

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

BAZI YENİ 1-(MORFOLİN-4-İL/3-METİLPİPERİDİN-1-İL)-METİL-3-ALKİL-
4-[3-(3-NİTROBENZOKSİ)-4-METOKSİBENZİLİDENAMİNO]-4,5-DİHİDRO-
1H-1,2,4-TRİAZOL-5-ON'LARIN SENTEZİ VE BAZI ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ

Ezgi Gül GÖKER
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Haydar YÜKSEK

ARALIK-2016
KARS

Bu tez çalışması 2016-FM-68 nolu proje ile Kafkas Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

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

**BAZI YENİ 1-(MORFOLİN-4-İL/3-METİLPİPERİDİN-1-İL)-METİL-3-ALKİL-
4-[3-(3-NİTROBENZOKSİ)-4-METOKSİBENZİLİDENAMİNO]-4,5-DİHİDRO-
1H-1,2,4-TRİAZOL-5-ON'LARIN SENTEZİ VE BAZI ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

**Ezgi Gül GÖKER
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Haydar YÜKSEK**

ARALIK-2015

KARS

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi **Ezgi Gül GÖKER**'in Prof. Dr. Haydar YÜKSEK danışmanlığında yüksek lisans tezi olarak hazırladığı "Bazı Yeni 1-(Morfolin-4-il/3-metilpiperidin-1-il)-metil-3-alkil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on'ların Sentezi ve Bazı Özelliklerinin İncelenmesi" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy. . . **birliği** ile kabul edilmiştir.

02 / 12 / 2016

Adı ve Soyadı

İmza

Başkan : Prof. Dr. Haydar YÜKSEK (Danışman)



Üye : Prof. Dr. Muzaffer ALKAN



Üye : Yrd. Doç. Dr. Faruk KARDAŞ



Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun . . / . . / 2016 gün ve / sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Doç. Dr. Özlem GÜRSOY KOL
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

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

Çalışma dört bölümde planlanmıştır. Öncelikle çalışma için gerekli olan ve literatürde kayıtlı olan 5 adet 3-alkil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri sentezlenmiştir. Çalışmanın devamında 3-nitrobenzoil klorür ile 3-hidroksi-4-metoksibenzaldehidin soğukta trietilamin varlığında reaksiyonları sonucu 3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzaldehid bileşiği elde edilmiştir. Daha sonra bu bileşiklerin 3-alkil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri ile muamelesinden yine literatürde kayıtlı 5 adet 3-alkil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşiği sentezlenmiştir. Çalışmanın orijinal bölümünde, sentezlenen bu bileşikler Mannich reaksiyonu uyarınca formaldehit ve morfolin ile muamele edilerek 5 adet yeni 1-(morfolin-4-il)-metil-3-alkil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşiği ve formaldehid, 3-metilpiperidin ile muamele edilerek 5 adet yeni 1-(3-metilpiperidin-1-il)-metil-3-alkil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşiği sentezlenmiştir. Çalışmanın ikinci bölümünde sentezlenen 10 yeni bileşiğin yapıları IR, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektroskopik yöntemleri kullanılarak aydınlatılmıştır. Üçüncü bölümde yeni bileşiklerin *in-vitro* antimikrobiyal özellikleri agar kuyucuk yöntemi ile incelenmiş ve elde edilen sonuçlar değerlendirilmiştir. Çalışmanın son bölümünde ise sentezlenen yeni 1,2,4-triazol halkası içeren N-Mannich Bazlarının indirgeme gücü, serbest radikal giderme aktivitesi ve metal şelat aktivitesi yöntemleri kullanılarak *in-vitro* antioksidan özellikleri incelenmiştir.

Çalışmayı planlayan, yöneten ve her aşamasını titizlikle takip eden, engin bilgi ve tecrübesinden faydalandığım kıymetli danışman hocam Fen-Edebiyat Fakültesi Dekanı ve Kimya Bölüm Başkanı Prof. Dr. Haydar YÜKSEK'e teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Bizlerden desteğini hiç esirgemeyen sayın hocam, Fen Bilimleri Enstitü Müdürü Doç. Dr. Özlem GÜRSOY KOL'a teŖekkür ederim.

Tez alıŖmama laboratuvar alıŖmalarıyla destek veren Eğitim Fakültesi öğretim üyesi sayın hocam, Prof. Dr. Muzaffer ALKAN'a teŖekkür ederim.

Laboratuvar alıŖmalarında bana sabırla yardım eden hocam, AraŖtırma Görevlisi Sevda MANAP'a ve tez yazım aŖamasında sonsuz sabır ve özen gösteren değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Murat BEYTUR'a emeklerinden dolayı teŖekkür ederim.

YaŖamımın her alanında parmak izleri olan, sınırsız sabır ve desteğini benden hiç eksik etmeyen canım babama, bıkmadan bana tahammül eden canım anneme, moral ve motivasyonumu artıran kardeŖime, bana her türlü desteğini esirgemeyen eŖime sonsuz teŖekkürlerimi sunarım.

Aralık 2016

Ezgi Gül GÖKER

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	III
İÇİNDEKİLER	V
ÖZET	IX
SUMMARY	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
TABLolar DİZİNİ	XIII
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XIV
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1 Giriş.....	1
1.2. Yeni bileşiklerin Sentezi.....	20
1.3. Antimikrobiyaller.....	24
1.3.1. Antimikrobiyallerin Sınıflandırılması.....	25
1.3.1.1. Yapılarına Göre Antimikrobiyaller.....	25
1.3.1.2. Etki Spektrumuna Göre Antimikrobiyaller.....	27
1.3.1.3. Hedef Mikroorganizmaya Göre Antimikrobiyaller.....	27
1.3.1.4. Etki Mekanizmalarına göre Antimikrobiyaller.....	30
1.3.1.4.1. Hücre Duvarı Sentezini İnhibe Eden Antimikrobiyaller.....	30
1.3.1.4.1.1. Beta Laktamlar.....	30
1.3.1.4.1.2. Glikopeptitler.....	31
1.3.1.4.1.3. Diğerleri.....	31
1.3.1.4.2. Protein Sentezini İnhibe Eden Antimikrobiyaller.....	31
1.3.1.4.3. Nükleik Asit Sentezini İnhibe Eden Antimikrobiyaller.....	32
1.3.1.4.4. Antimetabolitler.....	32
1.3.1.4.5. Membran Bütünlüğünü Bozan Antimikrobiyaller.....	33
1.3.2. Antimikrobiyal Direnç.....	33
1.3.2.1. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları.....	34
1.3.3. Antimikrobiyallerin Geleceği ve Direncin Önlenmesi.....	35
1.3.4. Antimikrobiyal Aktivite Düzeyinin Belirlenmesi.....	36
1.3.4.1. Disk Difüzyon Yöntemi.....	37

1.3.4.2. Tüp Dilüsyon Yöntemi.....	38
1.3.4.3. Türbidimetrik Yöntem	38
1.3.4.4. İmpedimetrik Yöntem.....	39
1.4. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar	39
1.4.1. Oksijen ve Reaktif Oksijen Türleri (ROT)	41
1.4.1.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$).....	42
1.4.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	43
1.4.1.3. Hidroksil Radikali ($\cdot OH$).....	44
1.4.1.4. Singlet Oksijen (1O_2).....	45
1.4.1.5. Hipoklorik Asit (HOCl)	45
1.4.1.6. Nitrik Oksit (NO \cdot).....	45
1.4.2. Serbest Radikallerin Etkileri.....	46
1.4.2.1. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri	46
1.4.2.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri.....	46
1.4.2.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitlere ve DNA'ya Etkileri.....	47
1.4.2.4. Serbest Radikallerin Karbohidratlara Etkisi.....	47
1.4.3. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	47
1.4.4. Antioksidan Aktivite Tayin Metodları	48
1.4.4.1. HAT-Temelli Metodlar	49
1.4.4.2. ET-Temelli Metodlar	50
1.5. 3-Alkil-4-amino-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on Bileşiklerinin Sentezi.....	52
1.6. 3-Alkil-4-amino-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on Bileşiklerinin Bazı Reaksiyonları	57
1.7. Antimikrobiyal Aktiviteyle İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar.....	78
2. MATERYAL VE YÖNTEM	98
2.1. Sentez.....	98
2.1.1. 1-(Morfolin-4-il)-metil-3-metil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenziliden amino]-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on (12):.....	99
2.1.2. 1-(Morfolin-4-il)-metil-3-etil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenziliden amino]-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on (13):.....	101

2.1.3.	1-(Morfolin-4-il)-benzil-3-alkil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenziliden amino]-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on (14):	103
2.1.4.	1-(Morfolin-4-il)-metil-3- <i>p</i> -metilbenzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi benzilidenamino]-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on (15):	105
2.1.5.	1-(Morfolin-4-il)-metil-3- <i>p</i> -klorobenzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi benzilidenamino]-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on (16):	107
2.1.6.	1-(3-Metilpiperidin-1-il)-metil-3-metil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi benzilidenamino]-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on (18):	109
2.1.7.	1-(3-Metilpiperidin-1-il)-metil-3-etil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi benzilidenamino]-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on (19):	111
2.1.8.	1-(3-Metilpiperidin-1-il)-metil-3-benzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi benzilidenamino]-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on (20):	113
2.1.9.	1-(3-Metilpiperidin-1-il)-metil-3- <i>p</i> -metilbenzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on (21):	115
2.1.10.	1-(3-Metilpiperidin-1-il)-metil-3- <i>p</i> -klorobenzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on (22):	117
2.2.	Antimikrobiyal Aktivite Tayini.....	119
2.2.1.	Kullanılan Mikroorganizmalar.....	119
2.2.1.1.	Bacillus Subtilis	119
2.2.1.2.	Bacillus Cereus	119
2.2.1.3.	Staphylococcus aureus	120
2.2.1.4.	Escherichia coli.....	120
2.2.1.5.	Pseudomonas aeruginosa	120
2.2.1.6.	Klebsiella Pneumonia	121
2.2.2.	Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu	121
2.3.	Yeni Maddelerin Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi	122
2.3.1.	İndirgeme Gücü	122
2.3.2.	Serbest Radikal Giderme Aktivitesi.....	123
2.3.3.	Metal Şelat Aktivitesi.....	124

3. BULGULAR.....	125
3.1. Sentezlenen Bileşiklerin IR, ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR Spektrum Verileri	125
3.2. Antimikrobiyal İncelemeleri	126
3.3 Antioksidan İncelemeleri.....	126
3.3.1. İndirgeme Gücü	126
3.3.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi.....	127
3.3.3. Metal Şelat Aktivitesi.....	128
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	130
4.1. Sentezlenen Bileşiklere Ait Spektrum Verilerinin Yorumlanması	130
4.2. Antimikrobiyal Etkinlik Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	132
4.3. Antioksidan İncelemesi Sonuçlarının Değerlendirilmesi	139
4.3.1. İndirgeme Gücü	139
4.3.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi.....	139
4.3.3. Metal Şelat Aktivitesi.....	140
4.4. İncelenen Reaksiyonların Mekanizmaları.....	141
5. KAYNAKLAR	143
6. EKLER.....	159
ÖZGEÇMİŞ.....	190

ÖZET

Bu çalışmada, öncelikle çalışma için gerekli olan 5 adet 3-alkil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşiği sentezlenmiştir. Sonra bu bileşiklerin 3-hidroksi-4-metoksibenzaldehid'in trietilamin varlığında 3-nitrobenzoil klorür ile reaksiyonundan sentezlenen 3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzaldehid ile muamelesinden 5 adet 3-alkil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri elde edilmiştir.

Çalışmanın orjinal bölümünde, 3-alkil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin formaldehit varlığında morfolin ve 3-metil piperidin ile ayrı ayrı muamele edilerek karşın olan 5 adet yeni 1-(morfolin-4-il)-metil-3-alkil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on ve 5 adet yeni 1-(3-Metilpiperidin-1-il)-metil-3-alkil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri sentezlenmiştir. Sentezlenen 10 yeni bileşiğin yapıları IR, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektroskopik yöntemleri kullanılarak aydınlatılmıştır.

Daha sonra çalışmada sentezlenen 10 yeni bileşiğin agar kuyucuk yöntemi ile antimikrobiyal özellikleride incelenmiştir ve değerlendirilmiştir.

Çalışmada son olarak, sentezlenen yeni bileşiklerin 3 farklı yöntemle (indirgeme gücü, serbest radikal giderme aktivitesi, metal şelat aktivitesi) antioksidan özellikleri incelenmiş ve bulunan sonuçlar tartışılmıştır.

2016, 190 sayfa

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

SUMMARY

In this study, primarily five 3-alkyl-4-amino-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-ones requiring for this study were synthesized. Then, the reactions of these compounds with 3-(3-nitrobenzoxy)-4-methoxybenzaldehyde were investigated and five 3-alkyl-4-[3-(3-nitrobenzoxy)-4-methoxybenzylideneamino]-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-ones were obtained.

In the original section of the work, from the reactions of 3-alkyl-4-[3-(3-nitrobenzoxy)-4-methoxybenzylideneamino]-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-ones with separately morpholine and 3-methyl piperidine in the presence of formaldehyde. Five new 1-(morpholino-4-yl)-methyl-3-alkyl-4-[3-(3-nitrobenzoyl)-4-methoxybenzylideneamino]-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-one and five new 1-(3-methylpiperidin-1-yl)-methyl-3-alkyl-4-[3-(3-nitrobenzoyl)-4-methoxybenzylidene amino]-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-ones were synthesized. The structures of synthesized ten novel compounds were characterized by using IR, ¹H-NMR and ¹³C-NMR spectroscopic methods.

Then, antimicrobial properties of synthesized novel compounds were investigated and evaluated with agar well diffusion method

In the study, finally, antioxidant properties of synthesized new compounds were investigated and conclusions obtained were discussed with antioxidant methods (reducing power, free radical scavenging and metal chelating activity).

2016, 190 pages

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

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1.	Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu Uygulanmış Analiz Petri Kab (Antimikrobiyal etkinlik yok) (Örnek)	132
Şekil 4.2.	Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu Uygulanmış Analiz Petri Kab (Antimikrobiyal etkinlik var) (Örnek)	133
Şekil 4.3.	11 (1-5A) Tipi bileşiklerin <i>Bacillus Substilis</i> 'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı	133
Şekil 4.4.	11 (1-5B) Tipi bileşiklerin <i>Bacillus cereus</i> 'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı	134
Şekil 4.5.	11 (1-5C) Tipi bileşiklerin <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'ya karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı	135
Şekil 4.6.	11 (1-5D) Tipi bileşiklerin <i>Klebsiella pneumonia</i> 'ya karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı	135
Şekil 4.7.	11 (1-5E) Tipi bileşiklerin <i>Staphylococcus aureus</i> 'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı	136
Şekil 4.8.	11 (1-5F) Tipi bileşiklerin <i>Escherichia coli</i> 'ya karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı	136
Şekil 4.9.	17 (1-5A) Tipi bileşiklerin <i>Bacillus Substilis</i> 'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı	137
Şekil 4.10.	17 (1-5B) Tipi bileşiklerin <i>Bacillus cereus</i> 'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı	137
Şekil 4.11.	17 (1-5C) Tipi bileşiklerin <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'ya karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı	138
Şekil 4.12.	17 (1-5D) Tipi bileşiklerin <i>Klebsiella pneumonia</i> 'ya karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı	138
Şekil 4.13.	17 (1-5E) Tipi bileşiklerin <i>Staphylococcus aureus</i> 'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı	139
Şekil 4.14.	17 (1-5F) Tipi bileşiklerin <i>Escherichia coli</i> 'ya karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı	139
Şekil 4.15.	11 Tipi Bileşiklerin Konsantrasyona Karşı % Metal Şelat Aktiviteleri	141

Şekil 4.16.	17 Tipi Bileşiklerin Konsantrasyona Karşı % Metal Şelat Aktiviteleri	141
Ek Şekil 1.	12 Bileşiğinin IR Spektrumu	160
Ek Şekil 2.	12 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	161
Ek Şekil 3.	12 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	162
Ek Şekil 4.	13 Bileşiğinin IR Spektrumu	163
Ek Şekil 5.	13 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	164
Ek Şekil 6.	13 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	165
Ek Şekil 7.	14 Bileşiğinin IR Spektrumu	166
Ek Şekil 8.	14 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	167
Ek Şekil 9.	14 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	168
Ek Şekil 10.	15 Bileşiğinin IR Spektrumu	169
Ek Şekil 11.	15 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	170
Ek Şekil 12.	15 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	171
Ek Şekil 13.	16 Bileşiğinin IR Spektrumu	172
Ek Şekil 14.	16 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	173
Ek Şekil 15.	16 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	174
Ek Şekil 16.	18 Bileşiğinin IR Spektrumu	175
Ek Şekil 17.	18 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	176
Ek Şekil 18.	18 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	177
Ek Şekil 19.	19 Bileşiğinin IR Spektrumu	178
Ek Şekil 20.	19 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	179
Ek Şekil 21.	19 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	180
Ek Şekil 22.	20 Bileşiğinin IR Spektrumu	181
Ek Şekil 23.	20 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	182
Ek Şekil 24.	20 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	183
Ek Şekil 25.	21 Bileşiğinin IR Spektrumu	184
Ek Şekil 26.	21 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	185
Ek Şekil 27.	21 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	186
Ek Şekil 28.	22 Bileşiğinin IR Spektrumu	187
Ek Şekil 29.	22 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	188
Ek Şekil 30.	22 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	189

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1.1	Formüller Tablosu	2
Tablo 1.2.	Bitki, hayvan ve mikroorganizmalarda doğal olarak bulunan başlıca antimikrobiyal sistemler	26
Tablo 2.1.	İndirgeme Gücü Tayininde İlave Edilen Reaktif Miktarları	123
Tablo 2.2.	Serbest Radikal Giderme Tayininde İlave Edilen Reaktif Miktarları	124
Tablo 2.3.	Metal Şelat Aktivitesi Tayininde İlave Edilen Reaktif Miktarları	125
Tablo 3.1.	11 ve 17 Tipi Bileşiklerin Bakterilere Karşın ZON çap değerleri	127
Tablo 3.2.	11 Tipi Bileşiklerin İndirgeme Gücü	128
Tablo 3.3.	17 Tipi Bileşiklerin İndirgeme Gücü	128
Tablo 3.4.	11 Tipi Bileşiklerin Absorbans Değerleri ve Karşın Olan % Serbest Radikal Giderme Aktiviteleri	129
Tablo 3.5.	17 Tipi Bileşiklerin Absorbans Değerleri ve Karşın Olan % Serbest Radikal Giderme Aktiviteleri	129
Tablo 3.6.	11 Tipi Bileşiklerin Absorbans Değerleri ve Karşın Olan % Metal Şelat Aktiviteleri	130
Tablo 3.7.	17 Tipi Bileşiklerin Absorbans Değerleri ve Karşın Olan % Metal Şelat Aktiviteleri	130

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	: Absorbans
δ	: Kimyasal kayma (ppm)
ϵ	: Molar absorbtivite katsayısı
λ	: Dalga boyu (nm)
ν	: Dalga sayısı (cm^{-1})
IR	: Infrared
NMR	: Nükleer magnetik rezonans
TMS	: Tetrametilsilan
DMSO	: Dimetilsülfoksit
ROT	: Reaktif oksijen türleri
ETS	: Elektron transfer sistemi
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikril-hidrazil
ABTS	: 2,2'-Azino-bis-(3-etilbenzotiyazolin-6-sulfonik asit)
BHT	: Butillenmiş hidroksi toluen
BHA	: Butillenmiş hidroksi anisol
TCA	: Trikloroasetik asit
Ferrozin	: 3-(2-Piridil)-5,6-difenil-1,2,4-triazin-4',4''-disulfonik asit sodyum tuzu
EDTA	: Etilendiamin tetraasetikasit
MİK	: Minimal inhibitör konsantrasyonu
MLK	: Minimal letal konsantrasyonu

1. GENEL BİLGİLER

1.1 Giriş

“Bazı Yeni 1-(Morfolin-4-il/3-metilpiperidin-1-il)-metil-3-alkil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on’ların Sentezi ve Bazı Özelliklerinin İncelenmesi” başlıklı bu çalışmada, öncelikle karşın olan nitrillerden başlanarak literatürde kayıtlı yöntemler kullanılarak sentezlenen 5 adet iminoester hidroklorürün soğuk mutlak etanollü ortamda etil karbazat ile reaksiyonundan 5 adet ester etoksikarbonilhidrazon bileşiği elde edilmiştir. Bunların da kaynar sulu ortamda hidrazin hidrat ile reaksiyonundan yine literatürde kayıtlı 5 adet 3-alkil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşiği sentezlenmiştir. Bu bileşiklerin de 3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzaldehid ile muamelesinden çalışma için gerekli 5 adet 3-alkil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşiği elde edilmiştir.

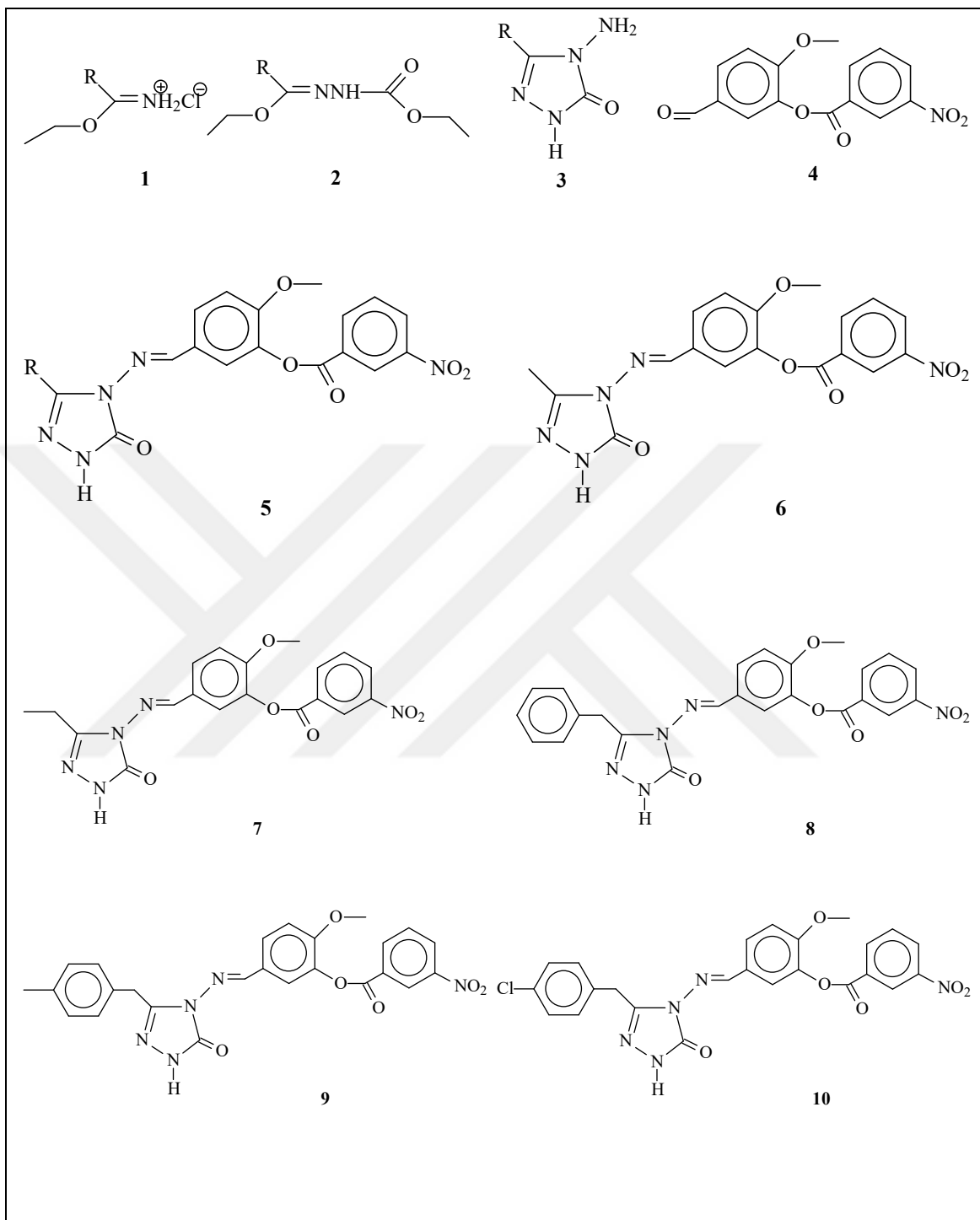
Çalışmanın orjinal bölümünde, 3-alkil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi-benzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin formaldehit varlığında morfolin ve 3-metil piperidin ile ayrı ayrı muamele edilerek karşın olan 5 adet yeni 1-(morfolin-4-il)-metil-3-alkil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on ve 5 adet yeni 1-(3-metilpiperidin-1-il)-metil-3-alkil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri sentezlenmiş ve yapıları aydınlatılmıştır.

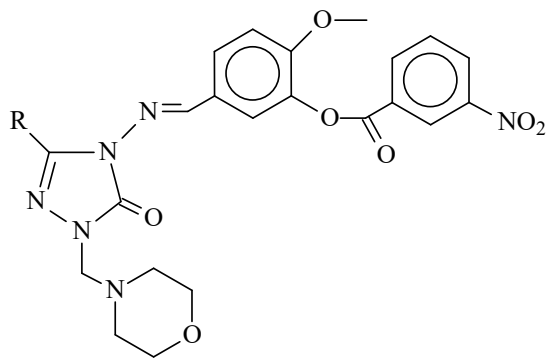
Çalışmada ayrıca, sentezlenen 10 yeni bileşiğin mikrobiyolojik özellikleri incelenmiştir.

Çalışmada son olarak sentezlenen yeni bileşiklerin indirgeme gücü, serbest radikal giderme aktivitesi ve metal şelat aktivitesi yöntemleri ile *in-vitro* antioksidan özellikleri de incelenmiştir.

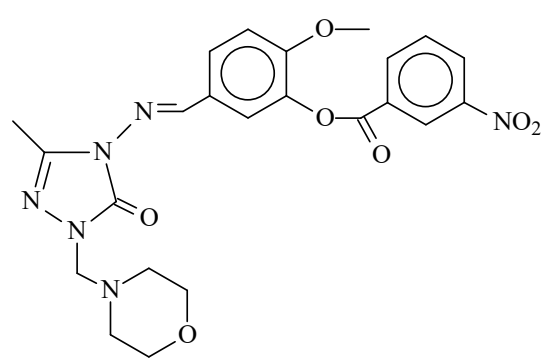
Çalışma ile ilgili literatürde kayıtlı bileşikler ile çalışmada sentezlenen yeni bileşiklerin formülleri Tablo 1.1.’de “**Formüller Tablosu**” başlığı altında verilmiştir.

Tablo 1.1. Formüller Tablosu

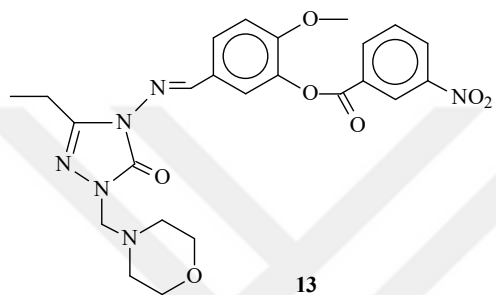




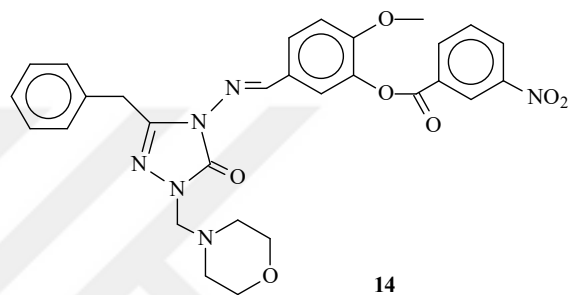
11



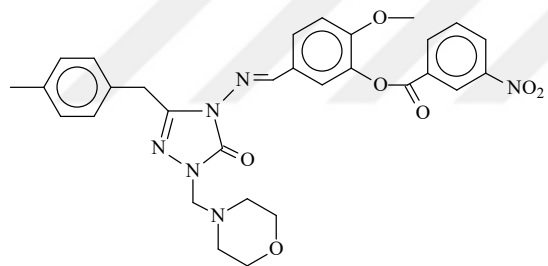
12



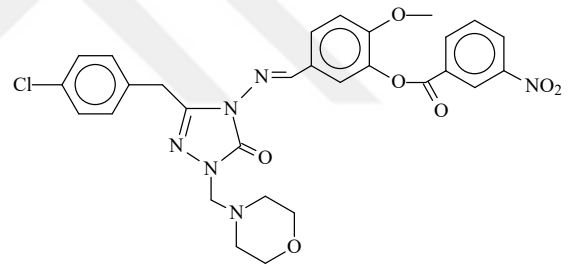
13



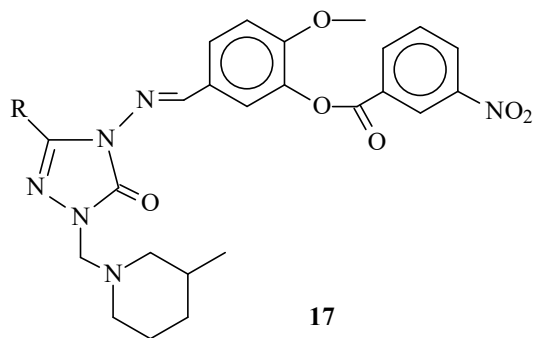
14



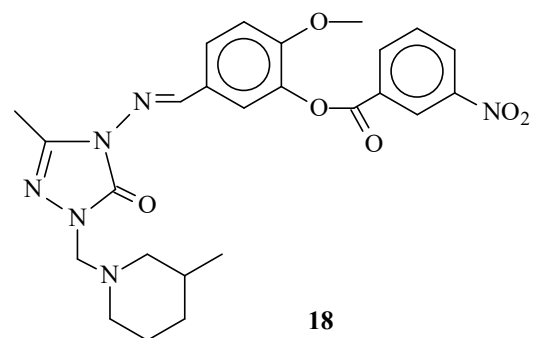
15



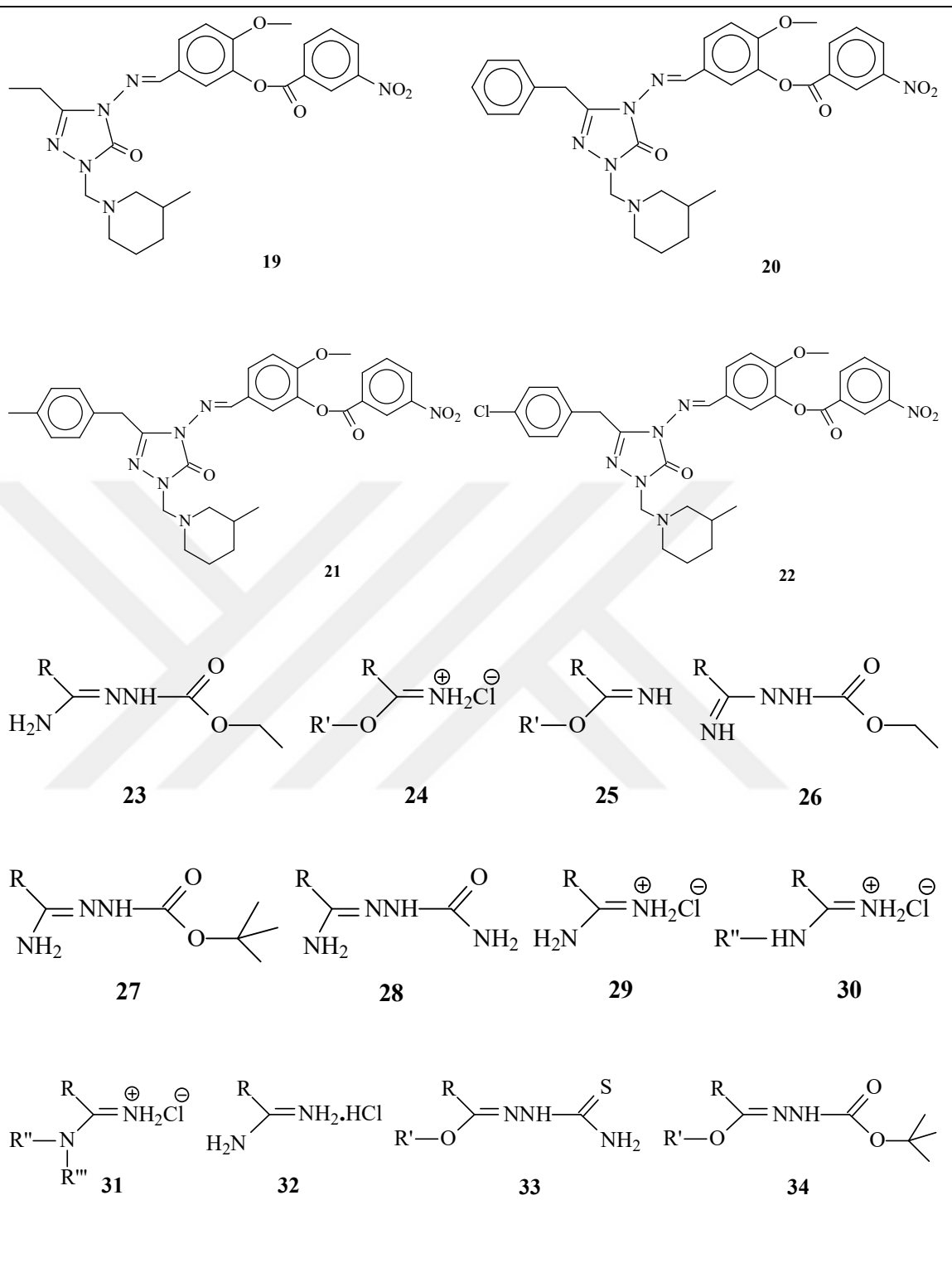
16

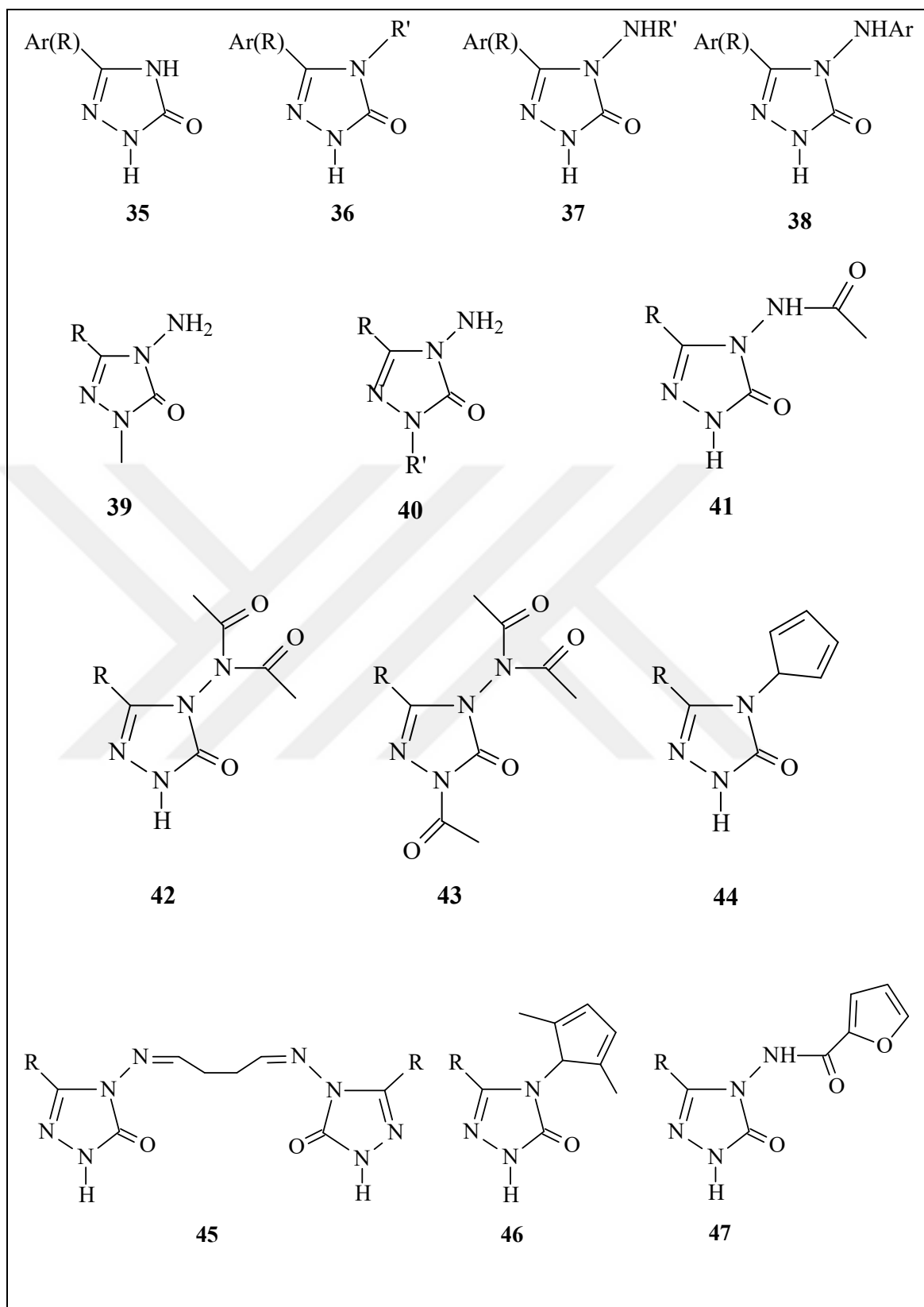


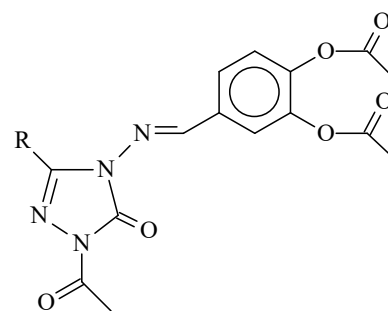
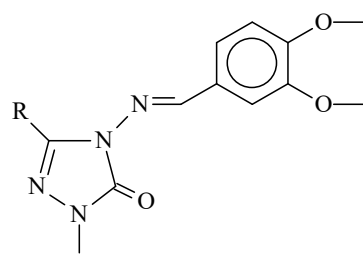
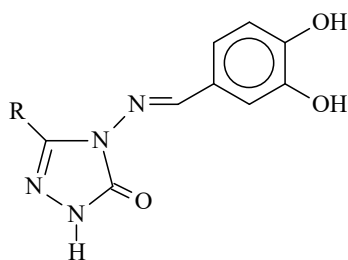
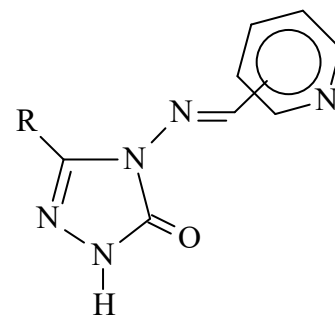
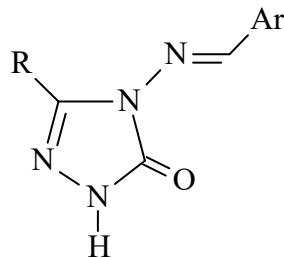
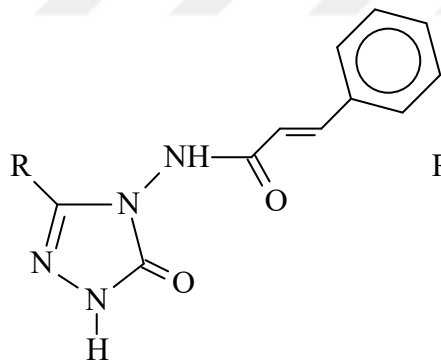
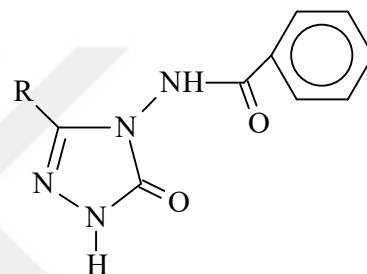
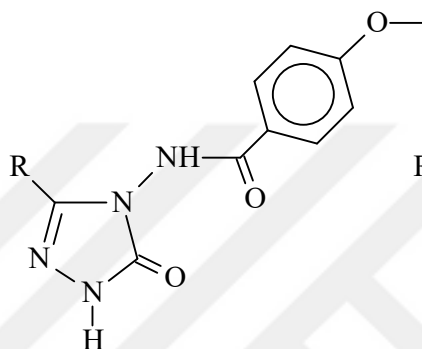
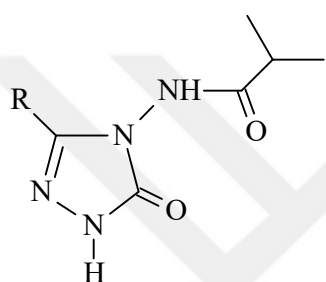
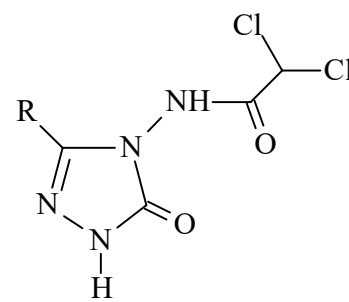
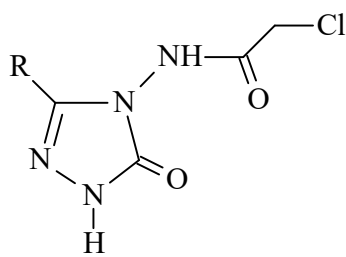
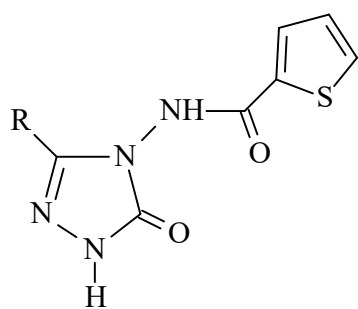
17

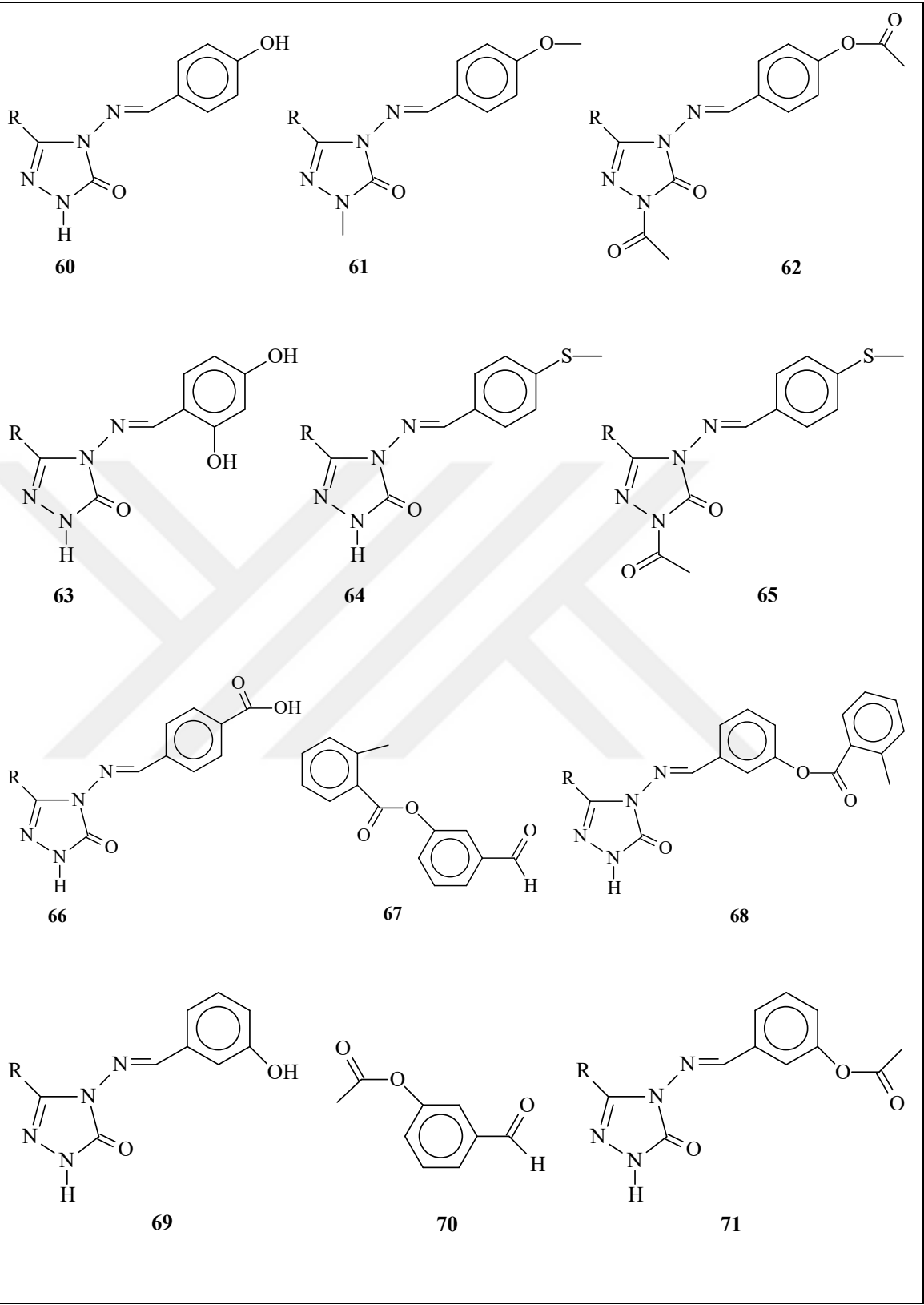


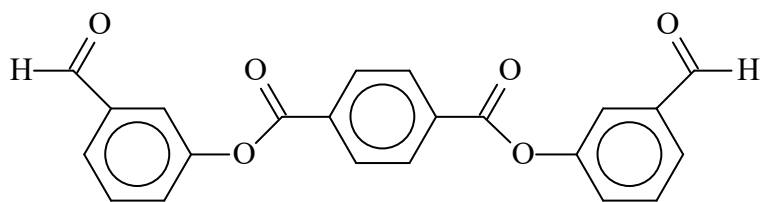
18



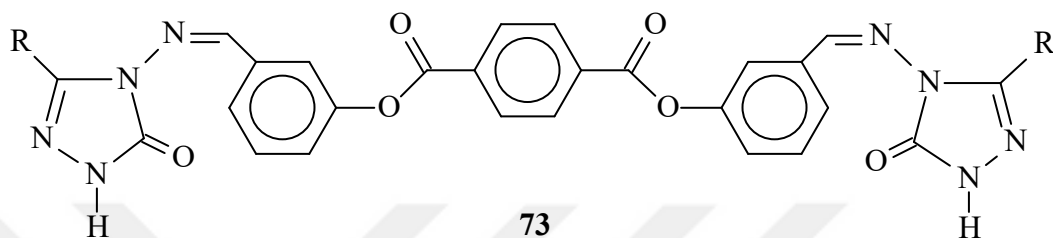




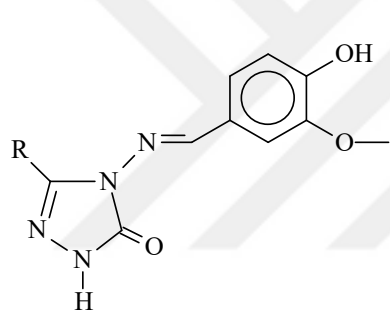




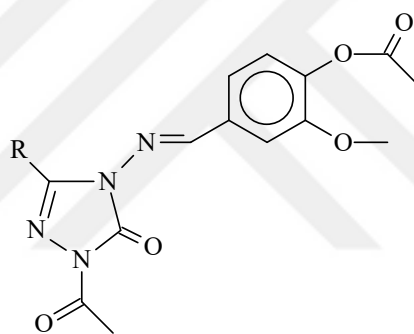
72



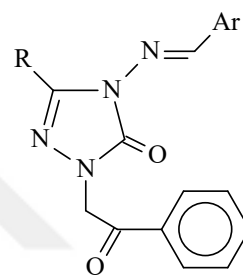
73



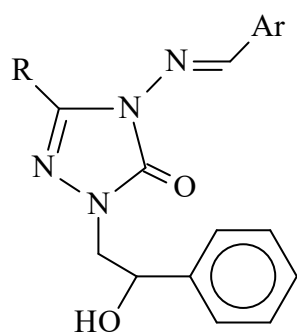
74



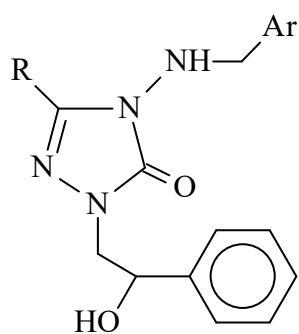
75



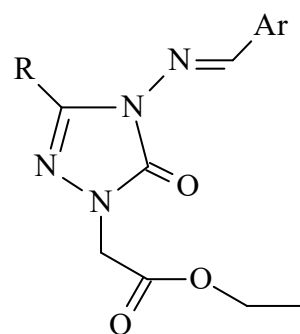
76



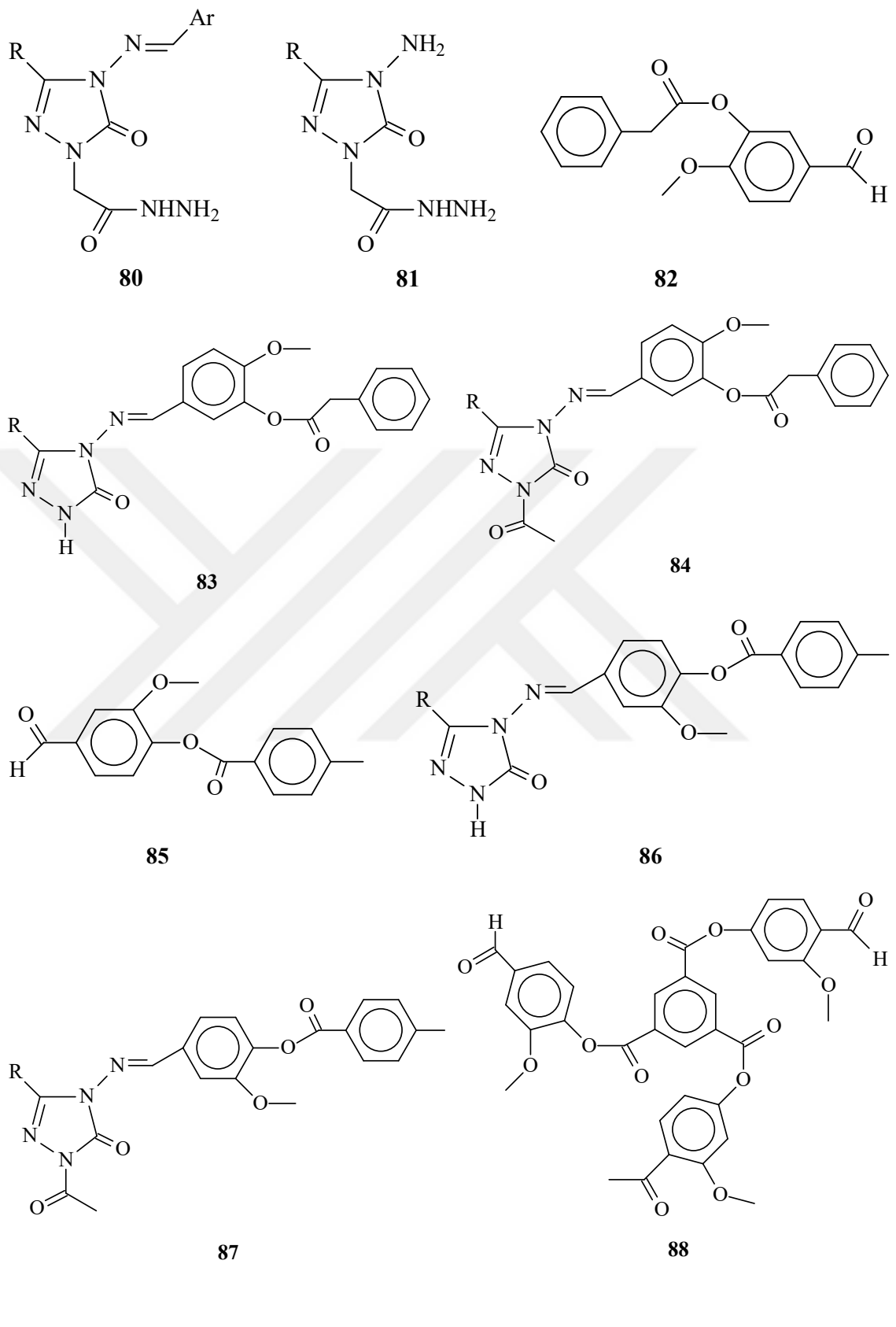
77

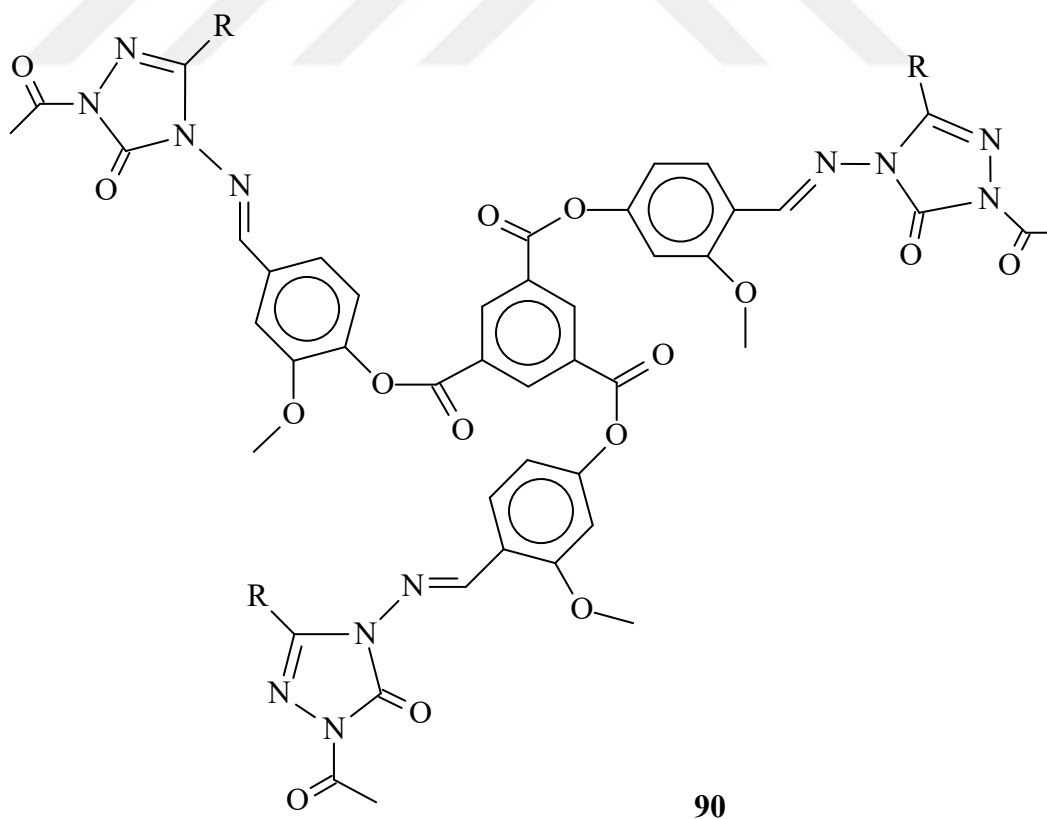
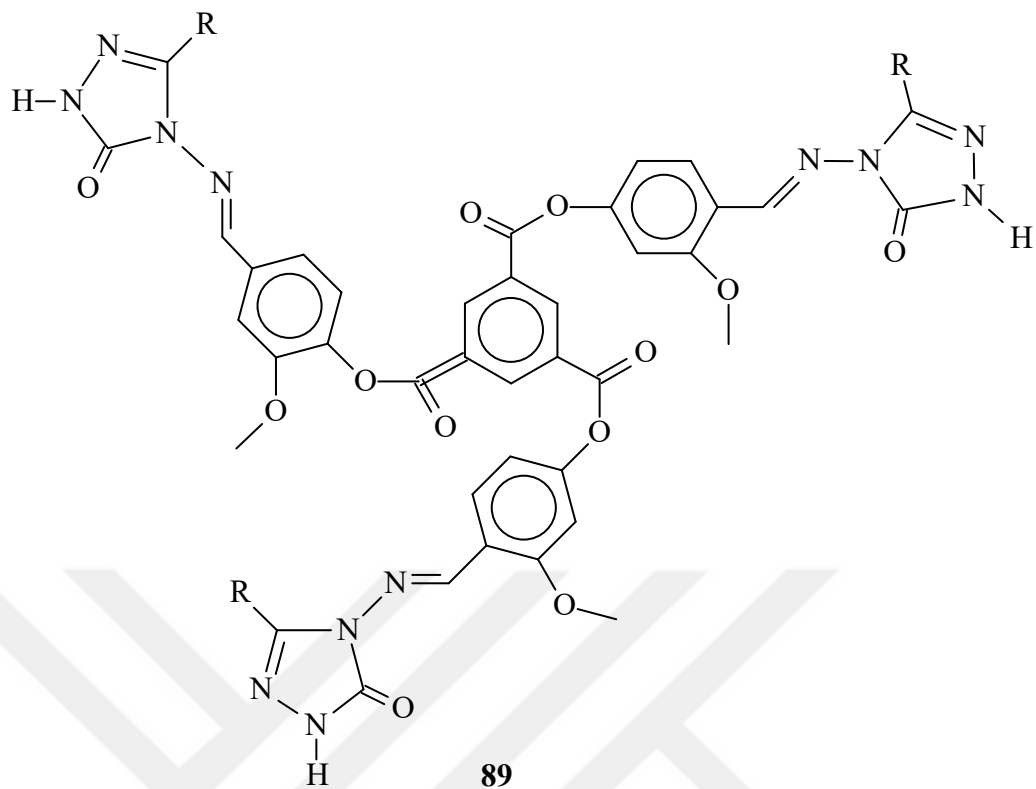


