 166.99, 171.25

PAN-4_20May2009

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrsys/data
 Sample directory: PAN-4_20May2009
 File: CARBON

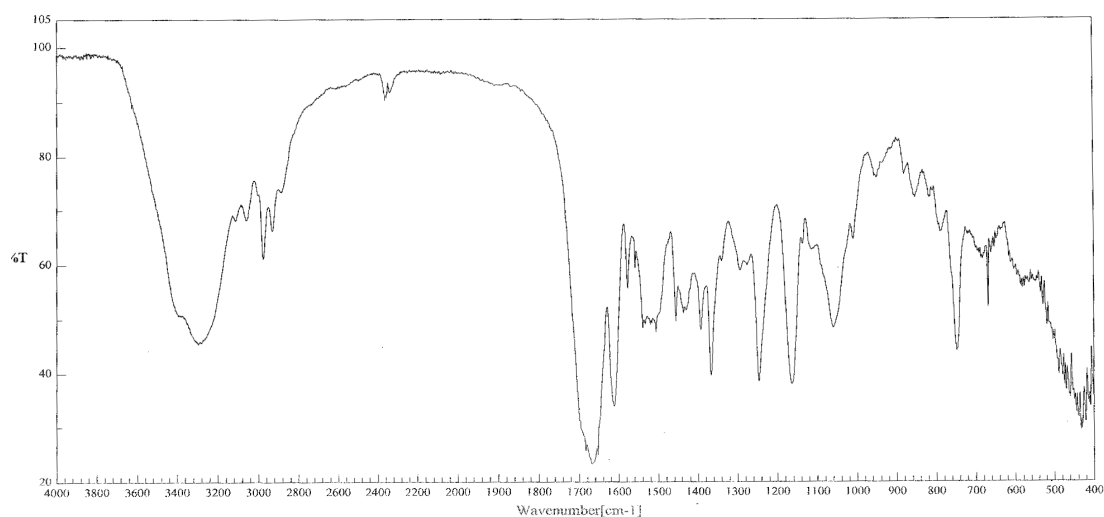
Pulse Sequence: s2pul
 Solvent: DMSO
 Temp. 25.0 C / 298.1 K
 Mercury-400BB "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 1.199 sec
 Width 25125.6 Hz
 5000 repetitions
 OBSERVE c13, 100.6243052 MHz
 DECOUPLE H1, 400.1779559 MHz
 Power 37 db
 continuously on
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 1.0 Hz
 FT size 65536
 Total time 3 hr, 10 min, 49 sec



Spektrum 73. Bileşik 6b'nin ^{13}C NMR spektrumu

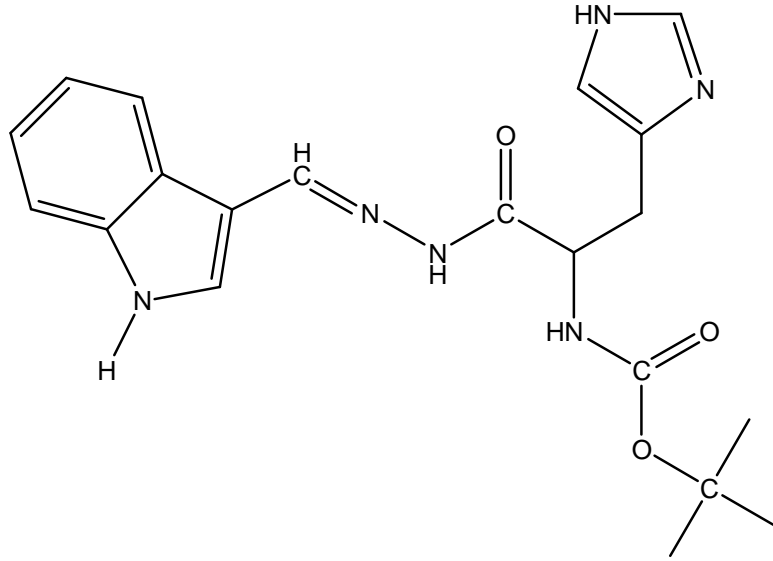
IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} : 3297 (N-H gerilim bandı), 1668 (Azometin C=N gerilim bandı)



Sample Name T2
 Resolution 2 cm-1
 Accumulation 16
 Apodization Cosine
 Date/Time 28/04/109 20:23

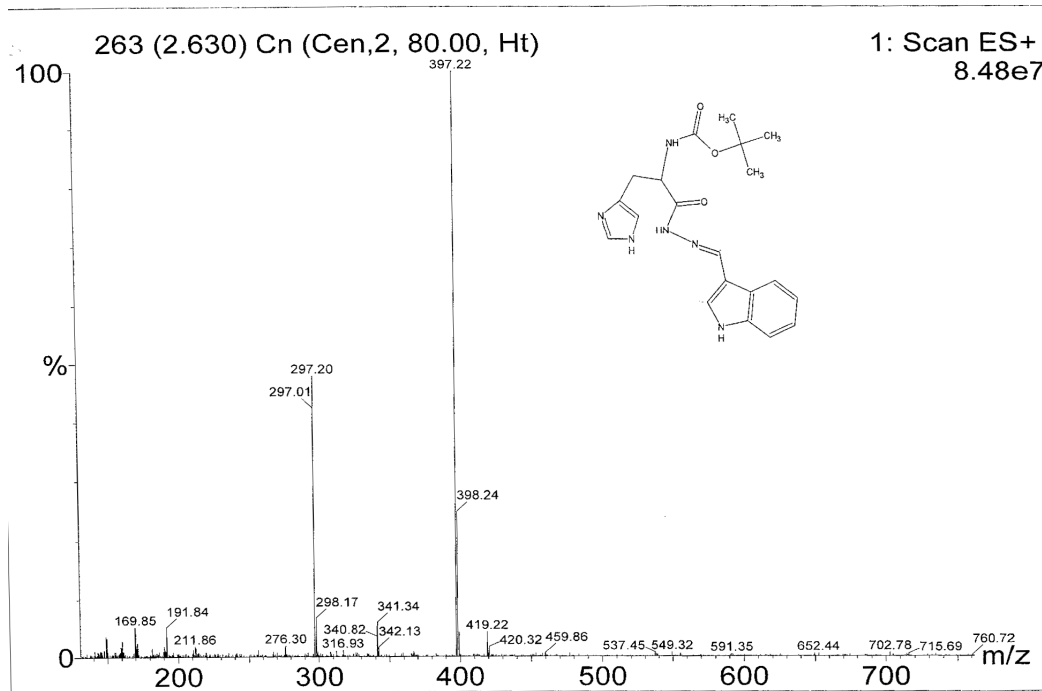
Spektrum 74. Bileşik 6b'nin IR spektrumu

4.2.4.9 N-t-bütoksikarbonil-L-histidin(1H-indol-3-il)hidrazid Sentezi /7a/



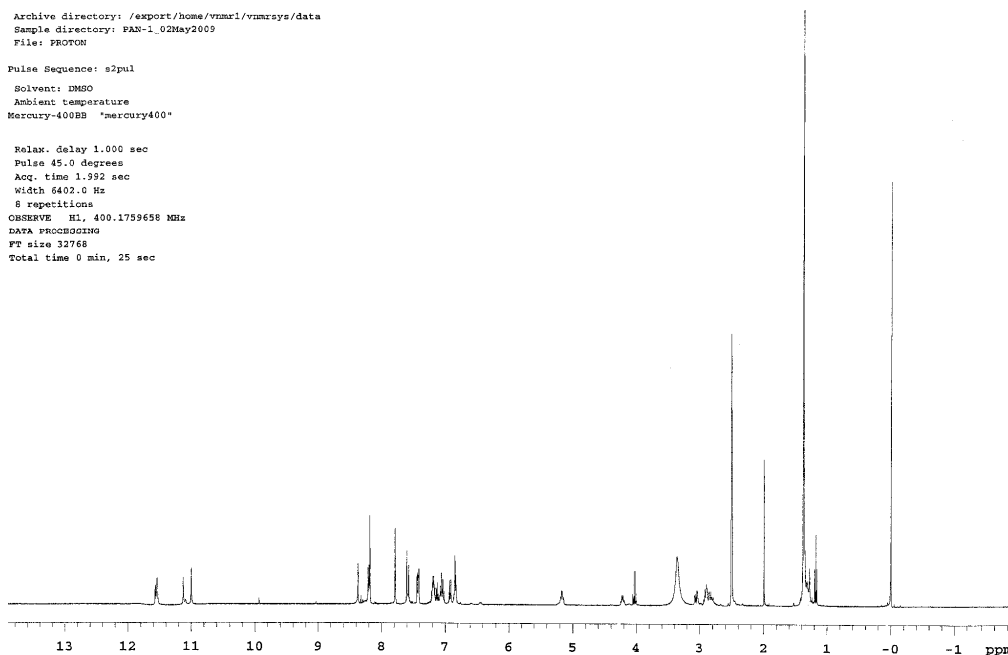
0.27 g (1 mmol) N-t-bütoksikarbonil-L-histidin 20 ml (15.76 g; 0.342 mol) etanol (EtOH) içinde çözüldü. Çözeltiye 0.15 g (1 mmol) 1H-indol-3-karboksaldehitin 10 ml (7.88 g; 0.171 mol) EtOH içindeki çözeltisi eklendi. Reaksiyon **Bölüm 4.2.4**'te detaylı anlatılan şekilde sürdürüldü. % 95.93 verimle 0.38 g (9.59×10^{-4} mol) çok açık sarı N-t-bütoksikarbonil-L-histidin (1H-indol-3-il)hidrazid çökeleği elde edildi. (Erime noktası: 138.5 °C de hacimde değişme, 168.3 – 170 °C tam erime)

Kütle m/z (ESI)+ : 397 (M+1, % 100), 398 (M+2)



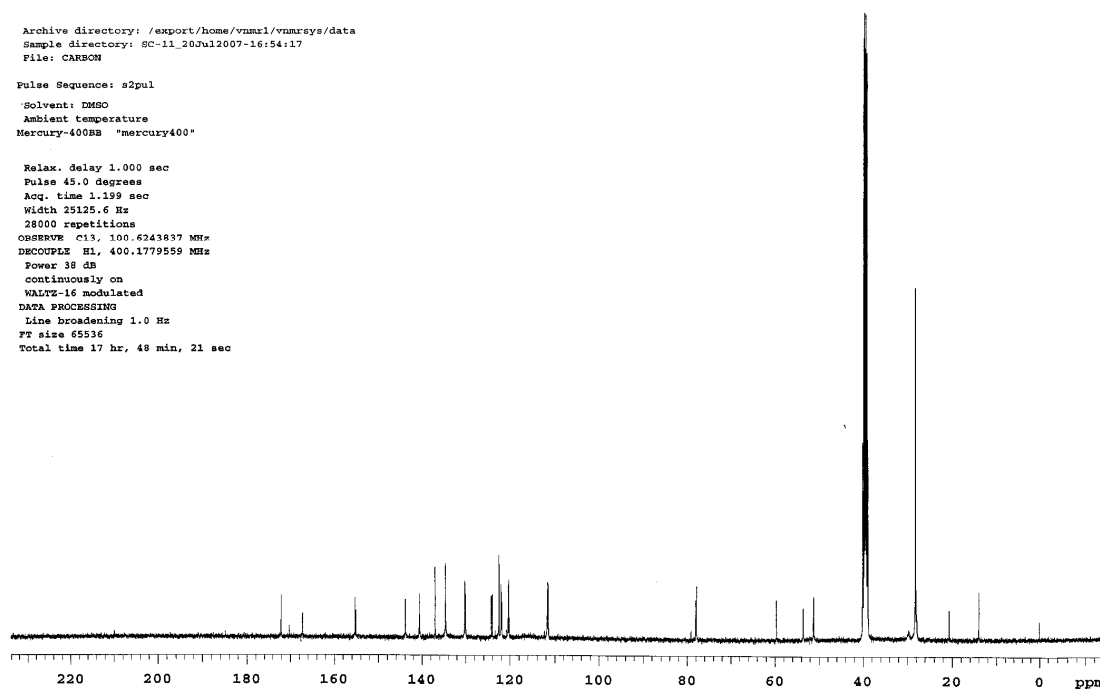
Spektrum 75. Bileşik 7a'nın kütle spektrumu

