

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

**BAZI YENİ 1-ASETİL-3,4-DİSUBSTİTUE-4,5-DİHİDRO-1H-1,2,4-TRİAZOL-5-
ON TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ**

**Memet KARADAĞ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Haydar YÜKSEK**

**ŞUBAT-2015
KARS**

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

**BAZI YENİ 1-ASETİL-3,4-DİSUBSTİTUE-4,5-DİHİDRO-1H-1,2,4-TRİAZOL-5-
ON TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ**

**Memet KARADAĞ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Haydar YÜKSEK**

**ŞUBAT-2015
KARS**

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Memet KARADAĞ'ın Prof.Dr. Haydar YÜKSEK 'in danışmanlığında yüksek lisans tezi olarak hazırladığı "Bazı yeni 1-asetil-3,4-disubstitue-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on türevlerinin sentezi ve biyolojik aktivitelerinin incelenmesi" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy ile kabul edilmiştir.

... / ... / 2015

Adı ve Soyadı

İmza

Başkan : Prof. Dr. Haydar YÜKSEK (Danışman)



Üye : Prof. Dr. Muzaffer ALKAN



Üye : Yrd.Doç.Dr. Murat Tolga KAYALAR



Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ... / ... / 2015 gün ve ...
... / ... sayılı kararıyla onaylanmıştır

Prof. Dr. Muzaffer ALKAN
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

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

Çalışmada, nitrillerden başlanarak sentezlenen 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin benzaldehid türevi ile reaksiyonları sonucu elde edilen bileşiklerin asetik anhidridle muamelesi sonucu *N*-asetil türevli heterosiklik bileşikler elde edilmiştir. Çalışmada sentezlenen bileşiklerin yapı aydınlatmaları çeşitli spektroskopik yöntemler kullanılarak yapılmıştır. Çalışmada ayrıca sentezlenen bileşiklerin üç farklı yöntemle *in-vitro* antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Çalışmada son olarak, sentezlenen bileşiklerinin mikrobiyolojik özellikleri de incelenmiştir.

Çalışmalarımı yönlendiren, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek katkıda bulunan Sayın Hocam Fen-Edebiyat Fakültesi Dekanı Prof. Dr. Haydar YÜKSEK'e şükranlarımı sunarım.

Antioksidan incelemelerinde yardımını esirgemeyen Sayın Hocam, Kimya Bölüm Başkan Yardımcısı Yrd.Doç.Dr. Özlem GÜRSOY KOL'a teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman laboratuvar ekibimizi destekleyen Sayın Hocam, Fen Bilimleri Enstitü Müdürü Prof. Dr. Muzaffer ALKAN'a, tezimin her aşamasında bilgi birikiminden yararlandığım Yrd.Doç. Dr. Murat BEYTUR'a destek olan hocalarım Yrd.Doç.Dr. Onur AKYILDIRIM'a, Uzm. Dr. Hilal MEDETALİBEYOĞLU'na, Dr. Gül KEMER'e, Arş. Gör. Sevda MANAP'a ve tüm araştırma ekibine teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca sürekli yanımda olan anneme, babama ve kardeşlerime teşekkürlerimi sunarım.

Şubat 2015

Memet KARADAĞ

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÖZET	VII
SUMMARY	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
TABLolar DİZİNİ	XI
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XII
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş	1
1.2. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar	16
1.2.1. Oksijen ve Reaktif Oksijen Türleri (ROT)	18
1.2.1.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)	19
1.2.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	20
1.2.1.3. Hidroksil Radikali ($\cdot OH$)	21
1.2.1.4. Singlet Oksijen (1O_2)	22
1.2.1.5. Hipoklorik Asit (HOCl)	22
1.2.1.6. Nitrik Oksit (NO)	22
1.2.2. Serbest Radikallerin Etkileri	23
1.2.2.1. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri	23
1.2.2.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri	23
1.2.2.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitlere ve DNA'ya Etkileri	24
1.2.2.4. Serbest Radikallerin Karbohidratlara Etkisi	24
1.2.3. Antioksidanların Sınıflandırılması	24
1.2.4. Antioksidan Aktivite Tayin Metodları	25
1.2.4.1. HAT-Temelli Metodlar	25
1.2.4.2. ET-Temelli Metodlar	26
1.3. 3-Alkil(Aril)-4-amino-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-on'ların Sentez Yöntemleri ve Reaksiyonları	28
1.3. Antimikrobiyaller	61
1.3.1. Antimikrobiyallerin Sınıflandırılması	62

1.3.1.1.	Yapılarına Göre Antimikrobiyaller	62
1.3.1.2.	Etki Spektrumuna Göre Antimikrobiyaller	63
1.3.1.3.	Hedef Mikroorganizmaya Göre Antimikrobiyaller	63
1.3.1.4.	Etki Mekanizmalarına göre Antimikrobiyaller	66
1.3.2.	Antimikrobiyal Direnç	67
1.3.2.1.	Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları	68
1.3.3.	Antimikrobiyallerin Geleceği ve Direncin Önlenmesi	69
1.3.4.	Antimikrobiyal Aktivite Düzeyinin Belirlenmesi	70
1.3.5.	Antimikrobiyal Aktiviteyle İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar	71
1.4.	Yeni Bileşiklerin Sentezi	77
2.	MATERYAL VE YÖNTEM	80
2.1.	Sentez	80
2.1.1.	1-Asetil-3-metil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (128)	82
2.1.2.	1-Asetil-3-etil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (129)	83
2.1.3.	1-Asetil-3-benzil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (130)	84
2.1.4.	1-Asetil-3- <i>p</i> -metilbenzil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (131)	84
2.1.5.	1-Asetil-3- <i>p</i> -klorobenzil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (132)	85
2.1.6.	1-Asetil-3-fenil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (133)	86
2.2.	Yeni Maddelerin Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi	87
2.2.1.	İndirgeme Gücü	87
2.2.2.	Serbest Radikal Giderme Aktivitesi	88
2.2.3.	Metal Şelat Aktivitesi	89
2.3.	Antimikrobiyal Aktivite Tayini	90
2.3.1.	Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu	90

3.	BULGULAR	91
3.1.	Sentezlenen Bileşiklerin IR, ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR ve UV Spektrum Verileri	91
3.2.	Antioksidan İncelemeleri	95
3.2.1.	İndirgeme Gücü	95
3.2.2.	Serbest Radikal Giderme Aktivitesi	96
3.2.3.	Metal Şelat Aktivitesi	96
3.3.	Antimikrobiyal İncelemeleri	97
4.	SONUÇLAR VE TARTIŞMA	99
4.1.	Sentezlenen Bileşiklere Ait Spektrum Verilerinin Yorumlanması	99
4.2.	Antioksidan İncelemesi Sonuçlarının Değerlendirilmesi	100
4.2.1.	İndirgeme Gücü	100
4.2.2.	Serbest Radikal Giderme Aktivitesi	100
4.2.3.	Metal Şelat Aktivitesi	101
4.3.	Antimikrobiyal Etkinlik Sonuçlarının Değerlendirilmesi	102
5.	KAYNAKLAR	110
6.	EKLER	119
7.	ÖZGEÇMİŞ	144

ÖZET

Bu çalışmada, öncelikle çalışma için gerekli olan 6 adet 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşiği sentezlenmiştir. Sonra bu bileşiklerin 2-hidroksi-3-metoksibenzaldehid'in trietilamin varlığında 4-nitrobenzoil klorür ile reaksiyonundan sentezlenen 2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzaldehid ile muamelesinden 6 adet 3-alkil(aril)-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri elde edilmiştir.

Çalışmanın orjinal bölümünde, 3-alkil(aril)-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin asetik anhidrid ile reaksiyonundan 6 adet yeni 1-asetil-3-alkil(aril)-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri sentezlenmiştir.

Çalışmanın ikinci bölümünde sentezlenen 6 yeni bileşiğin yapıları IR, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektroskopik yöntemleri kullanılarak aydınlatılmıştır. Ayrıca, bileşiklerin UV spektrumları alınmış, λ_{max} değerlerine karşın gelen ϵ değerleri hesaplanmıştır.

Daha sonra çalışmada sentezlenen 6 yeni bileşiğin üç farklı yöntemle (indirgeme gücü, serbest radikal giderme aktivitesi ve metal şelat aktivitesi) antioksidan aktiviteleri incelenmiş, grafikleri çizilmiş ve sonuçlar yorumlanmıştır.

Çalışmada son olarak, sentezlenen 6 yeni bileşiğin antimikrobiyal özellikleri de incelenmiştir.

2015, 143

Anahtar Kelimeler: 4,5-Dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on, Schiff bazı, asetillendirme, antioksidan, antimikrobiyal

SUMMARY

In this study, firstly six 3-alkyl(aryl)-4-amino-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-one compounds requiring for this study were synthesized. Then, from the reactions of these compounds with 2-(4-nitrobenzoxy)-3-methoxybenzaldehyde which was synthesized by the reaction of 2-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde with 4-nitrobenzoyl chloride by using triethylamine, was investigated and six 3-alkyl(aryl)-4-[2-(4-nitrobenzoxy)-3-methoxybenzylidenamino]-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-one compounds were obtained.

In the originaly section of the study, 3-alkyl(aryl)-4-[2-(4-nitrobenzoxy)-3-methoxybenzylidenamino]-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-ones were treated with acetic anhydride and six novel 1-acetyl-3-alkyl(aryl)-4-[2-(4-nitrobenzoxy)-3-methoxybenzylidenamino]-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-one compounds were synthesized.

In the second part of the study, the structures of six new compounds were characterized by using IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR spectra. Furthermore, UV spectrums of seven new compounds were investigated and λ_{\max} and ϵ values were calculated.

In third part of the study, six new compounds synthesized were analyzed for their antioxidant activities in three different methods (reducing power, free radical scavenging and metal chelating activity), were drawn their graphs and their results were interpreted.

In the study, finally, antimicrobial properties of synthesized six novel compounds were investigated.

2015, 143 pages

Key Words 4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-one, Schiff Base, acetylation, antioxidant, antimicrobial

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1.	127 Tipi Bileşiklerin Konsantrasyona Karşı % Serbest Radikal Giderme Aktiviteleri	101
Şekil 4.2.	127 Tipi Bileşiklerin Konsantrasyona Karşı % Metal Şelat Aktiviteleri	102
Şekil 4.3.	Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu Uygulanmış Analiz Petri Kab (Antimikrobiyal etkinlik yok) (Örnek)	103
Şekil 4.4.	Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu Uygulanmış Analiz Petri Kab (Antimikrobiyal etkinlik var) (Örnek)	103
Şekil 4.5.	128 (H10), 130 (H11) ve 133 (H12) bileşiklerinin <i>Bacillus Substilis</i> 'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı	104
Şekil 4.6.	129 (H13), 131 (H14) ve 132 (H15) bileşiklerinin <i>Bacillus Substilis</i> 'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabi	105
Şekil 4.7.	128 (H10), 130 (H11) ve 133 (H12) bileşiklerinin <i>Yersinia enterocolitca</i> 'ya karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı	105
Şekil 4.8.	129 (H13), 131 (H14) ve 132 (H15) bileşiklerinin <i>Yersinia enterocolitca</i> 'ya karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabi	106
Şekil 4.9.	128 (H10), 130 (H11) ve 133 (H12) bileşiklerinin <i>Bacillus cereus</i> 'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı	106
Şekil 4.10.	129 (H13), 131 (H14) ve 132 (H15) bileşiklerinin <i>Bacillus cereus</i> 'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı	107
Şekil 4.11.	128 (H10), 130 (H11) ve 133 (H12) bileşiklerinin <i>Staphylococcus aureus</i> 'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı	107
Şekil 4.12.	129 (H13), 131 (H14) ve 132 (H15) bileşiklerinin	

	<i>Staphylococcus aureus</i> 'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uydulanmış petri kabı	108
Şekil 4.13.	128 (H10), 130 (H11) ve 133 (H12) bileşiklerinin <i>Escherichia coli</i> 'ye karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uydulanmış petri kabı	108
Şekil 4.14.	129 (H13), 131 (H14) ve 132 (H15) bileşiklerinin <i>Escherichia coli</i> 'ye karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uydulanmış petri kabı	109
Ek Şekil 1.	128 Bileşiğinin IR Spektrumu	120
Ek Şekil 2.	128 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	121
Ek Şekil 3.	128 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	122
Ek Şekil 4.	128 Bileşiğinin UV Spektrumu	123
Ek Şekil 5.	129 Bileşiğinin IR Spektrumu	124
Ek Şekil 6.	129 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	125
Ek Şekil 7.	129 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	126
Ek Şekil 8.	129 Bileşiğinin UV Spektrumu	127
Ek Şekil 9.	130 Bileşiğinin IR Spektrumu	128
Ek Şekil 10.	130 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	129
Ek Şekil 11.	130 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	130
Ek Şekil 12.	130 Bileşiğinin UV Spektrumu	131
Ek Şekil 13.	131 Bileşiğinin IR Spektrumu	132
Ek Şekil 14.	131 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	133
Ek Şekil 15.	131 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	134
Ek Şekil 16.	131 Bileşiğinin UV Spektrumu	135
Ek Şekil 17..	132 Bileşiğinin IR Spektrumu	136
Ek Şekil 18..	132 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	137
Ek Şekil 19.	132 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	138
Ek Şekil 20.	132 Bileşiğinin UV Spektrumu	139
Ek Şekil 21.	133 Bileşiğinin IR Spektrumu	140
Ek Şekil 22.	133 Bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	141
Ek Şekil 23.	133 Bileşiğinin ¹³ C-NMR (DMSO-d ₆) Spektrumu	142
Ek Şekil 24.	133 Bileşiğinin UV Spektrumu	143

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1.1.	Formüller Tablosu	2
Tablo 2.1.	İndirgeme Gücü Tayininde İlave Edilen Reaktif Miktarları	87
Tablo 2.2.	Serbest Radikal Giderme Tayininde İlave Edilen Reaktif Miktarları	88
Tablo 2.3.	Metal Şelat Aktivitesi Tayininde İlave Edilen Reaktif Miktarları	89
Tablo 3.1.	127 Tipi Bileşiklerin IR Spektrum Verileri (cm^{-1})	92
Tablo 3.2.	127 Tipi bileşiklerin $^1\text{H-NMR}$ spektrum verileri (DMSO- d_6 , δ/ppm)	93
Tablo 3.3.	127 Tipi bileşiklerin $^{13}\text{C-NMR}$ spektrum verileri (DMSO- d_6 , δ/ppm)	94
Tablo 3.4.	127 Tipi bileşiklerin UV spektrum verileri	95
Tablo 3.5.	127 Tipi Bileşiklerin İndirgeme Gücü	95
Tablo 3.6.	127 Tipi Bileşiklerin Absorbans Değerleri ve Karşın Olan % Serbest Radikal Giderme Aktiviteleri	96
Tablo 3.7.	127 Tipi Bileşiklerin Absorbans Değerleri ve Karşın Olan % Metal Şelat Aktiviteleri	97
Tablo 3.8.	127 Tipi Bileşiklerin Bakterilere Karşın ZON çap değerleri	98

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	: Absorbans
Δ	: Kimyasal kayma (ppm)
E	: Molar absorbtivite katsayısı
Λ	: Dalga boyu (nm)
N	: Dalga sayısı (cm^{-1})
IR	: Infrared
NMR	: Nükleer magnetik rezonans
UV	: Ultraviyole
TMS	: Tetrametilsilan
DMSO	: Dimetilsülfoksit
ROT	: Reaktif oksijen türleri
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikril-hidrazil
ABTS	: 2,2'-Azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat)
TCA	: Trikloroasetik asit
Ferrozin	: 3-(2-Piridil)-5,6-difenil-1,2,4-triazin-4',4''-disulfonik asit sodyum tuzu

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

“Bazı yeni 1-Asetil-3,4-disubstitue-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on türevlerinin sentezi ve biyolojik aktivitelerinin incelenmesi” başlıklı bu çalışmada, öncelikle karşın olan nitrillerden başlanarak literatürde kayıtlı yöntemler kullanılarak sentezlenen 6 adet iminoester hidroklorürün soğuk mutlak etanollü ortamda etil karbazat ile reaksiyonundan 6 adet ester etoksikarbonilhidrazon bileşiği elde edilmiştir. Bunların da kaynar sulu ortamda hidrazin hidrat ile reaksiyonundan yine literatürde kayıtlı 6 adet 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on bileşiği sentezlenmiştir.

Sentez bölümünde 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin 2-hidroksi-3-metoksibenzaldehidin trietilaminli ortamda 4-nitrobenzoil klorür ile muamelesinden sentezlenen 2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzaldehid ile reaksiyonundan, literatürde kayıtlı olan 6 adet 3-alkil(aril)-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri elde edilmiştir.

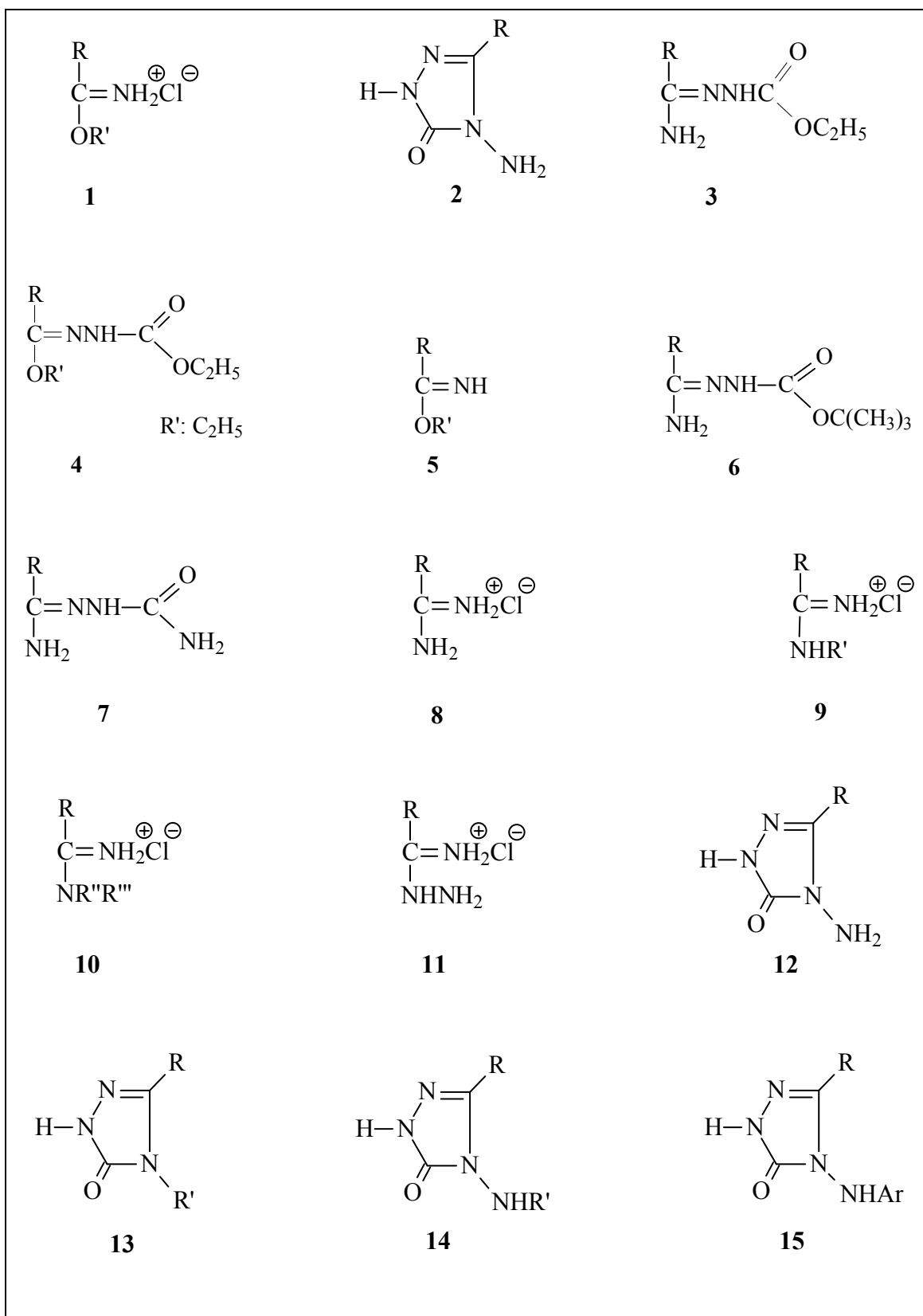
Çalışmanın orijinal bölümünde bu bileşiklerin asetik anhidrid ile reaksiyonları incelenerek 6 adet yeni 1-asetil-3-alkil(aril)-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri elde edilmiş ve yapıları spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır.

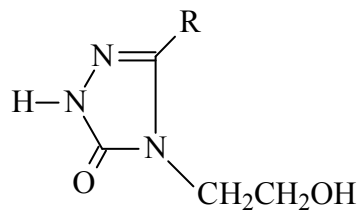
Çalışmada ayrıca, sentezlenen yeni bileşiklerin indirgeme gücü, serbest radikal giderme aktivitesi ve metal şelat aktivitesi yöntemleri ile *in-vitro* antioksidan özellikleri incelenmiştir.

Çalışmada son olarak, sentezlenen 6 yeni bileşiğin mikrobiyolojik özellikleri de incelenmiştir.

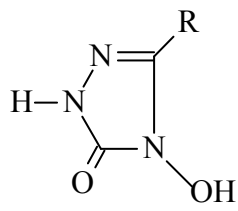
Çalışma ile ilgili literatürde kayıtlı bileşikler ile çalışmada sentezlenen yeni bileşikler Tablo 1.1.'de “**Formüller Tablosu**” başlığı altında verilmiştir.

Tablo 1.1. Formüller Tablosu

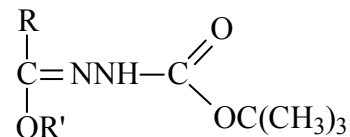




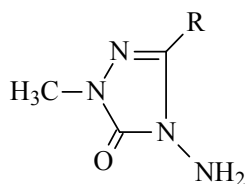
16



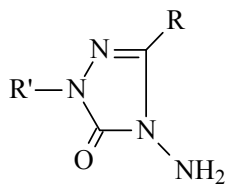
17



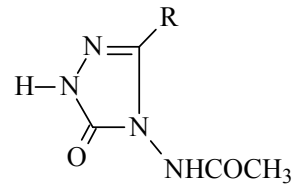
18



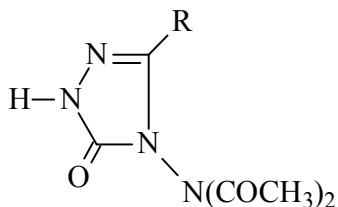
19



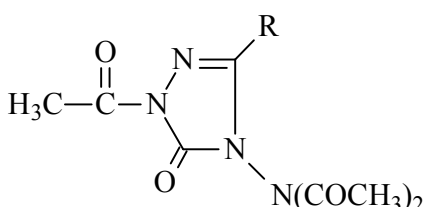
20



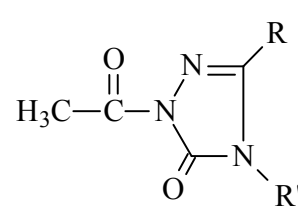
21



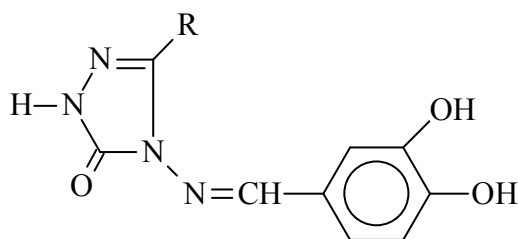
22



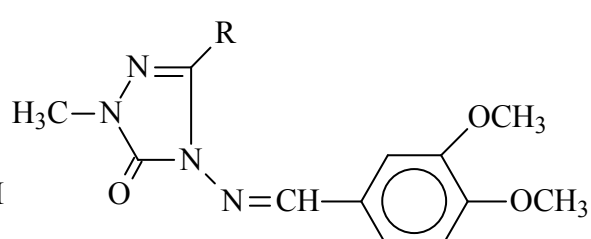
23



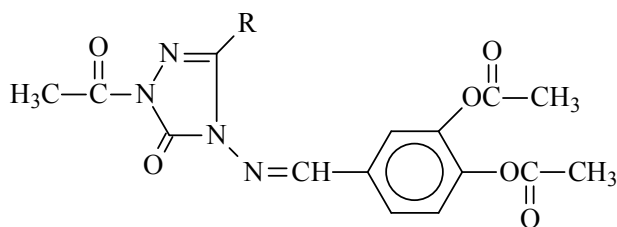
24



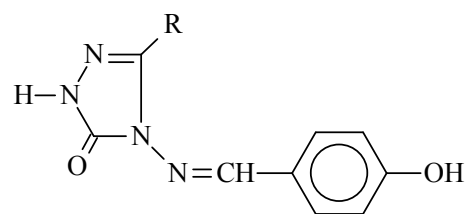
25



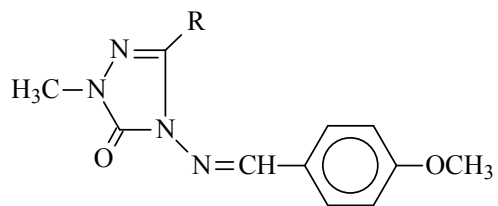
26



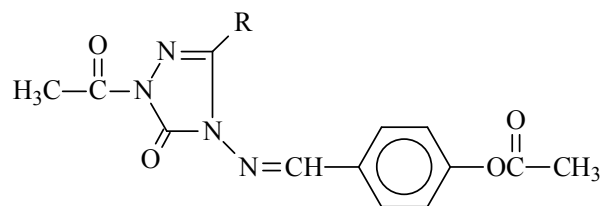
27



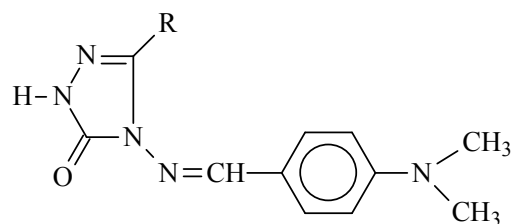
28



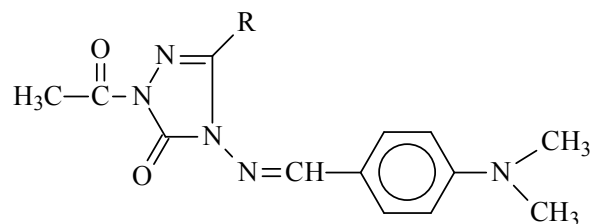
29



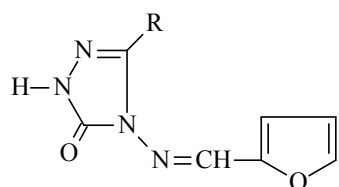
30



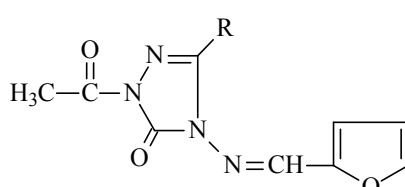
31



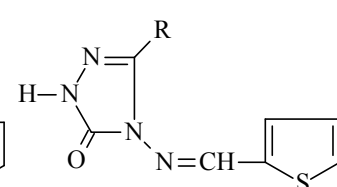
32



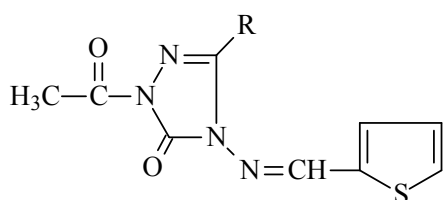
33



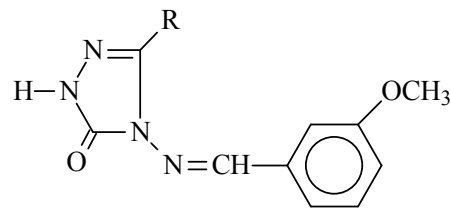
34



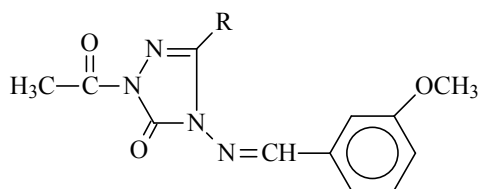
35



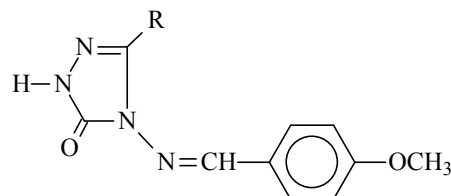
36



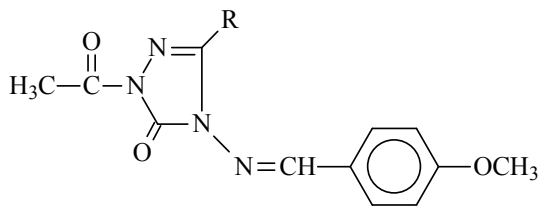
37



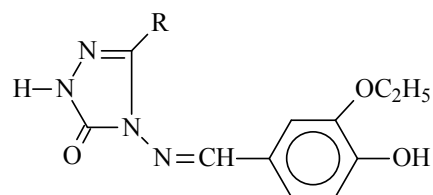
38



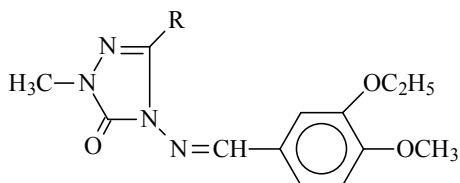
39



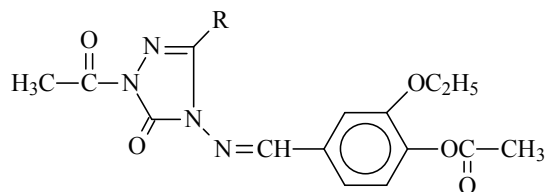
40



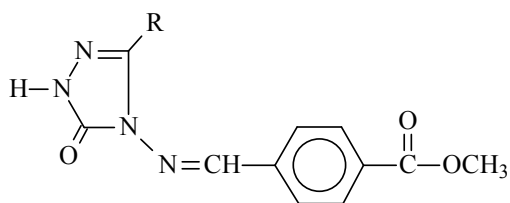
41



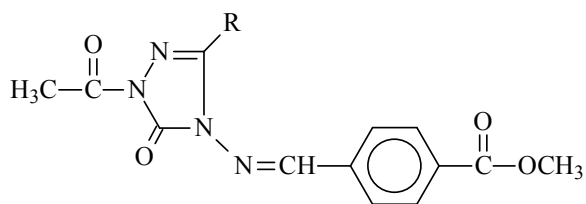
42



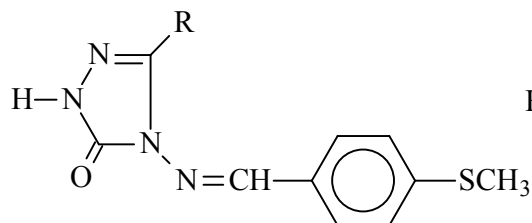
43



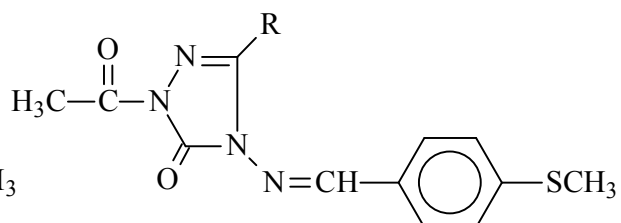
44



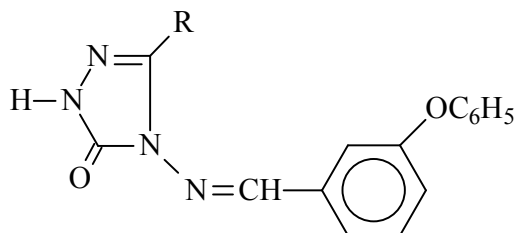
45



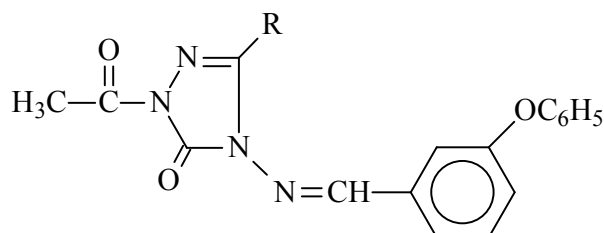
46



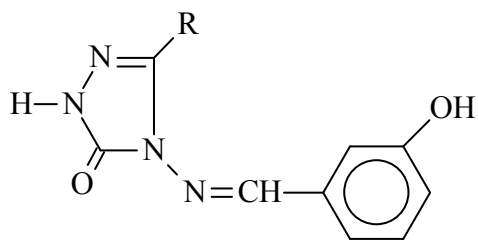
47



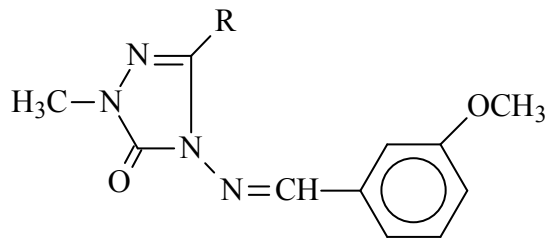
48



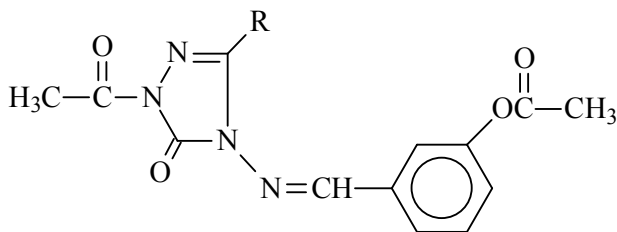
49



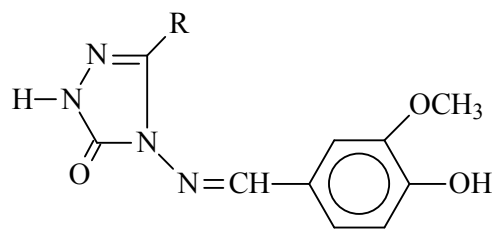
50



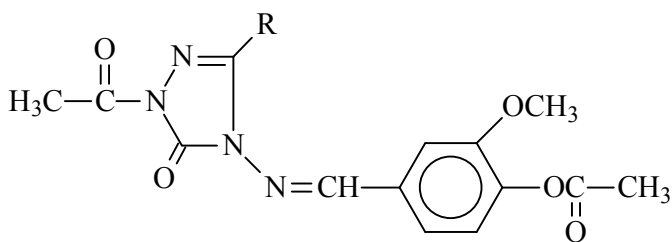
51



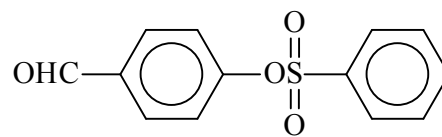
52



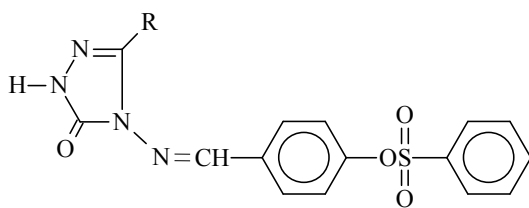
53



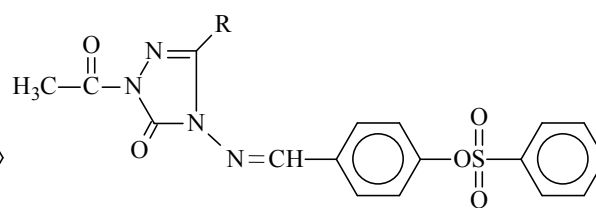
54



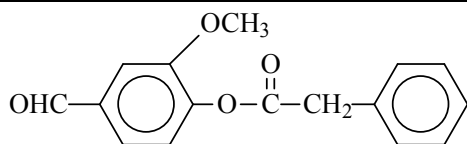
55



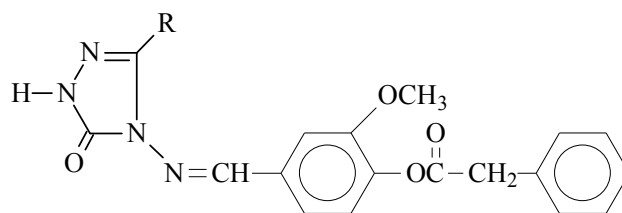
56



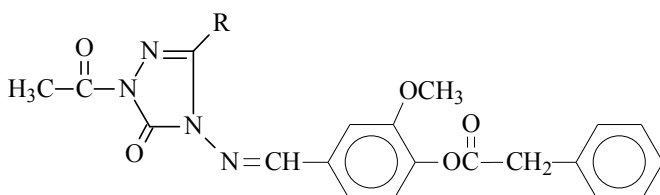
57



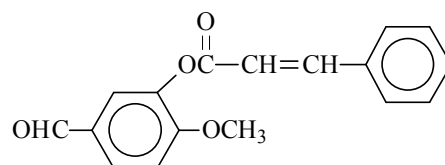
58



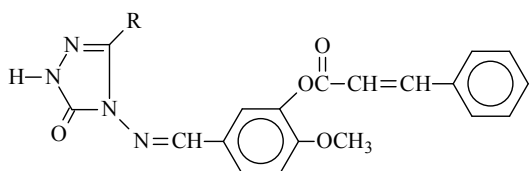
59



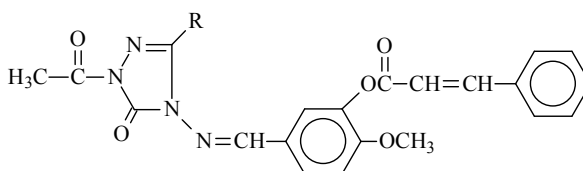
60



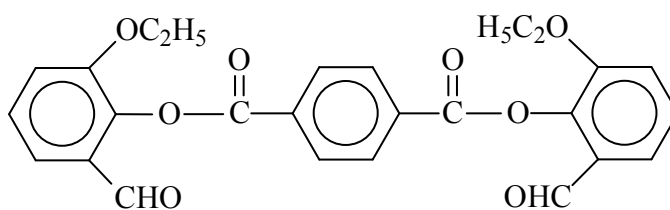
61



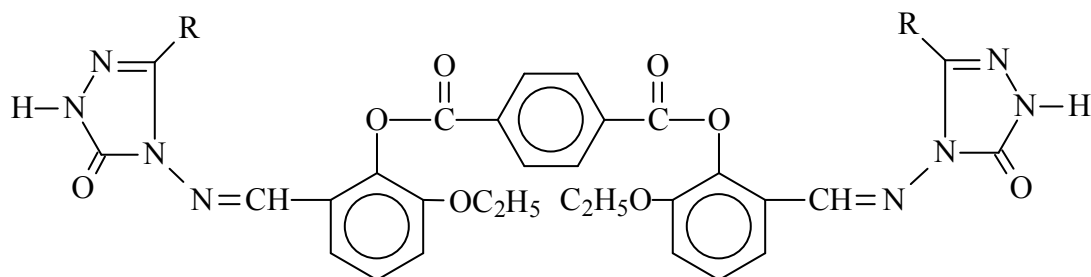
62



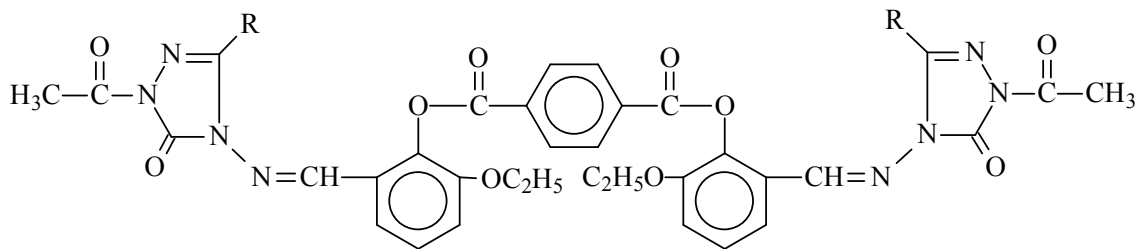
63



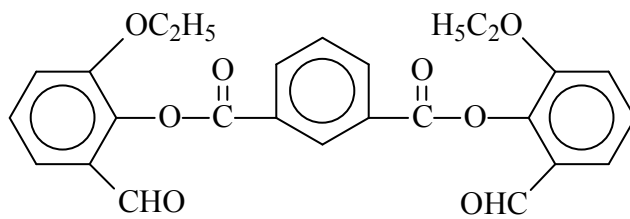
64



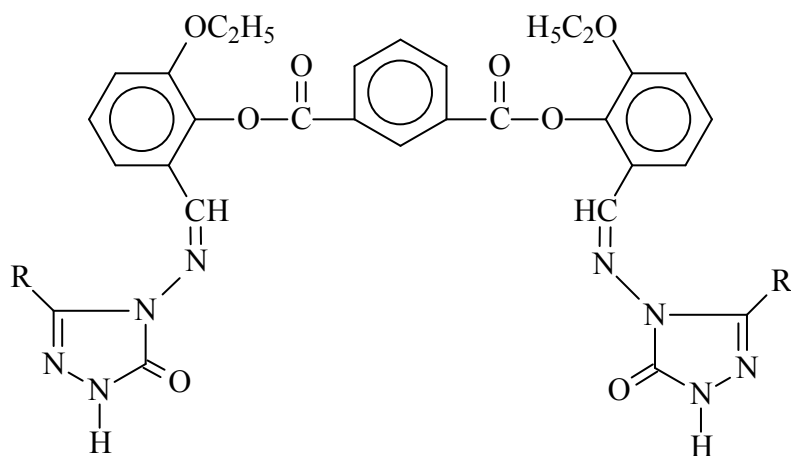
65



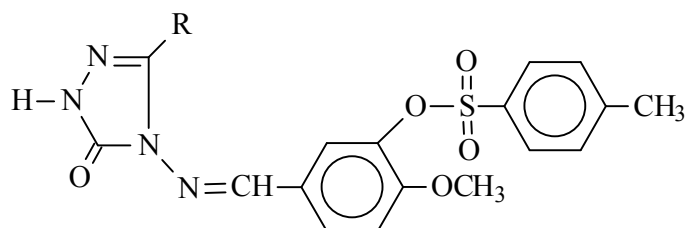
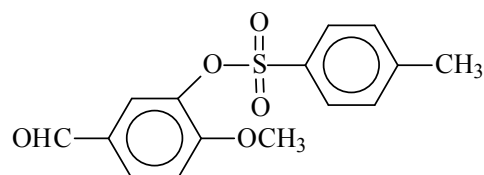
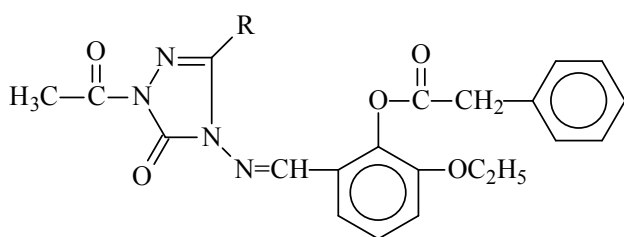
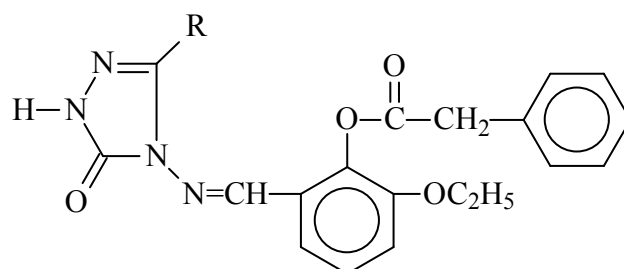
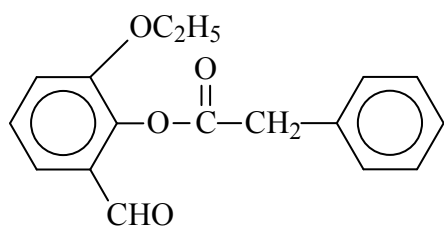
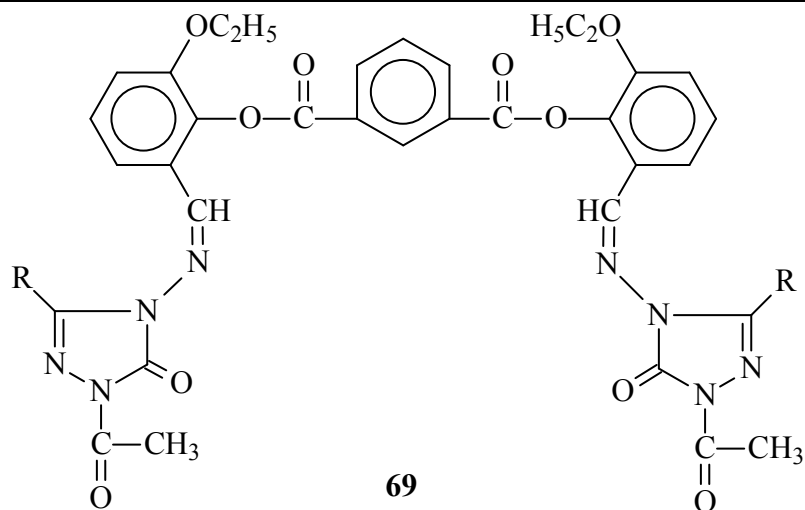
66

