

283850

T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

4-HİDROKSİŞALKON TÜREVLERİ
ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

FARMASÖTİK KİMYA PROGRAMI
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ

Eczacı
E. Deniz Berkman

ANKARA - 1984

T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

4-HİDROKSİŞALKON TÜREVLERİ
ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

FARMASÖTİK KİMYA PROGRAMI
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ

Eczacı
E. Deniz Berkman

Rehber Öğretim Üyesi
Doç. Dr. A. Altan Bilgin

ANKARA - 1984

Araştırmamı yöneten, her türlü bilgi ve yardımlarından yararlandığım Anabilim Dalı Başkanımız, değerli hocam Sayın Doç. Dr. A. Altan Bilgin'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında yakın ilgi ve desteğini gördüğüm Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü Başkanı Sayın Prof. Dr. Suna Duru'ya; mikrobiyolojik çalışmalar sırasında laboratuvar olanaklarını esirgemeyen ve değerli bilgileri ile yön veren H. Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Nuran Yuluğ'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımda bilgi ve yardımları ile bana destek olan araştırma görevlisi Sayın Dr. M. Fethi Şahin ve araştırma görevlisi Sayın Dr. O. Cihat Şafak'a teşekkür ederim.

Spektrumların alınmasındaki yardımlarından dolayı Sayın Doç. Dr. Tuncel Özden ve Sayın Doç. Dr. Sıddık İçli'ye teşekkür ederim.

Bütün mesai arkadaşlarıma gösterdikleri anlayış ve yardımları için teşekkür ederim.

Eşime ve aileme şükranlarımı sunarım.

İ Ç İ N D E K İ L E R

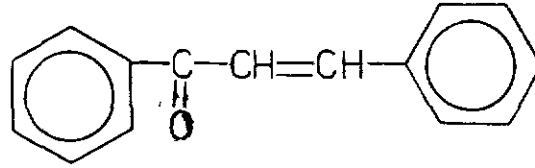
	<u>Sayfa</u>
G İ R İ Ş	1
G E N E L B İ L G İ L E R	5
ŞALKONLAR	5
Sentezleri	5
Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	7
Spektral Özellikleri	10
Mikrobiyolojik Özellikleri	12
İSOKSAZOLİNLER	13
Sentezleri	14
Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	17
Spektral Özellikleri	18
Mikrobiyolojik Özellikleri	19
PİRAZOLİNLER	20
Sentezleri	21
Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	25
Spektral Özellikleri	26
Mikrobiyolojik Özellikleri	29
D E N E Y S E L K İ S İ M	30
KİMYASAL ÇALIŞMALAR	30
Sentez Çalışmaları	30
Ergime Derecesi Tayinleri	32
İnce Tabaka Kromatografisiyle Kontroller	32

Sayfa

Spektrometrik Kontroller	34
Eleman Analizleri	35
MİKROBİYOLOJİK ÇALIŞMALAR	36
B U L G U L A R	40
KİMYASAL ÇALIŞMALAR	40
MİKROBİYOLOJİK ÇALIŞMALAR	59
T A R T İ Ş M A V E S O N U Ç	62
Ö Z E T	74
SUMMARY	76
L İ T E R A T Ü R	78
Ö Z G E Ç M İ Ş	87

G İ R İ Ő V E A M A Ç

Şalkonlar 1,3-diaril-propen-1-on yapısında bileşikler olup tabiatta birÇok bitkinin yapısında bulunurlar ve flavonoitlerin biyosentezinde önemli rol oynarlar (1).



Şalkon

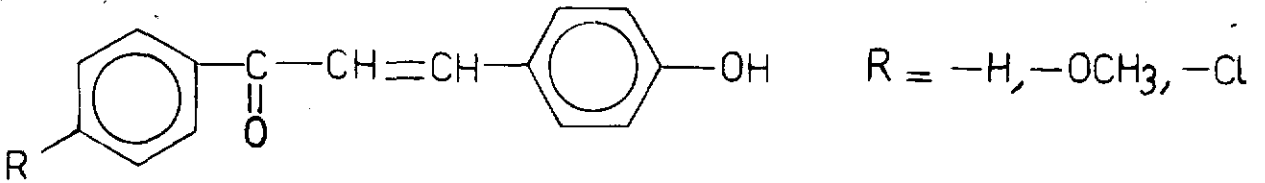
Literatürde őkok sayıda şalkonun sentezi kayıtlıdır. Bunlardan bazılarının antifungal aktivite gösterdikleri bulunmuştur (2-5). Bundan başka şalkonların antibakteryel (6), insektisid (7), antihelmentik (8), antimalaryal (9), sitostatik (10), antispazmodik (11), östrojenik (12), antihipertansif (13), herbisit (14) etkilerine ait literatür kayıtları da vardır.

1972 yılında Gasha ve arkadaşları, őkēitli şalkon

türevlerinin *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes* ve *Trichophyton rubrum* funguslarına karşı antifungal aktivitesini incelemişler ve bazı türevlerin, standart olarak kullanılan *Griseofulvin*'den daha aktif olduğunu görmüşlerdir (2).

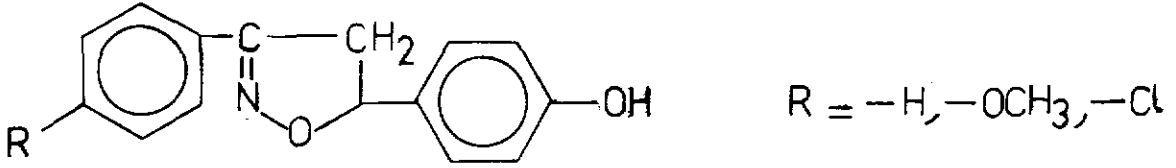
Yine 1972 yılında Bhat ve arkadaşları, çeşitli sübstütle salisilaldehitlerin tiyosemikarbazon ve hidrazonlarını hazırlamışlar ve azometin bağı içeren bu bileşiklerde iyi bir antifungal aktivite tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada ayrıca bu bileşiklerin analoğu olan şalkon tiyosemikarbazonlarının sentezini yapmışlar, bunların da iyi bir antifungal aktiviteye sahip olduklarını bildirmişlerdir (5).

Biz de literatür bilgilerine dayanarak antifungal aktivite göstermesini beklediğimiz üç şalkonun sentezini yaptık.



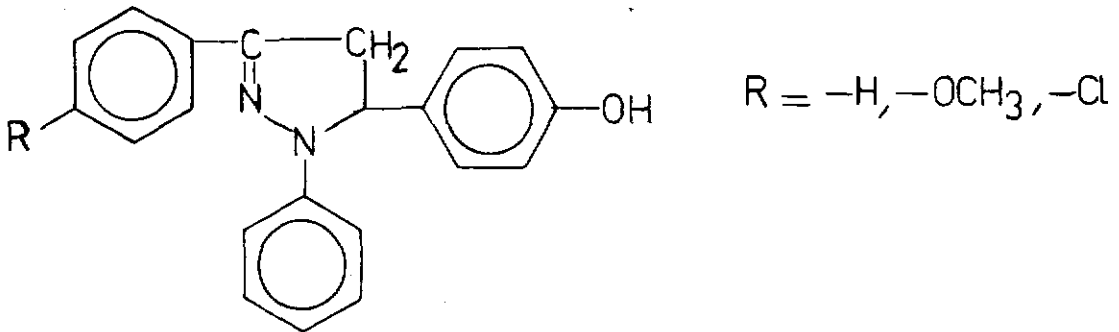
Bu şalkonlar, literatürde kayıtlı olmakla beraber (15-17), sadece bir tanesi (4-hidroksişalkon) üzerinde antifungal aktivite araştırması yapıldığı ve olumlu sonuç alındığı bildirilmektedir (2). Bu bileşikleri, çalışmanın bütünlüğü bakımından, literatürde kayıtlı olmalarına rağmen tez kapsamına almakta yarar gördük.

Sözkonusu şalkonları, hidroksilaminle reaksiyona sokarak üç isoksazolin bileşiği hazırladık.



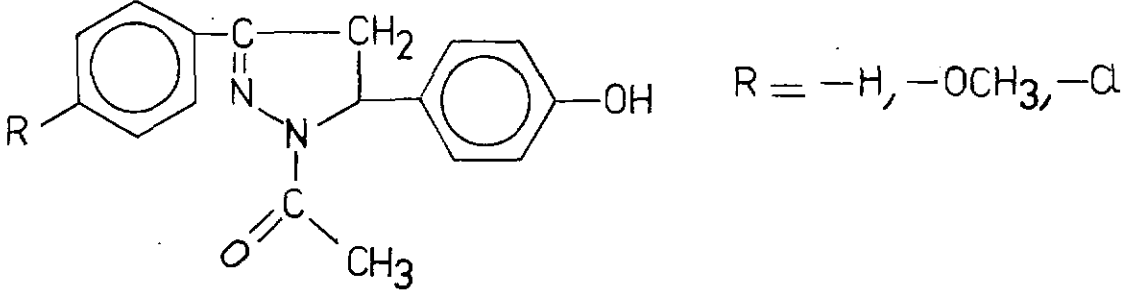
Bu isoksazolin türevlerinin bir tanesi, 3-fenil-5-(4-hidroksifenil)isoksazolin, literatürde kayıtlıdır (15); fakat üzerinde hiçbir aktivite araştırması yapılmamıştır. Diğer iki bileşik literatürde bulunmamaktadır.

Ayrıca sözkonusu şalkonların fenilhidrazin ile reaksiyonundan üç 1-fenil-2-pirazolin türevinin sentezini yaptık.



Bu türevlerden bir tanesinin, 1,3-difenil-5-(4-hidroksifenil)pirazolin, sentezi daha önce yapılmış fakat aktivitesi çalışılmamıştır (15). Diğer iki bileşik literatürde kayıtlı değildir.

Bunlara ek olarak, şalkonları asetik asit karşısında hidrazin hidratla reaksiyona sokarak literatürde bulunmayan üç yeni 1-asetil-2-pirazolin'in sentezini yaptık.



Hazırladığımız bileşiklerin NMR, IR spektrumları ve eleman analizleri ile yapılarını kanıtladık; erime derecesi, çözünlük, kromatografik davranış, UV absorpsiyonu ile ilgili özelliklerini tespit ettik. Ayrıca *Candida albicans*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida stellatoidea*, *Candida tropicalis*, *Torulopsis dattila*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus niger*, *Penicillium notatum*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes*'e karşı antifungal aktivitelerini inceledik.

GENEL BİLGİLER

ŞALKONLAR

Şalkonlar tabiatta başlıca *Carthamus tinctorius* (Compositae), *Glycyrrhiza glabra* (Leguminosae), *Salix purpurea* (Salicaceae) bitkilerinde olmak üzere birçok bitkide, flavonozit aglikonu olarak bulunmaktadır.

Sentezleri ilk olarak 1881 yılında Claisen ve Claparade tarafından yapılmıştır (18).

Sentezleri

Şalkon yapısındaki maddelerin sentezi, aril-metil ketonların benzaldehit veya süstitüe benzaldehitler ile Claisen-Schmidt kondensasyonu yoluyla yapılmaktadır (19).

Şalkon sentezlerinde asit veya bazik katalizör kullanılabılır (18,20,21). Fakat bazik katalizörler, verimin daha

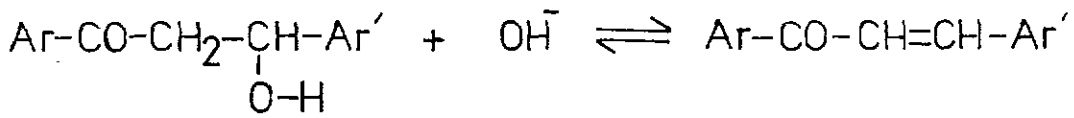
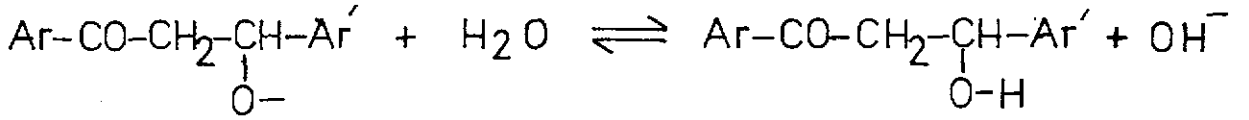
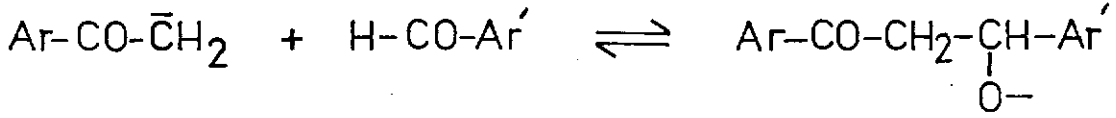
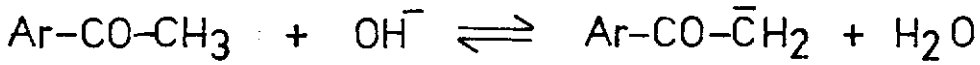
yüksek olması nedeniyle tercih edilmektedir (4,22-28).

Alkali vasatta yürütülen reaksiyon üzerine, ısının etkisi araştırılmış ve sıcakta yürütülen reaksiyonların, soğukta yürütülenlere nazaran daha kısa sürede tamamlandığı gösterilmiştir (27).

Çalışmamızın kapsamındaki şalkonlar, alkali vasatta ve ısı uygulanarak sentezlenmiştir.

Klasik kaynaklarda belirtildiğine göre, aromatik aldehitler ve α -karbon atomu üzerinde hidrojen içermeyen alifatik aldehitler, bazik ortamda aldol kondensasyonuna giremezler; ortamda α -karbon atomunda hidrojen içeren bir keton veya aldehitin bulunması halinde Claisen-Schmidt kondensasyonu reaksiyonunu verirler.

Reaksiyonun mekanizması literatürde ayrıntılı olarak verilmemekle beraber (19), bir araştırmacı tarafından şu şekilde açıklanmıştır: İlk olarak asetofenon bileşiğinden bazik ortam etkisiyle bir karbanyon oluşur; bu karbanyon, benzaldehitin karbonil grubuna katılır. Katım ürünündeki hidroksil grubu, α -pozisyonunda karbonil taşıyan bir metilen grubuna komşu olduğundan, alkali vasatta eliminasyona uğrayarak şalkon iskeletini oluşturur (29).



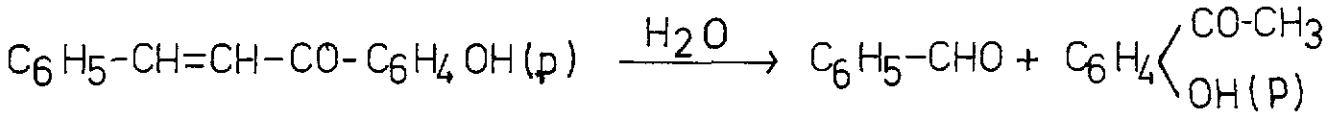
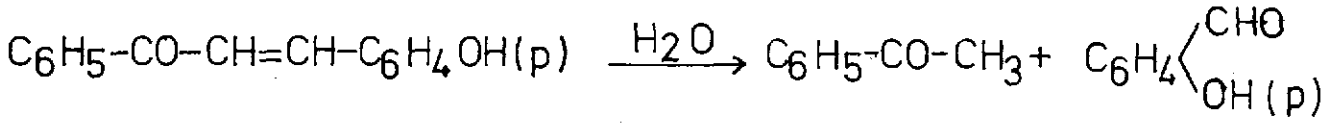
Şalkon sentezlerinde kullanılan benzaldehit veya süstitüe benzaldehitler α -hidrojenu taşımadıklarından alkali ortamda Cannizaro Reaksiyonunu da vererek yan ürün olarak az miktarda benzoik asit ve benzil alkol oluştururlar (30).

Bu yolla sentez edilen şalkon türevlerinin daima trans izomerleri olduğu gösterilmiştir (31). Bunun sebebinin, fenil gruplarının birbirinden uzaklaşarak molekülün enerjisini düşük tutmak istemeleri olduğu düşünülebilir. Trans şalkon türevlerinin cis şekline dönüştürülmesi, UV ışınlanması ile gerçekleştirilmektedir (32).

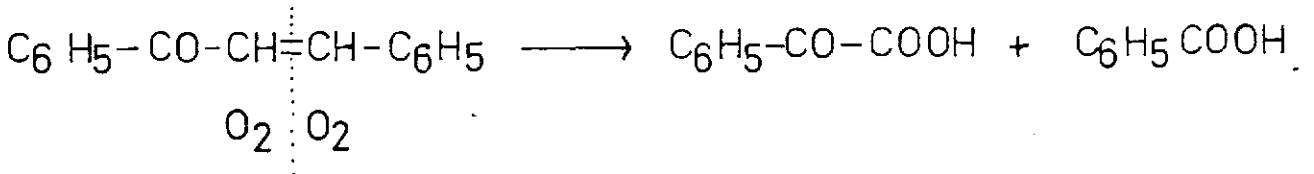
Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Şalkon yapısındaki bileşikler sarı ve turuncu renkte, kristalize maddelerdir (24).

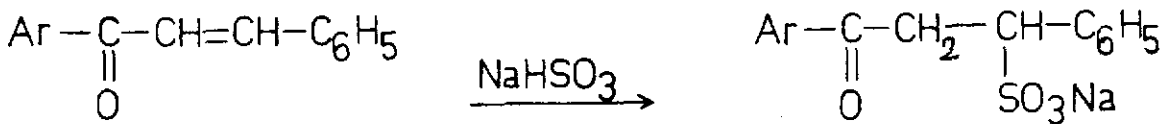
Derişik potasyum hidroksit çözeltisi ile ısıtıldıklarında parçalanırlar ve elde edilmelerinde kullanılan aldehit ve asetofenon türevlerine ayrışırlar (24).



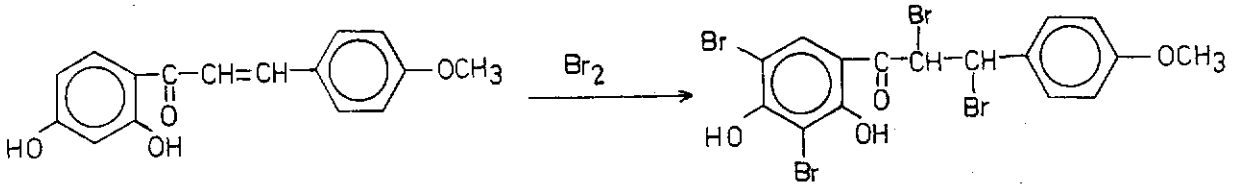
Şalkonlar kuvvetli oksidanlardan etkilenirler. Literatürde nitrik asitle oksidasyonları incelenmiş, benzoik asit ve benzoilformik asit vererek parçalandıkları gösterilmiştir (18).



Şalkon türevleri sodyum bisülfid ile reaksiyona sokulduklarında, sodyum sülfonat tuzlarına dönüşürler. Buna ait bir örnek aşağıda verilmiştir (26).

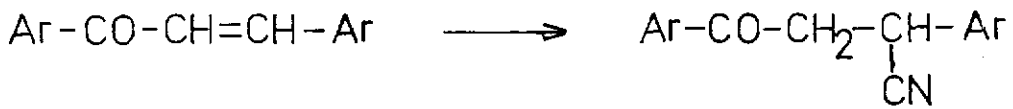


Şalkonlarda etilenik gruba halojen katımı da çalışılmıştır. Nadkarni'nin şalkonlar üzerinde, bromun aşırısını kullanarak yaptığı bir çalışmada, etilenik gruba brom katılırken aromatik halkada da süstitüsyon olduğu gözlenmiştir (22).