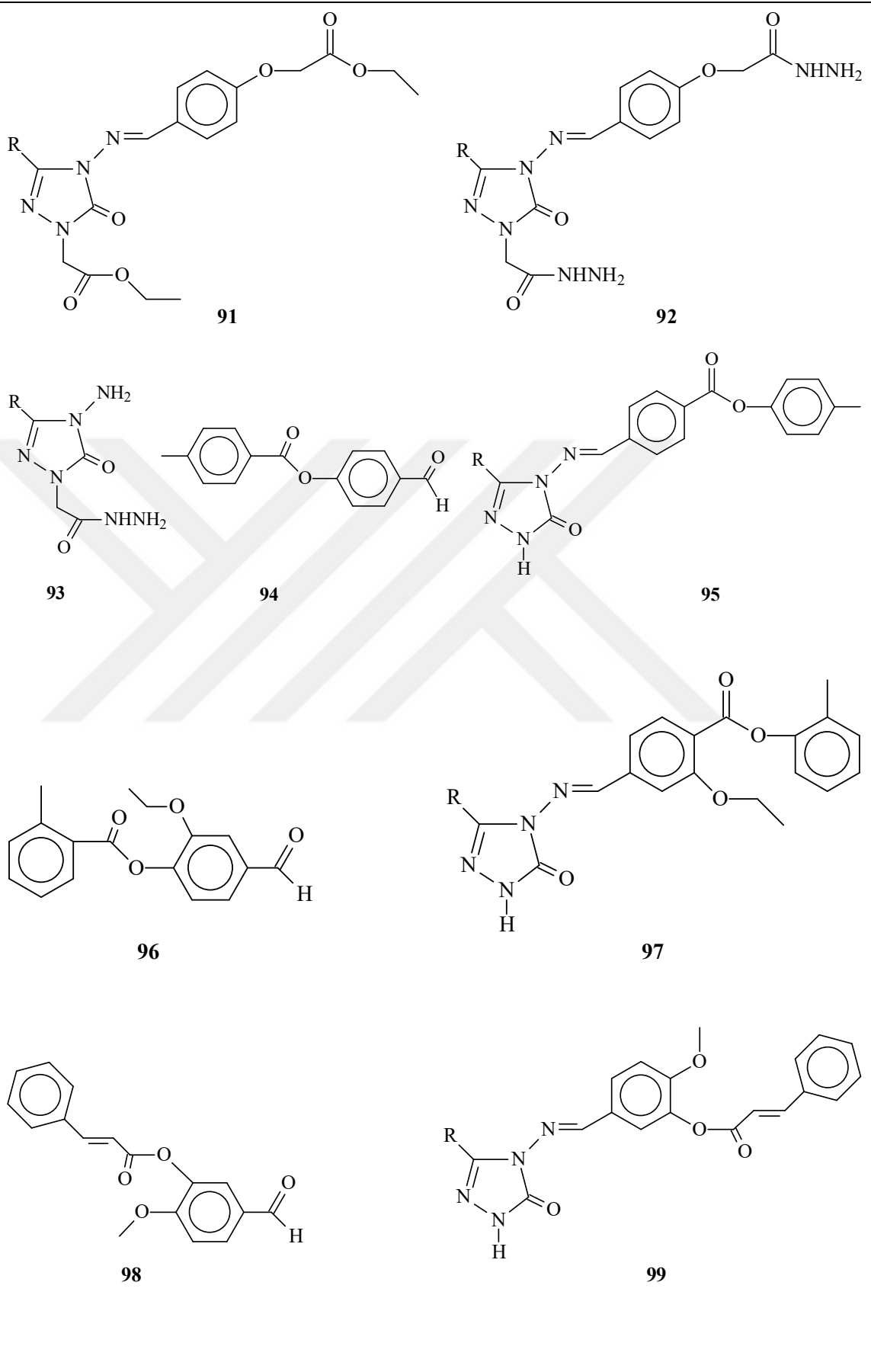
78

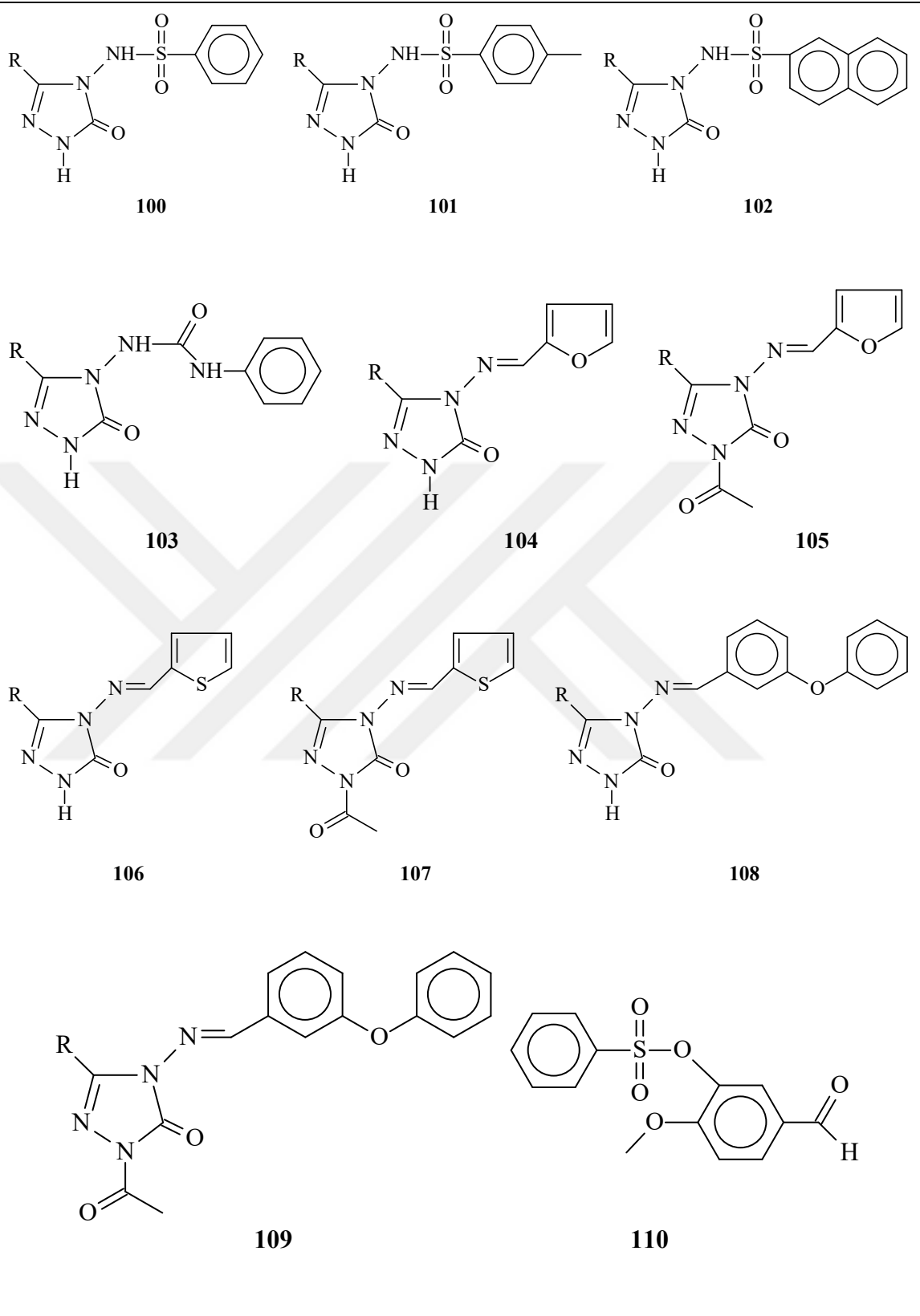


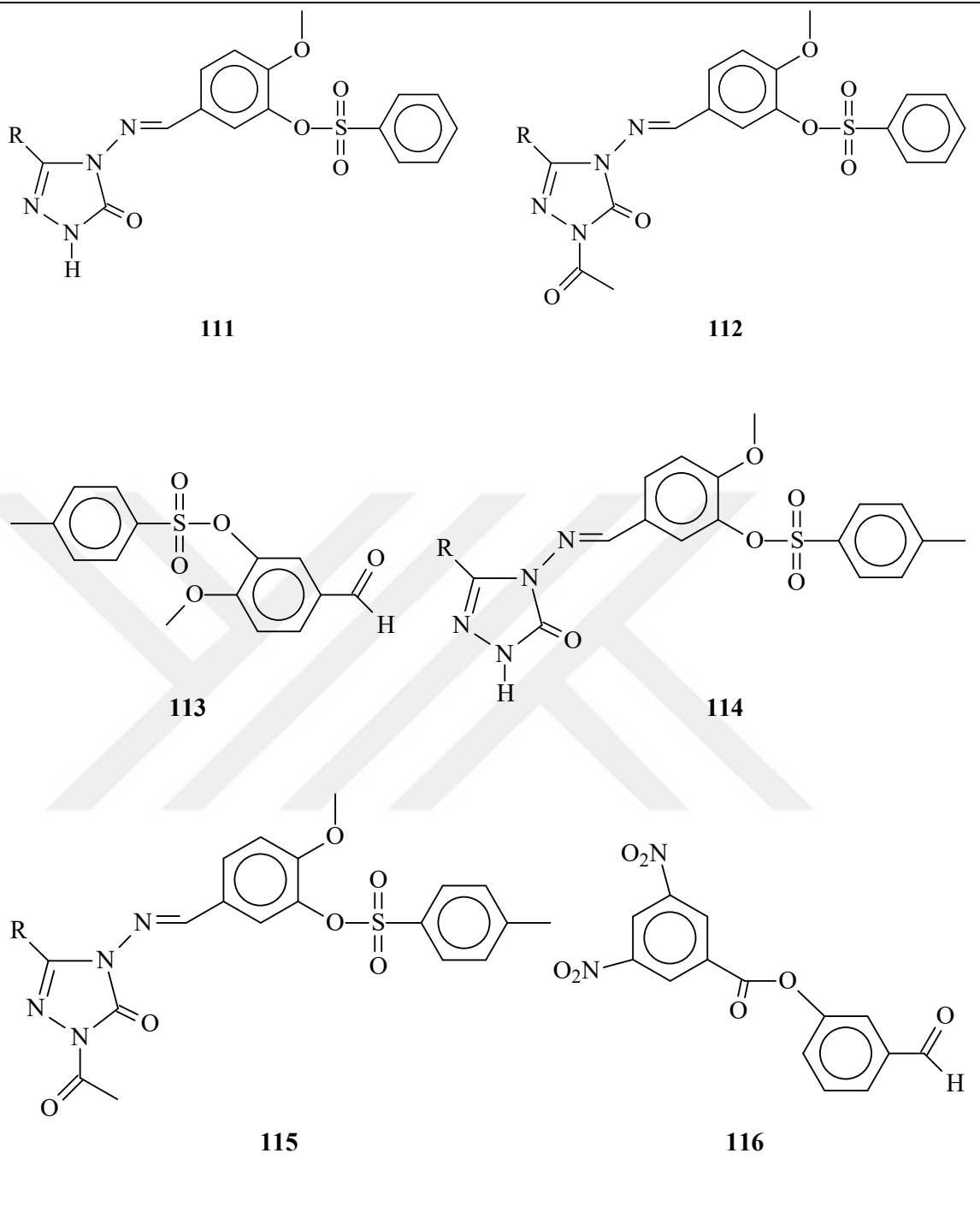
79

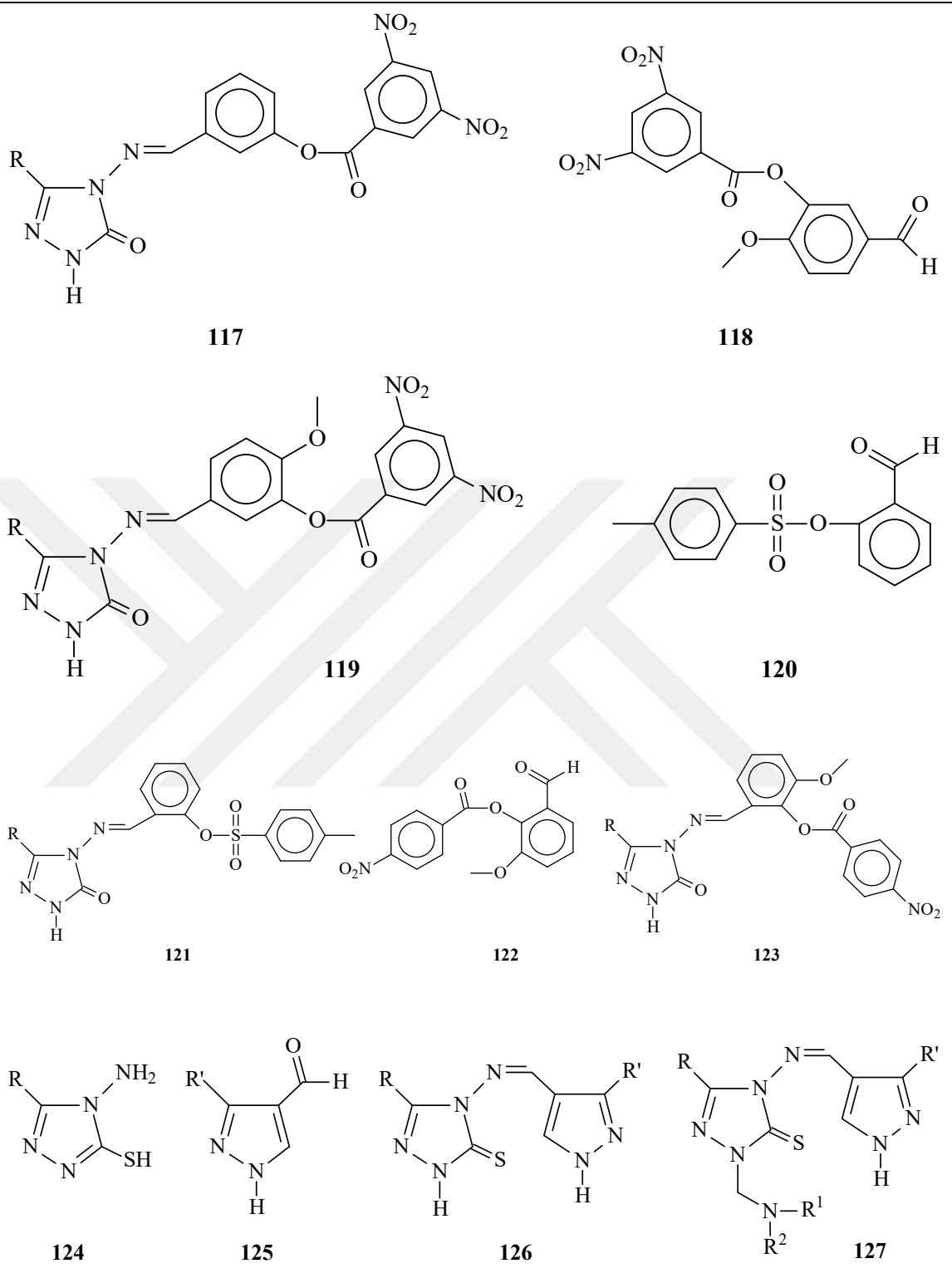


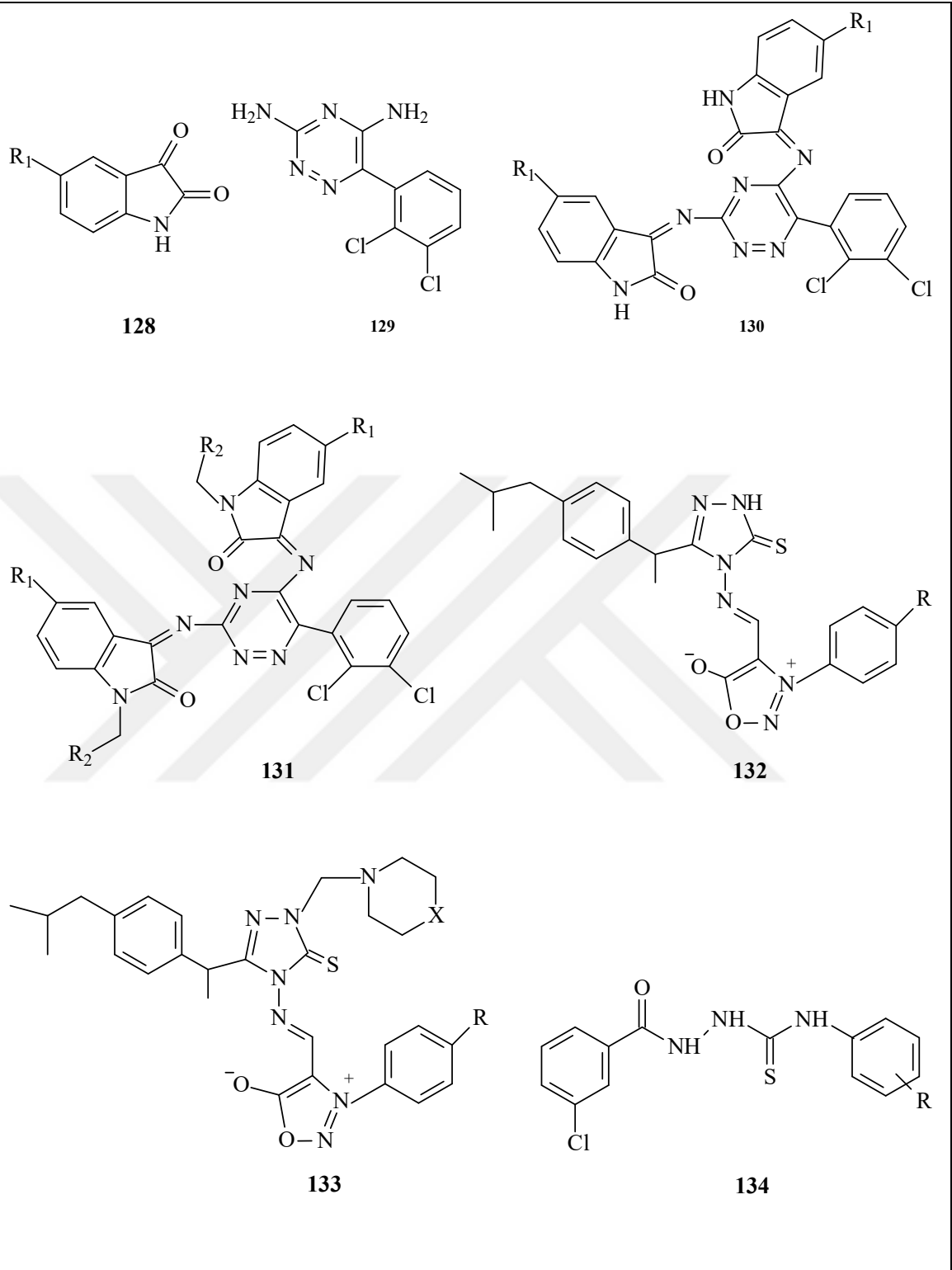


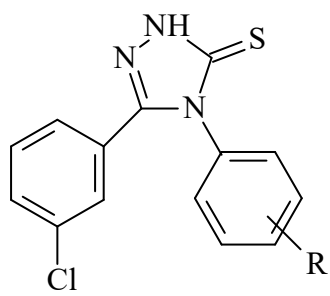




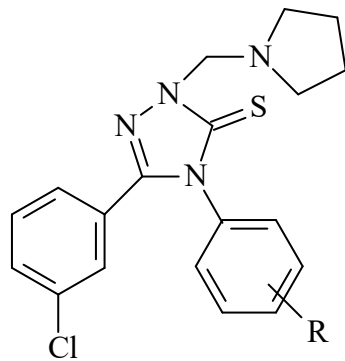




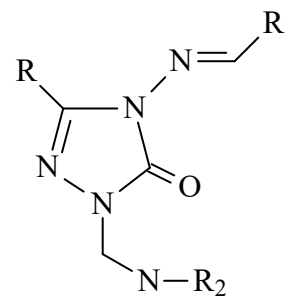




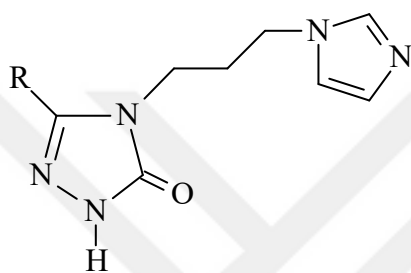
135



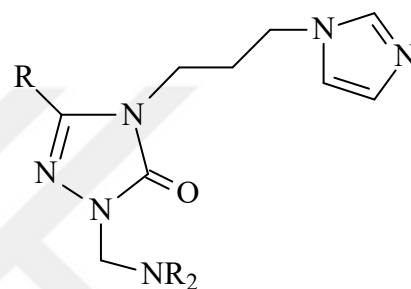
136



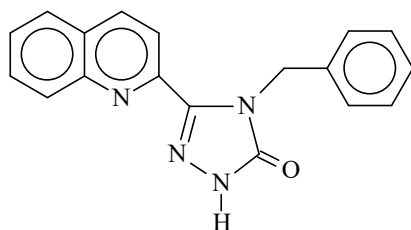
137



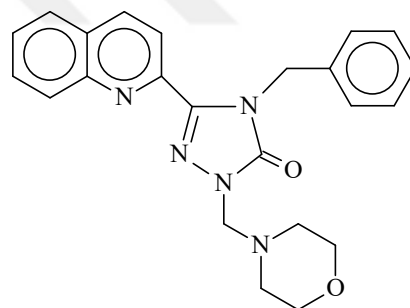
138



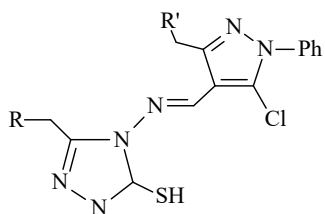
139



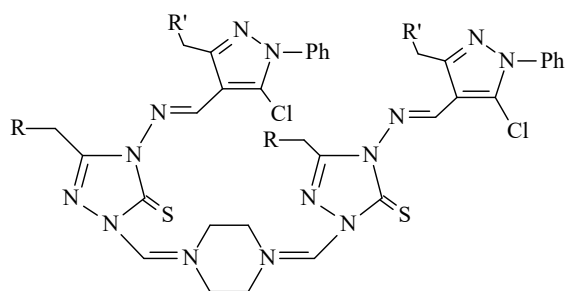
140



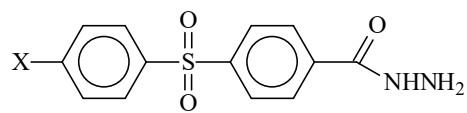
141



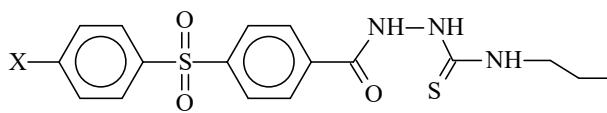
142



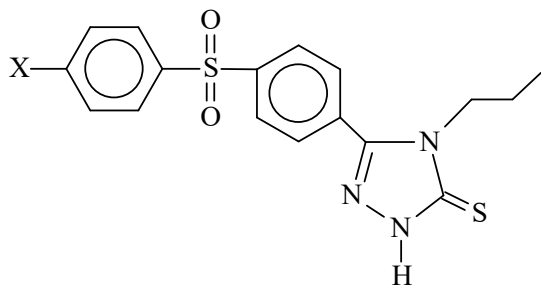
143



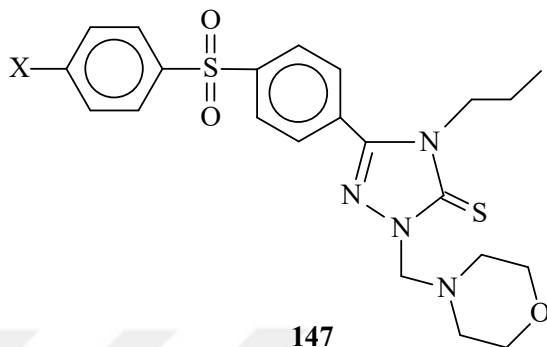
144



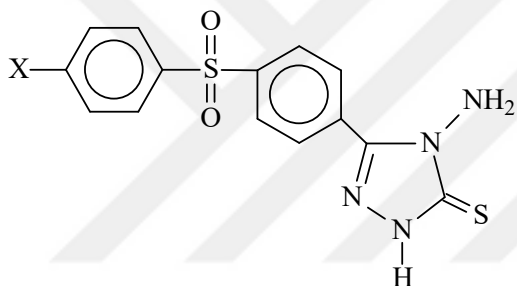
145



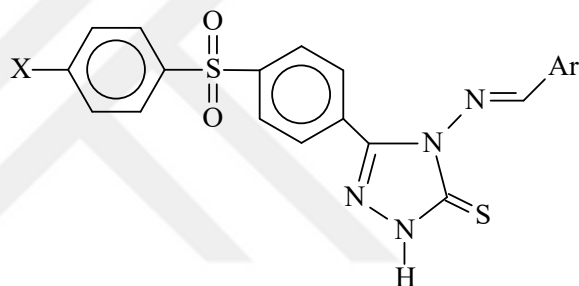
146



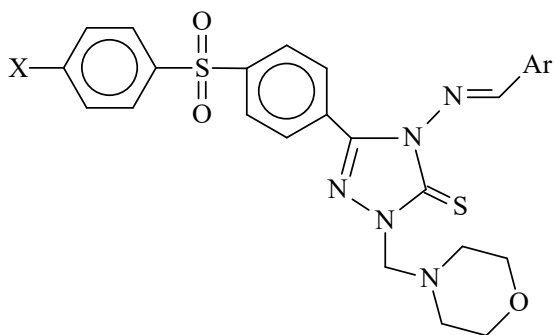
147



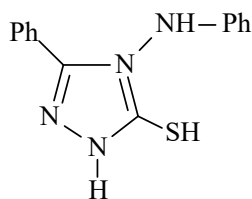
148



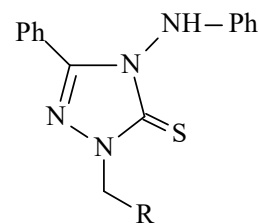
149



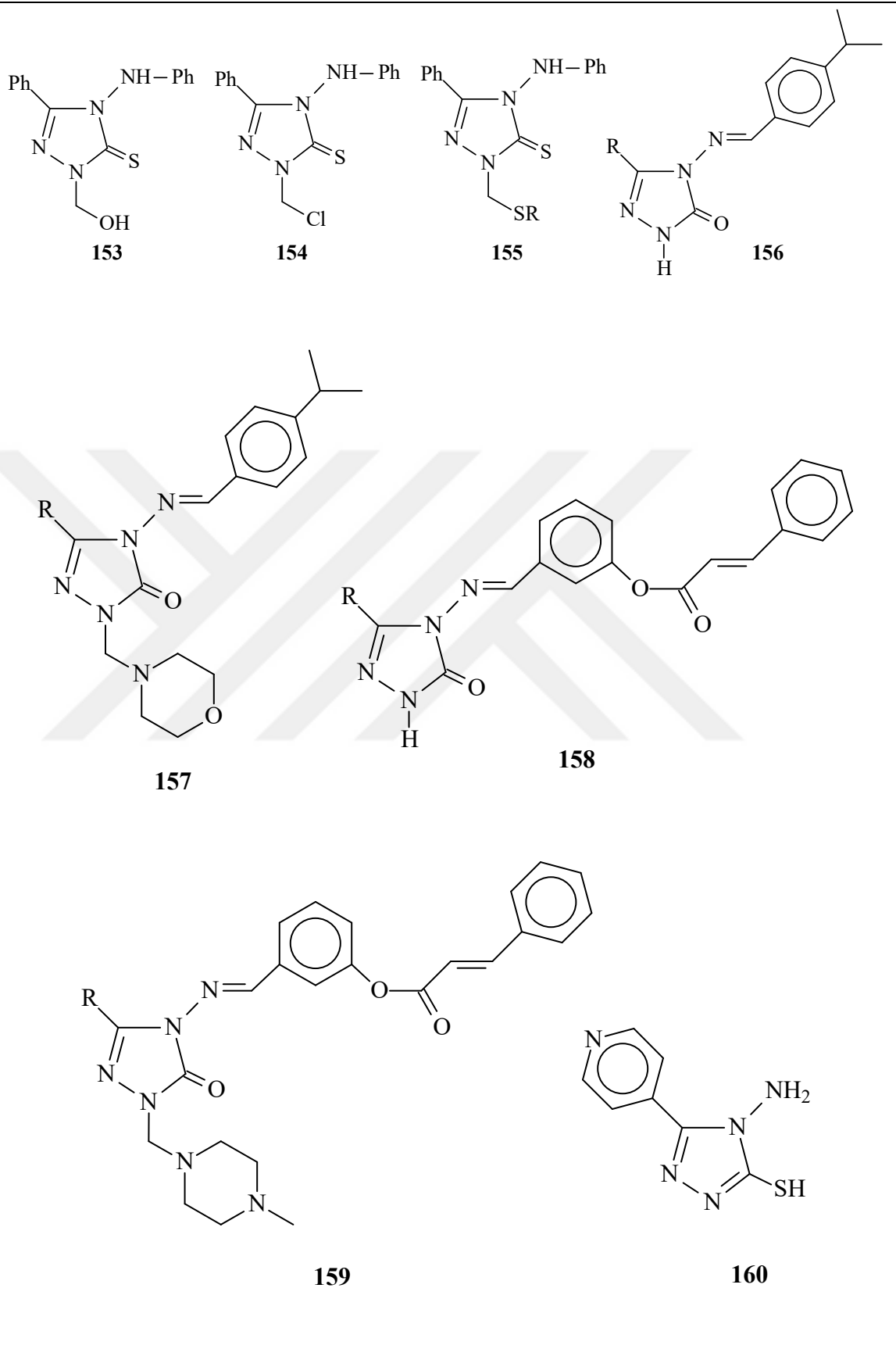
150

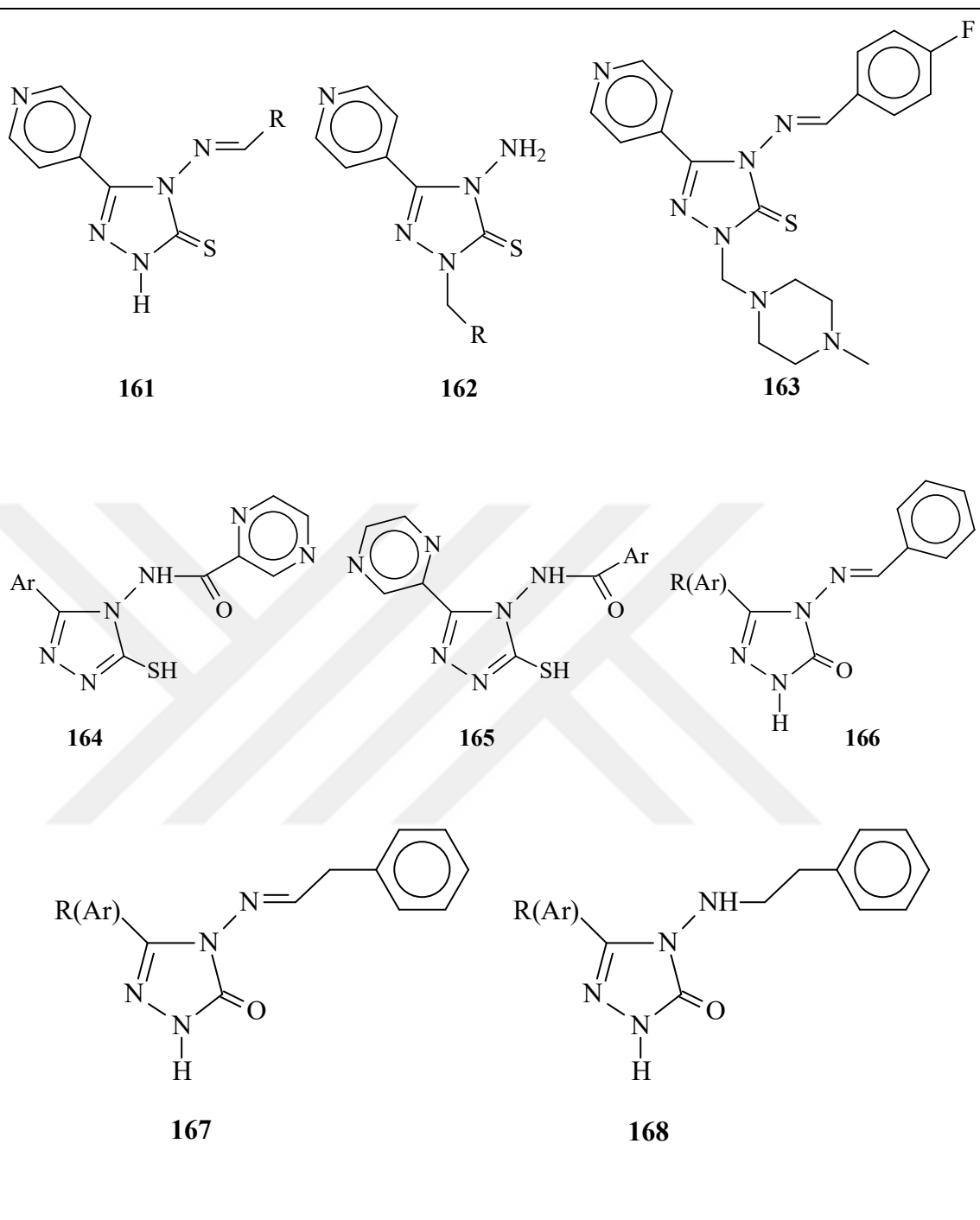


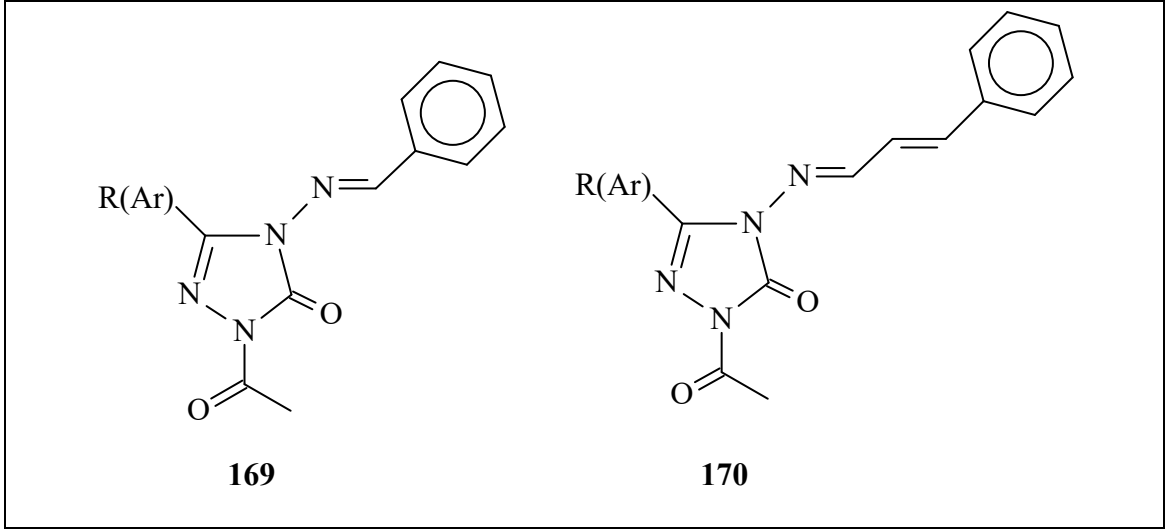
151



152



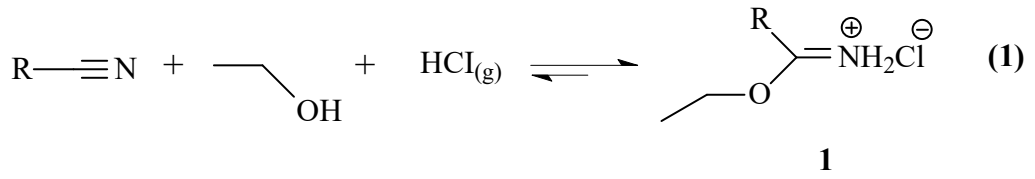




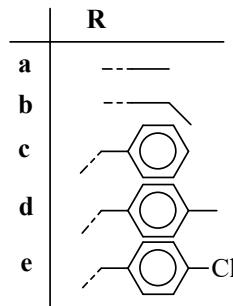
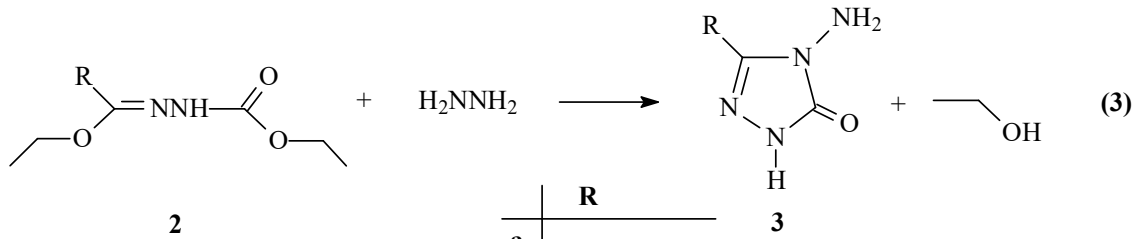
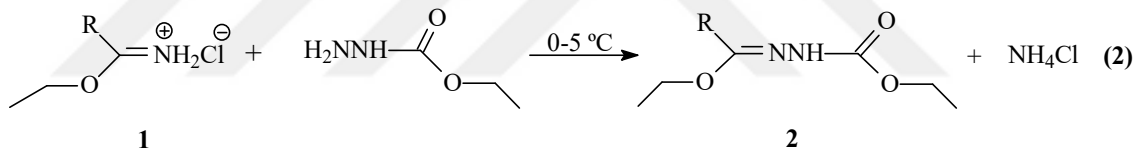
1,2,4-Triazol ve türevleri antimikrobiyal, ağrı kesici, antiinflamatuvar, antikanser ve antioksidan özellikler gibi farklı farmakolojik aktiviteler gösterdiği rapor edilmiştir [1-4]. Ribavirin (antiviral ajan), rizatriptan (antimigren ajan), alprazolam (anksiyolitik ajan), flucanazol ve itraconazol (antifungal ajan) gibi günümüzün bazı ilaçları triazol halkasına sahip olası moleküller için en iyi örneklerdir. Birçok literatür Mannich bazlarının antibakteriyel, antifungal, antiinflamatuvar, antimalarial ve pestisit özellikler gibi ılımlı biyolojik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir [5-8]. Bazı *N*-metilpiperazin substituenti taşıyan 1,2,4-triazollerden türetilen Mannich bazları biyolojik olarak aktiftirler [9, 10] ve farmasotik olarak önemli heterosiklik bileşiklerdir [11-13].

1.2. Yeni bileşiklerin Sentezi

Tez kapsamında çeşitli reaksiyonları incelenen 3 tipi 3-alkil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla nitrillerden başlanarak Pinner Metoduna [14] göre literatürde kayıtlı 4 tipi iminoester hidroklorürler (alkil imidat hidroklorürler) olan etil imidoasetat hidroklorür (1a), etil imidopropiyonat hidroklorür (1b), etil imidofenilasetat hidroklorür (1c), etil imido-*p*-tolilasetat hidroklorür (1d) ve etil imido-*p*-klorofenilasetat hidroklorür (1e) bileşikleri elde edilmiştir.

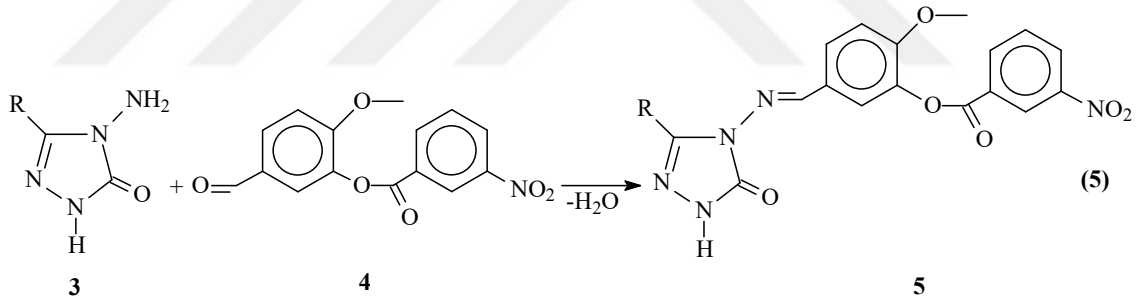
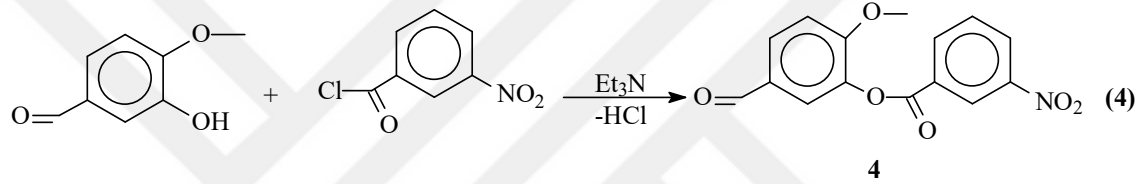


Çalışmada bundan sonra 1 tipi bileşiklerin etil karbazat ile muamelesinden [15-18] yine literatürde kayıtlı 2 tipi ester etoksikarbonilhidrazonlar [etil asetat etoksikarbonilhidrazon (2a), etil propiyonat etoksikarbonilhidrazon (2b), etil fenilasetat etoksikarbonilhidrazon (2c), etil *p*-tolilasetat etoksikarbonilhidrazon (2d) ve etil *p*-klorofenilasetat etoksikarbonilhidrazon (2e)] sentezlenmiş ve bu bileşiklerin de hidrazin hidrat ile reaksiyonundan [17-20] ise çalışma için gerekli olan ve literatürde kayıtlı bulunan 3 tipi 3-metil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (3a), 3-etil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (3b), 3-benzil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (3c), 3-*p*-metilbenzil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (3d) ve 3-*p*-klorobenzil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (3e) bileşikleri elde edilmiştir.



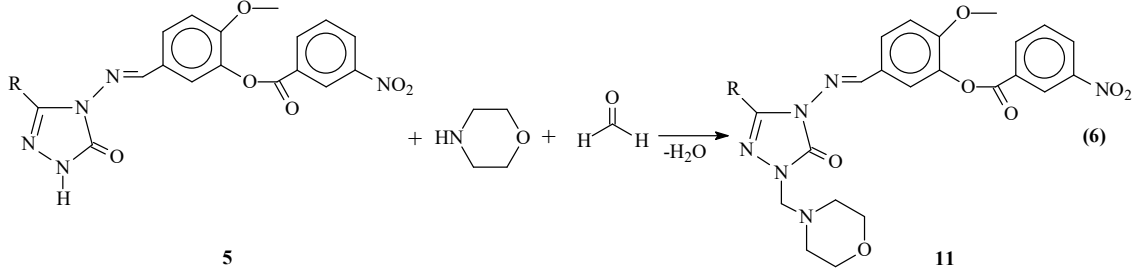
Çalışmada ayrıca ayrı ayrı 3 tipi bileşiklerin, 3-hidroksi-4-metoksibenzaldehidin trietilamin varlığında 3-nitrobenzoil klorür ile muamelesinden elde edilen 3-(3-

nitrobenzoksi)-4-metoksibenzaldehyd (4) ile reaksiyonları incelenerek 5 tipi 5 adet 3-alkil(aril)-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri olan sırasıyla 3-metil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (6), 3-etil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (7), 3-benzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (8), 3-*p*-metilbenzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (9), 3-*p*-klorobenzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (10) bileşikleri elde edilmiştir (Denklem 4 ve 5) [21, 22].

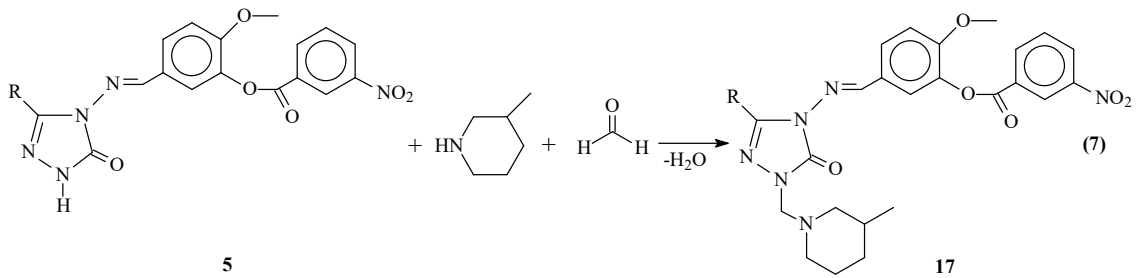


Tez kapsamında ilk olarak 5 tipi bileşikler Mannich reaksiyonu uyarınca formaldehit ve morfolinle muamele edilerek 11 tipi 1-(Morfolin-4-il)-metil-3-alkil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri olan 1-(morfolin-4-il)-metil-3-metil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (12), 1-(morfolin-4-il)-metil-3-etil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (13), 1-(morfolin-4-il)-metil-3-benzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (14), 1-(morfolin-4-il)-metil-3-*p*-metilbenzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (15), 1-

(morfolin-4-il)-metil-3-*p*-klorobenzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenziliden amino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (16) bileşikleri sentezlenmiştir (Denklem 6).



Sentezlenen 5 tipi bileşikler ikinci olarak, formaldehit ve *N*-metil piperazin ile muamele edilerek karşın olan 17 tipi Mannich bazları olan 1-(3-(3-metilpiperidin-1-il)-metil-3-metil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (18), 1-(3-(3-metilpiperidin-1-il)-metil-3-etil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenziliden amino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (19), 1-(3-(3-metilpiperidin-1-il)-metil-3-benzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (20), 1-(3-(3-metilpiperidin-1-il)-metil-3-*p*-metilbenzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi benzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (21), 1-(3-(3-metilpiperidin-1-il)-metil-3-*p*-klorobenzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (22) bileşikleri sentezlenmiştir (Denklem 7).



Tez kapsamında sentezlenen 10 yeni bileşiğin yapısı IR, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektroskopik yöntemleri kullanılarak aydınlatılmıştır.

Tez kapsamında, sentezlenen 10 yeni bileşiğin mikrobiyolojik özellikleri incelenmiştir. Ayrıca son olarak sentezlenen yeni bileşiklerin indirgeme gücü, serbest radikal giderme

aktivitesi, metal şelat aktivitesi ile *in-vitro* antioksidan özellikleri de incelenmiş ve elde edilen bulgular yorumlanmıştır.

1.3. Antimikrobiyaller

Antimikrobiyaller, bakteri, maya veya protozoon gibi mikroorganizmaları öldüren veya çoğalmalarını engelleyen ve mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyon hastalıklarını tedavi etmek için kullanılan ilaçlardır. Antimikrobiyal maddelerin öldürücü etkisine mikrobiosidal, mikroorganizmaların üremelerini engelleyici etkisine mikrobiostatik etki adı verilir. Canlı olmayan obje veya vücudun dış yüzünün temizlenmesi için kullanılan dezenfektanlar da antimikrobiyal maddeler olarak bilinirler [23]. Ancak, yan etkilerinin olması ve mikroorganizmalarda direnç gelişimine neden olmaları dezavantaj olabilmektedir. Bu nedenle gerektiği durumlarda, etkene ve konağa ait faktörler dikkate alınarak seçilip kullanılmaları gerekir. “Antibiyotikler”, bazı bakteri ve mantarlarca üretilen ve diğer bakterilerin çoğalmalarını engelleyen veya onları öldüren doğal maddelerdir. Penisilin, sefalosporinler ve makrolidler antibiyotiklere örnektir. Antibiyotiklerle aynı etkiyi gösteren, ancak sentetik olarak sentezlenen kimyasal bileşikler ise “kemoterapötik ajanlar” olarak adlandırılır. Sülfonamidler, kinolonlar, imidazoller bunlara örnektir [24].

“Mikroorganizmalarla savaşan mikroorganizmalar” kavramının ilk kez 1991 yılında Kuzey İtalya’da, bir buzulun altından yaklaşık 5310 yıl önce yaşamış olduğu tahmin edilen mumyalanmış bir ölü bedeninin rektumunda saptanan *Piptoporus betulinus* adındaki mantarların mikobakterilere karşı antimikrobiyal etkilerinin bulunduğu bildirilmiş ve antimikrobiyal temelleri o zaman, hatta daha da öncesinde atılmış olabileceği düşünülmektedir. 1909 Yılında Alman bakteriyolog Paul Ehrlich Enfeksiyonları tedavi amacıyla, arsenik bazlı bir madde bulmuş ve sifilizin erken döneminde etkili olduğunu gözlediği bu maddeye “salvarsan” adını vermiştir [25]. 19. Yüzyılın ortalarında Louis Pasteur’ün “bazı mikroorganizmaların diğerlerini öldürdüğü” şeklindeki gözlemi, daha sonra 1928 yılında İskoç bilim adamı Alexander Fleming’in stafilokokların gelişimini önlediğini tesadüfen fark ettiği ve “*Penicillium notatum*”

adını verdiği mantarın kültür filtratı, daha sonra 1940'lı yıllarda Howard Florey ve Ernst Chain'in Oxford niversitesi'nde bu kültür filtratından izole ettikleri ve ondan milyon kere daha güçlü olan "penisilin tozu" mucizesi ve bunun ardından Alman farmakolog Gerhard Domagk'in streptokokları öldürdüğünü keşfettiği ve İsveçli bilim adamı Daniel Bovert'in "sülfonamid" adını verdiği boya maddesi, enfeksiyonlarla mücadelede bugüne kadar geliştirilecek olan pek çok antibiyotiğe ilham kaynağı olmuştur. Pasteur'n dost mikroorganizmalarla ilgili sıra dışı buluşu, antibiyotikler için tam anlamıyla bir altın çağın başlangıcı olmuştur [25]. Penisilin ve slfonamidlerden sonra daha geniş spektrumlu penisilinler olmak üzere hızla yeni antibiyotikler geliştirilmeye ve birçok enfeksiyon hastalığı başarıyla tedavi edilmeye başlanmıştır. Bunlar arasında, antibiyotiklerin "isim babası" olan Selman A. Waksman tüberküloz tedavisinde çığır açan streptomisini bulmuştur [25].

1.3.1. Antimikrobiyallerin Sınıflandırılması

Antimikrobiyaller; yapılarına, etki spektrumuna, hedef mikroorganizmaya ve etki mekanizmalarına göre sınıflandırılırlar.

1.3.1.1. Yapılarına Göre Antimikrobiyaller

1- Doğal Antimikrobiyaller: Katkı maddeleri ürün kalitesini arttırmak, gıdayı korumak ve raf ömrünü uzatmak amacıyla ürün içeriğine eklenen kimyasal bileşiklerdir. Mikrobiyal gelişmeyi kontrol altına almak amacıyla kullanılan katkı maddeleri ise antimikrobiyal olarak adlandırılmaktadır. Laboratuvar ortamında elde edilen sentetik ve biyolojik sistemlerde bulunan doğal antimikrobiyaller olmak üzere antimikrobiyalleri iki grupta incelemek mümkün olup bunlardan birincisi, yasal düzenlemelerle gıdalarda kullanımlarına izin verilen asetik asit ve asetat, benzoik asit ve benzoat, laktik asit ve laktat, nitrit ve nitrat, sorbik asit ve sorbat, sülfit gibi sentetik antimikrobiyallerdir. İkinci grupta ise hayvansal, bitkisel ve mikrobiyal kaynaklı doğal antimikrobiyaller bulunmaktadır [26]. Katkı maddesi içermeyen, daha az tuz içeren, daha az işlem görmüş

gıdalarda koruyucu faktörlerin azalması ile ürün mikrobiyal gelişim ve bozunma reaksiyonları açısından riskli hale gelmekte, ayrıca ürünün raf ömrü sınırlanmaktadır.

Tüketicilerde eğilim sentetik katkı maddelerinden farklı olarak hayvansal, bitkisel ve mikrobiyal kaynaklardan elde edilen doğal antimikrobiyallerin kullanımı yönünde olmaktadır. Doğal antimikrobiyallerin bir kısmı gıda muhafazasında kullanılmakta olup, bir kısmı da hala araştırma aşamasındadır. Yumurtadaki lizozim, ovotransferrin ve avidin, sütteki laktoperoksidaz ve laktoferrin, kan serumundaki transferrinler hayvansal kaynaklı doğal antimikrobiyalere örnek oluştururken, fitoaleksinler, baharat ve şifalı bitkilerden elde edilen düşük molekül ağırlığına sahip “carvacrol”, “eugenol”, “thymol”, “cinnamic aldehyde”, “allicin” gibi fenolik bileşenler, esansiyel yağlar, ekstraktlar başlıca doğal bitkisel antimikrobiyaller arasındadır. Mikroorganizmalardan elde edilen doğal antimikrobiyaller arasında ise nisin ve pediosin gibi bakteriyosinler yer almaktadır [26-28].

Tablo 1.1. Bitki, hayvan ve mikroorganizmalarda doğal olarak bulunan başlıca antimikrobiyal sistemler verilmiştir [27, 29, 30].

Kaynak	Örnek	Antimikrobiyal Ajan
Hayvanlar	Süt	Laktoperoksidaz, laktoferrin
	Yumurta	Lizozim, ovotransferrin, avidin
	Serum	Transferrin
Mikroorganizmalar	Laktik asit bakterileri	Nisin, pediosin, diğer bakteriosinler
	Diğer mikroorganizmalar	Pimarisin, subtilin, natamisin, diasetil
		Düşük molekül ağırlıklı metabolitler (etanol, reuterin, H ₂ O ₂ v.b.)
Bitkiler	Baharatlar, şifalı otlar	Organik asitler (sitrik, suksinik, tartarik, benzoik, malik vb.)
		Alkaloidler (tomatine)
		Fenolik bileşikler (kafeik asit, ögenol, timol, sinamikaldehid vb.)
	Strese maruz kalan bitkiler	Fenolik bileşikler (gallotanins, ellagitanins vb.)
		Sülfoksitler (allisin vb.)
		Fitoaleksinler (Resvatrol, pisatin vb.)
		İsotiosiyanatlar

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

3- Sentetik Antimikrobiyaller: Laboratuarda kimyasal olarak sentezlenmiş bileşiklerdir. Sentetik ilaçların etkinliği oldukça fazladır ve düşük toksisiteye sahiptir. Ayrıca bu ilaçlar salınana kadar bakteri bu bileşiklerle temas etmemektedir. Moxifloxacin ve Norfloxacin sentetik antibiyotiklerdir [23, 24].

1.3.1.2. Etki Spektrumuna Göre Antimikrobiyaller

1- Mikrobiostatik: Mikroorganizmanın üremesi esnasında etki ederek çoğalmasını engelleyen biyolojik veya kimyasal ajanlardır. Uygulama alanlarına göre antibiyotik, dezenfektan ve antiseptikler olarak ayrılırlar. Ortamdan mikrobiyostatik uzaklaştırıldığında yeniden bakteri çoğalmaya başlar. Genellikle laboratuarlarda kullanılan bakteriyostatikler arasında sodyum azid ve tiomersal sayılabilir. Bakteriyostatik antibiyotikler bakteriyel protein sentezi, DNA repikasyonu veya diğer bakteriyel hücre metabolizmasını engelleyerek etki gösterirler. Bu grup antibiyotikler arasında tetracyclines, sulfonamides, spectinomycin, trimethoprim, chloramphenicol, macrolides, lincosamides gibi bileşikler sayılabilir [23].

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

1.3.1.3. Hedef Mikroorganizmaya Göre Antimikrobiyaller

1- Antibakteriyel: Antibiyotikler genellikle bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılan ajanlardır. İnsanlar ve hayvanlar için toksisiteleri genellikle düşüktür. 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 anlaşılmaktadır. Fakat sulfonamidler gibi sentetik antimikrobiyalde vardır. 20. yüzyılda antibiyotiklerin keşfi, gelişimi ve klinik kullanımı sayesinde bakteriyel enfeksiyonlardan kaynaklı ölüm oranı azalmıştır. Antibiyotik çağı nitroglisertin ilaçların pnömonik uygulamaları ile başlamış, sonrasında. 1945 ile 1970 yılları arasında birçok farklı ve oldukça etkili bileşiklerin keşfi ve geliştirilmesi ile altın çağını yaşamıştır. Fakat 1980'den sonra sayısı giderek artan bu yeni ilaçlarla birlikte bakteriyel direnç problemi de ortaya çıkmaya başlamıştır [23].

Antibiyotikler ilaçlar arasında en çok kullanılan maddelerdir. Örneğin yatan hastaların % 30 veya daha fazlası antibiyotik tedavisi almaktadır. Ayrıca antibiyotikler viral solunum sistemi hastalıklarının tedavisinde de kullanılmaktadırlar. Direnç problemi mevcut antibiyotiklere dirençli patojen bakterilere karşı etkili ajanların araştırılması için yeni bir çaba gerektiğini göstermektedir. Bu konu ile ilgili olası stratejiler, bilinmeyen veya kültürü yapılmayan mikroorganizmalar tarafından üretilen biyoaktif bileşiklerin tanımlanması için farklı çevresel örneklerin ve metagenomik uygulamaların sayısının artırılmasının yanı sıra bakteriyel hedefleri gösteren küçük moleküler laboratuvarların geliştirilmesi olarak sıralanabilir [23].

2- Antiviral: Antiviral ilaçlar viral enfeksiyonların tedavisi için özelleşmiş ilaç grubudur. Antibiyotiklerde olduğu gibi özel virusler 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 virusları yeni influenza tedavisinin geliştirilmesinde ve oseltamivir gibi nöroaminidaz inhibitörlerine karşı direncin ortadan kaldırılmasında oldukça önemli hedeflerdir. Antiviral ilaçlar virusun hücreye girmeden önce, çoğalma aşamasında veya

bazı olgularda hücreden salınması aşamasında inhibe ederek etki gösterirler. Fakat antibiyotiklerde olduğu gibi bazen antiviral ilaca direnç geliştirebilir [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 bulunması oldukça güçtür. Ayrıca bu ilaçların bazılarının yan etkileri de bulunmaktadır. Bu yan etkiler bazen hayatı tehlikeye atacak boyutta olabilmektedir.

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 ingredient ve dezenfektan olarak gıdalarda antimikrobiyal olarak kullanılırlar. 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: 21 bitkisel esansiyel yağ ve iki esans *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enteriditis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* gibi gıda kaynaklı patojenlere karşı etkinlikleri araştırılmıştır. Defne, tarçın, karanfil, kekik yağının çoğunun bakteri üzerine inhibitör etkileri saptanmıştır [23].

7- Katyon ve Elementler: Hg²⁺, Cu²⁺ ve Pb²⁺ gibi birçok ağır metal katyonlarının antimikrobiyal aktivitesi vardır, fakat diğer canlı organizmalar için çok toksik

olduklarından infeksiyöz hastalıkların tedavisinde kullanım alanına sahip değildir. Kolloidal gümüş bilimsel etkinliği açık olarak kanıtlanmadan alternatif tıpta kullanılan yaygın bir antimikrobiyaldir [23].

1.3.1.4. Etki Mekanizmalarına göre Antimikrobiyaller

1.3.1.4.1. Hücre Duvarı Sentezini İnhibe Eden Antimikrobiyaller

1.3.1.4.1.1. Beta Laktamlar

Bakterisidal etki gösteren bu antimikrobiyaller, bakterilerin hücre duvarında yer alan ve peptidoglikan sentezinin son basamağında görev yapan transpeptidaz ve karboksipeptidaz enzimlerine bağlanarak hücre duvarı sentezini durdururlar [24, 31].

- **Penisilinler** Karboksipenisilinler ve üreidopenisilinler anti-pseudomonal penisilinler olarak adlandırılır ve gram negatif bakterilere karşı etkinlikleri diğerlerinden daha yüksektir [32]. Direncin özellikle sorun olduğu Pseudomonas türleri ve enterokoklara karşı etkilidirler [31, 32].
 - Doğal penisilinler
 - Penisilinaza dirençli penisilinler
 - Aminopenisilinler
 - Karboksipenisilinler
 - Üreidopenisilinler
- **Sefalosporinler**
- **Monobaktamlar**
- **Karbapenemler**
- **Beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonları**

1.3.1.4.1.2. Glikopeptitler

Bu grupta, büyük polar moleküller olan vankomisin ve teikoplanin yer alır. Gram negatif bakterilerin hücre duvarından penetre olamadıkları için, etki spektrumları aerob ve anaerob gram pozitif bakterilerle sınırlıdır [33, 34].

1.3.1.4.1.3. Diğerleri

Fosfomisin: Hücre duvarı sentezinde gerekli MurA enzimine bağlanarak bakterisidal etki gösterir. Ayrıca, üropatojenitede önemli role sahip bakteri fimbriyalarının sentez ve hareket yeteneğini de azaltır [35]. Gram negatif etkinliği (*Pseudomonas* türleri hariç) daha fazladır. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretenler dahil *E. coli* ve *Klebsiella* gibi enterik basillere ve vankomisine dirençli enterokoklara etkilidir [35, 36]. Komplike olmamış alt üriner sistem enfeksiyonlarında oral tek doz tedavi avantajı vardır, ancak üst üriner sistem enfeksiyonlarında kullanımı önerilmemektedir [35].

1.3.1.4.2. Protein Sentezini İnhibe Eden Antimikrobiyaller

- **50S Ribozomal Alt Üniteye Bağlananlar**
 - Makrolidler ve ketolidler
 - Linkozamidler
 - Streptograminler
 - Kloramfenikol
 - Oksazolidinonlar

- **30S Ribozomal Alt Üniteye Bağlananlar**
 - Aminoglikozidler
 - Tetrasiklinler
 - Glisilsiklinler

- **Diğerleri**
 - Nitrofurantoin

1.3.1.4.3. Nükleik Asit Sentezini İnhibe Eden Antimikrobiyaller

Kinolonlar: DNA giraz enzimini inhibe ederek DNA replikasyonunu bozarlar. Nalidiksik asit, oksolinik asit, sinoksasin, piromidik asit, pipemidik asit, flumekin gibi kinolon türevleri birinci kuşak kinolonlardır. Bu grubun üyeleri, aerob gram negatif bakterilere etkili, gram pozitif aeroblara ve anaeroblara etkisizdir [37]. Düşük serum düzeyi nedeniyle sistemik enfeksiyonlarda kullanılamazlar. Yüksek idrar konsantrasyonlarına ulaşmaları sayesinde üriner sistem enfeksiyonlarında yaygın olarak kullanılmışlar, bu da hızlı direnç gelişimine neden olmuştur [38]. İkinci kuşak kinolonların (siprofloksasin, ofloksasin, norfloksasin) gram negatif etkinliği daha iyidir ve ilave olarak gram pozitif etkinliğe de sahiptir. Siprofloksasin ayrıca güçlü anti-pseudomonal etkiye de sahiptir. Anaerob etkinlikleri yoktur [37, 39]. Üçüncü kuşak kinolonların (levofloksasin), özellikle pnömokoklara karşı olmak üzere artmış gram pozitif etkinlikleri vardır ve anaeroblara da etkilidir [37, 40]. Dördüncü kuşak kinolonlar (moksifloksasin ve gemifloksasin), pnömokoklara ve anaeroblara karşı güçlü etkinliğe sahiptirler [40].

1.3.1.4.4. Antimetabolitler

Trimetoprim-Sülfametoksazol: Bakteri hücresi, DNA sentezinde gerekli olan folik asidi kendi sentezler. Trimetoprim, folik asit sentezinde görev alan dihidrofolat redüktaz enzimini, sülfonamidler ise tetrahidropiteroik asit sentetaz enzimini inhibe ederek bakterilerde DNA sentezini engeller. Renal dokulara ve idrara yüksek konsantrasyonda geçmesi ve sıklıkla etken olan E. coli, Klebsiella pneumoniae ve P. mirabilis gibi bakterilere karşı etkili olması nedeniyle, üriner sistem enfeksiyonlarında öncelikle tercih edilirler [41-44].

1.3.1.4.5. Membran Bütünlüğünü Bozan Antimikrobiyaller

Polimiksinler: İnsanlarda sadece polimiksin B ve polimiksin E kullanılır. Gram pozitif bakteriler, Neisseria türleri, M. catarrhalis, H. pylori, Vibrio türleri, Brucella türleri ve anaeroblar doğal olarak dirençlidir [45, 46].

Daptomisin: Bakterilerin duvarında bol miktarda bulunan lipoteikoik asidin içinde transmembran kanallar oluşturarak bakteri membranının sentezini önler. Etkisi bakterisidaldir. Metisiline dirençli stafilokoklar, 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 S. aureus bakteriyemisinde kullanımı onaylanmıştır [47].

1.3.2. Antimikrobiyal Direnç

Antibiyotik direnç, bakterilerin antibiyotik varlığında dahi üreyebilmeleri ve hastalık yapabilmeleri durumudur. Bazı antibiyotiklere direnç doğal olarak mevcut iken diğerlerine karşı direnç 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 sonucu hastalar metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), Vankomisine dirençli Enterokok (VRE) ve çoklu dirençli gram negatif çomaklar gibi bakterilerle kolonize veya enfekte olabilmektedir. 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].

1.3.2.1. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları

Bazı bakteriler bazı antibiyotiklere 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:** Antibiyotiye affinitede 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 [47, 48].

1.3.3. Antimikrobiyallerin Geleceği ve Direncin Önlenmesi

Yeni antibiyotik grupları, özellikle direnç sorununun aşılması açısından, umut vaat ediyor gibi görünmektedir. Bununla birlikte, yakın zamanda özellikle linezolidde karşı Gram pozitif direncinin gelişmiş olduğu bilinmektedir. Telitromisine karşı pnömokok direnci için de tıp dünyası alarmdadır. Gerek istenmeyen etki profillerinin daha iyi olması, gerekse ilaç etkileşimlerinin daha az ortaya çıkması bu yeni antibiyotik gruplarının tedavide güvenle kullanılabileceğini düşündürmektedir. Ancak, pazara sunulduktan kısa süre sonra ciddi istenmeyen etkileri nedeni ile piyasadan çekilen yeni antibiyotikler olduğundan, çoğu yüksek maliyetli olan yeni ilaç gruplarının etkinlik ve güvenilirlik açısından daha titizlikle değerlendirilmesi gerekmektedir [49].

Son otuz yıla damgasını vuran direnç sorununun günümüz antibiyotiklerinin etkinliğini önemli ölçüde sınırladığını görülmektedir. Aksine, yeni geliştirilen antibiyotik sayısı giderek azalmıştır. Bunun başlıca nedeni, ilaç firmalarının kâr kaygısıyla finansal kaynaklarını ve çalışma ortamlarını, antibiyotikler gibi göreceli olarak daha kısa süreli kullanımları olan ilaçlardan kronik hastalıkların (örn, hipertansiyon, diyabet, vs.) tedavisiyle ilgili ilaçların araştırılmasına yöneltmiş olmalarıdır.

Her ne kadar yeni antibiyotiklerden söz edilse de, özellikle direnç sorununun önüne geçebilmek, istenmeyen etkileri ve ilaç etkileşimlerini en aza indirmek açısından, yeni olmaktan da öte yepyeni hedeflerin saptanması, yepyeni 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 sıralanabilir [50].

1.3.4. Antimikrobiyal Aktivite Düzeyinin Belirlenmesi

Mikroorganizmalar antibiyotiklere karşı çok değişik şekilde duyarlılık gösterirler. Bu durum, hem antibiyotiklerin yapısına ve hem de mikroorganizmaların türüne göre değişebilir. Bu bakımdan gerek koruyucu amaçla ve gerekse en önemlisi sağaltım için kullanılacak antimikrobial ilaçların spesifik hastalık etkenine karşı olan statik ve/veya sidal etkisinin çok iyi belirlenmesi gereklidir. Antimikrobiyal bileşiklerin mikroorganizmalar üzerindeki toksik etkisi belirlenirken genellikle iki yol izlenmektedir. Bunlardan birincisi sürenin sabitlendiği, istenen inhibitör etkiyi sağlayan konsantrasyonun belirlendiği yöntemdir. Diğer izlenen yol ise konsantrasyonun sabit tutularak istenen mikrobiyal seviyeye ulaşılan sürenin belirlenmesidir [51, 52].

Antimikrobiyal etkiyi sağlamak üzere literatürde yer alan yöntemlerde;

- i. Antimikrobiyal bileşeni içeren belirli bir çapa sahip kuyucuk ya da filtre kağıdının etrafında oluşan inhibisyon zonunun yarıçap ya da çapı,

- ii. II. Antimikrobiyal maddeyi içeren besiyerinde bakteriyel gelişimdeki azalma,
- iii. III. Sıvı besi ortamında bakteriyel gelişimi engelleyen minimum konsantrasyon,
- iv. IV. Antimikrobiyal bileşeni içeren sıvı besi ortamının optik yoğunluğu ya da empedansındaki değişim ölçülmektedir [53, 54].

1.3.4.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Disk difüzyon yönteminde test edilen mikroorganizma ile inokule edilmiş katı agar üzerinde yer alan disk ya da oluşturulan havuzcuk/kuyuya antimikrobiyal eklenmektedir. Agar bünyesinde antimikrobiyalın tekdüze bir şekilde difüzlenebilme yeteneğine dayanarak inhibisyon zonları oluşmakta, bu zonların çapları ölçülerek antimikrobiyal etki hakkında bilgi edinilmektedir [55-58].

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 (steril swab'ta aynı amaç için kullanılabilir). Agarın yüzeyi oda ısısında kuruduktan sonra (5-10 dk), 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. Kirby-Bauer yönteminde, aynı zamanda, 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 diffüzyon 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 [56, 57].

1.3.4.2. 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. Örn. ilaç 1 ml'de 256 µg'dan başlayarak, 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.12 µg/ml giderek azalan şekilde iki katlı sulandırılır. Üzerlerine, izole edilen test mikroorganizmanın 24-48 saatlik sıvı besiyeri kültüründen 0.1 ml. miktarında 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.

1.3.4.3. Türbidimetrik Yöntem

Türbidimetrik yöntem tahrip edici olmayan, maliyeti düşük, hızlı ancak hassasiyeti düşük bir yöntemdir. Mikrobiyal gelişim eğrisinin üst kısımlarını tespit edebilmektedir. Besi ortamında canlı mikroorganizma sayımları ile sonuçları karşılaştırmak üzere kalibrasyon gerektirmektedir. Bakteriyel hücrelerin farklı gelişim aşamalarındaki sayısına göre adsorbanstaki değişim ölçülmekte, mikrobiyal populasyon tahminlenmektedir [51, 56].

Spektrofotometrede anlamlı okumalar için 10⁶-10⁷ kob/ml seviyelerinde mikrobiyal yük gerekmektedir. Çoğalma aşamasında olan <10⁵ kob/ml seviyesindeki mikroorganizmalar bu yöntem ile tespit edilememekte, absorbansta herhangi bir artış gözlenememektedir. Bu dezavantajı elimine etmek amacıyla belirli aralıklarla örnek alınarak bakteriyel gelişimin izlenmesi yararlı olmaktadır [55, 57].

1.3.4.4. İmpedimetrik Yöntem

İmpedans ölçümüne dayalı yöntem antimikrobiyal maddenin gerçek zaman içindeki davranışlarını izlemek için kullanılabilir. Antimikrobiyal bileşenlerin aktivitelerini izlemek için alternatif hızlı bir yöntemdir. Bu yöntemde, bakteriyel gelişim ile düşük iletkenliğe sahip besin öğelerinin yüksek iletkenliğe sahip bileşenlere dönüşmesi sonucunda oluşan impedimetrik değişim ölçülmektedir. Türbidimetrik yöntemde olduğu gibi plak sayımları ile kalibrasyon gerektirmektedir [54, 56].

1.4. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

Atom veya moleküllerdeki elektronlar çekirdeğin etrafında orbital olarak tanımlanan bölgelerde hareket ederler. Her orbitalde birbirine zıt yönde hareket eden en fazla iki elektron bulunur. Bir atom veya molekül dış orbitallerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektron bulunduruyorsa “serbest radikal (SR)” olarak tanımlanır. Bu tip moleküller, ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler [59, 60]. En basit serbest radikal bir elektron ve bir protonu olan hidrojen atomudur. Serbest radikallerde eşleşmemiş elektron, atom veya molekülün üst kısmına konulan bir nokta ile belirtilir [60].

Çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle çevrede ve hücrel koşullarda devamlı bir radikal oluşumu vardır. Serbest radikaller üç temel yolla oluşur [59, 61, 62].

a) Kovalent Bağların Homolitik Bölünmesi İle: Kovalent bağın kopması sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalır (Denklem 8).



b) Normal Bir Molekülün Elektron Kaybetmesi İle: Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında dış orbitalinde eşleşmemiş elektron kalıyorsa radikal formu oluşur. Örneğin, tokoferol ve askorbik asit gibi hücrel antioksidanlar,

radikal türlere tek elektron verip radikalleri indirgerken, kendilerinin radikal formu oluşur.

c) **Normal Bir Moleküle Tek Bir Elektron Transferi İle:** Radikal özelliği göstermeyen bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde eşleşmemiş elektron oluşuyorsa bu tür indirgenme radikal oluşumuna neden olabilir. Örneğin, moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan süperoksidi meydana getirir (Denklem 9).



Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu oluşurlar. 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. Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Mo^{5+} gibi geçiş metallerinin de ortaklanmamış elektronları olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Fakat bu iyonlar reaksiyonları katalizledikleri için serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar [59, 61].

Reaktif oksijen türleri (ROT) oluşumu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar “antioksidan savunma sistemleri” veya kısaca “antioksidanlar” olarak bilinirler. Antioksidanlar serbest radikalleri nötralize etmek için karşılıklı etkileşim halinde olan endergonik ve ekzergonik kaynaklı, çok çeşitli bileşiklerdir. Bu bileşikler gıda kökenli antioksidanlar (C vitamini, E vitamini, karotenoidler, lipoik asit gibi), antioksidan enzimler (SOD, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz gibi), metal bağlayıcı proteinler (ferritin, albümin, laktoferrin, seruloplasmin gibi) ve bitkilerde yaygın şekilde bulunan çeşitli antioksidan fitonutrientlerdir [59].

“Antioksidan” terimi uluslararası kabul edilmiş herhangi bir tanım ile sınırlandırılmamıştır. Gıdalardaki antioksidanlar “yağlar gibi kolaylıkla okside olabilen materyallerin oksidasyonunu önleyebilen veya geciktirebilen küçük miktardaki

maddeler” olarak tanımlanmıştır. Lipidlerin yanı sıra protein, DNA ve karbohidrat gibi okside olabilen diğer tüm bileşikleri de içeren diğer bir tanım “okside olabilen substratlara kıyasla düşük konsantrasyonlarda bulunan ve substratların oksidasyonunu önleyen veya geciktiren maddeler” şeklindedir [59, 63].

1.4.1. Oksijen ve Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

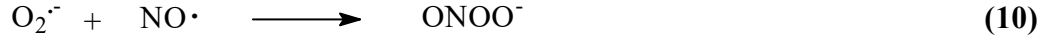
Moleküler oksijen (O_2), iki kovalent bağ yapmasına rağmen, molekülün paramanyetik özellikte olması eşleşmemiş elektron içerdiğini gösterir. Dış orbitallerinde bulunan iki elektron, spinleri aynı yönde ve farklı orbitallerde iken molekül minimum enerji seviyesindedir [59, 64]. Serbest radikal tanımına göre oksijen bir “diradikal” olarak değerlendirilir. Diradikal oksijen, spin kısıtlanmasından dolayı radikal olmayan maddelerle yavaş reaksiyona girmesine rağmen, diğer serbest radikaller ile kolaylıkla reaksiyona girer [59, 61, 65].

Oksijen bulunan bir ortamda fiziksel ve kimyasal etkenlerle, zorunlu metabolik reaksiyonlar sonucu oksijen radikalleri üretilir. Oksijen radikalleri biyolojik sistemlerde bulunan en önemli serbest radikallerdir. Bunlar arasında süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($\cdot OH$) ve radikal olmayan hidrojen peroksitin (H_2O_2) özel yerleri vardır ve “reaktif oksijen türleri (ROT)” olarak bilinirler [59].

Reaktif oksijen türleri, çeşitli serbest radikallerin oluştuğu serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatabilirler ve hücrede karbon merkezli organik radikaller (R^{\cdot}), peroksil (peroksi) radikalleri (ROO^{\cdot}), alkoksil (alkoksi) radikalleri (RO^{\cdot}), tiyil radikalleri (RS^{\cdot}) gibi önemli serbest radikallerin oluşumuna neden olurlar. Tiyil radikalleri oksijenle tekrar reaksiyona girip sülfenil (RSO^{\cdot}) veya tiyil peroksil (RSO_2^{\cdot}) gibi radikalleri de oluşturabilirler [59, 61, 65].

Reaktivite radikale ve ortamda bulunan moleküle bağlıdır. İki serbest radikal karşılaştığında eşleşmemiş elektronları kovalent bağ yaparak birleşir. Ancak bunun sonucunda oluşan türler de reaktif olabilir. Buna örnek olarak NO^{\cdot} ve $O_2^{\cdot-}$ 'in çok hızlı

reaksiyonu ile bir nonradikal ürün olan peroksinitritin oluşumu verilebilir (Denklem 10) [59].

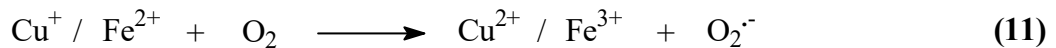


Bununla birlikte bir serbest radikal, radikal olmayan bir madde ile reaksiyona girerek yeni bir radikal oluşturabilir. Biyolojik moleküllerin büyük bir kısmı radikal olmadığı için, *in-vivo* şartlarda reaktif bir radikalın oluşumu, genellikle zincir reaksiyonunun başlamasına yol açabilir [59, 66].

1.4.1.1. Süperoksit Radikali ($\text{O}_2^{\cdot-}$)

Hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit radikali oluşur. Başlıca şu yollarla üretilmektedir [59, 60, 67]

1. Katekolaminler, hidrokinonlar, redükte flavinler, tiyoller, tetrahidrofolatlar gibi biyolojik moleküllerin aerobik ortamda otooksidasyonu sonucu süperoksit meydana gelir.
2. Aktive olmuş fagositik hücreler (nötrofiller, monositler, makrofajlar, eozinofiller), virüs veya bakteriyi inaktive etmek için bol miktarda süperoksit üretirler.
3. Mitokondriyal enerji metabolizması sırasında oluşan elektron sızıntısı sonucu kullanılan oksijenin % 1-3'ü süperoksit radikali yapımı ile sonlanır.
4. İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu süperoksidi oluşturabilir (Denklem 11).

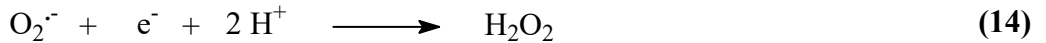
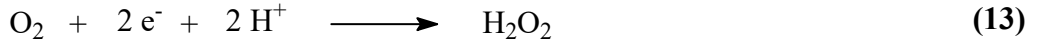


Süperoksit radikalinin önemi H₂O₂ kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Ayrıca hücrel koşullarda üretilen süperoksit hem oksitleyici hem de indirgeyici olarak davranabilir. Örneğin; ferrisitokrom c ile reaksiyonunda indirgeyici olarak davranarak bir elektron kaybeder ve oksijene dönüşür. Epinefrin oksidasyonunda ise oksidan olarak davranarak bir elektron alır ve H₂O₂'ye indirgenir [59, 61]. Süperoksit radikali düşük pH değerlerinde daha reaktiftir ve oksidan olan perhidroksil radikalini (HO₂[·]) oluşturmak üzere protonlanır. Süperoksit radikali ve perhidroksi radikali birbiriyle reaksiyona girince biri yükseltgenir, diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonu sonucu H₂O₂ oluşur (Denklem 12) [59].



1.4.1.2. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

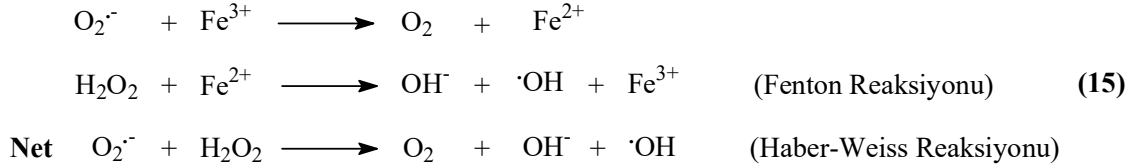
Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu H₂O₂ meydana gelir (Denklem 13 ve 14) [59].



Yapısında eşleşmemiş elektron içermediği için radikal değildir. Ancak biyolojik membranları geçerek hücrelerin arasına veya içine kolayca difüze olabilir ve uzun ömürlü bir oksidandır [59, 60, 67].

H₂O₂ bir radikal olmadığı halde, ROT içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli rol oynar. Çünkü geçiş metal iyonları varlığında Fenton reaksiyonu sonucu; süperoksit radikali varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve daha çok hasar verici olan hidroksil radikaline dönüşür [59, 68].

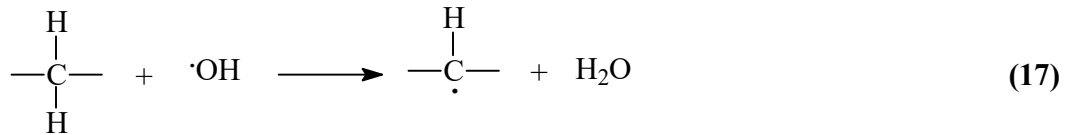
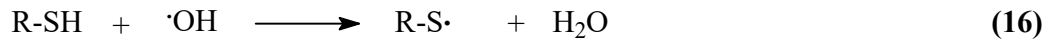
Haber-Weiss reaksiyonu süperoksidin direkt olarak H_2O_2 ile reaksiyonudur, katalizörsüz reaksiyon oldukça yavaş ilerler. Demirle katalizlenen ikinci şekli ise çok hızlıdır. Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe^{3+}) süperoksit tarafından ferro demire (Fe^{2+}) indirgenir. Sonra Fenton reaksiyonu ile H_2O_2 'den $\cdot OH$ ve $\cdot OH$ üretilir. Reaksiyon mekanizması aşağıdaki şekildedir (Denklem 15) [59, 61]:



1.4.1.3. Hidroksil Radikali ($\cdot OH$)

Hidroksil radikalının oluşum yollarından biri geçiş metalleri varlığında H_2O_2 'nin indirgenmesidir (Fenton reaksiyonu). Suyun yüksek enerjili iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalması sonucu da oluşur [59].

Biyolojik sistemlerdeki en reaktif ve hasar verici radikal türüdür. Yarılanma ömrü çok kısa olmasına rağmen ortamda rastladığı her biyomolekülle tepkimeye girer ve oluştuğu yerde büyük hasara neden olur [59-61]. Tiyoller ve yağ asitleri gibi molekülerden bir proton kopararak tiyil radikalleri ($RS\cdot$), C merkezli organik radikaller ($R\cdot$), organik peroksitler ($RCOO\cdot$) gibi yeni radikallerin oluşmasına sebep olur (Denklem 16 ve 17) [59].



Her tür biyolojik molekülle reaksiyona girse de özellikle elektronca zengin bileşikler tercihli hedefleridir. Nükleik asitler (pürin ve pirimidin bazları) ve proteinler (aromatik amino asitler) ile çeşitli radikalik tepkimeler verir [59].

1.4.1.4. Singlet Oksijen (1O_2)

Moleküler oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitale 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 [61, 63, 67]. 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 [59, 69].

Vücutta, pigmentlerin (flavin içeren nükleotidler, retinal, bilirubin) oksijenli ortamda ışığı absorblamasıyla, $O_2^{\cdot\cdot}$ 'nin dismutasyon tepkimesi sırasında, porfiryaya gibi porfirin metabolizması hastalıklarında oluşabilir [59, 60].

1.4.1.5. Hipoklorik Asit (HOCl)

Doku makrofajları gibi fagositik hücreler, nötrofil, eozinofil gibi granüositler mikroorganizmaları öldürmek için klorlanmış oksidanlar üretebilir [59, 70, 71]. HOCl miyeloperoksidaz enzimi tarafından H_2O_2 ve Cl^- iyonunun birleşmesi sonucu oluşur. Dokularda hasar oluşturan güçlü bir oksidandır.

1.4.1.6. Nitrik Oksit (NO)

NO hem fizyolojik hem patofizyolojik süreçlerde önemli bir role sahip serbest radikaldir. Nitrik oksit çeşitli reseptörlerin aktivasyonu sonucu L-arginin ve oksijenden nitrik oksit sentaz (NOS) etkisiyle sentezlenir. Vasküler endotelial hücrelerde oluşturulan önemli bir vazodilatördür, önemli bir nörotransmitterdir, inflamasyon ve enfeksiyon durumlarında sitokinler ve endotoksinler tarafından indüklenerek bol miktarda üretilir ve parazitlerin öldürülmesinde rol oynar [59, 67, 70].

1.4.2. Serbest Radikallerin Etkileri

Güçlü reaktif özelliğe sahip olan serbest radikaller tüm hücre bileşenleriyle kolayca etkileşebilirler. Hücrenin savunma mekanizmaları ile ortadan kaldırılmazlarsa, biyolojik moleküllerle reaksiyona girerek yeni serbest radikallerin olduğu zincirleme bir reaksiyon başlatır [59].

1.4.2.1. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri

Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki ve gıdalardaki kolesterol ve yağ asitleri serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller etkisi ile oksidatif yıkımı “nonenzimatik lipid peroksidasyonu” olarak bilinir ve zincir reaksiyonu şeklinde ilerler [59, 60].

1.4.2.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı çoklu doymamış yağ asitlerinden daha az hassastır. Ancak proteinin aminoasit içeriğine göre radikalik hasardan etkilenme derecesi değişir. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin gibi doymamış bağ içeren ve metiyonin, sistein gibi kükürt bulunduran aminoasitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenir [59, 72]. Bunun sonucunda karbon merkezli organik radikaller ve sülfür radikalleri oluşur. Bu reaksiyonlar sonucu albümin ve immunoglobulin G (IgG) gibi fazla sayıda disülfit bağı bulunduran proteinlerin tersiyer yapısı bozular. Hemoglobinin ferro demiri (Fe^{+2}) süperoksit ve diğer oksitleyici ajanlarla oksitlenmeye duyarlı olup, bunun sonucunda oksijen taşımayan methemoglobin oluşur [59, 70].

1.4.2.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitlere ve DNA'ya Etkileri

DNA serbest radikallerden kolay etkilenen bir hedeftir. İyonize edici radyasyonla oluşan radikaller, DNA'yı etkileyerek hücre mutasyonuna ve ölümüne yol açabilirler. Aktive olmuş nötrofillerden salınan H₂O₂ membranlardan kolayca geçebildiği için hücre çekirdeğine kadar ulaşır. Burada oluşan hidroksil radikali dört DNA bazıyla kolayca reaksiyona girerek baz modifikasyonlarına neden olur [59, 67]. DNA hasarı onarılmazsa hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir [59, 61].

1.4.2.4. Serbest Radikallerin Karbohidratlara Etkisi

Serbest radikallerin karbohidratlar üzerinde polisakkarit depolimerizasyonu ve özellikle monosakkarit otooksidasyonu gibi etkileri vardır. Monosakkaritlerin otooksidasyonu ile meydana gelen süperoksitler ve okzalaldehyitler diyabet ve sigara içimi ile ilgili patolojik olaylarda rol oynar. Okzalaldehyitler ayrıca DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Bu nedenle kanser ve yaşlanma olaylarında da rol oynarlar [59].

Bağ dokunun önemli bir mukopolisakkaridi olan hiyalüronik asit sinoviyal sıvıda bol miktarda bulunmaktadır. Romatoid artrit gibi enflamatuvar eklem hastalıklarında hiyalüronik asidin oluşan serbest radikal tarafından parçalandığı gösterilmiştir [59, 73, 74].

1.4.3. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanların sınıflandırılması çeşitlilik göstermektedir. Doğal (endojen kaynaklı) ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olarak sınıflandırılabilirdiği [61] gibi enzim ve enzim olmayan antioksidanlar [59, 75] şeklinde sınıflandırmalar da mevcuttur. Vücudumuzdaki antioksidan savunma sisteminde yer alan başlıca elemanlar ise;

enzimler, metal iyonlarını bağlayan proteinler ve suda ve yağda çözünen radikal tutucularıdır [59, 67, 76].

