	Üniversite-Sanayi İşbirliği Projesi Başvuru Formu	Doküman No:	
		Yayın Tarihi:	
		Revizyon Tarihi:	
		Revizyon No:	
		Sayfa:	

Proje Kod No:

2024/YÖK-PLT/01

PROJENİN ADI

Yeni Piperazin Hidrazon Türevlerinin Sentezi, Karakterizasyonu, Elektronik Özelliklerinin, Antibakteriyel ve Antikanser Aktivitelerinin İncelenmesi

PROJE TÜRÜ

X ÜRÜN İYİLEŞTİRME VE GELİŞTİRME PROJESİ

☐ YENİ ÜRÜN PROJESİ

PROJE GENEL BİLGİLERİ

AKADEMİK YIL	2024-2025
PROJE SÜRESİ	3Ay
PROJE BÜTÇESİ	51.060,00 TL
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ	Dr. Öğr. Üyesi Sinan Mithat Muhammet
FİRMA ADI	Ninova İş Güvenliği ve Kimya Sanayi Ticaret Limited Şirketi

PROJEYE İLİŞKİN İMZALAR

GÖREVİ	UNVANI, ADI VE SOYADI	TARİH	İMZA
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ	Dr.Sinan Mithat Muhammet	3/10/2024	
FİRMA YETKİLİSİ	Cengiz Biçer	3/10/2024	
BÖLÜM BAŞKANI	Dr.Sinan Mithat Muhammet	3/10/2024	
YÜKSEKOKUL MÜDÜRÜ	Prof.Dr.Alpay Özer	3/10/2024	

	Üniversite-Sanayi İşbirliği Projesi Başvuru Formu	Doküman No:	
		Yayın Tarihi:	
		Revizyon Tarihi:	
		Revizyon No:	
		Sayfa:	

1. GENEL BİLGİLER

1.1. PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ

Ünvanı, Adı ve Soyadı :	**Dr.Sinan Mithat Muhammet**
Bölümü :	Malzeme ve Malzeme İşleme Teknolojileri
Programı:	polimer
Cep Tel:	05362634234
e-posta adresi:	mithat@gazi.edu.tr

1.2. FİRMA

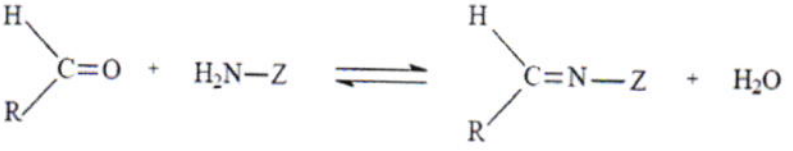
Firmanın Ticari Ünvanı:	**Ninova İş Güvenliği ve Kimya Sanayi Ticaret Limited Şirketi**
Firma Yetkilisinin Adı ve Soyadı	Cengiz Biçer
Firmanın Adresi:	Ostim OSB Mah.Ahievren Cad
Tel:	03123873333
e-posta	

1.3. PROJEDE GÖREV ALANLAR

Unvanı, Adı ve Soyadı	Projedeki Görevi	Görev Alacağı İş paketi/Tarih Aralığı
Dr.Sinan Mithat Muhammet	Proje yürütücüsü	Projenin yürütülmesi ve denetlenmesi, 03/10/2024-03/12/2024
Prof.Dr.Neslihan Özbek	Araştırmacı	Piperazin türevlerinin sentezi, 03/10/2024-03/12/2024
Doç.Dr.Şükrü Kalaycı	Araştırmacı	Piperazin türevlerinin karekterizasyonu, 03/10/2024-03/12/2024
Fatma İşler	Araştırmacı (Öğrenci)	Antibakteriyal özelliklerinin incelenmesi, 03/10/2024-03/12/2024
Damla seher keskin	Araştırmacı (Öğrenci)	Antikanser etkisinin incelenmesi, 03/10/2024-03/12/2024

