

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

**BAZI 5-KLORO-6-SÜBSTİTÜE-3-METİL-2-OKSO-3H-BENZOKSAZOL
TÜREVLERİNİN SENTEZİ ANTİBAKTERİYEL VE ANTİFUNGAL
ETKİLERİ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TUBA BİÇER

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Deniz S. DOĞRUER

ANKARA
Ocak 2010

İÇİNDEKİLER	I
ŞEKİLLER	II
TABLolar	III
I. İÇİNDEKİLER	
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kemoterapi ve Tarihçesi	4
2.2. Bakteriler ve Funguslar	5
2.2.1. Bakteriler	5
2.2.2. Funguslar	10
2.3. Kemoterapötiklerin Etki Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılması	11
2.3.1. Hücre duvarı sentez inhibitörleri	11
2.3.2. Sitoplazma membran permeabilitesini bozanlar	11
2.3.3. Bakteri ribozomlarında protein sentezini inhibe ederek etki gösteren antibakteriyel ajanlar	11
2.3.4 Nükleik asit sentezini bozarak etki gösteren antibakteriyel ajanlar	12
2.3.5. İntermediyer metabolizmayı bozarak (antimetabolit etki) etki gösteren antibakteriyel ajanlar	13
2.4. Antibakteriyel Bileşiklerin Etki Derecesi	13
2.5. Direnç Gelişmesi ve Direnç Çeşitleri	14
2.5.1. Doğal direnç	14
2.5.2. Kazanılmış Direnç	14
2.5.2.1. Kromozomal mutasyonla olan direnç	14
2.5.2.2. Direnç geninin alınmasına bağlı kazanılmış direnç (Plazmid ve transpozon aracılı)	15
2.5.2.2.1. Plazmidlerin transferinde rol oynayan mekanizmalar	15
2.6. <i>İn Vitro</i> Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri	17
2.7. Üre ve Tiyoüre Türevlerinin Genel Sentez Yöntemleri	19

2.8. 2-Okso-3<i>H</i>-Benzoksazol ve Türevleri	21
2.8.1. 2-Okso-3 <i>H</i> -benzoksazol İle İlgili Genel Bilgiler	21
2.8.2. 2-Okso-3 <i>H</i> -benzoksazol Yapısının Genel Sentez Yöntemleri	22
2.8.3. 5-Kloro-2-okso-3 <i>H</i> -benzoksazol Yapısının Genel Sentez Yöntemleri	28
2.8.4. 2-Okso-3 <i>H</i> -benzoksazol Yapısının Kimyasal Tepkimeleri	30
2.8.4.1. Benzen Halkasına Sübstitüsyon Tepkimeleri	30
2.8.4.2. 3 Numaralı Konumdan Sübstitüsyon Tepkimeleri	32
2.9. 2-Okso-3 <i>H</i> -Benzoksazol Türevlerinin Biyolojik Etkileri	36
2.9.1. Antibakteriyel ve Antifungal Etkili 2-Okso-3 <i>H</i> -Benzoksazol Türevleri	36
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	39
3.1. Kimyasal Çalışmalar	39
3.1.1. Materyal ve Yöntem	39
3.1.1.1. Kimyasal Bileşikler	39
3.1.1.2. Sentez Yöntemleri	39
3.1.1.2.1. 5-Kloro-3-metil-2-okso-3 <i>H</i> -benzoksazol	39
3.1.1.2.2. 5-Kloro-3-metil-6-nitro-2-okso-3 <i>H</i> -benzoksazol	40
3.1.1.2.3. 6-Amino-5-kloro-3-metil-2-okso-3 <i>H</i> -benzoksazol	40
3.1.1.2.4. Üre ve Tiyoüre Türevlerinin Genel Sentez Yöntemleri	41
3.2. Analitik Kontroller	42
3.2.1. Erime Derecesi Tayini	42
3.2.2. İnce Tabaka Kromatografisi İle Yapılan Kontroller	42
3.2.2.1. Materyal	42
3.2.2.2. Yöntem	42
3.2.3. Spektroskopik Yöntemler	43
3.2.3.1. ¹ H NMR Spektrumları	43
3.2.4. Elementel Analizler	43
3.2.5. Kütle	43
3.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	44
3.3.1. Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite Çalışmaları	44
3.3.1.1. Mikroorganizmalar	44

3.3.1.2. Mikrodilüsyon Yöntemi	44
3.3.2. Antimikobakteriyel Aktivite Çalışmaları	47
3.3.2.1. Mikroorganizma	47
3.3.2.1. Mikrodilüsyon Yöntemi	47
4. BULGULAR	49
4.1. Kimyasal Çalışmalar	49
4.1.1. 1-(5-Kloro-3-metil-2-okso-3 <i>H</i> -benzoksazol-6-il)-3-fenilüre (Bileşik 1)	49
4.1.2. 1-(5-Kloro-3-metil-2-okso-3 <i>H</i> -benzoksazol-6-il)-3-(4-metilfenil) üre (Bileşik 2)	50
4.1.3. 1-(5-Kloro-3-metil-2-okso-3 <i>H</i> -benzoksazol-6-il)-3-(4-klorofenil) üre (Bileşik 3)	51
4.1.4. 1-(5-Kloro-3-metil-2-okso-3 <i>H</i> -benzoksazol-6-il)-3- (4-metoksifenil)üre (Bileşik 4)	52
4.1.5. 1-(5-Kloro-3-metil-2-okso-3 <i>H</i> -benzoksazol-6-il)-3-benzilüre (Bileşik 5)	53
4.1.6. 1-(5-Kloro-3-metil-2-okso-3 <i>H</i> -benzoksazol-6-il)-3-feniltiyöüre (Bileşik 6)	55
4.1.7. 1-(5-Kloro-3-metil-2-okso-3 <i>H</i> -benzoksazol-6-il)-3-(4-klorofenil) tüyöüre (Bileşik 7)	56
4.1.8. 1-(5-Kloro-3-metil-2-okso-3 <i>H</i> -benzoksazol-6-il)-3-(4-metoksifenil) tüyöüre (Bileşik 8)	57
4.1.9. 1-(5-Kloro-3-metil-2-okso-3 <i>H</i> -benzoksazol-6-il)-3-benziltiyöüre (Bileşik 9)	58
4.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	59
4.2.1. Antibakteriyel, Antigungal ve Antimikobakteriyel Aktivite Sonuçları	59
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	60
6. ÖZET	67
7.SUMMARY	68
8. KAYNAKLAR	69
9.ÖZGEÇMİŞ TEŞEKKÜR	79

II. Şekiller

Şekil 1: Mürein sentezi	6
Şekil 2: Gram-pozitif bakterilerin hücre duvarı	7
Şekil 3: Gram-negatif bakterilerin hücre duvarı	8
Şekil 4: <i>Mycobacterium tuberculosis</i> hücre duvarı	9
Şekil 5: Direnç genlerinin bakteri hücrelerinde neden olduğu olaylar	16

III. Tablolar

Tablo 1: Sentezlenen Bileşiklerin Test Edilen Mikroorganizmalara Karşı MİK ($\mu\text{g/ml}$) Değerleri	59
Tablo 2: Sentezlenen Bileşiklerin Test Edilen Mikroorganizmalara Karşı MİK ($\mu\text{g/ml}$) Değerleri	63

1.GİRİŞ

Bakteri, mantar, virüsler ve parazitlerin neden olduğu enfeksiyon hastalıkları dünya genelinde ve özellikle gelişmekte olan dünya ülkelerinde görülen en önemli sağlık problemlerindendir. Enfeksiyon hastalıklarındaki tedavi ve ilaç maliyetleri genel sağlık harcamalarının önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Antimikrobiyal tedavideki önemli gelişmelere rağmen, antibiyotik, antifungal, antiviral gibi antimikrobiyal ilaçların yanlış ve yaygın kullanımları bu ilaçlara karşı direncin gelişmesine neden olmaktadır.

Özellikle metisillin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) ve vankomisin dirençli Enterokok (VRE) gibi dirençli Gram-pozitif bakterilerin, ayrıca genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz (GSβL) üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* gibi dirençli Gram-negatif bakterilerin ortaya çıkması bakteri kökenli hastalıkların tedavisinde karşılaşılan önemli bir problemdir.^{1,2}

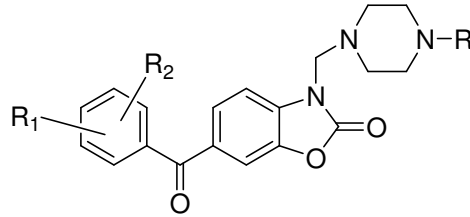
Tüberküloz ana etkeni *Mycobacterium tuberculosis* olan ve günümüzde yaygın görülen enfeksiyon hastalıklarından biridir. Dirençli Gram bakterilere ilave olarak, dirençli tüberküloz türleri de tüm dünyada ciddi bir halk sağlığı sorunudur. Dünya nüfusunun 1/3'ünü oluşturan 1.7 milyar insan tüberküloz basili ile enfekte olup, bunların büyük çoğunluğunu geliştirmekte olan ülkelerdeki insanlar oluşturmaktadır. Gelişmiş ülkelerdeki enfekte bireylerin %80'i 50 yaş ve üzerinde iken geliştirmekte olan ülkelerdeki bireylerin % 77'si 50 yaş ve altındakilerden oluşmaktadır.³ Sosyoekonomik düzey düşüklüğü ayrıca kanser ve AIDS gibi bağışıklık sistemini baskılayan hastalıklar tüberkülozun yaygın hale gelmesinin önemli nedenlerindendir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre her yıl yaklaşık 8 milyon insan bu hastalığa yakalanmakta ve 2-3 milyon insan bu hastalık nedeniyle ölmektedir.^{4,5}

Bir diğerk önemli problem sistemik ve lokal mantar enfeksiyonlarıdır. Özellikle, bağışıklık sistemi baskılanmış kanser ve AIDS hastalarında mantar enfeksiyonları ölümcül sonuçlara neden olmaktadır. Ayrıca insan ve fungus hücrelerindeki benzerliklerden dolayı antifungal ilaçlar seçici aktiviteye sahip değildirler.^{4,6,7}

Tüm bu nedenlerden dolayı antibakteriyel ve antifungal etkili bileşikler üzerinde çalışmalar yoğun olarak devam etmektedir.

2-Okso-3*H*-benzoksazol halkasına 3 ve 6 numaralı konumlardan yapılan sübstitüsyonlar ile farklı aktivitelere sahip bileşikler elde edilmekte ve bu halka sistemine sahip bileşiklerin sentezi ve aktivite tayinleri üzerinde çalışmalar günümüzde de devam etmektedir.

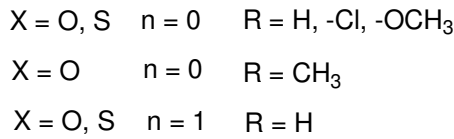
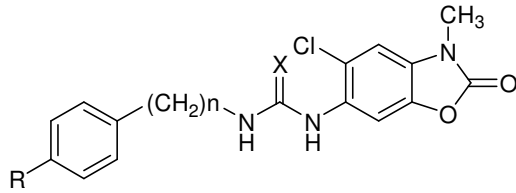
Gökhan ve arkadaşları 6-açıl-3-piperazinometil-2-okso-3*H*-benzoksazol türevlerini sentezlemişler ve bazı bileşiklerde referanslara benzer antibakteriyel ve antifungal aktivite bulduklarını bildirmişlerdir.⁸



Antimikrobiyal aktivite gösteren üre ve tiyoüre türevi pek çok bileşik literatürde kayıtlıdır. ⁹⁻¹³ Ayrıca analjezik¹⁴, antitümör^{15,16}, anti-HIV^{17,18} gibi farklı biyolojik aktivitelere sahip üre ve tiyoüre türevleri de bildirilmiştir.

Bu bilgiler ışığında, daha iyi bir antibakteriyel veya antifungal aktivite elde edebilmek ümidi ile farklı farmakoforları tek bir kimyasal yapıda bir araya getirerek hibrit moleküller sentez etmeyi amaçladık.

Sonuç olarak tez kapsamında, 5-kloro-3-metil-2-okso-3H-benzoksazol halkasının 6. konumunda üre ve tiyoüre türevleri taşıyan dokuz yeni bileşik sentez edildi ve bu türevlerin antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirildi.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemoterapi ve Tarihçesi

Kemoterapi Paul Ehrlich tarafından 19. yüzyılın sonunda ortaya atılmış bir terim olup, mikroorganizma (bakteri, mantar, protozoa ve virüs) ve parazitlerin neden olduğu enfeksiyon veya tümoral hastalıkların kimyasal bileşiklerle (kemoterapötik) yapılan tedavisidir. Kemoterapinin ana ilkesi konakçıda hiç veya çok az toksik etki yapan bir kimyasal madde ile hastalık etkeni üzerinde toksik veya öldürücü etki oluşturmaktır. Bu seçici toksik etki, patojen mikroorganizma hücresi ile insan hücresi arasında yapı ve biyokimyasal mekanizmalar bakımından var olan farklar sayesinde mümkün olmaktadır.¹⁹

Eskiden “antibiyotikler”; mikroorganizmalar tarafından sentez edilen ve diğer mikroorganizmaların üremesini durduran veya öldüren biyolojik kaynaklı maddeler olarak tanımlanırlar ve kemoterapötik bileşikler elde edilmiş kaynaklarına göre; sentetik kemoterapötikler ve antibiyotikler olarak sınıflandırılırdı. Ancak antibiyotiklerin sentetik olarak üretilmesiyle birlikte, “antibiyotikler” kemoterapötikler alt başlığı altında değerlendirmeye alınmış ve “mikroorganizmaların üremesini durduran veya öldüren biyolojik kaynaklı ya da sentetik olarak elde edilebilen bileşikler” olarak tanımlanmıştır.²⁰

Kemoterapide Paul Ehrlich tarafından ortaya atılan ilk adımlardan sonra esaslı ilerlemeler; Gerhard Domagk'ın 1932 yılında “prontosil” olarak isimlendirilen azo boyasının sıçanlarda sistemik streptokok enfeksiyonlarına karşı oldukça etkili olduğunun bulunması ile başlamıştır. Daha sonra 1937'de Trefouel ve arkadaşları tarafından prontosil'in vücutta etkin bileşik olan sülfonamid'e dönüştüğünün bulunması sülfonamidlerin tedaviye girmesine yol açmıştır. Alexander Fleming tarafından 1929 yılında penisilinin keşfedilmesi ve 1940 yılında Florey ve

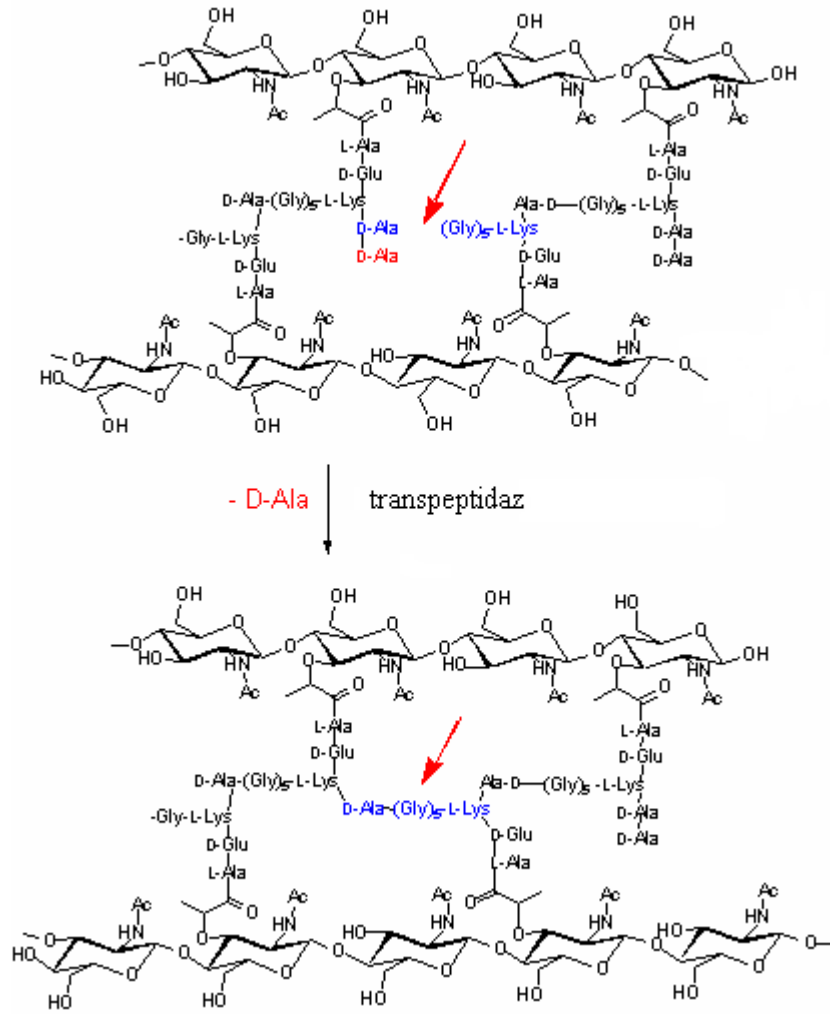
Chain'nin penisilini saf olarak elde etmeleri bakteriyel enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde yeni ufukların açılmasına neden olmuştur.^{4,19}

Enfeksiyon hastalıklarının etkenleri hakkındaki bilgilerin gelişmesine paralel olarak, enfeksiyon etkenleri üzerinde etkili pek çok kemoterapötik bileşik geliştirilmiştir ve tedaviye sunulmuştur.