^1H NMR δ ppm ($\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$): 1.36 (9H, s, t-BOC), 2.82 (2H, m, CH_2), 3.06 (1H, dd, CH), 4.22 (1H, m, NH), 5.65 (1H, dd, NH), 6.83-8.36 (7H, m, Ar-H), 8.36 (1H, s, azometin-CH), 10.99; 11.12 (1H, s, NH), 11.54 (1H, s, indol-NH)



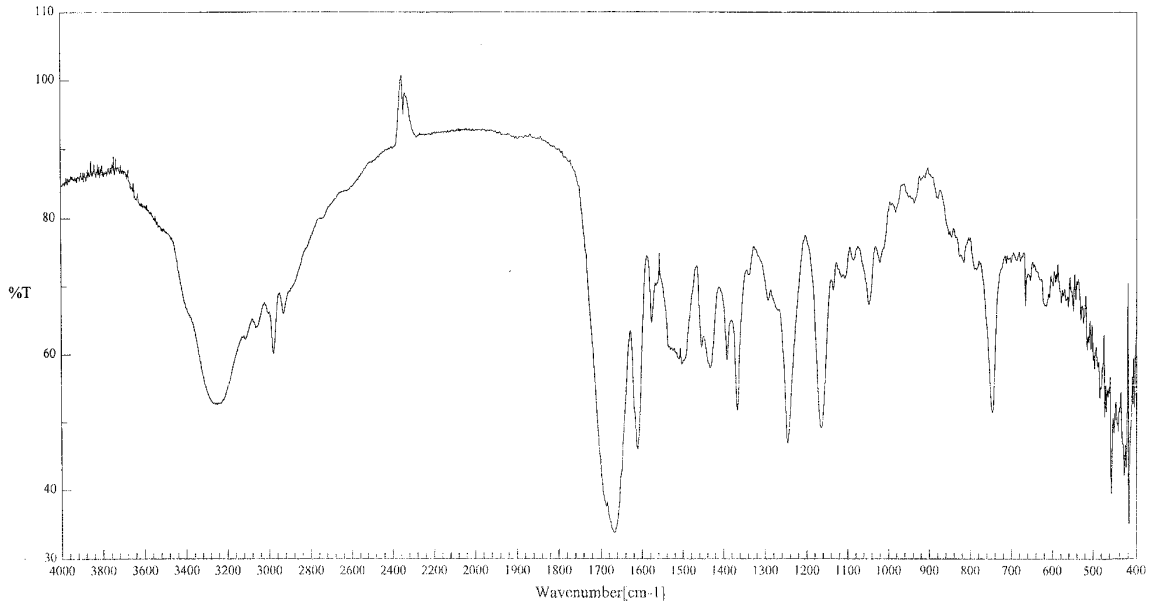
Spektrum 76. Bileşik 7a'nın ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR δ ppm ($\text{d}_6\text{-DMSO}+\text{D}_2\text{O}$): 14.77, 17.02, 21.44, 28.90, 52.00, 54.36, 78.60, 112.25, 121.14, 122.76, 123.24, 124.96, 130.98, 135.38, 137.72, 141.36, 144.61 (azometin C=N), 156.05, 168.04, 171.81



Spektrum 77. Bileşik 7a'nın ^{13}C NMR spektrumu

IR Spektrumu (KBr Disk) cm^{-1} : 3247 (N-H gerilim bandı), 1666 (Azometin C=N gerilim bandı)



Sample Name	T2
Resolution	2 cm^{-1}
Accumulation	16
Apodization	Cosine
Date/Time	28/04/109 19:47

Spektrum 78. Bileşik 7a'nın IR spektrumu

4.3 Sentez Edilen Bileşiklerin *in vitro* Biyolojik Aktivite Tayinleri

4.3.1. *In vitro* Antioksidan Aktivite Tayini

4.3.1.1. DPPH Üzerinden Serbest Radikal Yakalama Etki Tayini

Deneyin Prensipleri :

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

Deneyin Yapılışı:

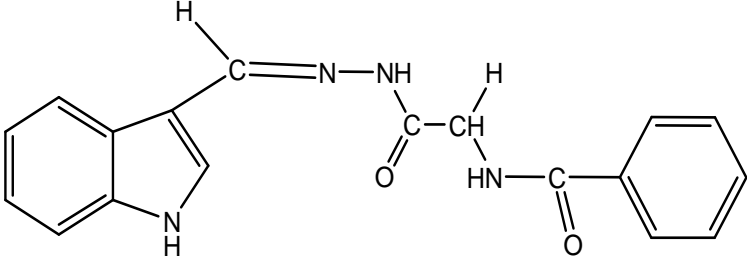
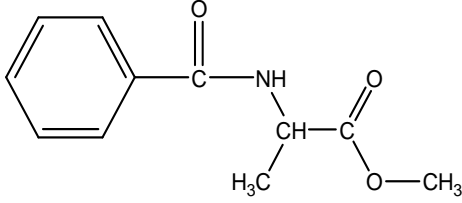
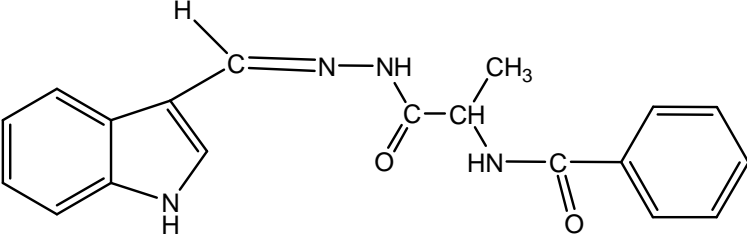
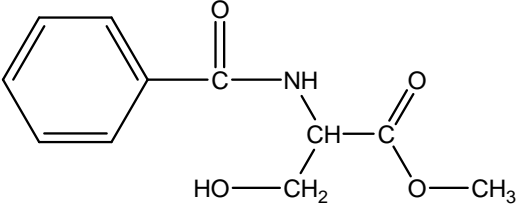
Sentezlenen maddelerin DMSO içerisinde 0.01 M'lık çözeltileri hazırlandı. Bu numunelerin üzerine DPPH (2×10^{-2} g/L) çözeltisi ilave edilerek vortekste karıştırıldı ve karanlıkta, oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Daha sonra her bir çözeltide oluşan değişiklik 517 nm de absorbans değerleri okunarak kaydedildi. Dört farklı konsantrasyonda hazırlanan numunelerin her bir konsantrasyona karşılık gelen % inhibisyonları hesaplanarak, bu sonuçlardan hareketle IC_{50} değerleri hesaplandı. Referans bileşik olarak sentezlenen maddelerin analogu ve güçlü bir endojen antioksidan madde olan melatonin ve BHT kullanıldı. Sentezlenen bileşiklerin radikal yakalama aktivitesi ölçülürken aşağıdaki denklemden faydalanıldı. Sonuçlar **Çizelge 4.1**'de verilmektedir.

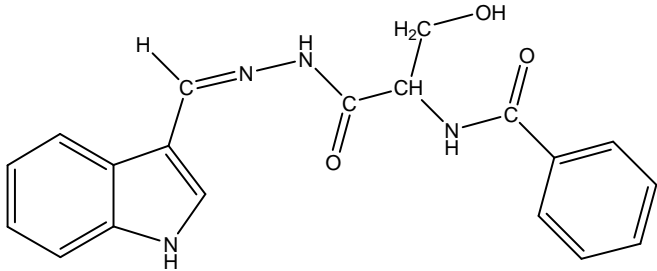
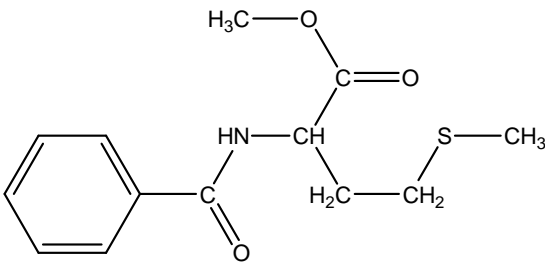
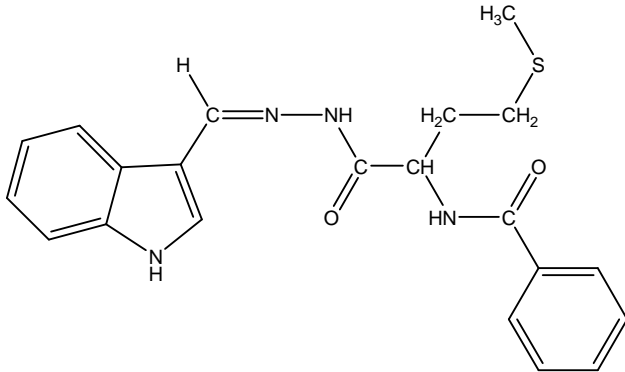
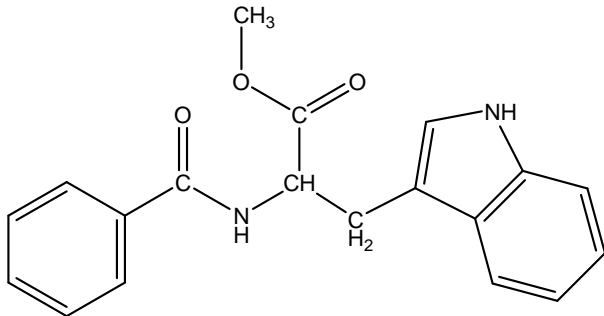
$$(A_{\text{Çözücü}} - A_{\text{numune}})$$

