

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

**BAZI 3(2H)-PİRİDAZİNON VE 1(2H)-FİTALAZİNON TÜREVLERİNİN
SENTEZİ VE BİYOLOJİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

CEM YAMALI

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Deniz S. DOĞRUEK

ANKARA
Ekim 2011

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Farmasötik Kimya Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.**

Tez Savunma Tarihi : 10/10/2011


Prof. Dr. Tuncel ÖZDEN
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı


Prof. Dr. Hakan GÖKER
Ankara Üniversitesi


Prof. Dr. Derya Songül DOĞRUER
Gazi Üniversitesi

İÇİNDEKİLER	I
ŞEKİLLER	II
TABLolar	III
I. İÇİNDEKİLER	
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kemoterapi ve Tarihçesi	4
2.2. Bakteriler ve Funguslar	5
2.2.1. Bakteriler	5
2.2.2. Funguslar	10
2.3. Kemoterapötiklerin Etki Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılması	11
2.3.1. Hücre duvarı sentez inhibitörleri	11
2.3.2. Sitoplazma membran permeabilitesini bozanlar	11
2.3.3. Bakteri ribozomlarında protein sentezini inhibe ederek etki gösteren antibakteriyel ajanlar	11
2.3.4 Nükleik asit sentezini bozarak etki gösteren antibakteriyel ajanlar	12
2.3.5. İntermediyer metabolizmayı bozarak (antimetabolit etki) etki gösteren antibakteriyel ajanlar	13
2.4. Antibakteriyel Bileşiklerin Etki Derecesi	13
2.5. Direnç Gelişmesi ve Direnç Çeşitleri	14
2.5.1. Doğal direnç	14

2.5.2. Kazanılmış Direnç	14
2.5.2.1. Kromozomal mutasyonla olan direnç	14
2.5.2.2. Direnç geninin alınmasına bağlı kazanılmış direnç (Plazmid ve transpozon aracılı)	15
2.5.2.2.1. Plazmidlerin transferinde rol oynayan mekanizmalar	15
2.6. Antimikrobiyal Aktivite İçin <i>In Vitro</i> Tayin Yöntemleri	17
2.7. 3(2H)-Piridazinon ve Türevleri	19
2.7.1. 3(2H)-Piridazinon İle İlgili Genel Bilgiler	19
2.7.2. 3(2H)-Piridazinonun Genel Sentez Yöntemleri	20
2.7.3. 3(2H)-Piridazinon Yapısının Kimyasal Tepkimeleri	29
2.7.3.1. 3(2H)-Piridazinonların Alkilme Tepkimeleri	29
2.7.3.2. 3(2H)-Piridazinonların Halojenlenmesi	33
2.7.3.3. 3(2H)-Piridazinonların Nükleofilik Yerdeğiştirme Reaksiyonları	33
2.7.3.4. Diğer Tepkimeleri	36
2.7.4. 3(2H)-Piridazinon Halkasının Spektral Özellikleri	37
2.7.4.1. İnfrared Spektroskopisi	37
2.7.4.2. ¹ H-Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi	37
2.8. 3(2H)-Piridazinon Türevlerinin Biyolojik Etkileri	38
2.9. 1(2H)-Fitalazinon ve Türevleri	39
2.9.1. 1(2H)-Fitalazinon ile İlgili Genel Bilgiler	39
2.9.2. 1(2H)-Fitalazinon Halkasının Genel Sentez Yöntemleri	40
2.9.3. 1(2H)-Fitalazinon Halkasının Kimyasal Tepkimeleri	43

2.10. 1(2<i>H</i>)-Fitalazinon Türevlerinin Biyolojik Etkileri	46
2.11. Tiyazol ve Türevleri	46
2.11.1. Tiyazol İle İlgili Genel Bilgiler	46
2.11.2. Tiyazol Yapısının Genel Sentez Yöntemleri	47
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	49
3.1. Kimyasal Çalışmalar	49
3.1.1. Materyal ve Yöntem	49
3.1.1.1. Kimyasal Bileşikler	49
3.1.1.2. Sentez Yöntemleri	49
3.1.1.2.1 4-Okso-4-fenilbutanoik asit	49
3.1.1.2.2 6-Fenil-4,5-dihidro-3(2 <i>H</i>)-piridazinon	49
3.1.1.2.3 6-Fenil-3(2 <i>H</i>)-piridazinon	50
3.1.1.2.4. Etil [(6-fenil-3-okso-2 <i>H</i> -piridazin-2-il)]asetat	50
3.1.1.2.5. 2-(6-Fenil-3-okso-2 <i>H</i> -piridazin-2-il)asetohidrazit	50
3.1.1.2.6. 2-[(6-Fenil-3-okso-2 <i>H</i> -piridazin-2-il)asetil]	
hidrazinkarbotiyoamit	51
3.1.1.2.7. 2-(6-Fenil-3-okso-2 <i>H</i> -piridazin-2-il)- <i>N'</i> -(4-sübstütüefenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit Türevlerinin Genel Sentez Yöntemleri	51
3.1.1.2.8. Etil [(1-okso-2 <i>H</i> -fitalazin-2-il)]asetat	51
3.1.1.2.9. 2-(1-okso-2 <i>H</i> -fitalazin-2-il)asetohidrazit	52
3.1.1.2.10. 2-[(1-Okso-2 <i>H</i> -fitalazin-2-il)-asetil]hidrazinkarbotiyoamit	52
3.1.1.2.11. 2-(1-Okso-2 <i>H</i> -fitalazin-2-il)- <i>N'</i> -(4-sübstütüefenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit Türevlerinin Genel Sentez Yöntemi	52

