



**SALİSİLAMİT ÜZERİNDEN GELİŞTİRİLEN YENİ HİDRAZİT-HİDRAZON
BİLEŞİKLERİNİN SENTEZİ, YAPILARININ AYDINLATILMASI,
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ VE *IN VİTRO* MİKROZOMAL METABOLİZMA
ÇALIŞMALARI**

Yüksek Lisans Tezi

Elif BERBER

Eskişehir 2025

**SALİSİLAMİT ÜZERİNDEN GELİŞTİRİLEN YENİ HİDRAZİT-HİDRAZON
BİLEŞİKLERİNİN SENTEZİ YAPILARININ AYDINLATILMASI BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİ VE *IN VITRO* MİKROZOMAL METABOLİZMA
ÇALIŞMALARI**

Elif BERBER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Kimya Ana Bilim Dalı

Danışman: Prof.Dr. Leyla YURTTAŞ

(İkinci Danışman: Prof. Dr. Mert ÜLGİN)

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Haziran, 2025

Eskişehir

***Bu tez çalışması Anadolu Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi Koordinatörlüğü tarafından 2318 proje numarası ile desteklenmiştir.***

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Elif BERBER'in "SALİSİLAMİT ÜZERİNDEN GELİŞTİRİLEN YENİ HİDRAZİT-HİDRAZON BİLEŞİKLERİNİN SENTEZİ YAPILARININ AYDINLATILMASI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ VE IN VITRO MİKROZOMAL METABOLİZMA ÇALIŞMALARI" başlıklı tezi 23/06/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Kimya Ana Bilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

		<u>Ünvanı Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Danışman)	:	Prof. Dr. Leyla YURTTAŞ	
Üye	:	Prof. Dr. Şeref DEMİRAYAK	
Üye	:	Dr. Öğr. Üy. Asaf Evrim EVREN	

Prof. Dr. Nafiz Öncü CAN

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖZET

SALİSİLAMİT ÜZERİNDEN GELİŞTİRİLEN YENİ HİDRAZİT-HİDRAZON BİLEŞİKLERİNİN SENTEZİ, YAPILARININ AYDINLATILMASI, BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ VE *IN VİTRO* MİKROZOMAL METABOLİZMA ÇALIŞMALARI

Elif BERBER

Farmasötik Kimya Ana Bilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Haziran 2025

Danışman: Prof. Dr. Leyla YURTTAŞ

(İkinci Danışman: Prof. Dr. Mert ÜLGEN)

Salisilamidler, antienflamatuvar ve analjezik etkisi bilinen bileşiklerdir. Antibiyotik direnci ve antimikrobiyal bileşiklerin mikroorganizmalara etkisiz kalması sonucu, yeni antimikrobiyal bileşiklere ihtiyaç ortaya çıkmıştır. Bu ihtiyaç üzerine salisilamid türevi moleküllerin antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Bu tez kapsamında, salisilamidin-O hidrazit-hidrazon esterleri (**3a-3k**) sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapıları, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, infrared spektroskopisi ve kütle spektroskopisi ile aydınlatılmıştır. Sentezlenen bileşik serisinin antimikrobiyal ve antifungal aktivitesi, gram pozitif, gram negatif bakteri ve funguslara karşı araştırılmıştır. Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) araştırıldığında; gram negatif bakterilerden *E. coli*'ye karşı (Azitromisin <0.97 µg/mL MİK) **3a** bileşiği 7.81 µg/mL MİK değeri; gram pozitif bakterilerden *S. aureus*'a karşı (Azitromisin <0.97 µg/mL MİK) **3a, 3b, 3c, 3d, 3f, 3h, 3n** bileşikleri 15.75 µg/mL MİK değerinde antibakteriyel etki göstermiştir. En yüksek antifungal aktivite **3a, 3c, 3d, 3n** bileşikleri ile (Vorikonazol 7.81 µg/mL MİK) *C. albicans*'a karşı gözlenmiştir. En yüksek antimikrobiyal etkinin tespit edildiği **3a** bileşiğinin *in vitro* mikrozomal metabolizma çalışmaları yapılmış ve bileşiğin metabolitleri değerlendirilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Salisilamid, Hidrazit-hidrazon, Antimikrobiyal aktivite, *In vitro* mikrozomal metabolizma, Metabolit

ABSTRACT

SYNTHESIS, STRUCTURAL ELUCIDATION, BIOLOGICAL ACTIVITIES, AND *IN VITRO* MICROSOMAL METABOLISM STUDIES OF NEW HYDRAZIDE- HYDRAZONE COMPOUNDS DEVELOPED FROM SALICYLAMIDE

Elif BERBER

Department of Pharmaceutical Chemistry

Anadolu University, Institute of Graduate Education, June 2025

Supervisor: Prof. Dr. Leyla YURTTAŞ

(Co-Supervisor: Prof. Dr. Mert ÜLGEN)

Salicylamides are compounds known for their anti-inflammatory and analgesic effects. Due to the emergence of antibiotic resistance and the ineffectiveness of existing antimicrobial compounds against microorganisms, there has been a need for new antimicrobial agents. In response to this need, the antimicrobial effects of salicylamide-derived molecules have been investigated. Within the scope of this thesis, salicylamide-O-hydrazide-hydrazone esters (**3a–3k**) were synthesized. The structures of the synthesized compounds were elucidated using ¹H-NMR, ¹³C-NMR, infrared spectroscopy, and mass spectrometry. The antimicrobial and antifungal activities of the synthesized compound series were investigated against gram-positive, gram-negative bacteria, and fungi. In terms of minimum inhibitory concentration (MIC); compound **3a** showed an MIC value of 7.81 µg/mL against *E. coli*, a gram-negative bacterium (Azithromycin <0.97 µg/mL MIC µg/mL). Against *S. aureus*, a gram-positive bacterium (Azithromycin <0.97 µg/mL MIC), compounds **3a**, **3b**, **3c**, **3d**, **3f**, **3h**, and **3n** exhibited antibacterial activity with MIC values of 15.75 µg/mL. The highest antifungal activity was observed against *C. albicans* with compounds **3a**, **3c**, **3d**, and **3n** (Voriconazole 7.81 µg/mL MIC). *In vitro* microsomal metabolism studies were conducted on compound **3a**, which exhibited the highest antimicrobial activity, and its metabolites were evaluated.

Keywords: Salicylamide, Hydrazide-hydrazone, Antimicrobial activity, *In vitro* microsomal metabolism, Metabolite

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “Bilimsel İntihal Tespit Programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Elif BERBER

TEŞEKKÜR

Sakinliği ve naifliğiyle bana örnek olan, her zaman çözüm odaklı yaklaşımıyla yol gösteren birinci tez danışmanım Prof. Dr. Leyla Yurttaş’a;

Araştırma görevlisi olarak görev yaptığım Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi’nde, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Başkanlığını ve Dekanlık görevini yürüten; yapıcılığı, alçakgönüllülüğü ve çalışma kültürüyle bana örnek olan ikinci tez danışmanım Prof. Dr. Mert Ülgen’e;

Tez çalışmamın biyolojik aktivite kısmında katkı sağlayan Prof. Dr. Ülküye Dudu Gül’e;

Bilimsel çalışmanın ne kadar düzen ve disiplin gerektirdiğini bana öğreten; bu işin bir ciddiyet meselesi olduğunu ve her gün aynı titizlikle çalışmam gerektiğini fark etmemi sağlayan hocam Prof. Dr. Şeref Demirayak’a;

Sadece emek vermenin yetmeyeceğini; aynı zamanda akılcı düşünmem, sorgulamam ve daima geniş bir perspektiften bakmam gerektiğini öğreten hocam Prof. Dr. Barkın Berk’e;

Derslerde öğrettiği her kuralı ve laboratuvarında yaptığı her uygulamayı “neden” ve “nasıl” sorularıyla anlamamı sağlayan, bana sorgulamayı öğreten hocam Doç. Dr. Zafer Şahin’e;

Karşılaştığım her sorunda kendisine danışabildiğim ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Doç. Dr. Göknıl Pelin Coşkun Şahin’e;

Hem akademik anlamda bana yol gösteren hem de zor zamanlarımda danışabildiğim Arş. Gör. Büşra Işıl Tok’a, Arş. Gör. Erol Akgün’e ve Arş. Gör. Sena Derya Kesik’e;

Tez çalışmam süresince Acıbadem Üniversitesi’ndeki görev paylaşımında uyum içinde çalıştığımız, iş bölümüne bağlılığı ile bana destek olan çalışma arkadaşım Arş. Gör. Tuğçe Çaklılı’ya;

İnandığı amaç uğruna mücadele etmenin ne demek olduğunu bana gösteren, tanıdığım en güçlü savaşçı olan sevgili anneme; ailesi için yıllarca memleketinden uzakta çalışan

fedakâr babama; bana benden daha çok inanan ve zaman zaman ablalık yapan sevgili kardeşime;

Ve bugün olduğum kişi olmamda katkısı olan, iyi ya da kötü iz bırakan, bana ilham veren herkese en içten teşekkürlerimi sunarım.



30/06/2025

ETİK KURUL BELGESİ BEYANNAMESİ

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında, yürütülmesinde, verilerin analizinde Etik Kurul İzni'ne gerek yoktur

Elif BERBER



ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI

Bu tezi hazırlarken (örneğin ChatGPT, Gemini, DALL-E vb.) üretken yapay zekâ programlarından destek aldığımı/almadığımı beyan ederim. Tezin hazırlığı aşamasında üretken yapay zekâ programlarından (örneğin çeviri, bilimsel makale vb.) desteği aldım. Üretken yapay zekâ programlarından aldığım bilgilerin doğruluğunu kontrol ettiğimi bildiririm.

Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Elif BERBER

İÇİNDEKİLER

BAŞLANGIÇ SAYFASI.....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	v
TEŞEKKÜR	vi
ETİK KURUL BELGESİ BEYANNAMESİ	viii
ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI	ix
İÇİNDEKİLER	x
TABLolar DİZİNİ.....	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xx
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 Antimikrobiyal Ajanlar.....	4
2.2. Antimikrobiyal İlaçların Kimyasal Yapılarına Göre Sınıflandırılması	4
2.2.1. β -Laktamlar.....	4
2.2.2. Makrolidler	5
2.2.3. Aminoglikozitler	5
2.2.4. Kinolonlar ve Florokinolonlar	5
2.2.5. Tetrasiklinler	5
2.2.6. Sülfonamidler	5
2.2.7. Nitroimidazoller	5
2.2.8. Glikopeptitler ve Lipoglikopeptitler.....	6
2.2.9. Rifamisinler	6

2.2.10. Oksazolidinonlar	6
2.3. Salisilamitler Hakkında Genel Bilgi.....	7
2.4. Yapısında Salisilamit Taşıyan Bileşiklerin Aktivite Çalışmaları	7
2.5. Hidrazit-Hidrazonlar Hakkında Genel Bilgi	11
2.6. Yapısında Hidrazit-Hidrazon Taşıyan Bileşiklerin Aktivite Çalışmaları .	14
2.7. <i>In vitro</i> Metabolizma Çalışmalarının Önemi	23
2.7.1. Faz I Reaksiyonları.....	23
2.7.1.1. Oksidatif Reaksiyonlar	23
2.7.1.2. Redüktif Reaksiyonlar	24
2.7.1.3. Hidrolitik Reaksiyonlar	24
2.7.2. Faz II Reaksiyonları	24
2.8. Yapısında Hidrazit-Hidrazon Taşıyan Bileşiklerin <i>In vitro</i> Metabolizma Çalışmaları	25
3. GEREÇLER	28
4. YÖNTEMLER	31
4.1. Bileşiklerin Sentezi	31
4.1.1. Etil (2-karbamoilfenoksi)asetat bileşiğinin sentezi (Metot A).....	31
4.1.2. 2-(2-Hidrazinil-2-oksoetoksi)benzamit bileşiğinin sentezi (Metot B) .	31
4.1.3. Hedef bileşiklerin sentezi; 2-(2-{2- [(Süstitüefenil)metiliden]hidrazinil}-2-oksoetoksi)benzamit bileşiklerinin sentezi (Metot C)	32
4.2. İTK Çalışmaları ve Rf Değerlerinin Saptanması	32
4.3. Erime Noktalarının Tayini.....	32
4.4. Infra-red (IR) Spektrumlarının Eldesi	32
4.5. Kütle Spektrumlarının Eldesi.....	32
4.6. Hidrojen Nükleer Manyetik Rezonans (¹ H-NMR) Spektrumlarının Eldesi	33

4.7. Karbon-13 Nükleer Manyetik Rezonans (^{13}C -NMR) Spektrumlarının Eldesi.....	33
4.8. Biyolojik Aktivite Çalışmaları.....	33
4.9. Karaciğer Mikrozomal Preparatının Hazırlanması.....	34
4.10. Standart Kofaktör Karışımları ve Ön İnkübasyon	34
4.11. İnkübasyon	35
4.12. Biyolojik Sistemden Ekstraksiyon ve Buharlaştırma.....	36
5. BULGULAR VE YORUM.....	37
5.1. Sentez Çalışmaları	37
5.1.1. Etil (2-karbamoilfenoksi)asetat (1a).....	37
5.1.2. 2-(2-Hidrazinil-2-oksoetoksi)benzamid (2a).....	37
5.1.3. 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-(fenilmetilen)hidrazit (3a).....	38
5.1.4. 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(4-bromofenil)metilen]hidrazit (3b)	42
5.1.5. 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(4-metilfenil)metilen]hidrazit (3c)	46
5.1.6. 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(4-hidroksifenil)metilen]hidrazit (3d)	50
5.1.7. 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(4-nitrofenil)metilen]hidrazit (3e)	54
5.1.8. 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(3,4-dihidroksifenil)metilen]hidrazit (3f).....	58
5.1.9. 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(4-dimetilaminofenil)metilen]hidrazit (3g)	62
5.1.10. 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(3,4-dimetoksifenil)metilen]hidrazit (3m).....	66
5.1.11. 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(1H-(indol-3-il)metilen]hidrazit (3n).....	70

5.1.12. 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(tiyofen-2-il)metilen]hidrazit (3k).....	74
5.2. Biyoaktivite Çalışmalarına Ait Bulgular	78
5.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisine Ait Bulgular.....	78
5.4. <i>In Vitro</i> Metabolizma Çalışmalarına ait Bulgular	80
5.5. Sentez Çalışmalarının Tartışılması	81
5.6. Spektral Verilerin Tartışılması	82
5.6.1. FT-IR Spektral Verilerinin Tartışılması.....	82
5.6.2. NMR Verilerinin Tartışılması.....	83
5.6.2.1. ¹ H-NMR Verilerinin Tartışılması	83
5.6.2.2. ¹³ C-NMR verilerinin tartışılması	84
5.6.3. MS verilerinin tartışılması	85
5.7. Nihai Bileşiklerin Biyolojik Aktivite Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	85
5.8. En Aktif Molekülün <i>In vitro</i> Metabolizma Çalışmalarının Değerlendirilmesi.....	86
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	88
KAYNAKÇA.....	90
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1. 1 Hedeflenen bileşikler	3
Tablo 2. 1 Salisilamit ve yapısal olarak ilişkili analogların dört <i>Neisseria gonorrhoeae</i> izolatına karşı antibakteriyel aktivitesi.....	9
Tablo 2. 2 Tedavide kullanılan antimikrobiyal etkili hidrazit-hidrazon türevi ilaçlar ...	13
Tablo 3. 1 Tez çalışmasında kullanılan maddeler	28
Tablo 3. 2 Tez çalışmasında kullanılan cihazlar	30
Tablo 4. 1 <i>In vitro</i> inkübasyon testlerinde kullanılan kofaktör bileşimi	35
Tablo 4. 2 <i>In vitro</i> inkübasyon testlerinde hazırlanan tüplerinin içerikleri.....	35
Tablo 5. 1 3a-3k bileşiklerinin MİK (µg/mL) değerleri	78
Tablo 5.2 3a molekülü ve olası metabolitlerinin ayrılmasında kullanılan YBSK sistemindeki alıkonma zamanları.....	79

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2. 1 Fahmy ve El-Araky tarafından sentezlenen salisilamit- <i>O</i> -asetik-hidrazitler ...	7
Şekil 2. 2 Klossa tarafından sentezlenen salisilamit- <i>O</i> -süstitüe hidrazitler.....	8
Şekil 2. 3 Lupea ve ark. tarafından sentezlenen salisilamit türevleri	8
Şekil 2. 4 Kratky ve diğerleri tarafından sentezlenmiş aktivitesi en yüksek molekül.....	9
Şekil 2. 5 Hidrazin, hidrazit ve hidrazit-hidrazon yapıları	11
Şekil 2. 6 Hidrazitten hareketle hidrazit-hidrazon sentezi.....	12
Şekil 2. 7 <i>N'</i> -[(<i>E</i>)-(1-metil-1 <i>H</i> -indol-3-il)metiliden]benzohidrazit ve 4-metoksi- <i>N'</i> -[(<i>E</i>)-(1-metil-1 <i>H</i> -indol-3-il)metiliden]benzohidrazit	14
Şekil 2. 8 <i>N'</i> -[(<i>Z</i>)-fenilmetiliden]benzohidrazit ve (2 <i>E</i>)-3-fenil- <i>N'</i> -[(<i>Z</i>)-fenilmetiliden]prop-2-enhidrazit.....	15
Şekil 2. 9 <i>N'</i> -[(<i>E</i>)-(4-florofenil)metiliden]benzohidrazit	15
Şekil 2. 10 1-Hidroksi- <i>N'</i> -[(<i>E</i>)-(5-nitrofuran-2-il)metiliden]naftalen-2-karbohidrazit ve 3-bromo- <i>N'</i> -[(<i>E</i>)-(5-nitrofuran-2-il)metiliden]benzohidrazit	16
Şekil 2. 11 2-[(1 <i>H</i> -1,3-benzimidazol-2-il)sulfanil]- <i>N'</i> -[(<i>E</i>)fenilmetiliden]asetohidrazit	16
Şekil 2. 12 <i>N'</i> -[(<i>Z</i>)-(2-hidroksi-3,5-diiodofenil)metiliden]piridin-4-karbohidrazit	17
Şekil 2. 13 <i>N'</i> -[(<i>Z</i>)-(3-hidroksifenil)metiliden]benzohidrazit	18
Şekil 2. 14 4-(1 <i>H</i> -1,3-benzimidazol-2-il)- <i>N'</i> -[(<i>Z</i>)-(4-klorofenil)metiliden]benzohidrazit	18
Şekil 2. 15 3-(4-klorobenzen-1-sülfonil)- <i>N'</i> -[(<i>E</i>)-(3-metoksifenil)metiliden]propanhidrazit	19

Şekil 2. 16 5-Nitro- <i>N'</i> -{(Z)-[2-(triflorometil)fenil]metiliden} furan-2-karbohidrazit ve 5-nitro- <i>N'</i> -[(E)-(5-nitrofuran-2-il)metiliden]furan-2-karbohidrazit	19
Şekil 2. 17 <i>N'</i> -{4-[(2Z)-2-benzilidenhidrazin-1-karbonil]fenil}- <i>N'</i> -feniltiyoüre türevi bileşikler.....	20
Şekil 2. 18 <i>N'</i> -[(E)-(2-metoksifenil)metiliden]piridin-4-karbohidrazit	20
Şekil 2. 19 <i>N'</i> -[(Z)-sikloheksilmetiliden]-5-floro-3-fenil-1 <i>H</i> -indol-2-karbohidrazit	21
Şekil 2. 20 <i>N'</i> -[(Z)-(4-klorofenil)metiliden]-4-(triflorometil)benzohidrazit.....	21
Şekil 2. 21 <i>N'</i> -[(E)-(4-kloro-2-okso-2 <i>H</i> -1-benzopiran-3-il)metiliden]-4-metoksibenzohidrazit	22
Şekil 2. 22 Metabolizmanın fazları.....	23
Şekil 2. 23 <i>In vitro</i> ilaç metabolizma çalışmasında izlenecek safhalar	25
Şekil 2. 24 Aldehit türevi hidrazonların <i>in vitro</i> metabolizma sonucu oluşturduğu metabolitler	26
Şekil 2. 25 İzoniazid hidrazonlarının <i>in vitro</i> metabolizma ürünleri.....	27
Şekil 5. 1 Etil(2-karbomoilfenoksi)asetat (1a).....	37
Şekil 5. 2 2-(2-Hidrazinil-2-oksoetoksi)benzamit (2a).....	37
Şekil 5. 3 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-(fenilmetilen)hidrazit (3a)	38
Şekil 5. 4 3a Bileşiğinin IR Spektrumu	39
Şekil 5. 5 3a Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	39
Şekil 5. 6 3a Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spekturumu	40
Şekil 5. 7 3a Bileşiğinin MS Spektrumu	41
Şekil 5. 8 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetikasit-2-[(4-bromofenil)metilen]hidrazit (3b).....	42
Şekil 5. 9 3b Bileşiğinin IR Spektrumu	43

Şekil 5. 10 3b Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	43
Şekil 5. 11 3b Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	44
Şekil 5. 12 3b Bileşiğinin MS Spektrumu	45
Şekil 5. 13 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(4-metilfenil)metilen]hidrazit (3c)	46
Şekil 5. 14 3c Bileşiğinin IR spekturumu	47
Şekil 5. 15 3c Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	47
Şekil 5. 16 3c Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	48
Şekil 5. 17 3c Bileşiğinin MS Spektrumu	49
Şekil 5. 18 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(4-hidroksifenil)metilen]hidrazit (3d)	50
Şekil 5.19 3d Bileşiğinin IR Spektrumu	51
Şekil 5. 20 3d Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	51
Şekil 5. 21 3d Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	52
Şekil 5. 22 3d Bileşiğinin MS Spektrumu	53
Şekil 5. 23 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(4-nitrofenil)metilen]hidrazit (3e)	54
Şekil 5. 24 3e Bileşiğinin IR spekturumu	55
Şekil 5. 25 3e Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	55
Şekil 5. 26 3e Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	56
Şekil 5. 27 3e Bileşiğinin MS Spektrumu	57
Şekil 5. 28 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(3,4-dihidroksifenil)metilen]hidrazit (3f)	58
Şekil 5. 29 3f Bileşiğinin IR Spektrumu	59
Şekil 5. 30 3f Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	59
Şekil 5. 31 3f Bileşiğinin ¹³ C-NMR spekturumu	60
Şekil 5. 32 3f Bileşiğinin MS Spekturumu	61

Şekil 5. 33 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(4-dimetilaminofenil)metilen]hidrazit (3g)	62
Şekil 5. 34 3g Bileşiğinin IR Spektrumu	63
Şekil 5. 35 3g Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	63
Şekil 5. 36 3g Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	64
Şekil 5. 37 3g Bileşiğinin MS Spektrumu	65
Şekil 5. 38 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(3,4-dimetoksifenil)metilen]hidrazit (3m).....	66
Şekil 5. 39 3m Bileşiğinin IR Spektrumu	67
Şekil 5. 40 3m Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	67
Şekil 5. 41 3m Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	68
Şekil 5. 42 3m Bileşiğinin MS Spektrumu	69
Şekil 5. 43 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(1H-(indol-3-il)metilen]hidrazit (3n).....	70
Şekil 5. 44 3n Bileşiğinin IR Spektrumu	71
Şekil 5. 45 3n Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	71
Şekil 5. 46 3n Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	72
Şekil 5. 47 3n Bileşiğinin MS Spektrumu	73
Şekil 5. 48 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(tiyofen-2-il)metilen]hidrazit (3k).....	74
Şekil 5. 49 3k Bileşiğinin IR Spektrumu	75
Şekil 5. 50 3k Bileşiğinin ¹ H-NMR Spektrumu	75
Şekil 5. 51 3k Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	76
Şekil 5. 52 3k Bileşiğinin MS Spektrumu	77
Şekil 5. 53 3a Substratının Olası Metabolizması ve Olası Metabolitleri	79
Şekil 5. 54 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-(fenilmetilen)hidrazit ve Olası Metabolik Ürünlerinin YBSK Kromatogramı	80

Şekil 5. 55 3a Molekülünün Karaciğer Mikrozomal Preparatı Kullanılarak Yapılan İnkübasyon Sonrası Elde Edilen Metabolik Ekstrattan Alınan YBSK Kromatogramı ..	80
Şekil 5. 56 3a Substratının Denatüre Mikrozom ile İnkübe Edilmesi Sonucu Elde Edilen Metabolik Ekstrattan Elde Edilen YBSK Kromatogramı	81
Şekil 5. 57 3a Substratının Kofaktörsüz İnkübasyonu Sonucu Elde Edilen Metabolik Ekstrattan Alınan YBSK Kromatogramı	81
Şekil 5. 58 Tez Ürünlerinin Sentez Şeması	82



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

δ	: Kimyasal Kayma Değeri
ATCC	: Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
ATR	:Azaltılmış Toplam Yansıma
DCM	:Diklorometan
DMSO	:Dimetil Sülfoksit
E.N.	:Erime Noktası
ESI	: Elektrosprey İyonlaştırma
G6P	: Glikoz-6-Fosfat
IR	: Infrared
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
MS	:Kütle Spektrumu
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
NOESY	:Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
ppm	:Parts Per Million
SA	: Standart Antibiyotik
YBSK	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
ZOI	:Zon İnhibisyon Çapı

1. GİRİŞ

Bulaşıcı hastalıklar, yıllardır dünya çapında önde gelen hastalık ve ölüm nedenleri arasında yer almaktadır. 20. yüzyılda antimikrobiyal ajanların tedavide kullanılmaya başlanması, modern tıp için bir dönüm noktası olmuştur. Antimikrobiyal ajanlar sayesinde bakteriyel, fungal ve viral enfeksiyonlardan kaynaklı ölümler önemli ölçüde azalmıştır. Fakat antimikrobiyal ajanların tedavi etkinliği, antimikrobiyal direnç nedeni ile zayıflamıştır ve günümüzde yeni antimikrobiyal ajanların arayışına girilmiştir.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), antimikrobiyal ilaç direncini insanlığın karşı karşıya olduğu en büyük on küresel halk sağlığı probleminden biri olarak sınıflandırmış ve yayınladığı raporlarda, bu problem dikkate alınmadığı takdirde ilaca dirençli enfeksiyonlar nedeni ile 2050 yılına kadar yılda 10 milyon ölüm gerçekleşebileceğini belirtmiştir. Ayrıca DSÖ, antimikrobiyal ilaç direncinin ölüm nedenleri arasında kanseri geride bırakabileceğini belirtmiştir (Prestinaci vd., 2022).

Antimikrobiyal ilaç direncinin oluşturduğu riskin büyüklüğüne bakıldığında yeni antimikrobiyal ajanların keşfi ve geliştirilmesinin son derece önemli olduğu anlaşılır. İlk geliştirilen, bakteri hücre duvarını veya protein sentezini hedef alan geleneksel antibiyotikler günümüzde işlevsiz kalmıştır ve dirençli suşlara karşı etki etmemektedir (Vitiello vd., 2023).

Yeni antimikrobiyal ajanların keşfinin birinci şartı, diğer farmakolojik aktif moleküllerin keşfinde olduğu gibi yeni kimyasal iskeletler ve molekül serilerinin keşfidir. Bu kapsamda öncelikli olarak biyolojik aktifliği yüksek farmakoforlara yönelmek ve bu farmakoforlardan hareketle yeni molekül serileri üretmek sıkça başvurulmuş bir yoldur. Hidrazonlar, heterosiklik halkalar gibi farmakoforlar, geniş bir farmakolojik etki spektrumundan sorumlu olduklarından umut vericilerdir ve antimikrobiyal ilaç direnci problemini çözme potansiyeline sahiptirler.

Yeni antimikrobiyal bileşiklerin keşfi için yapılan çalışmalarda, hidrazit-hidrazon farmakoforu oldukça ilgi görmüştür. Hidrazit-hidrazon yapısı ($-C(O)NH-NH=$), hidrazitler ve aldehitlerin kondenzasyonu sonucu elde edilir. $-C(O)NH-NH=$, fonksiyonel grubunun çok sayıda ilaç-reseptör etkileşimine katılması sayesinde farklı aktif yörelerde etkileşebilme potansiyeli yüksektir (Brum vd., 2020; Popiolek, 2023). Bu durum, hidrazit-hidrazonları yüksek bir aktivite spektrumuna sahip hale getirir.

Bugüne kadar hidrazit-hidrazonların çalışılmış aktiviteleri arasında, antioksidan aktivite, antienflamatuvar etki, analjezik etki, antifungal etki, antimikrobiyal etki, tübülün inhibitörü, antikanser etki, karbonik anhidraz inhibitörü etki bulunur (Popiolek ve Biernasiuk, 2017). Bu aktivitelere bakıldığında hidrazit-hidrazonların, reseptörlerle etkileşimi artırarak farklı biyolojik aktiviteleri destekleyici rol oynadığı düşünülebilir.

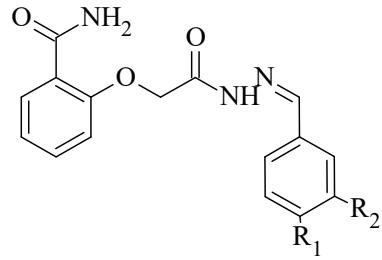
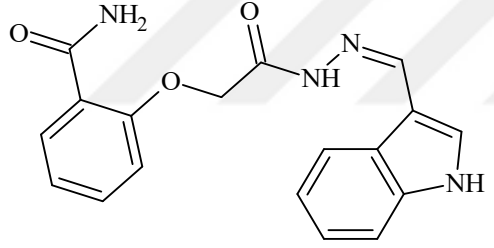
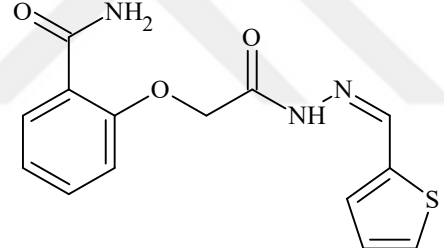
Salisilamit türevlerinin antimikrobiyal aktivitesi son dönemde araştırılan konulardan biridir (Alhashimi vd., 2019). Bu tez kapsamında, salisilamit molekülü, etkili bir farmakofor olan hidrazit-hidrazonlarla türevlendirilerek tablo 1.1'deki molekül serisi sentezlenmiştir ve sentezlenen moleküllerin yapıları spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmıştır. Yapısı aydınlatılan moleküllerin antimikrobiyal aktiviteleri bir dizi gram pozitif, gram negatif bakteri ve fungus türü üzerinde mikrodilüsyon tekniği ile incelenmiştir.

Bir molekülün biyolojik aktivitesinin, antimikrobiyal aktivite standart molekülleriyle yarışabilir düzeyde olması, o molekülün ilaç adayı olması için yeterli değildir. Farmasötik Kimya araştırmaları molekülün biyolojik sistemlerdeki metabolizmasının aydınlatılmasını da kapsar. Moleküllerin, canlı sistemlerde metabolize olması sonucu oluşturdukları metabolitlerin aydınlatılması Farmasötik Kimya araştırmacılarının çalışma alanı kapsamındadır. Metabolizma çalışmaları sonucu, molekülün toksik metabolit oluşturduğu gözlemlenirse molekülde modifikasyon yapılarak toksisitenin azaltılması sağlanabilir.

Hidrazit-hidrazonlar hakkında yapılan çok sayıda biyolojik aktivite çalışması olmasına rağmen, yapılmış metabolizma çalışmaları sınırlıdır. Bu farmakoforun en önemli metabolik yolu hidroliz reaksiyonudur ve metabolik hidroliz reaksiyonları, yapıdaki karbonun alifatik veya aromatik olmasından ve aromatik halkadaki süstitüsyonlardan etkilenir (Ghananeem ve Crooks, 2007). Metabolizma çalışmalarının ilk basamağı olarak *in vitro* metabolizma çalışmaları yapılır ve molekülün farklı hayvanların karaciğer hücrelerindeki olası metabolitleri aydınlatılır. Literatürde yapılmış diaromatik hidrazit-hidrazon metabolizma çalışmaları sonucu, metabolit ürünler olarak hidrolitik ürünler ve fenolik metabolitler saptanmıştır.

Bu bilgiler doğrultusunda, bu tez çalışmasının amaçlarından bir diğeri ise, tablo 1.1'de kimyasal formülleri gösterilen hidrazit-hidrazonlardan en aktif olan molekülün *in vitro* mikrozomal metabolitlerinin, sıçan mikrozom enzimleri aracılığı ile tespit edilmesidir.

Tablo 1. 1*Hedeflenen bileşikler*

					
Bileşik	R ₁	R ₂	Bileşik	R ₁	R ₂
3a	-H	-H	3e	-NO ₂	-H
3b	-Br	-H	3f	-OH	-OH
3c	-CH ₃	-H	3g	-N(CH ₃) ₂	-H
3d	-OH	-H	3m	-OCH ₃	-OCH ₃
					
Bileşik 3n			Bileşik 3k		

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Antimikrobiyal Ajanlar

Antimikrobiyal ajanlar, bakteri, mantar, virüs ve parazit gibi patojenik mikroorganizmaların büyümesini engelleyerek veya öldürerek bulaşıcı hastalıklarla mücadele etmek için tasarlanmış kimyasal bileşiklerdir (Breijyeh ve Karaman, 2023). Farmasötik Kimya’da, sentezlenen moleküllerin kimyasal yapısının; molekülün biyolojik aktivitesini, reseptör selektifliğini, stabilitesini ve direnç profillerini nasıl belirlediğini aydınlatmak önemlidir.

Antimikrobiyal ajanlar, kimyasal yapılarında içerdikleri ortak kısımlara göre sınıflandırılırlar. Örneğin, penisilinler ve sefalosporinler gibi β -laktam antibiyotikler, β -laktam halkası içerirler ve β -laktam halkası, bakterilerin hücre duvarı sentezini inhibe etmekten sorumludur. Eritromisin gibi makrolidler, bakteriyel ribozomlara seçici bir şekilde bağlanmalarını sağlayan şeker türevi büyük makrosiklik lakton halkalarına sahiptir. Başka bir önemli sınıf olan aminoglikozitler, 30S ribozomal alt biriminde protein sentezine etki eden amino-modifiye şekerlerden oluşur (Embil ve Nicolle, 1999; Lima vd., 2020).

Aromatik halkalar, heterosiklikler, amit bağları ve polar fonksiyonel gruplar (örneğin hidroksil, karboksil, amino grupları) gibi temel yapısal motifler sıklıkla antimikrobiyal ajanlarda bulunur. Bu gruplar molekülün çözünürlüğü, membranlardan geçebilme yeteneği, mikrobiyal hedeflere bağlanma afinitesi ve metabolik stabilite gibi temel özelliklerin optimizasyonunu sağlar (Dokla vd., 2023).

Antimikrobiyal ajanların farmakolojik etkilerine ve kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması mümkündür.

2.2. Antimikrobiyal İlaçların Kimyasal Yapılarına Göre Sınıflandırılması

Antimikrobiyal ilaçlar, kimyasal yapılarına on farklı gruba ayrılır;

2.2.1. β -Laktamlar

Bu bileşikler, bakteri hücre duvarı sentezini inhibe etme yetenekleri açısından kritik öneme sahip dört üyeli bir β -laktam halkası içerir.

Penisilinler (örn. amoksisilin, benzilpenisilin), sefalosporinler (örn. seftriakson, sefuroksim), karbapenemler (örn. imipenem, meropenem), monobaktamlar (örn. aztreonam); β -laktamların alt gruplarıdır.

2.2.2. Makrolidler

Deoksi şekerlere bağlı büyük (tipik olarak 14, 15 veya 16 üyeli) bir makrosiklik lakton halkası ile karakterize edilir.

Eritromisin, azitromisin, klaritromisin örnek olarak verilebilir.

2.2.3. Aminoglikozitler

Glikozidik bağlarla bağlanmış amino-modifiye şekerlerden oluşur. Yüksek polariteye sahip moleküllerdir ve böylece bakteriyel ribozomlara güçlü bir bağlanma gerçekleştirirler.

Gentamisin, amikasin, streptomisin örnek olarak verilebilir.

2.2.4. Kinolonlar ve Florokinolonlar

Bu grup, genellikle aktivitenin artması için florlanmış, keton ve karboksil grubu içeren bisiklik aromatik bir merkez taşır.

Siprofloksasin, levofloksasin, moksifloksasin örnek olarak verilebilir.

2.2.5. Tetrasiklinler

Tetrasiklinler, bakteriyel ribozomlara bağlanmayı sağlayan çeşitli fonksiyonel gruplara sahip dörtlü kaynaşmış bir hidrokarbon halka sistemine sahiptir.

Tetrasiklin, doksisiklin, minosiklin örnek olarak verilebilir.

2.2.6. Sülfonamidler

Bu bileşikler, folat sentezini engellemek için para-aminobenzoik asidi (PABA) taklit eden aromatik bir halkaya bağlı bir sülfonamid grubu ($-\text{SO}_2\text{NH}_2$) içerir.