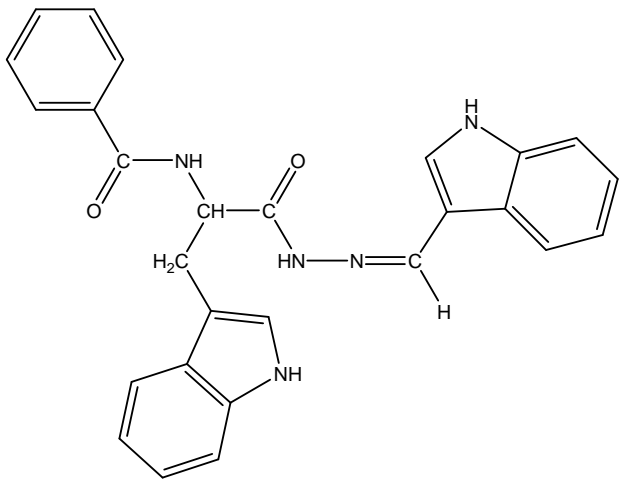
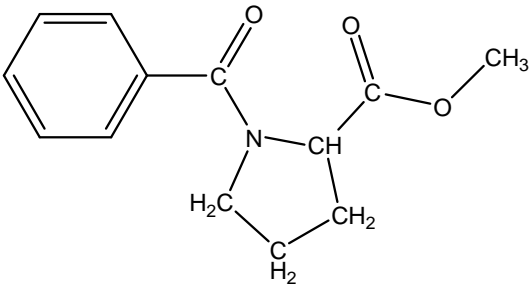
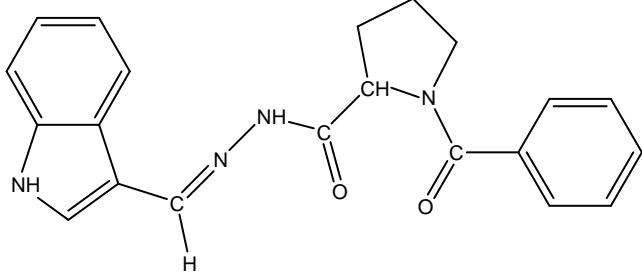
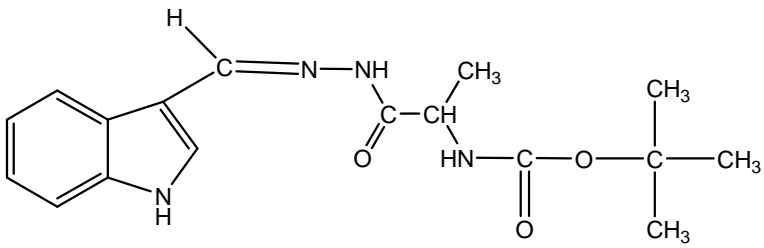
% Radikal Yakalama Aktivitesi: [-----] x 100 (A: absorbans)

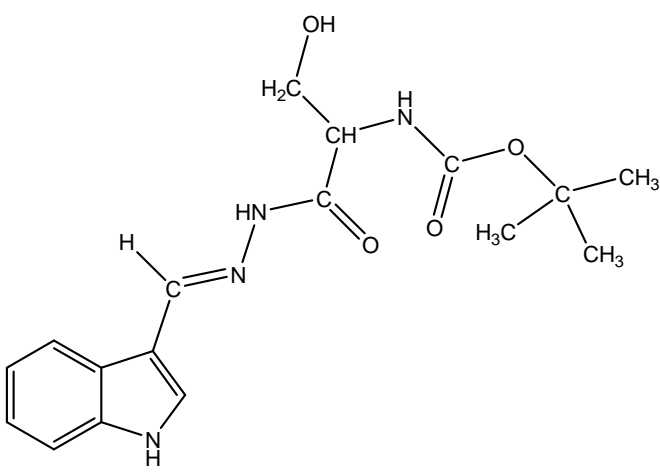
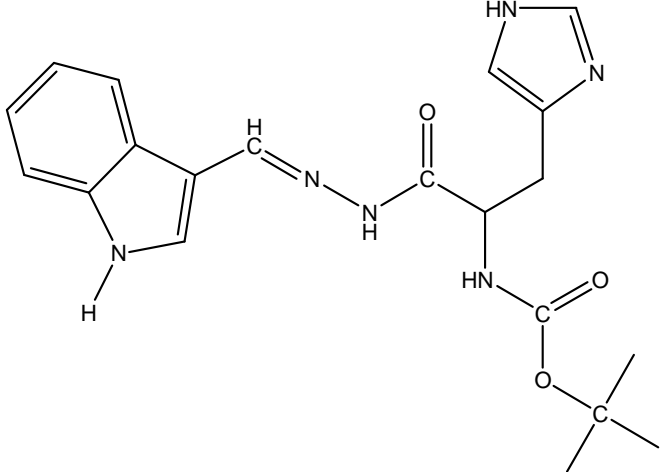
$$A_{\text{Çözücü}}$$

Çizelge 4.1. Sentezlenen sonuç maddelerin ve bazı ara basamak maddelerinin DPPH radikali yakalama etkileri ^a

Bileşik ^b	Konsantrasyon (10 ⁻³ M)
	% İnhibisyon
<p>4a</p> 	9.0 ± 0.8
<p>2b</p> 	10 ± 1.2
<p>4b</p> 	17 ± 0.4
<p>2c</p> 	13 ± 1.0

<p style="text-align: center;">4c</p> 	17 ± 0.8
<p style="text-align: center;">2d</p> 	2 ± 1.2
<p style="text-align: center;">4d</p> 	17 ± 0.8
<p style="text-align: center;">2e</p> 	12 ± 1.6

<p style="text-align: center;">4e</p> 	26 ± 0.8
<p style="text-align: center;">2f</p> 	13 ± 1.4
<p style="text-align: center;">4f</p> 	45 ± 2.1
<p style="text-align: center;">6a</p> 	8.0 ± 1.2

<p style="text-align: center;">6b</p> 	8 ± 1.0
<p style="text-align: center;">7a</p> 	12 ± 0.6
BHT 10^{-3} M	77 ± 1.1
BHT 10^{-4} M	82 ± 0.8
Melatonin	19 ± 2.8

^a Her değer 2-4 bağımsız deneyin ortalaması \pm standart sapmayı temsil etmektedir.

^b Bileşikler *DMSO* ile seyreltilmiştir. (solvan antioksidan aktivite göstermemektedir)

4.3.1.2. Lipid Peroksidasyonu Üzerine İnhibitör Etki Tayini

Deneyin Prensipleri :

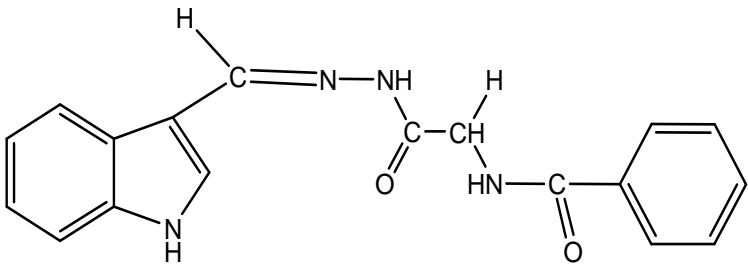
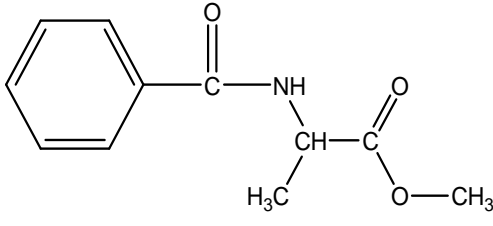
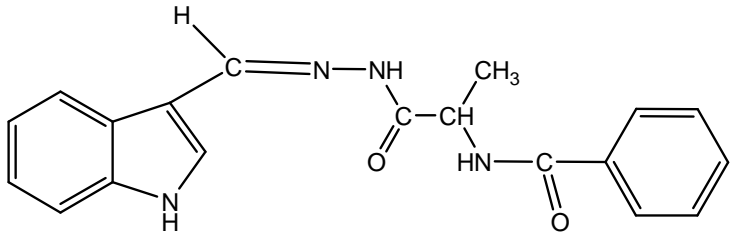
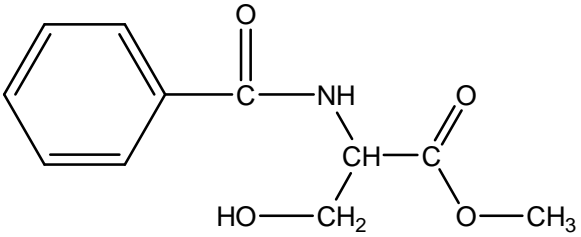
Sıçan karaciğer homojenatı, sentez edilmiş madde, standart madde, askorbik asit ve demir-3-klorür varlığında 37°C'de bir saat inkübasyonla oluşan malondialdehidin (MDA) tiyobarbitürik asitle (TBA) vermiş olduğu rengin 532 nm'de spektrofotometrik ölçümüne dayanmaktadır (Mihara ve ark, 1980). Oluşan bu renk TBARS (Thiobarbituric Acid Reactant Substance) nedeniyle oluşmaktadır.

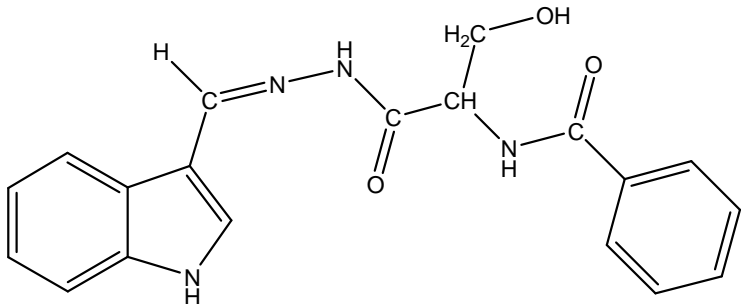
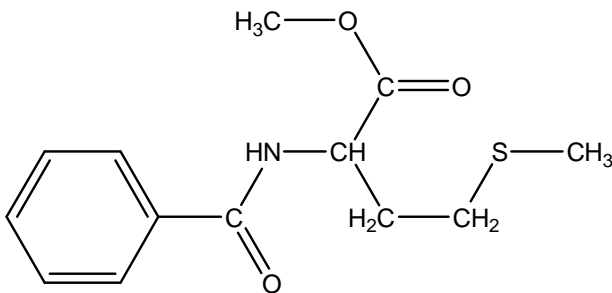
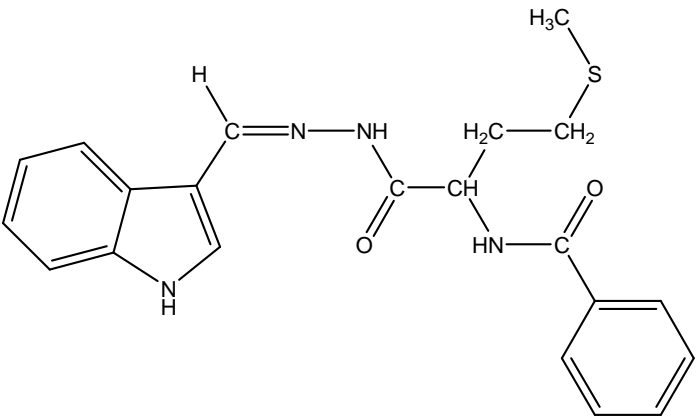
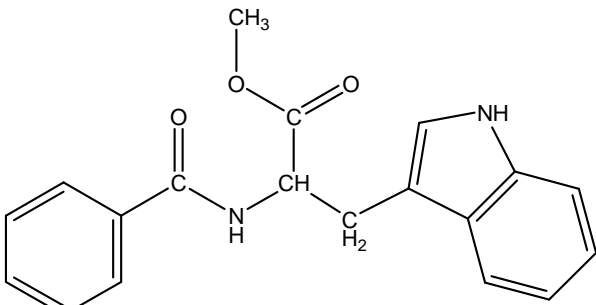
Deneyin Yapılışı :

