



**FENOLİK OKSİJENLERDEN TETRA
FONKSİYONLANDIRILAN
P-TER-BÜTİLKALİKS[4]ARENLERİN
ANTİMİKROBİYAL
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nazmiye ÇAMLI

Danışman

Prof. Dr. Gülderen UYSAL AKKUŞ

KİMYA ANABİLİM DALI

Eylül, 2019

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FENOLİK OKSİJENLERDEN TETRA
FONKSİYONLANDIRILAN *P-TER*-BÜTİLKALİKS[4]
ARENLERİN ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ

Nazmiye ÇAMLI

Danışman

Prof. Dr. Gülderen UYSAL AKKUŞ

KİMYA ANABİLİM DALI

Eylül, 2019

TEZ ONAY SAYFASI

Nazmiye ÇAMLI tarafından hazırlanan “Fenolik Oksijenlerden Tetra Fonksiyonlandırılan *p-ter*-bütikaliks[4]arenlerin Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 02/09/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Kimya Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Gülderen Uysal AKKUŞ

Başkan : Prof. Dr. Gülderen Uysal AKKUŞ
Afyon Kocatepe Üniv., Fen Edebiyat Fak.

İmza



Üye : Doç. Dr. Laçine AKSOY
Afyon Kocatepe Üniv., Fen Edebiyat Fak.



Üye : Doç. Dr. Sevim Feyza ERDOĞMUŞ
Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniv.,
Şuhut Sağlık Hizmetleri M.Y.O.



Afyon Kocatepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun
...../...../..... tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....
Prof. Dr. İbrahim EROL
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım
bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

02 / 09 / 2019



Nazmiye ÇAMLİ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FENOLİK OKSİJENLERDEN TETRA FONKSİYONLANDIRILAN *P-TER*-BÜTİLKALİKS[4]ARENLERİN ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Nazmiye ÇAMLI

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gülderen UYSAL AKKUŞ

Bu çalışma 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütıl-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (1); 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütıl-25,27-bisbenziloksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren (2); 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütıl-25,27-bis(benziloksi)-26,28-diasetoniloksikaliks[4]aren (3); 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütıl-25,27-bis(benziloksi)-26,28-karbonilmetoksikaliks[4]aren (4); 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütıl-25,27-bis-(4-nitrobenziloksi)-26,28-dibenziloksikaliks[4]aren (5); 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütıl-25,27-bis-(4-aminobenziloksi)-26,28-dibenziloksikaliks[4]aren (6) bileşiklerinin sentezlenmesi ve bu bileşiklerin biyolojik aktivite çalışmalarını içermektedir.

Sentez çalışmalarında, literatürde belirtilen metotlara göre başlangıç maddesi olarak kullanılan 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütıl-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (1) bileşiğı sentezlendi.

Sonrasında yine literatürde belirtilen metotlara göre sırasıyla 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütıl-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (1); 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütıl-25,27-bisbenziloksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren (2); 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütıl-25,27-bis(benziloksi)-26,28-diasetoniloksikaliks[4]aren (3); 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütıl-25,27-bis(benziloksi)-26,28-karbonil metoksi kaliks[4]aren (4); 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütıl-25,

27-bis-(4-nitrobenziloksi)-26,28-dibenziloksikaliks[4]aren **(5)**; 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütıl-25,27-bis-(4-aminobenziloksi)-26,28-dibenziloksi kaliks[4]aren **(6)** sentezlendi.

Sentezlenen bileşiklerin **(1,2,3,4,5,6)** antimikrobiyal aktivitelerini incelemek için *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Bacillus subtilis*, *Candida glabrata* test mikroorganizmaları olarak kullanıldı. İnceleme sonucunda en fazla antimikrobiyal etki **3, 4 ve 5'** te *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Candida glabra'* ya karşı gözlemlenmiştir.

2019, xii + 54 sayfa

Anahtar Kelimeler: Kaliksaren, biyolojik aktivite, antimikrobiyal etki

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF P-TER-BUTYL CALIX[4]ARENES TETRA-FUNCTIONALIZED FROM PHENOLIC OXYGEN GROUPS

Nazmiye ÇAMLI

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Science

Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Gülderen Uysal AKKUŞ

This work involves the synthesis of 5,11,17,23-tetra-*ter*-butyl-25,26,27,28-tetrahydroxy calix[4]arene **(1)**; 5,11,17,23-tetra-*ter*-butyl-25,27-bis(benzyloxy)-26,28-dihydroxy calix[4]arene **(2)**; 5,11,17,23-tetra-*ter*-butyl-25,27-bis(benzyloxy)-26,28-diacetonyloxy calix[4]arene **(3)**; 5,11,17,23-tetra-*ter*-butyl-25,27-bis(benzyloxy)-26,28-carbonyl methoxy calix[4]arene **(4)**; 5,11,17,23-tetra-*ter*-butyl-25,27-bis-(4-nitrobenzyloxy)-26,28-dibenzyloxy calix[4]arene **(5)**; 5,11,17,23-tetra-*ter*-butyl-25,27-bis-(4-aminobenzyloxy)-26,28-dibenzyloxy calix[4]arene **(6)** compounds and the biological activity of these compounds.

In the synthesis studies, the starting compound 5,11,17,23-tetra-*ter*-butyl calix[4]arene **1** was synthesized according to methods described in the literature.

Then, 5,11,17,23-tetra-*ter*-butyl-25,26,27,28-tetrahydroxycalix[4]arene **(1)**; 5,11,17,23-tetra-*ter*-butyl-25,27-bisbenzyloxy-26,28-dihydroxycalix[4]arene **(2)**; 5,11,17,23-tetra-*ter*-butyl-25,27-bis(benzyloxy)-26,28-diacetonyloxycalix[4]arene **(3)**; 5,11,17,23-tetra-*ter*-butyl-25,27-bis(benzyloxy)-26,28-carbonylmethoxy calix[4]arene **(4)**; 5,11,17,23-tetra-*ter*-butyl-25, 27-bis-(4-nitrobenzyloxy)-26,28-dibenzyloxycalix[4]arene **(5)**; 5,11,17,23-tetra-*ter*-butyl-25,27-bis-(4-

aminobenzyloxy)-26,28-dibenzyloxy-calix[4]arene **(6)** were synthesized respectively, according to the methods described in the literature.

Staphylococcus aureus ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Bacillus subtilis* and *Candida glabrata* were used as test microorganisms to investigate the antimicrobial activities of the synthesized compounds **(1,2,3,4,5,6)**. At the end of the study, the most antimicrobial effect was observed against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 35218 and *Candida glabrata* for **3, 4** and **5** compounds.

2019, xii + 54 pages

Keywords: Calixarene, biological activity, antimicrobial effect

TEŞEKKÜR

Yapılan bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne yüksek lisans tezi olarak sunulmuş olup Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Gülderen UYSAL AKKUŞ yönetiminde hazırlanmıştır.

Başta şahsıma ait olan bu yüksek lisans çalışmasının belirlenmesi, planlanarak düzenlenmesi ve uygulanması sırasında tüm içtenliğiyle yol gösteren, her zaman yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, değerli tecrübelerinden ve hoşgörülerinden faydalandığım, Sayın Hocam Prof. Dr. Gülderen UYSAL AKKUŞ' a,

Mikrobiyal çalışmaların gerçekleşmesinde yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Uşak Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri MYO öğretim üyesi Sayın Hocam Prof. Dr. S. Elif KORCAN' a,

Ayrıca yüksek lisans süresi boyunca şahsıma laboratuvar imkânı sunan başta Kimya bölüm başkanı Sayın Prof. Dr. İbrahim EROL olmak üzere tüm kimya bölümü öğretim elemanlarına,

Hayatımın her döneminde yanımda olan, beni destekleyen ve her kararına saygılı olan sevgili canım ailemin tüm fertlerine sonsuz saygılarımı, sevgilerimi ve şükranlarımı sunar, çok teşekkür ederim.

Nazmiye ÇAMLI

AFYONKARAHİSAR, 2019

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	İ
ABSTRACT	İİİ
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	Vİİİ
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
ÇİZELGELER DİZİNİ	Xİ
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ	3
2.1 Kaliksarenler	3
2.2 Kaliksarenler Nasıl Adlandırılır?	5
2.3 Kaliksarenlerin Sentezi	6
2.3.1 Tek Basamaklı Sentezleme	6
2.4 Kaliksarenlerin Oluşumu- Reaksiyon Basamakları	8
2.5 Kaliksarenlerin Fonksiyonlandırılması	11
2.5.1 Kaliksarenlerin para-pozisyonundan fonksiyonlandırılması	12
2.5.2 Kaliksarenlerin Fenolik-O üzerinden Fonksiyonlandırılması	13
2.6 Kaliksarenlerin Konformasyonu	15
2.7 Kaliksarenlerin Fiziksel Özellikleri	17
2.7.1 Erime Noktası	17
2.7.2 Çözünürlük	17
2.7.3 pKa Değerleri	18
2.8 Patojenik Bakteriler	19
2.8.1 Çalışmalarda Kullanılan Bazı Bakteriler	19
2.8.2 Mantarlar	22
2.9 Antimikrobiyal Etki ve Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri	23
2.9.1 Disk Difüzyon Testi	23
3. MATERYAL VE METOD	24
3.1 Materyal	24
3.1.1 Enstrümental Teknikler	24

3.2 Metod.....	24
3.2.1 5,11,17,23-tetra- <i>ter</i> -bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (1)	24
3.2.2 5,11,17,23-tetra- <i>ter</i> -bütil-25,27-bis(benziloksi)-26,28- dihidroksikaliks[4]aren (2)	25
3.2.3 5,11,17,23-tetra- <i>ter</i> -bütil-25,27-bis(benziloksi)-26,28- diasetoniloksikaliks[4]aren (3)	26
3.2.4 5,11,17,23-tetra- <i>ter</i> -bütil-25,27-bis(benziloksi)-26,28- karbonilmetoksikaliks[4]aren (4).....	27
3.2.5 5,11,17,23-tetra- <i>ter</i> -bütil-25,27-bis-(4-nitrobenziloksi)-26,28- dibenziloksikaliks[4]aren (5)	28
3.2.6 5,11,17,23- <i>ter</i> -bütil-25,27-bis-(4-aminobenziloksi)-26,28- dibenziloksikaliks[4]aren (6)	28
3.3 Sentezlenen Bileşiklerin Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi	29
4. BULGULAR	31
4.1. Kaliksaren Bazlı İyonoforların Sentezi	31
4.2 Antibakterial ve Antifungal Özelliklerin İncelenmesi.....	32
4.3 Disk difüzyon yöntemi	33
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	34
5.1 Sentez Çalışmaları	34
5.2 Antimikrobiyal Çalışmalar	35
6. KAYNAKLAR.....	39
ÖZGEÇMİŞ.....	44
EKLER	45

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

l	Litre
m	Metre
mm	Milimetre
g	Gram
mg	Miligram
mmol	Milimol
n	mol
µm	Mikrometre
M	Molarite
ppm	Milyonda Bir Birim
a.k.b	Atomik Kütle Birimi
Å	Angstrom
cm ⁻¹	Santimetrenin Onda Bir Birimi
~	Yaklaşık Değer Birim
%	Yüzde Değer Birimi
α	Alfa
β	Beta
(+)	Pozitif
(-)	Negatif
[n]	Fenolik Birimlerin Adedi
>	Büyüktür

Kısaltmalar

mmHg	Milimetre Civa
THF	Tetrahidrofuran
DMF	Dimetilformamid
Ar	Aromatik
PhOH	Fenol
<i>p</i> -	<i>Para</i>
<i>o</i> -	<i>Orto</i>
<i>ter</i> -	<i>Tersiyer</i>
<i>p-ter</i> -Bu	Para-Tersiyer-Bütil
dak.	Dakika
vb.	Ve Benzeri
vd.	Ve Diğerleri
IUPAC	Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
NCCLS	National Commite of Clinical Laboratory Standards
ATP	Adenozin Trifosfat
OH	Hidroksil
H ₂ O	Su
CHCl ₃	Kloroform
NaOH	Sodyum Hidroksit
HCHO	Formaldehit
LiOH	Lityum Hidroksit

K ₂ CO ₃	Potasyum Karbonat
Na ₂ CO ₃	Sodyum Karbonat
KOH	Potasyum Hidroksit
NaH	Sodyum Hidrür
PVC	Polivinil Klorür
HPNP	Hidroksipropil Nitrofenilfosfat
C	Karbon
O	Oksijen
Fe	Demir
Na	Sodyum
K	Potasyum
P	Fosfor
Mg	Magnezyum
Ca	Kalsiyum
Ag	Gümüş

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1 Supramoleküllerin Yapısı (Girgin 2015).....	3
Şekil 2.2 Kaliks[n]arenlerin Yapısı (Girgin 2015).....	4
Şekil 2.3 Kaliks[n]arenlerin yapısı	4
Şekil 2.4 p-ter-bütikaliks[4]arenin farklı gösterimleri (Girgin 2015)	5
Şekil 2.5 Kaliks[4]arenin numaralandırılması	5
Şekil 2.6 p-ter-bütikaliks[4]aren ve kaliks[4]aren eldesi	7
Şekil 2.7 p-ter-bütikaliks[4]aren sentezi	8
Şekil 2.8 Hidroksimetil fenolün meydana gelmesi	9
Şekil 2.9 Lineer Oligomer oluşumu	9
Şekil 2.10 Dibenzileter oluşumu	10
Şekil 2.11 Ara ürün karışımları	10
Şekil 2.12 Moleküler Bölünme (Kaliks[8]arenin, Kaliks[4]arene Dönüşümü)	11
Şekil 2.13 Kaliks[4]arenin p-konumu ve fenolik-OH bölgesi gösterimi (Girgin 2015)	12
Şekil 2.14 p-ter-bütikaliks[n]arenlerden ter-bütıl grubunun uzaklaştırılması.....	12
Şekil 2.15 Kaliksarenin p-pozisyonundan fonksiyonlandırılması (Girgin 2015)	13
Şekil 2.16 Kaliksarenlerin eter türevleri	14
Şekil 2.17 Kaliksarenlerin fenolik-O üzerinden fonksiyonlandırılması (Girgin 2015)	14
Şekil 2.18 p-ter-bütikaliks[4]arenin konformasyonları ve ¹ H-NMR spektrumları.....	15
Şekil 2.19 Kaliksarenlerin aminlerle kompleksleri	16
Şekil 2.20 Suda Çözünen Kaliksarenler	18
Şekil 2.21 Kaliks[4]aren’ de molekül içi hidrojen bağı oluşumu	18
Şekil 2.22 Staphylococcus aureus Bakterisi.....	20
Şekil 2.23 Pseudomonas aeruginosa Bakterisi	20
Şekil 2.24 Escherichia coli Bakterisi.....	21
Şekil 2.25 Bacillus subtilis Bakterisi.....	21
Şekil 2.26 Candida glabrata’ nın mikroskopik morfolojisi	22
Şekil 3.1 5,11,17,23-tetra-ter-bütıl-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (1)	25
Şekil 4.1 p-ter-bütikaliks[4]aren	31

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1 Alkali Metal Hidroksitleri ve Kaliksaren Verimi Üzerine Etkileri.....	8
Çizelge 4.1 Disk difüzyon yöntemi sonucunda oluşan inhibisyon zon çapları (mm)	36



1. GİRİŞ

Gelişen ve sürekli bir değişim içerisinde olan ekosistemimiz beraberinde birçok hastalığa karşı dirençli, kolayca çoğalabilen ve önlenmesi güç mikroorganizmaların oluşumuna neden olmaktadır. Bu yüzden birçok ilaca karşı direnç gösteren mikroorganizmaların ortaya çıkması, antibiyotik direnci ve antimikotik direnci gibi mevcut antimikrobiyal ajanların etkili olamadığı, bu etkiye zıt yönde tepki gösteren dirençlerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu nedenle bilim insanları yeni etki mekanizmalarına sahip ve mikroorganizmalar üzerinde etkili, yeni antimikrobiyal ajanlar geliştirmek için yoğun çaba sarf etmektedirler.

Buradan yola çıkarak son yıllarda yapılan çalışmalarda biyolojik sistemlere karşı aktivite gösteren halkalı fenolik bileşiklerin tespit edilmesiyle kaliksarenlerin, antimikrobiyal özellikleri araştırılmış olup bu konu hakkında çeşitli veriler elde edilmiştir.

Ester ve eter gruplarını içeren yapıların, kaliksarenlerin fenolik-OH gruplarıyla kolayca tepkimeye girmesi ve bu şekilde oluşan bileşiklerin, kendisini oluşturan maddelere göre, daha çözünür ve daha düşük erime noktasına sahip olması, bilim insanlarını kaliksarenler üzerine antimikrobiyal açıdan çalışmalar yapmaya yöneltmiştir.

Kaliksarenlerin diğer uygulama alanlarına değinilirse;

- elektrot yapımında (iyon seçimli) kullanılması,
- kolon kromatografisinde dolgu materyali olarak kullanılması,
- floresans ışımalarında ve faz transfer katalizörü olarak kullanılması,
- membran çalışmalarında ve sensör tekniklerinde kullanılması,
- enzim-mimik katalizörü olarak kullanılması,
- iyon-molekül taşıyıcı olarak kullanılması (Gutsche 1990).

Oldukça geniş çaplı işletim alanına sahip olan kaliks[n]arenlerin farklı türevlerinin elde edilmesi birbirinden farklı uygulama alanlarının daha da ilerleyeceğini göstermektedir (Gutsche1990).

Yapılan bu tez çalışmasında da farklı fonksiyonel gruplara sahip kaliksaren türevleri kullanılmış olup bu kaliksarenler hidroksil grubu **(1)**, bisbenziloksi grubu **(2)**, asetoniloksi grubu **(3)**, karbonil metoksi grubu **(4)**, nitrobenziloksi grubu **(5)** ve aminobenziloksi grubu **(6)** içeren kaliksarendir. Buradaki amaç, farklı fonksiyonel gruplara sahip kaliksarenlerin antimikrobiyal çalışmada içerdikleri gruplar nedeniyle farklı bir etkiye sahip olup olmadıklarını incelemektir.



2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

2.1 Kaliksarenler

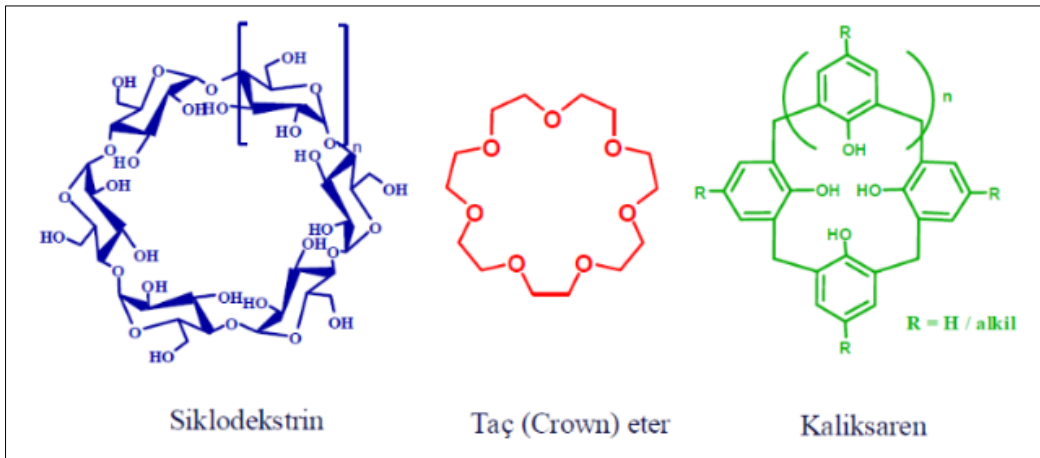
Fenolün, formaldehitte etkileşmesi sonucu oluşan çok halkalı, oligomer bileşikler, kaliksaren olarak adlandırılır (Deligöz 1994, Gutsche 1987).