2. PROJE BİLGİLERİ

PROJE DİSİPLİNLER ARASI MI?	X EVET ☐ HAYIR
Cevabınız EVET ise hangi disiplinler projede yer alacaktır.	
ÖZET ve AMAÇ (Kapsam, yöntem, özgün değer ve beklenen sonuçlar kısaca belirtilmelidir. 250 kelimeyi aşmaması beklenir).	Hidrazitler(-NH-NH_2), organik ve tıbbi kimyada yaygın olarak kullanılan gruplardan biridir. Çünkü hem farklı bileşiklerin sentezine imkân verirler, hem de antibakteriyel, antifungal, antikanser, antiinflamatuar, antitüberküloz gibi çok farklı farmasötik özelliklere sahiptirler. Piperazin grubu ve türevleri çeşitli doğal ürünlerin ve sentezlenen biyo-aktif moleküllerin yapısında bulunur ve antitümör, antidepresan, antibakteriyel ve antifungal gibi çok çeşitli biyolojik özellik gösterirler. Piperazin ve hidrazit türevlerinin glutatyon redüktaz enzimine karşı aktivitelerinin incelendiği araştırmalar oldukça azdır. Bu proje, 4 aşamada tasarlanmıştır; Birinci aşamada, önemli farmakolojik özelliğe sahip piperazin ester, piperazin hidrazin ve farklı aldehitlerin tepkimesiyle bir seri yeni ve orijinal hibrid bileşikler sentezlenecektir. İkinci aşamada, sentezlenen bileşikler çeşitli karakterizasyonu yapılacaktır (elementel analiz, 1H-NMR, 13C-NMR, FT-IR ve LC-MS). Üçüncü aşamada, sentezlenen bileşiklerin biyolojik aktiviteleri incelenecektir. a) Antibakteriyal aktivite; Bakteri