1.4.4. Antioksidan Aktivite Tayin Metodları

Antioksidan kapasite ve antioksidan aktivite terimleri birbirlerinin yerine kullanılmaktadır; fakat farklı anlamlara sahiptirler. Kapasite; bir numunenin süpürdüğü belirli bir serbest radikal miktarının ölçüsüdür. Yani bileşenin antioksidan kapasitesini ölçmez. Aktivite; bir antioksidan ve oksidan arasındaki reaksiyonun hız sabitidir [77]. Ölçümlerde analizin oluşturduğu şartlar ve kullanılan analitik metodlar aynı gıda türü için, farklı sonuçlara sebep olabilmektedir. Günümüze kadar pek çok farklı metotla in-vitro ve in-vivo oksidasyon ölçüm teknikleri uygulanmış ve geliştirilmiştir.

Son zamanlarda toplam antioksidan kapasite veya toplam antioksidan aktiviteyi ölçmek için birkaç metod geliştirilmiştir. Trolox ekivalenti antioksidan kapasite (TEAC), toplam radikal tutma parametresi (TRAP), demir (III) iyonu indirgeme gücü (FRAP) ve oksijen radikalini absorblama kapasitesi (ORAC) bunlardan bazılarıdır [59].

Bu metodlar substrat, prob, reaksiyon şartları ve antioksidan etkinin hesaplanma şekline göre birbirinden farklıdır. Bu yüzden farklı metodlardan alınan sonuçları karşılaştırmak son derece zordur [59, 78].

Bu metodlar kimyasal reaksiyonlarına göre başlıca iki gruba ayrılırlar [59]: Hidrojen atomu transferine (HAT) dayanan metodlar ve bir tek elektron transferine (ET) dayanan metodlar. HAT- ve ET-temelli metodlar örneğin koruyucu antioksidan kapasitesi yerine radikal veya oksidan giderici kapasitesini ölçmeyi hedefler. Basit “lipidsiz” sistemlerde; antioksidandan serbest radikal molekülüne elektron transferi veya H^+ verilmesinin direk ölçümü yapılır. Bu metodlar ticari kit halinde de olup, yaygın şekilde kullanılırlar [59].

1.4.4.1. HAT-Temelli Metodlar

ORAC, TRAP gibi HAT-temelli metodlarda peroksil radikali (ROO[·]) oluşturmak üzere bir radikal başlatıcı kullanılır. Eklenen antioksidan radikaller için ortamdaki substrat ile yarışır. ROO[·] tercihen antioksidandan bir hidrojen atomu alır. Sonuçta ROO[·] ve hedef molekül arasındaki reaksiyon inhibe edilir veya geciktirilir [59, 79, 80].

1. ORAC (Oksijen Radikalini Absorblama Kapasitesi) Metodu: Çeşitli ekstraktlar ve fitokimyasalların antioksidan aktivitesini ölçmek için kullanılır. Metodun ilk halinde prob olarak fluoresan bir protein olan β -fikoeritrin (β -PE) ile ve peroksil radikal başlatıcısı olarak AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropan)dihidroklorit) bileşiği ile çalışılmıştır. Ancak β -PE'nin fotostabil olmaması, polifenolik maddelerle etkileşimi ve radikal başlatıcı eklenmediğinde bile fluoresansının azalması dezavantajlarıyla karşılaşılmış ve sonraları ORAC metodu, prob olarak β -PE yerine floressein kullanılarak geliştirilmiştir. Floressein (FL, 3',6'-dihidroksispiro [izobenzofuran-1[3H], 9'[9H]-ksanten]-3-on) protein olmayan sentetik bir probdur [59, 63].

Bu metotta radikal başlatıcı olan AAPH, floressein veya β -PE'nin fluoresansında azalmaya neden olur. Reaksiyon ilerledikçe floressein veya β -PE tüketilir. Antioksidan varlığında AAPH radikalleri giderilir ve fluoresans azalması inhibe edilir [59, 81].

2. TRAP (Toplam Radikal Tuzaklayıcı Antioksidan Parametre) Metodu: Plazma ve serumun "total antioksidan kapasitesi"ni ölçmek için geliştirilmiştir. Bu metod plazma antioksidanlarını okside etmek için ABAP (2,2'-azobis(2-amidinopropan) hidroklorit) radikal başlatıcısı tarafından peroksil radikallerinin üretilmesi ve meydana gelen oksidasyon sırasında tüketilen oksijenin ölçülerek izlenmesine dayanır. Daha sonra metod, oksitlenebilir bir lipid substratı olan linoleik asidin eklenmesiyle modifiye edilmiştir [59, 78]. Modifiye metotta Cu²⁺ ya da bir azo başlatıcısı ile linoleik asit oksidasyonu yapay olarak indüklenir, otooksidasyonun ilerleyişi linoleik asit oksidasyonundan oluşan konjuge dienperoksitlerin absorbansının takibi ile izlenir [59, 80].

3. Crocin Ağartma Metodu: Crocin doğal bir karotenoid türevidir. Metod serbest radikal başlatıcı AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropan)dihidroklorit) tarafından, crocinin ağarmasını önlemede antioksidanların inhibisyon kapasitesini ölçer. Crocin safrandan elde edilen doğal pigmentler karışımı olduğu için çok fazla çeşitliliğe sahiptir ve karotenoidler gibi diğer gıda pigmentleri aynı dalga boyunda ($\lambda=450$ nm) ışık absorblar. Bu da crocinin endüstriyel uygulamasını sınırlar [59, 80].

1.4.4.2. ET-Temelli Metodlar

Antioksidanın, Fe^{3+} , $ABTS^+$ gibi bir oksidan tarafından yükseltgenmesi sonucunda bir elektron antioksidandan oksidana transfer edilir, bu da oksidanın renk değişimine sebep olur. UV/VIS ile absorbans değişimi ölçülür. Bu absorbans değişiminin derecesi antioksidan konsantrasyonuyla orantılı olduğundan, antioksidanın indirgeyici kapasitesi tayininde kullanılır. FCR ile toplam fenolik bileşik tayini, Cu^{2+} indirgeme kapasitesi, TEAC ve FRAP metodları bu sınıfa girer [59].

1. FCR ile Toplam Fenolik Bileşik Tayini: Metod başlangıçta proteinlerde fenol grubu içeren tirozin kalıntısı ile Folin-Ciocalteu ayırıcının (FCR) etkileşiminden dolayı protein analizi için düşünülmüştür. Daha sonraları daha genişletilerek toplam fenol metodu olarak kullanımı artmıştır. FCR Cu^+ , C vitamini gibi fenolik olmayan bileşikler tarafından da indirgenebildiği için fenolik bileşiklere spesifik değildir. Ancak fenolik bileşikler sadece bazik şartlar altında (metotta pH~10 için karbonat çözeltisi kullanılır) FCR ile reaksiyon verir. Fenolik antioksidanların varlığında ayıraçtaki Mo(VI)'nın indirgenmesiyle renk sarıdan maviye döner ve 760 nm'de absorbans ölçülür [59].

FCR örneğin indirgeyici kapasitesini ölçen bir metod olduğu için “antioksidan kapasite” ve FCR ile toplam fenol metodu arasında korelasyon bulunur. Basit ve tekrarlanabilir bir metod olduğundan, fenolik antioksidan çalışmalarında rutin olarak kullanılmaktadır [59, 80].

2. TEAC (Trolox Ekvivalenti Antioksidan Kapasite) Metodu: İlk kez 1993 yılında bildirilen metod daha sonraları geliştirilmiştir. Bu metotta metmiyoglobin/H₂O₂ sisteminin oluşturduğu ferrilmiyoglobin radikali ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat)) ile etkileşerek ABTS^{•+} katyonik radikalini üretir. Oluşan ABTS^{•+} radikalinin antioksidan tarafından giderilmesi 734 nm'de absorpsiyonun azalmasıyla takip edilir [59, 78]. Modifiye metotta ise ABTS^{•+} radikali, ABTS'nin potasyum persülfat oksidasyonu ile direkt üretilir. Antioksidan kapasite suda çözünen E vitamini analogu olan trolox konsantrasyonu (mM) olarak tayin edilir. TEAC, 1 mM troloxunla aynı aktiviteyi göstermek için gerekli olan antioksidan konsantrasyonunu ifade eder. Kullanımı artmasına rağmen bazı sınırlamaları vardır. En büyük dezavantajı sentetik ABTS^{•+} radikalinin biyolojik sistemlerde bulunmamasıdır [59, 63, 80].

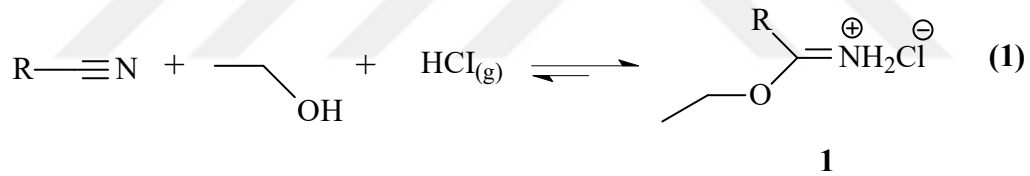
3. FRAP (Fe(III) İyonu İndirgeme Gücü) Metodu: Bu metotta düşük pH'da ferrik tripiridiltriazin kompleksi (Fe³⁺-TPTZ) antioksidanların etkisiyle ferröz komplekse (Fe²⁺-TPTZ) indirgenir. Oluşan kompleksin 593 nm'de absorpsiyonu ölçülür. Böylece elektron vermenin antioksidanların toplam indirgeme kapasitesiyle lineer olduğu varsayılır. Bu yaklaşımın ana dezavantajı, metod okside olabilen bir substrat içermediğinden antioksidanların koruyucu özellikleri hakkında bilgi sağlamamasıdır [59, 80, 82].

4. DPPH Radikali Giderme Metodu: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikali ticari olarak mevcut, stabil radikallerden biridir. Fenolik antioksidanların aktiviteleri üzerinde yapı etkisini çalışmak için kullanılan ilk sentetik antioksidanlardan biridir. Etanoldeki çözeltisi mor renklidir ve 515 nm'de maksimum absorpsiyon verir. Antioksidan tarafından indirgenince rengi solduğu için reaksiyonun ilerleyişi spektrofotometre ile izlenir. DPPH'in renginin solması antioksidan konsantrasyonu ile orantılıdır. Başlangıçtaki ilk DPPH konsantrasyonunu % 50 azaltmak için gerekli antioksidan miktarı "antiradikal etkinlik"i ifade eder ve EC₅₀ (mg/ml) olarak isimlendirilir [59, 78]. EC₅₀ değeri antioksidan aktiviteyi ölçmek için daha yaygın olarak kullanılan bir parametredir [59].

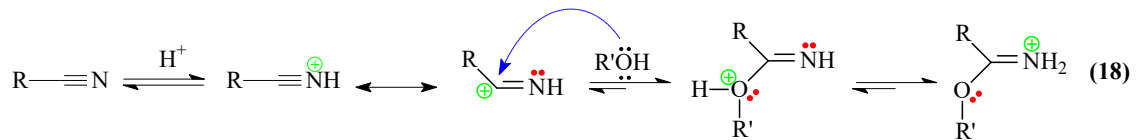
5. Oksidan Olarak Cu²⁺ Kullanan Toplam Antioksidan Potansiyel Metodu: Bu metoda dair az sayıda yayınlanmış bilgi vardır. Örnekte bulunan indirgenler (antioksidanlar) tarafından Cu²⁺ Cu⁺'e indirgenir. Cu⁺ kromojenik bir reaktif olan batokupronin (2,9-dimetil-4,7-difenil-1,10-fenantrolin) ile kompleks oluşturur. 490 nm'de maksimum absorpsiyon ölçülür [59, 80].

1.5. 3-Alkil-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on Bileşiklerinin Sentezi

Son zamanlarda birçok potansiyel biyolojik aktif türevi elde edilen 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (3) bileşiklerinin sentezi için bazı yöntemler geliştirilmekle beraber en uygun ve kullanışlı yöntem nitrillerden başlanarak geliştirilen yöntemdir. Pinner yöntemine göre nitrillerin bir susuz alkol ile eter gibi susuz bir çözücü içinde HCl gazı ile soğukta muamelesinden iminoester hidroklorürler (alkil imidat hidroklorürler) (1) elde edilir (Denklem 1) [14].

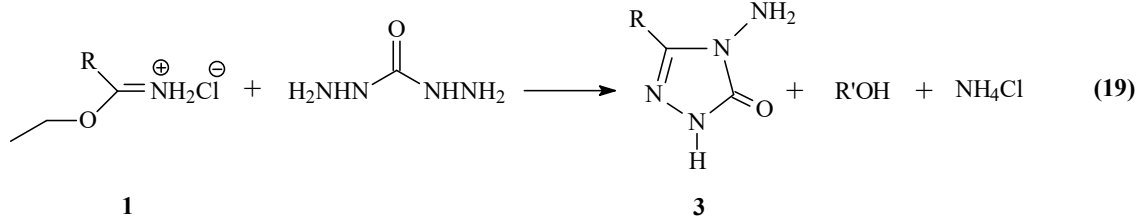


1 Tipi bileşiklerin Pinner yöntemine göre sentezlendiği reaksiyonun muhtemel mekanizması, asidik ortamda protonlanmış nitrile bir alkolün nükleofilik katılması üzerinden yürümektedir (Denklem 18) [82].

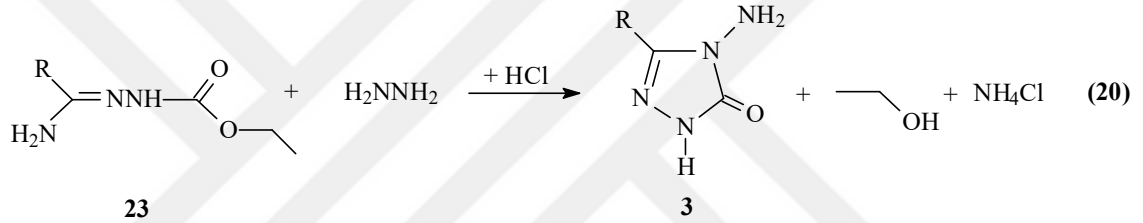


Çalışmada farklı reaksiyonları incelenen 3 tipi 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin sentezi amacıyla birçok metod geliştirilmiştir.

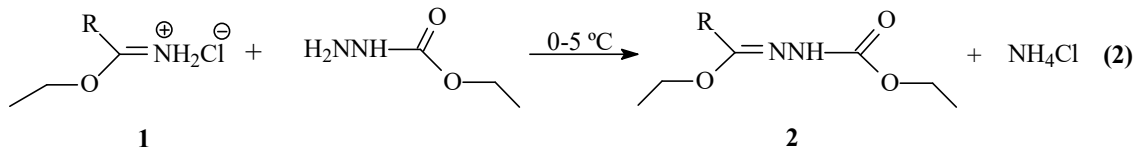
Bunlardan birinde nitrillerden elde edilen iminoester hidroklorürlerin (1) karbohidrazid ile muamelesi öngörülmüştür (Denklem 19) [83].

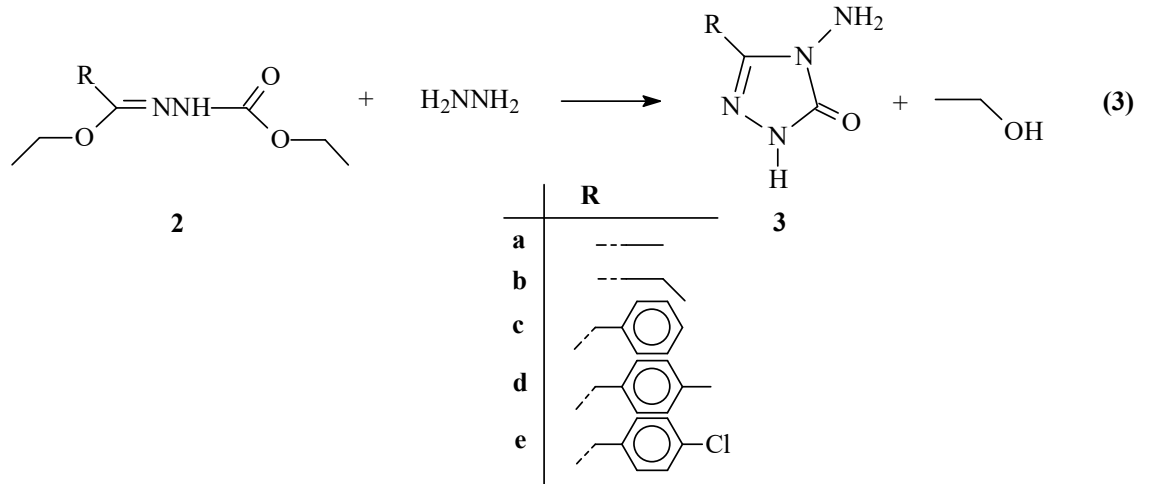


3 Tipi bileşiklerin sentezi amacıyla yapılan farklı bir çalışmada ise 23 tipi amid etoksikarbonilhidrazonlar hidrazin ile reaksiyona sokulmuştur (Denklem 20) [15].

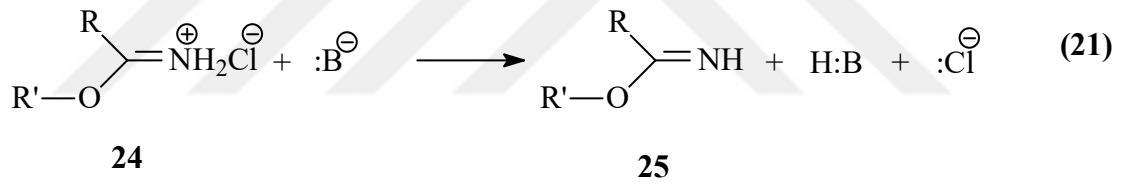


3 Tipi bileşiklerin sentezi için en uygun olan ve çalışmada da kullanılan yöntemde, 1 tipi alkil imidat hidroklorürlerin soğuk mutlak etanollü ortamda etil karbazat ile muamelesinden elde edilen [15-18] ester etoksikarbonil-hidrazonlar (2) hidrazin hidrat ile kaynar sulu ortamda muamele edilmişlerdir (Denklem 2 ve 3) [17-20].

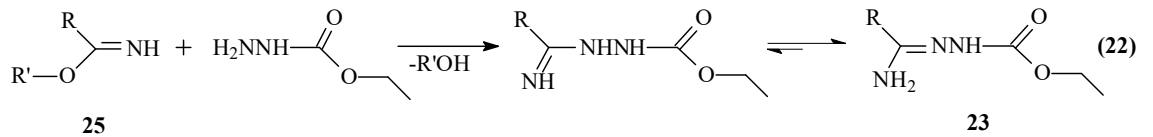


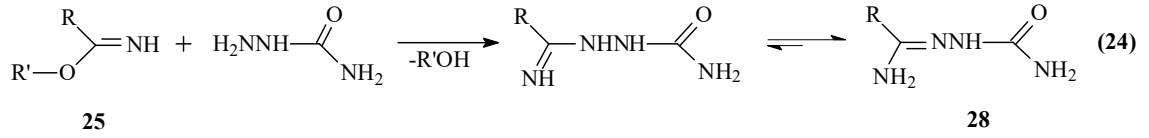
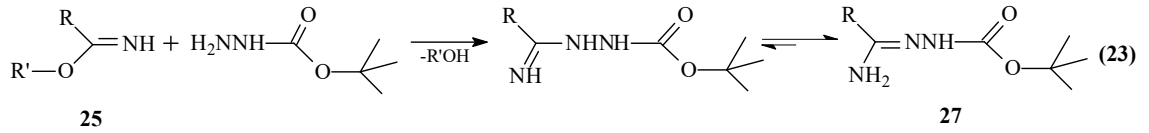


Pinner Yöntemi'ne göre hidroklorürleri halinde sentezlenen 24 tipi iminoester hidroklorürler uygun koşullarda ve NaOH, NaOEt gibi bazlar ile muamele edilirse serbest iminoesterler (25) ele geçer (Denklem 21) [84-86]. Serbest iminoesterler (alkil imidatlar) (25) genellikle erime noktası düşük olan hatta sıvı olan bileşiklerdir.

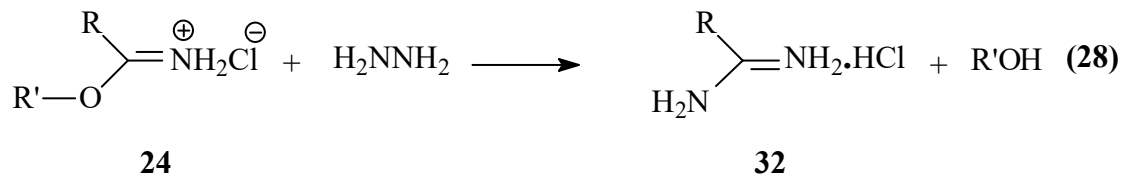
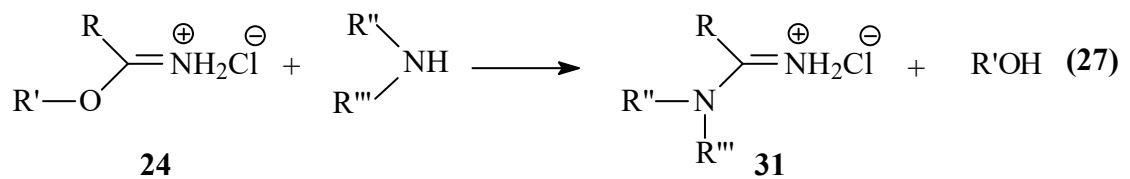
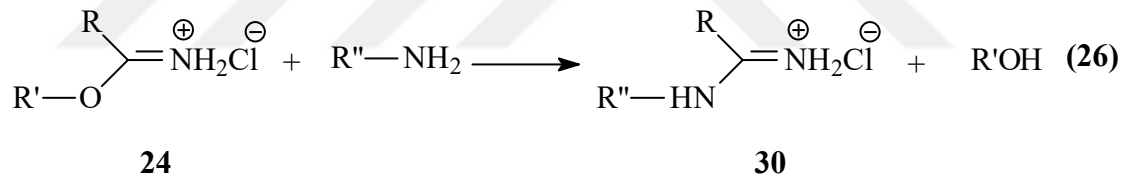
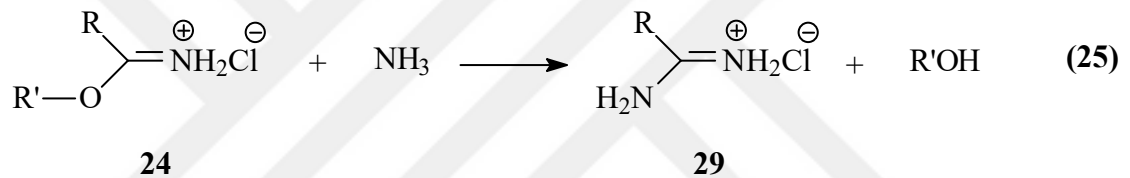


24 Tipi hidroklorürlerinden serbest hale geçirilen iminoesterlerin (25) bugüne kadar birçok reaksiyonu incelenmiştir. Bu reaksiyonların üçünde 25 tipi bileşiklerin etil karbazat, tert-butil karbazat ve semikarbazit ile ayrı ayrı muamelesinden imino grubunun korunması sonucu, sırasıyla amid etoksikarbonilhidrazonlar (23), amid tert-butoksikarbonil-hidrazonlar (27) ve amid semikarbazonlar (28) elde edilmiştir (Denklem 22-24) [16, 84-86].

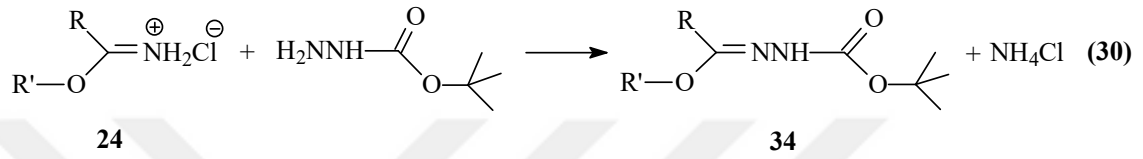
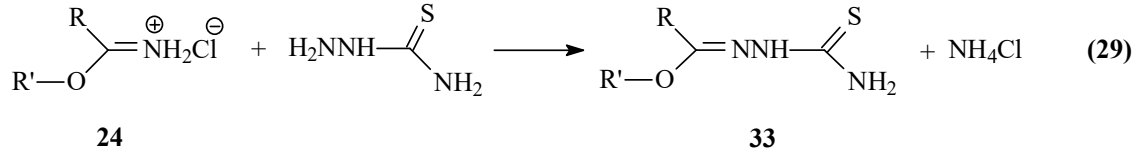




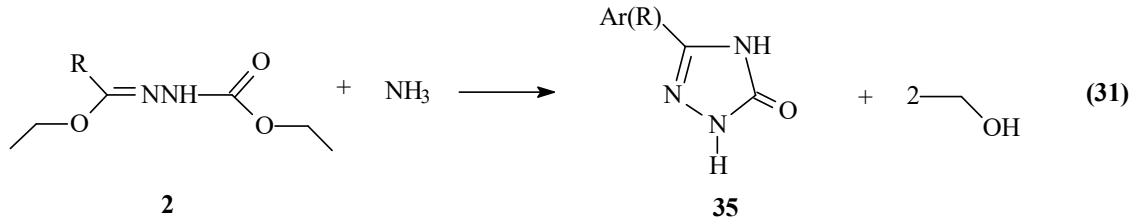
24 Tipi iminoester hidroklorürlerin başka reaksiyonları da incelenmiş olup; amonyak ile amidin hidroklorürleri (29), primer aminler ile *N*-substitue amidin hidroklorürleri (30), sekunder aminler ile *N,N*-disubstitue amidin hidroklorürleri (31) ve hidrazin ile amidrazon hidroklorürleri (32) verdiği bildirilmiştir (Denklem 25-28) [84].

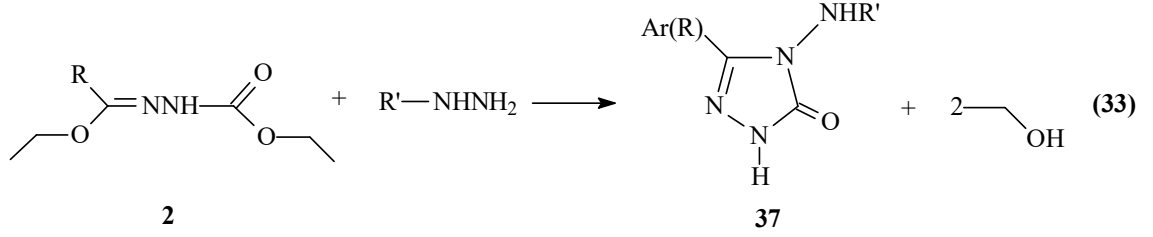
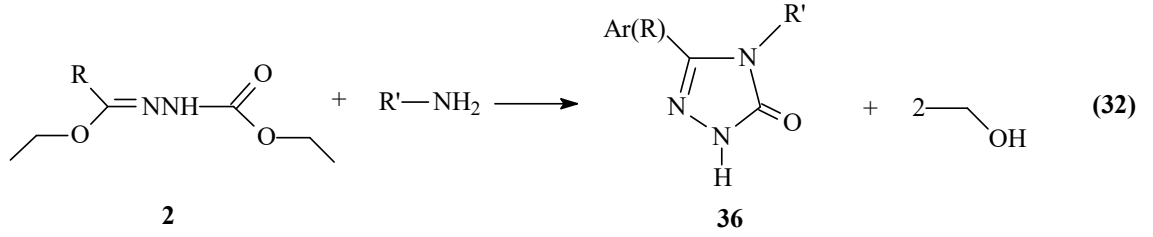


24 Tipi iminoester hidroklorürlerin incelenen farklı iki reaksiyonunda tiyosemikarbazit ve tert-butilkarbazat ile muamelesi sonucu karşın olan ester tiyosemikarbazonlar (33) ve ester tert-butoksikarbonilhidrazonlar (34) ele geçmiştir (Denklem 29 ve 30) [86, 87].



Denklem 2 uyarınca 1 tipi bileşiklerin etil karbazat ile reaksiyonundan elde edilen ve tez kapsamında bazı reaksiyonları incelenen 2 tipi ester etoksikarbonilhidrazonların Denklem 3 uyarınca 3 tipi bileşikleri oluşturduğu reaksiyon dışında da bazı reaksiyonları incelenmiş ve 4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on halka sistemini içeren bileşikler sentezlenmiştir. 2 tipi ester etoksikarbonilhidrazonların amonyak ile 3-alkil(aril)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (35), primer aminler ile 3,4-dialkil(diaryl)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (36), alkil hidrazinler ile 3-alkil(aril)-4-alkilamino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (37) ve aril hidrazinler ile de 3-alkil(aril)-4-arilamino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (38) bileşiklerini verdiği bildirilmiştir (Denklem 31-34) [15, 16, 83-86, 88].



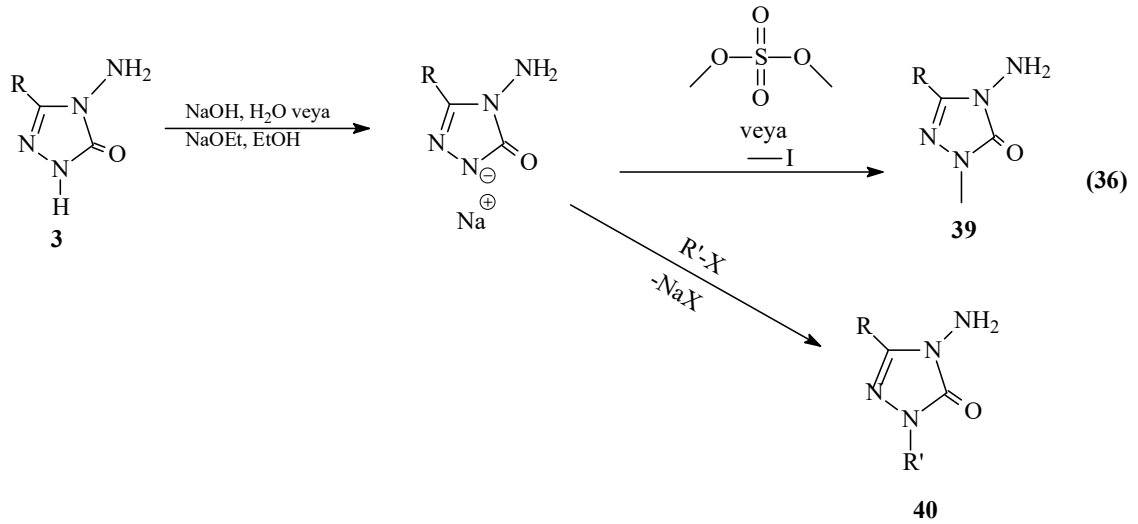
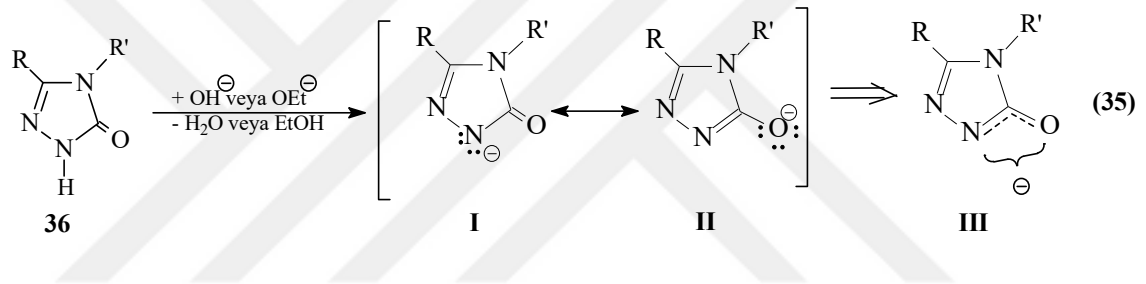


1.6. 3-Alkil-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on Bileşiklerinin Bazı Reaksiyonları

Triazoller; bitkilerin büyüme, gelişme ve metabolizma faaliyetlerinde etkili olan, onların abiyotik ve biyotik etmenlere karşı koyma yeteneklerini önemli derecede etkileyen bileşiklerdir. Triazoller, herbisit ve sistemik fungusit türevleridir [89]. Triazol ve türevlerinden elde edilen Schiff bazlarının, endüstrisinde, antifungal, antibakteriyel, antikanser, antiviral [90, 91] ve çeşitli biyolojik aktivitelerinden dolayı çok geniş kullanım alanına sahip olduğu bilinmektedir [92, 93]. Özellikle; HIV (human immunodeficiency virus), HPV (human papilloma virus) tipi virüsleri ile savaşmada önemli sonuçlar alınmıştır. Böyle metal kompleksleri; testis, ovaryum, gırtlak, beyin ve mesane tümörlerinin tedavisinde de en iyi sonuçları vermektedirler. 1,2,4-triazoller farmakolojik aktivite göstermektedirler. Triazoller; kemoterapide kullanılan ilaçlardır. Deterjan özelliğine sahip bazı antibiyotik ve antiseptikler, sitoplazma geçirgenliğini artırarak hücre için yaşamsal önemi olan bileşiklerin dışarı sızmasına neden olarak

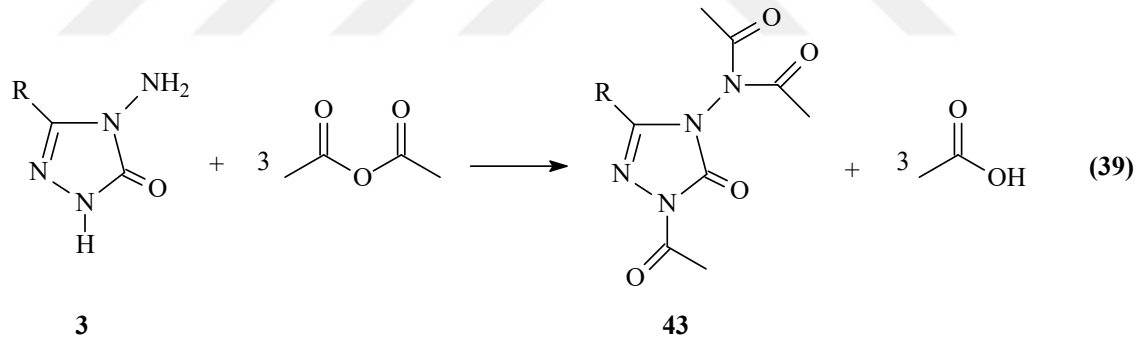
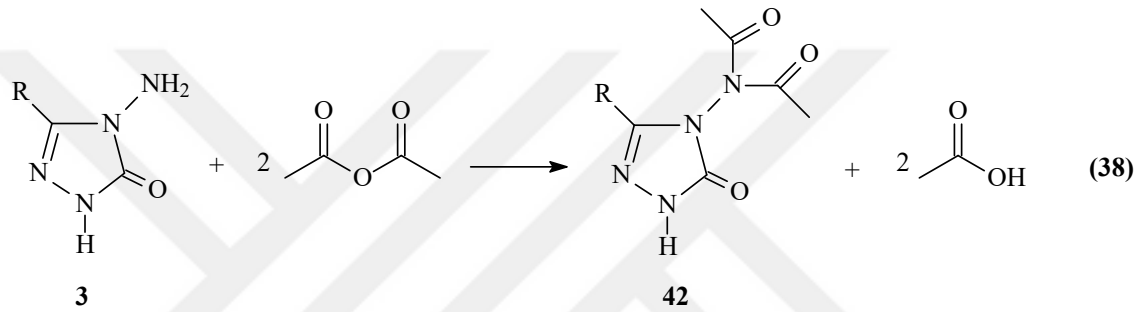
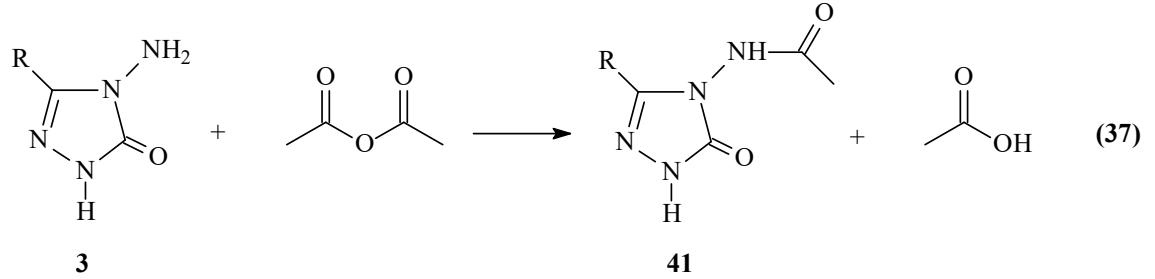
bakterisid etki oluştururlar [94]. Bunlar gelişimini tamamlamış bakterileri de öldürürler. Bu gruptaki ilaçlardan biri de triazollerdir. Oksijen, nitro, sülfür gibi sübstiütentler içeren triazol türevleri; bundan başka bakır gibi metallerde korozyonu önlemek amacıyla, en yaygın olarak kullanılan inhibitör türlerindedir [95]. Bazı triazollerin diğer bir kullanım alanı da tekstil sanayidir. Optik beyazlatıcı olarak kullanılırlar. Özellikle yapısı selüloz veya polyester olan kumaşların beyazlatılmasında kullanılırlar.

4,5-Dihidro-1,2,4-triazol-5-on halkasının zayıf asidik özellikte olması nedeniyle (Denklem 35) 3 tipi bileşiklerin *N*-1'de alkilendirilebildiği ve karşın olan *N*-metil (39) ya da *N*-alkil (40) türevlerinin elde edildiği birçok çalışma gerçekleştirilmiştir (Denklem 36) [17, 96, 97].



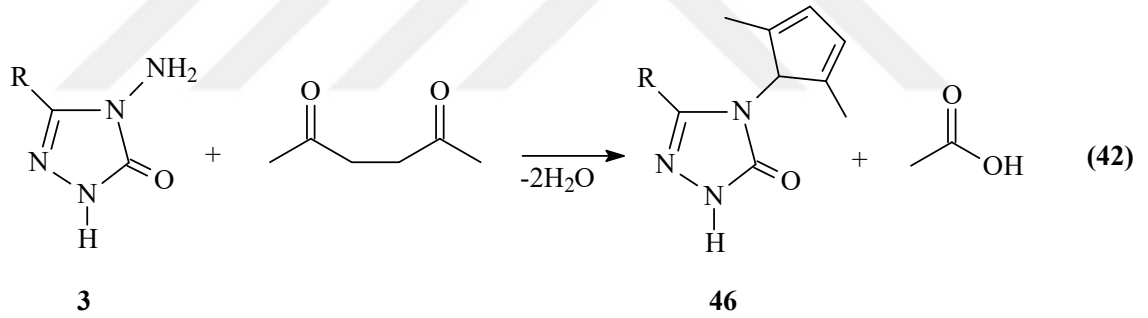
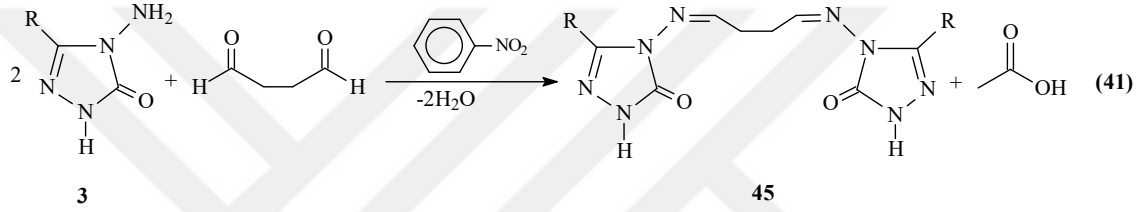
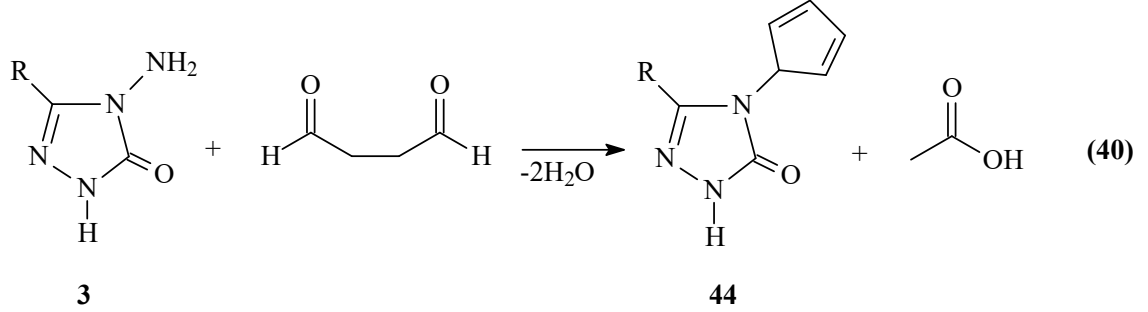
3-Alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (3) bileşiklerinin asetik anhidrid ile reaksiyonlarının incelendiği bir çalışmada reaksiyon koşullarına bağlı olarak 41 tipi monoasetil türevleri olan 3-alkil(aril)-4-asetilamino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on, 42 tipi diasetil türevleri olan 3-alkil(aril)-4-diasetilamino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-

5-on ve 43 tipi triasetil türevleri olan 1-asetil-3-alkil(aril)-4-diasetilamino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri sentezlenmiştir (Denklem 37-39) [18, 96].

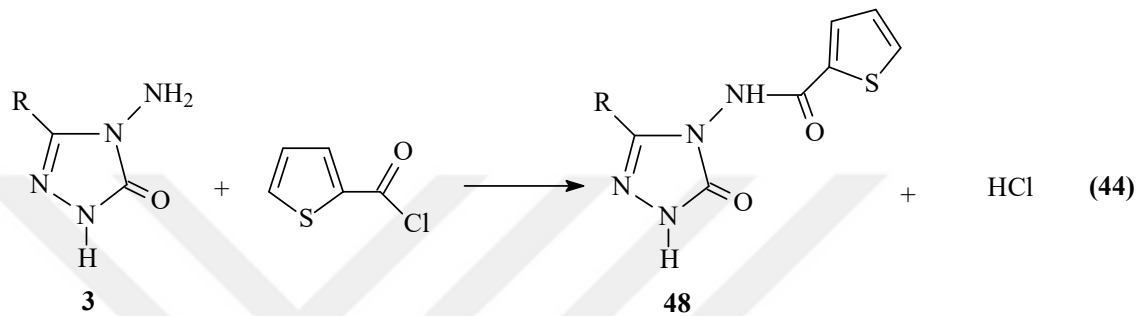
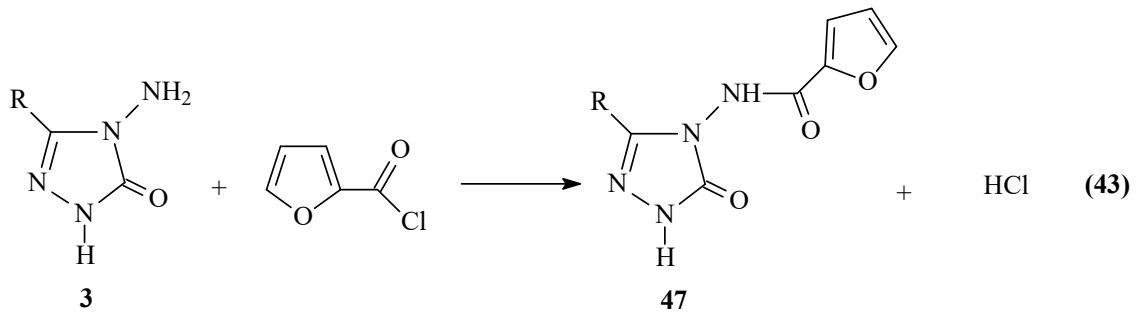


3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin reaksiyonlarının incelendiği iki ayrı çalışmadan birinde suksindialdehid eşdeğeri olan 2,5-dimetoksitetrahydrofuran ile reaksiyon koşullarına bağlı olarak asetik asitli ortamda *N,N'*-bağlı biheterohalkalı bileşik olan 3-alkil(aril)-4-(pirrol-1-il)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (44) 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 (45) bileşiklerini, diğerinde ise asetonil aseton ile *N,N'*-bağlı biheterohalkalı bileşik olan 3-alkil(aril)-4-(2,5-dimetilpirrol-1-il)-4,5-

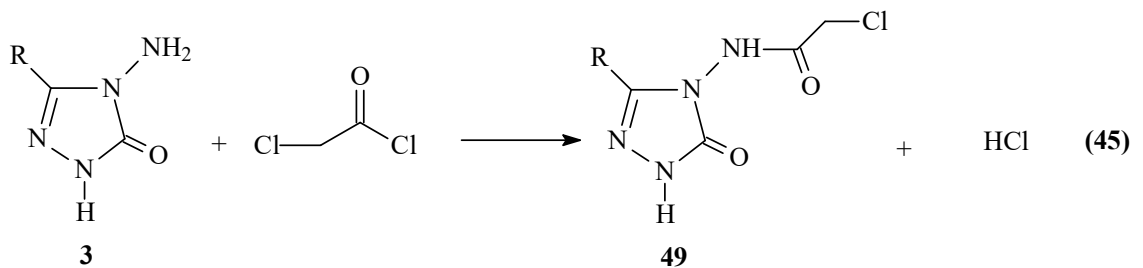
dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (47) bileşiklerini oluşturduğu bildirilmiştir (Denklem 40-42) [98, 99].

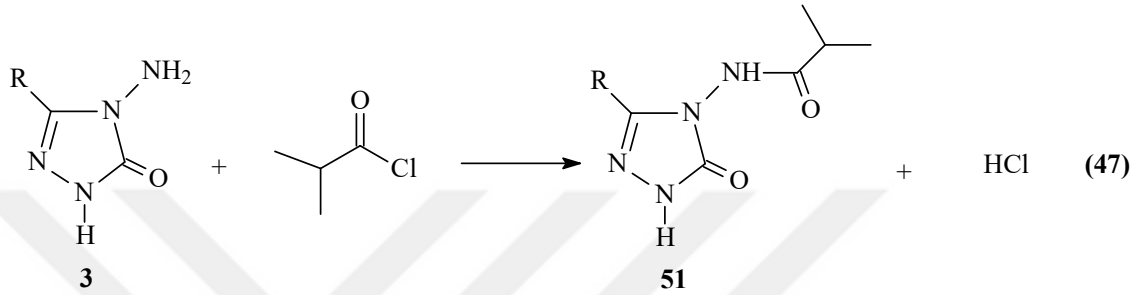
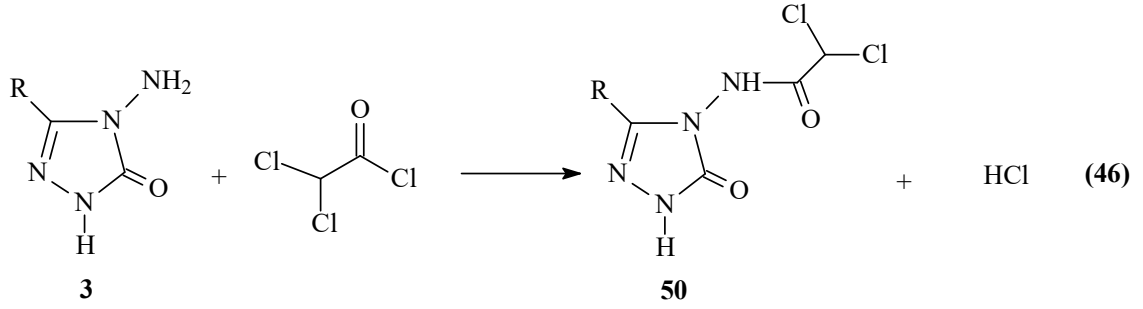


3 Tipi bileşiklerin açıl halojenürler ile reaksiyonları da başka bir çalışmada incelenmiş 2-furoil klorür ve tiyofen-2-karbonil klorür ile muamelesi sonucu karşın olan 47 tipi 3-alkil(aril)-4-(2-furoilamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on ve 48 tipi 3-alkil(aril)-4-(2-tiyenilkarbonilamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerini verdiği rapor edilmiştir (Denklem 43 ve 44) [100].

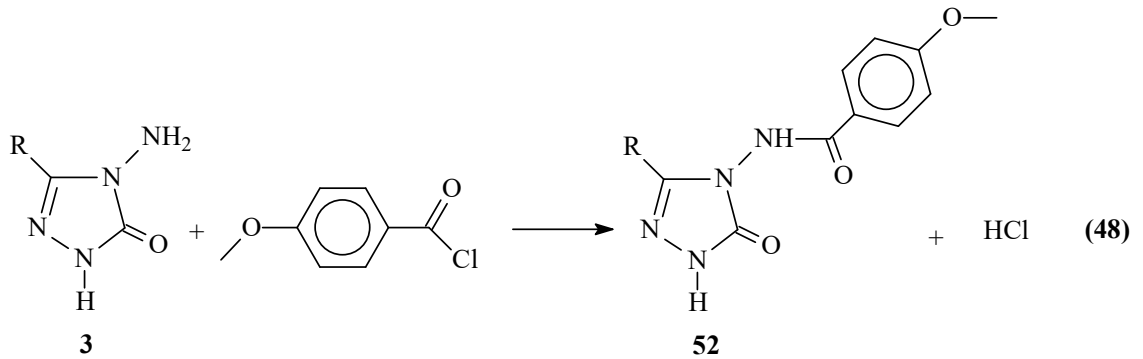


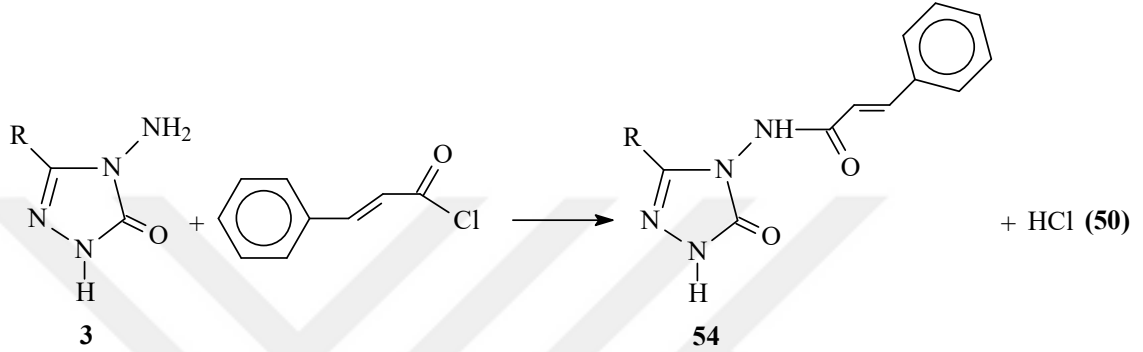
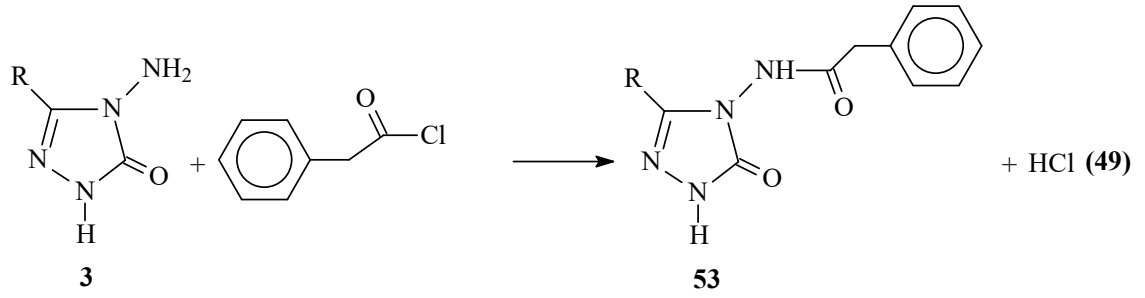
Yine benzer bir çalışmada 3 tipi bileşiklerin kloroasetil klorür, dikloroasetil klorür ve izobutiril klorür ile reaksiyonları incelenmiş ve karşın olan 3-alkil(aril)-4-kloroasetilamino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (49), 3-alkil(aril)-4-dikloroasetilamino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (50) ve 3-alkil(aril)-4-izobutirilamino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (51) bileşiklerinin elde edildiği rapor edilmiştir (Denklem 45-47) [100, 101].





Yakın bir zamanda yapılan başka bir çalışmada ise 3 tipi bileşiklerin 4-metoksibenzoil klorür ile reaksiyonları incelenerek sentezlenen 52 tipi 3-alkil(aril)-4-(4-metoksibenzoilamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin potansiyometrik olarak tetrabutilamonyum hidroksitle bazı susuz çözücüler içinde titrasyonları yapılarak yarı nötralizasyon metodu ile pK_a değerleri tayin edilmiştir (Denklem 48) [102]. Benzer şekilde 3 tipi bileşiklerin fenilasetil klorür ve sinnamoil klorür ile reaksiyonlarından 53 ve 54 tipi bileşiklerin oluştuğu bildirilmiştir (Denklem 49 ve 50) [100, 102, 103].

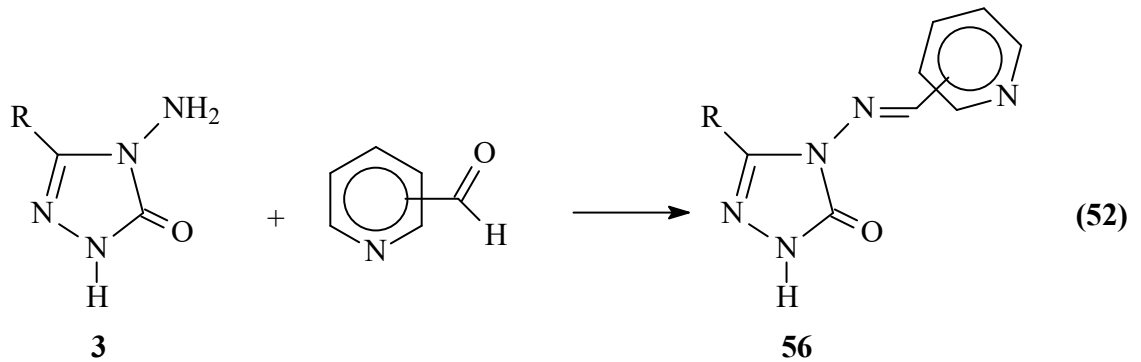
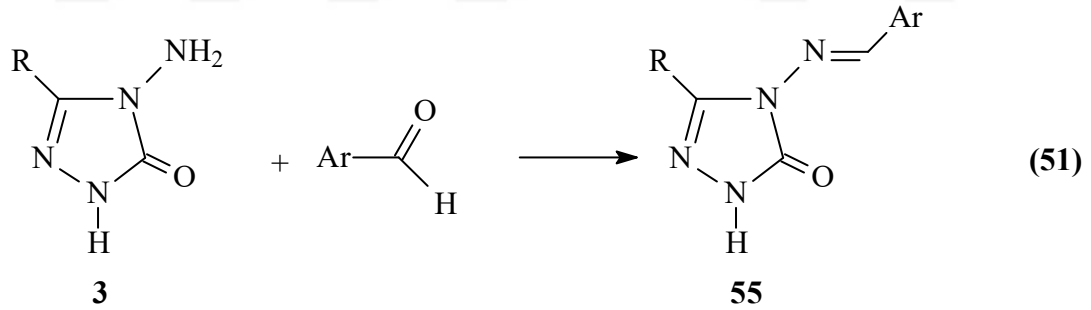




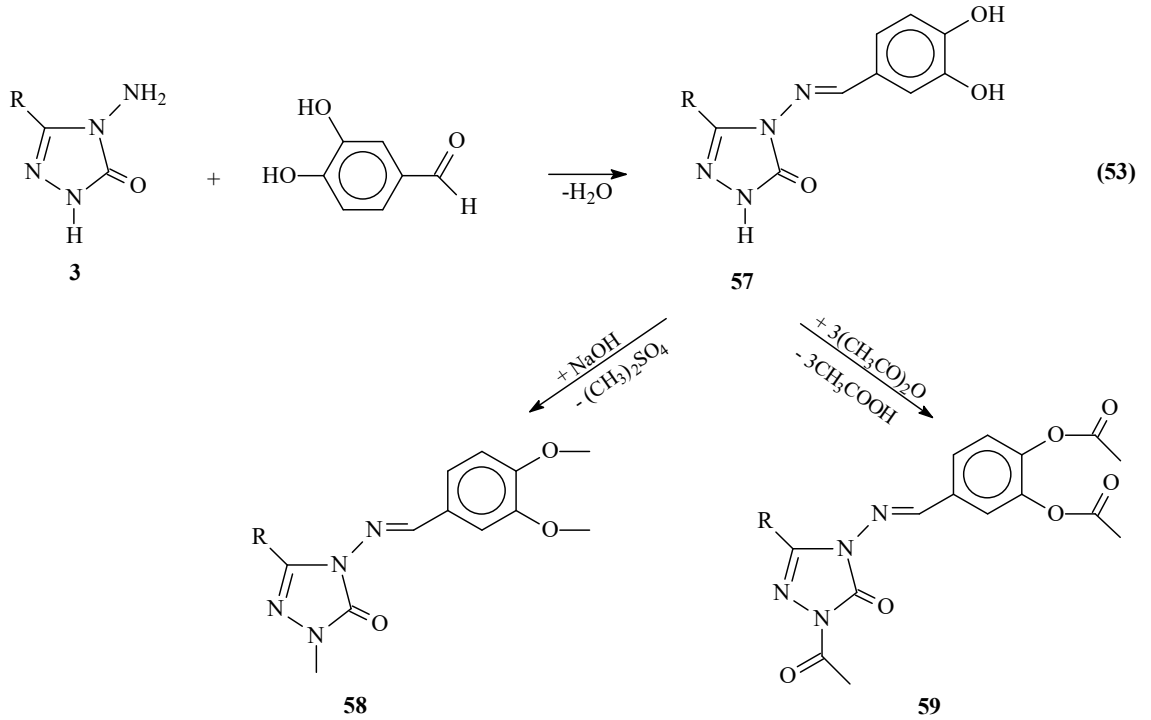
İlk kez 1864'te Schiff tarafından bir primer amin ve bir aktif karbonil grubunun kondenzasyonundan elde edilen ve azometin grubu içeren ligandlara "Schiff Bazları" denir. Çok esnek ve değişken yapısal özelliklerinden dolayı çok sayıda Schiff bazı ve kompleksi sentezlenmiş ve incelenmiştir [104]. Schiff Bazları biyolojik aktivitelerinden dolayı kimyanın çeşitli alanları ve biyokimya açısından önemlidir. Ayrıca, fotokromizm (ışığa ile etkileşince renk değiştirme) özelliğine sahip olmaları radyasyon şiddetini kontrol etme ve ölçme, görüntü sistemleri ve optik bilgisayarlar gibi değişik alanlarda kullanılmalarına yol açmıştır [105]. Genelde renkli maddeler olmaları nedeniyle (fenilen mavisi ve naftol mavisi gibi) boya endüstrisinde geniş kullanım alanlarına sahiptir. Ayrıca parfüm ve ilaç endüstrisinde de oldukça fazla kullanılırlar. Bu bileşiklerin sentetik oksijen taşıyıcı, enzimatik reaksiyonlarda ara ürün oluşturucu gibi özelliklerinin yanında bazı metal iyonlarına karşı seçici ve spesifik reaksiyon vererek spektrofotometrik reaktif olarak analitik kimyada kullanımları da önem taşımaktadır [106]. Bunun dışında elektronik gösteri sistemleri içinde sıvı kristal olarak, kauçuk hızlandırıcı ve kimyasal aracı olarak da kullanılabilirler. Schiff bazları birçok önemli bileşiğin hazırlanmasında ara üründür [107].

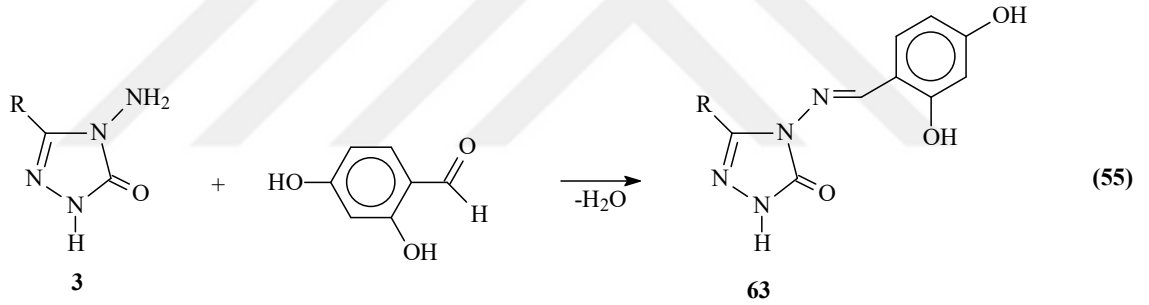
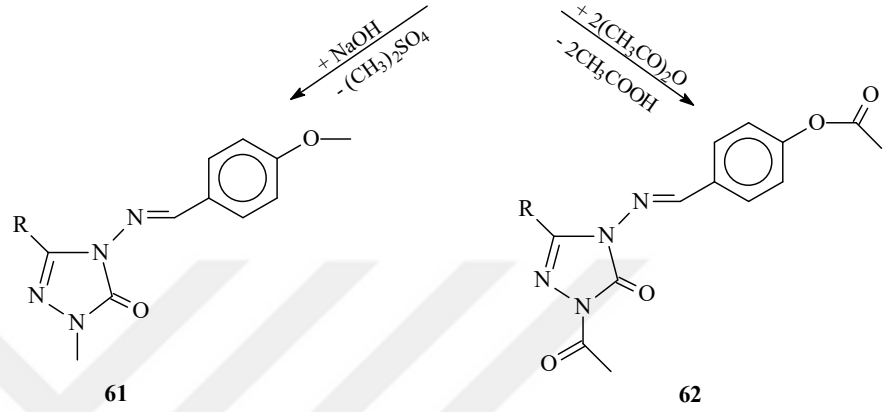
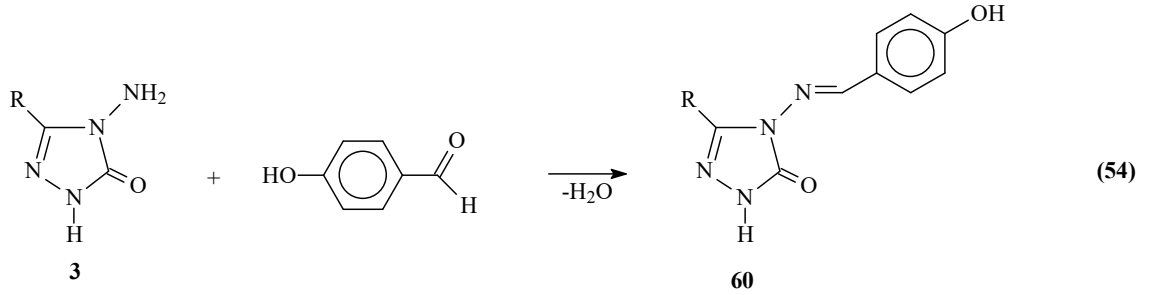
Polisiloksan ve PVC'nin stabilizasyonu için disalisilidenpropilendiamin kullanılmaktadır. Aynı zamanda bu Schiff bazının nikel şelatının termoplastik reçineler için ışık stabilizatörü olarak kullanılmasının uygun olduğu bildirilmiştir [108]. Tüm bu kullanım alanlarının yanında biyolojik ve yapısal önemlerinden dolayı üzerinde çok çalışılan bileşiklerdir [109, 110]. Özellikleri arasında en çok önemli olanı biyolojik sistemlerdeki aktiviteleridir. En ilgi çekici biyolojik aktivitelerinden biri aminoasit biyosentezinde oynadıkları roldür. α -Amino asitlerin ($RCH(NH_2)COOH$) biyosentezinde önemli ara bileşiklerdir. Bu işlemde ihtiyaç fazlası amino asidin amino grubu bir keto-aside taşınır.

Bir primer amin gibi hareket eden ve N-NH₂ grubu içeren 3 tipi bileşiklerin bazı aromatik ve/veya heteroaromatik aldehidlerle reaksiyonları incelenerek karşın olan heteroaromatik Schiff bazları (55) elde edilmiştir (Denklem 51) [111]. Nitekim 3 tipi bileşiklerin piridin-2-, piridin-3- ve piridin-4-karboksi aldehidler ile muamelesinden 56 tipi heterosiklik Schiff bazları elde edilmiş ve bu bileşiklerin antifungal aktiviteye sahip oldukları görülmüştür (Denklem 52) [112].

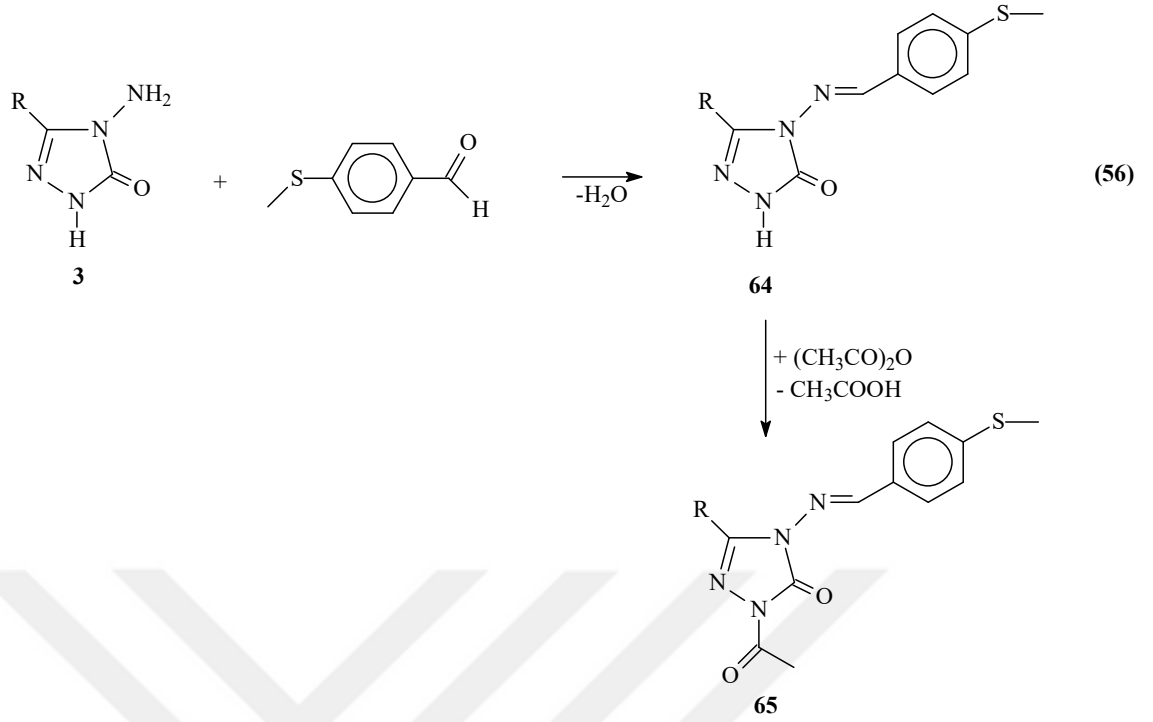


3 tipi bileşikler ile ilgili yapılan üç ayrı çalışmadan birinde; 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (3) bileşiklerinin 3,4-dihidroksibenzaldehid ile muamelesinden Schiff bazları olan 57 tipi 3-alkil(aril)-4-(3,4-dihidroksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri elde edilmiş ve bu bileşiklerin susuz ortamda potansiyometrik olarak titrasyonları yapılarak yarı nötralizasyon yöntemi ile pK_a değerleri bulunmuş ve ayrıca antioksidan özellikleri incelenmiştir [96, 113]. Bu çalışmada ayrıca 57 tipi bileşiklerin *N*- ve *O*-metil ve asetil türevleri (58 ve 59) de elde edilmiştir (Denklem 53). Diğer çalışmada 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (3) bileşiklerinin 4-hidroksibenzaldehid ile muamelesinden oluşan ve Schiff bazları olan 60 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 ve asetil türevleri (61 ve 62) sentezlenmiş ve antioksidan özellikleri incelenmiştir (Denklem 54) [100, 114]. Bu çalışmada ayrıca 60 tipi bileşiklerin susuz ortam titrasyonları incelenerek pK_a değerleri belirlenmiştir. Son çalışmada ise 3 tipi bileşiklerin 2,4-dihidroksibenzaldehid ile reaksiyonundan sentezlenen 63 tipi 3-alkil(aril)-4-(2,4-dihidroksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin antioksidan özellikleri incelenmiştir (Denklem 55) [115].

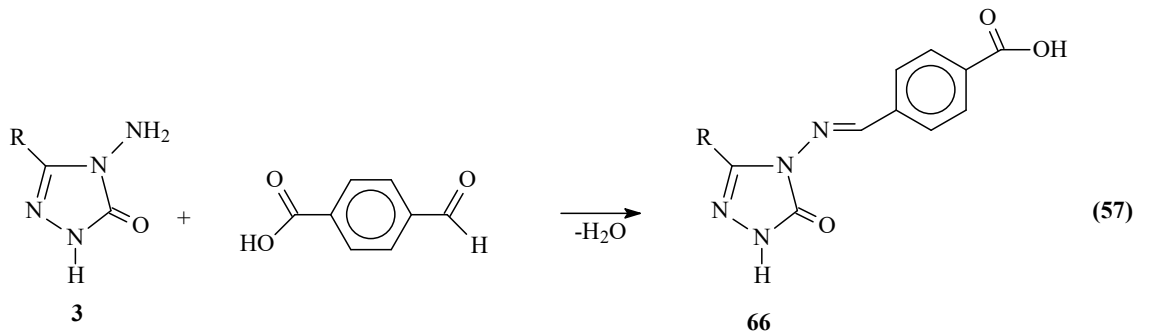


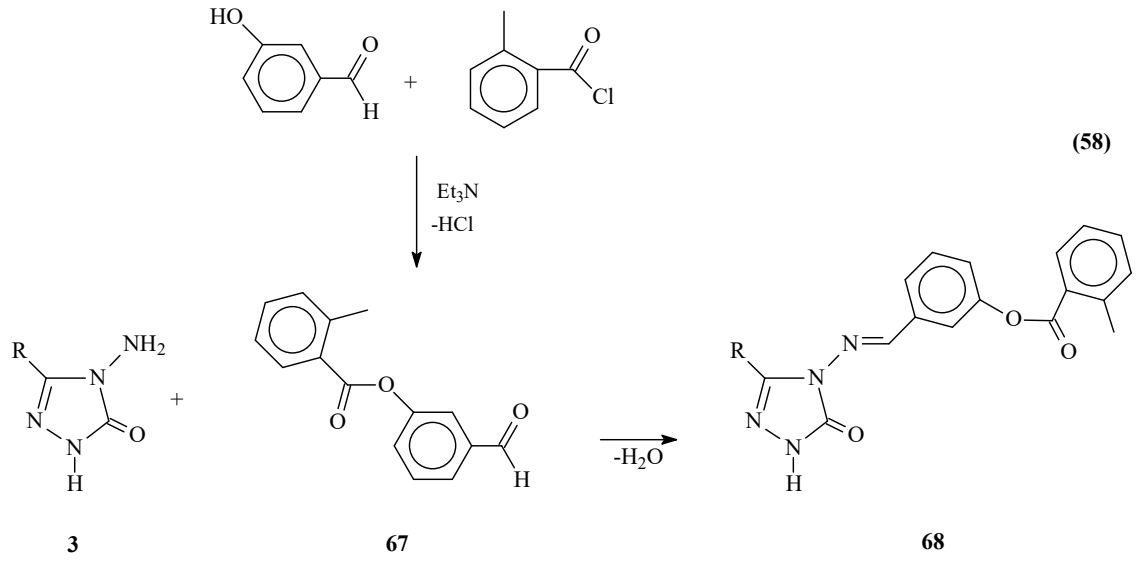


Yine son yıllarda yapılan bir diğer çalışmada ise 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (3) bileşiklerinin 4-metiltiyobenzaldehid ile reaksiyonundan 3-alkil(aril)-4-(4-metiltiyobenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (64) bileşikleri elde edilmiş ve bunların asetik anhidrid ile reaksiyonundan da 65 tipi *N*-asetil türevleri elde edilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin antioksidan özelliklerinin yanında, 64 tipi bileşiklerin asitlik özellikleri de incelenmiştir (Denklem 56) [116].