Klinke'nin aynı konudaki bir çalışmasında ise şalkon ve brom ekimolar miktarlarda reaksiyona sokulduğunda katım reaksiyonu sonucu α, β -dibrom türevinin oluştuğu, halkada süstitüsyon olmadığı görülmüştür (33).

Şalkonlar, asit karşısında potasyum siyanür ile reaksiyona sokulduklarında 3-siyano-1,3-difenilpropan-1-on oluştururlar (28).

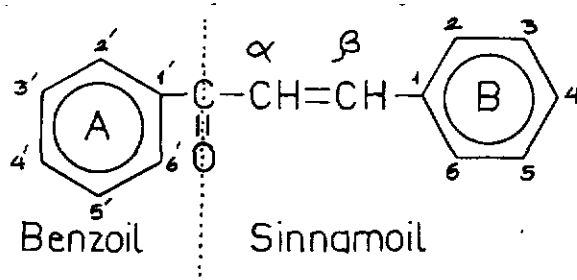


Louis ve arkadaşlarının, aralarında şalkonun da bulunduğu bir grup bileşik üzerinde yaptıkları bir çalışmada, şalkonun bazik indikatör olarak kullanılabildiği; asit çözeltilerde renksizken, bazik çözeltilerde rengin sarıya dönüştüğü belirtilmiştir (34).

Spektral Özellikleri

UV Spektrumları

Şalkonların UV spektrumlarında benzoil ve sinnamoil gruplarından ileri gelen 2 maksimum gözlenir (35-38).



Bu maksimumlar için Bant-I ve Bant-II terimleri kullanılmaktadır. Bant-I 300-390 nm arasında olup sinnamoil bölümüne; Bant II ise 220-270 nm arasında olup benzoil grubuna aittir.

Szmant ve Basso 1952 yılında yaptıkları bir çalışmada, Bant-I'i esas alarak, şalkonların UV spektrumları ile ilgili bazı genel kuralları tespit etmişlerdir (36).

Monosüstitüe şalkonlarda:

1- Kuvvetli elektron verici bir grubun A halkasında bulunması, yaklaşık 30 nm lik; B halkasında bulunması ise yaklaşık 10 nm lik batokromik kaymaya neden olur.

2- Zayıf elektron verici gruplar A halkasında bulduklarında çok küçük batokromik kaymalara neden olurlar; B halkasında bulduklarında ise dalga boyuna bir etki yapmazlar.

3- A halkasında kuvvetli elektron çekici grupların bulunması büyük hipsokromik kaymalara neden olur;bu grupların B halkasında bulunması ise batokromik etkiye yol açar.

Her iki halkada da sübstitüent içeren şalkonlarda:

1- İki sübstitüentin de kuvvetli elektron verici olması halinde batokromik kaymanın miktarı,B halkasındaki sübstitüentten etkilenmez;sonuç sadece A halkasında sübstitüent varmış gibidir.

2- Kuvvetli elektron verici grupların batokromik etkisi,zayıf elektron verici gruplar tarafından azaltılır.

3- Halkalarda elektron çeken grupların varlığı,elektron veren grupların etkilerini gölgeler;fakat B halkasında elektron çekici bir grubun bulunması bu etkiyi geniş ölçüde kompanse eder.

IR Spektrumları

Sübstitüe olmamış şalkona ait IR spektrumunda C=O gerilim bandı,1656 cm^{-1} de görülür.Bu bant benzen halkası üzerindeki sübstitüentlere bağlı olarak değişik frekanslara kayabilir.Örneğin; 4-hidroksişalkon. 1642 cm^{-1} de,4,4'-dihidroksişalkonda 1647 cm^{-1} dedir (33).

Ayrıca genel bilgilerimize göre 870-800 cm^{-1} de 1,4-disübstitüe aromatik halka bandı;769-725 cm^{-1} ve 714-690

cm^{-1} de monosübstitüe aromatik halka bantları;1580,1495,1468 cm^{-1} de ise aromatik halka C=C gerilim bantları vardır (39).

NMR Spektrumları

Şalkonların NMR spektrumlarında A ve B benzen halkalarına ait proton sinyalleri sırasıyla δ 6,5-7,5 ppm ve 6,3-8 ppm arasında;etilenik bağın α -hidrojeni 6,7-7,4 ppm, β -hidrojeni ise 7,3-7,7 ppm arasındadır (37,40).

4,4'-dimetoksişalkonun NMR spektrumu incelendiğinde aromatik halkalarda 3,5,3',5'-pozisyonlarındaki protonların aşağı sahada;2',6'-pozisyonlarındaki protonların ise daha yukarı sahalarda pik verdiği görülmektedir (37).

Mikrobiyolojik Özellikleri

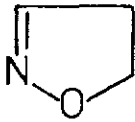
Şalkonların önemli özelliklerinden biri antifungal ve antibakteryel aktivite göstermeleridir (2-6).1972 yılında Gasha ve arkadaşları (2),aralarında 4-hidroksişalkonun da bulunduğu bir grup şalkon üzerinde antifungal aktivite çalışması yapmışlar,genel olarak Trichophyton'lara karşı aktif olduklarını ve bu aktivitenin α -brominasyonla arttığını görmüşlerdir.Her iki benzen halkasında birer hidroksil grubu içeren bileşiklerin ise inaktif olduğunu tespit etmişlerdir.

Gasha'nın bu çalışmasında nitrofurazon ile karşılaştırmalı olarak antibakteryel aktivite de incelenmiş,

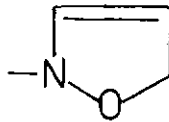
Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Mycobacterium tuberculosis, Escherichia coli, Proteus vulgaris ve Pseudomonas aeruginosa'ya karşı değişik şalkon türevlerinde minimum inhibitör konsantrasyonun 0,78- >100 mg/ml olduğu tespit edilmiştir. Nitrofurazonda bu değer 6,25- >100 mg/ml dir. Her iki benzen halkasında birer hidroksil grubu taşıyan şalkonların, bakterilere karşı da inaktif olduğu görülmüştür.

İSOKSAZOLİNLER

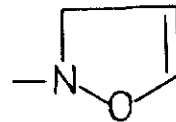
Teorik olarak 3 çeşit dihidroisoksazol türevi vardır: 2-isoksazolinler (I), 3-isoksazolinler (II) ve 4-isoksazolinler (III) (41). Bizim sentezini yaptığımız türevler 2-isoksazolinler olduğundan burada diğerleri üzerinde durulmayacaktır.



I



II



III

Literatürde sentezi bildirilen ilk isoksazolin 3,5-difenil-2-isoksazolin olup, 1895 yılında Rupe ve Schneider tarafından β -kloro- β -fenilpropiyofenon ve hidroksilaminden hareketle elde edilmiştir (42).

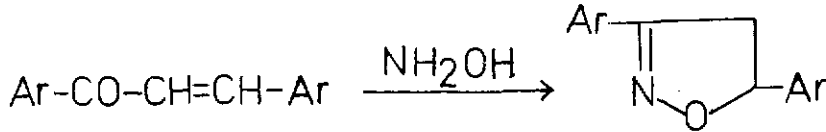
Dağı sonra Claus 1933 yılında aynı isoksazolin türevini şalkon ve hidroksilaminden hareket ederek hazırlamıştır (43). 1939 da Meisenheimer ve Campbell, bazik vasatta isoksazolin veren şalkon ve hidroksilaminin, asidik vasatta oksim oluşturduğunu tespit etmişlerdir (44).

Sentezleri

2-isoksazolinlerin sentezinde kullanılan başlıca yöntemler aşağıda belirtilmiştir (41) :

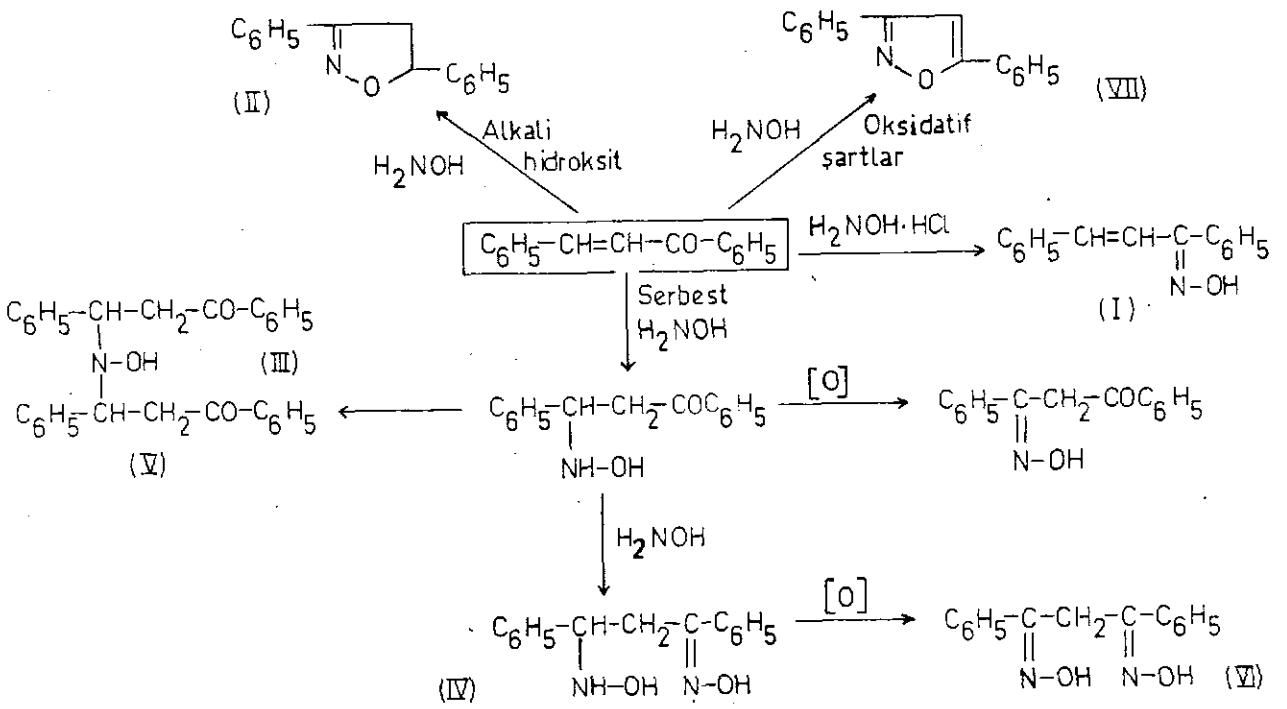
- A- α , β -Doymamış ketonlar ve hidroksilaminden,
- B- β -Kloroketonlar ve hidroksilaminden,
- C- Etilenik bileşikler ve nitril oksitlerinden,
- D- İoksazolin N-oksitlerinden,
- E- Katerner amonyum tuzlarından.

Bu çalışmanın kapsamına giren isoksazolin türevleri "A" yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır.



Bu yöntem ile vasatın pH'sına, reaksiyona sokulan ilkel maddelerin oranına, Ar gruplarının tabiatına bağlı olarak değişik ürünler elde etmek mümkündür. Bu ürünler, basit oksimler (I), isoksazolinler (II), hidroksilaminoketonlar (III),

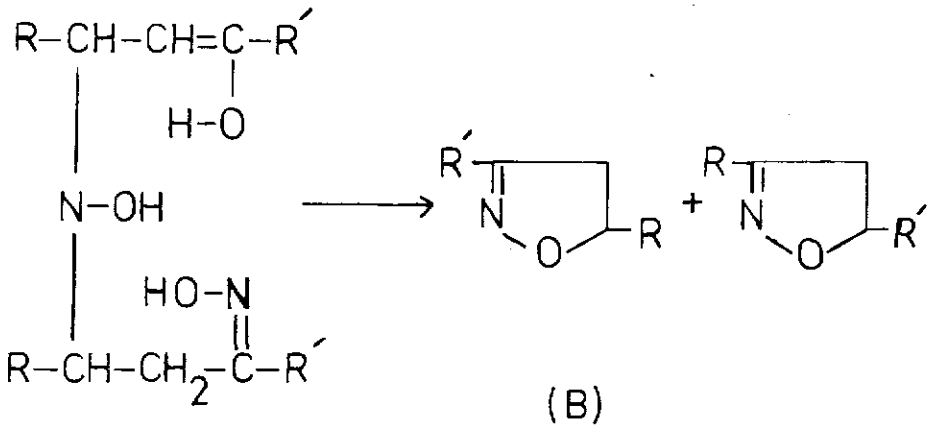
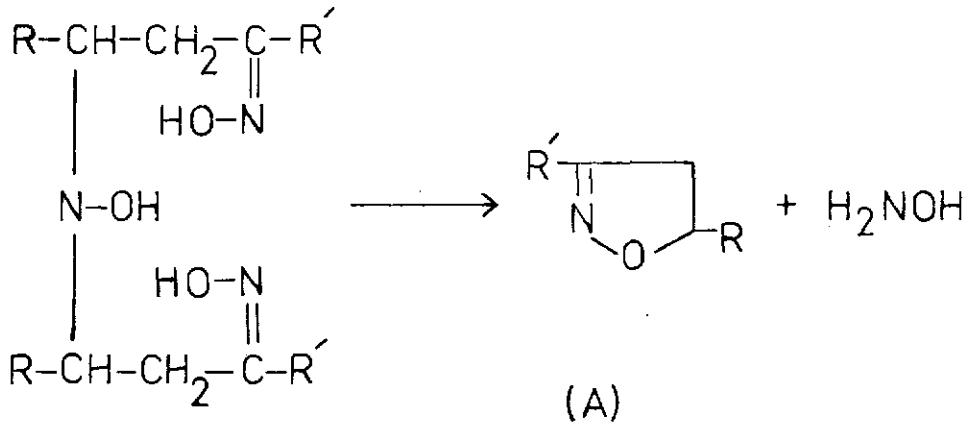
hidroksilamino oksimler (IV), disüstitüe hidroksilaminler (V) ve oksidatif işlemler uygulamak şartıyla dioksimler (VI) ve isoksazoller (VII) olabilir. Bu ürün tipleri aşağıda verilmiştir (41) :



Reaksiyonun yönü sterik faktörlerden de etkilenmektedir. Örneğin, Auwers ve Risse bir çalışmada, ele alınan üç dimetilşalkondan, 2', 5' ve 2', 4' izomerleri gerek asit, gerekse alkali vasatla hidroksilaminle reaksiyona girmemiştir; 3', 4' - dimetilşalkon ise alkali vasatla ancak uzun süre kaynatma sonucu isoksazoline dönüşmüştür (45).

İsoksazolin halkasının oluşum mekanizması hakkında

değişik görüşler açıklanmıştır (46-48), ancak Auwers tarafından ileri sürülen mekanizma, diğer araştırmacılar tarafından da kabul edilmiştir (48). Auwers, isoksazolinlerin, doymamış oksimin siklizasyonu ile değil, hidroksilaminin α,β -doymamış ketona 1,2-katılması sonucu oluşan ara ürünün dekompozisyonu ile oluştuğunu ileri sürmüştür.



Auwers'in bulgularına göre ortamdaki hidroksilamin miktarı, dioksim oluşumu için yeterli olduğu takdirde reaksiyon ürünü olarak tek bir isoksazolin elde edilmektedir (A).

Hidroksilamin miktarı sadece monooksim oluşumuna izin veriyorsa iki izomerik isoksazolinin karışımı elde edilmektedir (B).

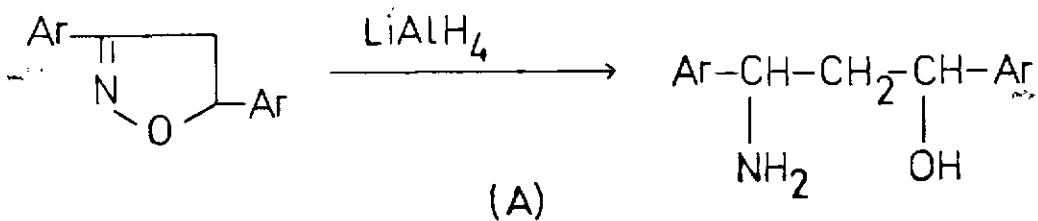
Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

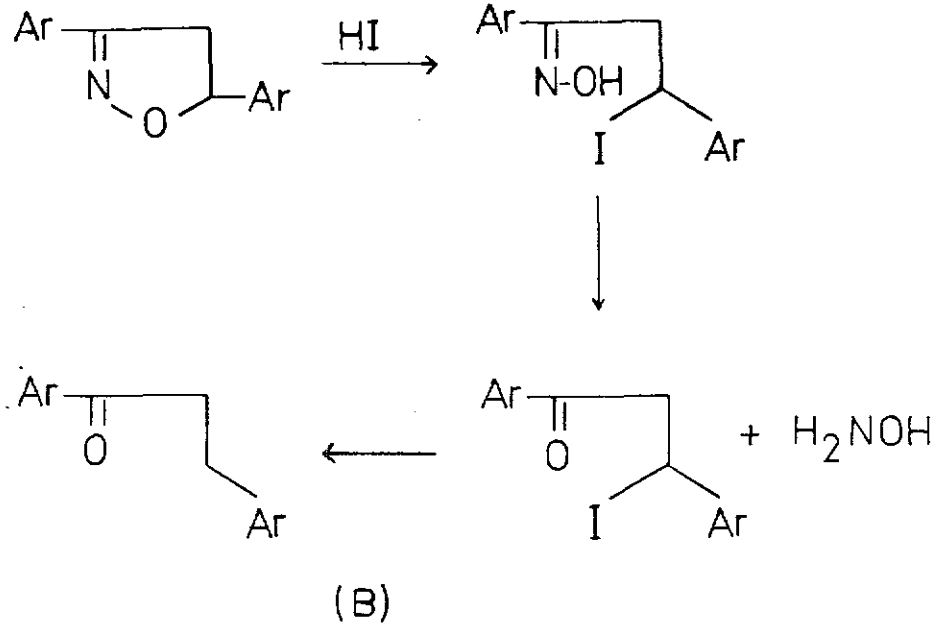
Alifatik isoksazolinlerin sıvı halde bulunmasına karşın, aril isoksazolinler kristalize, katı maddelerdir. Zayıf bazik karakterdedirler; ancak bu özellikleri, bunlara tekabül eden isoksazollere nazaran daha fazladır.

İsoksazolin halkası asitlere, alkalilere ve diğer kimyasal maddelere karşı oldukça dayanıklıdır. 3,5-diaril isoksazolinler, kromik asit ile tekabül ettikleri isoksazollere oksitlenebilirler. Bu tip oksidasyonlar, 3,5-diaril isoksazolinlerin yapısını tayin etmek için sıklıkla kullanılır (43).

Brom, pirazolinleri kolayca pirazollere dehidrojene edebildiği halde, isoksazolinleri isoksazollere çeviremez (41).

Perold ve Reiche'nin bir çalışmasında 3,5-difenil-isoksazolin, lityum alüminyum hidrür ile redüklenmiş (A) ve 1,3-difenil-3-aminopropanol olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, aynı isoksazolin bileşiği, derişik hidroiyodik asitle de redüksiyona tabi tutulmuş (B) ve halka parçalanarak β -fenilpropiyofenon oluşmuştur (49).