Sülfametoksazol, sülfadiazin örnek olarak verilebilir.

2.2.7. Nitroimidazoller

Bu gruptaki ilaçlar, imidazol halkası ve ona bağlı nitro süstitüentinden oluşur. Özellikle anaerobik organizmalara karşı etkilidirler.

Metronidazol, tinidazol bu gruba örnektir.

2.2.8. Glikopeptitler ve Lipoglikopeptitler

Bu gruptaki ilaçlar, genellikle yoğun şekilde glikozlanmış, bazı yeni türevlerde lipofilik gruplara sahip büyük peptit bazlı moleküllerdir.

Vankomisin, teikoplanin, dalbavansin örnek olarak verilebilir.

2.2.9. Rifamisinler

Ana zincirine bağlı bir naftohidrokinon çekirdeği taşırlar. Bu gruptaki moleküller, bakteriyel RNA polimerazı inhibe ederler.

Rifampin, rifabutin örnek olarak verilebilir.

2.2.10. Oksazolidinonlar

Beş üyeli bir oksazolidinon halkasına sahiplerdir ve bakteride protein sentezinin başlamasını engeller.

Linezolid ve tedizolid örnek verilebilir.

Antimikrobiyal ajanlar, kimyasal yapıları açısından zengin bir çeşitliliğe sahip olsalar da, antimikrobiyal direnç nedeni ile yeni antimikrobiyal ajanların geliştirilmesi elzemdir. Bu nedenle, antimikrobiyal etki göstermesi olası farmakoforları içeren moleküller sentezlenmekte ve bu moleküllerin biyolojik aktiviteleri araştırılmaktadır.

Bu amaçla farmakolojik aktifliği bilinen ve klinik kullanımı olan iskeletlerin farklı farmakolojik amaçlarla kullanılması yaygındır. Bu iskeletlerden biri de salisilamidlerdir. Salisilamid türevlerinin antienflamatuvar ve antipiretik etkileri bilinmekte ve bu etkileri hakkında araştırmalar yürütülmektedir fakat antimikrobiyal etkileri olabileceği de görülmüştür (Fahmy ve El-Eraky, 2001; Lupea vd., 2006, Krátký ve Vinšová, 2012).

2.3. Salisilamitler Hakkında Genel Bilgi

Salisilamitler, salislik asitten türetilmiş, geniş bir farmakolojik etki spektrumundan sorumlu bileşiklerdir. Bu bileşiklerin analjezik, antipiretik, antienflamatuvar etki gösterdiği bilinmektedir. Bu etkilerine ek olarak, günümüzde yeniden konumlandırma teknikleri sonucu elde edilen verilere dayanılarak; antimikrobiyal etkisi araştırılmakta; farklı türevleri hazırlanarak Alzheimer hastalığında etkileri araştırılmaktadır (Song vd., 2019, Xu vd., 2023).

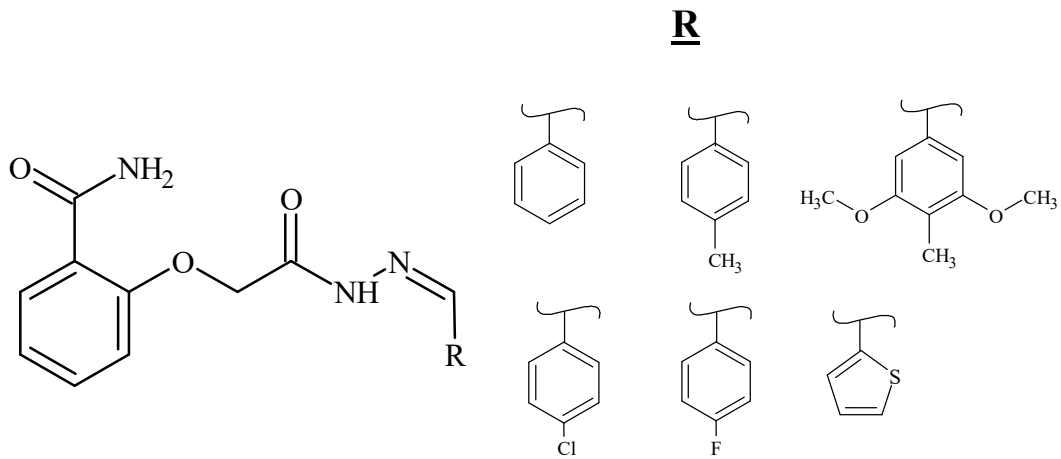
2.4. Yapısında Salisilamit Taşıyan Bileşiklerin Aktivite Çalışmaları

Salisilamit, basit kimyasal yapısı sayesinde, Farmasötik Kimyacılar için önemli bir iskelettir. Az sayıda hidrojen akseptör ve donör gruba sahiptir, küçük molekül ağırlığı vardır ve düşük lipofilisite gösterir (Alhashimi vd., 2019). Bu nedenle salisilamit üzerinde farklı türevlendirmeler yapılarak molekülün antienflamatuvar etkisi başta olmak üzere, farklı biyolojik aktiviteleri incelenmiştir.

Fahmy ve El-Araky (2001), antienflamatuvar etkilerini araştırmak üzere, salisilamit-O-asetik hidrazit ve bu bileşiğin aldehitlerle süstitüe Schiff bazlarını sentezlemişlerdir. Sentezledikleri bileşiklerin, salisilamitten daha yüksek antienflamatuvar ve analjezik etkiye sahip olduğunu görmüşlerdir (Şekil 2.1).

Şekil 2. 1

Fahmy ve El-Araky tarafından sentezlenen salisilamit-O-asetik-hidrazitler

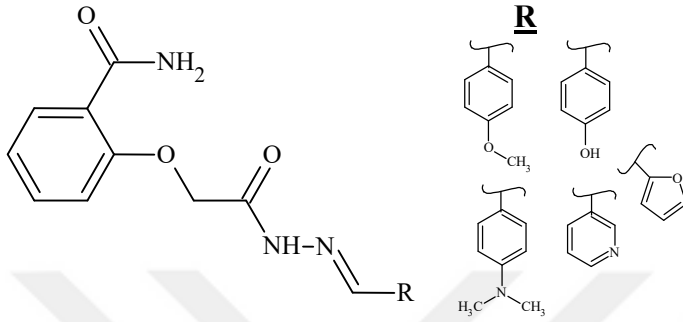


Kaynak: Fahmy ve El-Araky, 2001

Josef Klossa (1955) yaptığı çalışmalarda, salisilamitin O-sübsititüe türevlerini sentezlemiş ve bu moleküllerin salisilamitle karşılaştırıldığında daha yüksek analjezik ve antiaritmik etki gösterdiklerini görmüştür (Şekil 2.2).

Şekil 2. 2

Klossa tarafından sentezlenen salisilamit-O-sübsititüe hidrazitler

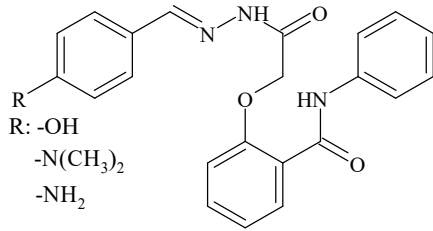


Kaynak: Josef Klossa, 1955

Lupea ve diğerleri (2006), farklı biyolojik aktivitelerini test etmek üzere, yirmi beş salisilamit türevi sentezlemiş ve karakterizasyonunu yapmışlardır. Sentezledikleri moleküllerin antimikrobiyal etki gösterebileceğini tahmin etmişler fakat biyoaktivite verisi sunmamışlardır (Şekil 2.3).

Şekil 2. 3

Lupea ve ark. tarafından sentezlenen salisilamit türevleri

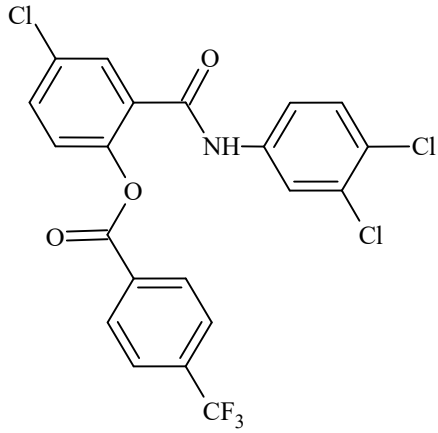


Kaynak: Lupea vd., 2006

Kratky ve diğerleri (2012), on dokuz tane salisilanilit ve sekiz tane salisilanilit 4-(triflorometil)benzoat türevi sentezlemiş ve *Candida* türleri üzerinde moleküllerin antifungal aktivitesine bakmışlardır. Sentezlenen bileşiklerin bazılarının antifungal aktivite yönünden umut verici olduğunu belirtmişlerdir. Özellikle 4-kloro-2-[(3,4-diklorofenil)karbamoi]fenil 4-(triflorometil)benzoat *Candida tropicalis* (7.81/31.25 µmol/L), *Candida krusei* (7.81/31.25 µmol/L) yüksek aktivite göstermiştir (Şekil 2.4) .

Şekil 2. 4

Kratky ve diğerleri tarafından sentezlenmiş aktivitesi en yüksek molekül

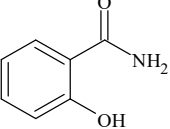


Kaynak: Kratky vd., 2012

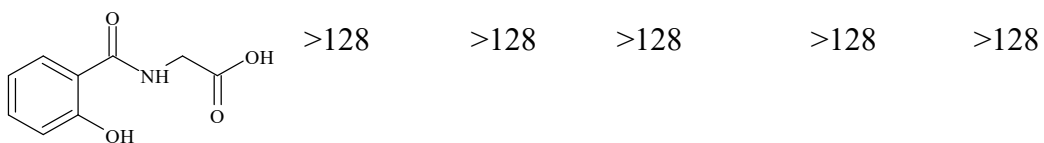
Alhasmi ve arkadaşları, yeniden konumlandırma çalışmaları aracılığı ile salisilamit türevlerinin antibiyotiğe dirençli *N. gonorrhoea* suşlarında antibakteriyel etkiye sahip olabileceğini tespit etmişlerdir. Bunun üzerine salisilamit türevi bir seri molekülün antimikrobiyal etkisini, antibiyotiğe dirençli 40 farklı *N. gonorrhoea* suşunda test etmişler ve sübstütüsyonların biyolojik aktiviteye etkisini incelemişlerdir. Biyolojik aktivite testleri sonucunda, salisilamitteki amit ve hidroksil fonksiyonunun antibakteriyel etki için önemli olduğunu gözlemlenmiştir. Tablo 2.1’de gösterdiği üzere, salisilamit üzerindeki herhangi bir sübstütüsyon, molekülün antigonokokkal etkisini azaltmıştır; fakat bu azalmanın amit azotu üzerinden yapıldığında en fazla; hidroksilin ester haline getirilmesi halinde en az olduğu görülmüştür (Alashimi vd., 2019).

Tablo 2. 1

Salisilamit ve yapısal olarak ilişkili analogların dört *Neisseria gonorrhoeae* izolatına karşı antibakteriyel aktivitesi

Bileşik	Belirtilen <i>N. gonorrhoeae</i> suşu için MİK (µg/mL) değeri				
	188	181	195	194	MİK50
Azitromisin	1	256	Belitilmemiş	0.5	
Salisilamit					
	18	38	16	16	16

2-Hidroksihippurik
asit



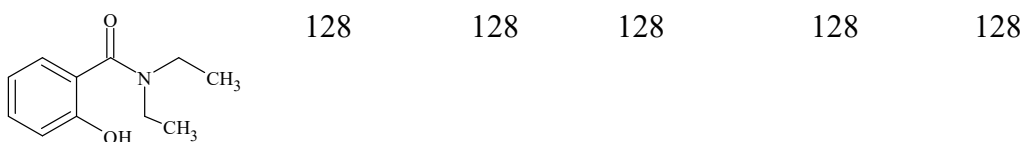
3-Hidroksibenzamit



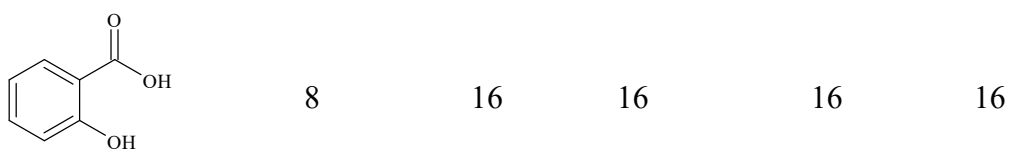
4-Hidroksibenzamit



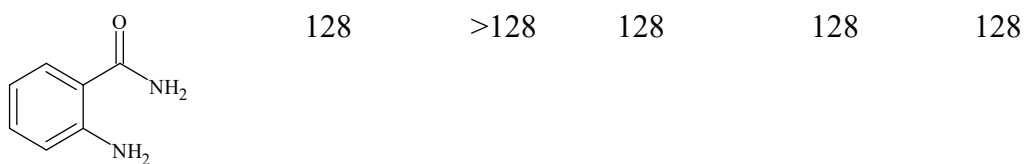
N,N-Dietilsalisilamit



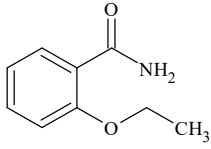
Salisilik asit



Antranilamit



2-Etoksibenzamit



32

64

64

64

64

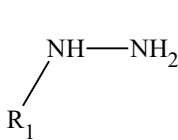
Salisilamit iskeleti farmasötik kimya araştırmaları için kullanışlı, antimikrobiyal etki gösterme potansiyeline sahip iskeletlerden biridir. Bu nedenle, doğru süstitüsyonlarla salisilamit molekülünün antimikrobiyal etki kazanması mümkündür. Salisilamide antimikrobiyal etki kazandırmak için bağlanabilecek süstitüentlerden biri hidrazit-hidrazonlardır.

2.5. Hidrazit-Hidrazonlar Hakkında Genel Bilgi

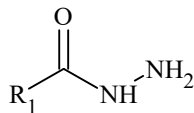
Azot atomu, güçlü nükleofil özellik gösterir ve bu sayede iyi derecede bazik karakteristiğe sahiptir. Azot atomunun asidik-bazik karakteri; kimyasal bağ oluşumu sırasında uğradığı hibritleşme türüne bağlıdır ve bu karakter, molekülün asitlik-bazlığını belirler. Hidrazit-hidrazonlar yapılarında bir azometin grubu taşırlar ve Schiff bazı olarak da bilinirler.

Şekil 2. 5

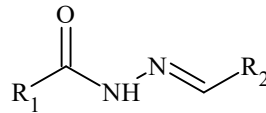
Hidrazin, hidrazit ve hidrazit-hidrazon yapıları



Hidrazin Yapısı



Hidrazit Yapısı



Hidrazit- Hidrazon Yapısı

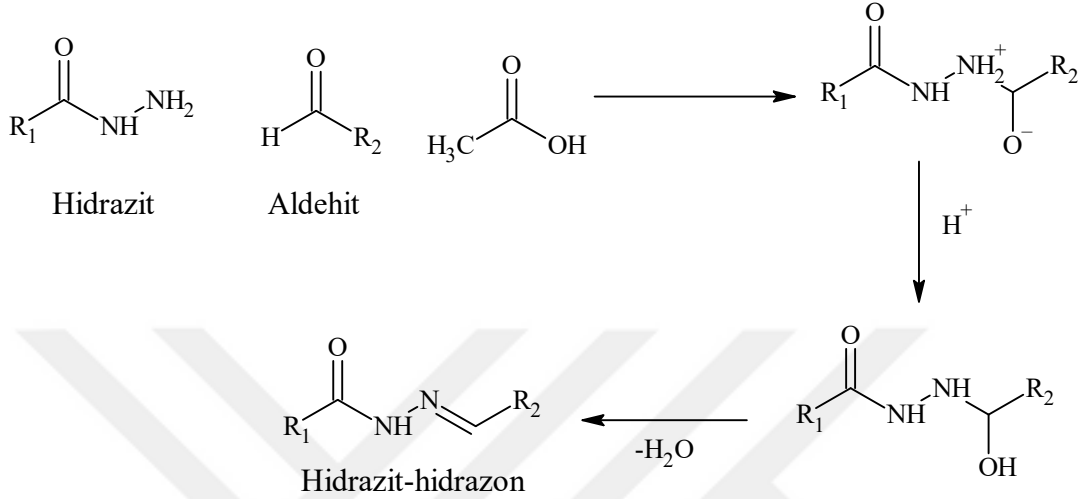
Kaynak: Munir vd, 2021

Hidrazit-hidrazonlar, amit grubuna doğrudan bağlı bir imin yapısı içeren ve azotların birbirine sigma bağı ile bağlı olduğu bileşiklerdir. Bu bileşikler, genelde *E* stereoizomeri halinde bulunurlar (Munir vd., 2021). Bu sistemlerde, azot atomları polariteden ve bileşiklerin organik çözücülerdeki çözünürlüğünden sorumludur. Bu bileşikler yüksek derecede polariteye sahiptir ve sentez reaksiyonları tamamlandığında reaksiyon ortamında çökerler. Çöken maddenin kristallendirilmesi yoluyla saflaştırılması

mümkündür ve ürün kromatografik ayırım gerektirmeden elde edilebilir. Sentez reaksiyonlarının verimi yüksektir ve tek adımda tamamlanır.

Şekil 2. 6

Hidrazitten hareketle hidrazit-hidrazon sentezi



Kaynak: Munir vd, 2021

Hidrazit-hidrazon sentezleri, hidrazit ve aldehit arasında gerçekleşen kondenzasyon reaksiyonuna dayanır. Hidrazit-hidrazonların sentezi, farklı organik çözücüler içerisinde yüksek sıcaklıkta ve katalitik oranda asetik asit aracılığıyla gerçekleştirilir. Hidrazit-hidrazon sentezinde sıklıkla kullanılan organik çözücüler, etanol, metanol, bütanol, tetrahidrofuran ve asetik asittir.

Literatürde yer alan çalışmalar, hidrazon bileşiklerinin sıklıkla *N*-açıl hidrazon (hidrazit-hidrazon) (-CO-NH-N=CH-) şekliyle sentezlendiğini göstermektedir. Açılhidrazonlar, nükleofilik ve elektrofilik reaksiyonlara açık, keto-enol tautomerisi gösteren, metal iyonlarıyla şelasyon yapabilen bir gruptur.

N-açıl hidrazon grubunda bulunan amit ve imin fonksiyonel grupları, geometrik ve konformasyonel stereoizomerizm gösterir. İmin fonksiyonuna ait çift bağ (C=N) etrafında oluşan rotasyon nedeni ile *E* ve *Z* izomerleri gözlenebilir. Buna ek olarak, amit fonksiyonundaki C-N bağı etrafında oluşan rotasyon nedeni ile konformasyonel stereoizomerler görülebilir. N-H bağının, C-N bağına göre cis ya da trans durumda olmasına göre *N*-açıl hidrazonlar sinperiplanar veya antiperiplanar durumda olabilir. Literatürde, C=N ve CO-NH bağları etrafındaki rotasyonlardan kaynaklanan stereoizomerlere odaklanılmış ve N-N bağı etrafındaki rotasyondan kaynaklı

konformerler ihmal edilmiştir. Bahsedilen rotasyonlar sonucu, *N*-açıl hidrazonların bulunabileceği sekiz olası stereoisomer olasılığı bulunabilir (Landge vd., 2011; Lopes vd., 2013).

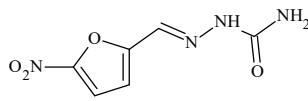
Hidrazit-hidrazonların tanınmasında başvurulabilecek, bazı karakteristik spektroskopik veriler bulunmaktadır. İnfrared spektrumunda, hidrazit-hidrazonlara ait üç karakteristik band vardır. Bunlar, 1550 cm^{-1} civarında C=N grubuna ait, 1650 cm^{-1} de C=O' ait, 3050 cm^{-1} 'de ise NH'e ait piklerdir.

^1H -NMR spektrumu incelendiğinde ise karakteristik olarak; =CH'a ait δ 8-9 ppm'de bir singlet sinyali, NH'a ait δ 10-13 ppm'de ikinci bir singlet sinyali gözlemlenir. ^{13}C -NMR'da ise, =CH sinyali δ 145-160 ppm; karbonil sinyali δ 160-170 ppm arasında gözlemlenir (Han vd., 2017).

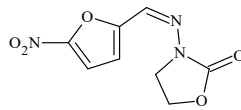
Hidrazit-hidrazon türevlerinin farmakolojik aktivitesi, azometin grubuna (-N=CH-) atfedilir ve antimikrobiyal aktivitelerinin, mikrobiyal hücrelerin hücre duvarının ve hücre zarının gücünü etkilemelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Hidrazit-hidrazon fonksiyonel grubuna sahip, antimikrobiyal etkiye sahip etkin maddeler ve farmakolojik etkileri tabloda gösterilmiştir. Nitrofurazon, furazolidon, nitrofurantoin hidrazit-hidrazon grubuna sahip ve tedavide kullanılan ilaçlardır (Popiolek vd., 2018).

Tablo 2. 2

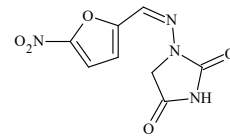
Tedavide kullanılan antimikrobiyal etkili hidrazit-hidrazon türevi ilaçlar



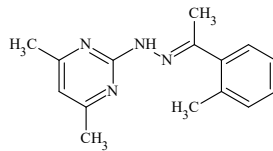
nitrofurazon
antimikrobiyal



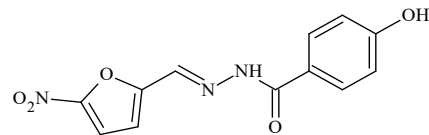
furazolidon
antibakteriyel



nitrofurantoin
antibakteriyel



ferimzon
antifungal



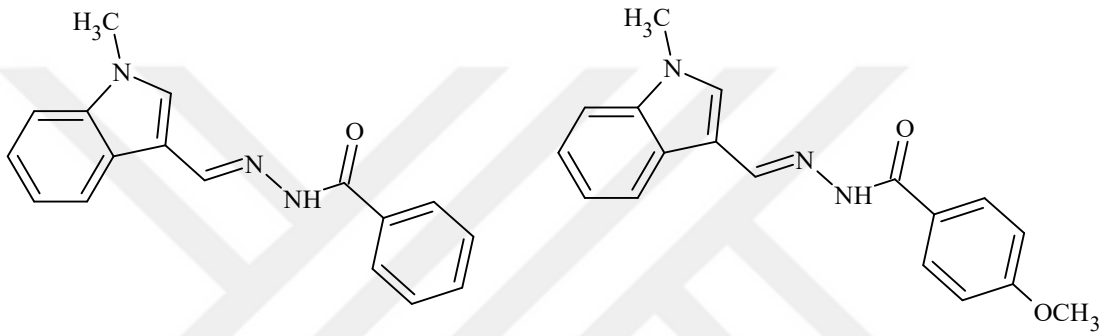
nifuroksit
antibakteriyel

2.6. Yapısında Hidrazit-Hidrazon Taşıyan Bileşiklerin Aktivite Çalışmaları

Shirinzadeh ve diğerleri (2011), tarafından sentezlenen indol türevi hidrazit-hidrazon bileşiklerinin antibakteriyel aktiviteleri değerlendirilmiş; *N'*-[(*E*)-(1-metil-1*H*-indol-3-il)metiliden]benzohidrazit ve 4-metoksi-*N'*-[(*E*)-(1-metil-1*H*-indol-3-il)metiliden]benzohidrazit'in *B. subtilis*'e orta düzeyde aktif olduğu (MİK: 50-100 µg/mL) gözlenmiştir (Şekil 2.7).

Şekil 2. 7

N'-[(*E*)-(1-metil-1*H*-indol-3-il)metiliden]benzohidrazit ve 4-metoksi-*N'*-[(*E*)-(1-metil-1*H*-indol-3-il)metiliden]benzohidrazit

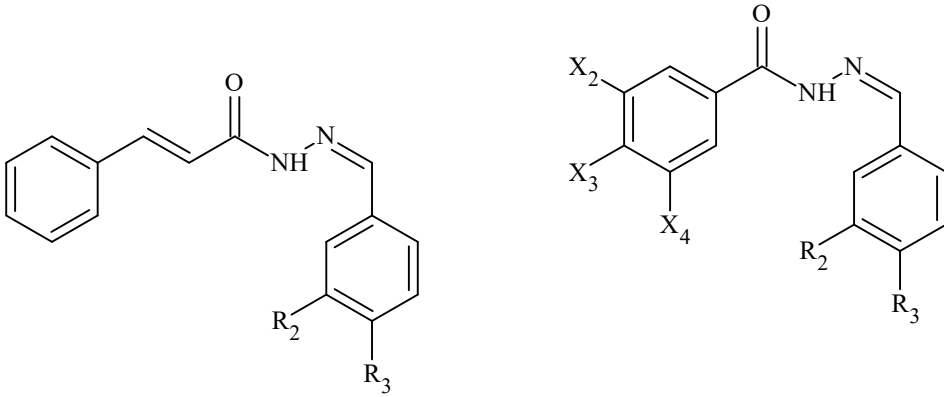


Kaynak: Shirinzadeh vd., 2011

Kumar ve diğerleri (2011) benzilidenhidrazitten hareketle yirmi tane *N'*-[(*Z*)-fenilmetiliden]benzohidrazit ve (2*E*)-3-fenil-*N'*-[(*Z*)-fenilmetiliden]prop-2-enhidrazit türevi sentezlemiş ve bu bileşiklerin antimikrobiyal etkilerini *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* ve *Aspergillus niger*'e karşı değerlendirmişlerdir. Antimikrobiyal aktivite çalışmaları sonucu aromatik halkada dinitro, metoksi, hidroksi ve nitro sübstitüenti olan bileşiklerin en aktif bileşikler olduğu görülmüştür (Şekil 2.8).

Şekil 2. 8

N'-[(*Z*)-fenilmetiliden]benzohidrazit ve (*2E*)-3-fenil-*N'*-[(*Z*)-fenilmetiliden]prop-2-enhidrazit



R₂:H, OEt; R₃: OH, NO₂

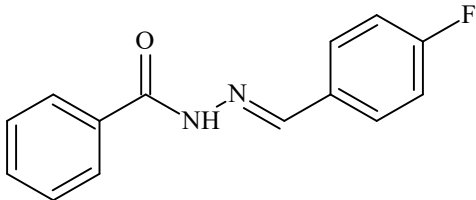
X₂: H, CH₃, OCH₃, NO₂; X₃: H, CH₃; X₄: H, OEt;
R₂: H, OEt; R₃: OH, NO₂

Kaynak: Kumar vd., 2011

Manikandan ve diğerleri (2017) bir dizi benzilidenbenzohidrazit türevi bileşik sentezlemiş ve bu bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerini zon inhibisyon analizi (ZOI) ile ölçülmüşlerdir. Serideki moleküllerden yalnızca 4- florofenil süstitüe türev, *N'*-[(*E*)-(4-florofenil)metiliden]benzohidrazit; siprofloksasinle karşılaştırıldığında etkili antibakteriyel aktivite göstermiştir. (SA: Siprofloksasin ZOI: 10mm, *N'*-[(*E*)-(4-florofenil)metiliden]benzohidrazit: ZOI:6 mm; ML Siprofloksasin ZOI: 9mm, *N'*-[(*E*)-(4-florofenil)metiliden]benzohidrazit: ZOI:8 mm, BS: Siprofloksasin ZOI: 12mm, *N'*-[(*E*)-(4-florofenil)metiliden]benzohidrazit: ZOI:6 mm) (Şekil 2.9).

Şekil 2. 9

N'-[(*E*)-(4-florofenil)metiliden]benzohidrazit



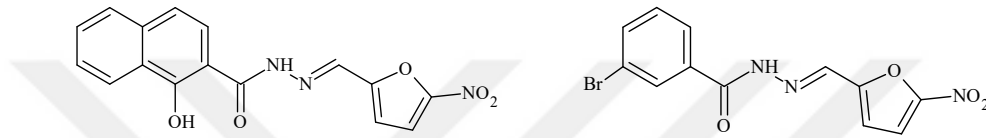
Kaynak: Manikandan vd., 2017

Popiolek ve Biernasiuk (2017), yaptıkları bir çalışmada, 21 tane nitrofurazon türevi hidrazit-hidrazon sentezlemiş ve bu moleküllerin *in vitro* antimikrobiyal aktivitesine bakmışlardır. Aktivite çalışmaları sonucu, sentezlenen moleküllerin büyük bir çoğunluğunun yüksek bakterisit özellik gösterdiği gözlenmiştir. 1-Hidroksi-*N'*-[(*E*)-(5-

nitrofuran-2-il)metiliden]naftalen-2-karbohidazit ve 3-bromo-*N'*-[(*E*)-(5-nitrofuran-2-il)metiliden]benzohidrazit, *Staphylococcus spp.* ve *Bacillus spp.* suşlarına karşı MİK<1 µg/ml değerine sahiplerdir ve en potent bileşikler oldukları bildirilmiştir. Ayrıca *Staphylococcus epidermidis* ATTC 12228 bütün bileşiklere duyarlı bulunmuştur (Şekil 2.10).

Şekil 2. 10

1-Hidroksi-N'-[(E)-(5-nitrofuran-2-il)metiliden]naftalen-2-karbohidazit ve 3-bromo-N'-[(E)-(5-nitrofuran-2-il)metiliden]benzohidrazit

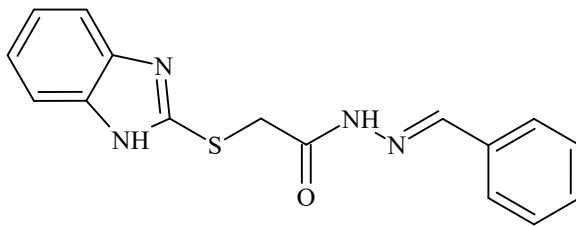


Kaynak: Popiolek ve Biernasiuk, 2017

Yadav ve diğerleri (2018), 20 tane benzimidazolhidrazit-hidrazon türevi sentezlemiş ve bu bileşiklerin antimikrobiyal, antifungal ve antitüberküler etkilerine bakmışlardır. Sentezlenen bileşiklerden 2-[(1*H*-1,3-benzimidazol-2-il)sulfanil]-*N'*-[(*E*)fenilmetiliden]asetohidrazit, referans molekül sefadroksil ve flukanozol ile karşılaştırıldığında antimikrobiyal açıdan en aktif molekül olarak tespit edilmiştir. 2-[(1*H*-1,3-benzimidazol-2-il)sulfanil]-*N'*-[(*E*)fenilmetiliden]asetohidrazit'in MİK değeri *S.aureus* suşunda 0.032 µM, *B.subtilis*'da 0.0321 µM, *C. albicans*'da 0.016 µM bulunmuştur. Yadav ve ark. aynı çalışmada sentezledikleri benzimidazolhidrazit-hidrazonların yapı-aktivite çalışmasını da yapmışlar ve *p*-fenil konumundaki elektron çeken grup sübstütüentin antimikrobiyal aktiviteyi arttırdığını bulmuşlardır (Şekil 2.11).

Şekil 2. 11

2-[(1H-1,3-benzimidazol-2-il)sulfanil]-N'-[(E)fenilmetiliden]asetohidrazit

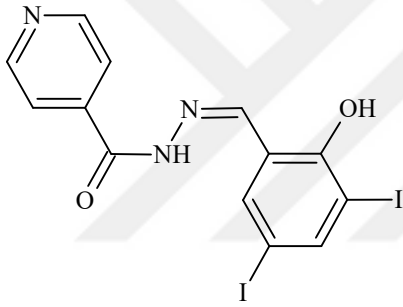


Kaynak: Yadav vd., 2018

Popiolek ve arkadaşları (2018) bir seri izonikotinik asit hidrazit-hidrazonu sentezlemiş ve bu moleküllerin aktivitelerini Gram + ve Gram- bakterilerde değerlendirmişlerdir. Özellikle Gram + bakterilerin, bu moleküllere yüksek duyarlılık gösterdiği tespit edilmiştir. *N'*-[(*Z*)-(2-Hidroksi-3,5-diiodofenil)metiliden]piridin-4-karbohidrazit, sentezlenen moleküller arasında en aktif olanıdır ve *S. aureus*'a MİK değeri 1.95 µM/mL; *M. luteus*'a MİK değeri 1.95 µM/mL, *C. albicans*'a MİK değeri 125 µM/mL'dir. Araştırmacılar bu verilere dayanarak *N'*-[(*Z*)-(2-hidroksi-3,5-diiodofenil)metiliden]piridin-4-karbohidrazit'in hem yüksek antibakteriyel; hem yüksek antifungal özelliğe sahip olduğunu belirtmişlerdir (Şekil 2.12).

Şekil 2. 12

N'-[(*Z*)-(2-hidroksi-3,5-diiodofenil)metiliden]piridin-4-karbohidrazit

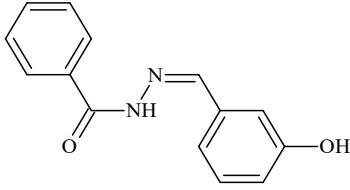


Kaynak: Popiolek vd., 2018

Manikadan ve diğerleri (2017), tarafından sentezlenen benzilidenbenzohidrazit türevi bileşiklerin antifungal aktivitesi farklı mantar türlerine karşı değerlendirilmiştir. *A. niger*, bütün moleküllere karşı duyarlılık göstermiştir. 3-Br, 4-Cl, 4-F, 3-OH ve 4-CH₃ süstitüe benzohidrazit bileşikleri *Mucor sp.* mantar suşlarında yüksek aktivite göstermiştir. *T. viridie* mantar suşunda ise *N'*-[(*Z*)-(3-hidroksifenil)metiliden]benzohidrazit iyi aktivite göstermiştir (Şekil 2.13) .

Şekil 2. 13

N'-[(*Z*)-(3-hidroksifenil)metiliden]benzohidrazit

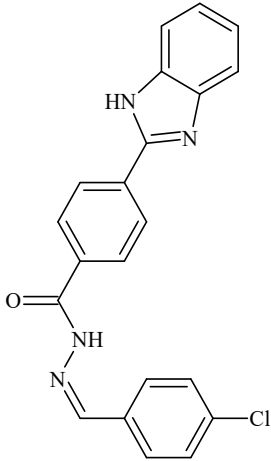


Kaynak: Manikadan vd., 2017

Özkay ve diğerleri (2010), bir seri benzimidazolhidrazon türevi sentezlemiş ve bu moleküllerin antimikrobiyal aktivitesine bakmışlardır. Sentezlenen bileşiklerin büyük bir çoğunluğu *P. vulgaris* ve *P. aeruginosa* suşlarında önemli derecede antibakteriyel aktivite meydana getirmiştir 4-(1*H*-1,3-benzimidazol-2-il)-*N'*-[(*Z*)-(4-klorofenil)metiliden]benzohidrazit'in antibakteriyel aktivitesi, referans molekül kloramfenikolden daha yüksektir. Bu bileşiklerin antifungal aktivitesi, antibakteriyel aktivitesinin yanında ihmal edilebilir düzeydedir ve hiçbir molekül, kloramfenikolden daha yüksek antifungal aktivite göstermemiştir (Şekil 2.14).

Şekil 2. 14

4-(1*H*-1,3-benzimidazol-2-il)-*N'*-[(*Z*)-(4-klorofenil)metiliden]benzohidrazit



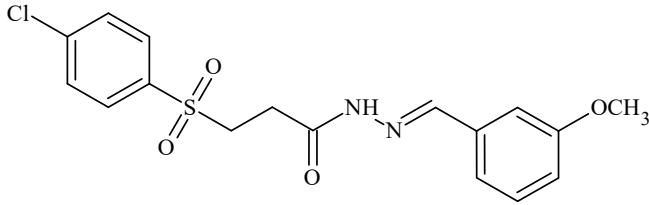
Kaynak: Özkay vd., 2010

Kumar ve diğerleri (2011) bir dizi yeni 4-klorofenilsülfonil asit hidrazit-hidrazonu sentezlemiş ve zon inhibisyonu (ZOI) ölçümüyle bu moleküllerin *in vitro* antibakteriyel aktivitesini değerlendirmişlerdir. Bu bileşiklerden 3-(4-klorobenzen-1-sülfonil)-*N'*-[(*E*)-(3-metoksifenil)metiliden]propanhidrazit, *S. aureus* 'a en yüksek aktiviteyi göstermiştir. (ZOI: 21 mm, kontrol ZOI: 22 mm). Antifungal etki değerlendirildiğinde ise, *C.*

albicans'a karşı en yüksek aktiviteye sahip molekülün 3-(4-klorobenzen-1-sülfonil)-*N'*-[(*E*)-(3-metoksifenil)metiliden]propanhidrazit olduğu görülmüştür. (ZOI: 31mm; standart kloritmazol: 30 mm) (Şekil 2.15).