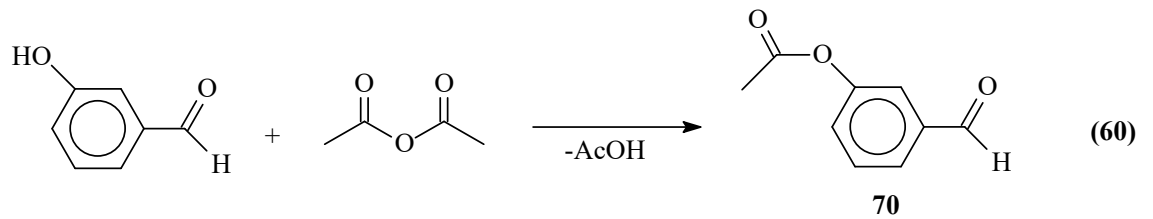
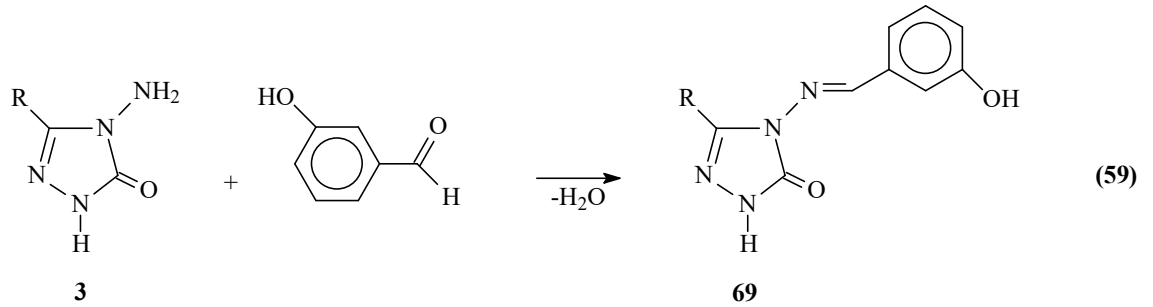


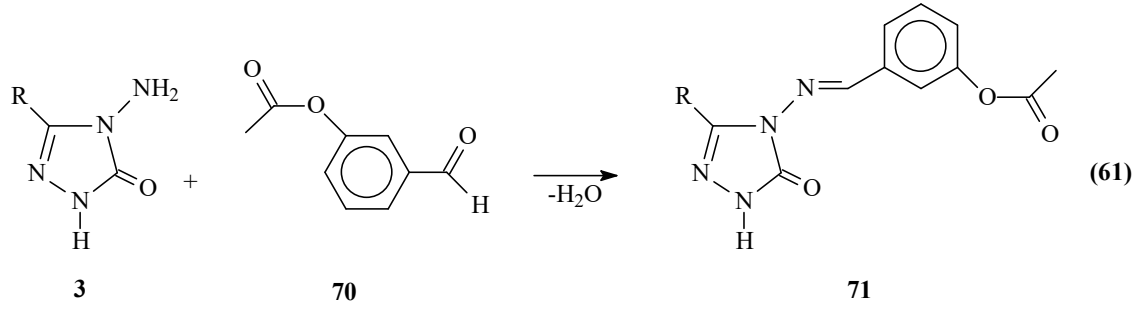
3 Tipi bileşiklerin 4-karboksibenzaldehid [117] ve 3-(2-metilbenzoksi)-benzaldehyd (67) [118] ile sırasıyla 3-alkil(aril)-4-(4-karboksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (66) ve 3-alkil(aril)-4-[3-(2-metilbenzoksi)-benzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (68) bileşiklerini oluşturduğu iki ayrı çalışma ile ortaya konmuştur (Denklemler 57 ve 58). Bu çalışmalarda ayrıca, 66 tipi bileşiklerin susuz ortam titrasyonları yapılarak asitlik özellikleri; 68 tipi bileşiklerin ise asitlik ve antioksidan özellikleri incelenmiştir [117, 118].



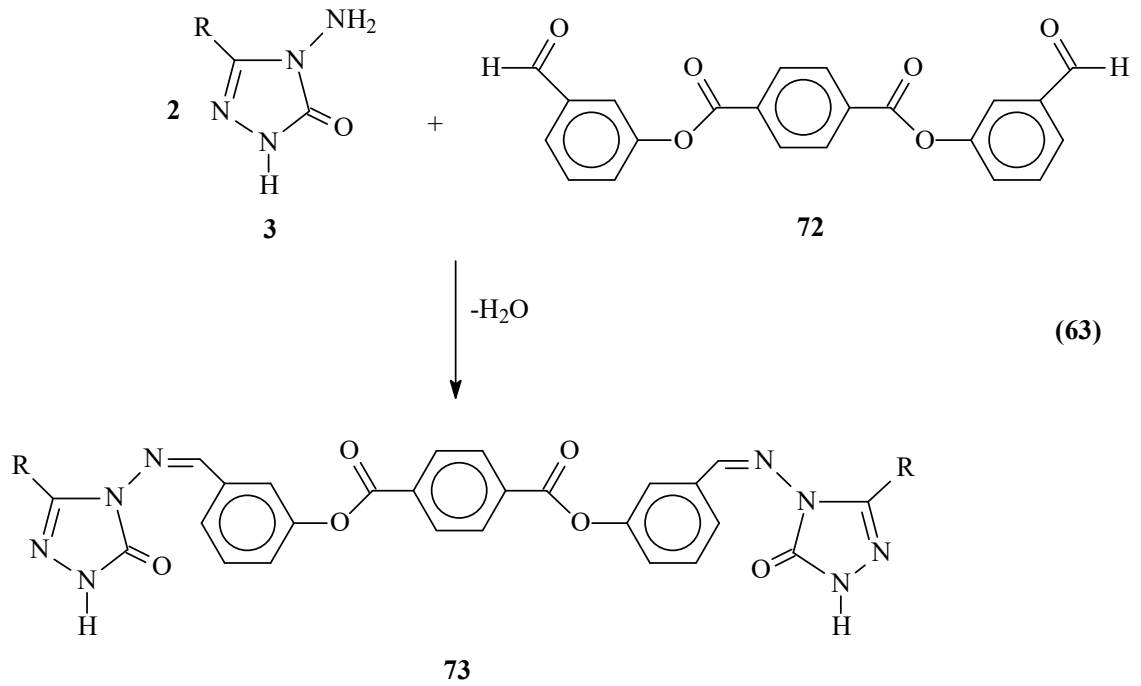
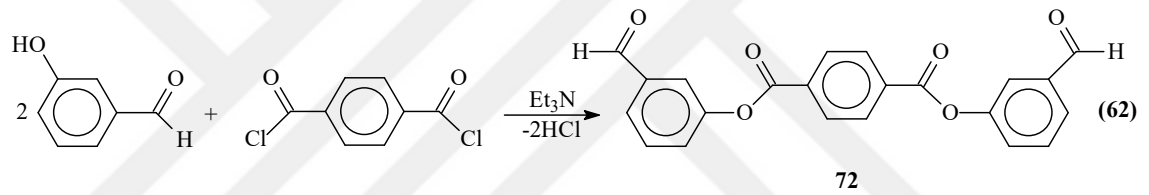


Ayrıca 3 tipi bileşiklerin 3-hidroksibenzaldehid ile reaksiyonundan 69 tipi 3-alkil(aril)-4-(3-hidroksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri sentezlenmiştir (Denklem 59). Aynı çalışmada 3-hidroksibenzaldehidin asetik anhidrid ile muamelesinden oluşturulan 3-asetoksibenzaldehidin (70) 2 tipi bileşiklerle reaksiyonundan 71 tipi 3-alkil(aril)-4-(3-asetoksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri sentezlenmiştir (Denklem 60 ve 61) [119].

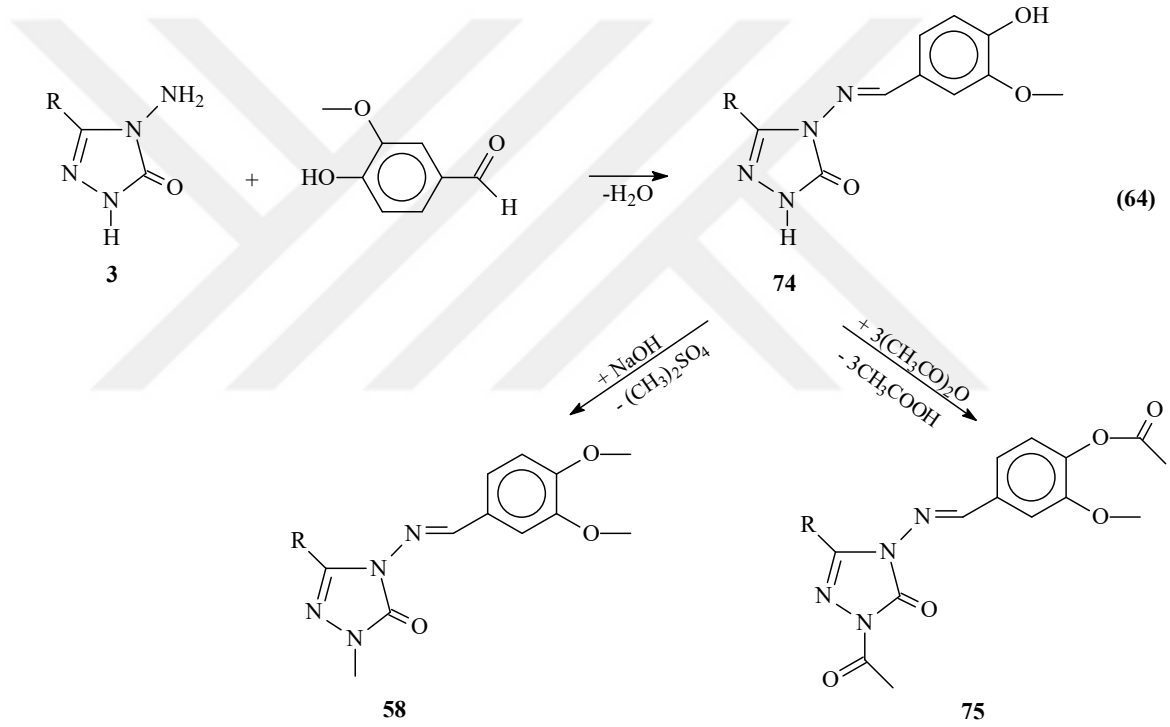




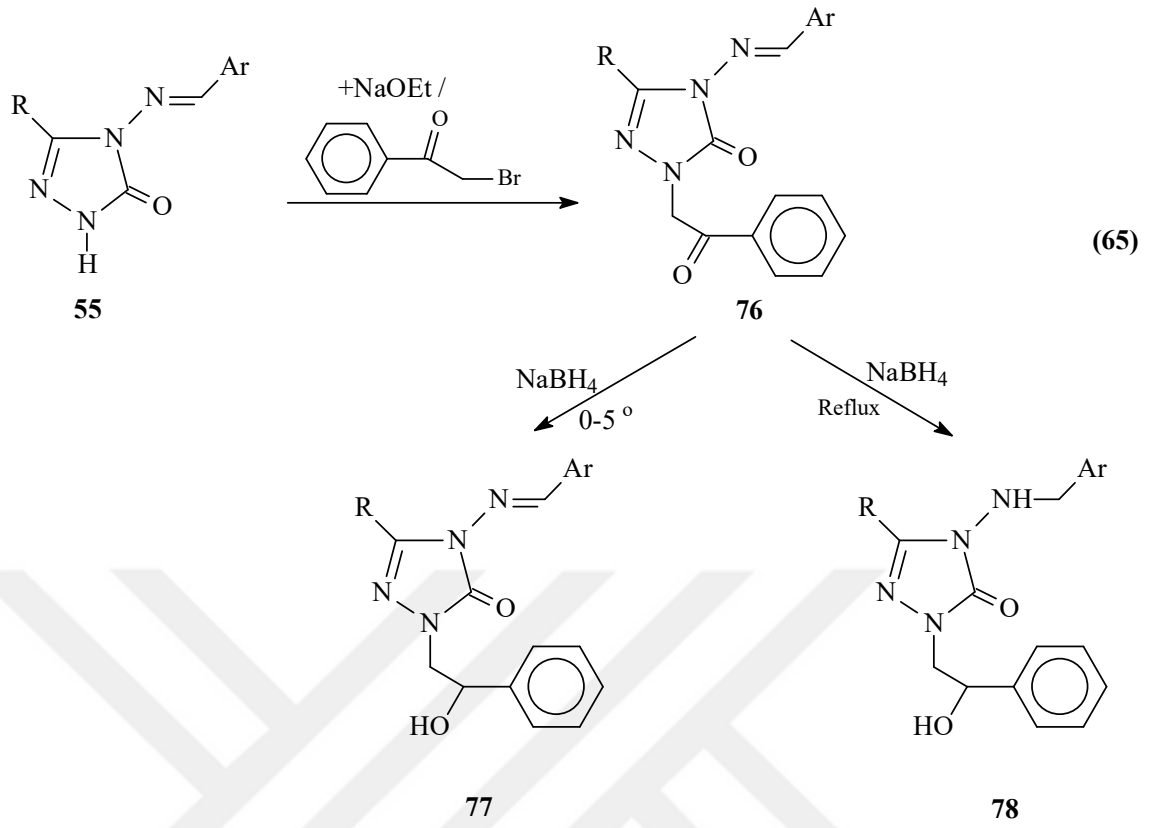
3-hidroksibenzaldehidin trietilamin varlığında tereftaloil klorür ile Denklem 62 uyarınca muamelesinden elde edilen di-(3-formilfenil) tereftalat (72) ile 3 tipi bileşiklerin muamelesi sonucu 73 tipi di-[3-(3-alkil(aril)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometinfenil] tereftalat bileşiklerinin elde edildiği başka bir çalışma da mevcuttur (Denklem 62 ve 63) [120].



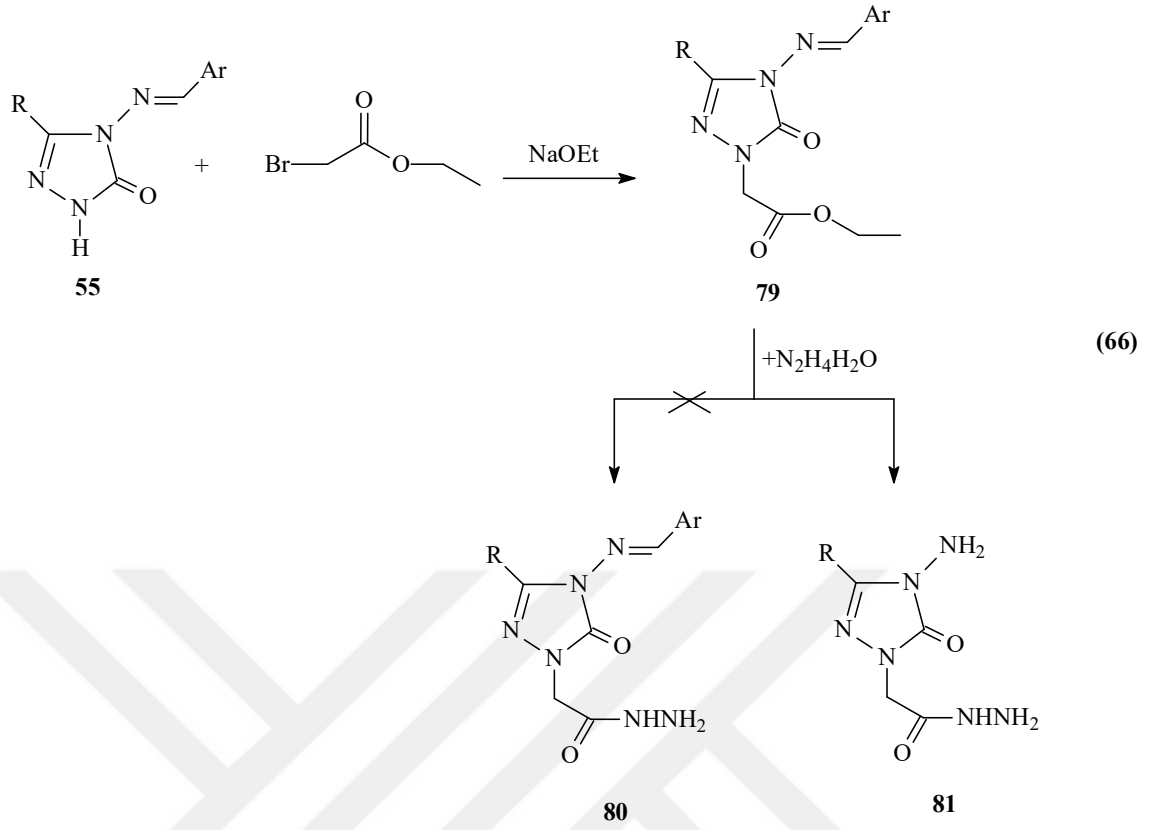
3-Alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (3) bileşiklerinin 3-metoksi-4-hidroksibenzaldehid ile reaksiyonları yakın bir zamanda incelenmiş ve 74 tipi 3-alkil(aril)-4-(3-metoksi-4-hidroksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri elde edilmiştir. Ayrıca, 74 tipi bileşiklerin asetillendirme ve metillendirme reaksiyonları incelenerek 58 ve 75 tipi bileşikler elde edilmiştir (Denklem 64). Çalışmada ayrıca, 74 tipi bileşiklerin farklı susuz çözücülerde TBAH ile potansiyometrik olarak titrasyonları yapılarak yarı nötralizasyon metodu ile asitlik sabitleri tayin edilmiştir. Ayrıca, sentezlenen yeni bileşiklerin 3 farklı yöntemle in-vitro antioksidan özellikleri incelenmiştir [121, 122].



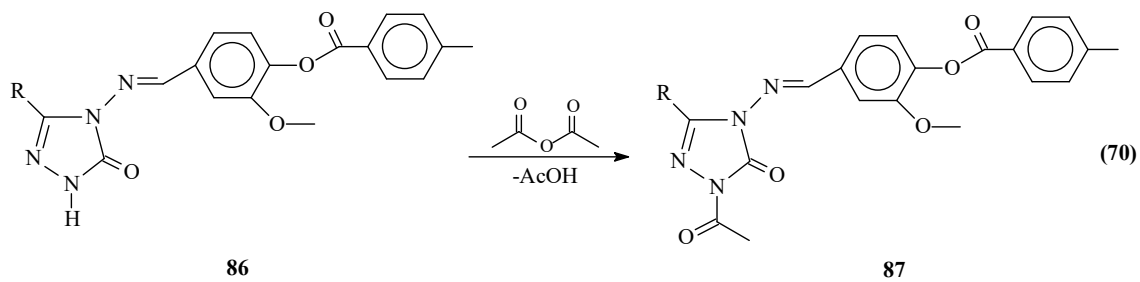
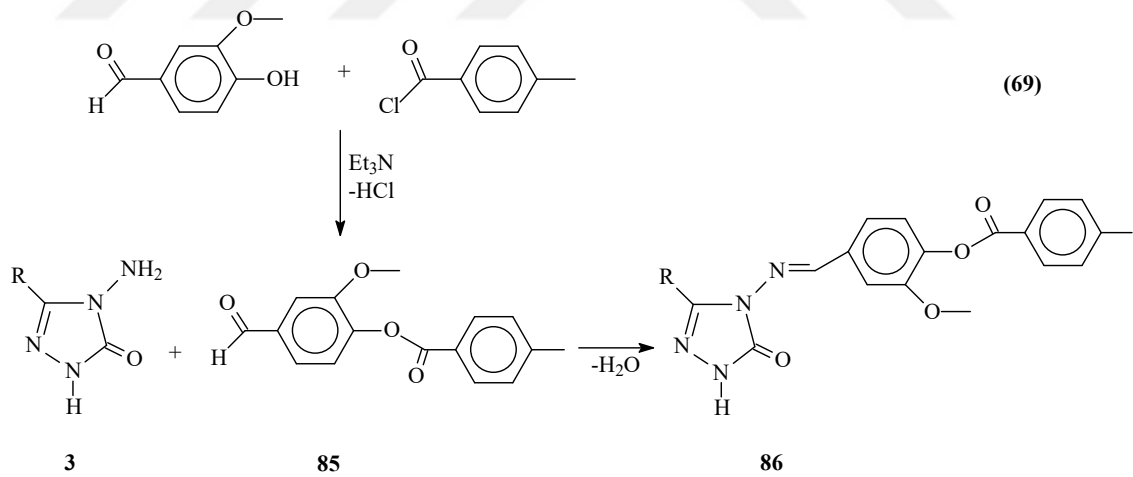
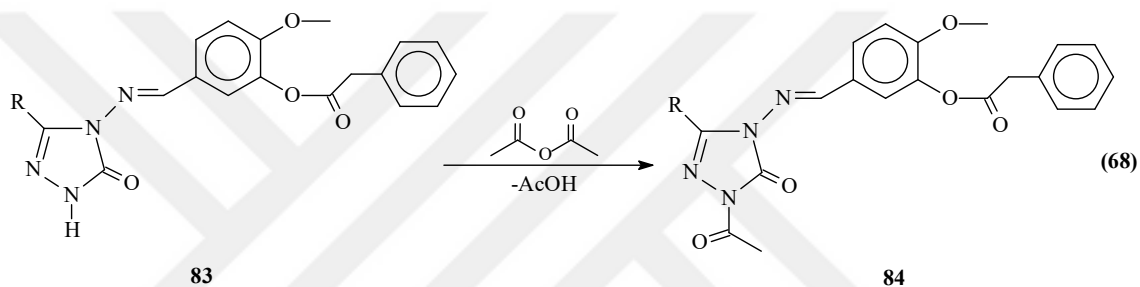
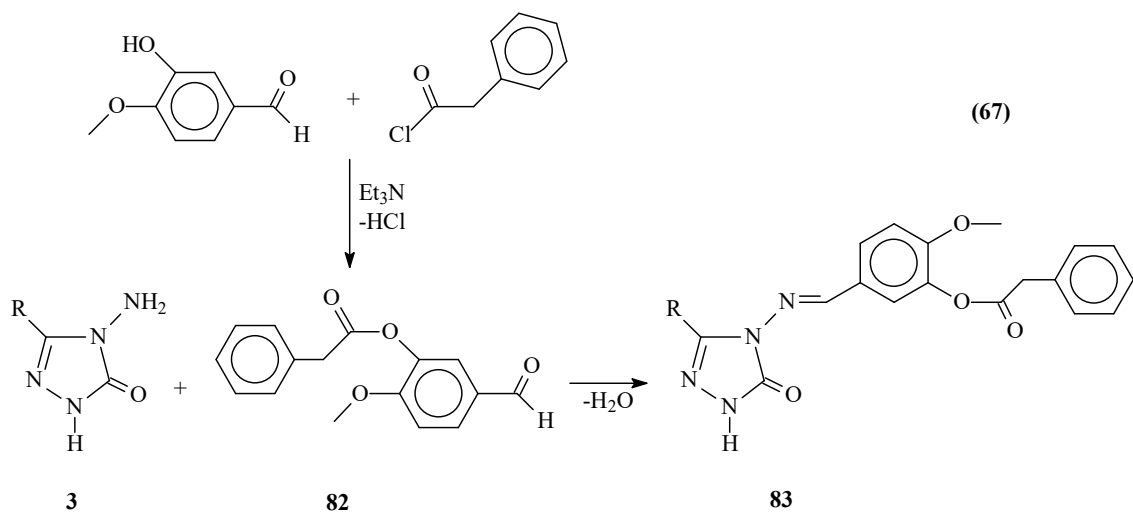
Son yıllarda yapılan ilginç bir çalışmada 55 tipi bileşiklerin sodyum etoksitli ortamda fenasil bromür ile reaksiyonları incelenmiş ve sentezlenen 76 tipi bileşiklerin farklı iki reaksiyon şartlarında NaBH_4 ile indirgenme reaksiyonları incelenerek 77 ve 78 bileşikleri elde edilmiştir (Denklem 65) [123].

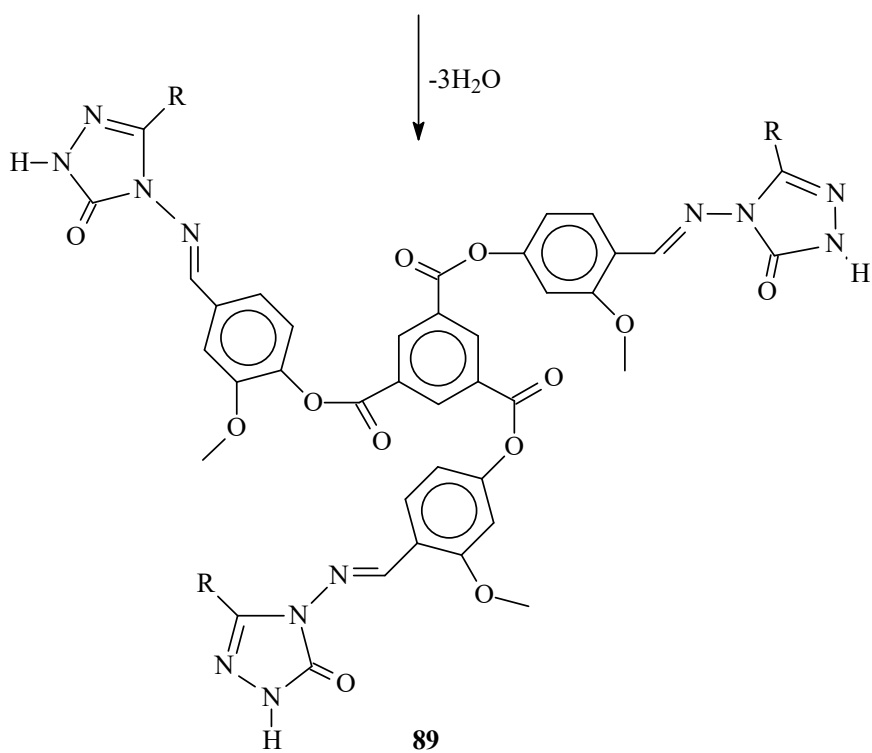
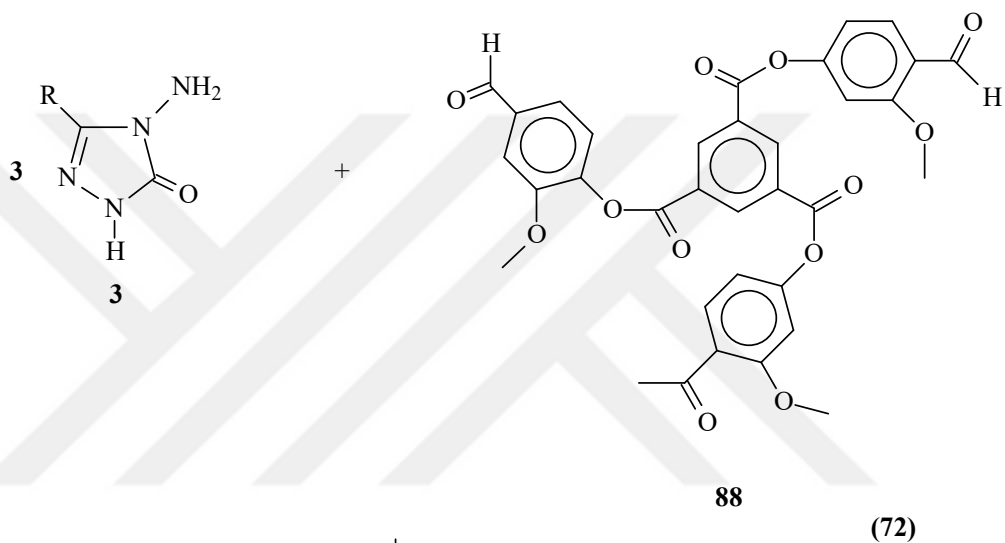
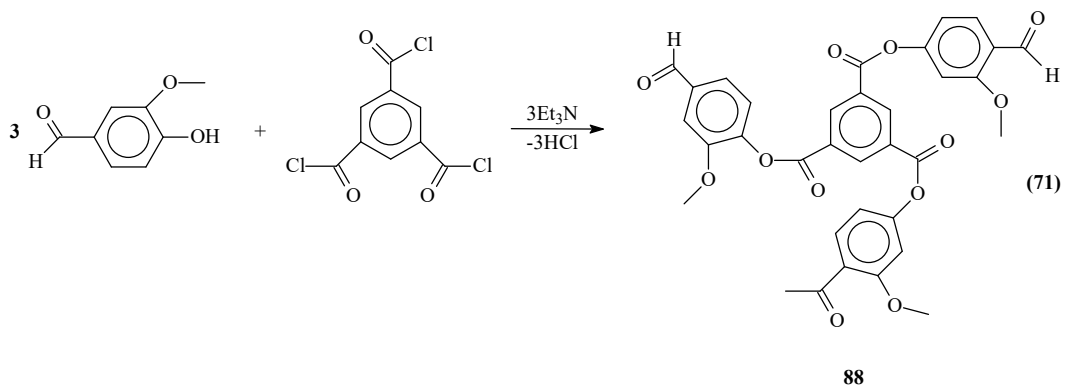


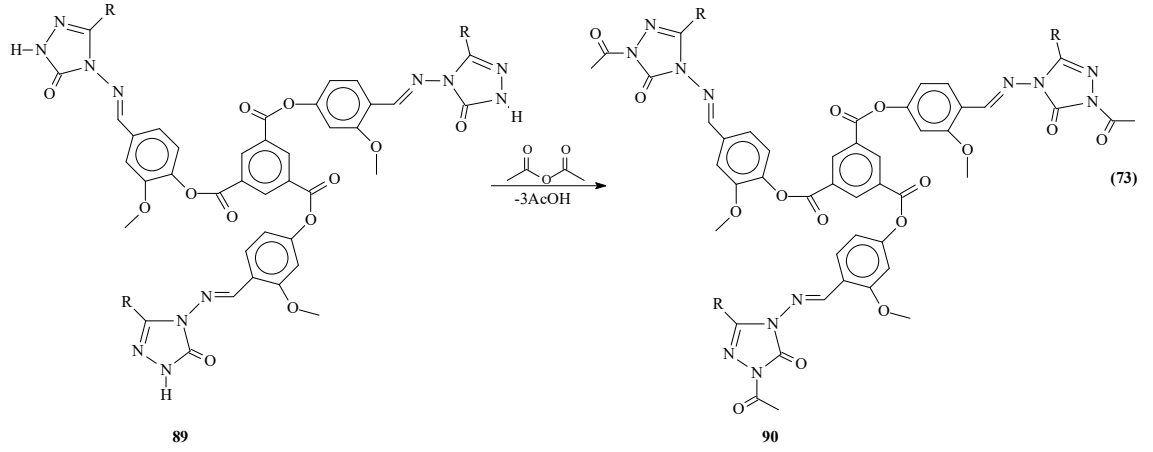
55 Tipi bileşiklerden yeni hidrazidlerin eldesi için planlanan iki farklı çalışmada [124, 125] NaOEt li ortamda etil bromoasetat ile muamele sonucu sentezlenen 79 tipi bileşiklerin hidrazin hidrat ile reaksiyonundan oluşması beklenen 80 tipi bileşiklerin oluşmadığı, buna karşın 81 tipi bileşiklerin oluştuğu ortaya konmuştur (Denklem 66).



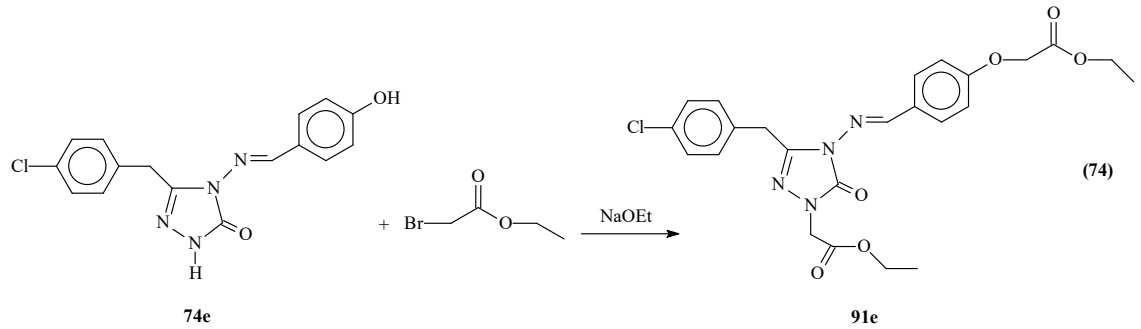
Çok yakın bir zamanda yapılan başka bir çalışmada, 3-metoksi-4-hidroksibenzaldehidin buz banyosunda trietilamin varlığında fenilasetil klorür, *p*-metilbenzoil klorür ve 1,3,5-benzentrikarbonil klorür ile ayrı ayrı muamelesinden elde edilen sırasıyla 82, 85 ve 88 tipi benzaldehid türevlerinin 3 tipi bileşiklerle muamelesinden 83, 86 ve 89 tipi imin bileşikleri elde edilmiştir. Çalışmada ayrıca 83, 86 ve 89 bileşiklerinin asetik anhidrid ile reaksiyonları da incelenmiş ve 84, 87 ve 90 tipi *N*-asetil türevleri elde edilmiştir (Denklem 67-73) [126].



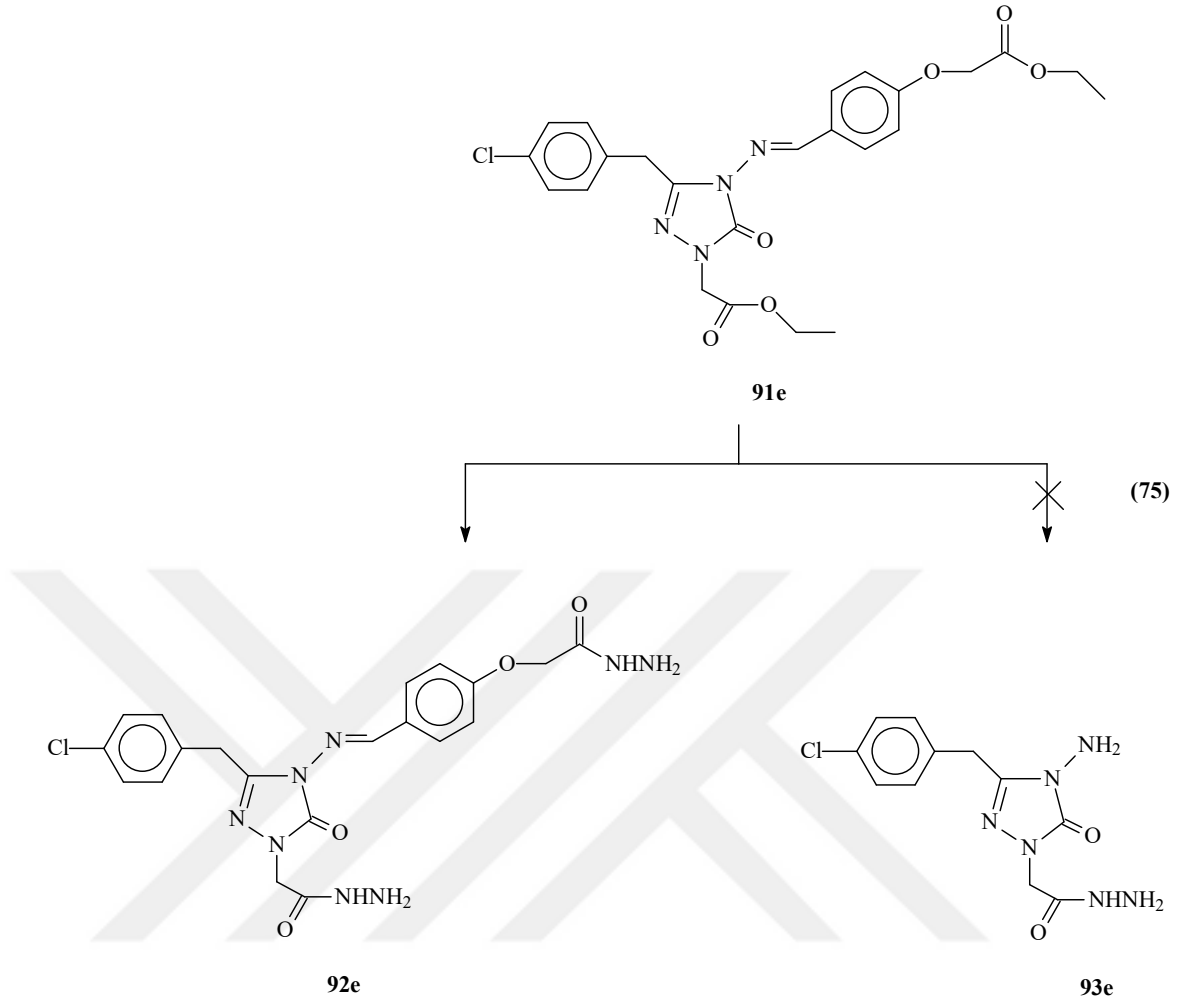




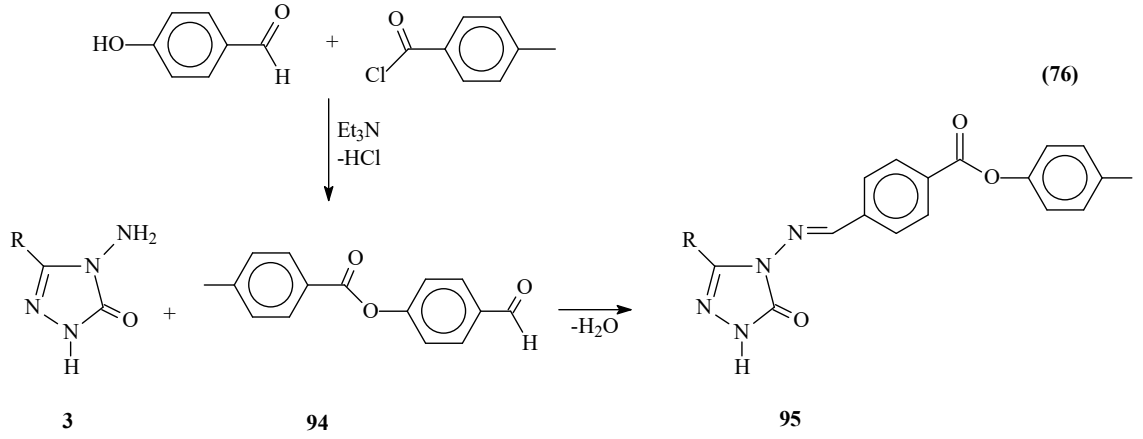
Bu çalışmada son olarak, sentezlenen ve literatürde kayıtlı [100, 114] olan 3-*p*-klorobenzil-4-(4-hidroksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (74e) bileşiğinin sodyum etoksitli ortamda etil bromoasetat ile reaksiyonundan hidrazidin sentezi için gerekli yeni bileşik olan 1-etoksikarbonilmetil-3-(*p*-klorobenzil)-4-(4-etoksikarbonilmetoksi-benzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on [etil 3-*p*-klorobenzil-4-(4-etoksikarbonilmetoksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-1-il)-asetat] (91e) bileşiği elde edilmiştir (Denklem 74) [126].



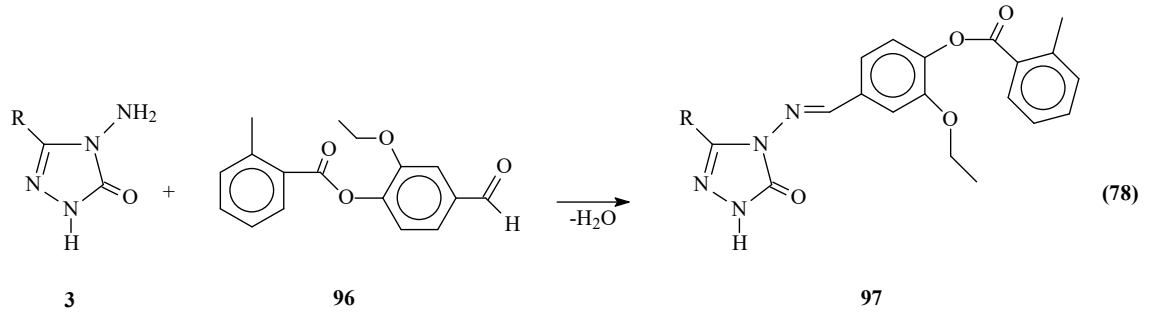
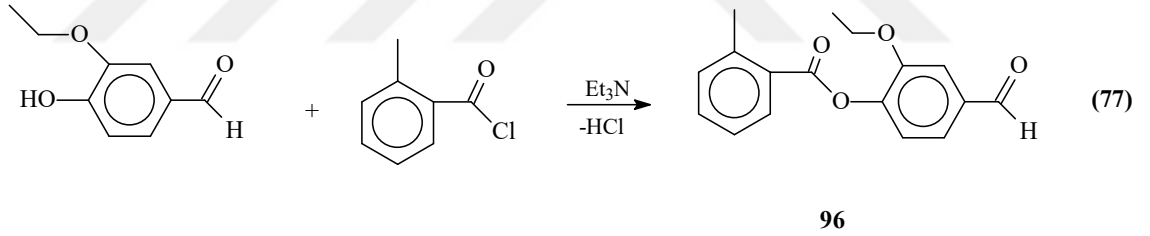
91e Bileşiğinin hidrazin hidrat ile reaksiyonundan yeni bir dihidrazid olan 1-hidrazinokarbonilmetil-3-(*p*-klorobenzil)-4-(4-hidrazinokarbonilmetoksibenziliden-amino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (92e) bileşiği sentezlenmiştir. Bu reaksiyonda Kaynak 124 ve 125 uyarınca oluşması muhtemel 93e hidrazidinin oluşmadığı, beklendiği üzere 92e tipi dihidrazidin oluştuğu bildirilmiştir (Denklem 75) [126].



p-Hidroksibenzaldehidin trietilaminli ortamda soğukta *p*-metilbenzoil klorür ile reaksiyonundan sentezlenen ve bir benzaldehid türevi olan 4-(4-metilbenzoksi)benzaldehyd (94) ile 3 tipi bileşiklerin ayrı ayrı muamelesinden 95 tipi 3-alkil(aril)-4-[4-(4-metilbenzoksi)benzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleride sentezlenmiştir. (Denklem 76) [127, 128]. Bu çalışmada sentezlenen 95 tipi bileşiklerin 3 farklı yöntemle *in-vitro* antioksidan özelliklerinin incelenmiştir. Ayrıca 95 tipi bileşiklerin 4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on halkasında zayıf asidik *N*-H protonu içerdiğinden dolayı 4 farklı susuz çözücüde TBAH ile potansiyometrik titrasyonları yapılarak yarı-nötralizasyon metodu ile yarı-nötralizasyon potansiyelleri ve karşın olan asitlik sabitleri tayin edilmiştir [127].

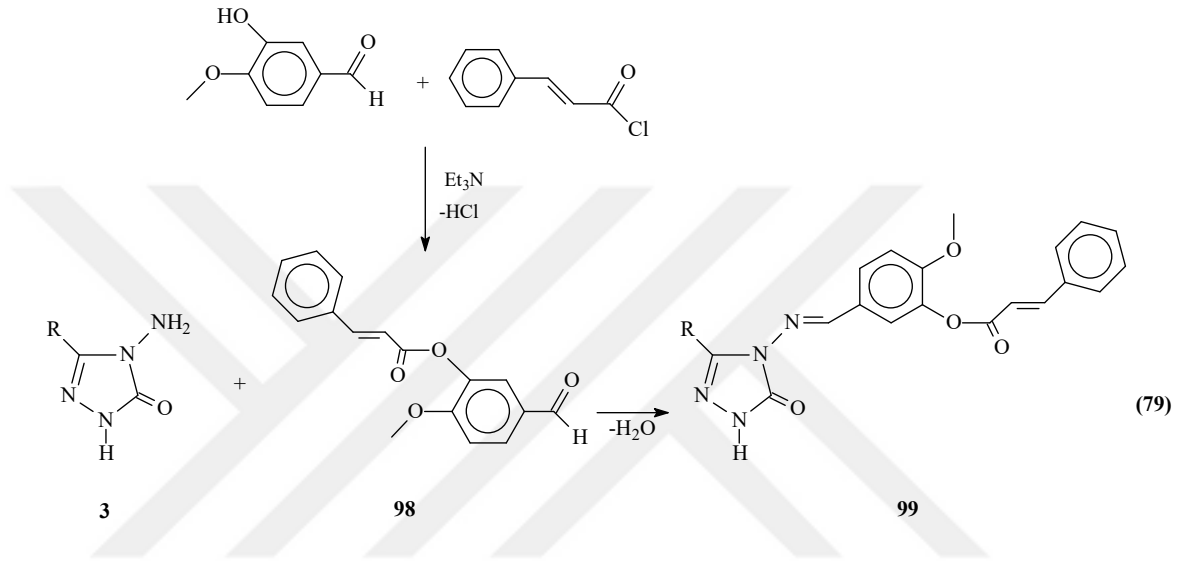


o-Toluoil klorürün trietilaminli ortamda etil asetat içinde soğukta 3-etoksi-4-hidroksibenzaldehid ile muamelesinden 96 tipi 3-etoksi-4-(2-metilbenzoksi)-benzaldehyd bileşiği elde edilmiştir. Bu bileşiğin 3 tipi bileşiklerle reaksiyonundan 97 tipi 3-alkil(aril)-4-[3-etoksi-4-(2-metilbenzoksi)-benzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin antioksidan özellikleri incelenmiş ve asitlik incelemeleri yapılmıştır (Denklemler 77 ve 78) [129].



3 tipi bileşiklerin 3-hidroksi-4-metoksibenzaldehidin trietilamin varlığında sınımaoil klorür ile muamelesinden elde edilen 4-metoksi-3-sinamoiloksibenzaldehidin (98) ile reaksiyonları incelenerek 99 tipi 3-alkil(aril)-4-(4-metoksi-3-

sinnamoiloksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri elde edilmiştir (Denklem 79) [130]. Sentezlenen bileşiklerin 3 farklı yöntemle *in-vitro* antioksidan özelliklerinin incelenmiştir ve 4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on halkasında zayıf asidik N-H protonu içerdiğinden dolayı 4 farklı susuz çözücüde TBAH ile potansiyometrik titrasyonları yapılarak yarı-nötralizasyon metodu ile yarı-nötralizasyon potansiyelleri ve karşın olan asitlik sabitleri tayin edilmiştir [130].

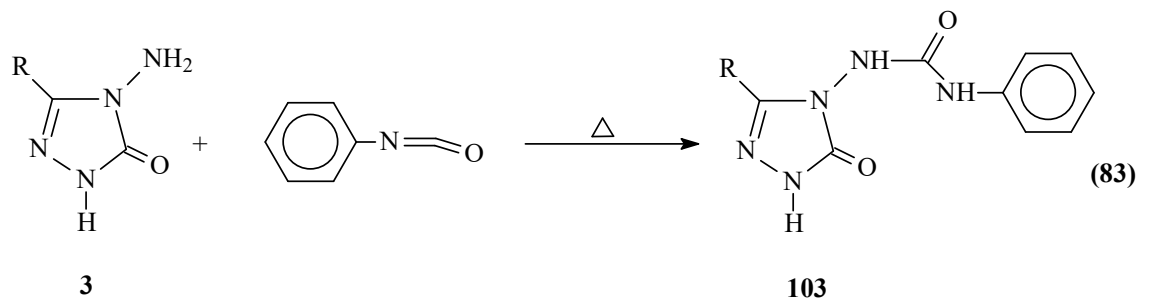
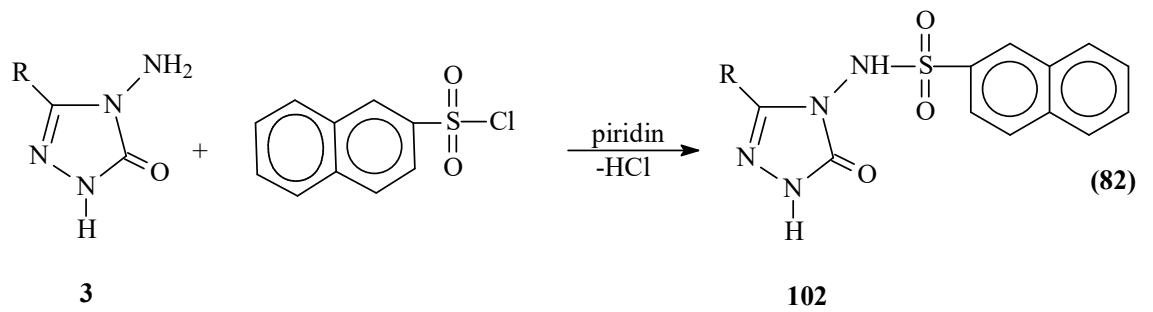
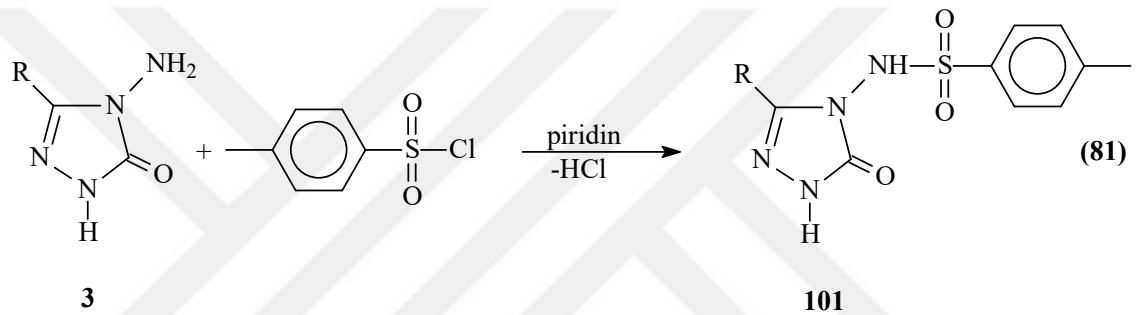
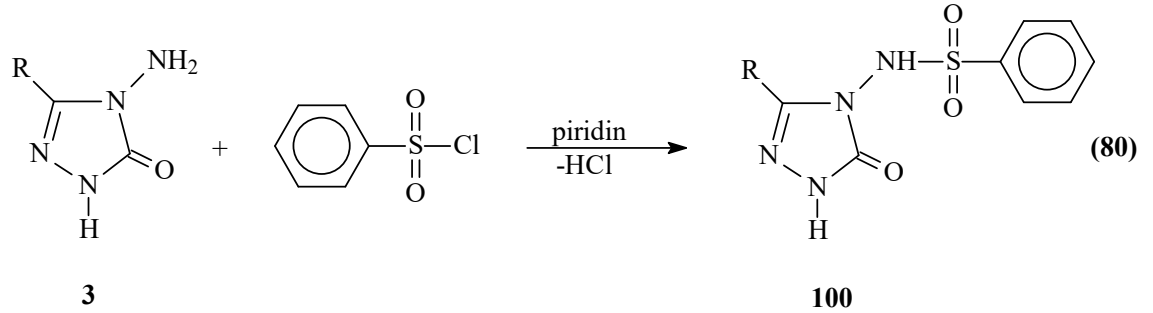


1.7. Antimikrobiyal Aktiviteyle İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar

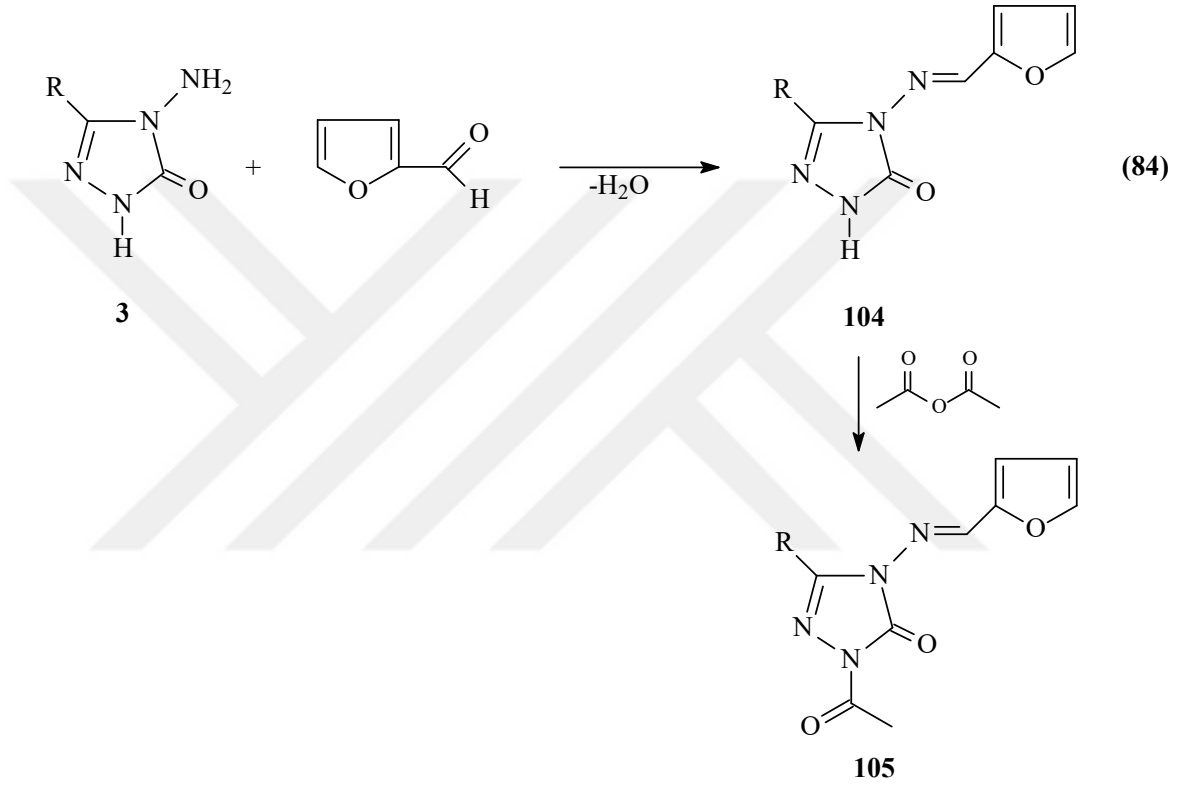
Son yıllarda enfeksiyon hastalıklarının artması, antibiyotiğe dirençli patojenik mikroorganizmaların ortaya çıkması gibi durumlardan dolayı yeni mikrobiyal bileşiklerin sentezlenmesine ihtiyaç duyulmuştur. 1,2,4-triazol bileşikleri terapötik önemi yüksek olan önemli bileşiklerdendir. Bunların arasında 1,2,4-triazol halkaları ve bunları içeren poliheterosiklik bileşikler bulunmaktadır. Antimikrobiyal aktiviteyle ilgili olarak, yapılan çalışmalardan bazıları aşağıdaki verilmiştir.

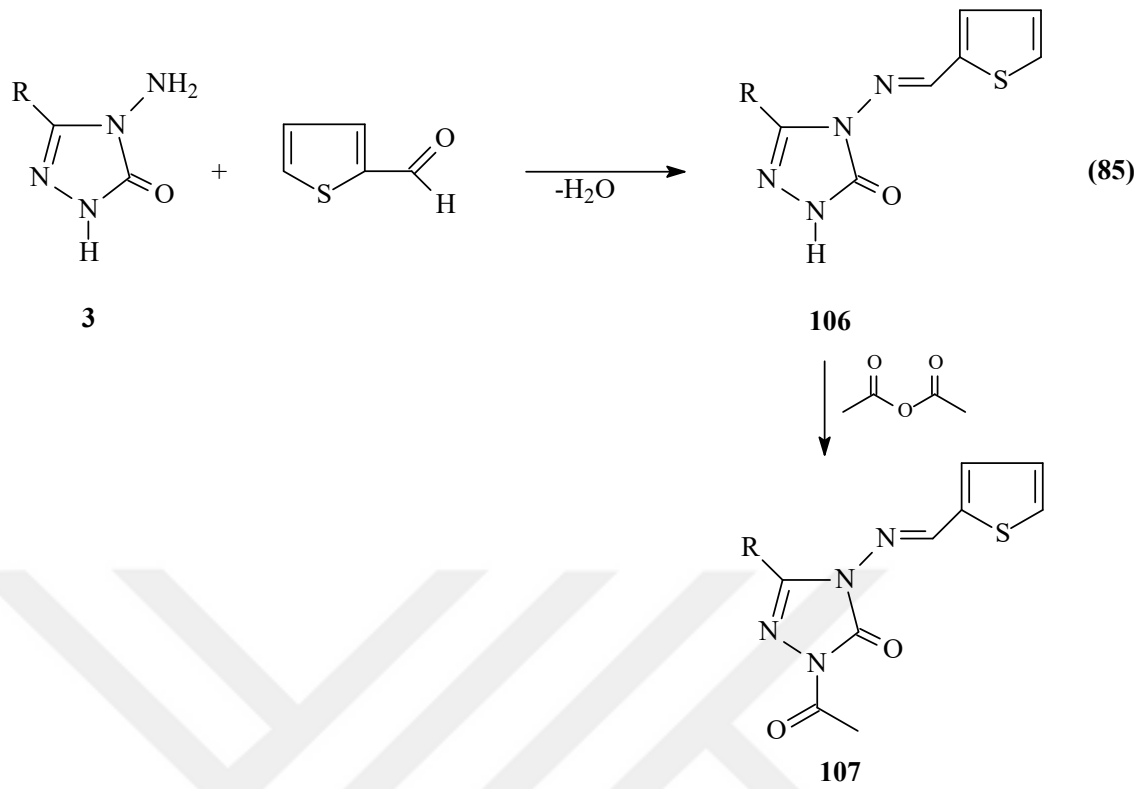
3 Tipi bileşiklerin benzen sulfonil klorür, *p*-toluen sulfonil klorür ve naftalen-2-sulfonil klorür ile reaksiyonları da incelenmiş olup, sırayla 100, 101 ve 102 bileşikleri elde edilmiş ve biyolojik aktiviteleri incelenmiştir (Denklem 80-82) [131, 132]. Bir başka

çalışmada ise 3 tipi bileşiklerin fenilizosyanat ile de reaksiyonları incelenmiş ve 103 tipi bileşikler sentezlenmiştir (Denklem 83) [131].

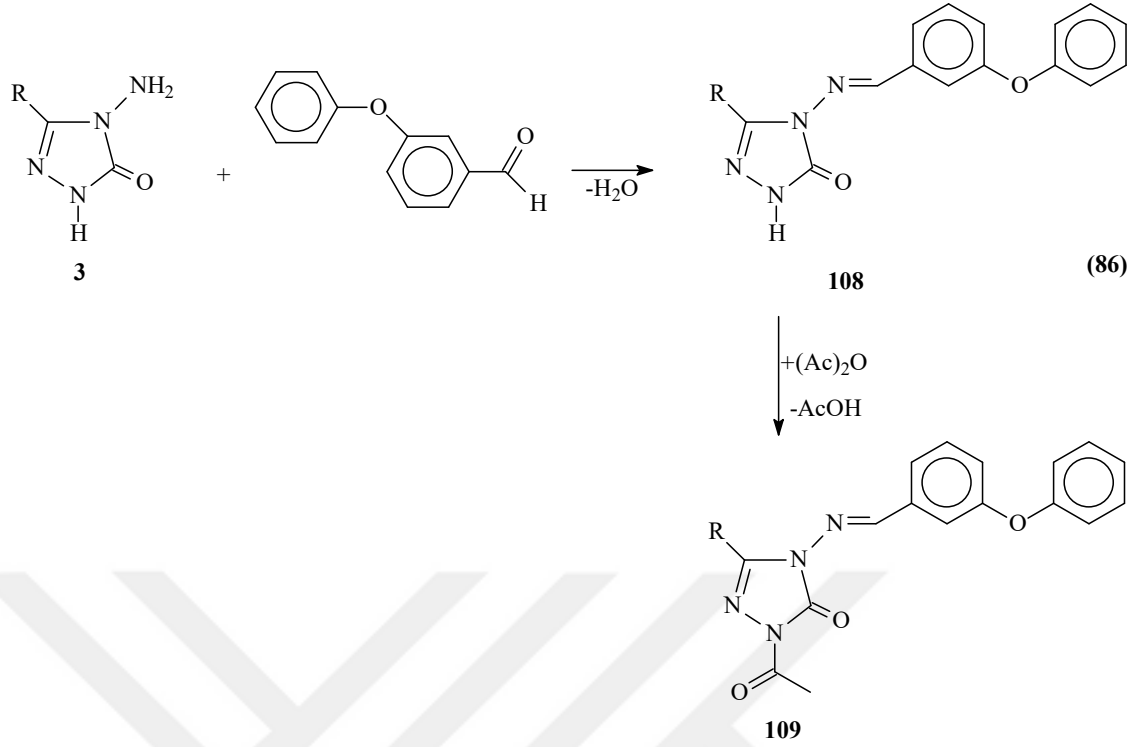


Benzer iki farklı çalışmadan birinde 3 tipi bileşikler furfural (furan-2-karboksialdehid) ve tiyofen-2-karboksialdehid ile muamele edilerek 104 ve 106 tipi bileşikler elde edilmiş, diğerinde ise bu bileşiklerin asetik anhidrid ile reaksiyonlarından 105 ve 107 tipi N-asetil türevleri elde edilmiştir. Ayrıca 104 tipi bileşiklerin potansiyometrik olarak asitlik sabitleri tayin edilmiştir. Bundan başka 105 ve 107 tipi bileşiklerin biyolojik aktivite incelemeleri çok yakın bir zamanda yapılmıştır (Denklem 84 ve 85) [133-135].

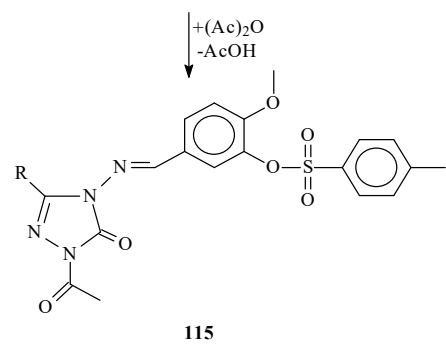
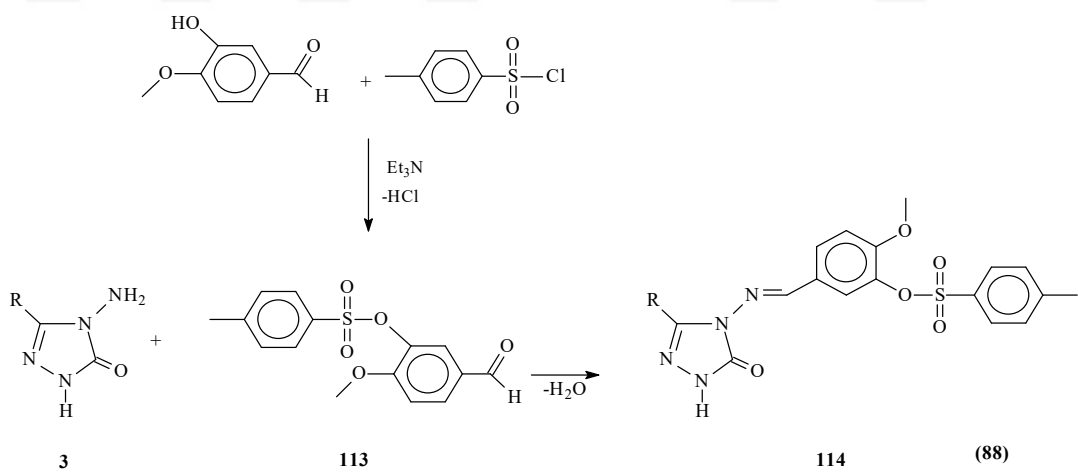
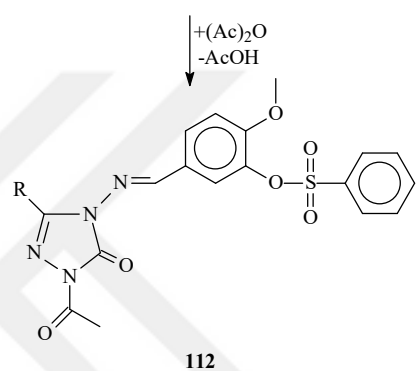
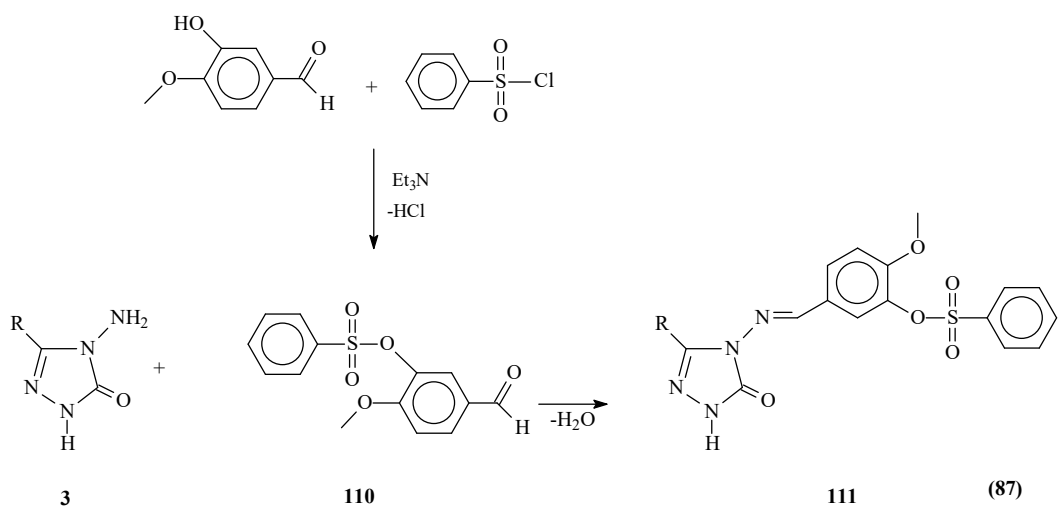


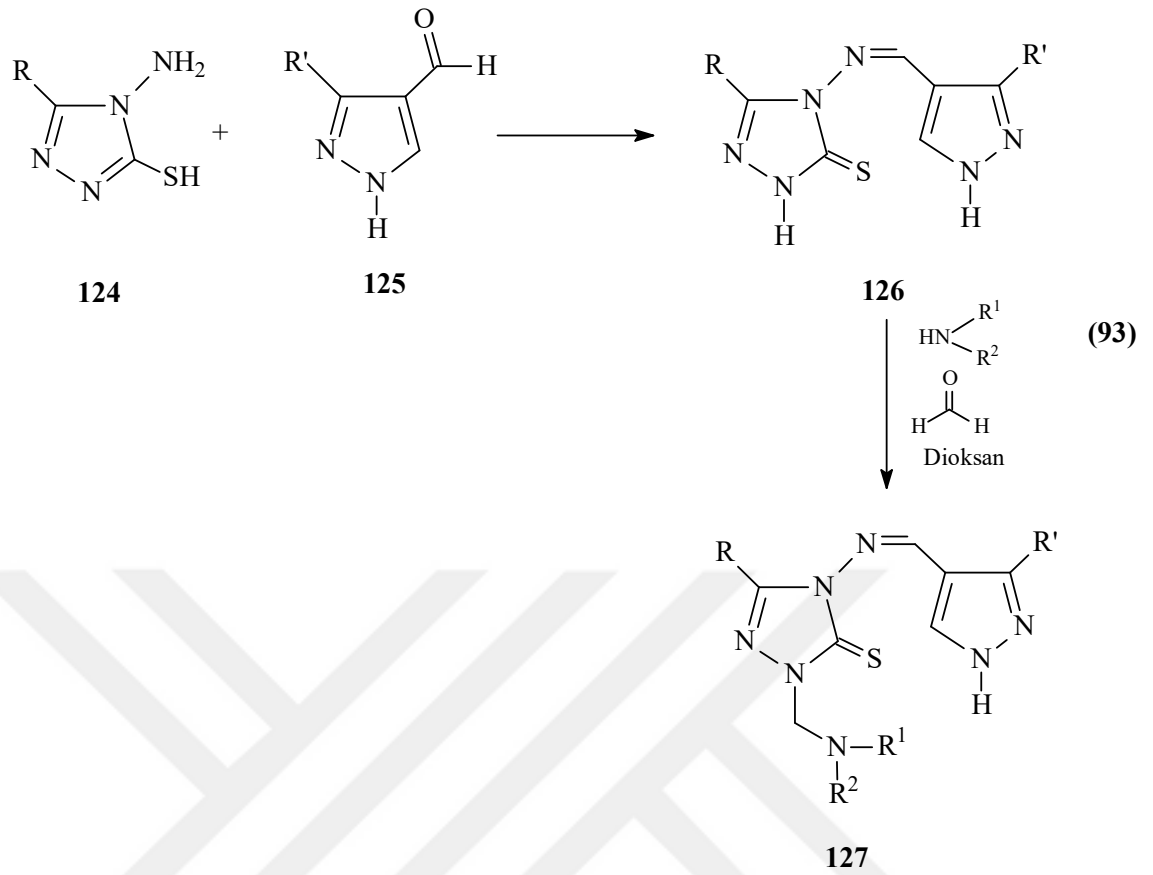


Yapılan başka bir çalışmada ise 108 tipi bileşikler, 3 tipi bileşiklerin *m*-fenoksibenzaldehyd ile reaksiyonundan sentezlenmiştir. Çalışmada 108 tipi bileşiklerin *N*-asetil türevleri (109) de elde edilmiştir. Çalışmada ayrıca sentezlenen bileşiklerin 3 farklı yöntemle *in vitro* antioksidan özelliklerinin incelenmiş ve 108 tipi bileşiklerin 4 farklı susuz çözücüde (izopropil alkol, *tert*-butil alkol, asetonitril, *N,N*-dimetil formamid) potansiyometrik yöntemle asitlik sabitleri tayin edilmiştir (Denklem 86) [135]. Çalışma kapsamında sentezi yapılan bileşiklerin biyolojik aktivite incelemeleri bir başka çalışmada yapılmıştır [136].



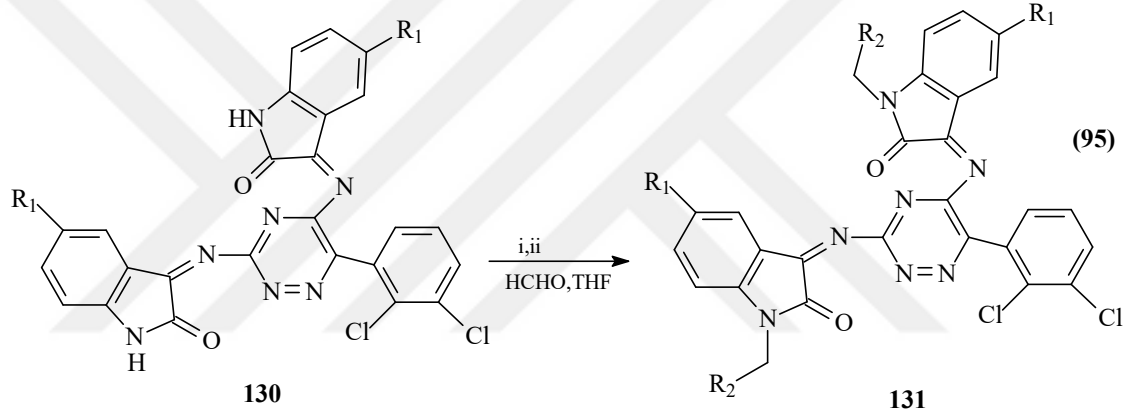
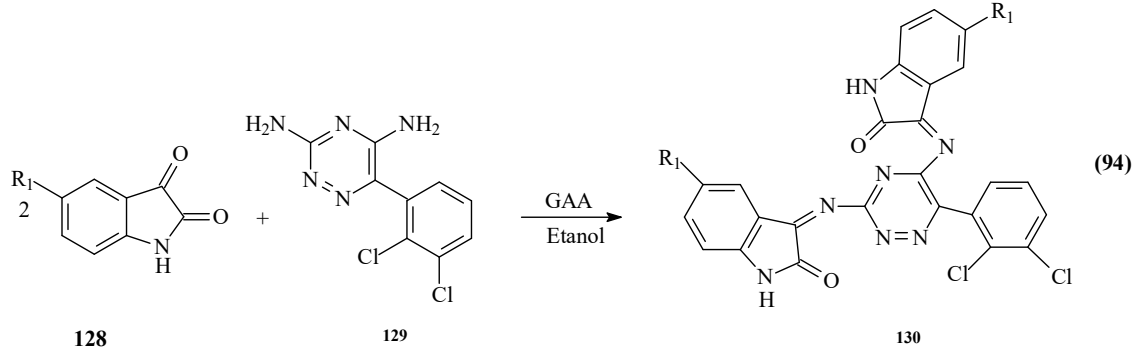
İzovanilin benzenesülfonil klorür ve *p*-toluenesülfonil klorür ile soğukta trietilaminli ortamda reaksiyonlarından birer benzaldehid türevi olan 3-benzenesülfoniloksi-4-metoksibenzaldehid (110) ve 4-metoksi-3-(*p*-toluenesülfoniloksi)-benzaldehyd (113) bir çalışmada elde edilmiş ve 3 tipi bileşiklerle muamele edilerek karşın olan 3-alkil(aril)-4-(3-benzenesülfoniloksi-4-metoksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (111) ve 3-alkil(aril)-4-[4-metoksi-3-(*p*-toluenesülfoniloksi)-benzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (114) bileşikleri sentezlenmiştir. Çalışmada 111 ve 114 tipi bileşiklerin N-asetil türevleri olan 112 ve 115 tipi bileşikler de elde edilmiştir (Denklem 87 ve 88) [136]. Bu çalışmada sentezlenen 111, 112, 114 ve 115 tipi bileşiklerin 3 farklı yöntemle *in-vitro* antioksidan özellikleri ile *in-vitro* biyolojik aktiviteleri de incelenmiştir. Ayrıca, 111 ve 114 tipi bileşiklerin 4 farklı susuz çözücüde pK_a değerleri tayin edilmiştir.