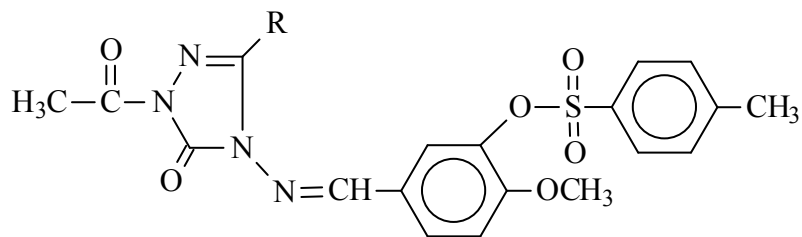


67

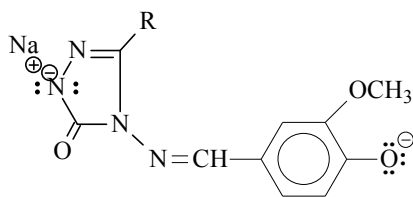


68

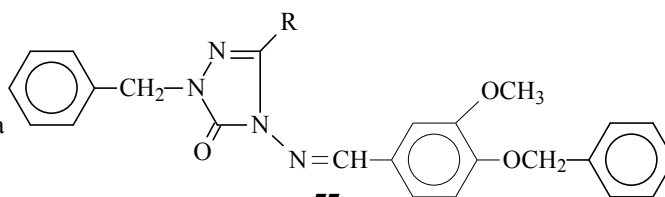




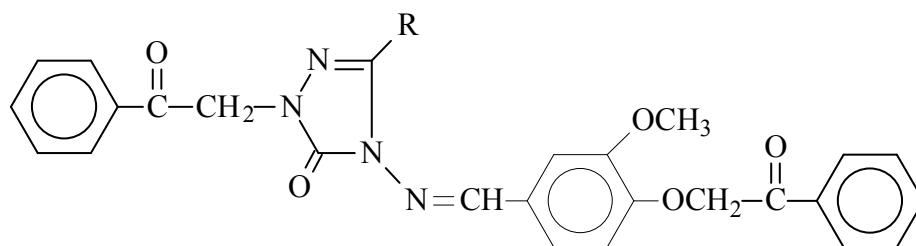
75



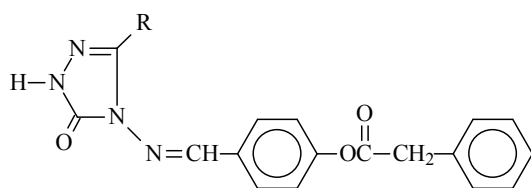
76



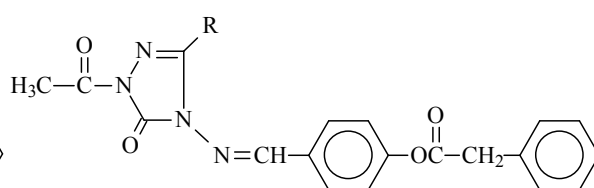
77



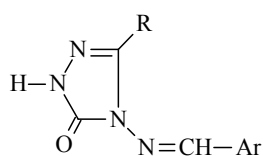
78



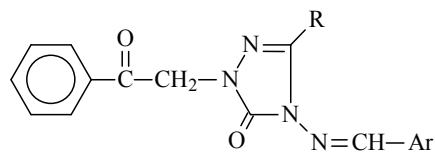
79



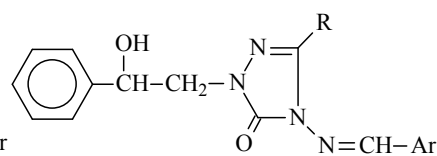
80



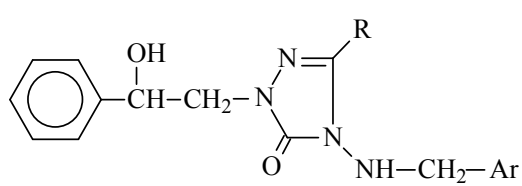
81



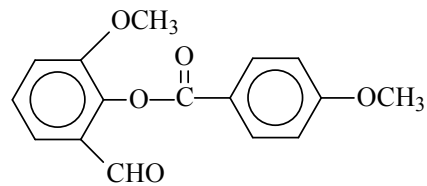
82



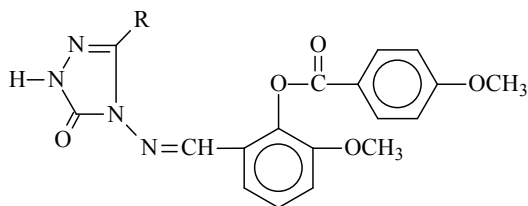
83



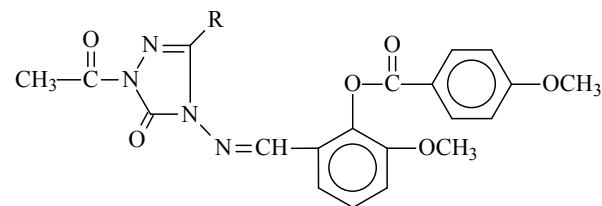
84



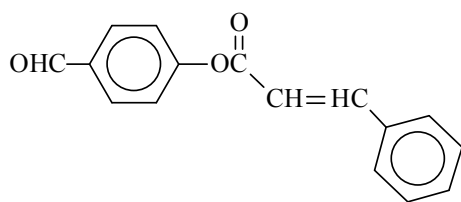
85



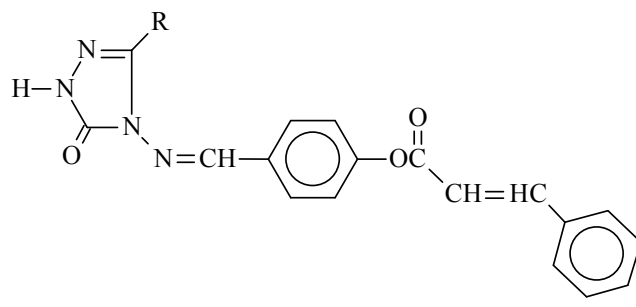
86



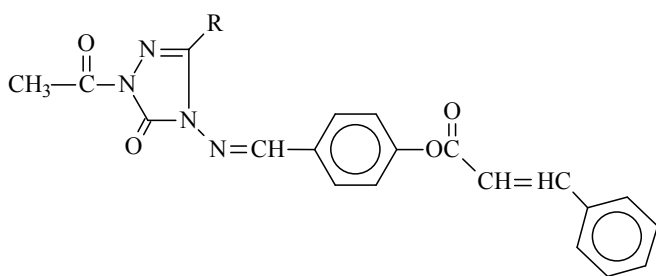
87



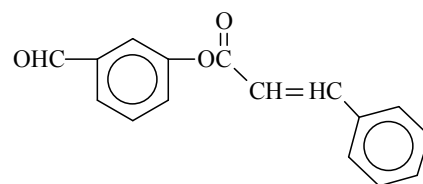
88



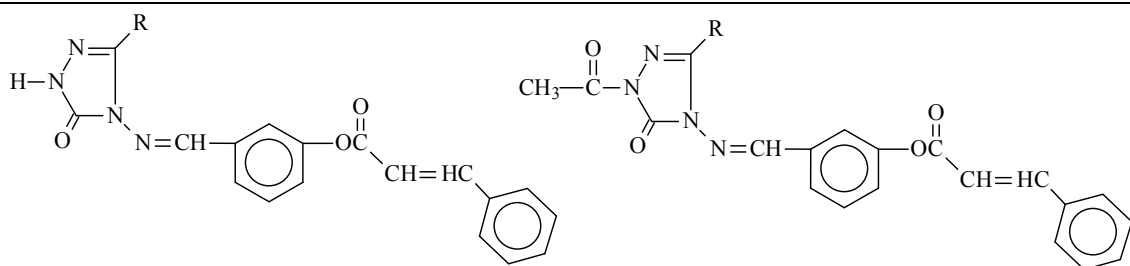
89



90

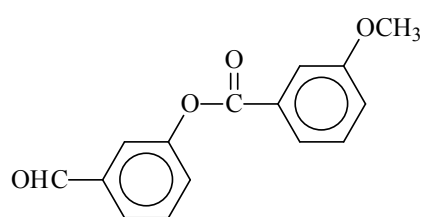


91

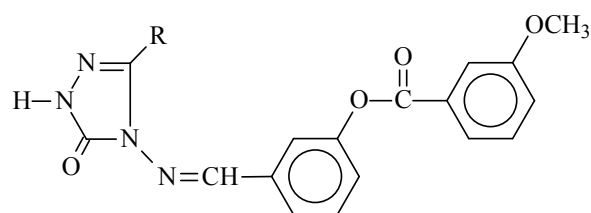


92

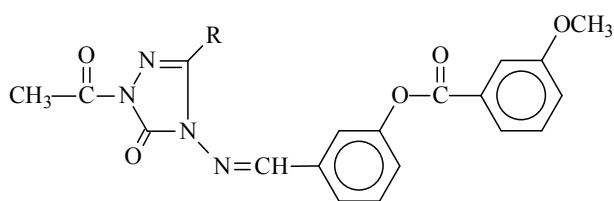
93



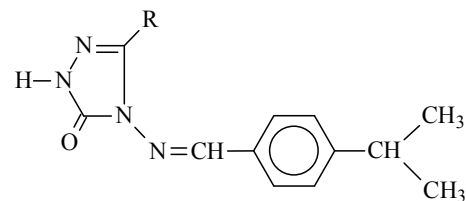
94



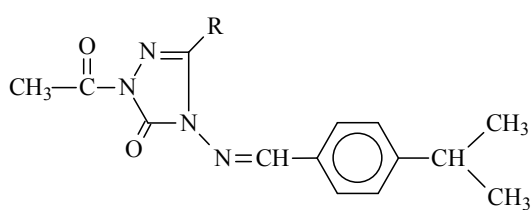
95



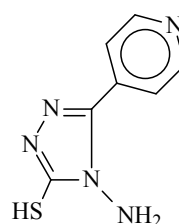
96



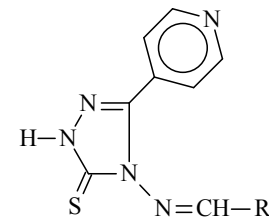
97



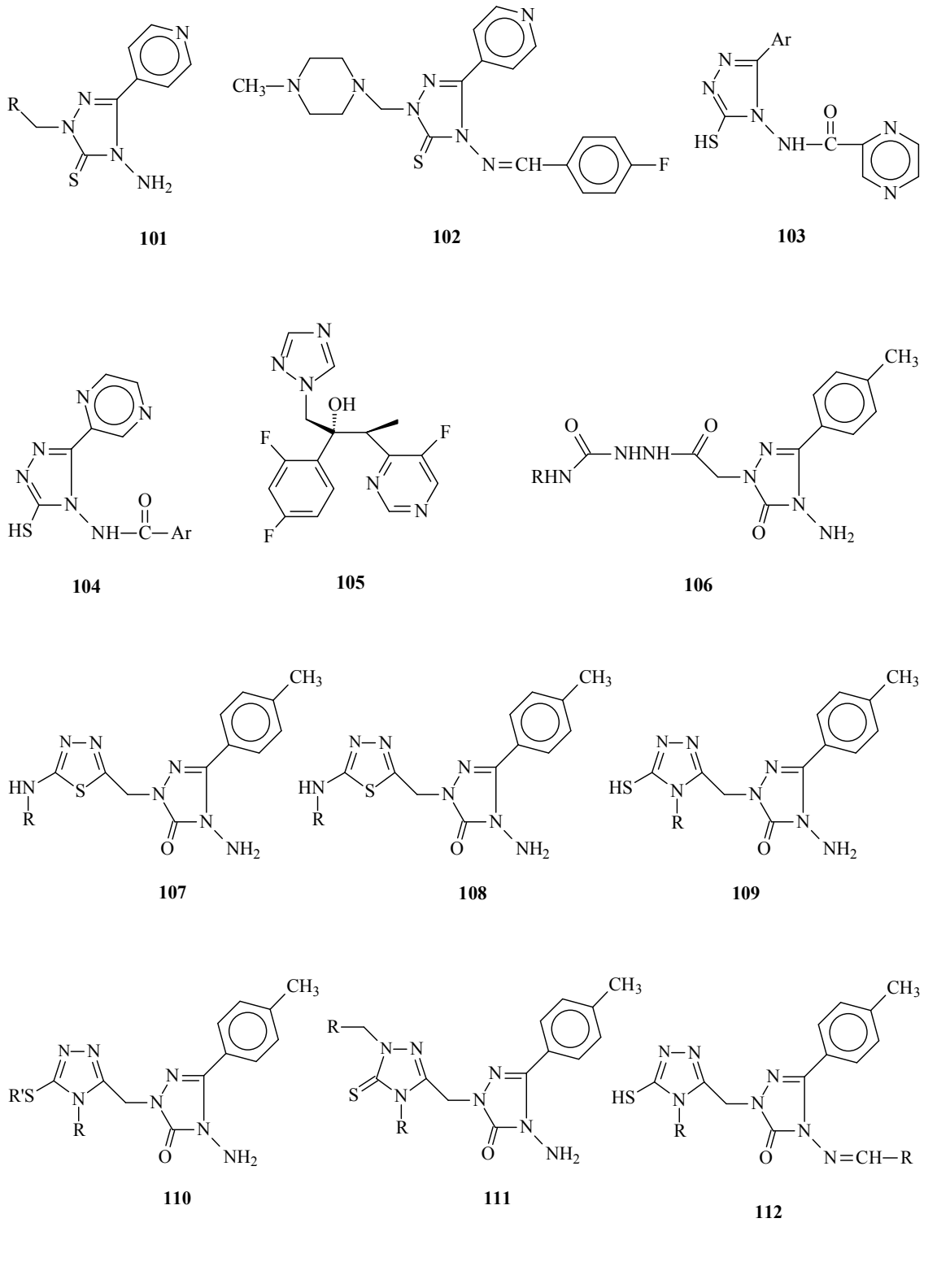
98

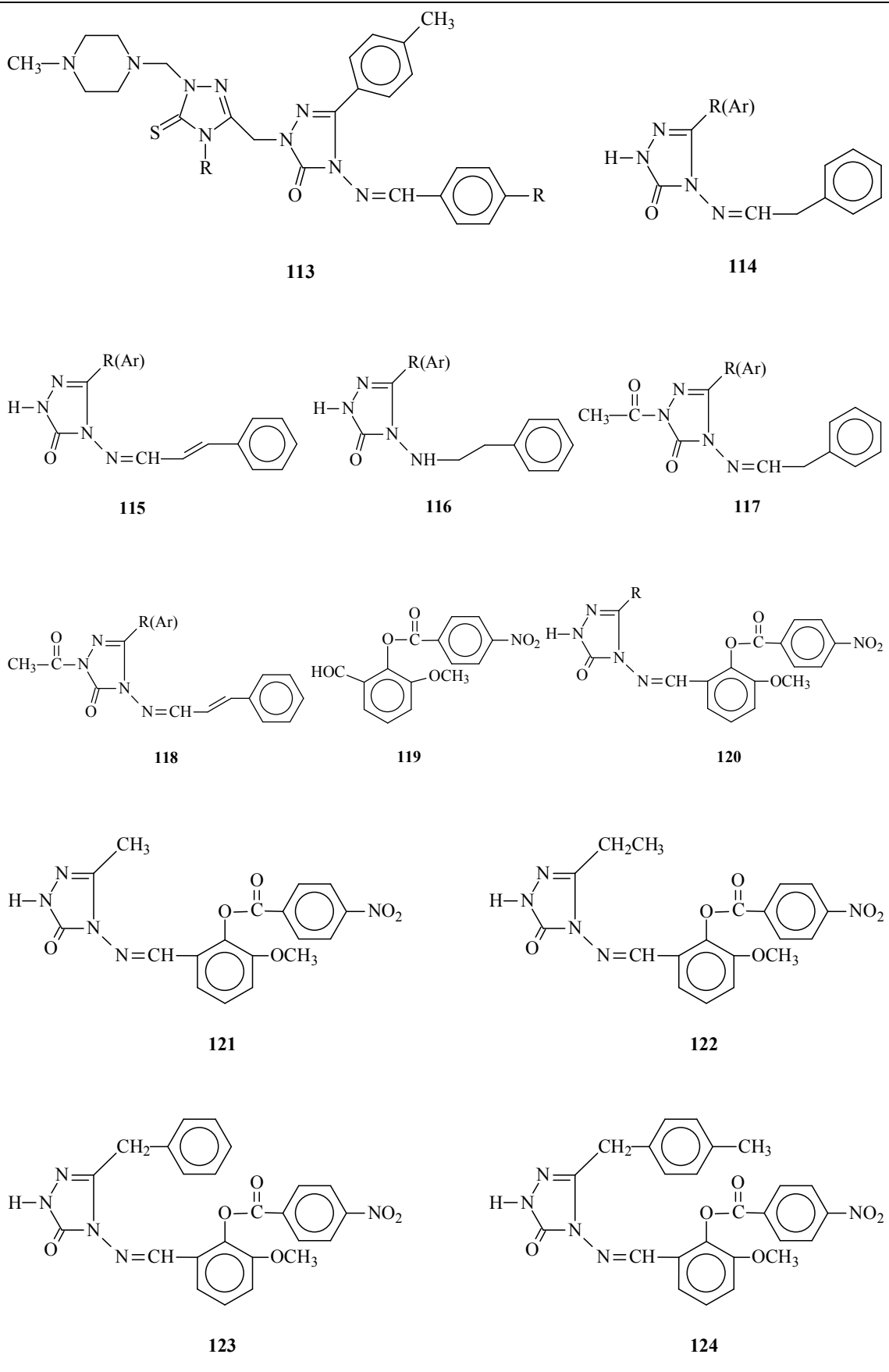


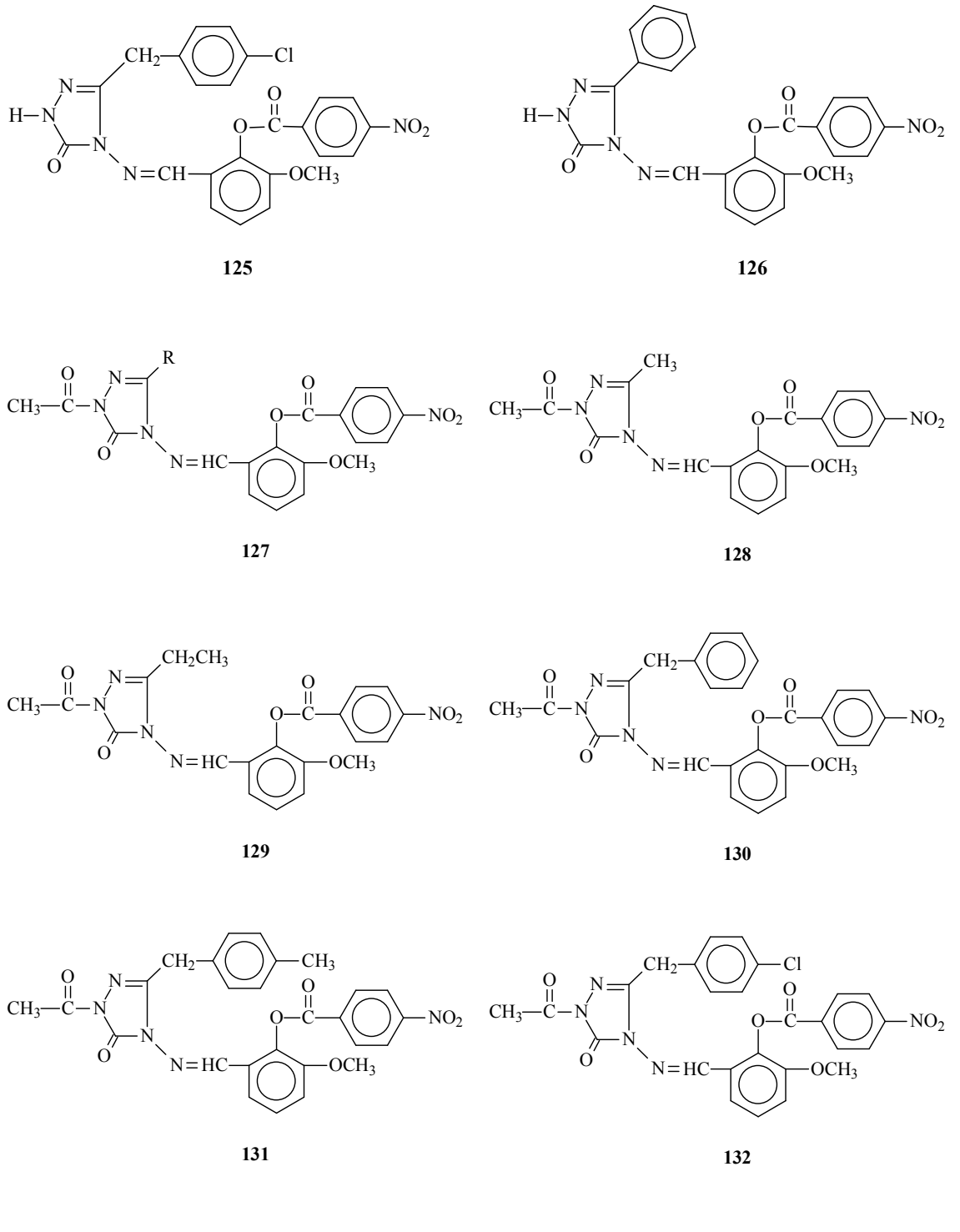
99

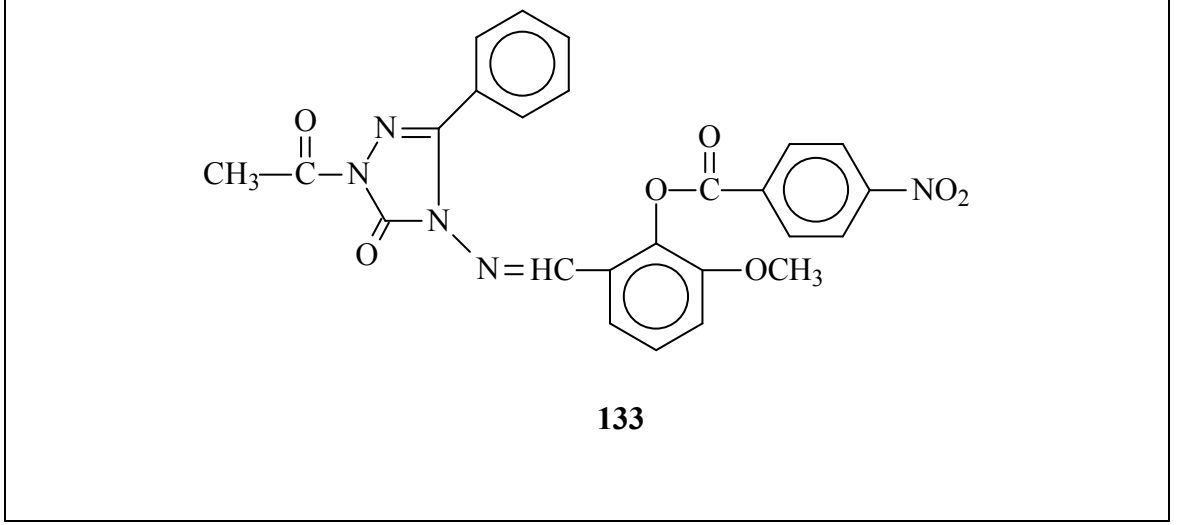


100









1.2. 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 [1, 2]. 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 [1].

Çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle çevrede ve hücrel koşullarda devamlı bir radikal oluşumu vardır. Serbest radikaller üç temel yolla oluşur [1, 3, 4].

a) Kovalent Bağların Homolitik Bölünmesi İle: Kovalent bağın kopması sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalır (Denklem.1)



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 2).



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 [1, 3].

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 [1].

“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 [1, 5].

1.2.1. Oksijen ve Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

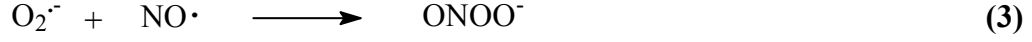
Moleküler oksijen (O_2), iki kovalent bağ yapmasına rağmen, molekülün paramanyetik özellikte olması eşleşmemiş elektron içerdiğini gösterir. Dış orbitallerinde bulunan iki elektron, spinleri aynı yönde ve farklı orbitallerde iken molekül minimum enerji seviyesindedir [1, 6]. Serbest radikal tanımına 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 [1, 3, 7].

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 [1].

Reaktif oksijen türleri, çeşitli serbest radikallerin olduğu 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 [1, 3, 7].

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 3) [1]:

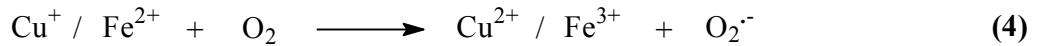


Bununla birlikte bir serbest radikal, radikal olmayan bir madde ile reaksiyona girerek yeni bir radikal oluşturabilir. Biyolojik moleküllerin büyük bir kısmı radikal olmadığı için, *in-vivo* şartlarda reaktif bir radikalın oluşumu, genellikle zincir reaksiyonunun başlamasına yol açabilir [1, 8].

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

Hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit radikali oluşur. Başlıca şu yollarla üretilmektedir [1, 2, 9]

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 4).

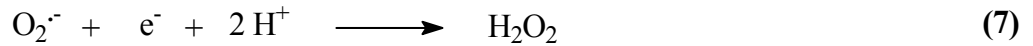
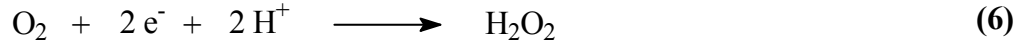


Süperoksit radikalinin önemi H₂O₂ kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Ayrıca hücrel koşullarda üretilen süperoksit hem oksitleyici hem de indirgeyici olarak davranabilir. Örneğin; ferrisitokrom c ile reaksiyonunda indirgeyici olarak davranarak bir elektron kaybeder ve oksijene dönüşür. Epinefrin oksidasyonunda ise oksidan olarak davranarak bir elektron alır ve H₂O₂'ye indirgenir [1, 3]. 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 5) [1].



1.2.1.2. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

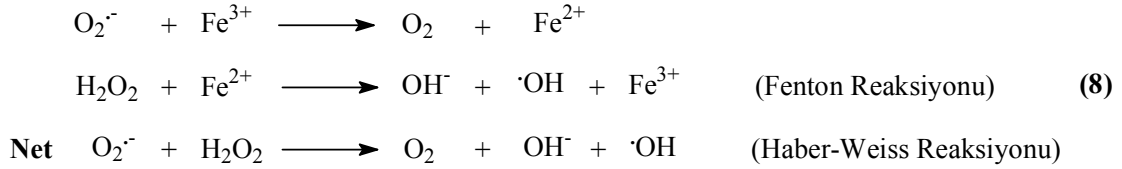
Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu H₂O₂ meydana gelir (Denklem 6, 7) [1].



Yapısında eşleşmemiş elektron içermediği için radikal değildir. Ancak biyolojik membranları geçerek hücrelerin arasına veya içine kolayca difüze olabilir ve uzun ömürlü bir oksidandır [1, 2, 9].

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 [1, 10].

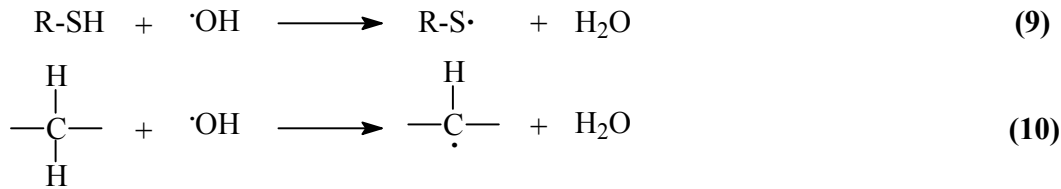
Haber-Weiss reaksiyonu süperoksidin direkt olarak H_2O_2 ile reaksiyonudur, katalizörsüz reaksiyon oldukça yavaş ilerler. Demirle katalizlenen ikinci şekli ise çok hızlıdır. Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe^{3+}) süperoksit tarafından ferro demire (Fe^{2+}) indirgenir. Sonra Fenton reaksiyonu ile H_2O_2 'den $\cdot OH$ ve $\cdot OH$ üretilir. Reaksiyon mekanizması aşağıdaki şekildedir (Denklem 8) [1, 3]:



1.2.1.3. 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 [1].

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 [1, 2, 3]. 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 9, 10) [1].



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 [1].

1.2.1.4. 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 [3, 5, 9]. 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 [1, 11].

Vücutta, pigmentlerin (flavin içeren nükleotidler, retinal, bilirubin) oksijenli ortamda ışığı absorblamasıyla, $O_2^{\cdot-}$ 'nin dismutasyon tepkimesi sırasında, porfiryaya gibi porfirin metabolizması hastalıklarında oluşabilir [1, 2].

1.2.1.5. Hipoklorik Asit (HOCl)

Doku makrofajları gibi fagositik hücreler, nötrofil, eozinofil gibi granüositler mikroorganizmaları öldürmek için klorlanmış oksidanlar üretebilir [1, 12, 13]. HOCl miyeloperoksidaz enzimi tarafından H_2O_2 ve Cl^- iyonunun birleşmesi sonucu oluşur. Dokularda hasar oluşturan güçlü bir oksidandır.

1.2.1.6. Nitrik Oksit (NO^{\cdot})

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 [1, 9, 12].

1.2.2. 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 [1].

1.2.2.1. 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 [1, 2].

1.2.2.2. 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 [1, 14]. Bunun sonucunda karbon merkezli organik radikaller ve sülfür radikalleri oluşur. Bu reaksiyonlar sonucu albümin ve immunoglobulin G (IgG) gibi fazla sayıda disülfid 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 [1, 12].

1.2.2.3. 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 [1, 9]. DNA hasarı onarılmazsa hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir [1, 3]

1.2.2.4. 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 [1].

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 [1, 15, 16].

1.2.3. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanların sınıflandırılması çeşitlilik göstermektedir. Doğal (endojen kaynaklı) ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olarak sınıflandırılabilirdiği [3] gibi enzim ve enzim olmayan antioksidanlar [1, 17] 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 [1, 9, 18].

1.2.4. Antioksidan Aktivite Tayin Metodları

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 [1].

Bu metodlar substrat, prob, reaksiyon şartları ve antioksidan etkinin hesaplanma şekline göre birbirinden farklıdır. Bu yüzden farklı metodlardan alınan sonuçları karşılaştırmak son derece zordur [1, 19].

Bu metodlar kimyasal reaksiyonlarına göre başlıca iki gruba ayrılırlar [1]: 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 [1].

1.2.4.1. HAT-Temelli Metodlar

ORAC, TRAP gibi HAT-temelli metodlarda peroksil radikali (ROO^{\cdot}) oluşturmak üzere bir radikal başlatıcı kullanılır. Eklenen antioksidan radikaller için ortamdaki substrat ile yarışır. ROO^{\cdot} tercihen antioksidandan bir hidrojen atomu alır. Sonuçta ROO^{\cdot} ve hedef molekül arasındaki reaksiyon inhibe edilir veya geciktirilir [1, 20, 21].

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

karşılaşmış 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 [1, 5].

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 [1, 22].

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 [1, 19]. Modifiye metotta Cu^{2+} ya da bir azo başlatıcısı ile linoleik asit oksidasyonu yapay olarak indüklenir, otooksidasyonun ilerleyişi linoleik asit oksidasyonundan oluşan konjuge dienperoksitlerin absorbansının takibi ile izlenir [1, 21].

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 [1, 21].

1.2.4.2. 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 [1].

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 [1].

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 [1, 21].

2. TEAC (Trolox Ekvivalenti Antioksidan Kapasite) Metodu: İlk kez 1993 yılında bildirilen metod daha sonraları geliştirilmiştir. Bu metotta metmiyoglobin/ H_2O_2 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 absorbansın azalmasıyla takip edilir [1, 19]. 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 troloxunkiyile 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 [1, 5, 21].

3. FRAP (Fe(III) İyonu İndirgeme Gücü) Metodu: Bu metotta düşük pH'da ferrik tripiridiltriazin kompleksi (Fe^{3+} -TPTZ) antioksidanların etkisiyle ferröz kompleksine

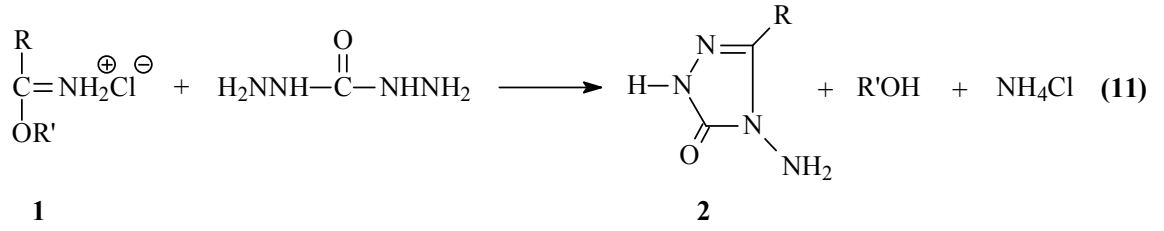
(Fe²⁺-TPTZ) indirgenir. Oluşan kompleksin 593 nm’de absorbanası ölçülür. Böylece elektron vermenin antioksidanların toplam indirgeme kapasitesiyle lineer olduğu varsayılır. Bu yaklaşımın ana dezavantajı, metod okside olabilen bir substrat içermediğinden antioksidanların koruyucu özellikleri hakkında bilgi sağlamamasıdır [1, 21, 23].

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 absorbanı 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 [1, 19]. EC₅₀ değeri antioksidan aktiviteyi ölçmek için daha yaygın olarak kullanılan bir parametredir [1].

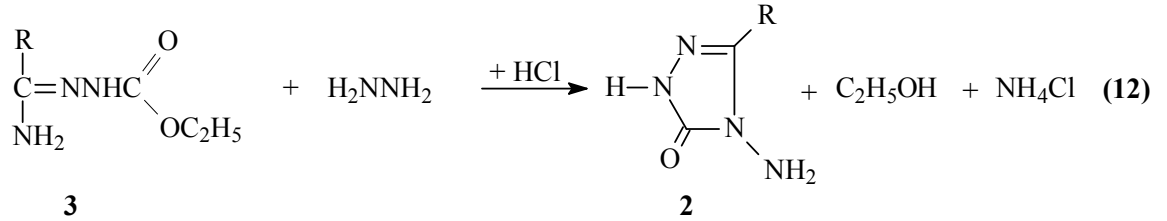
5. Oksidan Olarak Cu²⁺ Kullanan Toplam Antioksidan Potansiyel Metodu: Bu metoda dair az sayıda yayınlanmış bilgi vardır. Örnekte bulunan indirgenler (antioksidanlar) tarafından Cu²⁺ Cu⁺e indirgenir. Cu⁺ kromojenik bir reaktif olan batokupronin (2,9-dimetil-4,7-difenil-1,10-fenantrolin) ile kompleks oluşturur. 490 nm’de maksimum absorbanı ölçülür [1, 21].

1.3. 3-Alkil(Aril)-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on’ların Sentez Yöntemleri ve Reaksiyonları

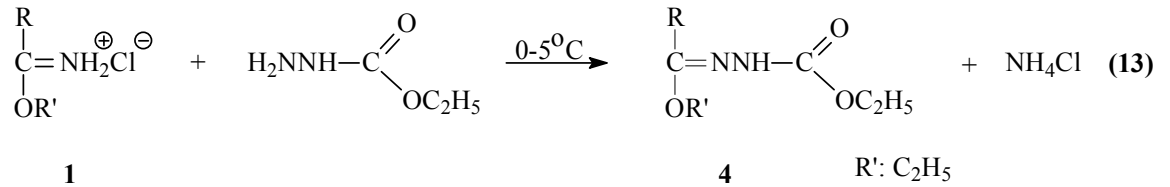
Çeşitli reaksiyonları incelenen 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (2) bileşiklerinin sentezi için bazı yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden birinde nitrillerden sentezlenen iminoester hidroklorürlerin (1) karbohidrazid ile muamelesi öngörülmüştür (Denklem 11) [24].

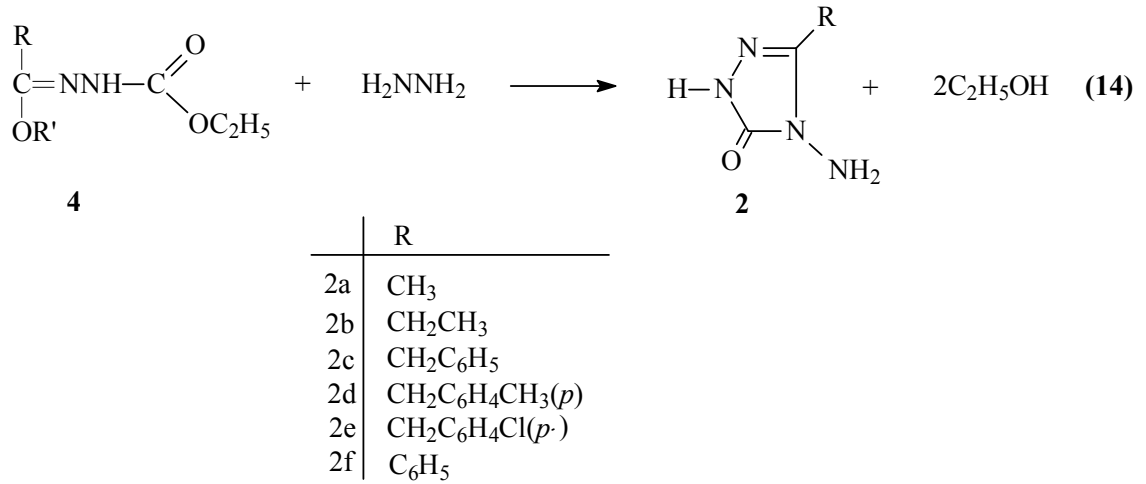


2 Tipi bileşiklerin sentezi amacıyla yapılan bir diğer çalışmada ise 3 tipi amid etoksikarbonilhidrazonlar, hidrazin ile reaksiyona sokulmuştur (Denklem 12) [25].

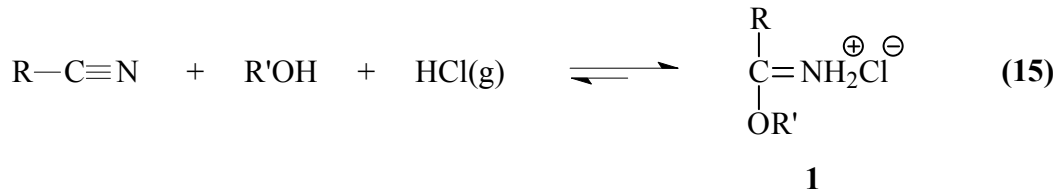


3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2) bileşiklerinin sentezi için en uygun olan ve çalışmada da kullanılan yöntemde ise, 1 tipi iminoester hidroklorürler (alkil imidat hidroklorürler) in soğuk mutlak etanollü ortamda etil karbazat ile muamelesinden elde edilen [25-28] ester etoksikarbonilhidrazonlar (4) hidrazin hidrat ile kaynar sulu ortamda reaksiyona sokulmuştur (Denklem 13 ve 14) [28-33].

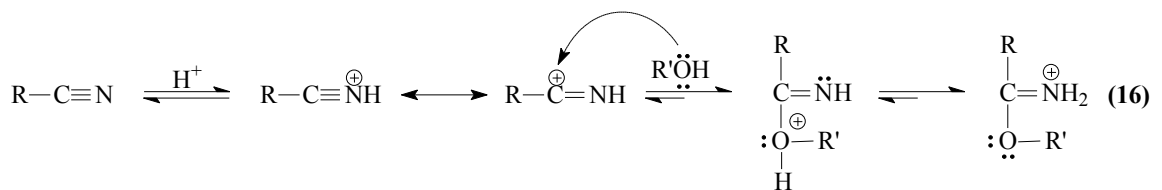




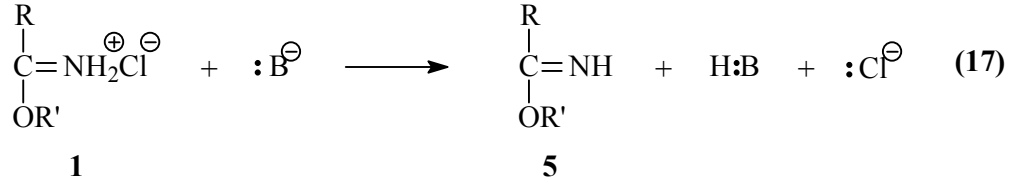
Hidroklorürleri (1) halinde kullanılan, 5 tipi iminoesterlerin sentezi için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlere amidlerden, ortoesterlerden, karbonil bileşiklerinden, iminoklorürlerden ve bazı doymamış sistemlerden başlayan yöntemler [34] örnek olarak verilebilirse de 1 tipi bileşiklerin sentezinde kullanılan en uygun yöntem olan Pinner Yöntemi [35] çalışmada kullanılmıştır. Bu yöntemde bir nitril, bir mutlak alkol (genellikle mutlak etanol) ile susuz bir çözücü (genellikle susuz dietil eter) içinde HCl gazı ile soğukta muamele edilir (Denklem 15).



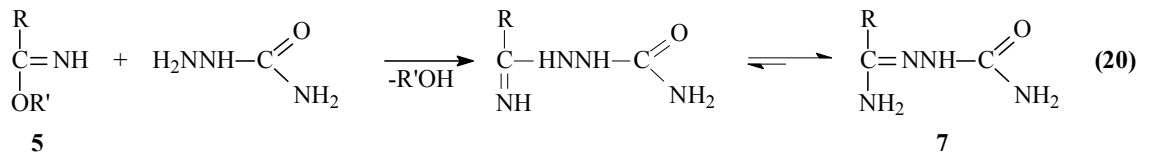
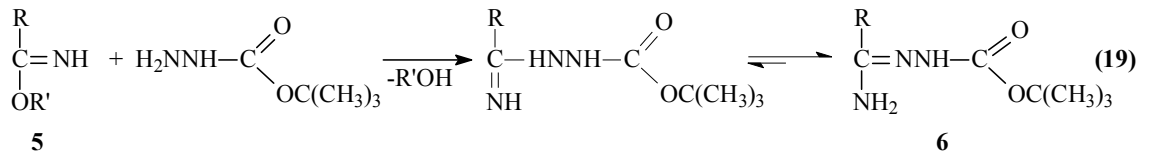
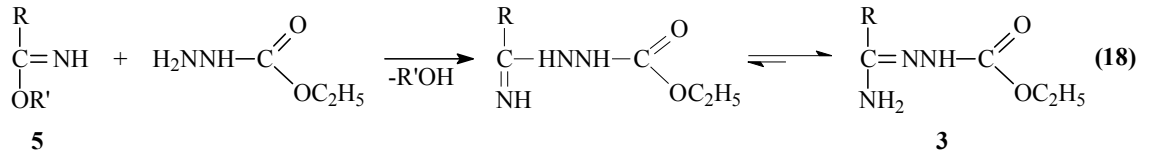
Pinner yöntemine göre 1 tipi bileşiklerin sentezlendiği reaksiyonun muhtemel mekanizması, asidik ortamda protonlanmış nitrile bir alkolün nükleofilik katılması üzerinden yürümektedir (Denklem 16) [36].



Pinner Yöntemine göre Denklem 15 uyarınca hidroklorürleri halinde sentezlenen 1 tipi iminoester hidroklorürler uygun koşullarda ve NaOH, NaOEt gibi bazlar ile muamele edilirse serbest iminoesterler (5) elde edilir (Denklem 17) [26, 27, 34, 37]. Serbest iminoesterler (alkil imidatlar) (5) genellikle erime noktası düşük olan sıvı olan bileşiklerdir (Denklem 17).

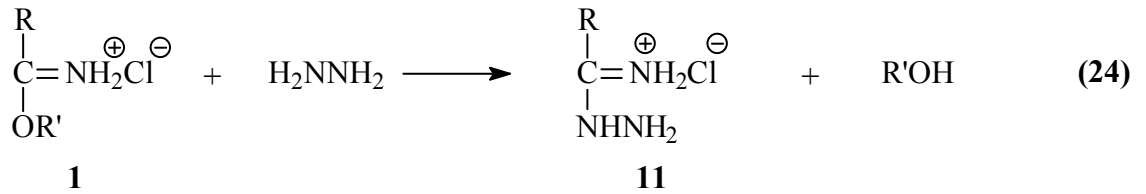
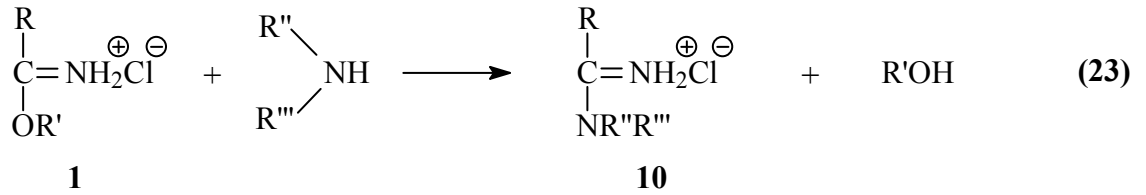
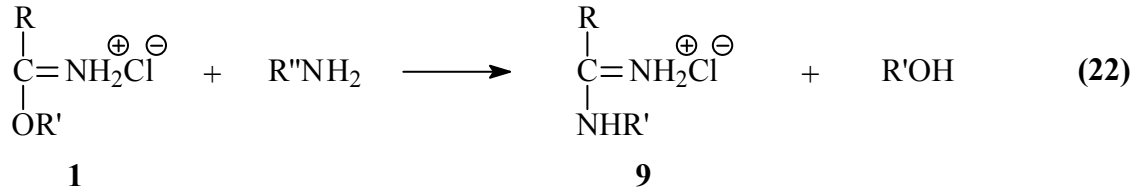
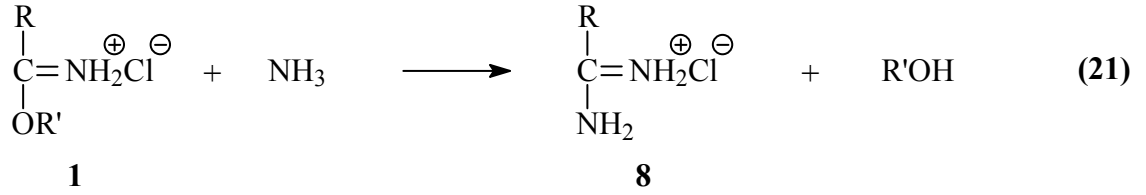


1 Tipi hidroklorürlerinden serbest hale geçirilen iminoesterlerin (5) bugüne kadar birçok reaksiyonu incelenmiştir. Bu reaksiyonların üçünde 5 tipi bileşiklerin etil karbazat, tert-butil karbazat ve semikarbazit ile ayrı ayrı muamelesinden imino grubunun korunması sonucu, sırasıyla amid etoksikarbonilhidrazonlar (3), amid tert-butoksikarbonilhidrazonlar (6) ve amid semikarbazonlar (7) sentezlenmiştir (Denklem 18-20) [26, 27, 37].

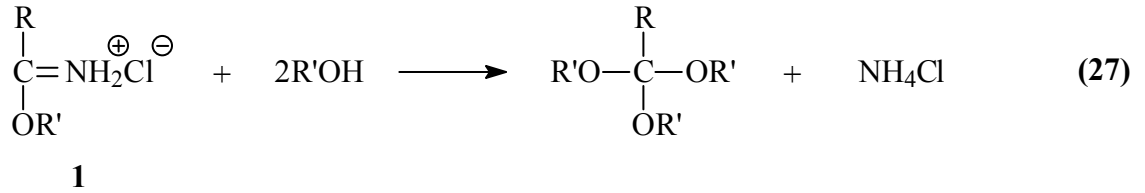
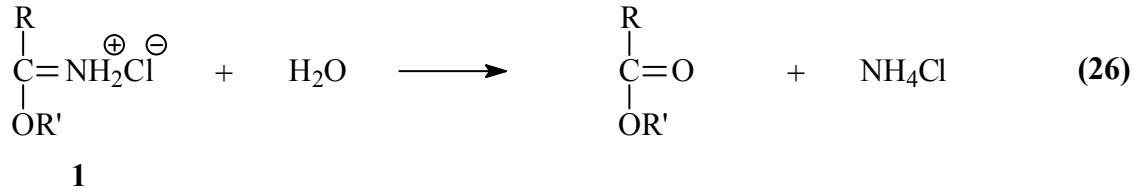
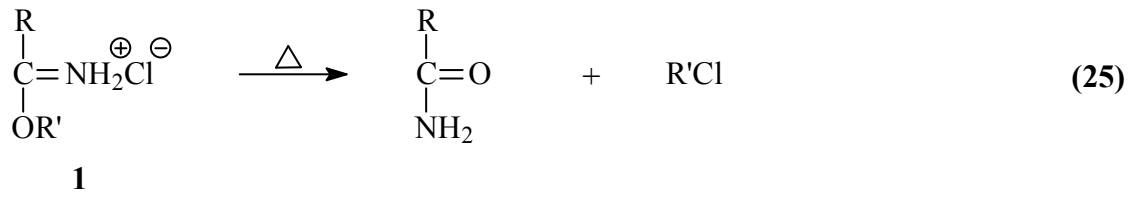


1 Tipi iminoester hidroklorürlerin de birçok reaksiyonu incelenmiştir. İminoester hidroklorürlerin Denklem 11 uyarınca 2 tipi bileşikleri, Denklem 13 uyarınca 4 tipi ester

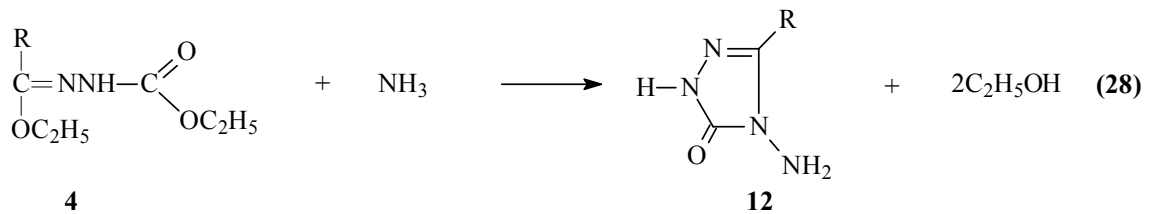
etoksikarbonilhidrazonları ve Denklem 17 uyarınca 5 tipi serbest iminoesterleri verdiği reaksiyonların dışında başka reaksiyonları da incelenmiş olup; amonyak ile amidin hidroklorürleri (8), primer aminler ile *N*-substitue amidin hidroklorürleri (9), sekonder aminler ile *N,N*-disubstitue amidin hidroklorürleri (10) ve hidrazin ile amidrazon hidroklorürleri (11) verdiği görülmüştür (Denklem 21-24) [34].

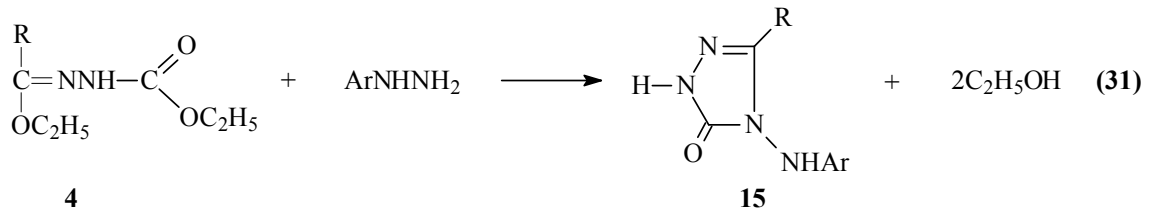
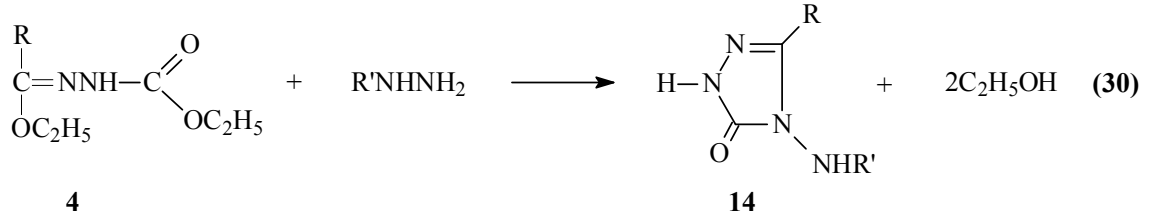
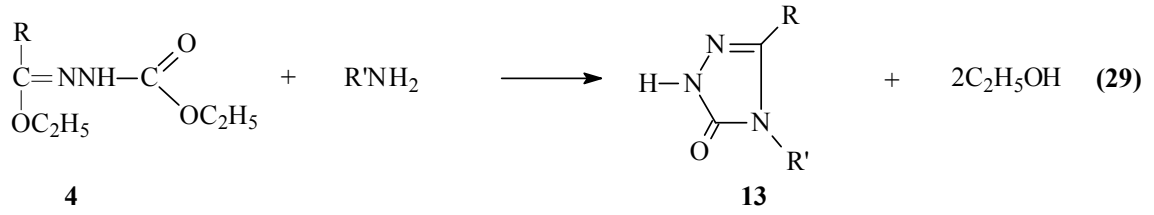


İminoester hidroklorürlerin (1) kuru kuruya ısıtıldıklarında amidleri, hidroliz sonucu esterleri ve aşırı miktarda alkolle muamele edildiklerinde ortoesterleri verdikleri bilinmektedir (Denklem25-27) [34, 35].