2.2. Bakteriler ve Funguslar

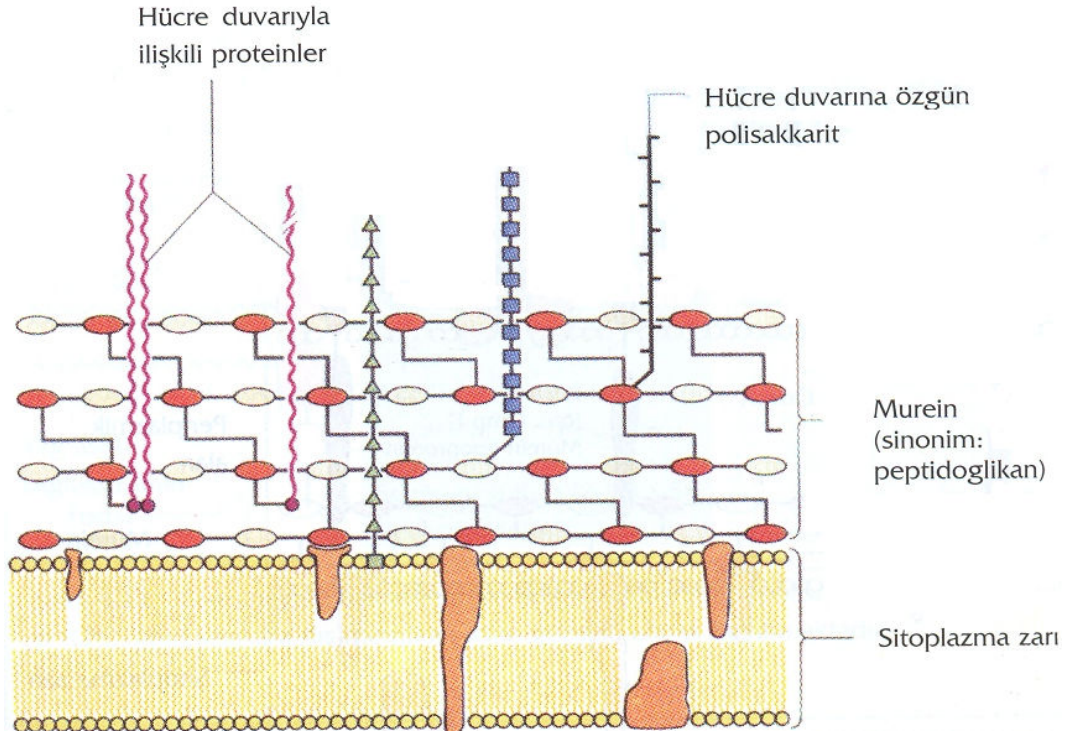
2.2.1. Bakteriler

Bakteriler tek hücreli prokaryotik mikroorganizmalardır. Bakterilerin dış ortamdan korunmalarını sağlayan ve bakteriye şeklini veren esas yapı hücre duvarıdır. Hücre duvarı dış ortamdaki maddelerin girişine olanak veren ve seçiciliği bulunmayan 1-2 nm çaplı porlar içerir. Antimikrobiyallerin buradan geçebilmesinde, duvarın yapısı ve ilacın moleküler büyüklüğü etkilidir. Bakteri hücre duvarının ana maddesi müreindir. Müreini oluşturan peptidoglikan zincirlerinin her biri N-asetilglukozamin (NAG) ve N-asetilmuramik asitten (NAM) yapılmıştır. NAM ve NAG birbirine β -1,4 bağı ile bağlıdırlar. N-asetilmuramik asit, N-asetilglukozaminin laktik asit taşıyan türevidir. Laktik asitin karboksil grubuna amino asit grupları bağlanmıştır. Lineer peptidoglikan zincirlerinin transpeptidaz enzimi ile çapraz bağlanması sonucunda mürein oluşur.^{19,20}



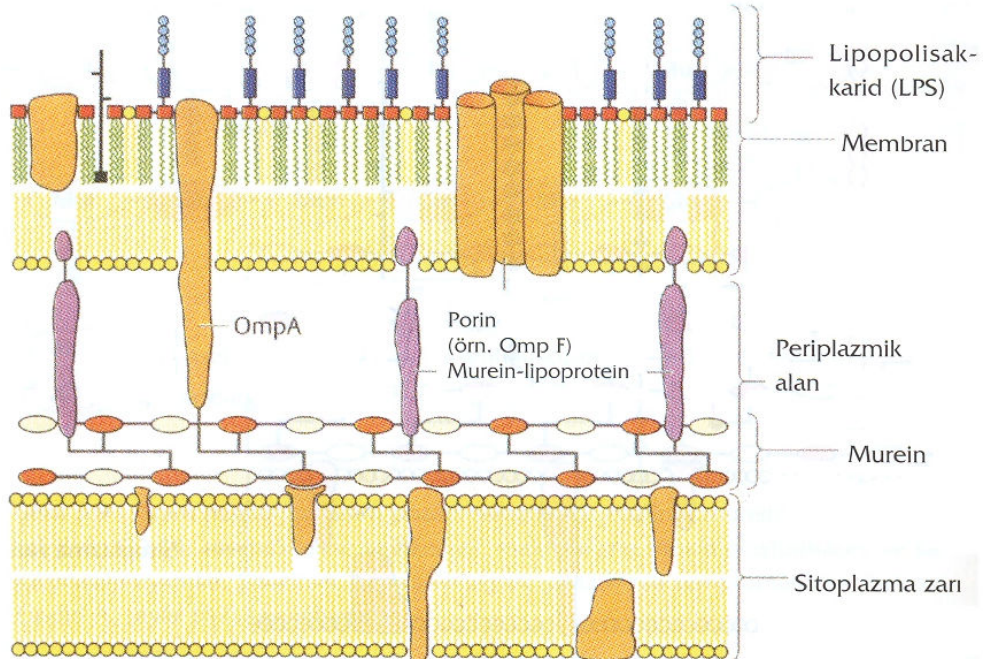
Şekil 1: Mürein sentezi

Hücre duvarı yapısı, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler arasında önemli farklılıklara sahiptir. Gram-pozitif bakterilerde hücre duvarı büyük oranda müreinden meydana gelmiştir. Mürein, Gram-pozitif bakterilerde duvar kalınlığının % 50 'sini oluşturur. Bu oran Gram-negatif bakterilerde % 5-10 kadardır.^{21,22}



Şekil 2: Gram-pozitif bakterilerin hücre duvarı

Gram-negatif bakterilerin hücre duvarlarında gram-pozitiflere oranla daha ince peptidoglikan tabakası bulunur ve peptidoglikan tabakasının dışında bir lipopolisakkarit tabakası taşırlar.^{21,22}



Şekil 3: Gram-negatif bakterilerin hücre duvarı

Gram boyama, bakterileri hücre duvarlarının özelliklerine göre iki büyük gruba (Gram-pozitif, Gram-negatif) ayırmak için kullanılan bir yöntemdir. Gram-pozitif bakteriler gram boyama işleminden geçtikten sonra, mikroskop altında mavi-mor renk alan bakterilerdir. Peptidoglikan hücre duvarı daha kalın olan gram-pozitiflerin boyaları tutma kuvvetleri fazladır.^{21,22}

Gram-negatif bakteriler Gram boyama prosedürü sırasında kristal viyole boyasını tutmayan bakterilerdir. Gram-pozitif bakteriler, alkolle yıkandıktan sonra mavi rengi tutmaya devam ederlerken, Gram-negatif bakteriler mavi rengi kaybederler.^{21,22}

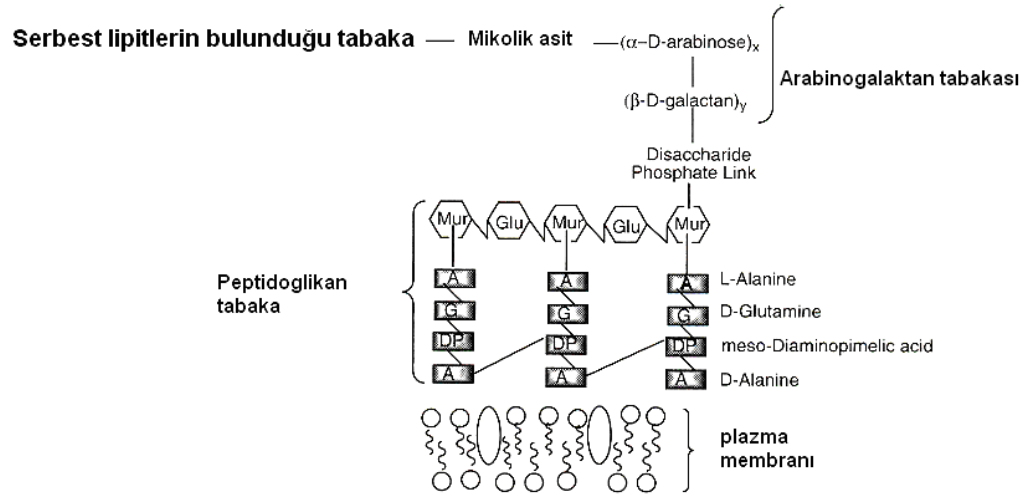
Tüberküloz etkeni olan *Mycobacterium tuberculosis*, mycobacteriaceae üyesi bakterilerden olup, Gram boyamada hiç görülmeyen veya çok ender görülebilen çomak şekilli bakterilerdir. Bunun nedeni boyaların çok zor içine girebildikleri lipitçe zengin hücre duvarıdır. Özel ayırt edici boyalarla (Ziehl Neelsen) boyanırlar. Tüberküloz bakterilerinin pek çok özelliği hücre duvarının yapı ve kimyasından kaynaklanmaktadır. Hücre duvarı – yüksek lipit içeriğine sahiptir. İçerden dışarıya doğru hücre duvarında şu tabakalar bulunmaktadır.^{4,21}

*Mürein

*Arabinogalaktan

*Mikolik asit

*En dış tabaka serbest lipitlerin yer aldığı bölümdür.



Şekil 4: *Mycobacterium tuberculosis* hücre duvarı

Mycobacterium tuberculosis hücre membran yapısından dolayı birçok kemoterapötik ajana karşı dirençlidir. Lipitçe zengin olan bu membran kemoterapötik ajanların hücre içine girmesini engeller. Tüberküloz tedavisinde kullanılan ilaçlar *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı seçici aktivite gösterir.⁴

Tüberküloz tedavisinde kullanılan ilaçlar primer ve sekonder ilaçlar olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Primer ilaçlar tüberküloz vakalarının çoğunda kullanılır (İzoniazit, pirazinamit, rifampin). Sekonder ilaçlar toksisiteleri nedeniyle primer ilaçlara direnç geliştiği durumlarda ilaç kokteyllerine katılır (Para aminosalisilik asit (PAS), sikloserin). Tüberküloz tedavisinde direnç gelişimini önleyebilmek amacıyla kombine ilaç kullanımı yapılır. İzoniazit bu kombinasyonun genellikle değişmeyen ilacıdır.⁴

2.2.2. Funguslar

Fotosentetik olmayan tek hücreli koloniler (maya) veya ipliksi çok hücreli agregatlar (küf) halinde üreyen ökaryotik organizmalardır. Ökaryotik hücre yapılarından dolayı antifungallerin selektif toksik etki göstermesi güçtür, bu nedenle fungal enfeksiyonların özellikle sistemik olanlarının tedavisi zordur. Memeliler hücre membranlarında bir sterol olan kolesterol, funguslar ise hücre zarlarında ergosterol taşırlar. Bu biyokimyasal farklılıktan yararlanılarak funguslardaki ergosterol sentezini önleyen imidazol türevi antifungal ilaçlar geliştirilmiştir.^{4,21}

2.3. Kemoterapötiklerin Etki Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılması

2.3.1. Hücre duvarı sentez inhibitörleri

Bakteri hücre duvarının ana maddesi olan mürein sentezini, peptidoglikan zincirlerini çapraz bağlayan transpeptidaz (penisilin bağlayan proteinler = PBP) enzimlerini geri dönüşsüz olarak inhibe ederek etki gösterirler. Bu tip ajanların gelişmesini tamamlamış bakteriler üzerinde etkisiz oldukları bildirilmiştir. Bu gruba giren ilaçlar: β -Laktam antibiyotikleri (penisilinler, sefalosporinler), glikopeptitler.^{19,20}

2.3.2. Sitoplazma membran permeabilitesini bozanlar

Sitoplazma membranı, bakteri hücresinde osmotik bir bariyer görevi yapmaktadır. Bakteri için gerekli maddeler ortamdan, bu membran içinde pasif difüzyon veya aktif transport ile alınırlar. Deterjan özelliğine sahip bazı antibiyotik ve antiseptikler, sitoplazma membranının geçirgenliğini arttırarak hücre için yaşamsal önemi olan bileşiklerin (aminoasitler, nükleotitler ve potasyum gibi) dışarı sızmasına neden olarak bakterisit etki oluştururlar. Bu etki mekanizması ile etkili olan antibakteriyel ajanların gelişimini tamamlamış bakterileri de etkili oldukları bildirilmiştir. Bu gruba giren ilaçlar: Polien antibiyotikler ve antifungal etkili imidazol türevleri.^{19,20}

2.3.3. Bakteri ribozomlarında protein sentezini inhibe ederek etki gösteren antibakteriyel ajanlar

Çoğunlukla geniş spektrumludurlar. Bu gruba giren birçok antibakteriyel ajanın bakteriyostatik etkili olduğu, bazılarının ise bakterisit etkili olduğu bildirilmiştir. Bu şekilde etkili olan ilaçların bazıları bakterilerin ribozomları ile kombine olurlar ve ribozomlar içinde, mRNA tarafından yönetilen protein sentezini bozarlar. Bunlar genellikle memeli hücrelerindeki protein sentezini etkilemezler çünkü memeli hücrelerindeki

ribozomlar, bakteri ribozomlarından özellikle ribozomal RNA moleküllerinin sayısı ve bileşimi bakımından farklı oldukları için ilaçlara duyarlılık açısından da farklılık göstermektedir. Bakteri ribozomlarının sedimentasyon katsayısı 70S iken, memeli ribozomlarındaki 80S'tir. Bakterilerde mRNA'daki kodlanmış mesajın çevrilmesi sonucu özgül proteinin (peptit zincirinin) oluşturulmasından 30S alt birimi sorumludur, 50S alt birimi ise peptit bağı oluşmasını katalize eder. Bakterilerde protein sentezi dört basamakta gerçekleşir (tRNA aktivasyonu, başlama, uzama, protein sentezinin sonlanması ve proteinin ribozomdan ayrılması). Bu gruptaki kemoterapötik ajanlar protein sentezini, çeşitli basamaklarda etkileyerek bozarlar.^{19,20}

Bu gruba giren ilaçlar: Aminoglikozitler, tetrasiklin, kloramfenikol, makrolitler, linkozamitler.

2.3.4 Nükleik asit sentezini bozarak etki gösteren antibakteriyel ajanlar

Çoğu memeli hücrelerine de etkili olup antineoplastik olarak kullanılırlar. Memeli hücrelerine etkili olmayan kinolonlar ve rifamisinler gibi ajanlar kemaoterapötik olarak kullanılırlar. Kinolonlar (nalidiksik asit, oksolinik asit ve florokinolonlar), bakterinin türüne göre DNA-giraz enzimini (topoizomeraz) inhibe ederek DNA fonksiyonlarının bozulmasına neden olur. Memeli topoizomerazları farklı bir yapıda oldukları için etkilenmezler. Mitomisin ve benzerleri, DNA çift zinciri arasında çapraz bağlanmayı ve DNA replikasyonunu engelleyerek etkili oldukları bildirilmiştir. Rifamisinler (rifampisin ve rifabütin gibi), DNA'ya bağımlı RNA-polimeraz enzimini inhibe ederek mRNA sentezini yani transkripsiyonu engellerler.^{19,20}

Bu gruba giren ilaçlar: Kinolonlar, rifampisin.

2.3.5. İntermediyer metabolizmayı bozarak (antimetabolit etki) etki gösteren antibakteriyel ajanlar

Bunlar bakteri metabolizması için gerekli olan bazı maddelerin (folik asit gibi) sentezini önlerler. Bakteriler için antimetabolit niteliğinde olan maddelerdir.^{19,20}

Bu gruba giren ilaçlar: Sülfonamidler, sülfonlar, izoniazit, para aminosalisilik asit (PAS).

2.4. Antibakteriyel Bileşiklerin Etki Derecesi

Kemoterapötikler mikroorganizmalar üzerinde yaptıkları etkinin derecesine göre iki gruba ayrılırlar: Bakteriyostatik olanlar ve bakterisit olanlar.^{21,22}

Bakteriyostatik etki: Bakteri hücrelerinin gelişmesinin ve üremesinin durdurulmasıdır. Gelişmesi ve üremesi durdurulan bakteriler, vücudun savunma sistemleri tarafından yok edilir. Bakteriyostatik etki gücünün göstergesi minimum inhibitör konsantrasyondur (MİK). Bu değer ne kadar küçükse ilacın bakteriyostatik etki gücü o kadar fazladır.^{21,22}

Bakterisit etki: Bakteri hücrelerinin direkt olarak öldürülüp yok edilmesidir. Bakterisit etki gücünün göstergesi minimum bakterisit konsantrasyondur (MBK).^{21,22}

2.5. Direnç Gelişmesi ve Direnç Çeşitleri

Bakteri ve diğer mikroorganizmaların bir özelliği olup genel anlamıyla onların kemoterapötik ilaç tarafından etkilenmemesi demektir. Antibiyotik direnci iki başlık altında sınıflandırılabilir:

2.5.1. Doğal Direnç: Bazı mikroorganizma türleri belirli bir kemoterapötik ilaca doğal olarak dirençlidir yani o ilaç tarafından etkilenmezler.¹⁹

2.5.2. Kazanılmış Direnç: Bakteri popülasyonunun ilaçla ilk temasa gelişinde ilaç bakteriler üzerinde etkilidir. Ancak temas süresi boyunca veya yinelenen temas sırasında antibakteriyel etkisine karşı direnç gelişir. Direnç gelişiminin göstergesi ilacın o mikroorganizmadaki MİK ve MBK değerlerinin giderek yükselmesidir.¹⁹

Kazanılmış direnç iki türlü meydana gelebilir:

- kromozomal mutasyonla oluşan direnç
- plazmid ve transpozonlar aracılığı ile olan direnç

2.5.2.1. Kromozomal mutasyonla olan direnç

Bu şekilde dirence yol açan mutasyon olayı bakterinin kemoterapötik ilaç ile temasına bağlı değildir. Mutasyon bakteride genellikle spontan olarak oluşmaktadır. Kromozomal mutasyonla olan direncin plazmidler veya transpozonlar aracılığı ile olana göre daha seyrek görüldüğü bildirilmiştir.¹⁹

2.5.2.2. Direnç geninin alınmasına bağlı kazanılmış direnç (Plazmid ve transpozon aracılı)

Plazmidler bakterilerin kromozomları dışında kalan ufak DNA parçalarıdır, kromozomlardan bağımsız olarak replikasyona uğrarlar. Direnç genleri taşıyan plazmidlere direnç plazmidleri (R plazmidleri) adı verilir. Direncin taşınmasında rol oynayan diğer bir özel DNA parçası transpozondur. Bunlar hem kromozomal DNA hem de plazmidler üzerine sokulabilen daha ufak ve hareketli DNA parçalarıdır.¹⁹

2.5.2.2.1. Plazmidlerin transferinde rol oynayan mekanizmalar^{19,21}

Transdüksiyon

Bakteriofajlar yani bakteri virüsleri dirençli plazmidin taşıyıcılığını yapar.

Konjugasyon

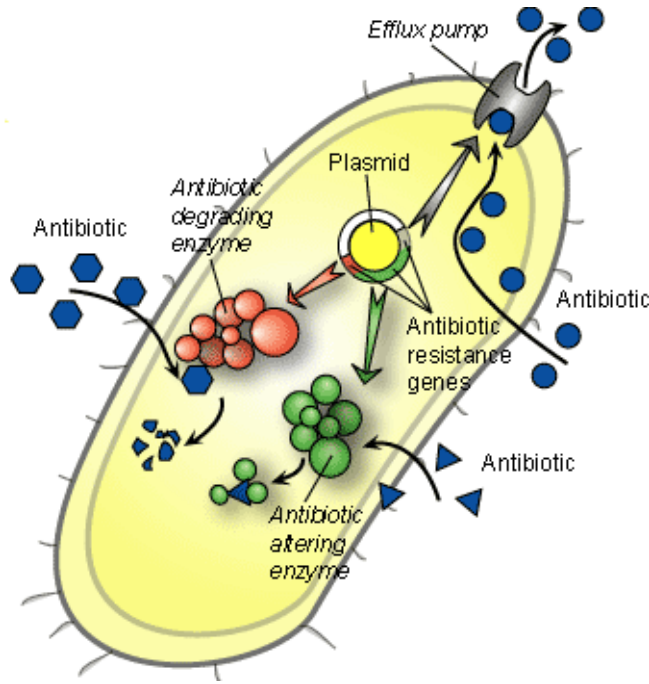
Dirençli bakteri, duyarlı bakteriyle sitoplazma köprüsü oluşturur ve R plazmidlerinden biri duyarlı hücreye geçer ve onu dirençli yapar.

Transformasyon

Bakterinin lizisi sonucu ortama dökülmüş R plazmidleri veya DNA kırıntıları duyarlı bakteri tarafından alınır, dirençli duruma geçer.

Hücreden hücreye taşınan bu direnç materyalleri bakteri hücrelerinde çeşitli olaylara neden olmaktadır.¹⁹ Bunlar;

- İlacı parçalayan veya değiştiren enzimlerin oluşması
- İlacın hücre içindeki hedefine bağlanmasının azalması
- Hücre çeperinin ilaca geçirgenliğinin azalması
- İlacın hücre dışına atılması (efflux)



Şekil 5: Direnç genlerinin bakteri hücrelerinde neden olduğu olaylar

Bir kemoterapötik ajan çeşidine karşı duyarlılığını kaybeden bakteri türü, bu bileşiğe yakın kimyasal yapıda olan veya farklı yapıda olup, benzer etki mekanizmasına sahip olan bileşiklere de direnç kazanabilir. Birden fazla antibakteriyel bileşiğe karşı gelişen dirence “Çapraz Direnç” denir.¹⁹

2.6. Antimikrobiyal Aktivite İçin *In Vitro* Tayin Yöntemleri

Kemoterapötiklerin mikroorganizma üzerindeki bakteriyostatik veya bakterisit etkinliklerini *in vitro* olarak saptamak veya mikroorganizmanın kullanılan kemoterapötik ajana karşı duyarlılığını *in vitro* olarak belirlemek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir.

Bu tayinlerin yapılması klinik tedavide uygun antimikrobiyalin kullanılmasını sağlar. Sonuç olarak antimikrobiyal ajanlara karşı direnç gelişmesi de önlenmiş olur.

Antimikrobiyal aktivite *in vitro* koşullarda difüzyon ve dilüsyon olmak üzere iki yöntemle belirlenir.

