

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

**HETERO HALKALI BAZI YENİ BİLEŞİKLERİN BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

**YONCA YILMAZ
Yüksek Lisans Tezi**

**DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Ahmet HARMANKAYA**

**OCAK-2018
KARS**



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



**HETERO HALKALI BAZI YENİ BİLEŞİKLERİN BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

Yonca YILMAZ
Yüksek Lisans TEZİ

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Ahmet HARMANKAYA

OCAK-2018
KARS

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi **Yonca YILMAZ**'ın Yrd. Doç. Dr. Ahmet HARMANKAYA danışmanlığında yüksek lisans tezi olarak hazırladığı "**Hetero Halkalı Bazı Yeni Bileşiklerin Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi**" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy ..**birliği**..... ile kabul edilmiştir.

18/01/2018

Adı ve SOYADI

İmza

Başkan : Prof. Dr. Haydar YÜKSEK



Üye : Yrd. Doç. Dr. Ahmet HARMANKAYA (Danışman)



Üye : Yrd. Doç. Dr. Namık KILINÇ



Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .. / .. / 2018 gün ve/..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Doç. Dr. Fikret AKDENİZ

Enstitü Müdürü 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.

Yonca YILMAZ

18.01.2018

ÖZET

(Yüksek Lisans Tezi)

HETERO HALKALI BAZI YENİ BİLEŞİKLERİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Yonca YILMAZ

Kafkas Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ahmet HARMANKAYA

Bu tez çalışmasında, öncelikle 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri elde edilmiştir. 4-Hidroksi-3-metoksibenzaldehid ile trietilamin varlığında benzoil klorür ile reaksiyonundan elde edilen 4-formil-2-metoksifenil benzoat ile sentezlenen bu bileşikler reaksiyona sokularak 6 adet literatürde kayıtlı 4-(3-alkil/aril-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin)-2-metoksifenil benzoat bileşikleri sentezlenmiştir.

Tez çalışmasının orjinal bölümünde, 4-(3-alkil/aril-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin)-2-metoksifenil benzoat'ların formaldehit varlığında morfolin ve 2,6-dimetilmorfolin ile reaksiyonundan karşın gelen yeni 4-[1-(morfolin-4-il-metil)-3-alkil(aril)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat ve 5 adet yeni 4-[1-(2,6-dimetilmorfolin-4-il-metil)-3-alkil(aril)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat bileşikleri elde edilmiştir. 12 Adet yeni sentezlenen heterosiklik bileşiklerin yapıları IR, ¹³C-NMR ve ¹H-NMR spektroskopik metotları ile karakterize edilmiştir.

Çalışmada üçüncü olarak elde edilen yeni 4-[1-(morfolin-4-il-metil)-3-alkil(aril)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat ve yeni 4-[1-(2,6-dimetilmorfolin-4-il-metil)-3-alkil(aril)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat'ların metal şelat, indirgeme gücü ve serbest radikal giderme aktivitesi metotları kullanılarak *in-vitro* antioksidan özellikleri araştırılmış ve bulunan sonuçlar tartışılmıştır.

Çalışmada son olarak yeni bileşiklerin *in-vitro* antimikrobiyal özellikleri agar kuyucuk yöntemi ile 6 farklı mikroorganizmaya karşı incelenmiş olup elde edilen sonuçlar değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Schiff bazı, 4,5-Dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on, Mannich bazı, Antimikrobiyal, Antioksidan.

2018, 120 Sayfa

ABSTRAT

(M. Sc. Thesis)

INVESTIGATION OF BIOLOGICAL ACTIVITIES OF SOME NEW HETEROCYCLES COMPOUNDS

Yonca YILMAZ

Kafkas University

Graduate School of Applied and Natural Sciences

Department of Chemistry

Supervisor: Asisst. Prof. Ahmet HARMANKAYA

In this thesis, primarily 3-alkyl/aryl-4-amino-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-ones compounds were obtained. The reactions of these compounds with 4-formyl-2-methoxyphenyl benzoate which were obtained by reaction 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde with benzoyl chloride in the presence triethylamine and registered in the literature six 4-(3-alkyl/aryl-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-one-4-yl-azomethine)-2-methoxyphenyl benzoates were synthesized.

In the original part of the thesis work, 4-(3-alkyl/aryl-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-one-4-yl-azomethine)-2-methoxyphenyl benzoates were treated with morpholine and 2,6-dimethylmorpholine in the presence of formaldehyde according to the Mannich reaction to synthesize six novel 4-[1-(morpholin-4-yl-methyl)-3-alkyl (aryl)-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-one-4-yl-azomethine]-2-methoxyphenyl benzoate and six novel 4-[1-(2,6-dimethylmorpholin-4-yl-methyl)-3-alkyl(aryl)-4,5-dihydro-triazol-5-on-4-yl-azomethine]-2-methoxyphenyl benzoate compounds, respectively. The structures of synthesized twelve novel heterocyclic compounds were characterized by IR, ¹³C-NMR and ¹H-NMR spectroscopic methods.

In the thirdly section of the study, the synthesized novel 4-1-(morpholin-4-yl-methyl)-3-alkyl/aryl-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-yl-azomethine]-2-methoxyphenyl benzoate and the novel 4-[1-(2,6-dimethylmorpholin-4-yl-methyl)-3-alkyl(aryl)-4,5-dihydro-triazol-5-on-4-yl-azomethyl]-2-methoxyphenyl benzoates were investigated *in vitro* antioxidant properties by using free radical scavenging activity, reducing power and metal chelate activity methods and the obtained results were discussed.

Finally, the new compounds were examined *in-vitro* antimicrobial properties against 6 different microorganisms by the agar well method and the obtained results were evaluated.

Key words: Schiff base, 4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-one, Mannich base, Antimicrobial, Antioxidant.

2018, 120 pages

ÖNSÖZ

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

“Hetero Halkalı Bazı Yeni Bileşiklerin Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi” başlıklı yüksek lisans tez çalışmasında, öncelikle çalışmada kullanılan 3-alkil/aryl-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri elde edilmiştir. Elde edilen bu bileşiklerin trietilamin varlığında, 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehid’in benzoil klorür ile muamelesinden elde edilen 4-formil-2-metoksifenil benzoat ile muamelesinden 6 adet 4-(3-alkil/aryl-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin)-2-metoksifenil benzoat bileşiği sentezlenmiştir.

Çalışmanın orjinal bölümünde, 4-(3-alkil/aryl-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin)-2-metoksifenil benzoat bileşikleri formaldehit varlığında morfolin ve 2,6-dimetilmorfolin ile reaksiyona sokularak 12 adet yeni 4-[1-(morfolin-4-il-metil)-3-alkil(aryl)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat ve 4-[1-(2,6-dimetilmorfolin-4-il-metil)-3-alkil(aryl)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat bileşikleri elde edilmiştir.

Çalışmada, ikinci olarak sentezlenen toplam 12 adet yeni bileşiğin yapıları IR, ¹³C-NMR ve ¹H-NMR spektroskopik yöntemleri kullanılarak karakterize edilmiştir.

Çalışmada, üçüncü olarak 12 adet yeni sentezlenen 4-[1-(morfolin-4-il-metil)-3-alkil/aryl-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat ve yeni 4-[1-(2,6-dimetilmorfolin-4-il-metil)-3-alkil/aryl-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat’ların metal şelat, indirgeme gücü ve serbest radikal giderme aktivitesi metotları kullanılarak *in-vitro* antioksidan etkinlikleri araştırılmış ve bulunan sonuçlar tartışılmıştır.

Çalışmada son olarak yeni bileşiklerin *in-vitro* antimikrobiyal özellikleri agar kuyucuk yöntemi ile 6 farklı mikroorganizmaya karşı incelenmiş olup elde edilen sonuçlar değerlendirilmiştir.

Tez çalışmalarım sürecinde yanımda olan bilgisi ve desteğinden her daim faydalandığım danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Ahmet HARMANKAYA' ya çok teşekkür ederim.

Çalışmalarımı yönlendiren, yöneten, her aşamasını büyük bir özveri ve titizlikle takip eden saygıdeğer hocam, Prof. Dr. Haydar YÜKSEK'e saygı ve teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Antioksidan incelemelerinde ve sonuçların yorumlanmasında yardımını esirgemeyen sayın hocam, Doç. Dr. Özlem GÜRSOY KOL'a teşekkür ederim. Antimikrobiyal çalışmalarında ve yorumlarında desteklerini esirgemeyen sayın hocalarım Prof. Dr. Muzaffer ALKAN'a ve Uzm. Fevzi AYTEMİZ'e teşekkürlerimi sunarım. Hem tez sürecinde hem de manevi olarak benden yardımlarını esirgemeyen sayın hocalarım; Yrd. Doç. Dr. Murat BEYTUR' a, Yrd. Doç. Dr. Hilal MEDETALİBEYOĞLU'na ve Yrd. Doç. Dr. Sevda MANAP'a çok teşekkür ederim. Yine bu süreçte manevi desteklerini gördüğüm kıymetli dostlarım; Yeşim AYDIN DURSUN'a, Uzm. Rüya KAYA' ya, Ebru AKÜZÜM'e ve Hatice İclal GÖKCAN' a teşekkürlerimi sunarım. Her daim desteğini gördüğüm sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Ayşe KANICI'ya, çalışma ve tez sürecinde varlığı ile bana güç veren sevgili arkadaşım Doktora Öğrencisi Gül ÖZDEMİR'e ve Organik Kimya Araştırma ekibine teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme; kardeşlerime ve bilhassa anneme şükranlarımı sunarım.

Ocak 2018

Yonca YILMAZ

İÇİNDEKİLER

ÖZET	IV
ABSTRAT	VI
ÖNSÖZ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XIV
TABLolar DİZİNİ	III
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IV
1.GENEL BİLGİLER	1
1.1.Giriş.....	1
1.2.Antimikrobiyaller.....	2
1.2.1 Antimikrobiyallerin Sınıflandırılması.....	3
1.2.1.1.Yapılarına Göre Antimikrobiyaller	3
1.2.1.2. Etki Spektrumuna Göre Antimikrobiyaller.....	4
1.2.1.3. Hedef Mikroorganizmaya Göre Antimikrobiyaller	5
1.2.1.4. Etki Mekanizmalarına göre Antimikrobiyaller	7
1.2.1.4.1. Hücre Duvarı Sentezini İnhibe Eden Antimikrobiyaller.....	7
1.2.1.4.1.1. β - Laktamlar	7
1.2.1.4.1.2. Glikopeptitler	7
1.2.1.4.1.3. Diğerleri	8
1.2.1.4.2. Protein Sentezini İnhibe Eden Antimikrobiyaller:	8
1.2.1.4.3. Nükleik Asit Sentezini İnhibe Eden Antimikrobiyaller.....	8
1.2.1.4.4. Antimetabolitler	9
1.2.1.4.5. Membran Bütünlüğünü Bozan Antimikrobiyaller	9
1.2.2. Antimikrobiyal Direnç	10
1.2.2.1. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları.....	11
1.2.3. Antimikrobiyallerin Geleceği ve Direncin Önlenmesi	11
1.2.4. Antimikrobiyal Aktivite Düzeyinin Belirlenmesi.....	13
1.2.4.1. Disk Difüzyon Yöntemi	14
1.2.4.2. Antimikrobiyal gradyan yöntemi (E-test).....	15
1.2.4.3. Tüp Dilüsyon Yöntemi.....	16
1.2.4.4. Türbidimetrik Yöntem	16

1.3. Oksidatif Stres, Serbest Radikaller ve Antioksidanlar	17
1.3.1. Oksidatif Stres	17
1.3.2. Serbest Radikaller	17
1.3.3. Reaktif Oksijen Türleri	19
1.3.3.1. Süperoksit Anyonu (O_2^-)	19
1.3.3.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	20
1.2.3.3. Hidroksil Radikali ($\cdot OH$)	21
1.3.3.4. Singlet Oksijen (1O_2)	22
1.3.4. Diğer Reaktif Türler	22
1.3.4.1. Azot Oksit (NO^-)	22
1.3.4.2. Azot Dioksit (NO_2^-)	23
1.3.4.3. Peroksinitrit ($ONOO^-$)	23
1.3.4.4. Hipoklorik Asit ($HOCl$)	23
1.3.5. Serbest Radikal Kaynakları	24
1.3.6. Serbest Radikallerin Zararlı Etkileri	25
1.3.6.1. Lipit Peroksidasyonu	25
1.3.6.2. Protein Oksidasyonu	25
1.3.6.3. DNA Oksidasyonu	26
1.3.6.4. Karbonhidrat Oksidasyonu	26
1.3.7. Antioksidan Savunma Sistemleri	26
1.3.8. Antioksidan Aktivitesi Belirleme Metotları	29
1.4. 3-Alkil(Aril)-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on Bileşiklerinin Sentez Yöntemleri ve İncelenen Bazı Reaksiyonları	30
1.5. Yeni Bileşiklerin Sentezi	49
2. MATERYAL VE YÖNTEM	54
2.1. Sentez	54
2.1.1. 4-[1-(Morfolin-4-il-metil)-3-metil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il- azometin]-2-metoksifenil Benzoat (76a):	55
2.1.2. 4-[1-(Morfolin-4-il-metil)-3-etil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin] -2-metoksifenil Benzoat (76b):	56
2.1.3. 4-[1-(morfolin-4-il-metil)-3-benzil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il- azometin] -2-metoksifenil Benzoat (76c):	57

2.1.4. 4-[1-(morfolin-4-il-metil)-3-(p-metilbenzil)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil Benzoat (76d):.....	58
2.1.5. 4-[1-(Morfolin-4-il-metil)-3-(p-metoksibenzil)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil Benzoat (76e):.....	59
2.1.6. 4-[1-(morfolin-4-il-metil)-3-(p-kolorobenzil)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil Benzoat (76f):	60
2.1.7. 4-[1-(2,6-dimetilmorfolin-4-il-metil)-3-metil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (77a):.....	61
2.1.8. 4-[1-(2,6-dimetilmorfolin-4-il-metil)-3-etil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (77b):	62
2.1.9. 4-[1-(2,6-Dimetilmorfolin-4-il-metil)-3-benzil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (77c):	63
2.1.10. 4-[1-(2,6-dimetilmorfolin-4-il-metil)-3-(p-metilbenzil)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (77d):.....	64
2.1.11. 4-[1-(2,6-dimetilmorfolin-4-il-metil)-3-(p-metoksibenzil)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (77e):	65
2.1.12. 4-[1-(2,6-dimetilmorfolin-4-il-metil)-3-(p-klorobenzil)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (77f):	66
2.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayini.....	67
2.2.1. Kullanılan Mikroorganizmalar	67
2.2.1.1. Escherichia Coli	67
2.2.1.2. Bacillus Cereus.....	67
2.2.1.3. Bacillus Substilis	68
2.2.1.4. Staphylococcus aureus	68
2.2.1.5. Pseudomonas aeruginosa	69
2.2.1.6. Klebsiella Pneumonia.....	69
2.2.2. Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu	70
2.3. Yeni Maddelerin Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi	70
2.3.1. İndirgeme Gücü.....	70
2.3.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi.....	71
2.3.3. Metal Şelat Aktivitesi.....	72
3. BULGULAR	74

3.1. Sentezlenen Bileşiklerin IR, ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR Spektrum Verileri.....	74
3.2. Antimikrobiyal İncelemeleri	75
3.3. Antioksidan İncelemeleri	75
3.3.1. İndirgeme Gücü.....	75
3.3.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi.....	76
3.3.3. Metal Şelat Aktivitesi.....	77
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	78
4.1. Sentezlenen Bileşiklere Ait Spektrum Verilerinin Yorumlanması	78
4.2. Antimikrobiyal Etkinlik Sonuçlarının Değerlendirilmesi	79
4.2. Antioksidan İncelemesi Sonuçlarının Değerlendirilmesi	83
4.2.1. İndirgeme Gücü.....	83
4.2.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi.....	83
4.2.3. Metal Şelat Aktivitesi.....	84
6. KAYNAKLAR	86
EKLER.....	101
ÖZGEÇMİŞ.....	120

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1.	76 ve 77 Tipi bileşiklerin <i>Bacillus Substilis</i> 'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu ile elde edilen ZON çapları	80
Şekil 4.2.	76 ve 77 Tipi bileşiklerin <i>Bacillus cereus</i> 'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu ile elde edilen ZON çapları	80
Şekil 4.3.	76 ve 77 Tipi bileşiklerin <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'ya karşı agar kuyucuk difüzyon metodu ile elde edilen ZON çapları	80
Şekil 4.4.	76 ve 77 Tipi bileşiklerin <i>Klebsiella pneumonia</i> 'ya karşı agar kuyucuk difüzyon metodu ile elde edilen ZON çapları	81
Şekil 4.5.	76 ve 77 Tipi bileşiklerin <i>Staphylococcus aureus</i> 'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu ile elde edilen ZON çapları	81
Şekil 4.6.	76 ve 77 Tipi bileşiklerin <i>Escherichia coli</i> 'ya karşı agar kuyucuk difüzyon metodu ile elde edilen ZON çapları	81
Şekil 4.7.	76 Tipi Bileşiklerin Konsantrasyona Karşı % Metal Şelat Aktiviteleri	84
Şekil 4.8.	77 Tipi Bileşiklerin Konsantrasyona Karşı % Metal Şelat Aktiviteleri	85
Ek Şekil 1.	76a Bileşiğinin IR Spektrumu	102
Ek Şekil 2.	76a Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	102
Ek Şekil 3.	76a Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	103
Ek Şekil 4.	76b Bileşiğinin IR Spektrumu	103
Ek Şekil 5.	76b Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	104
Ek Şekil 6.	76b Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	104
Ek Şekil 7.	76c Bileşiğinin IR Spektrumu	105
Ek Şekil 8.	76c Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	105
Ek Şekil 9.	76c Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	106
Ek Şekil 10.	76d Bileşiğinin IR Spektrumu	106
Ek Şekil 11.	76d Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	107
Ek Şekil 12.	76d Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	107
Ek Şekil 13.	76e Bileşiğinin IR Spektrumu	108
Ek Şekil 14.	76e Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	108

Ek Şekil 15.	76e Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	109
Ek Şekil 16.	76f Bileşiğinin IR Spektrumu	109
Ek Şekil 17.	76f Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	110
Ek Şekil 18.	76f Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	110
Ek Şekil 19.	77a Bileşiğinin IR Spektrumu	111
Ek Şekil 20.	77a Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	111
Ek Şekil 21.	77a Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	112
Ek Şekil 22.	77b Bileşiğinin IR Spektrumu	112
Ek Şekil 23.	77b Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	113
Ek Şekil 24.	77b Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	113
Ek Şekil 25.	77c Bileşiğinin IR Spektrumu	114
Ek Şekil 26.	77c Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	114
Ek Şekil 27.	77c Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	115
Ek Şekil 28.	77d Bileşiğinin IR Spektrumu	115
Ek Şekil 29.	77d Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	116
Ek Şekil 30.	77d Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	116
Ek Şekil 31.	77e Bileşiğinin IR Spektrumu	117
Ek Şekil 32.	77e Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	117
Ek Şekil 33.	77e Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	118
Ek Şekil 34.	77f Bileşiğinin IR Spektrumu	118
Ek Şekil 35.	77f Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	119
Ek Şekil 36.	77f Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	119

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.1.	CLSI tarafından önerilen Disk difüzyon metodu için kültür ortamı, mikrobik inokulum boyutu ve inkübasyon koşulları	15
Tablo 1.2.	Biyolojik Sistemlerde Bulunan Antioksidanlar	28
Tablo 2.1.	İndirgeme Gücü Tayininde İlave Edilen Reaktif Miktarları	71
Tablo 2.2.	Serbest Radikal Giderme Tayininde İlave Edilen Reaktif Miktarları	72
Tablo 2.3.	Metal Şelat Aktivitesi Tayininde İlave Edilen Reaktif Miktarları	72
Tablo 3.1.	76 ve 77 Tipi Bileşiklerin Bakterilere Karşın ZON Çap Değerleri	75
Tablo 3.2.	76 ve 77 Tipi Bileşiklerin İndirgeme Gücü	76
Tablo 3.3.	76 ve 77 Tipi Bileşiklerin Absorbans Değerleri ve Karşın Olan % Serbest Radikal Giderme Aktiviteleri	76
Tablo 3.4.	76 ve 77 Tipi Bileşiklerin Absorbans Değerleri ve Karşın Olan % Metal Şelat Aktiviteleri	77
Tablo 4.1.	76 ve 77 Tipi Bileşiklerin Bakterilere Karşın Aktiviteleri	82

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	: Absorbans
ABTS	: 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
BHT	: Butillenmiş hidroksi toluen
BHA	: Butillenmiş hidroksi anisol
Ferrozin	: 3-(2-Piridil)-5,6-difenil-1,2,4-triazin-4',4''-disulfonyk asit sodyum tuzu
λ	: Dalga boyu (nm)
N	: Dalga sayısı (cm^{-1})
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikril-hidrazil
EDTA	: Etilendiamin tetraasetikasit
ETS	: Elektron transfer sistemi
IR	: Infrared
Δ	: Kimyasal kayma (ppm)
E	: Molar absorbtivite katsayısı
NMR	: Nükleer magnetik rezonans
PUFA	: Poliansatüre yağ asitleri
ROT	: Reaktif oksijen türleri
TCA	: Trikloroasetik asit
TMS	: Tetrametilsilan
UV	: Ultraviyole

1. GENEL BİLGİLER

1.1.Giriş

Triazol bileşikleri, ilaç etken maddesi, tarım ilacı ve yapay akseptörler olarak kullanılabilmesinin yanı sıra çok moleküllü ligand oluşturabilme özelliklerinden [1, 2] dolayı, son derece cazip bir araştırma alanı haline gelmiştir. Triazol türevlerinin zayıf etkileşimler üzerinden (koordinasyon bağı, iyon-dipol, van der-Waals kuvvetleri, hidrofobik etki..vs gibi) biyolojik sistemdeki çeşitli enzim ve reseptörlerle kolayca bağ yapabilmesi nedeniyle, bu bileşikler geniş bir alanda biyolojik etki gösterebilmektedir [3-5]. Diğer spesifik özelliği olan çok moleküllü yapılar oluşturabilmesi sayesinde triazoller yeni ilaçların geliştirilmesinde önem arz etmektedir [6-8]. Yeni ilaçların araştırma ve geliştirmelerinde triazol-esaslı türevlerinin bir kısmı geniş ölçüde hazırlanmış ve biyolojik faaliyetleri için araştırılmıştır. Özellikle, antifungal ilaç olarak triazol bileşikleri klinik tedavide oldukça önemli bir rol oynamakta ve mantar enfeksiyonunun tedavisi için ilk seçenek ilaçlar olmuştur. Birçok triazol türevi güçlü farmakolojik aktivitesi, düşük toksisitesi, yan etkilerinin azlığı, yüksek biyo-ayarlanım, iyi farmakokinetik özellik, ilaç hedefleme, ilaç uygulama çeşitliliği, geniş spektrumu ve daha iyi iyileştirici gibi etkilerinden dolayı klinik ilaç olarak kullanılmakta veya çeşitli hastalıkların tedavisi için aday haline gelmektedirler [9].

Heterosiklik bileşikler olan 1,2,4-Triazol ve türevlerinin antioksidan, antikanser, antiinflamatuvar, ağrı kesici ve antimikrobiyal özellikler gibi birçok çeşitli farmakolojik aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir [10-13]. Bu farmakolojik aktivitelere örnek olarak, rizatriptan (antimigren ajan), flucanazol ve itraconazol (antifungal ajan), ribavirin (antiviral ajan), alprazolam (anksiyolitik ajan) gibi tıp dünyasında en yaygın kullanılan ilaçların yapısında triazol halkasının olduğu bilinen moleküllerdir. Son yıllarda Mannich bazlarının araştırıldığı çok sayıdaki çalışmada antiinflamatuvar, antifungal, antibakteriyel, pestisit ve antimalarial özellikler gibi ılımlı biyolojik aktivite gösterdiği ve birçok kimya alanında, özellikle ilaç tasarımında ve tıpta etkin bir şekilde kullanımının arttığı desteklenmiştir[14-17]. *N*-metilpiperazin substituentine sahip 1,2,4-triazollerden türetilen Schiff-Mannich bazları biyolojik olarak önemli kullanım

alanlarına sahip [18, 19] ve farmasotik kimya açısından çok önemli heterosiklik yapısı olan bileşiklerdir [20-22].

1.2. Antimikrobiyaller

Antimikrobiyaller, mikroorganizmaların (bakteri, protozoon, maya) çoğalmalarını engelleyen veya mikroorganizmaları öldüren maddelerdir. Antimikrobiyal özelliğe sahip maddelerin öldürücü etkisi “mikrobiosidal” olarak , mikroorganizmaların çoğalmalarını engelleyen etki ise “mikrobiostatik etki” olarak adlandırılır. Canlı varlıkların dış yüzünün veya cansız objelerin mikroplardan arındırılması için kullanılan dezenfektanlar ise “antimikrobiyal maddeler” olarak adlandırılırlar [23]. Fakat, gerek bazı yan etkilere sahip olmaları gerekse de mikroorganizmalarda direnç gelişimine sebep olmaları nedeniyle antimikrobiyaller dezavantajlara da sahiptirler. Bu yüzden kullanılacakları zaman, etkene ve konakçıya ait faktörler de dikkate alınıp buna göre seçilmeleri gerekmektedir. Bazı bakteri ve mantarlar tarafından üretilen veya *in vitro* olarak sentezlenebilen antibiyotik, bakterilerin üremesini engelleyen veya onları öldüren doğal maddelerdir. Penisilin, sefalosporinler ve makrolidler antibiyotiklerin tipik örnekleriyken, sentetik olarak sentezlenip fakat antibiyotiklerle aynı etkiyi gösteren, sülfonamidler, kinolonlar, imidazoller ise “kemoterapötik ajanlar” olarak adlandırılırlar [24].

Kuzey İtalya’da, 1991 yılında bir buzulun altında bulunan ve günümüzden yaklaşık 5300 yıl önce yaşadığı öne sürülen mumyanın rektumunda belirlenen “*Piptoporus betulinus*” olarak adlandırılan mantarın mikobakteriler üzerinde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Bu bilgi, antimikrobiyal temellerinin o tarihlerde, belki de ondan daha öncesinde kullanılmış olabileceği düşüncesini doğurmuştur. Tarihsel süreç içerisinde ise Louis Pasteur’ün 19. yüzyılda “bazı mikroorganizmaların diğerlerini öldürdüğünü” gözlemlemesi, 1909 yılında Alman bakteriyolog Paul Ehrlich’in “salvarsan” olarak adlandırdığı bir maddenin sifilizin erken döneminde etkili olduğunu keşfetmesi, İskoçyalı bilim insanı Alexander Fleming’in 1928 yılında, bir mantar kültür filtratının stafilokokların gelişimini önlediğini tesadüfen fark edip bu filtrata “*Penicillium notatum*” olarak adlandırması, yine 1940 yılında Oxford

Üniversitesi'nden Ernst Chain ve Howard Florey'in bu kültür filtratından elde ettikleri ve filtrattan çok fazla etkinliğe sahip "penisilin tozu" mucizesi, Alman bilim adamı Gerhard Domagk'ın bir boya maddesinin streptokokları yok ettiğini bulması ve İsveç bilim adamı Daniel Bovert'in ise bu maddeyi "sülfonamid" olarak adlandırması, enfeksiyonlara karşı mücadelede günümüze kadar geliştirilmiş olan pek çok antibiyotik için esin kaynağı olmuştur. Antibiyotikler gelişiminde en önemli dönemlerden biri; Pasteur'ün dost mikroorganizmalarla ilgili sıra dışı buluşudur. Penisilin ve sülfonamidlerden sonra daha etkili spektruma sahip penisilinler başta olmak üzere hızlı bir şekilde yeni antibiyotikler geliştirilmiş ve birçok enfeksiyon hastalığının tedavisinde başarı elde edilmeye başlanmıştır. Bunlar arasında en önemlilerinden birisi, antibiyotikler için "isim babası" olan S. A. Waksman tarafından bulunan ve tüberküloz hastalığının tedavisinde çığır açan streptomisin keşfidir [25].

1.2.1. Antimikrobiyallerin Sınıflandırılması

Antibiyotikler; yapıları, etki spektrumları ve etkin olduğu mikroorganizma türlerine göre çeşitli şekillerde sınıflandırılmaktadırlar.

1.2.1.1.Yapılarına Göre Antimikrobiyaller

1. Doğal Antimikrobiyaller: Katkı maddeleri, üründeki kaliteyi yükseltmek, gıdaları muhafaza etmek ve raf kullanım süresini artırmak gayesiyle ürüne ilave edilen maddeler olarak tarif edilirler. Antimikrobiyal katkı maddeleri ise bu süreçler içerisinde mikrobiyal üremeyi kontrol altında tutmak için kullanılmaktadırlar. Antimikrobiyaller, doğal ve sentetik ortamlarda elde edilenler şeklinde iki grupta incelenebilir. Doğal olanlar hayvan, bitki ve mikrobiyal kökenli antimikrobiyaller olarak ifade edilirken, sentetik olanlar ise, yasal izinlerle kullanılan asetat ve asetik asit, benzoat ve benzoik asit, laktat ve laktik asit, sorbat ve sorbik asit, sülfid, nitrit ve nitrat olarak adlandırılan antimikrobiyallerdir [26]. Katkı maddesi ihtiva etmeme, daha az tuz içerme ve süreç içerisinde daha az işlem görme gibi koruyucu etkenlerin azalması nedeniyle gıda

mikrobiyal üreme ve bozunma reaksiyonları yönünden riskli hale gelmekte, ayrıca ürünün raf ömrü kısıtlanmaktadır.

Tüketiciler, sentetik olanlardan ziyade bitki, hayvan ve mikrobiyal kaynaklı olarak elde edilen doğal antimikrobiyallerin kullanımına yönelik eğilim göstermektedirler. Günümüzde doğal olarak elde edilen antimikrobiyallerin bir kısmı gıda muhafazasında kullanılırken bir kısmı ise araştırılma aşamasındadır. Yumurtada bulunan lizozim, ovotransferrin ve avidin, sütteki laktoperoksidaz ve laktoferrin, kan serumundaki transferin, hayvansal kaynaklı doğal antibiyotiklere, fitoaleksinler, baharat ve şifalı bitkilerden elde edilen düşük molekül ağırlığına sahip “karvakrol”, “eugenol”, “timol”, “sinnamik aldehid”, “allikin” gibi fenolik bileşenler, esansiyel yağlar ve ekstraktlar ise bitkisel kaynaklı doğal antimikrobiyalere örnek verilebilmektedir. Ayrıca nisin ve pediosin gibi bakteriyosinler ise mikroorganizmalardan elde edilen doğal antimikrobiyaller arasında yer almaktadır [26-28].

2. Yarı Sentetik Antimikrobiyaller: Kimyasal olarak değiştirilmiş doğal bileşikler olan yarı sentetik ilaçlar, toksisiteyi azaltmak ve etkinliklerini arttırmak için geliştirilmiştir. Ampisilin ve amikasin bu tür antimikrobiyalere örnek verilebilir [23, 24].

3. Sentetik Antimikrobiyaller: Laboratuarda kimyasal olarak sentezlenmiş olan sentetik antimikrobiyallerin etkinlikleri oldukça fazladır ve düşük toksisiteye sahiptirler. Ayrıca bu ilaçlar salınana kadar bakteri bu bileşiklerle temas etmemektedir. Moxifloxacin ve Norfloxacin sentetik antibiyotiklerdir [23, 24].

1.2.1.2. Etki Spektrumuna Göre Antimikrobiyaller

1. Mikrobiostatik: Mikroorganizmanın üremesi esnasında etki ederek çoğalmasını engelleyen biyolojik veya kimyasal ajanlardır. Uygulama alanlarına göre antibiyotik, antiseptikler ve dezenfektan olarak ayrılırlar. Bakteriyostatik antibiyotikler bakteriyel protein sentezi, DNA replikasyonu veya diğer bakteriyel hücre metabolizmasını engelleyerek etki gösterirler. Bu grup antibiyotikler arasında tetrasiklinler,

sulfonamidler, spektinomisin, trimetoprim, kloramfenikol, makrolidler, lincosamidler gibi bileşikler sayılabilir [23].

2. *Mikrobiosidal*: Mikroorganizmaları öldüren bileşiklerdir. Bunlar dezenfektan, antiseptik ve antibiyotik olarak sınıflandırılırlar [23].

1.2.1.3. Hedef Mikroorganizmaya Göre Antimikrobiyaller

1. *Antibakteriyal*: Antibiyotikler, genellikle bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılırlar. İnsanlar ve hayvanlarda genellikle düşük toksisite gösterirler. Fakat bazı antibiyotiklerin uzun süre kullanımı bağırsak florasının bakteri sayısını azaltarak sağlıklı bireylerde negatif bir etki yapar. Bu tür durumlarda tedavi süresince veya sonrasında probiyotiklerin kullanımı önerilmektedir. Antibiyotik terimi orjinalinde canlı organizmadan elde edilen bileşik olarak anlaşılrsa da sulfonamidler gibi sentetik antimikrobiyaller de vardır [23].

“Antibiyotikler, ilaçlar arasında en çok kullanılan maddelerdir. Ayrıca antibiyotikler viral solunum sistemi hastalıklarının tedavisinde de kullanılmaktadırlar. Direnç problemi, mevcut antibiyotiklere direnç gösteren patojen bakterilere karşı etkili ajanların araştırılması için yeni çabaların sarfedilmesini gerektirmektedir [23].”

2. *Antiviral*: “Antiviral ilaçlar, viral enfeksiyonların tedavisi için özelleşmiş ilaç grubudur. Antibiyotiklerde olduğu gibi özel virüsler için özel antiviraller kullanılmaktadır. Konağa zararı oldukça azdır ve böylece enfeksiyon tedavisinde rahatlıkla kullanılabilirler. Antivirallerin, vücut dışında virüs partiküllerini aktif bir şekilde deaktive eden virüsitlerden ayırt edilmesi gerekir. Mevcut antivirallerin çoğu retrovirus enfeksiyonlarının, özellikle de HIV’in tedavisinde kullanılmaktadır. Antiretroviral ilaçların önemli bir kısmı proteaz inhibitörleridir. Uçuk ve genital herpesin etkeni olarak bilinen *Herpes virus* enfeksiyonları ise nükleosid analogu asilovir ile tedavi edilmektedir. Beş farklı hepatotropik virus tarafından oluşturulan Viral hepatitis (A-E) de enfeksiyonun tipine göre antiviral ilaçlarla tedavi edilmektedir. İnfluenza A ve B virüsleri yeni influenza tedavisinin geliştirilmesinde ve oseltamivir

gibi nöroaminidaz inhibitörlerine karşı direncin ortadan kaldırılmasında oldukça önemli hedeflerdir. Antiviral ilaçlar virüsün hücreye girmeden önce, çoğalma aşamasında veya bazı olgularda hücreden salınması aşamasında da etki gösterirler. Fakat antibiyotiklerde olduğu gibi bazen antiviral ilaca direnç gelişebilir [23].”

3. *Antifungal*: Antifungaller, mantar, kandidia, kriptokokokal menenjit gibi çeşitli mantar-maya enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan ilaçlardır. Bakterilerin aksine mantar ve insanlar ökaryotik canlılardır. Her iki türe ait hücreler moleküler düzeyde benzer oldukları için antifungal bir ilacın infekte bir organizmada etki edecek hedef bölgeyi bulması oldukça güçtür.

4. *Antiparaziterler*: Antiparaziterler nematod, cestod, trematod, infeksiyöz protozoa ve amoeba gibi parazitlere karşı kullanılan ilaçlardır. Antifungaller gibi enfeksiyon ajanlarını konağa ciddi zararları olmadan öldürürler [23].

5. *Farmasötik Olmayan Antimikrobiyaller*: Birçok kimyasal ve doğal bileşik antimikrobiyal olarak kullanılmaktadır. Laktik asit, sitrik asit, asetik asit gibi organik asitler ve tuzları içerik ve dezenfektan olarak gıdalarda kullanım alanına sahiptir. Çeşitli bitkiler enfeksiyonların önlenmesinde ve tedavisinde uzun zamandan beri kullanılmaktadır. Bu bitkilerin çoğunun antimikrobiyal aktivitesi bilimsel olarak incelenmiş ve çok sayıda bitkisel ürünün patojen mikroorganizmaların üremesini inhibe edici etkinliğe sahip olduğu saptanmıştır. Bunların birçoğunun yapısı ve etki tarzları kullanılan güncel antibiyotiklerden farklı olduğu için çapraz direnç azaltılmasında değer arz etmektedir.

6. *Esansiyel Yağlar*: Yirmi bir bitkisel esansiyel yağ ve iki esansın *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Campylobacter jejuni*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* gibi gıda kaynaklı patojenlere karşı etkinlikleri araştırılmıştır. Defne, tarçın, karanfil, kekik yağının çoğu bakteri üzerinde inhibitör etkilerinin olduğu saptanmıştır [23].

7. *Kasyon ve Elementler*: Hg^{2+} , Cu^{2+} ve Pb^{2+} gibi birçok ağır metal katyonlarının antimikrobiyal aktivitesi vardır, fakat diğer canlı organizmalar için çok toksik olduklarından infeksiyöz hastalıkların tedavisinde kullanım alanına sahip değildirler. Kolloidal gümüş bilimsel etkinliği açık olarak kanıtlanmadan alternatif tıpta kullanılan yaygın bir antimikrobiyaldir [23].

1.2.1.4. Etki Mekanizmalarına göre Antimikrobiyaller

Antimikrobiyallerin hücre duvarı sentezini inhibe etme, protein sentezini inhibe etme, nükleik asit sentezini inhibe etme, membran bütünlüğünü bozma ve antimetabolit gibi etki mekanizmaları vardır.

1.2.1.4.1. Hücre Duvarı Sentezini İnhibe Eden Antimikrobiyaller

1.2.1.4.1.1. β - Laktamlar

Bakterisidal etkiye sahip bu antimikrobiyaller, bakterilerin hücre duvarında bulunan peptidoglikan yapının sentezinde son basamakta görevli olan transpeptidaz ve karboksipeptidaz enzimlerini inhibe ederek hücre duvarı sentezini durdururlar [24, 31].

- *Penisilinler* Anti-pseudomonal penisilinler olarak adlandırılan karboksipenisilinler ve üreidopenisilinler, gram negatif bakterilere karşı diğerlerinden daha fazla etkinlik gösterirler [32]. Özellikle enterokoklar ve Pseudomonas türleri gibi antibiyotik direncinin sorun teşkil ettiği bakterilere karşı etkilidirler [31, 32].

1.2.1.4.1.2. Glikopeptitler

Büyük polar moleküler yapıya sahip olan vankomisin ve teikoplanin bu grup içerisinde yer alır. Gram negatif bakterilerin hücre duvarına penetre olamamaları nedeniyle, alanları aerob ve anaerob gram pozitif bakterilerle sınırlıdır [33, 34].

1.2.1.4.1.3. Diğerleri

Fosfomisin: Bakterisidal etkisini hücre duvarı sentezi için gerekli olan MurA enzimine bağlanarak gösterir. Bunun yanısıra, üropatojenik olarak önemli bakterilerin fimbriyalarının sentezini ve hareket yeteneğini de azaltır [35]. Gram negatif bakteriler üzerindeki etkinliği (*Pseudomonas* türleri hariç) daha fazladır. Geniş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) sentezleyenler de dahil *Klebsiella spp.* ve *E. coli* gibi enterik basillere ve vankomisine dirençli enterokoklara karşı etkilidir [35, 36]. Üst üriner sistem enfeksiyonlarında kullanımı önerilmemekle beraber, komplike olmamış alt üriner sistem enfeksiyonlarında oral tek doz tedavi avantajı vardır [35].

1.2.1.4.2. Protein Sentezini İnhibe Eden Antimikrobiyaller:

30S Ribozomal alt üniteye bağlananlar (tetrasiklinler, glisilsiklinler ve aminoglikozidler), 50S ribozomal alt üniteye bağlananlar (linkozamidler, kloramfenikol, makrolidler ve ketolidler, oksazolidinonlar ve streptograminler) ve diğerleri (nitrofurantoin) olmak üzere kısımlara ayrılmaktadır.

1.2.1.4.3. Nükleik Asit Sentezini İnhibe Eden Antimikrobiyaller

Kinolonlar: DNA giraz enziminin inhibisyonu yoluyla DNA replikasyonunu bozarlar. Birinci kuşak kinolonlar; nalidiksik asit, oksolinik asit, sinoksasin, piromidik asit, pipemidik asit, flumekin gibi kinolon türevleridir. Kinolonlar, gram negatif aerobik bakterilere karşı etkiliyken, gram pozitif aerob ve anaeroblara etkisizdir [37]. Sistemik enfeksiyonlarda düşük serum düzeyleri nedeniyle kullanılamazken, idrarda yüksek konsantrasyonlara ulaşmaları, üriner sistem enfeksiyonlarında yaygın olarak kullanılmalarına dolayısıyla da hızlı direnç gelişimine neden olmuştur [38]. İkinci kuşak kinolonların (siprofloksasin, ofloksasin, norfloksasin) gram negatif etkinliği daha iyi olmakla beraber gram pozitif etkinliğe de sahiptirler. Anaerob bakteriler üzerinde etkinlikleri bulunmamaktadır [37, 39]. Üçüncü kuşak (levofloksasin) ve dördüncü kuşak (moksifloksasin ve gemifloksasin) kinolonların, özellikle pnömokoklara karşı olmak

üzere artmış gram pozitif etkinliklerinin yanı sıra anaeroblara karşı da güçlü etkiye sahiptirler [37, 40].

1.2.1.4.4. Antimetabolitler

Trimetoprim-Sülfametoksazol: Bakteriler, DNA sentezi için gerekli olan folik asidi kendileri sentezlemektedir. Trimetoprim, folik asit sentezi esnasında görevli dihidrofolat redüktaz enzimini, sülfonamidler ise tetrahidropiteroik asit sentetaz enzimini inhibe ederek DNA sentezini engeller. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Proteus mirabilis* gibi bakterilere karşı etkili olması, renal dokulara ve idrara yüksek konsantrasyonda geçmesi nedeniyle, üriner sistem enfeksiyonlarında özellikle tercih edilirler [41-44].

1.2.1.4.5. Membran Bütünlüğünü Bozan Antimikrobiyaller

Polimiksinler: Gram pozitif bakteriler, *Neisseria* türleri, *Moraxella catarrhalis*, *Helicobacter pylori*, *Vibrio* türleri, *Brucella* türleri ve anaeroblar polimiksinlere doğal olarak dirençli olmakla birlikte insanlarda sadece polimiksin B ve polimiksin E kullanılmaktadır [45, 46].

Daptomisin: Bakteri membranının sentezini, bakteri duvarı içerisindeki lipoteikoik asidin içinde transmembran kanallar oluşturarak engellerler. Bakterisidal etkiye sahiptir. Metisiline dirençli stafilocoklar, vankomisine dirençli enterokoklar gibi gram pozitif koklara; *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* türleri gibi vankomisine dirençli bakterilere, *Bacillus* ve *Corynebacterium* türlerine ve anaeroblara karşı etkilidir. Komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ile *Staphylococcus aureus* bakteriyemisinde kullanımı onaylanmıştır [47].

1.2.2. Antimikrobiyal Direnç

Antibiyotik direnç, bakterilerin antibiyotik varlığında dahi üreyebilmeleri ve hastalık yapabilmeleri durumudur. Bazı antibiyotiklere direnç doğal olarak mevcut iken bazıları bakterilerde gelişen mutasyon yoluyla ortaya çıkmaktadır. Bu durumda antibiyotik uygulaması duyarlı bakterilerin üremesini durdurur veya öldürürken, dirençli bakteriler seleksiyona uğrayarak popülasyona hakim hale gelirler. Antibiyotik kullanımı arttıkça doğal olarak direnç sorunu da artmaktadır. Eğer önlem alınmaz ve antibiyotik kullanımı bu hızda devam ederse direnç nedeniyle basit bir enfeksiyonun dahi öldürücü olabildiği antibiyotik öncesi çağa dönmek söz konusu olabilecektir [47].

Antibiyotiklere karşı direnç gösteren bakteriler dünyada ve ülkemizde hastanelerin de önemli bir sorunu haline gelmiş bulunmaktadır. Antibiyotiklerin yanlış kullanımı, hastaların metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), Vankomisine dirençli Enterokok (VRE) ve çoklu dirençli gram negatif çomaklar gibi bakterilerle kolonize veya enfekte olabilmelerine neden olabilir. Uygun olmayan antibiyotik kullanımı *Clostridium difficile* enfeksiyonlarının insidansında artış ile birliktelik göstermektedir. Dirençli bakterilerin ortaya çıkması, seleksiyonu ve yayılması hastanelerde hasta sağlığını tehdit etmektedir. Antibiyotiklere dirençli bakterilerin yol açtığı enfeksiyonlar, hasta morbidite ve mortalitesinin artması ve hastanedeki yatış süresinin uzaması ile sonuçlanmaktadır. Antibiyotiklere dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar ampirik antibiyotik tedavisinin uygun olma olasılığını azaltmakta ve uygun antibiyotik tedavisinin gecikmesine yol açmaktadır. Uygun olmayan veya gecikmiş antibiyotik tedavileri ağır enfeksiyonu olan hastaların daha kötü seyretmesi ve hatta ölümüne neden olabilmektedir [47].

Hastanede yatan hastaların antibiyotik tedavisi alma olasılıkları çok yüksek olup, hastanelerde kullanılan antibiyotiklerin % 50'si uygun olmayan bir şekilde kullanılmaktadır. Hastanelerde uygun olmayan antibiyotik kullanımları, antibiyotiklere direnç gelişmesini tetikleyen ana sebeplerden biridir [47].

1.2.2.1. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları

Bazı bakteriler bazı antibiyotikler için hedef bölgelerinin olmayışı ve antibiyotiklere karşı geçirgen olmayışları nedeniyle doğal olarak dirençlidirler. Diğer bakteriler ise farklı yollarla sonradan direnç kazanabilmektedirler. Bunlar:

1. *Hedef Bölgelerinin Değişmesi:* Antibiyotiğe affinite azalma veya ilaçtan etkilenmeyen ilave hedef enzimlerin ortaya çıkmasına neden olabilir.
2. *İlaç Alımındaki Değişiklikler:* Permeabilitenin veya ilacın bakterinin dışına pompalanmasının azalması sonucu bakteri hücrelerindeki etkili ilaç konsantrasyonu azalabilmekte ve direnç şekillenebilmektedir.
3. *Antibiyotik İnaktive Edici Enzimler:* Bu durum özellikle penisilin, sefalosporin ve aminoglikozidlerde görülmektedir.

Ayrıca ilaç direnci bakteriler arası 3 farklı genetik yolla geçebilmektedir:

1. Kromozomal mutasyon, ribozomal proteinler gibi protein değişimi veya enzim değişimi ile gerçekleşir. Bunun sonucu direnç şekillenebilir. Her bakteriyel bölünmeden sonra seleksiyon dirençli popülasyonlara sebep olabilir.
2. Plasmidler aracılığıyla bazı antibiyotiklere direnç gelişebilmektedir.
3. Transpozonlar sayesinde direnç şekillenebilmektedir.

Bakteriler arası direnç ayrıca 3 farklı fiziksel yolla gerçekleşebilmektedir. Bunlar:

1. Konjugasyon
2. Transdüksiyon
3. Transformasyon olarak sıralanabilir [48, 49].

1.2.3. Antimikrobiyallerin Geleceği ve Direncin Önlenmesi

Yeni antibiyotikler, özellikle direnç sorununun aşılması yönünden, umut vaat etmekle beraber, kısa süre önce gram pozitif bakterilerin özellikle linezolidde karşı direnç geliştirmiş olduğu bilinmektedir. Tıp dünyası pnömokokların telitromisine karşı oluşturduğu direnç için de alarm durumundadır. Hem istenmeyen etki özelliklerinin daha iyi olması, hem de ilaç etkileşimlerinin daha az olması bu yeni antibiyotik gruplarının tedavide güvenle kullanılabileceğini düşündürmekle beraber, pazara

sürüldükten kısa bir süre sonra ciddi istenmeyen etkileri nedeni ile piyasadan çekilen yeni antibiyotikler de bulunmaktadır. Bu yüzden çoğu yüksek maliyetli olan bu yeni ilaç gruplarının etkinlik ve güvenilirlik yönünden daha titiz bir şekilde değerlendirilmesi gerekmektedir [49].

Son yıllarda önemli bir sorun olarak karşımıza çıkan direnç sorunu günümüz antibiyotiklerinin etkinliğini büyük ölçüde sınırlandırmasının yanı sıra, yeni geliştirilen antibiyotik sayısı giderek azalmaktadır. Bunun ana nedenlerinden birisi, ilaç firmalarının kâr edememe kaygısıyla parasal kaynaklarını ve çalışma ortamlarını, antibiyotikler gibi daha kısa süreli kullanımları olan ilaçlardan ziyade kronik hastalıkların (örn, hipertansiyon, diyabet, vs.) tedavisiyle alakalı ilaçların araştırılması ve geliştirilmesine yönlendirmiş olmalarıdır.