	hücreleriram pozitif: Staphylococcus aureus ATCC 29213, Staphylococcus epidermidis ATCC 35984 Gram negatif: Escherichia coli ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 22853 b) Anti-fungal aktivite; Funguslar: Candida albicans ATCC10231, Candida parapsilosis ATCC 22019, Candida auris B11903; c) Antikanser aktivite; Kanser hücreleri: kolon kanseri (Caco-2), meme kanseri (MCF-7) ve nöroblastoma kanser hücreleri (SY-SY5Y) Dördüncü aşamada ise GAUSSIAN 09 paket programında DFT metodu ile sentezlenen bileşiklerin konformasyon analizi yapılarak en kararlı moleküler yapıları elde edilecektir. Yoğunluk fonksiyonel teorisi (DFT) organik bileşiklerin elektronik yapısının belirlenmesinde sıklıkla kullanılan bir hesaplama yöntemidir. Her bir kararlı konformun FMOs (HOMO ve LUMO) enerjileri ve Global reaktiflik parametreleri hesaplanarak yapı ile biyolojik aktivite arasındaki ilişki (SAR) incelenecektir. Ayrıca, moleküler elektrostastik potansiyel (MEP) haritaları çizilerek muhtemel biyoaktif uçlar değerlendirilecektir. Bileşiklerin yapı-aktivite ilişkisinin belirlenmesi, mevcut ilaçların yapısal modellerinin türevlendirilerek yeni verimli ilaçların tasarımına katkıda bulunacaktır.
ANAHTAR KELİMELER (En az üç adet)	Piperazinhidrazon türevleri, Disk diffüzyon, elektronik özellikler
PROJENİN ÖĞRENCİNİN MESLEKİ BİLGİ VE BECERİSİNE ve ÜNİVERSİTE-SANAYİ İŞBİRLİĞİNE KATKILARI	Öğrencilerin sanayide çalışabilmesi için laboratuvar becerilerini geliştirmeleri gerekmektedir. Bu proje ile hem sentez yapmayı, örnek hazırlamayı, saflaştırma yapmayı, özel laboratuvarlarda bilgisine ihtiyaç duyulan antimikrobiyel ve uygulamalı olarak antikanser aktivitenin incelenmesini öğreneceklerdir. Öğrencilerin bilgisini, becerisini geliştirecek ve önemli bir deneyim kazandıracaktır.
KAPSAM (Projenin konusu ve kapsamı net olarak tanımlanmalı, önemi, mevcut durumu, karşılaşılan sorunlar ve/veya eksiklikler belirtilmeli, projenin başarıya ulaşması sonucunda sağlayacağı katkılar tartışılmalıdır).	Schiff bazları biyolojik ve yapısal özelliklerinden dolayı koordinasyon kimyasında önemli bir yere sahiptir. Bu bileşikler, aldehit veya ketonların primer aminlerle kondensasyon tepkimesi sonucu oluşur. Schiff bazları ile yapılan çalışmalar 1860 lardan beri süre gelmektedir. Bu bileşiklerin esas önemi, metal iyonları ile seçici ve özel reaksiyonlar vermesidir. İçerdiği aktif uçlardan metale elektron transfer etmekte ve kompleks oluşturmaktadır. Schiff bazlarının yapısal karakterizasyonu, elektronik özellikleri ve komplekslerinin kararlılığı geniş ölçüde çalışılmaktadır.  azometin Schiff bazları ilk defa 1864 yılında Alman kimyager H. Schiff trafından sentezlenmiş ve Pfeiffer tarafından ilk kez ligand olarak kullanılmıştır. Bu bileşiklerin esas önemi, metal iyonları ile seçici ve özel reaksiyonlar vermesidir. Schiff bazları yapısındaki imin, azometin gibi seçiciliği yüksek aktif uçlardan metale elektron transfer etmekte ve 4,5,6 halkalı kararlı kompleksler oluşturmaktadır. Schiff bazlarının yapısal karakterizasyonu, elektronik özellikleri ve komplekslerinin kararlılığı halen geniş ölçüde çalışılmaktadır. Schiff bazları antibakteriyel, antifungal, antitümör ve antikanser aktivitelerinden dolayı ilaç sanayinde önemli bir yere sahiptir. Biyolojik aktif olan bu bileşiklerin kompleksleşmesi sonucu bakteriostatik ve karsinostatik özelliklerinin arttığı gözlenmiştir. N.H. Al-Sha'alan

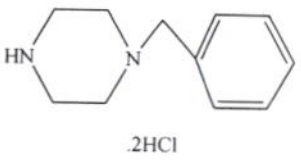
çalışmasında çeşitli Schiff bazları ve Cu(II), Fe(III), Co(II) geçiş metali kompleksleri sentezlemiştir. Sentezlenen bileşiklerin Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel aktiviteleri incelenmiş ve komplekslerin daha aktif olduğunu belirtmiştir. Ligandların şelatasyonuyla oluşan metal kompleksleri çeşitli hücresel enzimlerin aktivitesini azaltarak mikroorganizmanın metabolik işleyişini engeller, toksik etkisi hücre proteinlerinin yapısını değiştirir ve normal hücresel proseslerin bozulmasına neden olur. Bakır komplekslerinin antibakteriyel aktivite gösterdiği, demir komplekslerinin antitümör özelliğe sahip olduğu bilinmektedir. Sıtma, mantar ve böcekler üzerinde büyük etkileri vardır.

Yeni ve etkili antibiyotiklerin sentezi konusunda son yıllarda oldukça önemli ilerlemeler kaydedilmekle birlikte bakterilerin neden olduğu alt solunum yolum enfeksiyonlarının görülme sıklığı giderek artmaktadır. Piperazin, medikal kimyada çok kullanılan bir gruptur. Piperazin türevleri günümüzde antimikrobiyal, antiviral, hipoglisemik, diüretik ve antitümör vs ilaçları olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu nedenle son yıllarda sentezlenmekte ve biyolojik aktiflikleri incelenmektedir.

