

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**3-ALKİL-4-AMİNO-4,5-DİHİDRO-1H-1,2,4-TRİAZOL-5-ON'LARIN 2-
FORMİL-6-METOKSİFENİL 4-METİLBENZENSULFONAT İLE
REAKSİYONUNDAN YENİ HETEROSİKLİK BİLEŞİKLERİN SENTEZİ VE
BAZI ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Erman ÖZTÜRK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Haydar YÜKSEK

TEMMUZ-2019
KARS



T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI



**3-ALKİL-4-AMİNO-4,5-DİHİDRO-1H-1,2,4-TRİAZOL-5-ON'LARIN 2-
FORMİL-6-METOKSİFENİL 4-METİLBENZENSULFONAT İLE
REAKSİYONUNDAN YENİ HETEROSİKLİK BİLEŞİKLERİN SENTEZİ VE
BAZI ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

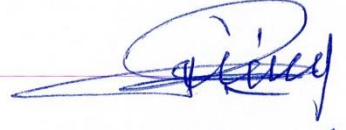
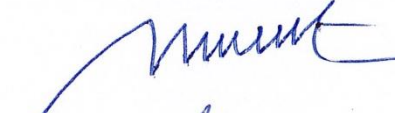

**Erman ÖZTÜRK
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Haydar YÜKSEK**

**TEMMUZ-2019
KARS**

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Erman ÖZTÜRK'ün Prof. Dr. Haydar YÜKSEK'in danışmanlığında yüksek lisans tezi olarak hazırladığı “ **3-Alkil-4-Amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on'ların 2-Formil-6-Metoksifenil 4-metilbensulfonat ile reaksiyonundan yeni heterosiklik bileşiklerin Sentezi ve bazı özelliklerinin incelenmesi**” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek **oy birliği ile kabul** edilmiştir.

31/07 / 2019

	Adı ve Soyadı	İmza
	Adı ve Soyadı	İmza
Başkan	: Prof. Dr. Haydar YÜKSEK (Danışman)	
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Murat Tolga KAYALAR	
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Sevda MANAP	

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ... / ... / 2019 gün ve ...
...../..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fikret AKDENİZ
Enstitü Müdür V.

ETİK BEYAN

Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Erman ÖZTÜRK

31.07.2019



ÖZET

(Yüksek Lisans Tezi)

3-ALKİL-4-AMİNO-4,5-DİHİDRO-1*H*-1,2,4-TRİAZOL-5-ON'LARIN 2-FORMİL-6-METOKSİFENİL 4-METİLBENZENSULFONAT İLE REAKSİYONUNDAN YENİ HETEROSİKLİK BİLEŞİKLERİN SENTEZİ VE BAZI ÖZELLİKLERİNİN

İNCELENMESİ

Erman ÖZTÜRK

Kafkas Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Haydar YÜKSEK

Bu tez çalışmasında, öncelikle litaretürde bilinen 9 farklı 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşiği karşın olan nitrillerden başlanarak elde edilmiştir. Sonra elde edilen bileşiklerin 2-formil-6-metoksifenil 4-metilbenzensulfonat ile tepkimesinden 9 farklı yeni bileşik sentezlenmiştir. Spektroskopik yöntemler kullanarak sentezi gerçekleştirilen 9 yeni bileşiğin yapıları aydınlatılmıştır.

Çalışmanın ikinci aşamasında indirgeme gücü, metal şelat aktivitesi, serbest radikal giderme aktivitesi, gibi yöntemlerle sentezi gerçekleştirilen yeni bileşiklerin *in vitro* antioksidan özellikleri incelenip sonuçlar tartışılmıştır.

Üçüncü bölümde, sentezi gerçekleştirilen 9 farklı bileşiğin gram pozitif ve gram negatif bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterip göstermediği Agar Kuyucuk Difüzyon yönteminden yararlanarak incelenmiştir.

Çalışmanın son aşamasında sentezi gerçekleştirilen 9 farklı yeni bileşğin 4 ayrı susuz çözücüde TBAH ile potansiyometrik titrasyonu yapılmış HNP ve pK_a değerleri hesaplanmıştır.

Anahtar Kelimeler: potansiyometrik titrasyon, Schiff bazı, Antioksidan, pK_a

2019, 123 sayfa



SUMMARY

(M.Sc. Thesis)

SYNTHESISİ-AND-SOME PROPERTIES OF SOME 3-ALCHYL-4-AMINO-4,5-DİHYDRO-1H-1,2,4-TRIAZOL-5-ONES-WITH 2-FORMYL-6-METHOXIFENYL 4-METHYLBENZENSULFONATE REACTION INVESTIGATION

Erman ÖZTÜRK

Kafkas University

Graduate School of Applied and Natural Sciences

Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Haydar YÜKSEK

In this thesis, 9 different 3-alkyl (aryl) -4-amino-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-one compounds known in the literature were obtained by starting from the corresponding nitriles. Then 9 new compounds were synthesized from the reaction of the obtained compounds with 2-formyl-6-methoxyphenyl 4-methylbenzenesulfonate. The structures of 9 new compounds synthesized using spectroscopic methods were elucidated.

In the second stage of the study, *in vitro* antioxidant properties of new compounds synthesized by methods such as reducing power, metal chelate activity, free radical removal activity, and the results were discussed.

In the third part, it has been investigated whether 9 different synthesized compounds show antimicrobial activity against gram positive and gram negative bacteria by using Agar Well Diffusion Method.

In the final stage of the study, potentiometric titration of HNP and pKa values of 9 different new compounds synthesized by TBAH in 4 different non-aqueous solvents were calculated.

Anahtar Kelimeler: Schiff bazı, Antioksidan, Antimikrobiyal, pK_a

2019, 123 pages



ÖNSÖZ

Bu tez çalışması, Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programında yapılmıştır.

Bu çalışmada, karşın olan nitrillerden başlanarak ve literatürdeki yöntemler uygulanarak üç basamakta bilinen 9 adet 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşiği elde edilmiş ve tez kapsamında sentezlenen 2-formil-6-metoksifenil 4-metilbensulfonat ile tepkimeye sokularak 9 adet yeni 2-Metoksi-6-[3-alkil/aril-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbensulfonat bileşiği elde edilmiştir.

Sentezi gerçekleştirilen 10 yeni bileşiğin yapıları IR, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektral verileri kullanılarak aydınlatılmıştır. Çalışmada, sentezlenen 9 yeni bileşiklerin üç farklı yöntemle *in-vitro* antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Ayrıca sentezi gerçekleştirilen 9 yeni bileşiğin *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterip göstermediği Agar Kuyucuk Difüzyon yönteminden yararlanarak incelenmiştir. Son kısımda, sentezlenen 9 adet yeni 2-Metoksi-6-[3-alkil/aril-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbensulfonat bileşiğinin 4 farklı susuz çözücüde tetrabutylamonyumhidroksit (TBAH) ile potansiyometrik titrasyonları yapılmış, titrasyon grafikleri çizilmiş ve yarı-nötralizasyon metodu ile p*K*_a değerleri tayin edilmiştir.

Tez çalışmamı planlayan, yöneten ve her aşamasını titizlikle takip ederek çalışmam boyunca benden yardımlarını esirgemeyen, öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyduğum, Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Başkanı Hocam Sayın Prof. Dr. Haydar YÜKSEK'e saygı ve teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Çalışmalarımın antioksidan incelemelerinde yardımını esirgemeyen Sayın Hocam Doç. Dr. Özlem GÜRSOY KOL'a, asitlik çalışmalarının düzenlenmesinde yardımcı olan Fen-Edebiyat Fakültesi Dekan Yardımcısı ve Kimya Bölüm Başkan Yardımcısı Sayın Hocam Dr. Öğr. Üyesi Murat BEYTUR'a, tezimin deneysel çalışmalarında her türlü katkıyı veren Dr. Öğr. Üyesi Sevda MANAP'a ayrı ayrı teşekkür ederim.

Ayrıca, Tez çalışmamın antimikrobiyal çalışmalarını yapan Eğitim Fakültesi öğretim üyesi değerli hocam, Prof. Dr. Muzaffer ALKAN'a ve uzman Fevzi AYTEMİZ'e Eğitim, bana ve tüm ekip arkadaşlarıma yardımını esirgemeyen Sayın Hocam Dr. Öğr. Üyesi Hilal MEDETALİBEYOĞLU'na ve Kimya Bölümü Organik Kimya Araştırma Laboratuvarında çalışan değerli çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili anneme, babama şükranlarımı, kardeşlerime ve eşim Cansu'ya sevgilerimi sunarım.

TEMMUZ 2019

Erman ÖZTÜRK

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN	iii
ÖZET	iv
SUMMARY	vi
ÖNSÖZ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
TABLolar DİZİNİ	xv
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xvi
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Antimikrobiyaller	11
1.2.1. Mikroorganizmalara Genel Bakış	12
1.2.2. Antimikrobiyallerin Etki Mekanizmaları.....	13
1.2.3. Antimikrobiyal Aktivite Belirleme Yöntemleri	15
1.2.3.1. Disk Difüzyon Yöntemi	15
1.2.3.2. Mikrodilüsyon Yöntemi	15
1.2.3.2.1. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)	16
1.2.3.2.2. Minimum Bakterisidal Konsantrasyonu (MBK).....	16
1.2.4. Antimikrobiyal Direnç	16
1.2.4.1. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları	17
1.3. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar	20
1.3.1. Serbest Radikallerin Etkileri	22
1.3.1.1. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri.....	22
1.3.1.2. Serbest Radikallerin Karbohidratlar Üzerine Etkileri	22
1.3.1.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler Üzerine Etkileri.....	22
1.3.1.4. Serbest Radikallerin Lipidler Üzerine Etkileri.....	23
1.3.2. Antioksidanlar ve Etki Mekanizması	23
1.3.3. Vücudun Antioksidan Savunma Mekanizmaları	24
1.3.4. Antioksidan Özelliklerin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler	25
1.3.4.1. DPPH Serbest Radikal Yakalama Aktivitesi	25
1.3.4.2. İndirgeme Gücü Belirlenmesi	25
1.3.4.3. Metal Şelatlama Etkisi	26

1.3.4.4. Toplam Fenolik İçeriğin Belirlenmesi: Folin Ciocalteu (FC) Yöntemi	26
1.4. Susuz Ortam Titrasyonları ve pK _a Tayini	27
1.4.1. Susuz Ortam Çözücüleri	27
1.4.2. Potansiyometri	29
1.4.3. Direkt Potansiyometrik Titrasyonlar	29
1.4.4. Potansiyometrik Titrasyonlar	30
1.4.5. Yarı Nötralizasyon Metodu ile pK _a Tayini	30
1.5. Bazı 4-Amino-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on Türevlerinin Sentezi ve Bazı Reaksiyonlarının İncelenmesi	31
1.6. 1,2,4-Triazol Türevlerinin Sentezi ve Bazı Reaksiyonları	44
2. MATERYAL VE YÖNTEM	51
2.1. Sentez	51
2.1.1. 2-formil-6-metoksifenil 4-metilbenzensulfonat (4):	51
2.1.2. 2-Metoksi-6-[3-metil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil <i>p</i> -metilbenzensulfonat (6):	52
2.1.3. 2-Metoksi-6-[3-etil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil <i>p</i> -metilbenzensulfonat (7):	53
2.1.4. 2-Metoksi-6-[3- <i>n</i> -propil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil <i>p</i> -metilbenzensulfonat (8):	55
2.1.5. 2-Metoksi-6-[3-benzil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil <i>p</i> -metilbenzensulfonat (9):	56
2.1.6. 2-Metoksi-6-[3- <i>p</i> -metilbenzil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil <i>p</i> -metilbenzensulfonat (10):	57
2.1.7 2-Metoksi-6-[3- <i>p</i> -metoksibenzil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil <i>p</i> -metilbenzensulfonat (11):	58
2.1.8. 2-Metoksi-6-[3- <i>p</i> -klorobenzil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil <i>p</i> -metilbenzensulfonat (12):	60
2.1.9. 2-Metoksi-6-[3- <i>m</i> -klorobenzil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil <i>p</i> -metilbenzensulfonat (13):	61
2.1.10. 2-Metoksi-6-[3-fenil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil <i>p</i> -metilbenzensulfonat (14):	62
2.2. Yeni Maddelerin Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi	62
2.2.1. İndirgeme Gücü Tayini	63

2.2.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Tayini	64
2.2.3. Metal Şelat Aktivitesi Tayini	65
2.3 Yeni Maddelerin Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi	66
2.3.1. Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu	66
2.4. Potansiyometrik Titrasyonlar	67
2.4.1. Çözücüler	67
2.4.2. Titrantlar.....	67
2.4.3. Cihazlar	67
2.4.4. Hazırlanan Çözeltiler	67
2.4.5. Deneyin Yapılışı.....	68
3. BULGULAR	69
3.1. Sentezlenen Bileşiklerin IR, ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR Spektral Verileri.....	69
3.2. Antioksidan İncelemeleri	70
3.2.1. İndirgeme Gücü.....	70
3.2.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi.....	71
3.2.3. Metal Şelat Aktivitesi.....	72
3.3. Potansiyometrik Titrasyon	73
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	82
4.1. Sentezlenen Yeni Bileşiklere Ait Spektral Verilerin Yorumlanması.....	82
4.2. Antioksidan İncelemesi Sonuçlarının Değerlendirilmesi	84
4.2.1. İndirgeme Gücü.....	84
4.2.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi.....	84
4.2.3. Metal Şelat Aktivitesi.....	84
4.3. Asitlik Sabitlerinin Tayini.....	85
4.3.1. Titrasyon Grafikleri.....	85
4.3.2. Potansiyometrik Titrasyon Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	90
4.4. Antimikrobiyal İncelemeleri	93
4.5. İncelenen Reaksiyonların Mekanizmaları.....	96
KAYNAKÇA	98
EKLER.....	107
ÖZGEÇMİŞ.....	123

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin hücre duvarları	13
Şekil 4.1. 5 Tipi Bileşiklerin Konsantrasyona Karşı % Metal Şelat Aktiviteleri	85
Şekil 4.2. 0,05 N TBAH ile 6 Bileşiğinin 4 ayrı susuz çözücünde hazırlanan 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin Titrasyon Grafikleri.....	85
Şekil 4.3. 0,05 N TBAH ile 7 Bileşiğinin 4 ayrı susuz çözücünde hazırlanan 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin Titrasyon Grafikleri.....	86
Şekil 4.4. 0,05 N TBAH ile 8 Bileşiğinin 4 ayrı susuz çözücünde hazırlanan 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin Titrasyon Grafikleri.....	86
Şekil 4.5. 0,05 N TBAH ile 9 Bileşiğinin 4 ayrı susuz çözücünde hazırlanan 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin Titrasyon Grafikleri.....	87
Şekil 4.6. 0,05 N TBAH ile 10 Bileşiğinin 4 ayrı susuz çözücünde hazırlanan 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin Titrasyon Grafikleri.....	87
Şekil 4.7. 0,05 N TBAH ile 11 Bileşiğinin 4 ayrı susuz çözücünde hazırlanan 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin Titrasyon Grafikleri.....	88
Şekil 4.8. 0,05 N TBAH ile 12 Bileşiğinin 4 ayrı susuz çözücünde hazırlanan 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin Titrasyon Grafikleri.....	88
Şekil 4.9. 0,05 N TBAH ile 13 Bileşiğinin 4 ayrı susuz çözücünde hazırlanan 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin Titrasyon Grafikleri.....	89
Şekil 4.10. 0,05 N TBAH ile 14 Bileşiğinin 4 ayrı susuz çözücünde hazırlanan 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin Titrasyon Grafikleri.....	89
Şekil 4.11 6 (1), 7 (4), 8 (5), 9 (3), 10 (6), 11 (9), 12 (7), 13 (8), 14 (2) bileşiklerinin <i>Bacillus substilis</i> 'e karşı etkinlik kapasitesi.....	94
Şekil 4.12 6 (1), 7 (4), 8 (5), 9 (3), 10 (6), 11 (9), 12 (7), 13 (8), 14 (2) bileşiklerinin <i>Bacillus cereus</i> 'e karşı etkinlik kapasitesi.....	94
Şekil 4.13 6 (1), 7 (4), 8 (5), 9 (3), 10 (6), 11 (9), 12 (7), 13 (8), 14 (2) bileşiklerinin <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'e karşı etkinlik kapasites.....	94
Şekil 4.14 6 (1), 7 (4), 8 (5), 9 (3), 10 (6), 11 (9), 12 (7), 13 (8), 14 (2) bileşiklerinin <i>Klebsiella pneumoniae</i> 'e karşı etkinlik kapasitesi	94
Şekil 4.15 6 (1), 7 (4), 8 (5), 9 (3), 10 (6), 11 (9), 12 (7), 13 (8), 14 (2) bileşiklerinin <i>Staphylococcus aureus</i> 'e karşı etkinlik kapasitesi	95

Şekil 4.16 6 (1), 7 (4), 8 (5), 9 (3), 10 (6), 11 (9), 12 (7), 13 (8), 14 (2) bileşiklerinin <i>Escherichia coli</i> 'e karşı etkinlik kapasitesi.....	95
Ek Şekil 1. 4 Bileşiğinin IR Spektrumu	108
Ek Şekil 2. 4 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu.....	108
Ek Şekil 3. 4 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu.....	109
Ek Şekil 4. 6 Bileşiğinin IR Spektrumu	109
Ek Şekil 5. 6 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu.....	110
Ek Şekil 7. 7 Bileşiğinin IR Spektrumu	111
Ek Şekil 8. 7 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu.....	111
Ek Şekil 9. 7 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu.....	112
Ek Şekil 10. 8 Bileşiğinin IR Spektrumu	112
Ek Şekil 11. 8 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu.....	113
Ek Şekil 12. 8 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu.....	113
Ek Şekil 13. 9 Bileşiğinin IR Spektrumu	114
Ek Şekil 14. 9 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu.....	114
Ek Şekil 15. 9 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu.....	115
Ek Şekil 16. 10 Bileşiğinin IR Spektrumu	115
Ek Şekil 17. 10 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu.....	116
Ek Şekil 18. 10 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu.....	116
Ek Şekil 19. 11 Bileşiğinin IR Spektrumu	117
Ek Şekil 20. 11 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu.....	117
Ek Şekil 21. 11 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu.....	118
Ek Şekil 22. 12 Bileşiğinin IR Spektrumu	118
Ek Şekil 23. 12 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu.....	119
Ek Şekil 24. 12 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu.....	119
Ek Şekil 25. 13 Bileşiğinin IR Spektrumu	120
Ek Şekil 26. 13 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu.....	120
Ek Şekil 27. 13 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu.....	121
Ek Şekil 28. 14 Bileşiğinin IR Spektrumu	121
Ek Şekil 29. 14 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu.....	122
Ek Şekil 30. 14 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu.....	122

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.1. Formüller Tablosu.....	2
Tablo 1.2. Bileşikte yer alan alkil grupları	46
Tablo 2.1. İndirgeme Gücü Analizinde Kullanılan Reaktif Miktarları	64
Tablo 2.2. Serbest Radikal Giderme Tayininde Kullanılan Reaktif Miktarları	65
Tablo 2.3. Metal Şelat Aktivitesi Tayininde Kullanılan Reaktif Miktarları	66
Tablo 3.1. 5 Tipi Bileşiklerin İndirgeme Gücü	70
Tablo 3.2. 5 Tipi Bileşiklerin Absorbans Değerleri ve Karşın Olan % Serbest Radikal Giderme Aktiviteleri	71
Tablo 3.3. 5 Tipi Bileşiklerin Absorbans Değerleri ve Karşın Olan % Metal Şelat Aktiviteleri	72
Tablo 3.4. 6 Bileşiğinin İzopropil Alkol, <i>tert</i> -Butil Alkol, Aseton ve <i>N,N</i> -Dimetilformamid 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin 0.05 N TBAH ile Titrasyon Sonuçları.....	73
Tablo 3.5. 7 Bileşiğinin İzopropil Alkol, <i>tert</i> -Butil Alkol, Aseton ve <i>N,N</i> -Dimetilformamid 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin 0.05 N TBAH ile Titrasyon Sonuçları.....	74
Tablo 3.6. 8 Bileşiğinin İzopropil Alkol, <i>tert</i> -Butil Alkol, Aseton ve <i>N,N</i> -Dimetilformamid 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin 0.05 N TBAH ile Titrasyon Sonuçları.....	75
Tablo 3.7. 9 Bileşiğinin İzopropil Alkol, <i>tert</i> -Butil Alkol, Aseton ve <i>N,N</i> -Dimetilformamid 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin 0.05 N TBAH ile Titrasyon Sonuçları.....	76
Tablo 3.8. 10 Bileşiğinin İzopropil Alkol, <i>tert</i> -Butil Alkol, Aseton ve <i>N,N</i> -Dimetilformamid 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin 0.05 N TBAH ile Titrasyon Sonuçları.....	77
Tablo 3.9. 11 Bileşiğinin İzopropil Alkol, <i>tert</i> -Butil Alkol, Aseton ve <i>N,N</i> -Dimetilformamid 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin 0.05 N TBAH ile Titrasyon Sonuçları.....	78
Tablo 3.10. 12 Bileşiğinin İzopropil Alkol, <i>tert</i> -Butil Alkol, Aseton ve <i>N,N</i> -Dimetilformamid 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin 0.05 N TBAH ile Titrasyon Sonuçları.....	79
Tablo 3.11. 13 Bileşiğinin İzopropil Alkol, <i>tert</i> -Butil Alkol, Aseton ve <i>N,N</i> -Dimetilformamid 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin 0.05 N TBAH ile Titrasyon Sonuçları.....	80
Tablo 3.12. 14 Bileşiğinin İzopropil Alkol, <i>tert</i> -Butil Alkol, Aseton ve <i>N,N</i> -Dimetilformamid 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin 0.05 N TBAH ile Titrasyon Sonuçları.....	81
Tablo 4.1. 5 Tipi bileşiklerin Yarı Nötralizasyon Potansiyelleri (mV) ve Karşın Olan pK_a Değerleri	91

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	: Absorbans
δ	: Kimyasal kayma (ppm)
λ	: Dalga boyu (nm)
IR	: Infrared
NMR	: Nükleer magnetik rezonans
UV	: Ultraviyole
TMS	: Tetrametilsilan
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikril-hidrazil
Ferrozin	: 3-(2-Piridil)-5,6-difenil-1,2,4-triazin-4',4''-disulfonik asit sodyum tuzu
HNP	: Yarı-nötralizasyon potansiyeli
TBAH	: Tetrabutilamonyum hidroksit

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

“3-Alkil-4-Amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on’ların 2-Formil-6-Metoksifenil 4-Metilbensulfonat ile reaksiyonundan yeni heterosiklik bileşiklerin Sentezi ve bazı özelliklerinin incelenmesi” başlıklı bu çalışmada, başlangıçta çalışmada kullanılmak üzere bir yeni benzaldehid türevinin sentezi gerçekleştirilmiştir. 2-Hidroksi- 3-Metoksi benzaldehid trietilamin ortamında 4-metilbensulfonil klorür ile muamele edilerek yeni 2-formil-6-metoksifenil 4-metilbensulfonat bileşiği elde edilmiştir.

Ele geçen bileşik 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri ile ayrı ayrı reaksiyona sokularak 9 adet yeni 2-Metoksi-6-[3-alkil/aril-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbensulfonat bileşiği elde edilmiştir.

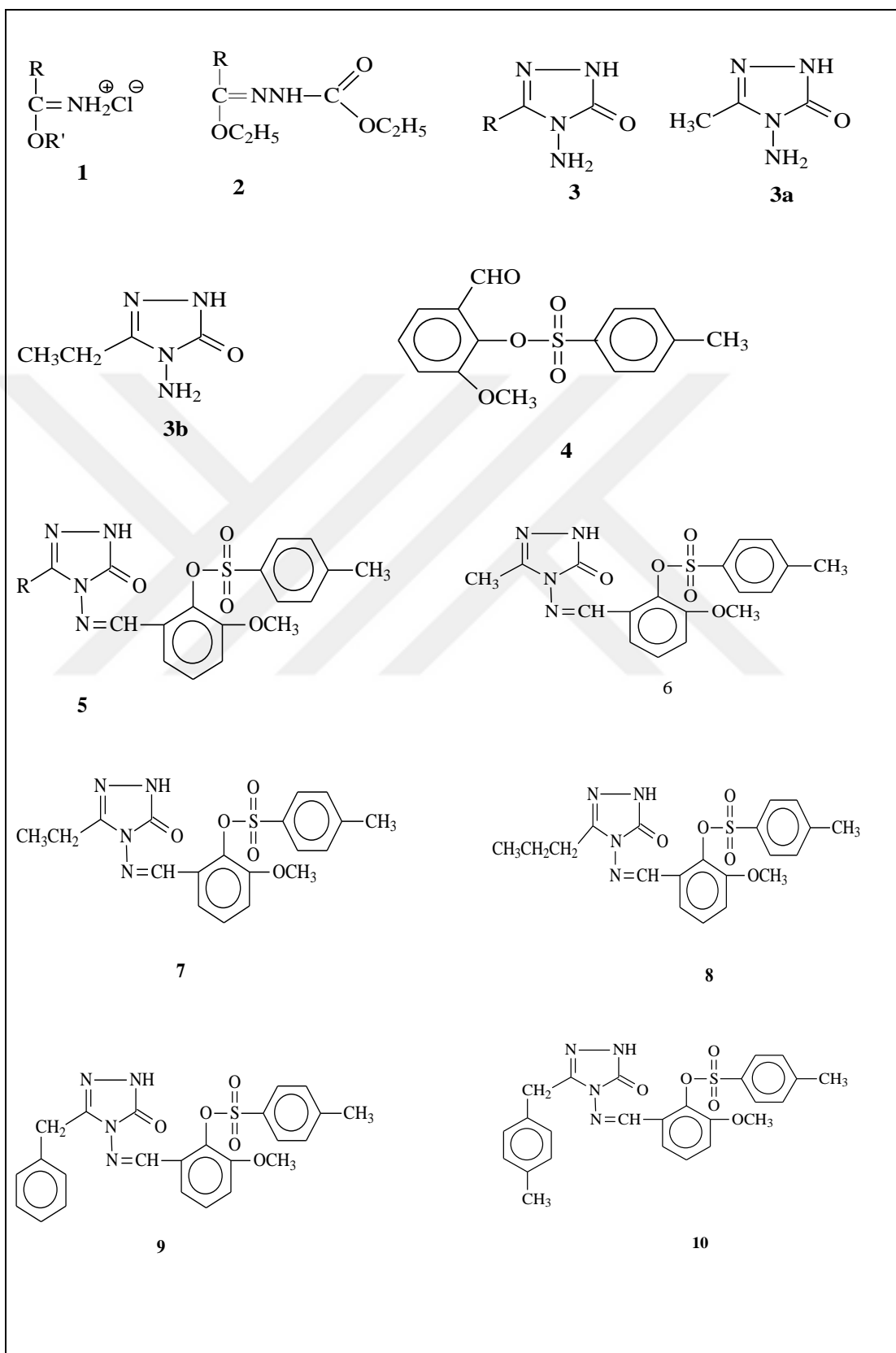
Çalışmanın ikinci aşamasında sentezi gerçekleştirilen biri benzaldehit türevi olan toplam 10 yeni bileşiğin yapılarını ortaya çıkarmak için IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR spektral verileri kullanılmıştır. Çalışmanın üçüncü aşamasında sentezi gerçekleştirilen heterosiklik yapıya sahip olan 9 yeni bileşiğin antioksidan özellik gösterip göstermediği farklı 3 metoddan (indirgeme gücü, serbest radikal giderme aktivitesi, metal şelat aktivitesi) yararlanarak incelenmiştir.

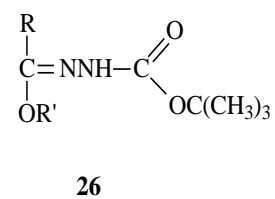
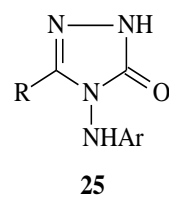
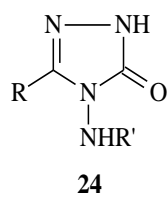
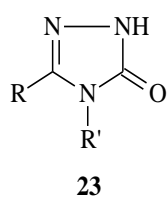
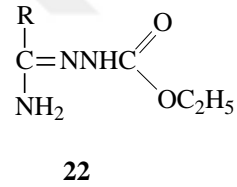
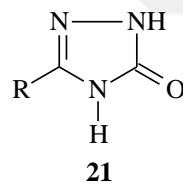
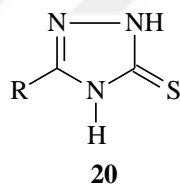
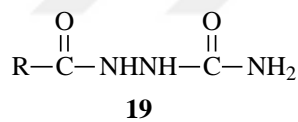
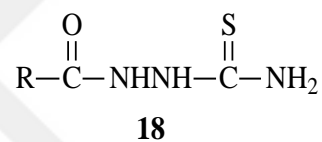
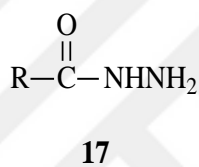
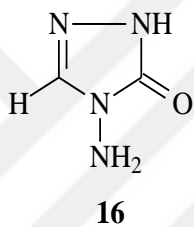
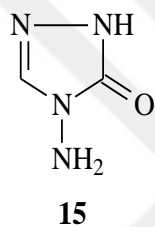
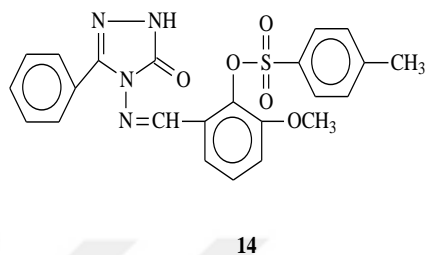
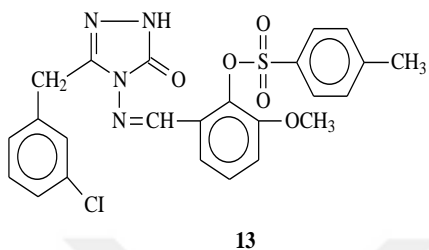
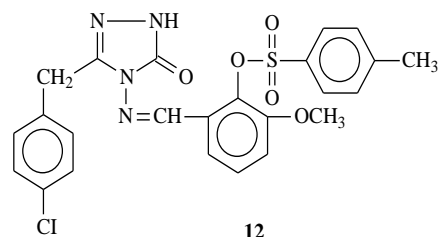
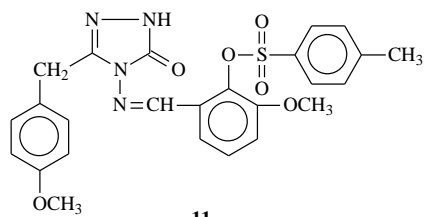
Üçüncü bölümde, sentezi gerçekleştirilen 9 yeni bileşiğin *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterip göstermediği Agar Kuyucuk Difüzyon yönteminden yararlanarak incelenmiştir.

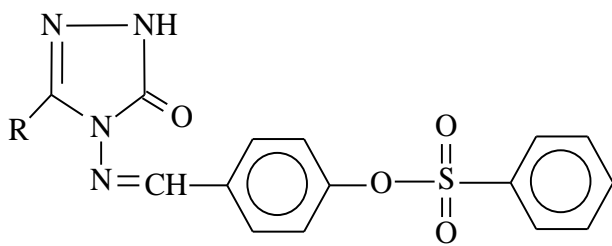
Çalışmanın son aşamasında, sentezi gerçekleştirilen 9 yeni 2-Metoksi-6-[3-alkil/aril-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbensulfonat bileşiğinin 4 ayrı susuz çözücüde TBAH ile potansiyometrik titrasyonları yapılmış ve her bir çözücüdeki HNP ve pK_a değerleri yarı-nötralizasyon yöntemiyle hesaplanmıştır

Çalışmanın içerdiği bileşiklerin formülleri Tablo 1.1’de “Formüller Tablosu” sunulmuştur.

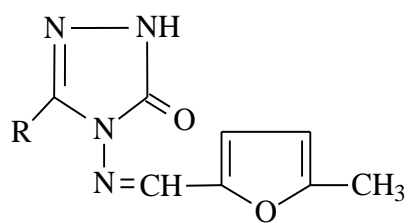
Tablo 1.1. Formüller Tablosu



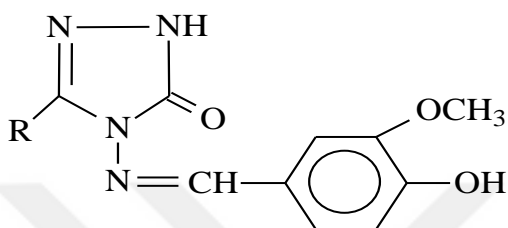




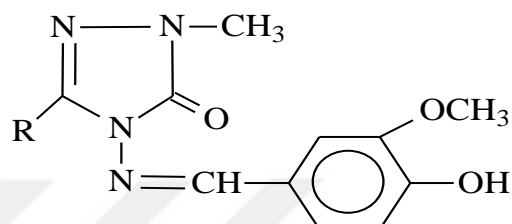
27



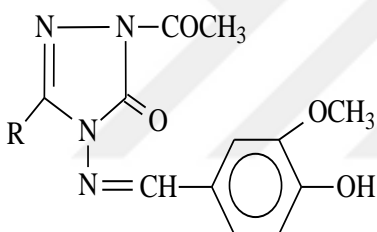
28



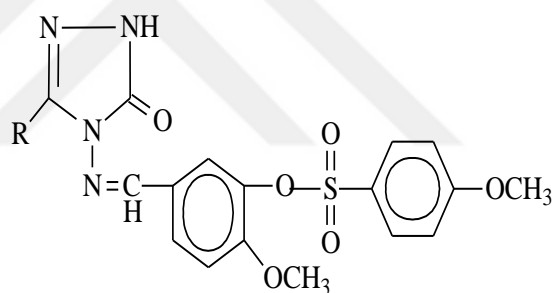
29



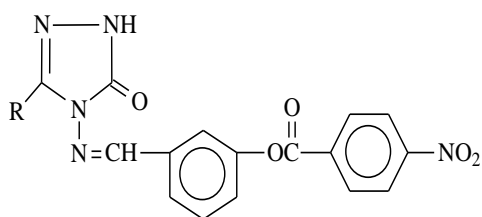
30



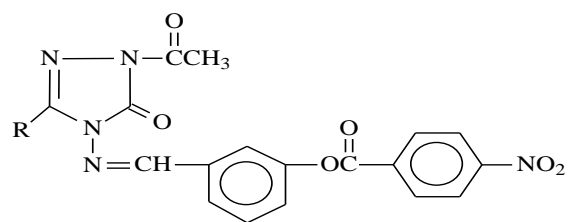
31



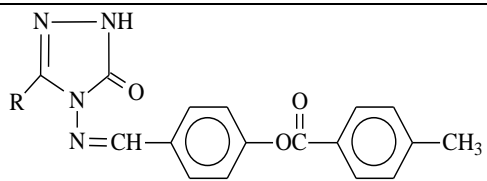
32



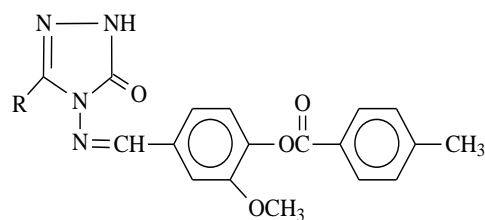
33



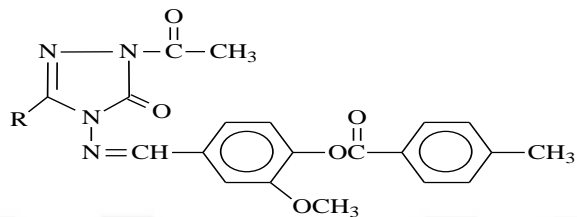
34



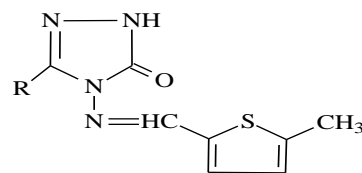
35



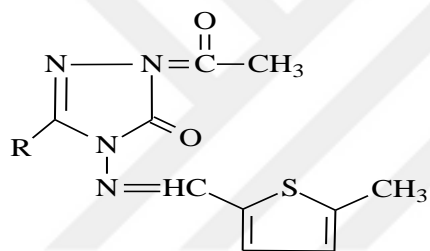
36



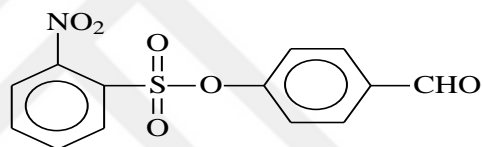
37



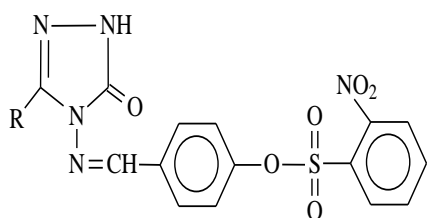
38



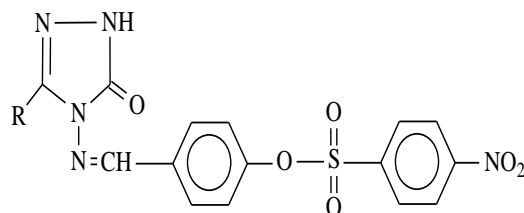
39



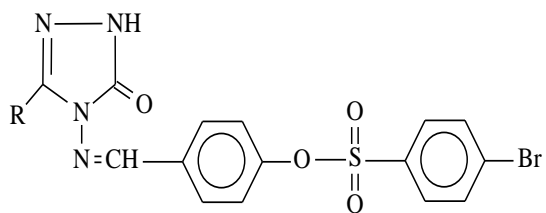
40



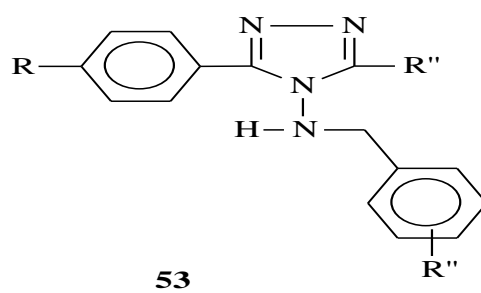
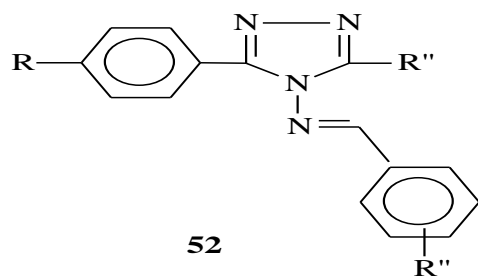
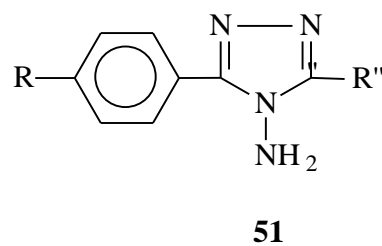
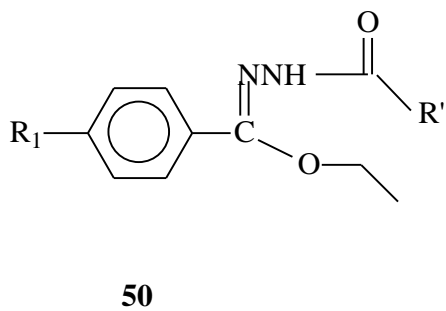
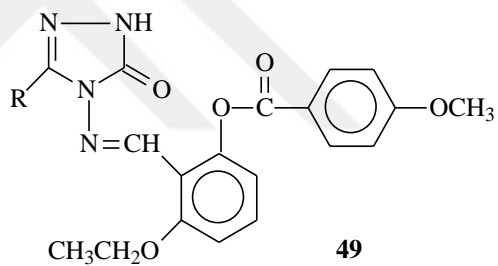
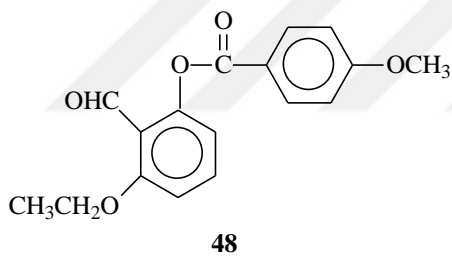
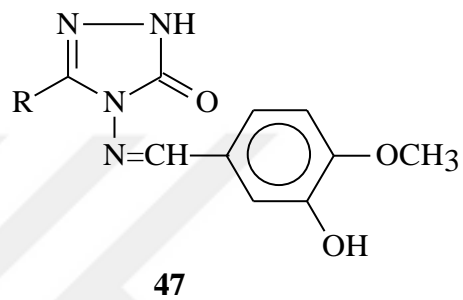
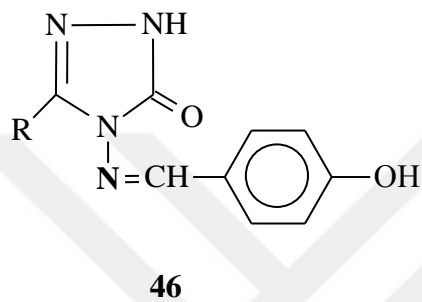
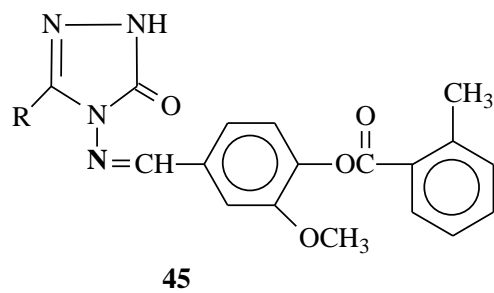
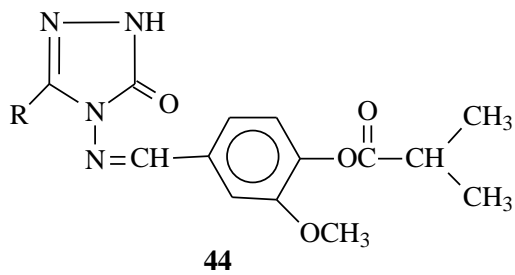
41

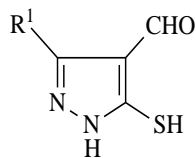
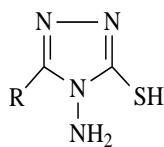
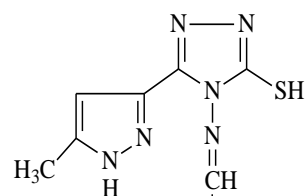
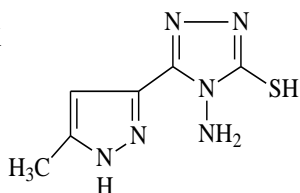
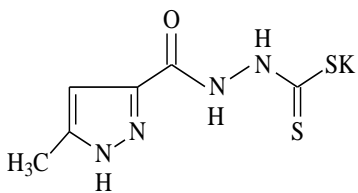
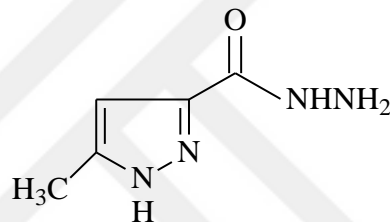
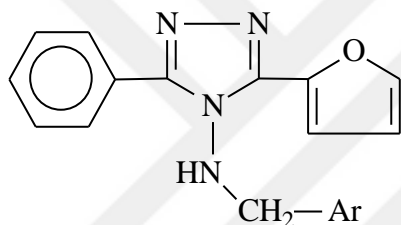
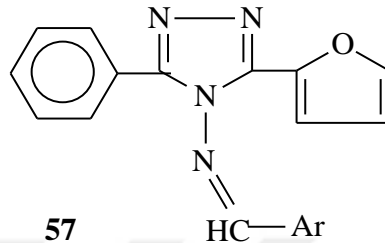
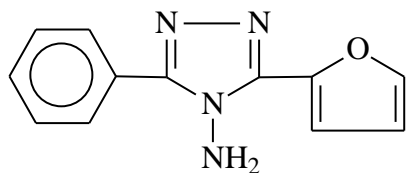
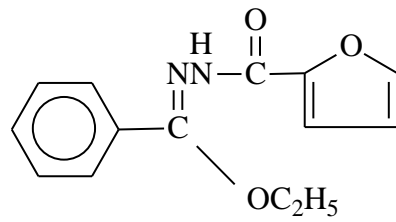
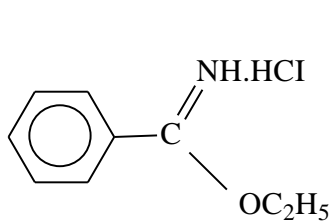


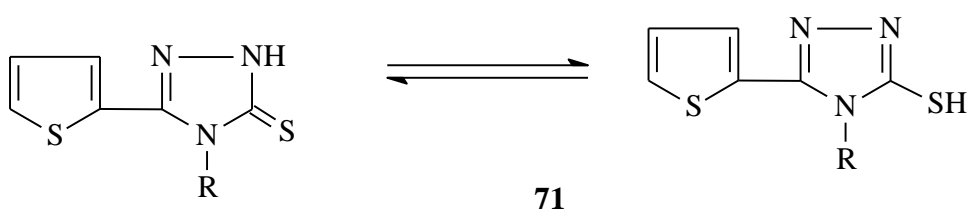
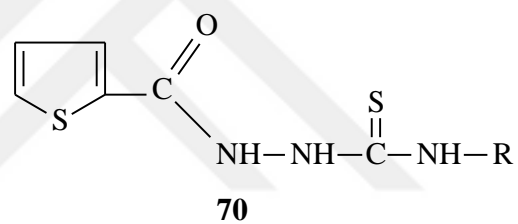
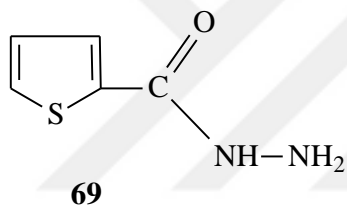
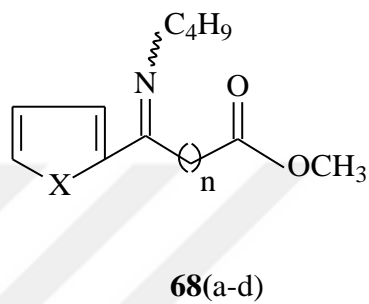
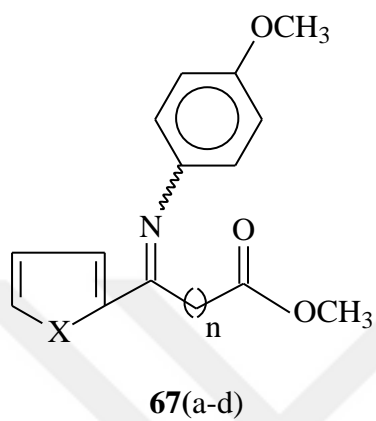
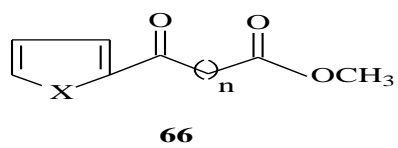
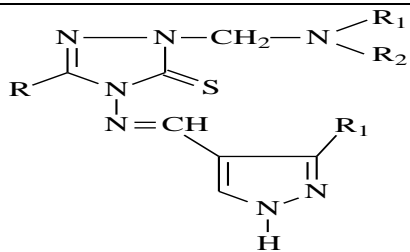
42



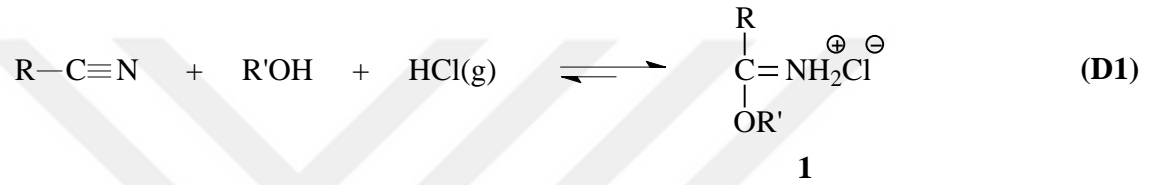
43



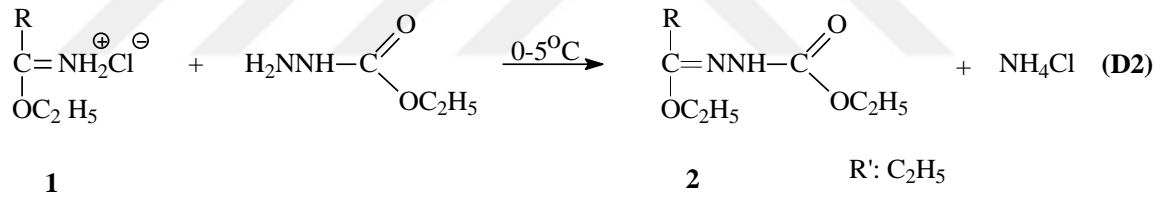




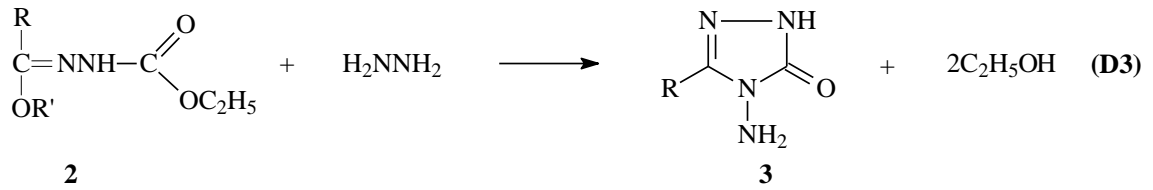
Bu tez kapsamında **5** nolu hedef bileşiklerin sentezinde amino grubu taşıyan **3** nolu bileşikleri kullanılmıştır. **3** nolu amino bileşiklerinin üç kademe de sentezi gerçekleştirilmiştir. İlk kademe de 9 farklı alifatik ve aromatik nitril bileşiklerinden başlayarak Pinner yöntemi [**1**] ile etil imidoasetat hidroklorür (1a), etil imidopropiyonat hidroklorür (1b), etil imido-*n*-butirat hidroklorür (1c), etil imidofenilasetat hidroklorür (1d), etil imido-*p*-metilfenilasetat hidroklorür (1e), etil imido-*p*-metoksifenilasetat hidroklorür (1f), etil imido-*p*-klorofenilasetat hidroklorür (1g), etil imido-*m*-klorofenilasetat hidroklorür (1h) ve etil imidobenzoat hidroklorür (1i) bileşikleri yüksek verimlerde elde edilmiştir (Denklem 1).