Söz konusu antibiyotikler olduğunda, özellikle direnç sorununu aşabilmek, istenmeyen etkileri ve ilaç etkileşimlerini en aza indirmek amacıyla, yeni olmaktan da öte yepyeni hedeflerin ve mekanizmaların belirlenmesi ve bunlara yönelik yepyeni antibiyotiklerin geliştirilmesi gerekmektedir. Bunun için akademi, biyoteknoloji, düzenleyici kuruluşlar, ilaç endüstrisi ve sağlık bakım hizmeti sunan kurumlar işbirliği içinde çalışmalıdır. Bu arada daha spesifik hasta grupları üzerinde yapılacak kontrollü çalışmalarla da daha dar spektrumlu antibiyotiklerin geliştirilmesi, böylece geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımının getirdiği olumsuzlukların önlenmesi sağlanabilir [49]. Ayrıca bakteriyel direnç mekanizmalarının daha iyi anlaşılması, bilinen direnç mekanizmalarından etkilenmeyen yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi, bakteriyel direnç izlem programlarının geliştirilmesi, hastane infeksiyon kontrol programlarının geliştirilmesi, antibiyotik kullanım politikalarının geliştirilmesi ve eğitim gibi uygulamalar antimikrobiyallere karşı direncin engellenmesinde yapılabilecek diğer uygulamalar arasında sıralanabilmektedir [50].

1.2.4. Antimikrobiyal Aktivite Düzeyinin Belirlenmesi

Mikroorganizmalar antibiyotiklere karşı çok değişik şekilde duyarlılık gösterirler. Bu durum, hem antibiyotiklerin yapısına ve hem de mikroorganizmaların türüne göre değişim göstermektedir. Bu bakımdan gerek koruyucu amaçla ve gerekse en önemlisi sağaltım için kullanılacak antimikrobiyal ilaçların spesifik hastalık etkenine karşı olan statik ve/veya sidal etkisinin çok iyi belirlenmesi gerekmektedir. Antimikrobiyal bileşiklerin mikroorganizmalar üzerindeki toksik etkisi belirlenirken ya sürenin sabitlenip ve istenen inhibitör etkiyi sağlayan konsantrasyonun belirlendiği ya da konsantrasyonun sabit tutulup, istenen mikrobiyal seviyeye ulaşılan sürenin belirlendiği iki yol vardır [51, 52].

Antimikrobiyal duyarlılık testi epidemiyoloji ve terapötik sonuçların tahmini için kullanılabilir. Önemli antibiyotiklerin hemen hemen tüm grupları (tetrasiklinler, sefalosporinler, aminoglikozidler ve makrolidler) "altın çağ" olarak bilinen dönemden sonra keşfedildi [53]. Günümüzde onun etkisi, ilaca dirençli bakteriler ile ilişkili tedavilerdeki başarısızlıkları dikkate değerdir ve halk sağlığı bakımından küresel bir kaygı oluşturmaktadır [54, 55]. Bu yüzden, yeni antibiyotiklerin özellikle keşfi önemli bir hedeftir. Doğal ürünler, günümüzde hala yeni ilaç moleküllerinin başlıca kaynaklarından biridir. Bunlar prokaryotik bakteriler, ökaryotik mikroorganizmalar, bitki ve çeşitli hayvan organizmalarından elde edilmektedirler. Günümüze kadar keşfedilmiş antimikrobiyal bileşiklerin büyük çoğunluğu mikrobiyal ve bitkisel ürünleri kapsar [56].

Bitkisel ve diğer doğal kaynaklar, kompleks ve yapısal olarak çeşitli bileşiklerin büyük bir çoğunluğunu karşılar. Son zamanlarda bir çok araştırma, potansiyel antimikrobiyal ajanlar olarak, bitkisel ve mikrobiyal ekstraktlar, esansiyel yağlar, saf ikincil metabolitler ve yeni sentezlenmiş moleküllere odaklanmıştır [57-59]. Ancak, aşı hazırlama teknikleri, aşı miktarı, büyüme ortamı, inkübasyon koşulları ve bitiş noktaları belirleme gibi farklı nonstandardize yaklaşımların kullanılmasından dolayı bu doğal ürünlerin antimikrobiyal etkisiyle ilgili yayınlanan makalelerde sonuçların karşılaştırılmasının genellikle zor olduğu görülmüştür.

Son yıllarda, çeşitli kaynaklarda mikrobiyal dirençle mücadele etmek için yeni antimikrobiyal ajanların araştırılması ve geliştirilmesine yönelik artan bir ilgi oluşmuştur. Bu nedenle, antimikrobiyal aktivite tarama ve değerlendirme yöntemlerine büyük bir önem verilmektedir. Disk difüzyon, kuyucuk difüzyon ve sıvı besi yeri ya da agar dilüsyonu gibi çeşitli yöntemler yaygın olarak kullanılır. Fakat, akım sitofluorometrik ve biyoluminesans gibi metodlar yaygın olarak kullanılmamaktadır. Çünkü bu yöntemler spesifik ekipman, tekrarlanabilirlik için daha fazla değerlendirme ve standardizasyon gerektirmektedir [57-59].

1.2.4.1. Disk Difüzyon Yöntemi

1940 yılında geliştirilen agar disk difüzyon testi [60], rutin olarak antimikrobiyal duyarlılık testi için birçok klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında resmi olarak kullanılan bir yöntemdir. Günümüzde bakteri ve maya testleri için birçoğu kabul edilen ve onaylanan standartlar Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından yayımlanmıştır [61, 62]. Disk difüzyon yönteminde, katı agar test edilen mikroorganizma ile inokule edildikten sonra ya açılan kuyucuklara antimikrobiyal eklenmekte yada antimikrobiyal emdirilmiş disk agar üzerine bırakılmaktadır. Agar üzerinde antimikrobiyalın difüzlenebilme yeteneğine bağlı olarak inhibisyon zonları oluşmakta, bu zonların çaplarının ölçümüyle antimikrobiyal etki hakkında bilgi edinilmektedir [63-66].

Kirby-Bauer yöntemi olarak da bilinen bu teknikte, test mikroorganizmanın 6-8 saatlik buyyon kültüründen (hafif bulanık) Mueller-Hinton agar plaklarına 0,1-0,2 ml miktarında ekilir ve bir bagetle iyice yayılır. Agarın yüzeyi oda sıcaklığında kuruduktan sonra, agarın yüzeyine çeşitli konsantrasyonda değişik antibiyotikleri içeren diskler yerleştirilir ve 24-48 saat inkube edilir. Bu sürenin sonunda diskler etrafındaki inhibisyon zonları kompas veya cetvelle ölçülür ve standart zon tablosu ile karşılaştırılarak duyarlı (S), indermediate (İ) ve duyarsız (R) olarak değerlendirme yapılır. Aynı zamanda Kirby-Bauer yönteminde, bir ilacın sıvı besiyerinde saptanan MİK değeri (mg/ml) ile agar üzerindeki zon çapı/mm karşılaştırılarak da duyarlı intermedier ve dirençli bölgeler grafikte belirlenebilir. Böylece, kandaki

konsantrasyonunun ne olacağı saptanır. Ayrıca, zon çapına göre MİK değerlerini de bulmak mümkündür. Disk difüzyon yöntemi az masraflı, az zahmetli ve kolay uygulanabilirliğinin yanı sıra, bir petri kutusunda 5-6 antibiyotiğe karşı duyarlılığı belirlemek ve en etkili olan ilacı saptamak mümkündür. Bu nedenle çok fazla tercih edilmektedir [64, 65].

Tablo 1.1. CLSI tarafından önerilen disk difüzyon metodu için kültür ortamı, mikrobik inokulum boyutu ve inkübasyon koşulları.

Mikro organizma	Büyüme Ortamı	Son Boyutu	İnokulum	inkübasyon sıcaklığı (°C)	inkübasyon zamanı (h)	Ref.
Bakteri	MHA	(0.5 McFarland) (1-2)X10 ⁸ kob/mL		35±2	16-18	MO2-A [66]
Maya	MHA-GMB	(0.5 McFarland) (1-5)X10 ⁶ cob/mL		35±2	20-24	M44-A [67]
Küfler	Desteklenmeyen MHA	(0.4-5)X10 ⁶ kob/mL				M51-A [68]

MHA: Müeller Hinton Agar

GMB: ortama % 2 glikoz ve 0.5 mg / mL metilen mavisi takviye edilmiştir.

1.2.4.2. Antimikrobiyal gradyan yöntemi (E-test)

Antimikrobiyal gradyan yöntemi, MİK değerini belirlemek için dilüsyon seyreltme yöntemleri ilkesini difüzyon yöntemleri ile birleştirir. Yöntem, agar ortamında test edilen antimikrobik maddenin bir konsantrasyon gradyanının oluşturulma olasılığına dayanır. E-testler, bu tekniğin ticari bir versiyonudur. Prosedürde, bir uçtan diğerine antimikrobiyal maddenin artan bir konsantrasyon gradyanı ile emprenye edilmiş bir şerit, önceden test edilen mikroorganizma ile inoküle edilen agar yüzeye bırakılır.

Bu yöntem, antibiyotik, antifungal ve antimikrobakterilerin tayininde kullanılır [70]. MİK değeri, şerit ile büyüme inhibisyonu elipsinin kesişim noktasında belirlenir. Bunu uygulamak kolaydır; bu nedenle, klinisyenlerin taleplerini karşılamak için rutin olarak kullanılır.

1.2.4.3. Tüp Dilüsyon Yöntemi

Bu teknik antimikrobiyal ilaçların MİK (minimal inhibitör konsantrasyonu) ve MLK (minimal letal konsantrasyonu) değerlerini belirlemede yardımcı olur. Bu amaçla, Mueller-Hinton buyyonunda antimikrobiyal ilacın 2 veya 10 katlı dilusyonları yapılarak gittikçe azalan yoğunlukta ilaç içeren dilusyonları elde edilir. Örneğin, ilaç 1 ml'de 256 µg'dan başlayarak, 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1 µg/ml giderek azalan şekilde iki katlı sulandırılır. İçlerine, test edilecek mikroorganizmanın 24-48 saatlik sıvı besiyeri kültüründen 0.1 ml. ekilir ve iyice karıştırıldıktan sonra 24-48 saat 37 °C' de inkube edilir. Tüplerdeki üreme gözle değerlendirilir. Böylece üremenin olmadığı son dilusyon MİK değeri olarak kabul edilir. Üremenin olmadığı bu son dilusyondan alınan 0.1 ml. miktarındaki inokulum 10 ml sıvı besiyerine veya agara ekilerek uygun bir süre inkubasyonda tutulur. Tüpte üremenin olmaması MLK değerini, üremenin olması MİK değerini yansıtır. Agarda ya bazı koloniler meydana gelecek veya hiç koloni oluşmayacaktır. Koloni oluşursa MİK değerini, oluşmazsa MLK değerini belirler [64].

1.2.4.4. Türbidimetrik Yöntem

Bu yöntem hassasiyeti düşük olmakla beraber, tahrip edici olmayan, düşük maliyetli, hızlı bir yöntemdir. Mikrobiyal gelişim eğrisinin üst kısımlarını tespit edebilmektedir. Besiyeri ortamındaki canlı mikroorganizma sayımı ve sonuçları karşılaştırmak suretiyle kalibrasyon gerektirmektedir. Farklı gelişim aşamasındaki bakteri hücrelerinin sayısına göre absorbanstaki değişim ölçülmekte, mikrobiyal populasyon tahmin edilmektedir [51, 64].

Spektrofotometrede anlamlı okuma için mikrobiyal yük 10^6 - 10^7 kob/ml seviyelerindedir. Çoğalma aşamasında olan $<10^5$ kob/ml seviyesindeki mikroorganizmalar bu yöntem ile tespit edilememekte, absorbansta herhangi bir artış gözlenememektedir. Bu dezavantajın üstesinden gelmek amacıyla belirli zaman aralıklarında örnek alınarak bakteriyel gelişimin izlenmesi yararlı olmaktadır [63, 65].

1.3. Oksidatif Stres, Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

1.3.1. Oksidatif Stres

Oksijen hücrede enerji üretim süreçlerinde kullanılan ve canlılar için hayati önemi olan bir moleküldür. Enerji üretim sürecinin doğal bir yan ürünü olan serbest oksijen radikalleri potansiyel olarak zararlı etkileri olan yüksek oranda reaktif moleküllerdir [71].

Hücrelerimizde DNA'ya, proteinlere ve lipidlere zarar veren serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunabilmek için bunları nötralize eden antioksidanlar üretilmektedir. Serbest radikallerin oluşum hızı ve bunların antioksidanlar tarafından nötralize edilme hızı arasında bulunan denge sayesinde hücre serbest radikallerin olumsuz etkilerinden korunmaktadır. Fakat bu denge serbest radikaller lehine bozulursa, yani yapımdan daha yavaş nötralize edilirse, hücrede serbest radikallerin miktarı artar. Hücrede serbest radikallerin artışı ve hücre fonksiyonları üzerinde yaptıkları olumsuz etkiye (oksidatif hasara) "Oksidatif Stres" denir. Bu durum özetle; serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstererek doku hasarına yol açmaktadır [71, 72].

1.3.2. Serbest Radikaller

Elektronlar, orbital adı verilen yerlerde bulunurlar ve bir orbitalde ters spinli iki elektron bulunabilir. Organizmada, neredeyse tüm elektronlar elektron çifti halinde bulunur. Çünkü elektron çiftleri oldukça kararlıdır. Bir bağ koptuğunda elektronlar ya birlikte kalır (heterolitik parçalanma) ya da ayrılırlar (homolitik parçalanma). Eğer birlikte kalırlarsa kimyasal bağ heterolitik olarak parçalanır, homolitik olarak parçalanır ise serbest radikaller oluşur. Serbest radikaller yüksek enerjili eşleşmemiş elektronlar içerirler ve eşleşmiş elektronları ayırıp onların fonksiyonlarına engel olurlar. Bu özellikleri sayesinde serbest radikaller hem tehlikeli hem de kullanışlıdır. Bu yüzden, serbest radikaller yaşam için gereklidir. Elektron transferi, enerji üretimi ve pek çok diğer metabolik olayda önemli moleküllerdir. Şayet kontrolsüz reaksiyon verirlerse

hücrede hasarlara neden olurlar. Elektron genelde çift halde bulunurken, serbest radikaller bu elektronları birbirinden ayırarak reaksiyonu durdururlar. Sonuçta serbest radikal kendi elektronunu eşler, diğer elektron serbest radikal haline geçer. Ortaklanmamış elektron içeren serbest radikaller oldukça aktif olduklarından nüfuz edici özellikleri vardır [73].

Serbest radikaller üç ana yolla oluşmaktadırlar [74-76].

a) *Kovalent Bağların Homolitik Bölünmesiyle*: Kovalent bağın ayrışması esnasında bağın yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalır.



b) *Normal Bir Molekülün Elektron Kaybetmesiyle*: Radikal özelliği olmayan bir molekülde elektron kaybı esnasında dış orbitalde ortaklanmamış elektron kalırsa radikal formu oluşur. Örneğin, tokoferol ve askorbik asit gibi antioksidanlar, radikal türlere tek elektron verip bunları indirgerken, kendilerinin radikal formu oluşur.

c) *Normal Bir Moleküle Tek Bir Elektron Transferiyle*: Radikalik özellik göstermeyen bir moleküle tek elektron transferiyle dış orbitalinde eşleşmemiş elektron oluşursa bu tür indirgenme radikal oluşumuna neden olabilmektedir. Örneğin, moleküler oksijen tek elektron ile indirgenirse, radikal formu olan süperoksidi meydana gelir.



Biyolojik bir sistemde serbest radikaller en fazla elektron transferi neticesinde oluşmaktadırlar. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya nötral olabilirler. Biyolojik sistemlerde en önemli radikaller, serbest oksijen radikalleri (SOR) olmakla beraber; C, N, S türevi olan radikaller ve inorganik moleküller de vardır [74, 75].

1.3.3. Reaktif Oksijen Türleri

Biyolojik sistemlerde bulunan en önemli serbest radikaller, fiziksel ve kimyasal etkenlerle, metabolik reaksiyonlar esnasında zorunlu olarak oluşan oksijen radikalleridir. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), kendisi radikal olmayan hidrojen peroksitin (H_2O_2) hidroksil radikali ($\cdot OH$) gibi radikaller “reaktif oksijen türleri (ROT)” olarak bilinirler [75]. ROT’lar serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatarak, hücrede organik radikaller (R^{\cdot}), peroksil (peroksi) radikalleri (ROO^{\cdot}), alkoksil (alkoksi) radikalleri (RO^{\cdot}), tiyil radikalleri (RS^{\cdot}) gibi önemli karbon merkezli serbest radikallerin oluşumuna neden olurlar. Tiyil radikallerinin tekrar oksijenle reaksiyona girmesi sonucu sülfenil (RSO^{\cdot}) veya tiyil peroksil (RSO_2^{\cdot}) gibi radikaller de oluşabilmektedir [74, 75, 77].

Reaktiflik durumu ortamda bulunan molekül ve radikale bağlıdır. İki serbest radikalın ortaklanmamış elektronlarının kovalent bağ üzerinden birleşebilmesi sonucunda oluşan türler de reaktif olabilmektedir. Buna tipik örneğini NO^{\cdot} ve $O_2^{\cdot-}$ ’in çok hızlı reaksiyonu sonucu oluşan nonradikal bir ürün olan peroksinitrit oluşturur [75]:

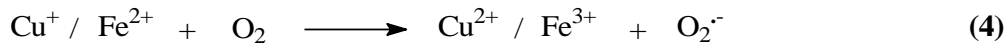


Diğer yandan bir serbest radikal, radikal olmayan bir madde ile reaksiyona girerek yeni bir radikal oluşturabilir. Biyolojik moleküllerin büyük bir kısmı radikal olmadığı için, *in-vivo* şartlarda reaktif bir radikalın oluşumu, genellikle zincir reaksiyonunun başlamasına yol açabilir [75, 78].

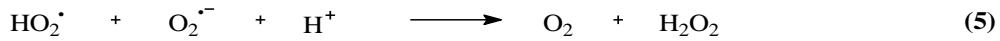
1.3.3.1. Süperoksit Anyonu ($O_2^{\cdot-}$)

Hemen hemen tüm oksijenli solunum yapan hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi neticesinde süperoksit radikali oluşmaktadır. Süperoksit radikalının başlıca oluşum yolları aşağıda verilmektedir [75, 79, 80]:

1. Aerobik bir ortamda katekolaminler, tiyoller, redükte flavinler, hidrokinonlar ve tetrahidrofolatlar gibi biyolojik moleküllerin otooksidasyonu neticesinde süperoksit meydana gelir.
2. Virüs veya bakteriyi inaktive etmek amacıyla uyarılmış fagositik hücreler (nötrofiller, monositler, makrofajlar, eozinofiller) bol miktarda süperoksit üretirler.
3. Mitokondride gerçekleşen enerji metabolizması sırasında oluşan elektron sızıntısı ile kullanılan oksijenin %1-3'ü süperoksit radikali yapımı ile sonlanır.
4. İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu süperoksidi oluşturabilir.

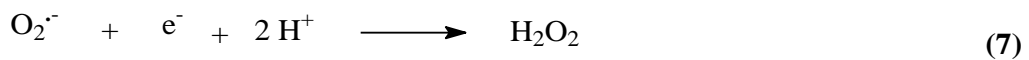
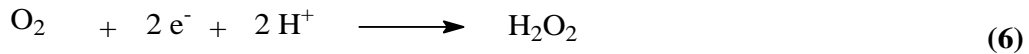


Süperoksit radikali H_2O_2 kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasının yanı sıra hücrel koşullarda hem yükseltgeyici hem de indirgeyici olarak davranabilmektedir. Örneğin; ferrisitokrom C ile reaksiyonunda indirgeyici olarak bir elektronunu kaybedip oksijene dönüşürken, epinefrin oksidasyonunda ise yükseltgen olarak davranıp, bir elektron alarak H_2O_2 'ye indirgenir [74, 75]. Süperoksit radikali düşük pH değerlerinde daha reaktiftir ve yükseltgen olan perhidroksil radikalini (HO_2^-) oluşturmak üzere protonlanır. Süperoksit ve perhidroksil radikallerinin bir dismutasyon reaksiyonu üzerinden birbiriyle reaksiyona girmesi sonucu H_2O_2 oluşur [75].



1.3.3.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

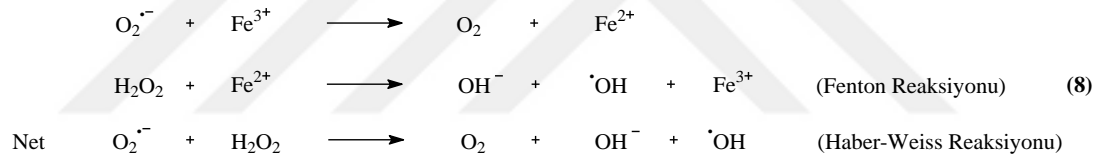
Çevresindeki moleküllerden, moleküler oksijenin iki veya süperoksidin bir elektron alması sonucu H_2O_2 meydana gelir [75].



H₂O₂ yapısında ortaklanmamış elektron bulundurmadığı için radikal olarak kabul edilmemekle beraber, biyolojik membranları kolayca geçip, hücrelerin arasına veya içine kolayca difüze olabilmesi ve uzun ömürlü bir yükseltgen olması önemlidir [75, 79, 80].

Bir radikal olmadığı halde, H₂O₂, ROT içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli rol oynar. Çünkü geçiş metal iyonları varlığında Fenton reaksiyonu, süperoksit radikali varlığında ise Haber-Weiss reaksiyonu üzerinden en reaktif ve daha çok hasar verici olan hidroksil radikaline dönüşür [75, 81].

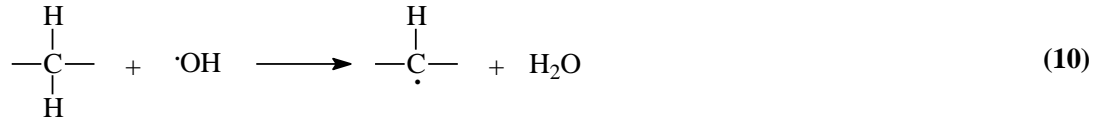
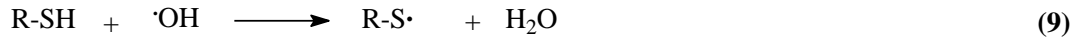
Katalizörsüz olduğu için oldukça yavaş ilerleyen Haber-Weiss reaksiyonu, süperoksidin direkt olarak H₂O₂ ile reaksiyonudur,. Demirle katalizlenen Fenton reaksiyonu ise çok hızlıdır. Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe³⁺) süperoksit tarafından ferro demire (Fe²⁺) indirgenir. Sonra Fenton reaksiyonu ile H₂O₂'den [•]OH ve OH⁻ üretilir. Reaksiyon mekanizması aşağıdaki şekildedir [75]:



1.2.3.3. Hidroksil Radikali ([•]OH)

Hidroksil radikali geçiş metalleri varlığında H₂O₂'nin indirgenmesi (Fenton reaksiyonu) veya suyun yüksek enerjili iyonize radyasyona maruz kalması sonucu ile oluşur [75].

Yarılanma ömrü çok kısa olmasına rağmen, ortamda rastladığı her biyomolekülle tepkimeye girmesi ve büyük hasara neden olması, kendisinin en reaktif ve hasar verici radikal türü olmasına neden olmuştur [74, 75, 79]. Tiyoller ve yağ asitleri gibi moleküllerden bir proton kopararak tiyil radikalleri (RS[•]), karbon merkezli organik radikaller (R[•]), organik peroksitler (RCOO[•]) gibi yeni radikallerin oluşmasına neden olur.



Hemen her tür biyolojik moleküle reaksiyona girmesine rağmen özellikle elektronca zengin yapılar ana hedefidir. Nükleik asitler (purin ve pirimidin bazları) ve proteinler (aromatik amino asitler) ile çeşitli radikalik tepkimeler verir [75].

1.3.3.4. Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$)

Moleküler oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitalle yer değiştirmesiyle singlet oksijen oluşur. Singlet oksijen ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal değildir. Oksijenin ortaklanmamış elektronları paralel spinli olduğundan oksijendeki spin kısıtlaması singlet oksijende yoktur ve oldukça reaktif bir oksijen bileşiğidir [74, 75, 77]. Delta ve sigma olmak üzere iki şekli vardır. Delta şekli daha düşük enerjili (92 kJ) olduğundan sigma şekline (155 kJ) göre daha uzun yarı ömürlüdür [75, 82].

Vücutta, pigmentlerin (flavin içeren nükleotidler, retinal, bilirubin) oksijenli ortamda ışığı absorblamasıyla, $\text{O}_2^{\cdot-}$ 'nin dismutasyon reaksiyonu sırasında, porfiryaya gibi porfirin metabolizması hastalıklarında oluşabilir [75, 80].

1.3.4. Diğer Reaktif Türler

1.3.4.1. Azot Oksit ($\text{NO}\cdot$)

Renksiz gaz şeklinde bulunan azot oksit ($\text{NO}\cdot$) tek sayıda elektron içeren inorganik bir serbest radikaldir. Bakteriler, sigara dumanı ve egzoz gazları reaktif azot oksitleri üretir. Fizyolojik şartlar altında birçok fonksiyonda rol oynayan hücre içi konsantrasyonu fazla

arttığında nöron ölümü ile sonuçlanan ve toksik olayları başlatan NO kararlı bir serbest radikaldir. Azot oksit, biyolojik sistemlerde O_2 , $O_2^{\cdot-}$ ve geçiş metalleriyle reaksiyona girerek metal ve tiyol içeren proteinlerle yürüyen reaksiyonların, enzim aktivitelerinde zayıflamaya neden olur. Azot oksitin elektron transport zincirindeki demir içeren komplekslere saldırması, bozulmuş enerji metabolizmasıyla sonuçlanır. Azot oksit oluşumunun artması sinir hücrelerinde tahribata yol açar [82, 83].

1.3.4.2. Azot Dioksit (NO_2^{\cdot})

Azot dioksit, azot oksitin oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu meydana gelen oldukça zehirli ve çok güçlü bir oksidandır. Oksijen redüksiyonu sırasında NO_2^{\cdot} 'ye maruz kalması durumunda araşidonik asit metabolizmasının NO_2^{\cdot} konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği görülmektedir. Düşük miktarda NO_2^{\cdot} 'nin araşidonik asit metabolizmasını büyük oranda artırdığı gözlenmiştir [84, 85].

1.3.4.3. Peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$)

Reaktif bir oksijen türevi olan, doğrudan proteinlere zarar veren peroksinitrit süperoksitin nitrik oksit ile birleşmesi sonucu meydana gelir. Peroksinitritin azot dioksit (NO_2^{\cdot}), hidroksil radikali (OH^{\cdot}) ve nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi farklı toksik ürünlere dönüşebilir [84].

1.3.4.4. Hipoklorik Asit ($HOCl$)

Hipoklorik asit radikal değildir ancak ROS arasında yer almaktadır. Fagositik hücreler tarafından bakterilerin öldürülmesinde önemli rol oynar. Aktive olmuş nötrofiller, monositler, makrofajlar ve eozinofiller tarafından üretilir. Radikal üretimi fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde büyük öneme sahiptir [86]

1.3.5. Serbest Radikal Kaynakları

Biyolojik sistemlerdeki serbest radikal oluşumu, normal metabolik olayların seyri esnasında ve organizmanın çeşitli dış etkilere maruz kalmasıyla meydana gelir. Serbest radikaller, iyonize radyasyon, stres yapıcı durumlar, enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlar sonucunda vücuttaki biyolojik fonksiyonların yan ürünü olarak oluşurlar.

I- **Biyolojik Kaynaklar**

- Radyasyon
- Aktive olmuş fagositler
- Antineoplastik ajanlar: nitrofurantion, bleomisin, doxorubicine
- Bağımlılığa sebep olan maddeler: alkol ve uyuşturucu maddeler
- Çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler; hiperoksi, pestisitler, sigara dumanı, solventler, anestezikler, aromatik hidrokarbonlar)
- Stres

II- **İntrasellüler Kaynaklar**

- Küçük moleküllerin otooksidasyonu
- Enzimler ve proteinler: ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz, hemoglobin
- Mitokondrial elektron transportu
- Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri (sitokrom P-450, sitokrom b₅)
- Peroksizomlar: oksidazlar, flavoproteinler
- Plazma membranı: lipoksijenaz, prostaglandin sentetaz, fagositlerde NADPH oksidaz, lipit peroksidasyonu
- Oksidatif stres yapıcı durumlar: iskemi, travma, intoksikasyon

Hücrelerde serbest radikal üretimi, bazı yabancı toksik maddeler tarafından da büyük oranda artırılabilir. Bu maddeler ya doğrudan serbest radikal üretirler ya da serbest radikallerin ortadan kaldırılmasını sağlayan antioksidan aktiviteyi düşürürler [87].

1.3.6. Serbest Radikallerin Zararlı Etkileri

Serbest radikaller; hücrelerin lipit, protein, karbohidrat, DNA ve enzim gibi tüm bileşiklerine etki ederler. Mitokondrilerdeki aerobik solunumu ve kapiler permeabilityyi bozar, hücrenin elektrolit kaybına ve trombositlerin agregasyonuna sebep olurlar. Ayrıca proteaz, fosfolipaz, elastaz, siklooksijenaz, ksantin oksidaz, lipooksijenaz, triptofan dioksijenaz ve galaktoz oksidaz gibi hidrolitik enzimleri aktifleştirirken alfa 1-antitripsin gibi antiproteolitik enzimleri inaktif hale getirirler [74].

1.3.6.1. Lipit Peroksidasyonu

Bütün membran lipitleri poliansatüre yağ asitleri içerirler ve serbest radikal hasarına karşı hassastırlar. Poliansatüre yağ asitleri (PUFA), C=C yapısında karakteristik çift bağa sahiptir. Hassas olan bu yapıdan hidrojen atomlarının hidroksil radikalleri tarafından koparılması sonucu dien konjugatlar olarak bilinen peroksit ürünler meydana gelir. Molekül içi çift bağlarının değişmesiyle dien konjugatlarının daha sonra oksijenle etkileşmesi sonucu lipit peroksil radikalleri oluşur. Lipit peroksil radikalleri, membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşumuna yol açarken, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit hidroperoksitlerine dönüşürler [74].

1.3.6.2. Protein Oksidasyonu

Proteinler serbest radikal etkisine karşı poliansatüre yağ asitlerinden daha az hassastırlar ve başlayan zarar verici zincir reaksiyonlarının hızla ilerleme ihtimali daha azdır. Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme dereceleri amino asit bileşimlerine bağlıdır. Serbest radikaller proteinleri yükseltgeyebilirler. Amino asitlere ve disülfid (S-S) bağlarına saldırırlar ve özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana getirirler. Bu reaksiyonlar sonucunda immunoglobülin G ve albümin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozularak fonksiyon kaybına uğrarlar ve proteolitik yıkım gösterirler [74].

1.3.6.3. DNA Oksidasyonu

Kararlı bir molekül olan DNA endojen etkenlerin yanı sıra elektromanyetik, ultraviyole ve X-ışınları gibi eksojen kaynakların tesirinde de kimyasal oksidatif hasara maruz kalabilmektedir. Serbest radikaller nedeniyle DNA'nın yapısının değişmesi sonucunda hücrede mutagenез, karsinogenез ve hücre ölümü meydana gelmektedir.

Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına neden olabilir.

Oksidatif hasara bağlı olarak DNA'da, tek ve çift dal kırıkları, abazik alanlar, baz modifikasyonları (baz katılımı, bazlarda yeniden düzenlenme), şeker hasarı oluşabilir ya da DNA ile protein arasında çapraz bağlanma olabilir. Bu lezyonlardan bazıları fizyolojik koşullarda da meydana gelebilmektedir. Oksidatif modifikasyon sonucunda DNA antijenik karakter kazanmakta ve sonuç olarak anti DNA antikoru oluşmaktadır [88-91].

1.3.6.4. Karbonhidrat Oksidasyonu

Glikoz, mannoz ve deoksi şekerler otooksidasyonla hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehidler meydana getirirler. Oluşan okside formlar diabetes ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıklarda önemli rol oynar. Okzoaldehidler; DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağ oluşturabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Kanser ve yaşlanma olaylarında etkin rol oynarlar [17].

1.3.7. Antioksidan Savunma Sistemleri

Canlılar serbest radikallerin zararlı etkilerini önlemek için hem hücre içerisinde hem de hücre membranında etki gösteren pek çok koruyucu mekanizmaya sahiptirler. Bu mekanizmalar hem serbest radikal oluşumunu engellemek hem de oluşan bu serbest radikallerin olumsuz yönlerini yok etmek amacıyla oluşturulmuştur. Canlı

organizmaların oluşturduğu bu sisteme “Antioksidan Savunma Sistemi” veya kısaca “Antioksidanlar” adı verilmektedir. Antioksidanlar endojen ve ekzojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır. Bununla beraber serbest radikal oluşumunu engelleyenler ve mevcut radikalleri etkisiz hale getirenler veya enzim ve enzim olmayanlar şeklinde de sınıflandırılabilir [89, 91]. Biyolojik sistemlerde bulunan tüm antioksidanlar Tablo 1.2’de gösterilmiştir. Enzimatik olan ve enzimatik olmayan tüm antioksidanların beş değişik mekanizma ile etkili oldukları düşünülmektedir. Bu mekanizmalar şu şekilde sıralanabilir:

1. Lokal oksijen konsantrasyonunu azaltmak.
2. OH \cdot , O $_2^{\cdot-}$ gibi anahtar ROT’ni ortadan kaldırmak yoluyla zincir reaksiyonunun başlamasını engellemek.
3. Peroksitleri parçalayarak onların zincir reaksiyonunu oluşturan radikallere dönüşümünü engellemek.
4. Katalitik metal iyonlarını bağlayarak, radikal oluşumunun başlamasını engellemek.
5. Başlamış olan bir zincir reaksiyonunu kırmak.

Tablo 1.2. Biyolojik Sistemlerde Bulunan Antioksidanlar

Enzimatikler	
Speroksit dismutaz	
GSH-peroksidaz	
Katalaz	
Yardımcı enzimler	
NADP-kinon	
Oksidoredüktaz	
Epoksi hidrolaz	
Konjugasyon enzimleri:	GSH-S-transferaz
	UDP-glukronil transferaz
	Sülfonil transferaz
	GSH-redüktaz
NADPH sağlayıcı enzimler:	Glukoz-6-fosfotaz
	6-fosfoglukona dehidrogenaz
	İzositrat dehidrogenaz
	Malik enzim
Enzimatik olmayanlar	
Alfa-takoferoller (vit E)	
Askorbikasit (vitC)	
Glutasyon (GSH)	
Flavanoidler	
Beta-karoten (vitA)	
Ürat	
Bilirubin	
Mannitol	
Sistein	
Metiyonin	
Melatonin	
Sitokrom P-450	
Hemoglobin	
Miyoglobin	
Plazma proteinleri:	Seruloplazmin
	Ferritin
	Albümin
	Transferin
	Laktoferrin

Bu mekanizmalardan ilk ikisi ile işlev gören antioksidanlar, birincil savunma hattını oluşturmaktadır. Enzim olmaları nedeniyle, normal koşullarda antioksidan görevleri bitince değişmeden ortamda kalırlar. Son üç mekanizma ile işlev gören antioksidanlar ise ikincil antioksidan savunma hattını oluştururlar. Bu maddeler koruyucu işlevleri sırasında tüketilirler [92].

1.3.8. Antioksidan Aktivitesi Belirleme Metotları

Antioksidan aktivitesi belirleme metotları yedi başlık altında incelenebilir [93-99].

1. *Oksijen Radikal Absorbans Uygulaması (ORAC)*: Peroksil-radikal etkileşimli oksidasyonların antioksidan sönmülendirilmelerini ölçer ve H-atomu transferi yoluyla, klasik radikal zincir kırılma antioksidan aktivitesi tarzını yansıtmaktadır [100]. Temel uygulamada, tampon çözeltide 2,2'-Azobis(2-amidinopropan)-dihidroklorür'ün termal parçalanmasıyla üretilen peroksi radikalleri veya Cu^{+2} - H_2O_2 den elde edilen hidroksil radikalleri yükseltgenebilir bir protein substrat olan floresant prob ile reaksiyona girerek floresans ile kolayca kantitatif olarak tayin edilebilecek türde floresant olmayan bir ürüne dönüşür. Prob ile peroksil radikallerinin reaksiyonu ilerledikçe zamanla floresans yoğunluğu kaybı oluşur.

2. *Total Antioksidan Aktivite Tayini*: Bu metotta antioksidan aktivitesi β -Karoten yöntemine göre belirlenmektedir. Bu işlem için aktivitesi ölçülecek olan örneğin stok çözeltisi hazırlandıktan sonra uygun tampon çözelti ile eşit hacimde, β -Karoten-linoleik asit emülsiyonu eklenmekte, inkübasyonu 50 °C'de yapılmakta ve kontrol olarak tampon çözelti ile β -Karoten-linoleik asit eşit karışımları kullanılmaktadır. Her 30 dakikada bir, 470 nm'de UV spektrofotometresi ile köre karşı absorbansı alınmaktadır. İnkübasyon, kontrolün minimum absorbansa ulaşmasıyla sona erdirilmektedir [94].

3. *DPPH Radikali Giderme Aktivitesi Tayini*: Bu işlemde örneğin stok çözeltisi hazırlandıktan sonra eşit konsantrasyonda DPPH' çözeltisiyle muamele edilmekte ve 30 dakika karanlıkta bekletilen karışımın 517 nm'de UV spektrofotometresi ile köre karşı absorbansı alınmaktadır [95, 96].

4. *ABTS Katyon Radikali Giderme Aktivitesi*: Bu yöntemde ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) katyon radikali giderme aktivitesi ABTS'nin potasyum persülfat ile muamelesinden oluşan ABTS^+ ile belirlenmektedir. Bunun için, örneğin stok çözeltisi hazırlandıktan sonra eşit konsantrasyonlarda ABTS^+ çözeltisiyle

muamele edilmektedir ve 734 nm’de UV spektrofotometresi ile köre karşı absorbansı alınmaktadır [97].

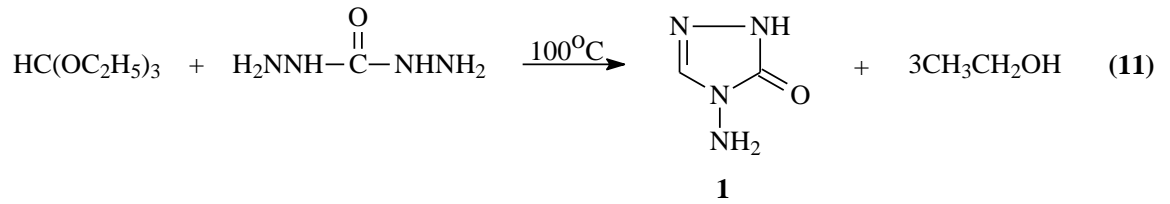
5. *Süperoksit Anyon Radikal Giderme Aktivitesi Tayini:* Bu yöntemde süperoksit anyon radikal giderme aktivitesi NADH-PMS-NBT (Nikotinamid adenin dinükleotid- fenazin metosülfat-nitroblue tetrazolyum) sistemine göre *in-vitro* belirlenmektedir. Bu işlem için örneğin stok çözeltisi hazırlandıktan sonra eşit hacimde uygun tampon çözeltide çözündürülmüş NADH ve NBT konulmaktadır. Eşit hacimde PMS ile muamele edildikten 5 dakika sonra karışımın 560 nm’de UV spektrofotometresi ile köre karşı absorbansı alınmaktadır [96].

6. *Metal Bağlama Aktivitesi Tayini:* Metal bağlama aktivitesi Fe(II)-Ferrozin yöntemine göre belirlenmektedir. Bu işlem için örneğin stok çözeltisi hazırlandıktan sonra Fe (II) ve ferrozin reaktifleri eklenmekte ve 562 nm’de UV spektrofotometresi ile köre karşı absorbansı alınmaktadır [96-98].

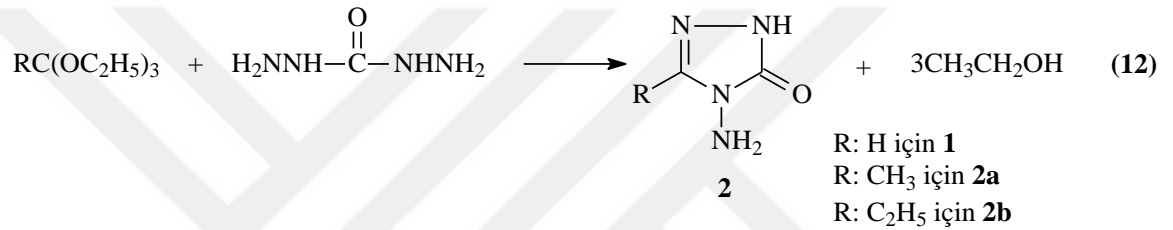
7. *İndirgeme Gücü:* Oyaizu yöntemine göre pH=6,6 ortamında örneğin stok çözeltisi hazırlandıktan sonra potasyum ferrisiyanür ile muamele edilerek 50 °C’de 20 dakika inkübasyona tabi tutulmaktadır. Eşit hacimde trikloroasetik asit ile muamele edildikten sonra ise Fe (III) ile reaksiyona sokularak 700 nm’de UV spektrofotometresi ile köre karşı absorbansı alınmaktadır [99].

1.4. 3-Alkil(Aril)-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on Bileşiklerinin Sentez Yöntemleri ve İncelenen Bazı Reaksiyonları

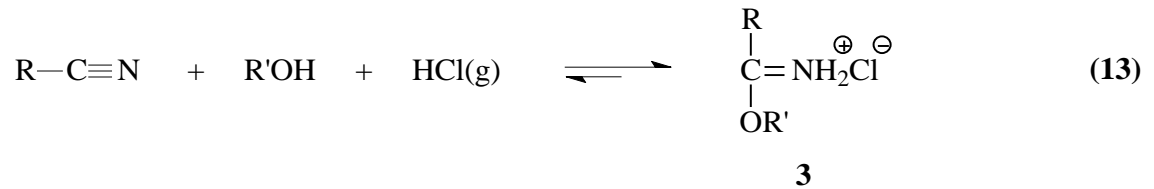
1,2,4-Triazol ve 4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on halka sisteminin oluşturulmasına yönelik bazı yöntemler geliştirilmiştir: 3-Alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (2) bileşiklerinin en basit üyesi olan 4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (1) bileşiği ilk kez etil ortoformatın karbohidrazid ile reaksiyonundan elde edilmiştir (Denklem 11) [101].



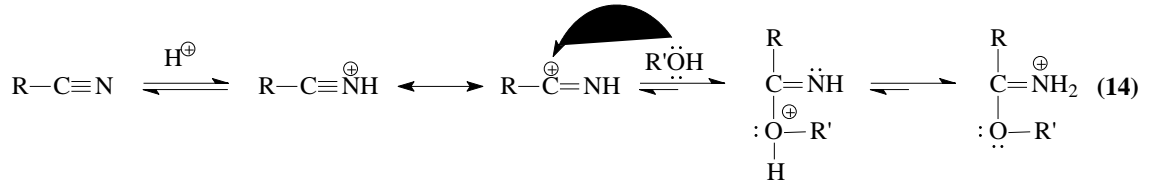
Başka bir çalışmada etil ortoformat yanında etil ortoasetat ve etil ortopropionat kullanılmış ve 2 tipi 3-metil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2a) ve 3-etil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2b) bileşikleri ile 2 bileşiği elde edilmiştir (Denklem 12) [102].



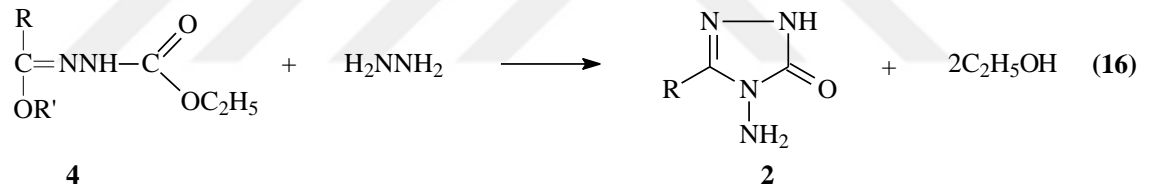
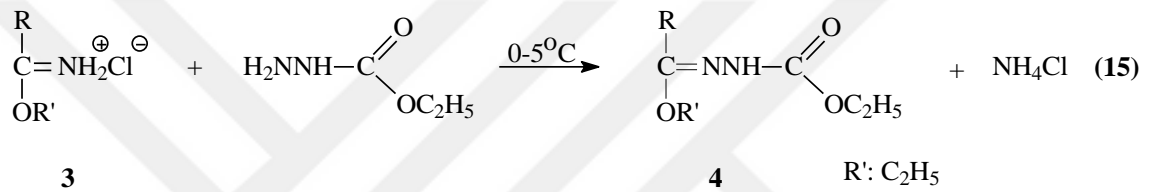
Çalışmada hidroklorürleri (3) şeklinde reaksiyona sokulan, iminoesterlerin eldesinde, ortoesterlerden, karbonil bileşiklerinden, amidlerden, iminoklorürlerden ve bazı doymamış sistemlerden başlayan yöntemler [103] örnek olarak verilebilirse de 3 tipi bileşiklerin sentezinde Pinner Yöntemi [104] en uygun yöntem olarak kullanılmıştır. Bir nitril, bir mutlak alkol (genellikle mutlak etanol) ile susuz bir çözücü (genellikle susuz dietil eter) içinde HCl gazı ile soğukta muamele edilir (Denklem 13).



3 Tipi bileşiklerin Pinner yöntemine göre sentezlendiği reaksiyonun muhtemel mekanizması, asidik ortamda protonlanmış nitril ile bir alkolün nükleofilik katılması üzerinden yürümektedir (Denklem 14) [105].



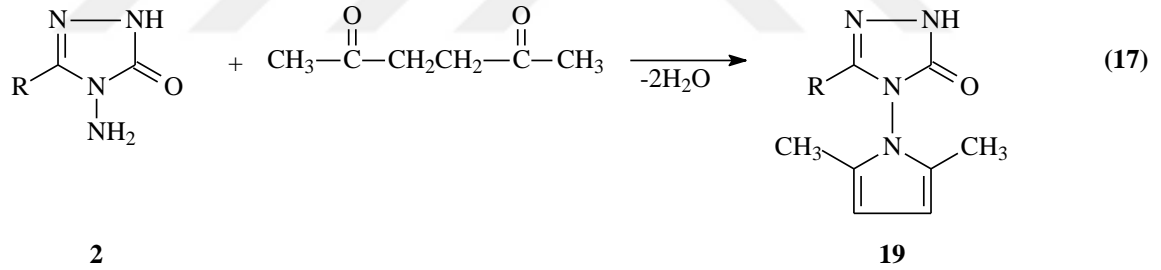
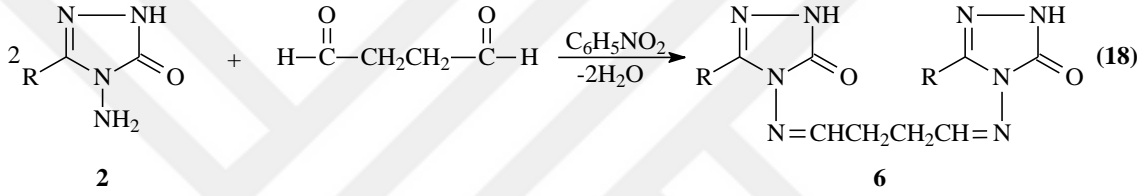
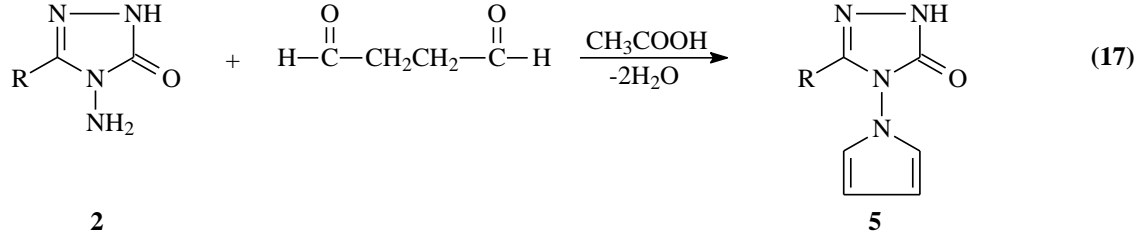
Çalışmada da kullanılan 2 tipi bileşiklerin sentezi için en uygun yöntemde ise, 3 tipi alkil imidat hidroklorürlerin soğuk mutlak etanollü ortamda etil karbazat ile muamelesinden elde edilen [106-112] ester etoksikarbonilhidrazonlar (4) hidrazin hidrat ile kaynar sulu ortamda muamele edilmişlerdir (Denklem 15 ve 16) [108-114].