3.2. Analitik Kontroller	53
3.2.1. Erime Derecesi Tayini	53
3.2.2. İnce Tabaka Kromatografisi İle Yapılan Kontroller	53
3.2.2.1. Materyal	53
3.2.2.2. Yöntem	53
3.2.3. Spektroskopik Yöntemler	54
3.2.3.1. ¹ H NMR Spektrumları	54
3.2.3.2. IR Spektrumları	54
3.2.4. Elementel Analizler	54
3.2.5. Kütle	54
3.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	55
3.3.1. Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite Çalışmaları	55
3.3.1.1. Mikroorganizmalar	55
3.3.1.2. Mikrodilüsyon Yöntemi	55
3.3.2. Antimikobakteriyel Aktivite Çalışmaları	58
3.3.2.1. Mikroorganizma	58
3.3.2.2. Mikrodilüsyon Yöntemi	58

4. BULGULAR	60
4.1. Kimyasal Çalışmalar	60
4.1.1. 2-(6-Fenil-3-okso-2 <i>H</i> -piridazin-2-il)- <i>N'</i> -(4-fenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit (Bileşik 1)	60
4.1.2. 2-(6-Fenil-3-okso-2 <i>H</i> -piridazin-2-il)- <i>N'</i> -[4-(4-metilfenil)-1,3-tiyazol-2-il]asetohidrazit (Bileşik 2)	62
4.1.3. 2-(6-Fenil-3-okso-2 <i>H</i> -piridazin-2-il)- <i>N'</i> -[4-(4-klorofenil)-1,3-tiyazol-2-il]asetohidrazit (Bileşik 3)	64
4.1.4. 2-(6-Fenil-3-okso-2 <i>H</i> -piridazin-2-il)- <i>N'</i> -[4-(4-metoksifenil)-1,3-tiyazol-2-il]asetohidrazit (Bileşik 4)	66
4.1.5. 2-(6-Fenil-3-okso-2 <i>H</i> -piridazin-2-il)- <i>N'</i> -[4-(4-florofenil)-1,3-tiyazol-2-il]asetohidrazit (Bileşik 5)	68
4.1.6. 2-(6-Fenil-3-okso-2 <i>H</i> -piridazin-2-il)- <i>N'</i> -[4-(4-triflorometilfenil)-1,3-tiyazol-2-il]asetohidrazit (Bileşik 6)	70
4.1.7. 2-(1-Okso-2 <i>H</i> -fitalazin-2-il)- <i>N'</i> -(4-fenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit (Bileşik 7)	72
4.1.8. 2-(1-Okso-2 <i>H</i> -fitalazin-2-il)- <i>N'</i> -(4-metilfenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit (Bileşik 8)	74
4.1.9. 2-(1-Okso-2 <i>H</i> -fitalazin-2-il)- <i>N'</i> -(4-klorofenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit (Bileşik 9)	76
4.1.10. 2-(1-Okso-2 <i>H</i> -fitalazin-2-il)- <i>N'</i> -(4-metoksifenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit (Bileşik 10)	78
4.1.11. 2-(1-Okso-2 <i>H</i> -fitalazin-2-il)- <i>N'</i> -(4-florofenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit (Bileşik 11)	80
4.1.12. 2-(1-Okso-2 <i>H</i> -fitalazin-2-il)- <i>N'</i> -(4-triflorometilenfenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit (Bileşik 12)	82

4.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	84
4.2.1. Antibakteriyel, Antifungal ve Antimikobakteriyel Aktivite Sonuçları	84
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	86
6. ÖZET	95
7.SUMMARY	96
8. KAYNAKLAR	97
9. ÖZGEÇMİŞ	107
TEŞEKKÜR	

II. Şekiller

Şekil 1: Mürein Sentezi	6
Şekil 2: Gram-pozitif bakterilerin hücre duvarı	7
Şekil 3: <i>Mycobacterium tuberculosis</i> hücre duvarı	8
Şekil 4: <i>Mycobacterium tuberculosis</i> hücre duvarı	9
Şekil 5: Direnç genlerinin bakteri hücresinde neden olduğu olaylar	16

III. Tablolar

Tablo 1: Sentezlenen Bileşiklerin Test Edilen Mikroorganizmalara karşı MİK (µg/ml) Değerleri	84
Tablo 2: Sentezlenen Bileşiklerin <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ve izolatına karşı MİK (µg/ml) Değerleri	85
Tablo 3: Sentezlenen Bileşiklerin Test Edilen Mikroorganizmalara karşı MİK (µg/ml) Değerleri	9

1.GİRİŞ

Kemoterapötik ilaçların tedaviye girmeye başladığı 20. yüzyılın ilk yarısından itibaren, mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde büyük başarılar elde edilmiş ve bu hastalıklara bağlı ölümler önemli derecede azalmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre; 1955 yılında 48 yaş olan ortalama yaşam süresi, 2009 yılında 68'e yükselmiştir. 1940'lı yıllardan başlayarak ortalama yaşam süresinin uzamasında, enfeksiyon etkenlerine karşı kullanılan kemoterapötik ilaçların önemli bir rolü olduğu bilinmektedir. Ancak geçen yüzyılın ilk yarısı ile karşılaştırıldığında, yeni enfeksiyon etkenlerinin ortaya çıkması ve aynı zamanda eskiden beri bilinen enfeksiyon etkenlerinin duyarlı oldukları kemoterapötik ilaçlara direnç kazanmaları nedeniyle, günümüzde enfeksiyon hastalıklarını tedavi etmek çok daha karmaşık bir hale gelmiştir. Bu sebeple, mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyon hastalıkları halen insanların karşılaştığı en önemli sağlık sorunlarından biri olmaya devam etmektedir.