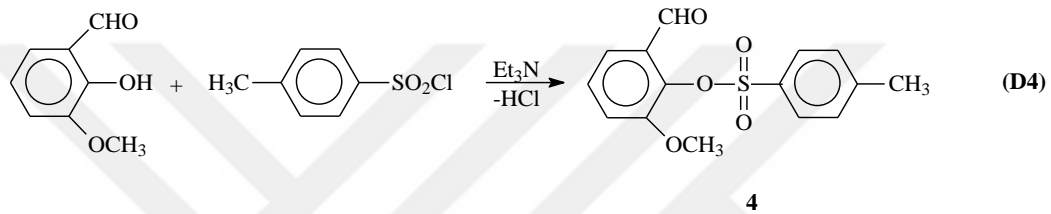
İkinci kademe de 9 farklı 1a-i bileşiklerinin etil karbazat ile muamelesinden literatürde bilinen 2a-i bileşikleri başarılı bir şekilde elde edilmiştir (Denklem 2) [2-7].



Son kademe de ise ilgili amino bileşikleri, 2 nolu bileşiklerin su içerisinde hidrazin hidrat ile tepkimesinden elde edilmiştir (Denklem 3). Literatürde bilinen 3 nolu 3-metil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (3a), 3-etil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (3b), 3-(*n*-propil)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (3c), 3-benzil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (3d), 3-(*p*-metilbenzil)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (3e), 3-(*p*-metoksibenzil)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (3f), 3-(*p*-klorobenzil)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (3g), 3-(*m*-klorobenzil)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (3h) ve 3-fenil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (3i) bileşikleri makul verimlerde sentezi gerçekleştirilmiştir (Denklem 3) [2-7].



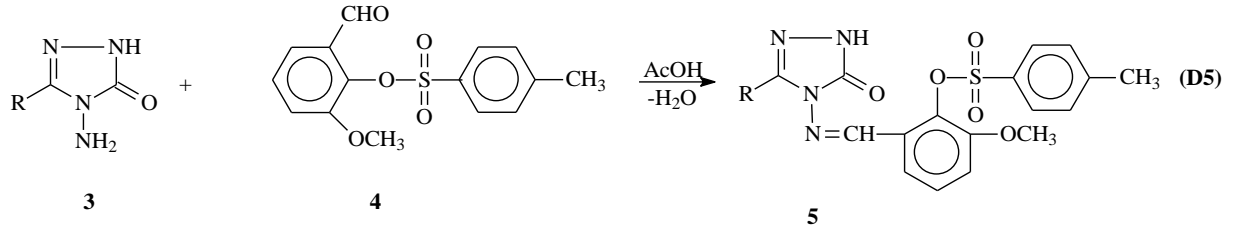
9 Farklı amino bileşiklerinin sentezi başarılı bir şekilde gerçekleştirildikten sonra Schiff bazı içeren bileşiklerin sentezlenmesinde kullanılan aldehit türevi hazırlandı. Bu doğrultuda 2-hidroksi-3-metoksibenzaldehit'in trietil amin ortamında 4-metilbenzen sulfonil klorür ile reaksiyonu sonucu 4 tipi aldehit hazırlanmıştır (Denklem 4).



Laboratuarda hazırlanan ilgili amino bileşikleri ve 2-formil-6-metoksifenil 4-metilbenzensulfonat asetik asit ortamında kondenzasyon reaksiyonuna tabi tutulmuştur. Bu reaksiyon sonucunda literatürde bilinmeyen 9 farklı 1,2,4- triazol iskeletine sahip Schiff bazı olan bileşikler elde edilmiştir.

Bu tez çerçevesinde yapılan sentez çalışmalarda yüksek verimlerde 2-metoksi-6-[3-metil-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il- azometin]- fenil *p*-metilbenzensulfonat (6), 2-metoksi-6-[3-etil-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbenzensulfonat (7), 2-metoksi-6-[3-*n*-propil-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbenzensulfonat (8), 2-metoksi-6-[3-benzil-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbenzensulfonat (9), 2-metoksi-6-[3-*p*-metilbenzil-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbenzensulfonat (10), 2-metoksi-6-[3-*p*-metoksibenzil-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbenzensulfonat (11), 2-metoksi-6-[3-*p*-klorobenzil-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbenzensulfonat (12), 2-metoksi-6-[3-*m*-klorobenzil-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbenzensulfonat (13) ve 2-metoksi-6-[3-fenil-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbenzensulfonat (14) bileşikleri elde edilmiştir (Denklem 5). Bu

hedef bileşiklerin yapısı IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR spektroskopik yöntemleri kullanarak aydınlatılmıştır.



Ayrıyeten sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin 3 ayrı metotla *in-vitro* antioksidan özellik gösterip göstermediği de incelenmiştir. Araştırma bulguları tartışma ve sonuç kısmında yorumlanmıştır.

Üçüncü bölümde, sentezi gerçekleştirilen 9 yeni bileşiğin *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterip göstermediği Agar Kuyucuk Difüzyon yönteminden yararlanarak incelenmiştir.

Çalışmada, 5 tipi 9 yeni bileşiğin 4 ayrı susuz çözücünde (izopropil alkol, *tert*-butil alkol, *N,N*-dimetilformamid ve aseton) potansiyometrik titrasyonları TBAH ile gerçekleştirilmiştir. Yöntem olarak yarı-nötralizasyon kullanılmış ve potansiyelleri belirlenmiş, titrasyon grafikleri hazırlanmış ve asitlik sabitleri ayrı ayrı çözücülerde hesaplanarak asitlik üzerine çözücü ve yapıların asitlik üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Antimikrobiyal incelenmesi

1.2. Antimikrobiyaller

Düşük miktarlarda kullanıldığında bazı bakterilerin çoğalmasının önüne geçen, mikroorganizmalar tarafından üretilen ya da kimyasal sentez yoluyla sentezlenen kimyasallar antimikrobiyallerdir [8]. Antiviraller, antibiyotikler, antifungallar olarak bilinen maddeler antimikrobiyaldir [9, 10].

Yavaş gelişme, dinlenme ve hızlı gelişme dönemi bakterilerin tamamında mevcuttur. Bakterilere yavaş ve hızlı gelişme süreçlerinde antibiyotikler özellikle tesir ederler. Bu tesirin sonucu olarak bakterilerin gelişimi ve üremesinin durdurulması (bakteriyostatik etki) biçiminde ya da bakterilerin öldürülmesi (bakterisid etki) şeklinde gerçekleşmektedir. Bakteriyosid, bakteri çoğalmasına ve gelişmesine engelleyen antimikrobiyal maddeler olarak bilinirken, üremeyi kısıtlayan antimikrobiyaller ise bakteriyostatik diye tanımlanır. [9-12].

Etki spektrumları bakımından antimikrobiyal maddeler, dar ve geniş spektrumlu diye gruplandırılır. Bu gruplandırma temel alınarak polimiksin, doğal olan penisilinler, izoniazid, nistatin dar spektruma, sulfonamidler, yarı sentetik penisilinler, tetrasiklinler, sentetik bakteriler ise geniş spektruma dahilolan antibiyotiklerdir [9, 12-14].

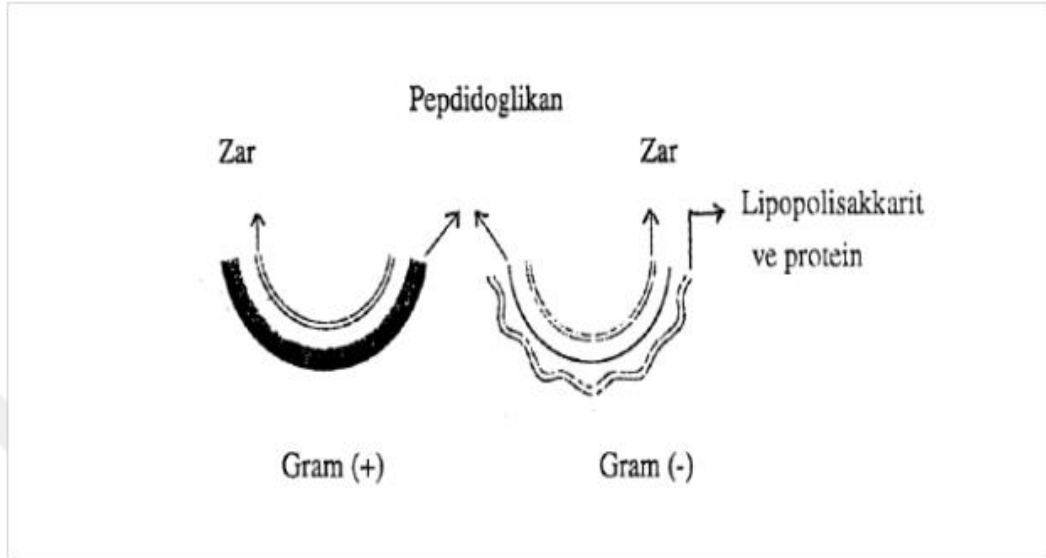
1.2.1. Mikroorganizmalara Genel Bakış

Sitoplazma içerisinde dağınık vaziyette yerleşen, DNA'sı bir zarla çevrilmemiş olan mikro canlılara mikroorganizmalar denir. Spiral, yuvarlak, çubuk gibi şekiller gösteren bu canlıların eni 0.5 µm ve boy uzunluğu 1-3 µm olarak ölçülmüştür. Tabiattaki cins ve türleri binlerle ifade edilir. Mikroorganizmaların birçok çeşidi vardır. Bu tanımlama bakterileri, arkeaları, mikroskopik bitkileri, amoebaları, mantarları, planktonları, protistleri, planarya gibi birçok türü de kapsamaktadır. Tüm sular, hayvan, ekvator, bataklık, yeryüzünde kutuplar, insan ve bitkilerde barınır ve çoğu hastalığın insan ve hayvanlarda görülmesinin sebebidir ve yaşadığımız gezegenin her yerinde bulunurlar [15, 16].

İnsan ve hayvanlar gibi canlılarda mikroorganizmalar, boğaz, genital organlar, yüz sinüsleri alt solunum yolları, beyin, idrar yolları, deri, sindirim sistemi, göz, yumuşak doku, kulak enfeksiyonlarına ayrıca savunma eksikliği olanlarda ise çeşitli enfeksiyonlara sebebiyet vermektedir [17, 18].

Gram boyama da gösterilen özellik bakımından bakteriler gruplandırılabilir. Metot olarak çok sık kullanılan gram boyama mikrobiyolojide bir tekniktir. Gram boyama neticesinde mor renkli görülen mikroorganizmalar Gram pozitif, pembe renkte görülenler ise Gram negatif şeklinde değerlendirilir. Mikrobiyologlar Gram pozitif ve

Gram negatif bakterilerin yapısının aydınlatılmasında ışık mikroskopunda görülmesinin zor olmasından kaynaklı yapılarındaki bu farklılığı araç olarak elektron mikroskobu kullanarak aydınlatmışlardır [15, 17].



Şekil 1.1. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin hücre duvarları

Gram negatif özellik sergileyen bakterilerin hücre duvarları çok katlı ve tamamıyla kompleks bir yapı gösterirken, Gram pozitif bakterilerin tek tabakadan oluşan hücre duvarı çok ince olup Gram pozitif bakterilerde peptidoglikanlar hücre duvarının %90'ını meydana getirir. Gram negatif bakterilerin ancak peptidoglikanlar hücre duvarının %5-20'sini oluşturur. Polisakkaritler, Lipidler ve proteinler ise hücre duvarını meydana getiren diğer öğelerdir. En dış katmanda yer alan lipopolisakkaritler ve proteinler Gram pozitif bakteriler ile Gram negatif bakterileri birbirinden ayırmada büyük önem taşımaktadır. Bu tabakanın kompleks ve koruyucu göstermesinden dolayı önemlidir [15, 17, 18].

1.2.2. Antimikrobiyallerin Etki Mekanizmaları

Antimikrobiyal diye adlandırılan maddeler temelde beş adımda tesir etmektedir [12-14].

1. Hücre zarı sentezini durdurarak: Bakterinin büyüme ve çoğalmasına yol açan hücre zarı aynı zamanda bakteri bütünlüğünü sağlar. Murein adı verilen polimer bileşikleri hücre zarını meydana getirmektedir. Lineer peptidoglikan zincirlerinin

yan dallarla birbirine bağlanmasından meydana gelen bu polimerik madde mukopolisakkarittir. 50-100 peptidoglikandan ibaret olan bu tabaka gram pozitif özellikteki bakterilerde kalındır. Gram-negatif özellik gösteren bakterilerde peptidoglikan olarak adlandırılan tabaka ince ve esneklik gösterip 1-2 molekül peptidoglikan'dan meydana gelmektedir. Lipopolisakkarit-lipoprotein yapılı ikinci bir dış zar tabakası bu tabakanın haricinde yer almaktadır. Hücre içi osmotik basınca karşı dayanıklı olan bakterinin bütünlüğünü koruyarak dağılmasını engelleyen bakteri hücre zarıdır. Bakteriler hipotonik çözeltide bile şişmeden ve patlamadan mevcudiyet sağlıyorsa bu sağlam zar sayesinde [9, 10].

- 2. Hücre zarının geçirgenliğini değiştirerek:** Hücre zarı difüzyon ya da aktif taşıma aracılığıyla mikroorganizmanın faydasına olan maddelerin dış ortamdan alınmasını sağlar. Hücre zarının geçirgenliğini artırıp sitoplazma içindeki küçük moleküllerin (aminoasitler, nükleotitler, potasyum) dışarı çıkmasını sağlayan etkili antimikrobiyal maddeler burada bulunur [9, 10].
- 3. Nükleik asit sentezini önleyerek:** Bu grupta yer alan antimikrobiyal maddeler, DNA sentezini ya da DNA sentezi altında meydana gelen mRNA sentezini bozmak kaydıyla tesir ederler. Sitotoksik etki gösteren ilaçlar bu grupta mevcuttur ve bunların bir kaçı tümör tedavisinde tesir etmektedir [9, 10].
- 4. Ara metabolizmayı bozarak:** Bu grupta yer alan inhibitörler, izoniazit, sulfonamidler, dihidrofolat, etanbutol, redüktazdır. yapıcı normal substratlara benzeyen antimetabolitler enzimlerin üzerinde bulunan etkin yerler için onlarla rekabet halindedirler. Bunlar bakterilerin metabolizmasında yararı olan önemli maddelerin sentezini engellerler [9, 10].
- 5. Protein sentezini engelleyerek:** Burada yer alan antimikrobiyaller bakterilerin ribozomlarında gerçekleşen protein sentezini inhibe edecek şekilde tesir gösterirler. Bunlardan bir kaçı bakterilerin ribozom organelleriyle birleşerek orada m-RNA tarafından organize edilen protein sentezini yıkıma uğratırlar. Memelilerde yer alan ribozomlar bakterilerde yer alandan daha değişik özellik sergilediğinden memeli hücrelerinde sentezlenen proteini yıkamazlar [9, 10].

1.2.3. Antimikrobiyal Aktivite Belirleme Yöntemleri

Difüzyon ve dilüsyon teknikleri Antimikrobiyal aktivitenin gözlemlenmesinde yaygın biçimde yararlanılan metotlar olarak iki temel başlıkta ele alınmaktadır.

1.2.3.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Teste tabi tutulacak antimikrobiyal maddenin uygun kısmı kağıt disklere emdirilerek bakterinin aşılacağı petri plakası içindeki kültür ortamının üst kısmına yayılır. Antimikrobiyal madde konsantrasyonu kağıt içerisinde bulunan madde kültür ortamına yedirilerek diskten ayrıldıkça azalır. Antimikrobiyalin inhibitör konsantrasyonu haricinde kalan kısımda çoğalabilmesi için besiyeri üzerine ekim yapılan mikroorganizmanın disk çevresinde yayılması gerekir. Başka bir söylemle disk çevresindeki antimikrobiyalin konsantrasyon miktarının daha yüksek çıktığı yerde bakteri çoğalması engellenerek inhibisyon zonu ortaya çıkar. Bahsedilen yöntem sayesinde birçok antibiyotiğin deney yapılan mikroorganizmalara tesiri inhibisyon zon ölçümleri sayesinde okunmaktadır. Bir antimikrobiyal ilaç CLSI veya EUCAST dokümanlarına göre değerlendirildiğinde duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olarak yorumlanmaktadır. Uygulaması kolay, yararlanılan malzemelerin maliyetinin ucuz olması bu yöntemin cazip tarafıdır. Kimi antimikrobiyallerin kantitatif minimum inhibitör konsantrasyonunu vermemesi ve kültür ortamına difüz edememesi bu yöntemin dezavantajıdır [15, 18].

1.2.3.2. Mikrodilüsyon Yöntemi

Sıvı ve agar dilüsyon metotları antimikrobiyal maddelerin mikroorganizmaların üremelerini engelleyen ve öldüren en düşük konsantrasyonu miligram/mililitre cinsinden tespit etmede çok uygulanan testlerdir. Bu yöntemler antimikrobiyal maddelerin minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) saptamaktadır. Sıvı mikrodilüsyon tek kullanımlık plastik mikrodilüsyon plakları kullanılarak yapılan duyarlılık testleri açısından uluslararası referans yöntemidir. CLSI ve EUCAST dokümanları kullanılarak test ve değerlendirme yapılmaktadır [19, 20].

1.2.3.2.1. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)

Çoğunlukla seri dilisyon ikişer kat uygulanarak antimikrobiyaller teste tabi tutulmaktadır. Göze çarpan üremeyi engelleyen en az antibiyotik konsantrasyonu minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) diye adlandırılmaktadır. Sıvı veya katı agar ortamında antimikrobiyal dilüsyonlarının hazırlanması yaygın biçimde MİK tespiti için kullanılan yaygın yöntemlerdendir [21,22]. Analiz koşullarına bağlı olarak minimum inhibisyon konsantrasyon değeri mikroorganizma, inokulum, inkübasyon sıcaklığına bağlıdır [15, 18].

1.2.3.2.2. Minimum Bakterisidal Konsantrasyonu (MBK)

Terim olarak bakterisit mikroorganizmaları yok eden konsantrasyon miktarı olarak ifade ediliyorken, mikroorganizmalardaki statik aktiviteye ise MİK değeri denir. Bu metotla üremenin meydana gelmediği kuyucuklarından 10 µl kadar alınan süspansiyon şeklindeki bakteri 37°C’de ve 18-24 saat inkübasyona maruz bırakılmadan önce agara ekim yapılır. İnkübasyon sürecinden hemen sonra üremenin meydana gelmediği konsantrasyon değeri bakterilerde yer alan MBK verilerini gösterir [15, 18].

1.2.4. Antimikrobiyal Direnç

Antimikrobiyallerin keşfedilmesiyle birlikte, mikroorganizmaların ilaçların tesirine direnç göstereceği ve yeterli önlemlere başvurulmadığı takdirde hali hazırdaki antibiyotiklerin enfeksiyondan kaynaklı hastalıkların tedavisinde işe yaramayacağı ve bu yüzden de insanlığın antibiyotikler keşfedilmeden önceki zamanla yeniden yüzleşeceği öngörülmüştür [23]. Uzun zamandır kullanılan bazı antibiyotiklerin bugün tesirini kaybetmiş olması bahsedilen ön görüyü doğrulamaktadır. Geride kalan zamanda antibiyotiklerle birçok enfeksiyöz hastalıklara çare bulunmuşken, antibiyotiklerin doğru şekilde kullanılmamalarından kaynaklı yeni keşfedilmiş olan bir antibiyotiğe kısa zamanda direnç gelişmektedir [8].

1.2.4.1. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları

Bakterilerde birden fazla dirence sahip mekanizma olduğu saptanmıştır. Bakterinin antibiyotik maddelere gösterdiği direnç sadece bir mekanizma yürüyebileceği gibi daha fazla mekanizma ile de ortaya çıkabilmektedir.

Bahsedilen mekanizma 2 başlıkta incelenmektedir [23]:

1. Doğal Direnç

Duyarsızlık diye de bilinen direnç aslında belli antibiyotiklerden bir türün suşlarının hepsinin etkilenmemesidir. Bahsedilen direnç bakterinin tabiatına bağlı olarak sıklıkla yapısal ve biyokimyasal özelliklerinden meydana gelmektedir. Bahsedilen direnci ortaya koyan bakteriler tabii bir şekilde antibiyotiklerin bağ kuracağı hedef bölgesini barındırmayabilir ve kimyasal bileşimlerinden kaynaklı olarak bunlara karşı çok az miktarda geçirgenlik yaratabilir. Örneğin penisilinde olduğu gibi eğer bir antibiyotiğin amacı bakterinin hücre duvarı olursa hücre duvarı barındırmayan bakterilerde tesir göstermesi beklenmemektedir. Bundan başka, antibiyotiklerin tesir oluşturacağı bakteriyel hücreye girememesi neticesinde de direnç oluşmakta ve tesiri de sınırlı olmaktadır. Örnek verilecek olursa stoplazmik hedefe varmak ve hücre çeperinden sızmak için makrolidler büyük yapılı olduklarından dolayı, makrolidlerin aktivitesine karşı doğal olarak direnç ortaya koyan Gram negatif özellikte bulunan bakteri gruplarıdır [8, 23].

2. Kazanılmış Direnç

Tanım yapmak gerekirse tabii şekilde antibiyotiklere hassasiyeti olan bakterilerin farklı yollardan antibiyotiklerden korunma biçimine gelmelerine denir [8, 23].

Bakterilerde türden türe bu mekanizma değişebilmektedir. Biyokimyasal ve genetik açıdan kazanılmış direnç mekanizmaları incelenmektedir. Biyokimyasal açıdan bakıldığında mekanizmalar dört başlık altında incelenmektedir ve bu başlıklarda oldukça fazla çeşitlilik göstermektedir. Bir bakteriyel suş için direnç kazanımı

bahsedilen direnç mekanizmalarından sadece bir tanesi olabileceği gibi, direnç kazanımı birden fazla mekanizma ile de gerçekleşebilmektedir. Bu çeşitlilik de antibiyotiğin bakteri çeşidine, tabiatına, direnç plazmidi mevcudiyetine, hedef bölgesine veya kromozol mutasyona göre değişim göstermektedir [8].

a. Antibiyotik İnaktivasyonu Sonucu Gelişen Direnç

Antibiyotiği tahribata uğratan enzim üretmeye bağlı etkili antibiyotiğin inaktivasyonu açısından tetkik edilen savunma mekanizması gelişmektedir. Antibiyotik inaktivasyonunu redoks mekanizması ve grup transferi ile hidrolitik enzimler gerçekleştirmektedir. Enzimatik yoldan antibiyotiğin inaktivasyonu ile direnç kazanan ehemmiyetli antibiyotikleri Beta-laktam antibiyotikler ve kloramfenikol meydana getirmektedir [8].

Hidrolize hassas kimyasal bağlar taşıyan amidler ve esterler gibi antibiyotikler de vardır. Enzimlerin çoğu tesirini ortaya çıkarmak için bu bağları yıkıma uğratır. Antibiyotikleri bakteri hücreesindeki yapıya bağlanmadan önce inaktive eden enzimler çoğunlukla bakteriden elde edilmektedir. Bahsedilen hidrolitik amidazlar diye bilinen “beta laktamaz” dır. Tesir gösterebilmek için Beta laktamazlar sefalosporin ve penisilinin beta laktam halkalarını tahribata uğratmaktadır [8].

Antibiyotik inaktivasyonuna esterazlar ve epoksidazlar da sebebiyet vermektedirler. Epoksidaz fosfomisin direncine esterazlar makrolid antibiyotik direncine yol açmaktadır [8, 24, 25].

b. Hedef Molekülün Değişmesi Sonucu Gelişen Direnç

Tesir mekanizmasına bakılmaksızın bir antibiyotiğin tesir ortaya koyabilmesi için bakteride belli başlı moleküllerle bir araya gelmesi ve işlevlerini durdurması gerekmektedir. Bu nedenle bakteri hücrelerinde antibiyotiğe afinite gösteren moleküller yer almaktadır. Bakteride yer alan moleküllerde ortaya çıkan yapısal değişiklikler antibiyotiğe afiniteyi azaltarak bakterinin antibiyotik mevcudiyetinde de çoğalmasına

sebebiyet verir. Antibiyotiğin bağlanacağı bölgenin modifiye olması neticesinde bakterilerde antibiyotiğin istenilen yere bağlanamaması diye de bilinen bu mekanizma ile de direnç meydana gelmektedir [8, 26].

c. Hücre Duvarı Permeabilite ve Aktif Pompa Sistemleri Değişimi Sonucu Gelişen Direnç

Antibiyotiklerin hücre içi düzeylerini en az seviyeye indirgeyen hücre dışına çıkarılmasını sağlayan membran proteinleri aktif pompa sistemleridir. Antibiyotiğin hücreye girişini azaltan hücre membranıdır. Klinik açıdan ehemmiyetli çoğu bakteride azalan giriş ve aktif atılım düşük düzeyde direnç sergilemektedir [8, 27].

Hidrofilik yapılar için etkin bir engel teşkil eden biyolojik membranlar, hidrofil aynı zamanda lipofil özellik sergileyen amfilik yapılar rahat bir biçimde bu membranlardan ilerlemektedirler. Bakterilerin bileşiklerin zarar verici taraflarından korunmak amacıyla birçok mekanizmalar sergilemeleri bu yüzdendir. Aktif pompa sistemleri bunlar içerisinde en ehemmiyetli olanıdır. Bu sistem ile ortaya çıkan direnç antibiyotiğin modifiye olmadan konsantrasyonundaki azalma ile kendini göstermektedir. Günümüzde beta-laktamların da aralarında olduğu çoğu antibiyotik sınıfına gösterdiği dirençte ehemmiyeti göze çarpan, antibiyotiğin hücreden atılmasında görev alan aktif pompa sistemlerinin mevcudiyeti yaklaşık yirmi yıl önce tetrasiklinler için ortaya koyulmuştur [8, 28].

d. Diğer Mekanizmalar Sonucu Gelişen Direnç

Kimi bakteriler antibiyotiklere dayanıklı olmak için tepkimeye girerek tesirli olan antibiyotiklere hedef olan enzimlerini veya metabolizmalarındaki kimyasal reaksiyon dizilerini modifiye etmektedirler. Sulfonamid, trimetoprim ve dirençli bakterilerde bu tür etki ortaya çıkmaktadır [8, 29, 30].

Biyofilm oluşumu bakterilerin sergilediği başka bir direnç türüdür. Konak cevabından sıyrılıp antibiyotik tedavisine direnç sergilemeleri bu bakterilerin en ehemmiyetli

tarafıdır. Biyofilm üreten bakterilerin üretmeyenlere oranla çoğu antibiyotiğe direnç sergiledikleri laboratuarda yürütülen testlerde rapor edilmiştir [8, 31].

Temelde 3 mekanizmanın biyofilm oluşumundan kaynaklı antibiyotik direncine yol açtığı görülmüştür [32].

Antibiyotiklerin biyofilme nüfuz edememesi bu mekanizmalardan ilkidir. Biyofilmlerin ayırıcılığı ekzopolisakkarit matriksin oluşumundan ileri gelmektedir. Antibiyotiklerin biyofilmde yer alan bakterilere difüzyonunu bu matriks durdurmaktadır [8, 31, 32].

Biyofilmdeki bakterilerin yavaş çoğalma fazına geçmeleri antibiyotik direncine yol açan farklı bir mekanizmadır. İhtiyacı olan besinleri ortamda bulamayan bakterilerin üremeleri çoğalmaları yavaşlar ve üremenin olmadığı formata modifiye olurlar [8, 31, 32].

Sonuncu mekanizmaya gelindiğinde ise kimyasal ortam ve persiste hücreler biyofilmdeki değişimi göstermektedir. Antibiyotik potansiyelinde değişime yol açan kimyasal yapılar biyofilmlerde üremeyi kısıtlandırmaktadır. Örneğin; aminoglikozidlerin tesirini tek başına biyofilmdeki oksijen miktarı kısıtlayabilmektedir. Bakteriler fermentatif özellik taşıyabilirler bile biyofilmin anaerobik kısmında buldukları için bu antibiyotiklerin tesirinden sakınabilmektedirler [8, 33].

1.3. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

Dış orbitallerinde çiftleşmemiş elektrona sahip olan atom veya moleküllere serbest radikaller (SR) denir. Serbest radikaller ortaklanmamış elektronlara sahip oldukları için mükemmel derecede reaktiftirler [34, 35]. Sadece bir proton bulduran hidrojen elementi en basit serbest radikal örneğidir. Atom ya da moleküllerin çevresine yerleştirilen eşleşmemiş elektronlar serbest radikalleri oluşturur [34].

Radikal mevcudiyeti kimyasal ve fiziksel etkenlerden kaynaklı hücre ve çevre içerisinde sürekli oluşmaktadır. Temelde üç şekilde serbest radikal oluşmaktadır [34, 36, 37].

a) Kovalent Bağların Homolitik Bölünmesi: Elektronların ortaklaşması sonucu oluşan kovalent bağın bölünmesi esnasında bağı meydana getiren elektronlar bağı oluşturan atomlar çevresinde durur (Denklem 6).



b) Normal Bir Molekülün Elektron Kaybetmesi: Radikal meydana gelmesinde başka bir yol moleküllerin elektron verdikten sonra eğer molekülün en uzaktaki orbitalinde çiftleşmemiş elektronun mevcudiyetindedir. Hücrel antioksidanlar olarak bilinen askorbik asit ve tokoferol radikallere bir elektron aktarır radikalleri indirgerken, kendilerininde radikal formatını meydana getirir.

c) Normal Bir Moleküle Tek Bir Elektron Transferi: Radikal oluşumunun başka bir yolu da radikal olmayan moleküle bir elektron gönderildiğinde en uzaktaki orbitalinde çiftleşmemiş elektron kalması durumunda indirgenmesinin meydana gelmesidir.

Oksijen molekülünün radikal formu olan süper oksidi oluşturması örnek verilebilir (Denklem 7).



Her hangi bir tanımlama getirilerek belli bir kısıtlama yapılmayan antioksidanlar oksidasyona karşı koyan maddelerdir. Uygulama alanına bakıldığında yağların bozunmasını önleyen antioksidanlardan reaktif olan Oksijen, azot gibi atom türlerinin insanların fizyolojik fonksiyonları üzerinde ters etkilerini minimize eden diyetel antioksidanlara bir çok uygulama alanına sahiptir [38, 39].

Antioksidanı meydana getiren kaynaklar dört kısımda incelenmiştir [38, 40].

- Bazı hormonlar; östrojen, melatonin vb.
- Büyük moleküller; ferritin, albumin, diğer proteinler
- Küçük moleküller; karetonoidler, askorbik asit, polifenoller, urik asit, tokoferol,
- Enzimler; peroksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz

1.3.1. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller, önemli bileşikler ve yapılar olan karbohidrat, protein, lipid, enzim, DNA'nın yapılarını güçlü reaktif özelliklerinden dolayı etkileyebilir. Hidroksil radikali ve süperoksit radikali ise aşırı reaktif özellik gösterdiklerinden dolayı hücre çekirdeği, sitoplazma, mitokondri, endoplazmik retikulum hücrelerinde tahribatlara sebebiyet vermektedir [38, 41].

1.3.1.1. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri

Hücre fonsiyonlarında ve hücre yapısında moleköl ağırlığı fazla olan proteinlerin görevleri çok ehemmiyetlidir. Bunun yanı sıra kararsız serbest radikallerle girdikleri tepkimeler sonucunda ehemmiyetli değişikliklere uğrayabilmektedir. Serbest radikallerin en önemli hedeflerinden biri amino asitlerdir. Amino asitlerin birleşmesiyle oluşan proteinlerin bileşenlerinin tahribata uğraması, proteinlerin yapısında büyük değişiklikler meydana getirir. Serbest radikallere en hassas olan amino asitler histidin, metiyonin, tirozin, sistein, sistin, ve triptofan olup serbest radikaller ile reaksiyonları neticesinde farklı yan ürünlere evrilebilmektedir.

Kararsız serbest radikaller ile Proteinlerin gerçekleştirdiği reaksiyonda meydana gelen tahribata karşı hassasiyeti, tahribata uğramış proteinlerin yenilenebilirliğine, amino asit dizilimine ve yapısına göre değişir [38, 42].

1.3.1.2. Serbest Radikallerin Karbohidratlar Üzerine Etkileri

Karbohidratlar üzerinde kararsız serbest radikaller göze çarpan etkilere neden olmaktadır. Deoksi şekerler, glikoz, mannoz fizyolojik şartlarda oto oksidasyona maruz kalarak süperoksit ve hidrojen peroksit oluştururlar. Protein çapraz bağlanmalarına sebebiyet vererek bazal membranda kalınlaşmaya yol açan monosakkaritlerin oto oksidasyonu katarakt ve benzeri hastalıkları meydana getirebilmektedir [38, 43].

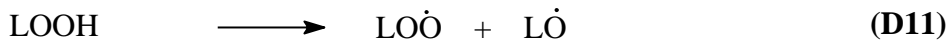
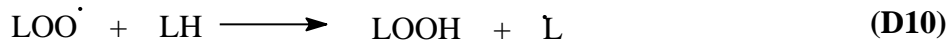
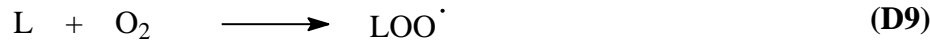
1.3.1.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler Üzerine Etkileri

Nükleik asitlerin Reaktif Oksijen Türleri (ROT) ile tepkime vermesi iyonize edici radyasyondan kaynaklı hücre ölümünün baş sorumlusudur. Nükleik asit baz

değişimlerine ya da DNA çift sarmalında zarar meydana getirmesinden dolayı ROT mutasyonlara ve sitotoksositeye sebebiyet vermektedir. Bundan ayrı sitotoksik aktiviteye sahip olan hidrojen peroksit, zardan rahat bir şekilde süzülerek hücre çekirdeği kısmında nükleik asit bozunmalarına neden olabilir. Hidroksil radikali reaktifliği yüksek olan serbest radikallerden olup nükleik asit ve DNA'nın yapısında değişiklik meydana getirerek mutasyonlara yol açabilmektedir [38, 44-46].

1.3.1.4. Serbest Radikallerin Lipidler Üzerine Etkileri

Serbest radikallerin hedefinde olan biyomoleküllerin büyük gruplarının tamamı bunlardan etkilenirler. Ancak serbest radikallere karşı en hassas olan lipidlerdir. Hücre içerisinde en çok mevcudiyet gösterdiği bölge hücre zarları olan lipidler serbest radikallerin tahripkar tesirlerinden fazlasıyla etkilenmektedir. Kararsız serbest radikaller lipid peroksidasyonu reaksiyonlarını yeterince oksijen varlığında başlatarak peroksi lipidleri meydana getirmektedir (Denklemler 8-11) [38, 43, 46].



Hücre zarlarındaki yapısal ve işlevsel hasarlar lipid peroksidasyonu neticesinde meydana gelmektedir [47-49]. Lipid peroksidasyon ürünlerinde artışın meydana geldiği başlıca hastalıklar alzheimer, kanser, diyabettir [38, 50].

1.3.2. Antioksidanlar ve Etki Mekanizması

Antioksidanlar, proton verme yeteneğine sahip olan kimyasal yapılardır. Bu yapılar radikal özellikteki maddeleri radikal olmayan yükseltgenmiş kimyasal yapılara dönüştürürler. Sadece proton verme yönünden değil antioksidanlar radikallerin

reaktivitesini düşürerek reaksiyona girmesini durdurması bakımından da yüksek derecede uygundur [38, 51].

Farklı radikal kaynaklarına karşı farklı tepkiler veren oksidan ve antioksidanlar değişik kimyasal bileşene sahiptir. Örnek vermek gerekirse peroksil radikallerine karşı fenoller, karotenoidlerden daha iyi bir radikal yakalayıcısıdır. Ayrıca karotenoidler iyi bir radikal giderici etkiye sahipken fenolik antioksidanlar singlet oksijene karşı etki göstermez [38, 40].

Etki mekanizmaları bakımından antioksidanlar iki şekilde incelenmektedir. Bunlar zincir kırıcı antioksidanlar (birincil) ve önleyici antioksidanlar (ikincil) dir. Birincil antioksidanlar çok az miktarlarda mevcut olup, doymamış lipid molekülleri ile tepkimeye girmesini engellemek için peroksil radikalleri reaksiyon vermektedir. Çeşitli mekanizmalar ile zincir başlatıcı reaksiyonları geciktiren ise ikincil antioksidanlar olarak adlandırılır. UV absorblama, oksijen yakalama, metal iyonlarını bağlama ve singlet oksijeni etkisiz hale getirme şeklinde ikincil antioksidanlar tesirini göstermektedir. Genellikle tokoferoller, metal iyonları, fenolikler indirgenme ajanlarının mevcudiyetinde tesirlerini gösterebilirler [38, 51].

1.3.3. Vücutun Antioksidan Savunma Mekanizmaları

Antioksidan savunma sistemlerinin vücut içerisindeki görevi ROT un vücutta yarattığı tahribatları bertaraf etmektir. Antioksidan savunma sistemleri hücreleri ilaçların, karsinojenlerin, toksik radikal tepkimelerinin istenmeyen etkilerine karşı korumaktadır [38, 50, 52].

Başlıca iki gruba antioksidanları ayırmak mümkündür; bunlar enzimatik olan ve enzimatik olmayan antioksidanlardır. Metallerin meydana getirdiği iyon türlerini bağlayan proteinler, enzimler, suda ve yağda çözünen radikal tutucuları vücuttaki antioksidan savunma sisteminde bulunan başlıca yapılardır [38, 53]. Glutatyon redüktaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon S transferaz, katalaz ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz temel antioksidan enzimlerdir. β -karoten, bilirubin, E vitamini, ubikinon, melatonin ve lipoik asit, flavonoidler, yağda çözünen radikal

tutuculara örnektir. Ürik asit, C vitamini, glutatyon, sistein ve mannitol ise suda çözünen antioksidanlara örnektir [38, 50, 52].

1.3.4. Antioksidan Özelliklerin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

Antioksidanlar hakkında yayımlanan makaleler tarandığında farklı araştırmacıların birçok farklı terim kullanarak antioksidan kapasitesini ifade ettiği görölmektedir. Etkinlik, aktivite, potansiyel, güç parametre gibi terimler toplam antioksidan kapasitesini göstermektedir. Tepkime şartlarındaki basınç, sıcaklık ve reaksiyon ortamı aktiviteyi etkilemektedir. Antioksidan aktivitesi tepkime şartlarındaki ölçümü ortaya koyar [38, 39]. Antioksidan aktivitesi ölçümleri günümüzde daha farklı yöntemlerle yapılmaktadır.

1.3.4.1. DPPH Serbest Radikal Yakalama Aktivitesi

Bu yöntemde, DPPH kullanılır ve antioksidanın bu serbest radikali yakalama kabiliyeti ölçümüne dayanır [54].

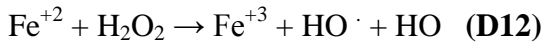
DPPH radikali mor renkte olup antioksidandan bir proton kopararak α,α -difenil- β -pikrilhidrazin molekülüne dönüşür ki bu molekül renksizdir. DPPH antioksidan madde tarafından redüksiyona maruz kaldığından rengi açılır [38, 39, 54]. DPPH'in renk yoğunluğunun antioksidanlar ortamında azalması ilkesi ile DPPH yakalama aktivitesi tespit edilir ve EC50 değerleri ile ortaya çıkartılır.

1.3.4.2. İndirgeme Gücü Belirlenmesi

Yüksek absorbans, yüksek indirgeme potansiyelini ifade eden indirgeme gücü tayini serbest radikalleri yakalama aktivitesi temeline dayanır. Antioksidan aktivite antioksidan maddenin indirgeme gücü göz önüne alınarak ortaya çıkarılır. Antioksidan aktivite tayini potasyum ferrisiyanürdeki Fe(III) iyonlarının Fe(II) iyonlarına redüksiyonu ile belirlenmektedir [38, 55].

1.3.4.3. Metal Şelatlama Etkisi

Gündelik hayatta çokça kullanılan demir elementi protein, lipid ve bir çok diğer yapılarla oksidatif tepkime vermektedir ki bu istenmeyen bir durumdur. Bundan başka Fenton tepkimeleri nihayetinde serbest radikal meydana getirme yeteneğindedir (Denklem 12). Bundan dolayı Fe^{+2} deki azalma Fenton tepkimelerindeki oksidatif tahribata engel teşkil edici etki yaratmaktadır [56]. Fe^{+2} nin lipid oksidasyonuna sebebiyet veren en mühim pro-oksidan olmasındaki neden yüksek reaktivite göstermesidir [38, 57].



Fenton reaksiyonları nihayetinde meydana gelen peroksit ve hidroksil radikallerinin ortaya çıkmasını inhibe eden metal şelatlama özelliğindeki antioksidanlar serbest demiri bağlayarak demirin tesirini ortadan kaldırırlar. Metal şelatlama özelliği bu nedenledir ki antioksidan aktiviteyi tespit etmede hayati derecede ehemmiyetlidir [58]. Aslında bahsedilen aktivitenin temeli ortamdaki Fe^{+2} iyonlarını indirgemesidir. Aktivitenin ortaya çıkması için şelat ajanlarının demir iyonlarını şelatlaması neticesinde kırmızı rengin azalması gerekmektedir. Lipid peroksidasyonunda yer alan katalize olmuş geçiş metallerini metal şelatlama aktivitesi indirgediğinden dolayı ehemmiyetlidir. Metal iyonlarının oksidasyonunu stabilize edebilmek için şelatlama ajanları redoks potansiyelini indirgemektedir. Şelatlama ajanları bundan dolayı ikincil antioksidanlar olarak bilinir [38, 55].

1.3.4.4. Toplam Fenolik İçeriğın Belirlenmesi: Folin Ciocalteu (FC) Yöntemi

Antioksidan aktiviteyi gerçekleştiren hidroksil grupları ile ilgili fikir sunması bakımından toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi için ehemmiyetlidir. Toplam fenolik madde ölçümünü doğal ürünlerde tespit etmek amacıyla kullanılan metod FC metodudur. Antioksidan ölçüm yöntemi olarak da kullanılmaktadır. Çünkü temel mekanizma oksidasyon redüksiyon tepkimelerine dayanmaktadır. Oldukça iyi bir ilişki toplam fenol içeriği ve antioksidan aktivitesi arasında ortaya çıkmaktadır [38-40]. Bahsedilen yöntem kesinliği yüksek, duyarlı ve kolay bir yöntemdir.

Kullanılan ayıraçtaki rengin sarıdan maviye değişmesi fenolik antioksidanların varlığında Mo(VI)'nın indirgenmesiyle gerçekleşir ve bu sayede absorbans ölçümü yapılmaktadır [34].

1.4. Susuz Ortam Titrasyonları ve pK_a Tayini

1.4.1. Susuz Ortam Çözücüleri

Saf suyun dışında diğer çözücülerin yer aldığı tepkimelere susuz ortam tepkimeleri denilmektedir. Fakat kimi solventlerin suyla bir araya gelmesi sonucu meydana gelen çözücülerdeki reaksiyonlarda susuz ortam reaksiyonları olarak adlandırılmaktadır.

Çözücü bir reaksiyonun meydana gelmesinde çok ehemmiyet taşıyan etkenlerdendir. Çözücü denildiği zaman yalnızca reaktifleri çözen ve bu reaktiflerin bileşiminin de yer alan en küçük taneciklerin çarpışmalarını sağlayan inert madde dışında çarpışan tanecikler için reaksiyona girme kolaylığı sağlar. Yıllardan beridir yapılan araştırmalar bilindik maddelerin hepsini çözen adına üniversal denilen bir çözücüye ulaşmak içindir. Üniversal olarak kabul edilecek çözücüde dipol momentinin, kaynama noktasının, hidrojen bağı akseptörlüğünün veya donörlüğünün, dielektrik sabitinin, atmosfere inert olması, eşleşmemiş elektron çifti donörlüğünün veya akseptörlüğünün vs. aşırı derecede ehemmiyet taşımaktadır. Bütün bunlar göz önünde tutulduğunda üniversal olarak adlandırılan çözücüdeki tanımlar suyla bire bir örtüşür. Yinede su üniversal olup bütün maddeleri çözen değil de yalnızca eşsiz özellikte solventtir. Eşsiz bir çözücü olarak bahsedilen Suyun elbette en makul olmayan tarafı organik maddelerin ne yazık ki bir çoğunu çözme yeteneğinin olmamasıdır. Suyun bu olumsuz tarafından kaynaklı olarak suyun çözmeyi beceremediği yapıların çözülmesi amacıyla yapılan araştırmalar neticesinde susuz diye nitelendirilen organik çözücülere ulaşılmıştır [59, 60].

Sayınca fazla olan organik çözücüler, suyun çözmeyi beceremediği organik bileşiklerin bahsedilen susuz çözücülerde titrasyonları yapılmıştır. Bu sayede organik bileşikler üzerine eğilerek oldukça faydalı bilgilere ulaşılmıştır. Analitik bilgiler bahsedilen bilgilerden en ehemmiyetli olanıdır. Susuz ortamda meydana gelen çoğu tepkime, sulu ortamdakiyle bire bir örtüşen özellikler sergilemektedir. Bahsi geçen temel özelliklerden bir kaçı aşağıda sıralanmıştır;

- Tepkimelerin hızlı gerçekleşmesi,
- Tepkimenin nicel olarak görülecek şekilde reaktantlara doğru kayması,
- Tepkimenin yenilenebilirliği,
- Tepkimenin stokiyometrik şekilde gerçekleşmesi,
- Tepkimenin dönüm noktasının belirlenme kolaylığıdır.

Susuz ortamlarda yapılan kantitatif analizlerde, sulu ortamlarda yapılabildiği benzer şekilde sözü geçen bileşiklerin çökmesinden, yükseltgenmesinden, bazlılığından, asitliğinden, indirgenmesinden, vs. faydalanabilir.

Susuz ortamda gerçekleştirilen tepkimeleri 1910 yılında Folin ve Wenworth sayesinde ortaya çıkmıştır. Yukarıda isimleri geçen bilim adamları, yağ asitlerini çözme yeteneğine sahip olan kloroform-karbontetraklorür çözücülerinde kimyasal indikatör olarak bilinen fenolftalein kullanılarak sodyum etoksit ile titre etmeyi hayata geçirmişlerdir. O zamanlarda yapılan bu çalışma üzerine fazla bir eğilim olmamış ancak günümüzde her bakımdan büyük bir önem teşkil etmektedir. Sene 1948 olduğunda Hall ve bir grup çalışma arkadaşları zayıf asit özelliği sergileyen ve suda titrasyonu mümkün olmayan fenolün etilen daimin diye bilinen kimyasal madde içinde sodyum etoksit ile titrasyonu yapılmıştır. Bahsi geçen çalışmayı bir grup arkadaşı ve Fritzin yoğun çabaları sonucu oluşan çalışmalar takip etmiş ve devamında bilim camiası bahsedilen alana eğilmiştir. Bütün bunların sonucuna bakıldığında çok az bir zamanda çok fazla sayıda çalışma yapılmıştır.

1950'li yıllara varıldığında konu daha çok önem kazanmıştır. Önem kazanmasının nedenleri aşağıda belirtilmiştir:

- Kimyasal bağlar denilen güçlü etkileşimlerle ilgili gerçekleştirilen çalışmaların sayısının artması
- Instrumental yöntemlerin ilerlemesi ve çoğalması
- Atom pilleri oluşumunda roketlerde fazlasıyla saf metallerle olan ihtiyacın artmasıdır.

Bilim adamlarını susuz ortamda meydana gelen çalışmalara yönelten başka bir neden mükemmel derecede saf taneciklere artan ihtiyaçtır. Bu amaçla öncelikle koordinasyon bileşikleri şeklinde çöktürülmüş olan metal katyonları, susuz çözücülerde ayırma

yöntemlerinden olan kristallendirme yapılarak saflaştırılmış ve sonuç olarak atom pilleri ve roket yapımında işe yarar saflık derecesine sahip metaller ortaya çıkmıştır. Bütün bu bahsedilenlerin neticesinde koordinasyon kimyası ile beraber susuz ortam tepkimeleri ilerlemeye ve ehemmiyet teşkil etmeye başlamıştır. ABD ve eski Sovyetler Birliğinin bahsedilen konuya fazlasıyla önem vermesinin sebebi uzay çalışmalarından ötürüdür [59].

1.4.2. Potansiyometri

Çoğu zaman çok zayıf asit ve bazları, ara sıra da asit ve bazların oluşturduğu karışımları titre etmek maksadıyla Potansiyometrik titrasyonlar gerçekleştirilir [61]. Potansiyometrik olarak yapılan analiz metotlarının temeli, elektrokimyasal nitelendirilen hücrelerde göze çarpan bir akımın geçmediği potansiyel ölçümlerinden ibarettir. 20. asrın ilk yıllarından başlayarak potansiyometrik teknikler, titrimetrik olarak yürütülen analiz metotlarında dönüm noktasının tayin edilmesinde yararlanılmaktadır. Titrimetrik olarak gerçekleştirilen analizler yüksek hassasiyetle gerçekleştirilmesi ve bir o kadarda ergonomik olmasından dolayı günümüzde de faydalanılmaktadır [59]. Potansiyometrik tekniklerle gerçekleştirilen tayinler iki ana başlıkta toplanabilir: Direkt potansiyometrik titrasyonlar ve potansiyometrik titrasyonlar.

