

T.C.  
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**2-(1H-İNDOL-3-İL) HİDRAZİT TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE  
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**Dilfigar YALÇIN KAYANTAŞ**

**KİMYA ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Prof. Dr. Ahmet ÇETİN**

**BİNGÖL-2024**

**2-(1H-İNDOL-3-İL) HİDRAZİT TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE BİYOLOJİK  
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

Prof. Dr. Ahmet ÇETİN danışmanlığında, Dilfigar YALÇIN KAYANTAŞ tarafından hazırlanan bu çalışma 08.02.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı Organik Kimya Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak **oybirliği (.../...)** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. Kenan KORAN *İmza* :  
Üye : Prof. Dr. Ahmet ÇETİN *İmza* :  
Üye : Doç. Dr. Fethi Ahmet ÖZDEMİR *İmza* :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulunun ...../ ...../ ..... tarih ve ...../ .....  
nolu kararı ile onaylanmıştır.

**Prof. Dr. Zafer ŞİAR**  
**Enstitü Müdürü**

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir. Proje No: BAP-FEF.2023.03

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezimi planlayıp yöneten, bilgi ve tecrübesi ile çalışmalarına yön veren, tezimin her aşamasında anlayışı ile yanımda olan ve desteğini hiç esirgemeyen kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet ÇETİN'e sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Yüksek Lisans eğitimim boyunca desteğini eksik etmeyen değerli hocam Doç. Dr. Sinan BAYINDIR'a, yaptığımız araştırmanın biyolojik aktivite kısmında her türlü desteği veren Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Biyoloji bölümü öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Sevgi DURNA DAŞTAN'a; teşekkürü bir borç bilirim. Bu zamana kadar emeklerini ve dualarını esirgemeyen, bu günlere gelmemde çok büyük emeği ve desteği olan canım anneme ve kardeşlerime sonsuz şükranlarımı sunarım.

Aynı zamanda bu zorlu süreçte her zaman yanımda olan ve desteğini hiç eksik etmeyen eşim Doç. Dr. İdris KAYANTAŞ'a ve bana ilham olan ve bu süreçte yolumu aydınlatan canım kızım Aymira Lina' ma sonsuz şükranlarımı sunarım iyi ki varsınız.

Bu çalışma, Bingöl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı BAP birimine de şükranlarımı sunarım. Proje No: BAP-FEF.2023.03

**Dilfigar YALÇIN KAYANTAŞ**

**Bingöl 2024**

# İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ .....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ .....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	vi
TABLOLAR LİSTESİ .....	viii
ÖZET .....	ix
ABSTRACT .....	x
1. GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	3
2.1. Genel Bilgiler .....	3
2.2. İndol .....	3
2.3. İndol Halkasının Kimyasal Özellikleri .....	3
2.2.1. İndol Halkasının Genel Sentez Yöntemleri .....	5
2.2.1.1. Fischer İndol Sentezi .....	6
2.2.1.2. Leimrruber-Batcho İndol Sentezi .....	7
2.2.1.3. Bischler-Möhlau İndol Sentezi .....	7
2.2.1.4. Reissert indol sentezi .....	7
2.2.1.5. Gassman İndol Sentezi .....	8
2.2.1.6. Bartoli indol sentezi .....	8
2.3. Karbohidrazit ve Hidrazonlar .....	9
2.4. Biyolojik Aktiviteleri .....	11
2.4.1. Antimikrobiyal Aktivite .....	11
2.4.2. Antikanser Aktivite .....	11
2.4.3. Antiviral Aktivite .....	11
2.4.4. Antifungal Aktivite .....	12
2.4.5. Antioksidan Aktivite .....	12
2.5. Yapılan Çalışmalar .....	12
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	24

3.1. Kullanılan Materyaller.....	24
3.2. Kullanılan Kimyasallar.....	24
3.3. Saflaştırma.....	25
3.4. Biyolojik Aktivite Analizleri .....	26
3.4.1. İn Vitro Antioksidan Aktivite İçin Difenilpicrilhidrazil (Diphenylpicrylhydrazyl; DPPH) Radikali Süpürme Aktivitesi .....	26
3.4.2. Antikanserojen Aktivite Analizleri .....	28
3.4.2.1. Hücre Hatları .....	28
3.4.2.2. Hücre Açma Protokolü.....	28
3.4.2.3. Hücrelerin Pasajlanması .....	29
3.4.2.4. Hücrelerin Ekilmesi.....	29
3.4.2.5. Hücrelere Etken Madde Uygulanması ve MTT Testi .....	30
3.4.2.6. Hücrelerin Görüntülenmesi .....	31
3.4.3. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi .....	31
3.4.4. Fibroblast (L929) Hücre Kültüründe Yeni Sentezlenen Bileşiklerin Uygulanmasıyla Birlikte Hücrelerin Oksidatif Stresinin Tespit Edilmesi ....	32
3.4.4.1. Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Analizi.....	33
3.4.4.2. Toplam Antioksidan Seviye (TAS) Analizi .....	33
3.4.4.3. Toplam Oksidan Seviye (TOS) Analizi .....	34
3.4.4.4. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) Analizi .....	34
3.4.4.5. Toplam Tiyol Düzeylerinin Analizi .....	34
3.4.5. DNA Hasarını Önleyici Aktivite .....	34
3.4.6. İstatistiksel Analiz .....	38
4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	43
4.1. Sentezlenen Bileşiklerin Kimyasal Bulguları .....	43
4.1.1. Genel Sentez Yöntemi .....	43
4.1.2. 2-(1H-indol-3-il)-N'-(tiyofen-2-ilmetilen)asetohidrazit sentezi (3a).....	43
4.1.3. 2-(1H-indol-3-il)-N'-(4-izopropilbenziliden) asetohidrazit sentezi (3b) .....	46
4.1.4. 2-(1H-indol-3-il)-N'-(piridin-4-ilmetilen)asetohidrazit sentezi (3c).....	48
4.1.5. N'-(4-fluorobenziliden)-2-(1H-indol-3-il)asetohidrazit sentezi (3d).....	51
4.1.6. N'-(furan-2-ilmetilen)-2-(1H-indol-3-il)asetohidrazit sentezi (3e).....	54
4.1.7. 2-(1H-indol-3-il)-N'-(4-nitrobenziliden)asetohidrazit sentezi (3f).....	57
4.1.8. N'-(antrasen-9-ilmetilen)-2-(1H-indol-3-il)asetohidrazit sentezi (3g).....	60

4.1.9. 2-(1H-indol-3-il)-N'-(piren-2-ilmetilen)asetohidrazit sentezi D-13 (3h).....	63
4.1.10. N'-(2-aminobenziliden)-2-(1H-indol-3-il)asetohidrazit sentezi (3i).....	66
4.1.11. N'-((1H-pirol-2-il)metilen)-2-(1H-indol-3-il)asetohidrazit sentezi (3j) .....	69
4.1.12. 2-(1 -indol-3-il)-N'-(2-nitrobenziliden)asetohidrazit sentezi (3k) .....	72
4.2. Sentezlenen Bileşiklerin Biyolojik Aktivite Bulguları.....	74
4.2.1. İn Vitro Antioksidan Aktivitelerin Değerlendirilmesi.....	74
4.2.2. In Vitro Antikanserojen Özelliklerin Değerlendirilmesi .....	76
4.2.3. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları.....	80
4.2.4. L929 Hücre Kültüründe Hücrelerin Oksidatif stresinin Değerlendirilmesi	
Analiz Sonuçları .....	81
4.2.4.1. Lipid peroksidasyonunun göstergesi Malondialdehit (MDA)	
Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	81
4.2.4.2. Toplam Antioksidan Seviyenin Değerlendirilmesi .....	82
4.2.4.3. Toplam Oksidan Seviyenin (TOS) Değerlendirilmesi .....	83
4.2.4.4. L929 Hücrelerinde Test Bileşikleri Uygulanmasıyla Oksidatif	
Stres İndeksindeki Değişmeler.....	84
4.2.4.5. Toplam Tiyol Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	85
4.2.5. DNA hasarını önleyici aktivite sonuçları.....	86
5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	90
5.1. Sentezlenen Bileşiklerin Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	90
5.2. Biyolojik Aktivite Sonuçlarının Değerlendirilmesi .....	92
KAYNAKLAR .....	94
ÖZGEÇMİŞ .....	<b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>

## SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ

WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
FT-IR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
<sup>1</sup> H-NMR	: Proton Nükleer Manyetik Rezonans
<sup>13</sup> C-APT NMR	: Karbon Nükleer Manyetik Rezonans
Al	: Alifatik
Ar	: Aromatik
Ger. Tit.	: Gerilme Titreşimi
NNR	: Non-Nükleosid Revers

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1. DPPH• analizi uygulamaları .....	27
Şekil 3.2. MTT reaksiyonu Elisa okuması .....	30
Şekil 3.3. Mikroplate içinde minimum inhibisyon konsantrasyon testi.....	32
Şekil 3.4. Plazmid DNA formları.....	36
Şekil 4.1. 3a molekülünün FT-IR spektrumu .....	44
Şekil 4.2. 3a molekülünün <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....	45
Şekil 4.3. 3a molekülünün <sup>13</sup> C-APT NMR spektrumu .....	46
Şekil 4.4. 3b molekülünün FT-IR spektrumu.....	47
Şekil 4.5. 3b molekülünün <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....	47
Şekil 4.6. 3b molekülünün <sup>13</sup> C-APT NMR spektrumu .....	48
Şekil 4.7. 3c molekülünün FT-IR spektrumu .....	49
Şekil 4.8. 3c molekülünün <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....	50
Şekil 4.9. 3c molekülünün <sup>13</sup> C-APT NMR spektrumu .....	51
Şekil 4.10. 3d molekülünün FT-IR spektrumu.....	52
Şekil 4.11. 3d molekülünün <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....	53
Şekil 4.12. 3d molekülünün <sup>13</sup> C-APT NMR spektrumu .....	54
Şekil 4.13. 3e molekülünün FT-IR spektrumu.....	55
Şekil 4.14. 3e molekülünün <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....	56
Şekil 4.15. 3e molekülünün <sup>13</sup> C-APT NMR spektrumu .....	57
Şekil 4.16. 3f molekülünün FT-IR spektrumu .....	58
Şekil 4.17. 3f molekülünün <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	59
Şekil 4.18. 3f molekülünün <sup>13</sup> C-APT NMR spektrumu .....	60
Şekil 4.19. 3g molekülünün FT-IR spektrumu.....	61
Şekil 4.20. 3g molekülünün <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....	62
Şekil 4.21. 3g molekülünün <sup>13</sup> C-APT NMR spektrumu .....	63
Şekil 4.22. 3h molekülünün FT-IR spektrumu.....	64
Şekil 4.23. 3h molekülünün <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....	65
Şekil 4.24. 3h molekülünün <sup>13</sup> C-APT NMR spektrumu .....	66



Şekil 4.25. 3i molekülünün FT-IR spektrumu .....	67
Şekil 4.26. 3i molekülünün <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....	68
Şekil 4.27. 3i molekülünün <sup>13</sup> C-APT NMR spektrumu .....	69
Şekil 4.28. 3j molekülünün FT-IR spektrumu .....	70
Şekil 4.29. 3j molekülünün <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....	71
Şekil 4.30. 3j molekülünün <sup>13</sup> C-APT NMR spektrumu .....	72
Şekil 4.31. 3k molekülünün FT-IR spektrumu.....	73
Şekil 4.32. 3k molekülünün <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....	73
Şekil 4.33. 3k molekülünün <sup>13</sup> C-APT NMR spektrumu .....	74
Şekil 4.34. Yeni sentezlenen bileşiklerin (3a-k) DPPH• radikalini süpürme kapasiteleri .....	76
Şekil 4.35. Yeni sentezlenen bileşiklerin hücre hatlarındaki % Hücre canlılık sonuçları.....	77
Şekil 4.36. Test bileşiklerinin SW620 hücrelerinde uygulama sonrası hücre morfolojileri .....	79
Şekil 4.37 Test bileşiklerinin DNA koruyucu aktivitesinin agaroz jelde görüntülenmesi .....	87
Şekil 5.1. Genel sentez şeması .....	90
Şekil 5.2. Örnek moleküle (3c) ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumunda izomer piklerin gösterimi .....	91
Şekil 5.3. Örnek moleküle (3c) ait <sup>13</sup> C-APT NMR spektrumunda izomer piklerin gösterimi .....	92

## TABLolar LİSTESİ

Tablo 3.1. DNA hasarına karşı sentezlenen bileşiklerin aktivitelerinin belirlenmesi deneyi. ....	37
Tablo 4.1. Test bileşikleri ve standart antioksidanların DPPH süpürme aktiviteleri .....	75
Tablo 4.2. Yeni sentezlenen bileşiklerin in vitro sitotoksik aktivitesini gösteren IC50 değerleri.....	76
Tablo 4.3. Test bileşiklerinin L929, MCF-7 ve SW620 hücre hatlarındaki IC50 değerlerinin karşılaştırılmasından elde edilen Seçicilik İndeksi (Selectivity Index). ....	80
Tablo 4.4. Yeni sentezlenen bileşiklerin antimikrobiyal etkisi.....	81
Tablo 4.5. L929 hücre hatlarında 100 µM konsantrasyonda test bileşiği uygulandığında 24 saat sonrasında MDA seviyeleri.....	82
Tablo 4.6. Farklı konsantrasyonlarda test bileşikleri uygulanmış L929 hücre hatlarında TAS düzeyleri .....	83
Tablo 4.7. Farklı konsantrasyonlarda test bileşikleri uygulanmış L929 hücre hatlarında TOS düzeyleri .....	84
Tablo 4.8. Test bileşikleri uygulanmış L929 hücre hatlarında OSİ düzeyleri .....	85
Tablo 4.9. Test bileşikleri uygulanmış L929 hücre hatlarında toplam tiyol düzeyleri .....	86

## 2-(1H-İNDOL-3-İL) HİDRAZİT TÜREVLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

### ÖZET

Bu çalışmada 1H-indol halkası içeren 11 adet açılıhidrazon türevi sentezlenerek biyolojik aktivite testleri gerçekleştirildi. Başlangıç maddesi olarak 2-(1H indol-3-il)asetohidrazit bileşiği asit katalizörlüğünde çeşitli aromatik aldehitler (**2a-k**) ile tepkimeye sokularak 2-(1H-indol-3-il)-N'-(4-substitüebenziliden)asetohidrazit (**3a-k**) türevleri sentezlendi. Sentezlenen moleküller, FT-IR, <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C APT-NMR gibi spektroskopik teknikler kullanılarak kimyasal yapıları aydınlatıldı.

Bu bileşiklerin (**3a-k**) biyolojik özelliklerinin incelenmesi amacıyla *in vitro* antioksidan, *in vitro* antikanser, antimikrobiyal, antifungal, oksidatif stres ve DNA hasarını önleyici aktivite çalışmaları yapılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** İndol, Hidrazon, Antioksidan, Antimikrobiyal, Antikanser.

# THE SYNTHESIS, CHARACTERIZATION OF 2-(1H-INDOL-3-YL) HYDRAZIDE DERIVATIVES AND INVESTIGATION OF THEIR BIOLOGICAL PROPERTIES

## ABSTRACT

In this study, 11 acylhydrazone derivatives containing 1*H*-indole ring were synthesized and biological activity tests were performed. As the starting material, 2-(1*H*-indol-3-yl)acetohydrazide compound is reacted with various aromatic aldehydes (**2a-k**) under acid catalysis to produce 2-(1*H*-indol-3-yl)-*N'*-(4-substitutedbenzylidene)acetohydrazide derivatives(**3a-k**) were synthesized. The chemical structures of the synthesized molecules were elucidated using spectroscopic techniques such as FT-IR, 1H-NMR and 13C APT-NMR.

*In vitro* antioxidant, *in vitro* anticancer, antimicrobial, antifungal, oxidative stress and DNA damage preventive activity studies were performed to examine the biological properties of these compounds (**3a-k**).

**Keywords:** Indole, Hydrazone, Antioxidant, Antimicrobial, Anticancer.

## 1. GİRİŞ

Son zamanlarda hastalığa neden olan mikroorganizmaların, var olan ilaçlara karşı dirençli hale gelmesi, virüs bakteri kaynaklı hastalıkların ve kanserin çok yaygın olması, mevcut ilaçların tedaviye istenilen cevabı verememesinden dolayı yeni daha aktif bileşiklere ilaç yapımında kullanılmak üzere ihtiyaç duyulmaktadır (Yılmaz, 2012).

Bakterilerin ve virüslerin mevcut ilaçlara karşı direnç geliştirmiş olması ve bu direncin her geçen gün artarak devam etmesi, halk sağlığını tehdit eden önemli sorunlarından biri haline gelmiştir. Bununla birlikte kanser, günümüzde devamlı artarak, önemli sağlık sorunlarından biri olarak yerini korumaktadır. WHO'nun verdiği bilgilere göre yılda yaklaşık 25 milyon kişiye kanser hastalığına yakalanmakta ve yılda ortalama 7 milyon kişi bu hastalık nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Ülkemize bakıldığında ise durum diğer ülkelerden pek farklı değildir. Kanser hastalığı erkek ve kadınlarda en çok ölümlerle sonuçlanan ikinci hastalık çeşidi olmuştur. Hastalığın tedavisi uzun ve maliyetlidir. Bu aynı zamanda ülke ekonomisine de ciddi oranda zarar vermektedir. Ülkemizde yılda 160 000 civarında yeni kanser hastalığına yakalanan insan olduğu düşünülmektedir (Bağ, 2013).

İndol halkası ve halkaya bağlanan gruplarla oluşan moleküllerin üzerinde bu kadar fazla çalışma ve araştırma yapılmasının en önemli sebebi, indol ve indol türevlerinin geniş biyolojik aktivite göstermesidir (Joshi ve Chand 1982). Mevcut ilaçların etken maddelerinin yanı sıra yeni ilaç araştırma ve geliştirme çalışmaları indol bileşiğinin ve ona bağlı yan grupların önemini her geçen gün arttırdığını göstermektedir (Çetin, 2004). Son zamanlarda; organik bileşik sentezlerinde geniş antimikrobiyal ve biyolojik aktivitesi olan polifonksiyonel ve heteroatom içeren halkalı moleküllerin eldesi, organik kimya alanında önemli yer oluşturmaktadır. Bunların içerisinde Azometin grubu içeren hidrazon tipi bileşikler önemli bir grup oluşturmaktadır. İndol grubu ve hidrazon içeren bileşikler antifungal, anti-enflamatuvar, antimikrobiyal, ağrı kesici ve antitüberküloz aktivitede oldukça etkindir. İndol halkası ve elektronca zengin halka sistemine sahip olan heterosiklik bileşikler ilaç yapımında kullanılan bileşiklerde birçok biyolojik aktiviteyi barındırması açısından oldukça fazla önem arz etmektedir (Öztürk, 2015).

Bütün bu sağlık sorunları incelendiğinde var olan ilaçların yanı sıra daha aktif daha etkili bileşiklerin sentezlenmesine her geçen gün daha fazla ihtiyaç olduğu dşnlmektedir. İndol türevlerinin antimikrobiyal, antioksidan, antiviral, antifungal, antikanser etkiler gibi geniş bir alanda sahip olduğu aktivitenin literatürde var olduğu bilinmektedir. Var olan bu hastalıklar düşünüldüğü zaman indol türevlerinin sentezine verilen önem her geçen gün artmakta ve bu anlamda yapılan çalışmalar son derece önem kazanmaktadır. Bu amaçla yeni bileşikler araştırmak, sentezlemek ve literatüre kazandırmak daha önemli hale gelmiştir. Çalışmanın amacı var olan bileşiklere ek olarak daha etken daha az yan etkili olabilecek yeni bileşikleri literatüre kazandırmaktır.

Son zamanların üzerinde en fazla çalışıldığı, tedavisi için farklı yöntemlerin denendiği, farklı yapılara sahip moleküllerin terapötik amaçlarla kullanıldığı kanser hastalığı, en fazla ölümle sonuçlanan hastalıklar arasındaki yerini korumaktadır (Daştan, 2017). Dünya genelinde kadınları etkileyen en yaygın tümör tipi meme kanseri olarak belirlenmiştir. Tedavi amaçlı kullanılan radyoterapi ve kemoterapi yöntemlerinin önemli ve büyük yan etkileri vardır. Tedavide daha düşük yan etkili yeni kemoterapötiklerin araştırılması ve bulunması kanser çalışmaları açısından son derece önemlidir (Daştan, 2017). Bu anlamda bizim çalışmamızda sentezlenen bileşiklerin farklı biyolojik aktivitelerinin anlaşılması ve in vitro koşullarda hücre içinde farklı biyokimyasal süreçlerdeki özelliklerinin bulunması açısından oldukça önemlidir.

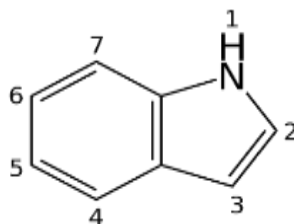
## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Genel Bilgiler

### 2.2. İndol

İndol altı üyeli benzen halkasına beş üyeli pirol halkasının kaynaşması ile oluşan heteroaromatik ve bisiklik bir bileşiktir. İndol bileşiği planar yapıya ve 10 pi elektronuna sahiptir, bunlardan sekiz tanesi halkanın içinde iki tanesi ise azot atomu üzerinde bulunan eşleşmemiş elektronlardır. Bileşik bundan dolayı aromatik yapıya sahiptir.

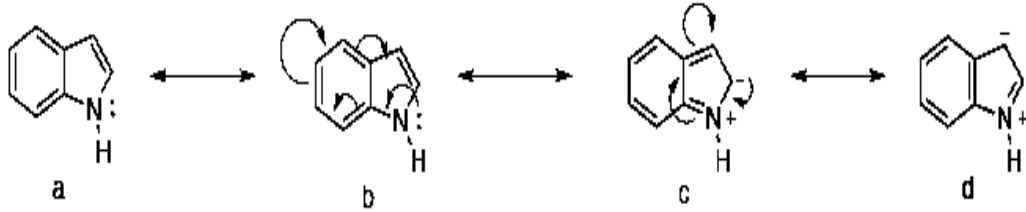
İndol molekülü  $C_8H_7N$  molekül formülüne sahiptir. Molekül kütlesi 117.15 g/mol dür. Bileşiğin IUPAC adı 1H-benzo [b] pirol'dür. İndol bileşiği, doğada oldukça fazla bulunan aromatik bir heterosiklik halkadır. Birçok ilaç hammaddesinin içeriğinde var olduğundan dolayı farmasötik açıdan oldukça önemli bir halkadır. İndol bileşikleri üzerine birçok araştırma yapılmasının sebebi birden fazla biyolojik aktiviteye sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Bunlar arasında antiviral, antikanser, antibakteriyel, antioksidan gibi etkiler bulunur. İndol, doğal ortamda yaygın olarak bulunup çeşitli bakteriler tarafından üretildiği gibi sentetik olarak da elde edilmektedir. Birçok biyolojik aktiviteye sahip olan indol bileşikleri üzerine yapılan çalışmalar her geçen gün daha da önemli hale gelmektedir.



### 2.3. İndol Halkasının Kimyasal Özellikleri

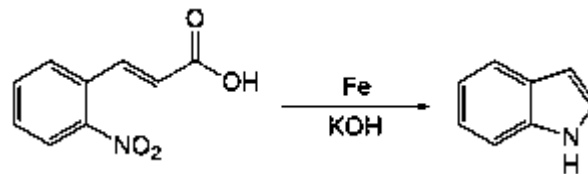
İndol benzen ve pirol halkasının kaynaşmasıyla oluşan bir molekül olmasına rağmen iki bileşikten farklı özellikler göstermektedir. Pirol halkasındaki, 2 ve 5 numaralı karbonların elektron yoğunluğunun 3 ve 4 numaralı karbona göre daha fazla olduğu görülmektedir. İndol molekülünde ise 3 nolu karbonun elektronca daha yoğun özellik gösterdiği söylenebilir. Benzen halkasının yapısı incelendiğinde ise tüm karbonların eşit elektron

yoğunluğuna sahip olduğu görülmektedir. İndol halkasında ise durum şu şekilde özetlenebilir; 4 ve 6 numaralı karbonlar, 5 ve 7 numaralı karbonlara kıyasla daha düşük elektron yoğunluğuna sahiptirler. Bu durum karbonların, aromatik elektrofilik yer değiştirme reaksiyonlarında daha etkin olmalarından da anlaşılabilir (Avan, 2006).



Rezonans yapılarından anlaşılacağı üzere a, b ve d rezonans şekillerinde benzen halka sistemi korunmuştur ve bu durum bileşiklerin kararlı olduğunu göstermektedir. Bundan dolayı yapılacak olan bir elektrofilik atak durumunda elektron yoğunluğu çok olan 3 numaralı C' na gerçekleşir. Ayrıca indol bileşiğindeki azot atomunun ortaklanmamış elektron çifti halka içine delokalize olur. Bunun sonucunda indol halkası 3. konumdan elektrofilik süstitüsyonlarda daha etkili hale gelir.

İndol bileşiği ilk kez, bitkisel kaynaklı bir maddeden elde edilmiştir. İndigonun nitrik asitle tepkimesinden Bayer tarafından sentezlenmiştir (Bayer, 1866).



İndol aromatik ve heterosiklik bir organik bileşiktir. Naftalen ile izoelektroniktir. Heterosiklik azot, pi elektronun ikisini karşılar. İndol oldukça zayıf asidik karaktere sahiptir. (pKa=16.7). N-süstitüsyonu ağırlıklı olarak baz katalizli reaksiyonlar sonucu meydana gelir.

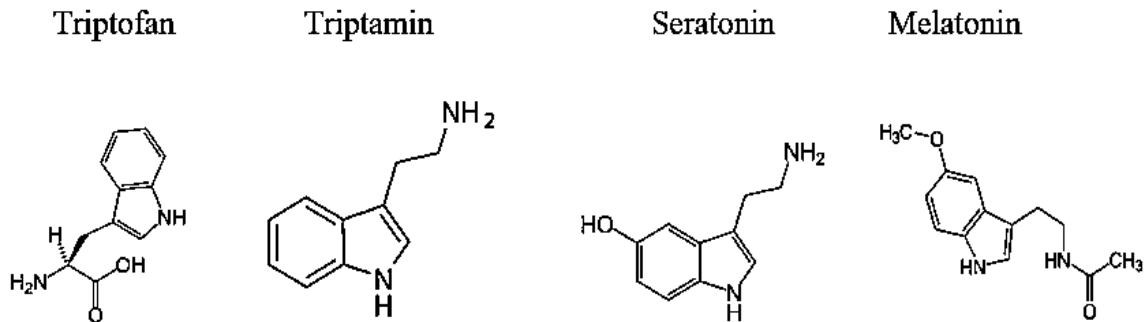
Elektronca zengin yapısından dolayı indol kolay okside olur. 2. ve 3. karbonlar arasındaki pi bağı sebebiyle de sikloadisyon reaksiyonlarında etkilidir. İndol ve indol türevi moleküller, karbon bazlı elektrotlarla birlikte oksitlenebilirler. Elektrokimyasal çalışmalarda geliştirilen voltametrik yöntem neticesinde indol bileşiğinin oksidasyonunun



azot atomundan başlayarak benzen halkasının hidroksilasyonu ile bittiği belirlenmiştir (Süzen ve ark. 2001).

İndol ve alkil indoller renksiz katı kristallerden oluşmaktadır. İndol ün erime noktası 52°C ve kaynama noktası 254°C' dir. Çoğunun organik solvanda çözündüğü bilinmektedir. Hoş bir kokusu vardır ve bu yüzden parfüm yapımında da kullanılmaktadır.

İndol bileşikleri doğada en fazla bulunan heterosiklik aromatik bileşikler arasında yer almaktadır. İndol bileşiğinin kömür katranında ve birçok bitkinin esansiyel yağlarında bulunduğu bilinmektedir. Bunun yanı sıra doğal olarak bulunan indol bileşiklerinin yanında sentetik indol bileşikleri de bol miktarda mevcuttur ve elde edilmeye de devam edilmektedir. Canlı yapı taşlarından triptamin; 2-(1*H*-indol-3-il)etanamin, triptofan; 2-amino-(3-(1*H*-indol-3-il)-propanoik asit, serotonin; 3-(2-aminoetil)-1*H*-indol-5-ol, melatonin; (N-[2-(5-metoksi-1*H*-indol-3-il)etil]asetamid) canlılar için önemli indol bileşiklerindendir.



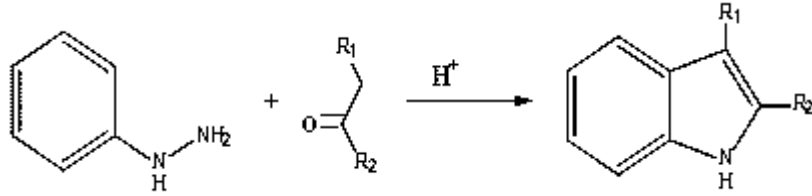
Serotonin, triptamin, melatonin gibi indolaminler radikal tutucu antioksidan etkiye sahiptir. Serbest radikallerden kaynaklı oksidatif stresin kanser, romatoid artrit, ateroskleroz, diyabet, beyin kanaması, nörodejenarasyon, gibi birçok hastalığın tedavisinde etkili olduğu yapılan çalışmalar sonucu belirlenmiştir. İnsan sağlığını korumak için son yıllarda antioksidan etkili moleküller üzerine yoğun çalışmalar yapılmaya devam edilmektedir.

### 2.2.1. İndol Halkasının Genel Sentez Yöntemleri

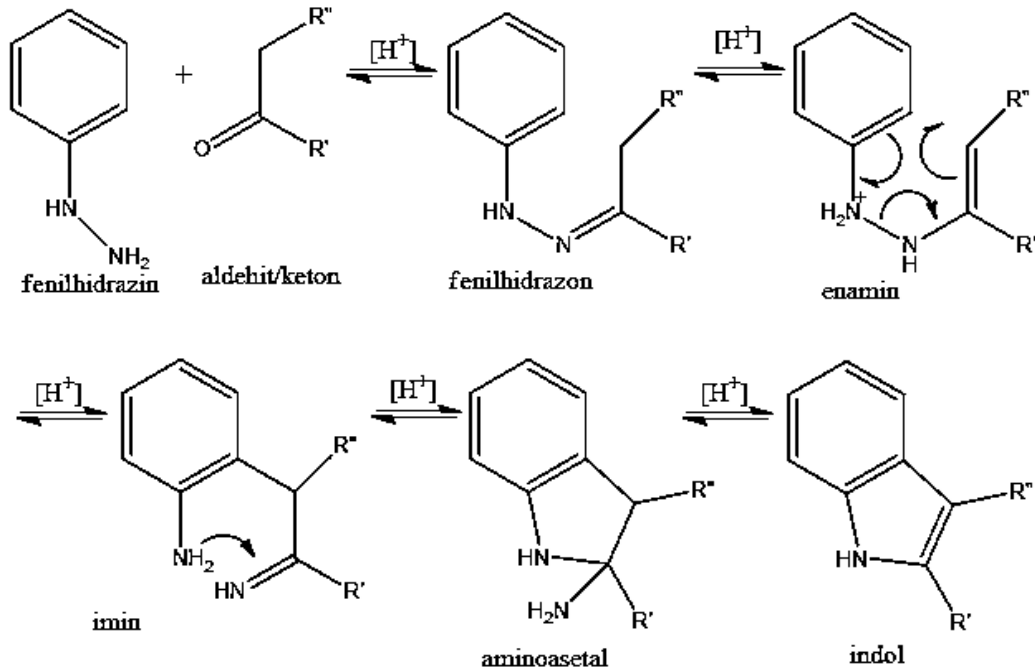
İndol halkası ve indol türevlerinin sentezi için farklı yollar kullanılmaktadır (Gribble, 2000; Cacchi ve Fabrizi 2005; Humphrey ve Kuethe 2006). Bu yollardan bazıları aşağıda sıralanmıştır.

### 2.2.1.1. Fischer İndol Sentezi

İlk indol sentez yöntemlerinden biridir. 2. ve 3. konumda sübstitüentler istenen indol türevlerinin sentezi için oldukça uygundur (Büyükbingöl ve ark. 1994).

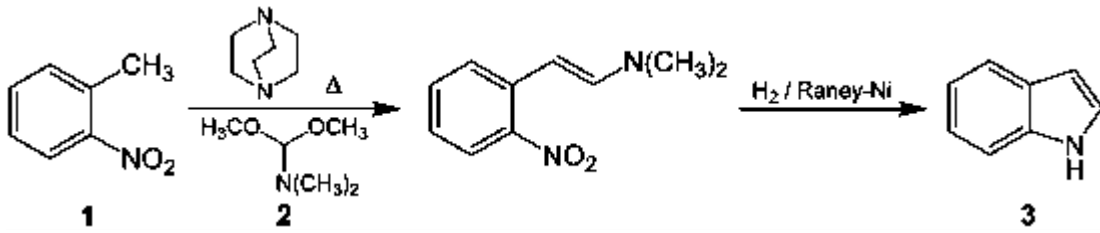


Sübstitüe ya da sübstitüe olmayan fenilhidrazin türevleri uygun aldehit veya ketonla tepkimeye sokularak başlangıç olarak en-hidrazin (veya enamini) izomeri olan fenilhidrazon elde edilir. Daha sonra asidik hidrojenin enamini protonlamasının ardından, siklik [3,3]-sigmatropik rearanjmanlar imin elde etmek üzere oluşur. Sonuç ürünü imin, siklik bir amino asetal formuna dönüşür. Bu da asit katalizörlü ortamda NH<sub>3</sub> ayrılmasıyla, istenen aromatik indollerin oluşmasına sebep olur (Robinson, 1963, 1969).



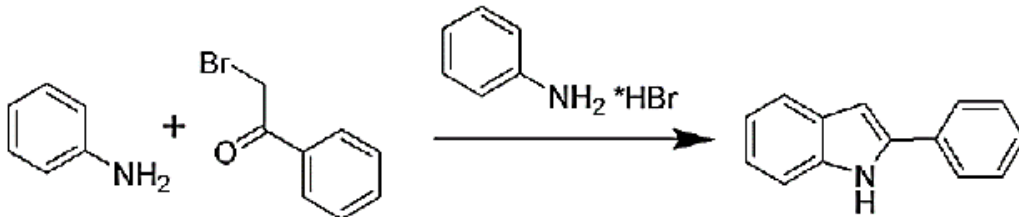
### 2.2.1.2. Leimrruber-Batcho İndol Sentezi

Leimrruber-Batcho indol sentezinde o- nitrotoluen başlangıç maddesinden başlanarak bir seri organik tepkime gerçekleştirdikten sonra indol ve türevleri elde edilmektedir. (Clark ve Repke 1984; Batcho ve Leimgruber 1985). Elde edilen bu yolla indol türevleri yüksek verimle oluşmaktadır. İndol ve sübtitüe indollerin elde edilmesi için oldukça etkin bir yöntemdir. Daha çok ilaç endüstrisinde kullanılmaktadır. Reaksiyonun ilk basamağında 1,1-dimetoksi-N,N-dimetilmetanamin ve piperidin kullanılarak enamin elde edilmekte ve istenen indol ikinci basamak olan indirgenme siklizasyon tepkimesiyle oluşmaktadır (Maehr ve Smallheer 1981). İndirgenme siklizasyon tepkimesi raney nikeli ve hidrazinle sonlanmıştır. Bununla birlikte hidrojen, palladium karbon, kalay klorür, sodyum ditionit veya asetik asit içindeki demir de etkili bir indirgeme aracı olarak kullanılabilir (Ponticello ve Baldwin 1979; Garcia ve Fryer 1974).



### 2.2.1.3. Bischler-Möhlau İndol Sentezi

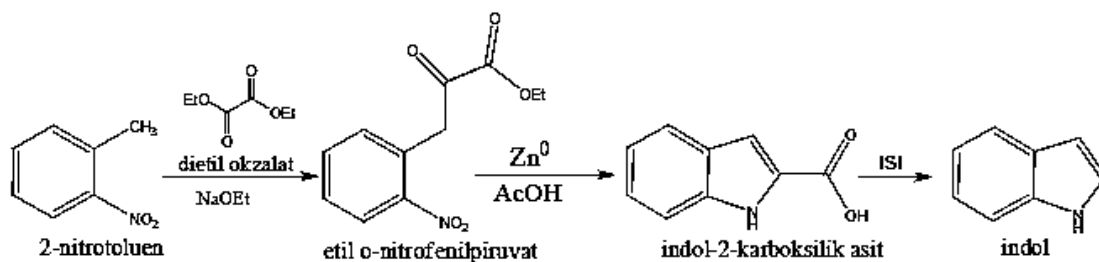
Bu indol sentezi yönteminde ise anilin ve α-bromo-asetofenondan yola çıkılarak 2-aril-indol eldesi yapılmıştır (Nelson ve Seefel, 1958).