Spektral Özellikleri

UV Spektrumları

Perold ve arkadaşları, isoksazolin türevlerinin UV spektrumları üzerinde yaptıkları bir çalışmada 3,5-diaril-2-isoksazolinlerin 265 nm civarında K bantları verdiklerini ve $\log \epsilon$ değerinin ortalama 4,2 olduğunu bildirmişlerdir (50). Bu araştırmacılar isoksazolinlerin UV sahadaki diğer absorpsiyon bölgelerine değinmemişlerdir.

IR Spektrumları

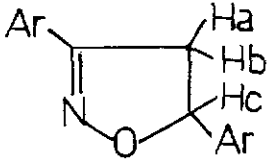
Bellamy, beş halkalı bileşiklerde $C=N$ bağının 1660 cm^{-1} civarında kuvvetli absorpsiyon bantları verdiğini bildirmektedir (51). Perold ve arkadaşları 3,5-diaril-2-isoksazolin bileşiklerinin IR spektrumlarını incelemişler; $C=N$ bağına ait frekansları, aromatik $C=C$ bağına ait frekanslarla girişim yapmış

olarak 1570-1608 cm^{-1} arasında gözlemişlerdir (50).

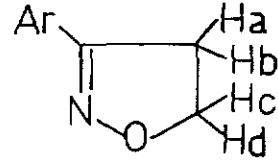
NMR Spektrumları

3,5-difenil-2-isoksazolinlerin (A) NMR spektrumları üzerinde yapılan çalışmalarda Ha protonunun δ 3,30-3,20 ppm de; Hb protonunun 3,90-3,50 ppm de kuartetler halinde görüldüğü; 5 numaralı pozisyondaki Hc protonunun ise δ 6,20-4,60 ppm arasında yine kuartet halinde pik verdiği bildirilmiştir (52,53).

3-fenil-2-isoksazolinlerde (B) ise Ha ve Hb protonları δ 3,14 ppm civarında; Hc ve Hd protonlarının ise δ 4,28 ppm civarında multipler halinde gözlemlendiği tespit edilmiştir (53).



(A)



(B)

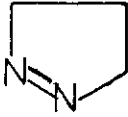
Mikrobiyolojik Özellikleri

Murthy ve arkadaşlarının yaptıkları bir araştırmada 3-fenil-5-arylksimetilisoksazolinlerin antibakteryel ve anti-fungal aktiviteleri incelenmiş; B.subtilis, E.coli ve S.aureus'a karşı etkin bulunmadıkları, fakat A.niger'e karşı iyi bir fungostatik aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir (54).

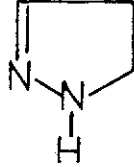
Davenport ise çeşitli isoksazolin bileşikleri üzerinde yaptığı antifungal aktivite araştırmasında, bu bileşiklerin domateslerde gelişen *Phytophythora infetans*'a ve diğer fitopatogenlere karşı fungusit aktivite gösterdiklerini ortaya koymuştur (55,56).

PIRAZOLİNLER

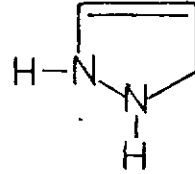
Pirazolinlerin üç tautomerik formu vardır. Literatürde, aşağıda formülleri verilmiş olan bu tautomer şekilleri arasında denge bulunduğuna ait bir kayıt mevcut değildir.



1-pirazolin



2-pirazolin

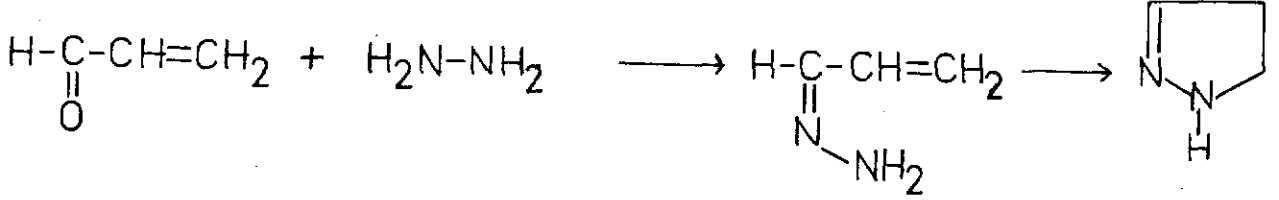


3-pirazolin

Bununla beraber belli bazı durumlarda reaksiyon esnasında izomerizasyon olduğu bilinmektedir (57,58). Daha sonra bahsedeceğimiz, 2-pirazolinlerin piroliz reaksiyonu buna bir örnek teşkil eder.

Pirazolin halkası ilk defa 1884 yılında Curtius ve Wirsing tarafından akrolein ve hidrazinin reaksiyonu sonucu

elde edilmiştir (59).



İlk pirazolin türevinin sentezi ise bundan bir yıl sonra 1,3-difenil-5-metilpirazolun sodyum ve etanol içinde reduksiyonunu inceleyen Knorr ve Blank tarafından yapılmıştır (60). Elde edilen ürünün hidroklorik asit içinde nitroz asitle reaksiyona sokulduğunda mavi-yeşil renk oluşturduğu saptanmış ve bu reaksiyon sonraları pirazolin teşhisi için geliştirilen "Knorr Testi" nin temelini teşkil etmiştir (60,61).

Sentezleri

Klasik kaynaklarda 2-pirazolin bileşiklerinin sentezi için verilen yöntemler aşağıda gösterilmiştir (59).

I-Hidrazine dayanan reaksiyonlar:

A-Aril Hidrazinlerin,

- 1- α, β -Doymamış karbonil bileşikleri ile kondensasyonu,
- 2- α, β -Doymamış nitrillere katımı,
- 3- β -Süstitüe ketonlarla kondensasyonu,
- 4-Oksiran ve aziridinlerle kondensasyon reaksiyonları.

B-Hidrazin ve alifatik hidrazin türevlerinin,

- 1- α , β -Doymamış karbonil bileşikleri ile kondensasyonu,
- 2- β -Süstitüe ketonlarla kondensasyonu,
- 3- α , β -Doymamış nitrillere katım reaksiyonları.

C-Siklizasyona dayanan sentezler.

II-Alifatik diazo bileşiklerine dayanan reaksiyonlar:

- A-Diazo alkanların karbon-karbon ikili bağına katımı,
- B-Asetilenlere imin katımı.

Çalışmamızın kapsamına giren 1,3,5-trifenil-2-pirazolin türevlerinin hazırlanmasında I-A-1 yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemin literatüre geçen ilk uygulaması 1887 yılında Fisher ve Knövenagel tarafından yapılmıştır (62). Bu araştırmacılar akrolein ile fenil hidrazini reaksiyona sokmuşlar, ürünün bekledikleri gibi hidrazon değil, 1-fenil-2-pirazolin olduğunu görmüşlerdir.

Daha sonra Auwers ve Müller bu tip reaksiyonları incelemişler, pirazolinin, ara kademedede meydana gelen ve stabil olmayan bir hidrazonun rearanjmanı sonucu oluştuğunu ileri sürmüşlerdir. Hidrazonun izole edilebilecek kadar stabil olduğu durumlarda ise, bu hidrazonun, sıcak asetik asitle muamelesi sonucu pirazolin türevleri elde edilmiştir (63).

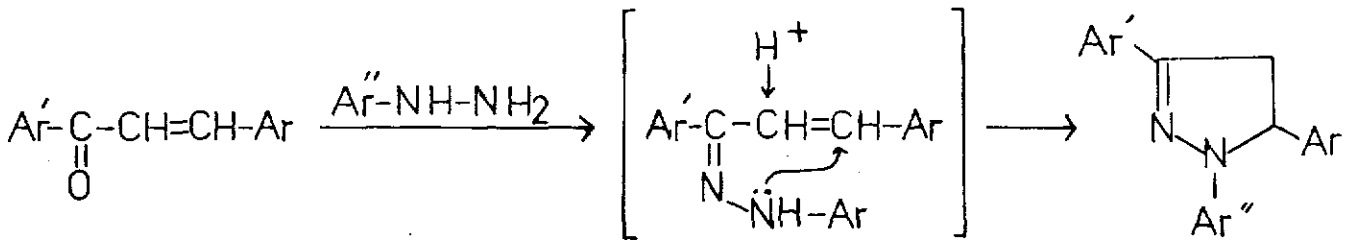
Literatürde I-A-1 yönteminin değişik reaksiyon şartları altında uygulanabildiğine dair kayıtlar vardır. Örnek olarak, glasiyel asetik asit karşısında değişik sürelerde ısıtılarak

hazırlanmış türevlerin yanında (39,62,65),metanol içinde oda ısısında sentezi yapılmış türevler de mevcuttur (64).

Yapılan çalışmalar,polar solvanların ve asidik veya bazik katalizörlerin reaksiyonu büyük ölçüde hızlandırdığını göstermiştir (59).

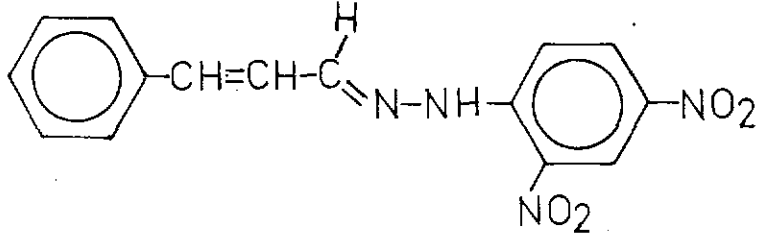
Wiley ve arkadaşları 1,3,5-triaril-2-pirazolinlerin en elverişli sentez yönteminin,ekimolar miktarlarda aril hidrazinler ile bir α, β -doymamış keton türevi olan şalkonların asetik asit içinde birkaç saat ısıtılması olduğunu ve verimin %59-99 arasında değiştiğini bildirmişlerdir (39).

Bu reaksiyonun genel olarak kabul edilen mekanizmasına göre önce hidrazon oluşur;sonra asit şartlarda,karbon-karbon ikili bağına katım olur (39,65).

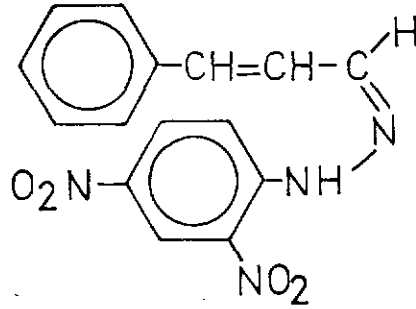


Reaksiyon sırasında çok çabuk oluşan α, β -doymamış hidrazonun,yavaş bir reaksiyonla siklize olduğu ileri sürülmüştür.Halka kapanma mekanizmasının tam olarak işleyebilmesi için, ara ürünün reaksiyon vasatında yeteri kadar çözünür olması ve yapısının siklizasyona uygun olması gereklidir.Ancak bu takdirde

karbon-karbon ikili bağına katım gerçekleşebilir (59).Örneğin, sinnamaldehitin 2,4-dinitrofenilhidrazon türevinden pirazolin elde edilememiştir.Çünkü bu hidrazon sin formu (I) halindedir; anti formu (II) oluşmamaktadır.Reaksiyon ise sin formu üzerinden yürümektedir.Bu sebeple 1-(2,4-dinitrofenil)-5-fenil-2-pirazolin sentezi,sinnamaldehydin dinitrofenilhidrazonundan değil,5-fenil-2-pirazolin ve 2,4-dinitroklorbenzenin reaksiyonu ile sağlanmaktadır (66).



(I)



(II)

Çalışmamızın kapsamındaki 1-asetil-3,5-difenil-2-pirazolin türevlerinin sentezi ise I-B-1 yöntemi ile yapılmıştır.Bu yöntem, α , β -doymamış ketonun hidrazin veya alifatik hidrazin türevleri ile kondensasyonuna dayanır.Aril hidrazin kondensasyonu yönteminde olduğu gibi reaksiyon çeşitli şartlarda yürütülebilir.Örneğin sulu vasatta,asidik veya bazik

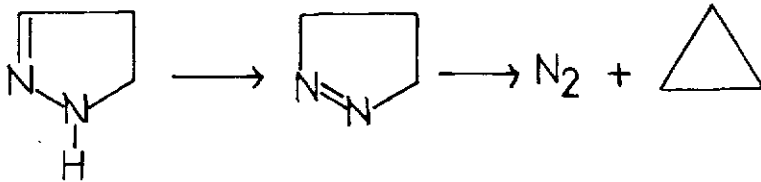
katalizörler karşısında, alkol veya alkol-sodyum asetat karışımı içinde, odasında, soğutarak veya ısıtarak yapılabilir (59).

Literatürde 1-asetil-2-pirazolin türevlerinin sentezi iki yöntem ile yapılmaktadır. Bu yöntemlerden biri 1-non-sübstitüe pirazolinin asetillenmesine, diğeri ise asetillenmiş hidrazin kullanılarak pirazolin halkası kapatılmasına dayanmaktadır (67-69); fakat herhangi bir reaksiyon mekanizması verilmemektedir.

Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Sübstitüe olmamış pirazolin halkası kuvvetli bazik özellikte, renksiz bir sıvıdır. Sübstitüe pirazolinler ise çoğunlukla katı halde bulunmaktadır (59).

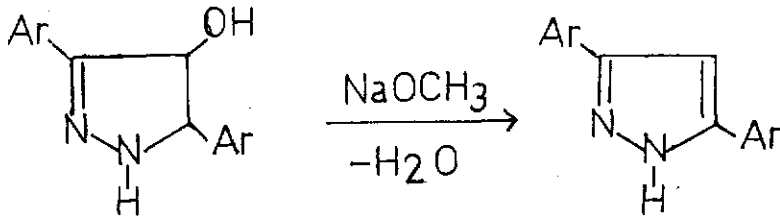
1-pozisyonundan sübstitüe olmamış 2-pirazolinlerin erime dereceleri civarında atmosferik basınçta veya düşük basınçta ısıtıldıklarında parçalandıkları, her iki azotun da eliminasyonu sonucunda siklopropan yapısına dönüştükleri gösterilmiştir (57,58).



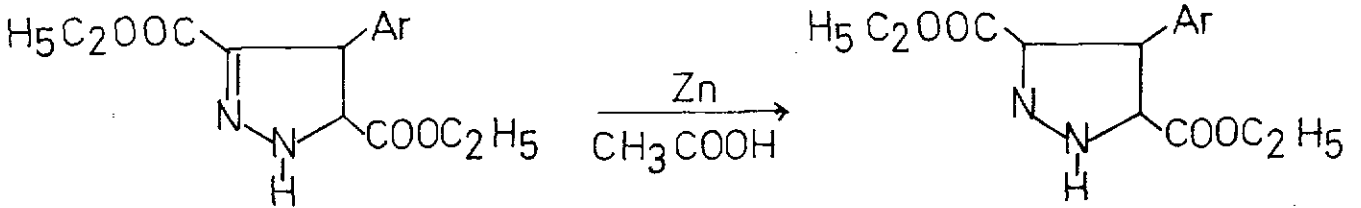
2-pirazolin

1-pirazolin

Pirazolinler değişik yöntemlerle pirazollere dönüştürülebilirler. Bu yöntemlerden birisi oksidasyona dayanmaktadır ve brom (70), potasyum permanganat (71), nitrik asit (72) gibi oksitleyici ajanlar kullanılabilir. Pirazolinler eliminasyon reaksiyonu ile de pirazollere dönüştürülebilirler (59).



2-pirazolinlerin redükleyici ajanlarla muamelesi sonucunda pirazolidinler ve halka parçalanmasına ait ürünler elde edilir (73).



Spektral Özellikleri

UV Spektrumları

Basit yapıllı 2-pirazolinlerin UV spektrumlarında 240-244 nm civarında maksimum absorpsiyon gözlenir (74,39).

Eğer 1-pozisyonundan bir benzen halkası ile süstitüe edilirse 280 nm civarında ikinci bir maksimum absorpsiyon verir (75,39). Bu ikinci bandın yeri süstitüsyondan etkilenmez. Ancak 3 pozisyonuna ikinci bir benzen halkası getirilirse absorpsiyon 350 nm civarına kayar. 5-pozisyonuna üçüncü bir benzen halkasının süstitüsyonu spektrumda bir değişiklik yapmaz. 1,3,5-triaril-2-pirazolinlerde 350 nm civarındaki bant stabil olup benzen halkaları üzerindeki süstitüentlerden etkilenmez; 240 nm civarındaki bant ise halkalar üzerindeki süstitüent değişikliklerine çok hassastır (39).

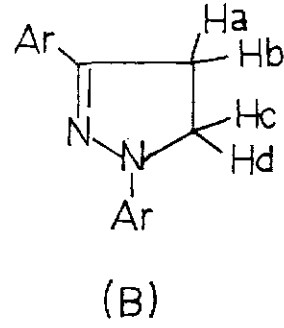
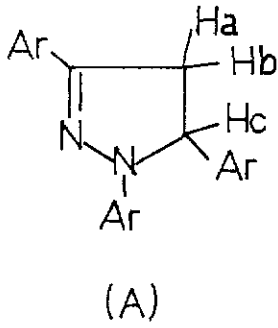
IR Spektrumları :

2-Pirazolinlerin IR spektrumlarında, 1-pozisyonunda süstitüsyon yoksa $3484-3413 \text{ cm}^{-1}$ de N-H gerilim bandı görülür (57,76). 3-pozisyonunda aromatik süstitüsyon yoksa $1570-1565 \text{ cm}^{-1}$ de kuvvetli bir C=N gerilim bandı verirler (76,77). 1,3,5-Triaril-2-pirazolinlerin IR spektrumlarında ise $1600-1587 \text{ cm}^{-1}$ de C=N ve aromatik halka C=C gerilim bantlarının girişimi sonucu oluşmuş kalın bir bant vardır (39).

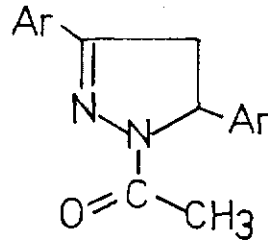
NMR Spektrumları

Sustmann ve arkadaşları çeşitli 2-pirazolin bileşiklerinin NMR spektrumları üzerinde yaptıkları bir çalışmada, 1,3,5-triaril-2-pirazolinlerin (A) Ha protonunun δ 3,06 ppm civarında, Hb protonunun δ 3,75 ppm civarında, Hc protonunun ise

δ 5,19 ppm civarında kuartetler halinde görüldüğünü bildirmişlerdir (53). Aynı araştırmada 1,3-difenil-2-pirazolinler (B) de ele alınmış, Ha ve Hb protonlarının δ 3,12 ppm civarında; Hc ve Hd protonlarının ise δ 3,76 ppm civarında multiplerler oluşturduğu tespit edilmiştir.



Elguero ve Marzin ise 1970 yılında 1-açıl-2-pirazolin türevlerinin NMR spektrumlarını incelemişler; 1-asetil-3,5-difenil-2-pirazolinde karbonile komşu metil grubunun δ 2,41 ppm de, benzen halkalarına ait protonların ise 7,25-7,45 ve 7,60-7,80 ppm arasında gözlemlendiğini bildirmişlerdir (78).



Mikrobiyolojik Özellikleri

Pershin ve arkadaşları 1959 yılında yaptıkları bir çalışmada 1-açil-3,3,5-trimetilpirazolinlerin antifungal ve antibakteryel aktivitelerini incelemişlerdir (79). Antibakteryel aktivite çalışmasında, Staphylococcus, Hemolytic streptococcus, tifo, dizanteri ve difteri bakterileri üzerinde çalışılmış; 1-asetil-3,3,5-trimetilpirazolin bileşiğinin 1:1000-1:2000 dilüsyonlarda bu bakterilere karşı aktif olmadığı tespit edilmiştir. Antifungal aktivite araştırmasında ise bu bileşik 1:1000-1:4000 dilüsyonlarda Microsporum, Trichophyton ve Axorionların üremesini durdurmuş; fakat Actinomycetes ve maya biçiminde üreyen funguslara karşı etkili olamamıştır.