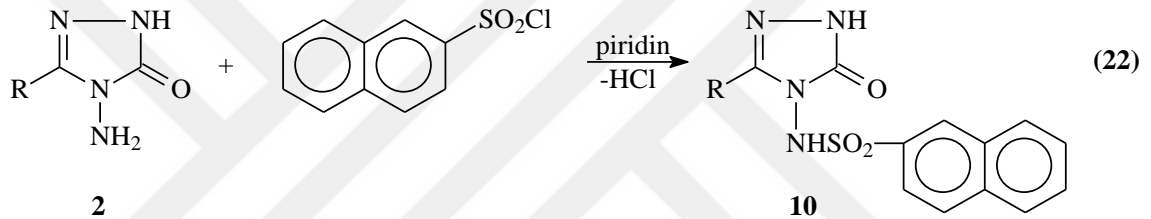
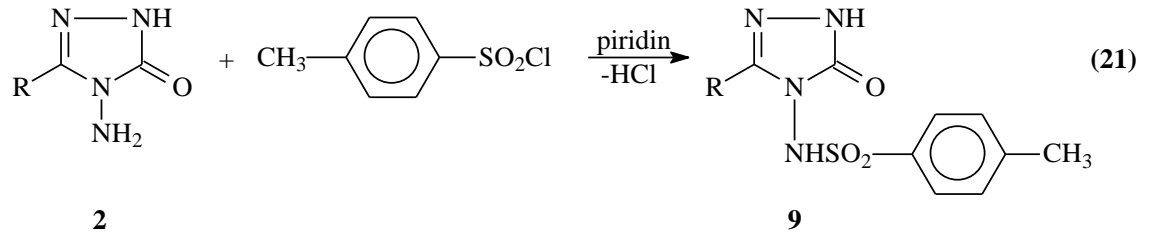
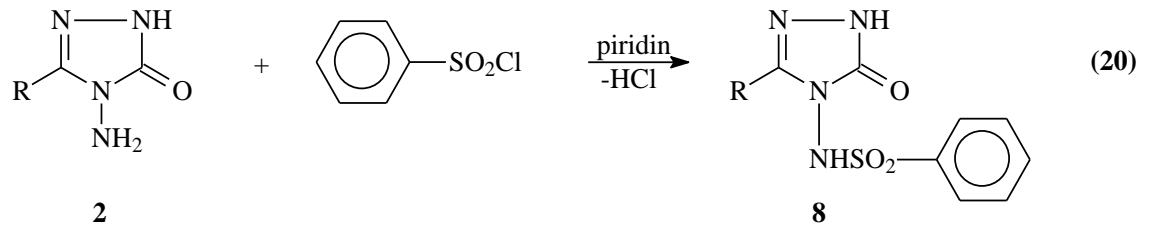
	R
2a	CH ₃
2b	CH ₂ CH ₃
2c	CH ₂ C ₆ H ₅
2d	CH ₂ C ₆ H ₄ CH ₃ (<i>p</i> -)
2e	CH ₂ C ₆ H ₄ Cl (<i>p</i> -)
2f	CH ₂ C ₆ H ₄ OCH ₃ (<i>p</i> -)

3-Alkil/Aril-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2) bileşiklerinin 1980'li yıllardan sonra birçok reaksiyonu incelenmiş ve karşın olan heterosiklik bileşikler elde edilmiş ve bazı özellikleri incelenmiştir. 3-Alkil/Aril-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2) bileşiklerinin reaksiyonlarının incelendiği iki farklı çalışmadan birinde suksindialdehid serisi ile 2,5-dimetoksitetrahidrofuran reaksiyon koşullarına bağlı olarak asetik asitli ortamda N,N'-bağlı biheterohalkalı bileşik olan 3-alkil(aril)-4-(pirrol-1-il)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (5) ve nötral ortamda (nitrobenzen) N,N'-bis-(3-

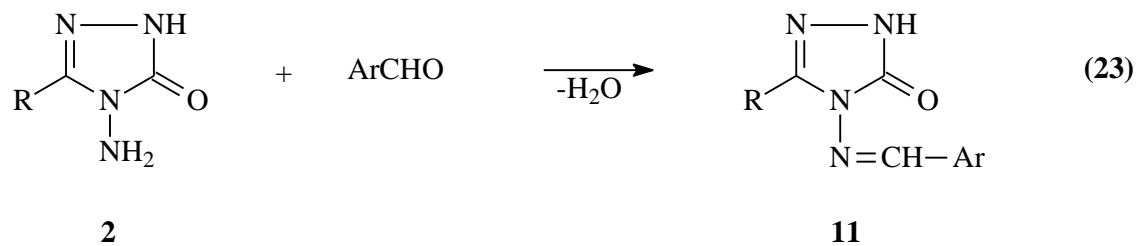
alkil-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-1,4-butandiimin (6) bileşiklerini, diğerinde ise asetonil aseton ile N,N'-bağlı biheterohalkalı bileşik olan 3-alkil(aril)-4-(2,5-dimetilpirrol-1-il)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (7) bileşiklerini oluşturduğu rapor edilmiştir (Denklem 17-19) [108, 110, 111, 115, 116].

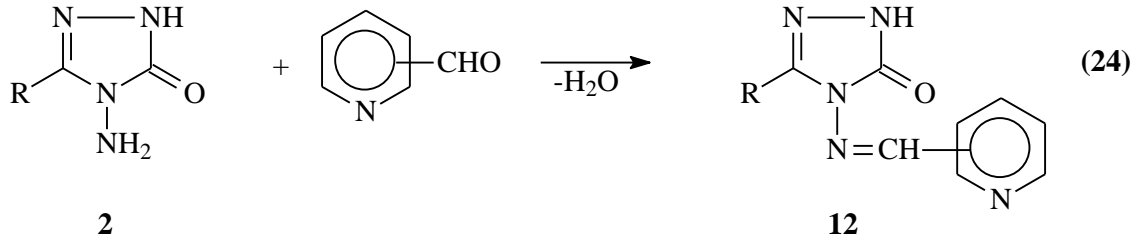


Bazı heterohalkalı amino bileşiklerinin sulfonik asit klorürleri ile sulfonilamino türevlerini verdikleri bilinmektedir [117-119]. Nitekim son yıllarda yapılan bir çalışmada 2 tipi bileşiklerin benzen sulfonil klorür, *p*-toluen sulfonil klorür ve naftalen-2-sulfonil klorür ile reaksiyonları incelenmiş ve karşın olan sırayla 3-alkil(aril)-4-benzensulfonilamino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (8), 3-alkil(aril)-4-(*p*-toluen-sulfonilamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (9) ve 3-alkil(aril)-4-(naftalen-2-sulfonilamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (10) bileşikleri sentezlenmiş ve antibakteriyel özellikleri incelenmiştir (Denklem 20-22) [117].

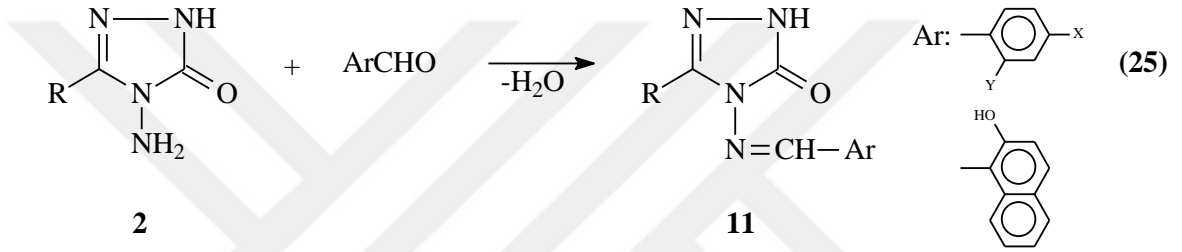


Aldehid ve ketonların primer aminler ile reaksiyonlarından oluşan imin tipi Schiff bazları kimyanın birçok alanında, tıpta, sanayide, teknolojiye geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Bir primer amin gibi hareket eden ve N-NH₂ grubu içeren 2 tipi bileşiklerin bazı aromatik ve/veya heteroaromatik aldehidlerle reaksiyonları incelenerek karşın olan heteroaromatik Schiff bazları (11) elde edilmiştir (Denklem 23) [110, 111, 120, 121]. Nitekim 2 tipi bileşiklerin piridin-2-karboksi, piridin-3-karboksi aldehid ve piridin-4-karboksi aldehid ile muamelesinden 12 tipi heterosiklik Schiff bazları elde edilmiş ve bu bileşiklerin antifungal aktivite gösterdikleri belirlenmiştir (Denklem 24) [122].

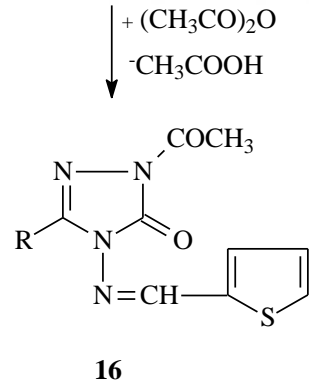
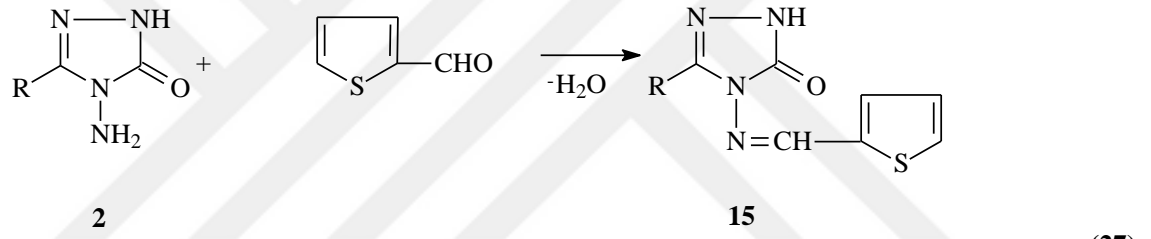
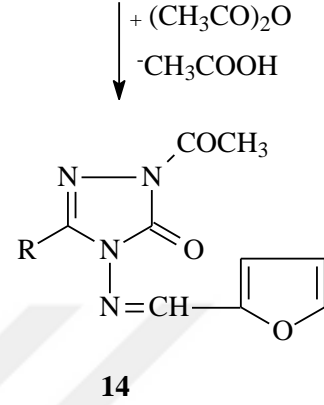
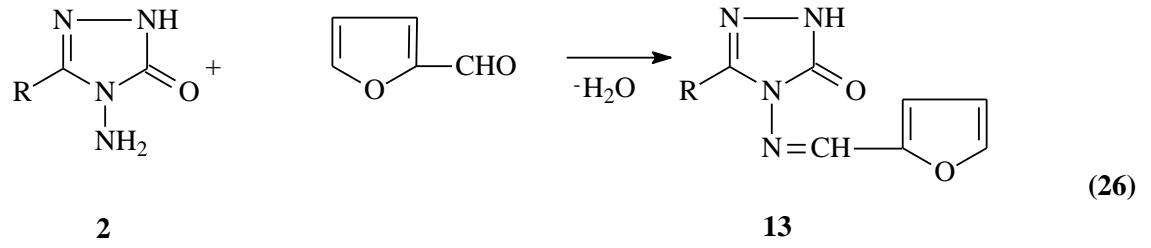




Bir başka çalışmada, 2 tipi bileşiklerin bazı aromatik aldehydler ile reaksiyonundan 11 tipi heterosiklik bileşikler elde edilmiş ve bu bileşiklerin antitümöral ve anti-HIV aktiviteleri incelenmiştir (Denklem 25) [123].

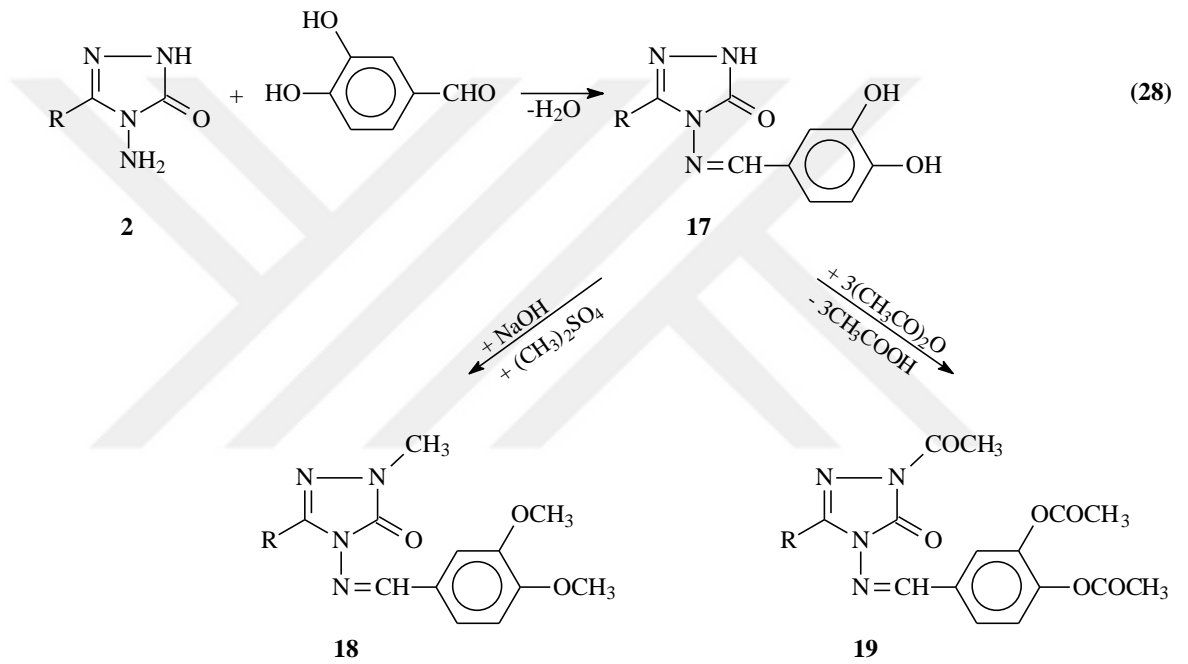


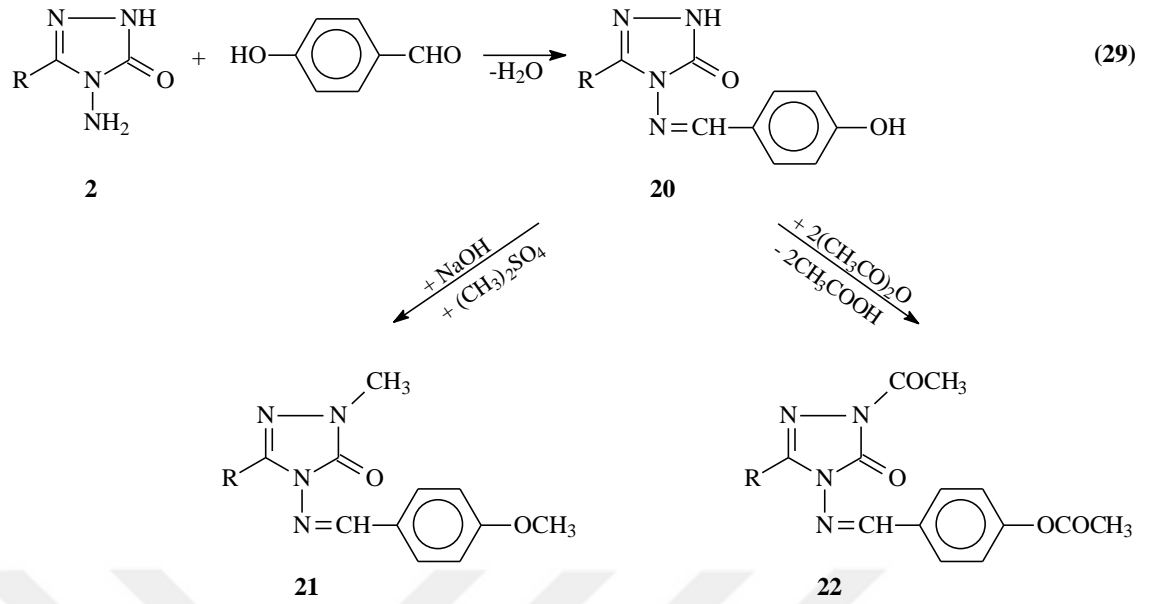
Benzer nitelikteki iki ayrı çalışmadan birinde 2 tipi bileşiklerin heteroaromatik aldehydler olan furfural (furan-2-karboksialdehyd) ve tiyofen-2-karboksialdehyd ile reaksiyonları incelenerek 3-alkil(aril)-4-(2-furilmetilenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (13) ve 3-alkil(aril)-4-(2-tiyenilmetilenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (215) bileşiklerinin sentezi gerçekleştirilmiş, diğerinde ise bu bileşiklerin asetik anhidrid ile reaksiyonları incelenerek 14 ve 16 tipi N-asetil türevleri elde edilmiştir. Ayrıca 14 tipi bileşiklerin potansiyometrik olarak asitlik sabitleri tayin edilmiştir. Bundan başka 15 ve 16 tipi bileşiklerin biyolojik aktivite incelemeleri çok yakın bir zamanda yapılmıştır (Denklem 26 ve 27) [124-127].



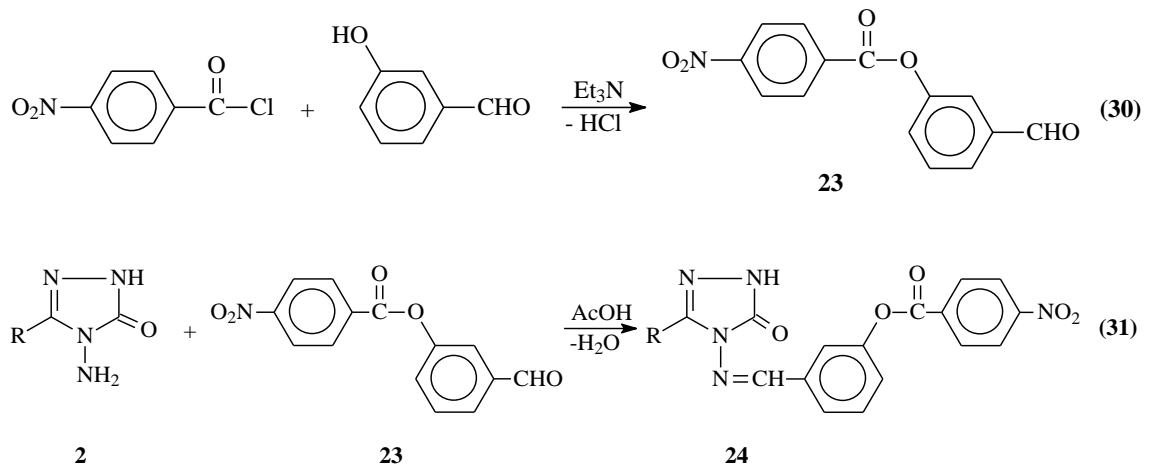
Son zamanlarda 2 tipi bileşiklerle ilgili yapılan iki farklı çalışmadan birinde 2 tipi bileşiklerinin 3,4-dihidroksibenzaldehid ile muamelesinden Schiff bazları olan 17 tipi 3-alkil(aril)-4-(3,4-dihidroksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri elde edilmiş ve bu bileşiklerin susuz ortamda potansiyometrik olarak titrasyonları yapılarak yarı nötralizasyon yöntemi ile pK_a değerleri bulunmuş ve antioksidan özellikleri incelenmiştir [128, 129]. Bu çalışmada ayrıca 17 tipi bileşiklerin

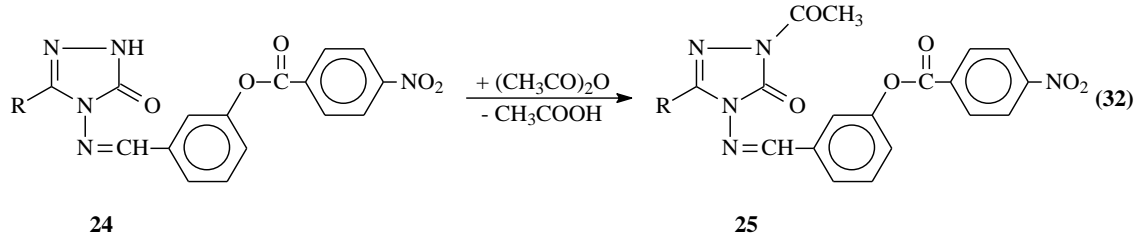
N- ve O-metil türevleri (18) ve ayrıca 17 tipi bileşiklerin asetik anhidrid ile reaksiyonundan 19 tipi N-asetil türevlerininde sentezlendiği bildirilmiştir (Denklem 28). Diğer çalışmada ise 2 bileşiklerinin 4-hidroksibenzaldehid ile muamelesinden oluşan ve Schiff bazları olan 20 tipi 3-alkil(aril)-4-(4-hidroksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri elde edilmiş, N- ve O-metil türevleri ve asetil türevleri (21 ve 22) sentezlenmiş ve bu bileşiklerin antioksidan özellikleri incelenmiştir [130, 131]. Bu çalışmada ayrıca 34 tipi bileşiklerin susuz ortam titrasyonları incelenerek pK_a değerleri belirlenmiştir (Denklem 29).



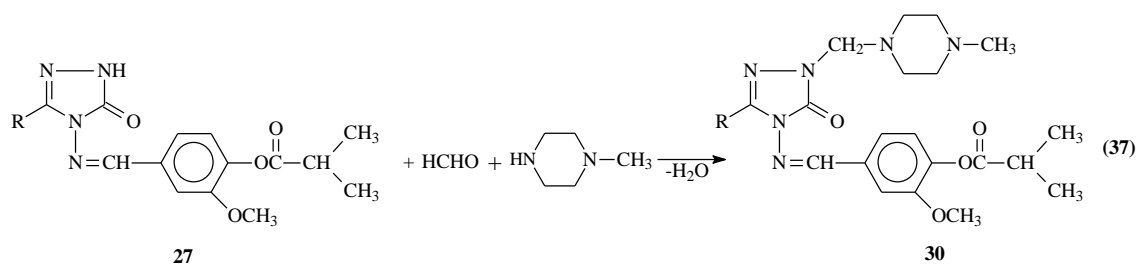
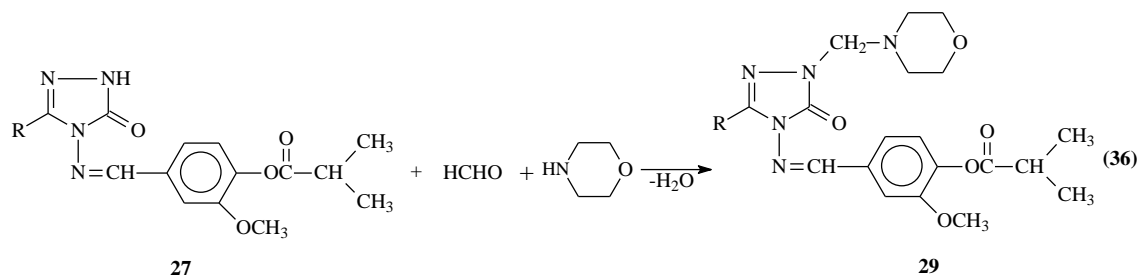
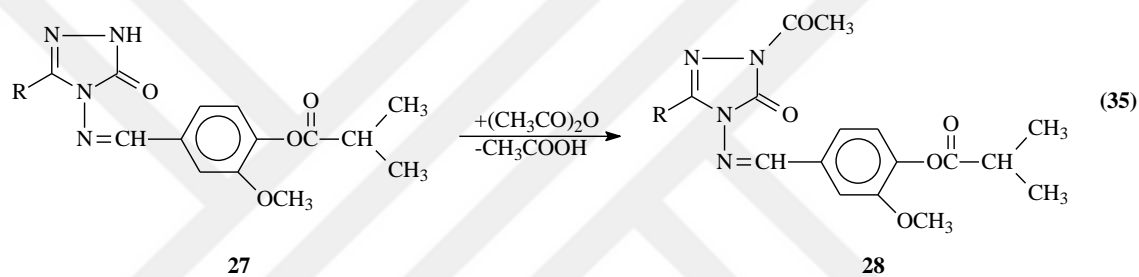
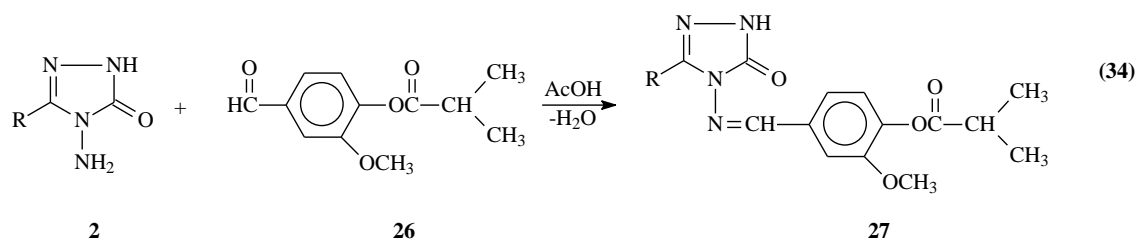
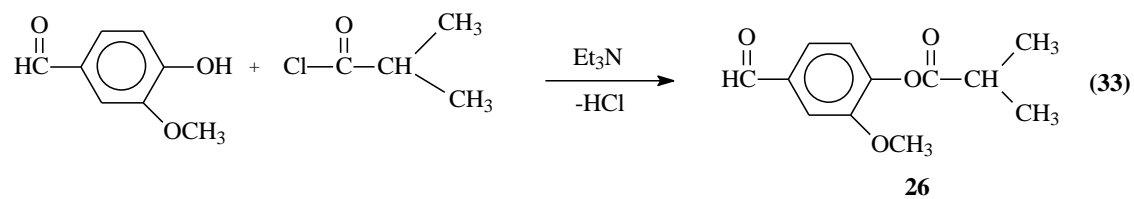


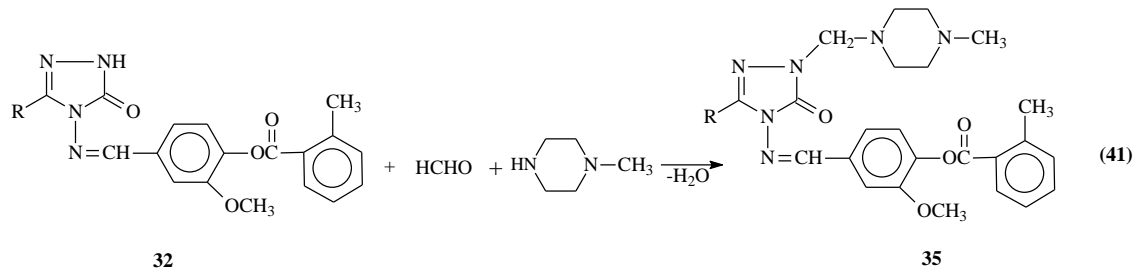
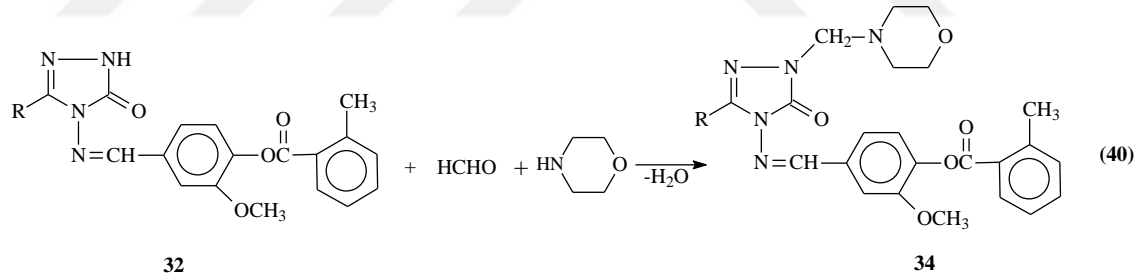
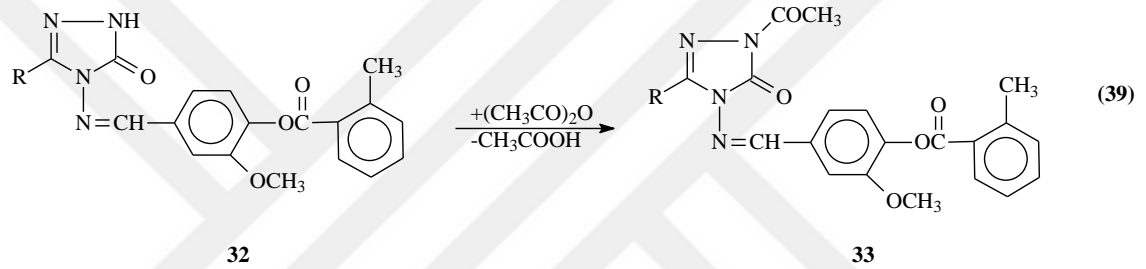
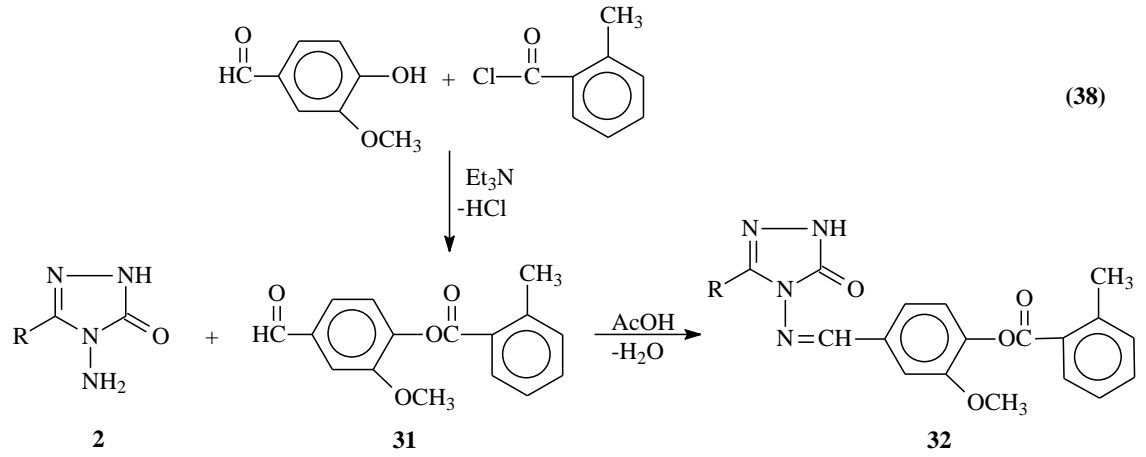
Son yıllarda hidroksibenzaldehidlerin bazı açıl klorürler veya sulfonil klorürler ile reaksiyonundan sentezlenen yeni benzaldehid türevlerinin 2 tipi bileşiklerle muamelesi ile de elde Schiff bazları edilmiştir. Bu amaçla gerçekleştirilen bir çalışmada, 2 tipi bileşiklerin 3-hidroksibenzaldehidin trietilamin varlığında soğukta 4-nitrobenzoil klorür ile muamelesinden elde edilen (Denklem 30) 23 tipi 3-(4-nitrobenzoksi)benzaldehyd ile ayrı ayrı reaksiyonundan 24 tipi 3-alkil(aril)-4-[3-(4-nitrobenzoksi)benzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri sentezlenmiş ve ayrıca sentezlenen 24 tipi bileşiklerin asetik anhidrit ile muamelesinden N-asetil türevleri (25) de elde edilmiştir (Denklem 31 ve 32) [132, 133].





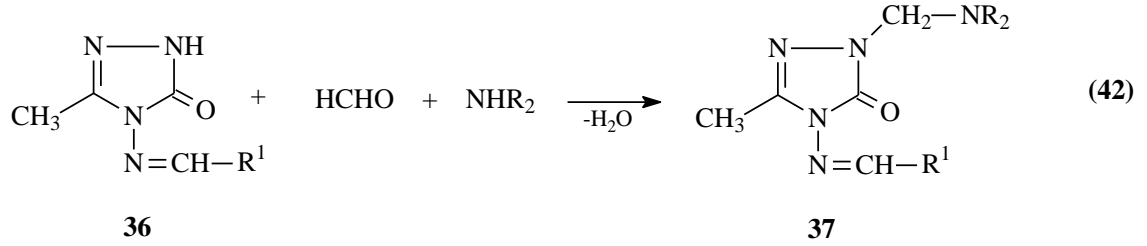
İzobutiroil klorür ve *o*-toluoil klorür ile 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehidin soğukta trietilamin varlığında reaksiyonları sonucu 3-metoksi-4-izobutiroiloksibenzaldehid ve yeni 3-metoksi-4-(2-metilbenzoksi)benzaldehyd bileşikleri elde edilmiş ve bu bileşiklerin 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleriyle muamelesinden 3-alkil(aril)-4-(3-metoksi-4-izobutiroiloksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on ve 3-alkil(aril)-4-[3-metoksi-4-(2-metilbenzoksi)-benzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri sentezlenmiştir. Elde edilen bileşiklerin asetik anhidrid ile muamelesinden *N*-asetil türevleri olan sırasıyla 1-asetil-3-alkil(aril)-4-(3-metoksi-4-izobutiroiloksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on ve 1-asetil-3-alkil(aril)-4-[3-metoksi-4-(2-metilbenzoksi)-benzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri sentezlenmiştir. Ayrıca, sentezlenen bileşikler formaldehit varlığında morfolin ve 1-metilpiperazin ile muamele edilerek sırasıyla 1-(morfolin-4-il-metil)-3-alkil(aril)-4-(3-metoksi-4-izobutiroiloksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on, 1-(1-metilpiperazin-4-il-metil)-3-alkil(aril)-4-(3-metoksi-4-izobutiroiloksi benzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on, 1-(morfolin-4-il-metil)-3-alkil(aril)-4-[3-metoksi-4-(2-metilbenzoksi)-benzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on ve 1-(1-metilpiperazin-4-il-metil)-3-alkil(aril)-4-[3-metoksi-4-(2-metilbenzoksi)-benzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri elde edilmiştir ve bu bileşiklerin *in-vitro* antimikrobiyal, *in-vitro* antioksidan özellikleri incelenmiş olup elde edilen sonuçlar değerlendirilmiştir [134].



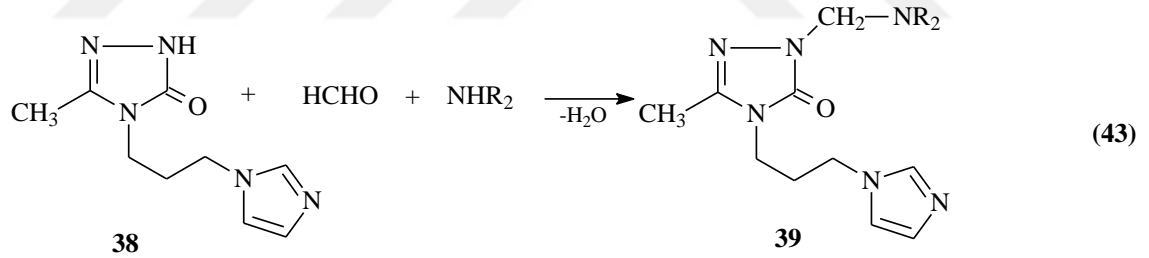


Son yıllarda yapılan bir çalışmada 4-(substitue-arilidenamino)-5-metil-1,2,4-triazol-2-on'lardan (36) 37 tipi Mannich bazları sentezlenmiş ve yedi tip bakteriye karşı test edilmiştir. 36 tipi bileşikler ($R^1=2$ -hidroksifenil, $NR_2=2$ -(4-morfolinil)etilamino)

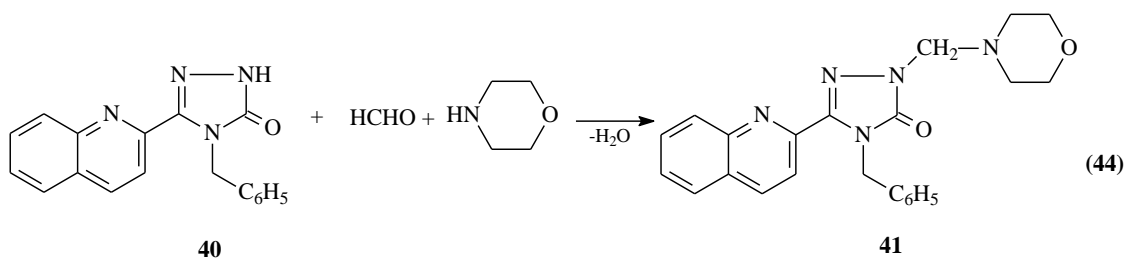
S.aureus haricinde bu çalışmada kullanılan bakteri türlerinin tamamına karşı en az Ampicilin kadar aktiflik göstermiştir [135].



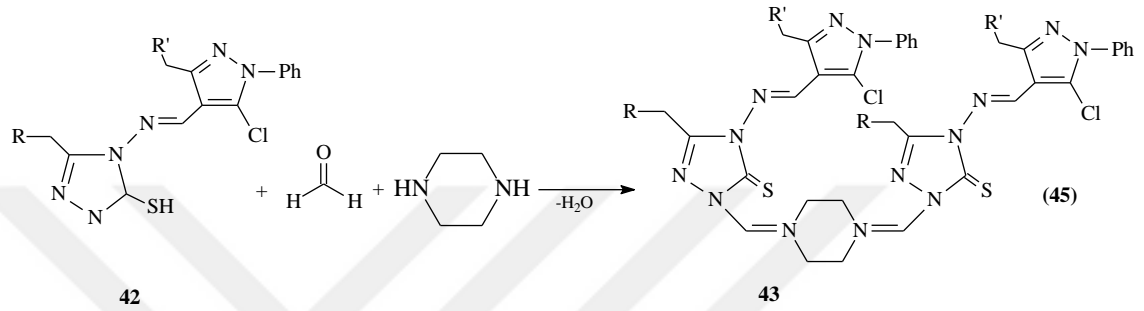
Mannich bazlarının antibakteriyel ve antimikobakteriyel özellikleri üzerine yapılan bir diğer çalışmada 38 tipi 2,3-dihidro-1,2,4-triazol-3-on türevinden sentezlenen 39 tipi Mannich bazlarının morfolin ya da piperidin türevleri mükemmel, geniş spektrumlu antibakteriyellerdir ve *M.smegmatis*'e karşı antimikobakteriyel incelemesi bu bileşiklerin referans ilaç Streptomycin ile eşit güce sahip olduğunu göstermiştir (Denklem 43) [136].



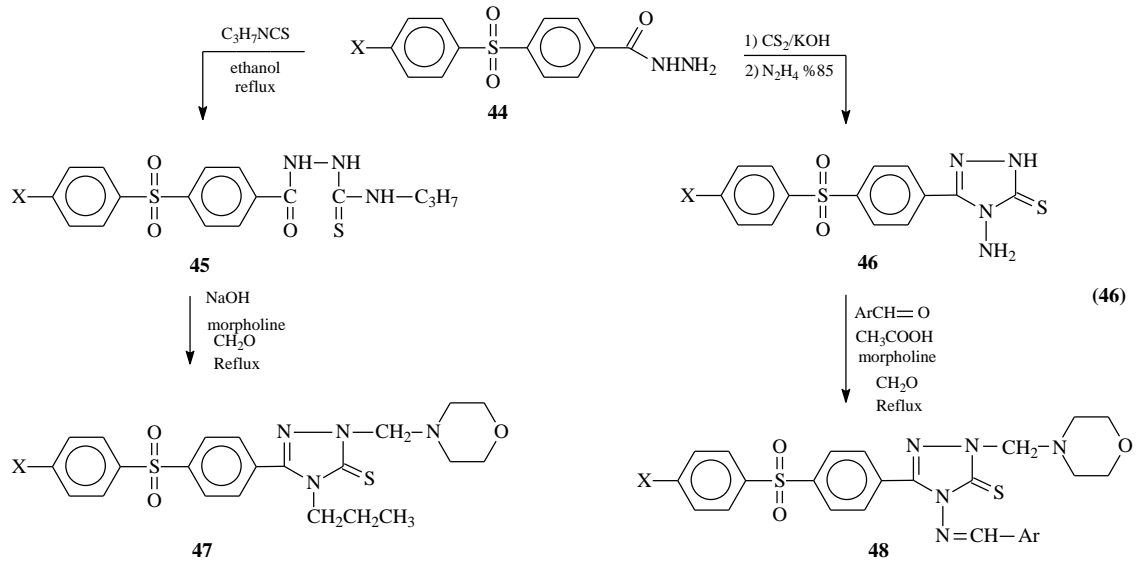
Triazol halkasının 5 pozisyonunda substituent olarak 2-kinolin grubuna sahip 1,2,4-triazol-3-on'lardan (40) 41 tipi Mannich bazı sentezlenmiş ve antibakteriyel aktiviteleri incelenmiş ve onların *E.coli* ve *P.aeruginosa* üzerindeki etkilerinin referans ilaç Ampicilinle kıyaslanabilir düzeyde olduğu bildirilmiştir (Denklem 44) [137].



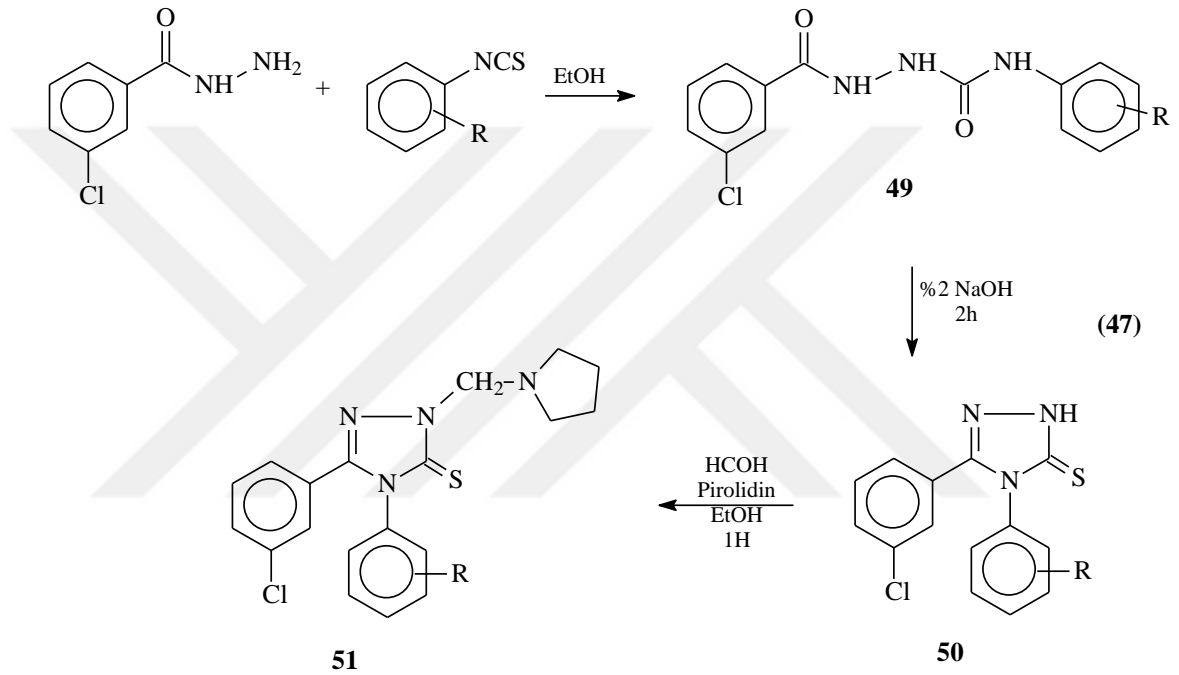
Son zamanlarda yapılan farklı bir çalışmada, fenil-pirazol ve piperazin grubu içeren 1,2,4-triazol-5-tiyon (42) ve bis(1,2,4-triazol-5-tiyon) türevleri (43) kısa sürede oda sıcaklığında farklı 1,2,4-triazol-5-tiyoller substitue piperazinler ve formaldehid kullanılarak Mannich reaksiyonu aracılığıyla sentezlenmiştir (Denklem 45) [138]. Sentezlenen bileşiklerin biyolojik aktiviteleri incelenmiş ve uygun herbisit ve önemli fungusidal etkinliklere sahip oldukları tespit edilmiştir [138].



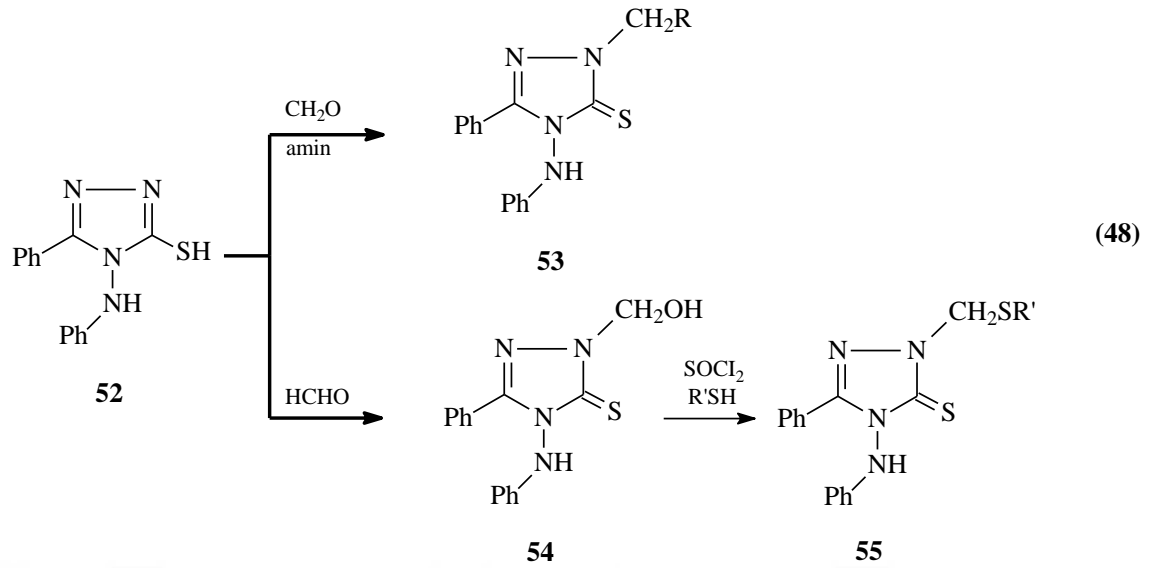
Mannich bazları üzerine yapılan başka bir çalışmada, 4-Substitue-5[4-(4-X-fenilsulfonil)-fenil]-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-tiyonların (47, 48) Mannich bazı türevleri sentezlenmiş (Denklem 46) ve IR, NMR ve elementel analiz spektroskopik yöntemleri kullanılarak karakterize edilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin potansiyel antibakteriyel etkileri incelenmiştir [139-141].



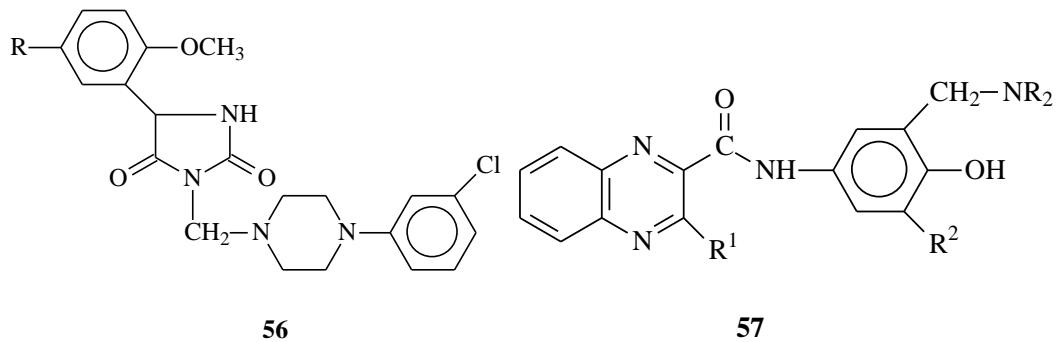
Yapılan başka bir çalışmada, farklı aril izotiyosiyanatlarla 3-klorobenzoik asit hidrazidin reaksiyonundan yüksek verimlerde tiyosemikarbazid türevleri (49) sentezlenmiştir. NaOH çözeltisiyle muamele edilen bu bileşikler siklizasyona uğrayarak 1,2,4-triazol-5-tiyon türevleri (50) oluşturulmuş, formaldehid ve pirolidinle reaksiyona sokularak 1,2,4-triazol halkası içeren yeni Mannich bazı türevleri (51) elde edilmiştir (Denklem 47). Sentezlenen bu bileşiklerin *in-vitro* antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir [142].



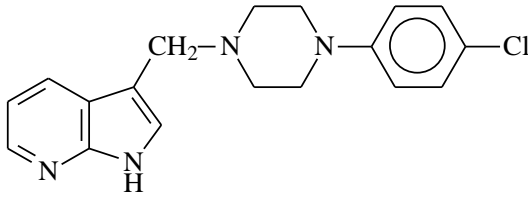
4-Anilino-5-fenil-4*H*-1,2,4-triazol-3-tiyol (52) Mannich bazları (53) elde etmek için formaldehid ve farklı aminlerle reaksiyona sokulduğu rapor edilmiştir. Formaldehidle 52 bileşiğinin ilişkili 2-hidroksimetil türevlerini (54) oluşturmuştur. Bazı tiyollerle reaksiyonu sonucu karşılık gelen sülfid türevli 5-fenil-4*H*-1,2,4-triazole-3-tiyon (55) bileşikleri sentezlenmiştir. Sentezlenen Mannich bazı türevleri iyi antibakteriyel aktivite göstermiştir [143].