1.4.3. Direkt Potansiyometrik Titrasyonlar

Bu teknik analizlerin oldukça hızlı yapıldığı analiz biçimidir. Bahsedilen analiz biçiminde önceden yapılacak ayırmaya ihtiyaç duyulmaz. Bu yöntem sayesinde, denge durumunda yer alan çözeltilerde çok kolay bir şekilde iyon aktivitelerinin analizi yapılabilir. Bunun için analizi gerçekleştirilecek çözeltiye indikatör görevinde bir elektrot ve bir de referans olarak kullanılan elektrot ilave edilir. Bahsedilen elektrotların ürettiği potansiyel farkı E_g :

$$E_g = E_r - E_i + E_s$$

Sınır potansiyeli olarak bilinen E_s , referans olarak kullanılan elektrot çözeltisiyle, tayini gerçekleştirilecek olan çözeltinin sınır yüzeyleri arasında ortaya çıkar. Referans elektrodun potansiyeli E_r ve bu değer sabittir. E_i diye ifade edilen ise indikatör olarak kullanılan elektrodun potansiyelidir [61].

1.4.4. Potansiyometrik Titrasyonlar

Potansiyometrik titrasyon uygulanmasında titrant olarak bilinen kimyasalın analite eklenmesinden hemen sonra meydana gelen potansiyelin belirlenmesinden ibarettir. Mekanik özellik gösteren karıştırıcıyla oldukça iyi bir şekilde karışımı yapılan çözeltiye titrant başlarda biraz fazladan eklendikten sonra dönüm noktasına yaklaştıkça yavaş bir şekilde ilave edilir. Dönüm noktasına nasıl yakınlaştığı ise her eklemekten hemen sonra değeri ölçülen potansiyelin miktarının değişmesiyle anlaşılır. Kesin bir şekilde dönüm noktasını anlamak için titrasyon işlemine dönüm noktasından sonrada kısa bir süre devam edilir. Titrasyonun gerçekleştiği tepkime ne olursa olsun, titrant dönüm noktasına yaklaşıncaya yavaş yavaş ilave edilir ve birkaç defa daha ölçümler tekrar yapılır. Titrantın ilave edilen mL miktarına karşı kalomel elektroda karşı bulunan potansiyel farkları milimetrik bir kağıda çizilirse S eğrisi oluşturulur [61].

1.4.5. Yarı Nötralizasyon Metodu ile pK_a Tayini

Titrasyon uygulamalarında eklenen titrant hacminin karşılığı olan pH ve mV değerleri sayesinde titrasyon grafiği elde edilmiştir. Bu grafiklerden yola çıkarak dönüm noktaları tespit edilir. Eklenen titrant hacmine (mL) karşılık mV değerinde göze çarpan en yüksek farkın görüldüğü değerler dönüm noktasını oluşturmaktadır. Bahsedilen değerlerden yola çıkarak yarı nötralizasyon noktaları tespit edilmiştir. Zayıf asit ve bazların yarı nötralizasyon noktalarındaki pH değerleri pK_a değerleri olarak kabul edilmiştir. Tampon çözelti zayıf asit ve tuzunun her ikisinden de bulunduğu çözeltilerdir. Tampon çözeltide:

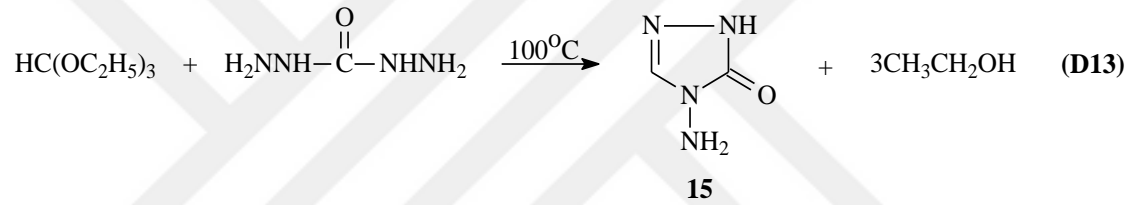
$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Eşitliğinden yarı nötralizasyonda, $[A^-] = [HA]$ olduğundan $pH = pK_a$ elde edilir [62, 63].

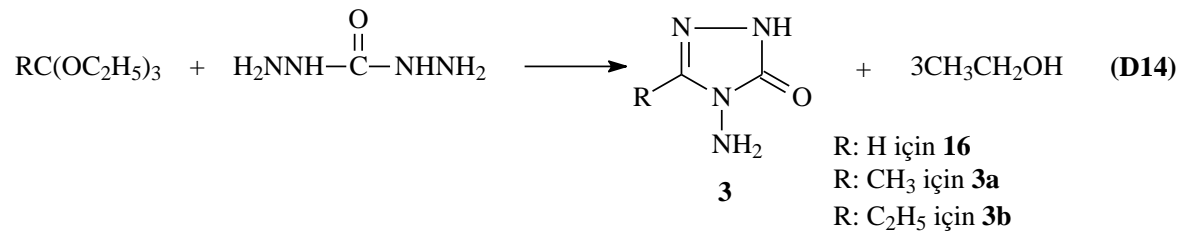
1.5. Bazı 4-Amino-4,5-dihidro-1*H*-1, 2, 4-triazol-5-on Türevlerinin Sentezi ve Bazı Reaksiyonlarının İncelenmesi

Bu tez kapsamında sentezi gerçekleştirilen 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (3) başlangıç bileşiklerinin ana iskeletini oluşturan 4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on halkasının sentezinde literatürde aşağıda verilen metodlar kullanılmaktadır:

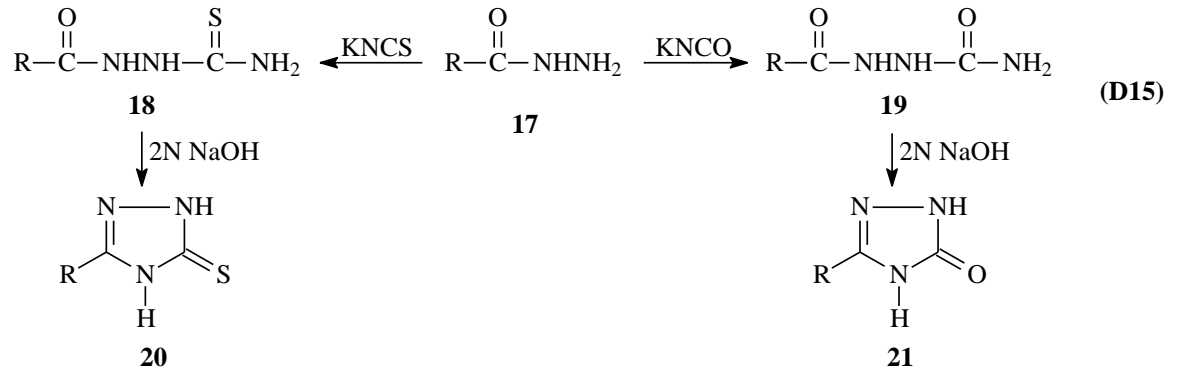
15 Tipi bileşiği literatürde ilk olarak etil ortoformatın karbohidrazid ile tepkimesinden elde edilmiştir (Denklem 13) [64].



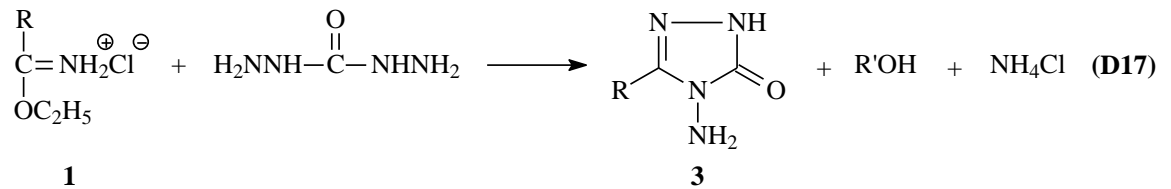
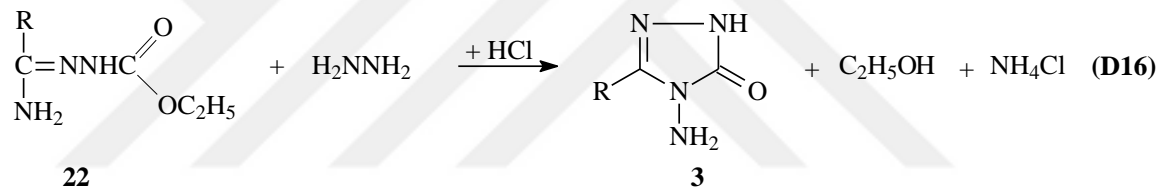
Etil ortoformat'ın yanı sıra etil ortoasetat ve etil ortopropionat kullanarak da 4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1, 2, 4-triazol-5-on türevleri 3-16 sentezlenmiştir (Denklem 16) [65].



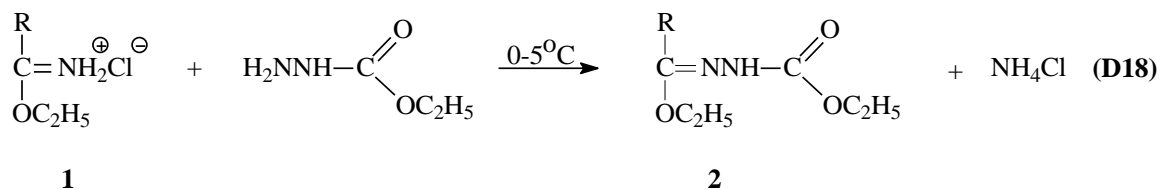
Bu çalışmalardan farklı olarak 17 tipi hidrazidlerin potasyum tiyosiyanat ve potasyum izosiyanat ile reaksiyonu sonucu 18 ve 19 tipi bileşikler hazırlanmıştır. Bu bileşiklerin 2N NaOH bazı ile kondenzasyonundan su çıkışı ile 20 ve 21 tipi bileşikler elde edilmiştir. Ayrıca iltihap önleyici, antiviral, ağrı kesici gibi özellikleri incelenmiştir (Denklem 15) [66, 67].

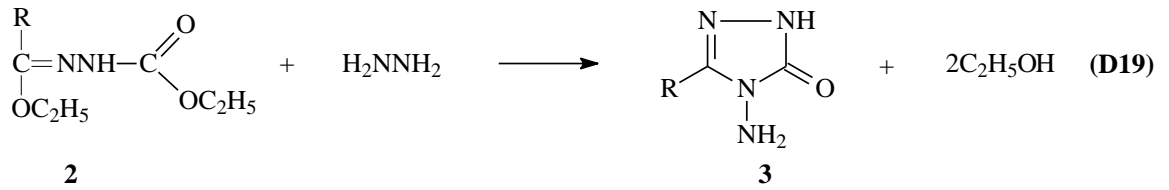


22 nolu amid etoksikarbonilhidrazonlar hidroklorik asitli ortamda hidrazin ile reaksiyonundanda ilgili 1,2,4-triazol bileşiği (3) elde edilmiştir (Denklem 16) [68]. Başka bir çalışmada ise 3 bileşiklerinin bir seri iminoester hidroklorürlerin (1) karbohidrazid ile tepkimesi sonucu sentezi gerçekleştirilmiştir (Denklem 19) [69].

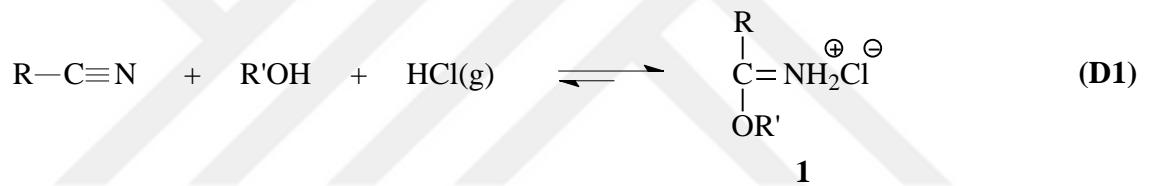


Denklem 18’de 1 nolu iminoester hidroklorürler’in düşük sıcaklıkta etil karbazat ile tepkimesinden ester etoksikarbonilhidrazonlar (2) hazırlanmıştır [68, 70-72]. Bu bileşik hidrazin hidrat ile muamele edilerek ilgili 3 tipi heterosiklik bileşiklerin sentezi gerçekleştirilmiştir (Denklem 18 ve 19) [3,71-74].

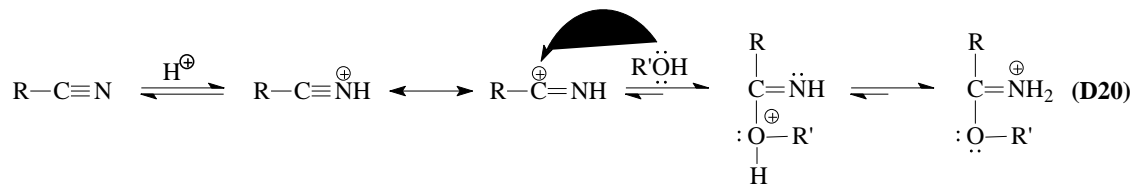




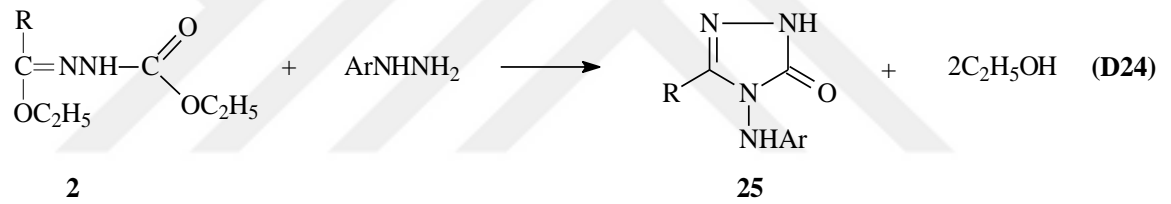
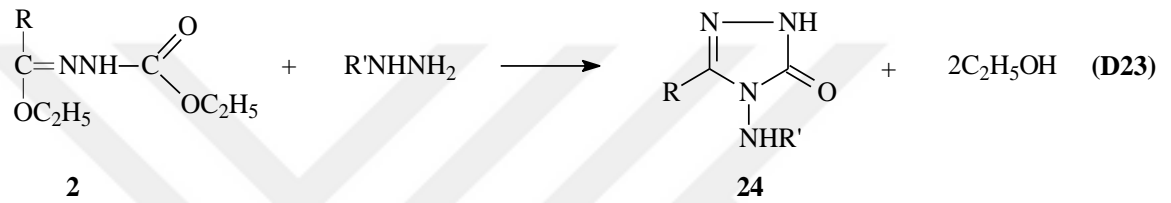
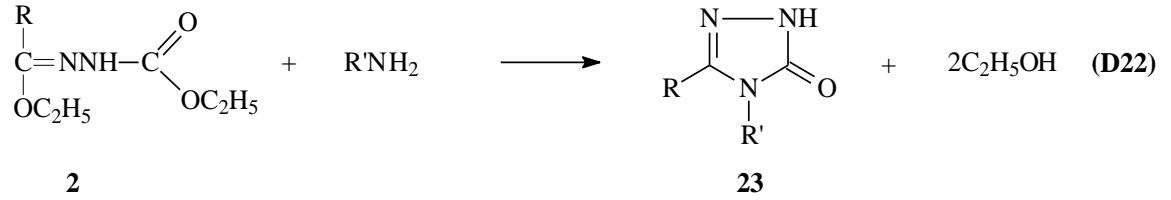
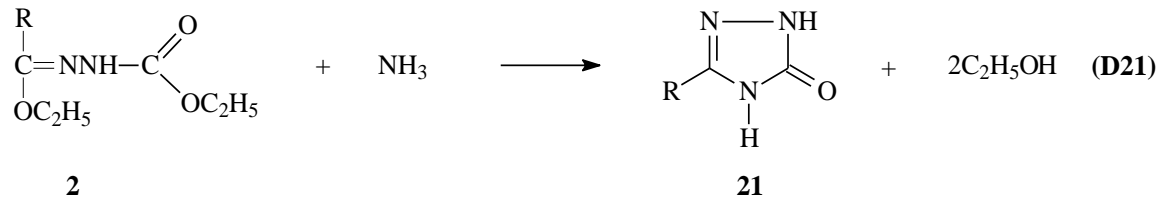
Yukarıda bahsedilen yöntemlerin çoğunda imino esterlerin HCl ile oluşturduğu tuzlardan ilgili 1, 2, 4-triazol halkasına geçilmiştir. Literatürde bu iminoester tuzlarının sentezi için birçok yöntem rapor edilmiştir. Bahsedilen metodlara amidlerden, karbonil bileşiklerinden, ortoesterlerden, iminoklorürlerden ve bazı doymamış yapılardan başlayarak gerçekleştirilen iminoester tuzları [75] örnek olarak verilebilirse de 43 nolu bileşiklerin sentezinde en ideal yöntem Pinner Yöntemi [1] olup, bu tez çalışmasında da bu yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemde alkil veya aril nitril, mutlak etanol varlığında kuru dietil eter içinde HCl gazı ile soğukta muamele yapılır (Denklem 1).



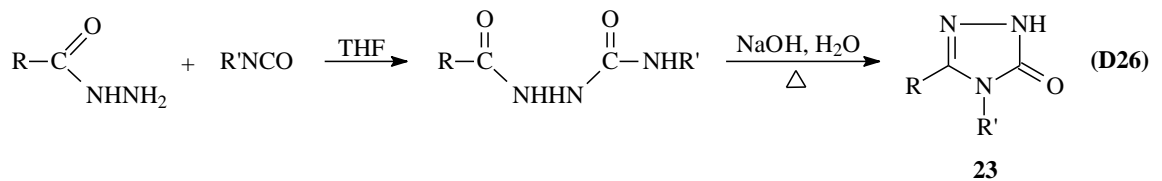
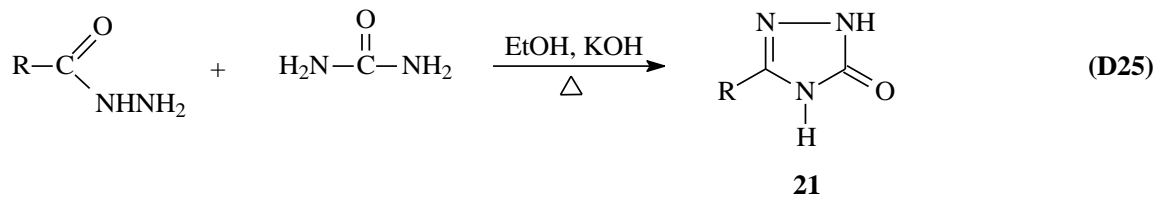
Bahsedilen tepkimenin mekanizması mutlak alkolün protonlanmış siyano bileşiğine nükleofilik katılması şeklindedir (Denklem 23) [76].



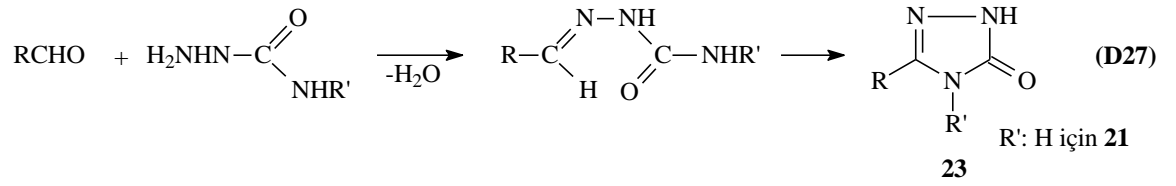
İminoester hidroklorürler'in etil karbazat ile tepkimeye sokulması sonucu ele geçen 2 tipi ester etoksikarbonilhidrazonların amonyak ile 21, primer aminler ile 23, alkil hidrazinler ile 24 ve aril hidrazinler ile de 25 bileşiklerinin sentezi başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir (Denklem 21-24) [69, 77-79].



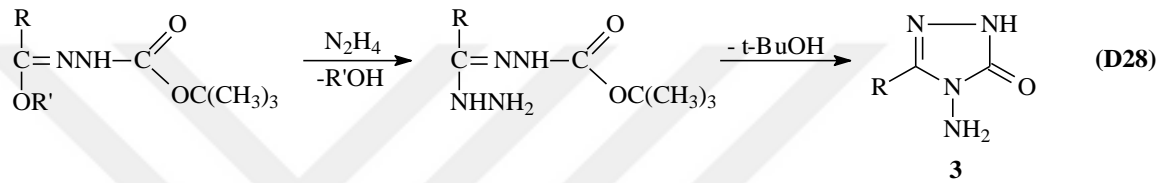
21 ve 23 Tipi bileşikler karboksilli asit hidrazidleri kullanılarak da sentezlenmiştir (Denklem 28 ve 29) [80, 81].



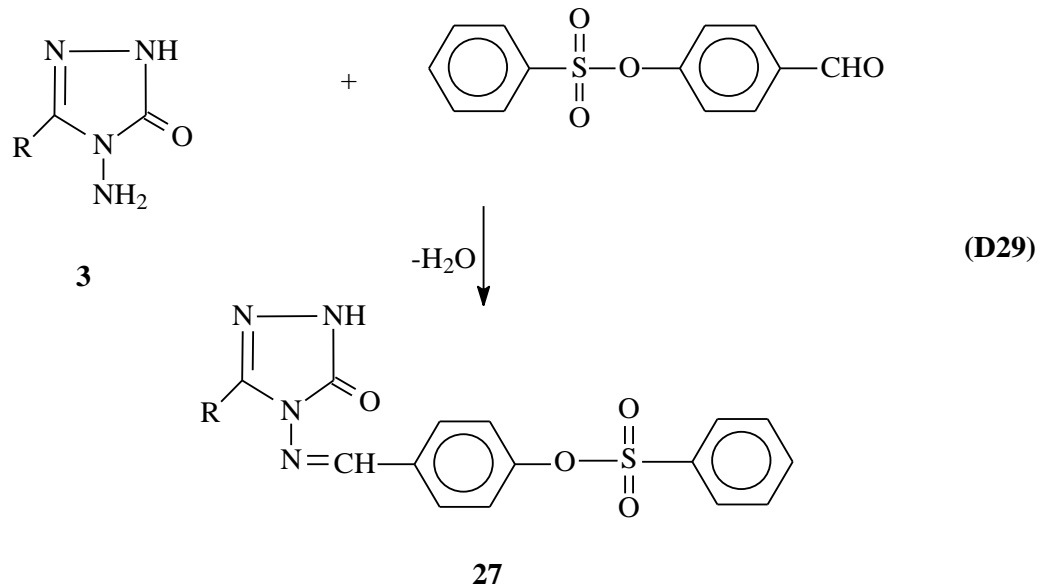
23 Tipi bileşikler aldehitlerin aldehit semikarbazonların halkalanmasıyla da elde edilmiştir. Aldehit semikarbazonlar, aldehitlerle semikarbazitin reaksiyonundan elde edilmiştir (Denklem 30) [82].



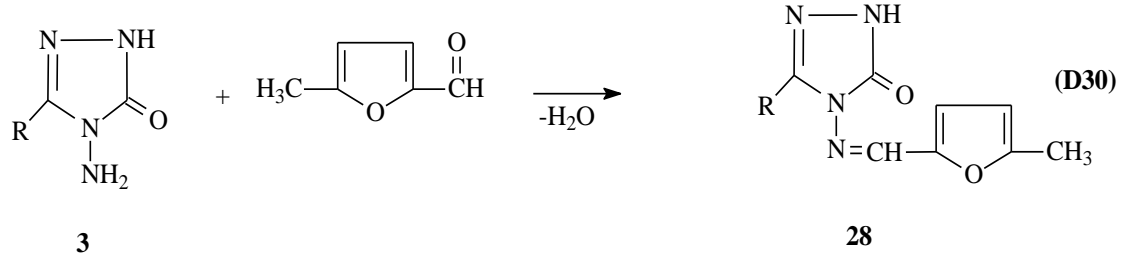
Bu tez çalışmasında incelenen 3 tipi bileşiklerin Ester tert-butoksi karbonil hidrazon tipi hidrazonların hidrazin ile reaksiyonundan da elde edildiği bilinmektedir (Denklem 31) [83].



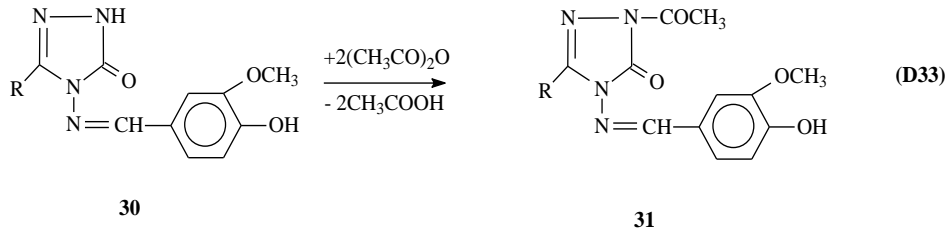
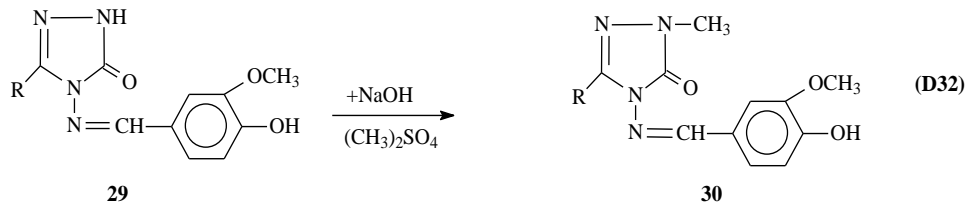
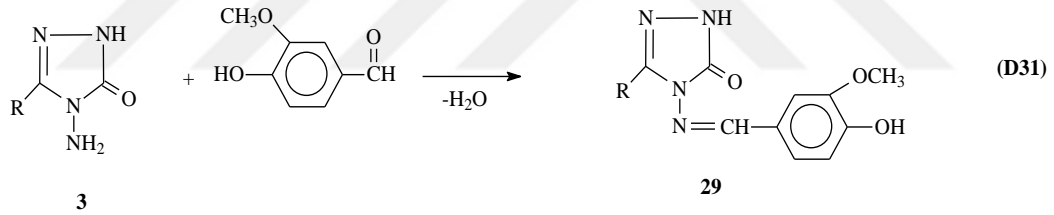
3 Tipi bileşiklerinin 4-benzensülfoniloksibenzaldehit ile reaksiyonundan 27 tipi 3-alkil(aril)-4-(4-benzensülfoniloksi-benzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1, 2, 4-triazol-5-on bileşiklerinin sentezlendiği ve elde edilen bileşiklerin üç farklı metodla antioksidan özelliklerinin araştırıldığı bildirilmiştir (Denklem 29) [84].



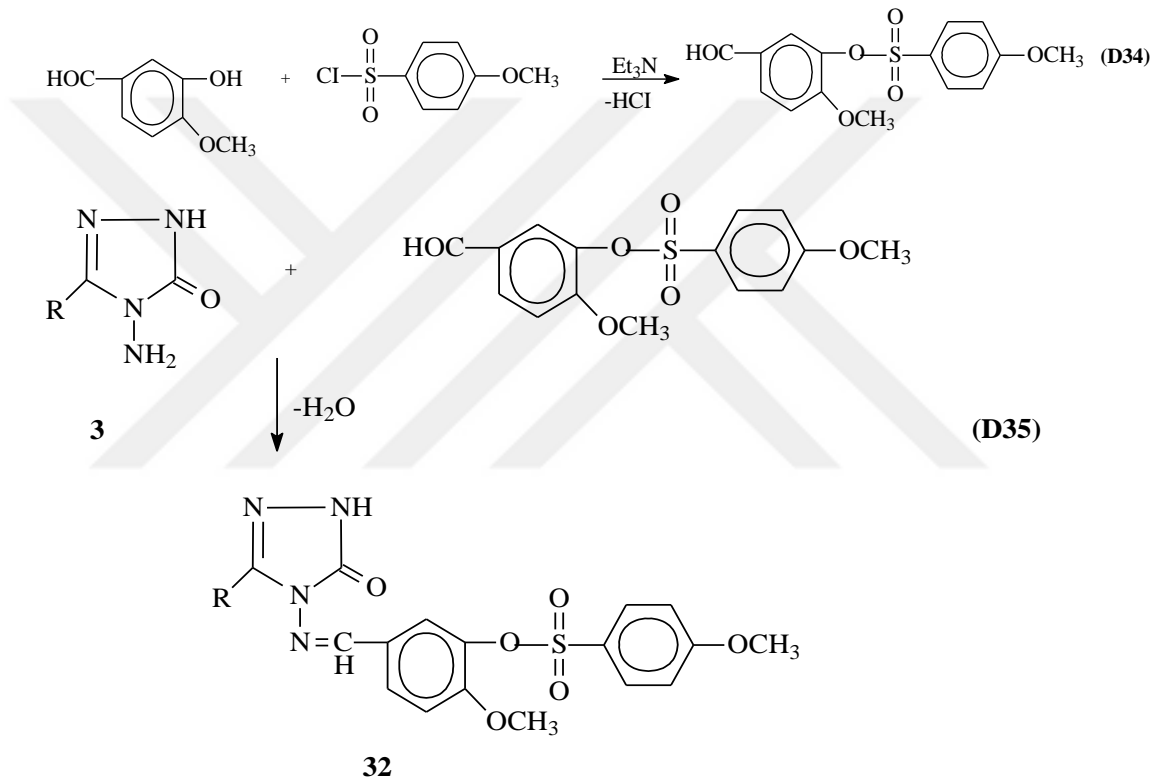
3 Tipi bileşiklerin 5-metil-2-furfural ile reaksiyonu neticesinde 28 tipi bileşikler elde edilmiştir. Elde edilen 28 tipi bileşiklerin $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ incelemeleri hem deneysel hem de teorik açıdan yapılmıştır (Denklem 30) [85, 86].



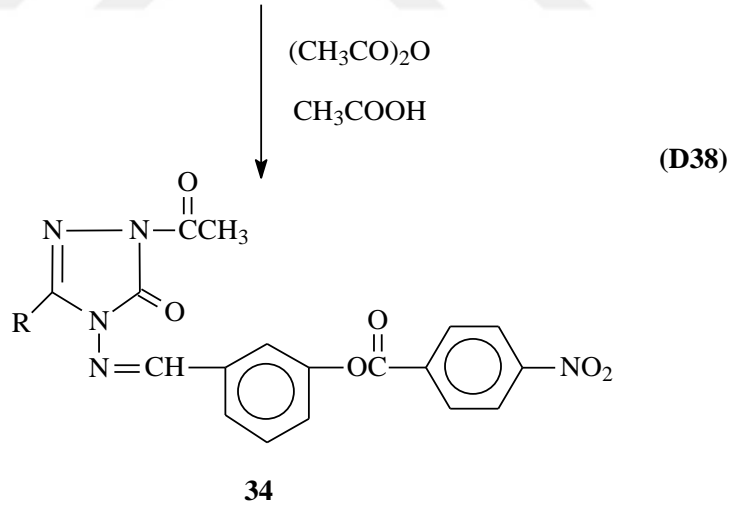
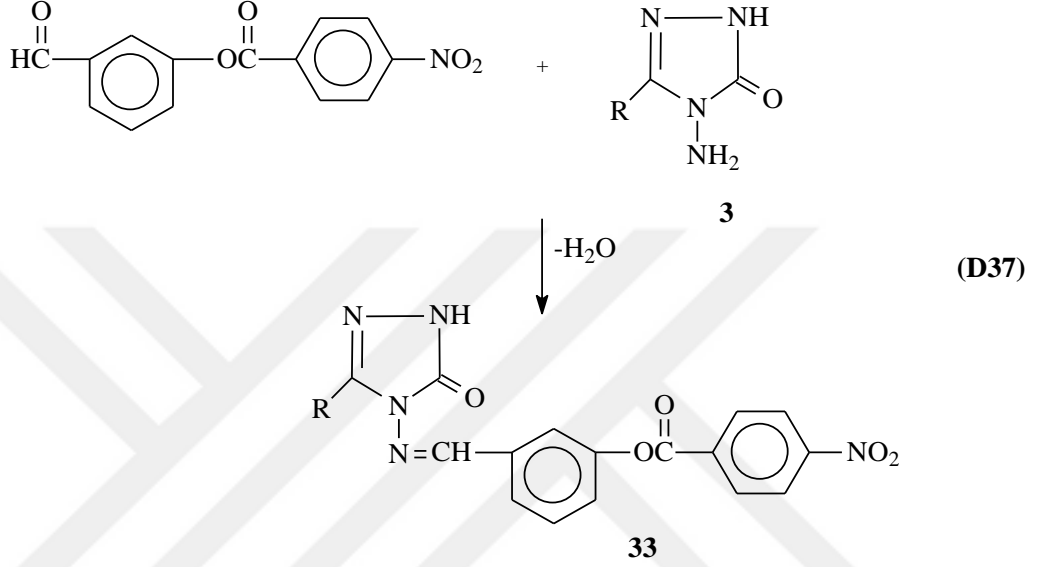
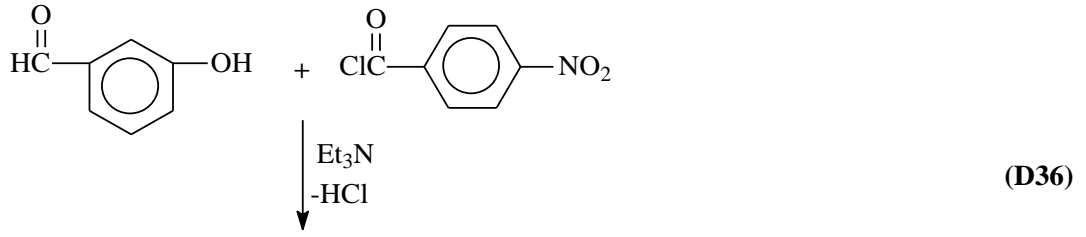
3 Tipi bileşiklerin 3-metoksi-4-hidroksibenzaldehit ile tepkimesinden 29 tipi bileşiklerinin elde edildiği çalışmada 29 tipi bileşiklerin 30 tipi N- ve O-metil ile 31 tipi N- ve O-asetil türevleride sentezlenmiş olup tamamının *in-vitro* antioksidan özellik gösterip göstermediği bildirilmiştir (Denklem 31-33) [87, 88].



Yapılan bir diğer çalışmada 3-hidroksi-4-metoksibenzaldehit bileşiğinin 4-metoksibenzensülfonil klorür ile reaksiyonu sonucu elde edilen 3-(4-metoksibenzensülfoniloksi)-4-metoksi benzaldehit 3 tipi bileşik ile reaksiyonu sonucu 32 tipi 3-alkil(aril)-4-[3-(4-metoksibenzensülfoniloksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerin elde edildiği ve elde edilen bileşiklerin antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinin gözden geçirildiği ve elde edilen bileşiklerin yarı nötralizasyon potansiyel değerleri ve buna karşın belirlenen *pKa* değerleri bildirilmiştir (Denklem 34 ve 35) [89].

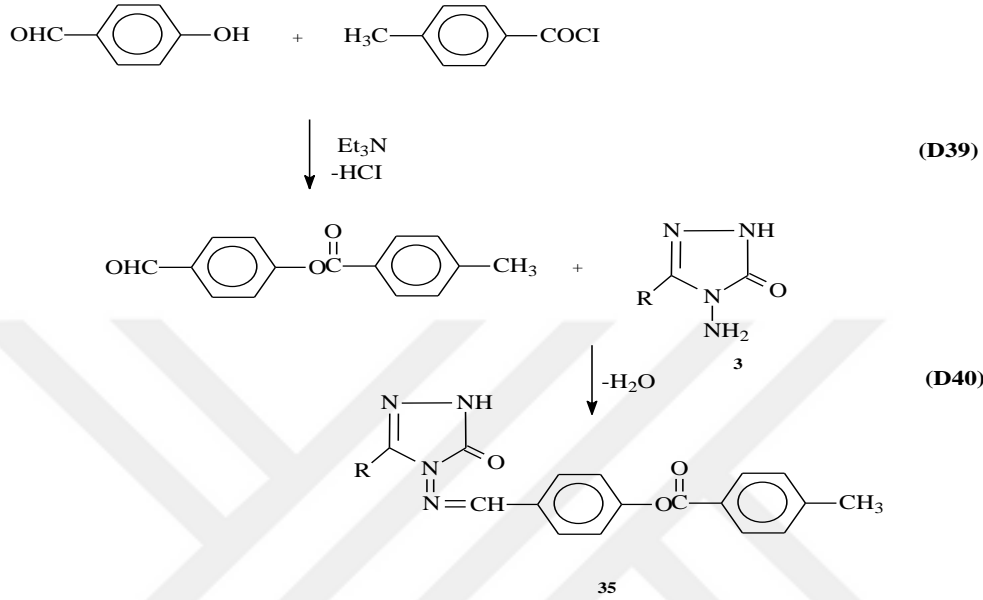


3 Tipi bileşiklerle gerçekleştirilen diğer çalışmada 4-nitrobenzoil klorür ile 3-hidroksibenzaldehidin reaksiyonundan ortaya çıkan 3-(4-nitrobenzoksi)benzaldehit bileşiği trietilamin mevcudiyetinde 3 tipi bileşikler ile tepkimesi sonucu 33 tipi Schiff bazları ve 34 tipi N-asetil türevleri sentezlenmiştir (Denklem 36-38) [90, 91].

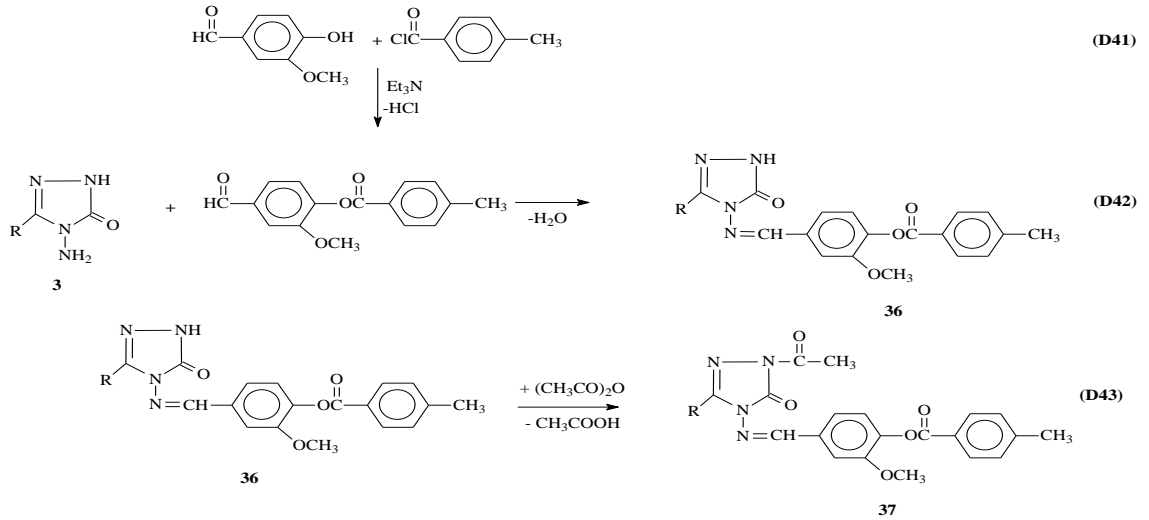


Yapılan farklı bir çalışmada ise öncelikle 4-hidroksibenzaldehit ile 4-metilbenzoilchlorür bileşiklerinin tepkimesi neticesinde sentezi gerçekleştirilen 4-(4-metilbenzoksi)benzaldehit ile 3 tipi bileşiklerin reaksiyonundan 35 tipi bileşikler elde edilmiştir. Elde edilen bileşiklerin üç ayrı metodla (indirgeme gücü, serbest radikal giderme aktivitesi ve metal şelat aktivitesi) in vitro antioksidan özellikleri gözden

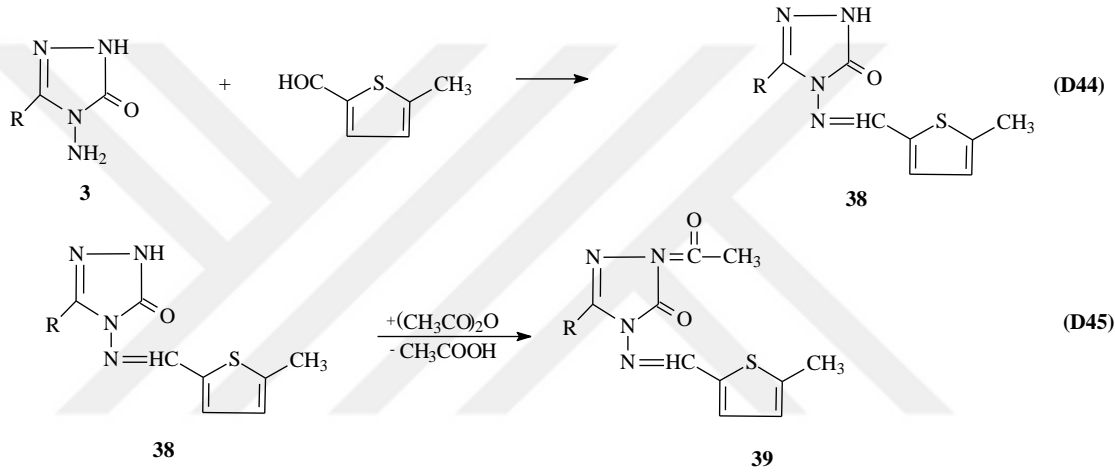
geçirilerek ortaya çıkan veriler EDTA, BHA, BHT ve α -tokoferol gibi standart antioksidan değerleriyle kıyaslanmıştır. Dahası potansiyometrik titrasyon metodu uygulanarak elde edilen bileşiklerin asitlik özellikleri yarı nötralizasyon değerleri ve bu değerlere karşın olan pK_a değerleri belirlenmiştir (Denklem 39 ve 40) [92].



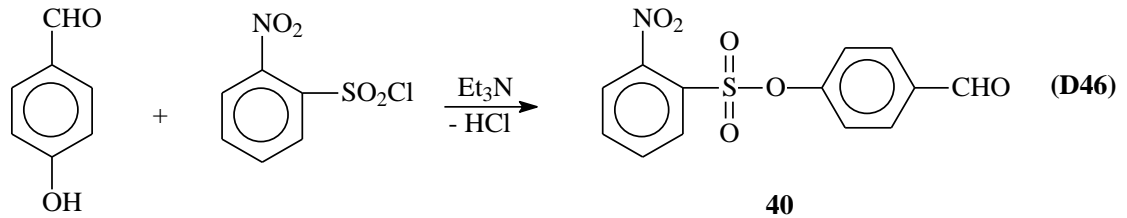
Yapılan diğer bir çalışmada *p*-metilbenzoil klorür ve 3-metoksi-4-hidroksibenzaldehidin trietilamin mevcudiyetinde reaksiyonlarından meydana gelen 3-metoksi-4-(4-metilbenzoksi)-benzaldehit ile 3 tipi bileşiklerin ayrı ayrı tepkimesinden sırasıyla 36 tipi bileşikler ve 36 tipi bileşiklerin de asetik anhidrit ile muamelesinden N-asetil türevleri olan 39 tipi bileşikler ele geçmiştir (Denklem 41-43) [93-95].

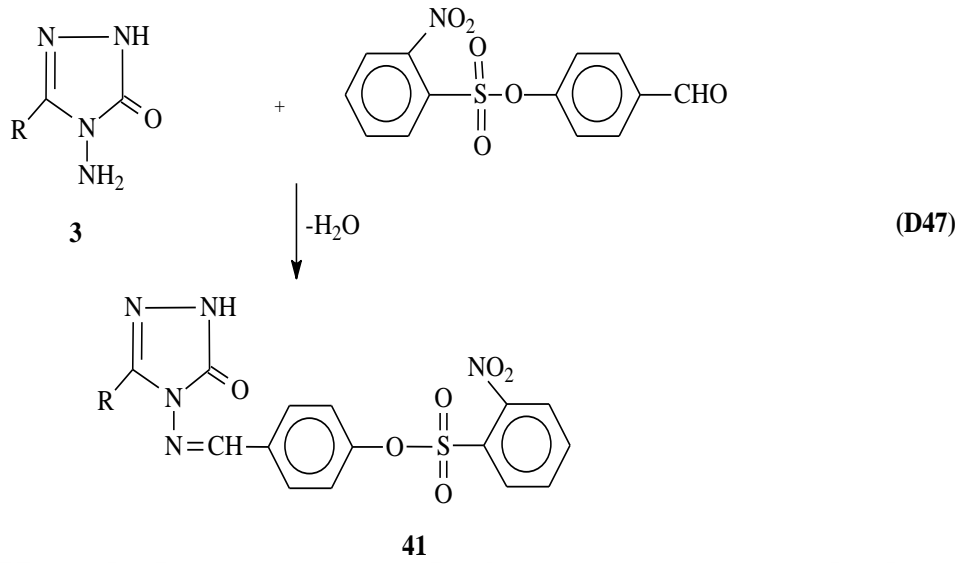


Yapılan farklı bir çalışmada yeni bir Schiff bazı elde edilmiş ve elde edilen bileşiğin antioksidan özelliklerinin gözden geçirildiği bu çalışmada 3 tipi bileşiklerinin 5-metil-tiyofen-2-karboksialdehit ile tepkimeleri neticesinde 38 tipi 3-alkil(aril)4-(5-metil-2-tienilmetilenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on meydana geldiği bildirilmiştir. Dahası 38 tipi bileşiklerin asetik anhidrit ile reaksiyonundan N-asetil türevleri olan 39 tipi bileşiklerde elde edilmiş olup üç farklı metot kullanılarak antioksidan özelliklerinin gözden geçirildiği belirtilmiştir. Asidik özellik bakımından zayıf olan triazol türevi olan 38 tipi bileşiklerin potansiyometrik titrasyonları susuz ortamda gerçekleştirilerek asitlikleri incelenmiştir (Denklem 44 ve 45) [96].

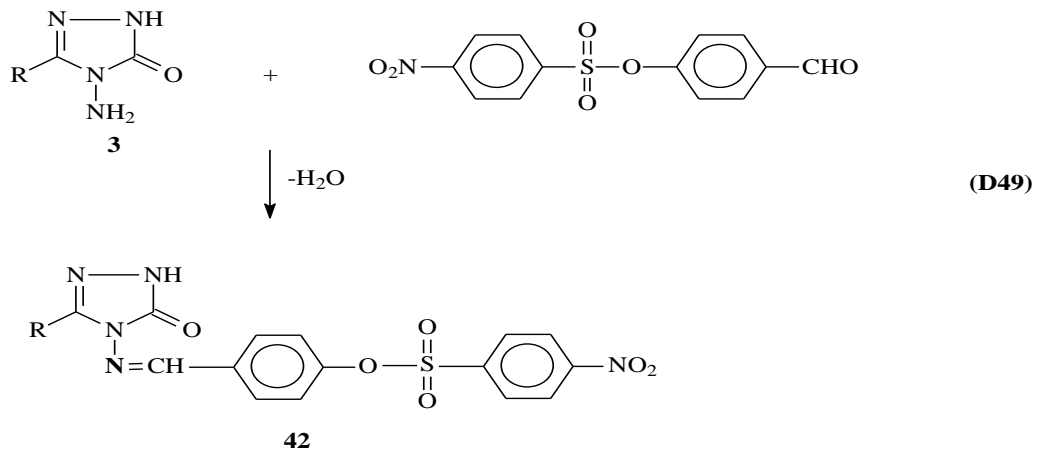
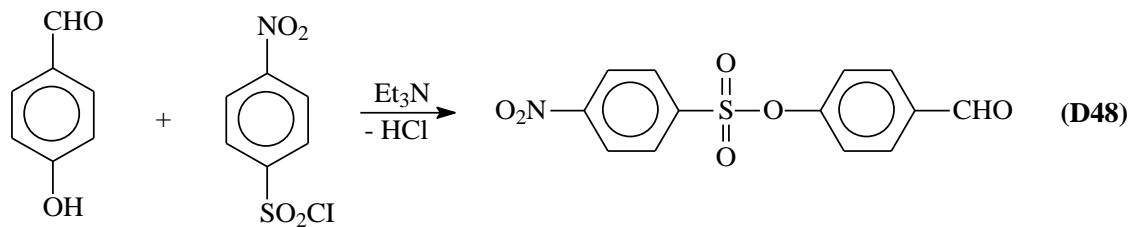


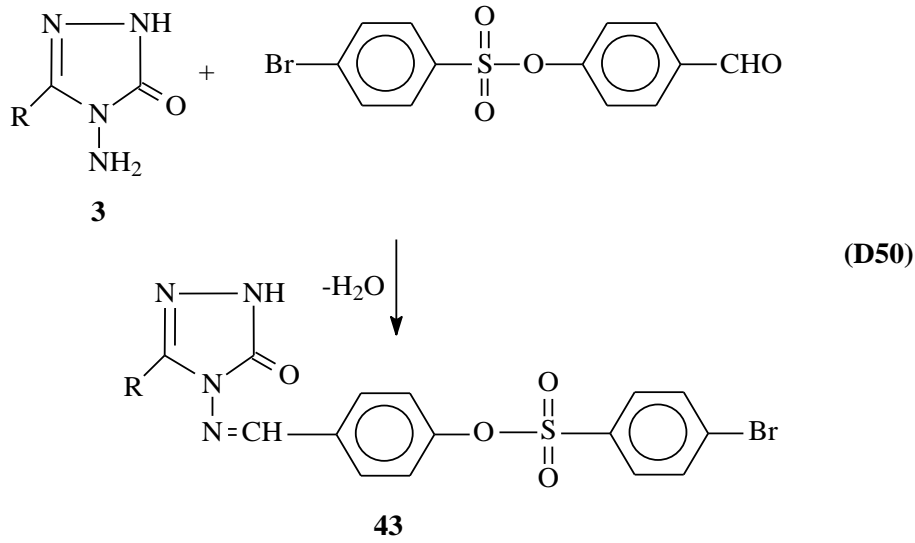
3 Tipi bileşiklerle gerçekleştirilen diğer bir çalışmada ise trietilamin mevcudiyetinde 4-hidroksibenzaldehid ile 2-nitrobenzensulfonyl klorür ile tepkimesinden meydana gelen 4-(2-nitrobenzensulfonyloksi)-benzaldehit (40) bileşiği ile 3 tipi bileşiklerin tepkimesinden 43 tipi 3-alkil(aril)-4-[4-(2-nitrobenzensulfonyloksi)-benzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on schiff bazları ele geçmiştir. (Denklem 46 ve 47) [97].