Difüzyon yönteminde petri kutusunda hazırlanan katı besi yeri üzerine antibiyotik duyarlılık durumu saptanacak mikroorganizma yayılır ve üzerine belirli aralıklarla antibiyotik emdirilmiş diskler yerleştirilir. Her bir diskte bilinen dozda antibiyotik bulunur. İnkübasyondan sonra, antibiyotik diskleri çevresinde farklı çapa sahip üreme inhibisyon zonlarının oluşup oluşmadığı incelenerek değerlendirme yapılır. Hiç üreme inhibisyon zonu olmaması o mikroorganizmanın o antibiyotiğe dirençli olduğunu gösterir.²¹

Dilüsyon yönteminde antimikrobiyal ajanın MİK ve MBK değerleri saptanır. Dilüsyon yönteminde temel kural sıvı veya katı besi yeri içinde antimikrobiyalın belirli konsantrasyonları hazırlanarak mikroorganizma ile muamele edilir. İnkübasyondan sonra, antimikrobiyal ajanın hangi konsantrasyonda mikroorganizma üzerinde etkili olduğu belirlenir.²¹

Difüzyon yöntemi sadece katı besi yerlerine uygulanabildiği halde, dilüsyon yöntemi hem katı hem sıvı besi yerlerine uygulanabilir

Sıvı besiyerlerinde mikroorganizmalarla antimikrobialer doğrudan temasta buldukları için sonuçlar daha duyarlıdır. Ancak bu besiyerlerinde mikroorganizmalar üremeleri esnasında olabilecek değişikliklerden daha kolay etkilenirler.

In vitro olarak yapılan yöntemlerde Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI-Clinical and Laboratory Standards Institute) tarafından belirlenen standartlar kullanılmaktadır.

Kullanılan yöntemlerin temel prensipleri farklı olsa da genel olarak dikkat edilmesi gereken noktalar vardır. Kullanılacak olan antibakteriyel ajan miktarının hassas olması, saf olması ve herhangi bir mikrobiyolojik etkinliği olmayan uygun çözücüde çözülmüş olması gerekmektedir.

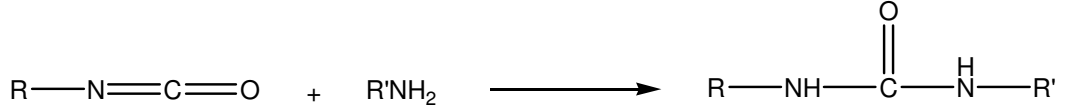
Standart olarak kullanılan antibakteriyel ajanlar hazırlanırken kimyasal ve fiziksel özellikleri göz önünde bulundurulmalıdır.

Deneylerde kullanılan malzemeler steril olmalıdır. Mikroorganizmaların besi yerlerine ekilecek olan inokulum miktarlarının standartlarına uygun olması gerekmektedir. Kullanılan besiyerleri mikroorganizmaların iyi üredikleri besi yerleri olmalı ve uygun pH da olmalıdır. Çünkü pH daki farklılıklar antimikrobiyal ajanların etki ve potensinde artmaya veya azalmaya neden olabilmektedir. İnkübasyon süresi kullanılan mikroorganizmanın cinsine göre uygun değerde olmalıdır.

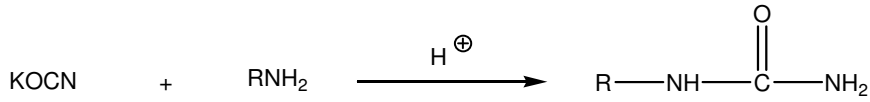
21,22

2.7. Üre ve Tiyüre Türevlerinin Genel Sentez Yöntemleri

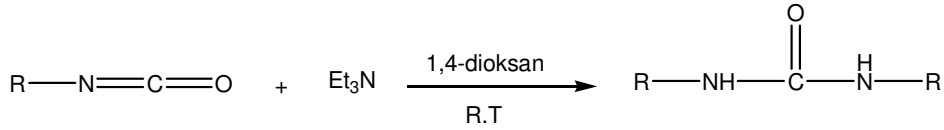
Primer aminlerin izosiyanatlar ile tepkimesinden sübstitüe üre türevlerinin elde edildiği bildirilmiştir.^{23,24}



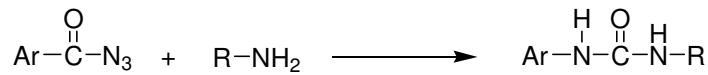
Potasyumsiyanatın primer aminler ile tepkimesinden sübstitüe üre türevleri sentez edilmiştir.²⁵



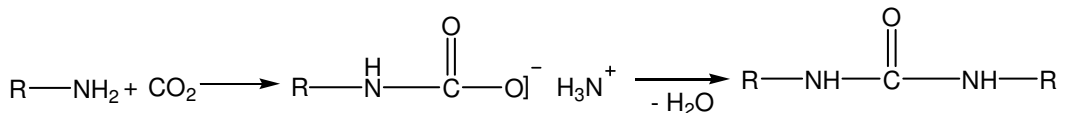
Alifatik veya aromatik izosiyanatların dioksan içinde oda sıcaklığında trietilamin ile tepkimesinden elde edilen ürünün suyla muamelesinden simetrik üre türevlerinin elde edildiği bildirilmiştir.²⁶



Aromatik açıl azitlerin aminler ile tepkimesinden üre türevlerinin elde edildiği bildirilmiştir.²⁷



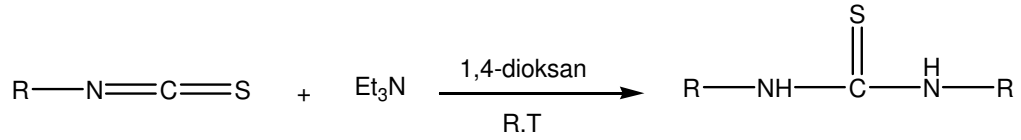
Primer aminlerin karbondioksit ile tepkimesinden oluşan N-alkilkarbamik asit amin tuzlarının ısıtılması ile simetrik üre türevleri hazırlanmıştır.²⁸



Amonyumtiyosiyanatın primer aminler ile tepkimesinden sübstitüe tiyoüre türevleri sentez edilmiştir.²⁹



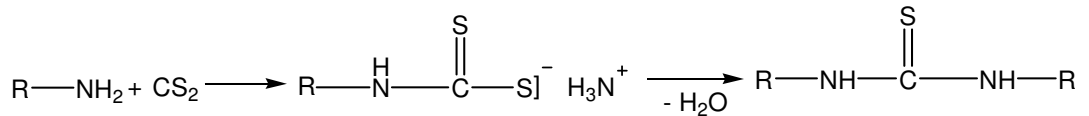
Alifatik veya aromatik izotiyosiyanatların dioksan içinde oda sıcaklığında trietilamin ile tepkimesinden elde edilen ürünün suyla muamelesinden simetrik tiyoüre türevlerinin elde edildiği bildirilmiştir.³⁰



Amonyak ve primer aminlerin izotiyosiyanatlar ile tepkimesinden sübstitüe tiyoüre türevlerinin elde edildiği literatürde kayıtlıdır.³¹⁻³²



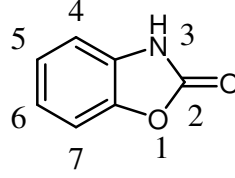
Primer aminlerin karbonsülfür ile tepkimesinden oluşan N-alkilditiyokarbamat tuzlarının ısıtılması ile simetrik tiyoüre türevleri hazırlanmıştır.²⁸



2.8. 2-Okso-3*H*-Benzoksazol ve Türevleri

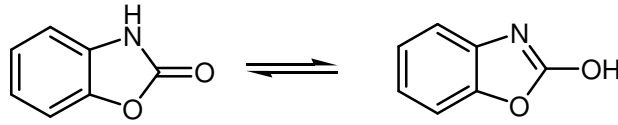
2.8.1. 2-Okso-3*H*-benzoksazol İle İlgili Genel Bilgiler

2-Okso-3*H*-benzoksazol, benzen ve 2-oksazolinon halkalarının kaynaşmasından oluşmuş heterosiklik bir bileşiktir. 2-Okso-3*H*-benzoksazol, 2-benzoksazolinon ve 2(3*H*)-benzoksazolon olarak da isimlendirilmektedir.³³



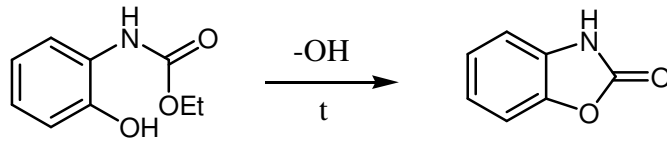
2-Okso-3*H*-benzoksazol, erime derecesi 139-140 °C olan bir bileşiktir.³⁴ 2-Okso-3*H*-benzoksazolün sulu çözeltilerinde pH<5'te noniyonize, pH>11.5'de iyonize halde bulunduğu bildirilmiştir.³⁵

2-Okso-3*H*-benzoksazol, 2-hidroksibenzoksazol ile totomerizm gösterir. Spektral ve kimyasal bulgulara dayanılarak bu totomer dengenin laktam formu lehine olduğu belirtilmiştir.³⁶

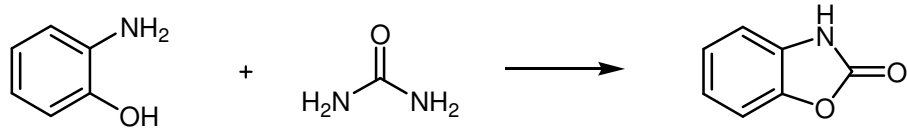


2.8.2. 2-Okso-3*H*-benzoksazol Yapısının Genel Sentez Yöntemleri

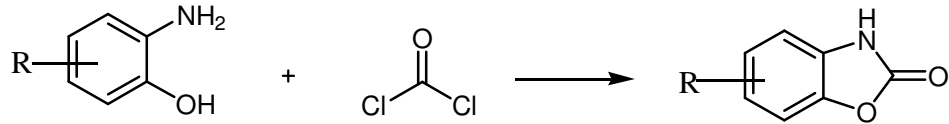
2-Okso-3*H*-benzoksazol halkası ilk kez 1876 yılında Groenvik tarafından etil(2-hidroksifenil)karbamattan hareketle sentez edilmiştir.³⁷



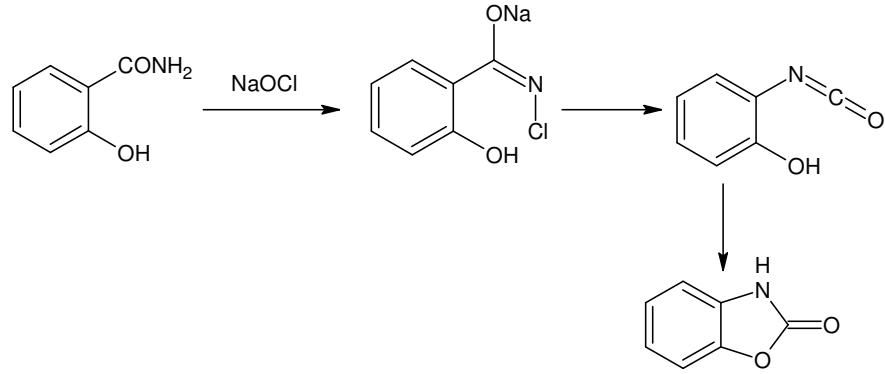
o-Aminofenol veya tuzlarının üre ile reaksiyona sokularak 2-okso-3*H*-benzoksazol elde edilmesi ilk defa Sandmeyer tarafından gerçekleştirilmiştir.³⁸



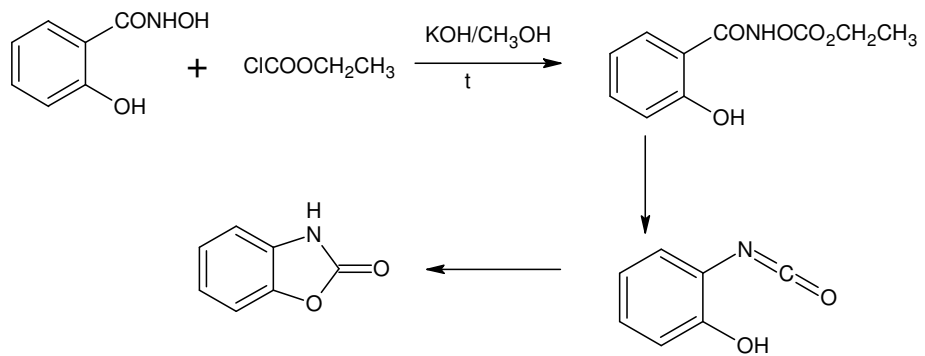
Close ve arkadaşları *o*-aminofenol ve fosgenden hareketle, etilasetat içerisinde ve susuz potasyum asetat varlığında % 90 verimle 2-okso-3*H*-benzoksazol elde etmiştir.³⁴



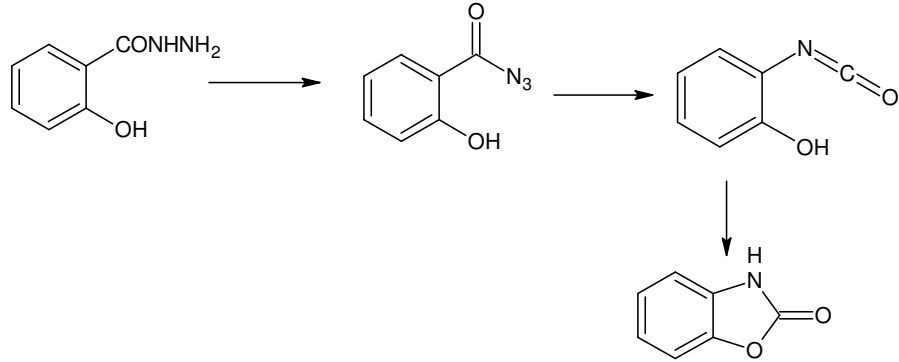
Graebe ve Rostovzeff salisilamitten hareketle Hoffman tepkimesi şartlarında oluşturulan izosiyanat türevi üzerinden 2-okso-3*H*-benzoksazol elde edilebileceğini belirtmişlerdir.³⁹



Ostaszynski ve arkadaşları, salisilhidroksamik asit ve etilkloroformat ile Lossen çevrilmesi sonucu 2-okso-3*H*-benzoksazol elde etmişlerdir.⁴⁰

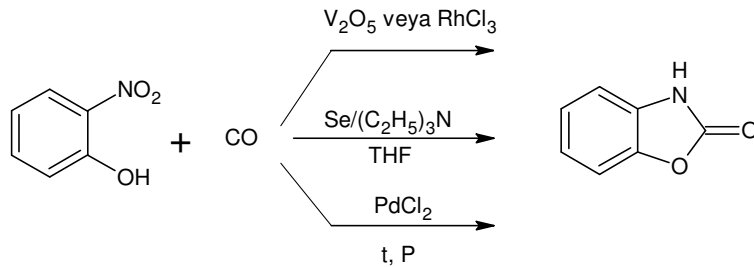


Curtius tepkimesi şartlarında, salisilhidrazitten hareketle 2-okso-3*H*-benzoksazol hazırlanabilmektedir.³³

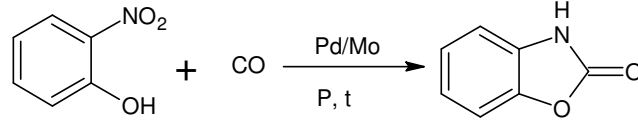


2-Okso-3*H*-benzoksazol eldesinde salisilik asit ve türevlerinden yararlanılmış, ancak bu yöntemler verimin düşüklüğü ve saflaştırma işlemlerindeki güçlükler nedeniyle önemini yitirmiştir.

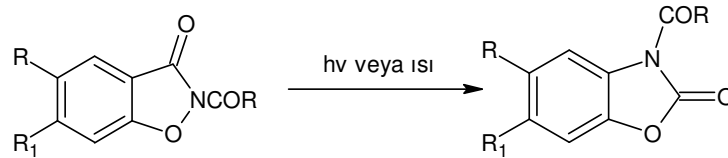
Yamahara ve Takamatsu 1973 yılında, *o*-nitrofenol ve karbon monoksitten hareketle vanadyum oksit veya rodyum klorür varlığında % 88 verimle⁴¹, Nagase 1983 yılında *o*-nitrofenol ve karbon monoksitten hareketle selenyum ve trietilamin varlığında %97 verimle⁴², White ise 1986 yılında yüksek ısı ve basınçta *o*-nitrofenol ve karbon monoksitten hareketle palladyum klorür ve piridin varlığında %91 verimle⁴³ 2-okso-3*H*-benzoksazol elde etmiştir.



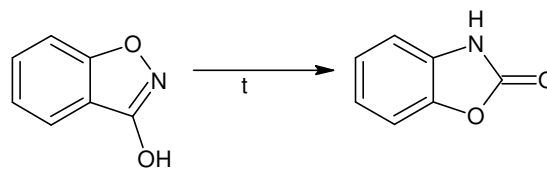
Kervennal ve Cognion ise *o*-nitrofenolü, piridin-1,2-diklorobenzen karışımında, Pd-Mo varlığında, karbon monoksit ile 200 bar basınç ve 200°C sıcaklıkta sıcaklıkta tepkimeye sokarak 2-okso-3*H*-benzoksazol sentezlemiştir.⁴⁴



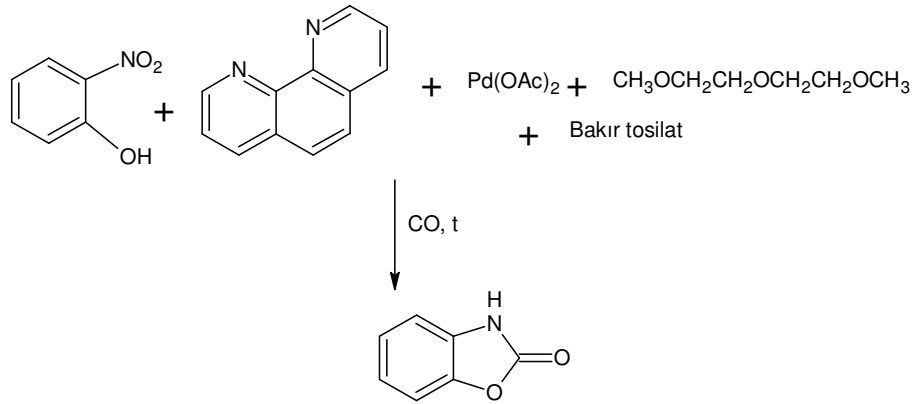
Boeshagen ve Geiger, 3-okso-1,2-benzoksazol'un ısı sonucu %50-80 verimle, fotokimyasal olarak ise %80-90 verimle 2-okso-3*H*-benzoksazol'a çevrildiğini bildirmişlerdir.⁴⁵



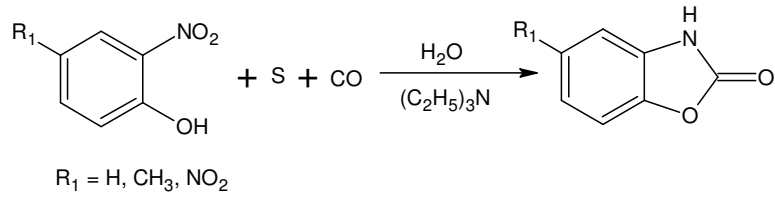
Benzer bir çalışmada 3-hidroksi-1,2-benzoksazolün basınç altında 450°C'de ısıtılmasıyla 2-okso-3*H*-benzoksazol'a çevrildiği bildirilmiştir.⁴⁶



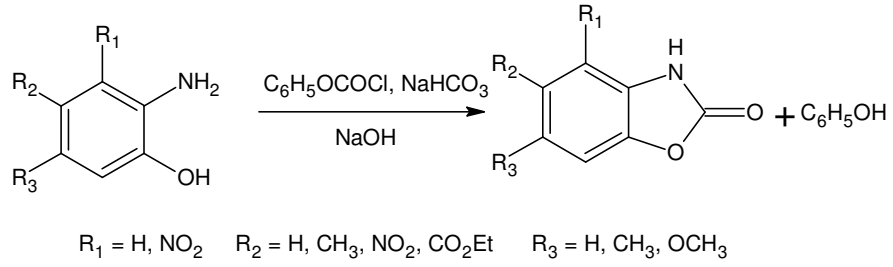
Drent, o-nitrofenol, fenentrolin, palladyum asetat, bis (2-metoksieter) (diglim) ve bakır tosilat karışımının otoklavda 75 bar basınç altında 145°C'de karbon monoksit ile 4 saat ısıtılması sonucu %100 verimle 2-okso-3*H*-benzoksazol elde edildiği bildirilmiştir.⁴⁷