Bu çalışmada 1,3,5-triarilpirazolin bileşiği de ele alınmış; 1:1000 dilüsyonda yukarıda belirtilen bakteri ve funguslara karşı aktif olmadığı bildirilmiştir.

DENEYSEL KISIM

KİMYASAL ÇALIŞMALAR

Sentez Çalışmaları

Materyal

Çalışmalarımızda kullandığımız asetofenon, hidroksilamin hidroklorür, hidrazin hidrat, fenilhidrazin, 4-hidroksibenzaldehit, klorobenzen, anisol, asetik anhidrid, susuz alüminyum klorür, sodyum hidroksit ve benzeri kimyasal maddeler Merck firmasının ürünüdür. 4-metoksiasetofenon ve 4-kloroasetofenon ise literatürde verilen yöntemlere göre tarafımızdan elde edilmiştir (80).

Yöntemler

Şalkonların sentezi : 1,24 g (0.01 mol) 4-hidroksi-

benzaldehit (%98) ve 0.01 mol taze distile edilmiş asetofenon veya süstitüe asetofenon 10 ml etanolde çözüldü.1,2 g (0.03 mol) sodyum hidroksitin 5 ml sudaki çözeltisi ilave edilerek su banyosunda geri çeviren soğutucu altında iki saat ısıtıldı. Oda sıcaklığında üç gün arasıra çalkalanarak bekletildi.Eşit hacim buzlu suya döküldükten sonra 6N hidroklorik asit ile asitlendirildi.Çöken kısım süzülerek alınıp %50 lik etanol ile yıkandı.Elde edilen ürün oda sıcaklığında kurutuldu ve etanolden kristallendirilerek saflaştırıldı.

2-İsoksazolin türevlerinin sentezi : 2,1 g (0.03 mol) hidroksilamin hidroklorür (%99) ve 2,8 g (0.05 mol) potasyum hidroksit,10 ml suda çözümlüp üzerine 0,01 mol şalkonun 40 ml etanoldeki çözeltisi azar azar ilave edildi.Karışım,geri çeviren soğutucu altında, birbuçuk saat ısıtıldı.Eşit hacim buzlu suya döküldükten sonra 6N hidroklorik asitle asitlendirildi.Çöken kısım süzülerek alındı;suyla yıkandıktan sonra oda sıcaklığında kurutuldu.Etanol-su (6:4) karışımından kristallendirilerek saflaştırıldı.

1-Fenil-2-pirazolin türevlerinin sentezi : 0,01 mol şalkonun 15 ml glasiyal asetik asitteki çözeltisi üzerine 1,11 g (0,01 mol) fenilhidrazin (%97) ilave edilip su banyosunda, geri çeviren soğutucu altında, dört saat ısıtıldı.Bir gece bekletildi.Çöken kristaller süzülerek alındı; suyla yıkandı.Oda sıcaklığında kurutulduktan sonra etanol-su (6:4) karışımından kristallendirilerek saflaştırıldı.

1-Asetil-2-pirazolin türevlerinin sentezi : 0,01 mol şalkonun 20 ml glasiyal asetik asitteki çözeltisi üzerine 3,16 g (0.05 mol) hidrazin hidrat (%80) ilâve edilip, su banyosunda geri çeviren soğutucu altında üç saat ısıtıldı. Bir gece bekletildi. Çöken kristaller süzülerek alındı; su ile yıkandıktan sonra oda sıcaklığında kurutuldu. Etanolden kristallendirilerek saflaştırıldı.

Ergime Derecesi Tayinleri

Maddelerimizin ergime dereceleri, Thomas Hoover "Capillary melting point apparatus" ergime derecesi tayin cihazı ile tayin edildi. Verdiğimiz ergime dereceleri tashih edilmemiş değerlerdir.

İnce Tabaka Kromatografisiyle Kontroller

Materyal:

Plaklar : Çalışmalarımızda Kieselgel HF₂₅₄₋₃₆₆ Typ 60 (Merck) ile 0,03 mm kalınlıkta kaplanıp 120° C de 20 dakika ısıtılarak aktive edilmiş plaklar kullanıldı.

Solvan sistemleri : Maddelerin kromatografik kontrollerinde kullanılan solvan sistemleri aşağıda belirtilmiştir:

Benzen - Etil asetat (60:15)

Kloroform - Metanol (95:5)

Benzen - Etil asetat - Asetik asit (60:15:3)

Petrol eteri (40-60⁰) - Aseton (60:40)

Bu solvan sistemlerinin hazırlanmasında Merck malı çözücüler kullanılmıştır.

Yöntem :

Sürüklenme şartları : Kromatografi kuvvetlerine solvan sistemleri konulduktan sonra, kuvvetlerin doyması için 24 saat beklendi. Plaklara sentez ürünleri ile sentezlerinde kullanılan ilkel maddelerin asetondaki seyreltik çözeltileri tatbik edilip, 10 cm lik bir sürüklenme sağlandı. Lekelerin R_f değerleri 20⁰ C de saptandı.

Lekelerin belirlenmesi : Kromatogramlarda sentez ürünleri ve ilkel maddelere ait lekelerin belirlenmesinde UV ışığında 254 ve 366 nm de kontrol yapıldı. Ayrıca aşağıda bildirilen belirteçlerden de yararlanıldı.

İyot buharları (81) : Kapalı bir kap içine iyot konulup buharlaşması beklendi. Plaklar bu kap içine yerleştirilerek kromatogramın iyot buharları ile teması sağlandı.

Potasyum ferrisiyanür - ferri klorür (82,83):

Çözelti I : Potasyum ferrisiyanürün sudaki %1 lik çözeltisi hazırlandı.

Çözelti II : Ferri klorürün sudaki %2 lik çözeltisi hazırlandı.

Çözelti I ve II kullanılmadan hemen önce eşit hacimlerde karıştırılıp bekletilmeden püskürtüldü.

Dragendorf belirteci (83,84) :

Çözelti I :1,7 g Bizmut subnitrat ve 20 g tartarik asitin 80 ml sudaki çözeltisi hazırlandı.

Çözelti II : 16 g Potasyum iyodürün 40 ml sudaki çözeltisi hazırlandı.

Stok çözelti : Eşit hacimde I ve II karıştırıldı.

Püskürtme çözeltisi : Stok çözeltinin 5 ml sine 10 g tartarik asitin 50 ml sudaki çözeltisi ilave edildi.

2,4-Dinitrofenilhidrazin belirteci (83,85) :

Çözelti I :2,4-Dinitrofenilhidrazinin 2N hidroklorik asitteki %0,4 lük çözeltisi hazırlandı.

Çözelti II :1 g 2,4-Dinitrofenilhidrazinin 1000ml etanoldeki çözeltisine 10 ml %35 hidroklorik asit çözeltisi eklendi.

Çözelti I ve II eşit hacimlerde karıştırılarak püskürtüldü.

Spektrometrik Kontroller

UV Spektrumları: Maddelerin UV spektrumları metanoldeki 10^{-4} - 10^{-5} M çözeltilerinden, 1 cm lik kuvars küvetlerde, PYE Unicam SP 1700 spektrometresinde alındı.

IR Spektrumları : Spektrumlar, yaklaşık %1 konsan -
trasyonda madde ve potasyum bromür karışımından 10 t/cm^2
basınçta hazırlanmış disklerle, Perkin-Elmer Model 457 spektro-
metresinde alındı. Spektrumlar, dalga sayısı (cm^{-1}) cinsinden
değerlendirildi.

NMR Spektrumları : Spektrumlar, maddelerin dimetil-
sülfoksit- d_6 (Merck) 'deki yaklaşık %10 luk çözeltileri ile
alındı. I,II,III,IV,X numaralı maddelerin spektrumları Varian
H 60-T 60 MHz spektrometresinde* ; V,VI,VII,VIII,IX,XI,XII
numaralı maddelerin spektrumları ise Perkin-Elmer R-32 90 MHz
spektrometresinde alındı. Spektrumlar, δ skalasından değeri-
lendirildi.

Eleman Analizleri

Maddelerin eleman analizleri, "Microanalytisches
Laboratorium Beller - Batı Almanya " firmasına yaptırılmıştır.

* Spektrometrenin sweep-offset ayarının bozuk olması nedeniyle
bu bileşikler için spektrumun 8,60 ppm'in üzerindeki kısmı
çekilememiştir.

MİKROBİYOLOJİK ÇALIŞMALAR

Materyal :

Bu çalışmada, sentezi yapılan bileşiklerin antifungal aktivitelerinin incelenmesinde aşağıda isimleri verilen on fungus kullanılmıştır :

Maya benzeri funguslar:

- (A) *Torulopsis dattila*
- (B) *Candida tropicalis*
- (C) *Candida albicans*
- (D) *Candida pseudotropicalis*
- (E) *Candida stellatoidea*
- (F) *Cryptococcus neoformans*

Miselyum teşkil ederek üreyen funguslar:

- (G) *Aspergillus niger*
- (H) *Penicillium notatum*
- (I) *Microsporum gypseum*
- (J) *Tricophyton mentagrophytes*

Çalışmalarımızda kullanılan funguslar Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı koleksiyonlarından alınmıştır.

Maya benzeri funguslarda "Sabouraud Dekstroz Sıvı Besiyeri" , miselyum teşkil ederek üreyen funguslarda ise "Sabouraud Dekstroz Agar Besiyeri" kullanılmıştır. Bu besiyerleri

Difco firmasının ürünleri olup bileşimleri, hazırlanış ve sterilizasyon teknikleri aşağıda verilmiştir:

Sabouraud dekstroz sıvı besiyeri:

Neopepton.....10 g

Dekstroz..... 20 g

pH 5,6

30 g besiyerinin 1000 ml distile sudaki süspansiyonu, çözünme sağlanıncaya kadar ısıtıldı; otoklavda 115° C de onbeş dakika tutularak sterilize edildi.

Sabouraud dekstroz agar besiyeri:

Neopepton..... 10 g

Dekstroz..... 40 g

Agar..... 15 g

pH 5,6

65 g besiyerinin 1000 ml sudaki süspansiyonu, çözünme sağlanıncaya kadar ısıtıldı; otoklavda 115° C de onbeş dakika tutularak sterilize edildi.

Yöntem :

Bu çalışmada, materyal kısmında belirtilen maya benzeri funguslar için "Tüpte Sıvı Dilüsyon Yöntemi", miselyum teşkil ederek üreyen funguslar için ise "Petri Kutusunda Agar Dilüsyon Yöntemi" kullanılmıştır. Her deneyde mikroorganizmaların

üremelerini kontrol etmek amacıyla kör deneme yapılmış, tüm işlemler iki paralel seri halinde yürütülmüştür.

Tüpte Sıvı Dilüsyon Yöntemi

Antifungal etkisi tayin edilecek bileşiğin 10 ml asetondaki 5 mg/ml konsantrasyonda stok çözeltisi hazırlandı ve milipor filtreden (0,45 μ Milipore) süzülerek sterilize edildi.

Bileşiğin stok çözeltisinden 2,5 ml alınarak, konsantrasyonu 500 mcg/ml olacak şekilde 50 ml sıvı besiyerine ilâve edildi. Bundan 25 ml alınarak steril sıvı besiyeri ile 50 ml ye tamamlandı. Bu şekilde iki katı seyreltme yapılarak 500, 250, 125 , 62.5 , 31.25 , 15.62 , 7.8 , 3.9 , 1.95 , 0.97 , 0.48 , 0.24 , 0.12 mcg/ml konsantrasyonlarda onüç dilüsyon hazırlandı. 26 adet steril deney tübüne, her dilüsyondan iki tüp olacak şekilde 5 ml aktarıldı. Bu tüplere, mikroorganizmaların, 37°C de 18-24 saatlik kültürlerinin, steril besiyerinde yüz katı seyreltilmesi suretiyle hazırlanmış süspansiyonlarından birer damla (0.05 ml) ilâve edildi. Böylece en son seyreltme oranı 1/1000 olacak şekilde inokülasyon sağlandı (86) ve 37°C lik etüvde 24 saat inkübasyona bırakıldı.

Petri Kutusunda Agar Dilüsyon Yöntemi

Antifungal aktivitesi tayin edilecek bileşiğin 5 ml asetondaki 5 mg/ml konsantrasyonda stok çözeltisi hazırlandı. 56°C de sıvı hale getirildikten sonra 45°C ye soğutulmuş 50 ml

steril besiyerine stok çözültiden 2,5 ml ilâve edilerek yukarıda anlatıldığı şekilde 250 , 125 , 62.5 , 31.25 mcg/ml konsantrasyondaki dilüsyonları hazırlandı. Bu dilüsyonlardan düz bir zemine yerleştirilmiş petri kutularının herbirine, her dilüsyon için iki petri kutusu olmak üzere, 12.5 ml eklenerek homojen yayılım sağlandı ve donmaya bırakıldı.

Miselyum teşkil ederek üreyen fungusların 26°C de iki haftalık (dermatofitlerin üç haftalık) Sabouraud dekstroz agar besiyerindeki kültürlerinden, standart çaplı cam boru yardımıyla 5,5 mm çapında diskler kesildi. Bu diskler, bileşiğimizi içeren besiyerinin merkezine gelecek şekilde yerleştirilerek inokülasyon sağlandı. İnkübasyon süresi uzun olduğu için, besiyerlerinden su kaybını önlemek amacıyla petri kutularının kenarları flaster ile kapatıldı ve 26°C de iki hafta (dermatofitler üç hafta) inkübasyona bırakıldı.

Sonuçların değerlendirilmesinde; tüpte sıvı dilüsyon yönteminde maya benzeri fungusların üremesi sonucu oluşan bulanıklık dikkate alınarak, hiç bulanıklık olmayan (dolayısıyla üreme görülmeyen) dilüsyondaki bileşik konsantrasyonu minimal inhibisyon konsantrasyonu (M.İ.K) olarak saptanmıştır. Agar dilüsyon yönteminde ise üreme görülmeyen dilüsyondaki bileşik konsantrasyonu minimal inhibisyon konsantrasyonu olarak alınmıştır.

B U L G U L A R

KİMYASAL ÇALIŞMALAR

4-Hidroksişalkon (I)

1.24 g (0.01 mol) 4-hidroksibenzaldehit (%98) ve 1.2 g (0.01 mol) asetofenondan hareketle genel yöntemle göre elde edilip etanolden kristallendirildi. Verim 1.9 g (%84,82).

Sarı, kristalize bir madde olup e.d. 183°C dir. Karbon-tetraklorür, kloroform, petrol eteri ve benzende çözünmez. Etanol, metanol, aseton, dioksan, eter, etil asetat ve N,N-dimetilformamidde çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde benzen-etil asetat (60:15), kloroform-metanol (95:5), benzen-etil asetat-asetik asit (60:15:3), petrol eteri-aseton (60:40) sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.55 , 0.54 , 0.45 , 0.62 dir. İyot buharlarıyla sarı zeminde kahverengi; potasyum ferrisiyanür-ferri klorür ile açık mavi zeminde yeşilimsi mavi; 2,4-dinitrofenilhidrazin belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir. UV ışığında

366 nm de yeşilimsi-kahverengi,254 nm de ise mor lekeler halinde görünür.

Maddenin UV spektrumunda $\lambda_{\text{maks. MeOH}}$ 249 nm ($\log \epsilon$ 3,73), 352 nm ($\log \epsilon$ 4,22) dir.

IR spektrumunda 3215 (O-H gerilim),3010 (aromatik halka C-H gerilim),1640 (C=O gerilim),1590,1575,1550,1500 (aromatik ve alifatik C=C gerilim),1368,1345 (O-H deformasyon), 1279,1215,1165 (C-O gerilim),832 (1,4-disübstitüe benzen C-H deformasyon),721,689 cm^{-1} de (monosübstitüe benzen C-H deformasyon) pikler görülür.

NMR spektrumunda δ 6.90 (2H;dublet;3 ve 5 pozisyonundaki protonlar); 7,72 (7H;multiplet;3',4',5' pozisyonlarındaki protonlar); 8,15 ppm de (2H;d.d;2 ve 6 pozisyonlarındaki protonlar) pikler görülür.

4-Hidroksi-4'-metoksişalkon (II)

1.24 g (0.01 mol) 4-hidroksibenzaldehit (%98) ve 1.50 g (0.01 mol) 4-metoksiasetofenondan hareketle genel yöntemle göre elde edilip etanolden kristallendirildi.Verim 2 g (%78.74).

Açık sarı,kristalize bir madde olup e.d.180-1°C dir. Heksan,karbontetraklorür,kloroform,petrol eteri,benzende çözünmeyen.Etanol,metanol,etil asetat,aseton,dioksan,eter,

N,N-dimetilformamidde çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde benzen-etil asetat (60:15), kloroform-metanol (95:5), benzen-etil asetat-asetik asit (60:15:3), petrol eteri-aseton (60:40) sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.4 , 0.67 , 0.42 ve 0.58 dir. İyot buharlarıyla sarı zeminde kahverengi; potasyum ferrisiyanür-ferri klorür ile açık mavi zeminde yeşilimsi-mavi; 2,4-dinitrofenilhidrazin belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir. UV ışığında 366 nm de yeşilimsi-kahverengi, 254 nm de ise mor lekeler görünür.

Maddenin UV spektrumunda $\lambda_{\text{maks. MeOH}}$ 236 nm ($\log \epsilon$ 3.91), 352 nm ($\log \epsilon$ 4.21) dir.

IR spektrumunda 3180 (O—H gerilim), 3010-2992 (aromatik C—H gerilim), 2925 (alifatik C—H gerilim), 1637 (C=O gerilim), 1595, 1573, 1547, 1517, 1435 (aromatik ve alifatik C=C gerilim), 1340, 1318 (O—H deformasyon), 1270, 1260, 1225 (C—O gerilim), 1164 (C—O—C asimetric gerilim), 1036-1020 (C—O—C simetric gerilim), 830 cm^{-1} de (1,4-disübstitüe benzen C—H deformasyon) pikler görülür.

NMR spektrumunda δ 4,05 (3H; singlet; $-\text{OCH}_3$ protonları); 7,24 (4H; multipler; 3',5',3,5-pozisyonlarındaki protonlar); 8.10 (4H; dublet; etilenik protonlar ve 2,6-pozisyonundaki protonlar), 8,50 ppm de (2H; dublet; 2',6'-pozisyonlarındaki protonlar) pikler görülür.

4-Hidroksi-4'-kloroşalkon (III)

1.24 g (0.01 mol) 4-hidroksibenzaldehit ve 1.54 g (0.01 mol) 4'-kloroasetofenondan hareketle genel yöntemle göre elde edilip etanolden kristallendirildi. Verim 2.2 g (%85,27).

Açık sarı, kristalize bir madde olup e.d. 174-5°C dir. Heksan, karbontetraklorür, kloroform, petrol eteri ve benzende çözünmez. Etanol, metanol, etil asetat, dioksan, eter, N,N-dimetilformamidde çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde benzen-etil asetat (60:15), kloroform-metanol (95:5), benzen-etil asetat-asetik asit (60:15:3), petrol eteri-aseton (60:40) sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.51 , 0.64 , 0.45 , 0.61 dir. İyot buharlarıyla sarı zeminde kahverengi, potasyum ferrisiyanür-ferri klorür ile açık mavi zeminde yeşilimsi-mavi, 2,4-dinitrofenilhidrazin belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir. UV ışığında 366 nm de yeşilimsi kahverengi, 254 nm de mor lekeler görünür.