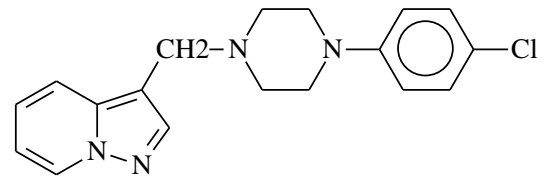
İmidazolin-2,4-dion'ların yeni Mannich bazlarının bilgisayar destekli tasarımı 5-HT_{1A} reseptörleri için potansiyel afiniteleri birçok bileşiğin tanımlanmasına yol açmıştır ve onların sentezi ve değerlendirmesi sonunda arzu edilen farmakolojik profile sahip olan 56 bileşiklerinin elde edilmesine yol açmıştır [144]. Bir ya da iki aminoetil grubuna sahip fenolik Mannich bazı kısmımlı N-substitue kinoksalin-2-karboksamitlerin bir serisi sentezlenmiş ve 5HT₃ reseptör aktivitesi değerlendirilmiştir [145, 146]. 57 bileşikleri ılımlı aktivite sergilemişlerdir ve çift Mannich bazları genel olarak tek Mannich bazlarından daha az aktiftirler [145]. Klorun metoksi grubuyla yer değiştirmesi daha güçsüz 57 bileşiklerine neden olurken kinoksalin halkasının 3 pozisyonunda etoksi grubu bulunduran bileşikler de zayıftırlar [146].



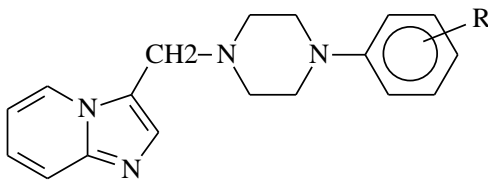
Güçlü ve etkili D₄ reseptör ligantları olarak 58 tipi L-745,870 [147] ve 59 tipi FAUC 113 [148], dopamin reseptörlerine bağlanma yeteneğine sahip yeni kimyasal maddeler tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Ancak bu analogların çoğunluğu ya seçilmiş bir (hetero) aromatik substratın bir halometil türevinden bir halojen atomunun uygun olan substitue piperazin varlığında bir formil-substitue (hetero) aromatik substratın redüktif aminasyonu ile gözlemlenmiştir. Mannich reaksiyonu dopamin reseptör bağlama yeteneğini değerlendirmede ligantların sentezi hesaplandığı zaman literatür taraması birkaç örnek ortaya çıkarmıştır. Ek olarak, 58 ve 59 tipi ligantların oluşumu için kullanılan pirrolo[2,3-b]piridin ve pirazolo [1,5-a]piridin halka sistemleri, imidazo[1,2-a] piridin, 60 tipi Mannich bazları verimli amilometilasyonda bir azaindol halka sisteminin diğer bir örneğidir [149]. D₁ reseptör afiniteleri, D₁ seçici ligant [³H]SCH 23390 ve domuz striatal membranlar bir deney kullanılarak ölçülürken, pirrolden türetilen 60 tipi adaylar ve 61 tipi çeşitli Mannich bazlarının reseptör bağlama profilleri D_{2uzun}, D_{2kısa}, D₃ ve D_{4,4} klonlanmış insan reseptör alt grupları için [³H]spiperon ile yarışma yetenekleri ölçülerek *in vitro* da belirlenmiştir. 60 ve 61 tipi tüm Mannich bazları, D₄ reseptör alt grupları için seçici ligantlardır ve bir imidazo[1,2-a]piridin iskeletli adaylar eş bir pirrol halkasına sahip olanlardan daha güçlüdür. 60 Tipi en güçlü Mannich bazı (R=2-C₂H₅O, 2,3-Cl₂,3-CF₃) düşük nanomolar alanda dopamin D₄ reseptör için bir afinite göstermiştir ve bu reseptör alt tipleri için seçicilikleri referans ilaç clozapini aşmıştır [149].



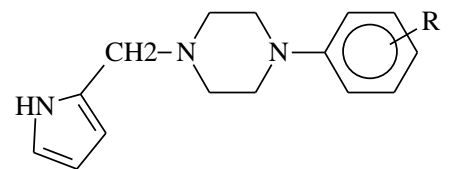
58



59

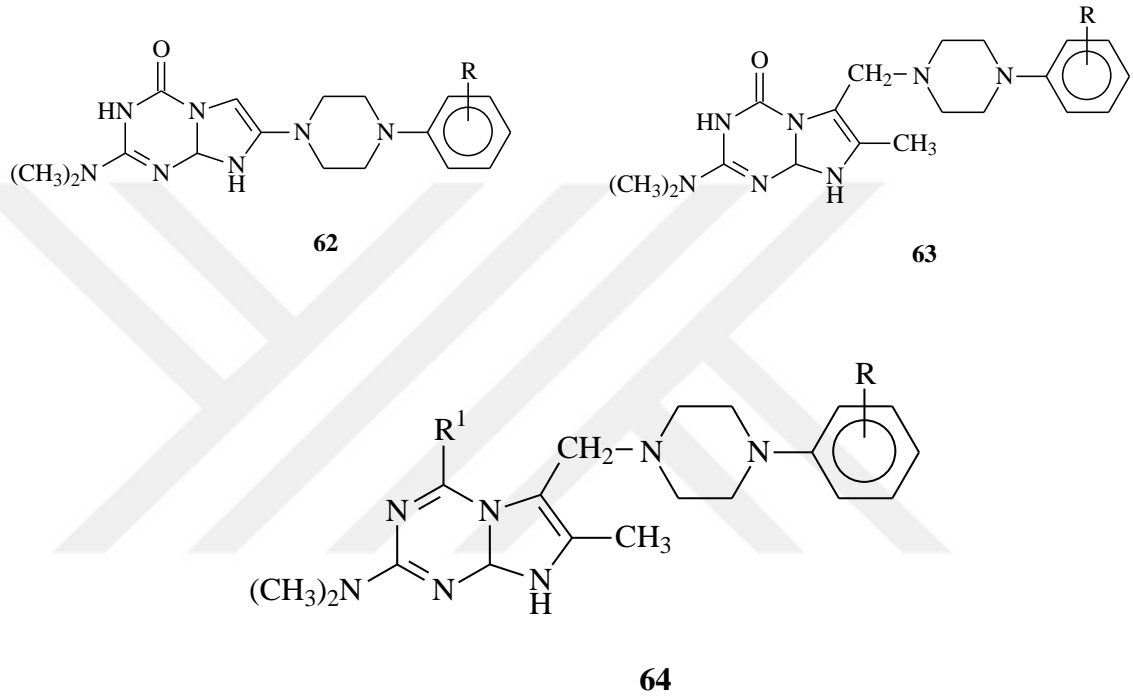


60

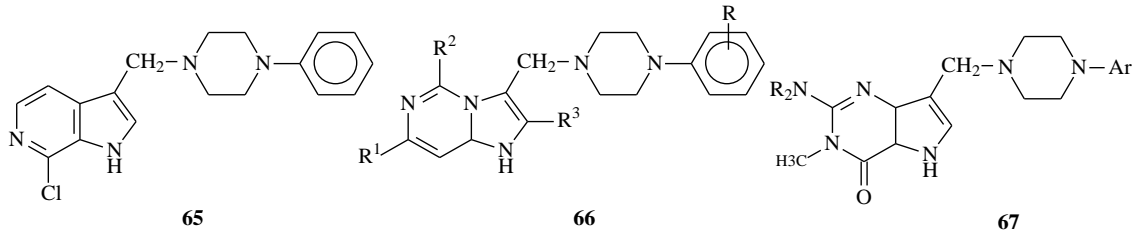


61

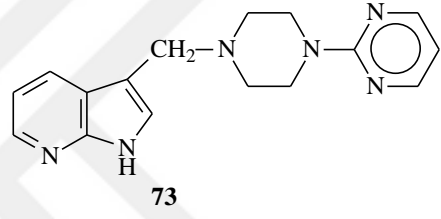
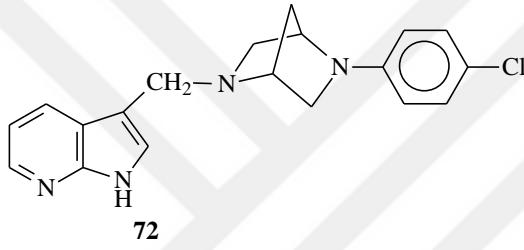
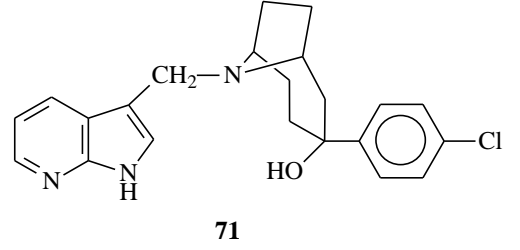
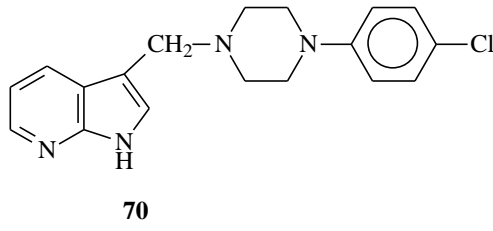
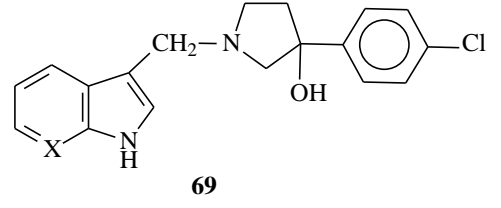
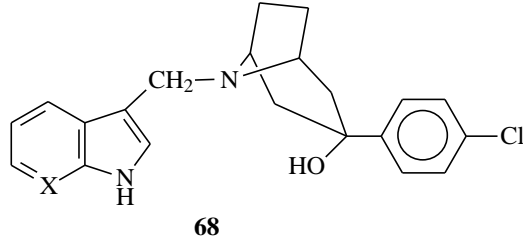
Aynı bir pirrolo[2,3-d]primidine sahip 62, 63 ve 64 tipi ($R^1=H$ ya da Cl) Mannich bazlarını içeren adayların çeşitli küçük serileri D_1 , D_{2uzun} , $D_{2kısa}$, D_3 ve $D_{4.4}$ dopamin reseptör alt grupları için ligant olarak değerlendirilmiş ve sentezlenmiştir fakat dopamin reseptör testinin hiçbiri için afinite fark edilir değildir. Bu serilerdeki en güçlü bağlanma sırasıyla 2,4 ve 1,9 nM K_i değerleri ile dopamin reseptörde 62 ($R=2-CH_3O$) ve 64 ($R^1=H, R=2-CH_3O$) bileşikleri için kaydedilmiştir [150].



Yeni heteroaromatik iskeletler, potansiyel D_4 reseptörleri olarak **65**, **66** ve **67** Mannich bazlarının sentezinde kullanılmıştır [151]. Pirrolo[2,3-c]pirimidin halka sisteminden türetilen **65** bileşiği $D_{4.4}$ reseptöründe seçicidir. İmidazo[1,2-c]pirimidinlerden türetilen **67** Mannich bazlarının değerlendirmesi substituentlerin yapısı ve sayısına bağlı olarak farklı sonuçların çıkmasına neden olmuştur. Bu yüzden, substitue olmamış iskeletlerden türetilen **66** bileşikleri ve 7-metilimidazo[1,2-c]pirimidinden türetilen Mannich bazlarının tamamı dopamin D_4 reseptöründe etkili olmamışlardır. Dimetil-substitue imidazo[1,2-c]pirimidinlerden türetilen Mannich bazları için bağlanma analizinin sonuçları **66** bileşiklerinin dopamin D_4 reseptörü bağlama afinitesine sahip olduğunu göstermiştir. **67** Mannich bazları dopamin D_4 reseptörü için iyi afiniteye sahiptirler ancak pirrolidin morfolinle yer değiştirmesi afiniteyi önemli ölçüde düşürür.

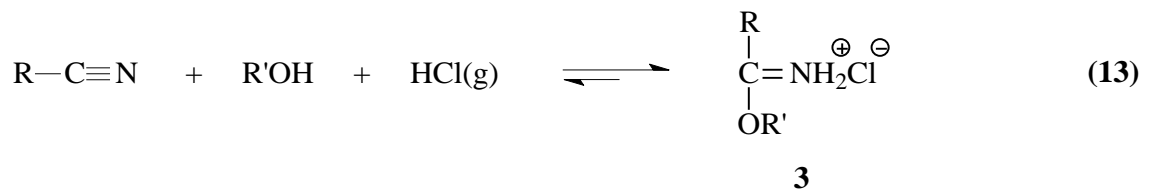


Mannich bazlarında 4-arilpiperazinilin diğer monosiklik ve bisiklik amin gruplarıyla yer değiştirmesinin D₂, D₃ ve D₄ dopamin reseptörlerinin afinitesi üzerindeki etkileri de incelenmiştir [151]. 3-(4-klorofenil)-8-azabisiklo[3.2.1]oktan-3-ol'den türetilen 68 tipi Mannich bazları dopamin D₃ reseptörü için ılımlı afinite ve ılımlı seçicilik göstermişlerdir. 69 tipi pirrolidinol analogları dopamin reseptörlerinin tüm alt kümeleri için zayıf bağlanma afinitesine sahiptir ve 70 tipi homopiperazin analogu D₄ reseptörü için ılımlı bağlanma afinitesine sahiptir. 3,9-diazabisiklo[4.2.1]nonan halka sisteminden türetilen 71 bileşikleri bu çalışmada incelenen tüm dopamin reseptörleri için zayıf bağlanma afinitesi göstermiştir. 72 bileşiği test edilen bileşikler arasında en yüksek D₃ afiniteye sahip bileşik olmasına rağmen D₃'e karşı zayıf seçiciliğe sahiptir. 2-(2-pirimidinil)piperazin'den türetilen 73 Mannich bazları ılımlı dopamin D₄ reseptör afinitesine sahiptir ancak D₂ ve D₃ alt kümelerinde iyi seçiciliğe sahiptirler.

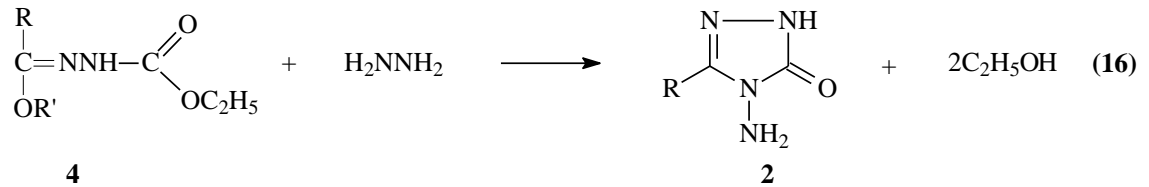
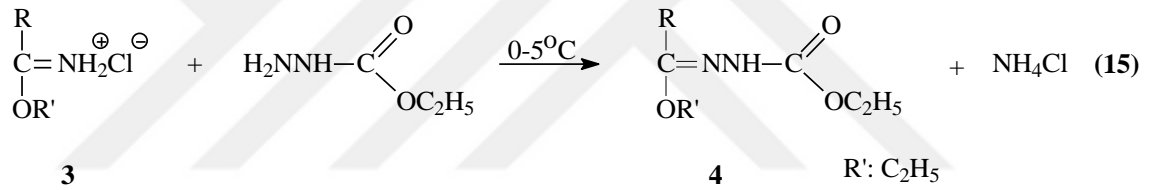


1.5. Yeni Bileşiklerin Sentezi

Tez kapsamında sentezi planlanan orijinal bileşiklerin elde edilmesinde kullanılan 2 tipi 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-onların sentezi ilk olarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, öncelikle karşın olan nitrillerden başlanarak Pinner Metoduna göre [104] Denklem 13 uyarınca literatürde kayıtlı 3 tipi iminoester hidroklorürler (alkil imidat hidroklorürler) olan etil imidoasetat hidroklorür (3a), etil imidopropiyonat hidroklorür (3b), etil imidofenilasetat hidroklorür (3c), etil imido-*p*-metilfenilasetat hidroklorür (3d), etil imido-*p*-metoksifenilasetat hidroklorür (3e) ve etil imido-*p*-klorofenilasetat hidroklorür (3f) bileşikleri elde edilmiştir.



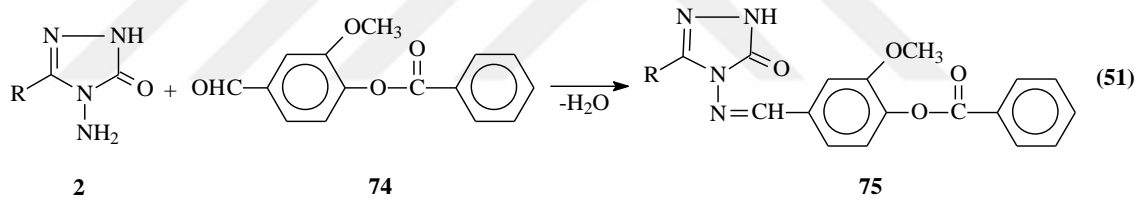
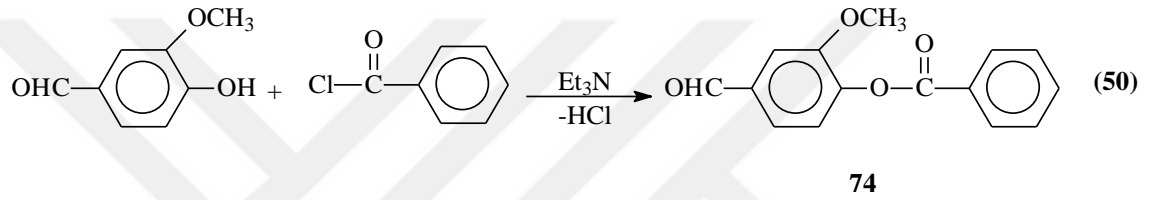
Çalışmada, 3 bileşiklerinin Denklem 15 uyarınca etil karbazat ile ayrı ayrı muamelesinden yine literatürde kayıtlı 4 tipi ester etoksikarbonilhidrazonlar olan etil asetat etoksikarbonilhidrazon (4a), etil propiyonat etoksikarbonilhidrazon (4b), etil fenilasetat etoksikarbonilhidrazon (4c), etil *p*-metilfenilasetat etoksikarbonilhidrazon (4d), etil *p*-metoksifenilasetat etoksikarbonilhidrazon (4e) ve etil *p*-klorofenilasetat etoksikarbonilhidrazon (4f) bileşikleri sentezlenmiş ve Denklem 16 uyarınca hidrazin hidrat ile ayrı ayrı muamelesinden çalışma için gerekli olan ve literatürde kayıtlı bulunan 2 tipi 3-metil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2a), 3-etil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2b), 3-benzil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2c), 3-*p*-metilbenzil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2d), 3-*p*-metoksibenzil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2e) ve 3-*p*-klorobenzil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2f) bileşikleri elde edilmiştir.



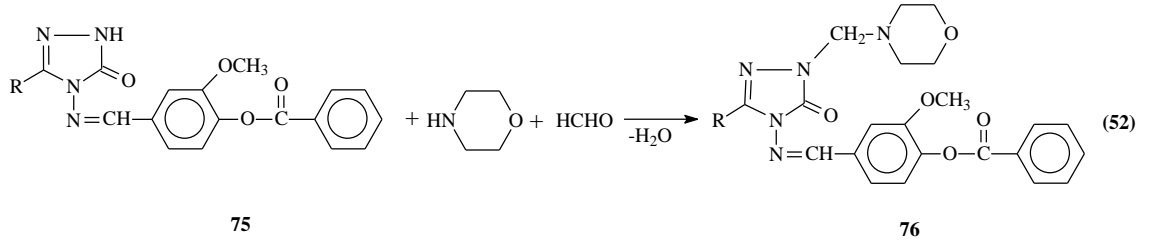
	R
2a	CH ₃
2b	CH ₂ CH ₃
2c	CH ₂ C ₆ H ₅
2d	CH ₂ C ₆ H ₄ CH ₃ (<i>p</i> -)
2e	CH ₂ C ₆ H ₄ Cl (<i>p</i> -)
2f	CH ₂ C ₆ H ₄ OCH ₃ (<i>p</i> -)

Çalışmada, 2 tipi bileşiklerin 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehidin trietilamin varlığında benzoil klorür ile muamelesinden elde edilen 4-benzoksi-3-metoksibenzaldehid (74) ile ayrı ayrı reaksiyonları incelenerek 75 tipi 6 adet 4-[3-alkil(aril)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-

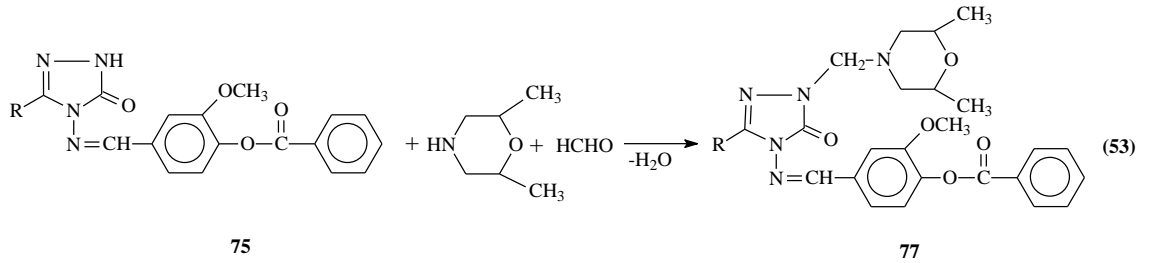
triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat bileşikleri olan sırasıyla 4-[3-metil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (75a), 4-[3-etil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (75b), 4-[3-benzil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (75c), 4-[3-*p*-metilbenzil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (75d), 4-[3-*p*-metoksibenzil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (75e) ve 4-[3-*p*-klorobenzil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (75f) bileşikleri elde edilmiştir [152].



Çalışmanın orijinal bölümünde, 75 tipi bileşikler Mannich reaksiyonu uyarınca formaldehit ve morfolinle muamele edilerek karşın olan 76 tipi Mannich bazları olan 4-[1-(morfolin-4-il-metil)-3-metil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (76a), 4-[1-(morfolin-4-il-metil)-3-etil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (76b), 4-[1-(morfolin-4-il-metil)-3-benzil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (76c), 4-[1-(morfolin-4-il-metil)-3-(*p*-metilbenzil)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (76d), 4-[1-(morfolin-4-il-metil)-3-(*p*-metoksibenzil)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (76e) ve 4-[1-(morfolin-4-il-metil)-3-(*p*-klorobenzil)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil Benzoat (76e) bileşikleri sentezlenmiştir (Denklem 52).



Sentezlenen 75 tipi bileşikler ikinci olarak, mannich reaksiyonu uyarınca formaldehit ve 2,6-dimetilmorfolinle muamele edilerek karşın olan 77 tipi Mannich bazları olan 4-[1-(2,6-dimetilmorfolin-4-il-metil)-3-etil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (77b), 4-[1-(2,6-dimetilmorfolin-4-il-metil)-3-benzil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (77c), 4-[1-(2,6-dimetilmorfolin-4-il-metil)-3-(*p*-metilbenzil)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (77d), 4-[1-(2,6-dimetilmorfolin-4-il-metil)-3-(*p*-metoksibenzil)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (77e) ve 4-[1-(2,6-dimetilmorfolin-4-il-metil)-3-(*p*-klorobenzil)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (77e) bileşikleri sentezlenmiştir (Denklem 53).



Çalışma kapsamında sentezlenen 12 adet yeni bileşiğin yapısı IR, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektroskopik yöntemleri kullanılarak aydınlatılmıştır.

Tez kapsamında, sentezlenen 12 yeni heterosiklik bileşiğin agar kuyucuk yöntemi ile *Bacillus Subtilis* (ATCC11774), *Bacillus Cereus* (ATCC11778), *Staphylococcus aureus* (ATCC6538), *Escherichia coli* (ATCC25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853) ve *Klebsiella pneumonia* (ATCC4352) bakterilerine karşı olan antimikrobiyal etkinlikleri test edilmiştir.

Çalışmada son olarak, sentezlenen 12 yeni bileşğin 3 farklı yöntemle (indirgeme gücü, serbest radikal giderme aktivitesi, metal şelat aktivitesi) *in-vitro* antioksidan özellikleri incelenerek elde edilen bulgular yorumlanmıştır.



2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Sentez

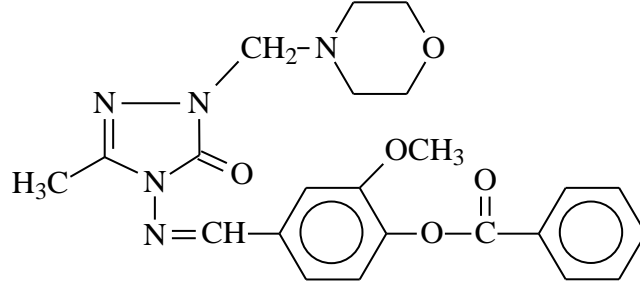
Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Organik Kimya Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler Merck, Fluka ve Aldrich firmalarından sağlanmıştır. Gerekli çözücüler ise yerli ya da yurt dışı kaynaklardan temin edilmiştir. Ayrıca antimikrobiyal aktivitede kullanılan tüm test mikroorganizmalar *Bacillus Substilis* (ATCC11774), *Bacillus Cereus* (ATCC11778), *Staphylococcus aureus* (ATCC6538), *Escherichia coli* (ATCC25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853) ve *Klebsiella pneumonia* (ATCC4352) Mikrobiyolojik Çevre Koruma Laboratuvarları Şirketinden (Fransa) temin edilmiştir.

Çalışma kapsamında sentezlenen bileşiklerin erime noktaları Stuart SMP30 marka erime noktası tayin cihazında tayin edilmiştir. Yapı aydınlatılmasında kullanılan IR spektrumları çalışmanın yürütüldüğü, Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Organik Kimya Araştırma Laboratuvarında, ALPHA-P BRUKER FT-IR spektrometresinde alınmıştır. ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji Eğitim, Araştırma ve Uygulama Merkezinde, BRUKER ULTRASHIELD PLUS BIOSPIN marka 400 MHz'lik NMR cihazında alınmıştır.

Çalışmada sentezlenen bileşiklerin antimikrobiyal özellikleri Kafkas Üniversitesi Eğitim Fakültesi Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarında incelenmiştir.

Çalışmada sentezlenen bileşiklerin antioksidan özellikleri Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Organik Kimya Araştırma Laboratuvarında incelenmiştir. PG Instruments Ltd T80 UV/VIS Spektrofotometresi kullanılmıştır.

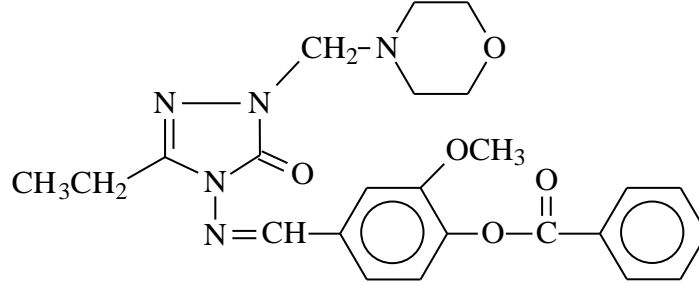
2.1.1. 4-[1-(Morfolin-4-il-metil)-3-metil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil Benzoat (76a):



100 mL'lik Yuvarlak dipli balonda 4-(3-metil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin)-2-metoksifenil benzoat (75a) (3.52 g, 10 mmol) bileşigi 40 mL etil alkolde çözüldü. Bu çözeltiliye morfolin (0.87 g, 10 mmol) ve formaldehid (%37) çözeltisi (1.62 g, 20 mmol) ilave edilerek 2 saat geri soğutucu altında reflux edildi. Sıcaklık oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi ve -18 °C'de bir gece bekletildi. Çökelek süzüldü, soğuk etil alkol ile yıkandı. Desikatorde kurutuldu ve etil alkol ile kristallendirildi. Elde edilen kristaller (3.17 g, % 70.31 verim) etil alkolden iki kez daha kristallendirdi ve vakumda altında kurutulduktan sonra **76a** bileşigi olarak adlandırıldı. E.n: 148 °C. IR: 1743, 1694 (C=O), 1598 (C=N), 1252 (COO), 776 ve 700 (monosubstitue aromatik halka) cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 2.37 (s, 3H, CH_3), 2.61 (t, 4H, CH_2NCH_2 ; $J=4.40$ Hz), 3.59 (t, 4H, CH_2OCH_2 ; $J=4.40$ Hz), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 4.57 (s, 2H, NCH_2N), 7.43 (d, 1H, ArH; $J=8.00$ Hz), 7.55 (dd, 1H, ArH; $J=8.00$ Hz, 2.00 Hz), 7.63 (d, 1H, ArH; $J=1.60$ Hz), 7.65-7.68 (m, 2H, ArH), 7.77-7.82 (m, 1H, ArH), 8.15-8.17 (m, 2H, ArH), 9.75 (s, 1H, $\text{N}=\text{CH}$). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 10.96 (CH_3), 49.98 (CH_2NCH_2), 56.06 (OCH_3), 65.94 (NCH_2N), 66.04 (CH_2OCH_2), 111.59; 120.74; 123.67; 128.43; 129.04 (2CH); 129.86 (2CH); 132.48; 134.17; 141.94; 150.24 (ArC), 143.14 (Triazol C_3), 151.40 (Triazol C_5), 153.69 ($\text{N}=\text{CH}$), 163.78 (COO).

IR	:	Ek Şekil 1
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6)	:	Ek Şekil 2
$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6)	:	Ek Şekil 3

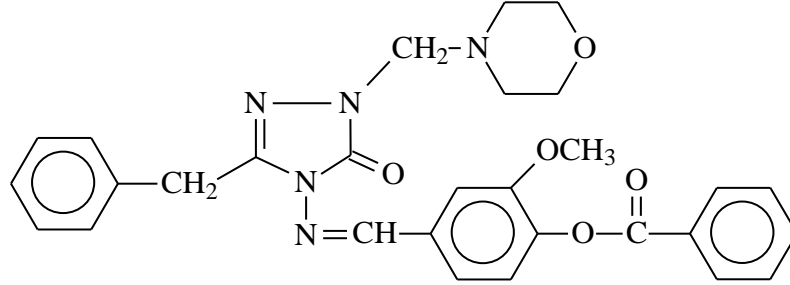
2.1.2. 4-[1-(Morfolin-4-il-metil)-3-etil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil Benzoat (76b):



100 mL'lik Yuvarlak dipli balonda 4-(3-etil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin)-2-metoksifenil benzoat (75b) (3.66 g, 10 mmol) bileşiği 40 mL etil alkolde çözüldü. Bu çözeltiliye morfolin (0.87 g, 10 mmol) ve formaldehid (%37) çözeltisi (1.62 g, 20 mmol) ilave edilerek 2 saat geri soğutucu altında reflux edildi. Sıcaklık oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi ve -18 °C'de bir gece bekletildi. Çökelek süzüldü, soğuk etil alkol ile yıkandı. Desikatorde kurutuldu ve etil alkol ile kristallendirildi. Elde edilen kristaller 3.32 g, % 71.42 verim) etil alkolden iki kez daha kristallendirdi ve vakumda altında kurutulduktan sonra **76b** bileşiği olarak adlandırıldı. E.n: 143 °C. IR: 1738, 1692 (C=O), 1596 (C=N), 1258 (COO), 776 ve 702 (monosubstitue aromatik halka) cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 1.27 (t, 3H, CH_2CH_3 ; $J=7.60$ Hz), 2.62 (t, 4H, CH_2NCH_2 ; $J=4.40$ Hz), 2.78 (q, 2H, CH_2CH_3 ; $J=7.60$ Hz), 3.59 (t, 4H, CH_2OCH_2 ; $J=4.40$ Hz), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 4.58 (s, 2H, NCH_2N), 7.43 (d, 1H, ArH; $J=8.00$ Hz), 7.55 (dd, 1H, ArH; $J=8.00$ Hz, 2.00 Hz), 7.64 (d, 1H, ArH; $J=1.60$ Hz), 7.65-7.68 (m, 2H, ArH), 7.77-7.82 (m, 1H, ArH), 8.15 (m, 2H, ArH), 9.75 (s, 1H, N=CH). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 9.99 (CH_2CH_3), 18.40 (CH_2CH_3), 50.00 (CH_2NCH_2), 56.05 (OCH_3), 65.98 (NCH_2N), 66.04 (CH_2OCH_2), 111.64; 120.63; 123.70; 128.43; 129.04 (2CH); 129.86 (2CH); 132.51; 134.18; 141.93; 150.37 (ArC), 146.87 (Triazol C_3), 151.40 (Triazol C_5), 153.72 (N=CH), 163.79 (COO).

IR	:	Ek Şekil 4
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6)	:	Ek Şekil 5
$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6)	:	Ek Şekil 6

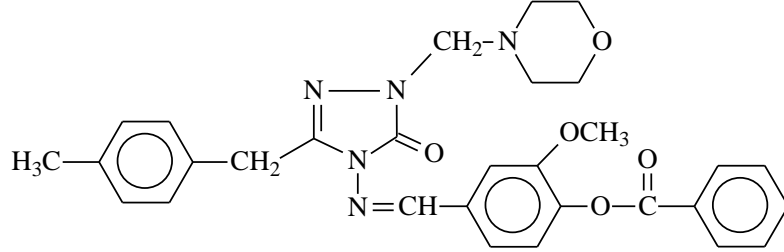
2.1.3. 4-[1-(morfolin-4-il-metil)-3-benzil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil Benzoat (76c):



100 mL'lik Yuvarlak dipli balonda 4-(3-benzil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin)-2-metoksifenil benzoat (75c) (4.28 g, 10 mmol) bileşigi 40 mL etil alkolde çözüldü. Bu çözeltiliye morfolin (0.87 g, 10 mmol) ve formaldehid (%37) çözeltisi (1.62 g, 20 mmol) ilave edilerek 2 saat geri soğutucu altında reflux edildi. Sıcaklık oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi ve -18 °C'de bir gece bekletildi. Çökelek süzüldü, soğuk etil alkol ile yıkandı. Desikatorde kurutuldu ve etil alkol ile kristallendirildi. Elde edilen kristaller (3.71 g, % 70.49 verim) etil alkolden iki kez daha kristallendirdi ve vakumda altında kurutulduktan sonra **76c** bileşigi olarak adlandırıldı. E.n: 125 °C. IR: 1739, 1705 (C=O), 1579 (C=N), 1250 (COO), 774 ve 714 (monosubstitue aromatik halka) cm⁻¹. ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 2.63 (t, 4H, CH₂NCH₂; J=4.40 Hz), 3.60 (t, 4H, CH₂OCH₂; J=4.40 Hz), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 4.15 (s, 2H, CH₂Ph), 4.62 (s, 2H, NCH₂N), 7.26-7.27 (m, 1H, ArH), 7.33-7.42 (m, 5H, ArH), 7.47 (dd, 1H, ArH; J=8.00 Hz, 1.60 Hz), 7.58 (d, 1H, ArH; J=1.60 Hz), 7.63-7.67 (m, 2H, ArH), 7.78-7.82 (m, 1H, ArH), 8.14-8.17 (m, 2H, ArH), 9.70 (s, 1H, N=CH). ¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ 31.06 (CH₂Ph), 50.01 (CH₂NCH₂), 56.03 (OCH₃), 66.05 (NCH₂N+CH₂OCH₂), 110.81; 121.28; 123.64; 126.79; 128.42; 128.52 (2CH); 128.82(2CH); 129.04(2CH); 129.86(2CH); 132.44; 134.18; 135.72; 141.96; 150.26 (ArC), 144.94 (Triazol C₃), 150.26 (Triazol C₅), 153.07 (N=CH), 163.78 (COO).

IR	:	Ek Şekil 7
¹ H-NMR (DMSO-d ₆)	:	Ek Şekil 8
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆)	:	Ek Şekil 9

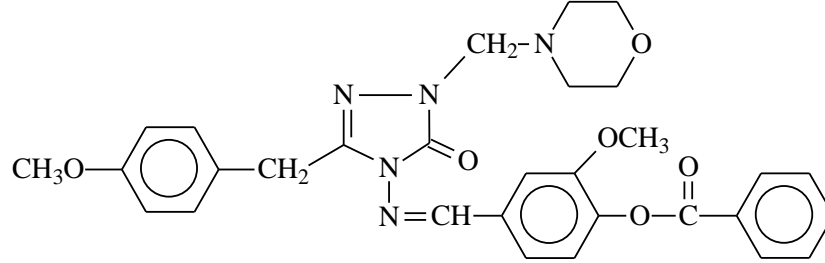
2.1.4. 4-[1-(morfolin-4-il-metil)-3-(*p*-metilbenzil)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil Benzoat (76d):



100 mL'lik Yuvarlak dipli balonda 4-(3-(*p*-metilbenzil)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin)-2-metoksifenil benzoat (75d) (4.42 g, 10 mmol) bileşiği 40 mL etil alkolde çözüldü. Bu çözeltiliye morfolin (0.87 g, 10 mmol) ve formaldehid (%37) çözeltisi (1.62 g, 20 mmol) ilave edilerek 2 saat geri soğutucu altında reflux edildi. Sıcaklık oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi ve -18 °C'de bir gece bekletildi. Çökelek süzüldü, soğuk etil alkol ile yıkandı. Desikatorde kurutuldu ve etil alkol ile kristallendirildi. Elde edilen kristaller (3.81 g, % 86.20 verim) etil alkolden iki kez daha kristallendirdi ve vakumda altında kurutulduktan sonra **76d** bileşiği olarak adlandırıldı. E.n: 138 °C. IR: 1729, 1692 (C=O), 1589 (C=N), 1256 (COO), 862 (1,4-disubstitue aromatik halka), 775 ve 702 (monosubstitue aromatik halka) cm⁻¹. ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 2.27 (s, 3H, PhCH₃), 2.63 (t, 4H, CH₂NCH₂; *J*=4.40 Hz), 3.60 (t, 4H, CH₂OCH₂; *J*=4.40 Hz), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 4.09 (s, 2H, CH₂Ph), 4.61 (s, 2H, NCH₂N), 7.15 (d, 2H, ArH; *J*=8.00 Hz), 7.26 (d, 2H, ArH; *J*=8.00 Hz), 7.41 (d, 1H, ArH; *J*=8.00 Hz), 7.48 (dd, 1H, ArH; *J*=8.00 Hz, 2.00 Hz), 7.59 (d, 1H, ArH; *J*=1.60 Hz), 7.63-7.67 (m, 2H, ArH), 7.77-7.81 (m, 1H, ArH), 8.15-8.17 (m, 2H, ArH), 9.70 (s, 1H, N=CH). ¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ 20.57 (PhCH₃), 30.67 (CH₂Ph), 50.01 (CH₂NCH₂), 56.00 (OCH₃), 66.05 (NCH₂N+CH₂OCH₂), 110.80; 121.29; 123.65; 128.42; 128.53 (2CH); 129.04 (2CH); 129.09 (2CH); 129.86(2CH); 132.46; 132.58; 134.18; 135.89; 141.96; 150.26 (ArC), 145.09 (Triazol C₃), 151.37 (Triazol C₅), 153.01 (N=CH), 163.78 (COO).

IR	:	Ek Şekil 10
¹ H-NMR (DMSO-d ₆)	:	Ek Şekil 11
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆)	:	Ek Şekil 12

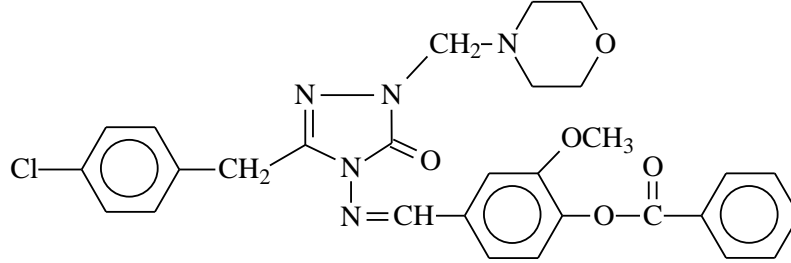
2.1.5. 4-[1-(Morfolin-4-il-metil)-3-(*p*-metoksibenzil)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil Benzoat (76e):



100 mL'lik Yuvarlak dipli balonda 4-(3-(*p*-metoksibenzil)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin)-2-metoksifenil benzoat (75e) (4.58 g, 10 mmol) bileşiği 40 mL etil alkolde çözüldü. Bu çözeltiye morfolin (0.87 g, 10 mmol) ve formaldehid (%37) çözeltisi (1.62 g, 20 mmol) ilave edilerek 2 saat geri soğutucu altında reflux edildi. Sıcaklık oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi ve -18 °C'de bir gece bekletildi. Çökelek süzüldü, soğuk etil alkol ile yıkandı. Desikatorde kurutuldu ve etil alkol ile kristallendirildi. Elde edilen kristaller (4.08 g, % 89.08 verim) etil alkolden iki kez daha kristallendirdi ve vakumda altında kurutulduktan sonra **76e** bileşiği olarak adlandırıldı. E.n: 107 °C. IR: 1735, 1703 (C=O), 1589 (C=N), 1245 (COO), 856 (1,4-disubstitue aromatik halka), 756 ve 709 (monosubstitue aromatik halka) cm⁻¹. ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 2.62 (t, 4H, CH₂NCH₂; *J*=4.40 Hz), 3.60 (t, 4H, CH₂OCH₂; *J*=4.40 Hz), 3.73 (s, 3H, OCH₃-*p*), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 4.07 (s, 2H, CH₂Ph), 4.61 (s, 2H, NCH₂N), 6.91 (d, 2H, ArH; *J*=8.80 Hz), 7.30 (d, 2H, ArH; *J*=8.80 Hz), 7.42 (d, 1H, ArH; *J*=8.00 Hz), 7.49 (dd, 1H, ArH; *J*=8.00 Hz, 2.00 Hz), 7.61 (d, 1H, ArH; *J*=1.60 Hz), 7.63-7.67 (m, 2H, ArH), 7.78-7.81 (m, 1H, ArH), 8.15-8.17 (m, 2H, ArH), 9.71 (s, 1H, N=CH). ¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ 30.19 (CH₂Ph), 50.01 (CH₂NCH₂), 55.03 (OCH₃-*p*), 56.03 (OCH₃), 66.05 (NCH₂N+CH₂OCH₂), 110.88; 113.97 (2CH); 121.24; 123.66; 127.44; 128.42; 129.05 (2CH); 129.72 (2CH); 129.86(2CH); 132.47; 134.18; 141.96; 150.26; 158.15 (ArC), 145.24 (Triazol C₃), 151.38 (Triazol C₅), 153.09 (N=CH), 163.79 (COO).

IR	:	Ek Şekil 13
¹ H-NMR (DMSO-d ₆)	:	Ek Şekil 14
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆)	:	Ek Şekil 15

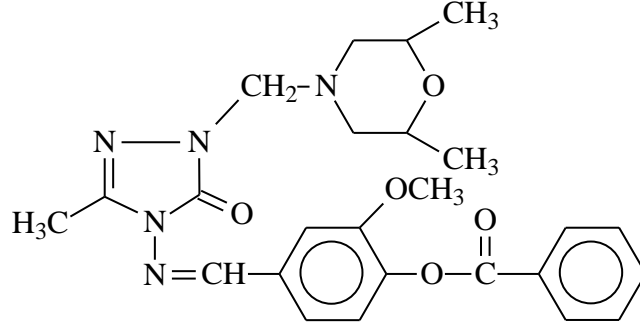
2.1.6. 4-[1-(morfolin-4-il-metil)-3-(*p*-klorobenzil)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil Benzoat (76f):



100 mL'lik Yuvarlak dipli balonda 4-(3-(*p*-klorobenzil)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin)-2-metoksifenil benzoat (75f) (4.805 g, 10 mmol) bileşiği 40 mL etil alkolde çözüldü. Bu çözeltiye morfolin (0.87 g, 10 mmol) ve formaldehid (%37) çözeltisi (1.62 g, 20 mmol) ilave edilerek 2 saat geri soğutucu altında reflux edildi. Sıcaklık oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi ve -18 °C'de bir gece bekletildi. Çökelek süzüldü, soğuk etil alkol ile yıkandı. Desikatorde kurutuldu ve etil alkol ile kristallendirildi. Elde edilen kristaller (4.64 g, % 82.75 verim) etil alkolden iki kez daha kristallendirdi ve vakumda altında kurutulduktan sonra **76f** bileşiği olarak adlandırıldı. E.n: 129 °C. IR: 1735, 1703 (C=O), 1594 (C=N), 1261 (COO), 852 (1,4-disubstitue aromatik halka), 778 ve 711 (monosubstitue aromatik halka) cm⁻¹. ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 2.62 (t, 4H, CH₂NCH₂; *J*=4.40 Hz), 3.60 (t, 4H, CH₂OCH₂; *J*=4.40 Hz), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 4.17 (s, 2H, CH₂Ph), 4.61 (s, 2H, NCH₂N), 7.39-7.44 (m, 5H, ArH), 7.48 (dd, 1H, ArH; *J*=8.00 Hz, 2.00 Hz), 7.57 (d, 1H, ArH; *J*=1.60 Hz), 7.63-7.67 (m, 2H, ArH), 7.77-7.81 (m, 1H, ArH), 8.14-8.17 (m, 2H, ArH), 9.71 (s, 1H, N=CH). ¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ 30.37 (CH₂Ph), 49.99 (CH₂NCH₂), 56.04 (OCH₃), 66.04 (CH₂OCH₂), 66.07 (NCH₂N), 110.88; 121.27; 123.66; 128.42; 128.47 (2CH); 129.05 (2CH); 129.86 (2CH); 130.59 (2CH); 131.51; 132.39; 134.19; 134.71; 142.00; 150.24 (ArC), 144.62 (Triazol C₃), 151.38 (Triazol C₅), 153.24 (N=CH), 163.77 (COO).

IR	:	Ek Şekil 16
¹ H-NMR (DMSO-d ₆)	:	Ek Şekil 17
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆)	:	Ek Şekil 18

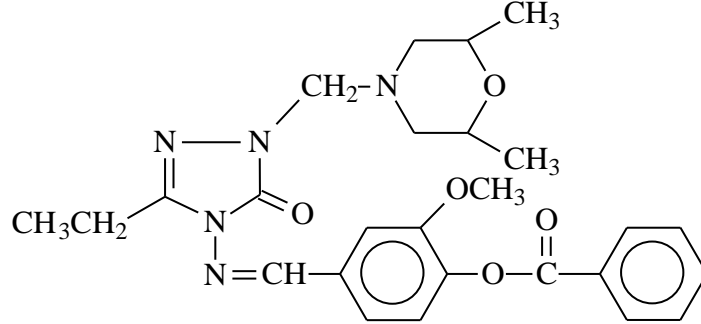
2.1.7. 4-[1-(2,6-dimetilmorfolin-4-il-metil)-3-metil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (77a):



100 mL'lik Yuvarlak dipli balonda 4-(3-metil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin)-2-metoksifenil benzoat (75a) (3.52 g, 10 mmol) bileşiği 40 mL etil alkolde çözüldü. Bu çözeltiliye 2,6-dimetilmorfolin (1.15 g, 10 mmol) ve formaldehid (%37) çözeltisi (1.62 g, 20 mmol) ilave edilerek 2 saat geri soğutucu altında reflux edildi. Sıcaklık oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi ve -18 °C'de bir gece bekletildi. Çökelek süzüldü, soğuk etil alkol ile yıkandı. Desikatorde kurutuldu ve etil alkol ile kristallendirildi. Elde edilen kristaller (3.38 g, % 70.58 verim) etil alkolden iki kez daha kristallendirdi ve vakumda altında kurutulduktan sonra **77a** bileşiği olarak adlandırıldı. E.n: 90 °C. IR: 1741, 1695 (C=O), 1595 (C=N), 1259 (COO), 753 ve 705 (monosubstitue aromatik halka) cm⁻¹. ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 1.05-1.15 (m, 6H, 2CH₃), 3.87 (s, 3H, OCH₃); 4.58 (m, 4H, NH₂N), 2.3-2.08, 2.33-2.37,-2.56-2.78,2.81-3.56(m, 6H), 7.43 (d, 1H, ArH J=8.40Hz), 7.55-7.57 (m, 1H, ArH), 7.63-7.69 (m, 3H, ArH), 7.77 (m, 1H, ArH), 8.15-8.17 (m, 2H, ArH), 9.76(s, 1H, N=CH). ¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ 10.98 (CH₃), 17.90 ve 18.93 (2CH₃), 55.02 ve 55.60 (2CH₂), 56.06 (OCH₃), 65.26 (NCH₂N), 71.03 (2CH), 111.66 (CH), 120.68 (CH); 123.69(CH),128.43(C), 129.04(2CH), 129.85(2CH), 132.49(C), 134.17(CH),141.92(C), 150.28 (C) (ArC), 143.14 (Triazol C₃), 151.39 (Triazol C₅), 153.60 (N=CH), 163.78 (COO).