Şekil 2. 15

3-(4-Klorobenzen-1-sülfonil)-*N'*-[(*E*)-(3-metoksifenil)metiliden]propanhidrazit

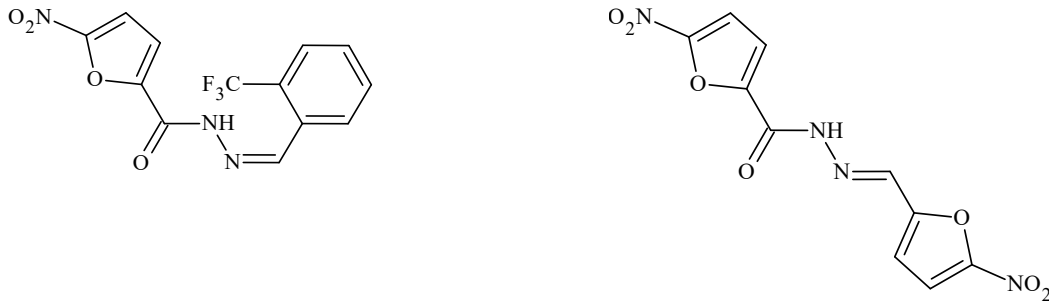


Kaynak: Kumar vd., 2011

Sriram ve diğerleri (2010), 5-nitro-2-furoik asit ve uygun aldehit/ketonların kondenzasyonu ile elde ettikleri bir seri 5-nitro-2-furoik asit hidrazitinin antitüberküler aktivitesini araştırmışlardır. Bileşiklerin *Mycobacterium smegmatis* (ATCC 14468) kültürleri ile agar dilusyon metodu aracılığıyla *in vitro* aktivite taraması yapılmıştır. Tarama sonucu özellikle 5-nitro-*N'*-{(Z)-[2-(triflorometil)fenil]metiliden}furan-2-karbohidrazit ve 5-nitro-*N'*-[(*E*)-(5-nitrofuran-2-il)metiliden]furan-2-karbohidrazit yüksek aktivite göstermiştir (MİK: 4.76 ve 2.65 µM, isoniazid MİK: 0.72 µM, rifampisin MİK: 0.48 µM) (Şekil 2.16).

Şekil 2. 16

5-Nitro-*N'*-{(Z)-[2-(triflorometil)fenil]metiliden}furan-2-karbohidrazit ve 5-nitro-*N'*-[(*E*)-(5-nitrofuran-2-il)metiliden]furan-2-karbohidrazit



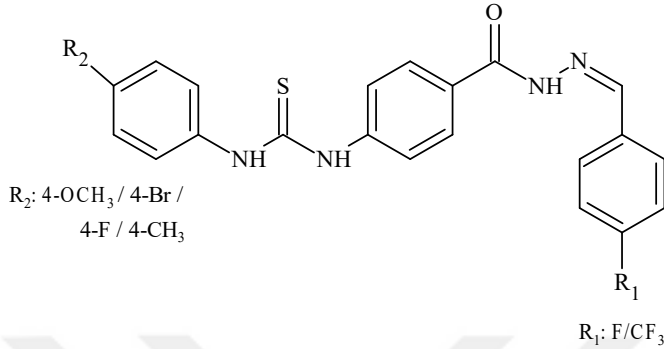
Kaynak: Sriram vd., 2010

Çıkla ve diğerleri (2010), hidrazit-hidrazon grubu taşıyan tiyoüre türevi moleküller sentezlemiş ve *M. tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294)'e karşı test etmişlerdir. Test edilen

bileşikler, rifampisin standardından düşük aktivite göstermişlerdir (MİK> 6.25 µg/mL) (Şekil 2.17).

Şekil 2. 17

N-{4-[(2*Z*)-2-benzilidenhidrazin-1-karbonil]fenil}-*N'*-feniltiyoüre türevi bileşikler

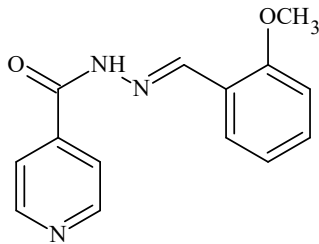


Kaynak: Çıkla vd., 2010

Coelho ve diğerleri (2012), 23 tane izonikotinic asit türevi hidrazit-hidrazon sentezlemiş ve bu moleküllerin bir adet *M. tuberculosis* izoniazid-duyarlı suşunda; üç tane izoniazid-dirençli *M. tuberculosis* klinik isolatında antimikobakteriyel aktivitesine bakmışlardır. Bu bileşiklerden on üçü izoniazid-dirençli suşlarda iyi aktivite göstermiştir. En iyi aktivite *N*-[(*E*)-(2-metoksifenil)metiliden]piridin-4-karbohidrazitte gözlenmiştir (Şekil 2.18).

Şekil 2. 18

N'-[(*E*)-(2-metoksifenil)metiliden]piridin-4-karbohidrazit

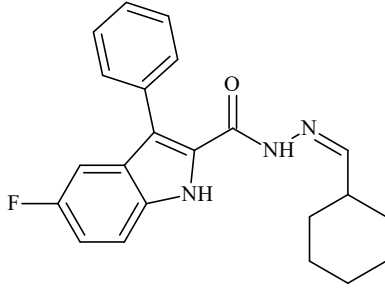


Kaynak: Coelho vd., 2012

Cihan-Üstündağ ve Çapan (2012), bir seri indol türevi hidrazit-hidrazon sentezlemiş ve bu maddelerin antitüberküler aktivitelerini değerlendirmiştir. Antimikobakteriyel aktivite testleri *M. tuberculosis* H37Rv ATCC 27294'e karşı, rifampisin standardı kullanılarak yapılmıştır. Sentezlenen bileşikler, standart bileşikten düşük aktivite göstermiştir. En yüksek aktivite gözlenen bileşik şekil 2.19'da verilmiştir (MİK>6.25 µg/mL; rifampisin MİK:0.125 µg/mL) (Şekil 2.19).

Şekil 2. 19

N'-[(Z)-sikloheksilmetiliden]-5-floro-3-fenil-1H-indol-2-karbohidrazit

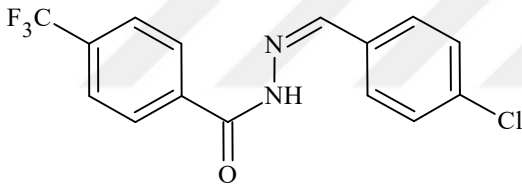


Kaynak: Cihan-Üstündağ ve Çapan, 2012

Krátký ve diğerleri (2017), bir seri 4-florometilbenzoikasit hidrazit-hidrazonları sentezlemiş ve bu moleküllerin antitüberküler aktivitelerini *Mycobacterium kansasii* üzerinde, referans olarak izoniazid kullanarak incelemişlerdir. En yüksek aktivite *N'-[(Z)-(4-klorofenil)metiliden]-4-(triflorometil)benzohidrazit*te gözlenmiştir.

Şekil 2. 20

N'-[(Z)-(4-klorofenil)metiliden]-4-(triflorometil)benzohidrazit

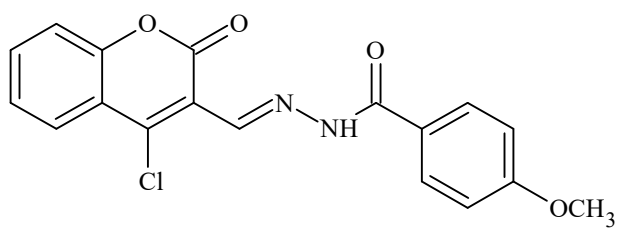


Kaynak: Krátký vd., 2017

Angelova ve diğerleri (2017), bir dizi benzopiran türevi hidrazit-hidrazon sentezlenmiş ve bu moleküllerin antimikobakteriyal aktivitesini; *M. tuberculosis* H37Rv üzerinde incelemişlerdir. En aktif bileşik, *p*-metoksifenil sübstitüenti olan *N'-[(E)-(4-kloro-2-okso-2H-1-benzopiran-3-il)metiliden]-4-metoksibenzohidrazit*te (MİK: 0.28 µM) olarak görülmüştür (Şekil 2.21).

Şekil 2. 21

N'-[(E)-(4-kloro-2-okso-2H-1-benzopiran-3-il)metiliden]-4-metoksibenzohidrazit



Kaynak: Angelova vd., 2017

2.7. *In vitro* Metabolizma Çalışmalarının Önemi

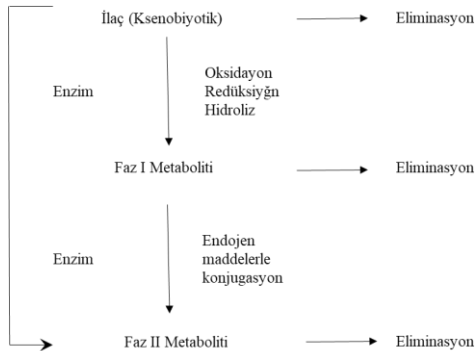
İlaç araştırmalarında biyolojik olarak aktif moleküllerin bulunması önemlidir. Ancak bu moleküllerin metabolizma süreçleri ve canlı sistemlerdeki etkileri de değerlendirilmelidir. Birçok ilaç ve yabancı kimyasal (ksenobiyotik), vücuttan atılmadan önce metabolik reaksiyonlara tabi tutulur. Bu reaksiyonlar genellikle faz-I (fonksiyonelleştirme) ve faz-II (konjugasyon) olarak adlandırılır (Al-Ghananeem ve Crooks, 2007, Talevi ve Bellera, 2022).

Faz-I reaksiyonlarında, molekül genellikle oksidasyon, redüksiyon veya hidroliz gibi işlemler sonucunda faz-I metabolitlerine dönüşür. Bu metabolitler, molekülde hidroksil (-OH), amino (-NH₂), tiyol (-SH), karboksil (-COOH) gibi fonksiyonel grupların eklenmesiyle oluşabilir.

Faz-I metabolitleri daha sonra faz-II reaksiyonlarına tabi tutulabilir. Bu reaksiyonlar sırasında, vücutta doğal olarak bulunan endojen maddelerle (örneğin, glukuronik asit, sülfat, glutatyon) enzimatik olarak reaksiyona girerek faz-II metabolitleri oluştururlar. Bu metabolitler genellikle daha suya çözünür ve böylece vücuttan daha kolay atılabilir hale gelirler (Şekil 2.22) (Talevi ve Bellera, 2022).

Şekil 2. 22

Metabolizmanın fazları



Kaynak: Talevi ve Bellera, 2022.

2.7.1. Faz I Reaksiyonları

2.7.1.1. Oksidatif Reaksiyonlar

Pek çok ilaç ve ksenobiyotiğin vücuttan atılmasını sağlayan oksidatif reaksiyonlar; aromatik, alifatik, alisiklik, benzilik ve allilik hidroksilasyon ile olefinlerin oksidasyonu, ayrıca karbon-azot, karbon-oksijen ve karbon-kükürt bağlarının oksidasyonu şeklinde

gerçekleşir. Bu reaksiyonlar çeşitli enzim sistemleri tarafından katalize edilir. Bu enzim sistemleri arasında en önemlisi mikrozomal enzim sistemidir. Bu sistemin en bilinen örnekleri, sitokrom P-450'ye bağımlı karma fonksiyonlu oksidazlar (MFO) ile mikrozomal flavin monooksijenazlardır (FMO). Ayrıca flavoprotein yapısında olan NADPH-sitokrom-c redüktaz (NADPH-sitokrom P-450 redüktaz) ve sitokrom b5 de bu süreçte önemli rol oynayan enzimler arasında yer alır.

2.7.1.2. Redüktif Reaksiyonlar

Karbonil, azo ve nitro grubu içeren ksenobiyotiklerin biyoredüksiyonu ile alkol ve amin türevi metabolitler meydana gelmektedir.

2.7.1.3. Hidrolitik Reaksiyonlar

Pek çok ilacın yapısında yer alan ester ve amit grupları, kan, karaciğer, böbrekler ve diğer dokularda bulunan enzimler tarafından hidrolize edilerek karboksilik asitler, alkoller, fenoller ve amin türevi metabolitlere dönüştürülür.

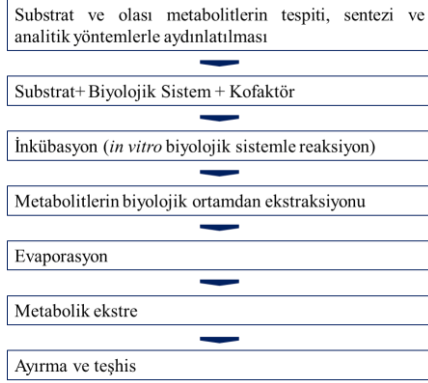
2.7.2. Faz II Reaksiyonları

Faz II reaksiyonlarında amaç, polar endojen yapıların transferaz enzimleri aracılığıyla ksenobiyotiklere veya bunların metabolitlerine bağlanmasını sağlamaktır. Bu sayede bileşikler daha polar hale getirilerek vücuttan atılımları kolaylaştırılır. En önemli faz II reaksiyonları arasında glukuronik asit konjugasyonu, glutatyon konjugasyonu, amino asit konjugasyonu, sülfat konjugasyonu, metilasyon ve asetilasyon yer alır.

İlaçlar veya diğer ksenobiyotiklerin metabolizmalarının araştırılmasında *in vivo* ve *in vitro* teknikler kombine halde kullanılmaktadır. Metabolik yolların karmaşık olması halinde, oluşan metabolitleri eliminasyon ürünlerinden saptamak çoğu zaman mümkün olmayabileceğinden *in vivo* çalışmalarla metabolizmanın ilk ürünleri olan primer metabolitler gözlenmesi zordur. Bu nedenlerden hem metabolitleri tanımlamak hem de metabolitlerin oluşumundan sorumlu enzimleri ortaya çıkarmak için *in vivo* deneylerden önce *in vitro* deneyler yapılır. *In vitro* deneylerde izlenmesi gereken adımlar şekil 2.23'te gösterilmiştir. Bu tekniklerde, hücre alt fraksiyonlarının (sitosol, mitokondri, mikrozomal fraksiyonlar) santrifüjleme yöntemi ile ayrılmasından yararlanılır. Bunlar karaciğerin endoplazmik retikulumunda bulunurlar ve çeşitli enzimleri taşırlar.

Şekil 2. 23

In vitro ilaç metabolizma çalışmasında izlenecek safhalar



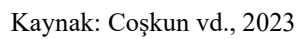
Kaynak: Talevi ve Bellera, 2022

2.8. Yapısında Hidrazit-Hidrazon Taşıyan Bileşiklerin *In vitro* Metabolizma Çalışmaları

Hidrazit-hidrazon türevleri, biyolojik aktiviteleri yönünden incelense de *in vitro* metabolizma çalışmaları sınırlıdır. Fakat bu çalışma azlığı bir eksiklik olarak görülebilir çünkü klinik çalışmalar öncesinde biyolojik profilin aydınlatılması önemlidir.

Coşkun ve diğerleri (2023), aldehit ve keton türevleri üzerinden, adamantan türevi hidrazit-hidrazon türevlerini sentezlemişlerdir ve bu moleküllerin *in vitro* metabolizması, domuz karaciğeri üzerinde incelemişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucu, hidrazon yapılarının hidrolitik profilinin, sterik gerginliğe bağlı olduğunu bulmuşlardır (Şekil 2.22).

Aldehit türevi hidrazonların in vitro metabolizma sonucu oluşturduğu metabolitler



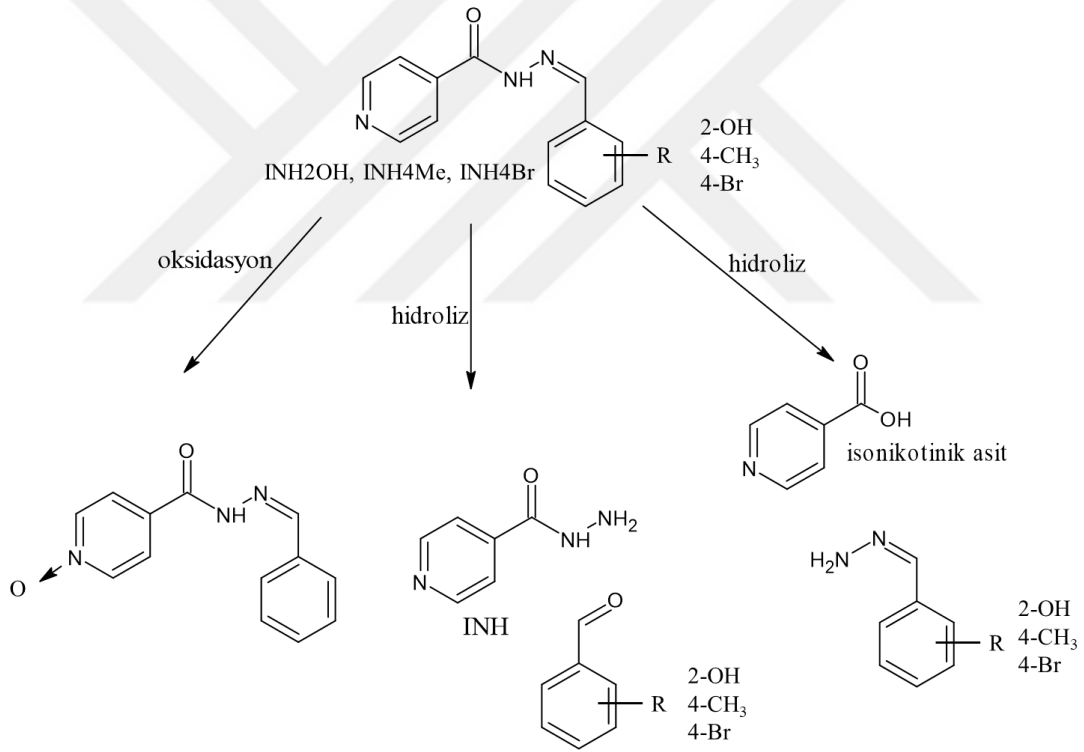
26

bir grubun süstitüsüonu, molekülün metabolik hidrolize karşı kararlılık göstermesini sağlamıştır (Şekil 2.25).

Coşkun ve diğerleri (2023), bir seri izoniazid hidrazonları sentezlemiş ve bu bileşiklerin domuz karaciğeri ile yapılan *in vitro* metabolizma çalışmaları sonucu, oksidatif ve hidrolitik metabolitlerini incelemişlerdir. INH2OH, metabolizma çalışmaları sonucu N-oksit metaboliti oluştururken hiç hidrolitik metabolit oluşturmamıştır. INH4Me, *in vitro* metabolizma sonucu N-oksit ve hidrolitik metabolizma ürünlerini oluşturmuştur. Araştırmacılar bu durumu, metil grubunun polariteyi azaltmasından dolayı, hidrolitik yolun baskın olabileceğine bağlamışlardır.

Şekil 2. 25

İsoniazid hidrazonlarının in vitro metabolizma ürünleri



Kaynak: Coşkun vd., 2023

3. GEREÇLER

3.1. Kullanılan Maddeler

Tablo 3. 1

Tez çalışmasında kullanılan maddeler

Bileşik	Firma, Ülke
Salisilamit	Sigma, Almanya
Potasyum karbonat	Sigma, Almanya
Etilbromoasetat	Sigma, Almanya
Aseton	Sigma, Almanya
Dietileter	Isolab, Almanya
Etanol	Isolab, Almanya
Hidrazin-hidrat (suda %80 çözelti)	Merck, Almanya
Benzaldehit	Sigma, Almanya
4-Bromobenzaldehit	Sigma, Almanya
4-Metilbenzaldehyt	Sigma, Almanya
4-Hidroksibenzenaldehyt	Sigma, Almanya
4-Nitrobenzenaldehyt	Sigma, Almanya
3,4-Dihidroksibenzenaldehyt	Sigma, Almanya
4-Dimetilaminobenzenaldehyt	Sigma, Almanya
Tiyofen-2-karbaldehyt	Fluka, Almanya
3,4-Dimetoksibenzenaldehyt	Sigma, Almanya
İndol-3-karboksaldehit	Sigma, Almanya

<i>N</i> -Bütanol	Sigma, Almanya
Petrol eteri	Isolab, Almanya
Etil asetat	Isolab, Almanya
İTK plağı (Silikajel 60 F ₂₅₄ kaplı alüminyum)	Merck, Almanya
NaCl	Isolab, Almanya
CaCl ₂	Isolab, Almanya
KCl	Isolab, Almanya
Sükroz	Merck, Almanya
Disodyum hidrojen fosfat dihidrat	Merck, Almanya
Potasyum dihidrojen ortofosfat	Merck, Almanya
NADP Disodyum	Merck, Almanya
G6P Disodyum	Merck, Almanya
G6P Dehidrojenaz	Merck, Almanya
MgCl ₂	Merck, Almanya
DCM	Merck, Almanya
Metanol	Merck, Almanya
DMSO- <i>d</i> ₆	Merck, Almanya

3.2. Kullanılan Cihazlar

Tablo 3. 2

Tez çalışmasında kullanılan cihazlar

Cihaz	Firma/Model, Ülke
Elektronik terazi	Shimadzu, Libror EB-330 HU, Japonya
Manyetik tabanlı ısıtıcı karıştırıcı	Heidolph, MR 3003, Almanya
Ultraviyole lambası	Camag, Cabinet, İsviçre
Erime derecesi tayin cihazı	Mettler Toledo-MP90 Melting Point System
Infrared spektrofotometresi	Shimadzu-IR Affinity-1S, Japonya
Nükleer manyetik rezonans spektrometresi	Bruker, UltraShield 300 MHz, ABD
Kütle spektrometresi	Agilent, 1260, ABD
Vorteks	Wisemix, Kore
Homojenizatör	IKA T18 dşgştal Ultrax
Santrifüj cihazı	Hermle Z 206, Almanya
YBSK Cihazı	Agilent 1260 Infinity II LC-MS, ABD
Ultrasonik su banyosu	Bandelin, Sonorex Süper RK 510H, Almanya
Karıştırıcılı su banyosu	GFL Shaking Water Bath1083
Döner çalkalayıcı	DLAB, MX-RD-E vertical rotator, ABD

4. YÖNTEMLER

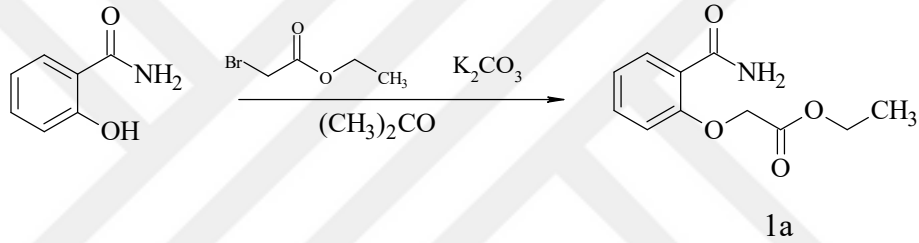
4.1. Bileşiklerin Sentezi

4.1.1. Etil (2-karbamoilfenoksi)asetat bileşiğinin sentezi (Metot A)

1 Ekivalan salisilamit üzerine 1 ekivalan potasyum karbonat, 1 ekivalan etil bromoasetat eklenerek 100 mL aseton içerisinde çözündürüldü. Karışım geri çeviren soğutucu altında 4 saat ısıtıldı (Şekil 4.1); reaksiyon takibi ince tabaka kromatografisi (İTK) ile yapıldı. Reaksiyon bitiminde karışım oda sıcaklığına getirildi, çöken madde süzüldü ve dietileter ile yıkanarak etanolden kristallendirildi (Kamei vd., 2006).

Şekil 4.1

Etil (2-karbamoilfenoksi)asetat bileşiğinin sentezi

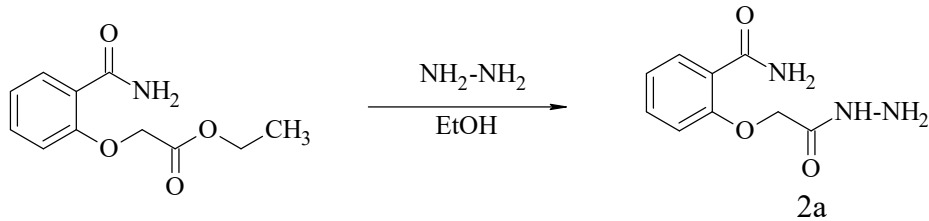


4.1.2. 2-(2-Hidrazinil-2-oksoetoksi)benzamid bileşiğinin sentezi (Metot B)

1 Ekivalan etil (2-karbamoilfenoksi)asetat bileşiği üzerine 20 mL %80'lik hidrazin hidrat ve 20 mL etanol ilave edilerek geri çeviren soğutucu altında 2 saat ısıtıldı (Şekil 4.2.). Reaksiyon takibi ince tabaka kromatografisi ile yapıldı. Reaksiyon sonunca çöken ürün süzülerek ayrıldı ve metanolden kristallendirildi (Fahmy ve El-Eraky, 2001).

Şekil 4. 2

2-(2-Hidrazinil-2-oksoetoksi)benzamid bileşiğinin sentezi

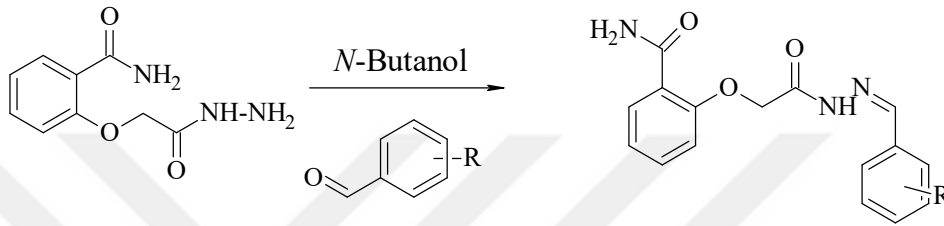


4.1.3. Hedef bileşiklerin sentezi; 2-(2-{2-[(Süstitüefenil)metiliden]hidrazinil}-2-oksoetoksi)benzamid bileşiklerinin sentezi (Metot C)

1 Ekivalan 2a bileşiği üzerine eş molar süstitüe benzaldehitler 20 mL bütanol ortamında eklenerek geri çeviren soğutucu altında 24 saat ısıtıldı (Şekil 4.3). Reaksiyon takibi ince tabaka kromatografisi ile yapıldı. Reaksiyon sonunda oda sıcaklığında çöken ürün süzüldü, distile su ile yıkandı ve metanolden kristallendirildi (Fahmy ve El-Eraky, 2001).

Şekil 4. 3

Hedef bileşiklerin sentezi için reaksiyon denklemi



4.2. İTK Çalışmaları ve Rf Değerlerinin Saptanması

Sentezlenen tüm bileşiklerin ince tabaka kromatografik analizleri etil asetat ve petrol eterinin çeşitli oranlarını (1:4, 1:3, 1:1, 2:1) içeren mobil fazlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kullanılan sabit faz silika jel 60 F₂₅₄ kaplı alüminyum tabakalardır. Kapiller tüp aracılığıyla maddelerin konsantre çözeltileri plağa spot olarak uygulanmış, elde edilen sonuçlar 254 nm ve 366 nm dalga boyunda ultraviyole (UV) ışık kullanılarak gözlemlenebilmiştir. Metot A ve B’de petrol eteri: etil asetat (1:1) çözücü sistemi; metot C’de ise petrol eteri:etil asetat (3:1) + glasiyel asetik asit (2 damla) kullanılmıştır.

4.3. Erime Noktalarının Tayini

Sentezlenen bileşiklerin erime noktaları, toz edilmiş numuneler bir ucu kapalı kapiler borulara yaklaşık 0.5 cm yüksekliğinde konularak Büchi Melting Point Apparatus SMP30 cihazında erimeye başladıkları sıcaklık kaydedilerek ölçülmüştür.

4.4. Infra-red (IR) Spektrumlarının Eldesi

Nihai bileşiklerin IR spektrumları, bileşiklerin direkt sıkıştırma yöntemiyle Perkin Elmer Spektrum Two FT-IR-ATR Spectrometer cihazında elde edilmiştir.

4.5. Kütle Spektrumlarının Eldesi

Nihai bileşiklerin kütle spektrumları Agilent 1260 Infinity II LC-MS, manual enjeksiyon cihazıyla; negatif iyon modunda kaydedilmiştir.

4.6. Hidrojen Nükleer Manyetik Rezonans (^1H -NMR) Spektrumlarının Eldesi

Nihai bileşiklerin ^1H -NMR spektrumları, bileşiklerin heksadötöre dimetil sülfoksit (DMSO- d_6) içindeki çözeltisinde TMS (tetrametilsilan) internal standardı eklenerek Bruker 400 MHz AV model NMR’da alınmıştır.

4.7. Karbon-13 Nükleer Manyetik Rezonans (^{13}C -NMR) Spektrumlarının Eldesi

Nihai bileşiklerden bazılarının ^{13}C -NMR spektrumları, bileşiklerin heksadötöro dimetil sülfoksit (DMSO- d_6) içindeki çözeltisinde TMS (tetrametilsilan) internal standardı eklenerek Bruker 100 MHz AV model NMR’da alınmıştır.

4.8. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirmek üzere mikrodilüsyon tekniği ile minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) çeşitli bakteri, maya ve küfler üzerinde belirlenmiştir. Bakteri kültürlerini muhafaza etmek için Mueller-Hinton agar plakaları, mantar kültürlerinin bakımında patates dekstrozu (PD) agar ve Sabouraud dekstrozu (SD) agar kullanılmıştır. Test bakterileri, Mueller-Hinton agar substratı üzerinde 37°C’de 24 saat boyunca inkübasyonu gerçekleştirilen ve 0.5 McFarland standardına uygun olarak yaklaşık 108 CFU/mL’ye seyreltilmesi ile gerçekleştirilen bakteri kültürlerinden elde edilmiştir. Mantar sporu süspansiyonlarının hazırlanması için PD agar substratı üzerinde 30°C’de büyüyen 3 ila 7 günlük taze olgun kültürler kullanılmıştır. Sporların durulanması için steril % 0.1 Tween 80 kullanılmış ve bunların yaklaşık 106 CFU/mL’ye kadar daha fazla seyreltilmesi, CLSI’ nin prosedür önerilerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Maddelerin minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK), 96 kuyucuklu mikropalakalar kullanılarak bir seri seyreltme tekniği ile belirlenmiştir. 10 mL DMSO (%20) içindeki maddelerin her birinden 100 mg’lık bir stok çözelti hazırlanmış ve daha 21 sonra bakteri kültürleri on kez Mueller-Hinton besiyeri ile iki kat seyreltilmiştir. Mantar kültürleri için SD besiyeri kullanılmıştır. Konsantrasyonları 5 mg/mL ile 9.7 µg/mL arasında değişen çeşitli dilüsyonlar, bakteri, maya ve mantar sporu çözeltilerinden 100 µL ve dilüsyonları mikrotitrasyon plakalarına aktarılmış ve bakteri/mayalar 35-37 °C’de, filamentli mantarlar 25°C’de 24-48 saat süreyle inkübe edilmiştir. Pozitif kontrollerden bir kuyucukta 100 µL mikroorganizma solüsyonu ve %20 DMSO solüsyonu ve diğerinde 100 µL mikroorganizma solüsyonu ve 100 µL Mueller-Hinton besiyeri içermektedir. Üçüncü kontrol olarak bakteri için azitromisin ve mantarlar için vorikonazol kullanılmıştır. Negatif kontroller yalnızca mikroorganizma içermeyen seyreltik çözeltiler

içermektedir. Pozitif ve negatif sonuçlar, kontrol kuyucuklarındakilerle karşılaştırılarak 24-48 saat sonra oluşan bulanıklığa göre değerlendirilmiştir. Her bir mikroorganizma için gözle görülür bir gelişme göstermeyen en düşük konsantrasyonlar MİK olarak tanımlanmıştır. Minimum inhibitör konsantrasyonunun belirlenmesi, oksidasyonredüksiyonu gösteren ve mikrobiyal büyümenin değerlendirilmesinde kullanılan resazurin kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Resazurin, canlı hücreler içinde oksidoredüktazlarla resorufine indirgenmesi durumunda pembeye ve floresana dönüşen, floresan olmayan mavi renkli bir boyayı temsil eder. Belirlenen konsantrasyonda incelenen mikroorganizma için minimum inhibitör konsantrasyon (MİK), resazurinin renginin değişmediği sınır seyreltmesi olarak tanımlanmıştır.

4.9. Karaciğer Mikrozomal Preparatının Hazırlanması

Mikrozomal preparatlar fare, sıçan, tavşan, köpek, maymun ve domuz gibi deney hayvanlarının karaciğerinden hazırlanabilmektedir. Deneyler, deney hayvanı öldürüldükten ve hayvanın karaciğeri çıkarıldıktan sonra soğuk şartlar altında yapılmıştır. Mikrozom preparatları, kalsiyum klorürle çöktürme metodu kullanılarak hazırlanmıştır. Klasik klorürle çöktürme metodu, endoplazmik retikulum fragmentlerinin santrifüjüne dayanmaktadır. Çalışmalar, sırasında %0.9 sodyum klorür, 0.25 M sukroz, 80 mM kalsiyum klorür, 0.15 M potasyum klorür ve 0.2 M pH: 7.4 fosfat tamponu çözeltileri kullanılarak yapılmıştır. .

4.10. Standart Kofaktör Karışımları ve Ön İnkübasyon

İnkübasyon aracılığı ile aromatik hidroksilasyon, epoksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları çalışılmıştır. Bu reaksiyonların araştırılmasında kullanılan ko-faktör karışımları tablo 4.1’de belirtilmiştir. Tabloda belirtilen maddeler, 2 mL pH: 7.4 fosfat tamponunda çözülmüş ve stabiliteyi korumaları için, inkübasyon reaksiyonlarından kısa süre önce hazırlanmıştır. G6P dehidrojenaz, kofaktör karışımında uzun süre beklemesi durumunda deaktif olacağından; ön inkübasyon çalışmasından hemen önce ko-faktör çözeltisine eklenmiştir. Tüm kofaktörler 37°C’lik çalkalayıcı su banyosunda (inkübatörde) 5 dakika inkübe edildi ve böylece ön inkübasyonla NADPH üretimi sağlandı.

Tablo 4. 1*In vitro inkübasyon testlerinde kullanılan kofaktör bileşimi*

Tüp miktarı	NADP Disodyum (mg)	G6P Disodyum Dehidrojenaz (μ L)	MgCl ₂ (50% w/w) μ L	0.2M pH:7.4 Fosfat Tamponu (mL)
7	10.99	21.28	9.8	14

4.11. İnkübasyon

Metabolizması çalışılacak substratın, mikrozomal preparatla vücut sıcaklığında reaksiyonuna inkübasyon adı verilir. Her bir inkübasyon tüpü için 2-5 μ mol/50 μ l substrat kullanılır. Substratın çözeltisi, metabol, 2-metoksietanol veya DMSO ile hazırlanabilir. Bu tez kapsamında, çözeltiler metanolde hazırlanmıştır. Substratın metabolizasyonunu test ederken, aynı zamanda kontrol tüpleri de hazırlanır. Bu kontrol tüpleri ile gerçekleştirilen kontrol deneylerinde; denatüre mikrozomların kullanılır ya da kofaktörlerin ilave edilmez. Böylece inkübasyonda metabolitlerin enzimatik ya da kimyasal olarak oluştuğu belirlenir. Deneyler istatistiksel hataları önlemek ya da meydana gelebilecek kayıplar açısından ikili ya da üçlü halde paralel halde yürütülmüştür (Tablo 4.2). Bütün reaksiyon şartları daha önce belirtildiği şekilde hazırlandıktan sonra substrat 37°C'lik çalkalayıcı su banyosunda yarım saatlik bir inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyondan sonra substrat ve metabolitler kromatografik yöntemlerle incelenmiştir.

Tablo 4. 2*In-vitro inkübasyon testlerinde hazırlanan tüplerinin içerikleri*

Tüp No.	Substrat (50 μ L)	Mikrozom (1mL)	Kofaktör (1 mL)
T1	+	+	+
T2	+	+	+
T3	+	+	+
Denatüre Mikrozom Kontrol 4	+	Denatüre	+
Denatüre Mikrozom Kontrol 5	+	Denatüre	+
No-kofaktör Kontrol 6	+	+	Tampon

No-kofaktör Kontrol 7	+	+	Tampon
-----------------------	---	---	--------

4.12. Biyolojik Sistemden Ekstraksiyon ve Buharlaştırma

Enzimatik inkübasyon reaksiyonu, inkübasyon süresi sonunda test tüpüne eklenen DCM ile durdurulmuştur. İnkübasyon sonucu; test tüpünde değişmeden kalan substrat, oluşan metabolitler ve organik faz karışımı, önce tüp karıştırıcısı (vorteks) ve daha sonra ile döner çalkalayıcı ile karıştırılmıştır. Tüp içerikleri santrifüjlendikten sonra organik fazların toplanmasını takip eden işlem iki kez yapılmış ve birleştirilen organik fazlar düşük sıcaklıktaki su banyosunda ya da azot gazı altında uçurulduğunda metabolik ekstrater elde edilmiştir. Metabolik ekstraterin kromatografik sistemlere uygulanmasından sonra metabolitler, standartları ile karşılaştırılarak tayin edilmiştir.