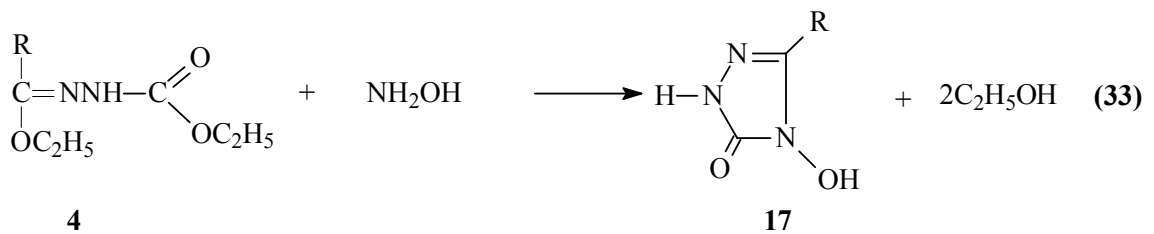
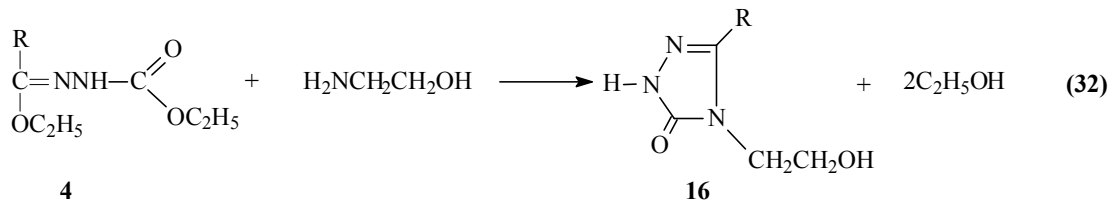


Denklem 13 uyarınca 1 tipi bileşiklerin etil karbazat ile reaksiyonundan elde edilen ve tez kapsamında bazı reaksiyonları incelenen 4 tipi ester etoksikarbonilhidrazonların Denklem 14 uyarınca 2 tipi bileşikleri oluşturduğu reaksiyon dışında bazı reaksiyonları da incelenmiş ve 4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on halka sistemini içeren bileşikler elde edilmiştir. Nitekim 4 tipi ester etoksikarbonilhidrazonların amonyak ile 3-alkil(aril)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (12), primer aminler ile 3,4-dialkil(diaril)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (13), alkil hidrazinler ile 3-alkil(aril)-4-alkilamino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (14) ve aril hidrazinler ile de 3-alkil(aril)-4-arilamino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (15) bileşiklerini verdiği bildirilmiştir (Denklem 28-31) [24, 25, 38, 39].



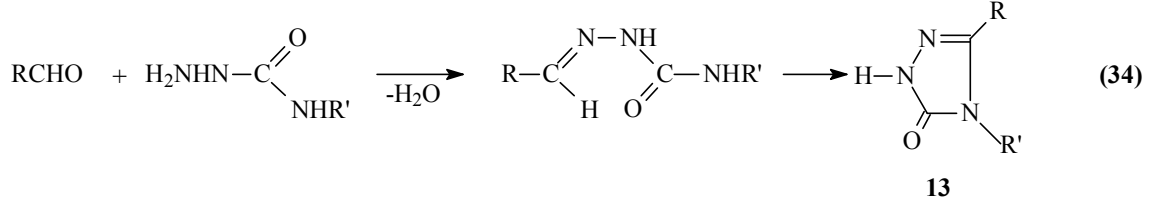


Son yıllarda 4 Tipi bileşiklerin incelenen iki ayrı reaksiyonundan birinde etanolamin ile 16 tipi 3-alkil(aril)-4-(2-hidroksietil)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on ve hidroksilamin ile 17 tipi bileşikleri verdiği rapor edilmiştir (Denklem 32 ve 33) [40, 41].

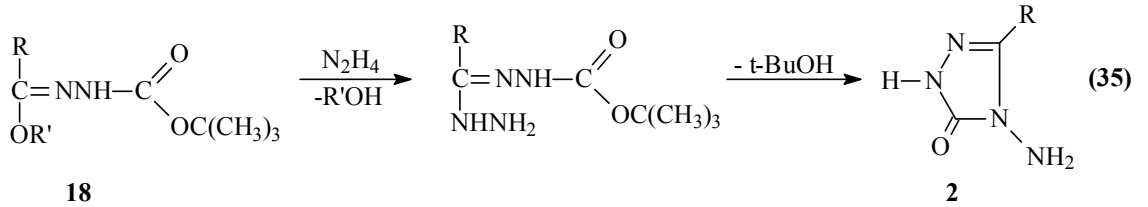


3,4-Dialkil-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin (13) sentezlendiği bir diğer çalışmada ise aldehidlerin semikarbazit ile muamelesinden elde edilen bazı aldehid

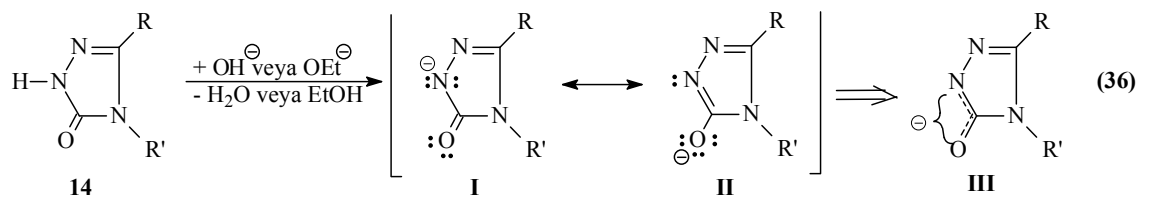
semikarbazonların oksidatif siklizasyonu sonucu da sentezlendiği bildirilmiştir (Denklem 34) [42].

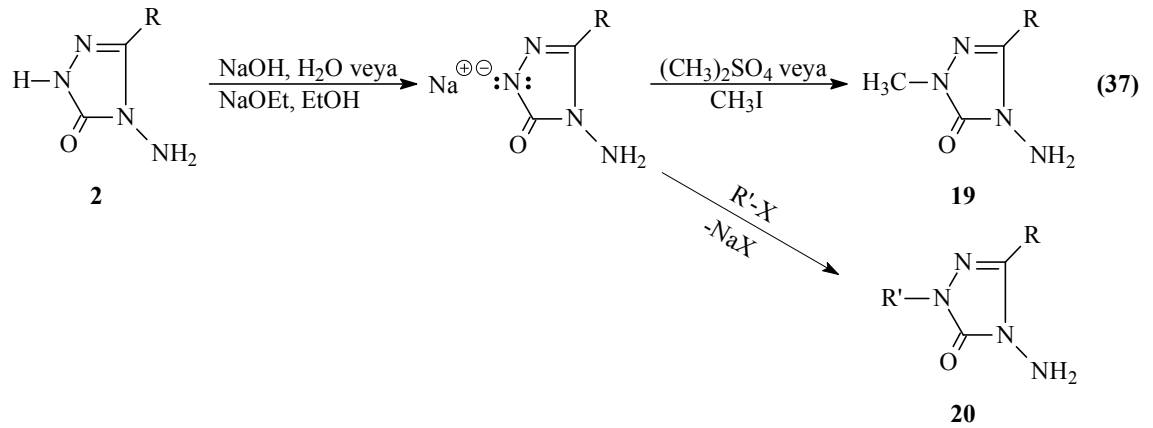


3-Alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2) bileşiklerinin 18 tipi ester *tert*-butoksikarbonilhidrazonların hidrazin hidrat ile muamelesinden de elde edildiği rapor edilmiştir (Denklem 35) [37].

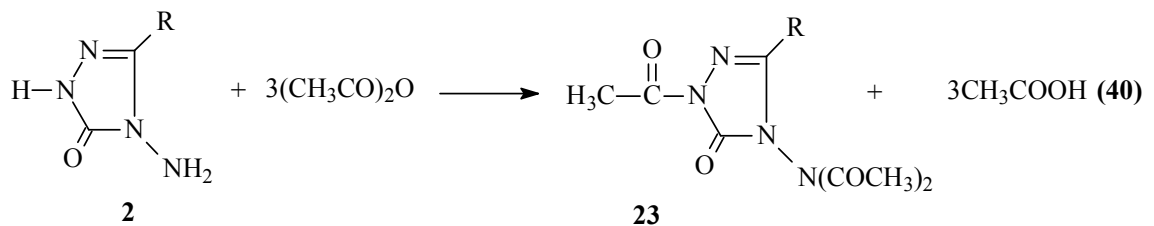
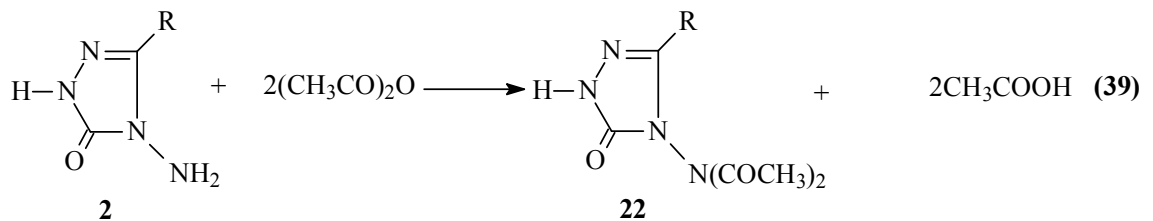
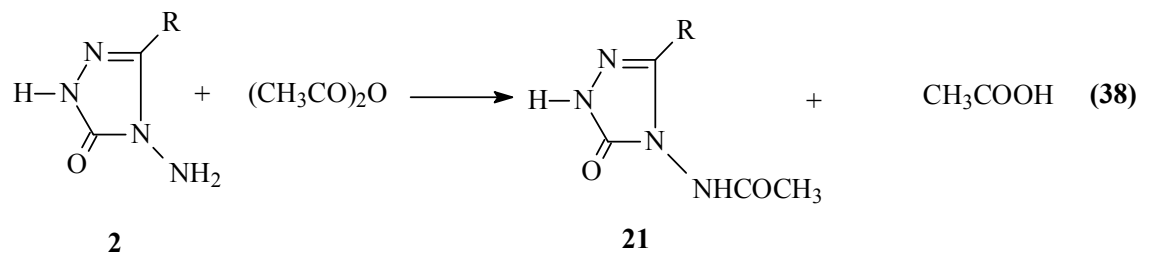


4,5-Dihidro-1,2,4-triazol-5-on halkasının zayıf asidik özellikte olmasından dolayı 2 tipi bileşiklerin *N*-1'de alkillendirilebildiği ve karşın olan *N*-metil (19) ya da *N*-alkil (20) türevlerinin elde edildiği birçok çalışma yapılmıştır (Denklem 36 ve 37) [30, 43, 44].

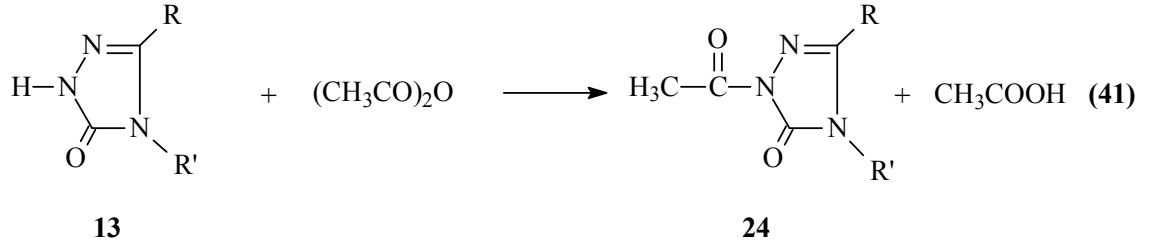




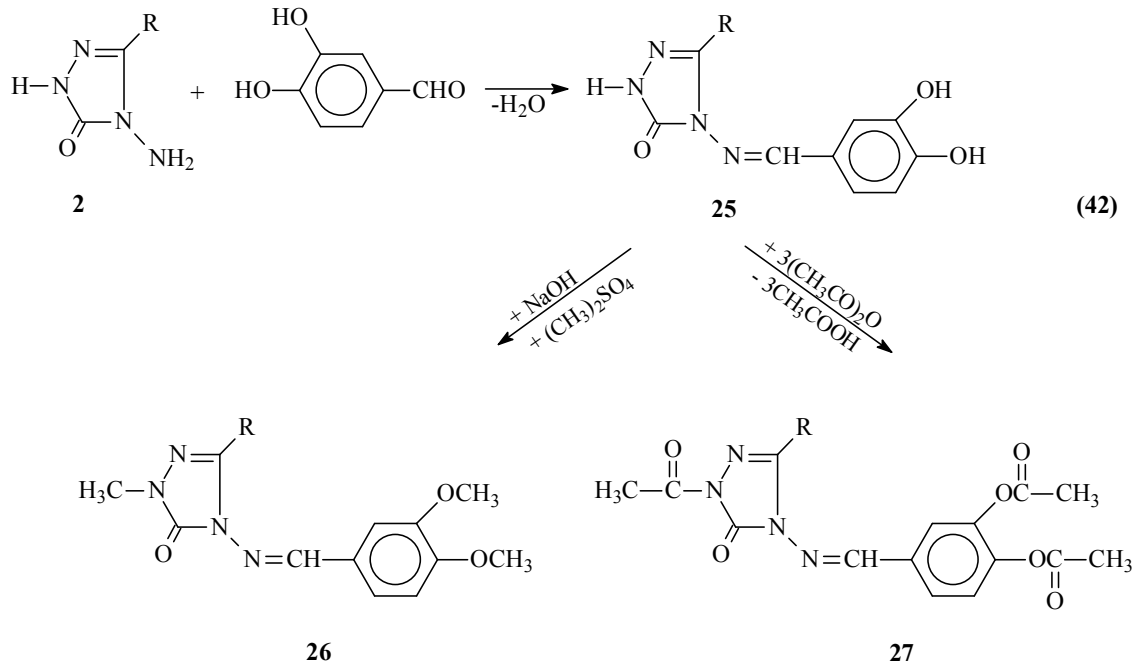
3-Alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2) bileşiklerinin asetik anhidrid ile reaksiyonlarının incelendiği bir çalışmada reaksiyon koşullarına bağlı olarak 21 tipi monoasetil türevleri olan 3-alkil(aril)-4-asetilamino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on, 22 tipi diasetil türevleri olan 3-alkil(aril)-4-diasetilamino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on ve 23 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 38-40) [28, 30].



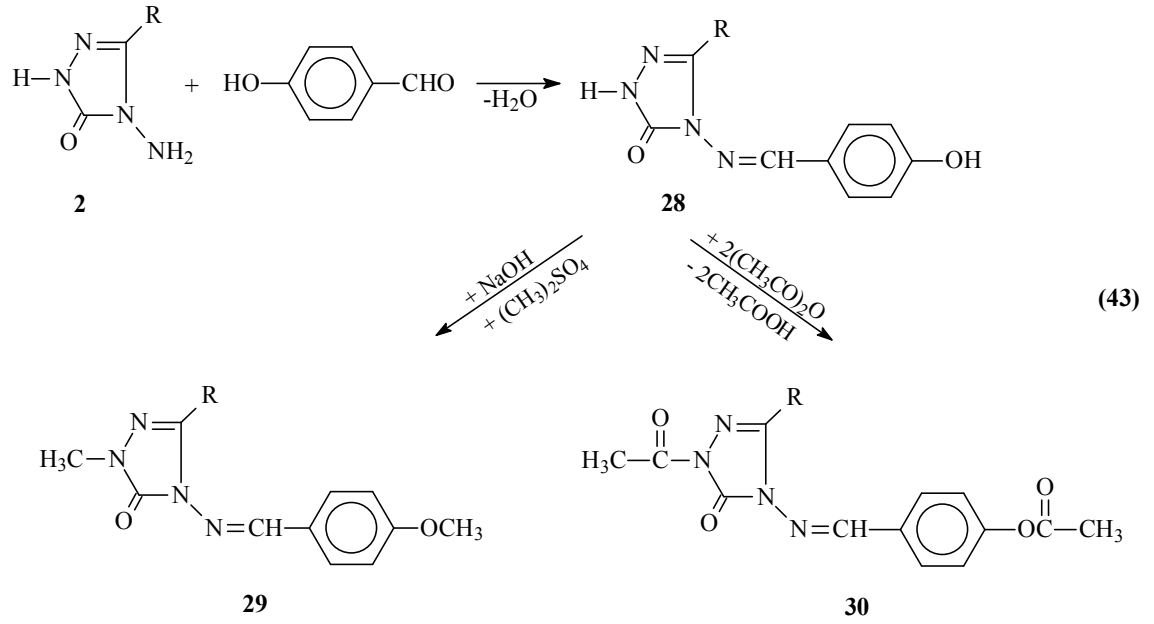
4,5-Dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on halkası içeren 13 tipi bazı 3,4-disubstitue-1*H*-1,2,4-triazol-5-on türevlerinin de asetik anhidrid ile asetillendirme reaksiyonlarının incelendiği bazı çalışmalar son yıllarda yapılmış ve 24 tipi asetil türevlerinin elde edildiği bildirilmiştir (Denklem 41) [43, 45].



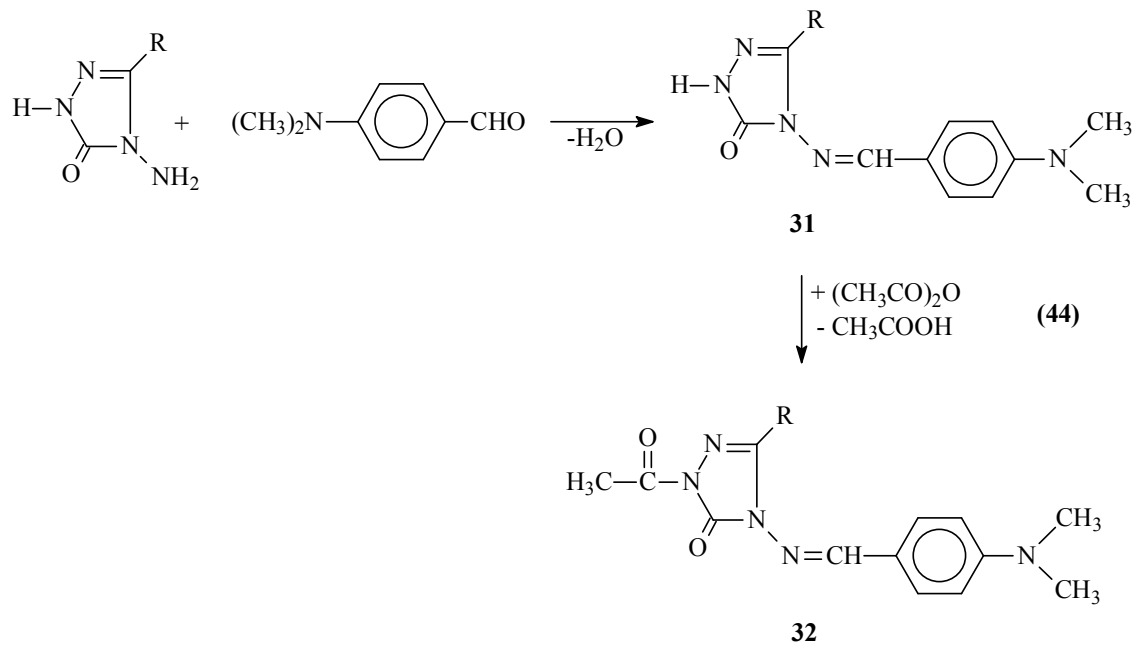
Son yıllarda biyomolekülleri, oksidasyon hasarından koruyan ve organizmanın kendisinin sentezlediği yada dışarıdan alınan antioksidanlara olan ilgi giderek artmaktadır. 2 tipi bileşiklerinin 3,4-dihidroksibenzaldehid ile muamelesinden Schiff bazları olan 25 tipi 3-alkil(aril)-4-(3,4-dihidroksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri sentezlenmiş ve bu bileşiklerin susuz ortamda potansiyometrik olarak titrasyonları yapılarak yarı nötralizasyon yöntemi ile pK_a değerleri bulunmuş ve antioksidan özellikleri incelenmiştir [43, 46]. Bu çalışmada ayrıca 25 tipi bileşiklerin *N*- ve *O*-metil ve asetil türevleri (26 ve 27) de elde edilmiştir (Denklem 42).



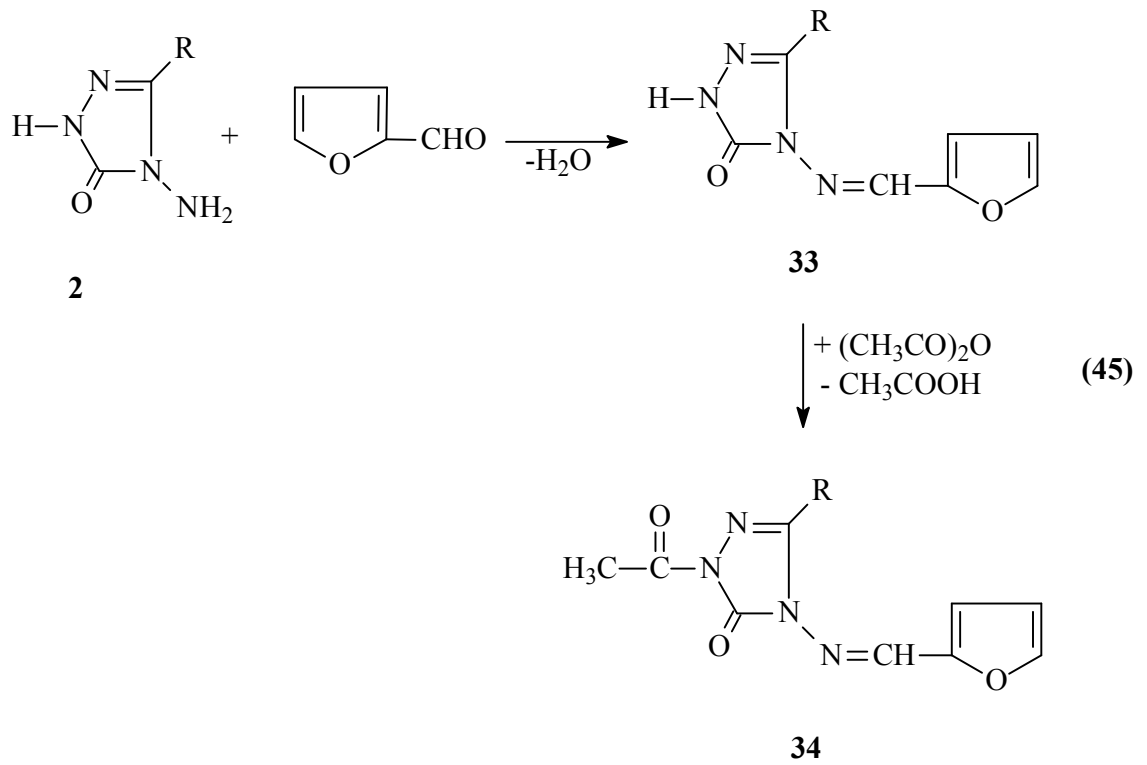
Diğer çalışmada ise 2 tipi bileşiklerin 4-hidroksibenzaldehid ile muamelesinden oluşan ve Schiff bazları olan 28 tipi 3-alkil(aril)-4-(4-hidroksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri sentezlenmiş, *N*- ve *O*-metil ve asetil türevleri (29 ve 30) elde edilmiş ve antioksidan özellikleri incelenmiştir [47]. Bu çalışmada ayrıca 28 tipi bileşiklerin susuz ortam titrasyonları incelenerek pK_a değerleri belirlenmiştir (Denklem 43).

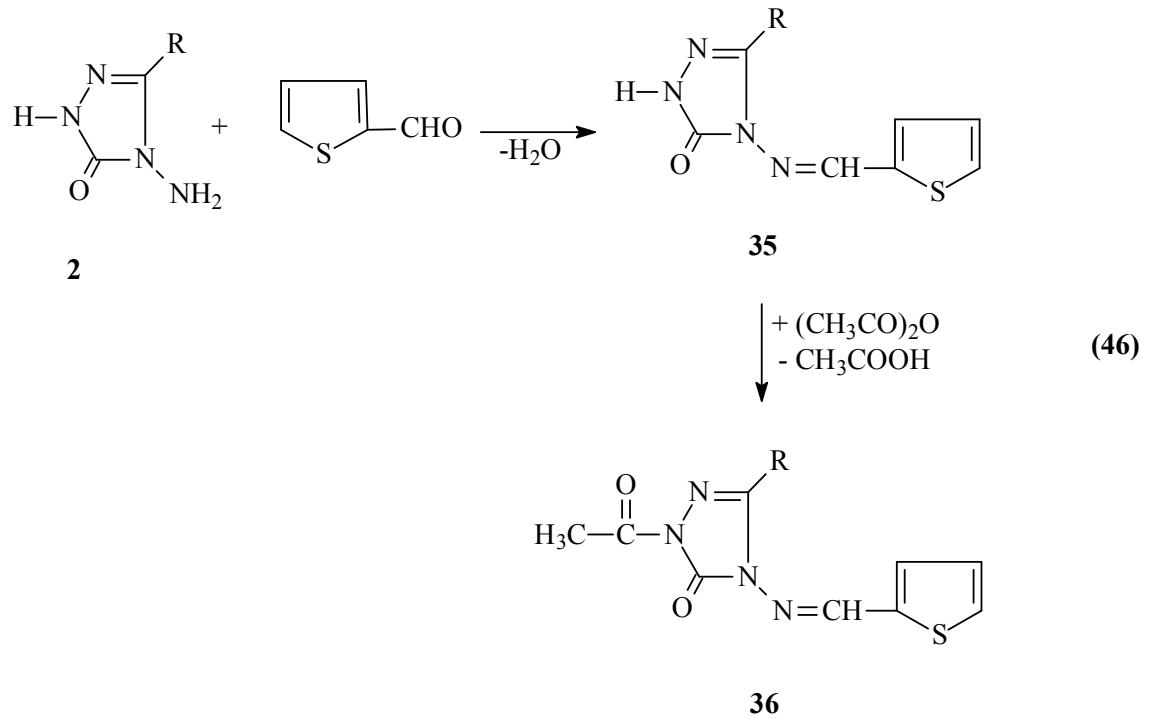


Son yıllarda yapılan bir çalışmada 2 tipi bileşiklerin 4-dimetilaminobenzaldehid ile reaksiyonları incelenerek sentezlenen 31 tipi 3-alkil(aril)-4-(4-dimetilaminobenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri elde edilmiş ve bu bileşiklerin asetonitril, izopropil alkol ve *N,N*-dimetilformamid susuz çözücülerinde potansiyometrik olarak TBAH ile titrasyonları yapılarak yarı nötralizasyon metodu ile pK_a değerleri hesaplanmıştır. Çalışmada ayrıca 31 tipi bileşiklerin *N*-asetil türevleri (32) sentezlenmiştir (Denklem 44) [45].

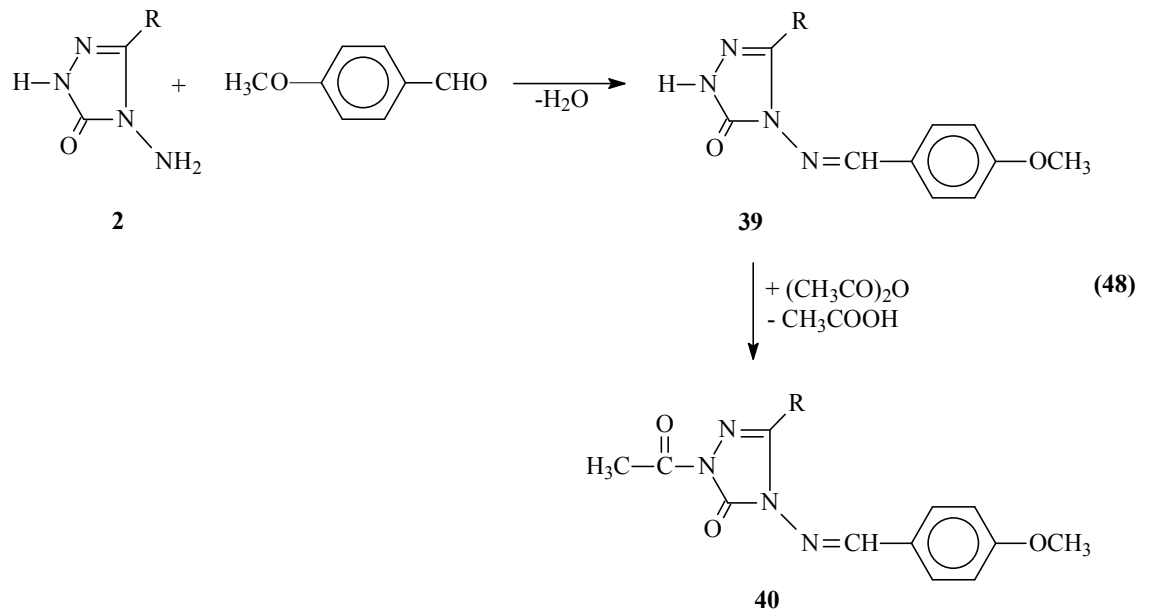
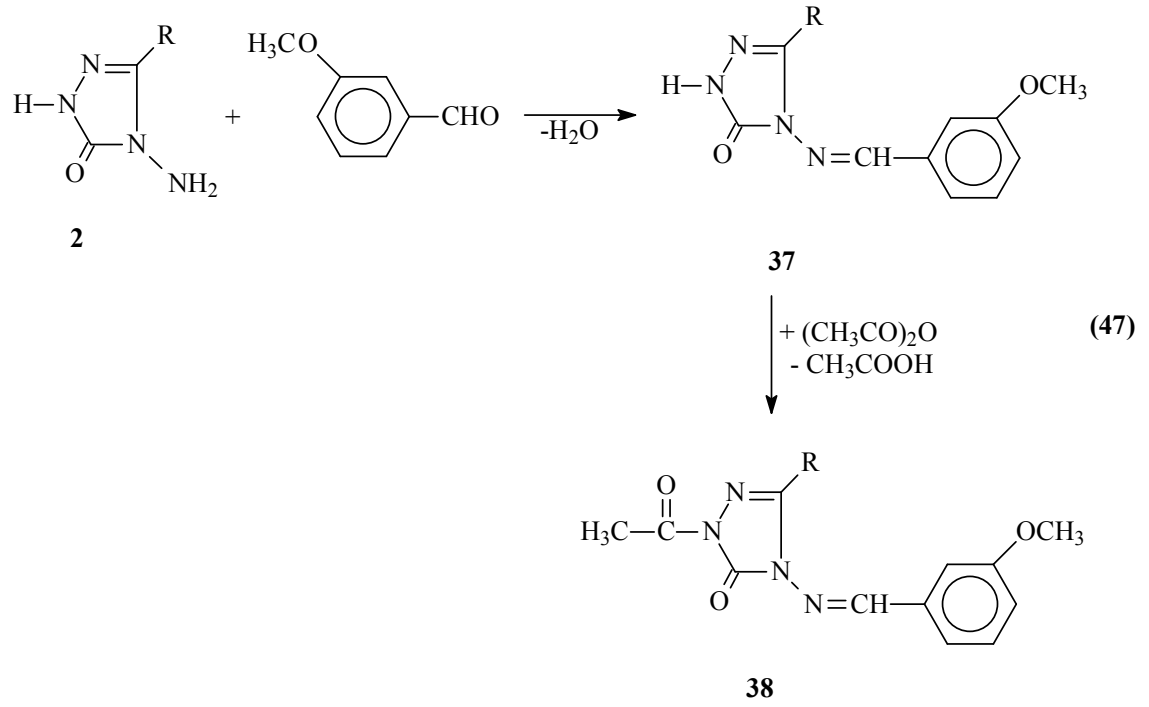


Benzer nitelikteki iki ayrı çalışmadan birinde 2 tipi bileşiklerin heteroaromatik aldehidler olan furfural (furan-2-karboksialdehid) ve tiyofen-2-karboksialdehid ile reaksiyonları incelenerek 3-alkil(aril)-4-(2-furilmetilenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (33) ve 3-alkil(aril)-4-(2-tiyenilmetilenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (35) bileşiklerinin sentezi gerçekleştirilmiş, diğerinde ise bu bileşiklerin asetik anhidrid ile reaksiyonları incelenerek 34 ve 36 tipi *N*-asetil türevleri sentezlenmiştir. Ayrıca 33 tipi bileşiklerin potansiyometrik olarak asitlik sabitleri tayin edilmiştir (Denklem 45 ve 46) [48].

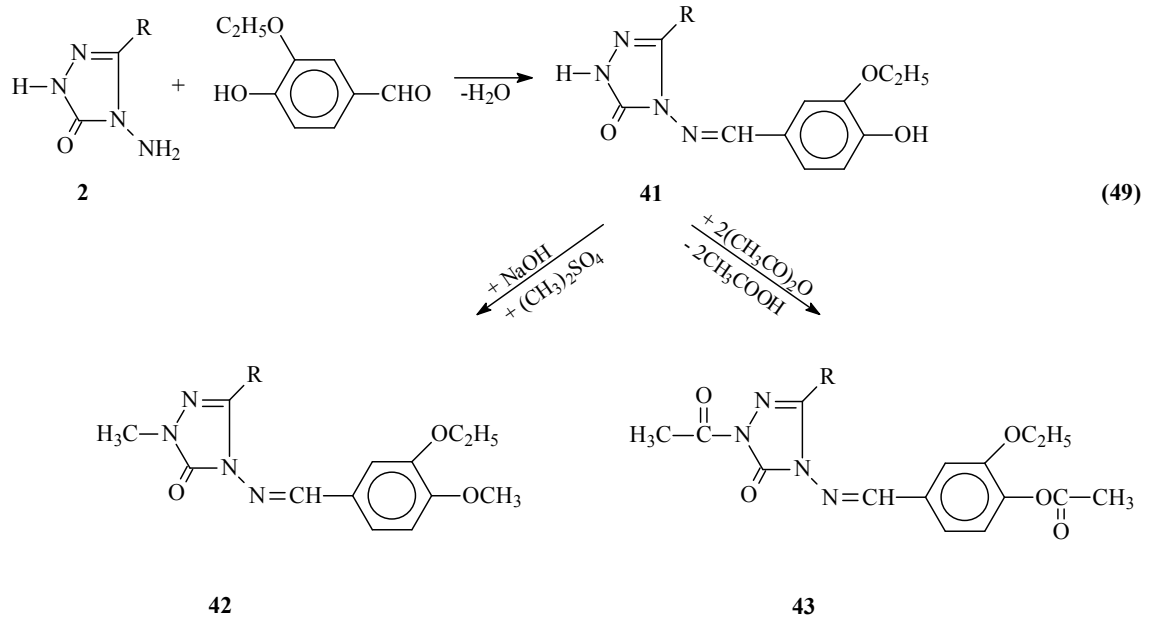




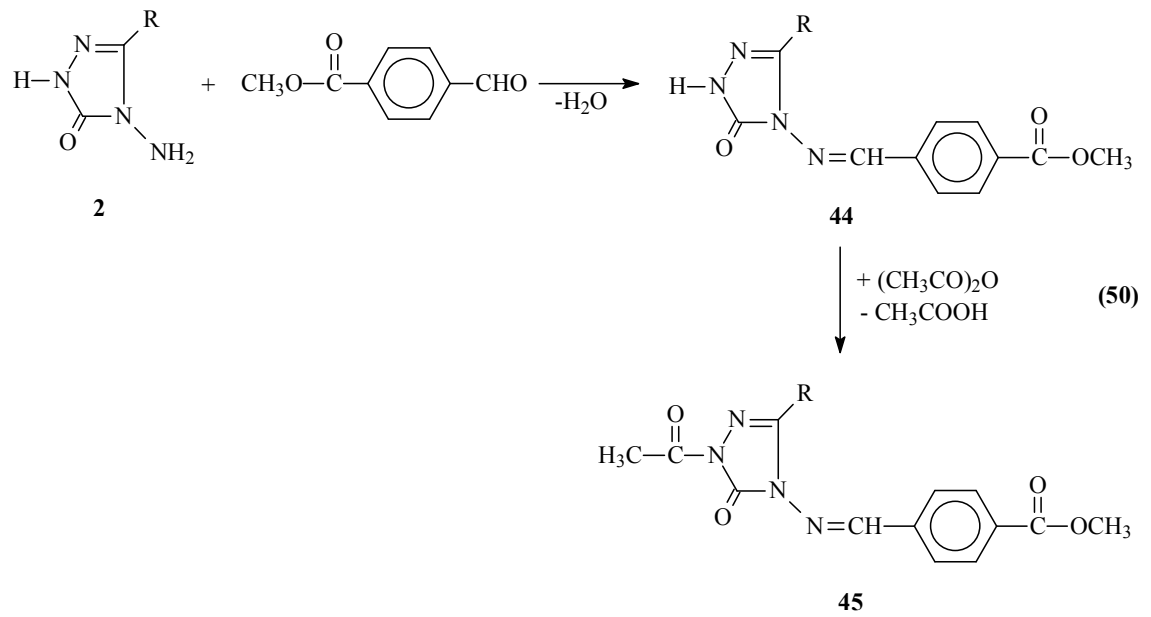
Schiff bazı tipinden 37 ve 39 bileşiklerinin sentezlendiği iki farklı çalışmadan birinde 2 tipi bileşikler; 3-metoksibenzaldehid [49], diğerinde ise 4-metoksibenzaldehid [50] ile reaksiyona sokulmuştur. Sentezlenen 37 ve 39 tipi bileşiklerin susuz çözücülerde potansiyometrik olarak titrasyonları yapılarak asitlik sabitleri tayin edilmiştir. Ayrıca *N*-asetil türevleri (38 ve 40) sentezlenmiştir (Denklemler 47 ve 48) [50].



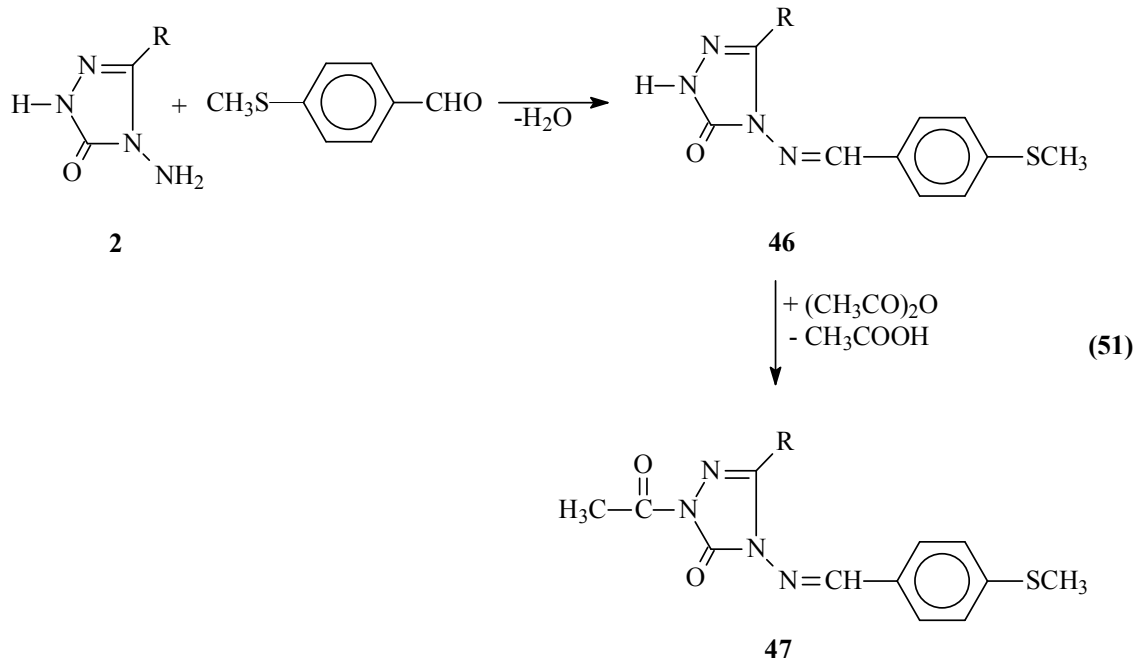
Yine son birkaç yılda yapılan bir çalışmada 2 tipi bileşiklerin 3-etoksi-4-hidroksibenzaldehid ile reaksiyonundan Schiff bazları olan 3-alkil(aril)-4-(3-etoksi-4-hidroksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (41) bileşikleri elde edilmiş, susuz çözücülerde pK_a değerleri tayin edilmiş; *N*- ve *O*-metil (42) ile *N*- ve *O*-asetil (43) türevleri sentezlenmiştir (Denklemler 47) [51].

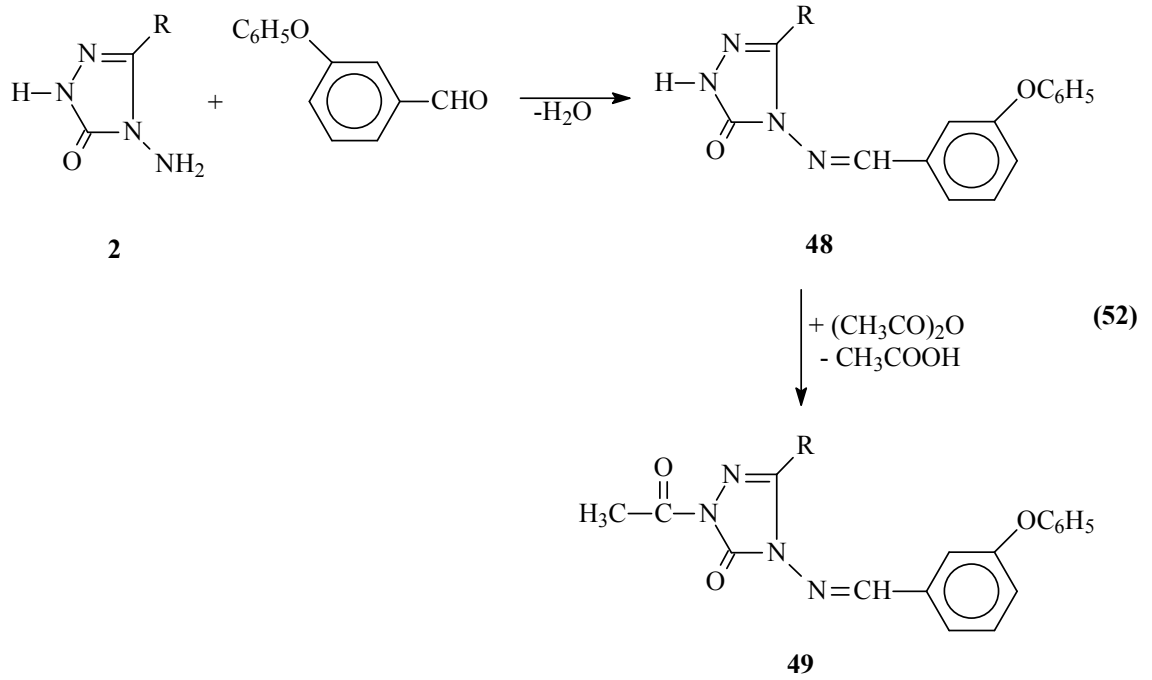


3-Alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-onların (2) bazı yeni türevleri ile ilgili teorik çalışmalar da yapılmıştır. Bunlardan birinde 2 tipi bileşiklerinin 4-formilbenzoat ile muamelesinden 44 tipi 3-alkil(aril)-4-(4-metoksikarbonilbenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri ve *N*-asetil türevleri (45) elde edilmiştir. Çalışmada sentezlenen bileşiklerin ¹H ve ¹³C-NMR spektrumları deneysel ve teorik olarak incelenmiştir (Denklem 50) [52, 53].

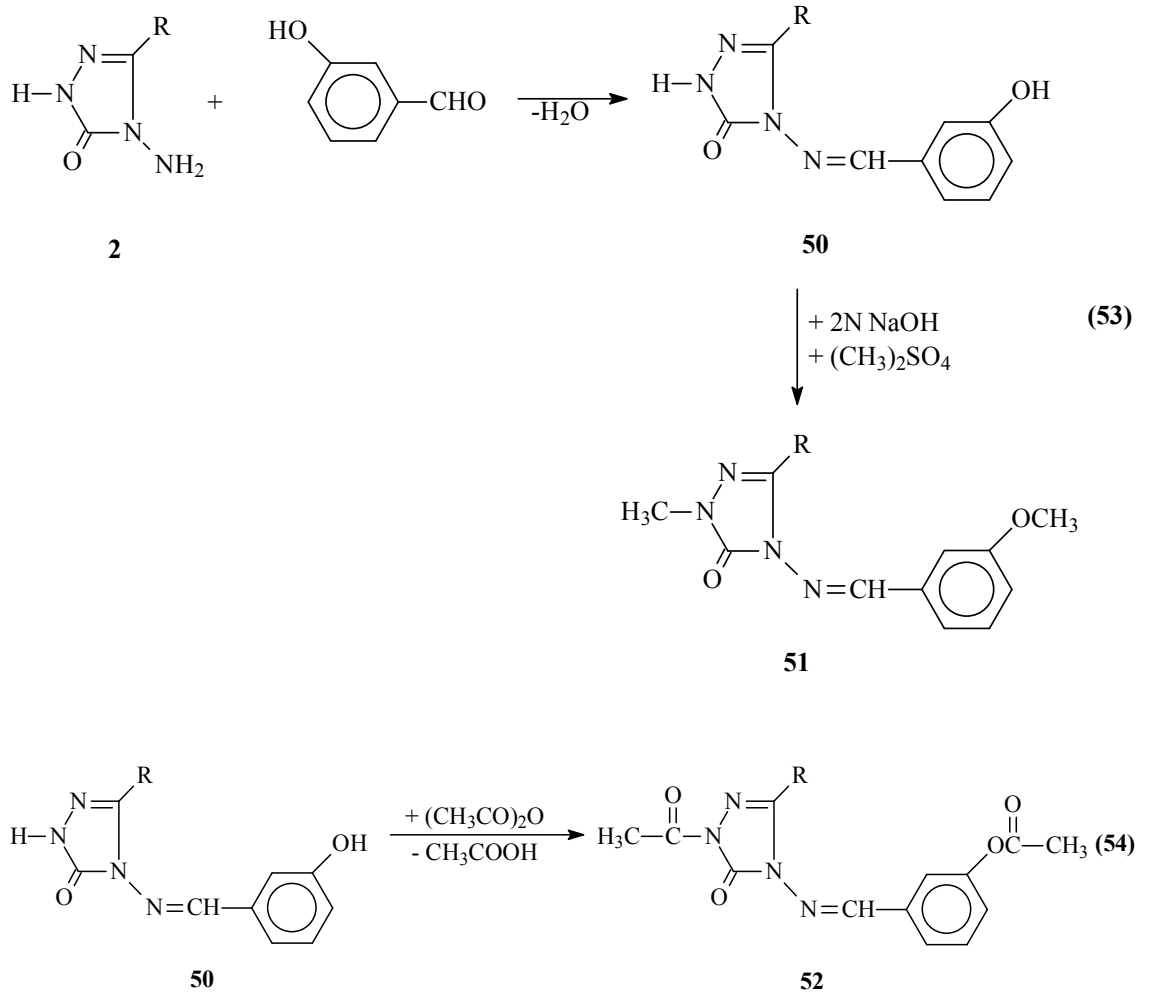


Son birkaç yıl içerisinde yapılan iki ayrı çalışmanın birinde 2 tipi bileşiklerin 4-metiltiyobenzaldehid ile reaksiyonundan 3-alkil(aril)-4-(4-metiltiyobenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (46) bileşikleri elde edilmiş ve bunların asetik anhidrid ile reaksiyonundan da 47 tipi *N*-asetil türevleri sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin antioksidan özelliklerinin yanında, 46 tipi bileşiklerin asitlik özellikleri de incelenmiştir (Denklem 51) [54]. Diğer çalışmada ise 48 tipi bileşikler, 2 tipi bileşiklerinin 3-fenoksibenzaldehid ile reaksiyonundan elde edilmiş ve bunların da asetik anhidrid ile muamelesinden 49 tipi *N*-asetil türevleri elde edilmiştir. Çalışmada ayrıca sentezlenen bileşiklerin antioksidan özelliklerinin incelenmesi yanında 48 tipi bileşiklerin 4 farklı susuz çözücüde (izopropil alkol, tert-butil alkol, asetonitril, *N,N*-dimetil formamid) potansiyometrik yöntemle pK_a değerleri belirlenmiştir (Denklem 51 ve 52) [55].