Maddenin UV spektrumunda $\lambda_{\text{maks. MeOH}}$ 253 nm ($\log \epsilon$ 4,17),
 $\lambda_{\text{maks. MeOH}}$ 354 nm ($\log \epsilon$ 4,34) olarak tespit edilmiştir.

IR spektrumunda 3300 (O—H gerilim), 3020 (aromatik halka C—H gerilim), 2820 (alifatik C—H gerilim), 1639 (C=O gerilim), 1585, 1572, 1555 ve 1509 (aromatik ve alifatik C=C gerilim), 1394, 1375, 1340 (O—H deformasyon), 1290, 1213, 1169 (C—O gerilim), 813 cm^{-1} de (1,4-disüstitüe benzen C—H deformasyon) pikler görülür.

NMR spektrumunda δ 7.15 (2H;dublet3,5 pozisyonlarındaki protonlar);8.03 (6H;multiplet;etilenik protonlar ve 3',5',2,6-pozisyonlarındaki protonlar);8,50 ppm de (2H;dublet;2',6'-pozisyonlarındaki protonlar) pikler görülür.

3-Fenil-5-(4-hidroksifenil)-2-isoksazolin (IV)

2.07 g (0.03 mol) hidroksilamin hidroklorür ve 2.24 g (0.01 mol) 4-hidroksişalkondan hareketle genel yöntemle elde edilip etanol-su (6:4) karışımından kristallendirildi,Verim 1.17 g (%48.95).

Açık pembe,parlak,pulsu kristaller halinde olup e.d. 147°C dir.Su,petrol eteri,karbontetraklorür,benzen,sikloheksan ve n-heksanda çözünmez.Etanol,metanol,aseton,dioksan,eter,N,N-dimetilformamidde çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde benzen-etil asetat (60:15),kloroform-metanol (95:5),benzen-etil asetat-asetik asit (60:15:3),petrol eteri-aseton (60:40) sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.51 , 0.50 , 0.42 , 0.55 dir.İyot buharlarıyla sarı zeminde kahverengi;potasyum ferrisiyanür-ferri klorür ile açık mavi zeminde mavi renk verir.UV ışığında 254 ve 366 nm de mor lekeler görünür.

Maddenin UV spektrumunda $\lambda_{\text{maks. MeOH}}$ 249 nm (log ϵ 4.14), 273 nm (log ϵ 4.17),280 nm (log ϵ 4.23) dir.Ayrıca 230 nm de bir omuz tespit edilmiştir.

IR spektrumunda 3340 (O—H gerilim),3015 (aromatik halka C—H gerilim),2860 (alifatik C—H gerilim),1598,1504,1490,1440 (C=N ve aromatik halka C=C gerilim),1350 (O—H deformasyon),1248 (C—O gerilim),823 (1,4-disübstitüe benzen C—H deformasyon),751,684 cm^{-1} de (monosübstitüe C—H deformasyon) pikler görülür.

NMR spektrumunda δ 3,32 (1H;dublet;Ha protonu);3,85 (1H;kuartet;Hb protonu);5,90 (1H;triplet;Hc protonu);7,12 (2H;dublet;5 numaralı konumdaki aromatik halkada,m-pozisyonundaki protonlar);7,84 ppm de (7H;multiplet;3 numaralı konumdaki aromatik halkada bulunan protonlar ve 3 numaralı konumdaki aromatik halkada,o-pozisyonundaki protonlar) pikler görülür.

3-(4-Metoksifenil)-5-(4-hidroksifenil)-2-isoksazolin (V)

2.07 g (0.03 mol) hidroksilamin hidroklorür ve 2.54 g (0.01 mol) 4-hidroksi-4'-metoksişalkondan hareketle genel yöntemle göre elde edilip,etanol-su karışımından (6:4) kristallendirildi,Verim 1,21 g (%44,98).

Açık pembe,parlak,pulsu kristaller halinde olup e.d. 141-3^o dir.Su,petrol eteri,karbontetraklorür,benzen,sikloheksan ve n-heksanda çözünmez.Etanol,metanol,kloroform,dioksan,aseton, eter ve N,N-dimetilformamidde çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde benzen-etilasetat (60:15),kloroform-metanol (95:5),benzen-etil asetat-asetik asit

(60:15:3), petrol eteri-aseton (60:40) sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.38 , 0.64 , 0.40 , 0.48 dir. İyot buharlarıyla sarı zeminde açık kahverengi; potasyum ferrisiyanür-ferri klorür ile açık mavi zeminde mavi renk verir. UV ışığında 254 ve 366 nm de mor lekeler görülür.

UV spektrumunda $\lambda_{\text{maks. MeOH}}$ 231 nm ($\log \epsilon$ 3,92), 259 nm ($\log \epsilon$ 4,08), 273 nm ($\log \epsilon$ 4,15), 238 nm ($\log \epsilon$ 4,21) dir.

IR spektrumunda 3360 (O—H gerilim), 3110, 3000 (aromatik halka C—H gerilim), 2930, 2835 (alifatik C—H gerilim), 1610, 1504, 1433 (C=N ve aromatik halka C=C gerilim), 1364, 1350, 1304 (O—H deformasyon), 1250 (C—O gerilim), 1177, 1110, 1103 (C—O—C asimetric gerilim), 1020 (C—O—C simetric gerilim), 827 cm^{-1} de (1,4-disübstitüe benzen C—H deformasyon) pikler görülür.

NMR spektrumunda δ 3,30 (1H;kuartet;Ha protonu); 3,70 (1H;kuartet;Hb protonu); 5,39 (1H;kuartet;Hc protonu); 6,93 (6H;multiplet;3 numaralı konumdaki aromatik halkada m-pozisyonundaki protonlar ve 5 numaralı konumdaki aromatik halkaya ait protonlar); 7,61 (2H;kuartet;3 numaralı konumdaki aromatik halkada o-pozisyonundaki protonlar); 9,41 ppm de (1H;singlet;OH protonu) pikler görülür.

Analiz; $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NO}_3$ için hesaplanan C 71,36; H 5,61; N 5,20; bulunan C 71,62; H 5,51; N 5,26 dir.

3-(4-Klorofenil)-5-(4-hidroksifenil)-2-isoksazolin (VI)

2,07 g (0.03 mol) hidroksilamin hidroklorür ile 2.58 g (0.01 mol) 4-hidroksi-4'-klorşalkondan hareketle genel yöntemle göre elde edilip, etanol-su karışımından (6:4) kristallendirildi. Verim 0,84 g (%30,76).

Krem rengi, parlak pulsu kristaller halinde olup e.d. 168°C dir. Su, petrol eteri, karbontetraklorür, benzen, sikloheksan, n-heksanda çözünmez. Etanol, metanol, kloroform, aseton, dioksan, eter ve N,N-dimetilformamidde çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde benzen-etil asetat (60:15), kloroform-metanol (95:5), benzen-etil asetat-asetik asit (60:15:3), petrol eteri-aseton (60:40) sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.49 , 0.60 , 0.42 , 0.48 dir. İyot buharıyla sarı zeminde açık kahverengi, potasyum ferrisiyanür-ferri klorür ile açık mavi zeminde koyu mavi renk verir. UV ışığında 254 ve 366 nm de mor lekeler görünür.

UV spektrumunda $\lambda_{\text{maks. MeOH}}$ 231 nm ($\log \epsilon$ 4,025), 258 nm ($\log \epsilon$ 4,23), 273 nm ($\log \epsilon$ 4,30), 280 nm ($\log \epsilon$ 4,34) dir.

IR spektrumunda 3440 (O—H gerilim), 3109 (aromatik halka C—H gerilim), 2860 (alifatik C—H gerilim), 1610, 1595, 1515, 1498, 1489, 1435 (C=N ve aromatik halka C=C gerilim), 1367, 1357 (O—H deformasyon), 1260 (C—O gerilim), 841, 835, 829, 814 cm^{-1} de (1,4-disübstitüe benzen C—H deformasyon) pikler görülür.

NMR spektrumunda δ 3,25 (1H;kuartet;Ha protonu);3,68 (1H;kuartet;Hb protonu);5,6 (1H;triplet;Hc protonu);6,81 (2H; multipler;5 numaralı konumdaki aromatik halka protonları ile 5 numaralı konumdaki aromatik halkada o-pozisyonundaki protonlar);9,52 ppm de (1H;singlet;-OH protonu) pikler görülür.

Analiz; $C_{15}H_{12}ClNO_2$ için hesaplanan C 65,82;H 4,41, N 5,12;bulunan C 65,85;H 4,42;N 5,16.

1,3-Difenil-5-(4-hidroksifenil)-2-pirazolin (VII)

2,24 g (0.01 mol) 4-hidroksişalkon ve 1,11 g (0.01 mol) fenilhidrazinden (%97) hareketle genel yöntemle göre elde edilip etanol-su karışımından (6:4) kristallendirildi.Verim 2,78 g (%88,53)

Beyaz,parlak,pulsu kristaller halinde olup e.d. $146^{\circ}C$ dir.Su,petrol eteri,heksanda çözünmez.Aseton,etanol, metanol,eter,dioksan,benzen,kloroform ve N,N-dimetilformamidde çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde benzen-etil asetat (60:15),kloroform-metanol (95:5),benzen-etil asetat-asetik asit (60:15:3),petrol eteri-aseton (60:40) sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.63 , 0.79 , 0.77 , 0.71 dir.İyot buharlarıyla sarı zeminde koyu kırmızı-kahcerengi, potasyum ferrisiyanür-ferri klorür ile açık mavi zeminde kırmızı-kahverengi, Dragen-dorf belirteci ile koyu sarı zeminde turuncu,

2,4-dinitrofenilhidrazin belirteci ile sarı zeminde ortası kırmızı-kahverengi, etrafı pembe renk verir. UV ışığında 366 nm de mor; 254 nm de ise floresan veren sarı lekeler görülür.

Maddenin UV spektrumunda $\lambda_{\text{maks. MeOH}}$ 235 nm ($\log \epsilon$ 4,20), 254 nm de omuz, 291 nm ($\log \epsilon$ 3,76), 317 nm ($\log \epsilon$ 3,89), 360 nm ($\log \epsilon$ 4,21) dir.

IR spektrumunda 3360 (O—H gerilim), 3045, 3018 (aromatik halka C—H gerilim), 2900 (alifatik C—H gerilim), 1592, 1499, 1489 (C=N ve aromatik halka C=C gerilim), 1441, 1389 (C—N gerilim), 1330, 1320 (O—H deformasyon), 1260, 1239 (C—O gerilim), 830 (1,4-disübstitüe benzen C—H deformasyon), 745-757 (dublet) ve 689 cm^{-1} de (monosübstitüe benzen C—H deformasyon) pikler görülür.

NMR spektrumunda δ 3,20 (1H;kuartet;Ha protonu);4,10 (1H;kuartet;Hb protonu);6,60 (1H;kuartet;Hc protonu);7,01 (4H; dublet;1 ve 5 numaralı konumlardaki aromatik halkalarda o-pozisyonundaki protonlar);7,58 (8H;multiplet;1 ve 3 numaralı konumlardaki aromatik halkalarda m- ve p-pozisyonlarındaki protonlar ve 5 numaralı konumdaki aromatik halkada o-pozisyonundaki protonlar);8,13 ppm de (2H;multiplet;3 numaralı konumdaki aromatik halkada o-pozisyonundaki protonlar) pikler görülür.

1-Fenil-3(4-metoksifenil)-5-(4-hidroksifenil)-2-pirazolin (VIII)

2,54 g (0,01 mol) 4-hidroksi-4'-metoksişalkon ile 1,11 g (0,01 mol) fenilhidrazinden (%97) hareketle genel yöntem göre elde edilip etanol-su (6:4) karışımından kristallendirildi. Verim 2,78 g (%80,81).

Açık sarı tüysü kristaller halinde olup e.d. 175°C dir. Su, petrol eteri, heksanda çözünmez. Aseton, etanol, metanol, eter, dioksan, benzen, kloroform ve N,N-dimetilformamidde çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde benzen-etil asetat (60:15), kloroform-metanol (95:5), benzen-etil asetat-asetik asit (60:15:3), petrol eteri-aseton (60:40) sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0,64 , 0,86 , 0,71 , 0,715 dir. İyot buharlarında sarı zeminde koyu kırmızı-kahverengi; potasyum ferrisiyanür-ferriklorür ile açık mavi zeminde kırmızı-kahverengi; Dragendorf belirteci ile koyu sarı zeminde ortası kırmızı-kahverengi etrafı pembe renk verir. UV ışığında 366 nm de mor, 254 nm de ise floresan veren sarı lekeler görünür.

Maddenin UV spektrumunda $\lambda_{\text{maks. MeOH}}$ 233 nm ($\log \epsilon$ 4,12), 248 nm ($\log \epsilon$ 4,14), 271 nm ($\log \epsilon$ 3,93), 320 nm ($\log \epsilon$ 4,05), 358 nm ($\log \epsilon$ 4,21) dir.

IR spektrumunda 3395 (O—H gerilim), 3000, 3025 (aromatik halka C—H gerilim), 2900 (alifatik C—H gerilim), 1587, 1493 (C=N ve aromatik halka C=C gerilim), 1389 (C—N gerilim),

1320 (O—H deformasyon),1235,1215 (C—O gerilim),1130 (C—O—C asimetric gerilim),1030 (C—O—C simetric gerilim),831,815 (dublet halinde 1,4-disübstitüe benzen C—H deformasyon),740 ve dublet halinde 699,677 cm^{-1} de (monosübstitüe benzen C—H deformasyon) pikler görülür.

NMR spektrumunda δ 3,08 (1H;kuartet;Ha protonu);3,89 (1H;kuartet;Hb protonu);5,32 (1H;kuartet;Hc protonu);6,85 (2H; dublet;5 numaralı konumdaki aromatik halkada m-pozisyonundaki protonlar);7,18 (9H;triplet;1 numaralı konumdaki aromatik halkada o-,m- ve p-pozisyonlarındaki protonlar,3 numaralı konumdaki aromatik halkada m-pozisyonundaki protonlar ve 5 numaralı konumdaki aromatik halkada o-pozisyonundaki protonlar);7,81 (2H;dublet;3 numaralı konumdaki aromatik halkada o-pozisyonundaki protonlar);9,51 ppm de (1H;singlet;O-H protonu) pikler görülür.

Analiz; $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$ için hesaplanan C 76,72;H 5,85; N 8,13;bulunan C 76,88;H 5,73;N 8,28.

1-Fenil-3(4-klorofenil)-5-(4-hidroksifenil)-2-pirazolin (IX)

2,58 g (0.01 mol) 4-hidroksi-4'-klorşalkon ile 1,11 g (0.01 mol) fenilhidrazinden (%97) hareketle genel yöntemle elde edilip,etanol-su karışımından (6:4) kristallendirildi.Verim 2,95 g (%84,77).

Açık sarı, parlak pulsu kristaller halinde olup e.d. 138-9°C dir. Su, petrol eteri, heksanda çözünmez. Aseton, etanol, metanol, eter, dioksan, kloroform, N,N-dimetilformamidde çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde benzen-etil asetat (60:15), kloroform-metanol (95:5), benzen-etil asetat-asetik asit (60:15:3), petrol eteri-aseton (60:40) sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0,68 , 0,77 , 0,70 , 0,84 tür. İyot buharlarıyla sarı zeminde koyu kırmızı-kahverengi, potasyum ferrisiyanür-ferri klorür ile açık mavi zeminde kırmızı kahverengi, Dragendorf belirteci ile koyu sarı zeminde turuncu, 2,4-dinitrofenilhidrazin belirteci ile sarı zeminde ortası kırmızı kahverengi etrafı pembe renk verir. UV ışığında 366 nm de mor, 254 nm de ise floresan veren sarı lekeler görünür.

Maddenin UV spektrumunda $\lambda_{\text{maks. MeOH}}$ 244 nm ($\log \epsilon$ 4,19), 315 nm ($\log \epsilon$ 3,83), 369 nm ($\log \epsilon$ 4,22) dir.

IR spektrumunda 3470 (O—H gerilim), 3050, 3020 (aromatik halka C—H gerilim), 2890 (alifatik C—H gerilim), 1590, 1497, 1489 (C=N ve aromatik halka C=C gerilim), 1381 (C—N gerilim), 1315 (O—H deformasyon), 1260, 1240 (C—O gerilim), 820, 830 (doublet halinde 1,4-disüstitüe benzen C—H deformasyon), 754, 692 cm^{-1} de (monosüstitüe benzen C—H deformasyon) pikler görünür.

NMR spektrumunda δ 2,98 (1H; kuartet; Ha protonu); 3,75

(1H;kuartet;H_b protonu);5,21 (1H;kuartet;H_c protonu);6,58 (4H; multiplet;1 numaralı konumdaki aromatik halkada o-pozisyonundaki protonlar ve 5 numaralı konumdaki aromatik halkada m-pozisyonundaki protonlar);6,89 (5H;multiplet;1 numaralı konumdaki aromatik halkada m- ve p-pozisyonlarındaki protonlar ve 5 numaralı konumdaki aromatik halkada o-pozisyonundaki protonlar);7,29 (2H;dublet;3 numaralı konumdaki aromatik halkada m-pozisyonundaki protonlar);9,16 (1H;singlet;OH protonu).

Analiz; $C_{21}H_{17}ClN_2O$ için hesaplanan C 72,30;H 4,91; N 8,03;bulunan C 72,18;H 5,03;N 8,15 dir

1-Asetil-3-fenil-5(4-hidroksifenil)-2-pirazolin (X)

2,24 g (0.01 mol) 4-hidroksişalkon ile 3,16 g (0.05 mol) hidrazin hidrattan (%80) hareketle genel yöntemle göre elde edilip etanolden kristallendirildi.Verim 2,4 g (%85,71).

Beyaz,pulsu,parlak kristaller halinde olup e.d. 228-9 °C dir.Benzen,kloroform,su,karbontetraklorürde çözünmez.Etanol, metanol,aseton,etil asetat,dioksanda sıcakta çözünür.N,N-dimetilformamidde çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde benzen-etil asetat (60:15),kloroform-metanol (95:5),benzen-etil asetat-asetik asit (60:15:3),petrol eteri-aseton (60:40) sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.13 , 0.28 , 0.20 , 0.48 dir.İyot buharlarıyla sarı

zeminde açık kahverengi,potasyum ferrisiyanür-ferri klorür ile açık mavi zeminde koyu mavi,Dragendorf belirteci ile koyu sarı zeminde turuncu renk verir.UV ışığında 254 ve 366 nm de mor lekeler görülür.

Maddenin UV spektrumunda $\lambda_{\text{maks. MeOH}}$ 231 nm ($\log \epsilon$ 4,12), 288 ($\log \epsilon$ 4,29),297 nm de omuz tespit edilmiştir.

IR spektrumunda 3250 (O—H gerilim),3048,3010 (aromatik halka C—H gerilim),2950 (alifatik C—H gerilim),1635 (C—O gerilim),1610,1590,1510 (C=N ve aromatik halka C=C gerilim), 1455,1415 (C—N gerilim),1369,1338 (O—H deformasyon),1267, 1242 (C—O gerilim),829 (1,4-disüstitüe benzen C—H deformasyon)760,690 cm^{-1} de (monosüstitüe benzen C—H deformasyon) pik görülür.

