

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

**YENİ 3,5-DİSUBSTİTUE PİRAZOLİN TÜREVLERİ VE BOR KOMPLEKSLERİNİN
SENTEZİ, UV ABSORPSİYON ÖZELLİKLERİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimyager Zeynep HAŞİMOĞLU

TEMMUZ 2016
TRABZON



**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

KİMYA ANABİLİM DALI

**YENİ 3,5-DİSUBSTİTUE PİRAZOLİN TÜREVLERİ VE BOR KOMPLEKSLERİNİN
SENTEZİ, UV ABSORPSİYON ÖZELLİKLERİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ**

Kimyager Zeynep HAŞİMOĞLU

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
“YÜKSEK LİSANS (KİMYA)”
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 20.06.2016
Tezin Savunma Tarihi : 13.07.2016**

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Nuran KAHRİMAN

Trabzon 2016

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA ANABİLİM DALINDA
Zeynep HAŞİMOĞLU Tarafından Hazırlanan**

**YENİ 3,5-DİSUBSTİTUE PİRAZOLİN TÜREVLERİ VE BOR KOMPLEKSLERİNİN
SENTEZİ, UV ABSORPSİYON ÖZELLİKLERİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ**

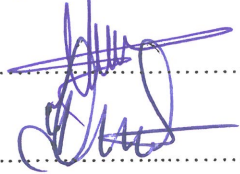
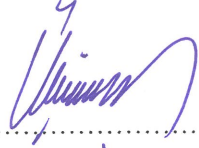
başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 21 / 06 / 2016 gün ve 1658 sayılı
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan : Doç.Dr.Osman ÜÇÜNCÜ

Üye : Doç.Dr.Nuran KAHRİMAN

Üye : Doç.Dr.Yasemin ÜNVER



Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Anabilim Dalı, Organik Kimya Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmış olup, TÜBİTAK'IN 113T041 nolu projesi tarafından desteklenmiştir. Öncelikle bu tez çalışmasını destekleyen TÜBİTAK'a teşekkür ederim. Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgisiyle, hoşgörüsüyle ailemin eksikliğini bana hissettirmeyen her daim yanımda olan ve bundan sonra da yanımda olacağını bildiğim danışman hocam Sayın Doç. Dr. Nuran KAHRİMAN'a ve ailesine sonsuz şükranlarımı sunarım.

Antioksidan aktivitelerin araştırılmasındaki katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Arzu ÖZEL ve Arş. Gör. Burak BARUT'a, floresans ölçümlerindeki katkılarından dolayı Prof. Dr. Ümmühan OCAK'a ve antibakteriyal aktivitelerin araştırılmasındaki katkılarından dolayı da Yrd. Doç. Dr. Fatih Şaban BERİŞ'e, teşekkür ederim.

Yine yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen ve bana bilgileriyle elinden gelen desteği veren hocam Dr. Seda FANDAKLI'ya, candan arkadaşlığıyla Vildan SERDAROĞLU'na çok teşekkür ederim.

Trabzon'da geçirdiğim yedi yıl boyunca bana her konuda desteğini esirgemeyen, iyi günümde kötü günümde her daim yanımda olan dostum Hilal Ebru ÇAKIR ve bana kapılarını sonuna kadar açan onun değerli ailesine sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak her zaman dualarıyla varlıklarını kalbimde hissettiğim, hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen Şenyürek ve Haşimoğlu ailesine ve hayat arkadaşım Fethullah HAŞİMOĞLU'na, sonsuz teşekkür ederim.

Zeynep HAŞİMOĞLU
Trabzon, 2016

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Yeni 3,5-Disubstitue Pirazolin Türevleri ve Bor Komplekslerinin Sentezi, UV Absorpsiyon Özellikleri ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Doç. Dr. Nuran KAHRİMAN’ın sorumluluğunda tamamladığımı, verileri ve örnekleri kendim topladığımı, deneyleri ve analizleri ilgili laboratuarlarda yaptığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 13/07/2016

Zeynep HAŞİMOĞLU

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÖZET	VIII
SUMMARY	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
TABLolar DİZİNİ.....	XII
SEMBOLLER DİZİNİ	XIII
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Kalkonlar ve Azakalkonlar.....	4
1.3. Flavonlar.....	6
1.4. Pirazol ve Pirazolin	7
1.6. BODIPY	10
1.7. Antioksidan ve Antimikrobiyal Bileşikler	12
1.7.1. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri.....	13
1.7.1.1. Demir İndirgeyici Antioksidan Kapasite Ölçümü (FRAP).....	13
1.7.1.2. DPPH• Radikal Süpürme Aktivitesi.....	14
1.7.1.3. Süperoksit Dismutaz Aktivitesi.....	15
1.7.1.4. Fosfomolibdenyum İndirgeyici Antioksidan Kapasite Ölçümü (PRAP).....	15
1.7.1.5. Metal Şelat Yapma Kapasitesi	15
1.8. Enzim.....	15
1.8.2. Süperoksit Dismutaz Enzimi	16
1.8.3. Asetilkolin Esteraz Enzimi Aktivitesi, İnhibisyonu ve Klinik Önemi	16
1.8.4. Tirosinaz Enzimi Aktivitesi, İnhibisyonu ve Klinik Önemi.....	17
1.9. Yapı Aydınlatılmasında Kullanılan Spektroskopik Yöntemler.....	18
1.9.1. UV (Ultraviyole) Spektroskopisi.....	18
1.9.2. IR (İnfrared) Spektroskopisi.....	19
1.9.3. Kütle Spektrometresi	19
1.9.4. NMR (Nükleer Manyetik Rezonans) Spektroskopisi.....	19
1.9.5. Kromatografi	20

1.9.6.	Kolon Kromatografisi.....	20
1.9.7.	İnce Tabaka Kromatografisi.....	20
1.10.	Floresans, Fosforesans ve Stokes Kayması.....	21
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR	23
2.1.	Çözücüler ve Kimyasallar	23
2.2.	Enstrümantasyon	23
2.3.	Bileşiklerin Sentezi.....	24
2.3.1.	4-6 Nolu Bileşiklerin Sentezi	24
2.3.2.	7-9 ve 11 Nolu Bileşiklerin Sentezi	26
2.4.	Antibakteriyal Aktivitelerin Belirlenmesi	28
2.5.	Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi	28
2.5.1.	DPPH Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi.....	28
2.5.2.	Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi	29
2.5.3.	Fosfomolibdenyum İndirgeyici Antioksidan Kapasite Ölçümü (PRAP).....	30
2.5.4.	Metal Şelat Yapma Kapasitesi	30
2.5.5.	Demir İndirgeyici Antioksidan Kapasite Ölçümü (FRAP).....	30
2.6.	Enzim İnhibisyonları	31
2.6.1.	Asetilkolinesteraz Enzimi İnhibisyonu	31
2.6.2.	Tirosinaz İnhibisyonu.....	31
2.7.	UV-Vis Absorpsiyon Ölçümleri ve Spektrum Üzerine Çözücü Etkisinin İncelenmesi.....	32
2.8.	Floresans Ölçümleri	32
2.8.1.	Spektrofotometrik Ölçümler.....	32
2.8.2.	Spektroflorimetrik Ölçümler	33
3.	BULGULAR	34
3.1.	Sentezlenen Bileşikler	34
3.2.	Antibakteriyal Aktivite Sonuçları	37
3.3.	Antioksidan Aktivite Sonuçları	38
3.3.1.	DPPH Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi.....	38
3.3.2.	Süperoksit Radikali Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi.....	40
3.3.3.	Fosfomolibdenyum İndirgeyici Antioksidan Kapasitenin (PRAP) Belirlenmesi.....	41
3.3.4.	Metal Şelat Yapma Kapasitesinin Belirlenmesi	42
3.3.5.	Demir İndirgeyici Antioksidan Kapasite Ölçümü (FRAP) Belirlenmesi.....	44
3.4.	Enzim İnhibisyonları	45

3.4.1.	Asetilkolinesteraz Enzimi İnhibisyonu	45
3.4.2.	Tirosinaz İnhibisyonu.....	47
3.5.	Floresans Ölçüm Sonuçları	48
3.6.	UV-Vis Absorpsiyon Spektrumu Üzerine Çözücü Etkisinin İncelenmesi.....	56
3.7.	5 Nolu Bileşiğin X-RAY Analizi	64
4.	TARTIŞMA.....	66
5.	SONUÇLAR	74
6.	ÖNERİLER	77
7.	KAYNAKLAR.....	78
8.	EKLER.....	88

ÖZGEÇMİŞ



Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

YENİ 3,5-DİSUBSTİTUE PİRAZOLİN TÜREVLERİ VE BOR KOMPLEKSLERİNİN
SENTEZİ, UV ABSORPSİYON ÖZELLİKLERİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ

Zeynep HAŞİMOĞLU

Karadeniz Teknik Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Nuran KAHRİMAN

2016, 87 Sayfa, 17 Sayfa Ek

Elektronca zengin azot atomu içeren pirazolin türevi bileşikler pek çok biyolojik ve farmakolojik özelliğe sahiptirler. Kalkonlar ise bu bileşiklerin sentezi için uygun ara ürünlerdir. Bunların yanında, organik bor-flor bileşikleri (BODIPY; BOPIM gibi) göstermiş oldukları boya, floresan kemosensör, fotodinamik terapi ajanı, iyon sensörü, güneş pili sensörü, kuvvetli UV absorplayıcı, enerji transfer paketi gibi özellikleriyle birçok bilim adamının araştırma konusu olmuştur. Bu çalışmanın ilk bölümünde azakalkon (**1-3**) ve diazaflavonlardan (**10**) yola çıkılarak yeni 3,5-disubstitue pirazolin türevleri (**4-6**) ve ardından BODIPY bileşiklerine benzer yeni organik bor 3-(2'-aminofenil),5-(2'-/3'-/4'-piridil)pirazolin (**BOAPPY**) (**7-9**) ve bordifloro 1,2'-diazafavon (**BODAF**) (**11**) komplekslerinin sentezi gerçekleştirildi. İkinci bölümde ise bu bileşiklerin UV absorpsiyonları ve floresans özellikleri ölçüldü, antioksidan, enzim inhibisyon ve antibakteriyal aktivite özellikleri araştırıldı. Sentezlenen **4-6** nolu pirazolin türevleri ve **7-9**, **11** nolu bor kompleksleri yeni bileşikler olup, bu bileşiklerin antibakteriyal ve orta derecede enzim inhibisyon aktivitelerinin olduğu, antioksidan aktivitelerde ise bazı bileşiklerin standarttan daha aktif olduğu belirlendi. Ayrıca sentezlenen bileşiklerin farklı çözücülerdeki absorpsiyon ölçümlerinde dalga boyunda kaymaların olduğu gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Pirazolin, Azakalkon, Diazaflavon, BODIPY, BODAF, BOAPPY, Antioksidan, Enzim inhibisyonu ve Antimikrobiyal aktivite.

Master Thesis

SUMMARY

SYNTHESIS OF NEW 3,5-DISUBSTITUTED PYRAZOLINE DERIVATIVES AND BORON COMPLEXES, INVESTIGATION OF THEIR UV ABSORPTION PROPERTIES AND BIOLOGICAL ACTIVITIES

Zeynep HAŞİMOĞLU

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Chemistry Graduate Program
Supervisor: Assos. Prof. Nuran KAHRİMAN
2016, 87 Pages, 17 Pages Appendix

Pyrazoline, electron-rich nitrogen containing, derivative compounds have many biological and pharmacological activities. The chalcones are the appropriate intermediates for the synthesis of these compounds. In addition to these, organic boron-fluorine compounds (as BODIPY, BOPIM) have become investigation subject of many scientists with the shown properties as dye, fluorescent chemosensors, photodynamic therapy agent, ion sensor, sensitizers for solar cells and energy transfer cassettes. In the first part of this study, synthesis of 1,3-disubstituted pyrazoline derivatives (4-6) and organic boron 3-(2'-aminophenyl),5-(2'-/3'-/4'-pyridyl)pyrazoline (BOAPPY) (7-9) and boron 1,2'-diazaflavone complexes (BODAF) (11) similar to BODIPY compounds starting from azachalcones (1-3) and diazaflavone (10) were performed. In the second part, UV absorption and fluorescence properties of these synthesized compounds were measured and antioxidant, enzyme inhibition and antibacterial activities were investigated. The synthesized pyrazoline derivatives (4-6) and boron complexes (7-9, 11) are novel compounds and it was determined that they had antibacterial and moderate enzyme inhibition activities, and some of them had more antioxidant activity than used standart. Also wavelength shifts were observed in the absorption measurement of the synthesized compounds in different solutions.

Key Words: Pyrazoline, Azachalcone, Diazaflavone, BODIPY, BODAF, BOAPPY, Enzyme inhibitor, Antioxidant and Antimicrobial Activities.

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Pirazol ve türevlerini içeren bazı ilaç moleküllerinin (aneljezik, antimikrobiyal, antitümör) yapısı	2
Şekil 2. Kalkonlardan sentezlenen bazı bileşik sınıfları	3
Şekil 3. BODIPY çekirdeği	3
Şekil 4. BOPIM bileşiği.....	4
Şekil 5. Kalkonların genel formülü ve geleneksel numaralandırılması.....	4
Şekil 6. Azakalkonların genel yapısı	5
Şekil 7. Flavonların genel yapısı	6
Şekil 8. Bazı flavon bileşikleri (a) Primuletin (b) Kuarsetin	7
Şekil 9. Pirazolin molekülünün tautomerik yapıları	7
Şekil 10. Bazı genel ilaç (antikanser, antidepresan) moleküllerinin yapısı.....	8
Şekil 11. Alzheimer hastalığı tedavisinde kullanılan pirazolin yapısı içeren bazı ilaçların molekül yapıları.....	9
Şekil 12. O'shea, Nagano ve Akkaya ekibi tarafından sentezlenen BODIPY bazlı kromofor boyalar	11
Şekil 13. Dipirometan (1) ve bordiflorür (2) yapısı.....	11
Şekil 14. Demir (III)'ün indirgenme reaksiyonu	14
Şekil 15. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikalinin formülü.....	15
Şekil 16. MAO inhibitörü olan ve yapısında pirazolin halkası ihtiva eden molekül yapısı.....	17
Şekil 17. Pirazolin yapısı içeren tirozinaz enzimi inhibitörleri.....	18
Şekil 18. Bazı floresan özellikli boyar maddelerin molekül yapıları	22
Şekil 19. Sentezlenen bileşiklere ait formüller ve adlandırmaları.....	34
Şekil 20. Bileşiklerin ve standartların DPPH radikal süpürme aktivitesi (%).....	40
Şekil 21. Bileşiklerin ve standartların süperoksit radikal süpürme aktivitesi (%).....	41
Şekil 22. Bileşiklerin ve standartın değişik konsantrasyonlardaki PRAP değerleri.....	42
Şekil 23. Bileşiklerin ve standartın değişik konsantrasyonlardaki metal şelat bağlama değerleri	44
Şekil 24. BHA standart grafiği	45
Şekil 25. Bileşiklerin ve standartın asetilkolinesteraz inhibisyon değerleri	47
Şekil 26. Bileşiklerin ve standartın tirozinaz inhibisyonun değerleri	48
Şekil 27. 4 ve 7 Nolu bileşiklerin UV-Vis absorpsiyon spektrumları. Konsantrasyon: $1,29 \times 10^{-5}$ M. Çözücü: metanol/su (1/1).....	49

Şekil 28.	4 ve 7 Nolu bileşiklerin floresans spektrumları. Konsantrasyon: $1,29 \times 10^{-5} \text{M}$. Çözücü: metanol/su (1/1).....	50
Şekil 29.	5 ve 8 Nolu bileşiklerin UV-Vis absorpsiyon spektrumları. Konsantrasyon: $1,29 \times 10^{-5} \text{M}$. Çözücü: metanol/su (1/1).....	51
Şekil 30.	5 ve 8 Nolu bileşiklerin floresans spektrumları. Konsantrasyon: $1,29 \times 10^{-5} \text{M}$. Çözücü: metanol/su (1/1).....	52
Şekil 31.	6 ve 9 Nolu bileşiklerin UV-Vis absorpsiyon spektrumları. Konsantrasyon: $1,29 \times 10^{-5} \text{M}$. Çözücü: metanol/su (1/1).....	53
Şekil 32.	6 ve 9 Nolu bileşiklerin floresans spektrumları. Konsantrasyon: $1,29 \times 10^{-5} \text{M}$. Çözücü: metanol/su (1/1).....	54
Şekil 33.	11 Nolu bileşiğin UV-Vis absorpsiyon spektrumu	55
Şekil 34.	11 Nolu bileşiğin floresans spektrumu. Uyarıcı dalga boyu 300 nm.	56
Şekil 35.	4 Nolu bileşiğin UV-Vis absorpsiyon spektrumu üzerine çözücü etkisi ($6,30 \times 10^{-5} \text{M}$).....	57
Şekil 36.	5 Nolu bileşiğin UV-Vis absorpsiyon spektrumu üzerine çözücü etkisi ($6,30 \times 10^{-5} \text{M}$).....	58
Şekil 37.	6 Nolu bileşiğin UV-Vis absorpsiyon spektrumu üzerine çözücü etkisi ($6,30 \times 10^{-5} \text{M}$).....	59
Şekil 38.	7 Nolu bileşiğin UV-Vis absorpsiyon spektrumu üzerine çözücü etkisi ($5,25 \times 10^{-5} \text{M}$).....	60
Şekil 39.	8 Nolu bileşiğin UV-Vis absorpsiyon spektrumu üzerine çözücü etkisi ($5,25 \times 10^{-5} \text{M}$).....	61
Şekil 40.	9 Nolu bileşiğin UV-Vis absorpsiyon spektrumu üzerine çözücü etkisi ($5,25 \times 10^{-5} \text{M}$).....	62
Şekil 41.	11 Nolu bileşiğin UV-Vis absorpsiyon spektrumu üzerine çözücü etkisi ($5,25 \times 10^{-5} \text{M}$).....	63
Şekil 42.	Kloroformda 10 ve 11 nolu bileşiklerin UV-Vis. Absorpsiyon spektrumlarının karşılaştırılması (Konsantrasyon: $5 \times 10^{-5} \text{M}$).....	64
Şekil 43.	5 Nolu bileşiğin tek kristal X-Ray ORTEP diyagramları (Siyah: karbon, C; mavi: azot, N; beyaz: hidrojen, H).....	65
Şekil 44.	1-3 Nolu bileşiklere ait sentez şeması	66
Şekil 45.	1-3 Nolu bileşiklere ait oluşum mekanizmaları.....	67
Şekil 46.	4-6 Nolu bileşiklerin sentez şeması	67
Şekil 47.	4-6 Nolu bileşiklere ait oluşum mekanizmaları.....	68
Şekil 48.	7-9, 11 Nolu bileşiklerin sentez şeması.....	71

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Çalışmalarda kullanılan mikroorganizmalar ve ATCC numaraları.....	37
Tablo 2. Antibakteriyal aktivite sonuçları	38
Tablo 3. Bileşiklerin ve standartların DPPH radikal süpürme aktivitesi (%).....	39
Tablo 4. Bileşiklerin ve standartların süperoksit radikal süpürme aktivitesi (%).....	41
Tablo 5. Bileşiklerin ve standartın PRAP aktivitesinin belirlenmesi	42
Tablo 6. Bileşiklerin ve standartın metal şelat aktivitesinin belirlenmesi	43
Tablo 7. Bileşiklerin demir indirgeyici antioksidan kapasitelerinin (FRAP) mg BHA/gram numune cinsinden belirlenmesi	45
Tablo 8. Bileşiklerin ve standartın asetilkolinesteraz inhibisyon değerleri	46
Tablo 9. Bileşiklerin ve standartın asetilkolinesteraz inhibisyon değerleri	48

SEMBOLLER DİZİNİ

APT	: Bağlı proton testi (A ttached P roton T est)
BOAPPY	: Bor 3-(2'-aminofenil),5-(2'-/3'-/4'-piridil)pirazolin
BODAF	: Bordifloro 1,2'-diazafavon florür
¹³ C-NMR	: Karbon-13 nükleer manyetik rezonans spektroskopisi
COSY	: Korrelasyon spektroskopisi
CDCl ₃	: Dötero kloroform
CD ₃ OD	: Dötero metanol
1D	: Bir boyutlu
2D	: İki boyutlu
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DMF	: Dimetilformamid
Dk	: Dakika
ES	: Elektron sprey
FT-IR	: Fourier dönüşümlü infrared spektrokopisi
Fe	: Demir
FRAP	: Demir (III) indirgeme antioksidan kapasitesi
¹ H-NMR	: Proton nükleer manyetik rezonans spektroskopisi
KK	: Kolon kromatografisi
IC ₅₀	: %50 İnhibisyon konsantrasyonu
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
LC-MS/MS	: Sıvı kromatografisi-Kütle spektrometrisi
Lb	: Larua Bertani besiyeri
NMR	: Nükleer magnetik rezonans
PİTK	: Preparatif ince tabaka kromatografisi
TMS	: Tetrametilsilan
TPTZ	: Tripridiltriazin
TEAC	: Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite
Troloks	: 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit
UV	: Ultraviyole (morötesi) spektroskopisi
UV-Vis	: Ultraviyole-görünür bölge spektroskopisi

°C	: Santigrat derece
G-	: Gram negatif
G+	: Gram pozitif
g	: Gram
Hz	: Hertz
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
nm	: Nanometre
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
NaCl	: Sodyum klorür
M	: Molar
MHz	: Megahertz
MİK	: Minimal inhibisyon konsantrasyonu
mm	: Milimetre
mL	: Mililitre
pH	: Hidrojen iyonu aktivitesi
Rf	: Alıkonma faktörü
α	: Alfa
β	: Beta
ϵ	: Molar absorbtivite katsayısı
J	: Etkileşme sabiti
λ	: Dalga boyu (nm)
Ψ	: Psi
δ	: Kimyasal kayma değeri
%	: Yüzde

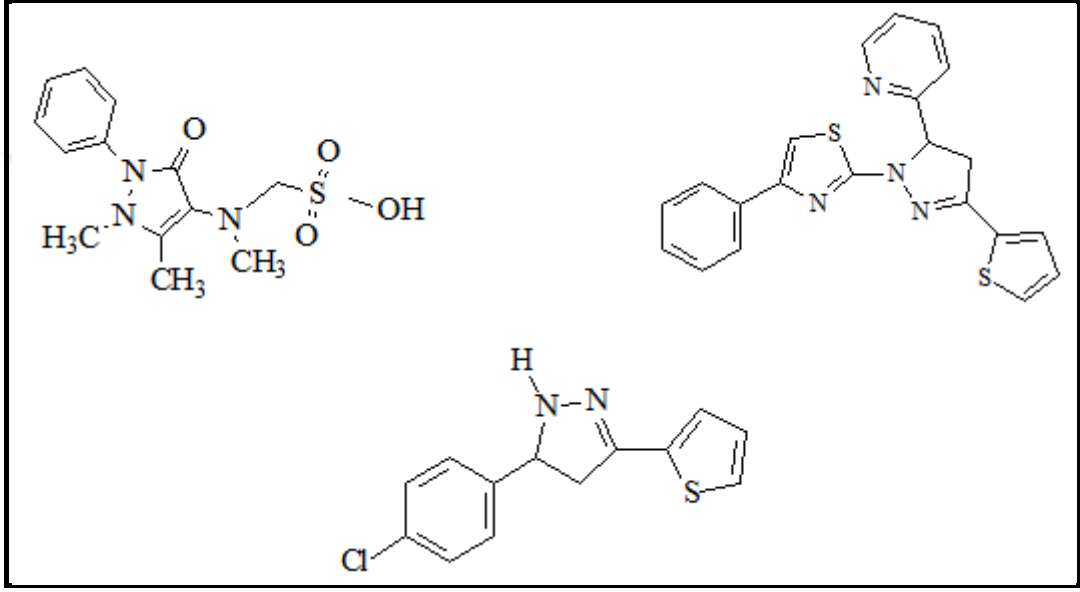
1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

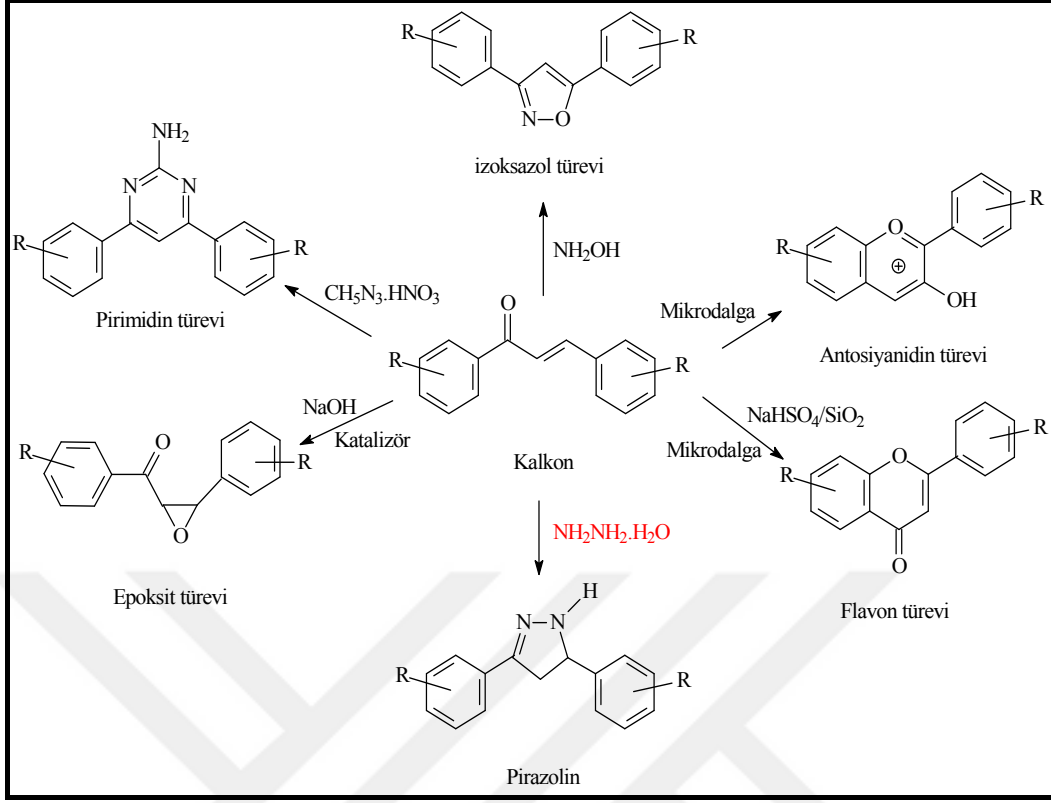
Bitkiler sayısız bileşik sentezleyebilme kapasitesine sahip olan canlı türlerinden biridir. Sentezledikleri pek çok bileşik sayesinde doğanın en önemli yapı taşları arasında yer almaktadırlar (Yılmaz İskender, 2012). Evrenin bitkilere verdiği savunma mekanizmaları göz önüne alındığında, flavonoidler bu savunma mekanizmasının önemli bir kısmını oluştururlar. Bu bileşikler, dengeli ve sağlıklı beslenme ile nüfusun daha uzun yaşam beklentisini gerçekleştirebilecek olan türlerdir ve sadece bitkiler için değil hayvanlar içinde büyük bir biyolojik öneme sahiplerdir (Nay vd., 2002). İlaç sanayisinde kullanılan etken maddelerinin temeli de bitkisel kaynaklıdır ve bitkilerden izole edilen etken maddeler çeşitli hastalıklarda tedavi amaçlı kullanılır. Fakat bu etken maddeler bitkiler tarafından az miktarda sentezlendiklerinden ve bunların temini için doğaya verilen zarardan dolayı bu ve benzer etkiyi gösterebilecek çeşitli maddelerin sentetik olarak üretilmesi yoluna gidilmektedir (Erdemoğlu ve Şener, 1999). Kalkonlar, UV koruyucular ve böcek kovucular gibi çeşitli fizyolojik fonksiyonları gerçekleştirmek üzere bitkilerde sentezlenen flavonoid ailesinin bir üyesidir. Flavonoid ailesinin önemli üyelerinden olan bu bileşikler ve bunların alternatif türevleri olan azakalkon ve diazaflavon bileşikleri ise sahip oldukları geniş biyolojik, farmakolojik (antibakteriyal, antitüberklostatik, antioksidan, enzim vb.) ve boya özelliklerinden dolayı son yılların ilgi odağı haline gelmişlerdir. Tarım ilaçları, güneş kremleri, gıda katkı maddeleri gibi sayısız alanlarda kullanımları mevcuttur (Climent vd., 2004). Kalkonlar, 1,3-diaril-2-propen-1-on iskeletini içerdikleri için birçok bileşik sınıfının sentezinde çıkış maddesi olarak kullanılan özellikle de 5, 6 ve 7 üyeli heterosiklik bileşiklerin sentezinde de uygun ara ürünlerdir (Patel vd., 2011; Pinto vd., 2003).

Elektronca zengin azot atomu içeren heterosiklikler çeşitli biyolojik aktivitelere sahiplerdir. Beş üyeli heterosiklik bir sistem olan pirazolin türevi bileşiklerde kalkonlardan başlanılarak sentezlenebilen, biyolojik olarak büyük öneme sahip bir bileşik sınıfıdır (Colotta vd., 1996; Patel vd., 2011). Bu bileşikler bir çok ilacın temel yapısını oluşturmaktadırlar (Patel, 2011). Göstermiş oldukları antikanser (Bardalai, 2012;), antibakteriyal (Panchal, 2012;), antifungal, antiinflamatuvar, antidepresant (Patel, 2011),

zirai ilaç (Pinto, 2003), antidiabetik, analjezik, antiviral (Mallikarjuna, 2012), antitüberküler (Ho, 2008) vb. özellikleri farmakoloji, tıp ve ziraatte bu bileşikleri öne çıkarmıştır. Fenazon/ amidopiren/ metampiron (analjezik ve antipiretik), azolid/ tandearil (anti-inflamatuvar), indoksakarb (insektisit) ve anturan (ürikosurik) molekülleri, sayısız biyoaktif pirazolin sınıfı bileşiklerden sadece bir kaçıdır (Bardalai, 2012). Pirazol ve türevlerini içeren bazı ilaç moleküllerinin yapısı Şekil 1’de gösterilmiştir.

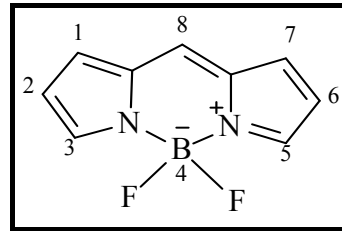


Şekil 1. Pirazol ve türevlerini içeren bazı ilaç moleküllerinin (analjezik, antimikrobiyal, antitümör) yapısı



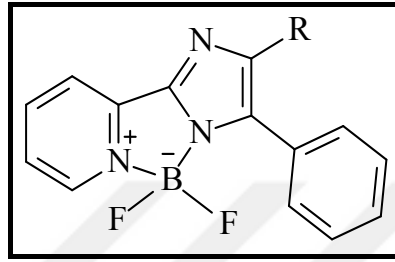
Şekil 2. Kalkonlardan sentezlenen bazı bileşik sınıfları

Bunların yanında, boradiazaindasen (BODIPY) çekirdeği içeren bileşikler ve bor 2-(2'-piridil)imidazol komplekslerinin (BOPIM) sentezi bilim ve teknolojide sahip oldukları geniş uygulama alanlarından ötürü son otuz yılda oldukça yaygınlaşmıştır. Özellikle organik bor-flor bileşikleri göstermiş oldukları boya, floresan kemosensör, fotodinamik terapi ajanı, iyon sensörü, güneş pili sensörü, kuvvetli UV absorplayıcı, enerji transfer paketi gibi özellikleriyle birçok bilim adamının araştırma konusu olmuştur (Atalar, 2009; Baki, 2001; Barin, 2009; Büyükçakır, 2009; Coşkun, 2007; Ekmekçi, 2008; Karolin, 1994; Popere, 2011; Saxena, 1993; Wu, 2008).



Şekil 3. BODIPY çekirdeği

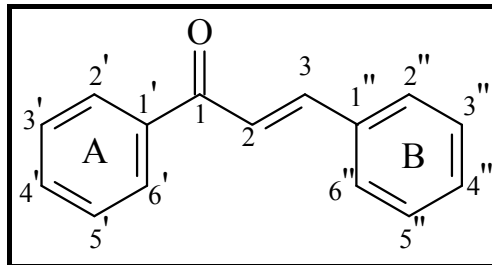
Ancak tipik boradiazaindasen çekirdeği içeren bileşiklerin küçük Stokes kayması ve kendini söndürme eğiliminde olmalarından dolayı dezavantajlı oldukları literatürde mevcuttur (Coşkun, 2005; Gabe, 2004; Mao, 2012). Mao ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada boradiazaindasen çekirdeği içermeyen ancak, bordifloro kompleksleri olan bileşikler sentezlenmiş olup bunların yüksek Stokes kaymasına sahip olduğu belirtilmiştir.



Şekil 4. BOPIM bileşiği

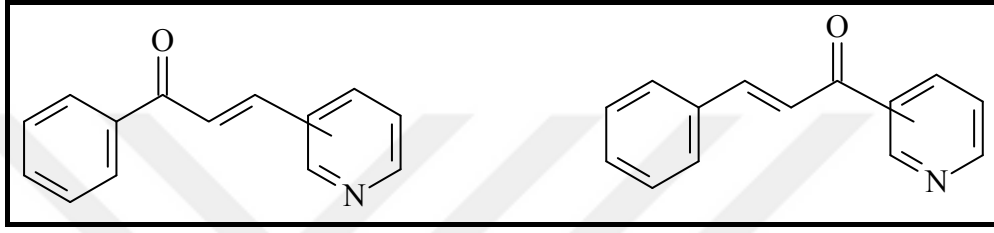
1.2. Kalkonlar ve Azakalkonlar

Kalkonlar, bitkilerden izole edilebilen flavonoid türü bileşiklerin en geniş ve en temel üyeleri olup, geniş bir alanda biyolojik aktivite gösterdikleri bilinmektedir (Yılmaz İskender, 2012). Bu tür bileşikler merkez heterosiklik halkası bulunmayan (aril-C₃-aril) iskelet yapısına sahiplerdir. Numaralandırma soldaki A halkasından başlanarak yapılır. C₃ köprüsündeki karbonil grubu 1 numara, merkez karbon atomu C- α , A halkasına komşu olan karbon C- β' ve B halkasına komşu olan ise C- β olarak ifade edilir. Kalkonların genel formülü ve geleneksel numaralandırılması Şekil 5'de gösterilmiştir (Üçüncü, 2008).



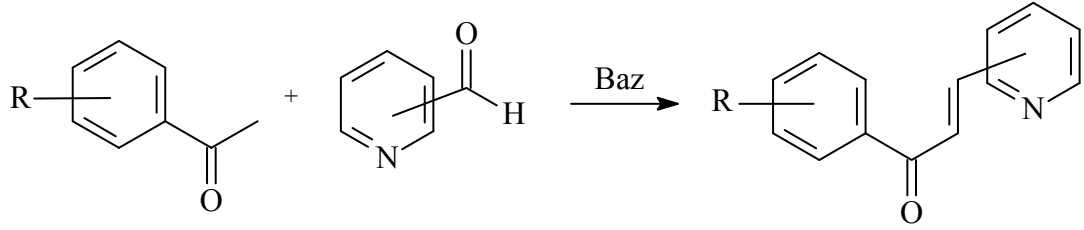
Şekil 5. Kalkonların genel formülü ve geleneksel numaralandırılması

Azakalkonlar ise kalkon bileşiklerine alternatif bileşiklerdir. Azakalkon bileşiklerinde fenil halkalarından birinin yerinde piridinil halkası bulunur ve bu bileşikler, azot atomunun bağlı bulunduğu pozisyona göre (E/Z)-2-, 3- veya 4- azakalkon olarak adlandırılırlar (Nowakowska vd., 2001., Yaylı vd., 2007., Yaylı vd., 2009). Bu tür bileşiklerin en belirleyici grupları aromatik halka, olefenik bağ, karbonil grubu ve bazik azot atomudur (Yılmaz İskender, 2012). Azakalkonların genel yapısı Şekil 6'da gösterilmiştir.

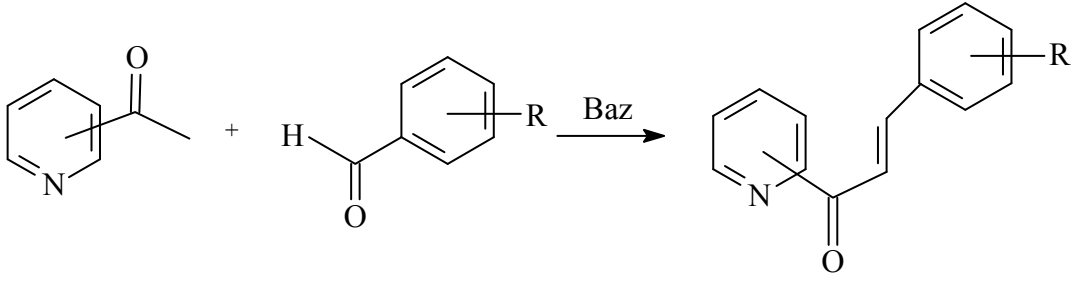


Şekil 6. Azakalkonların genel yapısı

Azakalkonlar; substitue asetofenon ile piridin karboksi aldehydin veya asetil piridin ile substitue benzaldehidin bazik ortamda reaksiyonları sonucu sentezlenebilirler (Denklem 1 ve Denklem 2) (Yaylı vd., 2006., Üçüncü, 2008).



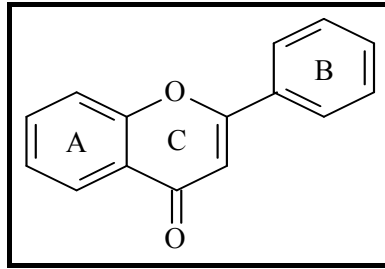
Denklem-1



Denklem-2

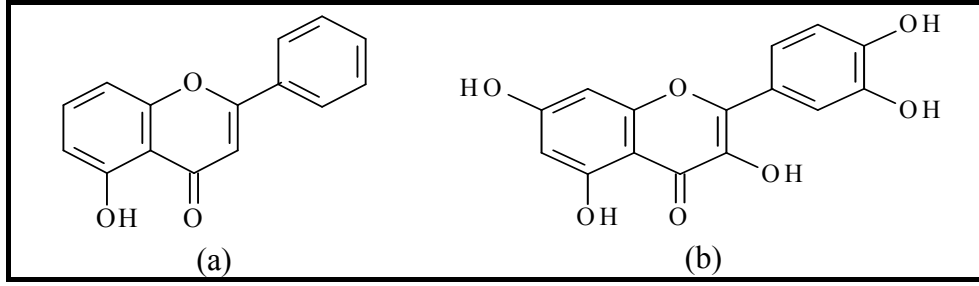
1.3. Flavonlar

Flavonoidler, doğada bulunan fenolik bileşiklerin en geniş sınıfı oluştururlar. Flavonlar ise flavonoid türü bileşiklerdir ve bu bileşiklerin hetero halkasında C-2 ve C-3 atomları arasında çift bağın bulunması flavonları diğer bileşiklerden ayıran karakteristik özelliğidir. Flavonlar, dikkat çeken sarı renklilikleriyle birlikte çok geniş bir biyolojik aktiviteye sahip doğal organik bileşiklerdir (Harbone, 1988., Kahriman, 2011). İki fenil halkası ve propan zincirinin birleşmesi sonucu (aril-C3-aril) konfigürasyonunda düzenlenmiş olan 15 karbon atomlu flavon iskeleti Şekil 7'deki gibidir.



Şekil 7. Flavonların genel yapısı

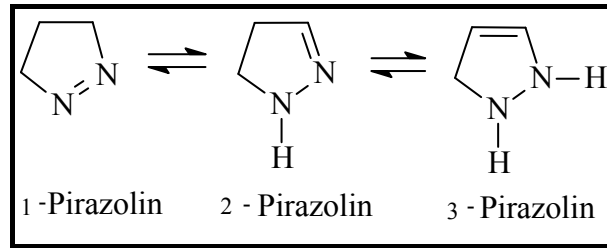
Bazı flavon bileşikleri Şekil 8'de gösterilmiştir.



Şekil 8. Bazı flavon bileşikleri (a) Primuletin (b) Kuarsetin (Kahriman, 2011).

1.4. Pirazol ve Pirazolin

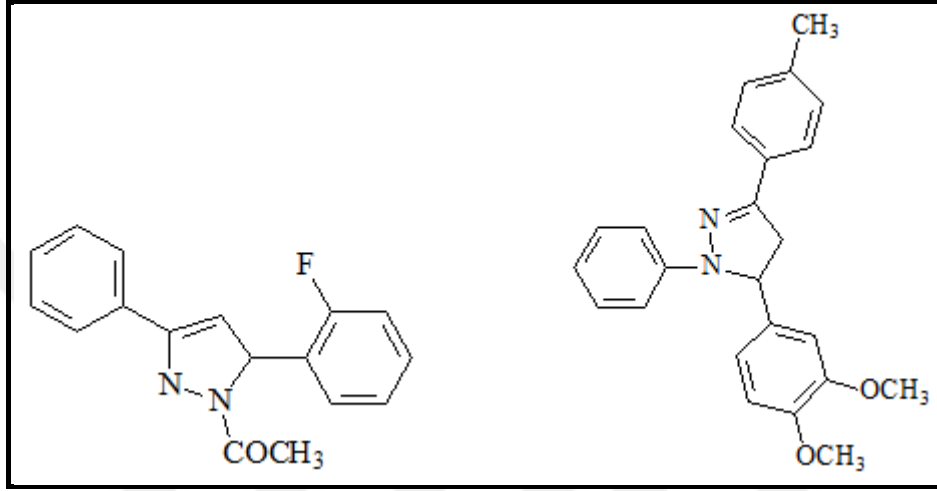
Pirazol, komşu iki azot atomu taşıyan beş üyeli monosiklik aromatik halka yapısındadır (Küçükgül ve Şenkardeş, 2015) ve pirazol halkasının kısmi indirgenmiş türevi olan ve üç tautomerik yapı gösteren dihidropirazol bileşikler ise pirazolin türevleridir (Elkanzi N.A.A., 2013., Salgın Gökşen, 2015). İlk pirazol yapısını Knorr 1883 yılında sentezlemiştir (Küçükgül ve Şenkardeş, 2015). Pirazolin halkasının isimlendirilmesinde Δ^2 -pirazolin veya 4,5-dihidro-(1H)-pirazol şeklinde yapılan adlandırmalar mevcut iken 2-pirazolin olarak adlandırılması daha çok kullanılmaktadır (Salgın Gökşen, 2015). Pirazolin moleküllerinin tautomerik yapıları Şekil 9'daki gibidir.



Şekil 9. Pirazolin molekülünün tautomerik yapıları (Elkanzi N.A.A., 2013).

Pirazol ve onun türevi pirazolin gibi küçük heterosiklik halkalar, sadece teorik olarak değil aynı zamanda antiinflamatuvar, analjezik, antitümör, anti-hipertansif, ateş düşürücü, yatıştırıcılar, antibakteriyel ve anti-diyabetik gibi önemli biyolojik özellikler göstermektedirler (Shridev vd., 2015, Krishnakumar vd., 1998). Pirazolinler ilaç ve biyoaktif molekül tasarımında oldukça çok yer alırlar (Beyhan, 2011). Ayrıca polar çözücüler içinde güçlü floresans özelliğine sahip olduğu bilinen 2-pirazolinler önemli

ölçüde kağıt, plastik ve tekstil lifleri ve optik beyazlatıcılar ve parlatici olarak da kullanılmaktadırlar (Singh vd., 2012). Peshin ve arkadaşları tarafından, 1959 yılında 1-asetil-3,5,5-trimetil-2-pirazolinin bazı maya küf benzeri mantarlara karşı etkinliği araştırılmış (Peshin, 1959) ve günümüzde de bu tür araştırmalar devam etmektedir. Pirazolin yapısı içeren bazı genel ilaç moleküllerinin yapısı Şekil 10'da verilmiştir (Khan vd., 2016).

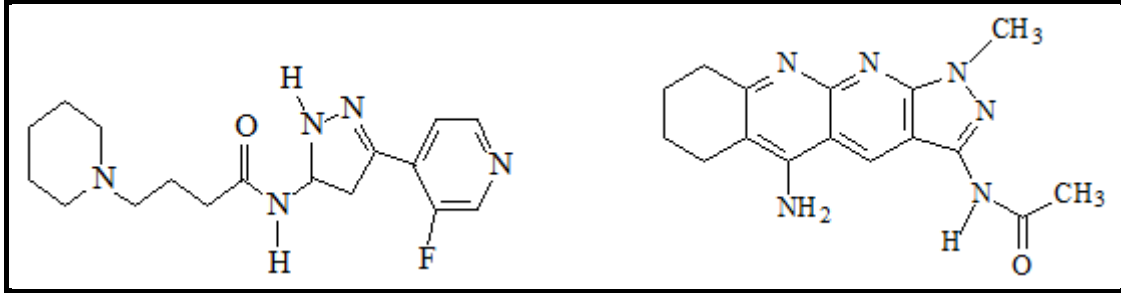


Şekil 10. Bazı genel ilaç (antikanser, antidepresan) moleküllerinin yapısı

Ayrıca pirazol ve pirazolinler hatırlamada zorluk, hafıza kaybı, oryantasyon bozukluğu gibi çeşitli etkilere sahip olan ve Alzheimer olarak bilinen hastalığın ilerlemesini durdurmak için kullanılan anti-Alzheimer ilaçların yapısında da bulunmaktadır (Khan vd., 2016). Alzheimer ile ilgili ilk ilaç, Dr. Ludwig Laqueur tarafından 1876 yılında bulunmuştur. Bu hastalığın başlıca nedeni ise proteinlerin yanlış katlanması, oksidatif stres, mitokondriyal bozukluklar, β -amiloid birikimi olmasıdır (Mishra, 2013., Singh vd., 2013).

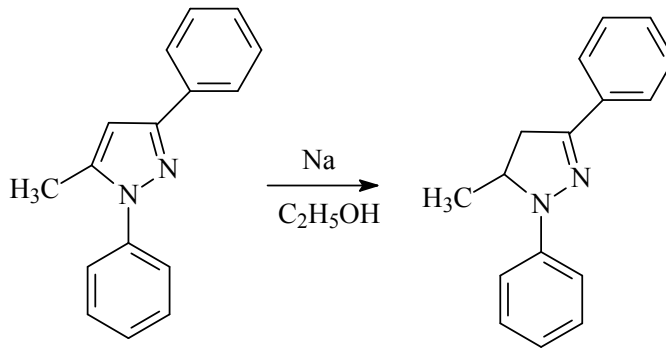
Monoamin oksidaz-B (MAO-B) inhibitörlerinin Alzheimer hastalığı tedavisinde kullanımı oldukça etkili bir yöntemdir. Bunun nedenleri; serbest radikal oluşumunu azaltabilmesi, hücre yıkımına karşı koruyucu bir etki göstermesi ve MAO-B inhibitörleri nörotoksik ürün salgılamasını azaltmasıdır. Bu sebeplerden dolayı, analjezik, antiinflamatuvar ve MAO-B inhibisyonunu sağlayabilecek çift etkiye sahip yapıların sentezi gerçekleştirilmektedir. Yapılan araştırmalar dahilinde 1,3,5-trifenil-2-pirazolin bileşiğinin MAO inhibitör özellikleri araştırılmış ve yüksek etkinliğe sahip olduğu tespit edilmiştir (Kelekçi vd., 2007).