### 2.2.1.4. Reissert İndol Sentezi

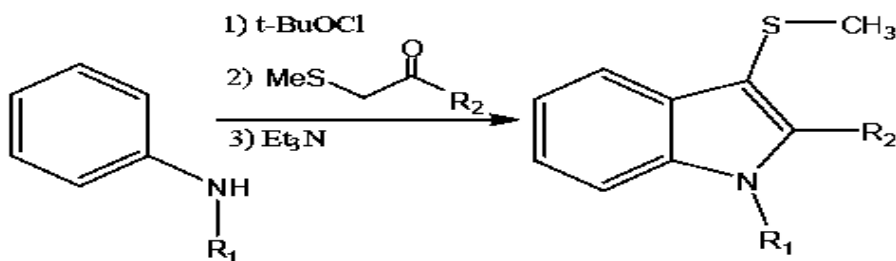
Bu yöntemde ise indol sentezi, dietil oksalat ve o-nitrotoluenden yola çıkılarak indol ve indol türevleri elde etmek amacıyla tercih edilen bir yöntemdir (Wayland ve Baude 1963; Noland ve Baude 1973; Joule ve Mills 2000). Halka üzerinde birbirleriyle orto konumlanmış elektron çeken bir nitro grubu ve nitro grubunun elektronu daha fazla çekmesinden dolayı

asidik bir metil grubu bulunmaktadır. Bu tepkimede potasyum etoksit kullanmanın, sodyum etoksit kullanmaya göre daha etkili sonuç verdiği yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir (Johnson ve ark., 1945). Bu indol sentezinde ilk adım, etil o-nitrofenil piruvat elde etmek üzere; o-nitrotoluenle dietil okzalatın kondenzasyon tepkimesidir. Etil o-nitrofenil piruvatın, asetik asit içindeki çinkoyla indirgenme siklizasyonu sonucu indol-2-karboksilik asit elde edilir. Reaksiyona devam edilip indol 2-karboksilik asit ısı etkisiyle dekarboksile olursa indol elde edilir.



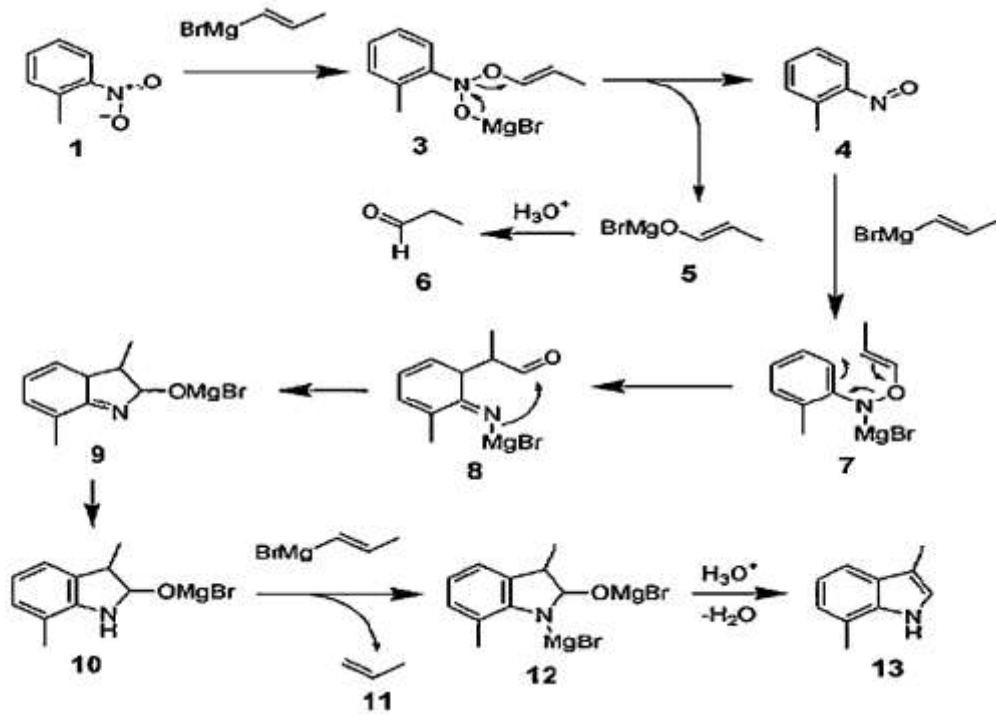
### 2.2.1.5. Gassman İndol Sentezi

Bu yöntemde ise indol sentezi, anilinden süstitüe tiyometil indollerini elde etmek için uygulanan bir tepkimedir (Gassman ve ark. 1974).



### 2.2.1.6. Bartoli İndol Sentezi

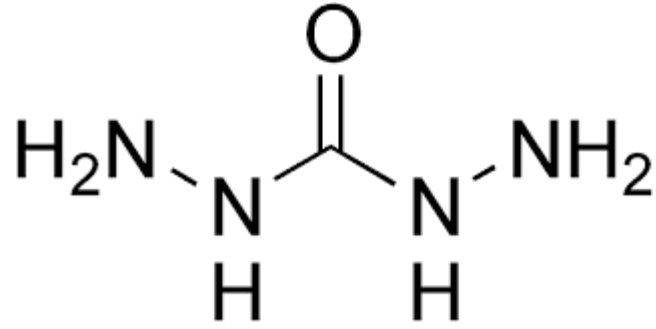
Bir diğer indol halkası elde etme yönteminde ise orto-süstitüe nitrobenzen türevleri ile 3 mol propenil Grignard reaktifinin tepkimeye girmesi sonucu oluşur (Gilchrist 1997). Mekanizmasında [3,3] sigmatropik yeniden düzenlenme olmasından dolayı Bartoli indol sentez yöntemi, mekanizma açısından Fischer indol sentez yöntemine benzerdir (Joule ve Mills 2000). Bağlanan grubun büyüklüğüne göre 7-süstitüe indollerin elde edilmesinde tercih edilen bir yöntemdir (Bartoli ve ark. 1989).



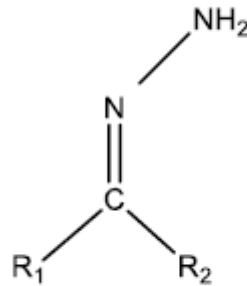
### 2.3. Karbohidrazit ve Hidrazonlar

Karbohidrazit,  $\text{OC}(\text{N}_2\text{H}_3)_2$  genel kimyasal formülü olan bir bileşiktir. Suda çözünebilen beyaz bir katıdır ve eridiğinde ayrışır (McGraw 1953; Kurzer ve ark. 1970). Bir veya birden çok NH grubunun farklı gruplarla yer değiştirdiği birçok karbazit olduğu bilinmektedir. İlaçlar, bitki büyüme düzenleyicileri, herbisitler ve boyar maddelerde genellikle bulunurlar. Endüstriyel olarak karbohidrazit, ürenin hidrazin ile etkileşimiyle üretilir (Jean ve ark. 2002).

Bununla beraber, karbonat esterleri gibi diğer klor-prekürsörlerinin hidrazin ile tepkimesiyle de elde edilebilir (Kurzer ve ark. 1970). Fosgen ( $\text{COCl}_2$ ) sentezlenebilir, fakat bu yöntemle hidrazinyum tuzu  $[\text{N}_2\text{H}_5]$  ile kloru kojenerasyona sokar ve bir miktar diformilasyon gerçekleşir. Karbazik asit de uygun bir öncüdür. Molekül doğrusal değildir. Tüm nitrojen merkezleri piramidaldir, bu da daha zayıf CN pi-bağı olduğunun göstergesidir.



Hidrazinlerin, aldehit ve ketonlarla reaksiyonu sonucu elde edilen organik bileşiklerin genel adına hidrazon denilmektedir. Genel gösterimleri  $R_2C=NNH_2$  şeklinde yapılan bu organik bileşikler, aldehit ve ketonların etanol, bütanol ve mutlak asetik asit gibi çözücülerle tepkimesiyle elde edilmektedir. Keskin erime noktasına sahip bu bileşikler kristal yapıdadır. Hidrazon ve türevi organik bileşikler son zamanlarda antikanser, antifungal, antiviral ve antibakteriyel aktivite göstermeleri sebebiyle birçok çalışmada araştırma konusu olmuştur. Genel gösterimleri aşağıdaki gibidir (Scior, 2006; Uppal ve ark. 2011).



Hidrazon bileşiği ilk olarak 1911 yılında Ludwing Wolf ve Nikolai Kishner' in farklı çalışmaları ile KOH bulunan ortamda hidrazinle aldehit ve ketonun reaksiyonu ile elde edilmiştir. Hidrazonların adlandırılmalarında, sentezlenirken hangi aldehit veya keton kullanılmışsa kullanılmış aldehit veya ketonun sonuna hidrazon eklenerek yapılır (Özkaya, 2015).

Hidrazonlar yapısında bulunan N-N ve C=N bağlarında dolayı yüksek aktiviteye sahiptir ve bu sebeple çok geniş kullanım alanı vardır. Sahip olduğu farklı biyolojik aktiviteler nedeniyle ilaç üretiminde tercih edilmektedir. Hidrazonların kendilerine özgü özellikleri ve farmakolojik aktiviteleri olduğundan çalışma yapmak için oldukça ilgi çekici hale gelmiştir.

## **2.4. Biyolojik Aktiviteleri**

### **2.4.1. Antimikrobiyal Aktivite**

Bakteri ve küf gibi mikropların, vücutta ve gıdalarda zararlı olan istenmeyen canlıların varlığını azaltma gücüne sahip maddeleri tanımlamak için kullanılır. Bu insan sağlığı için son derece önemli bir konudur. Vücuda giren bir bakterinin etkisinin azaltılması, üremesinin durdurulması ve vücuttan atılması hayati önem taşımaktadır. Bunun için gerekli olan bileşiklerin genel adına antimikrobiyal denilmektedir. Sadece ilaç yapısında bulunmayan bu maddeler aynı zamanda gıdaların içerisine bakteri üremesine engel olmak ve gıdanın yapısının bozulmadan kalmasını sağlamak amacıyla konulmaktadır. Böylelikle gıdaların daha geç bakteri üretmesine ve bozulmamasına neden olan bu maddeler insan sağlığını korumaktadır.

### **2.4.2. Antikanser Aktivite**

Vücutta var olan tümör hücresinin büyümesini, çoğalmasını engelleyen, hücreyi yok eden ve hastada tam iyileşme sağlamada etkin rol oynayan maddelere verilen genel addır. Kanser son zamanların tedavisi en zor hastalığı olarak bilinmektedir. Hücrelerin gelişigüzel büyümesi ve çoğalması olarak tanımlanmaktadır. Bulunduğu dokuya göre adlandırılır. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre en sık karşılaşılan ve en çok ölüme sebep olan kanser türleri olarak kolon, akciğer, karaciğer, meme, mide kanseri sayılabilir.

### **2.4.3. Antiviral Aktivite**

Virüslerin neden olduğu enfeksiyonlara karşı etkili olan maddelere verilen genel addır. Viral enfeksiyonları yok etmek veya kontrol altına alınmak amacıyla kullanılırlar. Özellikle son dönemde meydana gelen Covid-19 salgını bu etkiye sahip ilaçların ne kadar büyük öneme sahip olduğunu göstermiştir. Virüsler canlı vücudunda sürekli mutasyona uğrayıp ilaçlara karşı direnç kazandıkları için bu etken maddelerin sürekli geliştirilmesi ve yenilenmesi oldukça önemlidir.

#### **2.4.4. Antifungal Aktivite**

Mantarların sebep olduğu enfeksiyonlara etki eden ve enfeksiyonlara karşı durdurucu etkiye sahip olan maddelere denir. Bu maddeler mantarın diğer dokulara geçişini engellemek ve var olan mantarları öldürmek amacıyla kullanılmaktadır. Yine bu canlıların da mevcut ilaçlara karşı direnç kazanmasından dolayı yeni ve aktif bileşikler elde etmek önemli hale gelmiştir.

#### **2.4.5. Antioksidan Aktivite**

Biyolojik sistemlerin oksidatif strese engel olabilmek için kullandığı bileşikler antioksidan adı verilir. Antioksidanlar, serbest radikale bir elektron verebilen ve radikalın zararlı etkilerini azaltabilen veya ortadan kaldıracı olan moleküller olarak değerlendirilir. Bu sistemi sağlayabilen, radikalleri etkisiz hale getirme kabiliyetine sahip olan bileşikler antioksidan aktivite gösterirler.

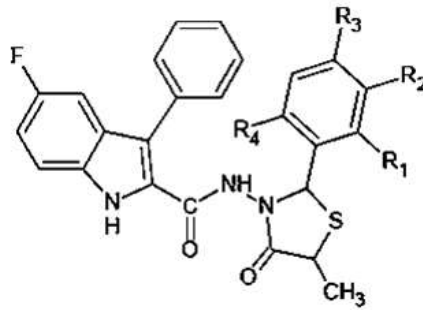
### **2.5. Yapılan Çalışmalar**

Biyolojik aktivite odaklı çalışmaların artmasıyla birlikte; özellikle Farmasötik Kimya alanında son dönemlerde elde edilen yeni indol türevlerinin farmakolojik aktivitelerinin araştırıldığı çok sayıda çalışma yapılmıştır. Yapılmış olan çalışmaların verilerine bakıldığında, yeni moleküller inşa etmek son derece önemli hale gelmiştir. Literatür verileri incelendiğinde, yeni sentezlenen indol moleküllerinin antikanser aktivitelerinin oldukça umut vaat edici olduğu görülmektedir (Cihan, 2010). Bu durum hastalığa yakalanan insanlar, hastalığı tedavi eden doktorlar hem de farmakolojik açıdan oldukça önem arz etmektedir.

Vücut için son derece önemli olan antioksidan etkili endojen moleküllerden (melatonin, indol-3-asetik/propionik asit, triptofan vb.) hareketle başlayan çalışmalar, antioksidan etkiye sahip fazla sayıda indol türevi molekülü ortaya çıkarmıştır. Yine çeşitli literatür verileri incelendiğinde indol türevlerinin NNR Transkriptaz İnhibitörü” antimikrobiyal ve antiviral etkilerinden bahsetmektedir (Cihan, 2010). Son zamanda sentezi gerçekleştirilen ve antioksidan, antikanser, antiviral ve antimikrobiyal etki gösteren yeni indol türevleri hakkında yapılan çalışmalar incelenecektir. Yapılmış olan çalışmalar sonucu elde edilen bileşiklerin genel şekilleri çalışmalardan hemen sonra belirtilmiştir.

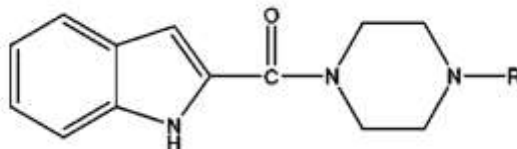


2010 yılında yapılmış olan doktora tez çalışmasında 3-fenil-5-floro-N-(süstitübenziliden)-1*H*-indol-2-karboksilik asit hidraziti ve 3-fenil-N-(2-fenil/süstitüfenil-5-nonsüstitüe/süstitüe-4-okso-1,3-tiyazolidin-3-il)-5-floro-1*H*-indol-karboksamid yapısında yeni moleküller elde edilmiş ve moleküllerin antioksidan, antikanser, antiviral ve antimikrobiyal aktiviteleri üzerine incelemeler yapılmıştır. Yapılan bu incelemeler sonucunda elde edilen bileşiklerin, kanser hücrelerinin birçoğunu değişik oranlarda inhibe ettiği görülmüştür. Antioksidan etkisi orta düzeyde, antimikrobiyal etkisinin varlığı görülmüş, antiviral etkisinin kayda değer olmadığı tespit edilmiştir (Cihan, 2010).



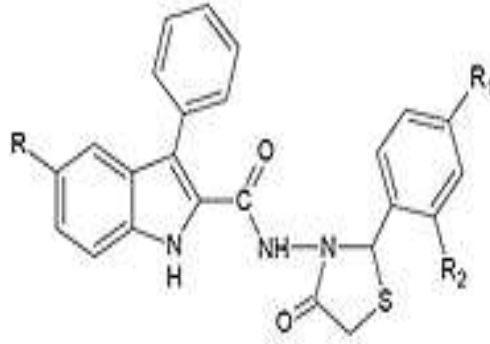
Antioksidan ve antikanser etkileri araştırılan ve bu alanlarda oldukça etken olduğu görülen indol türevlerinin bu etkileriyle birlikte antiviral ve antimikrobiyal etkilerinin de olduğu yapılan çalışmalarda elde edilen veriler arasındadır.

Yapılmış olan başka bir çalışmada ise, yeni aktif indol türevlerinin elde edilerek antimikrobiyal ve antioksidan etkilerini incelemek hedeflenmiştir. Bu çalışmada 2-[(4-süstitü piperazin-1-il)karbonil]-1*H*-indol türevleri elde edilmiş, antimikrobiyal ve antioksidan etkileri araştırılmış antioksidan etkisi yüksek seviyede gerçekleşirken antimikrobiyal etkisinin kayda değer olmadığı tespit edilmiştir (Yılmaz, 2012).

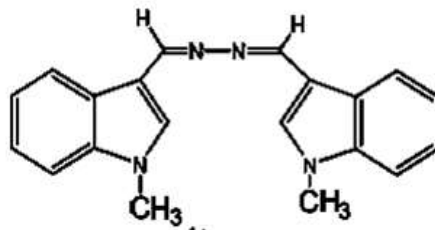


2008 yılında yapılan başka bir doktora tez çalışmasında ise 3-fenil-5-iyodo/kloro-N-[4-süstitüfenilmetilen]-1*H*-indol-2- karbohidrazit ve 3-fenil-5-iyodo/kloro-N-[4-okso-2-

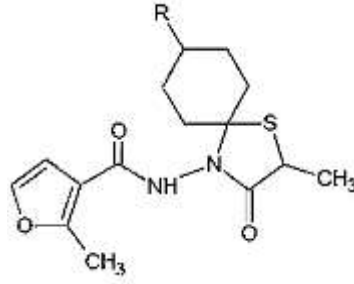
substitüefenil-1,3-tiyazolidin-3-il]-1*H*-indol-2-karboksamid yapısında yeni moleküller sentezlemiş ve bileşiklerin antikanser, antioksidan ve antiviral, aktivitelerini araştırmıştır. Yapılan çalışma sonucunda sentezlenen bileşiklerin içerisinde bazı kanser türlerini inhibe eden bileşikler olduğu saptanmış, bunun yanı sıra antiviral etkisinin sınırlı kaldığı görülmüş, antioksidan etkisinin ise yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir (Gürbüz, 2008).



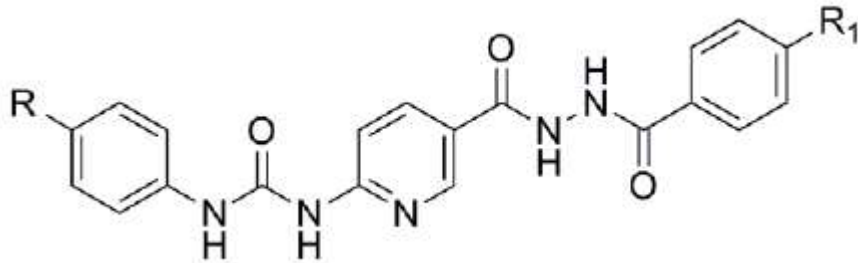
Yapılan bir diğer araştırma da ise en düşük yan etkiye ve en yüksek aktivite sahip yeni antioksidan etkili bileşikler elde edilmeye çalışılmıştır. Bunun için on dokuz adet yeni melatonin analogu indol türevi molekül elde edilmiş ve IR, NMR, Mass spektrometresi ve elementel analiz ile yapısı aydınlatılmıştır. Yapılan araştırmalar sonucunda elde edilen bu bileşiklerin yüksek düzeyde antioksidan etki gösterdiği belirlenmiştir (Shirinzadeh, 2010).



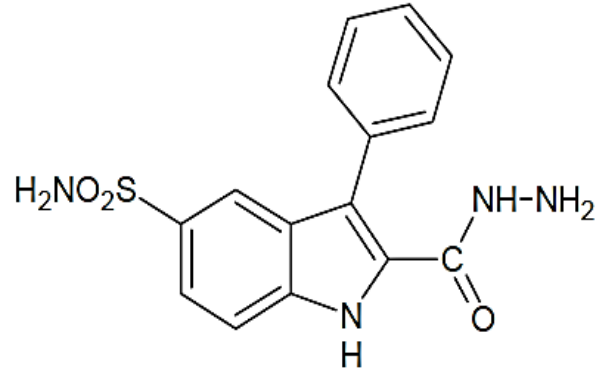
Son yıllarda yapılan bir diğer araştırmada ise 2-metilfuran-3-karboksamid artığı taşıyan altı yeni spiroheterosiklik molekül elde edilmiş, elde edilen bileşiklerin influenza aktivitesi değerlendirilmiş ve elde edilen bileşiklerin influenzayı inhibe ettiğini belirlenmiştir (Tansuyu, 2010).



Yakın tarihte yapılan başka bir doktora tezinde ise, moleküler modelleme yaparak olası PARP inhibitörü olabilen yeni, karbohidrazit ve üre grupları bulunduran bileşikler sentezlemiştir. Modelleme çalışmalarıyla, elde edilen bileşiklerin enzime nasıl bağlandığı araştırılmıştır. Etkileşimde yer alan aminoasitler ve kimyasal bağlar belirlenmiştir. Ayrıca bu bileşiklerin bazı kanser hücreleri üzerindeki inhibe edici özelliği incelenmiştir. Moleküler modelleme çalışmalarıyla elde edilen bazı moleküllerin enzimin aktif bölgesiyle etkileşen en uygun yapılar oldukları tespit edilmiştir. Zayıf veya orta seviyede elektron verici grupların diğer bir ifade ile hidrofobik kısımların molekülde ağırlıklı yer almasının PARP inhibitör aktiviteye katkıda bulunduğu incelemeler sonucunda elde edilen bilgiler arasındadır (Tok, 2018).



Yapılan başka bir araştırmada 5-metil-3-fenil-1*H*-indol-2-karbohidrazit türevlerini merkaptokanoik asit ile siklik ketonu kondense ederek sentezlenen spirotiyazolidinon yapıdaki moleküllerde antikanser ve antitüberküloz aktivite araştırması yapılmış ve bileşiklerden birinin verem hastalığına neden olan bakterinin üremesine %90 oranında engel olduğunu ve yine seçilen örneklerde ovaryum kanser hücresi ve renal kanser hücresi ile RXF-393 genlerine karşı inhibe edici etkide oldukları tespit etmişlerdir (Güzel ve ark. 2006).

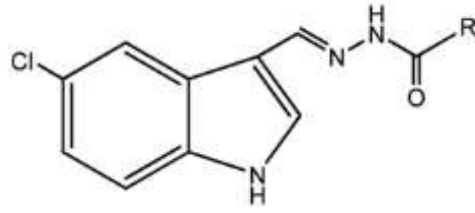


Yapılmış olan bir diğer doktora tez çalışmasında, sentezlediği N-benziliden-indol-2-karbohidrazid yapısındaki moleküllerin antioksidan ve antikanser etkileri incelenmiştir. Antikanser aktivite sonuçlarına bakıldığında sentezlenen iki bileşiğin akciğer kanseri hücreleri, kolon kanseri hücreleri ve meme kanseri hücrelerini % 92-98 oranında inhibe ettiği belirtilmiştir. Moleküllerin ayrıca antioksidan etkileri de araştırılmış ve farklı düzeylerde antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Kazan, 2008).

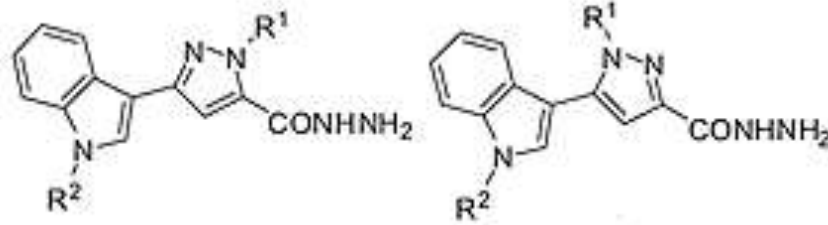


2007-2008 yıllarında yapılan bir dizi araştırmada ise sentezlenen indol 2- ve 3-karboksamid yapısındaki bileşiklerin canlılık yapısında oldukça önemli bir etken olan antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda elde edilen moleküllerin % 70 ile 100 arasında değişen inhibisyon etkilerinin olduğunu ve kuvvetli süper oksit anyon yakalayıcı özellik gösterdiğini; benzamit artığında halojen taşıyan türevlerinin daha aktif olduğu tespit edilmiştir (Bozkaya ve ark. 2007; Ölgün ve ark. 2008).

Yapılan bir diğer araştırmada ise 5-kloroindol-3-karboksaldehit ve fenil hidrazin türevlerinden başlanarak 5-kloroindol hidrazit/hidrazon türevlerinin eldesi yapılmıştır. Bu araştırmada bileşiklerin *in vitro* antioksidan etkileri butillendirilmiş hidroksitoluen (BHT) ve melatonin (MLT) ile karşılaştırılarak incelenmiş, elde edilen moleküller yüksek derecede antioksidan etki göstermiştir (Yılmaz ve ark. 2012).



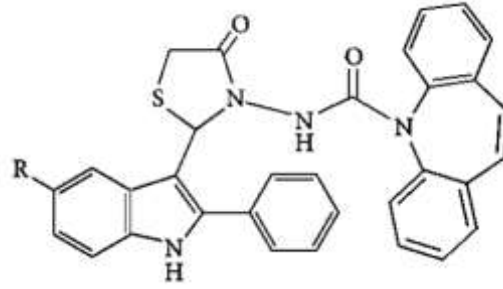
Başka bir grup tarafından 2011 yılında yapılan çalışmada ise, yeni 3-(1*H*-indol-3-il)-1*H*-pirazol-5-karbohidrazit türevleri elde edilmiş ve bu yeni moleküller spektroskopik yöntemlerle karakterize edilmiş 4 farklı kanser hücrelerine etkileri bakımından incelenmiş ve hücre döngüsünü engellediği gözlenmiştir (Zang ve ark. 2011).



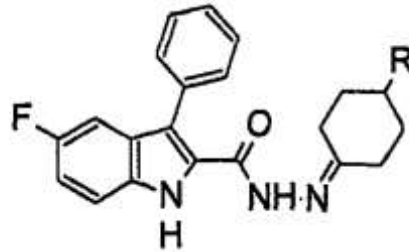
Yakın tarihte sentezlenen yeni bir *N'*-(süstitüe edilmiş fenil)-5-kloro/iyodo-3-fenil-1*H*-indol-2-karbohidrazit ve *N*-[2-(süstitüe edilmiş fenil)-4-okso-1 serisi ,3-tiazolidin-3-il]-5-iyodo/kloro-3-fenil-1*H*-indol-2-karboksamid türevlerinin antikanser özellikleri araştırılmıştır. Yapılmış olan bu çalışmada elde edilen moleküllerin bazı kanser türlerine etki ettiği tespit edilmiştir (Kazan ve ark. 2019).



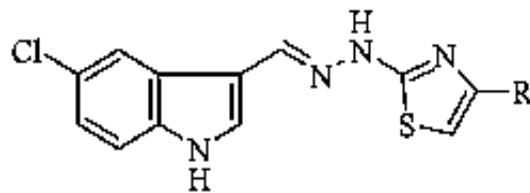
Yine yakın tarihte 2018 yılında yapılan çalışmada *N*-[(5-ikame edilmiş -2-fenil-1*H*-indol-3-il)metilen]-5*H* dibenzo[*b,f*]azepin-5-karbohidrazit bileşiği elde edilmiş, antimikrobiyal ve antioksidan etkileri incelenmişlerdir. Yapılan inceleme sonucunda her iki aktivite açısından değerlendirilen moleküllerin etkilerinin kayda değer olduğu tespit edilmiştir (Anand ve ark. 2018).



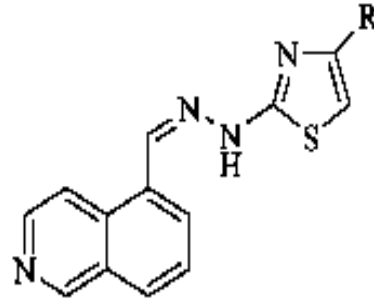
Yapılan başka bir yüksek lisans tez çalışmasında ise 3-fenil-5-floro-N<sup>2</sup>-[4-(non) süstitüe sikloheksiliden ]-1*H*-indol-2 karbohidrazit ve 3-fenil-5-floro-N<sup>2</sup>-[2/8-(non) 3-okso-1-tiya-4-azospiro[4.5]dek-4-il]-1*H*-indol-2 karboksamid molekülleri elde edilmiş ve moleküllerin antifungal, antibakteriyel ve antikanser etkileri araştırılmıştır. Yapılan inceleme sonucunda bileşiklerin antifungal özelliği kayda değer bulunmuştur. Antikanser etkisinde ise elde edilen bileşiklerin farklı kanser hücrelerini inhibe ettiği gözlenmiş, antibakteriyel etkisinin ise kayda değer olmadığı tespit edilmiştir (Cihan, 2005).



Bir diğer yüksek lisans tez çalışmasında, indol halkası taşıyan 12 adet yeni tiyazolil bileşikleri sentezlenmiş, elde edilen bileşiklerin akciğer kanseri tedavisi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Elde edilen bazı bileşiklerin, kanser tedavisinde kullanılmaya devam eden erlotinibten daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Baş, 2022).

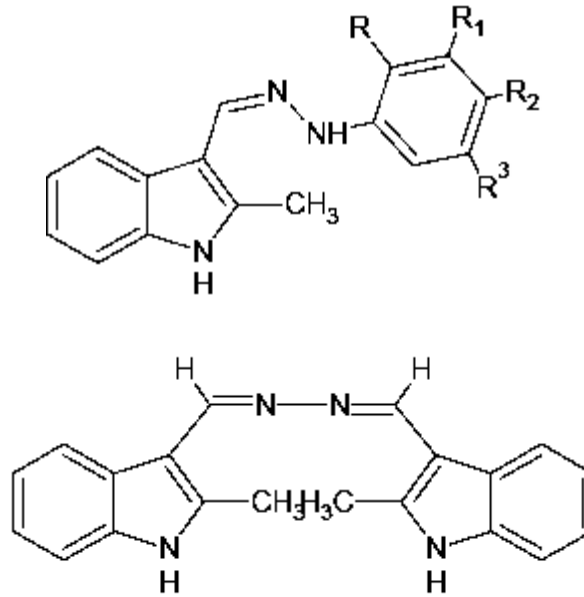


Aynı yıl yapılan başka bir yüksek lisans tez çalışmasında ise 14 adet yeni tiyazolil hidrazon bileşikleri elde edilmiş ve bu bileşiklerin akciğer kanseri üzerine etkileri araştırılmıştır. Sentezlenen bazı bileşiklerin güçlü antikanser etkiye sahip olduğu yapılan araştırmalar sonucu bulunmuştur (Orujova, 2022).

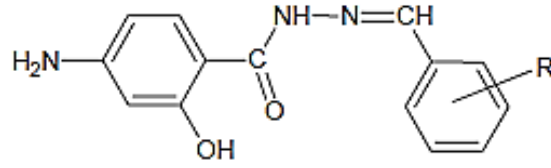


Yine yapılan başka bir çalışmada ise melatonin değişkenli indol-aminoasit türevi olan 29 adet bileşik sentezlenmiş ve sentezlenen bileşiklerin yapıları incelenmiştir. Elde edilen bileşiklerin yalnızca antioksidan etkileri araştırılmış ve elde edilen 29 bileşikte kayda değer antioksidan etki görülmüştür (Cihaner, 2009).

Son yıllara ait bir diğer yüksek lisans tez çalışmasında 17 yeni, 2-metil indol-3-aldehit türevi molekül elde edilerek bir tek antibakteriyel etkileri incelenmiştir. Yapılan araştırma sonucunda antibakteriyel etkinin umut vaat edici olduğu tespit edilmiştir (Öztürk, 2015).

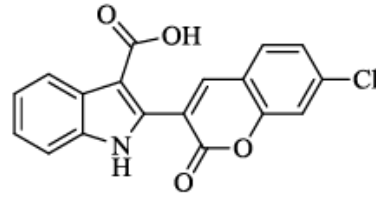


2010 yılında yapılan bir diğer yüksek lisans tez çalışmasında ise 4-amino-2-hidroksi-N'-[(süstitüefenil)metiliden]benzohidrazitler (1-14) elde edilmiş ve elde edilen bileşiklerin antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Yapılan inceleme sonucu 14 bileşikten sadece 2 tanesinde antimikrobiyal etki olduğu gözlenmiş diğer 12 bileşikte antimikrobiyal etki gözlenmemiştir (Özkan, 2010).



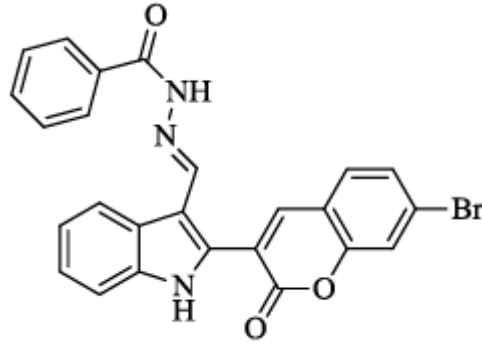
2017 yılına ait başka bir doktora tez çalışmasında ise indol türevi, iki farklı yapıda bileşik olan indol-pira ol (20 adet) ve indol-izoksazol (21 adet) elde edilmiş ve antikanser etkileri araştırılmıştır. Yapılan inceleme sonucunda elde edilen bileşiklerin birçoğunun kanser tedavisinde kullanılan bir ilaç olan 5-FU dan daha fazla etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Hawash, 2017).

Bir grup tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise kumarin ve indol halkası kaynaşmasıyla elde edilen bir seri bileşik dizisi elde edilmiş ve kanser hücrelerine olan etkileri incelenmiştir. Yapılan çalışmada elde edilen bileşikte indol halkasının ikinci konumunda kumarin üçüncü konumunda ise karboksilik asit bulunmaktadır. Elde edilen bileşiklerin yapılan incelemeler sonucunda güçlü antitümör özellik gösterdiği saptanmıştır (Kamath ve ark. 2015).

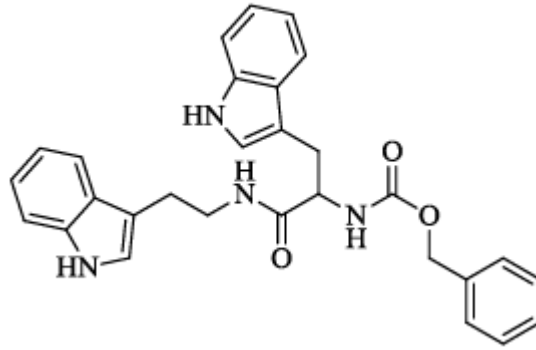


2016 yılında yapılan benzer bir diğer çalışmada ise yine indol halkası ve kumarin kaynaşmasıyla elde edilen bileşikler bulunmaktadır. İndolün ikinci konumunda yine kumarin bulunmakta üçüncü konumunda ise metilen-benzohidrazit grubu bulunmaktadır. Elde edilen bileşiklerin yine antikanser etkileri incelenmiş ve güçlü antitümör etki gösterdiği belirlenmiştir (Kamath ve ark. 2016).

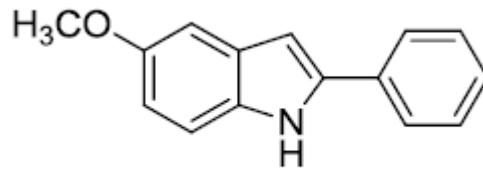




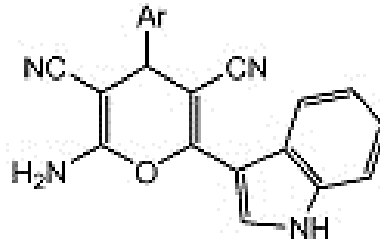
Araştırma yapılan başka bir çalışmada ise üç dizi triptamin taşıyan peptidomimetik elde edilmiş farklı kanser hücrelerindeki etkileri araştırılmış elde edilen bileşiklerden ikisinin güçlü antitümör aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Wang ve ark. 2015).



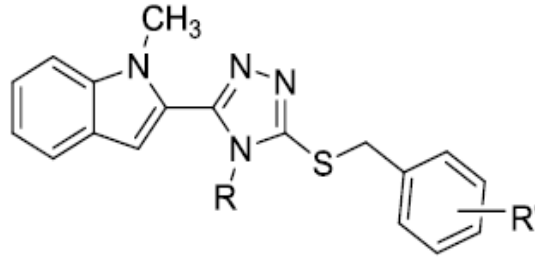
Farklı bir grup tarafından yapılan bir diğer çalışmada 2- ve 3-arilindol türevleri elde edilmiş ve mikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Elde edilen bileşikler içerisinde, 5-metoksi-2-fenilindolün en etkili antimikrobiyal etki gösterdiği bulunmuştur (Tlabo ve ark. 2009)



Yine bir grup tarafından 2010 yılında yapılan bir diğer çalışmada 3-pirani indol türevlerinin sentezi yapılmış ve antikanser etkileri araştırılmıştır. Yapılan araştırma sonucunda mevcut ilaçlarla karşılaştırıldığında meme kanserinde etkili sonuçlar elde edildiği tespit edilmiştir (Neelakand ve ark. 2010).