NMR spektrumunda δ 2,26 (3H;singlet; CH_3 — protonları);3,00 (1H;kuartet;Ha protonu);3,69 (1H;kuartet;Hb protonu); 5,30 (1H;singlet;kuartet;Hc protonu);6,53 (2H;dublet;5 numaralı konumdaki aromatik halkada p- ve m-pozisyonundaki protonlar); 7,53 (2H;multiplet;3 numaralı konumdaki aromatik halkada o-pozisyonundaki protonlar);9,00 ppm de (1H;singlet;-O-H protonu) pikler görülür.

Analiz; $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$ için hesaplanan C 72,84;H 5,75; N 9,99;bulunan C 71,72;H 5,66;N 10,48 dir.

1-Asetil-3-(4-metoksifenil)-5-(4-hidroksifenil)-2-pirazolin (XI)

2,54 g (0.01 mol) 4-hidroksi-4'-metoksişalkon ile 3,16 g (0.05 mol) hidrazin hidrattan (%80) hareketle genel yöntemle göre elde edilip etanolden kristallendirildi. Verim 2,40 g (%77,41).

Sarımsı beyaz, tüysü kristaller halinde olup e.d. 213 -4°C dir. Benzen, su, karbontetraklorürde çözünmez. Metanol, etanol, etilasetat ve dioksanda sıcakta çözünür. Kloroform ve N,N-dimetilformamidde çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde benzen-etil asetat (60:15), kloroform-metanol (95:5), benzen-etil asetat-asetik asit (60:15:3), petrol eteri-aseton (60:40) solvan sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.1 , 0.32 , 0.25 , 0.3 tür. İyot buharları ile sarı zeminde açık kahverengi, potasyum ferrisiyanür-ferri klorür ile açık mavi zeminde koyu mavi, Dragendorf belirteci ile koyu sarı zeminde turuncu renk verir. UV ışığında 254 ve 366 nm de mor lekeler görünür.

Maddenin UV spektrumunda $\lambda_{\text{maks. MeOH}}$ 232 nm ($\log \epsilon$ 4,14), 300 nm ($\log \epsilon$ 4,27) dir. 309 nm de de omuz tespit edilmiştir.

IR spektrumunda 3150 (O—H gerilim), 3005 (aromatik halka C—H gerilim), 2950, 2925, 2830, 2808 (alifatik C—H gerilim), 1629 (C—O gerilim), 1608, 1593, 1510 (C=N ve aromatik halka

C=C gerilim), 1460,1437,1420 (C—N gerilim), 1359,1330,1310 (O—H deformasyon),1269,1249 (C—O gerilim),1188,1169 (C—O—C asimetric gerilim),1039 (C—O—C simetric gerilim), 839 cm^{-1} de (1,4-disübstitüe benzen C—H deformasyon) pikler görülür.

NMR spektrumunda δ 2,21 (3H; singlet; CH_3 - protonları); 2,96 (1H; kuartet; H_a protonu); 3,59 (1H; triplet; H_b protonu); 3,68 (3H; singlet; CH_3 -O- protonları); 5,21 (1H; kuartet; H_c protonu); 6,46 (2H; dublet; 5 numaralı konumdaki aromatik halkada m-pozisyonundaki protonlar); 6,75 (4H; 3 numaralı konumdaki aromatik halkada m-pozisyonundaki protonlar ve 5 numaralı konumdaki aromatik halkada o-pozisyonundaki protonlar); 7,44 (2H; dublet; 3 numaralı konumdaki aromatik halkada o-pozisyonundaki protonlar); 8,98 ppm de (1H; singlet; -O-H protonu) pikler görülür.

Analiz; $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$ için hesaplanan C 69,66; H 5,84; N 9,02; bulunan C 70,95; H 6,11; N 8,85 tir.

1-Asetil-3-(4-klorofenil)-5-(4-hidroksifenil)-2-pirazolin (XII)

2,58 g (0.01 mol) 4-hidroksi-4'-kloroşalkon ile 3,16 g (0.05 mol) hidrazin hidrattan (%80) hareketle genel yöntemle göre elde edilip, etanolden kristallendirildi. Verim 2,3 g (%73,74).

Beyaz, pulsu, parlak kristaller halinde olup e.d. 254 $^{\circ}\text{C}$ dir. Benzen, kloroform, su, karbontetraklorürde çözünmez.

Etanol,metanol,aseton,etil asetat,dioksanda sıcakta çözünür.
N,N-dimetilformamidde çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde benzen-etil asetat (60:15),kloroform-metanol (95:5),benzen-etil asetat-asetik asit (60:15:3),petrol eteri-aseton (60:40) sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.1 , 0.33 , 0.2 , 0.54 tür.İyot buharlarıyla sarı zeminde açık kahverengi,potasyum ferrisiyanür-ferri klorür ile açık mavi zeminde koyu mavi,Dragendorf belirteci ilekoyu sarı zeminde turuncu renk verir.UV ışığında 254 ve 366 nm de mor lekeler görünür.

Maddenin UV spektrumunda λ MeOH maks. 233 nm ($\log \epsilon$ 4,16), 299 nm ($\log \epsilon$ 4,25) dir.

IR spektrumunda 3250 (O—H gerilim),3010 (aromatik halka C—H gerilim),2950,2920 (alifatik C—H gerilim),1639 (C—O gerilim),1610,1590,1510 (C=N ve aromatik halka C=C gerilim),1449,1418,1400 (C—N gerilim),1360,1329 (O—H deformasyon),1265,1224 (C—O gerilim),825,830 cm^{-1} de (dublet halinde 1,4-disüstitüe benzen C—H deformasyon) pikler görülür.

NMR spektrumunda δ 2,29 (3H; singlet; $\text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-$ protonları); 3,10 (1H;kuartet;Ha protonu); 3,80 (1H;kuartet;Hb protonu); 5,45 (1H;kuartet;Hc protonu); 6,70 (2H;dublet;5 numaralı konumdaki aromatik halkada m-pozisyonundaki protonlar); 7,00 (2H;dublet;5 numaralı konumdaki aromatik halkada o-pozisyonundaki protonlar); 7,51 (2H;dublet;3 numaralı konumdaki aromatik halkada

m-pozisyonundaki protonlar);9,34 ppm de (1H;singlet;OH protonu) pikler görölür.

Analiz; $C_{16}H_{15}ClN_2O_2$ için hesaplanan C 64,87;H 4,80; N 8,89;bulunan C 64,73;H 4,86;N 8,88.

MİKROBİYOLOJİK ÇALIŞMALAR

Sentezi yapılan bileşiklerin materyal kısmında bildirilen maya benzeri funguslara karşı antifungal aktiviteleri araştırılmış ve sonuçlar Tablo-I de $\mu\text{g/ml}$ cinsinden verilmiştir.

Tablo-I : Bileşiklerin maya benzeri funguslar üzerindeki aktivitesi

Madde No	Minimal İnhibitör Konsantrasyonlar					
	A	B	C	D	E	F
I	31,25	62,5	31,25	> 500	0,12	7,8
II	62,5	> 500	62,5	> 500	15,6	15,6
III	> 500	> 500	> 500	> 500	15,6	7,8
IV	> 500	> 500	> 500	> 500	15,6	7,8
V	31,25	62,5	31,25	62,5	62,5	62,5
VI	1,98	31,25	31,25	62,5	31,25	3,9
VII	31,25	62,5	62,5	15,6	31,25	1,98
VIII	> 500	62,5	125	250	31,25	1,98
IX	> 500	125	62,5	15,6	31,25	0,9
X	0,99	250	500	250	125	125
XI	31,25	500	500	250	125	62,5
XII	125	125	125	500	125	125

(A) *Torulopsis dattila* (B) *Candida tropicalis* (C) *Candida albicans* (D) *Candida pseudotropicalis* (E) *Candida stellatoidea* (F) *Cryptococcus neoformans*

Sentezi yapılan bileşiklerin materyal kısmında belirtilmiş olan miselyum teşkil ederek üreyen funguslara karşı antifungal aktivite çalışması sonuçları Tablo-II dedir.

Bu çalışmada kullanılan fungusların, bileşiğimizi içermeyen besiyerindeki üreme çapları mm cinsinden aşağıda bildirilmiştir :

<i>Aspergillus niger</i>	88 mm
<i>Penicillium notatum</i>	73,5 mm
<i>Microsporum gypseum</i>	58 mm
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	47 mm

Tablo-II : Bileşiklerin miselyum teşkil ederek üreyen funguslar üzerindeki aktivitesi.

Madde No	Çeşitli Konsantrasyonlarda Fungus Üreme Çapları															
	G				H				I				J			
	250 µg/ml	125 µg/ml	62,5 µg/ml	31,25 µg/ml	250 µg/ml	125 µg/ml	62,5 µg/ml	31,25 µg/ml	250 µg/ml	125 µg/ml	62,5 µg/ml	31,25 µg/ml	250 µg/ml	125 µg/ml	62,5 µg/ml	31,25 µg/ml
I	+	++	++	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	++	++	+++	+++
II	++	+	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
III	+	+	++	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+	+	++	+++
IV	+	+	++	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+	+	+++	+++
V	+	+	++	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+	+	+++	+++
VI	+	+	++	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+	+	+++	+++
VII	+	+	++	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+	+	+++	+++
VIII	+	+	++	+++	-	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+	+	+++	+++
IX	+	+	+	+++	-	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+	+	+++	+++
X	+	+	++	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+	+	+++	+++
XI	+	+	++	+++	-	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+	+	+++	+++
XII	+	+	+	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+	+	+++	+++

(+) 0-15 , (++) 15-20 ,

(+++) 20-25 , (++++) 25-40 mm

(G) *Aspergillus niger*

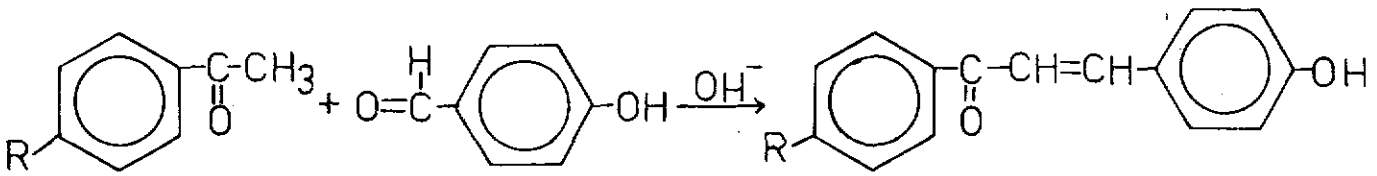
(I) *Microsporium gypseum*

(H) *Penicillium notatum*

(J) *Trichophyton mentagrophytes*

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmalarımızda önce, asetofenon, p-metoksiasetofenon ve p-kloroasetofenonun p-hidroksibenzaldehit ile sulu etanollü ortamda sodyum hidroksit karşısında reaksiyonundan 4-hidroksişalkon (I), 4-hidroksi-4'-metoksişalkon (II), 4-hidroksi-4'-kloroşalkonun (III) sentezini yaptık.



Bu bileşiklerden, 4-hidroksişalkonun sentezi daha önce çeşitli araştırmacılar tarafından yapılmış, Davey ve

Tivey' in bir çalışmasında da maddenin elde edilmesinde uygulanabilecek çeşitli yöntemler karşılaştırılmıştır (28). Bu araştırmacılar, çalışmalarında en yüksek verimin, formüle tekabül eden asetofenon ve aldehitin sulu etanollü ortamda sodyum hidroksit karşısında soğukta reaksiyonundan elde edildiğini bildirmişlerdir. Ancak bu araştırmacıların söz konusu maddenin sentezi için ulaştıkları verim %37 dir.

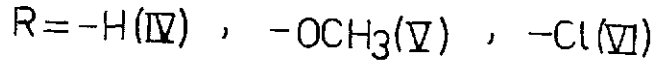
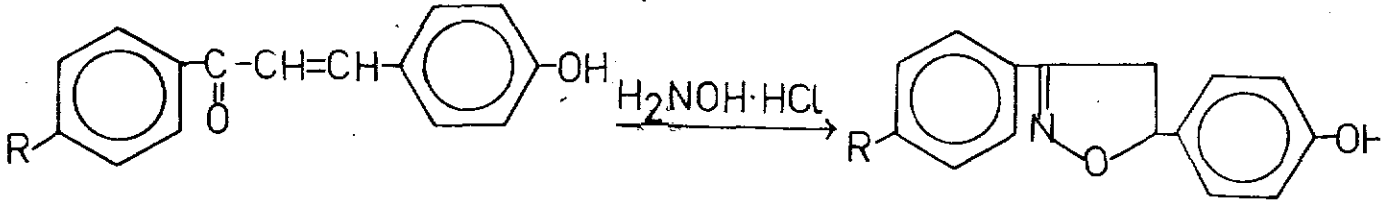
Biz çalışmalarımızda reaksiyonu sulu etanollü ortamda ve sıcakta yürütmek suretiyle Davey ve Tivey' in elde ettikleri verimin çok üstünde bir verim ile (%84.72) gerçekleştirmeyi başardık. Maddenin sentezi için bizim uyguladığımız yöntem, daha önce Shriner ve Kurosawa tarafından da kullanılmıştır ; fakat bu araştırmacıların çalışmalarında, sentezin verimi konusunda bilgi verilmemektedir (24).

Sentezini yaptığımız bileşiklerden 4-hidroksi-4'-metoksişalkon (II), Vorlander tarafından Davey ve Tivey' in yukarıda sözü edilen metodu ile ve ayrıca komponentlerin etanollü çözeltisini hidrojen klorür ile doyurup bekletmek suretiyle elde edilmiştir. Fakat Vorlander' in araştırmasında maddenin e.d. ve C, H analizi sonuçlarından başka bilgi verilmemiştir (15). 4-Hidroksi-4'-kloroşalkon ise, Miquel tarafından formüle tekabül eden asetofenon ve aldehitin asit katalizör karşısında reaksiyonuyla %35 verimle elde edilmiştir (16). Bizim bu maddenin sentezinde ulaştığımız verim %85.27 dir.

Şalkon sentezlerinde literatürdeki reaksiyon verimlerinin 2,5 katına yakın verime ulaşabilmemizin başlıca

nedenleri, reaksiyonları sıcakta yürütmemiz ve ortamı reaksiyon esnasında ince tabaka kromatografisi ile kontrol ederek optimum reaksiyon şartlarını önceden belirlememizdir. Ayrıca reaksiyonda ilkel madde olarak kullandığımız asetofenonun reaksiyondan önce distile ederek saflaştırdık, asetofenonun doğrudan doğruya ve distile edildikten sonra kullanılmasının reaksiyon verimini önemli ölçüde etkilediğini müşahade ettik.

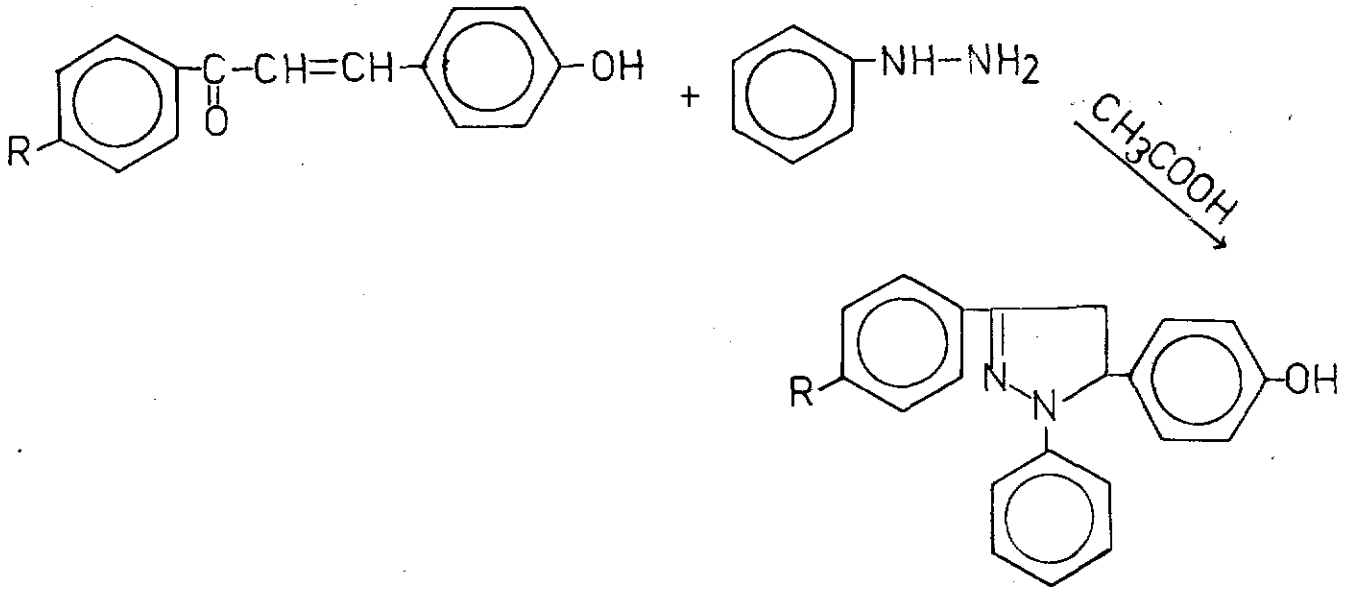
Elde ettiğimiz şalkon türevlerinin, sulu etanollü ortamda potasyum hidroksit ile reaksiyonundan üç, 2-isoksazolin bileşiğinin sentezini yaptık.



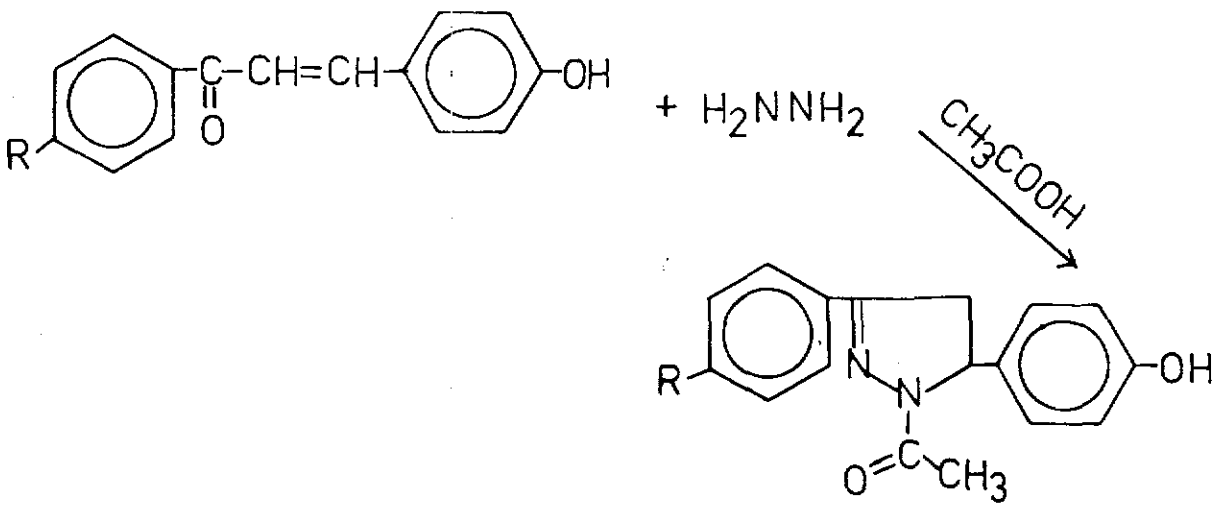
Bu isoksazolin türevlerinden 3-fenil-5-(4-hidroksifenil)-2-isoksazolin (IV) daha önce Vorlander tarafından, 4-hidroksişalkonun hidroksilamin ile sodyum etoksit karşısında reaksiyonuyla %30-45 verimle elde edilmiştir (15). Bizim uyguladığımız yöntemde reaksiyonun verimi %48,95 tir.