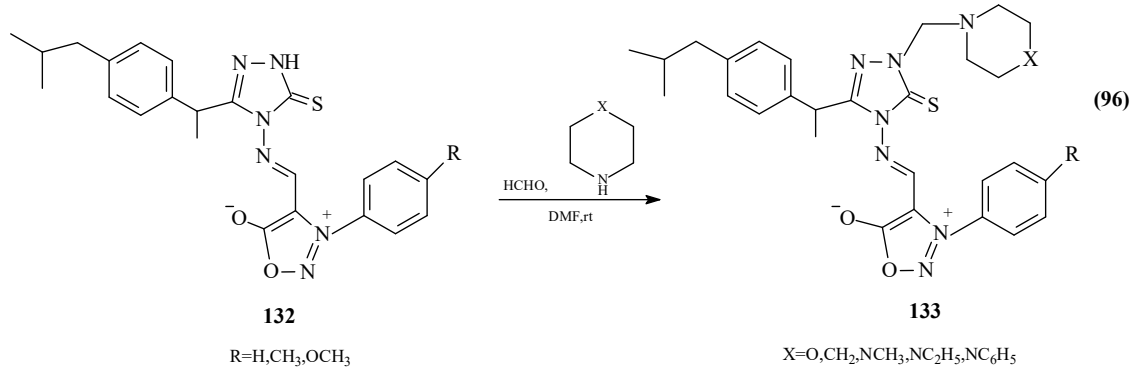
İzatin ve substitue izatin ile Lamotrijinin (130 ve 131) çeşitli Schiff ve Mannich bazı türevleri güçlü antikonvulsant maddeler elde etmek için sentezlenmiştir. Çeşitli yeni Schiff ve Mannich bazı türevlerinin sentezi için başlangıç maddesi sırasıyla anilin kullanılarak substitue izonitrosoasetaniliden hazırlanan izatin (1*H*-indol-2,3-dion) dur. İzatin ve substitue izatin (128) ile Lamotrijinin (129) reaksiyonu çeşitli ikincil aminlerden (dimetilamin, dietilamin, morfolin) üretilen Mannich bazları (131) ile reaksiyonu Schiff bazlarını (130) vermiştir (Denklem 94 ve 95). Yeni sentezlenen bileşiklerin yapıları TLC, UV, FT-IR, ¹H-NMR kullanılarak karakterize edilmiştir. Bütün türevlerin antikonvulsant aktivitesi standart ilaç olarak fenobarbital sodyum ve Lamotrijin kullanılarak MES metoduyla değerlendirilmiştir ve hayvanlar tarafından harcanan zamanın % olarak azalması ekstansiyon, fleksiyon, klonus ve stupor fazda kaydedilmiştir. 131 Tipi bileşikleri standart ilaçlar ile karşılaştırıldığı zaman önemli antikonvulsant aktivite göstermiştir. Geri kalan tüm bileşikler ılımlı aktivite göstermiştir. Sentezlenmiş bileşiklerin biyolojik aktivite verileri Lamotrijin ile

karşılaştırıldığında bunların iyi antikonvulsan maddeler olduğunu ortaya koymuştur [143].

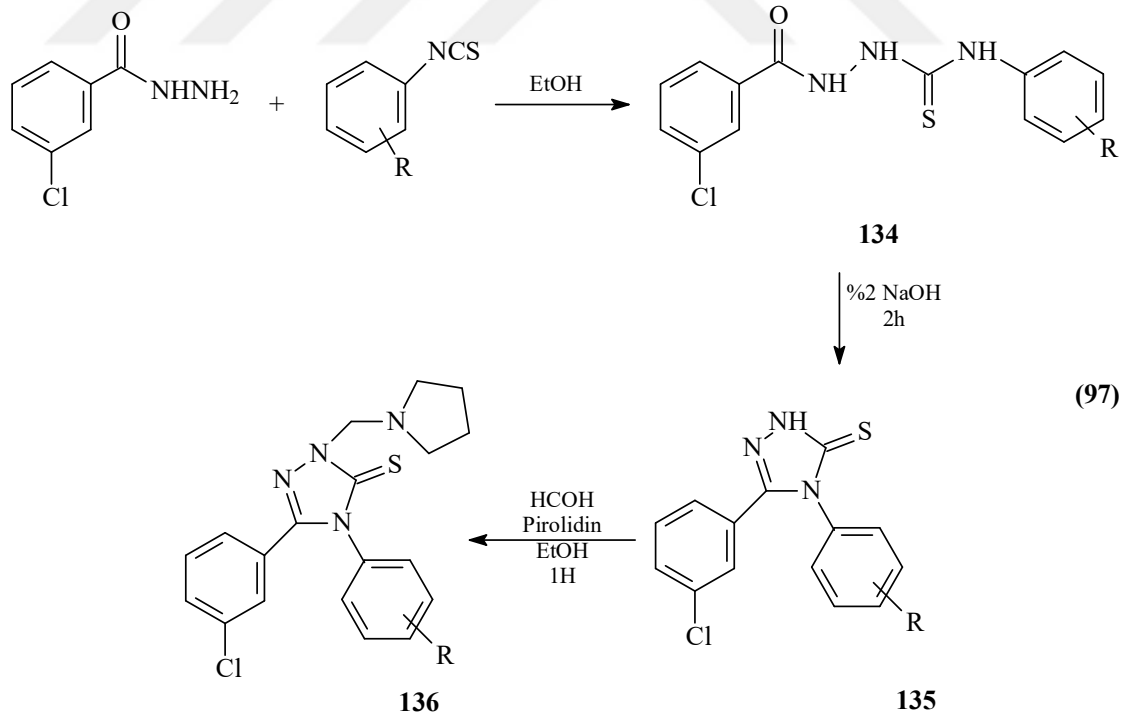


i=Etanol,GAA (Glasiyal Asetik Asit)
 ii=THF,HCHO,(Dimetilamin,Dietilamin,Morfolin)
 $R_1 = \text{H}, \text{Cl}$
 $R_2 = \text{N}(\text{CH}_3)_2, \text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2, \text{N}(\text{morfolin})$

1-Substüueaminometil-3-[1-(4-izobutilfenil)etil]-4-(3-aril-4-sydnoniliden)amino-1,2,4-triazol-5-tiyonların (133) yeni bir serisi formaldehit ve ikincil amin ile aminometilasyon yoluyla 3-[1-(4-izobutilfenil)etil]-4-(3-aril-4-sydnoniliden)-amino-5-merkapt-1,2,4-triazollerden (132) sentezlenmiştir (Denklem 96) [144]. Schiff bazları (132) ve Mannich bazlarının (133) yapıları IR, NMR, kütle spektral verileri ve elementel analiz yöntemlerine dayanılarak aydınlatılmıştır. Yeni sentezlenen bileşiklerin anti-enflamatuar ve analjezik aktiviteleri incelenmiştir. Piperidin ve morfolin grupları taşıyan Mannich bazları iyi derecede anti-enflamatuar ve analjezik aktivite göstermiştir [144].

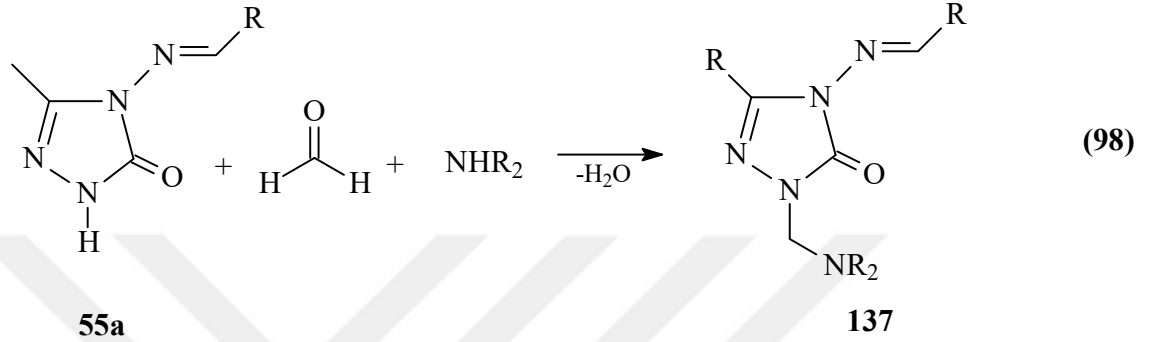


Yapılan başka bir çalışmada, farklı aril izotiyosiyanatlarla 3-klorobenzoik asit hidrazidin reaksiyonundan yüksek verimlerde tiyosemikarbazid türevleri (134) sentezlenmiştir. NaOH çözeltisiyle muamale edilen bu bileşikler siklizasyona uğrayarak 1,2,4-triazol-5-tiyon türevleri (135) oluşturulmuş, formaldehid ve pürolidinle reaksiyona sokularak 1,2,4-triazol halkası içeren yeni Mannich bazı türevleri (136) elde edilmiştir (Denklemler 97). Sentezlenen bu bileşiklerin *in-vitro* antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir [145].

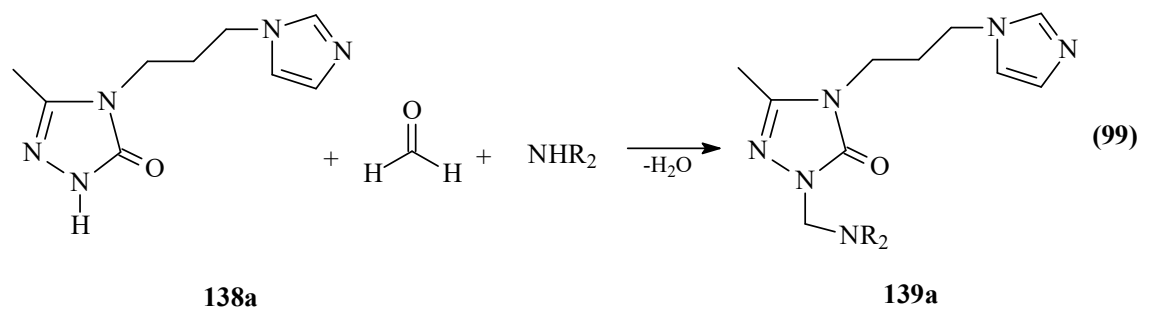


4-(Substitue (hetero)arilidenamino)-5-metil-1,2,4-triazol-2-on'lardan (55a) 137 tipi Mannich bazı sentezlenmiş (Denklemler 98) ve yedi tip bakteriye karşı test edilmiştir. Bu

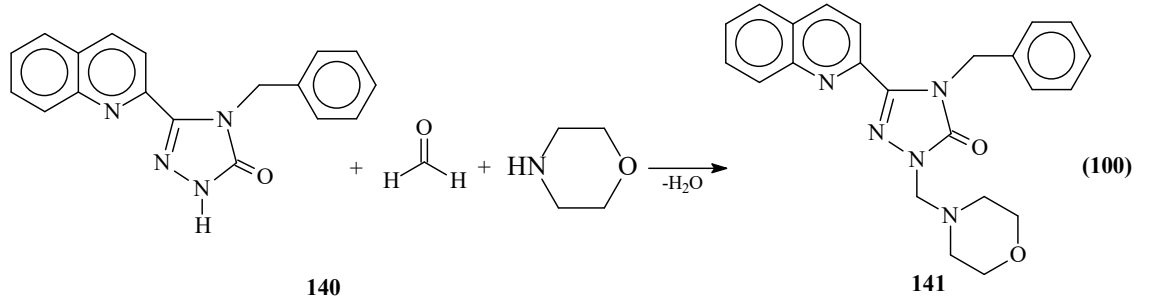
bileşiklerin antibakteriyel aktiviteleri ılımlıdan mükemmel doğrudur. Bütün bileşikler *E.coli* ve *P.aeruginosa*'ya karşı referans ilaç ampisilinden daha güçlüdür ve 137 bileşiği ($R^1=2$ -hidroksifenil, $NR_2=2$ -(4-morfolinil)etilamino) *S.aureus* haricinde bu çalışmada kullanılan bakteri türlerinin tamamına karşı en az Ampicilin kadar aktiflik göstermiştir [146].



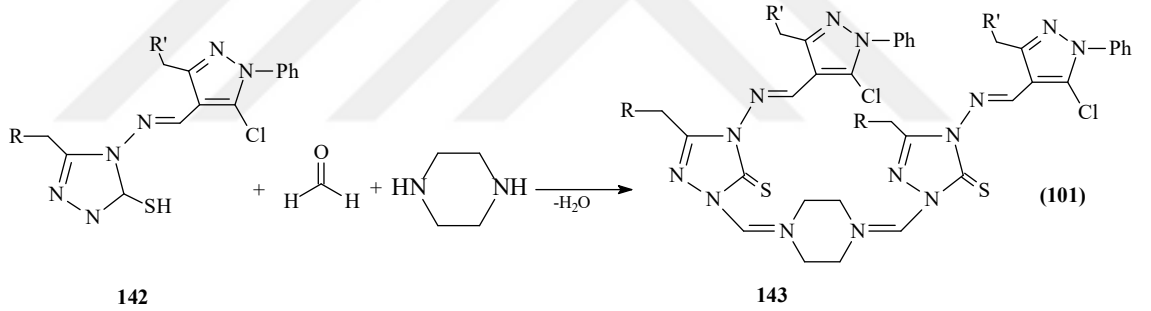
Mannich bazlarının antibakteriyel ve antimikobakteriyel özellikleri üzerine yapılan bir çalışmada 138a tipi 2,3-dihidro-1,2,4-triazol-3-on türevinden sentezlenen 139a tipi Mannich bazlarının morfolin ya da piperidin türevleri mükemmel, geniş spektrumlu antibakteriyellerdir ve *M.smegmatis*'e karşı antimikobakteriyel incelemesi bu bileşiklerin referans ilaç Streptomycin ile eşit güce sahip olduğunu göstermiştir (Denklem 99) [147].



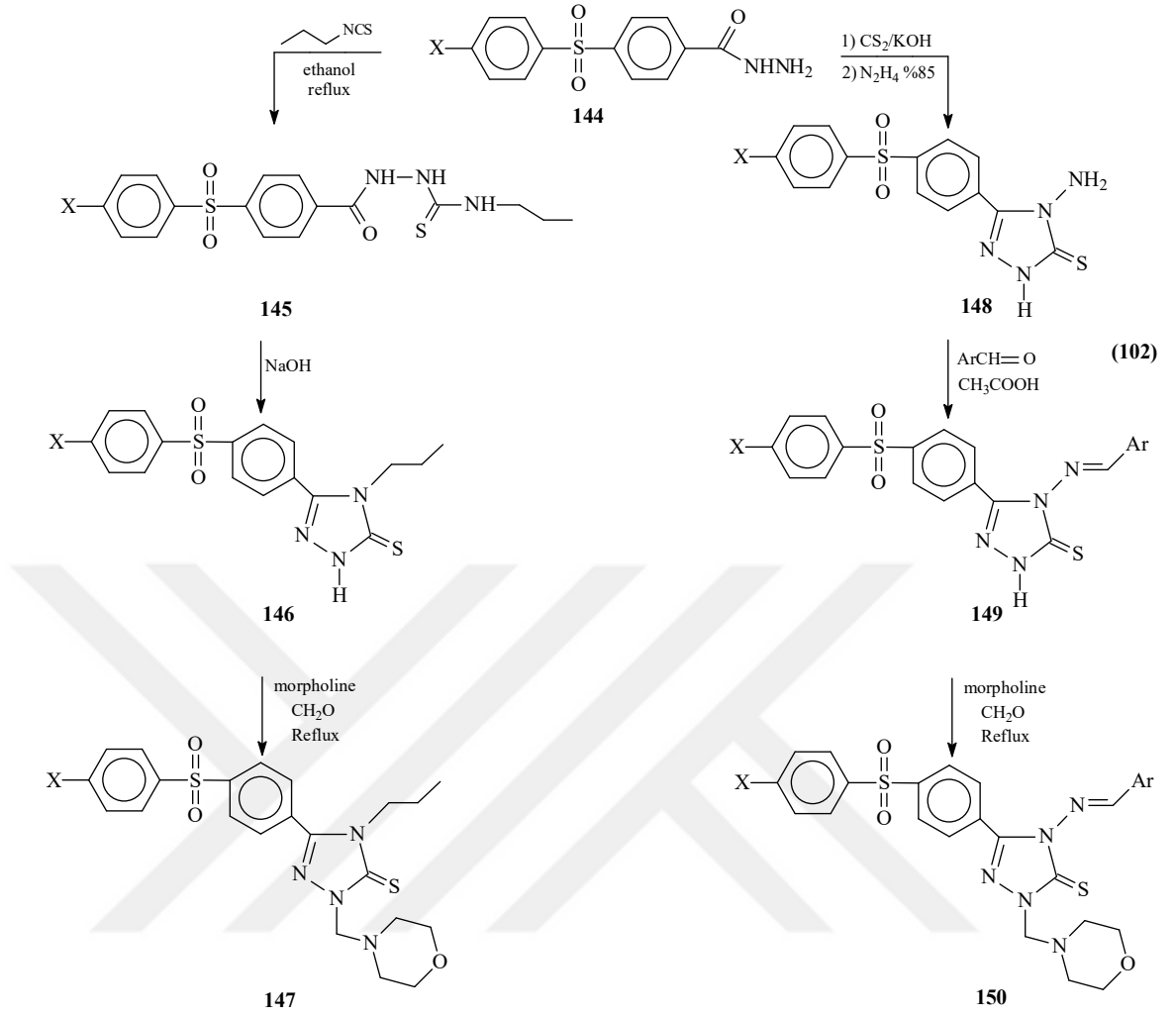
Triazol halkasının 5 pozisyonunda substituent olarak 2-kinolinile sahip 1,2,4-triazol-3-on'lardan (140) 141 tipi Mannich bazı sentezlenmiş (Denklem 100) ve antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir ve *E.coli* ve *P.aeruginosa* üzerindeki etkileri referans ilaç Ampicilinle kıyaslanabilir düzeyde olduğu bildirilmiştir [148].



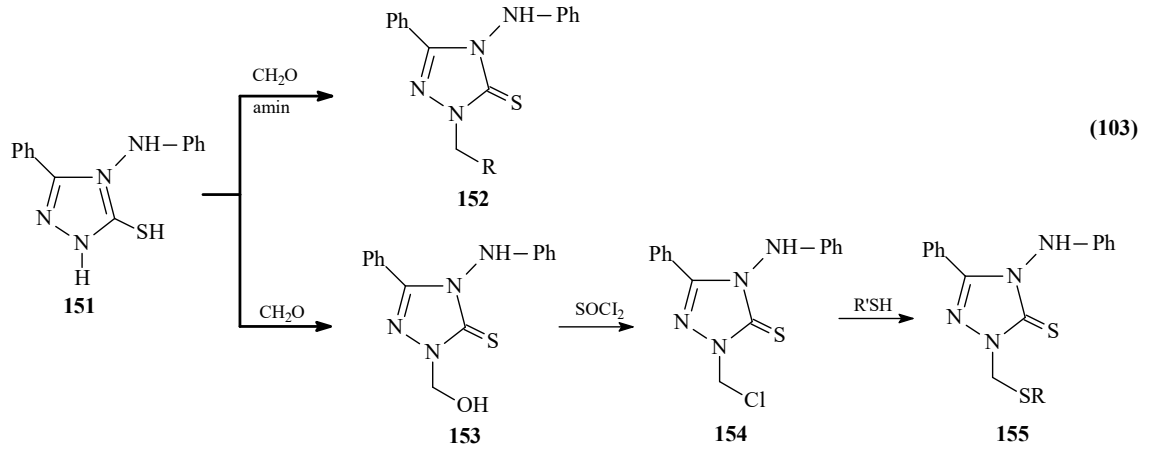
Son zamanlarda yapılan farklı bir çalışmada, fenil-pirazol ve piperazin grubu içeren 1,2,4-triazol-5-tiyon (142) ve bis(1,2,4-triazol-5-tiyon) türevleri kısa sürede oda sıcaklığında farklı 1,2,4-triazol-5-tiyoller substitue piperazinler ve formaldehid kullanılarak Mannich reaksiyonu aracılığıyla sentezlenmiştir (Denklem 101) [149]. Sentezlenen bileşikler IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve elementel analiz yardımıyla karakterize edilmiştir. Biyolojik aktiviteleri incelenmiş ve uygun herbisit ve önemli fungusidal etkinliklere sahip oldukları tespit edilmiştir [149].



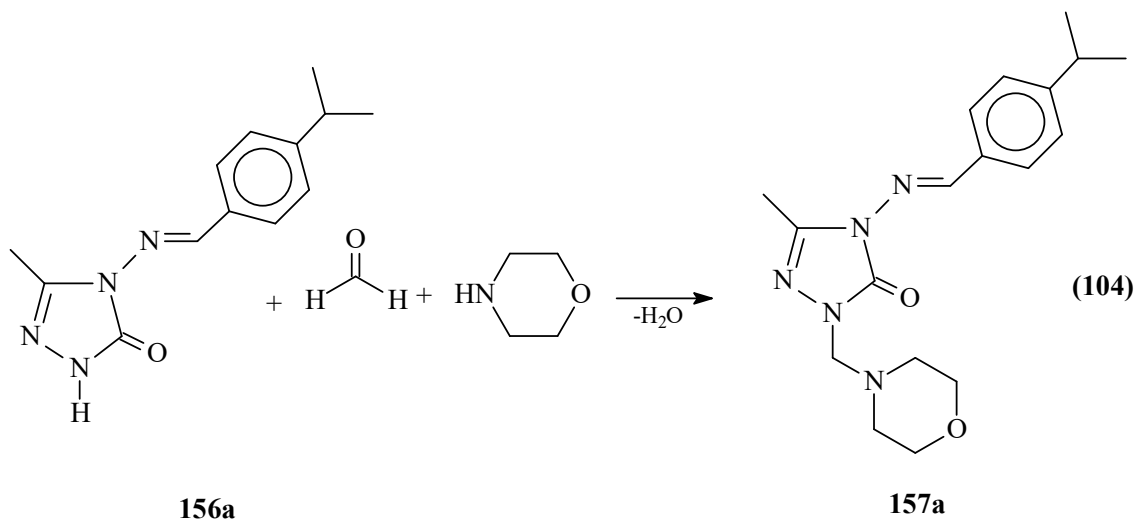
Son yıllarda Mannich bazları üzerine yapılan başka bir çalışmada, 4-substitue-5[4-(4-X-fenilsulfonyl)-fenil]-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-tiyonlar ve Mannich bazı türevleri sentezlenmiş (Denklem 102) ve IR, NMR ve elementel analiz spektroskopik yöntemleri kullanılarak karakterize edilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin potansiyel antibakteriyel etkileri incelenmiştir [150-152].

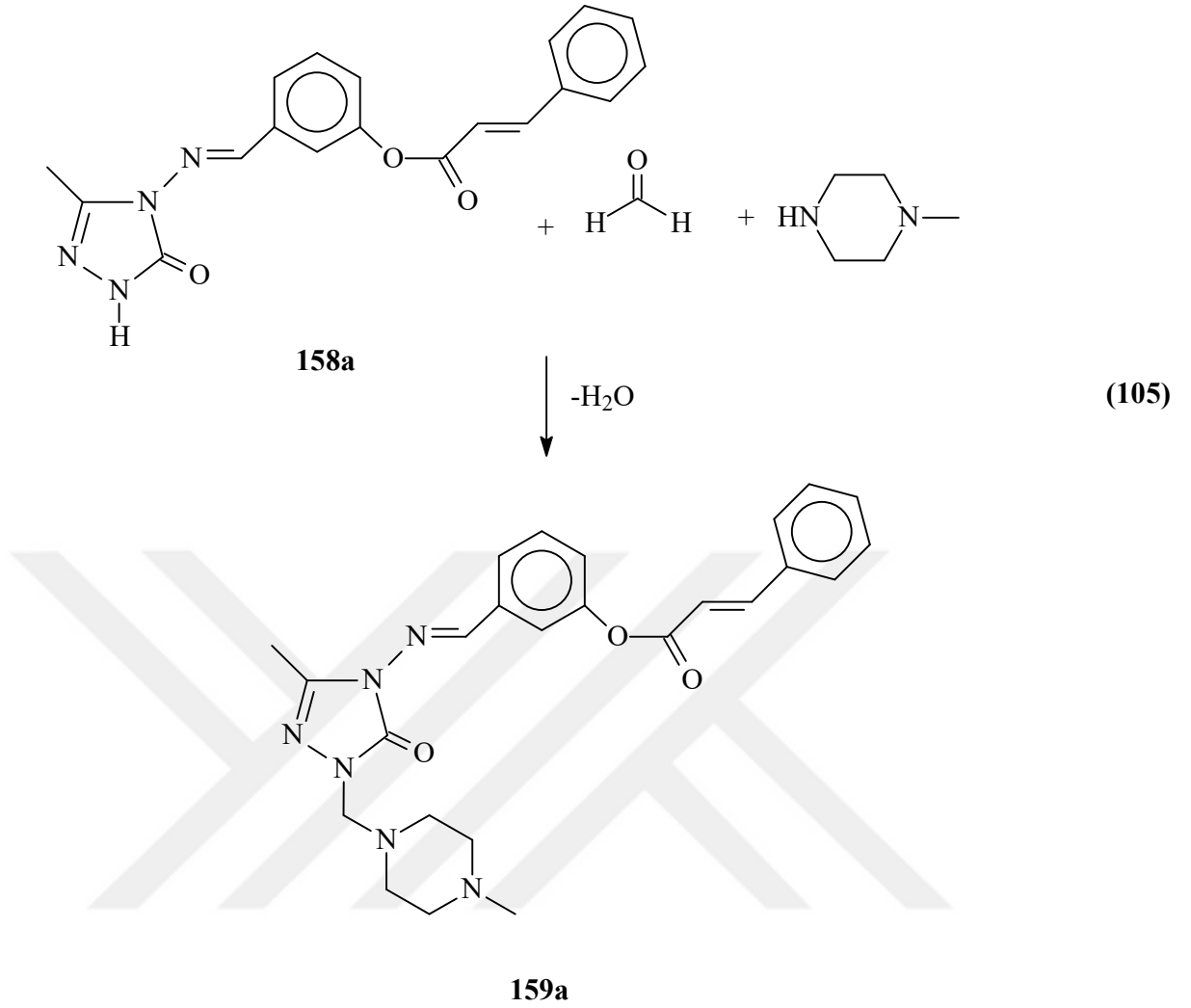


4-Anilino-5-fenil-4*H*-1,2,4-triazol-3-tiyol (151)'un Mannich bazları (152) elde etmek için formaldehid ve farklı aminlerle reaksiyona sokulmuştur. Formaldehid ve aminlerle 151 bileşiğinin muamelesi sonucu 2-hidroksimetil türevleri (153) sentezlenmiştir. Sentezlenmiş 153 bileşiğinin tiyonil klorürle reaksiyonundan klorometil türevi olan 154 tipi bileşikler elde edilmiştir. Bazı tiyollerle 154 tipi bileşiklerin reaksiyonu sonucu karşılık gelen sülfid türevli 5-fenil-4*H*-1,2,4-triazol-3-tiyon (155) bileşikleri elde edilmiştir. Sentezlenen Mannich bazı türevleri iyi antibakteriyel aktivite göstermiştir [153].



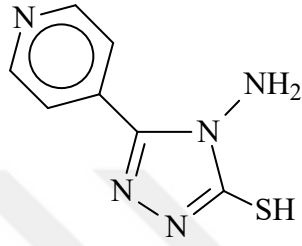
Son zamanlarda Yüksek ve çalışma arkadaşları tarafından 3-metil-4-(4-izopropilbenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (156a) bileşiği formaldehit ve morfolinle muamele edilerek karşın olan 1-(morfolin-4-il-metil)-3-metil-4-(4-izopropilbenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (157a) sentezlenmiş ve teorik olarak çalışılmıştır (Denklem 104) [154, 155]. Yine benzer bir çalışmada 3-metil-4-(3-sinamoiloksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on'un (158a) formaldehit ve N-metil piperazinle muamele edilmesiyle 1-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-3-metil-4-(3-sinamoiloksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (159a) bileşiği elde edilmiş ve Gaussian09W programı kullanılarak teorik olarak incelenmiştir (Denklem 105) [156, 157].



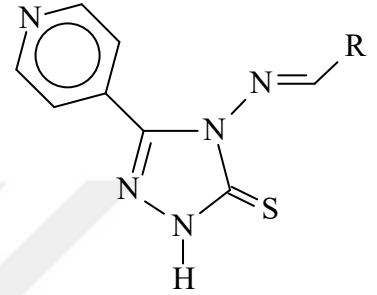


Birçok ilaca karşı direnç geliştirmiş gram negatif ve gram pozitif patojen bakteriler gibi ölümcül mikroorganizmaların son yıllarda ortaya çıkması nedeniyle yeni antibakteriyal ajanlar geliştirilmeye çalışılmaktadır. 1,2,4-triazol halkası bulduran flukonazol, itrakonazol, vorikonazol, ravukonazol ve posakonazol önemli antifungal ilaçlardır. 1,2,4-triazol ve 1,3,4-tiyadiazol halkaları ya da çekirdeği bulduran bileşikler, Schiff bazı türevleri anti-enflamatuvar, antiviral gibi değişik biyolojik aktivitelere neden olmaktadır. Schiff bazı türevleri antikanser ilacı olarak da sentezlenmiştir ve Mannich bazı türevleri antimikrobiyal ajan olarak aktivite gösterebilmektedirler. Norfloksasin, siprofloksasin ve ofloksasin solunum, boşaltım, sindirim sistemi, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları için etkilidir. Bunlar yapılarında metil piperazin veya piperazin halkası içerirler. Bunların yanında, amino ve merkupto gruplarını içeren heterosiklik moleküller sentezlendiğinde nükleofilik merkezli, elektrofillerle etkileşime

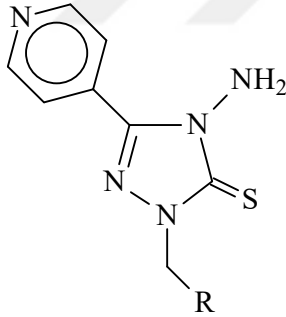
geçebilen Mannich ve Schiff baz yapılarında 1,3,4-oksadiyazol ve 1,2,4-triazol türevlerinin de antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. S-etillenmiş bileşiklerin farklı bakterilere karşı antimikrobiyal etkileri gözlemlenmiştir, ancak *Candida tropicalis* ve *Candida albicans*'a karşı böyle bir etkileri gözlemlenememiştir [158]. Bu çalışmada biyolojik aktiviteleri incelenen ve çalışma kapsamında sentezlenen bileşiklerin formülleri aşağıda verilmiştir.



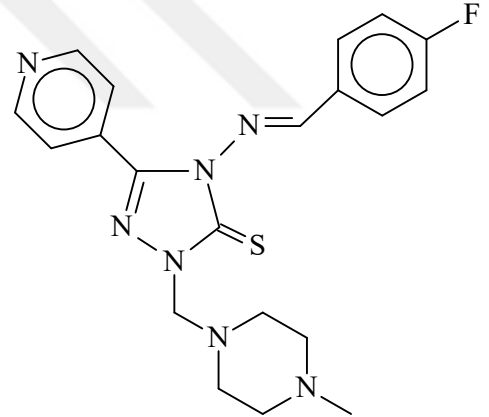
160



161



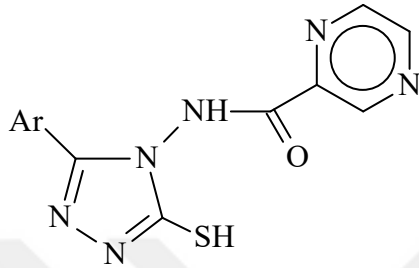
162



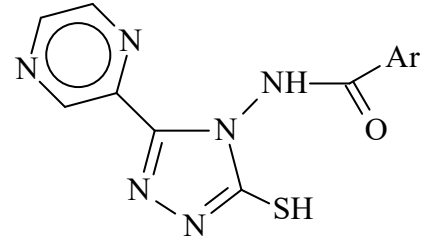
163

Tüberküloz tedavisi için de 1,2,4-triazol türevlerinin kullanılabileceği çalışmalarla gösterilmiştir. Tüberküloz streptomisin, aminosalisiklik asit ve isoniazid ile tedavi edildiğinde gelişmiş ülkelerde ölüm oranında azalmalar gözlenmiş ancak gelişmekte olan ülkelerde bu düşüş gözlenememiştir. Çok farklı tip ilaçlarla (Eetiyonamid, Aminosalisiklik Asit, Sikloserin, Amikasin ve Kapreomisin gibi) ve bu ilaçların kombinasyonu ile tedavi edilmeye çalışılmaktadır. Pirazinli triazol türevleri tüberküloz tedavisi için geliştirilip antibakteriyal, antifungal ve antitüberküler etkileri in vitro

şartlarda araştırılmıştır. Bunun sonucunda benzen halkasının antitüberküloz etkisine katkıda bulunmadığı ve pirazinin 3 pozisyonunda olmasının antitüberküloz ve antifungal etkisini arttırdığı anlaşılmıştır [159]. Çalışmada biyolojik aktiviteleri incelenen ve çalışma kapsamında sentezlenen bileşiklerin formülleri aşağıda verilmiştir.

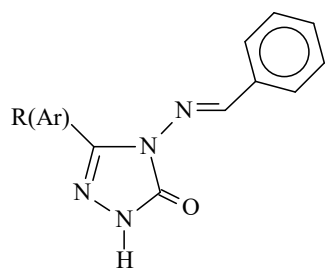


164

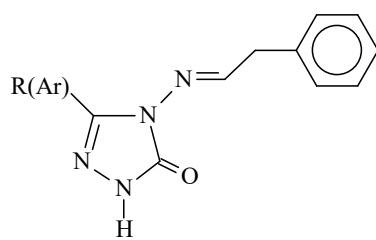


165

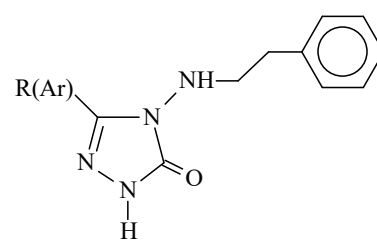
Antitümör ilacı olarak da kanser tedavilerinde kullanılmak için geliştirilen 1,2,4-triazol türevleri bulunmaktadır. 1,3,4-tiyadiazolil-1,2,4-triazol ve 1,2,4-triazolil-1,2,4-triazol türevlerinin Mannich bazlarının biyoaktiviteleri araştırılmıştır. Bunların içerisinde Schiff bazları, piperazin veya morfolin halkaları içeren türevler ve bazılarında florofenil bulunmaktadır. Yapılan çalışma sonucunda 1,2,4-triazol çekirdeği bulunan moleküllerin farmakolojik etkiyi arttırdığı bulunurken *N*-metilpiperazin veya morfolin içeren moleküllerin bunların yanında 1,2,4-triazol ve 1,3,4-tiyadiazol halkaları ve alkilleştirilen türevleri de antimikrobiyal etki göstermiştir. Bunun yanında bu üç farklı yapı birleştirilip antimikrobiyal etkilerine de bakılmıştır. Heterosiklik üçüncü halka olarak morfolin veya metil piperazin Mannich reaksiyonuyla eklendiğinde hiçbir antimikrobiyal aktivite gözlemlenmemiştir. Feniletülenamin ve feniletülamino grupları taşıyan triazol türevlerinin antitümoral etkilerinin olduğu tümör hücre hatlarıyla yapılan çalışmalar sonucunda ortaya konmuştur [160]. Çalışmada biyolojik aktiviteleri incelenen ve çalışma kapsamında sentezlenen bileşiklerin formülleri aşağıda verilmiştir.



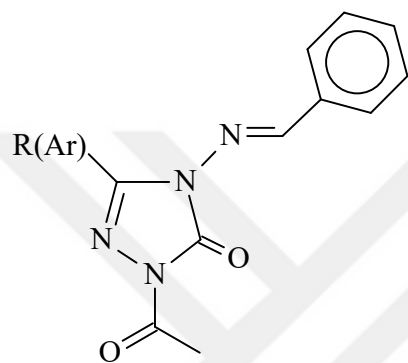
166



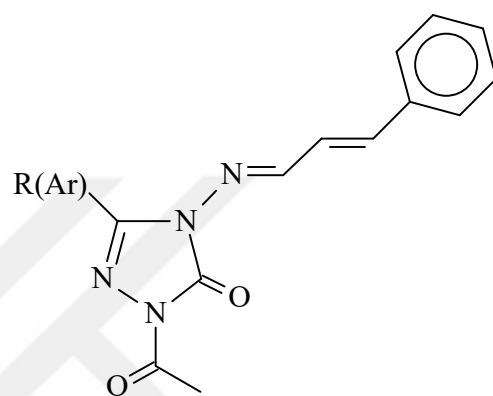
167



168



169



170

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. *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 Melting-point/SMP30 marka erime noktası tayin cihazında tayin edilmiştir.

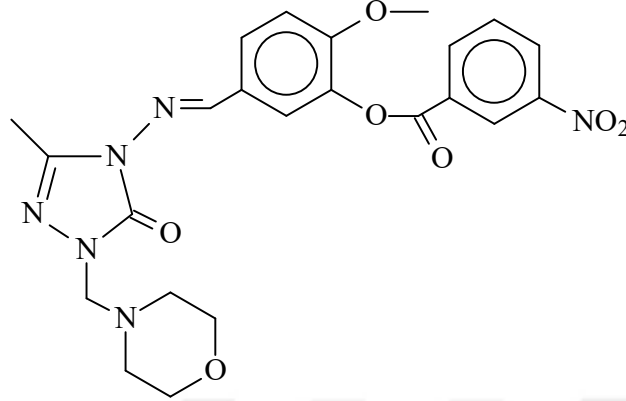
Yapı aydınlatılmasında kullanılan IR spektrumları çalışmanın yürütüldüğü laboratuvarında, ALPHA-P BRUKER FT-IR spektrometresinde alınmıştır.

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 (indirgeme gücü, serbest radikal giderme aktivitesi ve metal şelat aktivitesi) antioksidan özellikleri, Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Organik Kimya Araştırma Laboratuvarında incelenmiştir. Çalışmada Shimadzu-1201 UV-Visible spektrofotometresi kullanılmıştır.

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

2.1.1. 1-(Morfolin-4-il)-metil-3-metil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenziliden amino]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (12):



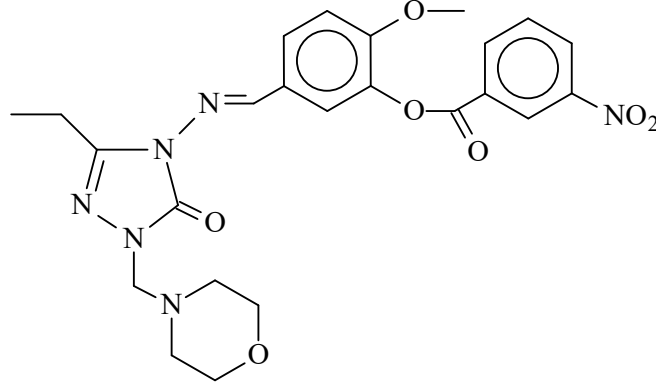
Yuvarlak dipli 100 mL'lik bir balonda 3-metil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi]-benzilidenamino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (6) (3.97 g, 10 mmol) bileşigi 40 mL etanolde çözüldü. Bu çözeltiye morfolin (0.87 g, 10 mmol) ve % 37'lik formaldehid çözeltisi (1.62 g, 20 mmol) ilave edilerek geri soğutucu altında 2 saat reflux edildi. Soğutuldu ve bir gece derin dondurucuda bekletildi. Çöken ham ürün süzöldü, soğuk alkolle yıkandı. Kurutuldu ve etanol ile kristallendirildi. Ele geçen kristaller (3.55 g, % 71.62 verim) aynı çözücöden birkaç kez daha kristallendirilip vakumda kurutulduktan sonra **12** bileşigi olarak tanımlandı. E.n: 169°C.

IR : 1746, 1696 (C=O) cm^{-1}
(Ek Şekil 1) 1610 (C=N) cm^{-1}
1531 ve 1348 (NO₂) cm^{-1}
1254 (COO) cm^{-1}
778 ve 714 (1,3-disubstitue aromatik halka) cm^{-1}

¹H-NMR (DMSO-d₆) : δ 2.30 (s, 3H, CH₃)
(Ek Şekil 2) δ 2.58 (t, 4H, CH₂NCH₂; *J*=4.40 Hz)
 δ 3.56 (t, 4H, CH₂OCH₂; *J*=4.40 Hz)
 δ 3.86 (s, 3H, OCH₃)
 δ 4.53 (s, 2H, NCH₂)
 δ 7.35 (d, 1H, ArH; *J*=8.40 Hz)
 δ 7.79 (dd, 1H, ArH; *J*=8.80 Hz, 2.00 Hz)
 δ 7.87 (d, 1H, ArH; *J*=2.00 Hz)
 δ 7.93 (t, 1H, ArH; *J*=8.00 Hz)
 δ 8.55 (d, 1H, ArH; *J*=8.00 Hz)
 δ 8.61 (d, 1H, ArH; *J*=8.40 Hz)
 δ 8.79 (t, 1H, ArH; *J*=2.00 Hz)
 δ 9.70 (s, 1H, N=CH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆) : δ 10.96 (CH₃)
(Ek Şekil 3) δ 49.97 (CH₂NCH₂)
 δ 56.32 (OCH₃)
 δ 65.91 (NCH₂)
 δ 66.03 (CH₂OCH₂)
 δ 113.18; 120.93; 124.23; 126.34; 128.56; 128.79;
129.98; 131.06; 135.85; 139.48; 143.09; 153.46 (ArC)
 δ 148.10 (Triazol C₃)
 δ 150.29 (N=CH)
 δ 153.33 (Triazol C₅)
 δ 162.27 (COO)

2.1.2. 1-(Morfolin-4-il)-metil-3-etil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenziliden amino]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (13):

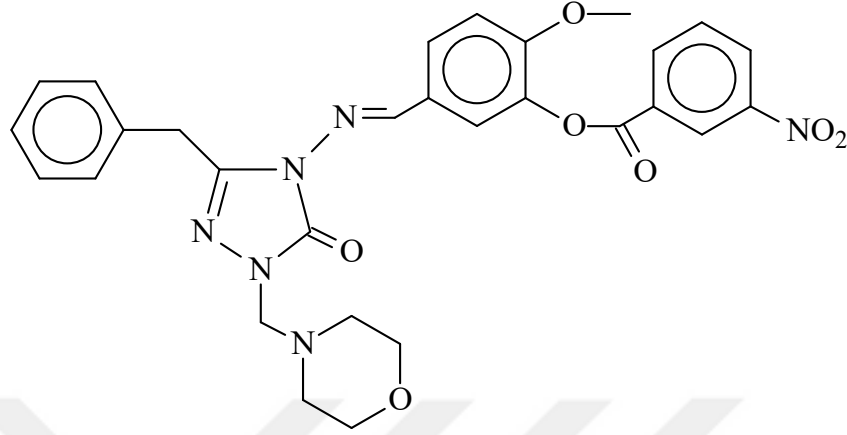


Yuvarlak dipli 100 mL'lik bir balonda 3-etil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi]-benzilidenamino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (7) (4.11 g, 10 mmol) bileşigi 40 mL etanolde çözüldü. Bu çözeltiye morfolin (0.87 g, 10 mmol) ve % 37'lik formaldehid çözeltisi (1.62 g, 20 mmol) ilave edilerek geri soğutucu altında 2 saat reflux edildi. Soğutuldu ve bir gece derin dondurucuda bekletildi. Çöken ham ürün süzöldü, soğuk alkolle yıkandı. Kurutuldu ve etanol ile kristallendirildi. Ele geçen kristaller (3.72 g, % 72.97 verim) aynı çözücöden birkaç kez daha kristallendirilip vakumda kurutulduktan sonra **13** bileşigi olarak tanımlandı. E.n: 165°C.

IR : 1741, 1699 (C=O) cm^{-1}
(Ek Şekil 4) 1607, 1582 (C=N) cm^{-1}
1530 ve 1349 (NO_2) cm^{-1}
1275 (COO) cm^{-1}
776 ve 713 (1,3-disubstitue aromatik halka) cm^{-1}

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) : δ 1.21 (t, 3H, CH_2CH_3 ; $J=7.20$ Hz)
(Ek Şekil 5) δ 2.58 (t, 4H, CH_2NCH_2 ; $J=4.40$ Hz)
2.72 (q, 2H, CH_2CH_3 ; $J=7.20$ Hz)
 δ 3.56 (t, 4H, CH_2OCH_2 ; $J=4.40$ Hz)
 δ 3.86 (s, 3H, OCH_3)
 δ 4.54 (s, 2H, NCH_2)
 δ 7.35 (d, 1H, ArH; $J=8.40$ Hz)
 δ 7.79 (dd, 1H, ArH; $J=8.80$ Hz, 2.00Hz)
 δ 7.86 (d, 1H, ArH; $J=2.00$ Hz)
 δ 7.93 (t, 1H, ArH; $J=8.00$ Hz)
 δ 8.55 (d, 1H, ArH; $J=8.40$ Hz)
 δ 8.61 (d, 1H, ArH; $J=8.40$ Hz)
 δ 8.79 (t, 1H, ArH; $J=2.00$ Hz)
 δ 9.66 (s, 1H, N=CH)
: δ 9.99 (CH_2CH_3)
 δ 18.35 (CH_2CH_3)
 δ 49.99 (CH_2NCH_2)
 δ 56.32 (OCH_3)
 δ 65.94 (NCH_2)
 $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6) : δ 66.03 (CH_2OCH_2)
(Ek Şekil 6) δ 113.20; 120.93; 124.23; 126.36; 128.56; 128.78; 129.98;
131.05; 135.86; 139.49; 146.81; 153.46 (ArC)
 δ 148.09 (Triazol C_3)
 δ 150.42 (N=CH)
 δ 153.41 (Triazol C_5)
 δ 162.26 (COO)

2.1.3. 1-(Morfolin-4-il)-benzil-3-alkil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenziliden amino]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (14):



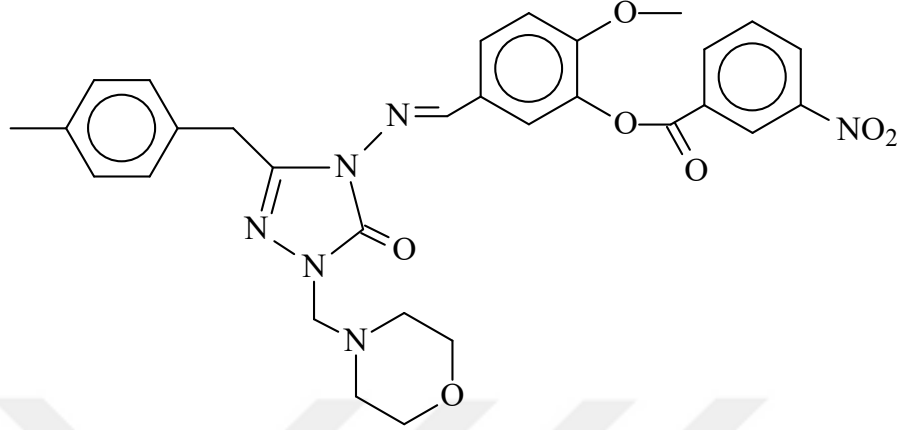
Yuvarlak dipli 100 mL'lik bir balonda 3-benzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi]-benzilidenamino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (8) (4.73 g, 10 mmol) bileşiği 40 mL etanolde çözüldü. Bu çözeltiye morfolin (0.87 g, 10 mmol) ve % 37'lik formaldehid çözeltisi (1.62 g, 20 mmol) ilave edilerek geri soğutucu altında 2 saat reflux edildi. Soğutuldu ve bir gece derin dondurucuda bekletildi. Çöken ham ürün süzülde, soğuk alkolle yıkandı. Kurutuldu ve etanol ile kristallendirildi. Ele geçen kristaller (4.79 g, % 75.00 verim) aynı çözücünden birkaç kez daha kristallendirilip vakumda kurutulduktan sonra **14** bileşiği olarak tanımlandı. E.n: 170°C.

IR : 1740, 1699 (C=O) cm^{-1}
(Ek Şekil 7) 1603, 1577 (C=N) cm^{-1}
1526 ve 1347 (NO₂) cm^{-1}
1252 (COO) cm^{-1}
775 ve 708 (mono ve 1,3-disubstitue benzenoid halka) cm^{-1}

¹H-NMR (DMSO-d₆) : δ 2.58 (t, 4H, CH₂NCH₂; *J*=4.40 Hz)
(Ek Şekil 8) δ 3.56 (t, 4H, CH₂OCH₂; *J*=4.40 Hz)
 δ 3.86 (s, 3H, OCH₃)
 δ 4.09 (s, 2H, CH₂Ph)
 δ 4.56 (s, 2H, NCH₂)
 δ 7.20 (t, 1H, ArH; *J*=7.20 Hz)
 δ 7.27-7.35 (m, 5H, ArH)
 δ 7.77-7.78 (m, 2H, ArH)
 δ 7.94 (t, 1H, ArH; *J*=8.00 Hz)
 δ 7.97 (d, 1H, ArH; *J*=8.00 Hz)
 δ 8.61 (d, 1H, ArH; *J*=8.00 Hz)
 δ 8.80 (t, 1H, ArH; *J*=2.00 Hz)
 δ 9.61 (s, 1H, N=CH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆) : δ 30.90 (CH₂Ph)
(Ek Şekil 9) δ 49.99 (CH₂NCH₂)
 δ 56.32 (OCH₃)
 δ 65.96 (NCH₂)
 δ 66.03 (CH₂OCH₂)
 δ 113.23; 121.22; 124.21; 126.31; 126.73; 128.44 (2C);
128.49; 128.60; 128.76 (2C); 129.96; 131.10; 135.67;
135.84; 139.41; 144.93; 153.45 (ArC)
 δ 148.34 (Triazol C₃)
 δ 150.29 (N=CH)
 δ 153.03 (Triazol C₅)
 δ 162.26 (COO)

2.1.4. 1-(Morfolin-4-il)-metil-3-*p*-metilbenzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi benzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (15):



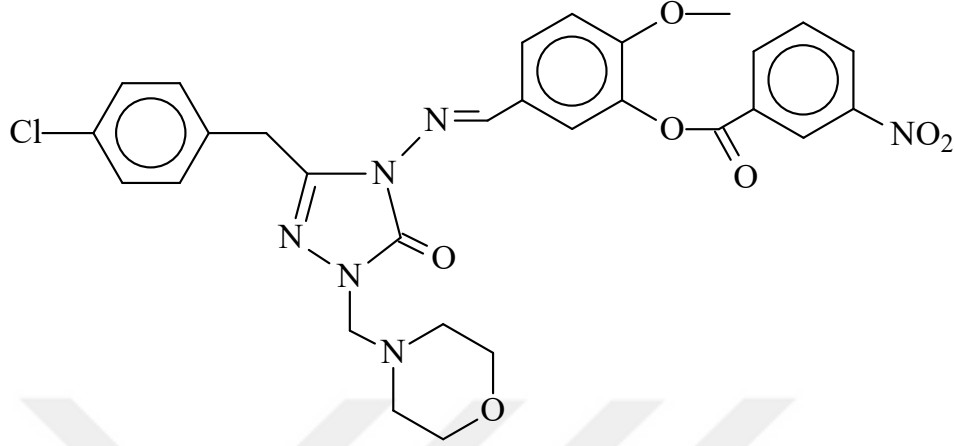
Yuvarlak dipli 100 mL'lik bir balonda 3-*p*-metilbenzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi]-benzilidenamino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (9) (4.87 g, 10 mmol) bileşiği 40 mL etanolde çözüldü. Bu çözeltiye morfolin (0.87 g, 10 mmol) ve % 37'lik formaldehid çözeltisi (1.62 g, 20 mmol) ilave edilerek geri soğutucu altında 2 saat reflux edildi. Soğutuldu ve bir gece derin dondurucuda bekletildi. Çöken ham ürün süzöldü, soğuk alkolle yıkandı. Kurutuldu ve etanol ile kristallendirildi. Ele geçen kristaller (4.23 g, % 72.22 verim) aynı çözücöden birkaç kez daha kristallendirilip vakumda kurutulduktan sonra **15** bileşiği olarak tanımlandı. E.n: 160°C.

IR : 1739, 1707 (C=O) cm^{-1}
(Ek Şekil 10) 1610, 1580 (C=N) cm^{-1}
1532 ve 1350 (NO_2) cm^{-1}
1214 (COO) cm^{-1}
814 (1,4-disubstitue aromatik halka) cm^{-1}
770 ve 714 (1,3-disubstitue aromatik halka) cm^{-1}

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) : δ 2.21 (s, 3H, PhCH_3)
(Ek Şekil 11) δ 2.58 (t, 4H, CH_2NCH_2 ; $J=4.40$ Hz)
 δ 3.56 (t, 4H, CH_2OCH_2 ; $J=4.40$ Hz)
 δ 3.86 (s, 3H, OCH_3)
 δ 4.03 (s, 2H, CH_2Ph)
 δ 4.56 (s, 2H, NCH_2)
 δ 7.08 (d, 2H, ArH; $J=8.00$ Hz)
 δ 7.20 (d, 2H, ArH; $J=8.40$ Hz)
 δ 7.34 (d, 1H, ArH; ; $J=8.40$ Hz)
 δ 7.75-7.77 (m, 2H, ArH)
 δ 7.95 (t, 1H, ArH; $J=8.00$ Hz)
 δ 8.57 (d, 1H, ArH; $J=8.40$ Hz)
 δ 8.62 (d, 1H, ArH; $J=8.00$ Hz)
 δ 8.81 (t, 1H, ArH; ; $J=2.00$ Hz)
 δ 9.60 (s, 1H, N=CH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6) : δ 20.54 (PhCH_3)
(Ek Şekil 12) δ 30.53 (CH_2Ph)
 δ 49.99 (CH_2NCH_2)
 δ 56.32 (OCH_3)
 δ 66.03 ($\text{CH}_2\text{OCH}_2+\text{NCH}_2$)
 δ 113.22; 121.16; 124.21; 126.34; 128.54; 128.63; 128.63
(2C); 129.00 (2C); 129.96; 131.91; 132.54; 135.80;
135.84; 139.41; 145.07; 153.45 (ArC)
 δ 148.13 (Triazol C_3)
 δ 150.29 (N=CH)
 δ 152.96 (Triazol C_5)
 δ 162.26 (COO)

2.1.5. 1-(Morfolin-4-il)-metil-3-*p*-klorobenzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi benzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (16):



Yuvarlak dipli 100 mL'lik bir balonda 3- *p*-klorobenzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi]-benzilidenamino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (10) (5.075 g, 10 mmol) bileşiği 40 mL etanolde çözüldü. Bu çözeltiye morfolin (0.87 g, 10 mmol) ve % 37'lik formaldehid çözeltisi (1.62 g, 20 mmol) ilave edilerek geri soğutucu altında 2 saat reflux edildi. Soğutuldu ve bir gece derin dondurucuda bekletildi. Çöken ham ürün süzüldü, soğuk alkolle yıkandı. Kurutuldu ve etanol ile kristallendirildi. Ele geçen kristaller (4.35 g, % 71.83 verim) aynı çözücüden birkaç kez daha kristallendirilip vakumda kurutulduktan sonra **16** bileşiği olarak tanımlandı. E.n: 123°C.

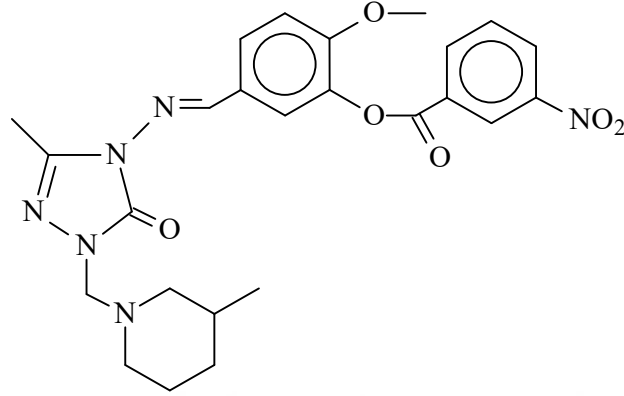
IR : 1741, 1710 (C=O) cm^{-1}
(Ek Şekil 13) 1609 (C=N) cm^{-1}
1530 ve 1355 (NO_2) cm^{-1}
1210 (COO) cm^{-1}
811 (1,4-disubstitue aromatik halka) cm^{-1}
778 ve 711 (1,3-disubstitue aromatik halka) cm^{-1}

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) : δ 2.57 (t, 4H, CH_2NCH_2 ; $J=4.40$ Hz)
(Ek Şekil 14) δ 3.56 (t, 4H, CH_2OCH_2 ; $J=4.40$ Hz)
 δ 3.86 (s, 3H, OCH_3)
 δ 4.11 (s, 2H, CH_2Ph)
 δ 4.56 (s, 2H, NCH_2)
 δ 7.33-7.35 (m, 5H, ArH; $J=8.00$ Hz)
 δ 7.75-7.77 (m, 2H, ArH)
 δ 7.95 (t, 1H, ArH)
 δ 8.57 (d, 1H, ArH; $J=8.00$ Hz)
 δ 8.60-8.63 (m, 1H, ArH)
 δ 8.81(t, 1H, ArH; ; $J=2.00$ Hz)
 δ 9.62 (s, 1H, $\text{N}=\text{CH}$)

: δ 30.90 (CH_2Ph)
 δ 49.99 (CH_2NCH_2)
 δ 56.32 (OCH_3)
 δ 66.03 ($\text{CH}_2\text{OCH}_2+\text{NCH}_2$)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6) : δ 113.23; 121.14; 124.23; 126.28; 128.36; 128.36 (2C);
(Ek Şekil 15) 128.63; 129.97; 130.72 (2C); 131.11; 131.44; 134.65;
135.86; 139.43; 144.62; 153.48 (ArC)
 δ 148.13 (Triazol C_3)
 δ 150.28 ($\text{N}=\text{CH}$)
 δ 153.07 (Triazol C_5)
 δ 162.27 (COO)

2.1.6. 1-(3-Metilpiperidin-1-il)-metil-3-metil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi-benzilidenamino]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (18):



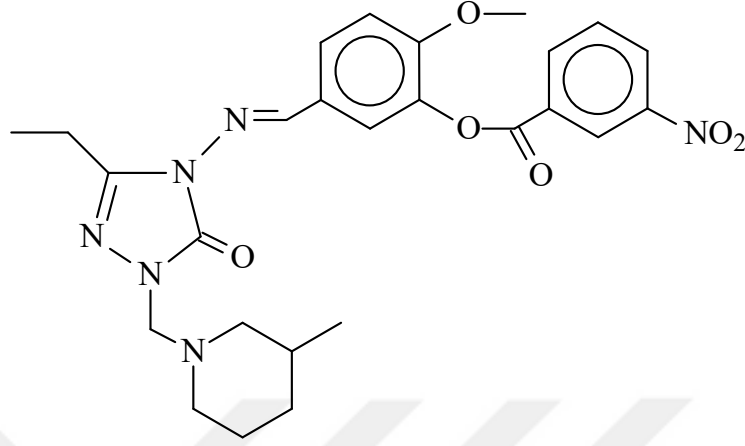
Yuvarlak dipli 100 mL'lik bir balonda 3-metil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi]-benzilidenamino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (6) (3.97 g, 10 mmol) bileşiği 40 mL etanolde çözüldü. Bu çözeltiye 3-metilpiperidin (0.99 g, 10 mmol) ve % 37'lik formaldehid çözeltisi (1.62 g, 20 mmol) ilave edilerek geri soğutucu altında 2 saat reflux edildi. Soğutuldu ve bir gece derin dondurucuda bekletildi. Çöken ham ürün süzöldü, soğuk alkolle yıkandı. Kurutuldu ve etanol ile kristallendirildi. Ele geçen kristaller (3.74 g, % 73.68 verim) aynı çözücöden birkaç kez daha kristallendirilip vakumda kurutulduktan sonra **18** bileşiği olarak tanımlandı. E.n: 179°C.

IR : 1744, 1696 (C=O) cm^{-1}
(Ek Şekil 16) 1613 (C=N) cm^{-1}
1533 ve 1345 (NO_2) cm^{-1}
1214 (COO) cm^{-1}
776 ve 713 (1,3-disubstitue aromatik halka) cm^{-1}

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) : δ 0.75-0.78 (m, 1H)
(Ek Şekil 17) δ 0.82 (d, 3H, CHCH_3 ; $J=6.40$ Hz)
 δ 1.40-1.43 (m, 1H)
 δ 1.55-1.61 (m, 3H)
 δ 1.90 (t, 1H)
 δ 2.21 (m, 1H)
 δ 2.29 (s, 3H, CH_3)
 δ 2.81-2.84 (m, 2H)
 δ 3.86 (s, 3H, OCH_3)
 δ 4.52 (s, 2H, NCH_2)
 δ 7.35 (d, 1H, ArH; $J=8.80$ Hz)
 δ 7.80 (dd, 1H, ArH; $J=8.80$ Hz, 2.00 Hz)
 δ 7.87 (d, 1H, ArH; $J=2.00$ Hz)
 δ 7.94 (t, 1H, ArH; $J=8.00$ Hz)
 δ 8.55 (d, 1H, ArH; $J=7.60$ Hz)
 δ 8.61 (d, 1H, ArH; $J=8.40$ Hz)
 δ 8.79 (s, 1H, ArH)
 δ 9.68 (s, 1H, N=CH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6) : δ 10.98 (CH_3)
(Ek Şekil 18) δ 19.48 (CHCH_3)
 δ 24.92 (CH_2)
 δ 30.71 (CH_2)
 δ 32.02 (CH)
 δ 50.33 (CH_2)
 δ 56.32 (OCH_3)
 δ 58.12 (CH_2)
 δ 66.58 (NCH_2)
 δ 113.18; 120.90; 124.23; 126.39; 128.57; 128.79;
129.99; 131.07; 135.85; 139.46; 142.83; 153.17 (ArC)
 δ 148.10 (Triazol C_3)
 δ 150.30 (N=CH)
 δ 153.43 (Triazol C_5)
 δ 162.27 (COO)

2.1.7. 1-(3-Metilpiperidin-1-il)-metil-3-etil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi]benzilidenamino]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (19):



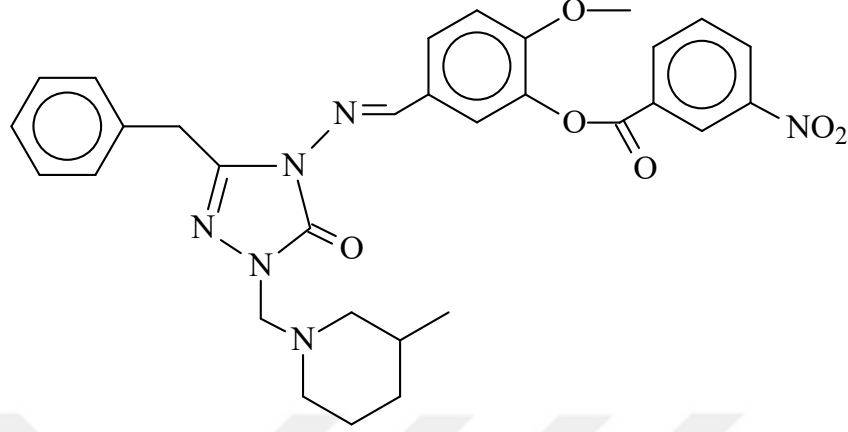
Yuvarlak dipli 100 mL'lik bir balonda 3-etil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi]benzilidenamino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (7) (4.11 g, 10 mmol) bileşiği 40 mL etanolde çözüldü. Bu çözeltiye 3-metilpiperidin (0.99 g, 10 mmol) ve % 37'lik formaldehid çözeltisi (1.62 g, 20 mmol) ilave edilerek geri soğutucu altında 2 saat reflux edildi. Soğutuldu ve bir gece derin dondurucuda bekletildi. Çöken ham ürün süzüldü, soğuk alkolle yıkandı. Kurutuldu ve etanol ile kristallendirildi. Ele geçen kristaller (3.75 g, % 72.00 verim) aynı çözücüden birkaç kez daha kristallendirilip vakumda kurutulduktan sonra **19** bileşiği olarak tanımlandı. E.n: 186°C.

IR : 1744, 1696 (C=O) cm^{-1}
(Ek Şekil 19) 1615, 1586 (C=N) cm^{-1}
1536 ve 1346 (NO_2) cm^{-1}
1250 (COO) cm^{-1}
773 ve 712 (1,3-disubstitue aromatik halka) cm^{-1}

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) : δ 0.75-0.78 (m,1H)
(Ek Şekil 20) δ 0.82 (d, 3H, CHCH_3 ; $J=6.40$ Hz)
 δ 1.20 (t, 3H, CH_2CH_3 ; $J=7.20$ Hz)
 δ 1.40-1.43 (m,1H)
 δ 1.57-1.60 (m, 3H)
 δ 1.90 (t, 1H, $J=10.80$ Hz)
 δ 2.21 (t, 1H, $J=10.80$ Hz)
 δ 2.71 (q, 2H, CH_2CH_3 ; $J=7.20$ Hz)
 δ 2.82-2.84 (m, 2H),
 δ 3.86 (s, 3H, OCH_3)
 δ 4.53 (s, 2H, NCH_2)
 δ 7.35 (d, 1H, ArH; $J=8.40$ Hz)
 δ 7.80 (d, 1H, ArH; $J=8.40$ Hz)
 δ 7.86 (s, 1H, ArH)
 δ 7.94 (t, 1H, ArH; $J=8.00$ Hz)
 δ 8.56 (d, 1H, ArH; $J=8.00$ Hz)
 δ 8.61 (d, 1H, ArH; $J=8.00$ Hz)
 δ 8.79 (s, 1H, ArH)
 δ 9.67 (s, 1H, N=CH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6) : δ 10.08 (CH_2CH_3)
(Ek Şekil 21) δ 18.36 (CH_2CH_3)
 δ 19.48 (CHCH_3)
 δ 24.91 (CH_2)
 δ 30.69 (CH_2)
 δ 32.03 (CHCH_3)
 δ 50.36 (CH_2)
 δ 56.33 (OCH_3)
 δ 58.14 (CH_2)
 δ 66.64 (NCH_2)
 δ 113.22; 120.92; 124.24; 126.41; 128.58; 129.99; 131.07;
131.14; 135.87; 139.49; 142.80; 153.48 (ArC)
 δ 148.11 (Triazol C_3)
 δ 150.44 (N=CH)
 δ 153.45 (Triazol C_5)
 δ 162.27 (COO)

2.1.8. 1-(3-Metilpiperidin-1-il)-metil-3-benzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi benzilidenamino]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (20):



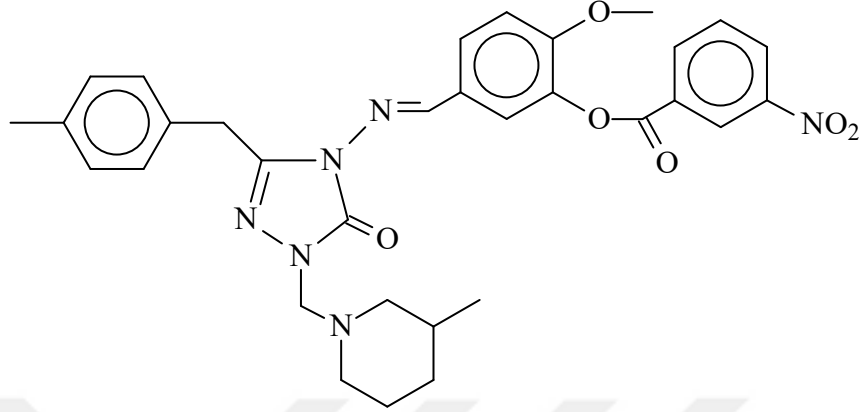
Yuvarlak dipli 100 mL'lik bir balonda 3-benzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi]-benzilidenamino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (8) (4.73 g, 10 mmol) bileşiği 40 mL etanolde çözüldü. Bu çözeltiye 3-metilpiperidin (0.99 g, 10 mmol) ve % 37'lik formaldehid çözeltisi (1.62 g, 20 mmol) ilave edilerek geri soğutucu altında 2 saat reflux edildi. Soğutuldu ve bir gece derin dondurucuda bekletildi. Çöken ham ürün süzüldü, soğuk alkolle yıkandı. Kurutuldu ve etanol ile kristallendirildi. Ele geçen kristaller (4.87 g, % 83.56 verim) aynı çözücünden birkaç kez daha kristallendirilip vakumda kurutulduktan sonra **20** bileşiği olarak tanımlandı. E.n: 113°C.

IR : 1747, 1701 (C=O) cm^{-1}
(Ek Şekil 22) 1612, 1580 (C=N) cm^{-1}
1531 ve 1351 (NO_2) cm^{-1}
1209 (COO) cm^{-1}
767 ve 711 (mono ve 1,3-disubstitue aromatik halka) cm^{-1}

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) : δ 0.75-0.78 (m, 1H)
(Ek Şekil 23) δ 0.81 (d, 3H, CHCH_3 ; $J=6.40$ Hz)
 δ 1.40-1.43 (m, 1H)
 δ 1.57-1.60 (m, 3H)
 δ 1.91 (t, 1H; $J=10.80$ Hz)
 δ 2.18-2.23 (m, 1H)
 δ 2.82-2.85 (m, 2H)
 δ 3.86 (s, 3H, OCH_3)
 δ 4.08 (s, 2H, CH_2Ph)
 δ 4.56 (s, 2H, NCH_2)
 δ 7.20 (t, 1H, ArH; $J=7.20$ Hz)
 δ 7.26-7.34 (m, 5H, ArH)
 δ 7.75-7.77 (m, 2H, ArH)
 δ 7.94 (t, 1H, ArH; $J=8.00$ Hz)
 δ 8.56 (d, 1H, ArH; $J=8.00$ Hz)
 δ 8.61 (d, 1H, ArH; $J=8.40$ Hz)
 δ 8.80 (t, 1H, ArH; $J=2.00$ Hz)
 δ 9.62 (s, 1H, N=CH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6) : δ 19.46 (CHCH_3)
(Ek Şekil 24) δ 24.91 (CH_2)
 δ 30.67 (CH_2)
 δ 30.85 (CH_2Ph)
 δ 32.05 (CHCH_3)
 δ 50.35 (CH_2)
 δ 56.30 (OCH_3)
 δ 58.17 (CH_2)
 δ 66.70 (NCH_2)
 δ 113.19; 121.18; 124.20; 126.35; 126.71; 128.40 (2C);
128.46; 128.58; 128.73 (2C); 129.96; 131.09; 135.75;
135.82; 139.40; 144.67; 153.41 (ArC)
 δ 148.12 (Triazol C_3)
 δ 150.30 (N=CH)
 δ 152.78 (Triazol C_5)
 δ 162.25 (COO)

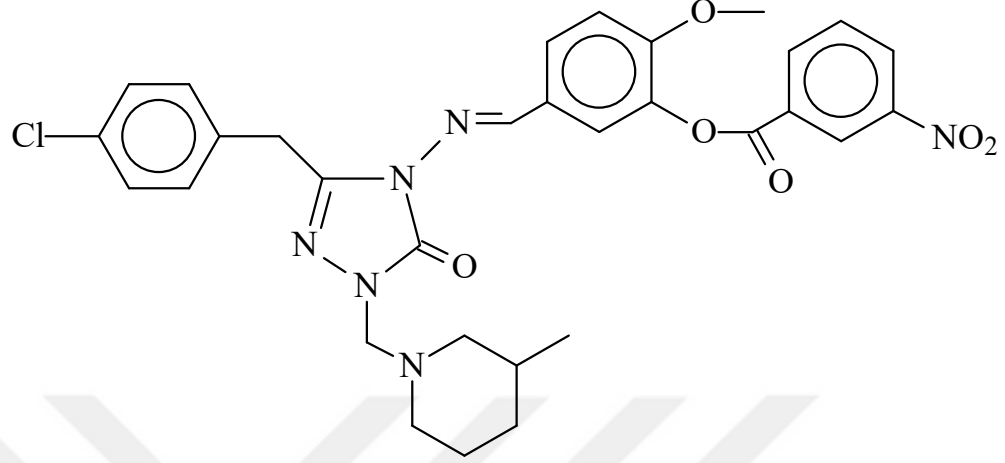
2.1.9. 1-(3-Metilpiperidin-1-il)-metil-3-*p*-metilbenzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (21):



Yuvarlak dipli 100 mL'lik bir balonda 3-*p*-metilbenzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi]-benzilidenamino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (9) (4.87 g, 10 mmol) bileşiği 40 mL etanolde çözüldü. Bu çözeltiye 3-metilpiperidin (0.99 g, 10 mmol) ve % 37'lik formaldehid çözeltisi (1.62 g, 20 mmol) ilave edilerek geri soğutucu altında 2 saat reflux edildi. Soğutuldu ve bir gece derin dondurucuda bekletildi. Çöken ham ürün süzüldü, soğuk alkolle yıkandı. Kurutuldu ve etanol ile kristallendirildi. Ele geçen kristaller (4.34 g, % 72.60 verim) aynı çözücüden birkaç kez daha kristallendirilip vakumda kurutulduktan sonra **21** bileşiği olarak tanımlandı. E.n: 170°C.