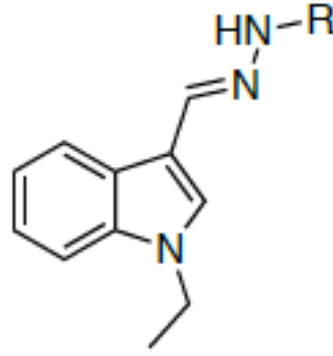


2011 yılında yapılan yüksek lisans tez çalışmasında ise yeni 2 adet 4-Benzil/fenil-2-[(1-metil-1-H-indol-2-il)karbonil]hidrazin karbotiyoamit, 2 adet 4-Benzil/fenil-3-[(1-metil-1-H-indol-2-il)-1H-1,2,4-triazol-5(4H)-tiyon ve 16 adet 2-[4-Benzil/fenil-5-(süstitüe-benziltiyo)-4H-1,2,4-triazol-3-il]-1-metil-1H-indol türevi bileşik elde edilmiş ve antimikrabiyal etkileri araştırılmıştır. Yapılan inceleme sonucunda mevcut ilaçlarla karşılaştırıldığında kayda değer bir etki gözlenmemiştir (Kapçak, 2011).



2007 yılında yapılan başka bir yüksek lisans tez çalışmasında 10 tanesi yeni 6 tanesi önceden var olan 16 tane melatonin türevi bileşik elde edilmiş ve antioksidan etkileri araştırılmıştır ve melatoninle karşılaştırma yapılmıştır. Yapılan karşılaştırma sonucunda elde edilen bileşiklerin içerisinde özellikle halojen içeren bileşikler melatoninden oldukça yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra halojen içermeyen bileşiklerde ise kayda değer bir aktivite gözlenmemiştir (Gürkök, 2007).

Araştırma yapılan bir diğer çalışmada ise Melatonin analogu yeni indol bileşiklerinin eldesi yapılmış ve antioksidan etkileriyle birlikte kanser önleyici etkileri incelenmiştir. Yapılan araştırma sonucunda elde edilen bileşiklerin melatoninden daha fazla antioksidan ve kemopreventif aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Durgun, 2017).



Bir diğ er araştırma da ise literatürde olmayan indol ve tiyadiazol grubu içeren ve biyolojik olarak aktif olduğu düşünölen yeni Schiff bazlarının sentezi yapılmış ve bu sebeple toplam 10 farklı, indol-3-karboksialdehit ve indol-5-karboksialdehit ile 1,3,4-tiyadiazol bileşiklerinin (2,5-dimetoksi sinnamik asit, 3,4-dimetoksi sinnamik asit, 2-nitro sinnamik asit, 3-nitro sinnamik asit, 4-nitro sinnamik asit) kondenzasyonu sonucu Schiff bazları sentezlenmiştir. Biyolojik aktive çalışmalarından bahsedilmemiştir. Fakat biyolojik olarak aktif olacağı düşünölmektedir (Tosun, 2020).

Araştırması yapılan doktora tez çalışmasında ise 27 adet yeni toplam 31 adet indol türevi bileşik sentezlenmiş ve antioksidan aktivite, stotoksisite ve kemopreventif etkilerinin değ erlendirilmesi yapılmıştır. Yapılan değ erlendirme sonucunda elde edilen bileşiklerden bazılarının yüksek antioksidan etki gösterdiği, diğ er bileşiklerden bazılarının önemli derecede sitotoksik etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Shirinzadeh, 2014).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Kullanılan Materyaller

- Tartım için; Gec Avery ve Chyo JL 180 model terazi,
- $^1\text{H}$ -NMR spektrumu için Bruker 400 MHz  $^1\text{H}$ -NMR spektrometre (Fırat Üniversitesi, Elazığ),
- IR spektrumları için Thermo FT-IR spektrometre (Fırat Üniversitesi, Elazığ),
- $^{13}\text{C}$ -APT NMR spektrumu için Bruker 100 MHz  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrometre (Fırat Üniversitesi, Elazığ),
- Kurutma işlemi için Elektro-Mag M 50 model etüv.
- Cam malzeme olarak; damlatma hunileri, soğutucular, ayırma hunileri, huniler, farklı büyüklükte balonlar, büretler ve kılcal borular, erlenmayerler, beherler,
- Vakum pompası,
- $\text{CaCl}_2$  kurutma tüpü
- Soğutucu olarak; Kriyostat, tuz-buz banyoları,
- Termostat
- Erime noktası tayin cihazı (Stuart SMP50),
- 100 ve 360 °C'lik termometreler
- Desikatör
- Isıtma için; su banyoları, ısıtıcı mantolar, termostat, yağ banyosu, manyetik ısıtıcı ve karıştırıcılar
- Döner buharlaştırıcı,
- Manyetik ve mekanik karıştırıcılar,

#### 3.2. Kullanılan Kimyasallar

- Sodyum hidroksit,
- Potasyum hidroksit.
- Hidroklorik asit,
- Karbondisülfür,

- Kurşun asetat,
- İndol-3-asetikasit hidrazit,
- Tiyofen-2-karbaldehit
- 4-izopropil benzaldehit,
- 4-floro benzaldehit,
- Furfural,
- 4-nitro benzaldehit,
- 9-antresen karboksialdehit,
- 1-piren karboksialdehit,
- 3-amino benzaldehit,
- Piro1-2-karboksialdehit,
- 2-nitrobenzaldehit
- Etanol,
- Metanol,
- Petrol eter,
- Dioksan,
- Dietileter,
- Dimetilsülfoksit,
- Aseton,
- N-heksan,
- Kloroform

### **3.3. Saflaştırma**

Deneyde kullanılan bütün kimyasallar ve çözücüler literatürde yer aldığı gibi saflaştırılmıştır (Erdik, 1987; Fessenden, 1992).

#### **Etil Alkol**

600 °C' de kurutulmuş CaO eklenip 1 gün bekledikten sonra, CaO üzerinden çift damıtma yapılarak kullanıldı.

## Metanol

Metanol, CaO ile beraber geri soğutucu altında öncelikle kaynatıldı ve sonrasında damıtıldı. Oldukça saf metanolü elde etmek için ise geri soğutucu takılı, 2 litrelik bir balona, 0.5 g I<sub>2</sub>, 5 g Mg, ve 70 cm<sup>3</sup> CaO üzerinde damıtılmış metanol konuldu. İyodun rengi kaybolana kadar kaynatıldı. Daha sonra CaO üzerinde damıtılmış 900 cm<sup>3</sup> metanol katılarak tekrar yarım saat daha kaynatılarak, atmosfer basıncında damıtıldı.

## Eter

Eterdeki başlıca safsızlıklar peroksit, su, ve etanol olabilmektedir. Bir miktar eteri aynı hacimde % 2' lik KI ve birkaç damla seyreltik HCl ile çalkalamakla elde edilen karışım nişasta çözeltisiyle bir renk verirse eterde peroksit olduğu böylelikle tespit edilir. Peroksitleri eterden arındırmak için ise 60 g FeSO<sub>4</sub>, 6 cm<sup>3</sup> derişik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve 110 cm<sup>3</sup> suyla oluşturulan çözeltinin 20 cm<sup>3</sup>' ü 1 L eter eklenerek çalkalandı. Eter fazı alınarak içene susuz CaCl<sub>2</sub> ilave edildi. Daha sonra karışım süzöldü. Süzöntünün her bir litresine 3 g Na preslendi. Daha sonra atmosfer basıncında damıtılarak mutlak eter olarak tepkimelerde harcandı.

### 3.4. Biyolojik Aktivite Analizleri

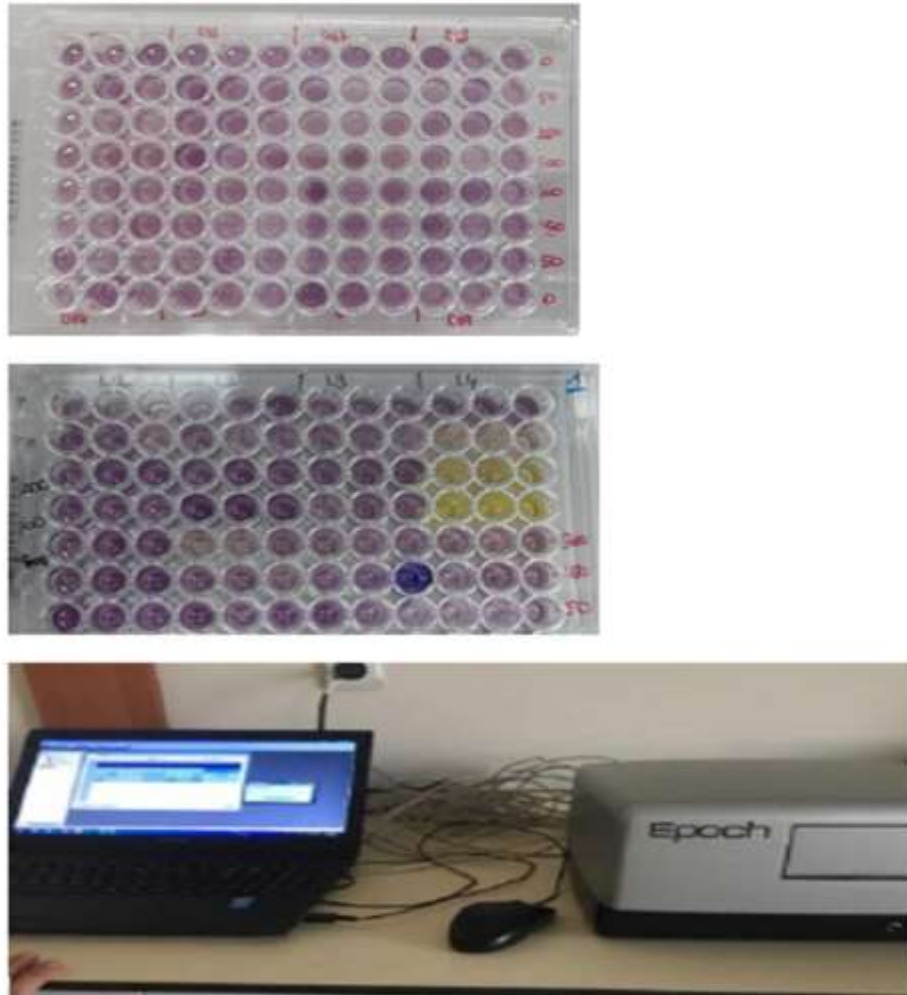
#### 3.4.1. İn Vitro Antioksidan Aktivite İçin Difenilpicrilhidrazil (Diphenylpicrylhydrazyl; DPPH) Radikali Süpürme Aktivitesi

Serbest radikal DPPH• yöntemi, antioksidanların serbest radikalini yok etme kapasitesini belirleyen kolay ve güvenilirliği fazla olan bir yöntemdir (Cuendet vd., 1997). DPPH• kararlı yapıda bir azot radikalidir ve ticari olarak satılmaktadır. DPPH•'ın etil alkol çözeltisinin rengi mordur ve 517 nm' de absorbanı ölçölür. DPPH• çözeltisine antioksidanların eklenmesiyle, antioksidandan dolayı indirgenmesi neticesinde çözelti rengi solarak sarıya döner ve bundan dolayı tepkimenin gerçekleşmesi spektrofotometre ile takip edilir (Frankel ve Meyer, 2000; Eren, 2011). Elde edilen organik moleküller, 0.1 M NaOH' ın damla damla eklenmesiyle etanol içerisinde farklı derişimlerde hazırlanarak DPPH'ın seyreltik metanol çözeltisiyle (% 0.004) karıştırılarak 30 dk inkübe edildi ve 517 nm dalga boyunda absorbanı değerlerine bakıldı (Epoch mikroplate spektrofotometre Şekil

3.1). Sonuçlar, ortalama  $\pm$  standart sapma olarak belirtildi ve istatistiksel değerlendirme ve hesaplamalarda GraphPad Data Analysis programı kullanıldı. Pozitif kontrol olarak BHT, askorbik asit kullanıldı ve her bir maddenin IC 50 değeri hesaplandı. 2,2-difenilpikrilhidrazil (DPPH) Radikali yakalama aktivitesini karşılaştırmak için, aşağıdaki formül kullanıldı.

DPPH• % İnhibisyon konsantrasyonu değeri şu formül ile hesaplandı;

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(AKontrol - ANumune) / AKontrol] \times 100$$



şekil 3.1. DPPH• analizi uygulamaları

### **3.4.2. Antikanserojen Aktivite Analizleri**

#### **3.4.2.1. Hücre Hatları**

Deneylemizde Meme Kanseri Hücre Hattı (MCF-7), ve kolorektal kanser (SW620 colorectal cancer) hücre hatları kullanıldı. Sağlıklı hücre olarak fibroblast hücreleri olan L929 hücre hattı kullanıldı.

Antikanser aktivite çalışmalarında Meme Kanseri (MCF-7) ve kolorektal kanser (SW620 colorectal cancer) hücre hatları kullanılmışken, Sağlıklı hücre olarak L929 (fibroblast hücreleri) kullanılmıştır.

Deneylemizde Meme Kanseri Hücre Hattı (MCF-7), ve kolorektal kanser (SW620 colorectal cancer) hücre hatları kullanıldı. Sağlıklı hücre olarak fibroblast hücreleri olan L929 hücre hattı kullanıldı.

#### **3.4.2.2. Hücre Açma Protokolü**

Donmuş halde cryo tüpte bulunan hücreler su banyosunda çözüldü. Hücreler santrifüj tüplerine aktarıldı, üzerlerine 20 mL DMEM eklenen bu tüpler 5 dakika 800 rpm de santrifüj edildi. Santrifüj sonunda üstte olan sıvı atıldı. Tüplerde kalan hücrelerin üzerine 15 mL DMEM konularak ortam 75'lik flasklara aktarıldı. Flaskın içerisine 5 mL FBS ve bir iki damla antibiyotik konuldu. Flaskın kapağı kapatılarak, CO<sub>2</sub> inkübatöre kaldırıldı (Şekil 3.2). Flasklar içerisine gerekli solüsyonlar konulduğunda hücreler inkübatörde hızlı bir şekilde büyümesi ve sayılarının artması beklenir. Bununla beraber flask içerisinde besi yerleri azalır ve hücre ölümleri gerçekleşir. Bu durumu engellemek için belirli sürelerde hücrelerin bakımı yapılmalıdır. Hücreler flaskın tamamını kaplamamış ve içerisinde bulunan besiyerinin rengi farklılaşmışsa yıkama işlemine geçilir. Bu işlem flow kabinde yapılmalıdır. Bunun için çalışmalarımız esnasında, 75'lik flaskta bulunan ortam boşaltıldı. Flaskın içerisine 15 mL DMEM konuldu. Flaskın içerisine 5 mL FBS eklendi ve üzerine bir iki damla L- Glutamin eklenerek flask inkübatöre kaldırıldı.

Donmuş hücreler su banyosunda çözüldükten sonra santrifüj tüplerine konularak üzerlerine 20 mL DMEM eklenerek 5 dk. 800 rpm de santrifüj edildi. Santrifüjleme işleminin ardından hücrelerin üzerine 15 mL besiyeri eklenerek, hücreler 75' ilk flasklara aktarıldı.



Flaskların içerisine 5 ml FBS ve birkaç damla antibiyotik ilave edildikten sonra CO<sub>2</sub>' li inkübatörde inkübasyona bırakıldı. Hücrelerin birkaç kez besiyerlerini değiştirmek kaydı ile çoğalmaları sağlandı.

### **3.4.2.3. Hücrelerin Pasajlanması**

Hücrelerin pasajlanması işleminde flasklara 5 mL Tripsin konularak flaska yapışan hücrelerin kalkmaları sağlandı. Kaldırılan hücreler yeni bir flaska aktararak hücrelerin çoğalması sağlanmış oldu. Bu işlem gerçekleştirilirken her flaska 8 ml besi yeri ve 4 ml FBS eklenerek ortama birkaç damla L glutamin bırakıldı.

İncelenecek hücreler tripan mavisi ile boyanarak thoma lamında sayımları gerçekleştirildi. Sayma aşamasında aşağıdaki basamaklar gerçekleştirildi.

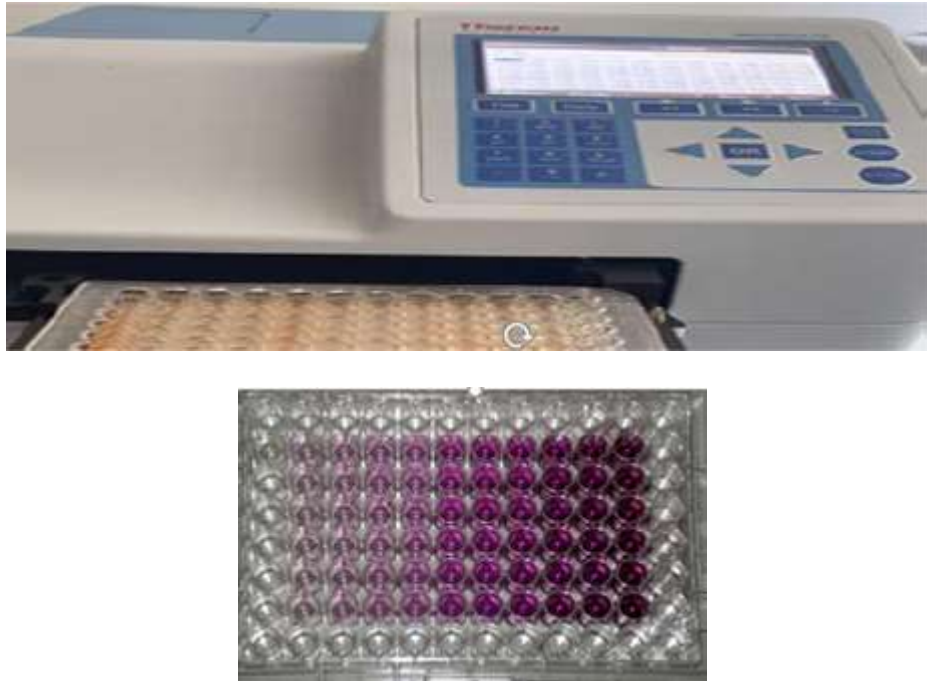
- 1) Hücreler içerisinde besiyeri bulunan 15 lik falkonlara aktarıldı.
- 2) 50 pl hücre, 50 pl tripan mavisiyle beraber aynı tüpe konularak hafifçe pipetaj gerçekleştirildi.
- 3) Thoma lamının her kenarına yayılan karışım inverted mikroskoba yerleştirilerek, 1 mm lik alandaki 16 karedeki hücrelerin sayısı belirlendi.

### **3.4.2.4. Hücrelerin Ekilmesi**

MCF-7, L929 ve SW620 hücreleri, %10 FBS, 100 Unit/ml penicillin ve 100µg/ml streptomycin içeren RPMI büyüme ortamında, % 5 CO<sub>2</sub> içeren inkübasyonda, 37 °C' lik bir inkübatör içinde 25 cm<sup>2</sup> flasklarda çoğaltıldı. Çoğaltma işleminin ardından hücreleri ortamdaki kaldırmak için 5 ml Tripsin-EDTA solüsyonu (% 0.25) ve fosfat tamponu (PBS) ilave edildi. Kaldırılan hücreler falkonlara aktararak Falkonlar 2000 rpm hızda 8 dakika santrifüjlendi. Santrifüjleme işleminin ardından, üst faz atılarak ortama besiyeri bırakıldı. 96 kuyucuktan 7500 hücre/mL olacak şekilde her birine 200 mikrolitrelik karışım ilave edilerek 96 lık plateler inkübatöre bırakıldı.

### 3.4.2.5. Hücrelere Etken Madde Uygulanması ve MTT Testi

In vitro Sitotoksosite için 96 well plate'e MCF-7, L929 ve SW620 hücreleri 7500 hücre/ml olacak şekilde ekilmiş ve hücrelerin tutunması için 24 saat beklenmiştir. Süre sonrasında besiyeri uzaklaştırılarak 0.01, 0.05, 0.1, 1, 10  $\mu$ M derişim aralığında yeni sentezlenen test bileşikleri olarak 3a-3k serisi ilaç adayı kompleksler ve kontrol olarak da DMSO uygulanmıştır. 24 saat sonrasında büyüme ortamı uzaklaştırılmış ve herbir kuyulara 5 mg/L MTT reaktifinden 100  $\mu$ L eklenmiştir. 4 saat inkübasyon sonrasında MTT çözeltisini içeren besiyeri uzaklaştırılmış ve her bir kuyuya 100  $\mu$ L DMSO eklenmiştir. 570 nm'de okuma alınmış (Şekil 3.3) ve yaşayan hücre sayısı % olarak aşağıda verilen eşitlik 1'e göre hesaplanmıştır. % yaşayan hücre sayısına karşı konsantrasyon grafiği çizilerek komplekslerin IC50 değeri ayrı ayrı belirlenmiştir. Okumalar 5 tekrarlı yapılmış (Subaşı ve ark. 2020).



Şekil 3.2. MTT reaksiyonu Elisa okuması

$$\% \text{ yaşayan hücre sayısı} = 100 * (\text{kontrol} - \text{ortalama değer}) / \text{kontrol}$$

MTT canlı hücrelerin tespitini yapan, içerisinde tetrazolium tuzu bulunan bir formazan tuzudur. Tetrazolium halkasının dehidrojenaz ile parçalanması neticesinde MTT

formazana dönüşmektedir. Bu değişim canlı hücrelerin mitokondrileri yoluyla olmaktadır (Mosman 1983; Doyle and Griffiths 1998).

#### 3.4.2.6. Hücrelerin Görüntülenmesi

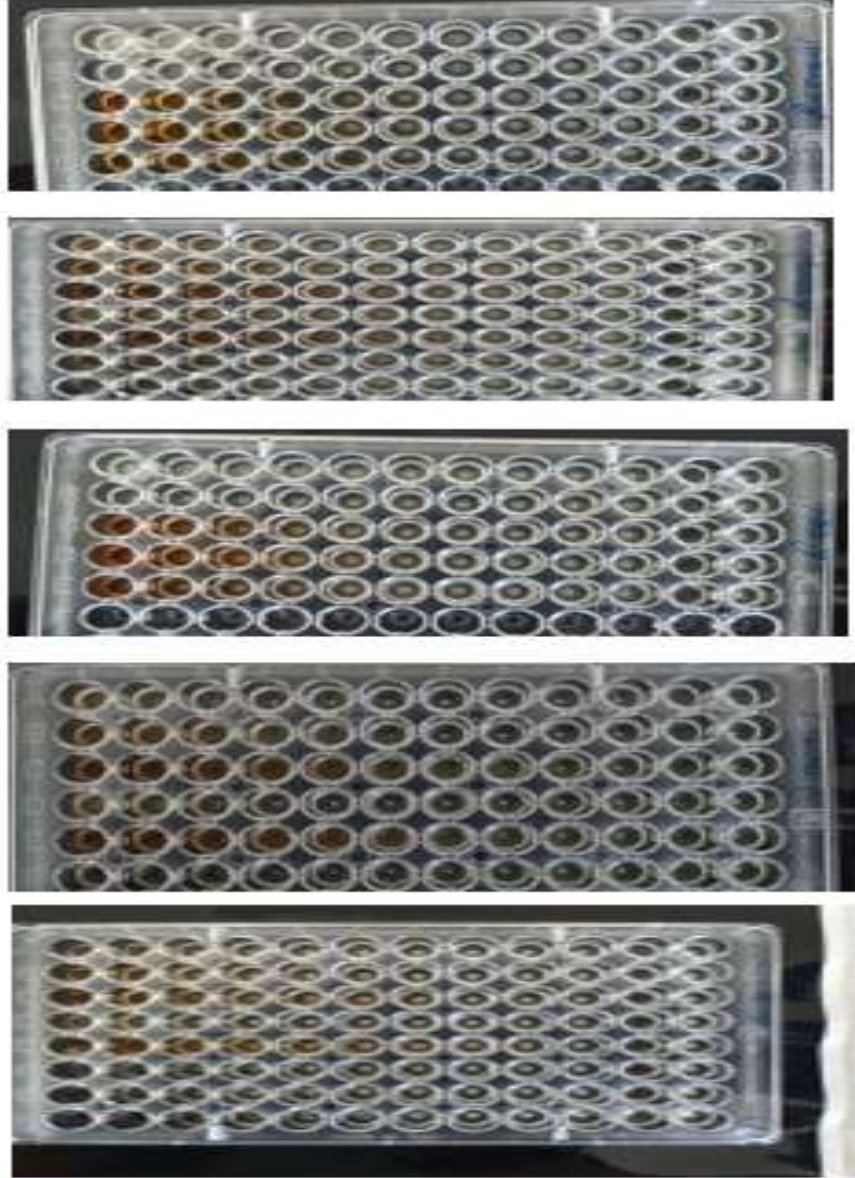
İnkübasyondan sonra, Zeiss Axio inverted mikroskop (10x)'lu görüntüleme sisteminden yararlanılarak hücre büyüme performanslarının fotoğrafları çekildi. Metilen blue boyası, yaşayan ve büyüyen hücrelerin sayımının yapılması için kullanıldı. Hücreler metilen blue solüsyonu ile boyandı ve % 1 SDS içeren PBS tamponu içinde izole edildi.  $2 \times 10^4$  hücre 24 well plakanın her bir kuyusuna ekilmiştir. 24 saatlik inkübasyonun ardından 3a-k kodlu moleküller IC50 değerleri kadar uygulanmıştır. Kontrol grubunda sadece RPMI vardır. 24 saat inkübasyon sonrasında hücre morfolojileri floresans mikroskobu (parlak alanda) 10X ve 20X büyütmelemlerde görüntülenmiştir.

#### 3.4.3. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Antimikrobiyal aktivite çalışmaları Mikrodilüsyon Broth yöntemi (Eloff, 1998) kullanılarak, Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) değerlerinin bulunması ile gerçekleştirilmiştir.

Test edilen mikroorganizmalar olarak *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, ve *Candida albicans* örnekleri seçildi. Bakteriyal suşlar, 37 °C'te Mueller Hinton Agar (Accumix® AM1072) besiyeri içerisinde gece boyunca (overnight) kültüre edildi. Mantar örnekleri ise 30 °C'te Sabouraud Dextrose Agar (Himedia ME033) besiyeri içinde gece boyunca kültüre edildi. 96'lık mikrotitre plakalarının ilk kuyucuklarına 90 µl, öbür kuyucuklara ise 50'şer µl besiyeri konuldu. 11. Kuyucuklar, sterilite kontrol amaçlı kullanıldı ve 100 µl besiyeri ilave edildi. 12. kuyucuklarda ise üreme kontrol amacıyla kullanıldı. Daha sonra ilk kuyucuklar üzerine 10 µl ekstre eklendi ve seri sulandırma işlemi gerçekleştirildi. MHB Kanlı agar besiyerinde üreyen mikroorganizmalardan McFarland 0.5 bulanıklığında süspansiyon hazırlandı. Bakteriler için  $5 \times 10^5$  CFU/mL, *Candida albicans* için  $0.5-2.5 \times 10^3$  CFU/mL olacak şekilde her kuyucuğa 50 µl mikroorganizma süspansiyonu ilave edildi. Bakteri ilave edilen plaklar 37 °C'de, *Candida albicans* ilave edilen plaklar 35 °C'de 16-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi bittikten sonra üremenin görünür olması için her kuyucuğa 50 µl 2 mg/ml 2,3,5-Trifeniltetrazolyum klorid (TTC) (Merck, Germany) eklendi ve 37 °C'de 2

saat inkübe edildi. Testler 3 tekrarlı olarak yapıldı. Renk değişiminin gerçekleşmediği ilk kuyucuklar MİK değeri olarak belirlendi (Şekil 3.4).



Şekil 3.3. Mikroplate içinde minimum inhibisyon konsantrasyon testi

#### **3.4.4. Fibroblast (L929) Hücre Kültüründe Yeni Sentezlenen Bileşiklerin Uygulanmasıyla Birlikte Hücrelerin Oksidatif Stresinin Tespit Edilmesi**

Çalışmamızda yeni sentezlenen bileşiklerin (3a-k) farklı konsantrasyonlarda, L929 hücre hattına uygulanması sonucu meydana gelen değişimler, bazı biyokimyasal parametreler ve çeşitli kitler kullanılarak etkin konsantrasyonun belirlenmesi hedeflenmiştir.

Araştırmamızda sentezlediğimiz türev bileşiklerinin, fibroblast hücrelerindeki tiyol düzeylerinin belirlenmesi ve lipit peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA) düzeyinin tayini analizleri yapıldı. Sentezlediğimiz bileşiklerin, toplam oksidan seviye (TOS), toplam antioksidan seviye (TAS) ve oksidatif stres indeksini (OSİ) hangi şekilde değiştirdiğini belirlemek için Rel Assay marka ticari kitler tercih edildi. Hücre kültürleri üzerinde sentezlenen moleküllerin değişik derişimlerde eklenmesiyle beraber, biyokimyasal parametrelerin analizlerinin yapılabilmesi için, öncelikle hücre numunelerine 1/9 (v/v) oranında fosfat tamponu (pH=7,4; 50 mM) ilave edildi ve soğutuculu ortamda homojenizasyonu yapıldı. Daha sonra homojenizat örnekleri, 3000 rpm de 15 dakika boyunca santrifüjlendi. Santrifüj sonucunda elde edilen süpernatantlar biyokimyasal analizler için kullanıldı.

#### **3.4.4.1. Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Analizi**

Lipit peroksidasyonun son ürünü olan MDA düzeyleri, (Daştan ve ark., 2014)'ün önerdiği yöntemle tespit edildi. Tiyobarbitürik asit (TBA) ile 90-95 °C'de tepkimeye giren pembe renkli, MDA'nın oluşturduğu kromojen moleküller, spektrofotometrik olarak 532 nm'de tespit edildi ve absorbans değerleri kaydedildi. Elde edilen sonuçlar nmol/g proteini olarak belirlendi (Esterbauer and Cheeseman 1990; Dastan ve ark. 2014).

#### **3.4.4.2. Toplam Antioksidan Seviye (TAS) Analizi**

L929 hücre kültürlerinde yeni sentezlenen bileşiklerin uygulanmasıyla beraber oluşan TAS, (Erel, 2004) tarafından geliştirilen metotta bazı değişiklikler yapılarak belirlendi (Dastan ve ark., 2014). Kullanılan metotta numunedeki antioksidanlar koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikal solüsyonunu, renksiz ABTS formuna dönüştürür. 660 nm absorbansdaki bu değişim toplam antioksidan miktarıyla ilgilidir. Kitin kalibrasyonu E vitaminine benzeyen Trolox Equivalent denilen stabil antioksidan standardı ile yapılarak, elde edilen veri litre başına eşdeğer Trolox (eşdeğerli mmol Trolox/l) milimol olarak belirlendi (Erel, 2004).

### 3.4.4.3. Toplam Oksidan Seviye (TOS) Analizi

L929 hücre kültüründeki TOS, (Erel, 2005) tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik ölçüm metoduyla tespit edildi. Alınan örnekteki oksidanlar ferrik iyonla tümleşik ferröz iyon-kıskacını oksitler. Varolan oksidanlar; demir iyonunu, demir iyon-odanisidin kompleksine oksitlemektedir. Oksidasyon tepkimesi, reaksiyon ortamında fazlca varolan gliserol molekülleriyle arttırılmaktadır. Ortamda varolan gliserol, bu tepkimeyi hızını yaklaşık üç kat arttırabilmektedir. Ferrik iyonlar asidik varlığında “ksilenol orange” ile kromojen renkli kompleks bir molekül oluştururlar. Analiz hidrojen peroksitle kalibre edilip, elde edilen sonuçlar litre başına denk gelen mikromolar hidrojen peroksit (pmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> equivalent/l) şeklinde belirlenmektedir (Erel, 2005).

### 3.4.4.4. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) Analizi

Hesaplamalar yapılırken öncelikle, TAS değerleri pmol/l' ye dönüştürüldü. Total Oksidan Seviye (TOS)'nin, Total Antioksidan Seviye (TAS)'ye oranı şeklinde belirlenerek, Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) tespit edildi. Bu değer, Total Oksidan Seviye (TOS)/Total Antioksidan Seviye (TAS) şeklinde gösterildi (Harma ve ark. 2003).

### 3.4.4.5. Toplam Tiyol Düzeylerinin Analizi

L929 hücre kültürlerindeki serbest sülfidril gruplarının düzeyleri, (Hu ve ark., 1993) tarafından modifiye edilen yöntemle analiz edildi. Bu yöntem, numunelerdeki serbest tiyol gruplarının a-5,5-ditiyobis2-nitrobenzoik asit (DTNB) ile bazik ortamda, sarı renkli bir kompleks oluşturması ve oluşan renkli bileşiğin 412 nm dalga boyundaki absorpsiyonunun spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle edlde edilmektedir ve bu yöntemle bulunan sonuçlar milimolar olarak ifade edilmektedir (Daştan ve ark. 2014).

### 3.4.5. DNA Hasarını Önleyici Aktivite

Yeni sentezlenmiş ya da saflaştırılmış bir etken maddenin, türev bileşiğin DNA hasarının önlenmesindeki etkisinin belirlenmesinde veya DNA koruyucu aktivitelerin belirlenmesinde çeşitli yöntemler kullanılsa da tüm laboratuvarlarda rutin olarak kullanılan temel yöntemlerden biri jel elektroforezidir (Sönmez Güner, 2022). Agaroz jel elektroforez tekniği, çeşitli amaçlarla izole edilen DNA ve RNA'ların tanımlanması, hangi formda olduklarının belirlenmesi, boyutlarının belirlenmesi ve özellikle değişiklikler sonrası elde

edilen yeni formların incelenmesi açısından moleküler genetik alanında önemli bir deneysel sistemdir (Takım, 2010).

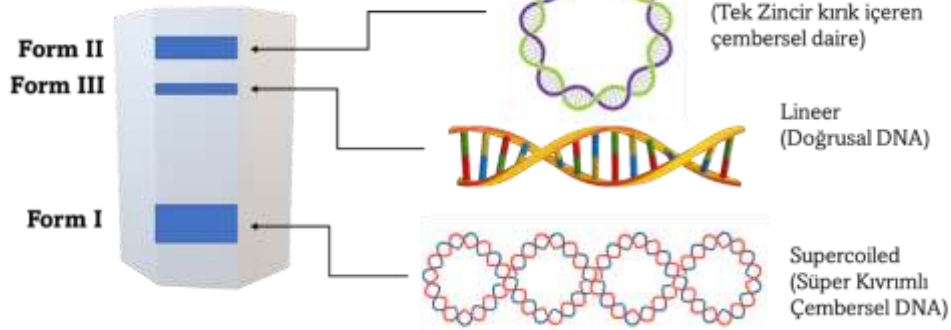
Plazmit DNA'sının üç formu vardır:

- i) Süper sarmal (süpercoiled, DNA üzerinde kırık zincir yoktur ve çok yoğun dairesel komplekstir, Form I);
- ii) Açık dairesel (DNA zincirlerinden birinde kırık bir zincir var ve DNA molekülü hala dairesel DNA, Form II);
- iii) Lineer (DNA dubleks zincirinde iki kırık zincir vardır, yani dairesel değildir, lineer çift gerilmiş DNA'ya dönüşür, Form III)

Agaroz Jel Elektroforezinde bu formlar farklı hızlarda hareket eder (Takım, 2010). Form I, yük yoğunluğunun azlığı ve küçük hacmi nedeniyle jelde en hızlı hareket eder. Form II biraz daha yoğun olduğu için daha yavaş hareket eder. Form III, Form I ve Form II arasında bir hacimde olduğu için her iki bandın arasında bir seviyede konumlanır (Takım, 2010).

Bu yöntemle göre, bitki ekstrelerinin DNA hasarını önleme yeteneği, DNA'ya zarar veren faktörler olan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve UV ışığı varlığında değerlendirilmiştir. Form I, sağlam kovalent olarak kapalı dairesel formdadır ve hızlı hareket eder. Eğer bir zincir üzerinde değişiklik meydana gelirse, süper-sarmal form, daha yavaş hareket eden bir açık dairesel form II oluşturmak için gevşeyecektir. Her iki çift zincir de herhangi bir faktör tarafından bölünürse, form I ve form II arasında göç eden lineer form III oluşmaktadır.

### Plazmid DNA



Şekil 3.4. Plazmid DNA formları

Türev bileşiklerin (3a-k), DNA'yı oksidatif kaynaklı ve UV hasarlardan koruma etkinliklerinin tespiti için pBR322 plazmit DNA'si (Thermo) kullanıldı. Plazmit DNA'sı, ekstrelerin varlığında UV ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulamasına maruz bırakılarak hasar oluşmasına çalışıldı. Russo vd. (2000) tarafından belirlenen metotta bir miktar değişiklik yapılarak Takım (2010) ve Berk (2012) tarafından optimize edilen yöntem kullanıldı (Sönmez ve Gürer, 2022; Berk, 2012; Takım, 2010; Russo vd. 2000). %1,5'lik agaroz jel hazırlanarak, DNA bantlarının görüntülenmesine çalışıldı.

DNA koruyucu aktivite için türev bileşiklerden 100 mikromolar stok derişimler hazırlanması yoluna gidildi. Stoğun tamamen çözünmesi sağlandıktan sonra seyreltme işlemi gerçekleştirildi.

Plazmit DNA'sında hasar oluşturma ve bitki ekstrelerinin etkisinin incelenmesi için:

2 ml'lik eppendorf tüpler sırasıyla etiketlendi ve içlerine aşağıdaki bileşenler konularak deney prosedürü uygulandı (Tablo 3.1).



Tablo 3.1. DNA hasarına karşı sentezlenen bileşiklerin aktivitelerinin belirlenmesi deneyi.