5. BULGULAR VE YORUM

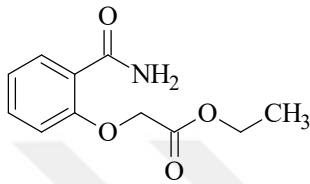
5.1. Sentez Çalışmaları

5.1.1. Etil (2-karbamoilfenoksi)asetat (1a)

Metot A'ya göre, salisilamitten hareketle %75 verim ile sentezlenmiştir. Fiziksel görünüm: beyaz parlak toz.

Şekil 5. 1

Etil(2-karbamoilfenoksi)asetat (1a)



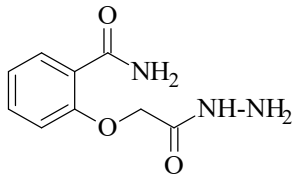
Deneysel E.N.: 126-128°C **Literatür E.N.:** 124°C (Fahmy ve El-Eraky, 2001)

Verim: %75

5.1.2. 2-(2-Hidrazinil-2-oksoetoksi)benzamid (2a)

Şekil 5. 2

2-(2-Hidrazinil-2-oksoetoksi)benzamid (2a)



Deneysel E.N.: 188°C **Literatür E.N.:** 190°C (Fahmy ve El-Eraky, 2001).

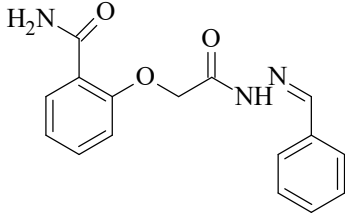
Verim: %85

Fiziksel görünüm: Beyaz, parlak ve hacimli bir katı.

5.1.3. 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-(fenilmetilen)hidrazit (3a)

Şekil 5. 3

2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-(fenilmetilen)hidrazit (3a)



Deneysel E.N.: 206-208°C **Literatür E.N.:** 206°C (Fahmy ve El-Eraky, 2001)

Verim: %45

Fiziksel Görünüm: Beyaz parlak kristal

IR (ATR) ν_{maks} (cm⁻¹): 3485.95- 3412.17 (NH₂, NH), 3083.25 (sp² C-H), 1682.53, 1597.45, 1573.32 (amit, hidrazit C=O ve C=N) , 1510 (C=C)

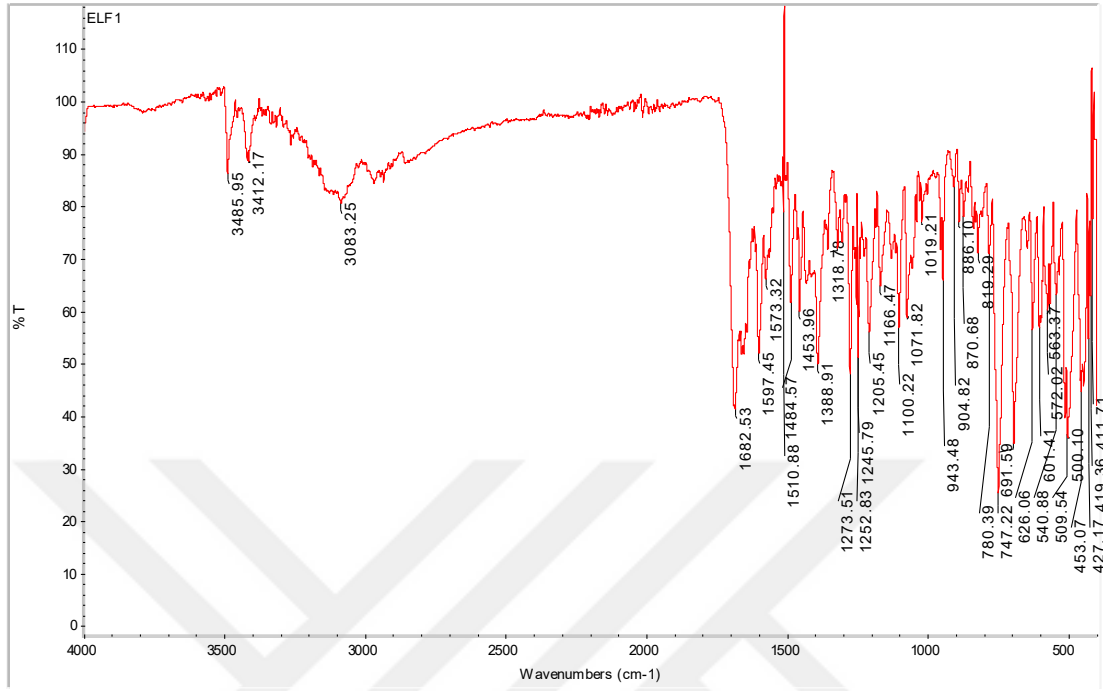
¹H-NMR (400 MHz) (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 5.53 ve 4.89 (s, 2H, -CH₂-), 7.09 (t, 1H, Ar-H, J= 7.08 Hz, H4'), 7.17 ve 7.23 (d, 1H, Ar-H, J: 8.12 Hz, H6'), 7.449 ve 7.773 (s, 1H, C=NH), 7.317-7.568 (m, 3,65 H, Ar-H, H2, H3, H4, H5, H6), 7.597-7.581 (m, 2H, Ar-H, H5'), 7.99 (d, 1H, Ar-H, J:7.6 Hz, H3'), 8.05 ve 8.22 (s, 1H, CONH₂), 8.29 ve 8.52 (s, 1H, CONH₂), 12.02 ve 11.78 (s, 1H, CONH)

¹³C-NMR (100 MHz) (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 66.52 ve 67.78 (O-CH₂-C=O), 114.02, 114.34, 121.53, 121.96, 122.59, 124.44, 127.54, 127.67, 129.25, 129.31, 130.59, 130.72, 130.95, 131.84, 132.87, 133.28, 134.31, 134.45, 144.96, 148.26, 156.24 ve 156.76, 165.00 ve 166.27

MS (ESI) (m/z) [M - H]⁺: C₁₆H₁₅N₃O₂ için; hesaplanan: 296.103, bulunan: 296.2

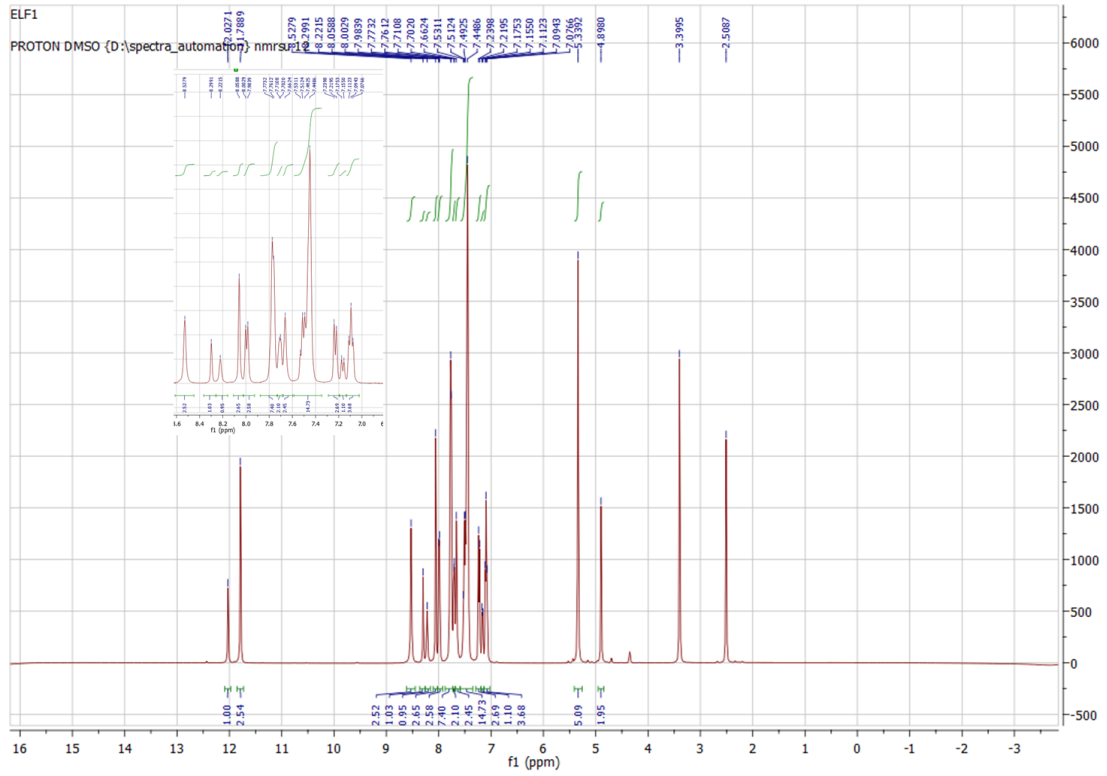
Şekil 5. 4

3a Bileşiğinin IR Spektrumu



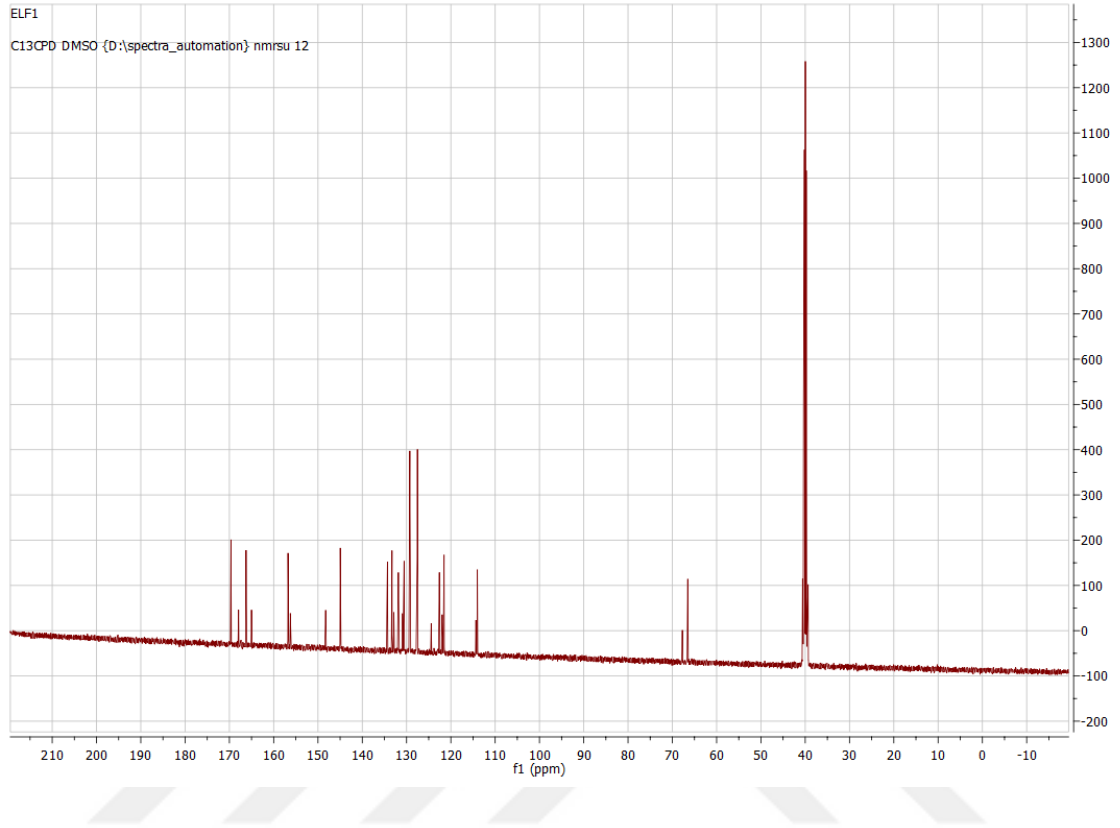
Şekil 5. 5

3a Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu



Şekil 5. 6

3a Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spekturumu



Şekil 5. 7

3a bileşiğinin MS Spektrumu

Print of window 80: MS Spectrum

Data File : C:\Users\Public\Documents\ChemStation\1\Data\EB_Masters\ELF1_3.D

Sample Name : ELF1:3

Acq. Operator : MERT ULGEN

Sample Operator : MERT ULGEN

Acq. Instrument : LC DAD-MS

Location : -

Injection Date : 5/26/2025 11:07:13 AM

Inj : 1

Inj Volume : Manually

Acq. Method : C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\1\METHODS\mas analysis.M

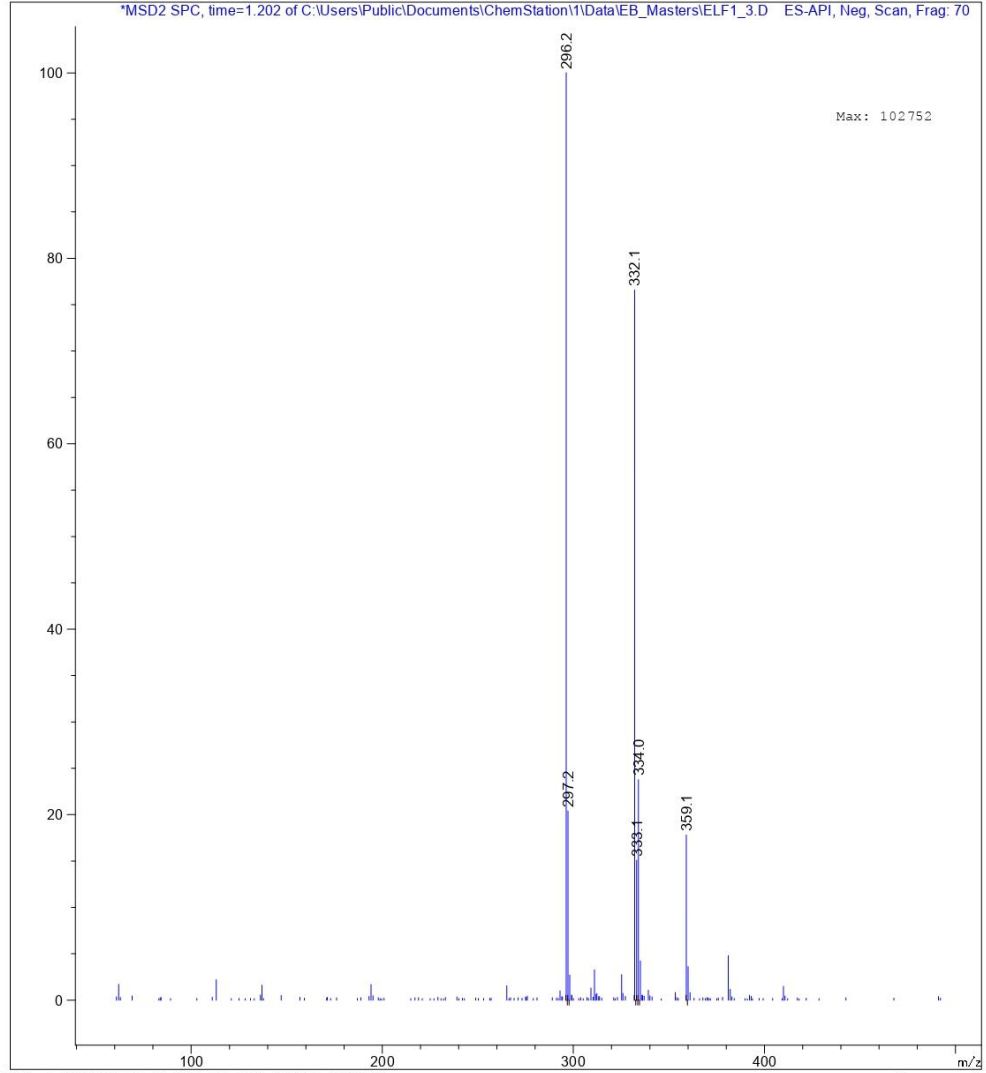
Last changed : 5/26/2025 10:34:47 AM by MERT ULGEN

(modified after loading)

Analysis Method : C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\1\METHODS\mas analysis.M

Last changed : 4/10/2025 2:33:23 PM by MERT ULGEN

MS Spectrum



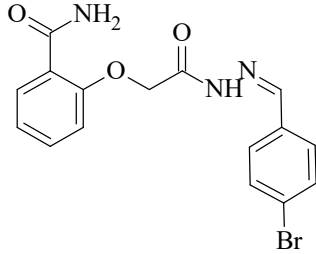
LC DAD-MS 5/26/2025 3:18:35 PM MERT ULGEN

Page 1 of 1

5.1.4. 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetikasit 2-[(4-bromofenil)metilen]hidrazit (3b)

Şekil 5. 8

2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetikasit-2-[(4-bromofenil)metilen]hidrazit (3b)



Deneysel E.N.: 233-243°C

Verim: %52

Fiziksel Görünüm: Beyaz katı

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3438.66, 3136.64 (NH_2 , NH), 3083.25 (sp^2 C-H), 1674.30, 1646.13, 1601.19.45 (amit, hidrazit C=O ve C=N), 1510 (aromatik C=C)

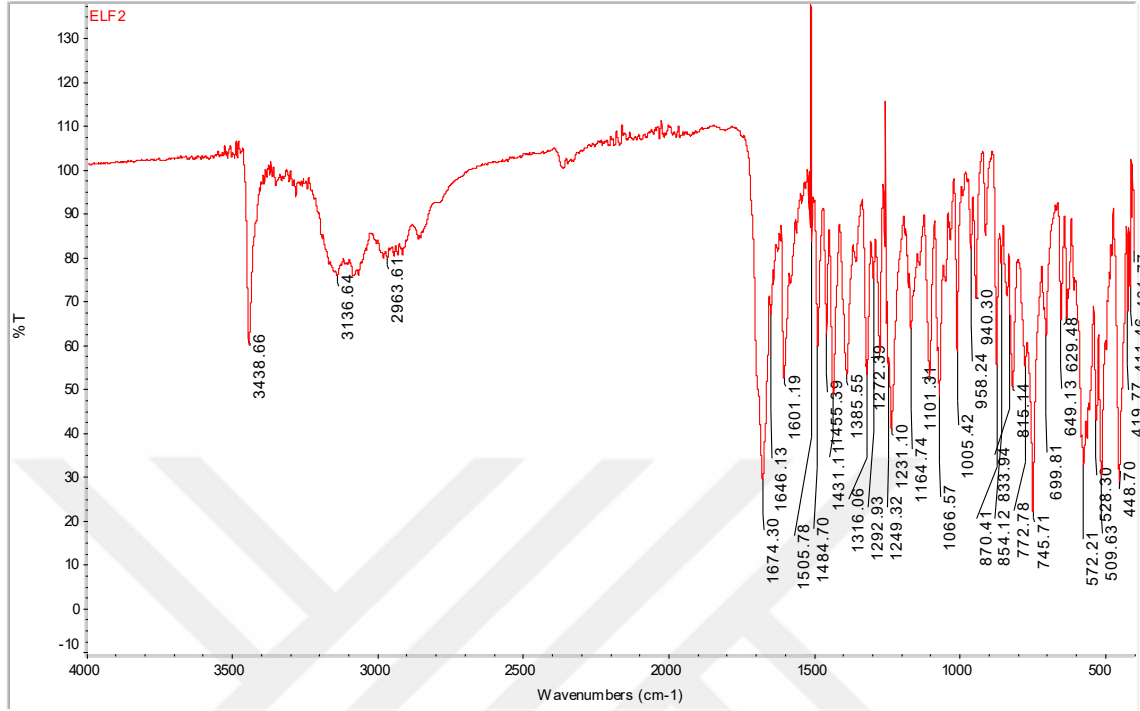
^1H -NMR (400 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 4.89 ve 5.53 (s, 2H, $-\text{CH}_2-$), 7.09 (t, 1H, Ar-H, J: 6.28 Hz, H4'), 7.15 ve 7.22 (d, 1H, Ar-H, J:8.24 Hz, H6'), 7.49 ve 7.51 (t, 1H, Ar-H, J:7.48 Hz, H5'), 7.583-7.694 (m, 3H, Ar-H, H2, H6, C=NH), 7.697-7.807 (m, 2H, H3,H5, C=NH), 7.83 ve 7.97 (d, 1H, Ar-H, J: 7.96 Hz, H3'), 8.18 ve 8.02 (s, 1H, NH_2), 8.47 ve 8.26 (s, 1H, NH_2), 11.83 ve 12.08 (s, 1H, CONH)

^{13}C -NMR (100 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 66.45, 113.89, 121.56, 121.99, 122.611, 123.83, 129.45, 131.85, 132.28, 132.36, 132.88, 133.22, 133.557, 133.72, 143.71, 156.82, 166.22, 169.63

MS (ESI) (m/z) $[\text{M} - \text{H}]^-$: $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{BrN}_3\text{O}_3$ için; hesaplanan: 374.0154 ve 376.0, bulunan: 374.4 ve 376.0

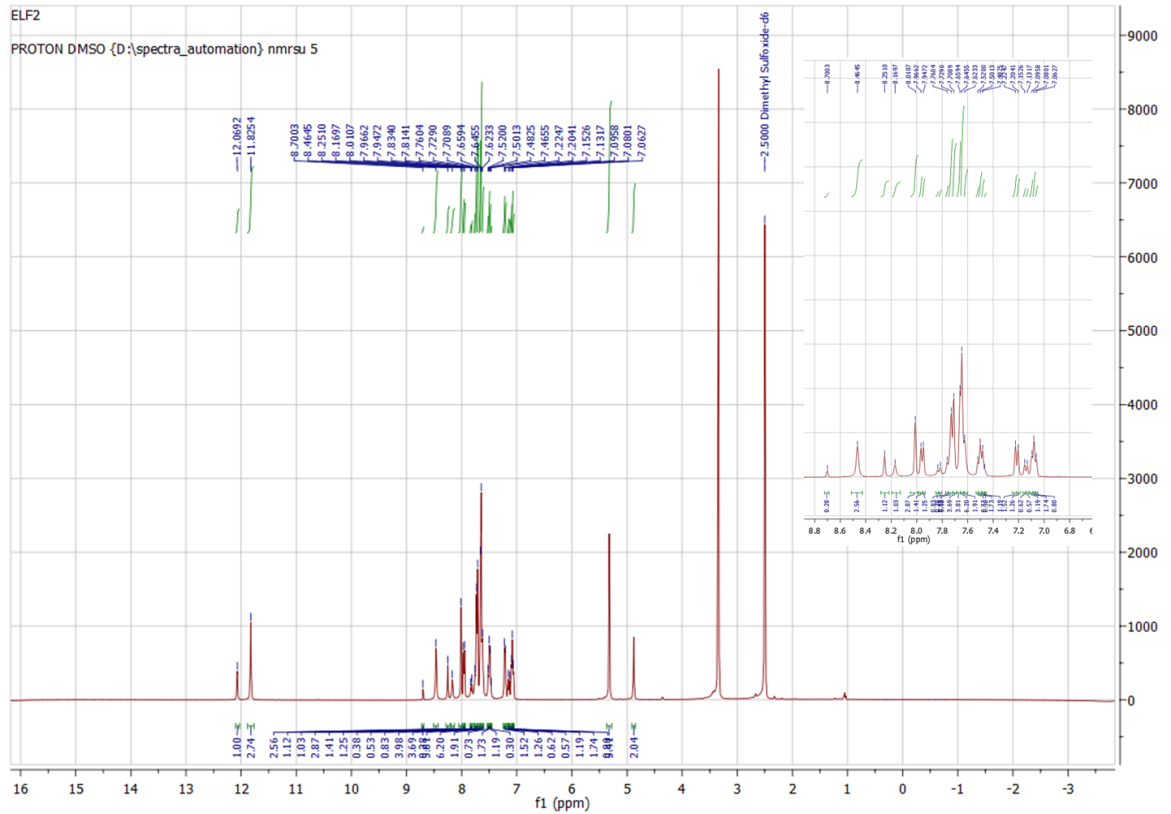
Şekil 5. 9

3b Bileşiğinin IR Spektrumu



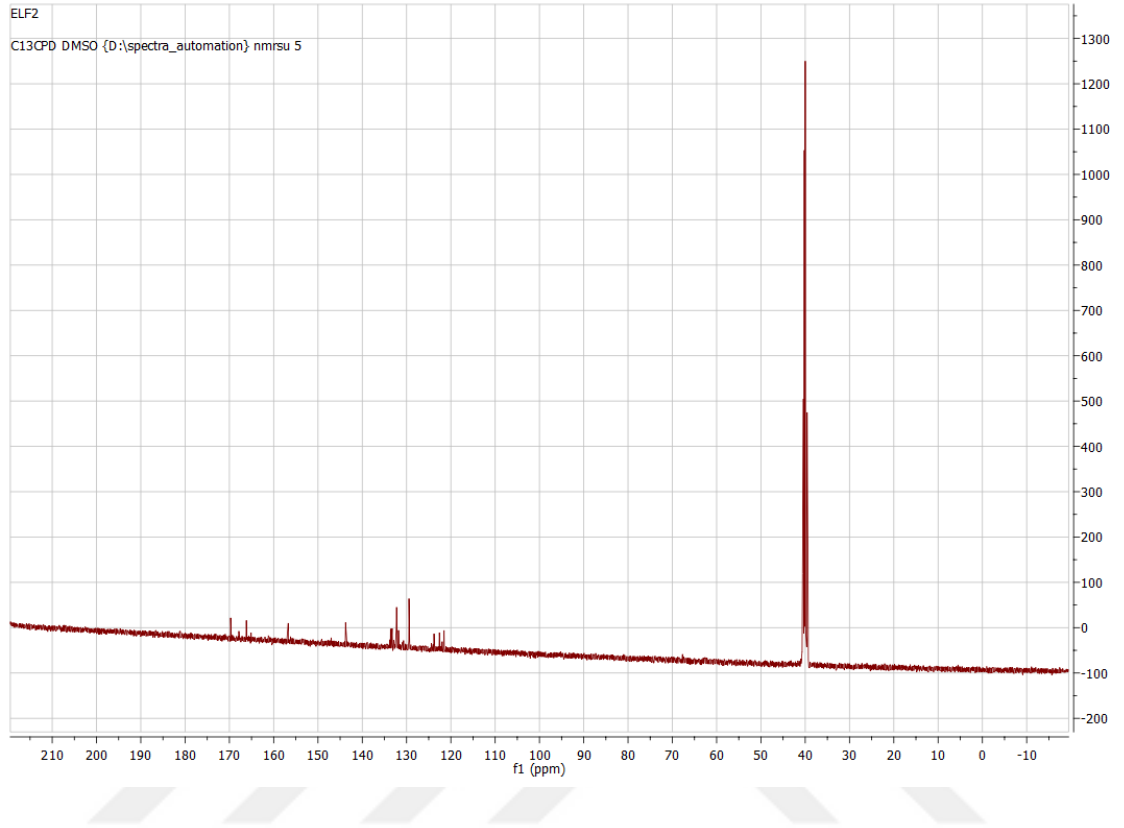
Şekil 5. 10

3b Bileşiğinin ^1H -NMR Spektrumu



Şekil 5. 11

3b Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu



Şekil 5. 12

3b Bileşiğinin MS Spektrumu

Print of window 80: MS Spectrum

Data File : C:\Users\Public\Documents\ChemStation\1\Data\EB_Masters\ELF2_1.D

Sample Name : ELF2:1

Acq. Operator : MERT ULGEN

Sample Operator : MERT ULGEN

Acq. Instrument : LC DAD-MS

Injection Date : 5/26/2025 11:34:48 AM

Location : -

Inj : 1

Inj Volume : Manually

Acq. Method : C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\1\METHODS\mas analysis.M

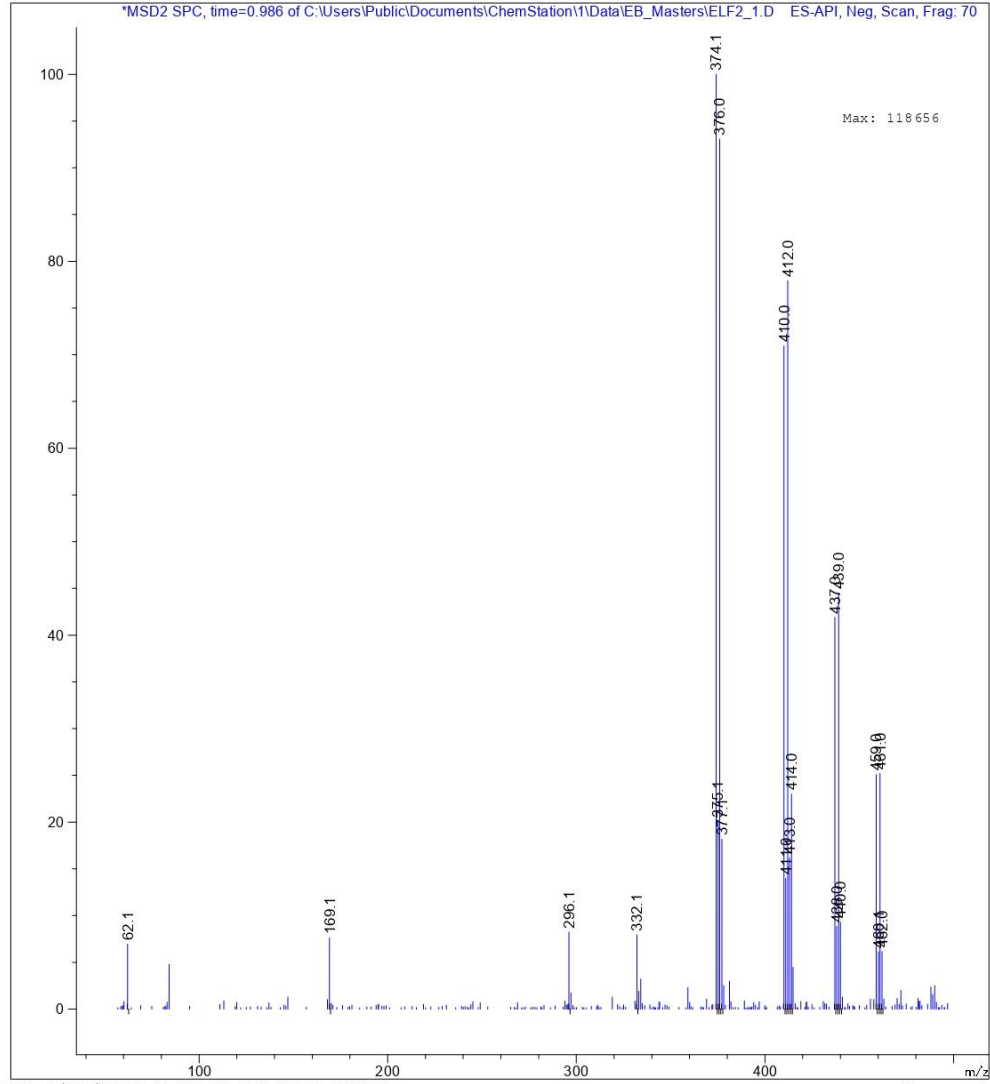
Last changed : 5/26/2025 10:34:47 AM by MERT ULGEN

(modified after loading)

Analysis Method : C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\1\METHODS\mas analysis.M

Last changed : 4/10/2025 2:33:23 PM by MERT ULGEN

MS Spectrum



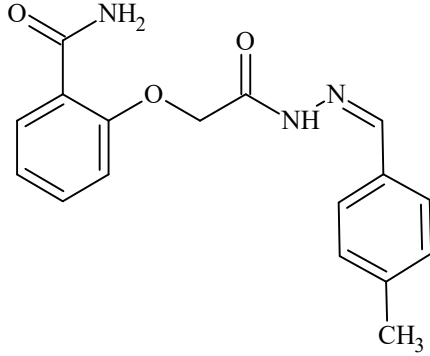
LC DAD-MS 5/26/2025 3:20:05 PM MERT ULGEN

Page 1 of 1

5.1.5. 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-([4-metilfenil)metilen]hidrazit (3c)

Şekil 5. 13

2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-([4-metilfenil)metilen]hidrazit (3c)



Deneysel E.N.: 199.2°C **Literatür E.N.:** 192°C (Fahmy ve El-Eraky, 2001)

Verim: %48

Fiziksel Görünüm: Beyaz katı

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3408.94, 3124.37 (NH_2 , NH), 3083.25 (sp^2 C-H), 225.38, 2848.67 (sp^3 C-H), 1683.52, 1653.49, 1594.45 (amit ve hidrazit C=O; C=N), 1556.24, 1516.57, 1503.00 (aromatik C=C)

^1H -NMR (400 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 2.35 (s, 3H, p - CH_3), 4.87 ve 5.32 (s, 2H, - CH_2 -), 7.09 (t, 1H, Ar-H. J: 6.84 Hz ve 6.96 Hz, H_4'), 7.15 ve 7.22 (d, 1H, Ar-H, J: 8.14 Hz ve 8.44 Hz, H_6'), 7.27 (d, 2H, Ar-H, J: 6.92 Hz, H_3 ve H_5), 7.44 - 7.55 (m, 1H, Ar-H, J: 7.24 Hz, H_5'), 7.56-7.69 (m, 3H, Ar-H, H_2 ve H_6 , C=NH), 7.75 ve 7.96 (d, 1H, Ar-H J: 8.20 Hz, H_3'), 8.00 ve 8.18 (s, 1H, CONH_2), 8.49 ve 8.24 (s, 1H, CONH_2), 11.70 ve 11.94 (s, 1H, -CONH-)

^{13}C -NMR (75MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 66.38, 11.12, 114.10, 120.96, 122.32, 127.29, 130.07, 131.49, 133.61, 140.44, 145.156, 156.73, 169.155

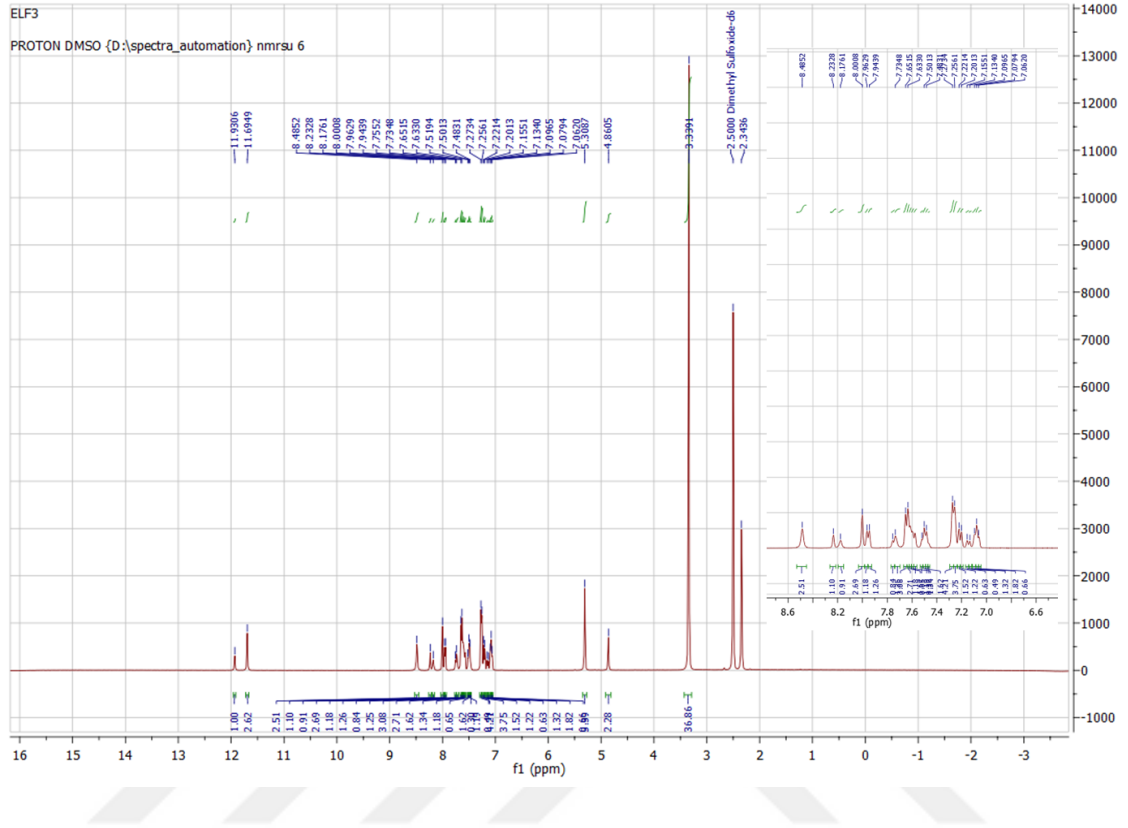
MS (ESI) (m/z) $[\text{M} - 1]^-$: $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3$ için; hesaplanan: 310.1186, bulunan: 310.2