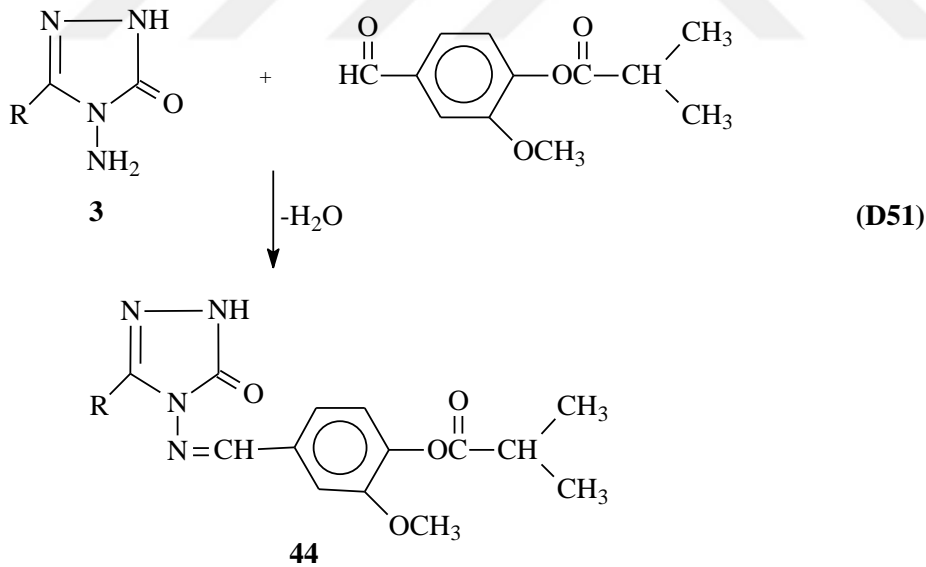


Yine 3 Tipi bileşiklerin kullanıldığı farklı bir çalışmada 4-(4-nitrobenzenesülfoniloksi)-benzaldehit ve 4-(4-bromobenzenesülfoniloksi)-benzaldehit ile 3 tipi bileşiklerin ayrı ayrı tepkimesinden 42 tipi 3-alkil(aril)-4-[4-(4-nitrobenzenesülfoniloksi)-benzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on ve 43 tipi 3-alkil(aril)-4-[4-(4-bromobenzenesülfoniloksi)-benzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on schiff bazları elde edilmiştir (Denklem 48-50) [97]



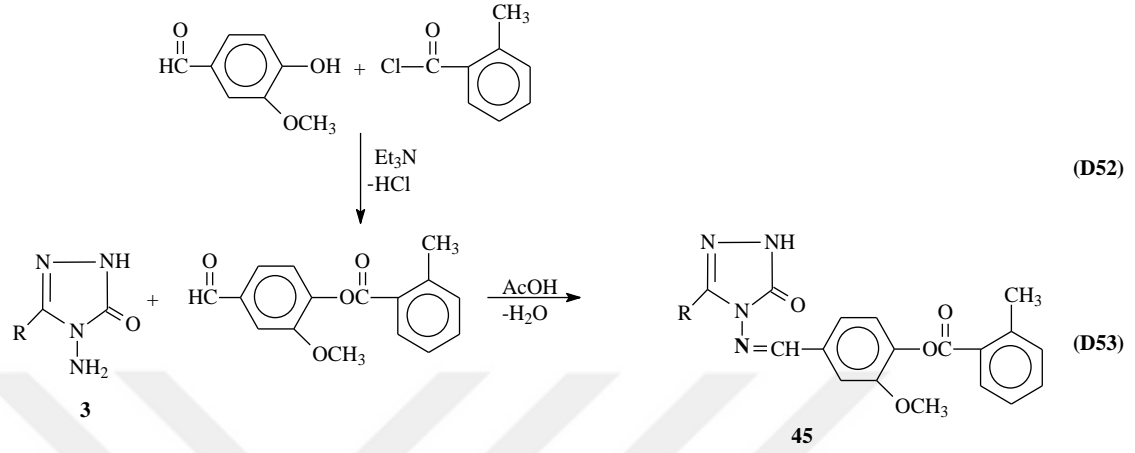


Shciff bazı ve Mannich bazı ile ilgili gerçekleştirilen farklı bir sentez çalışmasında trietilamin mevcudiyetinde 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehidin izobutiroil klorür ile tepkimesinden meydana gelen 3-metoksi-4-izobutiroiloksibenzaldehidin 3 tipi bileşikler ile gerçekleştirdiği tepkimede 44 tipi bileşikler elde edilmiştir (Denklem 51) [98].

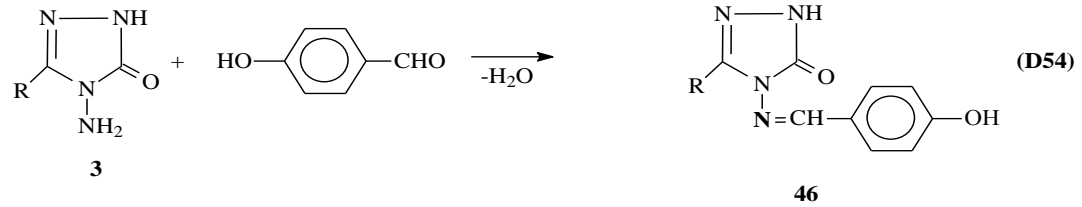


3 Tipi bileşikleri kullanılarak gerçekleştirilen farklı bir çalışmada, trietilamin mevcudiyetinde 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehidin *o*-toluoil klorür ile tepkimesinden meydana gelen 3-metoksi-4-(2-metilbenzoksi)benzaldehyd ile 3 tipi bileşiklerinin reaksiyonunun gözden geçirildiği bir çalışmada 45 tipi 3-alkil(aril)-4-[3-metoksi-4-(2-

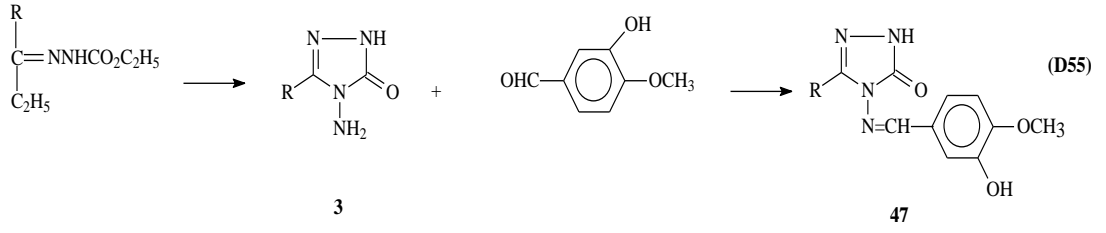
metilbenzoksi)-benzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on schiff bazları ele geçmiştir (Denklem 52 ve 53) [98].



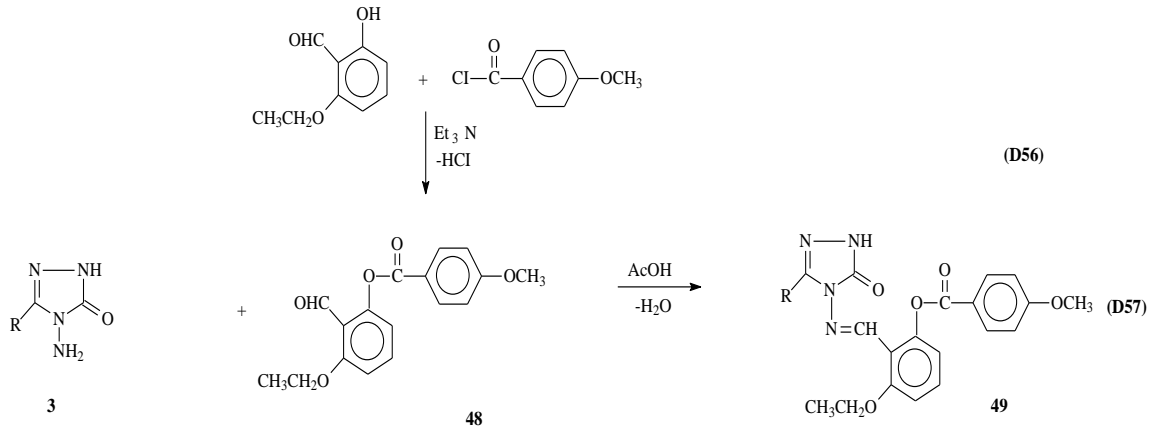
3 Tipi bileşikler ile yapılan farklı bir schiff bazı sentezleme çalışmasında asetik asit içerisinde 4-hidroksibenzaldehitin 3 tipi bileşikler ile ayrı ayrı tepkimesinden 6'sı literatürde kayıtlı ve 3'ü yeni setezlenmiş toplam 9 adet 46 tipi schiff bazı sentezlenmiştir (Denklem 54) [99, 100].



3-Alkil(Aril)-4-(3-hidroksi-4-metoksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri, 3 tipi triazol bileşikleri ile 4-metoksi-3-hidroksibenzaldehit (izovanilin) in reaksiyonundan sentezlenmiştir. Sentezlenen bu yeni 10 bileşiğin yapıları ¹H-NMR, ¹³C-NMR ile UV spektrumları kullanılarak ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca ele geçen bileşiklerin antioksidan aktivite tayinleri için üç farklı yöntemle yapılmıştır. (Denklem 55) [101].



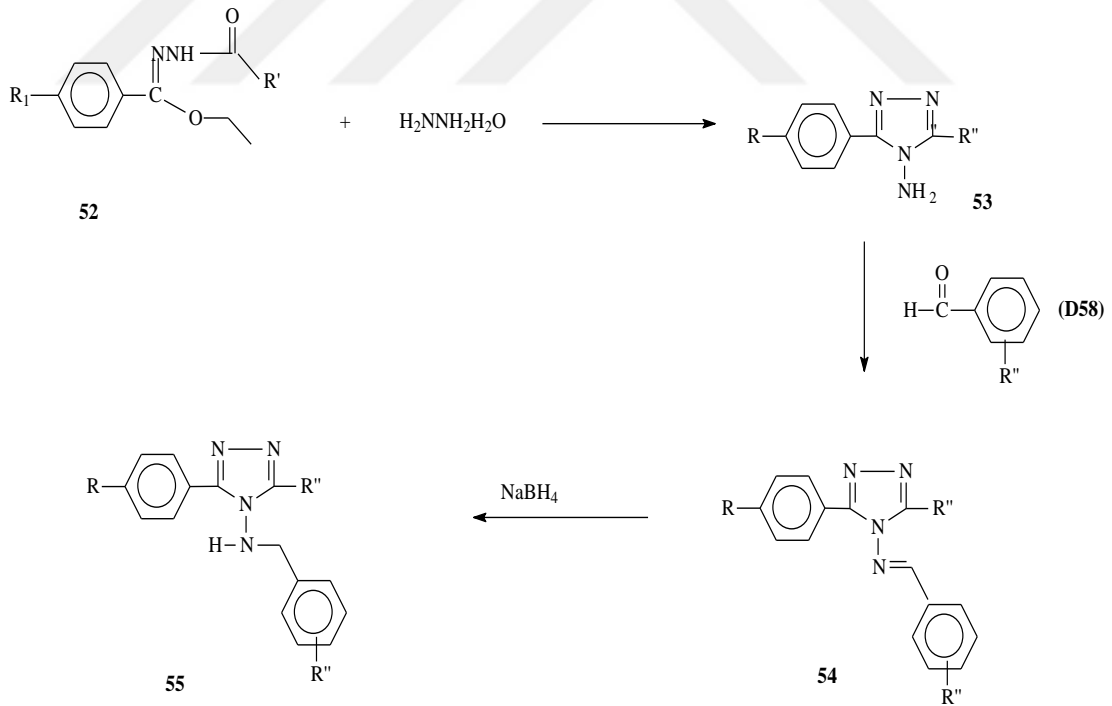
Antibakteriyel aktivite üzerine yapılan bir çalışmada 3 tipi aminlerin 2-(4-metoksibenzenkarboniloksi)-6-etoksi benzaldehit ile tepkimesinden meydana gelen 3-alkil (aril)-4-2-(4-metoksibenzenkarboniloksi)-6-etoksibenzilidenamino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on schiff bazları, ¹H NMR, UV, ¹³C NMR spektrumu ve kütle spektrumu (MS) gibi spektroskopik teknikler yardımıyla yapıları aydınlatılmış. Antibakteriyel faaliyetlerini *Pasterulla multivida*, *Bacillus subtilis*, *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*'lere karşı in vitro olarak uygulanmıştır. Bileşiklerin aktiviteleri büyük çoğunlukla standart antibakteriyel olarak kullanılan ilaçlarla karşılaştırılması mümkün olmayacak derecede düşük çıkmıştır (Denklem 56 ve 57) [102].



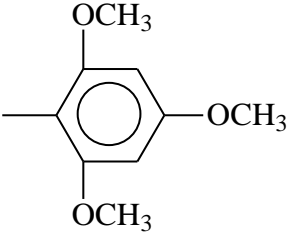
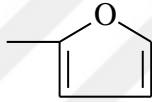
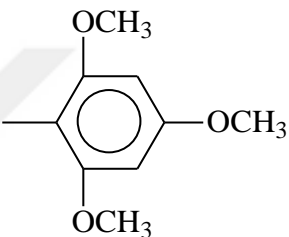
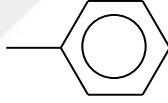
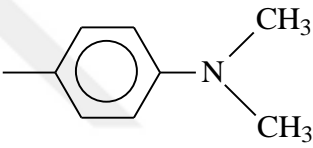
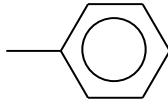
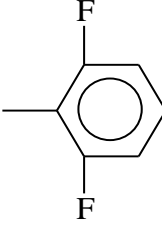
1.6. 1,2,4-Triazol Türevlerinin Sentezi ve Bazı Reaksiyonları

1,2,4 triazol halkası barındıran beş üyeli heterosiklik bileşiklerin üzerine yapılan çalışmalar özellikle son yıllarda önemiyet teşkil etmektedir. Triazol türevleri, antibakteriyel, antifungal, antitüberküloz, anksiyolitik, antikonvulsan, anti-inflamatuar,

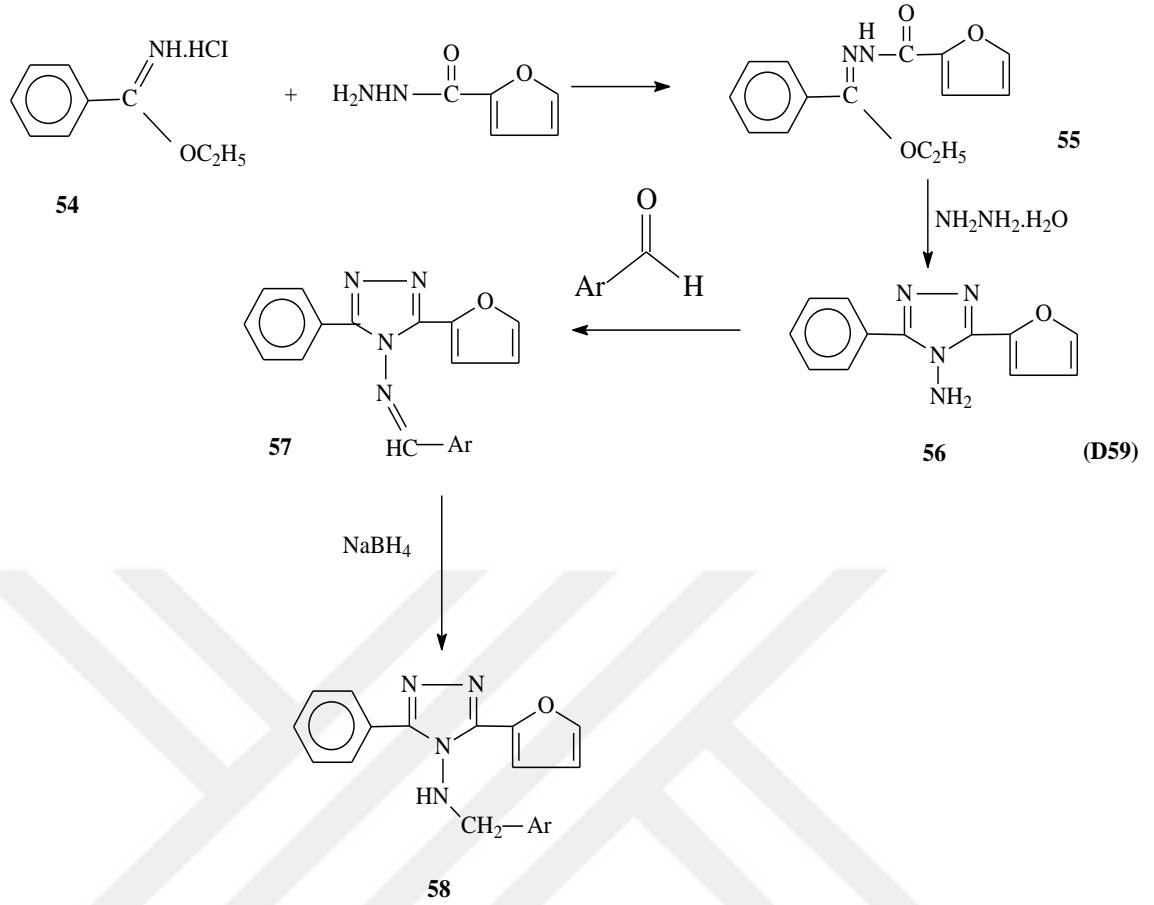
analjezik, antikanser, antioksidan gibi geniş spektrumlu biyolojik aktivite ortaya koymaktadır. Yapılan bir çalışmada 1,2,4-triazol halkasına sahip bileşiklerin farmakolojik aktivite sergiledikleri ortaya koyulmuştur. İlk aşamada, açıl hidrazon **50(a-d)**' lar iminoester hidroklorürlerin açıl hidrazinlerle tepkimeye sokularak sentezi gerçekleştirilmiştir. Diğer aşamada hidrazin hidrat ile açıl hidrazonlar muamele edilerek 4-amino-(3,5-diaril-4-il)-4*H*-1,2,4-triazol **51(a-d)** bileşikleri sentezlenmiştir. Yeni (3,5-diaril-4-il)-4-(arilmetilenamino)-4*H*-1,2,4-triazol **52(a-d)**'ler, 4-amino-(3,5-diaril-4-il)-4*H*-1,2,4-triazoller **51(a-d)**'in bazı aldehitlerle tepkimesinden yüksek verimlerle elde edilmiştir. Sodyumborhidrür kullanılarak 4-arilidenamino türevlerinin indirgenmesi sonucunda 4-alkillamino-3,5-dialkil-1,2,4- triazol **53(a-d)** bileşiklerinin sentezi gerçekleştirilmiştir (Denklem 58). Gerçekleştirilen çalışmada 8 yeni bileşik sentezlendi ve ¹³C NMR, IR, ¹H NMR elemental analiz spektral verilerle yapıları ortaya koyulmuştur. Antimikrobiyal aktivite için bileşik serileri değerlendirildi. Değerlendirmeler sonucu sentezi gerçekleştirilen yeni bileşiklerin antimikrobiyal olarak etkin aktiviteye sahip olduğu ortaya çıkmıştır [103].



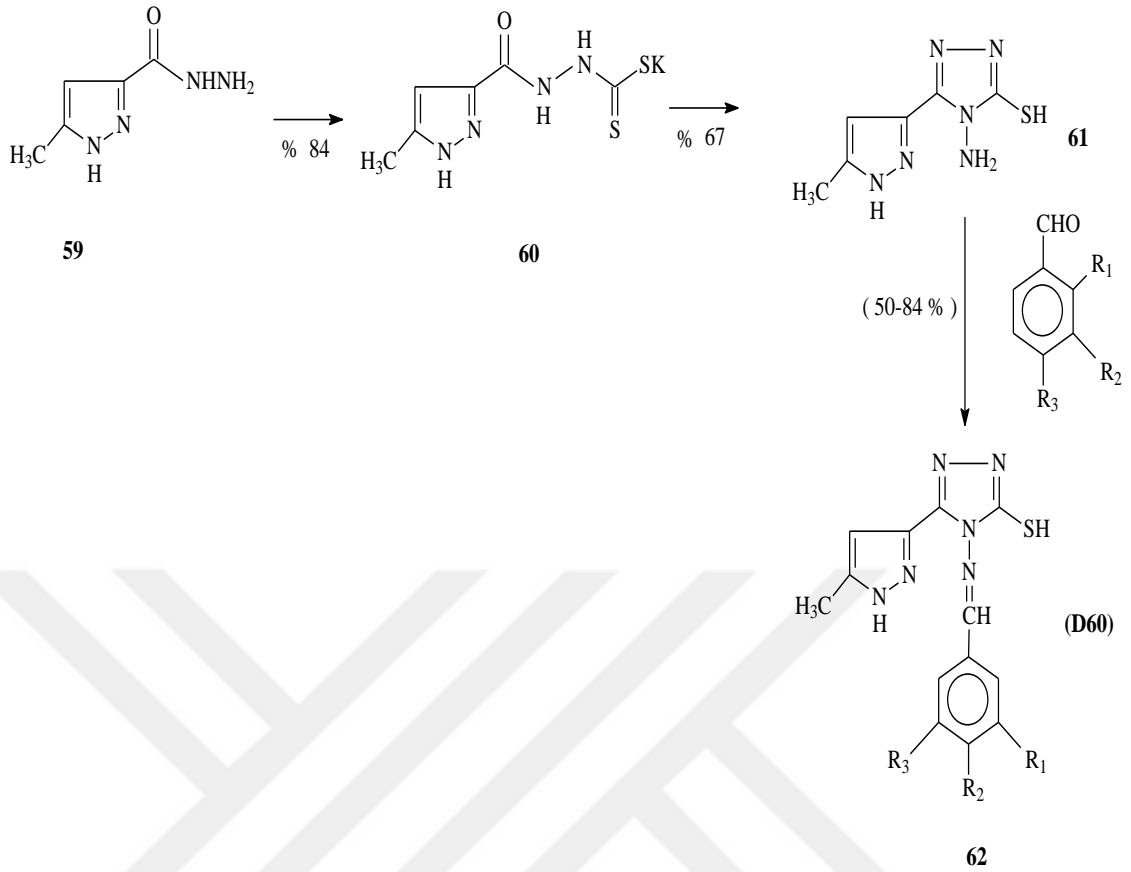
Tablo 1.2. Bileşikte yer alan alkil grupları

Bileşikler 50-53	R	R'	R''
a	4-Cl	—CH ₃	
b	— H		
c	— CH ₃		
d	— OCH ₃		

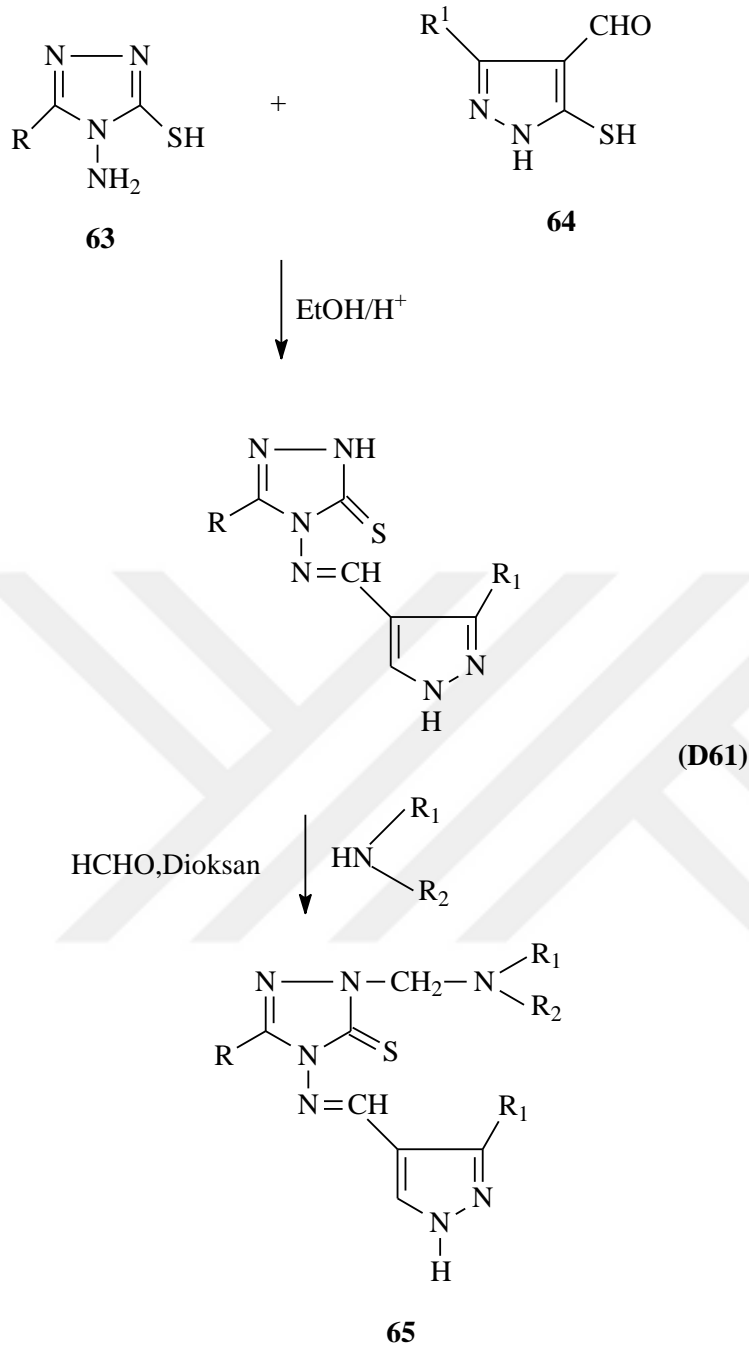
Yapılan bir çalışmada etil N'-furan-2-karbonilbenzohidrazonat isimli açilhidrazon bileşiği furan-2-karbohidrazid ile etil benzimidat hidrokloridin kondenzasyonundan sentezlenmiştir [104]. Açilhidrazonun hidrazin hidrat ile muamelesi 4-amino-3-furan-2-il-5-fenil-1,2,4-triazol vermiştir. Bu bileşiğin çeşitli aromatik aldehydlerle muamelesi 4-arylidenamino-3-furan-2-il-5-fenil-1,2,4-triazollerin oluşumuyla sonuçlanmıştır. 4-Arylidenamino türevlerinin sodyum borohidür ile indirgenmesi 4-alkilamino-3-furan-2-il-5-fenil-1,2,4-triazolleri vermiştir. Elde edilen ürünler FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR aracılığıyla aydınlatılmıştır. Yapılan çalışmalar, sentezlenen yeni bileşiklerin etkili bir anti-ürez ve antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Denklem 59)



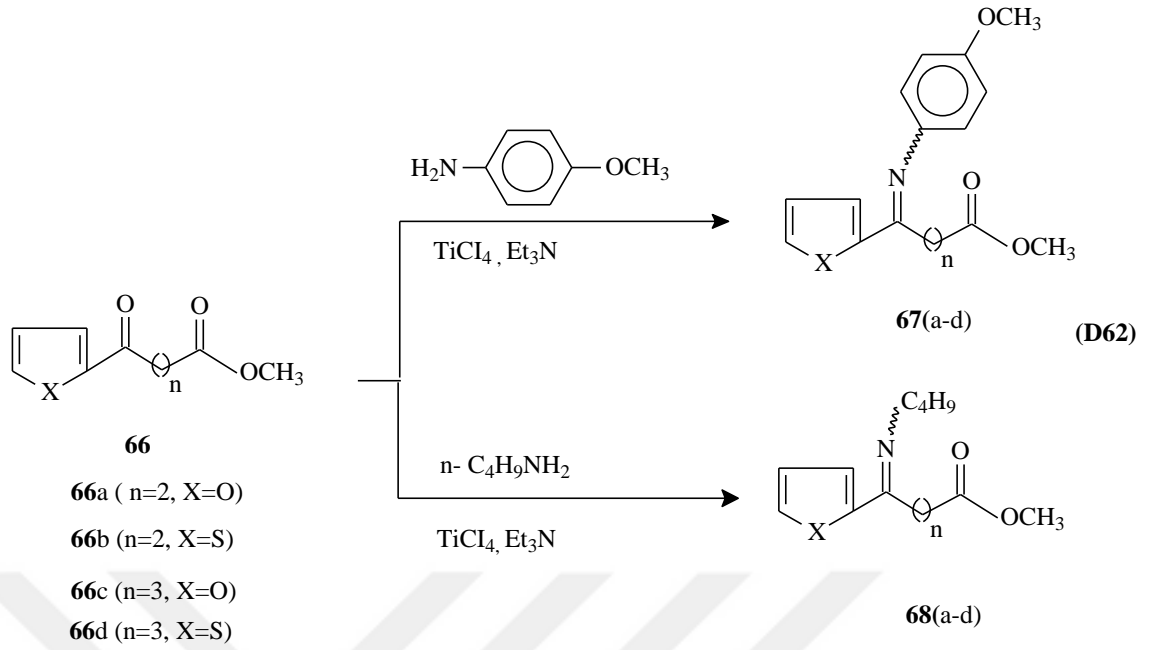
Başka bir çalışmada Pirazol halkası içeren 4-amino-1,2,4-triazoletürevlerinin bir seri schiff bazları çeşitli aromatik aldehydlerle türetilen 4-amino-5-(5-methyl-1*H*-pyrazol-3-yl)-4*H*-1,2,4-triazole-3-thiol in kondenzasyonundan sentezlenmiştir (Denklem 60). Sentezlenmiş bileşiklerin yapıları, IR, ¹H NMR, ¹³C NMR ve kütle spektrometresi ile açıklığa kavuşturulmuştur. Sentezlenen tüm bileşikler in vivo analjezik ve in vitro antioksidan aktiviteleri için araştırılmıştır [105].



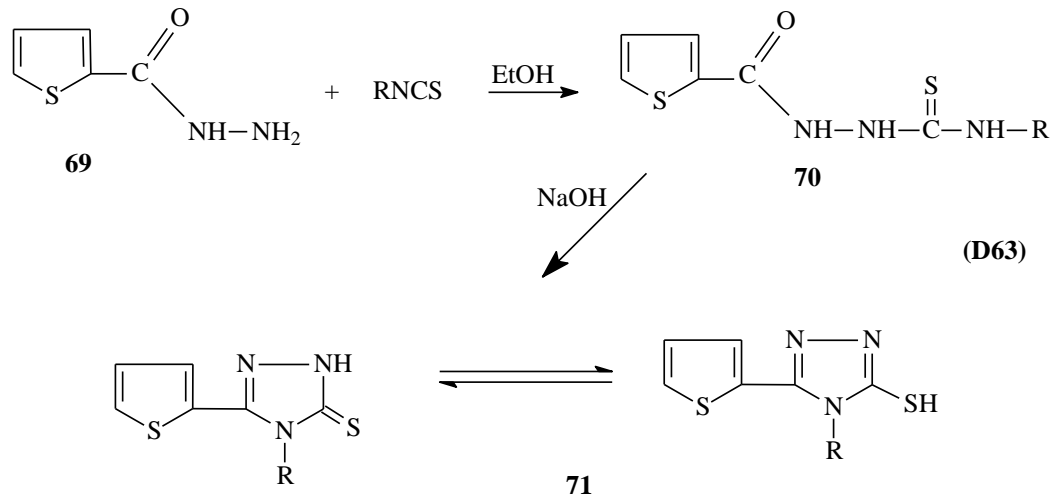
65 Tipi bir seri 4-[(3-substitute-1H-pirazol-4-yl)metilenamino]-5-substitute-2-[(4-metilpiperzin-1-il)metil]-2H-1,2,4-triazol-3-(4H)-tionlar formaldehit ve N-metilpiperzinin 4-(3-substitute-1H-pirazol-3-il)metilenamino-5-substitute-4H-1,2,4-triazol-3-tiollerin aminometilasyonundan sentezlenmiştir (Denklem 61). Yeni sentezlenen Schiff ve Mannich bazları IR, ¹H NMR, kütle spektral verileri ve elementel analizlerle karakterize edilmiştir. Bu bileşikler antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri açısından tarandı. Bazı bileşiklerin önemli antimikrobiyal aktivite gösterdikleri bulunmuştur [106].



Bazı yeni Schiff bazları *p*-anisidin ve *n*-butilamin ile metil-4-(tiofen-2-il)-4-oksobutanoat, metil-5-(furan-2-il)-5-oksipentanoat, metil-4-(furan-2-il)-4-oksibutanoat, metil-5-(tiofen-2-il)-5-oksipentanoat'ın kondenzasyonu ile sentezlenmiştir (Denklem 62). Bu sentezlenmiş bileşiklerin yapıları element analiz, IR, ¹H NMR, ¹³C NMR ve GC-MS spektroskopik teknikleri ile ortaya koyulmuştur. Ek olarak, sentezlenen bileşiklerin antioksidan aktiviteleri, DPPH radikali temelinde değerlendirildi [107].



Yeni bir dizi ara ürün tiosemikarbazid (70) türevi elde etmek için etil alkol varlığında 2-tiofenkarboksilikasid hidrazid ile substitue izotiosiyanat (71) siklizasyonu ile sentezlenmiştir (Denklem 63) [108].



2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Sentez

Gerçekleştirilen çalışma Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Organik Kimya Araştırma Laboratuvarında yürütülmüştür. Fluka, Merck ve Aldrich firmalarından temini gerçekleştirilen kimyasallar çalışmada kullanılmıştır. Yerli veya yurtdışından temin edilen çözücüler kullanılmıştır.

Gerçekleştirilen çalışmada Stuart SMP30 marka erime noktası cihazında sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin erime noktalarının analizi gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın yapıldığı Organik Kimya Araştırma Laboratuvarında sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin ALPHA-P BRUKER FT-IR spektrometresi kullanılarak IR spektrumları kaydedilmiştir. BRUKER ULTRASHIELD PLUS BIOSPIN marka 400 MHz'lik NMR cihazı kullanılarak elde edilen ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları ise Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji Eğitim, Araştırma ve Uygulama Merkezinde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin antioksidan özellikleri çalışmanın yürütüldüğü Organik Kimya Araştırma Laboratuvarında PG Instruments Ltd T80 UV/VIS Spektrometresi yardımıyla incelenmiştir.

Çalışmada sentezi gerçekleştirilen ve N-H grubu barındıran asidik özellikleri dört farklı susuz çözücüde TBAH ile potansiyometrik titrasyonları Jenco model pH metre kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

2.1.1. 2-formil-6-metoksifenil 4-metilbenzensulfonat (4):

250 mL'lik yuvarlak dipli bir balonda 2-Hidroksi-3-metoksibenzaldehid (1,66 g, 0,01 mol) 100 mL etil asetat içerisinde çözüldü. Bu çözeltiliye *p*-metilbenzensulfonil klorür (1,765 g, 0,01 mol) buz banyosunda yavaş yavaş ilave edildi. Daha sonra etil asetat (10 mL) içerisinde trietilamin (1,4 mL, 0,01 mol) reaksiyon karışımına damla damla karıştırılarak ilave edildi. Reaksiyon 30 dakika 0-5°C'de karıştırıldıktan sonra 1 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon geri soğutucu altında 3 saat reflaks edildi. Reaksiyon tamamlandıktan sonra çözelti soğutuldu ve çöken amonyum tuzu süzüldü. Süzüntü evaporatörde buharlaştırıldıktan sonra kalıntı su ile yıkandı,

desikatörde CaCl₂ üzerinde kurutuldu ve etanolde kristallendirilerek ürün **4** (2,79 g, % 91,50 verim) saflaştırıldı. E.n. 98°C.

IR : 2760 ve 2844 cm⁻¹ (CHO)
(Ek Şekil 1) 1693 cm⁻¹ (C=O)
1379 ve 1194 cm⁻¹ (SO₂)
820 cm⁻¹ (1,4-disubstitue benzen halkası)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆) : δ 2.42 (s, 3H, phCH₃)
(Ek Şekil 2) δ 3.44 (s, 3H, OCH₃)
δ 7.36-7.39 (m, 2H, ArH)
δ 7.42-7.44 (m, 1H, ArH)
δ 7.45-7.48 (m, 2H, ArH)
δ 7.69 (d, 2H, ArH; *J*=8.00 Hz)
δ 10.00 (s, 1H, CHO)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆) : δ 21.62 (PhCH₃)
(Ek Şekil 3) δ 56.39 (OCH₃)
δ 119.30 (CH)
δ 119.42 (CH)
δ 129.01 (CH)
δ 128.84 (2CH)
δ 130.40 (2CH)
δ 131.20 (C)
δ 131.90 (C)
δ 139.00 (C)
δ 146.57 (C)
δ 152.52 (C)(ArC)
δ 188.21 (CHO)

2.1.2. 2-Metoksi-6-[3-metil-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbensulfonat (**6**):

3-Metil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (1,14 g, 0,01 mol) (3a) bileşiği yuvarlak dipli bir balonda 20 ml asetik asit içerisinde çözündü. Daha sonra bu çözeltiye 2-formil-6-metoksifenil 4-metilbensulfonat (**4**) (3,06 g, 0,01 mol) ilave edildi. Reaksiyon geri soğutucu altında 1,5 saat riflaks edildi. Reaksiyon tamamlandıktan sonra çözelti bir erlene alındı ve saf su ilavesi ile ham ürün çöktürüldü. Karışım bir gece boyunca buzdolabında bekletilerek çöken ham ürün süzüldü, saf su ile yıkandı,

desikatörde CaCl₂ üzerinde vakumda kurutuldu ve etanol ile kristallendirilerek ürün **6** (3,86 g, % 96,15 verim) saflaştırıldı. E.n. 246°C.

IR : 3186 cm⁻¹ (NH)
(Ek Şekil 4) 1688 cm⁻¹ (C=O)
1612 ve 1594 cm⁻¹ (C=N)
1381 ve 1197 cm⁻¹ (SO₂)
836 cm⁻¹ (1,4-disubstitue benzen halkası)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆) : δ 2.22 (s, 3H, CH₃)
(Ek Şekil 5) δ 2.33 (s, 3H, PhCH₃)
δ 3.58 (s, 3H, OCH₃)
δ 7.25 (dd, 1H, ArH; *J*=8.40,1.60 Hz)
δ 7.38 (t, 1H, ArH; *J*=8.40 Hz)
δ 7.39 (d, 2H, ArH; *J*=8,40 Hz)
δ 7.47 (dd, 1H, ArH; *J*=8.00, 1.60 Hz)
δ 7.67 (d, 2H, ArH; *J*=8.40 Hz)
δ 9.58 (s, 1H, N=CH)
δ 11.80 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆) : δ 11.49 (CH₃)
(Ek Şekil 6) δ 21.49 (PhCH₃)
δ 56.40 (OCH₃)
δ 116.23 (CH)
δ 117.91 (CH)
δ 128.75 (2CH)
δ 128.80 (CH)
δ 129.18 (C)
δ 130.30 (2CH)
δ 132.48 (C)
δ 137.45 (C)
δ 146.33 (C)
δ 152.25 (ArC)
δ 144.57 (Triazol C₃)
δ 147.95 (N=CH)
δ 151.25 (Triazol C₅)

2.1.3. 2-Metoksi-6-[3-etil-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbensulfonat (7):

50 ml'lik yuvarlak dipli bir balona 3-Etil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (1,28 g, 0,01 mol) (3b) bileşiği yuvarlak dipli bir balonda oda sıcaklığında 20 ml asetik asit içerisinde çözüldü Daha sonra bu çözelti üzerine 2-formil-6-metoksifenil 4-

metilbensulfonat (4) (3,06 g, 0,01 mol) ilave edildi. Reaksiyon geri soğutucu altında 1,5 saat riflaks edildi. Reaksiyon tamamlandıktan sonra çözelti bir erlene alındı, saf su ilave edilerek karışım bir gece boyunca buzdolabında bekletildi, ham ürün süzöldü ve saf su ile yıkandı. Ürün vakumlu desikatörde CaCl₂ üzerinden kurutulurak etanol içerisinde kristallendirildi. Kristallendirme işlemi aynı çözücöde birkaç defa daha yapılarak bileşik 7 (4,10 g, % 98,76 verim) saf bir şekilde elde edildi. E.n. 214°C.

IR : 3167 cm⁻¹ (NH)
(Ek Şekil 7) 1701 cm⁻¹ (C=O)
1593 ve 1594 cm⁻¹ (C=N)
1415 ve 1354 cm⁻¹ (SO₂)
826 cm⁻¹ (1,4-disubstitue benzen halkası)

¹H-NMR (DMSO-d₆) : δ 1.19 (t, 3H, CH₂CH₃; J=7.60 Hz)
(Ek Şekil 8) δ 2.35 (s, 3H, PhCH₃)
δ 2.66 (q, 2H, CH₂CH₃; J=7.60 Hz)
δ 3.61 (s, 3H, OCH₃)
δ 7.27 (dd, 1H, ArH; J=8.40, 1.60 Hz)
δ 7.38-7.42 (m, 3H, ArH)
δ 7.48 (dd, 1H, ArH; J=8.00, 1.60Hz)
δ 7.70 (d, 2H, ArH; J= 8.40 Hz)
δ 9.60 (s, 1H, N=CH)
δ 11.85 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆) : δ 10.03 (CH₂CH₃)
(Ek Şekil 9) δ 18.44 (CH₂CH₃)
δ 21.03 (PhCH₃)
δ 55.96 (OCH₃)
δ 115.79 (CH)
δ 117.38 (CH)
δ 128.35 (CH)
δ 128.29 (2CH)
δ 128.35 (CH)
δ 128.79 (C)
δ 129.84 (2CH)
δ 132.08 (C)
δ 137.44 (C)
δ 145.73 (C)
δ 152.52(C) (ArC)
δ 147.50 (Triazol C₃)
δ 147.87 (N=CH)
δ 150.97 (Triazol C₅)

2.1.4. 2-Metoksi-6-[3-*n*-propil-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbensulfonat (8):

50 ml'lik yuvarlak dipli bir balona 3-(*n*-Propil)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (1,42 g, 0,01 mol) (3c) bileşiği ve 20 ml asetik asit konuldu. Çözelti üzerine 2-formil-6-metoksifenil 4-metilbensulfonat (4) (3,06 g, 0,01 mol) ilave edildi. Reaksiyon geri soğutucu altında 1,5 saat riflaks edildi. Reaksiyon tamamlandıktan sonra bir erlene alınan çözelti üzerine saf su ilave edilerek çöktürme işlemi yapıldı. Karışım bir gece buzdolabında bekletildi ve çöken ham ürün süzüldü, saf su ile yıkandı Ürün vakumlu desikatörde CaCl₂ üzerinden kurutulurak etanol içerisinde kristallendirildi. Kristallendirme işlemi aynı çözücüde birkaç defa daha yapılarak bileşik **8** (3,96 g, % 92,10 verim) saf bir şekilde elde edildi. E.n. 178°C.

IR (Ek Şekil 10) : 3170 cm⁻¹ (NH)
1698 cm⁻¹ (C=O)
1594 cm⁻¹ (C=N)
1384 ve 1182 cm⁻¹ (SO₂)
820 cm⁻¹ (1,4-disubstitue benzen halkası)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆) (Ek Şekil 11) : δ 0.97 (t, 3H, CH₂CH₂CH₃; *J*=7.20 Hz)
δ 1.70 (sext, 2H, CH₂CH₂CH₃; *J*=7.20 Hz)
δ 2.35 (s, 3H, PhCH₃)
δ 2.60 (t, 2H, CH₂CH₂CH₃; *J*= 7.20 Hz)
δ 3.60 (s,3H, OCH₃)
δ 7.27 (d, 1H, ArH; *J*=7.60 Hz)
δ 7.40-7.42 (m, 3H, ArH)
δ 7.48 (d,1H, ArH; *J*= 7.60 Hz)
δ 7.71 (d, 2H, ArH; *J*= 8.00 Hz)
δ 9.61 (s, 1H,N=CH)
δ 11.86 (s, 1H,NH)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆) (Ek Şekil 12) : δ 13.49 (CH₂CH₂CH₃)
δ 18.86 (CH₂CH₂CH₃)
δ 21.05 (PhCH₃)
δ 26.63 (CH₂CH₂CH₃)
δ 55.95 (OCH₃)
δ 115.78 (CH)
δ 117.33 (CH)
δ 128.29 (2CH)
δ 128.38 (CH)
δ 128.80 (C)
δ 129.85 (2CH)
δ 132.10 (C)

δ 137.44 (C)
 δ 145.72 (C)
 δ 152.51(C) (ArC)
 δ 146.76 (Triazol C₃)
 δ 147.49 (N=CH)
 δ 150.92 (Triazol C₅)

2.1.5. 2-Metoksi-6-[3-benzil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbensensulfonat (9):

50 ml'lik yuvarlak dipli bir balona 3-Benzil-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (1,90 g, 0,01 mol) (3d) bileşiği ve 20 ml asetik asit konuldu. Çözelti üzerine 2-formil-6-metoksifenil 4-metilbensensulfonat (4) (3,06 g, 0,01 mol) ilave edildi. Reaksiyon geri soğutucu altında 1,5 saat riflaks edildi. Reaksiyon tamamlandıktan sonra bir erlene alınan çözelti üzerine saf su ilave edilerek çöktürme işlemi yapıldı. Karışım bir gece buzdolabında bekletildi ve çöken ham ürün süzülüldü, saf su ile yıkandı Ürün vakumlu desikatörde CaCl₂ üzerinden kurutularak etanol içerisinde kristallendirildi. Kristallendirme işlemi aynı çözücünde birkaç defa daha yapılarak bileşik 9 (4,65 g, % 97,36 verim) saf bir şekilde elde edildi. E.n. 206°C.

IR : 3180 cm⁻¹ (NH)
(Ek Şekil 13) 1701 cm⁻¹ (C=O)
1593 cm⁻¹ (C=N)
1413 ve 1182 cm⁻¹ (SO₂)
813 cm⁻¹ (1,4-disubstitue benzen halkası)
748 ve 717 cm⁻¹ (monosubstitue)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆) : δ 2.28 (s, 3H, PhCH₃)
(Ek Şekil 14) δ 3.61 (s, 3H, OCH₃)
 δ 4.02 (CH₂Ph)
 δ 7.24-7.46 (m, 10H, ArH)
 δ 7.63 (d, 2H, ArH, *J*=8.00 Hz)
 δ 9.49 (s, 1H, N=CH)
 δ 11.97 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆) : δ 21.00 (PhCH₃)
(Ek Şekil 15) δ 31.00 (CH₂Ph)
 δ 55.98 (OCH₃)
 δ 115.82 (CH)
 δ 117.31 (CH)
 δ 128.17 (2CH)

δ 128.35(CH)
 δ 128.91(C)
 δ 129.82(2CH)
 δ 132.10 (C)
 δ 137.55 (C)
 δ 145.65 (C)
 δ 152.54 (C) (ArC)
 δ 126.80 (CH)
 δ 128.45 (2CH)
 δ 128.67 (2CH)
 δ 135.71 (C) (C₃-ArC)
 δ 146.10 (Triazol C₃)
 δ 147.29 (N=CH)
 δ 150.76 (Triazol C₅)

2.1.6. 2-Metoksi-6-[3-*p*-metilbenzil-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbenzensulfonat (10):

50 ml'lik yuvarlak dipli bir balona 3-*p*-metilbenzil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (1,90 g, 0,01 mol) (3e) bileşiği ve 20 ml asetik asit konuldu. Çözelti üzerine 2-formil-6-metoksifenil 4-metilbenzensulfonat (4) (3,06 g, 0,01 mol) ilave edildi. Reaksiyon geri soğutucu altında 1,5 saat riflaks edildi. Reaksiyon tamamlandıktan sonra bir erlene alınan çözelti üzerine saf su ilave edilerek çöktürme işlemi yapıldı. Karışım bir gece buzdolabında bekletildi ve çöken ham ürün süzülüldü, saf su ile yıkandı Ürün vakumlu desikatörde CaCl₂ üzerinden kurutulurak etanol içerisinde kristallendirildi. Kristallendirme işlemi aynı çözücüde birkaç defa daha yapılarak bileşik **10** (4,82 g, % 98,08 verim) saf bir şekilde elde edildi. E.n. 191°C.

IR : 3183 cm⁻¹ (NH)
(Ek Şekil 16) 1 741 cm⁻¹ (C=O)
1593 cm⁻¹ (C=N)
1407 ve 1181 cm⁻¹ (SO₂)
813 cm⁻¹ (1,4-disubstitue benzen halkası)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆) : δ 2.27 (s, 3H, C₃- PhCH₃)
(Ek Şekil 17) δ 2.29 (s, 3H, PhCH₃)
 δ 3.61 (s, 3H, OCH₃)
 δ 3.96 (s, 2H, CH₂Ph)
 δ 7.15 (d, 2H, ArH; *J*=8.00 Hz)
 δ 7.21 (d, 2H, ArH; *J*=8.00 Hz)
 δ 7.27 (d, 1H, ArH; *J*=8.00 Hz)
 δ 7.41 (t, 1H, ArH; *J*=8.00 Hz)

δ 7.45-7.48 (m, 3H, ArH)
 δ 7.64 (d, 2H, ArH; $J=8.40$ Hz)
 δ 9.51 (s, 1H, N=CH)
 δ 11.95 (s, 1H, NH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6):
(Ek Şekil 18)

δ 20.59 (PhCH₃-C₃)
 δ 21.00 (PhCH₃)
 δ 30.58 (CHPh)
 δ 55.97 (OCH₃)
 δ 115.80 (CH)
 δ 117.31 (CH)
 δ 128.17 (2CH)
 δ 128.34 (CH)
 δ 128.77 (C)
 δ 129.81 (2CH)
 δ 132.10 (C)
 δ 137.54 (C)
 δ 145.66 (C)
 δ 152.53 (C) (ArC)
 δ 128.70 (2CH)
 δ 128.98 (2CH)
 δ 132.58 (C)
 δ 135.89 (C) (C₃-ArC)
 δ 146.24 (Triazol C₃)
 δ 147.26 (N=CH)
 δ 150.77 (Triazol C₅)

2.1.7 2-Metoksi-6-[3-*p*-metoksibenzil-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbenzensulfonat (11):

50 ml'lik yuvarlak dipli bir balona 3-(*p*-metoksibenzil)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (1,90 g, 0,01 mol) (3f) bileşiği ve 20 ml asetik asit konuldu. Çözelti üzerine 2-formil-6-metoksifenil 4-metilbenzensulfonat (4) (3,06 g, 0,01 mol) ilave edildi. Reaksiyon geri soğutucu altında 1,5 saat riflaks edildi. Reaksiyon tamamlandıktan sonra bir erlene alınan çözelti üzerine saf su ilave edilerek çöktürme işlemi yapıldı. Karışım bir gece buzdolabında bekletildi ve çöken ham ürün süzüldü, saf su ile yıkandı Ürün vakumlu desikatörde CaCl₂ üzerinden kurutularak etanol içerisinde kristallendirildi. Kristallendirme işlemi aynı çözücüde birkaç defa daha yapılarak bileşik **11** (4,74 g, % 93,33 verim) saf bir şekilde elde edildi. E.n. 162°C.