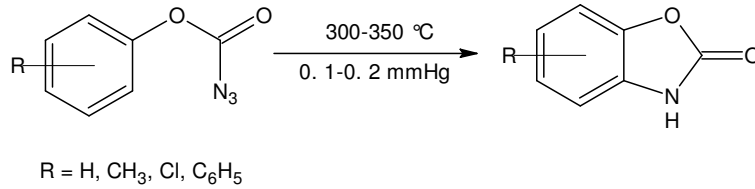
1988 Yılında yapılan bir çalışmada ise 4-sübstitüe-2-nitrofenolün trietilamin varlığında su, elementel kükürt ve karbon monoksit ile redüktif karbonilasyonu ile 2-okso-3*H*-benzoksazol elde edilebileceği belirtilmiştir.⁴⁸



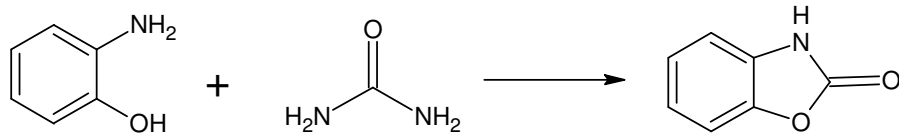
2-Okso-3*H*-benzoksazol türevleri o-aminofenollerin fenil kloroformatla tepkimesi ile de elde edilebilmektedir.⁴⁹



Meth-Cohn ve Rhouati, azidoformatlardan hareketle geliştirdikleri 'sprey piroliz' yöntemiyle molekül içi nitren atağını içeren bir mekanizma ile 2-okso-3*H*-benzoksazol sentez ettiklerini bildirmişlerdir.⁵⁰



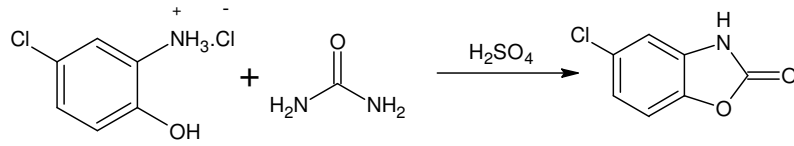
Khajavi ve arkadaşları 1996 yılında yaptıkları çalışmada 2-aminofenol ve üreden hareketle mikrodalga ışınımı varlığında %89 verimle 2-okso-3*H*-benzoksazol elde etmişlerdir. Mikrodalga ışınımına maruz kalma işlemi reaksiyonun kontrolü açısından iki basamak şeklinde ve basamaklar arasında soğutma süresi uygulanarak gerçekteşmiştir.⁵¹



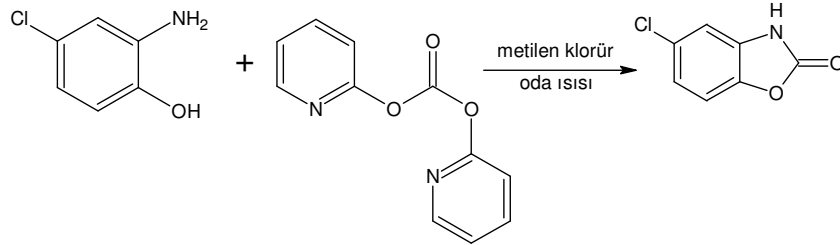
1. Basamak = 210 Watt, 1 dakika
2. Basamak = 385 Watt, 2, 5 dakika

2.8.3. 5-Kloro-2-okso-3H-benzoksazol Yapısının Genel Sentez Yöntemleri

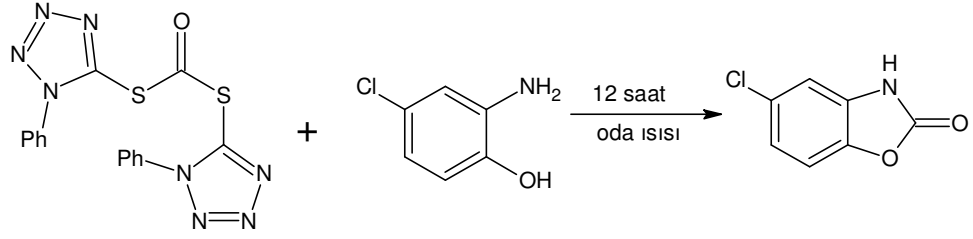
2-Amino-4-klorofenol hidroklorürün üre ile %60'lık sülfürik asit varlığında tepkimesi sonucu % 95 verimle kas gevşetici etkili 5-kloro-2-okso-3H-benzoksazol (klorzoksazon) elde edildiği bildirilmiştir.⁵²



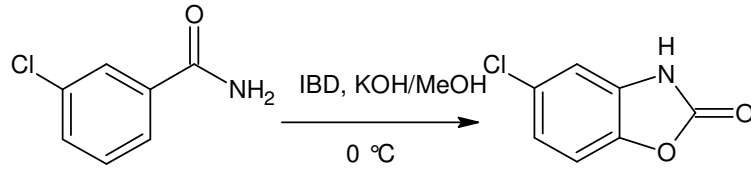
1986 Yılında yapılan bir çalışmada 4-kloro-2-aminofenolün ekivalan miktarda di-2-piridil karbonat (2-DPC) ile metilen klorür içinde tepkimesi sonucu %94 verimle 5-kloro-2-okso-3H-benzoksazolun elde edildiği bildirilmiştir.⁵³



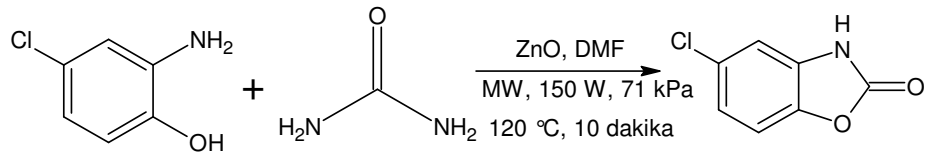
1989 Yılında yapılan bir çalışmada, S,S'-bis(1-fenil-1H-tetrazol-5-il) ditiyokarbonat ve 4-kloro-2-aminofenolün oda ısısında reaksiyonu sonucu %92 verimle 5-kloro-2-okso-3H-benzoksazolun elde edildiği bildirilmiştir.⁵⁴



Prakashe ve arkadaşları, 2001 yılında yaptıkları bir çalışmada 5-klorosalisilamitin iyodobenzen diasetat (IDB) ile tepkimesi sonucu %68 verimle 5-kloro-2-okso-3*H*-benzoksazolone elde edildiğini bildirmişlerdir.⁵⁵



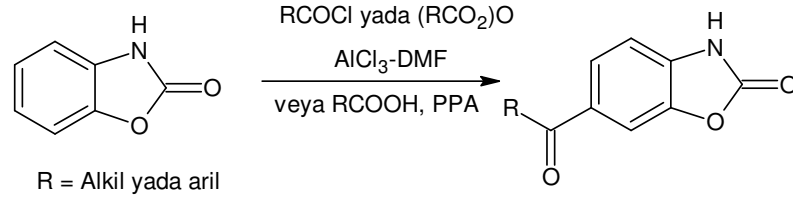
Kim ve Varma, 2004 yılında yaptıkları bir çalışmada, 4-kloro-2-aminofenol ve ürenin çinkooksit katalizörü varlığında mikrodalga ışınımı altında tepkimesi sonucu %75 verimle 5-kloro-2-okso-3*H*-benzoksazolone elde edildiğini belirtmişlerdir.⁵⁶



2.8.4. 2-Okso-3H-benzoksazol Yapısının Kimyasal Tepkimeleri

2.8.4.1. Benzen Halkasına Sübstitüsyon Tepkimeleri

2-Okso-3H-benzoksazoldaki benzen halkası üzerine açıl grubunun elektrofilik sübstitüsyonunun, Friedel-Crafts açılasyonu şartlarında (polifosforik asit (PPA) içinde karboksilli asitlerle veya $AlCl_3$ -DMF veya $AlCl_3$ - CS_2 içerisinde asit klorür veya anhidritlerle) molekülün 6 numaralı konumundan gerçekleştiği belirlenmiştir.⁵⁷

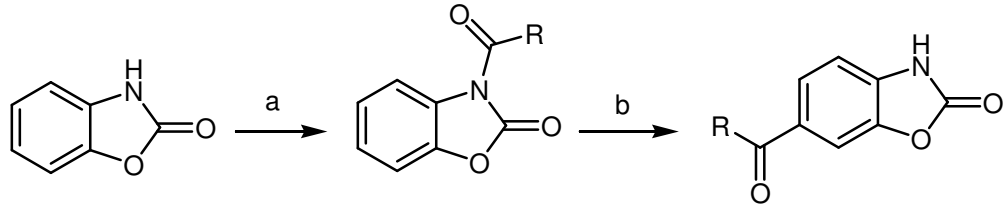


2-Okso-3H-benzoksazolun benzen halkasının Friedel-Crafts açılleme tepkimelerinde; açılleyici ajan olarak asit klorürü veya anhidritleri, katalizör olarak Lewis asitleri, özellikle alüminyum klorür, çözücü olarak da karbon sülfür, nitrobenzen veya diklorometan kullanılmaktadır.⁵⁷ Açılleme tepkimelerinde $AlCl_3$ -DMF/ 2-okso-3H-benzoksazol oranının 7-11 olduğu durumlarda verimde ve hızda artış görülmektedir.⁵⁷

2-Okso-3H-benzoksazolun açıllemesi, Friedel-Crafts açılleme tepkimesinden başka çözücü ve katalizör olarak PPA kullanılarak da gerçekleştirilmektedir. Alifatik, aromatik ve arilalifatik karboksilli asitlerle yapılan açılleme tepkimeleri polifosforik asit içerisinde yüksek verimle yürümektedir.⁵⁸ PPA polimer bir yapıya sahiptir, organik maddeler için iyi bir çözücüdür ve aromatik sübstitüsyon tepkimesine girme eğilimi göstermez. Akışkanlığının az olması nedeniyle PPA ile 90 °C'nin altında

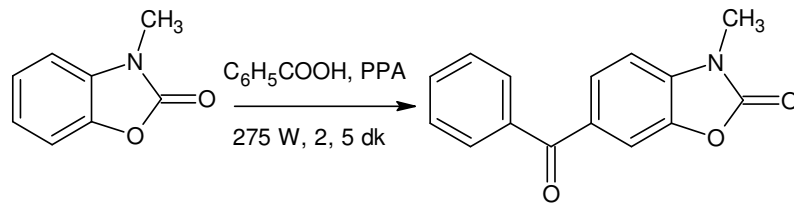
çalışılması zordur. Ayrıca PPA'nın tepkimesi sonrası hidrolizi güçtür. Bu kullanım zorluklarına rağmen PPA açilleme tepkimelerinde en çok tercih edilen çözücüdür.

AlCl_3 -DMF rejanı kullanımı sırasında AlCl_3 tüketiminin fazla olması ve en iyi koşullarda bile 6-benzoil-2-okso-3*H*-benzoksazolun verimin düşük olması nedeniyle, Uçar ve arkadaşları 2-okso-3*H*-benzoksazolu 6. konumundan açillemek için önce 2-okso-3*H*-benzoksazolu 3 numaralı konumundan asit anhidrit veya açil halojenür varlığında trietilamin ve THF içerisinde açilemiş, daha sonra N-açil türevini AlCl_3 ile 165°C 'de 3 saat ısıtarak 6-açil türevini yüksek verimle elde etmiştir.⁵⁹

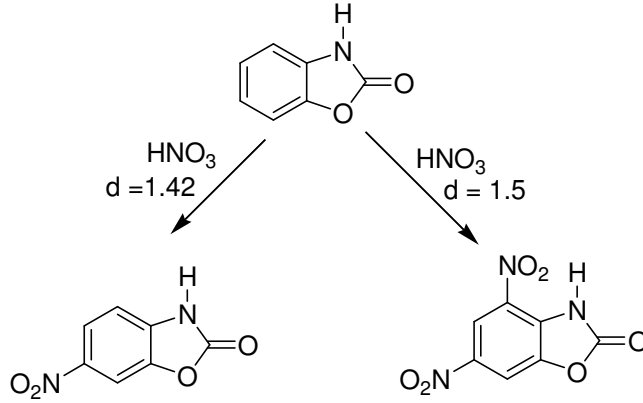


a = RCOCl veya $(\text{RCO})_2\text{O}$, TEA, THF, reflux, 2 saat
b = AlCl_3 , 165°C , 3 saat

1999 Yılında yapılan bir çalışmada, Liacha ve arkadaşları 3-metil-2-okso-(3*H*)-benzoksazol ve benzoik asitten hareketle, mikrodalga reaktörü içerisinde 275 Watt kullanarak 2,5 dakika sonunda %65 verimle 6-benzoil-3-metil-2-okso-(3*H*)-benzoksazol elde etmişlerdir.⁶⁰

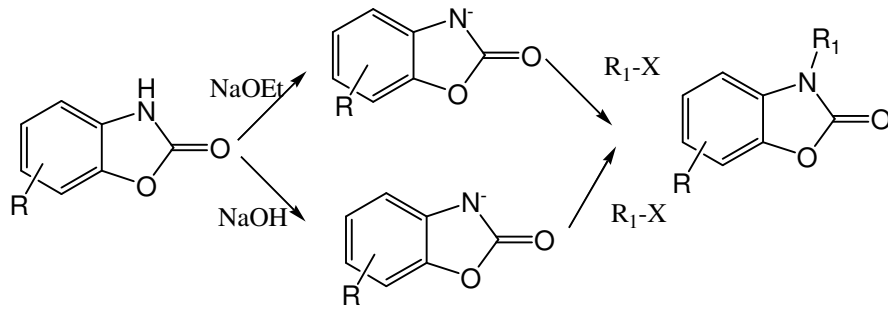


2-okso-(3*H*)-benzoksazol nitrik asit ile nitrolandığında kullanılan nitrik asitin yoğunluğuna bağlı olarak 6-nitro veya 4,6-dinitro-2-okso-(3*H*)-benzoksazol elde edildiği bildirilmiştir.⁶¹



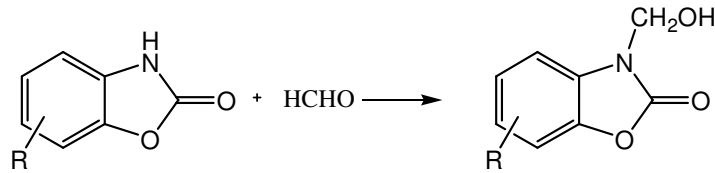
2.8.4.2. 3 Numaralı Konumdan Süstitüsyon Tepkimeleri

2-okso-3*H*-benzoksazol bazik ortamda alkil halojenürler ile 3-alkil türevlerini verirler.³⁴

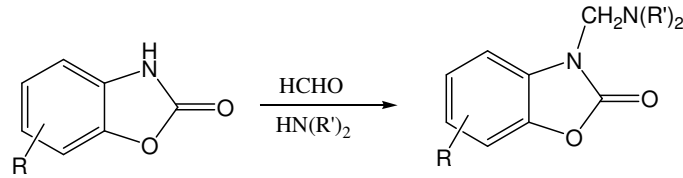


2-okso-3*H*-benzoksazollerin metil iyodürün yanı sıra dimetilsülfat ve diazometanla da tepkimeye girerek 3-metil türevlerine dönüştüğü bildirilmiştir.^{62,63} Koyama ve arkadaşları 2-okso-(3*H*)-benzoksazol ve diazometanın, reaksiyonu sonucu daha çok 3-metil-2-okso-benzoksazol ve bunun yanısıra da bir miktar 2-metoksibenzoksazol yapısında bileşikler elde etmişlerdir.⁶⁴

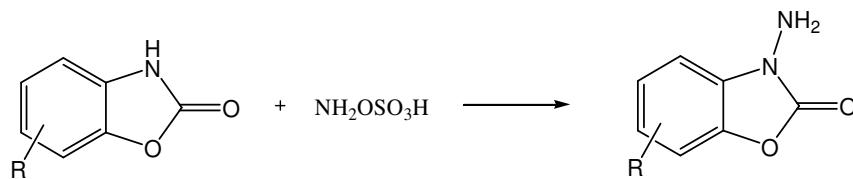
2-okso-3*H*-benzoksazollerin formaldehit ile reaksiyonu sonucu 3-hidroksimetil-2-okso-benzoksazol hazırlanmıştır.⁶⁵



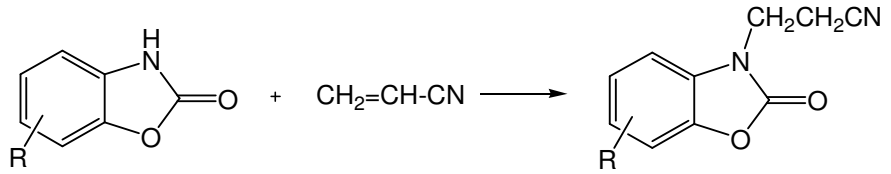
Sekonder amin varlığında Mannich bazlarını verdikleri bildirilmiştir.^{65,66}



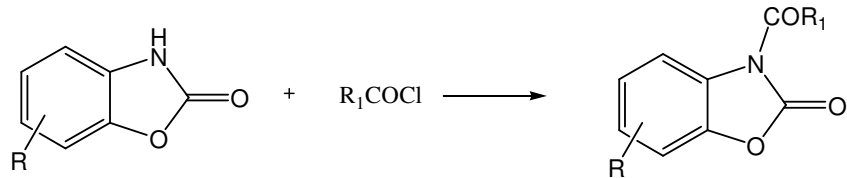
Hidroksilamin-o-sülfonik asit ile 3-amino-2-okso-3*H*-benzoksazol hazırlanmıştır.⁶⁷



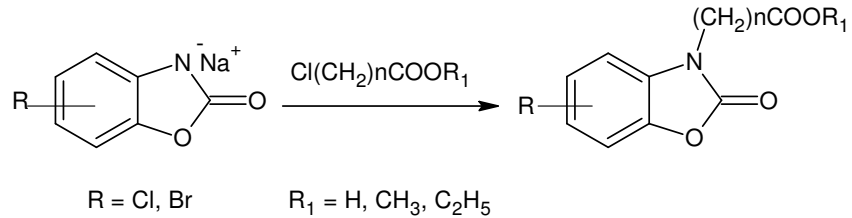
Akrilonitril ile 3-(2-siyanoetil)-2-okso-3*H*-benzoksazol elde edilmiştir.⁶⁸



2-okso-(3*H*)-benzoksazollerin asit klorürleri ile tepkimelerinden 3-açıl-2-okso-3*H*-benzoksazol yapısında ürünler hazırlanmıştır.⁶⁹

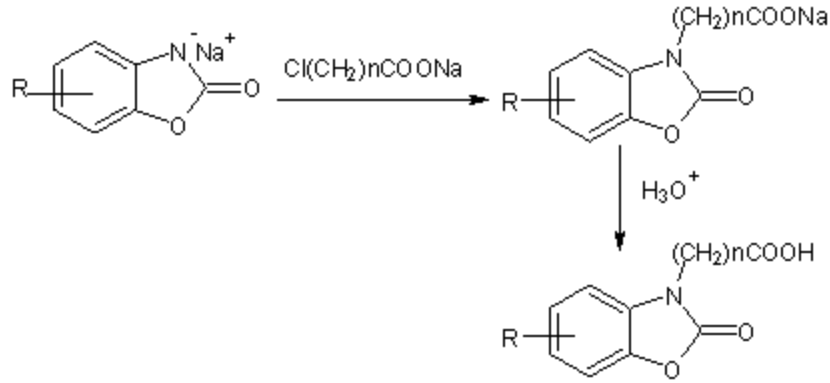


Alkil (2-okso-3*H*-benzoksazol-3-il)alkanoat türevlerinin sentezinde genel olarak kullanılan yöntem 2-okso-3*H*-benzoksazolun sodyum tuzunun oluşturulması ve daha sonra bu tuzun haloalkanoik asit esterleri ile uygun çözücü içerisinde tepkimeye sokulmasıdır.⁵⁸

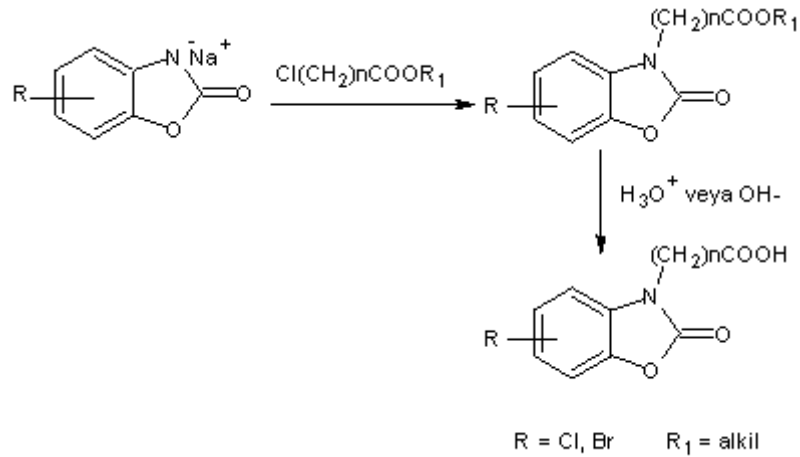


(2-Okso-3*H*-benzoksazol-3-il)alkanoik asit türevleri üç farklı yöntemle elde edilebilirler.