Oligomer bir bileşik olan halkalı yapıdaki kaliksarenler, organik moleküllerle ya da metal katyonlarıyla kompleks bileşik oluşturmaktadırlar. İşte bu özelliklerinden dolayı bilim dünyasının dikkatini çekmiştir (Knop and Pilato 1985).

Makrosiklik bir bileşik olan kaliksarenlerin, üst ve alt kenarındaki aktif gruplar; arenler, aminoasitler, dipeptitler, proteinler, kolin ve asetilkolin, karbonhidratlar, riboflavin, vitamin B12, nükleotitler, nükleozitler vb. biyolojik olarak aktif moleküllerin geniş bir yelpazesini tanımlar ve bunlarla etkileşim içerisine girerler (Sansone *et al.* 2001).

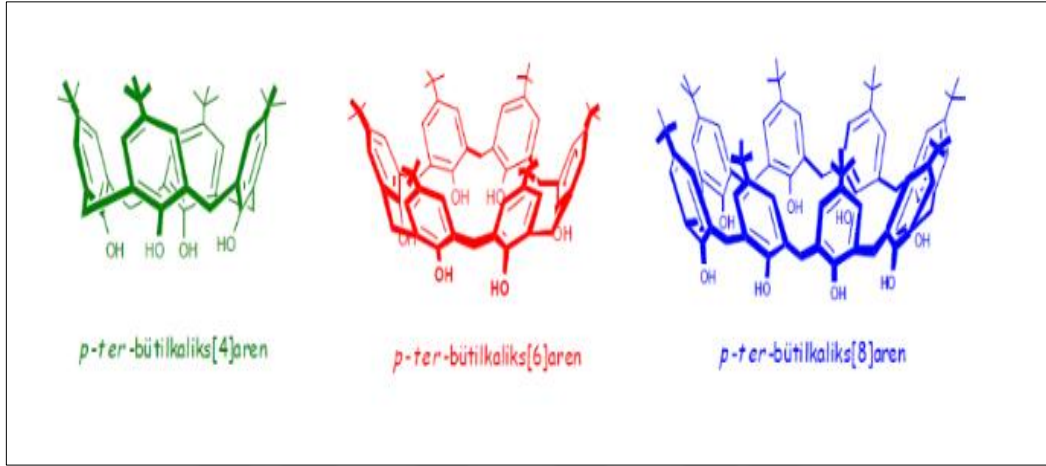
Bu sebeple kimya literatürüne yeni girmiş olan kaliksarenler, birçok araştırmaya konu olmuşlardır.

“Supramoleküler kimya” terimi ortaya çıktığından beri kaliksarenler, taç eterlere ve siklodekstrinlerle benzer özellik göstermesinden dolayı 3. Kuşak supramoleküler olarak da adlandırılırlar (Gutsche 1989) (Şekil 2.1).

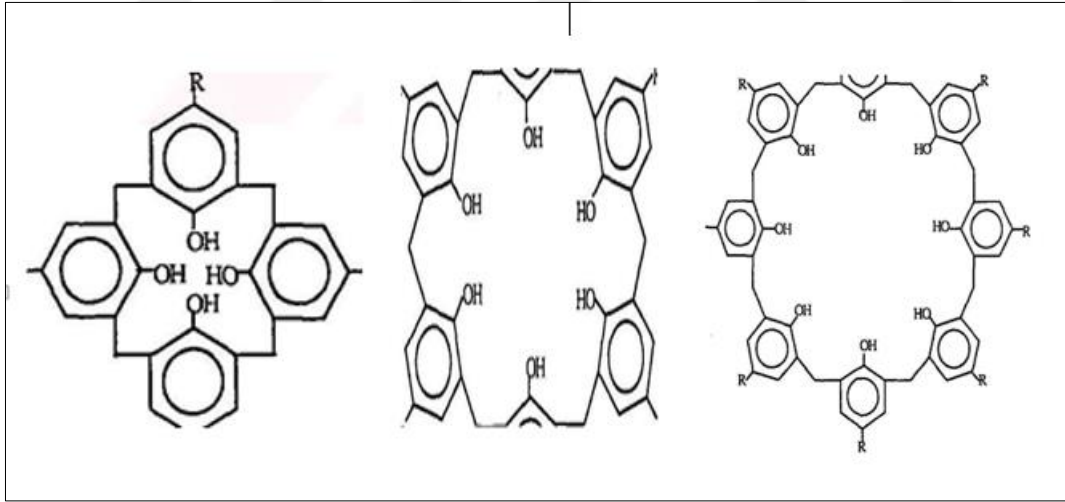


Şekil 2.1 Supramoleküllerin Yapısı (Girgin 2015)

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, halkalı yapıdaki fenolik bileşiklerle ilgili en gerçekçi çalışmaları Gutsche ve arkadaşları yapmıştır. Gutsche ve çalışma arkadaşları çeşitli büyüklükte oluşan fenolik siklik oligomerleri (*p-ter*-bütil kaliks[4]aren, *p-ter*-bütil kaliks[6]aren ve *p-ter*-bütil kaliks[8]aren)’ nin her birini tek tek saf olarak elde etmişlerdir (Gutsche1990) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 Kaliks[n]arenlerin Yapısı (Girgin 2015)



Şekil 2.3 Kaliks[n]arenlerin yapısı

Şekil 2.1, Şekil 2.2 ve Şekil 2.3’ de verilen yapılara göre kaliksarenler, alkali bir ortamda p-süstitüe konumundaki fenoller ile formaldehitin kondenzasyon tepkimesi sonucu meydana gelen, hidroksil grupları açısından göre orto konumunda metilen köprüleriyle kenetlenmiş halkalı yapıda esnek bir duruma sahip olan makrosiklik moleküler bileşiklere kaliks[n]aren denir (Deligöz ve Yılmaz 1994).

2.3 Kaliksarenlerin Sentezi

Kaliksarenlerin sentezlenmelerini iki grup altında toplamak mümkündür. Bunlardan biri “Çok Basamaklı Sentezleme”; diğeri ise “Tek Basamaklı Sentezleme” dir.

Çok basamaklı sentezde, işlemlerin çok uzun ve yorucu olması ve de toplam verimin %10-20 gibi düşük düzeyde kalması nedeniyle bu metot tercih edilen ve kullanılan bir yöntem olmamıştır (Gutsche 1987).

Bu nedenle kaliksarenlerin çok basamaklı sentezlenmesindeki, karşılaşılan güçlükler ve verim düşüklüğü, bu bileşiklerin sentezlenebilmesi için, insanları yeni yöntemler bulmaya sevk etmiştir.

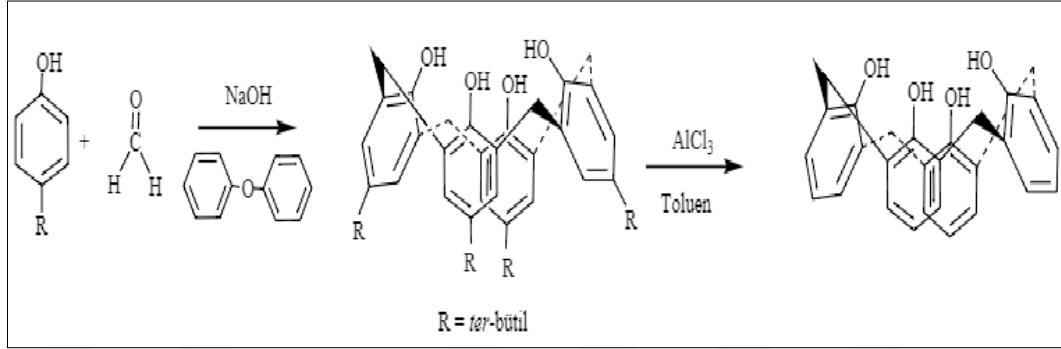
Bu yüksek lisans tezinde yapılan çalışmalar, tek basamaklı sentezleme üzerinden açıklanmakta olup elde edilen tüm ürünler tek basamaklı sentezleme yoluyla elde edilmiştir.

2.3.1 Tek Basamaklı Sentezleme

Gutsche ve çalışma grubunun yeni sentez yönteminin geliştirilmesine yönelik çalışmaları sonuç vermiş ve bugünkü kaliksaren kimyasının temeli atılmıştır. Yapmış oldukları bu çalışmada, kaliksarenlerin tek basamaklı sentezinde *p-ter*-bütil fenolün kullanılması gerektiğini; bu fenolün dışındaki diğer fenollerin kullanılması durumunda birden fazla ürün veya reçinenin yapısına benzer ürünlerin oluştuğunu belirtmişlerdir (Gutsche and Lin 1986).

Deneyisel çalışmalarda, kaliksarenlerin tek basamaklı sentezlenebilmesi için para konumunda birbirinden farklı fonksiyonel gruba sahip fenoller kullanılmıştır. Devam eden süreçte bu fenolik bileşikler 1A grubu metallerinin hidroksitleriyle tepkimeye sokulmuştur. Tepkime sonucunda reaksiyon için kullanılan fenollerden sadece *p-ter*-bütil fenol kullanıldığı takdirde saf ürünler elde edilebileceği, *p-ter*-bütil fenol dışında başka bir fenolün kullanılması durumunda birden fazla ürünün oluştuğu

ortaya koyulmuştur. *p-ter*-bütil fenolün tepkimede kullanılmasının sağladığı diğer bir avantaj ise dealkilleme reaksiyonunu gerçekleştirerek reaksiyon sonucu *ter*-bütil grubunun kolayca kaliksarenden uzaklaştırılmasıdır (Gutsche 1990, Gutsche *et al.* 1986) (Şekil 2.6).



Şekil 2.6 *p-ter*-bütilkaliks[4]aren ve kaliks[4]aren eldesi

p-ter-bütil fenoldeki "tersiyer bütil" gruplarının dealkilasyon reaksiyonu ile kolaylıkla kaliksarenden uzaklaştırılabilmesi yöntemin kullanılabilirliğini artırmaktadır. Bugün fenolik siklik tetramer, hekzamer ve oktamer gibi temel kaliksarenlerin sentezinde başarıyla uygulanan Gutsche yöntemi, diğer kaliksaren sentezlerinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Diğer çalışmacıların yapmış oldukları yöntemlere kıyasla, bu yöntemin kabul görüp tercih edilmesinin başlıca nedeni, bahse konu bu yöntemin çok yüksek verimle gerçekleşmesidir. Öyle ki; deney sonucunda *p-ter*-bütilkaliks[4]aren' i %62, *p-ter*-bütilkaliks[6]aren' i %85 ve *p-ter*-bütilkaliks[8]aren' i ise %90 verime sahip olduğu ve bu saflıkta elde edildiği görülmüştür (Gutsche 1990). Kaliksarenlerin tek basamaklı sentezindeki kullanılan baz miktarı, siklik tetramer ve oktamer sentezinde az koyulurken, siklik hekzamerde ise daha fazla koyulmalıdır. Buradan anlaşıyor ki tepkime de kullanılan bazın miktarı, kaliksaren eldesinde verimi etkilemektedir. İstenilen verime ulaşmak için baz, belirli eşdeğergram miktarlarında alınmalıdır.

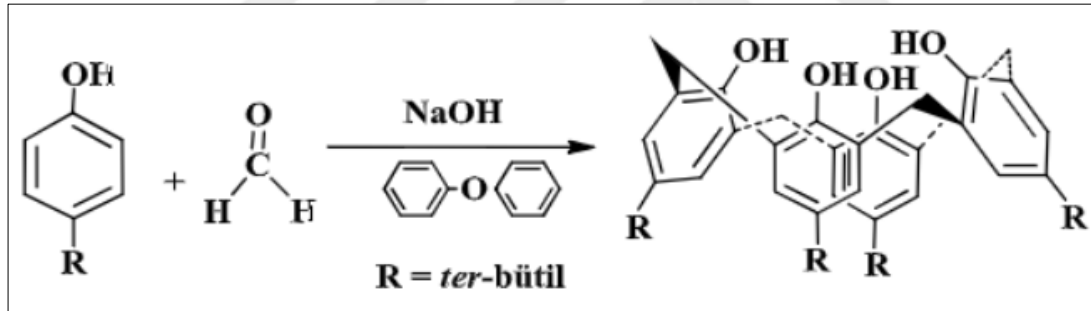
Kaliksaren sentezinde kullanılan bazın miktarı kadar, kullanılan bazın katyon çapı da verim üzerine etkilidir ve bu duruma "template etki" denir. Açıklayacak olursak; siklik hekzamar eldesinde katyon çapı büyük olan alkali metal hidroksitleri (KOH, RbOH)

kullanılırsa sentez işlemi yüksek bir verimle gerçekleşir (Gutsche *et al.*1981) (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1 Alkali Metal Hidroksitleri ve Kaliksaren Verimi Üzerine Etkileri

Alkali Hidroksit	Kasyon Çapı (Å ⁰)	% Hekzamer	% Oktamer
LiOH	1,36		60
NaOH	1,94		23
KOH	2,66	56	
RbOH	2,94	70	
CsOH	3,34	40	5

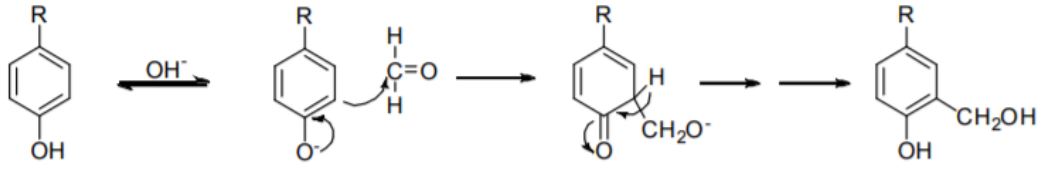
Kaliksarenlerin tek basamaklı sentezinde genellikle apolar çözücüler kullanılır. Bunun yanında, siklik oktamer ve hekzamer sentezinde ortam sıcaklığı düşük, siklik tetramer sentezinde ise ortam sıcaklığı yüksek olmalıdır (Şekil 2.7).



Şekil 2.7 *p-ter-bütöl*kaliks[4]aren sentezi

2.4 Kaliksarenlerin Oluşumu- Reaksiyon Basamakları

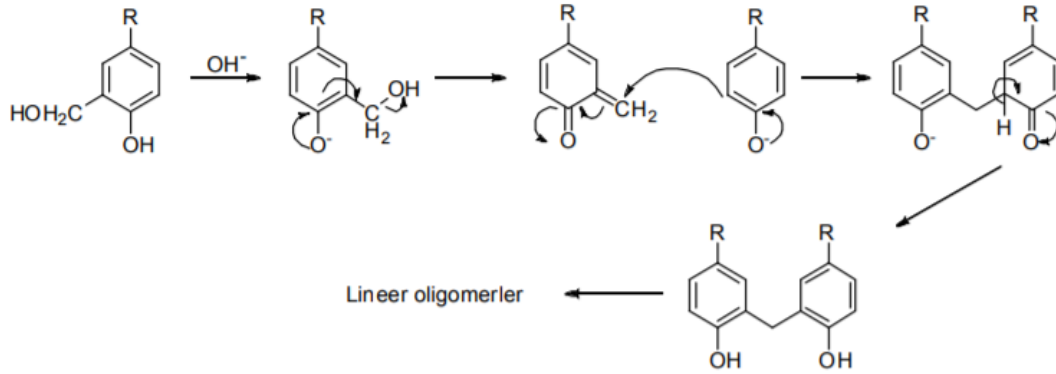
Fenol ile formaldehitin bazık ortamdaki reaksiyon mekanizması uzun yıllar araştırılmıştır. Reaksiyon mekanizması birinci basamak; fenol bileşiğinin hidroksil grubundaki hidrojen ile baz reaksiyona girer. Bu reaksiyon sonucu fenoksit iyonu oluşur. Bu iyonunun rezonansı sonucu meydana gelen karbon nükleofili ile formaldehitin karbonil karbonu tepkimeye girer. İstenilirse belirli şartlarda reaksiyon bu aşamada kesilir, meydana gelen hidroksimetil fenoller izole edilerek karakteristik özellikleri incelenebilir (Gutsche 1989) (Şekil 2.8).



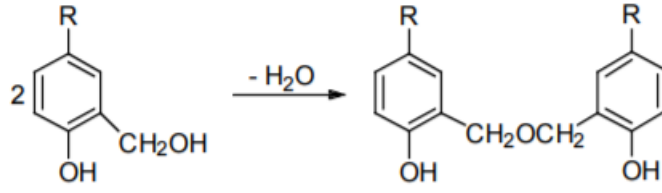
Şekil 2.8 Hidroksimetil fenolün meydana gelmesi

İkinci basamak; birinci basamakta oluşan hidroksi metil fenol, bazik ortamda, o-kinonmetit ara ürününe dönüşür, bu ara ürün ile fenoksit iyonunun rezonansı sonucu oluşan nükleofili tepkimeye girer. Tepkime sonucu diarilmetil bileşikler oluşur ve bu oluşum sürekli olarak devam eder.

Gutsche yapmış olduğu çalışmalar sonucunda, tüm oligomerlerin meydana gelmesi sırasında oluşan o-kinonmetitlerin, ara ürün olabileceği ihtimalini 1989’ da kanıtlamıştır (Gutsche 1989). Şekil 2.10’ da ise, Şekil 2.8’ de oluşan hidroksimetil fenollerin, diaril metanların yerine, dibenzil eterlerin dehidratasyonla ortaya çıkma reaksiyonunu gösterilmektedir (Şekil 2.10).