Pirazol ve pirazolin çekirdeklerini içeren yapıların Alzheimer, kanser, AIDS ve kalp damar hastalıkları gibi birçok hastalığın tedavisinde çok etkili olabileceği bilinmekte ve hastalığın ilerlemesini bastırmak için umut oluşturmaktadır (Kelekçi vd., 2007). Alzheimer hastalığı tedavisinde kullanılan ve pirazolin yapısı içeren bazı ilaçların molekül yapıları Şekil 11’de verilmiştir.



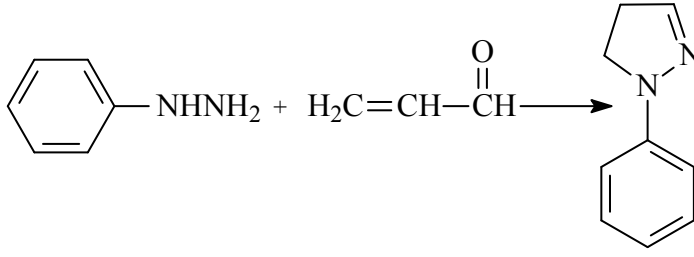
Şekil 11. Alzheimer hastalığı tedavisinde kullanılan pirazolin yapısı içeren bazı ilaçların molekül yapıları (Khan vd., 2016).

İlk pirazolin sentezi 1885 yılında iki araştırmacı tarafından yapılan çalışmayla (Knorr ve Blank, 1885) 1,3-difenil-5-metil pirazolün etanol içerisinde sodyumla indirgenmesi sonucu gerçekleştirilmiştir (Denklem 3) (Salgın Gökşen, 2015).



Denklem 3. 1,3-difenil-5-metilpirazol (Salgın Gökşen, 2015).

Daha sonra ki yıllarda Fischer ve Knoevenagel fenilhidrazin ve akroleinden halka kapatılması yolu ile 1-fenil-2-pirazolin bileşiğini elde etmişlerdir (Fischer ve Knoevenagel, 1887) ve bu çalışmalar ilerleyen zamanlarda diğer pirazolin sentezi için öncü olmuştur (Denklem 4) (Salgın Gökşen, 2015).



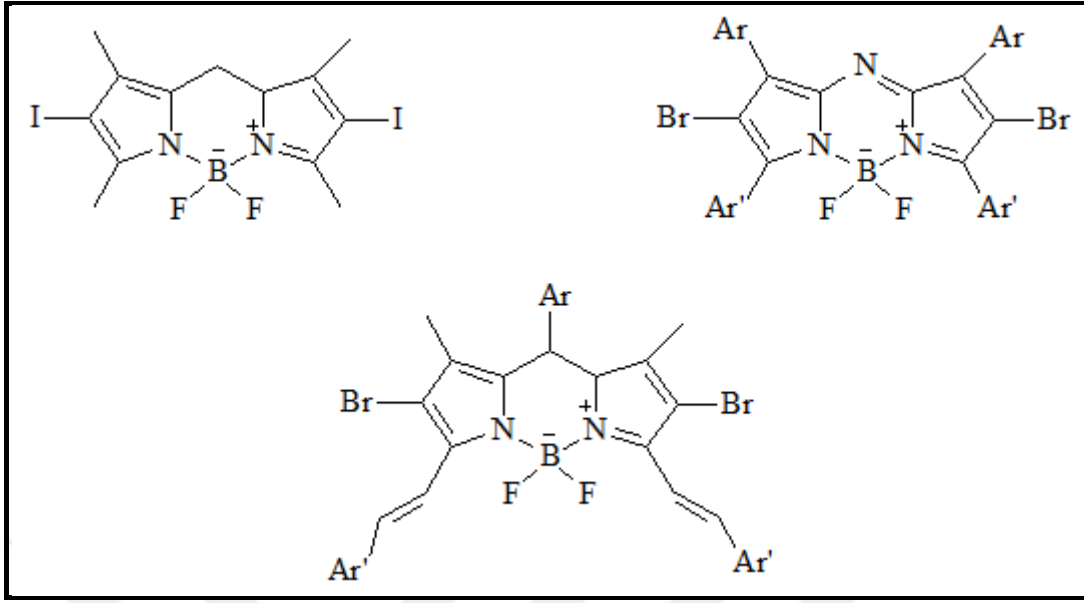
Denklem 4. 1-fenil-2-pirazolin bileşiği (Salgın Gökşen, 2015).

1.6. BODIPY

BODIPY (4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indasen) bileşikleri, güçlü ışık absorpsiyonu ve emisyonu yapan, absorpsiyon ve floresans pikleri keskin, düşük Stokes kayması ve yüksek kuantum verim değerlerine sahip foto kararlı bileşikler olarak günümüzde oldukça çok üzerinde çalışılan bileşiklerdir (Boens vd., 2012).

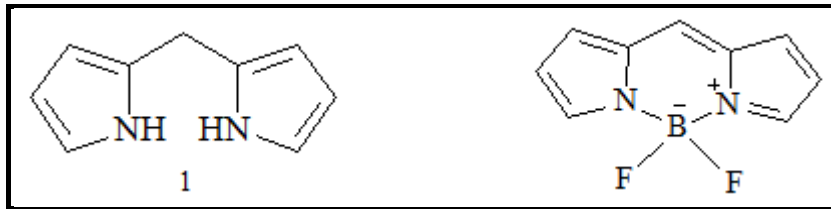
Son zamanlarda bu moleküllerin yapısında gerçekleştirilen küçük değişiklikler ile BODIPY bileşikleri, kimyasal algılayıcılar ve enerji transferi (Göl, 2016) gibi foto fiziksel özellikleriyle de oldukça avantajlıdır (Valeur, 2001).

İlk BODIPY boyası Treibs ve Kreuzer (Treibs ve Kreuzer, 1968) tarafından çalışıldığından beri çok sayıda farklı BODIPY boyası elde edilmiş ve çeşitli uygulama alanlarında kullanılmıştır. BODIPY boyar maddesi oldukça kararlı bir yapıya sahiptir ve dış etkenlerin değişmesiyle (pH ve polarite değişimlerinden) yapısının etkilenmiyor olması, bozunmaması, yüksek absorpsiyon katsayısına, keskin emisyon pikine, iyi fotokararlılığa ve çok yüksek floresans quantum verimine sahip olmalarından dolayı oldukça tercih edilmektedirler (Bağlan, 2014). O'shea, Nagano ve Akkaya ekibi tarafından sentezlenen BODIPY bazlı kromofor boyalar Şekil 12'de verilmiştir.



Şekil 12. O'shea, Nagano ve Akkaya ekibi tarafından sentezlenen BODIPY bazlı kromofor boyalar

Son yıllarda ise keskin floresans değerleri ve yüksek kuantum verimlilikleri nedeniyle dipirometan bordiflorür (BODIPY) boyar malzemeleri yoğun olarak çalışılmaktadır. Bu BODIPY boyalarının sudaki çözünürlükleri az yada yokken, organik çözücülerdeki çözünürlükleri ise oldukça iyidir (Loudet vd. 2007., Şahin, 2015). BODIPY boyar malzemelerin benzaldehit türevleriyle 700 nm dalga boyu civarında soğurma özellikleri gösterdikleri gözlenmiştir (Kim vd. 2007, Zheng vd., 2008). Dipirometan ve bordiflorür yapısı Şekil 13'de gösterilmiştir.



Şekil 13. Dipirometan (1) ve bordiflorür (2) yapısı

BODIPY'ler, kolesterolün takibi ve hücre içindeki yerini göstermek (Holtta-Vuori vd., 2008; Liu vd., 2014), tek hücrelilerdeki D vitaminin ölçümü ve yerini takip etmek (Barsony vd., 1997), estradiol reseptörlerinin dağılımını belirlemek (Okamoto vd., 2012),

insan hücrelerinde progesteron reseptörlerini görüntülemek (Weinstain vd., 2013), sahip oldukları yüksek floresans kuantum verimleri sayesinde vücut içerisinde takip olanağı sağlayabilmeleri nedeniyle de kanser hastalığını teşhis edebilmek (Göl, 2016) için kullanılabileceği literatürde mevcuttur.

O'shea ve ekibi tarafından yapılan çalışmada kırmızı dalga boylarında yüksek ışın absorpsiyonu yapan azadipirometan türevleri sentezlemiş ve bu sentezlenen bileşiklerin tümörlü hücredeki toksisite verimlerine bakıldığında bazı azadipirometan türevlerinin meme tümörlerini ortadan kaldırdığını tespit edilmiştir (Bağlan, 2014).

Ayrıca günümüzde insanoğlunun maruz kaldığı en büyük sağlık sorunlarından biri olan kanserin yeni tedavi yöntemi olarak kullanılan foto dinamik terapi (PDT) son zamanlarda oldukça önemli hale gelmiştir (Ertem vd., 2014). PDT, prensip olarak ışık, oksijen ve ışığa duyarlı madde (fotosensitizer) olmak üzere üç temel bileşenden meydana gelir ve fotosensitizer olarak kullanılan gruplardan birisi de 4,4-difloro-4-borata-3a-azonia-4a-aza-s-indasen (BODIPY) bileşikleridir (Göl, 2016).

Suda çözünebilen ve oldukça kararlı BODIPY boyaarı ise Akkaya ve ekibi tarafından sentezlemiştir (Bağlan, 2014). BODIPY'nin 3,5-pozisyonlarından konjuge gruplar ile birleştirilmesi sonucu ışın absorpsiyonunun dalga boyunun kırmızıya kaydığı belirlenmiştir. Sentezlenen bu BODIPY boyaarı ile hastalığın tedavisinde çözüm sağlayabilecek gerekli olan uzun dalga boylarının kullanılması ve böylelikle canlı dokunun daha derinlerine ulaşılması mümkün olacaktır (Bağlan, 2014).

Bütün bunların sonucunda uygulama alanları aşağıdaki şekilde sıralanabilir (Şahin, 2015);

- Fotodinamik terapi için ajan,
- Enerji transfer kasetleri,
- Boyar madde ile duyarlaştırılmış güneş pilleri,
- Metal katyonları için kemosensör,
- Polimerler

1.7. Antioksidan ve Antimikrobiyal Bileşikler

Canlı organizmalar için sürekli gerekli olan bir molekül olan oksijen, hem oksijenli solunum kaynağı hem de enerji metabolizması için gerekli bir elementtir ve yaşam

boyunca yararları olduğu kadar birçok olumsuz etkiye de sebep olduğu bilinmektedir (Diplock, 1998). Çünkü oksijenli solunum sırasında oksijenin tam olarak indirgenmesi ile su molekülü oluşurken aynı zamanda eksik indirgenme ürünleri olan serbest oksijen radikalleri; süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri de beraberinde meydana gelmektedir (Can, 2014).

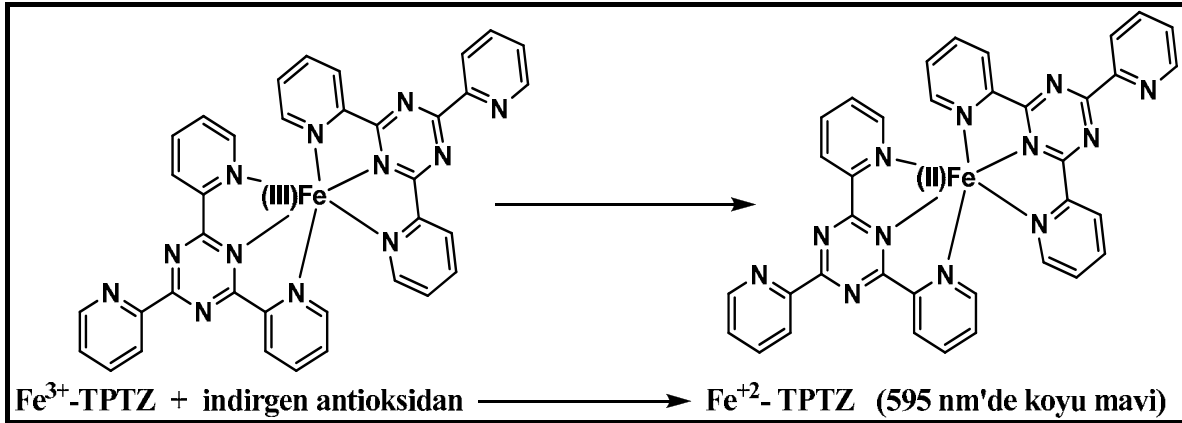
Antioksidan, bu ve bunun gibi hücrelere zarar veren radikallerin etkisiyle meydana gelen oksidasyonu yavaşlatan veya durduran ya da oluşmasına engel olan, kanser kalp hastalıkları gibi birçok hastalığa neden olan ve erken yaşlanmaya neden olabilecek zincir reaksiyonlarını önleyen her türlü moleküle denilmektedir (Young ve Woodside, 2001., İskefiyeli, 2014).

Antimikrobiyal madde, bakteri ve mantar türlerini öldüren veya çoğalmalarını engelleyen bileşiklerdir ve antimikrobiyal bir maddede olması gereken en önemli özelliklerden bir tanesinde seçici toksisitedir (Can, 2014., İskefiyeli, 2014). Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapi de uygulanacak işlemdeki antimikrobiyal madde düşük konsantrasyonlar da bile etkisini gösterip canlıya zarar vermemesi içinde çok az toksik olması gerekmektedir. Antimikrobiyal maddenin bu etkiyi ortaya çıkarabilmesi için hedef olarak memeli hücrelerinden çok mikroorganizmalar seçilmelidir. Bunun nedeni bakterilerin prokaryot, memeli hücrelerin ise ökaryot olmasıdır ve prokaryot hücrede var olan, ancak ökaryot hücrede bulunmayan bir molekülü hedefleyen antimikrobiyal maddeler istenilen yüksek derecede seçici toksik etkiye sahiptir. (İskefiyeli, 2014).

1.7.1. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

1.7.1.1. Demir İndirgeyici Antioksidan Kapasite Ölçümü (FRAP)

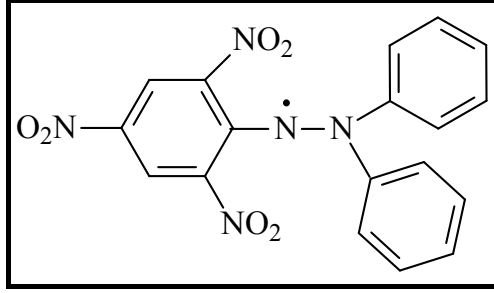
Oyaizu tarafından 1986 yılında geliştirilen yönteme göre indirgeme kuvveti, numunelerin dolaylı olarak toplam indirgeme potansiyelini göstermekte olup $Fe^{+3} \rightarrow Fe^{+2}$ indirgenmesi ile meydana gelen Fe^{+2} , 595 nm'de absorbans veren TPTZ (2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazin) renkli kompleksini oluşturur (Oyaizu 1986). Uygulanışı basit ve hızlı olan FRAP yönteminin analiz sonuçları tekrarlanabilir. Fakat bu yöntemin sorunlarından birisi, -SH gurubu içeren düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar, bazı aminoasitlere, serum proteinlerine, aynı zamanda lipoik asit ve bazı aminoasitlere cevap vermiyor olmasıdır (Avan, 2014).



Şekil 14. Demir (III)'ün indirgenme reaksiyonu (Can, 2014).

1.7.1.2. DPPH• Radikal Süpürme Aktivitesi

Antioksidanların serbest radikalleri temizleme kabiliyetini belirlemek için kararlı bir yapıya sahip olan DPPH• radikali (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ticari olarak satın alınabilen bir serbest radikaldir (İskefiyeli, 2014., Avan, 2014). DPPH• radikalinde bulunan serbest elektronun delokalizasyonu 517 nm'de maksimum absorpsiyona sahip mor renge neden olmaktadır (Cuendet vd. 1997., Avan, 2014). DPPH• radikalinin antioksidanlarla muamelesinden sonra bu radikalden kaynaklanan mor rengin şiddeti azalması absorbansın düşüşüne sebep olacaktır ve bu renkteki azalma antioksidan varlığının bir ölçüsü olarak kullanılır. Antioksidan içeren farklı numune konsantrasyonlarıyla muamele edilen DPPH•'ın absorbansındaki değişim kaydedilerek bu değerlere karşılık gelen konsantrasyonlarla grafik çizilir $y=ax+b$ denkleminde DPPH• konsantrasyonunu yarıya düşüren numune miktarı $\mu\text{g/mL}$ cinsinden kaydedilir ve bu değere IC_{50} değeri denir. Bu metodun en büyük dezavantajı daha kompleks yapılardaki antioksidan içeren moleküllerin sterik engellenmeye maruz kalmaları nedeniyle antioksidan özelliği yokmuş gibi inaktif olarak test edilmeleridir. Bu nedenle kullanılan bu tayin yönteminde antioksidan molekülün yapısı ve boyutu test sonucunu etkilemekte ve değiştirmektedir. DPPH• radikal aktivite temizleme metodu aktivite tayinlerinde kolay uygulanması ve çok az vakit alması nedeniyle yöntemler içinde en çok tercih edilen yöntemdir (İskefiyeli, 2012). DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikalinin formülü Şekil 15'de gösterilmiştir.



Şekil 15. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikalinin formülü

1.7.1.3. Süperoksit Dismutaz Aktivitesi

Süperoksit dismutaz aktivitesi Beauchamp ve Fridovich tarafından geliştirilen nitro mavisi tetrazolyum (NBT) indirgeme metodu kullanılarak belirlenir (Beauchamp ve Fridovich, 1971).



1.7.1.4. Fosfomolibdenyum İndirgeyici Antioksidan Kapasite Ölçümü (PRAP)

Fosfomolibdenyum indirgeyici antioksidan kapasite ölçüm yöntemi %10'luk fosfomolibdik asit ve standart bileşik olarak kuersetin kullanılarak hesaplanır (Beauchamp ve Fridovich, 1971).

1.7.1.5. Metal Şelat Yapma Kapasitesi

Demir iyonu şelatlama etkisi Chue ve arkadaşları tarafından geliştirilen metod kullanılarak belirlenir (Chua vd.,2008).

1.8. Enzim

Enzim protein yapısında olan, doğal olarak sadece canlılar tarafından üretilen, metabolizma olarak tanımlanan bütün hücre fonksiyonlarının gerçekleştirilmesi için gerekli

olan biyolojik katalizörlerdir. Enzimler birbirlerine peptit bağıyla bağlanan aminoasitlerden oluşur ve kendilerine özgü üç boyutlu yapıları mevcuttur. Kendilerine ait özel yapıları ile enzimler diğer katalizörlerle karşılaştırıldıklarında oldukça önemlidir ve endüstriyel potansiyel taşıyan özelliklere sahiptir (İskefiyeli, 2014).

1.8.2. Süperoksit Dismutaz Enzimi

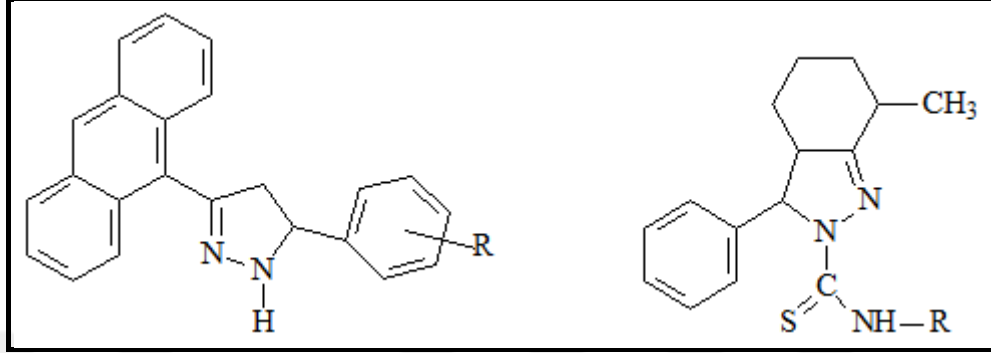
Süperoksit Dismutaz Mc Cord ve Fridovich tarafından 1968'de keşfedilmiştir. Enzim ve enzim olmayan antioksidanlar vardır ve süperoksit dismutaz (SOD), antioksidan enzime bir örnektir ve substrat olarak serbest radikal kullanan tek antioksidan enzim olarak bilinir (Sara, 2013., İskefiyeli, 2014). Antioksidan kategorisinde yer alan süperoksit dismutaz enzimi (SOD), bir süperoksit molekülünü, oksijen (O_2) molekülüne yükseltgeyip, diğer süperoksit molekülünü hidrojen peroksite (H_2O_2)'e indirgeyerek serbest radikallerin dönüşümünü katalize ederek oksidatif stresi azaltır (Diplock, 1998., Ceritli, 2011., Öztürk, 2015., Wang, 2016).

1.8.3. Asetilkolin Esteraz Enzimi Aktivitesi, İnhibisyonu ve Klinik Önemi

Asetilkolin esteraz enzimi sinaptik boşluklardaki asetilkolini, asetat ve koline hidrolize eder ve asetilkolini inaktive ederek kolinerjik sinyal sonlandırılmasında sorumlu olan bir enzimdir (Chigurapat vd., 2016). Eğer sinaptik boşluklardaki asetilkolin çok fazla hidrolize uğrarsa hücrelerde sinir iletimi kesilir ve kişide Alzheimer hastalığı görülür (Melanson vd., 1985., Gökhan, 2013).

Alzheimer hastalığı dünya çapında 20-30 milyon kişide görülürken sadece Amerika da bu sayı 4 milyon kişiye ulaşmıştır. Bu oranlara bakıldığında Alzheimer hastalığı dünya da büyük bir sorun haline gelmiştir ve günden güne artarak ilerlemektedir. Bu hastalığın ilerlemesini önlemek için klinik çalışmalarda ilaçlar arasında yeni birçok bileşik geliştirilmeye başlanmıştır. Bu bileşikler arasında anti-inflamatuar maddeler, antioksidanlar, MAO-B inhibitörleri bulunmaktadır. Ayrıca pirazol yapısında olanları iyi analjezik, anti enflamatuar etkisi göstermiştir ve pirazolin türevlerinin BSAO, SSAO ve MAO inhibitör aktivesinin referans bileşiklere karşı daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Dahası bazı tedavisi olmayan hastalıklar için, Parkinson tedavisinde (Chigurupati vd.,

2016) ve asetilkolin esteraz aktivilerini de inhibe ettiği tespit edilmiştir (Kelekçi vd., 2007). MAO inhibitörü olan ve yapısında pirazolin halkası ihtiva eden molekül yapısı Şekil 16'daki gibidir.



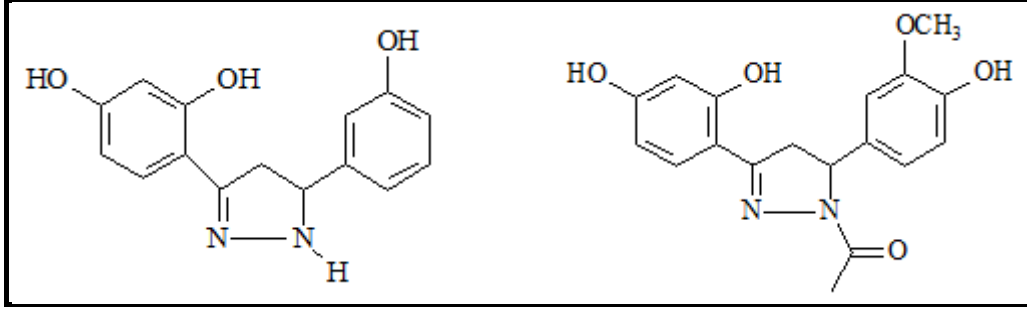
Şekil 16. MAO inhibitörü olan ve yapısında pirazolin halkası ihtiva eden molekül yapısı (Salgın Gökşen, 2015).

Pirazolin türevleri esteraz inhibisyonu ve gösterdiği radikalleri yok etme yeteneği ile potansiyel bir anti-Alzheimer maddeleri olarak değerlendirilmiştir. Son yapılan çalışmalarda pirazolin moleküllerini makul olarak bağlayarak asetilkolin esterazı inhibe ettiği belirlendi ve biyolojik aktivite deneyi gösterdi ki pirazol türevlerinden sentezlenen bileşiklerden bazıları en güçlü asetilkolin esteraz engelleyici olduğu tespit edildi (Chigurupati vd., 2016).

1.8.4. Tirosinaz Enzimi Aktivitesi, İnhibisyonu ve Klinik Önemi

Tirosinaz (E.C. 1.14.18.1) (Gawande vd., 2013) polifenol oksidaz (PPO) (Bandgar vd., 2012) aktif merkezinde bakır bulunan ardışık iki farklı reaksiyonu katalizleyebilen, mantarlarda, yüksek bitkilerde ve hayvanlarda var olan oligomerik yapıya sahip bir enzimdir.

Tirosinaz enziminin bugüne kadar çalışılmış sentetik olarak üretilen veya doğal kaynaklı birçok sayıda inhibitörü vardır. Polifenoller tirosinaz inhibitörleri içinde en fazla bilinenidir. Özellikle flavanoidler (izoflavonoidler, izoflavonlar) yapı olarak tirosinaz inhibitörü ve substratları ile uyumludurlar. Pirazolinler, uzun zincirli lipidler, bilinen tirosinaz inhibitörlerdir (Chang, 2009., Akın, 2012). Pirazolin yapısı içeren tirosinaz enzimi inhibitörleri Şekil 17'de gösterilmiştir.



Şekil 17. Pirazolin yapısı içeren tirozinaz enzimi inhibitörleri (Zhou vd., 2013).

Tirosinaz enziminden 3,4 dihidroksifenilalanin (L-DOPA) sentezlenir ve L-DOPA oksidasyon ürünlerinin varlığı, Parkinson ve Huntington hastalıkları gibi çeşitli nörolojik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Bandgar vd., 2012).

Örnek enzim olarak mantardaki tirozinaz enzimi kullanılmasıyla, anti-kanser, anti-enflamatuar ve tirozinaz inhibe edici aktivite özelliği ile 3,5-diaril-pirazol türevleri, tirozinaz L-DOPA oksidasyonu üzerinden inhibisyon göstererek ve sonuçlar dahilinde tüm 3,5-diaril pirazol türevlerinin tirozinaz inhibisyon açısından incelendiğinde, doza bağlı olarak inhibisyon gösterdiği ortaya çıkmıştır (Bandgar, 2010). Bu sonuçlara bakılarak pirazolin türevleri tirozinaz enziminin yeni inhibitörleri olarak yerini almaya başlamıştır (Zhou vd., 2013).

1.9. Yapı Aydınlatılmasında Kullanılan Spektroskopik Yöntemler

Enerjinin moleküllerle etkileşim sonuçlarının değerlendirilmesiyle molekül hakkında bilinmeyen ve farklı bilgilere ulaşılabilir. Bu nedenle UV (Ultraviyole), IR (İnfrared), Kütle (MS), NMR (Nükleer Magnetik Rezonans) Spektroskopisi gibi yöntemler geliştirilmiştir (Üçüncü, 2008).

1.9.1. UV (Ultraviyole) Spektroskopisi

UV spektroskopisinde bileşik üzerine UV ışını gönderildiğinde, bu ışın soğurulur ve bağ orbitalindeki elektronlardan biri yön değiştirmeden karşı-bağ orbitaline geçer ve bu olaya elektron geçişi denir. UV spektroskopisi bu elektron geçişlerini kullanarak her dalga boyunda bu soğurulan ışığın miktarını ölçer ve bileşiklerin bağlanma düzenleri hakkında

bilgi verir (Üçüncü, 2008., Yılmaz İskender, 2012). UV spektrumları genellikle metanol, etanol veya kloroformda alınabilir. Bu yöntemde absorbansa (A) karşı dalga boyu (λ) grafiği çizilir. (Solomons, 2002; Baltacı, 2003).

1.9.2. IR (İnfrared) Spektroskopisi

İnfrared spektroskopisi (IR), maddenin infrared ışınlarını absorblaması üzerine kurulmuştur ve maddelerin yapısının aydınlatılmasında kullanılan bir spektroskopik yöntemdir. IR ışınları organik bir molekül üzerine gönderildiğinde, bileşikteki atom veya atom gruplarını bir arada tutan kovalent bağlar etrafında titreşmesine sebep olur ve bileşiğe bağlı her fonksiyonel grup infrared ışınlarını kendine özgü olarak absorblar. Bu nedenle infrared spektroskopisi moleküldeki fonksiyonel gruplar hakkında bilgi verir. Bu yöntemde bir infrared spektrumu % geçirgenlik veya absorbansa karşılık dalga sayısı (cm^{-1}) grafiği çizilerek elde edilir (Field, 2002., Üçüncü, 2008).

1.9.3. Kütle Spektrometresi

Kütle spektrometresi kendine özgü bir düzenek kullanılarak pozitif yüklü parçacıklar oluşturulması, bu parçacıkların kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayrılmaları, belirlenmeleri ve bunlardan faydalanılarak molekülün yapısını belirlemek için yapılan metotlar topluluğuna kütle spektroskopisi denir. Bu yöntem ile molekülün ve o molekülü oluşturan fonksiyonel grupların kütleleri belirlenebilir. (Üçüncü, 2008., Yılmaz İskender, 2012., Gündüz, 1999).

1.9.4. NMR (Nükleer Manyetik Rezonans) Spektroskopisi

NMR, temel olarak hidrojen (^1H) ve karbon-13 (^{13}C) gibi çekirdeklerin manyetik özelliklerinden yararlanılarak meydana getirilmiş spektroskopi yöntemlerinden biridir. NMR spektroskopisi, diğer yöntemlerin aksine tek başına molekülün yapısı hakkında detaylı bilgi verir. Yani bu yöntemle bileşiği oluşturan atomların birbirlerine bağlanış şekilleri, bağlı olan fonksiyonel grupları, konfigürasyon ve konformasyon tayini yapılabilir. (Balcı, 2000; Solomons, 2002., Yılmaz İskender, 2012).

1.9.5. Kromatografi

Kromatografinin ilk uygulamasını Rus botanikçi Mikhail Tswett 1903 yılında bitkiler üzerindeki renk pigmentlerinin bantlar üzerinde renklere ayrışmasıyla bulmuştur ve bu yüzden “chromatography” olarak adlandırmıştır. Kromatografi, kimyasal bir karışımın bileşenlerinin biri sabit faz ve diğeri hareketli faz olmak üzere birbiriyle karışmayan iki faz arasında değişik hızlarda hareket etmelerine dayanarak yapılan bir ayırma, saflaştırma ve belirlemede kullanılan analitik bir tekniktir. Kromatografik analizler bileşiklerin fiziksel ve kimyasal özelliklerindeki farklardan faydalanılarak bir karışımı oluşturan bileşiklerin birbirinden ayrılması esasına dayanan bir yöntemdir ve adsorbsiyon, iyon değiştirme, dağılma ve jel kromatografisi olarak etkin maddeye göre sınıflandırılabilir (Üçüncü, 2008., Yaşar, 2009., Kahrıman, 2011., Can, 2014).

1.9.6. Kolon Kromatografisi

Miktarı fazla olan karışımların ayrılmasında kullanılan bir kromatografi yöntemidir. Ayrılma, sabit faz ile çözücü arasında elde edilmek istenen bileşiklerin polaritelerine ve çözünürlüklerine göre hareket esasına dayanır. Hangi yöntem uygulanmak isteniyorsa o yöntemle göre adsorbsiyon, iyon değiştirme, dağılma ve jel kromatografisi olarak isimlendirilebilir. Kolon kromatografisinde dolgu maddesi olarak silikajel, alüminyum oksit, selüloz gibi maddeler kullanılabilir ve yapılan işlemde ayrılması istenen bileşiklerin özelliklerine göre dolgu maddeleri asidik, bazik veya nötral olabilir (Üçüncü, 2008).

1.9.7. İnce Tabaka Kromatografisi

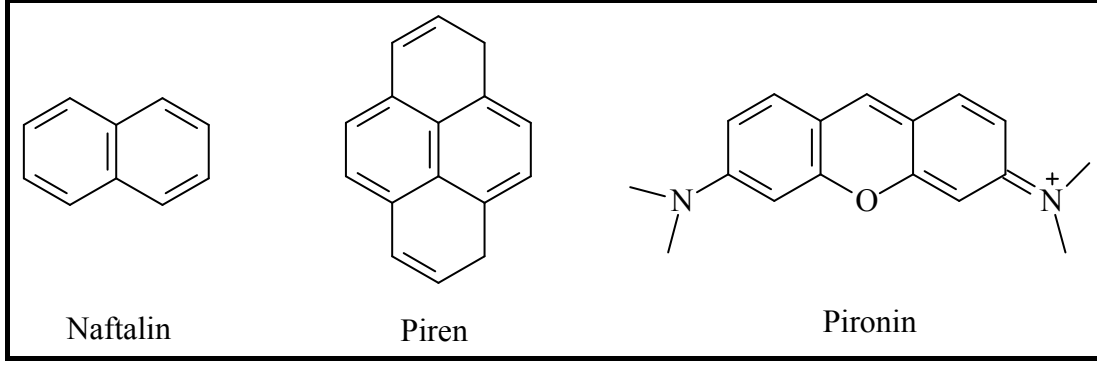
Adsorpsiyon veya dağılma kromatografisine benzeyen İnce tabaka kromatografisi (İTK) bileşiklerin ayrılması, çalışmada elde edilen herhangi bir karışımın plaka üzerindeki sabit fazda ayrı ayrı yerlerde toplanmasıyla kaç bileşenden oluştuğunu ve bu maddelerin kalitatif analizi için kullanılabilir. İnce tabaka kromatografisinde sabit fazı bir plaka üzerine yayılmış ince silika jel veya alümina tabakası kolon dolgu maddesidir ve cam, plastik veya alüminyum plakalar üzerine 0.25-3 mm kalınlığında yayılarak kaplanır (Üçüncü, 2008., Kahrıman, 2011).

1.10. Floresans, Fosforesans ve Stokes Kayması

25 Santigrat derece oda sıcaklığında bir kimyasal türdeki çoğu parçacık temel enerji seviyesinde bulunur. Parçacıklar ışın absorbladığı zaman, yapısında bulunan elektronlar temel enerji seviyesinden uyarılmış enerji düzeyine ulaşırlar. Bu duruma uyarılmış hal denir. Işın absorpsiyonu sonucu uyarılan elektronun uyarılmış düzeyden temel düzeye foton vererek geri döner. Bu olaya floresans denir. Uyarılan bu elektronun temel enerji düzeyine dönerken izleyebileceği farklı yollar vardır. Bu yollar Jablonski Diagramı ile gösterilir. Jablonski diyagramı bir molekülün uyarılmaları ve bu uyarılmaların hangi yollarla sonlandığını gösterir. Işın absorplayan bir kimyasal türde temel düzeyde bulunan elektron daha yüksek enerjili düzeye çıkar. Uyarılmış halde bulunan singlet enerji düzeyindeki bir elektronun uyarılmış triplet enerji seviyesine geçişi, yasaklı olmasına karşı bu olay birçok molekülde meydana gelebilir. Triplet uyarılmış düzeyden temel singlet düzeyine geçerken yapılan foton ışınmasına ise fosforesans denir (Teknikel, 2013., Bağlan 2014).

Temel enerji seviyesine dönerken yayılan ışığın absorbe edilen ışıdan daha az enerjiye sahip olduğu Jablonski Diagramı ile açıkça kanıtlanmıştır. Neden bu durumun meydana geldiği ise, emisyon ve absorpsiyon dalga boyları arasında enerji farkının meydana gelmesinden kaynaklandığı ortaya çıkmıştır ve bu enerji farkına Stokes Kayması denilmektedir (Bağlan 2014).

Mevcut olan ve kullanılan geleneksel boyaların tümü, ışığı absorbe eder ve geriye kalan kısmı yansıtır. Bu yansıtılan ışık gözle görünür ve görünen şey ise maddenin rengidir. Floresans boyalar ise geleneksel boyalardan oldukça farklı bir özellik gösterirler. UV-Vis bölgede ışın absorpsiyon bandı gözlenen sentezlenen organik boyalar, nerdeyse tüm UV-Vis bölgeyi kapsar. Floresans boyaların avantajları yanında suda çözünürlük ve polar çözücüde istiflenme ile floresans azalması gibi dezavantajları da mevcuttur (Bağlan, 2014). Bazı floresan özellikli boyar maddelerin molekül yapıları Şekil 18'de gösterilmiştir.



Şekil 18. Bazı floresan özellikli boyar maddelerin molekül yapıları (Bağlan, 2014).

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Çözücüler ve Kimyasallar

Bileşiklerin sentezlenmesinde kullanılan 2'-amino asetofenon, 2-, 3-, 4-piridin karbosaldehit, bortriflorür dietileter kompleksi, hidrazinmonohidrat ve trietilamin Merck, Fluka, ve Sigma-Aldrich marka olup analitik saflıktadır. Sentezde, saflaştırmada, UV absorpsiyon ölçümlerinde ve diğer enstrümental cihazlarda analiz yapılırken kullanılan etanol, metanol, diklorometan, kloroform, dietil eter, etil asetat, diklorometan, asetonitril, aseton, DMF, DMSO gibi çözücüler Merck marka olup analitik saflıktadır. Yine NMR alınırken kullanılan $CDCl_3$, CD_3OD ve $DMSO-d_6$ da Merck marka olup %99.8 saflıktadır.

2.2. Enstrümantasyon

Sentezlenen bileşiklerin NMR spektrumlarının bir kısmı Varian Mercury 200 MHz NMR cihazı, bir kısmı ise Agilent 400 MHz NMR cihazında alındı. UV spektrumları Unicam UV2-100 spektrofotometre cihazı, IR spektrumları Perkin-Elmer 1600 FT-IR ($4000-400\text{ cm}^{-1}$) spektrofotometre cihazı, kütle spektrumları MicromassQuattro LC-MS/MS spektrofotometre cihazı kullanılarak alındı. Elementel analizleri Costech ECS 4010 cihazında ve tek kristal X-Ray yapı analizi ise STOE IPDS II marka X-Ray difraktometre cihazında yapıldı.

Diazaflavon sentezinde Milestone marka laboratuvar tipi mikrodalga fırın kullanıldı. Saflaştırmalarda kolon kromatografisi (KK) ve ince tabaka kromatografisi (İTK) yanında kristallendirme kullanıldı. Erime noktaları mikroskoba bağlı Thermo-var cihazı kullanılarak tayin edildi.

1H ve COSY NMR spektrumları TMS pikine göre, ^{13}C ve APT spektrumları ise $CDCl_3$ ($\delta=77.0\text{ ppm}$) ve $DMSO-d_6$ ($\delta=39.7\text{ ppm}$) çözücü pikine göre ayarlandı. Kütle spektrumları elektron sprey (ES) yöntemi kullanılarak alındı.

Kolon kromatografisinde (KK) normal faz 230-400 mesh silikajel kullanılırken, ince tabaka kromatografisinde (İTK) normal faz silikajel 60 F₂₅₄ kullanıldı. İnce tabakadaki ayrılımların kontrolü için kabin içinde bulunan 254 nm' lik UV lamba kullanıldı.

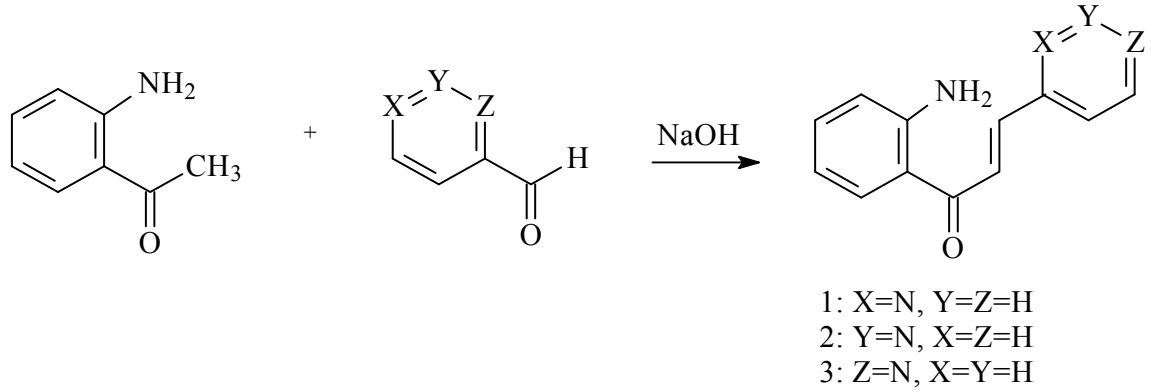
UV absorpsiyonları ölçülürken çözücü olarak, kloroform, aseton, DMF, etil asetat, metanol, etanol, DMSO, asetonitril, kloroform ve metanol kullanıldı. Aynı konsantrasyondaki çözeltiler 10 mm'lik kuartz hücelere konularak, 200-700 nm bölgesinde ve 25 °C' de ölçümler yapıldı. NMR spektrumları alınırken çözücü olarak CDCl₃ ve DMSO-d₆ kullanıldı. Numuneler kuartz NMR tüplerine konularak ölçümler yapıldı. FT-IR spektrumları katı numuneler üzerinden ve 400-4000 cm⁻¹ bölgesinde ölçümler yapılarak alındı.

Antioksidan, asetilkolinesteraz ve tirozinaz enzimlerinin aktivite ölçümleri için kullanılan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), gallik asit (GA), askorbik asit (AA), bütirilhidroksianisol (BHA), trizma-baz, etilendiamintetraasetik asit (EDTA), L-metiyonin, riboflavin, nitro blue tetrazolium (NBT), süperoksitdismutazenzimi, fosfomolibdikasit, ferrozin, trikloroasetikasit, asetilkolinesteraz enzimi, asetilkoliniyodür, tirozinaz, L-DOPA, kojik asit kimyasalları Sigma- Aldrich (St. Louis, MO, USA)'dan satın alınmıştır.

2.3. Bileşiklerin Sentezi

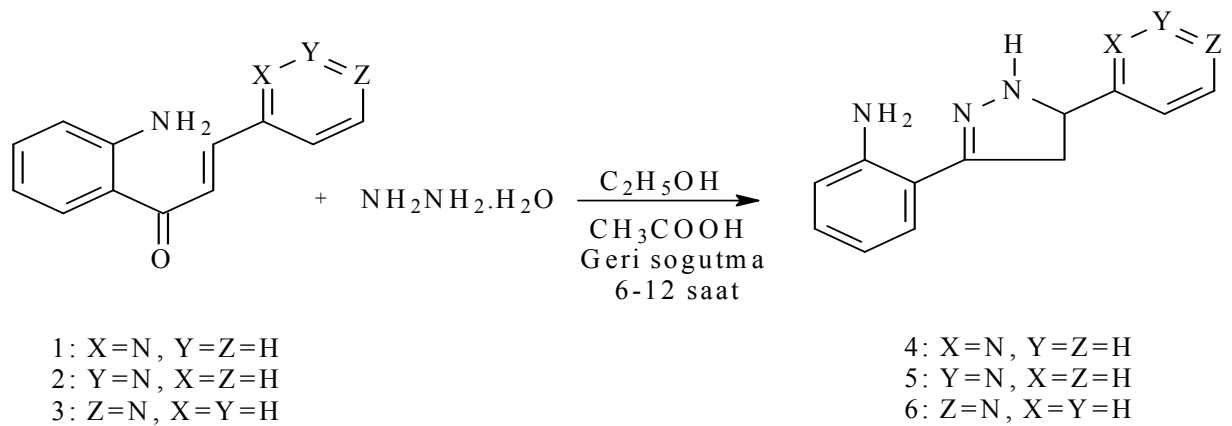
2.3.1. 4-6 Nolu Bileşiklerin Sentezi

Hedeflenen pirazolin bileşiklerinin sentezlenmesinde ilk olarak başlangıç bileşikleri olan 2'-amino sübtitüe azakalkon (1-3) bileşiklerinin sentezleri gerçekleştirildi. Bu amaçla, Claisen-Schmidt kondenzasyonu kullanılarak 2-aminoasetofenon ile 2-, 3- ve 4-piridinkarboksialdehit, baz olarak NaOH ve çözücü olarak etanol ve su kullanılması ile oda şartlarında 16-24 saat karıştırılarak etkileştirildi. Ürün gerektiğinde kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (Denklem 5).



Denklem 5. 1-3 Nolu kalkonların sentez şeması

Daha sonra sentezlenen bu azakalkon bileşiklerinden (1-3), ayrı ayrı alınan 10 mmol'lük kısımlar 20 mL kuru etanolde çözüldü ve üzerine stokiometrik miktardaki 10 mmol hidrazin monohidrat ilave edildi. Reaksiyon içeriği 2 mL glasiyel asetik asit ilavesinden sonra 6-12 saat geri soğutucu altında ısıtıldı. Reaksiyonların ilerleyişi ince tabaka kromatografisi (İTK) ile kontrol edildi. Tamamlanan reaksiyon karışımları 1 gece kendi halinde bekletildi. Oluşan kristaller süzüldü ve soğuk etanolle tekrar yıkandı. Kurutulan kristaller üzerinden saflık kontrolü yine İTK ile yapıldı. Eğer kristallenme olmadı ise çözücü evapore edildikten sonra, karışım buzlu su içerisine boşaltıldı. Oluşan katı süzüldü, kurutuldu ve etanolden kristallendirildi. Elde edilen pirazolin türevlerinin muhtemel tautomerlerinden birinin ana bileşen olarak oluştuğu ise tek kristal X-Ray yapı analizi sonucu belirlendi (Denklem 6).



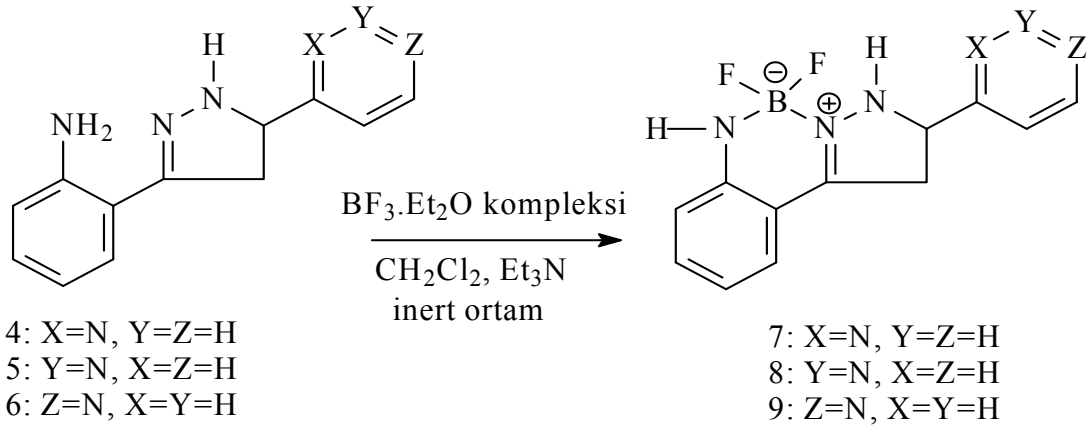
Denklem 6. 4-6 Nolu pirazolin bileşiklerinin kalkonlardan sentez şeması

2.3.2. 7-9 ve 11 Nolu Bileşiklerin Sentezi

➤ 7-9 nolu bileşiklerin sentezi:

Saf haldeki pirazolin türevlerinden ayrı ayrı alınan 8.4 mmol'lük kısımlar 20 mL kuru diklorometanda çözüldü. Üzerine 10.2 mL trietilamin ilave edilerek azot ortamda bir süre karıştırıldı. Devamında stokiometrik miktardaki bor triflotür dietileter kompleksi damla damla ilave edildi. Eter kompleksinin damladığı yerde limon sarısı renginde çökelek oluşumu gözlemlendi. Azot ortamında 15 dk daha karıştırıldıktan sonra, oluşan çökelekler süzüldü ve soğuk diklorometanla yıkandı. Devamında ise su ile yıkanarak liyofilizatörde kurutuldu. Limon sarısı çökeleklerin saflık kontrolü ince tabaka kromatografisi (İTK) ile yapıldı. Elde edilen ürünlerin hedeflenen yönde olduğu spektroskopik yöntemlerle desteklendi.