Numune	Plazmit DNA (pBR322)	Distile su dH <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	UV	Stok kimyasal çözeltisi (3a-k)
1. Kontrol	3 µl	6 µl			
2. Kontrol	3 µl	6 µl		5 dk	
3. Kontrol	3 µl	6 µl	1 µl	5 dk	
4. Kontrol	3 µl	6 µl	1 µl		
Sentez bileşikler (3a)	3 µl	-	1 µl	5 dk	5 µl (3a)
Sentez bileşikler (3b)	3 µl	-	1 µl	5 dk	5 µl (3b)
Sentez bileşikler (3c)	3 µl	-	1 µl	5 dk	5 µl (3c)
Sentez bileşikler (3d)	3 µl	-	1 µl	5 dk	5 µl (3d)

Yeni sentezlenen türev bileşiklerin konulduğu tüpler, 3. ve 4. tüpler ile birlikte 5 dk boyunca UV ışınlarına maruz bırakıldıktan sonra 2.0 µl yükleme tamponu ilave edilerek %1,5'lik agaroz jele yüklendi. Işık kaynağı olarak 25 °C' de 302 nm dalga boyunda ve 8000 µW/cm<sup>2</sup> yoğunlukta ışık üreten UV translüminatör cihazı kullanıldı. Bu test sisteminde UV ışığına maruz bırakılarak ortamda bulunan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' nin OH radikaline parçalanması ve plazmit DNA' da hasar oluşturması ve yeni sentezlenen bileşiklerin koruyucu özelliğinin ortaya çıkarılması hedeflendi.

Agaroz jelin hazırlanması aşamasında aşağıdaki prosedür uygulandı: 1. Elektroforez cihazına ait plastik plaka ile bir kalıp oluşturuldu ve plaka yatay konumda, düzgün bir yere yerleştirildi. Örnek sayısına uygun olacak şekilde tarak plastiği yerleştirildi. Agaroz (1,5 g), 250 mL'lik bir erlen içerisinde bulunan 100 mL 1x Tris Borik asit EDTA (TBE) tamponuna eklendi ve erlen agaroz eriyene kadar mikrodalga fırında tutuldu. Daha sonra 1.5 µl etidyum bromür (10 mg/mL) eklendi ve karıştırıldı. Agaroz çözeltisi, tarak yerleştirilmiş plastik plakaya döküldü. Örneklerin agaroz jele yüklenmesi, jelin yürütülmesi ve görüntülenmesi aşamalarında aşağıdaki prosedür uygulandı.

UV' den çıkarılan eppendorf tüplerine 5 µl yükleme tamponu (6x loading dye) eklendi. Tarak aparatının çıkarılmasıyla oluşan jelin kuyucuklarının elektroforez tamponu ile iyice temas etmesi, doldurulması sağlandı. Bu işlem sırasında jelin üzerini kaplayacak şekilde 1x TBE tamponu olmasına dikkat edildi. Hazırlanan DNA örnekleri uygun bir pipet yardımıyla, tampon dolu kuyucuklara dikkatlice yüklendi. Tankın kapağı kapatıldı ve elektrik bağlantıları yapıldı. Elektroforez 40 V'ta 500 mA akım uygulanarak 3 saat süreyle

yürütüldü. Agaroz jel, fotoğrafını çekerek, DNA bantlarının incelenmesi amacıyla UV transilluminatör cihazı üzerine alındı. Burada jele, alttan ultraviyole ışık verilerek, etidyum bromidin bağlandığı DNA fragmentlerinin gözle görülmesi sağlandı. Ve etidyum bromid floresan bir madde olup ultra viyole (UV) ışık altında ışıma yaparak görünmektedir. Bu basamakta DNA fragmentlerinin arasına etidyum bromid kimyasalı girerek bağlandığı için UV ışıkta incelendiğinde jel üzerindeki DNA'ların da görülmesi sağlanmış olur. Daha sonra jelin fotoğrafı jel görüntüleme sistemi ile çekildi.

#### **3.4.6. İstatistiksel Analiz**

Verilerin analizinde SPSS 23.0 (IBM Corporation, Armonk, New York, Amerika Birleşik Devletleri) programı kullanıldı. IC50 değerleri Graphpad programı kullanılarak hesaplandı. Nicel veriler ortalama  $\pm$  S.D. (standart sapma) değerler tablolarda ifade edilmiştir. Kategorik veriler n (sayı) ve yüzde (%) olarak ifade edildi. Veriler %95 güven düzeyinde analiz edildi ve p değeri 0,05'ten küçük olan değerler anlamlı kabul edildi.

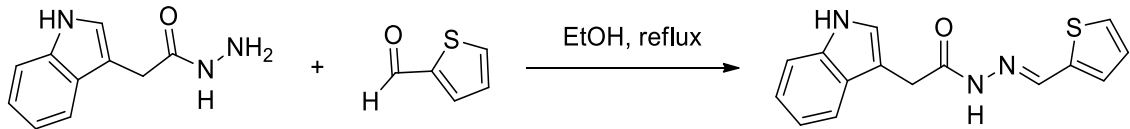
## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Sentezlenen Bileşiklerin Kimyasal Bulguları

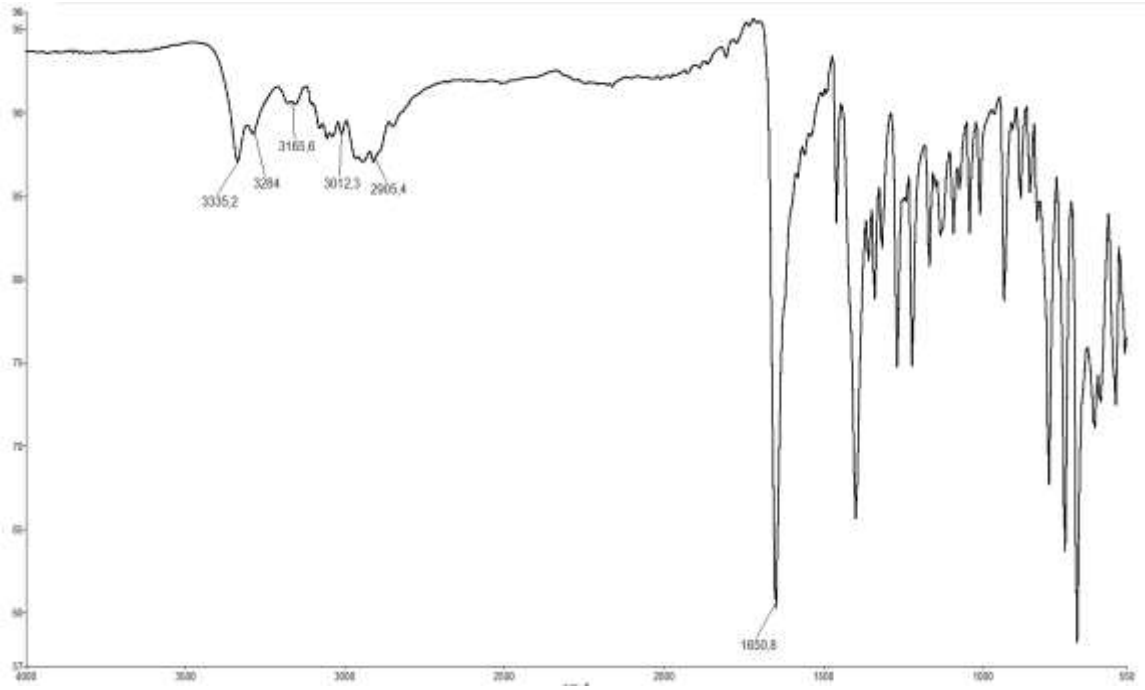
#### 4.1.1. Genel Sentez Yöntemi

0.01 mol aromatik aldehit türevi 20 mL mutlak etanolde çözülür. Mutlak asetik asit ile ortamın pH ı 3.5-5 aralığına ayarlanır. 30 mL alkolde çözülmüş 0.01 mol 2-(1*H* indol-3-il) asetohidrazit (1.89 gr) damlatma hunisi yardımıyla reaksiyon ortamına damla damla ilave edilir. Reaksiyon süresi takriben 6-12 saat aralığındadır. Reaksiyon tamamlandıktan sonra (TLC ile reaksiyon takibi yapılır) düşük basınç altında çözücü ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra oluşan katı süzülür, sonra soğuk dietileter ile yıkanır. Oluşan katı ürünler etanol, dioksan veya etanol-dioksan karışımında kristallendirilir.

#### 4.1.2. 2-(1*H*-indol-3-il)-*N*'-(tiyofen-2-ilmetilen)asetohidrazit sentezi (3a)

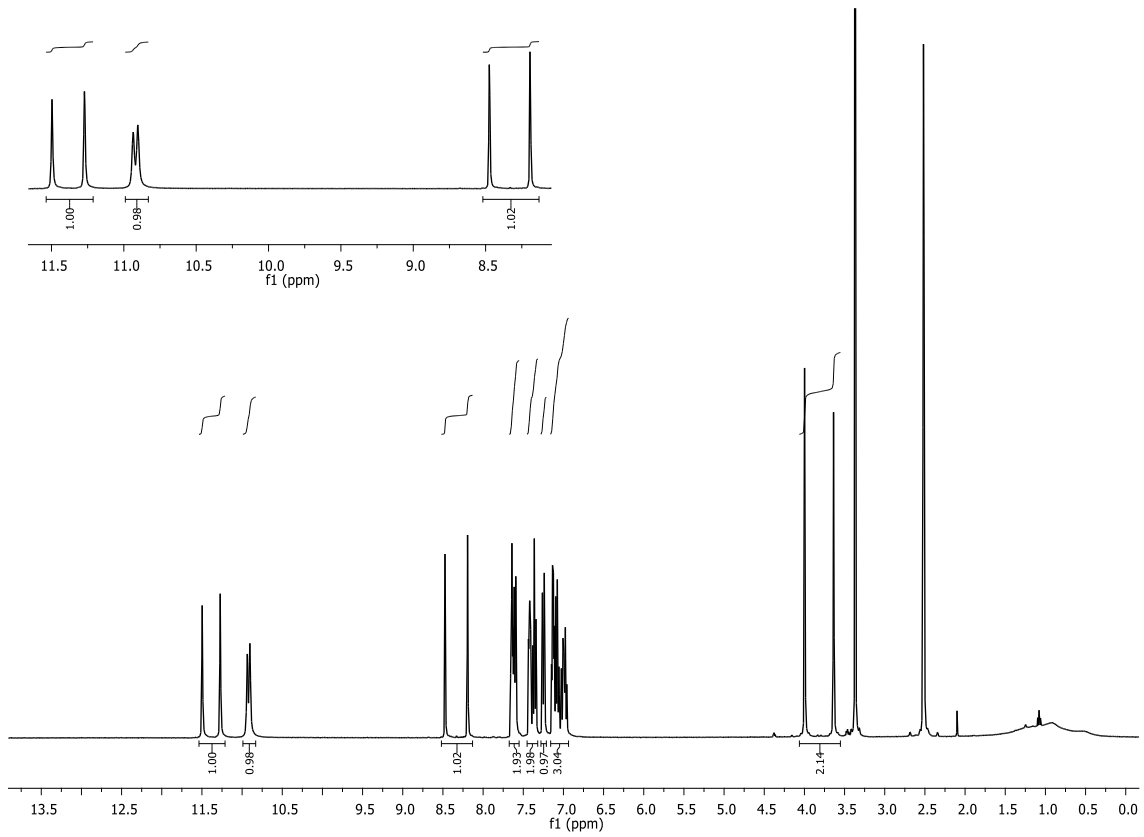


0.01 mol 2-(1*H* indol-3-il) asetohidrazit (1.89 gr) ve 0.01 mol tiyofen-2-karbaldehit (**2a**) (0.93mL) 30 mL etanolde çözülür. Reaksiyon ortamı mutlak asetik asit ile asitlendirildikten sonra 8 saat geri soğutucu altında kaynatılır. Çözücü düşük basınç altında ortamdan uzaklaştıktan sonra elde edilen katı süzülür, soğuk dietileter ile yıkanır. Etanol-dioksan (1:3) karışımında kristallendirilir. Verim: % 82, renk: açık kahve, e.n: 217-218 °C.



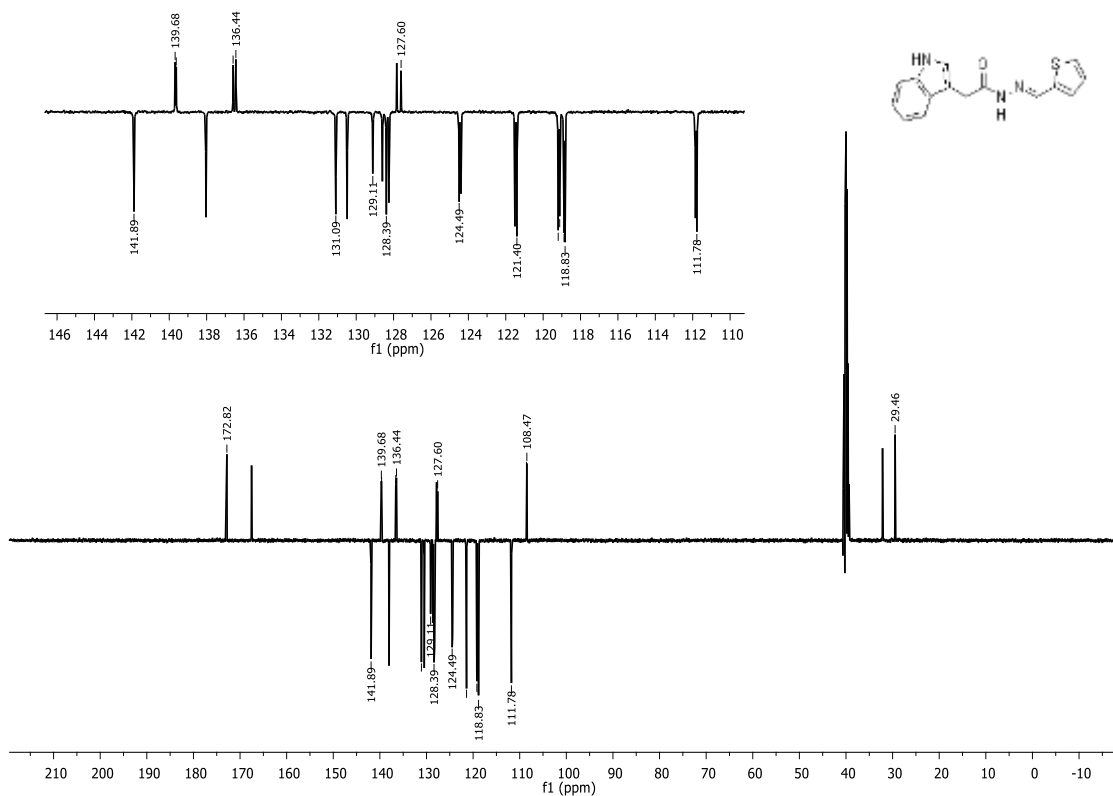
Şekil 4.1. 3a molekülünün FT-IR spektrumu

**FT-IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\nu$ ):** 3336 (indol N–H ger. tit), 3287 (N–H asimetrik ger. tit.), 3180 (N–H simetrik ger. tit.), 3106–3.033 (Ar. C–H ger. tit.), 2968–2845 (Alifatik C–H ger. tit.), 1648 (C=O ger. tit. amit 1. band).



Şekil 4.2. 3a molekülünün  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu

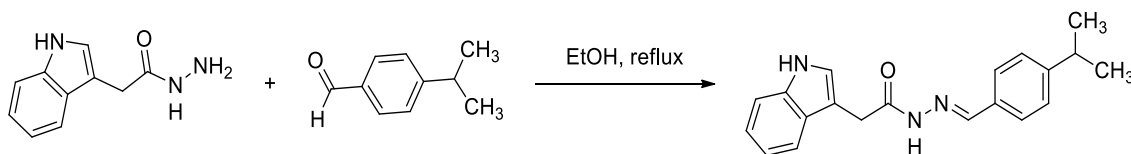
**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 11.50, 11.27 (s, indol-NH, 1H), 10.94, 10.90 (s, amit-NH, 1H), 8.48, 8.20 (s, N=CH, 1H), 7.65-6.94 (m, Ar-CH, 9H), 4.01, 3.64 (s, -CH $_2$ , 2H).**



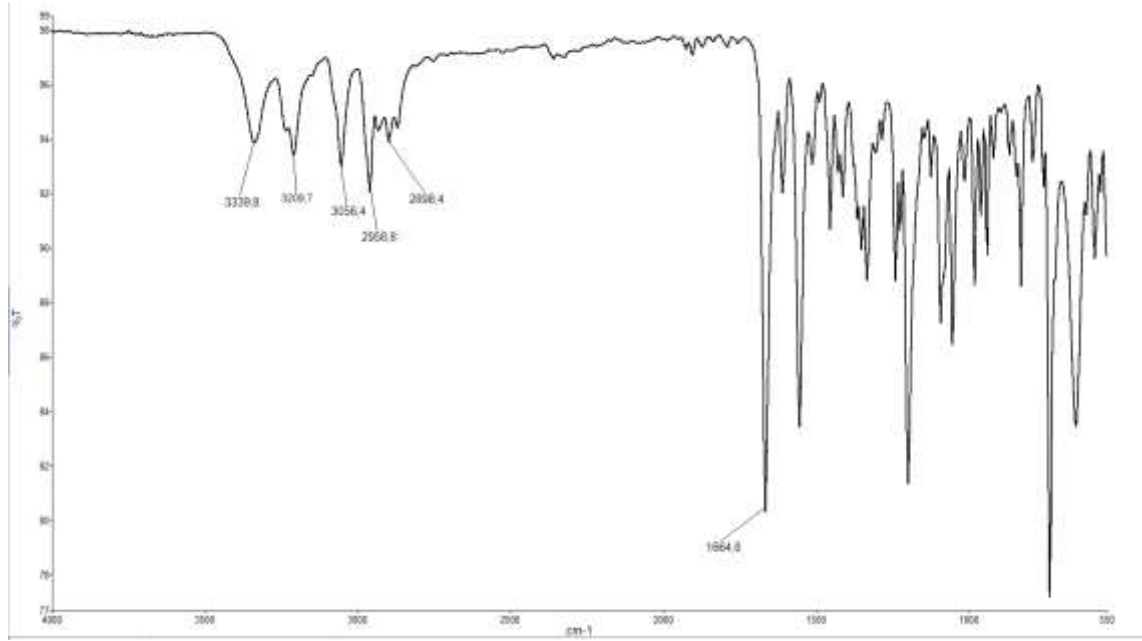
Şekil 4.3. 3a molekülünün  $^{13}\text{C}$ -APT NMR spektrumu

$^{13}\text{C}$ -APT NMR (100 MHz, DMSO)  $\delta$  172.82, 141.89, 139.68, 136.44, 131.09, 129.11, 127.60, 124.49, 121.40, 119.19, 118.83, 111.78, 108.47, 29.46.

#### 4.1.3. 2-(1*H*-indol-3-il)-*N*'-(4-izopropilbenziliden) asetohidrazit sentezi (3b)

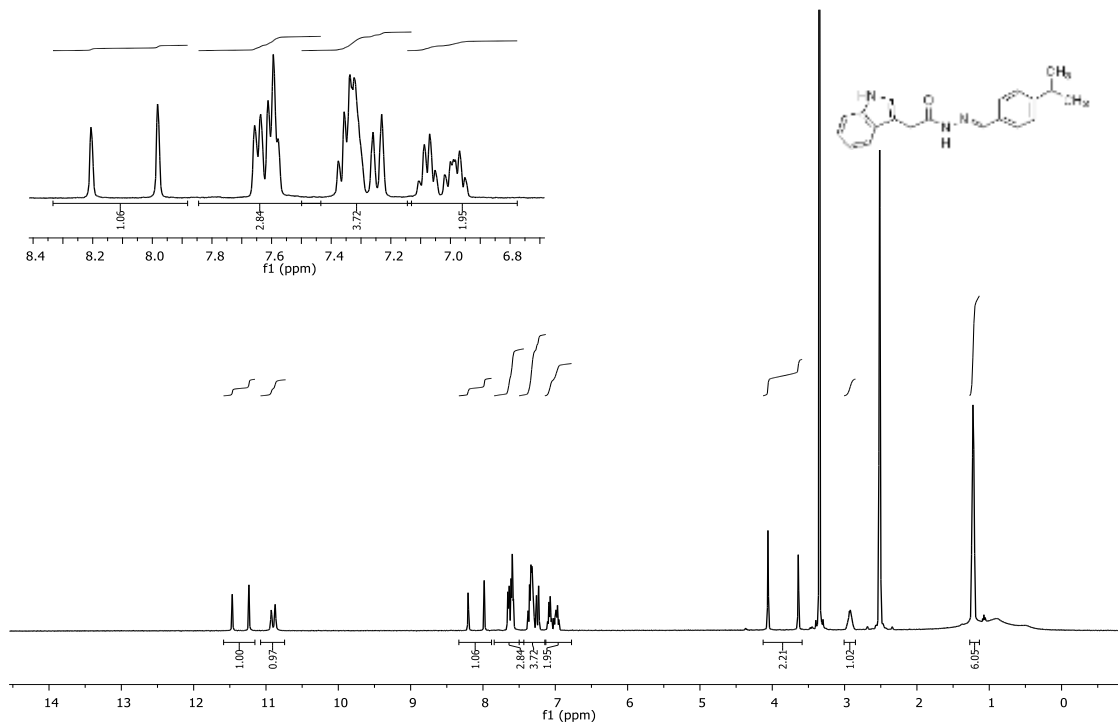


0,01 mol 2-(1*H* indol-3-il) asetohidrazit (1.89 g) ve 0.01 mol 4-izopropilbenzalhit (**2b**) (1.50 mL) 30 mL etanolde çözülür. Reaksiyon ortamı mutlak asetik asit ile asitlendirildikten sonra yaklaşık 8 saat geri soğutucu altında kaynatılır. Çözücü düşük basınç altında ortamdan uzaklaştıktan sonra kalan katı süzülür, soğuk dietilerle yıkanır. Daha sonra elde edilen katı etanolde kristallendirilir. Verim: % 80, renk: beyaz, e.n: 209-210 °C.



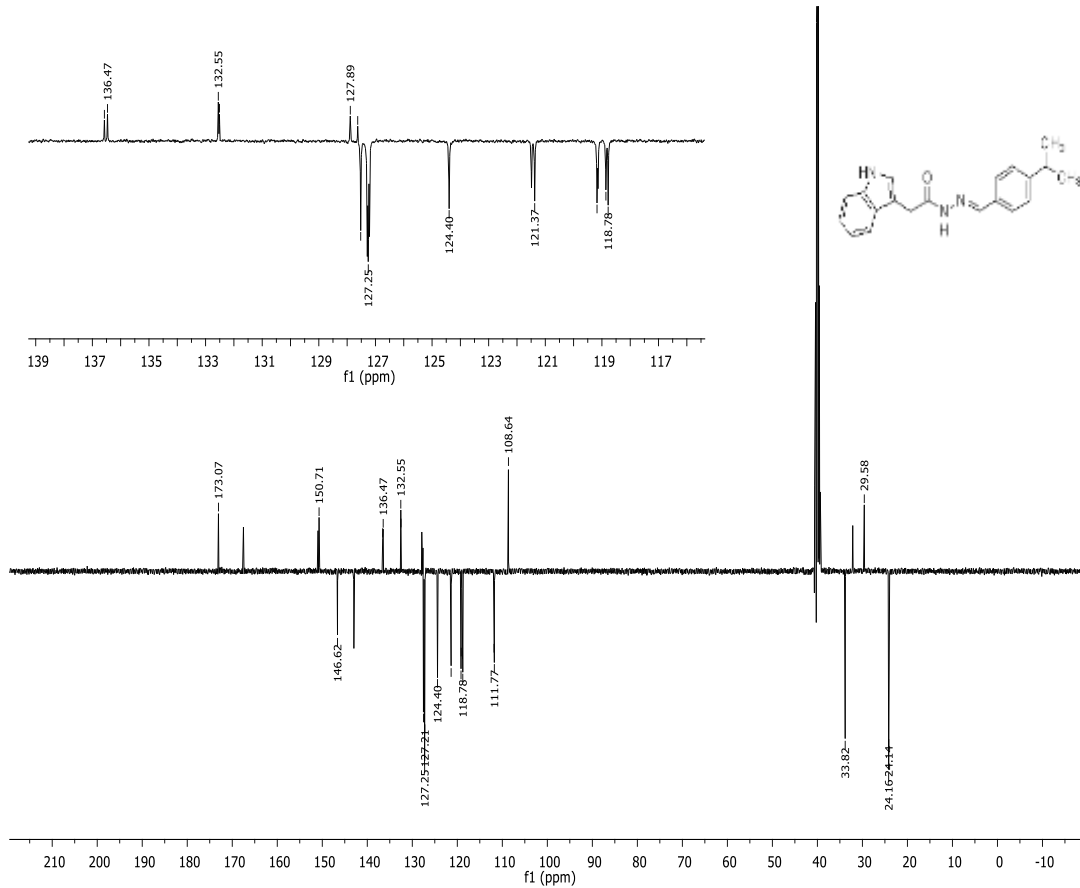
Şekil 4.4. 3b molekülünün FT-IR spektrumu

**FT-IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\nu$ ):** 3338 (indol N–H ger. tit), 3240 (N–H asimetrik ger. tit.), 3210 (N–H simetrik ger. tit.), 3054 (Ar. C–H ger. tit.), 2957–2865 (Al. C–H ger. tit.), 1665 (C=O ger. tit. amit 1. band), 1609 (C=N ger. tit.).



Şekil 4.5. 3b molekülünün  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu

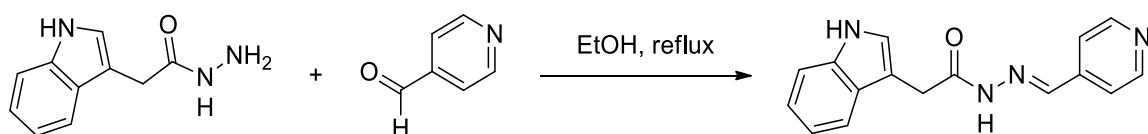
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)** δ: 11.47, 11.25 (s, indol-NH, 1H), 10.92, 10.88 (s, amit-NH, 1H), 8.20, 7.98 (s, N=CH, 1H), 7.66-6.98 (m, Ar-CH, 9H), 4.07, 3.64 (s, -CH<sub>2</sub>, 2H), 2.92 (m, -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 1H), 1.22 (d, *j*=6.90, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 6H).



Şekil 4.6. 3b molekülünün <sup>13</sup>C-APT NMR spektrumu

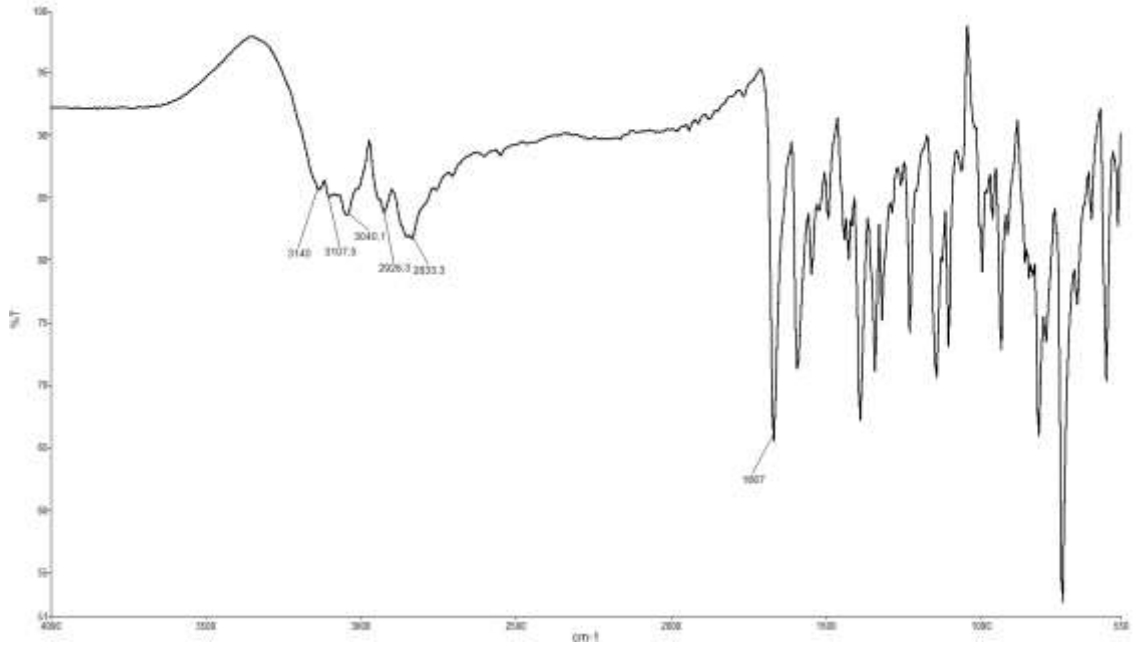
**<sup>13</sup>C-APT NMR (100 MHz, DMSO)** δ: 173.07, 150.71, 146.62, 136.47, 132.55, 132.51, 127.89, 127.34, 127.25, 124.40, 121.37, 119.17, 118.78, 111.77, 108.64, 33.82, 29.58, 24.16.

#### 4.1.4. 2-(1*H*-indol-3-il)-*N'*-(piridin-4-iletillen)asetohidrazit sentezi (3c)



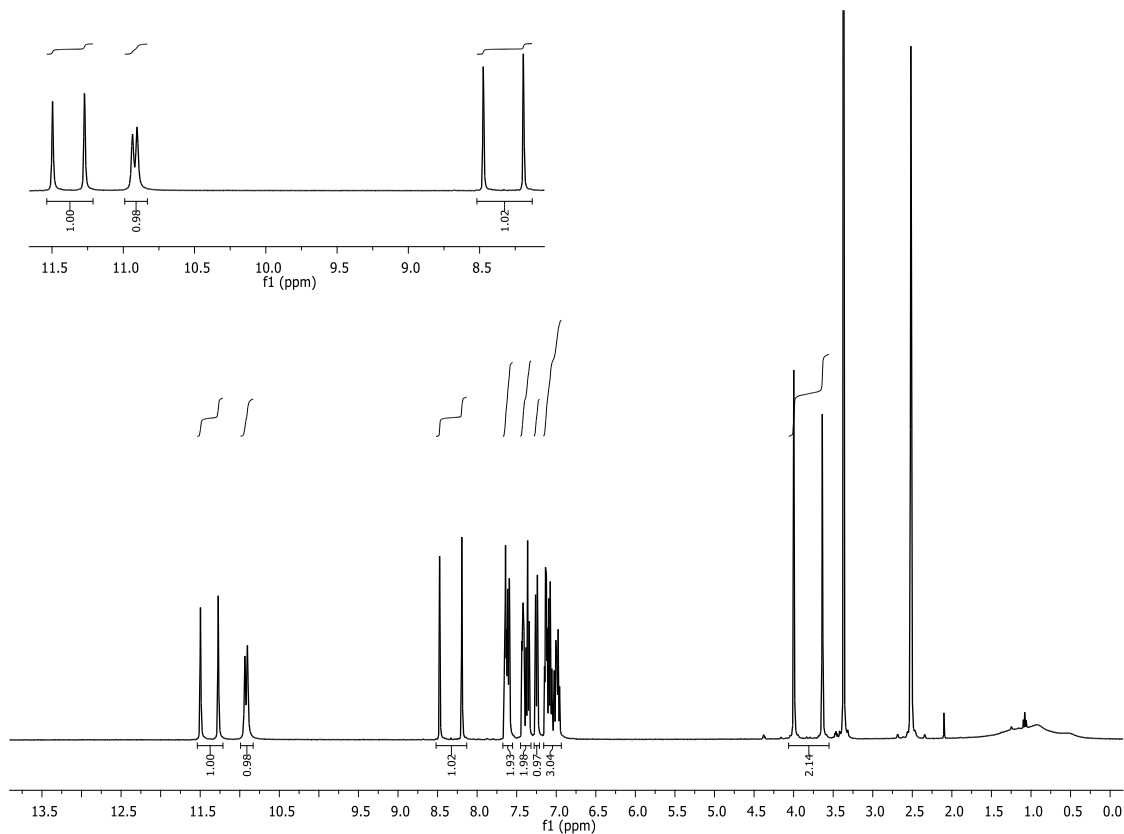


0,01 mol 2-(1*H* indol-3-il) asetohidrazit (1.89 gr) ve 0.01 mol 4-piridin karbaldehit (**2c**) (1.25 mL) 30 mL etanolde çözüdür. Reaksiyon ortamı mutlak asetik asit ile asitlendirildikten sonra yaklaşık 8 saat geri soğutucu altında kaynatılır. Çözücü düşük basınç altında ortamdaki uzaklaştıktan sonra kalan katı süzülür ve katı soğuk dietileter ile yıkanır. Elde edilen katı dioksan da kristallendirilir. Verim: %83, renk: beyaz, e.n: 239-243 °C.



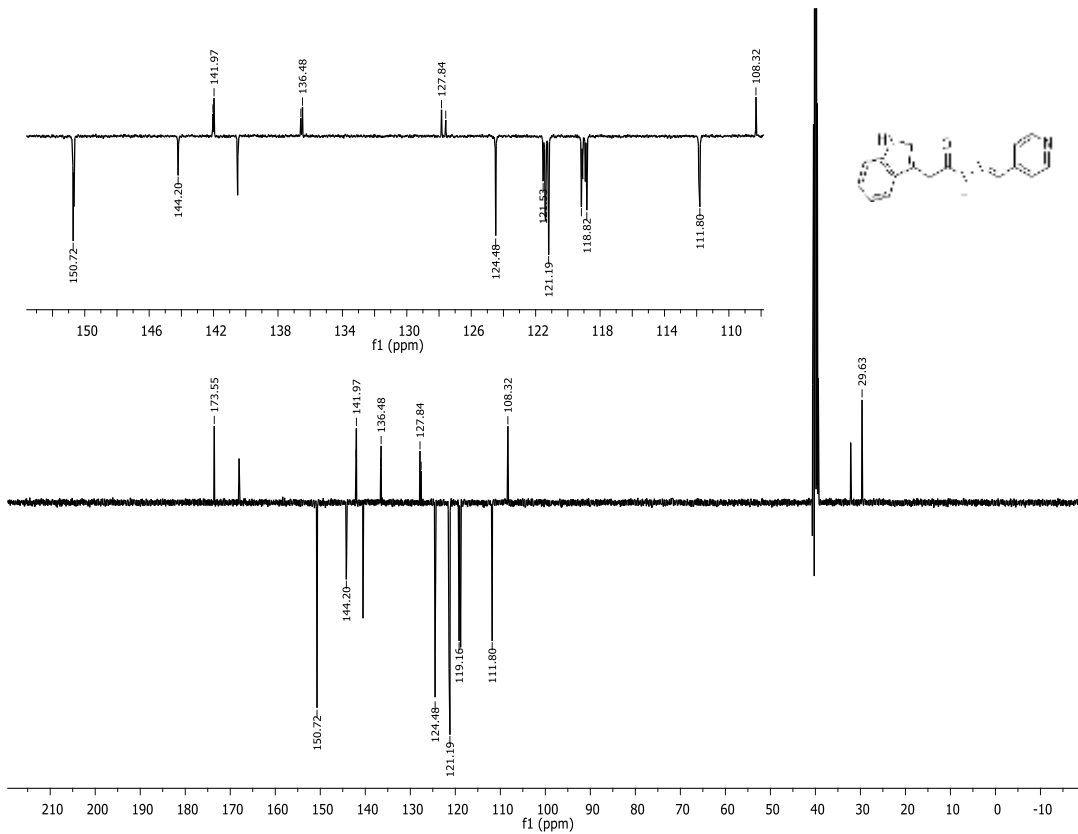
Şekil 4.7. 3c molekülünün FT-IR spektrumu

**FT-IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\nu$ ):** 3320-3135 (N-H ger. tit.), 3097-3050 (Ar. C-H ger. tit.), 2923-2846 (Al. C-H ger. tit.), 1666 (C=O ger. tit. amit 1. band), 1589 (C=N ger. tit.).



Şekil 4.8. 3c molekülünün  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu

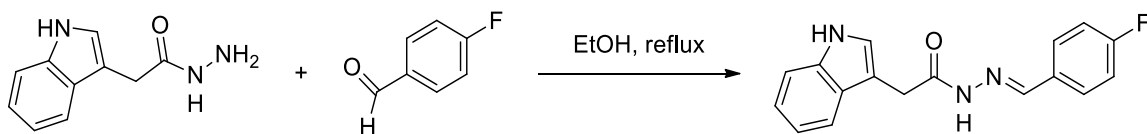
**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :** 11.80, 11.58 (s, indol-NH, 1H), 10.94, 10.90 (s, amit-NH, 1H), 8.64 (dd,  $J=5.80, 1.40$ , pr N-CH, 2H), 8.24, 7.99 (s, N=CH, 1H), 7.62-6.98 (m, Ar-CH, 7H), 4.12, 3.66 (s, -CH<sub>2</sub>, 2H).