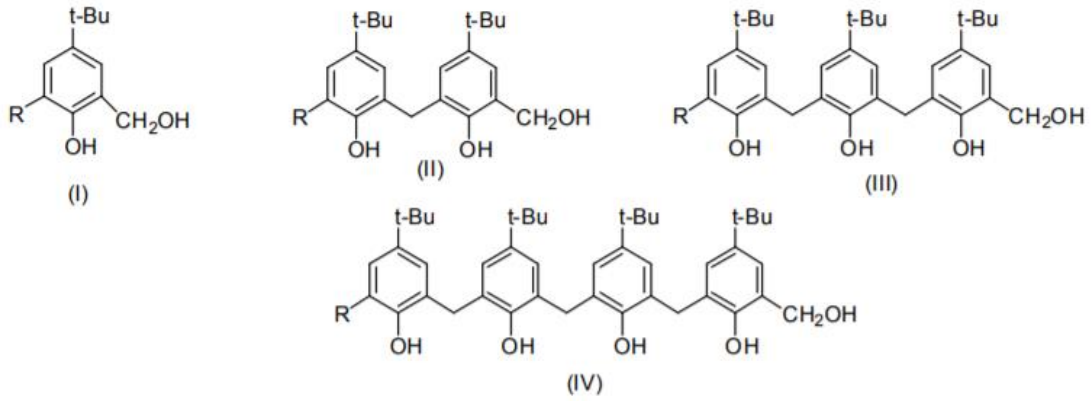


Şekil 2.9 Lineer Oligomer oluşumu



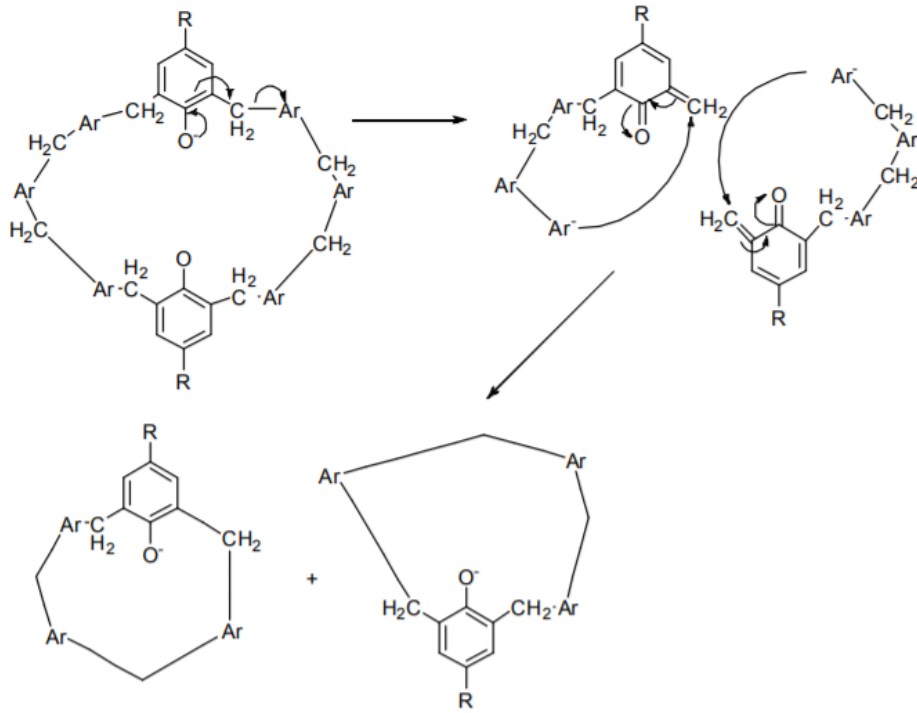
Şekil 2.10 Dibenzileter oluşumu

Bu yüzden reaksiyon sonucu, mekanizmanın farklı anlarında meydana gelen difenil metan türü ve dibenzil eter türü kaliksarenler karışımı meydana gelmektedir. Şekil 2.9’ da oluşan bileşikler (R=H ve CH₂OH), belirli şartlarda benzer ürün karışımını verir (Dhawan 1987). Özetle *p-ter*-bütilfenol ve sulu formaldehitin karışımının baz ile etkileşmesi sonucu ara ürünler oluşur ve bu oluşan ara ürünler yüksek sıcaklıkta ısıtılırsa kaliksarenlere dönüşür (Şekil 2.11).



Şekil 2.11 Ara ürün karışımları

Sıcaklık ve bazın etkisiyle reaksiyon sonucu meydana gelen *p-ter*-bütilkaliks[8]aren veya *p-ter*-bütilkaliks[6]arenin % 75 kadarı, yüksek bir verimle *p-ter*-bütilkaliks[4]arene dönüşmüştür (Gutsche 1986, Dhawan 1987). Bu dönüşüm reaksiyonu Gutsche tarafından moleküler bölünme olarak adlandırılmıştır (Şekil 2.12).

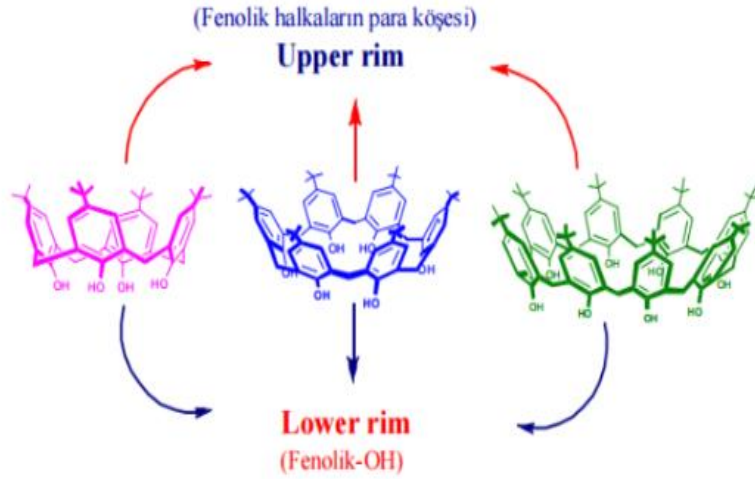


Şekil 2.12 Moleküler Bölünme (Kaliks[8]arenin, Kaliks[4]arene Dönüşümü)

2.5 Kaliksarenlerin Fonksiyonlandırılması

Kaliksaren türevleri, kaliksarenlerin ya fenolik oksijenlerinden ya da fenolik birimin p-pozisyonundan fonksiyonlandırılması ile hazırlanmaktadır.

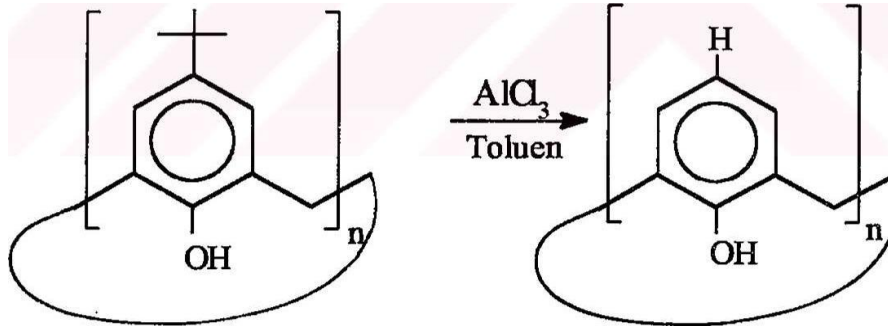
Kaliksarenlerin adlandırılmasında, kaliks ve aren arasındaki rakamın -OH grup sayısını belirttiği ve fenolik-OH gruplarının bulunduğu dar olan kısma “lower rim” denilirken; aril halkalarının p-pozisyonunda bulunduğu geniş olan kısma “upper rim” denir. Lower Rim olarak tanımlanan kısım aynı zamanda fenolik boşluk veya alt kenar olarak; Upper Rim olarak tanımlanan kısım ise p-köşesi veya üst kenar olarak bilinir (Girgin 2015) (Şekil 2.13).



Şekil 2.13 Kaliks[4]arenin p-konumu ve fenolik-OH bölgesi gösterimi (Girgin 2015)

2.5.1 Kaliksarenlerin para-pozisyonundan fonksiyonlandırılması

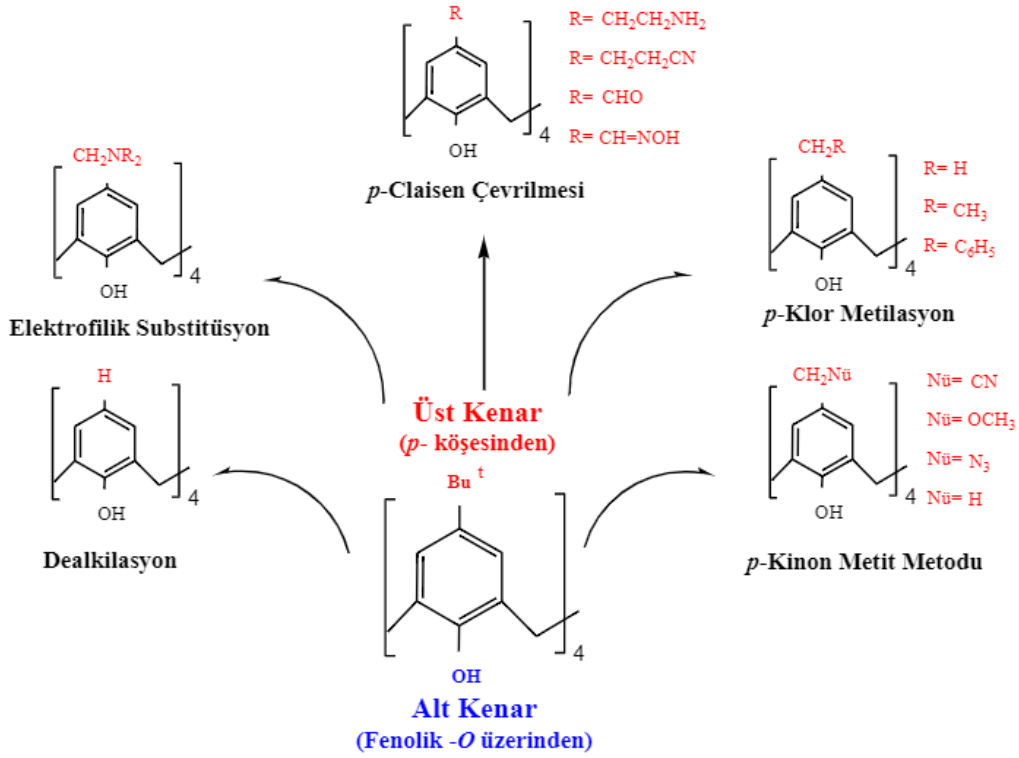
Kaliksarenler üzerindeki "ter-bütıl" gruplarının dealkilasyon reaksiyonu ile uzaklaştırılabilmesi, kaliksarenlerin p-pozisyonundan fonksiyonlandırılmasında çok büyük kolaylıklar sağlamıştır. Dealkilasyon, toluenin çözücü olarak kullanıldığı ortamda $AlCl_3$ ' ün kuvvetli etkisiyle gerçekleştirilmektedir (Şekil 2.14).



Şekil 2.14 p-ter-bütılkaliks[n]arenlerden ter-bütıl grubunun uzaklaştırılması

Kaliksarenlerin p-pozisyonundan fonksiyonlandırılma yöntemlerinden birisi de "aromatik elektrofilik süstitüsyon" reaksiyonudur. Shinkai ve gurubu, $100^\circ C$ ' de kaliks[6]aren ile sülfirik asit reaksiyonundan p-sülfonato kaliks[6]aren ve akabinde aynı yöntemle p-sülfonato kaliks[4]aren ve p-sülfonato kaliks[8]aren sentezini gerçekleştirmiştir (Shinkai *et al.* 1986).

Kaliksarenlerin p-pozisyonundan fonksiyonlandırılmasında p-Claisen çevrilmesi, pkinonmetit ve p-klormetilasyon gibi çeşitli alternatif metotlar da kullanılmaktadır (Girgin 2015) (Şekil 2.15).

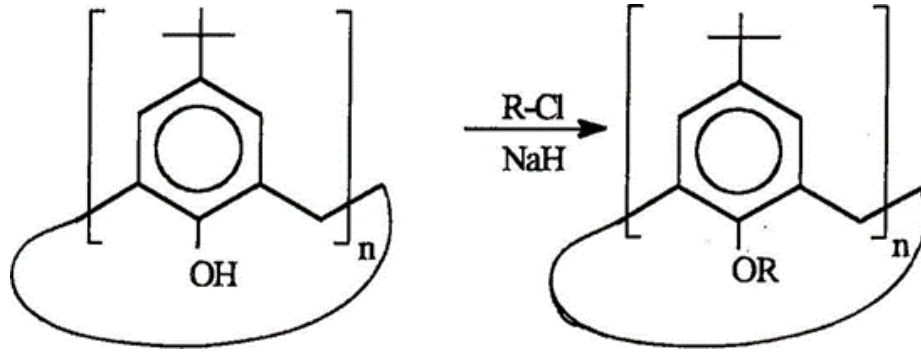


Şekil 2.15 Kaliksarenin p-pozisyonundan fonksiyonlandırılması (Girgin 2015)

2.5.2 Kaliksarenlerin Fenolik-O üzerinden Fonksiyonlandırılması

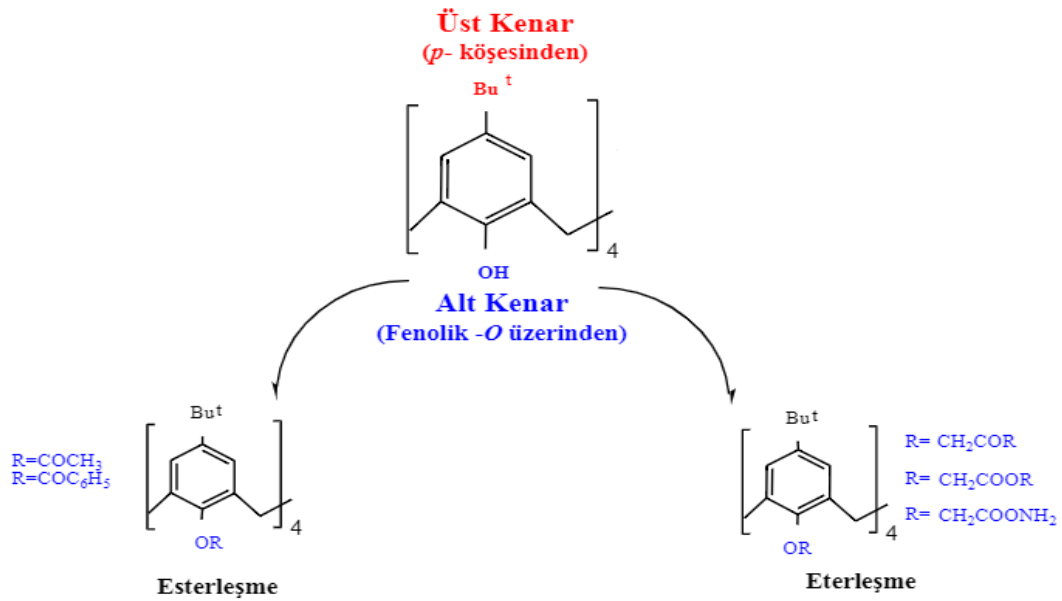
İlk kez 1998’ de, Gutsche tarafından yapılan çalışmalarla, fenolik oksijenlere farklı reaktifler bağlanmış (nitril, keton fosfin, oksim, imin, eter ve ester grupları gibi) ve uygun şartlar altında, kaliksarenler fenolik-O’ den fonksiyonlandırılmıştır (Gutsche 1989).

Kaliksarenlerin eter türevleri, THF- DMF çözücü karışımında kaliksaren ile alkil halojenürlerin NaH katalizörlüğünde etkileştirilmesi ile elde edilmektedir (Gutsche *et al.* 1983) (Sekil 2.16).



Şekil 2.16 Kaliksarenlerin eter türevleri

Kaliksarenlerin fenolik -OH grupları üzerine eter, ester ve keton gurupları gibi fonksiyonel grupların bağlanmasıyla çok sayıda kaliksaren türevi sentezlenip elde edilebilir. Eğer reaksiyon şartları ayarlanırsa di, tri, tetra şeklindeki fonksiyonel gruplar, lower rim üzerinden kaliksarenlere kolayca bağlanabilir (Gutsche 1986, Böhmer 1995).



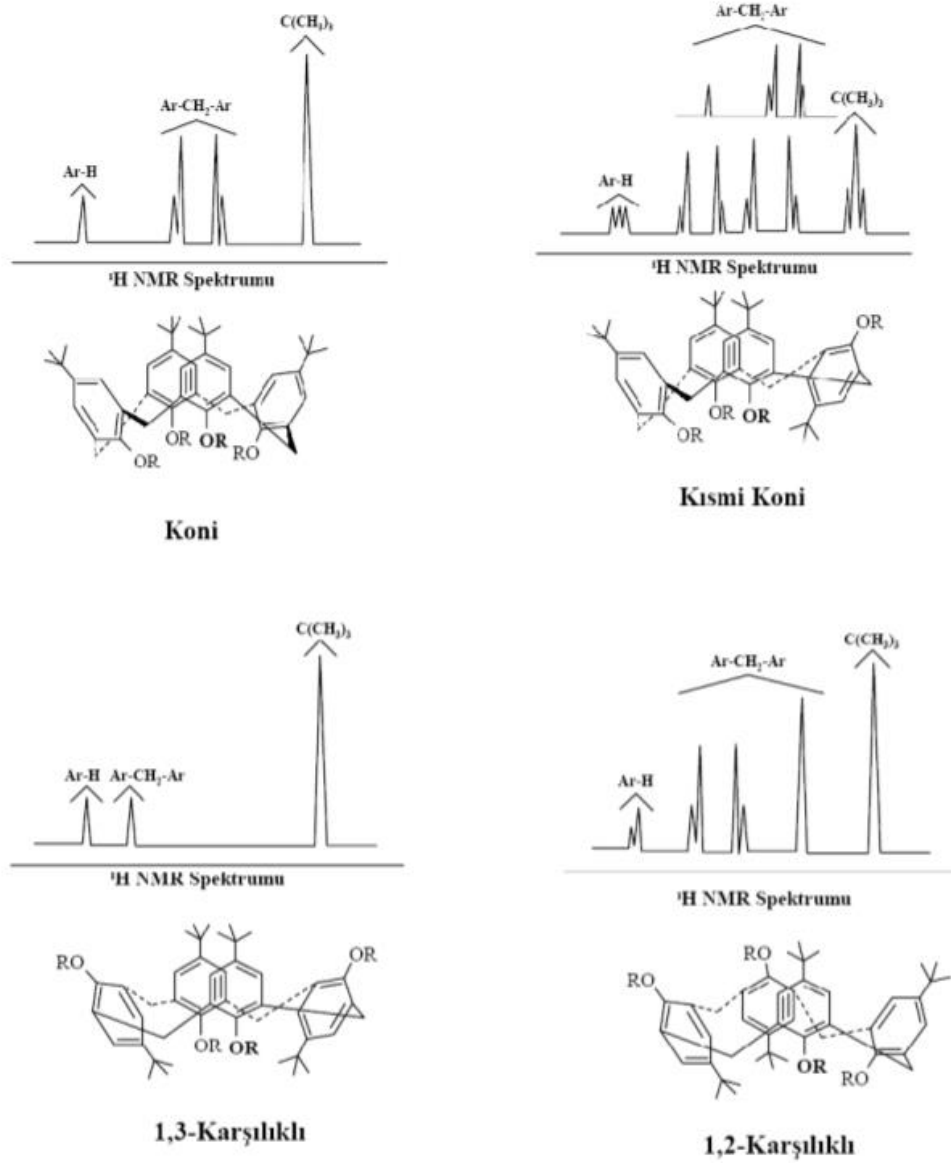
Şekil 2.17 Kaliksarenlerin fenolik-O üzerinden fonksiyonlandırılması (Girgin 2015)

İstenilen amaca yönelik olarak kaliksarenlere, Lower Rim veya Upper Rim üzerinden farklı fonksiyonel gruplarının bağlanmasıyla çeşitli türevlerde kaliksaren elde edilebilmektedir.

2.6 Kaliksarenlerin Konformasyonu

Oda sıcaklığındaki çözelti içerisinde, sürekli değişken bir yapıya sahip olan fonksiyonel grup bulundurmeyen kaliksarenler, fonksiyonel gruplarla türevlendirilirse hareketsiz yapı haline gelirler (Gutsche 1998). Gutsche ve çalışma grubu kaliksarenlerin, 4 farklı konformasyonel izomere sahip olduklarını belirlemişlerdir (Gutsche *et al.* 1987) (Şekil 2.18).