IR	:	Ek Şekil 19
¹ H-NMR (DMSO-d ₆)	:	Ek Şekil 20
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆)	:	Ek Şekil 21

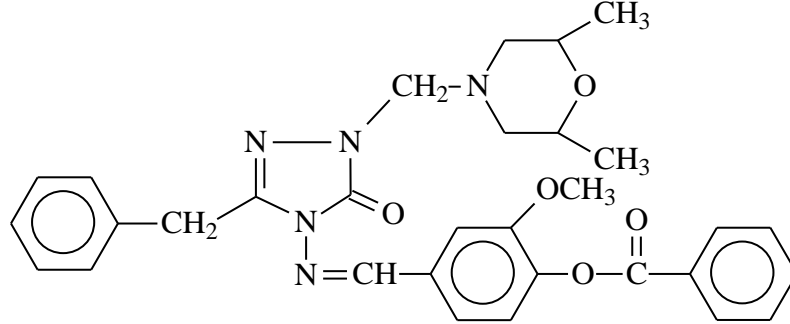
2.1.8. 4-[1-(2,6-dimetilmorfolin-4-il-metil)-3-etil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (77b):



100 mL'lik Yuvarlak dipli balonda 4-(3-etil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin)-2-metoksifenil benzoat (75b) (3.66 g, 10 mmol) bileşigi 40 mL etil alkolde çözüldü. Bu çözeltiye 2,6-dimetilmorfolin (1.15 g, 10 mmol) ve formaldehid (%37) çözeltisi (1.62 g, 20 mmol) ilave edilerek 2 saat geri soğutucu altında reflux edildi. Sıcaklık oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi ve -18 °C'de bir gece bekletildi. Çökelek süzüldü, soğuk etil alkol ile yıkandı. Desikatorde kurutuldu ve etil alkol ile kristallendirildi. Elde edilen kristaller (3.45 g, % 70.14 verim) etil alkolden iki kez daha kristallendirdi ve vakumda altında kurutulduktan sonra **77b** bileşigi olarak adlandırıldı. E.n: 122 °C. IR: 1741, 1695 (C=O), 1595 (C=N), 1259 (COO), 753 ve 705 (monosubstitue aromatik halka) cm⁻¹. ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 1.05-1.15 (m, 6H, 2CH₃), 1.26 (t, 3H, CH₂CH₃; J=7.20 Hz), 2.79 (q, 2H, CH₂CH₃; J=7.20 Hz), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 4.57-4.60 (m, 2H, NCH₂N), 2.02-2.06, 2.25-2.28, 2.61-2.64, 2.80-2.82, 3.51-3.56 (m, 6H), 7.43 (d, 1H, ArH; J=8.00 Hz), 7.54-7.56 (m, 1H, ArH), 7.63-7.67 (m, 3H, ArH), 7.77-7.79 (m, 1H, ArH), 8.15-8.17 (m, 2H, ArH), 9.75 (s, 1H, N=CH). ¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ 10.05 (CH₂CH₃), 17.90 (CHCH₃), 18.40 (CH₂CH₃), 18.94 (CHCH₃), 55.03 ve 55.63 (2CH₂), 56.05 (OCH₃), 66.29 (NCH₂N), 71.04 (2CH), 111.67; 120.57; 123.69; 128.43; 129.04 (2CH); 129.86 (2CH); 132.52; 134.18; 141.91; 150.38 (ArC), 146.87 (Triazol C₃), 151.39 (Triazol C₅), 153.64 (N=CH), 163.78 (COO).

IR	:	Ek Şekil 22
¹ H-NMR (DMSO-d ₆)	:	Ek Şekil 23
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆)	:	Ek Şekil 24

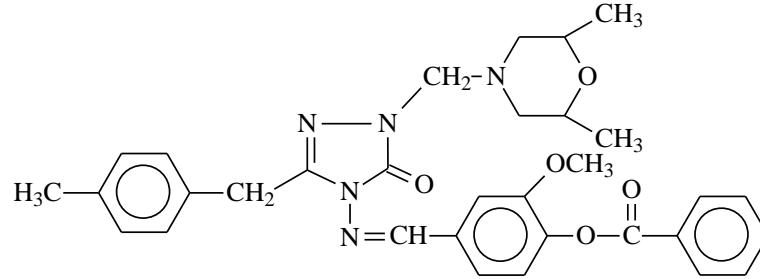
2.1.9. 4-[1-(2,6-Dimetilmorfolin-4-il-metil)-3-benzil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (77c):



100 mL'lik Yuvarlak dipli balonda 4-(3-benzil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin)-2-metoksifenil benzoat (75c) (4.28 g, 10 mmol) bileşiği 40 mL etil alkolde çözüldü. Bu çözeltiliye 2,6-dimetilmorfolin (1.15 g, 10 mmol) ve formaldehid (%37) çözeltisi (1.62 g, 20 mmol) ilave edilerek 2 saat geri soğutucu altında reflux edildi. Sıcaklık oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi ve -18 °C'de bir gece bekletildi. Çökelek süzüldü, soğuk etil alkol ile yıkandı. Desikatorde kurutuldu ve etil alkol ile kristallendirildi. Elde edilen kristaller (3.90 g, % 70.31 verim) etil alkolden iki kez daha kristallendirdi ve vakumda altında kurutulduktan sonra **77c** bileşiği olarak adlandırıldı. E.n: 147 °C. IR: 1739, 1706 (C=O), 1592 (C=N), 1254 (COO), 750 ve 714 (monosubstitue aromatik halka) cm⁻¹. ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 1.06-1.15 (m, 6H, 2CH₃), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 4.15 (s, 2H, CH₂Ph), 4.63 (s, 2H, NCH₂N), 2.03-2.08, 2.24-2.28, 2.60-2.64, 2.81-2.83, 3.51-3.56 (m,6H), 7.26-7.28 (m, 1H, ArH), 7.33-7.41 (m, 5H, ArH), 7.47-7.48 (m, 1H, ArH), 7.59-7.66 (m, 3H, ArH), 7.77-7.79 (m, 1H, ArH), 8.14-8.17 (m, 2H, ArH), 9.71 (s, 1H, N=CH). ¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ 17.89 ve 18.93 (2CH₃), 31.02 (CH₂Ph), 55.07 ve 55.67 (2CH₂), 56.02 (OCH₃), 65.78 (NCH₂N), 71.02 (2CH), 110.87; 121.23; 123.64; 126.80; 128.42; 128.50 (2CH); 128.83 (2CH); 129.04(2CH); 129.86 (2CH); 132.46; 134.18; 135.76; 141.95; 150.27 (ArC), 144.92 (Triazol C₃), 151.36 (Triazol C₅), 153.00 (N=CH), 163.78 (COO).

IR	:	Ek Şekil 25
¹ H-NMR (DMSO-d ₆)	:	Ek Şekil 26
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆)	:	Ek Şekil 27

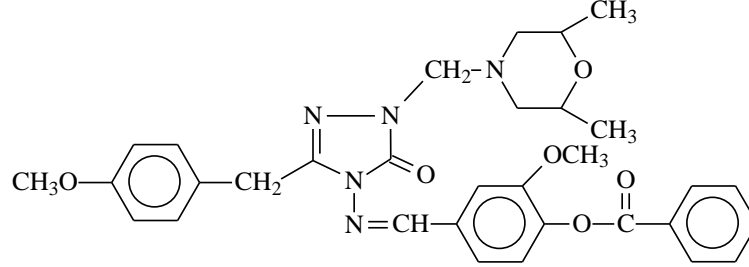
2.1.10. 4-[1-(2,6-dimetilmorfolin-4-il-metil)-3-(*p*-metilbenzil)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (77d):



100 mL'lik Yuvarlak dipli balonda 4-(3-(*p*-metilbenzil)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin)-2-metoksifenil benzoat (75d) (4.42 g, 10 mmol) bileşiği 40 mL etil alkolde çözüldü. Bu çözeltiye 2,6-dimetilmorfolin (1.15 g, 10 mmol) ve formaldehid (%37) çözeltisi (1.62 g, 20 mmol) ilave edilerek 2 saat geri soğutucu altında reflux edildi. Sıcaklık oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi ve -18 °C'de bir gece bekletildi. Çökelek süzüldü, soğuk etil alkol ile yıkandı. Desikatorde kurutuldu ve etil alkol ile kristallendirildi. Elde edilen kristaller (4.00 g, % 70.31 verim) etil alkolden iki kez daha kristallendirdi ve vakumda altında kurutulduktan sonra **77d** bileşiği olarak adlandırıldı. E.n: 129 °C. IR: 1741, 1706 (C=O), 1579 (C=N), 1252 (COO), 868 (1,4-disubstitue aromatik halka), 748 ve 711 (monosubstitue aromatik halka) cm⁻¹. ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 1.06-1.10 (m) ve 1.15 (d, *J*=6.40 Hz) (6H, 2CH₃), 2.27 (s, 3H, PhCH₃), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 4.09 (s, 2H, CH₂Ph), 4.62 (s, 2H, NCH₂N), 2.02-2.07, 2.25-2.28, 2.60-2.64, 2.81-2.83, 3.50-3.56 (m,6H), 7.15 (d, 2H, ArH; *J*=8.00 Hz), 7.26 (d, 2H, ArH; *J*=7.60 Hz), 7.41 (d, 1H, ArH; *J*=8.00 Hz), 7.48-7.50 (m, 1H, ArH), 7.59-7.67 (m, 3H, ArH), 7.78-7.80 (m, 1H, ArH), 8.15-8.17 (m, 2H, ArH), 9.70 (s, 1H, N=CH). ¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ 17.89 ve 18.93 (2CH₃), 20.56 (PhCH₃), 30.63 (CH₂Ph), 55.08 ve 55.68 (2CH₂), 56.01 (OCH₃), 65.76 (NCH₂N), 71.02 (2CH), 110.87; 121.24; 123.64; 128.42; 128.54 (2CH); 129.05(2CH) (2CH); 129.86 (2CH); 132.48; 132.63; 134.18; 135.91; 141.94; 150.26 (ArC), 145.07 (Triazol C₃), 151.36 (Triazol C₅), 152.95 (N=CH), 163.78 (COO).

IR	:	Ek Şekil 28
¹ H-NMR (DMSO-d ₆)	:	Ek Şekil 29
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆)	:	Ek Şekil 30

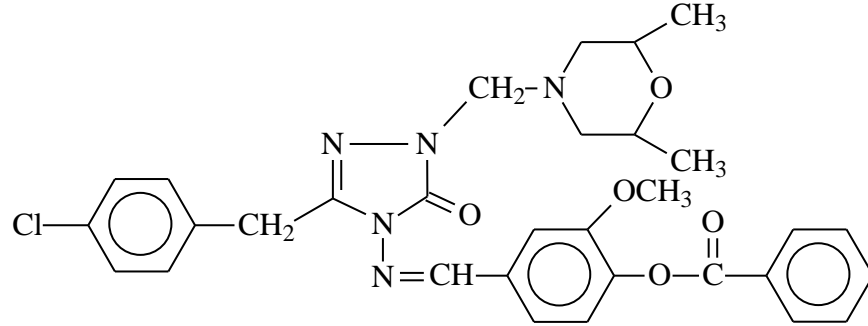
2.1.11. 4-[1-(2,6-dimetilmorfolin-4-il-metil)-3-(*p*-metoksibenzil)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (77e):



100 mL'lik Yuvarlak dipli balonda 4-(3-(*p*-metoksibenzil)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin)-2-metoksifenil benzoat (75e) (4.58 g, 10 mmol) bileşiği 40 mL etil alkolde çözüldü. Bu çözeltiliye 2,6-dimetilmorfolin (1.15 g, 10 mmol) ve formaldehid (%37) çözeltisi (1.62 g, 20 mmol) ilave edilerek 2 saat geri soğutucu altında reflux edildi. Sıcaklık oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi ve -18 °C'de bir gece bekletildi. Çökelek süzüldü, soğuk etil alkol ile yıkandı. Desikatorde kurutuldu ve etil alkol ile kristallendirildi. Elde edilen kristaller (4.36 g, % 74.60 verim) etil alkolden iki kez daha kristallendirdi ve vakumda altında kurutulduktan sonra **77e** bileşiği olarak adlandırıldı. E.n: 113 °C. IR: 1740, 1706 (C=O), 1595 (C=N), 1247 (COO), 868 (1,4-disubstitue aromatik halka), 747 ve 713 (monosubstitue aromatik halka) cm⁻¹. ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 1.05-1.07 (m) ve 1.15 (d) (6H, 2CH₃), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 4.07 (s, 2H, CH₂Ph), 4.62 (s, 2H, NCH₂N), 2.02-2.07, 2.28-2.32, 2.60-2.64, 2.80-2.83, 3.54-3.58 (m,6H), 6.90 (d, 2H, ArH; *J*=8.80 Hz), 7.30 (d, 2H, ArH; *J*=8.40 Hz), 7.42 (d, 1H, ArH; *J*=8.00 Hz), 7.49-7.51 (m, 1H, ArH), 7.61-7.67 (m, 3H, ArH), 7.78-7.79 (m, 1H, ArH), 8.15-8.17 (m, 2H, ArH), 9.71 (s, 1H, N=CH). ¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ 17.89 ve 18.93 (2CH₃), 30.16 (CH₂Ph), 56.03 (OCH₃), 65.76 (NCH₂N), 71.02 (2CH), 110.95; 113.96 (2CH), 121.19; 123.65; 127.49; 128.43; 129.04(2CH); 129.73 (2CH); 129.86 (2CH); 132.49; 134.48; 141.95; 150.27; 158.16 (ArC), 145.22 (Triazol C₃), 151.37 (Triazol C₅), 153.02 (N=CH), 163.79 (COO).

IR	:	Ek Şekil 31
¹ H-NMR (DMSO-d ₆)	:	Ek Şekil 32
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆)	:	Ek Şekil 33

2.1.12. 4-[1-(2,6-dimetilmorfolin-4-il-metil)-3-(*p*-klorobenzil)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin]-2-metoksifenil benzoat (77f):



100 mL'lik Yuvarlak dipli balonda 4-(3-(*p*-klorobenzil)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il-azometin)-2-metoksifenil benzoat (125) (4.805 g, 10 mmol) 40 mL etil alkolde çözüldü. Bu çözeltiye 2,6-dimetilmorfolin (1.15 g, 10 mmol) ve formaldehid (%37) çözeltisi (1.62 g, 20 mmol) ilave edilerek 2 saat geri soğutucu altında reflux edildi. Sıcaklık oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi ve -18 °C'de bir gece bekletildi. Çökelek süzüldü, soğuk etil alkol ile yıkandı. Desikatorde kurutuldu ve etil alkol ile kristallendirildi. Elde edilen kristaller (4.25 g, % 72.13 verim) etil alkolden iki kez daha kristallendirdi ve vakumda altında kurutulduktan sonra **77f** bileşiği olarak adlandırıldı. E.n: 127 °C. IR: 1740, 1705 (C=O), 1596 (C=N), 1252 (COO), 868 (1,4-disubstitue aromatik halka), 746 ve 711 (monosubstitue aromatik halka) cm⁻¹. ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 1.05-1.14 (m, 6H, 2CH₃), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 4.17 (s, 2H, CH₂Ph), 4.62 (s, 2H, NCH₂N), 2.02-2.07, 2.28-2.32, 2.62-2.66, 2.80-2.85, 3.54-3.57 (m,6H), 7.40-7.42 (m, 5H, ArH), 7.48-7.50 (m, 1H, ArH), 7.58 (m, 1H, ArH), 7.63-7.67 (m, 2H, ArH), 7.78-7.79 (m, 1H, ArH), 8.14-8.17 (m, 2H, ArH), 9.72 (s, 1H, N=CH). ¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ 17.88 ve 18.93 (2CH₃), 30.34 (CH₂Ph), 55.05 ve 55.65 (2CH₂), 56.03 (OCH₃), 65.81 (NCH₂N), 71.02 (2CH), 110.95; 121.22; 123.65; 128.44; 129.04(2CH); 129.86 (2CH); 130.59 (2CH); 130.76 (2CH), 131.51; 132.41; 134.18; 134.77; 141.98; 150.26 (ArC), 144.61 (Triazol C₃), 151.37 (Triazol C₅), 153.16 (N=CH), 163.77 (COO).

IR	:	Ek Şekil 34
¹ H-NMR (DMSO-d ₆)	:	Ek Şekil 35
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆)	:	Ek Şekil 36

2.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Kullanılan tüm test mikroorganizmalar *Bacillus Subtilis* (ATCC11774) (Gram (+) sporlu bakteri), *Bacillus Cereus* (ATCC11778) (Gram (+) sporlu bakteri), *Staphylococcus aureus* (ATCC6538) (Gram (+) kok), *Escherichia coli* (ATCC25922) (Gram (-) enterik bakteri), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853) (Gram (-)), *Klebsiella pneumonia* (ATCC4352) (Gram (-) kapsüllü bakteri) Mikrobiyolojik Çevre Koruma Laboratuvarları Şirketinden (Fransa) temin edilmiştir. Sentezlenen tüm bileşikler, stok çözeltilerinin hazırlanması için dimetilsulfoksitte çözülmüştür.

2.2.1. Kullanılan Mikroorganizmalar

2.2.1.1. *Escherichia Coli*

Genelde koli basili olarak bilinen *Escherichia coli*, memeli hayvanların kalın bağırsağında yaşayan bakteri türlerinden biridir. Normalde bağırsakta yaşadığı için, *E. coli* 'nin çevresel sularda varlığı dışkı kirlenmesinin bir belirtisidir. *E. coli*, pediyatrist ve bakteriyolog olan Theodor Escherich tarafından bebek dışkılarında keşfedilmiştir [153]. *Escherichia* cinsi içinde en önemli tür *Escherichia coli*'dir. *Escherichia coli* bakterisinin boyu eninden daha uzundur. 2-6 µm boyunda ve 1-1,5 µm eninde düz bakterilerdir. Gram negatif, bazen hareketli, fakültatif anaerop, 1-2 mm çapında S tipi koloniler yapan bakterilerdir. Özellikle 44 °C de üremesi diğer bakterilerden ayrılmasını sağlar. Memelilerde ve kuşlarda barsak floralarında bulunur. Barsaktaki diğer bakterilerle dengeli olarak bulunur; barsaktaki beslenme ve kokuşma gibi işlemlerde yardımcı olur. Fakat canlılığın bağışıklık sistemi zayıfladığı zaman kana ve dokulara yayılarak hastalık etkeni oluşturur [154].

2.2.1.2. *Bacillus Cereus*

Bacillus cereus Gram-pozitif, fakültatif aerobik, spor oluşturan bir bakteridir. Hücreleri büyük çubuk halindedir ve sporları spor kesesini şişirmez. Bu ve diğer özelliklerinin yanında biyokimyasal özellikler de *B. cereus* varlığını ayırt etmek ve doğrulamak

amacıyla kullanılmaktadır. İki farklı metabolitin neden olduğu iki tip hastalığın olmasına rağmen, *B. cereus* gıda zehirlenmesi genel tanımıdır. İshal tipi hastalığa, yüksek molekül ağırlıklı proteinler sebep olurken, kusma (emetik) tipi hastalığa düşük molekül ağırlıklı, ısıya dayanıklı peptitlerin neden olduğu bilinmektedir. Et, süt, sebze ve balık gibi gıdalar ishal tipi gıda zehirlenmesiyle alakalıdır. Kusma tipi salgınlar, genellikle pirinç ürünleri ile alakalıdır. Patates, makarna ve peynir ürünleri gibi bulaşmış nişastalı gıdalar da bu tip salgınlarla alakalıdır [155].

2.2.1.3. *Bacillus Subtilis*

Bacillus subtilis; oksijenli solunum veya geçici oksijenli solunum yapan, 20-30 derecede üreyen bir bakteri cinsidir. Vejetatif şekilleri dayanıksız olup, sporları bazen kaynama derecelerinde birkaç saat dayanabilirler. Gram pozitifdir. Doğada çok yaygın olarak bulunur. Panoftalmi ve İridosiklit gibi göz enfeksiyonlarına neden olur. Toz, toprak, su gibi temel alanlarda yerleştiklerinden besin maddelerine kolaylıkla bulaşır. Ekmeğin iç kısmı pişerken 100 °C derece olur. Bu sıcaklıkta ölmezse bu bakteri, ekmekteki karbonhidratı kullanarak ekmeğin içinde lifli bir yapı oluştururlar. Özellikle sütte çoğaldıkları zaman kazeini parçalayarak zehirli maddeler açığa çıkarırlar. Diğer besin maddelerinde üredikleri zaman toksin oluştururlar [153].

2.2.1.4. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcaceae familyasından bakteri türüdür. Gram pozitiflerdendir. Yaklaşık 20 türü bulunur. Hastahane infeksiyonu etkenidir. İnsan cilt florasında kommensal olarak da bulunur. *Staphylococcus aureus*'un oksasilin'e dirençli olup olmaması onun tanımlanmasında etkilidir. Koyun kanlı agarda altın sarısı koloniler üretir. Bu yüzden tür adı, altın anlamına gelen Latince *aureus*'dan türetilmiştir. Bu bakterinin katalaz testi olumludur [150]. Çeşitli yüzeylerde glikokaliks denen oluşumlar üretir. Bağışıklık sistemi zayıflamış kişilerde, asıl enfeksiyon etkeniyle beraber görülmesi, iyileşmeyi geciktirir. Dış ortamda yaygın olarak bulunmaktadır. Eşyaların üzerinde, deride, burun

mukozaında, tozda ve toprak gibi yerlerde rastlanmaktadır. Ortam şartlarına iyi uyum sağladıkları için yaygın olarak görülmektedir. İnsanlarda çeşitli enfeksiyonlara neden olabilirler [156].

2.2.1.5. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa sporsuz, polar flagellalı, hareketli, Gram negatif, genellikle kapsülsüz mikroorganizmadır. Kültürlerde bazen ikişerli, ancak çoğunlukla tek tek görülen ince düz, çomaklardır. *P. aeruginosa* genel besiyerlerinde kolaylıkla ürer. *Pseudomonadaceae* familyasının en çok hastalık yapan türüdür. İlk defa 1960'lı yıllarda insan patojeni olarak kabul edilmiştir. Çünkü, kistik fibrözislü ve immün sistemi baskılanmış hastaların vücudunda enfeksiyona neden olmuştur. Hayvanlarda mastitis, artiritis, enteritis, pneumonia, peritonitis ve ürogenital sistem enfeksiyonlarına neden olur. Günümüzde üriner sistem, akciğer, kan kaynaklı bakteriyel enfeksiyonların önemli sebeplerinden biri olarak kabul edilmektedir [157].

2.2.1.6. *Klebsiella Pneumonia*

Klebsiella pneumoniae Gram negatif, kendiliğinden hareketi olmayan, kapsül içerisinde, fermantasyon yapabilen bir bakteri türüdür. Normal flora olarak, ağız, deri ve bağırsakta olmasına rağmen, aspire edilmesi durumunda, akciğerde yıkıcı hasarlara neden olmaktadır [158] Klinik olarak incelendiğinde *Klebsiella* sınıfının *Enterobacteriaceae* şubesinin bir üyesidir. Son yıllarda *K. Pneumoniae* nazokomiyal enfeksiyonlarda önemli bir patojen olmuştur. *K. Pneumonia* normal olarak toprakta bulunur ve soylarının 30%'u azot fiksasyonu ile aneorob olarak yaşamlarını sürdürürler [159].

2.2.2. Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu

76 ve 77 Tipi bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerinin ölçülmesinde agar kuyucuk difüzyon metodu kullanılmıştır [160, 161]. Test edilecek bakterilerin bir gecelik kültürlerinden Mueller Hinton sıvı besiyeri içinde, yaklaşık olarak 10^6 cfu/ml şeklinde dilüsyonları ayarlanarak, önceden hazırlanmış Muller Hinton 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 inhibisyon zonları ölçülmüştür. Standart kontrol ilaç olarak bakteriler için ampicillin (10 µg), mayalar için Streptomisin ve Fluconazole (5 µg) ve standart çözücü kontrolü için DMSO kullanılmıştır.

2.3. Yeni Maddelerin Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi

2.3.1. İndirgeme Gücü

İndirgeme gücü Oyaizu metoduna göre yapılmıştır [99]. Bu metodun prensibi antioksidan bileşiklerin $K_3Fe(CN)_6$, TCA ve $FeCl_3$ ile oluşturduğu renkli komplekslerin UV spektrofotometresinde 700 nm'de ölçümüne dayanmaktadır. Reaksiyon karışımının absorbansındaki artış numunenin indirgeme gücü ile doğru orantılıdır. Kullanılan reaktifler şunlardır: Fosfat tamponu (0.2 M, pH = 6.6); $K_3Fe(CN)_6$ (%1); TCA çözeltisi (%10); $FeCl_3$ (% 0.1); α - tokoferol (1mg/mL); BHT (1mg/mL); BHA (1mg/mL). Pipetlemeler Tablo 2.1'e göre yapılmıştır.

Tablo 2.1. İndirgeme Gücü Tayininde İlave Edilen 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	-

Deney tüpleri karıştırıldı ve 20 dakika 50 °C’de inkübasyona için bekletildi. İnkübasyondan sonra oda sıcaklığında deney tüpünlerine 2.5 mL % 10’luk TCA çözeltisi eklendi ve 10 dakika 3000 rpm’de santrifüjlendi. 2.5 mL Supernatant kısmından alınarak farklı deney tüplerine aktarılıp ve 2.5 mL su, ardından 0.5 mL FeCl₃ çözeltisinden ilave edildi. Kör çözelti ise 2.5 mL deiyonize su, 0.5 mL FeCl₃ ve 2.5 mL TCA çözeltisinden oluşmuştur. Elde edilen çözeltinin absorbansı UV spektrofotometresinde 700 nm’de ölçülmüştür.

2.3.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

Bileşiklerin serbest radikal giderme aktivitesi tayini 1,1-difenil-2-pikril-hidrazilin (DPPH) kullanıldığı Blois metoduna göre yapılmıştır [95]. Metodun prensibi serbest radikal toplayıcılarının renkli serbest radikal olan DPPH’ı indirgemesine dayanır. DPPH’kırmızı renkli kararlı bir serbest radikaldir. Serbest radikaller antioksidan bileşikler tarafından giderildiğinde renk kırmızıdan sarıya döner. Reaksiyon karışımının 517 nm’deki absorbansındaki düşüş serbest radikal giderme aktivitesi ile doğru orantılıdır. Kullanılan reaktifler şunlardır: 0.1 mM DPPH’(etanolda hazırlanmıştır); α-tokoferol (1mg/mL); BHT (1mg/mL); BHA (1mg/mL). Pipetlemeler Tablo 2.2’e göre yapılmıştır.

Tablo 2.2. Serbest Radikal Giderme Tayininde İlave Edilen 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

Çözeltiler karıştırılıp 30 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Absorbansları UV spektrofotometresinde 517 nm’de ölçülmüştür. Reaksiyon ortamındaki DPPH radikalini giderme aktivitesi için hesaplamalar aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır: % Serbest Radikal Giderme Aktivitesi = $(A_0 - A_1/A_0) \times 100$

A₀: Kontrol reaksiyonunun absorbansı, A₁: Numune veya standardın absorbansı

2.3.3. Metal Şelat Aktivitesi

Metal şelat aktivitesi tayini Dinis metoduna göre yapılmıştır [98]. Metal şelat aktivitesi tayininin prensibi, ferrozin-Fe⁺² kompleks oluşumunun inhibisyonuna dayanmaktadır. Kullanılan reaktifler şunlardır: 2 mM FeCl₂.4H₂O; 5 mM ferrozin; α-tokoferol (1mg/mL); EDTA (1mg/mL). Pipetlemeler Tablo 2.2’e göre yapılmıştır.

Tablo 2.3. Metal Şelat Aktivitesi Tayininde İlave Edilen Reaktif Miktarları

Reaktifler	S ₁	S ₂	S ₃	N ₁	N ₂	N ₃	Kör	Kontrol
Bileşik	-	-	-	30 µL	60 µL	90 µL	-	-
Standart	30 µL	60 µL	90 µL	-	-	-	-	-
Etanol	3.75 mL	3.75 mL	3.75 mL	3.75 mL	3.75 mL	3.75 mL	3.75 mL	3.75 mL
FeCl ₂ .4H ₂ O	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

Numuneler ve standartların konsantrasyonları 30, 60 ve 120 µg/mL olacak şekilde ve saf su ilave edilerek toplam hacimleri 200 µL olacak şekilde seyreltilmiştir. Sonra sırasıyla FeCl₂.4H₂O, etil alkol ve ferrozin ilave edilerek karıştırılmış ve oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiştir. UV spektrofotometresinde 562 nm’de elde edilen çözeltiler köre (ferrozin dışındakiler) karşı ölçülmüştür.

Ferrozin -Fe⁺²kompleks oluşumunun inhibisyon yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır: Şelat yüzdesi = $(A_0 - A_1/A_0) \times 100$

A₀: Kontrol reaksiyonunun absorbanası, A₁: Numune veya standardın absorbanası



3. BULGULAR

Bu tez kapsamında 12 yeni bileşiğin yapıları IR, $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ spektroskopik değerleri sayesinde karakterize edilmiştir. Sentezlenen tüm yeni heterosiklik Mannich Bazlarının antimikrobiyal aktiviteleri Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi ile incelenmiş olup, elde edilen bulgular 3.1’de verilmiştir. Çalışmada tez kapsamında sentezlenen 12 yeni bileşiğin indirgeme gücü, serbest radikal giderme aktivitesi ve metal şelat aktivitesi metotları gibi *in-vitro* antioksidan aktiviteleri incelenmiş ve bulgular Tablo 3.2-4’de verilmiştir.

3.1. Sentezlenen Bileşiklerin IR, $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrum Verileri

Çalışmada sentezlenen bileşiklerin IR spektrumları alınmış ve spektrumlarda ortaya çıkan karakteristik pikler değerlendirilerek yeni bileşiklerin yapı aydınlatılmasında kullanılmıştır.

Tez kapsamında elde edilen bileşiklerin NMR spektrumları DMSO- d_6 ’da alınmış ve spektrumlarda görülen piklerin kimyasal kayma verileri değerlendirilerek bileşiklerin yapılarının karakterize edilmesinde kullanılmıştır. $^1\text{H-NMR}$ spektrumları incelendiğinde δ 2.50-2.60 ppm civarında DMSO- d_6 ’nın yapısında bulunan metil protonlarına ait pikler gözlenmiştir. Bu pikler değerleri literatürle uyumludur. İlâveten elde edilen spektrumlarda δ 3.50 ppm civarında kullanılan DMSO- d_6 ’nın içerdiği sudan ileri gelen karakteristik H_2O pikleri ortaya çıkmıştır. Spektrumların alınmasında standart olarak sıfırı belirlemek amacıyla tetrametilsilan (TMS) kullanılmıştır.

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumlarında DMSO- d_6 ’dan ileri gelen karakteristik karbon pikleri δ 40 ppm civarında gözlenmiştir.

3.2. Antimikrobiyal İncelemeleri

Çalışma kapsamında altı farklı mikroorganizma ile sentezlenen 12 yeni bileşiğin antimikrobiyal testleri yapılmış ve antimikrobiyal aktiviteleri aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 3.1. 76 ve 77 Tipi Bileşiklerin Bakterilere Karşın ZON Çap Değerleri

Petri kabı kodu	Bileşik kodu	ZON çap değerleri (mm)					
		Bacillus Subtilis (a)	Bacillus Cereus (b)	Pseudomonas aeruginosa (c)	Klepsiella pnemonias (d)	Staphlacoccus aureus (e)	Esherichia Coli (f)
1	76a	14	19	-	-	-	-
3	76b	16	17	-	-	-	-
2	76c	12	21	-	-	-	-
4	76d	15	18	-	-	-	-
6	76e	11	17	-	-	-	-
5	76f	12	19	-	-	-	-
7	77a	18	21	-	-	-	-
9	77b	21	23	-	-	-	-
8	77c	22	20	-	-	-	-
10	77d	18	16	-	-	-	-
12	77e	19	17	-	-	-	-
11	77f	21	20	-	-	-	-
A	Ampicillin X3261	33	36	36	35	37	34
N	Neomycin X3385	17	17	17	16	13	16
S	Streptomycin X3385	12	12	12	11	21	10

3.3. Antioksidan İncelemeleri

3.3.1. İndirgeme Gücü

Sentezlenen bileşiklerin indirgeme gücü analizi farklı konsantrasyonlarda yapılmış, UV spektrofotometrede 700 nm'de elde edilen absorbans değerleri Tablo 1.'de verilmiştir. Kontrol çözeltisinin absorbansı 0.187 µg/mL'dir.

Tablo 3.2. 76 ve 77 Tipi Bileşiklerin İndirgeme Gücü

Bileşikler	İndirgeme Gücü ($\mu\text{g/mL}$, 700 nm)		
	50	100	150
76a	0,188	0,191	0,194
76b	0,192	0,196	0,197
76c	0,205	0,196	0,195
76d	0,195	0,196	0,189
76e	0,209	0,192	0,191
76f	0,191	0,193	0,194
77a	0,192	0,197	0,197
77b	0,207	0,204	0,201
77c	0,201	0,199	0,187
77d	0,211	0,205	0,194
77e	0,221	0,219	0,204
77f	0,208	0,203	0,200
BHT	0,604	1,122	1,541
BHA	0,920	1,722	2,640
α -Tokoferol	0,537	1,015	1,760

3.3.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

Sentezlenen bileşiklerin serbest radikal giderme aktivite analizleri farklı konsantrasyonlarda yapılmış, 517 nm’de UV spektrofotometresinde elde edilen absorbans değerleri ve bu değerlere karşılık gelen % Serbest Radikal Giderme Aktiviteleri Tablo 3.3’de verilmiştir. Kontrol çözeltisinin absorbansı 0.214’tür.

Tablo 3.3. 76 ve 77 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
76a	0,230	NEGATİF	0,236	NEGATİF	0,238	NEGATİF
76b	0,221	NEGATİF	0,225	NEGATİF	0,225	NEGATİF
76c	0,219	NEGATİF	0,224	NEGATİF	0,226	NEGATİF
76d	0,220	NEGATİF	0,218	NEGATİF	0,217	NEGATİF
76e	0,218	NEGATİF	0,224	NEGATİF	0,223	NEGATİF
76f	0,221	NEGATİF	0,218	NEGATİF	0,215	NEGATİF
77a	0,213	0,5	0,216	NEGATİF	0,216	NEGATİF
77b	0,216	NEGATİF	0,218	NEGATİF	0,219	NEGATİF
77c	0,215	NEGATİF	0,215	NEGATİF	0,228	NEGATİF
77d	0,213	0,5	0,221	NEGATİF	0,223	NEGATİF
77e	0,223	NEGATİF	0,226	NEGATİF	0,226	NEGATİF
77f	0,218	NEGATİF	0,221	NEGATİF	0,225	NEGATİF
BHT	0,157	26,6	0,116	45,8	0,099	53,7
BHA	0,064	70,1	0,062	71,0	0,060	72,0
α -Tokoferol	0,063	70,6	0,062	71,0	0,057	73,4

3.3.3. Metal Şelat Aktivitesi

Sentezlenen bileşiklerin metal şelat aktivite analizleri farklı konsantrasyonlarda yapılmış, UV 562 nm’de spektrofotometresinde elde edilen absorbans değerleri ve buna karşılık gelen % Metal Şelat Aktiviteleri Tablo 3.42’te verilmiştir. Kontrol çözeltisinin absorbansı 0.254’tür.

Tablo 3.4. 76 ve 77 Tipi Bileşiklerin Absorbans Değerleri ve Karşın Olan % Metal Şelat Aktiviteleri

Bileşikler	Absorbans ve % Metal Şelat Aktivitesi ($\mu\text{g/mL}$, %inh, 562 nm)					
	15		30		60	
	A	% Aktivite	A	% Aktivite	A	% Aktivite
76a	0,045	82,3	0,044	82,7	0,043	83,1
76b	0,044	82,7	0,044	82,7	0,043	83,1
76c	0,046	81,9	0,045	82,3	0,044	82,7
76d	0,044	82,7	0,043	83,1	0,042	83,5
76e	0,046	81,9	0,044	82,7	0,043	83,1
76f	0,044	82,7	0,043	83,1	0,042	83,5
77a	0,047	81,5	0,044	82,7	0,042	83,5
77b	0,046	81,9	0,045	82,3	0,044	82,7
77c	0,046	81,9	0,046	81,9	0,045	82,3
77d	0,053	79,1	0,046	81,9	0,046	81,9
77e	0,045	82,3	0,045	82,3	0,044	82,7
77f	0,048	81,1	0,048	81,1	0,045	82,3
α -Tokoferol	0,034	86,6	0,034	86,6	0,032	87,4
EDTA	0,092	63,8	0,081	68,1	0,077	69,7

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Sentezlenen Bileşiklere Ait Spektrum Verilerinin Yorumlanması

Yapılan Yüksek Lisans tez çalışması kapsamında elde edilen bileşiklerin yapıları IR, $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ spektrum verileri kullanılarak bulgular elde edilmiş ve elde edilen bu veriler literatür verileri ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Çalışmada sentezlenen yeni 76 ve 77 tipi bileşiklerin IR spektrum değerleri verilmiş olup, IR spektrumları incelenen 76 tipi bileşiklerin 1743-1735 ve 1705-1692 cm^{-1} aralıklarında karbonil grubuna ait iki adet pik görülmüştür. Bundan başka, 1598-1579 cm^{-1} aralıklarında C=N gerilme titreşimleri, 1262-1250 cm^{-1} aralıklarında COO gerilme titreşimleri ve 778-774 ve 714-702 cm^{-1} aralıklarında monosubstitue aromatik halka titreşimleri ortaya çıkmıştır. 77 Tipi bileşiklerin IR spektrumlarında ise 1741-1739 ve 1706-1695 cm^{-1} aralıklarında iki adet C=O piki görülmüştür. Ayrıca 1597-1579 cm^{-1} aralıklarında C=N gerilme titreşimleri, 1254-1247 cm^{-1} aralıklarında COO gerilme titreşimleri ve 753-746 ve 713-705 cm^{-1} aralıklarında monosubstitue aromatik halka titreşimleri görülmüştür.

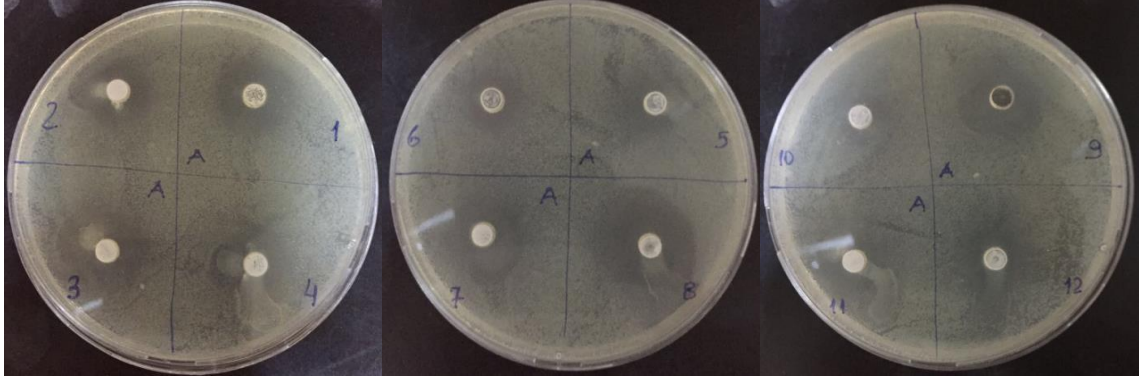
76 tipi bileşiklerin $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarında incelendiğinde δ 9.75-9.70 ppm aralığında N=CH protonları, δ 4.62-4.57 ppm aralığında N-CH₂-N protonları, δ 3.87-3.86 ppm aralığında OCH₃ protonları, δ 3.60-3.59 ppm aralığında CH₂-O-CH₂ protonları ve δ 2.63-2.61 ppm aralığında CH₂-N-CH₂ protonları ortaya çıkmıştır. Ayrıca, 76a bileşiğinde δ 2.37 ppm'de CH₃ protonları; 76b bileşiğinde δ 1.27 ppm'de CH₂CH₃; δ 2.78 ppm'de CH₂CH₃ protonları; 76c bileşiğinde δ 4.15 ppm'de benzilik CH₂ protonları; 76d bileşiğinde δ 4.09 ppm'de benzilik CH₂ ve 2.27 ppm'de *p*-PhCH₃ protonları, 76e bileşiğinde δ 4.07 ppm'de benzilik CH₂ ve 3.73 ppm'de *p*-PhOCH₃ protonları ve 76f bileşiğinde δ 4.17 ppm'de benzilik CH₂ protonları gözlemlenmiştir. $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarında 77 tipi bileşikleri incelendiğinde δ 9.75-9.70 ppm aralığında N=CH protonları, δ 4.60-4.57 ppm aralığında N-CH₂-N protonları, δ 3.87-3.86 ppm aralığında OCH₃ protonları, δ 3.56-3.50 ppm aralığında O-CH₃ protonları, δ 2.85-2.60 ve 2.32-2.02 ppm aralığında N-CH₂ protonları, δ 1.15-1.05 ppm aralıklarında CH-CH₃

protonları ortaya çıkmıştır. Bunlardan başka, 77a bileşiğinde δ 2.37 ppm'de CH_3 protonları; 77b bileşiğinde δ 1.26 ppm'de CH_2CH_3 ; δ 2.79 ppm'de CH_2CH_3 protonları; 77c bileşiğinde δ 4.15 ppm'de benzilik CH_2 protonları; 77d bileşiğinde δ 4.09 ppm'de benzilik CH_2 ve 2.27 ppm'de *p*- PhCH_3 protonları, 77e bileşiğinde δ 4.07 ppm'de benzilik CH_2 ve 3.72 ppm'de *p*- PhOCH_3 protonları ve 77f bileşiğinde δ 4.17 ppm'de benzilik CH_2 protonları görülmüştür.

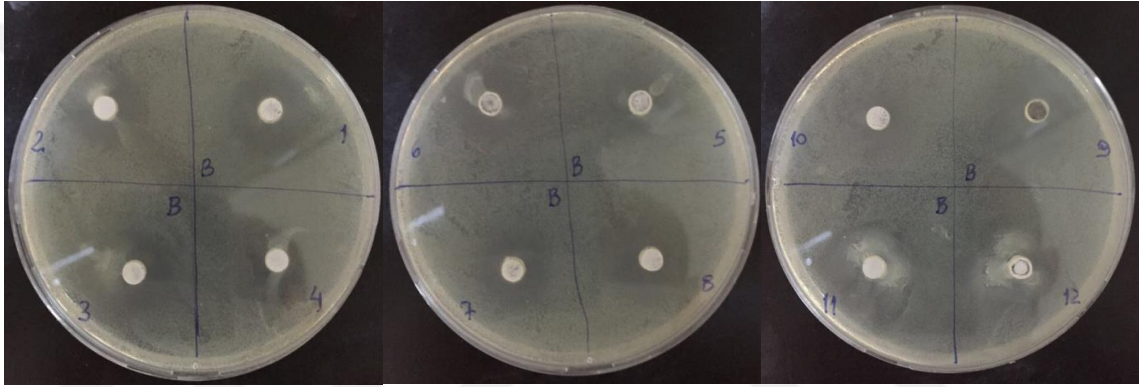
76 tipi bileşiklerin ^{13}C -NMR spektrumları incelendiğinde; δ 163.79-163.77 ppm aralığında COO, δ 153.73-150.01 ppm aralığında N=CH, δ 151.40-150.26 ppm aralığında triazol C-5, δ 146.87-143.14 ppm aralığında triazol C-3, δ 66.05-66.04 ppm aralığında $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2$, δ 66.05-65.94 ppm aralıklarında N- $\text{CH}_2\text{-N}$, δ 56.05-56.03 ppm aralıklarında OCH_3 ve δ 50.01-49.98 ppm aralığında $\text{CH}_2\text{-N-CH}_2$ karbonları gözlemlenmiştir. 77 tipi bileşiklerde ise δ 163.79-163.77 ppm aralığında COO, δ 153.64-152.95 ppm aralığında N=CH, δ 151.39-151.36 ppm aralığında triazol C-5, δ 146.92-144.61 ppm aralığında triazol C-3, δ 71.04-71.02 ppm aralıklarında CH-O, δ 66.29-65.78 ppm aralığında N- CH_2 , δ 56.05-56.01 ppm aralığında O- CH_3 , 18.93-17.89 ppm aralıklarında CHCH_3 karbonları gözlemlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapısında bulunan triazole C-3'e karbonuna bağlı bulunan aromatik karbon verileri altları çizilerek materyal metod bölümünde verilmiş olup literatürdeki değerlerle uyumlu olduğu görülmüştür.

4.2. Antimikrobiyal Etkinlik Sonuçlarının Değerlendirilmesi

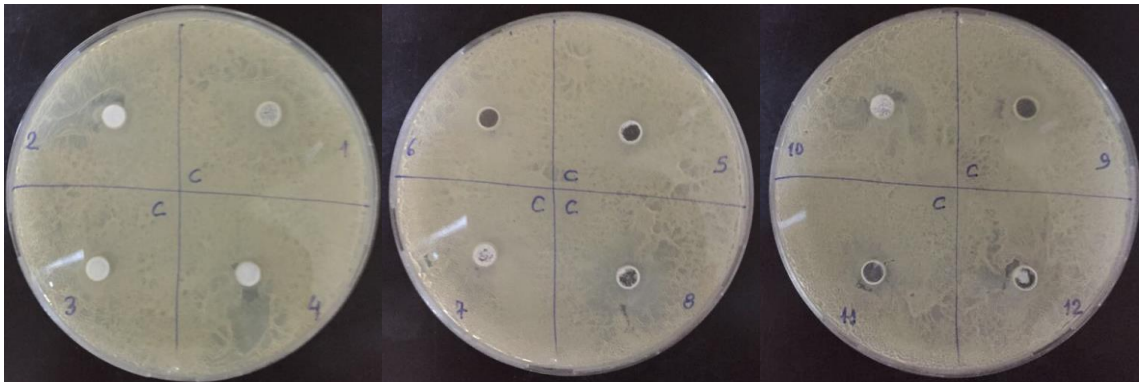
Tez kapsamında yer alan 12 adet yeni Schiff baz-Mannich bazı bileşiğin antimikrobiyal özellikleri ağız kuyucuk metodu ile araştırıldı, Sentezlenen yeni bileşikler *Bacillus Substilis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı olan etkinlikleri test edilmiştir.



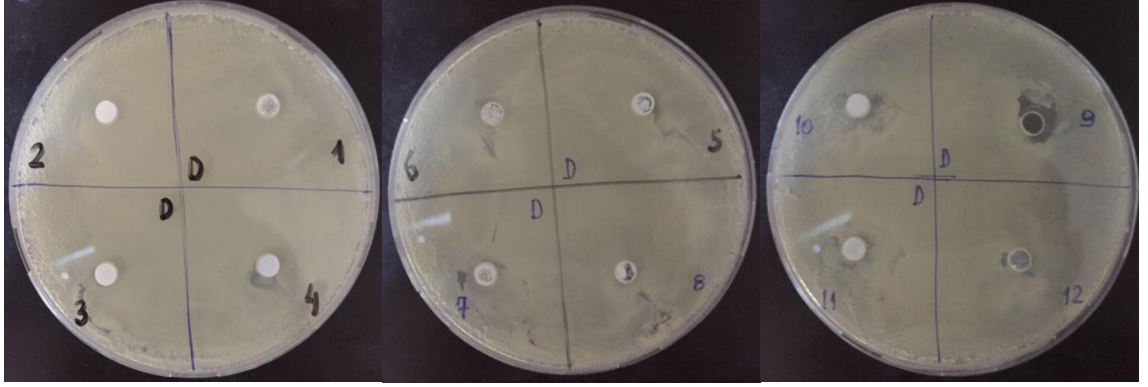
Şekil 4.1. 76 ve 77 Tipi bileşiklerin *Bacillus Substilis*'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu ile elde edilen ZON çapları



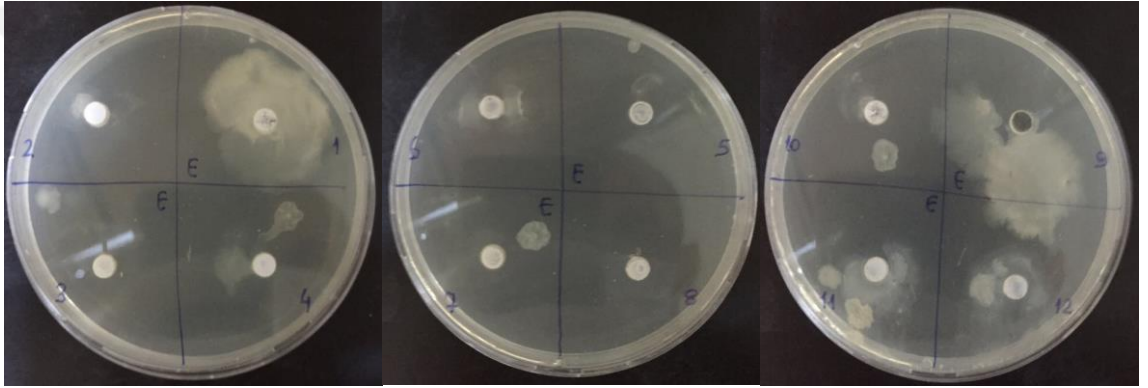
Şekil 4.2. 76 ve 77 Tipi bileşiklerin *Bacillus cereus*'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu ile elde edilen ZON çapları



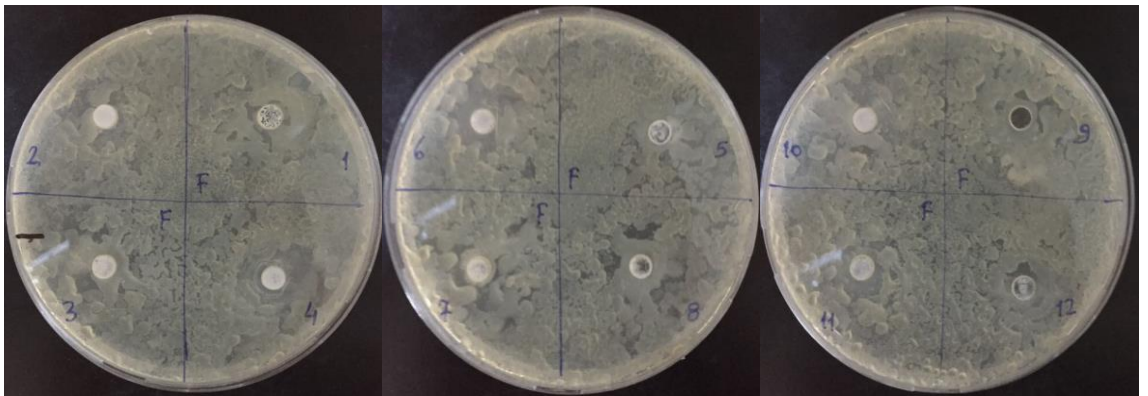
Şekil 4.3. 76 ve 77 Tipi bileşiklerin *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı agar kuyucuk difüzyon metodu ile elde edilen ZON çapları



Şekil 4.4. 76 ve 77 Tipi bileşiklerin *Klebsiella pneumoniae*'ya karşı agar kuyucuk difüzyon metodu ile elde edilen ZON çapları



Şekil 4.5. 76 ve 77 Tipi bileşiklerin *Staphylococcus aureus*'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu ile elde edilen ZON çapları



Şekil 4.6. 76 ve 77 Tipi bileşiklerin *Escherichia coli*'ya karşı agar kuyucuk difüzyon metodu ile elde edilen ZON çapları

Tablo 4.1. 76 ve 77 Tipi Bileşiklerin Bakterilere Karşın Aktiviteleri

Petri kabı kodu	Bileşik kodu	ZON çap değerleri (mm)					
		Bacillus Subtilis (a)	Bacillus Cereus (b)	Pseudomonas aeruginosa (c)	Klebsiella pneumoniae (d)	Staphylococcus aureus (e)	Escherichia Coli (f)
1	76a	+	++	-	-	-	-
3	76b	++	++	-	-	-	-
2	76c	+	+++	-	-	-	-
4	76d	+	++	-	-	-	-
6	76e	+	++	-	-	-	-
5	76f	+	++	-	-	-	-
7	77a	++	+++	-	-	-	-
9	77b	+++	+++	-	-	-	-
8	77c	+++	++	-	-	-	-
10	77d	++	++	-	-	-	-
12	77e	++	++	-	-	-	-
11	77f	+++	++	-	-	-	-
A	Ampicillin X3261	+++	+++	+++	+++	+++	+++
N	Neomycin X3385	++	++	++	++	+	++
S	Streptomycin X3385	+	+	+	+	+++	+

İnhibisyon zonu: (-) 6 mm; (+) 6-15 mm; (++) 15-20 mm; (+++) 20-25 mm [162].