- IR : 1746, 1697 (C=O) cm^{-1}
(Ek Şekil 25) 1618, 1585 (C=N) cm^{-1}
1536 ve 1346 (NO_2) cm^{-1}
1251 (COO) cm^{-1}
818 (1,4-substitue aromatik halka) cm^{-1}
782 ve 714 (1,3-disubstitue aromatik halka) cm^{-1}
- $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) : δ 0.76-0.78 (m, 1H)
(Ek Şekil 26) δ 0.81 (d, 3H, CHCH_3 ; $J=6.40$ Hz)
 δ 1.40-1.43 (m, 1H)
 δ 1.57-1.60 (m, 3H)
 δ 1.90 (t, 1H; $J=10.80$ Hz)
 δ 2.18-2.22 (m, 1H)
 δ 2.22 (s, 3H, PhCH_3)
 δ 2.82-2.85 (m, 2H)
 δ 3.86 (s, 3H, OCH_3)
 δ 4.02 (s, 2H, CH_2Ph)
 δ 4.55 (s, 2H, NCH_2)
 δ 7.07 (d, 2H, ArH; $J=8.00$ Hz)
 δ 7.19 (d, 2H, ArH; $J=7.60$ Hz)
 δ 7.33 (d, 1H, ArH; $J=9.20$ Hz)
 δ 7.75-7.77 (m, 2H, ArH)
 δ 7.94 (t, 1H, ArH)
 δ 8.57 (d, 1H, ArH; $J=8.40$ Hz)
 δ 8.61 (d, 1H, ArH; $J=8.40$ Hz)
 δ 8.81 (t, 1H, ArH; $J=2.00$ Hz)
 δ 9.61 (s, 1H, N=CH)
- $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6) : δ 19.47 (CHCH_3)
(Ek Şekil 27) δ 20.53 (PhCH_3)
 δ 24.91 (CH_2)
 δ 30.61 (CH_2Ph)
 δ 30.67 (CH_2)
 δ 32.06 (CHCH_3)
 δ 50.36 (CH_2)
 δ 56.31 (OCH_3)
 δ 58.17 (CH_2)
 δ 66.68 (NCH_2)
 δ 113.20; 121.13; 124.20; 126.38; 128.51; 128.60 (2C);
128.71; 128.96 (2C); 129.96; 131.10; 131.62; 135.78;
135.83; 139.40; 144.81; 153.40 (ArC)
 δ 148.12 (Triazol C_3)
 δ 150.30 (N=CH)
 δ 152.72 (Triazol C_5)
 δ 162.26 (COO)

2.1.10. 1-(3-Metilpiperidin-1-il)-metil-3-*p*-klorobenzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (22):



Yuvarlak dipli 100 mL'lik bir balonda 3-*p*-klorobenzil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi]-benzilidenamino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (10) (5.075 g, 10 mmol) bileşiği 40 mL etanolde çözüldü. Bu çözeltiye 3-metilpiperidin (0.99 g, 10 mmol) ve % 37'lik formaldehid çözeltisi (1.62 g, 20 mmol) ilave edilerek geri soğutucu altında 2 saat reflux edildi. Soğutuldu ve bir gece derin dondurucuda bekletildi. Çöken ham ürün süzüldü, soğuk alkolle yıkandı. Kurutuldu ve etanol ile kristallendirildi. Ele geçen kristaller (4.46 g, % 72.22 verim) aynı çözücünden birkaç kez daha kristallendirilip vakumda kurutulduktan sonra **22** bileşiği olarak tanımlandı. E.n: 167°C.

- IR : 1746, 1698 (C=O) cm^{-1}
 (Ek Şekil 28) 1617, 1580 (C=N) cm^{-1}
 1535 ve 1347 (NO₂) cm^{-1}
 1249 (COO) cm^{-1}
 808 (1,4-substitue aromatik halka) cm^{-1}
 781 ve 711 (1,3-disubstitue aromatik halka) cm^{-1}
- ¹H-NMR (DMSO-d₆) : δ 0.75-0.78 (m, 1H)
 (Ek Şekil 29) δ 0.81 (d, 3H, CHCH₃; $J=6.40$ Hz)
 δ 1.40-1.43 (m, 1H)
 δ 1.55-1.59 (m, 3H)
 δ 1.90 (t, 1H; $J=10.80$ Hz)
 δ 2.17-2.22 (m, 1H)
 δ 2.81-2.84 (m, 2H)
 δ 3.86 (s, 3H, OCH₃)
 δ 4.09 (s, 2H, CH₂Ph)
 δ 4.55 (s, 2H, NCH₂)
 δ 7.33-7.35 (m, 5H, ArH)
 δ 7.74-7.76 (m, 2H, ArH)
 δ 7.94 (t, 1H, ArH)
 δ 8.57 (d, 1H, ArH; $J=8.00$ Hz)
 δ 8.61 (d, 1H, ArH; $J=8.40$ Hz)
 δ 8.81 (t, 1H, ArH; $J=2.00$ Hz)
 δ 9.63 (s, 1H, N=CH)
- ¹³C-NMR (DMSO-d₆) : δ 19.45 (CHCH₃)
 (Ek Şekil 30) δ 24.90 (CH₂)
 δ 30.22 (CH₂Ph)
 δ 30.66 (CH₂)
 δ 32.03 (CHCH₃)
 δ 50.32 (CH₂)
 δ 56.31 (OCH₃)
 δ 58.15 (CH₂)
 δ 66.73 (NCH₂)
 δ 113.19; 121.09; 124.21; 126.31; 128.33 (2C);
 128.58 (2C); 129.96; 130.66 (2C); 131.08; 131.43;
134.74; 135.84; 139.41; 144.34; 153.44 (ArC)
 δ 148.11 (Triazol C₃)
 δ 150.28 (N=CH)
 δ 152.82 (Triazol C₅)
 δ 162.25 (COO)

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. Bacillus Subtilis

Bakteri boyu 3-8 µm olan, 20-30 derecede üreyen sporlu bir basildir. Vejetatif şekilleri dayanıksız olup, sporları bazen kaynama derecelerinde birkaç saat dayanabilirler. Gram pozitif, aerop ve fakültatif anaerop, hareketsiz ve genellikle R koloni tipindedir. Doğada çok yaygın olarak bulunur. Panoftalmi ve İridosiklit gibi göz enfeksiyonlarına neden olur. Toz, toprak, su gibi temel alanlarda yerleştiklerinden besin maddelerine kolaylıkla bulaşır. Özellikle sütte çoğaldıkları zaman kazeini parçalayarak zehirli maddeler açığa çıkarırlar. Diğer besin maddelerinde üredikleri zaman toksin oluştururlar [161].

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. Ayrıca bu özellikler *B. cereus* var. *mycoides*, *B. thuringiensis* ve *B. anthracis* ile de paylaşılmaktadır. Bu organizmaların ayırt edilmesi ölüm derecesinin saptanmasına (çoğu *B. cereus* öldürücüdür), toksin kristallerinin varlığına (*B. thuringiensis*), hemolitik aktivitesine (*B. cereus* ve diğerleri beta hemolitik,

B. anthracis genelde hemolitik değildir) ve rhizoid büyüme (*B. cereus* var. *Mycooides* 'in karakteristik özelliğidir) bağlıdır [162].

2.2.1.3. Staphylococcus aureus

Gram pozitif olan *S. aureus* 1µm büyüklüğünde, kamçısız, hareketsiz ve yuvarlak üzümsü koklardır. *S.aureus*'un karakteristik özelliği plazmayı pıhtılaştırdığı için koagülaz pozitif koklar olarak bilinmesidir. Hava, toz, lağım, su, süt, gıda ve gıda aletlerinin üzerinde, çevresel yüzeylerde insanlarda ve hayvanlarda bulunur. İnsanlar ve hayvanlar staphylococcinin başlıca konak yerleridir. Özellikle, hastane ortamı ve hasta bireylerle temas halinde olan kişilerde daha çok gözlenir Ortam şartlarına iyi uyum sağladıkları için yaygın olarak görülmektedir. İnsanlarda çeşitli enfeksiyonlara neden olabilirler [163].

2.2.1.4. Escherichia coli

Escherichia cinsi içinde en önemli tür *Escherichia coli*'dir. *E.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. Basaktaki 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 [164].

2.2.1.5. Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonadaceae familyasının en çok hastalık yapan türüdür. 1-3 µm boyunda, 0,5-1 µm eninde ve gram-negatif bakterilerdir. Karakteristik özelliği kültürlerde piyosyanin adı verilen çözümlü fenazin pigmentini açığa çıkarmasıdır. İlk defa 1960'lı yıllarda

insan patojeni olarak kabul edilmiştir. Çünkü, kistik fibrözlü ve immün sistemi baskılanmış hastaların vücudunda enfeksiyona neden olmuştur. Günümüzde üriner sistem, akciğer, kan kaynaklı bakteriyel enfeksiyonların önemli sebeplerinden biri olarak kabul edilmektedir [165].

2.2.1.6. Klebsiella Pneumonia

Klebsiella cinsi bakteriler genellikle Enterobacteriaceae grubunun özelliklerini gösterir. 0,7-1,5×2,0-5,0 µm büyüklüğünde, hareketsiz, sporsuz, çevresi polisakkarit bir kapsülle çevrelenmiş gram negatif çomaklardır. Kapsül bu bakterinin fırsatçı patojen olmasına ve fagositozdan korunmasına neden olur. Kapsülleri en iyi glukozlu besiyerlerinde görülmektedir. Kanlı besiyerlerinde kapsüllerini saklamaktadırlar [166]. Klebsiella cinsi mikroorganizmalar birçok antibiyotiğe karşı dirençlidir. Araştırmalar, dirençli genlerin kaynağı olarak, bir plazmitin etkili olduğunu göstermektedir. Çoğunlukla direnç gösterdikleri tetrasiklinler, aminoglikozitler, sülfametoksazol, trimetoprim ve florokinonlardır [167].

2.2.2. Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu

11 ve 17 Tipi bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerinin ölçülmesinde agar kuyucuk difüzyon metodu kullanılmıştır [168, 169]. Test edilecek bakterilerin bir gecelik kültürlerinden Mueller Hinton sıvı besiyeri içinde (Difco, Detroit, MI), yaklaşık olarak 10^6 cfu/ml (colony forming = koloni oluşturan birim) şeklinde dilüsyonları ayarlanarak, önceden hazırlanmış MH agar besiyeri üzerine ekimleri yapılmıştır. *Candida tropicalis* için maya ekstreli sıvı besiyeri kullanılarak 10^7 cfu/ml dilüsyonları yapılmış ve önceden hazırlanmış Poteto Dextrose agar (PDA) (Difco, Detroit, MI) besiyerlerine 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 petriyeler 24 saat, maya benzeri mantar ihtiva eden petriyeler 48 saat 35 °C'de inkübe edilmiş ve inkübasyondan sonra bir cetvel yardımıyla inhibasyon zonları

ölçülmüştür. Standart kontrol ilaç olarak bakteriler için ampicillin (10 µg), mayalar için Streptomycin, 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 [170]. 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).

Çalışmada sentezi yapılan, her bir bileşikten 10 mg tartılarak bir miktar etil alkolde çözülmüştür. Son hacim yine aynı çözücülerden ilave edilerek 10 mL’ye tamamlanmıştır. Standartlar da 1 mg/mL olacak şekilde etanolde çözülmüş ve 10 mL’lik deney tüplerine aşağıdaki tabloya göre pipetlemeler 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	-
$K_3Fe(CN)_6$	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL	-

Deney tüpleri iyice karıştırılmış ve 50 °C’de 20 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından oda sıcaklığına getirilen her bir deney tüpüne %10’luk TCA çözeltisinden 2,5 mL ilave edilmiş ve 3000 rpm’de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Supernatant kısmından 2,5 mL alınarak deney tüplerine aktarılmış ve çözeltiliye 2,5 mL su, ardından 0,5 mL $FeCl_3$ çözeltisinden ilave edilmiştir. Kör çözelti ise 2,5 mL TCA,

2,5 mL deiyonize su ve 0,5 mL FeCl₃ çözeltisinden oluşmuştur. Son olarak oluşan koyu lacivert rengin absorbanı 700 nm’de UV spektrofotometresinde ölçülmüştür.

2.2.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

Bileşiklerin serbest radikal giderme aktivitesi tayini 1,1-difenil-2-pikril-hidrazilin (DPPH) kullanıldığı Blois metoduna göre yapılmıştır [171]. 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 absorbanındaki düşüş serbest radikal giderme aktivitesi ile doğru orantılıdır. Kullanılan reaktifler şunlardır: 0,1 mM DPPH (etanolda hazırlanmıştır); α-tokoferol (1mg/mL); BHA (1mg/mL).

Çalışmada sentezi yapılan bileşikler 1 mg/mL olacak şekilde etil alkolde çözülmüştür. Standartlar ise yine 1 mg/mL olacak şekilde etanolde çözülmüş ve 10 mL’lik deney tüplerine aşağıdaki tabloya göre pipetlemeler 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

Deney tüpleri iyice karıştırılmış ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 517 nm’de absorbanları UV spektrofotometresinde ölçülmüştür. Reaksiyon ortamındaki DPPH radikalini giderme aktivitesi için hesaplamalar aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

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

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

2.2.3. Metal Şelat Aktivitesi

Metal şelat aktivitesi tayini Dinis metoduna göre yapılmıştır [172]. Metal şelat aktivitesi tayininin prensibi, ferrozin-Fe⁺² kompleks oluşumunun inhibisyonuna dayanmaktadır. Kullanılan reaktifler şunlardır: 2 mM FeCl₂; 5 mM ferrozin; α-tokoferol (1mg/mL); BHT (1mg/mL).

Çalışmada sentezi yapılan bileşiklerin ve standartların etanolde 1mg/mL olacak şekilde çözeltileri hazırlanarak 10 mL'lik deney tüplerine aşağıdaki tabloya göre pipetlemeleri 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	-	-	-	50µL	100µL	150µL	-	-
Standart	50µL	100µL	150µL	-	-	-	-	-
Etanol	3,70 mL	3,65 mL	3,60 mL	3,70 mL	3,65 mL	3,60 mL	3,75 mL	3,75 mL
FeCl ₂	0,05 mL	0,05 mL	0,05 mL	0,05 mL	0,05 mL	0,05 mL	0,05 mL	0,05 mL
Ferrozin	0,2 mL	0,2 mL	0,2 mL	0,2 mL	0,2 mL	0,2 mL	-	0,2 mL

Deney tüplerine konulan numunelerin ve standartların çözeltileri üzerine etil alkol ilave edilerek, iyice karıştırılmıştır. Sonra FeCl₂ eklenmiş, karıştırılmış ve oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiştir ardından ferrozin ilavesiyle 20-25 dakika daha bekletilmiştir. Oluşan renk 562 nm'de UV spektrofotometresinde köre (ferrozin dışındakiler) karşı okunmuştur.

Ferrozin-Fe⁺² kompleks oluşumunun inhibisyon yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{Şelat yüzdesi} = (A_0 - A_1/A_0) \times 100$$

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

3. BULGULAR

Bu tez kapsamında; 10 adet yeni Schiff-Mannich bazı türevli bileşikler sentezlenmiştir. Çalışmada sentezlenen 10 yeni bileşiğin yapıları IR, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektroskopik verileri kullanılarak aydınlatılmıştır. Ayrıca, sentezlenen tüm bileşiklerin antimikrobiyal özellikleri Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi ile incelenmiş olup, elde edilen bulgular Tablo 3.1’de verilmiştir. Çalışmada son olarak tez kapsamında sentezlenen bileşiklerin antioksidan aktiviteleri; indirgeme gücü, serbest radikal giderme aktivitesi ve metal şelat aktivitesi metotları kullanılarak incelenmiş ve elde edilen bulgular Tablo 3.2-7 de verilmiştir.

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

Çalışma kapsamında sentezlenen bileşiklerin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları DMSO-d₆’da alınmış ve bu spektrumlarda gözlenen piklerin kimyasal kayma değerleri belirlenerek yeni bileşiklerin yapı aydınlatılmasında kullanılmıştır.

Bileşiklerin ¹H-NMR spektrumlarında δ 2,50-2,60 ppm civarında DMSO-d₆’dan ileri gelen metil protonlarına ait karakteristik pikler gözlenmiştir, ki bu durum literatürdeki verilerle uyumludur. Ayrıca bu spektrumların bazılarında kullanılan DMSO-d₆’nın içerdiği az miktardaki sudan ileri gelen karakteristik H₂O pikleri δ 3,50 ppm civarında ortaya çıkmıştır. Tetrametilsilan (TMS) sıfırı belirlemek amacıyla spektrumların alınmasında standart olarak kullanılmıştır.

¹³C-NMR spektrumlarının alınmasında da çözücü olarak kullanılan DMSO-d₆’dan ileri gelen karakteristik karbon pikleri δ 40 ppm civarında gözlenmiş olup, bu spektrumlardan elde edilen veriler yapı aydınlatılmasında kullanılmış ve materyal ve yöntem bölümünde verilmiştir.

3.2. Antimikrobiyal İncelemeleri

Sentezlenen 10 yeni bileşiğin altı farklı bakteri ile antimikrobiyal testleri yapılmış ve antimikrobiyal aktiviteleri aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 3.1. 11 ve 17 Tipi Bileşiklerin Bakterilere Karşın ZON çap değerleri

Petri kabı kodu	Bileşik kodu	ZON çap değerleri (mm)					
		Bacillus Subtilis (ATCC11774) (a)	Bacillus Cereus (ATCC11778) (b)	Pseudomonas aeruginosa (ATCC27853) (c)	Klepsiella pnemoniae (ATCC4352) (d)	Staphlacoccus aureus (ATCC6538) (e)	Esherichia Coli (ATCC25922) (f)
		92 NTU	240 NTU	216 NTU	215 NTU	274 NTU	244 NTU
1	12	-	-	-	8	7	-
3	13	-	-	-	7	10	-
2	14	-	-	-	7	8	-
4	15	-	-	-	7	8	-
5	16	-	-	10	8	9	-
17	18	11	-	-	12	-	-
19	19	-	8	-	9	10	-
18	20	10	-	-	7	7	9
20	21	9	7	-	11	9	-
21	22	12	-	-	11	9	-

3.3 Antioksidan İncelemeleri

3.3.1. İndirgeme Gücü

Sentezlenen bileşiklerin üç farklı konsantrasyonda indirgeme gücü testleri yapılmış, UV spektrofotometresinde 700 nm'de ölçülen absorbans değerleri tablo halinde aşağıda verilmiştir. Kontrol reaksiyonunun absorbansı 0,189'dur.

Tablo 3.2. 11 Tipi Bileşiklerin İndirgeme Gücü

Bileşikler	İndirgeme Gücü (µg/mL, 700 nm)		
	50	100	150
12	0,184	0,170	0,169
13	0,192	0,198	0,208
14	0,183	0,185	0,173
15	0,193	0,185	0,185
16	0,215	0,207	0,191
BHT	0,626	1,019	1,698
BHA	0,928	1,761	2,425
α-Tokoferol	0,437	1,183	1,960

Tablo 3.3. 17 Tipi Bileşiklerin İndirgeme Gücü

Bileşikler	İndirgeme Gücü (µg/mL, 700 nm)		
	50	100	150
18	0,206	0,198	0,196
19	0,218	0,209	0,203
20	0,192	0,192	0,174
21	0,211	0,207	0,201
22	0,203	0,201	0,196
BHT	0,626	1,019	1,698
BHA	0,928	1,761	2,425
α-Tokoferol	0,437	1,183	1,960

3.3.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

Sentezlenen bileşiklerin üç farklı konsantrasyonda serbest radikal giderme aktivite testleri yapılmış, UV spektrofotometresinde 517 nm’de ölçülen absorbans değerleri ve buna karşılık gelen % Serbest Radikal Giderme Aktiviteleri tablo halinde aşağıda verilmiştir. Kontrol reaksiyonunun absorbansı 0,195’tir.

Tablo 3.4. 11 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
12	0,185	5,1	0,196	NEGATİF	0,196	NEGATİF
13	0,197	NEGATİF	0,197	NEGATİF	0,198	NEGATİF
14	0,199	NEGATİF	0,195	0,0	0,193	1,0
15	0,197	NEGATİF	0,193	1,0	0,195	0,0
16	0,199	NEGATİF	0,197	NEGATİF	0,197	NEGATİF
BHT	0,137	29,7	0,113	42,1	0,079	59,5
BHA	0,058	70,3	0,051	73,8	0,051	73,8
α -Tokoferol	0,048	75,4	0,048	75,4	0,046	76,4

Tablo 3.5. 17 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
18	0,199	NEGATİF	0,197	NEGATİF	0,197	NEGATİF
19	0,195	0,0	0,196	NEGATİF	0,196	NEGATİF
20	0,194	0,5	0,196	NEGATİF	0,196	NEGATİF
21	0,197	NEGATİF	0,196	NEGATİF	0,199	NEGATİF
22	0,197	NEGATİF	0,197	NEGATİF	0,198	NEGATİF
BHT	0,137	29,7	0,113	42,1	0,079	59,5
BHA	0,058	70,3	0,051	73,8	0,051	73,8
α -Tokoferol	0,048	75,4	0,048	75,4	0,046	76,4

3.3.3. Metal Şelat Aktivitesi

Sentezlenen bileşiklerin üç farklı konsantrasyonda metal şelat aktivite testleri yapılmış, UV spektrofotometresinde 562 nm'de ölçülen absorbans değerleri ve buna karşılık gelen % Metal Şelat Aktiflikleri tablo halinde aşağıda verilmiştir. Kontrol reaksiyonunun absorbansı 0,216'dır.

Tablo 3.6. 11 Tipi Bileşiklerin Absorbans Değerleri ve Karşın Olan % Metal Şelat Aktiviteleri

Bileşikler	Absorbans ve % Metal Şelat Aktivitesi ($\mu\text{g/mL}$, %inh, 562 nm)					
	50		100		150	
	A	% Aktivite	A	% Aktivite	A	% Aktivite
18	0,037	82,9	0,037	82,9	0,036	83,3
19	0,065	69,9	0,041	81,0	0,037	82,9
20	0,079	63,4	0,041	81,0	0,041	81,0
21	0,074	65,7	0,044	79,6	0,039	81,9
22	0,104	51,9	0,057	73,6	0,056	74,1
α -Tokoferol	0,148	31,5	0,121	44,0	0,076	64,8
EDTA	0,034	84,3	0,032	85,2	0,032	85,2

Tablo 3.7. 17 Tipi Bileşiklerin Absorbans Değerleri ve Karşın Olan % Metal Şelat Aktiviteleri

Bileşikler	Absorbans ve % Metal Şelat Aktivitesi ($\mu\text{g/mL}$, %inh, 562 nm)					
	50		100		150	
	A	% Aktivite	A	% Aktivite	A	% Aktivite
12	0,042	80,6	0,040	81,5	0,036	83,3
13	0,043	80,1	0,038	82,4	0,038	82,4
14	0,058	73,1	0,039	81,9	0,037	82,9
15	0,042	80,6	0,040	81,5	0,037	82,9
16	0,052	75,9	0,041	81,0	0,038	82,4
α -Tokoferol	0,148	31,5	0,121	44,0	0,076	64,8
EDTA	0,034	84,3	0,032	85,2	0,032	85,2

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Sentezlenen Bileşiklere Ait Spektrum Verilerinin Yorumlanması

Çalışma kapsamında sentezlenen 10 adet yeni bileşiğin yapı aydınlatılmasında kullanılan IR, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrum verileri verilmiş olup elde edilen bulgular sentezlenen bileşiklerin yapıları ve literatür verileri ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Tez kapsamında elde edilen 11 tipi bileşiklerin IR spektrumlarında 1746-1739 ve 1710-1696 cm⁻¹ aralıklarında iki adet C=O piki görülmüştür. Ayrıca 1610-1603 ve 1582-1577 cm⁻¹ aralıklarında C=N gerilme titreşimleri, 1532-1526 ve 1355-1347 cm⁻¹ aralıklarında Nitro (NO₂) grubuna ait titreşimler, 1254-1210 cm⁻¹ aralığında COO gerilme titreşimleri ortaya çıkmıştır. 17 Tipi bileşiklerin IR spektrumlarında ise 1747-1744 ve 1701-1696 cm⁻¹ aralıklarında iki adet C=O piki, 1618-1612 ve 1586-1580 cm⁻¹ aralıklarında C=N gerilme titreşimleri, 1536-1531 ve 1351-1345 cm⁻¹ aralıklarında nitro (NO₂) grubuna ait titreşimler ve 1251-1209 cm⁻¹ aralığında COO gerilme titreşimleri görülmüştür.

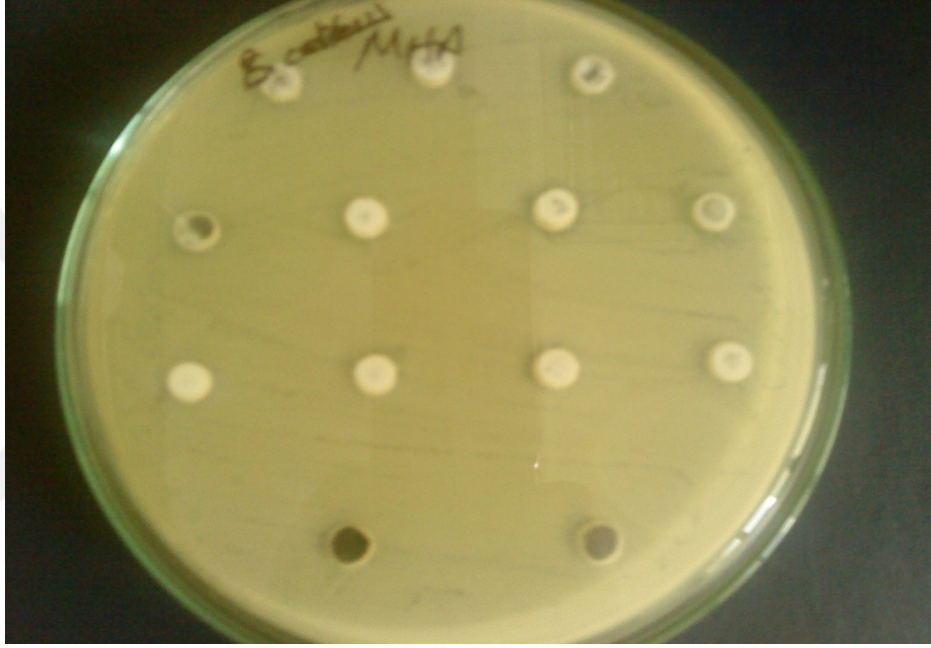
11 tipi bileşiklerin ¹H-NMR spektrumlarında incelendiğinde δ 9.70-9.60 ppm aralığında N=CH protonları, δ 4.58-4.53 ppm aralığında N-CH₂-N protonları, δ 3.86 ppm'de PhOCH₃ protonları, δ 3.56 ppm'de CH₂-O-CH₂ protonları ve δ 2.77-2.76 ppm aralığında CH₂-N-CH₂ protonları ortaya çıkmıştır. Ayrıca, 12 bileşiğinde δ 2.30 ppm'de CH₃ protonlarına; 13 bileşiğinde δ 1.21 ppm'de CH₂CH₃; δ 2.72 ppm'de CH₂CH₃ protonlarına; 14 bileşiğinde δ 4.09 ppm'de benzilik CH₂ protonlarına; 15 bileşiğinde δ 4.03 ppm'de benzilik CH₂ protonlarına ve 2.21 ppm'de *p*-PhCH₃ protonlarına ve 16 bileşiğinde δ 4.11 ppm'de benzilik CH₂ protonlarına rastlanmıştır. ¹H-NMR spektrumlarında 17 tipi bileşikler incelendiğinde δ 9.68-9.61 ppm aralığında N=CH protonları, δ 8.81-7.07 ppm aralığında aromatic protonlar, δ 4.56-4.52 ppm aralığında N-CH₂-N protonları, δ 3.86 ppm'de PhOCH₃ protonları, δ 0.82-0.81 ppm aralığında CH-CH₃ protonları ve δ 0.78-0.75 ppm aralığında N-CH₂-CH protonları görülmüştür. Bunlardan başka, 18 bileşiğinde δ 2.29 ppm'de CH₃ protonlarına; 19 bileşiğinde δ 1.20 ppm'de CH₂CH₃; δ 2.71 ppm'de CH₂CH₃ protonlarına; 20 bileşiğinde δ 4.08 ppm'de

benzilik CH₂ protonlarına; 21 bileşiğinde δ 4.02 ppm'de benzilik CH₂ protonlarına ve 2.22 ppm'de *p*-PhCH₃ protonlarına ve 22 bileşiğinde δ 4.09 ppm'de benzilik CH₂ protonlarına rastlanmıştır.

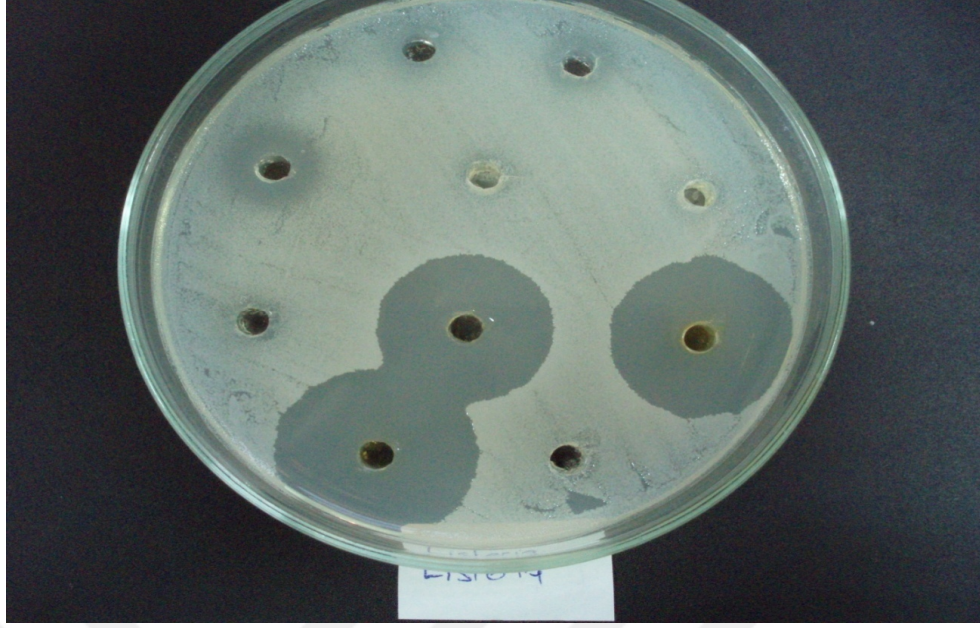
11 tipi bileşiklerin ¹³C-NMR spektrumları incelendiğinde; δ 162.27-162.26 ppm aralığında COO, δ 153.41-152.96 ppm aralığında triazol C-5, δ 150.42-150.28 ppm aralığında N=CH, δ 148.34-148.09 ppm aralığında triazol C-3, 153.48-113.20 ppm aralığında Ar-C, δ 66.03 ppm'de CH₂-O, δ 66.03-65.91 ppm aralığında N-CH₂-N, δ 56.32 ppm'de O-CH₃, δ 49.99-49.97 ppm aralığında da karbonları gözlemlenmiştir. İlaveten, 12 bileşiğinde δ 10.96 ppm'de CH₃ karbonu, 13 bileşiğinde δ 18.35 ppm'de CH₂CH₃ karbonu ve δ 9.99 ppm'de CH₂CH₃ karbonu, 14 bileşiğinde δ 30.90 ppm'de benzilik CH₂ karbonu, 15 bileşiğinde δ 30.53 ppm'de benzilik CH₂ karbonu ve 20.54 ppm'de *p*-PhCH₃ karbonu ve 16 bileşiğinde δ 30.90 ppm'de benzilik CH₂ karbonu gözlemlenmiştir. 17 tipi bileşiklerde ise δ 162.27-162.25 ppm aralığında COO, δ 153.45-152.72 ppm aralığında triazol C-5, δ 150.44-150.28 ppm aralığında N=CH, δ 148.12-148.10 ppm aralığında triazol C-3, δ 153.48-113.19 ppm aralığında Ar-C, δ 66.70-66.58 ppm aralığında N-CH₂-N, δ 58.17-58.12 ppm aralığında N-CH₂, δ 56.32-56.30 ppm aralığında O-CH₃, δ 32.05-32.02 ppm aralığında N-CH₂-CH ve δ 19.48-19.45 ppm aralığında CH-CH₃ karbonları ortaya çıkmıştır. 18 bileşiğinde δ 10.98 ppm'de CH₃ karbonu, 19 bileşiğinde δ 18.36 ppm'de CH₂CH₃ karbonu ve δ 10.08 ppm'de CH₂CH₃ karbonu, 20 bileşiğinde δ 30.85 ppm'de benzilik CH₂ karbonu, 21 bileşiğinde δ 30.61 ppm'de benzilik CH₂ karbonu ve 20.53 ppm'de *p*-PhCH₃ karbonu ve 22 bileşiğinde δ 30.22 ppm'de benzilik CH₂ karbonu gözlemlenmiştir. Bütün bileşiklerin ¹³C-NMR spektrumlarında aromatik karbonlar ve triazole C-3'e bağlı alifatik karbonlar için elde edilen değerler benzer bileşikler için literatürde verilen değerlerle uyumlu bulunmuştur. ¹³C-NMR değerleri materyal metod bölümünde verilmiştir.

4.2. Antimikrobiyal Etkinlik Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Tez kapsamında yer alan 10 adet Mannich bazı bileşiğin antimikrobiyal özellikleri agar kuyucuk metodu ile araştırıldı, Sentezlenen yeni *Bacillus Subtilis* (ATCC11774), *Bacillus Cereus* (ATCC11778), *Staphylococcus aureus* (ATCC6538), *Escherichia coli* (ATCC25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853) ve *Klebsiella pneumonia* (ATCC4352) bakterilerine karşı olan etkinlikleri test edilmiştir.

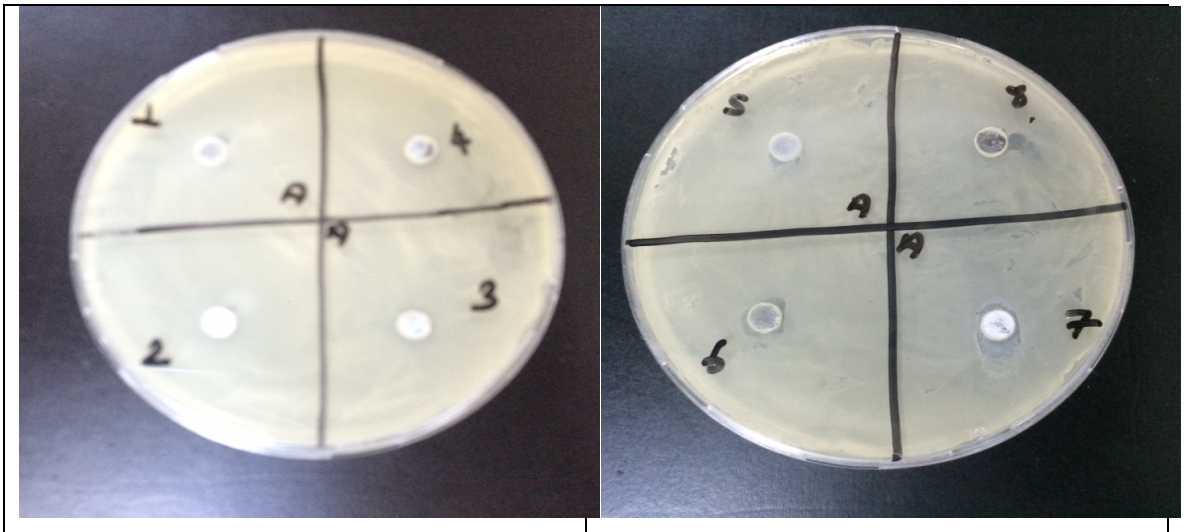


Şekil 4.1. Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu Uygulanmış Analiz Petri Kab (Antimikrobiyal etkinlik yok) (Örnek)

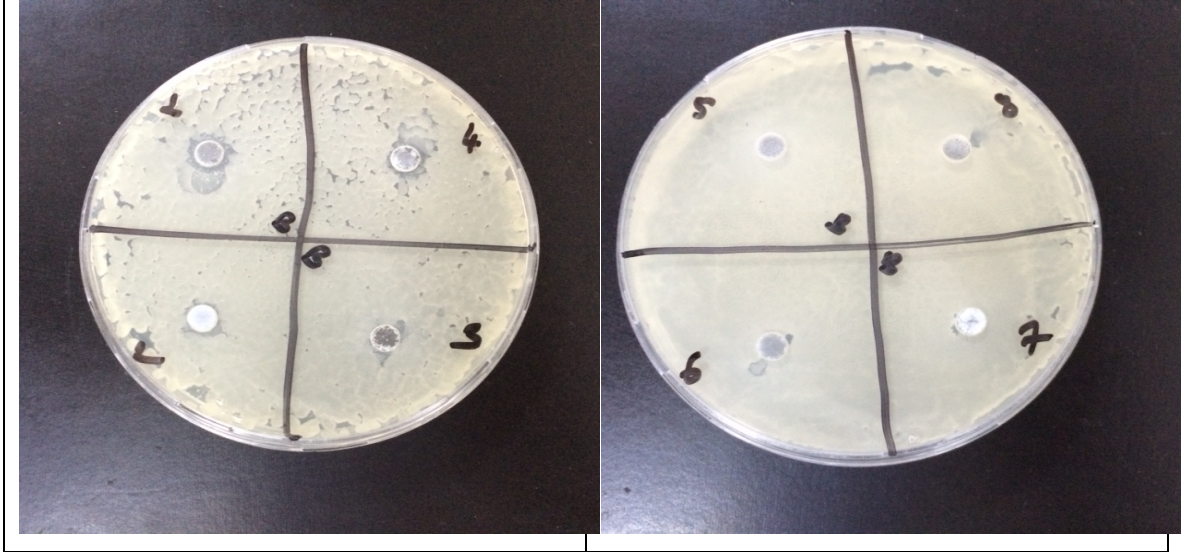


Şekil 4.2. Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu Uygulanmış Analiz Petri Kab (Antimikrobiyal etkinlik var) (Örnek)

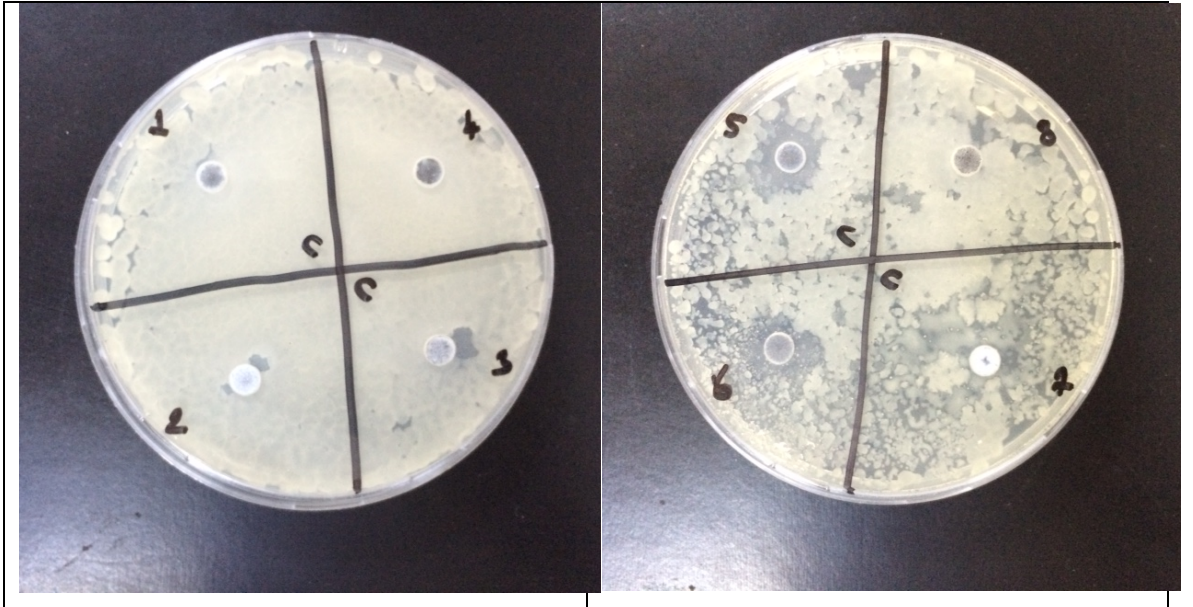
11 tipi bileşiklerde *Pseudomonas aeruginosa*'a karşı 16 bileşiginde, *Klebsiella pneumonia*'ya ve *Staphylococcus aureus*'a karşı sentezlenen tüm bileşiklerde düşük ölçüde antimikrobiyal etkinlik gözlenmiştir. Ancak, 11 tipi bileşikler *Bacillus Subtilis*, *Bacillus cereus* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı herhangi bir aktivite göstermemiştir.



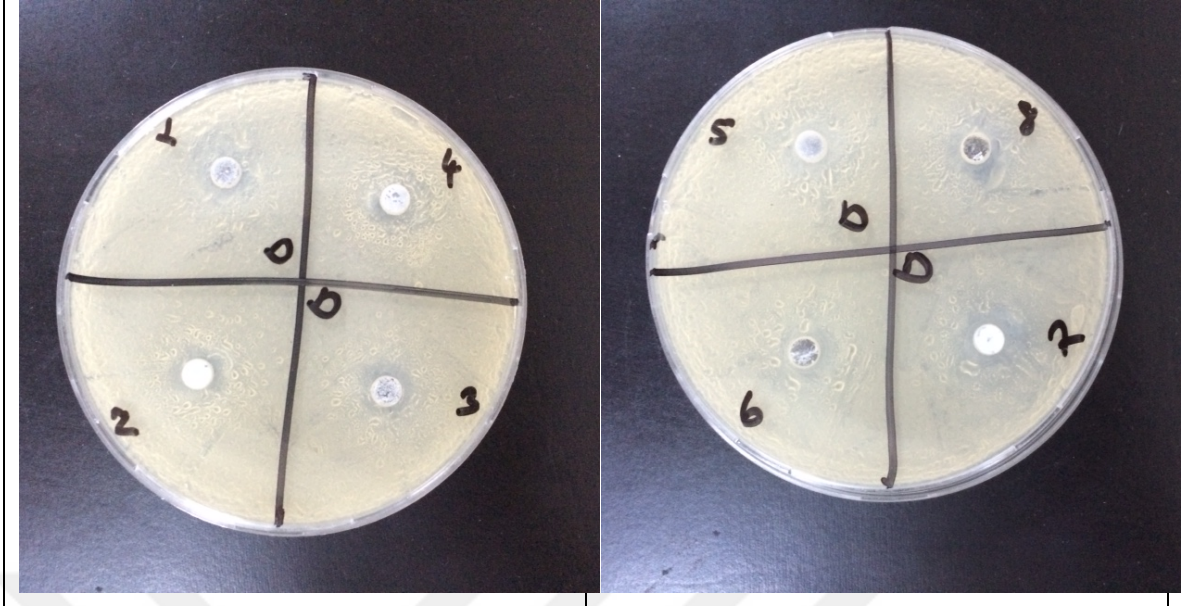
Şekil 4.3. 11 (1-5A) Tipi bileşiklerin *Bacillus Subtilis*'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı



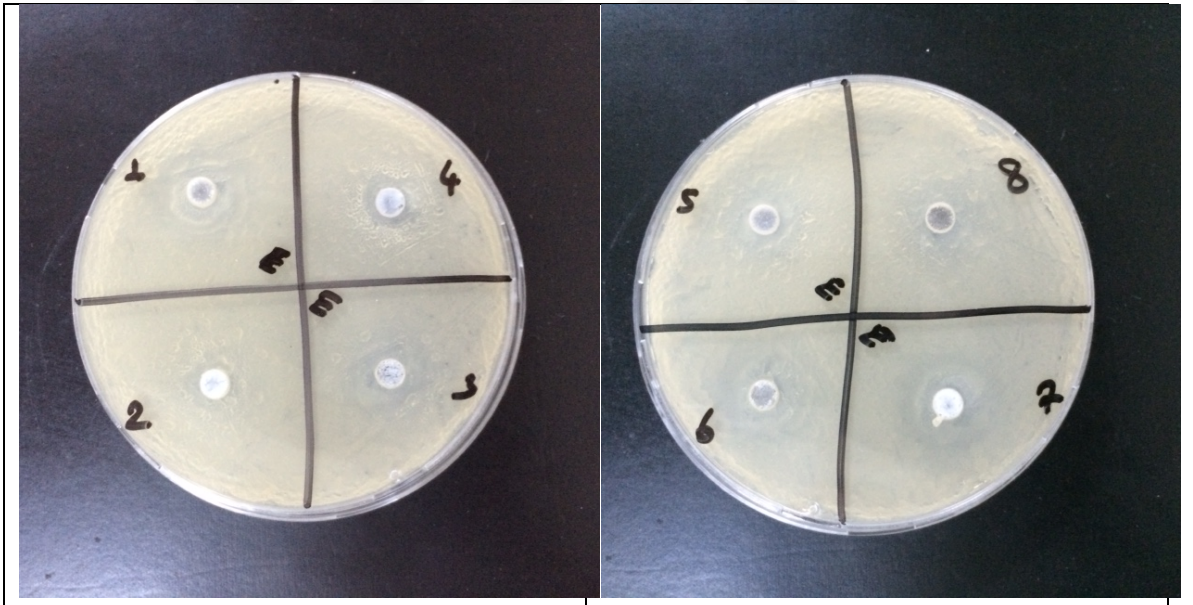
Şekil 4.4. 11 (1-5B) Tipi bileşiklerin *Bacillus cereus*'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı



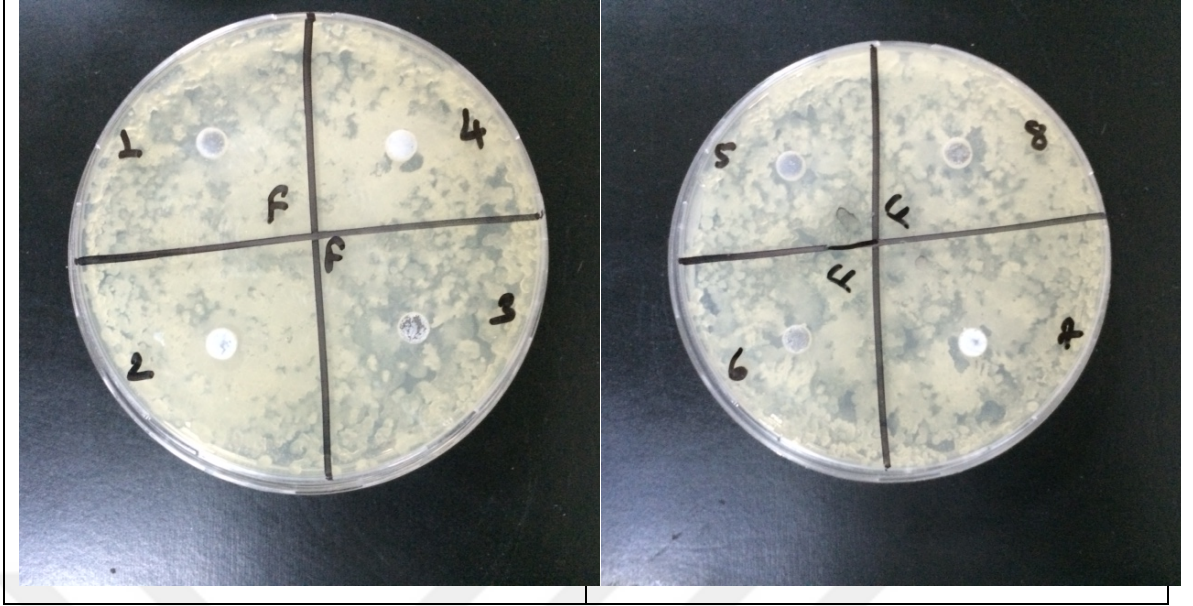
Şekil 4.5. 11 (1-5C) Tipi bileşiklerin *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı



Şekil 4.6. 11 (1-5D) Tipi bileşiklerin *Klebsiella pneumoniae*'ya karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı



Şekil 4.7. 11 (1-5E) Tipi bileşiklerin *Staphylococcus aureus*'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı

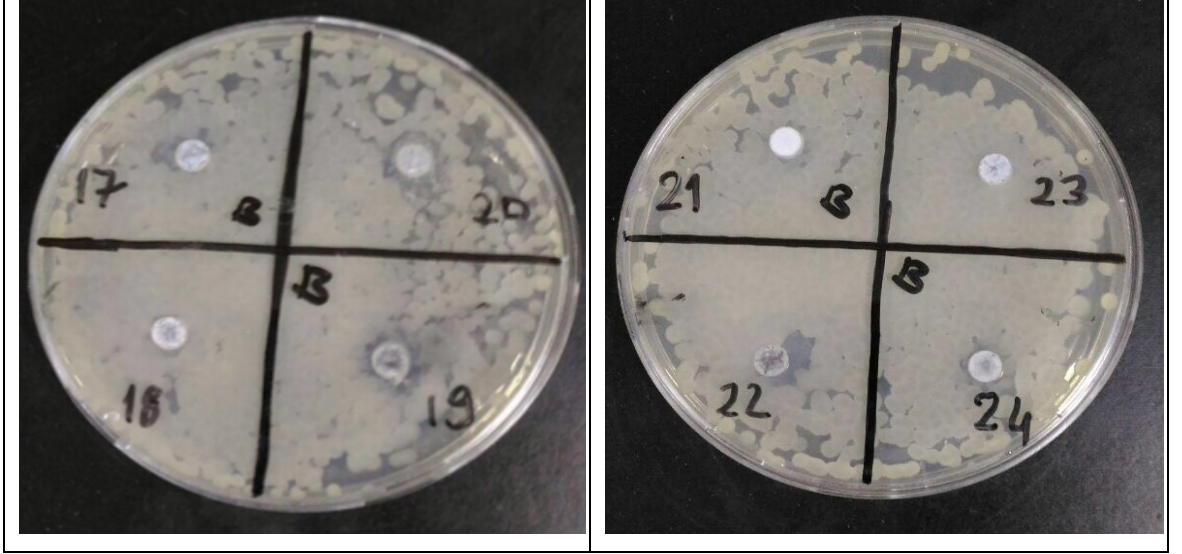


Şekil 4.8. 11 (1-5F) Tipi bileşiklerin *Escherichia coli*'ya karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı

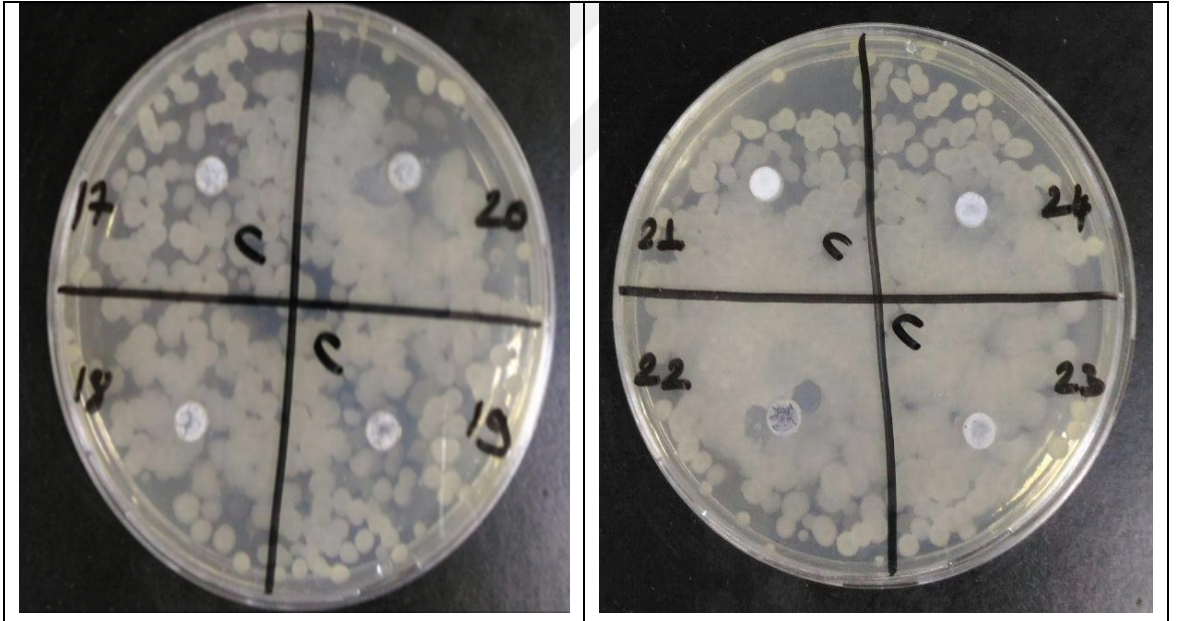
Tez kapsamında sentezlenen 17 tipi bileşiklerde ise, *Bacillus Substilis*'a karşı 18, 20-22 bileşiklerinde, *Bacillus cereus*'a karşı 19 ve 21 bileşiklerinde, *Staphylococcus aureus*'a karşı 19-22 bileşiklerinde, *Escherichia coli*'ya karşı 20 bileşiginde ve *Klebsiella pneumonia*'ya karşı sentezlenen tüm bileşiklerde düşük ölçüde antimikrobiyal etkinlik gözlenmiştir. Ancak, 17 tipi bileşikler *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı herhangi bir aktivite göstermemiştir.



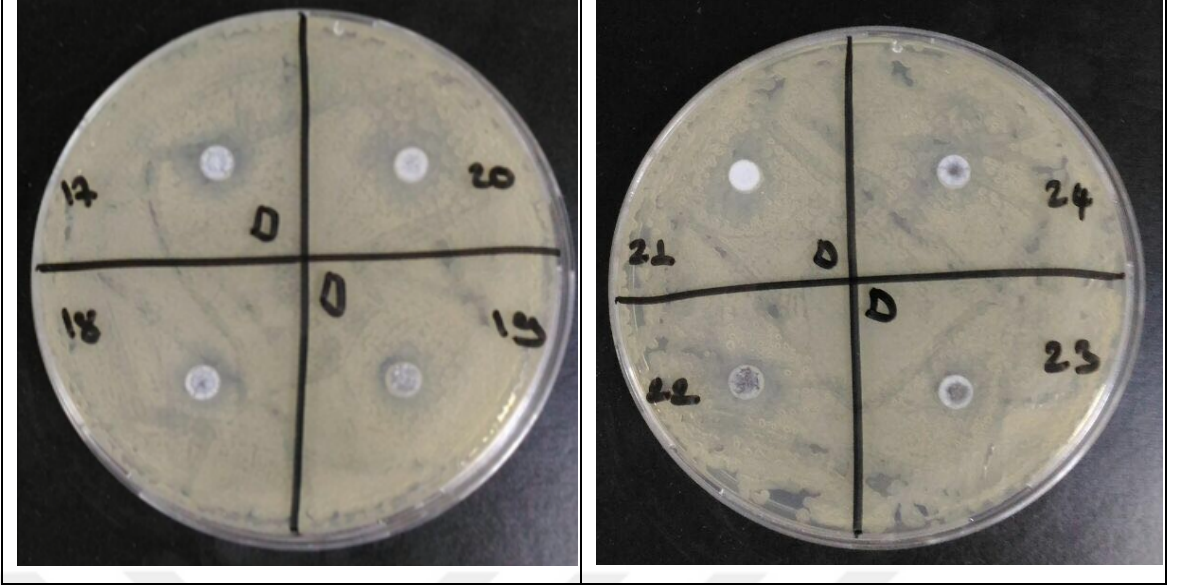
Şekil 4.9. 17 (1-5A) Tipi bileşiklerin *Bacillus Substilis*'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı



Şekil 4.10. 17 (1-5B) Tipi bileşiklerin *Bacillus cereus*'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı



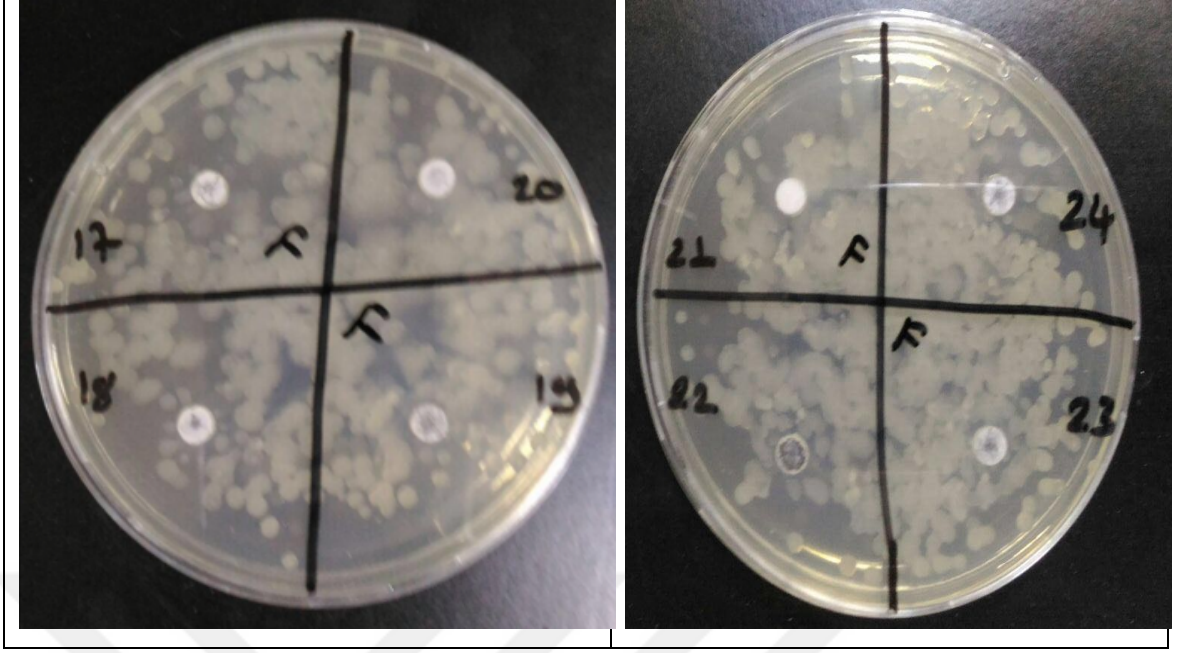
Şekil 4.11. 17 (1-5C) Tipi bileşiklerin *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı



Şekil 4.12. 17 (1-5D) Tipi bileşiklerin *Klebsiella pneumoniae*'ya karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı



Şekil 4.13. 17 (1-5E) Tipi bileşiklerin *Staphylococcus aureus*'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı



Şekil 4.14. 17 (1-5F) Tipi bileşiklerin *Escherichia coli*'ya karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı

4.3. Antioksidan İncelemesi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

4.3.1. İndirgeme Gücü

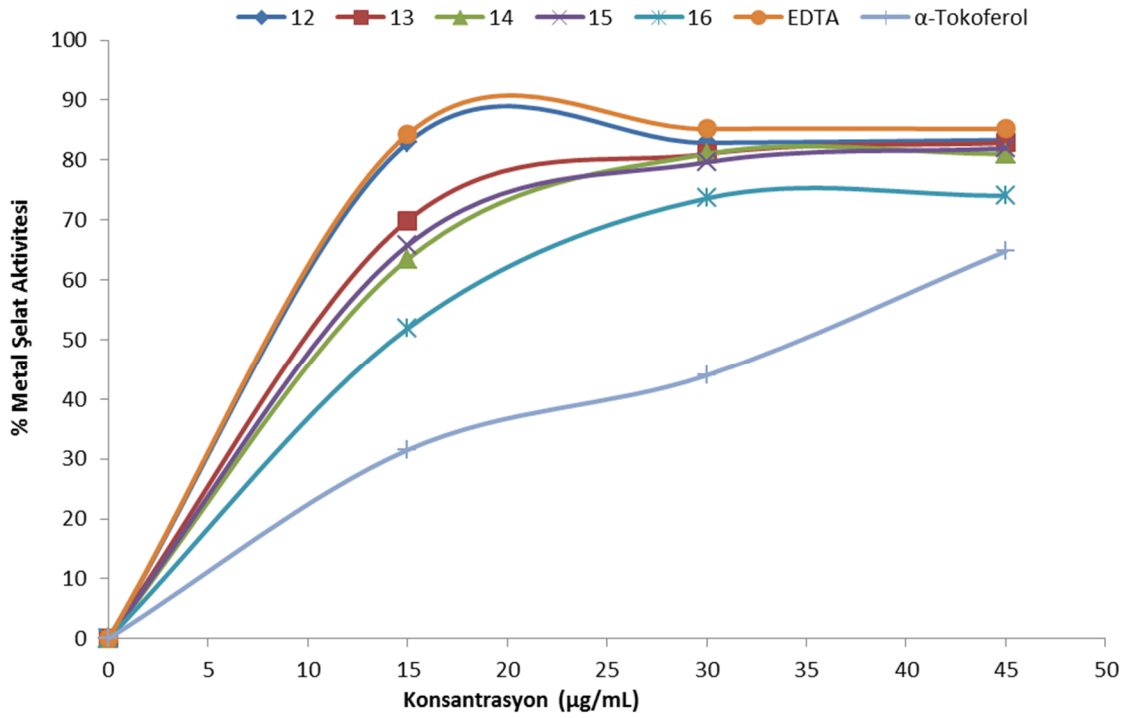
Sentezlenen bileşiklerin yapılan indirgeme gücü testleri sonucunda ele geçen bulgular Tablo 3.2 ve 3.3'de verilmiştir. 700 nm'de yapılan ölçümlerde sentezlenen bileşiklerin absorbanslarının, standartlara göre çok düşük çıkması bileşiklerin indirgeyici özelliklerinin olmadığını göstermektedir.

4.3.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

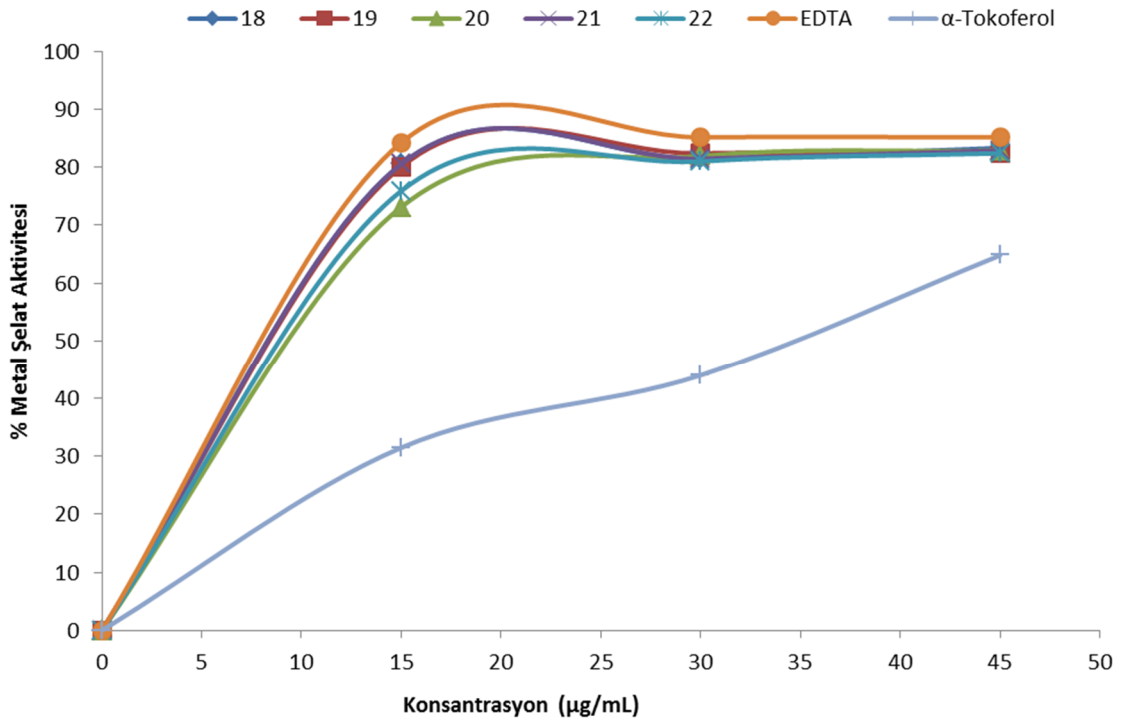
Sentezlenen yeni bileşikler, Tablo 3.4 ve 3.5'ten de anlaşılacağı üzere, kontrole göre yüksek değerlerde absorbans değerlerine sahiptir ve bileşiklerin radikal giderme aktivitesi bulunmamaktadır.

4.3.3. Metal Şelat Aktivitesi

Şekil 4.15 ve 4.16'daki grafiklerde sentezlenen bileşiklerin ve standartların metal şelatlama aktiviteleri % inhibisyon olarak gösterilmektedir. Tablo 3.6 ve 3.7'de ayrıca grafiklerde de görüldüğü üzere sentezlenen bileşikler, özellikle 17 tipi bileşikler, standart antioksidanlardan EDTA'ya yakın değerde metal şelatlama aktivitesi göstermektedir ve çok iyi derecede şelatör özelliğe sahiptir.



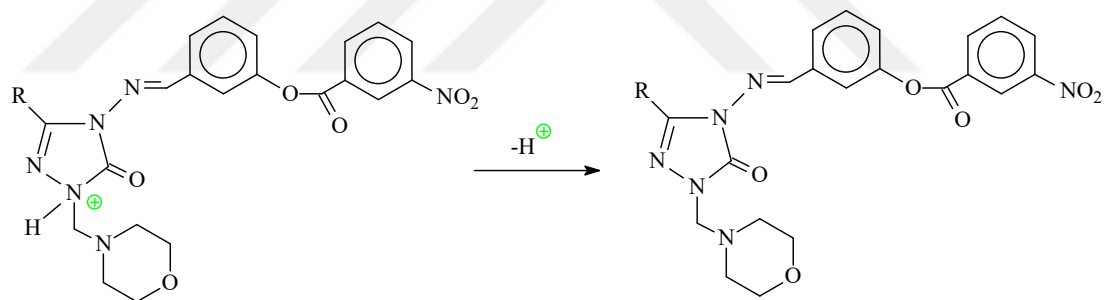
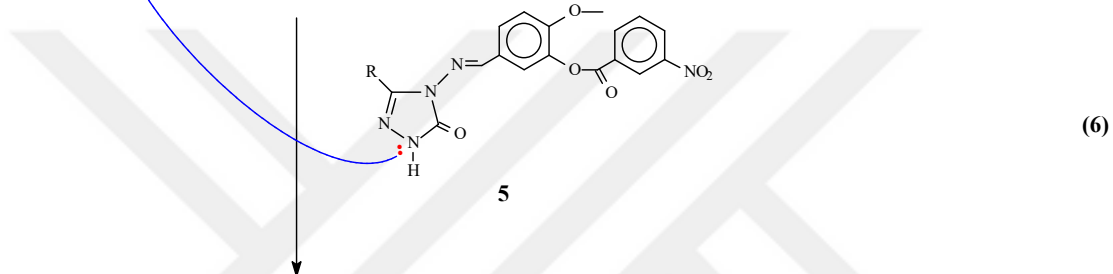
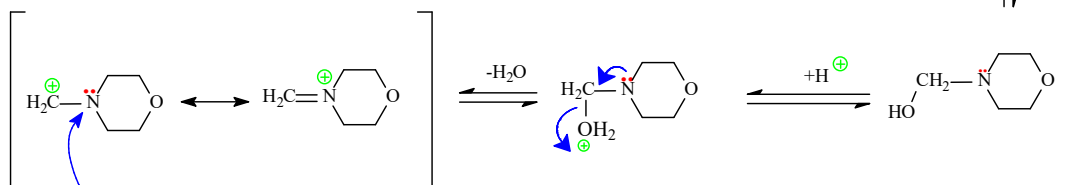
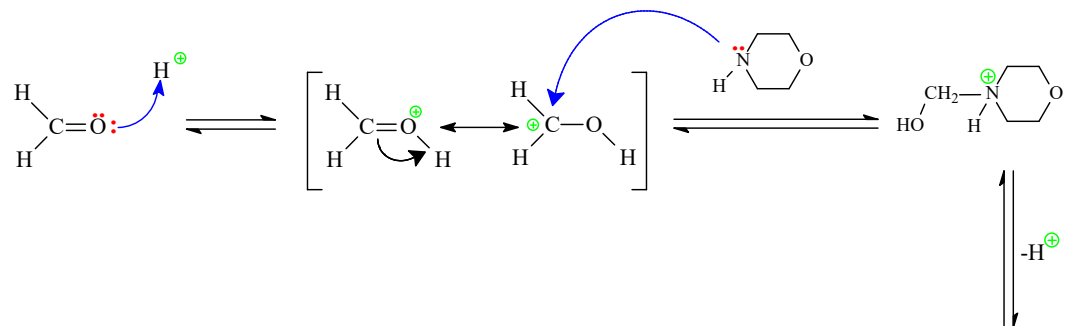
Şekil 4.15. 11 Tipi Bileşiklerin Konsantrasyona Karşı % Metal Şelat Aktiviteleri



Şekil 4.16. 17 Tipi Bileşiklerin Konsantrasyona Karşı % Metal Şelat Aktiviteleri

4.4. İncelenen Reaksiyonların Mekanizmaları

Mannich reaksiyonu Schiff bazı dehidrasyonunu takiben bir karbonil grubuna bir aminin nükleofilik katılma bir örneğidir. Schiff bazı, bir asidik proton içeren bir bileşik ile bir elektrofilik katılma olarak, ikinci basamakta reaksiyona giren bir elektrofildir. Mannich reaksiyonu bir kondansasyon reaksiyonu olarak kabul edilir. Tez kapsamında 5 tipi Schiff bazı türevi sentezlendikten sonra bu bileşiğin formaldehid ve morfolin ile reaksiyonu incelenerek karşın olan 11 tipi Mannich bazı olan 1-(morfolin-4-il)-metil-3-alkil-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksi benzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri elde edilmiştir. Bu reaksiyonun muhtemel reaksiyon mekanizması verilmiştir (Denklemler 6) [152]. Mannich reaksiyonu, asidik protonun formahdehid karbonil oksijenini protonlamasıyla oluşan yapıya, bir primer, sekonder amin ya da amonyak katılması sonucu, bir amino alkilasyon oluşan organik bir reaksiyondur. Reaksiyon kimyacı Carl Mannich tarafından isimlendirilmiştir [173,174].



11

5. KAYNAKLAR

- [1] V. Padmavathi, P. Thriveni, G. Sudhakar Reddy, D. Deepti, "Synthesis and antimicrobial activity of novel sulfone-linked bis heterocycles", *Eur. J. Med.Chem.* 43 (5) (2008) 917–924.
- [2] M. Amir, H. Kumar, S.A. Javed, "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-yloxy acetic acid", *Eur. J. Med. Chem.* 43 (10) (2008) 2056–2066.
- [3] K. Sztanke, T. Tuzimski, J. Rzymowska, K. Pasternak, M. Kandefer-Szersze¯onacute, "Synthesis, determination of the lipophilicity, anticancer and antimicrobial properties of some fused 1,2,4-triazole derivatives", *Eur. J. Med. Chem.* 43 (2) (2008) 404–419.
- [4] C. Kuş, , G.A. Kılıçgil, S. Özbey, F.B. Kaynak, M. Kaya, T. Çoban, B.C. Eke, "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", *Bioorg. Med. Chem.* 16 (8) (2008) 4294–4303.
- [5] M.S. Karthikeyan, D.J. Prasad, B. Poojary, K.S. Bhat, B.S. Holla, N.S. Kumari, "Synthesis and biological activity of Schiff and Mannich bases bearing 2,4-dichloro-5-fluorophenyl moiety", *Bioorg. Med. Chem.* 14 (22) (2006) 7482–7489.
- [6] Satyanarayana, D., Kalluraya, B., George, N., *J. Saudi Chem. Soc.* 6 (3); 459–464. (2002).
- [7] L. Ying, Y.Z. Shun, Z. Hong, B.J. Cao, F.D. Wang, Y. Zhang, Y.L. Shi, J. Yang, B.A. Wu, "Artemisinin derivatives bearing Mannich base group: synthesis and antimalarial activity", *Bioorg. Med. Chem.* 11 (20) (2003) 4363–4368.
- [8] Vishnu, R.J., Mishra, L., Pandey, H.N., Vlietinck, A.J., *J. Heterocycl. Chem.* 23 (5); 1367–1369. (1986).

- [9] Kalluraya, B., Isloor, A.M., Chimbalkar, R.M., Shenoy, S., “Synthesis and biological activity of some Mannich bases”, *Indian J. Heterocycl. Chem.* 10; 239–240. (2001).
- [10] B.S. Holla, B. Veerendra, M.K. Shivananda, B. Poojary, “Synthesis characterization and anticancer activity studies on some Mannich bases derived from 1,2,4-triazoles”, *Eur. J. Med. Chem.* 38 (2003) 759–767.
- [11] Kalluraya, B., Vishwanatha, P., Isloor, A.M., Rai, G., Kotian, M., “Synthesis and biological activity of 6-substituted-3-[2-(5-substituted-2-furfurylidene hydrazino)-4-thiazoly]coumarins”, *Boll. Chim. Farm.* 139; 263–266. (2000).
- [12] Kalluraya, B., Gunaga, P., Banji, D., Isloor, A.M., “Synthesis and biological studies of some Imidazolinone derivatives”, *Boll. Chim. Farm.* 140; 428–443. (2001).
- [13] Kalluraya, B., Vishwanatha, P., Isloor, A.M., Rai, G., “Synthesis of some Triazolothiadiazines as possible antifungal agents”, *J. Indian Council Chemist.* 15; 26–28. (1999).
- [14] Pinner, A., “Die imidoäther und ihre derivate”, 1.Auflage, Oppenheim, Berlin (1892).
- [15] Pesson, M., Dupin, S., Antoine, M., “Emploi de l’hydrazinocarbonate d’ethyle pour la synthèse des hydroxy-3 triazoles-1,2,4,” *Bull. Soc. Chim. France*, 1364-1371 (1962).
- [16] Ün, R., İkizler, A., “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”, *Chim. Acta Turc.*, 3; 113-132 (1975).
- [17] Yüksek, H., “3-Alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-5-on’ların bazı reaksiyonlarının incelenmesi”, *Doktora Tezi, KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon* (1992).
- [18] İkizler, A. A., Yüksek, H., “Acetylation of 4-amino-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones”, *Org. Prep. Proced. Int.*, 25; 99-105 (1993).
- [19] İkizler, A. A., “3-Substitue-4-amino- Δ^2 -1,2,4-triazolin-5-on’ların ester kabetoksi-hidrazon’lardan elde edilmeleri ve reaksiyonlarının incelenmesi”, *Doçentlik Tezi, İstanbul Üniversitesi Kimya Fakültesi, İstanbul* (1975).