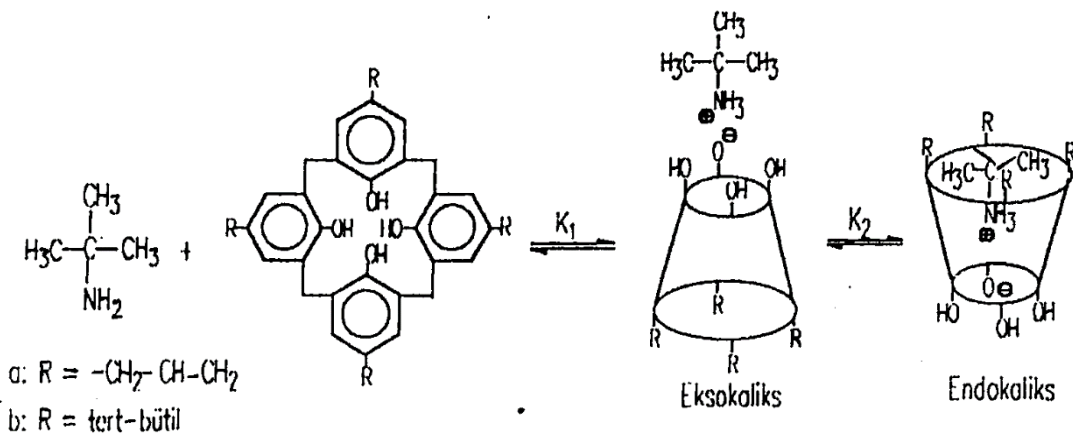
* Koni, * Kısmi koni 1,2, * Karşılıklı 1,3, * Karşılıklı



Şekil 2.18 *p*-ter-bütilkaliks[4]arenin konformasyonları ve ¹H-NMR spektrumları

Daha önceden de belirtildiği gibi kaliksarenlerin fenolik-OH grupları, fenolik-O' na çeşitli grupların bağlanmasıyla (mono-, di-, tri- ve tetra-, , keton, oksim eter ve ester) türevlerine dönüştürülebilmektedir. Reaksiyonda kullanılan bazın ve çözücünün türü, ortam konsantrasyonu ve sıcaklık tepkime sonucu oluşan kaliks[4]aren türevlerinin çeşitli konformasyonda olmasını sağlar (Park *et al.* 1996, Groenen *et al.* 1991). Koni konformasyonuna sahip bir sentez elde edebilmek için oda sıcaklığında DMF veya DMF/THF içerisinde NaH' ün aşırısı kullanılır. 1,3- karşılıklı konformasyonuna sahip bir sentez meydana gelmesi için 80⁰C' de DMF içerisinde Cs₂CO₃ kullanılır. 1,2- karşılıklı ve kısmi koni konformasyonları ise ancak reaksiyon karışımının kolon kromatografisi ile saflaştırılması sonucu elde edilir.

Kaliksarenlerin konformasyonel özelliklerinden dolayı ilginç yönlerinden birisi moleküler kompleks özellikleridir. *p-ter*-bütil kaliks[4]aren kloroform, benzen, ksilen, piridin ile; *p-ter*-bütil kaliks[6]aren kloroform veya metanol ile; *p-ter*-bütil kaliks[8]aren kloroform molekülleri ile kompleks bileşik oluşturmaktadır. Bunlar çok sağlam yapıli komplekslerdir (Bauer and Gutsche 1986). Kaliksarenler, konformasyonel özelliklerinden dolayı aminler ile iki çeşit kompleks oluşturabilmektedir. Bu olay fenolden amine bir proton transferi ile gerçekleşir ve aminin yaklaşma yönüne göre "endokaliks" ve "eksokaliks" adını alırlar (Gutsche *et al.* 1987) (Şekil 2.19).



Şekil 2.19 Kaliksarenlerin aminlerle kompleksleri

2.7 Kaliksarenlerin Fiziksel Özellikleri

2.7.1 Erime Noktası

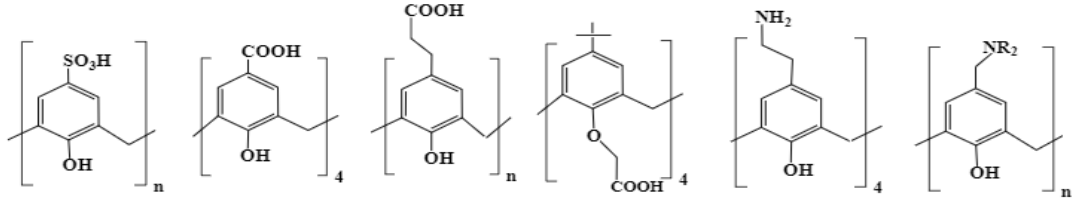
Çeşitli fonksiyonel gruplara sahip olan kaliksaren türevlerinin her biri farklı fiziksel özelliklere sahiptir. Türevler arasında veya tamamen yapısal açıdan birbirinden farklı 2 farklı kaliksaren arasında en belirgin ve karakteristik özellik erime noktasıdır. Yapılan deney sonuçlarına göre *p-ter*-bütikaliks[4]aren 342-344⁰C’ de, *p-ter*-bütikaliks[6]aren 380-381⁰C’ de ve *p-ter*-bütikaliks[8]aren ise 411-412⁰C’ de eridiği sonucuna varılmıştır. Çıkarılacak diğer bir sonuç ise kaliksarenler arasında molekül büyüklüğü arttıkça genellikle erime noktasının artmasıdır. Tayin edilen erime noktaları *p-ter*-bütikaliks[n]arenlerin saflıklarını belirlenmesinde kullanılır. Örnek verecek olursak; *p*-fenikaliks[4]aren 407-409⁰C’ de, *p*-fenikaliks[8]aren ise 450⁰C’ nin üzerinde erirken diğer yandan ester ve eter türevli kaliksarenler, kendilerini meydana getiren kaliksarenlerden daha düşük erime noktasına sahiptir. Mesala *p-ter*-bütikaliks[4]arenin tetrametil ve tetrabenzil eterlerinin erime noktası 226-228⁰C ve 230-231⁰C’ dir (Gutsche 1989, Gutsche *et al.* 1990 a,b,c).

2.7.2 Çözünürlük

Organik çözücülerdeki çözünürlükleri sınırlı olan kaliksarenlerin yapılarında, para kısmındaki alkil gruplarının ve sülfonat, amino, eter, ester... gibi fonksiyonel grupların bulunmasıyla organik çözücülerdeki çözünürlükleri artırılır (Şekil 2.20). Hal böyleyken kaliksaren türevleri kloroform, piridin ve karbondisülfürde çözünebilmektedir (Gutsche 1989, Gutsche 1987).

Bütün bu veriler sayesinde, karışım halinde bir arada bulunan kaliksarenleri ayırmak için bilim insanları, sürekli ekstraksiyon yöntemini kullanarak *p*-fenilaliks[6]aren ile *p*-fenikaliks[8]aren’ i birbirlerinden ayırmışlardır (Gutsche 1989).

1984 yılında Arduini ve arkadaşları, yapmış oldukları çalışmalar neticesinde, *p-ter*-bütikaliks[4]aren tetrakarboksil türevini sentezleyerek ilk kez suda çözünen kaliksarenleri elde etmişlerdir (Arduini *et al.* 1984) (Şekil 2.20).

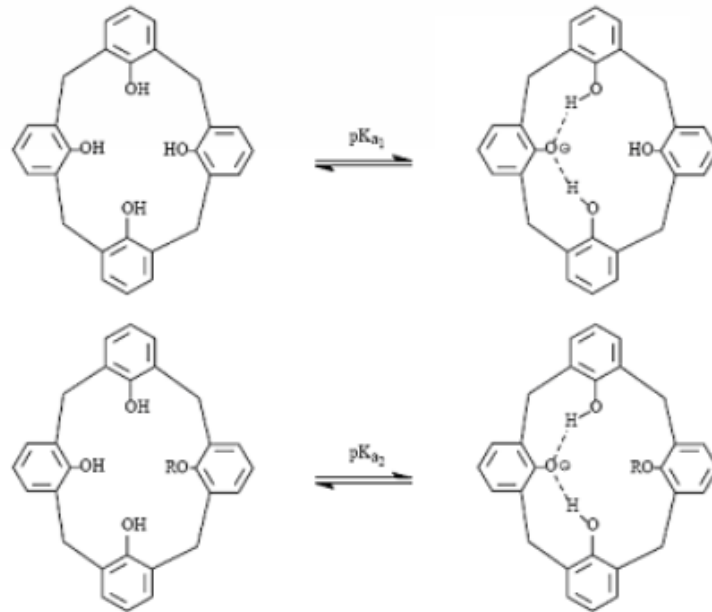


Şekil 2.20 Suda Çözünen Kaliksarenler

2.7.3 pKa Değerleri

Titrasyon aşamasında kullanılan susuz çözücülerde (etilen diamin veya benzen/izopropil alkol), benzer izomerliğe sahip olan o, o'-dihidroksi difenil metanın yüksek asitliğe sahip olduğu sonucu, bu iki yapının karşılaştırılmasıyla ortaya konmuştur. Hiperasidite olarak adlandırılan bu etki, lineer orto bağlanmış tri- veya tetra-nükleer bileşikler için daha belirgin olup molekül içindeki mono anyonu dengelenen hidrojen bağıyla açıklanabilmektedir (Gutsche 1989, Knop and Pilato 1985).

Ayrıca kaliks[4]arenlerde molekül içi hidrojen bağı oluşmasından dolayı fenollere göre daha asidiktir. Fakat pK_{a1} ile pK_{a2} değeri arasında fazla fark bulunmamaktadır. Şekil 2.21' den de anlaşılacağı üzere molekül içi hidrojen bağı oluşturan her iki anyonda daha kararlı hale gelmiştir (Faldt 2000).



Şekil 2.21 Kaliks[4]aren' de molekül içi hidrojen bağı oluşumu

2.8 Patojenik Bakteriler

İnsanın vücudunda bulunan bakteri sayısı, hücre sayısından kat kat fazla iken derideki ve bağırsaklardaki bakterilerin büyük bir kısmı bağışıklık sisteminin koruyucu etkisiyle zararsız hale gelmektedir. İnsan vücudunda bulunan bazı bakteriler yararlı (probiyotik) iken, bazıları da patojen (hastalık oluşturan)' dir. Bu patojenik bakteriler genelde bağırsak enfeksiyonlarına, tifo, basilli dizanteri, kolera, şarbon, sifiliz, tüberküloz, cüzzam ve veba gibi hastalıklara neden olur iken yanlış, etkili olmayan bir tedavi ile sonuçları ölümcül olmaktadır. Ortaya çıkan hastalıkların tedavi edilebilmesi için, neden olan mikroorganizmanın araştırılması ve kimliğinin belirlenerek uygun ilaç ile müdahale edilmesi gerekmektedir (Anonim 2011a).

2.8.1 Çalışmalarda Kullanılan Bazı Bakteriler

Bu tez çalışmasında, insan deri florasında en çok bulunan, kolay ve çabuk üremeleri sebebiyle antimikrobiyal duyarlılık testi için en uygun olan aşağıdaki bakteri türleri kullanılmıştır;

- *Staphylococcus aureus*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Escherichia coli*
- *Bacillus subtilis*

Staphylococcus aureus: Gram (+) pozitif, patojenik bir bakteri olan bu mikroorganizma toksik şok, septik şok, haşlanmış deri sendromu ve besin zehirlenmesi gibi toksijenik sendromlara neden olmaktadır. *S. aureus* intoksikasyonunun görülebilmesi için *S. aureus*' un çoğalması ve enterotoksin üretmesi, bunda en az 1 mg'ının gıdalarla vücuda alınması gerekmektedir. Hastalıklar daha çok gıdaların ısıtılma işlem görmesinden sonra işletme personelinin ya da ekipmanlardan dolayı kontamine olmuş gıdalardan kaynaklanmaktadır. *S. aureus*' ten kaynaklı hastalık, gıdanın tüketiminden 1-7 saat sonra bulantı, kusma, mide krampları ve ishal şeklinde ortaya çıkmaktadır. *S. aureus*' un kontrol edilmesinde en önemli nokta, ısıtılma işlem gördükten sonra gıda maddelerinin

hızla soğutulması ve buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilmesi ve kişisel hijyenidir (Argudin *et al.* 2010) (Şekil 2.25).



Şekil 2.22 *Staphylococcus aureus* Bakterisi

Pseudomonas aeruginosa: Gram (-) negatif bakteri, hareketli, aerob basil cinsi, suda eriyen pigment salgılayan mikroorganizmadır. Toprakta, sularda, bitkilerde bulunur. İnsanların bağırsak ve deri florasında ise az miktarda bulunur. Hastanenin nemli ortamlarında bulunması sebebiyle enfeksiyonların başlıca sebebidir. Çocuklarda, bağışıklık sistemi yetersiz hastalarda, idrar yolu enfeksiyonlarına sebep olup, yara ve yanık enfeksiyonlarının, apse veya öldürücü sepsis etkenidir (İnt.Kyn.9) (Şekil 2.26).



Şekil 2.23 *Pseudomonas aeruginosa* Bakterisi

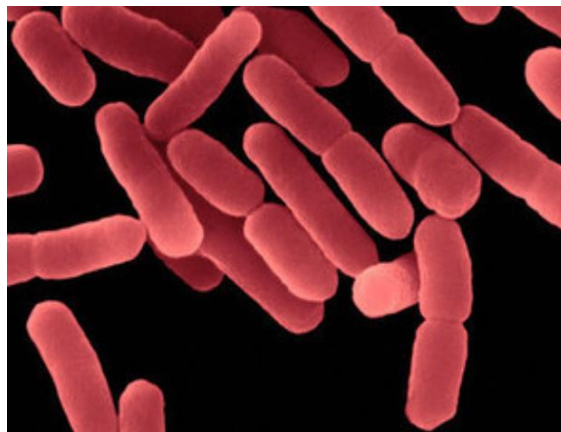
Escherichia coli: Memeli hayvanların ve insanların dışkısında bulunan, sığır dışkısıyla kontamine olmuş gıdalar ve sular aracılığı ile bulaşabilen ve de bakteriyi taşıyan kişiyle

temas sonucu bulaşabilen gram (-) negatif bir bakteri olan *E. Coli*, patojenik bir bakteri olup etki sonucu doğru tedavi edilmez ise sonucu ölümcül olmaktadır (Karmali *et al.* 2010) (Şekil 2.27).



Şekil 2.24 *Escherichia coli* Bakterisi

Bacillus subtilis: Çubuk şeklinde, gram (+) pozitif bir bakteri türü olan bu bakteri toprakta, insanların bağırsaklarında ve bazı hayvan türlerinde bulunur. Enzim üretiminin, bağışıklık ve sindirim sisteminin sağlığını destekleyen yararlı probiyotik bakteri olmasından dolayı takviye olarak alınan probiyotik ürünlerde bulunur (İnt.Kyn.10) (Şekil 2.28).



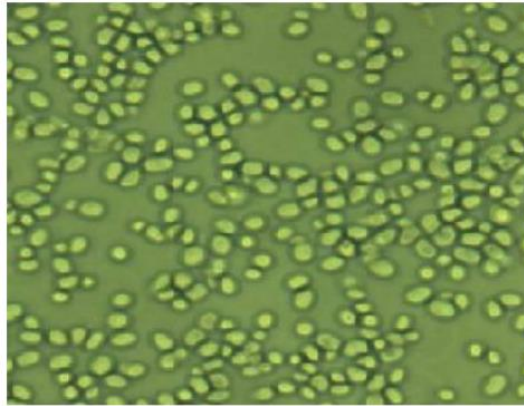
Şekil 2.25 *Bacillus subtilis* Bakterisi

2.8.2 Mantarlar

Bakterilere göre hücre yapısı daha karmaşık olan mantarlar çekirdek, mitokondri, golgi aygıtı ve endoplazmik retikulum gibi organellere sahip olup fotosentez yapamayan ökaryotik organizmalardır. Mantarlar, ya aseksüel olarak çoğalabilen tek hücreli şekilde maya ya da aseksüel ve seksüel olarak çoğalabilen filamentöz şekilde (küf) bulunmakta olup bazı mantarlar her iki morfolojide de bulunabilmektedir.

Son yıllarda patojen maya ve küfler, fungal enfeksiyonlara sebep olarak, bağışıklık seviyesi düşük bireylerde hastalığın görülme olasılığının yüksek olmasına ve ölümcül sonuçlara neden olmaktadır. Bu enfeksiyonlar yayılcı ve yüzeysel enfeksiyonları kapsamakta olup buna neden olan canlı etkenlerden biri *Candida* türleridir. Bu türlerden *C. glabrata*'nın yol açtığı mukozal ve sistemik enfeksiyonlar giderek artmaktadır. Dağ (2007) yapmış olduğu çalışmalar neticesinde tedaviye cevapsız ya da dirençli *Candida* suşları ile oluşmuş enfeksiyonların tedavisinde bazı kriter ve yorumlamaların sağlandığı takdirde ümit vaat eden olumlu bir sonuç elde edilebileceğini ortaya koymuştur (Şekil 2.29).

Bu tez çalışmasında elde edilen kaliksaren türevlerinin, insan cildinde, solunum ve sindirim sisteminde yaygın olarak bulunan, insan vücudunda en sık izole edilen *Candida glabrata* mantarının üzerindeki etkisi incelenmiş olup bu anlamda sonuçlar elde edilmiştir.



Şekil 2.26 *Candida glabrata*'nın mikroskopik morfolojisi

2.9 Antimikrobiyal Etki ve Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Antimikrobiyal etki; bakteri, fungus, protozoon gibi mikroorganizmaları öldüren veya üremelerini engelleyen kimyasal, fiziksel ve biyolojik etmenlerin göstermiş olduğu etkidir. Antimikrobiyal duyarlılık testleri ise, antimikrobiyal ajanın belirli bir mikroorganizmaya karşı örneğin bakteriye karşı laboratuvar ortamındaki aktif durumunu belirlemek için kullanılır. Antimikrobiyal bir tedavi belirlenirken, duyarlılık testlerinin sonuçları baz alınır ve bu durum esastır. Antibiyotik duyarlılık testleri; difüzyon testler, dilüsyon testleri, E- test ve otomatize sistemlerdir. Yapılan tez çalışmasında ise bu testler arasından standartlara uygun olarak kolay, uygulanabilir ve ucuz olması sebebiyle halen dünyada rutin laboratuvarlar için tercih edilen difüzyon testlerinden disk difüzyon testi kullanılmıştır (Anonim 2011b).

2.9.1 Disk Difüzyon Testi

Eski adıyla NCCLS (National Commite of Clinical Laboratory Standards) tarafından, yeni adıyla 'Clinical and Laboratory Standards Institute' (CLSI) tarafından yeniden ayarlanan disk difüzyon testi bu yöntemin elverişliliğini arttırmıştır. Bu ilerleme sayesinde disk difüzyon testi, klinik ve deneysel laboratuvarlarda antibiyotik duyarlılığının tespitinde en çok kullanılan yöntem testi haline gelmiştir. Maliyetinin düşük olması ve kolay uygulanabilir olması bu yöntemin yaygın olmasını sağlamıştır. Bu testin yapılışı için öncelikle antibiyotik madde yuvarlak kağıt disklere emdirilir, daha sonra antibiyotiği emmiş halde bünyesinde bulunduran bu kağıt diskler, bir müddet sonra çözünmeye başlar ve agara doğru difüze olur. Bu şekilde üremeye başlayan mikroorganizma çoğalır. Belirli bir üreme süresinden sonra ilacın, yani mikroorganizmalara karşı duyarlılığı test edilen maddenin, etkisini gösteremeyecek kadar tepkime hızını yavaşlatacak (inhibitör) konsantrasyona geldiğinde diskin etrafında üreme olmaz. Mikroorganizma teste tabi tutulan nesneye ne kadar duyarlıysa, diskin çevresinde meydana gelen alan o kadar geniştir. Bu alana inhibisyon zonu denir. Disk etrafında inhibisyon zonu görülmez ise bakterinin, teste tabi tutulan maddeye karşı dirençli olduğunu gösterir. İnhibisyon zonun çapı mm şeklinde ölçülür, standart zon çizelgesine göre değerlendirme yapılır ve mikroorganizmanın test edilen yeni ajana karşı duyarlılık hali saptanır (İnt.Kyn 14) (Anonim 2011).

3. MATERYAL ve METOD

3.1 Materyal

3.1.1 Enstrümental Teknikler

Erime noktası tayinleri, Barnsted / Electrothermal marka cihaz ile yapıldı. ^1H NMR spektrumları CDCl_3 içinde Bruker Avance DPX 400 MHz spektrofotometre cihazı ile yapılmıştır. ^1H NMR spektrumunda standart olarak TMS kullanıldı ve kimyasal kayma değerleri (δ) ppm olarak ölçülmüş ve IR spektrumları, KBr diskleri halinde Perkin Elmer 1605 FTIR System Spectrum BX spektrofotometresi kullanılarak alınmıştır.