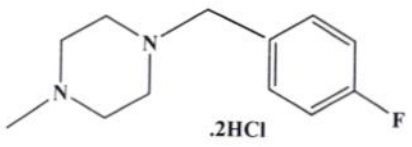
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

İkincil bir amin olan piperazin, aoidik ditiyokaramatını hazırlamak amacıyla karbon disülfid ile muameleye tabi tutulmuştur. Sarı, çözünmez, toz halindeki ürünün 223 ^{0}C'de süblimleştiği, polar ve apolar çözücülerde çözünmediği, alkali çözeltilerde çözündüğü ve asit çözeltilerde bozunduğu bildirilmiştir.

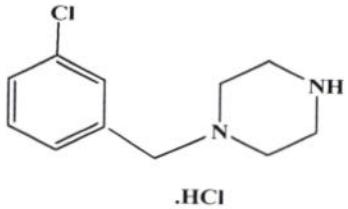
Bu tasarım ilaçları arasında piperazinler olarak bilinen bir bileşik sınıfı vardır. Adını kimyasal yapılarında bulunan piperazin halkasından (Şekil 1) alan sentetik piperazinler, beyindeki serotonin reseptörlerine bağlanarak yasadışı bileşikler olan amfetamin ve 3,4-metilendioksimethampetamin'in (MDMA) psikoaktif etkilerini taklit etme ününe sahip merkezi sinir sistemi uyarıcılarıdır. Bu ilaçlar, başlangıçta antelmintik olarak pazarlanan farmasötik ilaç piperazinin kimyasal modifikasyonu yoluyla sentezlenir [33]. Sentetik piperazinler genellikle "bitkisel" veya "doğal" olarak pazarlansa da, tamamen sentetiktirler ve 1-benzilpiperazin (BZP) veya 1-fenilpiperazinin türevleri olarak sınıflandırılırlar.



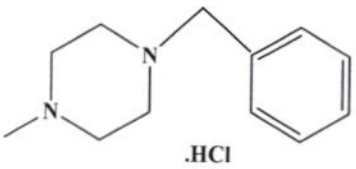
Benzylpiperazine (BZP)



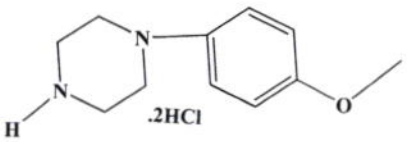
1-(4-Fluorobenzyl)piperazine (FBZP)

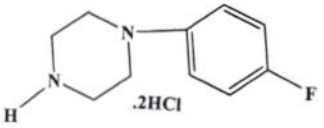


1-(3-Chlorophenyl)-piperazine (mCPP)

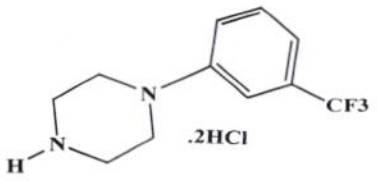


4-Methyl-1-benzylpiperazine (MBZP)

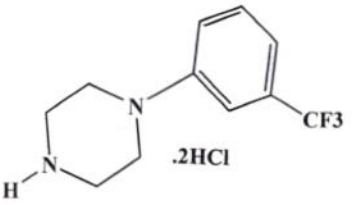




1-(4-Methoxyphenyl)-piperazine (MeOPP)



1-(*Para*-fluorophenyl)piperazine (pFPP)



2,3-Dichlorophenylpiperazine (DCPP)

1-(3-Trifluoromethylphenyl)piperazine (TFMPP)