Özellikle metisillin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) ve vankomisin dirençli Enterokok (VRE) gibi dirençli Gram-pozitif bakterilerin ayrıca genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz (GSβL) üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* gibi dirençli Gram-negatif bakterilerin ortaya çıkması bakteri kökenli hastalıkların tedavisinde karşılaşılan önemli bir sorundur.¹ Antibiyotiklere karşı bakterilerin oluşturduğu direncin moleküler mekanizması çok çeşitli ve karmaşıktır. Antibiyotiklerin yanlış ve yaygın kullanımlarının bakterilerin direnç kazanmasında etkili olduğu bildirilmiştir.¹

Dirençli Gram bakterilere ilave olarak, dirençli tüberküloz türleri de tüm dünyada ciddi bir halk sağlığı sorunudur. Tüberküloz, ana etkeni *Mycobacterium tuberculosis* olan ve günümüzde yaygın görülen enfeksiyon hastalıklarından biridir. Dünya nüfusunun 1/3'ünü oluşturan 1.7 milyar insan tüberküloz basili ile enfekte olup, bunların büyük çoğunluğunu geliştirmekte olan ülkelerdeki insanlar oluşturmaktadır. Gelişmiş ülkelerdeki enfekte bireylerin %80'i 50 yaş ve üzerinde iken geliştirmekte olan ülkelerdeki bireylerin % 77'si 50 yaş ve altındakilerden oluşmaktadır.² Sosyoekonomik düzey düşüklüğü ayrıca kanser ve AIDS gibi bağışıklık sistemini baskılayan hastalıklar tüberkülozun yaygın hale gelmesinin önemli nedenlerindendir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre her yıl yaklaşık 8,4 milyon insan bu hastalığa yakalanmakta ve 2-3 milyon insan bu hastalık nedeniyle ölmektedir.³

Bir diğer önemli sorun sistemik ve lokal mantar enfeksiyonlarıdır. Özellikle, bağışıklık sistemi baskılanmış kanser ve AIDS hastalarında mantar enfeksiyonları ölümcül sonuçlara neden olmaktadır. Ayrıca insan ve fungus hücrelerindeki benzerliklerden dolayı antifungal ilaçlar seçici aktiviteye sahip değildirler.⁴⁻⁶

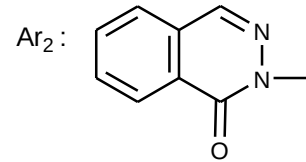
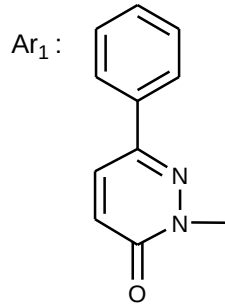
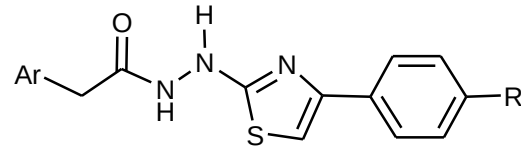
Tüm bu nedenlerden dolayı antibakteriyel ve antifungal etkili bileşikler üzerinde çalışmalar yoğun olarak devam etmektedir.

3(2H)-Piridazinon ve 1(2H)-fitalazinon halkalarını taşıyan pek çok bileşiğin farklı biyolojik etkilere sahip oldukları bildirilmiştir. Aynı zamanda bu halka sistemlerini taşıyan antimikrobiyal etkili bileşikler de literatürde kayıtlıdır.⁷⁻¹⁰

Ayrıca Tiyazol halkasına sahip ve antimikrobiyal etki gösteren pek çok bileşik literatürde kayıtlıdır.¹¹⁻¹³

Bu bilgiler ışığında, daha iyi bir antibakteriyel veya antifungal aktivite elde edebilmek ümidi ile farklı farmakoforları tek bir kimyasal yapıda bir araya getirerek hibrit moleküller sentez etmeyi amaçladık.

Sonuç olarak tez kapsamında, 3(2*H*)-piridazinon ve 1(2*H*)-fitalazinon halkalarının 2. konumlarında *N'*-(4-sübstitüefenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit türevleri taşıyan oniki yeni bileşik sentez edildi ve bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirildi.