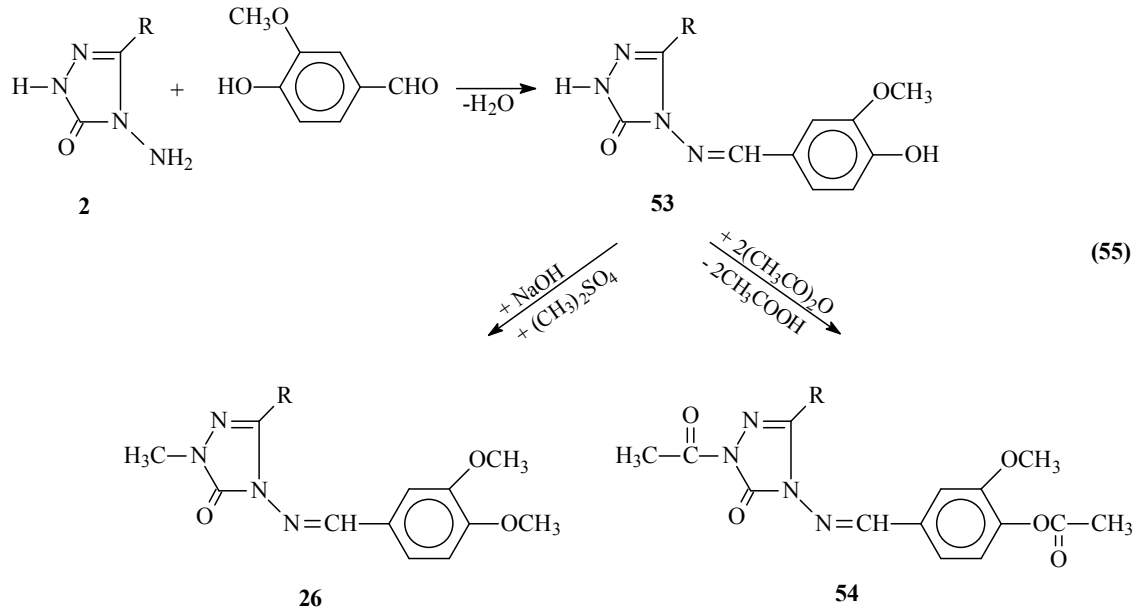




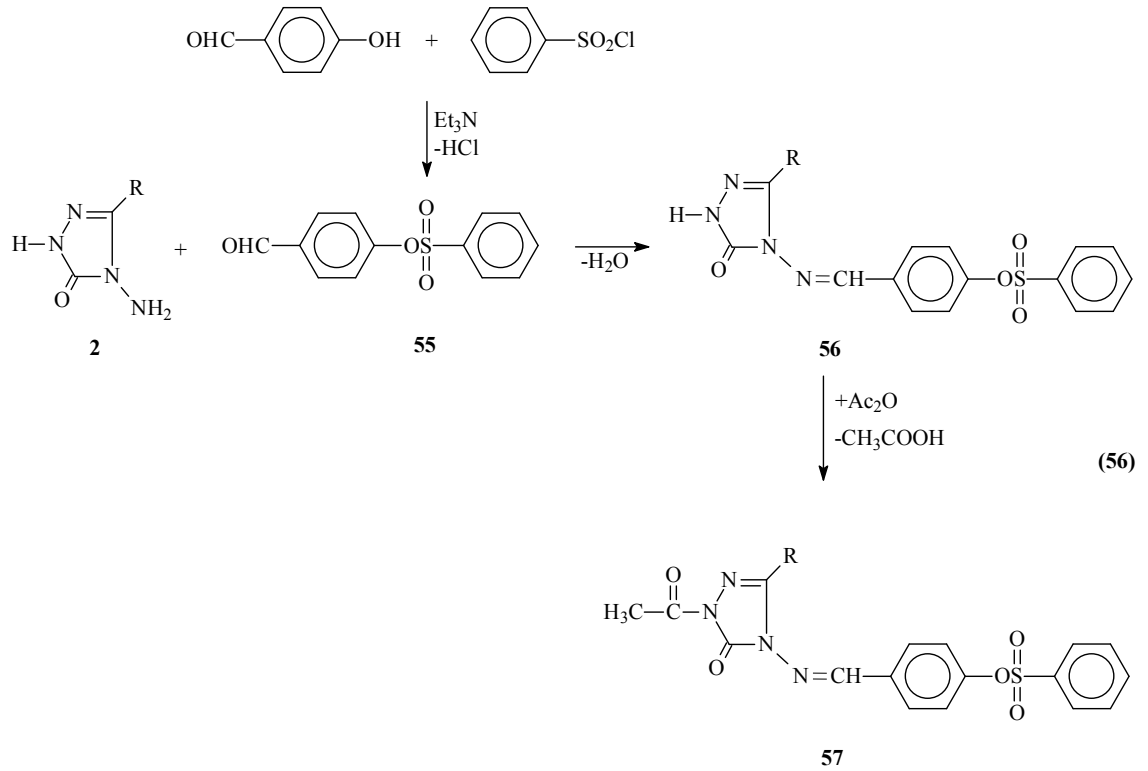
Bir başka çalışmada 2 tipi bileşiklerin 3-hidroksibenzaldehid ile muamelesinden 50 tipi bileşikler elde edilmiş ve sentezlenen 50 tipi bileşikleri 2N NaOH'li ortamda $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$ ile reaksiyonundan 51 tipi *N*- ve *O*-metil türevleri olan 1-metil-3-alkil(aril)-4-(3-metoksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri sentezlenmiştir (Denklem 53). Ayrıca, 50 tipi bileşiklerinin asetik anhidrid ile muamelesinden 52 tipi 1-asetil-3-alkil(aril)-4-(3-asetoksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri de sentezlenmiştir (Denklem 53 ve 54) [56].



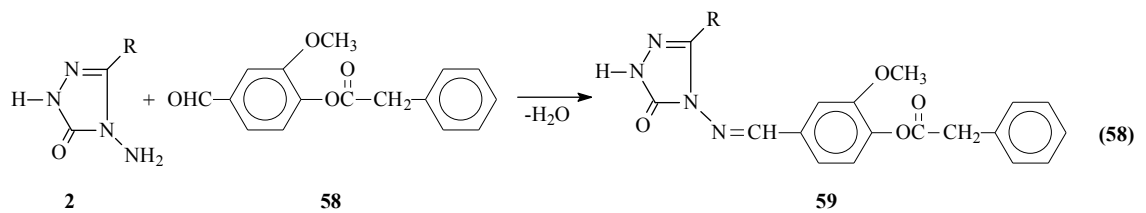
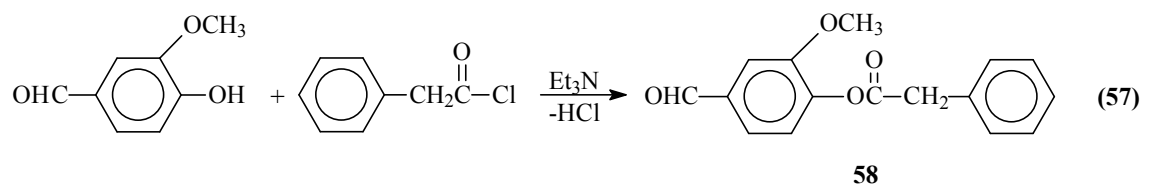
2 Tipi bileşiklerin vanillin (3-metoksi-4-hidroksibenzaldehid) ile reaksiyonları yakın bir zamanda incelenmiş ve 53 tipi 3-alkil(aril)-4-(3-metoksi-4-hidroksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri sentezlenmiştir. Ayrıca, 53 tipi bileşiklerin metillendirme ve asetillendirme reaksiyonları incelenerek 26 ve 54 tipi bileşikler sentezlenmiştir (Denklem 55). Çalışmada ayrıca, 53 tipi bileşiklerin farklı susuz çözücülerde TBAH ile potansiyometrik olarak titrasyonları yapılarak yarı nötralizasyon metodu ile asitlik sabitleri tayin edilmiştir. Buna ilaveten, sentezlenen yeni bileşiklerin 3 farklı yöntemle *in-vitro* antioksidan özellikleri de incelenmiştir [57-59].

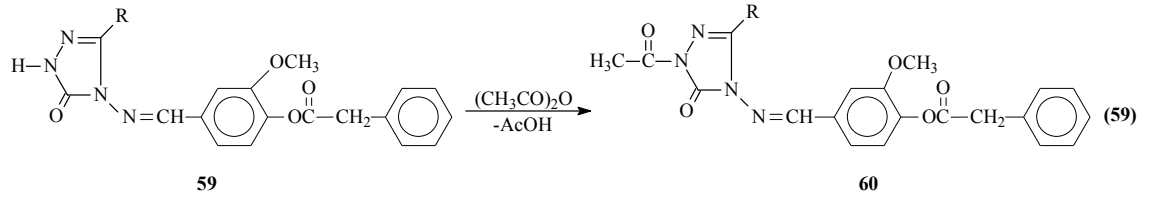


Benzensulfonil klorürün trietilamin varlığında 4-hidroksibenzaldehid ile buz banyosunda muamelesinden elde edilen 55 tipi benzaldehid türevinin 2 tipi bileşiklerle reaksiyonu da son yıllarda incelenmiş ve 56 tipi 3-alkil(aril)-4-(4-benzensulfoniloksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri elde edilmiş ve bu bileşiklerin *N*-asetillendirme reaksiyonları incelenerek 57 tipi bileşikler sentezlenmiştir. Çalışmada ayrıca 56 tipi bileşiklerin farklı susuz çözücülerde potansiyometrik yöntemle pK_a değerlerinin tayini yanında 56 ve 57 tipi bileşiklerin 3 farklı yöntemle *in-vitro* antioksidan özellikleri ve DNA ile eşleşme özellikleri incelenmiştir (Denklem 56) [60-63].

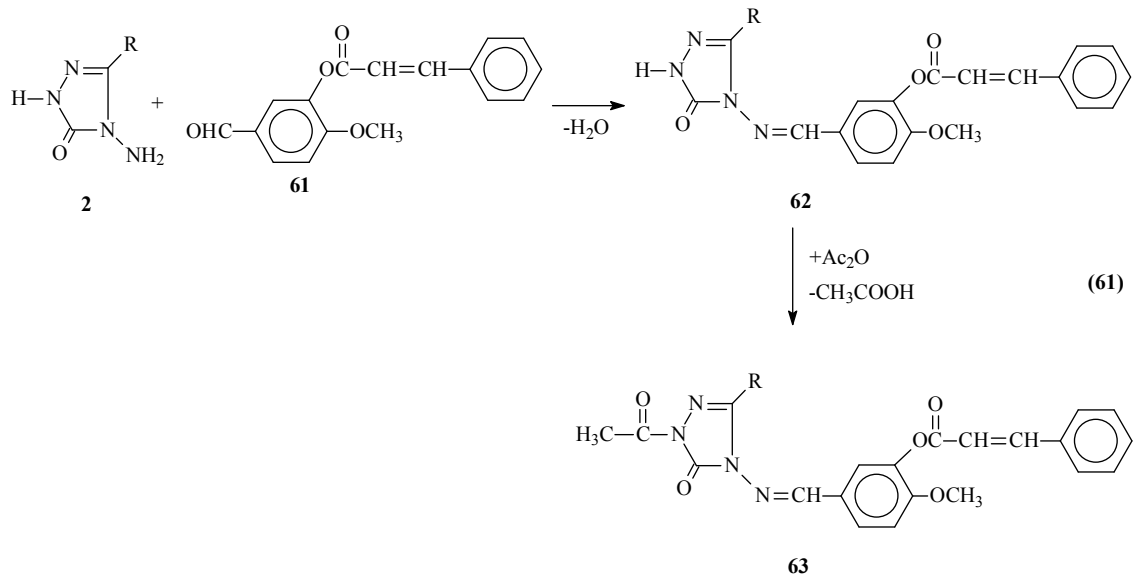
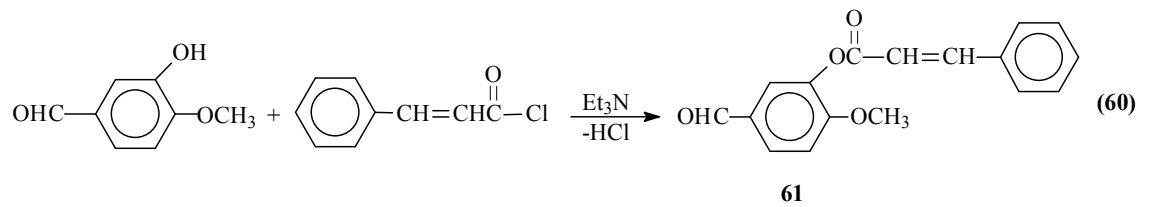


3-Metoksi-4-hidroksibenzaldehidin trietilaminli ortamda fenilasetil klorür ile reaksiyonundan sentezlenen 58 tipi benzaldehid türevi (3-metoksi-4-fenilasetoksibenzaldehid) ile 2 tipi bileşiklerin ayrı ayrı muamelesinden 59 tipi 3-alkil(aril)-4-(3-metoksi-4-fenilasetoksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin ve bunların asetillendirilmesinden de 60 tipi *N*-asetil türevlerinin elde edildiği bildirilmiştir (Denklem 57-59) [64].



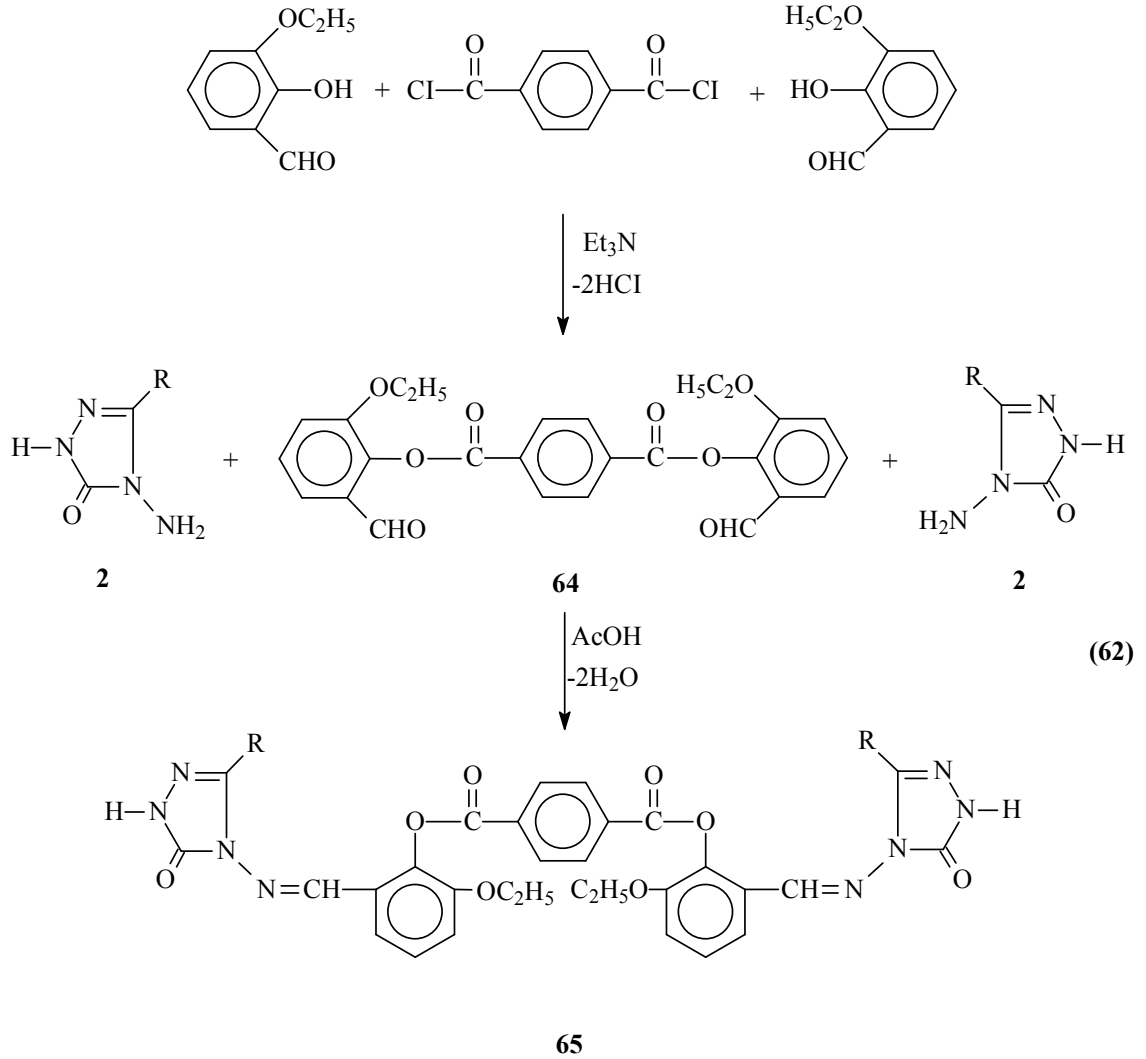


4-Metoksi-3-hidroksibenzaldehidin trietilaminli ortamda sinnamoil klorür ile reaksiyonundan sentezlenen 61 tipi benzaldehid türevi (4-metoksi-3-sinnamoiloksibenzaldehid) ile 2 tipi bileşiklerin ayrı ayrı muamelesinden 62 tipi 3-alkil(aril)-4-(4-metoksi-3-sinnamoiloksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri sentezlenmiş ve *N*-asetil türevleri elde edilmiştir (63) (Denklem 60 ve 61) [65, 66].

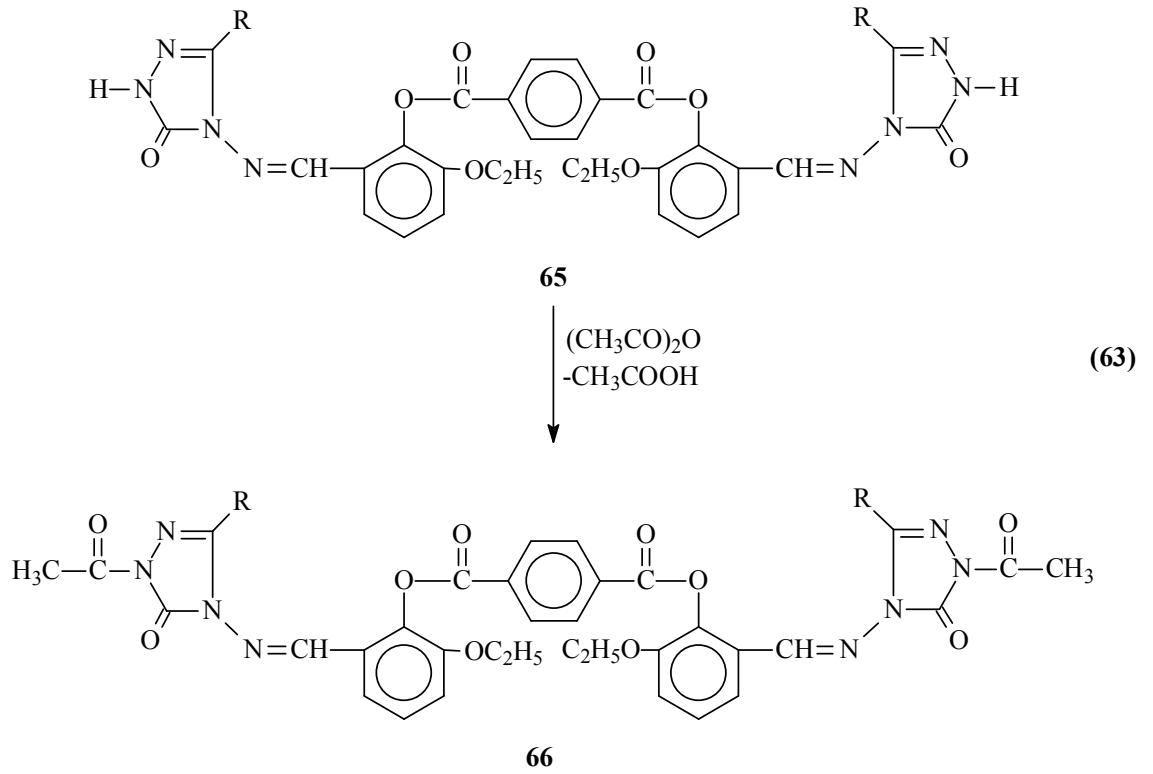


Tereftaloil klorürün trietilaminli ortamda etil asetat içinde soğukta 3-etoksisalisilaldehid (3-etoksi-2-hidroksibenzaldehid) ile muamelesinden yeni bir dialdehid olan 64 tipi di-(2-etoksi-5-formilfenil) tereftalat bileşiği elde edilmiştir. Bu bileşiğin 2 tipi bileşiklerle

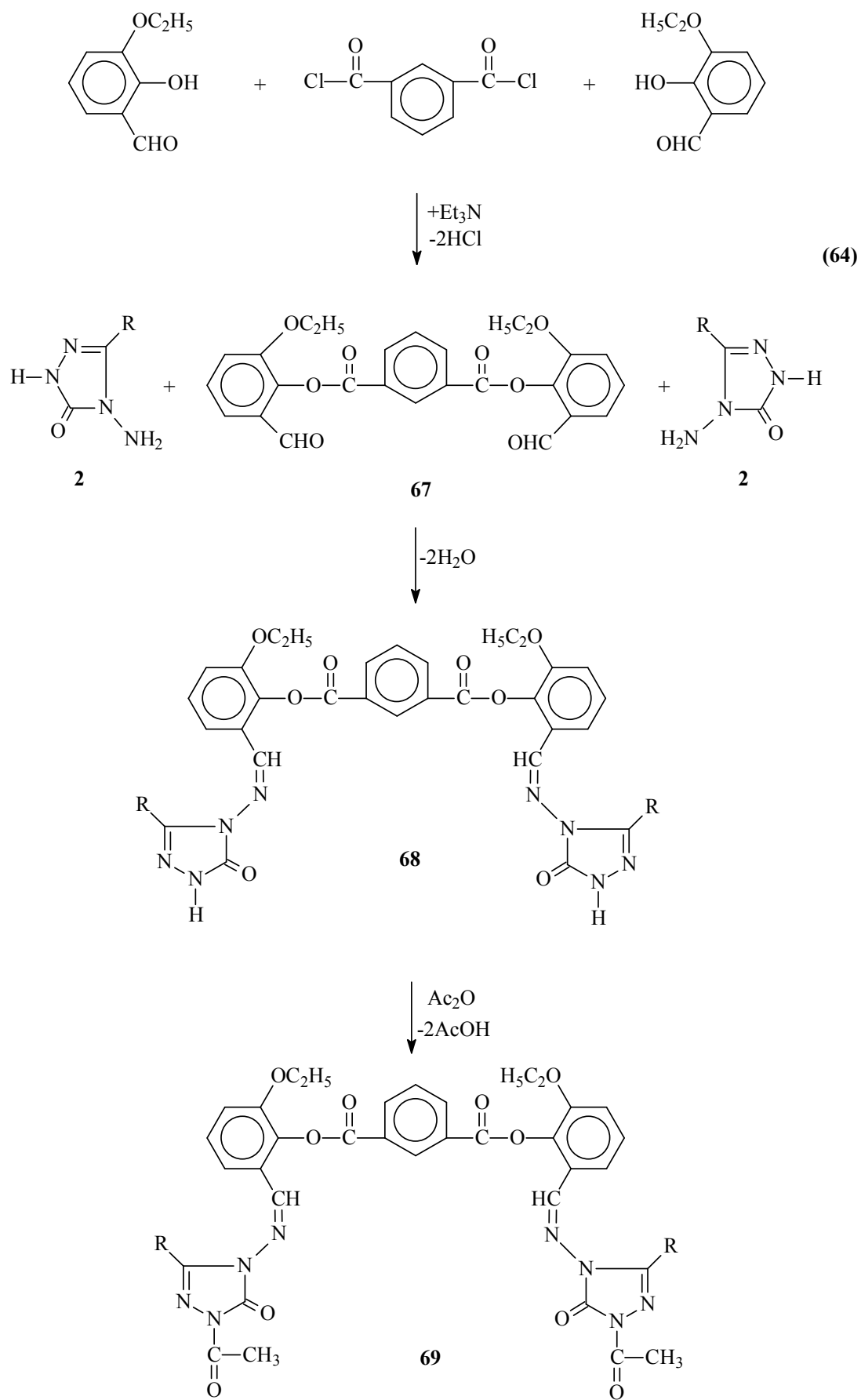
reaksiyonundan imin tipi heterosiklik yeni bileşikler olan 65 tipi di-[2-etoksi-5-(3-alkil/aril-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometinfenil] tereftalat bileşikleri sentezlenmiş ve farklı susuz çözücülerde potansiyometrik yöntemle pK_a değerlerinin tayini yapılmıştır (Denklem 62) [67].



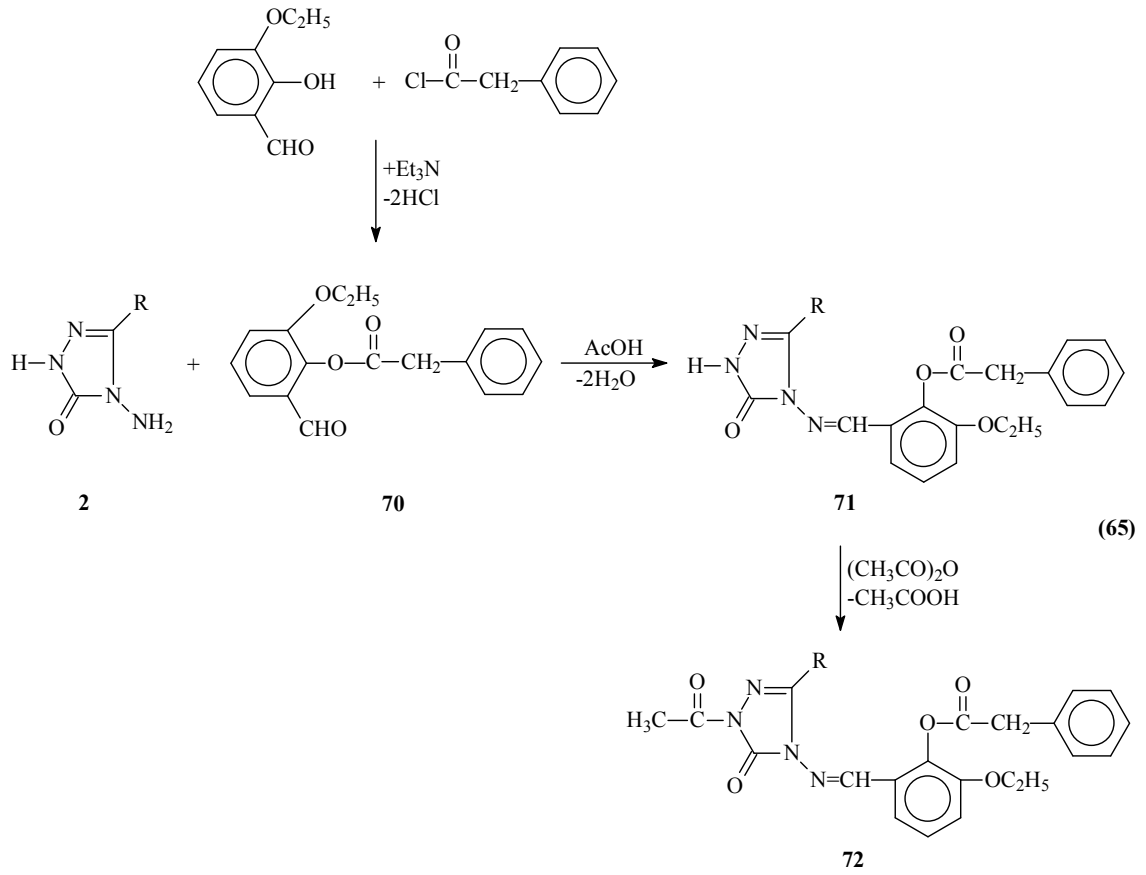
Denklem 62 uyarınca sentezlenen 65 tipi bileşiklerin asetik anhidrid ile asetillendirme reaksiyonları da incelenmiş olup, karşın olan 66 tipi di-[2-etoksi-5-(1-asetil-3-alkil/aril-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometinfenil] tereftalat bileşikleri olan 6 adet yeni *N*-asetil türevi elde edilmiş, 65 ve 66 tipi bileşiklerin 3 farklı yöntemle *in-vitro* antioksidan özellikleri incelenmiştir (Denklem 63) [67].



Çalışmada tereftaloil klorür yerine izoftaloil klorür kullanılmış ve aynı şartlarda 3-etoksisalisilaldehid (3-etoksi-2-hidroksibenzaldehid) ile muamele sonucu yeni bir dialdehid olan 67 tipi di-(2-etoksi-5-formilfenil) izoftalat bileşiği elde edilmiştir. Bu bileşiğin 2 tipi bileşiklerle reaksiyonundan imin tipi heterosiklik yeni bileşikler olan 68 tipi di-[2-etoksi-5-(3-alkil/aril-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometinfenil] izoftalat bileşikler sentezlenmiştir. Sentezlenen 68 tipi bileşiğin de asetik anhidrid ile *N*-asetillendirme reaksiyonları incelenmiş ve karşın olan 69 tipi di-[2-etoksi-5-(1-asetil-3-alkil/aril-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometinfenil] izoftalat bileşikleri elde edilmiştir (Denklem 64) [67].

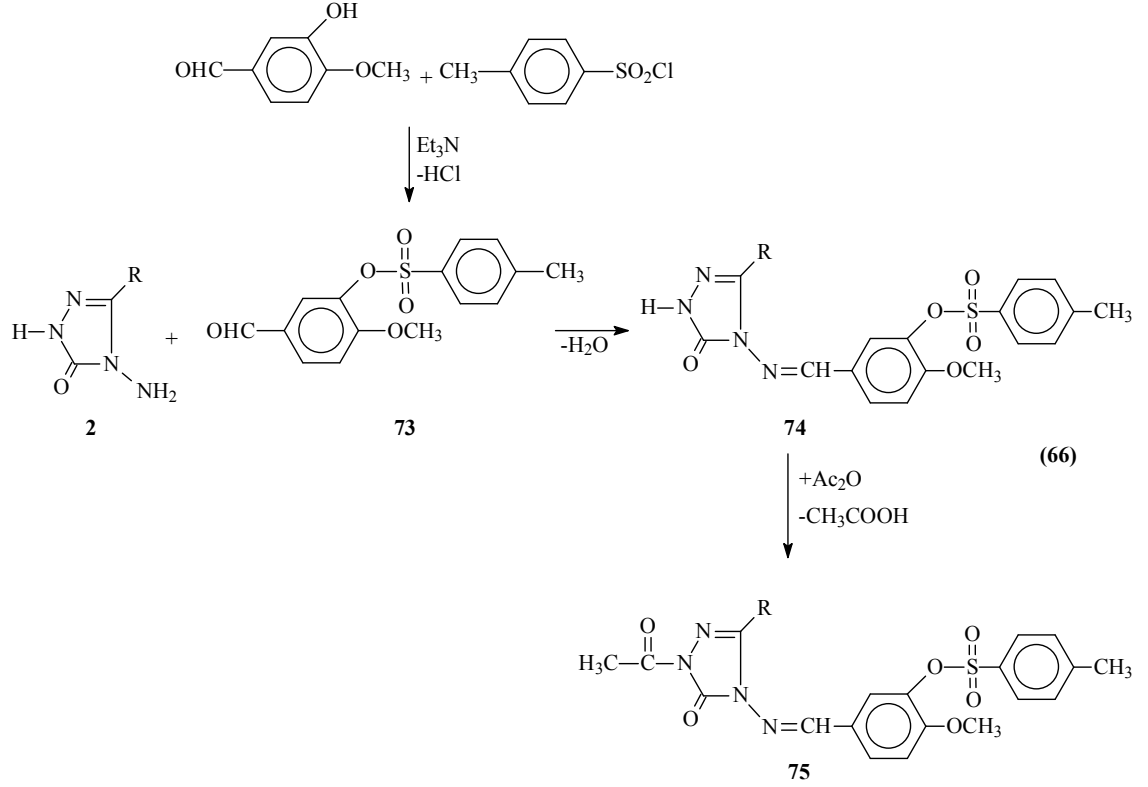


Yapılan başka bir çalışmada ise, 3-etoksisalisilaldehid (3-etoksi-2-hidroksibenzaldehid) trietilaminli ortamda fenilasetil klorür ile muamele edilmiş ve yeni bir benzaldehid türevi olan 2-fenilasetoksi-3-etoksibenzaldehid (70) elde edilmiş ve 2 tipi bileşikler ile reaksiyona sokularak yeni 3-alkil(aril)-4-(2-fenilasetoksi-3-etoksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (71) bileşiği sentezlenmiştir. Ayrıca, sentezlenen 72 tipi bileşiklerin asetik anhidrid ile *N*-asetillendirme reaksiyonları da incelenmiş ve karşın olan 72 tipi yeni heterosiklik bileşikler sentezlenmiştir (Denklem 65) [67].

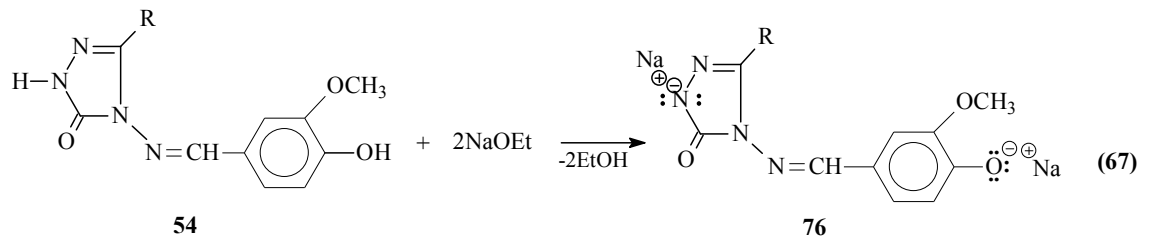


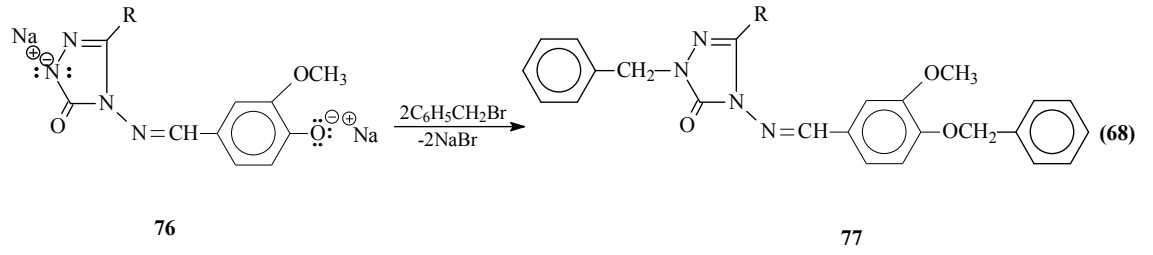
Son yıllarda yapılan bir çalışmada 3-hidroksi-4-metoksibenzaldehidin trietilaminli ortamda *p*-toluensulfonyl klorür ile reaksiyonundan sentezlenen 4-metoksi-3-(*p*-toluensulfonyloksi)-benzaldehydin (73) 2 tipi bileşiklerle ayrı ayrı muamelesinden 74 tipi 3-alkil(aril)-4-[4-metoksi-3-(*p*-toluensulfonyloksi)-benzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikler sentezlenmiştir ve bu bileşiklerin asetik anhidrid ile muamelesinden yeni 75 tipi 1-asetil-3-alkil(aril)-4-[4-metoksi-3-(*p*-toluensulfonyloksi)-

benzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri elde edilmiştir. Elde edilen bu bileşiklerin biyolojik aktiviteleri incelenmiştir (Denklem 66) [68].

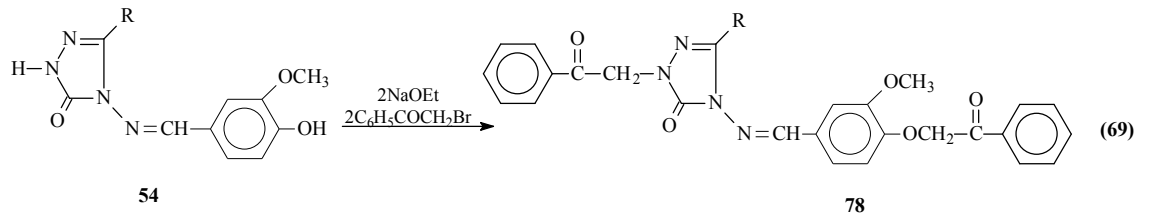


Yapılan başka bir çalışmada, Kaynak 57'e göre Denklem 55 uyarınca sentezlenen 54 tipi bileşiklerin sodyum etoksitli ortamda benzil bromür ile reaksiyonlarından *N*- ve *O*-benzil türevleri olan 77 tipi 1-benzil-3-alkil(aril)-4-(3-metoksi-4-fenilmetoksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on sentezlenmiştir (Denklem 67 ve 68) [64].

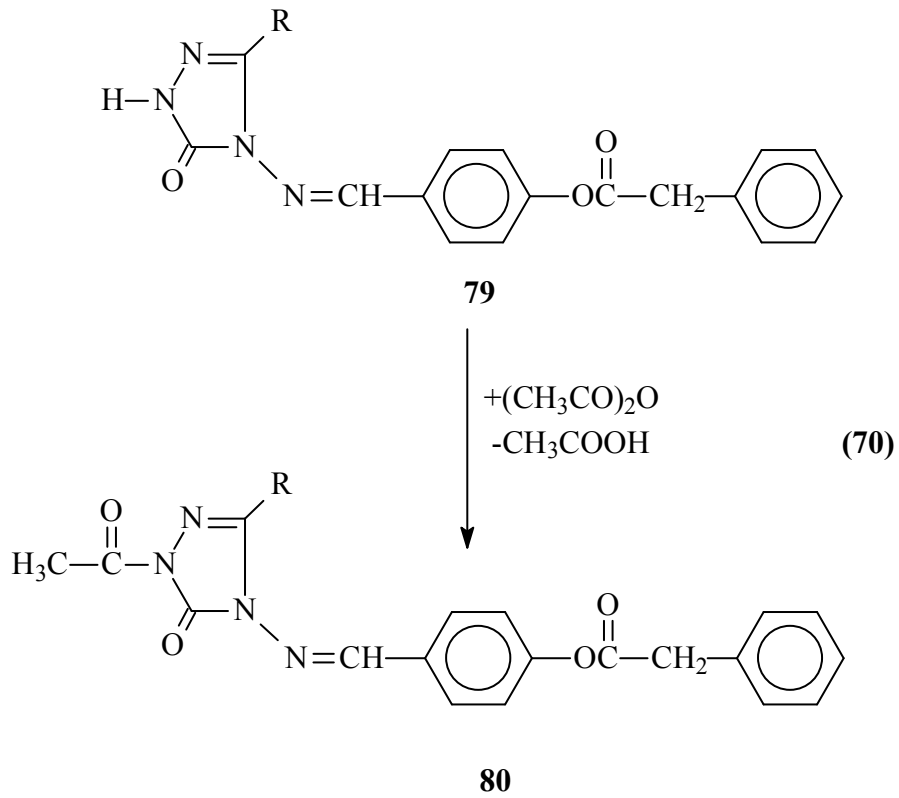




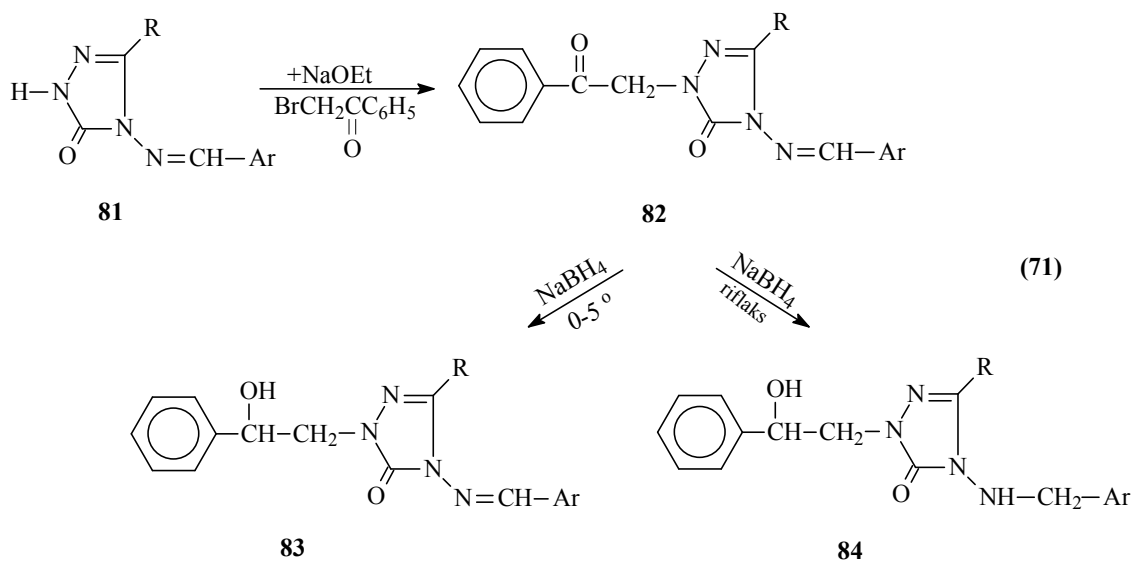
Aynı çalışmada 54 tipi bileşiklerin sodyum etoksitli ortamda fenasil bromür ile de reaksiyonları incelenmiş ve 78 tipi 1-fenasil-3-alkil(aril)-4-(3-metoksi-4-benzoilmetoksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri sentezlenmiştir (Denklem 69) [64].



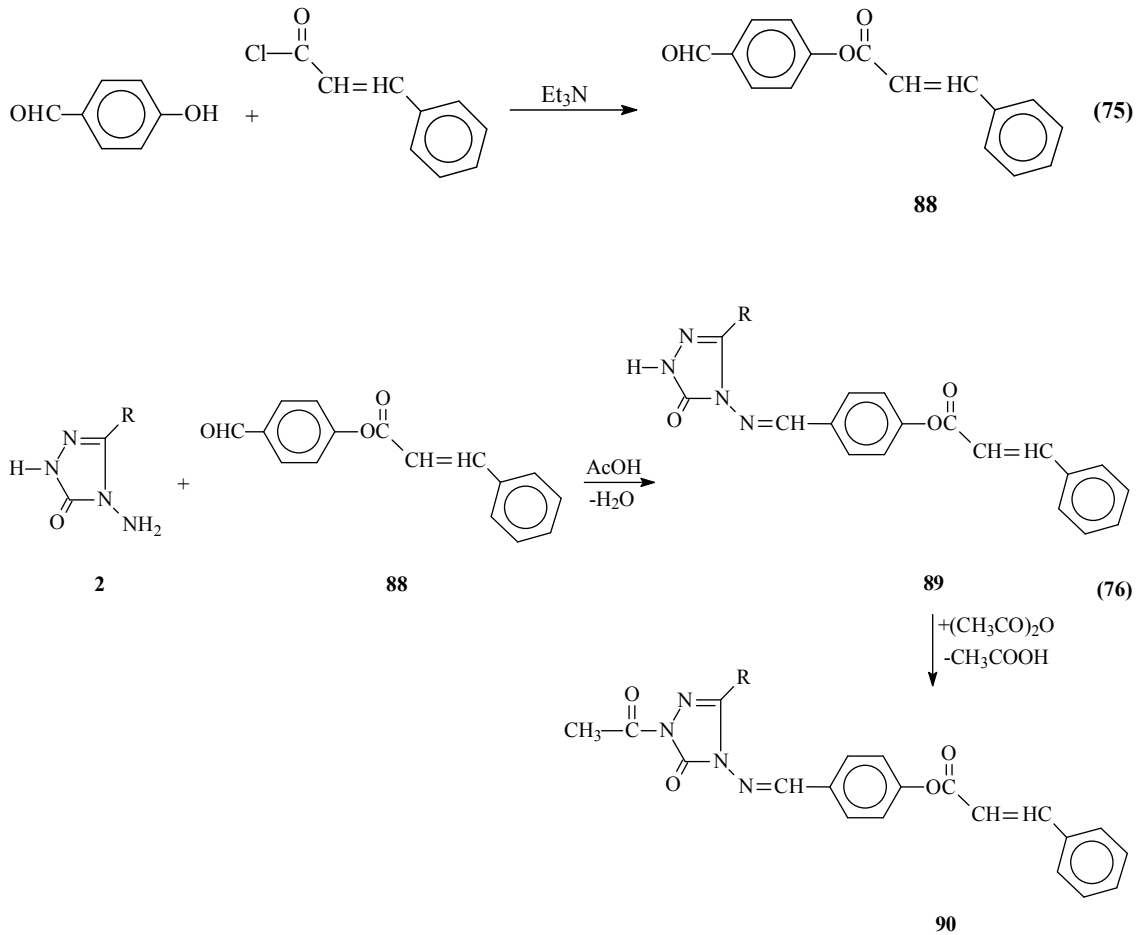
Son zamanlarda yapılan farklı bir çalışmada 79 tipi bileşiklerinin asetik anhidrid ile muamelesinden 80 tipi *N*-asetil türevleri sentezlenmiş, yapıları aydınlatılmış ve *in-vitro* antioksidan özellikleri incelenmiştir (Denklem 70) [69].

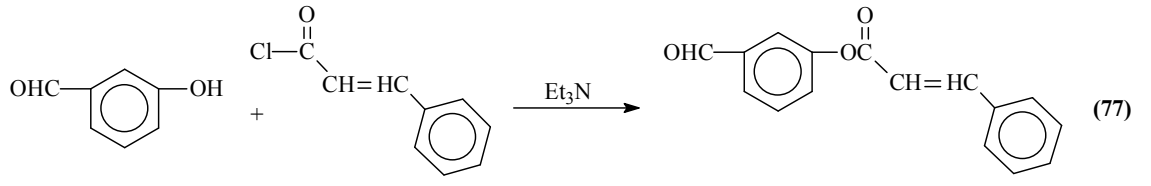


Son yıllarda yapılan ilginç bir çalışmada ise, 81 tipi bileşiklerin sodyum etoksitli ortamda fenasil bromür ile reaksiyonları incelenmiş ve sentezlenen 82 tipi bileşiklerin farklı iki reaksiyon şartlarında NaBH₄ ile indirgenme reaksiyonları incelenerek 83 ve 84 bileşikleri elde edilmiştir (Denklem 71) [70].

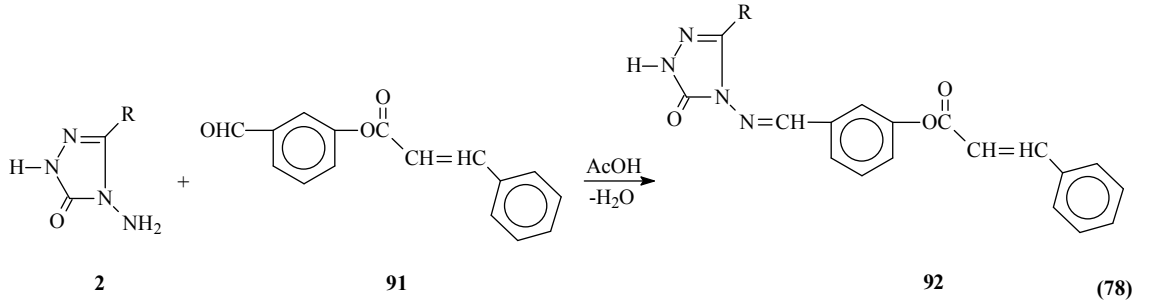


edilmiş ve bu bileşiklerin asetik anhidrid ile muamelesinden 90 tipi 1-asetil-3-alkil(aril)-4-(4-sinamoiloksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on ve 93 tipi 1-asetil-3-alkil(aril)-4-(3-sinamoiloksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin 3 farklı yöntemle *in-vitro* antioksidan özelliklerinin incelenmiştir. 89 ve 92 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. Ayrıca, sentezlenen bileşiklerin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR, infrared spektral verileri ile UV-Vis verileri deneysel ve teorik olarak mukayese edilmiştir. İlâveten, teorik olarak HF/631G(d) ve DFT/631G(d) temel setleri ile bağ açıları, bağ uzunlukları, mulliken yükleri, dipol momentleri HOMO-LUMO enerjileri ve molekülün toplam enerjileri hesaplanmıştır (Denklem 75-78) [74, 75].