- [20] İkizler, A. A., Ün, R., “Reactions of ester ethoxycarbonylhydrazones with some amine type compounds”, *Chim. Acta Turc.*, 7; 269-290 (1979).
- [21] Aytemiz, F., “3-Alkil(aril)-4-[3-(3-nitrobenzoksi)-4-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin sentezi, yapılarının aydınlatılması ve bazı özelliklerinin incelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2013).
- [22] Aytemiz, F., Yüksek, H., Albayrak, Ö., Alkan, M., “Synthesis and Antimicrobial Properties of Some Novel 3-Alkyl(Aryl)-4-[3-(3-nitrobenzoxy)-4-methoxybenzylidenamino]-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones”, ITWCCST2015, 1. International Turkish Conference on Chemical Sciences and Technologies, Sakarya University, Sarajevo, Bosna-Herzegovina, Book of Abstracts, P0-20, S: 150, 27th October-1st November 2015.
- [23] <http://www.merriam-webstar.com/dictionary/antimicrobial>, (2009).
- [24] Saran, B., Karahan, Z. C. “Antimikrobiyal Ajanlara Genel Bakış”, *Türk. Ürol. Sem.* 1; 216-20, (2010).
- [25] Yamantürk Çelik, P., Büğet, B., “Geçmişten günümüze antibiyotikler: genel bir bakış, ilk ve son kuşak antibiyotikler”, *Ankem Derg.* (2007).
- [26] Davidson, P.M. and Harrison, M.A., “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, (<http://www.foodnetbase.com/ejournals/books>) (2003).
- [27] Gould, G.W., “Industry perspectives on the use of natural antimicrobials and inhibitors for food applications”, *Journal of Food Protection*, supplement, 82-86. (1996).
- [28] Lemay, M.J., Choquette, J., Delaquis, P.J., Gariépy, C., Rodrigue, N. and Saucier, L., “Antimicrobial effect of natural preservatives in a cooked and acidified chicken meat model”, *International Journal of Food Microbiology*, 78; 217-226. (2002).
- [29] Meyer, A.S., Nielsen, S.P., Lyngby and Holm, F., “Natural food preservatives in Minimal Processing Technologies in the Food Industry”, Ch 6, Eds. Ohlsson, I. & Bengtsson N., CRC Press. (2002).
- [30] Beuchat, L.R. and Golden, D. A., “Antimicrobials occurring naturally in foods”, *Food Technology*, 134-142. (1989).

- [31] Ayaz, C., "Beta laktamların genel özellikleri ve penisilinler. 3. Baskı Enfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi sistemlere göre enfeksiyonlar", ed: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 266-78. (2008).
- [32] Akova. M., Kayaalp, S.O., "Beta laktam antibiyotikler I: Penisilinler", 10. Baskı Rasyonel Tedavi önünden Tıbbi Farmakoloji ed: Kayaalp SO. Ankara: Hacettepe Taş. 210-233. (2002).
- [33] Khardori, N., "Antibiotics Past, Present and Future", Med Clin N Am. 90; 1049-76. (2006).
- [34] Öncül, O., "Vankomisin ve Teikoplanin Hikayesi", ANKEM Derg 24; 101-9. (2010).
- [35] Baylan O. "Fosfomisin: Dünü, Bugünü ve Geleceği" Mikrobiyoloji Bülteni 44; 311-21. (2010).
- [36] Popovic, M., Steinort, D., Pillai, S., Joukhadar, C., "Fosfomycin: an old, new friend?", Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 29; 127-42. (2010).
- [37] Andriole, V.T., "The quinolones: past, present, and future", Clin. Infect. Dis. 41; 113-9. (2005).
- [38] Appelbaum, P.C., Hunter, P.A., "The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives", Int. J. Antimicrob. Agents 16; 5-15. (2000)
- [39] Van Bambeke, F., Michot, J.M., Van Eldere, J., Tulkens, P.M., "Quinolones in 2005: an update", Clin. Microbiol. Infect. 11; 256-80. (2005).
- [40] Ulusoy, S., "1986'dan 2010'a Kinolonlar", ANKEM Derg. 24; 96-100. (2010).
- [41] Nicolle, L., "Best pharmacological practice: urinary tract infections", Expert Opin Pharmacother 4; 693-704. (2003).
- [42] Masters, P.A., O'Bryan, T.A., Zurlo, J., Miller, D.Q., Joshi, N., "Trimethoprim-sulfamethoxazole revisited", Arch. Intern. Med. 163; 402-10. (2003).
- [43] Wisell, K.T., Kahlmeter, G., Giske, C.G., "Trimethoprim and enterococci in urinary tract infections: new perspectives on an old issue", J. Antimicrob. Chemother. 62; 35-40. (2008).
- [44] Aksu, H., Candevir, A., "Sulfonamidler, Trimetoprim ve Trimetoprim /Sulfametoksazol", 3. Baskı Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Sistemlere Göre Enfeksiyonlar", ed: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M.

İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 368-72. (2008).

- [45] Kwa, A.L., Tam, V.H., Falagas, M.E., “Polymyxins: a review of the current status including recent developments”, *Ann. Acad. Med. Singapore* 37; 870-83. (2008).
- [46] Molina, J., Cordero, E., Pachón, J., “New information about the polymyxin/colistin class of antibiotics”, *Expert Opin Pharmacother*, 10; 2811-28. (2009).
- [47] <http://www.mikrobiyolbul.com> (2010).
- [48] [http://www.freehealthchannel.com/antimicrobial drugs: their classification and resistance development](http://www.freehealthchannel.com/antimicrobial%20drugs%3A%20their%20classification%20and%20resistance%20development) (2008).
- [49] [http://www.kocaelidh.gov.tr/antibiyotik kullanımı](http://www.kocaelidh.gov.tr/antibiyotik%20kullanımı) (2000).
- [50] Akalın, H. E., Antimikrobiyal direnç: bugünü ve yarını, *Ankem Derg.* , 9(3); 205-208 (1995).
- [51] Tassaou, C.C., Nychas, J.E., Scandamis, P.N., “Herbs and spices, in Handbook of Herbs and Spices”, ch 3, Eds. Peter, K. V., Woodhead Publishing Ltd., England. (2004).
- [52] Marwan, A. G., Nagel, C. W., “Quantitative determination of infinite inhibition concentration of antimicrobial agents”, *Applied and Environmental Microbiology*, 51 (3); 559-561. (1986).
- [53] Nychas, G.J.E., Skandamis, P.N., “Antimicrobials from herbs and spices in Natural Antimicrobials for Minimal Processing of Foods”, Ch 9, Eds. Nychas, G.J.E., Skandamis, P.N. & Tassou, C.C., CRC Press (<http://www.foodnetbase.com/ejournals/books>), (2003).
- [54] Tassou, C.C., Nychas, G.J.E., Skandamis, P.N., “Herbs and spices and antimicrobials in Handbook of Herbs and Spices”, vol 2, Ch. 9, Woodhead Publishing Ltd. (<http://www.foodnetbase.com/ejournals/books>), (2004).
- [55] Davidson, P.M., Parish, M.E., “Methods of testing the efficacy of food antimicrobials”, *Food Technology*, 148-155. (1989).
- [56] Şahin, E. “Bitkisel kaynakli antimikrobiyallerin gida kaynakli bazi patojen mikroorganizmalar üzerinde etkileri”, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul (2006).

- [57] Kim, H.O., Park, S.W., Park, H.D., “Inactivation of Escherichia coli 0157:H7 by cinnamic aldehyde purified from Cinnamomum cassia shoot”, Food Microbiology, 21; 105-110. (2004).
- [58] Mann, C.M., Markham, J.L., “A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils”, Journal of Applied Microbiology, 84; 538-544. (1998).
- [59] İşbilir, Ş. S., “Yaprakları salata-baharat olarak tüketilen bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi”, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne (2008).
- [60] Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., “Role of free-radicals and catalytic metal-ions in human disease-an overview”, Methods in Enzymology, 186; 1-85 (1990).
- [61] Akkuş, İ., “Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri”, Mimoza Yayınları, Konya, (1995).
- [62] Onat, T., Emerk, K., Sözmen E. Y., (Ed.), “İnsan biyokimyası”, Palme Yayıncılık, Ankara, (2002).
- [63] Becker, E.M., Nissen, L.S., Skibsted, L.H., “Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects”, European Food Research and Technology, 10.107/s00217-004-1012-4 (2004).
- [64] Lee, J. D., “Concise inorganic chemistry”, Chapman&Hall, 4th Ed., New York, (1991).
- [65] <http://www.mustafaaltinisik.org> (Ocak 2007).
- [66] Nehir El, S., Karakaya, S., Taş, A.A., “Bazı gıdalardaki fenolik bileşiklerin antioksidan etkilerinin in vitro koşullarda saptanması”, TÜBİTAK Projesi, No:TOGTAG-1698, İzmir, (1999).
- [67] Halliwell, B., “Free radicals and antioxidants:A personal view”, Nutrition Reviews, 52 (8); 253-265 (1994).
- [68] Halliwell, B., Clement, M. V., Long, L. H., “Hydrogen peroxida in the human body”, FEBS Letter, 486; 10-13 (2000).
- [69] Cotton, F.A., Wilkinson, G., “Advanced inorganic chemistry”, John Wiley & Sons Inc., 5th Ed., USA, (1988).

- [70] Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W., “Harper’ın biyokimyası”, (Çev: Dikmen N., Özgünen T.), Barış Kitabevi, 24. baskı, İstanbul, (1996).
- [71] Meram, I., Aktaran, Ş., “Serbest radikallerin biyomoleküller üzerine etkileri”, Arşiv, 11; 299-304 (2002).
- [72] Van Der Vliet, A., O’neill, C.A., Halliwell, B., Cross, C., Kaur, H., “Aromatic hydroxylation and nitration of phenylalanine and tyrosine by peroxynitrite”, FEBS Letters, 339; 89-92 (1994).
- [73] Hawkins, C.L., Davies, M.J., “Degradation of hyaluronic acid, poly- and mono-saccharides, and model compounds by hypochlorite: Evidence for radical intermediates and fragmentation”, Free Radical Biology and Medicine, 24 (9); 1396-1410 (1998).
- [74] McNeil, J.D., Wiebkin, O.W., Betts, W.H., Cleland, L.G., “Depolymerisation products of hyaluronic acid after expose to oxygen-derived free radicals”, Annals of the Rheumatic Diseases, 44; 780-789 (1985).
- [75] Seven, A., Candan, G., “Antioksidan savunma sistemleri”, Cerrahpaşa Tıp Dergisi, 27 (1); 41-50 (1996).
- [76] Percival, M., “Antioxidants”, Clinical Nutrition Insights, 10; 1-4 (1998).
- [77] MacDonald-Wicks, L.K., Wood, L.G., Garg, M.L., “Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro”, J. Sci. Food Agr. 86; 2046-2056, (2006).
- [78] Frankel, E.N., Meyer, A.S., “The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants”, Journal of the Science of Food and Agriculture, 80; 1925-1941 (2000).
- [79] Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A., Deemer, E.K., “Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study”, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50; 3122-3128 (2002).
- [80] Huang, D., Ou, B., Prior, R., “The chemistry behind antioxidant capacity assays”, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53; 1841-1856 (2005).
- [81] Tomer, D., Mcleman, L., Ohmine, S., Scherer, P.M., Murray, B.K., O’Neill, K.L., “Comparison of the total oxyradical scavenging capacity and oxygen radical absorbance capacity antioxidant assays”, Journal of Medicinal Food, 10

(2); 337-344 (2007).

- [82] Sykes, P., "A Guidebook to Mechanism in Organic Chemistry", Fourth Edition, Great Britain (1977).
- [83] Milcent, R., Redeuilh, C., "Synthesis of 4-amino-3-aryl-1,2,4-triazol-5(4H)-ones", *J. Heterocycl. Chem.*, 16 (2); 403-407 (1979).
- [84] Roger, R., Neilson, O. G., "The Chemistry of Imidates", *Chem. Rev.*, 61: 179-211 (1961).
- [85] Ün, R., İkizler, A. A., "Preparations of aromatic amide carbethoxy-hydrazones, aromatic amide carbamylhydrazones and related 3-aryl- Δ^2 -1,2,4-triazolin-5-ones", *Chim. Acta Turc.*, 3; 1-22 (1975).
- [86] İkizler, A. A., Yüksek, H., Bahçeci, Ş., Sancak, K., "Synthesis of some tert-butoxyhydrazones and related 4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones", *Tr. J. of Chem.*, 18 (9); 51-56 (1994).
- [87] Ayça, E., İkizler, A. A., Aslan, R., "Preparations and some reactions of aromatic ester thiosemicarbazones", *Chim. Acta Turc.*, 12; 305-314 (1984).
- [88] Ayça, E., İkizler, A. A., Serdar, M., "Preparation of 3-alkyl(aryl)-4-aryl- Δ^2 -1,2,4-triazolin-5-ones", *Chim. Acta Turc.*, 9; 99-108 (1981).
- [89] Fletcher R.A., Hofstra G., Gao J., "Comparative Fungitoxic and Plant Growth Regulating Properties of Triazole Derivatives", *Plant and Cell Physiology*, 27; 367- 371. (1986).
- [90] Todoulou O.G., Papadaki-Valiraki A., Filippatos E.C., Ikeda S., De Clercq E., "Synthesis and anti-myxovirus activity of some novel N,N'-disubstituted thioureas", *Eur. J. Med. Chem.* 29; 127 (2004).
- [91] Invidiata F.P., Simoni D., Scintu F., Pinna N., "3,6-disubstituted 1,2,4-triazolo[3,4-b] [1,3,4]thiadiazoles : Synthesis, antimicrobial and antiviral activity", *Farmaco*, 51; 659 (1996).
- [92] Mohamed G.G., Sharaby C.M., "Synthesis, characterization and thermal studies on metal complexes of new azo compounds derived from sulfa drugs", *Spectrochim. Acta. A*, 66; 949 (2007).
- [93] Singh K., Barwa M.S., Tyagi P., "Synthesis and characterization of cobalt(II), nickel(II), copper(II) and zinc(II) complexes with Schiff base derived from 4-amino-3-mercapto-6-methyl-5-oxo-1,2,4-triazine", *Eur. J. Med. Chem.*, 42; 394

(2007).

- [94] Mishra, L., Vishnu, J., Dinesh, R., Kushwaha, S., "Preparation and structure of cobalt(II), nickel(II), copper(II) and zinc(II) complexes with 3-amino-5-(α/β)pyridyl-1,2,4-triazoles", 14; 384-386 (1989).
- [95] Yanardağ T., "Çinkonun sulu çözeltilerindeki korozyonuna organik maddelerin etkisi", Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi, (2004).
- [96] Bahçeci, S., Yüksek, H., Ocak, Z., Köksal, C., Özdemir, M., "Synthesis and non-aqueous medium titrations of some new 4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one derivatives", Acta Chim. Slov., 49 (4): 783-794 (2002).
- [97] Yüksek, H., Demirbaş, A., İkizler, A., Johansson, C.B., Çelik, C., İkizler, A.A., "Synthesis and antibacterial activities of some 4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones", Arzneimittel-Forsch., 47; 405-409 (1997).
- [98] İkizler, A.A., Yüksek, H., "Synthesis of some N,N'-linked biheteroaryles", Doğa Tr. J. Chemistry, 17; 150-153 (1993).
- [99] İkizler, A.A., Yüksek, H., "Reaction of 4-amino-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones with 2,5-dimetoxytetrahydrofuran", Collect. Czech. Chem. Commun., 59 (3); 731-735 (1994).
- [100] Alkan, M., "Bazı "3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin sentezi ve reaksiyonlarının incelenmesi", Doktora Tezi, KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon (2001).
- [101] Yüksek, H., Ocak, Z., Alkan, M., Bahçeci, Ş., Özdemir, M., "Synthesis and determination of pKa values of some new 3,4-disubstituted-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one derivatives in non-aqueous solvents", Molecules, 9; 232-240 (2004).
- [102] Yüksek, H., Alkan, M., Bahçeci, S., Çakmak, I., Ocak, Z., Baykara, H., Aktaş, O., Ağyel, E., "Synthesis, determination of pKa values and GIAO NMR calculations of some new 3-alkyl-4-(p-methoxybenzoylamino)-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones", J. Mol. Struc., 873; 142-148 (2008).
- [103] Alkan, M., Yüksek, H., İslamoğlu, F., Bahçeci, S., Calapoğlu, M., Elmastaş, M., Akşit, H., Özdemir, M., "A study on 4-acylamino-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones", Molecules, 12 (8); 1805-1816 (2007).
- [104] Raman, N., Muthuraj, V., Ravichandran, S., Kulandaisamy, A., "Synthesis, characterisation and electrochemical behaviour of Cu(II), Co(II), Ni(II) and Zn(II) complexes derived from acetylacetone and p-anisidine and their

- antimicrobial activity”, Proc. Indian Acad. Sci. 115-161. (2003).
- [105] Yeap, G.Y., “Synthesis, crystal structure and spectroscopic study of para substituted 2-hydroxy-3-methoxybenzalideneanilines”, Journal of Molecular Structure, 658; 87-99. (2003).
- [106] Erturan S., Yalçın M., Cankurtaran, H., Kunt, G., XI. Kimya Kongresi, Kongre Özetleri Kitabı, 494. (1997).
- [107] Feri. C., “Reaktionen der organischen Synthese”, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 900, (1978).
- [108] Othmer, K., “Encyclopedia of Chemical Technology”, Wiley, 16. 795-804. (1938).
- [109] Helmut, S., “Metal Ions in Biological Systems”, Marcel dekker Inc, New York, 2-50, (1976).
- [110] Metzler, C.M., Cahil, A., Metzler, D.E., “Equilibriums and absorption spectra of Schiff bases”, J. Am. Chem. Soc. 102 (19); 6075-6082 (1980).
- [111] İkizler, A.A., İkizler A., Yıldırım, N., “Synthesis of some benzylidenamino compounds”, Monatsh. Chem., 122 (6-7); 557-563 (1991).
- [112] İkizler, A.A., Uçar, F., Yüksek, H., Aytin, A., Yasa, I., Gezer, T., “Synthesis and antifungal activity of some new arylidenamino compounds”, Acta Pol. Pharm., 54 (2); 135-140 (1997).
- [113] Yüksek, H., Kolaylı, S., Küçük, M., Yüksek, M.O., Ocak, U., Şahinbaş, E., Sivrikaya, E., Ocak, M., “Synthesis and antioxidant activities of some 4-benzylidenamino-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one derivatives”, Indian J. Chem., 45 (3); 715-718 (2006).
- [114] Yüksek, H., Küçük, M., Alkan, M., Bahçeci, S., Kolaylı, S., Ocak, Z., Ocak, U., Şahinbaş, E., Ocak, M., “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 J. Chem., 18 (1); 539-550 (2006).
- [115] Ocak, M., Yüksek, H., Kolaylı, S., Küçük, M., Ocak, Ü., Bahçeci, Ş., Alkan, M., Şahinbaş, E., Yıldırım, N., “Triazol halkası içeren bazı schiff bazlarının antioksidan özellikleri”, XVIII. Ulusal Kimya Kongresi, Kars, 56 (2004).
- [116] Kardaş, F., “Bazı yeni 3-substitue-4-(4-metiltiyobenzilidenamino)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on türevlerinin sentezi, potansiyometrik titrasyonları ve antioksidan özelliklerinin incelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas

Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2006).

- [117] Akyıldırım, O., “3-Alkil(aril)-4-(4-karboksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin sentezi, yapılarının aydınlatılması ve susuz ortam titrasyonları”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2005).
- [118] Ulufer, S., “Bazı yeni 4-[3-(2-metilbenzoksi)-benzilidenamino]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on türevlerinin sentezi, yapılarının aydınlatılması ve bazı özelliklerinin incelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars, (2014).
- [119] Kol, Ö.G., “Bazı 4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on türevlerinin sentezi, yapılarının aydınlatılması, antioksidan ve asitlik özelliklerinin incelenmesi”, Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2008)
- [120] Yüksek, H., Kol, Ö.G., “Preparation, characterization and potentiometric titrations of some new di-[3-(3-alkyl/aryl-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-one-4-yl)-azomethinphenyl]isophthalate/terephthalate derivatives”, Turk J. Chem., 32; 773-784 (2008).
- [121] Manap, S., “Bazı yeni 3-alkil(aril)-4-(3,4-disubstituebenzilidenamino)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on türevlerinin sentezi, yapılarının aydınlatılması, antioksidan ve asitlik özelliklerinin incelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2009).
- [122] Üre, S., “Bazı 1-metil-3-alkil(aril)-4-(3,4-dimetoksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin sentezi, yapılarının aydınlatılması ve antioksidan özelliklerinin incelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2010).
- [123] Ünver, Y., Düğdü, E., Sancak, K., Er, M., Karaoğlu, Ş.A., “Synthesis and antimicrobial evaluation of novel di-triazoles and 4-arylidene amino 4,5 dihydro-1H-[1,2,4] triazole-5-one derivatives”, Turk. J. Chem., 32; 441-455 (2008).
- [124] Bektaş, H., Karaali, N., Şahin, D., Demirbaş, A., Karaoğlu, Ş. A., Demirbaş, N., Synthesis and antimicrobial activities of some new 1,2,4-triazole derivatives”, Molecules, 15 (4); 2427-2438 (2010).
- [125] Bayrak, H., Demirbaş, A., Demirbaş, N., Karaoğlu, S.A., “Cyclization of some carbothioamide derivatives containing antipyrine and triazole moieties and investigation of their antimicrobial activities”, Eur. J. Med. Chem., 45 (11);

4726-4732 (2010).

- [126] Akyıldırım, O., “Bazı potansiyel biyolojik aktif heterosiklik bileşiklerin sentezi, yapılarının aydınlatılması ve bazı özelliklerinin incelenmesi”, Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2011).
- [127] Koca, E., “Bazı yeni 4-(4-metilbenzoksi)benzilidenamino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on türevlerinin sentezi, yapılarının aydınlatılması ve bazı özelliklerinin incelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2013).
- [128] Yüksek, H., Koca, E., Gürsoy-Kol Ö., Akyıldırım, O., Çelebier, M., Synthesis, in vitro antioxidant activity, and physicochemical properties of novel 4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one derivatives. Journal of Molecular Liquids. 206; 359–366. (2015).
- [129] Bankoğlu, B., “3-Alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on’ların 3-etoksi-4-(2-metil-benzoksi)-benzaldehyd ile reaksiyonlarının incelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2014).
- [130] Tokalı, F. S., “1,2,4-Triazol-5-on türevlerinin sentezi üzerine bir çalışma”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2011).
- [131] Doğan, N., “Bazı 4,5-Dihidro-1H-1,2,4-Triazol-5-on türevlerinin sentezi ve özelliklerinin incelenmesi, Doktora Tezi, KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon (1995).
- [132] Doğan, N., İkizler, A., Johannson, C.B., İkizler, A.A., “Synthesis and antibacterial activities of some new arenesulfonamides and urea derivatives, Acta Pol. Pharm., 53 (4); 277-281 (1996).
- [133] Bekar, M., “Bazı 4-arilidenamino-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-5-on’ların sentezi ve özelliklerinin incelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon (1996).
- [134] Aksoy, M., “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 (1997).
- [135] Aktaş, Ö., “Bazı yeni 4-(3-fenoksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on türevlerinin sentezi, antioksidan ve asidik özelliklerinin incelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2006).

- [136] Yokuş, Ö. A., “Bazı yeni 1,2,4-triazol türevlerinin sentezi ve biyolojik aktivitelerinin incelenmesi”, Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2012).
- [137] Kara S. “Bazı yeni 4-[3-(3,5-dinitrobenzoksi)-benzilidenamino]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on türevlerinin sentezi ve bazı özelliklerinin incelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2013).
- [138] Zafer, Z., “3-Alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin 3-(3,5-dinitrobenzoksi)-4-metoksibenzaldehid ile reaksiyonları”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2013).
- [139] Albayrak, Ö., “Bazı yeni 3-alkil(aril)-4-[2-(p-toluensulfoniloksi)-benzilidenamino]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin sentezi, yapılarının aydınlatılması ve susuz ortam titrasyonları”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2008).
- [140] Medetalibeyoğlu, H., “Bazı Yeni 4-[2-(4-nitrobenzoksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on türevlerinin sentezi, yapılarının aydınlatılması ve asitlik sabitlerinin tayini”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2008).
- [141] Medetalibeyoğlu, H., Yüksek, H., Alkan, M., Albayrak, Ö., “Bazı 3-Alkil(Aril)-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on yeni türevlerinin biyolojik aktivitelerinin incelenmesi”, 6. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi, Kafkas Üniversitesi, Kars, 116-117, (2013).
- [142] Arun M.I., Kalluraya, B., Shetty, P., “Regioselective reaction: Synthesis, characterization and pharmacological studies of some new Mannich bases derived from 1,2,4-triazoles”, *European Journal of Medicinal Chemistry*. 44; 3784–3787 (2009).
- [143] Kulkarni, A.A., Wankhede, S.B., Dhawale, N.D., Yadav, P.B., Deore, V.V. Gonjari, I.D.A. “Synthesis, characterization and biological behavior of some Schiff's and Mannich base derivatives of Lamotrigine”. *Arabian Journal of Chemistry*, in-press (2013).
- [144] Nithinchandra, Kalluraya, B., Aamir, S., Shabaraya, A.R., “Regioselective reaction: Synthesis, characterization and pharmacological activity of some new Mannich and Schiff bases containing sydnone”, *European Journal of Medicinal Chemistry*. 54; 597–604 (2012).

- [145] Plecha, T., Wujeca, M., Siweka, A., Kosikowskab, U. and Malm, A., “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 (2011).
- [146] Fandakli, S., Başoğlu, S., Bektas, H., Yolal, M., Demirbas, A., Karaoğlu, S. A., “Reduction, Mannich reaction and antimicrobial activity evaluation of some new 1,2,4-triazol-3-one derivatives”, *Turk. J. Chem.* 36; 567-582 (2012).
- [147] Demirci, S., Basoglu, S., Bozdereci, A., Demirbas, N., “Preparation and antimicrobial activity evaluation of some new bi- and triheterocyclic azoles”, *Med. Chem. Res.* 22; 4930-4945 (2013).
- [148] Özyanik, M., Demirci, S., Bektas, H., Demirbas, N., Demirbas, A., Karaoğlu, S.A., “Preparation and antimicrobial activity evaluation of some quinoline derivatives containing an azole nucleus”, *Turk. J. Chem.* 36; 233-246 (2012).
- [149] Wang, B.L., Zhang, L.Y., Zhan, Y.Z., Zhang, Y., Zhang, X., Wang, L.Z., Li, Z.M., “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 (2016).
- [150] Saramet, I., Almajan, G.L., Barbuceanu, S.F., Draghici C., Banciu, M.D., *Rev. Roum.Chim.* 50; 19–27. (2005).
- [151] Almajan, G.L., Barbuceanu, S.F., Saramet, I., Draghici, C., *Rev. Chim. (Bucharest)* 56; 1182–1187 (2005).
- [152] Gabriela, L.A., Stefania-Felicia, B., Eva-Ruxandra, A., Constantin, D., Gabriel, S., “Synthesis, characterization and antibacterial activity of some triazole Mannich bases carrying diphenylsulfone moieties”, *European Journal of Medicinal Chemistry*. 44; 3083-3089 (2009).
- [153] Abd El-Badih A., Ghattas, G., Hassan M. ,Moustafa, Elsayed A.A., Hassanein, Bahgat R.M. Hussein. “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, (2012).
- [154] Kemer, G.; Bazı Yeni Heterosiklik Bileşiklerin Sentezi ve Bazı Özelliklerinin İncelenmesi Üzerine Bir Çalışma, Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2015).
- [155] Kotan, G., Yüksek, H. “Heterosiklik Yeni Bir Mannich Bazı Üzerine Teorik Çalışma: 1-(morfolin-4-il-metil)-3-metil-4-(4-izopropilbenzilidenamino)-4,5-

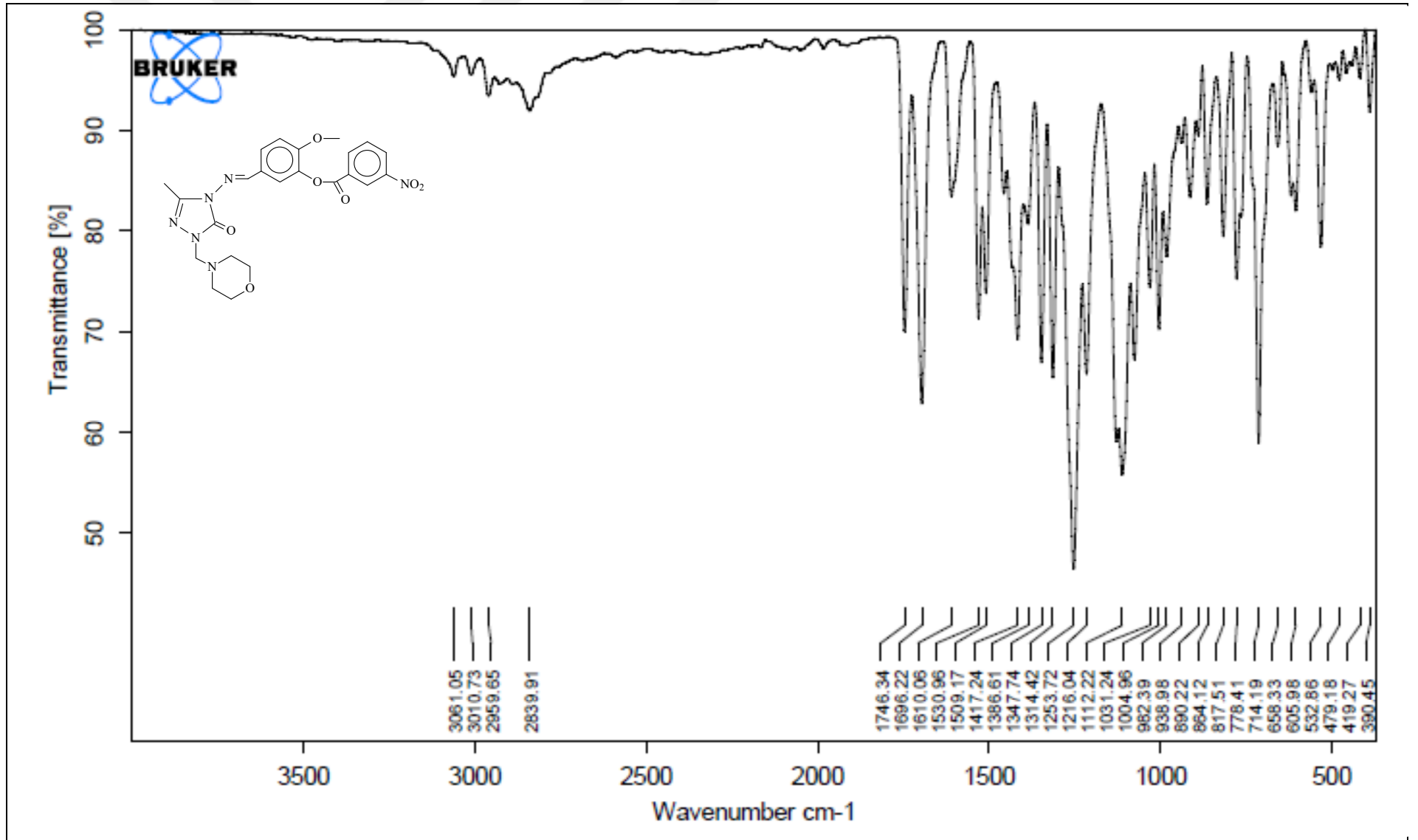
dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on”, 2. *Ulusal Hesaplama Kimya Kongresi*, Kars, Turkey, 22, 2-5 Haziran, (2015).

- [156] Beytur, M., “Bazı yeni beş üyeli heterosiklik bileşiklerin sentezi ve bazı özelliklerinin incelenmesi”, Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars, (2014).
- [157] Beytur, M., Yüksek, H. “Yeni 1-(4-Metilpiperazin-1-il-Metil)-3-Metil-4-(3-Sinnamoiloksibenzilidenamino)-4,5-Dihidro-1*H*-1,2,4-Triazol-5-on Bileşiğinin Sentezi ve Gaussian Programi ile Spektroskopik Özelliklerinin İncelenmesi”, 2. *Ulusal Hesaplama Kimya Kongresi*, Kars, Turkey, 44, 2-5 Haziran, (2015).
- [158] Bayrak, H., Demirbas, A., Demirbas, N., Karaoglu, S.A., “Synthesis of some new 1,2,4-triazoles starting from isonicotinic acid hydrazide and evaluation of their antimicrobial activities”, *Eur. J. Med. Chem.*, 44; 4362-4366 (2009).
- [159] Bhat, A.R., Varadaaj Bhat, G., Shenoy, G.G., “Synthesis and in-vitro antimicrobial activity of new 1,2,4-triazoles”, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53; 267-272 (2001).
- [160] Demirbaş, N., Uğurluoğlu, R., Demirbaş, A., “Synthesis of 3-Alkyl(Aryl)-4-alkylidenamino-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-ones and 3-alkyl-4alkylamino-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-ones as Antitumor agents”, *Bioorg. & Med. Chem.*, 10; 3717-3723 (2002).
- [161] https://tr.wikipedia.org/wiki/Bacillus_subtilis
- [162] <http://www.food-info.net/tr/bact/bacer.htm>
- [163] Tansel, C., Kapucu, A., Öztay, F., Üstünova, S., Balci, H. Caner, M., Engin, B., “Effects of coenzyme Q10 on the heart ultrastructure and nitric oxide synthase during hyperthyroidism”, *Chinese journal of physiology*, 50; 217-224 (2007).
- [164] http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel_Bilgi
- [165] Çakar, A., Hacettepe Üniversitesi Hastanesi’nde ayrıştırılan *Pseudomonas aureginosa* izolatlarında metallo-beta-laktamaz enziminin fenotipik ve genotipik yöntemlerle ayrıştırılması, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, (2005).
- [166] Özgen, S., Klinik örneklerden izole edilen *Klebsiella pneumoniae* türlerinde genişlemiş spektrumlu beta laktamaz varlığının moleküler tekniklerle araştırılması, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, (2007).

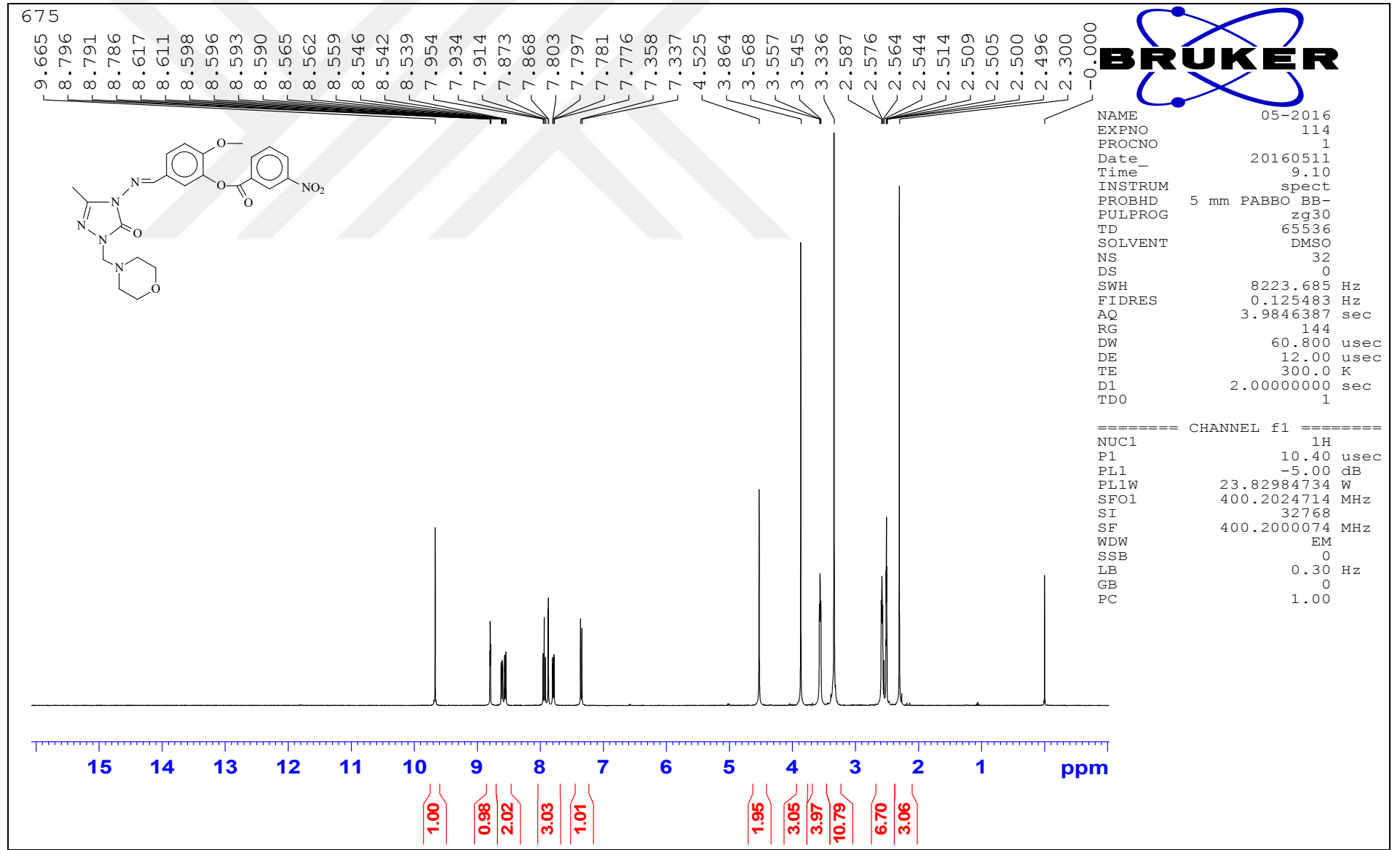
- [167] Vastag, B., Superbug' "stalked NIH hospital last year, killing six", The Washington Post. Augustos, 22, (2012).
- [168] Perez, C., Pauli, M., Bazerque, P., "An antibiotic assay by the well agar method", Acta Biologia et Medicine Experimentalis, 15; 113-115 (1990).
- [169] Ahmad, I., Mehmood, Z., Mohammed, F., "Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties", Journal of Ethnopharmacology, 62: 183-193. (1998).
- [170] Oyaizu, M., "Antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine", Japanese J. Nutr., 44; 307-315 (1986).
- [171] Blois, M. S., "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical", Nature, 181; 1199-1200 (1958).
- [172] Dinis, T. C. P., Madeira, V. M. C., Almeida, L. M., "Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers", Arch. Biochem. Biophys., 315; 161-169 (1994).
- [173] Mannich, C.; Krösche, W. "Ueber ein Kondensationsprodukt aus Formaldehyd, Ammoniak und Antipyrin", *Archiv der Pharmazie*. 250; 647-667. (1912). doi:10.1002/ardp.19122500151.
- [174] Blicke, F. F. *Org. Reactions*. 1; (1942)



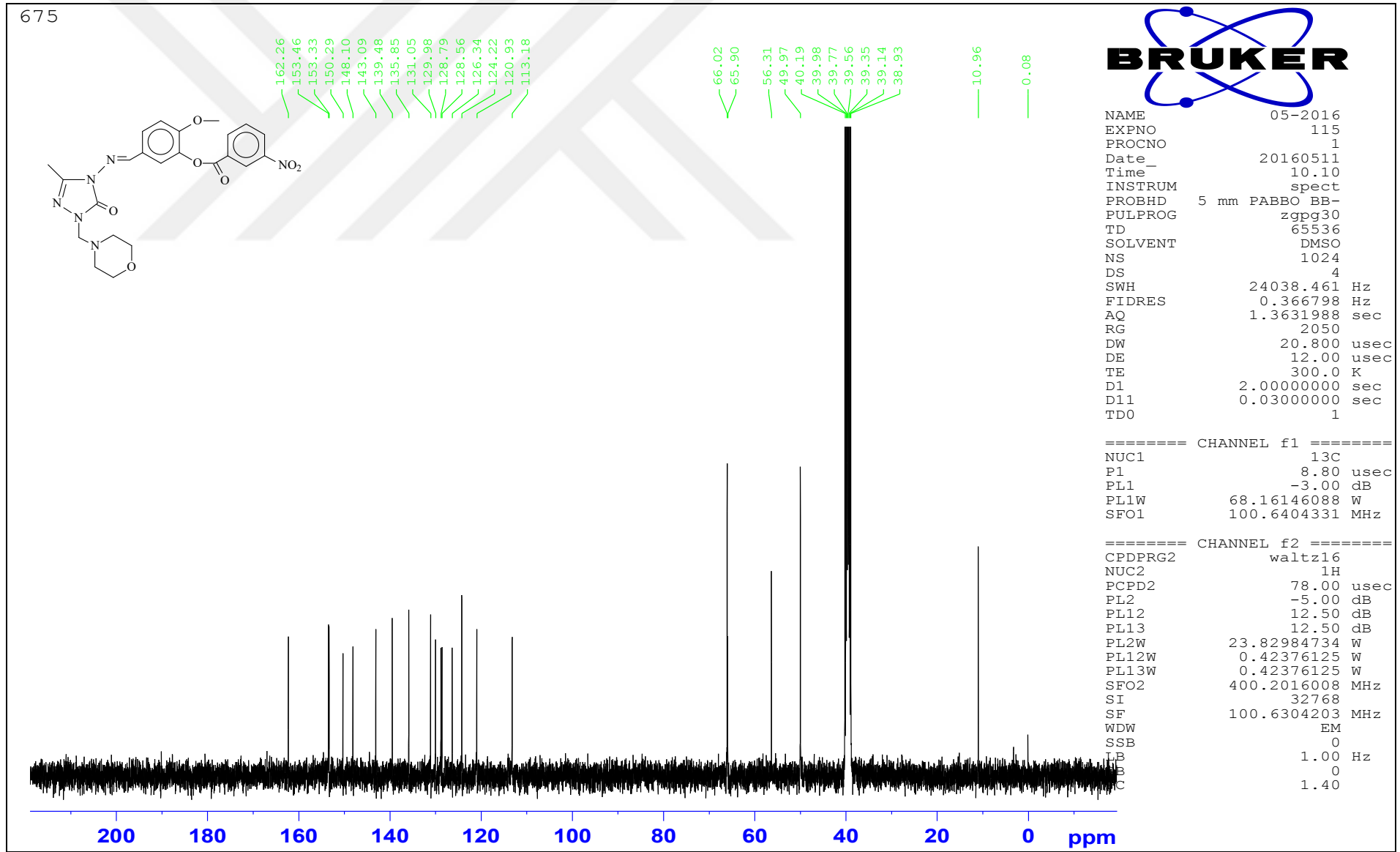
6. EKLER

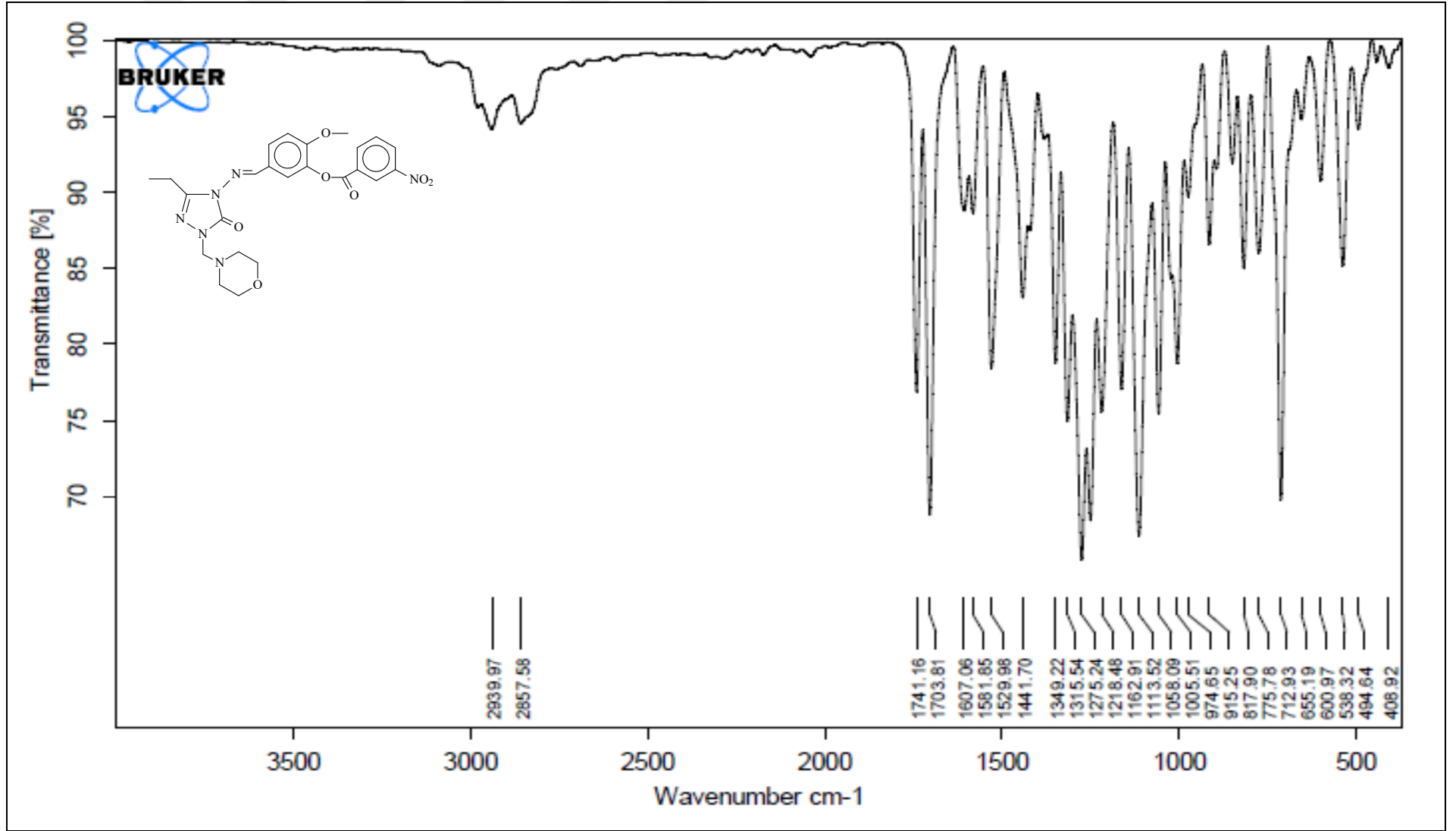


Ek Şekil 1. 12 Bileşiğinin IR spektrumu

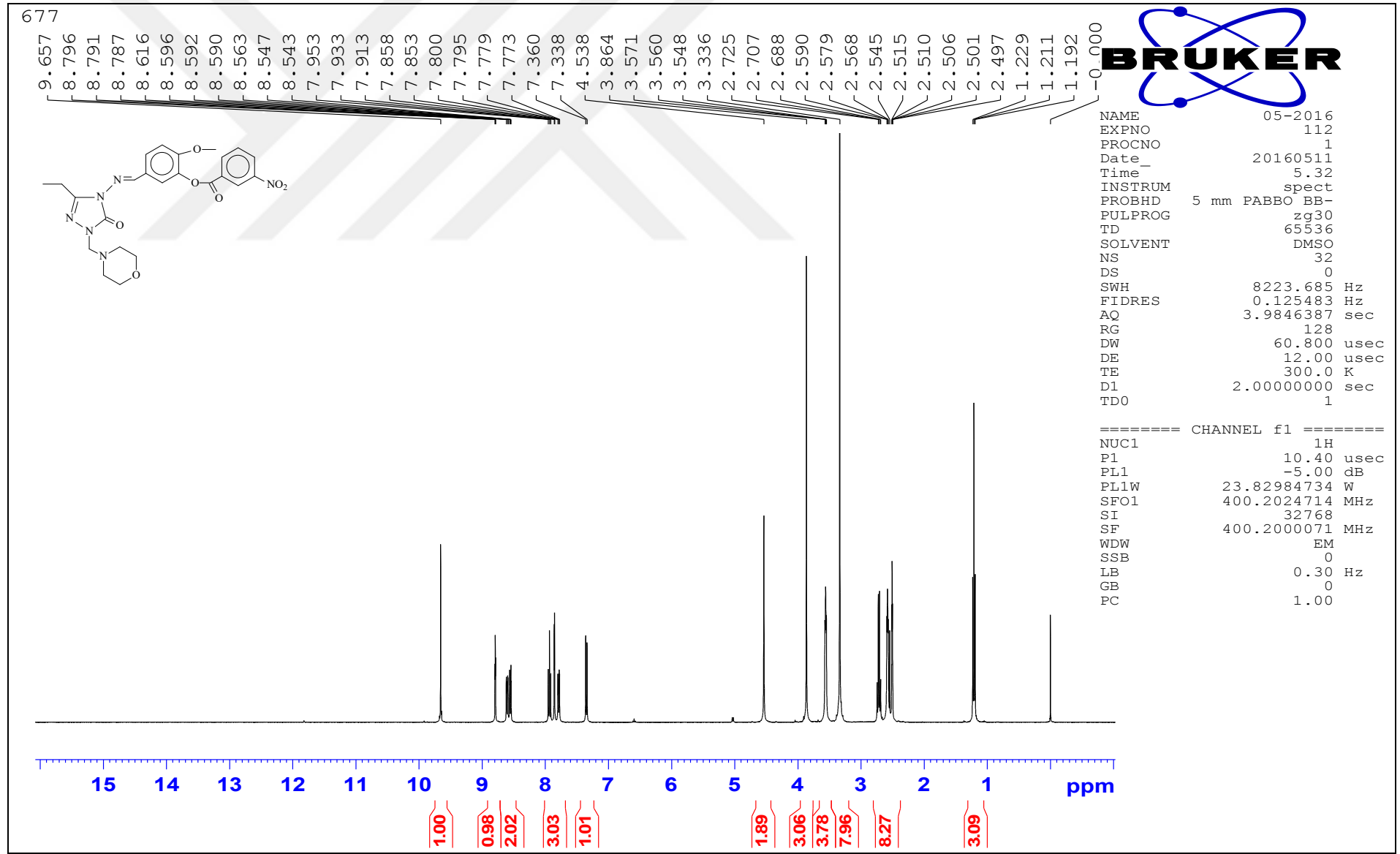


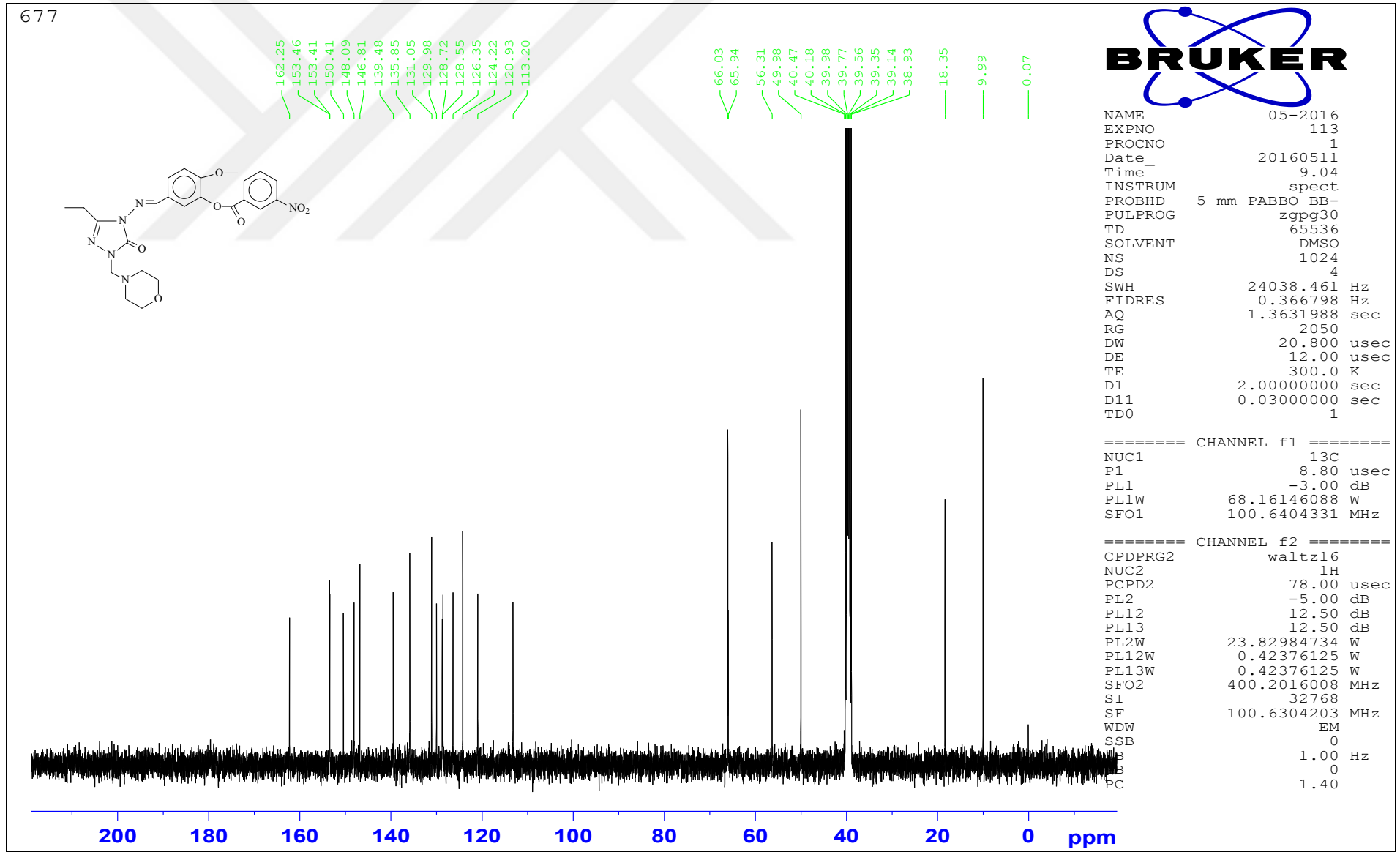
Ek Şekil 2. 12 Bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) spektrumu

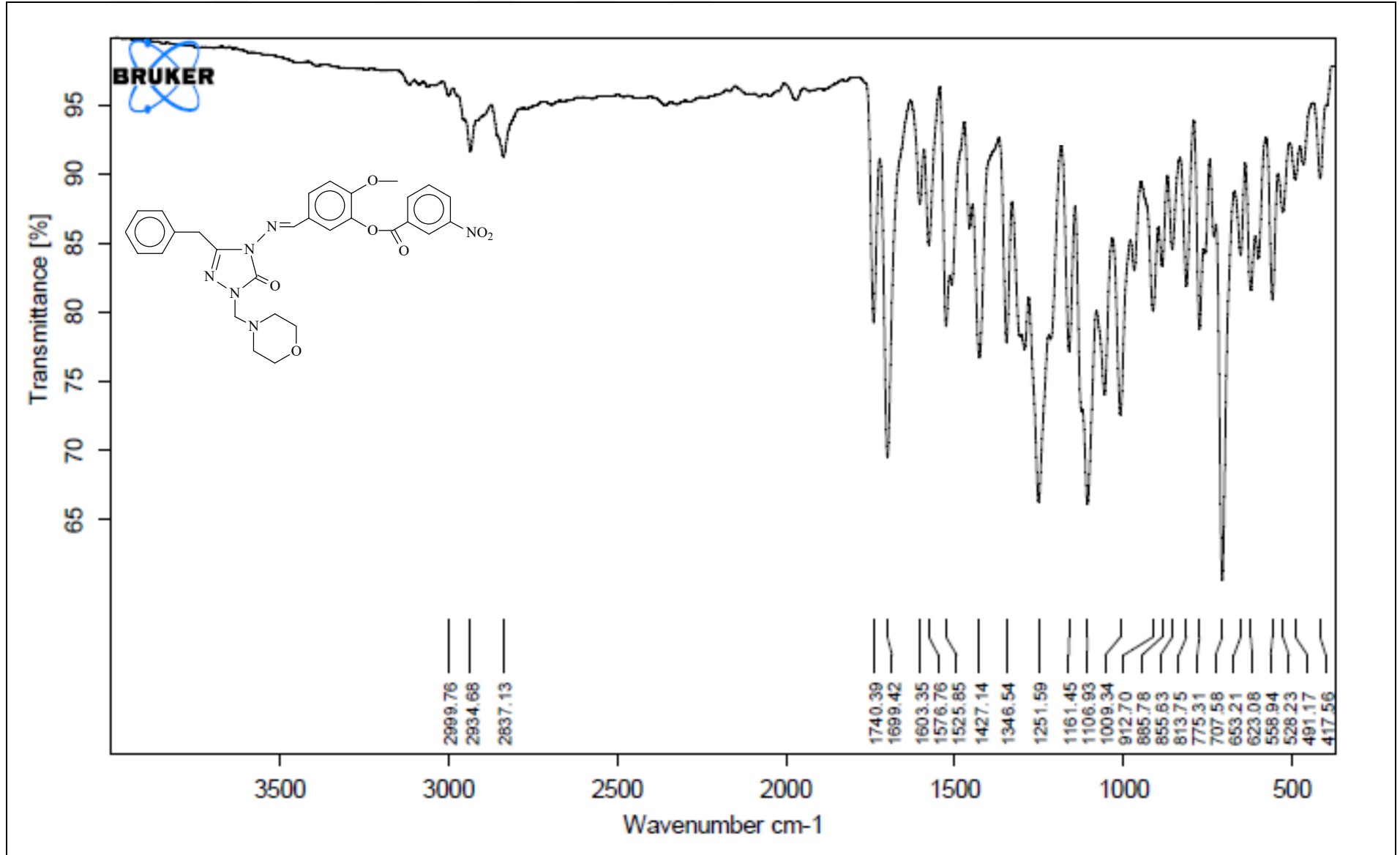
Ek Şekil 3. 12 Bileşiminin ^{13}C -NMR (DMSO- d_6) spektrumu



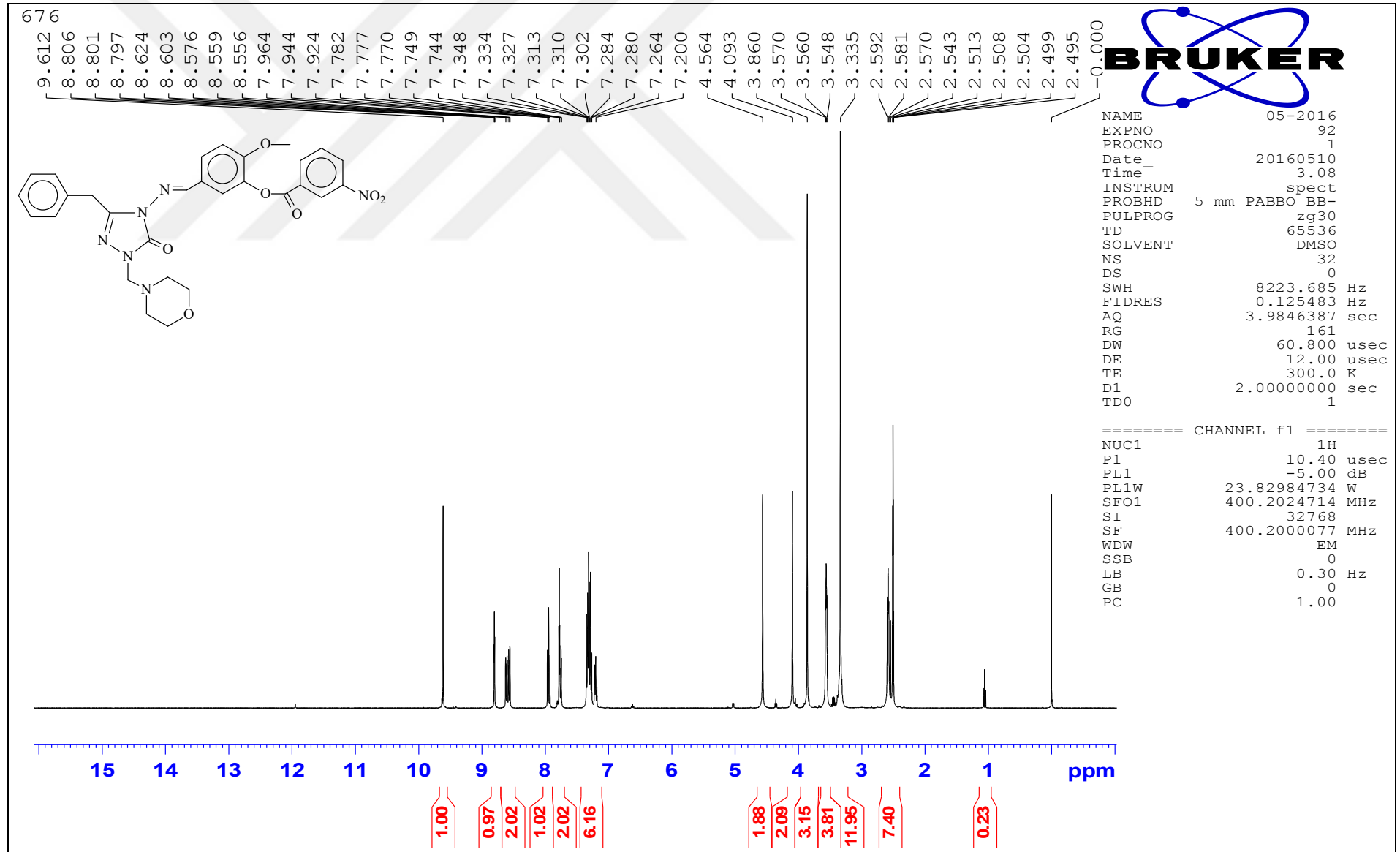
Ek Şekil 4. 13 Bileşiğinin IR spektrumu

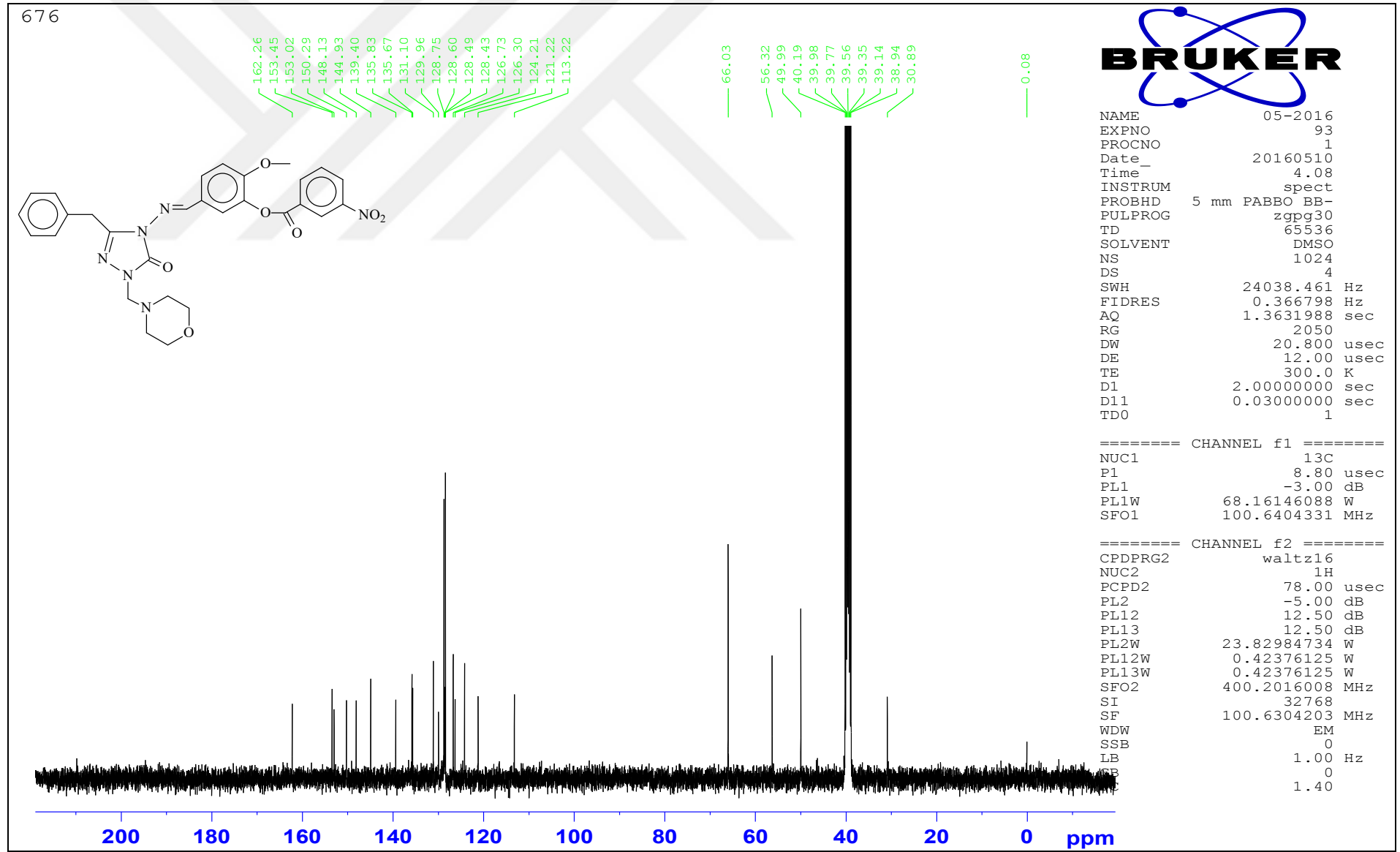
Ek Şekil 5. 13 Bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) spektrumu

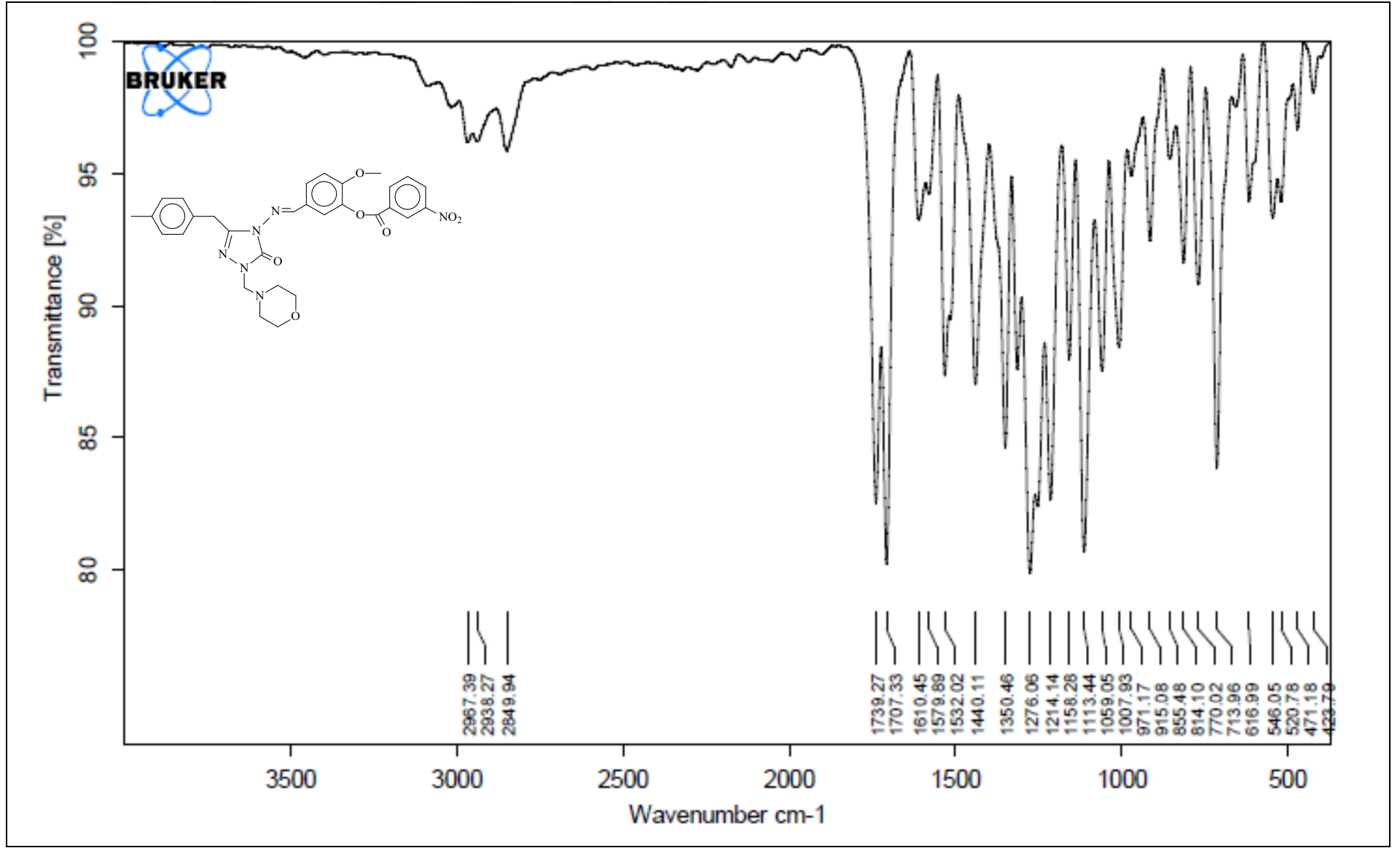
Ek Şekil 6. 13 Bileşiminin ¹³C-NMR (DMSO-d₆) spektrumu