Çalışma kapsamında sentezlenen Schiff-Mannich bazı türevli yeni 76 tipi bileşikler *Bacillus Subtilis* ve *Bacillus Cereus*'a karşı ılımlı aktiviteye sahip olduğu Tablo 4.1'de görülmektedir. Ancak, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'ye karşı herhangi bir aktivite görülmemiştir. *Bacillus Subtilis*'a karşı 76b bileşiği ılımlı aktivite, 76a, 76c-f bileşikleri düşük aktivite, *Bacillus Cereus*'a karşı 76c bileşiği iyi aktivite, 76a, 76b, 76d-f bileşikleri ise ılımlı aktivite göstermişlerdir.

Antimikrobiyal aktivite çalışmasında ayrıca, 77 tipi bileşikler de incelenmiş olup elde edilen sonuçlara göre yapılan değerlendirmeler Tablo 4.1'de verilmiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre sentezlenen yeni 77 tipi bileşikler de *Bacillus Subtilis* ve *Bacillus Cereus*'a karşı çok iyi aktiviteye göstermişlerdir. Yine bu bileşiklerde de, *Pseudomonas*

aeruginosa, *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'ye karşı herhangi bir aktivite görülmemiştir. *Bacillus Substilis*'a karşı 77b, 77c ve 77f bileşikleri iyi aktivite, 77a, 77d ve 77e bileşikleri ılımlı aktivite, *Bacillus Cereus*'a karşı 77a ve 77b bileşikleri iyi aktivite, 76c-f bileşikleri ise ılımlı aktivite göstermişlerdir.

Sonuç olarak, Ampicillin X3261, Neomycin X3385, Steptomycin X3385 gibi referanslarla sentezlenen yeni Schiff-Mannich bazı türevli bileşikleri karşılaştırdığımızda, *Bacillus Substilis* ve *Bacillus Cereus*'a karşı aktivite göstermektedir, Diğer bakteri türlerinde herhangi bir aktivite gözlemlenmemiştir. Sentezlenen yeni bileşiklerden özellikle 76b, 77c ve 77f bileşikleri *Bacillus Substilis*'a karşı, 76c, 77a ve 77b bileşikleri ise *Bacillus Cereus*'a karşı referans olarak kullanılan Neomycin X3385, Steptomycin X3385'den daha iyi aktiviteye sahip olduğu gözlemlenmiştir.

4.2. Antioksidan İncelemesi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

4.2.1. İndirgeme Gücü

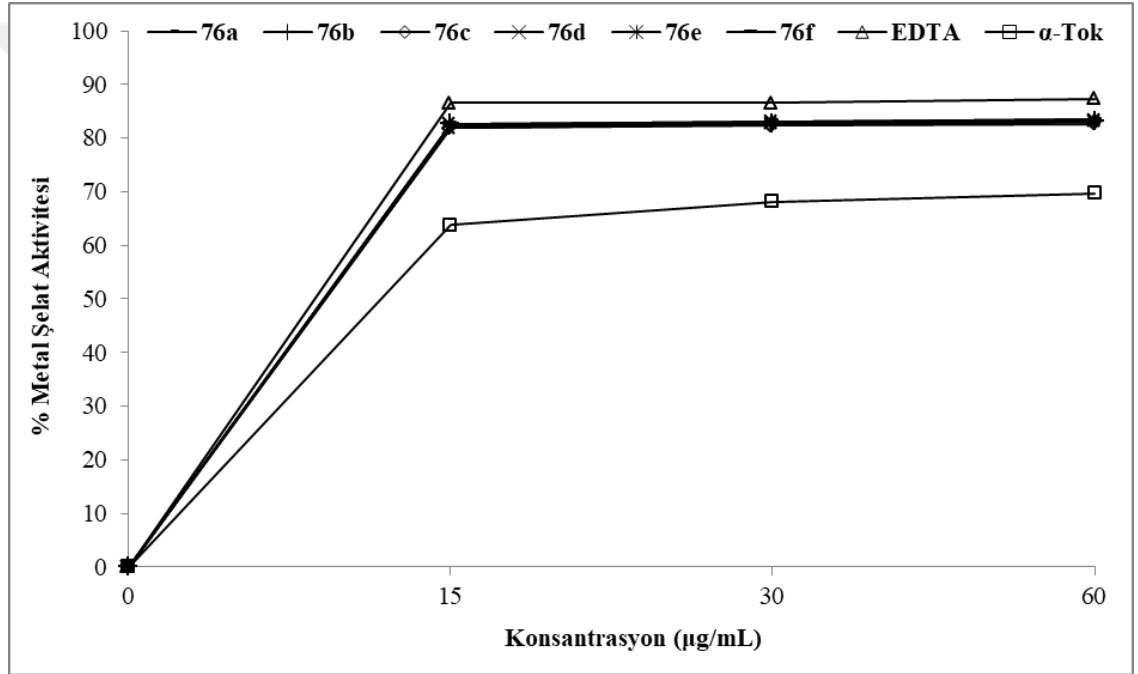
Tez kapsamında elde edilen bileşiklerin indirgeme gücü analiz sonuçları bulgular bölümünde Tablo 3.2'de verilmiştir. Bu sonuçlarına göre, sentezlenen yeni bileşiklerin absorbans değerleri standartlara göre düşük çıkmıştır. Bu sonuçlara göre sentezlenen yeni bileşiklerin indirgeyici aktivitesinin bulunmadığı görülmüştür.

4.2.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

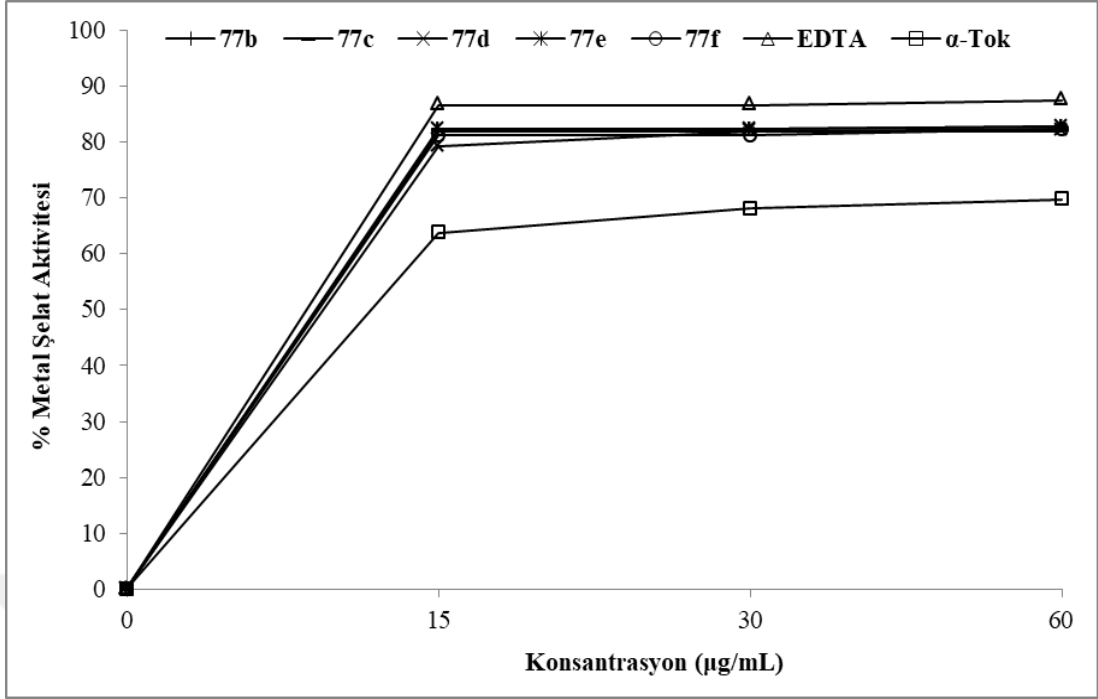
Sentezlenen bileşiklerin serbest radikal giderme aktivite testleri sonucunda ele geçen bulgular Tablo 3'de verilmiştir. 517 nm'de yapılan ölçümlerde görüleceği üzere, sentezlenen bileşikler kontrolden daha yüksek absorbans değerlerine sahiptir. Başka bir deyişle, bileşiklerin radikal giderme özellikleri yoktur.

4.2.3. Metal Şelat Aktivitesi

Sentezlenen yeni Schiff-Mannizh bazı bileşiklerin ve standartların metal şelatlama aktiviteleri % inhibisyon olarak Şekil 4.7 ve 4.8’de gösterilmektedir. Tablo 4.4’te de görüldüğü üzere, antioksidan standartlarla karşılaştırıldığında, sentezi gerçekleştirilen 76 ve 77 tipi bileşiklerin tamamının absorbansları anlamlı olarak konsantrasyonun artmasıyla azalmaktadır. Bu yüzden, metal şelatlama aktiviteleri de artmaktadır. Hatta bu yeni heterosiklik bileşiklerin, EDTA’ya yakın değerde aktivite gösterdikleri görülmektedir.



Şekil 4.7. 76 Tipi Bileşiklerin Konsantrasyona Karşı % Metal Şelat Aktiviteleri



Şekil 4.8. 77 Tipi Bileşiklerin Konsantrasyona Karşı % Metal Şelat Aktiviteleri

6. KAYNAKLAR

- [1] Palacios, F., Alonso, C. and de los Santos, J.M. (2004). Atomic Spectroscopy. *Current Organic Chemistry*, 8, 1481-1487.
- [2] Baylis, E.K., Campbell, C.D. and Dingwall, J.G. (1984). 1-Aminoalkylphosphonous acids. Part 1. Isosteres of the Protein Amino Acids. *Journal Chemistry Society*, 1, 2445-2450.
- [3] Atherton, F.R., Hassal, C.H. and Lambert, R.W. (1987). Synthesis and Structure Activity Relationships of Antibacterial Phosphonopeptides Incorporating (1-aminoethyl)phosphonic Acid and (aminomethyl)phosphonic Acid. *Journal Medical Chemistry*, 30, 1603-1608.
- [4] Allen, M.C., Fuhrer, W., Tuck, B., Wade, R. and Wood, J.M. (1989). Renin Inhibitors. Synthesis of Transition-state Analogue Inhibitors Containing Phosphorus Acid Derivatives at The Scissile Bond. *Journal Medical Chemistry*, 32, 1652-1657
- [5] Hassal, C.H. and Hahn, F.E. (1983). In *Antibiotics*. Springer Verlag, Vol VI, pp. 1-11, Berlin.
- [6] Kukhar, V.P. and Hudson, H.R., (2000). *Aminophosphonic and Aminophosphinic Acids*. Wiley, Chichester.
- [7] Schiff, H., (1864). Synthesis of Schiff Bases. *Annual Chemical Pharmacy Supplements*, 3, 343-370.
- [8] Pfeiffer, C., (1932). Bazı Fenilgliksimlerin Metal Komplekslerinin İncelenmesi. *Annual Chemical*, 492, 81-127.
- [9] Polat, S., (2015). 4-Etil-5-(2-hidroksifenil)-2H-1,2,4-triazol-3(4h)-tiyon'nun Yapısal ve Biyolojik Etkilerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- [10] Padmavathi, V., Thriveni, P., Sudhakar, Reddy, G. and Deepti D., (2008). Synthesis and Antimicrobial Activity of Novel Sulfone-linked Bis-heterocycles. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 43 (5), 917-924.
- [11] Amir, M., Kumar, H. and Javed, S.A., (2008). Condensed Bridgehead Nitrogen Heterocyclic System: Synthesis and Pharmacological Activities of 1,2,4-triazolo-[3,4-b]-1,3,4-thiadiazole Derivatives of Ibuprofen and Biphenyl-4-

- yl oxy Acetic Acid. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 43 (10), 2056–2066.
- [12] Sztanke, K., Tuzimski, T., Rzymowska, J., Pasternak, K. and Kandefer-Szerszen, M., (2008). Synthesis, Determination of the Lipophilicity, Anticancer and Antimicrobial Properties of Some Fused 1,2,4-triazole Derivative. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 43 (2), 404–419.
- [13] Kuş, C., Kılıçgil, G.A., Özbey, S., Kaynak, F.B., Kaya, M., Çoban T. and Eke B.C., (2008). Synthesis and Antioxidant Properties of Novel N-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-amine and 4-methyl-2H-1,2,4-triazole-3(4H)-thione Derivatives of Benzimidazole Class. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16 (8),4294–4303.
- [14] Karthikeyan, M.S., Prasad, D.J., Poojary, B., Bhat, K.S., Holla, B.S. and Kumari N.S., (2006). *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14 (22),7482–7489.
- [15] Satyanarayana, D., Kalluraya, B. and George, N.,(2002). *Journal of Saudi Chemical Society*, 6 (3), 459–464.
- [16] Ying, L., Shun, Y.Z., Hong, Z., Cao, B.J., Wang, F.D., Zhang, Y., Shi, Y.L., Yang, J. and Wu, B.A., (2003). Artemisinin Derivatives Bearing Mannich Base Group: Synthesis and Antimalarial Activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 11(20), 4363–4368.
- [17] Vishnu, R.J., Mishra, L., Pandey, H.N. and Vlietinck, A.J., (1986). *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 23 (5),1367–1369.
- [18] Kalluraya, B., Isloor, A.M., Chimbalkar, R.M. and Shenoy, S., (2001). *Indian Journal Heterocyclic Chemistry*, 10, 239–240.
- [19] Holla, B.S., Veerendra, B., Shivananda, M.K. and Poojary, B., (2003). Synthesis Characterization and Anticancer Activity Studies on Some Mannich Bases Derived from 1,2,4-triazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 38,759–767.
- [20] Kalluraya, B., Vishwanatha, P., Isloor, A.M., Rai, G. and Kotian, M., (2000). *Bolletino Chimico Farmaceutico*, 139,263–266.
- [21] Kalluraya, B., Gunaga, P., Banji, D. and Isloor, A.M., (2001). *Bolletino Chimico Farmaceutico* 140,428–443.
- [22] Kalluraya, B., Vishwanatha, P., Isloor, A.M. and Rai, G., (1999). *Journal of Indian Council of Chemistry*, 16 (2),26–28.

- [23] <http://www.merriam-webstar.com/dictionary/antimicrobial>, (15.02.2017).
- [24] Saran, B. and Karahan, Z.C., (2018-00:14). Antimikrobiyal Ajanlara Genel Bakış. Türkiye Üroloji Sempozyumu, 1, 216-20.
- [25] Yamantürk Çelik, P. and Büget, B., (2007). Geçmişten Günümüze Antibiyotikler: Genel Bir Bakış, İlk ve Son Kuşak Antibiyotikler. ANKEM Dergisi.
- [26] Davidson, P. M. and Harrison, M. A., (2003). Microbial Adaptation to Stresses by Food Preservatives in Microbial Stress Adaptation and Food Safety. Ch 3, Eds. P. Davidson, M. and Harrison M.A., CRC Press.
- [27] Gould, G.W., (1996). Industry Perspectives on the Use of Natural Antimicrobials and Inhibitors for Food Applications. Journal of Food Protection, Supplement, 82-86.
- [28] Lemay, M.J., Choquette, J., Delaquis, P.J., Gariépy, C., Rodrigue, N. and Saucier, L., (2002). Antimicrobial Effect of Natural Preservatives in a Cooked and Acidified Chicken Meat Model. International Journal of Food Microbiology, 78, 217-226.
- [29] Meyer, A.S., Nielsen, S.P., Lyngby and Holm, F., (2002). Natural Food Preservatives in Minimal Processing Technologies in the Food Industry. Ch 6, Eds. Ohlsson, I. & Bengtsson N., CRC Press.
- [30] Beuchat, L.R. and Golden, D. A., (1989). Antimicrobials Occuring Naturally in Foods. Food Technology, 134-142.
- [31] Ayaz, C., (2008). Beta Laktamların Genel Özellikleri ve Penisilinler. 3. Baskı Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Sistemlere Göre Enfeksiyonlar. Ed: Topçu, AW., Söyletir, G., Doğanay, M. Nobel Tıp Kitabevi; 266-78 , İstanbul.
- [32] Akova, M. and Kayaalp, S.O., (2002). Beta Laktam Antibiyotikler I: Penisilinler, 10. Baskı Rasyonel Tedavi önünden Tıbbi Farmakoloji Ed: Kayaalp, S.O., Hacettepe Taş. 210-233, Ankara.
- [33] Khardori, N., (2006). Antibiotics Past, Present and Future. Medical Clinics of North America, 90, 1049-76.
- [34] Öncül, O., (2010). Vankomisin ve Teikoplanin Hikayesi. ANKEM Dergisi,

- 24,101-9.
- [35] Baylan, O., (2010). Fosfomisin: Dünü, Bugünü ve Geleceği. Mikrobiyoloji Bülteni 44, 311-21.
- [36] Popovic, M., Steinort, D., Pillai, S. and Joukhadar, C., (2005). Fosfomycin: an Old, New friend?. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 29, 127-42 .
- [37] Andriole, V. T., (2005). The Quinolones: Past, Present, and Future. Clinical Infectious Diseases, 41,113-9.
- [38] Appelbaum, P. C. and Hunter, P. A., (2000).The Fluoroquinolone Antibacterials: Past, Present and Future Perspectives. International Journal of Antimicrobial Agents, 16, 5-15.
- [39] Van Bambeke, F., Michot, J. M., Van Eldere, J. and Tulkens, P. M., (2010). Quinolones in 2005: an Update. Clinical Microbiology and Infection, 11,256-80 (2005).
- [40] Ulusoy, S., (2010). 1986'dan 2010'a Kinolonlar. ANKEM Dergisi, 24, 96-100.
- [41] Nicolle, L., (2003). Best Pharmacological Practice: Urinary Tract Infections. Expert Opin Pharmacother 4, 693-704.
- [42] Masters, P.A., O'Bryan, T.A., Zurlo, J., Miller, D.Q. and Joshi, N., (2003). Trimethoprim-sulfamethoxazole Revisited. Archives of Internal Medicine 163, 402-10.
- [43] Wisell, K.T., Kahlmeter, G. and Giske, C.G., (2008). Trimethoprim and Enterococci in Urinary Tract Infections: New Perspectives on an Old Issue, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 62, 35-40.
- [44] Aksu, H. and Candevir, A., (2008). Sulfonamidler, Trimetoprim ve Trimetoprim /Sulfametoksazol. 3. Baskı Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Sistemlere Göre Enfeksiyonlar. Ed: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. Nobel Tıp Kitabevi ,368-72 ,İstanbul.
- [45] Kwa, A.L., Tam, V.H. and Falagas, M.E., (2008). Polymyxins: a Review of the Current Status Including Recent Developments. Annual Academia Medicine Singapore 37,870-83.
- [46] Molina, J., Cordero, E. and Pachón, J., (2009). New Information About the Polymyxin/colistin Class of Antibiotics. Expert Opin Pharmacother, 10, 2811-

28.

- [47] <http://www.mikrobiyolbul.com> (06.04.2017).
- [48] [http://www.freehealthchannel.com/antimicrobial drugs: their classification and resistance development](http://www.freehealthchannel.com/antimicrobial%20drugs%3A%20their%20classification%20and%20resistance%20development) (22.10.2017).
- [49] [http://www.akhisardh.gov.tr/akilci-antibiyotik-kullanim-prensip-leri-ve antibiyotikler /](http://www.akhisardh.gov.tr/akilci-antibiyotik-kullanim-prensip-leri-ve-antibiyotikler/) (03.11.2017).
- [50] Akalın, H. E., (1995). Antimikrobiyal Direnç: Bugünü ve Yarını. *Ankem Derg.* , 9 (3), 205-208.
- [51] Tassaou, C. C., Nycas, J. E. and Scandamis, P. N.,(2004). Herbs and Spices, in *Handbook of Herbs and Spices*, ch 3, Eds. Peter K. V., Woodhead Publishing Ltd., England.
- [52] Marwan, A. G. and Nagel, C. W., (1986). Quantitative Determination of Infinite Inhibition Concentration of Antimicrobial Agents. *Applied and Environmental Microbiology*, 51 (3), 559-561.
- [53] Mayers, D. L., S. A., Ouelette, M., et al., (2009). *Antimicrobial Drug Resistance C: Clinical and Epidemiological Aspects*, vol. 2, Springer Dordrecht Heidelberg, 681–1347 pp, London.
- [54] Guschin, A., Ryzhikh, P., Rummyantseva, T., et al., (2015). Treatment Efficacy, Treatment Failures and Selection of Macrolide Resistance in Patients with High Load of *Mycoplasma Genitalium* During Treatment of Male Urethritis with Josamycin. *BMC Infectious Diseases*, 15, 1–7.
- [55] Martin, I., Sawatzky, P., Liu, G., et al., (2015). Antimicrobial Resistance to *Neisseria Gonorrhoeae* in Canada: 2009–2013. *Canada Communicable Disease Report*, 41, 40–41.
- [56] Berdy, J., (2005). Bioactive Microbial Metabolites. *The Journal of Antibiotics*, 58, 1–26.
- [57] Runyoro, D. K., Matee, M.I., Ngassapa, O.D., et al., (2006). Screening of Tanzanian Medicinal Plants for Anti-Candida Activity. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 6 (11).
- [58] Mabona, U., Viljoen, A., Shikanga, E., et al., (2013). Antimicrobial Activity of

Southern African Medicinal Plants with Dermatological Relevance: from an Ethnopharmacological Screening Approach, to Combination Studies and the Isolation of a Bioactive Compound. *Journal of Ethnopharmacology*, 148, 45–55.

- [59] Nazzaro, F., Fratianni, F. and De Martino, L.,(2013). Effect of Essential Oils on Pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals* 6, 1451–1474.
- [60] Heatley, N. G., (1944). A method for the Assay of Penicillin. *Biochemical Journal*, 38, 61-65.
- [61] CLSI, Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. (2012). Approved Standard, 7th ed., CLSI document M02-A11. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, 19087, USA.
- [62] CLSI, Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Guideline. CLSI document M44-A. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, 19087-1898, USA, 2004
- [63] Davidson, P. M. and Parish, M. E., (1989). Methods of Testing the Efficacy of Food Antimicrobials. *Food Technology*, 148-155.
- [64] Şahin, E., (2006). Bitkisel Kaynaklı Antimikrobiyallerin Gıda Kaynaklı Bazı Patojen Mikroorganizmalar Üzerinde Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [65] Kim, H. O., Park, S. W. and Park, H. D.,(2004). Inactivation of *Escherichia coli* 0157:H7 by Cinnamic Aldehyde Purified from *Cinnamomum Cassia* Shoot. *Food Microbiology*, 21, 105-110.
- [66] İşbilir, Ş. S., (2008). Yaprakları Salata-Baharat Olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi. Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- [67] CLSI, Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard, 7th ed., CLSI document M02-A11. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA, 2012.
- [68] CLSI, Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Guideline. CLSI document M44-A. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA, 2004.

- [69] CLSI, Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Non-dermatophyte Filamentous Fungi, Approved guideline, CLSI document M51-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA, 2010.
- [70] Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C., (1990). Role Of Free-Radicals and Catalytic Metal-Ions in Human Disease-An Overview. *Methods in Enzymology*, 186, 1-85.
- [71] Burçak, G. and Andican, G., (2004). Oksidatif DNA Hasarı ve Yaşlanma. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 35 (4).
- [72] Çavdar, C., Sifil, A. and Çamsarı, T., (1997). Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 3 (4); 92-95.
- [73] Stohs, S. J. and Baghi, D., (1995). Oxidative Mechanisms in the Toxicity of Metal Ions. *Free Radical Biology Medicine*, 18 (2),321-336.
- [74] Akkuş, İ., (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. *Mimoza Yayınları*, Konya.
- [75] İşbilir, Ş.S., (2008). Yaprakları Salata-Baharat Olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi. *Doktora Tezi*, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- [76] Onat, T., Emerk, K. and Sözmen, E.Y., (Ed.), (2002). *İnsan Biyokimyası*. Palme Yayıncılık, Ankara.
- [77] <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/kaynaklarim.htm> (22.09.2017).
- [78] Nehir, El, S., Karakaya, S. and Taş, A. A., (1999). Bazı Gıdalardaki Fenolik Bileşiklerin Antioksidan Etkilerinin in vitro Koşullarda Saptanması. *TÜBİTAK Projesi*, No:TOGTAG-1698, İzmir.
- [79] Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., (1990). Role of Free-Radicals and Catalytic Metal-Ions in Human Disease an Overview. *Methods in Enzymology*, 186, 1-85.
- [80] Halliwell, B., (1994). Free Radicals and Antioxidants: A Personal View. *Nutrition Reviews*, 52(8),253-265.

- [81] Halliwell, B., Clement, M. V. and Long, L. H., (2000). Hydrogen Peroxide in the Human Body. *FEBS Letter*, 486, 10-13.
- [82] Cotton, F.A. and Wilkinson, G., (1988). *Advanced Inorganic Chemistry*. John Wiley & Sons Inc., 5th Ed., USA.
- [83] Simonian, N.A. and Coyle, J.T., (1996). Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 36, 83-106.
- [84] Reiter, R.J., (1998). Oxidative Damage in the Central Nervous System: Protection by Melatonin. *Progress in Neurobiology*, 56; 359-384.
- [85] Mala, C. and Wilson, J.X., (2000). Glucose Modulates Vitamin C Transport in Adult Human Small Intestinal Brush Border Membrane Vesicles. *J Nutr*. 130; 63-69.
- [86] Wu, C.C., Dorairajon, T. and Lin, T.L., (2000). Effect of Ascorbic Acid Supplementation on the Immune Response of Chickens Vaccinated and Challenged with Infectious Bursal Disease Virus. *Vet Immunol and Immunopathol*, 74; 145-152.
- [87] Carr, A.C., McCall, M.R. and Frei, B., (2000). Oxidation of LDL by Myeloperoxidase and Reactive Nitrogen Species Reaction Pathways and Antioxidant Protection. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 20, 1716-1723.
- [88] Basaga, H.S., (1990). Biochemical aspects of Free Radicals. *Biochemistry and Cell Biolgy*, 68, 989-998.
- [89] Knight, J.A., (1999). *Free radicals, Antioxidants, Aging and Disease*. AACC Press Washington.
- [90] Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, London.
- [91] Odabaşoğlu, F., akır, A., Suleyman, H., Aslan, A., Bayır, Y., Halıcı, M. and Kazaz, C., (2006a). Gastro Protective and Antioxidant Effects of Usnic Acid on İndomethacine-İnduced Gastric Ulcer in Rats. *J Ethnopharmacol*, 103(1),59-65.
- [92] Odabaşoğlu, F., (2006). Antioksidan Vitaminler. *Pharma Şark* 1(1),19-21
- [93] Kırkalı, G. and Yalçın, S., (1971). Oksidatif Stresin Ölçülmesi ve

Standardizasyonu. Türk Biyokimya Derneği Klinik Lab. Stnd ve Kalite Güvencesi Toplantı Kitabı, 5, 305-312 (1998).

- [94] Miller, H. M., A Simplified Method for the Evaluation of Antioxidants. Journal American Oil Chemists Society, 45, 91.
- [95] Blois, M.S., (1958). Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. Nature, 181,1199-1200.
- [96] Gülçin, İ., Büyükokuroğlu, M.E., Oktay, M. and Küfrevioğlu, Ö.İ., (2003). Antioxidant And Analgesic Activities of Turpentine of Pinus Nigra Arn. Subsp. Pallsiana (Lamb.) Holmboe. Journal of Ethnopharmacology, 86 (1),51-58.
- [97] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C., (1999). Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. Free Radical, Biology & Medicine, 26 (9-10),1231-1237.
- [98] Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C. and Almeida, L.M., (1994). Action of Phenolic Derivates (Acetoaminophen, Salicylate and 5-Aminosalicylate) as Inhibitors of Membrane Lipid Peroxidation and as Peroxyl Radical Scavengers. Archives Biochemistry and Biophysics, 315; 161-169.
- [99] Oyaizu, M., (1986). Antioxidative Activities of Browning Reaction Prepared from Glucosamine. Japanese Journal Nutrition, 44, 307-315.
- [100] Ou, B., Woodill-Hampsch, M. and Prior, R.L., (2001). Development and Validation of An Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe. Journal of Agricultural Food Chemistry, 49, 4619.
- [101] Stollé, R., (1907). Über Führung von Hydrazinabkömmlingen. Journal fur praktische Chemie, 75 (2),416-432.
- [102] Kröger, C.F., Hummel, L., Mutscher, M. and Beyer, H., (1965). Synthesen und Reaktionen von 4-Amino-1,2,4-triazolonen-(5). Chemische Berichte, 98, 3025-3033.
- [103] Roger, R. and Neilson, O. G., (1961). The Chemistry of Imidates. Chemical Reviews, 61, 179-211.
- [104] Pinner, A., (1892). Die imidoäther und ihre Derivate. 1.Auflage, Oppenheim, Berlin.
- [105] Sykes, P., (1977). A guidebook to Mechanizm in Organic Chemistry. Fourth

Edition, Great Britain.

- [106] Pesson, M., Dupin, S. and Antoine, M., (1962). Emploi de l'hydrazinocarbonate d'ethyle pour la synthèse des hydroxy-3 triazoles-1,2,4, Bulletin Society of Chimica. France, 1364-1371.
- [107] 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.
- [108] Yüksek, H., (1992). 3-Alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-5-on'ların Bazı Reaksiyonlarının İncelenmesi. Doktora Tezi, KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- [109] İkizler, A. A. and Yüksek, H., (1993). Acetylation of 4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-ones. Organic Preparation and Procedures International, 25, 99-105.
- [110] 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.
- [111] 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.
- [112] Kara, E., (2000). 3-Siklopropil-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on Bileşiğinin Sentezi ve Bazı Reaksiyonlarının İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- [113] 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 İncelenmesi. Doçentlik Tezi, İstanbul Üniversitesi Kimya Fakültesi, İstanbul.
- [114] İkizler, A.A. and Ün, R., (1979). Reactions of Ester Ethoxycarbonylhydrazones with Some Amine Type Compounds. Chimica Acta Turcica, 7, 269-290.
- [115] İkizler, A. A. and Yüksek, H., (1993). Synthesis of some N,N'-linked biheteroaryles. Doğa Tr. Journal of Chemistry, 17, 150-153.
- [116] İkizler, A.A. and Yüksek, H., (1994). Reaction of 4-Amino-4,5-dihidro-1H-

1,2,4-triazol-5-ones with 2,5-dimetoxytetrahydrofuran. Collection of Czechoslovak Chemical Communication, 59 (3), 731-735.

- [117] Doğan, N., (1995). Bazı 4,5-Dihidro-1H-1,2,4-Triazol-5-on Türevlerinin Sentezi ve Özelliklerinin İncelenmesi. Doktora Tezi, KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- [118] Doğan, N., İkizler, A., Johannson, C.B. and İkizler, A.A., (1996). Synthesis and Antibacterial Activities of some New Arenesulfonamides and Urea Derivatives. Acta Poloniae Pharmaceutica, 53 (4), 277-281.
- [119] Becker, H.G.O. and Timpe, H.J., (1970). Synthesis and reactions of 1-Alkyl-4-sulfonylimino-1,2,4-triazolium ylides. Journal für praktische Chemie, 312 (6), 1112-1120.
- [120] İkizler, A.A., İkizler, A., Yıldırım N., (1991). Synthesis of Some Benzyldenamino Compounds. Monatshefte Fur Chemi, 122 (6-7), 557-563.
- [121] İkizler, A.A., Yıldırım, N. and Yüksek, H., (1996). Synthesis of Some Arylidenamino Compounds. Modelling, Measurement & Control C, 54, 21-30
- [122] İkizler, A.A., Uçar, F., Yuksek, H., Aytin, A., Yasa, I. and Gezer, T., (1997). Synthesis and Antifungal Activity of Some New Arylidenamino Compounds. Acta Poloniae Pharmaceutica , 54 (2), 135-140.
- [123] İkizler, A. A., İkizler, A., Yüksek, H. and Serdar, M., (1998). Antitumor Activities of Some 4,5-Dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones. Modelling, Masurement & Control C, AMSE press, 57, 25-33
- [124] Bekar, M.,(1996). Bazı 4-Arilidenamino-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-5-on'ların Sentezi ve Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- [125] Aksoy, M., (1997). Bazı 3,4-Disubstitue-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on Bileşiklerinin N-asetil Türevlerinin Sentezi. Yüksek Lisans Tezi, KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- [126] Yokuş ,Ö. A., (2012). Bazı Yeni 1,2,4-Triazol Türevlerinin Sentezi ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi. Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- [127] Yüksek, H., Ocak, Z., Özdemir, M., Ocak, M., Bekar, M. and Aksoy M.,

- (2003). A Study on Novel 4-Heteroarylidenamino-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones. *Indian Journal Heterocyclic Chemistry*, 13 (1), 49-52.
- [128] Köksal, C., (2001). Bazı 3-Alkil(aril)-4-(3',4'-dihidroksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-5-on Bileşiklerinin Sentezi ve Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- [129] Yüksek, M. Ö., Sivrikaya, E., Alkan, A. H., Ocak, M., Yüksek, H., Kolaylı, S., Küçük, M., Ocak, Ü. ve Şahinbaş E., (2004). Bazı 4-benzilidenamino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on Bileşiklerinin Antioksidan Özellikleri. XVIII. Ulusal Kimya Kongresi, Kars, 541.
- [130] Yüksek, H., Kucuk, M., Alkan, M., Bahceci, S., Kolaylı, S., Ocak, Z., Ocak, U., Sahinbas, E. and Ocak, M., (2006). Synthesis and Antioxidant Activities of Some New 4-(4-Hydroxybenzylidenamino)-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one Derivatives with Their Acidic Properties. *Asian Journal of Chemistry*, 18 (1), 539-550.
- [131] Alkan, M., (2001). Bazı 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on Bileşiklerinin Sentezi ve Reaksiyonlarının İncelenmesi, Doktora Tezi, KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- [132] Kol, Ö. G., (2008). Bazı 4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on Türevlerinin Sentezi, Yapılarının Aydınlatılması, Antioksidan ve Asitlik Özelliklerinin İncelenmesi. Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- [133] Kol, Ö.G. and Yüksek H., (2010). Synthesis and İnvitro Antioxidant Evaluation of Some Novel 4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one Derivatives. *E-Journal of Chemistry*, 7 (1), 123-136 .
- [134] Manap, S., (2016). Bazı Vanilin Türevlerinin 3-Alkil(Aril)-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on'lar İle Reaksiyonlarının İncelenmesi. Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars
- [135] Fandakli, S., Başoğlu, S., Bektas, H., Yolal, M., Demirbas, A. and Karaoğlu, S. A., (2012). Reduction, Mannich Reaction and Antimicrobial Activity Evaluation of Some New 1,2,4-Triazol-3-one Derivatives. *Turkish Journal of Chemistry* 36, 567-582.
- [136] Demirci, S., Basoglu, S., Bozdereci, A. and Demirbas, N., (2013). Preparation and Antimicrobial Activity Evaluation of Some New Bi- and Triheterocyclic Azoles. *Medicinal Chemistry Research* 22 (3), 4930-4945

- [137] Özyanik, M., Demirci, S., Bektas, H., Demirbas, N., Demirbas, A. and Karaoğlu, S.A., (2012). Preparation and Antimicrobial Activity Evaluation of some Quinoline Derivatives Containing an Azole Nucleus. *Turkish Journal of Chemistry* 36, 233-246.
- [138] Wang, B.L., Zhang, L.Y., Zhan, Y.Z., Zhang, Y., Zhang, X., Wang, L.Z. and Li, Z.M., (2016). Synthesis and Biological Activities of Novel 1,2,4-Triazole Thiones and Bis(1,2,4-triazole thiones) Containing Phenylpyrazole and Piperazine Moieties. *Journal of Fluorine Chemistry* 184, 36–44.
- [139] Saramet, I., Almajan, G.L., Barbuceanu, S.F., Draghici, C. and Banciu, M.D., (2005). *Revue Roumaine de Chimie*, 50, 19–27.
- [140] Almajan, G.L., Barbuceanu, S.F., Saramet, I. and Draghici, C., (2005). *Rev. Chim. (Bucharest)* 56, 1182–1187.
- [141] Gabriela, L.A., Stefania-Felicia, B., Eva-Ruxandra, A., Constantin, D. and Gabriel, S., (2009). Synthesis, Characterization and Antibacterial Activity of some Triazole Mannich Bases Carrying Diphenylsulfone Moieties. *European Journal of Medicinal Chemistry* 44, 3083-3089.
- [142] Plecha, T., Wujeca, M., Siweka, A., Kosikowskab, U. and Malm, A., (2011). Synthesis and Antimicrobial Activity of Thiosemicarbazides, s-triazoles and Their Mannich Bases Bearing 3-Chlorophenyl Moiety. *European Journal of Medicinal Chemistry* 46 (1), 241–248 .
- [143] Abd El-Badih, A.G., Hassan, M.G., Moustafa, Elsayed A.A., Hassanein and Bahgat, R.M. Hussein. (2012). Synthesis and Antibacterial Activity of Some New 4-Anilino-5-phenyl-4H-1,2,4-triazole-3-thiol Derivatives *Arabian Journal of Chemistry* in-press.
- [144] Czopek, A., Kolaczowski, M., Bucki, A., Byrtus, H., Pawlowski, M., Siwek, A., Bojarski, A.J., Bednarski, M. and Wesolowska, D. Wróbel, A., (2013) .Novel Mannich Bases, 5-Arylimidazolidine-2,4-dione Derivatives with Dual 5-HT_{1A} Receptor and Serotonin Transporter Affinity. *Archiv der Pharmazie, (Weinheim)* 346 ,98-109.
- [145] Mahesh, R., Perumal, R.V. and Pandi, P.V., (2004). Pharmacophore Based Synthesis of 3-Chloroquinoline-2-carboxamides as Serotonin₃ (5-HT₃) Receptor antagonist. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 27,1403-1405.
- [146] Perumal, R.V. and Mahesh, R., (2006). Synthesis and Biological Evaluation of a Novel Structural Type of Serotonin 5-HT₃ Receptor Antagonists, *Bioorganic*

and Medicinal Chemistry Letters. 16, 2769-2772.

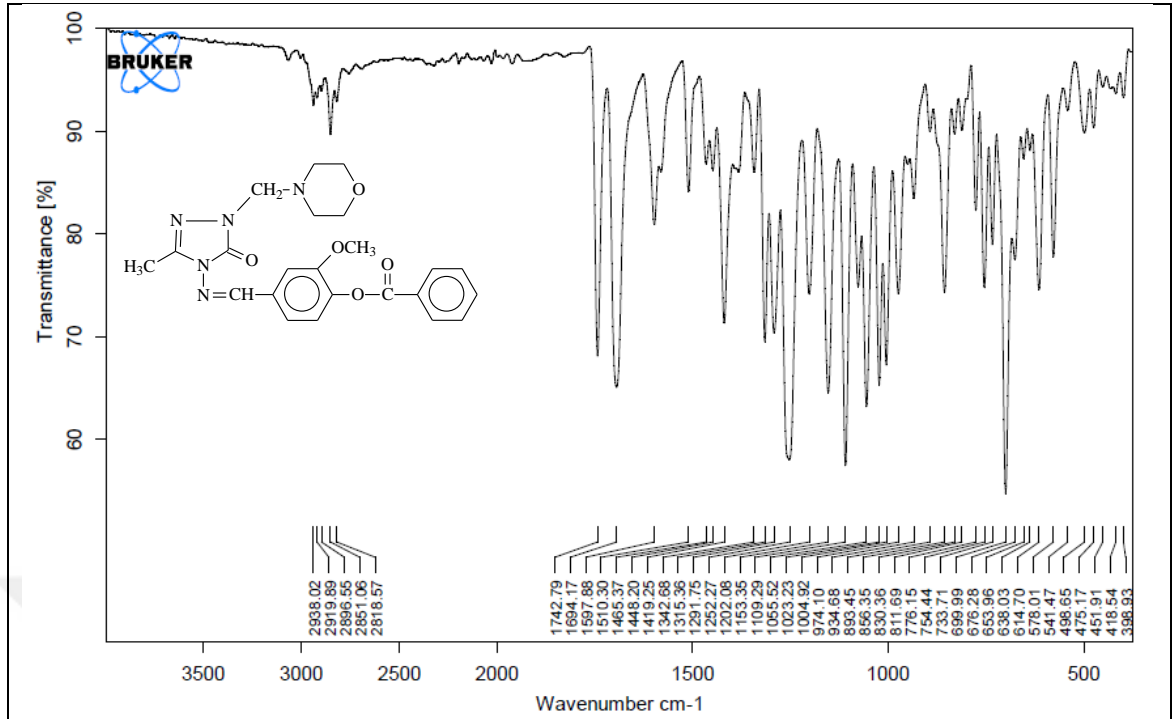
- [147] Kulagowski, J.J., Broughton, H.B., Curtis, N.R., Mawer, I.M., Ridgill, M.P., Baker, R., Emms, F., Freedman, S.B., Marwood, R., Patel, S., Patel, S., Ragan, C.I. and Lesson, P.D., (1996). 3-[[4-(4-Chlorophenyl)piperazin-1-yl]methyl]-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridine: an Antagonist with High Affinity and Selectivity for the Human Dopamine D4 receptor. *Journal Medicinal Chemistry*. 39 1941-1942.
- [148] Löber, S., Hübner, H. and Gmeiner, P., (1999). Azaindole Derivatives with High Affinity for the Dopamine D4 Receptor: Synthesis, Ligand Binding Studies and Comparison of Molecular Electrostatic Potential Maps. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*. 9, 97-102.
- [149] Abadi, A.H., (2004). Phenylpiperazinylmethyl Heterocycle Derivatives: Synthesis and Dopamine Rbinding Profiles. *Archiv der Pharmazie, (Weinheim)* 337, 383-390.
- [150] Linz, S. and Troschütz, R., (2007). Synthesis of 5-[(4-phenylpiperazin-1-yl)methyl]pyrrolo[2,3-d]pyrimidine Derivatives as Potential Dopamine D4 Receptor Ligands. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 44, 349-354.
- [151] Sikazwe, D.M.N., Nkansah, N.T., Altundas, R., Zhu, X.Y., Roth, B.L., Setola, V. and Ablordeppey, S.Y., (2009). Synthesis and Evaluation of Ligands for D2-like Receptors: the Role of Common Pharmacophoric Groups. *Bioorganic Medicinal Chemistry*. 17, 1716-1723.
- [152] Koca, E., Yıldız, Ç. ve Köçek, N., (2010). 3-m-Klorobenzil-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on ve Bazı Türevlerinin Sentezi. *Bitirme Tezi, Kafkas Üniv. Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Kars.*
- [153] https://tr.wikipedia.org/wiki/Bacillus_subtilis (23.11.2016)
- [154] http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel_Bilgi (05.06.2017)
- [155] <http://www.food-info.net/tr/bact/bacer.htm> (13.12.2017)
- [156] Tansel, C., Kapucu, A., Öztay, F., Üstünova, S., Balci, H., Caner, M. and Engin, B., (2007). Effects of Coenzyme Q10 on the Heart Ultrastructure and Nitric Oxide Synthase during Hyperthyroidism. *Chinese Journal of Physiology*, 50, 217-224.
- [157] Çakar, A., (2005). Hacettepe Üniversitesi Hastanesi'nde Ayırıştırılan

Pseudomonas aureginosa İzolatlarında Metallo-beta-laktamaz Enziminin Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerle Ayrıştırılması. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.

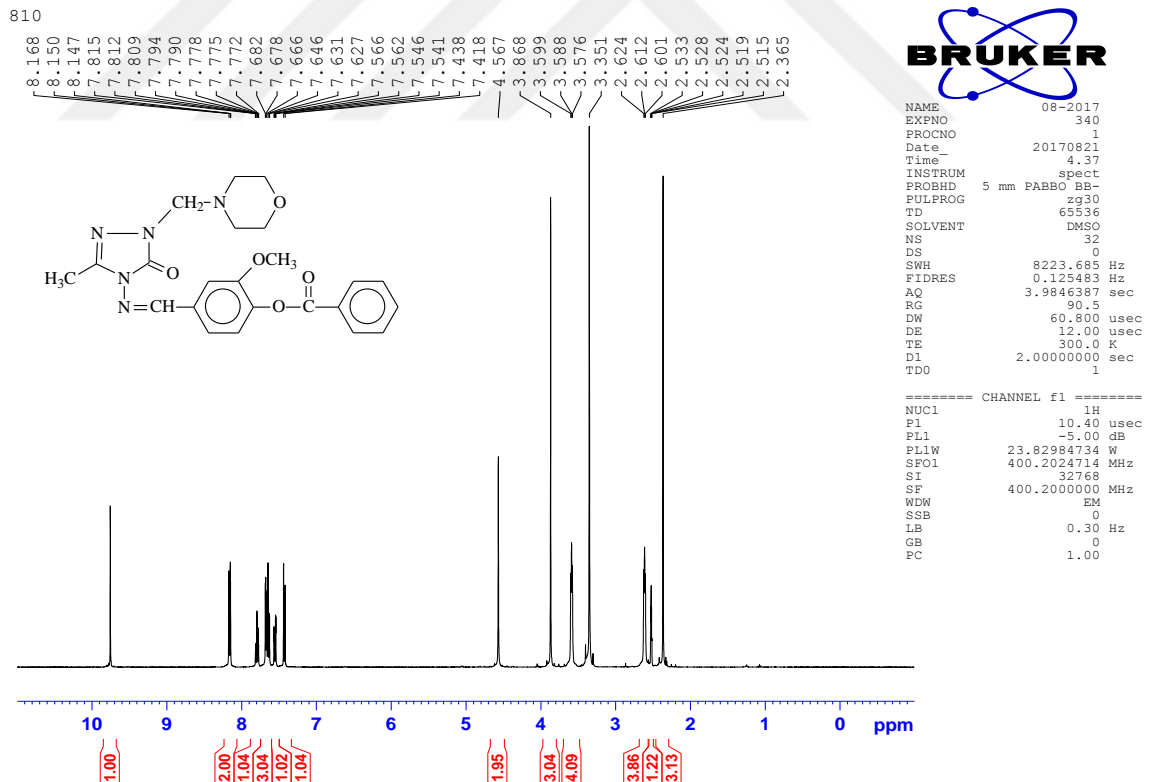
- [158] Ryan, K. J. and Ray, C.G., ed.. (2004). Sherris Medical Microbiology. (4th bas.). McGraw Hill, ISBN 0-8385-8529-9.
- [159] Postgate, J., (1998). Nitrogen Fixation (3rd bas.). Cambridge University Press. ISBN 978-0521640473.
- [160] Perez, C., Pauli, M. and Bazerque, P., (1990). An Antibiotic Assay by the Well Agar Method. *Acta Biologica et Medicine Experimentalis*, 15,113-115.
- [161] Ahmad, I., Mehmood, Z. and Mohammed, F., (1998). Screening of Some Indian Medicinal Plants for Their Antimicrobial properties. *Journal of Ethnopharmacology*, 62, 183-193.
- [162] Al-Majidi, S. M. H., (2014). Synthesis of some New 4-Oxo-thiazolidines, tetrazole and Triazole Derived from 2-SH-benzothiazole and Antimicrobial Screening of Some Synthesized. *Journal of Saudi Chemical Society*, 18, 893-901.