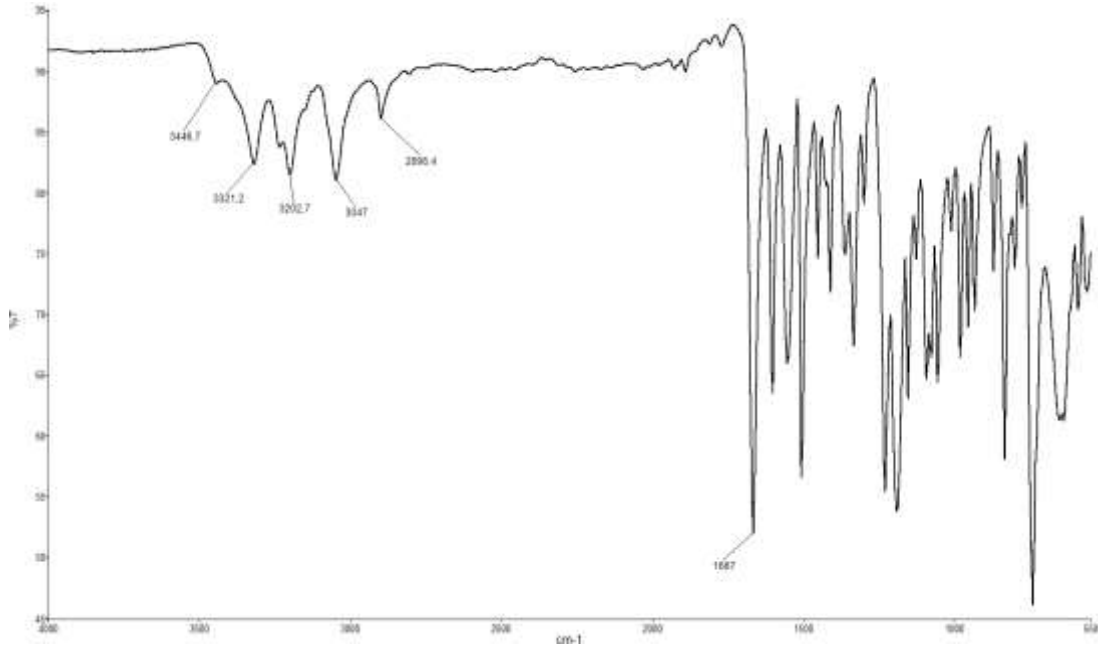
Şekil 4.9. 3c molekülünün  $^{13}\text{C}$ -APT NMR spektrumu

$^{13}\text{C}$ -APT NMR (100 MHz, DMSO)  $\delta$  173.55, 150.72, 144.20, 141.97, 136.48, 127.84, 124.48, 121.53, 121.19, 119.16, 118.82, 111.80, 108.32, 29.63.

#### 4.1.5. N'-(4-fluorobenziliden)-2-(1H-indol-3-il)asetohidrazit sentezi (3d)

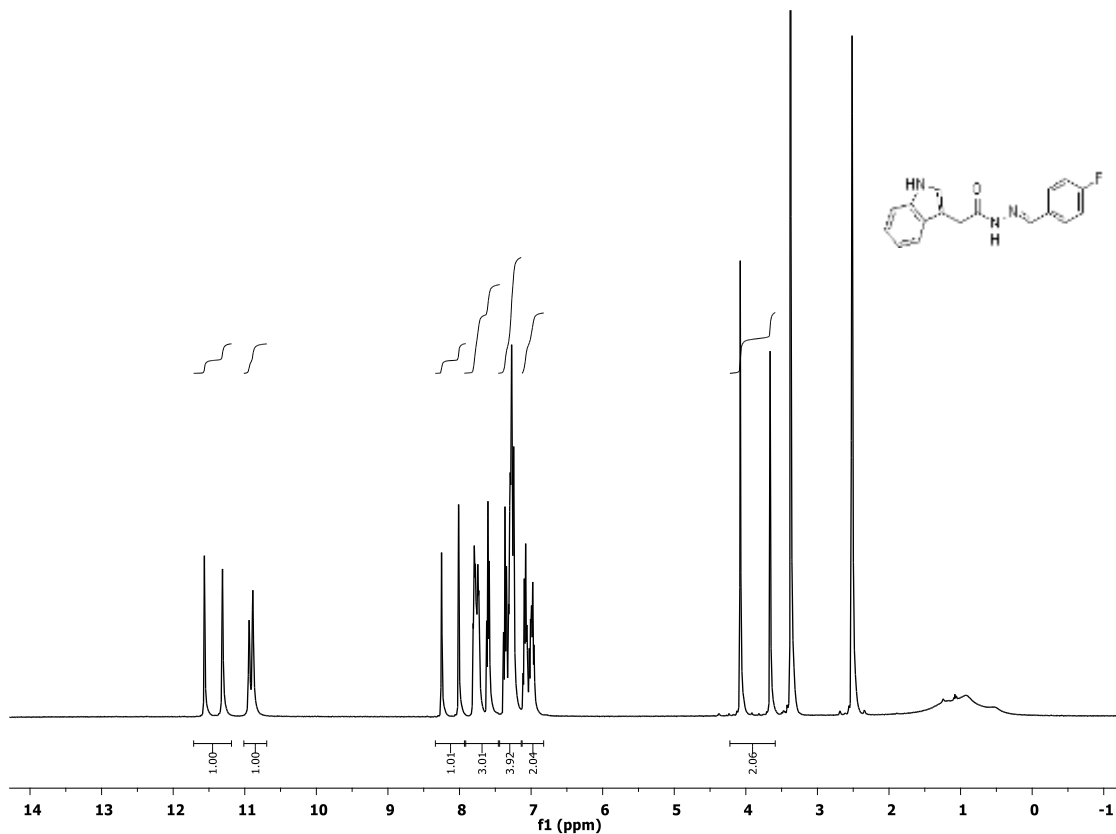


0,01 mol 2-(1H indol-3-il) asetohidrazit (1.89 gr) ve 0.01 mol 4-florobenzaldehit (**2d**) (1.24 gr) 30 mL etanolde çözülür. Reaksiyon ortamı mutlak asetik asit ile asitlendirildikten sonra yaklaşık 8 saat geri soğutucu altında kaynatılır. Çözücü düşük basınç altında ortamdan uzaklaştıktan sonra oluşan katı süzülür, soğuk dietileter ile yıkanır. Etanol-dioksan (1:3) karışımında kristallendirilir. Verim:%84, renk: kirlili beyaz, e.n: 199-201 °C.



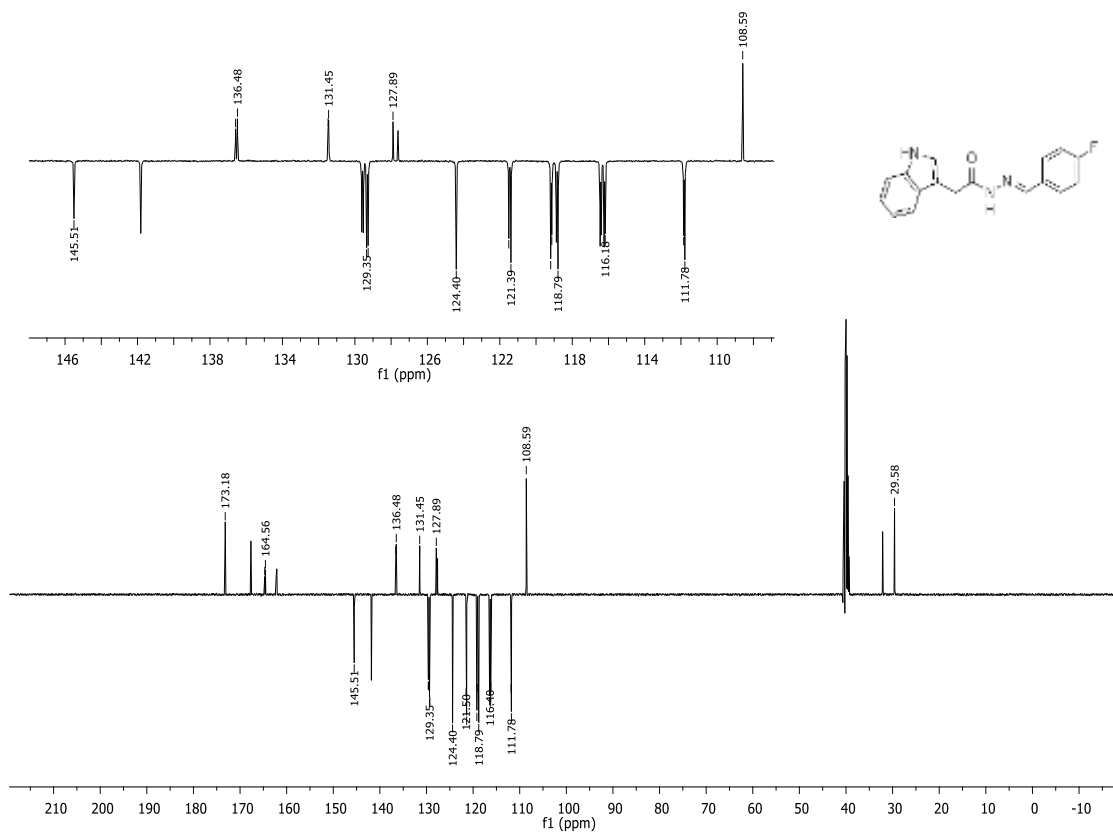
Şekil 4.10. 3d molekülünün FT-IR spektrumu

**FT-IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\nu$ ):** 3442 (indol N–H asimetric ger. tit.), 3321 (indol N–H simetrik ger. tit.), 3237 (N – H asimetric ger. tit.), 3199 (N–H simetrik ger. tit.), 3080-3020 (Ar. C-H ger. tit.), 2914–2880 (Al. C-H ger. tit.), 1667 (C=O ger. tit. amit 1. band), 1603 (C=N ger. tit.), 1190 (C-F ger. tit.).



Şekil 4.11. 3d molekülünün <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

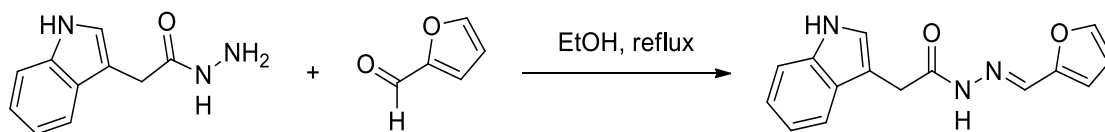
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)** δ: 11.57,11.31 (s, indol-NH, 1H), 10.93,10.87 (s, amit-NH, 1H), 8.26,8.00 (s,N =CH, 1H), 7.62-6.98 (m, Ar-CH, 7H), 4.12,3.66 (s, -CH<sub>2</sub>, 2H).



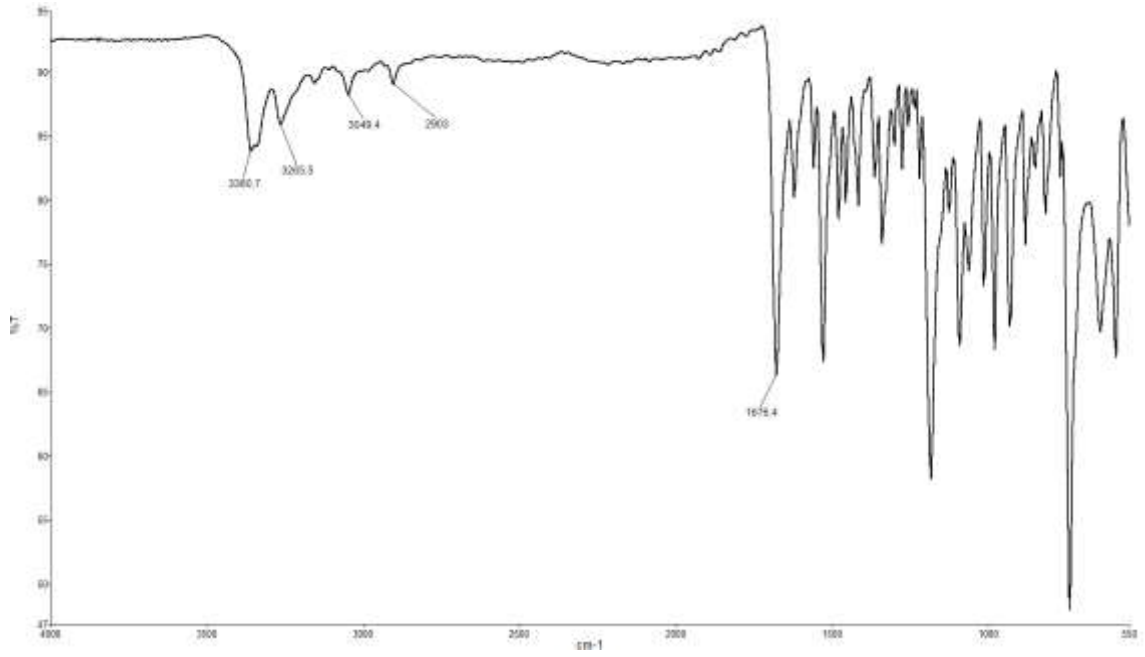
Şekil 4.12. 3d molekülünün  $^{13}\text{C}$ -APT NMR spektrumu

$^{13}\text{C}$ -APT NMR (100 MHz, DMSO)  $\delta$  173.18, 164.70, 145.51, 136.59, 131.45, 129.35, 127.89, 124.40, 121.39, 118.81, 118.79, 116.18, 111.85, 111.78, 108.59, 29.58.

#### 4.1.6. N'-(furan-2-ilmetilen)-2-(1H-indol-3-il)asetohidrazit sentezi (3e)

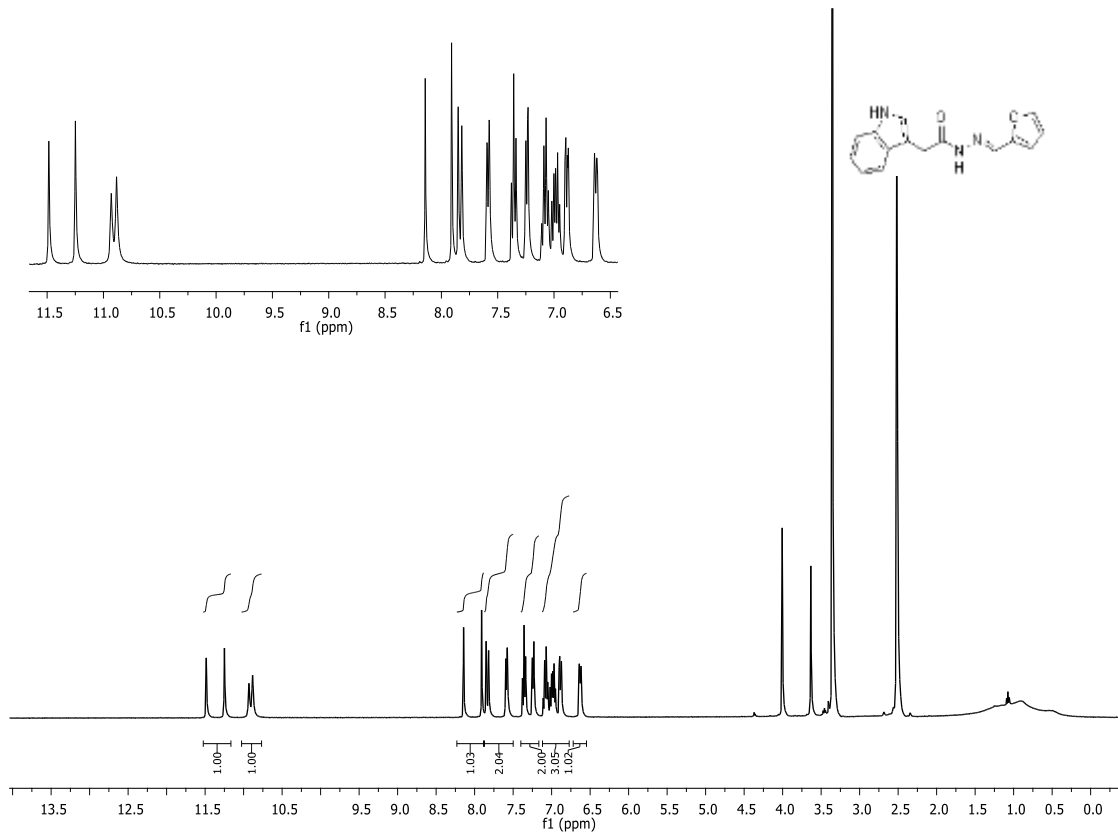


0,01 mol 2-(1H indol-3-il) asetohidrazit (1.89 gr) ve 0.01 mol furfural (2e) (1.15mL) 30 mL etanolde çözülür. Reaksiyon ortamı mutlak asetik asit ile asitlendirildikten sonra yaklaşık 8 saat geri soğutucu altında kaynatılır. Çözücü düşük basınç altında ortamdaki uzaklaştıktan sonra kalan katı süzülür, soğuk dietileter ile yıkanır. Etanol-dioksan (1:3) karışımında kristallendirilir. Verim:%81, renk: açık kahve, e.n: 200-203 °C.



Şekil 4.13. 3e molekülünün FT-IR spektrumu

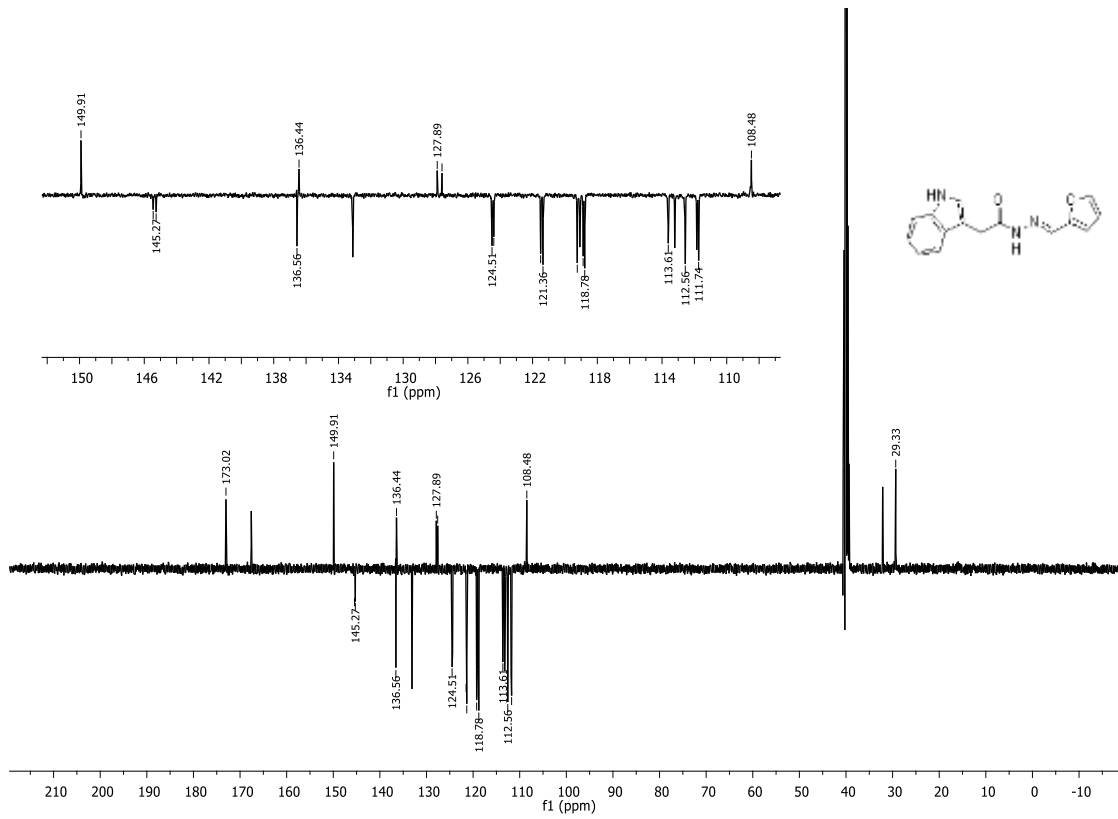
**FT-IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\nu$ ):** 3359 (indol N–H ger. tit.), 3263 (N–H asimetric ger. tit.), 3154 (N–H simetric ger. tit.), 3076–3030 (Ar. C–H ger. tit.), 2942–2890 (Al. C–H ger. tit.), 1679 (C=O ger. tit. amit 1. band), 1619 (C=N ger. tit.).



Şekil 4.14. 3e molekülünün  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 11.49, 11.25 (s, indol-NH, 1H), 10.93, 10.90 (s, amit-NH, 1H), 8.14, 7.92 (s, N=CH, 1H), 7.86-6.63 (m, Ar-CH, 8H), 4.02, 3.64 (s, -CH<sub>2</sub>, 2H).**

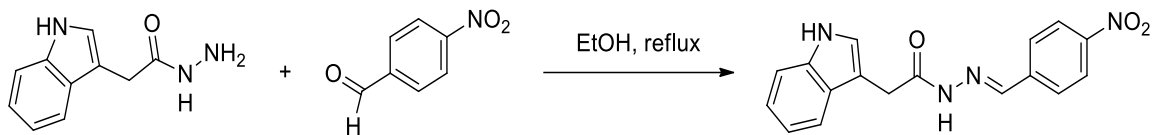




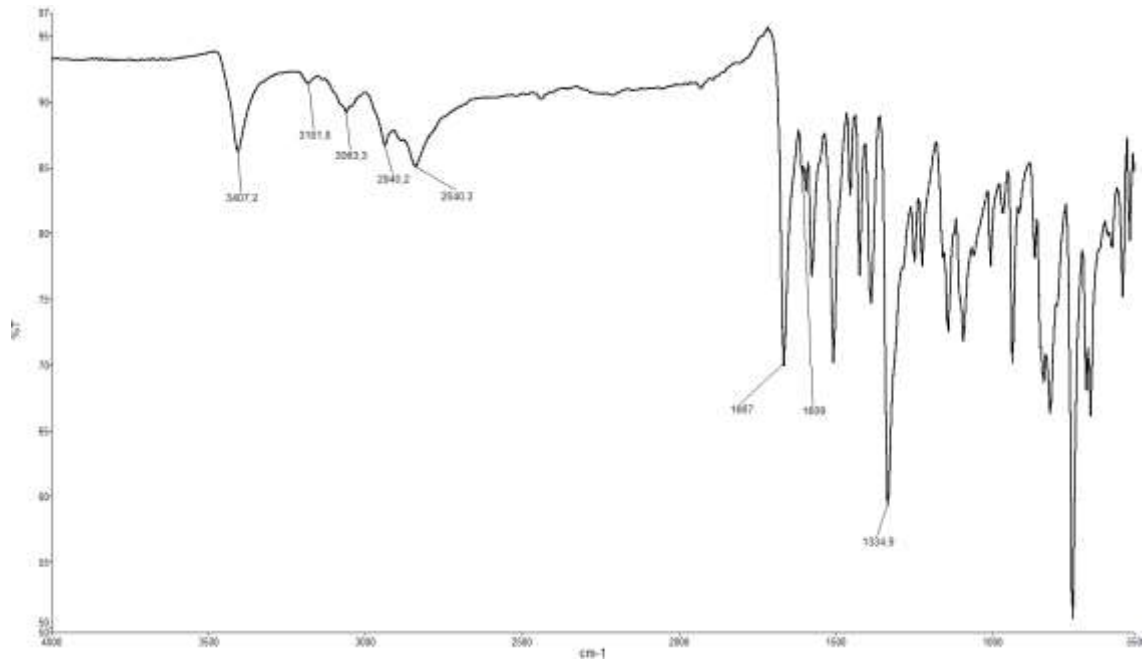
Şekil 4.15. 3e molekülünün  $^{13}\text{C}$ -APT NMR spektrumu

$^{13}\text{C}$ -APT NMR (100 MHz, DMSO)  $\delta$  173.02, 149.91, 145.27, 136.56, 136.44, 127.89, 124.51, 121.36, 119.24, 118.78, 113.61, 112.56, 111.74, 108.48, 29.33.

#### 4.1.7. 2-(1H-indol-3-il)-N'-(4-nitrobenzyliden)asetohidrazit sentezi (3f)

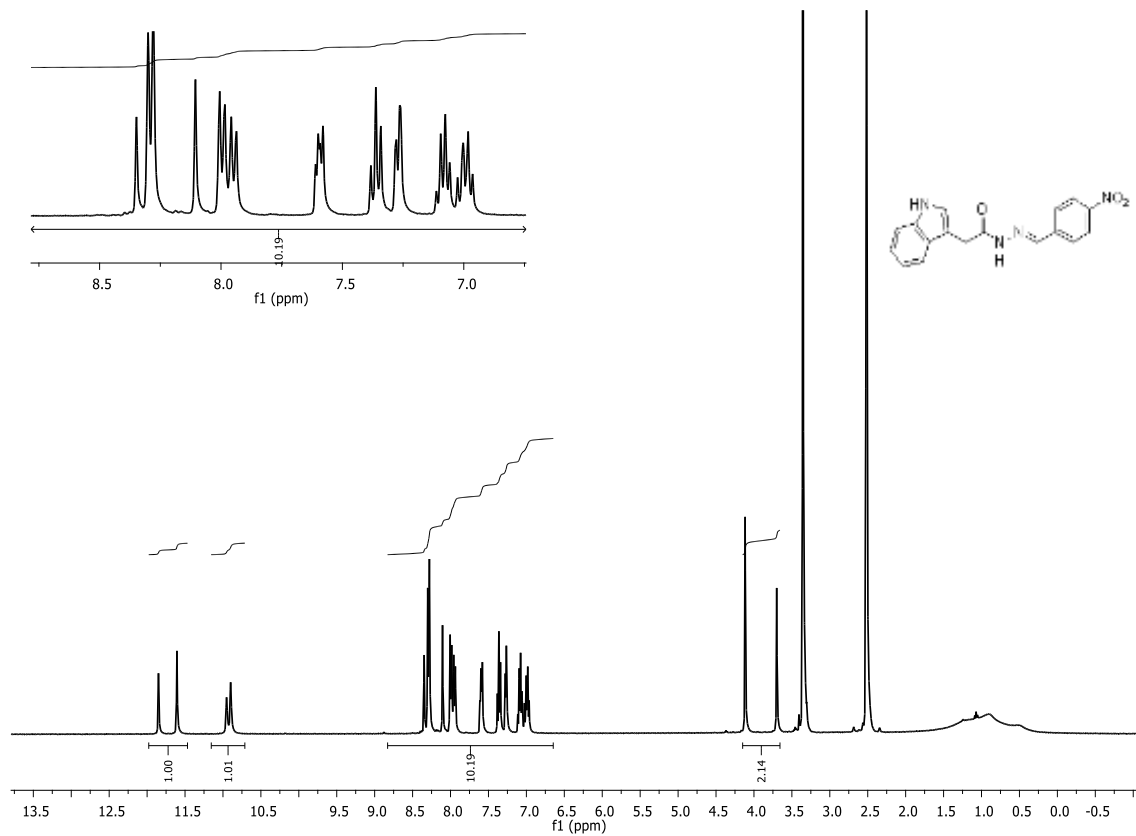


0,01 mol 2-(1H indol-3-il) asetohidrazit (1.89 gr) ve 0.01 4-nitro benzaldehit (**2f**) (1.45gr) 30 mL etanolde çözülür. Reaksiyon ortamı mutlak asetik asit ile asitlendirildikten sonra yaklaşık 8 saat geri soğutucu altında kaynatılır. Çözücü düşük basınç altında ortamdan uzaklaştıktan sonra kalan katı süzülür, soğuk dietileter ile yıkanır. Elde edilen katı etanolde kristallendirilir. Verim:%86, renk: sarı, e.n: 205-217 °C.



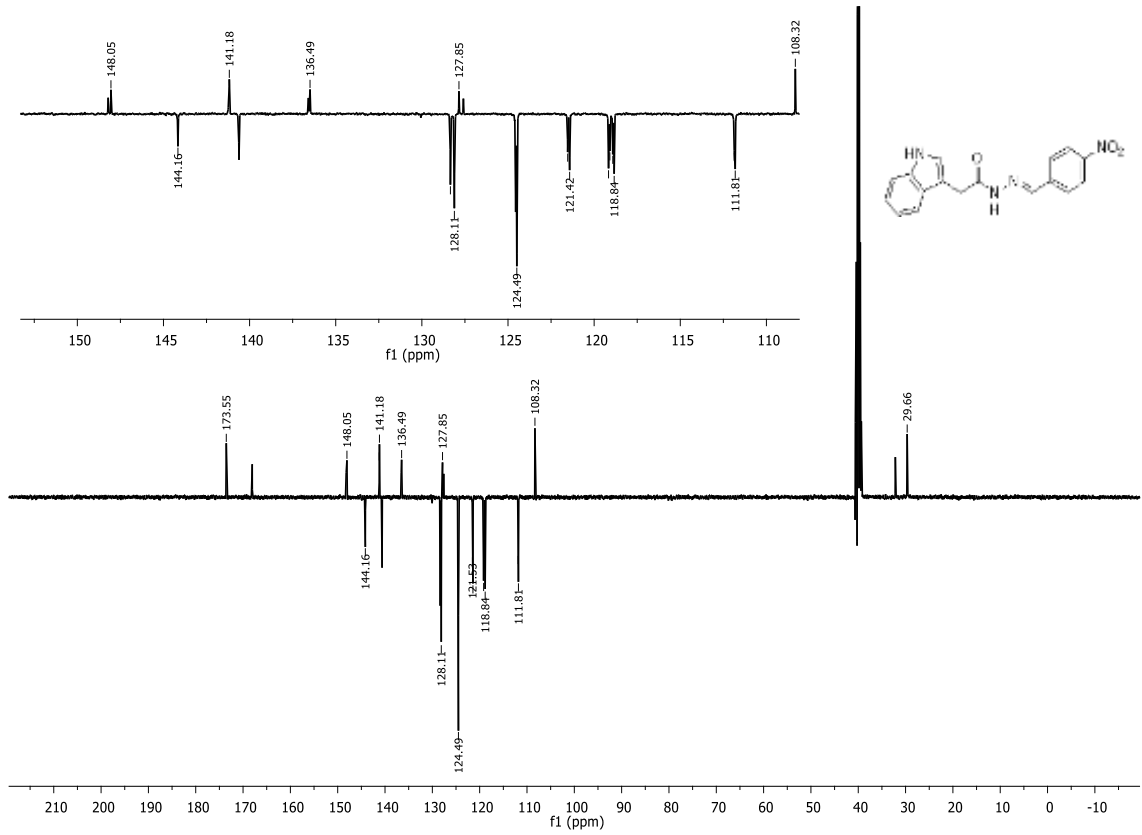
Şekil 4.16. 3f molekülünün FT-IR spektrumu

**FT-IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\nu$ ):** 3404 (indol N-H ger. tit.), 3188 (amit N-H ger. tit.), 3120-3000 (Ar. C-H ger. tit.), 2936-2838 (Al. C-H ger. tit.), 1666 (C=O ger. tit. amit 1. band), 1608 (C=N ger. tit.), 1331 (C-NO<sub>2</sub> bandı).



Şekil 4.17. 3f molekülünün <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

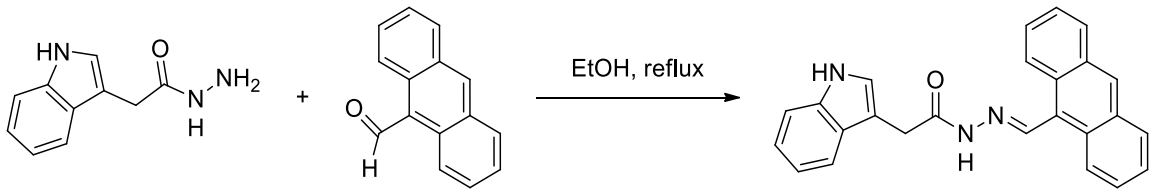
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)** δ: 11.85, 11.61 (s, indol-NH, 1H), 10.95, 10.89 (s, amit-NH, 1H), 7.62-6.98 (m, N=CH ve Ar-CH, 10H), 4.12, 3.66 (s, -CH<sub>2</sub>, 2H).



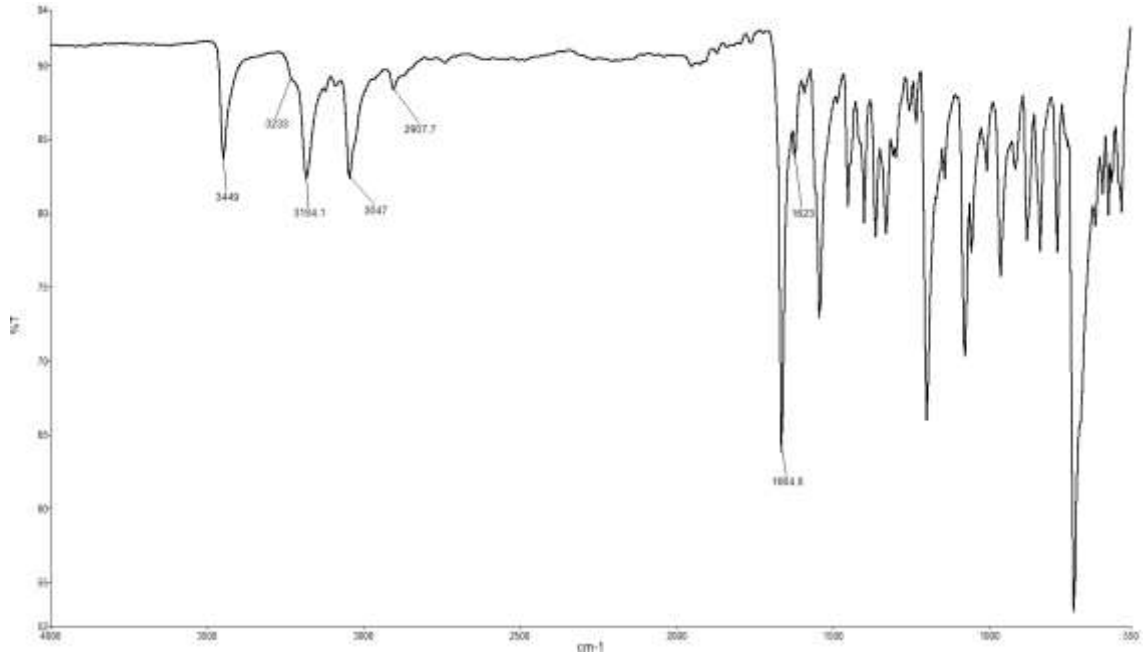
Şekil 4.18. 3f molekülünün  $^{13}\text{C}$ -APT NMR spektrumu

$^{13}\text{C}$ -APT NMR (100 MHz, DMSO)  $\delta$  173.55, 148.05, 144.16, 141.18, 136.49, 128.30, 128.11, 127.85, 124.49, 121.53, 119.16, 118.84, 111.81, 108.32, 29.66.

#### 4.1.8. N'-(antrasen-9-ilmetilen)-2-(1H-indol-3-il)asetohidrazit sentezi (3g)

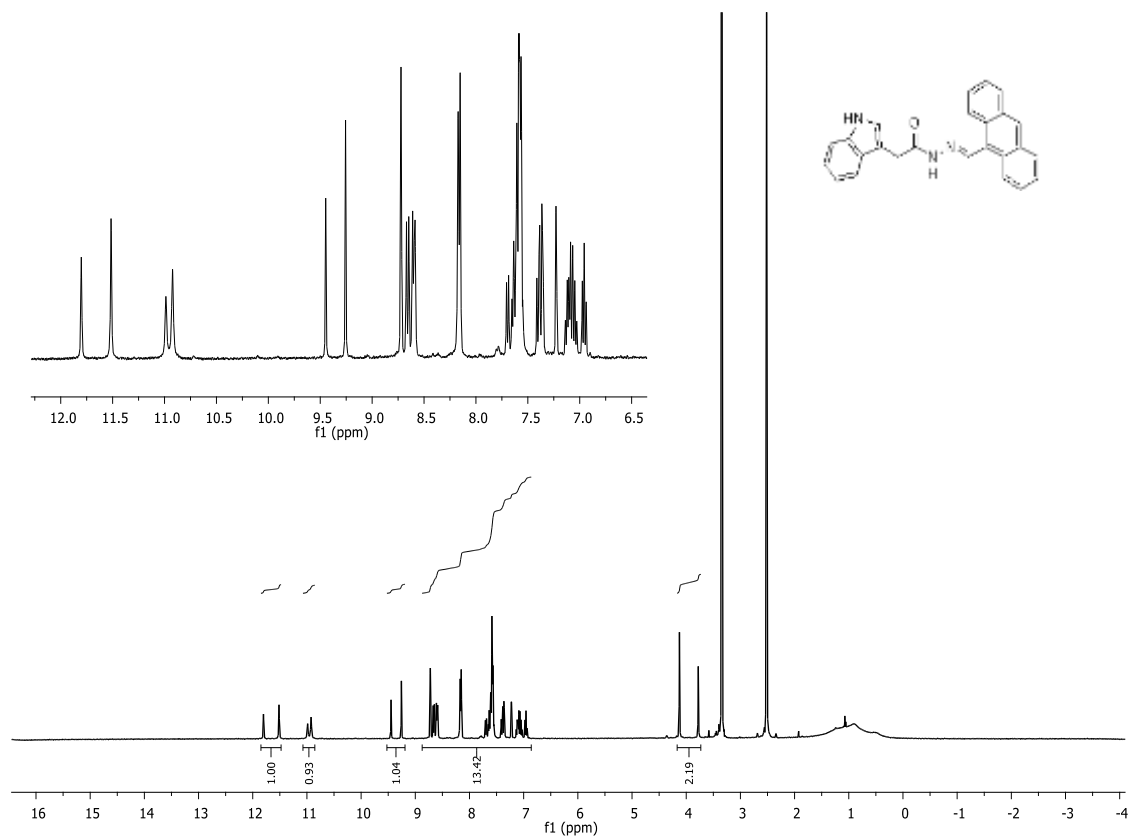


0,01 mol 2-(1H indol-3-il) asetohidrazit (1.89 gr) ve 0.01 9-antrasen karboksialdehit (**2g**) (2.06 gr) 30 mL etanolde çözülür. Reaksiyon ortamı mutlak asetik asit ile asitlendirildikten sonra yaklaşık 8 saat geri soğutucu altında kaynatılır. Çözücü düşük basınç altında ortamdaki uzaklaştıktan sonra kalan katı süzülür, soğuk dietileter ile yıkanır. Elde edilen katı etanolde kristallendirilir. Verim:%81, renk: sarı, e.n: 250-253 °C.