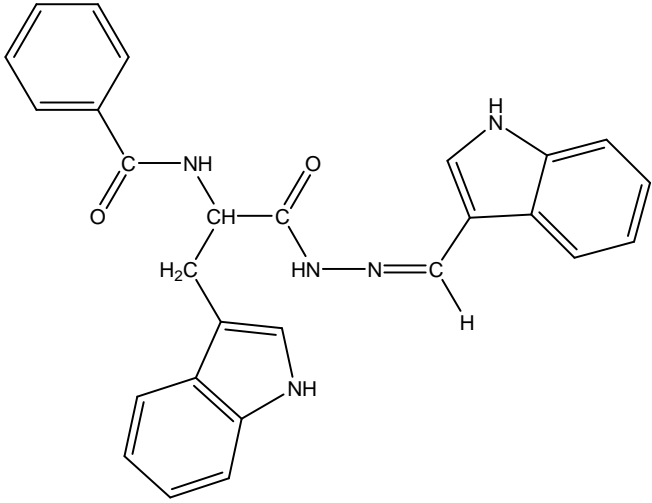
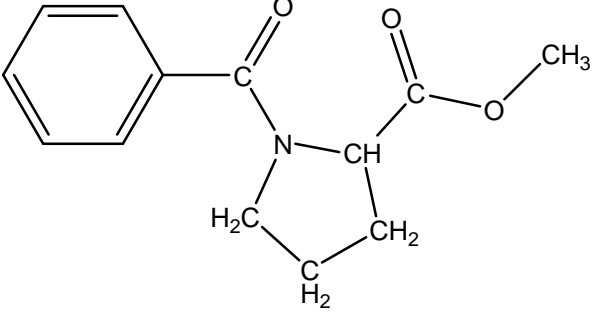
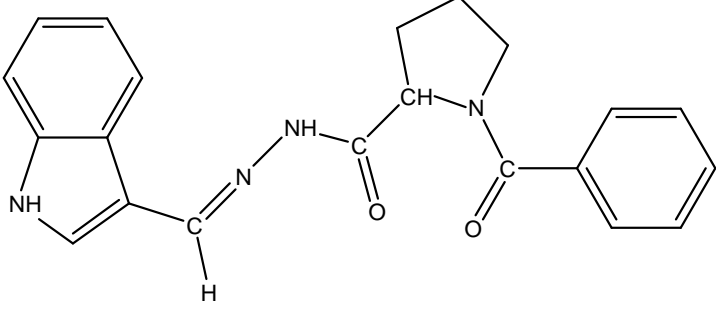
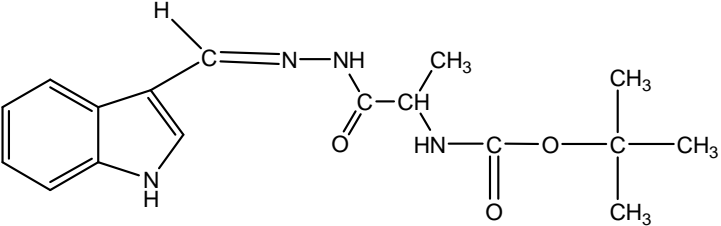
Sentezlenmiş indol-amino asit türevi bileşiklerin FeCl₃-askorbik asit ile indüklenen sıçan karaciğeri homojenatı üzerine etkisi araştırılarak, lipid peroksidasyon (LP) Mihara ve ark. (1980)'nin yöntemiyle tayin edilmiştir. LP spektrofotometrik olarak tiyobarbitürik asit reaktant maddelerinin (TBARS) değerlendirilmesiyle ölçüldü. TBARS miktarları *nmol* veya *µmol malondialdehit (MDA)/g doku* olarak belirtildi. Optimize edilmiş bir reaksiyon ortamına 0.5 ml karaciğer homojenatı, 0.1 ml Tris-HCl tamponu (pH 7.2), 0.05 ml 10 mM askorbik asit, 0.05 ml 4 mM FeCl₃ ve 0.05 ml değişik konsantrasyonlardaki sentezlenen bileşikler veya α - tokoferol/melatonin eklendi ve karışım 37°C'de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından, 3.0 ml H₃PO₄ ve 1.0 ml %0.6 TBA reaksiyon ortamına eklenir ve hızlıca karıştırıldı. Sonra karışım 30 dakika kaynatıldı. Karışım oda sıcaklığına geldikten sonra süpernatantın absorbansı 532 nm'de köre karşı okundu. Kör, karaciğer homojenatı hariç tüm bileşenleri içerecek şekilde hazırlandı.

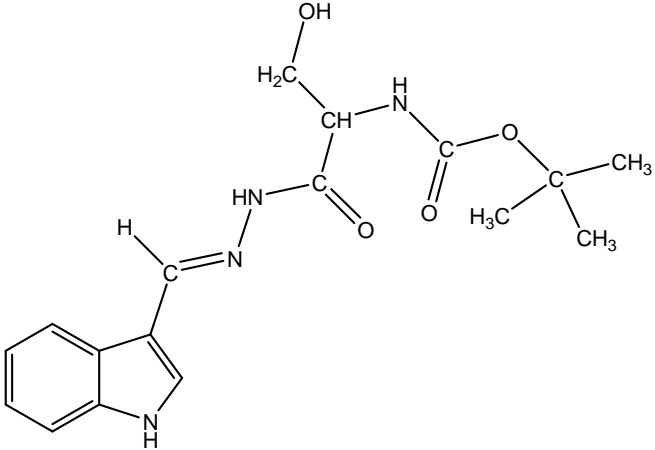
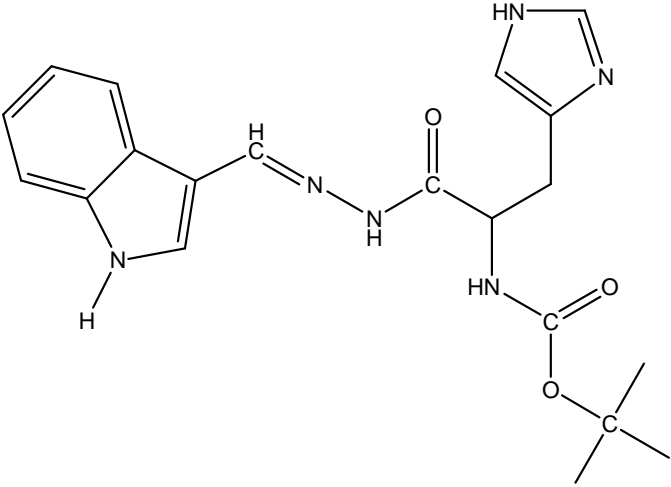
Sonuçlar **Çizelge 4.2'de** verilmektedir.

Çizelge 4.2. Sentezlenen sonuç maddelerin ve bazı ara basamak maddelerinin anti-lipid peroksidasyon etkileri^a

Bileşik ^b	Konsantrasyon (10 ⁻⁴ M)
	% İnhibisyon
<p>4a</p> 	33 ± 2.2
<p>2b</p> 	EG
<p>4b</p> 	25 ± 1.7
<p>2c</p> 	EG

<p style="text-align: center;">4c</p> 	17 ± 2.2
<p style="text-align: center;">2d</p> 	EG
<p style="text-align: center;">4d</p> 	30 ± 2.2
<p style="text-align: center;">2e</p> 	EG

<p style="text-align: center;">4e</p> 	<p>42 ± 3.5</p>
<p style="text-align: center;">2f</p> 	<p>EG</p>
<p style="text-align: center;">4f</p> 	<p>34 ± 2.0</p>
<p style="text-align: center;">6a</p> 	<p>42 ± 2.1</p>

<p style="text-align: center;">6b</p> 	26 ± 3.4
<p style="text-align: center;">7a</p> 	25 ± 1.1
Vit E	15± 1.8
Melatonin	21± 2.1

^a Her değer 2-4 bağımsız deneyin ortalaması ± standart sapmayı temsil etmektedir.

^b Bileşikler *DMSO* ile seyreltilmiştir. (solvan antioksidan aktivite göstermemektedir)

EG: Etki Görülmedi

4.3.2. Sentez Edilen Bileşiklerin Antioksidan Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

DPPH üzerinden serbest radikal yakalama etkilerine bakıldığında genel olarak sentezlenen tüm bileşikler içinde **4e** ve **4f**'nin 10^{-4} M konsantrasyonda melatoninden çok daha fazla aktif oldukları görülmektedir. Özellikle **4f** bileşiğinin gösterdiği antioksidan aktivite melatonin aktivitesinin iki katından fazladır. Ayrıca sentezlenen bileşiklerden **4b**, **4d** ve **4c** melatonine çok yakın, **7a**, **2c**, **2e** ve **2f** ise melatonine yakın kabul edilebilecek aktivite göstermiştir. Geri kalan bileşikler antioksidan aktivite göstermekle birlikte melatonin ile kıyaslandıklarında aktiviteleri düşük bulunmuştur. Sentezlenen bileşiklerin hiç birinde BHT düzeyinde antioksidan aktivite gösteren yoktur.

Sentezlenen indol-amino asit türevi bileşiklerin anti-lipid peroksidasyon etkileri incelendiğinde, 10^{-4} M konsantrasyonda tüm bileşiklerde (indol halkası taşımayan ara ürünler olan **2b**, **2c**, **2d** ve **2f** hariç) vitamin E ve melatoninden daha yüksek aktivite bulunmuştur. Özellikle **6a** ve **4e**'de standart maddelerin iki katından fazla aktivite gözlenirken, **7a**, **4a**, **4b**, **6b**, **4d** ve **4f**'de standart maddelerin üzerinde bir aktivite bulunmuştur. **4c** ise standart maddeler kadar aktivite göstermiştir.

In vitro antioksidan aktivite sonuçları sentezlenen maddelerin DPPH yakalayıcı özellikleri çok dikkat çekici bulunmazken, anti-lipid peroksidaz aktiviteleri oldukça belirleyici bulunmuştur. Etkili bulunan bileşiklerin çoğu melatoninden daha aktiftir.

5. TARTIŞMA

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

Ayrıca son yıllarda yapılan çalışmalarda Schiff bazı (Li ve ark., 2007) ve hidrazon (Chaston ve ark., 2004; Duarte ve ark., 2007) türevi bileşiklerde antioksidan aktivite saptanması, indolün 3. konumundan hidrazonlarını oluşturma fikrini geliştirmiştir.

Melatonin ve antioksidan aktivitesi üzerine yapılan çalışmalarda tam olarak aydınlığa kavuşturulamayan konulardan bir de indol halkasının 5. konumunda bulunan metoksi grubunun antioksidan aktivitedeki rolüdür. Bazı araştırmacılar 5. konumda metoksi grubunun aktivite için gerekli olduğunu savunurken (Sofic ve ark., 2005) bir çok araştırmacıda bu grubun antioksidan aktivitede büyük bir öneminin olmadığını ya da bu konumun başka gruplarla sübstitüe edildiğinde de yüksek antioksidan etki gözlemlendiğini göstermektedir (Tan ve ark., 2002; Ateş-Alagöz ve ark., 2005; Keithahn ve Lerch, 2005). Halen bu grubun varlığının aktivitedeki önemi belirlenememiştir. Bu durum göze alınarak bu çalışmada sentezlenecek melatonin analogu indol-amino asit türevi bileşiklerde 5. konumda hidrojen dışında bir sübstitüent bulundurulmaması ve antioksidan aktivitenin bu şekilde izlenmesi düşünülmüştür.

Bu şekilde tasarlanan maddeleri sentezlemek üzere gerekli olan başlangıç maddelerinden 1*H*-indol-3-karboksaldehit Vilsmeier reaksiyonu (DMF/POCl₃) ile sentezlenmiş, diğer başlangıç maddelerini oluşturan glisin, alanin, serin, metiyonin,

triptofan, histidil ve prolin amino asitleri önce metil esterleri oluşturulup daha sonra amin grupları N-benzoil ya da t-BOC grubu ile koruma altına alınmıştır. Son olarak esterleri üzerinden hidrazidleri oluşturulan amino asitlerin hedef bileşikler olan indol-3-aldehit hidrazonları elde edilmiştir.