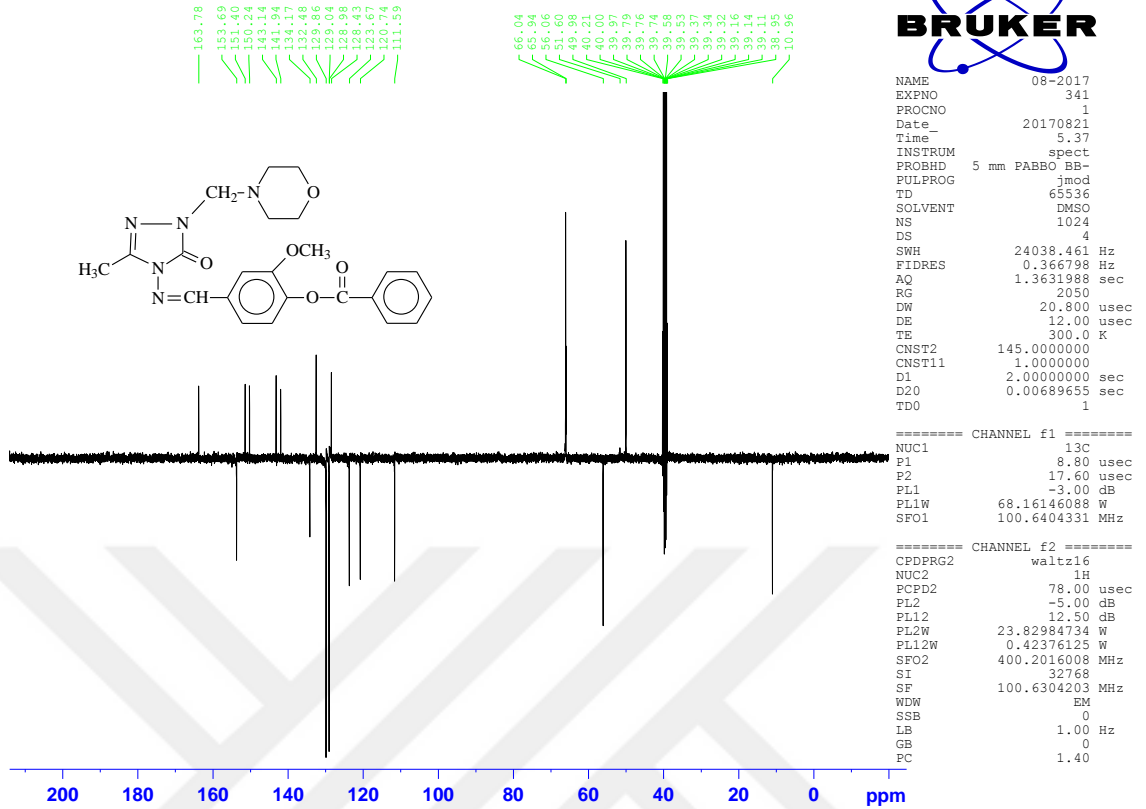
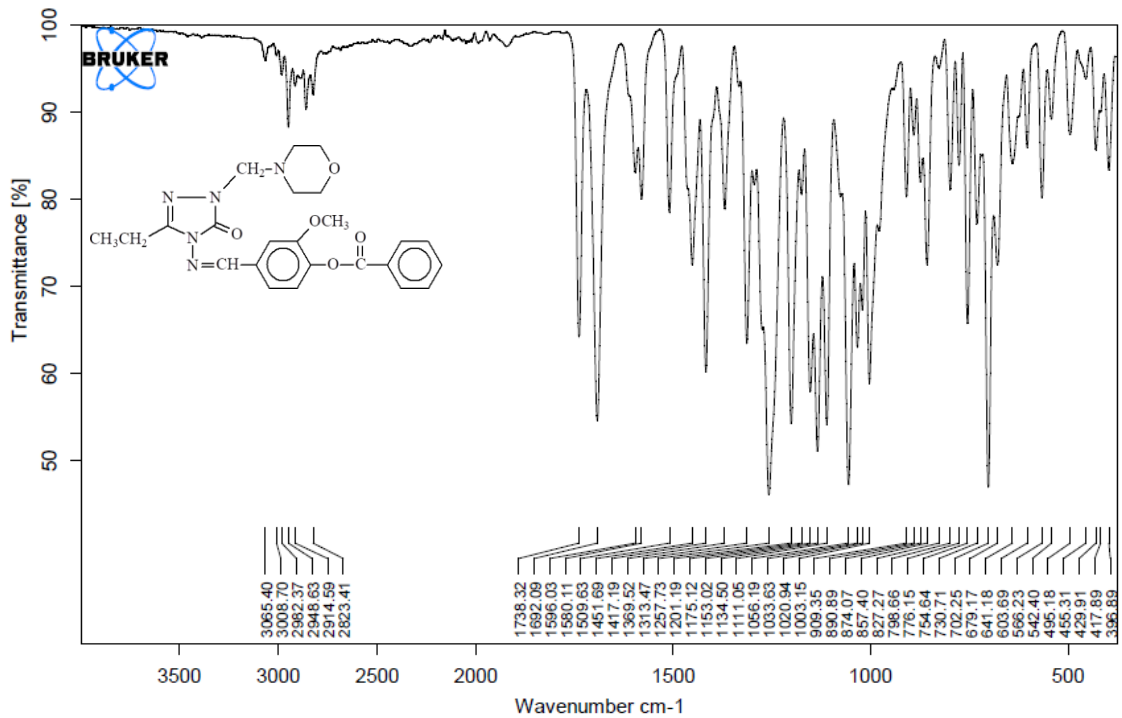
EKLER



Ek Şekil 1. 76a Bileşiğinin IR spektrumu

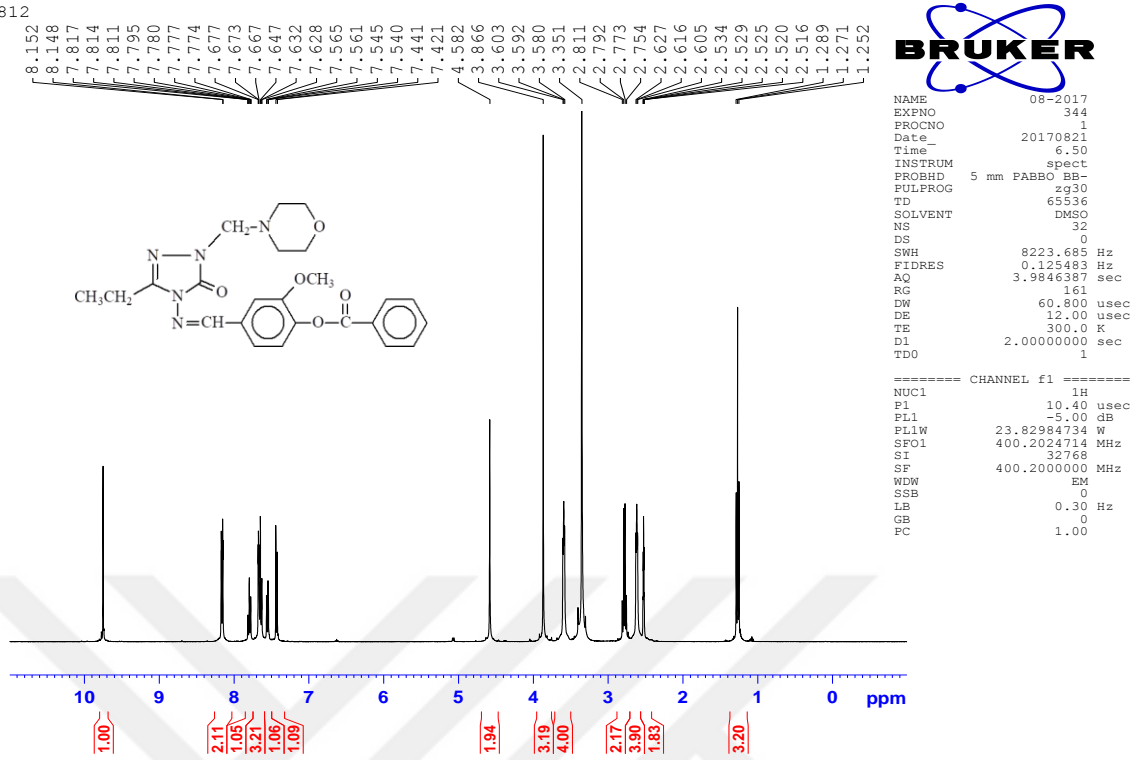


Ek Şekil 2. 76a Bileşiğinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) spektrumu

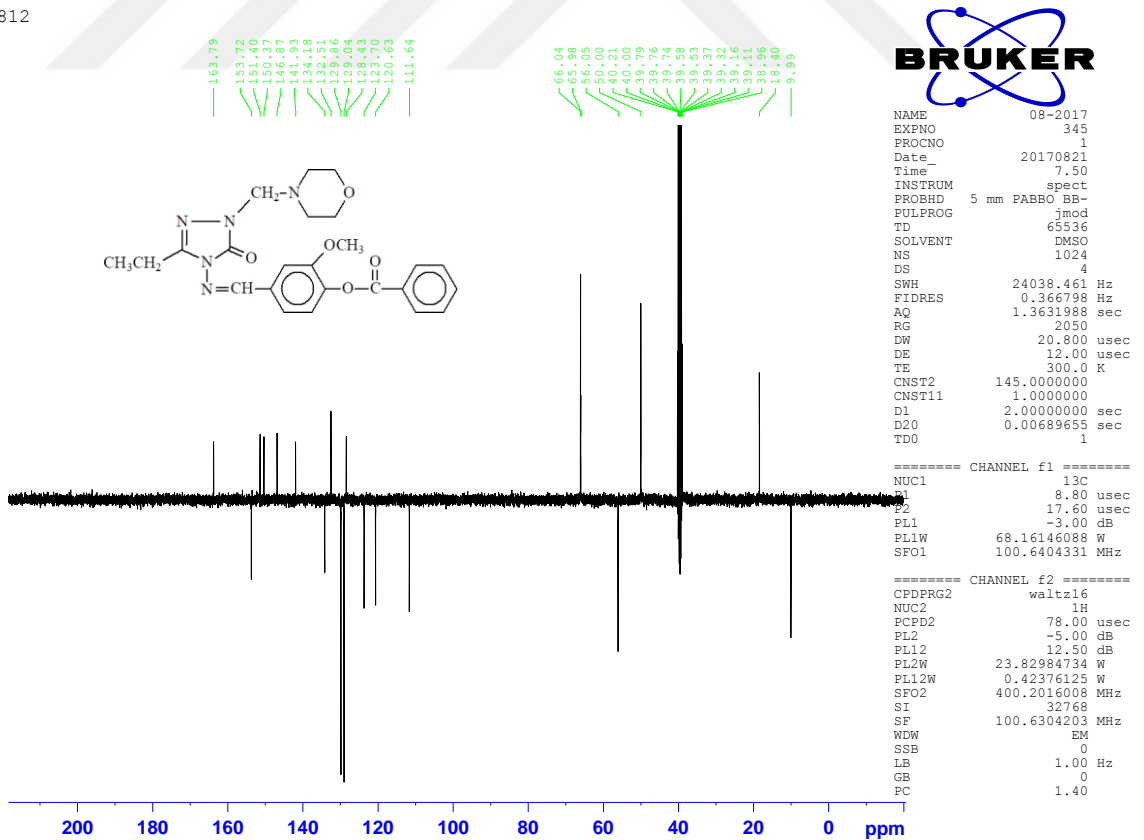
Ek Şekil 3. 76a Bileşiğinin ^{13}C -NMR (DMSO- d_6) spektrumu

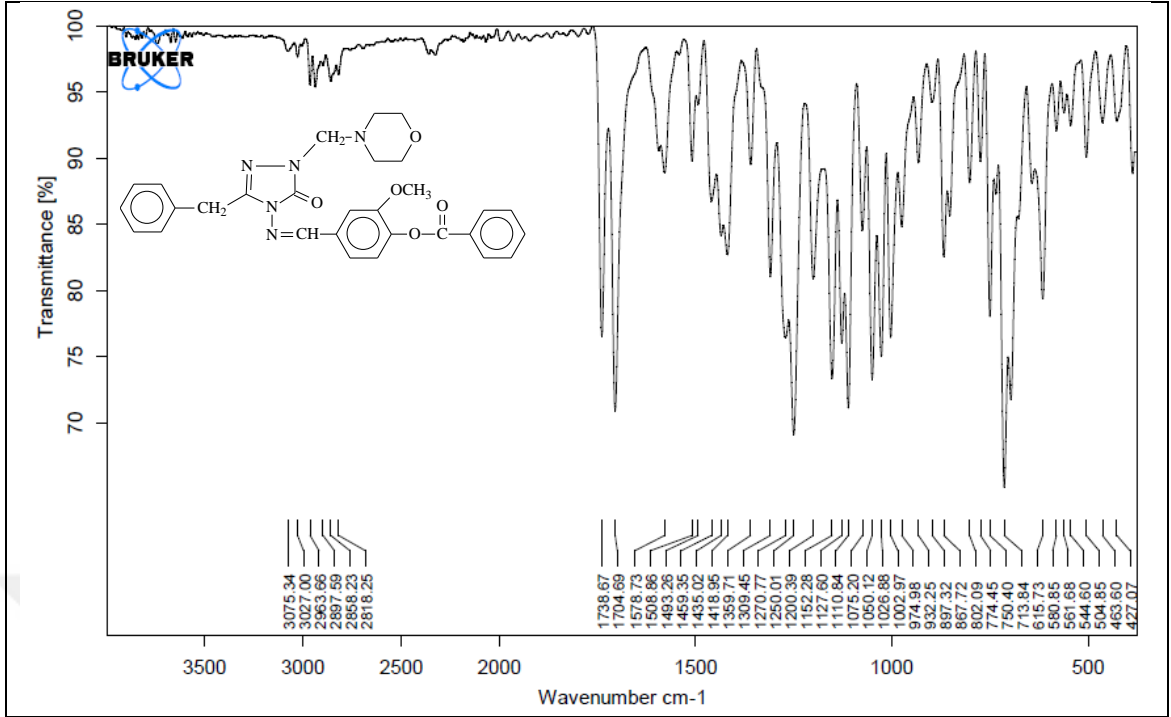
Ek Şekil 4. 76b Bileşiğinin IR spektrumu

812

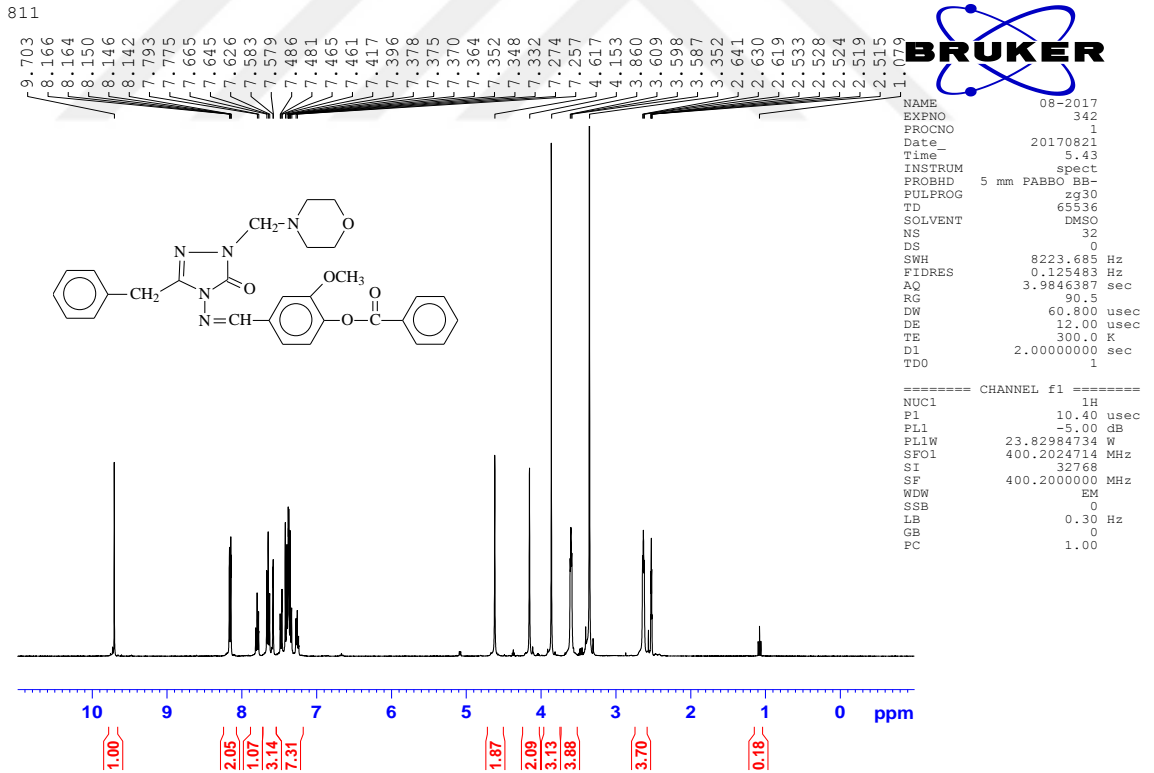
Ek Şekil 5. 76b Bileşiğinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) spektrumu

812

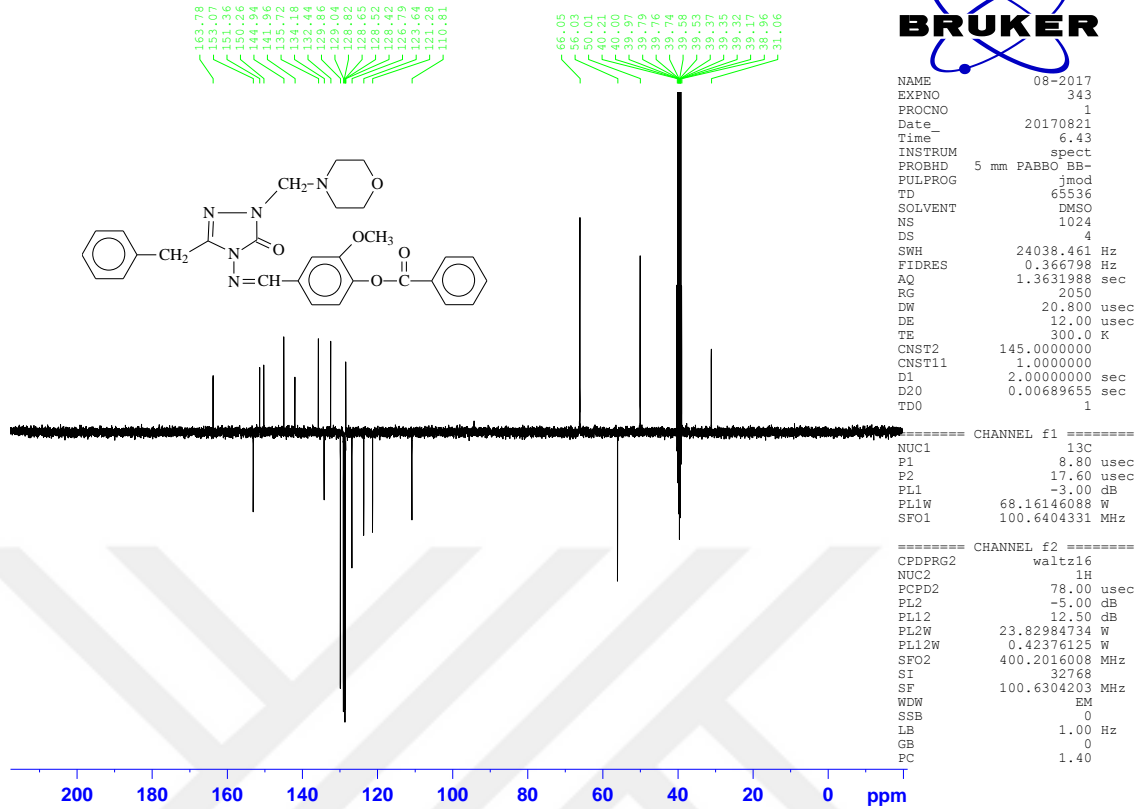
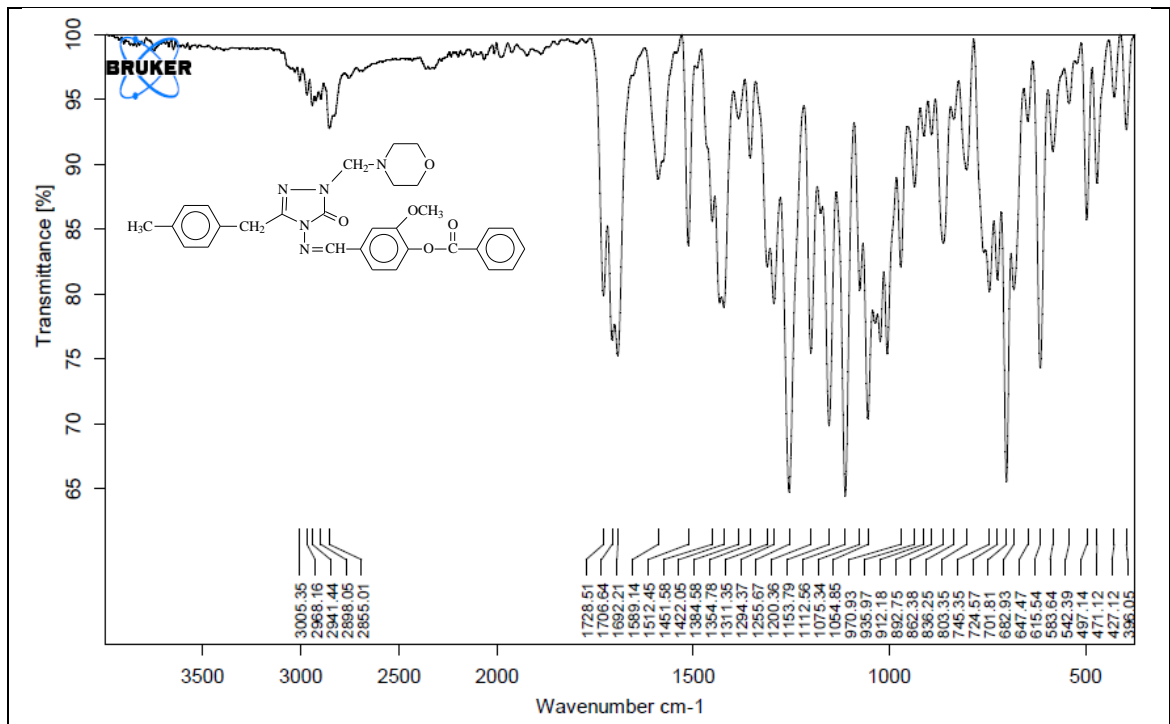
Ek Şekil 6. 76b Bileşiğinin ¹³C-NMR (DMSO-d₆) spektrumu



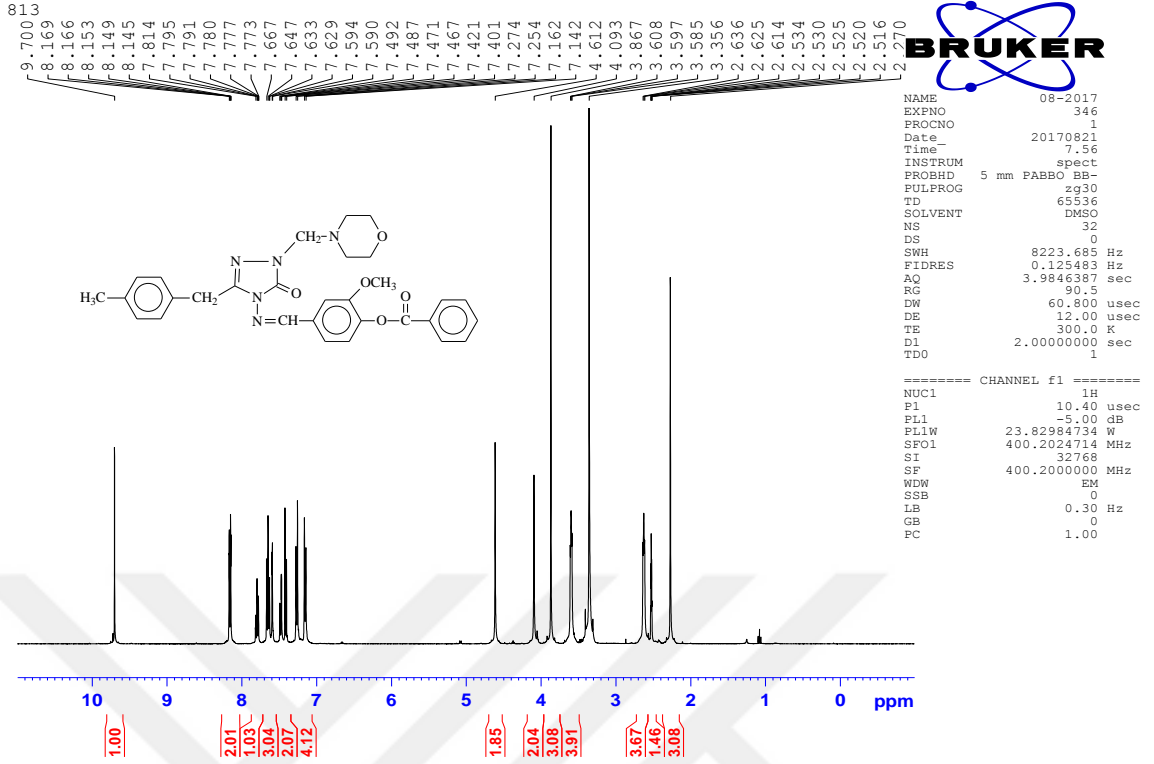
Ek Şekil 7. 76c Bileşiğinin IR spektrumu



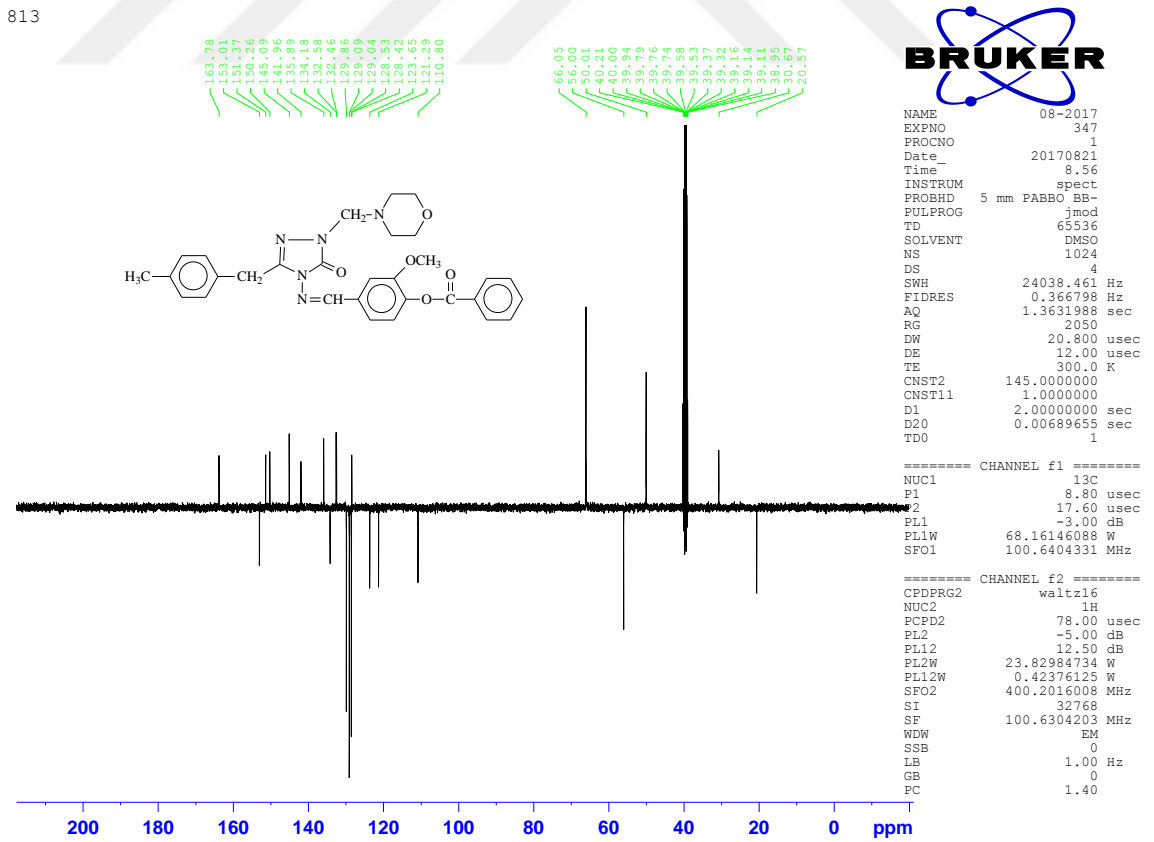
Ek Şekil 8. 76c Bileşiğinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) spektrumu

Ek Şekil 9. 76c Bileşiğinin ^{13}C -NMR (DMSO- d_6) spektrumu

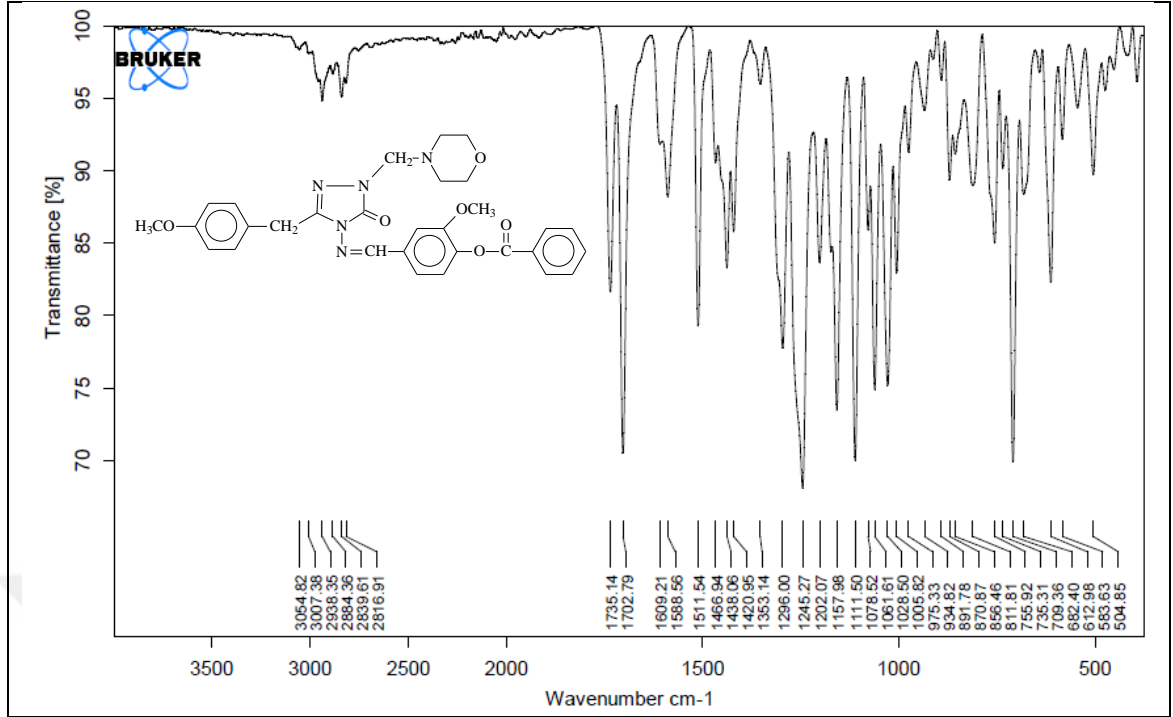
Ek Şekil 10. 76d Bileşiğinin IR spektrumu



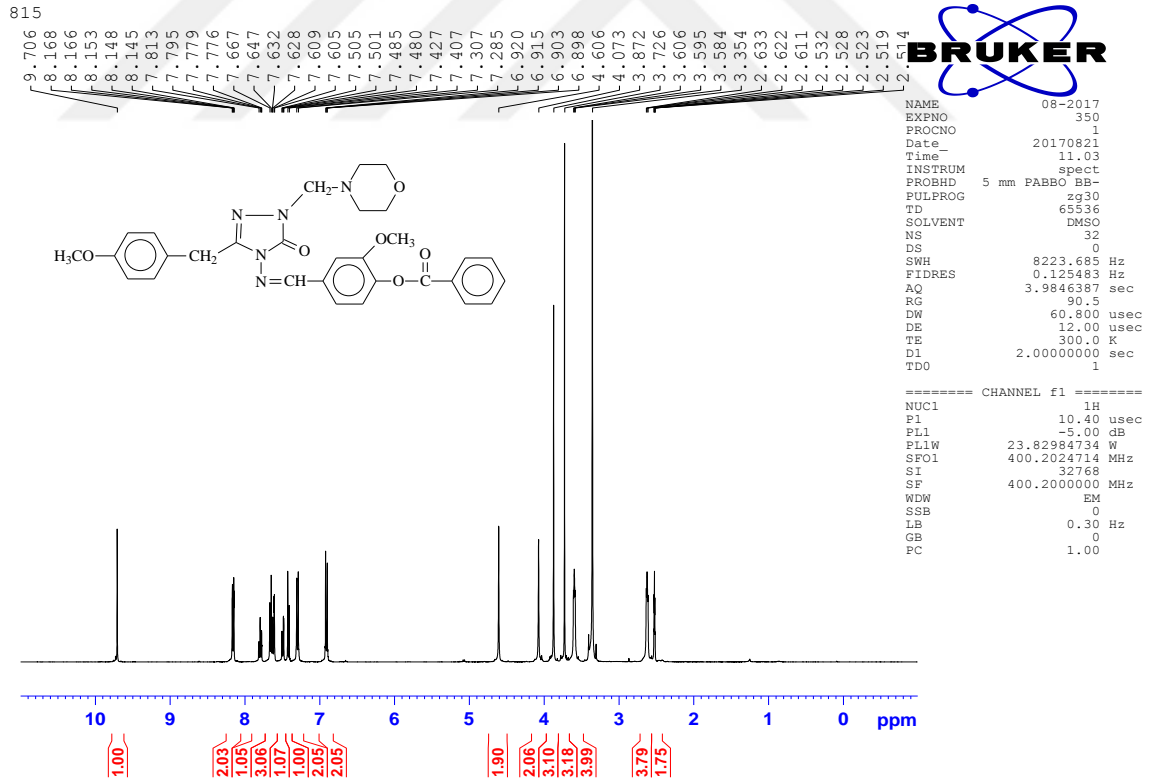
Ek Şekil 11. 76d Bileşiğinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) spektrumu



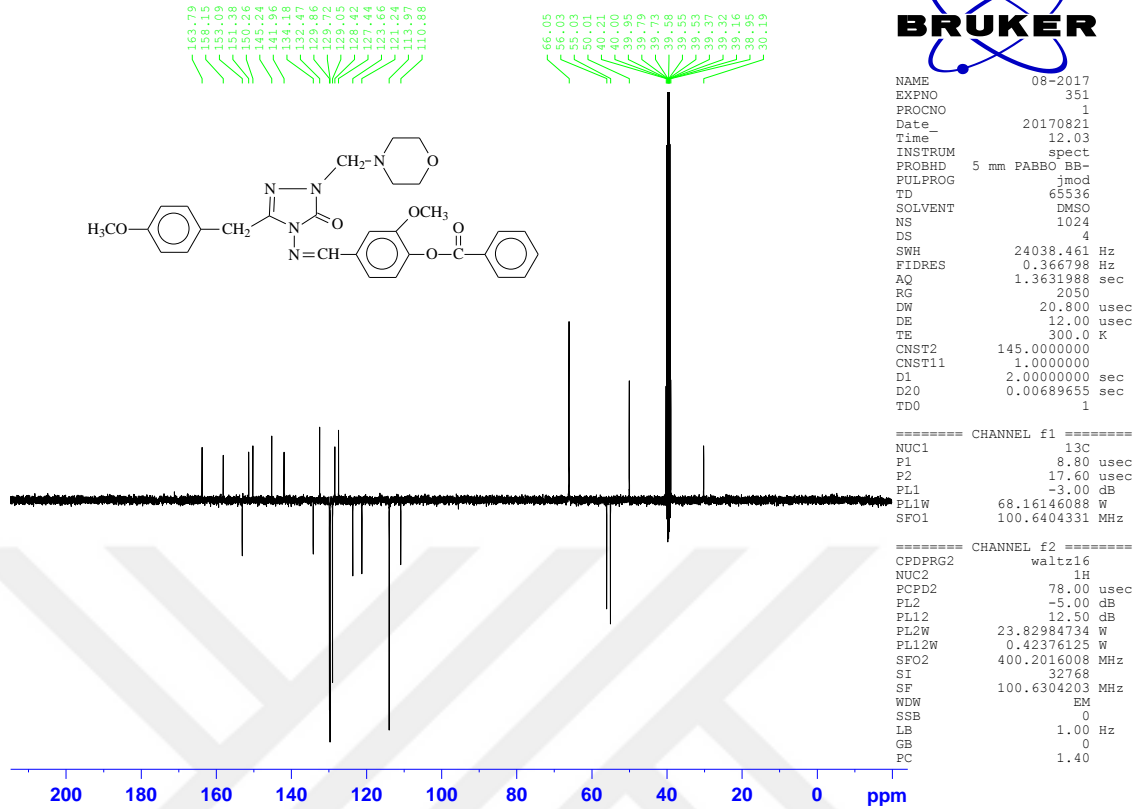
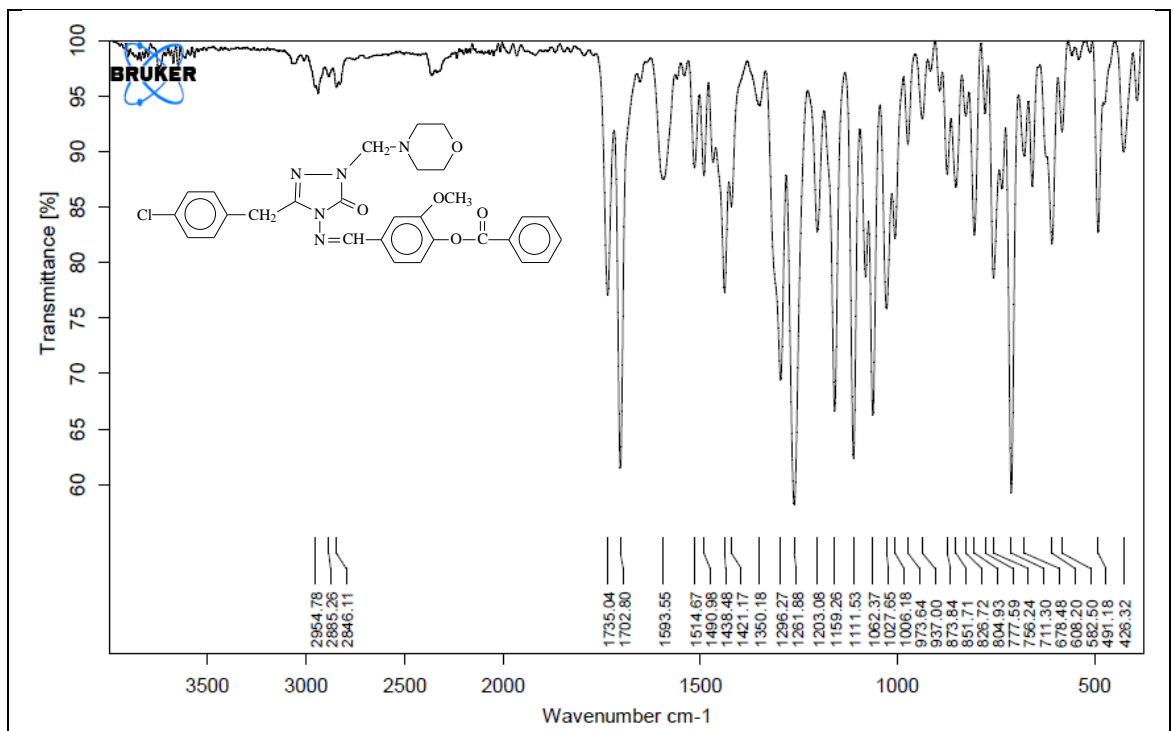
Ek Şekil 12. 76d Bileşiğinin ¹³C-NMR (DMSO-d₆) spektrumu



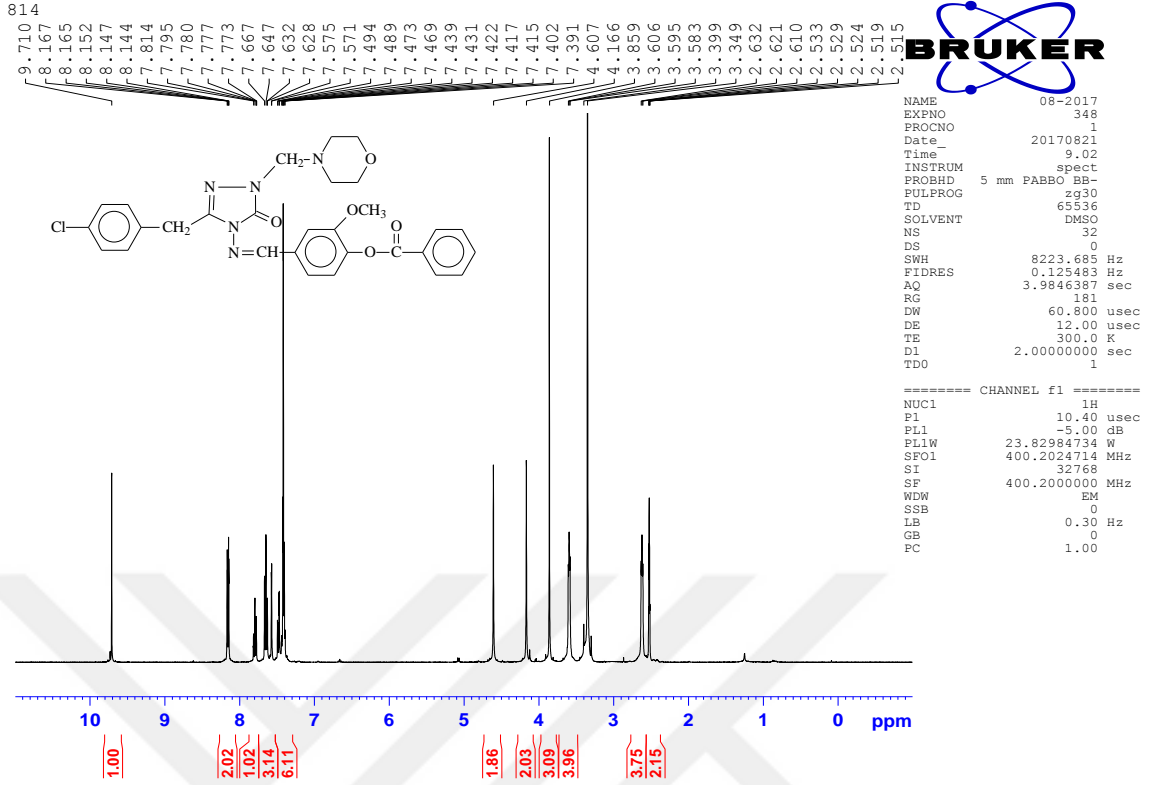
Ek Şekil 13. 76e Bileşiğinin IR spektrumu



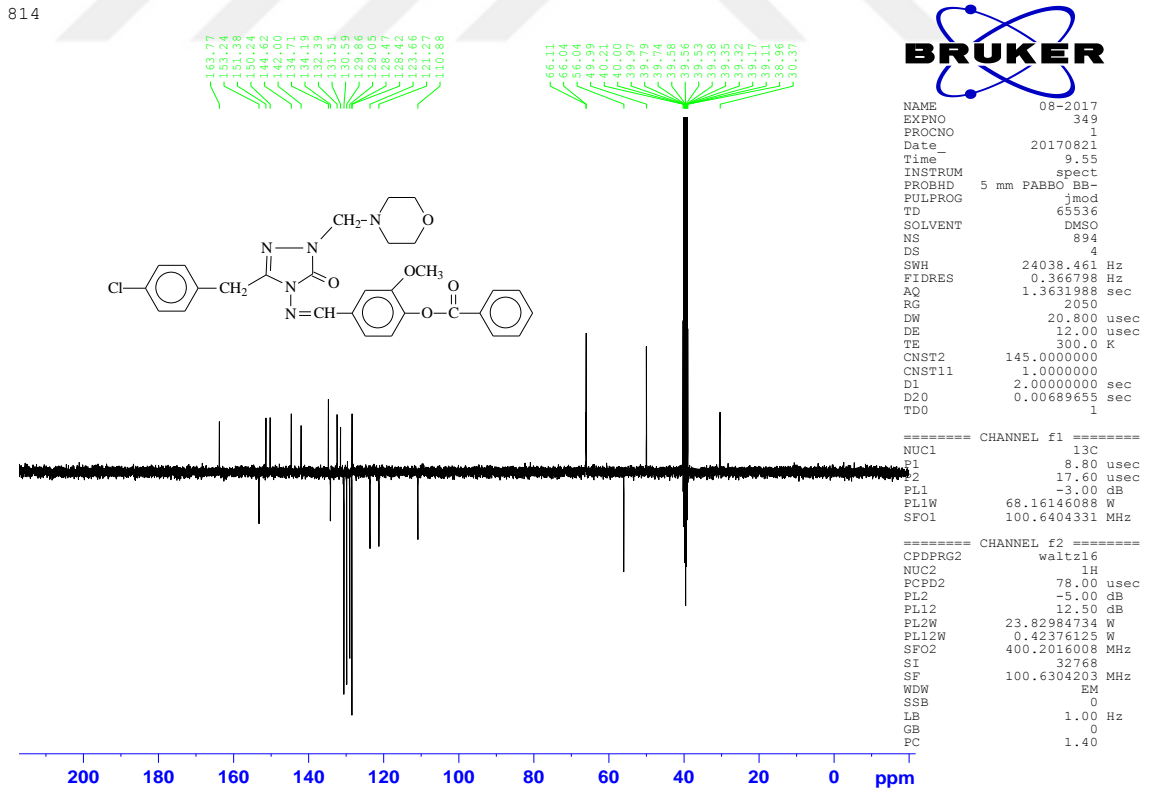
Ek Şekil 14. 76e Bileşiğinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) spektrumu

Ek Şekil 15. 76e Bileşiminin ^{13}C -NMR (DMSO- d_6) spektrumu

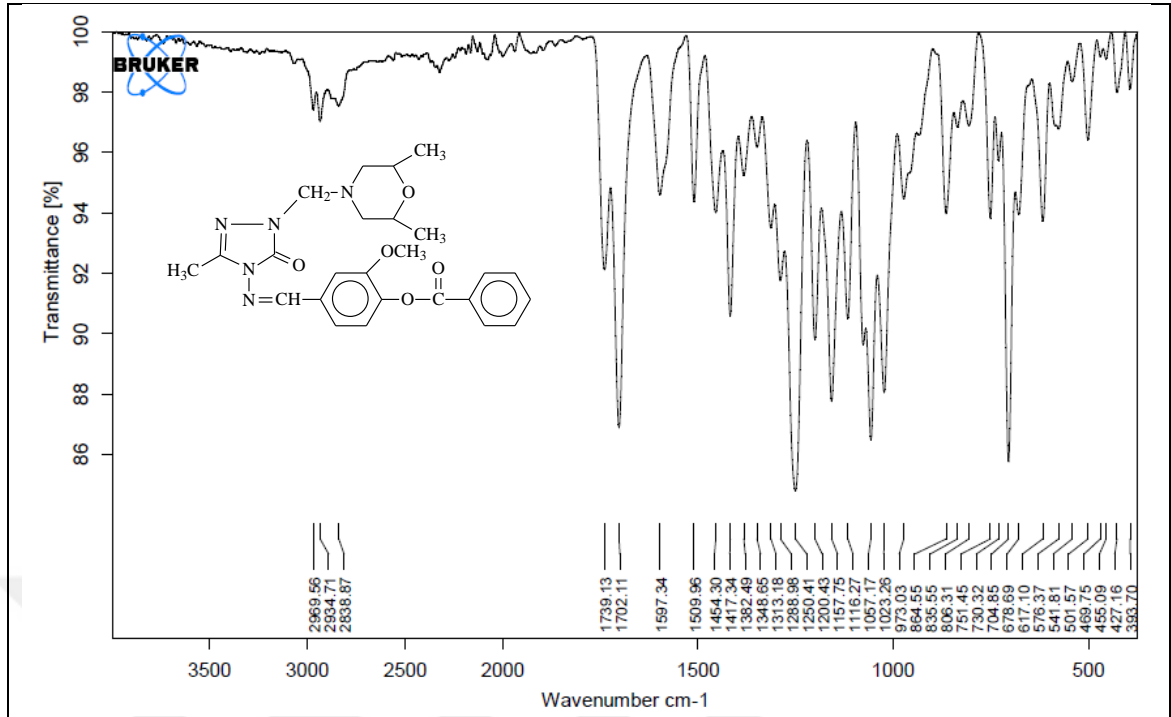
Ek Şekil 16. 76f Bileşiminin IR spektrumu