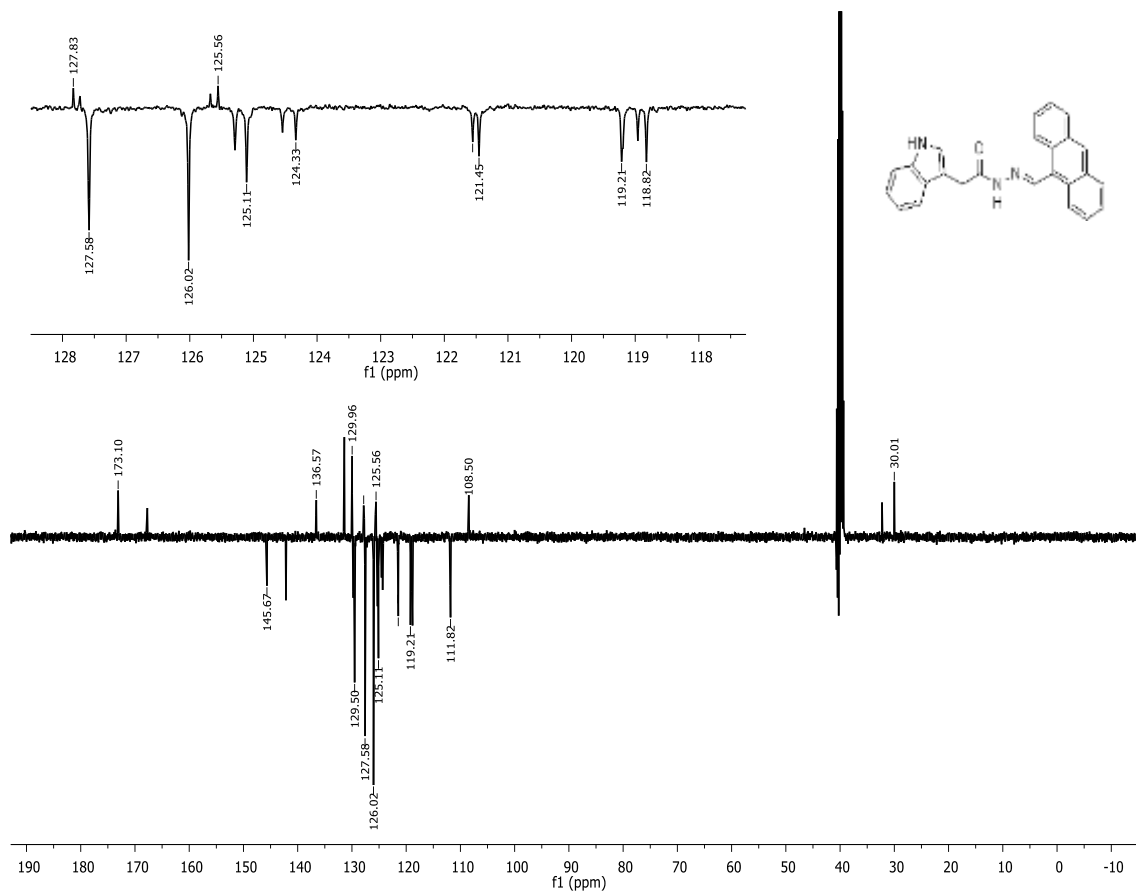
Şekil 4.19. 3g molekülünün FT-IR spektrumu

**FT-IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\nu$ ):** 3446 (indol N–H ger. tit.), 3235 (amit N–H asimetric ger. tit.), 3180 (amit N–H simetric ger. tit.), 3068-3012 (Ar. C–H ger. tit.), 2920–2890 (Al. C–H ger. tit.), 1664 (C=O ger. tit. amit 1. band), 1621 (C=N ger. tit.).



Şekil 4.20. 3g molekülünün <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

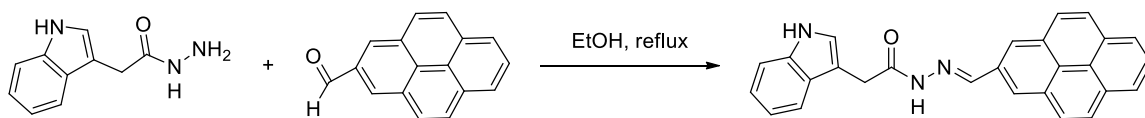
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)** δ: 11.86, 11.57 (s, indol-NH, 1H), 10.98, 10.92 (s, amit-NH, 1H), 9.46, 9.25 (s, N=CH, 1H), 8.72-6.95 (m, Ar-CH, 14H), 4.12, 3.78 (s, -CH<sub>2</sub>, 2H).



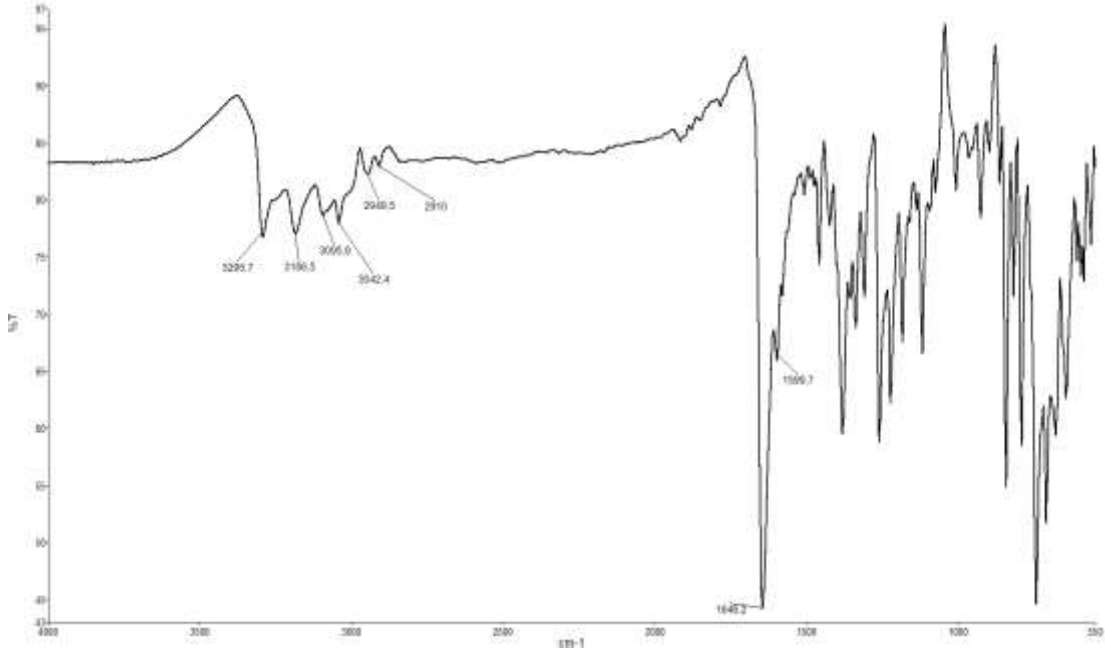
Şekil 4.21. 3g molekülünün <sup>13</sup>C-APT NMR spektrumu

<sup>13</sup>C-APT NMR (100 MHz, DMSO) δ 173.10, 145.67, 136.57, 131.38, 129.96, 129.50, 127.83, 127.58, 126.56, 125.11, 124.33, 121.45, 119.21, 111.82, 108.50, 30.11.

#### 4.1.9. 2-(1*H*-indol-3-il)-*N*'-(piren-2-iletillen)asetohidrazit sentezi D-13 (3h)



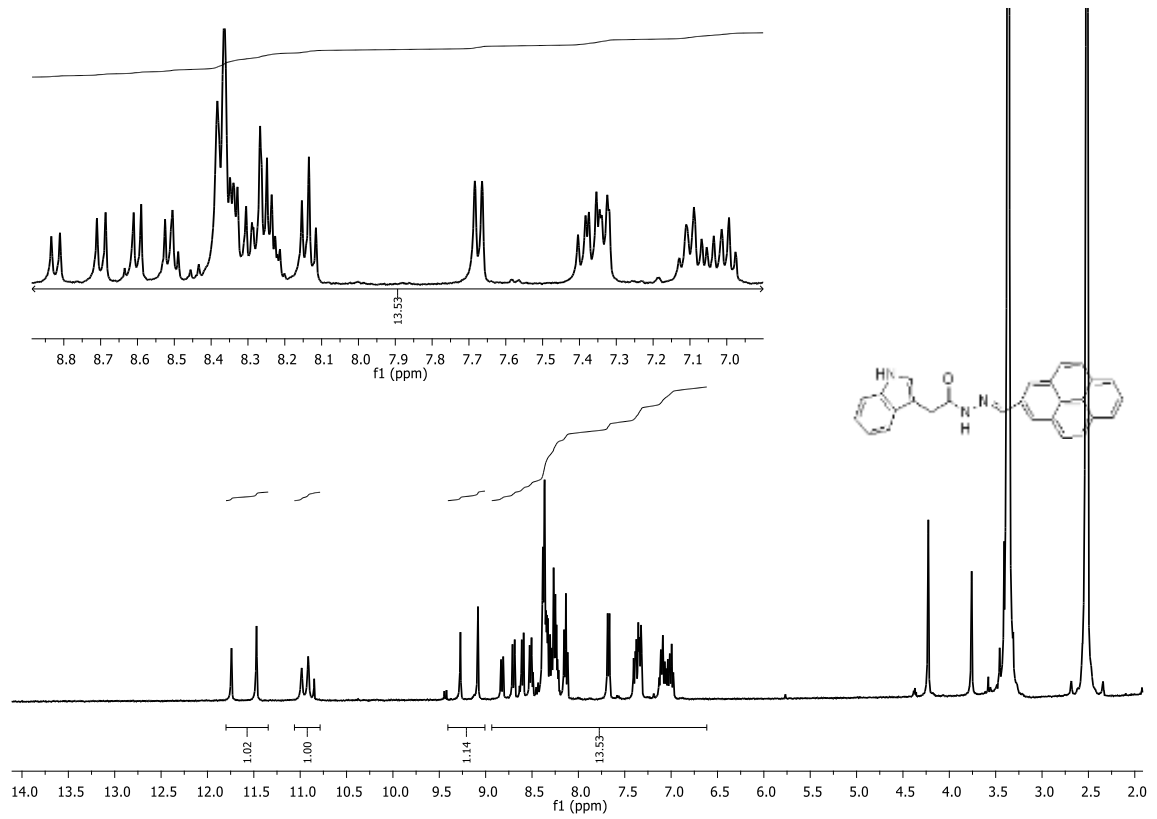
0,01 mol 2-(1*H*-indol-3-il)asetohidrazit (1.89 gr) ve 0.01 1-piren karboksialdehit (**2h**) (2.30 gr) 30 mL etanolde çözülür. Reaksiyon ortamı mutlak asetik asit ile asitlendirildikten sonra yaklaşık 8 saat geri soğutucu altında kaynatılır. Çözücü düşük basınç altında ortandan uzaklaştıktan sonra kalan katı süzülür, soğuk dietilelerle yıkanır. Elde edilen katı dioksan da kristallendirilir. Verim:%87, renk: sarı, e.n: 250-253 °C.



Şekil 4.22. 3h molekülünün FT-IR spektrumu

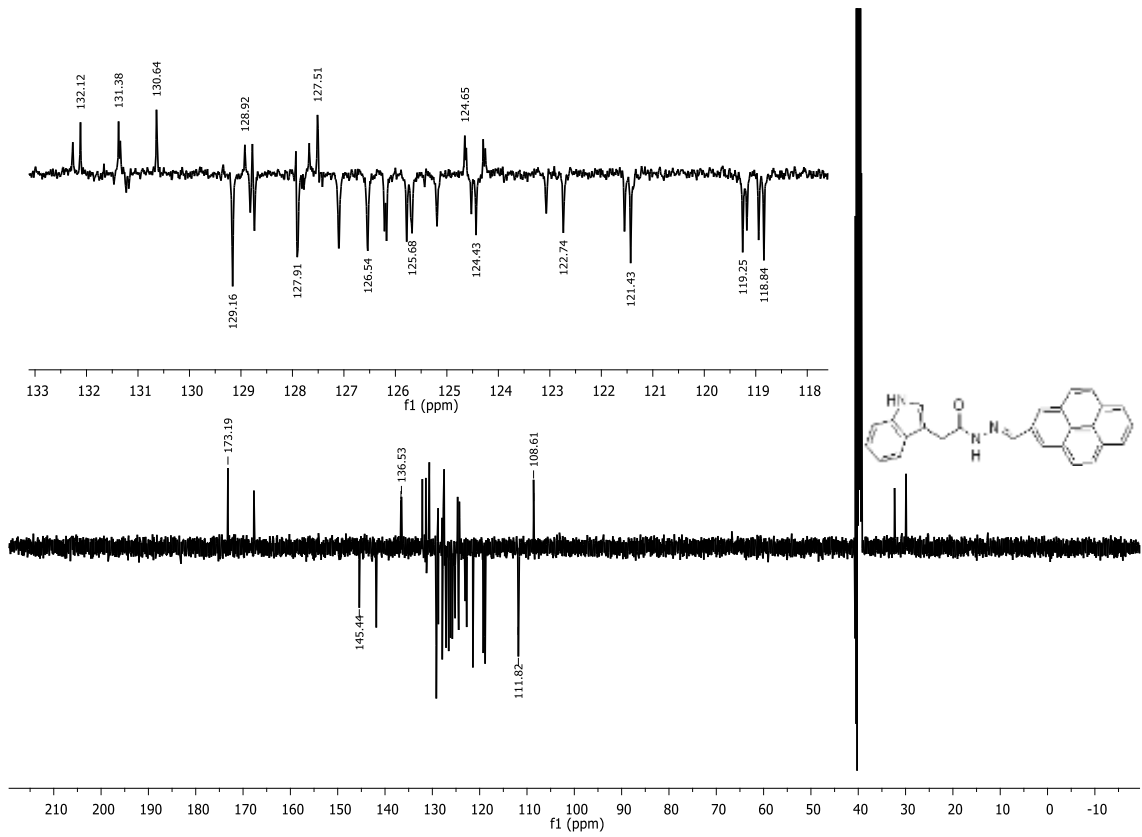
**FT-IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\nu$ ):** 3295 (indol N–H ger. tit.), 3249 (amit N–H asimetric ger. tit.), 3184 (amit N–H simetric ger. tit.), 3118–3043 (Ar. C–H ger. tit.), 2987–2909 (Al. C–H ger. tit.), 1648 (C=O ger. tit. amit 1. band), 1597 (C=N ger. tit.).





Şekil 4.23 3h molekülünün <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

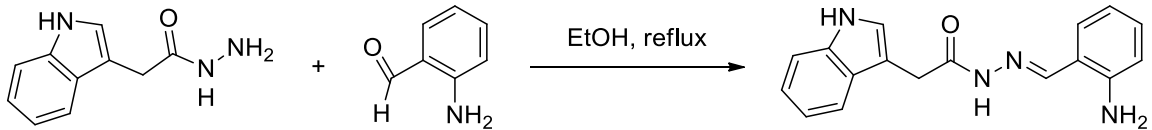
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)** δ: 11.73,11.46 (s, indol-NH, 1H), 10.98,10.92 (s, amit-NH, 1H), 9.26,9.07 (s,N =CH, 1H),8.82-7.00 (m, Ar-CH, 14H), 4.22,3.76 (s, -CH<sub>2</sub>, 2H).



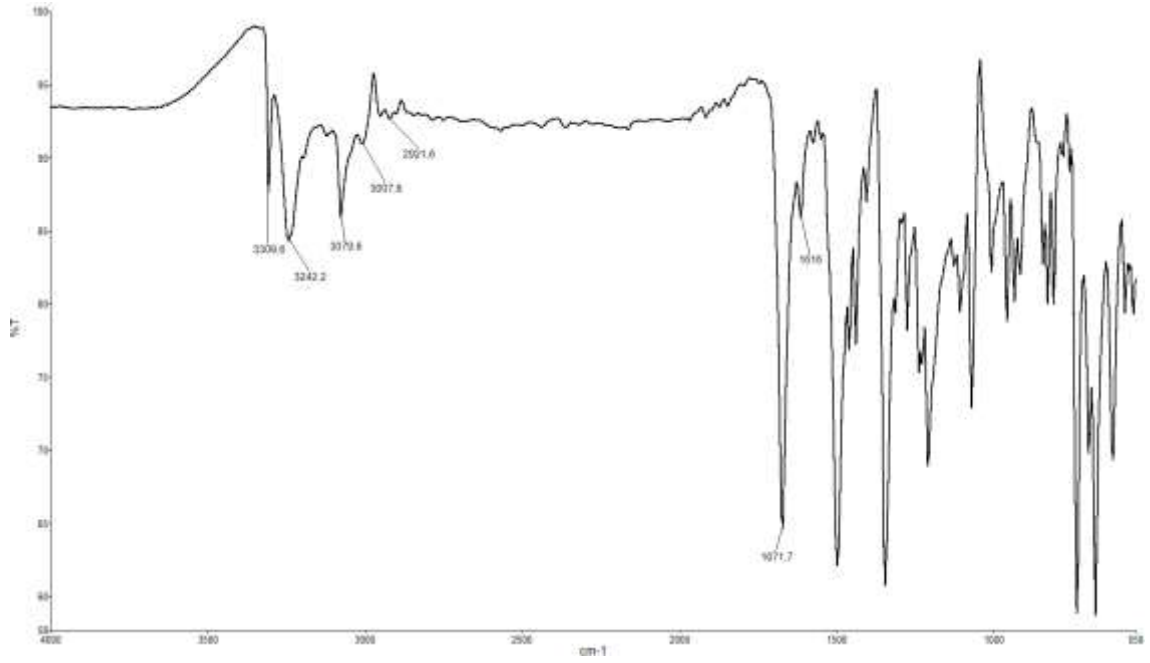
Şekil 4.24. 3h molekülünün <sup>13</sup>C-APT NMR spektrumu

**<sup>13</sup>C-APT NMR (100MHz, DMSO)** δ 173.19, 145.44, 136.53, 132.12, 131.38, 130.64, 129.16, 128.92, 127.91, 126.54, 124.62, 125.68, 124.65, 124.43, 122.74, 121.43, 119.25, 118.84, 111.82, 108.61, 29.63.

#### 4.1.10. N'-(2-aminobenziliden)-2-(1H-indol-3-il)asetohidrazit sentezi (3i)

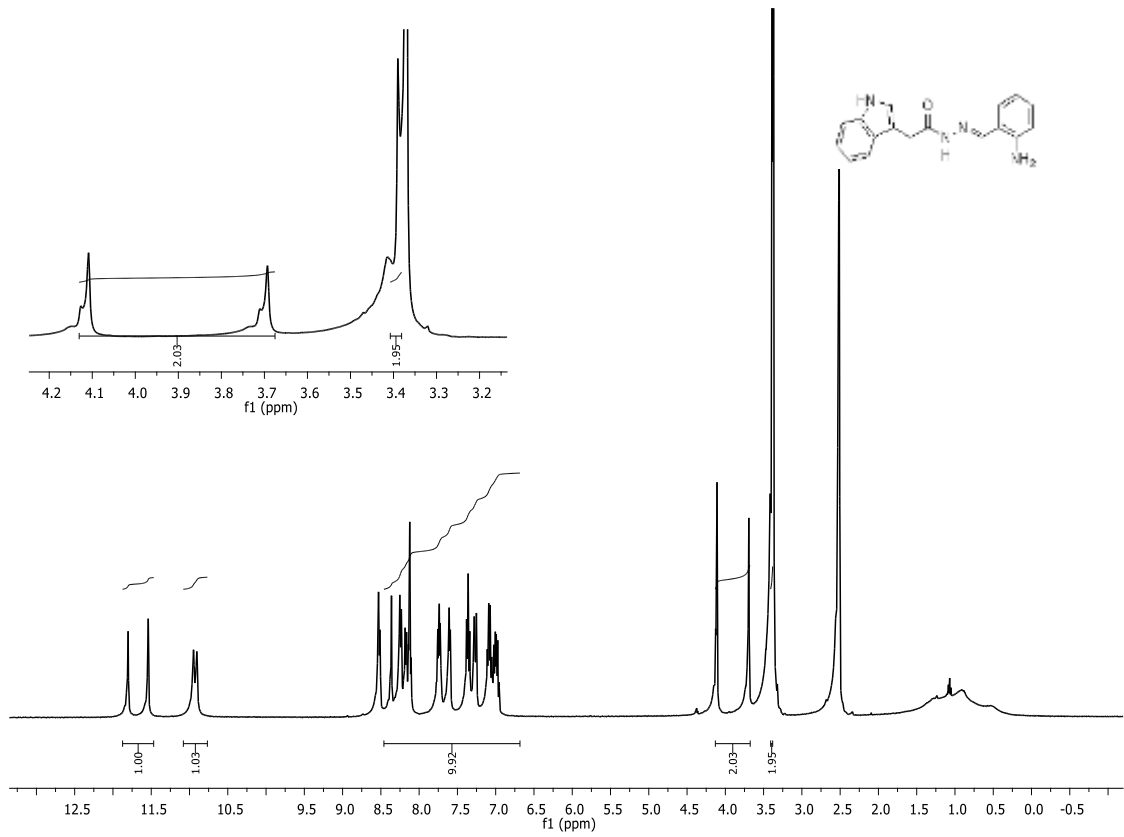


0,01 mol 2-(1H indol-3-il) asetohidrazit (1.89 gr) ve 0.01 3-amino benzaldehit (**2i**) (1.51 gr) 30 mL etanolde çözülür. Reaksiyon ortamı mutlak asetik asit ile asitlendirildikten sonra yaklaşık 8 saat geri soğutucu altında kaynatılır. Çözücü düşük basınç altında ortandan uzaklaştıktan sonra elde edilen katı süzülür, soğuk dietileter ile yıkanır. Etanol-dioksan (1:3) karışımında kristallendirilir. Verim: %81, renk: turuncu, e.n: 209-211 °C.



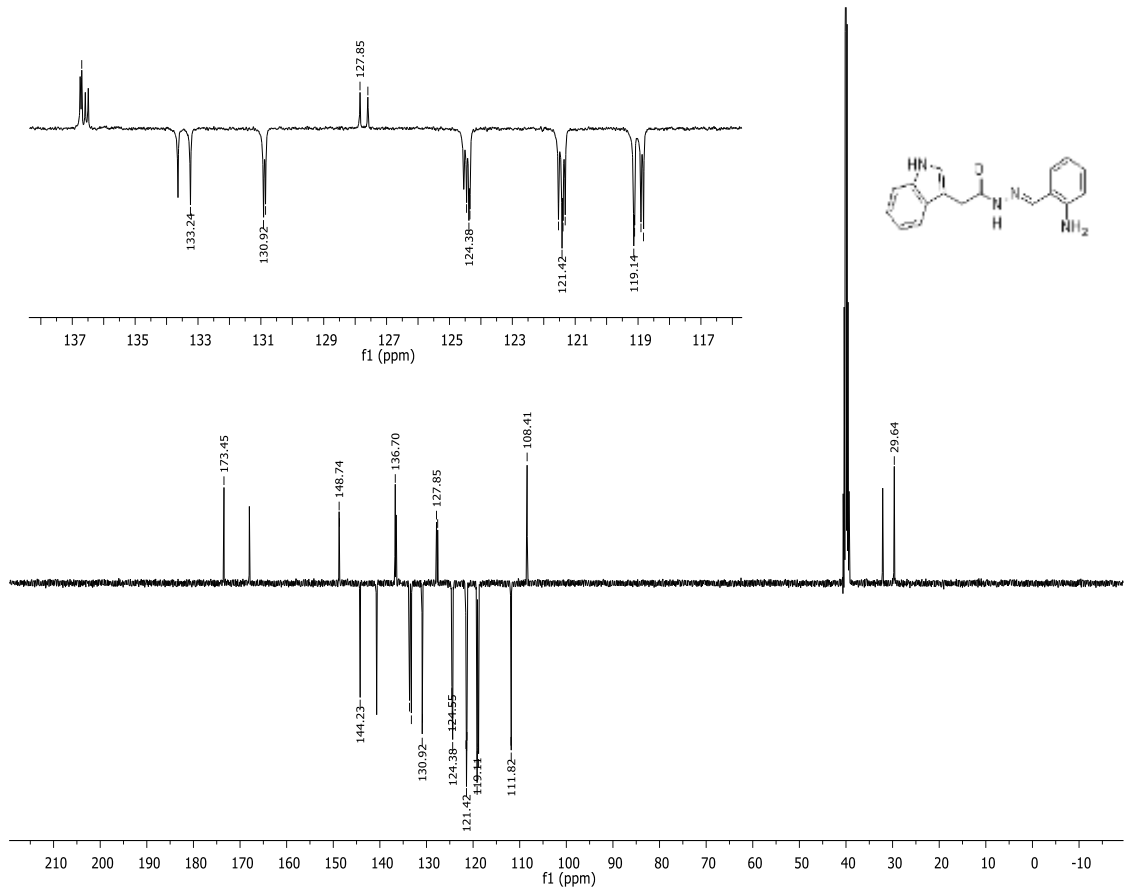
Şekil 4.25. 3i molekülünün FT-IR spektrumu

**FT-IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\nu$ ):** 3305 (indol N–H ger. tit.), 3249-31848 ( $\text{NH}_2$  ve amit N–H ger. tit.), 3108-3007 (Ar. C-H ger. tit.), 2950–2895 (Al. C-H ger. tit.), 1672 (C=O ger. tit. amit 1. band), 1615 (C=N ger. tit.).



Şekil 4.26. 3i molekülünün <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

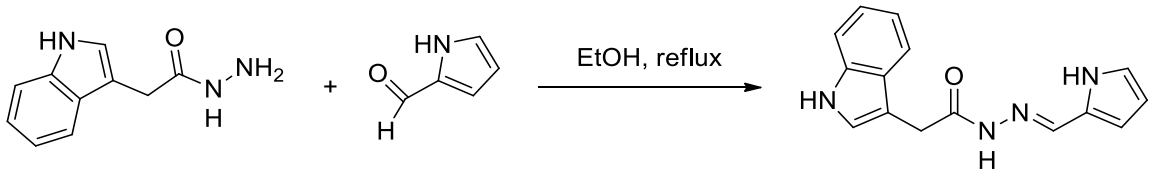
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)** δ: 11.80,11.54 (s, indol-NH, 1H), 10.95,10.92 (s, amit-NH, 1H), 8.53-6.98 (m, N =CH ve Ar-CH, 10H), 4.12,3.70 (s, -CH<sub>2</sub>, 2H), 3.42 (y, -NH<sub>2</sub>, 2H).



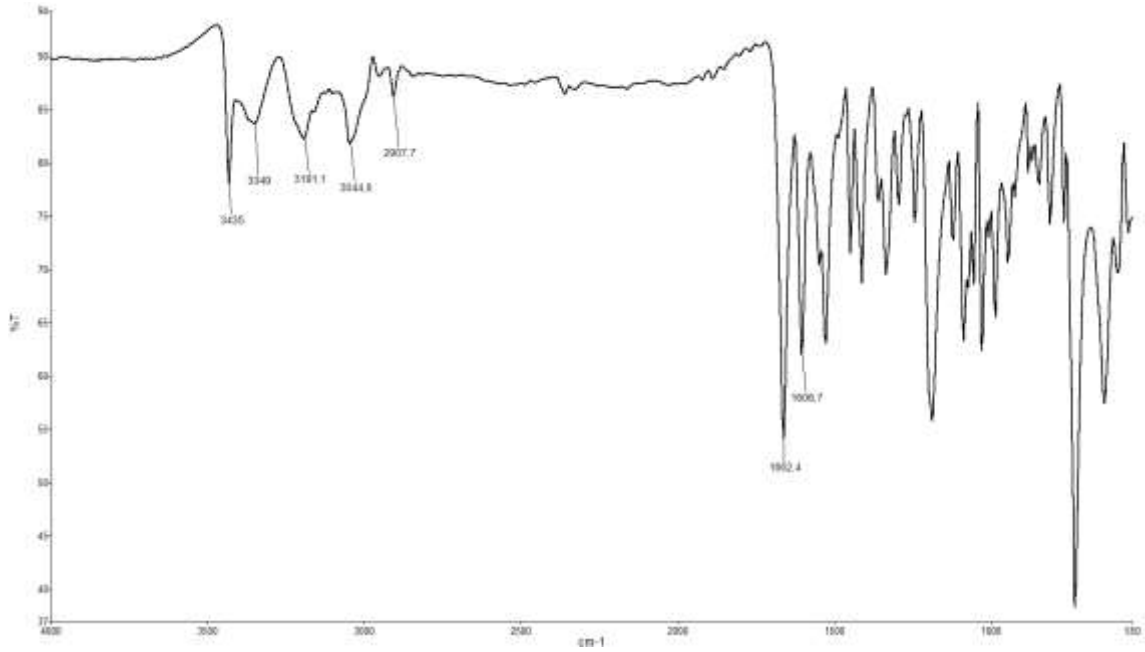
Şekil 4.27. 3i molekülünün  $^{13}\text{C}$ -APT NMR spektrumu

$^{13}\text{C}$ -APT NMR (100MHz, DMSO)  $\delta$  173.45, 148.74, 144.23, 136.70, 133.64, 130.92, 127.85, 124.62, 124.38, 121.50, 121.42, 119.14, 118.91, 111.82, 108.41, 29.64.

#### 4.1.11. N'-((1H-pirol-2-il)metilen)-2-(1H-indol-3-il)asetohidrazit sentezi (3j)

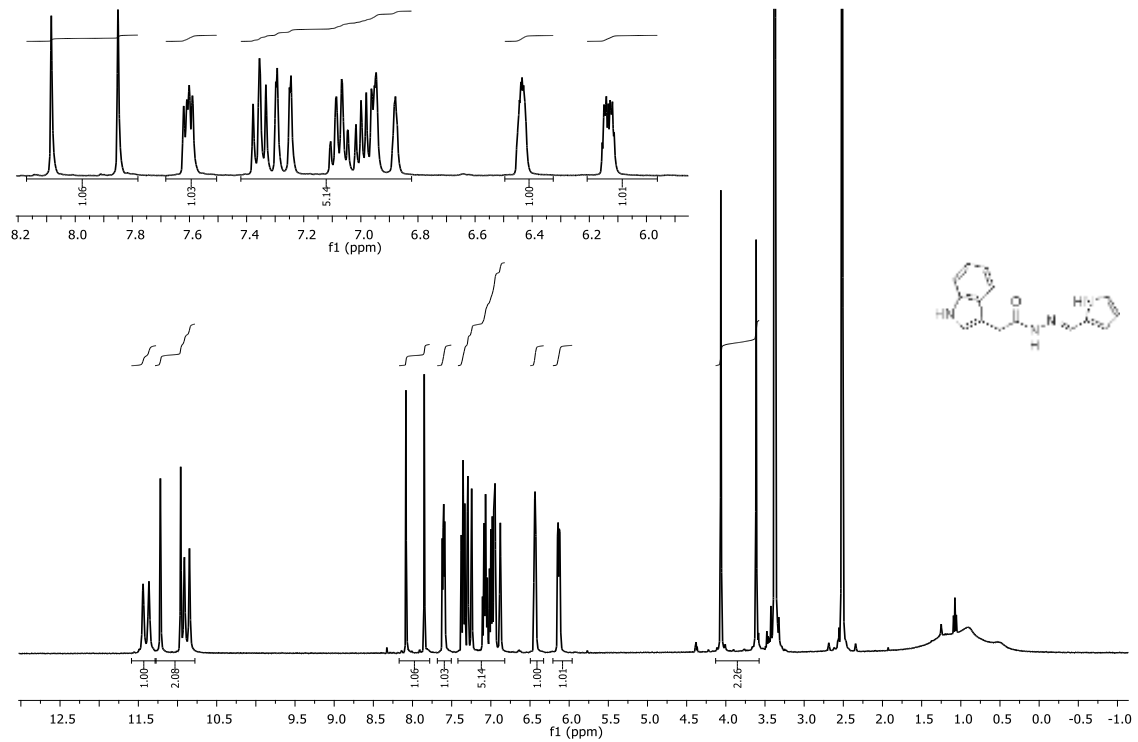


0,01 mol 2-(1H indol-3-il) asetohidrazit (1.89 gr) ve 0.01 pirol-2-karboksialdehit (**2j**) (1.00 gr) 30 mL etanolde çözülür. Reaksiyon ortamı mutlak asetik asit ile asitlendirildikten sonra yaklaşık 8 saat geri soğutucu altında kaynatılır. Çözücü düşük basınç altında ortamdan uzaklaştıktan sonra kalan katı süzülür, soğuk dietileter ile yıkanır. Elde edilen katı dioksan da kristallendirilir. Verim:%82, renk: koyukahve, e.n: 204-206 °C.



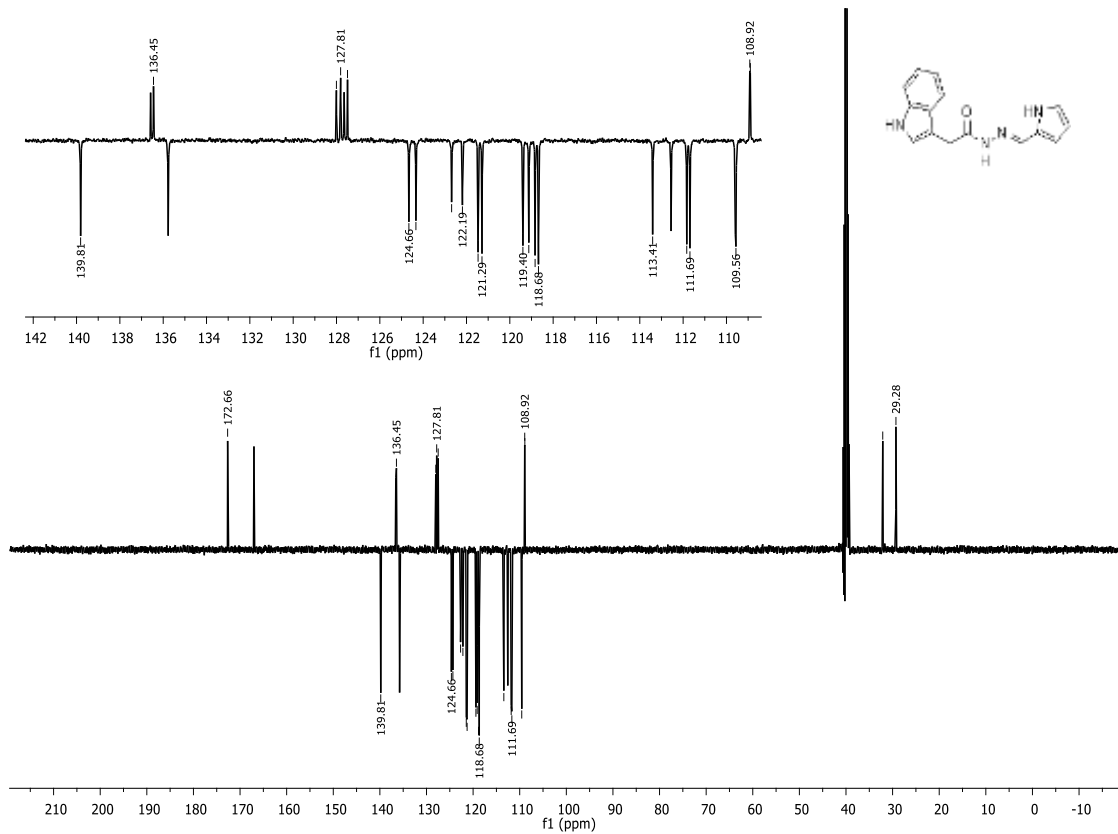
Şekil 4.28. 3j molekülünün FT-IR spektrumu

**FT-IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\nu$ ):** 3430 (indol N-H ger. tit.), 3349 (pirol N-H ger. tit.), 3193 (amit N-H ger. tit.), 3088-3017 (Ar. C-H ger. tit.), 2969-2905 (Al. C-H ger. tit.), 1664 (C=O ger. tit. amit 1. band), 1602 (C=N ger. tit.).



Şekil 4.29. 3j molekülünün <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

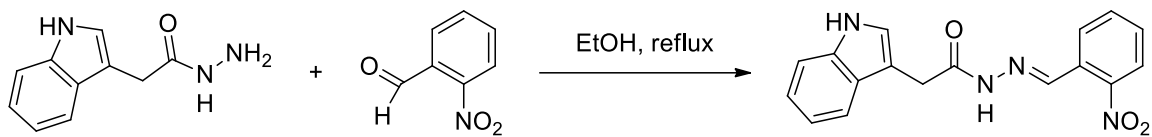
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)** δ: 11.44, 11.36 (s, pirol-NH, 1H), 11.21, 10.96 (s, indol-NH, 1H), 10.90, 10.84 (s, amit-NH, 1H), 8.10, 7.85 (s, N=CH, 1H), 7.61-6.14 (m, Ar-CH, 8H), 4.07, 3.62 (s, -CH<sub>2</sub>, 2H).