R : -H, -CH₃, -Cl, -OCH₃, -F, -CF₃

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemoterapi ve Tarihçesi

Kemoterapinin bilimsel bir temele oturması, Paul Ehrlich'in "seçici toksik etki" kavramını ortaya atması ile olmuştur. Kemoterapi mikroorganizma (bakteri, mantar, protozoa ve virüs) ve parazitlerin neden olduğu enfeksiyon veya tümoral hastalıkların kimyasal bileşiklerle (kemoterapötik) yapılan tedavisidir. Kemoterapinin ana ilkesi olan "seçici toksik etki" konakçıda hiç veya çok az toksik etki yapan bir kimyasal madde ile hastalık etkeni üzerinde toksik veya öldürücü etki oluşturmaktır. Bu seçici toksik etki, patojen mikroorganizma hücresi ile insan hücresi arasında yapı ve biyokimyasal mekanizmalar bakımından var olan farklar sayesinde mümkün olmaktadır.¹⁴

Eskiden "antibiyotikler"; mikroorganizmalar tarafından sentez edilen ve diğer mikroorganizmaların üremesini durduran veya öldüren biyolojik kaynaklı maddeler olarak tanımlanırlar ve kemoterapötik bileşikler elde edilmiş kaynaklarına göre; sentetik kemoterapötikler ve antibiyotikler olarak sınıflandırılırdı. Ancak antibiyotiklerin sentetik olarak üretilmesiyle birlikte, "antibiyotikler" kemoterapötikler alt başlığı altında değerlendirmeye alınmış ve "mikroorganizmaların üremesini durduran veya öldüren biyolojik kaynaklı ya da sentetik olarak elde edilebilen bileşikler" olarak tanımlanmıştır.¹⁵

Modern kemoterapi 1932'de Domagk tarafından bir azo boyası olan Prontosil'in sıçanlardaki Streptokok enfeksiyonlarına karşı sistemik etkinliğinin bulunması ile başlamıştır. Daha sonra 1937'de Trefouel ve arkadaşları tarafından prontosil'in vücutta etkin bileşik olan sülfonamid'e dönüştüğünün bulunması, sülfonamidlerin tedaviye girmesine

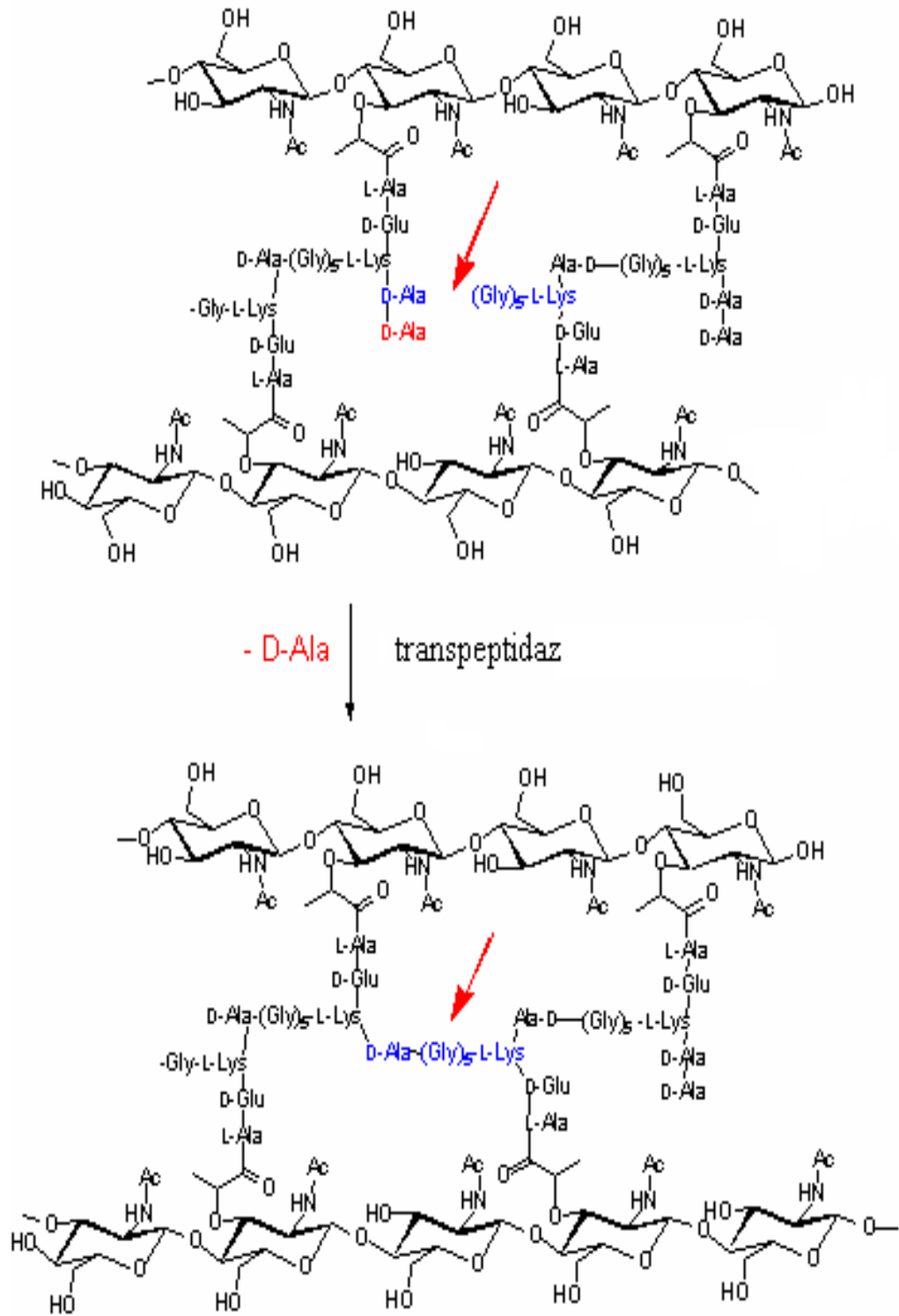
yol açmıştır. Alexander Fleming tarafından 1929 yılında penisilinin keşfedilmesi ve 1940 yılında Florey ve Chain'nin penisilini saf olarak elde etmesiyle de kemoterapide önemli gelişmeler olmuştur. ^{4, 14}