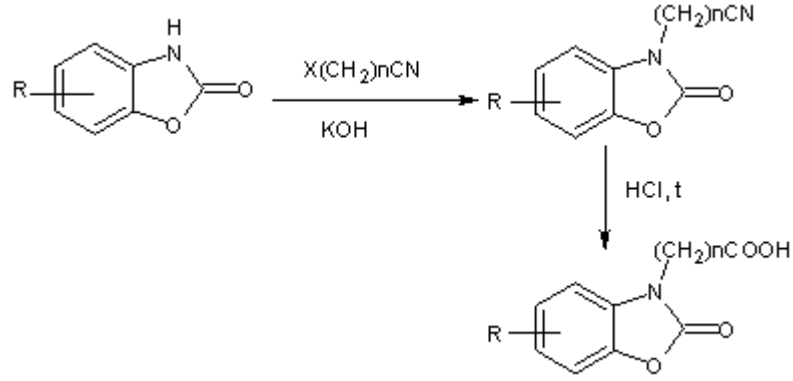
2-Okso-3*H*-benzoksazolun sodyum tuzunun haloalkanoik asit türevlerinin sodyum tuzları ile tepkimeye sokulmasıyla (2-okso-3*H*-benzoksazol-3-il)alkanoik asit türevleri elde edilebilmektedir.⁷⁰



Haloalkanoik asit esterleri ile 2-okso-3*H*-benzoksazolun sodyum tuzunun tepkimesinden elde edilen (2-okso-3*H*-benzoksazol-3-il)alkanoik asit esterlerinin hidroliz edilmesiyle (2-okso-3*H*-benzoksazol-3-il)alkanoik asit türevleri elde edilebilmektedir.⁷¹



Değişik yöntemlerle elde edilen 3-(2-siyanoalkil)-2-okso-3*H*-benzoksazol türevlerinin asit ortamda hidrolizi ile (2-okso-3*H*-benzoksazol-3-il)alkanoik asit türevleri elde edilmiştir.⁷²



2.9. 2-Okso-3*H*-Benzoksazol Türevlerinin Biyolojik Etkileri

2-Okso-3*H*-benzoksazolün özellikle 3, 5 ve 6 numaralı konumlarından yapılan süstitüsyonlar ile farklı biyolojik etkiye sahip pek çok bileşik elde edilmiştir. 2-Okso-3*H*-benzoksazol türevlerinin hipnotik⁷³, antikonvülsan^{74,75}, kas gevşetici⁷⁶, analjezik antiienflamatuvar⁷⁷⁻⁷⁹, antihipertansif⁸⁰, kardiyotonik⁸¹, antiülser⁸² ve antioksidan⁸³ olduğu bildirilmiştir.

2.9.1. Antibakteriyel ve Antifungal Etkili 2-Okso-3*H*-Benzoksazol Türevleri

2-Okso-3*H*-benzoksazolün antibakteriyel etkinliği ilk olarak Martin ve Moss tarafından çalışılmış ve bileşiğin *P. aeruginosa*'ya karşı etkili olduğu bildirilmiştir.⁸⁴ Daha sonra Lespagnol ve arkadaşlarının 2-okso-3*H*-benzoksazolün *E. coli*'ye karşı etkili olduğunu belirtmesiyle bu alandaki çalışmalar yoğunlaşmıştır.⁸⁵

Virtanen ve arkadaşları 2-okso-3*H*-benzoksazol ve 6-metoksi-2-okso-3*H*-benzoksazolün *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı antibakteriyel, *penicillum* ve *aspergillus*'a karşı antifungal etkinliği olduğunu bildirmişlerdir.^{86,87}

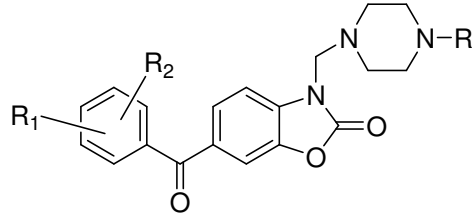
Noda ve Tacquet ise yaptıkları farklı çalışmalarda bazı 2-okso-3*H*-benzoksazol türevlerinin tüberklostatik etkinliklerini saptamışlardır.^{88,89}

İlerleyen yıllarda çeşitli araştırmacılar tarafından 2-okso-3*H*-benzoksazolün Mannich bazları hazırlanmış ve bu bileşiklerin antibakteriyel ve antifungal etkinliği incelenmiş, oldukça yüksek etkinliğe sahip oldukları bildirilmiştir.⁹⁰⁻⁹³

Erdoğan ve arkadaşları 3,6-diaçil-2-okso-3*H*-benzoksazol türevi bileşiklerin *Shigella flexneri*, *Salmonella typhi*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *S. aureus* ve β -hemolitik *Streptococcus*'a karşı antibakteriyel etkinlik gösterdiğini bildirmiştir.^{94,95}

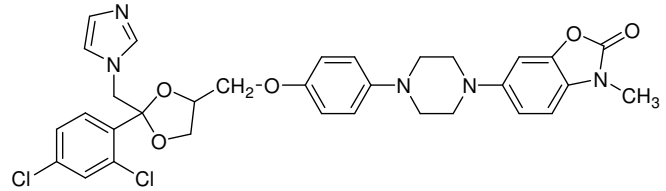
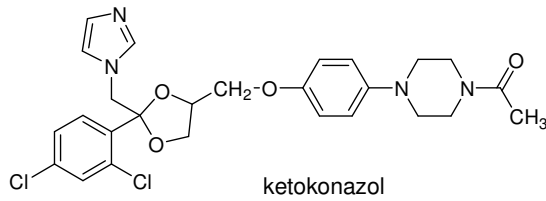
2-okso-3*H*-benzoksazol ve türevlerinin *Trichomonas vaginalis*'e karşı etkinlikleri incelenmiş ve bazı türevlerin metranidazolden daha güçlü etkinlik gösterdiği belirlenmiştir.⁹⁶

Gökhan ve arkadaşları 6-açıl-3-piperazinmetil-2-okso-3H-benzoksazol türevlerini sentezlemişler ve bazı bileşiklerde referanslara benzer antibakteriyel ve antifungal aktivite bulduklarını bildirmişlerdir.⁸



Yan zincirde 2-okso-3H-benzoksazol halkası taşıyan yeni sefalosporin türevi bileşikler sentez edilmiş. Bu bileşiklerden bazılarının *S. aureus* ve *S. epidermis*'e karşı sefaleksin ve sefazolinden daha güçlü antibakteriyel etkinliğe sahip oldukları bildirilmiştir.⁹⁷

Antifungal etkinliğe sahip ketokonazolün piperazin halkası üzerindeki asetil grubu N-metil-2-okso-3H-benzoksazol ile değiştirilerek yeni bileşiklere ulaşılmış ve antifungal etkinlikleri incelenmiştir.⁹⁸



3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Kimyasal Çalışmalar

3.1.1. Materyal ve Yöntem

3.1.1.1. Kimyasal Bileşikler

Bu çalışmada kullanılan tüm çözücüler teknik ve analitik niteliktedir. Bileşiklerin sentezinde kullanılan 5-kloro-2-okso-3*H*-benzoksazol, dimetil sülfat, benzilzosiyanat, 4-klorofenilzosiyanat, 4-metoksifenilzosiyanat, 4-klorofenilzotiyosiyanat, benzilzotiyosiyanat, 4-metoksifenilzotiyosiyanat, fenilzosiyanat ve p-tolilizosiyanat Aldrich, sodyum hidroksit, N,N-dimetilformamit Merck, kalay klorür, sodyum karbonat Acros, fenilzotiyosiyanat, nitrik asit Fluka, yapılan analizlerde kullanılan dimetilsülfoksit-d₆ (DMSO-d₆) Aldrich, potasyum bromür ve Silikajel 60 F₂₅₄ (Kat. No: 5554) Merck firmasının ürünleridir.

Sentezlerde hareket maddesi olarak kullanılan 5-kloro-3-metil-2-okso-3*H*-benzoksazol, 5-kloro-3-metil-6-nitro-2-okso-3*H*-benzoksazol ve 6-amino-5-kloro-3-metil-2-okso-3*H*-benzoksazol türevleri literatürde kayıtlıdır. Ancak nitro ve amino türevlerine ait fizikokimyasal ve spektral analiz verileri bulunmamaktadır .

3.1.1.2. Sentez Yöntemleri

3.1.1.2.1. 5-Kloro-3-metil-2-okso-3*H*-benzoksazol

18.00 g (0,1 mol) 5-kloro-2-okso-3*H*-benzoksazol 140 ml 1M sodyum hidroksit çözeltisinde çözüldü, daha sonra 16.2 ml (0.17 mol) dimetilsülfat ilave edildi. Karışım oda sıcaklığında 20 dakika karıştırıldı. Süre sonunda 100 ml su ilave edildi Çöken ürün süzüldü, kurutuldu. Elde edilen ürün 17.5 g. Verim: %89.74. Erime derecesi: 184°C.⁹⁹

3.1.1.2.2. 5-Kloro-3-metil-6-nitro-2-okso-3H-benzoksazol

170 ml nitrik asit üzerine sıcaklığın 40-50 °C arasında kalması sağlanarak 17.5 g (0.1 mol) 5-kloro-3-metil-2-okso-3H-benzoksazol porsiyonlar halinde ilave edildi. İlave sonunda balon içeriği buzlu suya boşaltıldı. 10 dakika karıştırıldı. Çöken madde süzüldü, kurutuldu. Elde edilen ürün 20.0 g. Verim: %91.86. Erime derecesi: 157°C.¹⁰⁰

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ 8.22 (s, 1H, H⁷), 7.78 (s, 1H, H⁴), 3.39 (s, 3H, -CH₃) ppm'de pikler görülür.

3.1.1.2.3. 6-Amino-5-kloro-3-metil-2-okso-3H-benzoksazol

20.0g (0.087 mol) 5-kloro-3-metil-6-nitro-2-okso-3H-benzoksazol ve 76 g (0.4 mol) kalay klorür üzerine 200 ml etanol ilave edildi. Balon içeriği geri çeviren soğutucu altında 1.5 saat kaynatıldı. Oda sıcaklığında % 25'lik sodyum hidroksit çözeltisi ile pH 11-12 arasına getirildi. 200 ml diklorometan ilave edildi. Fazlar ayrıldı. Diklorometan kuruluğa kadar uçuruldu. Metanol ilavesiyle çöken madde süzüldü, kurutuldu. Elde edilen ürün 15.0 g. Verim: % 86.3. Erime derecesi: 228°C.^{100,101}

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ 7.16 (s, 1H, H⁴), 6.75 (s, 1H, H⁷), 5.22 (s, 2H, -NH₂), 3.40 (s, 3H, -CH₃) ppm'de pikler görülür.

3.1.1.2.4. Üre ve Tiyoüre Türevlerinin Genel Sentez Yöntemleri

Yöntem -1:

0.5 g (2.5 mmol) 6-amino-5-kloro-2-okso-3-metil-benzoksazol 10 ml tetrahidrofuranda çözüldükten sonra, 3 mmol uygun izosiyanat veya izotiyosiyanat ilave edilerek karışım oda sıcaklığında karıştırıldı. Amino türevi tükeninceye kadar reaksiyona devam edildi. Çöken ürün süzüldü, kurutuldu, uygun çözücünden kristallendirildi.

Yöntem -2:

0.5 g (2.5 mmol) 6-amino-5-kloro-2-okso-3-metil-benzoksazol üzerine 11-16 mmol uygun izosiyanat veya izotiyosiyanat türevi ilave edilerek 100 °C'de karıştırıldı. Amino türevi tükeninceye kadar reaksiyona devam edildi. Metanol ve su ilave edilerek çöktürülen ürün süzüldü, kurutuldu, uygun çözücünden kristallendirildi.

Yöntem -3:

0.5 g (2.5 mmol) 6-amino-5-kloro-2-okso-3-metil-benzoksazol üzerine 2-3 mmol uygun izosiyanat veya izotiyosiyanat türevi ilave edilerek 65 °C'de karıştırıldı. Amino türevi tükeninceye kadar reaksiyona devam edildi. Çöken ürün süzüldü, kurutuldu, uygun çözücünden kristallendirildi.

3.2. Analitik Kontroller

3.2.1. Erime Derecesi Tayini

Bileşiklerin erime dereceleri "Elektrothermal 9300" erime derecesi tayin cihazında saptanmıştır.

3.2.2. İnce Tabaka Kromatografisi İle Yapılan Kontroller

3.2.2.1. Materyal

Plaklar: Bu çalışmada Silikajel 60 F₂₅₄ hazır plakları kullanılmıştır.

Çözücü sistemleri: Sentezlenen bileşiklerin gözlemlendiği ince tabaka kromatografisi çözücü sistemleri aşağıda belirtilmiştir.

S-1: n-Heksan: Etilasetat (50:50)

S-2: Diklorometan: Metanol (90:10)

S-3: Toluen: Metanol (80:20)

3.2.2.2. Yöntem

Sürüklenme şartları: Çözücü sistemleri kromatografi kuvvetlerine konulduktan sonra oda sıcaklığında doygunluk sağlanmıştır. Sentez edilen bileşikler ile başlangıç maddeleri uygun çözücülerde çözülerek hazır plaklara tatbik edilmiştir. Oda sıcaklığında bildirilen çözücü sistemlerinde sürüklenerek R_f değerleri saptanmıştır.

Lekelerin Belirlenmesi: Sentez edilen bileşikler ve sentez başlangıç maddelerine ait lekeler, UV lambası (254 nm ve 366 nm) kullanılarak belirlenmiştir.

3.2.3. Spektroskopik Yöntemler

3.2.3.1. ¹H NMR Spektrumları

Spektrumlar bileşiklerin DMSO-d₆ içindeki çözeltisinde, Fargem A. Ş. deki Varian Mercury 300 MHz NMR spektrometresinde alınıp, δ (ppm) skalasında değerlendirilmiştir.

3.2.4. Elementel Analizler

Bileşiklerin elementel analizleri CHNS-932 (LECO) Elementel Analiz Cihazı ile Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarında yaptırılmıştır.

3.2.5. Kütle

Bileşiklerin tam kütle ölçümleri, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez laboratuvarında, ultraperformanslı yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (UPLC) (Waters Corporation, Milford, USA) ile birleştirilmiş Micromass LCT Premier XE, Waters (Milford, MA, USA) marka yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresinde (HRSM), elektron sprey iyonizasyon (ESI) yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir.

3.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Biyolojik aktivite çalışmaları Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yapılmıştır.

3.3.1. Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite Çalışmaları

3.3.1.1. Mikroorganizmalar

Çalışmada, *Escherichia coli* ATCC 25922, *E.coli* ATCC 35218, *E.coli* izolat (ESBL: Extended spectrum beta lakamaz enzimi içerir, bütün beta laktam antibiyotiklere dirençlidir), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *P.aeruginosa* izolat, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *S.aureus* izolat MRSA (metisiline dirençli *S.aureus*), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *E.faecalis* izolat, *Candida albicans* ATCC 10231, *C.krusei* ATCC 6258 suşları kullanılmıştır.

3.3.1.2. Mikrodilüsyon Yöntemi

Çalışmada Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-S16¹⁰² ve M27-A¹⁰³ önerileri doğrultusunda mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak yeni sentezlenen bileşiklerin ve standart antibiyotiklerin minimum inhibisyon konsantrasyonları (MİK) saptanmıştır.

Mueller Hinton Agar (MHA) (Merck), Mueller Hinton Broth (MHB) (Merck), Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (Merck), Sabouraud Liquid Medium (SLM) (Merck) ve MOPS ile pH:7'ye tamponlanmış L- glutamin içeren RPMI 1640 besiyeri (Sigma) kullanılmıştır. MHA, MHB, SDA ve SLM 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak, RPMI besiyeri, milipor filtreden süzülerek steril edilmiştir.

Bakteriler için MHA, mayalar için SDA kültür plaklarında üretilmiş olan kolonilerden 3–5 tanesi seçilmiş ve öze ile alınarak sırasıyla MHB ve SLM besiyerlerine aktarılmıştır. Sıvı besiyerlerindeki kültürler sırasıyla 37 °C'de ve 35°C'de 0.5 McFarland standardına ulaşınca kadar inkübe edilip, kültürün bulanıklığı, üzerine sıvı besiyeri eklenerek ayarlanmıştır. Ayarlanmış inokulum süspansiyonu hazırlandıktan sonra 15 dakika içinde inokülasyon sonunda her kuyucukta bakteriler için 10^4 CFU/mL, mayalar için 10^3 CFU/mL olacak şekilde sıvı besiyerinde sulandırılmıştır.

Bakteri inokülasyonu yapılacak olan mikrodilüsyon plaklarının her kuyucuğuna 100µL katyon ayarı yapılmış MHB, maya inokülasyonu yapılacak olan mikrodilüsyon plaklarının her kuyucuğuna 100µL MOPS ile pH:7'ye tamponlanmış L-glutamin içeren RPMI 1640 besiyeri eklenmiştir.

Çalışmada, ampisilin (Mustafa Nevzat İlaç Sanayii), ofloksasin (Zhejiang Huangyan East Asia Chemical CO. Ltd.), Vankomisin (Mayne Pharma), Amoksisilin/klavulanik asit (2:1) (Deva İlaç) ve amfoterisin B (Bristol Myers Squibb) ve Flukonazol (Pfizer)'un üretici firmalardan temin edilen standartları kullanılmıştır.

Antibiyotiklerin stok solüsyonlarının hazırlanmasında kullanılan çözücüler aşağıda verilmiştir.

Antibiyotik	Çözücü
Ampisilin	0.1M pH:8 fosfat tamponu
Ofloksasin	0.1 M NaOH
Vankomisin	Su
Amoksisilin/klavulanik asit	0.1mol/L pH:6 fosfat tamponu
Amfoterisin B	Su
Flukonazol	1:9 su:etanol

Antibakteriyel ve antifungal etkileri araştırılan yeni sentezlenen bileşikler dimetil sülfoksit (DMSO) (Merck) ile çözülmüştür.

Stok solüsyonları hazırlanan antibiyotikler ve yeni sentezlenen bileşikler, mikrodilüsyon plaklarının ilk kuyucuklarına 100µL hacimde eklenmiştir. Böylece stok solüsyondaki madde konsantrasyonu çift katlı olarak sulandırılmış olur. Çok kanallı mikropipet kullanılarak çift katlı dilüsyona devam edilip mikrodilüsyon plaklarının takip eden kuyucuklarında da antibiyotik konsantrasyonu her defasında yarı yarıya azaltılmıştır.

Dilüsyon işlemi tamamlandıktan sonra, mikrodilüsyon plağındaki her kuyucuğa, hazırlanan inokulum süspansiyonlarından 10µL inokülasyon yapılmıştır.

Her mikrodilüsyon plağında sadece besiyeri ve mikroorganizma içeren ve sadece besiyeri içeren kontrol kuyucukları eklenmiştir. Ayrıca kullanılan tüm çözücülerin antimikrobiyal etkilerine bakılmıştır.

Bakteri inoküle edilmiş mikrodilüsyon plakları 37°C'de 16–20 saat, maya inoküle edilmiş mikrodilüsyon plakları 35°C'de 24–48 saat süre ile aerop koşullarda etüvde inkübe edilmiştir.