Şekil 4.30. 3j molekülünün  $^{13}\text{C}$ -APT NMR spektrumu

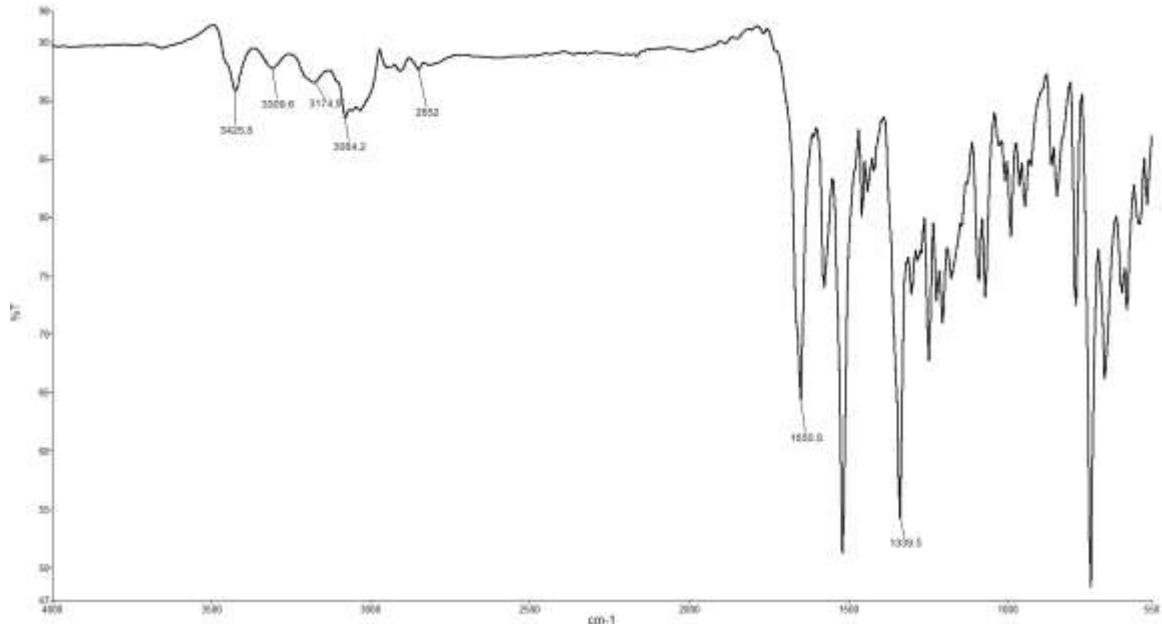
$^{13}\text{C}$ -APT NMR (100 MHz, DMSO)  $\delta$  172.66, 139.81, 136.45, 127.81, 127.60, 124.66, 122.19, 121.29, 119.40, 118.68, 113.41, 111.69, 109.56, 108.92, 29.28.

#### 4.1.12. 2-(1-indol-3-il)-N'-(2-nitrobenziliden)asetohidrazit sentezi (3k)



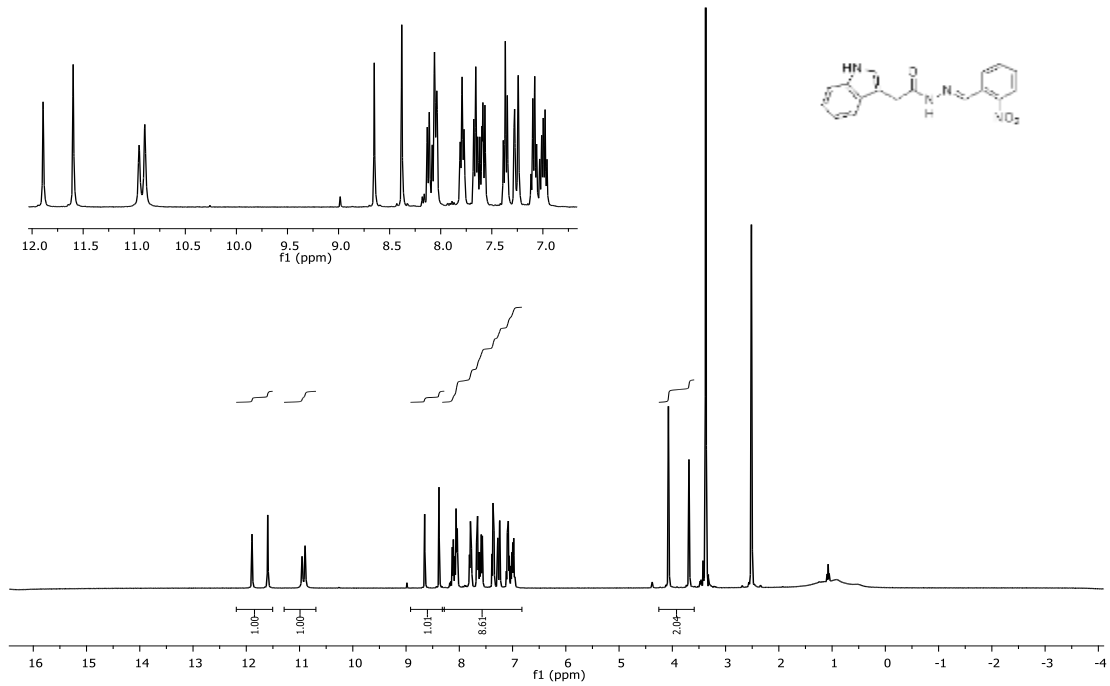
0,01 mol 2-(1*H* indol-3-il) asetohidrazit (1.89 gr) ve 0.01 2-nitrobenzaldehit (**2k**) (1.51 gr) 30 mL etanolde çözülür. Reaksiyon ortamı glasiyel asetik asit ile asitlendirildikten sonra yaklaşık 8 saat geri soğutucu altında kaynatılır. Çözücü düşük basınç altında ortamdan uzaklaştıktan sonra elde edilen katı süzülür, soğuk dietileter ile yıkanır. Etanol-dioksan (1:3) karışımında kristallendirilir. Verim:%82, renk: sarı, e.n: 174-176 °C.





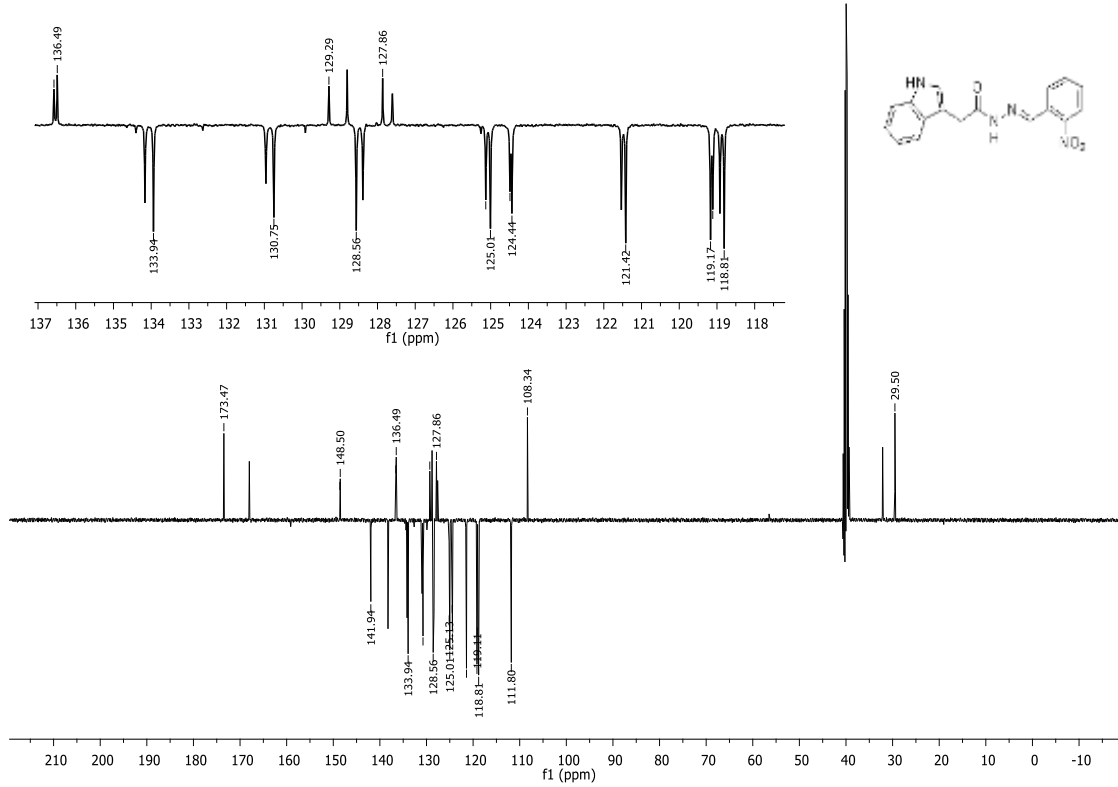
Şekil 4.31. 3k molekülünün FT-IR spektrumu

**FT-IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\nu$ ):** 3425 (indol N–H ger. tit.), 3312 (amit N–H asimetric ger. tit.), 3182 (amit N–H simetric ger. tit.), 3081–3010 (Ar. C–H ger. tit.), 2970–2852 (Al. C–H ger. tit.), 1661 (C=O ger. tit. amit 1. band), 1340 (C–NO<sub>2</sub> ger. tit.).



Şekil 4.32. 3k molekülünün <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)** δ: 11.91,11.61 (s, indol-NH, 1H), 10.94,10.89 (s, amit-NH, 1H), 8.65,8.36 (s, N=CH, 1H), 8.13-6.98 (m, N=CH ve Ar-CH, 8H), 4.09,3.68 (s, -CH<sub>2</sub>, 2H).



Şekil 4.33. 3k molekülünün <sup>13</sup>C-APT NMR spektrumu

**<sup>13</sup>C-APT NMR (100 MHz, DMSO)** δ 173.47, 148.50, 141.94, 136.58, 136.49, 133.94, 130.75, 129.29, 128.56, 127.86, 125.13, 125.01, 124.49, 124.44, 121.42, 119.17, 118.81, 111.80, 108.34, 29.50.

## 4.2. Sentezlenen Bileşiklerin Biyolojik Aktivite Bulguları

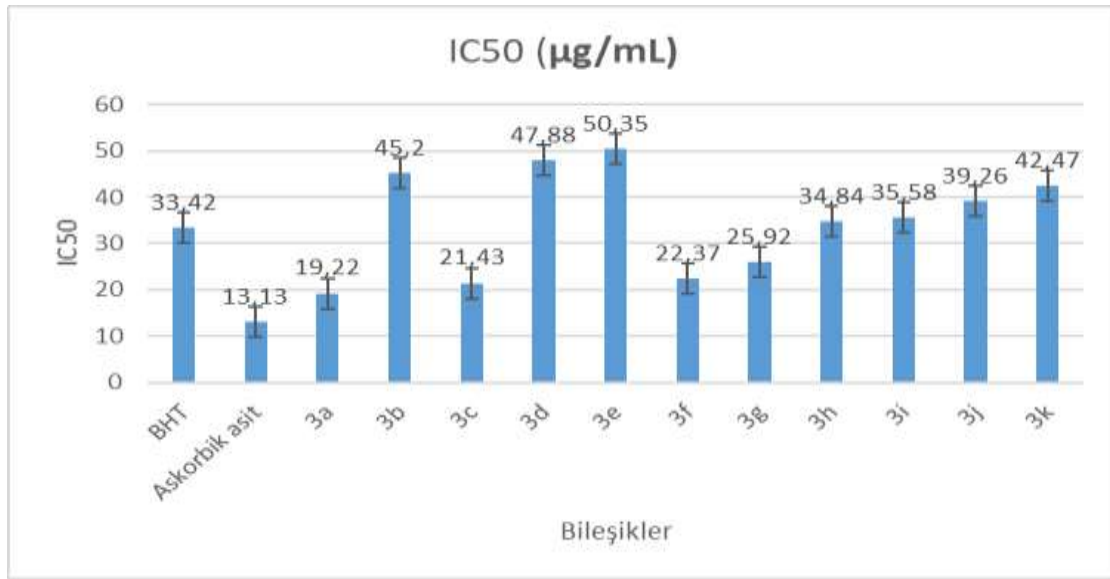
### 4.2.1. İn Vitro Antioksidan Aktivitelerin Değerlendirilmesi

DPPH Süpürme Aktivitesi bakımından sentezlenen tüm bileşikler değerlendirilmiştir. Bir molekülün antioksidan aktivitesini belirlemek amacıyla, DPPH radikalini süpürme aktivitesinin değerlendirilmesi ağırlıklı olarak kullanılan önemli bir yöntemdir (Orhan ve ark. 2011). Öncelikle sentezlenen bütün moleküllerin stok çözeltileri hazırlandı ve ardışık

seyreltme yöntemiyle farklı derişimlerdeki örneklerin DPPH çözeltilisinin rengini açma kapasiteleri, % inhibisyon olarak belirlendi. Bileşiklerin % inhibisyon grafikleri Şekil 4.34 ve elde edilen veriler Tablo 4.1 de gösterildi. Pozitif kontrol olarak BHT ve askorbik asit kullanıldı. Moleküllerin DPPH radikalini temizleme özelliklerinin birbirinden ve standartlardan çok farklı ve değişken bulundu. 3b, 3d, 3e bileşikleri en düşük DPPH temizleme aktivitesi gösterirken, diğer bileşikler çok daha yüksek aktivite göstermiştir. Hatta bileşiklerin standart olarak kullanılan BHT ve Askorbik asit çözeltilerine oldukça yakın aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. DPPH yöntemine göre en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan askorbik asit standardı olmuştur. Moleküllerin DPPH radikalini temizleme aktivitesi sırasıyla şu şekilde belirlenmiştir: Askorbik Asit>3a>3c>3f>3g>BHT>3h>3i>3j>3k>3b>3d>3e (Tablo 4.1 ve şekil 4. 34).

Tablo 4.1. Test bileşikleri ve standart antioksidanların DPPH süpürme aktiviteleri

Bileşikler	IC50 (Mikrogram/mL) $\mu$
3a	19.22 $\pm$ 6.88
3b	45.20 $\pm$ 5.98
3c	21.43 $\pm$ 6.90
3d	47.88 $\pm$ 7.88
3e	50.35 $\pm$ 9.36
3f	22.37 $\pm$ 6.11
3g	25.92 $\pm$ 8.44
3h	34.84 $\pm$ 9.58
3i	35.58 $\pm$ 8.69
3j	39.26 $\pm$ 9.28
3k	42.47 $\pm$ 8.43
Askorbik asit	13.13 $\pm$ 0.91
BHT	33.42 $\pm$ 7.98



Şekil 4.34. Yeni sentezlenen bileşiklerin (3a-k) DPPH• radikalini süpürme kapasiteleri

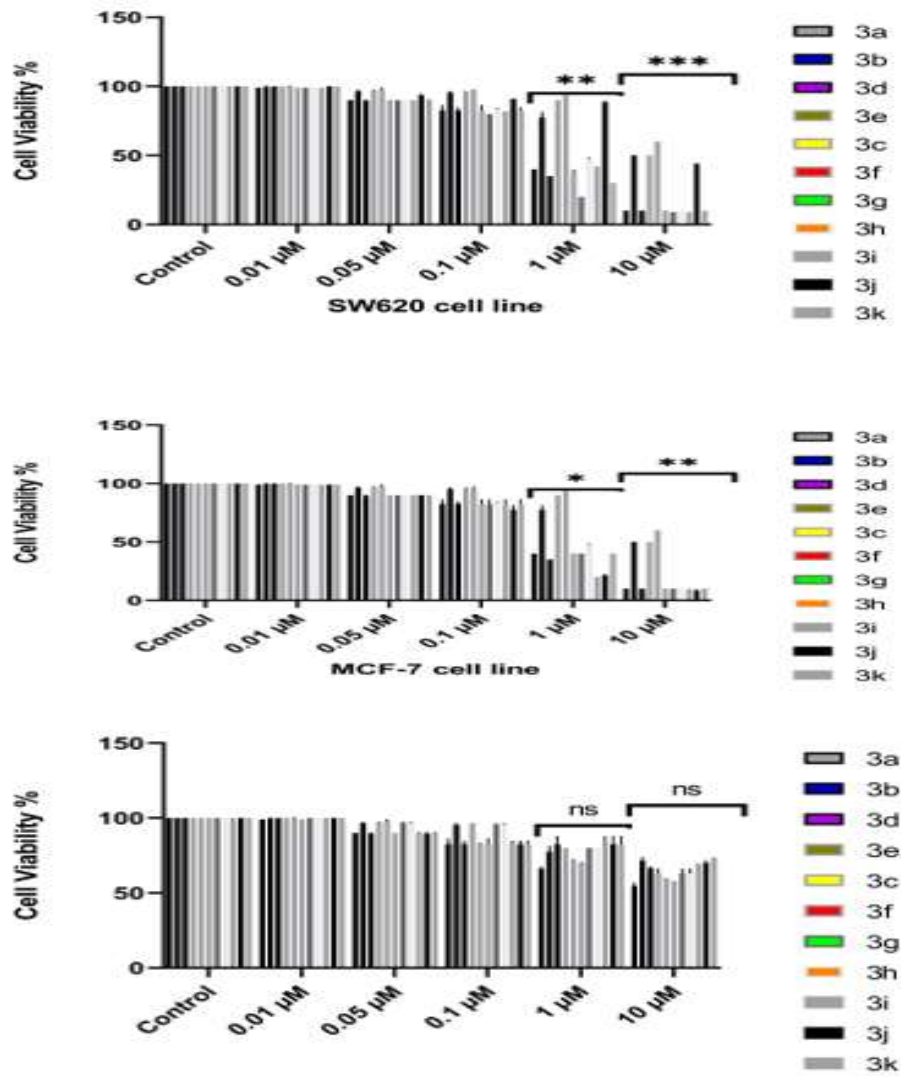
#### 4.2.2. *In Vitro* Antikanserojen Özelliklerin Değerlendirilmesi

MCF-7, SW620 ve L929 hücrelerinde, test edilen bileşiklerin (3a-k) sitotoksitesi, MTT yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Hemen hemen tüm bileşikler 24 saat süresince SW620 ve MCF-7 hücrelerinde yüksek derecede sitotoksik aktivite göstermiştir. (Tablo 4.2, Şekil 4.35). Tüm bileşiklerin IC50 değerleri 10 µM değerinin oldukça aşağısındadır.

Tablo 4.2. Yeni sentezlenen bileşiklerin in vitro sitotoksik aktivitesini gösteren IC50 değerleri

	IC 50 DEĞERLERİ (µM)		
	SW620	MCF-7	L929
3a	0,6	0,58	20,9
3c	4,8	5,3	33,6
3b	-	2,1	45,5
3d	0,57	1,19	47,2
3e	6,52	7,97	25,9
3f	0,6	0,63	28,4
3g	0,2	0,57	33,1
3h	0,75	-	30,6
3i	0,38	0,37	41,8
3j	3,42	0,40	44,7
3k	0,56	0,62	51,9

Buna rağmen bileşiklerin, L929 fibroblast hücre hattında ise sitotoksik aktivitesinin oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.2). Buna ek olarak, elde edilen 11 adet bileşiğin normal fibroblast hücrelerinden oluşan L929 hücre hattında sadece yüksek derişimlerde (>20  $\mu$ M) sitotoksik etkili olduğu gösterilmiştir. İnkübasyon süresi arttığında hücrelerin etken madde ile daha çok etkileşimde buldukları düşünülürse, bileşiklerin anti-kanser aktivitesinin artması beklenmektedir (Tablo 4.2 Şekil 4.35).

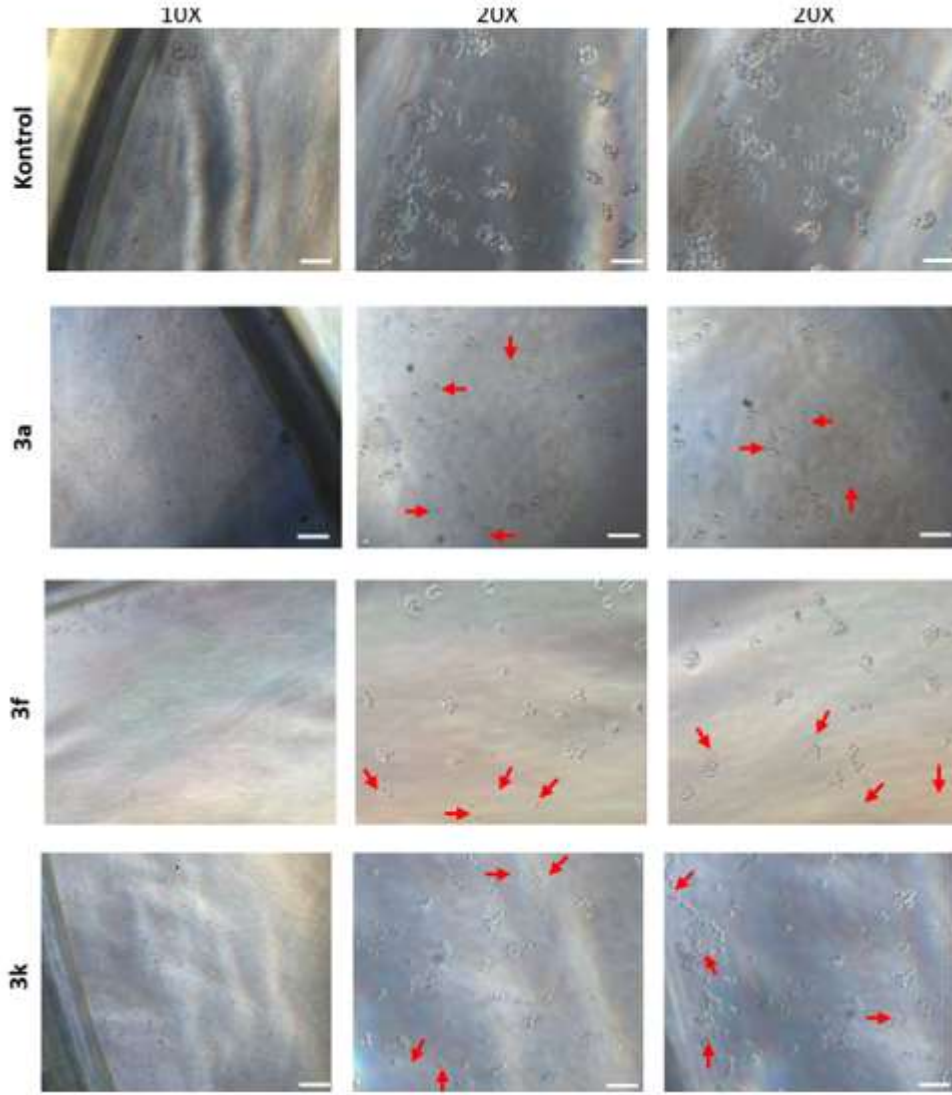


Şekil 4.35. Yeni sentezlenen bileşiklerin hücre hatlarındaki % Hücre canlılık sonuçları.

Aktivitelere 24 saatlik inkübasyon sonucunda değerlendirilmiştir (\*\*\*) $p < 0,001$ ; (\*\*) $p < 0,01$ ; (\*) $p < 0,05$ ; ns: non-significant)

Sonuç olarak; bileşiklerin SW620 ve MCF-7 hücre hatları üzerinde iyi düzeyde sitotoksik aktivitelerinin bulunduğu, en yüksek sitotoksik aktivitenin ise SW620 hücresinde olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.2 ve Şekil 4.35.).

IC50 dozlarında test bileşikleri ile muamele edilmiş MCF-7 ve SW620 hücre hatlarının morfolojik görünümü, Zeiss Axio inverted mikroskop (10x) ile görüntülenmiştir ve hücrelerdeki değişimlerin görüntülenmesi sağlanmıştır (Şekil 4.35). Yeni sentezlenen test bileşiklerinin serisi (3a-k) moleküllerin SW620 hücrelerine 24 saat uygulandıktan sonra hücrelerin morfolojisi, apoptotik vezikül oluşumu açısından floresans mikroskobu (parlak alanda) ile incelenmiştir. Moleküller IC50 değerinde hücrelere uygulanmıştır. Apoptozda hücre ölümü sırasında hücre morfolojisinde bazı karakteristik değişiklikler gözlenmektedir (Hessler et al., 2005). Şekilde gösterildiği gibi, kontrol grubundaki birçok hücre, şeklini ve membran bütünlüğünü korumuştur. Bunun aksine, moleküller uygulandıktan sonra hücre zarı bütünlüğünün bozulması ve hücreSEL büzülme gibi morfolojik değişiklikler gözlenmiştir. Bazı hücrelerde küçük küçük vezikül oluştuğu görülmüştür. Ölü hücrelere benzer karakteristik özellikler sergileyen hücreler şekil üzerinde kırmızı ok ile işaretlenmiştir. Şekilde gözlenen morfolojik değişiklikler apoptoz ile uyumlu bulunmuştur. Kısacası, moleküllerin membran yapısında bozulmaya neden olduğu, dolayısıyla hücre içi moleküllerin de ayrışmasına neden olduğu düşünülmektedir. Morfolojik değişiklikler apoptotik hücre ölümünü gösterebilir. Test bileşiklerinden etkilenen hücreler normal yapışık hücre şeklini kaybeder ve birkaç saat içinde birbirinden ayrılmış yuvarlak hücrelere dönüşür. Bu tür ayrı hücreler, plaka yüzeyinden ayrılır. Bu gruplarda gözlenen hücrelerin ayrılması, şekil değiştirmeleri ve yuvarlak, kırışık bağımsız hücrelere dönüşmeleri apoptoz görünümü olarak kabul edilmiştir. Sağlıklı fibroblast L929 hücrelerinde test bileşiklerinin 24 saat süresince uygulanması sonucunda elde edilen IC50 değerlerinin >20 µM olduğu görülmüştür (Tablo 4.2). Yine L929 hücrelerinin morfolojik yapıları ve büyümesi Zeiss Axio ters mikroskobu (10x) ile görüntülenmiş olup, test bileşiklerinin olumsuz bir etkisi belirlenmemiştir (Şekil 4.35).



Şekil 4.36. Test bileşiklerinin SW620 hücrelerinde uygulama sonrası hücre morfolojileri

(Ölü hücreler kırmızı ok ile işaretlenmiştir. 10X görüntüler için ölçek çubuğu: 100  $\mu\text{m}$  ve 20X görüntüler için ölçek çubuğu: 200  $\mu\text{m}$ 'dir.)

Yeni sentezlenen bileşiklerin uygulandığı kanser hücre hatları olan MCF-7 ve SW620 hücre hatları ile sağlıklı L929 hücre hattından gelen IC50 değerlerinin birbirine orantılanması sonucu bitki ekstraktlarının en iyi hangi hücreler üzerinde etkili olduğuna dair karşılaştırma sonuçları elde edilmiştir (Tablo 4.3). Seçicilik indeksi olarak tanımlanan bu karşılaştırma da bileşiklerin seçicilik indeksi olarak 165,2 değeri ile 3g bileşiğinin SW620 hücre hattında en iyi antikanserojen aktivite gösterdiği, yine 3i bileşiğinin ise 112,97

seçicilik indeksi değeriyle MCF-7 hücre hattında en yüksek antikanserojen aktiviteyi gösterdiği görülmektedir. Yine bitki ekstralarının Seçicilik indeksi değerlerinin SW620 hücrelerinde daha yüksek olduğu da Tablo 4.3' te görülmektedir.

Tablo 4.3. Test bileşiklerinin L929, MCF-7 ve SW620 hücre hatlarındaki IC50 değerlerinin karşılaştırılmasından elde edilen Seçicilik İndeksi (Selectivity Index)

<b>Seçicilik İndeksi (Selectivity Index)</b>		
<b>Bileşikler</b>	<b>IC50 (L929/SW620)</b>	<b>IC50 (L929/MCF-7)</b>
3a	34,83	36,03
3b	56,87	21,67
3c	7	6,34
3d	82,81	39,66
3e	3,97	3,25
3f	47,33	45,08
3g	165,2	58,07
3h	40,8	43,71
3i	110	112,97
3j	13,07	111,75
3k	92,68	83,71

#### 4.2.3. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Sentezlenen 11 farklı (3a-k) molekülü, 6 farklı patojene karşı antimikrobiyal özellikleri açısından test edilmiş, bu kimyasalların kullanılan patojenlere karşı önemli bir antimikrobiyal etkisi olmadığı belirlenmiştir (Tablo 3.5). MİK değerleri  $\leq 0.1$  mg/mL olduğunda madde önemli etkili; MİK değerleri  $0,1 < \text{MİK} \leq 0,625$  mg/mL olduğunda orta etkili, MİK değeri  $> 0,625$  mg/mL olanlar ise düşük etkili olarak sınıflandırılır (Kuete, 2010; Awouafack vd. 2013). Mevcut bulgular neticesinde; 3a-k bileşiklerinin genel olarak bazı mikroorganizmalar üzerinde orta düzeyde antimikrobiyal aktivite gösterdiği ortaya çıkmıştır.



Tablo 4.4. Yeni sentezlenen bileşiklerin antimikrobiyal etkisi

<b>Mikroorganizmalar</b>					
<b>Bileşikler</b>	<b>E.coli</b>	<b>S. aureus</b>	<b>P. auroginosa</b>	<b>B.cereus</b>	<b>C. albicans</b>
3a	0,625	>5	>5	>5	>5
3b	>5	0,625	0,625	>5	>5
3c	>5	>5	0,625	0,625	0,625
3d	>5	>5	>5	>5	>5
3e	>5	>5	>5	>5	>5
3f	>5	>5	>5	>5	>5
3g	>5	0,625	0,625	0,625	0,625
3h	>5	>5	0,625	>5	>5
3i	0,625	0,625	>5	0,625	0,625
3j	0,625	>5	0,625	>5	0,625
3k	0,625	>5	0,625	0,625	>5

#### **4.2.4. L929 Hücre Kültüründe Hücrelerin Oksidatif stresinin Değerlendirilmesi Analiz Sonuçları**

##### **4.2.4.1. Lipid peroksidasyonunun göstergesi Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

Yeni sentezlenen 11 farklı türev bileşiklerinin (3a-k) konsantrasyonlarda (100mikromolar), L929 fibroblast hücre hatlarına eklenmesiyle beraber, genel olarak hücrelerdeki MDA değerlerinde kontrol grubuna göre istatistiksel farklılıklar edilmemiştir. Sadece 3b ve 3c molekülünde kontrol grubuna göre bir miktar fazla artış belirlenmiştir ( $P<0.05$ ). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; diğer moleküllerde hemen hemen tüm doz gruplarında benzer değerler elde edilmiştir (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. L929 hücre hatlarında 100 µM konsantrasyonda test bileşiği uygulandığında 24 saat sonrasında MDA seviyeleri

<b>L929 Hücre Hattı MDA seviyesi (nmol/gP)</b>	
<b>Bileşikler</b>	<b>Ortalama±SH</b>
Kontrol	3,25±0,5
3a	3,63±0,3
3b	4,01±0,9
3c	3,96±0,9
3d	3,50±0,7
3e	3,84±0,6
3f	3,45±0,5
3g	3,55±0,7
3h	3,49±0,6
3i	3,69±0,8
3j	3,85±0,9
3k	3,58±0,8

#### 4.2.4.2. Toplam Antioksidan Seviyenin Değerlendirilmesi

100µM konsantrasyonlarda test bileşikleri uygulanmış L929 hücre hatlarında toplam oksidan seviyeleri (TOS) kontrol grubu verileriyle kıyaslandığında, tüm deney gruplarında istatistiksel olarak anlamlı artışların ve azalmaların ( $P<0.05$ ) olduğu tespit edilmiştir (Daştan, 2017). Kontrol grubuyla karşılaştırılan, 3a, 3b, 3c, 3g ve 3h bileşiklerinin en yüksek TOS değerleri tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). Diğer bileşiklerin uygulandığı gruplarda ise kontrol grubuna göre TOS miktarlarında istatistiksel olarak anlamlı değişimler görülmemiştir (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Farklı konsantrasyonlarda test bileşikleri uygulanmış L929 hücre hatlarında TAS düzeyleri

<b>L929 Hücre Hattı TAS seviyesi (milimol/L)</b>	
<b>Bileşikler</b>	<b>Ortalama±SH</b>
<b>Kontrol</b>	<b>0,403±0,05</b>
3a	0,409±0,03
3b	0,404±0,09
3c	0,407±0,09
3d	0,415±0,05*
3e	0,413±0,04*
3f	0,418±0,10*
3g	0,385±0,07**
3h	0,394±0,16**
3i	0,419±0,08*
3j	0,411±0,04*
3k	0,412±0,06*

\* işaretiyle gösterilen gruplarda kontrol grubuna göre TAS seviyesinde artma görülmüştür ( $p<0,05$ ). \*\* işaretiyle gösterilen gruplarda kontrol grubuna göre TAS seviyesinde azalma görülmüştür ( $p<0,05$ ).

#### 4.2.4.3. Toplam Oksidan Seviyenin (TOS) Değerlendirilmesi

100 $\mu$ M konsantrasyonlarda test bileşikleri uygulanmış L929 hücre hatlarında toplam oksidan seviyeleri (TOS) kontrol grubu verileriyle kıyaslandığında, tüm deney gruplarında istatistiksel olarak anlamlı artışların ve azalmaların ( $P<0.05$ ) olduğu saptanmıştır (Daştan, 2017). Kontrol grubu ile karşılaştırılan, 3a, 3b, 3c, 3g ve 3h bileşiklerinde en yüksek TOS değerleri saptanmıştır ( $P<0.05$ ). Diğer bileşiklerinin uygulandığı gruplarda ise kontrol grubuna kıyasla TOS miktarlarında istatistiksel anlamlı değişimler görülmemektedir (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Farklı konsantrasyonlarda test bileşikleri uygulanmış L929 hücre hatlarında TOS düzeyleri

<b>L929 Hücre Hattı TOS seviyesi (<math>\mu\text{mol/L}</math>)</b>	
<b>Bileşikler</b>	<b>Ortalama<math>\pm</math>SH</b>
Kontrol	0,893 $\pm$ 0,19
3a	0,979 $\pm$ 0,23*
3b	0,945 $\pm$ 0,12*
3c	0,988 $\pm$ 0,19*
3d	0,880 $\pm$ 0,15
3e	0,890 $\pm$ 0,14
3f	0,889 $\pm$ 0,15
3g	0,995 $\pm$ 0,27*
3h	0,994 $\pm$ 0,16*
3i	0,719 $\pm$ 0,18**
3j	0,758 $\pm$ 0,14**
3k	0,789 $\pm$ 0,16**

\* işaretiyle gösterilen gruplarda kontrol grubuna göre TOS seviyesinde artma görülmüştür ( $p<0,05$ ). \*\* işaretiyle gösterilen gruplarda kontrol grubuna göre TOS seviyesinde istatistiksel önemli azalma görülmüştür ( $p<0,05$ ).

#### **4.2.4.4. L929 Hücrelerinde Test Bileşikleri Uygulanmasıyla Oksidatif Stres İndeksindeki Değişmeler**

Yapılan deneysel çalışmaya göre, 100 $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarda test bileşikleri (3a-k) uygulanan L929 hücre hatlarında, kontrol grubuyla kıyaslandığında OSİ değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı ( $P<0,05$ ) artmalar ve azalmalar belirlenmiştir (Daştan, 2017). Yalnızca 3c, 3g ve 3h bileşiklerinin kontrol grubuna göre oksidatif stres indeksinin istatistiksel anlamlı derecede arttığı belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). Yine 3i, 3j ve 3k bileşiklerinin uygulandığı L929 hücre hattında toplam oksidatif stres indeksinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Diğer bileşiklerin uygulandığı hücre hatlarında ise oksidatif stres indeksinin kontrol grubuyla anlamlı bir farklılık göstermediği tespit edilmiştir (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Test bileşikleri uygulanmış L929 hücre hatlarında OSI düzeyleri

<b>L929 Hücre Hattı OSI seviyesi</b>	
<b>Bileşikler</b>	<b>Ortalama±SH</b>
Kontrol	0,22±0,19
3a	0,24±0,23
3b	0,23±0,12
3c	0,25±0,19*
3d	0,21±0,15
3e	0,22±0,14
3f	0,21±0,15
3g	0,26±0,27*
3h	0,25±0,16*
3i	0,17±0,18**
3j	0,18±0,14**
3k	0,19±0,16**

\* işaretiyle gösterilen gruplarda kontrol grubuna göre TAS seviyesinde artma görülmüştür ( $p<0,05$ ). \*\* işaretiyle gösterilen gruplarda kontrol grubuna göre TAS seviyesinde azalma görülmüştür ( $p<0,05$ ).