Floresans boyalar ailesinin en önemli üyelerinden biri olan boradiazaindasen (BODIPY) bileşikleridir. Bu çalışmada elde edilen pirazolin türevleri (4-6) kuru diklorometanda çözüldü ve üzerine trietilamin ilave edilerek bir süre karıştırıldı. Sonrasında bor triflorür dietileter kompleksi ilave edilerek bordifloro-pirazolin kompleksleri (7-9) elde edildi (Denklem 7).



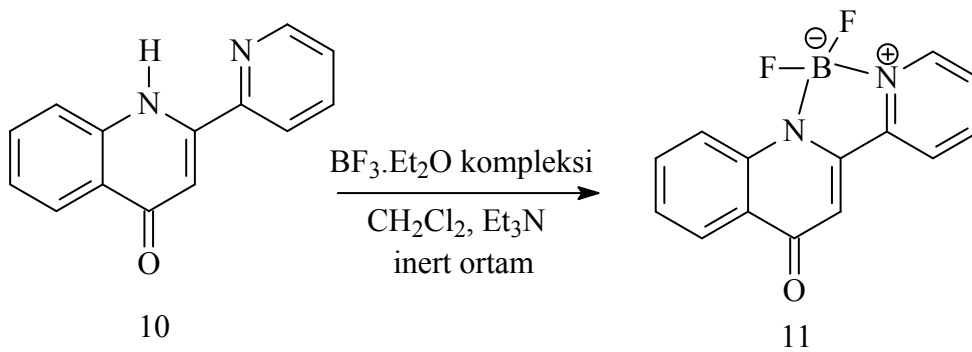
Denklem 7. 7-9 Nolu bordifloro-pirazolin komplekslerinin sentez şeması

➤ 11 nolu bileşiğin sentezi:

1 nolu azakalkon bileşiğinden alınan 20 mmol kloroformda çözüldü ve K-10 Klay'ın (katalizör) belirli miktarlarıyla karıştırıldı. Katalizörün madde ile tamamen homojenize olması için yapılan bu işlemin ardından karışımın çözücüsü uygun sıcaklıkta evaporatörde

uzaklaştırıldı. Tamamen çözücüsü buharlaşan katı karışım Milestone marka multimod mikrodalga cihazına ait reaktöre konuldu ve içerisine magnet ile birlikte daha çok ısı absorpsiyonu için veflon atıldı, ardından reaktör kapatılarak cihaza yerleştirildi. Optimum şartlar olan 110 °C' de 700 watt'lık enerjiyle mikrodalgaya tabi tutuldu (Kahrıman, 2011). Reaksiyonun ilerleyişi ince tabaka kromatografisi (İTK) ile kontrol edildi. 2 Dakika sonra reaksiyonun tamamlandığı belirlendi. Tamamlanan reaksiyon karışımı metanolde çözüldü ve ardından süzülerek katalizörden uzaklaştırıldı. Çözücüsü uzaklaştırılan reaksiyon karışımı kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Böylelikle **10** nolu bileşik elde edildi. Bunun devamında bu bileşikten 10 mmol alınarak 30 mL kuru diklorometanda çözüldü. Üzerine 15 mL trietilamin ilave edilerek azot ortamda bir süre karıştırıldı. Devamında stokiometrik miktardaki bor triflotür dietileter kompleksi ile azot ortamında damla damla ilave edildi. Bor triflotür dietileter kompleksinin damladığı yerde pembe renkte çökelek oluşumu gözlemlendi. Azot ortamında 15 dk daha karıştırıldıktan sonra, oluşan çökelek süzüldü ve saf su ile yıkandı. Liyofilizatörde kurutulmuş bileşiğin ince tabaka kromatografisi (İTK) ile saflık kontrolü yapıldı. Yüksek verimle elde edilen ürünün hedeflenen yönde olduğu spektroskopik yöntemlerle desteklendi.

Bu çalışmada sentezlenen diğer bir bileşik ise bordifloro-diazaflavon kompleksleridir (**11**). Başlangıç maddesi olan diazaflavon (**10**) bileşiği kuru diklorometanda çözüldü üzerine trietilamin ilave edilerek bir süre karıştırıldı. Sonrasında bor triflorür dietileter kompleksi ilave edilerek bileşik elde edildi (Denklem 8).



Denklem 8. **11** Nolu bordifloro-diazaflavon kompleksinin sentez şeması

2.4. Antibakteriyal Aktivitelerin Belirlenmesi

Çalışma kapsamında sentezlenen 7 adet yeni bileşiğin farklı mikroorganizmalar üzerine olan antibakteriyal etkisinin belirlenmesinde, Uluslararası Clinical and Laboratory Standards Institute'nün standardize ettiği sıvı dilüsyon metodu kullanıldı (APPROVED STANDART, CLSI DOCUMENT M07-A8, 2009; KASPADY, 2009). Bu metoda göre bileşiklerin farklı konsantrasyon serileri hazırlandı ve minimal inhibisyon konsantrasyonları (MİK) belirlendi. MİK yöntemi için kullanılacak olan bakteriler gliserol stoklarından 3 mL LB (Larua Bertani besiyeri, % 1 tripton, % 0,5 maya özütü ve % 0,5 NaCl içeren pH=7,2, 121 °C de otoklavlanarak steril edilmiş) besiyerine ekildi ve 37 °C' de gece boyu inkübe edildi. Elde edilen öncü kültür tekrar aynı şekilde gece kültürü yapıldıktan sonra, spektrofotometre kullanılarak 600 nm de absorpsanları belirlendi. CLSI'nin belirttiği üzere kullanılacak bakteri yoğunluğu OD 600=0,004'e ayarlandı. Sentezlenen bileşikler, DMSO içerisinde son konsantrasyonları 1000 mikrogram/mililitre olacak şekilde çözüldü. Steril plakalarda bu bileşiklerin 1000-2 mikrogram/mililitre seri sulandırılmaları yapıldı ve bakteriler ile inoküle edildi. İnokülasyon sonrası plakalar 37 °C 18 saat inkübe edildi. Çalışmada aynı zamanda, negatif kontrol olarak sadece 100 µg/mL ampicilin antibiyotiği içeren LB besiyerleri kullanıldı ve bakterilerin büyümediği gözlemlendi. Pozitif kontrol olarak herhangi bir antibiyotik ve bileşik içermeyen LB besiyeri ve çözücü kontrolü için DMSO içeren LB besiyeri inokülüm yapıldığında ise büyüme gözlemlendi. MİK değeri, büyümenin olmadığı ilk konsantrasyon olarak tespit edildi. Çalışmamızda 2 adet gram pozitif (*Bacillus subtilis* ATCC 663 ve *Staphylococcus epidermidis* 14990) ve 4 adet gram negatif bakteri (*Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Enterobacter cloacae* ATCC13047) kullanılmıştır.

2.5. Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi

2.5.1. DPPH Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi

Numunelerin 2,2-difenil-1-pikril hidrazil (DPPH) radikal süpürme aktivitesi, Blois yöntemine göre gerçekleştirilmiştir (Blois, 1958). DPPH radikali kararlı bir radikaldır ve tek bir elektron varlığı nedeniyle 517 nm'de güçlü absorpsiyon bandı gösterir. Bu absorpsiyon, radikal süpürücülerin hidrojen atomu veya elektron verebilme yetkinlikleri

etkisiyle DPPH'nin metanoldeki çözeltisinin mor renginin açılmasıyla azalır. İlk olarak metanolde çözülen numunelerin stok çözeltisi 2.5 mg/mL olacak şekilde hazırlandı. Daha sonra deneyde kullanılmak üzere 10 µg/mL, 25 µg/mL ve 50 µg/mL çalışma çözeltileri hazırlandı ve 0.4 mM DPPH'nin metanoldeki çözeltisi üzerine ilave edildi. Karanlık bir ortamda oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyonun ardından 517 nm'de absorbans ölçülmüştür ($A_{\text{örnek}}$). 0.4 mM 1 mL DPPH metanoldeki çözeltisinin 517 nm'deki absorbansı ölçülmüştür (A_{kontrol}). Standart olarak GA, AA ve BHA kullanılmıştır. DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi, DPPH radikallerinin inhibisyonu (%I) şeklinde farklı konsantrasyonları için 1 numaralı formülden hesaplanmıştır. Tüm deneyler üç tekrarlı gerçekleştirilmiş ve standart sapması (SD) hesaplanmıştır.

$$\text{Formül 1.} \quad \% \text{ İnhibisyon} = \frac{A_{\text{ör}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{örnek}}} \times 100 \quad (1)$$

2.5.2. Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Süperoksitdismutaz aktivitesi Beauchamp ve Fridovich (Fridovich ve Beauchamp,1971) tarafından geliştirilen nitro mavisi tetrazolyum (NBT) indirgeme metodu kullanılarak belirlenmiştir. $O_2^{\cdot -}$ 'nin miktarı ve baskılanma oranı 560 nm'deki absorbans ölçülerek belirlenmiştir. Süperoksit radikalleri ($O_2^{\cdot -}$) 100 µL 0.1 mM EDTA, 100 µL 2 µM riboflavin, 100 µL 13 mM L-metiyonin ve 100 µL 75 µM NBT içeren 50 mM fosfat tamponundan (pH=7.8) oluşan sistem ile ölçülmüştür. Numunelerin farklı konsantrasyonlarda (10 µg/mL, 25 µg/mL ve 50 µg/mL) hazırlanmış çözeltileri radikal üreten bu çözelti sistemlerine ilave edilerek her bir reaksiyon karışımı 10 dakika floresan ışığında inkübe edildikten sonra örneklerin absorbansı 560 nm'de ölçülmüştür. Test edilen numuneyi içermeyen karışımın absorbansı kontrol olarak kullanılmıştır. Standart olarak SOD, AA ve BHA kullanılmıştır. NBT indirgenmesinin yüzde inhibisyonu (%I) Formül 1'de verildiği hesaplanmıştır. Tüm deneyler üç tekrarlı gerçekleştirilmiş ve standart sapması (SD) hesaplanmıştır.

2.5.3. Fosfomolibdenyum İndirgeyici Antioksidan Kapasite Ölçümü (PRAP)

Fosfomolibdenyum indirgeyici antioksidan kapasite ölçüm yöntemi %10'luk fosfomolibdikasit kullanılarak hesaplandı ve standart bileşik olarak kuersetin kullanılmıştır (Falcioni vd., 2002). İlk olarak etanol içerisinde %10'luk fosfomolibdenyum çözeltisi hazırlandı ve son hacim 1 mL olacak şekilde örneklerin çeşitli konsantrasyonları (10 µg/mL, 25 µg/mL, 50 µg/mL) çözeltiye ilave edilmiştir. Karışım 80 °C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda karışımların absorbansları 600 nm'de okundu ve kuersetin ile karşılaştırılarak fosfomolibdenyum indirgeyici antioksidan kapasitesi belirlenmiştir. Tüm deneyler üç tekrarlı gerçekleştirilmiş ve standart sapması (SD) hesaplanmıştır.

2.5.4. Metal Şelat Yapma Kapasitesi

Demir iyonu şelatlama etkisi Chue ve arkadaşları tarafından geliştirilen metod kullanılarak belirlenmiştir (Chua vd., 2008). Kısaca örneklerin farklı konsantrasyonlarının (125 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL) 740 µL 'sine 20 µL 2 mM FeCl₂ ilave edilmiştir. Daha sonra 40 µL 5 mM ferrozin ilavesi gerçekleştirilmiştir. 10 dakika oda sıcaklığında inkübe olduktan sonra numunelerin absorbansı 562 nm'de ölçülmüş ve 1 numaralı formülden % inhibisyonu hesaplanmıştır. Standart olarak EDTA, GA, BHA kullanılmıştır. Tüm deneyler üç tekrarlı gerçekleştirilmiş ve standart sapması (SD) hesaplanmıştır.

2.5.5. Demir İndirgeyici Antioksidan Kapasite Ölçümü (FRAP)

Demir-indirgeyici antioksidan kapasite ölçümü Oyaizu ve arkadaşları tarafından geliştirilen metoda göre belirlenmiştir (Oyaizu vd., 1986). Kısaca; 1 mL örnek çözeltilerine 1 mL pH=6,6 fosfat tampon ve 1 mL potasyumferrisiyanid çözeltisine ilave edilmiştir. Karışım 50 °C'de 20 dakika inkübe edildikten sonra üzerine 1 mL %10'luk trikloroasetik asit ilave edilmiştir. Karışım hızla çalkalandıktan sonra 1 mL saf su ilave edilmiştir. Son olarak 100 µL %0,15 FeCl₃ ilave edildikten sonra 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından örneklerin 700 nm'de absorbansları ölçülmüş ve standart olarak kullanılan BHA eşdeğeri olarak verilmiştir (BHA, mg/g numune).

2.6. Enzim İnhibisyonları

2.6.1. Asetilkolinesteraz Enzimi İnhibisyonu

Numunelerin AChE inhibisyon aktiviteleri, ticari olarak temin edilebilen galantaminhidrobromür bileşiği referans alınarak kolometrik Ellman ve Ingkaninan metodu kullanılarak değerlendirilmiştir (Ellman vd., 1961, Ingkaninan vd., 2000). Numuneler farklı konsantrasyonlarda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL) 50 mM Tris tampon çözeltisi (pH=8.0) ile seyreltilmiştir. Tris tampon çözeltisinden 50 µL, 3 mM DTNB çözeltisinden 125 µL, 25 µL 0.2 U/mL konsantrasyondaki enzim (AChE) çözeltisinden ve farklı konsantrasyonda 25 µL numune kuyucuklara eklenerek oluşan karışım 25°C’ de 15 dakika inkübasyona bırakılmıştır. 15 dakikalık inkübasyonun ardından her bir kuyucuğa 25 µL hacimde 15 mM konsantrasyonda substrat (ATCI) çözeltisinden ilave edilecek ve reaksiyon karışımlarının absorbansları 412 nm’de mikroplak okuyucu (UV-Spektrofotometre, MultiskanGo) okutulmuştur. Asetilkolinesterazinhibisyonu (%I) şeklinde farklı konsantrasyonları için 1 numaralı formülden hesaplanmıştır. Tüm deneyler üç tekrarlı gerçekleştirilmiş ve standart sapması (SD) hesaplanmıştır.

2.6.2. Tirosinaz İnhibisyonu

Numunelerin tirosinaz inhibisyon kapasitesi, Masuda ve ark. tarafından geliştirilen, 3,4-dihidroksi-L-fenilalanin’in (L-DOPA) substrat olarak kullanıldığı modifiye dopakrom yöntemi ile spektrofotometrik olarak tayin edilecektir (Masuda vd., 2005). Standart olarak alfa-kojikasit’in kulanıldığı deneyler, 96 kuyucuklu mikroplak kullanılarak mikroplak okuyucuda (Uv-Spektrofotometre, MultiskanGo) gerçekleştirilmiştir. Deney protokolüne göre; hazırlanan numunelerin (50 µg/mL, 100 µg/mL, 250 µg/mL) her birinden 20 µL alınarak, daha önceden her birine 100 µL fosfat tamponu (pH=6.8) eklenmiş kuyucuklara ilave edilmiştir. Bunun üzerine 20 µL 250 U/mL tirosinaz enzimi ve 20 µL L-DOPA çözeltisi ilave edilmiştir. 10 dakika inkübasyon süresinden sonra, mikroplaklar spektrofotometre cihazına yerleştirilerek, örnekler ve kontrolün absorbansları 475 nm dalga boyunda okundu ve tirosinaz inhibisyonları Formül 1’e göre hesaplanmıştır. Tüm deneyler üç tekrarlı gerçekleştirilmiş ve standart sapması (SD) hesaplanmıştır.

2.7. UV-Vis Absorpsiyon Ölçümleri ve Spektrum Üzerine Çözücü Etkisinin İncelenmesi

Sentezlenen 7 adet bileşiğin farklı çözücülerde aynı molaritedeki çözeltilerinin UV-Vis spektrumları Unicam UV2-100 spektrofotometre cihazında alındı. Bu amaçla 4-6 nolu bileşiklerin 6.30×10^{-5} M, 7-9 nolu bileşiklerin 5.25×10^{-5} M ve 12 nolu bileşiğin ise 2.50×10^{-5} M'lık çözeltileri farklı çözücülerde (DMSO, DMF, etil asetat, etil alkol, metanol, asetonitril, aseton ve kloroform) hazırlanarak UV absorpsiyonları ölçüldü. Bileşiklerin çözücülerdeki kararlılıkları, karşılaştırılmalı spektrumlarda çözücüden meydana gelen olası absorbans farklılıkları araştırıldı ve molar absorplama katsayıları hesaplandı.

2.8. Floresans Ölçümleri

Bileşiklerin çözeltilerinin hazırlanmasında metanol (Sigma-Aldrich, 34885 kodlu HPLC saflıkta) kullanıldı. Absorpsiyon ve emisyon spektrumlarının alınması için bu çözeltilerin belli hacmine aynı hacimde deiyonize su ilave edildi. UV-vis absorpsiyon spektrumlarının alınmasında ThermoEvolution 60 Spektrofotometre kullanıldı. Emisyon spektrumları PTI QM-4-2006 model spektroflorimetre ile alındı. Çözeltinin karıştırılması için Labnet Model No 50100-320 V vorteks kullanıldı.

2.8.1. Spektrofotometrik Ölçümler

Ligandın metanolde $1,00 \cdot 10^{-5}$ - $5,00 \cdot 10^{-5}$ M konsantrasyon aralığında çözeltileri hazırlandı. 2 mL ligand çözeltilerine 2 mL saf su eklenerek oda sıcaklığında 5 dak. vorteks çalkalayıcı ile çalkalandı. Oluşan çözeltilerin 200-800 nm'ler arası absorpsiyon spektrumları alındı. Uygun absorbans değerleri $1,29 \times 10^{-5}$ M ligand çözeltisi için elde edildi.

2.8.2. Spektroflorimetrik Ölçümler

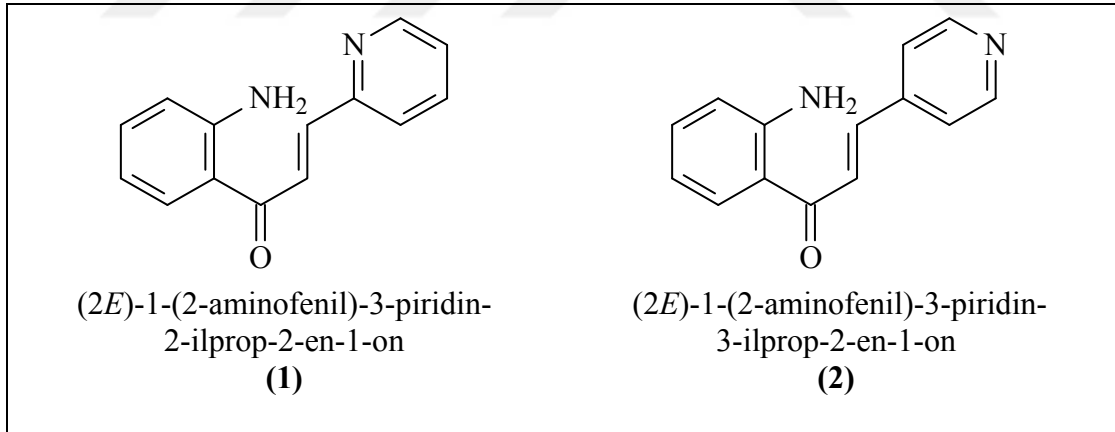
$1,29 \times 10^{-5}$ M ligand çözeltilerinin floresans spektrumu alındı. Bunun için 340 nm'de numune uyarıldı. Slitalarlığı 1 nm olarak ayarlandı. Emisyon spektrumu 350-700 nm'ler arasında elde edildi.



3. BULGULAR

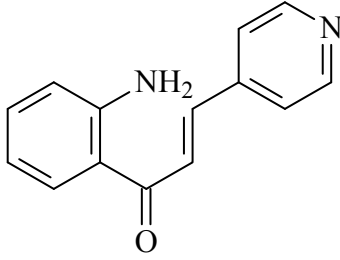
3.1. Sentezlenen Bileşikler

Çalışma genel olarak dört bölümden oluşmaktadır. Birinci kısımda kalkon bileşiklerine alternatif olarak literatürde mevcut olan 3 adet 2'-amino substitue azakalkon klasik yöntemle oda şartlarında karıştırılarak ve 1 adet flavonoid analogu olan diazaflavon bileşiğinin ise mikrodalga yöntemi ile sentezi gerçekleştirildi (**1-3, 10**). Çalışmanın ikinci aşamasında ilk kısımda sentezlenen azakalkonlardan pirazolin türevlerinin sentezi (**4-6**) ve üçüncü kısımda ise pirazolin ve diazaflavon bileşiklerinin bordiflorür kompleksleri sentezlendi (**7-9, 11**). Bu çalışmada 7 adet yeni bileşik sentezlendi. Dördüncü aşamada, elde edilen bileşiklerin antibakteriyal, antioksidan, enzim inhibisyon aktiviteleri ve UV absorpsiyon özellikleri ile floresans özellikleri tayin edildi. Bileşiklere ait formüller ve adlandırmaları Şekil 19'deki gibidir.

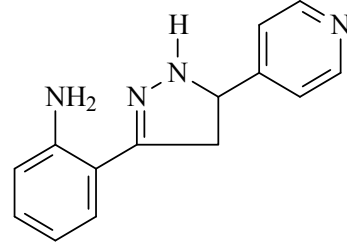


Şekil 19. Sentezlenen bileşiklere ait formüller ve adlandırmaları

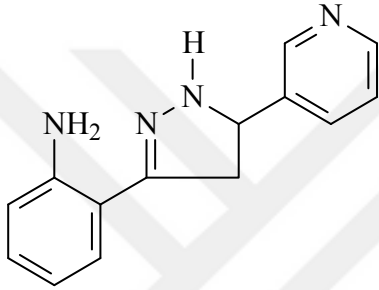
Şekil 19'un devamı



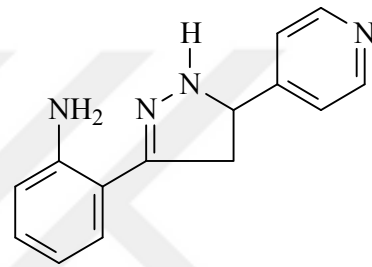
(2E)-1-(2 -aminofenil)-3-piridin-4-ilprop-2-en-1-on
(3)



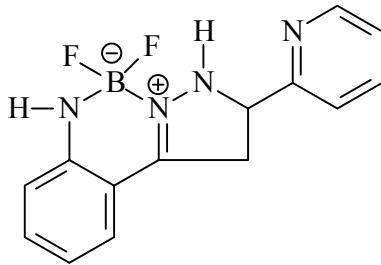
3-(2'-aminofenil),5-(2'-piridil)pirazolin ya da 2-(5-piridin-2-il-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)anilin
(4)



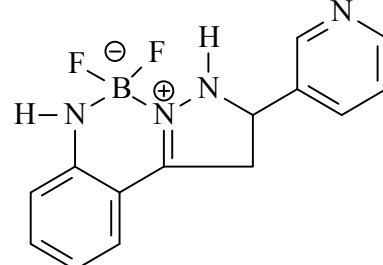
3-(2'-aminofenil),5-(3'-piridil)pirazolin ya da 2-(5-piridin-3-il-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)anilin
(5)



3-(2'-aminofenil),5-(4'-piridil)pirazolin ya da 2-(5-piridin-4-il-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)anilin
(6)

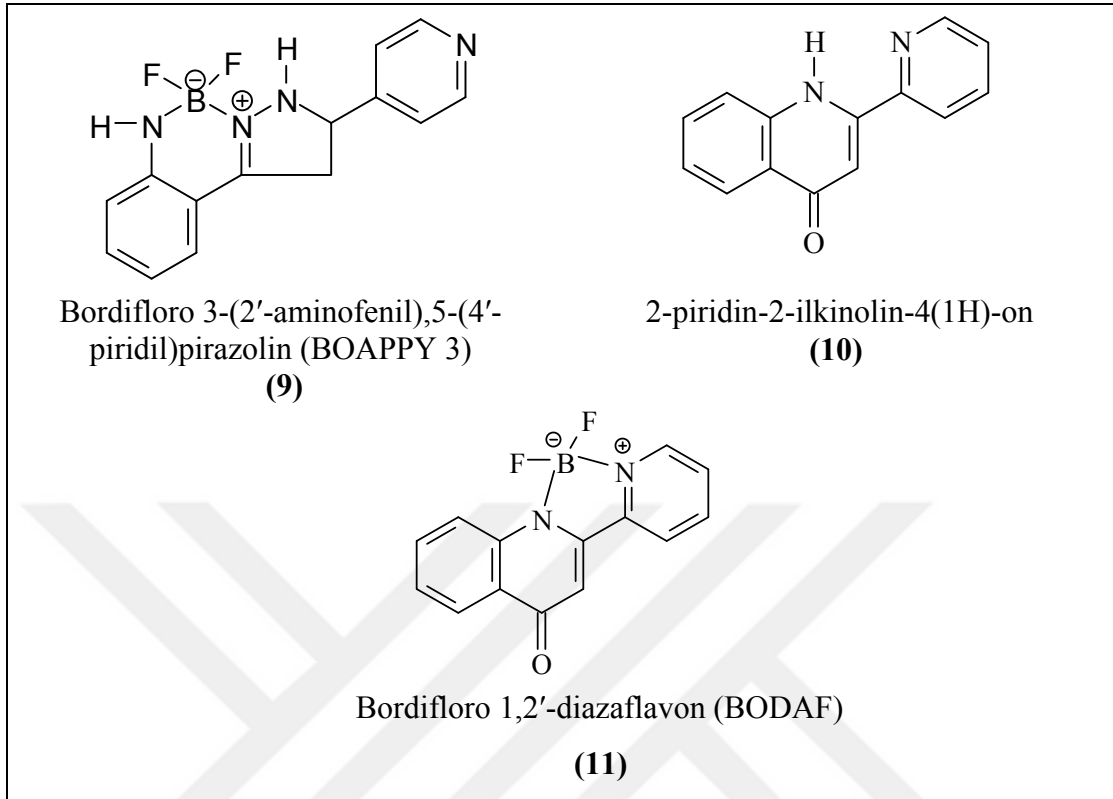


Bordifloro 3-(2'-aminofenil),5-(2'-piridil)pirazolin (BOAPPY 1)
(7)



Bordifloro 3-(2'-aminofenil),5-(3'-piridil)pirazolin (BOAPPY 2) (8)

Şekil 19'un devamı



Çalışmada sentezlenmiş olan bileşikler ile ilgili yapılmış olan literatür araştırması ile sadece başlangıç azakalkonlarının ve diazafıavonun literatürde bilinen bileşikler olduğu belirlenmiştir. Çalışmadaki hedef bileşikleri olan pirazolin (4-6) ve organo bor komplekslerine (7-9, 11) ise literatürde rastlanmamıştır. Çalışma kapsamında sentezlenmiş bileşiklerden 4 nolu bileşiğin literatürde tautomeri mevcut olup, nitro kalkonların halka kapanması ve ardından indirgenme reaksiyonunun gerçekleştirilmesi olmak üzere iki basamakta sentezlenmiştir. Azakalkondan tek basamaklı sentezine ise literatürde rastlanmamıştır.

Çalışmanın devamında ise sentezlenen bileşiklerin değişik çözücülerdeki UV absorbsanları ve floresas özellikleri ölçülmüş (Qiong, 2012), biyolojik aktivite testlerinde ise DPPH (Cuendet, 1997), SOD (Fridovich ve Beauchamp, 1971), PRAP (Falcionivd., 2002), metal şelat yapma (Chua vd., 2008) ve FRAP (Benzie, 1996, 1999; Oyaizu, 1986) yöntemleri ile antioksidan aktivite, asetilkolinesteraz ve tirozinaz enzim inhibisyon aktiviteleri ve sıvı dilüsyon metodu ile minimal inhibisyon konsantrasyonları belirlenerek antibakteriyel aktivite tayinleri yapılmıştır (Amelia, 2006; Approved standart, CLSI

Document M07-A8, 2009; Demirbağ, 1997, Ertürk, 2006; Kaspady, 2009; Küçük, 2006, 2007; Özer, 2007; Perez,, 1990; Willanova, 1993; Yaylı, 2006).

3.2. Antibakteriyal Aktivite Sonuçları

Çalışmada sentezlenen yeni **4-9** ve **11** nolu bileşiklerin antibakteriyal aktiviteleri 6 bakteri (Tablo 2) üzerinde sıvı dilüsyon metodu kullanılarak belirlenmiştir. Bu metoda göre bileşiklerin farklı konsantrasyon serileri hazırlandı ve minimal inhibisyon konsantrasyonları (MİK) ölçülmüştür. MİK değeri, büyümenin olmadığı ilk konsantrasyon olarak tespit edilmiştir. Elde edilen MİK değerleri Tablo 2’ de verilmiştir.

Tablo 1. Çalışmalarda kullanılan mikroorganizmalar ve ATCC numaraları

Mikroorganizma	ATCC Numarası
G+	
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 14990
G-	
<i>Klebsiella pneumonia</i>	ATCC 13883
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 13315
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 14028
<i>Enterobacter cloaceae</i>	ATCC 13047

G+: Gram pozitif, **G-:** Gram negatif

Elde edilen sonuçlara göre, bileşiklerin kullanılan test mikroorganizmalarına karşı genel olarak iyi derecede aktif olduğu belirlendi. Sentezlenen yeni pirazolin bileşiklerinden **4** (piridin azotu 2 pozisyonunda) nolu bileşiğin diğer pirazolin bileşiklerine göre özellikle de G+ bakterilere karşı (*Bs*: 18.75, *Se*: 18.75 µg/mL) daha aktif olduğu görüldü. Pirazolin bileşikleri arasında en az aktif olanın ise bütün bakterilere karşı 150 µg/mL’lik bir minimal inhibisyon konsantrasyonuna sahip **5** (piridin azotu 3 pozisyonunda) nolu bileşik olduğu elde edilen sonuçlar doğrultusunda belirlendi. Sentezlenen pirazolin bileşiklerini (**4-6**) molekül yapısı bakımından farklılandıran tek nokta piridin halkasındaki azot atomunun pozisyonu olup, aktivitelerdeki farklılığın kaynağını oluşturmaktadır.

Tablo 2. Antibakteriyal aktivite sonuçları

Bileşik No	Konsantrasyon (Stok, µg/mL)	Minimal İnhibisyon Konsantrasyonları (MİK: µg/mL)					
		G+		G-			
		<i>Bs</i>	<i>Se</i>	<i>St</i>	<i>Ec</i>	<i>Pv</i>	<i>Kp</i>
4	1000	18.75	18.75	75	75	75	75
5	1000	150	150	150	150	150	150
6	1000	75	37.5	75	75	75	75
7	1000	75	75	75	75	37.5	37.5
8	1000	9.4	18.75	75	150	150	150
9	1000	150	150	150	150	150	150
11	1000	18.75	4.7	18.75	18.75	18.75	18.75
DMSO		+	+	+	+	+	+
LB		+	+	+	+	+	+
LB+amp.	100 mg/mL	100	100	100	100	100	100

Bs: *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Se*: *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990
Kp: *Klebsiella pneumonia* ATCC 13883, *Pv*: *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *St*: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Ec*: *Enterobacter cloacae* ATCC 13047, LB: Lysogeny Broth, Amp: Ampicillin, G+: Gram pozitif, G-: Gram negative, (-): Aktivite yok (+): Aktivite var

Pirazolin bileşiklerinden sentezlenen bordiflorür komplekslerine bakıldığında, 8 nolu bileşiğin (BOAPPY 2) özellikle test edilen G+ bakterilere (*Bs*:9.40, *Se*: 18.75 µg/mL), 7 nolu bileşiğin (BOAPPY 1) ise 37.5-75 µg/mL aralığında G- bakterilere karşı aktif olduğu görüldü. Sentezlenen bordifloro-pirazolin komplekslerinden en az aktif olanın ise 9 nolu bileşik (BOAPPY 3) olduğu tespit edildi.

Çalışmada sentezlenen bütün bileşikler arasında hem G+ hem de G- bakterilere karşı en aktif olan bileşik ise 1,2'- bordifloro diazaflavon kompleksi olan 11 nolu BODAF bileşiğidir. Bu bileşik özellikle 4 µg/mL'lik bir sonuçla G+ bir bakteri olan *Se*' ye karşı en yüksek aktivitesini göstermektedir.

3.3. Antioksidan Aktivite Sonuçları

3.3.1. DPPH Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi

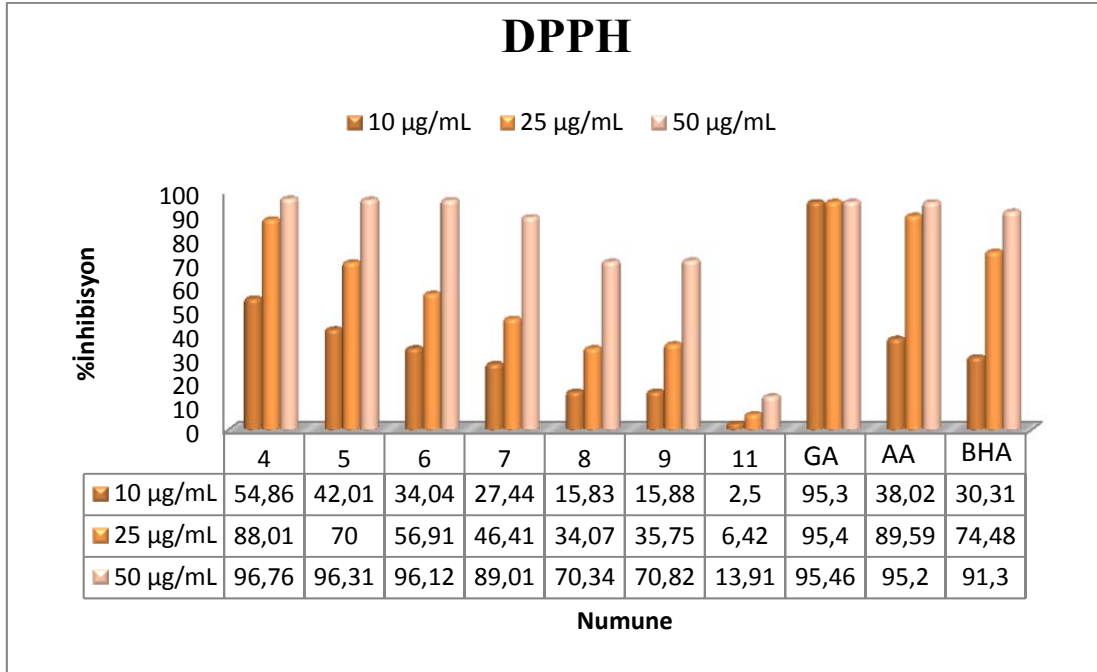
İncelenen bileşiklerin radikal süpürme aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla hızlı, basit ve uygun bir yöntem olan DPPH radikallerini süpürme aktivitesi incelendi. Bu amaçla metanol içerisindeki DPPH çözeltisinin absorbandsındaki düşme bileşiklerin ilavesiyle takip

edildi. Bu yöntem de serbest radikal süpürücüler ya da hidrojen verici bileşikler sebebiyle DPPH'dan kaynaklanan radikalın inaktif olması ve bu nedenle DPPH çözeltisinin mor renkten sarı renge dönüşümü gözlenmektedir. Bu çalışmada standart olarak GA, AA ve BHA kullanılmıştır. Çalışmada elde edilen sonuçlar Tablo 3 ve Şekil 20'de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde en yüksek aktiviteye 4 nolu bileşiğin sahip olduğu görülürken, 11 nolu bileşik ise en az aktiviteye sahip olduğu belirlendi. 50 µg/mL konsantrasyonda bileşiklerin DPPH radikal süpürme aktivitesi sıralanırsa; 4 (96.76 ± 0.06%) > 5 (96.31 ± 0.23%) > 6 (96.12 ± 0.40%) > GA (95.46 ± 0.24%) > AA (95.20 ± 0.04%) > BHA (91.30 ± 0.51%) > 7 (89.01 ± 0.58%) > 9 (70.82 ± 1.19%) > 8 (70.34 ± 0.99%) > 11 (13.91 ± 1.60%) şeklinde bulunmuştur.

Tablo 3. Bileşiklerin ve standartların DPPH radikal süpürme aktivitesi (%)

	<i>10 µg/mL</i>	<i>25 µg/mL</i>	<i>50 µg/mL</i>
4	54,86 ± 0,56	88,01 ± 0,88	96,76 ± 0,06
5	42,01 ± 0,52	70,0 ± 1,73	96,31 ± 0,23
6	34,04 ± 0,37	56,91 ± 1,09	96,12 ± 0,40
7	27,44 ± 0,86	46,41 ± 1,03	89,01 ± 0,58
8	15,83 ± 0,57	34,07 ± 0,79	70,34 ± 0,99
9	15,88 ± 0,33	35,75 ± 0,67	70,82 ± 1,19
11	2,50 ± 0,20	6,42 ± 0,32	13,91 ± 1,60
GA	95,30 ± 0,18	95,40 ± 0,20	95,46 ± 0,24
AA	38,02 ± 0,11	89,59 ± 0,49	95,20 ± 0,04
BHA	30,31 ± 0,20	74,48 ± 0,23	91,30 ± 0,51

DPPH: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil, GA: Gallik asit, AA: Askorbik asit, BHA: Bütilhidroksianisol



Şekil 20. Bileşiklerin ve standartların DPPH radikal süpürme aktivitesi (%)

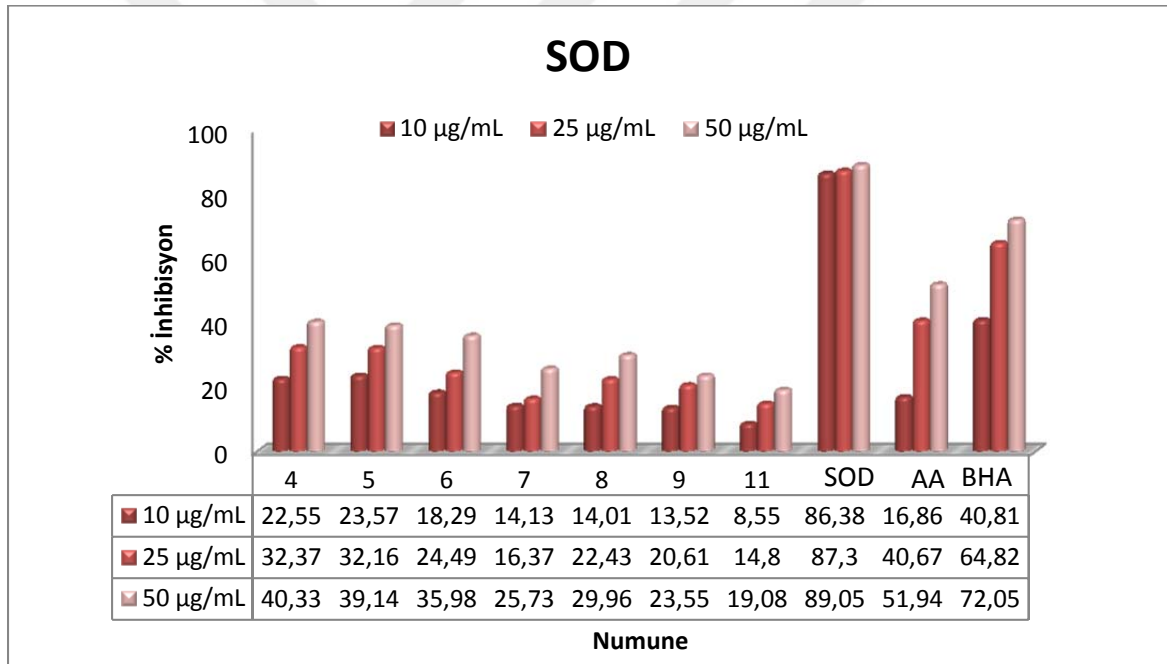
3.3.2. Süperoksit Radikali Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi

Oksidasyon biyolojik prosesler için enerji üretildiğinden dolayı, yaşayan birçok organizma için önemlidir. Bununla birlikte hidroksi radikali, süperoksit anyonlar gibi reaktif oksijen türler serbest radikallerin oluşumunda öncüdürler ve oluşan bu türler birçok hastalığın sebebi olarak görülmektedir. Bu çalışmada bileşiklerin süperoksit radikal süpürme aktivitesi incelendi. Yapılan çalışmalar sonrasında ortamda oluşturulan süperoksit radikallerinin süpürülme aktivitesi yüzdeleri, aynı yöntemle test edilen ticari SOD enzimi, AA ve BHA için hesaplanan yüzdeler ile karşılaştırılmıştır. Bu sonuçlar Tablo 4 ve Şekil 21’de verilmiştir. 4 Nolu bileşik sentezlenen diğer bileşikler ile karşılaştırıldığında en yüksek süperoksit radikal süpürme aktivitesine sahip olduğu görülürken, 11 nolu bileşik ise DPPH radikal süpürme aktivitesinde olduğu gibi en düşük aktiviteye sahiptir. 50 µg/mL konsantrasyonda standartların ve sentezlenen bileşiklerin aktivite sıralaması; SOD ($89,05 \pm 0,11\%$) > BHA ($72,05 \pm 0,15\%$) > AA ($51,94 \pm 0,42\%$) > 4 ($40,33 \pm 0,56\%$) > 5 ($39,14 \pm 0,30\%$) > 6 ($35,98 \pm 0,57\%$) > 8 ($29,96 \pm 0,94\%$) > 7 ($25,73 \pm 0,52\%$) > 9 ($23,55 \pm 0,62\%$) > 11 ($19,08 \pm 0,81\%$) şeklindedir.

Tablo 4. Bileşiklerin ve standartların süperoksit radikal süpürme aktivitesi (%)

	<i>10 µg/mL</i>	<i>25 µg/mL</i>	<i>50 µg/mL</i>
4	22,55 ± 1,19	32,37 ± 2,30	40,33 ± 0,56
5	23,57 ± 0,49	32,16 ± 0,19	39,14 ± 0,30
6	18,29 ± 0,14	24,49 ± 0,39	35,98 ± 0,57
7	14,13 ± 0,28	16,37 ± 0,31	25,73 ± 0,52
8	14,01 ± 0,34	22,43 ± 1,62	29,96 ± 0,94
9	13,52 ± 1,17	20,61 ± 0,51	23,55 ± 0,62
11	8,55 ± 0,40	14,80 ± 0,22	19,08 ± 0,81
SOD	86,38 ± 0,18	87,30 ± 0,20	89,05 ± 0,11
AA	16,86 ± 0,19	40,67 ± 0,62	51,94 ± 0,42
BHA	40,81 ± 0,54	64,82 ± 0,18	72,05 ± 0,15

SOD: Süperoksit dismutaz, **AA:** Askorbik asit, **BHA:** Bütirilhidroksianisol



Şekil 21. Bileşiklerin ve standartların süperoksit radikal süpürme aktivitesi (%)

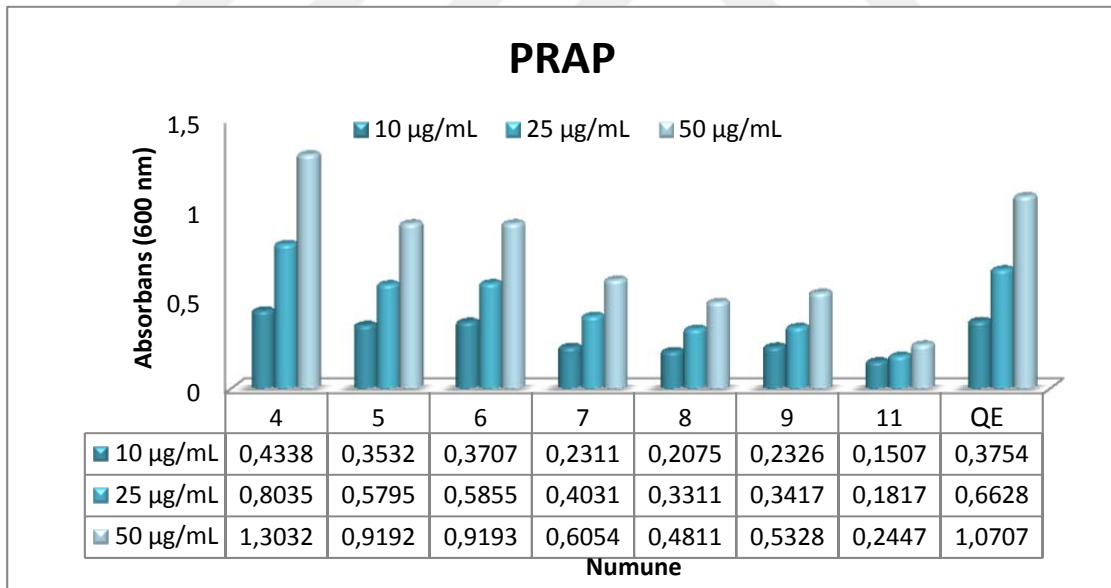
3.3.3. Fosfomolibdenyum İndirgeyici Antioksidan Kapasitenin (PRAP) Belirlenmesi

Bu çalışmada fosfomolibdenyum indirgeyici antioksidan kapasitesi fosfomolibdik asit kullanılarak 600 nm'de ölçüldü, standart olarak kuersetin kullanıldı. Bu çalışmada yüksek absorbans gösteren bileşiklerin yüksek indirgeyici potansiyele sahip olduğu

bilinmektedir. Sonuçlar Tablo 5 ve Şekil 22’de ayrıntılı şekilde verilmiştir. 25 µg/mL konsantrasyon’da bileşiklerin ve standartların indirgeyici antioksidan kapasitesi sıralanırsa; **4** (0.8035 ± 0.014) > **QE** (0.6628 ± 0.001) > **6** (0.5855 ± 0.001) > **5** (0.5795 ± 0.007) > **7** (0.4031 ± 0.004) > **9** (0.3417 ± 0.009) > **8** (0.3311 ± 0.006) > **11** (0.1817 ± 0.006) şeklinde olduğu görülmektedir.

Tablo 5. Bileşiklerin ve standartın PRAP aktivitesinin belirlenmesi

	<i>10 µg/mL</i>	<i>25 µg/mL</i>	<i>50 µg/mL</i>
4	$0,4338 \pm 0,009$	$0,8035 \pm 0,014$	$1,3032 \pm 0,047$
5	$0,3532 \pm 0,016$	$0,5795 \pm 0,007$	$0,9192 \pm 0,013$
6	$0,3707 \pm 0,001$	$0,5855 \pm 0,001$	$0,9193 \pm 0,016$
7	$0,2311 \pm 0,006$	$0,4031 \pm 0,004$	$0,6054 \pm 0,004$
8	$0,2075 \pm 0,006$	$0,3311 \pm 0,006$	$0,4811 \pm 0,01$
9	$0,2326 \pm 0,007$	$0,3417 \pm 0,009$	$0,5328 \pm 0,015$
11	$0,1507 \pm 0,005$	$0,1817 \pm 0,006$	$0,2447 \pm 0,002$
Kuersetin	$0,3754 \pm 0,001$	$0,6628 \pm 0,001$	$1,0707 \pm 0,005$



Şekil 22. Bileşiklerin ve standartın değişik konsantrasyonlardaki PRAP değerleri

3.3.4. Metal Şelat Yapma Kapasitesinin Belirlenmesi

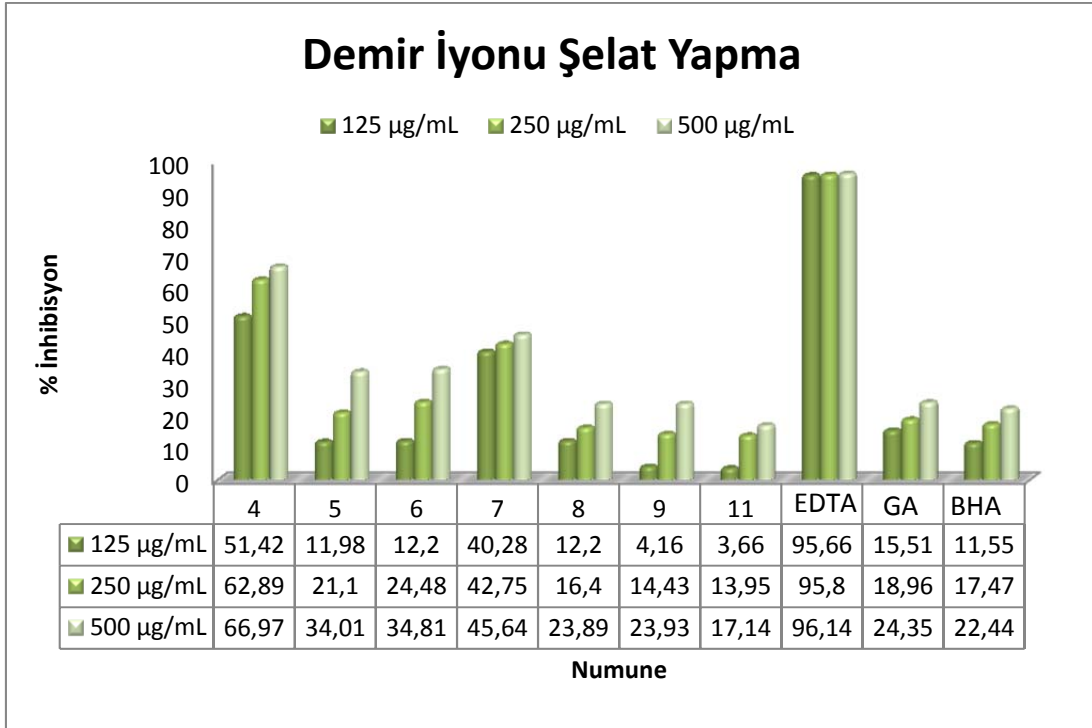
Geçiş metalleri insan vücudunda enzim aktivitelerini sağlamak amacıyla oldukça önemli elementlerdir. Fakat aynı zamanda eşleşmemiş elektron çiftleri

hızlıca peroksit'ten alkoksi radikaline dönüşmektedir. Bu yüzden antioksidanlar tarafından geçiş metallerinin şelatlanması oksidasyon prosesleri içinde oldukça önemlidir. Bu çalışmada metal şelatlama aktivitesi EDTA, GA ve BHA ile karşılaştırılarak hesaplandı. Bu çalışmada 125 µg/mL, 250 µg/mL ve 500 µg/mL konsantrasyonlarda çalışılmıştır. Sonuçlar ayrıntılı bir şekilde Tablo 6 ve Şekil 23'de verilmiştir. 125 µg/mL konsantrasyonda bileşiklerin ve standartların metal şelatlama aktivitesi sıralandığında; EDTA ($95.66 \pm 0.01\%$) > **4** ($51.42 \pm 0.88\%$) > **7** ($40.28 \pm 1.16\%$) > GA ($15.51 \pm 0.08\%$) > **6** ($12.20 \pm 0.55\%$) = **8** ($12.20 \pm 1.94\%$) > **5** ($11.98 \pm 0.19\%$) > BHA ($11.55 \pm 0.03\%$) > **9** ($4.16 \pm 0.56\%$) > **11** ($3.66 \pm 0.13\%$) şeklinde olduğu görülmektedir.

Tablo 6. Bileşiklerin ve standartın metal şelat aktivitesinin belirlenmesi

	<i>125 µg/mL</i>	<i>250 µg/mL</i>	<i>500 µg/mL</i>
4	$51,42 \pm 0,88$	$62,89 \pm 1,30$	$66,97 \pm 0,64$
5	$11,98 \pm 0,19$	$21,10 \pm 0,34$	$34,01 \pm 0,34$
6	$12,20 \pm 0,55$	$24,48 \pm 0,84$	$34,81 \pm 0,19$
7	$40,28 \pm 1,16$	$42,75 \pm 1,24$	$45,64 \pm 0,48$
8	$12,20 \pm 1,94$	$16,40 \pm 1,13$	$23,89 \pm 0,58$
9	$4,16 \pm 0,56$	$14,43 \pm 0,73$	$23,93 \pm 0,59$
11	$3,66 \pm 0,13$	$13,95 \pm 0,18$	$17,14 \pm 0,43$
EDTA	$95,66 \pm 0,01$	$95,80 \pm 0,02$	$96,14 \pm 0,05$
GA	$15,51 \pm 0,08$	$18,96 \pm 0,34$	$24,35 \pm 0,15$
BHA	$11,55 \pm 0,03$	$17,47 \pm 0,12$	$22,44 \pm 0,14$

EDTA: *Etilendiamintetraasetik asit*, **GA:** *Gallik asit*, **BHA:** *Bütirilhidroksianisol*



Şekil 23. Bileşiklerin ve standartın değişik konsantrasyonlardaki metal şelat bağlama değerleri

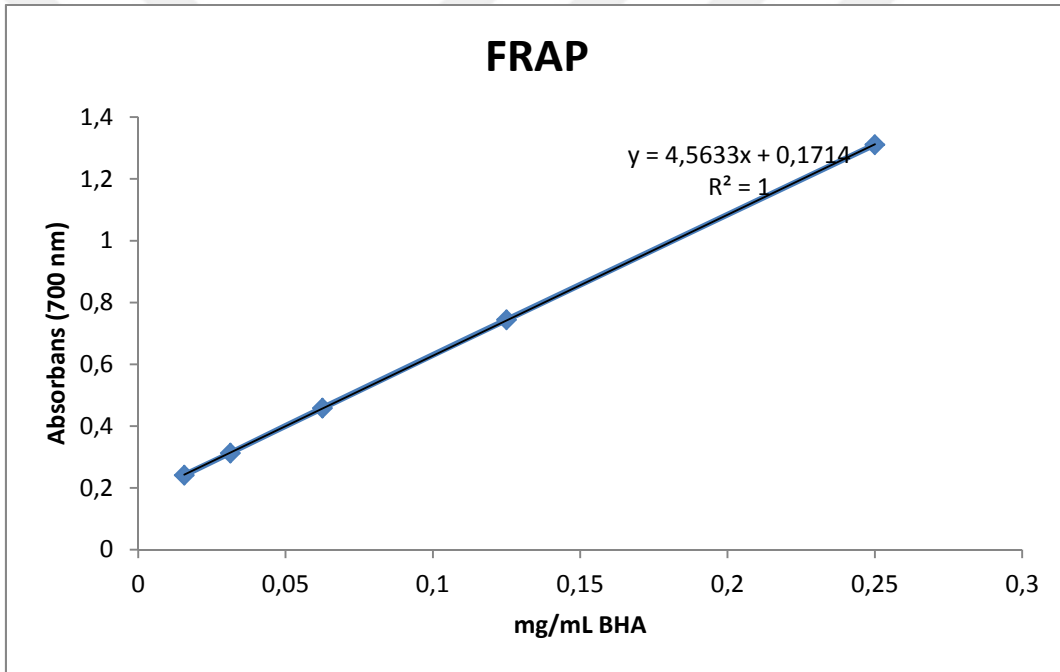
3.3.5. Demir İndirgeyici Antioksidan Kapasite Ölçümü (FRAP) Belirlenmesi

Demir indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi bileşiklerin antioksidan potansiyellerini belirlemek için oldukça basit bir yöntemdir. Bu çalışmada ilk olarak BHA (0.015625, 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25 mg/mL) standart grafiği oluşturuldu ve bileşiklerin demir indirgeyici kapasiteleri mg BHA /gram numune cinsinden hesaplandı. Bileşiklerin BHA eşdeğeri olarak indirgeyici antioksidan kapasitelerini Tablo 7’de verilmiştir. Bileşiklerin indirgeyici antioksidan kapasiteleri sıralanırsa; **4** (416.91 ± 3.82) > **7** (392.89 ± 3.14) > **6** (291.30 ± 0.84) > **5** (279 ± 4.52) > **9** (278.27 ± 4.41) > **8** (273.16 ± 3.12) > **11** (55.05 ± 2.94) şeklinde olduğu görülmektedir

Tablo 7. Bileşiklerin demir indirgeyici antioksidan kapasitelerinin (FRAP) mg BHA/gram numune cinsinden belirlenmesi

<i>FRAP (700 nm) mg BHA / gram numune</i>	
4	416,91 ± 3,82
5	279 ± 4,52
6	291,30 ± 0,84
7	392,89 ± 3,14
8	273,16 ± 3,12
9	278,27 ± 4,41
11	55,05 ± 2,94

FRAP: Demir İndirgeyici Antioksidan Kapasite, **BHA:** Bütildidroksianisol



Şekil 24. BHA standart grafiği

3.4. Enzim İnhibisyonları

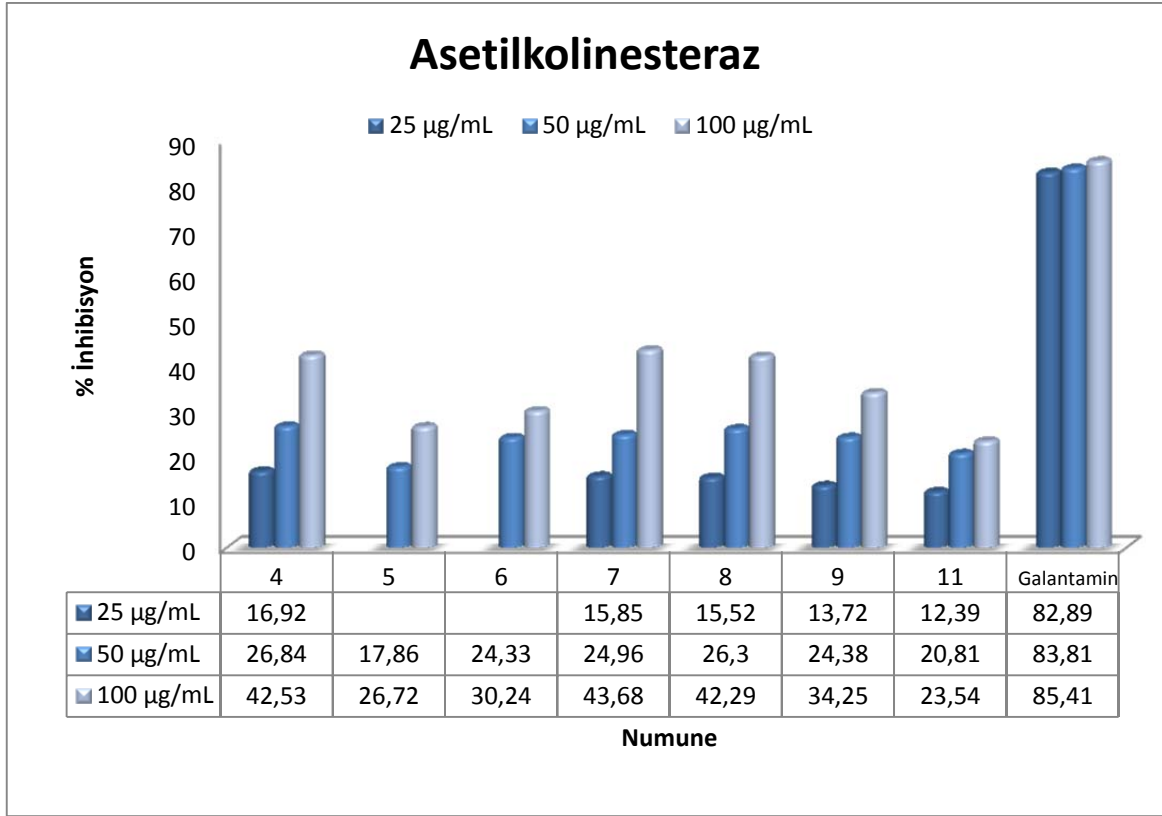
3.4.1. Asetilkolinesteraz Enzimi İnhibisyonu

Alzheimer hastalığı (AD) hafıza kaybı, konuşma zorluğu gibi kavramsal fonksiyonlara zarar veren bir hastalık olarak tanımlanmıştır. AD gelişen ülkelerde artan yaş popülasyonu sebebiyle oldukça önemli bir hale gelmiştir. Asetilkolinesteraz inhibitörleri

kolinerjik hipotez sebebiyle bu hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Kolinerjik hipotez bu hastalık için en çok kabul goren hipotezdir. Bu hastalığın tedavisinde asetilkolinesteraz inhibitörleri kullanılarak beyindeki asetilkolin miktarının artması amaçlanmaktadır. Bu çalışmada yeni sentezlenen pirazolin ve flavon bileşiklerinin asetilkolinesteraz inhibisyonu Elman ve Ingkaninan'nın yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar Tablo 8 ve Şekil 25'de ayrıntılı bir şekilde verilmiştir. Bu çalışmada bileşiklerin AChE inhibisyon yüzdeleri 25 µg/mL, 50 µg/mL ve 100 µg/mL konsantrasyonlarında ölçülmüştür. 100 µg/mL konsantrasyonda en yüksek inhibisyon yüzdesine sahip olan bileşik 7 nolu bileşik ($43,68 \pm 0,22\%$) olmuştur. 25 µg/mL konsantrasyonda ise 5 ve 6 nolu bileşiklerde aktivite gözlenmez iken, 4 ($16,92 \pm 0,37\%$) nolu bileşik ise yine en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Sonuçlar referans olarak kullanılan galantamin ile karşılaştırıldığında, yeni sentezlenen pirazolin ve flavon bileşiklerinin önemli AChE inhibitör potansiyeline sahip olduğu görülmüştür.

Tablo 8. Bileşiklerin ve standartın asetilkolinesteraz inhibisyon değerleri

	<i>25 µg/mL</i>	<i>50 µg/mL</i>	<i>100 µg/mL</i>
4	$16,92 \pm 0,37$	$26,84 \pm 0,24$	$42,53 \pm 1,54$
5	ND	$17,86 \pm 1,19$	$26,72 \pm 1,80$
6	ND	$24,33 \pm 0,75$	$30,24 \pm 0,70$
7	$15,85 \pm 0,86$	$24,96 \pm 0,88$	$43,68 \pm 0,22$
8	$15,52 \pm 1,57$	$26,30 \pm 0,09$	$42,29 \pm 1,99$
9	$13,72 \pm 0,50$	$24,38 \pm 0,83$	$34,25 \pm 0,49$
11	$12,39 \pm 2,90$	$20,81 \pm 0,15$	$23,54 \pm 0,41$
Galantamin	$82,89 \pm 0,22$	$83,81 \pm 0,53$	$85,41 \pm 0,51$



Şekil 25. Bileşiklerin ve standartın asetilkolinesteraz inhibisyon değerleri

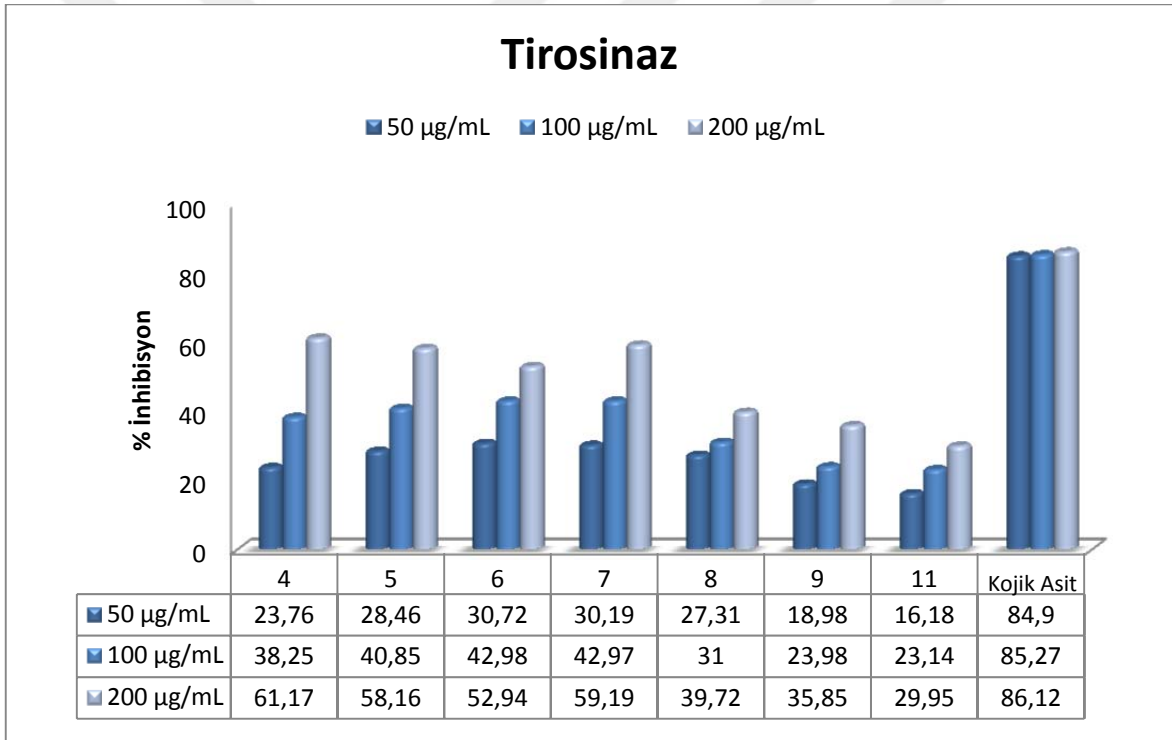
3.4.2. Tirosinaz İnhibisyonu

Parkinson hastalığı beyindeki dopaminerjik nöronların yetersizliğinden kaynaklanan nörodejeneratif hastalıklardan biridir. Tirosinaz enzimi melanin sentezinin oluşumunu sağlarken oluşan melanin, nöromelanin oluşumuna katkıda bulunur. Bu yüzden tirosinaz inhibisyonu bu hastalığın tedavisinde için oldukça önemlidir. Bu amaçla araştırmacılar Parkinson hastalığında kullanılmak üzere yeni inhibitör arayışlarında bulunmaktadır. Bu çalışmada yeni sentezlenen pirazolin ve flavon bileşiklerinin tirosinaz inhibisyonları Masuda ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntemle göre incelenmiştir. Sonuçlar Tablo 9 ve Şekil 26'da ayrıntılı bir şekilde verilmiştir. Bu çalışmada tirosinaz inhibisyonları 50 µg/mL, 100 µg/mL ve 200 µg/mL konsantrasyonlarda çalışılmıştır.

200 µg/mL konsantrasyonda bileşiklerin tirosinaz aktivitesi sıralanırsa; Kojik asit ($86,12 \pm 0,21\%$) > **4** ($61,17 \pm 1,18\%$) > **7** ($59,19 \pm 0,70\%$) > **5** ($58,16 \pm 1,86\%$) > **6** ($52,94 \pm 2,31\%$) > **8** ($39,72 \pm 1,39\%$) > **9** ($35,85 \pm 0,23\%$) > **11** ($29,95 \pm 0,72\%$) şeklinde olduğu görülmektedir

Tablo 9. Bileşiklerin ve standartın asetilkolinesteraz inhibisyon değeri

	<i>50 µg/mL</i>	<i>100 µg/mL</i>	<i>200 µg/mL</i>
4	23,76 ± 1,90	38,25 ± 1,43	61,17 ± 1,18
5	28,46 ± 1,70	40,85 ± 1,65	58,16 ± 1,86
6	30,72 ± 1,85	42,98 ± 1,15	52,94 ± 2,31
7	30,19 ± 0,77	42,97 ± 1,41	59,19 ± 0,70
8	27,31 ± 0,80	31 ± 0,12	39,72 ± 1,39
9	18,98 ± 0,67	23,98 ± 0,62	35,85 ± 0,23
11	16,18 ± 0,62	23,14 ± 0,10	29,95 ± 0,72
Kojik Asit	84,90 ± 0,42	85,27 ± 0,25	86,12 ± 0,21

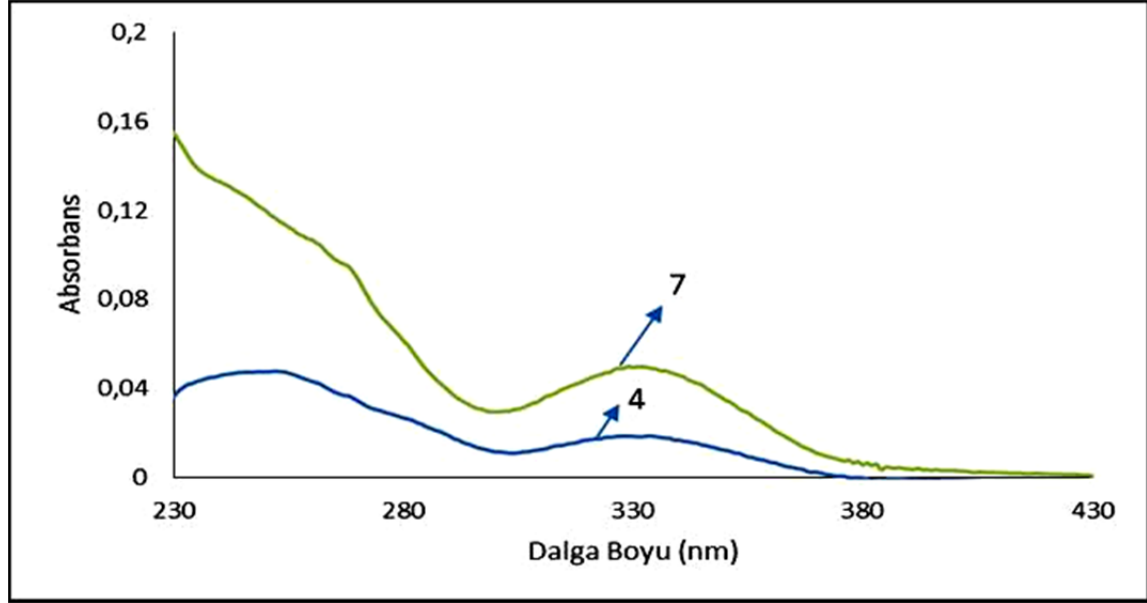


Şekil 26. Bileşiklerin ve standartın tirozinaz inhibisyonun değeri

3.5. Floresans Ölçüm Sonuçları

Çalışmada sentezlenen yeni bileşiklerin UV-Vis absorpsiyon ve floresans spektrumları alındı. Bunun için kısmi sulu ortamlar tercih edildi. Bileşiklerin metanoldeki çözünürlükleri çok iyi olduğundan öncelikle bu çözücü ligandları çözmek için kullanıldı. Bununla beraber yeni bileşiklerin analitik amaçlı ligandlar olarak tayin metotlarında

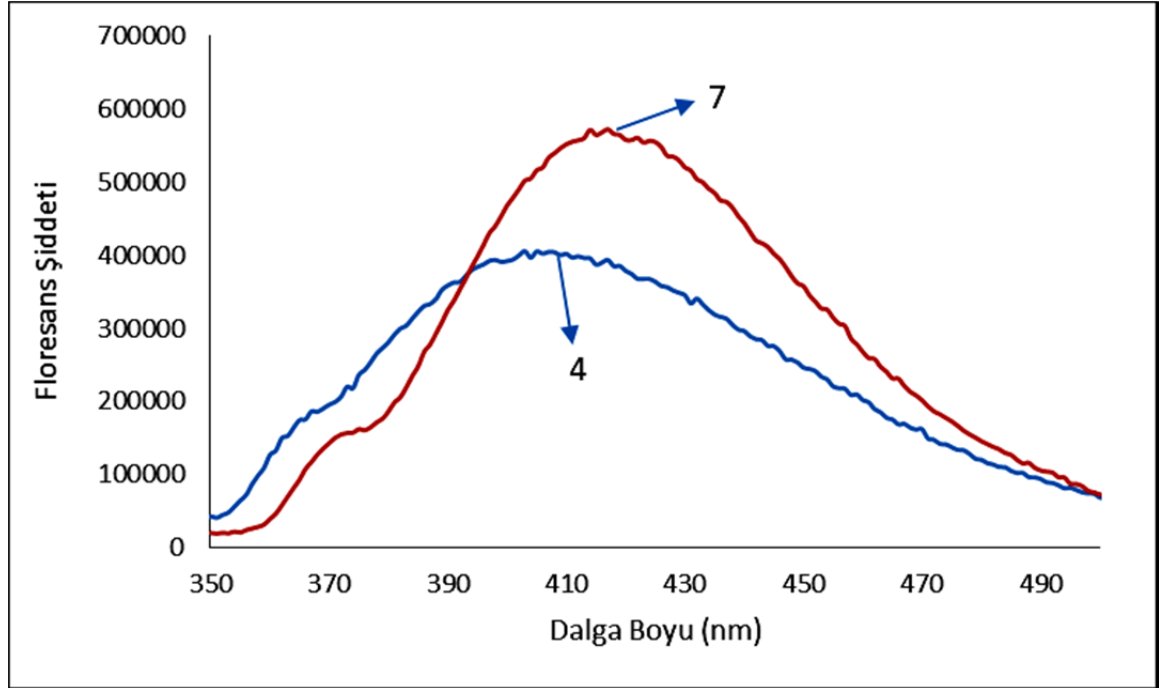
kullanılma ihtimali doğrultusunda bahsedilen spektrumlar metanol/su ortamında alındı. Şekil 27-34 arasında gösterilen şekiller yeni bileşiklerin UV-Vis absorpsiyon ve floresans spektrumlarını göstermektedir.



Şekil 27. 4 ve 7 Nolu bileşiklerin UV-Vis absorpsiyon spektrumları. Konsantrasyon: $1,29 \times 10^{-5} M$. Çözücü: metanol/su (1/1)

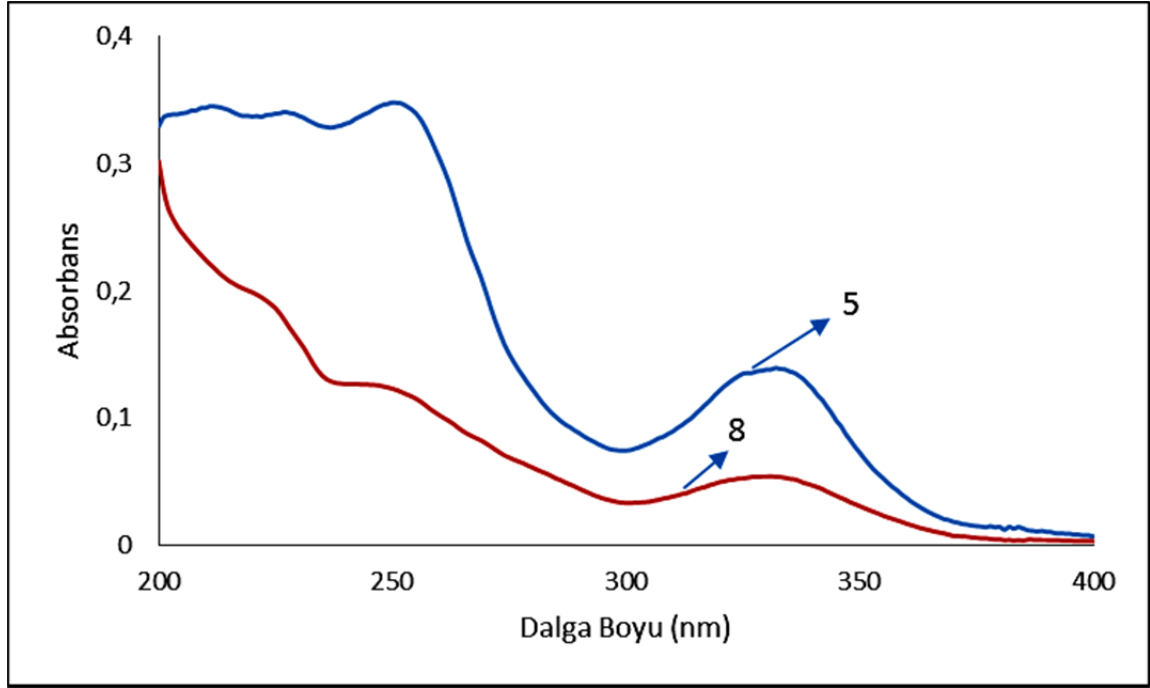
Şekil 27'de görüldüğü gibi 4 nolu bileşik 330 nm'de maksimum absorpsiyon vermektedir. Molar absorplama katsayısı $1.5 \times 10^3 L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ 'dir. Bu bileşiğin bordiflorür kompleksi olan 7 nolu bileşik ise aynı dalga boyunda maksimum absorpsiyon vermektedir. Ancak bu dalga boyundaki molar absorplama katsayısı $3.9 \times 10^3 L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ 'dir. Yani bordiflorür kompleksi olan 7'nin absorpsiyon özelliği 4 bileşiğine göre daha fazladır. Bu özellik spektrumun tüm aralığındaki dalga boyları için geçerlidir. Normalde BF_2 ile oluşan altılı şelat yapıya sahip 7 bileşiğinde pirazolin halkasındaki C=N azotu üzerindeki ortaklanmamış elektron çiftinin bor atomu tarafından kullanılması sonucunda $n \rightarrow \pi^*$ geçişi ihtimali azalmıştır. Bundan dolayı 7 nolu bileşikte 330 nm merkezli olan pikin absorpsiyon şiddetinin azalması beklenebilirdi. Ancak tersine absorpsiyon şiddeti 7 nolu bileşikte artmıştır. Bunun nedeni piridin halkasındaki azot atomunun pirazolin halkasına olan konumunun orto konumu olmasıdır. Böylece piridin azotu ile pirazolin halkasının NH protonu arasında bir hidrojen bağı oluşması pirazolin halkasındaki C=N azotunun elektron yoğunluğunu artıracaktır. Bu da $n \rightarrow \pi^*$ geçişi ihtimalini artıracaktır. Dolayısıyla 7 nolu

bileşikte beklenenin aksine 330 nm odaklı bandın absorpsiyon şiddetinin artmasına sebep olacaktır.



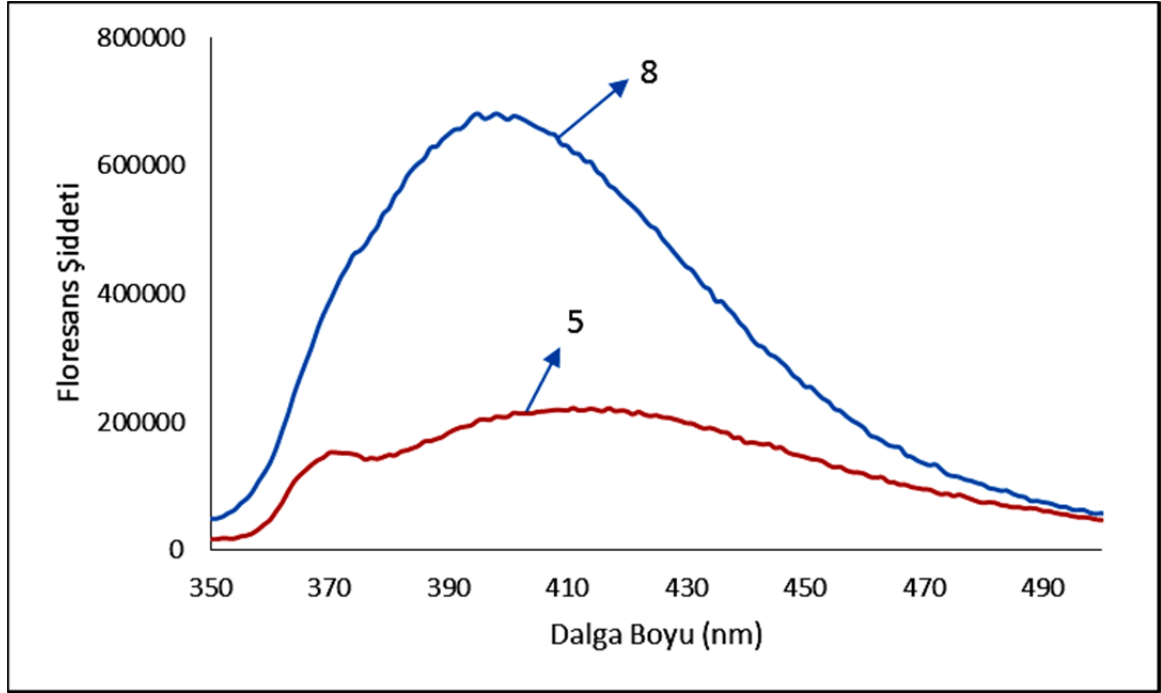
Şekil 28. 4 ve 7 Nolu bileşiklerin floresans spektrumları. Konsantrasyon: $1,29 \times 10^{-5} M$. Çözücü: metanol/su (1/1)

Şekil 28'den görüldüğü gibi 4 nolu bileşik 407 nm'de maksimum emisyon vermektedir. Bu bileşiğin bordiflorür kompleksi olan 7 nolu bileşik ise daha yüksek floresans şiddetine sahiptir ve 10 nm'lik bir kırmızıya kayma göstermektedir. Floresans şiddetinde % 41 artış olmuştur. Floresans şiddetindeki bu artış bortriflorür ile oluşan altılı şelat halkası molekülün esnekliğini azaltmaktadır. Böylece rijit molekülün oluşumu 7 nolu bileşiğin floresans şiddetini artırmaktadır. Benzer durumların örnekleri literatürden bilinmektedir (Qiong, 2012). Kırmızıya kaymanın nedeni piridin halkasındaki orto pozisyonundaki azot atomudur. Azot atomu üzerindeki ortaklanmamış elektron çiftleri halkanın molekülün elektron delokalizasyonuna katkı sağlamaktadır. Bu da floresans emisyonunu kolaylaştırmakta ve emisyon dalga boyunu artırmaktadır.



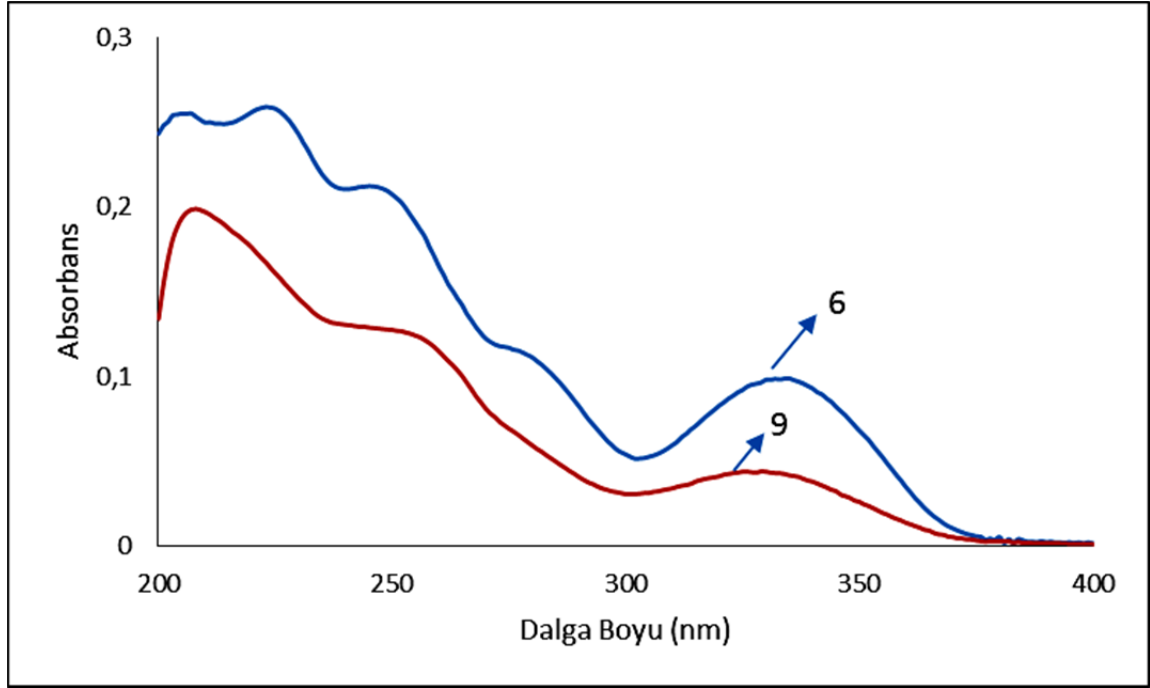
Şekil 29. 5 ve 8 Nolu bileşiklerin UV-Vis absorpsiyon spektrumları. Konsantrasyon: $1,29 \times 10^{-5} M$. Çözücü: metanol/su (1/1)

Şekil 29'dan görüldüğü gibi **5** nolu bileşik 330 nm'de maksimum absorpsiyon vermektedir. Molar absorplama katsayısı $1.1 \times 10^4 L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ 'dir. Bu bileşiğin bordiflorür kompleksi olan **8** nolu bileşik ise aynı dalga boyunda maksimum absorpsiyon vermektedir. Ancak bu dalga boyundaki molar absorplama katsayısı $4.1 \times 10^3 L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ 'dir. Yani bordiflorür kompleksi olan **8** nolu bileşik **5** nolu bileşiğe göre daha düşük absorplama kabiliyetine sahiptir. Bu durum bütün dalga boyu aralığı için geçerlidir. **5** ve **8** nolu bileşikler için elde edilen bu sonuç **4** ve **7** nolu bileşikler için elde edilenlerden tamamen farklıdır. Bu durum piridin halkasındaki azot atomunun pozisyonu ile ilgilidir. BF_2 ile oluşan altılı şelat yapı pirazolin halkasındaki $C=N$ azotu üzerindeki ortaklanmamış elektron çiftinin bor atomu tarafından kullanılması sonucunda $n \rightarrow \pi^*$ geçişi ihtimali azalmıştır. Bundan dolayı **7** nolu bileşikte 330 nm merkezli olan pikin absorpsiyon şiddeti azalmıştır.



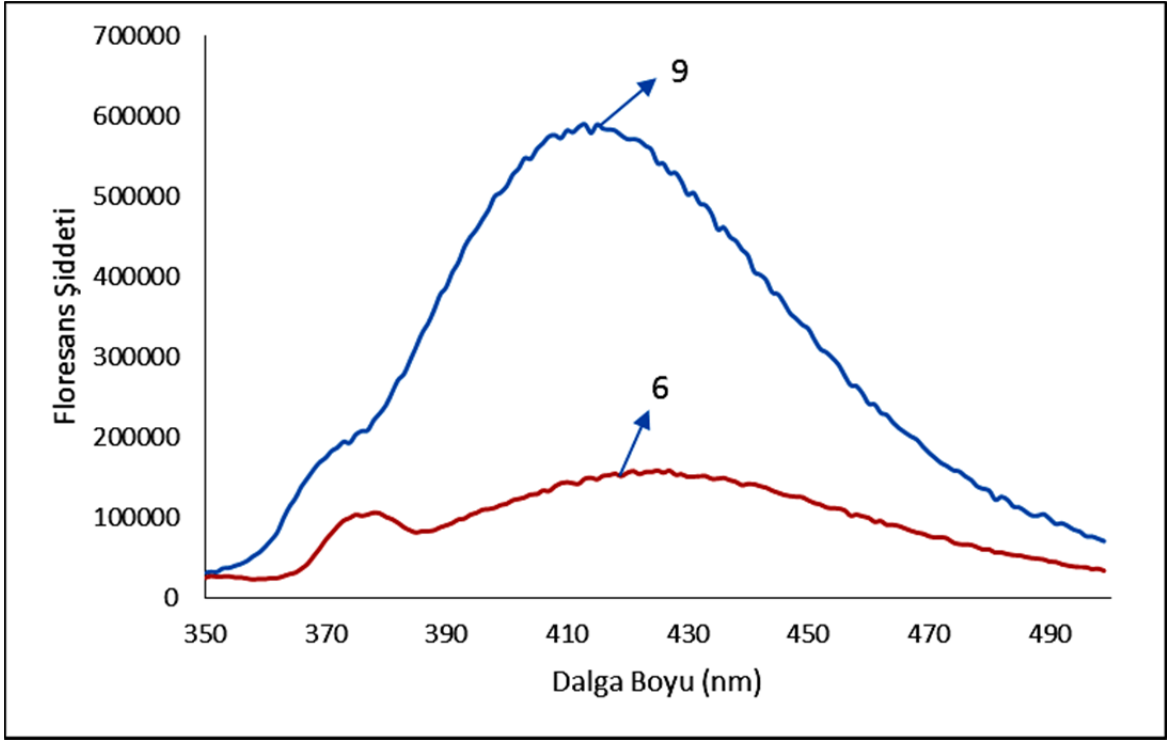
Şekil 30. 5 ve 8 Nolu bileşiklerin floresans spektrumları. Konsantrasyon: $1,29 \times 10^{-5} M$. Çözücü: metanol/su (1/1)

Şekil 30'dan görüldüğü gibi 5 nolu bileşik 414 nm'de maksimum emisyon vermektedir. Bu bileşiğin bordiflorür kompleksi olan 8 nolu bileşik ise daha yüksek floresans şiddetine sahiptir. Floresans şiddetinde % 67 artış olmuştur. Bununla birlikte 7 bileşiğinin aksine 8 bileşiğinin floresans spektrumu 5 bileşiğinininkiyle karşılaştırıldığında 13 nm'lik bir maviye kayma göstermektedir. Bunun sebebi 8 bileşiğinde piridin halkasındaki azot atomunun meta pozisyonunda olması ve dolayısıyla pirazolin halkasına uzak konumundan dolayı elektron çiftinin pirazolin halkasının elektron yoğunluğunu artırmasında yetersiz kalması olabilir. Bu nedenle konjugasyon azalmıştır ve bu da emisyon şiddetinin daha yüksek enerjiye ya da maviye kaymasına sebep olmuştur.



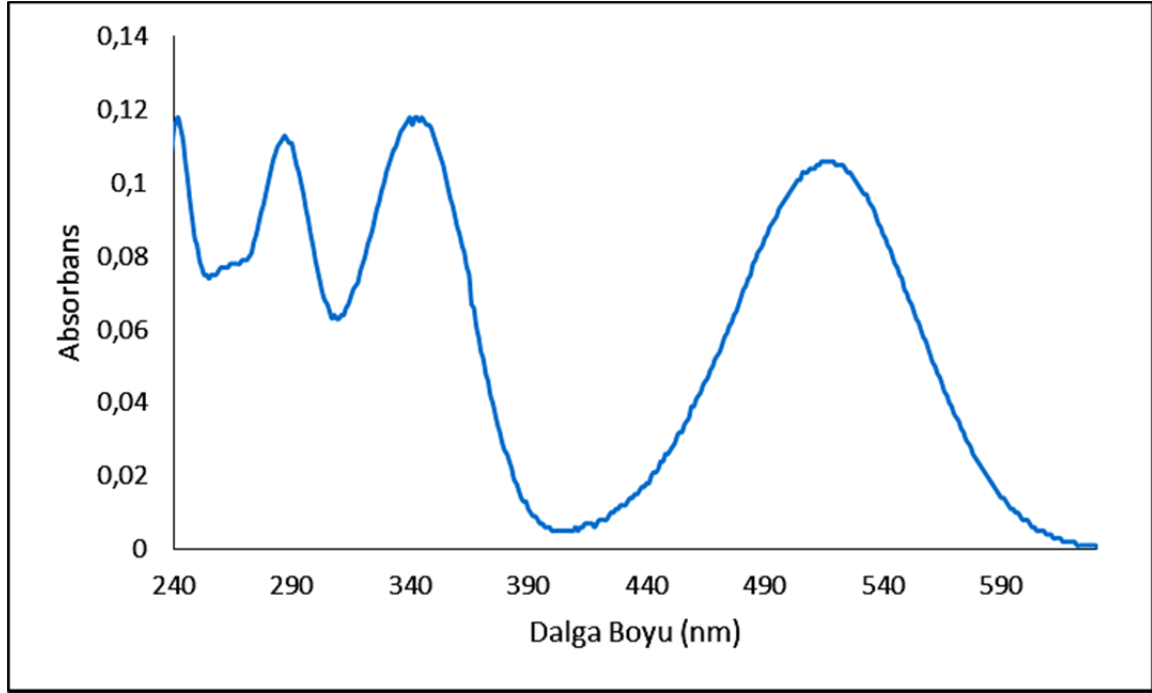
Şekil 31. 6 ve 9 Nolu bileşiklerin UV-Vis absorpsiyon spektrumları. Konsantrasyon: $1,29 \times 10^{-5} \text{M}$. Çözücü: metanol/su (1/1)

Şekil 31'den görüldüğü gibi 6 nolu bileşik 333 nm'de maksimum absorpsiyon vermektedir. Molar absorplama katsayısı $7.6 \times 10^3 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ 'dir. Bu bileşiğin bordiflorür kompleksi olan 9 nolu bileşik ise hemen hemen aynı dalga boyunda maksimum absorpsiyon vermektedir. Ancak bu dalga boyundaki molar absorplama katsayısı $3.3 \times 10^3 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ 'dir. Bu sonuç 5-8 bileşiklerinin durumuna benzemektedir. Sebebi de 5 ve 8 nolu bileşikler için açıklanan duruma benzerdir.



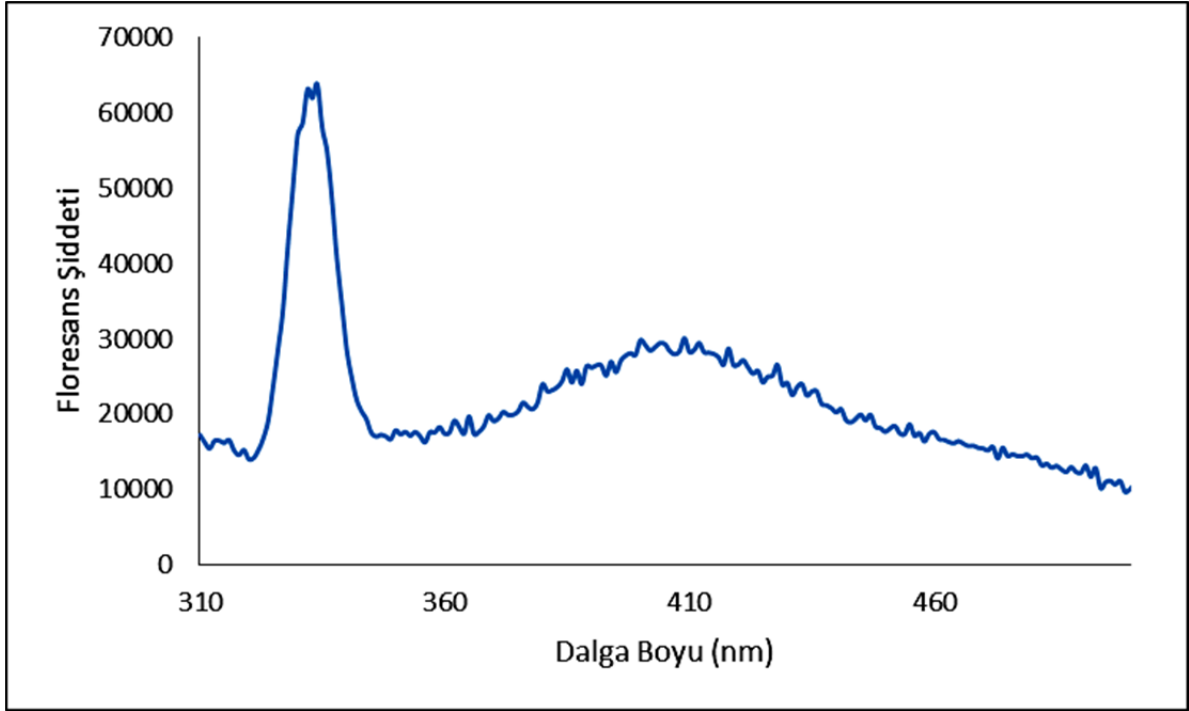
Şekil 32. 6 ve 9 Nolu bileşiklerin floresans spektrumları. Konsantrasyon: $1,29 \times 10^{-5} M$. Çözücü: metanol/su (1/1)

Şekil 32'den görüldüğü gibi 6 nolu bileşik 424 nm'de maksimum emisyon vermektedir. Bu bileşiğin bordiflorür kompleksi olan 9 nolu bileşik ise daha yüksek floresans şiddetine sahiptir ve 8 nm'lik bir maviye kayma göstermektedir. Floresans şiddetinde ise % 73 artış olmuştur. Bunun sebebi 9 bileşiğinde piridin halkasındaki azot atomunun para pozisyonunda olması ve dolayısıyla pirazolin halkasına uzak konumundan dolayı elektron çiftinin pirazolin halkasının elektron yoğunluğunu artırmasında yetersiz kalması olabilir. Bu nedenle kongugasyon azalmıştır ve bu da emisyon şiddetinin daha yüksek enerjiye ya da maviye kaymasına sebep olmuştur.



Şekil 33. 11 Nolu bileşiğin UV-Vis absorpsiyon spektrumu

Çalışmada absorpsiyon ve floresans spektrumları incelenen bir diğer yapı **11** nolu bileşiktir. Bu bileşik diğerlerinden farklı olarak bir flavanoid bileşiğinin bordiflorür kompleksidir. Şekil 33'den görüldüğü gibi diğer bileşiklerden farklı olarak 520 nm'de bir absorpsiyon bandı daha vermektedir. Bu band karbonil oksijenine ait ortaklanmamış elektron çiftinin $n \rightarrow \pi^*$ geçişi ile ilgilidir. Molar absorplama katsayısı $8.1 \times 10^4 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ 'dir. 347 nm'deki pikin molar absorplama katsayısı ise $8.9 \times 10^4 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ 'dir.

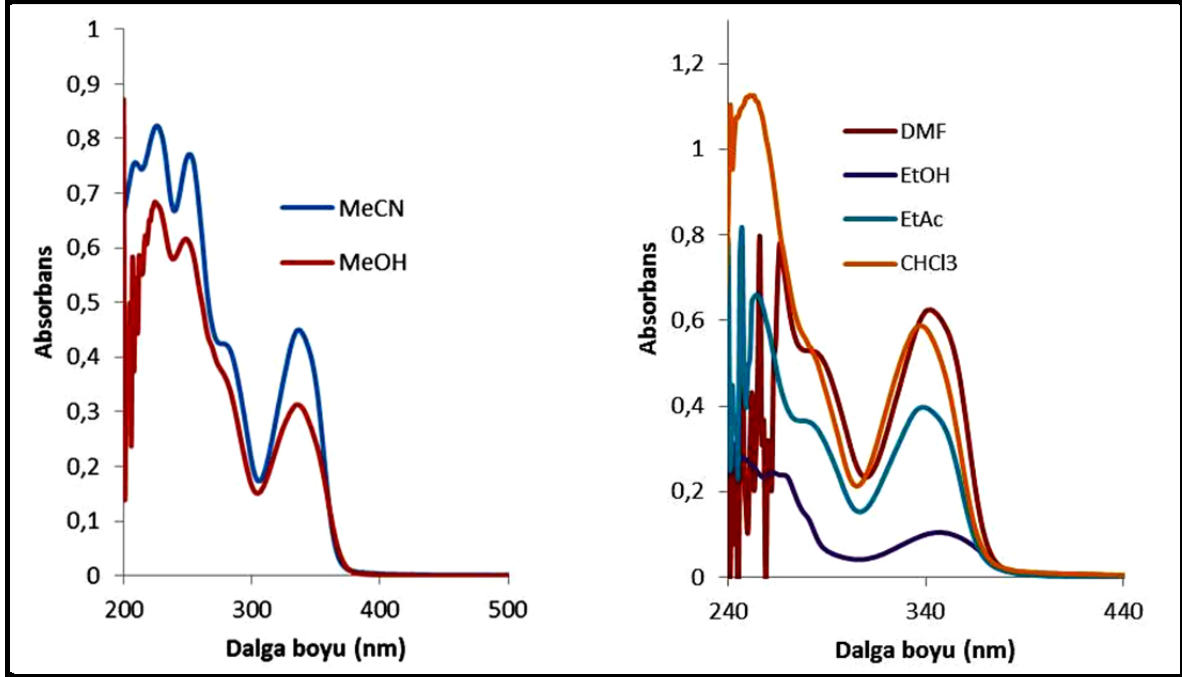


Şekil 34. 11 Nolu bileşiğin floresans spektrumu. Uyarıcı dalga boyu 300 nm.

Şekil 34, **11** nolu bileşiğin floresans spektrumunu göstermektedir. Uyarma dalga boyu olarak 300 nm'deki ışın kullanılmıştır. Şekil 34'den görüldüğü gibi **11** nolu bileşik 333 ve 408 nm'lerde iki emisyon piki vermektedir. 333 nm'deki pikin şiddeti daha yüksektir.

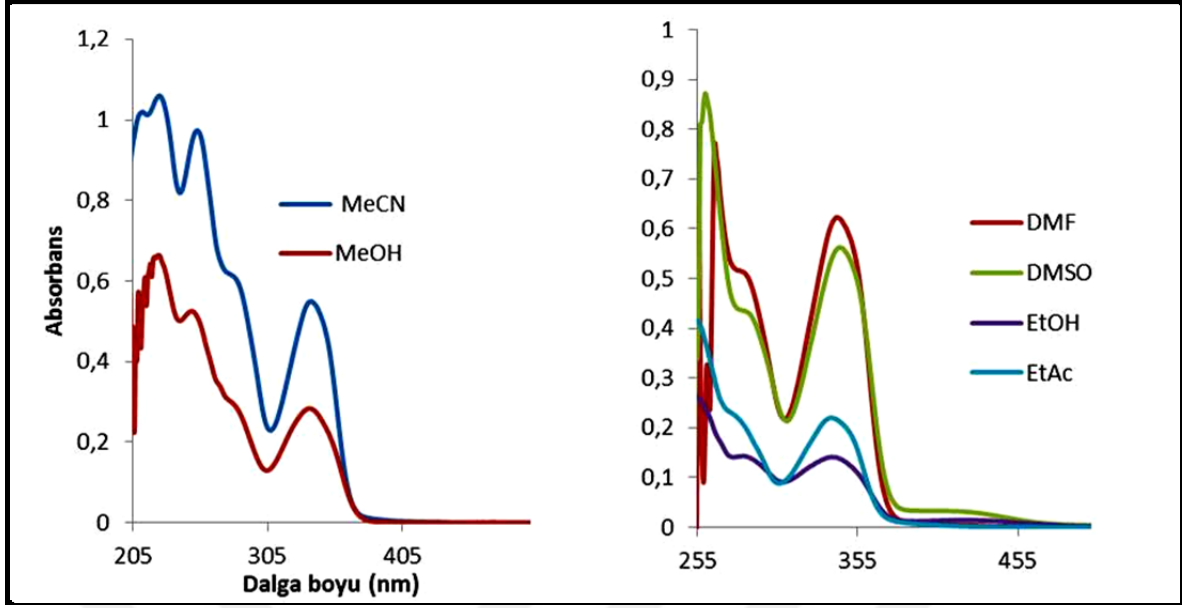
3.6. UV-Vis Absorpsiyon Spektrumu Üzerine Çözücü Etkisinin İncelenmesi

Sentezlenen 7 adet bileşiğin farklı çözücülerde aynı molaritedeki çözeltilerinin UV-Vis spektrumları alındı. Bileşiklerin çözücülerdeki kararlılıkları, çakıştırılmalı spektrumlarda çözücüden meydana gelen olası absorpsiyon farklılıkları araştırıldı.



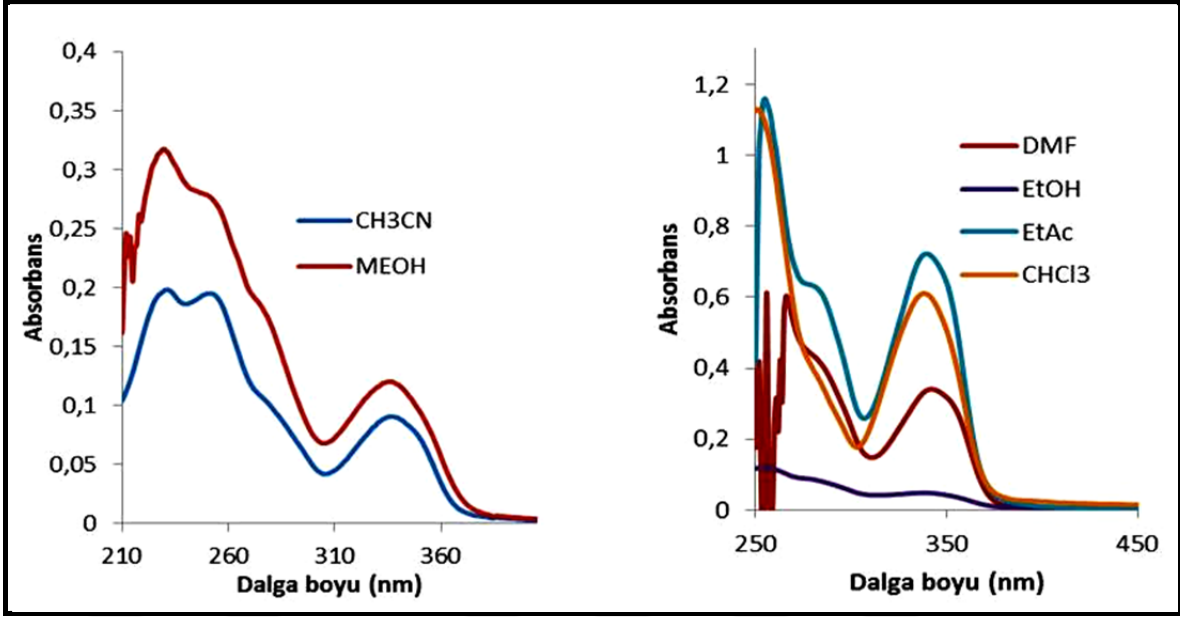
Şekil 35. 4 Nolu bileşiğin UV-Vis absorpsiyon spektrumu üzerine çözücü etkisi ($6.30 \times 10^{-5} \text{ M}$)

Şekil 35, 4 nolu bileşiğin $6.30 \times 10^{-5} \text{ M}$ çözeltisinin çeşitli çözücülerdeki UV-Vis. Absorpsiyon spektrumlarını göstermektedir. Şekil 35'den görüldüğü gibi incelenen çözücüler arasında metanol, asetonitril, etilasetat ve kloroformda yaklaşık 341 nm'de bir absorpsiyon piki vermektedir. Bununla birlikte dimetilformamid için bu pikte 5 nm, etanolde ise 10 nm kırmızıya kayma gözlenmektedir. Bu dalga boyundaki absorpsiyonun şiddeti dimetil formamid için en yüksektir. Bu durumdaki molar absorplama katsayısı $9.8 \times 10^3 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ 'dir. İlginç bir şekilde etanolde en düşük molar absorpsiyon görülmektedir. Etanol için molar absorplama katsayısı $1.6 \times 10^3 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ 'dir.



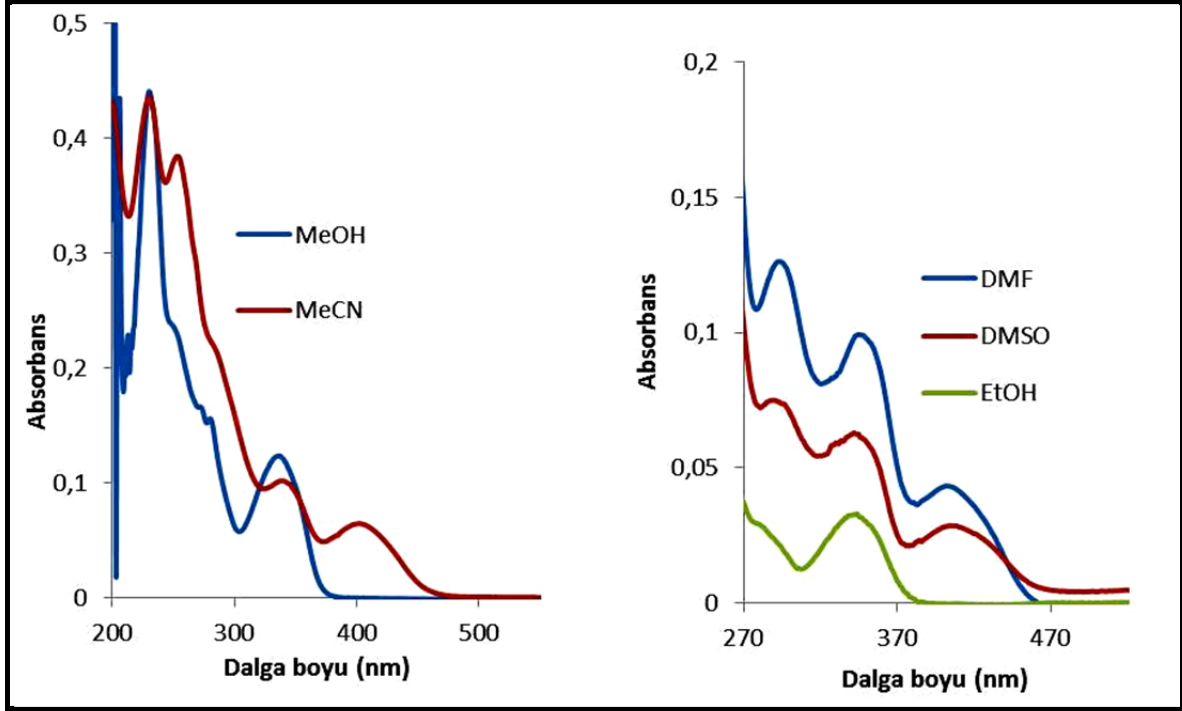
Şekil 36. 5 Nolu bileşiğin UV-Vis absorpsiyon spektrumu üzerine çözücü etkisi (6.30×10^{-5} M)

Şekil 36, 5 nolu bileşiğin 6.30×10^{-5} M çözeltisinin çeşitli çözücülerdeki UV-Vis. Absorpsiyon spektrumlarını göstermektedir. Şekil 36'dan görüldüğü gibi incelenen çözücüler (metanol, asetonitril, etilasetat, etanol ve dimetilformamidde ve kloroform) bir iki nm farklılıkla 340-345nm arasında absorpsiyon piki vermektedirler. Bu sonuç çözücü polaritesinin 5 nolu bileşiğin absorpsiyon özelliklerinde önemli bir farklılığa sebep olmadığını göstermektedir. Şekil 35 ve Şekil 36 karşılaştırıldığında bu dalga boyunda sadece etil asetat için absorpsiyon şiddetinde önemli değişiklik vardır. 5 nolu bileşik için molar absorplama katsayısı 4 nolu bileşiğe göre etilasetat durumunda yaklaşık %50 azalmıştır. Asetonitril durumunda ise diğer çözücülerde hemen hemen aynı kalmıştır.



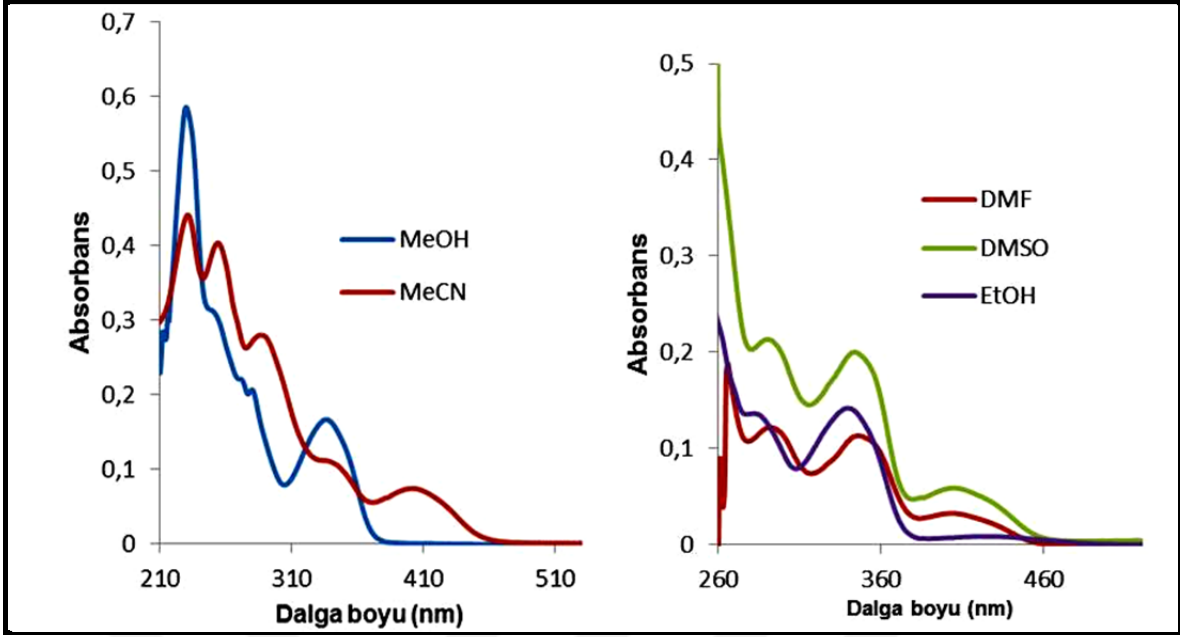
Şekil 37. 6 Nolu bileşiğin UV-Vis absorpsiyon spektrumu üzerine çözücü etkisi (6.30×10^{-5} M)

Şekil 37, 6 nolu bileşiğin 6.30×10^{-5} M çözeltisinin çeşitli çözücülerdeki UV-Vis. Absorpsiyon spektrumlarını göstermektedir. Şekil 37'den görüldüğü gibi çözücülerin 6 nolu bileşiğin absorpsiyon spektrumu üzerindeki etkisi 4 ve 5 nolu bileşiklerinkinden oldukça farklıdır. Çözücüler 345 nm odaklı absorpsiyon bandında önemli bir kaymaya sebep olmamakla birlikte 4 ve 5 nolu bileşiklerin aksine metanolde 340 nm'deki absorpsiyon şiddeti asetonitrildekine göre daha yüksektir. Bununla birlikte absorpsiyonun şiddeti 5 nolu bileşik için bu iki çözücü durumunda da 4 ve 5 nolu bileşiklerdeki duruma göre önemli ölçüde azalmıştır. Bu azalma metanol ve etanol durumunda %60'tan fazladır. DMF için % 50 azalma gözlenirken asetonitril için ise %80'den fazladır. Kloroform için bu üç bileşiğin 340 nm'deki absorpsiyon şiddeti neredeyse aynı kalırken etilasetat durumunda 6 nolu bileşik için bu dalga boyunda absorpsiyon şiddeti 5 nolu bileşiğe göre %70 artmıştır. Oysa 4 nolu bileşiğe göre sadece %42 artmıştır. Bu sonuç etilasetat için bu bileşiklerin yapısındaki piridin azotunun konumunun bileşiğin molar absorplama özelliklerinde değişikliğe sebep olduğunu göstermektedir.



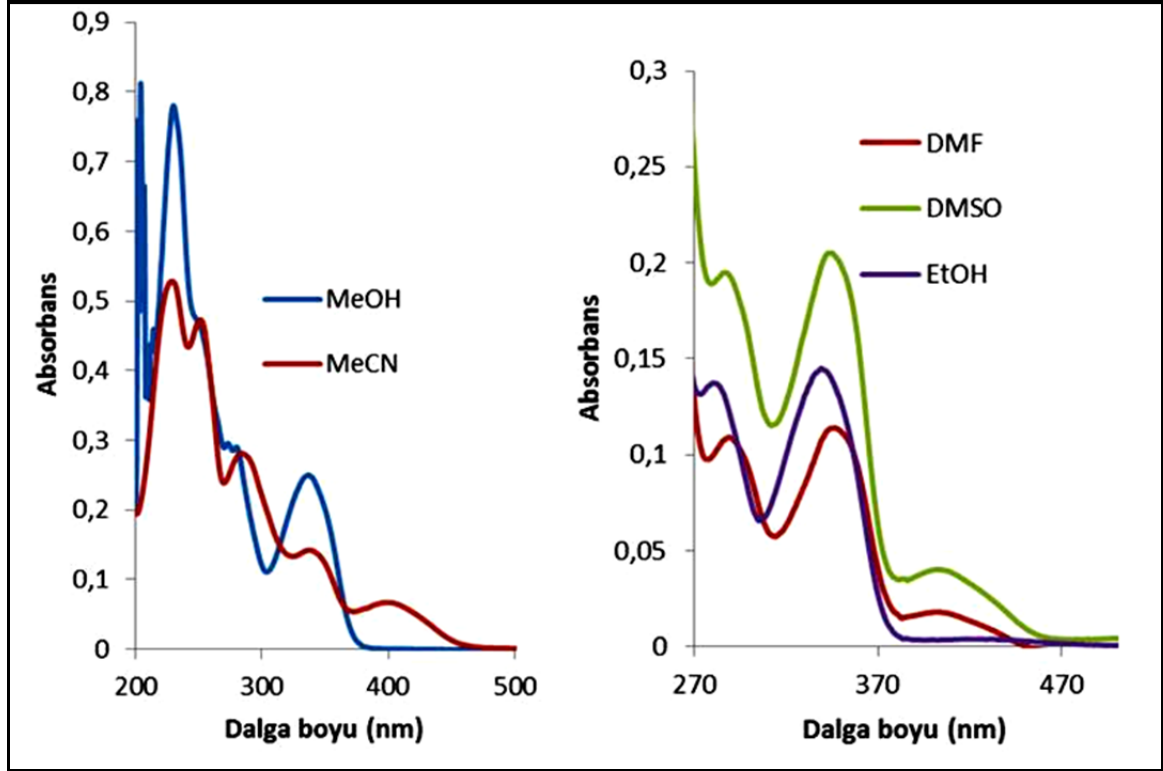
Şekil 38. 7 Nolu bileşiğin UV-Vis absorpsiyon spektrumu üzerine çözücü etkisi (5.25×10^{-5} M)

Şekil 38, 7 nolu bileşiğin 5.25×10^{-5} M çözeltisinin çeşitli çözücülerdeki UV-Vis. Absorpsiyon spektrumlarını göstermektedir. Şekil 38'den görüldüğü 7 nolu bileşiğin metanoldeki spektrumu bu bileşiğin başlangıç maddesi 4 nolu bileşik için metanoldeki spektrumla benzerdir. Sadece 340 nm'deki absorpsiyonun şiddeti borfriflorür kompleksi 7 için 4'e göre yaklaşık %50 azalmıştır. Bununla birlikte asetonitril durumunda bu dalga boyundaki pikin absorpsiyon şiddetinde az bir azalmaya ilaveten 410 nm'de yeni bir absorpsiyon piki gözlenmiştir. Bu sonuç literatüre göre bor diflorür bileşikleri için beklenen bir sonuçtur. Etanol için de 340 nm dalga boyunda bir absorpsiyon azalması gözlenirken metanoldekine benzer şekilde yeni bir absorpsiyon piki gözlenmemiştir. Bununla birlikte DMF ve DMSO için asetonitrildeki gibi yaklaşık 410 nm'de yeni absorpsiyon pikleri gözlenmiştir. Ayrıca tüm çözücüler için 340 nm civarındaki pikin absorpsiyon şiddetinde azalmalar gözlenmiştir.



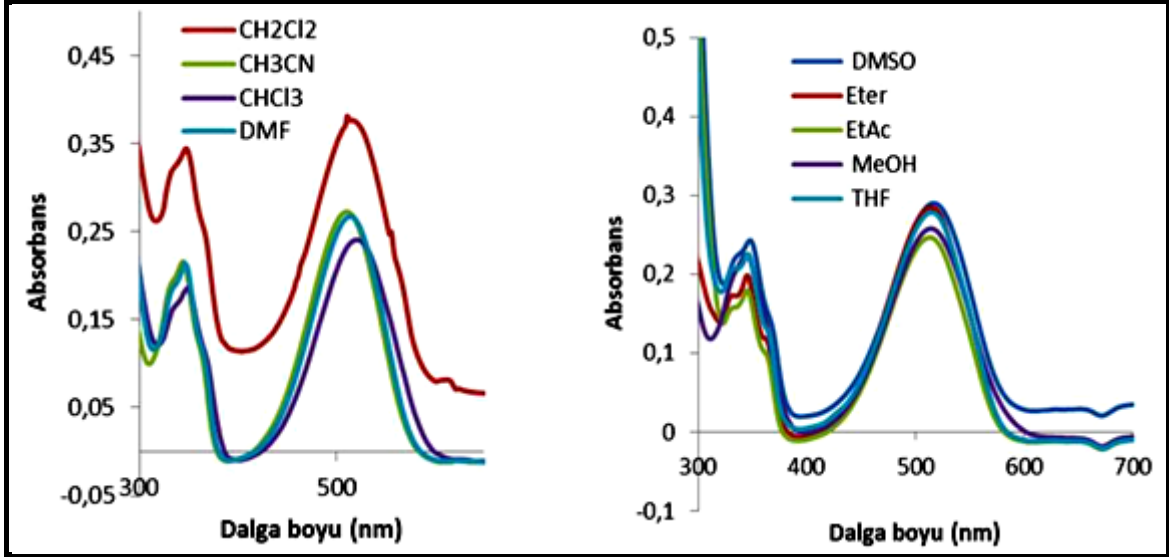
Şekil 39. 8 Nolu bileşiğin UV-Vis absorpsiyon spektrumu üzerine çözücü etkisi (5.25×10^{-5} M)

Şekil 39, 8 nolu bileşiğin 5.25×10^{-5} M çözeltisinin çeşitli çözücülerdeki UV-Vis. Absorpsiyon spektrumlarını göstermektedir. Şekil 39'dan görüldüğü gibi metanol ve asetonitrilin 8 nolu bileşiğin absorpsiyon spektrumu üzerine etkisi 7 nolu bileşik için olan duruma benzerdir (Şekil 31). Ancak DMF, DMSO ve etanol için hem 340 nm odaklı pikin hem de 410 nm deki yeni pikin absorpsiyon şiddetleri 7 nolu bileşiğe göre daha yüksektir. Özellikle etanol durumunda 410 nm'de 7 bileşiği için gözlenmeyen yeni pik 8 nolu bileşik için çok düşük absorpsiyon şiddeti göstermekle birlikte farkedilmektedir. Bu sonuç bordiflorür komplekslerinde piridin azotunun konumunun yine bileşiklerin absorpsiyon özelliklerinde değişikliğe sebep olduğunu göstermektedir.



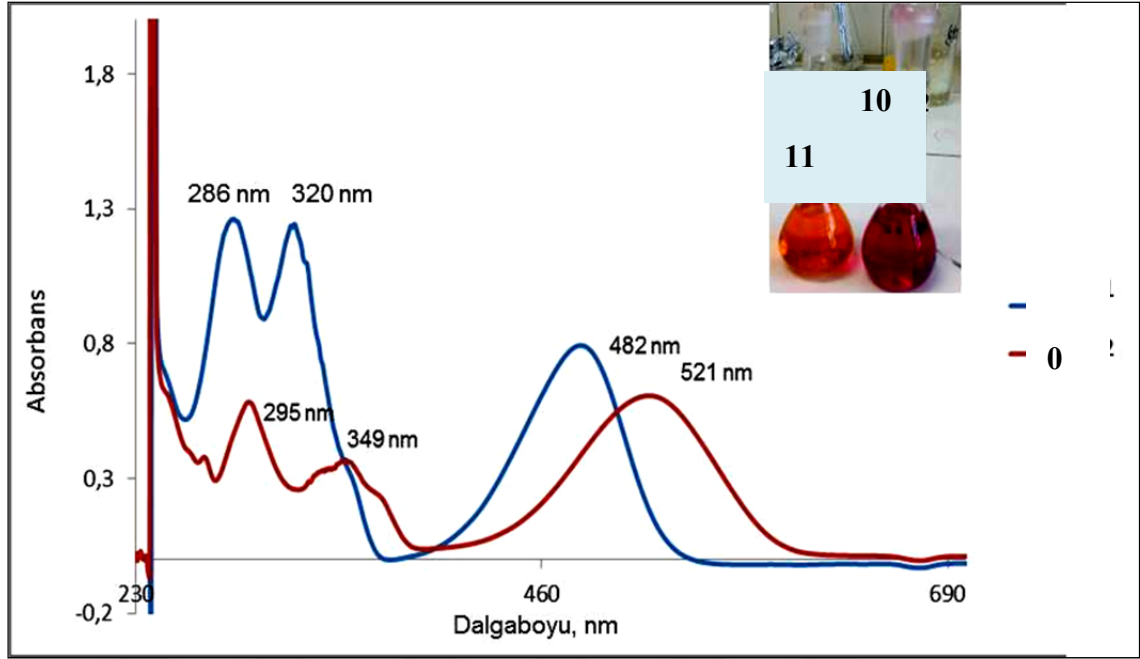
Şekil 40. 9 Nolu bileşiğin UV-Vis absorpsiyon spektrumu üzerine çözücü etkisi (5.25×10^{-5} M)

Şekil 40, 9 nolu bileşiğin 5.25×10^{-5} M çözeltisinin çeşitli çözücülerdeki UV-Vis. Absorpsiyon spektrumlarını göstermektedir. Şekil 40'dan görüldüğü gibi metanol için 340 nm'deki absorpsiyon şiddeti 7 ve 8 nolu bordiflorür komplekslerine göre daha fazladır. Ancak asetonitrilde bu dalga boyundaki absorpsiyon şiddeti her üç bileşik için de hemen hemen aynı kalmıştır. Benzer şekilde diğer bileşiklerde olduğu gibi asetonitril, etanol, DMF ve DMSO için 410 nm'de yeni absorpsiyon pikleri gözlenmiştir. Şekil 39 ve Şekil 40 incelendiğinde bu dalga boylarındaki absorpsiyon şiddetlerinin 8 ve 9 bileşikleri için çok farklı olmadığı görülmektedir. Bu sonuçlar piridin azotunun konumundan çok çözücünün bileşiklerin ana iskeleti üzerinde absorpsiyon özelliklerinde değişikliğe sebep olduğunu göstermektedir.



Şekil 41. 11 Nolu bileşiğin UV-Vis absorpsiyon spektrumu üzerine çözücü etkisi (5.25×10^{-5} M)

11 nolu bileşik diğer bileşiklerden farklı olarak bir flavonoid bileşiği olan 10'un bordiflorür kompleksidir. Şekil 41, 11 nolu bileşiğin 2.50×10^{-5} M çözeltisinin çeşitli çözücülerdeki UV-Vis. absorpsiyon spektrumlarını göstermektedir. Şekil 41' den görüldüğü gibi bileşik 11 yaklaşık 348 ve 524 nm'lerde iki absorpsiyon piki vermektedir. Diklorometan hariç tüm çözücülerin bu dalga boylarındaki absorpsiyon şiddeti üzerine etkisi hemen hemen aynıdır. Diklorometan ise bu dalga boylarında absorpsiyon şiddetinde artışa sebep olmaktadır. Ayrıca kloroform ve DMF durumunda 524 nm'deki absorpsiyon bandında 8 nm'lik bir maviye kayma gözlenmektedir. Bunun dışında önemli bir farklılık gözlenmemektedir. Bununla birlikte Şekil 41 incelendiğinde 10 nolu bileşik ile 11 nolu bileşiğin metanoldeki absorpsiyon spektrumlarının oldukça farklı olduğu görülmektedir. Ayrıca 10 nolu bileşiğin metanoldeki çözeltisi turuncu renkli iken 11 nolu bordiflorür kompleksinin aynı çözücüdeki çözeltisi pembe renklidir.

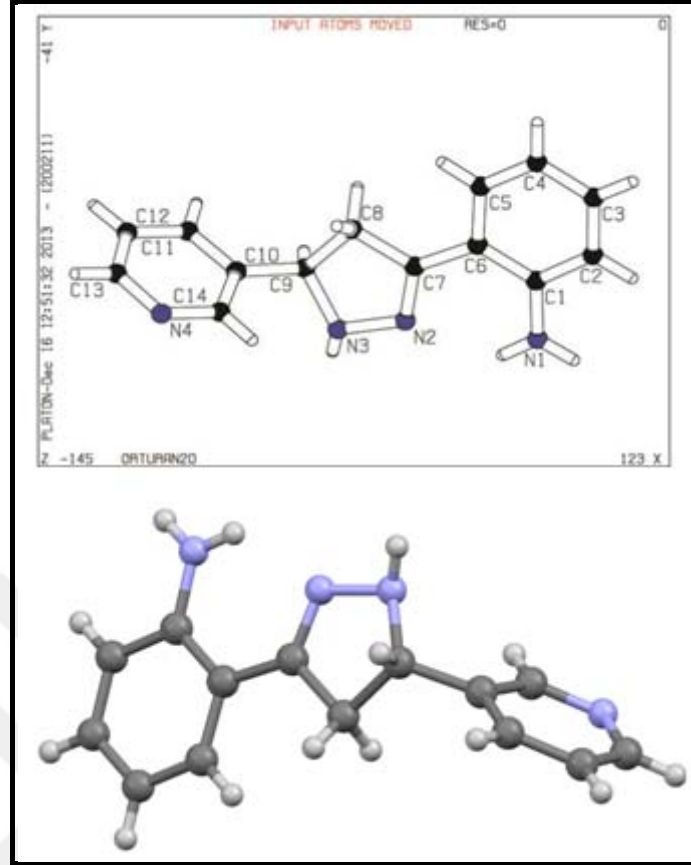


Şekil 42. Kloroformda **10** ve **11** nolu bileşiklerin UV-Vis. Absorpsiyon spektrumlarının karşılaştırılması (Konsantrasyon: 5×10^{-5} M)

Şekil 42'den **10** nolu floavonoid bileşiğinin 286, 320 ve 482 nm'lerde absorpsiyon bandları verdiği görülmektedir. **11** Nolu bordiflorür bileşiği için ise 286 nm'deki band 295 nm'ye, 320 nm'deki bant 349 nm'ye ve 482 nm'deki band ise 521 nm'ye kaymaktadır. Özellikle yüksek dalga boyundaki kırmızıya kayma 39 nm'lik önemli bir kaymadır. Diğer dikkati çeken özellik bu kaymalarla birlikte tüm absorpsiyon bandlarının şiddetindeki azalmalardır. Bu azalmalar özellikle kısa dalga boylarında önemli miktardadır. Uzun dalga boyunda ise % 40'ın altındadır.

3.7. 5 Nolu Bileşiğin X-RAY Analizi

Sentezlenen pirazolin bileşiklerinin çalışmada önerilen tautomer yapısında olduğu ise **5** nolu bileşiğin tek kristal X-Ray analizi sonucu belirlenmiştir.

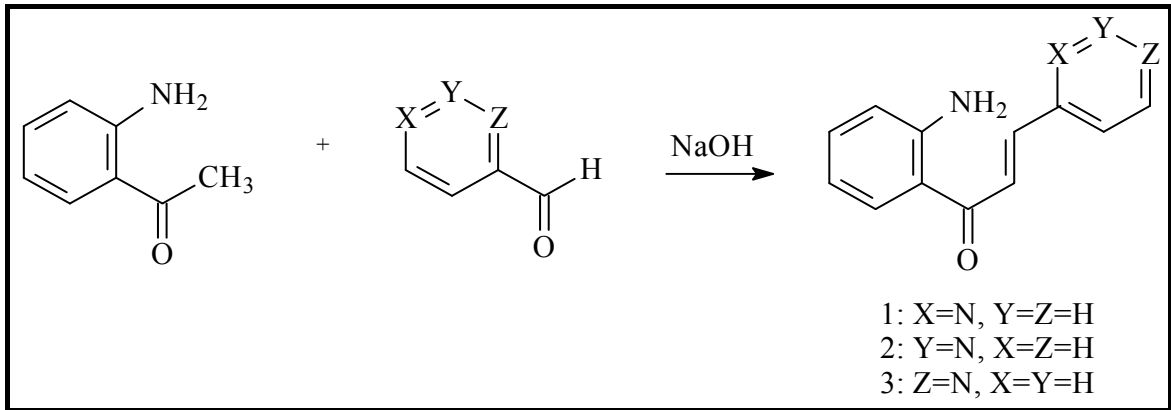


Şekil 43. 5 Nolu bileşiğin tek kristal X-Ray ORTEP diyagramları (Siyah: karbon, C; mavi: azot, N; beyaz: hidrojen, H)

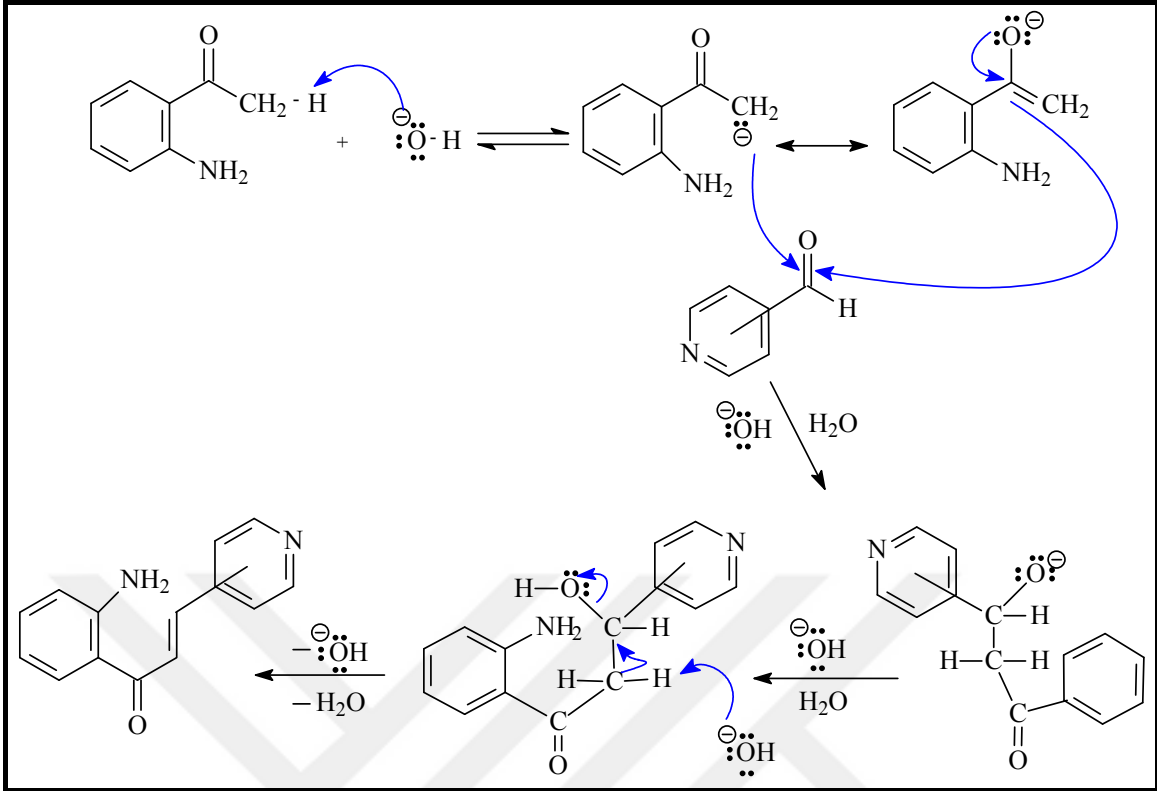
4. TARTIŞMA

Çalışma kapsamında 3,5-disubstitue pirazolin türevleri ve ardından BODIPY bileşiklerine benzer yeni organik bor 3-(2'-aminofenil),5-(2'-/3'-/4'-piridil)pirazolin (BOAPPY) ve bordifloro-1,2'-diazafavon (BODAF) kompleksleri olmak üzere 7 adet bileşik (**4-9, 11**) sentezlendi. Bir sonraki adımda sentezlenen bu bileşiklerin UV absorpsiyonları ve floresans özellikleri ölçüldü, biyolojik aktivite araştırmaları ise antioksidan, enzim inhibisyonu ve disk difüzyon antibakteriyal aktivite tayinleri yapılarak tamamlandı. Bileşiklerin genel olarak antibakteriyal ve antioksidan olarak aktif olduğu görülürken, orta derecede enzim inhibisyon aktivitelerine sahip oldukları belirlendi.

Çalışmanın ilk kısmında 2'-aminoazakalkon (**1-3**) ve 1,2'- diazafavon (**10**) bileşiklerinin sentezi gerçekleştirilmiştir. 2'-aminoazakalkon (**1-3**) Claisen-Schmidt reaksiyonuna göre 2'-amino asetofenonun bazik ortamda 2, 3 ve 4-piridin karboksialdehit ile muamelesi sonucu 2'-amino süstitüe azakalkon (1-3 nolu bileşikler) elde edildi. Reaksiyonun ilk basamağında sodyum hidroksit, keton molekülünün α karbonundan bir proton kopararak rezonans-kararlı bir enolat anyonu oluşturur. Daha sonra enolat anyonu bir nükleofil olarak karbonil karbonuna saldırı yaparak bir alkoksit iyonu oluşturur ve oluşan alkoksit iyonu ortamda var olan su molekülünden bir proton kopararak uzaklaşmasını sağlar. Son basamakta ise oluşan ara üründen bir su molekülünün ayrılması ile istenilen azakalkon bileşiği elde edilir (Solomons ve Frylhle, 2002). Elde edilen bileşiklerin sentezi Şekil 44 ve Şekil 45'de ki oluşum şemalarına göre gerçekleştirilmiştir.

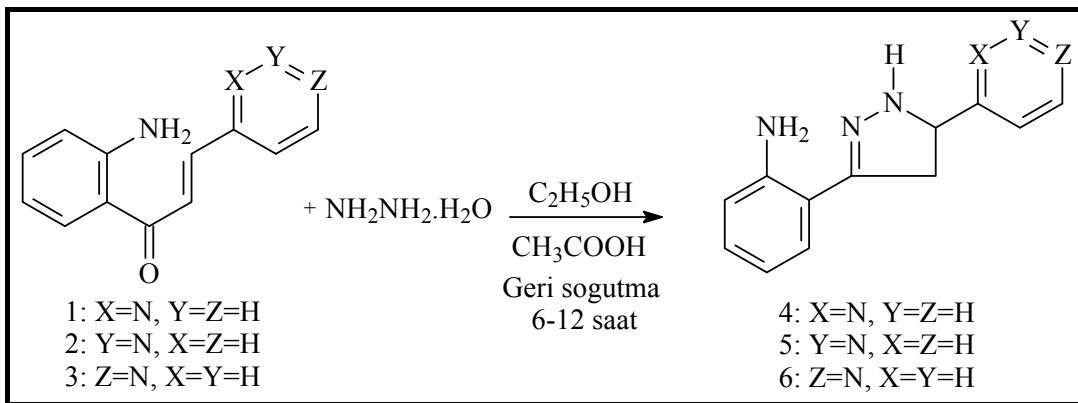


Şekil 44. 1-3 Nolu bileşiklere ait sentez şeması

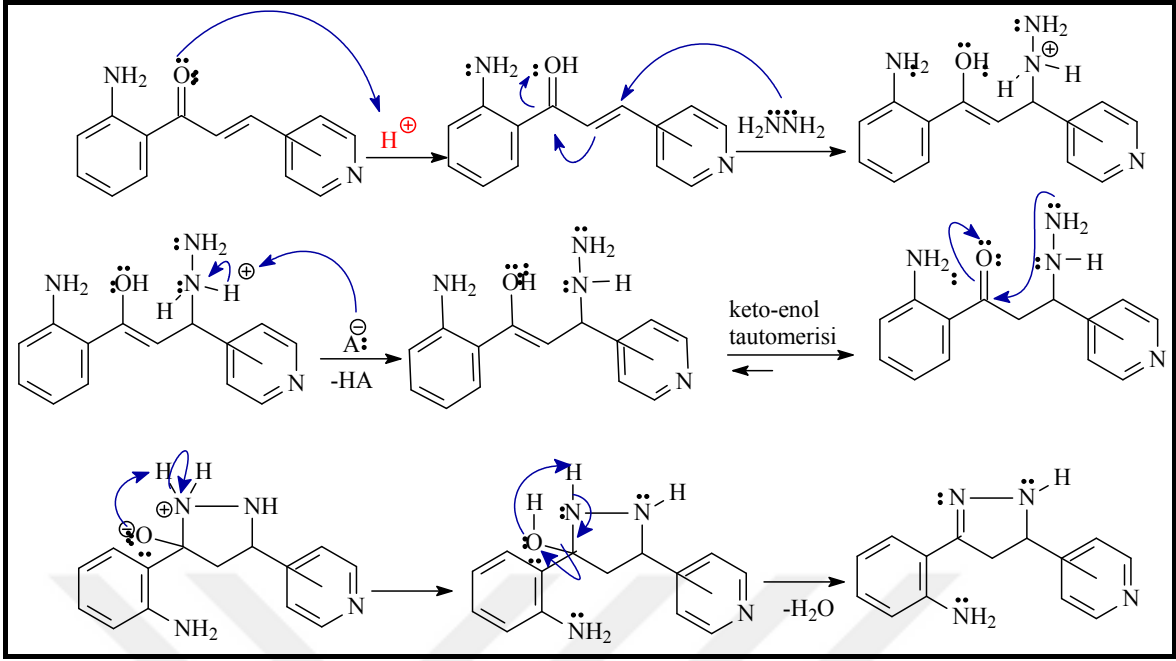


Şekil 45. 1-3 Nolu bileşiklere ait oluşum mekanizmaları

Çalışmanın ikinci kısmında azakalkonlara hidrazin hidratin asit katalizli Michael katılması sonucu, halkalaşma ürünü olan 3,5-disubstitue 2-pirazolin bileşiklerinin (4-6) ve son olarak pirazolin ve diazaflavon bileşiklerinden organik bor komplekslerinin (7-9,11) sentezi gerçekleştirildi. Çalışma kapsamında sentezlenen 4 nolu bileşiğin literatürde tautomerisi mevcuttur. Elde edilen bileşiklerin sentezi Şekil 46 ve Şekil 47’deki şemalara göre gerçekleştirilmiştir.



Şekil 46. 4-6 Nolu bileşiklerin sentez şeması



Şekil 47. 4-6 Nolu bileşiklere ait oluşum mekanizmaları

Elde edilen bileşiklerin yapıları ¹H, APT, ¹H-¹H COSY NMR, LC-MS/MS, elementel analiz, FT-IR spektroskopisi ve ACD NMR programı kullanılarak aydınlatıldı.

Sentezlenen Bileşiklere Ait Verim, Erime Noktası, R_f, NMR, IR ve LC-MS/MS Değerleri:

4 Nolu Bileşik: 3-(2'-aminofenil),5-(2'-piridil)pirazolin bileşiğine ait spektral datalar ve NMR spektrumları Ek Şekil 1-4'de verilmiştir.

Verim (%): 72.3; **Erime noktası (°C):** 48-51; **R_f:** 0.62 (Dietileter-Metanol: 2-0.5)

FT-IR (cm⁻¹): 3418, 3307, 3054, 2926, 1611, 1590, 1321, 1156, 744.

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃, ppm): δ=3.3-3.2 (dd, *J*=16.2/ 10.0 Hz, 1H, H-4_a); δ= 3.6-3.5 (dd, *J*=16.0/ 8.2 Hz, H-4_b); δ= 4.9 (dd, *J*=10.0/ 8.6 Hz, 1H, H-5); δ= 6.7 (d, *J*= 7.8 Hz, 1H, H-3'); δ= 7.0 (t, 7.0 Hz, 1H, H-4'); δ= 6.9 (t, *J*=7.0 Hz, 1H, H-5'); δ= 6.6 (d, *J*=7.8 Hz, 1H, H-6'); δ= 8.5 (d, *J*=5.0 Hz, 1H, H-3''); δ= 7.1 (t, *J*=7.2 Hz, 1H, H-4''); δ= 7.5 (t, *J*=7.2 Hz, 1H, H-5''); δ= 7.3 (d, *J*=8.2 Hz, 1H, H-6''); δ=6.0 (bs, 2H, NH₂).

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃, ppm): 153.1 (C-3), 40.7 (C-4), 62.4 (C-5), 114.1 (C-1'), 146.2 (C-2'), 114.9 (C-3'), 128.7 (C-4'), 115.5 (C-5'), 128.3 (C-6'), 161.0 (C-1''), 148.4 (C-3''), 121.9 (C-4''), 136.4 (C-5''), 120.1 (C-6'').

Pozitif LC-MS/MS m/z (%): 239(100) [M+H]⁺, 240(20) [M+2H]⁺, 222 (25) [M-NH₂]⁺.

Hesaplanan elementel yüzdeleri $C_{14}H_{14}N_4$ (238.29): C 70.57, H 5.92, N 23.51, bulunan: C 70.52, H 5.98, N 23.48.

5 Nolu Bileşik: 3-(2'-aminofenil),5-(3'-piridil)pirazolin bileşiğine ait spektral datalar ve NMR spektrumları Ek Şekil 5-9' da verilmiştir.

Verim (%): 76.1; **Erime noktası (°C):** 89-92; **Rf:** 0.51 (Dietileter-Etilasetat: 2-0.5)

FT-IR (cm^{-1}): 3407, 3298, 3166, 3039, 1934 1615, 1578, 1425, 1158, 788.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, ppm): δ = 6.7 (bs, 1H, H-1 (NH)); δ =3.0-2.9 (dd, J =16.0/11.0 Hz, 1H, H-4_a); δ = 3.6-3.5 (dd, J =16.0/11.0 Hz, H-4_b); δ = 4.77 (t, J =10.6 Hz, 1H, H-5); δ = 6.7 (d, J = 8.6 Hz, 1H, H-3'); δ = 7.0 (t, 7.6 Hz, 1H, H-4''); δ = 6.5 (t, J =7.4 Hz, 1H, H-5''); δ = 7.1 (d, J =7.4 Hz, 1H, H-6'); δ = 8.6 (s, 1H, H-2''); δ = 8.5 (d, J =5.2 Hz, 1H, H-4''); δ = 7.4 (t, J =6.2 Hz, 1H, H-5''); δ =7.8 (d, J =7.8 Hz, 1H, H-6''); δ =6.7 (bs, 2H, NH_2).

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, ppm): 152.6 (C-3), 42.5 (C-4), 60.4 (C-5), 114.6 (C-1'), 147.8 (C-2'), 115.4 (C-3'), 129.4 (C-4'), 115.5 (C-5'), 124.3 (C-6'), 139.0 (C-1''), 149.1 (C-2''), 149.1 (C-4''), 129.4 (C-5''), 135.1 (C-6'').

Pozitif LC-MS/MS m/z (%):239(100) $[M+H]^+$, 277(28) $[M+K]^+$, 240(20) $[M+2H]^+$, 222 (15) $[M-NH_2]^+$.

Hesaplanan elementel yüzdeleri $C_{14}H_{14}N_4$ (238.29): C 70.57, H 5.92, N 23.51, bulunan: C 70.51, H 5.99, N 23.49.

6 Nolu Bileşik: 3-(2'-aminofenil),5-(4'-piridil)pirazolin bileşiğine ait spektral datalar ve NMR spektrumları Ek Şekil 10-14' de verilmiştir.

Verim (%): 88.7; **Erime noktası (°C):** 131-134; **Rf:** 0.60 (Dietileter- Etilasetat: 2-0.5)

FT-IR (cm^{-1}): 3370, 3349, 3283, 3168, 1943, 1622, 1623, 1577, 1495, 998, 820, 741.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, ppm): δ = 6.1-5.5 (bs, 1H, H-1 (NH)); δ =3.2-3.0 (dd, J =16.0/9.8 Hz, 1H, H-4_a); δ = 3.7-3.6 (dd, J =16.0/10.2 Hz, H-4_b); δ = 4.7-4.9, dd, J =10.2/9.8 Hz, 1H, H-5); δ = 6.7 (d, J = 8.6 Hz, 1H, H-3'); δ = 7.1-7.2 (t, 6.0 Hz, 1H, H-4''); δ = 6.7 (t, J =7.6 Hz, 1H, H-5''); δ = 7.1 (d, J =7.0 Hz, 1H, H-6'); δ = 7.3 (d, J =5.2 Hz, 2H, H-2''-6''); δ = 8.6 (d, J =5.0 Hz, 1H, H-3''-5''); δ =5.9 (bs, 2H, NH_2).

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, ppm): 153.3 (C-3), 42.5 (C-4), 61.5 (C-5), 114.2 (C-1'), 151.4 (C-2'), 115.6 (C-3'), 128.7 (C-4'), 116.3 (C-5'), 129.6 (C-6'), 146.6 (C-1''), 121.5 (C-2''-6''), 150.1 (C-3''-5'').

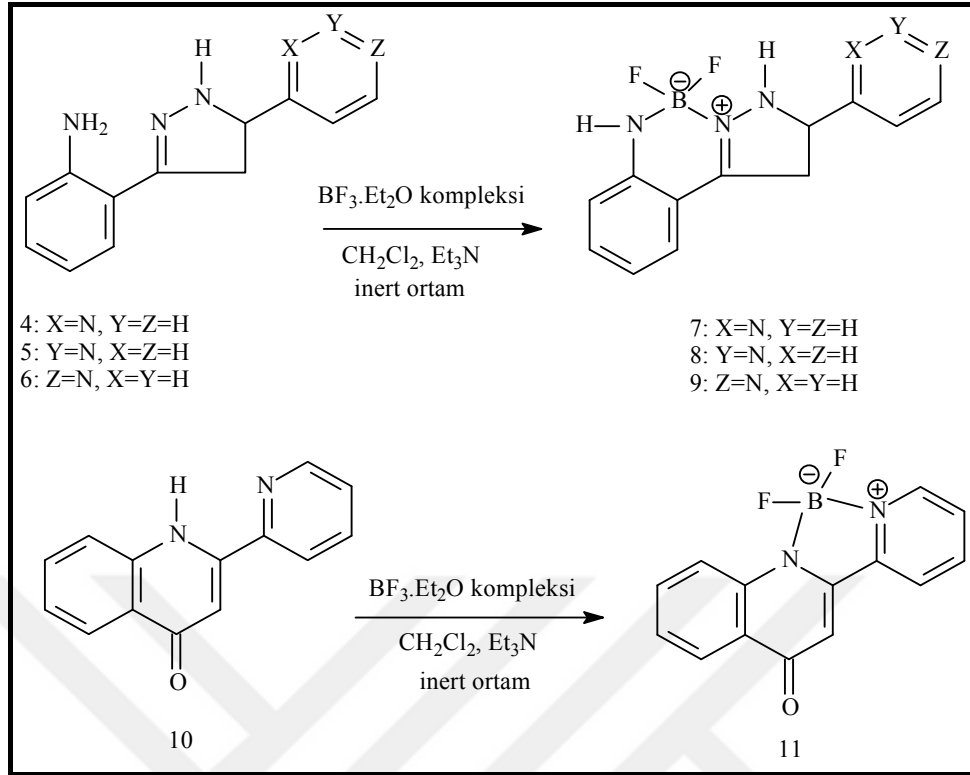
Pozitif LC-MS/MS m/z (%):239(100) [M+H]⁺, 277(20) [M+K]⁺, 240(19) [M+2H]⁺, 222 (22) [M-NH₂]⁺.

Hesaplanan elementel yüzdeleri C₁₄H₁₄N₄ (238.29): C 70.57, H 5.92, N 23.51, bulunan: C 70.55, H 5.95, N 23.49.

Pirazolin bileşiklerinin sentezinin devamında, bilim ve teknolojide son 30 yılın en ilgi çekici konularından olan BODIPY bileşiklerine benzer yeni BOAPPY ve BODAF komplekslerinin sentezi, hem pirazolinlerden hem de diazaflavon bileşiklerinden gerçekleştirilmiştir. Boradiazaindasen çekirdeği içeren bileşikler boya, floresan kemosensör, fotodinamik terapi ajanı, iyon sensörü, güneş pili sensörü, kuvvetli UV absorplayıcı (Büyükçakır, 2009; Ekmekçi, 2008), enerji transfer paketi gibi özellikleriyle literatürde önemli yere sahiptirler. Bu tür bileşiklerin literatürde UV absorbanlarının ölçüldüğü çalışmalar mevcuttur. Ancak tipik BODIPY bileşiklerinin sahip olduğu küçük Stokes kayması ve kendini söndürme özellikleri bu bileşiklere alternatif başka bileşiklerin sentezine yol açmıştır (Mao vd., 2012).

Literatürdeki yöntemler kullanılarak sentezlenen 3,5-disubstitue 2- pirazolin ve diazaflavon bileşiklerinin bir Lewis asidi olan bor triflorür ile bazik ortam reaksiyonundan yeni bor kompleksleri bordifloro-pirazolin (BOAPPY) (7-9) ve bordifloro-diazaflavon

(BODAF) (11) kompleksleri sentezlenmiştir ve UV absorbanları değişik çözücülerde ölçülmüştür. Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin enzim inhibisyonu, antioksidan ve antibakteriyal özellikleri olmak üzere biyolojik aktiviteleri araştırılmıştır. Bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemlerle aydınlatıldı. Bu tarz bileşiklerin pirazollerden ve diazaflavonlardan sentezine literatürde rastlanmamıştır. (7-9, 11) Nolu bileşiklerin oluşum şeması Şekil 48'de gösterilmiştir.



Şekil 48. 7-9, 11 Nolu bileşiklerin sentez şeması

Sentezlenen Bileşiklere Ait Verim, Erime Noktası, Rf, NMR, IR ve LC-MS/MS Değerleri:

7 Nolu Bileşik: Bordifloro 3-(2'-aminofenil),5-(2'-piridil)pirazolin (BOAPPY 1) bileşiğine ait spektral datalar ve NMR spektrumları Ek Şekil 15-18' de verilmiştir. 2.5 ve 3.2 ppm'deki pikler çözücü kaynaklı piklerdir.

Verim (%): 68.9 ; **Erime noktası (°C):** 128-131; **Rf:** 0.7(Dietileter- Metanol: 1-1)

FT-IR (cm⁻¹): 3563, 3355, 3183, 2988, 1615, 1504, 1008, 762.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, ppm): δ=3.6-3.5 (dd, *J*=16.8/8.4 Hz, 1H, H-4_a); δ= 4.0-3.9 (dd, *J*=17.2/ 10.8 Hz, H-4_b); δ= 5.3, dd, *J*=10.4/8.8 Hz, 1H, H-5); δ= 7.1 (d, *J*= 8.0 Hz, 1H, H-3'); δ= 7.8 (t, 7.2 Hz, 1H, H-4'); δ= 6.9 (t, *J*=7.0 Hz, 1H, H-5'); δ= 7.2 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, H-6'); δ= 8.8 (d, *J*=5.6 Hz, 1H, H-3''); δ= 7.3 (t, *J*=7.2 Hz, 1H, H-4''), δ= 8.3 (t, *J*=8.0 Hz, 1H, H-5''), δ= 7.9 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, H-6'').

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, ppm): 156.1 (C-3), 46.3 (C-4), 60.0 (C-5), 114.4 (C-1'), 135.0 (C-2'), 125.7 (C-3'), 131.7 (C-4'), 125.0 (C-5'), 130.9 (C-6'), 156.2 (C-1''), 146.0 (C-3''), 119.1 (C-4''), 143.2 (C-5''), 118.4 (C-6'').

Pozitif LC-MS/MS m/z (%): 200(50) [M-Pyr-BF₂+K+2H]⁺, 70(90) [M-BF₂-NH]⁺, 279 (100) [M-BF₂-NH+K+H₂O]⁺.

8 Nolu Bileşik: Bordifloro 3-(2'-aminofenil),5-(3'-piridil)pirazolin (BOAPPY 1) bileşiğine ait spektral datalar ve NMR spektrumları Ek Şekil 19-23' de verilmiştir. ¹H-NMR'ında 4.25 ppm ve 5.25 ppm civarında görülen pikler safsızlık kaynaklı piklerdir.

Verim (%): 71.2; **Erime noktası (°C):** 110-113; **Rf:** 0.69 (Metanol)

FT-IR (cm⁻¹): 3567, 3384, 3198, 1616, 1568, 1467, 1034, 907, 761.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃/CD₃OD, ppm): δ=3-2.9 (dd, *J*=16.0/10.0 Hz, 1H, H-4_a); δ= 3.8-3.7 (dd, *J*=16.0/ 11.6 Hz, H-4_b); δ= 5.1, dd, *J*=11.6/10.0 Hz, 1H, H-5); δ= 6.9 (d, *J*= 8.0 Hz, 1H, H-3'); δ= 8.0 (t, 7.6 Hz, 1H, H-4'); δ= 6.8 (t, *J*=7.8 Hz, 1H, H-5'); δ= 7.4 (d, *J*=7.8 Hz, 1H, H-6'); δ= 8.9 (s, 1H, H-2''); δ= 8.8 (d, *J*=5.2 Hz, 1H, H-4''), δ= 7.2 (t, *J*=7.2 Hz, 1H, H-5''), δ= 8.5 (d, *J*=7.6 Hz, 1H, H-6'').

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃/CD₃OD, ppm): 164.6 (C-3), 46.2 (C-4), 60.0 (C-5), 117.8 (C-1'), 133.8 (C-2'), 122.1 (C-3'), 141.9 (C-4'), 119.0 (C-5'), 141.5 (C-6'), 142.9 (C-1''), 144.7 (C-2''), 144.6 (C-4''), 129.7 (C-5''), 130.1 (C-6'').

Pozitif LC-MS/MS m/z (%): 279 (20) [M-BF₂-NH+K+H₂O]⁺, 239 (100) [M-BF₂+2]⁺.

9 Nolu Bileşik: Bordifloro 3-(2'-aminofenil),5-(4'-piridil)pirazolin (BOAPPY 3) bileşiğine ait spektral datalar ve NMR spektrumları Ek Şekil 24-27' de verilmiştir.

Verim (%): 70.4; **Erime noktası (°C):** 82-85; **Rf:** 0.70 (Dietileter- Metanol: 1-1)

FT-IR (cm⁻¹): 3465, 3354, 3189, 3123, 1640, 1615, 1500, 1453, 1022, 999, 777, 755.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃/CD₃OD, ppm): δ=3.1-3.0 (dd, *J*=16.0/10.6 Hz, 1H, H-4_a); δ= 3.9-3.8 (dd, *J*=16.0/ 11.4 Hz, H-4_b); δ= 5.2, dd, *J*=11.4/10.4 Hz, 1H, H-5); δ= 6.9 (d, *J*= 7.8 Hz, 1H, H-3'); δ= 7.2 (t, 7.8 Hz, 1H, H-4'); δ= 6.8 (t, *J*=7.0 Hz, 1H, H-5'); δ= 7.3 (d, *J*=8.2 Hz, 1H, H-6'); δ= 8.1 (d, *J*=5.8 Hz, 2H, H-2''-6''); δ= 8.8 (d, *J*=5.0 Hz, 1H, H-3''-5'').

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃/CD₃OD, ppm): 163.0 (C-3), 46.2 (C-4), 61.0 (C-5), 112.8 (C-1'), 134.8 (C-2'), 126.3 (C-3'), 130.0 (C-4'), 125.7 (C-5'), 129.8 (C-6'), 150.4 (C-1''), 125.7 (C-2''-6''), 142.4 (C-3''-5'').

Pozitif LC-MS/MS m/z (%): 237(10) [M-BF₂]⁺, 239 (100) [M-BF₂+2]⁺, 279 (30) [M-BF₂-NH+K+H₂O]⁺.

11 Nolu Bileşik: Bordifloro 1,2'-diazafllavon (BODAF) bileşiğine ait spektral datalar ve NMR spektrumları Ek Şekil 28-33' de verilmiştir.

Verim (%): 80.3; **Erime noktası (°C):** 165-169; **Rf:** 0.62 (Dietileter)

FT-IR(cm^{-1}): 3080, 2957, 2924, 1698, 1600,1586, 1467, 1305, 1230, 1052,1039, 953, 760, 746.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , ppm): $\delta = 6.5$ (s, 1H, H-3); $\delta = 7.7$ (d, $J=7.8$ Hz, 1H, H-5); $\delta = 7.0$ (t, $J=7.4$ Hz, 1H, H-6); $\delta = 7.5$ (t, $J=7.2$ Hz, 1H, H-7); $\delta = 7.4$ (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-8); $\delta = 8.7$ (d, $J=5.2$ Hz, 1H, H-3'); $\delta = 7.5$ (t, $J=7.4$ Hz, 1H, H-4'); $\delta = 8.0$ (t, $J=7.4$ Hz, 1H, H-5'); $\delta = 7.6$ (d, $J=9.0$ Hz, 1H, H-6').

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3 , ppm): 155.0 (C-2), 94.2 (C-3), 181.9 (C-4), 125.8 (C-5), 114.3 (C-6), 141.1 (C-7), 121.8 (C-8), 142.6 (C-9), 121.5 (C-10), 150.6 (C-1'), 137.4 (C-3'), 125.2 (C-4'), 141.9 (C-5'), 121.9 (C-6').

$^{19}\text{F-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , ppm): -141.7

Pozitif LC-MS/MS m/z (%): 222(100) $[\text{M-BF}_2+\text{H}]^+$, 239(60) $[\text{M-BF}_2+\text{H}_2\text{O}]^+$, 279(50) $[\text{M-BF}_2+\text{H}_2\text{O}+\text{K}+\text{H}]^+$.

Hesaplanan elementel yüzdeleri $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{BF}_2\text{N}_2\text{O}$ (270.05): C 62.27, H 3.36, N 10.37, bulunan: C 62.22, H 3.41, N 10.35.

5. SONUÇLAR

Çalışma genel olarak dört bölümden oluşmaktadır. Birinci kısımda kalkon bileşiklerine alternatif olarak literatürde mevcut olan 3 adet 2'-amino substitue azakalkon bileşiğinin oda şartlarında karıştırılarak ve 1 adet flavonoid analogu olan diazaflavon bileşiğinin de mikrodalga yöntemi ile sentezi gerçekleştirildi (**1-3, 10**). Çalışmanın ikinci aşamasında ilk kısımda sentezlenen azakalkonlara hidrazin hidratın asit katalizli Michael katılması sonucu, halkalaşma ürünü olan 3,5-disubstitue 2-pirazolin bileşikleri elde edildi (**4-6**). Üçüncü aşamada ise pirazolinlerden ve diazaflavondan bordiflorür kompleksleri sentezlendi (**7-9, 11**). Böylelikle çalışma kapsamında literatürde bulunmayan 7 adet bileşiğin sentezi gerçekleştirildi. Üçüncü aşamada, elde edilen bileşiklerin antibakteriyal, antioksidan, enzim inhibisyon, UV absorpsiyon ve floresans özellikleri tayin edildi. Sentezlenen bileşiklerin yapıları; 200 ve 400 MHz NMR cihazları, LC-MS/MS cihazı, elementel analiz cihazı, FT-IR ve UV spektrofotometreleri ile ACD NMR programı kullanılarak aydınlatıldı. **1-11** nolu bileşikler; (2*E*)-1-(2-aminofenil)-3-piridin-2-ilprop-2-en-1-on (**1**), (2*E*)-1-(2-aminofenil)-3-piridin-3-ilprop-2-en-1-on (**2**), (2*E*)-1-(2-aminofenil)-3-piridin-4-ilprop-2-en-1-on (**3**), 3-(2'-aminofenil),5-(2'-piridil)pirazolin (2-(5-piridin-2-il-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)anilin) (**4**), 3-(2'-aminofenil),5-(3'-piridil)pirazolin (2-(5-piridin-3-il-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)anilin) (**5**), 3-(2'-aminofenil),5-(4'-piridil)pirazolin (2-(5-piridin-4-il-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)anilin) (**6**), Bordifloro 3-(2'-aminofenil),5-(2'-piridil)pirazolin (BOAPPY 1) (**7**), Bordifloro 3-(2'-aminofenil),5-(3'-piridil)pirazolin (BOAPPY 2) (**8**), Bordifloro 3-(2'-aminofenil),5-(4'-piridil)pirazolin (BOAPPY 3) (**9**), 2-piridin-2-ilkolin-4(1H)-on (**10**), Bordifloro 1,2'-diazafavon (BODAF) (**11**) olarak adlandırıldı.

Sentezlenen bileşikler üzerinde yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmalarında MİK (minimum ihhibisyon konsantrasyonu) yöntemi kullanılmıştır. Sentezlenen yeni pirazolin bileşiklerinin MİK sonuçlarında, bu bileşiklerin *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Klebsiella pneumonia* ATCC 13883, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 mikroorganizmalara karşı genel olarak iyi derecede aktif olduğu belirlendi. Fakat **4** nolu bileşiğin diğer bileşiklere göre *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 mikroorganizmalarına karşı daha aktif olduğu belirlendi.

Sentezlenen bileşikler arasında bu bakterilere karşı en az aktif olanın ise **5** nolu bileşiğin olduğu tespit edildi. Bordiflorür komplekslerine bakıldığında, **8** nolu bileşiğin (BOAPPY 2) test edilen *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 mikroorganizmalarına karşı aktif olduğu tespit edildi. **7** nolu bileşiğin (BOAPPY 1) ise *Klebsiella pneumonia* ATCC 13883, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 mikroorganizmalarına karşı aktif olduğu tespit edilirken, bordiflorür komplekslerinden en az aktif olanın ise **9** nolu bileşik (BOAPPY 3) olduğu görüldü. Çalışmada sentezlenen bileşiklerden **11** nolu BODAF bileşiği kullanılan mikroorganizmaların tümüne karşı en aktif olan bileşiktir.

Sentezlenen **4-9, 11** nolu bileşikler antioksidan aktiviteler açısından değerlendirilmiş, bu amaçla literatürde yaygın olarak kullanılan 5 yöntem uygulanmıştır.

Birinci yöntem DPPH Radikal Süpürme Aktivitesidir. 50 µg/mL konsantrasyonda bileşiklerin DPPH radikal süpürme aktivitesi sıralanırsa; **4 > 5 > 6 > GA > AA > BHA 7 > 9 > 8 > 11** şeklinde bulunmuştur. Bu sonuçlara bakılarak en fazla aktivite gösteren **4** nolu bileşik iken, en az aktiviteye sahip olan **11** nolu bileşik olduğu tespit edilmiştir.

İkinci yöntem Süperoksit Radikali Süpürme Aktivitesidir. 50 µg/mL konsantrasyonda standartların ve sentezlenen bileşiklerin aktivite sıralaması; SOD > BHA > AA > **4 > 5 > 6 > 8 > 7 > 9 > 11** şeklinde bulunmuştur. Bu sonuçlara bakıldığında **4** numaralı bileşik en yüksek süperoksit radikal süpürme aktivitesine sahip olduğu görülürken, **11** numaralı bileşik en düşük aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Kullanılar üçüncü yöntem Fosfomolibdenyum İndirgeyici Antioksidan Kapasitenin (PRAP) Belirlenmesi yöntemidir. 25 µg/mL konsantrasyon'da bileşiklerin ve standartların indirgeyici antioksidan kapasitesi sıralanırsa; **4 > QE > 6 > 5 > 7 > 9 > 8 > 11** şeklinde olduğu görülmektedir. Bu sonuçlara bakılarak en yüksek indirgeyici potansiyele sahip olan, sentezlenen **4** nolu bileşiktir ve yine en az özelliği gösteren ise **11** nolu bileşik olduğu tespit edilmiştir.

Kullanılar dördüncü yöntem Metal Şelat Yapma Kapasitesinin Belirlenmesi yöntemidir. 125 µg/mL konsantrasyonda bileşiklerin ve standartların metal şelatlama aktivitesi sıralandığında; EDTA > **4 > 7 > GA > 6 = 8 > 5 > BHA > 9 > 11** şeklinde olduğu görülmektedir. Bu sonuçlara bakarak **4** nolu bileşiğin metal şelat yapma kapasitesinin en yüksek olduğu ve **11** nolu bileşiğin kapasitesi ise en az olduğu görülmektedir.

Kullanılan beşinci yöntem numunelerin ortamdaki demir (III) iyonlarını indirgeyebilmesine dayalı olan bir antioksidan aktivite tayin yöntemidir. Bileşiklerin

indirgeyici antioksidan kapasiteleri sıralanırsa; **4 > 7 > 6 > 5 > 9 > 8 > 11** şeklinde olduğu görülmektedir. Sonuçlara bakacak olursak **4** nolu bileşiğin indirgeyici antioksidan kapasitesinin en fazla, **11** nolu bileşiğin ise en az olduğu tespit edilmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin enzim inhibisyonunun değerlendirilmesinde iki enzimle çalışılmıştır. Bunlardan ilki asetilkolin esterase enzimidir. Bu çalışmada yeni sentezlenen pirazolin ve flavon bileşiklerinin asetilkolinesteraz inhibisyonu Elman ve Ingkaninan'ın yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin AChE inhibisyon yüzdeleri 25 µg/mL, 50 µg/mL ve 100 µg/mL konsantrasyonlarında ölçülmüştür. 100 µg/mL konsantrasyonda en yüksek inhibisyon yüzdesine sahip olan bileşik **7** numaralı bileşik olmuştur. 25 µg/mL konsantrasyonda ise **5** numaralı ve **6** numaralı bileşiklerde aktivite gözlenmez iken, **4** numaralı bileşik ise yine en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Çalışılan enzimlerden ikincisi ise tirozinaz enzimidir. 200 µg/mL konsantrasyonda bileşiklerin tirozinaz aktivitesi sıralanırsa; Kojik asit > **4 > 7 > 5 > 6 > 8 > 9 > 11** şeklinde olduğu görülmektedir. Elde edilen sonuçlara bakıldığında **4** nolu bileşiğin aktivitesinin en fazla olduğu, en az aktiviteye sahip olan bileşiğin ise **11** nolu bileşik olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmada sentezlenen yeni bileşiklerin UV-Vis absorpsiyon ve floresans spektrumları alınmıştır. Sentezlenen **4-9** nolu bileşiklerin UV-Vis absorpsiyon ve floresans spektrumlarına ayrı ayrı incelendiğinde Tablo 10' da ki sonuçlar elde edilmiştir.

<u>UV-Vis absorpsiyon</u>	<u>Floresans spektrumları</u>
7>4	7>4
5>8	5>8
9>6	9>6

Çalışmada absorpsiyon ve floresans spektrumları incelenen bir diğer yapı **11** nolu bileşiktir. Diğer bileşiklerden farklı olarak 520 nm'de bir absorpsiyon bandı daha vermektedir. **11** nolu bileşik 333 ve 408 nm'lerde iki emisyon piki vermektedir. 333 nm'deki pikin şiddeti daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir.

Çalışmada sentezlenen 7 adet bileşiğin metanol, etanol, etilasetat, kloroform, dimetilformamid, asetonitril olmak üzere farklı çözücülerde aynı molaritedeki çözeltilerinin UV-Vis spektrumları alınmıştır. Bileşiklerin çözücülerdeki kararlılıkları, karşılaştırılmalı spektrumlarında çözücüden meydana gelen olası absorbans farklılıkları araştırıldığında sonuçlar bulgular kısmında Şekil 27-34'de detaylı olarak verilmiştir. Bu sonuçlara bakıldığında piridin azotunun konumundan çok çözücünün, bileşiklerin ana iskeleti üzerinde absorpsiyon özelliklerinde değişikliğe sebep olduğunu göstermektedir.

6. ÖNERİLER

Pirazolin türevi bileşikler biyolojik olarak oldukça aktif olup, bu tez çalışması sayesinde literatüre kazandırılan yeni pirazolin bileşiklerinin antibakteriyal ve antioksidan özelliklerinin belirlenmesi yanında antikanser, antifungal, antiinflamatuvar, antidepresan,, zirai ilaç, antidiabetik, analjezik, antiviral ve antitüberküler gibi özellikleri de araştırılabilir. Hem pirazolinlerin hem de bunların bodiflorür komplekslerinin tez çalışmasında kullanılan antibakteriyal test mikroorganizmaları dışında başka mikroorganizmalara karşıda aktiviteleri araştırılabilir. Bileşiklerde bulunan aromatik halkalar üzerinde nitrolama, sülfolama, halojenleme gibi reaksiyonlar gerçekleştirilerek elde edilecek bileşiklerin hem biyolojik hem de endüstriyel önemi araştırılabilir. Son yılların en önemli değerlerinden biri olan bor içeren yeni komplekslerin floresans, antioksidan ve antibakteriyal aktivite özelliklerinin yanında, fotodinamik terapi ajanı, iyon sensörü, güneş pili sensörü gibi özellikleri de araştırılabilir.

Elde edilen bileşiklerin astilkolinesteraz ve tirozinaz enzim inhibisyonlarının yanında farklı hastalıklara sebep olan başka enzimler üzerinde de inhibisyon dereceleri araştırılabilir

Tez çalışması kapsamında geniş biyolojik aktivite skalasına sahip olan flavonoid ailesinin azakalkon ve diazaflavon olmak üzere iki farklı üyesi kullanılmıştır. Bu durum, değişik sübstitüent içeren farklı kalkon, flavon, flavanon gibi bileşiklerin de bundan sonraki çalışmalarda hem yeni pirazolinlerin hem de bunların bordiflorür komplekslerinin sentezinde kullanılabilceğini göstermektedir.

7. KAYNAKLAR

- Akın M., 2012, Ceviz (*Juglans regia*) Yaprak, İç ve Kabuğundan Elde Edilen Ekstratların Tirozinaz Enzimi Üzerine İnhibisyon Etkilerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli.
- Amelia A., Almeida P., Farah A., Silva D. A. M., Nunan E. A. ve Gloria B. A., 2006, Antibacterial Activity of Coffee Extracts and Selected Coffee Chemical Compounds Against Enterobacteria, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54, 8738-43.
- Atalar T., Cihaner A. ve Algı F., 2009, The Synthesis, Characterization and Energy Transfer Efficiency of a Dithienylpyrrole and BODIPY Based Donor-acceptor Systems, Turkish Journal of Chemistry, 33, 313-319.
- Auwers, K.V. ve Cauer, E., 1929, Über Δ 1- und Δ 2-Pyrazoline, Justus Liebigs Annalen der Chemie, 470 (1), 284-312.
- Avan A.N., 2014, Polifenollerin Tiyoller ve Proteinlerle Etkileşiminin Bazı Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemlerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Bağlan M., 2014, Tpe Grubunun Apolar BODIPY Floroforuna Sulu Çözeltisindeki Etkisi , Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Baki C.N. ve Akkaya E.U., 2001, Boradiazaindacene-appended Calix[4]arene: Fluorescence Sensing of pH Near Neutrality, Journal of Organic Chemistry, 66, 1512-1513.
- Baltacı, C., 2003, *Scleranthus uncinatus* (Illecebraceae) Bitkisinin Metanol Ekstraktından Doğal Bileşiklerin Yapısının Aydınlatılması ve Heterokalkonoid Benzeri Maddelerin Sentezi, Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Bandgar B.P., Adsul L.K., Chavan H.V., Shringare S.N., Korbadi B.L., Jalde S.S., Lonikar S.V., Nile S.H. ve Shirfule A.L., 2012, Synthesis, Biological Evaluation, And Molecular Docking of *N*-{3-[3-(9-Methyl-9*H*-Carbazol-3-Yl)-Acryloyl]-Phenyl}-Benzamide/Amide Derivatives As Xanthine Oxidase and Tyrosinase İnhibitors, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 20, 18, 5649–5657.
- Bandgar B.P., Totre J.V., Gawand S.S., Khobragade C.N., Warangka S.C. ve Kadam P.D., 2010, Synthesis of Novel 3,5-Diaryl Pyrazole Derivatives Using Combinatorial Chemistry As İnhibitors of Tyrosinase As Well As Potent Anticancer, Anti-Inflammatory Agents, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 18, 16, 6149–6155.

- Barsony J., Renyi I. ve McKoy W., 1997, Subcellular Distribution of Normal and Mutant Vitamin D Receptors In Living Cells, Journal of Biological Chemistry, 272, 5774–5782.
- Bardalai D. ve Panneerselvam P., 2012, Pyrazole and Pyrazoline Derivatives: Potential Anti-inflammatory and Analgesic Agents, International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences, 2(3), 1-8.
- Barin G., Yılmaz M.D. ve Akkaya E. U, 2009, Boradiazaindacene (Bodipy)-based Building Blocks for the Construction of Energy Transfer Cassettes, Tetrahedron Letters, 50, 1738-1740.
- Beauchamp C, ve Fridovich I., 1971, Superoxide Dismutase: Improved Assays and An Assay Applicable To Acrylamide Gels, Analytical Biochemistry, 44, 276-287.
- Benzie I. F. F. ve Strain J. J., 1999, Ferric Reducing/antioxidant Power Assay: Direct Measure of Total Antioxidant Activity of Biological Fluids and Modified Version for Simultaneous Measurement of Total Antioxidant Power and Ascorbic Acid Concentration, Methods in Enzymology, 299, 15-27.
- Beyhan N., 2011, Bazı Yeni Şalkonların ve Bunlardan Türeyen 2-pirazolin Türevlerinin Sentezi ve Yapılarının Aydınlatılması, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Bilaloğlu, G. V. ve Harmandar, M., 2001, Flavonoidler, Aktif Yayınevi, İstanbul.
- Blois, MS., 1958, Antioxidant Determinations By The Use of A Stable Free Radical, Nature, 29, 1199-1200.
- Boens, N., Leen, V. ve Dehaen W., 2012, Fluorescent indicators based on BODIPY, Chemical Society Reviews, 41, 1130–1172.
- Büyükçakır O., Bozdemir A.O., Kolemen S., Erbas S. ve Akkaya E.U., 2009, Tetrasteryl-Bodipy Dyes: Convenient Synthesis and Characterization of Elusive IR Fluorophores, Organic Letters, 11(20), 4644-4647.
- Brouillard, R. ve Dangles O., 1994, The Flavonoids Advances in Research, Editor: Harborne J. B., Chapman & Hall, London.
- Can Z., 2014, Biyoaktiviteleri Yönünden Türkiye Florasına Ait Baskın Ballar İle Manuka Ballarının Karşılaştırılması, Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Ceritli M., 2011, Diyabetli Sıçanlarda Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim inhibisyonu Lipit Peroksidasyon ve Mikronukleus Oluşumu Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans, Malatya.
- Chang Te-Sheng., 2009, An Updated Review of Tyrosinase Inhibitors, International Journal of Molecular Sciences, 10(6), 2440-2475.

- Chen-Yi Li, Yu-Ling Lien, Jayaramann Vinayagam, Amitabha Datta, Ting-Chia Hu, Chia-Her Li ve Jui-Hsien Huang, 2015, Synthesis and Characterization of Copper(I) Compounds Incorporating Pyrazole-Derived Ligands: A Study On Carbon–Carbon Coupling Reaction, Inorganica Chimica Acta, 435, 327–334.
- Chigurupati S., Selvaraj M., Mani V., Selvarajan K.K., Mohammad J. I., Kaveti B., Bera H., Palanimuthu V.R., The L.K. ve Salleh M.Z., 2016, Identification of Novel Acetylcholinesterase Inhibitors: Indolopyrazoline Derivatives and Molecular Docking Studies, Bioorganic Chemistry, 67, 9-17.
- Chua MT, Tung YT ve Chang S.T., 2008, Antioxidant Activities of Ethanolic Extracts From The Twigs Of Cinnamomum Osmophleum, Bioresource Technology, 99, 1918-1925.
- Clinical and Laboratory Standards Institute, Approved Standart, CLSI document M07-A8 Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically (eighth ed.), 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania, 2009.
- Climent, M.J., Corma, A., Iborra, S. ve Velty, A., 2004, Activated Hydrotalcites as Catalysts for the Synthesis of Chalcones of Pharmaceutical Interest, Journal of Catalysis, 221, 474-482.
- Colotta V., Catarzi D., Varano F., Filacchioni G. ve Cecchi L., Synthesis and Binding Activity of Some Pyrazolo[1,5-c]quinazolines as Tools to Verify and Optional Binding Site of A Benzodiazepine Receptor Ligand, Journal of Medicinal Chemistry, 39, 1996, 2915-2921.
- Coşkun M.A. ve Akkaya E. U., 2005, Ion Sensing Coupled to Resonance Energy transfer: A Highly Selective and Sensitive Ratiometric Fluorescent Chemosensor for Ag(I) by a Modular Approach, Journal of the American Chemical Society, 127, 10464–10465.
- Coşkun M.A., Yılmaz D. ve Akkaya E.U., 2007, Bis(2-pyridyl)-substituted Boratriazaindacene as an NIR-emitting Chemosensor for Hg(II), Organic Letters, 9(4), 607-609.
- Cuendet M., Hostettmann K. ve Potterat O., 1997, Helvetica Chimica Acta, 80, 1144-1152.
- Demirci G., 2013, Moleküler Damgalama Yöntemi İle Asetilkolin Esteraz Enziminin (Ache) İmmobilizasyonu, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Muğla.
- Demirbağ Z., Beldüz A.O., Sezen K. ve Nalçacıoğlu R., 1997, Bazı Bitki Özütlerinin Antibakteriyel Etkilerinin Araştırılması, Kükem Dergisi, 20, 47-53.
- Dhar, D.N., 1981, The Chemistry of Chalcones and Related Compounds, John Wiley, New York.

- Diplock A., Healty Lifestyles Nutrition and Physical Activity, Antioxidant Nutrients, ILSI Europe Concise Monograph Series, Belgium, 59, 1998.
- Ekmekçi Z., Yılmaz M.D. ve Akkaya E.U., 2008, A Monostyryl –boradiazaindacene (BODIPY) Derivative as Colorimetric and Fluorescent Probe for Cyanide Ions, Organic Letters, 10(3), 461-464.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. ve Featherstone, R.M., 1961, A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity, Biochemical Pharmacology, 7, 88–95.
- Elkanzi, N.A.A., 2013, Review On Synthesis of Prazole and Pyrazolines, International Journal of Research In Pharmaceutical and Biomedical Sciences, 4(1), 2229-3701.
- Erdemoğlu, N. ve Şener, B., 1999, Taksol ve Türevlerinin Biyosentezi, Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi, 28, 99-116.
- Ertürk Ö., Özbucak T.B. ve Bayrak A., 2006, Antimicrobial Activities of Essential Oils From Some Medicinal Plants in Turkey, Herba Polonica, 51, 1-2.
- Ertem E., Bekdemir A., Atilgan A. ve Akkaya E.U., 2014, Near-ir Absorbing Bodipy Functionalized Spions: A Potential Magnetic Nanoplatform For Diagnosis and Therapy, Pure and Applied Chemistry, 86, 6, 899-903.
- Falcioni G, Fedeli D, Diano L, Calzuola I, Mancinelli L, Marsili V. ve Gianfranceschi G., 2002, Antioxidant Activity Of Wheat Sprouts Extract In Vitro: İnhibition of DNA Oxidative Damage, Journal of Food Science, 67, 2918-2922.
- Field, L. D., Sternhell S. ve Kalman, J. R., 2002, Organic Structures from Spectra, Third Edition, John Wiley&Sons, LTD., England.
- Fischer, E. ve Knoevenagel, O., 1887, Ueber Die Verbindungen Des Phenylhydrazins Mit Acrolein, Mesityloxyd Und Allylbromid, Justus Liebigs Annalen der Chemie, 239 (2), 194-206.
- Gabe Y., Urano Y., Kikuchi K., Kojima H. ve Nagano T., 2004, Highly Sensitive Fluorescence Probes for Nitric Oxide Based on Boron Dipyrromethene Chromophore-rational Design of Potentially Useful Bioimaging Fluorescence Probe, Journal of the American Chemical Society, 126 (10), 3357-3367.
- Gawande S.S., Warangkar S.C., Bandgar B.P. ve Khobragade C.N., 2013, Synthesis of New Heterocyclic Hybrids Based On Pyrazole and Thiazolidinone Scaffolds As Potent İnhibitors of Tyrosinase, Bioorganic & Medicinal Chemistry Bioorganic & Medicinal Chemistry, 21, 2772–2777.
- Göl C., 2016, Fotodinamik Terapi Amaçlı Direkt Konjuge Ftalosiyanın-BODIPY Fotosensitizerlerin Sentezi ve Özelliklerinin İncelenmesi, Gebze Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli.

- Gökşen U.S., 2015, Bazı Yeni 2-Pirazolin Türevlerinin Sentezi ve Monoamin Oksidaz (MAO) İnhibitör Aktiviteleri Üzerinde Çalışmalar, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Harborne J. B., 1988, The Flavonoids, Advances in Research, Chapman & Hall, London.
- Ho L., P., 2008, Synthesis of 4,4-Difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene Dyes Bearing New Aryl Substituents as C3- and C5-Positions, Bulletin of the Korean Chemical Society, 29(1), 261-264.
- Holtta-Vuori M., 2008, Uronen R.-L., Repakova J., Salonen E., Vattulainen I. ve Panula P., BODIPY-Cholesterol: A New Tool To Visualize Sterol Trafficking In Living Cells and Organisms, Traffic, 9.
- İngkaninan, K., Best, D., Heijden, V.D., Hofte, A.J.P., Karabatak, B., Irth, H., Tjaden, U.R., Greef, V.D. ve Verpoorte, R., 2000, High-Performance Liquid Chromatography With On-Line Coupled UV, Mass Spectrometric and Biochemical Detection For Identification of Acetylcholinesterase İnhibitors From Natural Products, Journal of Chromatography, 872, 61–73.
- İskefiyeli Z., 2014, Damlatma İle Yeni DPPH Ve FRAP Antioksidan Tayin Yöntemlerinin Ağeştirilmesi Ve Uygulanması, Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Kahriman N., 2011, Mikrodalga Yöntemi İle Diaza-Flavon/Flavanon Bileşiklerinin Sentezi, N-Alkil Türevleri ve Biyolojik Aktiviteleri, Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Karolin J., Johansson L.B.A., Strandberg L. ve Ny T., 1994, Fluorescence and Absorption Spectroscopic Properties of Dipyrrrometheneboron Difluoride (BODIPY) Derivatives in Liquids, Lipid Membranes, and Proteins, Journal of the American Chemical Society, 116, 7801-7806.
- Kaspady M., Narayanaswamy K.V., Raju M. ve Rao G.K., 2009, Synthesis, Antibacterial Activity of 2,4-Disubstituted Oxazoles and Thiazoles as Bioisosteres, Letters in Drug Design & Discovery, 8, 21-28.
- Keha, E. ve Küfrevioğlu, Ö.İ., 2010, Biyokimya, Aktif yayınevi, Erzurum.
- Kelekçi N., Kelekçi G., Yabanoğlu S., Küpeli E., Salgın U., Özgen Ö., Uçar G., Yeşilada E., Kendi E., Yeşilada A. ve Bilgin A.A., 2007, A New Therapeutic Approach İn Alzheimer Disease: Some Novel Pyrazole Derivatives As Dual MAO-B İnhibitors and Antiinflammatory Analgesics, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 15, 17, 5775–5786.
- Khan, M.F., Alam M.M., Verma, G., Akhtar, W., Akhter, M. ve Shaquiquzzaman M., 2016, The Therapeutic Voyage Of Pyrazole and İts Analogs: A review, European Journal of Medicinal Chemistry, 120, 170–201.