Analitik TLC' ler silika jel tabakasıyla (SiO_2 , Merck 60 F₂₅₄) kaplanmış alüminyum plakalar kullanılarak yapılmıştır. Kullanılan tüm başlangıç malzemeleri ve reaktifleri, Merck veya Aldrich firmalarından alındı. Asetonitril, aseton, kloroform, metanol, etil asetat ve n-hekzan gibi organik çözücüler moleküler elekler ($4\text{\AA}$) üzerinden damıtılarak saklandı. Kurutucu madde olarak susuz MgSO_4 kullanıldı.

Tüm mikroorganizma suşları, Uşak Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edildi.

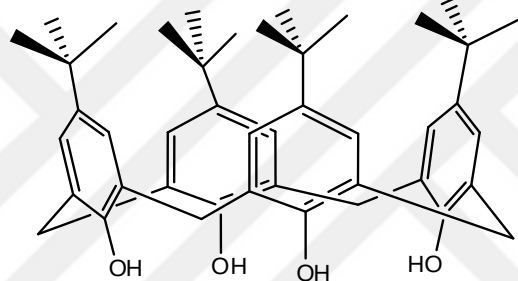
3.2 Metod

Bu çalışmada sentezlenen bileşikler literatürdeki metotlara göre elde edilmiştir. Bu bileşiklerin genel sentetik prosedürleri aşağıda verildi.

3.2.1 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (1)

1 l' lik bir balona, *p-ter*-bütilfenol (100g, 0.665 mol), 37 %' lik formaldehit (62.3 ml, 0.83 mol), ve NaOH (1.2g, 0.03 mol) az bir miktar suda çözülerek alındı. Reaksiyon karışımı, geri soğutucu altında, yağ banyosunda, sıcaklık $110-120\text{ }^\circ\text{C}$ ' da sabit tutularak 1.5-2 saat ısıtıldı. İlerleyen süreçte reaksiyon karışımı, önce turuncu renge daha sonra

viskoz halden katı sarı bir kütleye dönüştü. Sonra karışım oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve 800-1000 ml difenil eter ile süspanse edilip balona mekanik bir karıştırıcı, azot girişi ve bir ksilol cihazı takıldı. Balonun ısıtılması ile suyun ortamdan uzaklaştırılması sağlandı. Su çıkışı tamamlandığında ve çökelti oluşmaya başladığında karışım geri soğutucu altında 1.5-2 saat kaynatıldı. Akabinde reaksiyon karışımı oda sıcaklığında soğutuldu, 1 l etil asetatla muamele edilerek 15-30 dk. karıştırıldı ve 30 dk. kendi halinde bekletildi. Oluşan beyazımsı çökelek süzülüp iki kez 100 ml etil asetatla ve bir kez de 200 ml asetik asitle yıkandı ve asetik asit kokusu gidinceye kadar su ile yıkandı. Kurutulan 66.5 g (62 %) ham ürün toluenden yeniden kristallendirilerek 61.6 g parlak beyaz kristalli erime noktası 342-344 °C (lit: 344-346 °C) (Gutsche 1990) olan **1** elde edildi.



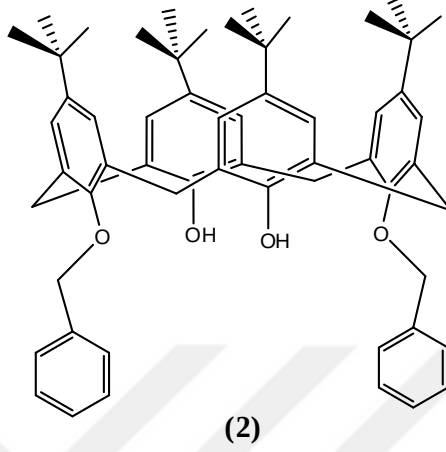
(1)

Şekil 3.1 5,11,17,23-tetra-ter-bütill-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (**1**)

3.2.2 5,11,17,23-tetra-ter-bütill-25,27-bis(benziloksi)-26,28-dihidroksikaliks[4]aren (**2**)

500 ml'lik bir balona *p-ter*-bütillikaliks[4]aren (3.0 g, 4.63 mmol) ve K₂CO₃ (0.64 g, 4.63 mmol) alınarak üzerine asetonitril (100 ml) ilave edilir ve 30 dakika ısıtılır. Benzilbromür (1.57 g, 9.26 mmol) reaksiyon karışımına eklenerek reaksiyon karışımı bir geri soğutucu altında 8 saat kaynatılır. Kaynatma süresinin bitiminde karışım sıcak olarak süzülür ve kristallenmesi için bekletilir. Oluşan kristaller süzülür, evaporatöre alınan süzüntü çözücüsünün yarısı uzaklaştırılır. Geriye kalan süzüntüde kristallerin tekrar oluşması için bekletilir. Yeniden oluşan kristaller süzülür ve diğer kristallerle birleştirilerek MeOH ile yıkanır son olarak asetonitrilden yeniden **2** nolu bileşik elde edilir. Verim 7.36 g (%52); en: 145 °C; IR (KBr) 3440 cm⁻¹ (OH). ¹H NMR (CDCl₃); 1.08 ppm (s, 18H, Bu^t), 1.40 ppm (s, 18H, Bu^t), 3.26 ppm (d, ²J(H,H) = 14.0 Hz, 4H,

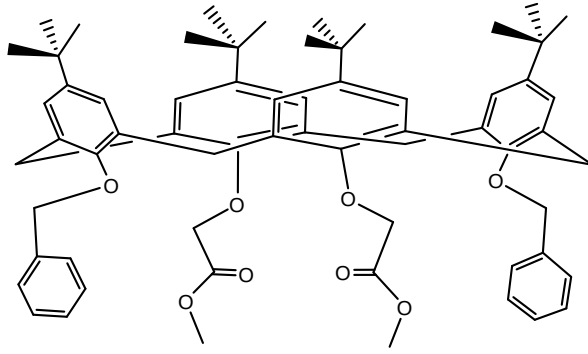
ArCH₂Ar), 4.41 ppm (d, ²J(H,H) = 14.0 Hz, 4H, ArCH₂Ar), 5.22 ppm (s, 4H, OCH₂Ar), 6.85 ppm (s, 4H, ArH), 7.23 ppm (s, 4H, ArH), 7.38 ppm (m, 10H, ArH-benzil), 7.74 ppm (s, 2H, ArOH), Anal. Hesaplanan: C₅₈H₆₈O₄: C, 84.02; H, 8.27. Bulunan: C, 85.80, H, 8.22.



Şekil 3.2 5,11,17,23-tetra-tert-bütil-25,27-bisbenziloksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren (2)

3.2.3 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütil-25,27-bis(benziloksi)-26,28-diasetoniloksikaliks[4]aren (3)

İki boyunlu bir balona bileşik 2 (1.4 g, 2mmol), NaH (90.24 g, 6mmol) ve susuz THF (100 ml) alınır. Reaksiyon karışımı azot atmosferinde oda sıcaklığında 30 dk. karıştırılır. Üzerine metil bromasetat (0.73 g, 4.8mmol) yavaş yavaş eklenir ve 24 saat bir geri soğutucu altında kaynatılır. Reaksiyon takibi TLC ile yapılır ve başlangıç maddesi tamamen tükendiğinde sonlandırılır. Soğutulan karışımdaki çözücünün tamamı evaporatörde uzaklaştırılır ve vakum altında kurutulur. Ham ürün kolon kromatografisiyle saflaştırılır (EtOAc/hekzan) ve açık sarı renkli 3 numaralı bileşik elde edilir. Verim: 71% (1.2 g). En:108–109C. IR (KBr, cm⁻¹): 1758 (CO); ¹H NMR (CDCl₃): 7.01–7.38 (m, 8H, ArH), 6.85 (m, 10H, ArH), 4.95 (s, 4H, CH₂CO₂Me), 4.84 (s, 4H, ArCH₂O), 4.32 (d, 4H, ArCH₂Ar), 3.68 (s, 6H, OCH₃), 2.86 (d, 4H, ArCH₂Ar), 1.02 (s, 18 H, Bu^t), 1.25 (s, 18 H, Bu^t). Hesaplanan: C₆₄H₇₆O₈ (972.55): C, 78.98; H, 7.87. Bulunan: C, 78.84; H, 7.75.

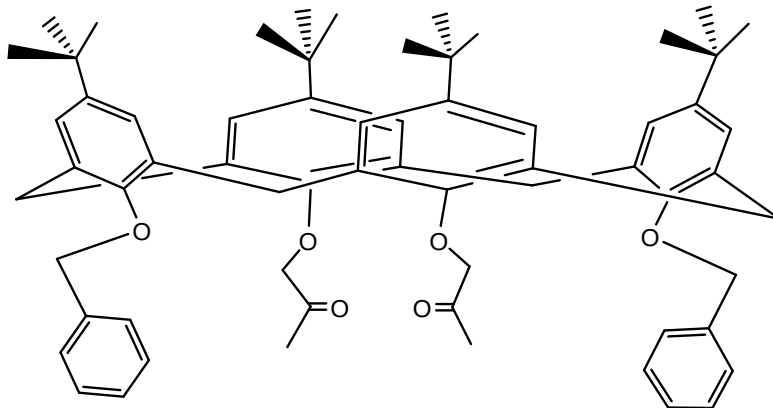


(3)

Şekil 3.3 5,11,17,23-tetra-ter-bütil-25,27-bis(benziloksi)-26,28-diasetoniloksikaliks[4]aren (3)

3.2.4 5,11,17,23-tetra-ter-bütil-25,27-bis(benziloksi)-26,28-karbonilmetoksikaliks[4]aren (4)

İki boyunlu bir balona bileşik 2 (1.4 g, 2mmol), NaH (90.24 g, 6mmol) ve susuz THF (100 ml) alınır. Reaksiyon karışımı azot atmosferinde oda sıcaklığında 30 dk. karıştırılır. Üzerine brom aseton (0.73 g, 4.8mmol) yavaş yavaş ilave edilir ve reaksiyona 3 nolu bileşiğin sentezindeki gibi devam edilir. Verim: 68% (1.2 g). En:108–109C. IR (KBr, cm^{-1}): 1728 (CO); ^1H NMR (CDCl_3): 7.42-7.01 (m, 10H, ArH), 6.75-6.58 (m, 8H, ArH), 4.85 (s, 4H, CH_2CO), 4.75 (s, 4H, ArCH_2O), 4.27 (d, 4H, ArCH_2Ar), 3.88 (s, 6H, COCH_3), 3.46 (d, 4H, ArCH_2Ar), 1.12 (s, 36H, Bu^t). Hesaplanan: $\text{C}_{64}\text{H}_{76}\text{O}_6$ (941.28): C, 81.66; H, 8.14. Bulunan: C, 81.44; H, 8.07.

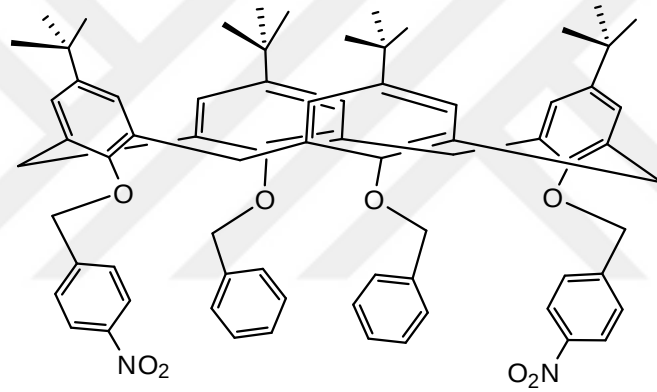


(4)

Şekil 3.4 5,11,17,23-tetra-ter-bütil-25,27-bis(benziloksi)-26,28-karbonilmetoksikaliks[4]aren (4)

3.2.5 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütil-25,27-bis-(4-nitrobenziloksi)-26,28-dibenziloksikaliks[4]aren (5)

2 nolu bileşik (4.68 g, 5.10 mmol), NaH (0.48 g, 20.30 mmol), *p*-nitro benzil bromür (3.47 g, 20.40 mmol) susuz THF-DMF (200 ml)' de çözülür ve 24 saat karıştırılarak reflux edilir. Soğutulan karışım süzülür ve CH₂Cl₂ ile yıkanır. Süzüntü ve diklormetan yıkantısı birleştirilerek kuruluğa kadar evaporatörde tutulur. Kalıntı etanolden geri kristallendirilerek 5 nolu bileşik elde edilir. Verim: % 54 en: 249°C IR: 1521 cm⁻¹, (NO₂), ¹H NMR (CDCl₃); 1,35 ppm (s, 36H, Bu^t), 3.81 ppm (d, 8H, *J*=13.0 Hz, ArCH₂Ar), 5.16 ppm (m, 8 H, OCH₂Ar), 7.05 ppm (s, 8H, ArH), 7.38-7.52 ppm (m, 14H, ArH), 8.20 ppm (s, 4H, 4-nitrofenil-H_{2,6}). Hesaplanan: C₇₂H₇₈N₂O₈, C, 78.66; H, 7.15; N, 2.55. Bulunan, C, 72.32; H, 7.12; N, 2.81.



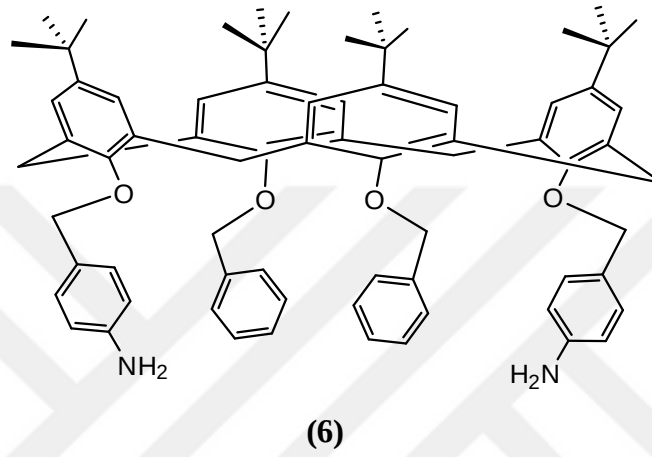
(5)

Şekil 3.5 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütil-25,27-bis-(4-nitrobenziloksi)-26,28-dibenziloksikaliks[4]aren (5)

3.2.6 5,11,17,23-*ter*-bütil-25,27-bis-(4-aminobenziloksi)-26,28-dibenziloksikaliks[4]aren (6)

5 nolu bileşik (1.98 mmol, 2.00 g) ve raney nikel (2.47 g)' in etilasetat (60 ml) ve metanol (30 ml)' deki karışımı üzerine N₂H₄.H₂O (5 ml) ilave edilir. Reaksiyon karışımı 1 saat oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra 5 saat bir geri soğutucu altında kaynatılır ve N₂H₄.H₂O (10 ml) daha ilave edilir. Karışım tekrar 6 saat daha kaynatılır. Bu sürenin sonunda karışım soğutulularak süzülür ve kalıntı diklormetan: aseton karışımıyla yıkanır. Toplanan süzüntü düşük basınç altında konsantre edilerek buzlu-suya damla damla

boşaltılır. Oluşan beyaz çökelek süzülür ve kurutulur. Kurutulan madde metanolle etkileştirilerek **6** nolu bileşik 93% verimle elde edilir. e.n. 123 °C. IR (KBr) 3397 cm⁻¹ (NH₂). ¹H NMR (CDCl₃); δ 1.35 ppm (s, 36 H, Bu^t), 3.81 (d, 8 H, ²J(H,H) =6.2 Hz, Ar-CH₂-Ar); 5.16 (d, 8H, ²J(H,H) =13.1 Hz, Ar-OCH₂), 5.32 (brs, 4H, NH₂) 6.56 (m, 8 H, 4-aminofenil-H_{2,6}); 7.08-7.38 (brm, 18 H, ArH). Hesaplanan: C₇₂H₈₂N₂O₄: C, 83.20; H, 7.95; N, 2.70. Bulunan: C, 83.25; H, 7.69; N, 2.60.



Şekil 3.6 5,11,17,23-ter-bütil-25,27-bis-(4-aminobenziloksi)-26,28-dibenziloksikaliks[4] aren
(6)

3.3 Sentezlenen Bileşiklerin Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi

Bu çalışmada sentezlenen bileşiklerin, 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (**1**); 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütil-25, 27-bisbenziloksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren (**2**); 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütil-25,27-bis(benziloksi)-26,28-diasetoniloksikaliks[4]aren (**3**); 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütil-25,27-bis(benziloksi)-26,28-karbonilmetoksikaliks[4]aren (**4**); 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütil-25,27-bis-(4-nitrobenziloksi)- 26, 28-dibenziloksikaliks[4]aren (**5**); 5,11,17,23-*ter*-bütil-25,27-bis-(4-aminobenziloksi)-26,28-dibenziloksikaliks[4]aren (**6**) bileşiklerinin antimikrobiyal aktiviteleri yönünden incelemeleri yapılmıştır. Bunun için gram (-) bakterilerden *E.coli* ve gram (+) bakterilerden ise *S.aureus*, sporlu bakteri *Bacillus subtilis*, kapsüllü bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida glabrata* mayası kullanıldı. Bu testlerde kullanılan standart suşlar, Uşak Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu

Tıbbi Hizmetler Ve Teknikler Bölümü Araştırma Laboratuvarı' ndan temin edildi ve çalışmada aynı laboratuvarıda gerçekleştirildi.

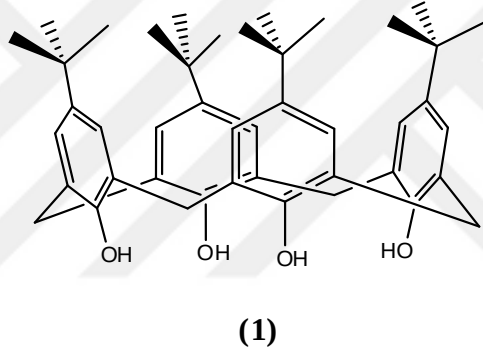
Çalışmada kullanılan test bakterileri Nütrient Broth sıvı besiyeri ortamında 37 °C' de 24 saat inkübe edilerek aktifleştirildikten sonra 0.5 Mac Farland (10^8 mikroorganizma / ml) bulanıklığına göre hücre yoğunlukları ayarlandıktan sonra antimikrobiyal aktiviteyi saptamak için kullanılmıştır. Bu amaçla steril eküvyon çubukları bakteri içeren besiyerine daldırılarak Müller Hinton Agar (MHA)lı petri kaplarına tüm yüzeyi kaplayacak şekilde ekim yapılmıştır. 0.05 gr test maddesi 100 µl kloroform içerisinde süspanse edildikten sonra 20 µl olacak şekilde ayrı ayrı disklerle emdirilmiştir. Diskler petri plakları üzerine yerleştirilerek 24 saat 37°C' de inkübasyona bırakılmıştır. inkübasyon süresi sonunda disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonları ölçülmüştür. Ayrıca negatif kontrol olarak metanol, pozitif kontrol olarak VA; Vankomisin, C; Kloramfenikol; P; Penisilin; TE; Tetrasiklin, E; Eritromisin kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Kaliksaren Bazlı İyonoforların Sentezi

Bu çalışmada amaç fenolik oksijenlerden fonksiyonlandırılan *p-ter*-bütikaliks[4]arenlerin literatüre göre sentezi ve bunların çeşitli bakteri ve mantarlara karşı antimikrobiyal özelliklerinin araştırılmasıdır.