IR : 3168 cm⁻¹ (NH)
(Ek Şekil 19) 1701 cm⁻¹ (C=O)
1592 cm⁻¹ (C=N)
1413 ve 1181 cm⁻¹ (SO₂)
819 cm⁻¹ (1,4-disubstitue benzen halkası)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆) : δ 2.29 (s, 3H, PhCH₃)
(Ek Şekil 20) δ 3.61 (s, 3H, OCH₃)
δ 3.72 (s, 3H, C₃- OCH₃)
δ 3.94 (s, 2H, CH₂Ph)
δ 6.91 (d, 2H, ArH; *J*=8.40 Hz)
δ 7.24 (d, 2H, ArH; *J*=8.80 Hz)
δ 7.26-7.28 (m, 3H, ArH)
δ 7.42 (d, 1H, ArH, *J*= 8.00 Hz)
δ 7.48 (dd, 1H, ArH; *J*=8.00, 1.20 Hz)
δ 7.64 (d, 2H, ArH, *J*= 8.40 Hz)
δ 9.50 (s, 1H, N=CH)
δ 11.93 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆) : δ 21.00 (PhCH₃)
(Ek Şekil 21) δ 30.13 (CH₂Ph)
δ 55.07 (C₃-OCH₃)
δ 55.97 (OCH₃)
δ 115.80 (CH)
δ 117.33 (CH)
δ 128.18 (2CH)
δ 128.37 (CH)
δ 128.71 (C)
δ 129.82 (2CH)
δ 132.10 (C)
δ 137.54 (C)
δ 145.67 (C)
δ 152.54 (C) (ArC)
δ 113.89 (2CH)
δ 127.49 (C)
δ 129.97 (2CH)
δ 158.20 (C) (C₃-ArC)
δ 146.40 (Triazol C₃)
δ 147.28 (N=CH)
δ 150.78 (Triazol C₅)

2.1.8. 2-Metoksi-6-[3-*p*-klorobenzil-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbenzensulfonat (12):

50 ml'lik yuvarlak dipli bir balona 3-*p*-klorobenzil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (1,90 g, 0,01 mol) (3g) bileşiği ve 20 ml asetik asit konuldu. Çözelti üzerine 2-formil-6-metoksifenil 4-metilbenzensulfonat (4) (3,06 g, 0,01 mol) ilave edildi. Reaksiyon geri soğutucu altında 1,5 saat riflaks edildi. Reaksiyon tamamlandıktan sonra bir erlene alınan çözelti üzerine saf su ilave edilerek çöktürme işlemi yapıldı. Karışım bir gece buzdolabında bekletildi ve çöken ham ürün süzüldü, saf su ile yıkandı Ürün vakumlu desikatörde CaCl₂ üzerinden kurutularak etanol içerisinde kristallendirildi. Kristallendirme işlemi aynı çözücüde birkaç defa daha yapılarak bileşik **12** (4,99 g, % 97,29 verim) saf bir şekilde elde edildi. E.n. 197°C.

IR (Ek Şekil 22) : 3183 cm⁻¹ (NH)
1700 cm⁻¹ (C=O)
1594 cm⁻¹ (C=N)
1409 ve 1181 cm⁻¹ (SO₂)
812 cm⁻¹ (1,4-disubstitue benzen halkası)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆) : δ 2.31 (s, 3H, PhCH₃)
(Ek Şekil 23) δ 3.60 (s, 3H, OCH₃)
δ 4.04 (s, 2H, CH₂Ph)
δ 7.26-7.46 (m, 9H, ArH)
δ 7.67 (d, 2H, ArH; *J*=8.00 Hz)
δ 9.56 (s, 1H, N=CH)
δ 12.00 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆) : δ 21.02 (PhCH₃)
(Ek Şekil 24) δ 30.31 (CH₂Ph)
δ 55.94 (OCH₃)
δ 115.83 (CH)
δ 117.34 (CH)
δ 128.21 (2CH)
δ 128.31 (CH)
δ 128.69 (C)
δ 129.81 (2CH)
δ 132.12 (C)
δ 137.52 (C)
δ 145.75 (C)
δ 152.49 (C) (ArC)
δ 128.38 (2CH)

δ 130.81 (2CH)
 δ 131.52 (C)
 δ 134.64 (C) (C₃-ArC)
 δ 145.67 (Triazol C₃)
 δ 147.42 (N=CH)
 δ 150.78 (Triazol C₅)

2.1.9. 2-Metoksi-6-[3-*m*-klorobenzil-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbensensulfonat (13):

50 ml'lik yuvarlak dipli bir balona 3-*m*-klorobenzil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (1,90 g, 0,01 mol) (3h) bileşiği ve 20 ml asetik asit konuldu. Çözelti üzerine 2-formil-6-metoksifenil 4-metilbensensulfonat (4) (3,06 g, 0,01 mol) ilave edildi. Reaksiyon geri soğutucu altında 1,5 saat riflaks edildi. Reaksiyon tamamlandıktan sonra bir erlene alınan çözelti üzerine saf su ilave edilerek çöktürme işlemi yapıldı. Karışım bir gece buzdolabında bekletildi ve çöken ham ürün süzülüldü, saf su ile yıkandı Ürün vakumlu desikatörde CaCl₂ üzerinden kurutularak etanol içerisinde kristallendirildi. Kristallendirme işlemi aynı çözücüde birkaç defa daha yapılarak bileşik **13** (4,89 g, % 95,45 verim) saf bir şekilde elde edildi. E.n. 225°C.

IR : 3167 cm⁻¹ (NH)
(Ek Şekil 25) 1700 cm⁻¹ (C=O)
1592 cm⁻¹ (C=N)
1412 ve 1180 cm⁻¹ (SO₂)
810 cm⁻¹ (1,4-disubstitue benzen halkası)
854 ve 800 cm⁻¹ (1,3-disubstitue benzen halkası)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆) : δ 2.30 (s, 3H, PhCH₃)
(Ek Şekil 26) δ 3.61 (s, 3H, OCH₃)
 δ 4.06 (s, 2H, CH₂Ph)
 δ 7.26-7.47 (m, 9H, ArH)
 δ 7.65 (d, 2H, ArH; *J*=8.40 Hz)
 δ 9.51 (s, 1H, N=CH)
 δ 11.89 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆) : δ 20.98 (PhCH₃)
(Ek Şekil 27) δ 30.61 (CH₂Ph)
 δ 55.97 (OCH₃)
 δ 115.87 (CH)
 δ 117.31 (CH)
 δ 128.19 (2CH)
 δ 128.32 (CH)

δ 128.63 (C)
 δ 129.81 (2CH)
 δ 132.10 (C)
 δ 137.55 (C)
 δ 145.66 (C)
 δ 152.53 (C) (ArC)
 δ 126.88 (CH)
 δ 127.70 (CH)
 δ 129.06 (CH)
 δ 130.29 (CH)
 δ 132.96 (C)
 δ 137.55(C) (C₃-ArC)
 δ 145.67 (Triazol C₃)
 δ 147.34 (N=CH)
 δ 150.73 (Triazol C₅)

2.1.10. 2-Metoksi-6-[3-fenil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbensulfonat (14):

50 ml'lik yuvarlak dipli bir balona 3-fenil-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (1,90 g, 0,01 mol) (3i) bileşiği ve 20 ml asetik asit konuldu. Çözelti üzerine 2-formil-6-metoksifenil 4-metilbensulfonat (4) (3,06 g, 0,01 mol) ilave edildi. Reaksiyon geri soğutucu altında 1,5 saat reflaks edildi. Reaksiyon tamamlandıktan sonra bir erlene alınan çözelti üzerine saf su ilave edilerek çöktürme işlemi yapıldı. Karışım bir gece buzdolabında bekletildi ve çöken ham ürün süzülüldü, saf su ile yıkandı Ürün vakumlu desikatörde CaCl₂ üzerinden kurutulurken etanol içerisinde kristallendirildi. Kristallendirme işlemi aynı çözücüde birkaç defa daha yapılarak bileşik **14** (4,38 g, % 94,59 verim) saf bir şekilde elde edildi. E.n. 221°C.

IR : 3167 cm⁻¹ (NH)
(Ek Şekil 28) 1694 cm⁻¹ (C=O)
1584 cm⁻¹ (C=N)
1381 ve 1179 cm⁻¹ (SO₂)
816 cm⁻¹ (1,4-disubstitue benzen halkası)
748 ve 687cm⁻¹ (Monosubstitue benzen halkası)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆) : δ 2.30 (s, 3H, PhCH₃)
(Ek Şekil 29) δ 7.63 (s, 3H, OCH₃)
 δ 7.28-7.31 (m, 1H, ArH)
 δ 7.38-7.41 (m, 4H, ArH)
 δ 7.53-7.57 (m, 3H, ArH)
 δ 7.73 (d, 2H, ArH; *J*= 8.40 Hz)
 δ 7.86-7.88 (m, 2H, ArH)

δ 9.58 (s, 1H, N=CH)
 δ 12.41 (s, 1H, NH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6) : δ 21.03 (PhCH₃)
(Ek Şekil 30) δ 56.02 (OCH₃)
 δ 116.07 (CH)
 δ 117.38 (CH)
 δ 128.31 (2CH)
 δ 128.50 (CH)
 δ 128.53 (C)
 δ 129.89 (2CH)
 δ 132.07 (C)
 δ 137.62 (C)
 δ 145.78 (C)
 δ 152.60 (C) (ArC)
 δ 126.41 (C)
 δ 127.98 (2CH)
 δ 128.50 (2CH)
 δ 130.15 (CH)
 δ 144.41 (Triazol C₃)
 δ 149.41 (N=CH)
 δ 150.97 (Triazol C₅)

2.2. Yeni Maddelerin Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi

2.2.1. İndirgeme Gücü Tayini

Sentezlenen bileşiklerin Oyaizu metoduna göre indirgeme gücü analiz edilmiştir [109].

Yönteme göre sentezlenen bileşiklerin K₃Fe(CN)₆, TCA, FeCl₃ ile meydana getirdiği renkli komplekslerin UV spektrofotometresinde 700 nm'de ölçümüne bakılarak antioksidan özellikleri incelenmiştir. Numunenin indirgeme gücü reaksiyon maddelerinin absorbans değerindeki artış ile orantılıdır. Fosfat tamponu (0,2 M, pH = 6,6); K₃Fe(CN)₆ (%1); TCA çözeltisi (%10); FeCl₃ (%0,1); α - tokoferol (1mg/mL); BHT (1mg/mL); BHA (1mg/mL) metotta kullanılan reaktiflerdir.

Deneyin yapılışı: Yapılan işlemde sentezlene 9 yeni bileşiğin her birinden 10 mg tartılarak bir miktar etanol de çözülmesi sağlanmıştır. Son hacimi 10 mL'ye tamamlamak için yine aynı çözücüden ilave edilmiştir. 10 mL'lik deney tüplerine Standart maddelerden 1 mg/mL olacak şekilde ilave edilip, etanolde çözülmüş ve pipetlemeler aşağıdaki tabloya göre gerçekleştirilmiştir

Tablo 2.1. İndirgeme Gücü Analizinde Kullanılan Reaktif Miktarları

Reaktifler	S ₁	S ₂	S ₃	N ₁	N ₂	N ₃	Kör
Bileşik	-	-	-	100µL	250µL	500µL	-
Standart	100µL	250µL	500µL	-	-	-	-
Fosfat tamponu	2,4 mL	2,25 mL	2,0 mL	2,4 mL	2,25 mL	2,0 mL	-
K ₃ Fe(CN) ₆	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL	-

50°C'de 20 dakika inkübasyona bırakmak için deney tüpleri iyice karıştırılmıştır. İnkübasyondan sonra 3000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenme yapmak için her bir deney tüpüne %10'luk TCA çözeltisinden 2,5 mL ilave edilmiştir ve santrifüjleme işleminin sonunda 2,5 mL Supernatant kısmından deney tüplerine aktarılmış bunun üzerine 2,5 mL su ve 0,5 mL FeCl₃ çözeltisinden eklenmiştir. 2,5 mL TCA, 2,5 mL deiyonize su ve 0,5 mL FeCl₃ çözeltisi kör çözeltiyi meydana getirmiştir. Son adımda UV spektrofotometresinde koyu lacivert rengin absorbansı 700 nm'de ölçülmüştür.

2.2.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Tayini

Blois metodundan yararlanarak [110] sentezlenen bileşiklerin 1,1-difenil-2-pikrilhidrazilin (DPPH) ile serbest radikal giderme aktivitesi tayini yapılmıştır. Serbest radikal toplayıcılarının renkli serbest radikal olan DPPH' ı indirgemesi bu yöntemin temelini oluşturur. Serbest radikal olan DPPH' kırmızı renkli karardır. Antioksidan bileşikler tarafından serbest radikaller giderildiğinde kırmızı olan renkten sarı renk oluşur. serbest radikal giderme aktivitesi reaksiyon karışımının 517 nm'deki absorbansındaki düşüş ile orantılıdır. 0,1 mM DPPH' (etanolde hazırlanmıştır); α-tokoferol (1mg/mL); BHA (1mg/mL) bu yöntemde kullanılan reaktiflerdir.

Deneyin yapılışı: Yapılan işlemde sentezlene 9 yeni bileşiğin her birinden 10 mg tartılarak bir miktar etanol de çözülmesi sağlanmıştır. Son hacimi 10 mL'ye tamamlamak için yine aynı çözücüden ilave edilmiştir. 10 mL'lik deney tüplerine Standart maddelerden 1 mg/mL olacak şekilde ilave edilip, etanolde çözülmüş ve pipetlemeler aşağıdaki tabloya göre gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2.2. Serbest Radikal Giderme Tayininde Kullanılan Reaktif Miktarları

Reaktifler	S ₁	S ₂	S ₃	N ₁	N ₂	N ₃	Kör	Kontrol
Bileşik	-	-	-	50µL	100µL	150µL	-	-
Standart	50µL	100µL	150µL	-	-	-	-	-
Etil alkol	2,95 mL	2,90 mL	2,85 mL	2,95 mL	2,90 mL	2,85 mL	-	3 mL
DPPH'	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	4 mL	1 mL

Deney tüpleri 30 dakika oda sıcaklığında kaldıktan sonra UV spektrofotometresinde 517 nm'de absorbanları ölçülmüştür. Aşağıdaki formüle göre tepkime ortamında yer alan DPPH radikalini giderme aktivitesi analizi gerçekleştirilmiştir:

$$\% \text{ Serbest Radikal Giderme Aktivitesi} = (A_0 - A_1/A_0) \times 100$$

A₀: Kontrol tepkimesinin absorbanı,

A₁: Numune absorbanı

2.2.3. Metal Şelat Aktivitesi Tayini

Dinis metodundan yararlanarak [111] sentezlenen bileşiklerin metal şelat aktivitesi tayini yapılmıştır. Ferrozin-Fe⁺² kompleks oluşumunun inhibisyonu metal şelat aktivitesi tayininin temelini oluşturmaktadır. 5 mM ferrozin; α-tokoferol (1mg/mL); 2 mM FeCl₂; BHT (1mg/mL) yöntemde kullanılan reaktiflerdir.

Deneyin yapılışı: Etanolde yeni 9 bileşiğin ve etanolde standartların 1mg/mL şeklinde çözeltileri hazırlanıp aşağıdaki tabloya göre 10 mL'lik deney tüpleri kullanılarak pipetleme işlemi gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2.3. Metal Şelat Aktivitesi Tayininde Kullanılan Reaktif Miktarları

Reaktifler	S ₁	S ₂	S ₃	N ₁	N ₂	N ₃	Kör	Kontrol
Bileşik	-	-	-	50µL	100µL	150µL	-	-
Standart	50µL	100µL	150µL	-	-	-	-	-
Etanol	3,70 mL	3,65 mL	3,60 mL	3,70 mL	3,65 mL	3,60 mL	3,75 mL	3,75 mL
FeCl ₂	0,05 mL	0,05 mL	0,05 mL	0,05 mL	0,05 mL	0,05 mL	0,05 mL	0,05 mL
Ferrozin	0,2 mL	0,2 mL	0,2 mL	0,2 mL	0,2 mL	0,2 mL	-	0,2 mL

Deney tüplerine alınan numunelerin ve standartların çözeltilerine etanol eklenerek, karıştırılır. Daha sonra Demir(II)Klorür eklenip, karıştırıldıktan sonra 10 dakika bekletilmiştir. Sonrasında ferrozin eklenerek yaklaşık yirmi dakikanın sonunda meydana gelen renk 562 nm'de UV cihazında köre (ferrozin haricindekiler) karşı okunmuştur.

Aşağıdaki formüle göre Ferrozin- Fe⁺² kompleks meydana gelmesinin inhibasyon yüzdesi hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Metal Şelat Aktivitesi} = (A_0 - A_1 / A_0) \times 100$$

A₀ : Kontrol reaksiyon absorbanı, A₁: Numune veya standardın absorbanı

2.3 Yeni Maddelerin Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi

2.3.1. Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu

Yapılan çalışma içerisinde sentezi gerçekleştirilen 9 yeni bileşiğin antimikrobiyal aktivite gösterip göstermediği Agar Kuyucuk Difüzyon Metoduyla ortaya koyulmuştur [114, 115]. Test edilecek bakterilerin bir gecelik kültürlerinden Mueller Hinton sıvı besiyeri içinde (MH) (Difco, Detroit, MI), yaklaşık olarak 10⁶ cfu/ml (colony forming = koloni oluşturan birim) şeklinde dilüsyonları ayarlanarak, önceden hazırlanmış MH agar besiyeri üzerine ekimleri yapılmıştır. Ekimleri tamamlanan besiyerleri üzerinde, steril

cam boru yardımıyla 2 cm aralıklarda, 5 mm çapında kuyucuklar açılmış ve her bir kuyucuğa kimyasal stok çözeltilerden 50 µL (250-500 µg/mL madde içerecek şekilde) damlatılmıştır. Bakteri ihtiva eden petriler 24 saat, maya benzeri mantar ihtiva eden petriler 48 saat 35 °C’de inkübe edilmiş ve inkübasyondan sonra bir cetvel yardımıyla inhibasyon zonları ölçülmüştür.

2.4. Potansiyometrik Titrasyonlar

2.4.1. Çözücüler

5 Tipi 6-14 bileşiklerinin organik çözücülerden aseton, *N,N*-dimetilformamid, izopropil alkol, *tert*-butil alkol potansiyometrik titrasyonla asitlik sabitlerinin analizinde kullanılan çözücülerdir.

2.4.2. Titrantlar

Titrasyon işlemi asitlerde yapılırken Merck firmasından temin edilen titrant maddesi olan tetrabutilamonyum hidroksi’in 2-propanoldeki standart 0,1 N’lik çözeltisi 0,05 N’le seyreltilerek işleme tabi tutulmuştur.

2.4.3. Cihazlar

Çalışmalarda kullanılan pH metre model olarak jencodur. pH değerlerinde $\pm 0,01$, mV değerlerinde ise $\pm 0,05$ ’lik kesinlik olmalıdır. Pipet olarak 1 mL’ lik olanı titrasyon işleminde tercih edilmiştir.

2.4.4. Hazırlanan Çözeltiler

Asitlik sabiti analizine bakılacak 5 tipi yeni bileşiklerin ilk adımda *N,N*-dimetilformamid izopropil alkol, *tert*-butil alkol ve asetondaki 0,001 M 100 mL’lik çözeltileri hazır hale getirilmiştir. İzopropil alkolde hazırlanan TBAH’ın 0,1 N’lik standart çözeltisi 0,05 N 250 mL’ye seyreltilip , titrant olarak kullanılmıştır.

2.4.5. Deneyin Yapılışı

Tampon tabletler aracılığıyla iki tane pH'sı $7,00 \pm 0.02$ (25°C) ile $10,00 \pm 0.05$ (25°C) olan tampon çözelti oluşturulup potansiyometrik titrasyon amacıyla düzenek hazırlanmıştır. pH Metrenin tampon çözeltiler yardımıyla kalibrasyonu yapılmıştır. Bütün çalışmalar 25°C 'de gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin asitlik değerlerini incelemek için hazırlanan $0,001\text{M}$ 'lık çözeltisinden 17 mL alınarak behere aktarılıp magnetik karıştırıcıyla homojen olması sağlanmıştır. TBAH'ın izopropil alkolde hazırlanan $0,05\text{N}$ 'lik çözeltisinden $0,05\text{ mL}$ her defasında 1 mL 'lik pipet yardımıyla karışmakta olan çözeltilere izafe edilmiştir. İzafeden sonra sabit değere ulaşan pH ve mV değerleri pH metreden okunarak titrant hacmine (mL) karşı grafik oluşturulmuştur.

3. BULGULAR

Bu çalışmada; 1 adet yeni benzaldehid türevi bileşik (4) ve 9 adet yeni 5 tipi Schiff bazı türevi olan toplam 10 adet yeni bileşiğin sentezi gerçekleştirilmiştir.

Sentezi gerçekleştirilen tüm bileşiklerin yapıları IR, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektroskopik metodları aracılığıyla ortaya koyulmuştur.

Çalışmada sentezi gerçekleştirilen yeni bileşiklerin yapıları ortaya koyulduktan sonra bazı özelliklerine de bakılmıştır. Bu doğrultuda ilk olarak, sentezi gerçekleştirilen 9 yeni heterosiklik yapıya sahip bileşiğin (6-14) 3 ayrı metodla (indirgeme gücü, metal şelat aktivitesi, serbest radikal giderme aktivitesi,) *in-vitro* antioksidan özellik gösterip göstermediği incelenerek ele geçen veriler irdelenmiştir. Yürütülen çalışmada, sentezi gerçekleştirilen 9 yeni bileşiğin *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterip göstermediği Agar Kuyucuk Difüzyon yönteminden yararlanarak incelenmiştir. Çalışmada ayrıyeten, 5 tipi bileşiklerin susuz *N,N*-dimetilformamid (DMF), *tert*-butil alkol, izopropil alkol ve aseton çözücülerinde TBAH ile potansiyometrik olarak titrasyonları gerçekleştirilmiş ve titrasyon grafikleri oluşturularak yarı nötralizasyon metodu yardımıyla çözücülerdeki pK_a değerleri hesaplanmıştır. Bulunan asitlik sabitleri üzerine çözücü ve yapı etkisi tartışılmıştır.

3.1. Sentezlenen Bileşiklerin IR, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR Spektral Verileri

Çalışmada sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin IR spektrumları potasyum bromür olmadan çalışmanın gerçekleştirildiği laboratuarda alınmış olup spektrumlarda meydana gelen karakteristik piklerin yorumlanması yapılarak yeni bileşiklerin yapılarının ortaya çıkarılmasında kullanılmıştır.

Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin ¹H-NMR spektrumları DMSO-*d*₆'da alınmış olup ortaya çıkan piklerin kimyasal kayma değerlerine bakılarak yapı aydınlatılmasında kullanılmıştır. Bileşiklerin ¹H-NMR spektrumlarında δ 2,50-2,60 ppm civarında DMSO-*d*₆'dan kaynaklanan karakteristik pikler göze çarpmıştır. Bu durumun literatürde yer alan verilerle eşleştiği görülmüştür. Ayrıyeten, DMSO-*d*₆'nın içeriğinde yer alan

eser miktardaki sudan ortaya çıkan karakteristik H₂O piklerinin δ 3,50 ppm civarında olduğu görülmüştür. Standart olarak kullanılan Tetrametilsilan (TMS)'nin amacı spektrum alımı sırasında sıfırı belirlemektir.

Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin ¹³C-NMR spektrumları da DMSO-*d*₆'da alınmış olup, bu spektrumlarda DMSO-*d*₆'dan kaynaklı karakteristik karbon piklerinin δ 40 ppm civarında ortaya çıktığı görülmüştür. Gözlenen piklerin kimyasal kayma değerleri göz önüne alınarak yeni bileşiklere ait yapıların ortaya çıkarılmasında kullanılmıştır.

3.2. Antioksidan İncelemeleri

3.2.1. İndirgeme Gücü

Üç ayrı konsantrasyon kullanılarak indirgeme gücü testleri gerçekleştirilen sentezlenen bileşiklerin, UV spektrofotometresinde 700 nm'de ölçümü gerçekleştirilen absorbans değerleri aşağıda tablo olarak sunulmuştur. Kontrol tepkimesinin absorbansı 0,071'dir.

Tablo 3.1. 5 Tipi Bileşiklerin İndirgeme Gücü

Bileşikler	İndirgeme Gücü ($\mu\text{g/mL}$, 700 nm)		
	50	100	150
6	0,086	0,075	0,075
7	0,103	0,081	0,082
8	0,096	0,061	0,064
9	0,079	0,076	0,075
10	0,092	0,080	0,077
11	0,083	0,071	0,072
12	0,098	0,085	0,082
13	0,083	0,083	0,081
14	0,083	0,075	0,074
BHT	0,261	0,458	0,611
BHA	0,667	1,081	1,323
α -Tokoferol	0,450	0,791	1,141

3.2.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

üç ayrı konsantrasyon kullanılarak serbest radikal giderme aktivite testleri gerçekleştirilen Sentezi yapılmış bileşiklerin, UV spektrofotometresinde 517 nm’de ölçümü gerçekleştirilen absorbansları ve bu absorbanslara karşı oluşan % Serbest Radikal Giderme Aktiviteleri aşağıda tablo olarak sunulmuştur. Kontrol tepkimesinin absorbansı 0,138’dir.

Tablo 3.2. 5 Tipi Bileşiklerin Absorbans Değerleri ve Karşın Olan % Serbest Radikal Giderme Aktiviteleri

Bileşikler	Absorbans ve %Serbest Radikal Giderme Aktivitesi ($\mu\text{g/mL}$, %inh, 517 nm)					
	12,5		25		37,5	
	A	% Aktivite	A	% Aktivite	A	% Aktivite
6	0,146	NEGATİF	0,147	NEGATİF	0,147	NEGATİF
7	0,145	NEGATİF	0,147	NEGATİF	0,147	NEGATİF
8	0,144	NEGATİF	0,147	NEGATİF	0,147	NEGATİF
9	0,146	NEGATİF	0,146	NEGATİF	0,145	NEGATİF
10	0,144	NEGATİF	0,145	NEGATİF	0,145	NEGATİF
11	0,141	NEGATİF	0,146	NEGATİF	0,146	NEGATİF
12	0,147	NEGATİF	0,147	NEGATİF	0,147	NEGATİF
13	0,143	NEGATİF	0,143	NEGATİF	0,145	NEGATİF
14	0,145	NEGATİF	0,149	NEGATİF	0,150	NEGATİF
BHA	0,047	65,9	0,045	67,4	0,043	68,8
α -Tokoferol	0,050	63,8	0,044	68,1	0,042	69,6

3.2.3. Metal Şelat Aktivitesi

Üç ayrı konsantrasyon kullanılarak metal şelat aktivite testleri gerçekleştirilen sentezi yapılmış bileşiklerin, UV spektrofotometresinde 562 nm’de ölçümü gerçekleştirilen absorbansları ve bu absorbanslara karşı oluşan % Metal Şelat Aktiviteleri aşağıda tablo olarak sunulmuştur. Kontrol tepkimesinin absorbansı 0,173’tür.

Tablo 3.3. 5 Tipi Bileşiklerin Absorbans Değerleri ve Karşın Olan % Metal Şelat Aktiviteleri

Bileşikler	Absorbans ve % Metal Şelat Aktivitesi (µg/mL, %inh, 562 nm)					
	12,5		25		37,5	
	A	% Aktivite	A	% Aktivite	A	% Aktivite
6	0,143	17,3	0,153	11,6	0,153	11,6
7	0,148	14,5	0,153	11,6	0,157	9,2
8	0,165	4,6	0,166	4,0	0,169	2,3
9	0,156	9,8	0,156	9,8	0,161	6,9
10	0,162	6,4	0,162	6,4	0,160	7,5
11	0,154	11,0	0,153	11,6	0,150	13,3
12	0,161	6,9	0,168	2,9	0,168	2,9
13	0,152	12,1	0,153	11,6	0,153	11,6
14	0,145	16,2	0,145	16,2	0,160	7,5
EDTA	0,034	80,3	0,032	81,5	0,032	81,5
α-Tokoferol	0,124	28,3	0,123	28,9	0,112	35,3

3.3. Potansiyometrik Titrasyon

Çalışmada sentezi gerçekleştirilen 9 adet 5 tipi yeni 2-metoksi-6-[3-alkil/aryl-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbenzensulfonat bileşiğinin *N,N*-dimetilformamid, izopropil alkol, aseton ve tert-butil alkol çözücülerindeki 0,001 M'luk çözeltilerinin 0,05 N TBAH kullanılarak gerçekleştirilen titrasyon işlemi sonucu ele geçen değerler titrant hacmine (TBAH) karşı mV şeklinde Tablo 3.4-12'de sunulmuştur. Ayrıca asitlerin mL-mV titrasyon grafikleri de Şekil 4.2-10'de sunulmuştur. Deneyler beşer kez tekrarlanmıştır. Bu grafikler Sigma Plot 8.0 programında çizilmiştir. Yeni bileşikler için pH metreden okunan pH ve mV değerleri ve çizilen grafikler aşağıda verilmiştir.

Tablo 3.4. 6 Bileşiğinin İzopropil Alkol, *tert*-Butil Alkol, Aseton ve *N,N*-Dimetilformamid 10⁻³ M'luk Çözeltilerinin 0.05 N TBAH ile Titrasyon Sonuçları

6	DMF		Aseton		<i>tert</i> -Butil Alkol		İzopropil Alkol	
	pH	mV	pH	mV	pH	mV	pH	mV
0.05	10,29	-179	12,61	-311	8,49	-75	9,92	-157
0.10	10,72	-204	13,40	-356	9,66	-142	12,18	-288
0.15	10,95	-217	14,28	-406	11,40	-242	12,50	-307
0.20	11,75	-264	14,90	-442	13,23	-348	12,67	-317
0.25	11,79	-266	15,16	-457	14,05	-396	12,73	-321
0.30	11,97	-276	15,42	-472	15,59	-485	12,82	-326
0.35	12,31	-296	15,61	-484	15,70	-491	12,94	-333
0.40	12,47	-305	15,85	-492	15,79	-496	13,11	-342
0.45	12,60	-313	15,99	-505	15,88	-501	13,23	-350
0.50	12,71	-319	16,19	-518	15,99	-508	13,33	-356
0.55	12,85	-327	16,29	-524	16,06	-512	13,47	-363
0.60	12,91	-331	16,41	-531	16,14	-516	13,60	-371
0.65	12,99	-335	16,50	-536	16,21	-520	13,69	-376
0.70	13,06	-339	16,57	-541			13,77	-381
0.75	13,18	-346	16,64	-545			13,86	-386
0.80	13,27	-351					13,87	-387
0.85	13,28	-352						
0.90	13,40	-359						

Tablo 3.5. 7 Bileşiminin İzopropil Alkol, *tert*-Butil Alkol, Aseton ve *N,N*-Dimetilformamid 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin 0.05 N TBAH ile Titrasyon Sonuçları

7	DMF		Aseton		<i>tert</i> -Butil Alkol		İzopropil Alkol	
	pH	mV	pH	mV	pH	mV	pH	mV
0.05	13,63	-366	12,50	-300	12,02	-284	7,54	-17
0.10	13,80	-376	14,84	-433	12,52	-314	9,57	-133
0.15	15,12	-451	18,65	-651	13,06	-345	9,23	-114
0.20	15,47	-471	18,72	-655	13,77	-386	9,39	-123
0.25	17,43	-584	19,54	-703	15,00	-458	9,74	-143
0.30	18,08	-621	19,85	-720	16,06	-519	10,04	-160
0.35	18,75	-659	-	-734	16,55	-547	10,37	-179
0.40	19,37	-695	-	-744	16,98	-571	10,59	-191
0.45	19,63	-710	-	-749	17,17	-581	10,84	-206
0.50	17,69	-599	-	-753	17,30	-589	11,13	-222
0.55	17,36	-580	-	-740	17,38	-593	11,32	-233
0.60	17,93	-613	-	-745	17,47	-598	11,48	-243
0.65	18,31	-634	-	-747	17,53	-601	11,71	-255
0.70	18,48	-645	-	-748	17,61	-605	11,93	-268
0.75	18,69	-657			17,68	-609	12,07	-276
0.80	18,80	-663			17,75	-612	12,22	-285
0.85	18,84	-665			17,82	-616	12,37	-293

Tablo 3.6. 8 Bileşinin İzopropil Alkol, *tert*-Butil Alkol, Aseton ve *N,N*-Dimetilformamid 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin 0.05 N TBAH ile Titrasyon Sonuçları

8	DMF		Aseton		<i>tert</i> -Butil Alkol		İzopropil Alkol	
	pH	mV	pH	mV	pH	mV	pH	mV
0.05	12,09	-278	12,78	-319	11,56	-253	9,59	-135
0.10	12,35	-293	14,59	-423	11,91	-274	11,49	-245
0.15	12,83	-321	16,96	-558	12,19	-290	11,63	-253
0.20	13,65	-368	19,47	-703	12,82	-326	11,71	-257
0.25	14,18	-399	-	-736	13,28	-352	11,74	-259
0.30	15,49	-475	-	-745	13,56	-369	11,73	-259
0.35	15,98	-503	-	-751	13,91	-389	11,74	-259
0.40	16,57	-538	-	-757	14,30	-411		
0.45	17,09	-567	-	-760	14,79	-439		
0.50	17,47	-590	-	-760	15,10	-457		
0.55	17,79	-608			15,32	-470		
0.60	18,03	-622			15,49	-480		
0.65	18,19	-631			15,60	-486		
0.70	18,37	-642			15,70	-492		

Tablo 3.7 9 Bileşiminin İzopropil Alkol, *tert*-Butil Alkol, Aseton ve *N,N*-Dimetilformamid 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin 0.05 N TBAH ile Titrasyon Sonuçları

9	DMF		Aseton		<i>tert</i> -Butil Alkol		İzopropil Alkol	
	pH	mV	pH	mV	pH	mV	pH	mV
0.05	12,30	-309	14,42	-430	8,83	-94	10,40	-200
0.10	12,74	-334	18,81	-684	9,57	-137	10,63	-214
0.15	13,41	-373	19,37	-717	10,44	-187	10,84	-226
0.20	14,26	-423	19,47	-723	11,52	-249	11,04	-238
0.25	15,18	-476	19,49	-725	11,39	-241	11,26	-250
0.30	15,76	-510	19,48	-725	11,88	-269	12,21	-306
0.35	16,01	-524	19,36	-719	12,31	-294	12,39	-317
0.40	16,17	-533	19,29	-716	12,61	-311	12,53	-324
0.45	16,29	-541	19,27	-715	13,50	-362	12,64	-331
0.50	16,33	-543	19,19	-710	14,26	-406	12,75	-337
0.55	16,42	-548	19,09	-706	14,83	-438	12,88	-345
0.60	16,44	-550	19,02	702	15,17	-458	12,97	-350
0.65			18,94	-698	15,45	-473	13,06	-355
0.70			18,90	-695	15,67	-486	13,15	-361
0.75					15,81	-494		
0.80					15,91	-500		
0.85					16,03	-507		
0.90					16,14	-513		

Tablo 3.8. 10 Bileşiminin İzopropil Alkol, *tert*-Butil Alkol, Aseton ve *N,N*-Dimetilformamid 10^{-3} M'luk Çözeltilerinin 0.05 N TBAH ile Titrasyon Sonuçları

10	DMF		Aseton		<i>tert</i> -Butil Alkol		İzopropil Alkol	
	pH	mV	pH	mV	pH	mV	pH	mV
0.05	14,25	-402	12,59	-305	12,23	-295	12,16	-283
0.10	14,35	-408	15,91	-496	12,92	-336	16,65	-312
0.15	14,72	-430	19,19	-685	13,77	-385	12,54	-306
0.20	15,27	-462	19,87	-724	15,28	-470	12,62	-310
0.25	16,08	-508	19,87	-725	15,74	-497	12,62	-310
0.30	16,55	-536	19,87	-725	16,13	-519	12,73	-317
0.35	17,05	-565	19,76	-720	16,44	-536	12,74	-318
0.40	17,40	-585	19,78	-722	16,62	-546	12,78	-320
0.45	17,81	-609	19,90	-729	16,75	-553	12,63	-311
0.50	18,10	-625	19,89	-729	16,81	-557	12,75	-318
0.55	18,25	-634	19,83	-726	16,88	-560	12,76	-319
0.60	18,43	-645	19,44	-704	16,95	-564	12,79	-321
0.65	18,71	-661	19,48	-707	17,00	-567	12,79	-321
0.70	18,81	-667			17,07	-570		
0.75	18,93	-674						

Tablo 3.9. 11 Bileşiminin İzopropil Alkol, *tert*-Butil Alkol, Aseton ve *N,N*-Dimetilformamid 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin 0.05 N TBAH ile Titrasyon Sonuçları

11	DMF		Aseton		<i>tert</i> -Butil Alkol		İzopropil Alkol	
	pH	mV	pH	mV	pH	mV	pH	mV
0.05	16,11	-507	12,71	-313	11,81	-268	8,28	-60
0.10	16,06	-505	13,84	-378	11,94	-276	12,47	-301
0.15	16,11	-508	15,10	-451	12,88	-330	13,18	-343
0.20	16,35	-522	18,84	-667	13,14	-345	13,52	-362
0.25	16,54	-534	19,61	-712	13,78	-382	13,75	-376
0.30	17,69	-600	19,95	-731	13,78	-382	13,88	-384
0.35	18,11	-625	-	-740	15,39	-475	14,05	-393
0.40	18,45	-644	-	-746	15,94	-506	14,16	-400
0.45	18,54	-650	-	-749	16,96	-565	14,27	-406
0.50	18,68	-658	-	-750	17,06	-571	14,36	-412
0.55	19,00	-677			17,19	-578	14,43	-416
0.60	19,18	-687			17,71	-608	14,49	-420
0.65	19,31	-695			17,77	-612	14,56	-423
0.70	19,21	-690			17,83	-615		
0.75	19,32	-696			17,89	-619		

Tablo 3.10. 12 Bileşiminin İzopropil Alkol, *tert*-Butil Alkol, Aseton ve *N,N*-Dimetilformamid 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin 0.05 N TBAH ile Titrasyon Sonuçları

12	DMF		Aseton		<i>tert</i> -Butil Alkol		İzopropil Alkol	
	pH	mV	pH	mV	pH	mV	pH	mV
0.05	11,29	-232	13,19	-340	12,56	-311	8,89	-95
0.10	12,22	-286	14,63	-422	13,59	-371	10,54	-191
0.15	12,90	-330	19,55	-705	16,62	-547	10,88	-211
0.20	13,48	-358	-	-754	17,11	-574	11,05	-220
0.25	14,63	-424	-	-760	17,29	-585	11,23	-231
0.30	15,57	-479	-	-766	17,34	-588	11,34	-237
0.35	16,02	-505	-	-766	17,45	-594	11,49	-246
0.40	16,49	-532	-	-766	17,50	-596	11,65	-255
0.45	16,98	-560			17,52	-597	11,74	-260
0.50	17,35	-581			17,54	-598	11,84	-266
0.55	17,64	-598					11,96	-273
0.60	17,91	-614					12,05	-278
0.65	18,13	-627					12,24	-279
0.70	18,32	-638					12,31	-293
0.75	18,49	-647					12,35	-295
0.80	18,65	-657					12,41	-299

Tablo 3.11. 13 Bileşiminin İzopropil Alkol, *tert*-Butil Alkol, Aseton ve *N,N*-Dimetilformamid 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin 0.05 N TBAH ile Titrasyon Sonuçları

13	DMF		Aseton		<i>tert</i> -Butil Alkol		İzopropil Alkol	
	pH	mV	pH	mV	pH	mV	pH	mV
0.05	12,25	-280	19,31	-681	16,41	-541	15,49	-465
0.10	15,17	-447	-	-795	18,01	-635	16,03	-496
0.15	17,41	-576	-	-800	17,92	-629	16,31	-512
0.20	18,62	-645	-	-787	18,37	-655	16,47	-521
0.25	19,33	-685	-	-791	18,37	-655	16,59	-527
0.30	-	-738	-	-774	18,48	-660	16,69	-533
0.35	-	-764	-	-770	18,59	-666	16,84	-541
0.40	-	-782	-	-766	18,67	-671	16,89	-545
0.45	-	-794	-	-767	18,74	-674	16,89	-545
0.50	-	-801			18,80	-677		
0.55	-	-806			18,81	-678		
0.60	-	-810						
0.65								
0.70								
0.75								

Tablo 3.12. 14 Bileşğinin İzopropil Alkol, *tert*-Butil Alkol, Aseton ve *N,N*-Dimetilformamid 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin 0.05 N TBAH ile Titrasyon Sonuçları

14	DMF		Aseton		<i>tert</i> -Butil Alkol		İzopropil Alkol	
	pH	mV	pH	mV	pH	mV	pH	mV
0.05	8,84	-109	12,56	-323	11,43	-258	9,35	-138
0.10	9,14	-127	13,83	-396	13,62	-384	11,67	-272
0.15	9,45	-144	14,93	-459	14,00	-406	11,87	-284
0.20	10,38	-198	15,16	-473	14,37	-427	11,98	-290
0.25	10,65	-213	15,51	-493	14,12	-413	12,09	-297
0.30	11,10	-239	15,83	-513	14,34	-426	12,22	-304
0.35	11,35	-254	16,07	-526	14,40	-430	12,34	-311
0.40	11,52	-264	16,24	-537	14,91	-459	12,47	-319
0.45	11,68	-273	17,24	-597	15,13	-472	12,61	-327
0.50	11,81	-280	17,34	-603	15,28	-481	12,81	-338
0.55	11,95	-288	17,44	-608	15,45	-491	12,88	-342
0.60	12,07	-296	17,51	-613	15,53	-495	12,98	-348
0.65	12,20	-303	17,59	-617	15,58	-499	13,10	-355
0.70	12,31	-309	17,64	-620	15,73	-507	13,21	-361
0.75	12,42	-316			15,72	-507	13,31	-367
0.80	12,54	-323					13,40	-372
0.85								
0.90								

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Sentezlenen Yeni Bileşiklere Ait Spektral Verilerin Yorumlanması

Yapılan çalışmada ilk olarak literatürde kayıtlı 9 adet 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (3) bileşiği 3 basamakta elde edilmiştir. Çalışmanın orijinal sentez bölümünde bu bileşiklerin çalışmada sentezlenen 2-formil-6-metoksifenil 4-metilbensulfonat (4) ile reaksiyonundan 9 adet 5 tipi yeni 2-Metoksi-6-[3-alkil/aril-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbensulfonat bileşiği sentezlenmiş ve yapıları IR, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrum verileri kullanılarak aydınlatılmıştır.

Yeni bileşiklerin yapı aydınlatılmasında kullanılan spektral veriler aşağıda yorumlanmıştır:

Tez kapsamında öncelikle çalışma için gerekli benzaldehid türevi olan 4 tipi 2-formil-6-metoksifenil 4-metilbensulfonat bileşiği elde edilmiştir. Bu bileşiğin IR spektrumunda aldehidler için karakteristik olan fermi dubleti, beklendiği üzere 2844 ve 2760 cm⁻¹ görülmüştür. Ayrıca, 1693 cm⁻¹ de C=O gerilme titreşimleri, 1379 ve 1194 cm⁻¹ de SO₂ titreşimleri gözlemlenmiş olup, bu veriler yapıyı doğrular niteliktedir. Bu bileşiğin IR spektrumunda başlangıç bileşiği olan *o*-vanilinin içerdiği fenolik –OH gerilme titreşiminin görülmemesi de reaksiyonun gerçekleştiğini göstermektedir.

4 Tipi benzaldehid türevinin ¹H-NMR (DMSO-*d*₆) spektrumu incelendiğinde karakteristik CHO protonunun δ 10.00 da ortaya çıktığı görülmüştür. Bileşiğin içerdiği 7 adet aril protonları δ 7.69-7.36 ppm aralığında gözlenirken, OCH₃ grubuna ait CH₃ protonları δ 3.44 ppm de bir singlet olarak ortaya çıkmıştır. 2-formil-6-metoksifenil 4-metilbensulfonat (4) bileşiğinin DMSO-*d*₆ da alınan ¹³C-NMR spektrumunda δ 188.21 ppm de karakteristik CHO karbonu gözlemlenirken, δ 152.52 – 119.30 ppm de aromatik karbonlar, δ 56.39 ppm de OCH₃ karbonu ortaya çıkmıştır. Bu değerler literatürle uyumlu olarak bulunmuştur [112, 113].

Tez kapsamında sentezlenen 5 tipi 9 adet yeni 2-Metoksi-6-[3-alkil/aril-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-fenil *p*-metilbensulfonat bileşiğinin IR spektrum verileri incelendiğinde 3186-3167 cm⁻¹ bölgesinde N-H gerilme titreşimlerine, 1741-

1688 cm^{-1} bölgelerinde C=O gerilme titreşimlerine, 1612-1584 cm^{-1} aralığında C=N titreşimlerine ve 1415-1180 cm^{-1} aralıklarında SO_2 titreşimlerine ait piklere rastlanmıştır.

5 Tipi bileşiklerin $^1\text{H-NMR}$ spektrumları incelendiğinde bu bileşiklerdeki N-H protonlarının δ 12.41-11.85 ppm aralığında singlet sinyali verdiği gözlemlenmiştir. Yine aynı bileşiklerde yer alan N=CH protonlarına ait pikler δ 9.61-9.51 ppm aralığında singlet olarak gözlemlenmiştir. 5 Tipi bileşiklerde bulunan aromatik protonlara ait piklerin δ 7.88-6.91 ppm aralığında olduğu görülmüştür. δ 3.63-3.44 ppm civarında OCH_3 protonları gözlenirken, 11 bileşiğindeki C-3 substitue OCH_3 protonları δ 3.72 ppm'de singlet olarak gözlemlenmiştir. C-3'e bağlı benzilik protonlar (Ph-CH_2) δ 4.06-3.94 ppm aralığında ortaya çıkmıştır. 10 bileşiğinin C-3 substitue Ph-CH_3 protonları δ 2.27 ppm'de ve 6 bileşiğinde C-3 substitue CH_3 protonları δ 2.22 ppm'de sinyal vermiştir. 7 bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda δ 2.66 ve 1.19 ppm'de alifatik protonlar, 8 bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda δ 2.60, 1.70 ve 0.97 ppm'de alifatik protonlar gözlemlenmiştir. Spektrumlarda gözlemlenen bu değerler yapı ile ve literatürdeki verilerle uyumludur [112, 113].

5 Tipi bileşiklerin $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumları incelendiğinde δ 151.25-150.12 ppm aralığında triazol C-5 karbonlarına, δ 149.41-147.26 ppm arasında N=CH karbonlarına ve δ 147.50-144.41 ppm aralığında triazol C-3 karbonlarına ait pikler gözlenmiştir. Ayrıca, δ 158.20-115.78 ppm aralığında aromatik halka karbonlarına ait pikler ortaya çıkmıştır. Bu bileşiklerin $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumlarında OCH_3 grubuna ait pikler δ 56.40-55.07 ppm aralığında, Ph-CH_3 protonları ise δ 21.62-20.98 ppm aralığında, 9-13 bileşiklerine ait CH_2Ph karbonları δ 31.00-30.13 ppm aralığında görülürken; alifatik karbonlar 10 bileşiğinde δ 20.59 ppm'de (PhCH_3), 8 bileşiğinde δ 26.63, 18.86, 13.49 ppm'de ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 7 bileşiğinde δ 18.44, 10.03 ppm'de (CH_2CH_3) ve 6 bileşiğinde δ 11.49 ppm'de (CH_3) gözlemlenmiştir.