Enfeksiyon hastalıklarının etkenleri hakkındaki bilgilerin gelişmesine paralel olarak, bu enfeksiyon etkenleri üzerinde etkili pek çok kemoterapötik bileşik geliştirilmiştir ve tedaviye sunulmuştur.

2.2. Bakteriler ve Funguslar

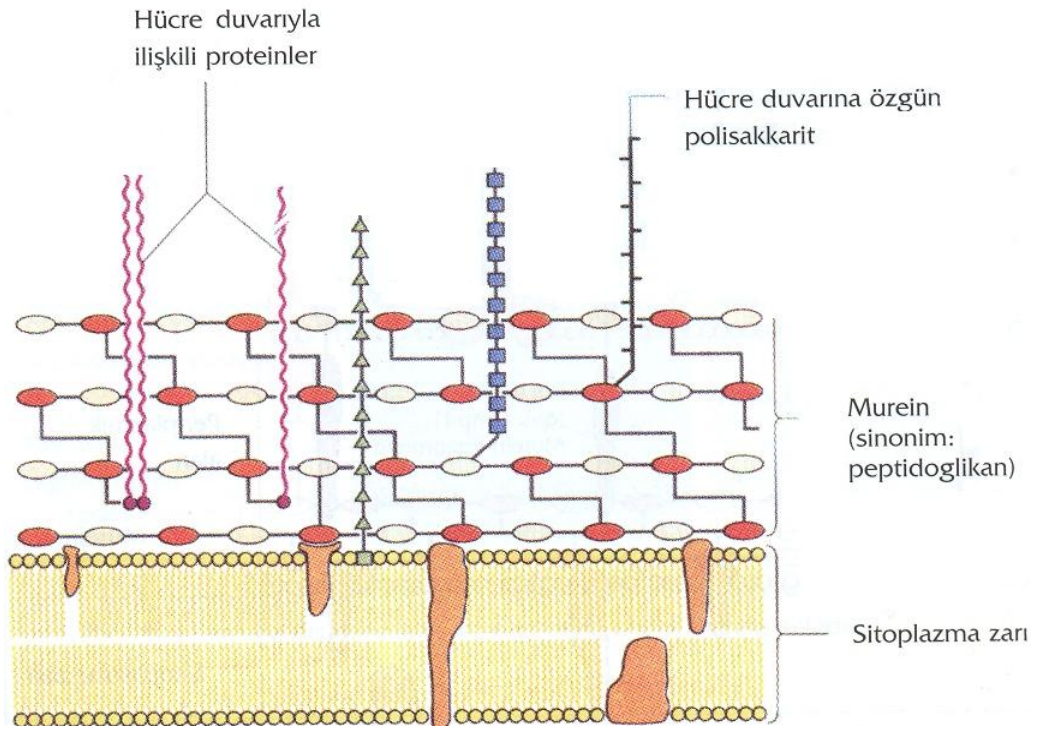
2.2.1 Bakteriler

Bakteriler tek hücreli prokaryotik mikroorganizmalardır. Bakterilerin dış ortamdan korunmalarını sağlayan ve bakteriye şeklini veren esas yapı hücre duvarıdır. Hücre duvarı dış ortamdaki maddelerin girişine olanak veren ve seçiciliği bulunmayan 1-2 nm çaplı porlar içerir. Antimikrobiyallerin buradan geçebilmesinde, duvarın yapısı ve ilacın moleküler büyüklüğü etkilidir. Bakteri hücre duvarının ana maddesi müreindir. Müreini oluşturan peptidoglikan zincirlerinin her biri N-asetilglukozamin (NAG) ve N-asetilmuramik asitten (NAM) yapılmıştır. NAM ve NAG birbirine β -1,4 bağı ile bağlıdırlar. N-asetilmuramik asit, N-asetilglukozaminin laktik asit taşıyan türevidir. Laktik asitin karboksil grubuna amino asit grupları bağlanmıştır. Lineer peptidoglikan zincirlerinin transpeptidaz enzimi ile çapraz bağlanması sonucunda mürein oluşur. ^{14,15}