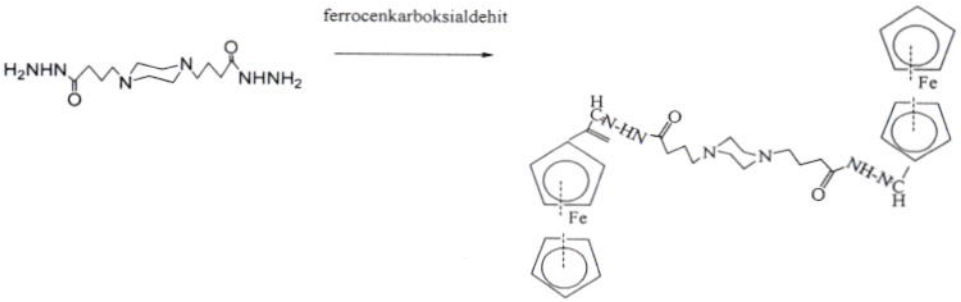
YÖNTEM
(Uygulanacak yöntem, araştırma teknikleri ve materyaller açıklanmalıdır. Meslek Yüksekokulunun ve Firmanın sorumlulukları ile birimlerde gerçekleştirilecek faaliyetler belirtilmelidir).

Bu projede önemli özelliğe sahip Piperazin grubunun çeşitli aldehitlerle sentezleri kullanılacaktır.

Dimetil-4,4'-(piperazin-1,4-diyl)dibütirat
1 mmol piperazinin etanoldeki çözeltisi üzerine 2 mmol etil klorbütirat'ın etanoldeki çözeltisi damla damla ilave edilecek, Üzerine 2 mmol katı K_2CO_3 eklendi ve 50°C da 20 saat karıştırılacaktır. Sonra çözelti destillenerek uzaklaştırılacak ve kalıntı buzlu su üzerine dökülecek. Çöken katı süzüldü, kurutuldu ve etanolden kristallendirilecek, bileşiğin saflığı ince tabaka kromatografisi kullanılarak kontrol edilecektir.

4,4'-(piperazine-1,4-diyl)di(butanehydrazide)
1 mmol dimetil-4,4'-(piperazine -1,4-diyl)dibütirat bileşiği 30 mL etanolde çözülecek, üzerine 3 mL hidrazinmonohidrat'ın etanoldeki çözeltisi ilave edilecek. Oda sıcaklığında 1 gün boyunca karıştırılacak, ürün oluşumu ince tabaka kromatografisi ile izlenecek. sonra çözücü döner buharlaştırıcı kullanılarak ortamdan uzaklaştırılacak Geride kalan beyaz renkli katı etanol/su (3/1) çözücü karışımı kullanılarak silika jel (30 g) dolgulu kolonundan geçirilerek saflaştırılıp ve aynı çözücü karışımı kullanılarak tekrar kristallendirilecektir.

4,4'-(piperazine-1,4-diyl)di(butanhidrazin bileşiği ferrosenaldehit ile reaksiyonu sonucu yeni Schiff bazları elde edilecektir. Bu hidrazin bileşiğinin;



Projenin aktivite çalışmalarının ilk basamağında duyarlılık taraması yapılacaktır. Çalışmaya Gram-pozitif bakteriler (Staphylococcus aureus ATCC 29213, Staphylococcus epidermidis ATCC 35984), Gram-negatif bakteriler (Escherichia coli ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 22853) ve maya cinsi mantarlar (Candida albicans ATCC 10231, Candida parapsilosis ATCC 22019, Candida auris CDC B11903) olmak üzere toplam yedi suş dahil edilecektir. Her bileşik için test edilecek kökenlere karşı minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ve minimum bakterisidal/fungisidal konsantrasyon (MBK/MFK) değerleri Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından bakteri ve mayalar için standardize