Çalışmaya başlangıç maddesi olarak kullanılan *p-ter*-bütikaliks[4]aren (1) literatürdeki (Gutsche 1990) metodlara *p-ter*-bütülfenol ve formaldehitin NaOH varlığındaki kondensasyon reaksiyonuna göre sentezlenerek başlandı.



Şekil 4.1 *p-ter*-bütikaliks[4]aren

Daha sonra bu *p-ter*-bütikaliks[4]aren bileşiği farklı sübstitüentler kullanılarak fonksiyonlandırıldı. Bunun için *p-ter*-bütikaliks[4]aren bileşiği benzil bromür ile asetonitrilin çözücü olduğu ortamda K_2CO_3 ' in baz olarak kullanılması ile etkileştirilerek *p-ter*-bütıl-25, 27-bis- (benziloksi)-26, 28-dihidroksi kaliks[4]aren (2) elde edildi (Tabakçı 2004). Reaksiyon takibi İTK ile yapıldı.

2 nolu bileşiğe ait NMR spektrumu sonuçlarına bakıldığında bileşiğin konformasyonuna ait bilgi elde edilebilir. Buna göre; 3,26 ve 4,41' de gözlenen Ar-CH₂-Ar protonlarına ait bir çift dublet pikin gözlenmesiyle yapının koni konformasyonuna sahip olduğu belirlendi.

Elde edilen 2 nolu bileşik NaH varlığında susuz THF' in çözücü olduğu ortamda metil bromasetat ile etkileştirilerek (3) nolu bileşik elde edildi. Reaksiyon takibi ITK ile yapıldı ve FT IR' da 1770 cm^{-1} civarında ester karbonil (C=O) grubuna ait keskin pikin oluşmasıyla reaksiyonun gerçekleştiği anlaşıldı.

2 nolu bileşik yukarıda 3 nolu bileşiğin elde edilme metoduna benzer şekilde bu sefer bromaseton ile etkileştirilerek %68 verimle (4) nolu bileşik elde edildi. Reaksiyon takibi yine ITK ile yapıldı ve FT IR'da 1758 cm^{-1} deki keton karbonil (C=O) grubuna ait keskin pikin oluşmasıyla reaksiyonun gerçekleştiği anlaşıldı.

2 nolu bileşik literatüre uyarlanarak (Gutsche 1983) NaH' ün varlığında susuz THF: DMF' in çözücü olarak kullanılmasıyla p-nitro benzil bromür ile etkileştirilerek *p-ter*-bütıl-25, 27-bis-(4-nitrobenziloksi)-26,28-dibenziloksi kaliks[4]aren (5) elde edildi. Reaksiyonun tamamlanıp tamamlanmadığı ITK ile takip edildi. Ayrıca fenolik oksijenlere ait 3200 cm^{-1} deki geniş pikin kaybolmasıyla ve 1500 cm^{-1} de NO_2 grubuna ait pikin oluşmasıyla reaksiyonun gerçekleştiği anlaşıldı.

Daha sonra 5 nolu bileşiğin yapısında bulunan $-\text{NO}_2$ grupları amin grubuna ($-\text{NH}_2$) indirgendi. Bu amaçla literatüre (Akkuş 2002) göre 5 nolu bileşiğin Etılasetat: Metanol (2:1) karışımındaki çözeltisine Raney-Ni ve hidrazin hidrat ($\text{N}_2\text{H}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$) ile etkileştirildi. Böylece % 71 verimle *p-ter*-bütıl-25,27-bis-(4-aminobenziloksi)-26,28-dibenziloksi kaliks[4] aren (6) sentezlendi.

Reaksiyonun tamamlanıp tamamlanmadığı ITK ile izlendi ve ayrıca IR spektrumunda 1500 cm^{-1} deki bandın ortadan kaybolup 3400 civarındaki NH_2 ' ye ait çift omuzlu pikin oluşmasıyla indirgenme işleminin gerçekleştiği anlaşıldı.

4.2 Antibakterial ve Antifungal Özelliklerin İncelenmesi

Bu çalışmada mikroorganizma türlerinden *S.aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida glabrata*, ve *E.coli* kullanıldı.

4.3 Disk difüzyon yöntemi

1, 2, 3, 4, 5 ve 6 numaralı bileşiklerin doymuş çözeltisi (10 µL) 6 mm çapında boş steril disklerle emdirilmiştir. Bakteri kültürleri 0.5 Mc Farland (McF)' a gelinceye kadar Nutrient Broth (NB)' da 37°C' da inkübasyona bırakılmıştır. 0,5 Mc Farland standardına göre ayarlanan bakteri süspansiyonları agar besiyeri bulunan petri kaplarına steril pamuklu silgiçler kullanılarak ekilmiştir. Bakteri ekimleri yapılan diskler besiyerinin (Nutrient Agar) yüzeyine yerleştirilerek oda sıcaklığında yarım saat bekletilip 24 saat 37°C' da inkübasyona maruz bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda petri kaplarında oluşan zon çapları ölçülmüştür.

Eğer bileşik toksik özellikte ise, örneğin etrafında mikrobiyal gelişimi inhibe edecek böylece mikroorganizmaların çoğalması duracak ve zonlar oluşacaktır. Difüzyonla oluşan bu zon genişlikleri çalışmada kullanılan bileşiğin antibakteriyel ya da antifungal etkisinin olup olmadığını göstermektedir. Üreme süresinin sonunda bu zon çapları milimetrik bir cetvel yardımıyla ölçülerek Çizelge 4.1' de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Disk difüzyon yöntemi sonucunda oluşan inhibisyon zon çapları (mm)

Mikroorganizma	Pozitif Kontrol					1	2	3	4	5	6
	VA(30)	P(10)	C(30)	E(15)	TE(30)						
<i>S.aureus</i> ATCC25923	21	33	22	17	27	-	-	12	22	11	-
<i>Bacillus subtilis</i>	26	27	29	30	23	-	11	-	-	-	12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	-	-	-	15	17	-	-	13	13	12	-
<i>Candida glabrata</i>	-	-	-	-	-	-	7	10	9	12	-
<i>E.coli</i> ATCC35218	15	11	9	-	28	-	-	10	11	12	-

VA; Vankomisin, C; Kloramfenikol; P; Penisilin; TE; Tetrasiklin, E; Eritromisin PK; Pozitif Kontrol

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

5.1 Sentez Çalışmaları

Bu çalışmada 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren **(1)**; 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütil-25,27-bisbenziloksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren **(2)**; 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütil-25,27-bis(benziloksi)-26,28-diasetoniloksikaliks[4]aren **(3)**; 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütil-25,27-bis(benziloksi)-26,28-karbonilmetoksikaliks[4]aren **(4)**; 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütil-25,27-bis-(4-nitrobenziloksi)-26,28-dibenziloksikaliks[4]aren **(5)**; 5,11,17,23-*ter*-bütil-25,27-bis-(4-aminobenziloksi)-26,28-dibenziloksikaliks[4]aren **(6)** bileşiklerinin literatürdeki metotlara göre sentezlenmesi ve bu bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin incelenmesi gerçekleştirilmiştir.

Bunun için önce, başlangıç maddesi olarak kullanılan 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütilkaliks[4]aren **1** bileşiği sentezlendi (Gutsche 1990).

Bu *p-ter*-bütilkaliks[4]aren bileşiği fenolik-O' leri üzerinden farklı fonksiyonel gruplarla fonksiyonlandırılarak önce disüstitüe kaliks[4]aren bileşikleri daha sonra kalan diğer fenolik-O' ler tekrar fonksiyonlandırılarak tetra süstitüe kaliks[4]aren türevleri elde edildi. İlk bileşik **2** literatüre göre sentezlendi (Tabakçı 2004). Reaksiyonun tamamlandığı İTK' da başlangıç bileşiğinin kaybolmasıyla anlaşıldı. Elde edilen **2** nolu bileşiğin NMR spektrum değerlerine bakıldığında koni konformasyonda olduğu görülmektedir. Çünkü bu bileşiğin NMR spektrumunda Ar-CH₂-Ar protonlarına ait 3,26 ve 4,41' de bir çift dublet piki bulunmaktadır.

3 nolu bileşik yine literatüre göre sentezlendi (Karaküçük 2004). Reaksiyon takibi İTK ile yapıldı. Ayrıca FT IR' da 3300 cm⁻¹ deki fenolik-OH pikinin kaybolup 1770 cm⁻¹ civarında ester karbonil (C=O) pikinin oluşmasıyla reaksiyonun gerçekleştiği anlaşıldı.

4 nolu bileşik, yukarıda **3** nolu bileşiğin elde edilme metoduna benzer şekilde literatüre göre sentezlendi (Karaküçük 2004). Reaksiyon takibi yine İTK ile yapıldı ve FT IR' da

3300 cm⁻¹’ deki fenolik-OH pikinin kaybolup 1758 cm⁻¹’ deki keton karbonil (C=O) grubuna ait pikin oluşmasıyla reaksiyonun gerçekleştiği anlaşıldı.

5 nolu bileşik literatüre göre elde edildi (Akkuş vd. 2009). Reaksiyonun tamamlanıp tamamlanmadığı İTK ile takip edildi. Ayrıca fenolik oksijenlere ait 3300 cm⁻¹’ deki geniş pikin kaybolmasıyla ve 1500 cm⁻¹’ de NO₂ grubuna ait pikin oluşmasıyla reaksiyonun gerçekleştiği anlaşıldı.

6 nolu bileşiğin yapısında bulunan -NO₂ grupları literatüre göre amin grubuna (-NH₂) indirgendi (Akkuş 2002). Reaksiyonun takibi İTK ile yapıldı. Ayrıca FT IR spektrumunda 1500 cm⁻¹’ deki bandın ortadan kaybolup 3400 civarındaki NH₂’ ye ait çift omuzlu pikin oluşmasıyla indirgenme işleminin gerçekleştiği anlaşıldı.

5.2 Antimikrobiyal Çalışmalar

Bu çalışmada sentezlenen bileşiklerin, antimikrobiyal etkiye sahip olup olmadıklarını görmek için, mikrobiyal çalışmaları yapıldı. Bunun için mikroorganizma türlerinden *S.aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida glabrata*, ve *E.coli* kullanıldı. Örneklerle karşılaştırma amaçlı olarak pozitif kontrol antibiyotiklerinden (vankomisin, kloramfenikol, penisilin, tetrasiklin, eritromisin) kullanıldı. Çalışılan bileşik toksit özelliğe sahip olduğunda bu bileşiğin etrafında mikroorganizmaların çoğalması duracak ve zonlar oluşacaktır. Difüzyonla oluşan bu zon genişlikleri çalışmada kullanılan bileşiğin antibakteriyel ya da antifungal etkisinin olup olmadığını göstermektedir.

Çizelge 4.1’ deki verilen değerlerden, maddelerin 7-14 mm inhibisyon zon çapları ölçülmüştür. Maddelerin zon çapları ne kadar büyükse o oranda antimikrobiyal etki göstermektedir. Maddelerin inhibisyon zon çapları pozitif kontrol antibiyotikleri (vankomisin, kloramfenikol, penisilin, tetrasiklin, eritromisin) ile kıyaslandığında, bazı maddelerin bazı bakterilere karşı güçlü antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir. Çizelge 4.1’ e bakıldığında; başlangıç maddesi olarak sentezlenen 5,11,17,23-tetra-ter-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (1)’ in hiç bir bakteri türüne karşı

antibakteriyal özelliğinin olmadığı görülmektedir. 5,11,17,23-tetra-ter-bütil-25,27-bisbenziloksi-26,28-dihidroksikaliks[4]aren (2) bileşiğın de bakterilere karşı yine önemli ölçüde etkili olmadığı gözlemlendi. Sentezlenen 3 nolu bileşiğın *S.aureus* bakterisine karşı pozitif kontrol olarak kullanılan vankomisin, kloramfenikol ve tetrasiklin kadar antimikrobiyal etki gösterdiği görülmektedir. *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı 3, 4 ve 5 nolu bileşiklerin oldukça etkili olduğu görülmektedir. *Candida glabrata* türüne karşı pozitif kontrol olarak kullanılan antibiyotiklerin hiçbir etkisi gözlenmezken 2, 3, 4 ve 5 numaralı bileşiklerin antimikrobiyal etkisi görülmektedir. 2 ve 6 nolu bileşiklerin diğerk hiçbir bakteriye karşı etkisi görölmezken *Bacillus subtilis* bakterisine karşı az da olsa etkili oldukları görülmektedir. *E.coli* türüne karşı yine 3,4 ve 5 numaralı bileşiklerin kloramfenikol ve penisilin kadar etkili olduğu görülmektedir.

Elde edilen sonuçlar literatürle uyum halindedir. Yapılan başka bir çalışmada ise tetra-*p*-guanidinoetil-kaliks[4]aren ve bunun disüstitüe eter türevlerinin 2,20-bitiyazol veya 2,20-bipiridil metil grupları ile *p*-guanidinoetil fenol ve türevleri sentezlenmiştir. Daha sonra bu bileşiklerin gram pozitif ve gram negatif referans bakterilerine karşı antibakteriyal özellikleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda sentezlenen fenolik bileşik türevlerinin kaliksaren türevlerinden daha düşük aktivite göstermiştir (Mourer *et al.* 2009).

Mourer ve arkadaşlarının yapmış oldukları diğerk bir çalışmada ise çeşitli poli yüklü kaliks[4]aren türevlerinin H37Rv bakterisine karşı anti-mikrobiyal özelliklerini incelemişlerdir. Sülfonat karboksilat ve fosfonat anyonik türlerinin hiçbir i aktivite göstermezken süstitüe olmayan 5,50-dimetil-2,20-bipiridil türevlerinin mikro seviyede aktif olduğunu gözlemlemişlerdir (Mourer *et al.* 2012).

Benzer bir çalışma Akkuş ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (Akkuş vd. 2015). Araştırmacılar burada primidiltioamit fonksiyonel grubu taşıyan *p*-ter-bütilkaliks[4]aren sentezleyerek bununmikrobiyal aktivite çalışmasını yapmışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre; bu bileşiğın *Salmonella typhimurium* NRRLB 4420, *Bacillus cereus*

ATCC 11778, *Stapylococcus aureus* MRRL B767, *Bacillus subtilis* NRS 744 bakteriler üzerinde iyi bir antibakteriyel etkisi olduğunu gözlemişlerdir.

Yapılan başka bir çalışmada Sayın ve arkadaşları iki yeni flavin süstitüentli kaliks[4]aren bileşiklerini sentezlemişler ve bunların biyolojik aktivite çalışmalarını yapmışlardır (Sayın vd. 2011). Bu çalışmalarının sonucunda her iki bileşiğin de *Escherichia coli* bakterisine karşı önemli bir aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Yapılan başka bir çalışmada Roger ve arkadaşları 57 çeşit kaliksaren türevi üzerinde antimikrobiyal inceleme yapmış ve çalışmaları sonucunda $-SO_3H$ grubu içeren kaliksaren türevlerinden biri olan *p*-sulfonatokaliks[4]aren' in ve aminokarbonil *p*-iPr-kaliks[4]aren' in, *Fusarium solani f. sp. mori* (F.s-26) adlı mantarın büyüme oranını %60-70 oranında engellediğini ortaya koymuştur. *p*-sulfonatokaliks[4]aren' in ise, *Rosellinia necatrix* (R-8) ve *Colletotrichum dematium* (C.d.8901) mantarlarına karşı mükemmel bir seçici antimikrobiyal etkiyi sahip olduğunu ortaya koyarken diğer yandan *Corynebacterium* bakterisine karşı, yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Aminokarbonil *p*-iPr-kaliks[4]aren' in, *Corynebacterium* bakterisine karşı, düşük antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur. *C*-nonylresorcin[4]aren' in *Fusarium solani f. sp. mori* (F.s-26)' mantarı üzerinde güçlü bir etkiye sahip olmadığını ortaya koyarken, *Corynebacterium* bakterisine karşı, düşük antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur. *p*-fenilazokaliks[4]aren' in, *Corynebacterium* bakterisine karşı, düşük antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur (Roger et al. 2001).

Yapılan başka bir çalışmada ise Saba ve arkadaşları 5,11,17,23-tetranitro-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren' i uygun reaksiyonlarla sentezlemiş ve ardından biyolojik aktivitesini incelemişlerdir. 5,11,17,23-tetranitro-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren' in *Escherichia coli* ATCC 8739 bakterisi üzerinde daha etkili olduğunu, bakterinin yayılmasını engellediğini; *Staphylococcus aureus* ATCC 10231 ve *Streptococcus viridans* ATCC 12392 bakterilerine karşı *E. coli*' ye kıyasla daha az etkili olduğunu ortaya koymuştur. 5,11,17,23-tetranitro-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren' in, ayrıca *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Aspergillus flavus*

ATCC 90906 ve *Candida albicans ATCC 32333* isimli 3 mantar üzerinde oldukça etkili olduğunu; 3' ü arasında bir kıyas yapılırsa *A. niger* mantarına karşı daha etkili olduğu ortaya koyulmuştur (Saba *et al.* 2014).

Yapılan başka bir deneysel çalışmada ise Grare ve arkadaşları, para-guanidinoetilkaliks[4]aren' in in vitro antibakteriyel aktivitesi değerlendirilmiş ve kurucu monomeri para-guanidinoetilfenol' ünki ile karşılaştırılmıştır. Yaygın olarak kullanılan bir antiseptik olan hekzamidin ve eski bir antidiyabetik ve anti-trippanozomal bileşik olan synthalin A referans olarak seçilmiştir. Çalışmada kullanılan bakteri türleri ise *Escherichia coli ATCC 25922*, *Staphylococcus aureus ATCC 25923* ve *ATCC 29213*, *Enterococcus faecalis ATCC 29212* ve *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*) belirlenmiş olup para-guanidinoetilfenol ve sentalin A için antibakteriyel aktivitesi gözlenmezken; Buna karşılık para-guanidinoetilkaliks[4]aren ve heksamid' in: hem gram pozitif hem de gram-negatif bakteriler üzerinde geniş bir antibakteriyel spektruma sahip olduğu gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, monomerine göre, para-guanidinoetilkaliks[4]aren' nin geniş spektrumlu yeni bir ajan veya antimikrobiyal kemoterapide yardımcı bir madde olduğu doğrulanmaktadır (Grare *et al.* 2007).

Bu tez çalışmasında elde edilen kaliksaren türevleri ile birlikte yukarıda belirtilen çalışmalar neticesinde elde edilen tetra fonksiyonel kaliks[4]aren bileşikleri bakterilere ve mantarlara karşı, gelecekte yapılacak antimikrobiyal çalışmalarda kullanılabilecek alanı bulabilir. Böylece enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde önemli bir rol oynayan yeni antimikrobiyal ajanlar elde edilerek tedavilerin doğru ve etkin bir şekilde yapılmasına katkı sağlanabilir.