Hedef bileşikler 3 yolak kullanarak amino asit-indol hidrazidleri (**4a-f**, **6a,b** ve **7a**) olarak elde edilmiştir. Sentezlenen tüm bileşiklerin saflık kontrolleri, erime noktası ve İTK incelemeleri yapıldıktan sonra yapıları NMR (^1H , ^{13}C) ve Kütle spektrometresi ve IR spektroskopisi ile kanıtlanmıştır.

Sentezi yapılan bileşiklerin *in vitro* antioksidan aktivite tayinleri DPPH ve anti-lipid peroksidasyon kapasiteleri ölçülerek test edilmiştir. Özellikle anti-lipid peroksidasyon aktiviteleri çok yüksek bulunmuştur. Antioksidan aktivite gösteren bileşikler indol halkası taşıyan sonuç ürünler olmuştur. İndol halkası içermeyen ara ürünlerde aktivite çok az bulunmuş ya da gözlenmemiştir.

Bu sonuçlar ele alındığında ileri çalışmalarda indol halkasının 3. konumunda sübstitüe amino asit bulunan türevlerinin sentezlenerek biyolojik aktivite değerlendirilmelerinin yapılması uygun görülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

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

Bu tez çalışması ile melatonin yapısındaki ana halka sistemi olan indol halkası ele alınarak 5. konumda metoksi grubu yerine H, 3. konumda ise amid yan zinciri yerine çeşitli amino asitlerle oluşturulan hidrazid türevleri bağlanarak imin yapısı oluşturulmuştur. Böylelikle sentez edilen melatonin analogu bileşiklerin antioksidan *in vitro* antioksidan aktivite tayinleri DPPH ve anti-lipid peroksidasyon kapasiteleri ölçülerek test edilmiştir.

Sentezlenen bileşiklerde en etkin türevler melatoninin ana halkası indolü içeren türevlerdir. Amino asit zincirlerini yan grup olarak içeren bu sonuç ürünlerde melatoninden oldukça yüksek anti lipid peroksidasyon aktivitesine rastlanmıştır. İndol halkası içermeyen ara ürünler sadece amino asit grupları ve türevlerini taşımaktadır. Bu gruplarda antioksidan aktivite oldukça düşük gözlenmiştir. Bu da amino asit gruplarının indol halkası olmadan düşük aktivite gösterirken, indol halkasının 3. konumda yer aldıklarında melatoninin çok üzerinde aktiviteye sahip olduklarını göstermektedir.

Çalışmadaki ana amaç en az melatonin molekülü kadar antioksidan aktivite gösterebilecek bileşiklerin geliştirilebilmesiydi. Anti lipid peroksidaz aktiviteleri ele alındığında sentezlenen indol türevi bütün bileşiklerde en az melatonin kadar ama genel olarak melatoninden çok daha yüksek aktivite gözlenmiştir. Böylece tez çalışması ana hedefine ulaşmıştır.

KAYNAKLAR

- ABOUL-ENEIN, H. Y., KRUK, I., LICHSZTELD, K., MICHALSKA, T., KLADNA, A., MARCZYNSKI, S., OLGEM, S. (2004) Scavenging of reactive oxygen species by N-substituted indole-2 and 3-carboxamides. *Luminescence*, **9**: 1-7.
- ABOUL-ENEIN, H.Y., KLADNA, A., KRUK, I., LICHSZTELD, K., MICHALSKA, T., OLGEM, S. (2005). Scavenging of reactive oxygen species by novel indolin-2-one and indoline-2-thione derivatives. *Biopolimers*, **78** : 171-178.
- AGARWAL, R., (2005) *BMC Nephrology* **6** :13
- ALLEGRA, M., REITER, R. J., TAN, D. X., GENTILE, C., TESORIERE, L., LIVREA, M. A. (2003) The chemistry of melatonin's interaction with reactive species. *J. Pineal Res.* **34**: 1-10.
- ANDREADOU, I., TSANTILI-KAKOULIDOU, A., SIATRA, T. (2000) *Res Commun Biochem Cell Mol Biol* **4**:269
- ANDREADOU, I., TASOULI, A., BOFILIS, E., CHRYSSELIS, M., REKKA, E., TSANTILI-KAKOULIDOU, A., ILIODROMITIS, E., SIATRA, T., KREMASTINOS, D. (2002) Antioxidant activity of novel indole derivatives and protection of the myocardial damage in rabbits. *Chem. Pharm. Bull.* **50**:165-8.
- ANDREADOU, I., TSANTILI-KAKOULIDOU, A., SPYROPOULOU, E., SIATRA, T. (2003) Reactions of indole derivatives with cardioprotective activity with reactive oxygen species. Comparison with melatonin. *Chem. Pharm. Bull.* **51**:1128-31.
- ARENDET, J., (1988) Melatonin. *Clin Endocrinol.***29**: 205-229.
- ASADA, K., URANO, M., TAKAHASHI, M., (1973) Subcellular Location of Superoxide Dismutase in Spinach Leaves and Preparation and Properties of Crystalline Spinach Superoxide Dismutase. *Eur. J. Biochem.* **36**: 257-266

- ASAKAI, R., AOYAMA, Y., FUJIMOTO, T. (2002) Bisindolylmaleimide I and V inhibit necrosis induced by oxidative stress in a variety of cells including neurons *Neurosci Res.*, **44**:297-304.
- ATEŞ-ALAGÖZ, Z., SÜZEN, S. (2001) Structure-activity relationships of melatonin analogues. *J. Fac. Pharm. Ankara Univ.*, **30**: 41-52.
- ATEŞ-ALAGÖZ Z, SÜZEN S. (2001) Oxidative damage in the central nervous system and protection by melatonin. *J. Fac. Pharm. Ankara Univ.*, **30**(3):47-62.
- ATEŞ-ALAGÖZ, Z., ÇOBAN, T., SÜZEN, S. (2005) A Comparative Study: Evaluation of Antioxidant Activity of Melatonin and Some Indole Derivatives. *Med. Chem. Res.*, **14**(3), 169-179.
- ATEŞ-ALAGÖZ, Z., ÇOBAN, T., BÜYÜKBİNGÖL, E. (2006) Synthesis and antioxidant activity of new tetrahydro-naphthalene-indole derivatives as retinoid and melatonin analogs. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **339**:193-200.
- ATKINS, R. C., CAREY, F. A., (1997) Organic Chemistry: A Brief Course. 2nd Edition. *The McGraw-Hill Companies*. Inc. 431, 439
- ATMACA, G., (2004) Antioxidant Effects of Sulfur-Containing Amino Acids. *Yonsei Med J.* **45** (5) : 776-788.
- AZZI, A.; DAVIES, K.J.A. ; KELLY, F. (2004) Free radical biology – terminology and critical thinking. *FEBS Lett.* **558**: 3 – 6.
- BABOIR, B. M. (1978) Oxygen Dependent Microbial Killing Phagocytes. *New England Journal of Medicine* **298**: 629 - 668
- BAGCHI, K., PURI, S. (1998) Free radicals and antioxidants in health and disease. *Eastern Mediterranean Health Journal.* **4**(2):350-360.

- BANDO, T., SATO, E. F., MITANI, H., NAKASHIMA, A., HOSHI, K., INOUE, M. (2003) Antioxidative potential of fluvastatin via the inhibition of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase activity *Biol. Pharm. Bull.* **6**:818-22.
- BARRETT, D. G., CATALANO, J. G., DEATON, D. N., LONG, S. T., MILLER, L. R., TAVARES, F. X., WELLS-KNECHT K. J., WRIHGT, L. L. , ZHO, H-O. Q., (2004) Orally bioavailable small molecule ketoamide-based inhibitors of cathepsin K. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* **14** : 2543–2546
- BECKMAN, J.S., BECKMAN, T. W., CHEN, J., MARSHALL, P. A., FREEMAN, B. A. (1990) Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87** : 1620-1624.
- BECKMAN, J. S., CARSON, M., SMITH, C. D., KOPPENOL, W. H. (1993) ALS, SOD and peroxynitrite. *Nature.* **18** : 195-199.
- BENDHEIM, P. E., POEGGELER, B., NERIA, E., ZIV, V., PAPPOLLA, M. A., CHAIN, D. G. (2002) Development of indole-3-propionic acid (OXIGON) for Alzheimer's disease. *J. Mol. Neurosci.*, **19** : 213-7.
- BENZIE, I. F. F., (2003) Evolution of dietary antioxidants. *Comp. Biochem. Physiol.*, **A 136**: 113-126.
- BEYER, C.E., STEKETEE, J.D., SAPHIER, D., (1998) Antioxidant properties of melatonin-an emerging mystery. *Biochem Pharmacol.* **56**: 1265-1272.
- BIAGLOW, J. E., MANEVICH, Y., UCKUN, F., HELD, K. D. (1997) Quantitation of Hydroxyl Radicals Produced by Radiation and Copper-Linked Oxidation of Ascorbate by 2-Deoxy-d-Ribose Method. *Free Radical Biology and Medicine*, **22(7)**: 1129-1138.

- BLOIS, M. S., (1958) Antioxidant determinations by the use of a free free radical. *Nature*, **181** : 1199-1200.
- BORZA, I., KOLOK, S., IGNACZ-SZENDREI, G., GREINER, I., TARKANYI, G., GALGOCZY, K., HORVATH, C., FARKAS, S., DOMANY, G. (2005) Indole-2-carboxamidines as novel NR2B selective NMDA receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **15(24)**:5439-5441.
- BOZKAYA, P., DOĞAN, B., SÜZEN, S., NEBİOĞLU, D., ÖZKAN S. A. (2006) Determination and investigation of electrochemical behaviour of 2-phenylindole derivatives: discussion on possible mechanistic pathways. *Can. J. Anal. Sci. Spec.* **51(3)**:125-139.
- BRZEZINSKI A. (1997) Melatonin in humans. **336**:186–193.
- BÜYÜKBİNGÖL, E., SÜZEN, S., KLOPMAN, G. (1994) Studies on the Synthesis and Structure-Activity Relationships of 5-(3'-indolyl)-2-thiohydantoin Derivatives as Aldose Reductase Enzyme Inhibitors. *Il Farmaco* **49(6)**:443-447.
- CASSONE, M., V., (2005) The clocks tell the time. *Nature Neuroscience* **8**: 3.
- CATHCART, M. K. (2004) Regulation of superoxide anion production by NADPH oxidase in Monocytes/Macrophages. *Arteriosclerosis, Thrombosis, And Vascular Biology.* **24**:23-8.
- CHAMBER, R.W., CARPENTER ,F.H., (1995) *J. Am.Chem. Soc.*, **77** : 1522- 1526.
- CHAMPE, P. C., HARVEY, R. A., (1994) Lippincott's *Illustrated Review Biochemistry*, **1**: Amino Acides: 1-5 (Çeviri GÜR, E., TUNCEL, P., SRANDÖL, E., ULUKAYA, E., DİRİCAN, M., CANGÜL, H., TOKULLUGİL, A., (1997); Nobel Kitap)
- CHAN, PH. (1996) Role of oxidants in ischemic brain damage. *Stroke.* **27**:1124-1129.