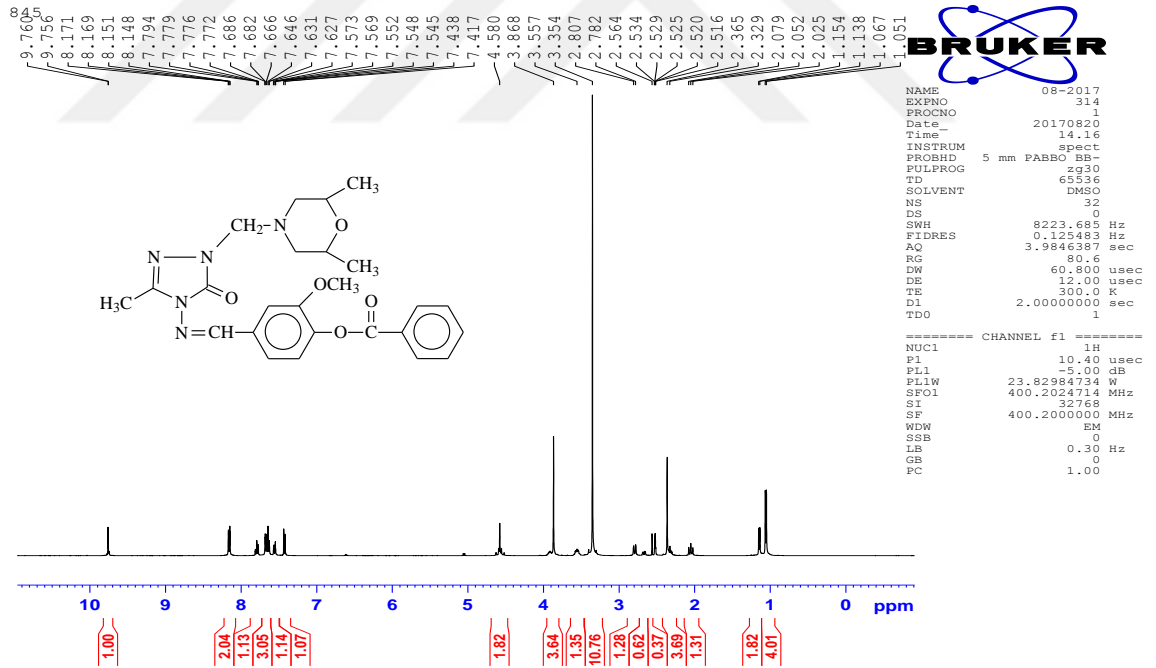
Ek Şekil 17. 76f Bileşiğinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) spektrumu



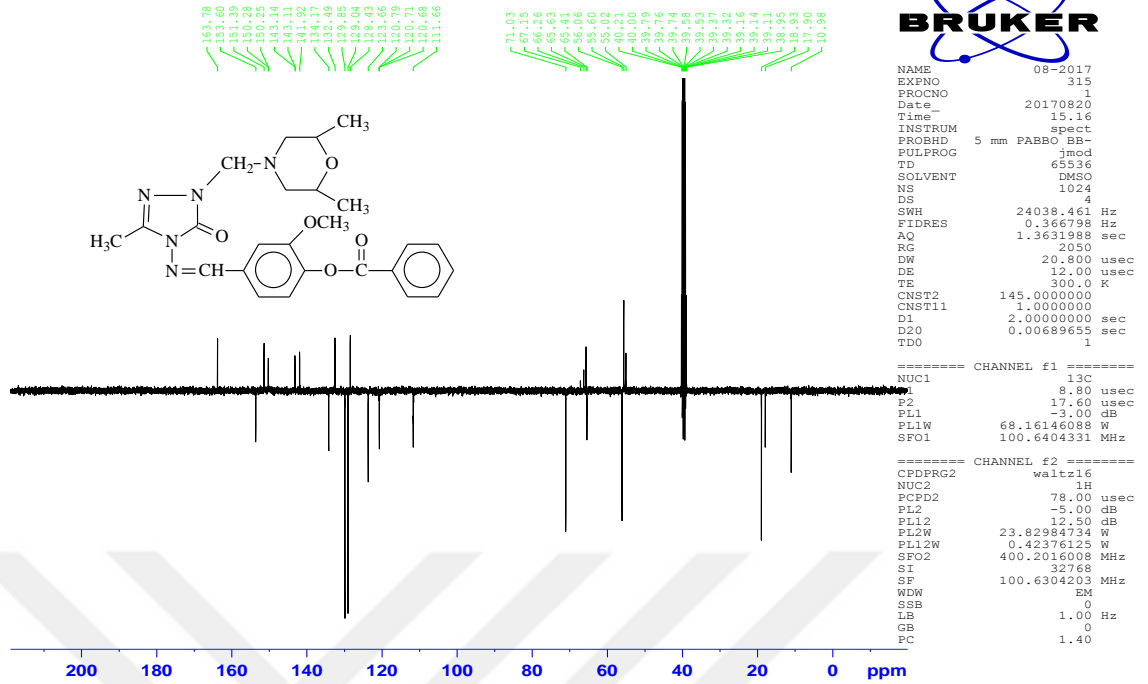
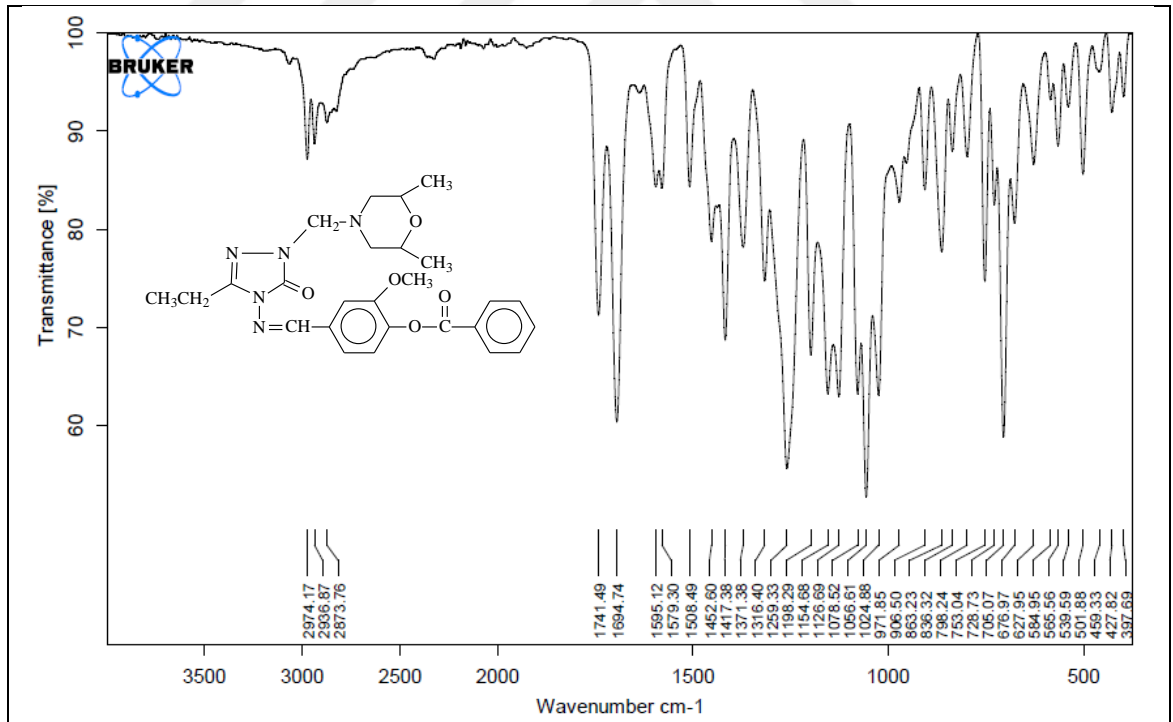
Ek Şekil 18. 76f Bileşiğinin ¹³C-NMR (DMSO-d₆) spektrumu



Ek Şekil 19. 77a Bileşiğinin IR spektrumu

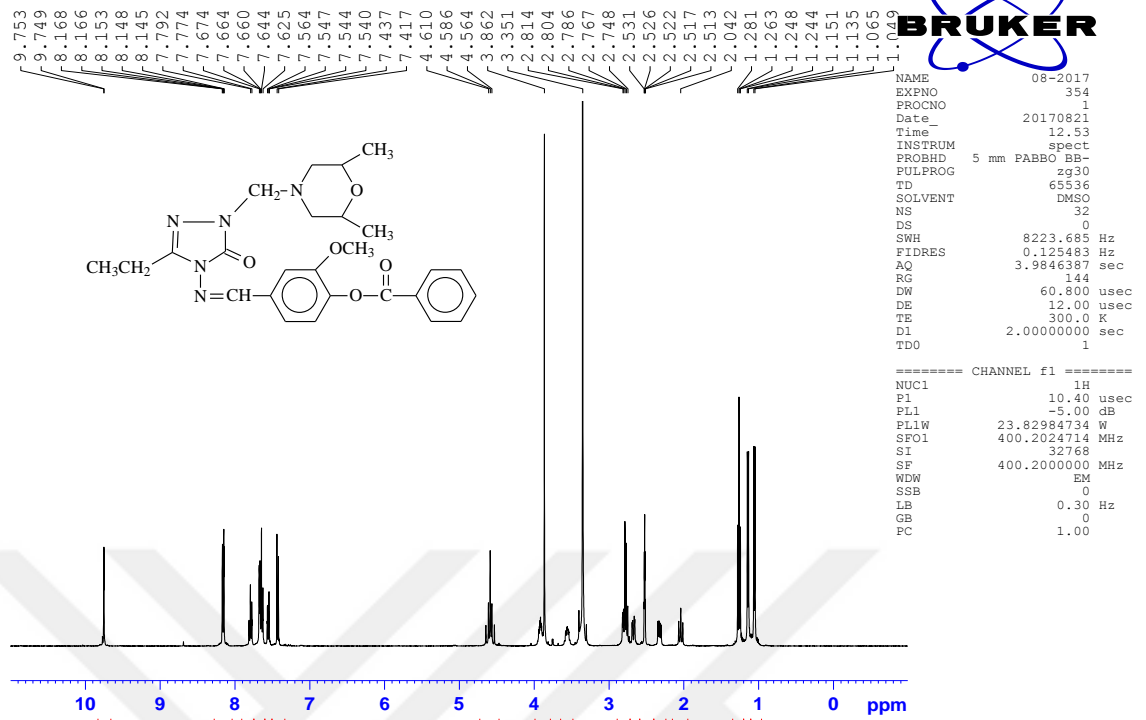


Ek Şekil 20. 77a Bileşiğinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) spektrumu

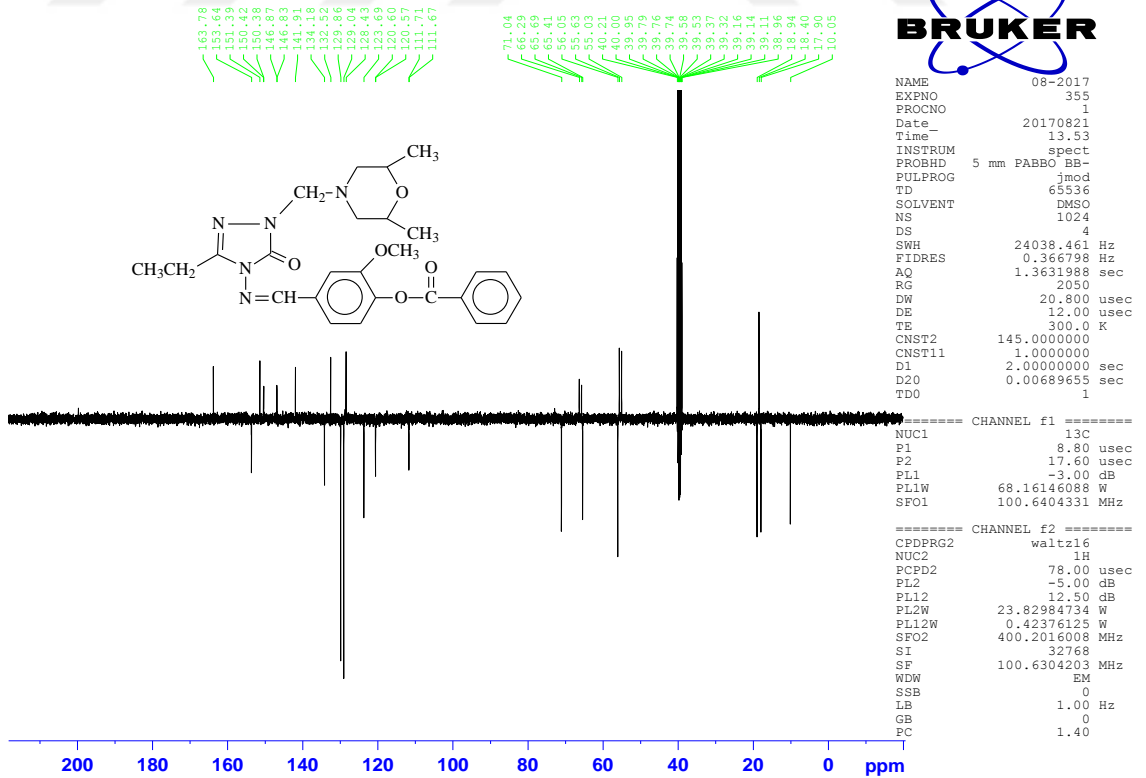
Ek Şekil 21. 77a Bileşiminin ^{13}C -NMR (DMSO- d_6) spektrumu

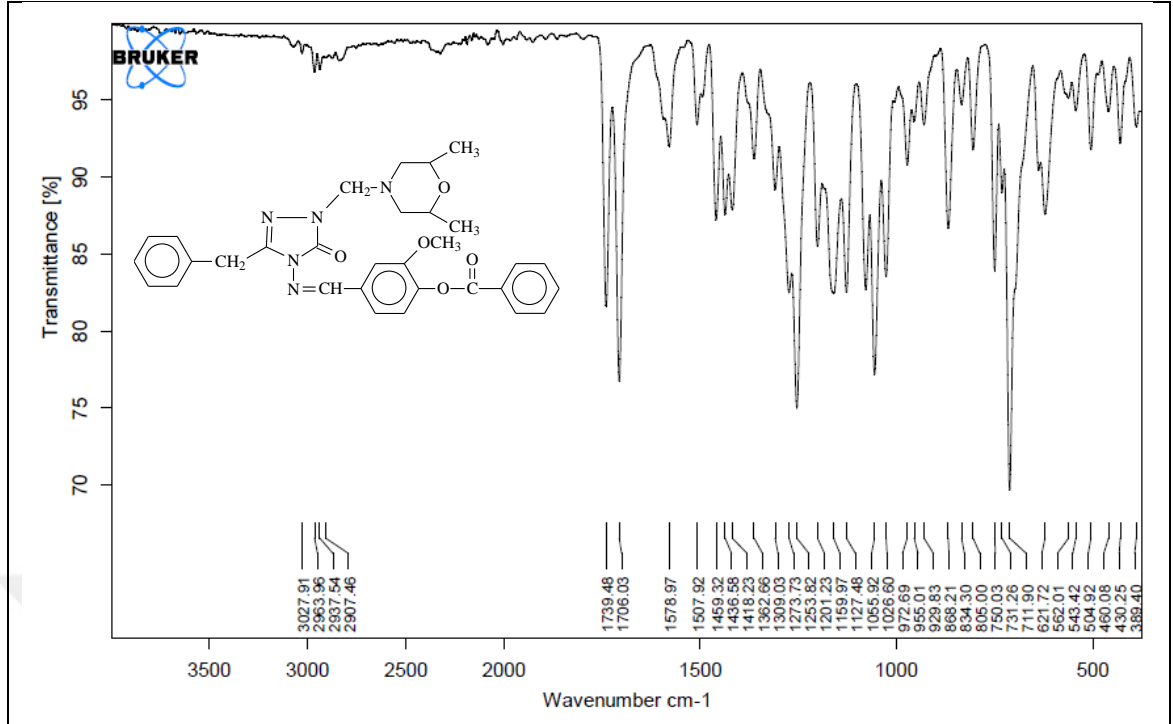
Ek Şekil 22. 77b Bileşiminin IR spektrumu

817

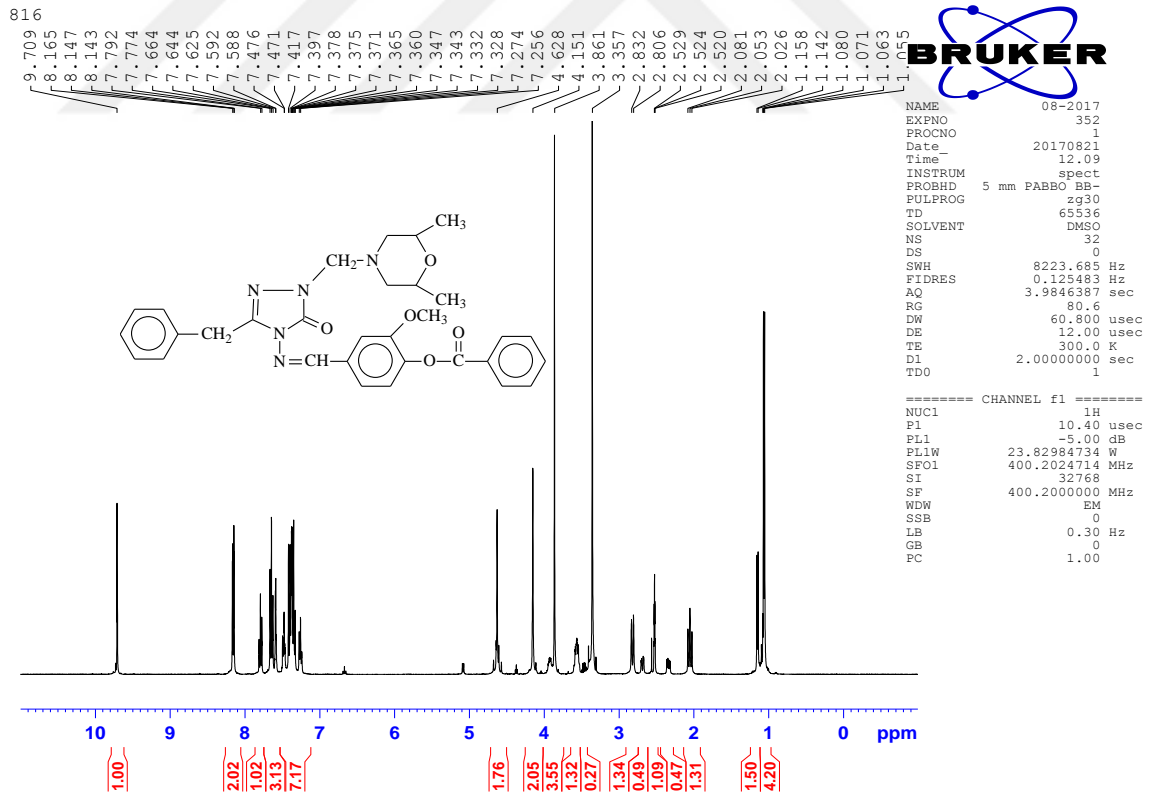
Ek Şekil 23. 77b Bileşiğinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) spektrumu

817

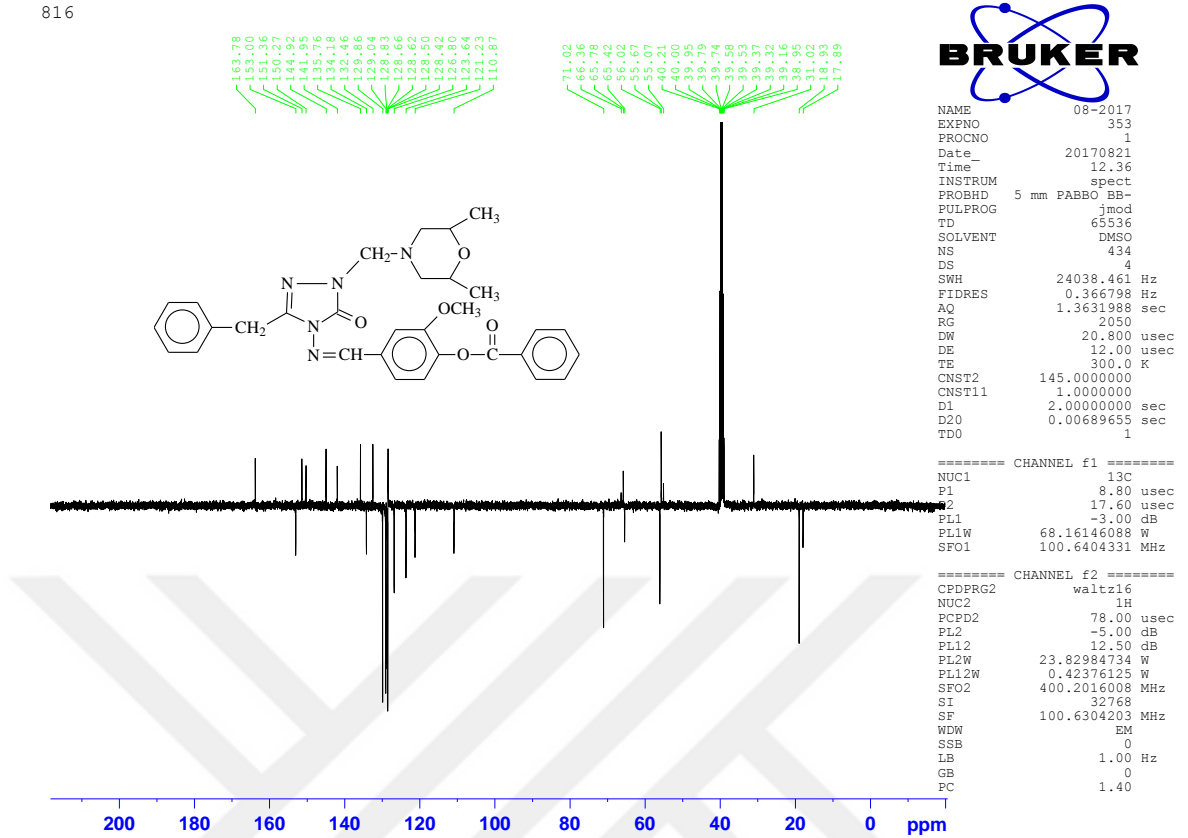
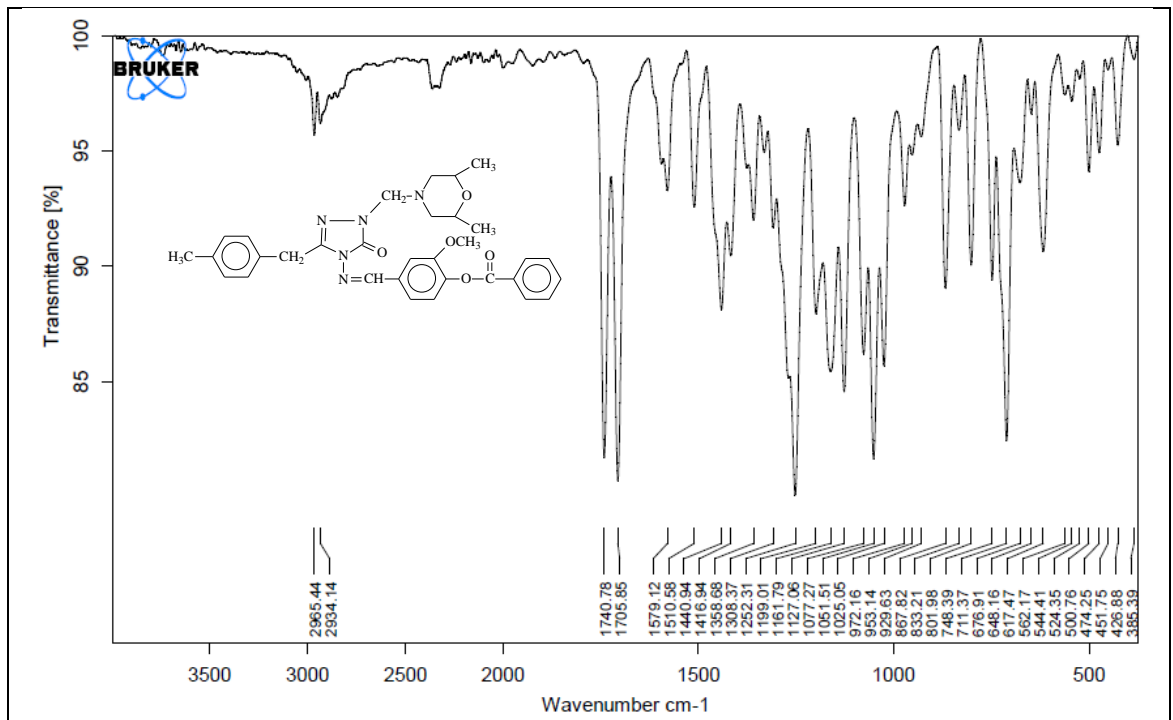
Ek Şekil 24. 77b Bileşiğinin ¹³C-NMR (DMSO-d₆) spektrumu



Ek Şekil 25. 77c Bileşiğinin IR spektrumu

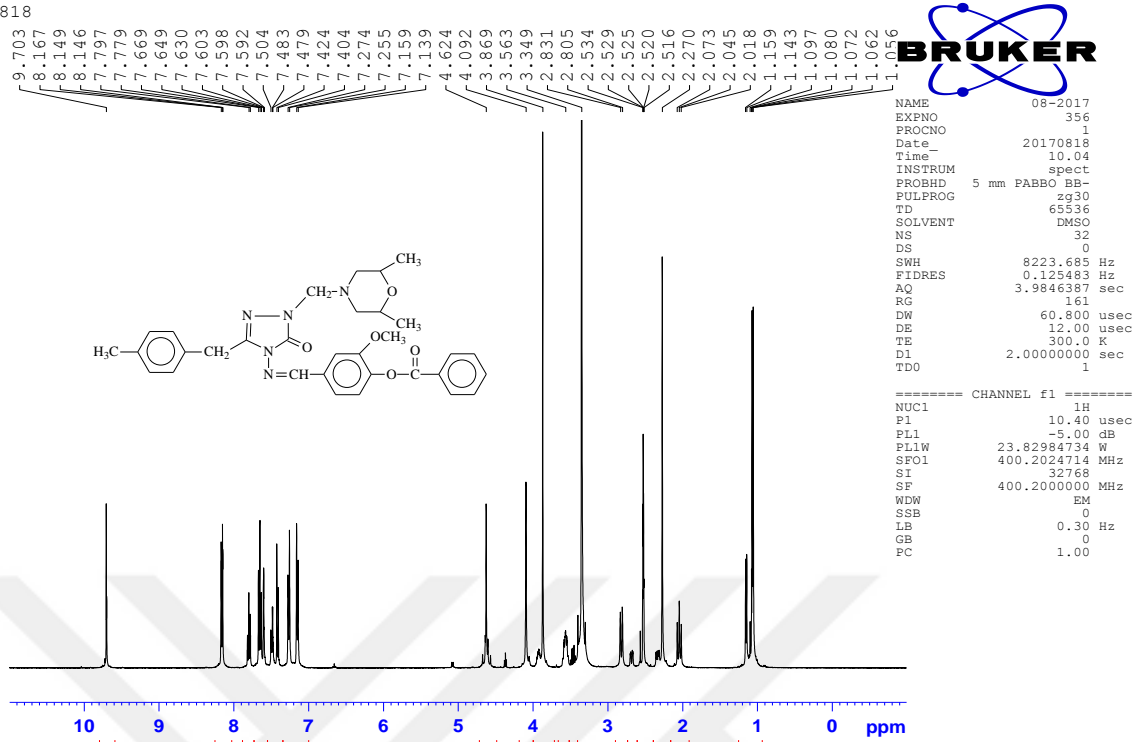


Ek Şekil 26. 77c Bileşiğinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) spektrumu

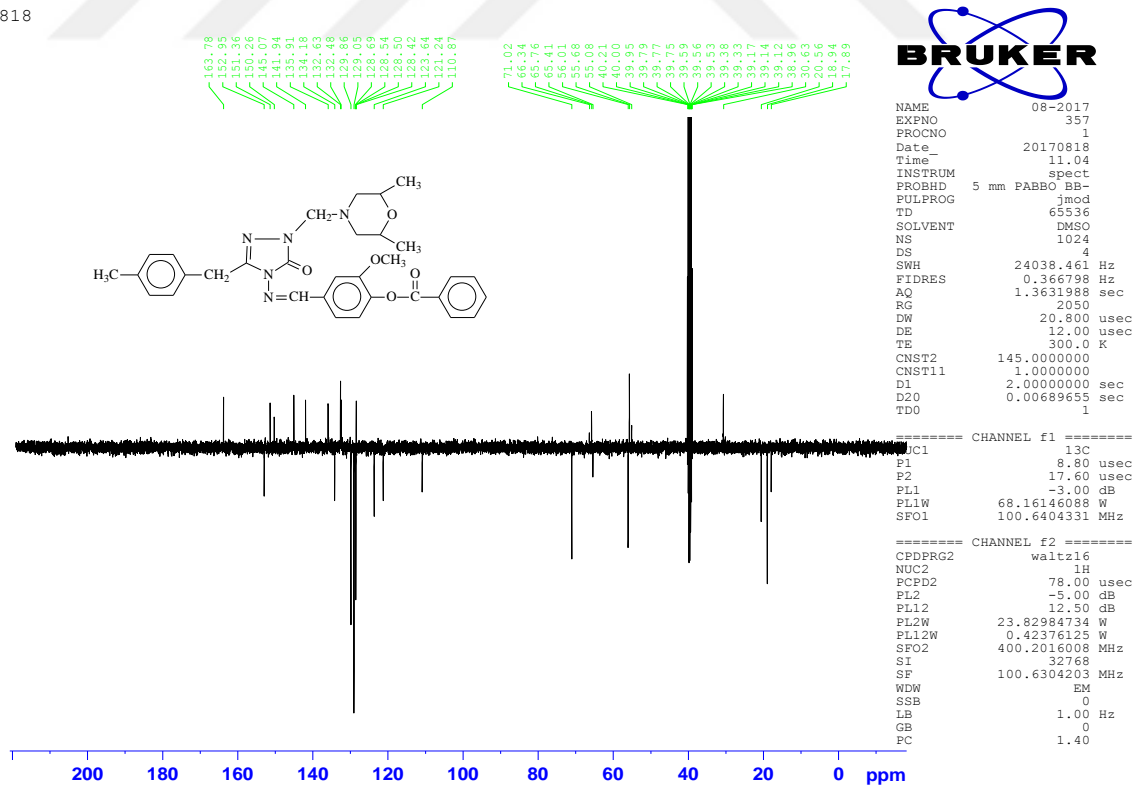
Ek Şekil 27. 77c Bileşiminin ^{13}C -NMR (DMSO- d_6) spektrumu

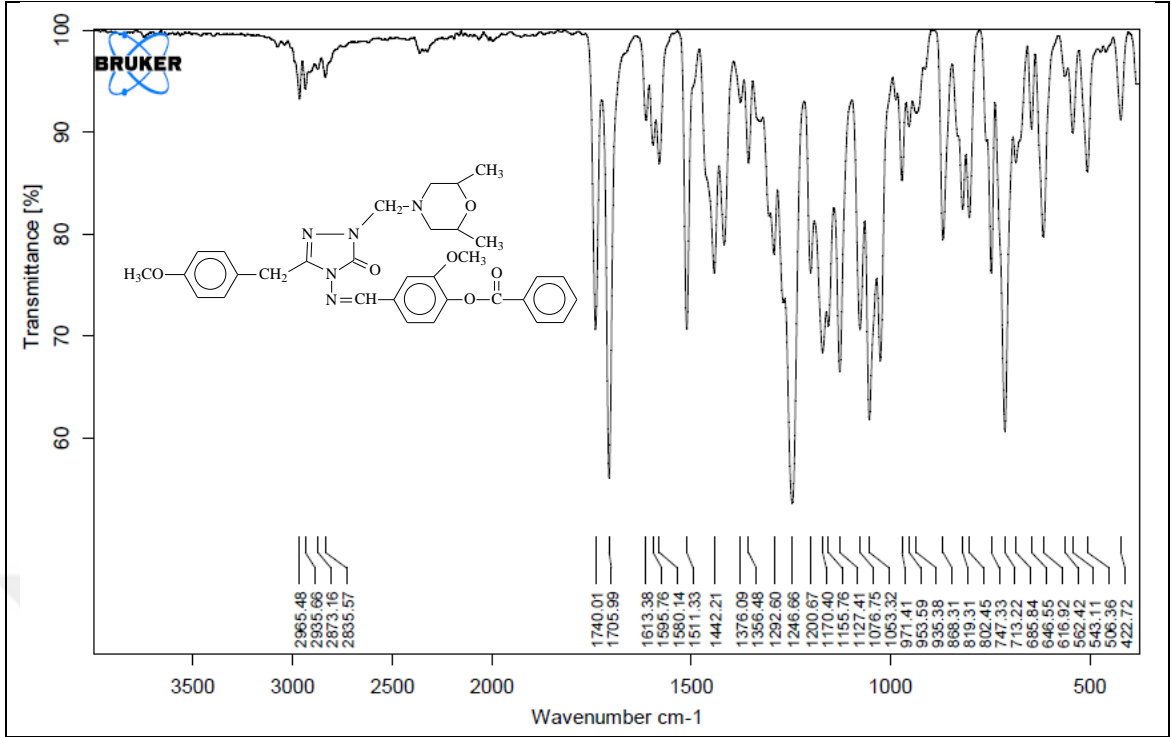
Ek Şekil 28. 77d Bileşiminin IR spektrumu

818

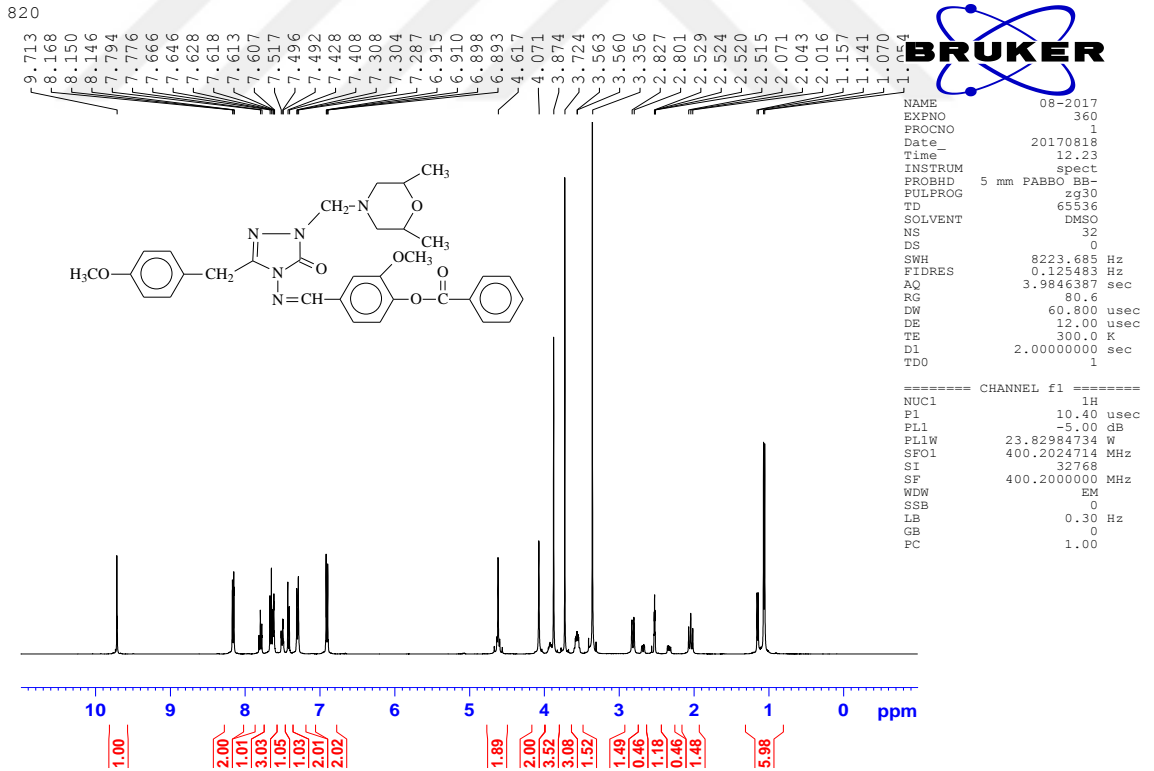
Ek Şekil 29. 77d Bileşiğinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) spektrumu

818

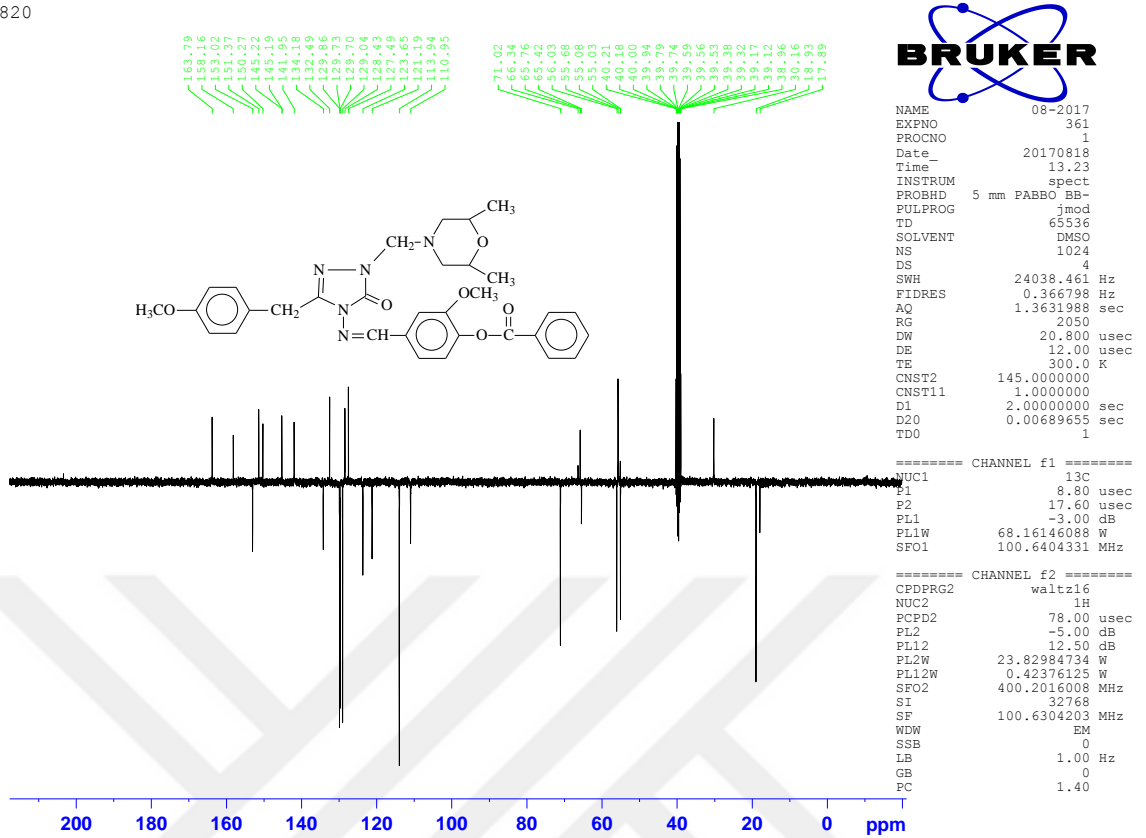
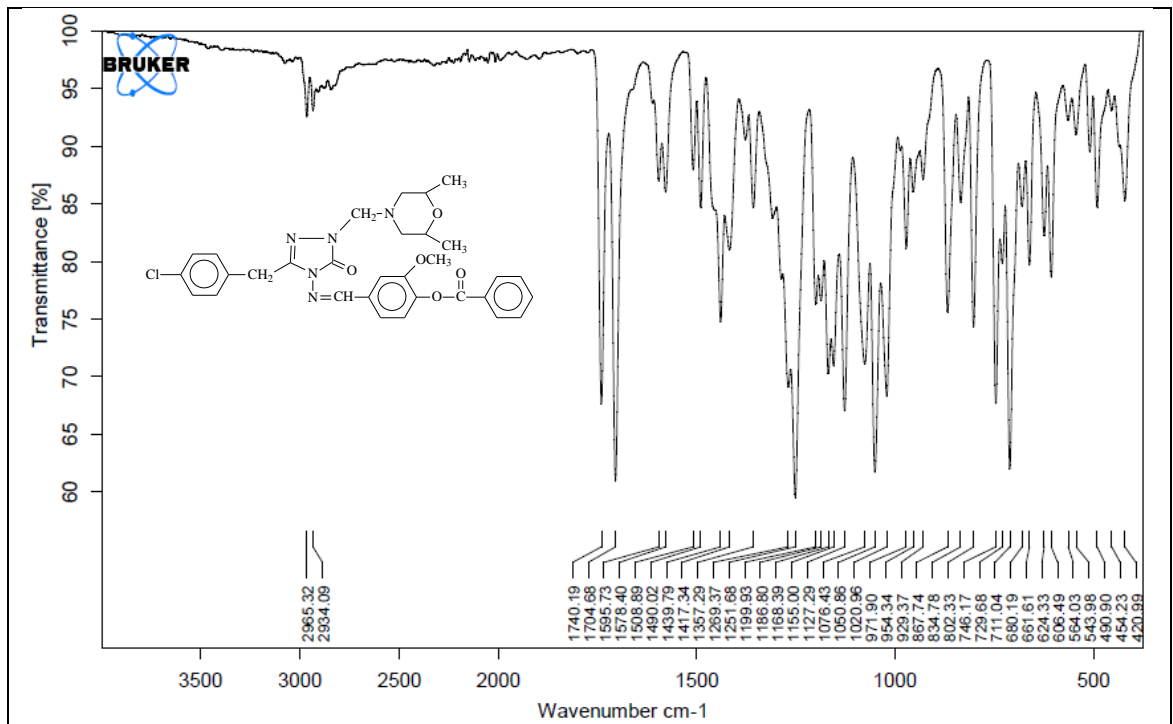
Ek Şekil 30. 77 d Bileşiğinin ¹³C-NMR (DMSO-d₆) spektrumu



Ek Şekil 31. 77e Bileşiğinin IR spektrumu

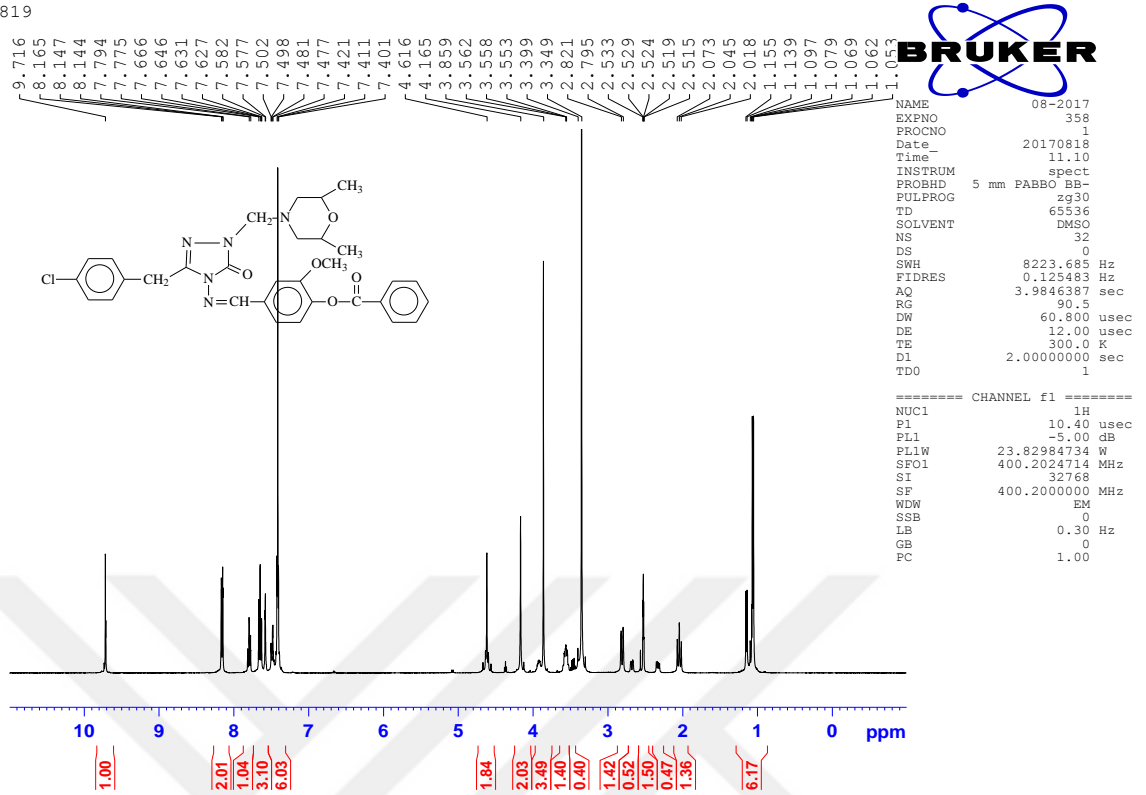


Ek Şekil 32. 77e Bileşiğinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) spektrumu

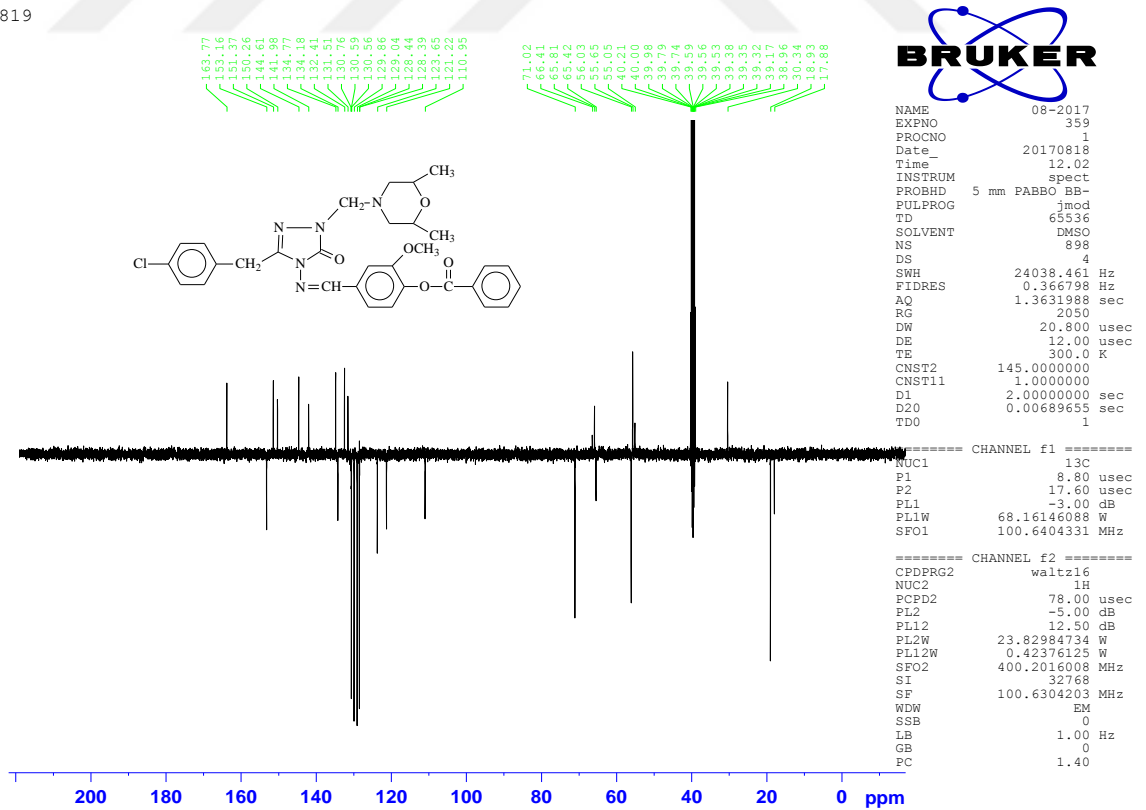
Ek Şekil 33. 77e Bileşiminin ^{13}C -NMR (DMSO- d_6) spektrumu

Ek Şekil 34. 77f Bileşiminin IR spektrumu

819

Ek Şekil 35. 77f Bileşiğinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) spektrumu

819

Ek Şekil 36. 77f Bileşiğinin ¹³C-NMR (DMSO-d₆) spektrumu

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Yonca YILMAZ

Adres : Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü

E posta : yoncaylmz36@gmail.com

Lisans : Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü

Yüksek Lisans Tez Konusu: Hetero Halkalı Bazı Yeni Bileşiklerin Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi