

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

KİMYA ANABİLİM DALI

**YENİ TİYOFEN İÇERİKLİ 1,2,4-TRIAZOL-3(5)-ON TÜREVLERİNİN
SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE FARMAKOLOJİK
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Emrah BİRİNCİ

**OCAK 2013
TRABZON**

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

YENİ TİYOFEN İÇERİKLİ 1,2,4-TRİAZOL-3(5)-ON TÜREVLERİNİN
SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE FARMAKOLOJİK
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Emrah BİRİNCİ

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

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 25.12.2012
Tezin Savunma Tarihi : 10.01.2013

Tez Danışmanı : Yrd. Doç.Dr. Yasemin ÜNVER

Trabzon 2013

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Ana Bilim Dalında

Emrah BİRİNCİ Tarafından Hazırlanan

**YENİ TİYOFEN İÇERİKLİ 1,2,4-TRIAZOL-3(5)-ON TÜREVLERİNİN
SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE FARMAKOLOJİK
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

**başlıklı bu çalışmada, Enstitü Yönetim Kurulunun 25/12/2012 gün ve 1487 sayılı
kararıyla oluşturulan jüri tarafından 10/01/2013 tarihinde yapılan sınavda**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan : Doç. Dr. Kemal SANCAK

Üye : Doç. Dr. Gökhan APAYDIN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Yasemin ÜNVER

Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans programında hazırlanan "Yeni Tiyofen İçerikli 1,2,4-Triazol-3(5)-on Türevlerinin Sentez, Karakterizasyonu ve Farmakolojik Özelliklerinin İncelenmesi" başlıklı tez çalışması KTÜ Fen Fakültesi, Kimya Bölümü Organik Kimya Araştırma Laboratuvar'ında gerçekleştirilmiş olup, 8764 kodlu KTÜ Bilimsel Araştırma Projesi tarafından desteklenmiştir.

Gerek yapılan çalışmaların belirlenmesinde, gerekse bu çalışmaların teorik ve pratik uygulamalarında her zaman yanımda olan destek ve yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerini paylaşan Saygıdeğer Danışman Hocam Yrd. Doç. Dr. Yasemin ÜNVER'e sonsuz teşekkürlerimi ve minnetlerimi sunarım.

Çalışmalarımızın her aşamasında bilgi ve birikimlerini bizlere aktaran, gelecek için yetişmiş bireyler olmamıza yardımcı olan, kimi zaman baba, kimi zaman ağabey edasıyla yanı başımızda olarak bizleri hayata karşı güçlü bireyler olmaya doğru yönlendiren bizlere karşı gösterdiği sabır ve hoşgörülü tavrından ötürü çok kıymetli Saygıdeğer Hocam Doç. Dr. Kemal SANCAK'a teşekkür ve minnetlerimi bir borç bilirim.

İçinde bulunmaktan büyük onur duyduğum bu ekipte yer alan maddi manevi yardım ve desteklerini her zaman hissettiğim kıymetli hocalarım Arş. Gör. Esra DÜĞDÜ'ye ve Sayın Dilek ÜNLÜER'e değerli bilgilerini ve dostluklarını benden esirgemedikleri için sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Hayatımın pek çok alanında olduğu gibi tez çalışmamda da yardım ve desteğini her daim gördüğüm maddi manevi her anlamda yanımda olan değerli kardeşim, arkadaşım Arş. Gör. Fatih ÇELİK'e çok teşekkür ederim.

Antioksidan tayin çalışmalarımın gerçekleştirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Murat KÜÇÜK'e, Antimikrobial özelliklerin tayin edilmesinde emeği geçen Sayın Doç. Dr. Şengül Alpay Karaoğlu ve MS spektrumlarını kaydeden Sayın Uzman Dr. Hakkı Türker AKÇAY'a teşekkür ederim.

Bütün hayatım boyunca destekleriyle yanımda olan sevgili aileme sonsuz şükranlarımı sunarım.

Emrah BİRİNCİ
Trabzon 2013

TEZ BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum "Yeni Tiyofen İçerikli 1,2,4-Triazol-3(5)-on Türevlerinin Sentez, Karakterizasyonu ve Farmakolojik Özelliklerinin İncelenmesi" başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Yrd. Doç. Dr. Yasemin ÜNVER 'in sorumluluğunda tamamladığımı, verileri kendim topladığımı, deneyleri 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. 10/01/2013

Emrah BİRİNCİ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	III
TEZ BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	VII
SUMMARY	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
SEMBOLLER DİZİNİ	XI
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1 . Giriş	1
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	7
2.1. Orijinal Nitelikte Bileşiklerin Sentezi	7
2.1.1. Etil 2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetat (19)	7
2.1.2. 2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetohidrazit(20)	8
2.1.3. 1-(2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetil)-4-feniltiyosemikarbazit (21a)	9
2.1.4. 1-(2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetil)-4-(4-bromofenil)tiyosemikarbazit(21b)	9
2.1.5. 1-(2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetil)-4-(4-florofenil)tiyosemikarbazit(21c)	10
2.1.6. 1-(2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetil)-4-p-toliltiyosemikarbazit(21d)	11
2.1.7. 4-amino-2-((5-merkpto-4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-il)metil)-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on (22a)	11
2.1.8. 4-amino-2-((4-(4-bromofenil)-5-merkpto-4H-1,2,4-triazol-3-il)metil)-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on (22b).....	12
2.1.9. 4-amino-2-((4-(4-florofenil)-5-merkpto-4H-1,2,4-triazol-3-il)metil)-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on (22c)	13

2.1.10.	4-amino-2-((5-merkapt-4-p-tolil-4H-1,2,4-triazol-3-yl)metil)-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on (22d)	13
2.1.11.	4-amino-2-((5-(4-florofenilamino)-1,3,4-tiyodiazol-2-il)metil)-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on (23)	14
2.2.	Sentezlenen Bileşiklerin Biyolojik Aktivite Tayinleri	15
2.2.1.	Antioksidan Aktivite Test Yöntemi	15
2.2.1.1.	DPPH Temizleme Aktivitesi Tayini.....	15
2.2.1.2.	Demir (III) İndirgeme / Antioksidan Güç (FRAP) Tayini	16
2.2.2.	Antimikrobiyal Test Yöntemi.	17
2.2.2.1.	Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu	17
3.	BULGULAR	18
3.1.	Bileşiklerin Spektroskopik Sonuçları	18
3.2.	Sentezlenen Bileşiklerin Antioksidan Aktiviteler	29
3.3.	Sentezlenen Bileşiklerin Antimikrobiyal Aktiviteleri.....	34
4.	TARTIŞMA.....	35
4.1.	Bileşiklerin Spektroskopik Verilerinin Değerlendirilmesi.....	35
4.2.	Bileşiklerin Biyolojik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi.....	40
4.2.1.	Antioksidan Aktivitelerin Değerlendirilmesi	40
4.2.1.1.	DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi Tayini	41
4.2.1.2.	Demir (III) İndirgeme / Antioksidan Güç (FRAP) Tayini	42
5.	SONUÇLAR	43
6.	ÖNERİLER	44
7.	KAYNAKLAR.....	45
8.	EKLER	49

ÖZGEÇMİŞ

Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

YENİ TİYOFEN İÇERİKLİ 1,2,4-TRİAZOL-3(5)-ON TÜREVLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE FARMAKOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Emrah BİRİNCİ

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı
Danışmanı: Yrd. Doç.Dr. Yasemin ÜNVER
2013, 48 Sayfa, 22 Sayfa Ek

Bu çalışmada, orijinal nitelikte 11 adet tiyofen-1,2,4-triazol-3(5)-on içeren bileşiklerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentez çalışmasının ilk aşamasında, ester fonksiyonuna sahip Etil-2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1 il) asetat (19) bileşiği elde edilmiştir. Sentezlenen bu bileşiğinin (19), hidrazin hidrat ile reaksiyonundan anahtar bileşik niteliğindeki 2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen 2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il) aseto hidrazit (20) bileşiğine varılmıştır. İlgili anahtar bileşiğin, fenil/substitue fenil izotiyosyanatlarla reaksiyonundan 1-(2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetil)-4-fenil/substituefenil tiyosemikarbazit bileşiklerinin sentezi gerçekleştirilmiştir (21a-d). Mevcut tiyosemikarbazit türevlerinin (21a-d) NaOH ile reaksiyonundan 4-amino-2-((4-(4-fenil/substituefenil)-5-merkapt-4H-1,2,4-triazol-3-il)metil)-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on (22a-d) bileşiklerine varılmıştır. Çalışmanın son sentez aşamasında, bir tiyosemikarbazit türevi olan 1-(2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetil)-4-(4-florofenil) tiyosemikarbazit ın (21c) H₂SO₄ ile reaksiyonu sonucu, 4-amino-2-((4-(4-florofenil)-5-merkapt-4H-1,2,4-triazol-3-il)metil)-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on (23) bileşiği sentezlenmiştir. Sentezlenen 19 ve 21c bileşiklerinin, X-ray verileri toplanmış ve bu verilerden elde edilen ortep ve diyagramlar bulgular kısmında sunulmuştur. Sentezlenen tüm bileşiklerin, antioksidan ve antimikrobiale aktivitelele test ettirilmiş, özellikle tiyosemikarbazit fonksiyonuna sahip 21 (a-d) bileşiklerinin yüksek etkide antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ortaya konulmuştur. Orijinal nitelikteki, 11 adet bileşiğin yapı aydınlatılması FT-IR , ¹H-NMR , ¹³C-NMR (APT) ve LC/MS-MS spektroskopi yöntemlele kullanılarak yapılmış ve sentezlele ilişkin reaksiyon mekanizmaları önerilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Tiyofen, 1,2,4-triazol-5-on, tiyosemikarbazit, triazol-tiol/tion, tiyodiazol, X-ray, Antioksidan, Antimikrobiale aktivite.

Master Thesis

SUMMARY

SYNTHESIS OF NEW THIOPHEN CONTAINING 1,2,4-TRIAZOLE-3(5)-ONE DERIVATIVES, CHARACTERIZATION AND EXAMINE OF PHARMACOLOGICAL PROPERTIES

Emrah BİRİNCİ

Karadeniz Technical University
The Grade School of Natural and Applied Sciences
Chemistry Graduate Program
Supervisor: Assist. Prof. Yasemin ÜNVER
2013, 48 Pages, 22 Pages Appendix

In this study, 11 original compounds possessing thiophen-1,2,4-triazole-3(5)-one were synthesized. First step of this study, Ethyl-2-(4-amino-5-oxo-3-(thiophene-2-ylmethyl)-4,5-dihydro-1,2,4-triazole-1-yl) acetate (19) including ester group was obtained. 2-(4-amino-5-oxo-3-(thiophene-2-ylmethyl)-4,5-dihydro-1,2,4-triazole-1-yl)aceto hydrazide(20) named as key compound was performed by using hydrazite hydrate. The treatment of the key compound with various isothiocyanates gave 1-(2-(4-amino-5-oxo-3-(thiophene-2-ylmethyl)-4,5-dihydro-1,2,4-triazole-1-yl)acetyl)-4-substituephenyl thiosemicarbazides (21a-d). The basic treatment of the thiosemicarbazides (21a-d), afforded 4-amino-2-((5-mercapto-4-substitue phenyl-4H-1,2,4-triazole-3-yl)methyl)-5-(thiophene-2-ylmethyl)-2H-1,2,4-triazole-3(4H)ones 5a-d. In the last step of this study, 4-amino-2-((5-(4-florophenylamino)-1,3,4-thiodiazol-2-yl)methyl)-5-(thiophen-2-ylmethyl)-2H-1,2,4-triazole-3(4H)-one was obtained in acidic media via the formation of 1-(2-(4-amino-5-oxo-3-(thiophen-2-ylmethyl)-4,5-dihydro-1,2,4-triazole-1-yl)acetyl)-4-(4-florophenyl) thiosemicarbazite (21c). X-ray data of 19 and 21d compounds was collected and ortep and diagram were presented in the finding section. All compounds were investigated for antioxidant and antimicrobial activity. 21(a-d) compounds involving thiosemicarbazite group were showed highly antioxidant and antimicrobial activity. The structure of 11 new compounds synthesized in this study were analyzed by IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, MS spectroscopy and reaction mechanisms were proposed for the general methods established in the study.

Key Words: Thiophen, 1,2,4-triazole-3(5)-one, thiosemicarbazide, triazole-thiol/thione, thiodiazol, X-ray, antioxidant, antimicrobial activity.

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. 19 nolu bileşiğin ortep III diyagramı	28
Şekil 2. 19 nolu bileşiğin a eksenini boyunca alınan kristal paket diyagramı	28
Şekil 3. 21(d) nolu bileşiğe ait Ortep III diyagramı	29
Şekil 4. 21(d) nolu bileşiğin a eksenini boyunca alınan kristal paket diyagramı	29
Şekil 5. Sentezlenmiş bileşiklerin DPPH radikal temizleme aktivitesi yöntemiyle belirlenmiş zamana bağlı %DPPH temizleme değerleri değişimi.....	30
Şekil 6. Sentezlenmiş bileşiklerin DPPH radikal temizleme aktivitesi yöntemiyle belirlenmiş 60. dakikadaki %DPPH temizleme değerleri.....	31
Şekil 7. Sentezlenmiş bileşiklerin demir (III) indirgeme / antioksidan güç (FRAP) kalibrasyon grafiği	32
Şekil 8. Sentezlenmiş bileşiklerin demir (III) indirgeme / antioksidan güç (FRAP) yöntemiyle belirlenmiş µM TEAC değerleri.....	32
Şekil 9. Sentezlenmiş bileşiklerin DPPH temizleme aktivitesi testinde göstermiş oldukları %DPPH temizleme değerleri ve demir (III) indirgeme / antioksidan güç (FRAP) yöntemiyle belirlenmiş µM TEAC değerlerinin uyum grafiği	33

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. 19 nolu bileşiklerin FT-IR spektral verileri (KBr,cm ⁻¹ ,v ⁻).....	19
Tablo 2. 19 nolu bileşiklerin ¹ H-NMR spektral verileri (DMSO-d6/ δ).....	19
Tablo 3. 19 nolu bileşiklerin ¹³ C-NMR (APT) spektral verileri (DMSO-d6/ δ).....	19
Tablo 4. 20 nolu bileşiklerin FT-IR spektral verileri (KBr,cm ⁻¹ ,v ⁻).....	20
Tablo 5. 20 nolu bileşiklerin ¹ H-NMR spektral verileri (DMSO-d6/ δ).....	20
Tablo 6. 20 nolu bileşiklerin ¹³ C-NMR (APT) spektral verileri (DMSO-d6/ δ).....	20
Tablo 7. 21 numaralı bileşiklerin FT-IR spektral verileri (KBr,cm ⁻¹ ,v ⁻).....	21
Tablo 8. 21 numaralı bileşiklerin H-NMR spektral verileri (DMSO-d6/ δ).....	22
Tablo 9. 21 numaralı bileşiklerin ¹³ C-NMR (APT) spektral verileri (DMSO-d6/ δ).....	22
Tablo 10. 22 numaralı bileşiklerin FT-IR spektral verileri (KBr,cm ⁻¹ ,v ⁻).....	24
Tablo 11. 22 numaralı bileşiklerin H-NMR spektral verileri (DMSO-d6/ δ).....	24
Tablo 12. 22 numaralı bileşiklerin ¹³ C-NMR (APT) spektral verileri (DMSO-d6/ δ).....	25
Tablo 13. 23 nolu bileşiklerin FT-IR spektral verileri (KBr,cm ⁻¹ ,v ⁻).....	26
Tablo 14. 23 nolu bileşiklerin H-NMR spektral verileri (DMSO-d6/ δ).....	26
Tablo 15. 23 nolu bileşiklerin ¹³ C-NMR (APT) spektral verileri (DMSO-d6/ δ).....	26
Tablo 16. Sentezlenen bileşiklerin LC/MS-MS spektral verileri.....	27
Tablo 17. Sentezlenen bileşiklerin Antimikrobiyal aktivite tayinleri.....	34

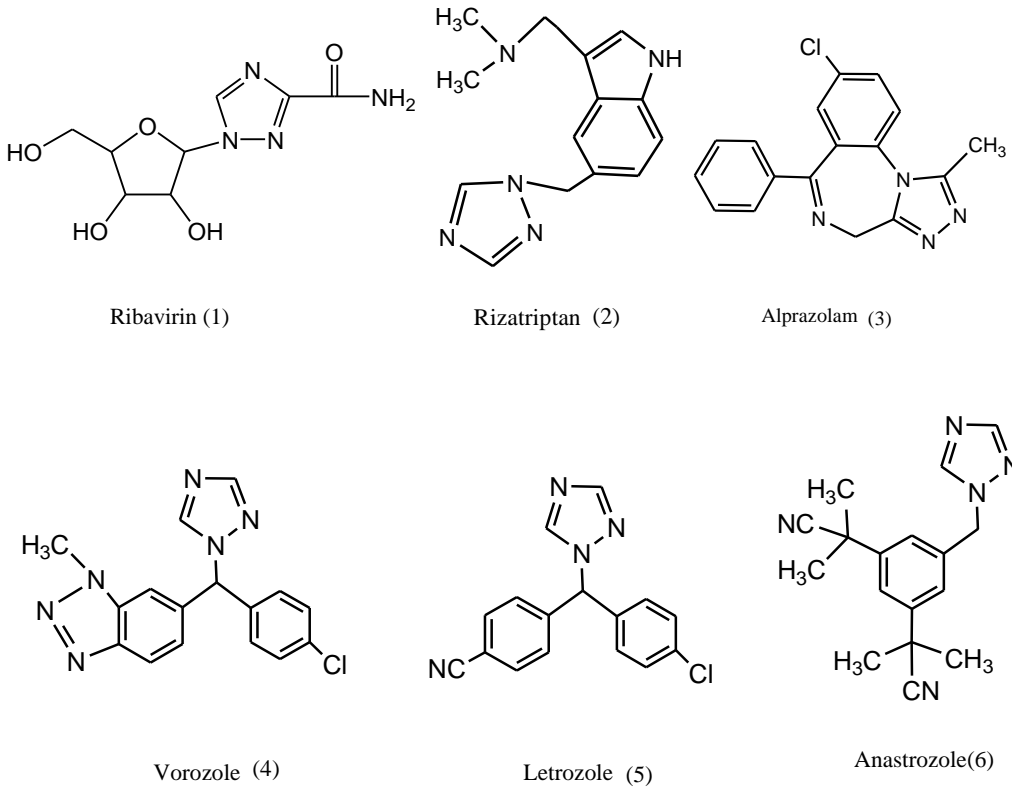
SEMBOLLER DİZİNİ

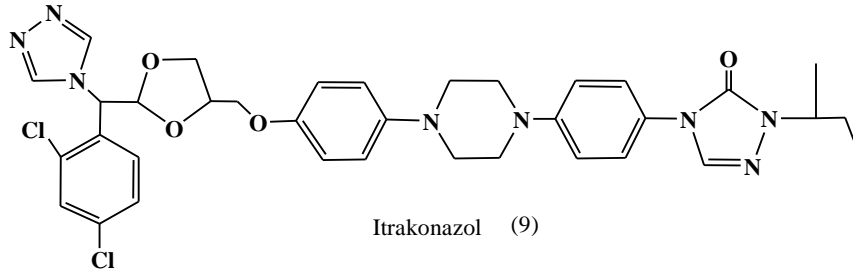
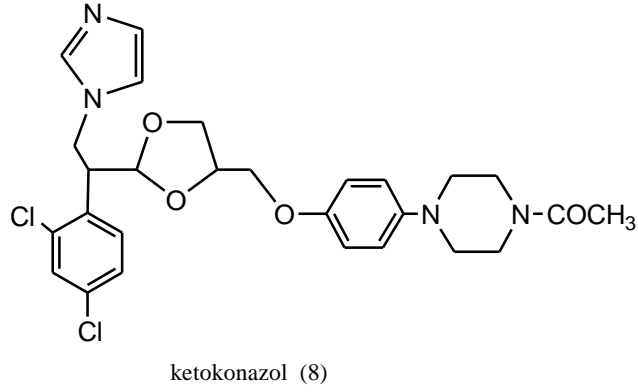
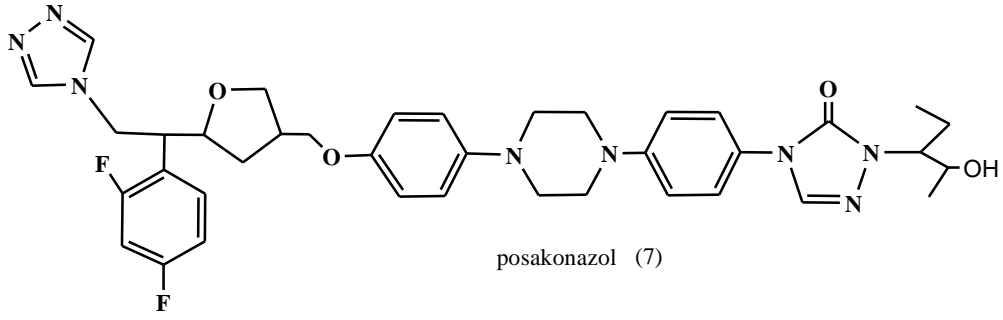
APT	: Bağlı Proton Testi
bs	: Broad singlet
d	: Dublet
DMSO	: Di-Metil Sülfoksit
DPPH	: 2,2-D- Fenil Pikril Hidrazil
E.n.	: Erime noktası
FRAP	: Demir (III) indirgeme / antioksidan güç
FT-IR	: Furier transfer-infraret Spektroskopisi
KBr	: Potasyum Bromür
LC/MS-MS	: Sıvı kromatografisi-kütle spektrumu
m	: Multiplet
ppm	: Milyonda bir kısım
R	: Alkil
s	: Singlet
TMS	: Tetra Metil Silan
⁰ C	: Santigrat derece
¹ H-NMR	: Proton Nükleer Mağnetik Rezonans
¹³ C-NMR	: Karbon-13 Nükleer Magnetik Rezonans

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

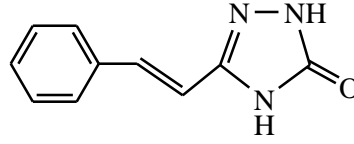
Triazol bileşiklerinin son derece önemli antimikrobiyal, antitumor, antioksidan, enzim inhibitörü, antidepresan, antitüberküloz, antiinflamatuvar, antihipertansive gibi biyolojik özelliklere sahip olduğu bilinmektedir [1-7]. Özellikle, günümüzde kullanılan ribavirin (1) (antiviral) [8], rizatriptan (2) (antimigren) [9], alprazolam (3) (sakinleştirici) [10], vorozole (4), letrozole (5), anastrozole (6) (antitumor) [11], posakonazol (7), ketokonazol (8) ve intrakonazol (9) (antimantar) [12] gibi ilaçların, yapısında triazol ve triazol-3(5)-on halkasının bulunduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur.





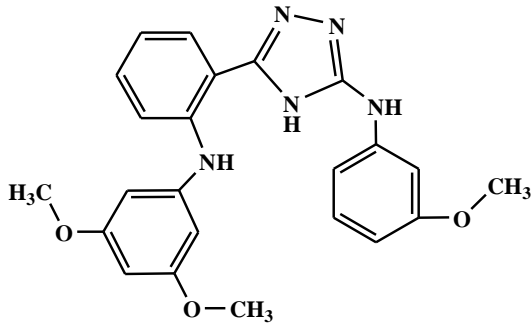
Yaklaşık 20 yıldır AIDS, organ nakli, tüberküloz ve kemoterapi sebebiyle bağışıklık yetmezliği olan hastalarda, mantar enfeksiyonlarında hızlı bir artışın ortaya çıktığı ve bu vakaların çoğunlukla ölümlerle sonuçlandığı açıklanmıştır. 1,2,4-triazoller (flukonazol, vorikonazol ve intrakonazol) günümüzde en çok kullanılan antifungal ilaçlar olup, en hızlı şekilde yayılan levür ve filamentöz mantarlarına karşı geniş spektrumlu aktivitelere sahip oldukları bilinmektedir. Ancak, uzun süreli kullanımlarda, yüksek toksisite riski ve ilaç direncinin oluşumu nedeniyle antifungal aktivitelere etkinlikleri sınırlı kalmıştır [13]. Bu nedenle, geniş spektrum aktivitesi ve düşük toksisite etkisine sahip yeni antifungal ilaçlara (yeni triazol türevlerine) yönelik acil bir gereksinim söz konusudur ve pek çok araştırma grubu tarafından farklı substituentler taşıyan triazol bileşiklerinin literatüre kazandırılmasına ilişkin sentez çalışmaları devam etmektedir [14].

Yine yapılan bir çalışmada, 1,2,4-triazol-5-on halkasını içeren bileşiğin 5-lipoksigenaz inhibitörü olduğu, siklooksigenaz enzimine karşı ise zayıf inhibe edici özelliğe sahip olduğu belirtilmiştir [15].

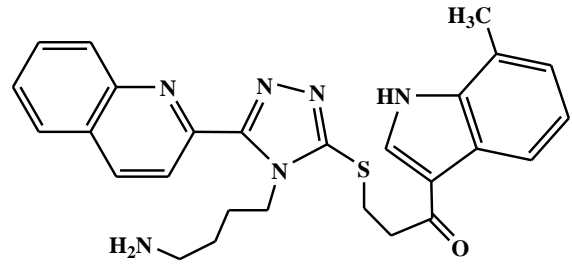


11

Antikanser olarak kullanılan bazı ilaçların yapısında, 1,2,4-triazol türevleri ve onların izosterleri olarak düşünülen tiyazol türevi olduğu yapılan çalışmalar neticesinde ortaya konulmuştur (12,13) [16].

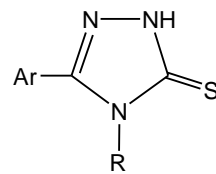


Tubulin (12)



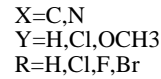
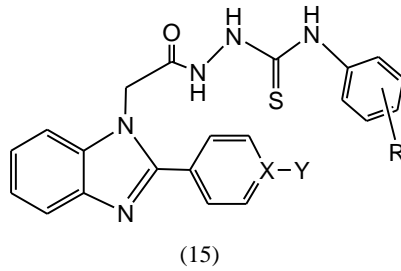
Somatostatin (13)

Triazollerle ilgili yapılan bir diğer çalışmada 1,2,4-triazol-tiol(tion) (14) türevlerinin yüksek oranda antioksidan aktiviteye sahip oldukları belirtilmiştir [17]. 1,2,4-triazol halkasındaki azot ve merkaptto grupları nükleofil merkezdir ve elektrofiller ile tepkimeye girebilmektedir. Örneğin S ve N atomunda bazı alkilasyon ve mannich reaksiyonlarının gerçekleştirildiği bildirilmektedir [17].

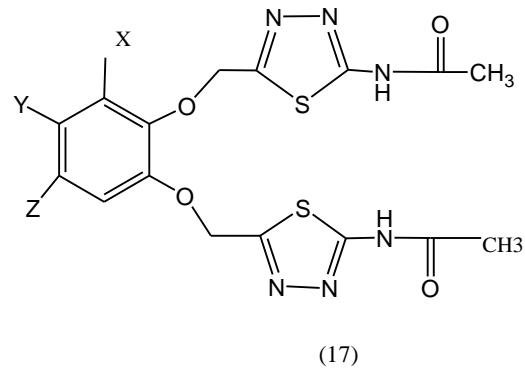
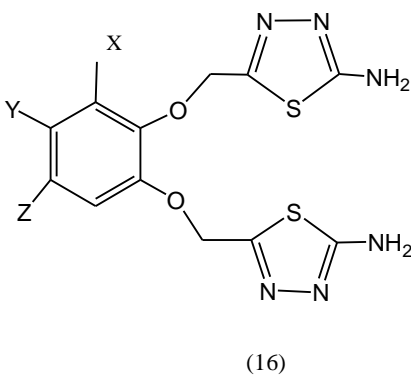


(14)

Yine yapılan bir çalışmada, tiyosemikarbazit türevlerinin (15) son derece etkili antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir [18]. Bu çalışmalarının birinde, tiyosemikarbazit türevlerinin, siklasyon reaksiyonu sonucu elde edilen 1,2,4-triazol-tion ve 1,3,4-tiyodiazollerden daha etkili antioksidan aktiviteye sahip olduğu ortaya konulmuştur [19-20]. Ayrıca, tiyosemikarbazit yapısına sahip bileşiklerin, halka kapanması reaksiyonlarında 1,2,4-triazol-tion, 1,3,4-tiyodiazol, 1,3,4- oksadiazol ve 1,3,4-triazin türevlerinin sentezi için anahtar bileşik olduğu ifade edilmektedir. [18]



Biyolojik aktiviteleri sebebiyle, önemli olan bir diğer heterosiklik halka 1,3,4-tiyodiazoller dir. 1,3,4-tiyodiazoller geniş ölçüde anti alerjik aktiviteye sahip oldukları bildirilmektedir [21]. Yine yakın zamanda yapılan bir çalışmada 1,3,4- tiyodiazollerin antitumor aktiviteye sahip olduğu ortaya konulmuştur (16,17) [22].

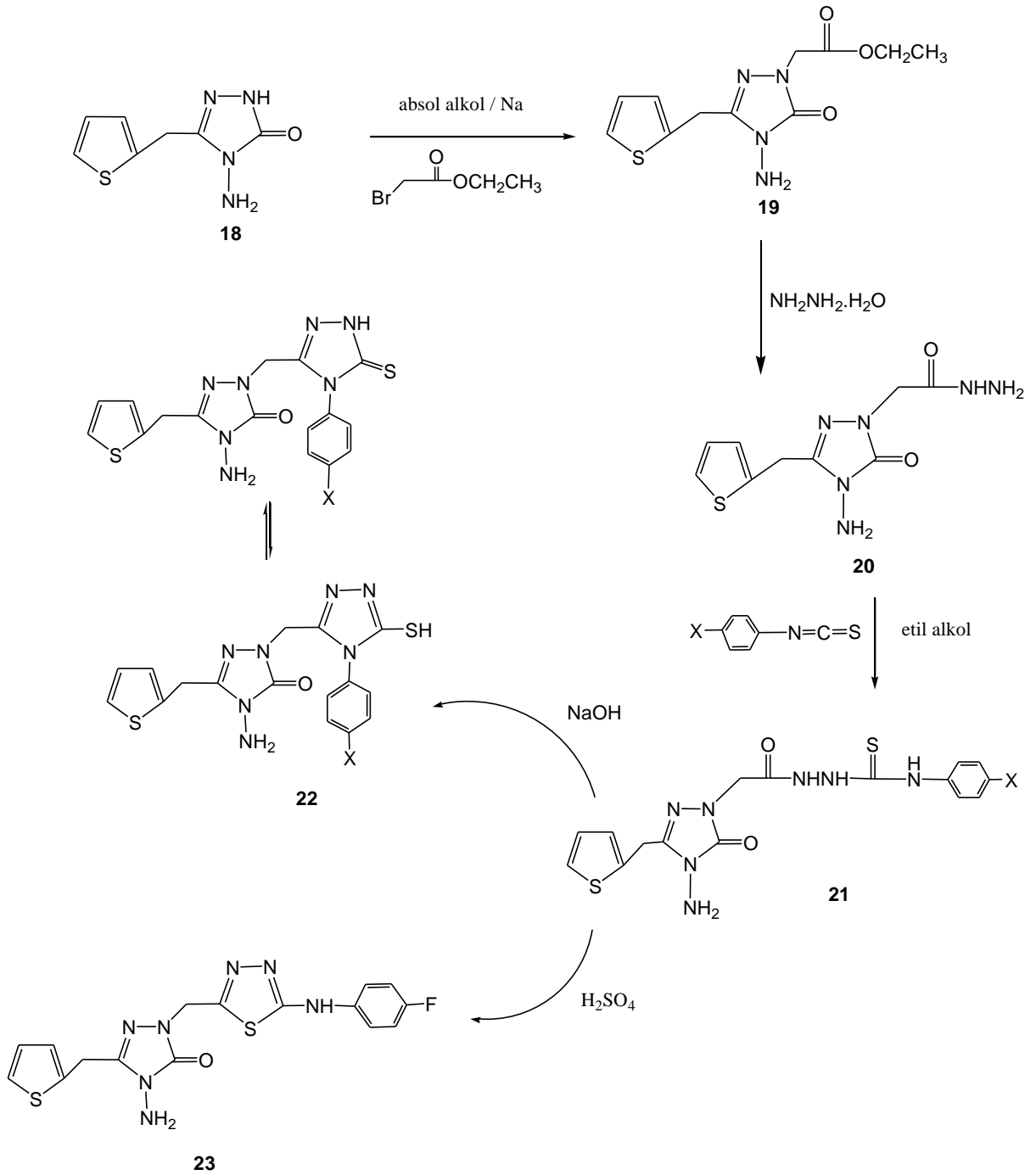


1,3,4-tiyodiazollerin ve 2,5,-disubstitue 1,3,4-tiyodiazollerin antimikrobiyal, anti malarial ve enzim inhibitör özelliklere sahip olmaları çeşitli araştırmacıları bu türden yeni bileşikler dizayn etmeye ve sentezlemeye yöneltmiştir [23].

Günümüzde canlı metabolizmasında direnç kazanan çeşitli virüs ve bakterilerin etkilerini azaltmak, mümkünse yok etmek için yeni ilaçlara ve bunu takiben yeni sentezlere ihtiyaç duyulmaktadır. Yapılan çalışmalarda kükürt içeren bileşiklerin önemli ölçüde biyolojik aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Bu durum tiyofen halka sistemini içeren bileşiklerin önemini arttırmaktadır. Yapılan bir çok çalışmada tiyofen halka sistemini içeren bileşiklerin anti-inflamatuar, analjesik, antidepresan, antimikrobiyal ve antikonvulsant gibi biyolojik aktivitelere sahip olduğu ortaya konulmuştur [24-25].

Son zamanlarda, gözlenen literatürel veriler ışığında, sadece triazol halkasını değil birden fazla heterohalkayı (triazol-triazol/tion, triazol-tiyodiazol) birlikte içeren veya biyolojik aktiviteye sahip (triazol-tiyokarbohidrazit) fonksiyonel grupları içeren hibrit moleküllerin biyolojik aktiviteyi daha da artırdığı ifade edilmekte ve sentez çalışmalarının bu yönde ağırlık kazandığı ifade edilmektedir [26-27].

Toplanan literatürel veriler paralelinde, çalışmamızda başlangıç bileşiği tiyofen-triazol-3(5) on dan başlayarak, birden fazla biyolojik aktivite gösteren yapıları, daha etkin olacakları düşüncesiyle tiyofen-triazol-3(5)-on-tiyokarbohidrazit, tiyofen-triazol-3(5)on-triazol-tiol, tiyofen-triazol-3(5)on-tiyodiazol olarak hibrit moleküllerin sentezlenmesi planlandı ve sentez aşamaları başarıyla gerçekleştirildi. Sentezlenen orjinal bileşiklerin antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri test ettirilmiş ve ümit verici sonuçlar gözlendi. Bu sonuçlar tez çalışmamızda tüm verileri ile sunuldu.



X	a	b	c	d
21-22	H	Br	F	CH ₃

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Deneysel çalışmalar sırasında; sentez ve identifikasyonda kullanılan çözücü ve kimyasal maddeler Fluka, Merck ve Aldrich firmalarından temin edilmiş olup, çözücülerin tümü uygun saflaştırma ve kurutma işlemlerinden geçirilmiştir.

Sentezlenen tüm bileşikler katı formda olup erime noktaları Schmezzpunktbestimmer SMP II marka dijital erime noktası tayin cihazında birkaç kez tekrarlanarak belirlenmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin yapı aydınlatılmasına ilişkin spektroskopik çalışmalar KTÜ Fen Edebiyat Fakültesi Kimya bölümünde yapılmış olup; kullanılan cihazların marka ve özellikleri aşağıda belirtildiği gibidir.

IR Spekturumları: Perkin Elmer Spectrum FT-IR spektrometresinde KBr tabletleri halinde kaydedilmiştir. ¹H-NMR, ¹³C-NMR spektrumları, Varian Mercury marka 200MHz'lik NMR cihazında DMSO-d₆ ve döteryumlu çözücüleri ile alınmıştır. LC/MS-MS spektrumları, Micromass Quatro LC-MS/MS cihazında alınmıştır.

X-Ray spektrumlar, Giresun Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik Bölümü, Ortep-3 (Farrugia, 1997) moleküler grafik metodu ile Smart (Bruker, 1997) cihazında alınmıştır.

Antioksidan analizler Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünde Biyokimya Araştırma Laboratuvarında, Antimikrobiyal analizler Rize Üniversitesi Biyoloji Bölümünde gerçekleştirilmiştir.

Deneysel çalışmaların tümü KTÜ Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Organik Kimya Araştırma Laboratuvar'ında yapılmıştır.

2.1. Orjinal Nitelikte Bileşiklerin Sentezi

2.1.1. Etil 2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetat (19)

100 mL'lik şilifli yuvarlak dipli bir balona, susuz etanollü ortamda, 4-amino-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on (0.010 mol) ve metalik sodyum (0.010 mol) konuldu ve 2 saat geri soğutucu altında kaynatıldı. Daha sonra balona bromoetilasetat (2 mol, d=1.032 g/mL), ilave edilerek manyetik karıştırıcı yardımıyla geri soğutucu altında 160-165 °C'de 6 saat kaynatıldı. Bu işlem sonunda balon içeriği buzlu suya dökülerek nihai

ürün elde edildi. Elde edilen bu ürün su ile birkaç kez kristallendirilerek saflaştırıldı. Desikatörde kurutuldu, e.n. : 119-120 °C. Verim: %85

Elde edilen spektral veriler yardımı ile **19** nolu bileşik olarak tanımlandı.

Sentezlenen **19** bileşiği için ;

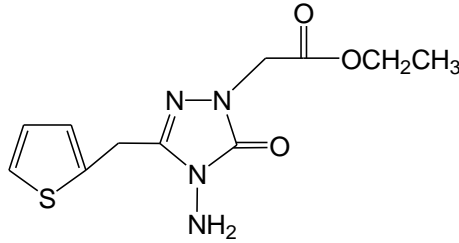
IR spektrumu, (Ek Şekil 1)

MS spektrumu, (Ek Şekil 2)

¹H-NMR ve D₂O Exchange spektrumu, (Ek Şekil 3)

¹³C-NMR (APT) spektrumu, (Ek Şekil 4)

Sentezlenen **19** bileşiğinin açık formülü aşağıda gösterilmiştir.



2.1.2. 2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetohidrazit(20)

100 mL'lik şilifli yuvarlak dipli bir balona, Etil 2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetat (0.010 mol) ve hidrazin hidrat (0.010 mol) ilave edilerek n-bütanol içerisinde manyetik karıştırıcı yardımıyla geri soğutucu altında 160-165 °C'de 6 saat kaynatıldı. Bu işlem sonunda balon içeriği soğutularak nihai ürün elde edildi. Elde edilen bu ürün alkol –su (2-1) çözücü sistemiyle birkaç kez kristallendirilerek saflaştırıldı. Desikatörde kurutuldu, e.n. : 196-197 °C. Verim: %90

Elde edilen spektral veriler yardımı ile **20** nolu bileşik olarak tanımlandı.

Sentezlenen **20** bileşiği için;

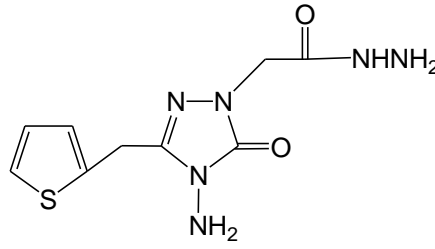
IR spektrumu, (Ek Şekil 5)

MS spektrumu, (Ek Şekil 6)

¹H-NMR ve D₂O Exchange spektrumu, (Ek Şekil 7)

¹³C-NMR (APT) spektrumu, (Ek Şekil 8)

Sentezlenen **20** bileşiğinin açık formülü aşağıda gösterilmiştir.



2.1.3. 1-(2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetil)-4-feniltiyosemikarbazit (21a)

50 mL'lik şilifli yuvarlak dipli bir balona, 2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetohidrazit (0.010 mol) ve fenilizotiyosiyanat (0.010 mol), ilave edilerek etanol ortamında manyetik karıştırıcı yardımıyla geri soğutucu altında 6 saat kaynatıldı. Bu işlem sonunda balon içeriği soğutularak nihai ürün elde edildi. Elde edilen bu ürün DMF-Etanol (oranı 2:1) çözücü sistemiyle birkaç kez kristallendirilerek saflaştırıldı. Desikatörde kurutuldu, e.n. : 177-179 °C. Verim: %84

Elde edilen spektral veriler yardımı ile **21a** nolu bileşik olarak tanımlandı. Sentezlenen **21a** bileşiği için;

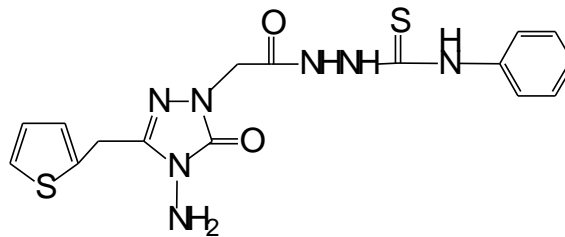
IR spektrumu, (Ek Şekil 9)

MS spektrumu, (Ek Şekil 10)

¹H-NMR ve D₂O Exchange spektrumu, (Ek Şekil 11)

¹³C-NMR spektrumu, (Ek Şekil 12)

Sentezlenen **21a** bileşiğinin açık formülü aşağıda gösterilmiştir.



2.1.4. 1-(2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetil)-4-(4-bromofenil)tiyosemikarbazit(21b)

50 mL'lik şilifli yuvarlak dipli bir balona, 2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetohidrazit (0.010 mol) bileşiği ve 4-bromoizotiyosiyanat

(0.010 mol) ilave edilerek etanol ortamında manyetik karıştırıcı yardımıyla geri soğutucu altında 6 saat kaynatıldı. Bu işlem sonunda balon içeriği soğutularak nihai ürün elde edildi. Elde edilen bu ürün DMF-Etanol (oranı 2:1) çözücü sistemiyle birkaç kez kristallendirilerek saflaştırıldı. saflaştırıldı. Desikatörde kurutuldu, e.n. : 188-190 °C. Verim: %86

Elde edilen spektral veriler yardımı ile **21b** nolu bileşik olarak tanımlandı

Sentezlenen **21b** bileşiği için;

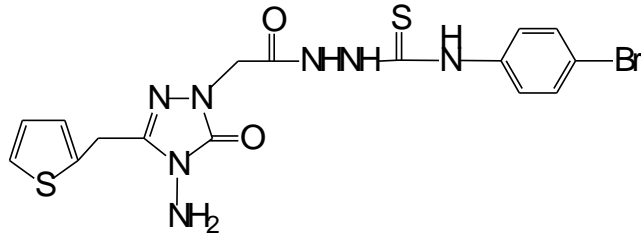
IR spektrumu, (Ek Şekil 13)

MS spektrumu, (Ek Şekil 14)

¹H-NMR ve D₂O Exchange spektrumu (Ek Şekil 15)

¹³C-NMR (APT) spektrumu, (Ek Şekil 16)

Sentezlenen **21b** bileşiğinin açık formülü aşağıda gösterilmiştir.



2.1.5. 1-(2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetil)-4-(4-florofenil)tiyosemikarbazit(21c)

50 mL'lik şilifli yuvarlak dipli bir balona, 2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetohidrazit (0.010 mol) ve 4-florofenilizotiyosiyonat (0.010 mol) ilave edilerek etanol ortamında manyetik karıştırıcı yardımıyla geri soğutucu altında 6 saat kaynatıldı. Bu işlem sonunda balon içeriği soğutularak nihai ürün elde edildi. Elde edilen bu ürün DMF-Etanol (oranı 2:1) çözücü sistemiyle birkaç kez kristallendirilerek saflaştırıldı. Desikatörde kurutuldu, e.n. : 180-182 °C. Verim: %85

Elde edilen spektral veriler yardımı ile **21c** nolu bileşik olarak tanımlandı. Sentezlenen **21c** bileşiği için ;

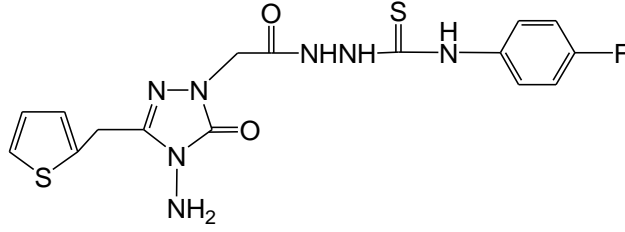
IR spektrumu, (Ek Şekil 17)

MS spektrumu, (Ek Şekil 18)

¹H-NMR ve D₂O Exchange spektrumu, (Ek Şekil 19)

¹³C-NMR (APT) spektrumu, (Ek Şekil 20)

Sentezlenen **21c** bileşiğinin açık formülü aşağıda gösterilmiştir.



2.1.6. 1-(2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetil)-4-p-toliltiyosemikarbazit(21d)

50 mL'lik şilifli yuvarlak dipli bir balona, 2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetohidrazit (1mol) ve p-tolilizotiyosiyanat (0.010 mol) ilave edilerek etanol ortamında manyetik karıştırıcı yardımıyla geri soğutucu altında 6 saat kaynatıldı. Bu işlem sonunda balon içeriği soğutularak nihai ürün elde edildi. Elde edilen bu ürün DMF-Etanol (oranı 2:1) çözücü sistemiyle birkaç kez kristallendirilerek saflaştırıldı. Desikatörde kurutuldu, e.n. : 180-182 °C. Verim %83

Elde edilen spektral veriler yardımı ile **21d** nolu bileşik olarak tanımlandı. Sentezlenen **21d** bileşiği için;

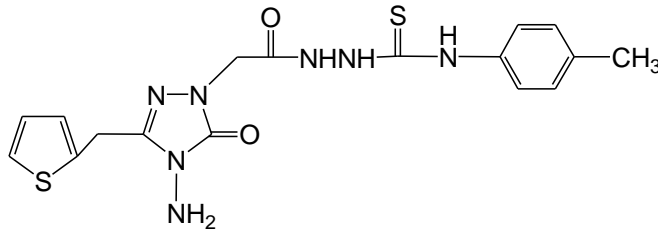
IR spektrumu, (Ek Şekil 21)

MS spektrumu, (Ek Şekil 22)

¹H-NMR ve D₂O Exchange spektrumu, (Ek Şekil 23)

¹³C-NMR (APT) spektrumu, (Ek Şekil 24)

Sentezlenen **21d** bileşiğinin açık formülü aşağıda gösterilmiştir.



2.1.7. 4-amino-2-((5-merkpto-4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-il)metil)-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on (22a)

100 mL'lik şilifli yuvarlak dipli bir balona, 1-(2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetil)-4-feniltiyosemikarbazit (0.010 mol) ve 2N

NaOH (50ml) ilave edildi ve geri soğutucu altında 3 saat ısıtıldı. Bu süre sonunda oluşan karışım, HCl ile nötrleştirilerek nihai ürün elde edildi. Elde edilen ürün DMF-Etanol (oranı 2:1) çözücü sistemiyle birkaç kez kristallendirilerek saflaştırıldı. Desikatörde kurutuldu, e.n. : 288-290 °C. Verim: %90

Elde edilen spektral veriler yardımı ile **22a** nolu bileşik olarak tanımlandı. Sentezlenen **22a** bileşiği için;

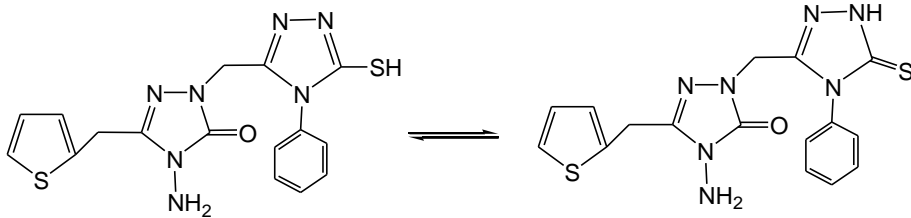
IR spektrumu, (Ek Şekil 25)

MS spektrum, (Ek Şekil 26)

¹H-NMR ve D₂O Exchange spektrumu, (Ek Şekil 27)

¹³C-NMR (APT) spektrumu, (Ek Şekil 28)

Sentezlenen bileşiğinin açık formülü aşağıda gösterilmiştir.



2.1.8. 4-amino-2-((4-(4-bromofenil)-5-merkпто-4H-1,2,4-triazol-3-il)metil)-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on (22b)

100 mL'lik şilifli yuvarlak dipli bir balona, 1-(2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetil)-4-(4-bromofenil)tiyosemikarbazit (0.010 mol) ve 2N NaOH (50ml) ilave edildi ve geri soğutucu altında 3 saat ısıtıldı. Bu süre sonunda oluşan karışım, HCl ile nötrleştirilerek nihai ürün elde edildi. Elde edilen ürün DMF-Etanol (oranı 2:1) çözücü sistemiyle birkaç kez kristallendirilerek saflaştırıldı. Desikatörde kurutuldu, e.n. : 199-201 °C. Verim: %95

Elde edilen spektral veriler yardımı ile **22b** nolu bileşik olarak tanımlandı. Sentezlenen **22b** bileşiği için;

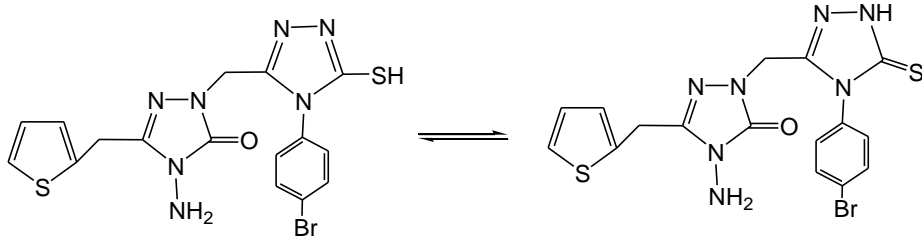
IR spektrumu, (Ek Şekil 29)

MS spektrumu, (Ek Şekil 30)

¹H-NMR ve D₂O Exchange spektrumu, (Ek Şekil 31)

¹³C-NMR (APT) spektrumu, (Ek Şekil 32)

Sentezlenen **22b** bileşiğinin açık formülü aşağıda gösterilmiştir.



2.1.9. 4-amino-2-((4-(4-florofenil)-5-merkapt-4H-1,2,4-triazol-3-il)metil)-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on (22c)

100 mL'lik şilifli yuvarlak dipli balona, 1-(2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetil)-4-(4-florofenil)tiyosemikarbazit (0.010 mol) ve 2N NaOH (50ml) ilave edildi ve geri soğutucu altında 3 saat ısıtıldı. Bu süre sonunda oluşan karışım, HCl ile nötrleştirilerek nihai ürün elde edildi. Elde edilen ürün DMF-Etanol (oranı 2:1) çözücü sistemiyle birkaç kez kristallendirilerek saflaştırıldı Desikatörde kurutuldu, e.n. : 133-135 °C. Verim: %95

Elde edilen spektral veriler yardımı ile **22c** nolu bileşik olarak tanımlandı. Sentezlenen **22c** bileşiği için;

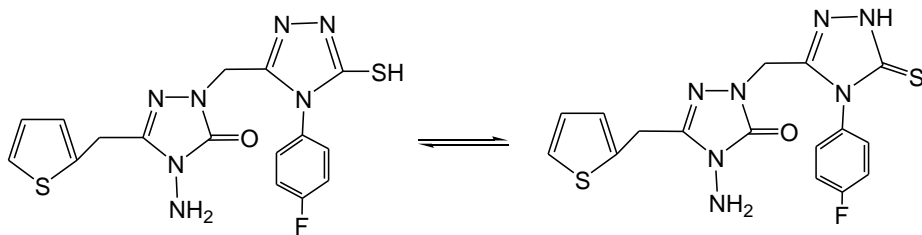
IR spektrumu, (Ek Şekil 33)

MS spektrumu, (Ek Şekil 34)

¹H-NMR ve D₂O Exchange spektrumu, (Ek Şekil 35)

¹³C-NMR (APT) spektrumu, (Ek Şekil 36)

Sentezlenen **22c** bileşiğinin açık formülü aşağıda gösterilmiştir.



2.1.10. 4-amino-2-((5-merkapt-4-p-tolil-4H-1,2,4-triazol-3-il)metil)-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on (22d)

100 mL'lik şilifli yuvarlak dipli bir balona, 1-(2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetil)-4-p-toliltiyosemikarbazit (0.010 mol) ve 2N NaOH (50ml) ilave edildi ve geri soğutucu altında 3 saat ısıtıldı. Bu süre sonunda oluşan

karışım, HCl ile nötrleştirilerek nihai ürün elde edildi. Elde edilen ürün DMF-Etanol (oranı 2:1) çözücü sistemiyle birkaç kez kristallendirilerek saflaştırıldı. Desikatörde kurutuldu, e.n. : 208-210 °C. Verim: %90

Elde edilen spektral veriler yardımı ile **22d** nolu bileşik olarak tanımlandı. Sentezlenen **22d** bileşiği için;

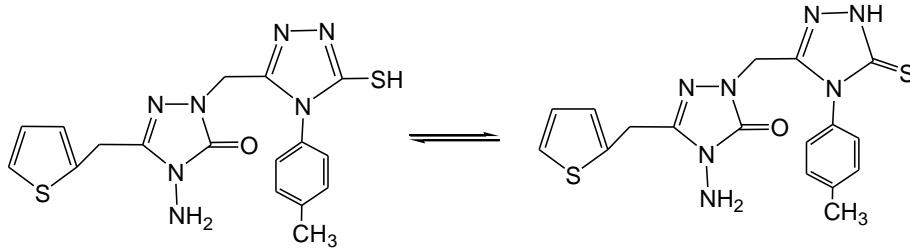
IR spektrumu, (Ek Şekil 37)

MS spektrumu, (Ek Şekil 38)

¹H-NMR ve D₂O Exchange spektrumu, (Ek Şekil 39)

¹³C-NMR (APT) spektrumu, (Ek Şekil 40)

Sentezlenen **22d** bileşiğinin açık formülü aşağıda gösterilmiştir.



2.1.11. 4-amino-2-((5-(4-florofenilamino)-1,3,4-tiyodiazol-2-il)metil)-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on (23)

50 mL'lik şilifli yuvarlak dipli bir balona, 1-(2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetil)-4-(4-florofenil)tiyosemikarbazit (0,010mol) ve 30 ml derişik H₂SO₄ ilave edilerek, manyetik karıştırıcı yardımıyla 30 dakika buz banyosunda ve 15 dakika oda sıcaklığında karıştırıldı. Sonra elde edilen karışım derişik NH₃ ilavesiyle nötrleştirilerek ürün, amorfik halinde elde edildi. .Elde edilen ürün DMF-Etanol (oranı 2:1) çözücü sistemiyle birkaç kez kristallendirilerek saflaştırıldı. Desikatörde kurutuldu, e.n. : 119-120 °C. Verim: % 93

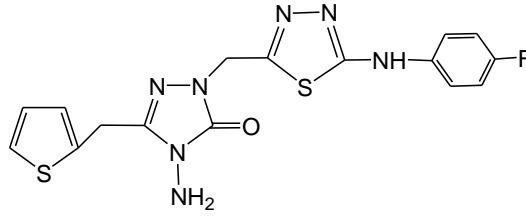
Elde edilen spektral veriler yardımı ile **23** nolu bileşik olarak tanımlandı. Sentezlenen **23** bileşiği için ;

IR spektrumu, Ek Şekil 41

¹H-NMR ve D₂O Exchange spektrumu, Ek Şekil 42

¹³C-NMR (APT) spektrumu, Ek Şekil 43

Sentezlenen **23** bileşiğinin açık formülü aşağıda gösterilmiştir.



2.2. Sentezlenen Bileşiklerin Biyolojik Aktivite Tayinleri

Sentezlenen 11 adet orjinal nitelikte bileşiklerin biyolojik aktivite testleri ve bu testlere ilişkin materyal metotlar aşağıda bildirilmiştir.

2.2.1. Antioksidan Aktivite Test Yöntemi

Literatürde yaygın kullanılan antioksidan tayin yöntemlerinden iki tanesi bu çalışmada kullanılmıştır. Yöntem seçimi yapılırken sentetik numunelerimize uygulanabilir olmasına da dikkat edilmiştir. DPPH temizleme aktivitesinin uygulanması literatürde de en çok kullanılan yöntem olması açısından da önemlidir [40]. DPPH testi gibi yaygın kullanıma sahip olan diğer bir yöntem de demir indirgeme /antioksidan güç (FRAP) testidir [41, 42]. Ancak bu yöntem suda çözünürlüğü az olan çok polar olmayan maddelerimize uygulanırken çıkabilecek çözünürlük sorunlarının önlenmesi için FRAP reaktifindeki polar ortam (normalde sulu) değiştirilerek metanol – su (3:2) karışımı kullanılmıştır. İki testin sonuçları karşılaştırmalı olarak ta değerlendirilmiştir. Farklı antioksidan testlerin kullanılma sebebi araştırmalarda kullanılmakta olan değişik antioksidan test yöntemlerindeki reaksiyonların mekanizma ve kinetiklerinin, çözücü ortamlarının, numune bileşik yapısı ve boyutundan etkilenmelerinin ve sıcaklık, pH ve matris bileşenlerinden etkilenmelerinin aynı olmayışıdır.

2.2.1.1. DPPH Temizleme Aktivitesi Tayini

DPPH[•] radikali (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) kararlı bir radikaldir ve denemelerimizde satın alınan bu radikalin 100 µM'lık metanolik çözeltisi kullanılmıştır. Denemelerde Cuendet vd. (1997) tarafından geliştirilen yöntem uygulandı. Sentezlenmiş olan bileşiklerin 200 µg/mL konsantrasyonda çözeltileri etanol-DMSO çözücü karışımı

kullanılarak hazırlandı. Çalışma konsantrasyonları belirlenirken ön deneme yapılarak her bileşik için uygun çalışma konsantrasyonu belirlendi. İzotiyosemikarbazit bileşiklerinin ön denemelerde gözlenen aktivitesi yüksek olması nedeniyle bu bileşiklerin çözeltileri 20 katı seyreltilerek 10 µg/mL olacak şekilde hazırlandı. Eşit hacimde (750 µL) DPPH* çözeltisi, numune çözeltileri üzerine eklenerek vortekslendi ve oda sıcaklığında 60 dakika inkübasyona bırakıldı. Her bir numune için iki paralel çalışıldı. Ayrıca numune ve reaktif körü de çalışıldı. İnkübasyon devam ederken 0, 0,5, 20, 40 ve 60. dakikalarda DPPH*'ın maksimum absorptans verdiği 517 nm'de absorptanslar okundu. Bulunan absorptanslar %DPPH temizleme aktiviteleri hesaplamasında kullanıldı. Başlangıçtaki absorptans değeri ve okuma zamanındaki absorptans değeri kullanılarak %DPPH temizleme değerleri aşağıdaki formülden hesaplandı.

$$\%DPPH \text{ Temizleme} = [(Abs_{\text{başlangıç}} - Abs_{\text{son}}) / Abs_{\text{başlangıç}}] \times 100$$

2.2.1.2. Demir (III) İndirgeme / Antioksidan Güç (FRAP) Tayini

İlk defa Oyaizu (1986) [41] tarafından ortaya konan ve sonraları Benzie ve Strain (1996) [42] tarafından geliştirilen yöntemle 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 absorptans veren TPTZ renkli kompleksini oluşturur. Bu çalışmada orijinal yöntem değişiklik yapılarak uygulanmıştır. Bu testte önce 200 µg/mL konsantrasyonlardaki numune çözeltileri hazırlandı. Sonra Trolox'un metanolde 5 farklı konsantrasyondaki (1000 – 500 – 250 – 125 - 62,5 µM) çözeltileri hazırlandı.

Çalışmada kullanılan FRAP reaktifleri taze hazırlandı. Bu amaçla taze hazırlanmış olan 150 mL 300 mM asetat tamponu (pH 3.6), 15 mL 10 mM TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine) (40 mM HCl'de) ve 15 mL 20 mM $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ çözeltisi karıştırıldı.

Numune ve Trolox çözeltileri kullanılarak 3 mL FRAP reaktifleri ve 100 µL numune/Trolox çözeltisi karıştırıldı ve oda sıcaklığında 20 dakika inkübasyon sonrası 595 nm'de absorptans okundu. Numune körü ve reaktif körü denemeleri de yapılarak bu iki denemeden elde edilen absorptanslar numune ile elde edilen absorptans değerlerinden çıkarıldı (hepsinin absorptansı saf suya karşı okundu).

Numunelerin antioksidan değerleri, indirgeme potansiyeli yüksek ve aynı zamanda standart bir antioksidan madde olan Trolox ile karşılaştırılarak yorumlandı. Trolox için

konsantrasyona karşı absorbands grafiği çizildi. Bu yöntemde, artan absorbands değeri artan indirgeme kuvvetini göstermektedir. Numune antioksidan aktiviteleri, numunelerin testte gösterdiği absorbands değerlerine Trolox için çizilen absorbands – konsantrasyon grafiğinde karşılık gelen Trolox konsantrasyonu eşdeğeri cinsinden belirlendi ve Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasite (TEAC) olarak ifade edildi.

2.2.2. Antimikrobiyal Test Yöntemi

Bu çalışmada kullanılan ve aşığıda verilen tüm mikroorganizmalar Hifzissihha Refik Saydam Enstitüsü'den (Ankara) elde edilmistir. Bakteri olarak *Escherichia coli* ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Bacillus cereus* 709 ROMA susları, maya olarak *Candida albicans* ATCC 60193 ve *Candida tropicalis* ATCC 13803 susları kullanılmıştır. Kimyasallar belirli konsantrasyonlarda DMSO'da çözülmüştür.

2.2.2.1. Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu

Sentezlenen bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerinin ölçülmesinde agar kuyucuk difüzyon metodu kullanıldı . Test edilecek bakterilerin bir gecelik kültürlerinden beyin kalp infüzyon sıvı besiyeri içinde (BHI) (Difco, Detroit, MI), yaklaşık olarak 106 cfu/ml (koloni oluşturan birim =colony forming unit) şeklinde dilüsyonları hazırlandı. Önceden hazırlanmış BHI agar besiyeri üzerine ekimleri yapıldı. Mayalar için maya ekstreli sıvı besiyeri (YE) (Difco, Detroit, MI) kullanılarak 107 cfu/ml dilüsyonları yapıldı ve önceden hazırlanmış Saboraud Dextrose agar (SDA) (Difco, Detroit, MI) besiyerlerine ekildi. Ekimleri tamamlanan besiyerleri üzerinde, steril cam boru yardımıyla 2 cm aralıklarda, 5 mm çapında kuyucuklar açıldı. Her bir kuyucuğa kimyasal stok çözeltilerden 100 mikrolitre damlatıldı. Bakteri ihtiva eden petripler 24 saat, maya ihtiva eden petripler 48 saat 35 °C'de inkübe edildiler. Ünkübasyondan sonra bir cetvel yardımıyla inhibisyon zonları ölçüldü. Standard kontrol ilaç olarak bakteriler için ceftazidime (10µg), mayalar için fluconazole (5µg) ve standart çözücü kontrolü için DMSO kullanıldı.

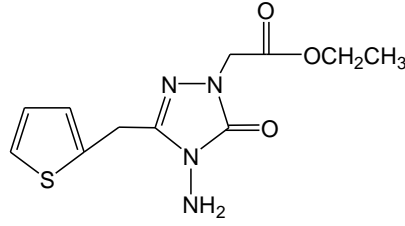
3. BULGULAR

3.1. Bileşiklerin Spektroskopik Sonuçları

Bu çalışmada, literatürde [28] verilen sentez yöntemi ile elde edilen 4-Amino-3-(2-tiyenilmetil)-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on bileşiğinden başlanılarak elde edilen 2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen 2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il) aseto hidrazit bileşiğinin muhtelif izotiyosiyanatlarla reaksiyonundan tiyosemikarbazit türevleri sentezlenmiştir. Elde edilen bu tiyosemikarbazit türevlerinin NaOH ile olan reaksiyonu sonucu, halka kapanması neticesi triazol-tiol çekirdeğinin sentezi, florlu tiyosemikarbazit türevinin H₂SO₄ ile vukubulan halka kapanması reaksiyonu sonucu tiyodiazol ünitesinin sentezi gerçekleştirilmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin yapısal analizi FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve LC/MS-MS spektral verileri kullanılarak yapılmıştır. Ayrıca ester ve tiyosemikarbazit türevi olan iki bileşiğin X-ray verileri de sunulmuştur. Elde edilen spektral veriler toplu olarak tablolar halinde aşağıda sunulmuş ve takiben verilere ilişkin değerlendirmeler tartışma bölümünde ortaya konulmuştur. Elde edilen tüm bileşikler katı formda olup FT-IR spektrumları KBr tabletleri halinde alınmıştır. ¹H-NMR spektrumları DMSO-d₆ da kaydedilmiş ve spektrumlarda bu çözücüye ilişkin metil pikleri 2.50-2.60 ppm civarında gözlenmiştir. Çözücünün içerdiği su pikleri ise 3.20-3.40 ppm aralığında ortaya çıkmıştır. Bileşiklerin aynı dötero çözücü içerisinde kaydedilen ¹³C-NMR spektrumlarında çözücüye ilişkin karbon pikleri 38-42 ppm aralığında gözlenmiştir. Spektrumlar için standart kimyasal kayma noktası olarak, çözücü ortamına ilave edilen TMS esas alınmıştır. Döteryumla yer değiştirebilir protonlar için exchage işleminde D₂O kullanılmıştır.

Çalışmamızda, sentez aşamasının ilk adımını oluşturan Etil-2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1 il) asetat (19) 'ın sentezi, susuz etanollü ortamda baz eşliğinde bromo etil asetat ile 4-amino-5-tiyofen-2-il-metil 2,4-dihidro[1,2,4]triazol-3-on (18) bileşiğinin reaksiyonu ile gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen 19 bileşiğine ilişkin formül aşağıda verilmiştir.



Etil-2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1 il) asetat (**19**)

Sentezlenen **19** bileşiğine ait, FT-IR, ^1H ve ^{13}C -NMR spektroskopik veri değerleri Tablo 1, Tablo 2 ve Tablo 3 de aşağıda sırasıyla sunulmuştur.

Tablo 1. 19 nolu bileşiğin FT-IR spektral verileri (KBr, cm^{-1} , ν)

Bileşik No	NH ₂	C=O	C=O (trz)	C=N	C-O-C
19	3278-3216	1752	1716	1667	1206

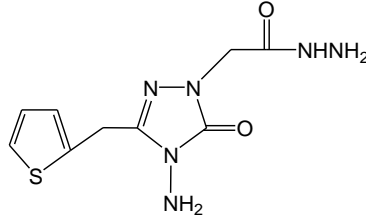
Tablo 2. 19 nolu bileşiğin 200 MHz ^1H NMR spektral verileri (DMSO-d₆/ δ)

Bileşik No	CH ₃	N-CH ₂	OCH ₂	Tyf-CH ₂	Trz-NH ₂	Tyf.H
19	1.17,(t),3H	4.05-4.16,(m),4H		4.52,(s),2H	5.40,(s),2H	7.37,(t),1H 6.96,(s),2H

Tablo 3. 19 nolu bileşiğin 50 MHz ^{13}C NMR(APT) spektral verileri(DMSO-d₆/ δ)

Bileşik No	CH ₃	Tyf-CH ₂	N-CH ₂	OCH ₂	Tyf.C	C=N	C=O (trz)	C=O
19	15.60	25.98	47.90	61.95	137.95, (C) 126.57,(CH) 126.13,(CH) 124.77,(CH)	146.10	153.10	169.51

Etil-2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il) asetat'ın (**19**) hidrazin hidrat ile n- butanollü ortamda gerçekleşen reaksiyonu sonucu anahtar bileşik olan 2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen 2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il) aseto hidrazit (**20**) bileşiğine varılmıştır. Sentezlenen **20** bileşiğine ilişkin formül aşağıda verilmiştir.



2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen 2-il metil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il) aseto hidrazit (**20**)

Sentezlenen **20** bileşiğine ait FT-IR, ^1H ve ^{13}C -NMR spektroskopik veri değerleri Tablo 4, Tablo 5 ve Tablo 6' da sırasıyla verilmiştir

Tablo 4. 20 nolu bileşiğin FT-IR spektral verileri (KBr, cm^{-1} , ν)

Bileşik No	NH ₂	NH	C=O (trz)	C=O	C=N
20	3417-3338	3300	1716	1650	1571

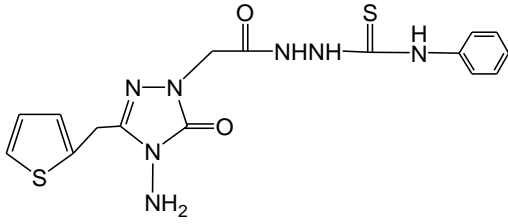
Tablo 5. 20 nolu bileşiğin 200 MHz ^1H NMR spektral verileri (DMSO-d₆/ δ)

Bileşik No	N-CH ₂	NH ₂	Tyf-CH ₂	Trz-NH ₂	Tyf.H	NH
20	4.20,(s),2H	4.06,(s),2H	4.26,(s),2H	5.32,(s),2H	7.37,(d),1H 6.96,(d),2H	9.21,(s),1H

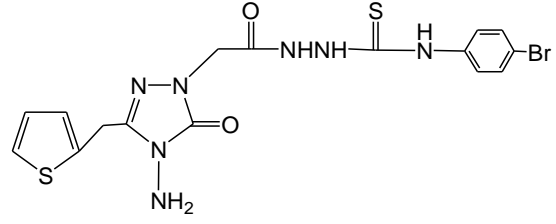
Tablo 6. 20 nolu bileşiğin 50 MHz ^{13}C NMR(APT) spektral verileri (DMSO-d₆/ δ)

Bileşik No	Tyf-CH ₂	N-CH ₂	Tyf.C	C=N	(trz)C=O	C=O
20	25.66	47.10	137.99,(C) 127.57,(CH) 127.21,(CH) 125.77,(CH)	146.99	154.10	166.61

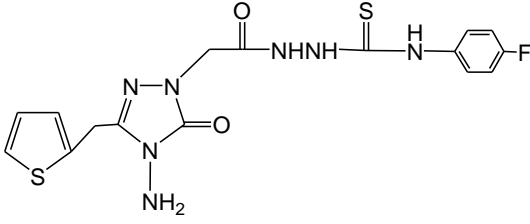
Tiyosemikarbazit türevi olarak adlandırılan **21(a-d)** numaralı bileşikler, 2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen 2-ilmethyl)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il) aseto hidrazit (**20**) bileşiğinin sırasıyla fenilizotiyosiyanat, 4-bromo fenilizotiyosiyanat, 4-floro fenilizotiyosiyanat ve p-tolil izotiyosiyanat ile benzil alkollü ortamdaki reaksiyonu sonucu sentezlenmiştir. Sentezlenen **21(a-d)** bileşiklerine ilişkin formüller aşağıda verilmiştir.



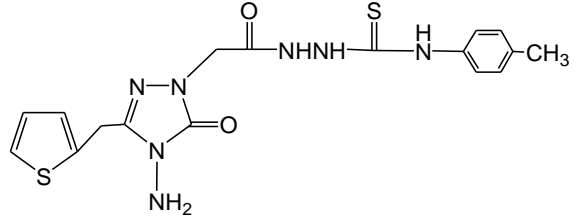
1-(2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetil)-4-feniltiyosemikarbazit (**21a**)



1-(2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ylmethyl)-4,5-dihidro-1,2,4-triazole-1-yl)asetil)-4-(4-bromofenil)tiyosemikarbazide (**21b**)



1-(2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetil)-4-(4-florofenil)tiyosemikarbazit (**21c**)



1-(2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetil)-4-p-toliltiyosemikarbazit (**21d**)

Sentezlenen **21(a-d)** bileşiklerine ait spektroskopik veriler FT-IR, ^1H ve ^{13}C -NMR Tablo 7, Tablo 8 ve Tablo 9'da sırasıyla sunulmuştur.

Tablo 7. 21 numaralı bileşiklerin FT-IR spektral verileri ($\text{KBr}, \text{cm}^{-1}, \nu$)

Bileşik No	NH_2	NH	(C=O)	C=N	C=C	C=S
21(a)	3413-3320	3170	1719,1705	1637	1597	1214
21(b)	3415-3329	3251	1713, 1697	1675	1587	1225
21(c)	3416-3345	3231	1708, 1686	1609	1570	1215
21(d)	3410-3340	3226	1705,1695	1673	1581	1225

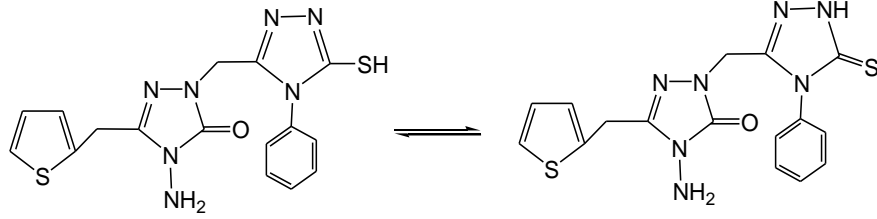
Tablo 8. 21 numaralı bileşiklerin 200 MHz ¹H NMR spektral verileri (DMSO-d₆/ δ)

Bileşik No	CH ₃	N-CH ₂	Tyf-CH ₂	NH ₂	Tyf+Arom.H	NH
21 (a)	-----	4.10,(s),2H	4.50,(s),2H	5.41,(s),2H)	6.97,(bs),2H 7.20,(s),1H 7.40,(bs),5H	9.68,(s),1H 9.77,(s),1H 10.32,(s),1H
21 (b)	-----	4.11,(s),2H	4.50,(s),2H	5.41,(s),2H	6.97,(bs),2H 7.41-7.52,(m),5H	9.70(s),1H 9.82(s),1H 10.35(s),1H
21 (c)	-----	3.62,(s),2H	4.00,(s),2H	4.91,(s),2H	6.49,(bs),2H 6.66-6.74,(m),2H 6.92,(bs),3H	9.83,(s),1H 9.30,(s),1H 9.18,(s),1H
21 (d)	2.27,(s),3H	4.08,(s),3H	4.08,(s),2H	5.37,(s),2H	6.95,(bs),2H 7.12,(d),2H 7.27,(d),2H 7.37,(bs),1H	9.58,(s),1H 9.65,(s),1H 10.26,(s),1H

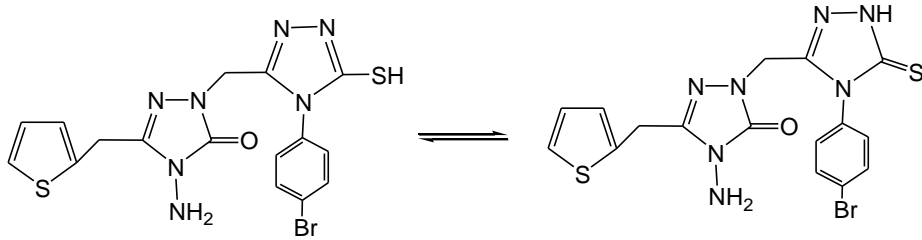
Tablo 9. 21 numaralı bileşiklerin 50 MHz ¹³C NMR(APT) spektral verileri (DMSO-d₆/ δ)

Bileşik No	CH ₃	Tyf-CH ₂	N- CH ₂	Tyf+Arom.C	C=N	C=O	C=O	C=S
21(a)	-----	25.69	47.41	125.85 (CH) 127.30 (CH) 127.50 (CH) 127.96 (2CH) 128,83 (2CH) 137.82 (C) 137.41 (C) 139.67 (C)	147.24	154.14	167.23	181.42
21(b)	-----	25.68	47.41	125.82 (CH) 127.29 (CH) 127.61 (CH) 131.67(4CH) 137.79 (C) 139.08 (2C)	147.24	154.11	167.21	181.32
21(c)	-----	25.66	47.35	115.27(2CH) 115.72(2CH) 125.82 (CH) 127.27 (CH) 127.60 (CH) 137.82 (C) 135.96 (C) 136.01 (C)	147.19	154.11	167.18	181.64
21 (d)	21.27	25.65	47.31	125.83 (CH) 127.28 (CH) 127.60 (CH) 126.62(2CH) 129.28(2CH) 137.82 (C) 135.18 (C) 137.06 (C)	147.19	154.11	167.22	181.42

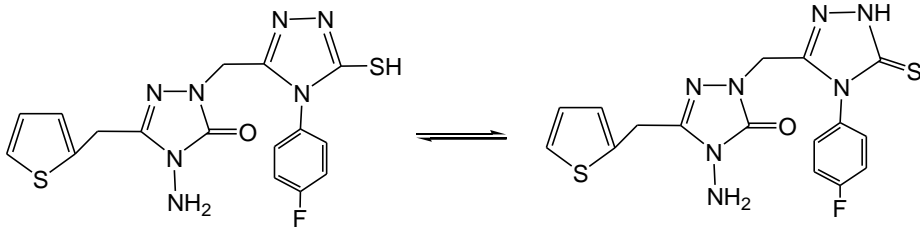
Tiyosemikarbazit (**21a-d**) türevlerinin, NaOH li ortamda gerçekleştirilen siklizasyon reaksiyonu sonucu, bir diğer önemli azol çekirdeği olan triazol-tiol(tion) (**22a-d**) bileşiklerinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon sonucu elde edilen 4-amino-2-((4-(4-fenil/subtituefenil)-5-merkapt-4H-1,2,4-triazol-3-il)metil)-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on (**22a-d**) bileşiklerine ilişkin formülleri aşağıda verilmiştir.



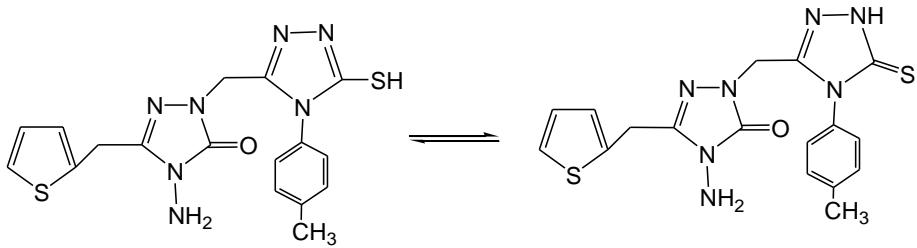
4-amino-2-((5-merkapt-4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-il)metil)-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on (**22a**)



4-amino-2-((4-(4-bromofenil)-5-merkapt-4H-1,2,4-triazol-3-il)metil)-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on (**22b**)



4-amino-2-((4-(4-florofenil)-5-merkapt-4H-1,2,4-triazol-3-il)metil)-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on (**22c**)



4-amino-2-((5-merkapt-4-p-tolil-4H-1,2,4-triazol-3-il)metil)-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on (**22d**)

Sentezlenen **22(a-d)** bileşiklerine ait spektroskopik veriler FT-IR, ^1H ve ^{13}C -NMR Tablo 10, Tablo 11 ve Tablo 12’de sırasıyla verilmiştir.

Tablo 10. 22 numaralı bileşiklerin FT-IR spektral verileri ($\text{KBr}, \text{cm}^{-1}, \nu$)

Bileşik No	NH_2	$\text{C}=\text{O}$ (Trz)	$\text{C}=\text{N}$	$\text{C}=\text{C}$	$\text{C}=\text{S}$
22(a)	3281-3176	1696	1581	1535	1214
22(b)	3413-3312	1697	1577	1510	1225
22(c)	3314-3194	1697	1579	1509	1233
22 (d)	3269-3129	1734	1577	1517	1225

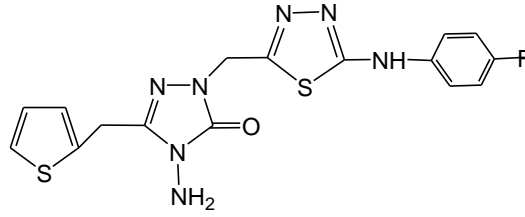
Tablo 11. 22 numaralı bileşiklerin 200 MHz ^1H NMR spektral verileri ($\text{DMSO-d}_6/\delta$)

Bileşik No	CH_3	N-CH_2	Tyf- CH_2	NH_2	Tyf+Arom.H	NH
22(a)	-----	3.99,(s),2H	4.81,(s),2H	5.14,(s),2H	6.95,(s),1H 7.23,(bs),3H 7.42,(bs),4H	13.95,(s),1H
22(b)	-----	3.99,(s),2H	4.82,(s),2H	5.18,(s),2H	6.94,(bs),2H 7.20,(d),2H 7.39,(s),1H 7.58,(bs),2H	13.98,(s),1H
22(c)	-----	3.99,(s),2H	4.80,(s),2H	5.19,(s),2H	6.94,(bs),2H 7.22- 7.25,(m),4H 7.40,(d),1H	13.97,(s),1H
22(d)	2.30,s,3H	3.99,(s),2H	4.63,(s),2H	5.12,(s),2H	6.96,(d),4H 7.09,(d),2H 7.39,(d),1H	13.60,(s),1H

Tablo 12. 22 numaralı bileşiklerin 50 MHz ¹³C NMR(APT) spektral verileri (DMSO-d₆/ δ)

Bileşik No	CH ₃	Tyf-CH ₂	N-CH ₂	Tyf+Arom.C	C=N	C=O
22(a)	-----	25.50	47.53	125.91 (CH) 127.34 (CH) 127.62 (CH) 128.28 (2CH) 129.85 (2CH) 130.21 (CH) 133.43 (C) 137.66 (C)	147.58 148.31 152.88	169.07
22(b)	-----	25.53	49.30	123.04 (C) 125.93 (CH) 127.35 (CH) 127.65 (CH) 130.70 (2CH) 132.72 (2CH) 133.61 (C) 137.63 (C)	147.72 149.55 152.95	168.90
22(c)	-----	25.51	47.39	116.65 (2CH) 117.11 (2CH) 125.93 (CH) 127.32 (CH) 127.63 (CH) 129.78 (C) 129.83 (C) 137.71 (C)	147.66 148.29 152.91	169.31
22(d)	21.32	25.36	47.44	125.91 (CH) 127.47 (CH) 127.77 (CH) 127.90 (2CH) 130.67 (2CH) 132.02 (C) 137.26 (C) 139.23 (C)	147.57 147.76 153.05	168.00

Çalışmamızın diğer bir sentez aşaması, bir tiyosemikarbazit türevi olan 1-(2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetil)-4-(4-florofenil) tiyosemikarbazit (**21c**) ın H₂SO₄ ile gerçekleştirilen siklizasyon reaksiyonudur.İlgili reaksiyon sonucu, 4-amino-2-((4-(4-florofenil)-5-merkaptio-4H-1,2,4-triazol-3-il)metil)-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on (**23**) bileşiği sentezlenmiştir.Sezlezlenen 23 bileşiğine ilişkin formül aşağıda verilmiştir.



4-amino-2-((5-(4-florofenilamino)-1,3,4-tiyodiazol-2-il)metil)-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on (**23**)

Sentezlenen **23** bileşiğine ait FT-IR, ^1H ve ^{13}C -NMR spektroskopik verileri Tablo 13, Tablo 14 ve Tablo 15’de sunulmuştur.

Tablo 13. 23 nolu bileşiğin FT-IR spektral verileri (KBr, cm^{-1} , ν)

Bileşik No	NH_2	NH	(Trz)C=O	C=N	C=C
23	3329-3250	3190	1701	1639	1596

Tablo 14. 23 nolu bileşiğin 200 MHz ^1H NMR spektral verileri (DMSO- d_6 / δ)

Bileşik No	N- CH_2	Tyf- CH_2	NH_2	Arom-H	NH
23	3.39-3.43,(m),2H	4.04,(s),2H	5.14,(s),2H	6.74-7.34,(m),5H 7.57-7.59 ,(m),2H	10.40,(s),1H

Tablo 15. 23 nolu bileşiğin 50 MHz ^{13}C NMR(APT) spektral verileri (DMSO- d_6 / δ)

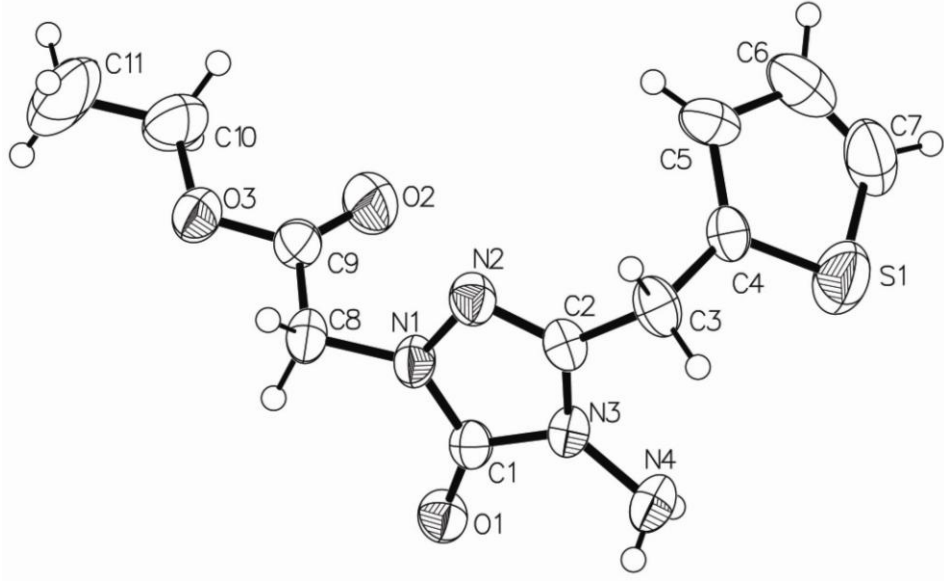
Bileşik No	Tyf- CH_2	N- CH_2	Arom+Tiyodiazol.C	C=N	C=O
23	25.88	44.64	116.15(CH) 116.59(CH) 119.95(CH) 120.11(CH) 126.15(CH) 137.57(C) 138.28(C) 150.44(C) 155.31(tiyodiazolC) 166.26(tiyodiazolC)	147.88	153.31

Sentezlenen 11 adet orjinal bileşikten **23** nolu bileşik hariç MS spektrum verileri, teorik MA (g/mol), molekülün kapalı formülü, $[M]^+$ (m/z) , $[M+1]$ (m/z) , $[M+2]$ (m/z) olarak % Bağıl Bolluk ile Tablo 16’da verilmiştir.

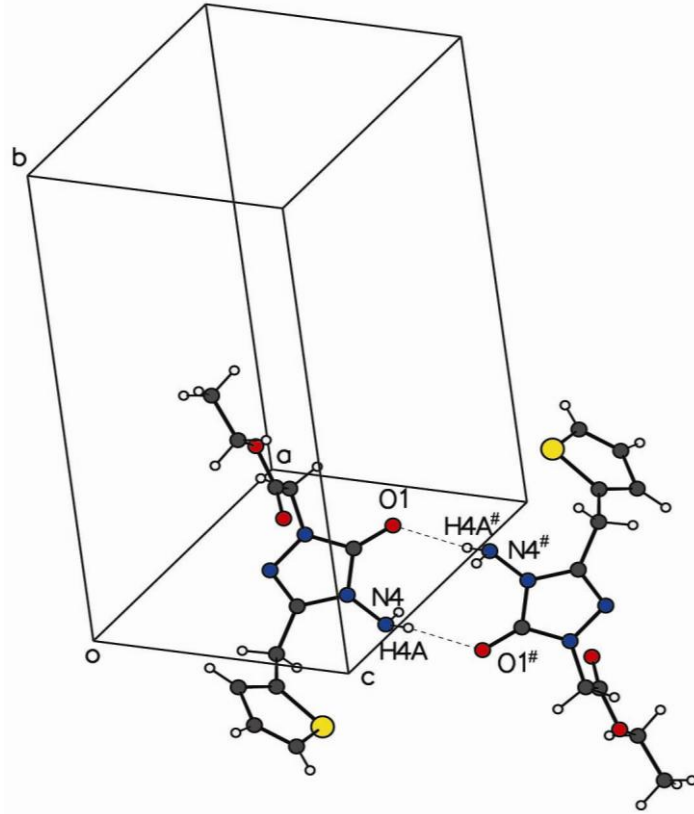
Tablo 16. Sentezlenen bileşiklerin LC/MS-MS spektral verileri

Bileşik No	Kapalı Formül	MA (g/mol)	$[M]^+$ (m/z)
19	$C_{11}H_{14}N_4O_3S$	282.32	284.09(%5)
20	$C_9H_{12}N_6O_2S$	268.30	268.99(%100) ([M+2])
21a	$C_{16}H_{17}N_7O_2S_2$	403.48	403.98(%95)
21b	$C_{16}H_{16}BrN_7O_2S_2$	482.38	483.85(%65) ([M+1])
21c	$C_{16}H_{16}FN_7O_2S_2$	421.47	421.98(%100)
21d	$C_{17}H_{19}N_7O_2S_2$	417.51	417.99(%100)
22a	$C_{16}H_{15}N_7OS_2$	385.47	385.96(%100)
22b	$C_{16}H_{14}BrN_7OS_2$	464.36	463.26(%100)
22c	$C_{16}H_{14}FN_7OS_2$	403.46	403.95(%60)
22d	$C_{17}H_{17}N_7OS_2$	399.49	399.98(%100)

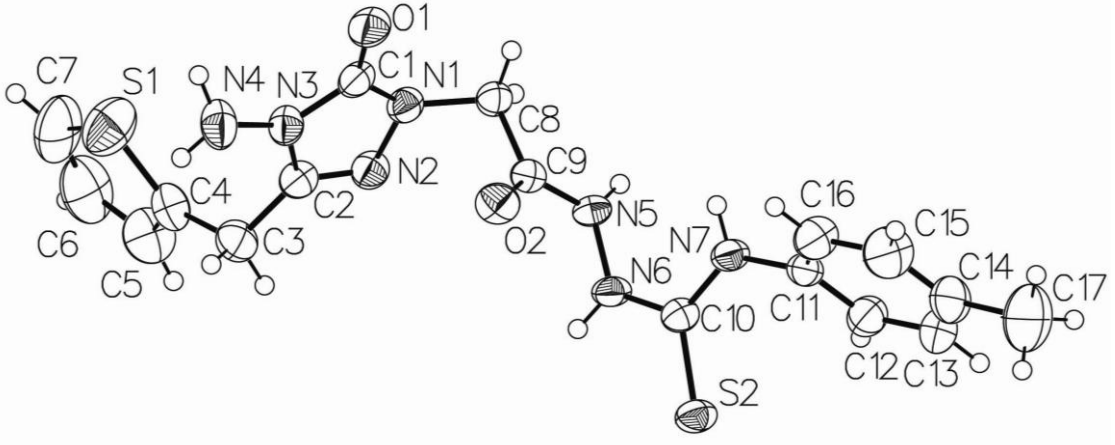
Sentezlenen 11 adet orjinal bileşikten, Etil-2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il) asetat (19) ve 1-(2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetil)-4-p-toliltiyosemikarbazit (21d) bileşiğinin uygun kristal yapıda bulunması sonucu, bu iki bileşiğin X-ray verileri toplanmış, toplanan verilerin kullanılması ile oluşturulan ortep diyagramları şekil 1, şekil 2 , şekil 3 ve şekil 4’te sunulmuştur.



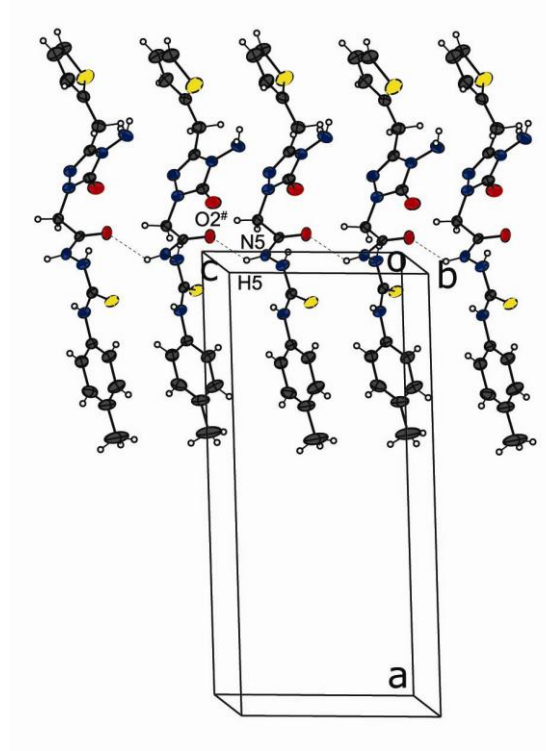
Şekil 1. 19 nolu bileşiğin ortep III diyagramı



Şekil 2. 19 nolu bileşiğin a eksenini boyunca alınan kristal paket diyagramı



Şekil 3. 21(d) nolu bileşiğe ait Ortep III diyagramı

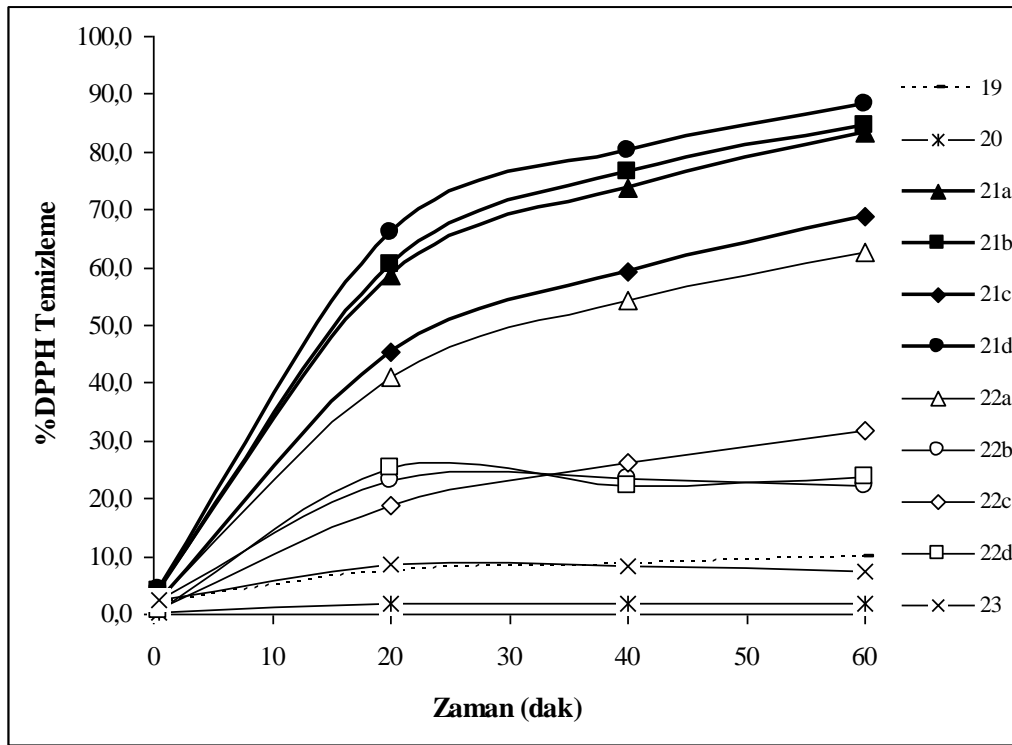


Şekil 4. 21(d) nolu bileşiğin a eksenine boyunca alınan kristal paket diyagramı

3.2. Sentezlenen Bileşiklerin Antioksidan Aktiviteleri

Çalışmamızda sentezlenmiş 11 adet bileşik antioksidan aktiviteler açısından değerlendirilmiş, bu amaçla literatürde en yaygın kullanılan iki yöntem uygulanmıştır.

DPPH radikali temizleme aktivitesi sonuçları DPPH konsantrasyonunun azalmasındaki %değişim olarak ifade edilmiş ve 1 saat boyunca belirli sürelerde okunan değerlerden hesaplanmıştır. Kinetik bir değerlendirme yapmak amacıyla zamana bağlı %DPPH temizlenmesi değerleri 11 bileşik için Şekil 5’de verilmiştir. Onbir numuneden izotiyosemikarbazit bileşikleri (21a-d) (10 µg/mL) ön denemede çok yüksek aktivite gösterdiklerinden dolayı diğerlerine (200 µg/mL) göre 20 katı daha seyreltik olarak çalışılmıştır. Grafikte görülen değerler bütün bileşiklerin karşılaştırması yapılırken bu konsantrasyon farkı göz önünde bulundurulmalıdır.

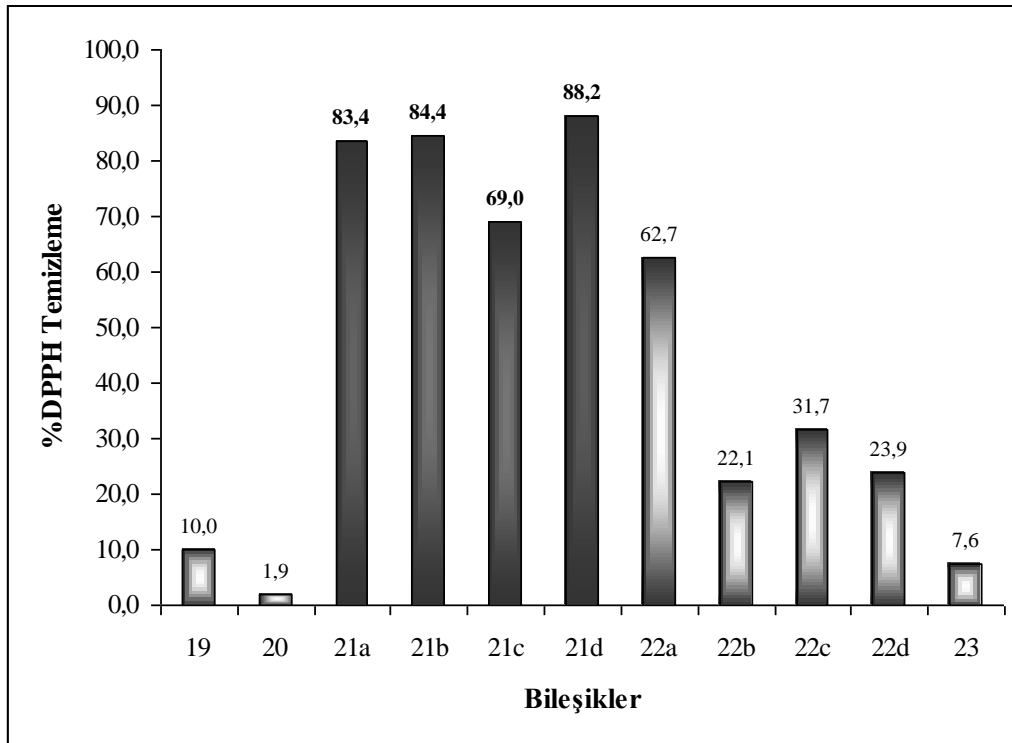


Şekil 5. Sentezlenmiş bileşiklerin DPPH radikal temizleme aktivitesi yöntemiyle belirlenmiş zamana bağlı %DPPH temizleme değerleri değişimi.

Tüm bileşiklerde zamana bağlı absorbansta azalma ve dolayısıyla da %DPPH temizleme değerinde bir artma gözlenmiştir. Absorbans takibinin sonlandırıldığı 60. dakikada numunelerin hepsinde %DPPH temizleme değeri artışı devam etmektedir, ancak bu artışın eğimi giderek azalmaktadır. Bu grafikteki eğrilerden çalışmada test edilen 11 bileşiğin DPPH ile olan reaksiyonlarının nispeten yavaş olduğu anlaşılmaktadır.

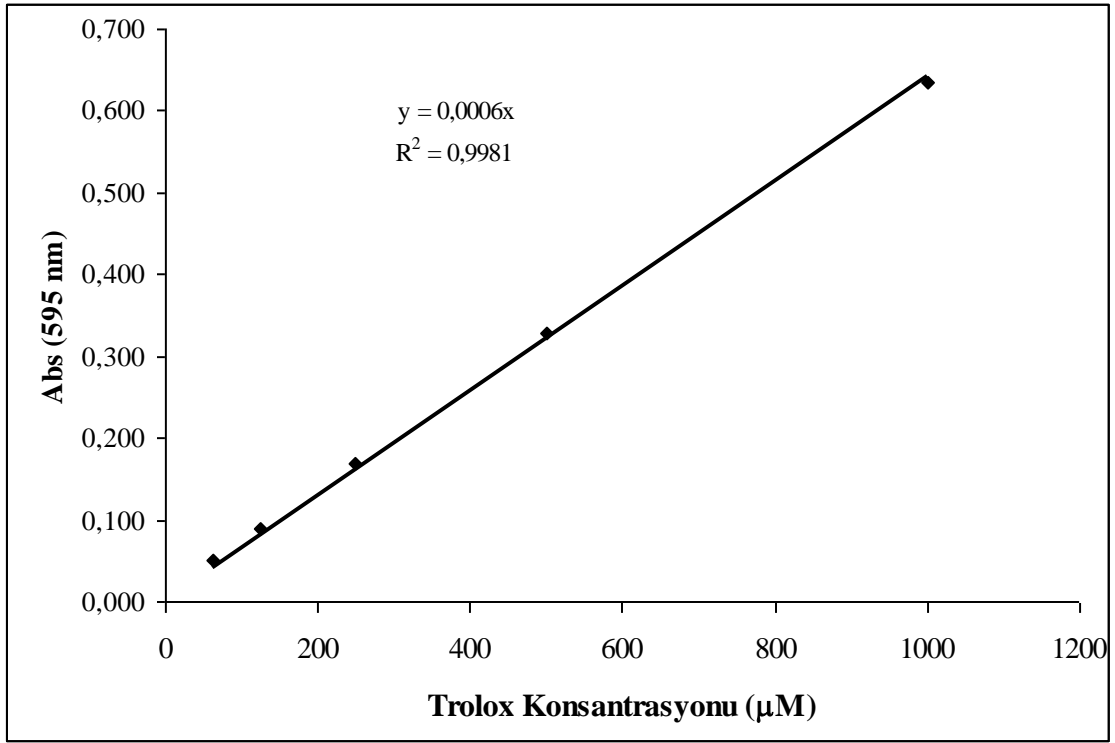
Bileşiklerin DPPH temizleme aktivitelerinin birbirleriyle kıyaslanması için 60. dakikadaki %DPPH temizleme değerleri karşılaştırmalı olarak Şekil 6’de verilmiştir. Bu

şekildeki grafikten de **21a-d** nolu izotiyosemikarbazit bileşiklerinin diğer 7 bileşiğe göre daha aktif oldukları görülmektedir. Bu grafiği daha doğru değerlendirmek için, test numunelerin iki farklı konsantrasyonda çalışılmasından dolayı **21a-d** nolu izotiyosemikarbazit bileşikleri haricindeki bileşiklerin %DPPH temizleme değerlerinin 20'ye bölünmesi gerekir. Bu durumda **21a-d** nolu izotiyosemikarbazit bileşiklerinin aktivitelerinin diğerleri arasında en aktif gözükken **22a** nolu triazol/tiyol bileşiğinininkinden en az 20 katı daha fazla olduğu anlaşılmaktadır.

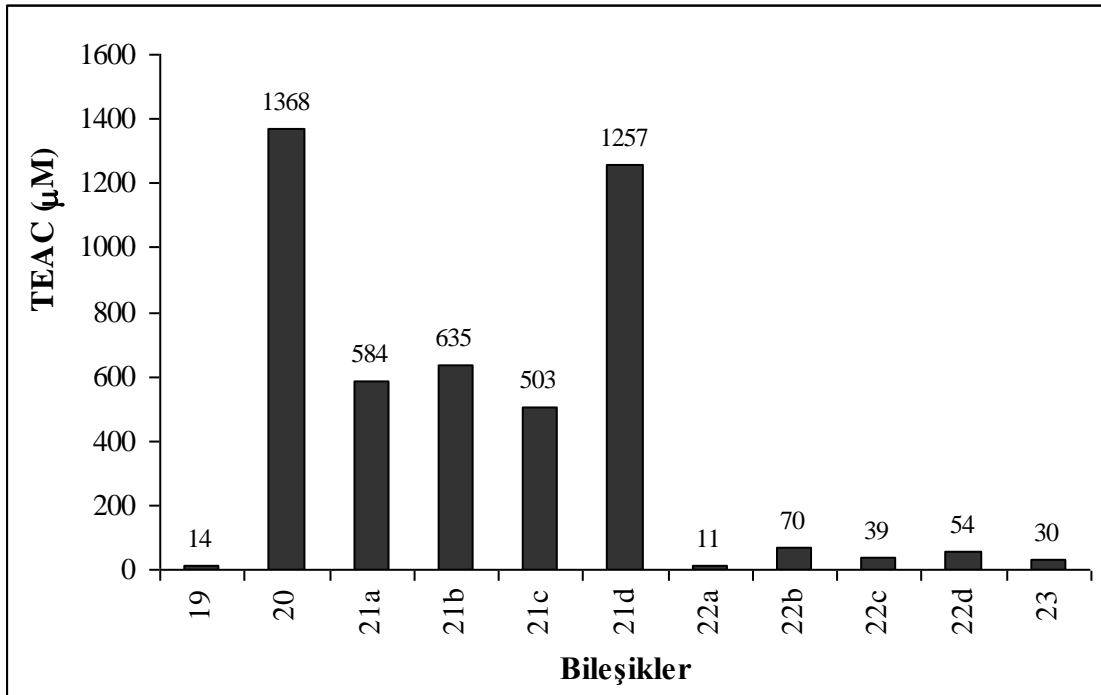


Şekil 6. Sentezlenmiş bileşiklerin DPPH radikal temizleme aktivitesi yöntemiyle belirlenmiş 60. dakikadaki %DPPH temizleme değerleri.

Çalışmada kullanılan ikinci yöntem olan FRAP testinde, numunelerin ortamdaki demir (III) iyonlarını indirgeyebilmesine dayalı olan antioksidan aktivite, demir (II) iyonlarının TPTZ bileşiğiyle oluşturduğu kompleksin 595 nm'deki absorbansının ölçülmesi yoluyla belirlenmektedir. Ölçülen absorbanslar Trolox ile hazırlanmış kalibrasyon grafiği (Şekil 7) üzerinde değerlendirilip absorbansa karşılık gelen Trolox konsantrasyonu kullanılarak Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasite (TEAC) değerleri μM olarak belirlenmiştir. 200 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda hazırlanmış olan 11 bileşiğe ait TEAC değerleri Şekil 8 de görülmektedir.



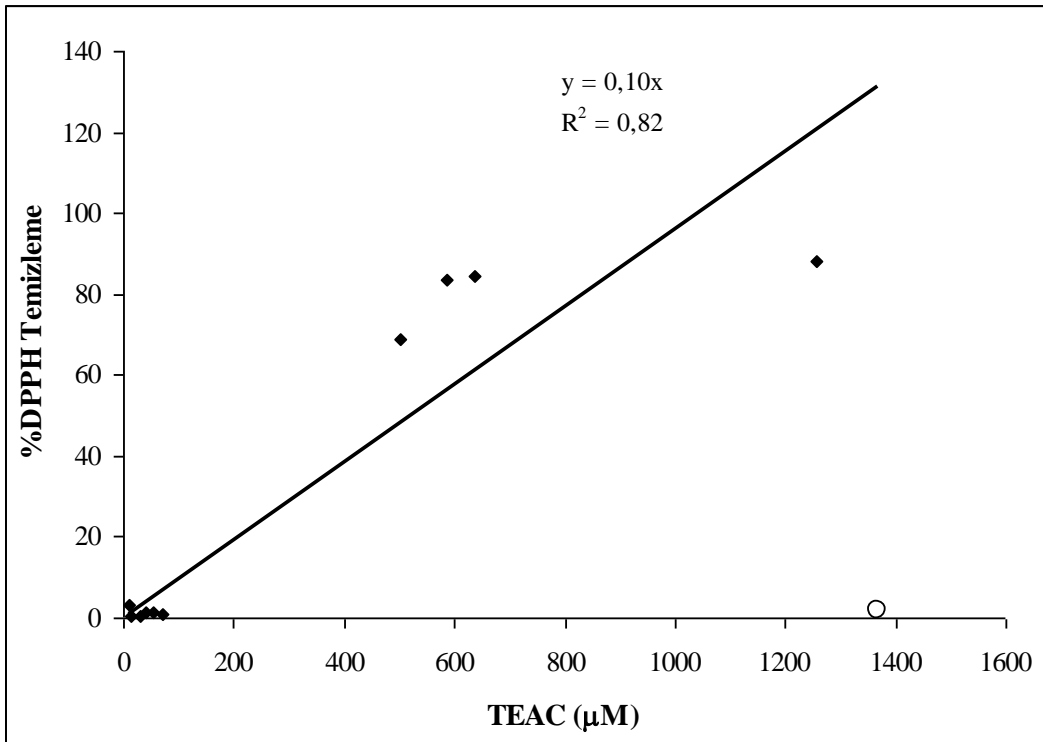
Şekil 7. Sentezlenmiş bileşiklerin demir (III) indirgeme / antioksidan güç (FRAP) kalibrasyon grafiği



Şekil 8. Sentezlenmiş bileşiklerin demir (III) indirgeme / antioksidan güç (FRAP) yöntemiyle belirlenmiş µM TEAC değerleri.

Şekil 8'den **21a-d** nolu izotiyosemikarbazit bileşiklerinin diğer 7 bileşiğe göre daha aktif oldukları görülmektedir. **21a-d** Nolu izotiyosemikarbazit bileşiklerinin aktivitelerinin diğerleri arasında en aktif gözükene **22b** nolu triazol/tiyol bileşiğinkinden en az 7 katı daha fazla olduğu anlaşılmaktadır. FRAP testinde **20** nolu bileşiğin aktivitesinin test edilen 11 bileşik arasında en yüksek olduğu görülmektedir. Ancak bu yüksek aktivite %DPPH temizleme aktivitesi ölçümleriyle teyit edilememiştir.

Sentezlenmiş bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan iki yöntemle elde edilen sonuçların birbirleriyle uyumlu olup olmadığı Şekil 5'te çizilmiş olan DPPH temizleme aktivitesi testinde 60. dakikada göstermiş oldukları %DPPH temizleme değerleri ve demir (III) indirgeme / antioksidan güç (FRAP) yöntemiyle belirlenmiş μM TEAC değerlerinin karşılıklı grafiğinden anlaşılabilir. Şekil 9.



Şekil 9. Sentezlenmiş bileşiklerin DPPH temizleme aktivitesi testinde göstermiş oldukları %DPPH temizleme değerleri ve demir (III) indirgeme / antioksidan güç (FRAP) yöntemiyle belirlenmiş μM TEAC değerlerinin uyum grafiği.

3.3. Sentezlenen Bileşiklerin Antimikrobiyal Aktiviteleri

Sentezlenen bileşiklerin antimikrobiyal aktivite ölçümleri belirtilen yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, **21(a-d)** numaralı bileşiklerin oldukça yüksek konsantrasyonda aktivite gösterdiği diğer bileşiklerin de dikkate değer ölçüde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu anlaşılmıştır. Sonuçlar Tablo 17’de detaylıca verilmiştir.

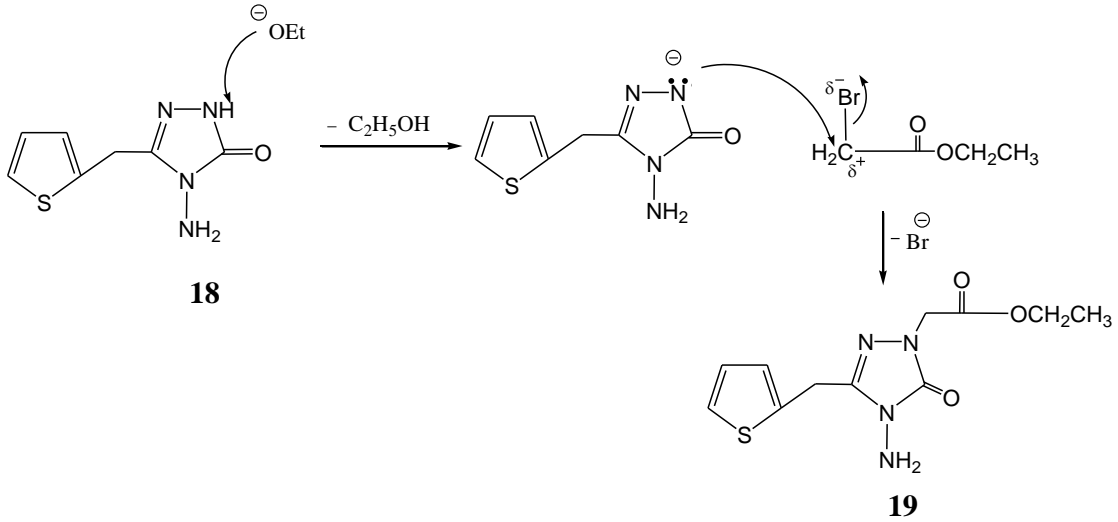
Tablo 17. Sentezlenen bileşiklerin antimikrobiyal aktivite tayinleri

Bileşik No	Konsantrasyon $\mu\text{g/mL}$	Mikroorganizmalar ve Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu									
		Ec	Yp	Pa	Sa	Ef	Li	Bc	Ms	Ca	Sc
19	31.800	---	---	---	---	---	---	---	994	---	---
20	4.500	---	---	---	---	---	---	---	994	---	---
21a	20.200	---	---	---	2525	---	---	5050	1262	---	---
21b	7.600	---	---	---	950	---	---	950	950	---	---
21c	19.300	---	---	---	2412	---	---	---	---	---	---
21d	12.900	---	---	---	3225	---	---	---	1612	---	---
22a	16.000	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
22b	14.000	---	---	---	1750	---	---	1750	1750	---	---
22c	12.500	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
22d	10.800	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
23	8.400	---	---	---	1075	---	---	1075	1075	---	---

4. TARTIŞMA

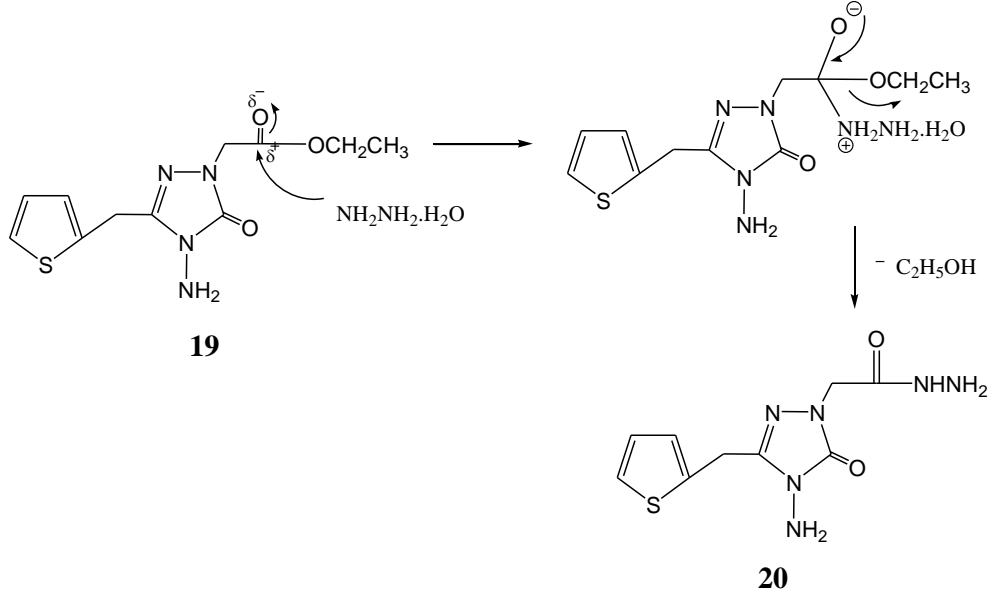
4.1. Bileşiklerin Spektroskopik Verilerinin Değerlendirilmesi

Çalışmamızın sentez aşamasının başlangıç bileşiği olan 4-amino-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on (18) literatür [28] de belirtilen yöntemle sentezlenmiş olup, spektral veriler bu kaynaktan temin edilmiştir. 4-amino-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-on (18) bileşiğinin susuz etanollü ortamda, Na metali ve bromo etilasetat ile reaksiyonundan ester fonksiyonu içeren tiyofen-1,2,4-triazol-3(5)-on (19) bileşiğine varılmıştır. Elde edilen spektral veriler (IR, ^1H , ^{13}C -NMR ve MS) bu bileşik için önerilen moleküler yapıyı tamamıyla destekler niteliktedir. Senteze ilişkin mekanizma aşağıda sunulmuştur.



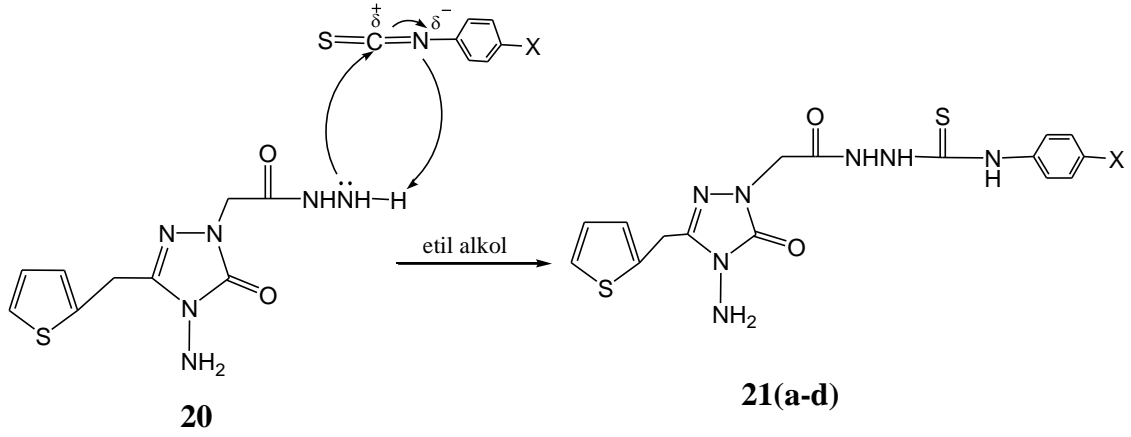
Bu bileşiğe (19) ait IR spektrumu incelendiğinde, ester grubuna ait $\text{C}=\text{O}$ ve eterik $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ titreşimleri sırasıyla 1752 ve 1206 cm^{-1} de gözlenmiştir. ^1H -NMR spektrumunda, ester (COCH_2CH_3) grubundaki CH_2 protonları 4.05 - 4.16 ppm (2 protona karşılık) aralığında multiplet, CH_3 protonları ise 1.17 ppm de (3 protona karşılık) triplet şeklinde ortaya çıkmıştır. Diğer yandan, aynı bileşiğe ilişkin ^{13}C -NMR spektrumunda, $\text{C}=\text{O}$ ve $\text{C}-\text{O}-\text{CH}_2$ fonksiyonlarına ait karbon piklerinin sırasıyla 169.51 ve 61.95 ppm de gözlenmesi önerilen yapısal formülü doğrulamaktadır. Kütle spektrumunda gözlenen moleküler iyon $[\text{M}^+]$ piki de bu yapıyı destekler niteliktedir.

Çalışmamızda, anahtar bileşik olarak ifade edilen karbohidrazit fonksiyonlu tiyofen-triazol bileşiği (20), ester fonksiyonlu tiyofen-triazol (19) bileşiğinin, hidrazin hidrat ile reaksiyonundan elde edilmiştir. Bu bileşiğinin eldesine ait reaksiyon yürüyüşü aşağıda gösterildiği şekildedir.



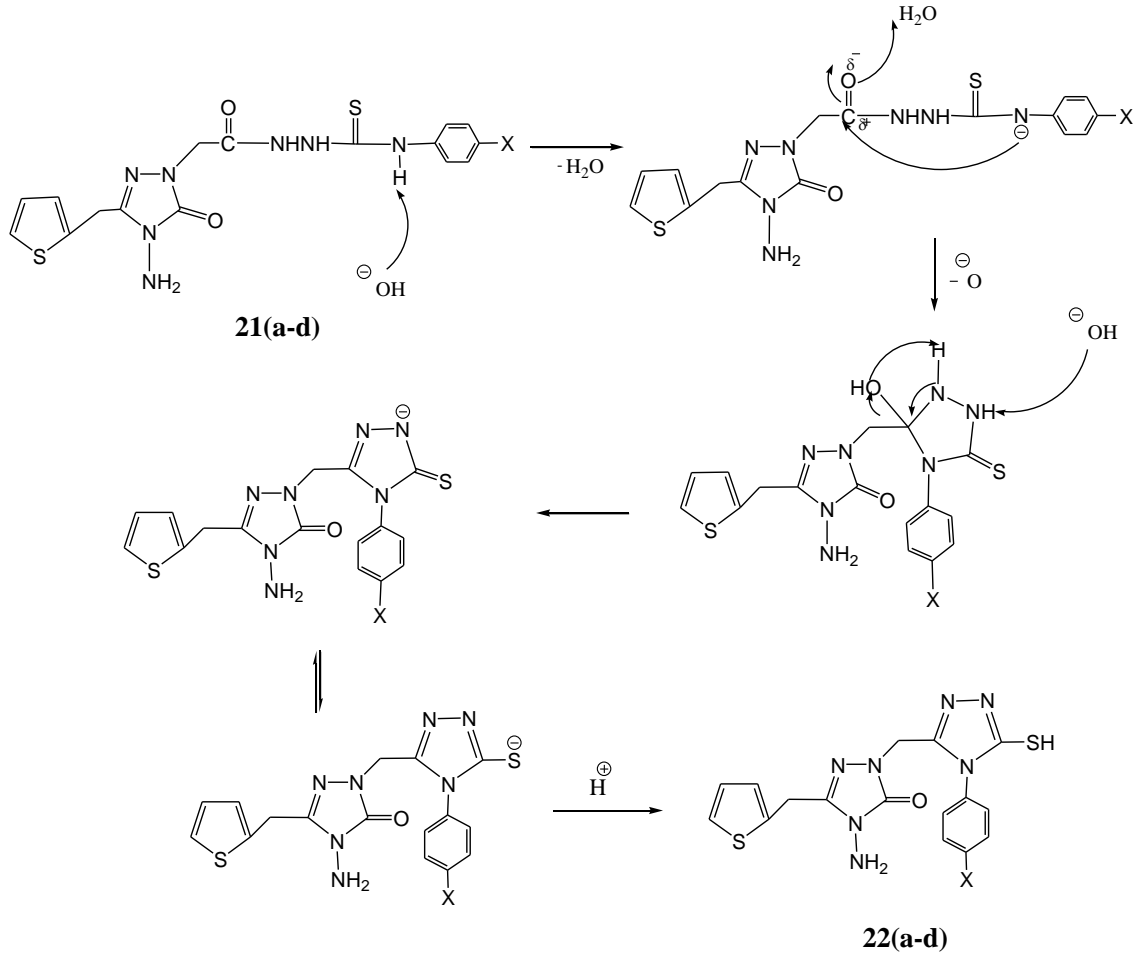
Moleküler yapının 20 numara ile gösterilen bileşik olduğuna ilişkin en önemli veri, $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda, ester fonksiyonuna ait OCH_2CH_3 piklerinin kaybolması ve yerine geldiği kabul edilen karbohidrazit grubuna ait NHNH_2 için 4.06 ve NHNH_2 ye ait 9.21 ppm de yeni piklerin ortaya çıkmasıdır. Diğer spektral verilerde yapının doğruluğunu teyit eder niteliktedir.

Birbiri ile ilintili olan sentez aşamalarının bir diğer basamağını ise, mevcut hidrazit türevi anahtar bileşiğin (20) muhtelif aromatik izotiyosyanatlarla etanollü ortamda vuku bulan katılma reaksiyonu sonucu tiyosemikarbazit türevlerinin (21a-d) eldesi oluşturmaktadır. Elde edilen spektral veriler, önerilen yapıları doğrular nitelikte olup, senteze ilişkin mekanizma aşağıda sunulmaktadır.



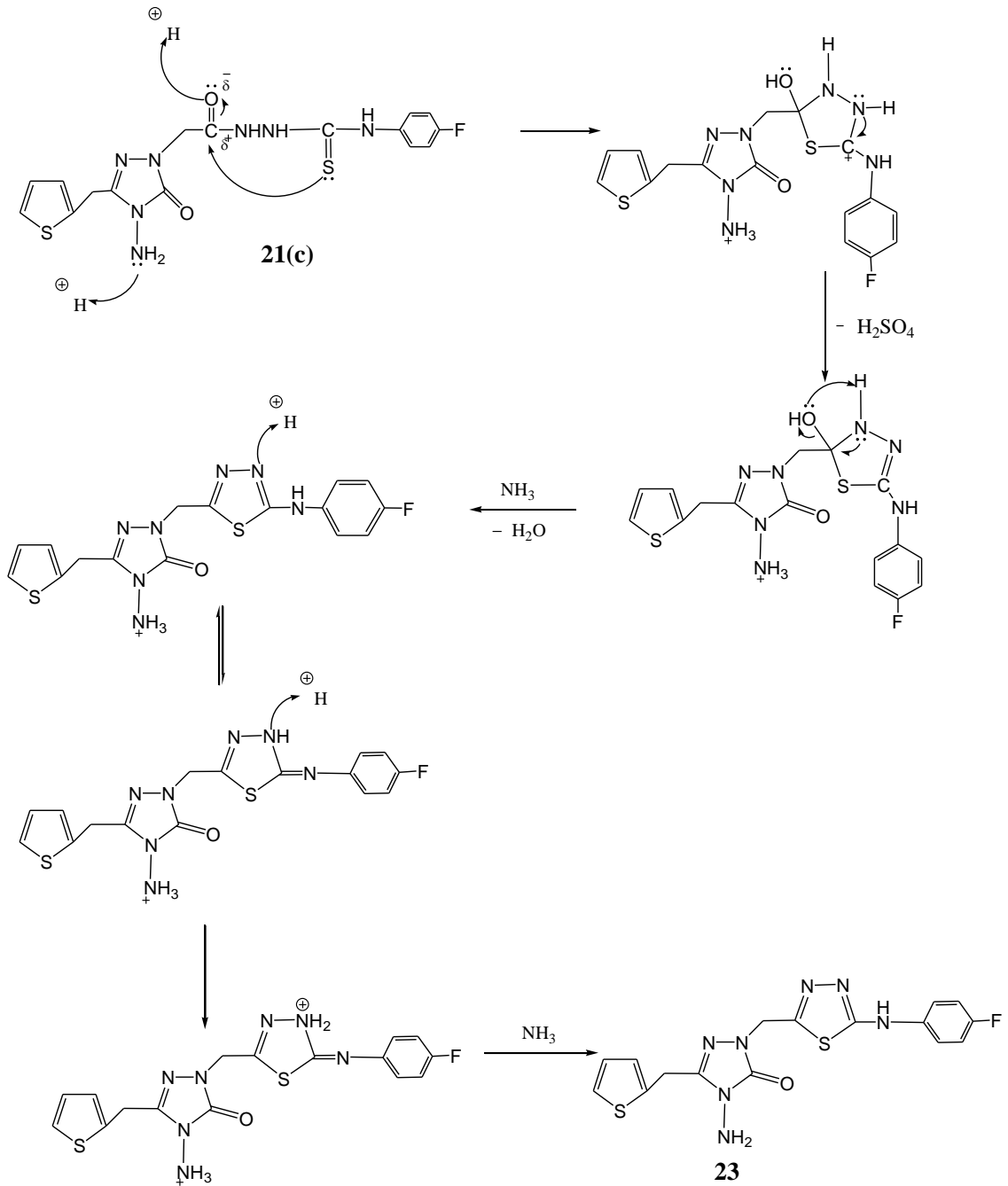
21 nolu bileşiklerin $^1\text{H-NMR}$ spektrumları incelendiğinde, başlangıç bileşiği olan karbohidrazit fonksiyonuna ait NH_2 piki kaybolurken, 2 adet yeni NH piki karşımıza çıkmaktadır. Bunlar $\text{—C(=O)—NH—NH—C(=S)—NH—}$ grubundaki N_1H ve N_2H olup sırasıyla 9.58 ve 9.82 ppm de birer spektrum çizgisi oluşturmaktadır [29]. Bununla birlikte, ilgili bileşiklerin, $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarında, fenil halkasından kaynaklanan aromatik bölge protonları da 6.94-7.37 ppm aralığında çoklu pik grubu oluşturmaktadır. Aynı bileşiklerin, $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumlarında, 181.32-181.64 ppm aralığında ortaya çıkan pikler, bileşiklerdeki C=S grubunun varlığını göstermektedir. 21 nolu bileşiklere ait kütle spektrumlarında gözlenen moleküler iyon pikleri de önerilen yapıları desteklemektedir.

Çalışmamızın bir diğer bölümünü, halka kapanması reaksiyonu sonucu sentezlenen 1,2,4-triazol-5 tiol(tion) (22a-d) bileşikleri (21 numaralı tiyokarbohidrazit türevlerinin, NaOH ile vukubulan reaksiyonu) oluşturmaktadır. Elde edilen 22 benzeri bileşiklerde kükürt ve azot atomlarını kapsayan 1,2,4-triazol-5-tiol ve 1,2,4-triazol-5-tion formlarından oluşan bir tautomeri ortaya çıktığı belirtilmektedir [30]. Çalışmamızda elde edilen 22 bileşiklerindedeki benzer bir tautomeri söz konusudur. Elde edilen spektral veriler ışığında hakim tautomerik formun tion formu olduğu ortaya konmuştur. Senteze ilişkin reaksiyon yürüyüşü aşağıda gösterildiği şekildedir.



22a-d bileşiklerinin yapısal teyidine ilişkin IR spektral verileri incelendiğinde en temel verinin, sonuç bileşiklerinin eldesinde kullanılan başlangıç bileşiklerinde (21) yaklaşık $1710-1720\text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenen tiyokarbhidrazit grubuna ait C=O titreşim bandının gözden kaybolması olduğu belirtilmelidir. Buna karşın, 22 numaralı bileşiklerin, IR spektrum verilerinde, C=S ve NH gerilim bantları sırasıyla $1225-1233\text{ cm}^{-1}$ ve $3351-3436\text{ cm}^{-1}$ ortaya çıkmaktadır ki bu veriler literatürel verilerle uyum içindedir [31,32]. Literatürde, sentezlediğimiz 22 benzeri bileşiklerde tiol formuna ilişkin SH gerilim bandının $2600-2550\text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlendiği bildirilmektedir [33,34]. Oysa sentezlediğimiz 22 bileşiklerinde bu gerilim bandı bu bölgede gözlenmemektedir. Bununla birlikte, 22 benzeri bileşiklerin $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarında, N-H proton sinyalinin $12.50-14.50\text{ ppm}$ aralığında gözlendiği bildirilmekle birlikte bazı literatürlerde bu sinyalin S-H proton sinyaline karşılık geldiği de bildirilmektedir [35,36]. Elde ettiğimiz 22 bileşiklerine ait spektral verilerin ve literatürel bilgilerin ışığında, 22 numaralı bileşiklerde, söz konusu olabilecek tautomerik tion-tiol formlarından, triazol-tion formunun triazol-tiol yapısına göre daha baskın olduğunu söyleyebiliriz.

Çalışmamızın senteze ilişkin son aşamasında, 1-(2-(4-amino-5-okso-3-(tiyofen-2-ilmetil)-4,5-dihidro-1,2,4-triazol-1-il)asetil)-4-(4-florofenil)tiyosemikarbazit (21c) ın asidik ortamda gerçekleşen molekül içi siklizasyon reaksiyonu sonucu 4-amino-2-((4-(4-florofenil)-5-merkaptotriazol-3-il)metil)-5-(tiyofen-2-ilmetil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-one (23) nolu bileşik elde edilmiştir. Reaksiyonun yürüyüşüne ilişkin mekanizma aşağıda sunulmuştur.



Yukarıdaki reaksiyon gereği elde edilen 1,3,4-tiyodiazol türevi bileşiğin (23) ¹H-NMR spektrumu irdelendiğinde, başlangıç molekülü olan tiyokarbohidrazit türevi bileşikde (21c) mevcut olan ve 9.18, 9.30 ve 9.83 ppm de gözlenen NH sinyallerine rastlanmamaktadır. Buna istinaden, sonuç bileşiği olan 4-amino-2-((4-(4-florofenil)-5-merkpto-4H-1,2,4-triazol-3-il)metil)-5-(tiyofen-2-ilmtil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-one (23) bileşiğinin ¹H-NMR spektrumunda, tiyodiazol halkasına bağlı NH 10.41 ppm de singlet olarak pik verirken, aynı bileşiğe ait (23) ¹³C-NMR spektrumunda, tiyodiazol fonksiyonuna ait C=N karbon pikleri, 155.31 ve 166.26 ppm de gözlenmektedir. Ayrıca, ilgili sonuç bileşiğinin (23) IR spektrumunda, başlangıç bileşiğine (21c) ait olan 1215 cm⁻¹ de gözlenen C=S gerilim bandı gözlenmemektedir [37,38].

4.2. Bileşiklerin Biyolojik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

4.2.1. Antioksidan Aktivitelerin Değerlendirilmesi

Literatürde antioksidan test olarak en fazla tercih edilen yöntem bu çalışmada da kullanılmıştır. DPPH radikali temizleme aktivitesi test çözeltisinde bulunan DPPH radikalinin test edilen madde tarafından temizlenmesi (radikal olmayan forma dönüştürülmesi) ve dolayısıyla da 517 nm’de ölçülen DPPH radikaline ait absorbansın azalmasının yüzde olarak ifade edilmesi esasına dayanmaktadır. Bu yöntemde test edilen bileşiğin üç boyutlu yapısı ve boyutu önemlidir. DPPH’ın radikal bölgesinin içte bulunması nedeniyle bazı bileşikler bu bölgeye sterik engellemeden dolayı ulaşamayabilmektedirler ve test sonucunda aslında aktif olan bileşikler inaktif olarak bildirilmektedir. DPPH aktivitesi düşük bildirilen bazı maddelerin başka antioksidan tayin yöntemleriyle yapılan çalışmalarda yüksek aktiviteli olabildiği görülmektedir.

Çalışmada kullanılan ikinci yöntem ise test ortamında bulunan demir (III) iyonunun demir (II) iyonuna indirgenmesine ve de çözeltideki TPTZ nin demir (II) ile verdiği kompleksin absorbansının ölçülmesine dayanmaktadır. Yöntem gıda maddeleri, biyolojik materyaller ve sentetik bileşikler gibi farklı türden numunelerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi çalışmalarında en çok kullanılan antioksidan tayin yöntemlerindedir.

Kullanılan iki antioksidan aktivite tayin yönteminin sonuçları karşılaştırıldığında (Şekil 9) genel olarak bir uyum gözükse de farklılıklar da mevcuttur. Elde edilen grafik te noktaların dağılımına bakıldığında iki yöntemin belli ölçüde uyum gösterdiği

görülmektedir ($R^2=0,82$). Farklılıkların temelinde iki yöntemdeki reaksiyon mekanizmaların farklılığı ve DPPH radikali temizleme testinde sterik engellenmenin olabilmesi yatmaktadır. İki test sonuçları arasında **20** nolu bileşikte önemli bir fark görülmektedir. %DPPH temizleme aktivitesi açısından en düşük aktiviteye sahip olan bu bileşik, FRAP testinde en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Bu belirgin farkın sebebi mevcut çalışma ile aydınlatılamamıştır. Bu amaçla bu bileşiğin farklı konsantrasyonlarda DPPH ve FRAP testi ile değerlendirilmesi yapılabilir.

Çalışmamızda sentezlenmiş olan tüm bileşikler her iki yöntemde de antioksidan aktivite göstermiştir. İki testte görülen ortak sonuç **21a-d** nolu izotiyosemikarbazit bileşiklerinin aktivitelerinin diğerlerine göre oldukça yüksek olduğudur. İzotiyosemikarbazit türevleri ve triazol/tiyol(tion) türevleri arasında substituentlerin aktiviteye etkisi açısından bir değerlendirilme yapıldığında, DPPH testinde bir uyum görülmesi de, FRAP testinde $-CH_3$ ve $-Br$ türevlerinin $-H$ ve $-F$ türevlerine göre daha etkin oldukları görülmektedir. **21a-d** Bileşiklerinin yüksek aktivitesi başlangıç maddeleriyle de karşılaştırılınca izotiyosemikarbazit substitusyonunun yapıya önemli bir antioksidan aktivite kazandırdığı açıktır. Bu etki triazol/tiyol türevlerinde görülmemiştir. **23** Nolu bileşik her iki yöntemde de düşük aktivite göstermiştir. Benzer şekilde **19** nolu başlangıç maddesinin antioksidan aktivitesi de her iki yöntemde düşük bulunmuştur.

4.2.1.1. DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi Tayini

DPPH radikali temizleme aktivitesi tayininde belirlenen %DPPH temizleme değerleri %1,9 - %88,2 aralığındadır. Ancak **21a-d** nolu bileşiklerin testte kullanılan konsantrasyonlarının diğerlerinden 20 kat düşük olduğu unutulmamalıdır. Tam bir değerlendirme yapmak için ya **21a-d** nolu bileşiklere ait değerler 20 ile çarpılmalı, ya da diğerlerine ait değerler 20'ye bölünmelidir, ki bu ikincisi ifade edilen ölçüm sonuçlarının % olmasından dolayı daha yerinde olur ve sonuçların FRAP sonuçları ile karşılaştırılmasında bu yapılmıştır.

DPPH testinde **21a-d** nolu izotiyosemikarbazit türevlerinin oldukça yüksek aktiviteli olduğu gözlenmiştir. Bu bileşikler **22a-d** nolu triazol/tiyol(tion) türevlerine göre en az 20 kat daha fazla aktivite göstermişlerdir. DPPH testi sonuçlarına göre izotiyosemikarbazit türevleri arasında aktivite sırası büyükten küçüğe $-CH_3$, $-Br$, $-H$, $-F$ şeklindedir.

Triazol/tiyol(tion) türevleri arasında sıralama ise –H, –F, –CH₃, –Br şeklindedir. DPPH testinde **19**, **20** nolu başlangıç bileşikleri ve **23** nolu bileşik düşük aktivite göstermiştir.

4.2.1.2. Demir (III) İndirgeme / Antioksidan Güç (FRAP) Tayini

FRAP tayini sonuçları genel olarak %DPPH temizleme testiyle benzerlikler arz etmektedir. **21a-d** Nolu izotiyosemikarbazit türevleri bu testte de yüksek aktivite ve **22a-d** nolu triazol/tiyol(tion) türevleri düşük aktivite göstermiş, başlangıç maddesi **19** ve **23** nolu bileşik bu testte de çok düşük aktivite göstermişlerdir. Ancak **20** nolu başlangıç maddesi DPPH testinden farklı olarak FRAP testinde en yüksek aktiviteli bileşik olarak belirlenmiştir. DPPH temizleme ve FRAP testleri arasında ki farklılık yöntemlerde kullanılan reaksiyonların mekanizması ve DPPH testindeki sterik engellemeyle ilgili olabilir.

FRAP testinde **21a-d** nolu izotiyosemikarbazit türevleri, **22a-d** nolu triazol/tiyol(tion) türevlerine göre 7-110 kat daha fazla aktivite göstermişlerdir. FRAP testi sonuçlarına göre izotiyosemikarbazit türevleri arasında aktivite sırası büyükten küçüğe –CH₃, –Br, –H, –F şeklindedir. Triazol/tiyol türevleri arasında sıralama ise –Br, –CH₃, –F, –H şeklindedir. FRAP testi sonuçları izotiyosemikarbazit ve triazol/tiyol türevlerinde daha yüksek aktiviteli –CH₃ ve –Br türevleri ve daha düşük aktiviteli –H ve –F türevleri ortaya koymaktadır, bu uyum DPPH testi sonuçlarında gözlenmemiştir.

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada, 11 adet tiyofen-1,2,4-triazol türevlerini içeren orjinal bileşik sentezlenmiş ve yapıları spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmıştır. Bu çalışmada elde edilen tüm orjinal nitelikteki bileşiklerin sentezine ilişkin yöntemler, optimum reaksiyon şartları ve bazı fiziksel parametreler belirlenmiştir. Ayrıca bazı tiyofen-triazol türevlerinden hazırlanan kristallerin X-Ray (ortep) diagramları ve bileşiklerin IR, ¹H, ¹³C-NMR ve MS verileri elde edilerek orjinal bileşiklerin yapısal identifikasyonları tamamlanmıştır.

Sentezlenen bileşiklerin, DPPH radikal temizleme aktivitesi ve demir indirgeme / antioksidan güç (FRAP) yöntemleriyle belirlenen antioksidan aktiviteleri izotiyosemikarbazit bileşiklerinin (**21a-d**) daha aktif olduğunu göstermiştir. Kullanılan iki ölçüm yöntemiyle elde edilen sonuçlar uyum göstermektedir. Çalışmada test edilen 11 bileşiğin hepsi az da olsa antioksidan etki göstermektedir. DPPH testinde bileşiklerin DPPH ile reaksiyonlarının yavaş seyrettiği ve 60 dakikalık sürede tamamlanmadığı gözlenmiştir. Antioksidan aktivite ölçüm sonuçları antimikrobiyal aktivite sonuçlarıyla örtüşmektedir.

Orjinal nitelikteki 11 adet bileşiğin, antimikrobiyal aktiviteleri yapılan çalışmalar kısmında sunulan literatürel yöntemlere göre, gram pozitif ve gram negatif bakterilere, maya ve mantarlara karşı test edilmiştir. Özellikle tiyosemikarbazit türevleri içeren tiyofen-triazol bileşiklerinin (21a-d) son derece etkili antimikrobiyal etkiye sahip olduğu, diğer bileşiklerinde orta derecede aktiviteye sahip oldukları belirtilmiştir.

6. ÖNERİLER

Bu çalışmada tiyofen-triazol halkasını içeren ve N-1 pozisyonunda tiyosemikarbazit, triazol-tiol(tion) ve tiyodiazol gibi farklı substitüentler taşıyan azol sınıfı bileşikler sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerden özellikle tiyosemikarbazit türevi olarak ifade ettiğimiz 21(a-d) bileşiklerinde hem antimikrobiyal hem de antioksidan aktivitenin gözlemlenmiş olması molekülün biyolojik anlamda etkin ünitesinin tiyosemikarbazit olduğu sonucunu ortaya koymuştur. Antioksidan aktivitenin aynı zamanda başlıca kanser mekanizmalarında önleyici bir etki yaptığı bilindiğinden sentezlenen bu bileşiklerin önemi daha artmaktadır. Bu nedendir ki, özellikle tiyosemikarbazit fonksiyonuna sahip farklı heterohalkalar içeren moleküllerin hazırlanmasının daha etkin biyolojik sonuçlar ortaya koyabileceği düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

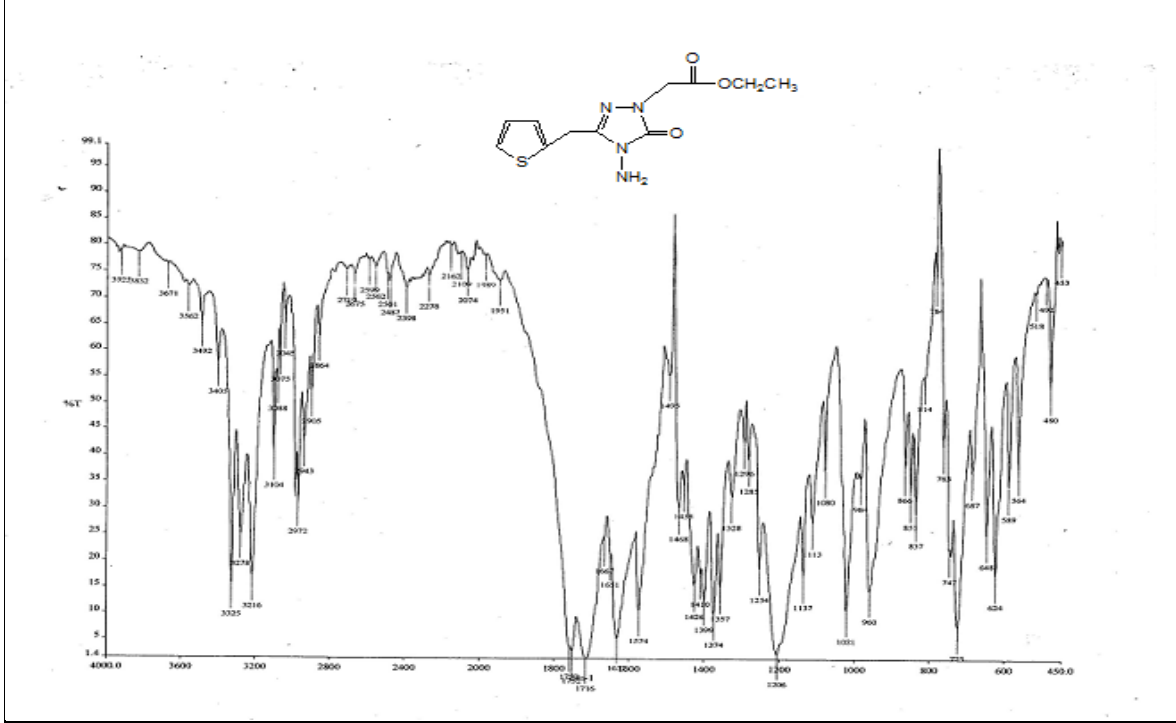
1. Ünver, Y., Düğdü, E., Sancak, K., Er, M. ve Ustabaş, R., Synthesis and Characterization of novel triazol compounds containing thiophen ring as potential antifungal agents and Structure of 2-(2-hydroxy-2-p-tolyethyl)-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4-(4H-1,2,4-triazol-4-yl)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-one, Turk.J.Chem., 34 (2010) 551-563.
2. Young M.N., Borgle, M., Pagniez, F., Baut, G. ve Pape, P., Synthesis and antifungal activity of new 1-halogenobenzyl-3- imidazolymethylindole derivatives, Europa Journal of Medicinal Chemistry, 38 (2003) 75-87.
3. Sancak, K., Ünver, Y., Kazak, C., Düğdü, E. ve Arslan, B., Synthesis and Characterizations of Some New 2,4-Dihydro-[1,2,4]-triazol-3-one Derivatives and X-Ray Crystal Structures of 4-(3-Phenylallideneamino)-5- thiophen-2-yl-methyl-2,4-dihydro-[1,2,4]triazol-3-one, Turk J Chem., 34 (2010) 771-780.
4. Upanhayaya, R. S., Sinha, N., Jain, S., Kishore, N., Chandra, R., ve Arora, S. K., Optically active antifungal azoles: synthesis and antifungal activity of /2R,3S)-2-(2,4-difluorophenyl)-3-(5-{2-[4-aryl - piperazine-1-yl]-ethyl} - tetrazol-2-yl/1-yl 9-1-[1,2,4]-triazol -1-yl-butan-2-ol, Bioorganic & Medicinal Chemistry,12 (2004) 2225-2238.
5. Ünver, Y., Meydanal, S., Sancak, K., Ünlüer, D., Ustabaş, R. ve Düğdü, E., Synthesis, crystal structure, and antioxidant properties of novel 1,2,4-triazol-5-ones containing 3,4- dimethoxyphenyl and 3,4-dihydroxyphenyl moiety, Turk J Chem., 35 (2011) 265-277.
6. Reitz, D. B., Penick, M. A., Norton, M. B., Reinhard, E. J., Corpus, V. M., Palomo, M. A., McGraw, E. G. ve McMalon, E. G., 1H-1,2,4-Triazole AngiotensinII Receptor Antagonist C-Linket Analogs og SC-50560, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 4 (1994) 105-110.
7. Donnelly, J. P. ve De Pauw, B. E., Voriconazole-a new therapeutic agent with an extended spectrum of antifungal activity, Clin Microbial Infect, 1 (2004) 107-117.
8. Xu, L. Z., Zhang, S. S., Niu, S. Y., Qin, Y. Q., Li, X. M. ve Jiao, K., Synthesis and Biological Activities of Novel Triazole Compounds Containing 1,3,-Dioxolane Rings, Molecules, 9 (2004) 913-921.
9. Xia, Y., Qu, F., Wu, Q. ve Peng, L., Synthesis of Bitriazolyl Compounds via Huisgen Reaction, Heterocycles, 65 (2005) 345-352.
10. Lesyk, R., Vladzimirska, O., Holota, S., Zaprutko, L. ve Gzella, A., New 5-substituted thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazol-6-ones: Synthesis and anticancer evaluation, European Journal of Medicinal Chemistry, 42 (2007) 641-648.

11. Mullican, M. D., Wilson, M. W., Conner, D. T., Kostlan, C. R., Schrier, D. J. ve Dyer, R. D., Design of 5-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-1,3,4-thiadiazoles, 1,3,4-oxadiazoles and -1,2,4-triazoles as Orally –Active, Nonuleerogenic Antiinflammatory Agents, J. Med. Chem., 36 (1993) 1090-1099.
12. Goswami, B. N., Sarmah, K. J. ve Baruah, J., Synthesis and Antibacterial Activity of 1- (2, 4- Dichlorobenzoyl)-4- substituted Thio semicarbazides, 1,2,4-Triazoles and Their Methyl Derivatives, J.Heterocyclic Chem.,21 (1984) 1225-1229.
13. Xu, J., Cao, Y., Zhang, J., Yu, S., Zou, Y., Chai, X., Wu, Q., Zhang, D., Jiang, Y.ve Sun, Q., Design, synthesis and antifungal activities of novel 1,2,4-triazole derivatives, European Journal of Medicinal Chemistry 46 (2011) 3142-3148.
14. Almajan, G. L., Barbuceanu, S.-F., Bancescu, G., Saramet, I., Saramet, G. ve Draghici, C., Synthesis and antimicrobial evaluation of some fused heterocyclic [1,2,4]triazolo [3,4-b][1,3,4]thiadiazole derivatives European Journal of Medicinal Chemistry, 45, (2010), 6139-6146.
15. Xue, H., Gao, Y., Twamley, B. ve Sheeve, J., Energetic Azolium Azolate Salts, Inorg Chem., 44 (2005) 5068-5072.
16. Tumosiene, I. ve Beresnevičius, Z. J., Synthesis of azoles from 3,30-[(4-alkoxyphenyl)imino]bis(propanoic acid hydrazides), Monatsh Chem, 140 (2009) 1523–1528.
17. Barbuceanu, S.-F., Saramet, G., Almajan, G. L., C., Draghici, Barbuceanu, F. ve Bancescu, G., New heterocyclic compounds from 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole class bearing diphenylsulfone moieties. Synthesis, characterization and antimicrobial activity evaluation, European Journal of Medicinal Chemistry, 49 (2012) 417-423.
18. Kus, C., Kılıçgil, G.-A., Özbey, S., Kaynak, F. B., Kaya, M., Çoban, T. ve Eke, B.- C., Synthesis and antioxidant properties of novel N-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-amine and 4-methyl-2H-1,2,4-triazole-3(4H)-thione derivatives of benzimidazole class, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 16 (2008) 4294–4303.
19. Kus C., Ayhan-Kılıçgil, G., Can Eke, B. ve İscan, M., Synthesis and Antioxidant Properties of some Novel Benzimidazole Derivatives on Lipid Peroxidation in the Rat Liver, Arch.Pharm. Res. 27 (2004) 156-163.
20. Ayhan-Kılıçgil, G., Kuş C., Çoban, T., Can-Eke, B. ve Işcan, M., Synthesis and Antioxidant Properties of Novel Benzimidazole Derivatives, Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 19,{2} (2004) 129-135.
21. Suzuki, N., Miwa, T., Aibara, S., Kanno, H., Takamori, H., Tsubokawa, M., Ryokawa, Y., Tsukada, W. ve Isoda, S., Synthesis and Antiallergy Activity of [1.3.4]Thiadiazolo[3,2- α]-1,2,3-triazolo[4.5-d] pyrimidin-9(3H)-one Derivatives, I, Chem. Pharm. Bull., 40 (1992) 357-363.

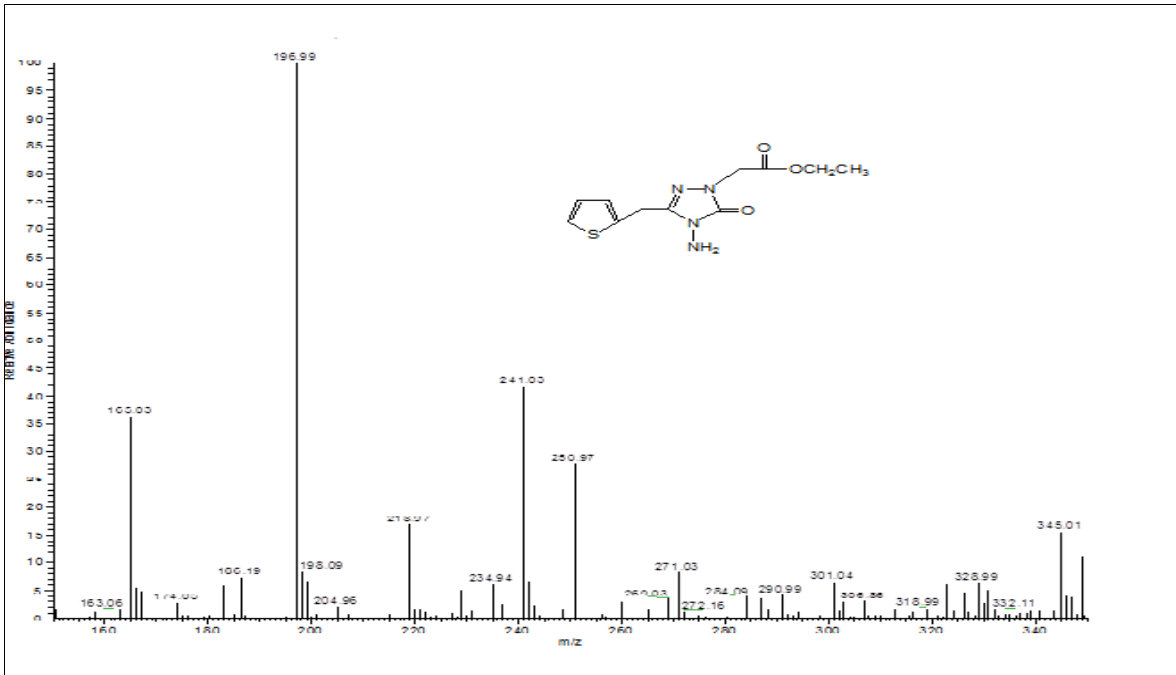
22. Sancak, K., Ünver, Y. ve Er, M., "Synthesis of 2-acylamino, 2-aroylamino and ethoxycarbonyl imino-1,3,4-thiadiazoles as antitumor agents", Turk J Chem. 31 (2007) 125-134.
23. Ram, V., J., Nath, M., Benzylmalononitriles, a versatile synthon for the synthesis of azoles and azines as antimalarials, Ind. Jour. Chem., 33R (1994) 1048-1052.
24. Jiang J.J., Chang T.C., Hsu W.L., Hwang J.M. ve Hsu L.Y., Synthesis and biological activity of sulfur-containing aryl-aldehyde Schiff bases, Chemical Pharmaceutical Bulletin, 51 (2003) 1307-1310.
25. Zhang, N., Fan, Y., Zhang, Z., Zuo, J., Zhang, P., Wang, Q., Liu, S. ve Bi, C., Inorganic Chemistry Communications 22 (2012) 68-72.
26. Sztanke, K., Tuzimski, T., Rzymowska, J., Pasternak, K. ve Kandefer-Szerszen, M., Synthesis, determination of the lipophilicity, anticancer and antimicrobial properties of some fused 1,2,4-triazole derivatives, European Journal of Medicinal Chemistry 43 (2008) 404-419.
27. Turan-Zitouni, G., Sıvacı, M., Kılıç, F.S. ve Erol, K., Eur. J. Med. Chem. 36 (2001) 685-689.
28. Ünver, Y., Metilen Köprülü Azollerin Sentezi ve Karakterizasyonu, Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 2006.
29. Khan, I., Ali, S., Hameed, S., Rama, N. H., Hussain, M. T., Wadood, A., Uddin, R., Ul-Haq, Z., Khan, A., Ali, S. ve Choudhary, M. I., Synthesis, antioxidant activities and urease inhibition of some new 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole derivatives, European Journal of Medicinal Chemistry 45 (2010) 5200-5207.
30. Turan-Zitouni, G., Sıvacı, M., Kılıç, F.S. ve Erol, K., Synthesis of some triazolyl-antipyrine derivatives and investigation of analgesic activity, European Journal of Medicinal Chemistry, 36 (2001) 685-689.
31. Banday, M.R. ve Rauf, A., Indian J. Chem. 48B (2009) 97-102.
32. Shelke, S., Mhaske, G., Gadakh, S. ve Gill, C., Bioorg. Med. Chem. Lett. 20 (2010) 7200-7204.
33. Cesur, Z., Cesur, N., Birteksöz, S. ve Ötük, G., Acta Chim. Slov. 57 (2010) 355-362.
34. Tomasciková, J., Imrich, J., Danihel, I., Böhm, S., Kristian, P., Pisarcíková, J., Sabol, M. ve Klika, K.D., Molecules 13 (2008) 501-518.
35. Küçükgülzel, I., Tatar, E., Küçükgülzel, S.G., Rollas, S. ve De Clercq, E., Eur. J. Med. Chem. 43 (2008) 381-392.

36. Ul-Haq, Z., Khan, A., Ali, S. ve Choudhary, M.I., Eur. J. Med. Chem. 45 (2010) 5200-5207.
37. Gülerman, N.N., Dogan, H.N., Rollas, S., Johansson, C. ve Çelik, C., Il Farmaco 56 (2001) 953-958.
38. Kumar, H., Javed, S.A., Khan, S.A. ve Amir, M., Eur. J. Med. Chem. 43 (2008) 2688-2698.
39. Dogan, H.N., Duran, A., Rollas, S., Sener, G., Uysal, M.K. ve Gülen, D., Bioorg. Med. Chem. 10 (2002) 2893-2898.
40. Cuendet, M., Hostettmann, P. ve Potterat, O., Iridoid Glucosides with Free Radical Scavenging Properties from *Fagraea blumei*, Helv. Chim. Akta, 80 (1997) 1144-1152.
41. Oyaizu, M., Studies on Product of Browning Reaction Prepared from Glucose Amine, Jap. J. Nutr., 44 (1986) 307-315.
42. I.F.F. Benzie, Strain, J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay, Anal. Biochem. 239 (1996) 70.

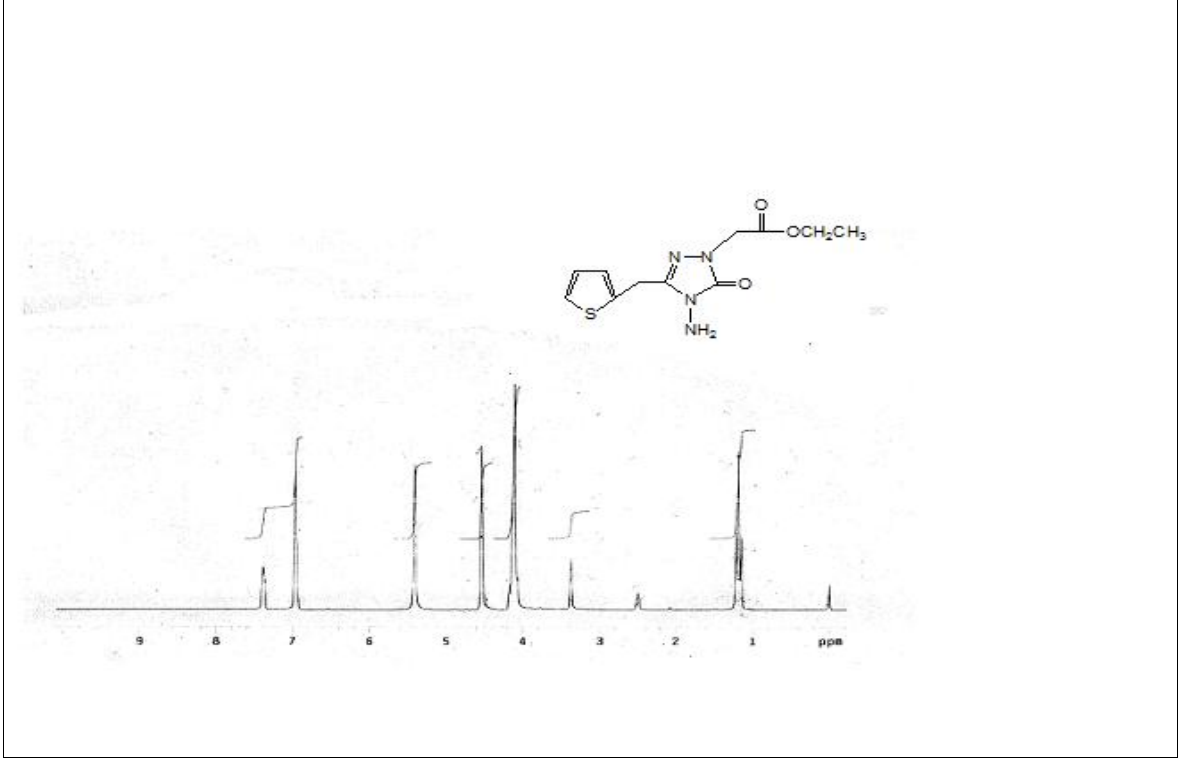
8. EKLER



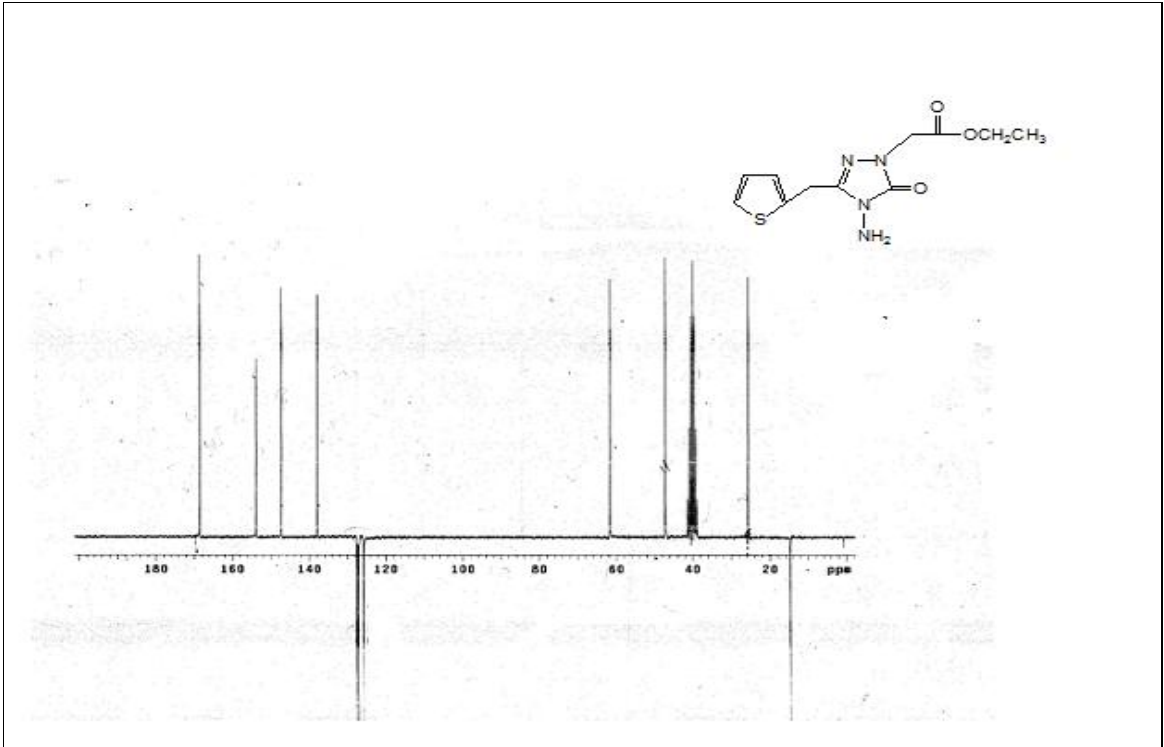
Ek Şekil 1. 19 bileşiğinin IR spektrumu (KBr)



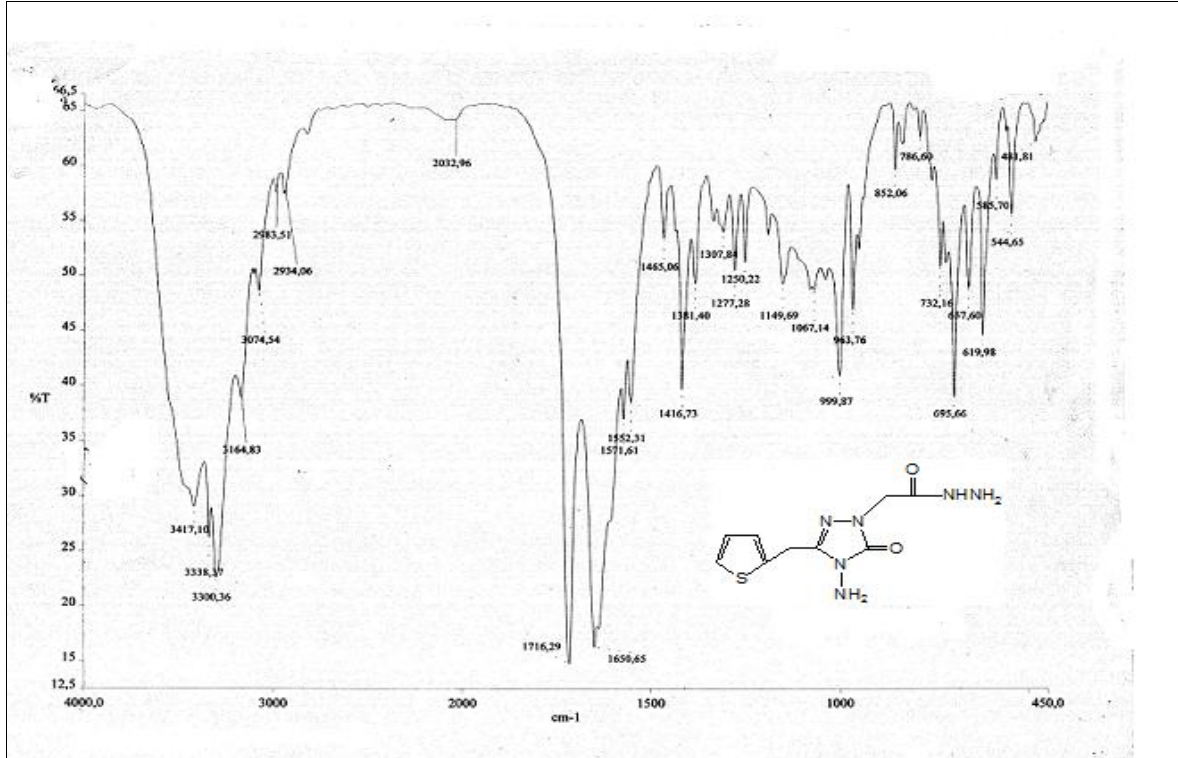
Ek Şekil 2. 19 bileşiğinin MS spektrumu



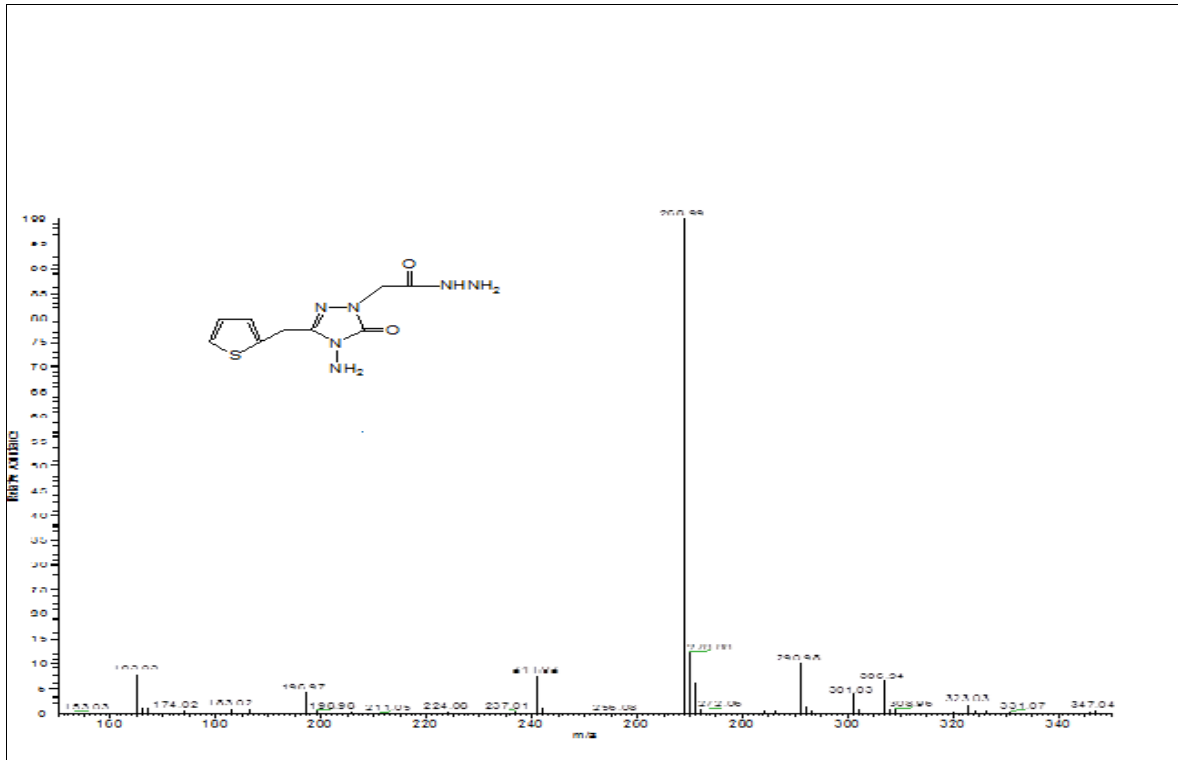
Ek Şekil 3. 19 bileşiğinin 200 MHz $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (DMSO-d_6)



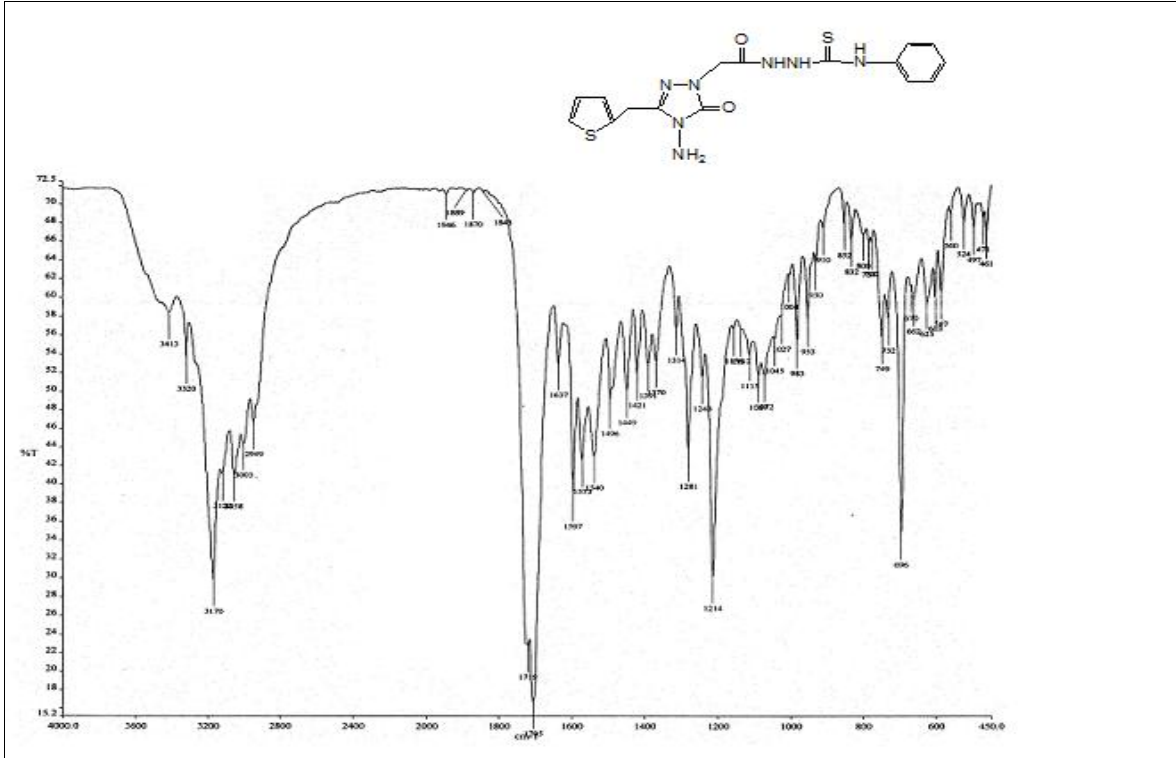
Ek Şekil 4. 19 bileşiğinin 50 MHz $^{13}\text{C-NMR}$ (APT) spektrumu (DMSO-d_6)



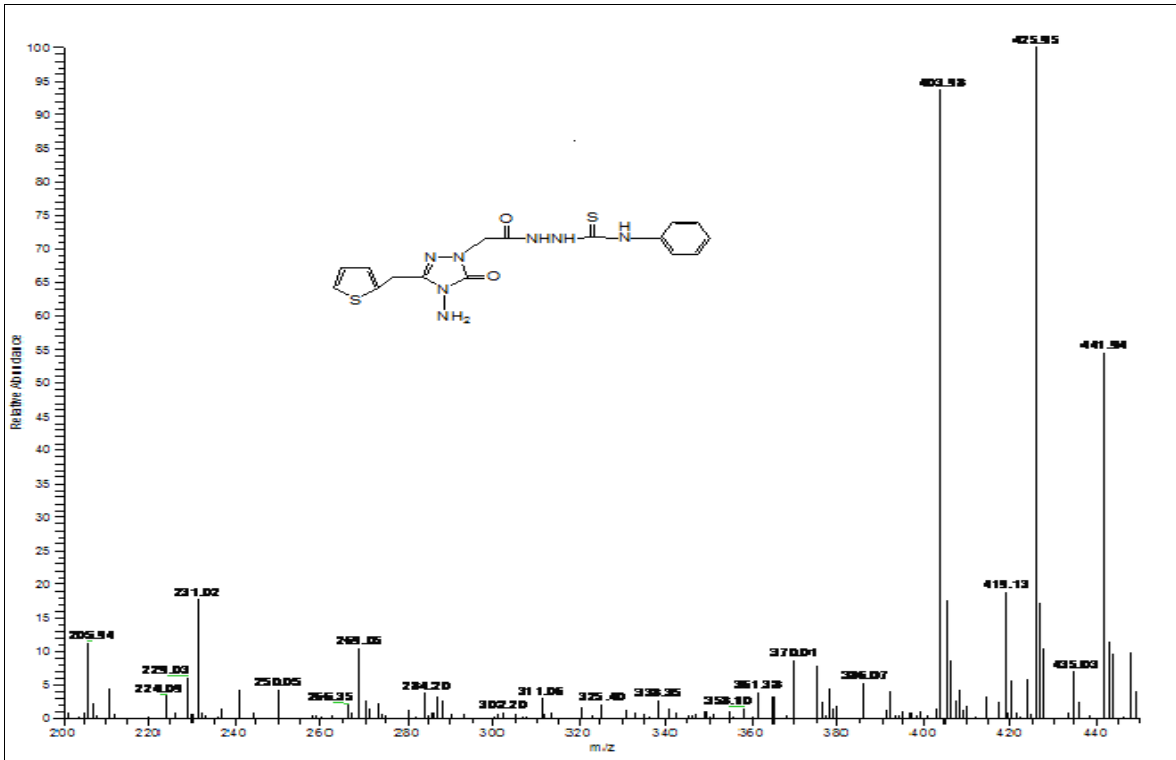
Ek Şekil 5. 20 bileşiğinin IR spektrumu (KBr)



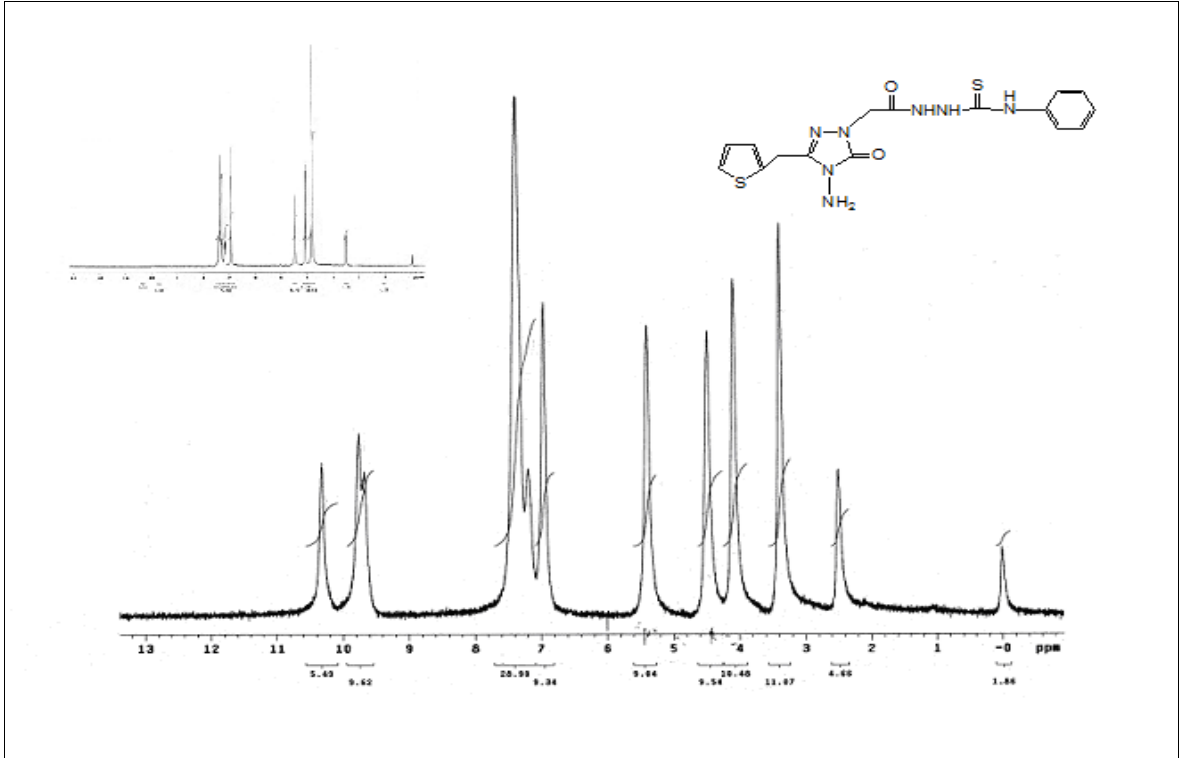
Ek Şekil 6. 20 bileşiğinin MS spektrumu



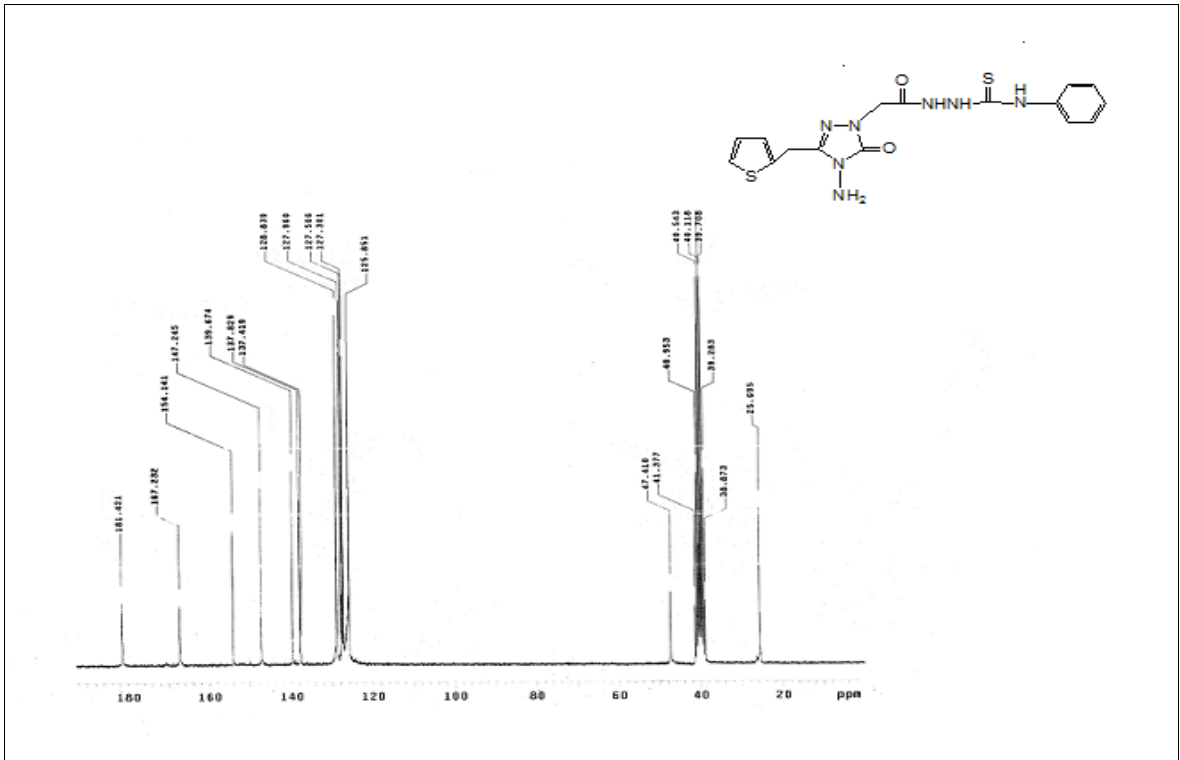
Ek Şekil 9. 21a bileşiğinin IR spektrumu (KBr)



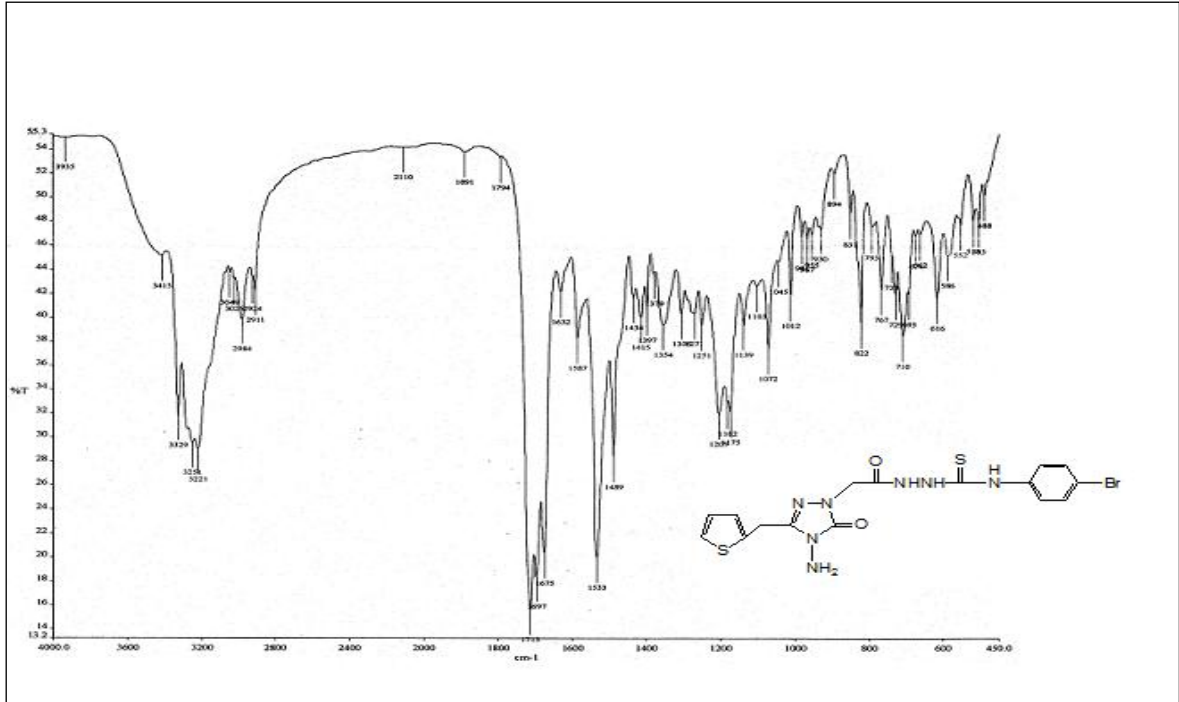
Ek Şekil 10. 21a bileşiğinin MS spektrumu



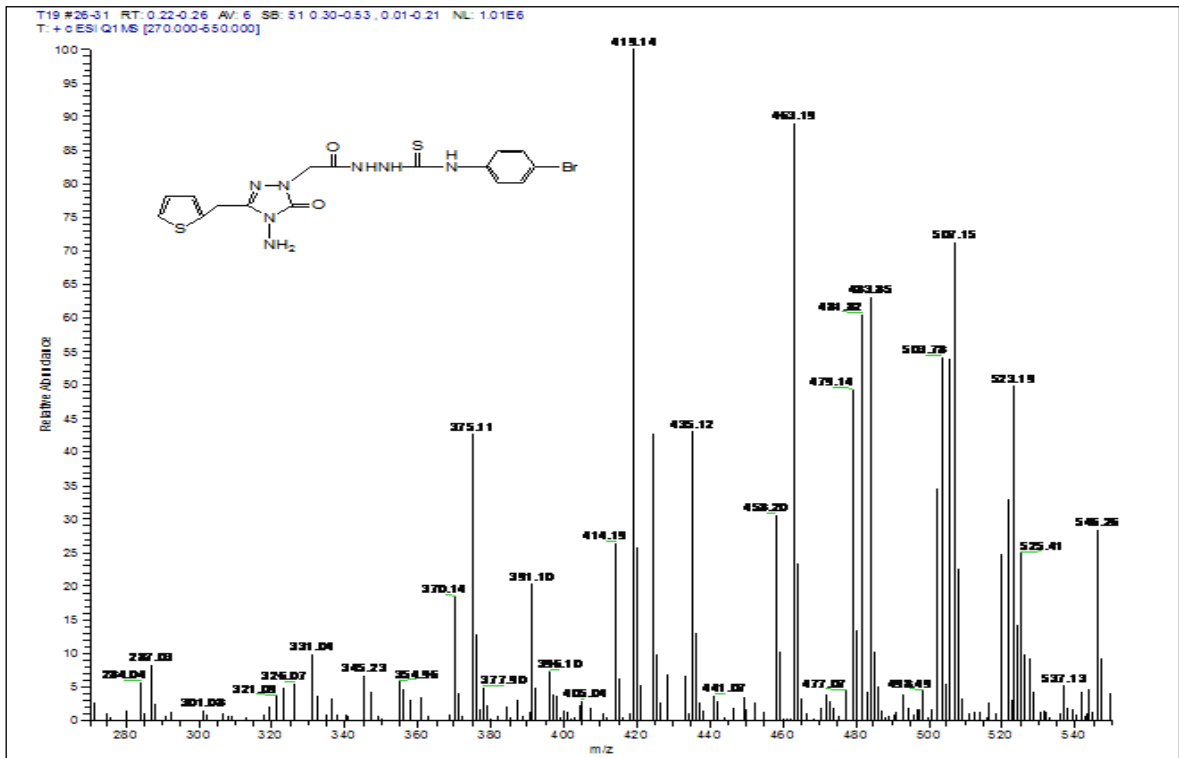
Ek Şekil 11. 21a bileşiğinin 200 MHz D_2O değişimi $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (DMSO-d_6)



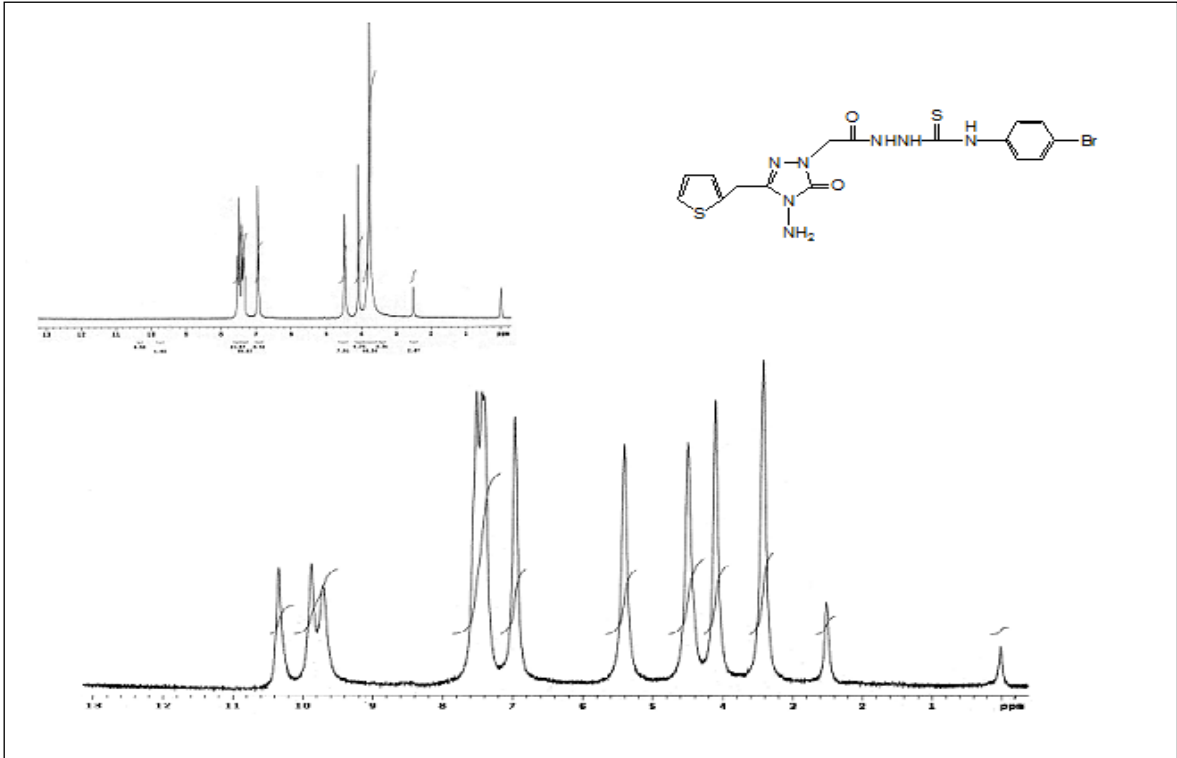
Ek Şekil 12. 21a bileşiğinin 50 MHz $^{13}\text{C-NMR}$ (APT) spektrumu (DMSO-d_6)



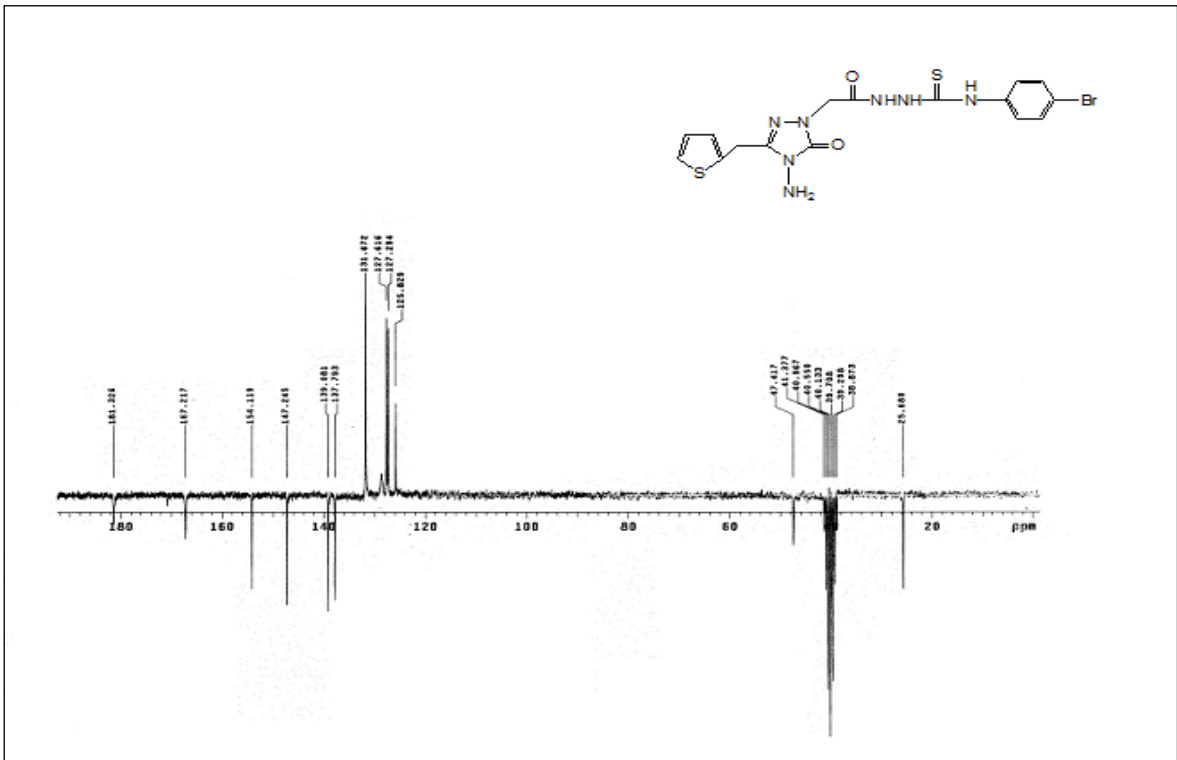
Ek Şekil 13. 21b bileşiğinin IR spektrumu (KBr)



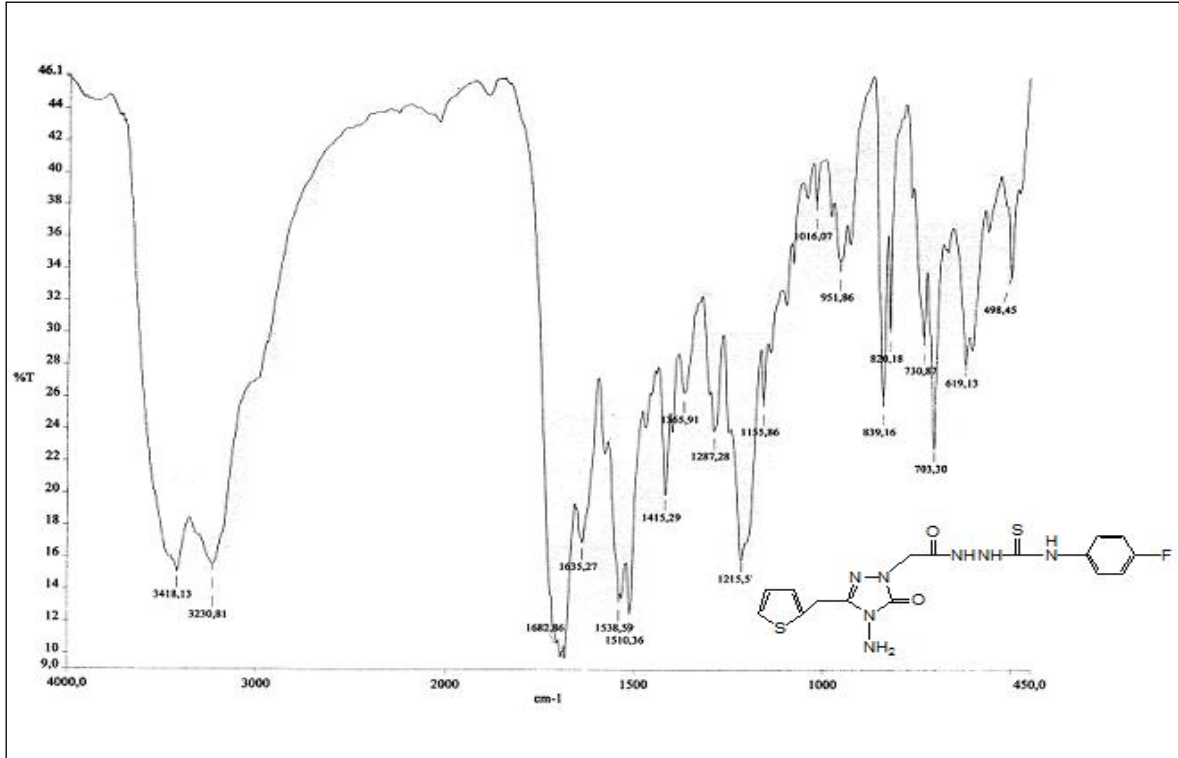
Ek Şekil 14. 21b bileşiğinin MS spektrumu



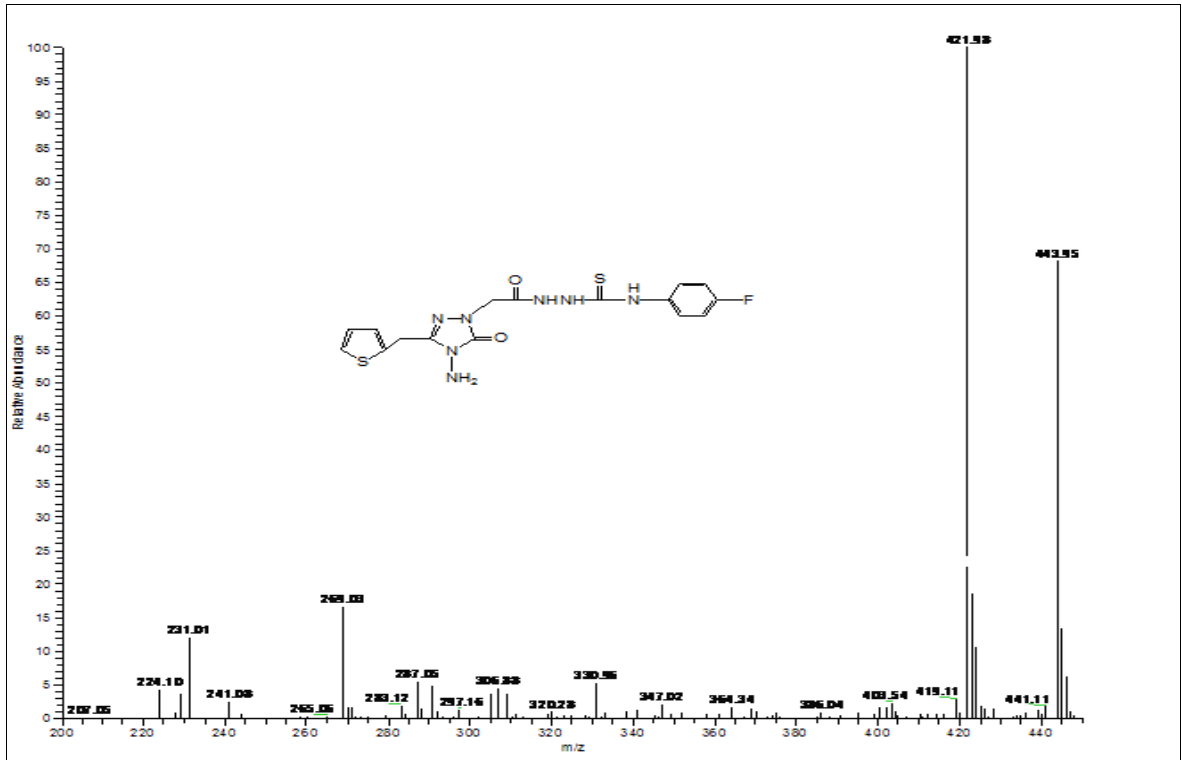
Ek Şekil 15. 21b bileşiğinin 200 MHz D_2O değişimi $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (DMSO-d_6)



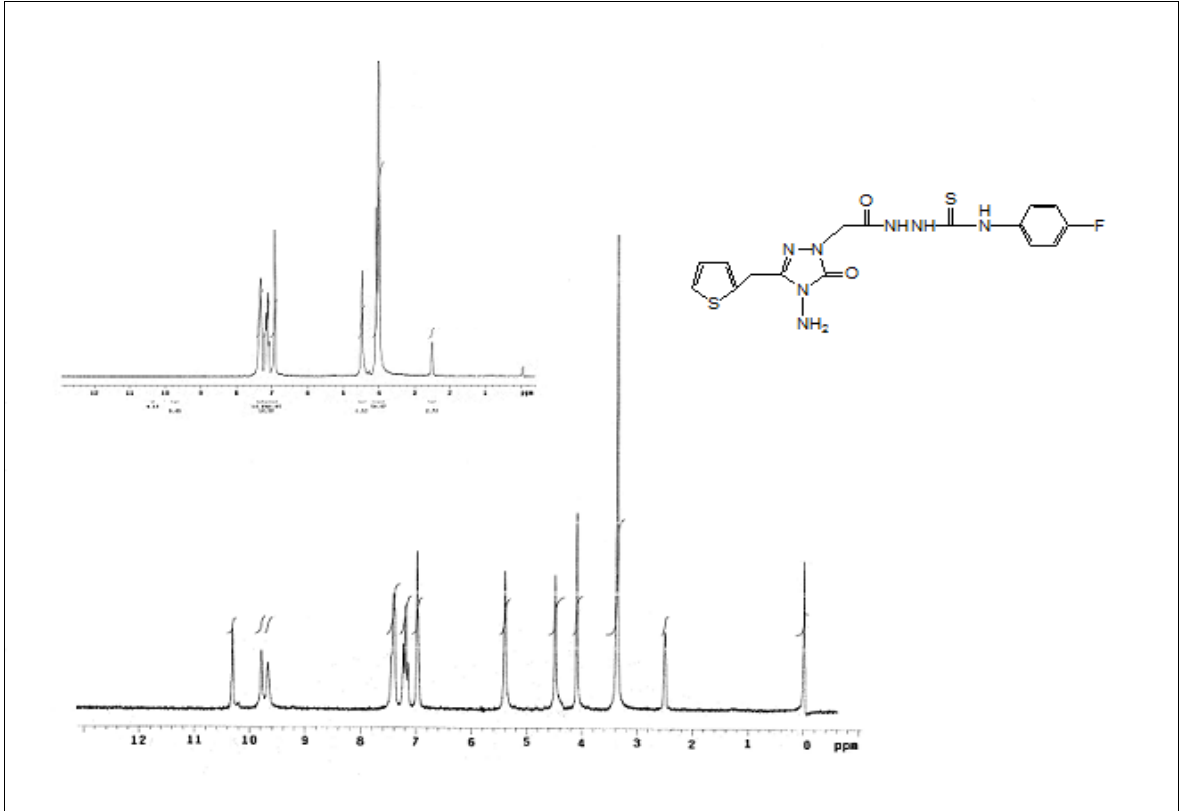
Ek Şekil 16. 21b bileşiğinin 50 MHz $^{13}\text{C-NMR}$ (APT) spektrumu (DMSO-d_6)



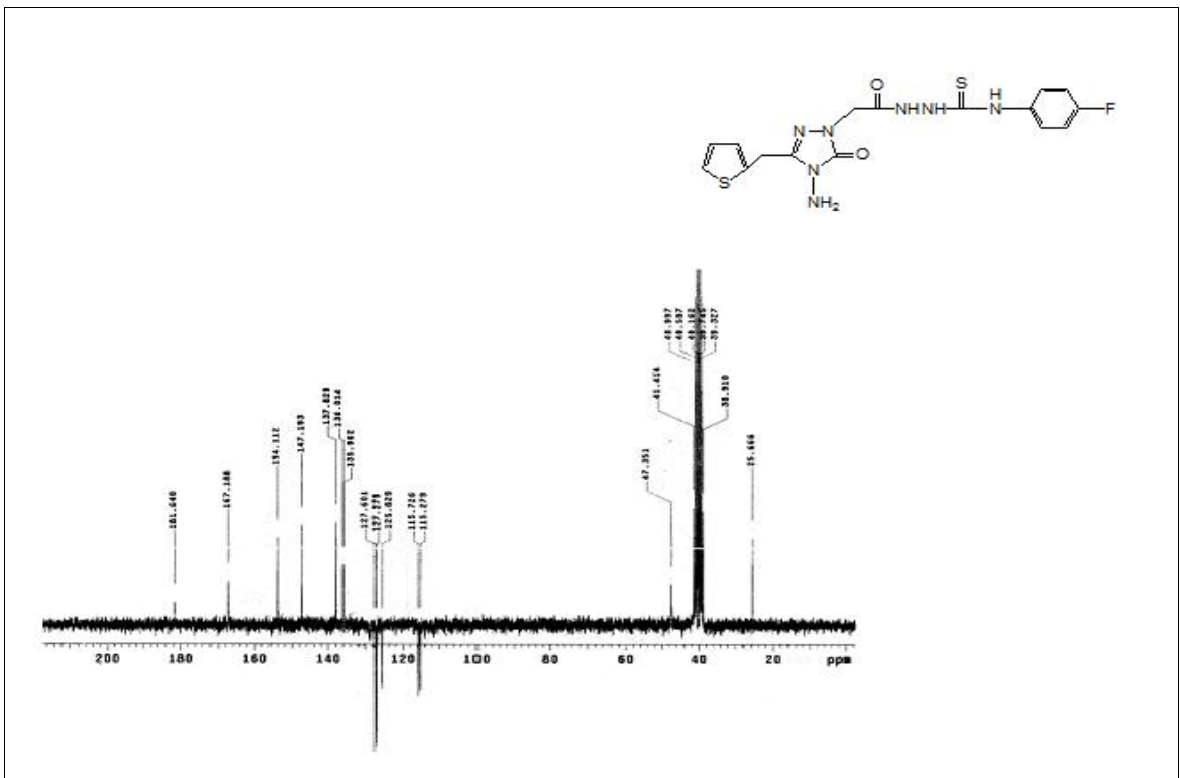
Ek Şekil 17. 21c bileşiğinin IR spektrumu (KBr)



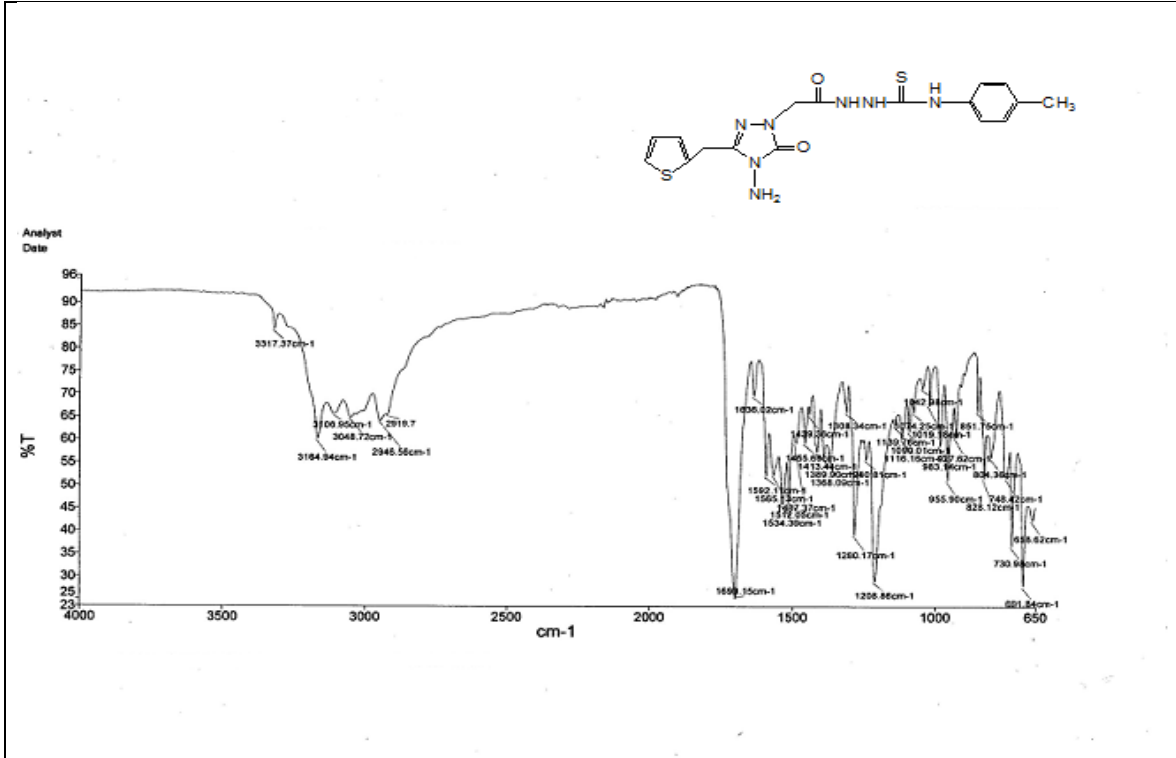
Ek Şekil 18. 21c bileşiğinin MS spektrumu



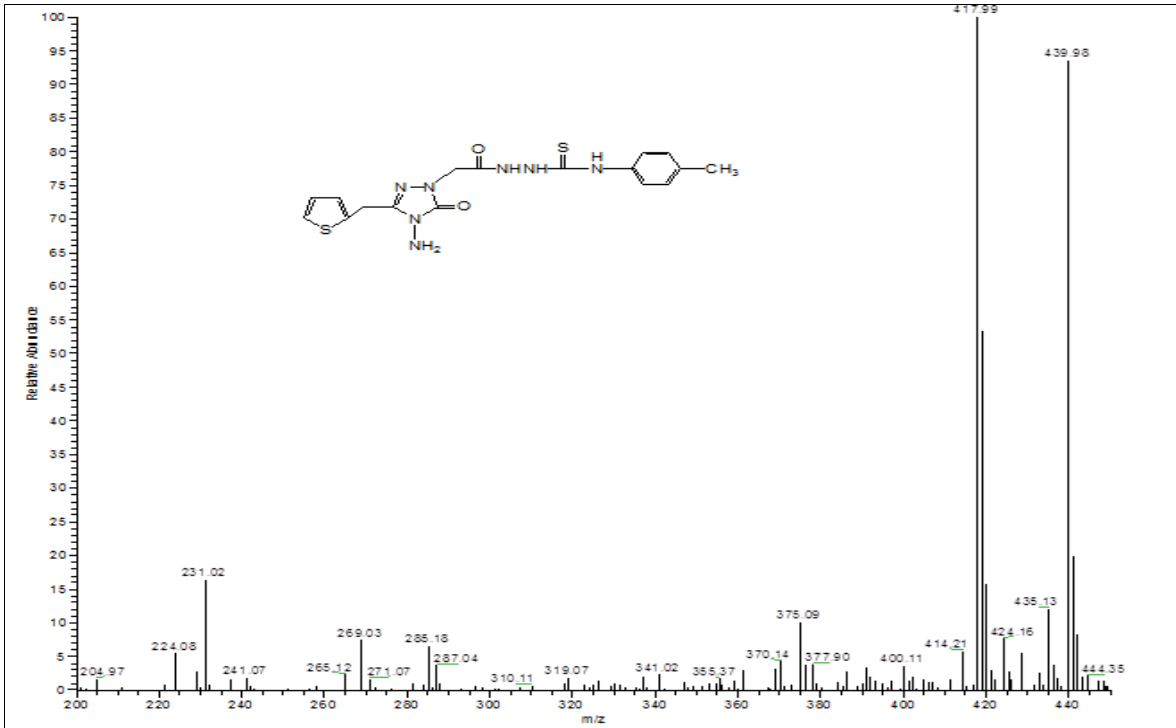
Ek Şekil 19. 21c bileşiğinin 200 MHz $^1\text{H-NMR}$ ve D_2O değişim spektrumu (DMSO-d_6)



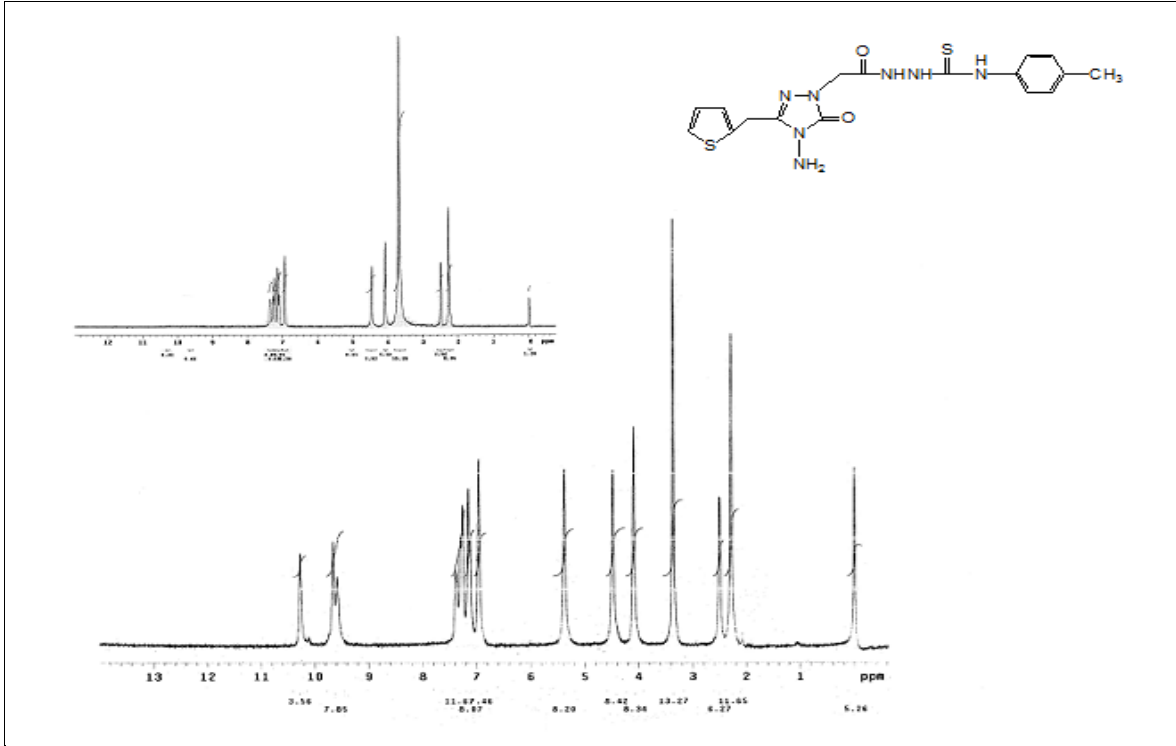
Ek Şekil 20. 21c bileşiğinin 50 MHz $^{13}\text{C-NMR}$ (APT) spektrumu (DMSO-d_6)



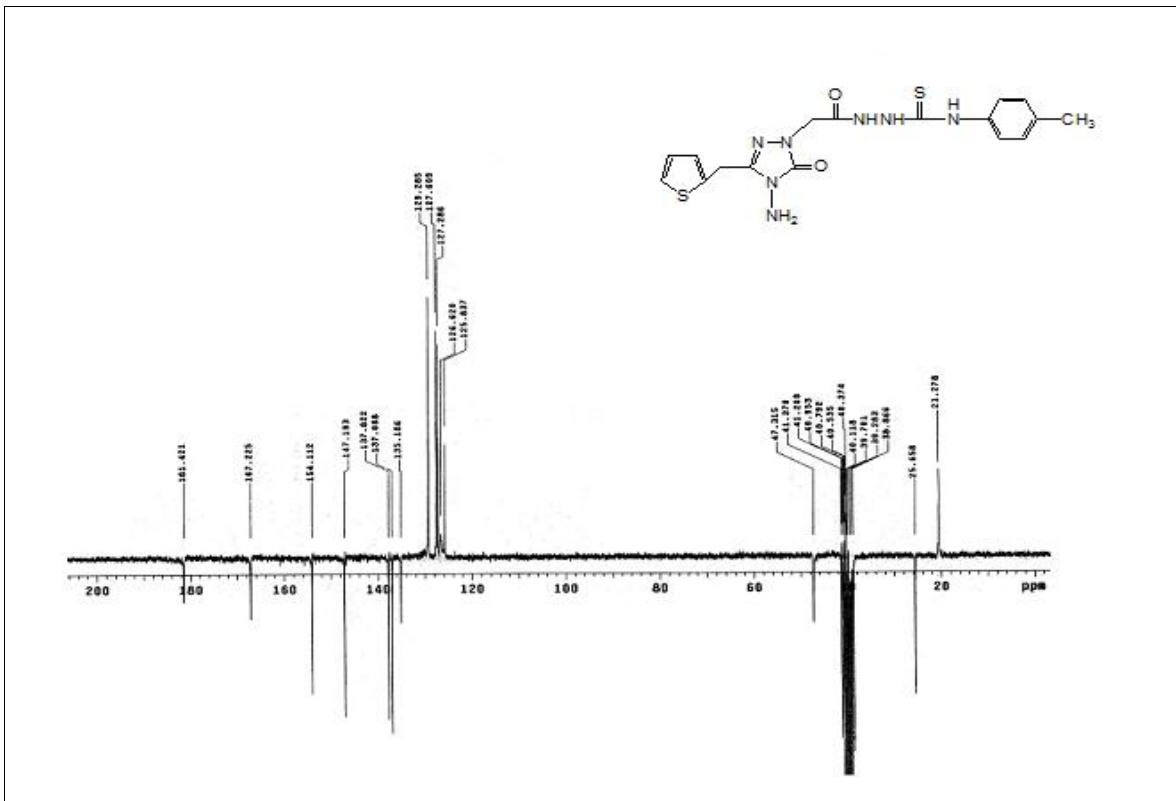
Ek Şekil 21. 21d bileşiğinin IR spektrumu (KBr)



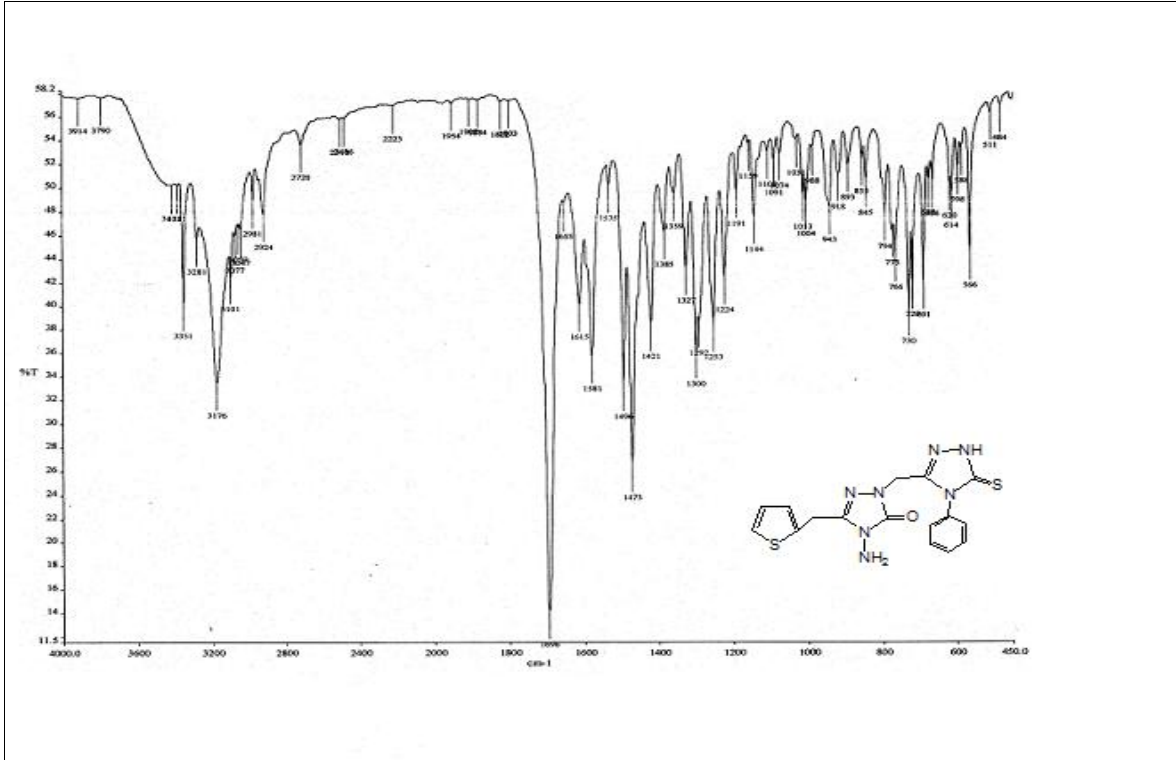
Ek Şekil 22. 21d bileşiğinin MS spektrumu



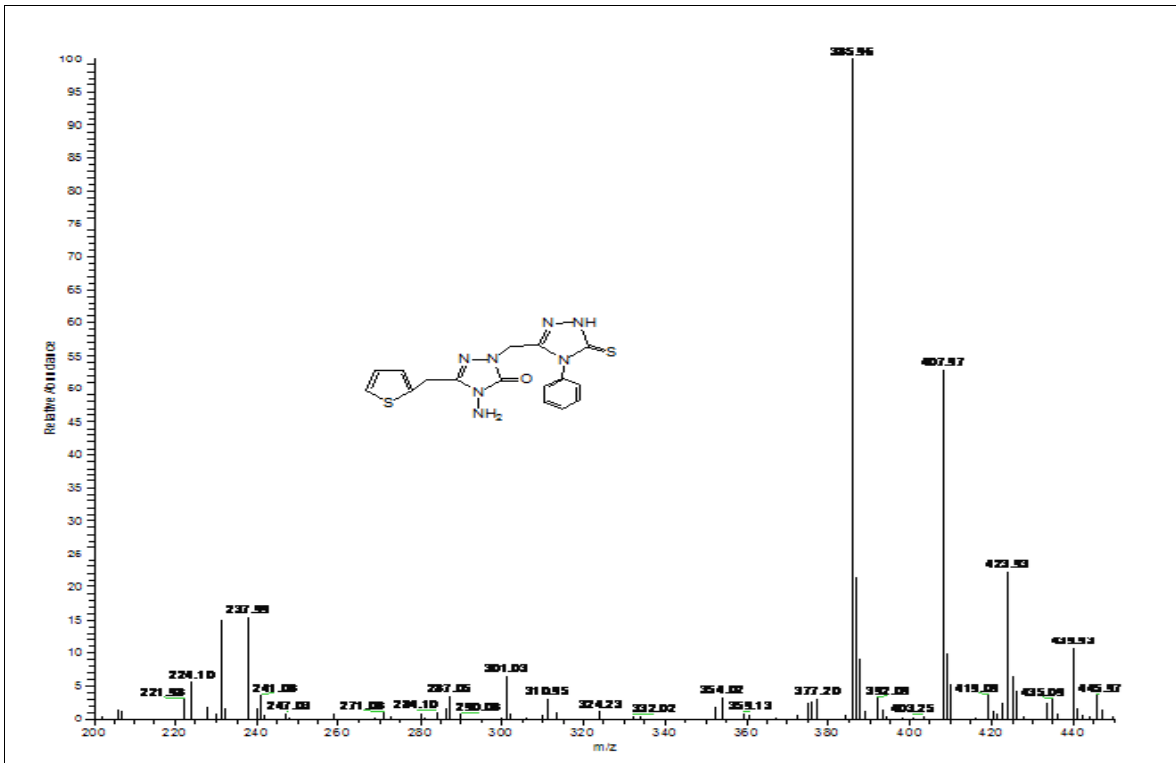
Ek Şekil 23. 21d bileşiğinin 200 MHz ¹H-NMR ve D₂O değişim spektrumu (DMSO_{d6})



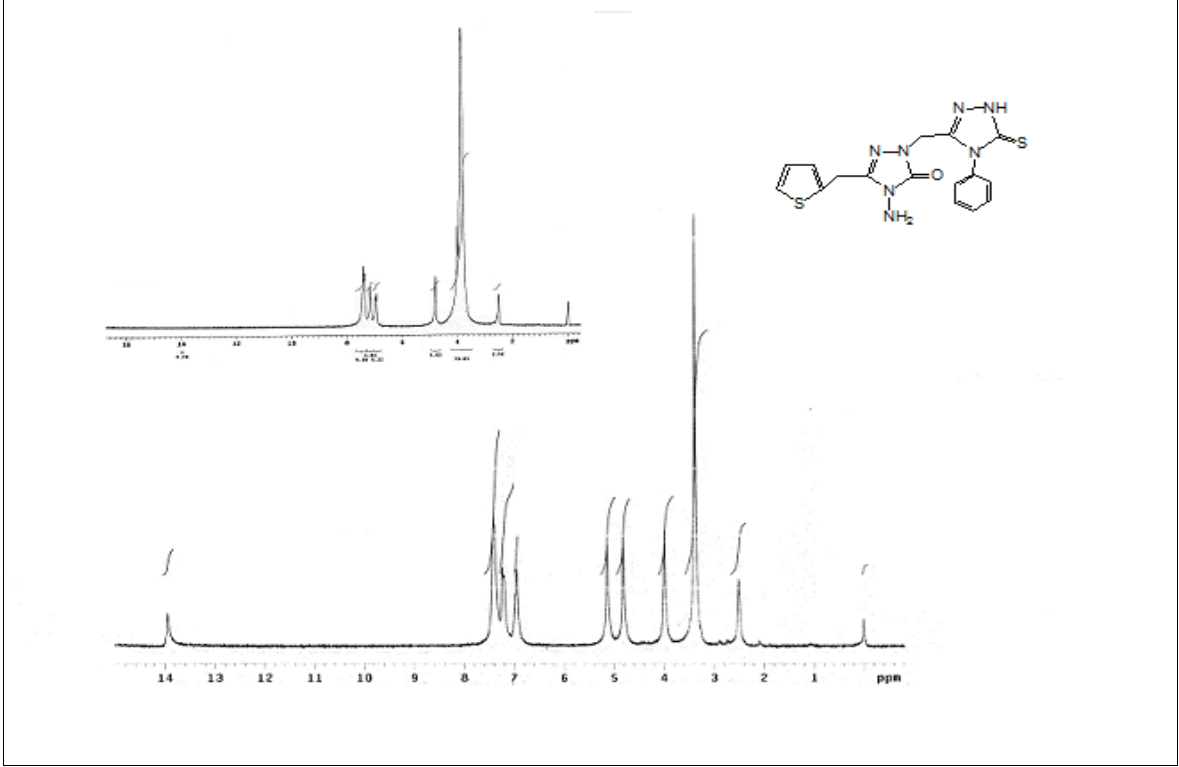
Ek Şekil 24. 21d bileşiğinin 50 MHz ¹³C-NMR (APT) spektrumu (DMSO_{d6})



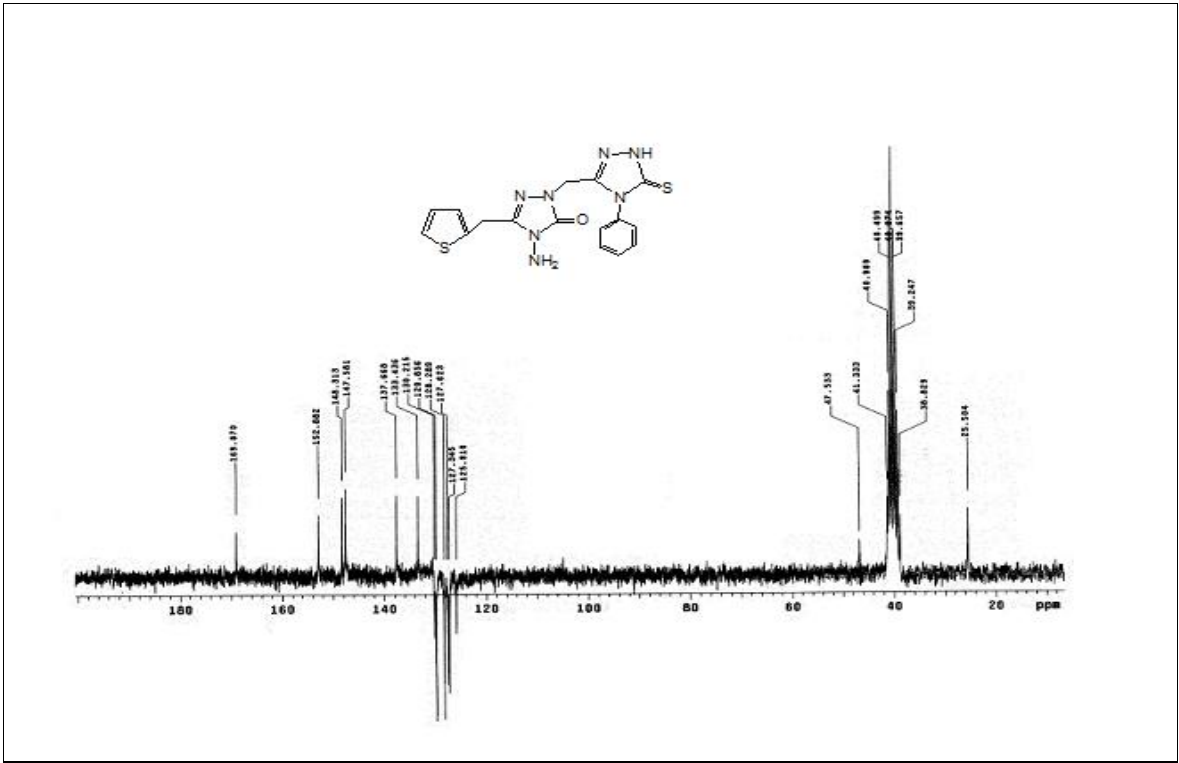
Ek Şekil 25. 22a bileşiğinin IR spektrumu (KBr)



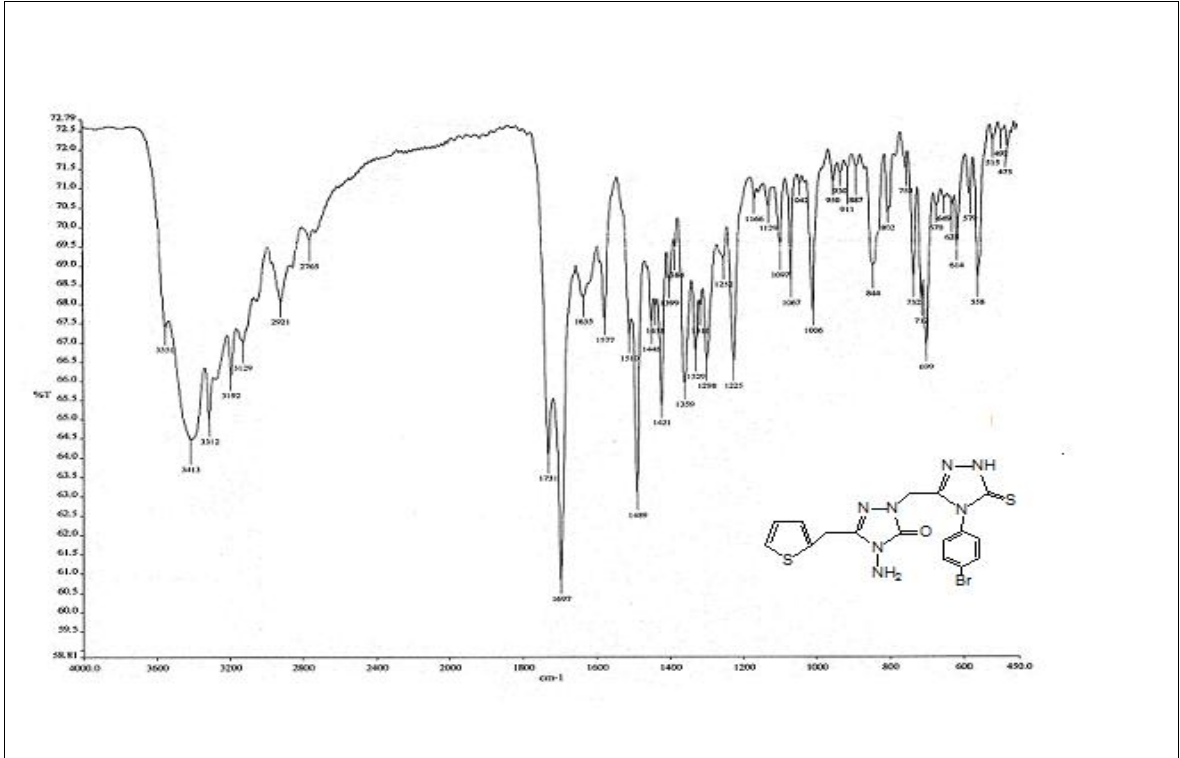
Ek Şekil 26. 22a bileşiğinin MS spektrumu



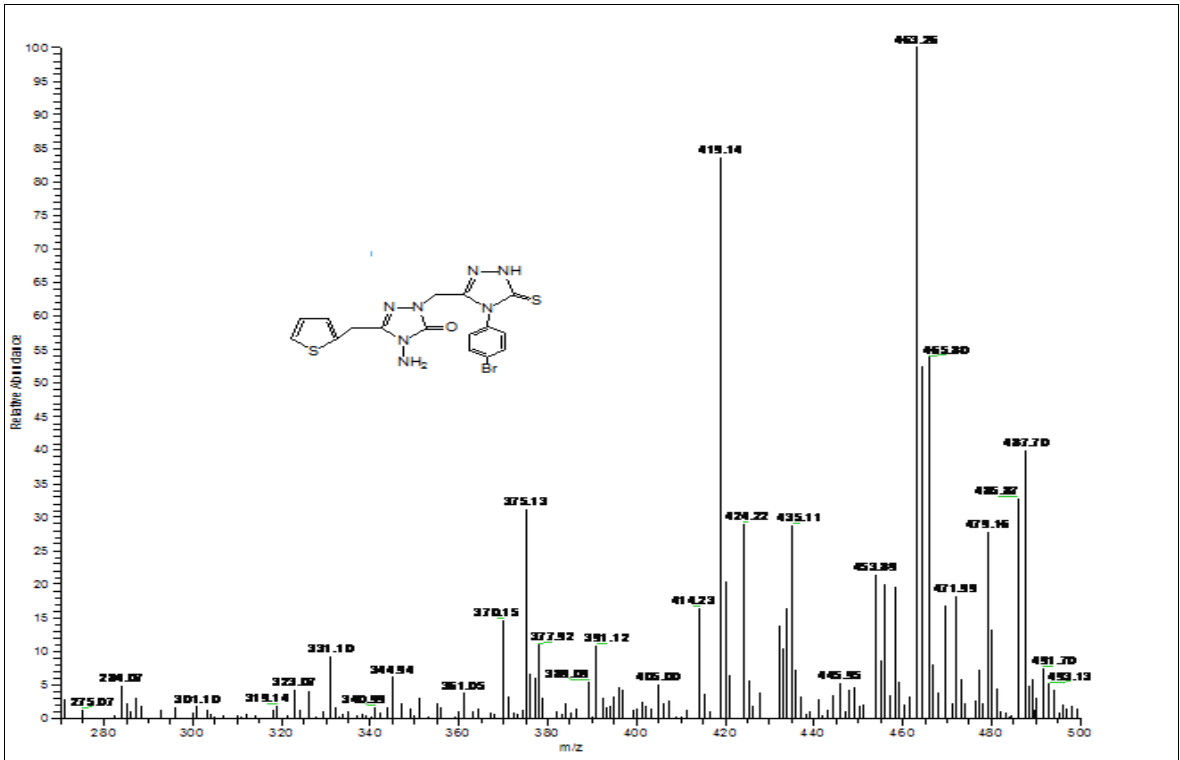
Ek Şekil 27. 22a bileşiğinin 200 MHz $^1\text{H-NMR}$ ve D_2O değişim spektrumu (DMSO-d_6)



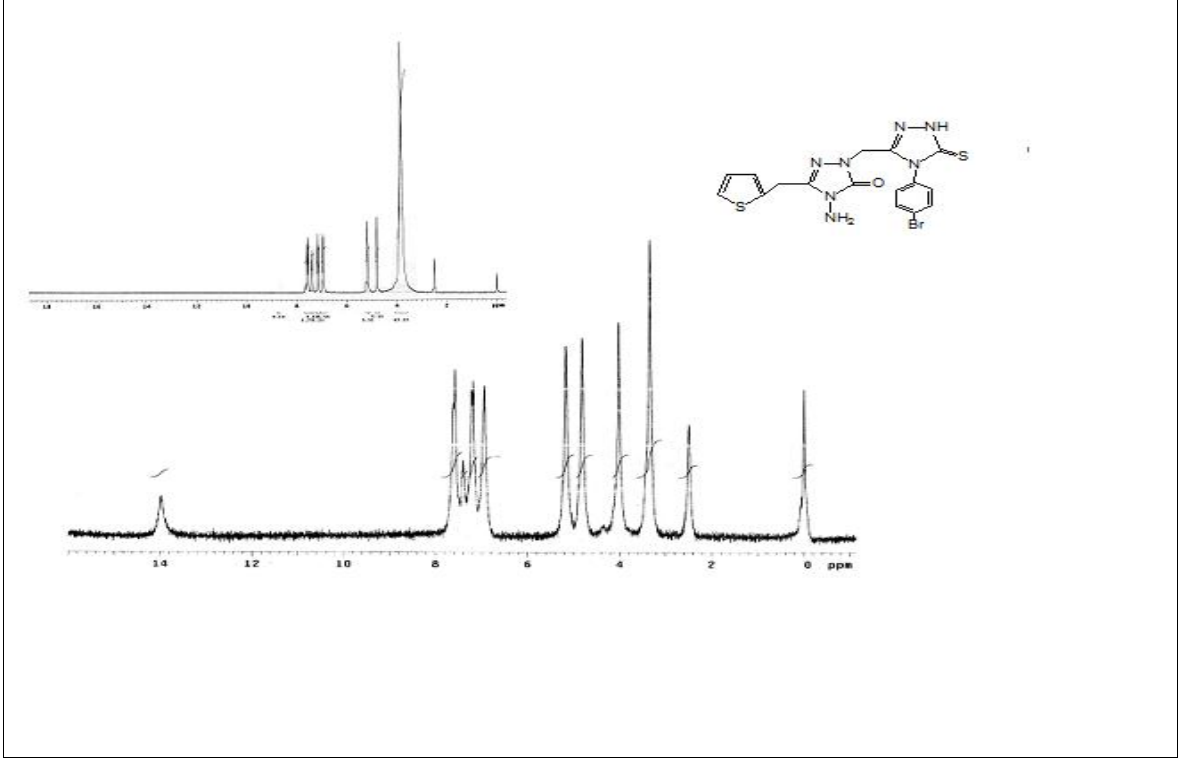
Ek Şekil 28. 22a bileşiğinin 50 MHz $^{13}\text{C-NMR}$ (APT) spektrumu (DMSO-d_6)



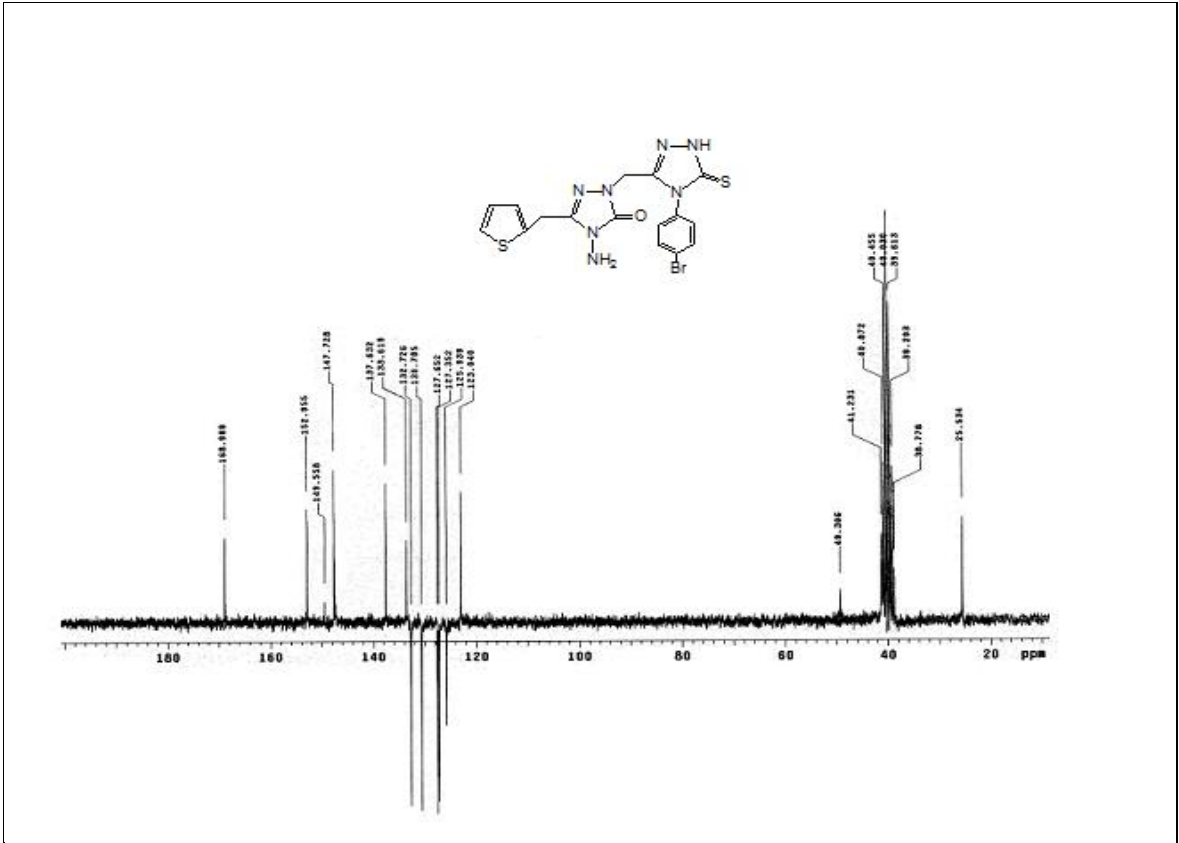
Ek Şekil 29. 22b bileşiğinin IR spektrumu (KBr)



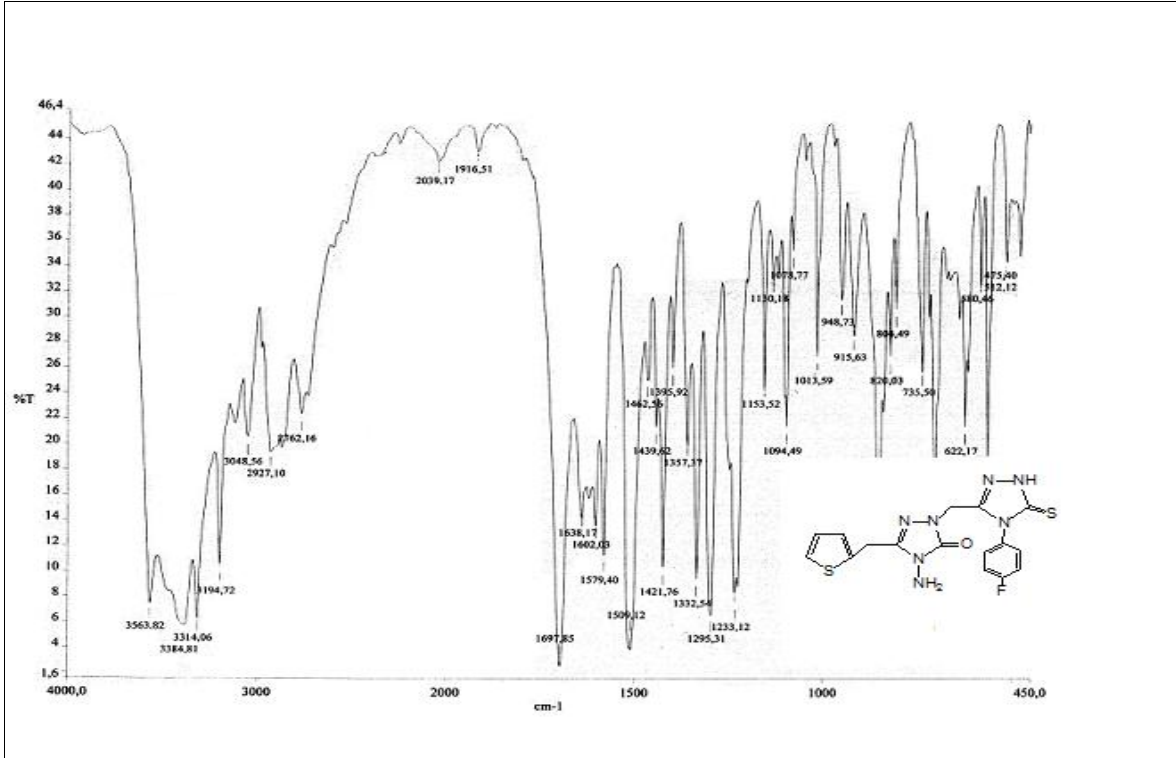
Ek Şekil 30. 22b bileşiğinin MS spektrumu



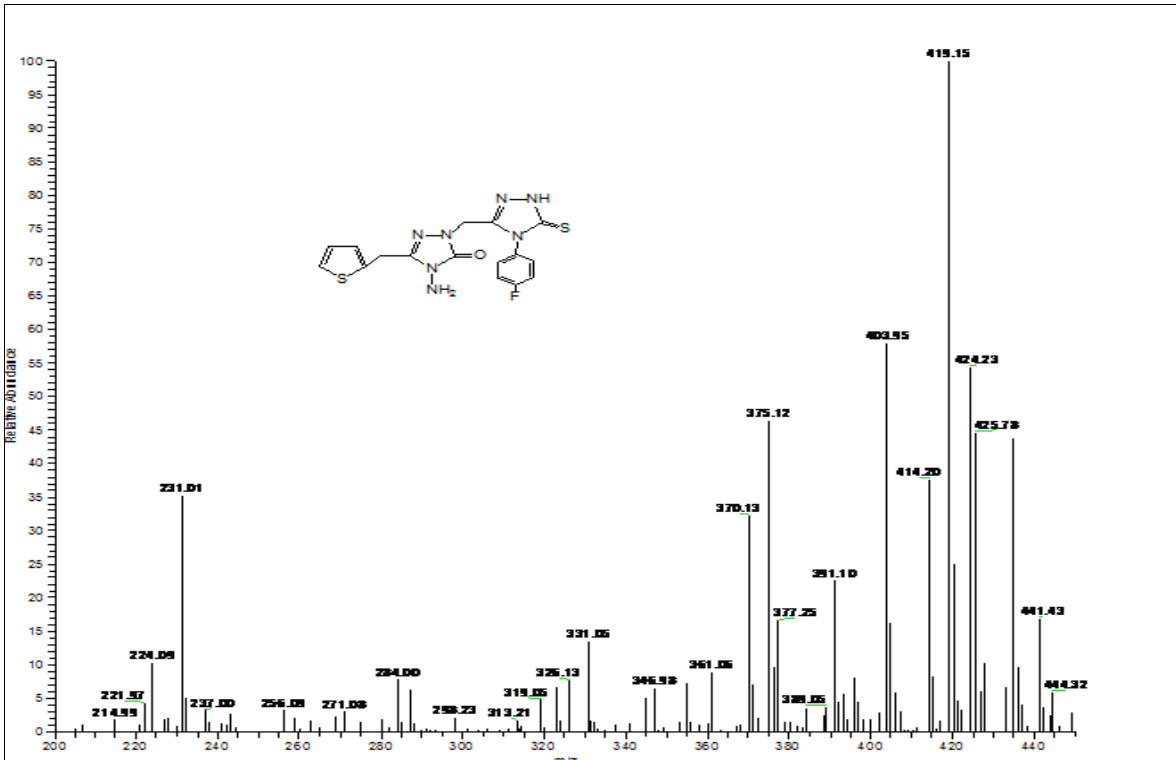
Ek Şekil 31. 22b bileşiğinin 200 MHz D_2O değişimi $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (DMSO-d_6)



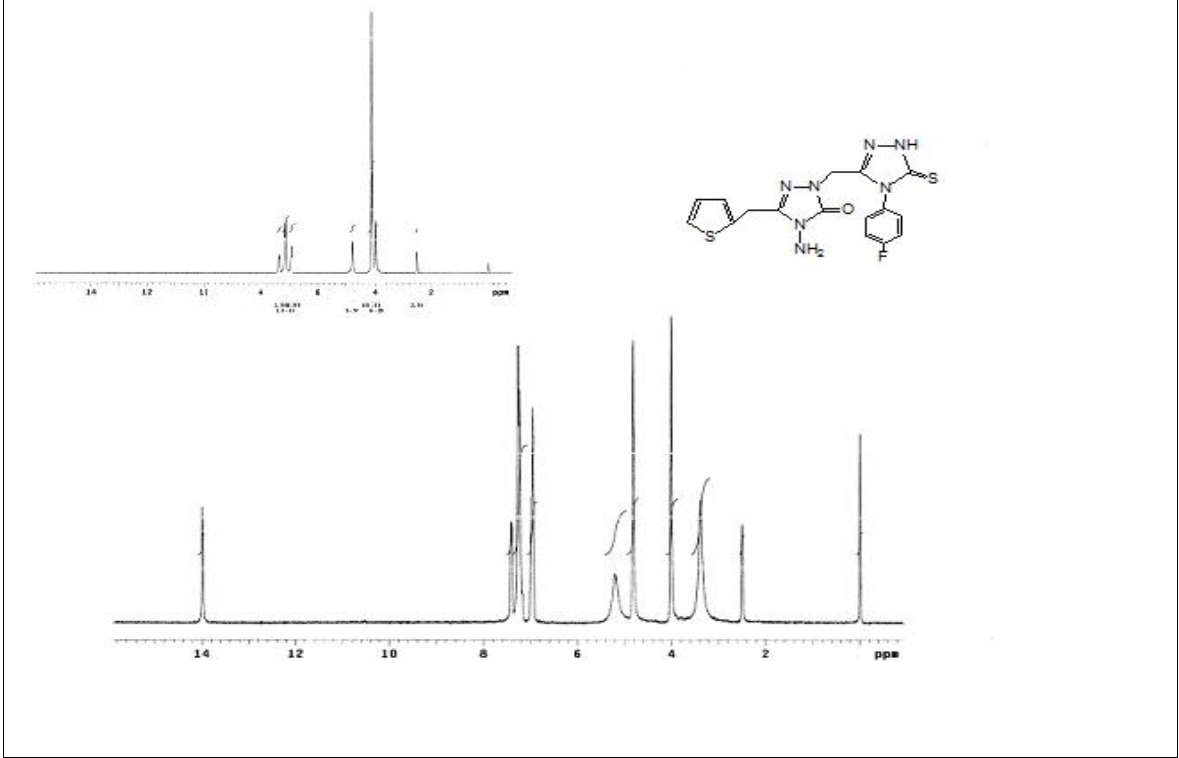
Ek Şekil 32. 22b bileşiğinin 50 MHz $^{13}\text{C-NMR}$ (APT) spektrumu (DMSO-d_6)



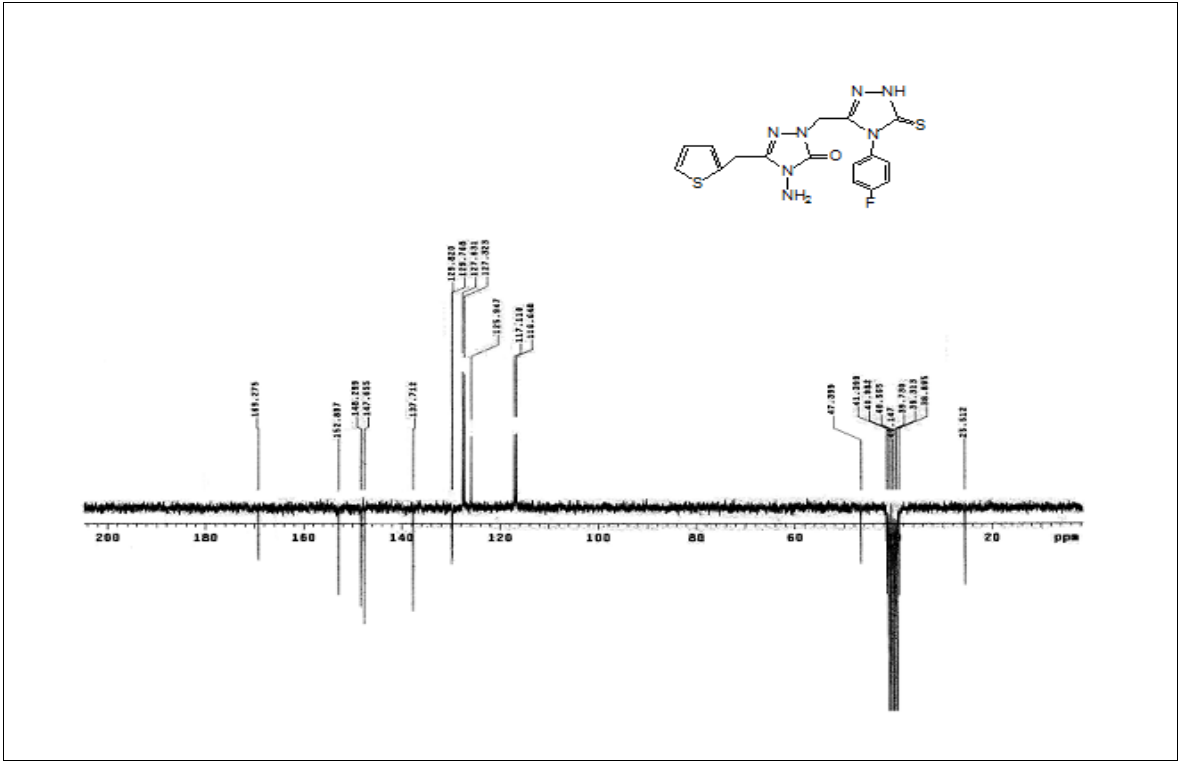
Ek Şekil 33. 22c bileşiğinin IR spektrumu (KBr)



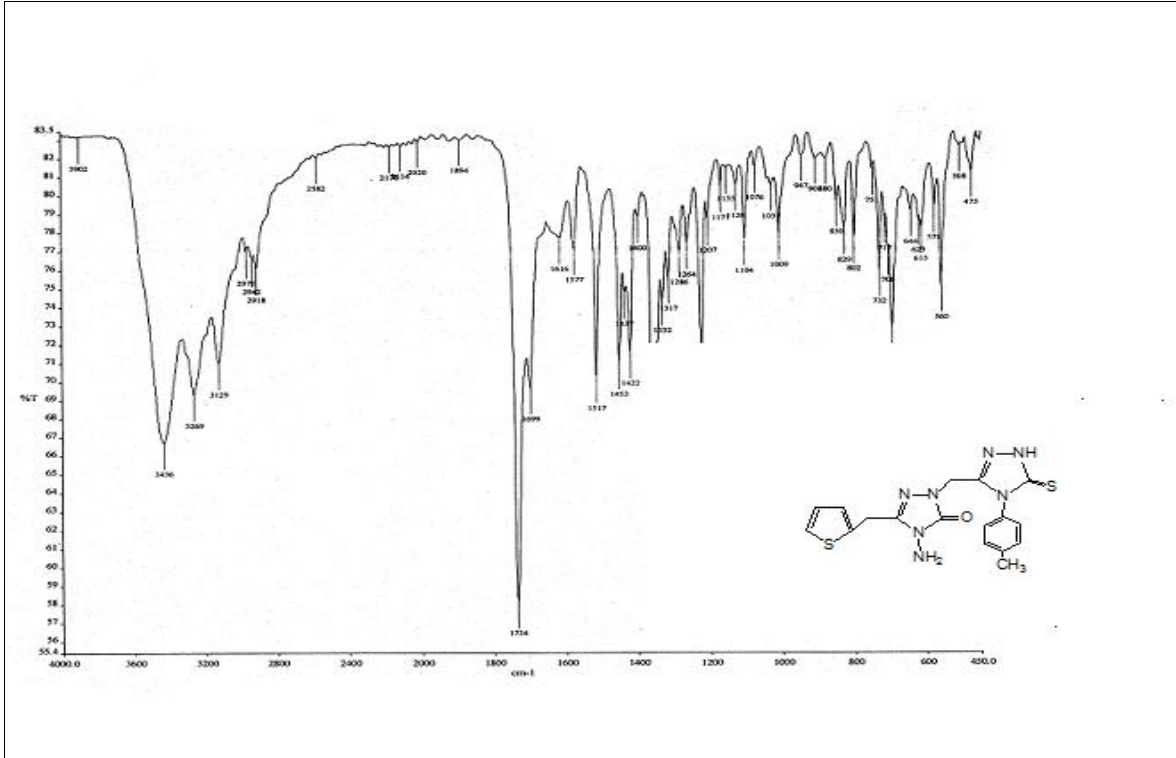
Ek Şekil 34. 22c bileşiğinin MS spektrumu



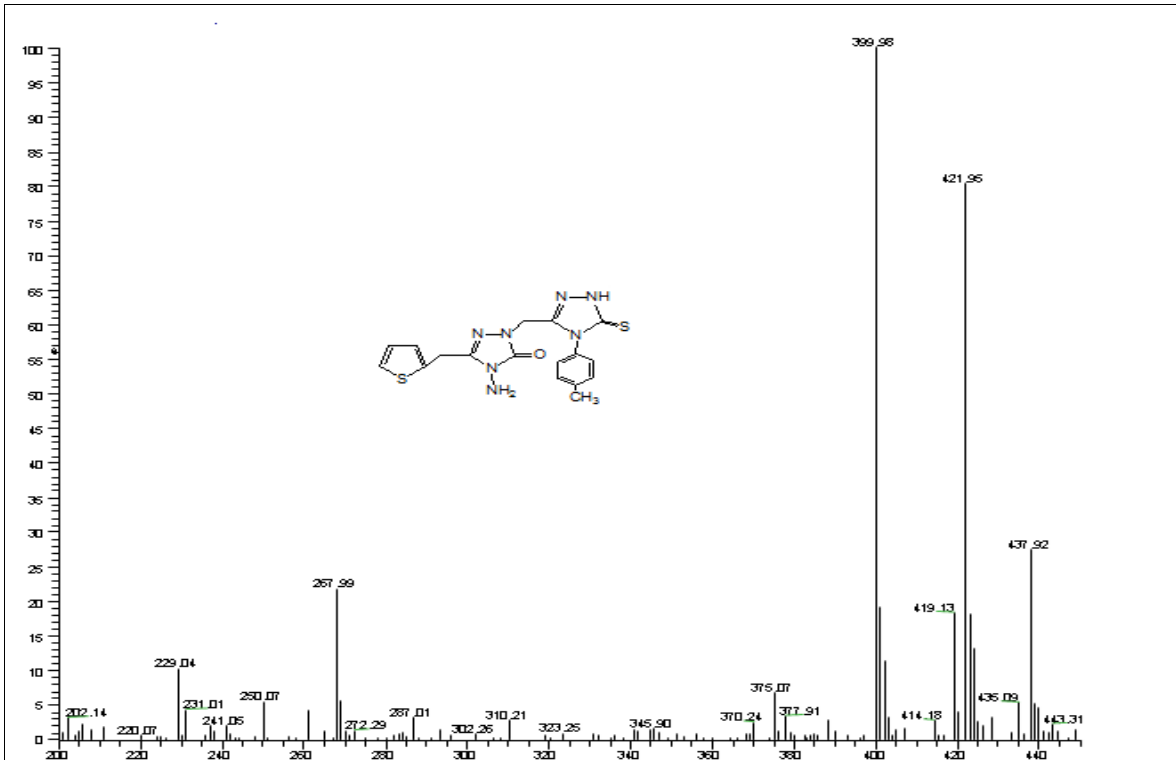
Ek Şekil 35. 22c bileşiğinin 200 MHz ¹H-NMR ve D₂O değişim spektrumu (DMSO_{d6})



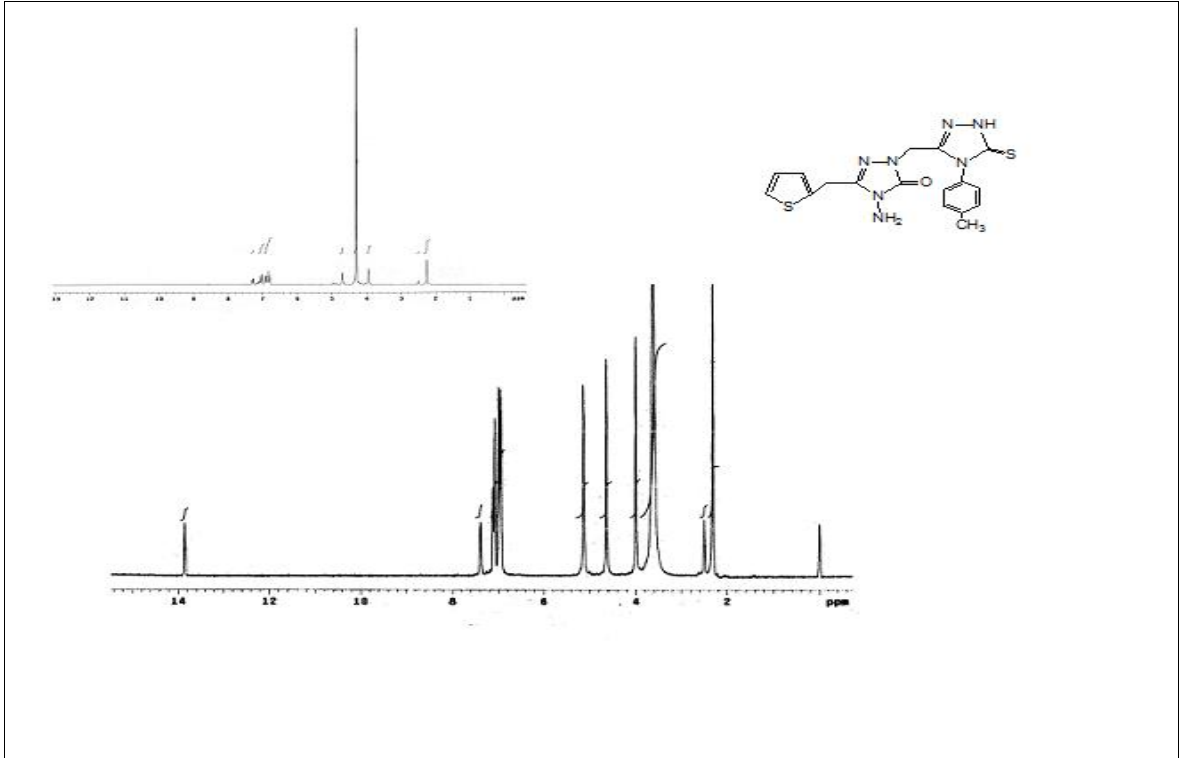
Ek Şekil 36. 22c bileşiğinin 50 MHz ¹³C-NMR (APT) spektrumu (DMSO_{d6})



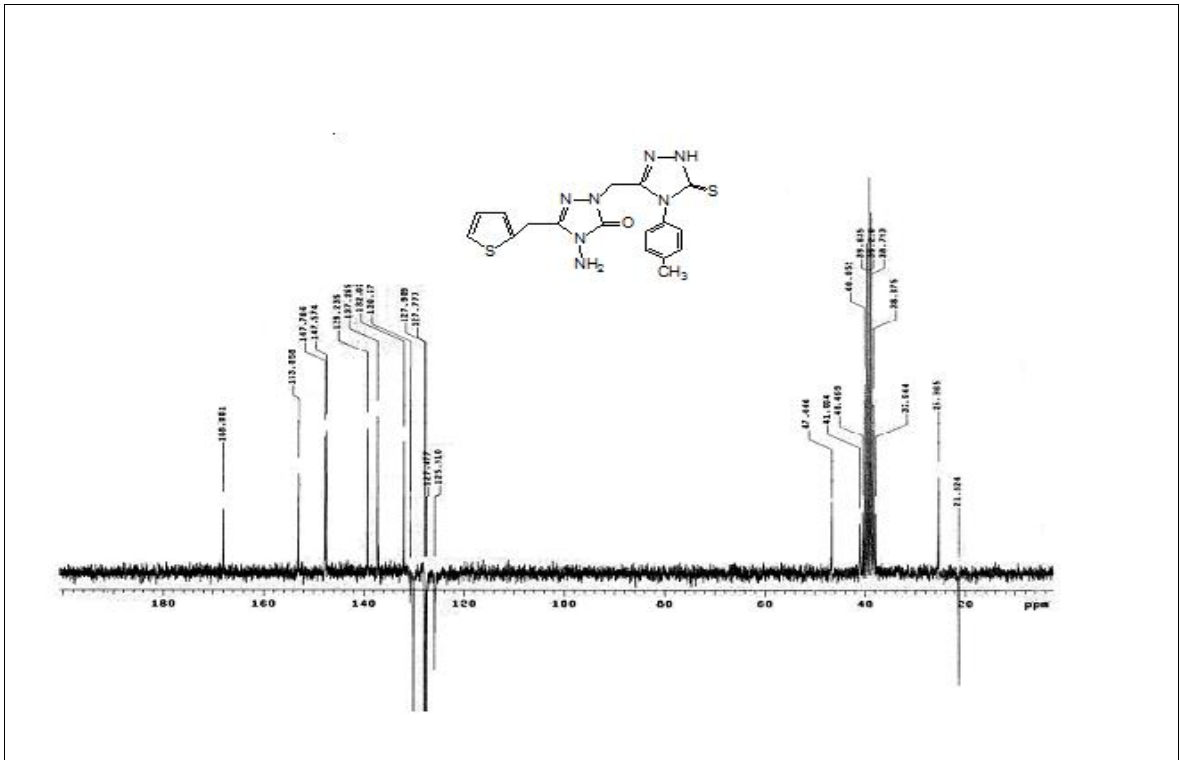
Ek Şekil 37. 22d bileşiğinin IR spektrumu (KBr)

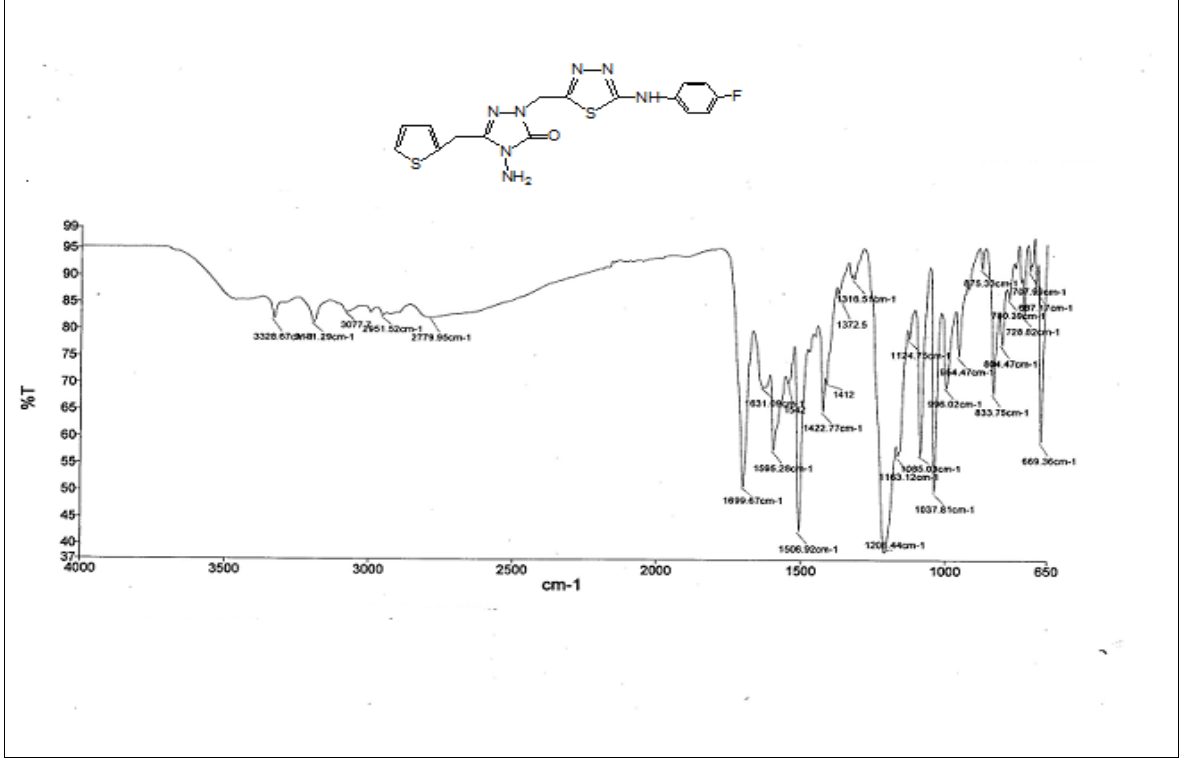


Ek Şekil 38. 22d bileşiğinin MS spektrumu

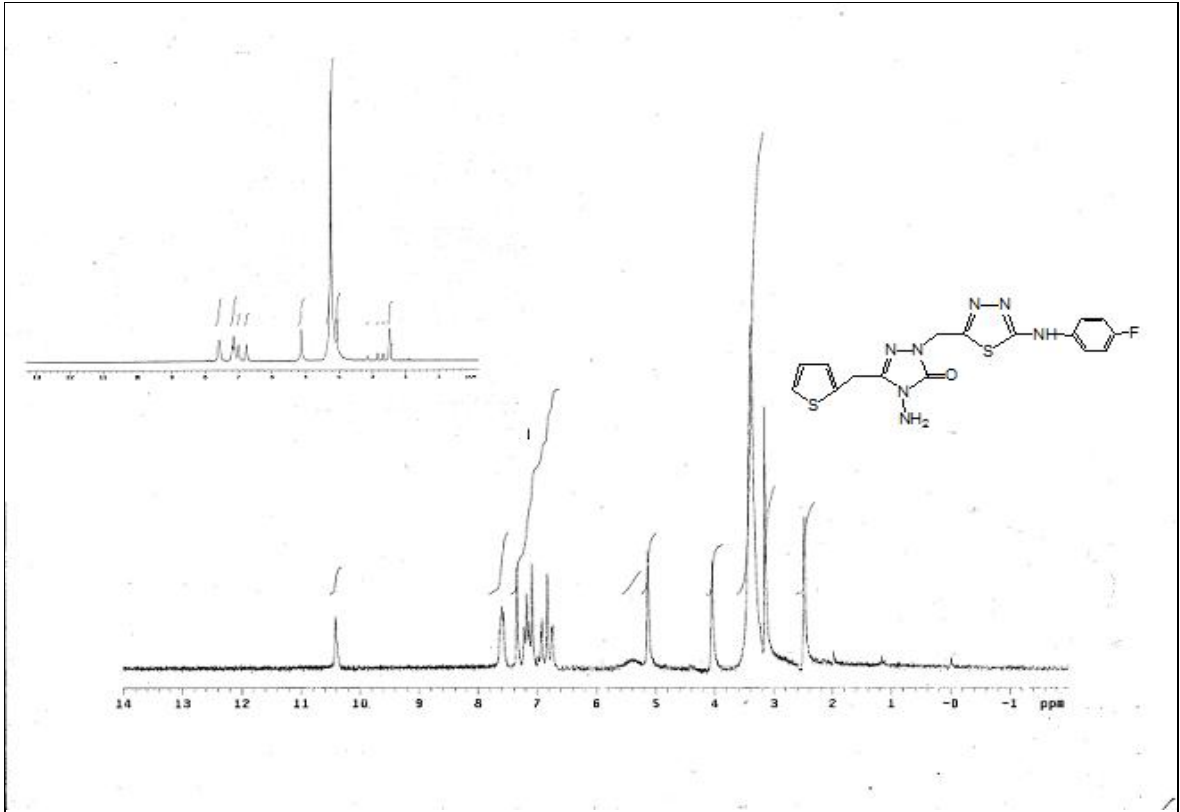


Ek Şekil 39. 22d bileşiğinin 200 MHz D_2O değişimi $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (DMSO-d_6)

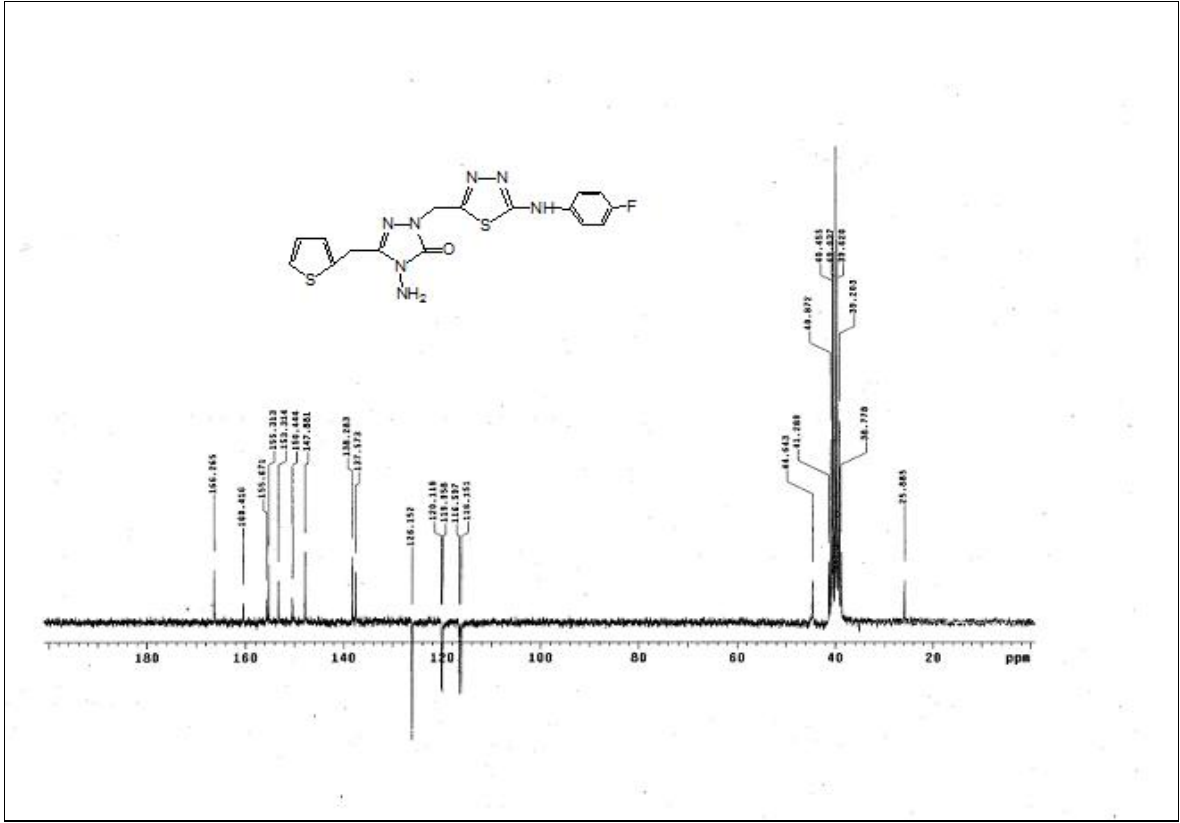




Ek Şekil 41. 23 bileşiğinin IR spektrumu (KBr)



Ek Şekil 42. 23 bileşiğinin 200 MHz ¹H-NMR ve D₂O değişim spektrumu (DMSO-d₆)



Ek Şekil 43. 23 bileşiğinin 50 MHz ^{13}C -NMR (APT) spektrumu (DMSO-d_6)

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Trabzon'un Akçaabat ilçesinde doğdu. İlköğretimini ve liseyi Akçaabat'ta ilgili okullarda tamamladı.2005-2009 yılları arasında K.T.Ü. Fen-Edebiyat Fak. Kimya Bölümü'nde lisans eğitimini tamamladı.2009 yılında K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladı. Orta derecede İngilizce bilmektedir.