	edilen buyyon mikrodilüsyon (BMD) yöntemi kullanılarak belirlenecektir. Antikanser aktivitenin incelenmesi Hücre kültürü Dondurucudan çıkarılan tüm hücreler 370C'de çözdürülerek uygun besiyeri içerisine alınarak kültürleri yapılacaktır. Caco-2 insan kolon karsinoma, MCF-7 insan meme karsinoma ve SY-SY5Y insan nöroblastoma dizin hücrelerinin çoğalması ve konfluent olması için %10 fötal sığır serumu (FBS), 2mM L-glutamin, 104UI/mL. penisilin/streptomisin ve non-esansiyel amino asit içeren RPMI-1640 besiyerinde 370 0C' de ve %5 CO2 koşulunda inkübe edilecektir. Besiyeri değişimleri iki günde bir kez yapılarak hücreler çoğaltılacaktır. Daha sonra çoğalan hücrelerin bir kısmı deney için ayrılacak, diğer kısmı ise yedek amaçlı -800'de tripsin/EDTA ile kaldırılıp dondurularak saklanacaktır. 4 Teorik çalışmalar ile bileşiklerin moleküler yapılarının ve elektronik özeliklerinin incelenmesi. Teorik çalışmalarda, öncelikle Gaussian 09 programındaki DFT/B3LYP/6-31+G (d,p) temel seti kullanılarak geometri optimizasyonu ile kararlı moleküler yapılar elde edilecektir. Daha sonra, bileşiklerin en yüksek dolu moleküler orbital (HOMO) ve en düşük dolu olmayan moleküler orbital (LUMO) arasındaki enerji band aralığı (ΔE) hesaplanacaktır. Sınır orbitallerinin (FMOs) enerji değerleri ve band aralığı molekül içi/moleküller arası elektronik geçişler hakkında önemli bilgi vermektedir. Yüksek HOMO–LUMO band aralığı yüksek kinetik kararlılık ve düşük kimyasal reaktivite (redoks tepkimelerine karşı kararlı) anlamına gelmektedir. HOMO enerjisi iyonlaşma enerjisine ($I=-E_{HOMO}$) ve LUMO enerjisi elektron ilgisine (A=-ELUMO) karşı gelmektedir [61]. Sınır moleküler orbital (FMOs:HOMO ve LUMO) enerjileri kullanılarak Global reaktiflik parametreleri olan sertlik ($\eta=(I-A)/2$), yumuşaklık ($S=1/2\eta$), elektronegativite ($\chi=(I+A)/2$), kimyasal potansiyel ($\mu=-\chi$), elektrofilik indeks ($\omega= \mu 2 /2\eta$) ve nükleofilik indeks ($\varepsilon=1/\omega$) hesaplanacaktır. Ayrıca, moleküler elektrostatik potansiyel (MEP) haritaları üzerinde kontör eğrileri çizilerek biyolojik yapılarla etkileşim sırasında atak yapabilecek elektrofilik bölgeler tespit edilecektir.
B PLANI (Uygulanacak yöntemde ilerleme kaydedilememesi durumunda başvurulacak alternatif yöntem belirtilmelidir).	**Risk Yönetimi:** 1. Yapılan ön denemelerden alınan ilk sonuçlara göre yeni hibrid bileşiklerinin sentezlerinde herhangi bir sorun yaşanacağı düşünülmemektedir. Herhangi bir aksilik durumunda; B planı: Yüksek verim ve saflıkta olduğu düşünülen Yeni piperazin bazlı ilaçların yeterli saflıkta ve yüksek verimde olmaması durumunda daha önce sentezlenen 1,4-piperazindiasetik asit, 1,4-dihidrazit bileşiğinin farklı aldehitler kullanılarak yeni bileşiklerin sentezlenmesi B planı düşünülmektedir. 2. Sentezlenecek yeni Piperazin ilaçlarının biyolojik aktivite (antimikrobiyal) çalışmalarında yaşanabilecek riskler ve sunulan B planları; Mikroorganizmaların besiyerinde üremememesi B planı: Yeni besiyerleri hazırlanarak tekrar kökenlerin kültürleri yapılacaktır. Tekrarlanan kültürlerde üremenin saptanmaması devam ederse, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı bünyesinde bulunan Ulusal Tip Refik Saydam Kültür Koleksiyonu Laboratuvarı'ndan ücret karşılığında standart bakteri ve maya suşları temin edilecektir. - Antimikrobiyal aktivite testlerinin başarısız olmasına bağlı olarak MİK ve MBK/MFK değerlerinin elde edilmemesi B planı: Testlerin tekrarı yapılacak ve tekrar başarısız olunması durumunda özellikle kullanılacak bileşiklerin konsantrasyonlarında değişikliğin yapılması, yeni besiyerlerinin hazırlanması halinde deneyin tekrarı yapılacaktır. 3. Anti-kanser çalışmalarında yaşana bilecek riskler ve sunulan B planları; - Hücrelerinin kültürü sırasında hücrelerin kontamine olması B planı: Kontamine hücreler imha edilecek ve -80^{O} 'de dondurularak saklanmış yedek hücreler açılarak tekrar kültüre edilecektir. - Hücrelere bileşiklerin (mgr/ml birim dilusyonunda) uygulanması sonrasında IC50 değerinin hücre proliferasyonunu %70 oranında inhibe etmesi. B planı: Bileşiklerin dozları tekrar hesaplanarak (µgr/ml birim dilusyonuna düşürülecektir) deney tekrarlanacaktır. - MTT analizinde kullanılacak malzemelerin çalışmaması B planı: Analizler tekrarlanacak, sorunun devam etmesi durumunda firmadan kitlerin değiştirilmesi istenecektir. Aksi durumda kolorimetrik sitotoksisite analizlerinden biri olan XTT yöntemi kullanılacaktır