- CHASTON TB, WATTS RN, YUAN J, RICHARDSON DR. (2004) Potent antitumor activity of novel iron chelators derived from di-2-pyridylketone isonicotinoyl hydrazone involves fenton-derived free radical generation. *Clin Cancer Res.* **10**(21):7365-74.
- CHESSEMAN, K. H., (1993) Mechanisms and effects of Lipid Peroxidation. *Molecular Aspects of Medicine* **14** (3) : 191-197.
- CHESSEMAN, K. H., SLATER, T. F., (1993) An Introduction to Free Radical *Biochemistry. Brit. Med. Bull.* **49** (3) : 481-493
- CHYAN YJ, POEGGELER B, OMAR RA, CHAIN DG, FRANGIONE B, GHISO J, PAPPOLLA MA. (2002) Potent neuroprotective properties against the Alzheimer beta-amyloid by an endogenous melatonin-related indole structure, indole-3-propionic acid. *J Biol Chem.* **30;274(31)**: 21937-42.
- COOPER, C. E., VOLLAARD, N.B., CHOEIVIRI, T., WILSON, M. T. (2002) Exercise, Free Radicals and Oxidative Stres. *Biochem. Soc. Trans.* **30** : 280 – 285.
- COSTA, D., GOMES, A., REIS, S., LIMA, J. L. F. C., FERNANDES, E. (2005) Hydrogen peroxide scavenging activity by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Life Sci.* **76**:2841-8.
- DADO, K., KATOH, M., SHIMIZU, T., TAKAHASHI, M., SODEOKA, M. (2005) Inhibition of hydrogen peroxide-induced necrotic cell death with 3-amino-2-indolylmaleimide derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **15**:3114-8.
- DANNHARDT, G., KIEFER, W. (2001) Cyclooxygenase inhibitors--current status and future prospects. *Eur. J. Med. Chem.* **36**:109126
- DAS, S., FALCHI, M., BERTELLI, A., MAULIK, N., DAS, D. K. (2006) Attenuation of ischemia/reperfusion injury in ra ts by the anti-inflammatory action of resveratrol. *Arzneimittelforschung.* **56**:700-6.

- DEMOPOULOS, V. J., GAVALAS, A., REKATAS, G., TANI, E. K. (1995) Synthesis of 6,7,8,9-Tetrahydro-N,N-Di-Propyl-1H-Benz[g]indol-7-amine. A Potential Dopamine Receptor Agonist. *J. Heterocyclic Chem.* **32**:1145.
- DREW, B., LEEUWENBURGH, C. (2002) Aging and the role of reactive nitrogen species. *Ann. NY Acad. Sci.* **959**:66-81.
- DUARTE, C. D., TRIBUTINO, J. L., LACERDA, D. I., MARTINS, M. V., ALEXANDRE-MOREIRA, M. S., DUTRA, F., BECHARA, E. J., DE-PAULA, F. S., GOULART, M. O., FERREIRA, J., CALIXTO, J. B., NUNES, M. P., BERTHO, A. L., MIRANDA, A. L., BARREIRO, E. J., FRAGA CA. (2007) Synthesis, pharmacological evaluation and electrochemical studies of novel 6-nitro-3,4-methylenedioxyphenyl-N-acylhydrazone derivatives: Discovery of LASSBio-881, a new ligand of cannabinoid receptors. *Bioorg Med Chem.*, **15(6)**:2421-33.
- EVANS (RICE), C. A., (1994) Formation of Free Radicals and Mechanisms of Action in Normal Biochemical Processes and Pathological States. *In: Rice-Evans c.a., Burdon R. H., (EDS) Free Radical Damage and its control. Elsevier, Amsterdam* 131-153.
- FERNANDES, E., COSTA, D., TOSTE, S. A., LIMA, J. L. F. C., REIS, S. (2004) In vitro scavenging activity for reactive oxygen and nitrogen species by nonsteroidal anti-inflammatory indole, pyrrole, and oxazole derivative drugs. *Free Radic. Biol. Med.* **37**:1895-1905.
- FERNANDEZ, D., BONILLA, E., PHILLIPS, P., PERL, A. (2006) Signaling abnormalities in systemic lupus erythematosus as potential drug targets. *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets.* **6**:305-11.
- FRIDOVICH, I. (1983), Superoxide Radical: An Endogeneous Toxicant. *Ann. Review of Pharmacology and Toxicology* **23**: 239-257.
- FRIDOVICH, I. (1995), Superoxide Radical and Superoxide Dismutases.. *Ann. Review of Biochemistry* **64**: 97-112.

- GARCIA, J. J.; REITER, R. J.; KARBOWNIK, M.; CALVO, J. R.; ORTIZ, G. G.; TAN, D. X.; MARTINEZ-BALLARIN, E.; ACUNA-CASTROVIEJO, D. (2001) N-acetyl serotonin suppresses hepatic microsomal membrane rigidity associated with lipid peroxidation. *Eur. J. Pharmacol.*, **428**: 169-75.
- GARCIA-SANTOS, G., HERRERA, F., MARTIN, V., RODRIGUEZ-BLANCO, J., ANTOLIN, I., FERNANDEZ-MARI, F., RODRIGUEZ, C. (2004) Antioxidant activity and neuroprotective effects of zolpidem and several synthesis intermediates. *Free Rad. Res.* **3**:1289-99.
- GASPAROVA Z, STOLC, S., SNIRC, V. (2006) In vitro physiological evidence of enhanced antioxidant and neuroprotective action of 2,3-dihydromelatonin, a melatonin analogue. *Pharmacol Res.* **53**:22-7.
- GOZZO, A., LESIEUR, D., DURIEZ, P., FRUCHART, J. C., TEISSIER, E. (1999) Structure-activity relationships in a series of melatonin analogues with the low-density lipoprotein oxidation model. *Free Radic. Biol. Med.* **26**:1538-1543.
- GRESSIER, B., CABANIS, A., BRUNET, C., DIRE, T., KYCKX, M., CAZIN, M., CAZIN, J. C., (1994) Comparison of In Vitro of Two Thiol-containing Drugs on Human Neutrophils Hydrogen Peroxide Production. *Methods of findings in Experimental and Clinical Pharmacology.* **16**: 9-13.
- GRISHAM, B. B., (1992) Free Radicals and Other Reactive Oxygen Metabolites in Inflammatory Bowel Disease; Cause, Consequence, or Epiphenomenon. *Pharmacol. Ther.* **53**: 375-408.
- GU, K., BI, L., ZHAO, M., WANG, C., JU, J., PENG, S., (2007) Toward the development of chemoprevention agents. Part 1: Design, synthesis, and anti-inflammatory activities of a new class of 2,5-disubstituted-dioxacycloalkanes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* **15** : 4775–4799.

- GUERRERO, J. M., REITER, R. J., ORTIZ, G. G., PABLOS, M. I., SEWERYNEK, E., CHUANG, J.I., (1997) Melatonin prevents increases in neural nitric oxide and cyclic GMP production after transient brain ischemia and reperfusion in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *J Pineal Res.* **23**:24-31.
- GUPTA, Y. K., GUPTA, M., KOHLI, K. (2003) Neuroprotective role of melatonin in oxidative stress vulnerable brain. *Indian J. Physiol. Pharmacol.*, **47**:373-386.
- GURKAN, A. S., KARABAY, A., BUYUKBINGOL, Z., ADEJARE, A., BUYUKBINGOL, E. (2005) Syntheses of novel indole lipoic acid derivatives and their antioxidant effects on lipid peroxidation. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **338**:67-73.
- GURKOK, G., COBAN, T., SUZEN, S., (2008) Melatonin analogue new indole hydrazide / hydrazone derivatives with antioxidant behavior: Synthesis and structure-activity relationships. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. **3**: 1–10.
- HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J. M., (1984) Lipid Peroxidation, Oxygen Radicals, Cell Damage and Antioxidant Therapy. *Lancet*, 1396 – 1397.
- HALLIWELL, B. (1992) Reactive Oxygen Species and Central Nervous System. *J. Neurochem.* **59**: 1609-1623.
- HALLIWELL, B. (1995) The Biological Significance of Oxygen Derived Species. Invalantine, J.S., Foote, C. S., Greenberg, A., Liebman, J. S. *Active Oxygen in Biochemistry. Blackie Academic and Professional, New York*, 313-335.
- HALLIWELL, B., (1999) Antioxidant Defence Mechanisms: From the Beginning to the end (of the Beginning). *Free Radic. Res.* **31**: 261-272.
- HARDELAND R, ZSIZSIK BK, POEGGELER B, FUHRBERG B, HOLST S, COTOMONTES A. (1999) Indole-3-pyruvic and -propionic acids, kynurenic acid, and related metabolites as luminophores and free-radical scavengers. *Adv Exp Med Biol.* **467**:389-95.

- HEFFNER, J. E., REPINE, J.E., (1989) Pulmonary Strategies of Antioxidant Defense. *American Review of Respiratory Diseases* **140**: 531 – 554.
- HUANG, M. F., LIN, W. L., MA, Y. C. (2005) A study of reactive oxygen species in mainstream of cigarette. *Indoor Air*. **15**:135-140.
- HUIE, R. T., PADMAJA, S. (1993) The reaction of NO with superoxide. *Free Radic. Res. Commun.* **18**:195-9.
- IKEDA, Y, MATSUMOTO, K., DOHI, K., JIMBO, H., SASAKI, K., SATOH, K. (2001) Direct superoxide scavenging activity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: determination by electron spin resonance using the spin trap method. *Headache*. **41**:138-41.
- JAIN, S. K. (2006) Oxidative stress and metabolic diseases: Introduction. *Pathophysiology*. **13(3)**:127-128
- JAMES, P. N., SNYDER, H. R. (1959) Indole-3-aldehyde (Indole-3-carboxaldehyde). *Organic Syntheses* **39**:30-32.
- JAMES, P. N., SNYDER, H. R. (1963) Indole-3-aldehyde. *Organic Syntheses* **4**:539
- KALRA, J., PRASAD, K., (1994) Oxygen Free Radicals and Cardiac Depression. *Clinical Biochemistry* **27 (3)** : 163-168.
- KARBOWNIK M, STASIAK M, ZASADA K, ZYGMUNT A, LEWINSKI A. (2005) Comparison of potential protective effects of melatonin, indole-3-propionic acid, and propylthiouracil against lipid peroxidation caused by potassium bromate in the thyroid gland. *J Cell Biochem*. **1;95(1)**:131-8.
- KATOH, M., DODO, K., FUJITA, M., SODEOKA, M. (2005) Structure-activity relationship of N-methyl-bisindolylmaleimide derivatives as cell death inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **15**:3109-13.