MİK, mikroorganizmanın mikrodilüsyon kuyucuklarındaki üremesini tamamen inhibe eden en düşük ilaç konsantrasyonu olarak saptanmıştır.

3.3.2. Antimikobakteriyel Aktivite Çalışmaları

3.3.2.1. Mikroorganizma

Çalışmada virülan olduğu bilinen *Mycobacterium tuberculosis* H37RV ATCC 27294 suşu kullanılmıştır.

3.3.2.1. Mikrodilüsyon Yöntemi

Çalışmada mikrodilüsyon yöntemi olarak mikropleyt alamar mavisi yöntemi (MABA) kullanılmıştır.¹⁰⁴

Mycobacterium tuberculosis H37RV ATCC 27294 suşunun 7H11 Middlebrook agar besiyerinde (Becton Dickinson) subkültürü yapılmıştır. Mc Farland-1 bulanıklık standardına göre bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Süspansiyon için %0.04 Tween-80 ve %0.2 bovin serum albumin kullanılmıştır. Süspansiyon 1:25 oranında 7H9GC broth (Becton Dickinson) besiyerinde dilüe edilmiş ve inokulum olarak bu bakteri süspansiyonu kullanılmıştır.

İzoniazit (sigma) distile suda çözülerek 8µg/ml konsantrasyonda hazırlanmıştır.

96 kuyucuklu mikropleytin en dış sırasına buharlaşmayı engellemek için 200µl steril distile su koyulmuştur. Kalan kuyucuklara 100µl 7H9GC sıvı besiyeri eklenmiştir. Stok solüsyonları hazırlanan

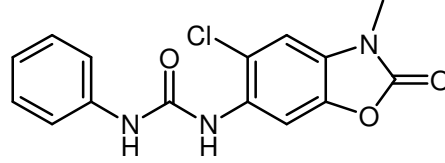
antibiyotikler ve yeni sentezlenen bileşikler, mikrodilüsyon plaklarının ikinci kuyucuklarına 100µL hacimde eklenmiştir. Böylece stok solüsyondaki madde konsantrasyonu çift katlı olarak sulandırılmış olur. Çok kanallı mikropipet kullanılarak çift katlı dilüsyona devam edilip mikrodilüsyon plaklarının takip eden kuyucuklarında da madde konsantrasyonu her defasında yarı yarıya azaltılmıştır.

Son kuyucuğun madde ve ilaç içermemesi sağlanarak mikroorganizma kontrolü olarak kullanılmıştır. Bütün kuyucuklara 100µl *Mycobacterium tuberculosis* suşunun önceden hazırlanan inokulum solüsyonu eklenmiştir. Mikropleytlar parafilmle kaplanarak 37° C'de 5 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda 1:1 oranında alamar mavisi (AbD Serotec) ve %10 tween 80 süspansiyon taze olarak hazırlanmış ve 50µl süspansiyon mikroorganizma kontrol kuyucuklarından birine konulmuştur. Tekrar 37°C de 1 gece inkübasyona bırakılmıştır. Ertesi gün rengin pembeye dönüşmesi sonucunda diğer kuyulara da aynı şekilde hazırlanan alamar mavisi süspansiyonu eklenmiş ve 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Ertesi gün bütün renkler izlenmiş ve minimum inhibisyon konsantrasyonu değeri olarak maviden pembeye dönüşen en düşük konsantrasyon tespit edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Kimyasal Çalışmalar

4.1.1. 1-(5-Kloro-3-metil-2-okso-3*H*-benzoksazol-6-il)-3-fenilüre (Bileşik 1)



0.5 g (2.5 mmol) 6-amino-5-kloro-3-metil-2-okso-3*H*-benzoksazol ve 0.32 ml (2.9 mmol) fenilizosiyanattan hareketle genel sentez yöntemi-3'e göre elde edildi. Kolon kromatografisi ile etil asetat-hekzan (50:50) solvan karışımı kullanılarak temizlendi. Elde edilen ürün 0.1 g. Verim %20.

Beyaz renkte, toz şeklinde kristallerdir. 366 °C'de dekompoze olur. Suda, etanolde çözünmez, dimetilsülfoksit ve asetonunda çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde, S-1, S-2, S-3 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.36; 0.64; 0.39'dur. UV ışığında 254 nm'de mor leke şeklinde gözlenir.

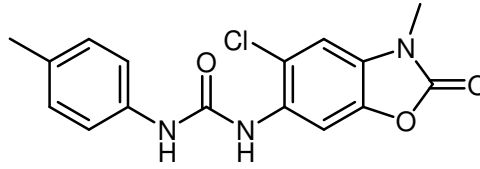
$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6) δ 9.36 (s, 1H, -NH), 8.33 (s, 1H, -NH), 8.06 (s, 1H, H⁷), 7.52 (s, 1H, H⁴), 7.50–6.99 (m, 5H, H^{2'}, H^{3'}, H^{4'}, H^{5'}, H^{6'}), 3.32 (s, 3H, -NCH₃) ppm'de pikler görülür.

Elementel analiz:

$C_{15}H_{12}ClN_3O_3 \cdot H_2O$:	%C	%H	%N
Hesaplanan	53.66	4.20	12.52
Bulunan	53.76	3.88	12.13

Kütle m/z (ESI⁺): 318 (M+1,100).

4.1.2. 1-(5-Kloro-3-metil-2-okso-3H-benzoksazol-6-il)-3-(4-metilfenil)üre
(Bileşik 2)



0.5 g (2.5 mmol) 6-amino-5-kloro-3-metil-2-okso-3H-benzoksazol ve 0.36 ml (2.8 mmol) p-tolilizotiyosiyattan hareketle, genel sentez yöntemi 3' e göre elde edildi. Kolon kromatografisi ile etil asetat-hekzan (50:50) solvan karışımı kullanılarak temizlendi. Elde edilen ürün 0.103 g. Verim %12.3.

Sarı renkte, toz şeklinde kristallerdir. E.d. 353 °C'dir. Suda, etanolde çözünmez, dimetilsülfoksit ve asetonunda çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde, S-1, S-2, S-3 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.39; 0.68; 0.36'dır. UV ışığında 254 nm'de mor leke şeklinde gözlenir.

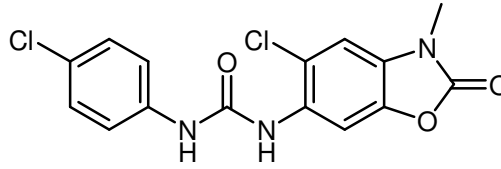
¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ 9.23 (s, 1H, -NH), 8.25 (s, 1H, -NH), 8.04 (s, 1H, H⁷), 7.48 (s, 1H, H⁴), 7.33 (d, 2H, H^{2'}, H^{6'}), 7.10 (d, 2H, H^{3'}, H^{5'}), 3.32 (s, 3H, -NCH₃), 2.23 (s, 3H, -PhCH₃) ppm'de pikler görülür.

Elementel analiz:

$C_{16}H_{14}ClN_3O_3 \cdot 0.5 H_2O$:	%C	%H	%N
Hesaplanan	56.39	4.43	12.33
Bulunan	56.72	4.40	12.29

Kütle m/z (ESI⁺): 332 (M+1,100).

4.1.3. 1-(5-Kloro-3-metil-2-okso-3H-benzoksazol-6-il)-3-(4-klorofenil)üre
(Bileşik 3)



0.5 g (2.5 mmol) 6-amino-5-kloro-3-metil-2-okso-3H-benzoksazol ve 0.43 g (2.8 mmol) 4-klorofenilizosiyanattan hareketle, genel sentez yöntemi 1'e göre elde edildi. Dimetilformamit-su ile kristallendirildi. Elde edilen ürün 0.45 g. Verim %51.1.

Krem renkli, toz şeklinde kristallerdir. E.d. 362 °C'dir. Suda, alkolde, asetonda çözünmez, N,N-dimetilformamit ve dimetilsulfoksitte çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde, S-1, S-2, S-3 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.31; 0.66; 0.41'dir. UV ışığında 254 nm'de mor leke şeklinde gözlenir.

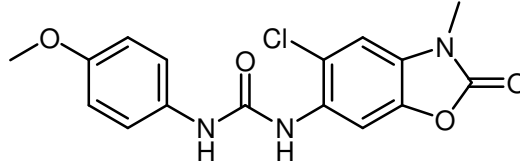
¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ 9.47 (s,1H, -NH), 8.34 (s,1H, -NH), 8.02 (s, 1H, H⁷), 7.51 (s, 1H, H⁴), 7.49 (d, 2H, H^{2'}, H^{6'}), 7.34 (d, 2H, H^{3'}, H^{5'}), 3.32 (s, 3H, -NCH₃) ppm'de pikler görülür.

Elementel analiz

C ₁₅ H ₁₁ Cl ₂ N ₃ O ₃ .0.5 H ₂ O:	%C	%H	%N
Hesaplanan	49.88	3.34	11.63
Bulunan	49.94	3.26	11.75

Kütle m/z (ESI⁺): 353 (M+1,100)

4.1.4. 1-(5-Kloro-3-metil-2-okso-3H-benzoksazol-6-il)-3-(4-metoksifenil)üre
(Bileşik 4)



0.45 g (2.2 mmol) 6-amino-5-kloro-3-metil-2-okso-3H-benzoksazol ve 0.45 ml (3.4 mmol) 4-metoksifenilizosiyanattan hareketle genel sentez yöntemi 3'e göre elde edildi. Kolon kromatografisi etilasetat:hekzan (50:50) solvan karışımı kullanılarak temizlendi. Aseton ve metanol karışımından kristallendirildi. Elde edilen ürün 0.08 g. Verim: %10.

Beyaz renkte, toz şeklinde kristallerdir. 338 °C'de dekompoze olur. Suda, alkolde, asetonda çözünmez, dimetilsülfoksitte çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde, S-1, S-2, S-3 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.34; 0.62; 0.38'dir. UV ışığında 254 nm'de mor leke şeklinde gözlenir.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ 9.13 (s, 1H, -NH), 8.18 (s, 1H, -NH), 8.00 (s, 1H, H⁷), 7.44 (s, 1H, H⁴), 7.31 (d, 2H, H^{2'}, H^{6'}), 6.83

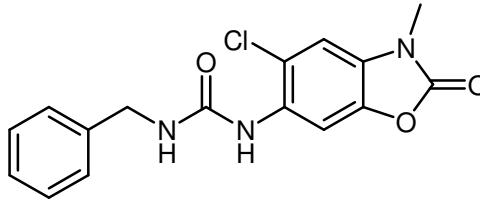
(d, 2H, H³, H⁵), 3.66 (s, 3H, -OCH₃), 3.32 (s, 3H,-NCH₃) ppm'de pikler görülür.

Elementel analiz

C ₁₆ H ₁₄ ClN ₃ O ₄ :	%C	%H	%N
Hesaplanan	55.26	4.06	12.08
Bulunan	54.80	4.17	11.90

Kütle m/z (ESI⁺): 348 (M+1,100)

4.1.5. 1-(5-Kloro-3-metil-2-okso-3H-benzoksazol-6-il)-3-benzilüre
(Bileşik 5)



0.5 g (2.5 mmol) 6-amino-5-kloro-3-metil-2-okso-3H-benzoksazol ve 0.3 ml (2.4 mmol) benzilizosiyanattan hareketle genel sentez yöntemi 1'e göre elde edilip hekzan ile çöktürüldü. Filtre edildi. Elde edilen ürün 0.1 g. Verim: %12.

Krem renkte, toz şeklinde kristallerdir. 254 °C'de dekompoze olur. Suda, etanolde çözünmez, dimetilsülfoksitte çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde, S-1, S-2, S-3 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.35; 0.63; 0.42'dir. UV ışığında 254 nm'de mor leke şeklinde gözlenir.

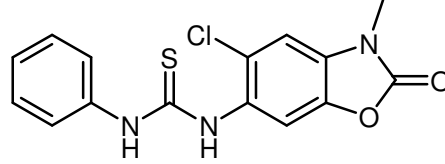
¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ 8.20 (s,1H, -NH), 8.10 (s,1H, -NH), 7.50–7.20 (m, 7H, H⁴, H⁷, H^{2'}, H^{3'}, H^{4'},H^{5'}, H^{6'}), 4.32 (s, 2H, -CH₂), 3.34 (s, 3H, -NCH₃) ppm'de pikler görülür.

Elementel analiz

C ₁₆ H ₁₄ ClN ₃ O ₃ :	%C	%H	%N
Hesaplanan	57.93	4.25	12.67
Bulunan	57.95	4.39	12.50

Kütle m/z (ESI⁺): 332 (M+1,100)

4.1.6. 1-(5-Kloro-3-metil-2-okso-3H-benzoksazol-6-il)-3-feniltiyöüre
(Bileşik 6)



0.5 g (2.5 mmol) 6-amino-5-kloro-3-metil-2-okso-3H-benzoksazol ve 2.0 ml (16.0 mmol) fenillizotiyosiyattan hareketle, genel sentez yöntemi 2' ye göre elde edildi. Kolon kromatografisi ile etil asetat-hekzan (50:50) solvan karışımında temizlendi. Elde edilen ürün 0.14 g. Verim %17.

Sarı renkte, toz şeklinde kristallerdir. E.d. 202 °C'dir. Suda, etanolde çözünmez, dimetilsülfoksit ve asetonda çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde, S-1, S-2, S-3 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.36; 0.75; 0.39'dur. UV ışığında 254 nm'de mor leke şeklinde gözlenir.

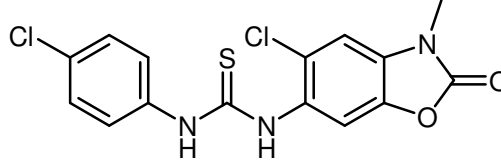
$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6) δ 9.92 (s,1H, -NH), 9.46 (s,1H, -NH), 7.53 –7.15 (m, 7H, H^4 , H^7 , H^2 , H^3 , H^4 , H^5 , H^6), 3.35 (s, 3H, -NCH₃), ppm'de pikler görülür.

Elementel analiz

$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$:	%C	%H	%N	%S
Hesaplanan	53.97	3.62	12.59	9.61
Bulunan	54.04	3.80	12.20	9.20

Kütle m/z (ESI⁺): 334 (M+1,100)

4.1.7. 1-(5-Kloro-3-metil-2-okso-3H-benzoksazol-6-il)-3-(4-klorofenil)tiyoüre (Bileşik 7)



0.45 g (2.2 mmol) 6-amino-5-kloro-3-metil-2-okso-3H-benzoksazol ve 0.58 g (3.3 mmol) 4-klorofenilzotiyosiyattan hareketle, genel sentez yöntemi 3' e göre elde edildi. Kolon kromatografisi ile etil asetat-hekzan (50:50) solvan karışımında temizlendi. Asetondan kristallendirildi. Elde edilen ürün 0.1 g. Verim %12.

Sarı renkte, toz şeklinde kristallerdir. E.d. 189 °C'dir. Suda, asetonda çözünmez, dimetilsülfoksitte çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde, S-1, S-2, S-3 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.31; 0.66; 0.40'dır. UV ışığında 254 nm'de mor leke şeklinde gözlenir.

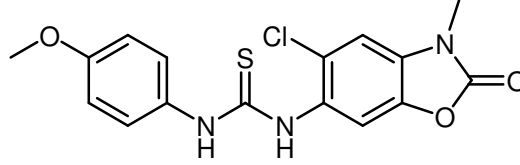
¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ 9.88 (s,1H, -NH), 9.51 (s, 1H, -NH), 7.48-7.32 (m, 6H, H⁴, H⁷, H^{2'}, H^{3'}, H^{5'}, H^{6'}), 3.30 (s, 3H, -NCH₃), ppm'de pikler görülür.

Elementel analiz

C ₁₅ H ₁₁ Cl ₂ N ₃ O ₂ S:	%C	%H	%N	%S
Hesaplanan	48.93	3.01	11.41	8.71
Bulunan	48.80	3.10	11.42	8.72

Kütle m/z (ESI⁺): 369 (M+1,100)

4.1.8. 1-(5-Kloro-3-metil-2-okso-3H-benzoksazol-6-il)-3-(4-metoksifenil) tiyoüre (Bileşik 8)



0.1 g (0.5 mmol) 6-amino-5-kloro-3-metil-2-okso-3H-benzoksazol ve 0.1 ml (0.7 mmol) 4-metoksifenilizotiyosiyandan hareketle, genel sentez yöntemi 3' e göre elde edildi. Kolon kromatografisi ile etil asetat-hekzan (50:50) solvan karışımında temizlendi. Metanolden kristallendirildi. Elde edilen ürün 0.02 g. Verim %11.

Beyaz renkte, toz şeklinde kristallerdir. E.d. 188 °C'dir. Suda, etanolde çözünmez, dimetilsülfoksitte çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde, S-1, S-2, S-3 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.35; 0.64; 0.36'dır. UV ışığında 254 nm'de mor leke şeklinde gözlenir.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6) δ 9.73 (s,1H, -NH), 9.30 (s,1H, -NH), 7.52 (s, 2H, H^4 , H^7), 7.33 (d, 2H, $H^{2'}$, $H^{6'}$), 6.92 (d, 2H, $H^{3'}$, $H^{5'}$), 3.74 (s, 3H, -OCH₃), 3.35 (s, 3H, -NCH₃) ppm'de pikler görülür.

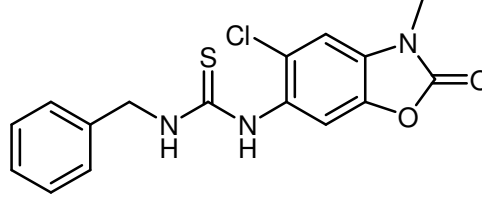
Elementel analiz

$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{ClN}_3\text{O}_3\text{S}$:	%C	%H	%N	%S
Hesaplanan	52.82	3.88	11.55	8.81
Bulunan	52.39	3.98	11.56	8.53

Kütle m/z (ESI⁺): 364 (M+1,100)

4.1.9. 1-(5-Kloro-3-metil-2-okso-3H-benzoksazol-6-il)-3-benziltiyöre

(Bileşik 9)



0.5 g (2.5 mmol) 6-amino-5-kloro-3-metil-2-okso-3H-benzoksazol ve 1.5 ml (11.3 mmol) benzilizotiyosiyattan hareketle, genel sentez yöntemi 2' ye göre elde edildi. Kolon kromatografisi ile etil asetat-hekzan (50:50) solvan karışımında temizlendi. Elde edilen ürün 0.02 g. Verim % 2.3.

Beyaz renkte, toz şeklinde kristallerdir. E.d. 185°C'dir. Suda, etanolde çözünmez, dimetilsülfoksit ve asetonda çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde, S-1, S-2, S-3 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.36; 0.73; 0.39'dur. UV ışığında 254 nm'de mor leke şeklinde gözlenir.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6) δ 9.34 (s,1H, -NH), 8.20 (s,1H, -NH), 7.56 – 7.25 (m, 7H, H^4 , H^7 , $H^{2'}$, $H^{3'}$, $H^{4'}$, $H^{5'}$, $H^{6'}$), 4.72 (s, 2H, -CH $_2$), 3.34 (s, 3H, -NCH $_3$) ppm'de pikler görülür.