3c Bileşiğinin IR spekturumu



Şekil 5. 16

3c Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu



Şekil 5. 17

3c Bileşiğinin MS Spektrumu

Print of window 80: MS Spectrum

Data File : C:\Users\Public\Documents\ChemStation\1\Data\EB_Masters\ELF3_1.D

Sample Name : ELF3:1

Acq. Operator : MERT ULGEN

Sample Operator : MERT ULGEN

Acq. Instrument : LC DAD-MS

Injection Date : 5/26/2025 11:42:33 AM

Location : -

Inj : 1

Inj Volume : Manually

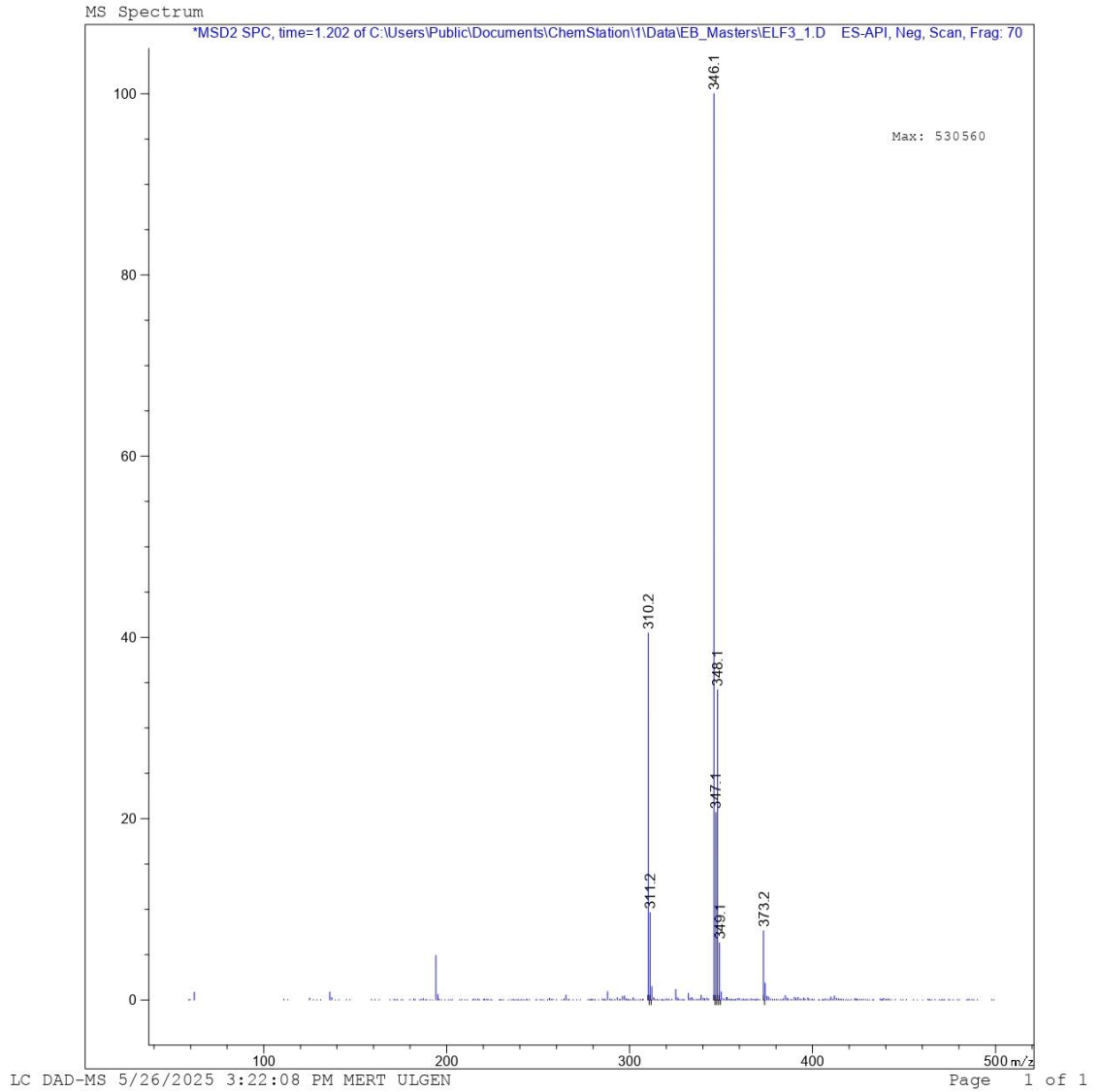
Acq. Method : C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\1\METHODS\mas analysis.M

Last changed : 5/26/2025 10:34:47 AM by MERT ULGEN

(modified after loading)

Analysis Method : C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\1\METHODS\mas analysis.M

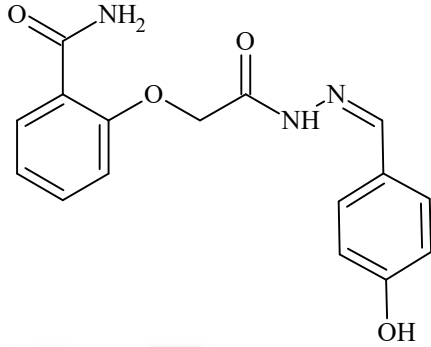
Last changed : 4/10/2025 2:33:23 PM by MERT ULGEN



5.1.6. 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(4-hidroksifenil)metilen]hidrazit (3d)

Şekil 5. 18

2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(4-hidroksifenil)metilen]hidrazit (3d)



Deneysel E.N.: 278.6-281.5°C **Literatür E.N.:** 278°C (Klossa, 1955)

Verim: %59

Fiziksel Görünüm: Beyaz katı

IR (ATR) ν_{maks} (cm⁻¹): 3443.28, 3297.37 ve 3225.25 (NH₂, NH), 3083.25 (sp² C-H), 1674.42, 1603.04, 1568.36 (amit ve hidrazit C=O, C=N), 1497.62, 1484.40, 1456.56 (aromatik C=C)

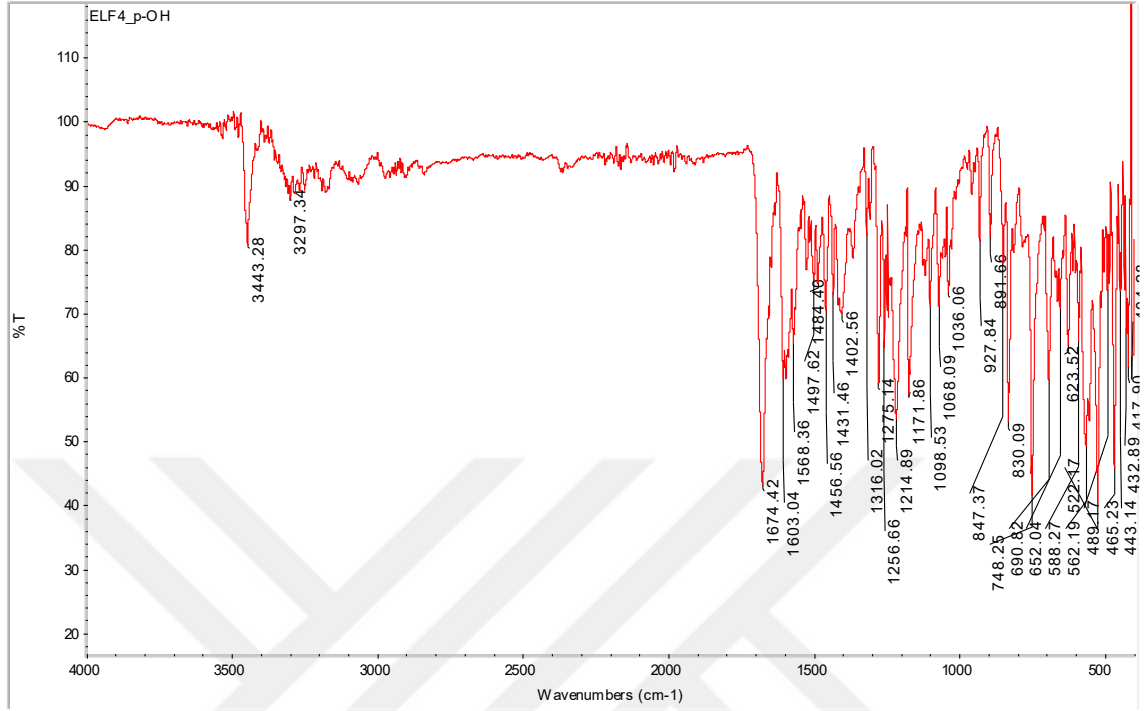
¹H-NMR (400 MHz) (DMSO- *d*₆) δ (ppm): 4.85 ve 5.29 (s, 2H, -CH₂-), 6.84 (s, 1H, N=C-H), 6.85 ve 7.08 (t, 1H, J:7.24 Hz, ArH, H4'), 7.15 ve 7.21 (d, 1H, J:8.2 Hz, H5), 7.43-7.55 (m, 1H, Ar-H, H5') 7.59 (d, 2H, Ar-H, J:8 Hz, H6'), 7.62 (s, 2H,), 7.96 ve 8.18 (d, 2H, Ar-H J: 8.08 Hz, H6), (d, 2H, J:8.28 Hz, H3'), 8.53 (s, 1H, -CONH₂), 9.94 (s, 1H, O-H), 11.58 ve 11.79 (s, 1H, -CONH-)

¹³C-NMR (100 MHz) (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 66.47, 67. 665, 113.97, 114.008, 114.28, 116.18, 116.125, 121.49, 121.95, 122.59, 124.49, 125.34, 125.48, 129.29, 129.39, 130.87, 131.86, 132.81, 133.16, 145.22, 148.49, 156.23, 156.84, 159.78, 160.05, 164.50, 166.23, 167.91, 169.00

MS (ESI) (m/z) [M - H]⁻: C₁₆H₁₅N₃O₄ için; hesaplanan: 312.098, bulunan: 312.1

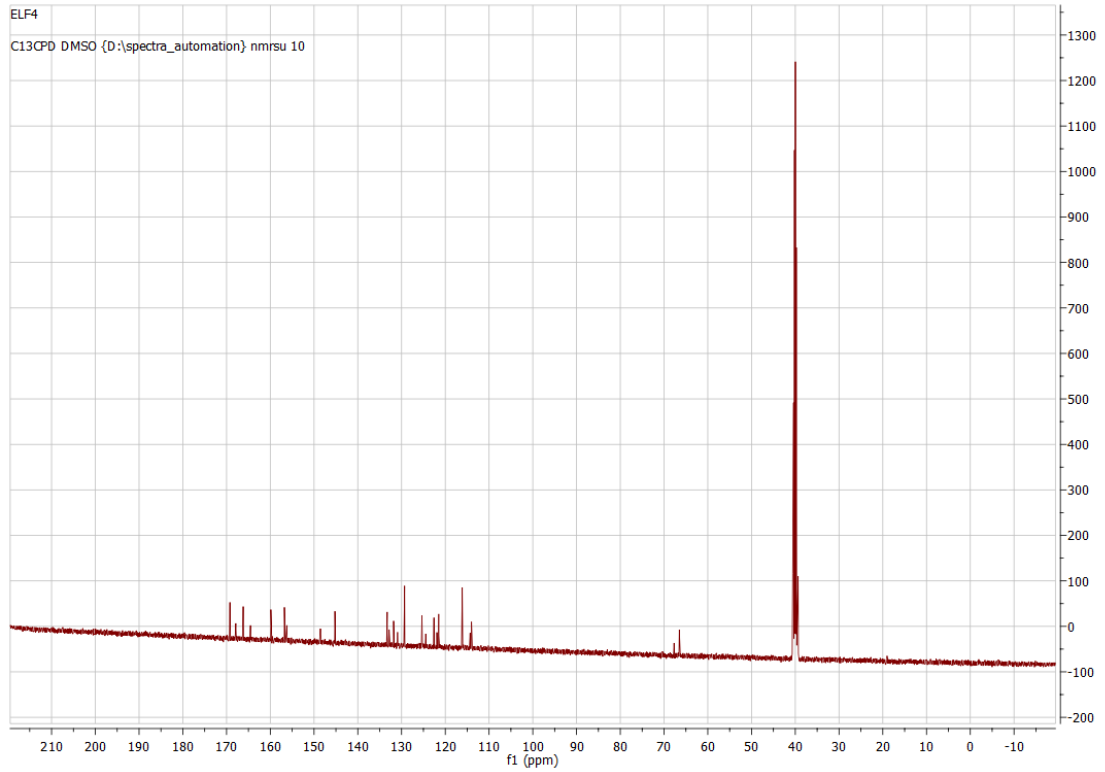
Şekil 5.19

3d Bileşiğinin IR Spektrumu



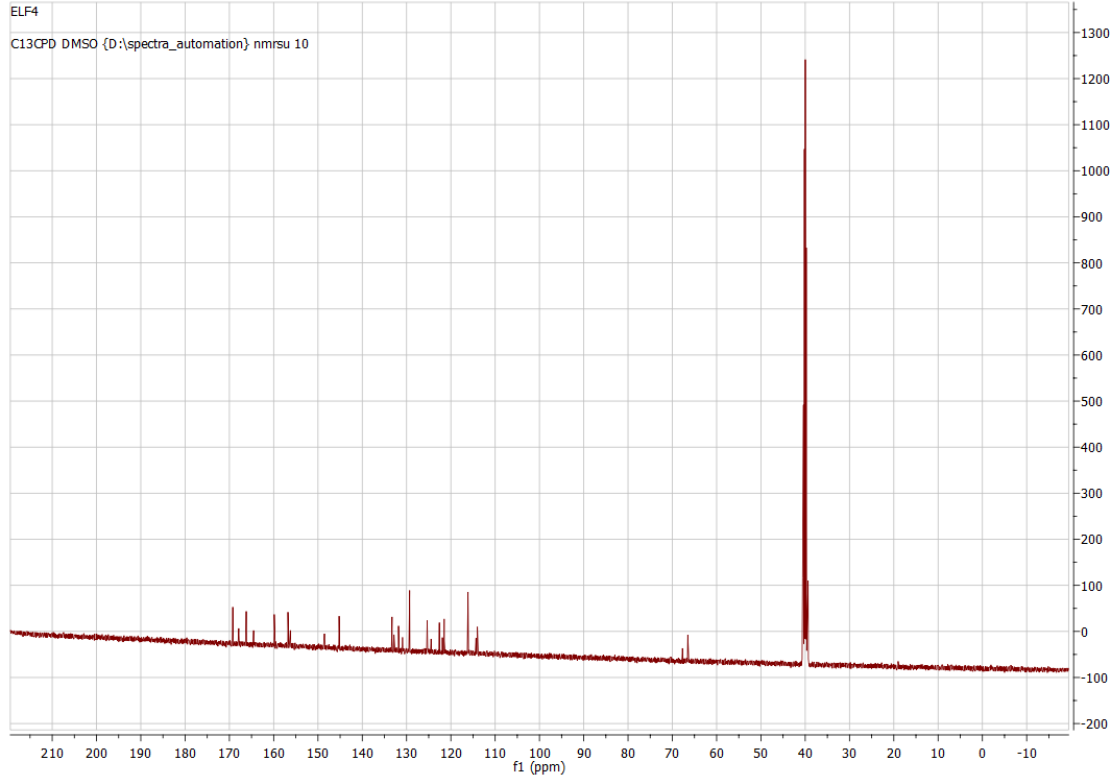
Şekil 5. 20

3d Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu



Şekil 5. 21

3d Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu



Şekil 5. 22

3d Bileşiğinin MS Spektrumu

Print of window 80: MS Spectrum

Data File : C:\Users\Public\Documents\ChemStation\1\Data\EB_Masters\ELF4_1.D

Sample Name : ELF4:1

=====

Acq. Operator : MERT ULGEN

Sample Operator : MERT ULGEN

Acq. Instrument : LC DAD-MS

Injection Date : 5/26/2025 11:49:06 AM

Location : -

Inj : 1

Inj Volume : Manually

Acq. Method : C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\1\METHODS\mas analysis.M

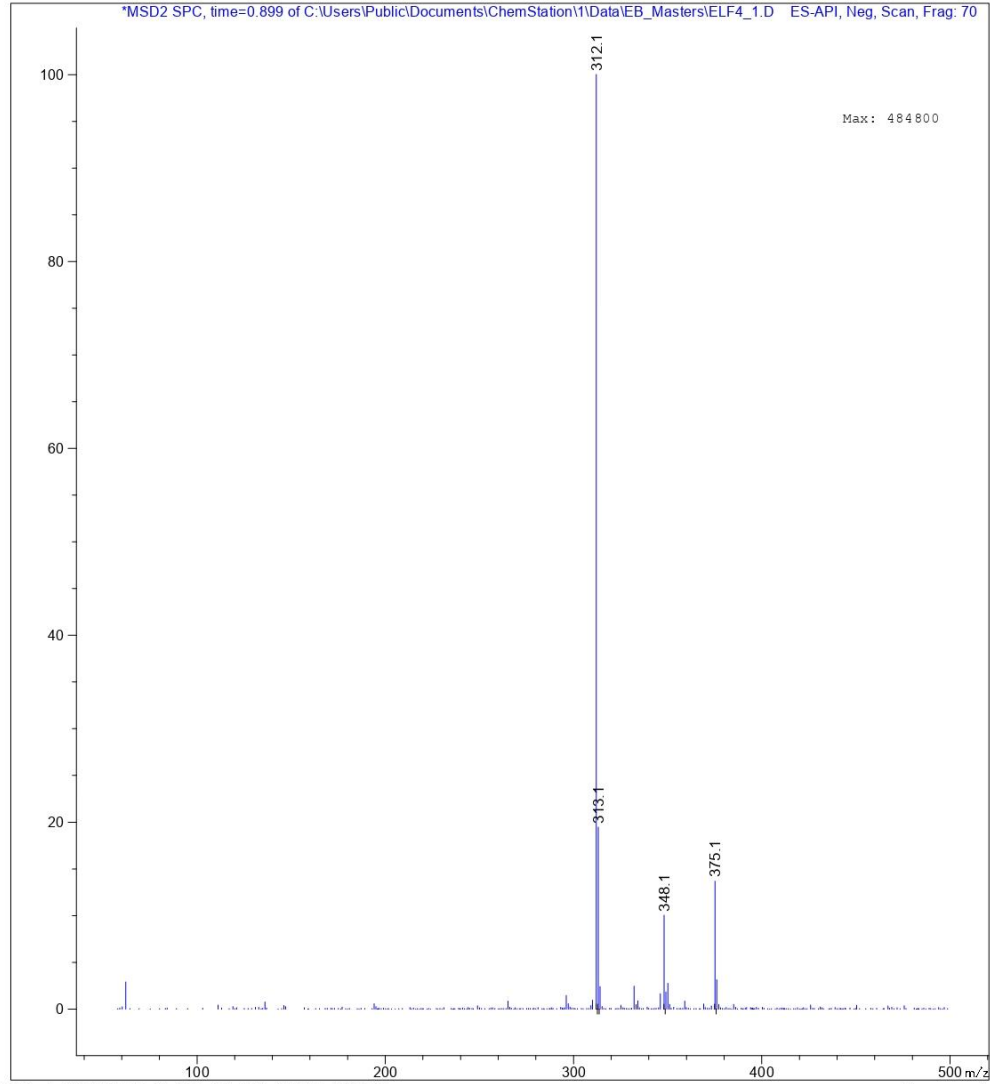
Last changed : 5/26/2025 10:34:47 AM by MERT ULGEN

(modified after loading)

Analysis Method : C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\1\METHODS\mas analysis.M

Last changed : 4/10/2025 2:33:23 PM by MERT ULGEN

MS Spectrum



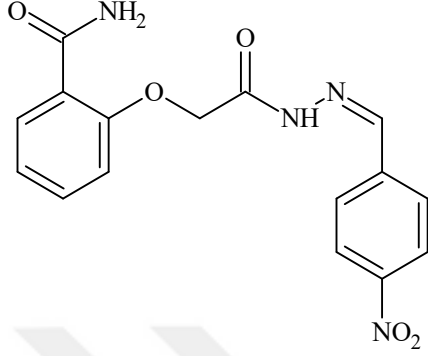
LC DAD-MS 5/26/2025 3:23:51 PM MERT ULGEN

Page 1 of 1

5.1.7. 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(4-nitrofenil)metilen]hidrazit (3e)

Şekil 5. 23

2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(4-nitrofenil)metilen]hidrazit (3e)



Deneysel E.N.: 263.5-265.5°C

Verim: %80

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3422.29 ve 3015.55 (NH_2 , NH), 2938.63 (sp^3 C-H), 1693.44, 1668.69, 1616.72 (amit ve hidrazit C=O, C=N), 1509.29, 1478.87, 1418.05 (aromatik C=C)

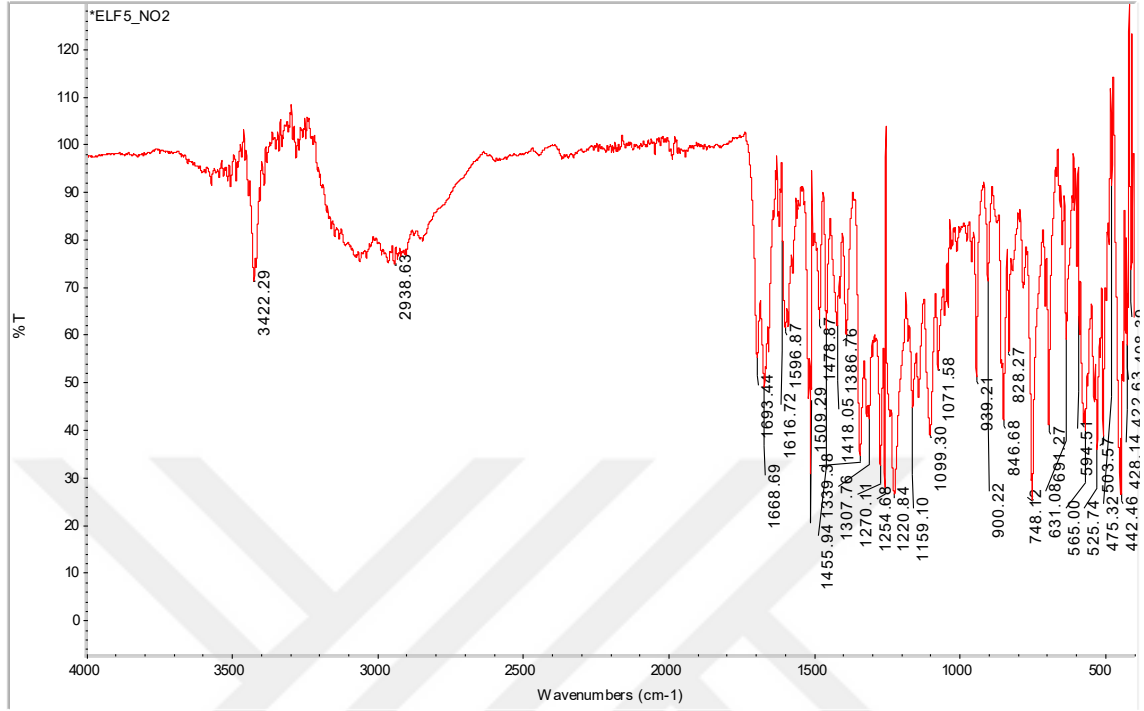
^1H -NMR (400 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 4.93 ve 5.38 (s, 2H, $-\text{CH}_2-$), 7.10 (t, 1H, Ar-H, J:7.16 Hz, H_4'), 7.16 ve 7.25 (d, 1H, Ar-H, J:8.12 Hz H_6'), 7.51 ve 7.52 (t, 1H, Ar-H, J:7.4 Hz, H_5'), 7.64 ve 7.77 (s, 1H, $\text{N}=\text{CH}$), 7.77 ve 7.97 (d, 1H, Ar-H, J:7.68 Hz, H_3'), 8.042 (d, 2H, Ar-H, J:7.72 Hz, H_2 ve H_6), 8.19 ve 8.15 (s, 1H, CONH_2), 8.29 (d, 2H, Ar-H, J:8.2 Hz, H_3 ve H_5), 8.39 ve 8.45 (s, 1H, CONH_2), 12.06 ve 12.32 (s, 1H, $-\text{CONH}-$)

^{13}C -NMR (100 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 66.37, 66.77, 113.97, 114.29, 121.53, 121.96, 122.64, 124.43, 124.57, 128.53, 130.99, 131.80, 133.21, 140.66, 142.50, 148.33, 156.23, 156.71, 165.44, 166.29, 170.09

MS (ESI) (m/z) $[\text{M}-\text{H}]^-$: $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_5$ için; hesaplanan: 341.089, bulunan: 341.1

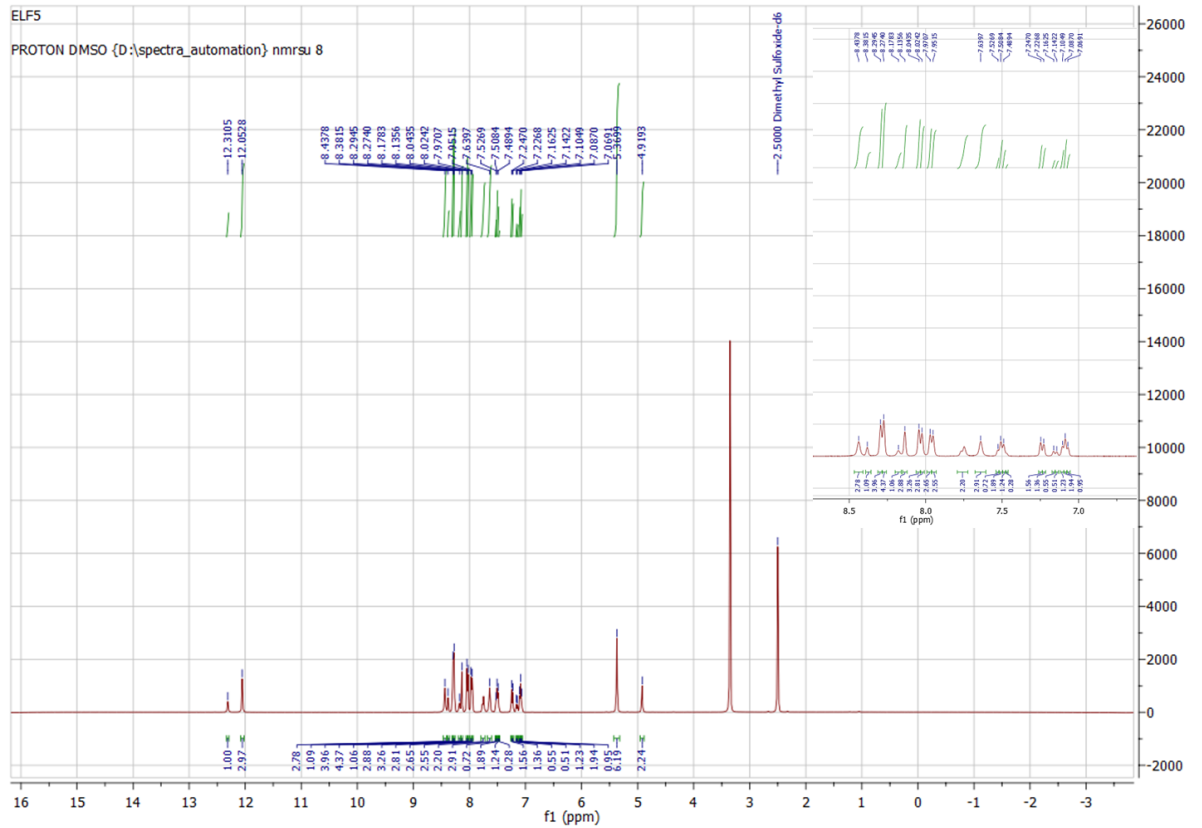
Şekil 5. 24

3e Bileşiğinin IR spekturumu



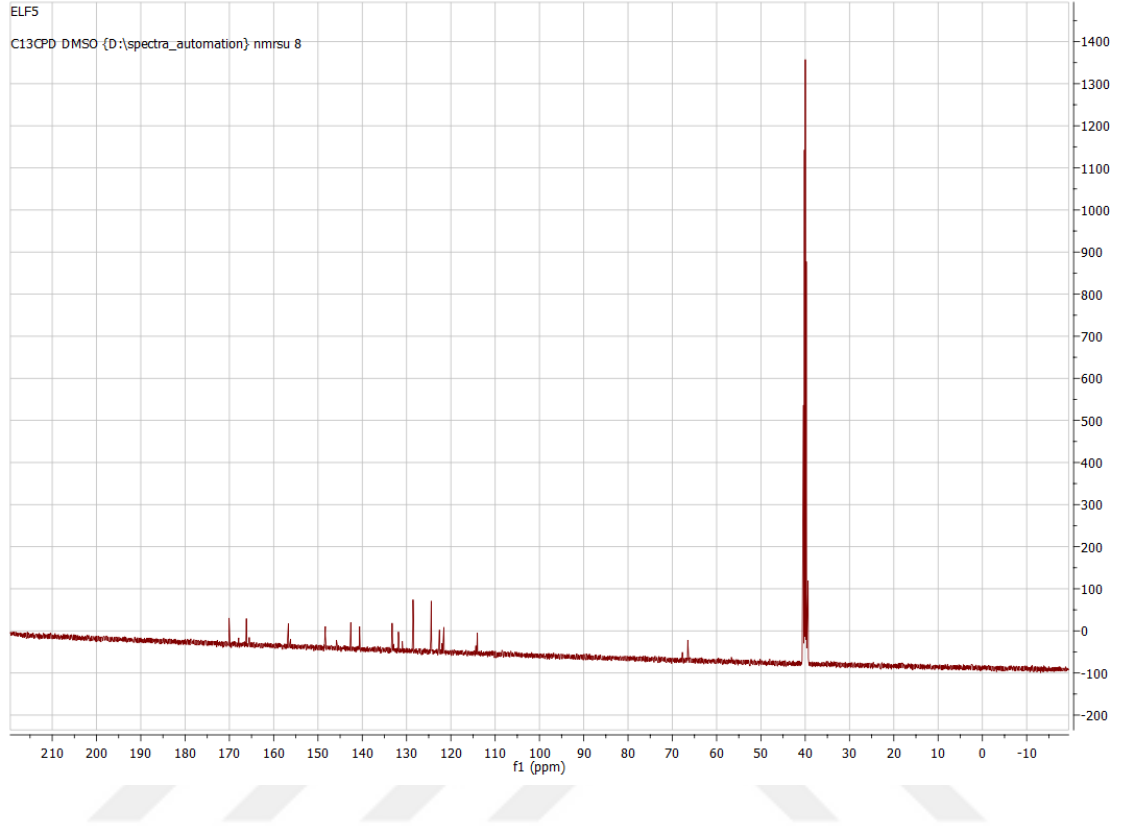
Şekil 5. 25

3e bileşiğinin ¹H-NMR spekturumu



Şekil 5. 26

3e Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu



Şekil 5. 27

3e Bileşiğinin MS Spektrumu

Print of window 80: MS Spectrum

Data File : C:\Users\Public\Documents\ChemStation\1\Data\EB_Masters\ELF5_1.D

Sample Name : ELF5:1

=====

Acq. Operator : MERT ULGEN

Sample Operator : MERT ULGEN

Acq. Instrument : LC DAD-MS

Location : -

Injection Date : 5/26/2025 12:04:20 PM

Inj : 1

Inj Volume : Manually

Acq. Method : C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\1\METHODS\mas analysis.M

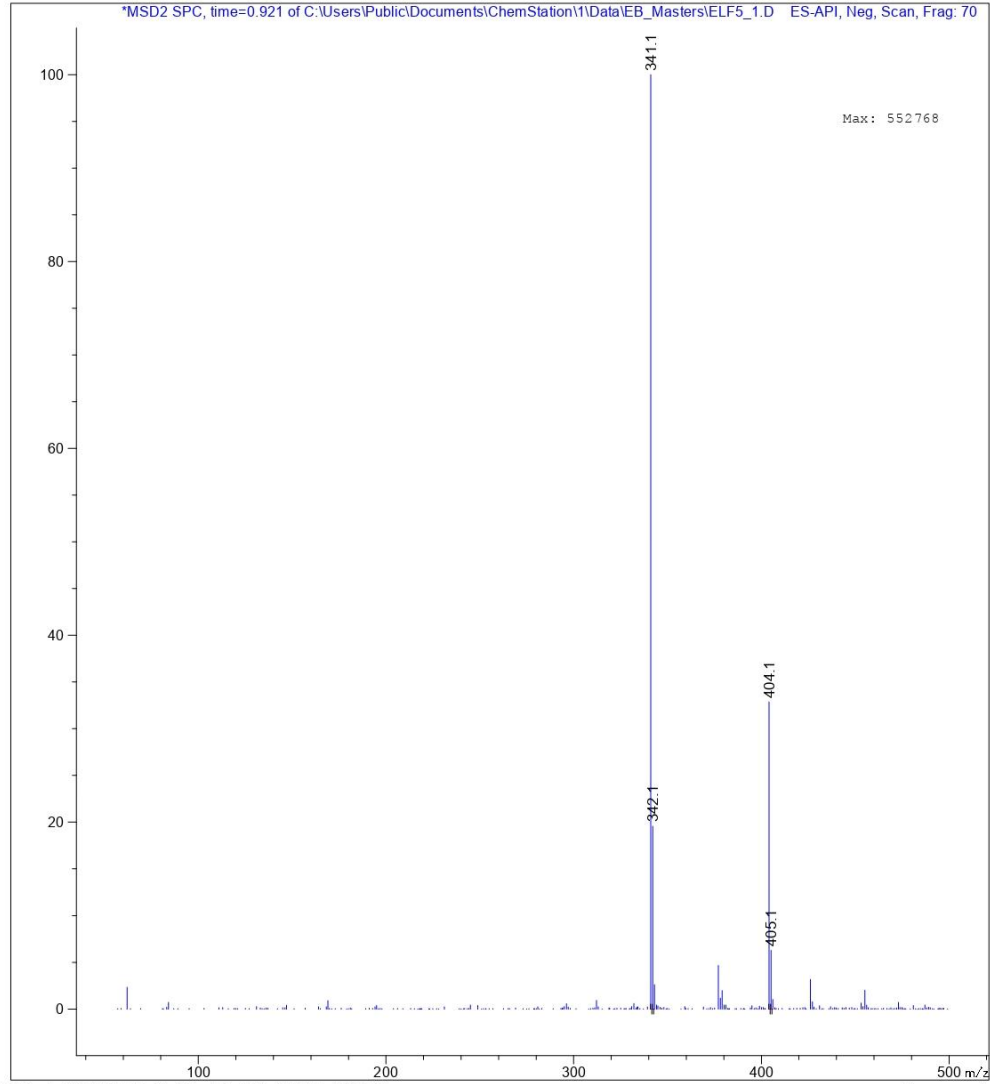
Last changed : 5/26/2025 10:34:47 AM by MERT ULGEN

(modified after loading)

Analysis Method : C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\1\METHODS\mas analysis.M

Last changed : 4/10/2025 2:33:23 PM by MERT ULGEN

MS Spectrum



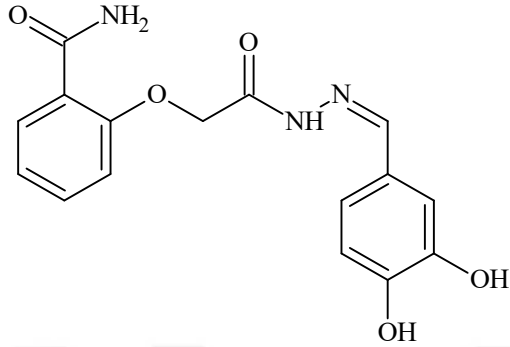
LC DAD-MS 5/26/2025 3:24:27 PM MERT ULGEN

Page 1 of 1

5.1.8. 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(3,4-dihidroksifenil)metilen]hidrazit (3f)

Şekil 5. 28

2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(3,4-dihidroksifenil)metilen]hidrazit (3f)



E.N.: 252.1-254.5°C.