- KAVAS, G.Ö. (1989) Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri, Cilt 9* (1): 1-8.
- KEITHAHN, C., LERCHL, A. (2005) 5-hydroxytryptophan is a more potent in vitro hydroxyl radical scavenger than melatonin or vitamin C. *J. Pineal Res.*, **38**:62-66.
- KELLY, F. J. (1998) Use of antioxidants in the prevention and treatment of disease. *J Int Fed Clin Chem.* **10**(1):21-3
- KOCYIGIT-KAYMAKÇIOĞLU, B., ORUC, E., UNSALAN, S., KANDEMIRLI, F., SHVETS, N., ROLLAS, S., ANATHOLY, D. (2006) Synthesis and characterization of novel hydrazide-hydrazones and the study of their structure-antituberculosis activity. *Eu. J. Med. Chem.* **41**(11): 1253-1261.
- KOTLER, M., RODRIQUEZ, C., SAINZ, R.M., ANTOLIN, I., MENENDEZ-PELAEZ, A. (1998) Melatonin increases gene expression for antioxidant enzymes in rat brain cortex. *J. Pineal Res.* **24**: 83-89.
- LI, W-R., YO, Y-C., LIN, Y-S., (2000) Efficient One-Pot Formation of Amides from Benzyl Carbamates: Application to Solid-Phase Synthesis. *Tetrahedron.* **56**: 8867-8875
- LI, T. R., YANG, Z. Y., WANG, B. D. (2007) Synthesis, characterization and antioxidant activity of naringenin Schiff base and its Cu(II), Ni(II), Zn(II) complexes. *Chem Pharm Bull., (Tokyo)* **55**(1):26-8.
- LIMSON, J., NYOKONG, T., DAYA, S. (1998) The interaction of melatonin and its precursors with aluminium, cadmium, copper, iron, lead, and zinc: an adsorptive voltammetric study. *J. Pineal Res.* **1**: 15-21.
- MACCARRONE M., ULLRICH, V. (2004) Redox regulation in disease and ageing. *Cell Death and Differentiation* **11**: 949-951.

- MANCILLA, T., CANILLO, L., ZAMUDIO-RIVIERA L.S., BELTRAN, H. I., FARA, N., (2001) Synthesis and characterisation of new 2-substituted isoindoline derivatives of α -amino acids. *Organic Preparations and Procedures International*. **33** (4) : 341 - 349
- MANCILLA, T., CANILLO, L., ZAMUDIO-RIVIERA L.S., BELTRAN, H. I., FARA, N., (2002) Synthesis and characterisation of piperazine-2,6-diones. *Organic Preparations and Procedures International*. **34** (1) : 87 – 94
- MAJEKOVA, M., KOPRDA, V., BOHACIK, L., BOHOV, P., HADGRAFT, J., BEZAKOVA, Z., MAJEK, P. (2006) Skin permeation of acyl derivatives of stobadine. *Pharmacol.Toxicol. Pharm.Pharm.* **13**: 51-4.
- MARX, G., CHEVION, M., (1986) Site Specific Modification of Albumin by Free Radicals, Reaction with Copper II and ascorbate.
- MATUSZAK, Z., RESZKA, K. J., CHIGNELL, C. F. (1997) Reaction of melatonin and related indoles with hydroxyl radicals: EPR and spin trapping investigations. *Free Rad. Biol. Med.*, **23**:367-372.
- MCCORD, J. M.(1986) Superoxide dismutase: rationale for use in reperfusion injury and inflammation. *J. Free Radic. Biol. Med.* **2**: 307 – 310.
- MEDDOUR, A., LOVENSTEIN, A., PECHÏNE, J-M., COURTIEU, J., (1997) An achiral deuterated derivatizing agent for enantiomeric analysis through NMR in a liquid crystalline solvent. *Tetrahedron: Assymethry.* **8** (3): 485-494
- MEUCCI, E., MELE, M. C. (1997). Amino acids and plasma antioxidant capacity. *Amino Acids*, **12** (3-4): 173-377
- MIHARA, M., UCHIYAMA, M., FUKUZAWA, K., (1980) Thiobarbituric acid value on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid peroxidation in aging, CCl₄ intoxication, and vitamin E deficiency. *Biochem Med.* **23**: 302-311.

- MOR, M., SILVA, C., VACONDIO, F., PLAZZI, P. V., BERTONI, S., SPADONI, G., DIAMANTINI, G., BEDINI, A., TARZIA, G., ZUSSO, M., FRANCESCHINI, D., GIUSTI, P. (2004) Indole-based analogs of melatonin: in vitro antioxidant and cytoprotective activities. *J. Pineal Res.*, **36**: 95-102.
- MORITA, I., KAWAMOTO, M., YOSHIBA, H. (1992) Difference in the concentration of tryptophan metabolites between maternal and umbilical foetal blood. *J. Chromatogr.* **576**:334-9.
- MOUITHYS-MICKALAD, A. M. L., ZHENG, S. X., DEBY-DUPONT, G. P., DEBY, C. M. T., LAMY, M., REGINSTER, J. Y. Y., HENROTIN, Y. E. (2000) In vitro study of the antioxidant properties of non steroidal anti-inflammatory drugs by chemiluminescence and electron spin resonance (ESR). *Free Radic. Res.* **33**: 607-21.
- MIMIKA-DUKIC, N., Antioxidants in Health and diseases.
http://www.iama.gr/ethno/eie/neda_en.htm
- NISHIKAWA, M., HYODOU, K., KOBAYASHI, Y., UMEYAMA, Y., TAKAKURA, Y., HASHIDA, M. (2005) Inhibition of metastatic tumor growth by targeted delivery of antioxidant enzyme, *J. Control. Release* **109**: 101 – 107.
- NIWA, K., HAENSEL, C., ROSS, M. E., IADECOLA, C. (2001) Cyclooxygenase-1 participates in selected vasodilator responses of the cerebral circulation. *Circ. Res.* **88**:600-8.
- OOSTHUIZEN, M. M., GREYLING, D. (1999) Antioxidants suitable for use with chemiluminescence to identify oxyradical species. *Redox Rep.*, **4**: 277-290.
- ÖLGEN, S., ÇOBAN, T. (2002) Synthesis and antioxidant properties of novel N-substituted indole-2-carboxamide and indole-3-acetamide derivatives. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **7**: 331-338.

- ÖLGEN, S., ÇOBAN, T. (2003) Antioxidant evaluations of novel N-H and N-substituted indole esters. *Biol. Pharm. Bull.* **26**: 736 -738
- ÖLGEN, S., KILIÇ, Z., ADA, A. O., ÇOBAN, T. (2007) Synthesis and antioxidant properties of novel N-H and N-substituted propanamide derivatives. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **340**:140-6.
- PATEL, R. K., MCANDREW, J., SELLAKE, H., WHITE, C. R., JO, H., FREEMAN, B. A., DARLEY-USMAR. (1999) Biological aspects of reactive nitrogen series. *Biochim. Biophys. Acta.* **1411**:385-400.
- PIERI, C., MORONI, F., MARRA, M., MARCHESELLI, F., RECCHIONI, R. (1995) Melatonin is a efficient antioxidant. *Arch. Gerontol. Geriatrics.* **20**: 159-165.
- POEGGELER, B., REITER, R. J., TAN, D. X., CHEN, L-D., (1993) Manchester LC. Melatonin, hydroxyl radical mediated oxidative damage, and aging: A hypothesis. *J Pineal Res.* **14**: 151-168.
- POEGGELER, B., PAPPOLLA. M. A., HARDELAND, R., RASSOULPOUR, A., HODGKINS, S., GUIDETTI, P., SCHWARCZ, R. (1999) Indole-3-propionate: a potent hydroxyl radical scavenger in rat brain. *Brain Res.*, **815**:382-8.
- POEGGELER, B., THUERMAN, S., DOSE, A., SCHOENKE, M., BURKHARDT, S., HARDELAND, R. (2002) Melatonin's unique radical scavenging properties - roles of its functional substituents as revealed by a comparison with its structural analogs. *J Pineal Res.*, **33**:20-30.
- POLITI, V., D'ALESSIO, S., STAZIO, D., DE LUCA, G. (1996) Antioxidant properties of indole-3-pyruvic acid. *Adv. Biol. Exp. Med.*, **398**: 291-298.
- RATNAM, D.V., ANKOLA, D. D., BHARDWAJ, V., SAHANA, D.K., KUMAR, M. N. V. R., (2006) Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release* **113** : 189-207.

- REITER, R. J. (1980) The pineal and its hormones in the control of reproduction in mammals. *Endocrine Rev.*, **1**:109-131.
- REITER, R. J. (1991) Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocrine Rev.*, **12**:151-180.
- REITER, R. J., (1993) Interactions of the pineal hormone melatonin with oxygen-centered free radicals: a brief review. *Brazilian J Med Biol Res.* **26**: 1141-1155.
- REITER, R. J., (1997) Antioxidant actions of melatonin. *Adv. Pharmacol.*,**38**:103 - 117.
- REITER, R. J., GUERRERO, J. M.; GARCIA, J. J. ACUNA-CASTROVIEJO, D. (1998) Reactive oxygen intermediates, molecular damage, and aging. Relation to melatonin. *Ann. NY. Acad. Sci.*, **854**: 410-24.
- REITER, R. J., TAN, D. X., OSUNA C, GITTO,E., (2000) Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. *J Biomed Sci.* **7**: 444 - 458.
- REITER, R. J., TAN, D. X., QI, W., MANCHESTER, L. C., KARBOWNIK, M., CALVO, J. R. (2000) *Biol. Signals Recept.*,**9**:160-171.
- REITER, R. J., TAN, D. X., ALLEGRA, M. (2002) Melatonin: reducing molecular pathology and dysfunction due to free radicals and associated reactants. *Neuroendocrinol Lett.* **23(SUPPL 1)**:3-8.
- REITER, R. J. (2003) Melatonin: clinical relevance. *Best Pract. Res. Clin Endocrinol Metab.* **17**:273-285
- RESSMEYER, A. R., MAYO, J. C., ZELOSKO, V., SAINZ, R. M., TAN, D. X., POEGGELER, B., ANTOLIN, I., REITER, R. J., HARDELAND, R. (2003) Antioxidant properties of the melatonin metabolite N1-acetyl-5-methoxykynuramine (AMK): scavenging of free radicals and prevention of protein destruction. *Redox Rep.* **8**:205-13.

- RICCIONI, G., BUCCIARELLI, T., MANCINI, B., DI ILIO, C., CAPRA, V., D'ORAZIO, N. (2007) The role of the antioxidant vitamin supplementation in the prevention of cardiovascular diseases. *Expert Opin Investig Drugs* **16**:25-32.
- SANZ, E., ROMERA, M., BELLIK, L., MARCO, J. I., UNZETA, M. (2004) Indolalkylamines derivatives as antioxidant and neuroprotective agents in an experimental model of Parkinson's disease. *Med. Sci. Monit.*, **10**:BR477-84.
- SHABICA, A. C., HOWE, E. E., ZIEGLER, J. B., TISHLER, M. (1946) Improved synthesis of indole-3-aldehyde. *J Am. Chem. Soc* **68**:1156-57.
- SOFIC, E., RIMPAPA, Z., KUNDUROVIC, Z., SAPCANIN, A., TAHIROVIC, I., RUSTEMBEGOVIC, A., CAO, G. (2005) Antioxidant capacity of the neurohormone melatonin. *J Neural Transm.* **112**(3):349-58.
- SOLOMONS, T.W.G., FRYHLE, C. B., (2000) Organic Chemistry. 7th Edition. *John – Willey & Sons Inc.* 559,700,1186,1187,1201,1202.
- SPADONI, G., DIAMANTINI, G., BEDINI, A., TARZIA, G., VACONDIO, F., SILVA, C., RIVARA, M., MOR, M., PLAZZI, P. V., ZUSSO, M., FRANCESCHINI, D., GIUSTI, P. (2006) Synthesis, antioxidant activity and structure-activity relationships for a new series of 2-(N-acylaminoethyl)indoles with melatonin-like cytoprotective activity. *J. Pineal Res.*, **40**:259-69.
- SREEYAN, N., RAO, M. (1996) Free radical scavenging activity of curcuminoids. *Drug. Res.*, **46**: 169-171.
- STADTMAN, E.R., OLIVER, C.N., (1991) Metal-catalyzed oxidation of proteins, physiological consequences. *The Journal of Biological Chemistry* **266** (4): 2005-2008
- STOLC, S., SNIRC, V., MAJEKOVA, M., GASPAROVA, Z., GAJDOSIKOVA, A., STVRTINA, S. (2006) Development of the new group of indole-derived neuroprotective drugs affecting oxidative stress. *Cell Mol. Neurobiol.* **26**:1495-504.C.,