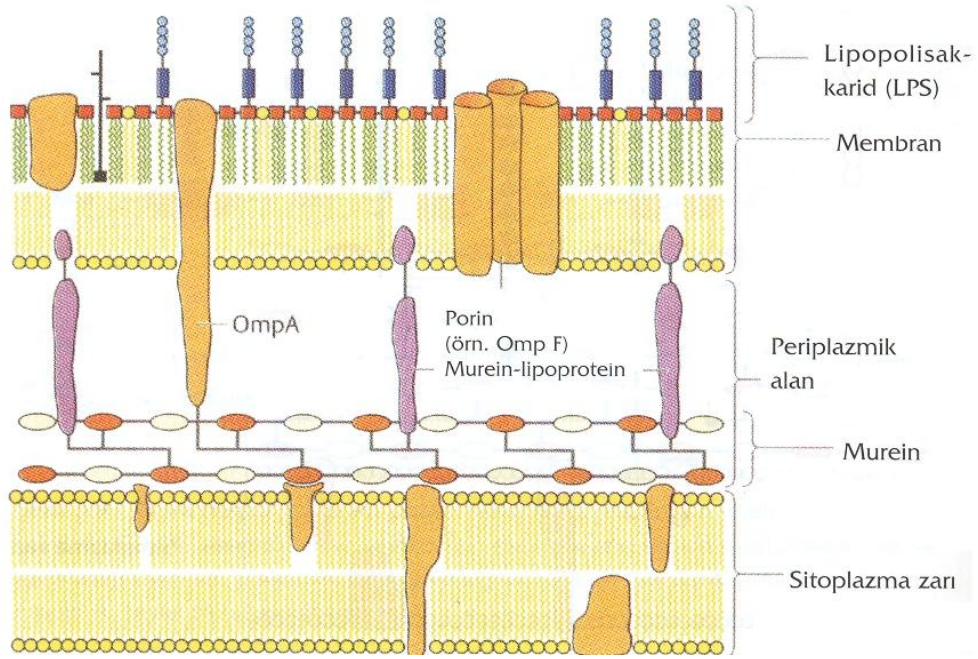
Şekil 1: Mürein sentezi

Hücre duvarı yapısı, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler arasında önemli farklılıklara sahiptir. Gram-pozitif bakterilerde hücre duvarı büyük oranda müreinden meydana gelmiştir. Mürein, Gram-pozitif bakterilerde duvar kalınlığının % 50 'sini oluşturur. Bu oran Gram-negatif bakterilerde % 5-10 kadardır.^{16,17}



Şekil 2: Gram-pozitif bakterilerin hücre duvarı

Gram-negatif bakterilerin hücre duvarlarında gram-pozitiflere oranla daha ince peptidoglikan tabakası bulunur ve peptidoglikan tabakasının dışında bir lipopolisakkarit tabakası taşırlar.^{16,17}



Şekil 3: Gram-negatif bakterilerin hücre duvarı

Gram boyama, bakterileri hücre duvarlarının özelliklerine göre iki büyük gruba (Gram-pozitif, Gram-negatif) ayırmak için kullanılan bir yöntemdir. Gram-pozitif bakteriler gram boyama işleminden geçtikten sonra, mikroskop altında mavi-mor renk alan bakterilerdir. Peptidoglikan hücre duvarı daha kalın olan gram-pozitiflerin boyaları tutma kuvvetleri fazladır.^{16,17}

Gram-negatif bakteriler Gram boyama prosedürü sırasında kristal viyole boyasını tutmayan bakterilerdir. Gram-pozitif bakteriler,

alkolle yıkandıktan sonra mavi rengi tutmaya devam ederlerken, Gram-negatif bakteriler mavi rengi kaybederler. ^{16,17}

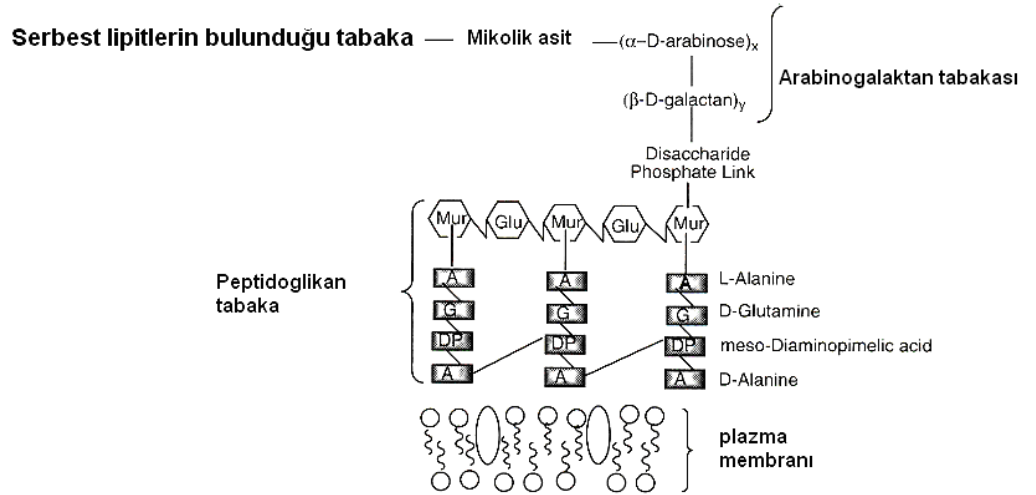
Tüberküloz etkeni olan *Mycobacterium tuberculosis*, mycobacteriaceae üyesi bakterilerden olup, Gram boyamada hiç görülmeyen veya çok ender görülebilen çomak şekilli bakterilerdir. Bunun nedeni boyaların çok zor içine girebildikleri lipitçe zengin hücre duvarıdır. Özel ayırt edici boyalarla (Ziehl Neelsen) boyanırlar. Tüberküloz bakterilerinin pek çok özelliği hücre duvarının yapı ve kimyasından kaynaklanmaktadır. Hücre duvarı – yüksek lipit içeriğine sahiptir. İçerden dışarıya doğru hücre duvarında şu tabakalar bulunmaktadır. ^{4,16}

*Müreïn

*Arabinogalaktan

*Mikolik asit

*En dış tabaka serbest lipitlerin yer aldığı bölümdür.