4.2. Antioksidan İncelemesi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

4.2.1. İndirgeme Gücü

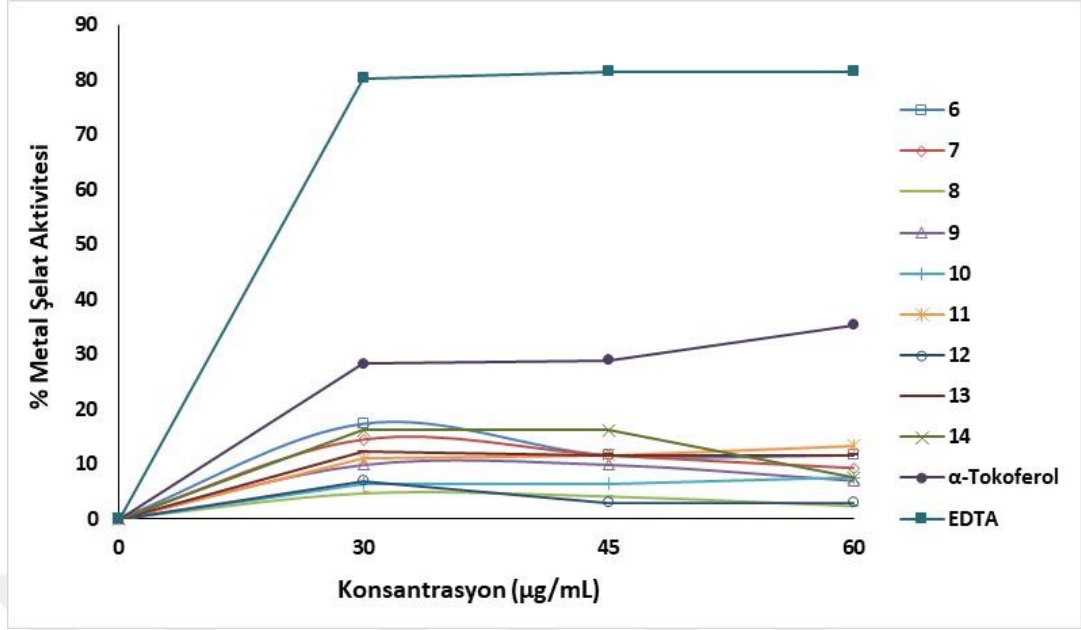
Gerçekleştirilen indirgeme gücü testleri sonucu sentezi yapılan bileşiklere ait ortaya çıkan bulgular Tablo 3.1’de sunulmuştur. 5 Tipi bileşiklerin 700 nm’de gerçekleştirilen ölçümlerde absorbanslarının, standartlarla kıyaslandığında oldukça düşük değerde olması indirgeyici özelliğin 5 Tipi bileşiklerde olmadığını ortaya koymaktadır.

4.2.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

Tablo 3.2’de serbest radikal giderme aktivite testleri sonucunda Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin ele geçen verileri gösterilmiştir. Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin 517 nm’de değişen derişimlerde yapılan ölçümlerde serbest radikal giderme aktiviteleri % inhibisyon olarak görülmektedir. Bu bileşikler kontrolden daha yüksek değerde absorbans değerlerine sahip olduklarından, bileşiklerin serbest radikal giderme özellikleri bulunmamaktadır.

4.2.3. Metal Şelat Aktivitesi

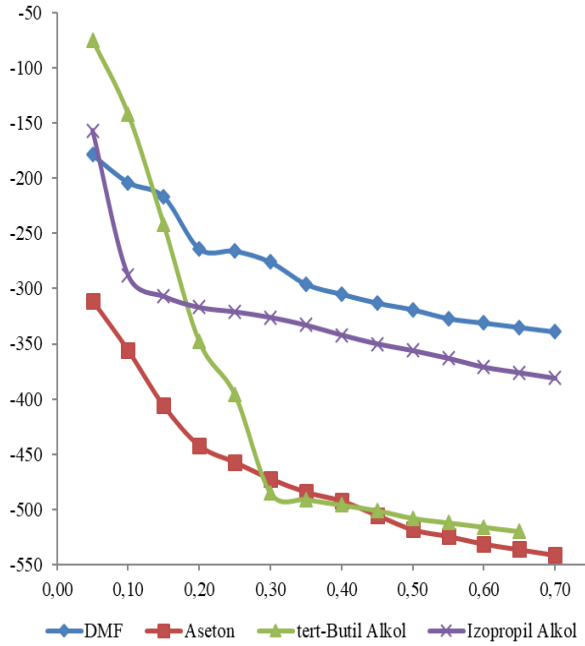
Sentezi gerçekleştirilen 5 tipi bileşiklerin ve standartların Şekil 4.1’deki grafikte metal şelatlama aktiviteleri % inhibisyon olacak şekilde sunulmaktadır. 5 tipi bileşiklerin düşük oranda metal şelatlama aktivitesine sahip oldukları tablo 3.3’te ve grafikte sunulmuştur. Ancak sentezlenen bileşiklerden bazıları anlamlı olarak diğerlerine göre daha iyi şelatörlerdir. Bu bileşikler arasında 10 ve 11 bileşikleri, diğer bileşiklere göre anlamlı olarak daha iyi şelatörlük göstermektedir. Maksimum konsantrasyon için, EDTA > α - tokoferol > 11 > 10 şeklinde bir sıralama yapılabilir.



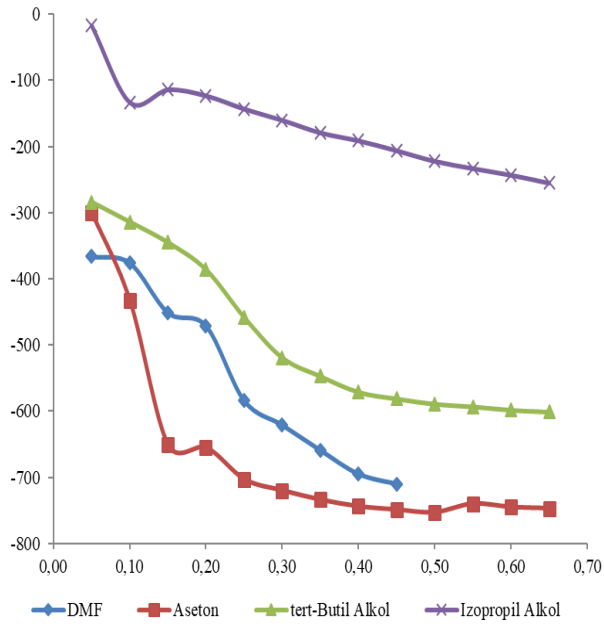
Şekil 4.1.1. 5 Tipi Bileşiklerin Konsantrasyona Karşı % Metal Şelat Aktiviteleri

4.3. Asitlik Sabitlerinin Tayini

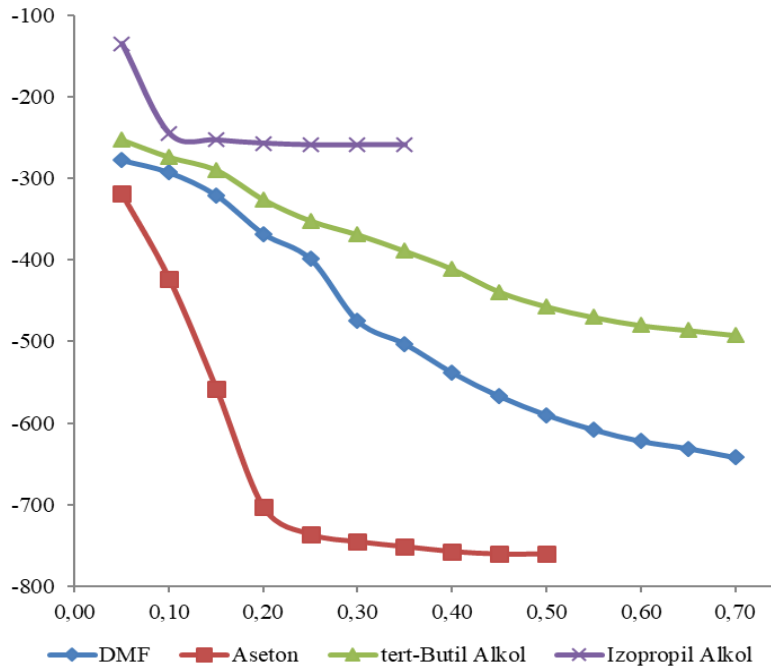
4.3.1. Titrasyon Grafikleri



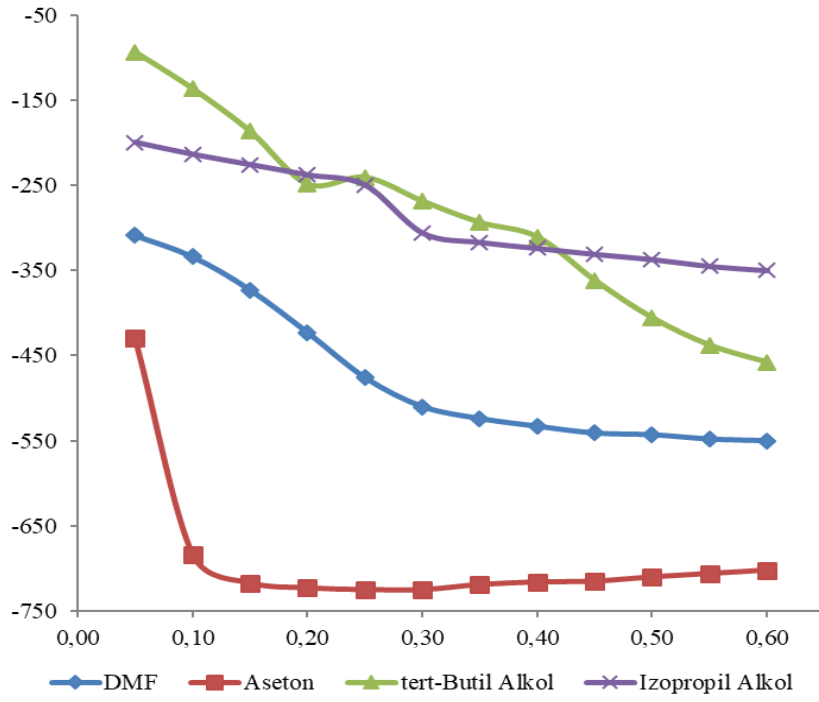
Şekil 4.2. 0,05 N TBAH ile 6 Bileşiğinin 4 ayrı susuz çözücüde hazırlanan 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin Titrasyon Grafikleri



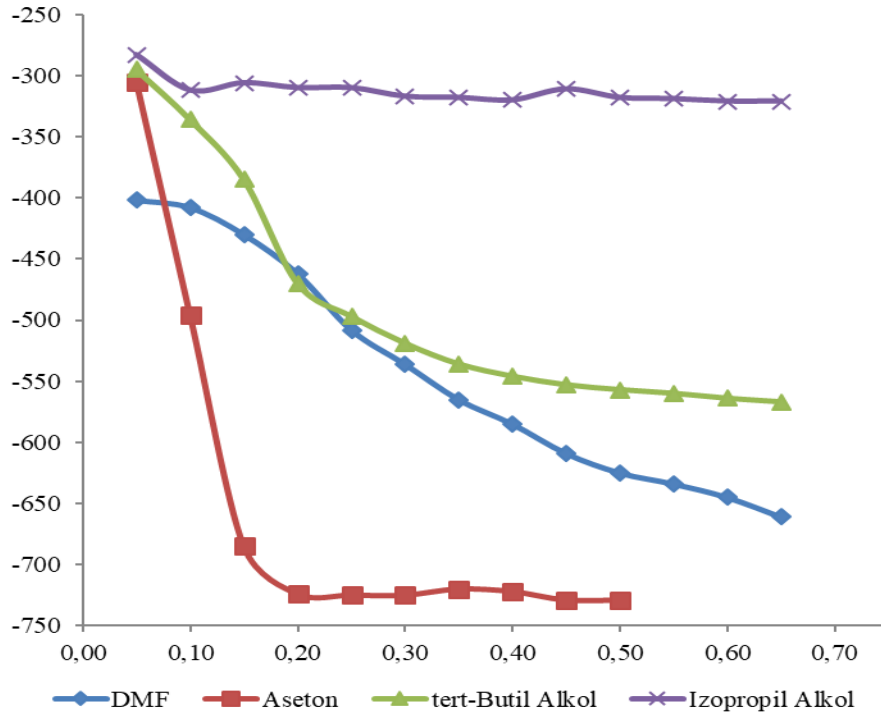
Şekil 4.3. 0,05 N TBAH ile **7** Bileşiğinin 4 ayrı susuz çözücüde hazırlanan 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin Titrasyon Grafikleri



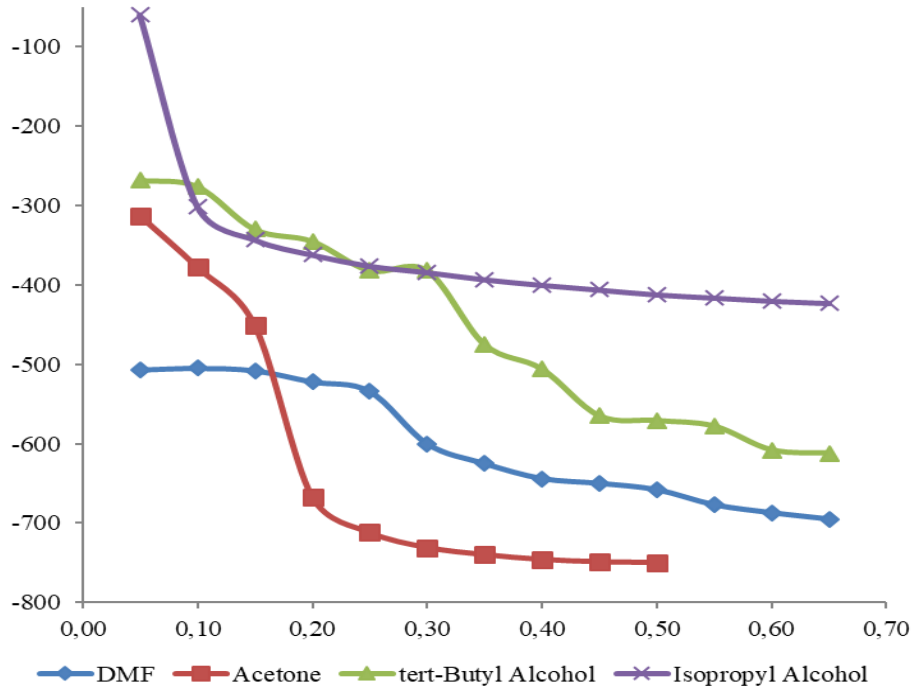
Şekil 4.4. 0,05 N TBAH ile **8** Bileşiğinin 4 ayrı susuz çözücüde hazırlanan 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin Titrasyon Grafikleri



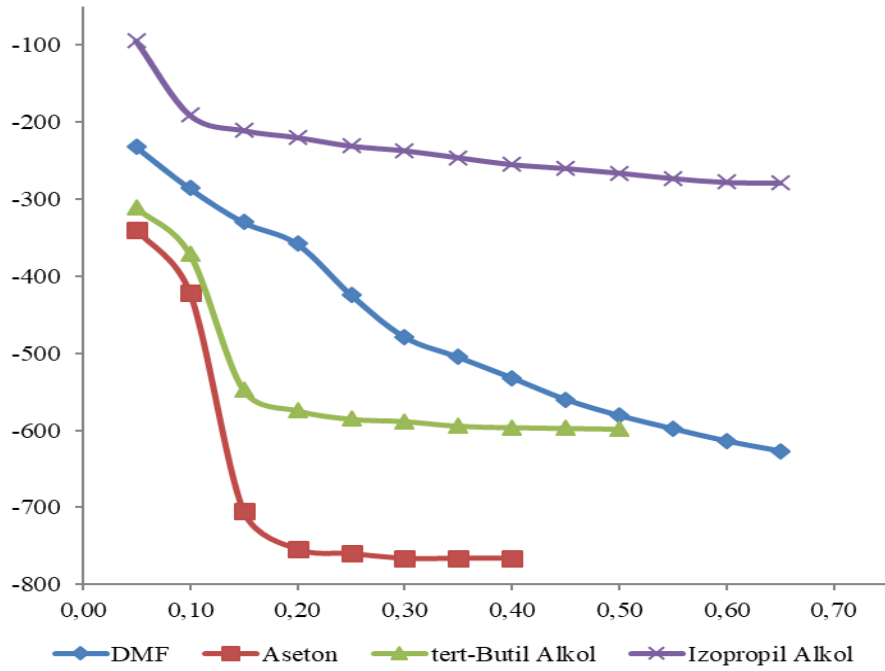
Şekil 4.5. 0,05 N TBAH ile 9 Bileşiğinin 4 ayrı susuz çözücüde hazırlanan 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin Titrasyon Grafikleri



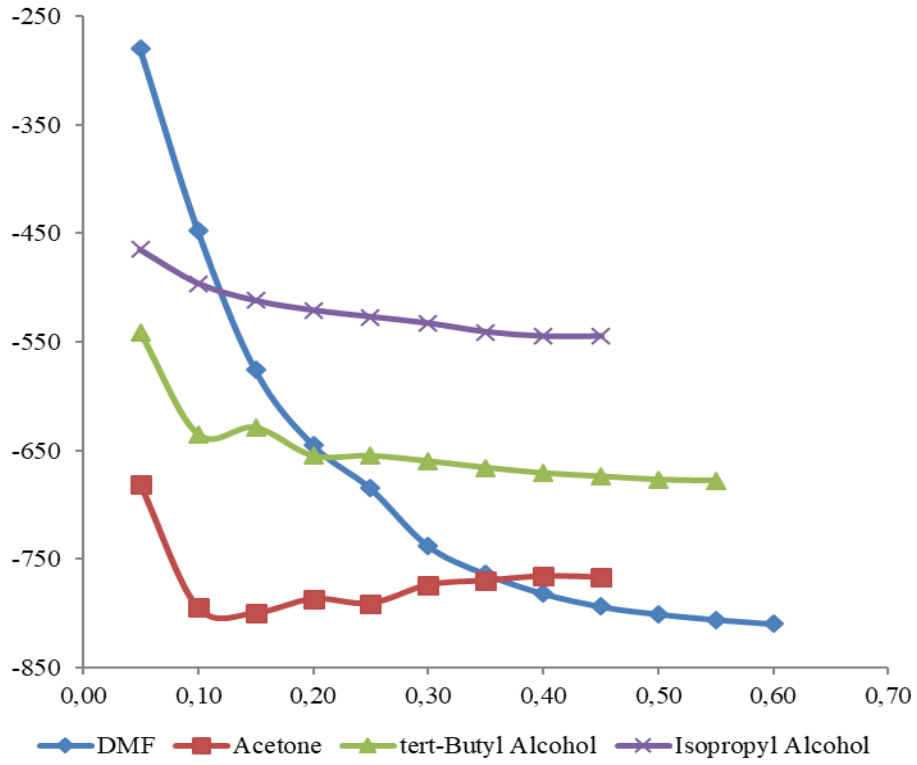
Şekil 4.6. 0,05 N TBAH ile 10 Bileşiğinin 4 ayrı susuz çözücüde hazırlanan 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin Titrasyon Grafikleri



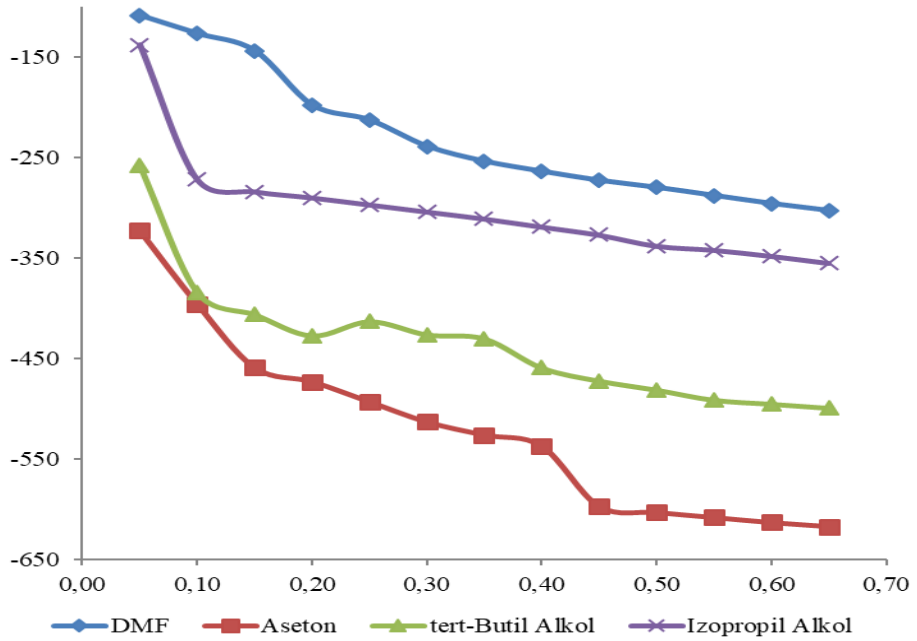
Şekil 4.7. 0,05 N TBAH ile 11 Bileşiğinin 4 ayrı susuz çözücüde hazırlanan 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin Titrasyon Grafikleri



Şekil 4.8. 0,05 N TBAH ile 12 Bileşiğinin 4 ayrı susuz çözücüde hazırlanan 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin Titrasyon Grafikleri



Şekil 4.9. 0,05 N TBAH ile 13 Bileşiğinin 4 ayrı susuz çözücünde hazırlanan 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin Titrasyon Grafikleri

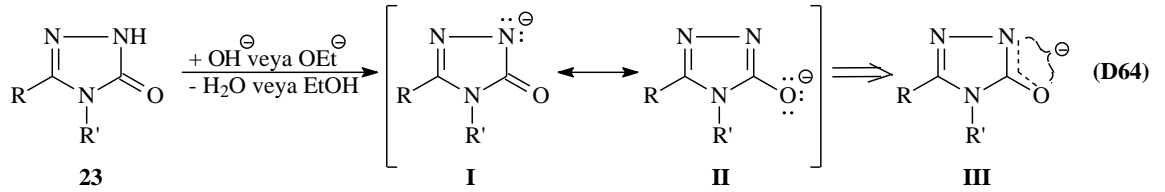


Şekil 4.10. 0,05 N TBAH ile 14 Bileşiğinin 4 ayrı susuz çözücünde hazırlanan 10^{-3} M'lık Çözeltilerinin Titrasyon Grafikleri

4.3.2. Potansiyometrik Titrasyon Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Gerçekleştirilen çalışmada sentezi gerçekleştirilen 5 tipi 9 adet yeni bileşiğin 4 ayrı susuz çözücünde yarı nötralizasyon mV değerleri ve bu değerlere karşı ortaya çıkan asitlik sabitlerinin analizi gerçekleştirilmiştir. Asitlik sabitlerinin tayini potansiyometrik titrasyon kullanılarak 25 °C’de susuz ortamda gerçekleştirilmiştir. 4,5-Dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on türevlerinin susuz ortam çözücülerindeki çözünürlüğü sulu ortamdakine oranla daha yüksek olduğundan susuz ortam çözücülerine baş vurulmuştur. Çözücü olarak tetrabutylamonyum hidroksidin (TBAH) izopropil alkoldeki çözeltisinden faydalanılmıştır.

4,5-Dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on halka sisteminde N-H protonunun zayıf asidik özelliğe sahip olduğu bilinmektedir. Halkadaki N-H protonunun asidik özellik ortaya koymasının sebebi aşağıda verilen denklemde açıklanabilir: halkadaki N-H hidrojeni Denklem 64 de görüldüğü üzere hidrojen proton olarak koptuğunda kovalent bağı oluşturan elektronlar elektronegatifliği yüksek ikinci atom olan oksijeni de kapsayacak biçimde delokalize olduğundan barındırılması rahat olur ve buna bağlı olarak anyonun karalılığı artar ve böylece denge ürünler ilerler; sonuç olarak da asitlik artar (I ve II rezonans yapılarının rezonans hibridi III olup, elektronegatifliği yüksek azot ve oksijen atomlarını kapsayacak biçimde negatif yükün delokalize olduğunu ortaya koymaktadır).



5 Tipi bileşiklerin *tert*-butil alkol, aseton, izopropil alkol ve *N,N*-dimetilformamid çözücülerindeki yarı nötralizasyon potansiyelleri ve bu potansiyellerin karşılığında asitlik sabitleri aşağıda Tablo 4.1’de sunulmuştur:

Tablo 4.1. 5 Tipi bileşiklerin Yarı Nötralizasyon Potansiyelleri (mV) ve Karşın Olan pK_a Değerleri

Bileşik No	DMF		Aseton		<i>tert</i> -Butil Alkol		İzopropil Alkol	
	pK_a	HNP	pK_a	HNP	pK_a	HNP	pK_a	HNP
6	10.50	-192	-	-	10.53	-192	-	-
7	13.80	-376	12.50	-300	12.52	-314	-	-
8	12.59	-307	13.68	-371	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	10.74	-220
10	-	-	-	-	12.58	-316	-	-
11	16.08	-506	12.71	-313	12.88	330	-	-
12	12.22	286	-	-	12.56	311	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	15.16	473	-	-	-	-

Çalışmada, 9 adet yeni 5 tipi bileşiğinin 4 ayrı susuz çözücüde potansiyometrik titrasyon işlemine tabi tutulup yarı-nötralizasyon metodundan yararlanarak ayrı ayrı bileşiklerin çözücülerdeki HNP ve karşın olan pK_a değerlerinin analiz işlemi gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4.1’in incelenmesi sonucu görüleceği üzere 6 bileşiğinin aseton ve izopropil alkol çözücülerinde, 7 bileşiğinin izopropil alkol çözücüsünde, 8 bileşiğinin *tert*-butil alkol ve izopropil alkol çözücülerinde, 9 bileşiğinin *N,N*-dimetilformamid, aseton ve *tert*-butil alkol çözücülerinde, 10 bileşiğinin *N,N*-dimetilformamid, aseton ve izopropil alkol çözücülerinde, 11 bileşiğinin izopropil alkol çözücüsünde, 12 bileşiğinin aseton ve izopropil alkol çözücülerinde, 13 bileşiğinin hiçbir çözücüde ve 14 bileşiğinin *N,N*-dimetilformamid, *tert*-butil alkol ve izopropil alkol çözücülerinde dönüm noktaları ve karşın olan yarı-nötralizasyon potansiyelleri belirlenemediğinden pK_a değerlerinin analizi gerçekleştirilememiştir.

Sonuçlar çözücülerin dielektrik sabitleri göz önüne alınarak incelendiğinde, asitlik sıralamasının teorik açıdan dielektrik sabitinin artmasıyla asitliğin de artması gerekir.

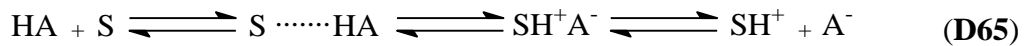
Asitlik artışı bu sonuca bakıldığında *tert*-butil alkol ($\epsilon=12$) < izopropil alkol ($\epsilon=19.4$) < aseton ($\epsilon=36$) < *N,N*-dimetilformamid ($\epsilon=37$) şeklinde olmalıdır. Tablo 4.1'in incelenmesi sonucu her bir bileşik için kullanılan izopropil alkol, *N,N*-dimetilformamid, aseton ve *tert*-butil alkol gibi amfiprotik ve dipolar aprotik susuz çözücülerdeki asitlik sıralamasının aşağıdaki şekilde olduğu görülmüştür:

6:	<i>N,N</i> -dimetilformamid > <i>tert</i> -butil alkol
7:	aseton > <i>tert</i> -butil alkol > <i>N,N</i> -dimetilformamid
8:	<i>N,N</i> -dimetilformamid > aseton
9:	izopropil alkol
10:	<i>tert</i> -butil alkol
11 :	aseton > <i>tert</i> -butil alkol > <i>N,N</i> -dimetilformamid
12:	<i>N,N</i> -dimetilformamid > <i>tert</i> -butil alkol
13 :	
14:	aseton

Yeni bileşiklerin asitlik kuvvetleri dielektrik sabiti yönünden bakıldığında, izopropil alkol ve *tert*-butil alkol'ün dielektrik sabitleri sırasıyla 19.4 ve 12.0 olduğundan izopropil alkoldeki asitliğin daha büyük olması beklenir. Sentezlenen bileşiklerden, izopropil alkol çözücüsünde yalnızca 9 bileşimde dönüm noktası belirlendiği ve bu bileşimde *tert*-butil alkol çözücüsünde dönüm noktası tayin edilemediğinden dolayı değerlendirme yapılamamıştır.

Dipolar aprotik çözücülerdeki asitlik kuvveti incelendiğinde, *N,N*-dimetilformamid > aseton sıralamasında olması beklenir. Sentezlenen yeni bileşiklerden sadece 8 bileşiminin bu teorik sıralamaya uygun olduğu görülmüştür.

Dipolar aprotik çözücüler liyonyum iyonunu oluşturdukları halde liyat iyonunu oluşturamazlar. Moleküler asit HA ve çözücü S olduğunda protofilik (*N,N*-dimetilformamid gibi) çözücülerde denge,



şeklindedir. Denklem 65’de görülen dengelerde protofilik çözücülerde birinci ve ikinci dengeler yüksek oranda meydana gelirken üçüncü denge ise çok az oranda ürünlere ilerler. Üçüncü dengede oluşan serbest SH⁺ en kuvvetli asit olduğundan titrantla direkt tepkime verebilir. Fakat çözücü aseton gibi ise denge çok daha düşük oranda ürünlere ilerler. Üçüncü dengeye bakıldığında eser oranda oluşur. Böyle çözücüde ouşan SH⁺ iyonu, protofilik çözücüde oluşandan çok daha kuvvetli asittir.

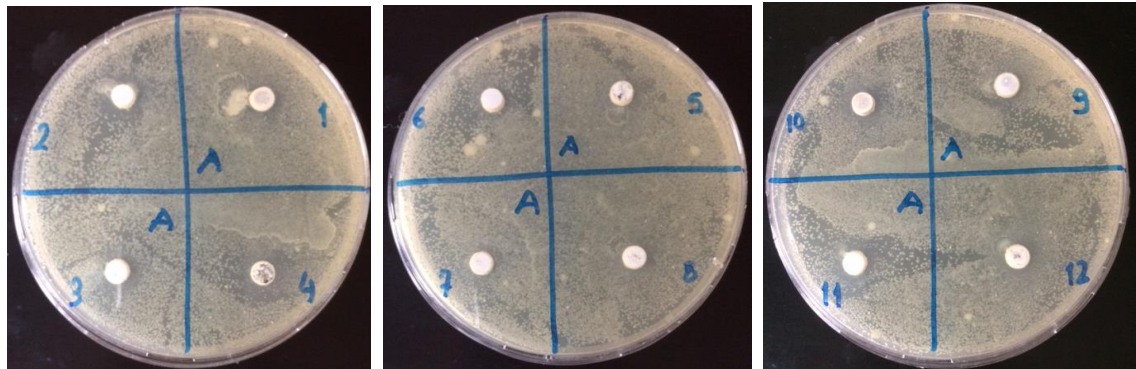
Fonksiyonel gruplar göz önüne alındığında: R fonksiyonel gruplarının asidik protona olan uzaklığı nedeniyle etkisi çok azdır. Her bir çözücüye göre bileşiklerin asitlikleri irdelendiğinde sıralamanın:

<i>N,N</i>-dimetilformamid için	6 > 12 > 8 > 7 > 11
Aseton için	7 > 11 > 8 > 14
<i>tert</i>-Butil alkol için	6 > 7 > 12 > 10 > 11
İzopropil alkol için	9 şeklinde olduğu belirlendi.

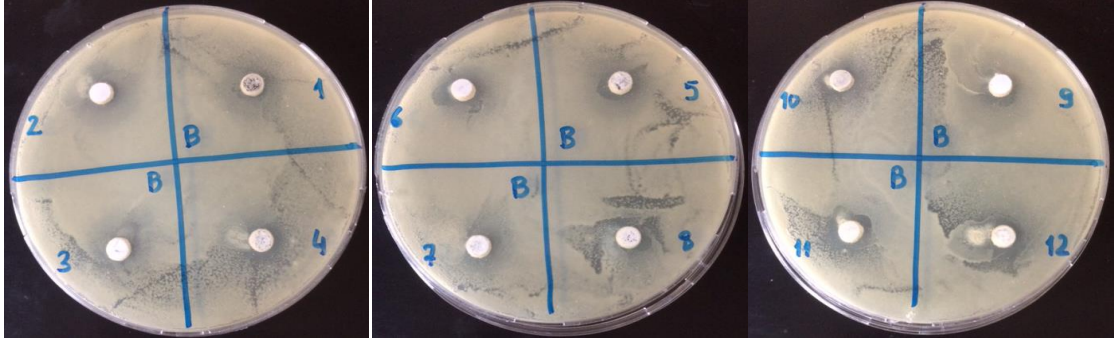
Bu sıralama asitlik kuvvetindeki C₃’e bağlı farklı grupların etkisinin yanında yapılan başka çalışmalarda görüldüğü gibi asitlik kuvvetini etkileyen faktörler arasında London çekim kuvvetleri ve çözünürlüğün de olduğu düşünülmektedir.

4.4. Antimikrobiyal İncelemeleri

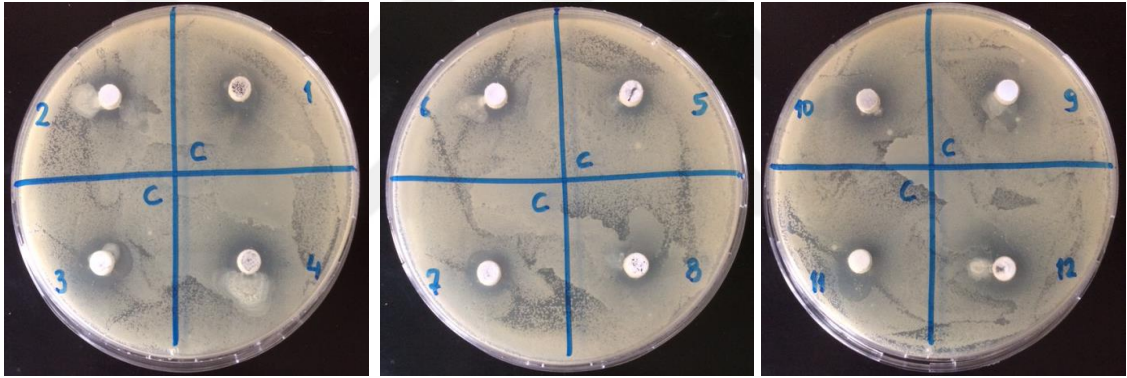
Sentezlenen yeni maddelerin antimikrobiyal aktivite sonuçları inhibisyon zonunun çapı dikkate alınarak yorumlanmıştır.



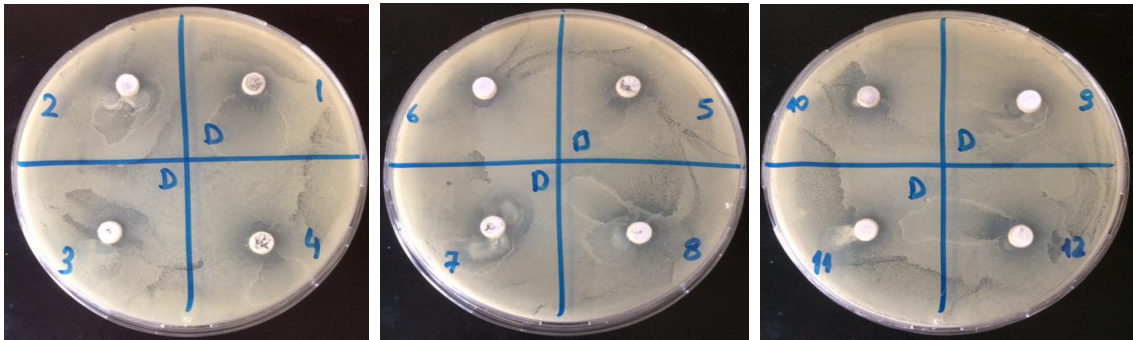
Şekil 4.11 6 (1), 7 (4), 8 (5), 9 (3), 10 (6), 11 (9), 12 (7), 13 (8), 14 (2) bileşiklerinin *Bacillus substilis*'e karşı etkinlik kapasitesi



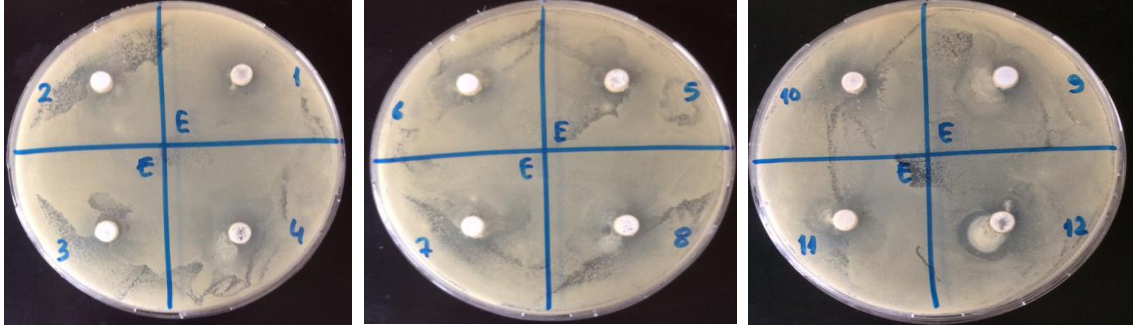
Şekil 4.12 6 (1), 7 (4), 8 (5), 9 (3), 10 (6), 11 (9), 12 (7), 13 (8), 14 (2) bileşiklerinin *Bacillus cereus*'e karşı etkinlik kapasitesi



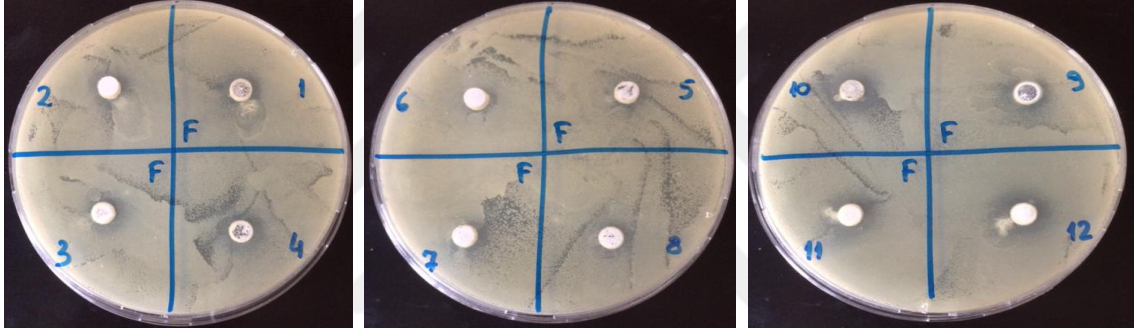
Şekil 4.13 6 (1), 7 (4), 8 (5), 9 (3), 10 (6), 11 (9), 12 (7), 13 (8), 14 (2) bileşiklerinin *Pseudomonas aeruginosa*'e karşı etkinlik kapasitesi



Şekil 4.14 6 (1), 7 (4), 8 (5), 9 (3), 10 (6), 11 (9), 12 (7), 13 (8), 14 (2) bileşiklerinin *Klebsiella pneumoniae*'e karşı etkinlik kapasitesi



Şekil 4.15 6 (1), 7 (4), 8 (5), 9 (3), 10 (6), 11 (9), 12 (7), 13 (8), 14 (2) bileşiklerinin *Staphylococcus aureus*'e karşı etkinlik kapasitesi

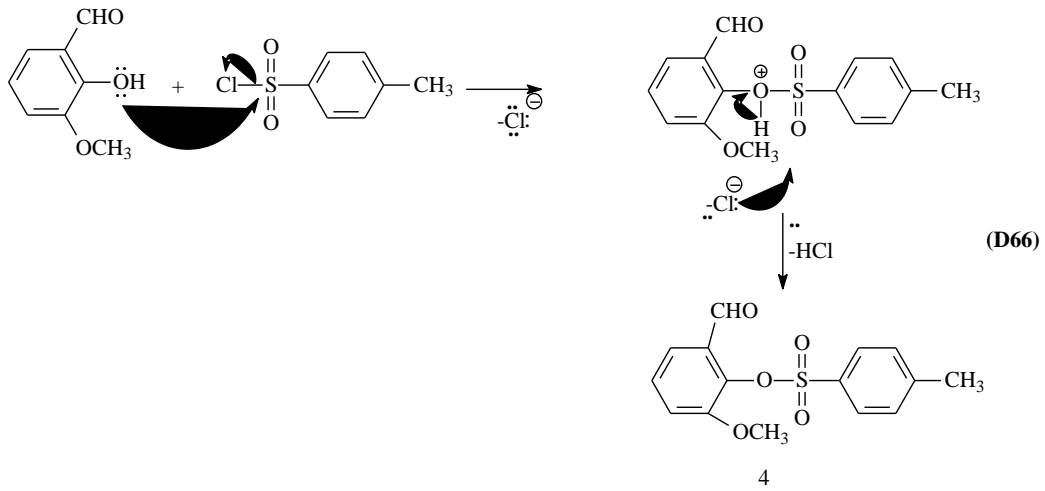


Şekil 4.16 6 (1), 7 (4), 8 (5), 9 (3), 10 (6), 11 (9), 12 (7), 13 (8), 14 (2) bileşiklerinin *Escherichia coli*'e karşı etkinlik kapasitesi

	Bileşik Numarası	B. subtilis	B. cereus	P. aeruginosa	K. pneumoniae	S. aureus	E. coli
1	6	-	9	14	9	-	-
2	14	-	9	13	11	-	-
3	9	-	10	16	9	-	-
4	7	-	12	12	10	-	-
5	8	-	11	10	12	-	-
6	10	-	9	13	10	-	-
7	12	-	8	14	13	-	-
8	13	-	10	12	9	-	-
9	11	-	11	15	9	13	11
Ampicillin X3261		33	36	36	35	37	34
Neomycin X3385		17	17	17	16	13	16
Streptomycin X3385		12	12	12	11	21	10

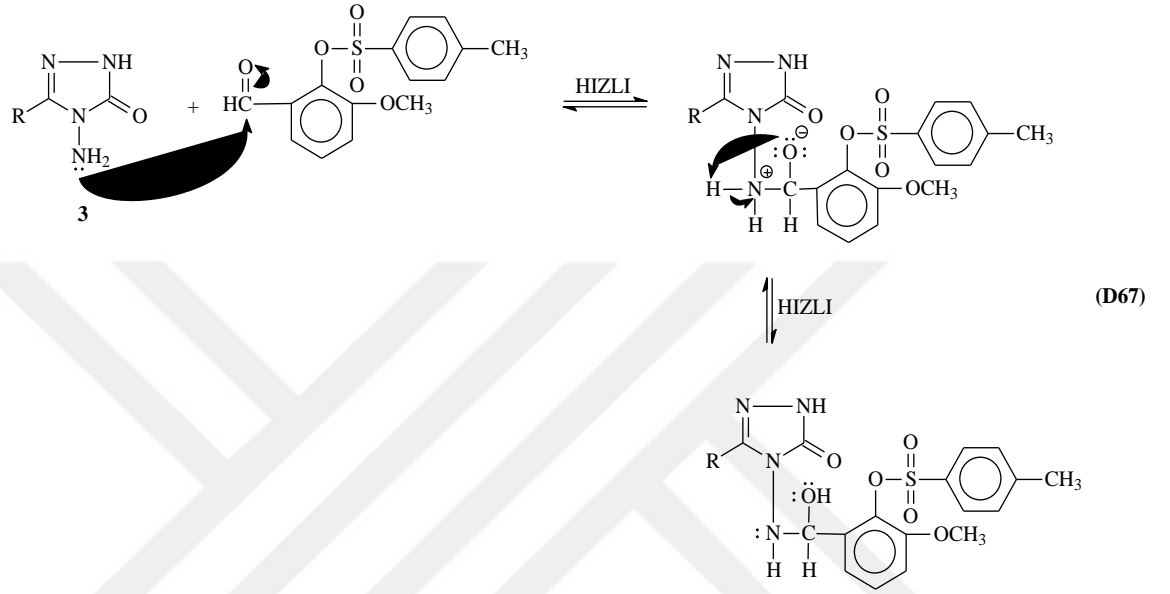
4.5. İncelenen Reaksiyonların Mekanizmaları

Çalışmada 2-Hidroksi- 3-metoksibenzaldehit ile 4-metilbensensulfonil klorür, soğukta trietilamin varlığında reaksiyona sokularak sırasıyla 4 bileşiği elde edilmiştir. Nükleofil açıl substitusyon mekanizması üzerinden ilerleyen tepkimenin mekanizması 4 bileşiği için aşağıda verilmiştir (Denklem 66).



4 bileşiğ sentezlendikten sonra 3 Tipi bileşikler ile tepkimeleri incelenerek karşın olan sırasıyla 5 tipi bileşikler elde edilmiştir. Bu tepkime iki basamakta gerçekleşir. Birinci

adım N-NH₂ grubunun benzaldehitin karbonil karbonuna nükleofilik katılması ile gerçekleşip İkinci adımda ise, oluşan katılma ürününden H₂O eliminasyonu ile imin grubunun oluşumu gerçekleşir. Muhtemel reaksiyon mekanizması 5 tipi bileşiklerin sentezlendiği tepkime için aşağıda verilmiştir (Denklem 67).



KAYNAKÇA

- [1] Pinner, A. (1892). Die Imidoäther und ihre Derivate. Robert Oppenheim.
- [2] İkizler, A. A., and Yüksek, H. (1993). Acetylation of 4-amino-4,4-dihydro-1H-1, 2, 4-triazol-5-ones. Organic preparations and procedures international, 25(1), 99-105.
- [3] İkizler, A. A., and Un, R. (1979). Reactions of ester ethoxycarbonylhydrazones with some amine type compounds. Chim. Acta Turc, 7, 269-290.
- [4] Yüksek, H. (1992). 3-Alkil (aril)-4-amino-4, 5-dihidro-1, 2, 4-triazol-5-on'ların bazı reaksiyonlarının incelenmesi, KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü (Doctoral dissertation, Doktora Tezi).
- [5] Kara, E., (2000). 3-Siklopropil-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on bileşiğinin sentezi ve bazı reaksiyonlarının incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- [6] Karabacak, M., (1998). 3-p-Metoksibenzil-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on üzerine bir çalışma, Yüksek Lisans Tezi, KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- [7] Karabacak, E. (1998). 3-m-Klorobenzil-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on ve bazı türevlerinin sentezi, Yüksek Lisans Tezi, KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon .
- [8] ÇİFTÇİ, A., and AKSOY, A. (2015). Antibiyotiklere Karşı Oluşan Direnç Mekanizmaları. Türkiye Klinikleri Veterinary Sciences-Pharmacology and Toxicology-Special Topics, 1(2), 1-10.
- [9] Güler, D. 2013. Bazı yeni sentezlenen kaliks[4]aren ve türevlerinin antioksidan, antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi, Doktora Tezi, Ondokuzmayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- [10] Aktuğlu, Y., Öztürk, R., Akkan, A. G., Dumankar, U. D. A., Tabak, F., Mert, U. D. A., ve Öz, F. (1997). Pratikte antibiyotik kullanımı. İÜ Cerrahpaşa tıp fakültesi sürekli tıp eğitimi etkinlikleri sempozyum dizisi, Mayıs, İstanbul.
- [11] Başoğlu, A. (2000). Veteriner İç Hastalıklarında Genel Tedavi. Selçuk Üniv. Basımevi, Konya, 109-160.
- [12] Kayaalp O. (1991). Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 6. Baskı. Feryal Matbaacılık, Ankara, 826-863.
- [13] Sanlı Y., ve Kaya S. (1994). Veteriner Farmakoloji ve İlaçla Sağtım Seçenekleri, MedisanYayınevi, Ankara, 571-650.
- [14] Dökmeci I., Akçasu A., Banoglu N., ve Berkarda S. (1992). İlaç Uygulamalarında Temel Kavramlar, Farmakoloji, Editör, İsmet Dökmeci. Nobel Tıp Kitabevleri, 705-785.
- [15] Yağan, Ş. (2014). Perilendiimid türevlerinin sentezi ve antimikrobiyal aktivitelerinin saptanması (Master's thesis, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- [16] Erganiş, O. (1994). Mikrobiyoloji ve İmmünoloji. Konya Sağlık Eğitim Enstitüsü Yayınları, (11), 2.

- [17] Lewinson, W. (2010). Review of Medical Microbiology and Immunology, San Fransisco/ California, 112-130.
- [18] Murrey, R. P., Baron, E. J. ve Jorgensen, H. J. (2009). Klinik Mikrobiyolojisi I, 9. Baskı, Atlas Kitapçılık, Ankara, 390-688.
- [19] Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI). (2013). Anti-mikrobik duyarlılık testleri için uygulama standartları, On dokuzuncu Bilgi Eki, M100-S23. Ankara: Bilimsel Tıp Yayın-evi.
- [20] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Test (EUCAST) (2013). Breakpoint tables for interpretation of MIC's and zone diameters – Version 3.0.
- [21] Qurbanov, A. İ., ve Attar, A. (2007). Bakterilerin antibiyotiklere duyarlılığına antioksidanların etkisinin incelenmesi, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji dergisi, 64(2), 14-20.
- [22] Lambert, R. J. W., and Pearson, J. (2000). Susceptibility testing: accurate and reproducible minimum inhibitory concentration (MIC) and non-inhibitory concentration (NIC) values. Journal of applied microbiology, 88(5), 784-790.
- [23] Davies, J., and Davies, D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 74(3), 417-433.
- [24] Kim, Y. H., Cha, C. J., and Cerniglia, C. E. (2002). Purification and characterization of an erythromycin esterase from an erythromycin-resistant *Pseudomonas* sp. FEMS microbiology letters, 210(2), 239-244.
- [25] Fillgrove, K. L., Pakhomova, S., Newcomer, M. E., and Armstrong, R. N. (2003). Mechanistic diversity of fosfomycin resistance in pathogenic microorganisms. Journal of the American Chemical Society, 125(51), 15730-15731.
- [26] Lambert, P. A. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: modified target sites. Advanced drug delivery reviews, 57(10), 1471-1485.
- [27] Nikaido, H. (1994). Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. Science, 264(5157), 382-388.
- [28] Van Bambeke, F., Balzi, E., and Tulkens, P. M. (2000). Antibiotic efflux pumps. Biochemical pharmacology, 60(4), 457-470.
- [29] Happi, C. T., Gbotosho, G. O., Folarin, O. A., Akinboye, D. O., Yusuf, B. O., Ebong, O. O., and Oduola, A. M. J. (2005). Polymorphisms in *Plasmodium falciparum* dhfr and dhps genes and age related in vivo sulfadoxine–pyrimethamine resistance in malaria-infected patients from Nigeria. Acta tropica, 95(3), 183-193.
- [30] Martins A, Spengler G, Molnár J, Amaral L. “Bacterial Antibiotic Resistance.” eLS. 2014; Based in part on the previous version of this eLS article “Bacterial Antibiotic Resistance” (2002) by Shahriar Mobashery and Eduardo F Azucena Jr.
- [31] Costerton, J. W., Stewart, P. S., and Greenberg, E. P. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. science, 284(5418), 1318-1322

- [32] Mah, T. F. C., and O'Toole, G. A. (2001). Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends in microbiology*, 9(1), 34-39.
- [34] İşbilir, Ş. S. (2008). Yaprakları salata-baharat olarak tüketilen bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi (Master's thesis).
- [35] Halliwell, B., and Gutteridge, J. M. (1990). [1] Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. In *Methods in enzymology* (Vol. 186, pp. 1-85). Academic Press.
- [36] Akkuş, İ. (1995). Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları, Konya, 1.
- [37] Onat, T., Emerk, K., ve Sözmen, E. Y. (2002). İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık. İstanbul, 557, 579.
- [38] Belyurt, S. Ç., (2014). Gaziantep Yöresinde Yetişen Bazı Makromantar Türlerinin Antioksidan ve Antimikrobiyal Etkilerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Karaman.
- [39] Huang, D., Ou, B., and Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- [40] Prior, R. L., Wu, X., and Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290-4302.
- [41] Gürbüz, D. G. (2008). Demir Eksikliği Anemisinde İntravenöz Demir Tedavisinin Total Antioksidan Kapasite Üzerine Etkisi, Uzmanlık Tezi, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.
- [42] Karabiga, M. (2006). Aprotinin'in deneysel aortik iskemi reperfüzyon modelinde böbrek hasarı üzerine etkisi (Doctoral dissertation, SDÜ Tıp Fakültesi).
- [43] Tekkes, Y., (2006). Streptozotosin ile diabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve E vitaminin dokularda lipid peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması. Kahramanmaraş Sütçü imam Üniversitesi Fen Bilimleri enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş.
- [44] Ames, B. N., Shigenaga, M. K., and Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(17), 7915-7922.
- [45] Frei, B. (1994). Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: mechanisms of action. *The American journal of medicine*, 97(3), S5-S13.
- [46] Cheeseman, K. H., and Slater, T. F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British medical bulletin*, 49(3), 481-493.
- [47] Young, I. S., and Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology*, 54(3), 176-186.