6. KAYNAKLAR

- Anonim, 2011a. Mikroorganizmaların Kültür ve Doğrulama Testleri-I. T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, Yayın No: 725TTT108, Ankara.
- Anonim, 2011b. Antibiyotik Duyarlılık Testi. T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, Yayın No: 725TTT107, Ankara.
- Akkuş, G. U., Memon, S. and Yilmaz, M. (2002). Synthesis of oligomeric calix [4] arene-crowns as novel ionophores for alkali and transition metals. *Polycyclic Aromatic Compounds*, **22(5)**: 1075-1086.
- Akkus, G. U., Memon, S., Sezgin, M. and Yilmaz, M. (2009). Synthesis of calix(aza)crown and its oligomeric analogue for the extraction of selected metal cations and dichromate anions. *CLEAN–Soil, Air, Water*, **37(2)**: 109-114.
- Akkuş, G. U. (2008). Synthesis and selective extractant properties of a calixarene thioether derivative and its oligomeric analogue. *Turkish Journal of Chemistry*, **32(5)**: 635-643.
- Arduini, A., Pochini, A., Raverberi, S. and Ungaro, R. (1984). p-t-butyl-calix[4]arene tetracarboxylic acid. A water soluble calixarene in a cone structure. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, **(15)**: 981-982.
- Argudin MA, Mendoza MC. and Rodicio MR. (2010). Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*. **2**: 1751-1773.
- Asfari, Z., Bilyk, A., Bound, C., Harrowfield, J. M., Koutsantonis, G. A., Lengkeek, N. and Vicens, J. (2004). Factors influencing solvent adduct formation by calixarenes in the solid state. *From The Journal Organic & Biomolecular Chemistry*, **2(3)**: 387-396.
- Bauer, L. J. and Gutsche, C. D. (1986). Calixarenes Part 15. The formation of complexes of calixarenes with neutral organic molecules in solution. (*Komplexierung von Toluol durch (Ia)*). *Chemischer Informationsdienst*, **17(5)**.
- Böhmer, V. (1995). Calixarenes, macrocycles with (almost) unlimited possibilities. *Angewandte Chemie International Edition in English*, **34(7)**: 713-745.

- Brake, M., Böhmer, V., Krämer, P., Vogt, W., & Wortmann, R. (1993). O-Alkylated p-nitrocalix[4]arenes, synthesis, LB-monolayers and NLO-properties. *Supramolecular Chemistry*, **2(1)**: 65-70.
- Dağ, İ. (2007). Kaspofunginin Candida Glabratanın Klinik İzolatlarına Karşı Vorikonazol, Flukonazol, Itrakonazol Ve Amfoterisin B İle Kombinasyonlarının Time-Kill Metodu, E-Test Metodu (İki Farklı Yöntemle) Ve Disk Difüzyon Yöntemleriyle In Vitro Etkilerinin Değerlendirilmesi. Eskişehir: Yayınlanmış Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Deligöz, H. (1994). Yeni Kaliks[n]arenlerin Sentezi ve Bazı Özelliklerinin İncelenmesi. Konya: Yayınlanmış Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Dhawan, B., Chen, S. I., & Gutsche, C. D. (1987). Calixarenes, 19. Studies of the formation of calixarenes via condensation of p- alkylphenols and formaldehyde. *Die Makromolekulare Chemie: Macromolecular Chemistry and Physics*, **188(5)**: 921-950.
- Faldt, A. (2000). *Synthesis and structure of functional organic molecules: Calix[4]arenes, Trioxatriangulenes and Helicenes*. Risø National Laboratory.
- Girgin, B. (2015). Floresans Özellik Gösteren Yeni Kaliks[4]Aren Bileşiklerinin Sentezi Ve İyon Bağlama Özelliklerinin İncelenmesi. Denizli: Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Pamukale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Grare, M., Mourer, M., Fontanay, S., Regnouf-de-Vains, J.-B., Finance, C. and Duval, R. (2007). In vitro activity of para-guanidinoethylcalix[4]arene against susceptible and antibiotic-resistant gram-negative and gram-positive bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 575-581.
- Groenen, L. C., Ruel, B. H., Casnati, A., Timmerman, P., Verboom, W., Harkema, S. and Reinhoudt, D. N. (1991). syn-1, 2-dialkylated calix[4]arenes: general intermediates in the NaH/DMF tetraalkylation of calix [4] arenes. *Tetrahedron letters*, **32(23)**: 2675-2678.
- Gutsche, C. D. (1987). Calixarenes. *Prog. Macrocyclic Chem*, 93-165.
- Gutsche, C. D. (1989). Monographs in supramolecular chemistry. *Calixarenes. The Royal Society of Chemistry*, **7**: 57-68 London.
- Gutsche, C. D. (1990). p-ter-Butyl Calix[4]arene. *Organic Syntheses*, 234-237.
- Gutsche, C. D. (1990). p-ter-Butyl Calix[6]arene. *Organic Syntheses*, 238-242.

- Gutsche, C. D. (1990). p-ter-Butyl Calix[8]arene. *Organic Syntheses*, 243-246.
- Gutsche, C. D. and Lin, L. G. (1986). Calixarenes. 12. The synthesis of functionalized calixarenes. *Tetrahedron*, **42(16)**: 1633-1640.
- Gutsche, C. D., Dhawan, B., Lewine, J. A., No, K. H. and Bauer, L. J. (1983). Calixarenes 9. Conformational isomers of the ethers and esters of calix[4]arenes. *Tetrahedron*, **39(3)**: 409-426.
- Gutsche, C. D., Dhawan, B., No, H. K. and Muthukrishnan, R. (1981). Calixarenes 4. The synthesis, characterization, and properties of the calixarenes from p-ter-butyl phenol. *J. Am. Chem. Soc.*, 3782-3792.
- Gutsche, C. D., Iqbal, M. and Alam, I. (1987). Calixarenes 20. The Interaction of Calixarenes and Amines. *J. Am. Soc.*, **109(14)**: 4314-4320.
- Gutsche, C. D., Iqbal, M. Stewart, D. (1986). Calixarenes 18. Synthesis procedures for p-ter-butyl calix[4]arene. *J. Org. Chem*, 742-745.
- Karmali MA, Gannon V, Sargeant JM. (2010). Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC). *Vet Microbiol*, **140**: 360-370.
- Knop, A. and Pilato, L. A. (1985). Phenolic resins. *Berlin: Springer Verlag*.
- Mourer, M., Dibama, H.M., Fontanay, S., Grare, M., Duval, R.E., Finance, C., Bernard, J. and De Vains, R. (2009). p-Guanidinoethyl calixarene and parent phenol derivatives exhibiting antibacterial activities. Synthesis and biological evaluation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **17**: 5496–5509.
- Mourer, M., Dibama, H.M., Constant, P., Daffé, M., Bernard, J., Vains, R.D., (2012). Anti- mycobacterial activities of some cationic and anionic calix[4]arene derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **20**: 2035–2041.
- Park, Y. J., Shin, J. M., Nam, K. C., Kim, J. M. and Kook, S. K. (1996). Structure identification of 1,2-disubstituted chiralcalix[4]arene: X-ray and NMR analysis of 25-(3,5-dinitrobenzoyloxy)-26-methoxy-27,28-dihydroxycalix[4]arene. *Bulletin Of The Korean Chemical Society*. **17(7)**: 643-647.
- Roger, L., Masuhiro, T., Donna, W. and Akira, S. (2002). Antimicrobial activity of calixarenes. *C. R. Chimie*, 163-169.

- Saba, M., Shahabuddin, M., Qadeer, K. P., Faryal, K., Tahira, S. K. and Agha, A. N. (2016). Synthesis and antimicrobial activity of p-tetranitrocalix[4]arene derivative. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 554-563.
- Sansone, F., Segura, M. and Ungaro, R. (2001). Calixarenes . *Dodrecht: Kluwer Academic Publishers*, 496-512.
- Sayın, S., Uysal, A. G., Cibulka, R., Stibor, I. and Yılmaz, M. (2011). Synthesis of flavin–calix [4] arene conjugate derivatives. *Helvetica Chimica Acta*, **94**: 481-486.
- Shinkai, S., Mori, S., Tsubaki, T. and Sone, T. (1986). New water-soluble host molecules derived from calix[6]arene. *Tetrahedron Lett*, **25(46)**: 5315-5318.
- Shinkai, S., Mori, S., Koreishi, H., Tsubaki, T. and Manabe, O. (1986). Hexasulfonated calix[6]arene derivatives: a new class of catalysts, surfactants and host molecules. *Journal of the American Chemical Society*, **108(9)**: 2409-2416.
- Sirit, A., Karakucuk, A., Memon, S., Kocabas, E. and Yılmaz, M. (2004). Synthesis and characterization of a novel chiral chromogenic calix[4](azoxa)crown-7. *Tetrahedron: Asymmetry*, **15(22)**: 3595-3600
- Tabakçı, M., Memon, S., Sap, B. and Yılmaz, M. (2004). A Calix[4]arene Derived Dibenzonitrile Receptor Modified at Its “Lower Rim” by a Polymerizable Group . *Journal of Macromolecular Science*, 811-825.
- Uysal, A. G., Al, E. and Korcan, S. E. (2015). Selective extraction of toxic heavy metals and biological activity studies using pyrimidylthioamide functionalised calix[4]arene. *Supramolecular Chemistry*, **27**: 522-526.
- Yakovenko, A. V., Boyko, V. I., Kalchenko, V. I., Baldini, L., Casnati, A., Sansone, F. and Ungaro, R. (2007). N-linked peptidocalix[4]arene bisureas as enantioselective receptors for amino acid derivatives. *The Journal of organic chemistry*, **72(9)**: 3223-3231.

İnternet Kaynakları

1. https://www.google.com.tr/search?q=staphylococcus+aureus+nedir&safe=active&rlz=1C1SQJL_trTR816TR816&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjwir3MjezgAhUO36QKHavbDvYQ_AUIDigB&biw=1396&bih=686#imgrc=3z9sIwND8IZB2M: (06.03.2019)
2. <https://www.laboratuvar.com/gida-analizleri/mikrobiyolojik-analizler/pseudomonas-aeruginosa-tayini> (06.03.2019)
3. <https://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2012/02/128201112107-49.pdf>(25.05.2019)



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Nazmiye ÇAMLI
Doğum Yeri ve Tarihi : MARDİN
İletişim (Telefon/e-posta) : 536 969 1542/ nazmiyecamli@gmail.com

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

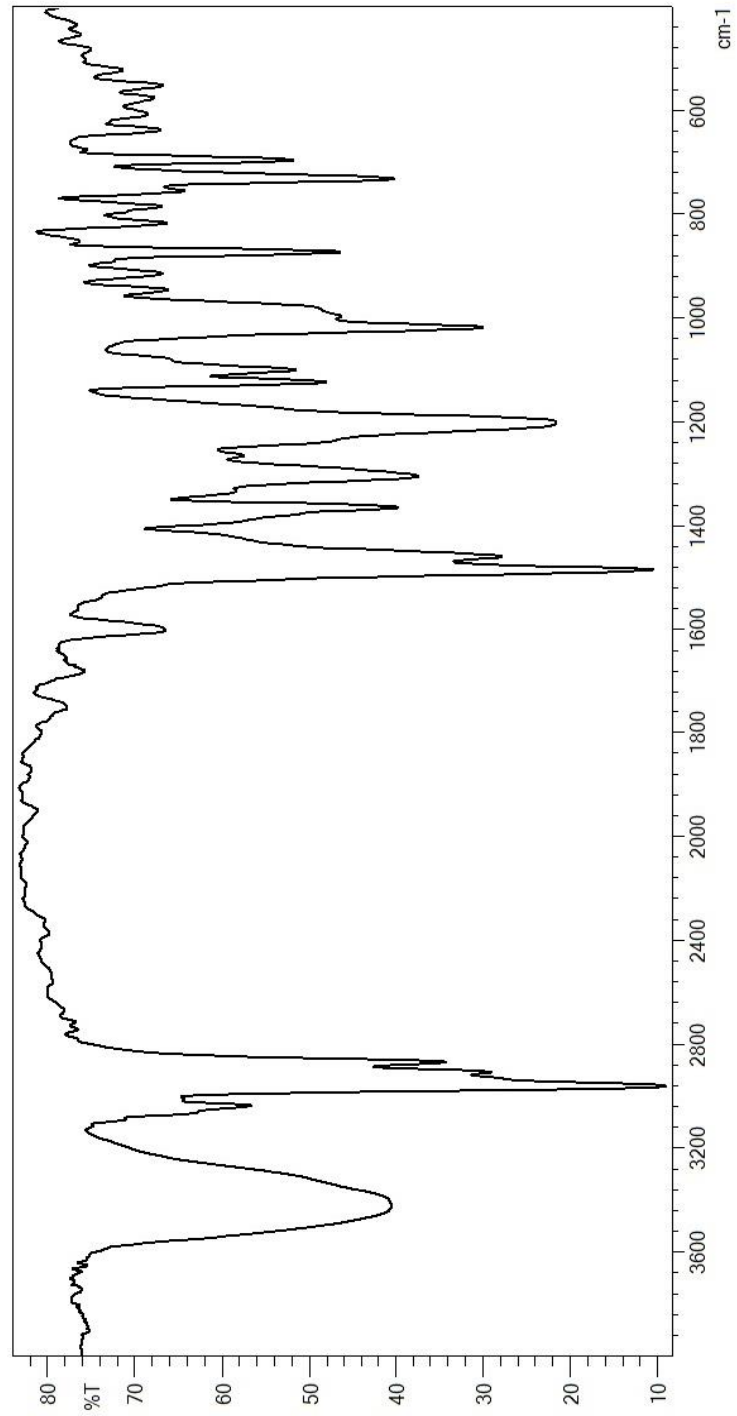
Lise : Afyon Milli Piyango Anadolu Lisesi, (2003-2007)
Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat
Fakültesi, Kimya Bölümü, (2008-2013)