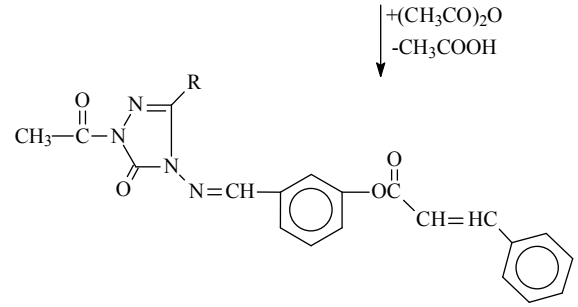




91



92



Son zamanlarda yapılan farklı bir çalışmada, 3-hidroksibenzaldehidin trietilaminli ortamda soğukta 3-metoksibenzoil klorür ile reaksiyonundan 3-(3-metoksibenzoksi)-benzaldehyd (94) sentezlenmiştir (Denklem 79). 3-(3-metoksibenzoksi)-benzaldehyd (94) ile 2 tipi bileşiklerin muamelesinden 95 tipi 3-alkil(aril)-4-[3-(3-metoksibenzoksi)-benzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri sentezlenmiştir. Sentezlenen bu bileşiklerin asetik anhidrid ile muamelesinden 96 tipi 1-asetil-3-alkil(aril)-4-[3-(3-metoksibenzoksi)-benzilidenamino]-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri sentezlenmiştir (Denklem 80) [76]. 95 ve 96 Tipi bileşiklerin 3 farklı yöntemle *in-vitro* antioksidan özelliklerinin incelenmiştir. 95 tipi bileşiklerin 4 farklı susuz çözücünde TBAH ile potansiyometrik titrasyonları yapılarak asitlik sabitleri tayin edilmiştir. Ayrıca, sentezlenen bileşiklerin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR, infrared spektral verileri ile UV-Vis verileri deneysel ve teorik olarak mukayese edilmiştir. İlâveten, teorik olarak bağ açıları, bağ uzunlukları, mulliken yükleri, dipol momentleri HOMO-LUMO enerjileri ve molekülün toplam enerjileri hesaplanmıştır [76].

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. Penisilin ve slfonamidlerden sonra özellikle 30-60'lı yıllar arasında, başta 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 [79].

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: Çoğunlukla fungal kaynaklardan elde edilirler. Sentetik olanlardan daha toksiktirler. Benzilpenisilin ve Gentamicin bu grup antibiyotiklerdendir.

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.

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.

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 laboratuvarlarda 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.

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

1.5.1.3. 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 antimikrobiyallerde 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.

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.

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.

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 infeksiyon ajanlarını konağa ciddi zararları olmadan öldürürler.

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. Farmakope (kodeks) de yer alan ve antimikrobiyal etkisi bilinen esansiyel yağlar şu şekildedir: tarçın yağı, karanfil yağı, okaliptüs, sarımsak, kekik otu, lavanta, limon, nane, kekik vb.

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.

1.3.1.4. Etki Mekanizmalarına göre Antimikrobiyaller

1- Hücre Duvarı Sentezini Bozanlar: İnsan hücrelerinde hücre duvarı bulunmadığı için insan hücrelerinin yapısını bozamazlar.

- a. Penisilin bağlayan proteinlere (PBP) bağlanarak etkili olanlar: Beta laktamlar
- b. PBP'lere bağlanmaksızın direkt olarak hücre duvarı sentezini bozanlar: Vankomisin, teikoplanin.

2- Sitoplazmik Membran Geçirgenliğini Arttıranlar: Sitoplazmik membrana etkili antimikrobiyaller; membran yapısında bulunan maddeleri parçalayarak, sterollere bağlanıp geçirgenliği bozarak veya sterol sentezini engelleyerek etki gösterirler. İnsan hücresinin sitoplazmik membranı, bakteriler ve mantarlar gibi diğer sellüler yapıların sitoplazmik membranlarına oldukça benzerlik göstermektedir. Bu nedenle, sitoplazmik membran geçirgenliğini arttıran etkili olan antimikrobiyaller, sistemik olarak kullanıldığında insan hücreleri üzerinde toksik etkiye bulunurlar. Başlıcaları şunlardır; Amfoterisin-B, nistatin, azoller, polimiksin-B.

3- Protein Sentezini Bozanlar: İnsan (60S+40S) ve bakteri ribozomları (50S+30S) yapısal farklılık gösterdiği için ribozoma bağlanarak etki gösteren antimikrobiyaller insan ribozomlarına ve protein sentezine zarar veremezler.

- a. Ribozomların 30S alt ünitesine bağlananlar: Aminoglikozidler, tetrasiklinler.
- b. Ribozomların 50S alt ünitesine bağlananlar: Kloramfenikol, makrolidler, linkozamidler.

4- Nükleik Asid Sentezini Önleyenler: İnsan DNA/RNA sentezinde kullanılan topoizomerazlar ile mikroorganizma nükleik asid sentezlerinde kullanılan enzimler farklı olduğu için insan hücrelerine bu yönde toksik etkileri bulunmaz.

- a. Transkripsiyonu önleyenler (DNA'ya bağımlı RNA polimeraz inhibisyonu): Rifampisin.
- b. Süpersarmal oluşumunu önleyenler (DNA girase inhibitörleri): Kinolonlar.

5- Antimetabolik Aktiviteliler: Sülfonamidler, trimetoprim, izoniazid [80, 81].

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.

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.

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 [85].

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 [82, 83].

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 kullanılabilceğini 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.

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 [80]. 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 [84].

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.

Mikroorganizmaların antibiyotiklere duyarlılığın saptanmasında, yaygın olarak kullanılan, başlıca 2 yöntem vardır.

1) Tüp Dilüsyon Tekniği: 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 dilüsyonları yapılarak gittikçe azalan yoğunlukta ilaç içeren dilüsyonları 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 dilüsyon MİK değeri olarak kabul edilir. Üremenin olmadığı bu son dilüsyondan 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.

2) Disk Difüzyon Tekniği: 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.

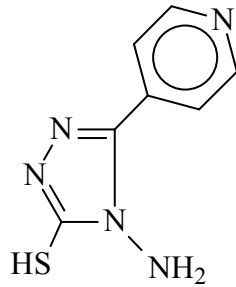
Kirby-Bauer yönteminde, aynı zamanda, bir ilacın sıvı besiyerinde saptanan (MİK) değeri (mg/ml) ile agar üzerindeki zon çapı/mm karşılaştırılarak da duyarlı intermedier ve dirençli bölgeler grafikte belirlenebilir. Böylece, kandaki konsantrasyonunun ne olacağı saptanır. Ayrıca, zon çapına göre MİK değerlerini de bulmak mümkündür. Disk diffüzyon yöntemi az masraflı, az zahmetli ve kolay uygulanırlığı yanı sıra, bir petri kutusunda 5-6 antibiyotiğe karşı duyarlılığı belirlemek ve en etkili olan ilacı saptamak mümkündür. Bu nedenle çok fazla tercih edilmektedir.

3) Diğer teknikler: Mikrotitrasyon ve agar içinde dilusyon yöntemleri daha az başvurulan teknikler arasındadır [85].

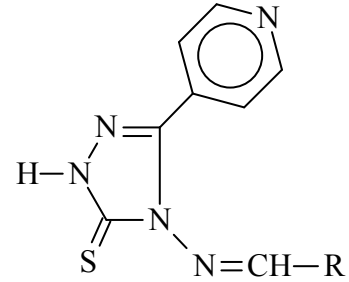
1.3.5. Antimikrobiyal Aktiviteyle İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar

Son yıllarda enfeksiyon hastalıklarının artması, antibiyotiğe dirençli patojenik mikroorganizmaların ortaya çıkması gibi durumlardan dolayı yeni mikrobiyal bileşiklerin sentezlenmesine ihtiyaç duyulmaktadır. 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.

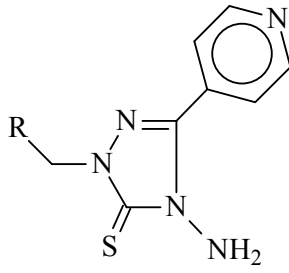
Birçok ilaca karşı direnç geliştirmiş ölümcül mikroorganizmaların (gram negatif ve gram pozitif patojen bakteriler gibi) son yıllarda ortaya çıkması nedeniyle yeni antibakteriyal ajanlar geliştirmeye çalışılmaktadır. Azol türevleri bunlardan biridir. 1,2,4-triazol halkası bulunduran Flukonazol, Itrakonazol, Vorikonazol, Ravukonazol ve Posakonazol önemli antifungal ilaçlardır. 1,2,4-triazol ve 1,3,4-tiyadiazol halkaları ya da çekirdeği bulunduran bileşikler, Schiff baz türevleri anti-enflamatuvar, antiviral gibi değişik biyolojik aktivitelere neden olmaktadır. Schiff baz türevleri antikanser ilacı olarak sentezlenmiştir ve Mannich baz 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 merkaptto gruplarını içeren heterosiklik moleküller sentezlendiğinde nükleofilik merkezli, elektrofillerle etkileşime geçebilen Mannich ve Schiff baz yapılarında 1,3,4-oksadiazol 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 [86]. Bu çalışmada biyolojik aktiviteleri incelenen ve çalışma kapsamında sentezlenen bileşiklerin formülleri aşağıda verilmiştir.



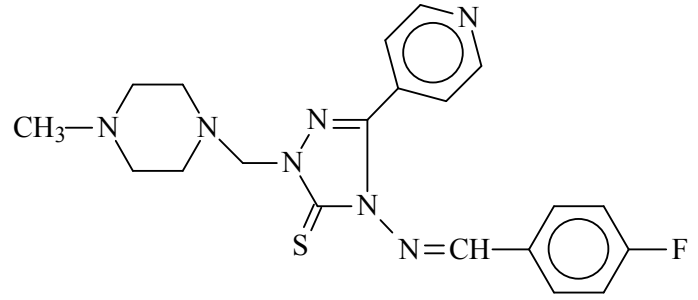
99



100

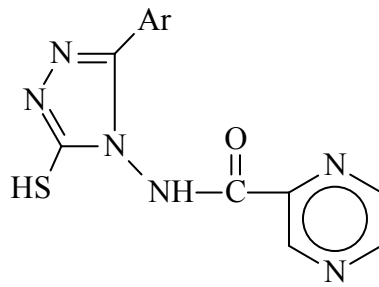


101

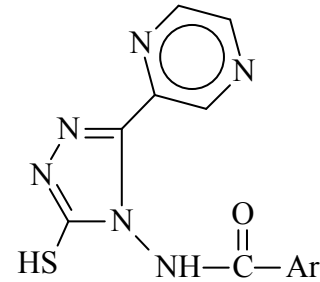


102

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 antitüberküloz etkileri in vitro şartlarda araştırılmıştır. Bunun sonucunda benzen halkasının antitüberküloz etkisine katkıda bulunmadığı ve pirazinin 3 pozisyonunda olmasının antitüberküloz ve antifungal etkisini arttırdığı anlaşılmıştır [87]. Çalışmada biyolojik aktiviteleri incelenen ve çalışma kapsamında sentezlenen bileşiklerin formülleri aşağıda verilmiştir.



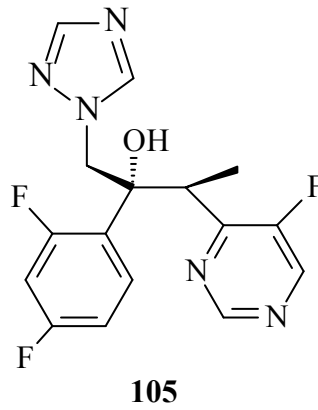
103



104

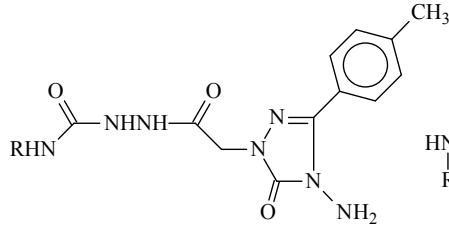
Triazol türevi vorikonazolün antifungal aktivitesinin itrakonazol ve amfoterisin B ile karşılaştırıldığı bir makalede, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Bipolaris* spp., *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Pseudallescheria boydii*, *Rhizopus arrhizus*,

Blastomyces dermatitidis, Histoplasma capsulatum ve Sporothrix schenckii kullanılmış ve ayrıca çok farklı maya türlerinde (*lastoschizomyces capitatus*, *Candida* (13 tür), *Cryptococcus neoformans*, *Hansenula anomala*, *Rhodotorula rubra*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Sporobolomyces salmonicolor* ve *Trichosporon beigeli*.) de araştırmalar devam etmiştir. Mikrodilüsyon testi sonuçlarına göre vorikonazol adlı yeni triazol türevinin en az karşılaştırıldığı maddeler kadar etkili olduğu ve geniş spektrumlu olarak kullanılabilceği gösterilmiştir [88]. Çalışmada biyolojik aktiviteleri incelenen ve çalışma kapsamında sentezlenen bileşiklerin formülleri aşağıda verilmiştir.

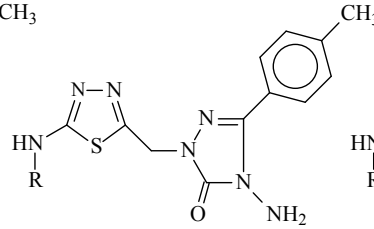


Eperozolid, oksazolidinon sınıfından bir antibiyotiktir. Morfolin ve oksazolidinon halkaları birbirine flurofenilen bağlantısıyla bağlıdır. Bunun gibi başka bir antibiyotik olan Linezolid ise morfolin içermez ancak piperazin halkaları içerir. Fungal enfeksiyonlar için kullanılan Itrakonazol, posakonazol ve ketokonazol gibi moleküller ise piperazinin yanında bir ya da daha fazla triazol halkasına da sahiptir. 1,2,4-triazol çekirdeği içeren birçok molekül de terapötik amaçlı kullanılmaktadır. Bunların içerisinde Ribavirin antiviral amaçlı, Rizatriptan antimigren için, Vorozol, Letrozol ve Anastrozol ise antitümoral amaçlı kullanılmaktadırlar. Ayrıca 1,2,4-tiyadiazol türevleri de önemli biyolojik aktivitelere neden olan heterosiklik moleküllerdir ancak sadece kefopram antibiyotik olarak kullanılmaktadır. 1,2,4-triazol bileşiklerinin Mannich baz türevlerinin de antitüberküler, antimalaryal, antikanser ve analjesik ilaç olarak kullanıldığı bilinmektedir. N-metilpiperazin veya morfolin içeren Mannich baz türevlerinin ise antibakteriyal etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Piperazin çekirdeği içeren Prazosin, Lidoflazin ve Urapidil ise kardiyovasküler rahatsızlıklar için etkili ilaçlardır.

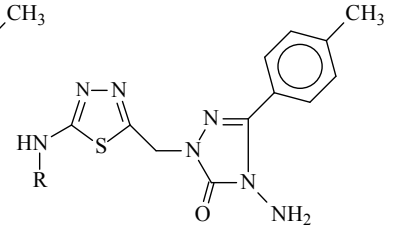
Bunların yanında florin atomu içeren bileşiklerin farklı biyolojik etkileri olduğu gösterilmiştir [89]. Çalışmada biyolojik aktiviteleri incelenen ve çalışma kapsamında sentezlenen bileşiklerin formülleri aşağıda verilmiştir.



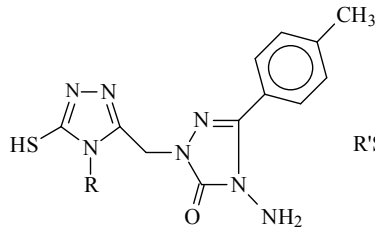
106



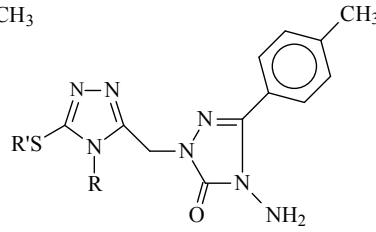
107



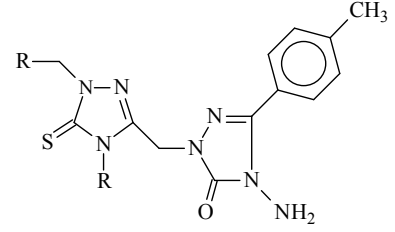
108



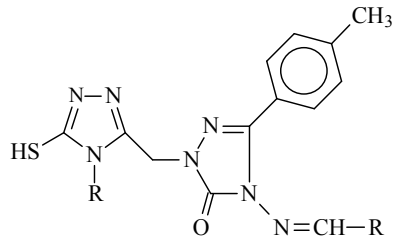
109



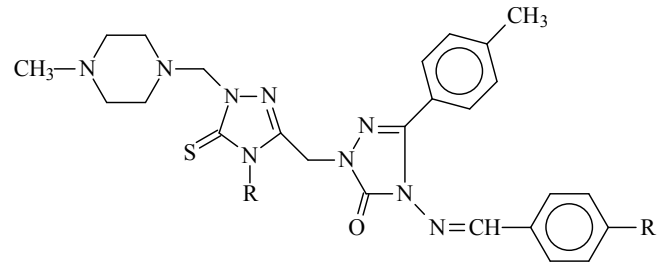
110



111



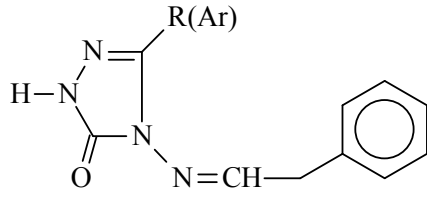
112



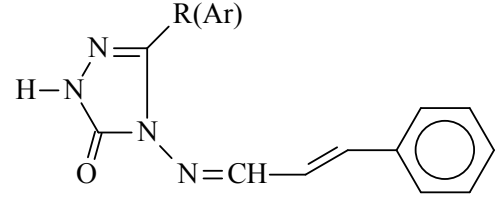
113

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 türevlerin de antimikrobiyal etkisi gösterilmiştir. Bunun yanında bu üç farklı yapı

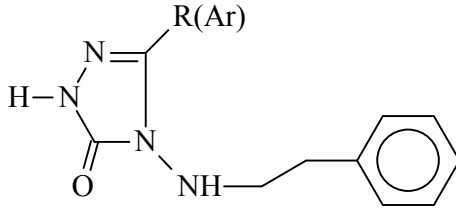
birleştirilip antimikrobiyal etkilerine de bakılmıştır. Heterosiklik üçüncü halka olarak morfolin veya metil piperazin Mannich reaksiyonu ile eklendiğinde hiçbir antimikrobiyal aktivite gözlemlenmemiştir. Feniletülenamin ve feniletülamino grupları taşıyan triazol türevlerinin antitumoral etkilerinin olduğu tümör hücre hatlarıyla yapılan çalışmalar sonucunda ortaya konmuştur [90]. Çalışmada biyolojik aktiviteleri incelenen ve çalışma kapsamında sentezlenen bileşiklerin formülleri aşağıda verilmiştir.



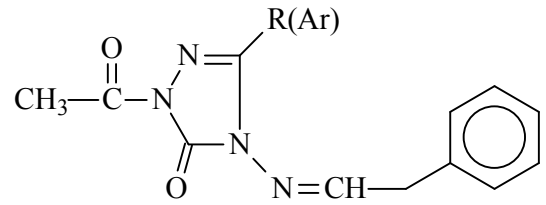
114



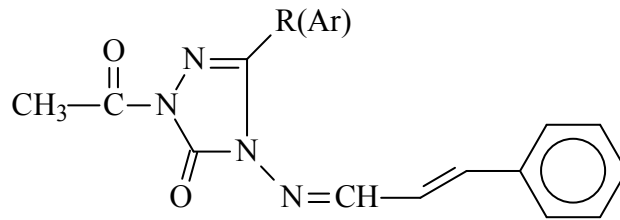
115



116



117



118

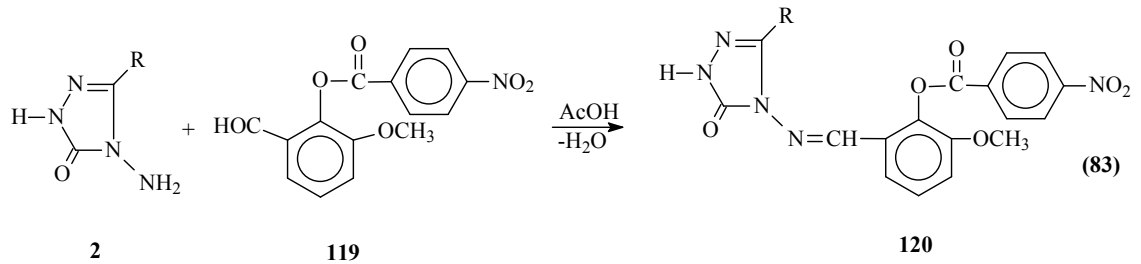
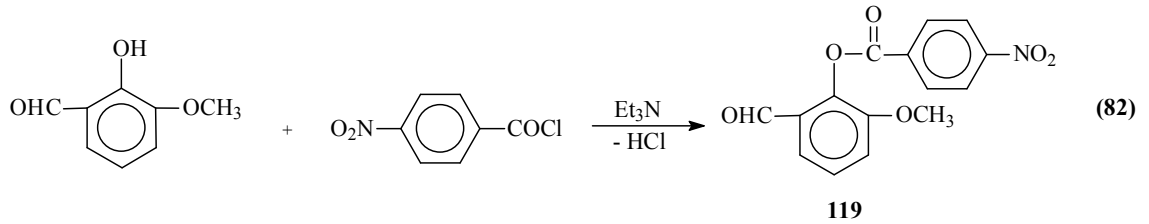
1.4. Yeni Bileşiklerin Sentezi

Çalışmada çeşitli reaksiyonları incelenen 2 tipi 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin sentezi amacıyla bugüne kadar bazı yöntemler geliştirilmiştir. Bu bileşiklerin sentezi için en uygun olan ve çalışmada da kullanılan yöntemde, nitrillerden Pinner Yöntemi [35]'ne göre sentezlenen 1 tipi iminoester hidroklorürler (alkil imidat hidroklorürler) in soğuk mutlak etanollü ortamda etil karbazat ile muamelesinden [25-28] elde edilen ester etoksikarbonilhidrazonlar (2) hidrazin hidrat ile kaynar sulu ortamda muamele edilmişlerdir (Denklem 11-13) [28-33].

Tez kapsamında sentezi planlanan orjinal bileşiklerin elde edilmesinde kullanılan 2 tipi 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-onların sentezi çalışmada ilk olarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla öncelikle karşın olan nitrillerden başlanarak Pinner Metoduna göre [35] Denklem 15 uyarınca literatürde kayıtlı 1 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), etil imido-p-klorofenilasetat hidroklorür (1e) ve etil imidobenzoat hidroklorür (1f) bileşikleri elde edilmiştir.

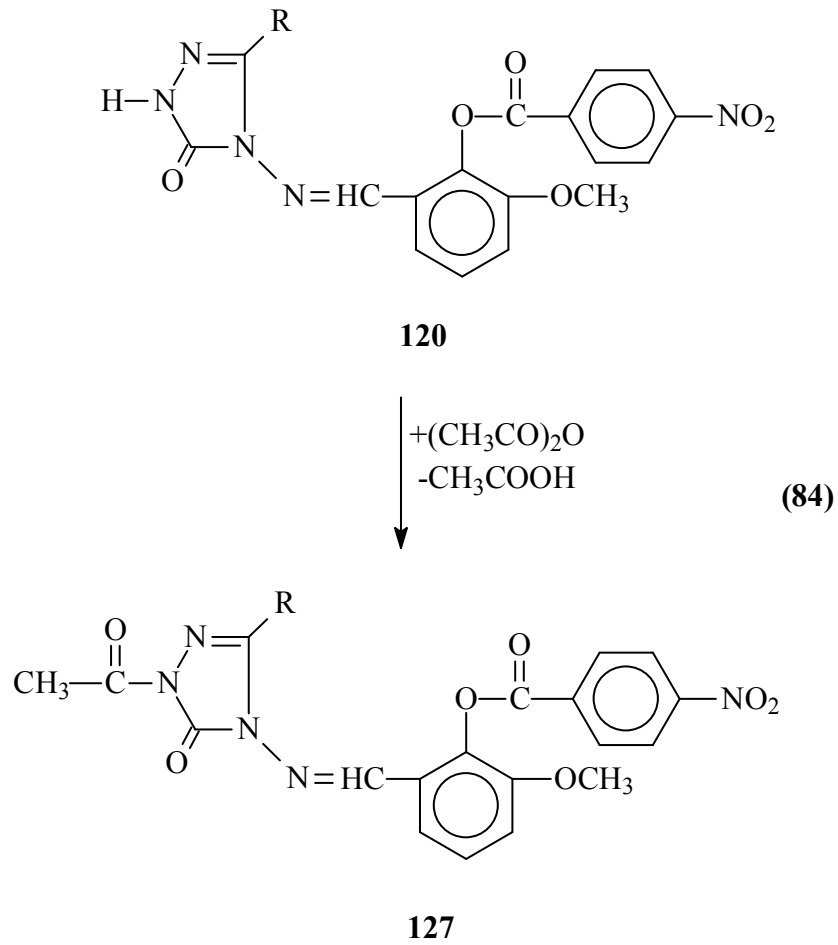
Çalışmada bunu izleyerek 1 tipi bileşiklerinin Denklem 13 uyarınca etil karbazat ile ayrı ayrı muamelesinden yine literatürde kayıtlı 4 tipi ester etoksikarbonilhidrazonlar olan etil asetat etoksikarbonilhidrazon (4a), etil propiyonat etoksikarbonilhidrazon (4b), etil fenilasetat etoksikarbonilhidrazon (4c), etil p-tolilasetat etoksikarbonilhidrazon (4d), etil p-klorofenilasetat etoksikarbonilhidrazon (4e) ve etil benzoat etoksikarbonilhidrazon (2f) bileşikleri sentezlenmiş ve bu bileşiklerin de denklem 14 uyarınca hidrazin hidrat ile ayrı ayrı muamelesinden çalışma için gerekli olan ve literatürde kayıtlı bulunan 2 tipi 3-metil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2a), 3-etil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2b), 3-benzil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2c), 3-*p*-metilbenzil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2d), 3-*p*-klorobenzil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2e) ve 3-fenil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (3f) bileşikleri elde edilmiştir.

Çalışmada ilk olarak, 2 tipi 2a-2f bileşiklerinin ayrı ayrı o-vanillin (2-hidroksi-3-metoksibenzaldehid)'in trietilamin varlığında 4-nitrobenzoil klorür ile Denklem 82 uyarınca muamelesinden elde edilen 2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzaldehid (119) ile reaksiyonları incelenerek 6 adet 120 tipi 3-alkil(aril)-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri olan 3-metil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (121), 3-etil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (122), 3-benzil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (123), 3-*p*-metilbenzil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (124), 3-*p*-klorobenzil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (125) ve 3-fenil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (126) bileşikleri sentezlenmiştir (Denklem 45 ve 46) [91].



Çalışmanın orijinal bölümünde 120 tipi bileşiklerinin asetik anhidrid ile muamelesinden elde edilen *N*-asetil türevleri olan 6 adet yeni 127 tipi 1-asetil-3-alkil(aril)-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri olan 1-asetil-3-metil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (128), 1-asetil-3-etil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (129), 1-asetil-3-benzil-4-

[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (130), 1-asetil-3-*p*-metilbenzil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (131), 1-asetil-3-*p*-klorobenzil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenziliden-amino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (132) ve 1-asetil-3-fenil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (133) bileşikleri sentezlenmiştir (Denklem 84).



2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Sentez

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Organik Kimya Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler Merck, Fluka ve Aldrich firmalarından sağlanmıştır. Gerekli çözücüler ise yerli ya da yurtdışı kaynaklardan 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.

UV absorpsiyon spektrumları da Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Organik Kimya araştırma Laboratuvarında PG Instruments Ltd T80 UV/VIS Spectrometerde %95'lik etanolde 10⁻⁴-10⁻⁵ M çözeltileri halinde 10 mm kuartz hücreleri kullanılarak alınmıştır.

Çalışmada sentezlenen bileşiklerin indirgeme gücü, serbest radikal giderme aktivitesi ve metal şelat aktivitesi metotları ile 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.

Çalışmada öncelikle nitrillerden başlanarak Denklem 15 uyarınca Pinner metoduna göre 1 tipi 5 adet iminoester hidroklorür sentezlenmiş olup, bu bileşiklerin belirlenen erime noktaları literatürdeki verilerle [30-33, 92-94] karşılaştırmalı olarak aşağıda verilmiştir:

Etil imidoasetat hidroklorür (1a): e.n. 99°C (boz) literatürde e.n. 98-100°C (boz)

Etil imidopropionat hidroklorür (1b): e.n. 92°C (boz) literatürde e.n. 92°C (boz)

Etil imidofenilasetat hidroklorür (1c): e.n. 84°C (boz) literatürde e.n. 85°C (boz)

Etil imido-p-tolilasetat hidroklorür (1d): e.n. 180°C (boz) literatürde e.n. 181°C (boz)

Etil imido-p-klorofenilasetat hidroklorür (1e): e.n. 178°C (boz) literatürde e.n. 179°C (boz)

Çalışmada bundan sonra, literatürde kayıtlı yöntemlerin uygulanması sonucu 1 tipi bileşiklerin soğuk mutlak etanollü ortamda etil karbazat ile Denklem 13 uyarınca muamelesinden 4 tipi ester etoksikarbonilhidrazonlar elde edilmiş ve bu bileşiklerin erime noktaları literatürdeki değerlerle [25-28, 30-33] karşılaştırmalı olarak aşağıda verilmiştir.

Etil asetat etoksikarbonilhidrazon (4a): e.n. 67°C literatürde e.n. 68°C

Etil propionat etoksikarbonilhidrazon (4b): e.n. 57°C literatürde e.n. 57-58°C

Etil fenilasetat etoksikarbonilhidrazon (4c): e.n. 45°C literatürde e.n. 46-47°C

Etil *p*-tolilasetat etoksikarbonilhidrazon (4d): e.n. 77°C literatürde e.n. 77°C

Etil *p*-klorofenilasetat etoksikarbonilhidrazon (4e): e.n. 78°C literatürde e.n. 78°C

4 Tipi bileşiklerin hidrazin hidrat ile kaynar sulu ortamda Denklem 14 uyarınca muamelesinden çalışma için gerekli olan 2 tipi bileşikler elde edilmiş olup, bu bileşiklerin erime noktaları da literatürdeki verilerle [26-28, 30-33, 95] karşılaştırmalı olarak aşağıda verilmiştir:

3-Metil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2a): e.n. 227°C literatürde e.n. 227°C

3-Etil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2b): e.n. 167°C literatürde e.n. 167°C

3-Benzil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2c): e.n. 166°C literatürde e.n. 167°C

3-*p*-Metilbenzil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2d): e.n. 185°C literatürde e.n. 185°C

3-*p*-Klorobenzil-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on (2e): e.n. 181°C literatürde e.n. 181°C

Çalışmada, 120 tipi 3-alkil(aril)-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerin literatürdeki erime noktaları aşağıda verilmiştir [91].

3-metil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (121):
e.n. 273°C

3-etil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (122):
e.n. 244°C

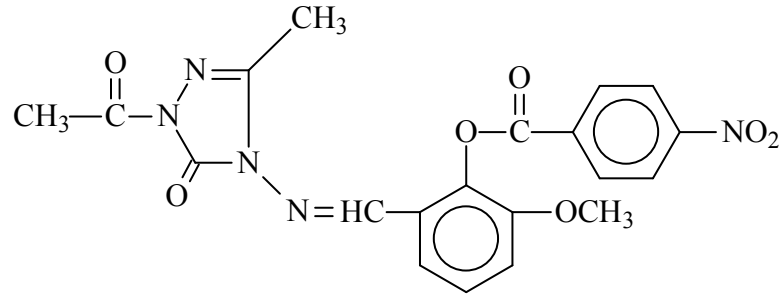
3-benzil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (123):
e.n. 234°C

3-*p*-metilbenzil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (124): e.n. 236°C

3-*p*-klorobenzil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (125): e.n. 246°C

3-fenil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (126):
e.n. 262°C

2.1.1. 1-Asetil-3-metil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (128):

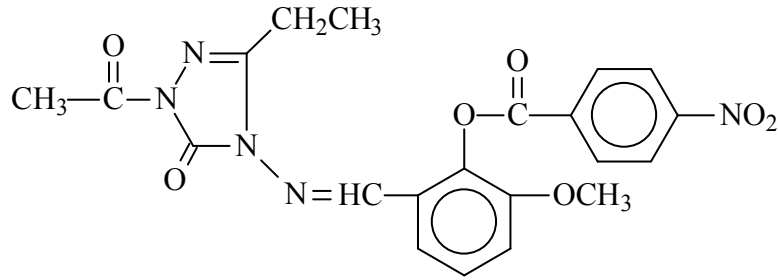


Yuvarlak dipli bir balonda 121 bileşiği (3.97 g, 0.01 mol) 20 mL asetik anhidrit ile CaCl₂ tüpü takılı bir geri soğutucu altında 30 dakika kaynatıldıktan sonra 100 mL mutlak etanol ilave edilmiş ve 30 dakika daha kaynatılmıştır. Nihai çözelti 40-45 °C de ve düşük basınç altında buharlaştırılmış ve geriye kalan katı madde etanolden kristallendirilmiştir. Ele geçen kristaller (3.73 g, % 85.07 verim) aynı çözücünden birkaç

kez daha kristallendirilip vakumda kurutularak saflaştırıldıktan sonra **128** bileşiği olarak tanımlanmıştır. E.n. 223 °C.

IR	: Tablo 3.1	Ek Şekil 1
¹ H-NMR (DMSO-d ₆)	: Tablo 3.2	Ek Şekil 2
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆)	: Tablo 3.3	Ek Şekil 3
UV (Etanol % 95)	: Tablo 3.4	Ek Şekil 4

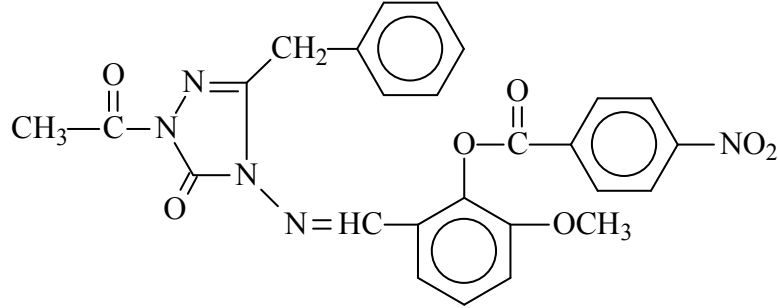
2.1.2. 1-Asetil-3-etil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (129):



Yuvarlak dipli bir balonda 122 bileşiği (4.11 g, 0.01 mol) 20 mL asetik anhidrit ile CaCl₂ tüpü takılı bir geri soğutucu altında 30 dakika kaynatıldıktan sonra 100 mL mutlak etanol ilave edilmiş ve 30 dakika daha kaynatılmıştır. Nihai çözelti 40-45 °C de ve düşük basınç altında buharlaştırılmış ve geriye kalan katı madde etanolden kristallendirilmiştir. Ele geçen kristaller (3.85 g, % 84.93 verim) aynı çözücüden birkaç kez daha kristallendirilip vakumda kurutularak saflaştırıldıktan sonra **129** bileşiği olarak tanımlanmıştır. E.n. 190 °C.

IR	: Tablo 3.1	Ek Şekil 5
¹ H-NMR (DMSO-d ₆)	: Tablo 3.2	Ek Şekil 6
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆)	: Tablo 3.3	Ek Şekil 7
UV (Etanol % 95)	: Tablo 3.4	Ek Şekil 8

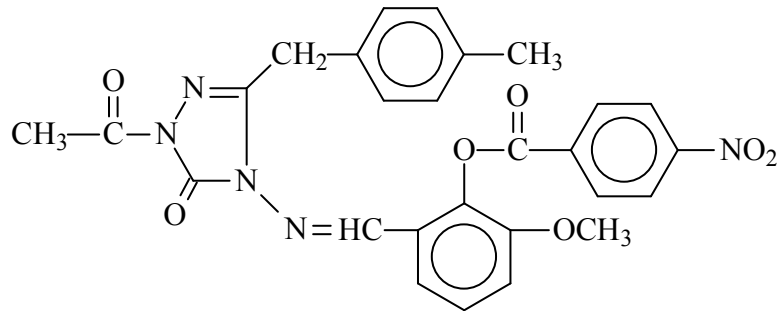
2.1.3. 1-Asetil-3-benzil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (130):



Yuvarlak dipli bir balonda 123 bileşiği (4.73 g, 0.01 mol) 20 mL asetik anhidrit ile CaCl₂ tüpü takılı bir geri soğutucu altında 30 dakika kaynatıldıktan sonra 100 mL mutlak etanol ilave edilmiş ve 30 dakika daha kaynatılmıştır. Nihai çözelti 40-45 °C de ve düşük basınç altında buharlaştırılmış ve geriye kalan katı madde etanolden kristallendirilmiştir. Ele geçen kristaller (3.98 g, % 77.19 verim) aynı çözücünden birkaç kez daha kristallendirilip vakumda kurutularak saflaştırıldıktan sonra **130** bileşiği olarak tanımlanmıştır. E.n. 173 °C.

IR	: Tablo 3.1	Ek Şekil 9
¹ H-NMR (DMSO-d ₆)	: Tablo 3.2	Ek Şekil 10
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆)	: Tablo 3.3	Ek Şekil 11
UV (Etanol % 95)	: Tablo 3.4	Ek Şekil 12

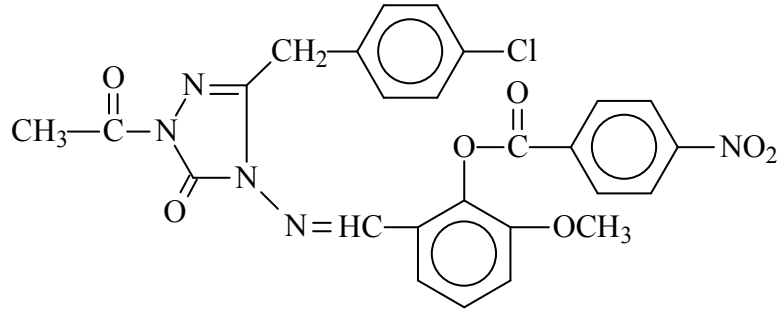
2.1.4. 1-Asetil-3-*p*-metilbenzil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (131):



Yuvarlak dipli bir balonda 124 bileşiği (4.87 g, 0.01 mol) 20 mL asetik anhidrit ile CaCl₂ tüpü takılı bir geri soğutucu altında 30 dakika kaynatıldıktan sonra 100 mL mutlak etanol ilave edilmiş ve 30 dakika daha kaynatılmıştır. Nihai çözelti 40-45 °C de ve düşük basınç altında buharlaştırılmış ve geriye kalan katı madde etanolden kristallendirilmiştir. Ele geçen kristaller (4.43 g, % 83.67 verim) aynı çözücünden birkaç kez daha kristallendirilip vakumda kurutularak saflaştırıldıktan sonra **131** bileşiği olarak tanımlanmıştır. E.n. 204 °C.

IR	: Tablo 3.1	Ek Şekil 13
¹ H-NMR (DMSO-d ₆)	: Tablo 3.2	Ek Şekil 14
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆)	: Tablo 3.3	Ek Şekil 15
UV (Etanol % 95)	: Tablo 3.4	Ek Şekil 16

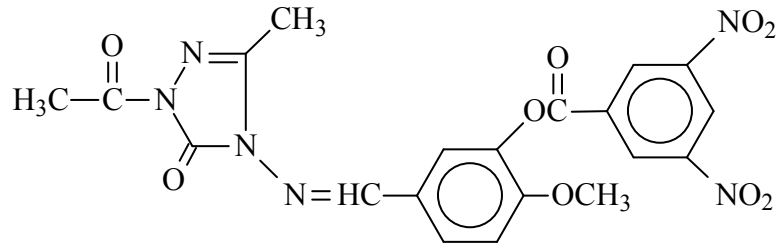
2.1.5. 1-Asetil-3-*p*-klorobenzil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenziliden-amino]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (132):



Yuvarlak dipli bir balonda 125 bileşiği (5.075 g, 0.01 mol) 20 mL asetik anhidrit ile CaCl₂ tüpü takılı bir geri soğutucu altında 30 dakika kaynatıldıktan sonra 100 mL mutlak etanol ilave edilmiş ve 30 dakika daha kaynatılmıştır. Nihai çözelti 40-45 °C'de ve düşük basınç altında buharlaştırılmış ve geriye kalan katı madde etanolden kristallendirilmiştir. Ele geçen kristaller (4.35 g, % 79.11 verim) aynı çözücünden birkaç kez daha kristallendirilip vakumda kurutularak saflaştırıldıktan sonra **132** bileşiği olarak tanımlanmıştır. E.n. 184 °C.

IR	: Tablo 3.1	Ek Şekil 17
¹ H-NMR (DMSO-d ₆)	: Tablo 3.2	Ek Şekil 18
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆)	: Tablo 3.3	Ek Şekil 19
UV (Etanol % 95)	: Tablo 3.4	Ek Şekil 20

2.1.6. 1-Asetil-3-fenil-4-[2-(4-nitrobenzoksi)-3-metoksibenzilidenamino)]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (133):



Yuvarlak dipli bir balonda 126 bileşiği (4.59 g, 0.01 mol) 20 mL asetik anhidrit ile CaCl₂ tüpü takılı bir geri soğutucu altında 30 dakika kaynatıldıktan sonra 100 mL mutlak etanol ilave edilmiş ve 30 dakika daha kaynatılmıştır. Nihai çözelti 40-45 °C de ve düşük basınç altında buharlaştırılmış ve geriye kalan katı madde etanolden kristallendirilmiştir. Ele geçen kristaller (4.34 g, % 86.71 verim) aynı çözücünden birkaç kez daha kristallendirilip vakumda kurutularak saflaştırıldıktan sonra **133** bileşiği olarak tanımlanmıştır. E.n. 173 °C.

IR	: Tablo 3.1	Ek Şekil 21
¹ H-NMR (DMSO-d ₆)	: Tablo 3.2	Ek Şekil 22
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆)	: Tablo 3.3	Ek Şekil 23
UV (Etanol % 95)	: Tablo 3.4	Ek Şekil 24

2.2. Yeni Maddelerin Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi

2.2.1. İndirgeme Gücü

İndirgeme gücü Oyaizu metoduna göre yapılmıştır [96]. 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	-	-	-	100 μ L	250 μ L	500 μ L	-
Standart	100 μ L	250 μ L	500 μ L	-	-	-	-
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 $FeCl_3$ çözeltisinden oluşmuştur. Son olarak oluşan koyu lacivert rengin absorbansı 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 [97]. Metodun prensibi serbest radikal toplayıcılarının renkli serbest radikal olan DPPH'ı indirgemesine dayanır. DPPH kırmızı renkli kararlı bir serbest radikaldir. Serbest radikaller antioksidan bileşikler tarafından giderildiğinde renk kırmızıdan sarıya döner. Reaksiyon karışımının 517 nm'deki absorbansındaki düşüş serbest radikal giderme aktivitesi ile doğru orantılıdır. Kullanılan reaktifler şunlardır: 0,1 mM DPPH (etanolda hazırlanmıştır); α -tokoferol (1mg/mL); 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	-	-	-	50 μ L	100 μ L	150 μ L	-	-
Standart	50 μ L	100 μ L	150 μ L	-	-	-	-	-
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 absorbansları 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 absorbansı, A₁: Numune veya standardın absorbansı

2.2.3. Metal Şelat Aktivitesi

Metal şelat aktivitesi tayini Dinis metoduna göre yapılmıştır [98]. Metal şelat aktivitesi tayininin prensibi, ferrozin-Fe⁺² kompleks oluşumunun inhibisyonuna dayanmaktadır. Kullanılan reaktifler şunlardır: 2 mM FeCl₂; 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

2.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Kullanılan tüm test mikroorganizmalar (*Bacillus Substilis*, *Yersinia enterocolitca*, *Bacillus cereus* (sporlu bakteri), *Staphylococcus aureus* (Gram (+) kok), *Escherichia coli* (Gram (+) enterik bakteri), *Pasterulla multcida*, *Klebsiella pneumonia* (Gram (-) kapsüllü bakteri) Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsü'nden (Ankara, Türkiye) temin edilmiştir. Sentezlenen tüm bileşikler, stok çözeltilerinin hazırlanması için dimetilsulfoksitte çözülmüştür.

2.3.1. Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu

127 Tipi bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerinin ölçülmesinde agar kuyucuk difüzyon metodu kullanılmıştır [99, 100]. Test edilecek bakterilerin bir gecelik kültürlerinden Mueller Hinton sıvı besiyeri içinde (MH) (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 (YE) (Difco, Detroit, MI), 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 petripler 24 saat, maya benzeri mantar ihtiva eden petripler 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.

3. BULGULAR

Bu tez kapsamında; 6 adet yeni bileşik sentezlenmiştir.

Çalışmada sentezlenen 6 yeni bileşiğin yapıları IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve UV spektroskopik verileri kullanılarak aydınlatılmıştır. Çalışmada ayrıca sentezlenen bileşiklerin antioksidan aktiviteleri; indirgeme gücü, serbest radikal giderme aktivitesi ve metal şelat aktivitesi metotları kullanılarak incelenmiş ve elde edilen bulgular Tablo 3.5-8 de verilmiştir. Çalışmada son olaraktez kapsamında sentezlenen 6 yeni bileşiğin antimikrobiyal özellikleri Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi ile incelenmiş olup, elde edilen bulgular Tablo 3.9'da verilmiştir.

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

Çalışma kapsamında sentezlenen bileşiklerin ¹H-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.

Çalışmada, ayrıca organik bileşiklerin yapı aydınlatılmasına sınırlı katkısı olmasına karşın sentezlenen bileşiklerin %95'lik etanolde 10^{-4} - 10^{-5} M'lık çözeltileri halinde UV spektrumları alınmış, gözlenen piklerin λ_{\max} değerleri belirlenerek karşın olan ϵ_{\max} değerleri hesaplanmış ve bulunan değerler tablolar halinde sunulmuştur. Elde edilen verilerin literatürde 4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on türevlerine ait UV absorpsiyon spektrumlarında ortaya çıkan verilerle uyumlu olduğu belirlenmiştir

Sentezlenen yeni heterosiklik bileşiklere ait IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ ve UV verileri tablolar halinde aşağıda verilmiştir.

Tablo 3.1. 127 Tipi Bileşiklerin IR Spektrum Verileri (cm^{-1})

Bileşik No	$\nu\text{C=O}$	$\nu\text{C=N}$	νCOO	νNO_2	$\nu_{1,4}$ -disubstitue aromatik halka	$\nu_{1,2}$ -disubstitue aromatik halka
128	1757, 1733, 1713	1611	1246	1526, 1353	-	750
129	1732	1606	1244	1526, 1349	-	752
130	1755, 1738, 1717	1606	1249	1530, 1350	-	754
131	1750, 1717	1606	1252	1527, 1351	845	762
132	1750, 1716	1611	1252	1530, 1347	846	745
133	1747, 1727	1604	1255	1523, 1345	-	751

Tablo 3.2. 127 Tipi bileşiklerin ¹H-NMR spektrum verileri (DMSO-d₆, δ/ppm)

Bileşik No	CH₃	CH₂	PhCH₂	COCH₃	OCH₃	Aromatik H	N=CH
128	2.18(s)	-	-	2.39(s)	3.83(s)	7.42 (d, 1H, <i>J</i> =8.40 Hz); 7.48 (t, 1H, <i>J</i> =8.00 Hz); 7.62 (d, 1H, <i>J</i> =8.00 Hz); 8.40-8.46(m, 4H)	9.72(s)
129	1.12(t, <i>J</i> =7.60 Hz)	2.54(q, <i>J</i> =7.60 Hz)	-	2.40(s)	3.83(s)	7.42 (d, 1H, <i>J</i> =8.40 Hz); 7.48 (t, 1H, <i>J</i> =8.00 Hz); 7.60 (d, 1H, <i>J</i> =8.00 Hz); 8.40-8.46(m, 4H)	9.72(s)
130	-	-	4.00(s)	2.40(s)	3.82(s)	7.29-7.33 (m, 5H); 7.41 (d, 1H, <i>J</i> =8.40 Hz); 7.47 (t, 1H, <i>J</i> =8.00 Hz); 7.56 (d, 1H, <i>J</i> =8.00 Hz); 8.38-8.43(m, 4H)	9.72(s)
131	2.25(s)	-	3.93(s)	2.39(s)	3.82(s)	7.10 (d, 2H, <i>J</i> =8.00 Hz); 7.16 (d, 2H, <i>J</i> =8.00 Hz); 7.41 (d, 1H, <i>J</i> =8.40 Hz); 7.46 (t, 1H, <i>J</i> =8.00 Hz); 7.57 (d, 1H, <i>J</i> =7.60 Hz) 8.37-8.43(m, 4H)	9.70(s)
132	-	-	4.01(s)	2.39(s)	3.82(s)	7.33-7.39 (m, 4H); 7.42 (d, 1H, <i>J</i> =8.40 Hz); 7.47 (t, 1H, <i>J</i> =8.00 Hz); 7.55 (d, 1H, <i>J</i> =8.00 Hz); 8.38-8.43(m, 4H)	9.72(s)
133	-	-	-	2.49(s)	3.82(s)	7.44 (d, 1H, <i>J</i> =8.40 Hz); 7.46 (t, 1H, <i>J</i> =8.00 Hz); 7.50-7.60 (m, 4H); 7.80-7.83(m, 2H); 8.29 (d, 2H, <i>J</i> =8.40 Hz); 8.36(d, 2H, <i>J</i> =8.40 Hz)	9.64(s)

Tablo 3.3. 127 Tipi bileşiklerin ^{13}C -NMR spektrum verileri (DMSO- d_6 , δ /ppm)

Bileşik No	C=O	COO	Triazol C ₃	N=CH	Triazol C ₃	Aromatik C	Alifatik C
128	166.00	162.27	151.14	150.26	147.61	150.84; 146.28; 138.56; 133.05; 131.39(2C); 127.60; 126.38; 124.23; 118.53; 115.88	56.24(OCH ₃); 23.27(COCH ₃); 10.95(CH ₃)
129	165.95	162.28	151.17	150.36	147.86	150.85; 149.77; 138.54; 133.10; 131.42(2C); 127.62; 126.40; 124.21(2C); 118.65; 115.88	55.45(OCH ₃); 23.29(COCH ₃); 18.36(CH ₂ CH ₃); 9.24(CH ₂ CH ₃)
130	165.94	162.28	151.11	149.89	147.80	150.81; 147.91; 138.71; <u>134.37</u> ; 132.97; 131.37(2C); <u>128.81(2C)</u> ; <u>128.37(2C)</u> ; 127.61; <u>126.86</u> ; .38; 124.21(2C); 118.18; 115.90	56.24(OCH ₃); 30.66(CH ₂ Ph); 23.35(COCH ₃)
131	166.03	162.36	151.20	150.05	147.87	150.89; 148.13; 138.76; <u>136.05</u> ; 133.05; 131.45(2C); 131.32; <u>129.01(2C)</u> ; <u>128.76(2C)</u> ; 127.71; <u>126.46</u> ; 124.29(2C); 118.37; 115.99	56.33(OCH ₃); 30.34(CH ₂ Ph) 23.44(COCH ₃); 20.60(PhCH ₃);
132	165.92-	162.27	151.10	149.93	147.61	150.81; 147.78; 138.71; <u>133.38</u> ; 132.94; <u>131.58</u> ; 131.37(2C); <u>130.73(2C)</u> ; <u>128.28(2C)</u> ; 127.62; 126.34; 124.21(2C); 118.20; 115.93	56.24(OCH ₃); 29.98(CH ₂ Ph); 23.33(COCH ₃)
133	166.24	162.28	153.20	150.63	145.81	151.23; 147.89; 138.70; <u>133.08</u> ; 131.27(2C); 131.19; <u>128.52(2C)</u> ; <u>128.46(2C)</u> ; 127.71; 126.19; <u>124.95</u> ; 124.03; 118.80; 116.15	36.27(OCH ₃); 23.40(COCH ₃)

Tablo 3.4. 127 Tipi bileşiklerin UV spektrum verileri

Bileşik No	λ_{\max} (nm)	ϵ (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)	Ek Şekil No
128	296, 258, 228, 194	10171, 17157, 19371, 21228	4
129	302, 258, 226	12520, 25437, 489116	8
130	298, 258, 230, 198	5828, 10197, 10934, 9342	12
131	294, 256, 226	21946, 38807, 55669	16
132	300, 258, 224, 194	20084, 37584, 87756, 20381	20
133	304, 260, 226	6708, 18239, 22697	24

3.2 Antioksidan İncelemeleri

3.2.1. İndirgeme Gücü

Sentezlenen bileşiklerin üç farklı konsantrasyonda indirgeme gücü testleri yapılmış, UV spektrofotometresinde 700 nm’de ölçülen absorbans değerleri tablolar halinde aşağıda verilmiştir.