Çalışmalarımızda ayrıca, sentezini yaptığımız şalkon türevlerini asetik asitli ortamda fenilhidrazin ile ısıtmak suretiyle üç, 1-fenil-2-pirazolin ve hidrazin hidrat ile

ısıtmak suretiyle ise üç,1-asetil-2-pirazolin türevi elde ettik.



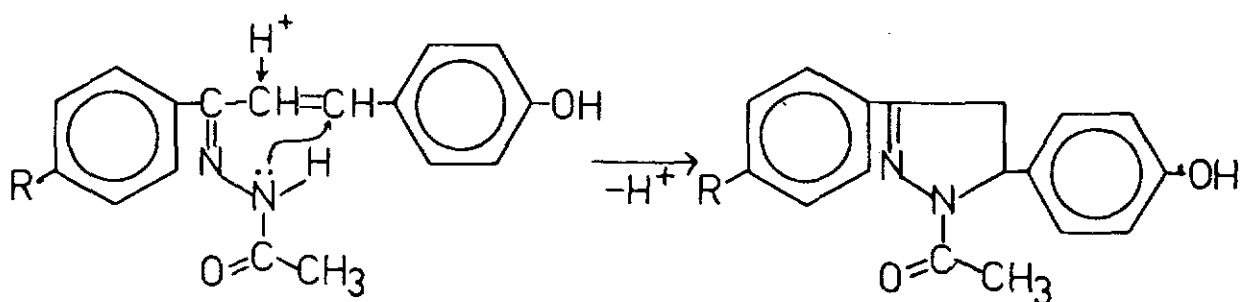
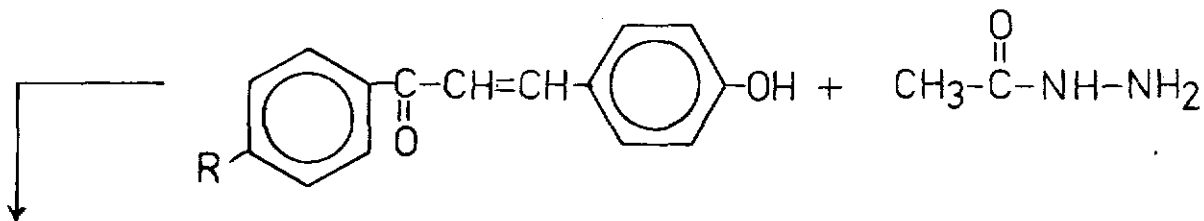
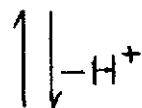
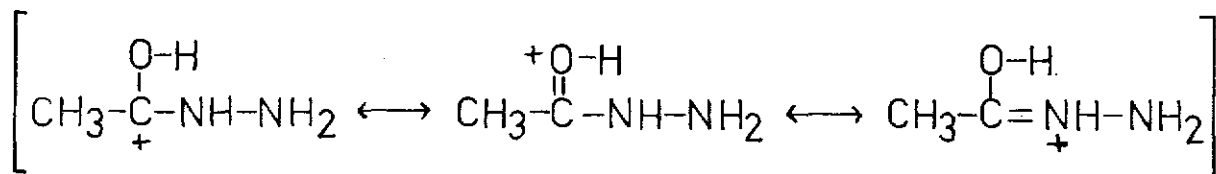
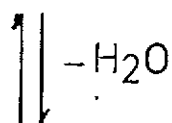
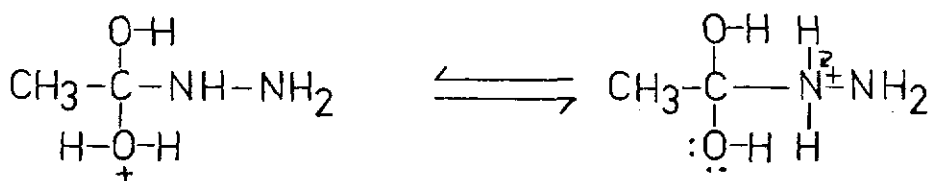
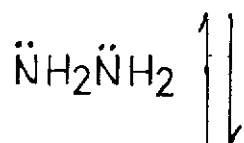
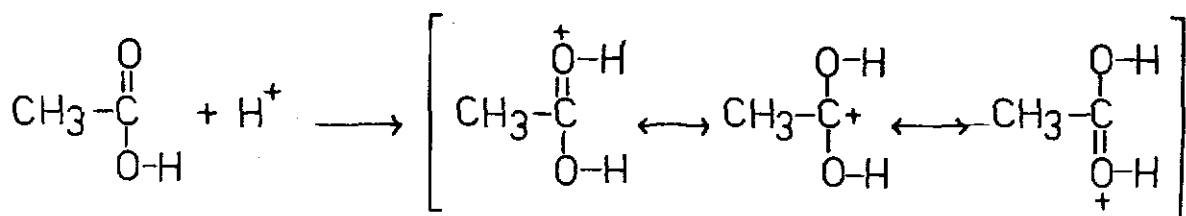
$R = -\text{H}$ (VII) , $-\text{OCH}_3$ (VIII) , $-\text{Cl}$ (IX)



$R = -\text{H}$ (X) , $-\text{OCH}_3$ (XI) , $-\text{Cl}$ (XII)

Elde ettiğimiz 1-fenil-2-pirazolin türevlerinden 1,3-difenil-5-(4-hidroksifenil)-2-pirazolin (X) in sentezi de daha önce Vorlander tarafından yapılmıştır. Fakat bu araştırmacının çalışmasında e.d. ve C,H analizinden başka bilgi verilmemektedir (15). Bu nedenle literatürde bulunmasına rağmen konunun bütünlüğü bakımından bu maddeyi tez kapsamına aldık.

1-Asetil-2-pirazolin türevlerinin sentezinde literatürde verilen yöntemler,asetillenmiş hidrazin kullanılarak halka kapatılmasına veya 1-nonsüstitüepirazolinlerin reaksiyonuna dayanmaktadır. Biz, çalışmalarımızda şalkon ve hidrazin hidratı asetik asit içinde ısıtmak suretiyle siklizasyon ve asetilasyonu tek kademede gerçekleştirdik. Bunun sonucu olarak da reaksiyonu basitleştirdiğimiz gibi reaksiyon veriminin de tatminkar (%73,24-85,71) miktarlara ulaşmasını sağladık. Reaksiyonun yürütmesinde aşağıdaki mekanizmaya göre, önce hidrazin hidratın asetillendiği ve daha sonra siklizasyon sonucu pirazolin bileşiklerinin oluştuğu kanısındayız.



Elde ettiğimiz şalkonların e.d. leri literatürde verilen değerlere uygundur (15,16,24).4-Hidroksişalkon (I) ve 4-hidroksi-4'-kloroşalkonların (III) UV spektrumlarında görülen $\lambda_{maks.}$ değerleri de literatürdeki kayıtlara uymaktadır (35-38). 4-Hidroksi-4'-metoksişalkon (II) un UV absorpsiyonu konusunda literatürde herhangi bir kayıt yoktur.Ancak şalkonlar için Bant-I ve Bant-II olarak bildirilen absorpsiyonlar,bu maddenin UV spektrumunda da görülmektedir.Literatürde sadece 4-hidroksişalkon (I) un C=O grubu IR absorpsiyonuna ait bilgi verilmektedir (33).Bizim,bu maddenin IR spektrumunda bulduğumuz C=O gerilim piki literatürde verilen bölgededir.Ayrıca bu maddenin ve elde ettiğimiz diğer şalkon bileşiklerinin IR spektrumlarında aromatik halka, aromatik halka süstitüsyon durumu ve OH grubunu belirleyen pikler bulunmaktadır.Maddelerin NMR spektrumları da yapılarını kanıtlamaktadır.

İsoksazolin bileşiklerinden literatürde kayıtlı bulunan 3-fenil-5-(4-hidroksifenil)-2-isoksazolin (IV) in e.d. si literatürde verilen değerle aynıdır (15).Bu maddenin ve sentezini yaptığımız diğer isoksazolin türevlerinin UV,IR ve NMR spektrumları maddelerin yapılarını kanıtlamakta ve elde ettiğimiz pikler literatürde verilen bölgelerdedir (50-54).Bu maddelerin elemanter analiz sonuçları da hesaplanan miktarlara uymaktadır.

1-fenil-2-pirazolin türevlerimizden literatürde kayıtlı bulunan 1,3-difenil-5-(4-hidroksifenil)-2-pirazolinin (VII) e.d.,Vorlander'in bildirdiği e.d. ne uymaktadır (15).Bu maddenin

spektral karakteristikleri üzerinde literatürde kayıt bulunmamaktadır. Fakat bu bileşik ve sentezini yaptığımız diğer 1-fenil-2-pirazolin türevlerinin UV, IR ve NMR spektrumları, genel bilgilerimiz ve literatür verilerine (39,53,57,74-78) uymakta, maddelerin yapılarını kanıtlamaktadır. Bulunan elementer analiz sonuçları da hesaplanan değerlere paralellik göstermektedir.

1-Asetil-2-pirazolin yapısındaki bileşiklerimizin de UV, IR ve NMR spektrumları maddelerin yapılarını doğrulamakta, literatür ve genel bilgilerimize paralellik göstermektedir. Bu gruptaki bileşiklerimizin de elementer analiz sonuçları uygundur.

Sentezini yaptığımız bileşiklerin maya benzeri funguslara karşı aktiviteleri incelendiğinde (Tablo I) şalkon türevlerinin *Candida stellatoidea* ve *Cryptococcus neoformans*'a karşı oldukça etkili oldukları, *Candida pseudotropicalis*'e karşı ise çalıştığımız konsantrasyonlarda dirençli oldukları saptanmıştır.

Şalkonlardan hareketle hazırlanan 2-isoksazolin türevlerinden IV numaralı bileşiğin sadece *Candida stellatoidea* ve *Cryptococcus neoformans*'a karşı etkili olduğu, buna karşılık V ve özellikle VI numaralı maddelerimizin çalışılan tüm funguslara karşı oldukça aktif oldukları saptanmıştır.

Şalkonlarla 2-isoksazolin türevleri karşılaştırıldığında I ve IV numaralı bileşiklerin *Cryptococcus neoformans*'a

karşı aktivitelerinin aynı olduğu, V numaralı bileşiğin *Cryptococcus neoformans* dışında diğer mikroorganizmalara karşı II numaralı bileşikten, VI numaralı bileşiğin ise *Candida stellatoidea* dışındaki mikroorganizmalara karşı III numaralı bileşikten daha etkili olduğu görülmüştür.

1-Fenil-2-pirazolin türevi bileşikler, en yüksek aktiviteyi *Cryptococcus neoformans*'a karşı göstermişlerdir. Bu aktivite tüm bileşikler içinde de en yüksek durumdadır. *Candida stellatoidea*'ya karşı bileşiklerin üçü de aynı derecede etkindir. VII ve IX Numaralı bileşikler *Candida pseudotropicalis*'e karşı oldukça aktif olduğu halde, VIII numaralı bileşikte bu aktivite 16 kat, *Candida albicans*'a karşı ise 2 kat azalmıştır. Ayrıca VII numaralı bileşik *Torulopsis dattila*'ya karşı oldukça etkin bulunmuştur.

1-Fenil-2-pirazolin türevleri şalkonlarla karşılaştırıldığında I ve VII numaralı bileşiklerimiz *Torulopsis dattila* ve *Candida tropicalis*'e karşı aynı derecede etkinlik gösterdiği, VII numaralı bileşiğin *Candida pseudotropicalis* ve *Cryptococcus neoformans*'a karşı I numaralı bileşikten daha yüksek, *Candida albicans* ve *Candida stellatoidea*'ya karşı ise daha az etkili olduğu gözlenmiştir. VII numaralı bileşiğimiz *Candida albicans* ve *Candida stellatoidea*'ya karşı II numaralı bileşikten 2 kat daha az aktif, *Candida neoformans*'a karşı ise 8 kat daha fazla etkilidir. IX Numaralı bileşik *Candida stellatoidea*'ya karşı III numaralı bileşikten 2 kat daha az aktif, buna karşın *Cryptococcus neoformans*'a

karşı 8 kat daha fazla etkili olduğu saptanmıştır.

1-Asetil-2-pirazolin türevi bileşikler *Candida stellatoidea*'ya karşı aynı derecede etkilidir. X ve XI Numaralı bileşikler *Candida pseudotropicalis*'e karşı XII numaralı bileşikten, XI numaralı bileşik *Cryptococcus neoformans*'a karşı diğer türevlerden, XII numaralı bileşik ise *Candida albicans*'a karşı diğer türevlerden daha etkilidir.

1-Asetil-2-pirazolin türevi bileşikler şalkonlarla karşılaştırıldığında X numaralı bileşik, I numaralı bileşiğe göre *Torulopsis dattila* ve *Candida pseudotropicalis*'e karşı daha aktif, XI numaralı bileşiğimiz *Candida albicans*, *Candida stellatoidea* ve *Cryptococcus neoformans*'a karşı II numaralı bileşikten daha az etkili, XII numaralı bileşiğimiz ise *Candida stellatoidea* ve *Cryptococcus neoformans*'a karşı III numaralı bileşikten daha az (8-16 kat) etkili olduğu saptanmıştır.

Maya benzeri funguslarla yapılan çalışmalarımızda *Cryptococcus neoformans*'a karşı tüm bileşiklerimiz içinde 1-fenil-2-pirazolin türevlerinin, özellikle IX numaralı bileşiğin (0.99 µg/ml), *Torulopsis dattila*'ya karşı X numaralı bileşiğin (0.99 µg/ml), *Candida stellatoidea*'ya karşı ise I numaralı bileşiğin (0.12 µg/ml) en yüksek aktiviteyi gösterdiği belirlenmiştir.

Yapılan bu çalışmada ele alınan maddelerden I numaralı bileşik daha önce Gasha ve arkadaşları tarafından da ele alınmış ve *Candida albicans*'a karşı antifungal aktivitesi araştırılmıştır (2). Bulduğumuz sonuçlar, Gasha'nın bulguları ile paralellik göstermektedir.

Miselyum teşkil ederek üreyen funguslarla yapılan çalışmalarda ise bileşiklerimizin genel olarak *Penicillium notatum* üzerinde etkili olduğu ve VIII, IX ve XII numaralı bileşiklerimizin 250 µg/ml konsantrasyonda bu fungusun üremesini tamamen inhibe ettikleri saptanmıştır.

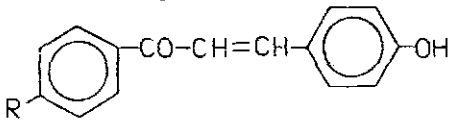
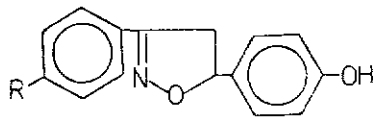
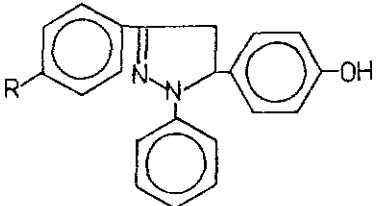
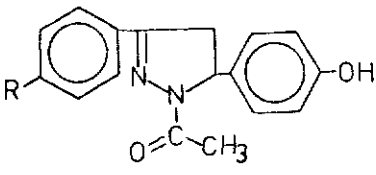
Gasha ve arkadaşları yukarıda bahsedilen çalışmalarında I numaralı bileşiğin *Aspergillus niger* ve *Trichophyton mentagrophytes* üzerindeki aktivitesini de incelemiştir (2). *Aspergillus niger* için bizim elde ettiğimiz sonuçlar, Gasha'nın bulgularına uygundur. Ancak *Trichophyton mentagrophytes* için bizim elde ettiğimiz sonuç, Gasha'nın verdiği M.I.K. değerinden büyüktür. Bunun nedeninin mikroorganizma suş farkının olabileceği gibi, kullanılan teknikler ve besiyerlerindeki farklılıklar olduğu söylenebilir. Nitekim, söz konusu bu faktörlerin sonucu etkilediği araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (87,88).

Yapılan bu çalışma sonucunda maddelerimizin hepsinin *Cryptococcus neoformans* üzerinde oldukça etkili olduğu saptanmıştır. Çalışılan funguslar içinde en patojen olan ve çocuklarda menenjit yapabilen bu fungusu karşı, özellikle

1-fenil-2-pirazolin türevi bileşiklerimiz çok etkili (0.99-1.98 µg/ml arasında M.İ.K.değerleri) olmuştur.Ayrıca V ve özellikle VI numaralı bileşiklerimizin genel olarak çalışılan tüm funguslara karşı etkin oldukları gözlenmiştir.

Ö Z E T

Bu çalışmada asetofenon, p-metoksiasetofenon ve p-kloroasetofenonun, p-hidroksibenzaldehit ile reaksiyonundan üç şalkon bileşiği ve bu şalkon bileşiklerinin hidroksilaminle reaksiyonundan üç 2-isoksazolin, fenilhidrazinle reaksiyonundan üç 1-fenil-2-pirazolin, hidrazin hidrat ve asetik asitle reaksiyonundan ise üç 1-asetil-2-pirazolin türevinin sentezi yapılmıştır. Elde edilen 12 bileşikten 7 tanesi (V, VI, VIII, IX, X, XI, XII) literatürde kayıtlı değildir. Bu bileşiklerle ilgili bazı veriler aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

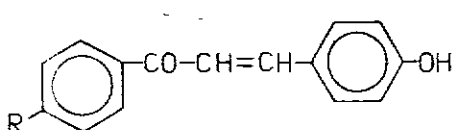
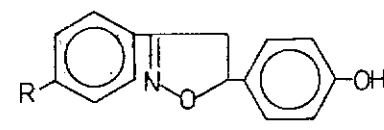
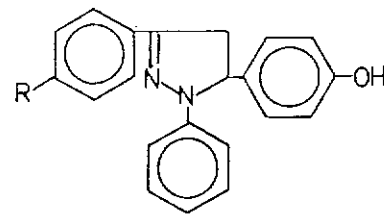
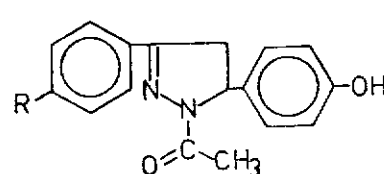
No	Ana Yapı	R	Kristalizasyon Çözücüsü	E.d. °C	% Verim
I		-H	Etanol-su	183	84,82
II		-OCH ₃	Etanol-su	180-1	78,74
III		-Cl	Etanol-su	174-5	85,27
IV		-H	Etanol-su	147	48,95
V		-OCH ₃	Etanol-su	141-3	44,98
VI		-Cl	Etanol-su	168	30,76
VII		-H	Etanol-su	146	85,71
VIII		-OCH ₃	Etanol-su	175-6	77,41
IX		-Cl	Etanol-su	138-9	73,24
X		-H	Etanol	228-9	88,53
XI		-OCH ₃	Etanol	213-4	80,81
XII		-Cl	Etanol	254-5	84,77

Sentezi yapılan maddelerin IR,NMR ve literatürde kayıtlı bulunmayanların,elemanter analizleri ile yapıları kanıtlanmıştır.Ayrıca bütün maddelerin çözünürlük,ince tabaka kromatografisinde R_f değerleri,e.d. ve UV absorpsiyonları tespit edilmiştir.