- [48] Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C., and Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *The Journal of nutritional biochemistry*, 16(10), 577-586.
- [49] Niki, E., Yoshida, Y., Saito, Y., and Noguchi, N. (2005). Lipid peroxidation: mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochemical and biophysical research communications*, 338(1), 668-676.
- [50] Halifeoğlu, İ., Karataş, F., Çolak, R., Canatan, H., ve Selda, T. E. L. O. (2005). Tip 2 diyabetik hastalarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası oksidan ve antioksidan durum. *Fırat Tıp Dergisi*, 10(3), 117-122.
- [51] Madhavi, D. L., Singhal, R. S., and Kulkarni, P. R. (1996). Technological aspects of food antioxidants. In D. L. Madhavi, S. S. Deshpande, D. K. Salunke (Eds.), *Food antioxidants. Technological, toxicological and health perspectives*. New York: Marcel Dekker, 242-246.
- [52] MERCAN, U. (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1), 91-96.
- [53] Halliwell, B., Gutteridge, J., (2007). *Free Radicals in Biology and Medicine* (4th edition) Oxford University Press, USA.
- [54] Pokorný, J., Yanishlieva, N., and Gordon, M. (2001). *Antioxidants in food*, CRC Press, USA.
- [55] Mathew, S., and Abraham, T. E. (2006). Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models. *Food Chemistry*, 94(4), 520-528.
- [56] Rival, S. G., Boeriu, C. G., and Wichers, H. J. (2001). Caseins and casein hydrolysates. 2. Antioxidative properties and relevance to lipoxygenase inhibition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(1), 295-302.
- [57] Gülçin, İ. (2006). Antioxidant activity of caffeic acid (3, 4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, 217(2-3), 213-220.
- [58] Arora, A., Nair, M. G., and Strasburg, G. M. (1998). Structure-activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. *Free Radical Biology and Medicine*, 24(9), 1355-1363.
- [59] Gündüz, T., and Reaksiyonları, S. O. (1998). *Gazi Büro Kitabevi Tic. Ltd. Şti: Ankara, Turkey*.
- [60] Gündüz, T. (1997). Susuz ortam reaksiyonları ve önemi, XI. Ulusal Kimya Kongresi, Van, 117.
- [61] Huber, W. (1967). *Titrations in nonaqueous solvents*, Express Translation Service, Academic Press Inc., New York.
- [62] Ocak, Z. (2003). Bazı yeni triazol türevlerinin potansiyometrik özellikleri, Doktora Tezi, KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon

- [63] Alkan, M., Bahçeci, Ş., Yüksek, H., Ocak, Z., ve Özdemir, M., (2002). Bazı yeni 3-alkil(aril)-4-izobutirilamino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin sentezi ve susuz ortamda pKa değerlerinin tayini, XVI. Ulusal Kimya Kongresi, Konya, 684.
- [64] Stollé, R. (1907). Über Führung von hydrazinabkömmlingen, J. Prakt. Chem., 75 (2): 416-432
- [65] Kröger, C. F., Hummel, L., Mutscher, M., and Beyer, H. (1965). Über 1.2. 4-Triazole, IX: Synthesen und Reaktionen von 4-Amino-1.2. 4-triazolonen-(5). Chemische Berichte, 98(9), 3025-3033.
- [66] Hashem, A. I., Youssef, A. S., Kandeel, K. A., and Abou-Elmagd, W. S. (2007). Conversion of some 2 (3H)-furanones bearing a pyrazolyl group into other heterocyclic systems with a study of their antiviral activity. European journal of medicinal chemistry, 42(7), 934-939.
- [67] Tozkoparan, B., Küpeli, E., Yeşilada, E., ve Ertan, M. (2007). Preparation of 5-aryl-3-alkylthio-1, 2, 4-triazoles and corresponding sulfones with antiinflammatory–analgesic activity. Bioorganic & medicinal chemistry, 15(4), 1808-1814.
- [68] Pesson, M., Dupin, S., and Antoine, M. (1962). Recherches sur les Derives du Triazole-1, 2, 4. 3. Emploi De Lhydrazinocarbonate Dethyle Pour la synthese des hydroxy-3 triazoles-1, 2, 4. BULLETIN DE LA SOCIETE CHIMIQUE DE FRANCE, (7), 1364.
- [69] Milcent, R., Redeuilh, C. (1979). Synthesis of 4-amino-3-aryl-1,2,4-triazol-5(4H)-ones, Journal of heterocyclic, 16 (2): 403-407.
- [70] Ün, R., and İkizler, A. (1975). Preparations of aliphatic amide carbethoxyhydrazones, aliphatic amide carbamylhydrazones, aliphatic ester carbethoxyhydrazones and the corresponding 3-alkyl-and 3, 4-dialkyl-Δ 2-1, 2, 4-triazolin-5-ones. Chimica Acta Turcica, 3, 113-132.
- [71] Yüksek, H. (1992). 3-Alkil (aril)-4-amino-4, 5-dihidro-1, 2, 4-triazol-5-on'ların Bazı Reaksiyonlarının İncelenmesi" (Doctoral dissertation, Doktora Tezi, KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon).
- [72] İkizler, A. A., and Yüksek, H. (1993). ACETYLATION OF 4-AMINO-4,4-DIHYDRO-1H-1, 2, 4-TRIAZOL-5-ONES. Organic preparations and procedures international, 25(1), 99-105.
- [73] İkizler, A. A. (1975). 3-Substitue-4-amino-Δ 2-1, 2, 4-triazolin-5-on'ların ester karbetoksi-hidrazon'lardan elde edilmeleri ve reaksiyonlarının incelenmesi". Doçentlik Tezi, İstanbul Üniversitesi Kimya Fakültesi, İstanbul.
- [74] İkizler, A. A., Ün, R. (1979). Reactions of ester ethoxycarbonylhydrazones with some amine type compounds. Chimica Acta Turcica, 7, 269-290.
- [75] Roger, R., and Neilson, D. G. (1961). The Chemistry of Imidates. Chemical Reviews, 61(2), 179-211
- [76] Sykes, P. (1977). A guidebook to mechanism in organic chemistry, Fourth Edition, Great Britain.

- [77] Pesson, M., Dupin, S., and Antoine, M. (1962). Recherches sur les Derives du Triazole-1, 2, 4. 3. Emploi De Lhydrazinocarbonate Dethyle Pour la synthese des hydroxy-3 triazoles-1, 2, 4. BULLETIN DE LA SOCIETE CHIMIQUE DE FRANCE, (7), 1364.
- [78] Ayca, E. (1981). Preparation of 3-Alkyl (aryl)-4-Aryl- Δ 2-1, 2, 4-Triazolin-5-Ones. *Chimica Acta Turcica*, 9, 99-108.
- [79] Ikizler, A. A., Ikizler, A., and Yüksek, H. (1993). ¹H NMR spectra of some 4, 5-dihydro-1, 2, 4-triazol-5-ones. *Magnetic resonance in chemistry*, 31(12), 1088-1090.
- [80] Kane, J. M., Baron, B. M., Dudley, M. W., Sorensen, S. M., Staeger, M. A., and Miller, F. P. (1990). 2, 4-Dihydro-3H-1, 2, 4-triazol-3-ones as anticonvulsant agents. *Journal of medicinal chemistry*, 33(10), 2772-2777.
- [81] Gruttadauria, M., Buccheri, F., Cusmano, G., Lo Meo, P., Noto, R., and Werber, G. (1993). Oxidative cyclization of some aldehyde semicarbazones induced by metallic salts. *Journal of heterocyclic chemistry*, 30(3), 765-770.
- [82] Küçükgülzel, S. G., Rollas, S., Erdeniz, H., and Kiraz, M. (1999). Synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of ethyl 2-arylhyaazono-3-oxobutyrate. *European journal of medicinal chemistry*, 34(2), 153-160.
- [83] Ikizler, A. A., Ikizler, A., Yüksek, H., Bahçeci, S., and Sancak, K. (1994). Synthesis of some tert-butoxyhydrazones and related 4, 5-dihydro-1H-1, 2, 4-triazol-5-ones. *Turkish Journal of Chemistry*, 18(9), 51-56.
- [84] Arslantaş, A., Yüksek, H., Gursoy Kol, Ö., Ocak, Z., Tomruk, Z., and Calapoğlu, M. (2012). Study of Andioxidant Properties and DNA İnteraction of Some Novel 4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one Derivatives, *Asian Journal of Chemistry*, 24 (8), 3327-3334.
- [85] Sadi, S., (2003). Bazı yeni 4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin sentezi, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- [86] Yüksek, H., Çakmak, I., Sadi, S., Alkan, M., and Baykara, H. (2005). Synthesis and GIAO NMR calculations for some novel 4-heteroarylidenamino-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one derivatives: Comparison of theoretical and experimental ¹H and ¹³C chemical shifts, *International Journal of Molecular Sciences* 6(6-8), 219-229.
- [87] Manap, S. (2009). Bazı yeni 3-alkil(aril)-4-(3,4-disubstituebenzilidenamino)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on türevlerinin sentezi, yapılarının aydınlatılması, antioksidan ve asitlik özelliklerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars
- [88] Üre, S., (2010). Bazı 1-metil-3-alkil(aril)-4-(3,4-dimetoksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin sentezi, yapılarının aydınlatılması ve antioksidan özelliklerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars
- [89] Ö. Aktaş-Yokuş, H. Yüksek, S. Manap, F. Aytemiz, M. Alkan, M. Beytur., and Ö. Gursoy Kol. (2017). 'In-vitro biological activity of some new 1,2,4-triazole derivatives with their potentiometric titrations, *Bulgarian Chemical Communications*, (49), 98-106

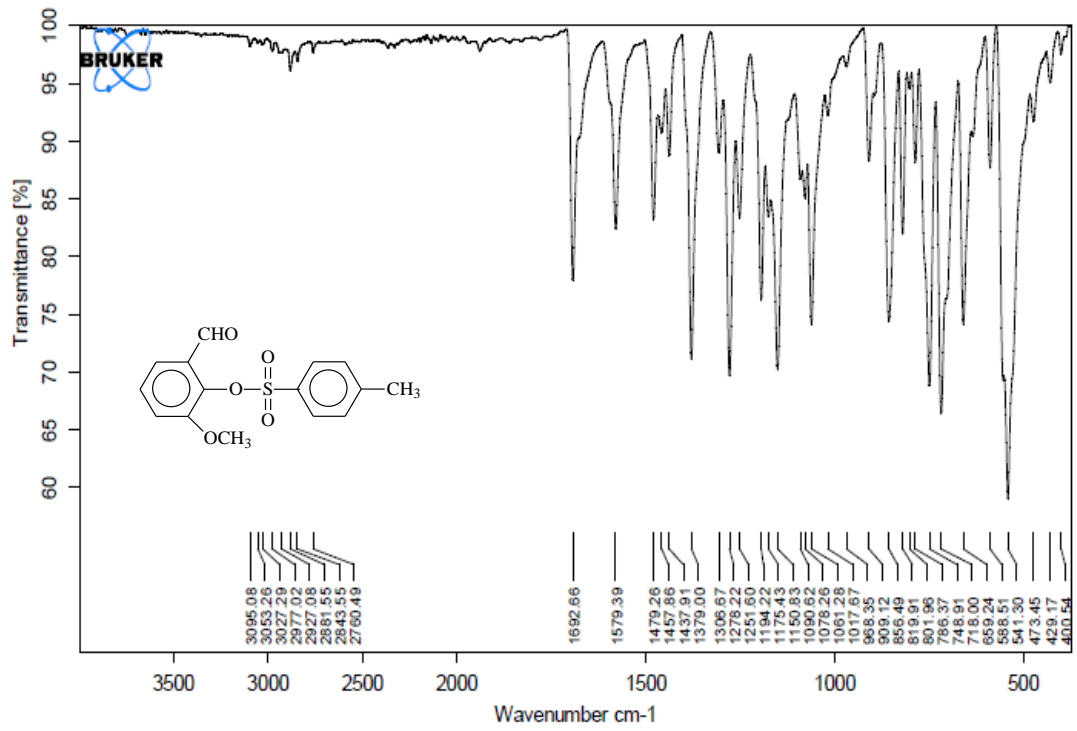
- [90] Kol, Ö. G., and Yüksek, H., (2015). Preparation and antioxidant activities of some new di-[3-(3-alkyl/aryl-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one-4-yl)azomethinphenyl] terephthalate derivatives, TRAMECH VIII, Trans Mediterranean Collquium on Heterocyclic Chemistry, Antalya, Turkey, PO85, S:152, 11-15.
- [91] Kol, Ö. G., and Yüksek, H., (2010). Synthesis and invitro antioxidant evaluation of some novel 4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one derivatives, E-Journal Chemistry, 7 (1), 123-136.
- [92] Yüksek, H., Koca, E., Kol, Ö. G., Akyıldırım, O., and Çelebier, M., (2015). Synthesis, in vitro antioxidant activity and physicochemical properties of novevel 4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one derivatives, Journal of moleculer LiquidsChemistry, (206) 359-366.
- [93] Akyıldırım, O. (2011). Bazı potansiyel biyolojik aktif heterosiklik bileşiklerin sentezi, Yapılarının Aydınlatılması ve Bazı Özelliklerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars
- [94] Yüksek, H., Akyıldırım, O., Yola, M. L., Gürsoy-Kol, Ö. Çelebier., and M., Kart, D., (2013). "Synthesis, in vitro antimicrobial and antioxidant activities of some new 4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one derivatives", Arch Pharm Chemistry in Life Sciences, 346 (6), 470-480
- [95] Gökçe, H., Bahçeli, S., Akyıldırım, O., Yüksek, H., and Gürsoy-Kol, Ö. (2013). The Syntheses, molecular structures, spectroscopic properties (IR, Micro-Raman, NMR and UV-vis) and DFT calculations of antioxidant 3-alkyl-4-[3-methoxy-4-(4-methylbenzoxy)benzylidenamino]-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one molecules, Letters in Organic Chemistry, 10 (6), 395-441
- [96] Kol, Ö. G., Yüksek, H., İslamoğlu, F., and Yüksek, (2012). In vitro Antioxidant and Acidic Properties of Novel 4-(5-Methyl-2-thienylmethyleneamino)-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5one Derivatives. Synthesis and Characterization. REV. CHIM. Bucharest, 63(11).
- [97] Tokalı, F. S. (2017). 4,5-Dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on Halkası İçeren Bazı Yeni Heterosiklik Bileşiklerin Sentezi ve Bazı Özelliklerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- [98] Manap, S., (2017). Bazı Vanilin Türevlerinin 3-Alkil(Aril)-4-Amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-Triazol-5-on'lar ile Reaksiyonlarının İncelenmesi Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- [99] Alkan, M. (2001). Bazı 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin sentezi ve reaksiyonlarının incelenmesi, Doktora Tezi, KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- [100] Songül, B. (2018). Bazı 4,5-Dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on Türevlerinden Potansiyel Biyolojik Aktif Yeni Heterosiklik Mannich Bazlarının Sentezi ve Bazı Özelliklerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- [101] Bahçeci, Ş. , Yıldırım, N. , Gürsoy-Kol ,Ö., Manap , S. , Beytur, M., and Yüksek, H.,(2016). (synthesis, characterization and antioxidant properties of new 3-alkyl (aryl)-4-(3-hydroxy-4-methoxy-benzylidenamino)-4,5-dihydro-1-H-1,2,4-triazol-5-ones. Rasayan journal of chemistry, 9 (3), 494-501.

- [102] Kardaş, F., Beytur, M., Yüksek, H., Kılıç, E., and Albayrak,Ö., (2017). Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of Novel Etoksibenzilidenamino Eerived 1,2,4-triazoles. *Journal of Science and Technology* ,10(2), 255-265.
- [103] Gümrükçüoğlu,N.(2016). Synthesis of New 3, 5-Disubstituted-1,2,4-Triazoles and Evaluation of Antimicrobial Activities. *The Black Sea Journal of Sciences*, 6(14),89-98.
- [104] Sökmen, B.B., Gümrükçüoğlu, N., Uğraş, S., Şahin, H., Sağkal,Y., and Uğraş, H.İ. (2015). Synthesis, Antibacterial, Antiurease, and Antioxidant Activities of Some New 1,2,4-Triazole Schiff Base and Amine Derivatives . *Appl Biochem Biotechnol*,175,705–714
- [105] Karrouchi, K., Chemlal, L., Taoufik, J., Cherrah, Y., Radi, S., Faouzi, and M. E. A., Ansar, M. (2016). Synthesis, antioxidant and analgesic activities of Schiff bases of 4-amino-1, 2, 4-triazole derivatives containing a pyrazole moiety. In *Annales pharmaceutiques francaises* (Vol. 74, No. 6, pp. 431-438).
- [106] Isloor, A. M., Kalluraya, B., and Shetty, P. (2009). Regioselective reaction: synthesis, characterization and pharmacological studies of some new Mannich bases derived from 1, 2, 4-triazoles. *European journal of medicinal chemistry*, 44(9), 3784-3787.
- [107] Yaşa,H. (2018). Synthesis, characterization, and evaluation of antioxidant activity of new γ -and δ -imino esters. *Turkish Journal of Chemistry* ,42, 1105 – 1112.
- [108] Koparir, M., Orek, C., Parlak, A. E., Söylemez, A., Koparir, P., Karatepe, and M., Dastan, S. D. (2013). Synthesis and biological activities of some novel aminomethyl derivatives of 4-substituted-5-(2-thienyl)-2, 4-dihydro-3H-1, 2, 4-triazole-3-thiones. *European journal of medicinal chemistry*, 63, 340-346.
- [109] Oyaizu, M. (1986). Antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine, *Japanise J. Nutr.*, 44: 307-315.
- [110] Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181: 1199-1200.
- [111] Dinis, T. C. P., Madeira, V. M. C., and Almeida, L. M. (1994). Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salycilate and 5-aminosalycilate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers, *Arch. Biochem. Biophys.*, 315: 161-169.
- [112] Yüksek, H., Üçüncü, O., Alkan, M., Ocak, Z., Bahceci, S., and Özdemir, M. (2005). Synthesis and non-aqueous medium titrations of some new 4-benzylidenamino-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one derivatives, *Molecules*, 10 (8): 961-970.
- [113] Tomruk, Z. (2008). Bazı yeni heterosiklik schiff bazlarının sentezi, pKa değerlerinin tayini ve DNA ile etkileşimlerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars.

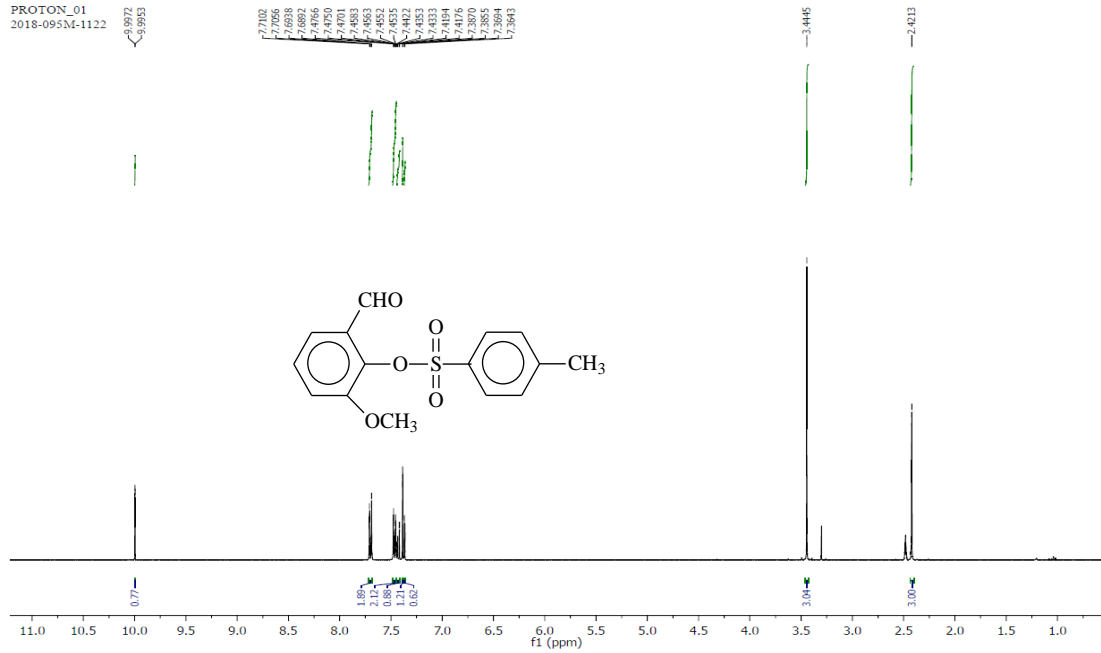
- [114] Yağan. Ő. (2014). Perilendiimin Türevlerinin Sentezi ve antimikrobiyal Aktivitelerinin Saptanması, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [115] Murrey, R. P., Baron, E. J. and Jorgensen, H. J. (2009). “Klinik Mikrobiyoloji I”, 9. Baskı, Atlas Kitapçılık, Ankara, 390-688



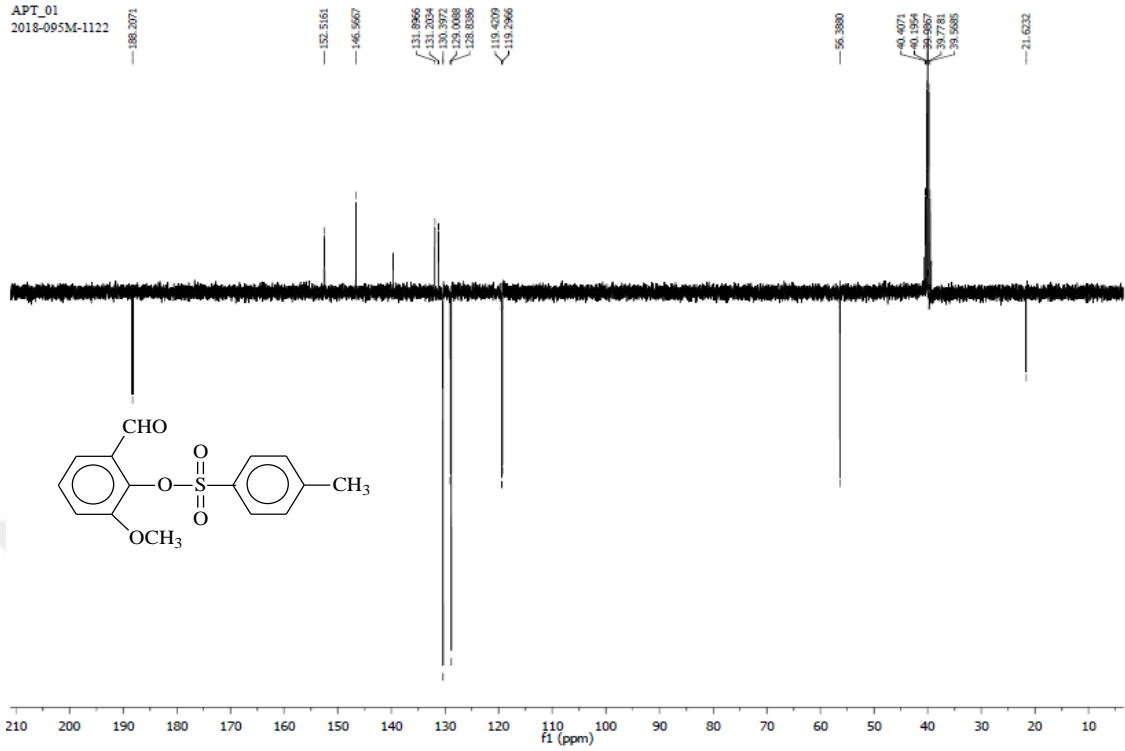




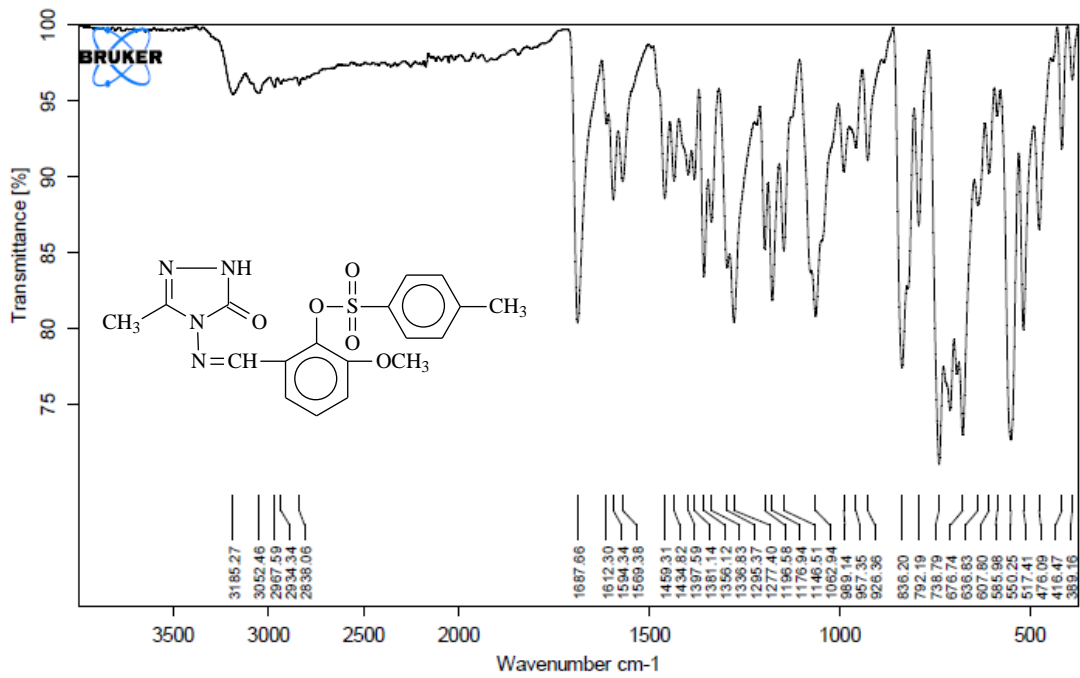
Ek Şekil 1. 4 Bileşiğinin IR Spektrumu



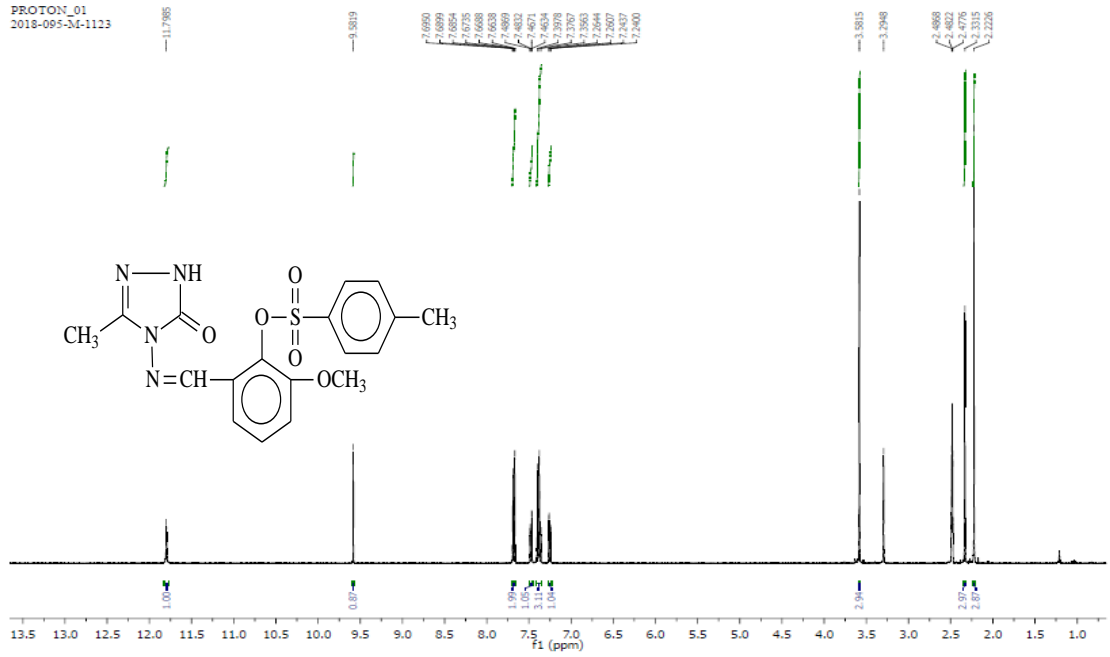
Ek Şekil 2. 4 Bileşiğinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) Spektrumu



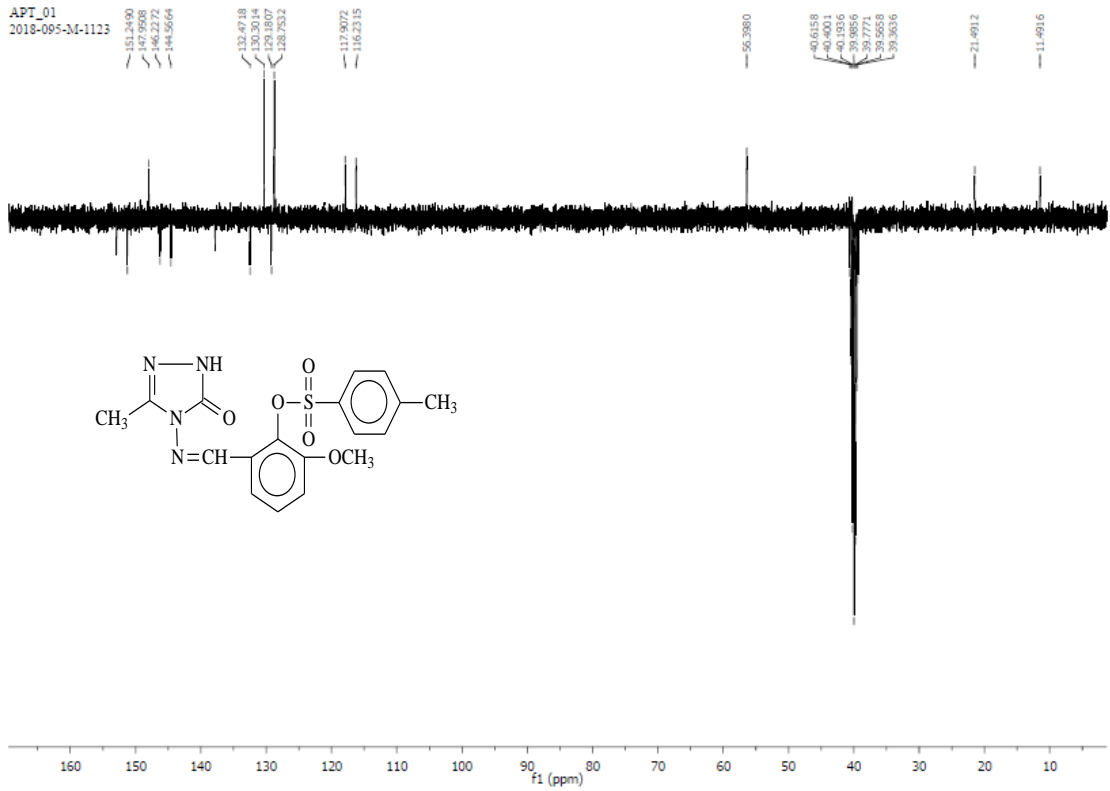
Ek Şekil 3. 4 Bileşiğinin ^{13}C -NMR (DMSO- d_6) Spektrumu



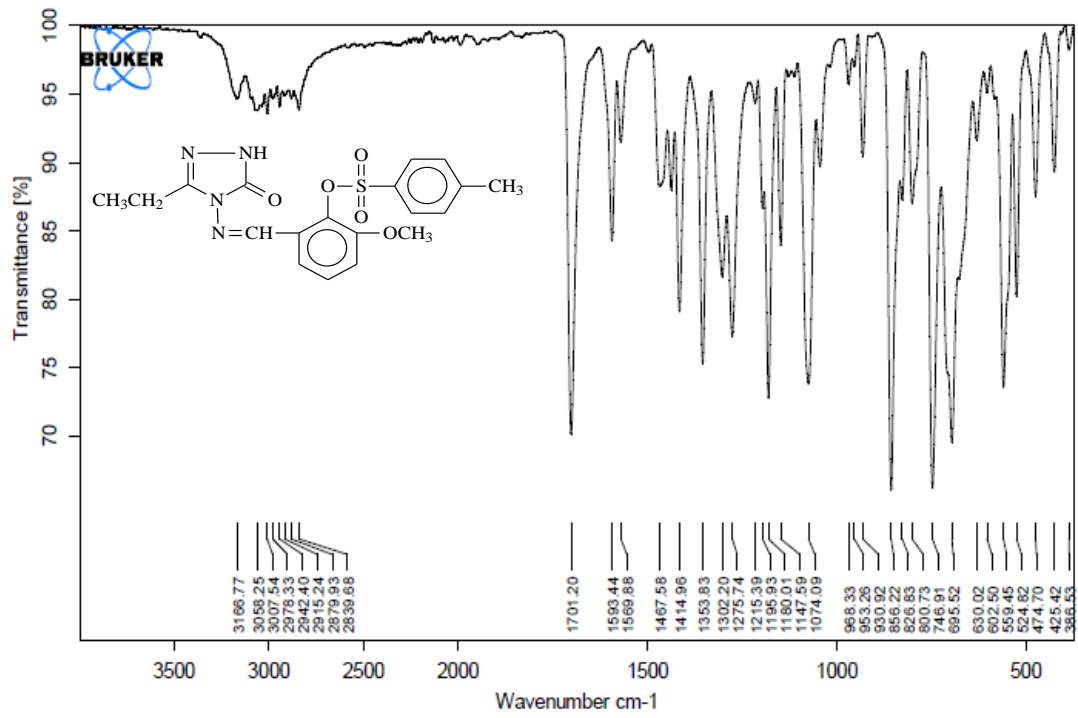
Ek Şekil 4. 6 Bileşiğinin IR Spektrumu



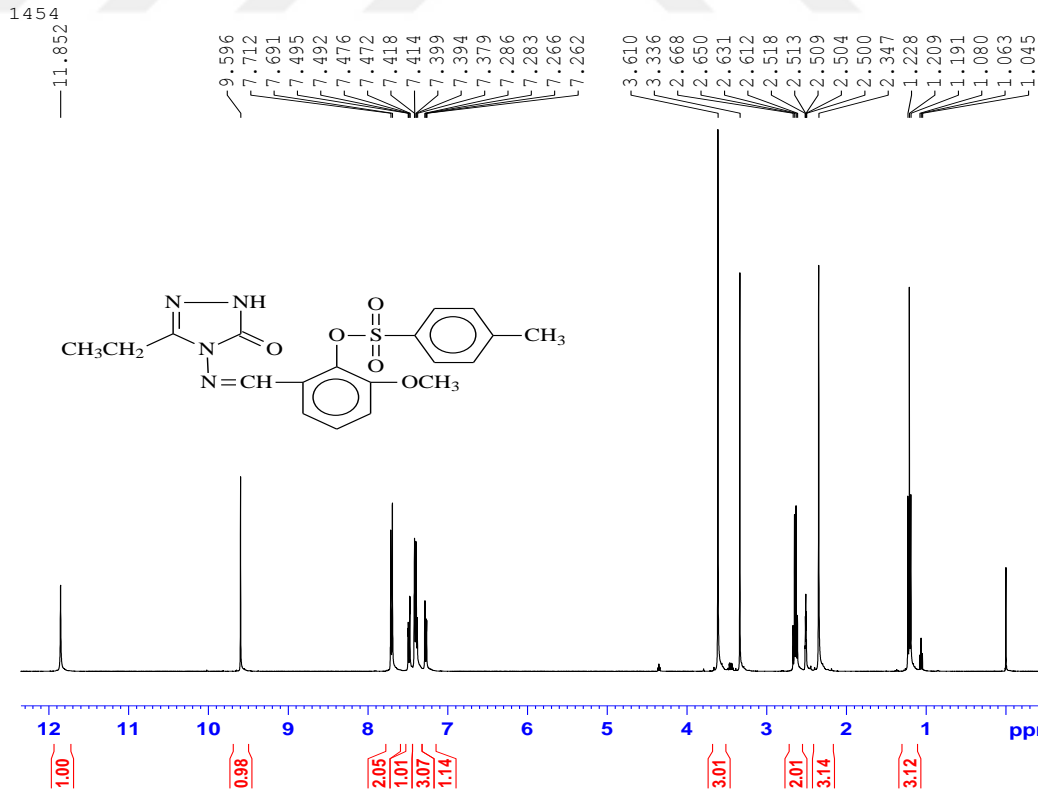
Ek Şekil 5. 6 Bileşğinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) Spektrumu



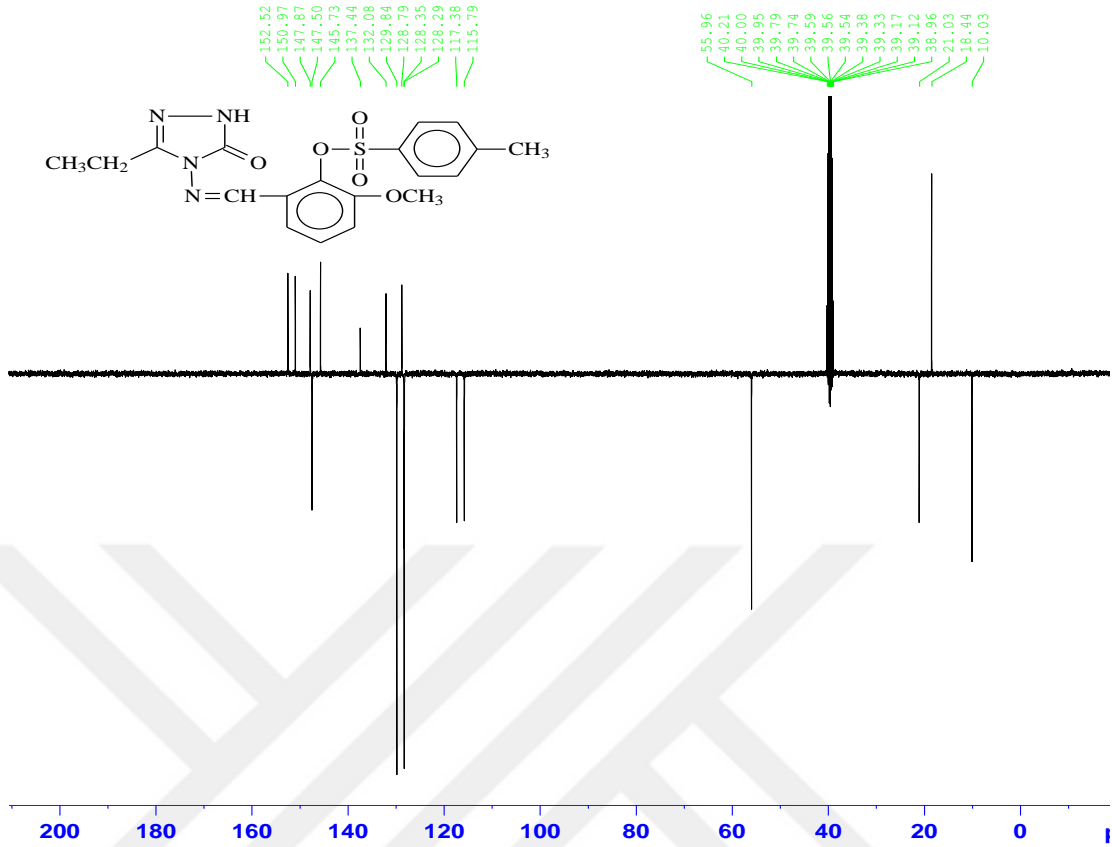
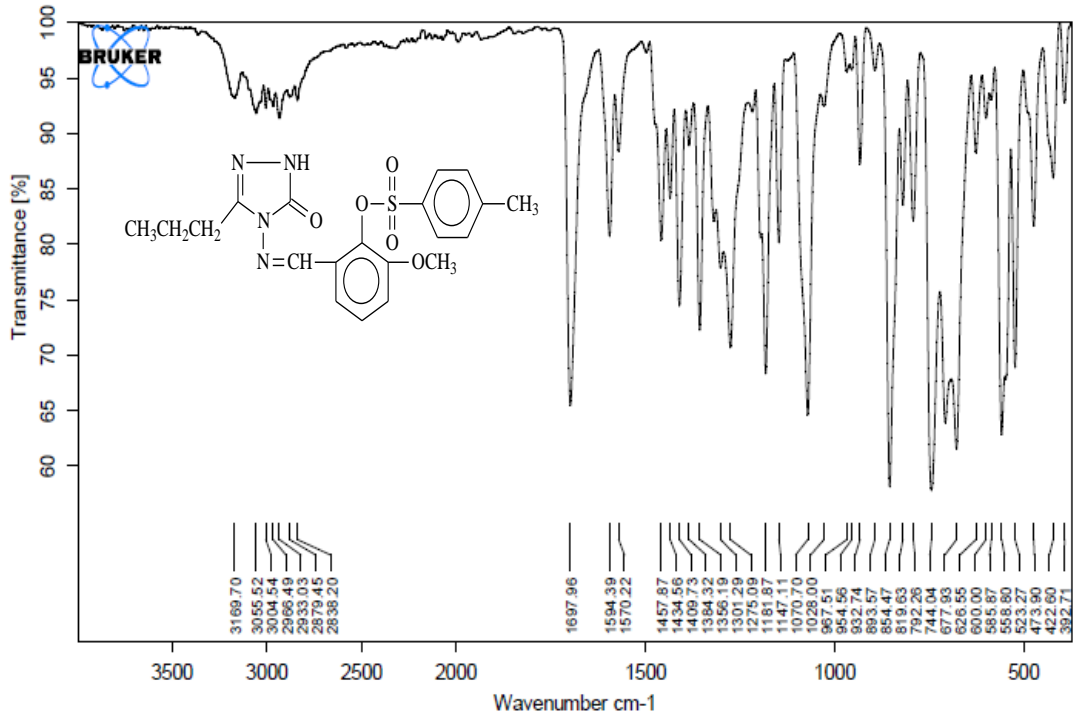
Ek Şekil 6. 6 Bileşğinin ¹³C-NMR (DMSO-d₆) Spektrumu



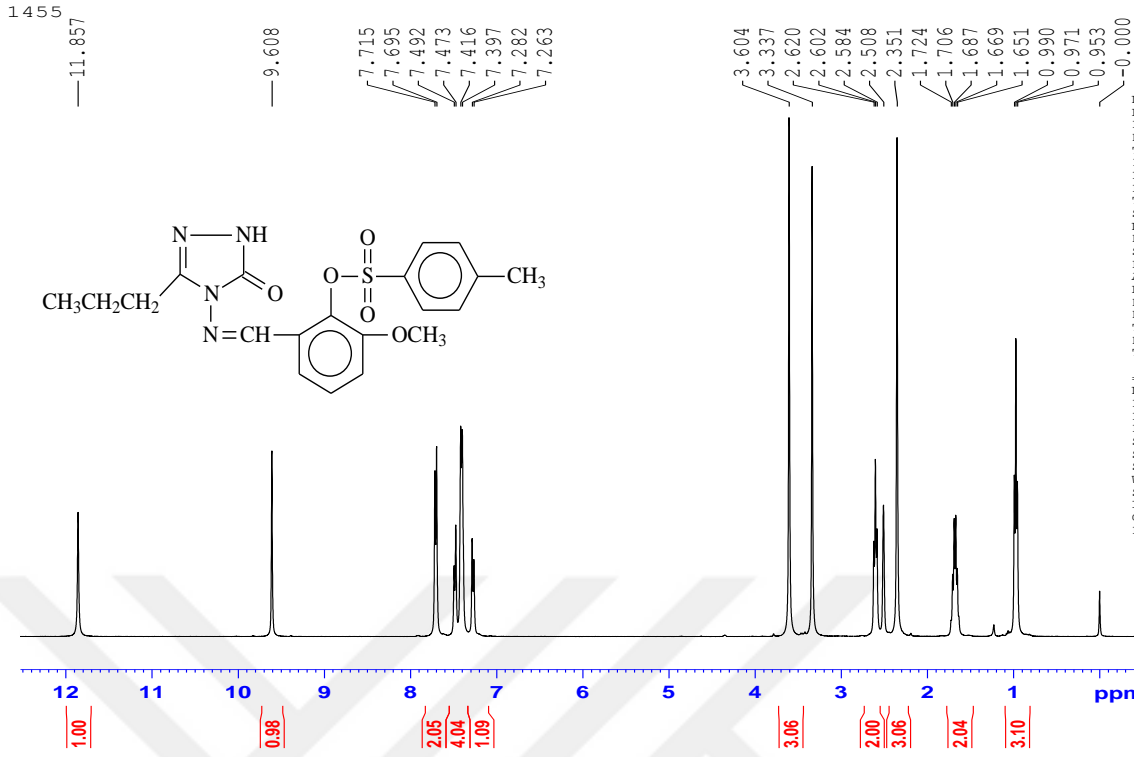
Ek Şekil 7. 7 Bileşiğinin IR Spektrumu



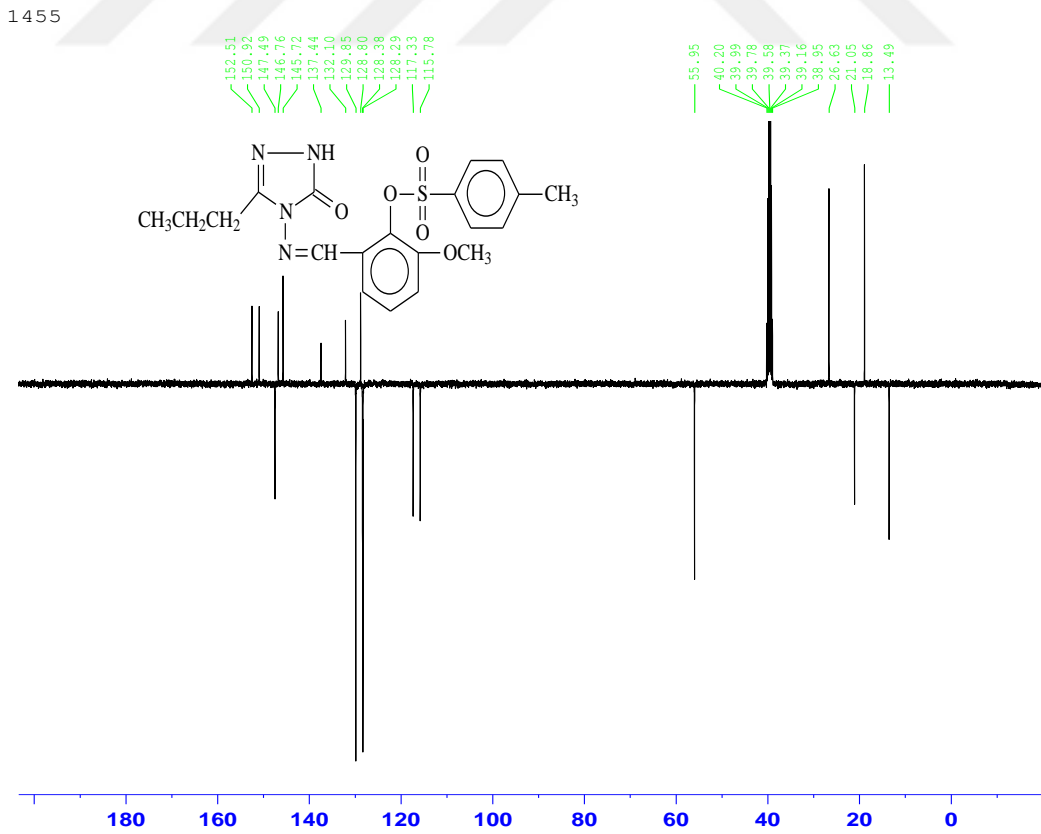
Ek Şekil 8. 7 Bileşiğinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) Spektrumu