Tablo 3.5. 127 Tipi Bileşiklerin İndirgeme Gücü

Bileşikler	İndirgeme Gücü ($\mu\text{g/mL}$, 700 nm)		
	100	250	500
128	1,044	0,944	0,970
129	0,955	0,946	0,918
130	0,963	0,932	0,905
131	0,953	0,943	0,924
132	0,971	0,956	0,953
133	0,981	0,940	0,944
BHA	1,305	1,702	2,270
BHT	1,478	2,094	3,101
α -Tokoferol	1,100	1,382	1,811

Kontrol reaksiyonunun absorbansı 1,078’tir.

3.2.2. 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.

Tablo 3.6. 127 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)					
	50		100		150	
	A	% Aktivite	A	% Aktivite	A	% Aktivite
128	0,146	37,3	0,190	18,5	0,188	19,3
129	0,186	20,2	0,187	19,7	0,186	20,2
130	0,192	17,6	0,187	19,7	0,190	18,5
131	0,203	12,9	0,194	16,7	0,173	25,8
132	0,194	16,7	0,200	14,2	0,192	17,6
133	0,185	20,6	0,182	21,9	0,192	17,6
BHA	0,157	32,6	0,125	46,4	0,120	48,5
BHT	0,120	48,5	0,086	63,1	0,085	63,5
α -Tokoferol	0,101	56,7	0,080	65,7	0,079	66,1

Kontrol reaksiyonunun absorbansı 0,233’dir.

3.2.3. 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 Aktiviteleri tablo halinde aşağıda verilmiştir.

Tablo 3.7. 127 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
128	0,545	41,8	0,543	42,0	0,543	20,7
129	0,766	18,2	0,734	21,7	0,69	36,9
130	0,691	26,3	0,691	26,3	0,716	31,0
131	0,722	22,9	0,794	15,3	0,678	49,8
132	0,625	33,3	0,676	27,9	0,712	28,4
133	0,724	22,7	0,768	18,0	0,636	80,4
BHA	0,625	33,3	0,668	28,7	0,732	21,9
BHT	0,812	13,3	0,758	19,1	0,739	21,1
α -Tokoferol	0,728	22,3	0,698	25,5	0,695	25,8

Kontrol reaksiyonunun absorbansı 0,937'dir.

3.3. Antimikrobiyal İncelemeleri

Sentezlenen bileşiklerin yedi farklı bakteri ile antimikrobiyal testleri yapılmış ve antimikrobiyal aktiviteleri tablo halinde aşağıda verilmiştir.

Tablo 3.8. 127 Tipi Bileşiklerin Bakterilere Karşın ZON çap değerleri

Petri kabı kodu	Bileşik kodu	ZON çap değerleri (mm)						
		(Bacillus Subtilis) 92 NTU	(Yersinia enterocolitca) 264 NTU	(Bacillus cereus) 240 NTU	(Staphlacoccus aureus) 216 NTU	(Esherichia coli) 215 NTU	(Pasterulla multcida) 274 NTU	(Klepsiella pnemonias) 244 NTU
H10	128	9	10	11	11	11	8	-
H13	129	9	10	9	11	12	13	10
H12	130	10	9	10	10	14	9	-
H14	131	9	11	7	-	12	12	-
H15	132	12	8	7	7	12	-	-
H11	133	10	-	11	10	12	7	-

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Sentezlenen Bileşiklere Ait Spektrum Verilerinin Yorumlanması

Çalışma kapsamında sentezlenen bileşiklerin yapı aydınlatılmasında kullanılan IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve UV spektrum verileri verilmiş olup elde edilen bulgular sentezlenen bileşiklerin yapıları ve literatür verileri ile uygunluk göstermiştir.

127 tipi bileşiklerin infrared spektrumlarında 1757-1713 cm⁻¹ aralığında üç adet C=O piki görülmüştür. Ayrıca 1611-1608 cm⁻¹ aralığında C=N gerilme titreşimleri, 1530-1523 ve 1353-1345 cm⁻¹ aralığında nitro (NO₂) grubuna ait titreşimler ve 1255-1244 cm⁻¹ aralığında COO gerilme titreşimleri ortaya çıkmıştır.

Aynı bileşiklerin ¹H-NMR spektrumları incelendiğinde N-H protonlarına ait piklerin kaybolduğu, buna karşın δ 2.40-2.39 ppm aralığında COCH₃ protonlarına ait singlet pikin ortaya çıktığı görülmüş olup, bu da asetillendirmenin gerçekleştiğini kanıtlar niteliktedir. Ayrıca δ 9.72-9.64 ppm aralığında N=CH protonları ve 3.83-3.82 ppm aralığında OCH₃ protonları ortaya çıkmıştır. 128 bileşiğinde δ 2.18 ppm'de singlet CH₃ protonlarına; 129 bileşiğinde δ 1.12 ppm'de triplet CH₃; δ 2.54 ppm'de quartet CH₂ protonlarına; 130 bileşiğinde δ 4.00 ppm'de singlet benzilik CH₂ protonlarına; 131 bileşiğinde δ 2.25 ppm'de singlet PhCH₃ protonlarına; δ 3.93 ppm'de benzilik singlet CH₂ protonlarına, 132 bileşiğinde δ 4.01 ppm'de singlet benzilik CH₂ protonlarına, rastlanmıştır.

127 tipi bileşiklerin ¹³C-NMR spektrumu verilerinde ise; δ 166.24-165.92 ppm aralığında asetil C=O karbonu; 162.36-162.27 ppm aralığında ester C=O karbonu; 151.20-151.10 ppm aralığında triazol C5 karbonu; 150.63-150.05 ppm aralığından N=CH karbonu; 147.86-145.81 ppm aralığında triazol C3 karbonu; 56.27-55.45 ppm aralığında OCH₃ karbonu; δ 23.44-23.27 ppm aralığında asetil grubuna metil karbonuna ait piklere rastlanmıştır. Aromatik karbonlar ve alifatik karbonlar için elde edilen değerler benzer bileşikler için literatürde verilen değerlerle uyumlu bulunmuştur.

Ayrıca, C-3'e bağı aril gruplarına ait aromatik karbonların farklılandırılması başarılı ve bu değerler altları çizilerek verilmiştir.

Aynı bileşiklere ait UV spektrum değerleri verilmiş olup 128, 130 ve 132 bileşiklerine ait dört ve 129, 131 ve 133 bileşiklerine ait üç bant gözlenmiştir. ϵ değerleri ise 6708–87756 L.mol⁻¹.cm⁻¹ aralığında hesaplanmıştır.

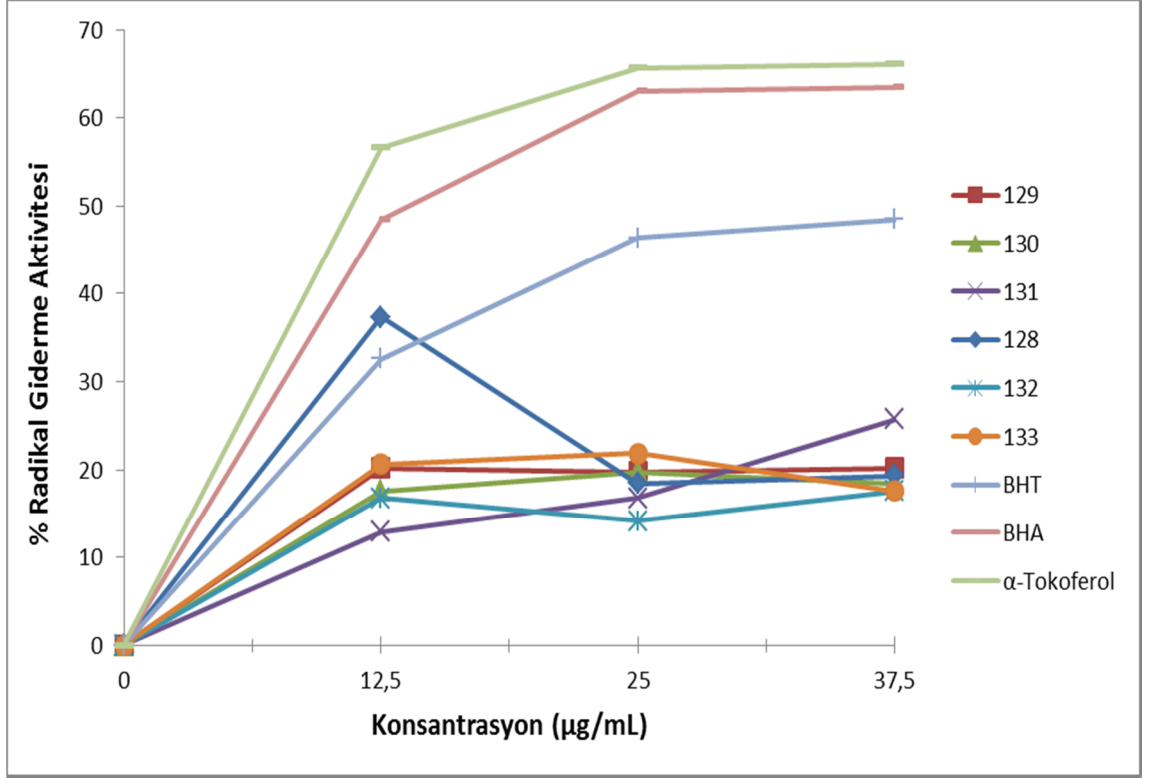
4.2. Antioksidan İncelemesi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

4.2.1. İndirgeme Gücü

Sentezlenen bileşiklerin yapılan indirgeme gücü testleri sonucunda ele geçen bulgular Tablo 3.5'de verilmiştir. 700 nm'de yapılan ölçümlerde sentezlenen bileşiklerin absorbanslarının, kontrolün absorbansından bile düşük çıkması bileşiklerin indirgeyici özelliklerinin olmadığını göstermektedir.

4.2.2. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

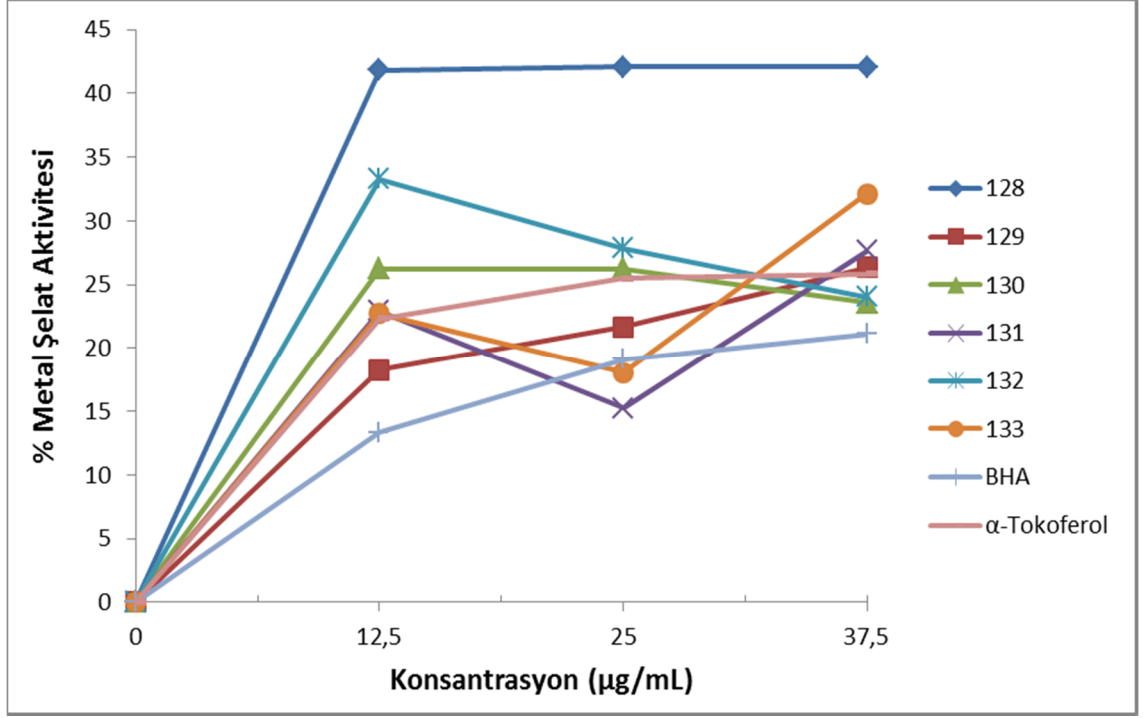
Sentezlenen yeni bileşikler, Tablo 3,6'dan de anlaşılacağı üzere, standart antioksidanlar ile karşılaştırıldıklarında bileşiklerin orta düzeyde radikal giderme aktivitesine sahip oldukları görülmektedir. **130** bileşiği, artan konsantrasyonla birlikte radikal giderme aktivitesinde artış gösterdiği için diğer sentezlenen bileşiklere kıyasla anlamlı olarak daha iyi bir radikal gidericidir. Şekil 4,1'deki grafikte yeni bileşiklerin ve standart antioksidanların 517 nm'de değişen derişimlerde yapılan ölçümlerde serbest radikal giderme aktiviteleri % inhibisyon olarak görülmektedir.



Şekil 4.1. 127 Tipi Bileşiklerin Konsantrasyona Karşı % Serbest Radikal Giderme Aktiviteleri

4.2.3. Metal Şelat Aktivitesi

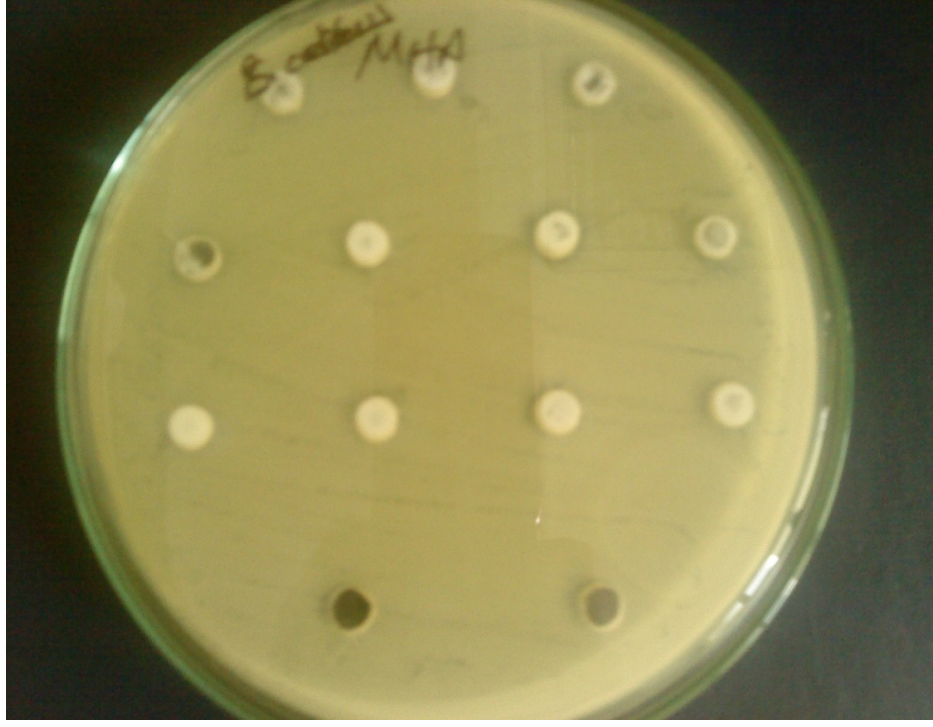
Şekil 4.2'deki grafikte sentezlenen bileşiklerin ve standartların metal şelatlama aktiviteleri % inhibisyon olarak gösterilmektedir. Tablo 3.7'de ve grafikte sentezlenen bileşiklerin, değişen konsantrasyonlarda standart antioksidanlara yakın değerlerde metal şelatlama aktivitesine sahip oldukları görülmektedir. Ancak yeni bileşikler arasında 126 ve 127 bileşiklerinin absorbanları, konsantrasyon yükseldikçe azalmakta ve metal şelatlama aktiviteleri de artmaktadır. Dolayısıyla sadece bu bileşiklerin anlamlı olarak metal şelatlama kapasitelerinden bahsedilebilir.



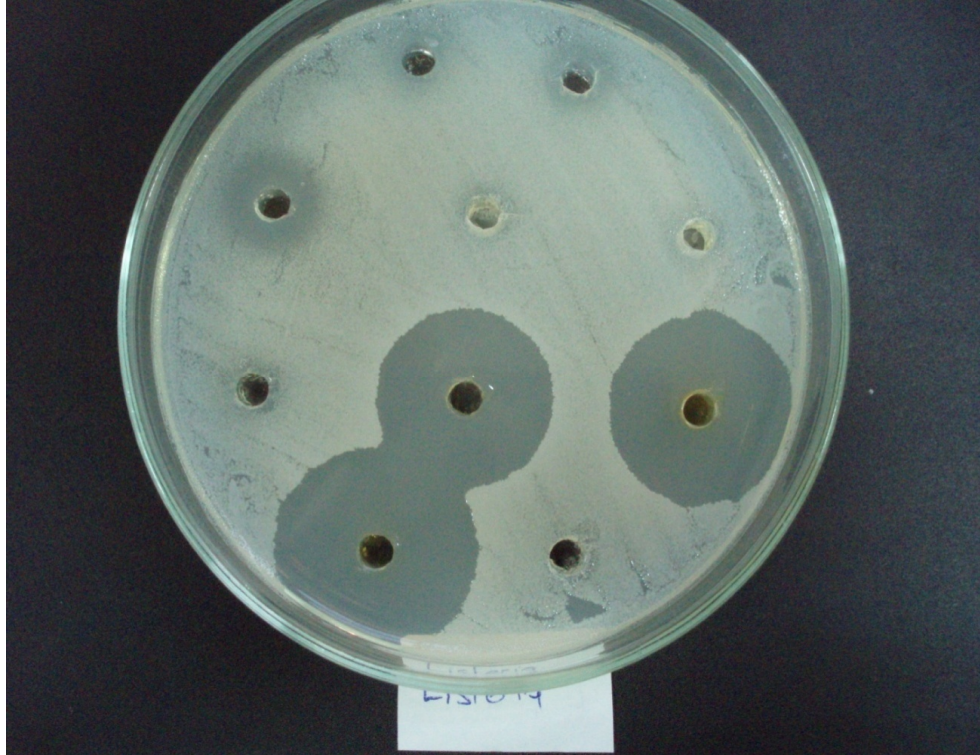
Şekil 4.2. 127 Tipi Bileşiklerin Konsantrasyona Karşı % Metal Şelat Aktiviteleri

4.3. Antimikrobiyal Etkinlik Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Tez kapsamında yer alan 6 adet bileşiğin antimikrobiyal özelliklerinin incelenmesinde, *Bacillus Substilis*, *Yersinia enterocolitca*, *Bacillus cereus* (sporlu bakteri), *Staphylococcus aureus* (Gram (+) kok), *Escherichia coli* (Gram (+) enterik bakteri), *Pasterulla multcida* ve *Klebsiella pneumonia* (Gram (-) kapsüllü) bakteri karşı olan etkinlikleri test edilmiştir.

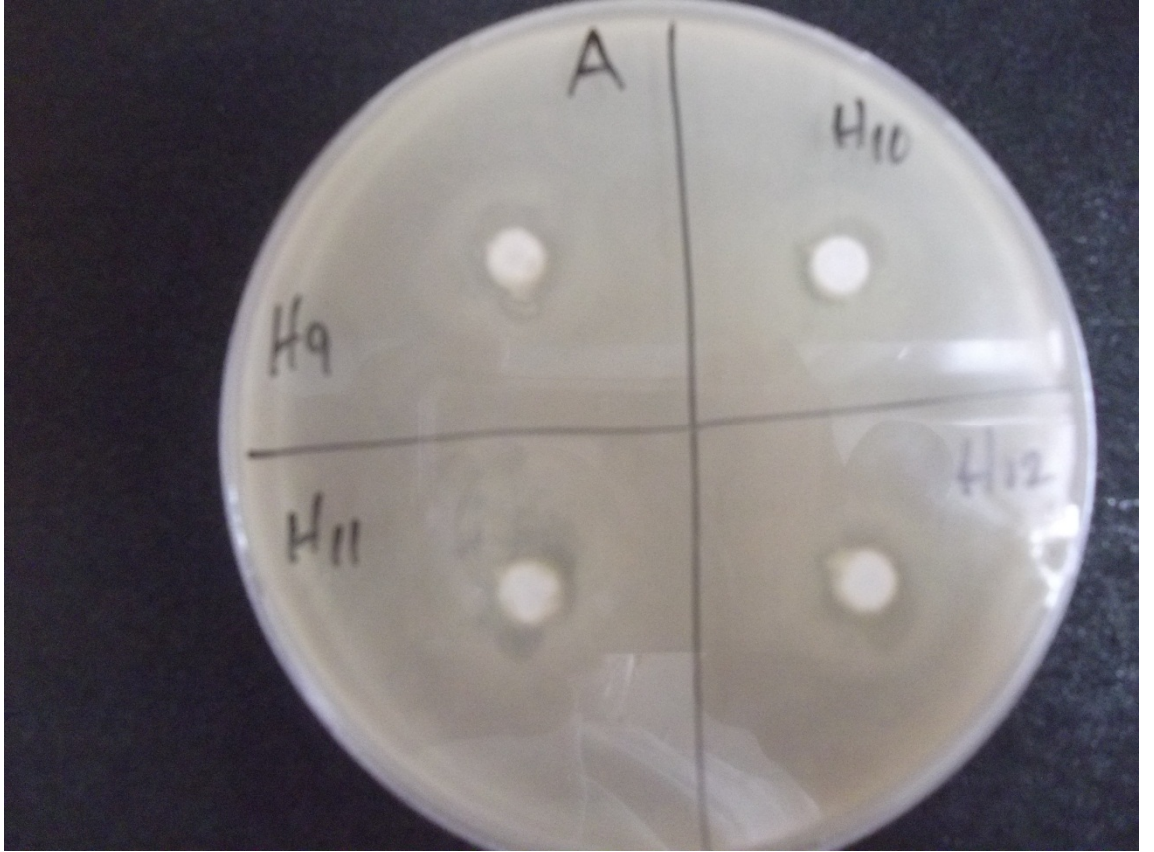


Şekil 4.3. Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu Uygulanmış Analiz Petri Kab (Antimikrobiyal etkinlik yok) (Örnek)

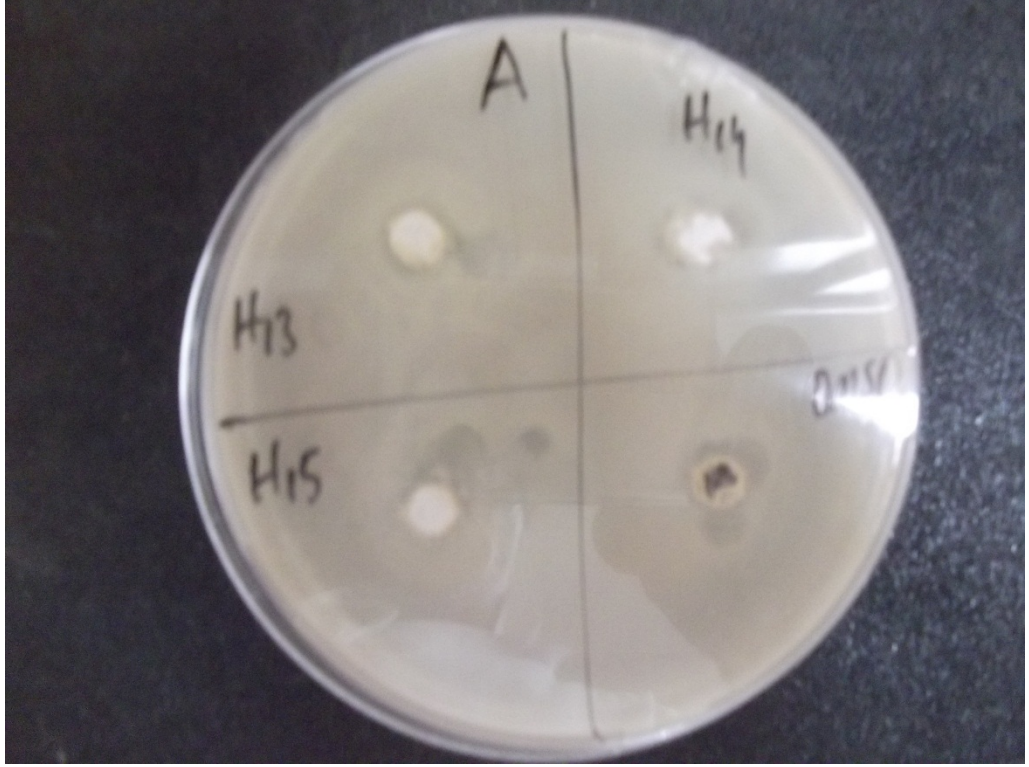


Şekil 4.4. Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu Uygulanmış Analiz Petri Kab (Antimikrobiyal etkinlik var) (Örnek)

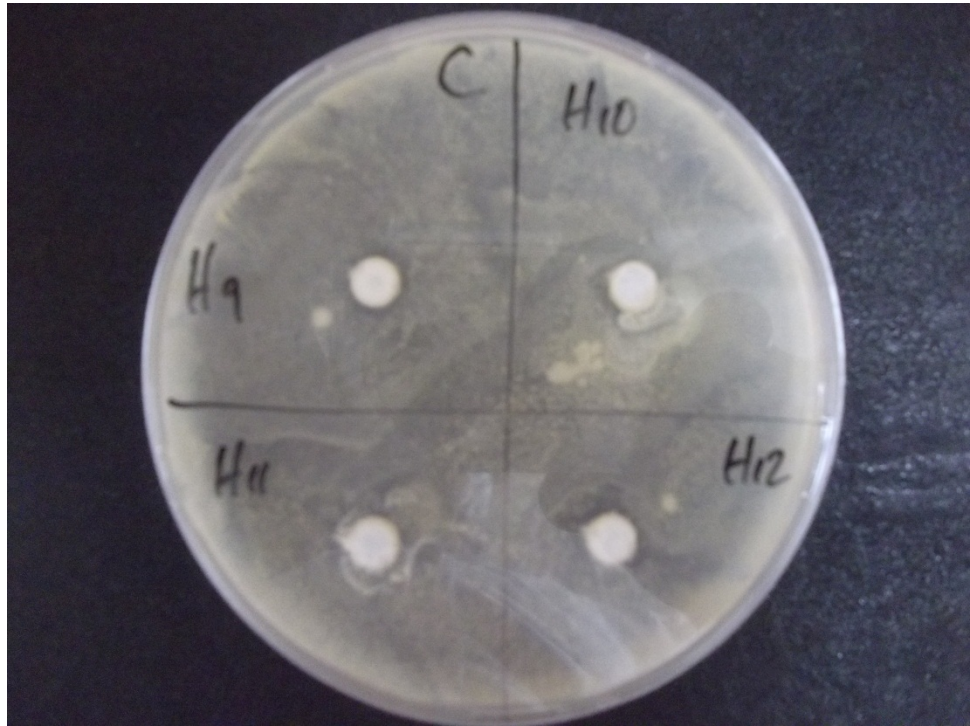
127 tipi bileşiklerde *Bacillus Substilis*'a karşı 130, 132 ve 133 bileşiklerinde, *Yersinia enterocolitca*'ya karşı 128, 129 ve 131 bileşiklerinde, *Bacillus cereus*'a karşı 128, 130 ve 133 bileşiklerinde, *Staphylococcus aureus*'a karşı 128-130 ve 133 bileşiklerinde, *Escherichia coli*'ye karşı sentezlenen tüm bileşiklerde, *Pasterulla multicaiday*'a karşı 129 ve 132 bileşiklerinde düşük ölçüde antimikrobiyal etkinlik gözlenmiştir. Diğer bileşiklerde ise antimikrobiyal etkinlik belirlenmemiştir.



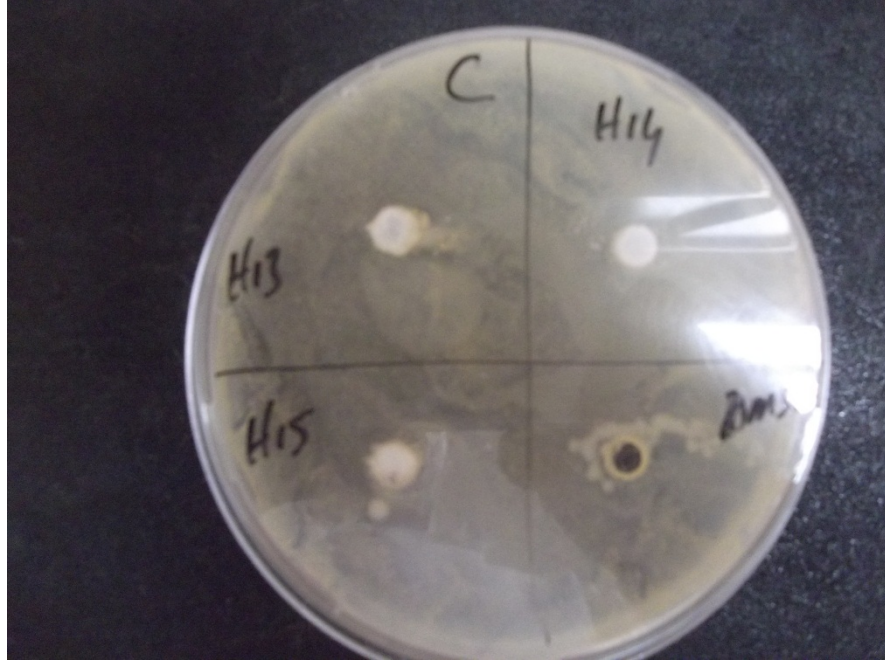
Şekil 4.5. 128 (H10), 130 (H11) ve 133 (H12) bileşiklerinin *Bacillus Substilis*'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı



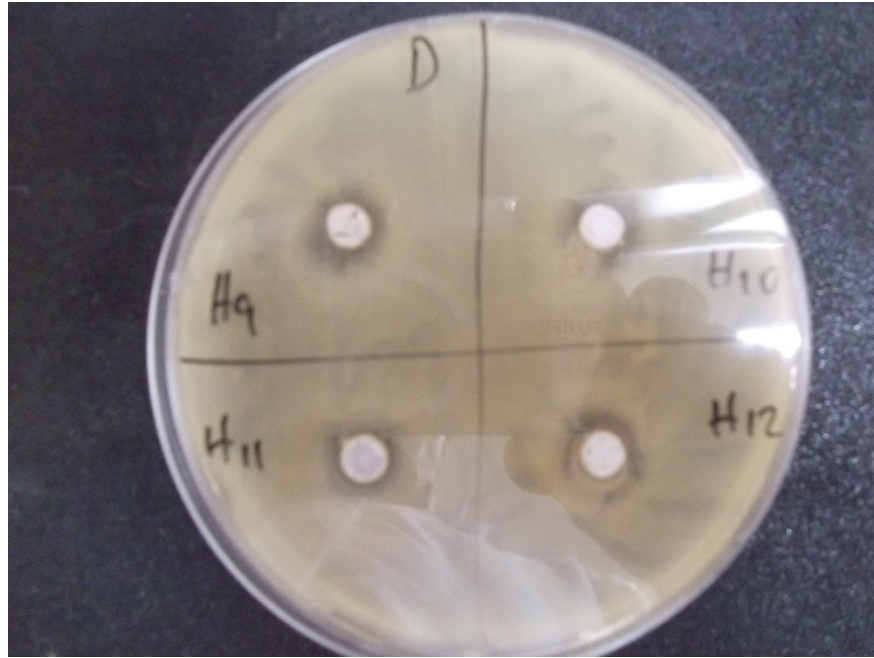
Şekil 4.6. 129 (H13), 131 (H14) ve 132 (H15) bileşiklerinin *Bacillus Subtilis*'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı



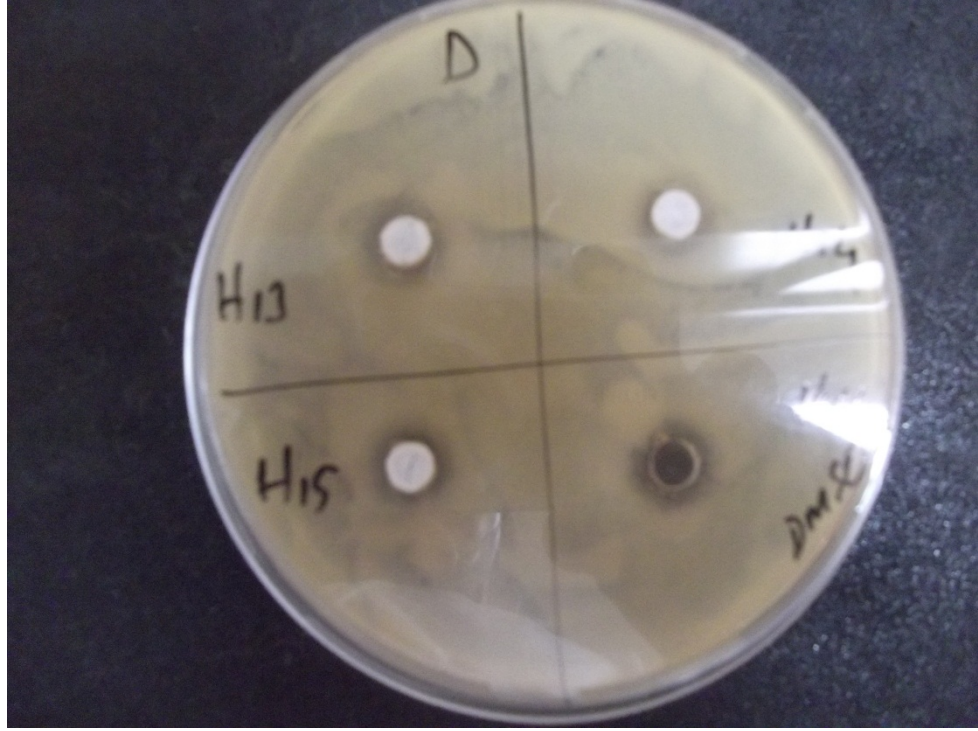
Şekil 4.7. 128 (H10), 130 (H11) ve 133 (H12) bileşiklerinin *Yersinia enterocolitica*'ya karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı



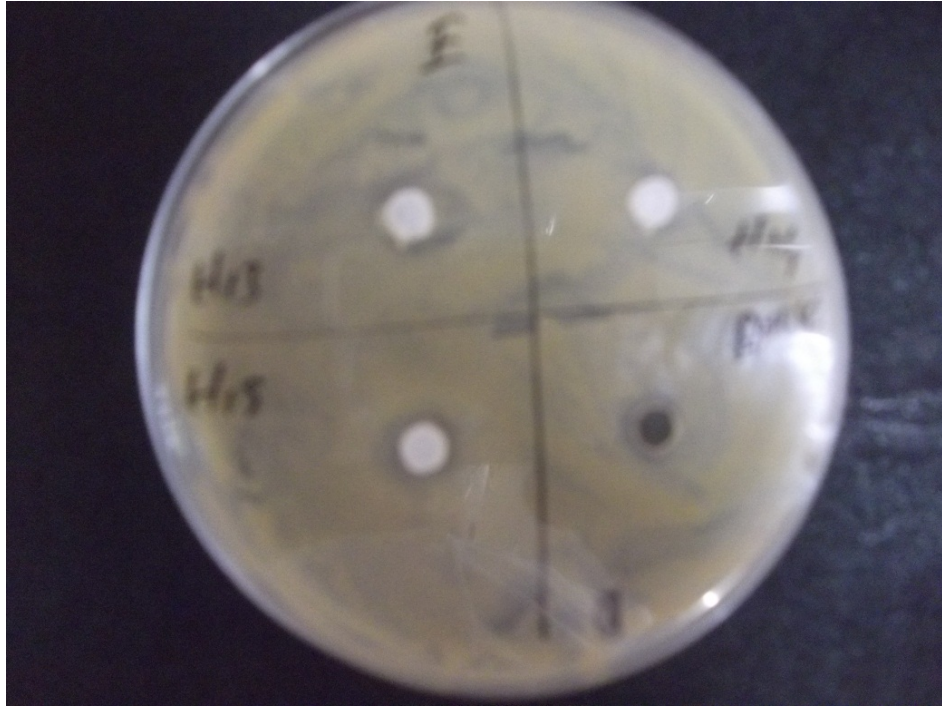
Şekil 4.8. 129 (H13), 131 (H14) ve 132 (H15) bileşiklerinin *Yersinia enterocolitica*'ya karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı



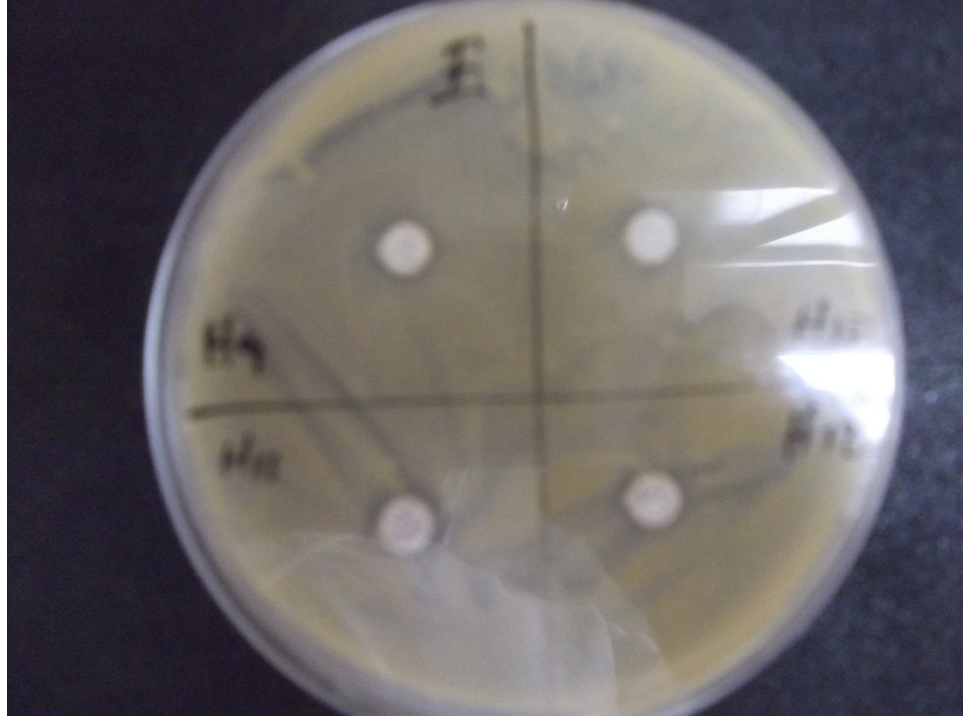
Şekil 4.9. 128 (H10), 130 (H11) ve 133 (H12) bileşiklerinin *Bacillus cereus*'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı



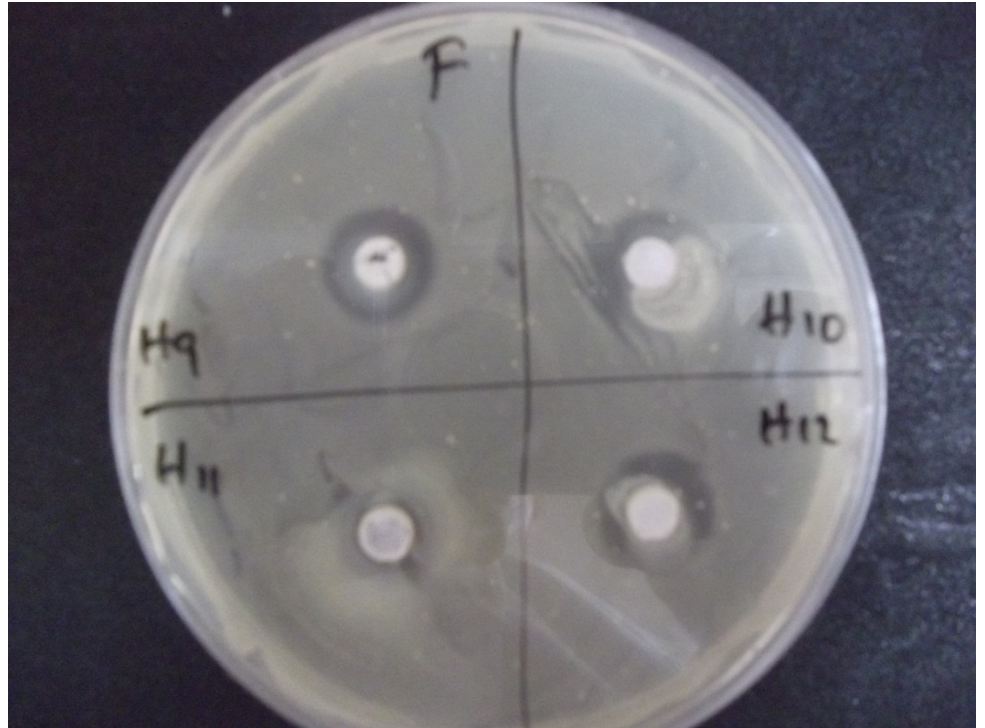
Şekil 4.10. 129 (H13), 131 (H14) ve 132 (H15) bileşiklerinin *Bacillus cereus*'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı



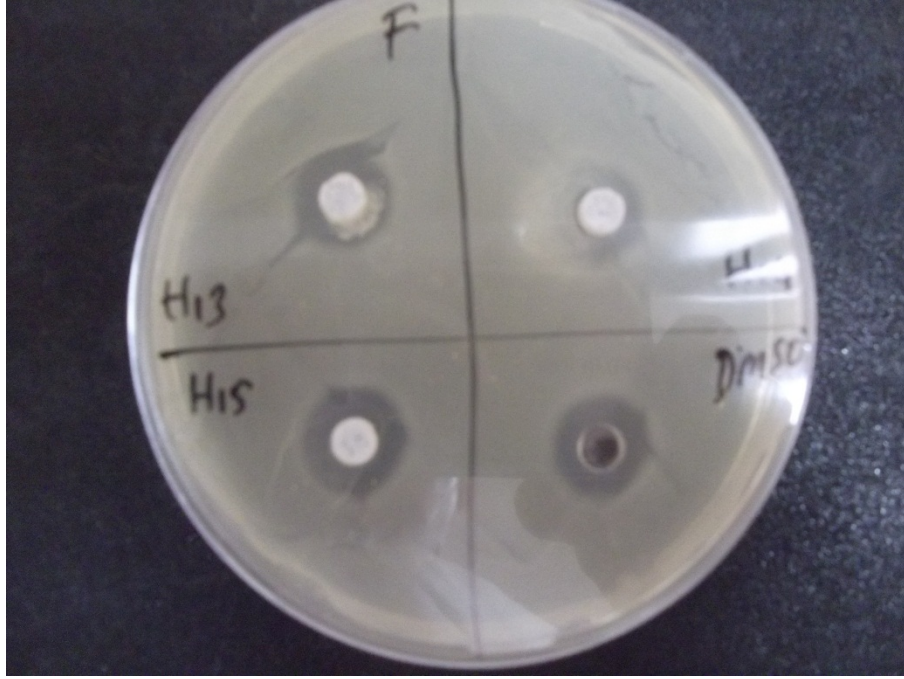
Şekil 4.11. 128 (H10), 130 (H11) ve 133 (H12) bileşiklerinin *Staphylococcus aureus*'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabı



Şekil 4.12. 129 (H13), 131 (H14) ve 132 (H15) bileşiklerinin *Staphylococcus aureus*'a karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uydulanmış petri kabı



Şekil 4.13. 128 (H10), 130 (H11) ve 133 (H12) bileşiklerinin *Escherichia coli*'ye karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uydulanmış petri kabı



Şekil 4.14. 129 (H13), 131 (H14) ve 132 (H15) bileşiklerinin *Escherichia coli*'ye karşı agar kuyucuk difüzyon metodu uygulanmış petri kabi

5. KAYNAKLAR

- [1] İşbilir, Ş. S., “Yaprakları salata-baharat olarak tüketilen bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi”, Doktora Tezi, *Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Edirne (2008).
- [2] 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).
- [3] Akkuş, İ., “Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri”, *Mimoza Yayınları*, Konya, (1995).
- [4] Onat, T., Emerk, K., Sözman E. Y., (Ed.), “İnsan biyokimyası”, *Palme Yayıncılık*, Ankara, (2002).
- [5] 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).
- [6] Lee, J. D., “Concise inorganic chemistry”, *Chapman&Hall*, 4th Ed., New York, (1991).
- [7] <http://www.mustafaaltinisik.org> (Ocak 2007).
- [8] 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).
- [9] Halliwell, B., “Free radicals and antioxidants:A personal view”, *Nutrition Reviews*, 52 (8): 253-265 (1994).
- [10] Halliwell, B., Clement, M. V., Long, L. H., “Hydrogen peroxida in the human body”, *FEBS Letter*, 486: 10-13 (2000).
- [11] Cotton, F. A., Wilkinson, G., “Advanced inorganic chemistry”, *John Wiley & Sons Inc.*, 5th Ed., USA, (1988).
- [12] 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).
- [13] Meram, I., Aktaran, Ş., “Serbest radikallerin biyomoleküller üzerine etkileri”, *Arşiv*, 11, 299-304 (2002).

- [14] Van Der Vliet, A., O'Neill, C. A., Halliwell, B., Cross, C., Kaur, H., "Aromatic hydroxylation and nitration of phenylalanine and tyrosine by peroxyxynitrite", *FEBS Letters*, 339: 89-92 (1994).
- [15] 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).
- [16] 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).
- [17] Seven, A., Candan, G., "Antioksidan savunma sistemleri", *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 27 (1): 41-50 (1996).
- [18] Percival, M., "Antioxidants", *Clinical Nutrition Insights*, 10: 1-4 (1998).
- [19] 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).
- [20] 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).
- [21] Huang, D., Ou, B., Prior, R., "The chemistry behind antioxidant capacity assays", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1841-1856 (2005).
- [22] Tomer, D., Mcleman, L., Ohmine, S., Scherer, P. M., Murray, B. K., O'Neill, K. L., "Comparision of the total oxyradical scavenging capacity and oxygen radical absorbance capacity antioxidant assays", *Journal of Medicinal Food*, 10 (2): 337-344 (2007).
- [23] Benzie, I. F. F., Strain, J. J., "The ferric reducing ability of plasma (FRAP) assay a measure of "Antioxidant Power": The FRAP assay", *Analytical Biochemistry*, 239: 70-76 (1996).
- [24] 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).
- [25] 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).