Verim: %43

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3406.23 (NH_2 , NH), 2923.36 (sp^3 C-H), 1746.27, 1693.12, 1594.32 (amit ve hidrazit C=O, C=N), 1517.23, 1508.77, 1487.74 (aromatik C=C)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 4.84 ve 5.28 (s, 2H, $-\text{CH}_2-$), 6.78 ve 6.79 (d, 1H, Ar-H, J: 6.4 Hz ve 7.2 Hz H6), 6.91 ve 6.98 (d, 1H, Ar-H, J: 8.04 Hz, H6'), 7.09 (t, 1H, Ar-H, J: 7.36 Hz, H4'), 7.15 ve 7.17 (d, 1H, Ar-H, J: 7.2 Hz ve J:8 Hz H5), 7.20 (s, 1H, N=CH), 7.49 ve 7.50 (t, 1H, Ar-H, H5'), 7.63 ve 7.75 (s, 1H, Ar-H, H2), 7.75 ve 7.96 (d, 1H, Ar-H J:8,72 Hz ve J:7.6 Hz H3'), 7.87 ve 8.09 (s, 1H, $-\text{CONH}_2$), 8.19 ve 8.51 (s, 1H, $-\text{CONH}_2$), 9.2638 (bs, 1H, OH_2), 9.4508 (bs, 1H, OH_1), 11.53 ve 11.75 (s, 1H, $-\text{CONH}-$)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 66.83, 67.68, 113.131, 113.528, 113.78, 114.26, 116.122, 120.773, 121.176, 121.518, 121.973, 122.770, 124.49, 125.69, 125.89, 130.967, 131.78, 132.76, 133.26, 145.82, 146.133, 146.184, 148.397, 148.601, 148.743, 156.258, 156.963, 164.52, 166.23, 167.917, 169.037

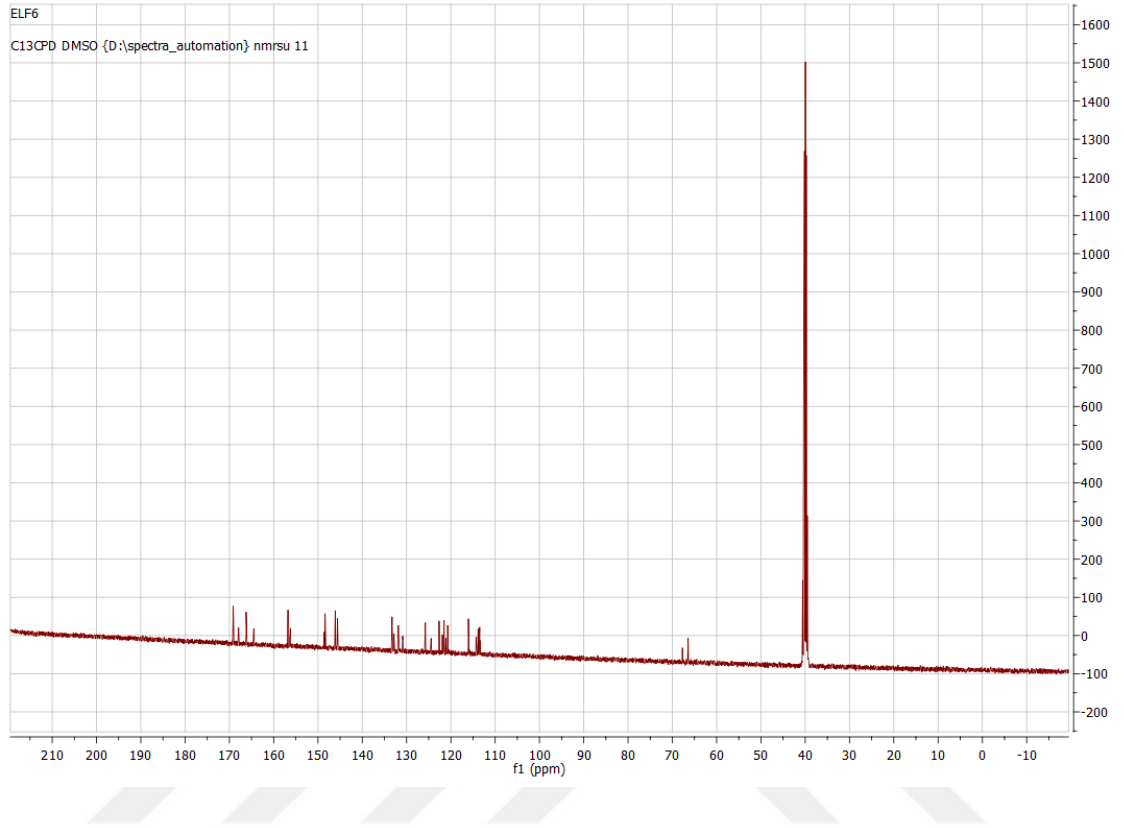
MS (ESI) (m/z) $[\text{M-H}]^-$: $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_5$ için; hesaplanan: 330.089, bulunan: 330.1

3f Bileşiğinin IR Spektrumu

[illegible]

Şekil 5. 31

3f Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spekturumu



Şekil 5. 32

3f Bileşiğinin MS spekturumu

Print of window 80: MS Spectrum

Data File : C:\Users\Public\Documents\ChemStation\1\Data\EB_Masters\ELF5_1.D

Sample Name : ELF5:1

=====

Acq. Operator : MERT ULGEN

Sample Operator : MERT ULGEN

Acq. Instrument : LC DAD-MS

Injection Date : 5/26/2025 12:04:20 PM

Location : -

Inj : 1

Inj Volume : Manually

Acq. Method : C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\1\METHODS\mas analysis.M

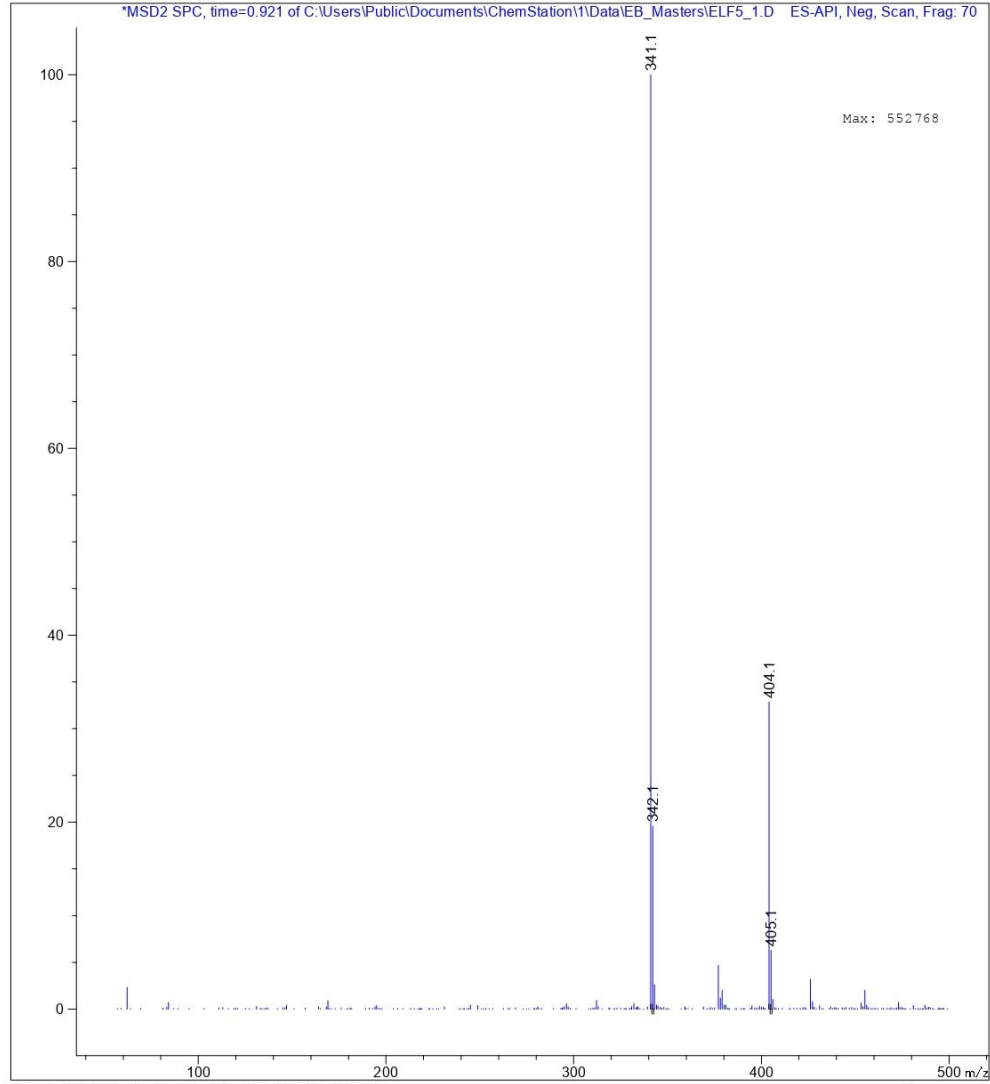
Last changed : 5/26/2025 10:34:47 AM by MERT ULGEN

(modified after loading)

Analysis Method : C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\1\METHODS\mas analysis.M

Last changed : 4/10/2025 2:33:23 PM by MERT ULGEN

MS Spectrum



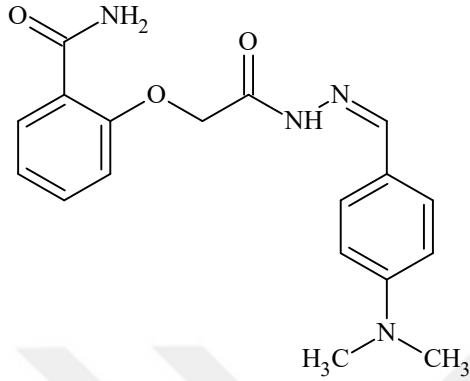
LC DAD-MS 5/26/2025 3:24:27 PM MERT ULGEN

Page 1 of 1

5.1.9. 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(4-dimetilaminofenil)metilen]hidrazit (3g)

Şekil 5. 33

2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(4-dimetilaminofenil)metilen]hidrazit (3g)



E.N.: 232°C. **Literatür E.N.:** 233-235°C (Klossa, 1955)

Verim: %52

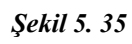
IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3423.59, 3215.25, 3175.64 (NH_2 , NH), 3083.25 (sp^2 C-H), 2893.23 (sp^3 C-H) 1656.22, 1589.45, 1530.68 (amit ve hidrazit C=O, C=N), 1508, 1428.93 (aromatik C=C)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 2.50 (s, 6H, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 4.83 ve 5.28 (s, 2H, $-\text{CH}_2-$), 6.74 (d, 2H, Ar-H, J:7.88 Hz, H3 ve H5), 6.75 (s, 1H, C=NH), 7.09 (t, 1H, Ar-H, J: 7.12 Hz, H4'), 7.15 ve 7.19 (d, 1H, Ar-H; J: 8.04 Hz, H6'), 7.50 (m, 3H, Ar-H, C=NH, H3 ve H5), 7.56 (d, 2H, Ar-H, H2 ve H6), 7.59-7.68 ve 7.69-7.77 (m, 1H, Ar-H, H5'), 7.90 ve 8.13 (s, 1H, CONH₂), 7.97 ve 8.52 (d, 1H, Ar-H, J: 9,28 Hz ve J:7.52 Hz, H3'), 7.908 ve 8.53 (s, 1H, CONH₂), 11.49 ve 11.69 (s, 1H, -CONH-)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 66.59, 67.28, 112.23, 112, 19, 114.02, 114.286, 121.402, 121.633, 121.648, 121.874, 122.594, 122.629, 124.480, 128.831, 128.955, 129.914, 130.867, 131.81, 132.79, 133.265, 145.809, 149.00, 151.948, 152.114, 156.206, 156.808, 164.144, 166.144, 167.985, 168.929

MS (ESI) (m/z) [M-H]⁻: C₁₈H₂₀N₄O₃ için hesaplanan: 339.14; bulunan: 339.2

3g Bileşiğinin IR Spektrumu



ELF7

PROTON DMSO (D:\spectra_automation) nmrsu 2

1H NMR Spectrum (DMSO-d₆)

Chemical Shifts (ppm): 11.480, 11.475, 8.524, 8.492, 8.191, 8.190, 7.965, 7.981, 7.800, 7.754, 7.737, 7.737, 7.570, 7.571, 7.494, 7.156, 7.123, 7.097, 7.059, 7.059, 5.746, 5.743, 5.743, 4.829.

Integration Values:

- 1.00
- 2.12
- 1.87
- 1.04
- 1.11
- 1.09
- 2.15
- 0.82
- 1.55
- 0.54
- 1.65
- 1.98
- 2.28
- 5.75
- 1.14
- 1.10
- 0.52
- 0.55
- 1.01
- 1.68
- 0.72
- 3.88
- 2.24
- 18.79

Inset Spectrum (Aromatic Region):

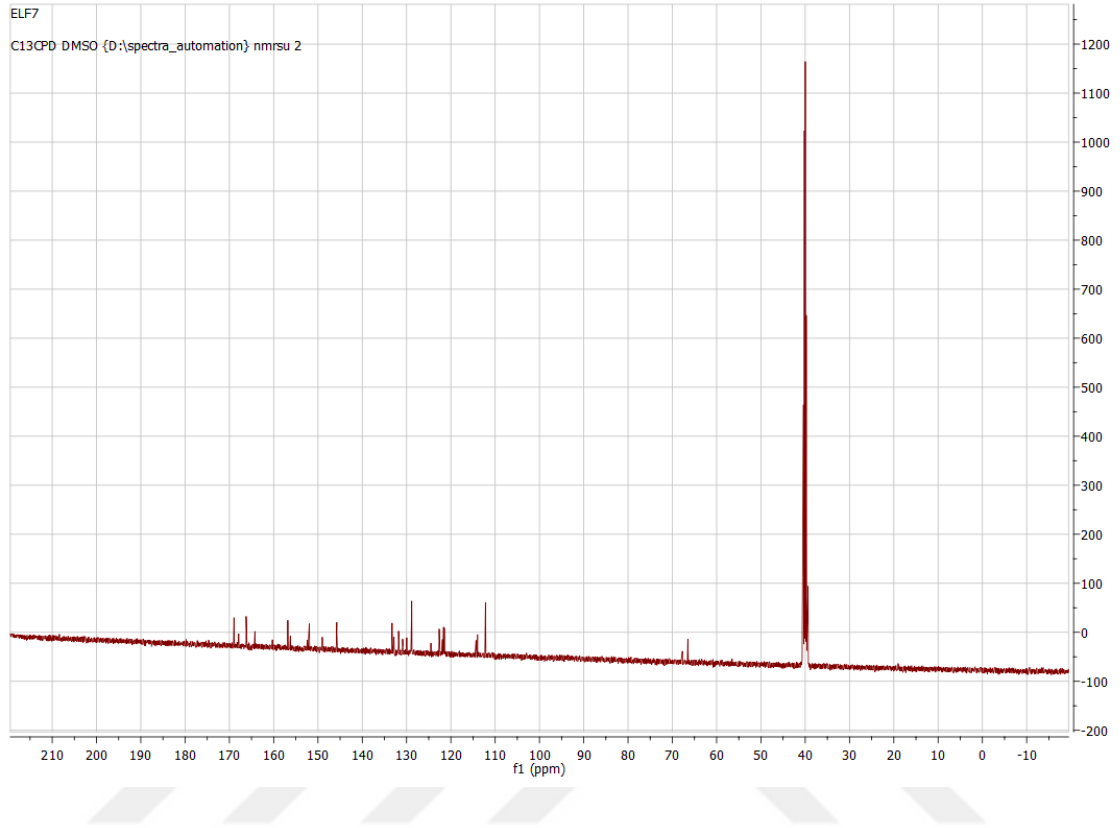
Chemical Shifts (ppm): 8.524, 8.492, 8.191, 8.190, 7.965, 7.981, 7.800, 7.754, 7.737, 7.737, 7.570, 7.571, 7.494, 7.156, 7.123, 7.097, 7.059, 7.059, 5.746, 5.743, 5.743, 4.829.

Integration Values:

- 1.87
- 1.52
- 1.11
- 1.08
- 1.10
- 1.15
- 1.55
- 0.82
- 1.55
- 0.54
- 1.65
- 1.98
- 2.28
- 5.75
- 1.14
- 1.10
- 0.52
- 0.55
- 1.01
- 1.68
- 0.72
- 3.88
- 2.24
- 18.79

Şekil 5. 36

3g Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu



Şekil 5. 37

3g Bileşiğinin MS Spektrumu

Print of window 80: MS Spectrum

Data File : C:\Users\Public\Documents\ChemStation\1\Data\EB_Masters\ELF7_1.D

Sample Name : ELF7:1

Acq. Operator : MERT ULGEN

Sample Operator : MERT ULGEN

Acq. Instrument : LC DAD-MS

Injection Date : 5/26/2025 12:20:03 PM

Location : -

Inj : 1

Inj Volume : Manually

Acq. Method : C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\1\METHODS\mas analysis.M

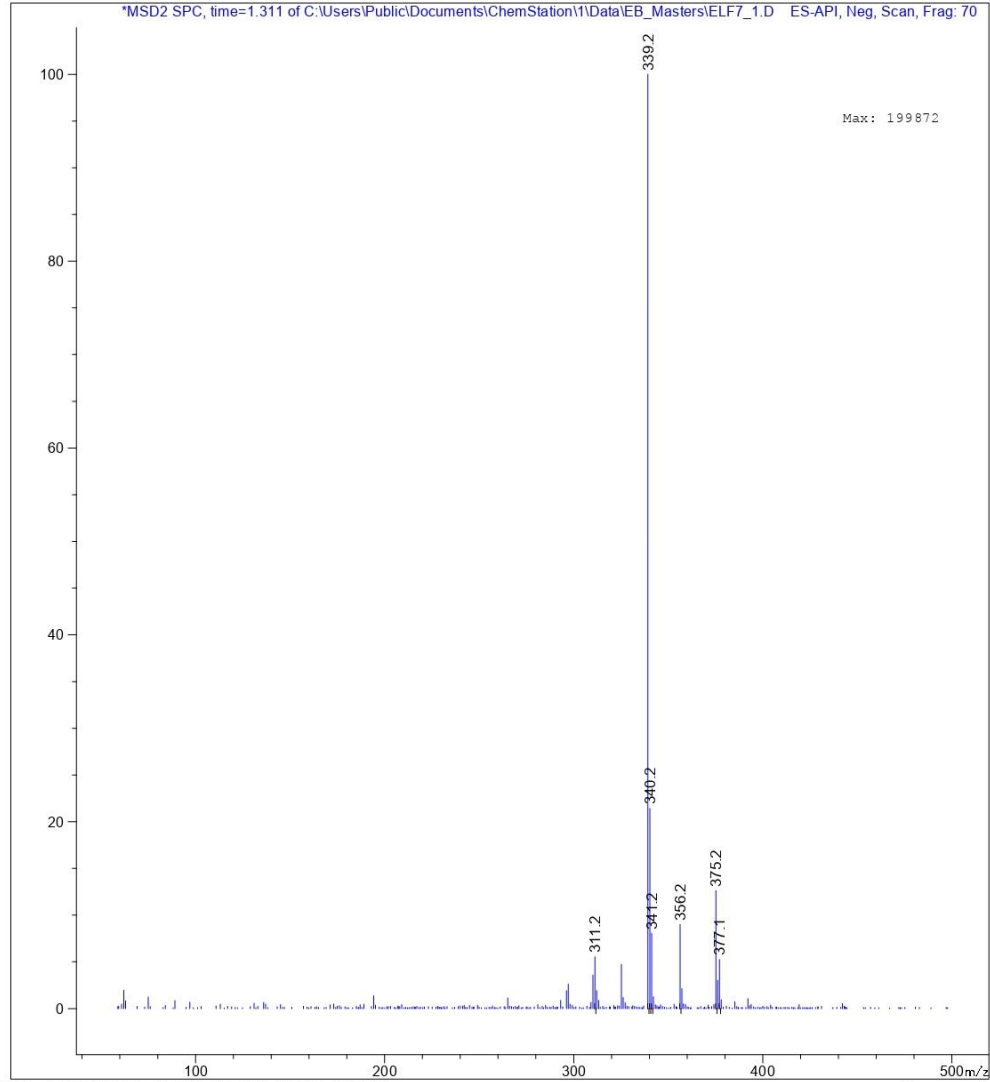
Last changed : 5/26/2025 10:34:47 AM by MERT ULGEN

(modified after loading)

Analysis Method : C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\1\METHODS\mas analysis.M

Last changed : 4/10/2025 2:33:23 PM by MERT ULGEN

MS Spectrum



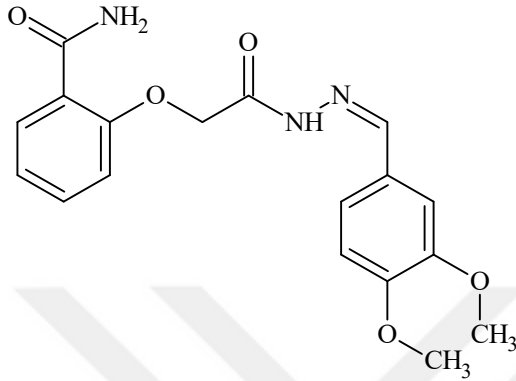
LC DAD-MS 5/26/2025 3:25:39 PM MERT ULGEN

Page 1 of 1

5.1.10. 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(3,4-dimetoksifenil)metilen]hidrazit (3m)

Şekil 5. 38

2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(3,4-dimetoksifenil)metilen]hidrazit (3m)



E.N.: 205.5°C

Verim: %62

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3401.76, 3230.43 (NH_2 , NH), 3167.61, 3076.25 (sp^2 C-H), 2903.16 (sp^3 C-H) 2358.47 1702.45, 1639.89 (amit ve hidazit $\text{C}=\text{O}$, $\text{C}=\text{N}$), 1500.00, 1459.85, 1433.52 (aromatik $\text{C}=\text{C}$)

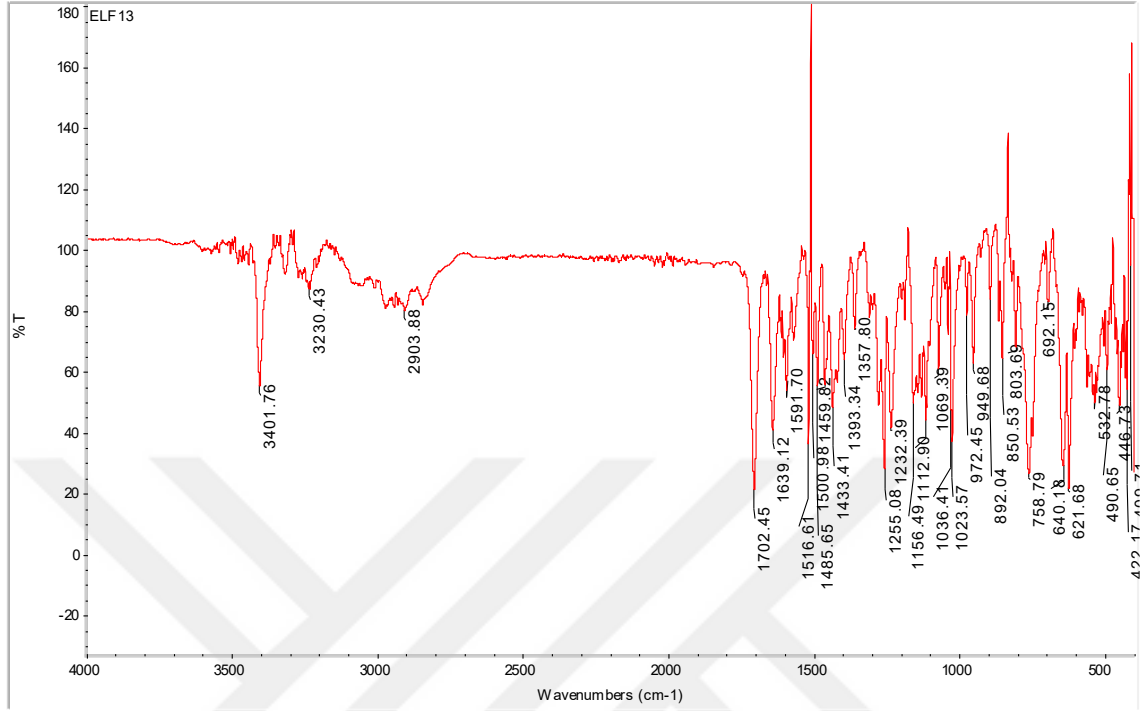
^1H -NMR (400 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 3.83 ve 3.80 (s, 6H, $\text{Ar}-(\text{OCH}_3)_2$), 4.87 ve 5.34 (s, 1H, $-\text{CH}_2-$), 7.02 (d, 1H, $\text{Ar}-\text{H}$, J: 8.2 Hz, H_6'), 7.05-7.13 (m, 1H, $\text{Ar}-\text{H}$, H_4'), 7.13-7.22 (m, 2H, $\text{Ar}-\text{H}$ ve H_5), 7.25 (d, 1H, $\text{Ar}-\text{H}$, J: 8.12 Hz, H_5), 7.30 ve 7.36 (s, 1H, $\text{Ar}-\text{H}$, H_2), 7.44-7.54 (m, 1H, $\text{Ar}-\text{H}$, H_5'), 7.63 (s, 1H, $\text{C}=\text{NH}$), 7.76 (m, 2H, $\text{Ar}-\text{H}$, H_3'), 7.96 (m, 2H, $\text{Ar}-\text{H}$, H_3'), 8.46 (s, 1H, CONH_2), 8.20 (s, 1H, CONH_2), 11.67 ve 11.89 (s, 1H, $-\text{CONH}-$)

^{13}C -NMR (100 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 55.594, 66.375, 67.757, 108.813, 109.473, 111.950, 111.99, 113.86, 114.43, 121.48, 121.77, 121.94, 122.28, 122.72, 124.53, 127.03, 127.13, 130.93, 131.76, 132.88, 133.20, 133.21, 145.05, 148.48, 149.47, 149.50, 151.18, 151.35, 156.174, 156.78, 164.65, 166.26, 167.89, 169.43

MS (ESI) (m/z) $[\text{M}-\text{H}]^-$: $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5$ için; hesaplanan: 356.125, bulunan: 356.1

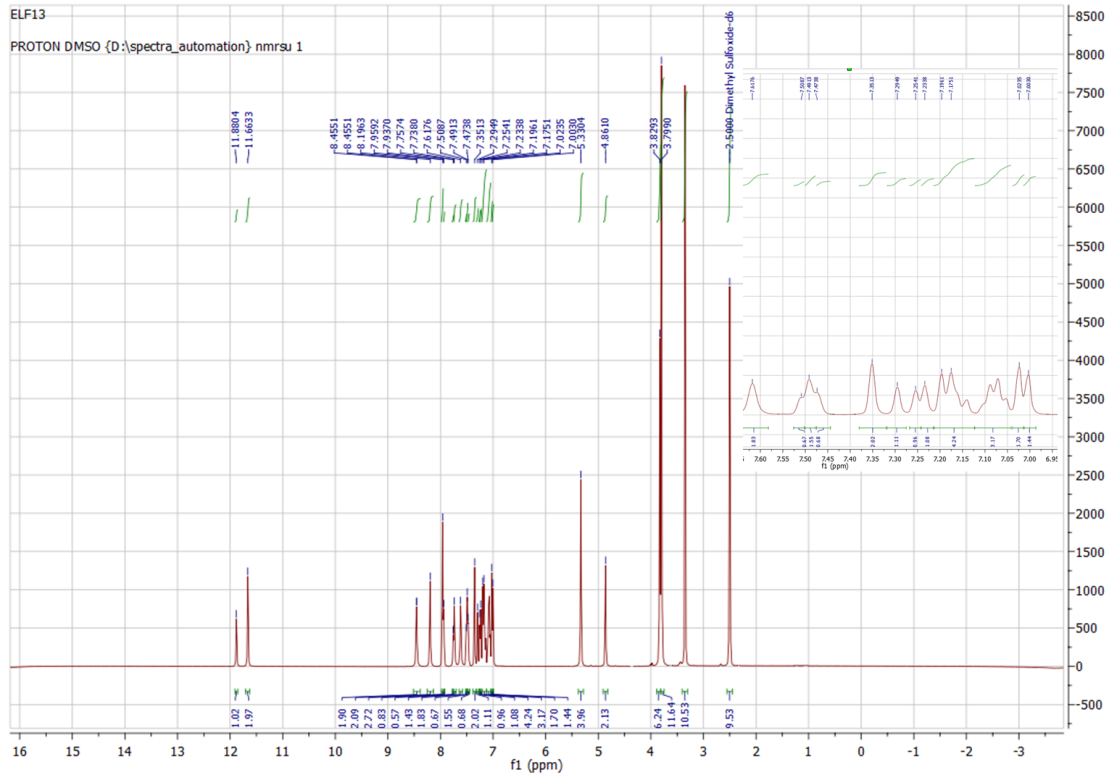
Şekil 5. 39

3m Bileşiğinin IR Spektrumu



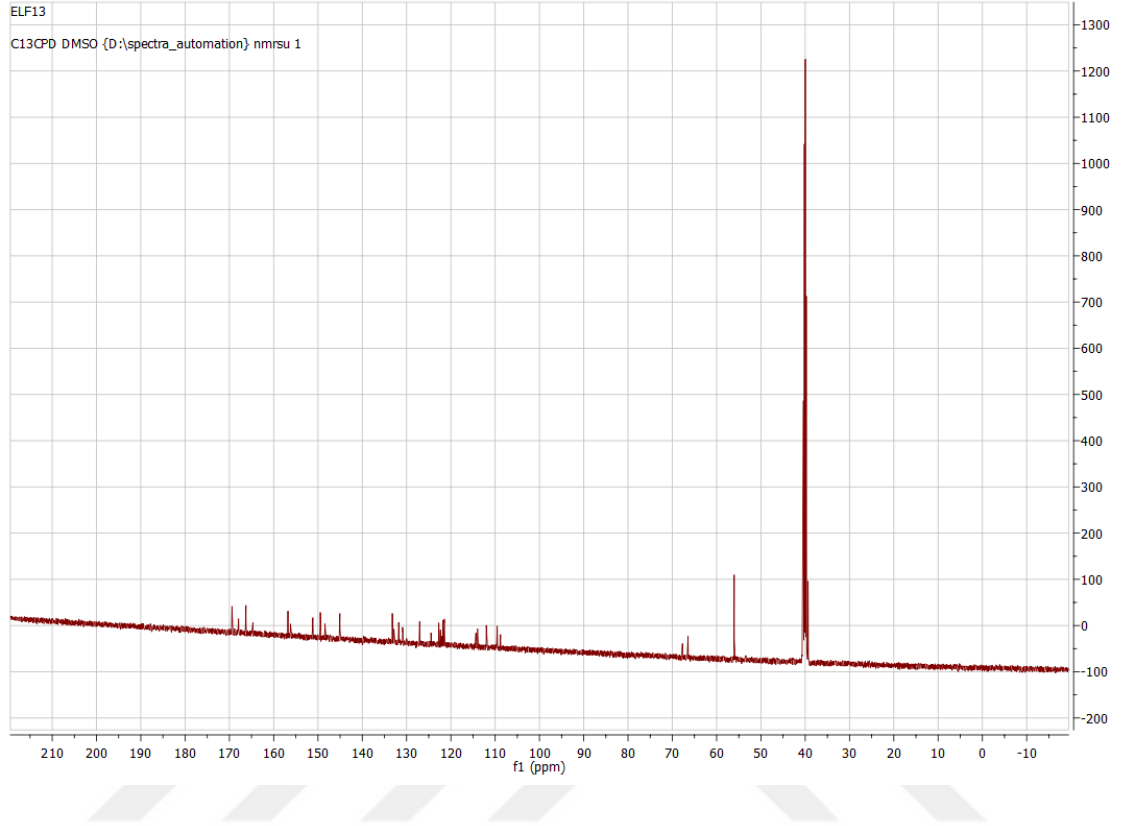
Şekil 5. 40

3m Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu



Şekil 5. 41

3m Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu



Şekil 5. 42

3m bileşiğnin MS Spektrumu

Print of window 80: MS Spectrum

Data File : C:\Users\Public\Documents\ChemStation\1\Data\EB_Masters\ELF13_1.D

Sample Name : ELF13:1

Acq. Operator : MERT ULGEN

Sample Operator : MERT ULGEN

Acq. Instrument : LC DAD-MS

Injection Date : 5/26/2025 12:52:43 PM

Location : -

Inj : 1

Inj Volume : Manually

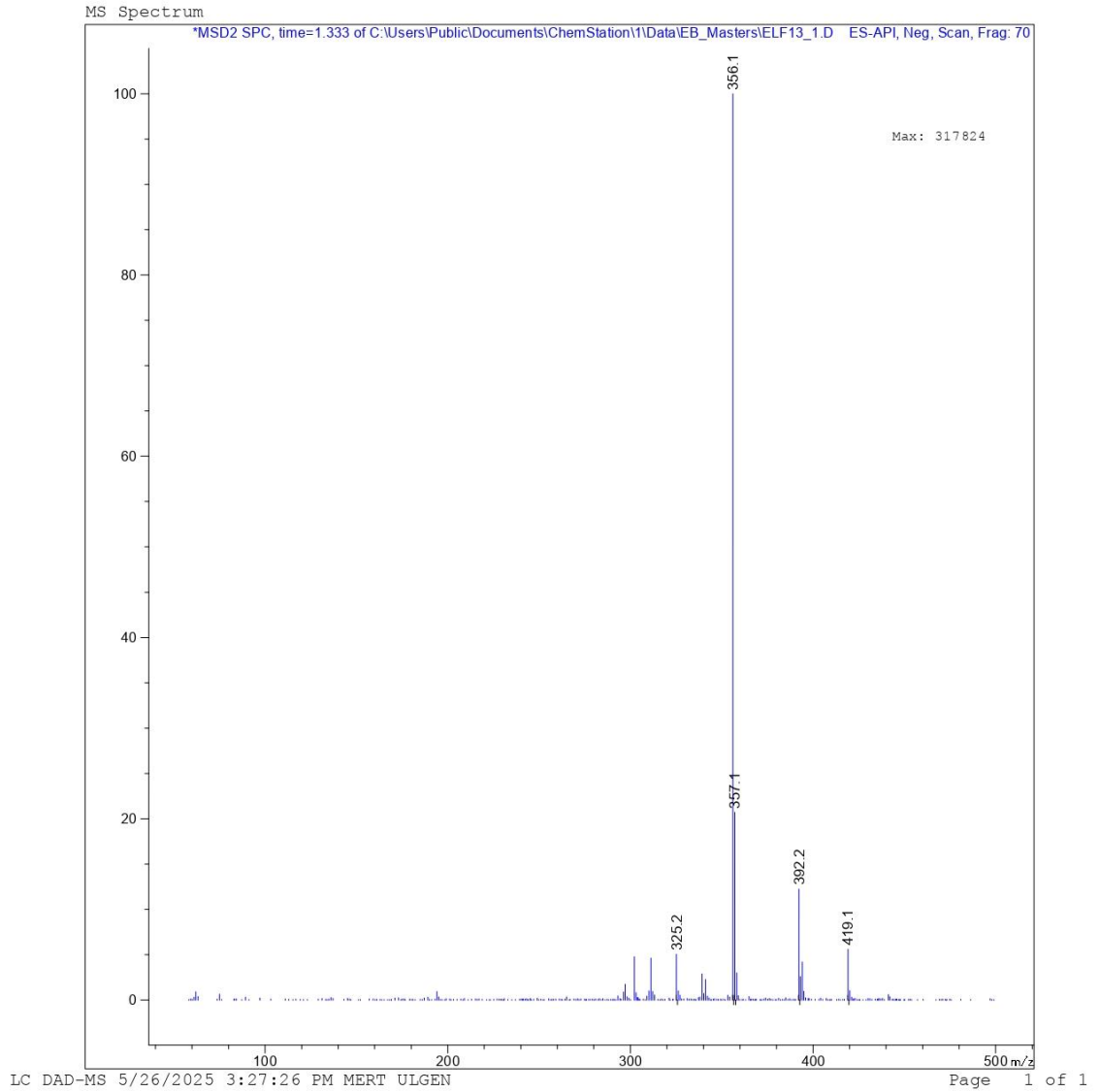
Acq. Method : C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\1\METHODS\mas analysis.M

Last changed : 5/26/2025 10:34:47 AM by MERT ULGEN

(modified after loading)

Analysis Method : C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\1\METHODS\mas analysis.M

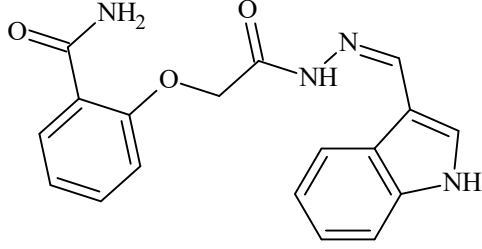
Last changed : 4/10/2025 2:33:23 PM by MERT ULGEN



5.1.11. 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(1H-(indol-3-il)metilen]hidrazit (3n)

Şekil 5. 43

2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(1H-(indol-3-il)metilen]hidrazit (3n)



E.N: 296.4-298.8°C.