Şekil 4: *Mycobacterium tuberculosis* hücre duvarı

Mycobacterium tuberculosis hücre membran yapısından dolayı birçok kemoterapötik ajana karşı dirençlidir. Lipitçe zengin olan bu membran kemoterapötik ajanların hücre içine girmesini engeller. Tüberküloz tedavisinde kullanılan ilaçlar *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı seçici aktivite gösterir.⁴

Tüberküloz tedavisinde kullanılan ilaçlar primer ve sekonder ilaçlar olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Primer ilaçlar tüberküloz vakalarının çoğunda kullanılır (İzoniazit, pirazinamit, rifampin). Sekonder ilaçlar toksisiteleri nedeniyle primer ilaçlara direnç geliştiği durumlarda ilaç kokteyllerine katılır (Para aminosalisilik asit (PAS), sikloserin). Tüberküloz tedavisinde direnç gelişimini önleyebilmek amacıyla kombine ilaç kullanımı yapılır. İzoniazit bu kombinasyonun genellikle değişmeyen ilacıdır.⁴

2.2.2 Funguslar

Funguslar fotosentetik olmayan tek hücreli koloniler (maya) veya ipliksi çok hücreli agregatlar (küf) halinde üreyen ökaryotik organizmalardır. Ökaryotik hücre yapılarından dolayı antifungallerin selektif toksik etki göstermesi güçtür, bu nedenle fungal enfeksiyonların özellikle sistemik olanlarının tedavisi zordur. Memeliler hücre membranlarında bir sterol olan kolesterol, funguslar ise hücre zarlarında ergosterol taşırlar. Bu biyokimyasal farklılıktan yararlanılarak funguslardaki ergosterol sentezini önleyen imidazol türevi antifungal ilaçlar geliştirilmiştir.^{4,16}

2.3. Kemoterapötiklerin Etki Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılması

2.3.1. Hücre duvarı sentez inhibitörleri

Hücre duvarı sentez inhibitörleri bakteri hücre duvarının ana maddesi olan mürein sentezini, peptidoglikan zincirlerini çapraz bağlayan transpeptidaz (penisilin bağlayan proteinler = PBP) enzimlerini geri dönüşsüz olarak inhibe ederek etki gösterirler. Bu tip ajanların gelişmesini tamamlamış bakteriler üzerinde etkisiz oldukları bildirilmiştir. Bu gruba giren ilaçlar: β -Laktam antibiyotikleri (penisilinler, sefalosporinler), glikopeptitler.^{14,15}

2.3.2. Sitoplazma membran permeabilitesini bozanlar

Sitoplazma membranı, bakteri hücresinde osmotik bir bariyer görevi yapmaktadır. Bakteri için gerekli maddeler ortamdan, bu membran içinde pasif difüzyon veya aktif transport ile alınırlar. Deterjan özelliğine sahip bazı antibiyotik ve antiseptikler, sitoplazma membranının geçirgenliğini arttırarak hücre için yaşamsal önemi olan bileşiklerin (aminoasitler, nükleotitler ve potasyum gibi) dışarı sızmasına neden olarak bakterisit etki oluştururlar. Bu etki mekanizması ile etkili olan antibakteriyel ajanların gelişimini tamamlamış bakterilere de etkili oldukları bildirilmiştir. Bu gruba giren ilaçlar: Polien antibiyotikler ve antifungal etkili imidazol türevleri.^{14,15}

2.3.3. Bakteri ribozomlarında protein sentezini inhibe ederek etki gösteren antibakteriyel ajanlar

Bu bileşikler çoğunlukla geniş spektrumludurlar. Bu gruba giren birçok antibakteriyel ajanın bakteriyostatik etkili olduğu, bazılarının ise bakterisit etkili olduğu bildirilmiştir. Bu şekilde etkili olan ilaçların bazıları bakterilerin ribozomları ile kombine olurlar ve ribozomlar içinde,

mRNA tarafından yönetilen protein sentezini bozarlar. Bunlar genellikle memeli hücrelerindeki protein sentezini etkilemezler çünkü memeli hücrelerindeki ribozomlar, bakteri ribozomlarından özellikle ribozomal RNA moleküllerinin sayısı ve bileşimi bakımından farklı oldukları için ilaçlara duyarlılık açısından da farklılık göstermektedir. Bakteri ribozomlarının sedimentasyon katsayısı 70S iken, memeli ribozomlarındaki 80S'tir. Bakterilerde mRNA'daki kodlanmış mesajın çevrilmesi sonucu özgül proteinin (peptit zincirinin) oluşturulmasından 30S alt birimi sorumludur, 50S alt birimi ise peptit bağı oluşmasını katalize eder. Bakterilerde protein sentezi dört basamakta gerçekleşir (tRNA aktivasyonu, inisiasyon, elongasyon, protein sentezinin sonlanması ve proteinin ribozomdan ayrılması). Bu gruptaki kemoterapötik ajanlar protein sentezini, çeşitli basamaklarda etkileyerek bozarlar.^{14,15}

Bu gruba giren ilaçlar: Aminoglikozitler, tetrasiklin, kloramfenikol, makrolitler, linkozamitler.