Ek Şekil 9. 7 Bileşiğinin ¹³C-NMR (DMSO-d₆) Spektrumu

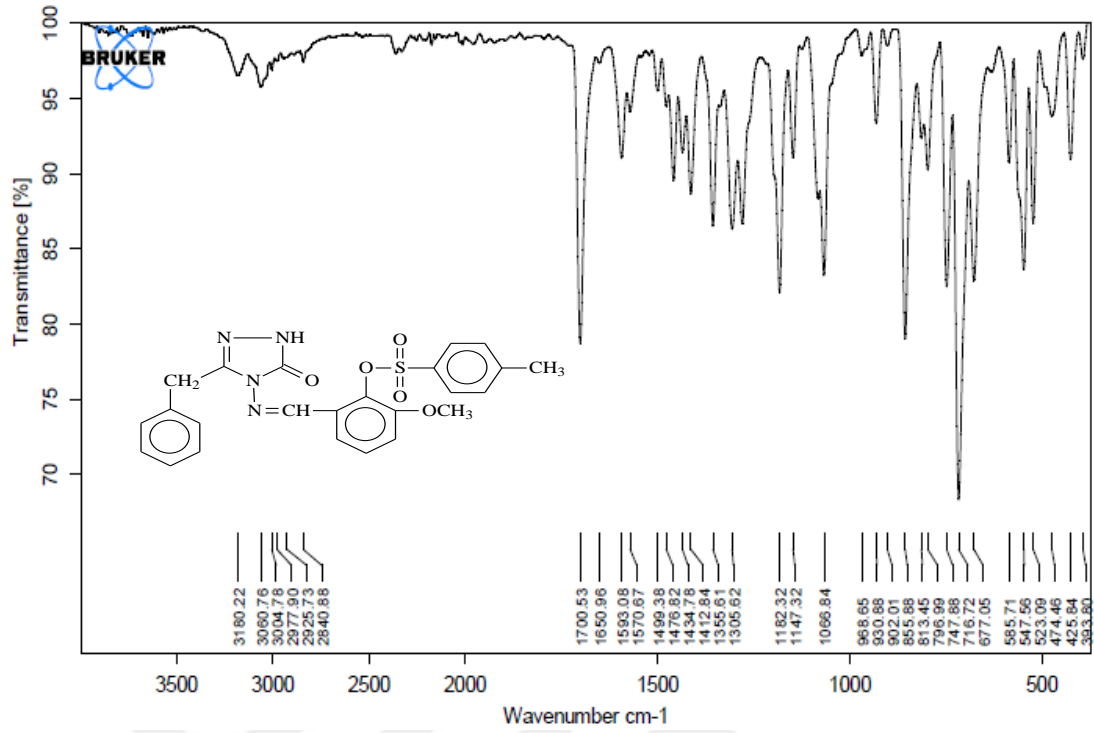
Ek Şekil 10. 8 Bileşiğinin IR Spektrumu



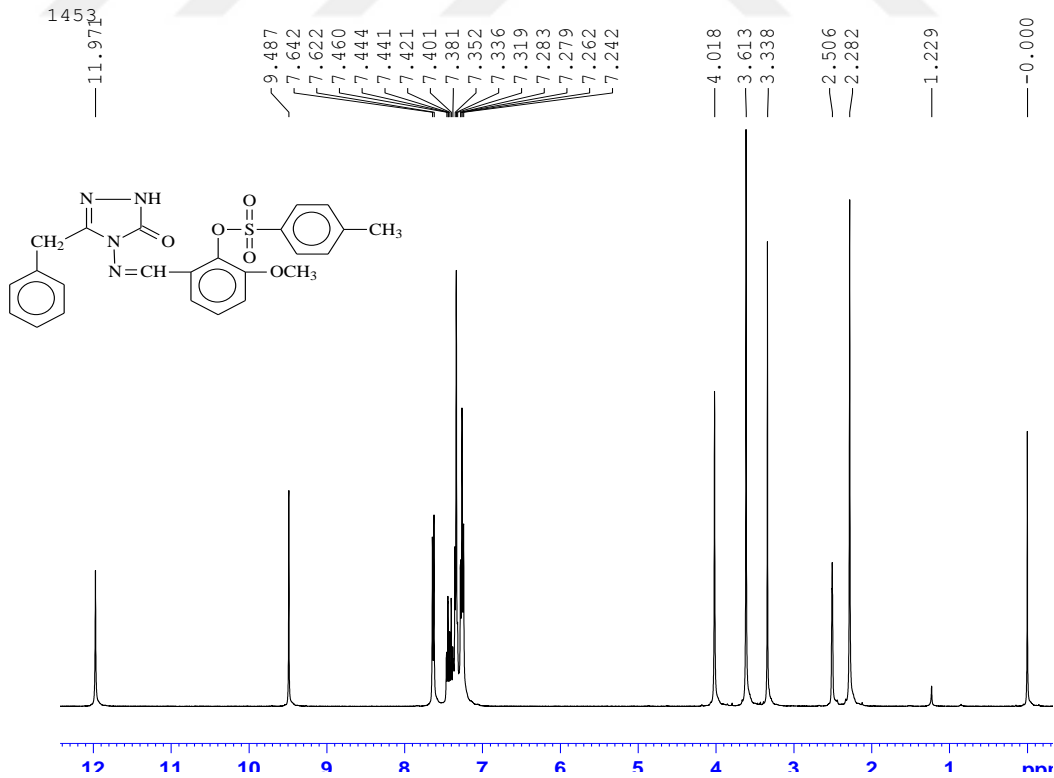
Ek Şekil 11. 8 Bileşiminin ¹H-NMR (DMSO-d₆) Spektrumu



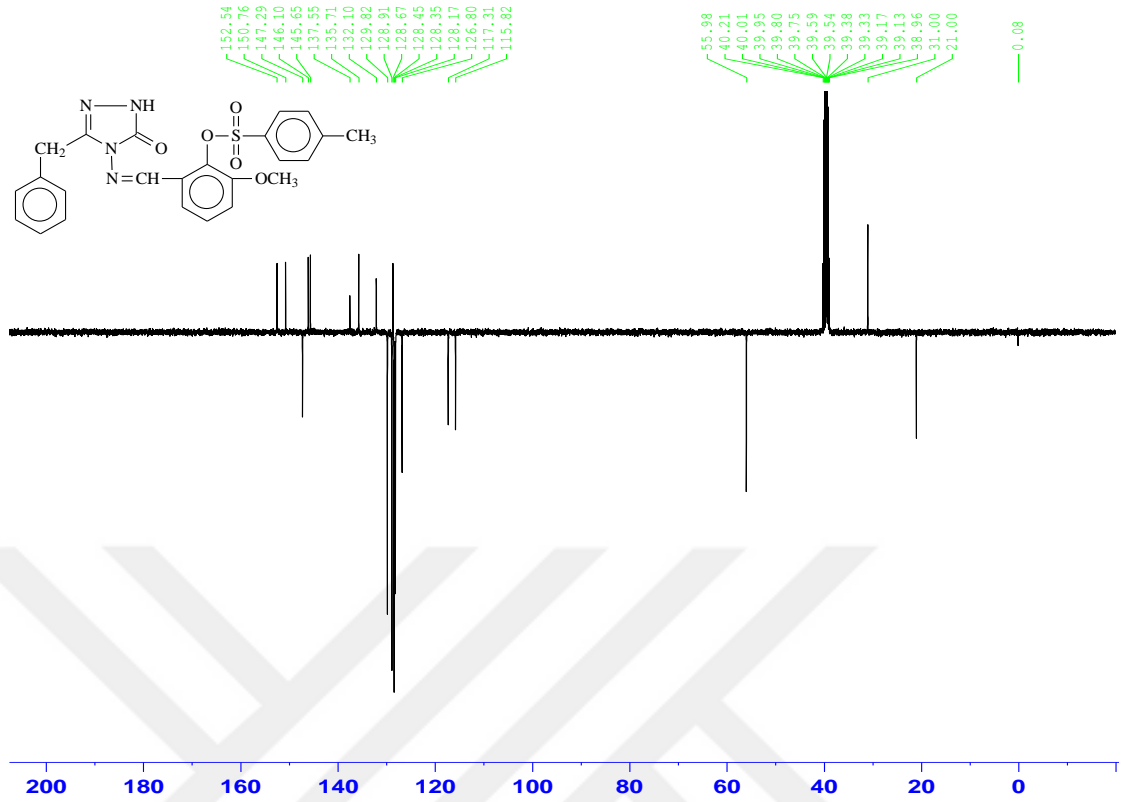
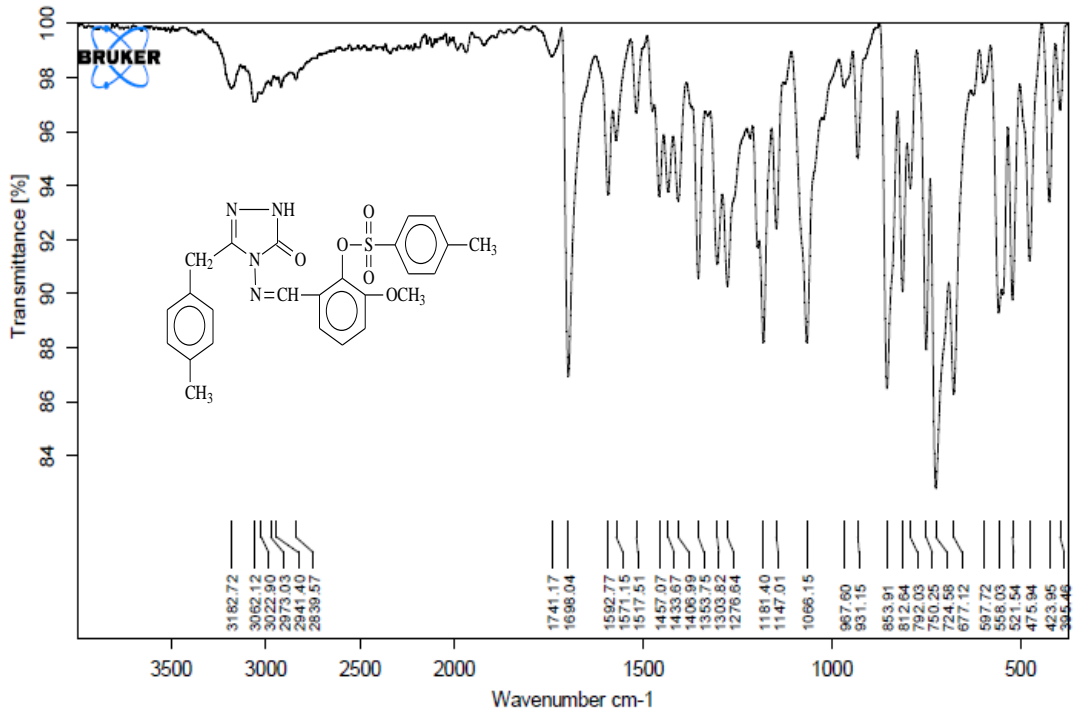
Ek Şekil 12. 8 Bileşiminin ¹³C-NMR (DMSO-d₆) Spektrumu



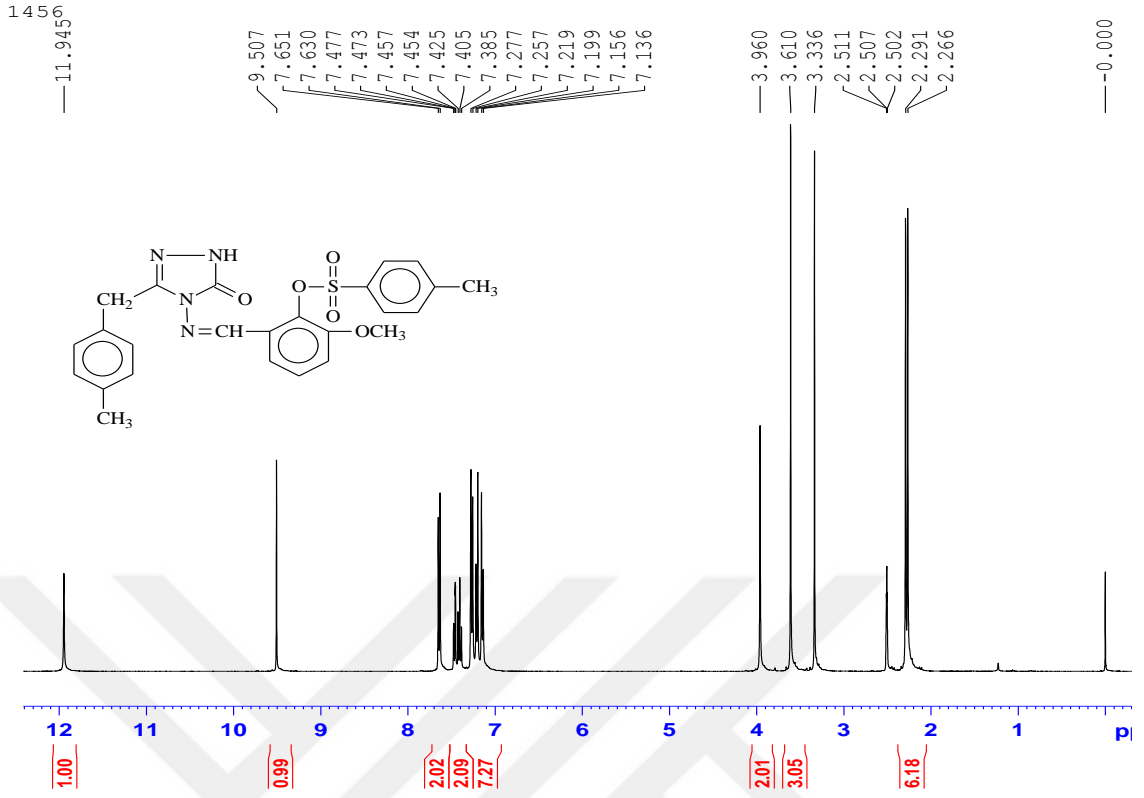
Ek Şekil 13. 9 Bileşiğinin IR Spektrumu



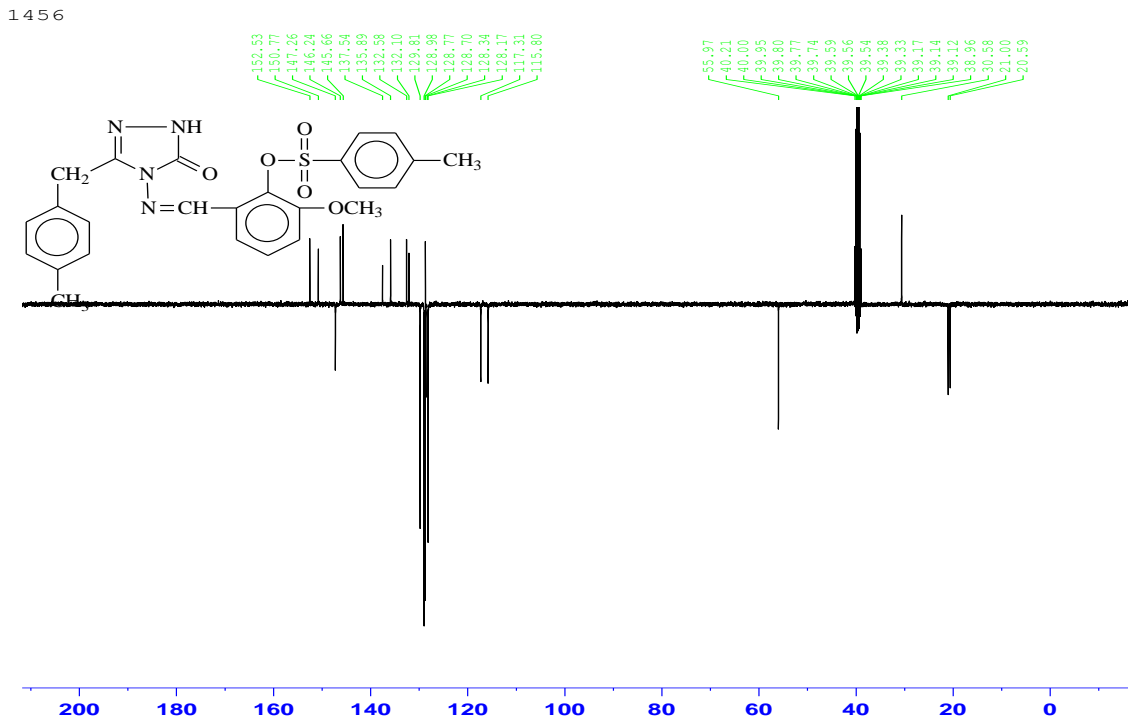
Ek Şekil 14. 9 Bileşiğinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) Spektrumu

Ek Şekil 15. 9 Bileşiminin ¹³C-NMR (DMSO-d₆) Spektrumu

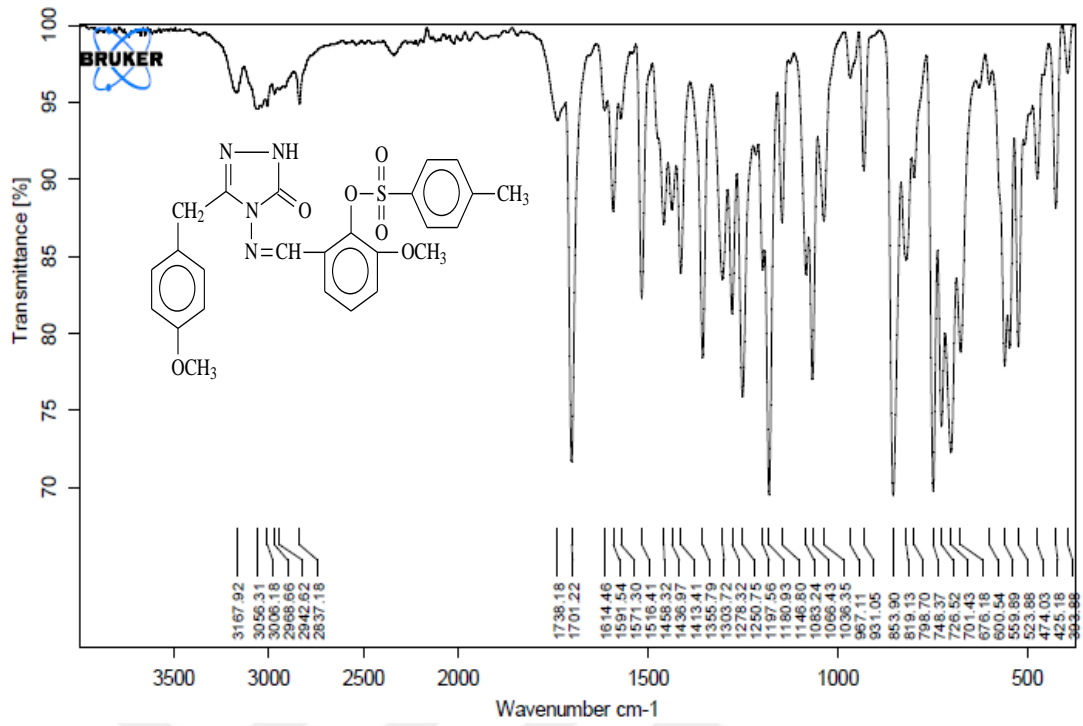
Ek Şekil 16. 10 Bileşiminin IR Spektrumu



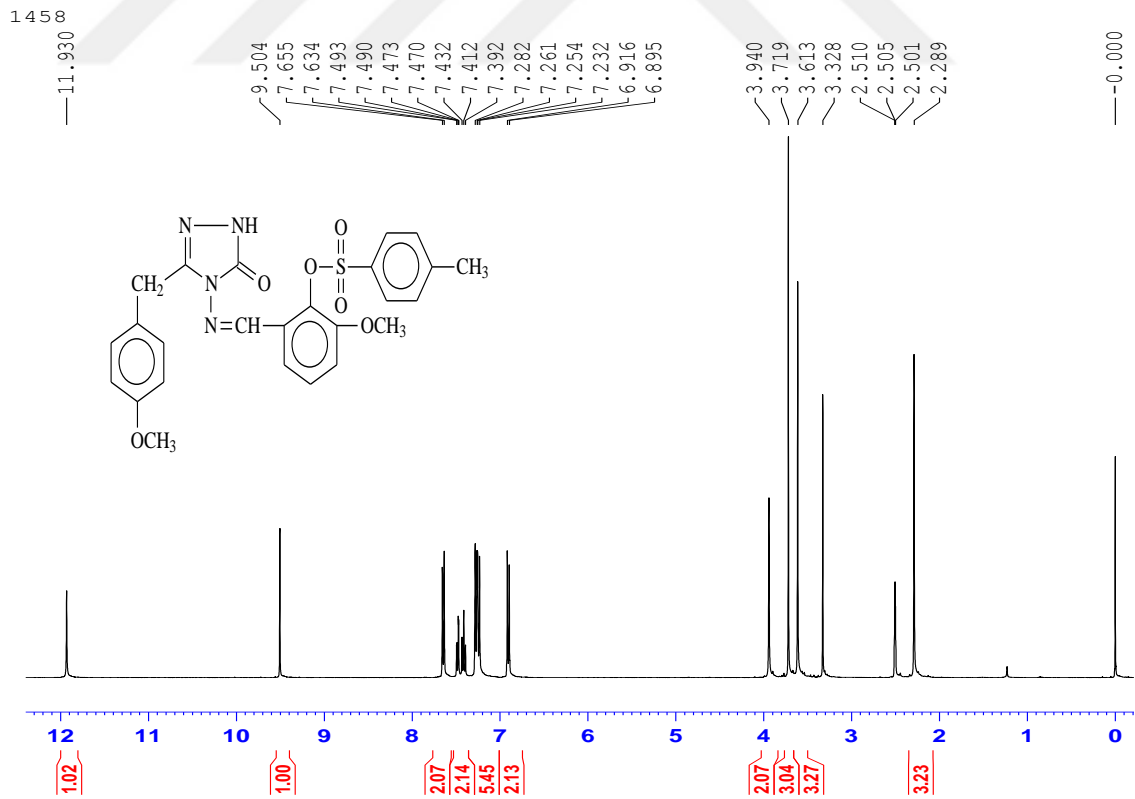
Ek Şekil 17. 10 Bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) Spektrumu



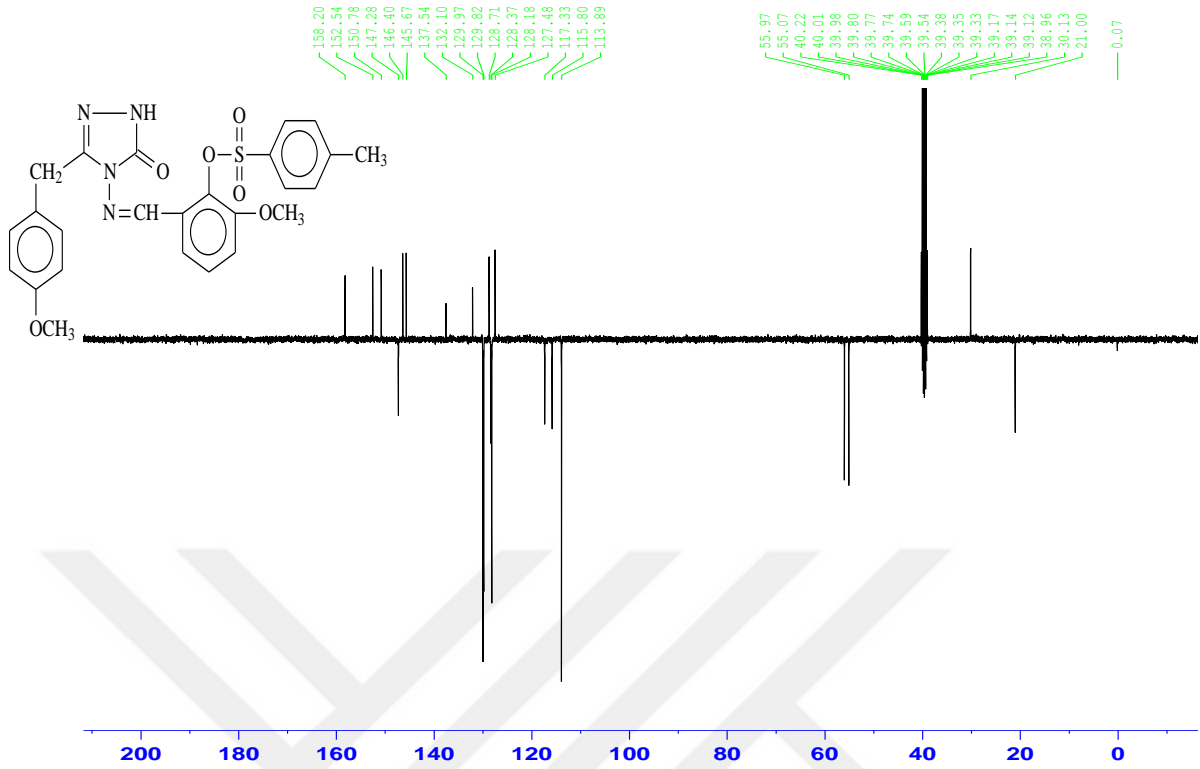
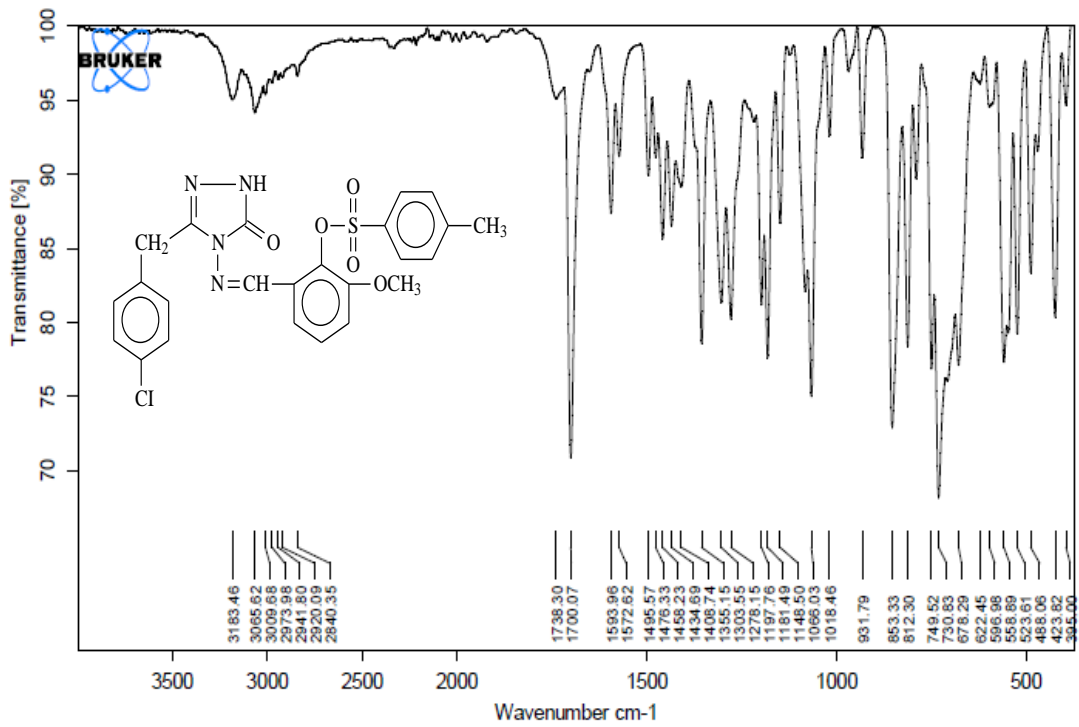
Ek Şekil 18. 10 Bileşiğinin $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-d_6) Spektrumu



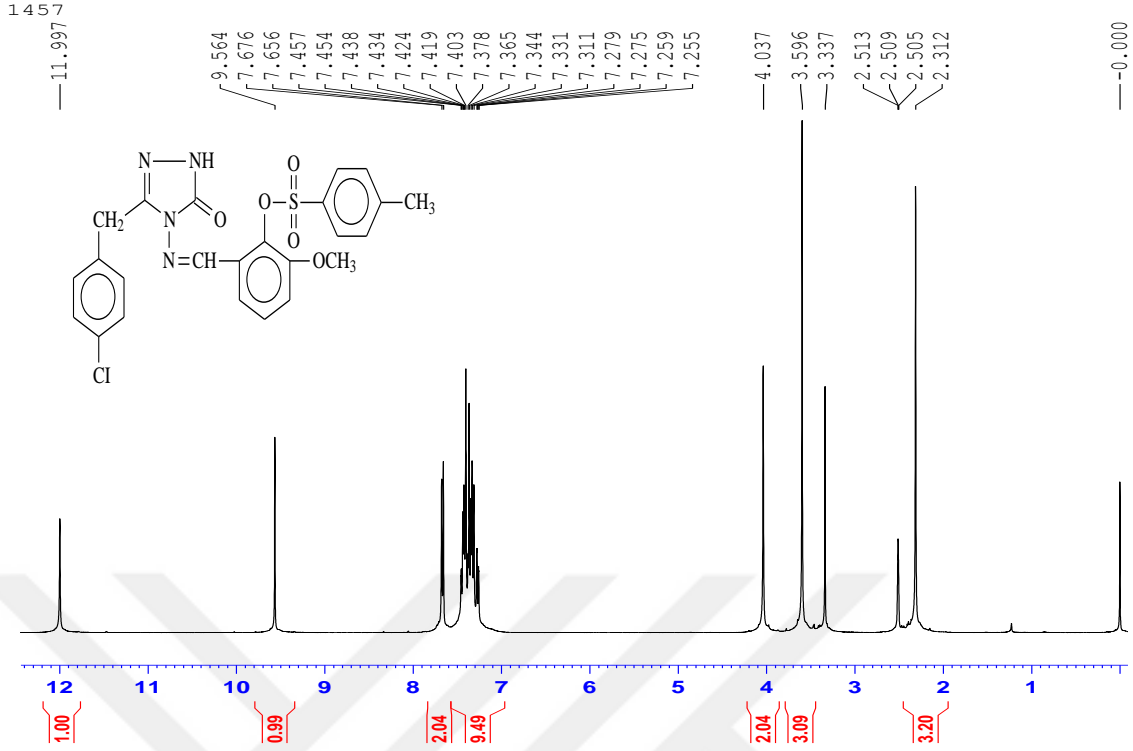
Ek Şekil 19. 11 Bileşiğinin IR Spektrumu



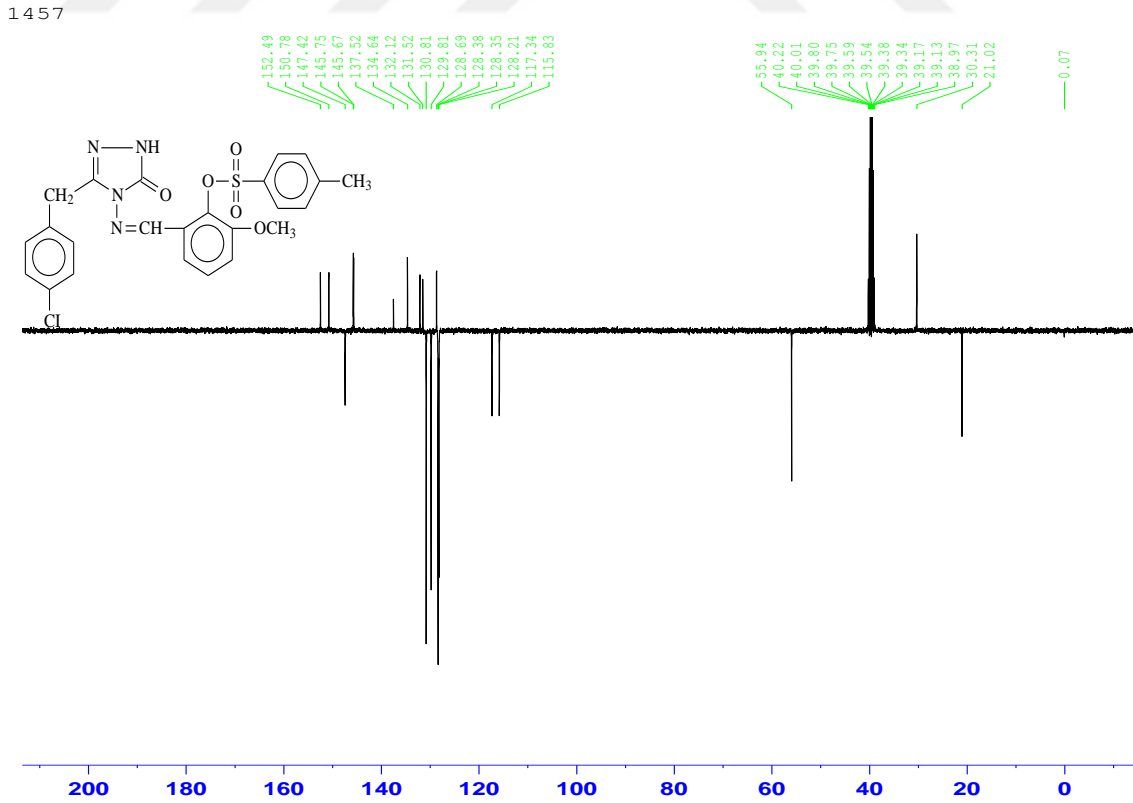
Ek Şekil 20. 11 Bileşiğinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) Spektrumu

Ek Şekil 21. 11 Bileşiğinin $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6) Spektrumu

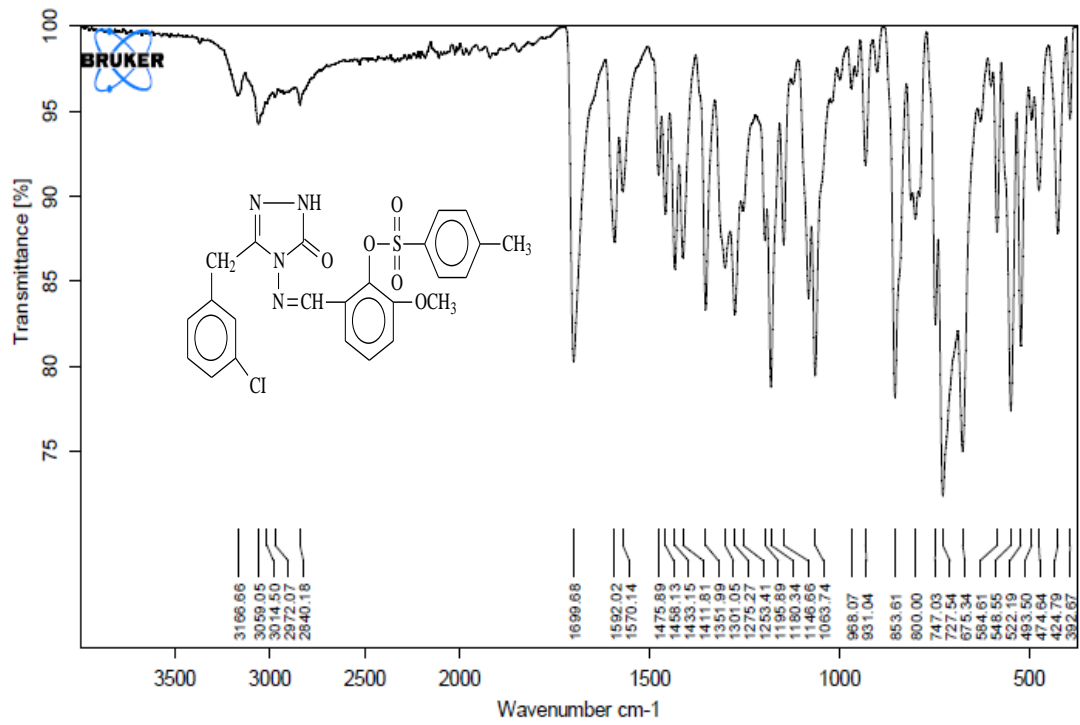
Ek Şekil 22. 12 Bileşiğinin IR Spektrumu



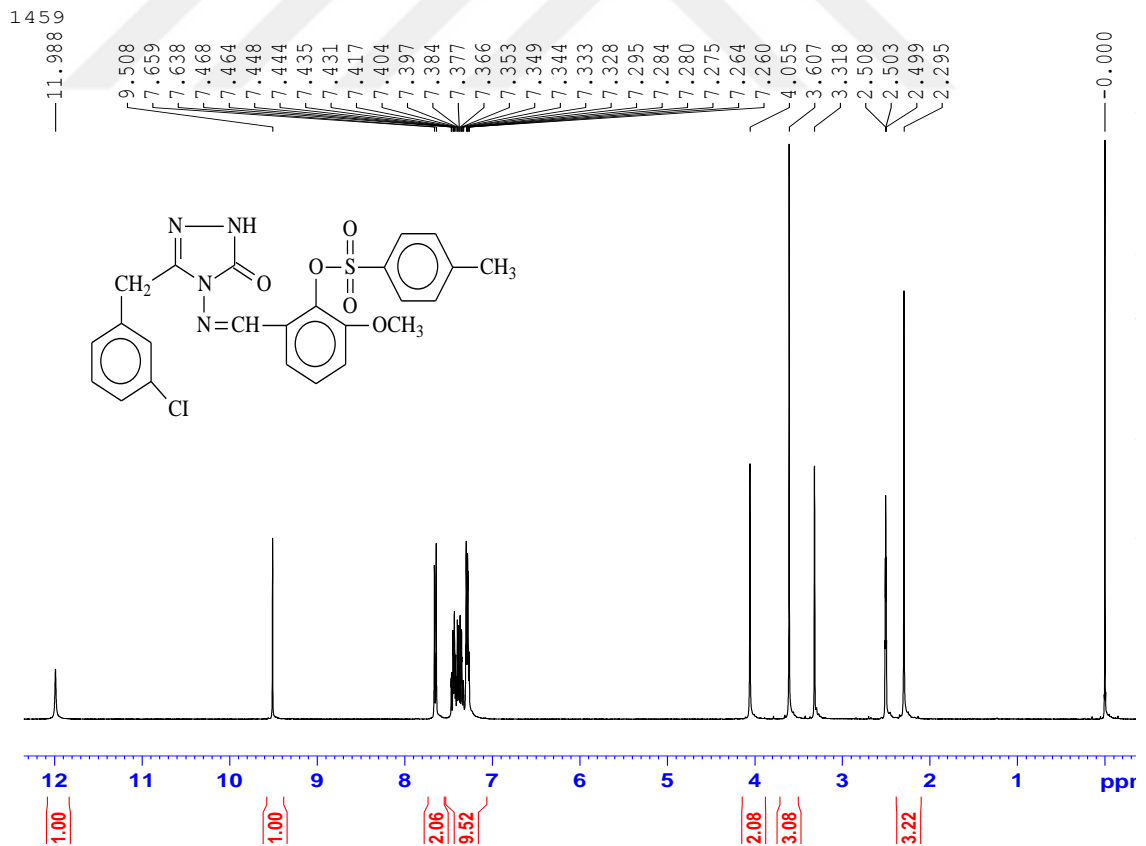
Ek Şekil 23. 12 Bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) Spektrumu



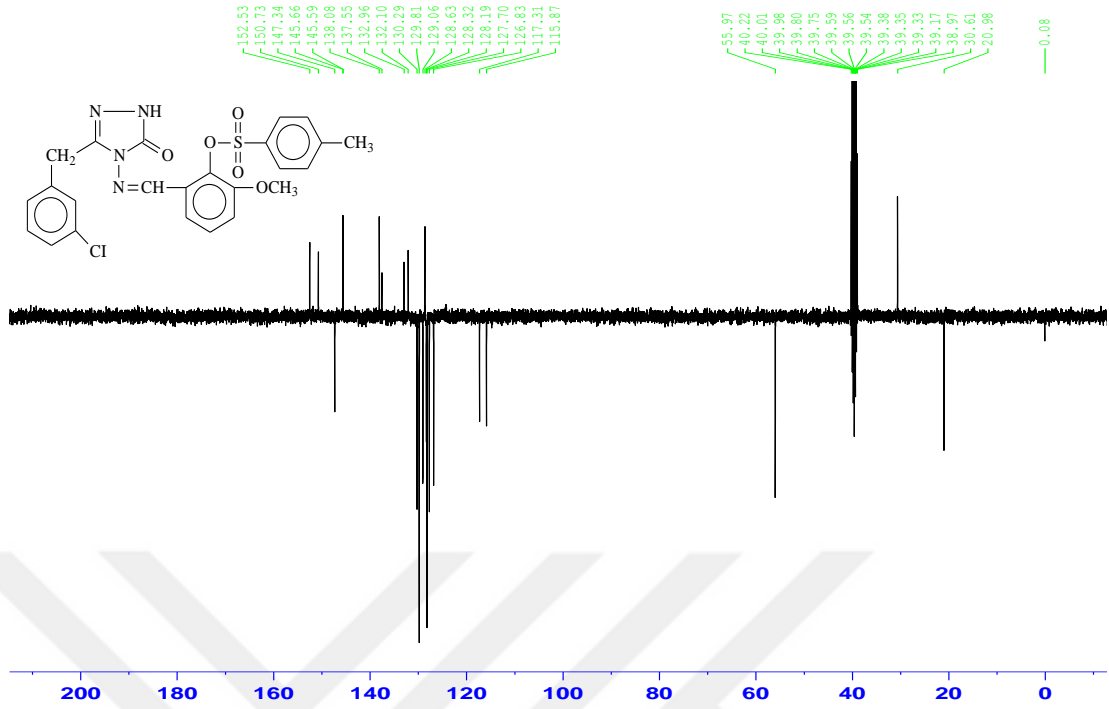
Ek Şekil 24. 12 Bileşiğinin $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-d_6) Spektrumu



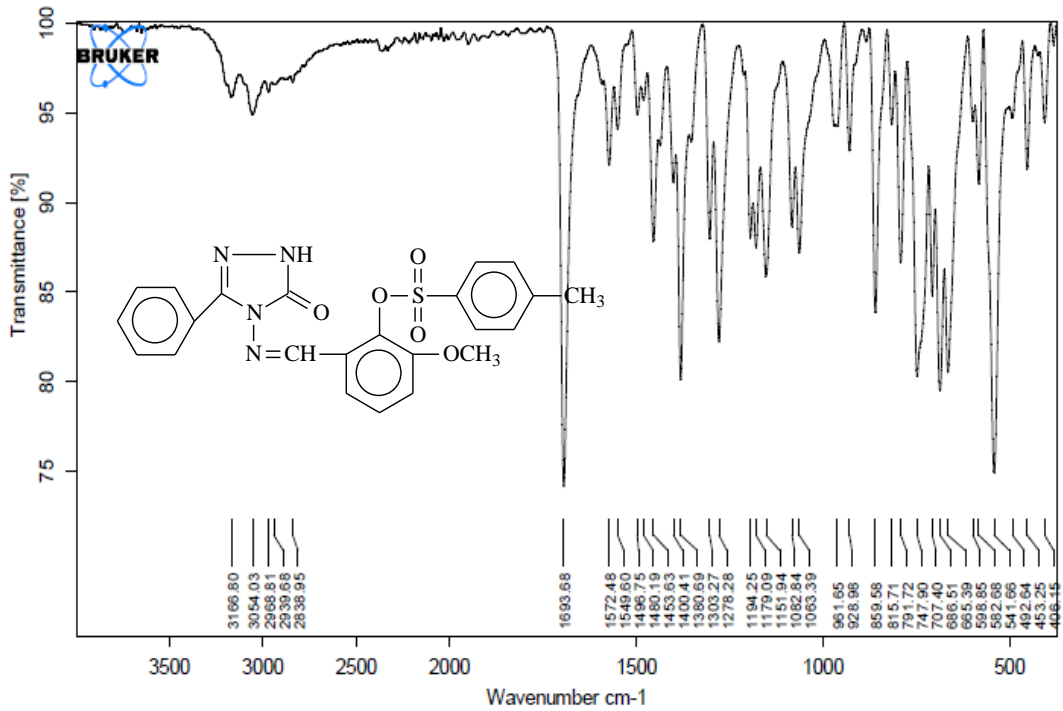
Ek Şekil 25. 13 Bileşiğinin IR Spektrumu



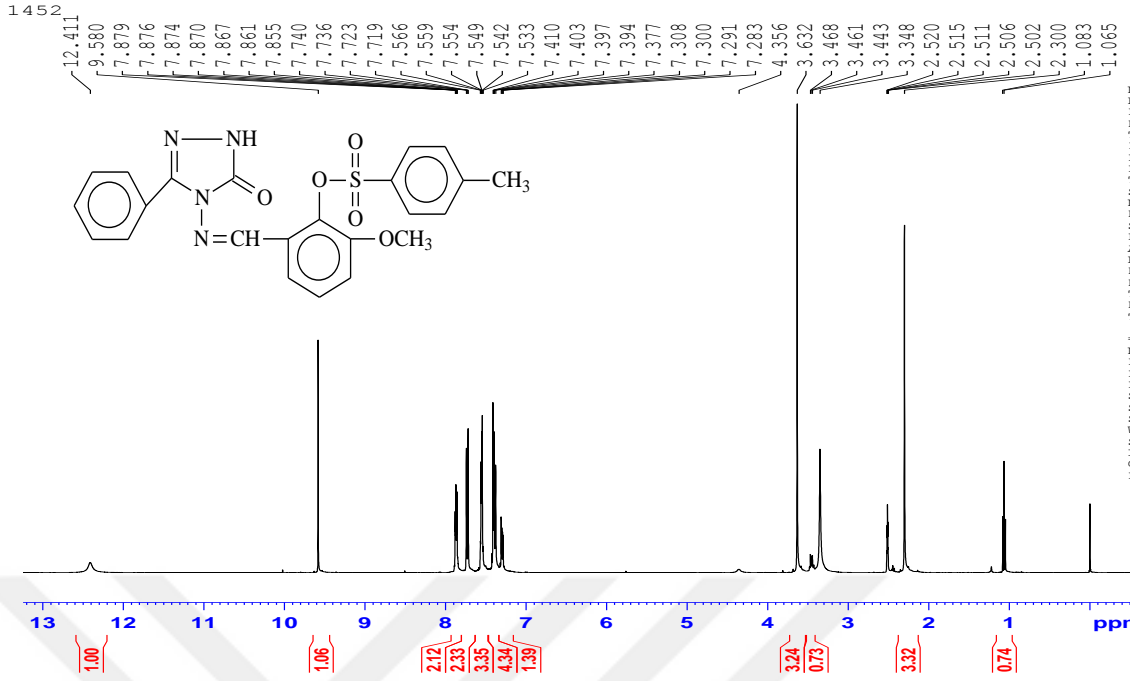
Ek Şekil 26. 13 Bileşiğinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) Spektrumu



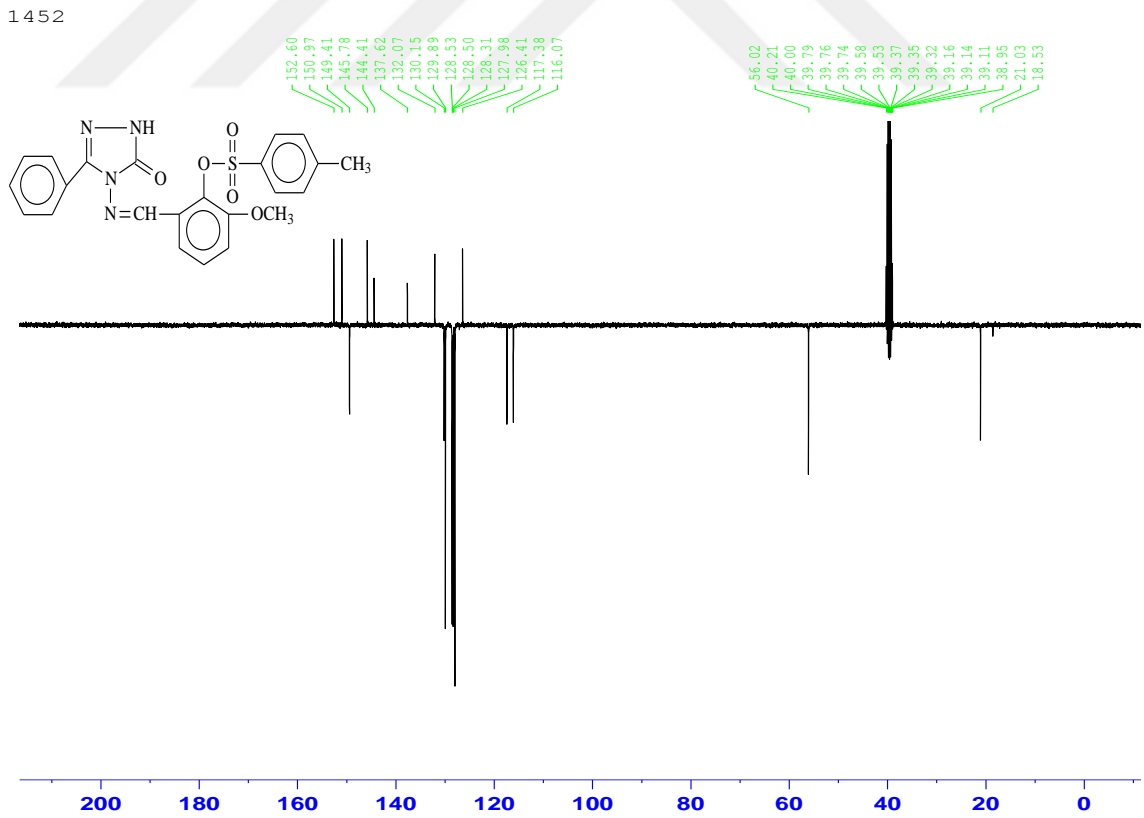
Ek Şekil 27. 13 Bileşiğinin $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6) Spektrumu



Ek Şekil 28. 14 Bileşiğinin IR Spektrumu



Ek Şekil 29. 14 Bileşiğinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) Spektrumu



Ek Şekil 30. 14 Bileşiğinin ¹³C-NMR (DMSO-d₆) Spektrumu

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Erman ÖZTÜRK
Adres : Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi
Telefon : 0536 888 40 41
E-posta : erman35_h@hotmail.com

Eğitim Bilgileri

Lisans : Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü
(2008-2012)

Yüksek Lisans : Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim
Dalı, Organik Kimya Bilim Dalı (2016-2019)

Tez Konusu : 3-Alkil-4-Amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on'ların 2-
Formil-6-Metoksifenil 4-Metilbensulfonat ile reaksiyonundan
yeni heterosiklik bileşiklerin Sentezi ve bazı özelliklerinin
incelenmesi