- [26] Ün, R., İkizler, A. A., "Preparations of aromatic amide carbethoxyhydrazones, aromatic amide carbamylhydrazones and related 3-aryl- Δ^2 -1,2,4-triazolin-5-ones", *Chim. Acta Turc.*, 3: 1-22 (1975).
- [27] 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).
- [28] 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).
- [29] İkizler, A. A., Ün, R., "Reactions of Ester Ethoxycarbonylhydrazones with Some Amine Type Compounds", *Chim. Acta Turc.*, 7: 269-290 (1979).
- [30] Yüksek, H., "3-Alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-5-on'ların bazı reaksiyon-larının incelenmesi", Doktora Tezi, *KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü*, Trabzon (1992).
- [31] Kara, E., "3-Siklopropil-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on bileşiğinin sentezi ve bazı reaksiyonlarının incelenmesi", Yüksek Lisans Tezi, *KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü*, Trabzon (2000).
- [32] Karabacak, M., "3-p-Metoksibenzil-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on üzerine bir çalışma", Yüksek Lisans Tezi, *KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü*, Trabzon (1998).
- [33] Karabacak, E., "3-m-Klorobenzil-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on ve bazı türevlerinin sentezi", Yüksek Lisans Tezi, *KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü*, Trabzon (1998).
- [34] Roger, R., Neilson, O. G., "The Chemistry of Imidates", *Chem. Rev.*, 61: 179-211 (1961).
- [35] Pinner, A., "Die imidoäther und ihre derivate", *1. Auflage*, Oppenheim, Berlin (1892).
- [36] Sykes, P., "A Guidebook to Mechanizm in Organic Chemistry", *Fourth Edition*, Great Britain (1977).
- [37] İkizler, A. A., İkizler, A., Yüksek, H., Bahçeci, Ş., Sancak, K., "Synthesis of some *tert*-butoxyhydrazones and related 4,5-dihidro-1h-1,2,4-triazol-5-ones", *Tr. J. Some Chem.*, 18 (9): 51-56 (1994).
- [38] 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)

- [39] İkizler, A. A., İkizler, A., Yüksek, H., “¹H-NMR spectra of some 4,5-dihydro-1,2,4-triazol-5-ones”, *Magn. Reson. Chem.*, 31 (12): 1088-1090 (1993).
- [40] İkizler, A. A., Yüksek, H., “Synthesis of 3-alkyl-4-(2-hydroxyethyl) and 3-alkyl-4-(2-chloroethyl)-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones”, *Doğa-Tr. J. Chem.*, 16: 284-288 (1994).
- [41] İkizler, A. A., Sancak, K., “Synthesis of 4-hydroxy-4,5-dihydro-1,2,4-triazol-5-ones”, *Monatsh. Chem.*, 123 (3): 257-263 (1992).
- [42] Kucukguzel, S. G., Rollas, S., Erdeniz, H., Kiraz, M., “Synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of ethyl 2-arylhydrazono-3-oxobutyrate”, *Eur. J. Med. Chem.*, 34 (2): 153-160 (1999).
- [43] Bahceci, S., Yüksek, H., Ocak, Z., Koksall, C., Ozdemir, 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).
- [44] 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”, *Arzneim.-Forsch/Drug Res.*, 47 (4): 405-409 (1997).
- [45] Bahceci, S., Yüksek, H., Ocak, Z., Azakli, I., Alkan M., Ozdemir, M., “Synthesis and potentiometric titrations of some new 4-(benzylideneamino)-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one derivatives in non-aqueous media”, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 67 (8): 1215-1222 (2002).
- [46] Yüksek, H., Kolaylı, S., Kucuk, M., Yüksek, M. O., Ocak, U., Sahinbas, 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).
- [47] Yüksek, H., Kucuk, M., Alkan, M., Bahceci, S., Kolaylı, S., Ocak, Z., Ocak, U., Sahinbas, 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).
- [48] Yüksek, H., Ocak, Z., Ozdemir, M., Ocak, M., Bekar, M., Aksoy, M., “A study on novel 4-heteroarylidenamino-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones”, *Indian J. Heterocycl. Chem.*, 13 (1): 49-52 (2003).
- [49] Yüksek, H., Bahceci, S., Ocak, Z., Ozdemir, M., Ocak, M., Ermis, B., Mutlu, T., “Synthesis and determination of acid dissociation constants of some new 4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one derivatives”, *Asian J. Chem.*, 17 (1): 195-201 (2005).

- [50] Yüksek, H., Bahceci, S., Ocak, Z., Alkan, M., Ermis, B., Mutlu, T., Ocak, M., Ozdemir, M., "Synthesis of some 4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones", *Indian J. Heterocycl. Chem.*, 13 (4): 369-372 (2004).
- [51] Yuksek, H., Ucuncu, O., Alkan, M., Ocak, Z., Bahceci, S., Ozdemir, M., "Synthesis and non-aqueous medium titrations of some new 4-benzylidenamino-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one derivatives", *Molecules*, 10 (8): 961-970 (2005).
- [52] Yuksek, H., Gursoy, O., Cakmak, I., Alkan, M., "Synthesis and GIAO NMR calculation for some new 4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one derivatives: comparison of theoretical and experimental ^1H and ^{13}C chemical shifts", *Magn. Reson. Chem.*, 43 (7): 585-587 (2005).
- [53] Yuksek, H., Gursoy, O., Cakmak, I., Baykara, H., Alkan, M., "Synthesis and GIAO NMR calculations for some novel 1-acetyl-4-(arylidenamino)-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one derivatives: comparison of theoretical and experimental ^1H and ^{13}C chemical shifts", *Asian J. Spect.*, 11: 43-50 (2007).
- [54] 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).
- [55] 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).
- [56] 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).
- [57] 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).
- [58] 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).
- [59] Yüksek, H., Manap, S., "Bazı Yeni 3-Alkil(Aril)-4-(3-metoksi-4-hidroksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on Bileşiklerinin Sentezi", *Kimya 2009*, XXIII. Ulusal Kimya Kongresi, Sivas, Bildiri Özetleri Kitabı, OP 091, 2009.

- [60] Tomruk, Z., “Bazı yeni heterosiklik schiff bazlarının sentezi, pKa değerlerinin tayini ve DNA ile etkileşimlerinin incelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2008).
- [61] Tomruk, Z., Yüksek, H., Arslantaş, A., Ocak, Z., “Non-aqueous medium titrations of some 4-(4-benzensulfonyloxybenzylidenamino)-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one derivatives”, 7th Aegean Analytical Chemistry Days (AACD), International Conference, Fatsa, Turkey, Book of Abstracts PPII-5, page 118 (2009).
- [62] Tomruk, Z., Arslantaş, A., Yüksek, H., Gürsoy-Kol, Ö., Manap, S., “Bazı yeni 3-alkil(aril)-4-(4-benzensulfoniloksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on bileşiklerinin sentezi ve in-vitro antioksidan özelliklerinin incelenmesi”, 24. Ulusal Kimya Kongresi, OP 301, Zonguldak (2010).
- [63] Arslantaş, A., Yüksek, H., Gürsoy-Kol, Ö., Ocak, Z., Tomruk, Z., Calapoğlu, M., “In-vitro antioxidant evaluation and dna intercation of some novel 4,5-dihydro-1h-1,2,4-triazol-5-one derivatives”, Asian J. Chem., 24: 3327-3334 (2012).
- [64] Akyıldırım, O., “Bazı potansiyel biyolojik aktif heterosiklik bileşiklerin sentezi, yapılarının aydınlatılması ve bazı özelliklerinin incelenmesi”, Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2011)
- [65] Tokalı, F. S., “1,2,4-triazol-5-on türevlerinin sentezi üzerine bir çalışma”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2011).
- [66] Toz, M., “Bazı yeni azot içeren beş üyeli heterosiklik bileşiklerin sentezi”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2012).
- [67] Kardaş, F., “Bazı Yeni Heterohalkalı 1,2,4-Triazol Bileşiklerinin Sentezi ve Bazı Özelliklerinin İncelenmesi”, Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2012)
- [68] Yokuş, Ö. A., “Bazı Yeni 1,2,4-Triazol Türevlerinin Sentezi ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi”, Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2012)
- [69] Kurt, İ. H., “Bazı Yeni 1,2,4-triazol-5-on Türevlerinin Sentezi ve İn-Vitro Antioksidan Özelliklerini İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2013).
- [70] 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).

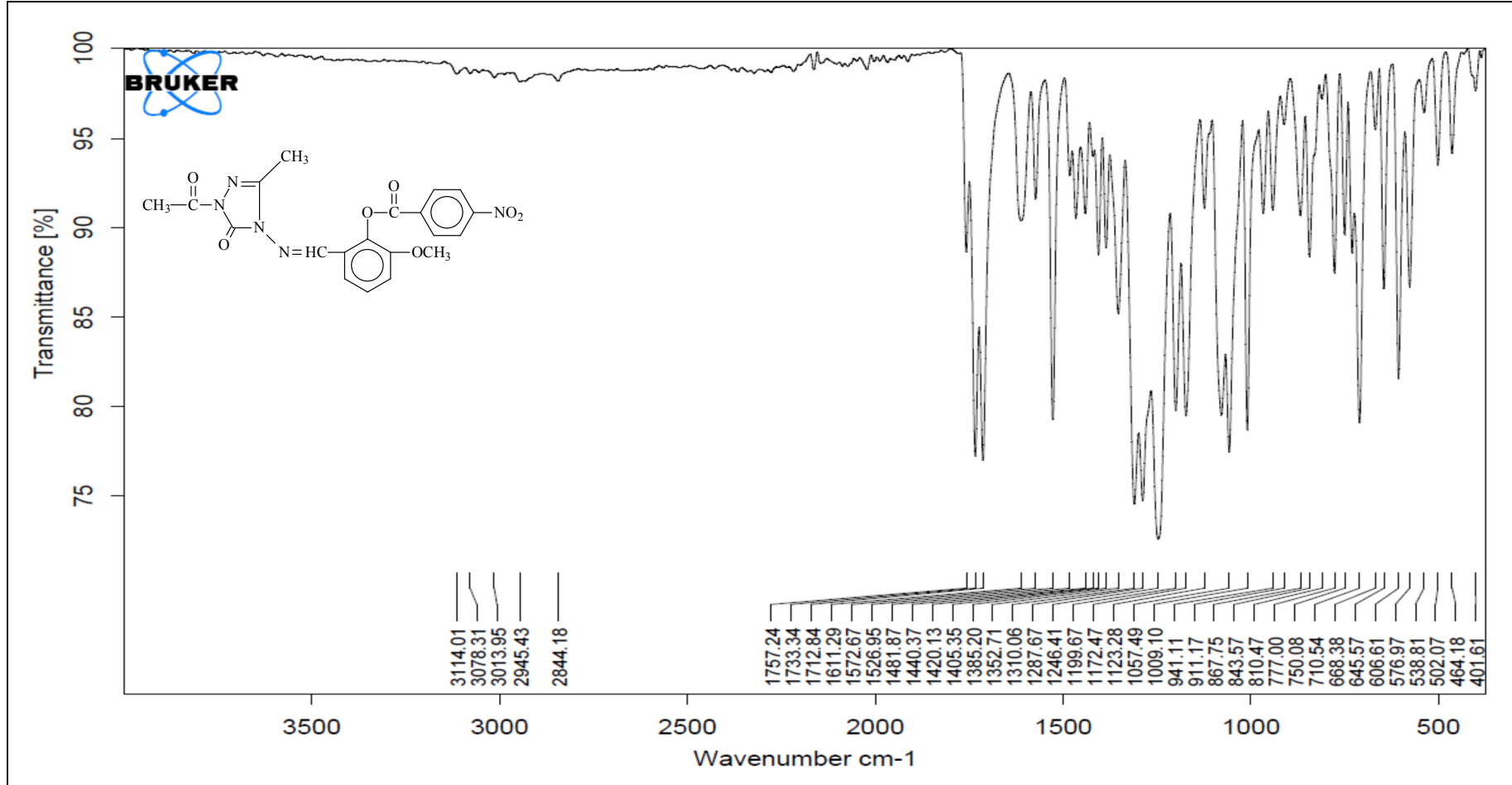
- [71] Alkan, M.; Gürbüz, A. Bazı Yeni 1,2,4-Triazol Türevlerinin Sentezi ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi, TUBİTAK Proje (107T633), 2009.
- [72] Alkan M., Gürbüz A., Yüksek H., Gürsoy Kol O., Ocak Z. "Synthesis and non-aqueous medium titrations of some new 3-alkyl(aryl)-4-[2-(4-methoxybenzoxy)-3-methoxy]-benzylidenamino-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones", Caucasian Journal of Science, 1 (1): (2014) 129–137.
- [73] Karakaş, E., "Bazı heterosiklik schiff bazlarının *N*-asetil türevlerinin sentezi, karakterizasyonu ve *in-vitro* antioksidan özelliklerinin incelenmesi", Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (2014).
- [74] Beytur, M., "Bazı yeni beş üyeli heterosiklik bileşiklerin sentezi ve bazı özelliklerinin incelenmesi", Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars, (2014).
- [75] Beytur, M., Yüksek, H., Gürsoy Kol, Ö. "Synthesis and antioxidant activities of some novel 3-alkyl(aryl)-4-(4-sinamoyloxybenzylidenamino)-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones", The 22nd Iranian Seminar of Organic Chemistry, Tabriz, Iran, P-0185, August 19-21, (2014).
- [76] Medetalibeyoğlu, H., "Bazı yeni 4-[3-(3-metoksibenzoksi)-benzilidenamino]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on türevlerinin sentezi, deneysel ve teorik özelliklerinin incelenmesi", Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars, (2015).
- [77] Kemer, G., "Bazı yeni heterosiklik bileşiklerin sentezi ve bazı özelliklerinin incelenmesi üzerine bir çalışma", Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars, (2015).
- [78] <http://www.merriam-webstar.com/dictionary/antimicrobial> (2009).
- [79] Yamantürk Çelik, P., Büget, B., "Geçmişten günümüze antibiyotikler: genel bir bakış, ilk ve son kuşak antibiyotikler", Ankem Derg. (2007).
- [80] [http://www.kocaelidh.gov.tr/antibiyotik kullanımı](http://www.kocaelidh.gov.tr/antibiyotik_kullanımı) (2000).
- [81] [http://www.biomerieux-usa.com/antibiotic classification and modes of action](http://www.biomerieux-usa.com/antibiotic_classification_and_modes_of_action) (2008).
- [82] <http://www.mikrobiyolbul.com> (2010).
- [83] [http://www.freehealthchannel.com/antimicrobial drugs: their classification and resistance development](http://www.freehealthchannel.com/antimicrobial_drugs_their_classification_and_resistance_development) (2008).
- [84] Akalın, H. E., "Antimikrobiyal direnç: bugünü ve yarını", Ankem Derg. , 9(3): 205-208 (1995).

- [85] <http://www.mikrobiyoloji.org>
- [86] 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 (2009b).
- [87] Bhat, A. R., Varadaj 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).
- [88] Espinel-Ingroff, A., "In vitro activity of the new triazole voriconazole (UK-109,496) against oppurtunistic filamentous and dimorphic fungi and common and emerging yeast pathogens" *J. Clin. Microbiol.*, 36:198-202 (1998).
- [89] Demirbaş, A., Şahin, D., Demirbaş, N., Karaoğlu, S. A., "Synthesis of some new 1,3,4-thiadiazol-2-ylmethyl-1,2,4-triazole derivatives and investigation of their natimicrobial activities", *Eur. J. Med. Chem*, 44: 2896-2903 (2009).
- [90] Demirbaş, N., Uğurluoğlu, R., Demirbaş, A., "Synthesis of 3-Alkyl(Aryl)-4-alkylidenamino-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones and 3-alkyl-4alkylamino-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones as Antitumor agents", *Bioorg. & Med. Chem.*, 10:3717-3723 (2002).
- [91] 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).
- [92] Springer, V. J., "Beilstein's Handbuch der Organischen Chemie", 4. Auflage, Berlin, 2, 182 (1920).
- [93] Springer, V. J., "Beilstein's Handbuch der Organischen Chemie", 4. Auflage, Berlin, 2, 245 (1920).
- [94] Springer, V. J., "Beilstein's Handbuch der Organischen Chemie", 4. Auflage, Berlin, 2, 440 (1920).
- [95] 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 (1975).
- [96] Oyaizu, M., "Antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine", *Japanese J. Nutr.*, 44: 307-315 (1986).
- [97] Blois, M. S., "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical", *Nature*, 181: 1199-1200 (1958).
- [98] Soares, J. R., Dinis, T. C. P., Cunha, A. P., Almedia, L. M., "Antioxidant activities of some extracts of *Thymus zygis*", *Free Radical Res.*, 26 (5): 469-

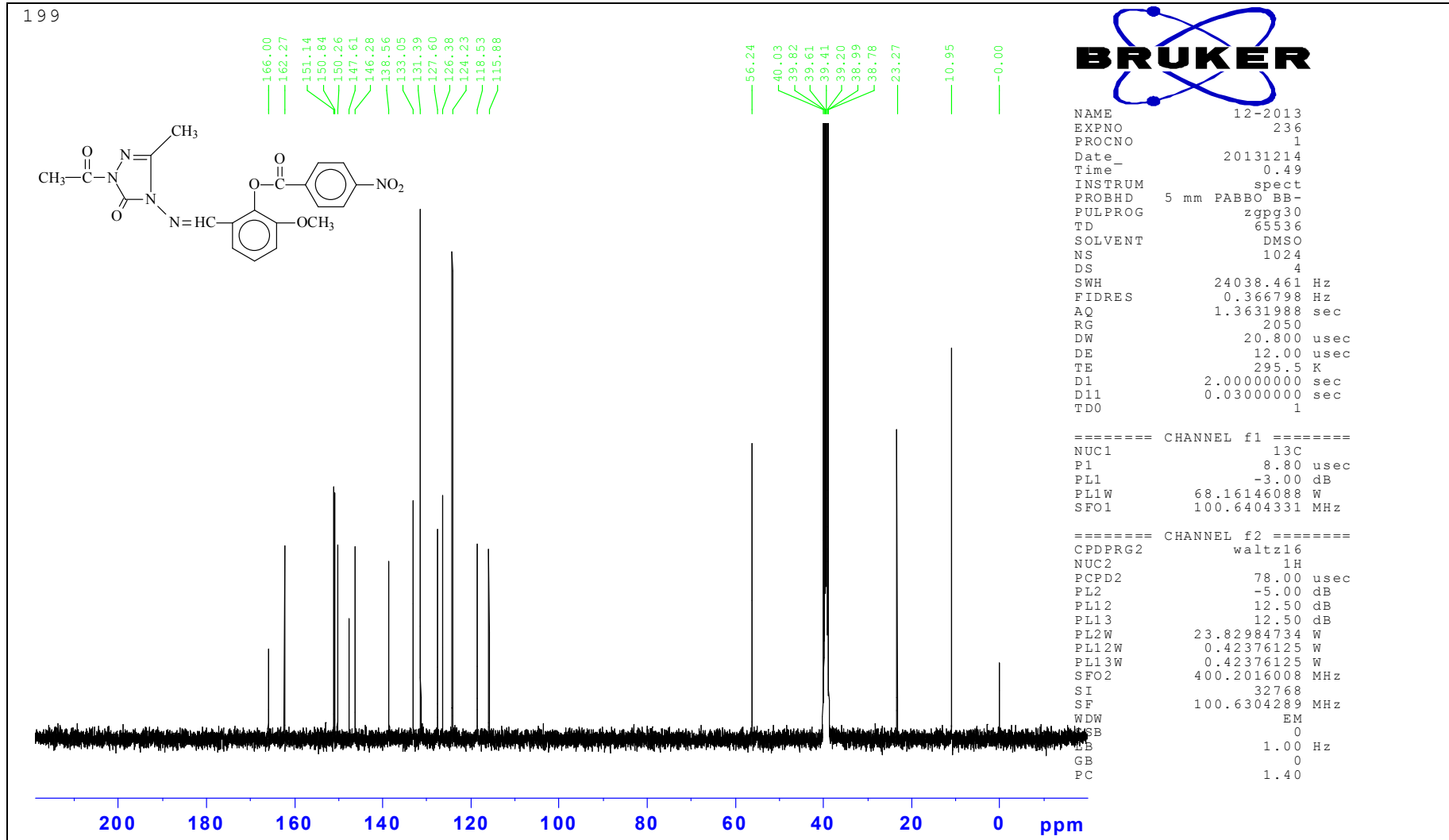
478 (1997).

- [99] Perez, C., Pauli, M., Bazerque, P., “An antibiotic assay by the well agar method”, *Acta Biologia et Medicine Experimentalis*, 15: 113-115 (1990).
- [100] Ahmad, I., Mehmood, Z., Mohammed, F., “Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties”, *Journal of Ethnopharmacology*, 62: 183-193 (1998).

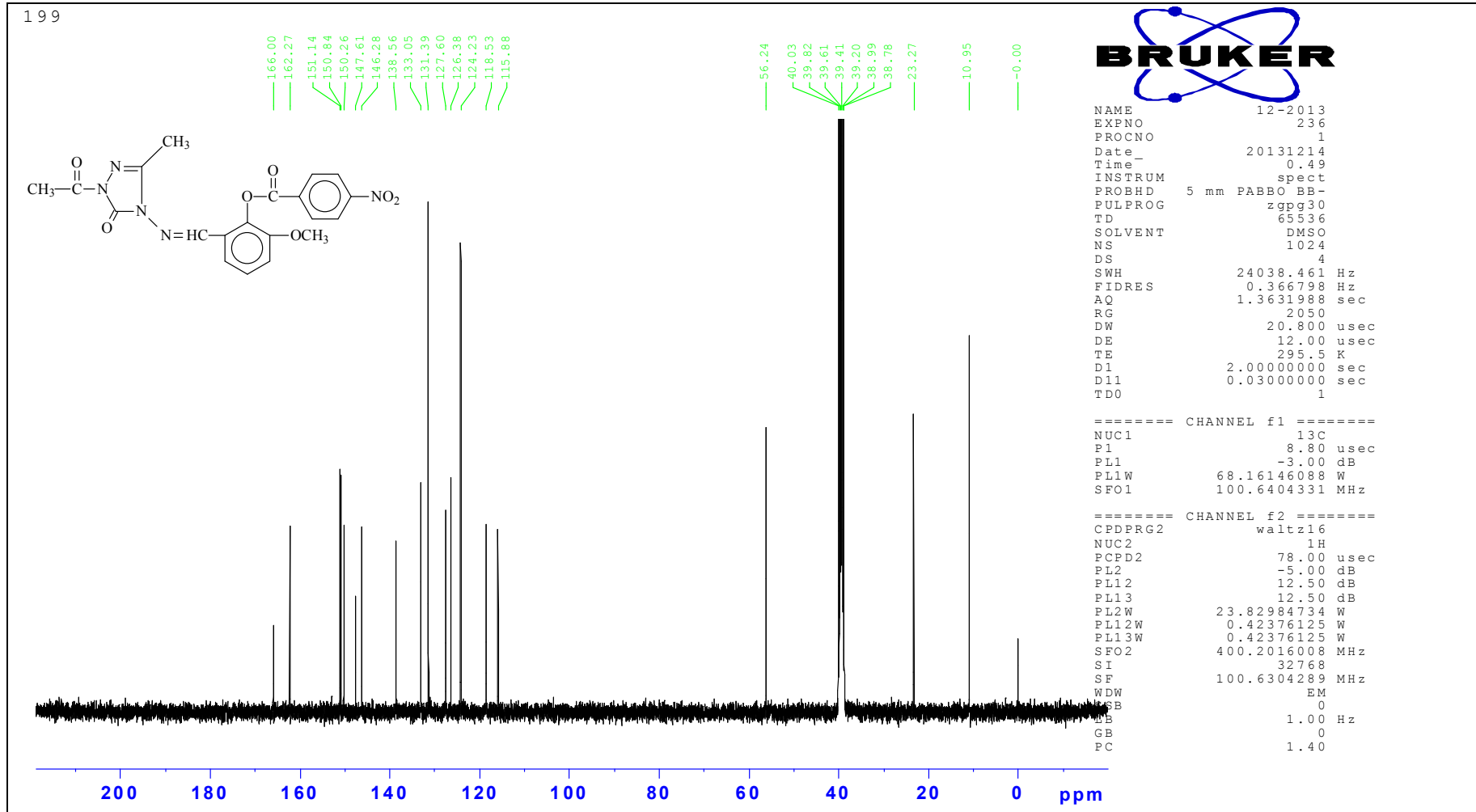
6. EKLER



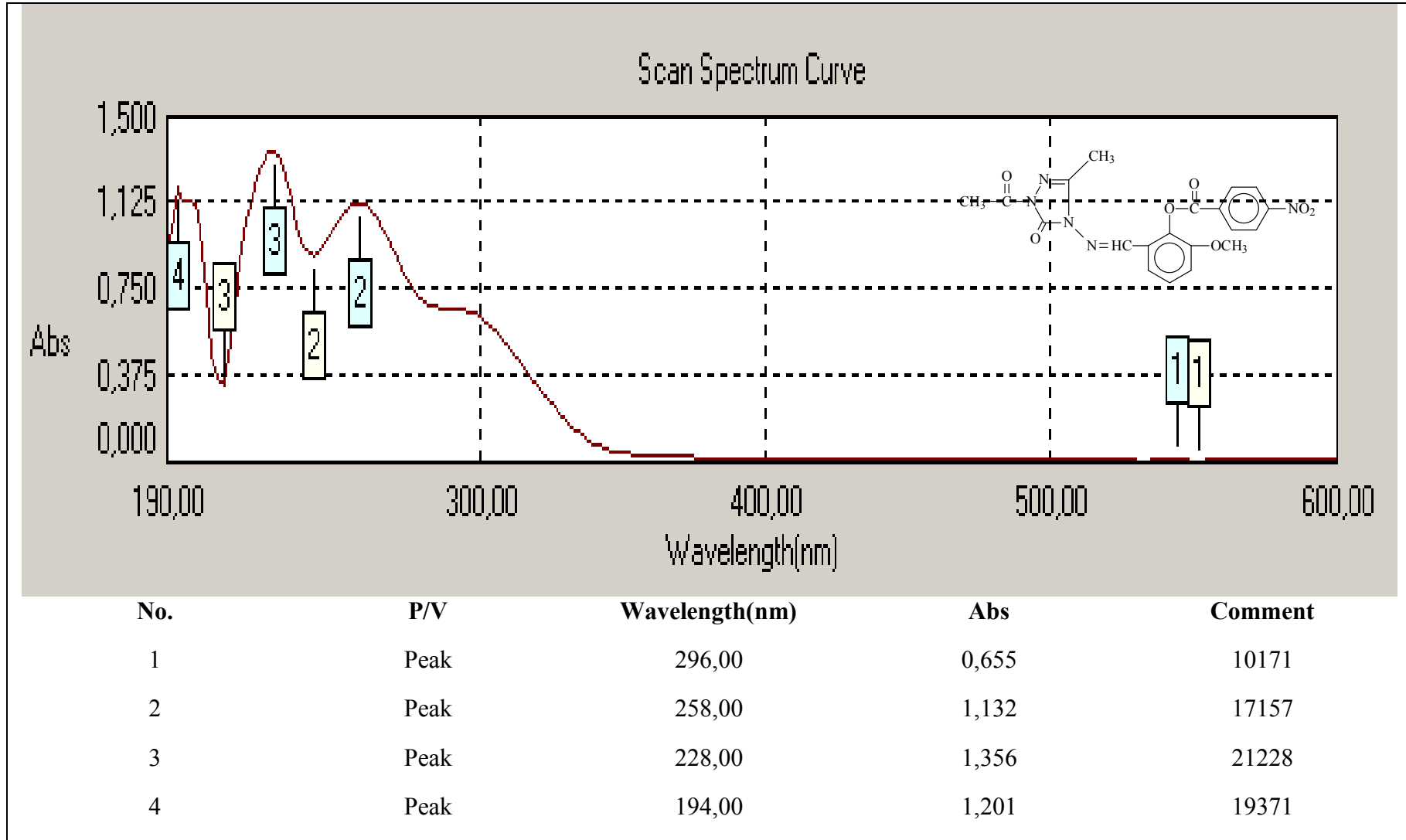
Ek Şekil 1. 128 Bileşiğinin IR spektrumu



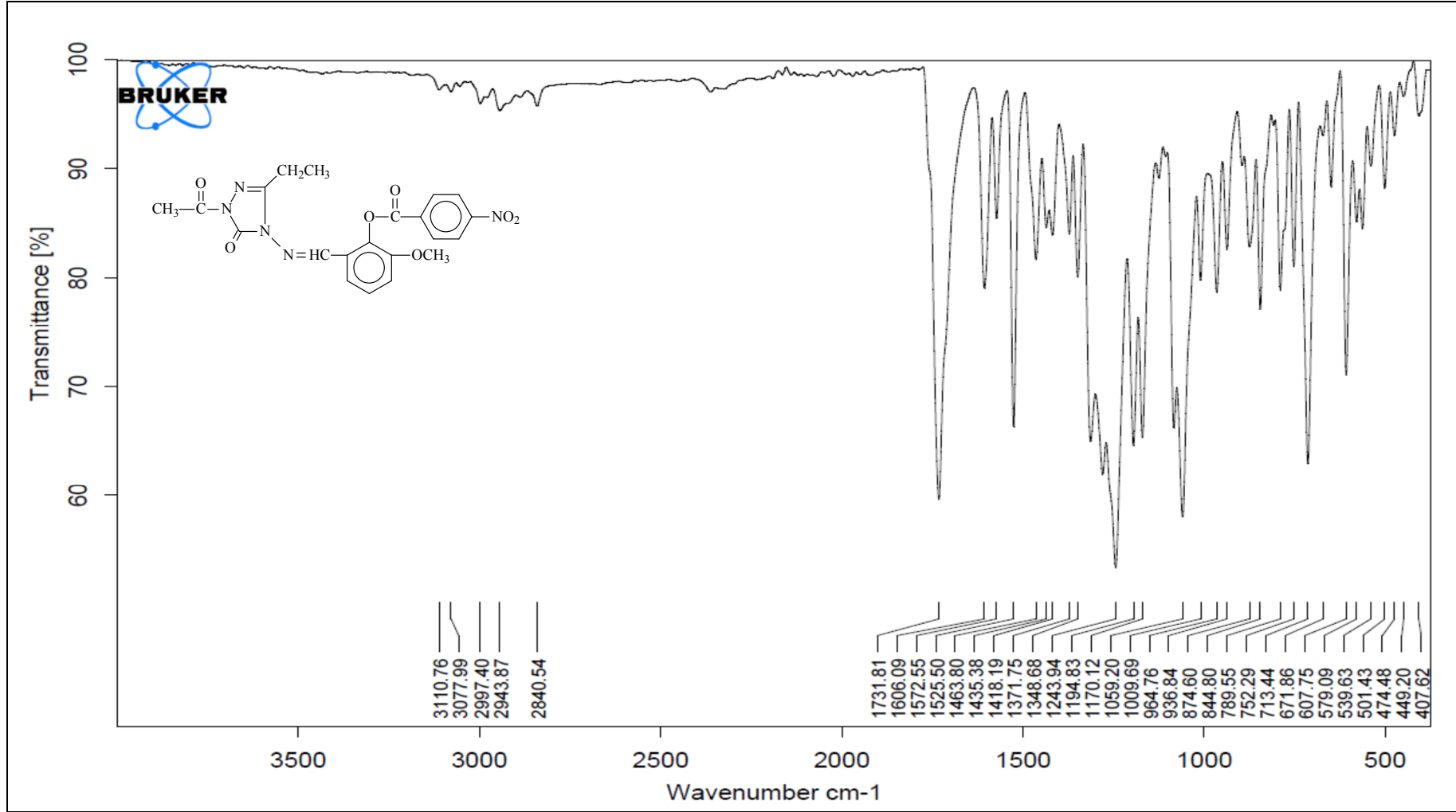
Ek Şekil 2. 128 Bileşiminin $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) spektrumu



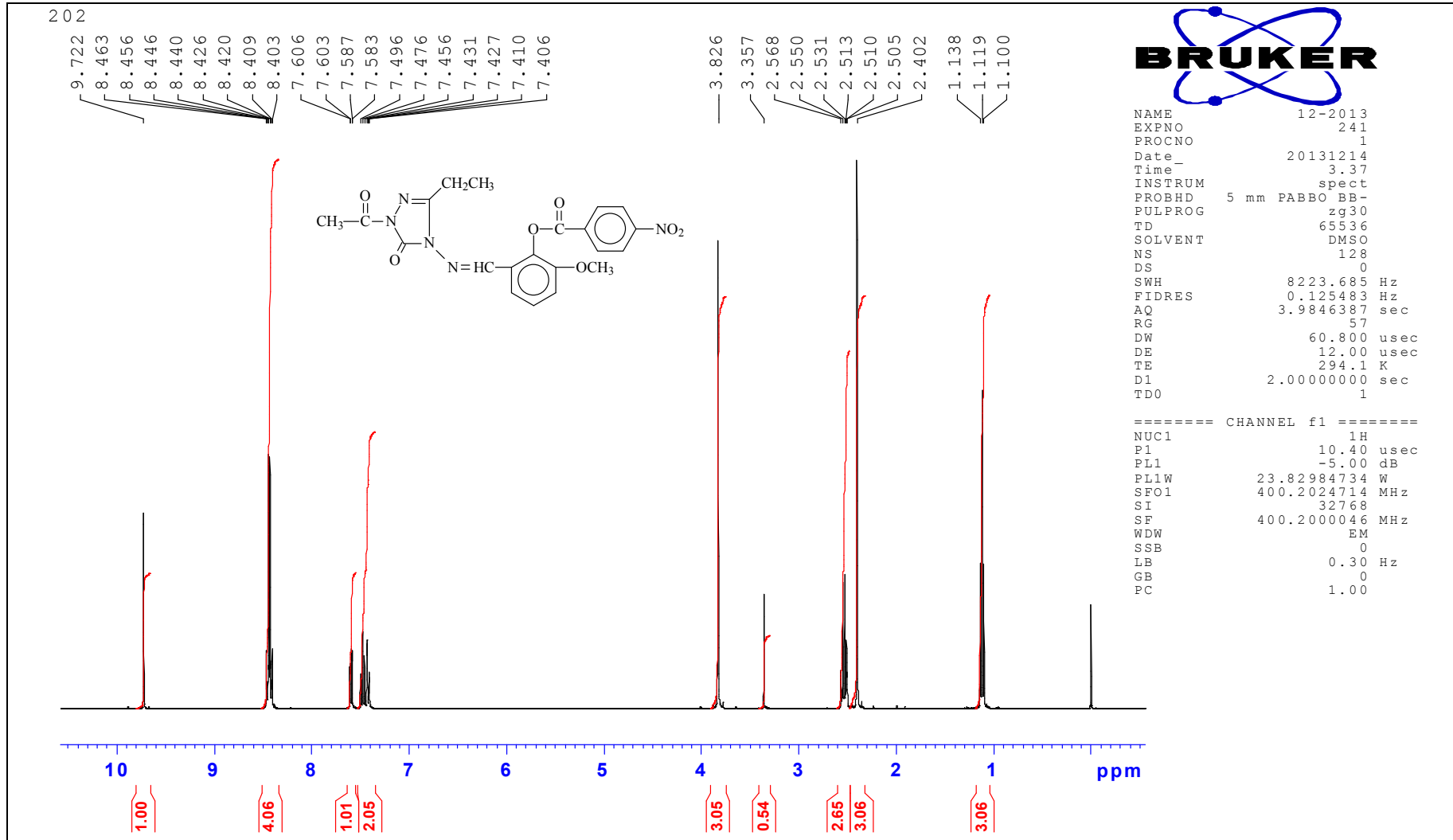
Ek Şekil 3. 128 Bileşiğinin ¹³C-NMR (DMSO-d₆) spektrumu



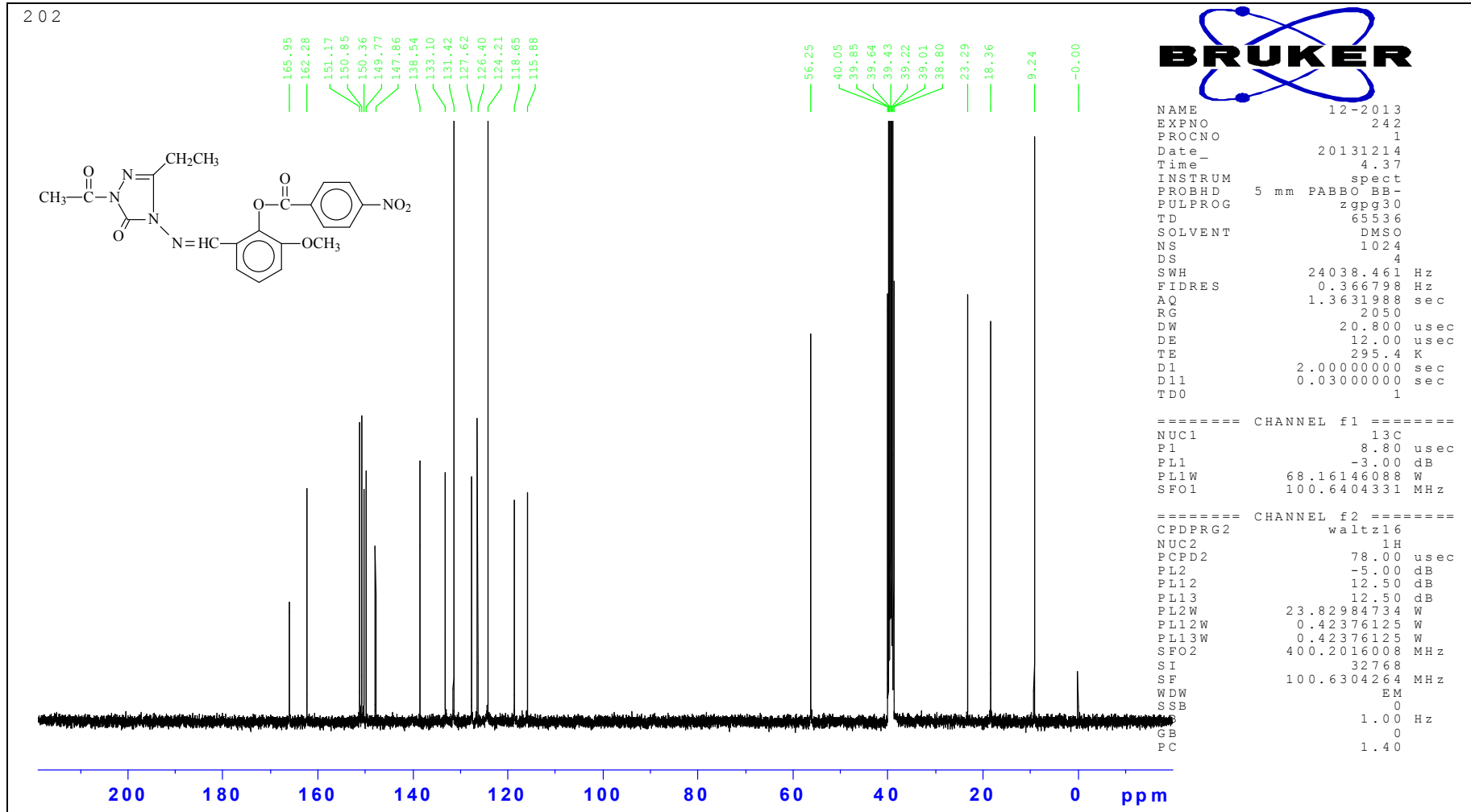
Ek Şekil 4. 128 Bileşiğinin UV spektrumu

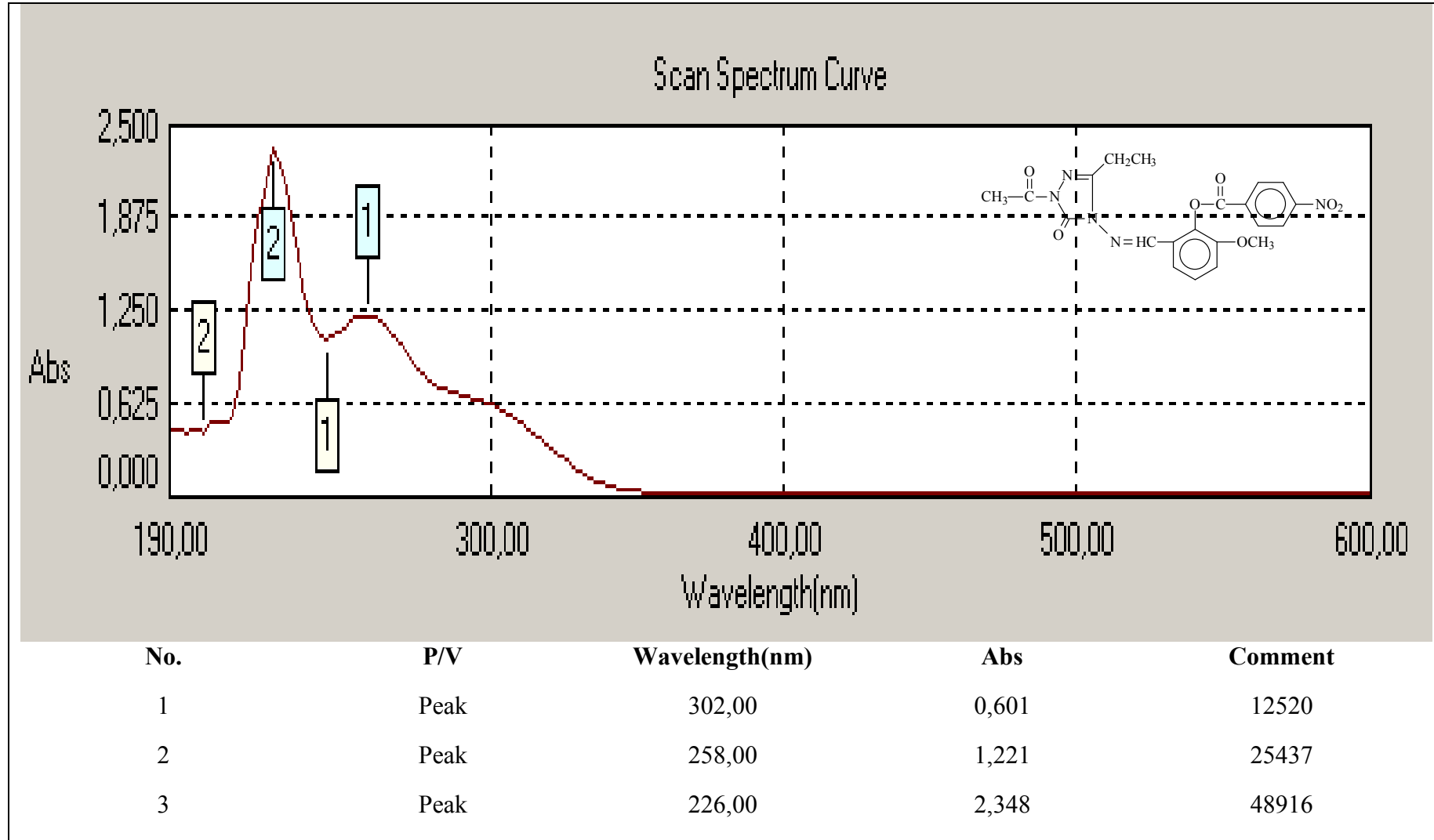


Ek Şekil 5. 129 Bileşiğinin IR spektrumu

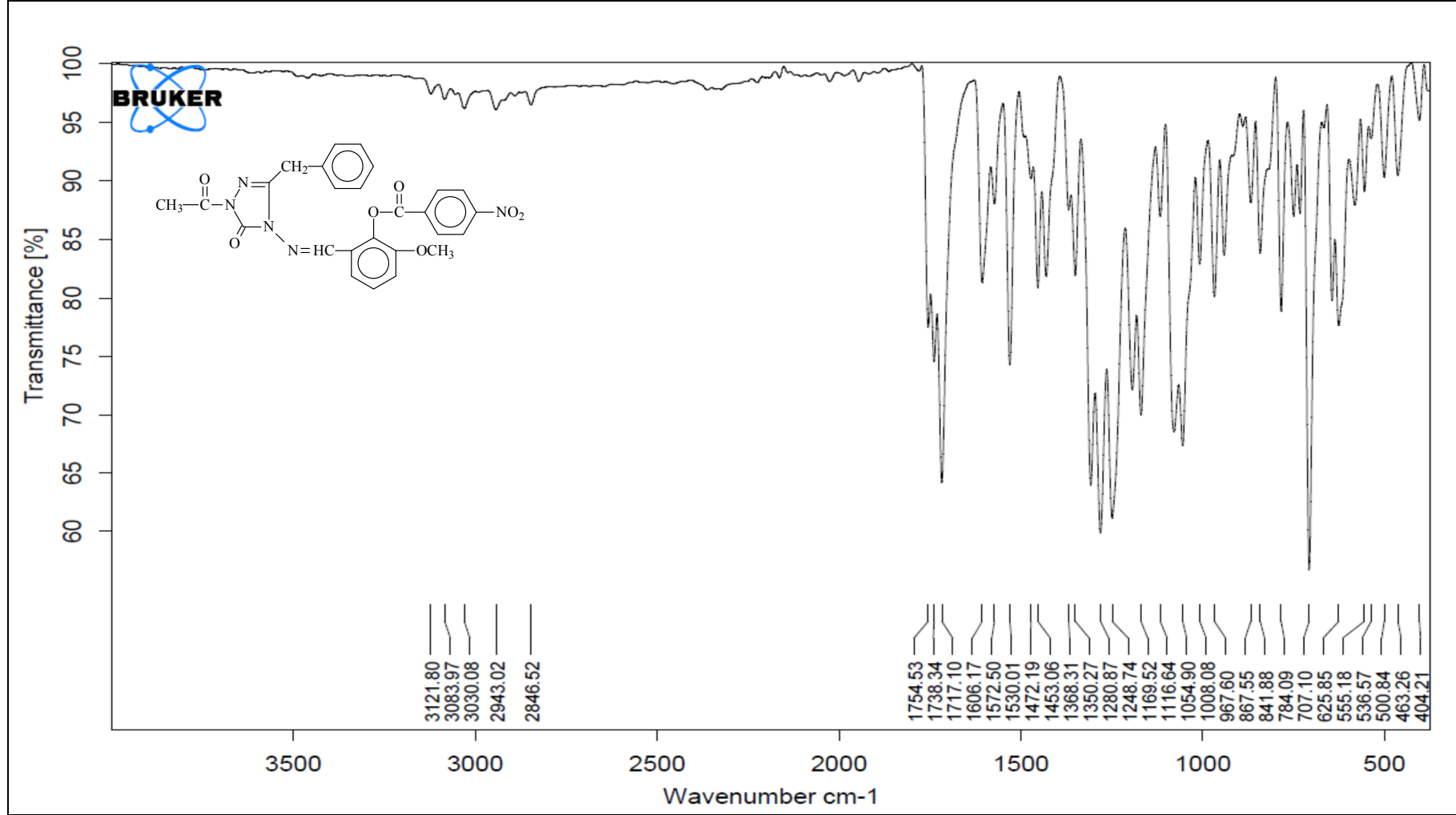


Ek Şekil 6. 129 Bileşiminin $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) spektrumu