Elementel analiz

$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$:	%C	%H	%N	%S
Hesaplanan	52.53	4.41	11.49	8.76
Bulunan	52.29	4.14	11.48	8.89

Kütle m/z (ESI $^+$): 348 (M+1,100)

4.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

4.2.1. Antibakteriyel, Antifungal ve Antimikobakteriyel Aktivite Sonuçları

Tablo 1: Sentezlenen Bileşiklerin Test Edilen Mikroorganizmalara Karşı Mik (µg/ml) Değerleri

Bileşikler	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	128	32	256	128	128	256	128	16	256	128	128	128
2	128	32	256	128	256	512	128	32	256	128	128	128
3	128	128	256	128	128	256	128	16	256	64	64	128
4	128	32	256	256	256	512	128	64	256	256	128	128
5	128	64	256	256	128	256	128	64	256	64	64	256
6	128	32	256	128	128	256	128	256	256	64	32	128
7	256	64	256	128	256	512	128	128	256	256	128	128
8	256	128	256	128	256	512	128	256	256	128	128	128
9	256	32	256	128	128	256	128	128	256	64	32	256
Ampisilin	8	-	1024	-	-	0.5	-	1	0.5	-	-	-
Ofloksasin	0.03	-	8	2	2	0.125	0.5	2	4	-	-	-
Vankomisin	-	-	-	-	-	0.5	2	1	8	-	-	-
Amoksisilin- klavulanik asit (2/1)	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flukonazol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	64	-
Amfoterisin B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.125	0.5	-
Izoniazit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.125

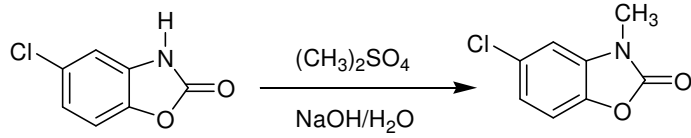
A: *E.coli* ATCC 25922, B: *E.coli* ATCC 35218, C: *E.coli* izolat (ESBL), D: *P. aeruginosa* ATCC 27853, E: *P.aeruginosa* izolat, F: *S. aureus* ATCC 29213, G: *S.aureus* izolat (MRSA), H: *E. faecalis* ATCC 29212, I: *E.faecalis* izolat (VRE), J: *C. albicans* ATCC 10231, K: *C.krusei* ATCC 6258, L: *M. tuberculosis* H37RV ATCC 27294

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

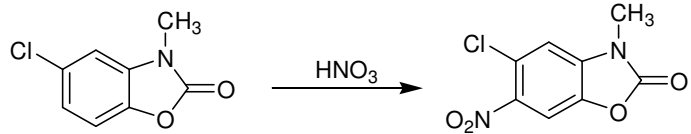
Tez çalımızda 5-kloro-6-amino-3-metil-2-okso-3*H*-benzoksazolün çeşitli izosiyanat ve izotiyosiyanatlar ile tepkimesinden beş tanesi üre ve dört tanesi tiyüre olmak üzere toplam dokuz adet yeni bileşiğin sentezi yapıldı, yapıları kanıtlandı ve *in vitro* testler ile bileşiklerin antibakteriyel, antifungal ve antimikobakteriyel etkileri değeriendirildi.

Bileşiklerin sentezi 5-kloro-2-okso-3*H*-benzoksazolden hareketle gerçekleştirilmiştir.

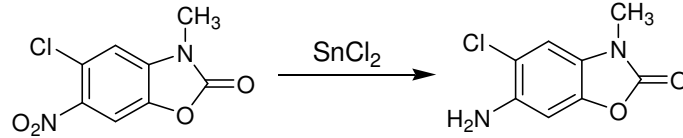
Sulu sodyum hidroksitli ortamda 5-kloro-2-okso-3*H*-benzoksazolün dimetil sülfat ile tepkimesinden 5-kloro-3-metil-2-okso-3*H*-benzoksazol sentez edilmiştir.



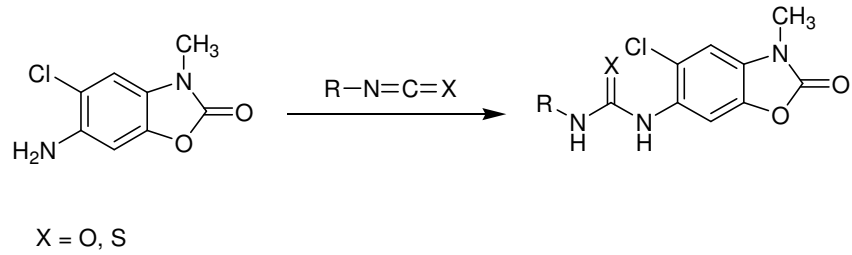
Metilasyon ürünü olan 5-kloro-3-metil-2-okso-3*H*-benzoksazolün nitrik asit ile nitrolama tepkimesinden 5-kloro-6-nitro-3-metil-2-okso-3*H*-benzoksazol türevi hazırlanmıştır.



5-Kloro-6-amino-3-metil-2-okso-3*H*-benzoksazol ise 5-kloro-6-nitro-3-metil-2-okso-3*H*-benzoksazolün kalay klorür ile redüksiyonundan elde edilmiştir.



6-Amino-5-kloro-3-metil-2-okso-3*H*-benzoksazol türevinin izosiyonat ve izotiyosiyonatlar ile tepkimesinden sırasıyla üre ve tiyoüre türevleri sentez edilmiştir.



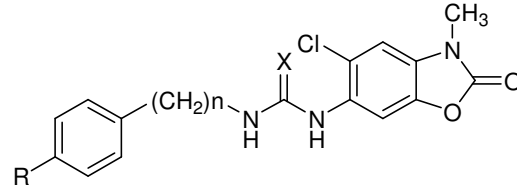
Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin yapıları ¹H-NMR, Mass ve elementel analiz verileri ile kanıtlanmıştır.

Üre türevlerinin ¹H-NMR spektrumlarında δ 9.47-8.10 ppm arası N-H protonlarına ait sinyaller görülmüştür.

1-(5-Kloro-3-metil-2-okso-3*H*-benzoksazol-6-il)-3-benzilüre türevinde (Bileşik 5), 5-kloro-2-okso-3*H*-benzoksazolun H⁷, H⁴ protonları, fenil halkası protonları ile birlikte δ 7.50-7.20 ppm arası multiplet olarak gözlenirken, diğer üre türevlerinde; δ 8.06-8.00 ppm arası 5-kloro-2-okso-3*H*-benzoksazol H⁷ ve δ 7.52-7.44 ppm arası 5-kloro-2-okso-3*H*-benzoksazol H⁴ protonlarına ait sinyaller görülmüştür.

Tiyöre türevlerinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarında δ 9.92-8.20 ppm arası N-H protonlarına ait sinyaller görölmüştür. 1-(5-Kloro-3-metil-2-okso-3*H*-benzoksazol-6-il)-3-(4-metoksifenil)tiyöre türevinde (Bileşik 8), 5-kloro-2-okso-3*H*-benzoksazol H^7 ve H^4 protonları δ 7.52 ppm de tek bir singlet olarak görölürken, diğer tiyöre türevlerinde H^7 ve H^4 protonları, fenil halkası protonları ile birlikte multipler olarak gözlenmiştir.

Elektrospray iyonizasyon (ESI) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen Mass analizlerinde, bütün sonuç bileşikler pozitif iyonizasyon tekniği ile $(\text{M}+1)^+$ iyonları halinde % 100 bağıl intensiteleri ile kolayca izlenmiştir.



X = O, S n = 0 R = H, -Cl, -OCH₃

X = O n = 0 R = CH₃

X = O, S n = 1 R = H

Tablo 2: Sentezlenen Bileşiklerin Test Edilen Mikroorganizmalara Karşı MİK (µg/ml) Değerleri

Bileşik	R	n	X	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	H	0	O	128	32	256	128	128	256	128	16	256	128	128	128
2	-CH ₃	0	O	128	32	256	128	256	512	128	32	256	128	128	128
3	Cl	0	O	128	128	256	128	128	256	128	16	256	64	64	128
4	-OCH ₃	0	O	128	32	256	256	256	512	128	64	256	256	128	128
5	H	1	O	128	64	256	256	128	256	128	64	256	64	64	256
6	H	0	S	128	32	256	128	128	256	128	256	256	64	32	128
7	Cl	0	S	256	64	256	128	256	512	128	128	256	256	128	128
8	-OCH ₃	0	S	256	128	256	128	256	512	128	256	256	128	128	128

9	H	1	S	256	32	256	128	128	256	128	128	256	64	32	256
Ampisilin	-	-	-	8	-	1024	-	-	0.5	-	1	0.5	-	-	-
Ofloksasin	-	-	-	0.03	-	8	2	2	0.125	0.5	2	4	-	-	-
Vankomisin	-	-	-	-	-	-	-	-	0.5	2	1	8	-	-	-
Amoksisilin- klavulanik asit (2/1)	-	-	-	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flukonazol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	64	-
Amfoterisin B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.125	0.5	-
Izoniazit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.125

A: *E.coli* ATCC 25922, B: *E.coli* ATCC 35218, C: *E.coli* izolat (ESBL), D: *P. aeruginosa* ATCC 27853, E: *P.aeruginosa* izolat, F: *S. aureus* ATCC 29213, G: *S.aureus* izolat (MRSA), H: *E. faecalis* ATCC 29212, I: *E.faecalis* izolat (VRE), J: *C. albicans* ATCC 10231, K: *C.krusei* ATCC 6258, L: *M. tuberculosis* H37RV ATCC 27

Sentezlenen bileşikler *Escherichia coli* ATCC 25922, *E.coli* ATCC 35218, *E.coli* izolat (ESBL), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *P.aeruginosa* izolat, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *S.aureus* izolat, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *E .faecalis* izolat, *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida krusei* ATCC 6258 ve *Mycobacterium tuberculosis* H37RV ATCC 27294'e karşı etkinlikleri açısından incelenmiştir. Referans olarak ampisilin, ofloksasin, vankomisin, amoksisilin-klavulanik asit, flukonazol, amfoterisin B ve izoniazit kullanılmıştır.

Üre türevi olan Bileşik 1, 2, 4 ve tiyoüre türevi olan bileşik 6 ve 9, *E. coli* ATCC 35218'e karşı 32 µg/ml'lik konsantrasyonda etkili bulunmuştur. Bir diğer ifade ile bu bileşikler *E. coli* ATCC 35218'e karşı amoksisilin-klavulanik asit (8 µg/ml) kombinasyonunun % 25'i kadar etkilidir. Bileşik 5 ve 7'nin *E. coli* ATCC 351218'e karşı MİK değerleri 64 µg/ml olarak belirlenmiştir.

Test edilen bileşikler arasında üre türevleri (Bileşik 1-5) *E. faecalis*'e karşı 16-64 µg/ml arasında değişen MİK değerleri ile antibakteriyel etki gösterirken, tiyoüre türevlerinin *E. faecalis*'e karşı dikkate değer aktivitesi gözlenmemiştir. Üre türevi olan nonsüstitüefenil halkasına sahip Bileşik 1 ve fenil halkasının para konumunda klor atomu taşıyan Bileşik 3, *E. faecalis*'e karşı 16 µg/ml'lik MİK değerleri ile en etkili türevlerdir. Bileşik 2 *E. faecalis*'e karşı 32 µg/ml'lik konsantrasyonda, Bileşik 4 ve 5 ise *E. faecalis*'e karşı 64 µg/ml'lik konsantrasyonda etkili bulunmuştur.

E. coli ATCC 25922'nin, *E. coli* izolatının *P. aeruginosa* ve izolatının, *S. aureus* ve izolatının, *E. faecalis* izolatının, ayrıca *M. tuberculosis*'in test edilen bileşiklere karşı dikkate değer bir duyarlılığı tespit edilmemiştir.

Bileşiklerin antifungal aktiviteleri değerlendirildiğinde, üre türevi bileşik 3, 5'in hem *C. albicans*'a hem de *C. krusei*'ye karşı 64 µg/ml'lik MİK değeri ile etkili olduğu; tiyoüre türevi bileşik 6 ve 9'da *C. albicans*'a karşı 64 µg/ml'lik, *C. krusei*'ye karşı ise 32 µg/ml'lik MİK değeri ile etkili oldukları belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında, üre türevlerinin genellikle *E. coli* ATCC 351218, *E. faecalis* ve funguslara karşı etkili olduğunu, fakat tiyoüre türevlerinin ise genellikle *E. coli* ATCC 351218'e ve funguslara karşı etkili olduğu bulunmuştur.

Çalışmamızın bundan sonraki aşamasında, bileşiklerin suda çözünürlüklerini artırabilmek amacıyla 5-kloro-2-okso-3*H*-benzoksazol halkasının 2-okso-3*H*-benzoksazol halkasının 3. konumunda metil sübstitüenti taşımayan üre ve tiyoüre türevlerinin hazırlanması planlanmaktadır.

6. ÖZET

BAZI 5-KLORO-6-SÜBSTİTÜE-3-METİL-2-OKSO-3H-BENZOKSAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ ANTİBAKTERİYEL VE ANTİFUNGAL ETKİLERİ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

Tez kapsamında, 5-kloro-3-metil-2-okso-3H-benzoksazol halkasının 6. konumunda üre ve tiyoüre türevleri taşıyan dokuz yeni bileşik sentez edildi ve yapıları ¹H-NMR, Mass ve elementel analiz verileri ile kanıtlandı. Daha sonra, bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri çeşitli Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteri türlerine, funguslara ve *M. Tuberculosis* H37Rv' e karşı değerlendirildi.

6-amino-5-kloro-3-metil-2-okso-3H-benzoksazolün izosiyanat türevleri ile tepkimesinden elde edilen üre türevlerinin genellikle *E. coli* ATCC 351218, *E. faecalis* ve funguslara karşı etkili olduğunu, fakat 6-amino-5-kloro-3-metil-2-okso-3H-benzoksazolün izotiyosiyanat türevleri ile tepkimesinden elde edilen tiyoüre türevlerinin ise *E. coli* ATCC 351218 ve funguslara karşı daha etkili olduğu bulunmuştur.

Sentezlenen bileşikler arasında; *E. coli* ATCC 351218'e karşı en iyi antibakteriyel aktiviteyi 32 µg/ml'lik MİK değerleri ile Bileşik 1, 2, 4, 6 ve 9 göstermiştir. Ayrıca Bileşik 1 ve 3'ün 16 µg/ml'lik MİK değerleri ile *E. faecalis*'e karşı en etkili türevler oldukları tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: 2-okso-(3H)-benzoksazol, üreler ve tiyoüreler, antimikrobiyal aktivite.

7.SUMMARY

SYNTHESIS OF SOME 5-CHLORO-6-SUBSTITUTED-3-METHYL-2-OXO-3H-BENZOXAZOLE DERIVATIVES STUDIES ON THEIR ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL ACTIVITIES

In this study, nine new compounds containing urea and thiourea groups at position 6 of the 5-chloro-3-methyl-2-oxo-3H-benzoxazole ring were synthesized and their structures were confirmed by ¹H-NMR, Mass and elemental analysis. After that, their antimicrobial activities were evaluated various Gram-positive and Gram-negative strains of bacteria, fungi and *M. Tuberculosis* H37Rv.

The urea derivatives which were obtained by the reaction of 6-amino-5-chloro-3-methyl-2-oxo-3H-benzoxazole with the appropriate isocyanates were generally found more active against *E. coli* ATCC 35218, *E. faecalis* and fungi, but the thiourea derivatives which were obtained by the reaction of 6-amino-5-chloro-3-methyl-2-oxo-3H-benzoxazole with the appropriate isothiocyanates were generally found more active against *E. coli* ATCC 35218 and fungi.

Among the synthesized compounds; 1, 2, 4, 6 and 9 showed the best inhibitory activity against *E. coli* ATCC 35218 with 32 µg/ml MIC value. Moreover, compounds 1 and 3 were the most active against *E. faecalis* with 16 µg/ml MIC value.

Key Words: 2-oxo-(3H)-benzoxazole, ureas and thioureas, antimicrobial activity.

8. KAYNAKLAR

1. Grare M, Mourer M, Fonyanay S, Regnouf-de-Vains JB. In vitro activity of para guanidinoethylcalix[4]arene against susceptible and antibiotic-resistant Gram-negative and Gram-positive bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.* 2007;60: 575-581.
2. Matsushita M, Janda KD. Histidine Kinases as Targets for New Antimicrobial Agents. *Bioorg. Med. Chem.* 2002; 10: 855–867.
3. <http://celalkarlikaya.trakya.edu.tr/Tüberküloz Ders Notları>
4. Williams AD, Lemke TL, Editors. Foye's Principles of Medicinal Chemistry. 5th. USA: Lippincott Williams and Wilkins; 2002.
5. Vazquez GN, Molina-Salinas GM, Duarte-Fajardo ZV, Estrada-Soto S, Gonzalez-Salazar F, Hernandez-Nunez E, et al. Synthesis and antimycobacterial activity of 4-(5-substituted-1,3,4-oxadiazol-2-yl)pyridines. *Bioorg. Med. Chem.* 2007; 15: 5502-5508.
6. Ghannoum MA, Rice LB. Antifungal Agents: Mode of Action, Mechanisms of Resistance, and Correlation of These Mechanisms with Bacterial Resistance. *Clinical Microbiology Reviews* 1999; 12(4): 501–517.
7. Perea S, Patterson TF, Antifungal Resistance in Pathogenic Fungi, Antimicrobial Resistance, 2002; 35: 1073-1080.
8. Gökhan N, Erdoğan H, Durlu NT, Demirdamar R, Özalp M. Synthesis and Evaluation of Analgesic, Anti-inflammatory, Antimicrobial Activities of 6-Acyl-3-piperazinomethyl-2-benzoxazolinones. *Arzneim-Forsch/drug Res* 2003; 53(2): 114-120
9. Chikhaliya KH, Patel MJ. Design, synthesis and evaluation of some 1,3,5-triazinyl ure and thiourea derivatives as antimicrobial agents. *J. Enz. Inhib. Med. Chem.* 2009; 24(4): 960-966.
10. Abdel-Rahman HM, Morsy MA. Novel benzothiazolyl urea and thiourea derivatives with potential cytotoxic and antimicrobial activities. *J. Enz. Inhib. Med. Chem.* 2007; 22(1): 57-64.
11. Aaramadaka SKR, Guha MK, Prabhu G, et al. Synthesis and evaluation of urea and thiourea derivatives of oxazolidinones as antibacterial agents. *Chem. Pharm. Bull.* 2007; 55(2): 236-240.

12. Doğruer DS, Urlu Ő, Önkol T, Özçelik B, Şahin MF. Synthesis of Some Pyridazine Derivatives Carrying Urea, Thiourea and Sulfonamide Moieties and Their Antimicrobial Activity, Turk. J. Chem. Baskıda.
13. Upadhayaya RS, Kulkarni GM, Vasireddy NR, et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel triazole, urea and thiourea derivatives of quinoline against Mycobacterium tuberculosis. Bioorg. Med. Chem. 2009; 17(13): 4681-4692.
14. Santos L, Lima LA, Cechinel-Filho V, Rogério Corrêa, et al. Synthesis of new 1-phenyl-3-{4-[(2E)-3-phenylprop-2-enoyl]phenyl}-thiourea and urea derivatives with anti-nociceptive activity. Bioorg. Med. Chem. 2008; 16: 8526–8534.
15. Sharma BK, Sharma SK, Singh P, Sharma S. A quantitative structure-activity relationship study of novel, potent, orally active, selective VEGFR-2 and PDGFR α tyrosine kinase inhibitors: Derivatives of N-Phenyl-N0-{4-(4-quinolyloxy)phenyl}urea as antitumor agents. J. Enz. Inhib. Med. Chem. 2008; 23(2): 168–173.
16. Shusheng Z, Tianrong Z, Kun C, Youfeng X, Bo Y. Simple and efficient synthesis of novel glycosyl thiourea derivatives as potential antitumor agents Eur. J. Med. Chem. 2008; 43: 2778-2783.
17. Rubinstein A. Preclinical Studies of Alkylureas as Anti-HIV-1 Contraceptive Current Pharmaceutical Design, 2005; 11: 3769-3778.
18. Venkatachalam TK, Mao C, Uckun FM. Effect of stereochemistry on the anti-HIV activity of chiral thiourea compounds Bioorg. Med. Chem. 2004; 12: 4275–4284.
19. Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 11. Baskı. Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd Őti; 2005.
20. Akgün H, Çalış Ü, Balkan A, Dalkara S, Bilgin A, Erdoğan H, Erol D, Ertan M, Özkanlı F, Palaska E, Saraç S, Őafak C. Farmasötik Kimya. 1. Baskı. Ankara: Irmak Matbaası; 2000.
21. Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel RM, Tıbbi Mikrobiyoloji. Küçüker MA, Tümbay E, Anđ Ö, Erturan Z(Çev). 9. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Őti; 2002.
22. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. Mikrobiyoloji. 4.baskı. İzmir: Asya Tıp Kitabevi; 2005.