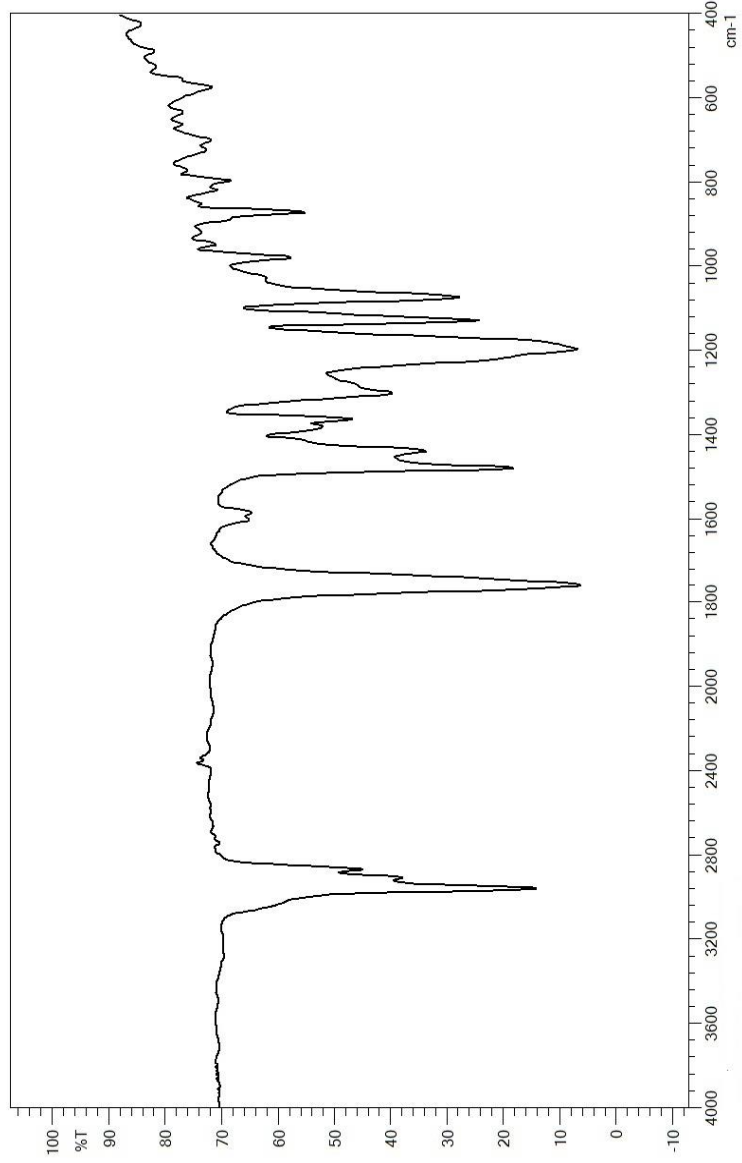
EKLER

EK-1 Sentezlenen Bileşiklere Ait IR Sonuçları

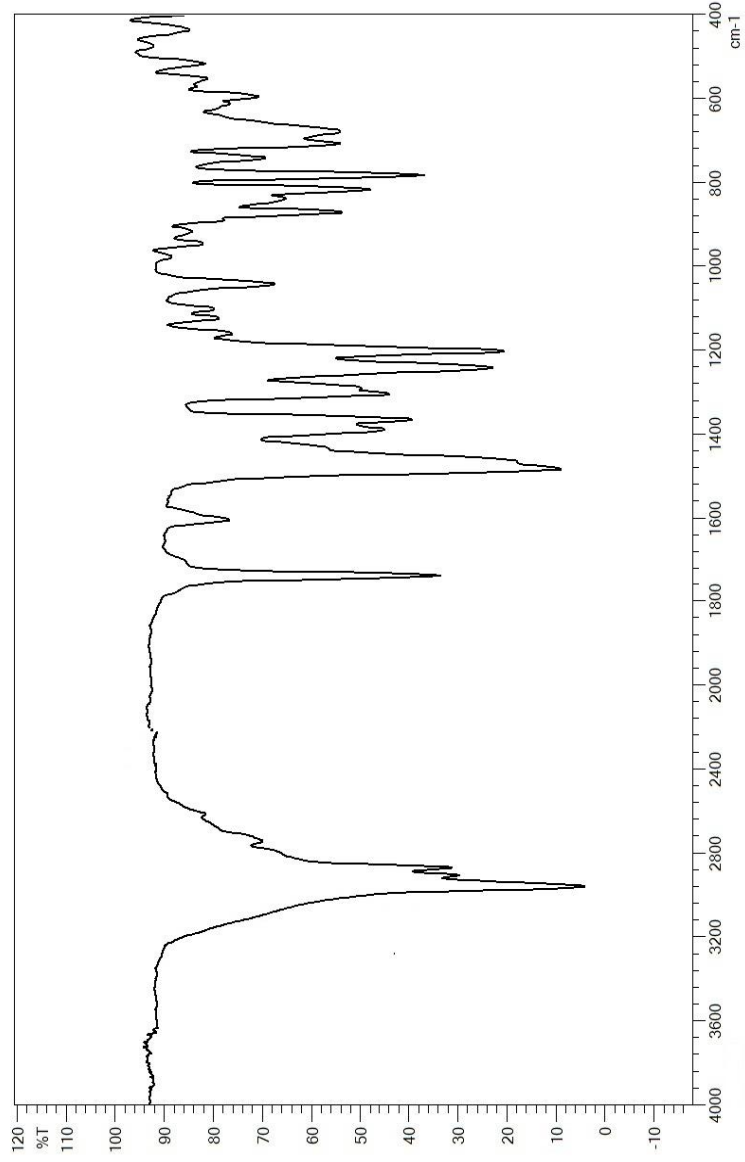
2 nolu bileşik



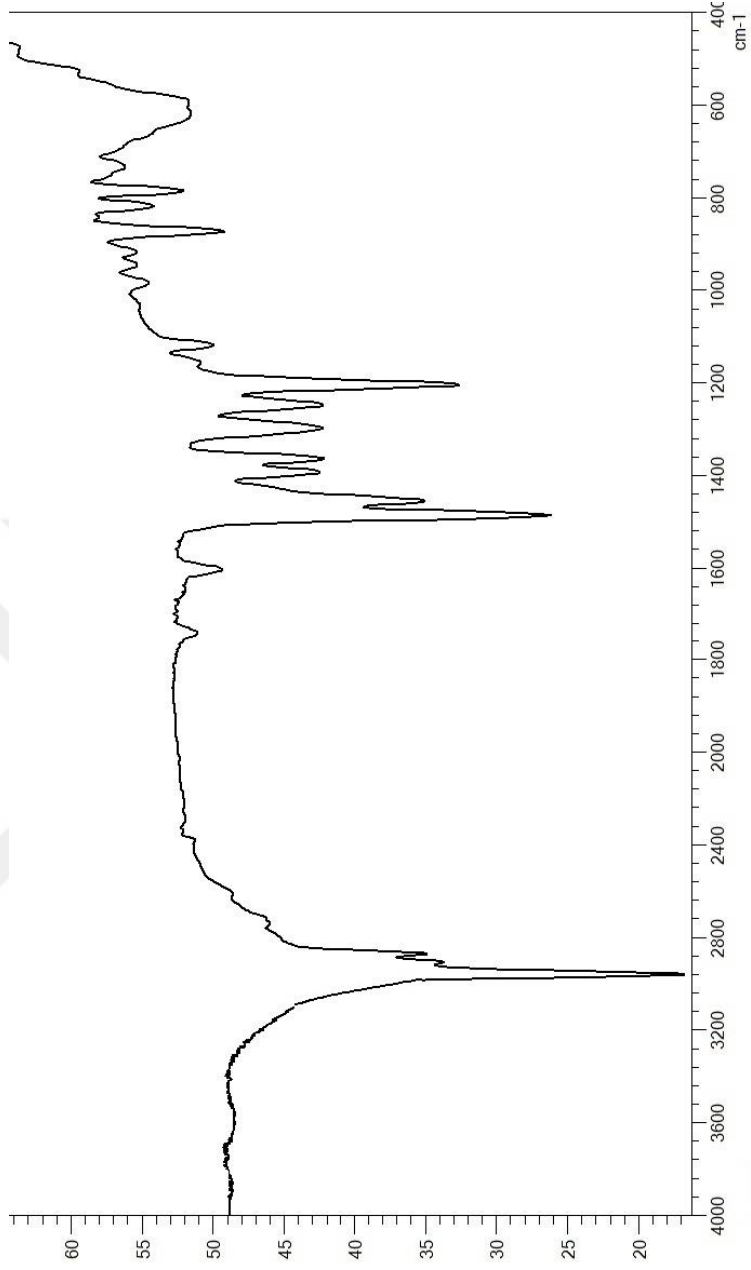
3 nolu bileşik



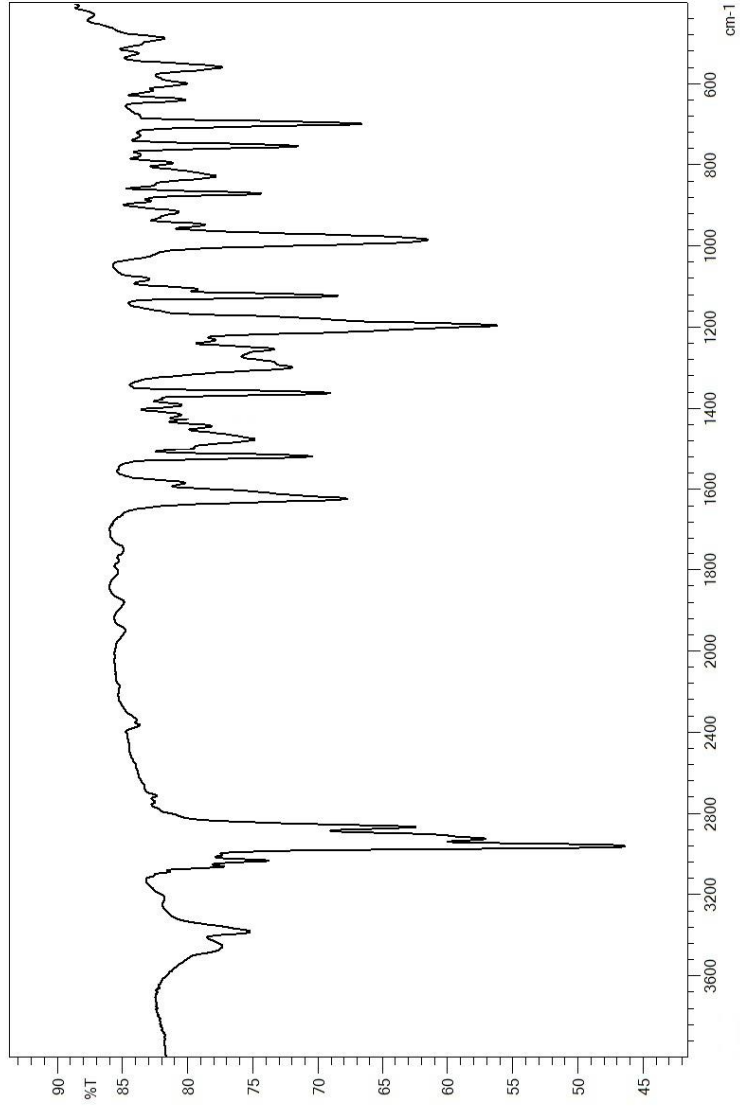
4 nolu bileşik



5 nolu bileşik

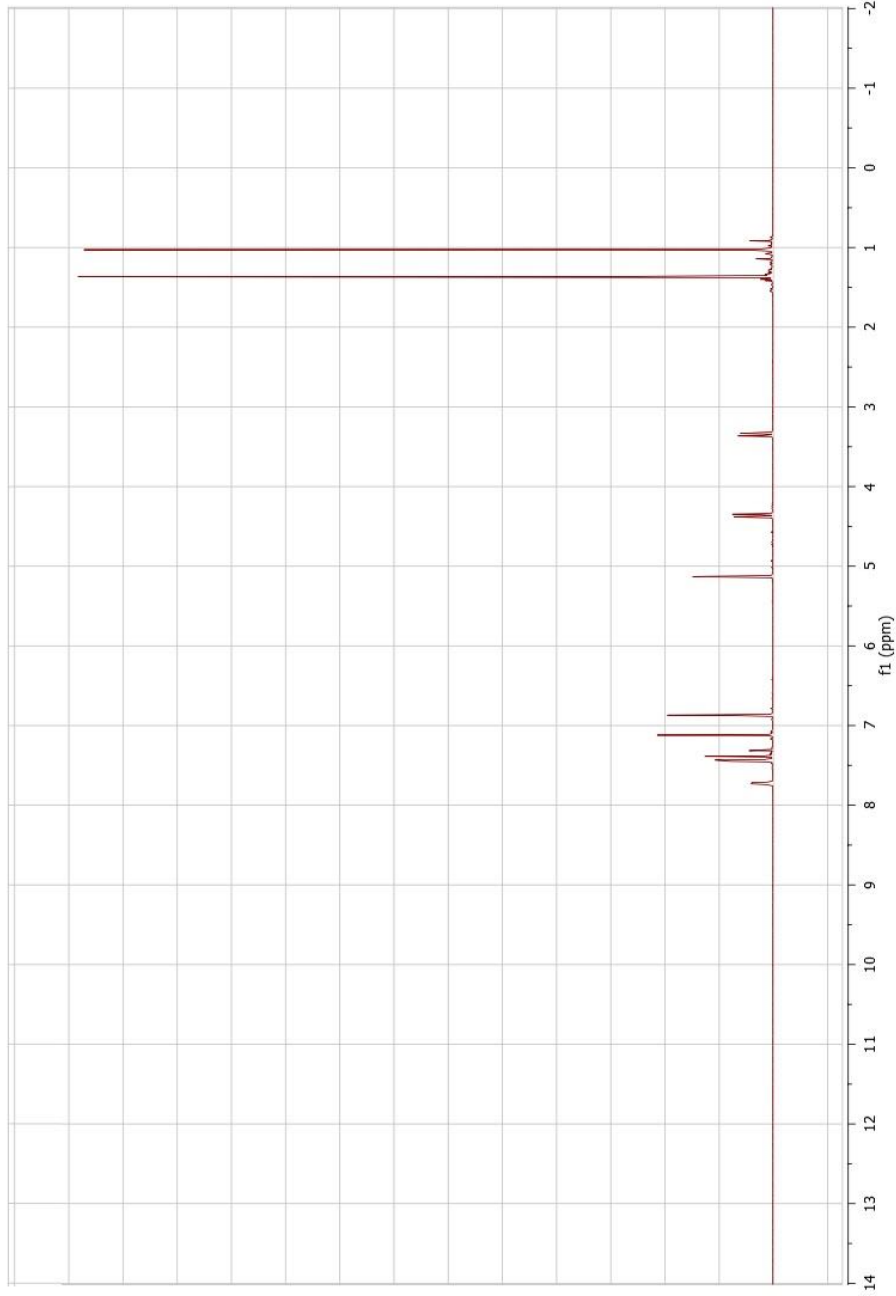


6 nolu bileşik

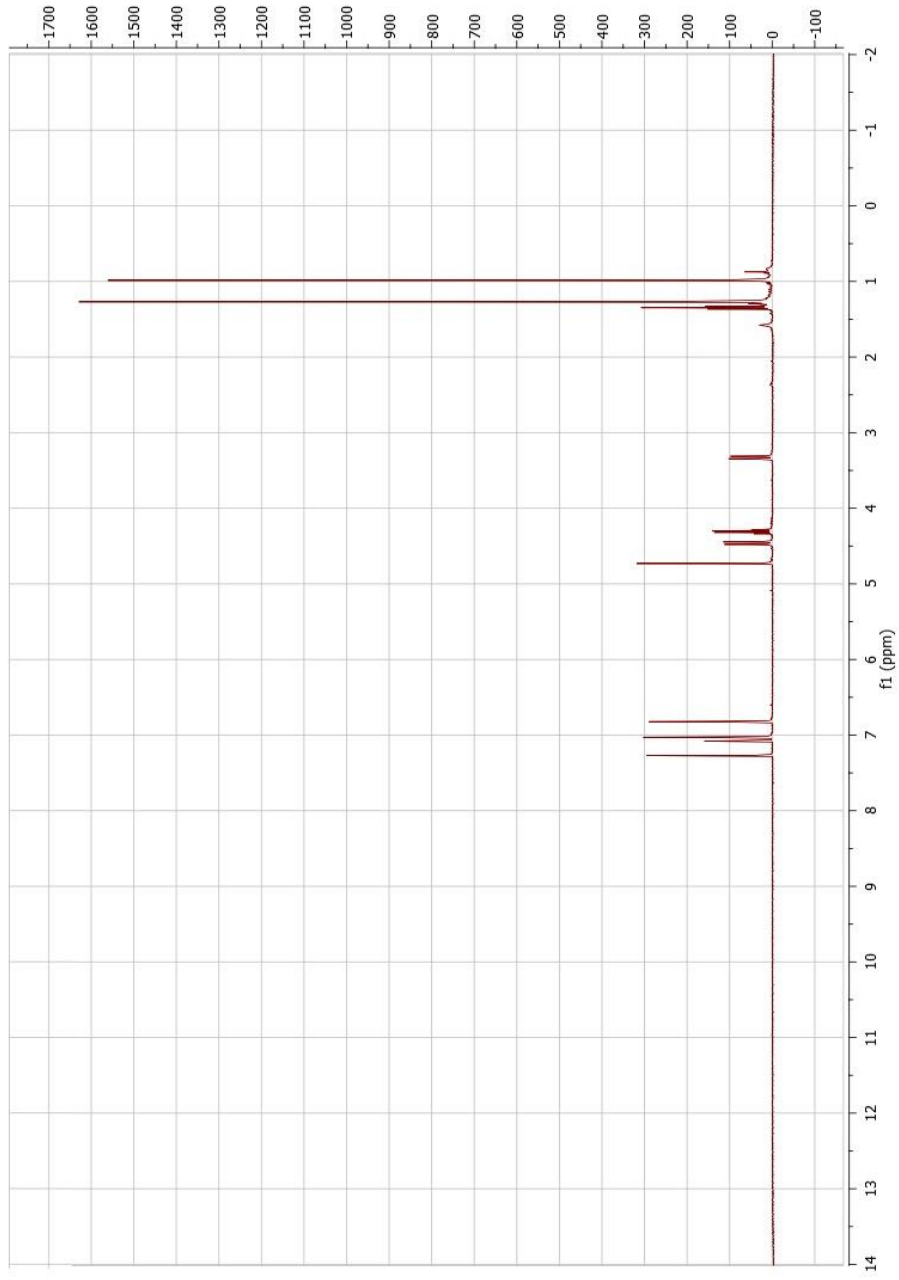


EK-2 Sentezlenen Bileşiklere Ait ^1H NMR Sonuçları

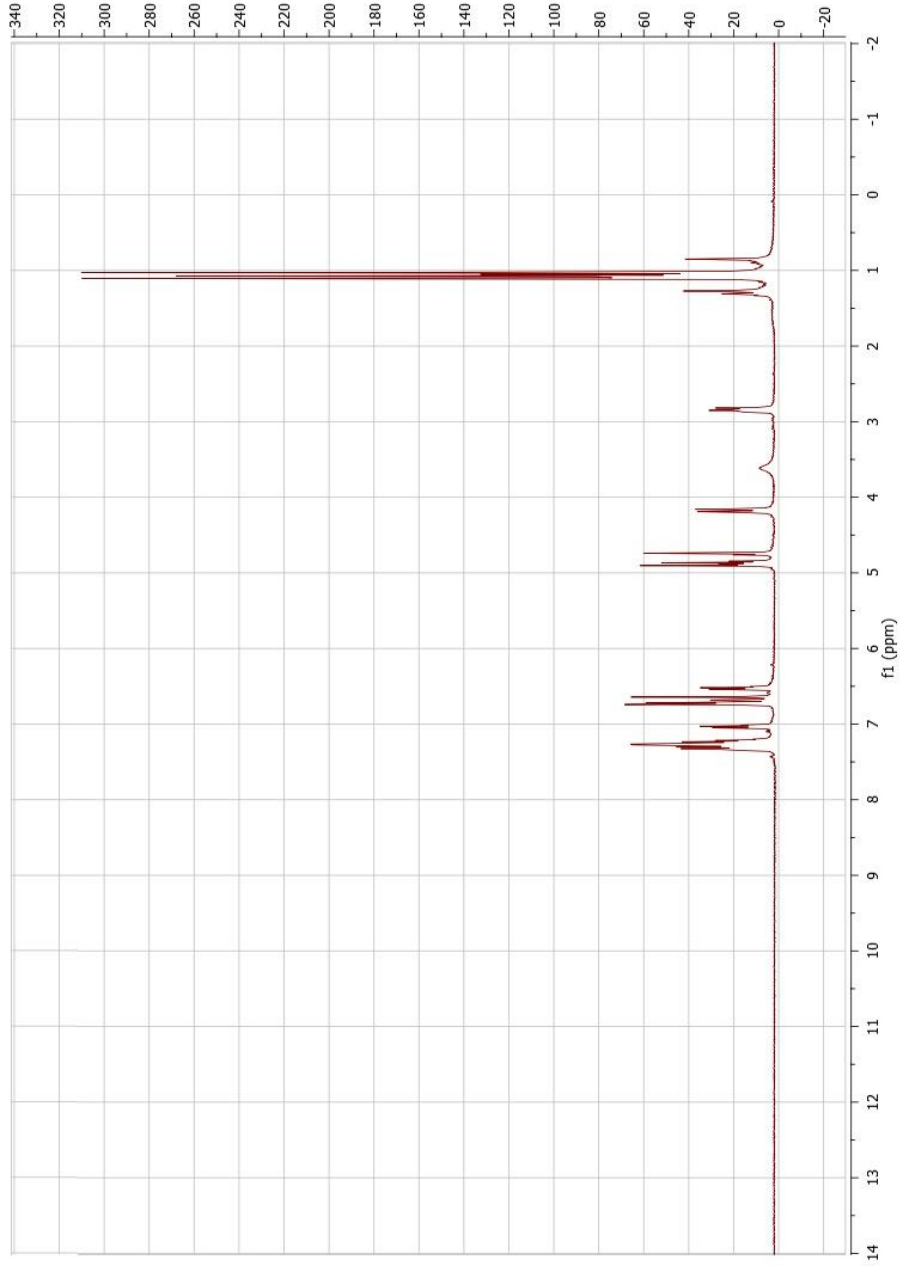
2 nolu bileşik



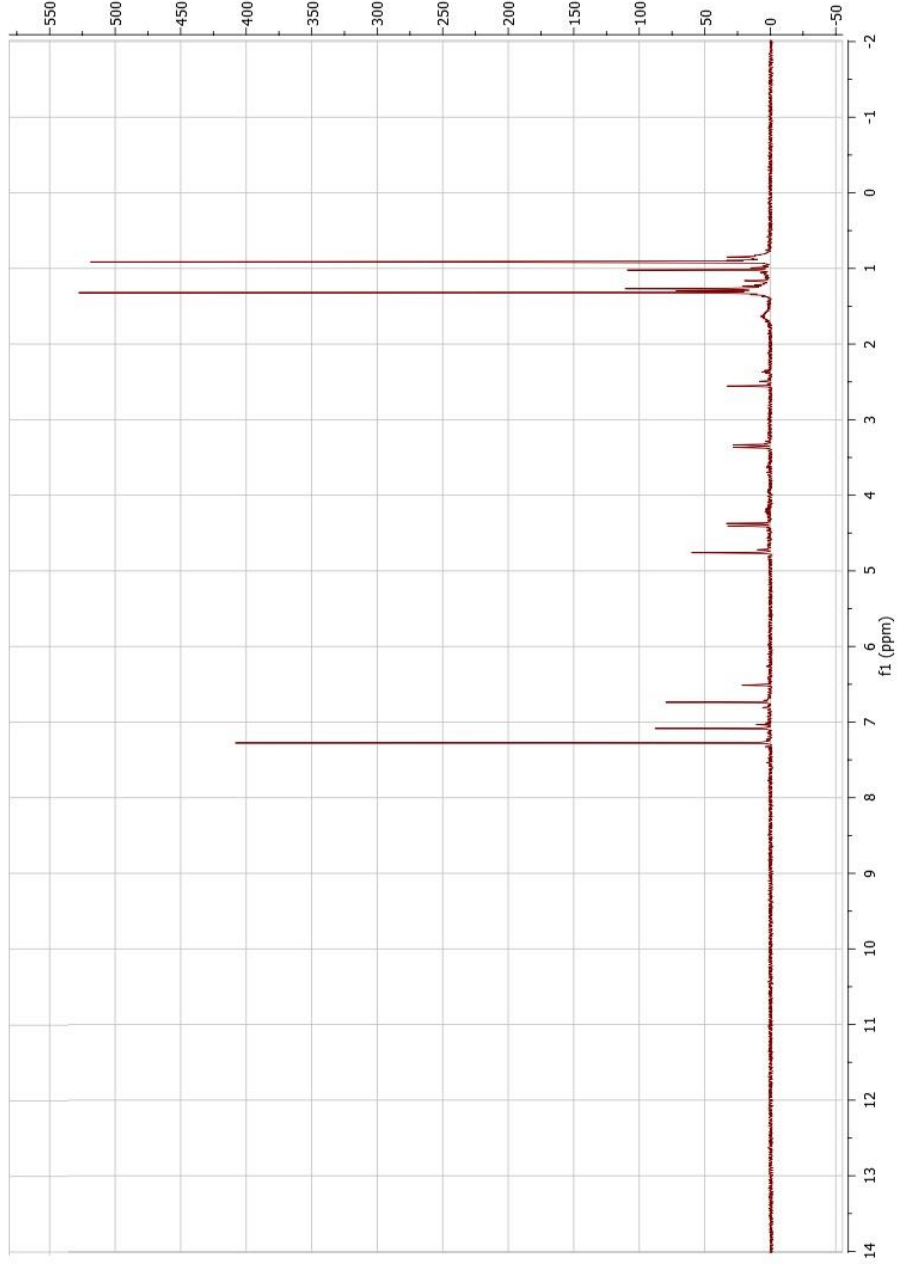
3 nolu bileşik



4 nolu bileşik



5 nolu bileşik



6 nolu bileşik