Verim: %45

IR (ATR) ν_{maks} (cm^{-1}): 3680.54 (indol N-H), 3392.77, 3305.65, 3213.82 (NH_2 , NH), 3167.61, 3076.25 (sp^2 C-H), 2980.96 (sp^3 C-H) 2358.47 1702.45, 1639.89 (amit ve hidrazit C=O, C=N), 1593.58, 1576.65, 1540.87 (aromatik C=C)

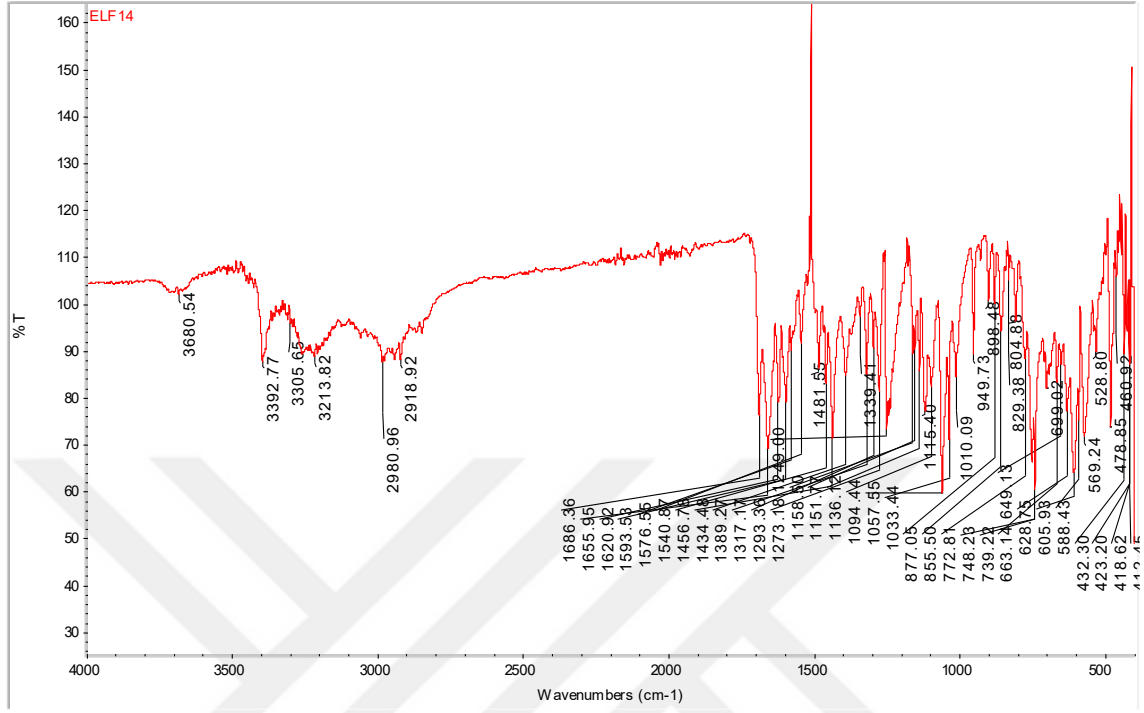
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 4.87 ve 5.38 (s, 2H, $-\text{CH}_2-$), 7.09 (t, 1H, Ar-H, J: 7,28 Hz, H4'), 7.13-7.27 (m, 3H, Ar-H, H6', H4), 7.42-7.57 (dt, 2.3H, Ar-H, H8, H5'), 7.63 ve 7.72 (s, 1H, N=CH), 7.77 (d, 1H, Ar-H, J: 7.77 Hz, H5), 7.81 ve 7.84 (s, 1H, indol C=CH), 7.96 (d, 1H, Ar-H, J:7.52 Hz, H7), 8.23 ve 8.26 (s, 1H, CONH_2), 8.15-8.30 (m, 1H, Ar-H, H3'), 8.44 ve 8.48 (s, 1H, CONH_2), 11.602 (s, 1H, indol-NH), 11.45 ve 11.64 (s, 1H, $-\text{CONH}-$),

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 66.08, 67.08, 111.64, 111.86, 113.20, 113.66, 120.85, 121.13, 121.48, 122.09, 122.88, 123.03, 131.16, 131.77, 132.87, 133.21, 133.37, 137.51, 137.65, 142.26, 142.42, 156.38, 156.81, 163.90, 166.14, 167.79, 166.62

MS (ESI) (m/z) [M-H] $^-$: $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3$ için; hesaplanan: 337.13, bulunan: 335.1

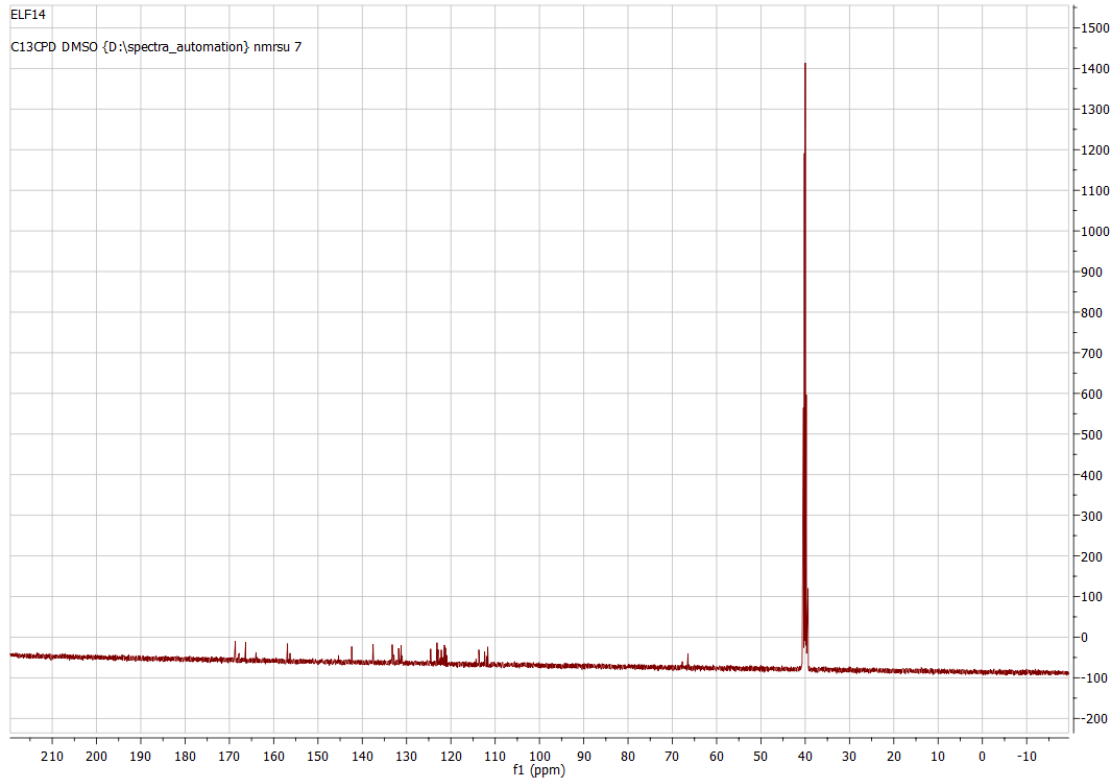
Şekil 5. 44

3n Bileşiğinin IR Spektrumu



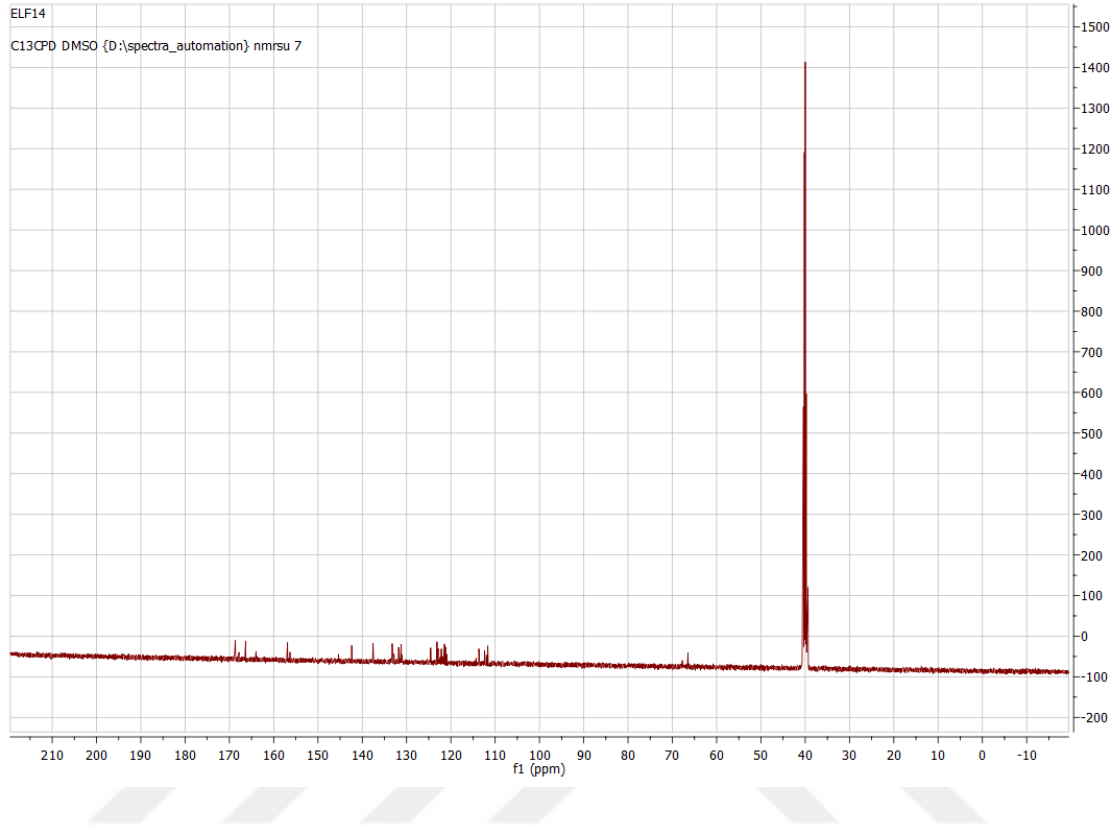
Şekil 5. 45

3n Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu



Şekil 5. 46

3n Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu



Şekil 5. 47

3n Bileşiğinin MS Spektrumu

Print of window 80: MS Spectrum

Data File : C:\Users\Public\Documents\ChemStation\1\Data\EB_Masters\ELF14_1.D

Sample Name : ELF14:1

=====

Acq. Operator : MERT ULGEN

Sample Operator : MERT ULGEN

Acq. Instrument : LC DAD-MS

Injection Date : 5/26/2025 12:58:10 PM

Location : -

Inj : 1

Inj Volume : Manually

Acq. Method : C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\1\METHODS\mas analysis.M

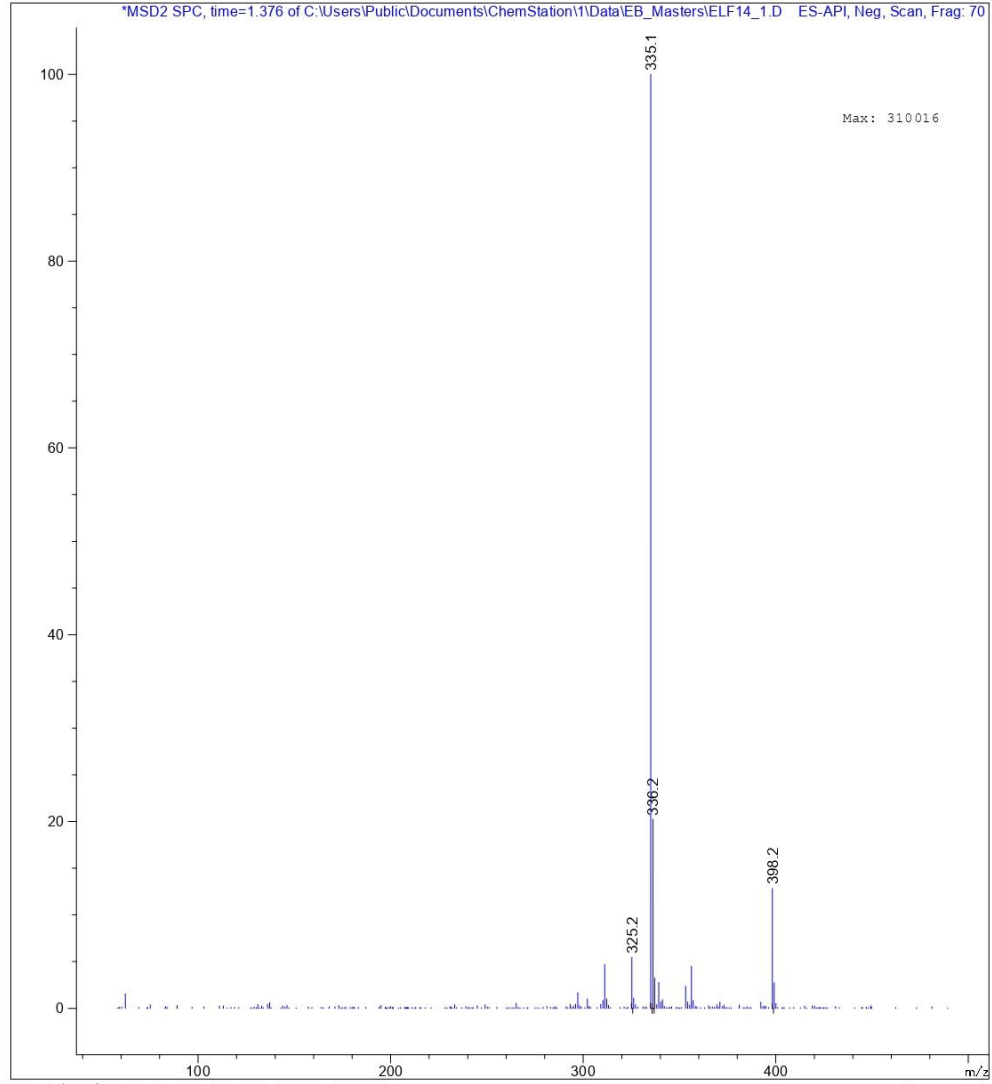
Last changed : 5/26/2025 10:34:47 AM by MERT ULGEN

(modified after loading)

Analysis Method : C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\1\METHODS\mas analysis.M

Last changed : 4/10/2025 2:33:23 PM by MERT ULGEN

MS Spectrum



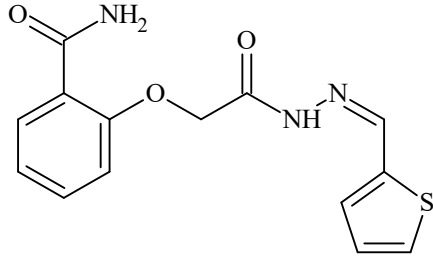
LC DAD-MS 5/26/2025 5:10:22 PM MERT ULGEN

Page 1 of 1

5.1.12. 2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(tiyofen-2-il)metilen]hidrazit (3k)

Şekil 5. 48

2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(tiyofen-2-il)metilen]hidrazit (3k)



E.N.: 216°C **Literatür E.N.:** 212°C (Fahmy ve El-Eraky, 2001)

Verim: % 47

IR (ATR) ν_{maks} (cm⁻¹): 3502.59, 3423.32 (NH₂, NH), 3167.61, 3076.25 3083.25 (sp² C-H), 2917.16 (sp³ C-H) 2358.47 1666.51, 1620.89 (C=O), 1510 (C=C)

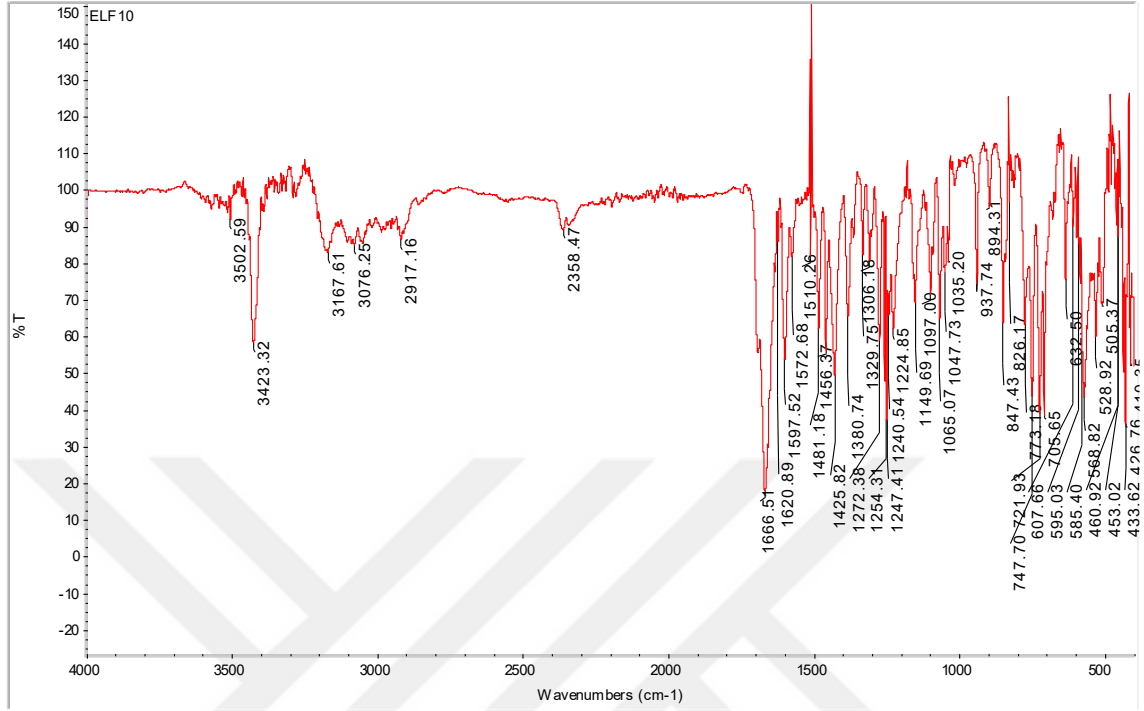
¹H-NMR (400 MHz) (DMSO- *d*₆) δ (ppm): 4.84 ve 5.24 (s, 2H, -CH₂-), 7.05-7.20 (m, 3H, Ar-H, H₃, H₄, H₆'), 7.45- 7.55 (m, 2H, Ar-H, H₄', H₅), 7.60-7.80 (dd, Ar-H, J: 7.24 Hz, 3.52, H₄', H₅'), 7.95 ve 7.70 (d, 1H, Ar-H, J:7.2 Hz, H₃'), 7.62 ve 7.48 (s, 1H, N=CH), 8.18 ve 8.22 (s, 1H, CONH₂), 8.47 ve 8.49 (s, 1H, CONH₂), 11.74 ve 11.99 (s, 1H, -CONH-)

¹³C-NMR (100 MHz) (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 66.15, 67.65, 113.50, 114.72, 121.59, 122.78, 124.57, 128.74, 129.09, 129.55, 130.85, 131.66, 138.84, 139.09, 143.46, 156.10, 156.63, 164.78, 166.19, 167.86, 169.29

MS (ESI) (m/z) [M-H]⁻: C₁₄H₁₃N₃O₃S için; hesaplanan: 302.06, bulunan: 302.1

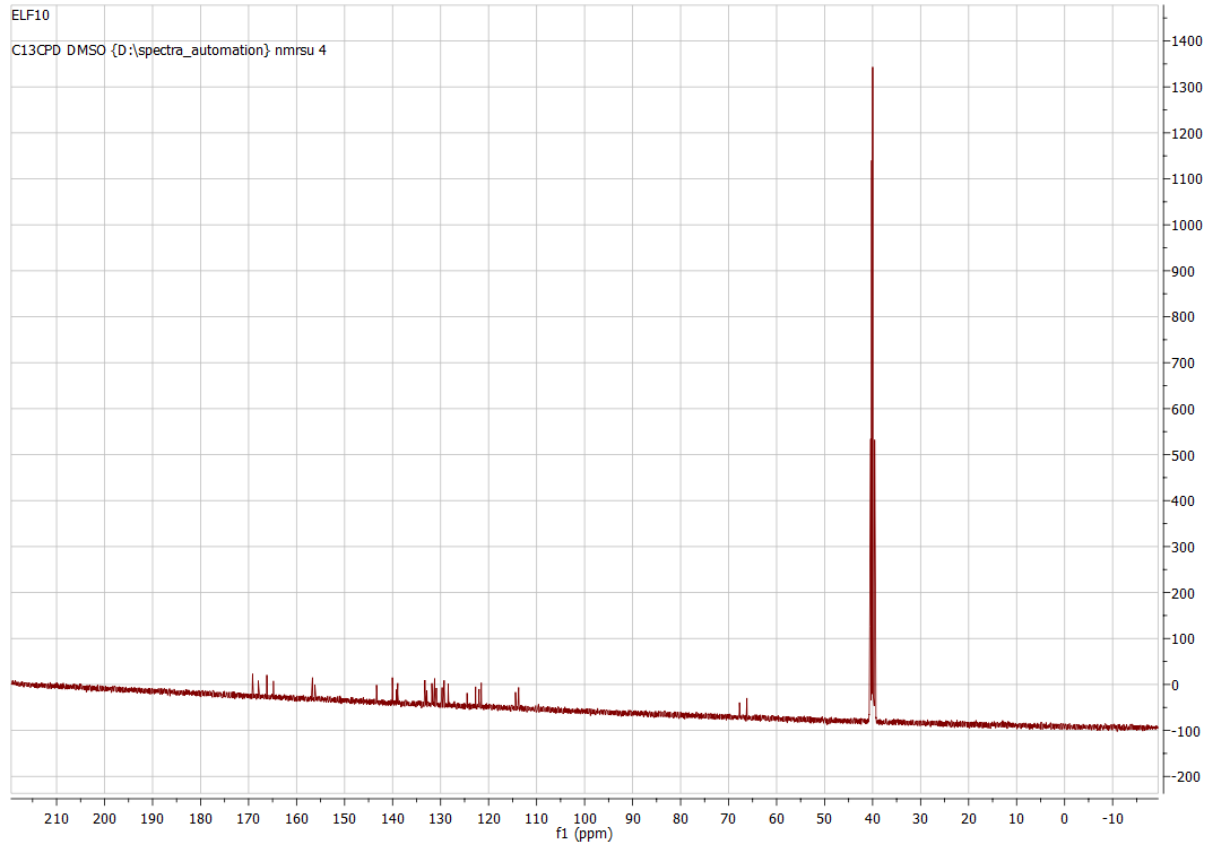
Şekil 5. 49

3k Bileşiğinin IR spekturumu



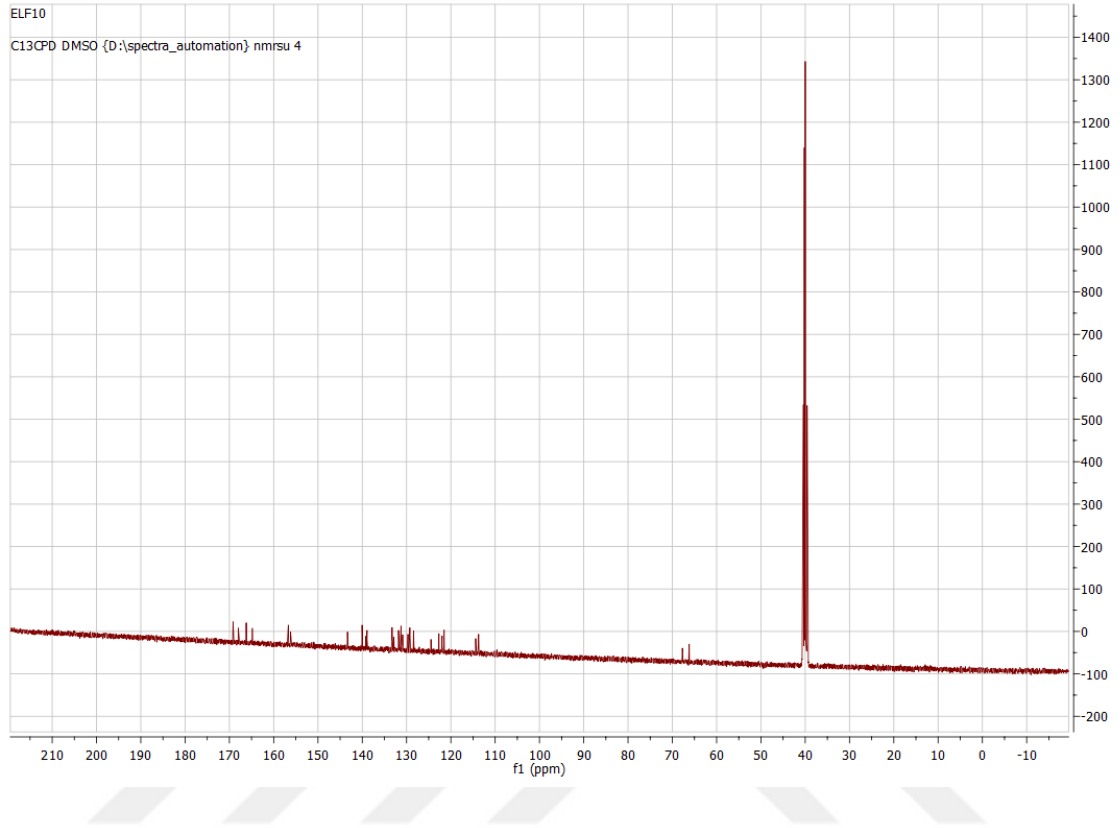
Şekil 5. 50

3k Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu



Şekil 5. 51

3k Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu



Şekil 5. 52

3k Bileşiğinin MS Spektrumu

Print of window 80: MS Spectrum

Data File : C:\Users\Public\Documents\ChemStation\1\Data\EB_Masters\ELF10_1.D

Sample Name : ELF10:1

Acq. Operator : MERT ULGEN

Sample Operator : MERT ULGEN

Acq. Instrument : LC DAD-MS

Location : -

Injection Date : 5/26/2025 12:47:07 PM

Inj : 1

Inj Volume : Manually

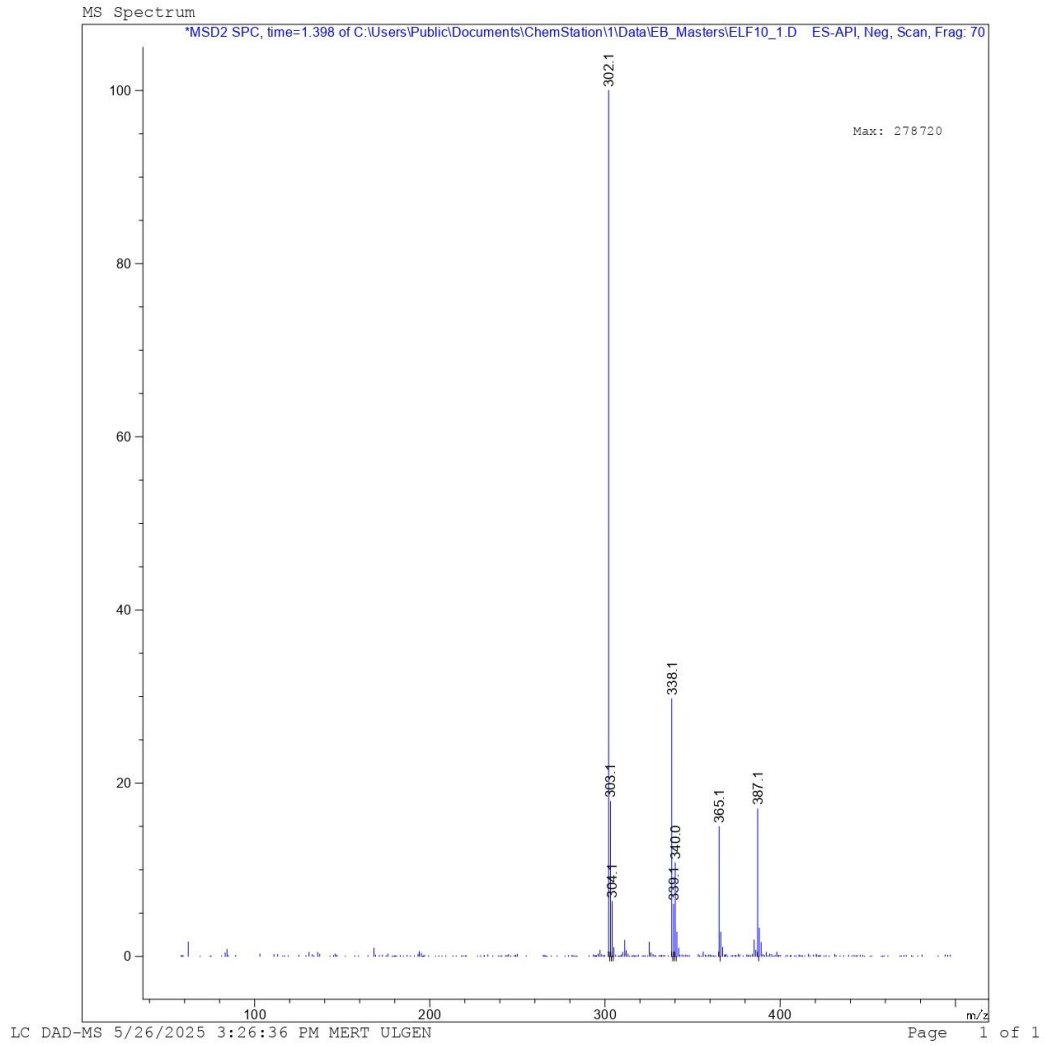
Acq. Method : C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\1\METHODS\mas analysis.M

Last changed : 5/26/2025 10:34:47 AM by MERT ULGEN

(modified after loading)

Analysis Method : C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\1\METHODS\mas analysis.M

Last changed : 4/10/2025 2:33:23 PM by MERT ULGEN



5.2. Biyoaktivite Çalışmalarına Ait Bulgular

Tablo 5. 1

3a-3k bileşiklerinin MİK ($\mu\text{g/mL}$) değerleri

	A	B	C	D	E	F	G
3a	7.81	125	125	15.75	15.75	125	250
3b	15.75	250	250	31.25	15.75	250	250
3c	15.75	62.50	62.50	31.25	15.75	125	250
3d	31.25	62.50	62.50	31.25	15.75	125	250
3e	31.25	250	250	31.25	125	250	250
3f	15.75	250	62.50	31.25	15.75	250	250
3g	15.75	250	250	31.25	15.75	250	250
3m	15.75	250	250	31.25	31.25	250	250
3n	15.75	250	62.50	31.25	15.75	125	250
3k	125	250	250	250	250	250	250
S.D.1	< 0.97	< 0.97	< 0.97	< 0.97	< 0.97	-	-
S.D. 2	-	-	-	-	-	7.81	7.81

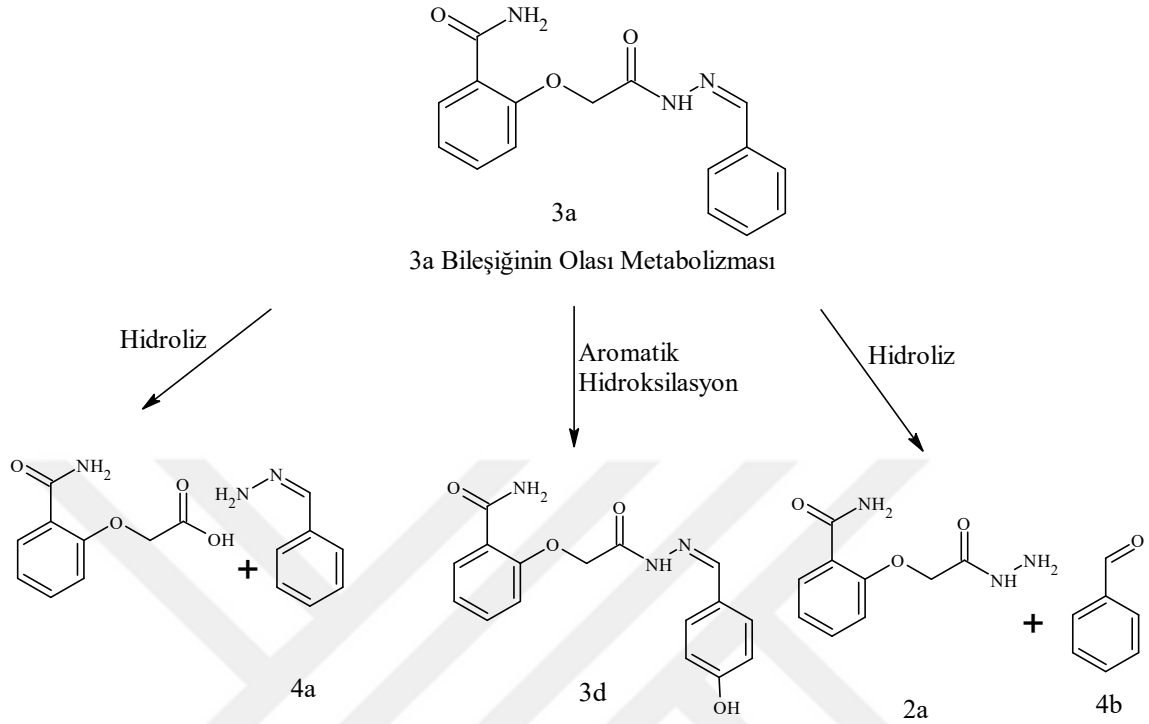
A: *E. coli* (ATCC 25922), B: *S. marcescens* (ATCC), C: *S. epidermidis* (ATCC 12228), D: *S. aureus* (ATCC 29213), E: *E. faecalis* (ATCC 2942), F: *C. albicans* (ATCC 24433), G: *C. krusei* (ATCC 6258); A-B: Gram negatif bakteri, C-E: Gram pozitif bakteri, F-G: Fungus; S.D.1 (Standard Drug): Azitromisin, S.D.2 (Standard Drug): Vorikonazol

5.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisine Ait Bulgular

Biyolojik aktivite testleri sonucu en aktif çıkan bileşiğin *in vitro* metabolizma testleri aracılığı ile dönüşüm ürünlerinin aydınlatılması hedeflenmiştir. Biyolojik aktivite testleri sonucu en aktif bileşik olan 3a bileşiğinin olası metabolitleri belirlenmiş (Şekil 5.53) ve bu metabolitler laboratuvarımızda sentezlenmiştir. 3a bileşiği ve olası dönüşüm ürünlerinin kromatografik yöntem aracılığı ile ayrılması için uygun mobil faz tespit edilmiş ve ACN: bidistile su (50:50) sisteminin ayrılmayı en iyi sağlayan mobil faz sistemi olduğuna karar verilmiştir. Analizin 280 nm dalga boyunda, 1 mL/dk akış hızında selektivitesinin en yüksek olduğu gözlenmiş ve bahsedilen sistemde bileşiklerin alıkonma zamanları (rt) tespit edilmiştir (Tablo 5.2, şekil 5.54).