23. Francisco GD, Li Z, Albright JD, Eudy NH, Katz AH. Phenyl thiazolyl urea and carbamate derivatives as new inhibitors of bacterial cell-wall biosynthesis. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2004;14: 235–238.
24. Chai LQ, Chen WP, Wang XQ, Ge JL. One-Pot Synthesis of Phenylallyl Substituted Unsymmetrical Ureas Under Microwave Irradiation. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon* 2007; 182:2491–2496.
25. ÜN R. *Organik Kimya*. İstanbul Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü. İstanbul Üniv. Yayınları,1984; Sayı:3220 Mühendislik Fak. No:65 :362-372.
26. Abdul Hai SM, Perveen S, Khan RA, Khan KM, Afza N. Tertiary Amines Promoted Synthesis of Symmetrical 1,3-Disubstituted Ureas. *Natural Product Research* 2003; 17;5: 351-354
27. Xin-Jian Song XJ, Tan XH, Wang YG. Synthesis and Biological Activity of Some Novel *N*-Aryl-*N*-[5-(pyrid-4-yl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl]ureas. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon* 2007; 182:1907–1913.
28. Sandler SR, Karo W, *Source book of Advanced Organic Laboratory Preparations* 1992: 223
29. Vukovic N, Sukdolak S, Solujic S, Milosevic T. Synthesis and Antimicrobial Evaluation of Some Novel 2-Aminothiazole Derivatives of 4-Hydroxy-chromene-2-one. *Arch. Pharm. Chem. Life. Sci.* 2008; 341: 491-496
30. Perveen S, Abdul Hai SM, Khan RA, Khan KM, Afza N, Sarfaraz TB, Expeditious Method for Synthesis of Symmetrical 1,3-Disubstituted Ureas and Thioureas. *Synthetic Communications*, 2009; 35: 1663–1674.
31. Hearn MJj, Chen MF, Cynamon MH, Wangondu R, Webster ER. Preparation and properties of new antitubercular thioureas and thiosemicarbazides. *Journal of Sulfur Chemistry* 2006; 27(2): 149-164.
32. Kim YJ, Ryu JH, Cheon YJ, Lim HJ, Jeon R. Design and synthesis of urea and thiourea derivatives and their inhibitory activities on lipopolysaccharide-induced NO production. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2007; 17: 3317–3321.

33. Lespagnol C, Marcincal LA. Chemotherapeutic study of benzoxazolinone and derivatives. *Chimica Therapeutica* 1967; 2(5): 395-402.
34. Close WJ, Tiffany BD, Spielman MA. The Analgesic Activity of Some Benzoxazolinone Derivates. *J. Am. Chem. Soc.* 1949; 71: 1265-8.
35. Kalcheva VB, Doicheva BB, Angelova VK, Simov DA. Proton Stability Constants of Substituted Benzoxazolones. *Dokl Bolg Akad Nauk* 1973; 26(11): 1493-6.
36. Hartley WN, Dobie JJ, Paliatseas G. Absorbtion Spectra of Benzoxazolones in Alchol. *J. Chem. Soc.* 1900; 839.
37. Groenvik ME. Sur L'action de L'ether Chloroxycarbonique L'amidophenol. *Bull Soc Chim France* 1876; 25: 177.
38. Sandmeyer T. Ueber die Einwirkung von Imidokohlensaureester au Aromatische Orthoverbindungen. *Chem. Ber.* 1886; 19: 8656.
39. Graebe C, Rostovzeff S. Ueber die Hofmann' sche Reaction (Ueberführung der Amide in Amine. *Chem Ber* 1902; 35: 2751.
40. Ostaszynski A, Plenkiewicz H, Urbanski T. Preperation of Benzoxazolones from Halosalicylhyroxamicacids and Ethyl Chloroformate. *Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Sci. Chim.* 1971; 19(1): 15-20.
41. Yamahara T, Takamatsu H. Benzoxazolones. *Kokai Japan; C.A.79: 66345d, 1973.*
42. Nagase KK. Benzoxazolones. *Kokai Koho JP, 58,225,072(83,225,072), 1984.*
43. White AW. 2-Benzoksazolinones. *US, C.a: 104, 186398e, 4,558,136, 1986.*

44. Kervennal J, Cognion JW. Benzoxazolone and Its Derivatives From o-nitrophenols and Carbon Monoxide. Eur. Pat. Appl 1984.
45. Boeshagen H, Geiger W. A New Reaaregement of Acylated 3-Hydroxy-1,2-benzisoxazoles. Chem. Ber. 1970; 103(1): 123.
46. Kinstle TH, Darlage LJ. Thermel Conversion of 3-Hydroxy-1,2-benzisoxazoles to Benzoxazolinone. J. Het. Chem. 1969; 6(1): 123-4.
47. Drent E. A Process for The Preparation of 2-Benzoxazolinones by carbonilation of Ortho-nitrophenols. Eur. Patent Appl 1988.
48. Miyata T, Kanbe N, Murai S, Sonoda N, Nishiguchi I et. al. A new Synthesis of Benzimidazolones, Benzoxazolones, and Benzothiazolone from o-Substituted Nitrobenzenes Using Sulfur and Carbon Monoxide. Nippon Kagaku Kaishi 1988.
49. Maleski RJ, Osborne CE, Cline S.M. A Simple Synthesis of 2(3H)-Benzoxazolones Using Phenyl Chloroformate. J. Het. Chem. 1991; 28: 1937.
50. Meth-Cohn O, Rhouati S. Cyclisation of Azidoformates Cyclisation of Aryl Azidoformates. J. Chem. Soc. Chem. Comm. 1981; 5: 241.
51. Khajavi MS, Hajihadi M, Naderi R. Synthesis of Heterocyclic Compounds from o-Substituted Anilines under Microwave Irradiation. J. Chem. Research. 1996; 92-93.
52. Heise H, Mees B. Benzoxazolones and Benzothiazolones. 2,131,366, 78, 124576x 1973.
53. Sungakk K, Young KW. Preperation of Cyclic Carbonates and 2-Oxazolidones using di-2-Pyridylcarbonate. Heterocycles 1986; 24(6): 1625-1630.
54. Takeda K, Tsuboyama K, Takayanagi H, Shirokami R, Takeura M et al. Novel Reactions of S,S'-Bis(1-phenyl-1H-tetrazol-5-yl)Dithiocarbonate. Chem. Pharm. Bull. 1989; 37(9): 2334-2337.

55. Prakashe O, Batra H, Kaur H, Sharma PK, Sharma V et al. Hypervalent Iodine Oxidative Rearrangement of Anthranilamides, Salicylamides and Some B-Substitued Amides: A New and Convenient Synthesis of 2- benzimidazolones and Related Compounds. *Synthesis* 2001; 4: 541-543.

56. Kim YJ, Varma RS. Microwave-Asisted Preperation of Cyclic Ureas from Diamines in the Presence of ZnO. *Tetrahedron Letters* 2004; 45(39): 7205-7208.

57. Renard P, Lesieur D, Lespagnol C. Acyl-6 Benzoxazolinone et Acides(acyl-6 oxo-2 Benzoxazoliny-3) alcanoniques. *Eur. J. Med. Chem. Chim. Ther.* 1980; 15(5): 453.

58. Aichaoui H, Poupaert JH, Lesieur D, Henichart JP. $AlCl_3$ -DMF Reagent in The Friedel-Crafts Reaction. Application to 2(3H)-Benzoxazolinones in The Haworth Reaction. *Bull. Soc. Chim. Belk* 1992; 101(12): 1053.

59. Uçar H, Derpoorten KV, Depovere P, Leiseur D, İsa M et al. "Fries Like" Rearrangement: a Novel and Efficient Method for the Synthesis of 6-Acyl-2(3H)-benzoxazolones and 6-Acyl-2(3H)-benzothiazolones. *Tetrahedron* 1998; 54: 1763-1772.

60. Liacha M, Yous S, Poupaert JH, Depreux P, Aichaoui H. Friedel-Crafts Acylation of 2(3H)-Benzoxazolone: Investigation of the Role of the Catalyst and Microwave Activation. *Monatshefte für Chemie* 1999; 130: 1393-1397.

61. Wagner G, Leinstner S. Darstellung von 4,6-dinitrobenzoxazolinonen und deren Spaltung zu 3,5-dinitro-2-aminophenolen. *Pharmazie* 1971; 26(5): 280.

62. Bonte JP, Lesieur D, Lespangol C, Cazin JC, Cazin M. Acyl-6-benzoxazolinones. *Eur. J. Med. Chem. Chim.* 1974; 9(5): 491.

63. Idem. Condisation sur la structure des benzoxazolinones. *Bull. Soc. Pharm. Lille.* 1955; 37: 71.

64. Koyama T, Yamato M, Kubota K. Constituents of coix species. *J. Pharm. Soc.* 1956; 76: 1002.

65. Zinner H, Herbig H, Witsup I, Figert H. Über das Chemische Verhalten der Nitro-benzoxazolone. Chem. Ber. 1959; 92: 407
66. Erol DD, Erdoğan H, Yuluğ N. Antifungal activity of 3-Piperidinomethyl-2-(3H)-benzoxazolone. Doğa tıp eczacılık 1986; 10(2): 141-7.
67. Atkinson RS, Rees CW. Stereo specific addition aminonitrene to mono and dienes. Chem. Commun. 1967; 23: 1230.
68. Zinner H, Randow F, Wigert H. Benzoxazole XXI. (Benzoxazolone-3-yl)carboxylic acids. J Pr Chem 1966; 33(3): 130.
69. Zinner H, Wigert H. Benzoxazole XI Amino und Hydroxybenzoxazolone. Chem Ber 1960; 93: 1331.
70. Doğruer DS, Ünlü S, Yeşilada E, Şahin MF. N-(2-pyridinyl)-2-[2(3H)-benzoxazolone-3-yl]acetamides: Synthesis, Antinociceptive and Anti-inflammatory activity. Il farmaco 1997; 52(12): 745.
71. Pilli G, Erdogan H, Sunal V. Some New Benzoxazolinone Derivatives with Analgesic and Anti-inflammatory activities. Arzneim-Forsch / Drug Res 1993; 43(11): 1351-4.
72. Weinstok J, Gaitanopoulos DE, Stringer OD, Franz RG, Hieble JP, et al. Synthesis and Evaluation of Non-catechol D-1 and D-2 dopamine receptor agonist: Benzimidazol-2-one, Benzoxazol-2-one, and the highly potent benzothiazol-2-one 7-ethylamines. J. Med. Chem. 1987; 30: 1166-76.
73. Lespagnol A, Durbet M. Hypnotic action of benzoxazolone derivatives. Comp. Rend. Soc. Biol. Lille. 1941; 135: 1255-8.
74. Dalkara S, Çalış Ü, Sunal R. Synthesis and Anticonvulsant Activity of Some New 2(3H)-Benzoxalone Derivatives. J. Pharm. Belg. 1988; 43(5): 372-8.
75. Uçar H, Derpoorten KV, Cacciaguerra S, Spampinato S, Stables JP, Depovere P, Isa M, Masereel B, Delarge J, Poupaert JH. Synthesis and Anticonvulsant Activity of Some New 2(3H)-Benzoxalone and 2(3H)-Benzothiazolone Derivatives. J. Med. Chem. 1998; 41: 1138-45.
76. Sam J, Plampin JN. Benzoxazoles: Potent skeletal muscle relaxants. J. pharm. sci. 1964; 53: 538-44.

77. Doğruer DS, Ünlü S, Şahin MF, Yeşilada E. Anti-nociceptive and anti-inflammatory activity of some (2-benzoxazolone-3-yl and 2-Benzothiazolone-3-yl)acetic Acid Derivatives II Farmaco 1998;53: 80-4.
78. Önkol T, Ito S, Yıldırım E, Erol K, Şahin MF. Synthesis and antinociceptive activity of (2-benzazolone-3-yl)propionamide Derivatives. Archiv. Pharm. Pharm. Med. Chem. 2001; 334: 17-20.
79. Ünlü S, Baytas SN, Kupeli E, et al. Studies on novel 7-acyl-5-chloro-2-oxo-3H-benzoxazole derivatives as potential analgesic and anti-inflammatory agents Archiv Pharm 2003; 336(6-7): 310-321.
80. Vaccher MP, Lesieur D, Lespagnol CH, Bonte JP, Lamar JC, Beaughard M, Dureng G. Phenylethanolamines benzoxazolinoniques antagonistes Des Recepteurs Adrenergiques. Etude Chimique et Pharmacodynamique II Farmaco 1986; 41(4): 257.
81. Saal W, Holck JP, Kampe W, Mertens A, Muller-Beckmann B. Nonsteroidal cardiotonics. 2. The inotropic activity of linear, tricyclic 5-6-5 fused heterocycles. J. Med. Chem. 1989; 32(7): 1481-91.
82. Katsura Y, Nishino S, Takasugi H. Studies on antiulcer drugs. I. Synthesis and antiulcer activities of imidazo[1,2- α]pyridinyl-2-oxobenzoxazolidines-3-oxo-2H-1,4-benzoxazines and related compounds. Chem. Pharm. Bull. 1991; 39(11): 2937-43.
83. Aichaoui, Hocine; Guenadil, Faouzi; Kapanda, Coco N.; Lambert, Didier M.; McCurdy, Christopher R.; Poupaert, Jacques H. Synthesis and pharmacological evaluation of antioxidant chalcone derivatives of 2(3H)-benzoxazolones. Med. Chem. Research 2009;18(6): 467-76.
84. Martin JG, Moss NJ. In vitro effects of Metabolite Displacers on Pseudomonas aeruginosa. Am. J. Pharm. 1949; 121: 169.
85. Lespagnol A, Vincent M, Lespagnol C, Etude la Benzoxazolone et de Certains de ses Derives, Bull. Soc. Pharm. Lille, 1953; 35(1): 425.
86. Virtanen AI, Hietala PK, Wahlroos Q. An Antifungal Factor in Maize and Wheat Plants. Suomen Kemistil 1956; 29B: 143.

87. Virtanen AI, Hietala PK, Wahlroos Q. Additional Note on an Antifungal Factor in Maize and Wheat Plants. Suomen Kemistil 1956; 29B: 171.
88. Noda T. Fundamental Studies on Chemotherapy of Tuberculosis Catalyse Inhibitory Effects of Aminophenol and Its Derivatives. Jap. J. Tuberculosis. 1956; 4(1): 11.
89. Tacquet A, Lespagnol C, Beerens H, Lesieur D, Devulder B. Antimicrobial Activity of Benzoxazolinone Derivatives. Ann. Inst. Pasteur Lille 1971; 22: 189, Ref CA 1972; 76: 526v.
90. Erol DD, Çalış Ü, Yuluğ N. Synthesis of Ethanaone Derived from 2-Benzoxazolinones and their Antimicrobiyal Activities. Arzneim-Forsch/drug Res 1996; 46(I): 205.
91. Erol DD, Erdoğan H, Yuluğ N. Synthesis of some New Mannich bases derived from 6-Acyl-3-(3,5-dimethylpiperidinomethyl)-2(3H)-benzoxazolones and their biological activities. Arzneim-Forsch/drug Res 1989; 39(8): 851-3.
92. Erdoğan H, Yuluğ N. Synthesis of some new Mannich bases of 2-benzoxazolinones and their antimicrobial activities. HÜ Ecz. Fak. Dergisi 1989; 9(1): 35.
93. Erol DD, Aytemir MD, Yuluğ N. Synthesis and antimicrobial activity of Thiazolinomethyl-2(3H)-benzoxazolone derivatives. Eur. J. Med. Chem. 1995; 30(6): 521-4.
94. Erdoğan H, Yuluğ N. 3,6-Diaçil-2(3H)-benzoksazolonların antibakteriyel etkileri üzerinde çalışmalar. FABAD Pharm. Bil. Der. 1985; 10: 201.
95. Erdoğan H, Ünlü S, Yuluğ N. Bazı 3-kloroasetil-6-açil-2-benzoksazolinonların antibakteriyel ve antifungal etkilerinin araştırılması. HÜ Ecz. Fak. Dergisi 1987; 7(2): 81.
96. Kurnatowska A, Bialasiewicz D, Domagalina E. Evaluation of trichomonacidal action of New Derivatives of Benzoisoxazolinone, Benzoxazolinone and Benzotiazolinone. Wiad Parazytol 1985; 31(2): 175. Ref CA 1986; 10ndre4: 105995x.
97. Kalcheva V, Mincheva Z, Andreeva P. Synthesis and invitro activity of cephalosporin derivatives containing a benzoxazolone ring. Arzneim-Forsch/drug Res 1990; 40(9): 1030-4.

98. Abdelaal SM, Kong SB, Bauer L. Synthesis of 1-[3-methyl-2(3H)-benzazolone-5-or6-yl]-4-{4-[cis-2-(2,4-dichlorophenyl)-2-(1H-imidazole-1-yl-methyl)-1,3-dioxolane-4-yl]methyleneoxyphenyl}piperazines. *J. Het. Chem.* 1992; 29: 1069-76.
99. Erdogan H, Debaert, M, Cazin JC. Synthesis of some 2-benzoxazolinone derivatives and their analgesic properties. *Azneimittel-Forschung.* 1991; 41(1): 73-6.
100. Domagalina E, Marzec Z, Zawisza P. New derivatives of carbamidobenzoxazolin-2-ones. *Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska, Sectio D: Medicina* 1980; 1979(35):121-8.
101. Fritzsche K, Grob M, Braig A, Kienzle IM, Vilain GDG. Manufacture of long wavelength shifted benzotriazole UV-absorbers and their use. 2008; WO 2008/000646:100pp.
102. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (formerly NCCLS), Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 6th Informational Supplement. CLSI M100-S16, Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Wayne, Pennsylvania, USA, 2006.
103. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (formerly NCCLS), Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeast Approved Standard, M27-A, Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Wayne, Pennsylvania, USA, 2006.
104. Scott G, Franzblau RS, Witzig JC, McLaughlin PT, Guillermo M, et al Rapid, Low-Technology MIC Determination with Clinical *Mycobacterium tuberculosis* Isolates by Using the Microplate Alamar Blue Assay. *J. Clinical Microbiology*, 1998; 36(2): 362–366.

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı : Tuba

Soyadı : Biçer

Doğum Yeri ve Tarihi : Ankara, 1979

Eğitimi : Ankara Üniversitesi
Fen Fakültesi Kimya Bölümü
(1996-2001)
Özel Yükseliş Koleji (Lise)
(1993-1996)
Özel Yükseliş Koleji (İlköğretim)
(1985-1993)

Yabancı Dili : İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar: -

Bilimsel Etkinlikleri :

Method for producing Metal Salts of Losartan. Aslan Tuncer, Gulkok, Yıldız; Beydemir, Meltem; Biçer, Tuba; Turhan, Selda; Köroğlu, Melek. WO 2007 / 062675.

Proses for Producing Biphenyltetrazole Compounds. Aslan Tuncer, Biçer, Tuba; Gulkok, Yıldız; Turhan, Selda; Köroğlu, Melek WO2006 / 098705.

Proses for Producing Useful Salts Form Of Biphenyltetrazole Compounds. Proses for Producing Biphenyltetrazole Compounds; Aslan Tuncer, Biçer, Tuba; Gulkok, Yıldız; Turhan, Selda; Köroğlu, Melek; Söylemez Serdar. PCT/TR2006/000036.

Method For Producing Crystalline Form of 2-n-Butyl-3-((2-(1H-tetrazole-5-yl)(1,1'-biphenyl)-4-methyl)-1,3-diazaspiro(4,4)non-1-en-4-one. Aslan Tuncer, Gulkok, Yıldız; Biçer, Tuba; Turhan, Selda; Köroğlu, Melek.

TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında yanımda olan, bilgisini ve zamanını hiçbir zaman esirgemeyen, bana sonsuz destek ve özveri gösteren değerli hocam tez danıŐmanım Sayın Doç. Dr. Deniz S. Doğruer'e ,

Yüksek Lisans ęalıŐmalarımın için imkan verdiği için Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ningur Noyanalpan'a,

ĘalıŐmalarım esnasında bana her konuda yardımcı olan, desteğini esirgemeyen, değerli hocam Sayın Prof. Dr. M. Fethi Şahin'e,

Tez ęalıŐmalarım sırasında ve sosyal yaŐamımda ilgi ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Sayın hocam Prof. Dr. Serdar Ünlü'ye,

ĘalıŐmalarım boyunca bilgi ve tecrübeleriyle hep yanımda olan sevgili hocalarım Doç. Dr. Tuncer Aslan'a ve Dr. Ömer Reis'e,

ĘalıŐmalarım için izin veren, ęalıŐmalarımda maddi ve manevi desteğini esirgemeyen Fargem A.Ő.'ye,

Tüm Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine,
Tez ęalıŐmam boyunca verdikleri destek için sevgili aileme ve eŐime teŐekkürlerimi sunarım.