#### 4.2.4.5. Toplam Tiyol Düzeylerinin Değerlendirilmesi

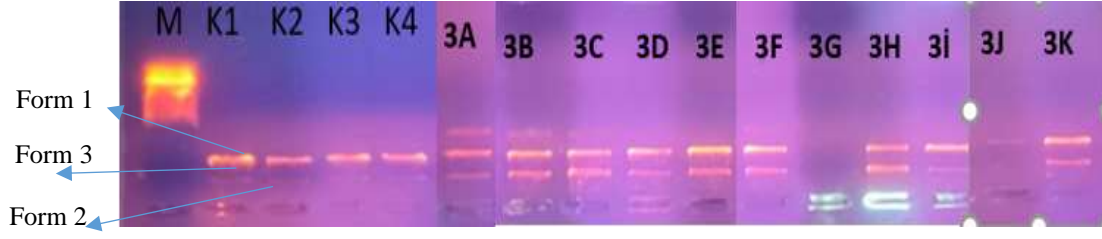
Elde edilen verilere bakıldığında, 100  $\mu$ M derişimlerde test bileşikleri uygulanan L929 fibroblast hücre hatlarında, kontrol grubu tiyol seviyeleri ile kıyaslandığında, 3a, 3b, 3d, 3e, 3g bileşiklerinin uygulandığı gruplarda istatistiksel olarak anlamlı değişikliklerin ( $P<0,05$ ) olduğu belirlenmiştir (Daştan, 2017). Diğer bileşiklerde ise kontrol grubu bulgularına göre herhangi bir farklılık bulunmamıştır. (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Test bileşikleri uygulanmış L929 hücre hatlarında toplam tiyol düzeyleri

<b>L929 Hücre Hattı Total Tiyol Seviyesi (<math>\mu\text{mol/L}</math>)</b>	
<b>Bileşikler</b>	<b>Ortalama<math>\pm</math>SH</b>
Kontrol	333,2 $\pm$ 0,05
3a	425,5 $\pm$ 11,3*
3b	414,8 $\pm$ 10,5*
3c	338,9 $\pm$ 7,4
3d	415,7 $\pm$ 12,5*
3e	428,9 $\pm$ 12,4*
3f	350,7 $\pm$ 10,1
3g	435,8 $\pm$ 11,7*
3h	357,1 $\pm$ 10,3
3i	359,8 $\pm$ 9,8
3j	351,4 $\pm$ 10,04
3k	355,8 $\pm$ 9,06

#### 4.2.5. DNA Hasarını Önleyici Aktivite Sonuçları

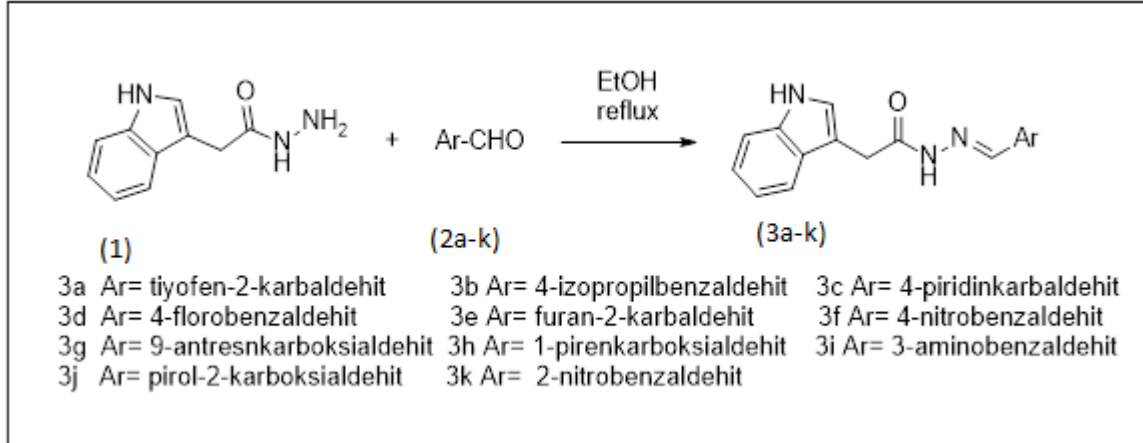
Bu tez çalışmamızda; pBR322 plazmit DNA'sına H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve UV maruziyeti eşliğinde hasar meydana getirilmiş ve oluşan hasarın 11 farklı yeni sentezlenmiş bileşik ile muamele edilmiş deney ortamında kapalı dairesel pBR322 plazmit DNA'sının süper sarmalını modifiye etme yetenekleri araştırılmıştır. Bu yöntemle göre, türev bileşiklerin DNA hasarını önleme yeteneği, DNA'ya zarar veren faktörler olan hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ve UV ışığı varlığında değerlendirilmiştir. DNA hasarına karşı türev bileşiklerin koruyucu etkisinin görüldüğü resimlerde, jel üzerinde plazmit DNA'sının 2 bandı arasında form I ve form II bantlarının yoğunluğunun azalmasıyla birlikte, form III bandının ortaya çıktığı görülmektedir (Şekil 4.37). Genel olarak bileşikler 100  $\mu\text{M}$  ve 10  $\mu\text{M}$  dozlarda olacak şekilde 2 farklı yüksek doz konsantrasyonda uygulanmıştır. Bileşiklerin plazmit DNA'sı üzerindeki koruyucu aktivitesinin genel olarak zayıf olduğu, bununla birlikte plazmit DNA'sını yüksek dozlarda daha iyi bir şekilde hasardan korudukları ama düşük dozlarda biraz daha az aktivite gösterdikleri bulunmuştur (Şekil 4.37). Bileşiklerin plazmit DNA'sının süper sarmal DNA yapısını koruyabildiği, jel üzerinde Form 1 bantlarının varlığı ile gösterilmiştir. Aynı zamanda bileşiklerin uygulandığı örneklerden 3a, 3b, 3c ve 3f bileşiklerinde ise Form 1 bantlarının olmamasına rağmen Form 2 ve Form 3 bantları jel üzerinde oldukça net olarak belirlenebildiği de tespit edilmiştir (Şekil 4.37).



Şekil 4.37 Test bileşiklerinin DNA koruyucu aktivitesinin agaroz jelde görüntülenmesi

(1.Sütun: DNA büyüklük belirteci, K1 Sütunu: Plazmit DNA + distile su, K2 Sütunu: Plazmit DNA + distile su+ UV, K3 Sütunu: Plazmit DNA + distile su + UV+ Hidrojen peroksit, K4 Sütunu: Plazmit DNA + distile su + Hidrojen peroksit, 1-5 numaralı sütunlar arasında: Plazmit DNA + 100 $\mu$ M konsantrasyonda sırasıyla bileşikler kullanılmıştır.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER



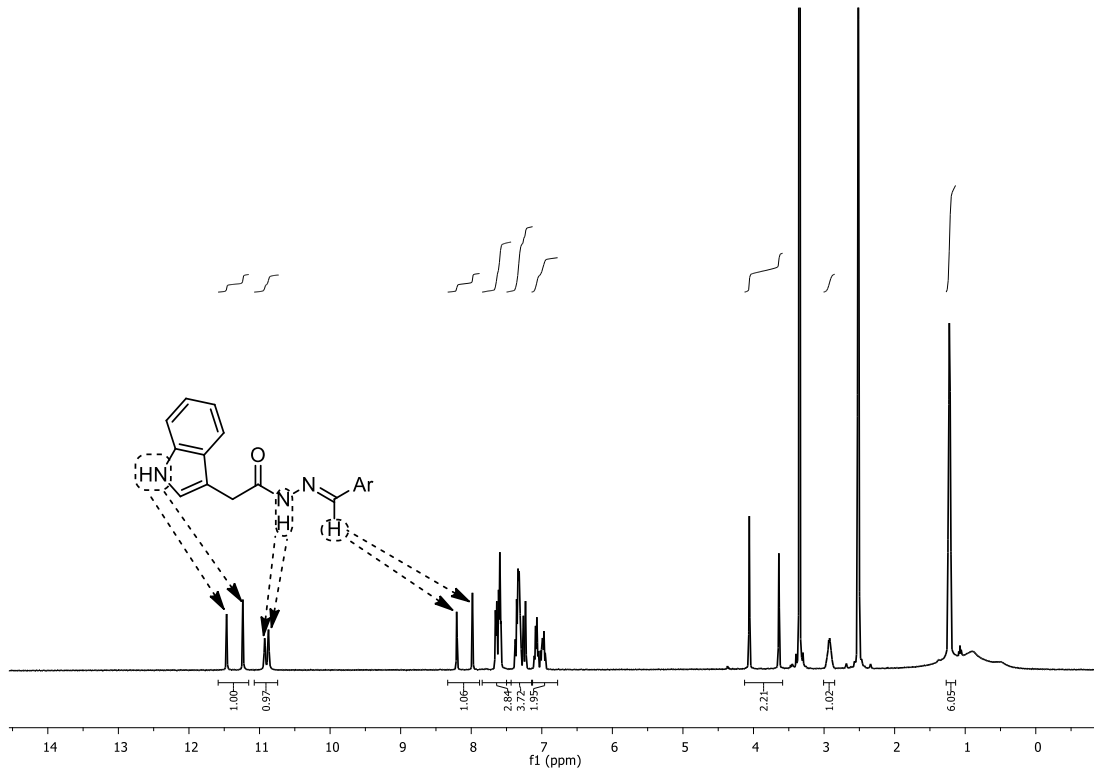
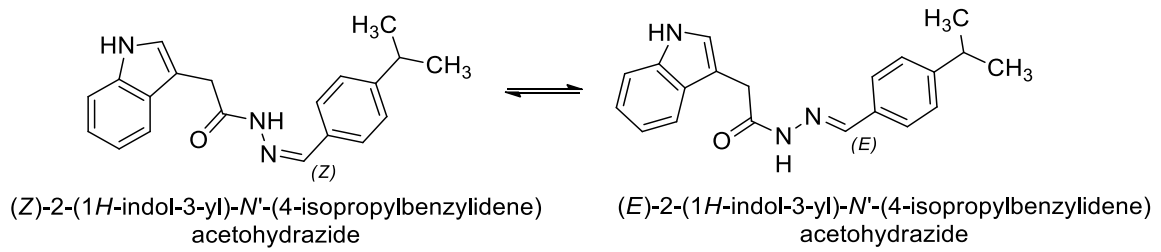
Şekil 5.1. Genel sentez şeması

### 5.1. Sentezlenen Bileşiklerin Sonuçlarının Değerlendirilmesi

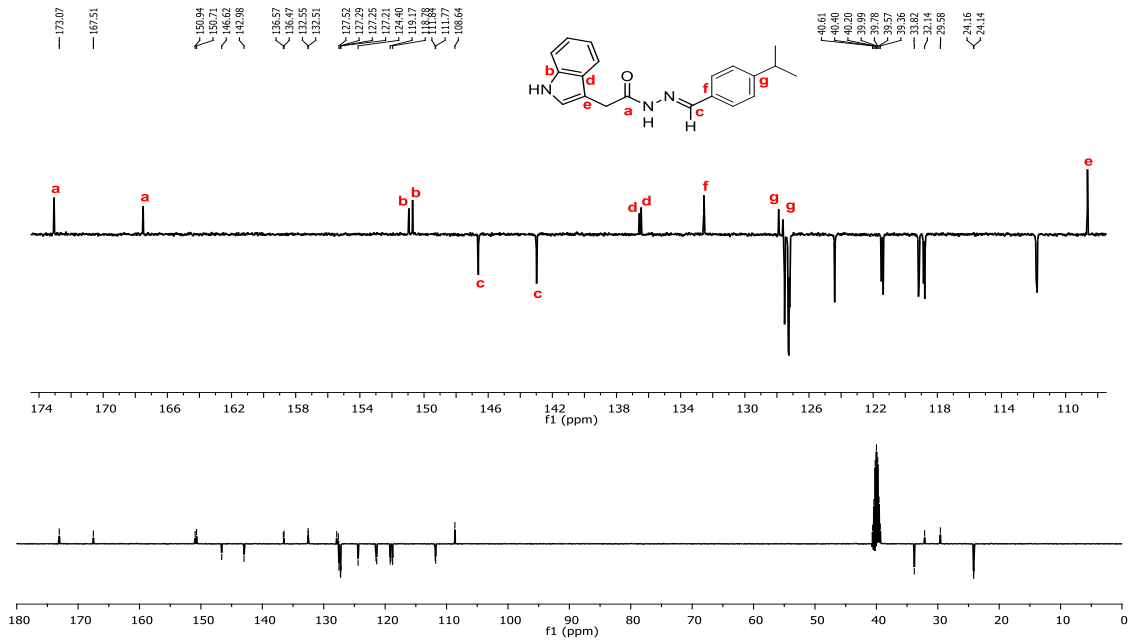
Tez kapsamında elde edilen bileşiklerin erime noktaları tayin edildi. Kristalize edilen sonuç maddelerin spektral yapılarının aydınlatılması FT-IR,  $^1\text{H-NMR}$  ve  $^{13}\text{C-APT NMR}$  gibi spektroskopik yöntemlerle gerçekleştirildi. Bileşiklerin yapısında yer alan  $3330\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$  indol NH gerilme titreşimi,  $3130\text{-}3260\text{ cm}^{-1}$  aralığında amit NH simetrik ve asimetric gerilme titreşimleri  $1635\text{-}1680\text{ cm}^{-1}$  aralığında amit karbonil grubu soğurma bantları reaksiyonun gerçekleştiğine işarettir. Yine bu moleküllerin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumlarında sentez başlangıç reaktifi olarak kullanılan 2-(1H-indol-3-il) asetohidrazit molekülüne ait  $11.80\text{-}12.00\text{ ppm}$  aralığında indol NH (çoğunlukla stereoizomerik yapıdan dolayı ikili pikler),  $4.20\text{-}3.60$  bant aralığına indol- $\text{CH}_2\text{-C=O}$  alifatik CH pikleri halka yapısının korunduğuna delildir. Final moleküllerine ait  $10.82\text{-}10.95\text{ ppm}$  aralığında amit NH (stereoizomerik yapıdan dolayı ikili pikler),  $8.40\text{-}9.80\text{ ppm}$  aralığında azometin grubuna ait  $\text{N=CH}$  singlet pikleri (stereoizomerik yapıdan dolayı ikili pikler) literatürle uyum içindedir. Yine aynı şekilde  $^{13}\text{C-APT NMR}$  spektrumlarını incelediğimizde:  $178$  ve  $172\text{ ppm}$  civarındaki pikler izomerik karbonil grubunun varlığına,  $146\text{-}139$  bant aralığına karşılık gelen izomerik iki pik ürün oluşumunun varlığına ait azometin karbonuna ( $\text{-N=CH}$ ) ve  $32$ ,



29 ppm skalasına karşılık gelen indol-CH<sub>2</sub>-C=O alifatik C pikleri (steroizomerik yapıdan dolayı ikili pikler) spektrumların yapı uyumlu olduğunu göstermektedir. Karbonil grubuna komşu CH<sub>2</sub> grubunun mezomerik etkilerden dolayı piklerinin ayrıştırılmasında önemli bir faktör olduğu bariz olarak anlaşılmaktadır. Zira karbonil grubu direk aromatik halkaya bağlı olması durumunda karbonil grubunun halkadan mezmerik olarak elektron çekmesi sonucu aktifliği azalmasından kaynaklanır. Sonuç olarak NMR spektrumlarındaki bu sinyal çiftleri, elde edilen moleküllerin, daha önce tarif edilen diğer izomerler gibi iki stereo izomerik formda var olduğunu açıkça göstermektedir (Çeçen ve ark. 2020).



Şekil 5.2. Örnek moleküle (3c) ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumunda izomer piklerin gösterimi



Şekil 5.3. Örnek moleküle (3c) ait  $^{13}\text{C}$ -APT NMR spektrumunda izomer piklerin gösterimi

## 5.2. Biyolojik Aktivite Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Yapılan çalışmada ilk olarak elde edilen moleküllerin *in vitro* antioksidan özelliklerinin değerlendirilmesi ve kıyaslanması işlemi gerçekleştirildi. Genellikle yapılan çalışmalarda bir molekülün antioksidan kapasitesinin belirlenmesi için birden fazla analiz yöntemi tercih edilebilmektedir. Sentezlenen bileşiklerin *in vitro* antioksidan aktivite değerlendirmelerine göre 11 molekülün farklı derecelerde aktif olduğu belirlendi. *In vitro* antitümör ve sitotoksik aktivite araştırmasında ise sentezlenen moleküllerin MCF-7 meme kanseri ve SW620 kolon kanseri hücrelerinde sitotoksik açıdan etkin olduğu, kuvvetli aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra maalesef ki bütün bileşiklerde, kanserli hücrelerle birlikte normal fibroblast hücrelerde azda olsa toksik etki gözlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin antioksidan özelliğinin yanında iyi antitümör özellikte gösteriyor olmaları, bu bileşiklerin farmakolojik çalışmalar bakımından önemli olduklarının göstergesi olabilir.

Günümüzde üzerinde çalışılan ağırlıklı konulardan biri de kemoterapi tedavisi esnasında kişilere takviye amacıyla antioksidan verilmesinin, antineoplastik aktivite üzerindeki etkilerinin bulunması veya antioksidan takviyesinin kemoterapi tedavisi esnasında

meydana gelen yan etkilerin gelişimine etkileri olmaktadır. Bazı hayvan deneylerinde ve in vitro sistemlerde kemoterapi esnasında vitamin kullanımının faydalı olduğu görülse de bununla ilgili klinik çalışmalar yapılmaya devam edilmektedir. Burada dikkat edilmesi gereken önemli konu, hastaya dışardan verilen antioksidanlar, tercih edilen kemoterapötik ajanın yok etmeye çalıştığı kanser hücrelerinin dejenerasyonuna engel olmamalıdır. Bununla birlikte, kemoterapötik uygulama sonucunda elde edilen radikaller ilacın antineoplastik etkinliğinden sorumlu değilse, yani yalnızca ilacın yan etkilerinden sorumlu ise antioksidan kullanımı, ilacın yan etkilerinin en az olabilmesi için faydalı olabilir.

Diğer yandan farelerin tümör hücreleri üzerine yapılmış olan birtakım çalışmalarda, E vitamini gibi bazı antioksidanların DNA ve ROT hasarını azaltırken tümör hücrelerinin proliferasyonunu arttırdığı tespit edilmiştir. Elde edilen bu netice onkojenlerin tümörlerdeki ROT seviyesini, endojen antioksidanlarını aktif ederek azaltmasına yönelik geçmiş düşüncelerin değişmesine neden olmuştur. Bundan dolayı son zamanlarda antioksidanların, hücrelerdeki DNA ve ROT hasarını azaltırken, tümör hücre proliferasyonunu arttırarak tümör büyümesine neden olduğu düşünülmektedir. Bu sebeple antioksidan kullanımının, hastalık gelişmesi riski bulunan kişilerde ya da erken dönemdeki kanser hücrelerinde güvenilir olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (Sayın ve ark. 2014). Bundan dolayı oksidatif stres oluşturan hücrelerde antioksidan etkilerinin araştırıldığı çalışmalara daha fazla yer verilmelidir (Kısmalı ve Sel 2012). Bu bağlamda, bu tez çalışmasıyla elde edilen 11 bileşiğin hem antitümöral özellikleri hem de antioksidan özellikleri bakımından bütün olarak incelenmeye çalışılmıştır. Bu çalışma kapsamında elde ettiğimiz bileşiklerin farklı biyoaktif özelliklerini ortaya koymayı amaçladığımız bu araştırmanın, var olan literatür bilgisine katkısı olacağına inanmaktayız. Elde edilen indol temelli açilhidrazon bileşikleri bu araştırma kapsamında her bir hücre için net oksidan veya net antioksidan madde oldukları kesinleşmemiş olsa da bundan sonra yapılacak olan çalışmalarda molekül seçimi ve tasarımı faydalanılabilecek özellikte olduğunu, gerek sağlıkta gerekse diğer endüstri sektörlerindeki katkılarının da bilinmesi gerektiğine inanmaktayız.

## KAYNAKLAR

Altıntop, M. D., ve Orujova, T. (2022). *Yeni tiyazol türevlerinin tasarımı, sentezi ve hedefe yönelik antikanser etki çalışmaları* (Master's thesis, Anadolu Üniversitesi-Sağlık Bilimleri Enstitüsü).

Avan, I. (2006). Bazı Indol Bileşikleri Üzerine Kimyasal Çalışmalar, Yüksek Lisans Tez Projesi, Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, proje no: 051053.

Bag, B. (2013). Kanser hastalarında uzun dönemde görülen psikososyal sorunlar, *Current Approaches In Psychiatry*, 5(1): 109-126.

Bartoli, G., Palmieri, G., Bosco, M.; and Dalpozzo, R. (1989). "Thereaction of vinyl grignard reagents with 2-substituted nitroarenes: A new a pproach to the synthesis of 7-substituted indoles" *Tetrahedron Lett*, 30, 2129.

Baş, S. (2022). *İndol halkası taşıyan yeni tiyazol türevlerinin sentezi ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücreleri üzerine hedefe yönelik antikanser etkilerinin değerlendirilmesi*, Anadolu Üniversitesi-Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya Ana Bilim Dalı.

Batcho, A. D., Lemgruber, W. (1985). *Org Synth*, 63, 214–220, U.S. Patent 3,732,245 & U.S. Patent 3,976,639.

Baeyer, A., and Emmerling, A. (1869). Synthese des indols. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 2(1), 679-682.

Bozkaya, P., Olgen, S., Çoban, T. and Nebioğlu, D. (2007). Synthesis of Nsubstituted indole-2-carboxamides and investigation of their biochemical responses against free radicals. *J Enzym Inhib Med Chem*, 22(3), 319-325.

Büyükbıngöl, E., Süzen, S. and Klopman, G. (1994). Studies On The Synthesis And Structure-Activity Relationships of 5-(3'-İndolal)-2-Thiohydantoin Derivatives As Aldose Reductase Enzyme İnhibitors. *Farmaco*, 49(6), 443-7.

Cacchi, S., and Fabrizi, G. (2005). "Synthesis and Functionalization of Indoles Through Palladium-catalyzed Reactions". *Chem. Rev*, 105(7), 2873.

Cihan, G. (2005). İndol türevi spiroheterosiklik bileşikler üzerinde çalışmalar. *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Kimya AD Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.*

Cihan, G. (2010) *İndol Halkası Taşıyan Benziliden Hidrazid ve 4-Tiyazolidinon Türevi Bileşikler Üzerine Araştırmalar*. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya AD, Doktora Tezi, İstanbul.

Cihaner, S. S. (2009). *İndol-amino asit türevi ilaç etken maddelerinin sentezleri ve biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesi* (Master's thesis, Biyoteknoloji Enstitüsü).

Clark, R. D., and Repke, D. B. (1984). The Leimgruber-Batcho indole synthesis. *Heterocycles*, 22(1), 195.

Çeçen, M., Oh, J. M.; Özdemir, Z., Büyüktuncel, S. E., Uysal, M., Abdelgawad, M. A., Musa, A., Gambacorta, N., Nicolotti, O., Mathew, B., and Kim H. (2020). Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Pyridazinones Containing the (2-Fluorophenyl). Piperazine Moiety as Selective MAO-B Inhibitors. *Molecules*, 25(22): 5371.

Çetin, A. (2004). *1, 3, 4-oksadiazol, 1, 3, 4-tiyadiazol ve 1, 2, 4-triazol halkası ihtiva eden bazı bileşiklerin sentezi ve karakterizasyonu*. Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı. Elazığ.

Durgun, K. (2018). *Melatonin analogu yeni indol türevi bileşiklerin sentezleri, antioksidan ve kemopreventif etkilerinin değerlendirilmesi*. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya Ana Bilim Dalı, Ankara.

Erdik, E., Obalı, M., Yüksekıgık, N., Öktemer, A., Pekel, T., ve İhsanoğlu, E. (1987). Denel Organik Kimya, Ankara Üniv. *Fen Fak. Yayın*, (145).

Fessenden, R. J., and Fessenden, J. S. (1992). *Organik Chem.*, Çev. Edt. Tahsin Uyar, 4. Baskı, Güneş Kitabevi, Ankara.

Garcia, E. E., and Fryer, R. I. (1974). A new synthesis of o-nitrobenzylketones, Intermediates for the synthesis of 2-substituted indoles. *J Heterocycl. Chem*, 11(2), 219-221.

Gassman, P. G., Van Bergen T. J., Gilbert, D. P., and Cue, B. W. (1974). General method for the synthesis of indoles. *J. Am. Chem. Soc*, 96, 5495-5508.

Gilchrist, T. L. (1997). *Heterocyclic Chemistry*. Third Edition. Longman, Harlow, Essex, England.

Gribble, G. W. (2000). "Recent developments in indole ring synthesis methodology and applications." *J. Chem. Soc. Perkin Trans*, 1(7), 1045.

Gürbüz Kazan, F. (2008). *Bazı Yeni 1H-İndol-2-Karbohidrazit Türevlerinin Sentezi ve Yapılarının Aydınlatılması*. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya ABD, Doktora Tezi, İstanbul.

Gürkök, A. G. (2007). *Biyolojik Önemi Olan İndol Türevi Bileşiklerin Sentezleri, Yapı Aydınlatmaları ve Aktivitelerinin Değerlendirilmesi*. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.

Güzel, Ö., Terzioğlu, N., Çapan, G., and Salman, A. (2006). Synthesis and biological evaluation of new 5-methyl-N-(3-oxo-1-thia-4-azaspiro [4.5]-dec-4-yl)-3-phenyl-1H-indole-2-carboxamide derivatives. *Arkivoc*, 12, 98-110.

Hawash Mohammed, M. A. (2017). Antikanser etkili olabilecek yeni indol türevlerinin tasarımı, sentezi ve aktivitelerinin incelenmesi, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara.

Humphrey, G. R., and Kuethe, J. T. (2006). "Practical Methodologies for the Synthesis of Indoles" *Chem. Rev.* 106 (7): 2875.

McGraw (1953). *İnorganik Sentezler Cilt IV*. Hill Book Company, Inc. s. 35. ISBN'si 9780470132678.

Jean-Pierre S., and Paul, B. (2002). "Hydrazin" in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, doi: 10.1002/14356007.a13\_177 .

Joshi, K. C., and Chand, P. (1982). "Biologically active indole derivatives" *Pharmazie* 37(1), 1-12.

Joule, J. A.; and Mills, K. (2000). *Heterocyclic Chemistry*, Blackweell Pub, Fouth Edition. file:///C:/Users/besyo1/Downloads/9781003072850\_previewpdf.pdf Erişim Tarihi: 11.11.2023

Kamath, P. R., Sunil, D., Ajees, A. A., Pai, K. S., and Biswas, S. (2016). N'-((2-(6-bromo-2-oxo-2H-chromen-3-yl)-1H-indol-3-yl)methylene)benzohydrazide as a probable Bcl-2/Bcl xL inhibitor with apoptotic and anti-metastatic potential. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 120, 134-147.

Kamath, P. R., Sunil, D., Ajees, A. A., Pai, K. S., and Das, S. (2015). Some new indole-coumarin hybrids; Synthesis, anticancer and Bcl-2 docking studies. *Bioorganic Chemistry*, 63, 101-109.

Kapçak, E. (2011). Yeni indol türevlerinin sentezi ve biyolojik aktivitelerinin incelenmesi. Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.

Kazan, F., Yağcı, Z. B., Bai, R., Ozkirimli, E., Hamel, E., and Ozkirimli, S. (2019). Synthesis and biological evaluation of indole-2-carbohydrazides and thiazolidinyl-indole-2-carboxamides as potent tubulin polymerization inhibitors. *Computational Biology and Chemistry*, 80, 512-523.

Kazan Gürbüz, F. (2008). Bazı Yeni 1H-İndol-2-karbohidrazid Türevlerinin Sentezi ve Yapılarının Aydınlatılması, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya AD, Farmasötik Kimya Programı, Doktora Tezi, İstanbul.

Kurzer, F., and Michael, W. (1970). "Karbohidrazid ve tiyokarbohidrazid kimyası", *Kimyasal İncelemeler* 70(1), 111149 doi:10.1021/cr60263a004 PMID4391877.

Lakshmi, N. V., Thirumurugan, P., Noorulla, K. M., and Perumal, P. T. (2010). InCl<sub>3</sub> mediated one-pot multicomponent synthesis, anti-microbial, antioxidant and anticancer evaluation of 3-pyranyl indole derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 20(17), 5054-5061.

- Leboho, T. C., Michael, J. P., van Otterlo, W. A., van Vuuren, S. F., and de Koning, C. B. (2009). The synthesis of 2-and 3-aryl indoles and 1, 3, 4, 5-tetrahydropyrano [4, 3-b] indoles and their antibacterial and antifungal activity. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 19(17), 4948-4951.
- Maehr, H., and Smallheer, J. M. (1981). A new approach to 4-substituted indoles. *J. Org. Chem*, 46, 1752-1755.
- Nelson, K. L., and Seefeld, R. L. (1958). The mechanistic fate of carbonyl oxygen in the rearrangement of 2-anilino-1-phenyl-1-propanone. *J. Am. Chem. Soc*, 80, 5957-5958.
- Noland, W. E., and Baude, F. J. (1973). Ethyl indole-2-carboxylate. *Organic Syntheses*, 5, 567.
- Ölgen, S., Varol, P., Çoban, T., ve Nebioğlu, D. (2008). Synthesis and evaluation of N-substituted indole-3-carboxamide derivatives as inhibitors of lipid peroxidation and superoxide anion formation. *J Enzym Inhib Med Chem*, 23(3), 334-340.
- Özkaya, B. (2015). Bazı yeni tiyazolil hidrazon türevlerinin sentezi. Yüksek Lisans Tezi, Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak.
- Öztürk, C. Ö. (2015). Antimikrobiyal etkili yeni indol türevi bileşiklerin sentezleri ve biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesi. Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Temel Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Ponticello, G. S., and Baldwin, J. J. (1979). Useful synthesis of 4-substituted indoles. *J. Org. Chem*; 44 (22), 4003-4005.
- Robinson, B. (1963). "The Fischer Indole Synthesis". *Chemical Reviews*, 63(4), 373-401.
- Robinson, B. (1969). "Studies on the Fischer indole synthesis". *Chemical Reviews*, 69 (2), 227-250.
- Özkan, T. (2010). Bazı 4-amino-2-hidroksi-n'-[(süstitüefenil) metiliden] benzohidrazidlerin sentezi. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Saundane, A. R., Katkar, V. T., and Vaijinath, A. V. (2013). Synthesis, Antimicrobial, and Antioxidant Activities of N-[(5'-Substituted-2'-phenyl-1H-indol-3'-yl) methylene]-5H-dibenzo [b, f] azepine-5-carbohydrazide Derivatives. *Journal of chemistry*.
- Scior, T. (2006). Isoniazid is not a lead compound for its pyridyl ring derivatives, isonicotinoyl amides, hydrazides, and hydrazones: A critical review, *Current Medicinal Chemistry*, 13, 2205-2219.
- Shirinzadeh, H. (2014). *İndol türevi yeni bileşiklerin sentezleri, yapı aydınlatmaları ve biyolojik aktiviteleri üzerine çalışma* (Doctoral dissertation, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Kimya Anabilim Dalı).

Shirinzadeh, H. (2010). Yeni indol türevi bileşiklerin sentezleri, yapısal analizleri, antioksidan aktivite sitotoksikite ve kemoproventif etkilerinin değerlendirilmesi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya Yüksek Lisans Programı.

Süzen, S. Ü., Ates-Alagöz, Z., Demircigil, T., and Özkan, S. A. (2001). Synthesis and Analytical Evaluation by Voltammetric Studies of Some New Indole-3-propionic acid Derivatives. *Il Farmaco*, 56, 835-840.

Tansuyu, M. (2010). 2-Metilfuran-3-karbohidrazid Türevlerinin Sentezi ve Yapılarının Aydınlatılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya A.D. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul

Tok, F. (2018). Piridin Halkası Taşıyan Bazı Yeni Üre ve Karbohidrazit Türevi Bileşiklerin Sentezi, Yapı Aydınlatması Ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya AD. Doktora Tezi, İstanbul.

Tosun, T. (2020). İndol-3-karboksialdehit ve indol-5-karboksialdehitten başlayarak yeni tiyadiazol türevli Schiff bazlarının eldesi (Master's Thesis Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).

Uppal, G., Bala, S., Kamboj, S., and Saini, M. (2011). Therapeutic Review Exploring Antimicrobial Potential of Hydrazones as Promising Lead. *Der Pharma Chemica*, 3(1), 250-268.

Wang, X., Su, H., Chen, C., and Cao, X. (2015). Synthesis and biological evaluation of peptidomimetics containing the tryptamine moiety as a potential antitumor agent. *The Royal Society of Chemistry*, 5, 15597-15602.

Wayland, E. N., and Baude, F. J. (1963). "Ethyl indole-2-carboxylate Organic Syntheses, 5, 567, 1973; 43, 40.

Yılmaz, A. D., Coban, T., and Suzen, S. (2012). Synthesis and antioxidant activity evaluations of melatonin based analogue indole-hydrazide/hydrazone derivatives. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 27(3), 428–436.

Yılmaz, N. (2012).Yeni bazı indol türevi bileşiklerin sentezi, yapı aydınlatılması ve biyolojik aktivitelerin araştırılması (Master's thesis, Sağlık Bilimleri Enstitüsü).

Zhang, D., Wang, G., Zhao, G., Xu, W. and Huo, L. (2011). Synthesis and cytotoxic activity of novel 3-(1H-indol-3-yl)-1H-pyrazole-5-carbohydrazide derivatives. *European journal of medicinal chemistry*, 46(12), 5868-5877.

Subasi, E., Atalay, E. B., Erdogan, D., Sen, B., Pakyapan, B., and Kayali, H. A. (2020). Synthesis and characterization of thiosemicarbazone-functionalized organoruthenium (II)-arene complexes: Investigation of antitumor characteristics in colorectal cancer cell lines. *Materials Science and Engineering C*, 106, 110152.



Hessler, J. A., Budor, A., Putschakayala, K., Mecke, A., Rieger, D., Banaszak, Holl, M. M., ... and Baker, J. (2005). Atomic force microscopy study of early morphological changes during apoptosis. *Langmuir*, 21(20), 9280-9286.

Cuendet, M., Hostettmann, K., Potterat, O., and Dyatmik, W. (1997). Iridoid Glucosides with Free Radical Scavenging Properties from *Fagraea blumei*. *Helvetica Chimica Acta* 80, 1144-1152.

Dastan, T. (2017). Bazı Bis (A-Aminoalkil-Fosfinik Asit) Türevlerinin Sentezi ve Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması. Bingöl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. (Doktora Tezi).

Dastan, S. D., Dastan, T., Gulhan, MF., Kirkbes, A., and Talas, Z. S. (2014). Biochemical changes in muscle and gill tissues of rainbow trout reared with various concentrations of pollen extract. *Research Opinions in Animal & Veterinary Sciences*, 4(10), 540-544.

Erel, O. (2004). A Novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions *Clinical Biochemistry*, 37, 112-119.

Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status *Clinical Biochemistry*, 38, 1103-11.

Doyle, A., and Griffiths, J. B. (1998). *Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures in Biotechnology*. John Wiley & Sons, 57-61: 62-6456.

Harma, M. (2005). Oxidative stress in women with preeclampsia. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 192, 656-657.

Mosman, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65, 55-63.

Esterbauer, H.; and Cheeseman, K. H. (1990). Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymology* 186, 407-421.

Hu, M. L.; Louie, S.; Cross, CE.; Motchnik, P.; and Halliwell, B. (1993). Antioxidant protection against thiocyanic acid in human plasma. *Journal of Laboratory Clinical Medicine*, 121, 257-62.

Orhan, I., Ozcelik, B.; and Sener, B. (2011). Evaluation of antibacterial, antifungal, antiviral, and antioxidant potentials of some edible oils and their fatty acid profiles. *Turkish Journal of biology*, 35, 251-258.

Awouafack, M. D., Mc-Gaw, L. J., Gottfried, S., Mbouangouere, R., Tane, P., Spiteller, M., and Eloff, J. N. (2013). Antimicrobial activity and cytotoxicity of the ethanol extract, fractions and eight compounds isolated from *eriosema robustum* (fabaceae). *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13, 289.

Eloff, J. N. (1998). A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Medica*, 64,711-713.

Eren, E. (2011). Bazı soğansu bitkilerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.

Frankel, E. N., and Meyer, A. S. (2000). The problems of using one dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 80, 1925-1941.

Russo, A., Acquaviva, R., Campisi, A.; Sorrenti, V., Di, Giacomo, C., Virgata, G., Barcellona, M. L,... and Vanella, A. (2000). Bioflavonoids as antiradicals, antioxidants and dna cleavage protectors. *Cell biology and toxicology*, 16(2), 91–98.

Takım, K. (2010). Kiraz yaprağı ekstraktlarının antioksidan kapasitesinin ve oksidatif dna hasarı üzerine etkisinin belirlenmesi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, (Yüksek Lisans Tezi).

Kuete, V. (2010). Potential of cameroonian plants and derived products against microbial infections, *Planta Medica*, 76, 1479-1491.

Berk, Ş. (2012). *Myrtus communis, Pistacia vera, Arum maculatum, Ceterach officinarum, Inula oculus-christi türlerinin antioksidan, anti-mikrobiyal ve dna koruyucu aktivitelerinin araştırılması*. Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.

Sönmez Gürer, E. (2022). Aronia Melanocarpa Türü Üzerine Farmakognozok İncelemeler. Doktora Tezi, Eskişehir Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi.

Kısmalı, G.; ve Sel, T. (2012). Paraquat ile oluşturulmuş oksidatif stresin hepg2 hücrelerinde apoptozis üzerine etkisinin araştırılması Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi, 26(2), 79–85.

Sayın, V. I., Ibrahim X. M., Larsson, E., Nilsson, A. J., Lindahl, P., and Bergo, O. M., (2014). Antioxidants Accelerate Lung Cancer Progression in Mice. *Science Translational Medicine*, 6, 221-225.