- STOREY, H. T., BEACHAM J., CERNOSEK, S. F., FINN, F. M., YANAIHARA, HOFFMAN, K., (1972) Studies on Polypeptides. LI. Application of S Ethylcarbamoylcysteine to the Synthesis of a Protected Heptatetracontapeptide Related to the Primary Sequence of Ribonuclease T₁¹⁻⁴. *Journal of the American Chemical Society.* **94**(17): 6170-6177
- SUBHASHINEE, S. K., WIJERATNE, SUSAN, L., CUPPETT, VICKY, S. (2005) Hydrogen peroxide induced oxidative stress damage and antioxidant enzyme response in caco-2 human colon cells. *J. Agric. Food Chem.*, **53**(22):8768 -8774.
- SUGDEN, B., BAICHWAL, V. R., (1989). The multiple membranespanning segments of the BNLF-1 oncogene from Epstein–Barr virus are required for transformation. *Oncogene* **4** : 67–74.
- SUGDEN D. (1989) Melatonin biosynthesis in the mammalian pineal gland. *Experientia.* **45**: 922-932.
- SÜZEN, S., (1997) Synthesis and Investigation of Hydrolysis of some N-substituted Dehydroalanine Derivatives. A thesis submitted for degree of Doctor of Philosophy in the University of Wales, University College of Swansea, 109-110.
- SÜZEN, S., BÜYÜKBİNGÖL, E., (1998) Evaluation of Anti-HIV Activity of 5-(2-phenyl-3'- Indolyl)-2-thiohydantoin. *Il Farmaco* **53**:525-527.
- SÜZEN, S., ATEŞ-ALAGÖZ, Z., PÜSKÜLLÜ, O. (2000) Antioxidant Activities of Indole and Benzimidazole Derivatives. *FABAD J. Pharm. Sci.*, **25**(3):113-119.
- SÜZEN, S., BÜYÜKBİNGÖL, E. (2000) Anti-Cancer Activity Studies of Indolalithiohydantoin (PIT) on certain cancer cell lines. *Il Farmaco* **55**(4):246-248.
- SÜZEN, S., ATEŞ-ALAGÖZ, Z., DEMİRCİGİL, T., ÖZKAN, S. A. (2001) Synthesis and Analytical Evaluation by Voltammetric Studies of Some New Indole-3-propionic acid Derivatives. *Il Farmaco* **56**:835-840.

- SÜZEN, S., DEMİRCİGİL, T., BÜYÜKBİNGÖL, E., ÖZKAN, S. (2003) Electroanalytical Evaluation and Determination of 5-(3'-indolyl)-2-thiohydantoin Derivatives by Voltammetric studies: possible relevance to *in vitro* metabolism. *New J. Chem.*, **27**:1007-1011.
- SÜZEN, S. (2006) Recent developments of melatonin related antioxidant compounds. *Com Chem High T Synt* **9(6)**:409-419.
- SÜZEN, S., BOZKAYA, P., ÇOBAN, T., NEBİOĞLU, D. (2006) Investigation of *in vitro* antioxidant behaviour of some 2-phenylindole derivatives: discussion on possible antioxidant mechanisms and comparison with melatonin. *J. Enzyme Inh. Med. Chem.* **21(4)**:405-411.
- SÜZEN S. (2007) Topics in Heterocyclic Chemistry, Bioactive Heterocycles V, Antioxidant Activities of Synthetic Indole Derivatives and Possible Activity Mechanisms, Khan, M.T.H. (Ed.), Vol. 11.
- ŞAHNA, E., DENİZ, E., AKSULU, H. E., (2006) Myokardiyal İskemi Reperfüzyon Hasarı ve Melatonin. <http://anakarder.com/sayilar/29/2006/163-168.pdf> **29**:163-168.
- TABRIZI, S. J., WORKMAN, J., HART, P. E., MANGIARINI, L., MAHAL, A., BATES, G., COOPER, J. M., SCHAPIRA, A. H. (2000) Mitochondrial dysfunction and free radical damage in the Huntington R6/2 transgenic mouse. *Ann. Neurol.* **47**:80-6.
- TAN, D. X., CHEN, L. D., POEGGELER, B., MANCHESTER, L. C., REITER, R. J. (1993) Melatonin: a potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocr. J.*, **1**:57-60.
- TAN, D. X., MANCHESTER, L. C., REITER, R. J., PLUMMER, B. F., HARDIES, L. J., WEINTRAUB, S.T., SHEPHERD, A. M. (1998) A novel melatonin metabolite, cyclic 3-hydroxymelatonin: a biomarker of *in vivo* hydroxyl radical generation. *M. Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **253**:614-620.

- TAN, D. X., REITER, R. J., MANCHESTER, L. C., YAN, M. T., EL-SAWI, M., SAINZ, R. M., MAYO, J. C., KOHEN, R., ALLEGRA, M., HARDELAND, R. (2002) Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Curr. Top. Med. Chem.*, **2** :181-197.
- TAN, D. X., MANCHESTER, L. C., HARDELAND, R., LOPEZ-BURILLO, S., MAYO, J. C., SAINZ, R. M., REITER, R. J. (2003) Melatonin: a hormone, a tissue factor, an autocoid, a paracoid, and an antioxidant vitamin. *J. Pineal Res.*, **34**:75-78.
- THOMAS, L., DREW, J. E., ABRAMOVICH D. R., WILLIAMS, .L. M., (1998) The role of melatonin in the human fetus (review). *Int J Mol Med.* **1**: 539-543
- TOMAS-ZAPICO, C., COTO-MONTES, A. (2007) Melatonin as Antioxidant Under Pathological Processes. *Recent Patents on Endocrine, Metabol Immune Drug Disc.*, **1 (1)** : 63-82.
- TOMINAGA, T., SATO, S., OHNISHI, J., OHNISHI S. T. (1993) Potentiation of nitric oxide formation following bilateral carotid occlusion and focal cerebral ischemia in the rat: in vivo detection of nitric oxide radical by electron paramagnetic resonance spin trapping. *Brain Res.*, **614** : 342-6.
- TORRES, L., ANDERSON, C., MARRO, P., MISHRA, O. P., DELIVORIA-PAPADOPOULOS, M. (2004) Cyclooxygenase-mediated generation of free radicals during hypoxia in the cerebral cortex of newborn piglets. *Biomed. Life Sci.* **29**:1825-30.
- TROTTER N.S., BRIMBLE M. A., HARRIS, P. W. CALLIS, D. J., SIEG, F., (2005) Synthesis and neuroprotective activity of analogues of glycyl-L-prolyl-L-glutamic acid (GPE) modified at the α -carboxylic acid *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **13**: 501–517.

- VALLYATHAN, V., SHI, X. L., DALAL, N. S., IRR, W., CASTRAVOVA, V., (1988) Generation of Free Radicals From Freshly Fracturated Silica Dust: Potential Role in Acute Silica Induced Lung Injury. *Am. Rev. Respir. Dis.* **138**:1231-19.
- VASRADARAJAN, S., YATIN, S., AKSENOVA, M., BUTTERFIELD, D. A. (2000) Review: Alzheimer's amyloid beta-peptide-associated free radical oxidative stress and neurotoxicity. *J. Struct. Biol.* (2000) **130**:184-208.
- VARVARESOU, A., TSANTILI-KAKOULIDOU, A., SIATRA-PAPASTAIKOUDI, T., TILIGADA, E. (2000) Synthesis and biological evaluation of indole containing derivatives of thiosemicarbazide and their cyclic 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole analogs. *Arzneimittelforschung.* **50**:48-54.
- VOET, D., VOET, J.G., (1995) Biochemistry, *John –Willey & Sons Inc.* **CHAPTER 4**: 55-60.
- WARNER, B.B., BURHANS, M.S., CLARK, J.C., WISPE, J.R. (1991) Tumor necrosis factor- α increases Mn-SOD expression: protection against oxidant injury. *Am. J. Physiol.* **260**: L 296,
- WHARTON, C. W., CORNISH-BOWDEN, A., BROCKLEHURST, K., CROOK, E. M., (1974) *Biochem J.* **141** : 371.
- WOZNIAK, B., WOZNIAK, A., KASPRZAK, H. A., DREWA, G., MILAKIERZENKOWSKA, C., DREWA, T., PLANUTIS, G., (2007) Lipid peroxidation and activity of some antioxidant enzymes in patients with glioblastoma and astrocytoma. *J. Neurooncol.* **81**: 21-26.
- XIMENES, V. F., PAINO, I. M. M., FARIA-OLIVEIRA, O. M. M., FONSECA, L. M., BRUNETTI. I. L. (2005) Indole ring oxidation by activated leukocytes prevents the production of hypochlorous acid. *Braz J Med Biol Res.*, 38(11):1575-83.
- YAZICI, C., KÖSE, K., (2004) Melatonin: Karanlığın Antioksidan Gücü. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi (E.Ü. Journal of Health Sciences.* **13**(2) : 56-65.

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

ZIKA, C. A., NICOLAOU, I., GAVALAS, A., REKATAS, G. V., TANI, E., DEMOPOULOS, V. J. (2004) Behavioral and antioxidant activity of a tosylbenz[g]indolamine derivative. A proposed better profile for a potential antipsychotic agent. *Annals. of General Hospital Psychiatry* **3**:1-7.

ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel Bilgiler

Adı: Seyhan Sezen

Soyadı: Cihaner

Doğum yeri ve tarihi: Ankara – 27.05.1981

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu: Bekar

İletişim adresi: Huzur Mah. 13. Sok. 14/7 Dikmen - Ankara

Telefonu: 0 535 861 26 66

II. Eğitimi

Lisans: Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü (2000-2005)

Lise: Ankara Ayrancı Lisesi (Yabancı Dil Ağırlıklı) (1995-1999)

Ortaokul: Ankara Deneme Lisesi (1992-1995)

İlkokul: Türk-iş Blokları İlkokulu (1987-1992)

Yabancı dili: İngilizce

III. Ünvanları

Kimyager – 2005

IV. Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Klinik Araştırmalar Derneği

Türk Farmasötik ve Medisinal Kimya Derneği

V. Verdiği Seminerler :

Gentler Fuel Cleaning Using Zeolites (2004 Hacettepe Üniversitesi Kimya Bölümü)

Hastalıklardan Korunma ve tedavide Antioksidanların Rolüne Farmasötik Bakış (2007 Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü)

VI. Sempozyumlar - Sertifikalar:

Uluslararası Medisinal ve Farmasötik Kimya Toplantısı IMMPC-3 ve Katılım Sertifikası (2007)

Uluslararası Laboratuardan Kliniğe Kök Hücre Teknolojileri Sempozyumu ve Sempozyuma Katılım Sertifikası (2006)

Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi İngilizce Öğretmenlik Sertifikası (2003-2004)

Diğer Üyelikler:

1. Ankara Capoiera Derneği
2. A.Ü. Yüzme Havuzu