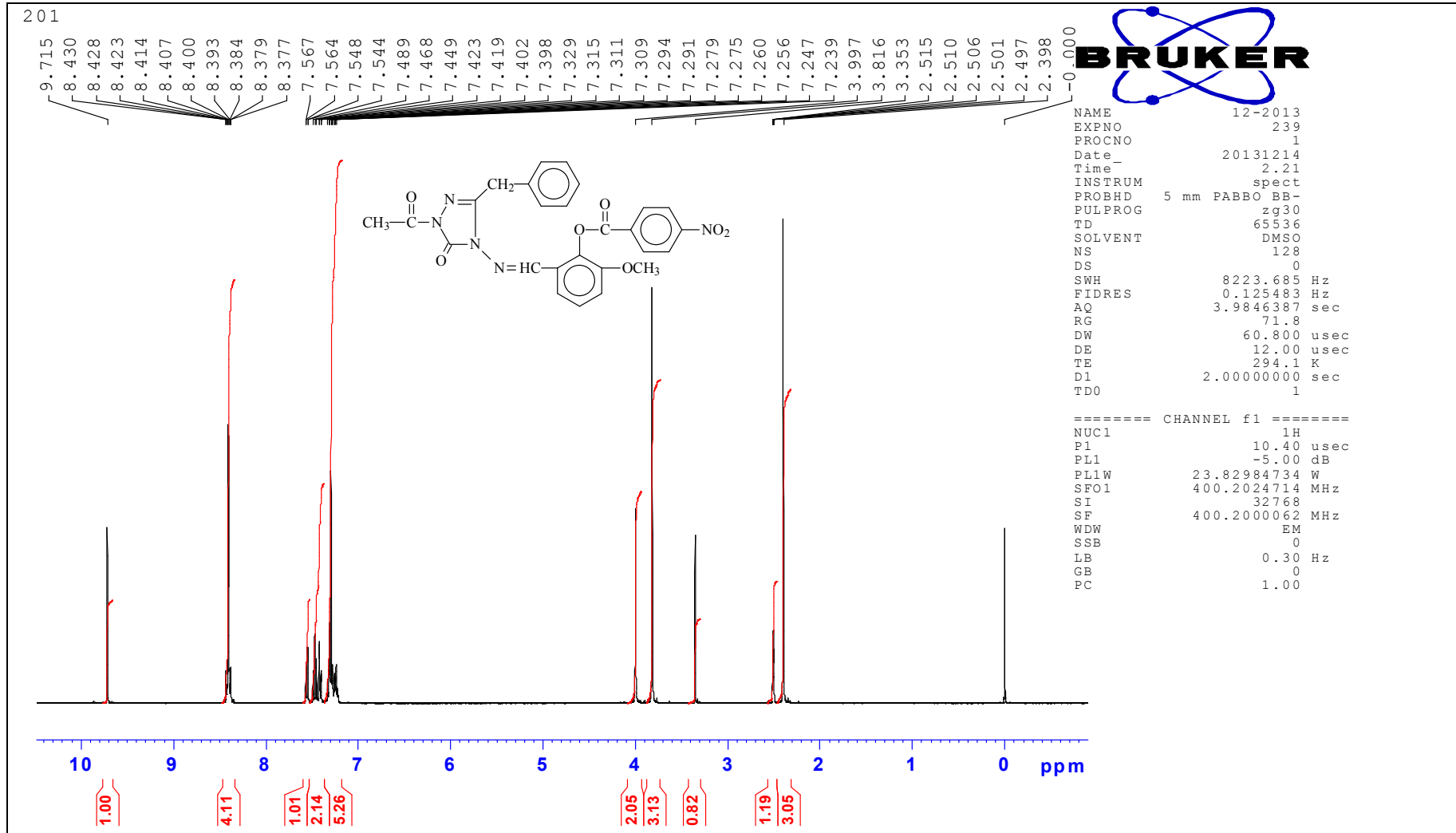
Ek Şekil 7. 129 Bileşğinin ¹³C-NMR (DMSO-d₆) spektrumu

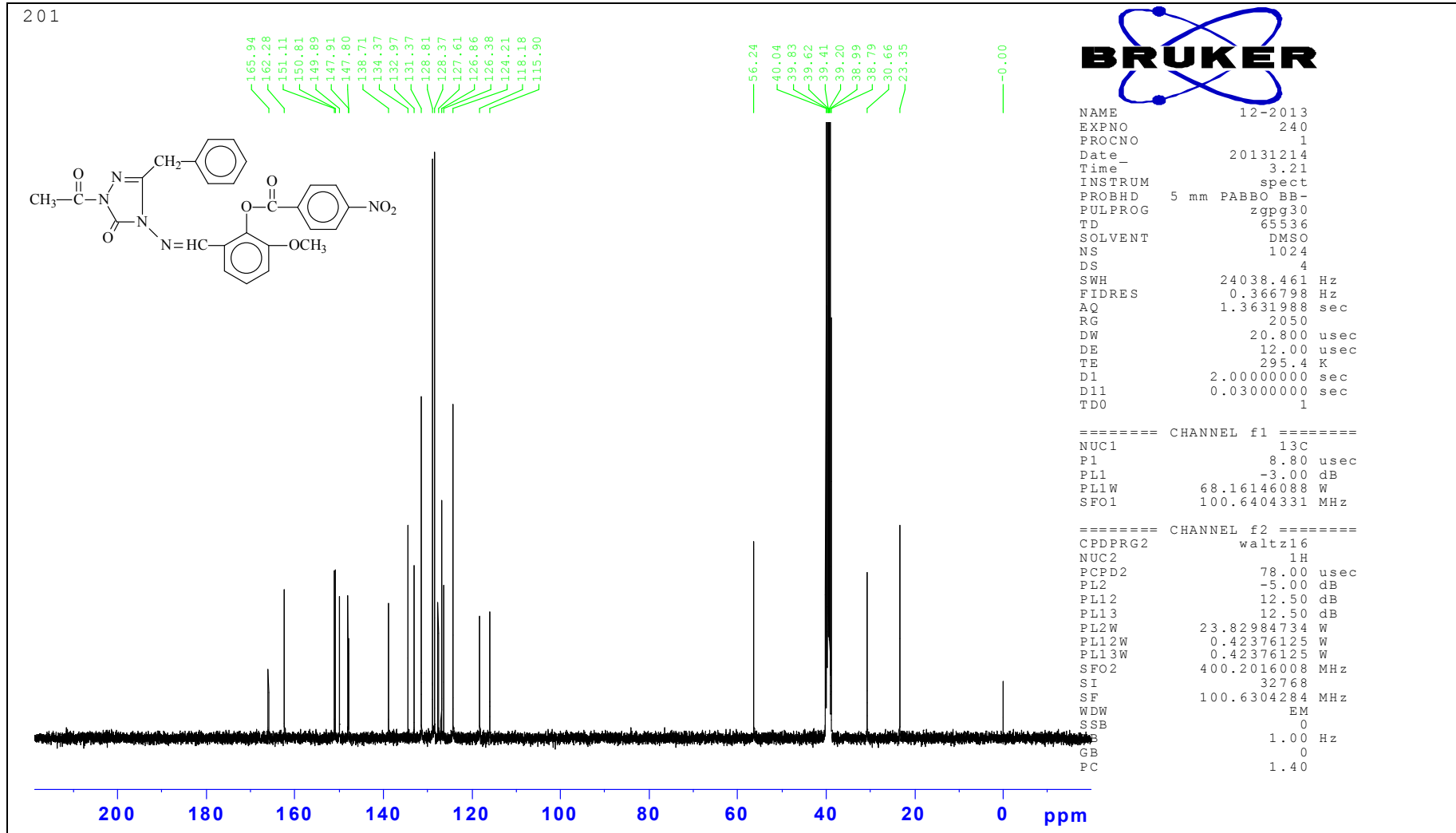


Ek Şekil 8. 129 Bileşiğinin UV spektrumu

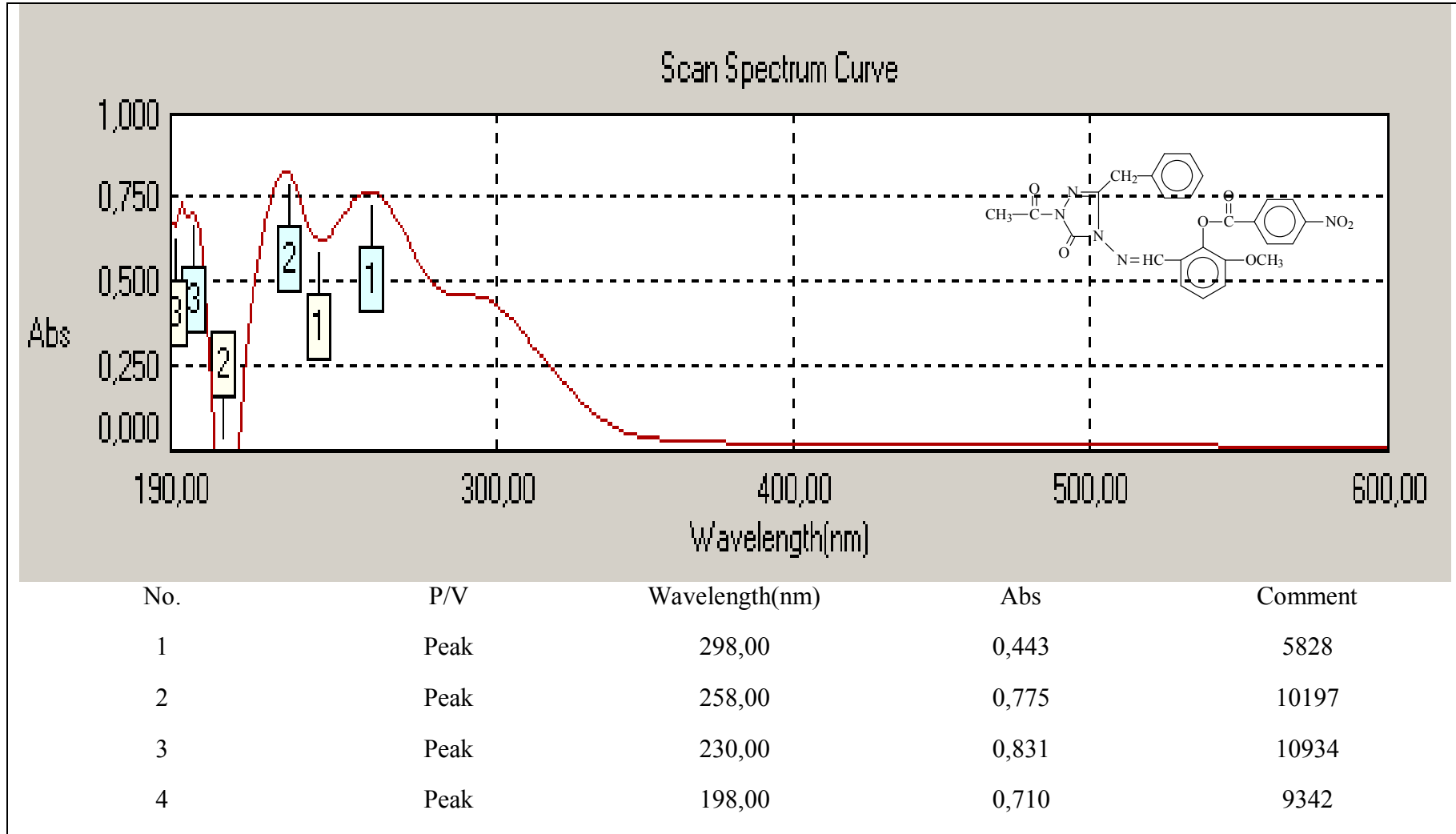


Ek Şekil 9. 130 Bileşiğinin IR spektrumu

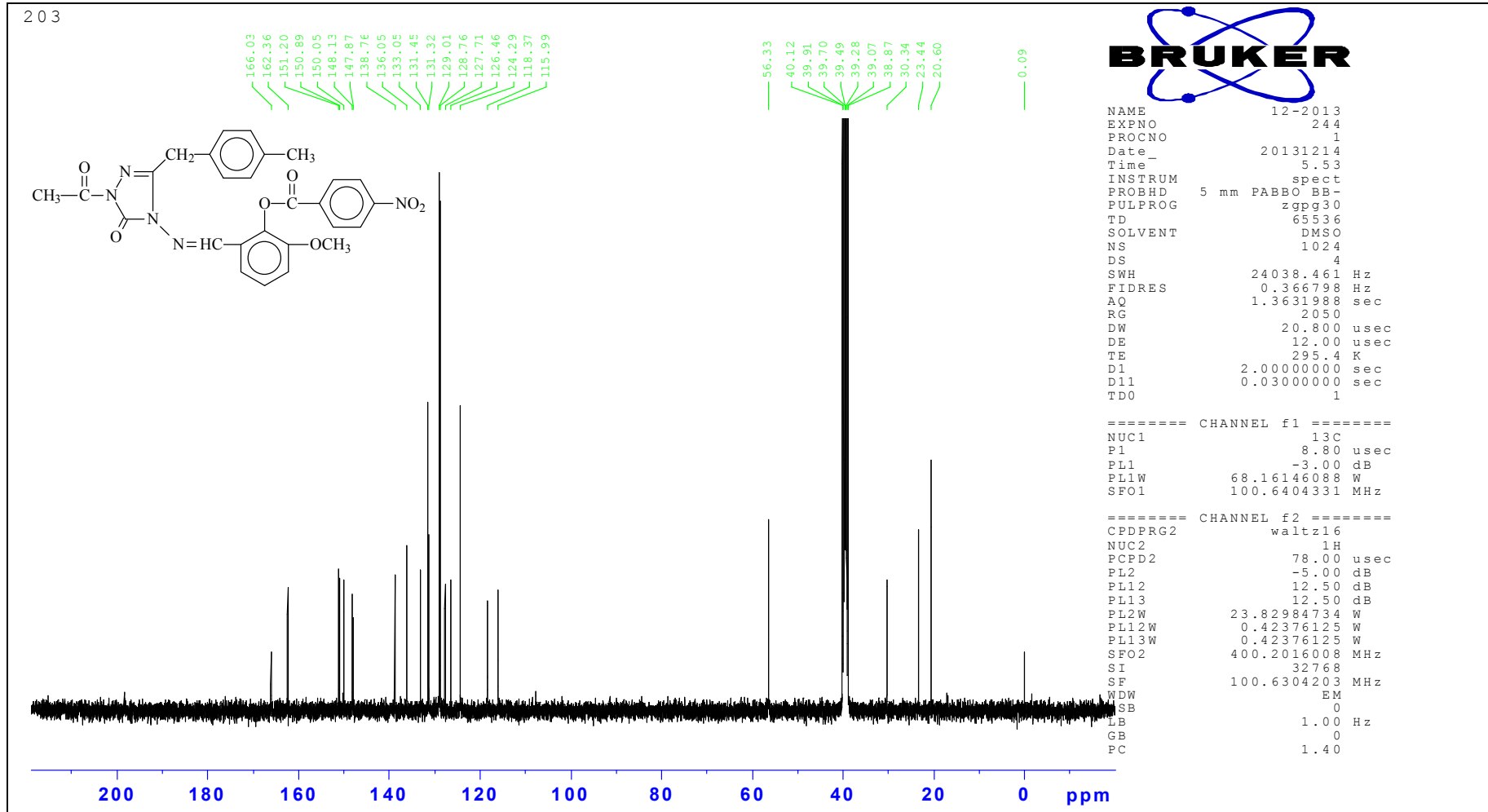
Ek Şekil 10. 130 Bileşiminin $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) spektrumu



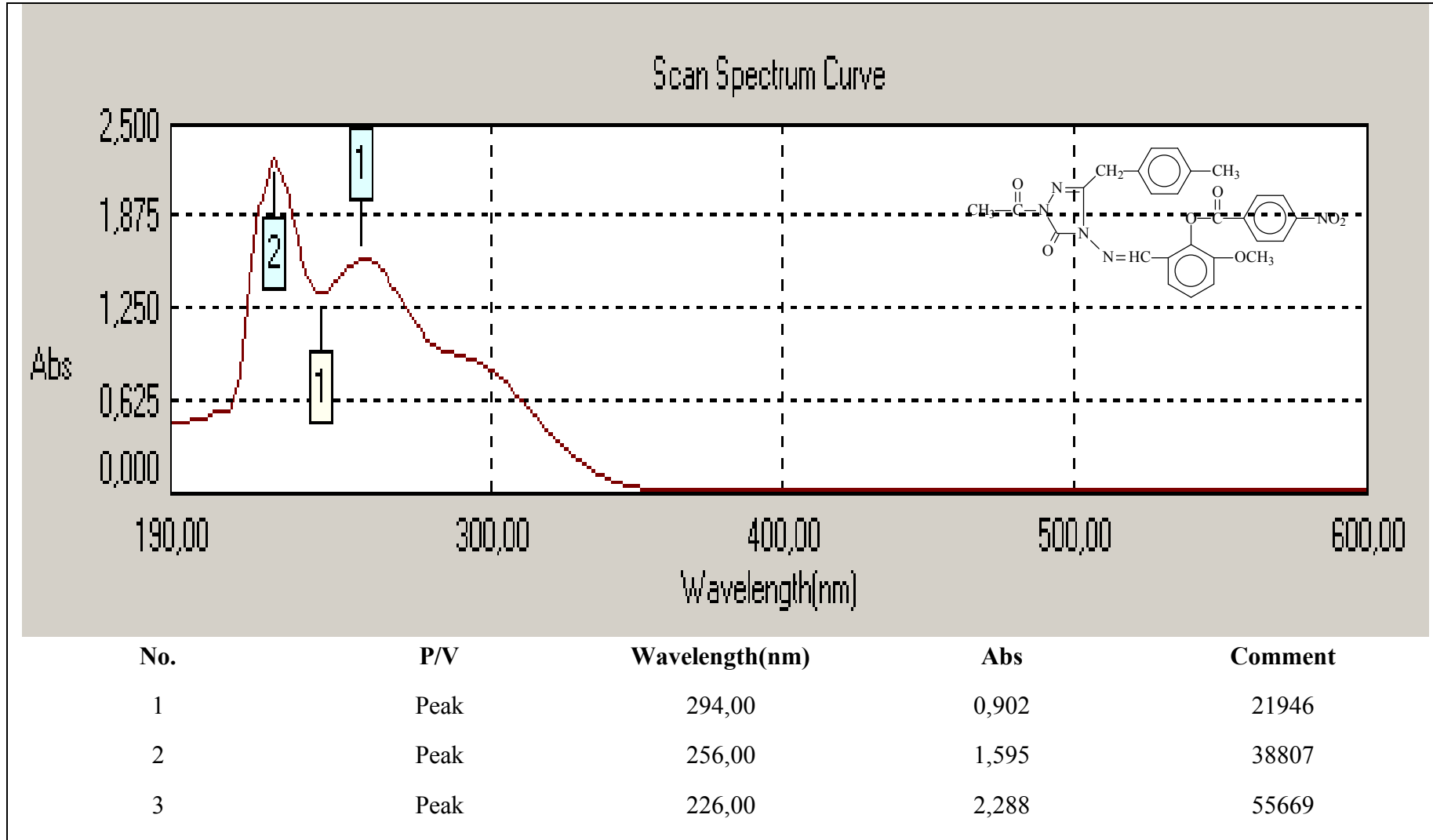
Ek Şekil 11. 130 Bileşiğinin ^{13}C -NMR (DMSO- d_6) spektrumu



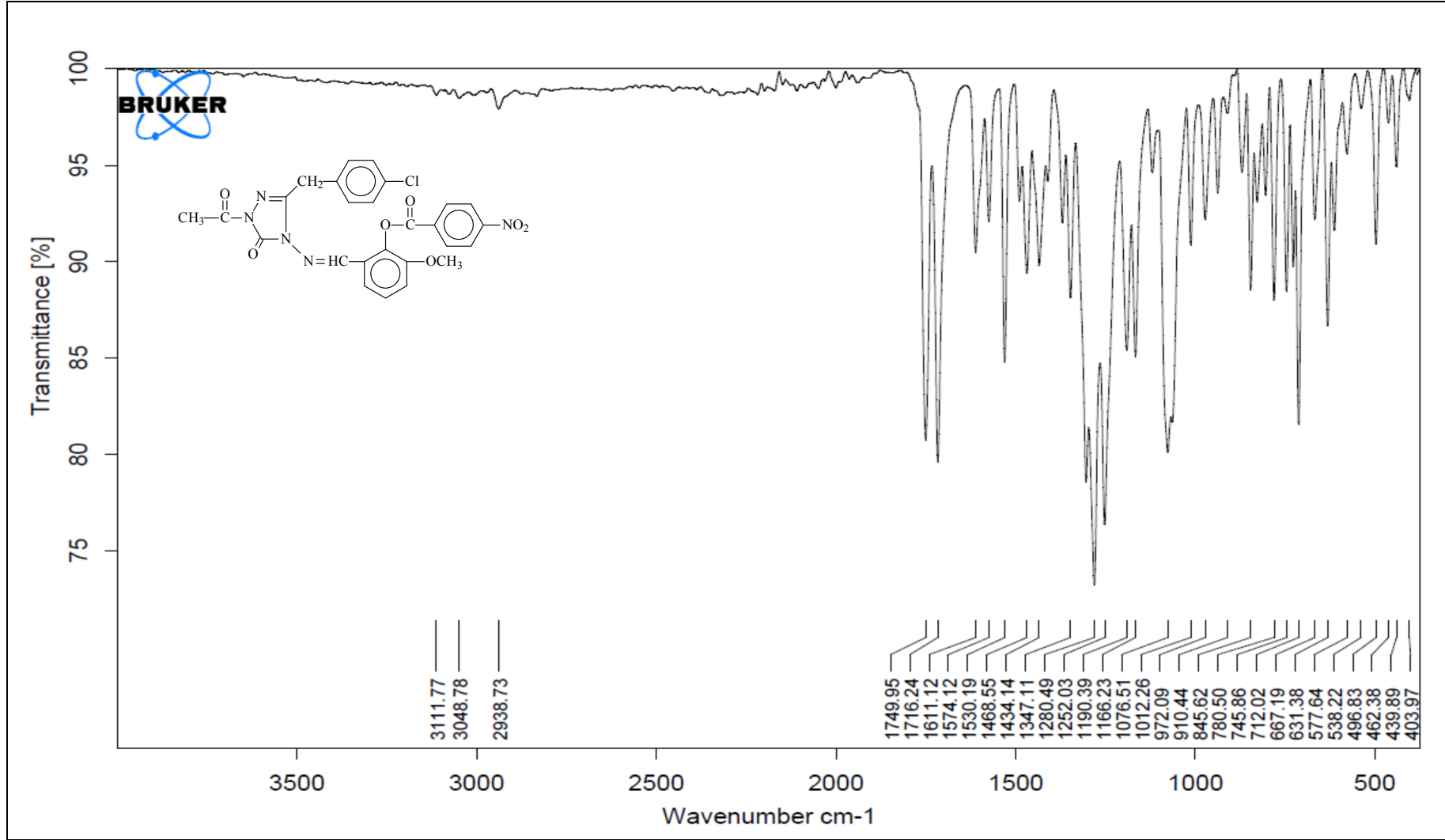
Ek Şekil 12. 130 Bileşiğinin UV spektrumu



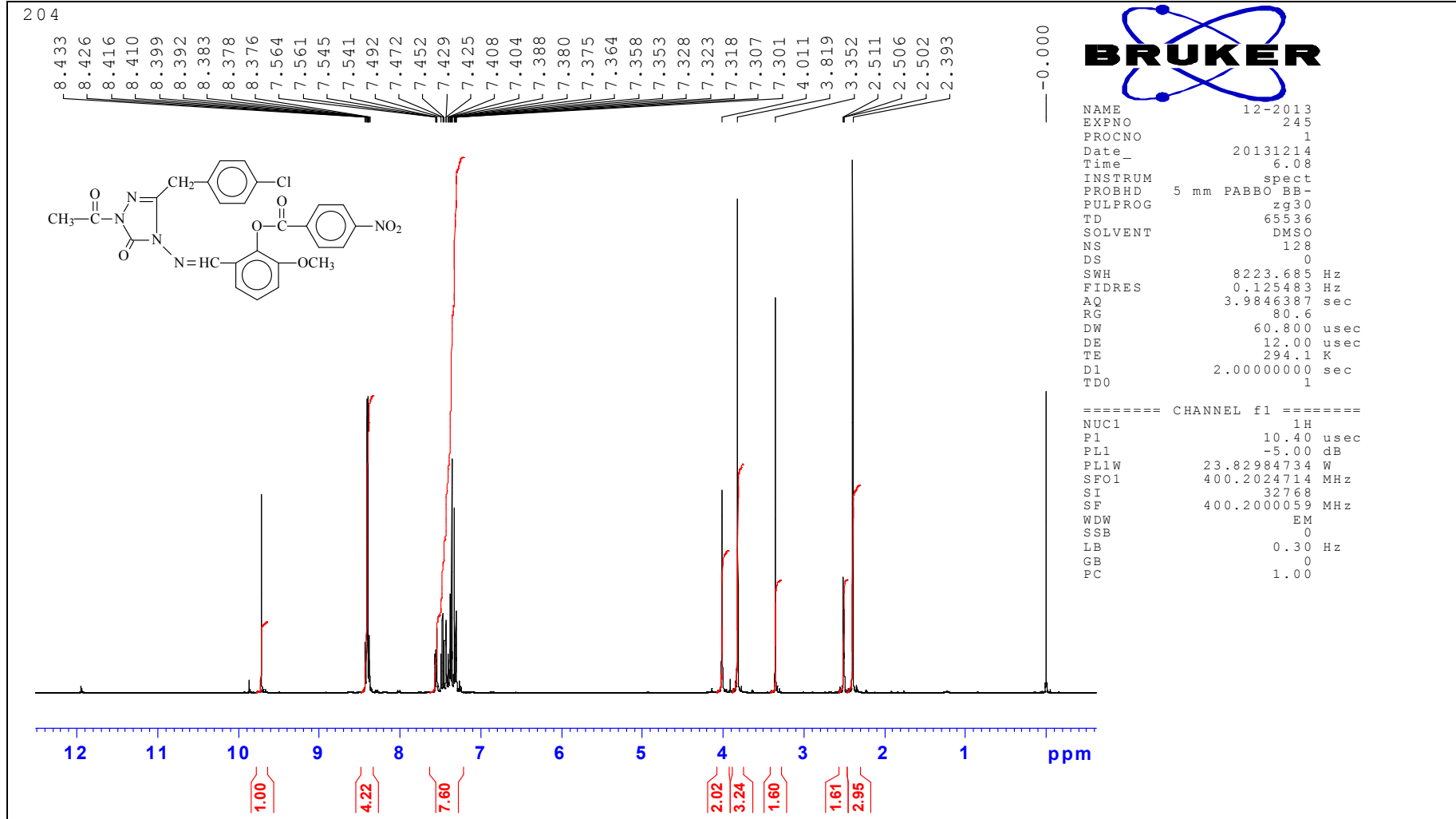
Ek Şekil 15. 131 Bileşiğinin ^{13}C -NMR (DMSO- d_6) spektrumu

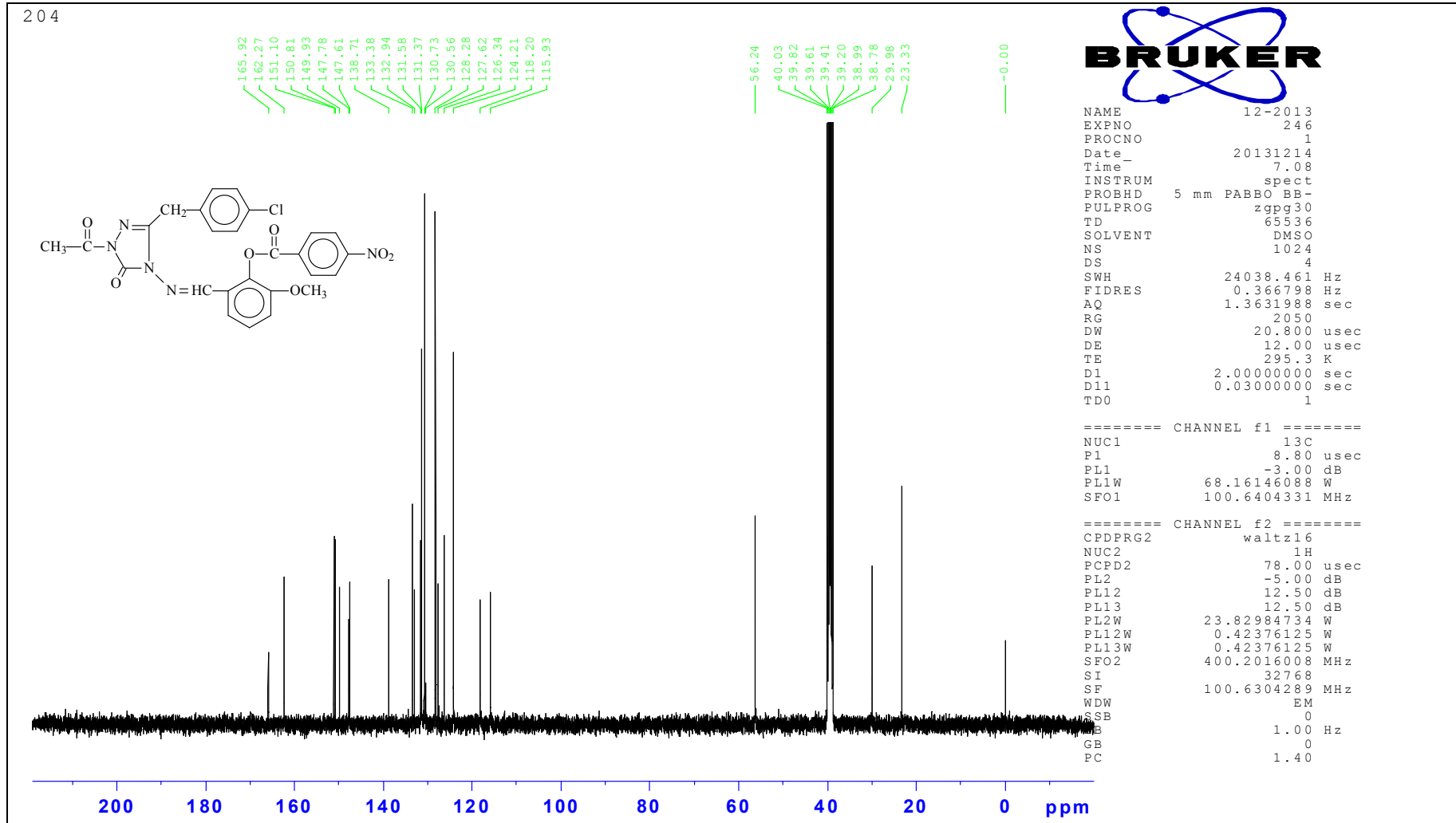


Ek Şekil 16. 131Bileşiğinin UV spektrumu

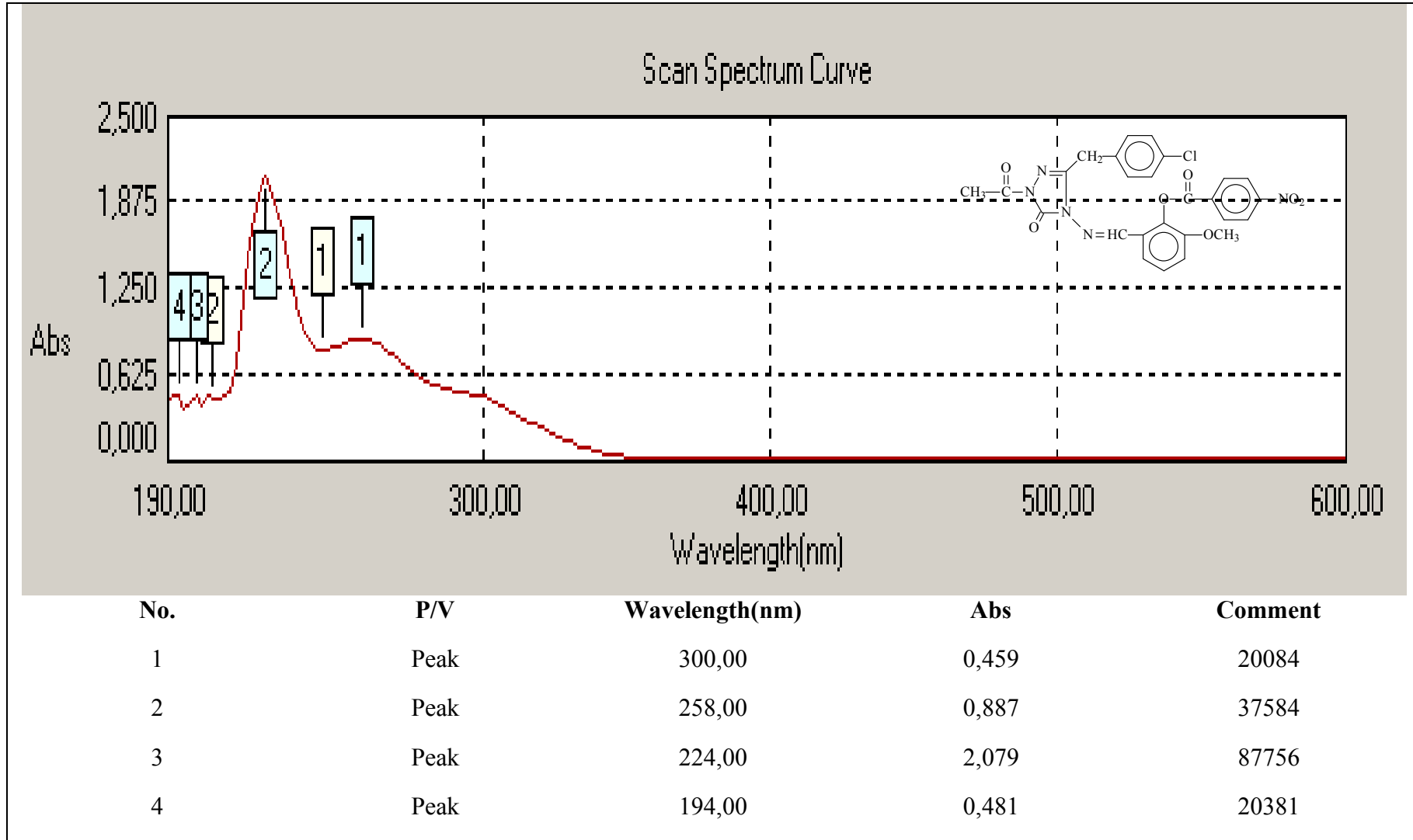


Ek Şekil 17. 132 Bileşiğinin IR spektrumu

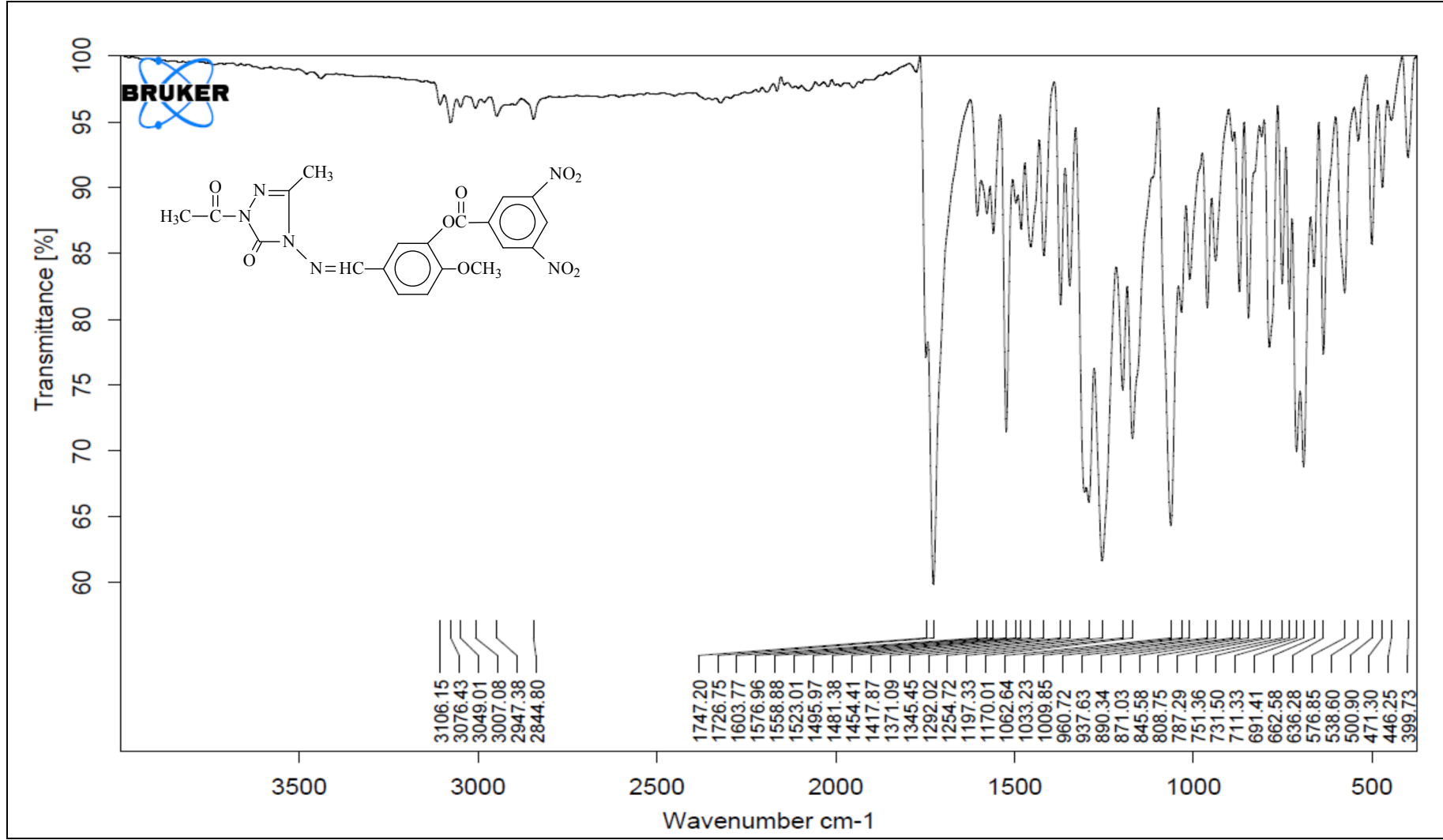
Ek Şekil 18. 132 Bileşiğinin ¹H-NMR (DMSO-d₆) spektrumu



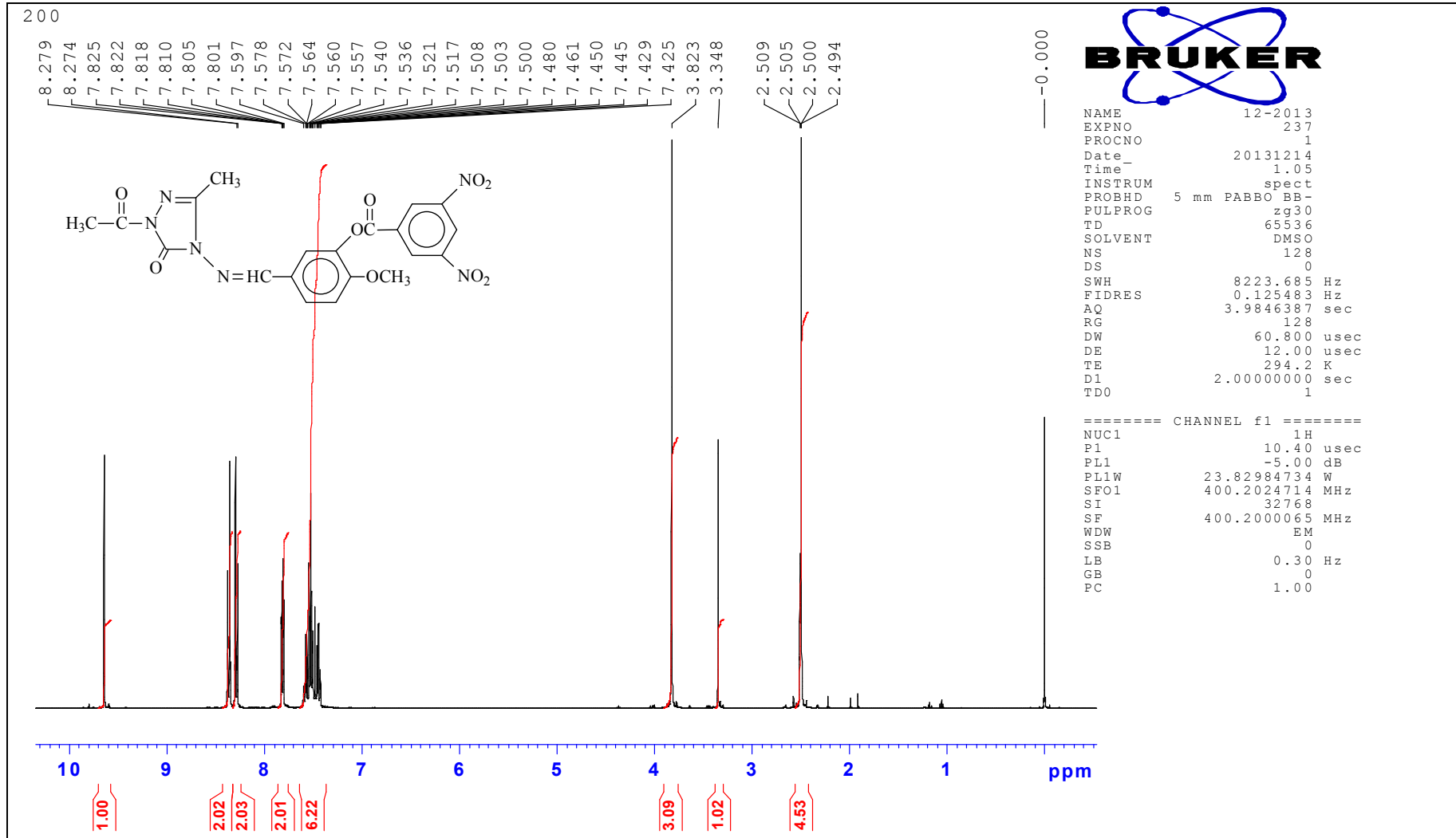
Ek Şekil 19. 132 Bileşiğinin ^{13}C -NMR (DMSO- d_6) spektrumu

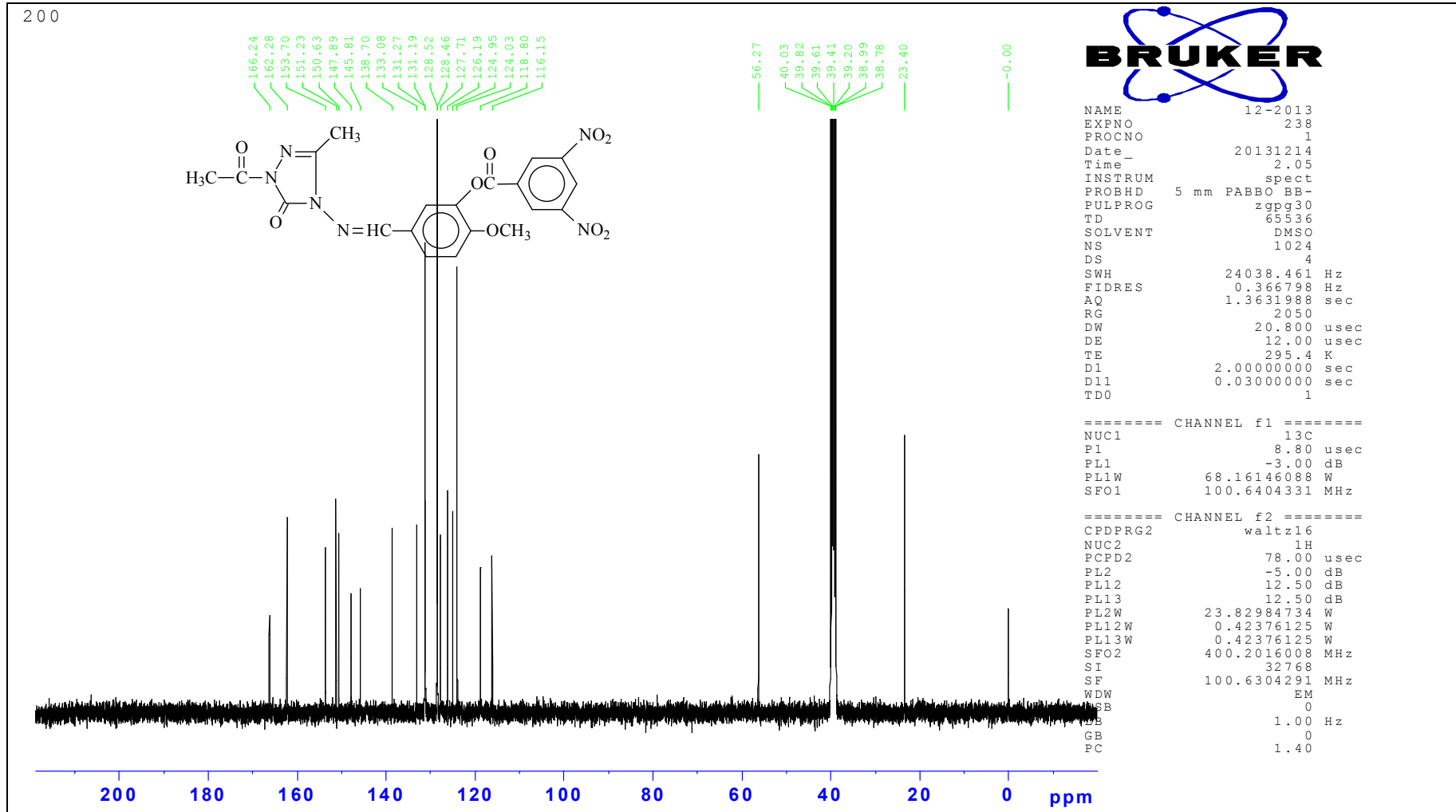


Ek Şekil 20. 132 Bileşiğinin UV spektrumu

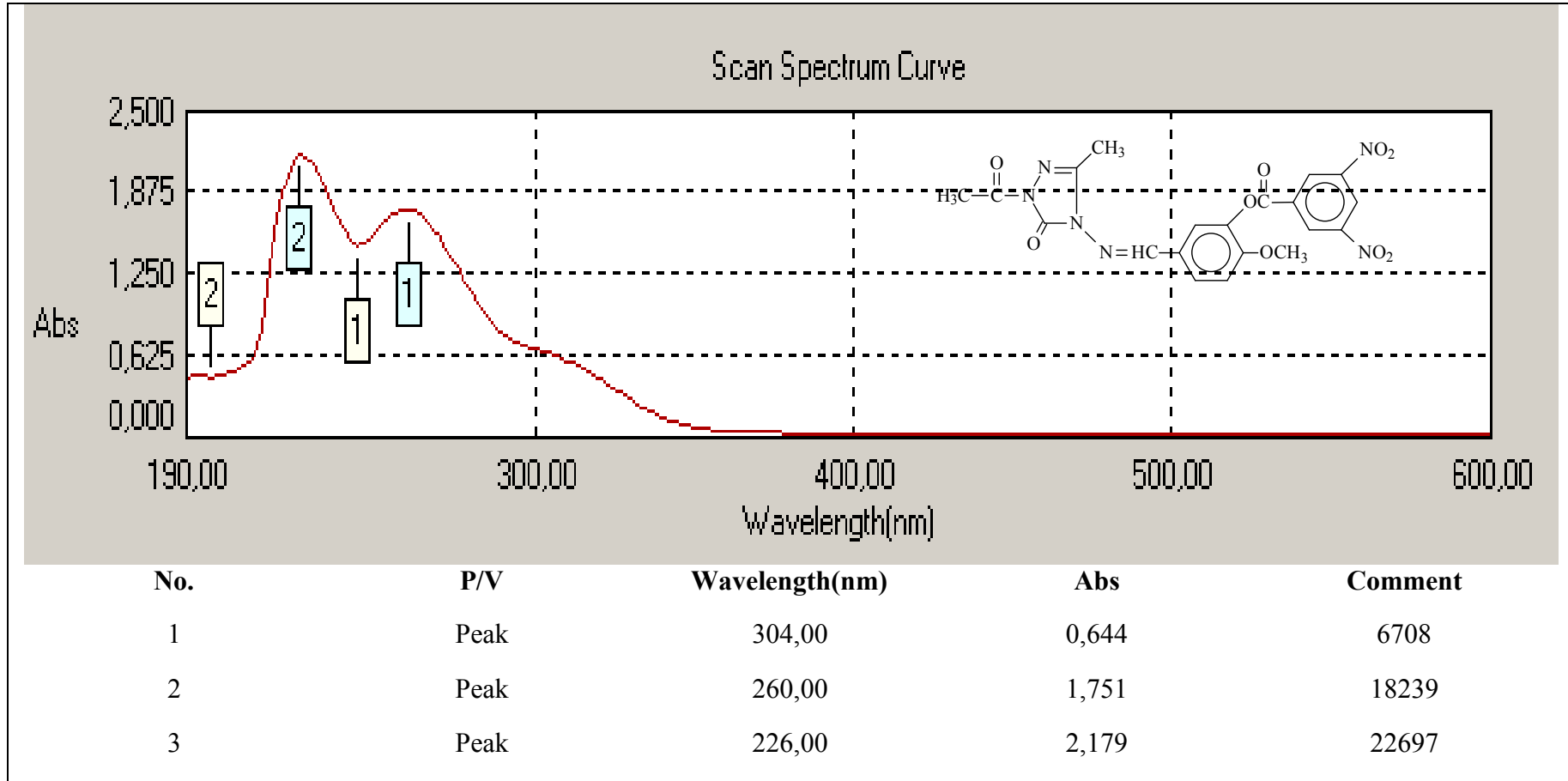


Ek Şekil 21. 133 Bileşiğinin IR spektrumu

Ek Şekil 22. 133 Bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) spektrumu



Ek Şekil 23. 133 Bileşiminin ¹³C-NMR (DMSO-d₆) spektrumu



Ek Şekil 24. 133 Bileşiğinin UV spektrumu

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Memet KARADAĞ

Adres : Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü

E posta : memetkaradag_36@hotmail.com

Lisans : Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü

Yüksek Lisans Tez Konusu : Bazı yeni 1-asetil-3,4-disubstitue-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on türevlerinin sentezi ve biyolojik aktivitelerinin incelenmesi