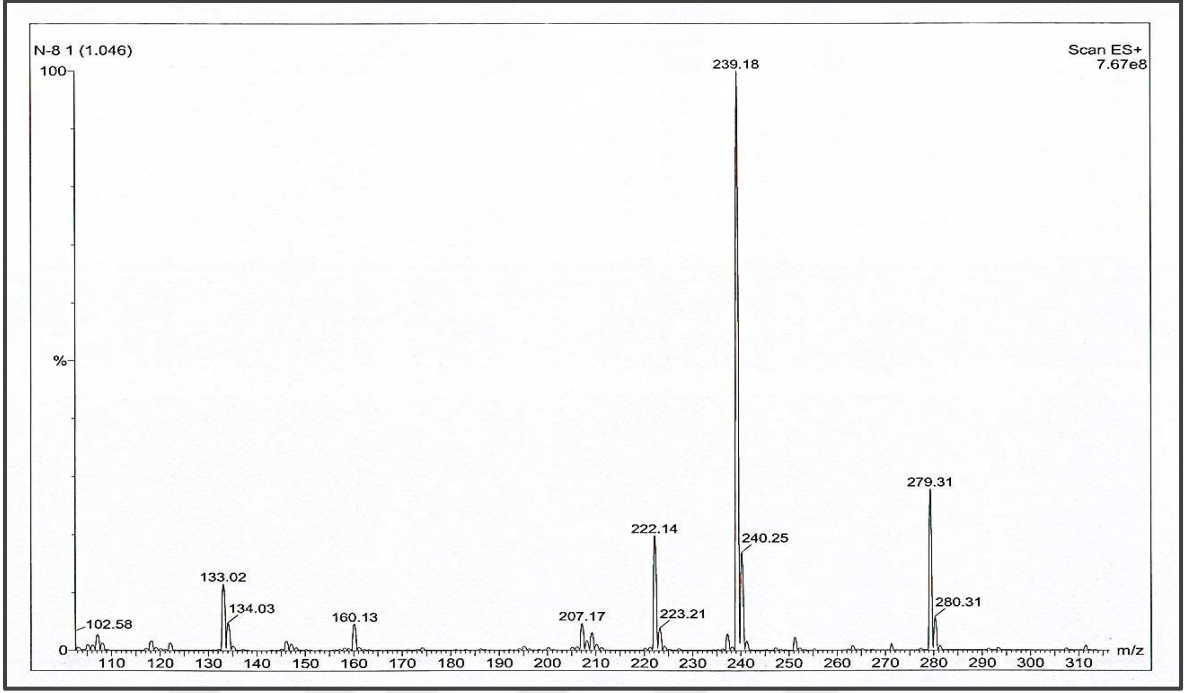
- Knorr and Blank, 1885, Chemische Berichte, 22, 842.
- Krishnakumar, R. V., Natarajan, S., Vijayabaskar, V. ve Perumal S., 1998, Acta Crystallographica, 54, 976-978.
- Kuzucu, M., 2011, Karbonik Anhidraz I ve II İzoenzimleri Üzerine Bazı İlaçların in vitro Etkilerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Erzincan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzincan.
- Küçükgül Ş.G. ve Şenkardeş S., 2015, Recent Advances In Bioactive Pyrazoles, European Journal of Medicinal Chemistry, 97, 786–815.
- Küçük M., Güleç C., Üçüncü O., Yaşar A., Gaydan F., Coşkunçelebi K., Terzioğlu S. ve Yaylı N., 2006, Chemical Composition and Antimicrobial Activities of The Essential Oils of Teucrium Chamaedrys Subsp. Chamaedrys, T. Orientale Var. Puberulens, and T. Chamaedrys Subsp. Lydium, Pharmaceutical Biology, 44 (8), 592-9.
- Küçük, M., Kolaylı S., Karaoğlu Ş., Ulusoy E., Baltacı C. ve Candan F., 2007, Biological Activities and Chemical Composition of Three Honeys of Different Types From Anatolia, Food Chemistry, 100, 526-34.
- Liu Z., Thacker S.G., Fernandez-Castillejo S., Neufeld E.B., Remaley A.T. ve Bittman R., 2014, Synthesis of Cholesterol Analogues Bearing BODIPY Fluorophores By Suzuki Or Liebeskind-Srogl Cross-Coupling and Evaluation of Their Potential For Visualization of Cholesterol Pools, ChemBioChem, 15, 2087–2096.
- Li, J. T., Yang, W. Z., Wang, S. X., Li, S. H. ve Li, T. S., 2002, Improved Synthesis of Chalcones Under Ultrasound Irradiation, Ultrasonics Sonochemistry, 9, 237- 239.
- Loudet, A. ve Burgess, K., 2007, BODIPY Dyes and Their Derivatives: Syntheses and Spectroscopic Properties, Chemical Reviews, 107, 4891.
- Marais, J. P. J., Ferreira, D. ve Slade, D., 2005, Stereoselective Synthesis of Monomeric Flavonoids, Phytochemistry, 66, 214.
- Mallikarjuna Rao R., Sreeramulu J., Ravindranath L.K., Nagaraja Reddy G., Hanumantharayudu K., Nageswara Reddy G., Jayaraju A. ve Madhusudhan P., 2012, Synthesis and Biological Screening of Some Pyridine and Pyrrole Derivatives of Pyrazolo [3,4-c] Pyrazoles, Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 4(1), 272-278.
- Magdalena Malachowska-Ugarte , Claudio Sperduto, Yuri V. Ermolovich, Alina L. Sauchuk ,Michal Jurašek, Raisa P. Litvinovskaya , Darya Straltsova , Igor Smolich, Vladimir N. Zhabinskii, Pavel Drašar, Vadim Demidchik ve Vladimir A. Khripach., 2015, Brassinosteroid-BODIPY Conjugates: Design, Synthesis, and Properties, Steroids, 102, 53–59.

- Mao M., Xiao S., Li J., Zou Y., Zhang R., Pan J., Dan F., Zou K. ve Yi T., 2012, Solid-emissive Boron-fluorine Derivatives With Large Stokes Shift, Tetrahedron, 68 (25), 5037-5041.
- Masuda, T., Yamashita, D., Takeda, Y. ve Yonemori, S., 2005, Screening For Tyrosinase Inhibitors Among Extracts of Seashore Plants and Identification of Potent Inhibitors From *Garcinia Subelliptica*, Biotechnology and Biochemistry, 69, 197–201.
- Melanson, S.W., Chang-Hyon, Y., Pezzementi, M.L. ve Pezzementi, L., 1985, Comparative Biochemistry and Physiology, CompPharma, 81:87-96.
- Mishra N., Sasmal D. ve Singh K.K., 2013, Attenuating $A\beta_{1-42}$ -Induced Toxicity By A Novel Acetylcholinesterase İnhibitör, Neuroscience, 250, 309-319.
- Nay B., Arnaudinaud V. ve Vercauteren J., 2002, Total Synthesis of Asymmetricflavonoids: The Developmentand Applications of ^{13}C -Labelling, Comptes Rendus Chimie, 577–590.
- Nowakowska, Z., Wyrzykiewicz, E. ve Kedzia, B., 2001, Synthesis and Antimicrobial Properties of N-Substitute Derivates of (E)-4-Azachalcones, II Farm., 56, 325–329.
- Okamoto M., Kobayashi S., Ikeuchi H., Yamada S., Yamanouchi K. ve Nagasawa K., 2012, Synthesis and Bioassay of A Boron-Dipyrromethene Derivative of Estradiol For Fluorescence İmaging İn Vivo, Steroids, 77, 845–849.
- Oyaizu, M., 1986, Studies On Product of Browning Reaction Prepared From Glucose Amine, Japanese Journal of Nutrition, 44, 307-315.
- Özaltın, B., 2014, Koyun Beyninden Sorbitol Dehidrogenaz Enziminin Saflaştırılması, Karakterizasyonu ve Bazı İlaçlarının Enzim Aktivitesi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Özdemir, A., Turan Zitouni, G., Kaplancıklı, Z.A., Revial, G. ve Güven K., 2007, '' Synthesis and antimicrobial activity of 1-(4-aryl-2-thiazolyl)-3-(2-thienyl)-5-aryl-2-pyrazoline derivatives'' European Journal of Medicinal Chemistry, 42, 403-409.
- Öztürk F., 2015, Talasemi Hastalarında Mangan Süperoksit Dismutaz (MN-SOD) Gen Polimorfizmi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Üçüncü O., 2008, Nitro-Substitue Azakalkonların N-Dekilleme Ve Dimerleşme Reaksiyonları İle Antioksidan Ve Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Panchal A.D. and Patel P.M., 2012, Synthesis, Anti-bacterial and Anti-fungal Evaluation of Pyrazoline Derivatives, E-Journal of Chemistry, 9(4), 1801-1809.

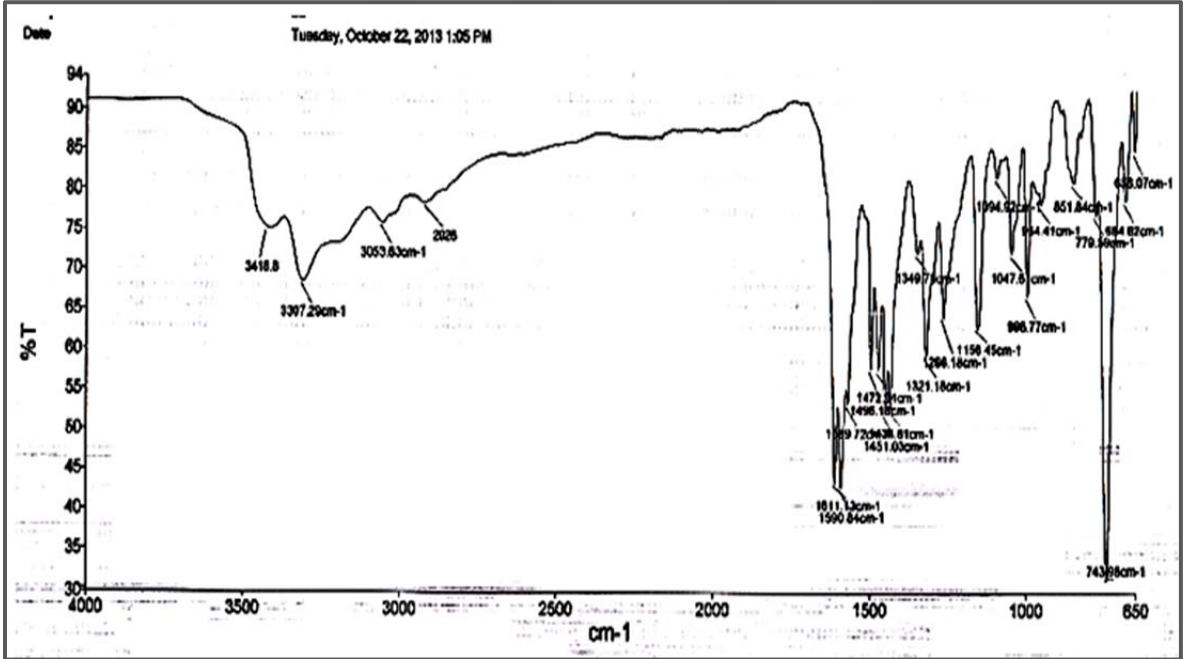
- Patel M.R., Dodiya B.L., Ghetiya R.M., Joshi K.A., Vekariya P.B., Bapodara A.H. ve Joshi H.S., 2011, Synthesis and Antimicrobial Evaluation of Pyrazoline Derivatives, International Journal of ChemTech Research, 3(2), 967-974.
- Peshin G.N., Ershov V.V., 1959, Milonanova S.N. ve Evreinova E.B., Reaction Of Hydrazine Derivatives.1 Acylpyrazolines and Their Action On Pathogenic Microorganisms, Vestnik Moskov. Univ., Ser. Mat. Mekhan., Astron., Fiz.,I. Khim., 14 (1), 211-216.
- Pinto, D.C.G.A., Silva A.M.S., Cavaleiro J.A.S. ve Elguero J., 2003, New Bis(chalcones) and Their Transformation into Bis(pyrazoline) and Bis(pyrazole) Derivatives, European Journal of Organic Chemistry, 747-755.
- Popere B.C., Della ve Pelle A.M., Thayumanavan S., 2011, BODIPY-based Donor-acceptor π -Conjugated Alternating Copolymers, Macromolecules, 44, 4767-4776.
- Qiong C., Shuzhang X., Miaofu M., Xiaohong C., Sa W., Ling L. ve Kun Z., 2012, Structure-property Correlation of Solid-emissive Boronefluorine Derivatives, Journal of Organometallic Chemistry, 717, 147-151.
- Rahaman S.A., Prasad Y.R., Bhuvanewari K. ve Kumar P., 2010, Synthesis and Antihistaminic Activity of Novel Pyrazoline Derivatives, International Journal of ChemTech Research, 2(1), 16-20.
- Rahman, Md.A. ve Siddiqui, A.A., 2010, ‘Pyrazoline Deivatives: A Worthy Insight into the Recent Advances and Potential Pharmacological Activities’ International Journal of Pharmaceutical Science and Drug Research, 2 (3), 165-175.
- Rostom S.A.F, Badr M.H., Abd El Razik H.A., Ashour H.M.A. ve Abdel Wahab A.E., 2011, Synthesis of Some Pyrazolines and Pyrimidines Derived From Polymethoxy Chalcones as Anticancer and Antimicrobial Agents, Archiv der Pharmazie – Chemistry in Life Sciences, 344, 572-587.
- Saral Ö., 2013, Apiterapik Ari Ürünlerinin (Bal, Polen, Propolis Ve Ari Sütü) Biyoaktif Özellikleri Ve Karaciğer Hasarını Önlemedeki Rollerini, Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Saxena C., Sharma D.K. ve Singh R. V., 1993, Biochemical Behavior of Thio-azomethine Difluoro-boron Compounds, Phosphorus, Sulfur, and Silicon, 85, 9-16.
- Shridevi D. Doddaramappa, K. M. Lokanatha Rai, Ningaiah Srikantamurthy ve Chandra Javarasetty Chethan X., 1999, Novel 5-functionalized-pyrazoles: Synthesis, Characterization and Pharmacological screening, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 3671–367.
- Singh P., Negi J.S., Singh K., Pant G.J., Rawat M.S.M. ve Joshi G.C., 2012, Synthesis and Structure Dependent Photophysical Properties of Novel 2-Pyrazolines, Synthetic Metals, 162, 21–22, 1977–1980.

- Singh M., Kaur M., Kukreja H., Chugh R., Silakari O. ve Singh D., 2013, Acetylcholinesterase Inhibitors As Alzheimer Therapy: From Nerve Toxins To Neuroprotection, European Journal of Medicinal Chemistry, 70, 165-188.
- Smith, L.I. ve Howard, K.L., 1943, The Action of Aliphatic Diazo Compounds Upon A,B-Unsaturated Ketones. III. Benzalacetone and Diazomethane, Journal of the American Chemical Society, 65, 165-166.
- Solomons, G. ve Fryhle C., 2002, Organik Kimya, Çeviri: Okay G. ve Yıldırım Y., 7. Baskı, Literatür Yayıncılık, İstanbul.
- Şahin E., 2015, BODIPY Temelli Fonksiyonel Ligandların Sentezi ve Spektroskopik Özelliklerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Teknel E., 2013, Yeni BODIPY Bileşiklerinin Sentezi ve Spektral Özelliklerinin İncelenmesi, Hacettepe Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Valeur, B., 2001, Molecular Fluorescence Principles and Applications, Wiley-VCH.
- Vogel G., 1971, The Effect of Drugs of Plants Origin On Capillary Permeability and The Tymphatic System, Pharmacognosy and Phytochemistry, Ed: Wagner H., Hörhammer L., Berlin.
- Wang W., Xia M., Chen J., Deng F., Yuan R., Zhang X. ve Shen F., 2016, Genome-Wide Analysis Of Superoxide Dismutase Gene Family *Ingossypium Raimondii* and *G. Arboreum*, Plant Gene, 6, 18-29.
- Weinstain R., Kanter J., Friedman B., Ellies L.G., Baker M.E. ve Tsien R.Y., 2013, Fluorescent Ligand For Human Progesterone Receptor İmaging İn Live Cells, Bioconjugate Chemistry, 24, 766-771.
- Wollgast, J. ve Anklam, E., 2000, Review on Polyphenols in Theobroma Cacao: Changes in Composition During the Manufacture of Chocolate and Methodology for Identification and Quantification, Food Research International, 33, 423-447.
- Wu L. Burgess K., 2008, A New Synthesis of Symmetric Boraindacene (BODIPY) Dyes, Chemical Communication, 4933-4935.
- Yaşar A., 2009, Hidroksi Azakalkonların Sentezi, Reaksiyonları, Teorik Hesaplamaları Ve Biyolojik Aktiviteleri, Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Yaylı N., Üçüncü O., Yaşar A., Küçük M., Yaylı N., Akyüz E. ve Karaoğlu Ş.A., 2006, Synthesis and Biological Activities of *N*-Alkyl Derivatives of *o*-, *m*-, and *p*-Nitro (*E*)-4-Azachalcones and Stereoselective Photochemistry in Solution, with Theoretical Calculations, Turkish Journal of Chemistry, 30, 505-14.

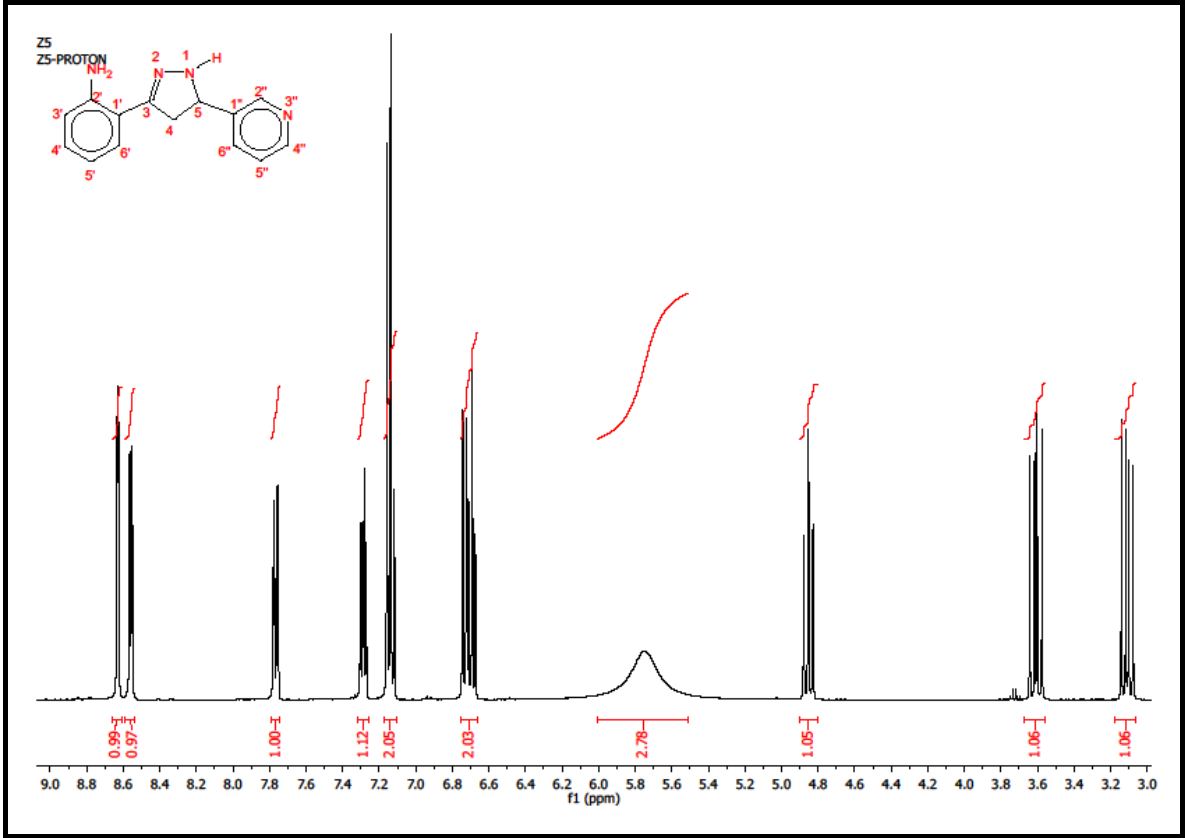
- Yaylı, N., Küçük, M., Üçüncü, O., Yaşar, A., Yaylı N. ve Alpay Karaoğlu, Ş., 2007, Synthesis Of *N*-Alkyl Derivatives and Photochemistry Of Nitro (*E*)-3-Azachalcones With Theoretical Calculations and Biological Activities, Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 188, 2-3, 161-168.
- Yaylı N., Üçüncü O., Yaşar A., Yaylı N., Burnaz N.A., Karaoğlu Ş.A. ve Küçük M., 2009, In Journal of Photochemistry & Photobiology, A: Chemistry, 203(2), 85-91.
- Yılmaz İskender N., 2014, Süstitüe Azakalkonlardan Katalitik Hidrojenasyonla Piperidin Türevi Bileşiklerin Eldesi Ve Biyolojik Aktiviteleri, Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Zheng, Q., Xu G. ve Prasad P.N., 2008, Conformationally Restricted Dipyrromethene Boron Difluoride (BODIPY) Dyes: Highly Fluorescent, Multicolored Probes For Cellular İmaging, European Journal of Chemistry, 14, 5812- 5819.
- Zhou Z., Zhuo J., Yan S. ve Lin M., 2013, Design And Synthesis of 3,5-Diaryl-4,5-Dihydro-1H-Pyrazoles As New Tyrosinase İnhibitors, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 21, 7, 2156–2162.



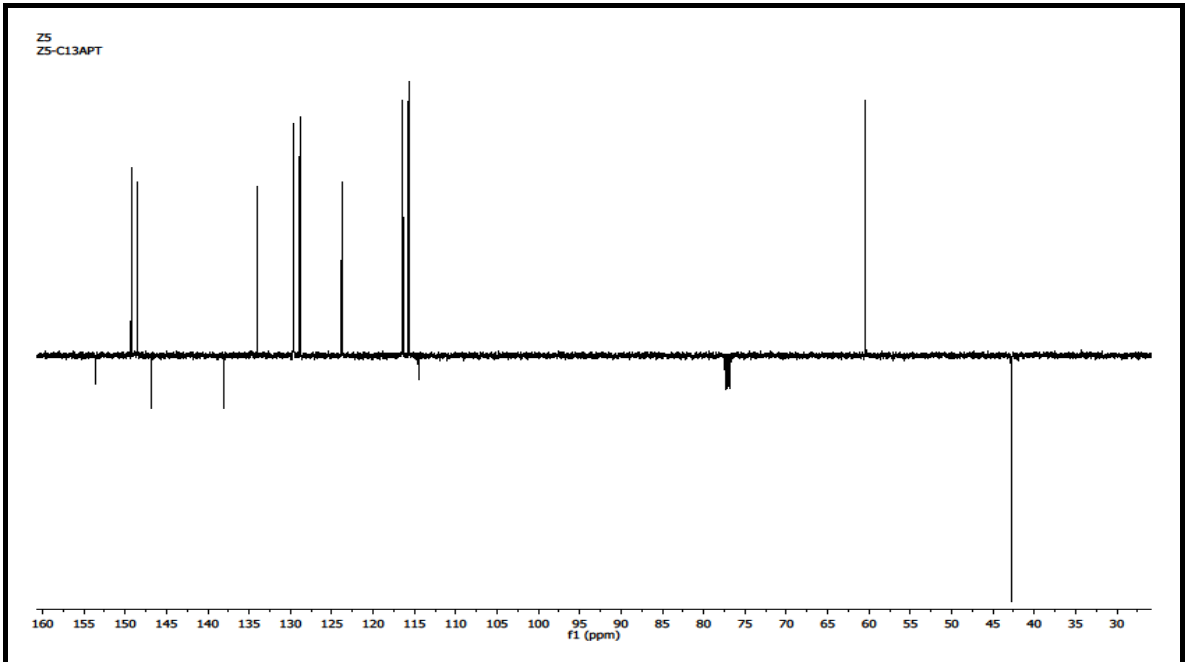
Ek Şekil 3. 4 nolu bileşiğe ait LC-MS/MS spektrumu



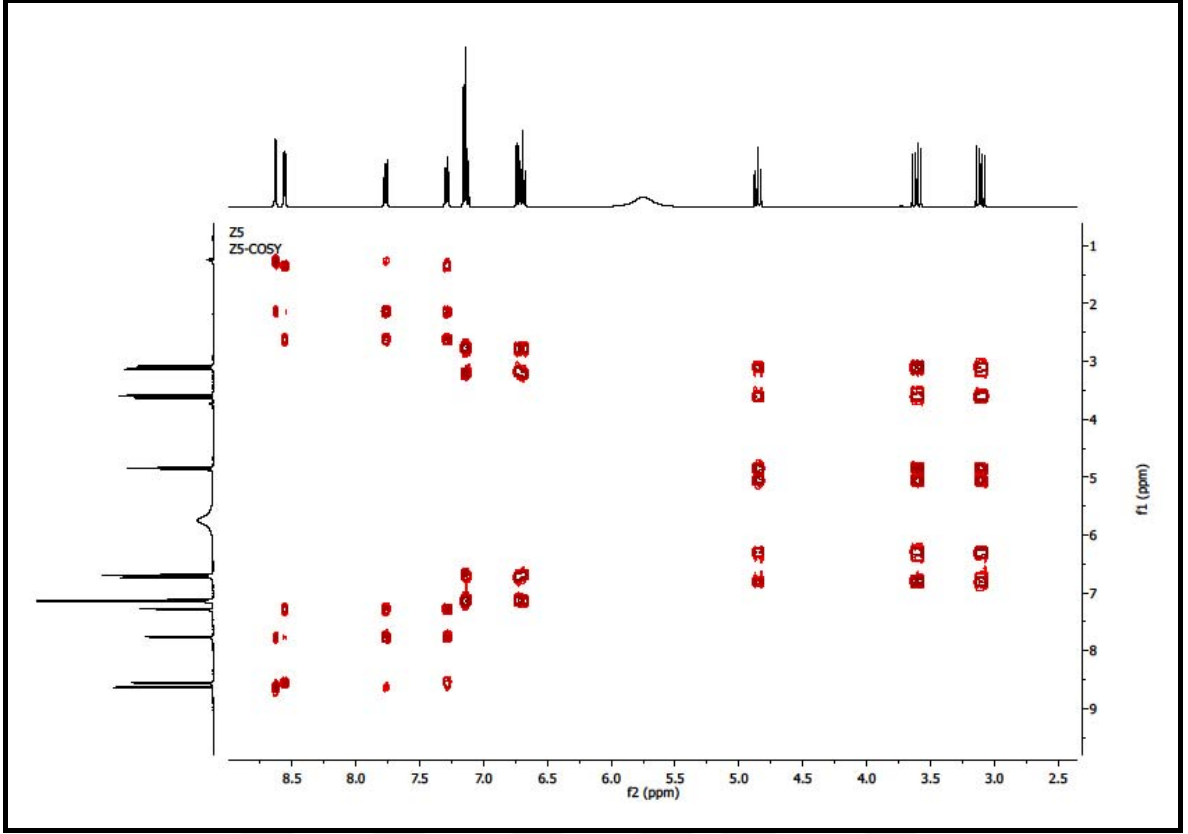
Ek Şekil 4. 4 nolu bileşiğe ait FT-IR spektrumu



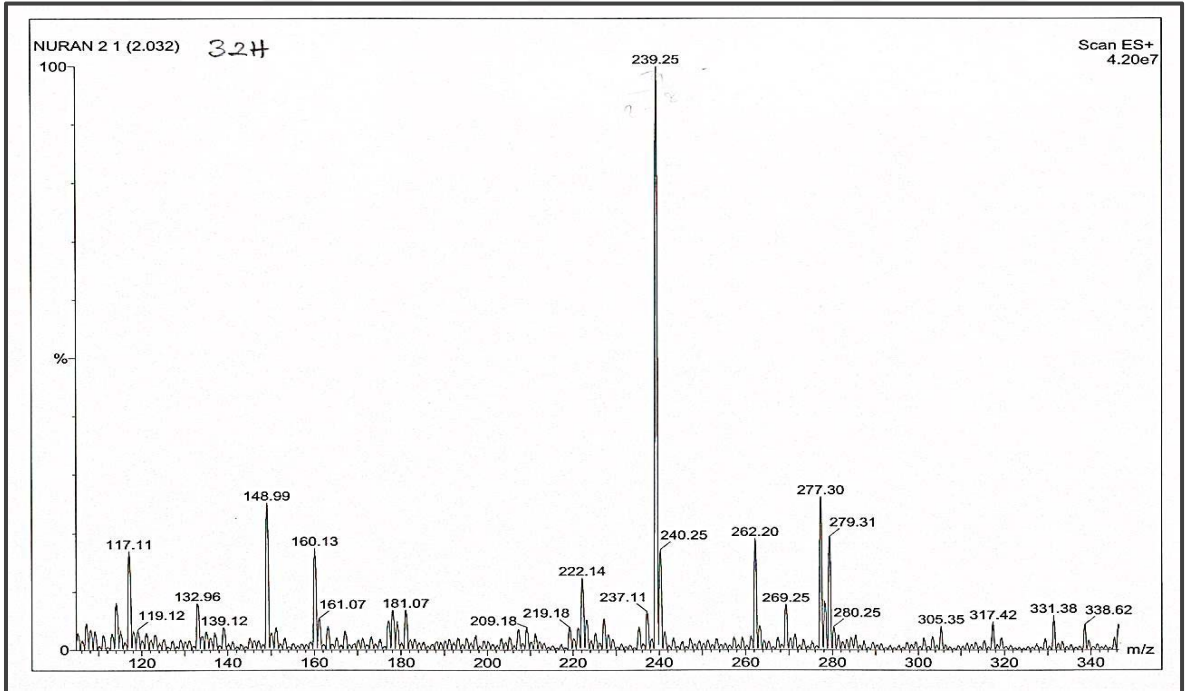
Ek Şekil 5. 5 nolu bileşiğe ait ^1H - NMR spektrumu



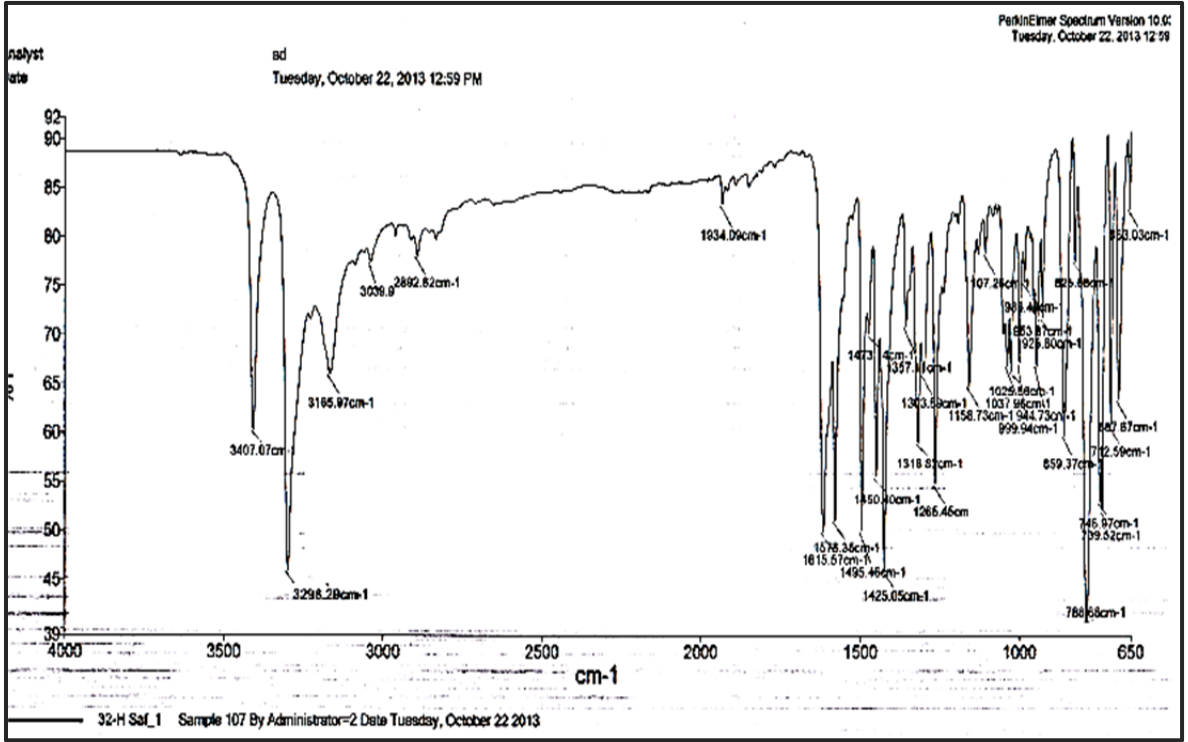
Ek Şekil 6. 5 nolu bileşiğe ait APT NMR spektrumu



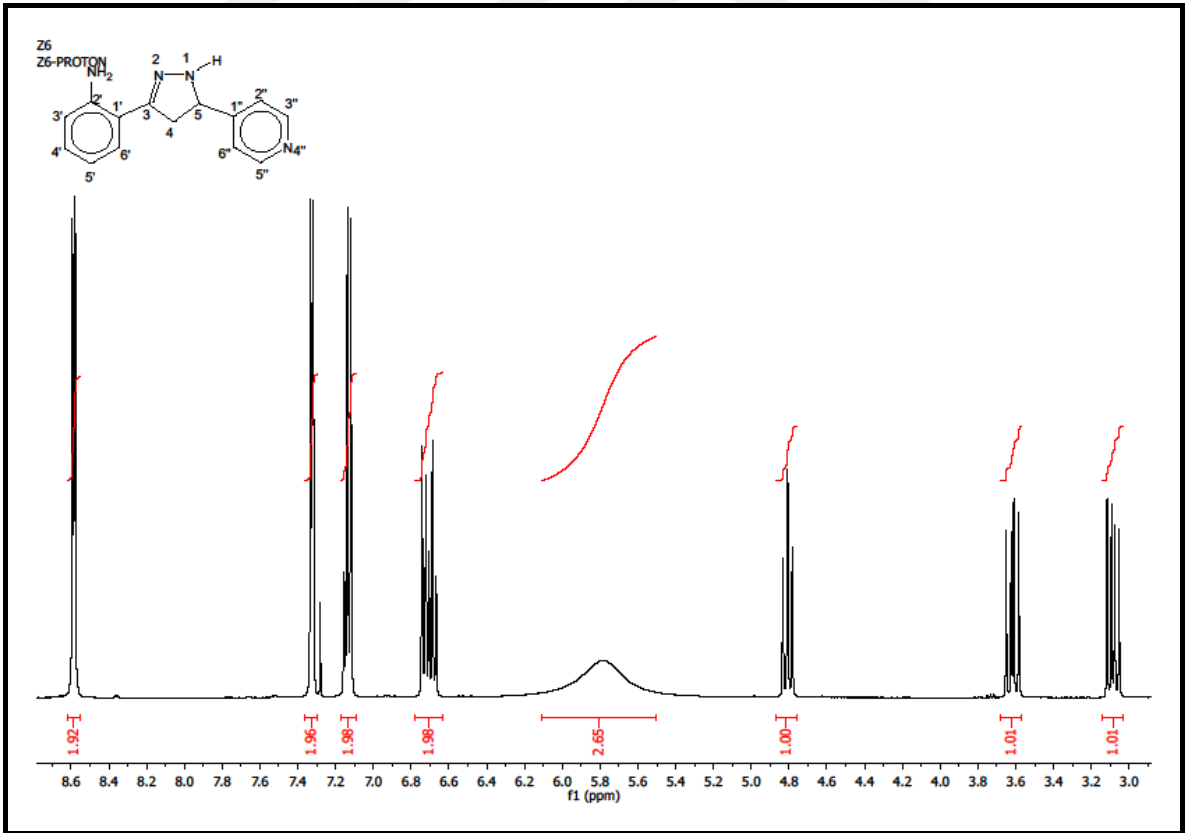
Ek Şekil 7. 5 nolu bileşiğe ait ^1H - ^1H COSY NMR spektrumu



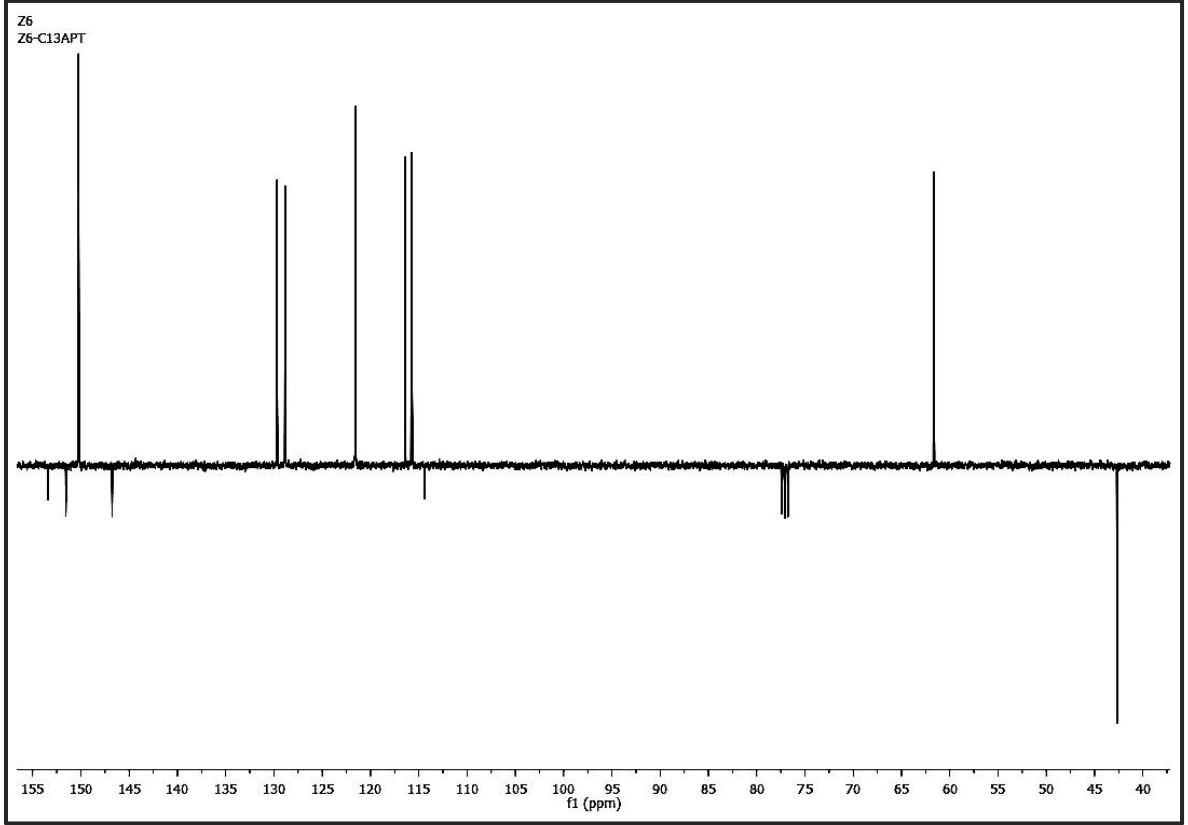
Ek Şekil 8. 5 nolu bileşiğe ait LC-MS/MS spektrumu



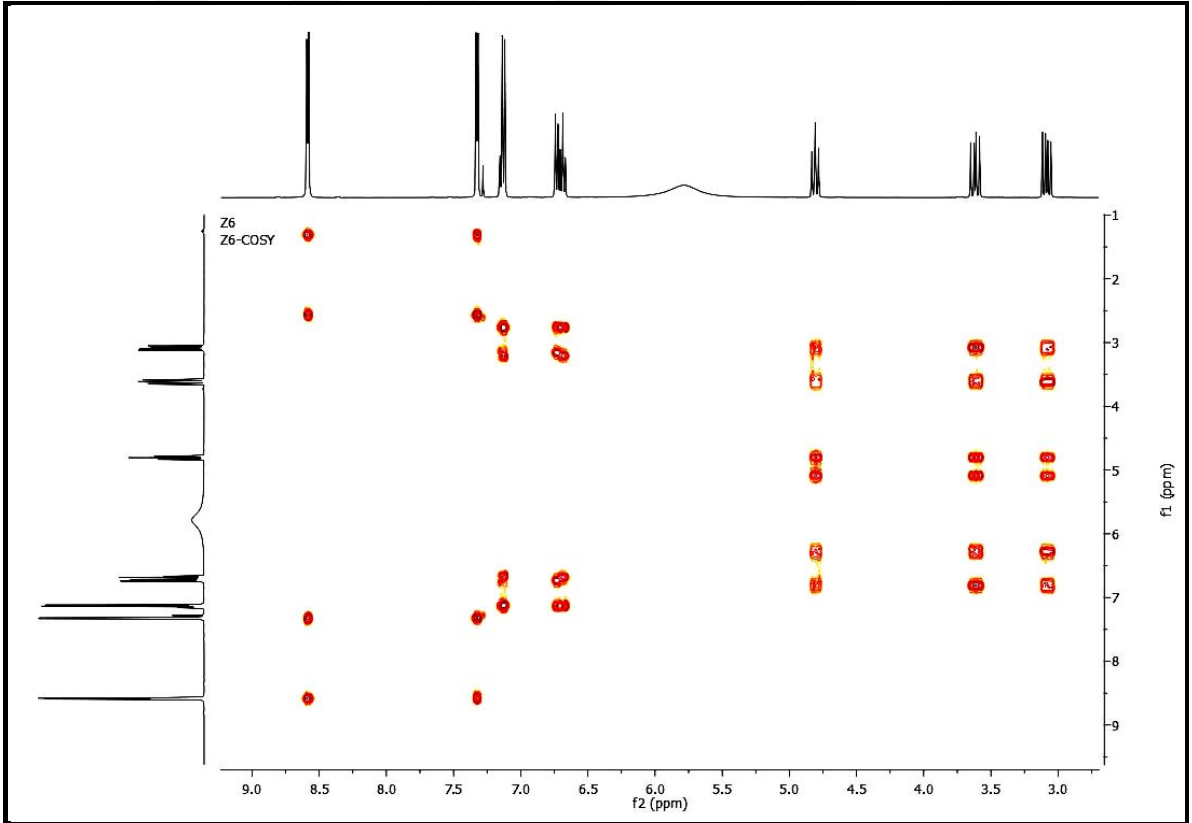
Ek Şekil 9. 5 nolu bileşiğe ait ve FT-IR spektrumu



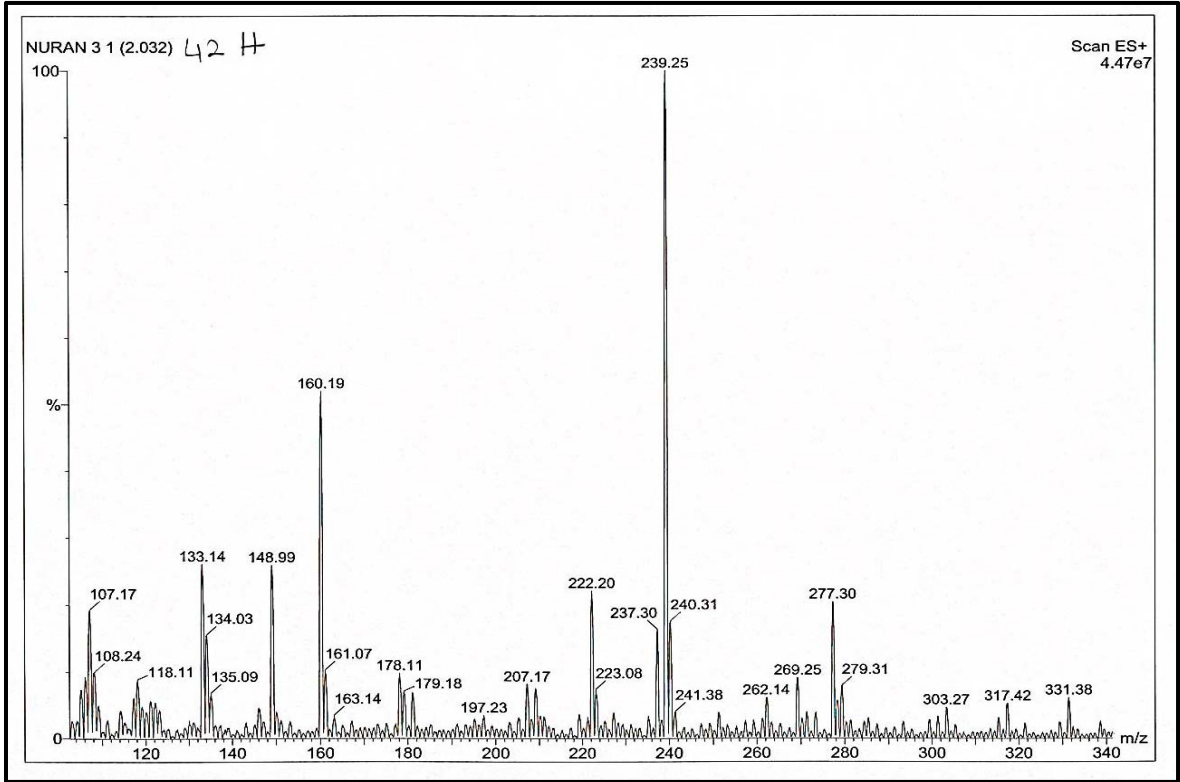
Ek Şekil 10. 6 nolu bileşiğe ait ^1H -NMR spektrumu



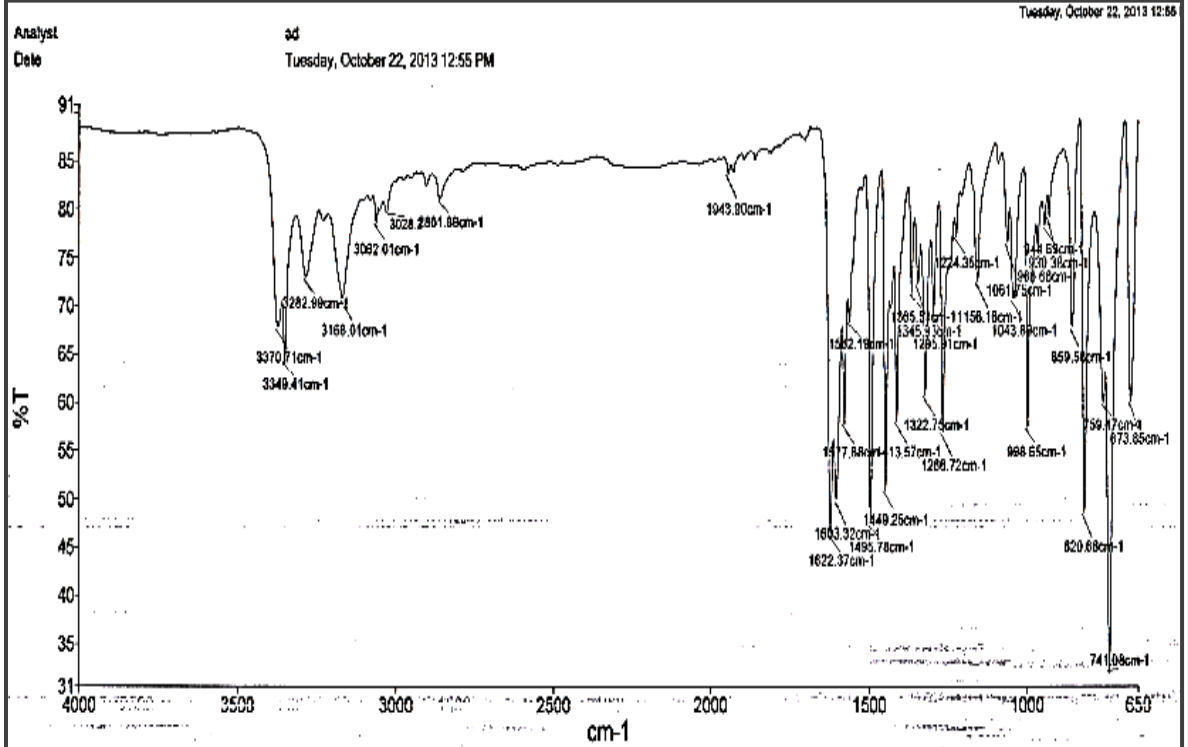
Ek Şekil 11. 6 nolu bileşiğe ait APT NMR spektrumu