Çalışmalarımızın mikrobiyolojik kısmında ise tüpte sıvı dilüsyon ve petri kutusunda agar dilüsyon yöntemleri kullanılarak maddelerin 10 fungus üzerinde antifungal aktiviteleri incelenmiş, maddelerimizin hepsinin Cryptococcus üzerinde oldukça aktif olduğu saptanmıştır.Ayrıca V ve özellikle VI numaralı bileşiklerimizin çalışılan tüm maya benzeri funguslara karşı etkili oldukları gözlenmiştir.Bileşiklerimizden VIII,IX ve XI numaralı olanlar Penicillium notatum üzerinde tam inhibisyon (250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ düzeyinde) göstermişlerdir.Ancak bu konsantrasyonda tüm bileşiklerimizde diğer küflere karşı tam bir etkinlik gözlenememiştir.

S U M M A R Y

In this study, three chalcones have been synthesized by the reactions of p-hydroxybenzaldehyde with acetophenone, p-methoxyacetophenone and p-chloroacetophenone. Three 2-isoxazolines, three 1-phenyl-2-pyrazolines and three 1-acetyl-2-pyrazolines have also been synthesized by the reactions of these chalcones with hydroxylamine; phenylhydrazine; hydrazine hydrate, acetic acid mixture respectively. Seven (V, VI, VIII, IX, X, XI, XII) of the twelve compounds synthesized are original. Some data of the compounds are shown in the following table.

No	General Structure	R	Crystallization Solvent	M.p. °C	% Yield
I		-H	Ethanol-water	183	84,82
II		-OCH ₃	Ethanol-water	180-1	78,74
III		-Cl	Ethanol-water	174-5	85,27
IV		-H	Ethanol-water	147	48,95
V		-OCH ₃	Ethanol-water	141-3	44,98
VI		-Cl	Ethanol-water	168	30,76
VII		-H	Ethanol-water	146	85,71
VIII		-OCH ₃	Ethanol-water	175-6	77,41
IX		-Cl	Ethanol-water	138-9	73,24
X		-H	Ethanol	228-9	88,53
XI		-OCH ₃	Ethanol	213-4	80,81
XII		-Cl	Ethanol	254-5	84,77

The structures of the compounds synthesized have been elucidated employing IR, NMR spectral methods. Elementary analysis of original compounds have also been carried out to support the elucidation of their structure. Additionally, their solubility, melting points, UV absorptions and R_f values on TLC have been determined.

Antifungal activity of compounds against 10 fungi have been studied by tube dilution and agar dilution methods, it has been determined that all the compounds were active against *C. neoformans*. Additionally, it has been observed that compound V and especially VI were active against all yeast-like fungi on which we studied. Compounds VIII, IX and XI showed a complete inhibition (at 250 $\mu\text{g/ml}$ level) on *Penicillium notatum*. But, for all our compounds a complete activity has not been observed against other molds at this concentration.

L İ T E R A T Ü R

1. Harborne, J.B., Mabry, T.J., Mabry, H., The Flavonoids. Chapman and Hall Ltd., London (1975).
2. Gasha, M., Tsuji, A., Sakurai, Y., Kurumi, M., Endo, T., Sato, S., Yamaguchi, K., Antimicrobial activity of chalcones. *Yakugaku Zasshi* 92(6), 719 (1972).
3. Chowdhury, A., Mukherjee, N., Adityachaudhury, N., Sensitivity of some plant pathogenic fungi towards plant metabolites: Antifungal activity of some chalcones, dihydrochalcones and flavones. *Experientia* 30(9), 1022 (1974).
4. Şahin, F.M., Yeğen, O., Şafak, O.C., İstanbullu, İ., Bilgin, A.A., Bazı şalkon türevlerinin sentezi ve *Candida albicans*'a karşı antifungal etkileri. *GATA Bülteni* 25, 81 (1983).
5. Bhat, A.K., Bhamaria, R.P., Patel, M.R., Bellare, R.A., Deliwala, C.V., Chemotherapy of fungus infections: Alkyl or aryl thiosemicarbazones, acid hydrazones and styryl aryl ketones of 5-bromo- and 5-nitro-salicylaldehydes. *Indian J. Chem.* 10, 694 (1972).
6. Gabor, M., Sallai, J., Szell, T., Sipos, G., Relation of the antibacterial activity and chemical structure of chalcone derivatives. *Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung.* 14, 45 (1967).
7. Narasimhachari, N., Seshadri, T.R., Insecticidal properties and chemical constitution. Flavones and chalcones. *Proc. Indian Acad. Sci.* 27 A, 128-31 (1948). -ref. CA 42, 5604 d, (1948).

8. Laliberte, R., Campbell, D., Bruderlein, F., Antihelmintic activity of some chalcones and related compounds. *Can. J. Pharm. Sci.* 2(2), 37 (1967), -ref. CA 67, 98058 f, (1967).
9. Becker, E. R., Report on 35 drugs and 3 plant materials tested against *Plasmodium lophurea* in the white pekin duck. *Iowa State Coll. J.* 23, 189 (1949), -ref. CA 43, 5860 e, (1949).
10. Iversen, O. H., Effect of epidermal chalcone on human epidermal mitotic activity in vitro. *Nature* 219, 78 (1968).
11. Fermanek, K., Höller, H., Janisch, H., Structure and effects of some flavonoids. *Pharm. Acta Helv.* 33, 437 (1958).
12. Jacob, D., Kaul, D. K., Oestrogenic and antifertility effects of chalcone derivatives. *Acta Endocrinol.* 74, 371 (1973).
13. Mizuta, Y., Ipasa, H., Uno, J. W., Aminoalkoxychalcones and acid addition salts. *Japan* 74 21125 (1974), -ref. CA 80, P 146198 u, (1974)
14. Lewis, T., Balasubramanyan, S., Herbicidal triazolyl and imidazolyl compounds. *Ger. Pat.* 2 738 640 (1978), -ref. CA 89, P 59889 n, (1978)
15. Vorlander, D., Saure, salz, ester und adduct. *Ber.* 58, 118 (1925).
16. Miquel, J. F., Isomère cis-trans des Styryl-cétones: Para et méta-hydroxy-chalcones. *Bull. Soc. Chim. France*, 1369 (1961).
17. Kostanecki, S. V., Bablich, H., Ueber oxybenzalacetophenone. *Ber.* 29, 233 (1896).
18. Claisen, L., Claparede, A., Condensationen von ketonen mit aldehyden. *Ber.* 14, 2460 (1881).

19. Fine, S.A., Pulaski, P.D., Reexamination of the Claisen-Schmidt condensation of phenylacetone with aromatic aldehydes. *J. Org. Chem.* 33, 1747 (1973).
20. Kostanecki, S.V., Rossbach, G., Ueber die ein-wirkung von benzaldehyd auf acetophenon. *Ber.* 29, 1488 (1896).
21. Emilewicz, T., Kostanecki, S.V., Synthese des 3-oxyflavons. *Ber.* 31, 696 (1898).
22. Nadkarni, D.R., Wheeler, T.S., Chalcones. Condensation of aromatic aldehydes with resacetophenone. *J. Chem. Soc.*, 1320 (1938).
23. Ellison, T.E., Some substituted phenyl styryl ketones, with remarks on the condensation of cinnamic acid with resorcinol and pyrogallol. *J. Chem. Soc.*, 1720 (1927).
24. Shriner, R.L., Kurosawa, T., Chalcones. Decomposition by alkali. *J. Am. Chem. Soc.* 52, 2538 (1930).
25. Shenoi, R.B., Shah, R.C., Wheeler, T.S., Chalcones. Production of isoksazoles from some chalcone derivatives. *J. Chem. Soc.*, 247 (1940).
26. Browne, M.F., Shriner, R.L., Model compounds for comparison with lignin. Preparation and properties of 3-methoxy-6-methylflavanone and 2'-hydroxy-3'-methoxy-5'-methylchalcone. *J. Org. Chem.* 22, 1320 (1957).
27. Geissman, T.A., Clinton, R.O., Flavones and related compounds. The preparation of polyhydroxychalcones and flavanones. *J. Am. Chem. Soc.* 68, 697 (1946).
28. Davey, W., Tivey, D.J., Chalcones and related compounds. Addition of hydrogen cyanide to chalcones. *J. Chem. Soc.*, 1230 (1958).

29. Ertan, R., Spazmolitik Etki Gösteren Bazı Flavon Eter Türevleri Üzerinde Sentez Çalışmaları, Ankara Üniversitesi Doktora Tezi, Ankara, 1979.
30. Dhar, D.N., Lal, J.B., Chalcones. Condensation of aromatic aldehydes with resacetophenone. *J. Org. Chem.* 23, 1159 (1958).
31. Fischer, F., Arlt, W., Die intramolekulare spaltung von substituierten (F)-trans-2'-acetoxy-chalconepoxyden zu dihydroflavolen. *Chem. Ber.* 97, 1910 (1964).
32. Lutz, R.E., Jordan, R.H., Cis-Benzalacetophenone. *J. Am. Chem. Soc.* 72, 4090 (1950).
33. Klinke, P., Gibian, H., Über chalcone. *Chem. Ber.* 94, 26 (1961).
34. Hammett, L.P., Deyrut, A.J., A series of simple indicators. The acidity functions of mixtures of sulfuric and perchloric acids with water. *J. Am. Chem. Soc.* 54, 2721 (1932).
35. Llyoyd, N., Ferguson, N., Barnes, R.P., The absorption spectra of some enols and related intermediates. *J. Am. Chem. Soc.* 70, 3907 (1948).
36. Szmant, H.H., Basso, A.J., The absorption spectra of substituted chalcones. *J. Am. Chem. Soc.* 74, 4397 (1952).
37. Mabry, T.J., Markham, K.R., Thomas, M.B., The Systematic Identification of Flavonoids. Springer-Verlag, New York (1970).
38. Shibata, Y., Nagai, W., Über die absortionsspektren des chalcones und seiner hydroxyldervivate. *Vhem. Zentr.* II, 1688 (1924).
39. Wiley, R.H., Jarboe, C.H., Hayes, F.N., Hansbury, E., Nielsen, J.T., Callahan, P.X., Sellars, M.C., 1,3,5-triaryl-2-pyrazolines for use as scintillation solutes. *J. Org. Chem.* 23, 732 (1958).

40. Massicot, J., Marthe, J. P., Resonance magnétique nucléaire de produits naturels. Etude de quelques dérivés flavoniques et substances apparentées. Bull. Soc. Chim. de France, 1962 (1962).
41. Wiley, R. H., The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Vol. 17, Interscience Publishers, New York (1962).
42. Rupe, H., Schneider, F., Zur Kenntniss der -halogenketone. Ber. 28, 955 (1925).
43. Claus, A., Zur Oximreaction des Benzylidenacetophenons. J. Prakt. Chem. 54, 405 (1896).
44. Meisenheimer, J., Campbell, N., Zur Kenntnis der Beckmannschen Umlagerung. Ann. 539, 93 (1939).
45. Auwers, K. V., Risse, E., Über die Bildung von Hydrindonen aus ungesättigten Ketonen. Ann. 502, 282 (1933).
46. Blatt, A. H., The oximes of alpha, beta-unsaturated ketones and the Beckman rearrangement. J. Am. Chem. Soc. 53, 1133 (1931).
47. Blatt, A. H., Stone, J. F., The oximes of alpha, beta-unsaturated ketones and the Beckman rearrangement, II. J. Am. Chem. Soc. 53, 4134 (1931).
48. Barnes, P. R., Pinkney, G. E., Phillips, G. M., Spectroscopic evidence for the structure of isoxazolines and the mechanism of their formation. J. Am. Chem. Soc. 76, 276 (1954).
49. Perold, G. W., Reiche, F. V. K., The chemistry of the 2-isoxazolines: Reductive cleavages. J. Am. Chem. Soc. 79, 465 (1957).
50. Perold, G. W., Steyn, A. P., Reiche, F. V. K., The structures of isoxazolin compounds: A spectral study. J. Am. Chem. Soc. 79, 462 (1957).

51. Bellamy, L.J., The Infrared Absorption of Complex Molecules, Methuen and Co., Ltd., London (1954).
52. Balaban, A.T., Zugravescu, I., Avramovici, S., Silhan, W., NMR spektren von trans-chalcone-oxim, -semicarbazon und -thiosemicarbazon und ihren cyclischen isomeren (3,5-diphenyl-2-isoksazolin und 1-substituierte 3,5-diphenyl-2-pyrazoline). Monatsh. Chem. 101, 704 (1970).
53. Sustmann, R., Huisgen, R., Huber, H., Substituenteneffekte in den Kernresonanzspektren von 1,3-diphenyl-2-pyrazolinen und 3-phenyl-2-isoksazolinen. Chem. Ber. 100, 1802 (1967).
54. Murthy, A.K., Rao, K.S.R., Krishna, M., Rao, N.V.S., Synthesis of 3-phenyl-5-aryloxymethylisoxazoles and their UV spectra and physiological activity. Indian J. Chem. 10(1), 38 (1972), -ref. CA 77, 29615 e, (1972).
55. Davenport, J.D., Fungicidal substituted isoxazolines. Ger. Pat. 2 725 763 (1977), -ref. CA 88, 121155 e, (1978).
56. Davenport, J.D., Substituted isoxazolines for control of plant phytopathogens. US Pat. 4 283 403 (1981), -ref. CA 95, 203926 r, (1981).
57. Slates, H.L., Wendler, N.L., Reaction of diazomethane with Δ^{16} -20-keto steroids. J. Am. Chem. Soc. 81, 5472 (1959).
58. Smith, L.I., Howard, K.L., The action of aliphatic diazo compounds upon α, β -unsaturated ketones. Cis- and trans-dibenzoyl ethylene. J. Am. Chem. Soc. 65, 159 (1943).
59. Wiley, R.H., The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Vol. 22, Interscience Publishers, New York (1962).

60. Knorr, L., Blank, A., Ueber die einwirkung des benzoylacetesigesters auf phenylhydrazin. Ber. 18, 311 (1885).
61. Raiford, C. L., Peterson, W. J., Identification of phenylhydrazones and isomeric pyrazolines obtained from chacones. J. Org. Chem. 1, 544 (1937).
62. Fischer, E., Knoevenagel, O., Ueber die verbindungen phenylhydrazins mit Acrolein, mesityloxyd und Allylbromid. Ann. 239, 194 (1887).
63. Auwers, K., Müller, K., Zur umwandlung von phenylhydrazonen ungesättiger aldehyde und ketone in pyrazoline. Ber. 41, 4230 (1908).
64. Auwers, K., Maub, H., Über die isomerie-verhältnisse in der pyrazol-reihe. Über methyl-diphenyl-pyrazol und einige andere pyrazol-derivate. Ber. 59, 611 (1926).
65. Nisbet, H. B., Pyrazoline ring formation. The action of phenylhydrazine on some saturated and unsaturated β -amino-ketones. J. Chem. Soc., 126 (1945).
66. Chambers, W. L., Willard, M. L., The formation of 1-(2,4-dinitrophenyl)-substituted pyrazolines from α, β -unsaturated 2,4-dinitrophenylhydrazones. J. Am. Chem. Soc. 82, 3373 (1960).
67. Freudenberg, K., Stoll, W., Die isomerie C-substituierter pyrazoline, Ann. 440, 38 (1924).
68. Montagne, P. J., Über die nitrierung des 4-brom- und des 4-chlor-benzophenons. Ber. 49, 2262 (1916).
69. Auwers, K., Heimke, P., Über pyrazoline. Ann. 458, 186 (1927).

70. Auwers, K., König, F., Über den abbau von pyrazolin-carbonsäureestern. *Ann.* 496, 252 (1932).
71. Brain, E.G., Finar, I.L., Dipyrazoles from C-acetylpyrazoles. *J.Chem.Soc.*, 2486 (1958).
72. Pechmann, H.V., Ueber die einwirkung von diazomethan auf pikrylacetat. *Ber.* 33, 627 (1900).
73. Buchner, E., Perkel, L., Ueber hydrirte derivate des 4-phenylpyrazoles und über cis-1-phenyl-trans-2,3-trimethylendicarbonsäure. *Ber.* 36, 3774 (1903).
74. Dimroth, K., Luderritz, O., Über die ultraviolettaborption , -ungesättigter ketone und ihrer semicarbazone. *Chem. Ber.* 81, 242 (1948).
75. Duffin, G.F., Kendall, J.D., The reaction of diazonium salts with 1-aryl-2-pyrazolines. *J.Chem.Soc.*, 408 (1954).
76. Moore, A.J., The reaction of , -unsaturated acid chlorides with diazomethane. *J.Org.Chem.* 20, 1607 (1955).
77. Muller, G.P., Riegel, B., Derivatives of steroids containing a small ring fused to the D ring. *J.Am.Chem.Soc.* 76, 3686 (1954).
78. Elguero, J., Marzin, C., Etudes par RMN en série heterocyclique. Rotation restreinte et stereochemie dans une série de N,acylpyrazolines-2. *Bull.Soc.Chim.France* 10, 466 (1970).
79. Pershin, G.N., Kost, A.N., Ershov, V.V., Milovanova, S.N., Evreino-va, E.B., Reaction of hydrazine derivatives. 1-acylpyrazolines and their action on pathogenic microorganims. *Vestnik Moskov Univ., Ser.Mat.Mekhan., Astron., Fiz., Khim.* 14, 225 (1959), -ref. CA 53, 21894 d, (1959).

80. Vogel, A.I., A Text Book of Practical Organic Chemistry, Longman, London (1970).
81. Barrett, G.C., Iodine as a "Non-destructive" colour reagent in paper- and thin-layer chromatography. *Nature* 194, 1171 (1962).
82. Barton, G.M., Evans, R.S., Gardner, A.F., Paper chromatography of phenolic substances. *Nature* 170, 249 (1962).
83. Stahl, E., Thin-Layer Chromatographie, Springer Verlag, Berlin (1969).
84. Munier, R., Macheboeuf, M., Microchromatographie de partage sur papier des alcaloïdes et de diverses bases azotées biologiques. *Bull. Sté. Chim. Biol.* 33, 846 (1957).
85. Mehlitz, A., Gierschner, K., Minas, T., Dünnschichtchromatographische trennung von 2,4-dinitrophenylhydrazonen. *Chemiker Ztg.* 87, 573 (1963).
86. Çetin, E.T., Genel ve Pratik Mikrobiyoloji, Serbest Matbaası, İzmir (1973).
87. Branch, A., Starkey, D.H., and Power, E.E., Diversification in the tube dilution test for antibiotic sensitivity of microorganism. *App. Microb.* 13, 169 (1965).
88. Yuluğ, N., Antibiotik direnç testlerinde besiyeri yapısının sonuca etkisi. *Mikrobiol. Bült.* 4, 309 (1973).

Ö Z G E Ç M İ Ş

1958 yılında Ankara'da doğdum. İlk ve orta öğrenimi Ankara'da tamaladım. Yüksek öğrenimime Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde devam ettim. 1980 yılında bu fakülteden mezun oldum. Aynı yıl Organik Kimya Bilim Dalında doktora öğrencisi olarak göreve başladım. Halen Farmasötik Kimya Anabilim Dalında araştırma görevlisiyim. Evliyim.