2.1. PROJE BÜTÇESİ

2.1.1. Genel Bütçe

Sıra No	Bütçe Kaynağı	Makine/Teçhizat (₺)	Sarf Malzeme (₺)	Hizmet Alımı (₺)	Toplantı/ Seminer vb. Katılım (₺)	TOPLAM (₺)
1	TEKNİK BİLİMLER MYO			35000tl		43060tl
2	Firma (Ninova İş Güvenliği ve Kimya Sanayi Ticaret Limited Şirketi			8000tl		8000tl
3					TOPLAM	51060tl

2.1.2. Ayrıntılı Gider Listesi

Sıra No	Adı	Miktarı	Ölçü Birimi (Kg, Adet, Top, Vb.)	Birim Fiyat (₺)	Toplam Fiyat (₺)
1	^{1}H-NMR Analizi Gazi Üniversitesi Merlab	20 adet		250 TL + KDV	10060 TL
2	^{13}C-NMR Analizi Gazi Üniversitesi Merlab	26adet		420 TL+ KDV	23000TL
3	LC-MS Gideri UNAM Bilkent	4 saat	1 saat	2100 TL + KDV	10000 TL
TOPLAM					43060 TL

2.2. İŞ-ZAMAN ÇİZELGESİ

Sıra No	İş Paketi	Aylar											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Piperazin türevlerinin sentezi										X		
2	Karekterizasyonu										X		
3	Antibakterşyal özelliklerinin incelenmesi											X	
4	Antikanser etkisinin incelenmesi												X

	Üniversite-Sanayi İşbirliği Projesi Başvuru Formu	Doküman No:	
		Yayın Tarihi:	
		Revizyon Tarihi:	
		Revizyon No:	
		Sayfa:	

İş bu proje kapsamında yürütülecek tüm faaliyetlerin, Gazi Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksekokuluna Yükseköğretim Kurulu Tarafından Sağlanan Eğitim Desteği Kapsamında Yapılacak Projelere İlişkin Usul Ve Esaslar'a uygun olarak gerçekleştirileceğini taahhüt ederiz.

Dr. Sinan Muhammet

PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ

15.../10/2024

FİRMA YETKİLİSİ

.../.../202.

NİNOVA İŞ GÜVENLİĞİ VE KİMYA SANAYİ TİCARET LİMİTED ŞİRKETİ
Ostim OSB Mah. Atil Evran Cad. No:88 Yenimahalle/ANKARA
Ostim Vergi Dairesi: 631 145 8316

.../.../202.

OLUR

MÜDÜR

HAZIRLAYAN	ONAYLAYAN
...../...../.....	...../...../.....
.....	.....
İMZA	İMZA