Şekil 5. 53

3a substratının olası metabolizması ve olası metabolitleri



Tablo 5. 2

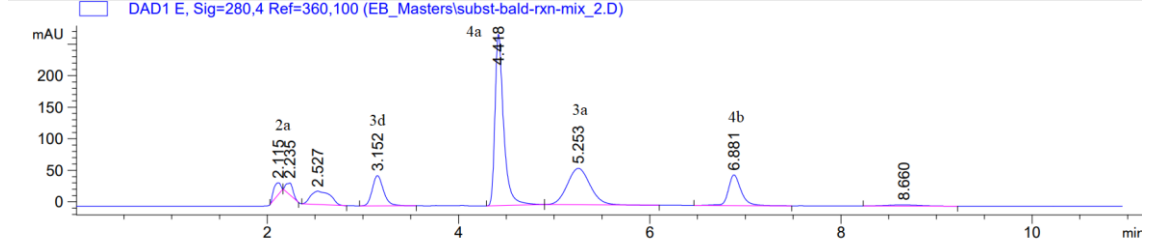
3a molekülü ve olası metabolitlerinin ayrılmasında kullanılan YBSK sistemindeki alıkonma zamanları [Mobil faz ACN:Bidistile su (50:50), akış hızı 1 mL/dk]

Bileşik	YBSK Alıkonma Zamanı (dk)
2-(2-Hidrazinil-2-oksoetoksi)benzamid (2a)	2.115
2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(4-hidroksifenil)metilen]hidrazit (3d)	3.152
Benzilidenhidrazin (4a)	4.418
2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-(fenilmetilen)hidrazit (3a)	5.253
Benzaldehit (4b)	6.881

Şekil 5. 54

2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-(fenilmetilen)hidrazit ve olası metabolik ürünlerinin YBSK kromatogramı [Mobil faz: ACN: Bidistile su (50:50)]

2a: 2-(2-Hidrazinil-2-oksoetoksi)benzamid; 3d: 2-[2-(aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-[(4-hidroksifenil)metilen]hidrazit; 4a: benzilidenhidrazin; 3a: 2-[2-aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-(fenilmetilen)hidrazit; 4b:benzaldehit

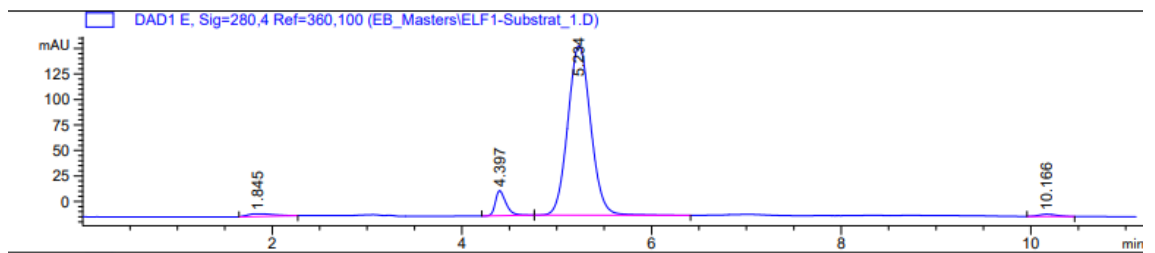


5.4. In Vitro Metabolizma Çalışmalarına ait Bulgular

2-[2-(Aminokarbonil)fenoksi]asetik asit 2-(fenilmetilen)hidrazit (3a) molekülünün, sıçan mikrozomal preparatı ile açıklanan protokol izlenerek inkübasyonu gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonucu diklorometan ile enzimatik reaksiyonlar durdurulmuş ve ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Elde edilen metabolik ekstratlar 200 µL metanol ile seyreltilmiş ve filtrelenip YBSK cihazına enjekte edilmiştir. Şekil 5.54-5.56'da gösterilen kromatogramlar elde edilmiştir.

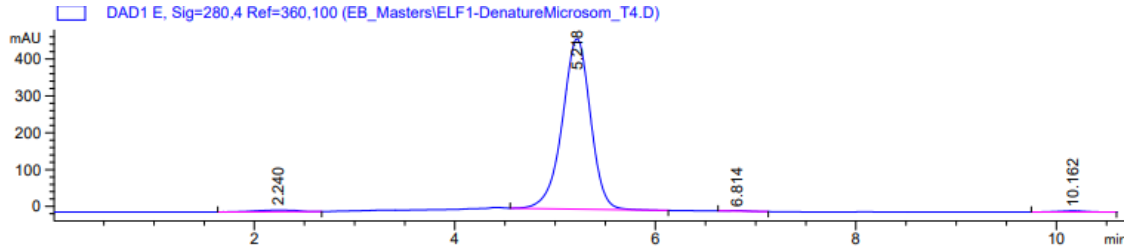
Şekil 5. 55

3a molekülünün karaciğer mikrozomal preparatı kullanılarak yapılan inkübasyon sonrası elde edilen metabolik ekstrattan alınan YBSK kromatogramı [Mobil faz: ACN:Bidistile su (50:50)]



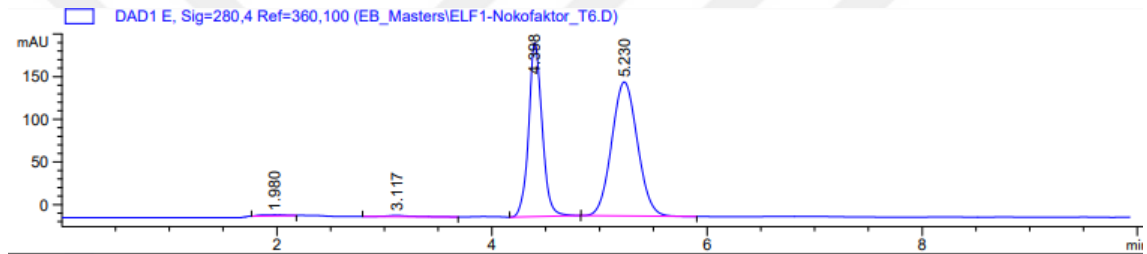
Şekil 5. 56

3a substratının denatüre mikrozom ile inkübe edilmesi sonucu elde edilen metabolik ekstrattan elde edilen YBSK kromatogramı [Mobil faz: ACN:Bidistile su (50:50)]



Şekil 5. 57

3a substratının kofaktörsüz inkübasyonu sonucu elde edilen metabolik ekstrattan alınan YBSK kromatogramı [Mobil faz: ACN:Bidistile su (50:50)]



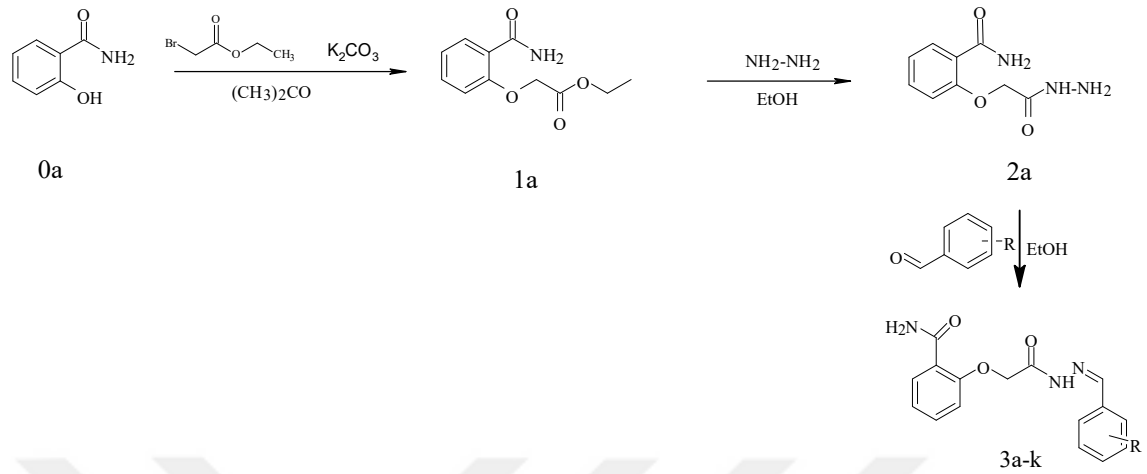
5.5. Sentez Çalışmalarının Tartışılması

Bu tez kapsamında, 10 adet yeni hidrazit-hidrazon türevi bileşik sentezlenmiştir. Bu bileşiklerin sentezi üç ayrı basamakta gerçekleştirilmiştir. İlk sentez basamağında, salisilamit ve bromoasetiklorür reaksiyona sokulmuş ve sübstitüsyon reaksiyonu aracılığı ile salisilamit molekülü, *O*-esteri haline getirilmiştir. İkinci basamakta ise, salisilamit *O*-esteri, hidrazit-hidrazon aracılığı ile hidraziti haline getirilmiştir. Üçüncü basamakta, hidrazitin aldehit ile kondenzasyonu aracılığı ile hidrazit-hidrazon türevleri sentezlenmiştir. Kondenzasyon reaksiyonları yaklaşık 3 saatte tamamlanmış ve reaksiyon tamamlandıktan sonra, ürünler reaksiyon ortamı soğutulduğunda reaksiyon ortamında çökmüştür. Ürünün basit filtrasyon sonucu kristallendirilmesi sonucu saflaştırma işlemleri tamamlanmış ve saf ürün elde edilmiştir.

Sentez reaksiyonlarının en yüksek verimle tamamlanması ve yan ürün oluşumunun engellenmesi amacıyla, her sentez basamağından sonra kristallendirme yapılmış ve başlangıç maddesi olarak kullanılacak ürünlerin saflığından emin olunmuştur.

Şekil 5. 58

Tez ürünlerinin sentez şeması



Hidrazit-hidrazon sentezleri için ilk denen yol, Han ve diğerleri (2017) tarafından yapıldığı şekilde sentezleri etanol içinde kaynatılmasıdır. Sentezler bu şekilde yapıldığında, sübstitüentlerden bağımsız şekilde sentezlerin etanol içinde tamamlanmadığı görülmüştür. Bunun üzerine, Özkay ve diğerleri (2010) yaptığı şekilde, reaksiyonlar *N*-bütanol içinde gerçekleştirilmiştir. *N*-bütanol içinde kaynatmak yoluyla reaksiyonların 2 saat içinde tamamlandığı görülmüştür.

Sentezlenmesi planlanan ve tez önerisinde belirtilen bileşiklerden aromatik olmayan aldehit türevlerine ait hidrazit-hidrazonların sentezi başarısız olmuştur. Sikloheksankarbaldehit ve morfolin karbaldehitin sentezi, belirtilen sentez adımları izlendiğinde, etanol içinde ve *N*-bütanol içinde başarısız olmuştur. Alifatik aldehitlerin sentezinde kullanılan katalizör asit miktarı artırılarak reaksiyonlar tamamlanmaya çalışılmış fakat başarısız olunmuştur.

5.6. Spektral Verilerin Tartışılması

Bu tez dahilinde sentezleri gerçekleştirilen sonuç ürünlerinin yapıları IR, 1H -NMR, ^{13}C -NMR ve MS spektral yöntemleri ile aydınlatılmıştır. Bu yöntemlere ait spektral verilerin değerlendirmeleri ilgili yöntemlere ait başlıklar altında verilmiştir.

5.6.1. FT-IR Spektral Verilerinin Tartışılması

Bu tez kapsamında sentezlenen bileşiklerin FT-IR spektrumu ATR cihazı ile alınmıştır ve katı numune ile çalışılmıştır. Elde edilen bileşiklerin içerdikleri amit, karbonil, imin ve konjuge çift bağ sistemlerine ait spesifik pikler IR spektrumlarında gözlemlenmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin tamamında N-H, C=O ve C=N bağlarına ait gerilmeler sırasıyla 3200, 1650 ve 1600 cm⁻¹ civarında gözlemlenmiştir. Molekülde salisilamit kalıntısı ve *N*-açilhidrazon grubundan kaynaklanan bağlar ortak olduğundan, gözlemlenen gerilmeler yapıyı doğrulamak açısından katkı verse de, tek başına yeterli değildir.

5.6.2. NMR Verilerinin Tartışılması

5.6.2.1. ¹H-NMR Verilerinin Tartışılması

¹H-NMR verilerinin incelendiğinde, tüm moleküllerin sahip oldukları toplam proton sayısının iki katı integral değerinde pikler gözlenmiştir. Spektrumlar incelendiğinde, protonların 1:1 oranda iki farklı ppm değerinde sinyal verdiği bulunmuştur. Bu durum, sentez reaksiyonları sonucunda tüm moleküllerin E ve Z izomer karışımı halinde oluştuğunu düşündürmüştür.

Sentezlenen moleküllerin ¹H-NMR spektrumlarında, NH₂, NH, N=CH, metilen ve aril gruplarına ait çift sinyaller gözlenmiştir. NH₂, NH, N=CH ve metilen protonlarının oluşturduğu sinyaller net bir şekilde ayrılmışken, aril protonlarının sinyalleri üst üste gözlenmesi nedeni ile protonlar net bir şekilde sınıflandırılmamıştır. Aril protonlarından, salisilamit çekirdeğindeki protonların sınıflandırılması; amit ve oksifonksiyonlarının perdeleme etkilerinden dolayı bazı bileşiklerde mümkün olabilmektedir fakat moleküllerin yapı doğrulaması, protonlar ve sinyallerin eşleştirilemediği durumlarda integrasyon değerleri üzerinden yapılmıştır.

Elde edilen bileşiklerin tamamının yapısında bulunan o-süstitüe salisilamit yapısındaki aromatik halka ve amit grubuna ait protonlar beklenen bölgelerde pik vermişlerdir. Salisilamitin aromatik halkasına ait protonlar mulitplet ya da dublet-tripletler olarak görülmüştür. Salisilamit halkasının ¹H-NMR verileri literatür verisi ile karşılaştırılmış ve elde edilen piklerin literatür verisi ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Salisilamitin ¹H-NMR sinyalleri incelendiğinde, izlenen sinyallerin benzen halkasındaki iki süstitüentten etkilendiği görülür. Bu süstitüentlerden biri amit, diğeri ise eter fonksiyonel grubudur. Amit fonksiyonel grubunun –R etkisi nedeniyle, amide –o ve –p konumdaki protonlar perdelenmezler. Eter grubundaki oksijenin ise –I etkisi, +R etkisine baskındır ve kendisine –o ve –p konumdaki hidrojenler en fazla perdelenen protonlardır. Bu etkiler sonucu, 6' protonları 6.92 ppm'de, 3' protonları 7.89 ppm'de izlenir.

Yapıdaki ikinci aromatik halka, hidrazit-hidrazon kısmına aittir ve azometin fonksiyonuna bağlıdır. Sentezlenen molekül serisindeki türevlendirmeler, 2. aromatik halka üzerinden yapıldığından; sübstitüentlerin aromatik halkanın sinyallerine etkisi izlenebilmiştir. 2. aromatik halkaya ait protonlarda, en yüksek perdeleme etkisi $N(CH_3)_2$ sübstitüente sahip 3g molekülünde de 3,4-dihidroksi sübstitüentine sahip 3f molekülünün o-konumundaki protonlarda gözlemlenmiştir.

Salisilamitin aromatik halkasındaki protonlardan, fenoksi grubuna komşu protonlar, en fazla perdelenmeye uğrayan protonlardır. Aynı zamanda bu protonlar, bütün molekülde en fazla perdelenen protonlardır ve dublet olarak gözlemlenmişlerdir.

Salisilamitin amit fonksiyonuna ait protonlar; iki izomer için de iki farklı kimyasal kayma değerinde gözlenmiştir. 7.90- 8.52 aralığında, dört ayrı pik gözlenmiştir. Bu durumda protonlardan her biri iki ayrı singlet olarak gözlemlenmiştir ve bu pikler literatürle uygundur.

Salisilamit ve hidrazit arasında bulunan yer alan metilen protonları, her iki izomerde farklı ppm değerlerinde, fakat genellikle 4.50-6 ppm aralığında gözlemlenmiştir. Bu protonlar, bir tarafından oksijen, diğer tarafından karbonil fonksiyonuna komşu olduğundan, antiperdelenmeye uğramıştır ve alil protonlarına göre düşük alanda sinyal vermiştir.

Hidrazit-hidrazona ait $-CONH-$ protonu, her iki izomer için farklı kimyasal kayma değerlerinde gözlenmiştir. Hidrazit-hidrazon yapısı içinde bulunduğundan, azota bağlı hidrojenin kimyasal kayması düşük alana gelmiştir. Bu pikler, bütün moleküllerde spektrumun en düşük alanda gözlenen pikleridir.

Hidrazit- Hidrazona ait azometin protonları ise 6.5-7.5 ppm aralığında gözlenmiştir. Bu protonlar, bazı moleküllerde 1H integrasyondan daha az integrasyon değeriyle temsil edilmiştir. Bazı moleküllerde ise azometin protonunun birkaç parçaya bölündüğü ve birden fazla kimyasal kayma değerinde gözlemlendiği tespit edilmiştir. Bu, literatürde de tespit edilmiş bir durumdur (Angelova vd., 2017).

5.6.2.2. ^{13}C -NMR verilerinin tartışılması

Elde edilen bileşiklerin ^{13}C -NMR verileri incelendiğinde, amit ve hidrazit-hidrazon karbonillerinin ($C=O$) spesifik pikleri, ve aromatik karbon bağlarının ($C=C$) spesifik

pikleri öne çıkmaktadır. ^{13}C -NMR spektrumlarında da, iki izomer için farklı pikler görülmüştür.

Hidrazit-hidrazon karbonillerine ait pikler, en çok antiperdelemeye uğrayan piklerdir ve bütün moleküllerde 165-170 ppm aralığında gözlenmiştir. Amit karbonil pikleri ise genellikle 164-166 ppm aralığında gözlenmiştir. Azometine ait $\text{N}=\text{CH}$ sinyali genellikle 1565 ppm değerinde izlenmiştir. Aromatik halkaya ait karbon çifte bağ pikleri ise 150-120 ppm aralığında gözlenmiştir. Metilen karbon sinyalleri 50-60 ppm aralığında gözlenmiştir. 190 ppm ve üzeri kimyasal kayma değerleri görülmemiş olması, ürünlerin saf olduğunu; hidrazit-hidrazon öncüllerinden biri olan aldehytlerin ürünlerde impürite olarak kalmadığını gösterir.

Sentezlenen moleküllerin ^1H ve ^{13}C -NMR spektrumlarında her protonun iki sinyal olarak temsil edilmesi, tüm bileşiklerin $\text{DMSO}-d_6$ çözeltisinde iki stereoizomer halinde yer aldığını gösterir.

5.6.3. MS verilerinin tartışılması

Tüm nihai bileşiklerin MS spektrum verileri değerlendirilmiş, gözlemlenen ile beklenen $[\text{M}-\text{H}]^-$ pik sonuçlarının uyumlu olduğu gözlemlenmiştir. Moleküllerde bulunan NH 'lardan dolayı bütün bileşikler negatif iyon modunda, 70eV fragmentasyonda bir hidrojen kaybederek iyonlaşmış ve tüm bileşiklerin MS'de $[\text{M}-\text{H}]^-$ iyonu gözlenmiştir.

Bütün piklerin $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ pikleri, 35 Da büyüklükte izlenmiştir. Ayrıca, $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ pikinin $\frac{1}{4}$ 'ü yükseklikte ^{37}Cl pikleri de gözlenmiştir.

5.7. Nihai Bileşiklerin Biyolojik Aktivite Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Bu tez çalışması kapsamında sentezlenen bileşiklerin etkileri, tablo 5.1'de belirtilen mikroorganizmalara karşı test edilmiştir. Azitromisin ve vorikonazol referans olarak kullanılmıştır.

Sentezlenen bileşikler içinde, çoğu mikroorganizmaya karşı yüksek etkinlik gösteren bileşikler 3a ve 3c olmuştur. Sentezlenen diaril hidrazon bileşiklerinin en yüksek aktiviteyi *E. coli* (ATCC 25922)'ye gösterdiği söylenebilir. Sentezlenen on molekül arasından en düşük MİK değeri, 7.71 $\mu\text{g/mL}$ ile *E.coli*'ye karşı gözlenirse de, diaril hidrazit-hidrazon iskeletinin; sübstitüentlerden bağımsız olarak *E. faecalis* (ATCC 2942)'ye ortalama bir aktivite değerine sahip olduğu söylenebilir. p- NO_2 sübstitüentine

sahip 3e bileşiği, tiyofen sübstitüe 3k bileşiği dışında; 10 molekülden 7'sinde 15.75 µg/mL MİK değeri gözlenmiştir.

3a bileşiği, *S. aureus* 'a karşı en yüksek aktivite gösteren bileşiktir ve diğer 8 bileşikte, sübstitüentlerden bağımsız olarak 31.25 µg/mL MİK değeri gözlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin *S. aureus* üzerine biyolojik aktivitesi aynı olduğundan, biyolojik aktivite-sübstitüent yorumu yapmak mümkün olmamıştır.

Sentezlenen molekül serisinin *E.coli* üzerindeki etkisi farklı sübstitüentler boyunca değişmiştir. En yüksek aktivite imin fonksiyonel grubuna bağlı halkanın non-süsbstitüe olduğu 3a'da gözlenmişken; en düşük aktivite imine tiyofen bağlı olması durumunda gözlenmiştir ve aktivite on kat düşmüştür. Aynı zamanda; imine bağlı benzen halkasının p-OH ve p-NO₂ sübstitüe olması da aktiviteyi düşürmüştür.

Molekül serisinin gram + bakterilere etkisinin gram – bakterilere etkisinden daha yüksek olduğu söylenebilir.

Sentezlenen bileşiklerin fungus türleri üzerinde düşük aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Molekülün antibakteriyel etkinliği daha yüksektir.

5.8. En Aktif Molekülün *In vitro* Metabolizma Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Biyolojik aktivitesi en yüksek olan 3a molekülü, *in vitro* metabolizma deneylerinde kullanılmak üzere substrat olarak seçilmiştir. 3a substratı, sıçan karaciğer mikrozom enzimleri ile inkübe edilmiş ve *in vitro* dönüşüm ürünleri (metabolitleri) aydınlatılmıştır. Deneylerde, denatüre mikrozom ve non-kofaktör şartları kontrol grubu olarak kullanılmıştır. İnkübasyon deneyleri aracılığı ile, 3a bileşiğinin *in vitro* metabolizma sonucu aromatik hidroksilasyon veya hidroliz reaksiyonlarına uğrama durumu aydınlatılmaya çalışılmıştır. Bu amaçla, 3a molekülünün olası metabolizma reaksiyonları ve bu reaksiyonlar sonucu oluşması öngörülen metabolitler belirlenmiş ve bu metabolitler, kromatografik analizlerde kullanılmak üzere laboratuvarımızda sentezlenmiştir. *In vitro* mikrozom deneyleri sonucu edilen metabolitlerin kromatogramları, substrat ve olası metabolitlerin kromatogramı (Şekil 5.54) ile karşılaştırılarak 3a molekülünün metabolitleri tespit edilmiştir. Molekülün, *in vitro* metabolizma sonucu, hidroliz olarak benzilidenhidrazine (4a) dönüştüğü gözlemlenmiştir (Şekil 5.55). Denatüre mikrozom kullanılarak yapılan inkübasyonda ise, substratın değişmeden kaldığı ve bir metabolit oluşturmadığı gözlenmiştir, bu beklenen sonuçlarla

uyumludur (Şekil 5.56). Bu durum, molekülün metabolik ortamında stabil olduğunu göstermektedir. Kofaktörsüz ortamda ise benzilidenhidrazin (4a) oluşumu gözlemlenmiştir (Şekil 5.57). Bu durum, 3a bileşiğinden benzilidenhidrazin oluşumunun enzimatik olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda, 3a molekülünün metabolik ortamda hidrolize uğradığı ve bu hidrolizin hidrazit-hidrazon üzerinden gerçekleştiği görülmüştür.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Antimikrobiyal ilaç direnci, Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre, dünyayı tehdit eden ölümcül hastalıkların başında gelmektedir. Bu durum, antimikrobiyal etki göstermesi olası yeni moleküllerin geliştirilmesini gerekli kılmıştır. Bu doğrultuda, bu tez çalışması ile antimikrobiyal aktivitesi çalışılmamış bir iskeletin, antimikrobiyal etki gösterecek şekilde modifiye edilmesi yoluyla antimikrobiyal etkili moleküller elde edilmesi hedeflenmiştir.

Salisilamit türevleri, antipiretik ve antienflamatuvar etki gösterdiği bilinen fakat antimikrobiyal etkinliği üzerinde durulmamış moleküllerdir. Bu bileşiklerin antimikrobiyal etkisi olabileceği, Alhashimi ve arkadaşlarının (2019) yaptığı yeniden konumlandırma çalışmaları ile anlaşılmıştır fakat bu amaçla sentezlenmiş bileşik serileri bulunmamaktadır. Bu tez kapsamında, on adet salisilamit-*O*-hidrazit-hidrazon türevi molekül tasarlanmış, sentezlenmiş, yapıları aydınlatılmış, biyolojik aktiviteleri incelenmiş ve *in vitro* mikrozomal metabolizma çalışmaları yürütülmüştür. Bileşiklerin sentezi üç basamakta yapılmıştır. İlk basamakta salisilamitten hareketle, etil bromoasetat aracılığı ile salisilamit-*O*-esteri oluşturulmuştur. Bu ester, hidrazin hidrat aracılığı ile hidrazite çevrilmiştir. Ardından; hidrazit, farklı aldehitler ile kondanse edilerek hidrazit-hidrazon haline getirilmiştir. Bileşiklerin yapılarının aydınlatılmasında IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve MS yöntemleri kullanılmıştır. Elde edilen bileşiklerin antimikrobiyal etkileri, *E.coli*, *S. marcescens*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *E. facealis*, *C. albicans*, *C. krusei* bakteri ve fungusları üzerinde araştırılmıştır. Sübstitüsyonlardaki değişimlerin, moleküllerin en aktif oldukları suşun değişmesine neden olduğu görüldüğünden; sübstitüentlerin molekülün biyolojik aktivitesini etkilediği sonucuna varılabilir.

En yüksek antimikrobiyal aktivite, *E.coli* ve *E. Facealis* suşlarında gözlenmiştir. Moleküllerin bu suşlar açısından yüksek inhibisyon potansiyeline sahip olduğu ve antibakteriyal karakterinin baskın olduğu söylenebilir. Molekül serisinin iyi derecede aktivite gösterdiği suşlarda, non-sübstitüe moleküller en düşük MİK değerine sahiptir.

Biyolojik aktivite sonuçları doğrultusunda, yüksek aktivite gösteren **3a** molekülünün *in vitro* metabolizma testleri yapılmış ve molekülün *in vitro* mikrozomal metabolitleri tayin edilmiştir. Çalışmalar sonucu, molekülün, *in vitro* metabolizma reaksiyonları aracılığı ile hidrazit-hidrazon fonksiyonu üzerinden hidroliz olduğu görülmüş, benzilidenhidrazit metaboliti tayin edilmiştir. İlerleyen çalışmalarda molekülün kantitatif metabolizma

analizlerinin yapılması ve molekülün metabolize olma oranının değerlendirilmesi, farklı sübstitüentlerin metabolizma reaksiyonlarını nasıl yönlendirdiğinin değerlendirilmesi planlanmaktadır.



KAYNAKÇA

- Alhashimi, M., Mayhoub, A., & Seleem, M. N. (2019). Repurposing salicylamide for combating multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 63(12), e01225-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.01225-19>
- Angelova, V. T., Valcheva, V., Penchava, T., Voynikov, Y., Vassilev, N., Mihaylova, R., Momekov, G., Shivachev. (2017). Synthesis, antimycobacterial activity and docking study of 2-aryl-[1]benzopyrano[4,3-c]pyrazol-4(1H)-one derivatives and related hydrazide-hydrazones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 27 (2017) 2996–3002.
- Coşkun, G. P., Erbul, B. T., Karakoç, J. C., Ülgen, M. (2023) Synthesis, structure elucidation and in vitro microsomal metabolism of adamantane hydrazide-hydrazone derivatives. *ACTA Pharmaceutica Scientia* 61(1):65, 65-79 DOI: 10.23893/1307-2080.APS6105
- Coşkun, G. P., Algin, E. G., Erbul, B. T., Karakoç, J. C., Ülgen, M. (2023) Formation of N-Oxide metabolites from isoniazid hydrazones of substituted benzaldehydes by hepatic washed pig microsomal preparations. *J Res Pharm* 2023; 27(1): 241-250
- Coşkun, G. P., Erbul, B. T., Karakoç, J. C., Ülgen, M. (2023) Synthesis, structure elucidation and in vitro microsomal metabolism of adamantane hydrazide-hydrazone derivatives. *ACTA Pharmaceutica Scientia* 61(1):65, 65-79 DOI: 10.23893/1307-2080.APS6105
- de Oliveira Carneiro Brum, J., França, T. C. C., LaPlante, S. R., & Villar, J. D. F. (2020). Synthesis and Biological Activity of Hydrazones and Derivatives: A Review. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 20(5), 342–368. <https://doi.org/10.2174/1389557519666191014142448>
- Dokla, E. M. E., Abutaleb, N. S., Milik, S. N., Kandil, E. A. E. A., Qassem, O. M., Elgammal, Y., Nasr, M., McPhillie, M. J., Abouzid, K. A. M., Seleem, M. N., Imming, P., & Adel, M. (2023). SAR investigation and optimization of benzimidazole-based derivatives as antimicrobial agents against Gram-negative bacteria. *European journal of medicinal chemistry*, 247, 115040. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.115040>
- Embil, J. M., & Nicolle, L. E. (1999). Antimicrobial agents. *Physical medicine and rehabilitation clinics of North America*, 10(2), 403–ix.
- Fahmy, H. H., & El-Eraky, W. (2001). Synthesis and evaluation of the analgesic and antiinflammatory activities of O-substituted salicylhydrazs. *Archives of pharmacal research*, 24(3), 171–179. <https://doi.org/10.1007/BF02978252>
- Han, M. H., Gürol, G., Yıldırım, T., Kalaycı, S., İahin, F., Küçükgül, Ş. G.(2017). Synthesis and antibacterial activity of new hydrazide-hydrazones derived from Benzocaine. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21(4), 961-966
- Iyanagi T. (2007). Molecular mechanism of phase I and phase II drug-metabolizing enzymes: implications for detoxification. *International review of cytology*, 260, 35–112. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(06\)60002-8](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(06)60002-8)
- Kamei, K., Maeda, N., Nomura, K., Shibata, M., Katsuragi-Ogino, R., Koyama, M., Nakajima, M., Inoue, T., Ohno, T., & Tatsuoka, T. (2006). Synthesis, SAR studies, and evaluation of 1,4-benzoxazepine derivatives as selective 5-HT1A receptor agonists with neuroprotective effect: Discovery of Piclozotan. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 14(6), 1978–1992. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2005.10.046>
- Klossa, J., (1955). Synthese einiger einfacher Derivate der Salicylamid-o-essigsäure. *Archiv der Pharmazie*, 9(8), 389-392.
- Krátký, M., & Vinšová, J. (2012). Antifungal Activity of Salicylanilides and Their Esters with 4-(Trifluoromethyl)benzoic Acid. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 17(8), 9426–9442. <https://doi.org/10.3390/molecules17089426>
- Krátký, M.; Bösze, S.; Baranyai, Z.; Stolaříková, J.; Vinšová, J. (2017). Synthesis and biological evolution of hydrazones derived from 4-(trifluoromethyl)benzohydrazide. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 27, 5185–5189.

- Kumar, D., Kaapor, A., Thangadurai, A., Kumar, P., Narasimhan, B. (2011). Synthesis, antimicrobial evaluation and QSAR studies of 3-ethoxy-4-hydroxybenzylidene/4-nitrobenzylidene hydrazides. *Chinese Chemical Letters* 22, 1293–1296. doi:10.1016/j.cclet.2011.06.014
- Kumar, L. V., Naik, P. N., Khan, P. S., Redy, A. B., Sekhar, T. C., Swamy (2011). Synthesis, characterisation and biological evaluation of some new hydrazide hydrazones. *Der Pharma Chemica*, 3(3): 317-322
- Landge, S. M., Tkatchouk, E., Benítez, D., Lanfranchi, D. A., Elhabiri, M., Goddard, W. A., 3rd, & Aprahamian, I. (2011). Isomerization mechanism in hydrazone-based rotary switches: lateral shift, rotation, or tautomerization?. *Journal of the American Chemical Society*, 133(25), 9812–9823. <https://doi.org/10.1021/ja200699v>
- Lima, L. M., Silva, B. N. M. D., Barbosa, G., & Barreiro, E. J. (2020). β -lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective. *European journal of medicinal chemistry*, 208, 112829. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112829>
- Lopes AB, Miguez E, Kümmerle AE, Rumjanek VM, Fraga CAM, Barreiro EJ. Characterization of Amide Bond Conformers for a Novel Heterocyclic Template of N-acylhydrazone Derivatives. *Molecules*. 2013;18(10):11683–704
- Lupea, A.X., Popescu, I., Tarabasanu, C., Ienascu, Badea, V. (2006), The synthesis and characterisation of some ortho-substituted phenoxyalkanoic acids and their derivatives. *J. Serb. Chem. Soc.* 71 (12) 1247–1261.
- Manikadan, V., Balaji, S., Senbagam, R., Vijayakumar, R., Rajarayan, M., Vanangamudi, G., Arulkumaran, R., Sundararajan, R., Thirunarayanan. (2017). Synthesis and antimicrobial activities of some (E)-N¹-(substituted benzylidene)benzohydrazides. *International Journal of Advanced Chemistry*, , 5 (1) 17-24. doi: 10.14419/ijac.v5i1.7155
- Munir, R., Javid, N., Zia-Ur-Rehman, M., Zaheer, M., Huma, R., Roohi, A., & Athar, M. M. (2021). Synthesis of Novel N-Acylhydrazones and Their C-N/N-N Bond Conformational Characterization by NMR Spectroscopy. *Molecules* (Basel, Switzerland), 26(16), 4908. <https://doi.org/10.3390/molecules26164908>
- Özkay Y, Tunah Y, Karaca H, Işıkdag İ (2010) Antimicrobial activity and a SAR study of some novel benzimidazole derivatives bearing hydrazone moiety. *Eur J Med Chem* 45:3293–3298
- Popiołek Ł. (2023). The application of hydrazones and hydrazide-hydrazones in the synthesis of bioactive azetidin-2-one derivatives: A mini review. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 163, 114853. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114853>
- Popiołek, Ł., & Biernasiuk, A. (2017). Synthesis and investigation of antimicrobial activities of nitrofurazone analogues containing hydrazide-hydrazone moiety. *Saudi pharmaceutical journal : SPJ : the official publication of the Saudi Pharmaceutical Society*, 25(7), 1097–1102. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2017.05.006>
- Popiołek, Ł., Biernasiuk, A., Berecka, A., Gumieniczek, A., Malm, A., & Wujec, M. (2018). New hydrazide-hydrazones of isonicotinic acid: synthesis, lipophilicity and in vitro antimicrobial screening. *Chemical biology & drug design*, 91(4), 915–923. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13158>
- Prestinaci, F., Pezzotti, P., & Pantosti, A. (2015). Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. *Pathogens and global health*, 109(7), 309–318. <https://doi.org/10.1179/2047773215Y.0000000030>
- Shirinzadeh, H., Altanlar, N., Yucel, N., Ozden, S., & Suzen, S. (2011). Antimicrobial evaluation of indole-containing hydrazone derivatives. *Zeitschrift fur Naturforschung. C, Journal of biosciences*, 66(7-8), 340–344. <https://doi.org/10.1515/znc-2011-7-804>
- Song, Q., Li, Y., Cao, Z., Qiang, X., Tan, Z., & Deng, Y. (2019). Novel salicylamide derivatives as potent multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease: Design, synthesis and biological evaluation. *Bioorganic chemistry*, 84, 137–149. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.11.022>
- Sriram, D., Yogeewari, P., Vyas, D. R., Senthilkumar, P., Bhat, P., & Srividya, M. (2010). 5-Nitro-2-furoic acid hydrazones: design, synthesis and in vitro antimycobacterial evaluation against log and

- starved phase cultures. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 20(15), 4313–4316. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.06.096>
- Talevi, A., Bellera, C.L. (2022). Drug Metabolism Functionalization (Phase I) Reactions. In: Talevi, A. (eds) *The ADME Encyclopedia*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-84860-6_63
- Vitiello, A., Sabbatucci, M., Boccellino, M., Ponzo, A., Langella, R., & Zovi, A. (2023). Therapeutic and Unconventional Strategies to Contrast Antimicrobial Resistance: A Literature Review. *Discovery medicine*, 35(178), 750–756. <https://doi.org/10.24976/Descov.Med.202335178.70>
- Xu, J., Xue, Y., Bolinger, A. A., Li, J., Zhou, M., Chen, H., Li, H., & Zhou, J. (2023). Therapeutic potential of salicylamide derivatives for combating viral infections. *Medicinal research reviews*, 43(4), 897–931. <https://doi.org/10.1002/med.21940>
- Yadav, S., Lim, S. M., Ramasamy, K., Vasudevan, M., Shah, S. A. A., Mathur, A., & Narasimhan, B. (2018). Synthesis and evaluation of antimicrobial, antitubercular and anticancer activities of 2-(1-benzoyl-1H-benzo[d]imidazol-2-ylthio)-N-substituted acetamides. *Chemistry Central journal*, 12(1), 66. <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0432-3>



ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı Soyadı : Elif Berber
Doğum Yeri ve Yılı :
Yabancı Dil : İngilizce
E-Posta :
ORCID Numarası :

Eğitim Durumu

2022- Devam Ediyor: Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Enstitüsü, Farmasötik Kimya Yüksek Lisans Programı

2017-2022: İstanbul Medipol Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (Tam Burslu)

2012-2016: Haydarpaşa Anadolu Lisesi

Mesleki Deneyim

2023-Devam Ediyor: Araştırma Görevlisi, Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

2022-2023: Araştırma Görevlisi, İstanbul Medipol Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Yayınları ve/veya Bilimsel/Sanatsal Faaliyetleri

2024: Erasmus+ Staj Hareketliliği, Almanya, Leipzig Üniversitesi, İlaç Araştırma Enstitüsü, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Terapötik Makrosiklik Peptit Geliştirme Laboratuvarı (Prof. Christina Lamers Araştırma Grubu)

Ödülleri