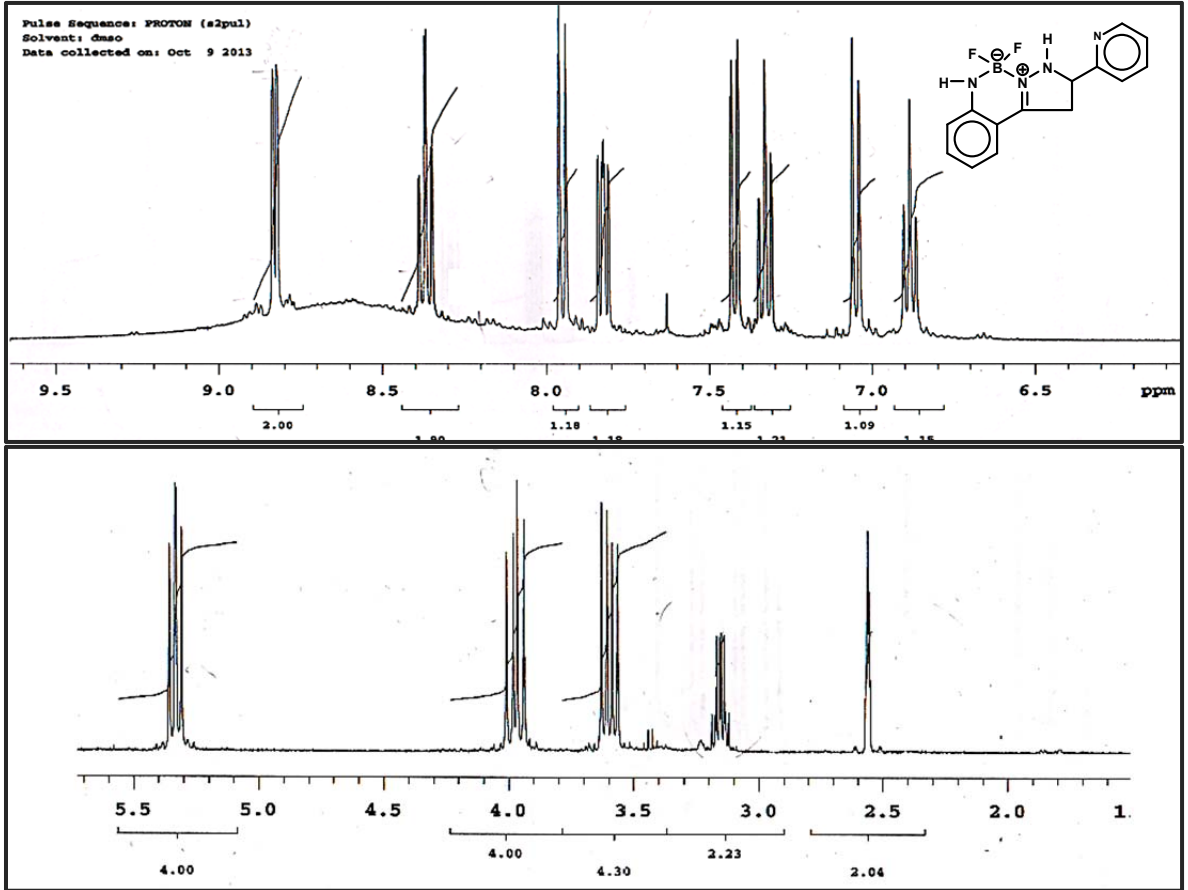
Ek Şekil 12. 6 nolu bileşiğe ait ^1H - ^1H COSY NMR spektrumu



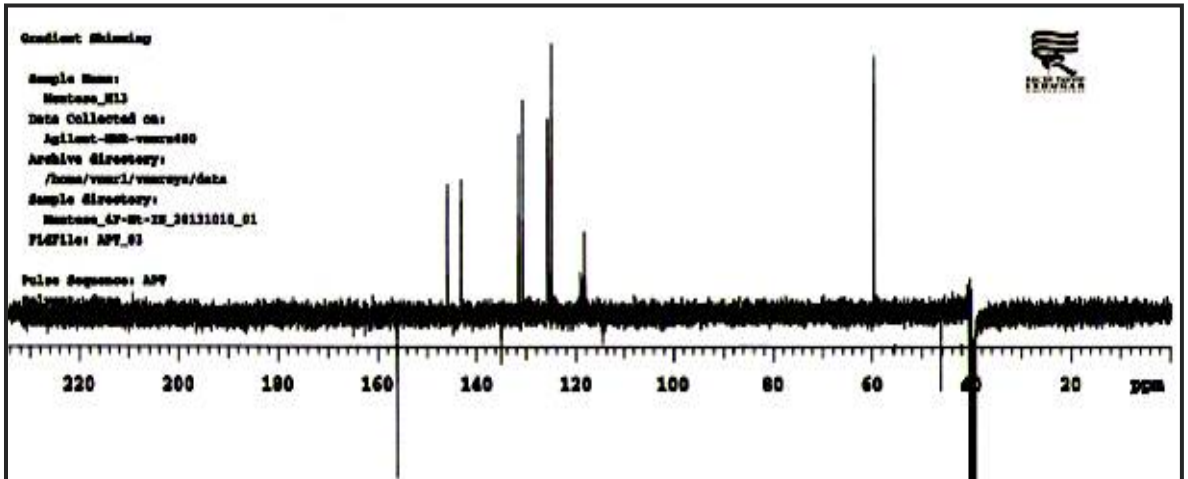
Ek Şekil 13. 6 nolu bileşiğe ait LC-MS/MS spektrumu



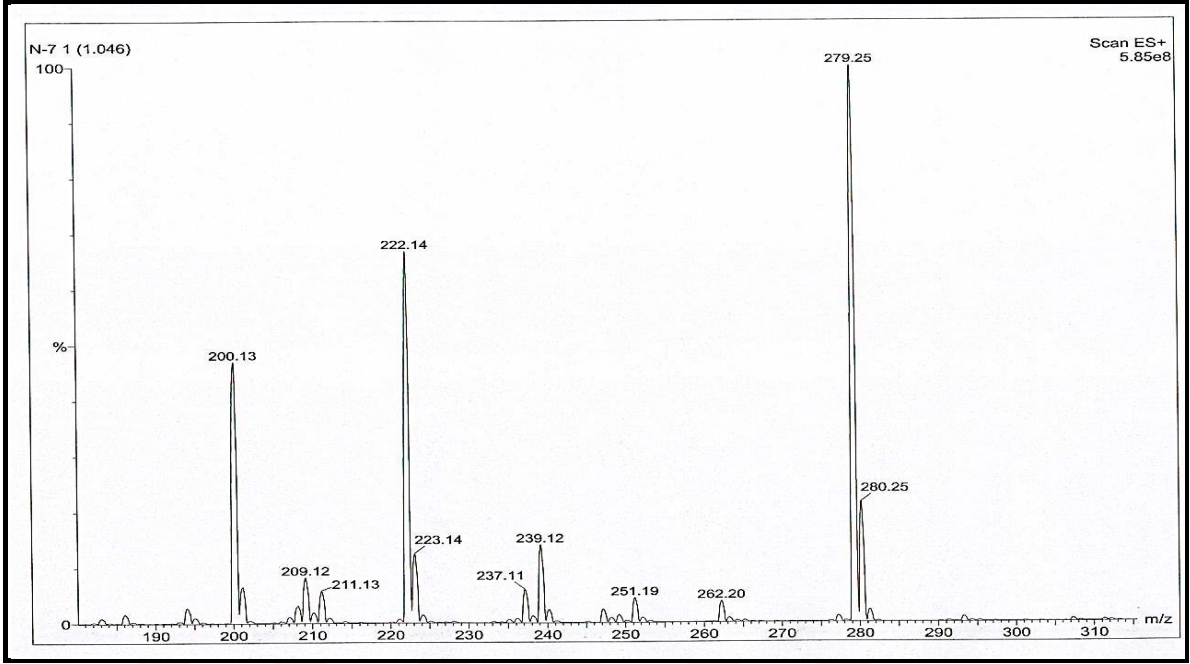
Ek Şekil 14. 6 Nolu bileşiğe ait FT-IR spektrumu



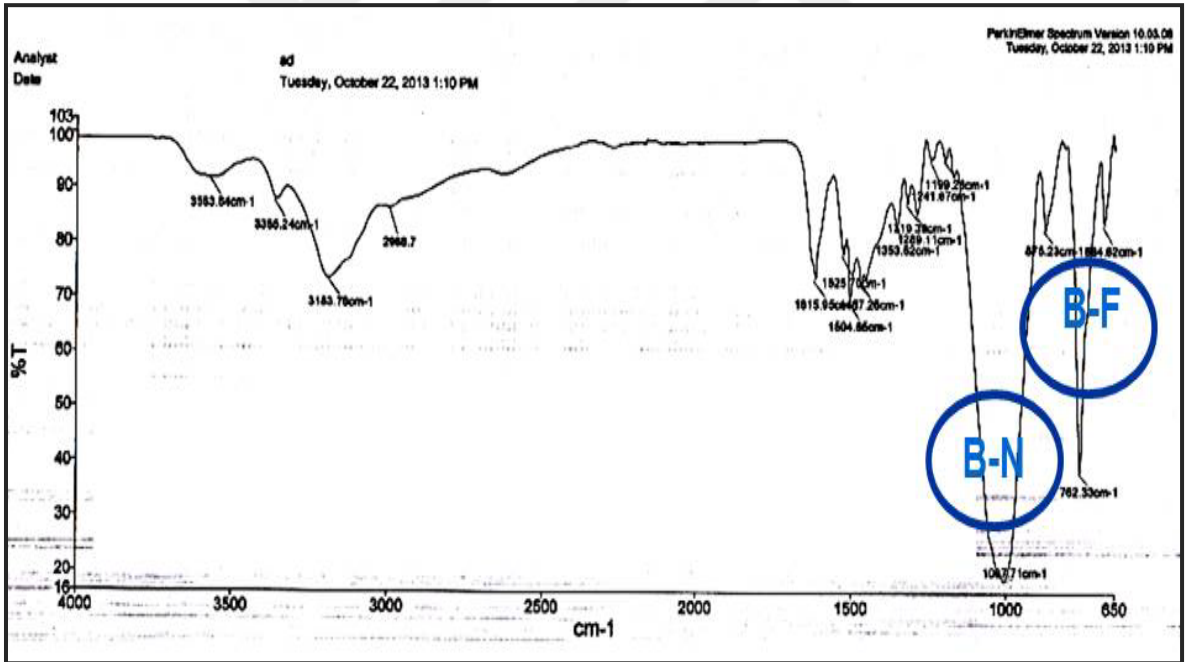
Ek Şekil 15. 7 nolu bileşiğe ait ^1H -NMR spektrumları



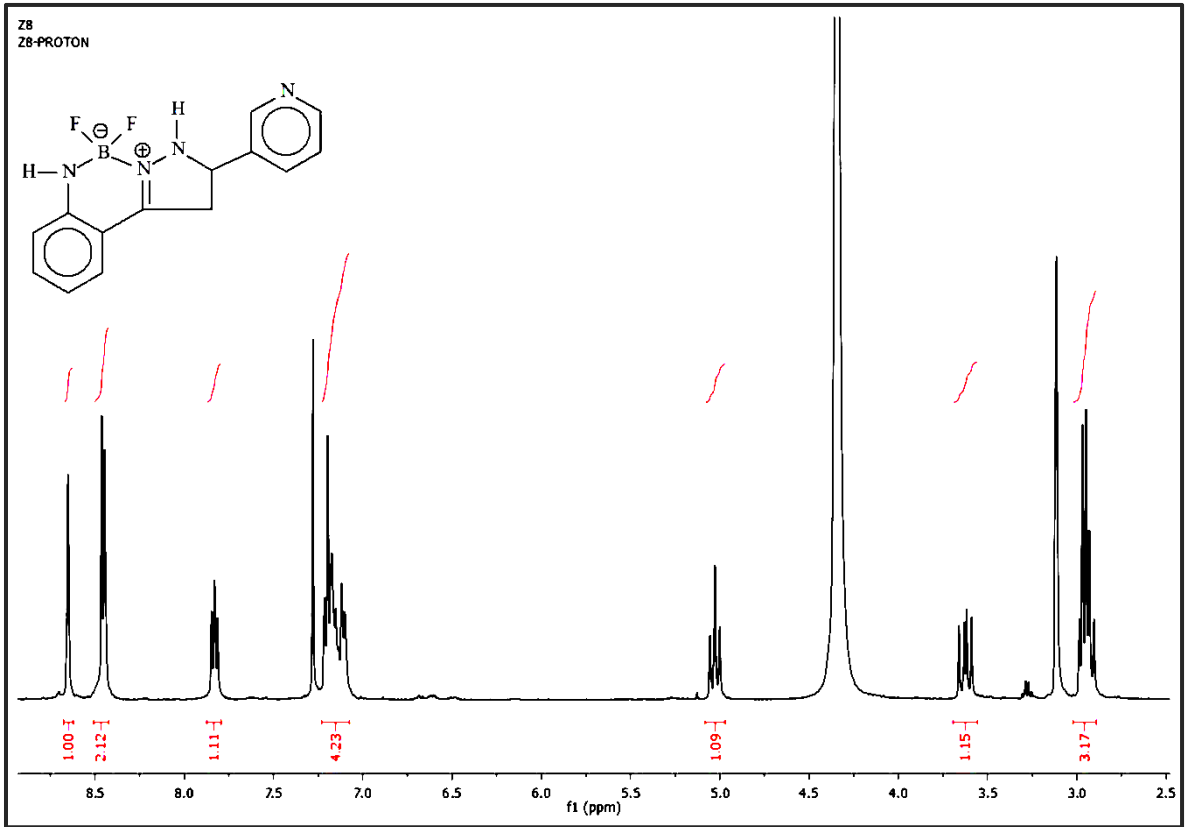
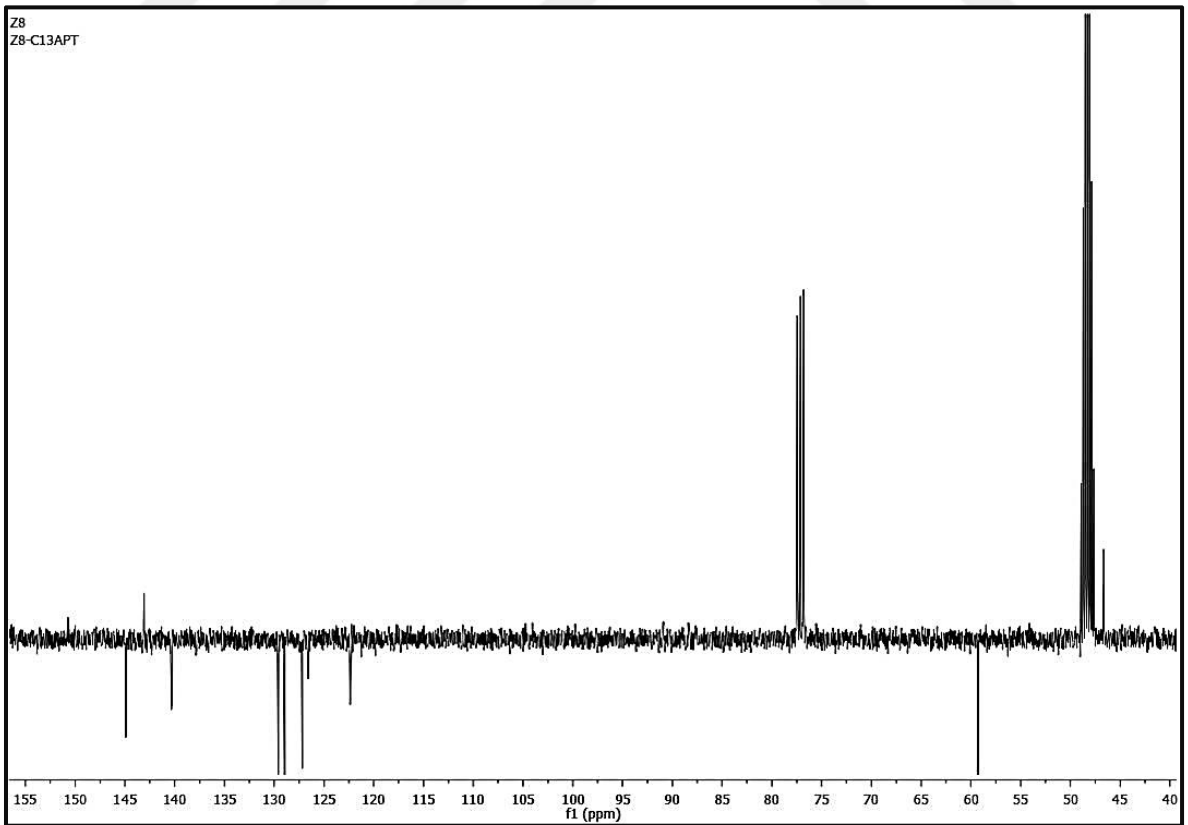
Ek Şekil 16. 7 nolu bileşiğe ait APT NMR spektrumu



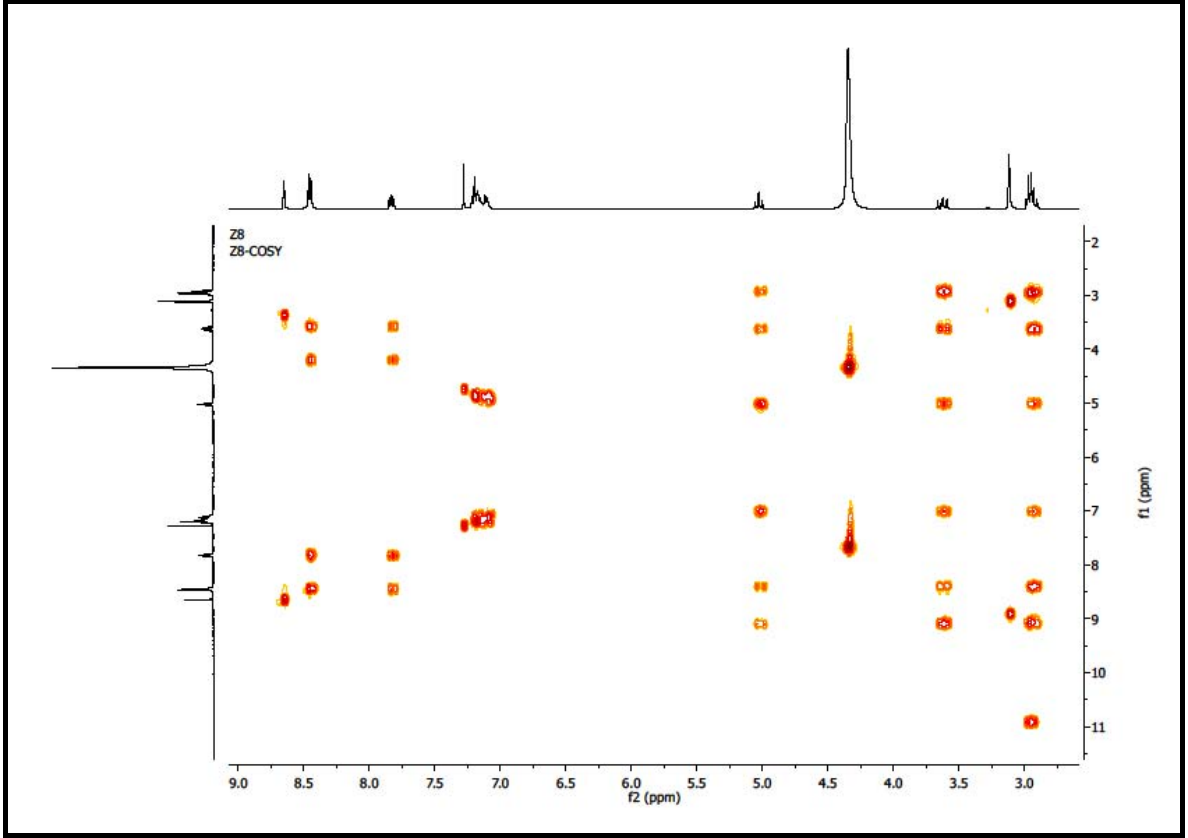
Ek Şekil 17. 7 nolu bileşiğe ait LC-MS/MS spektrumu



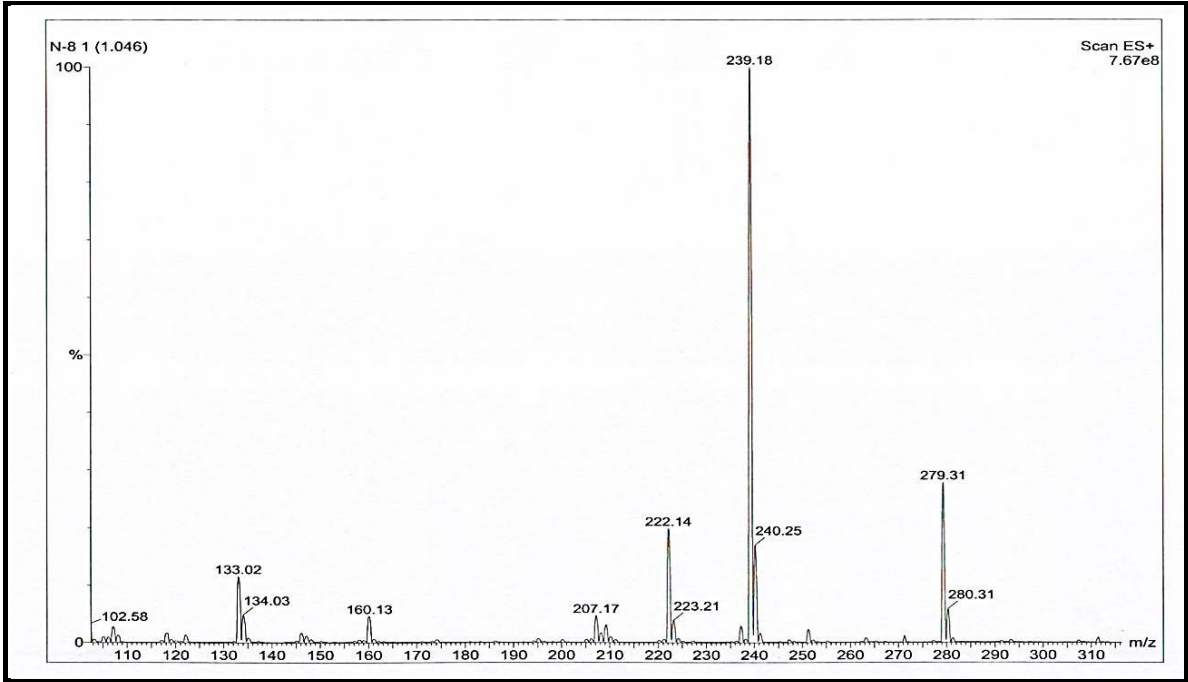
Ek Şekil 18. 7 Nolu bileşiğe ait FT-IR spektrumu

Ek Şekil 19. 8 nolu bileşiğe ait ^1H - NMR spektrumu

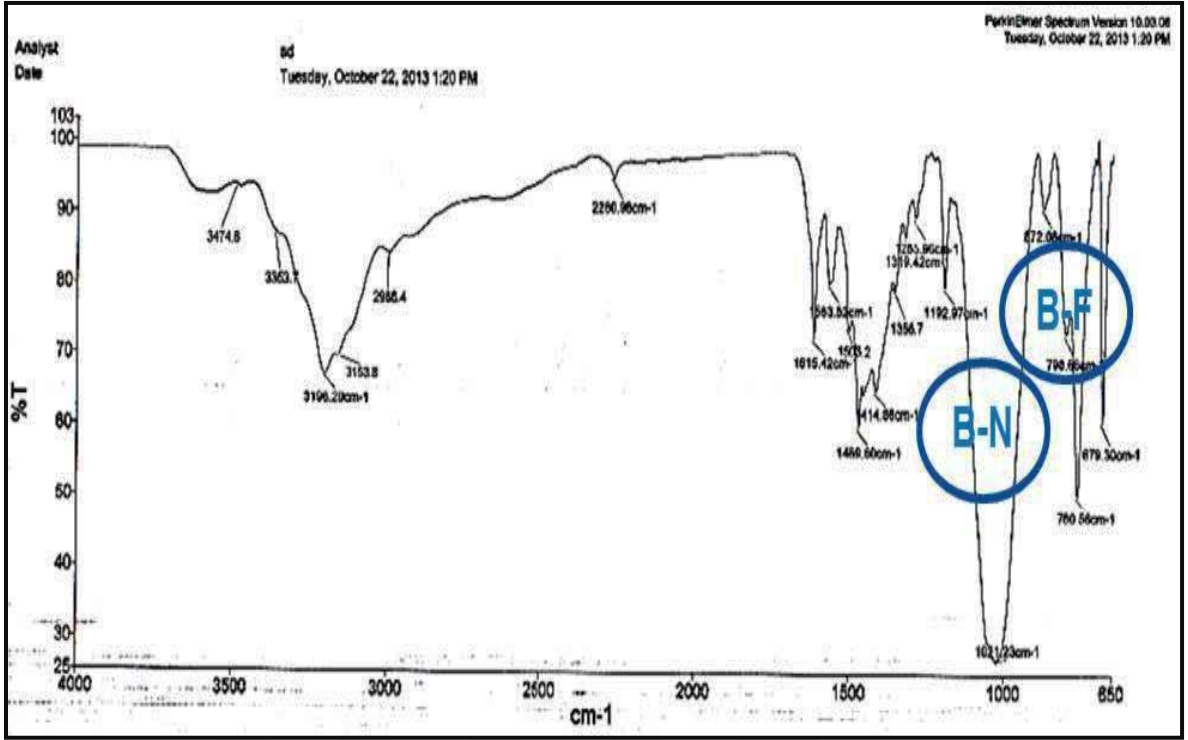
Ek Şekil 20. 8 nolu bileşiğe ait APT NMR spektrumu



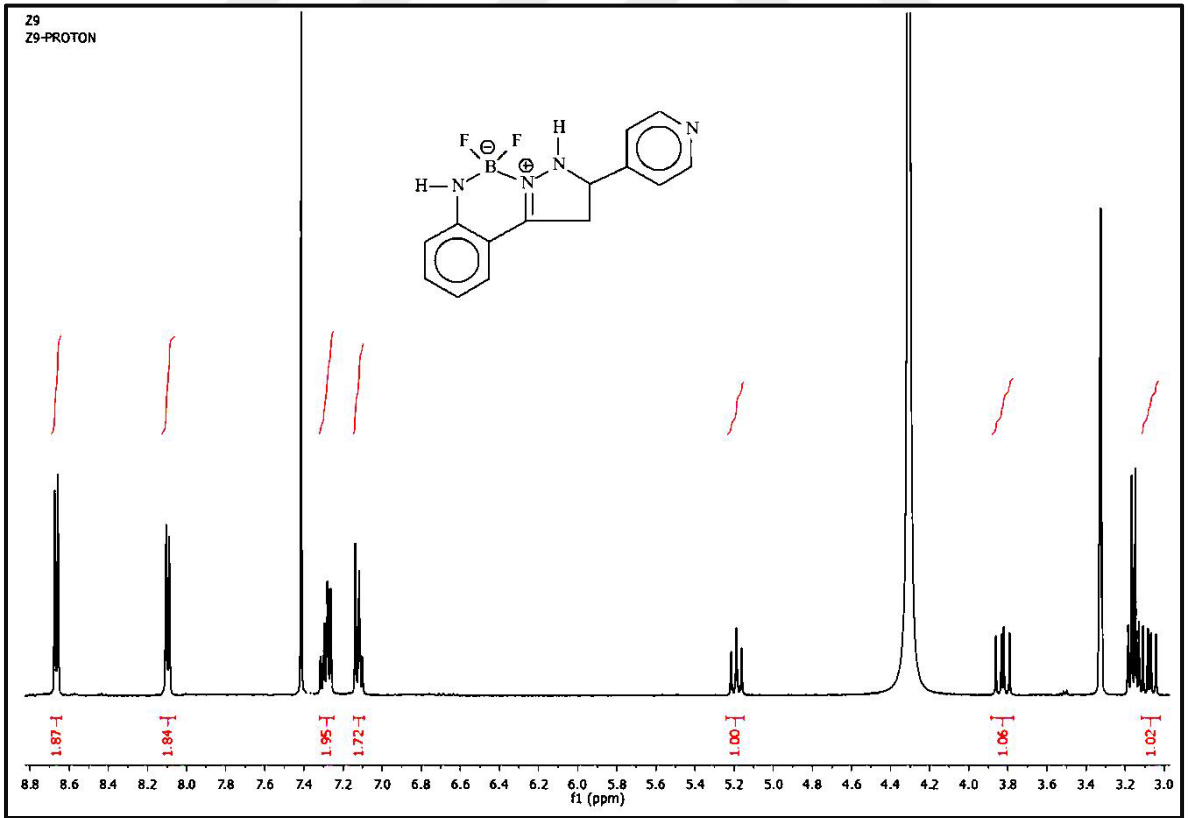
Ek Şekil 21. 8 nolu bileşiğe ait ^1H - ^1H COSY NMR spektrumu

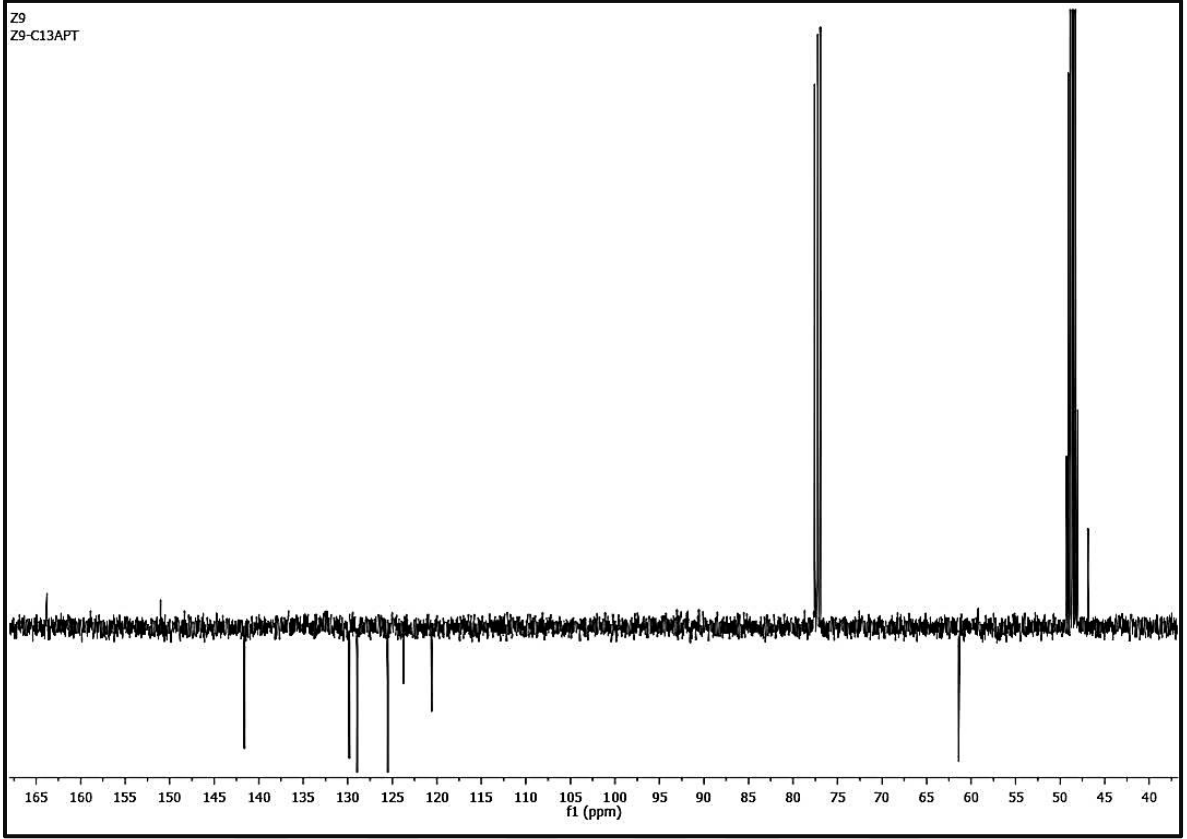


Ek Şekil 22.8 nolu bileşiğe ait LC-MS/MS spektrumu

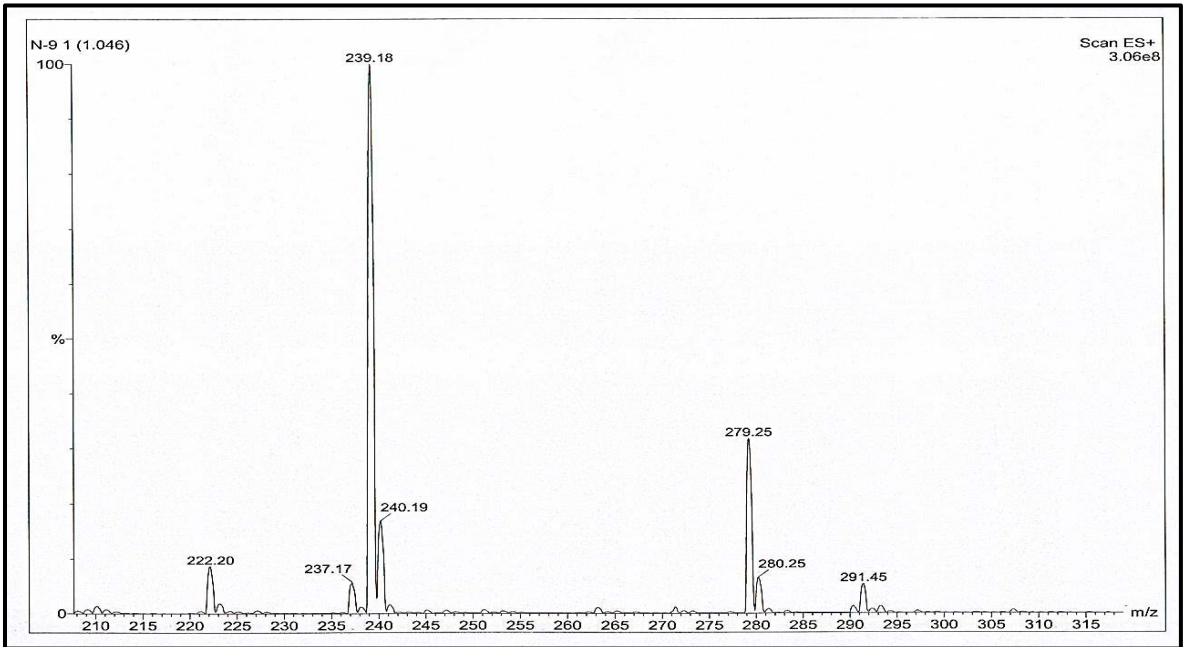


Ek Şekil 23. 8 Nolu bileşiğe ait FT-IR spektrumu

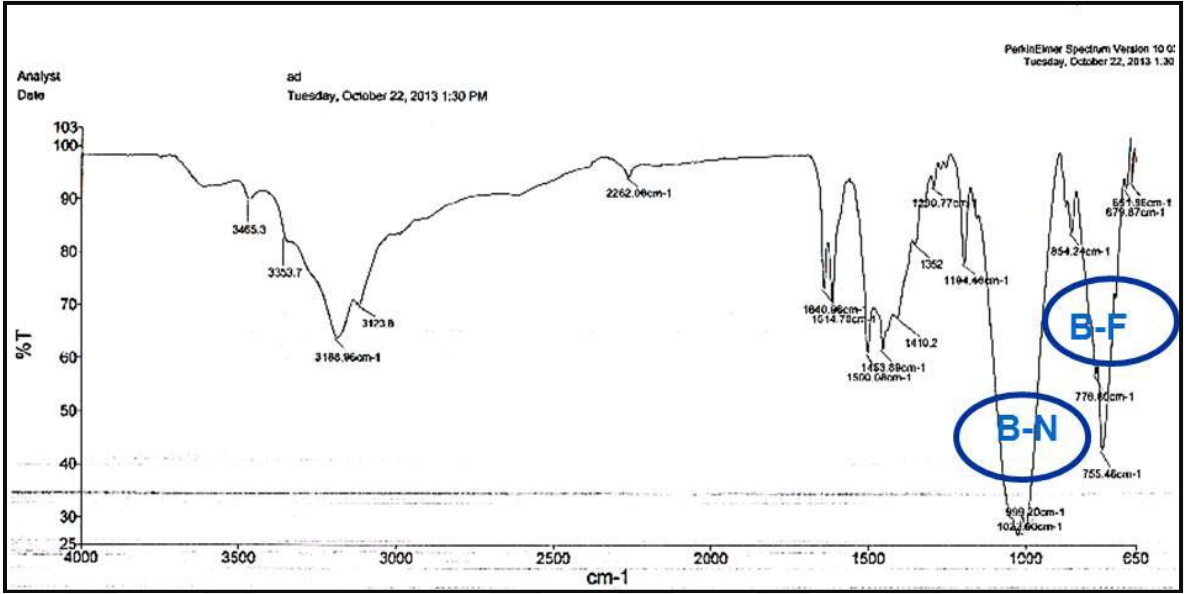
Ek Şekil 24. 9 nolu bileşiğe ait ^1H - NMR spektrumu



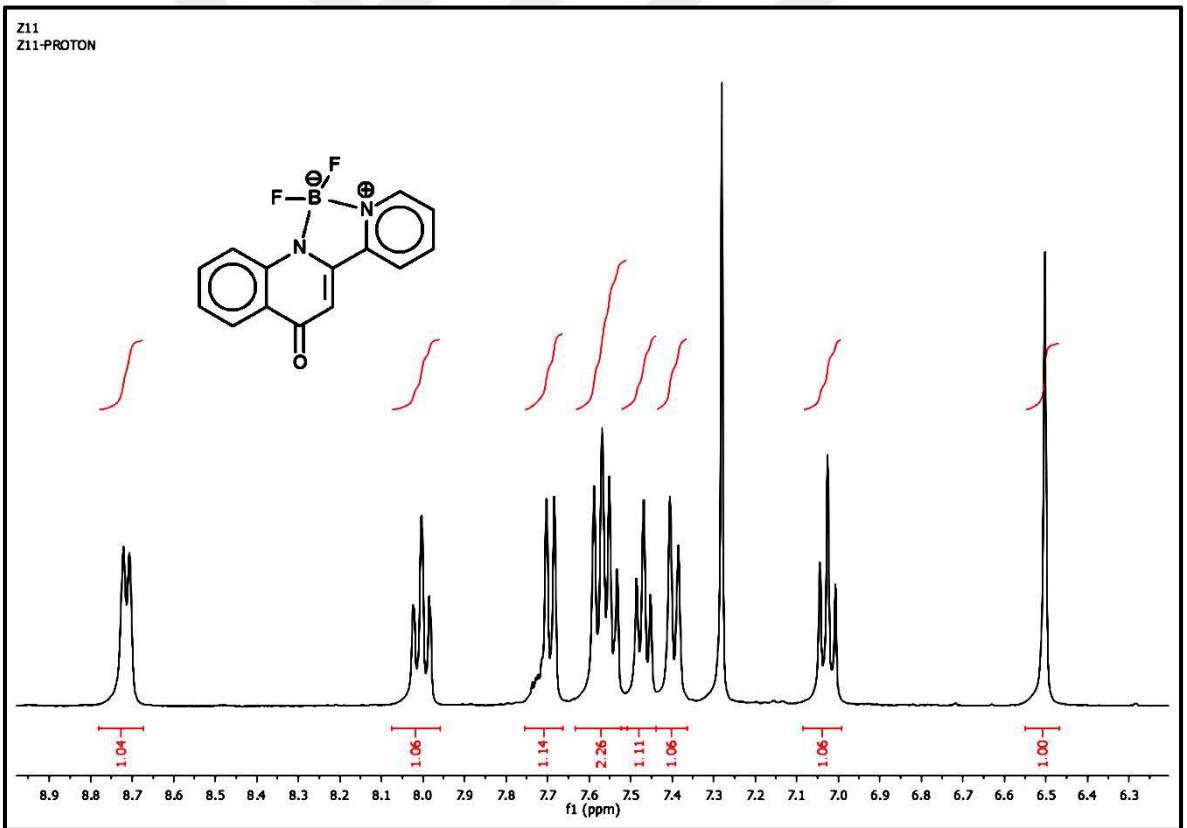
Ek Şekil 25. 9 nolu bileşiğe ait APT NMR spektrumu



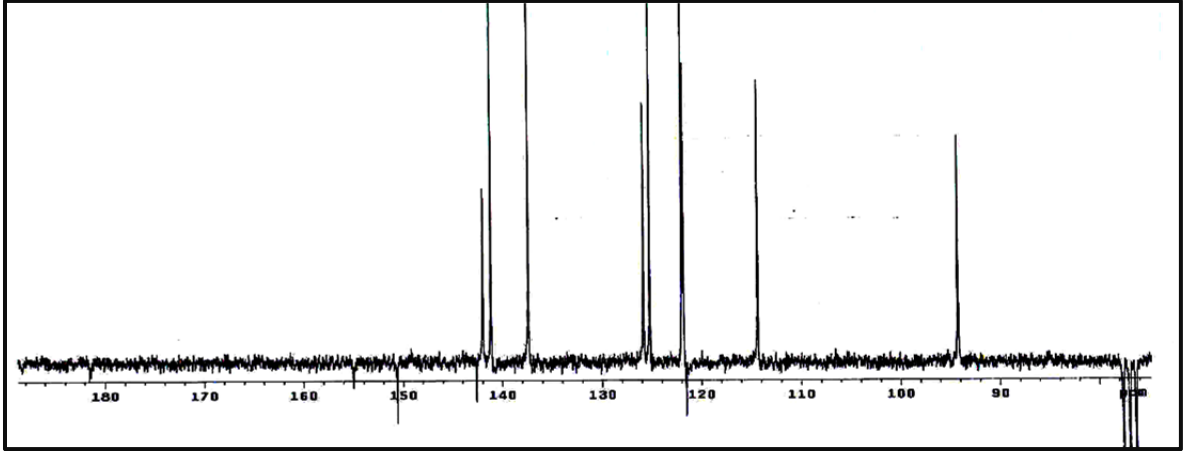
Ek Şekil 26. 9 Nolu bileşiğe ait LC-MS/MS spektrumu



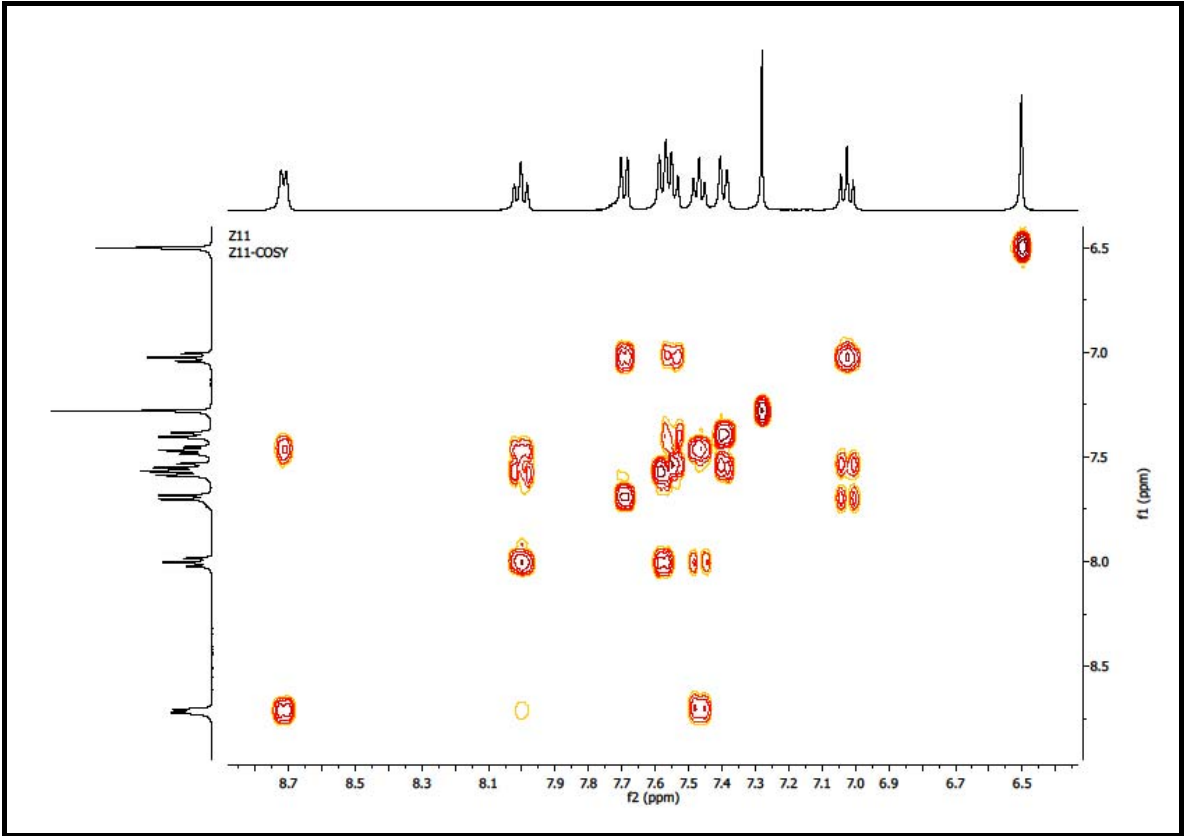
Ek Şekil 27. 9 Nolu bileşiğe ait FT-IR spektrumu



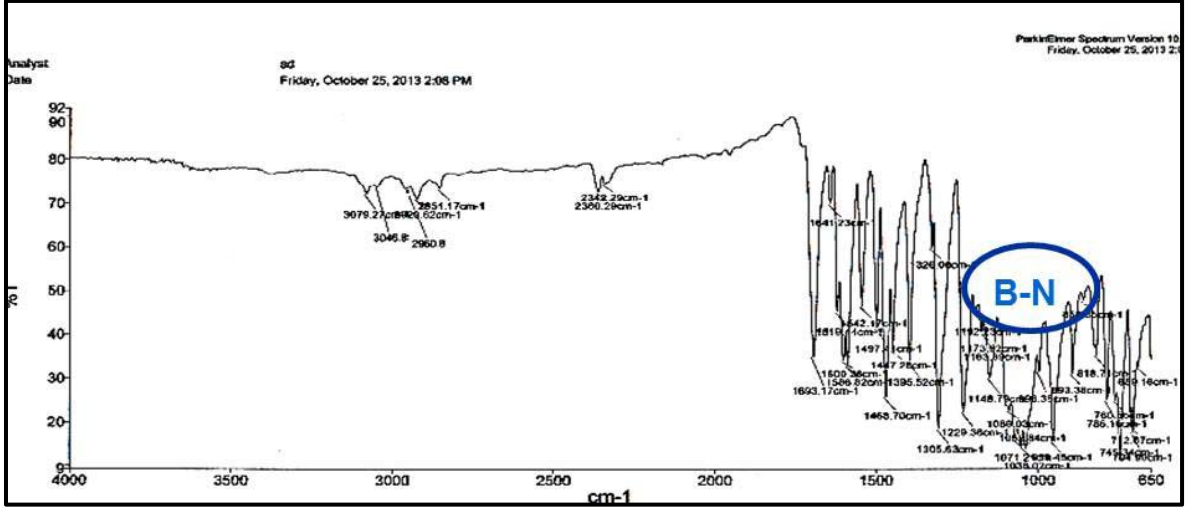
Ek Şekil 28. 11 Nolu bileşiğe ait ^1H - NMR spektrumu



Ek Şekil 29. 11 Nolu bileşiğe ait APT NMR spektrumu



Ek Şekil 30. 11 Nolu bileşiğe ait ^1H - ^1H COSY NMR spektrumu



Ek Şekil 33. 11 Nolu bileşiğe ait FT-IR spektrumu

ÖZGEÇMİŞ

01.05.1988 tarihinde Ankara'da doğdu. İlk ve orta öğretimini Ankara'da tamamladı. 2008 yılında K.T.Ü., Fen Fakültesi, Kimya bölümü programını kazandı ve 2012 yılında okulunu tamamladı. 2012 yılı güz döneminde K.T.Ü., Kimya Anabilim Dalı, Organik kimya kürsüsünde Yüksek Lisans eğitime başladı. Eğitimi süresince TÜBİTAK burs programıyla desteklendi. Yabancı dili İngilizce'dir.