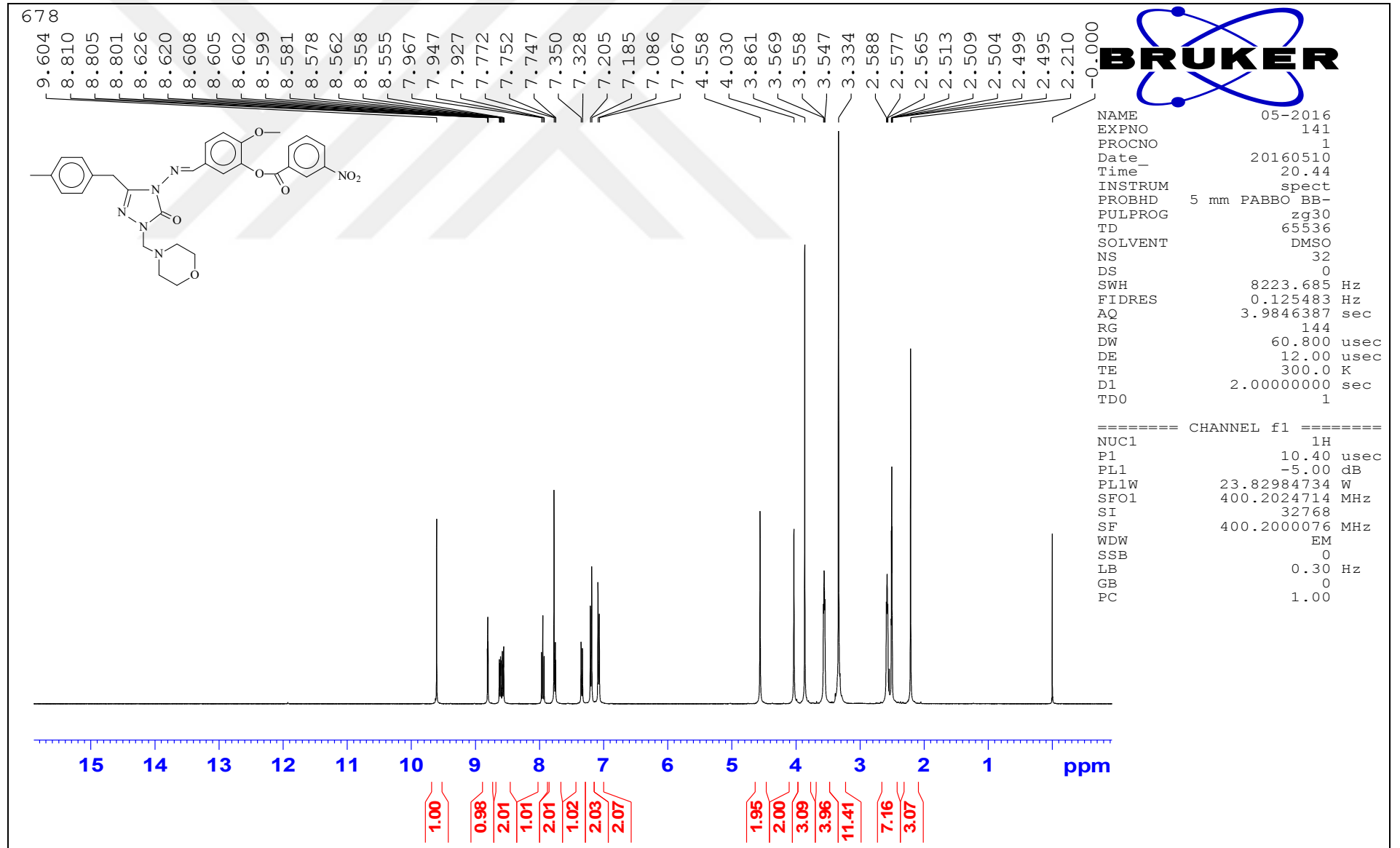
Ek Şekil 7. 14 Bileşiğinin IR spektrumu

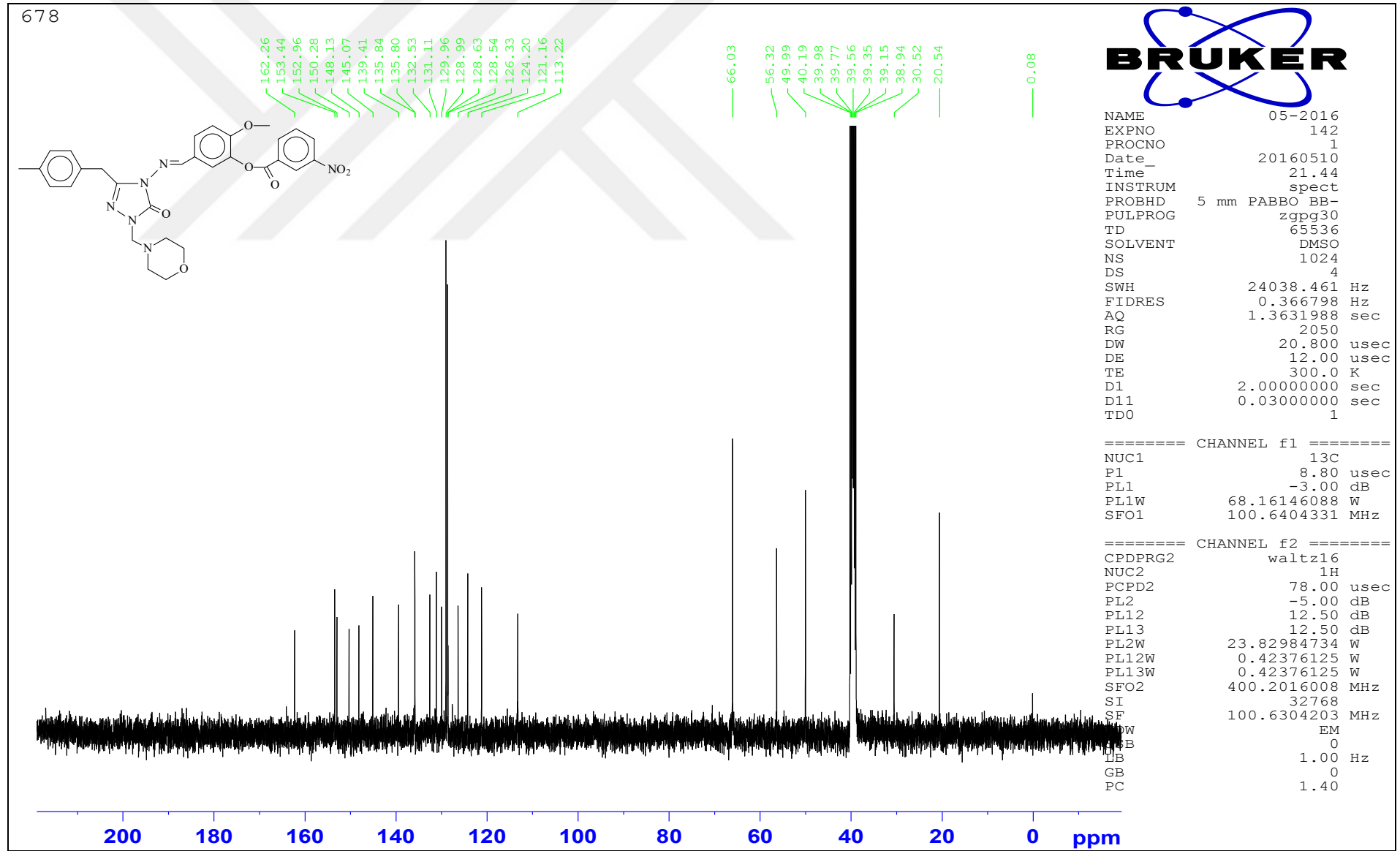
Ek Şekil 8. 14 Bileşiğinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) spektrumu

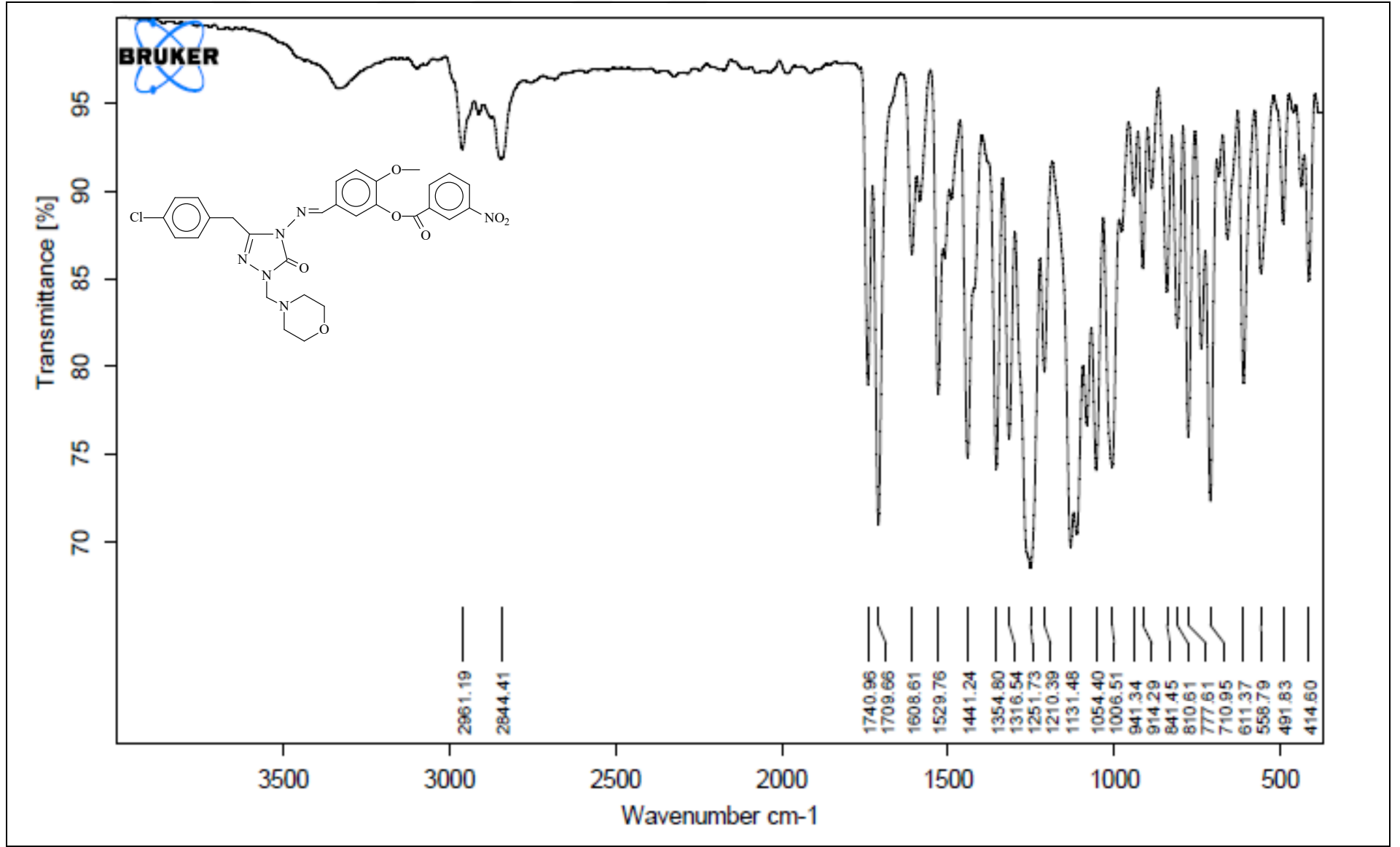
Ek Şekil 9. 14 Bileşiminin ^{13}C -NMR (DMSO- d_6) spektrumu



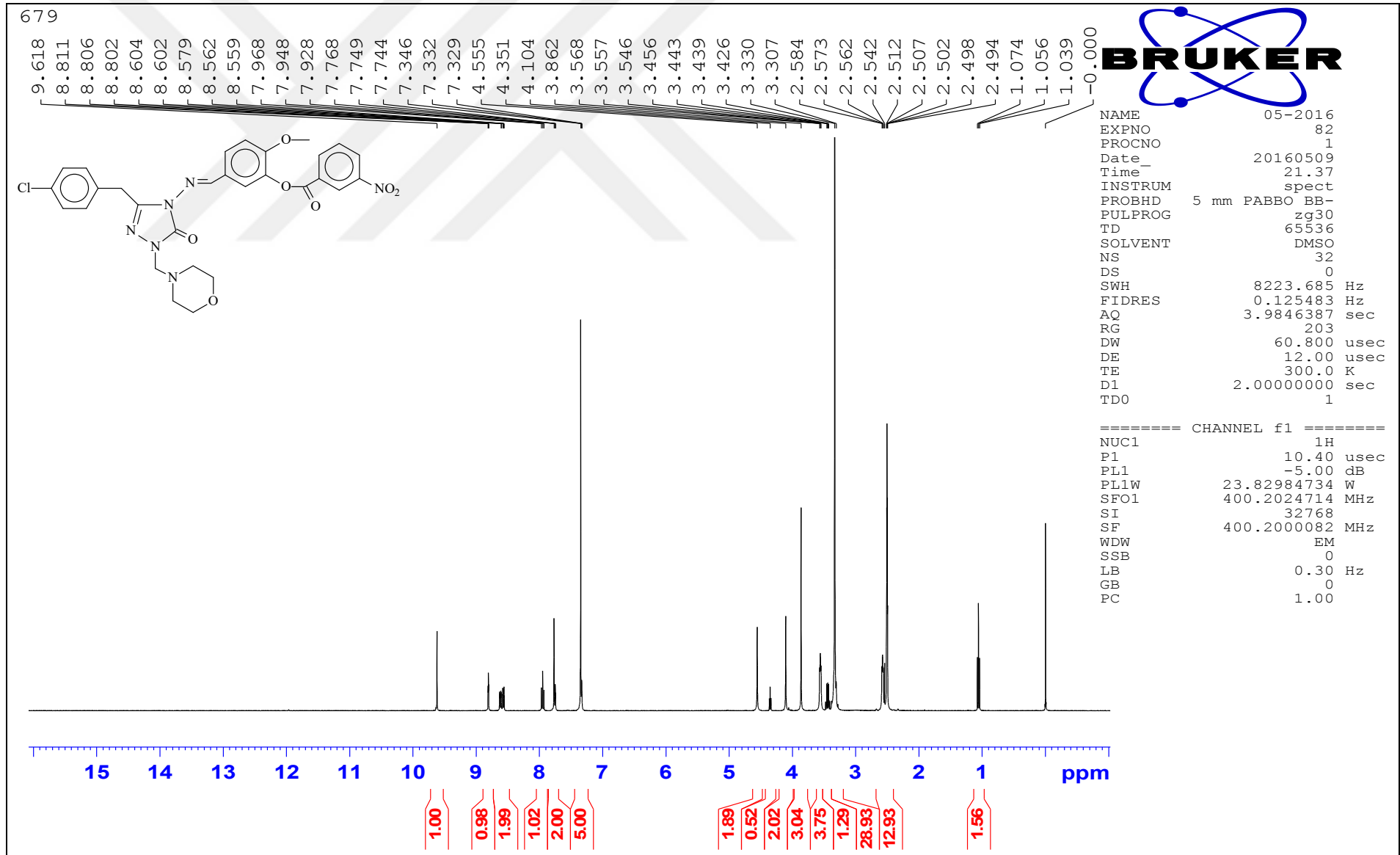
Ek Şekil 10. 15 Bileşiğinin IR spektrumu

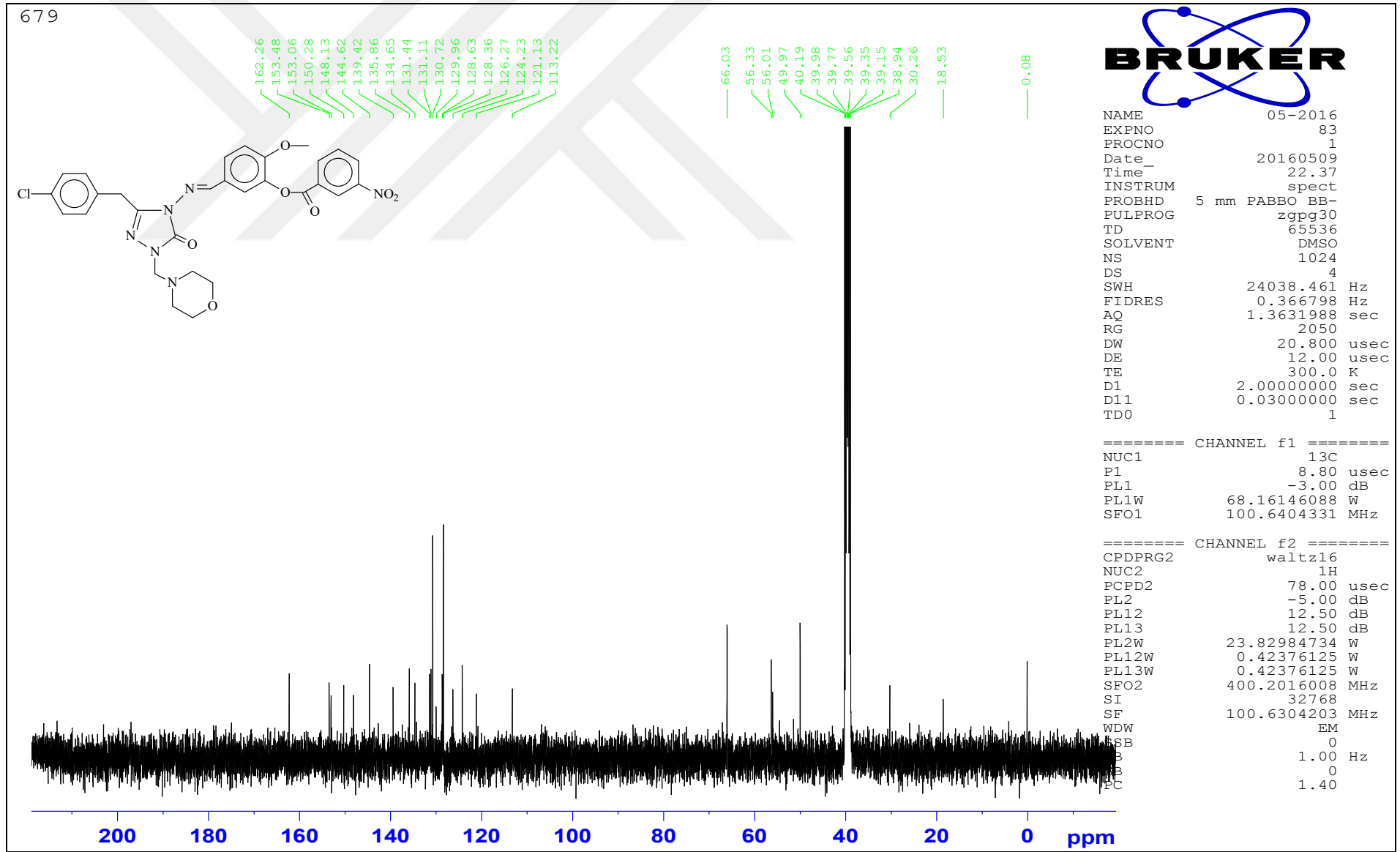


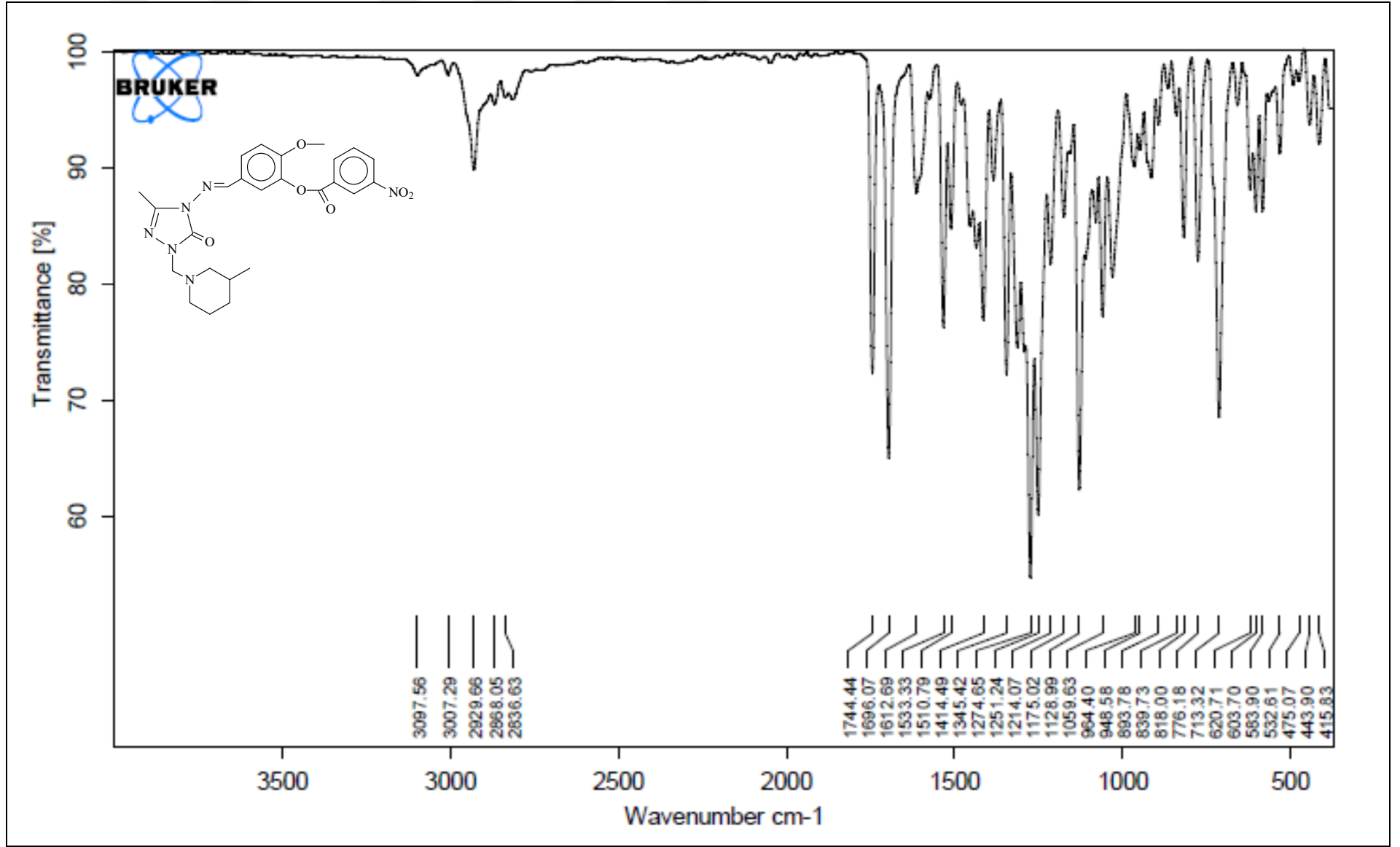
Ek Şekil 12. 15 Bileşiğinin ^{13}C -NMR (DMSO- d_6) spektrumu



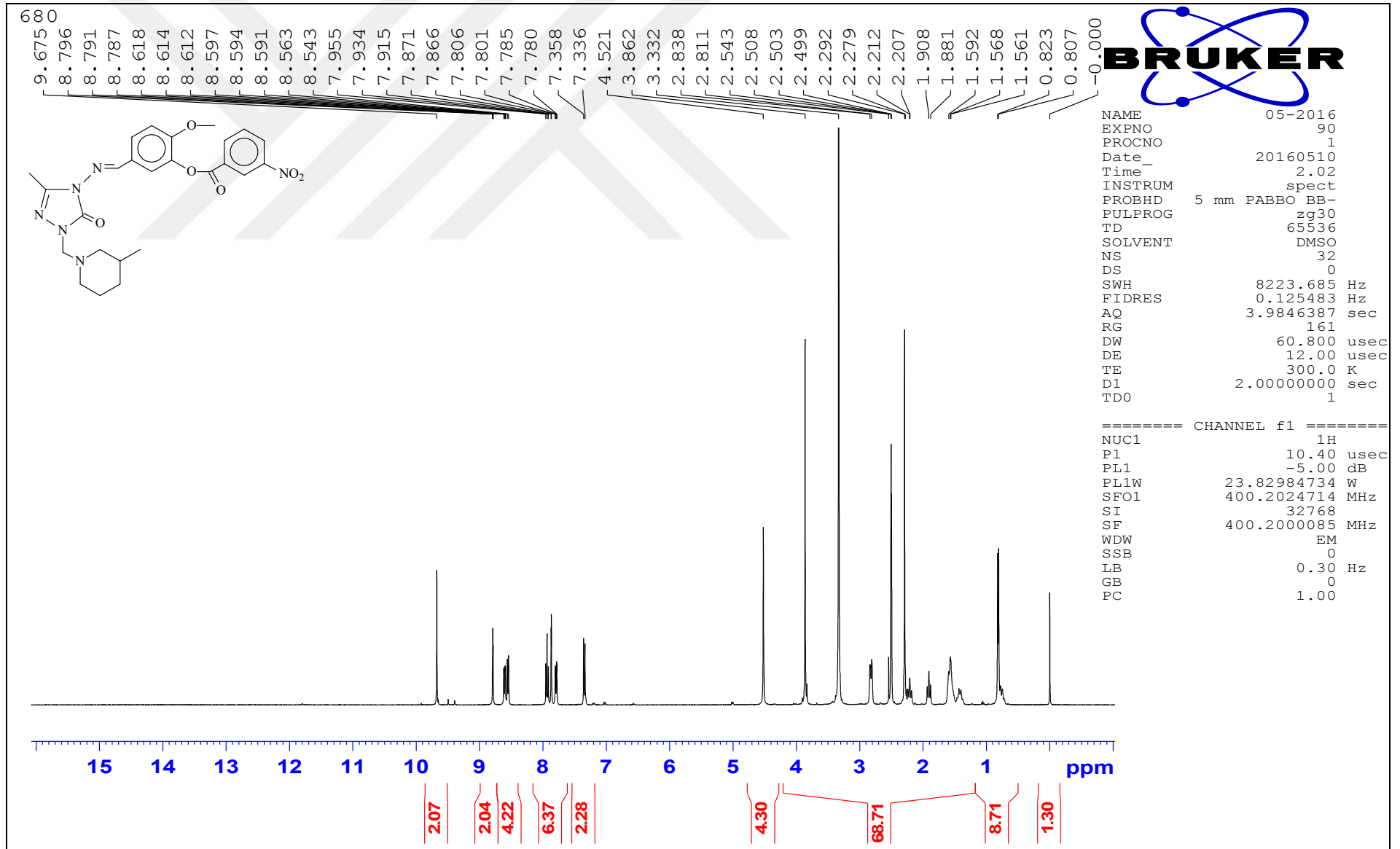
Ek Şekil 13. 16 Bileşiğinin IR spektrumu

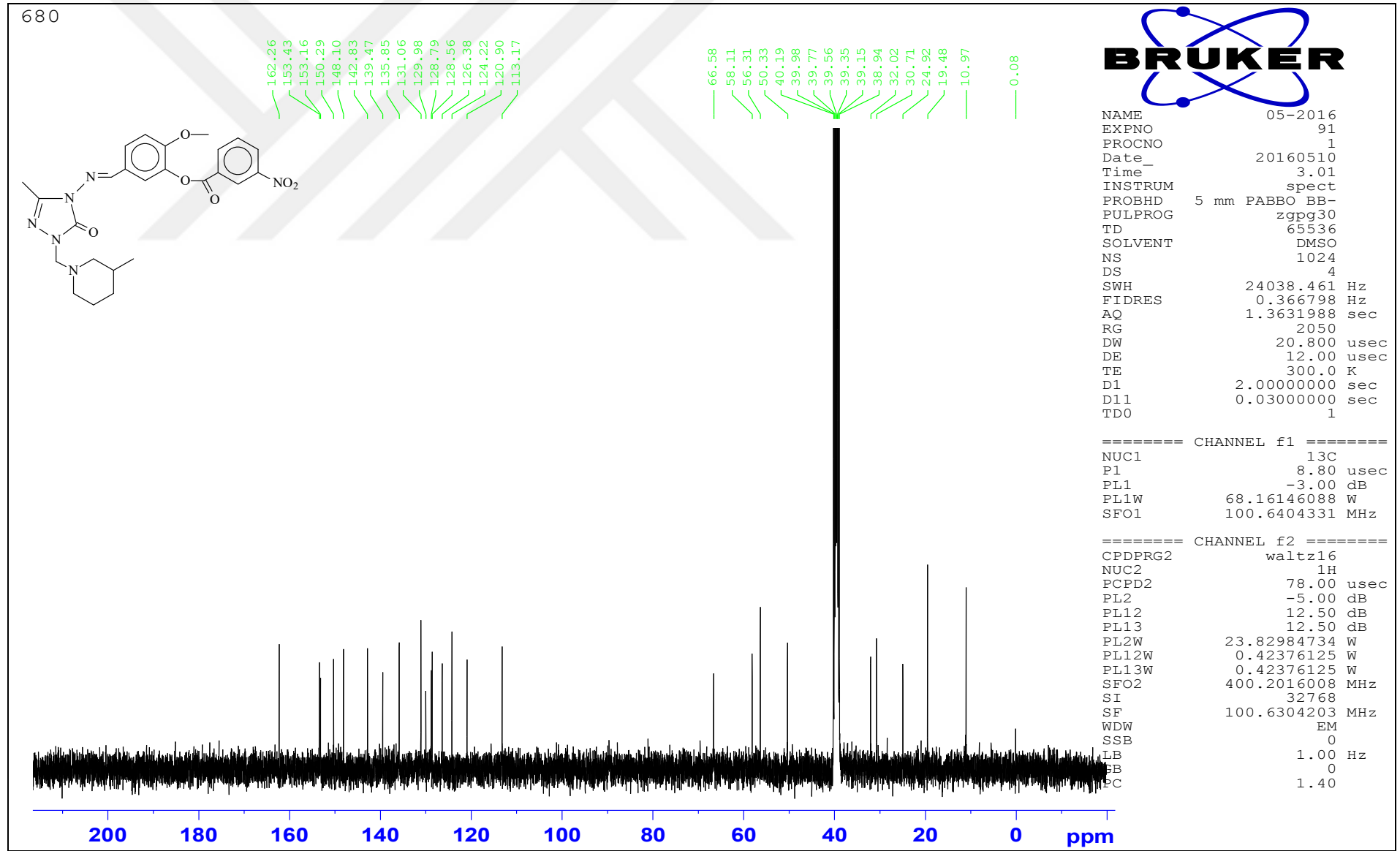
Ek Şekil 14. 16 Bileşiminin ¹H-NMR (DMSO-d₆) spektrumu

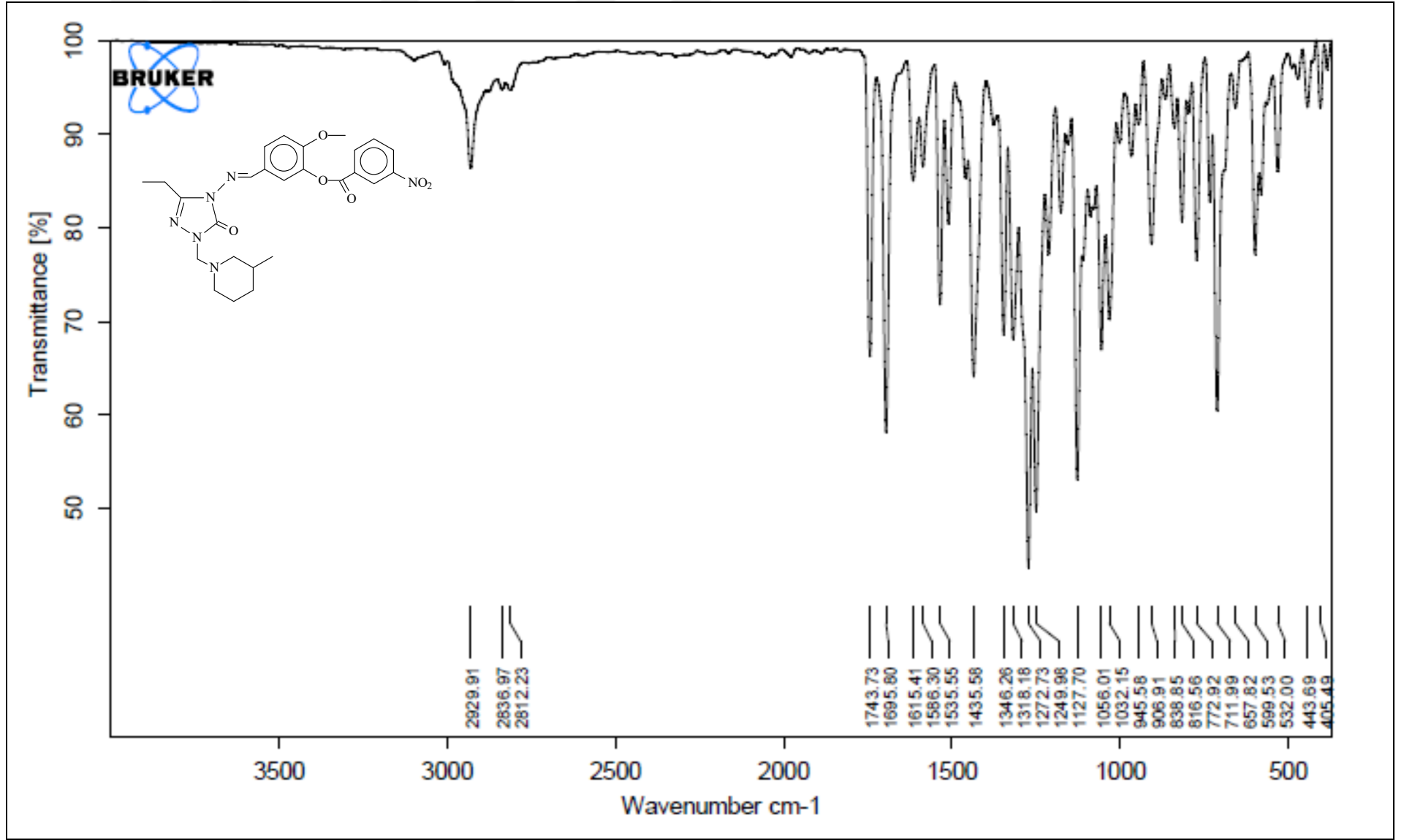
Ek Şekil 15. 16 Bileşiğinin ^{13}C -NMR (DMSO- d_6) spektrumu



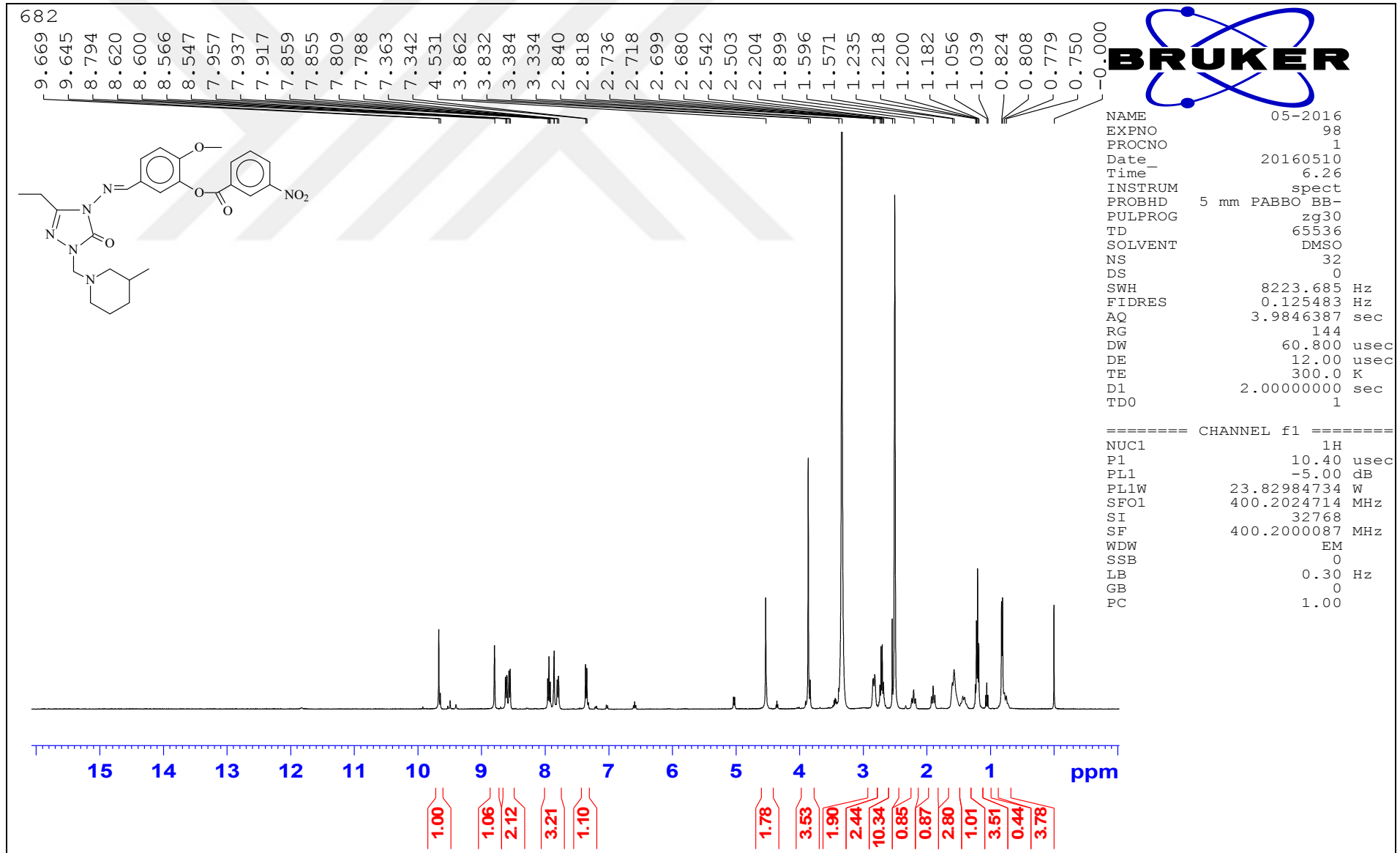
Ek Şekil 16. 18 Bileşiğinin IR spektrumu

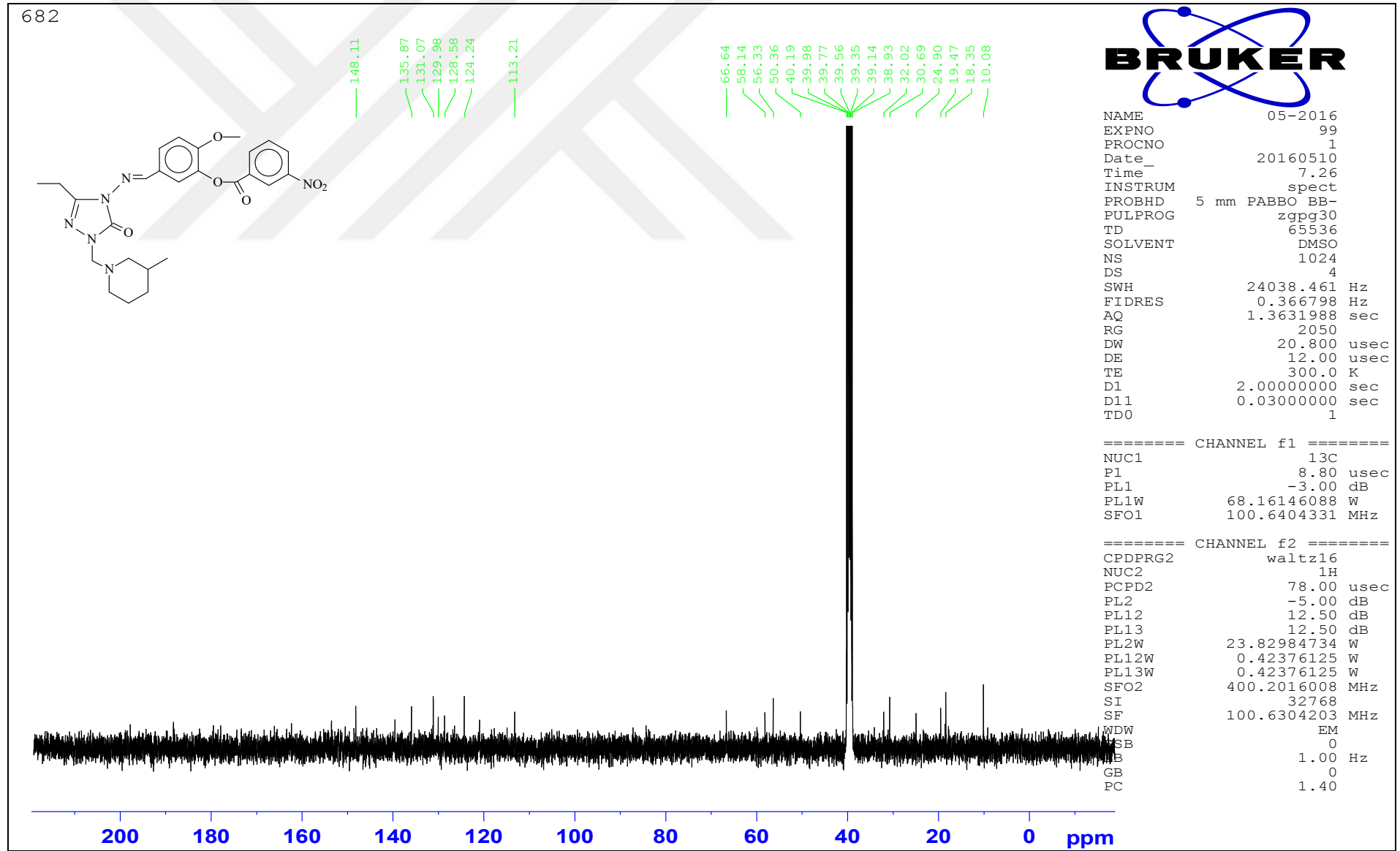
Ek Şekil 17. 18 Bileşinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) spektrumu

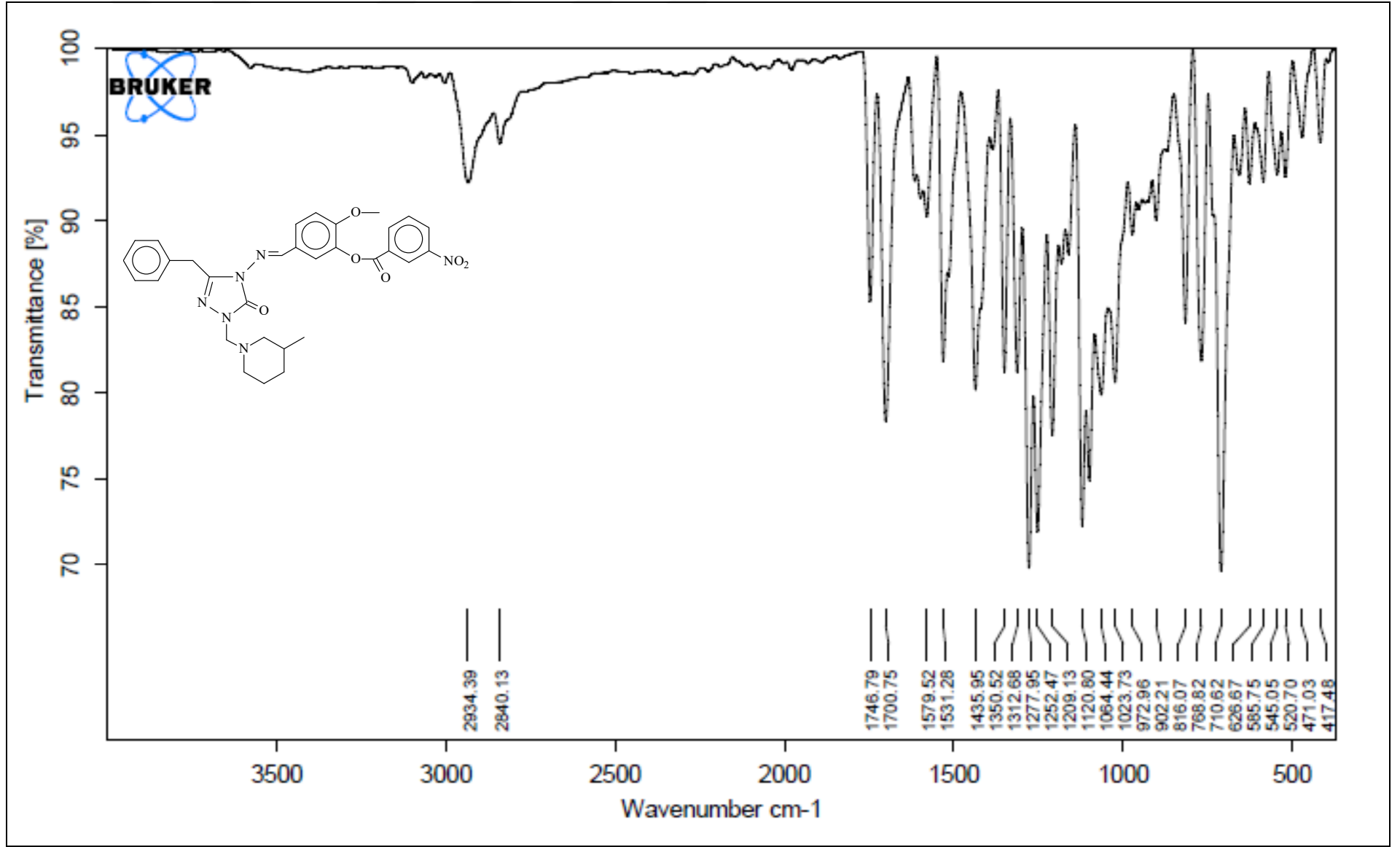
Ek Şekil 18 18 Bileşiğinin ^{13}C -NMR (DMSO- d_6) spektrumu



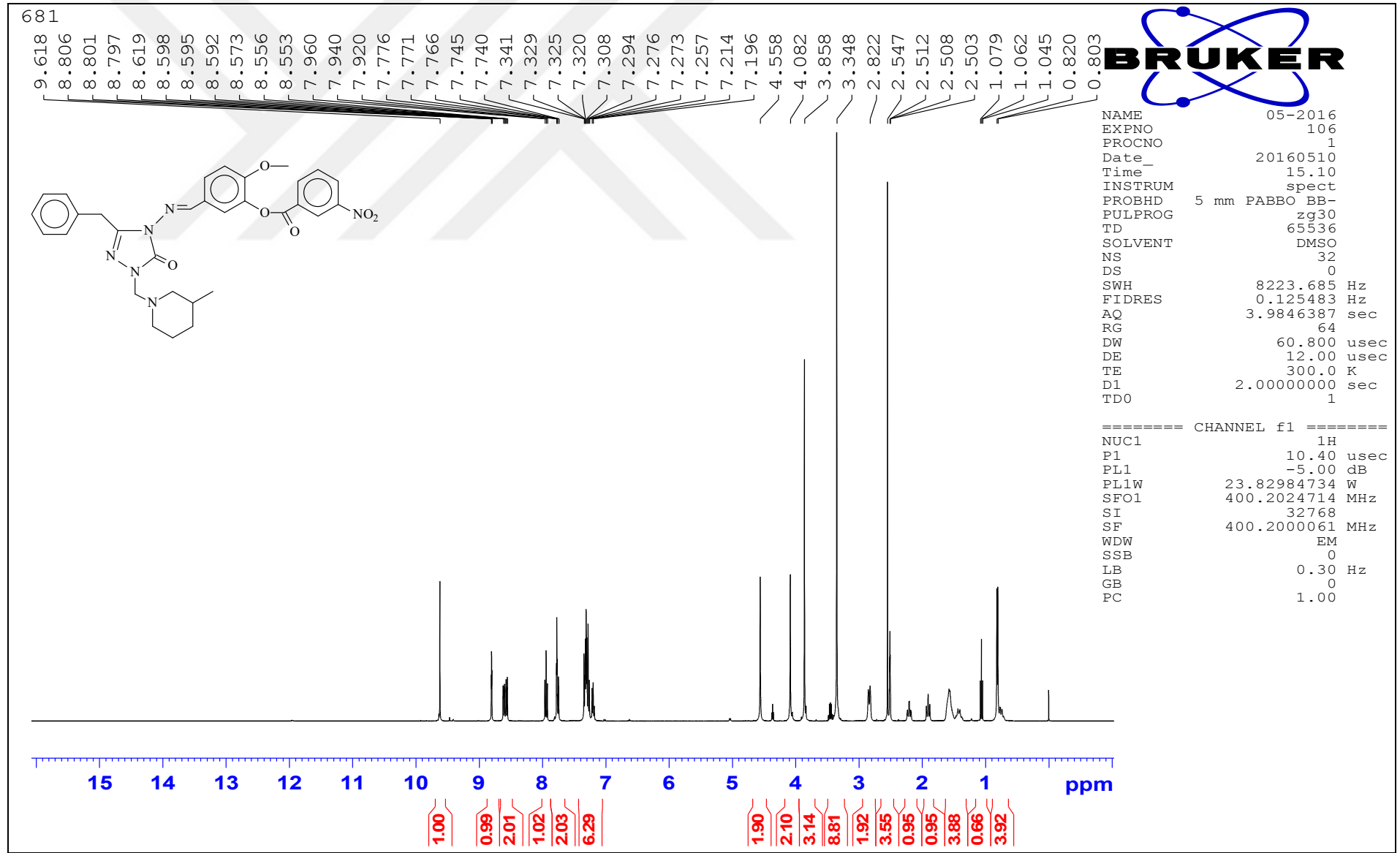
Ek Şekil 16. 19 Bileşiğinin IR spektrumu

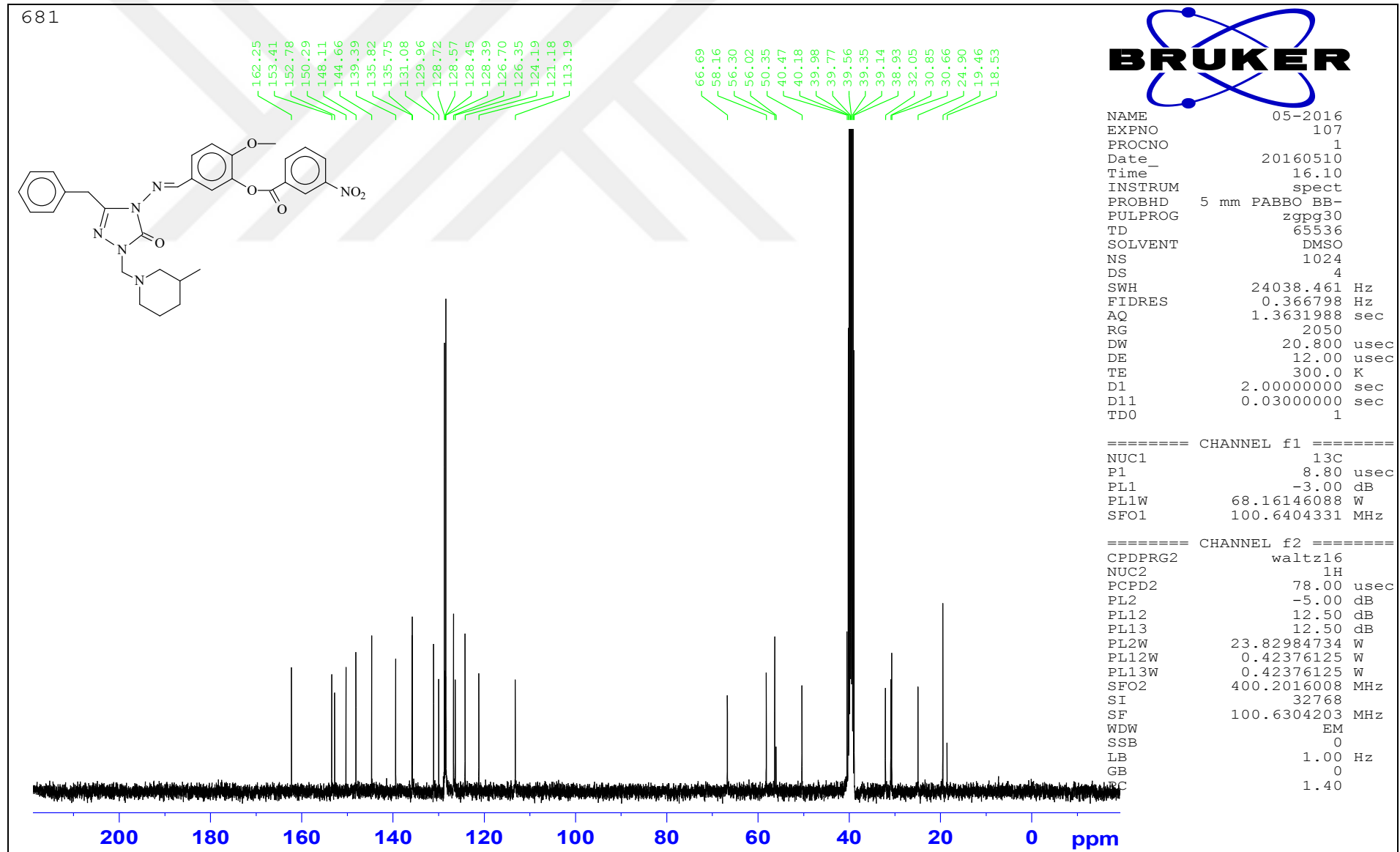
Ek Şekil 16. 19 Bileşiminin ¹H-NMR (DMSO-d₆) spektrumu

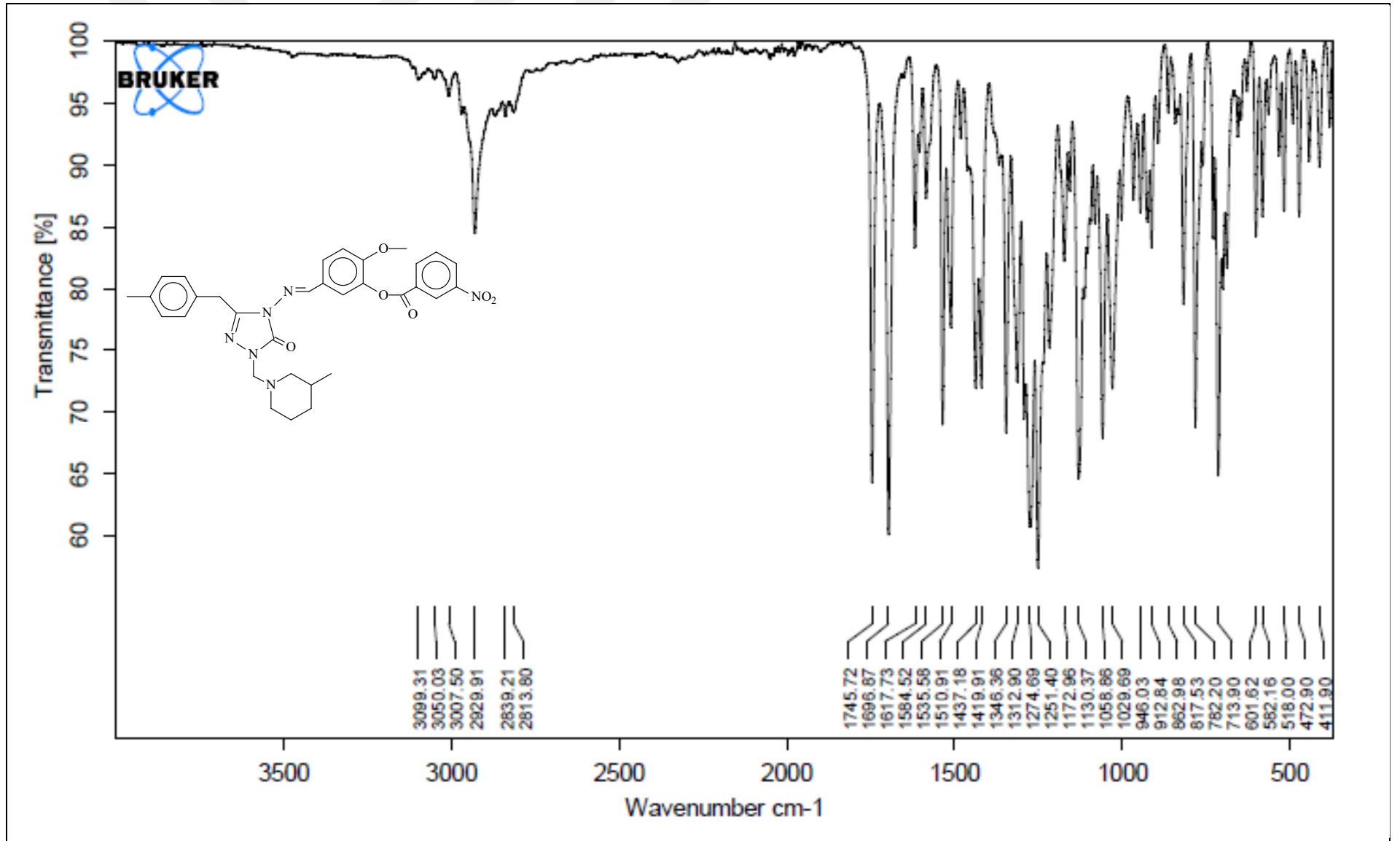
Ek Şekil 16. 19 Bileşiğinin ^{13}C -NMR (DMSO- d_6) spektrumu



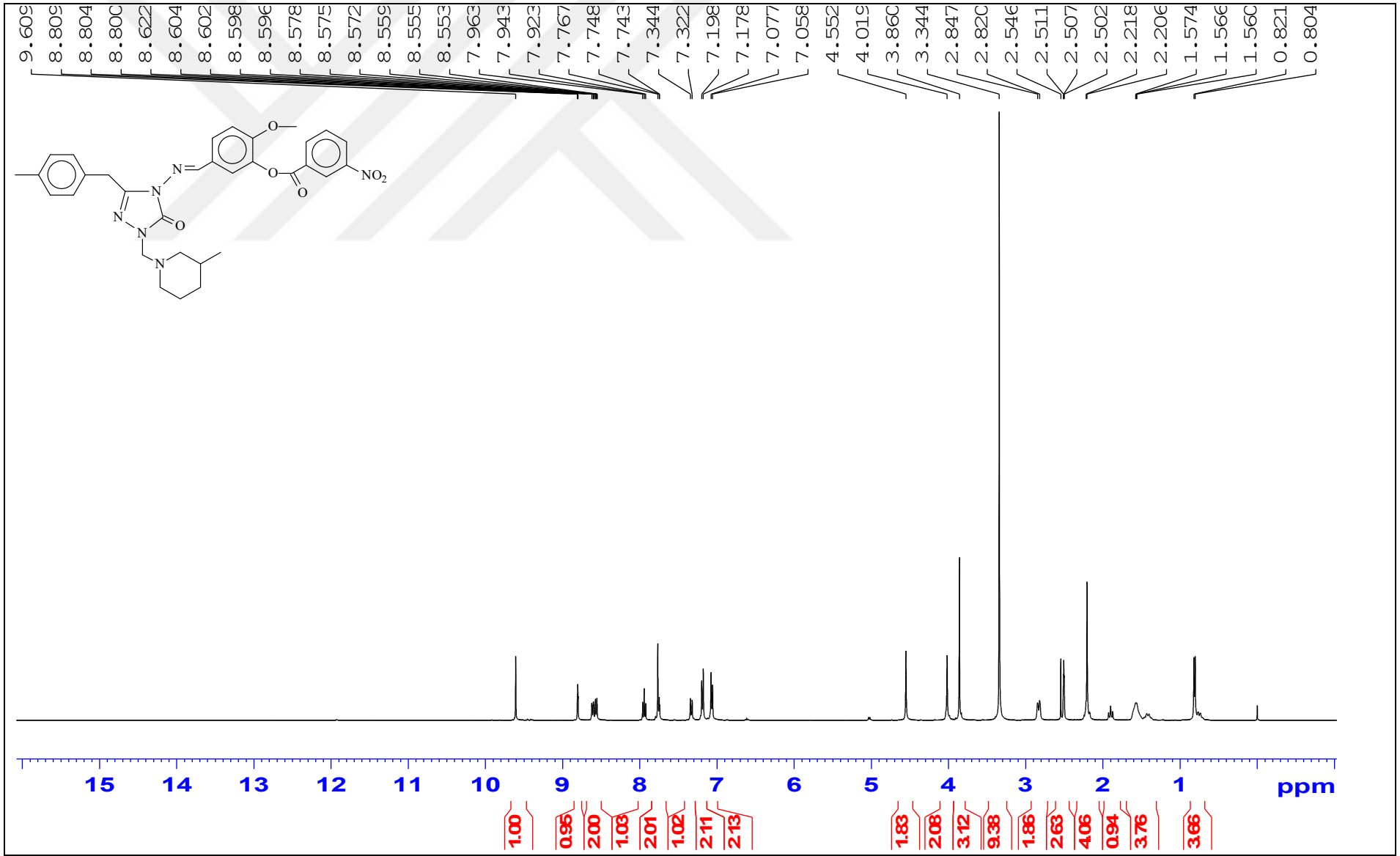
Ek Şekil 22. 20 Bileşiğinin IR spektrumu

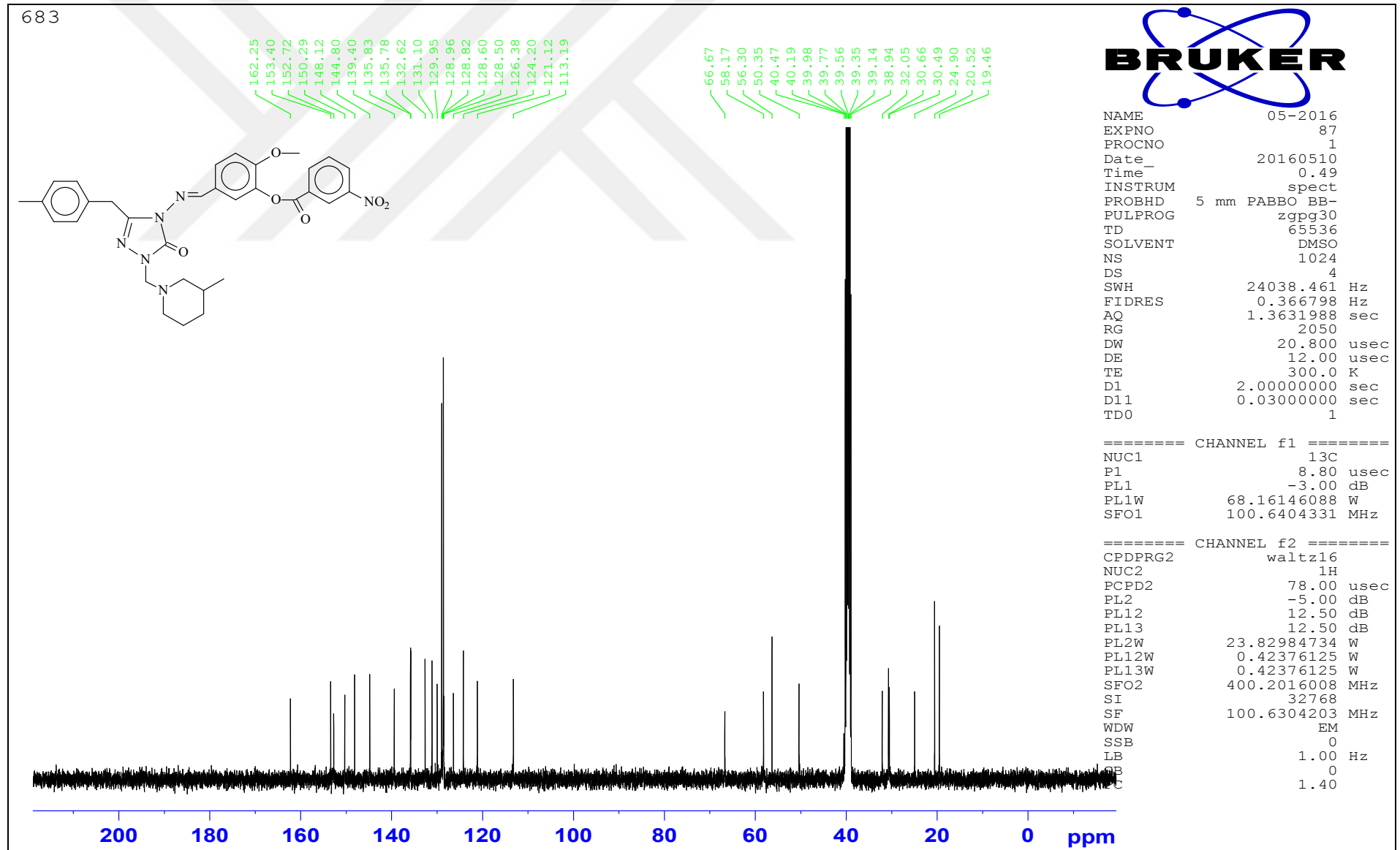
Ek Şekil 23. 20 Bileşiminin ¹H-NMR (DMSO-d₆) spektrumu

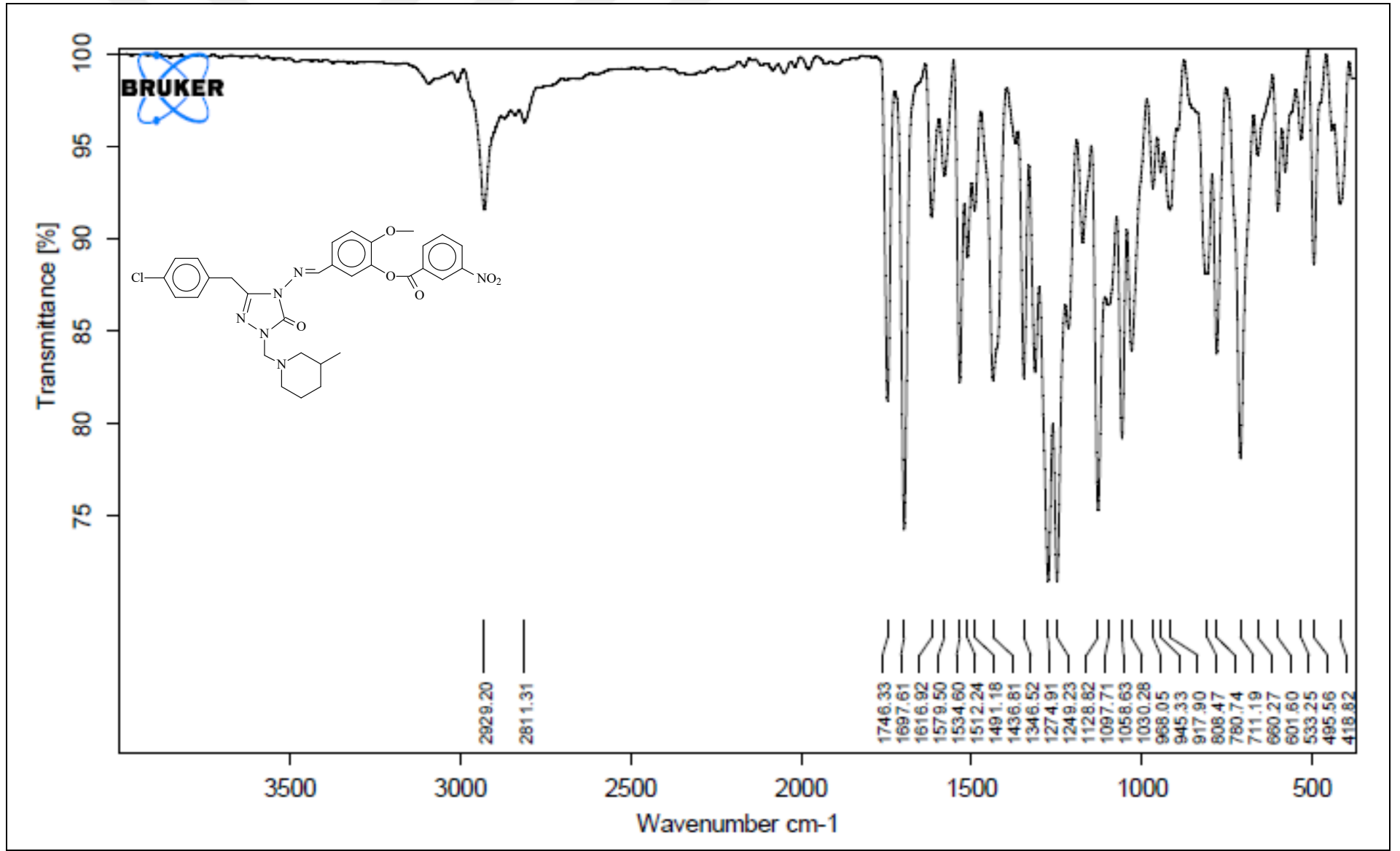
Ek Şekil 24. 20 Bileşiğinin ^{13}C -NMR (DMSO- d_6) spektrumu



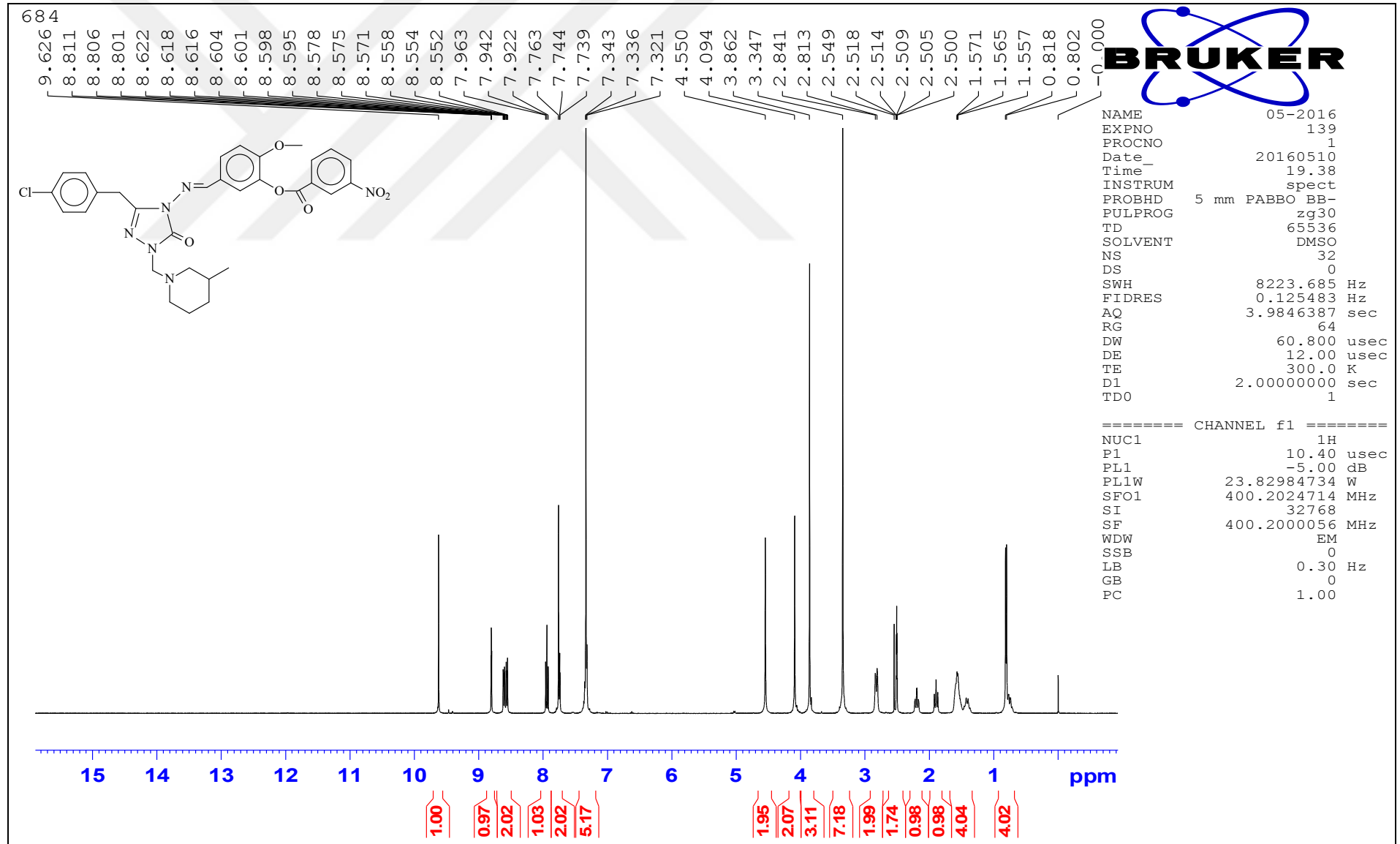
Ek Şekil 25. 21 Bileşiğinin IR spektrumu

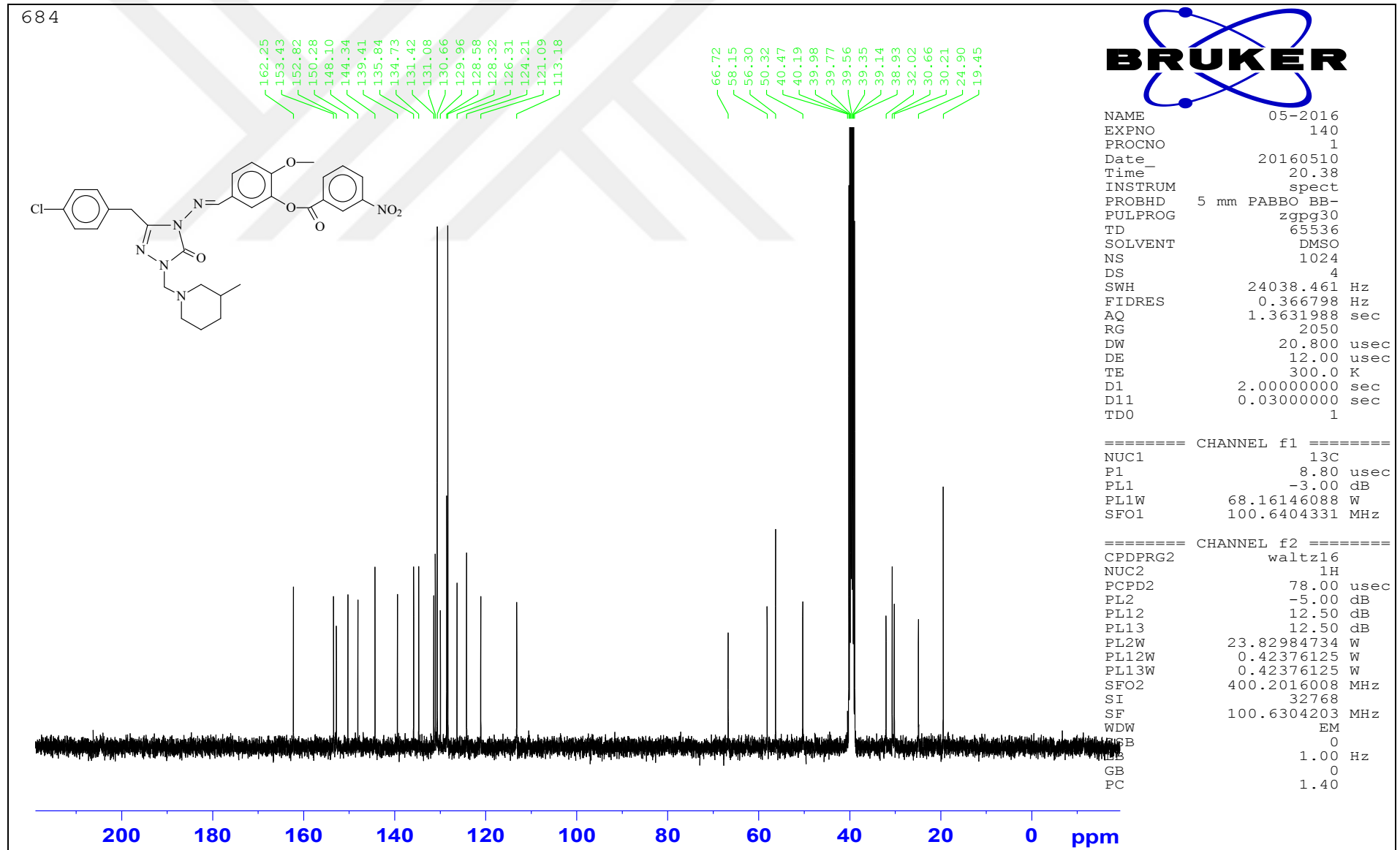
Ek Şekil 26 21 Bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) spektrumu

Ek Şekil 27. 21 Bileşiğinin ^{13}C -NMR (DMSO- d_6) spektrumu



Ek Şekil 28 22 Bileşiğinin IR spektrumu

Ek Şekil 29 22 Bileşiğinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) spektrumu

Ek Şekil 30. 22 Bileşiğinin ^{13}C -NMR (DMSO- d_6) spektrumu

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : EZGİ GÜL GÖKER

Adres : Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Dekanlığı

E posta : ezgigulilgar@gmail.com

Lisans : Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü

Yüksek Lisans Tez Konusu: Bazı Yeni 1-(Morfolin-4-il)metil-3-Alkil(aril)-4-[3-(3-Nitrobenzoksi)-4-Metoksi]benzilidenamino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on'ların Sentezi ve Bazı Özelliklerinin İncelenmesi