2.3.4. Nükleik asit sentezini bozarak etki gösteren antibakteriyel ajanlar

Bu bileşiklerin çoğu memeli hücrelerine de etkili olup antineoplastik olarak kullanılırlar. Memeli hücrelerine etkili olmayan kinolonlar ve rifamisinler gibi ajanlar kemaoterapötik olarak kullanılırlar. Kinolonlar (nalidiksik asit, oksolinik asit ve florokinolonlar), bakterinin türüne göre DNA-giraz enzimini (topoizomeraaz) inhibe ederek DNA fonksiyonlarının bozulmasına neden olur. Memeli topoizomeraazları farklı bir yapıda oldukları için etkilenmezler. Mitomisin ve benzerleri, DNA çift zinciri arasında çapraz bağlanmayı ve DNA replikasyonunu engelleyerek etkili oldukları bildirilmiştir. Rifamisinler (rifampisin ve rifabütün gibi), DNA'ya bağımlı RNA-polimeraz enzimini inhibe ederek mRNA sentezini yani transkripsiyonu engellerler.^{14,15}

Bu gruba giren ilaçlar: Kinolonlar, rifampisin.

2.3.5. İntermediyer metabolizmayı bozarak (antimetabolit etki) etki gösteren antibakteriyel ajanlar

Bunlar bakteri metabolizması için gerekli olan bazı maddelerin (folik asit gibi) sentezini önlerler. Bakteriler için antimetabolit niteliğinde olan maddelerdir.^{14,15}

Bu gruba giren ilaçlar: Sülfonamidler, sülfonlar, izoniazit, para aminosalisilik asit (PAS).

2.4. Antibakteriyel Bileşiklerin Etki Derecesi

Kemoterapötikler mikroorganizmalar üzerinde yaptıkları etkinin derecesine göre iki gruba ayrılırlar: Bakteriyostatik olanlar ve bakterisit olanlar.^{16,17}

Bakteriyostatik etki: Bakteri hücrelerinin gelişmesinin ve üremesinin durdurulmasıdır. Gelişmesi ve üremesi durdurulan bakteriler, vücudun savunma sistemleri tarafından yok edilir. Bakteriyostatik etki gücünün göstergesi minimum inhibitör konsantrasyonudur (MİK). Bu değer ne kadar küçükse ilacın bakteriyostatik etki gücü o kadar fazladır.^{16,17}

Bakterisit etki: Bakteri hücrelerinin direkt olarak öldürülüp yok edilmesidir. Bakterisit etki gücünün göstergesi minimum bakterisit konsantrasyonudur (MBK).^{16,17}

2.5. Direnç Gelişmesi ve Direnç Çeşitleri

Direnç bakteri ve diğer mikroorganizmaların bir özelliği olup genel anlamıyla onların kemoterapötik ilaç tarafından etkilenmemesi demektir.

Antibiyotik direnci iki başlık altında sınıflandırılabilir:

2.5.1. Doğal Direnç: Bazı mikroorganizma türleri belirli bir kemoterapötik ilaca doğal olarak dirençlidir yani o ilaç tarafından etkilenmezler.¹⁴

2.5.2. Kazanılmış Direnç: Bakteri popülasyonunun ilaçla ilk temasa gelişinde ilaç bakteriler üzerinde etkilidir. Ancak temas süresi boyunca veya yinelenen temas sırasında antibakteriyel etkisine karşı direnç gelişir. Direnç gelişiminin göstergesi ilacın o mikroorganizmadaki MİK ve MBK değerlerinin giderek yükselmesidir.¹⁴

Kazanılmış direnç iki türlü meydana gelebilir:

- kromozomal mutasyonla oluşan direnç
- plazmid ve transpozonlar aracılığı ile olan direnç

2.5.2.1. Kromozomal mutasyonla olan direnç

Bu şekilde dirence yol açan mutasyon olayı bakterinin kemoterapötik ilaç ile temasına bağlı değildir. Mutasyon bakteride genellikle spontan olarak oluşmaktadır. Kromozomal mutasyonla olan direncin plazmidler veya transpozonlar aracılığı ile olana göre daha seyrek görüldüğü bildirilmiştir.¹⁴

2.5.2.2. Direnç geninin alınmasına bağlı kazanılmış direnç (Plazmid ve transpozon aracılı)

Plazmidler bakterilerin kromozomları dışında kalan ufak DNA parçalarıdır, kromozomlardan bağımsız olarak replikasyona uğrarlar. Direnç genleri taşıyan plazmidlere direnç plazmidleri (R plazmidleri) adı verilir. Direncin taşınmasında rol oynayan diğer bir özel DNA parçası transpozondur. Bunlar hem kromozomal DNA hem de plazmidler üzerine sokulabilen daha ufak ve hareketli DNA parçalarıdır.¹⁴

2.5.2.2.1 Plazmidlerin transferinde rol oynayan mekanizmalar^{14,16}

Transdüksiyon

Bakteriofajlar yani bakteri virüsleri dirençli plazmidin taşıyıcılığını yapar.

Konjugasyon

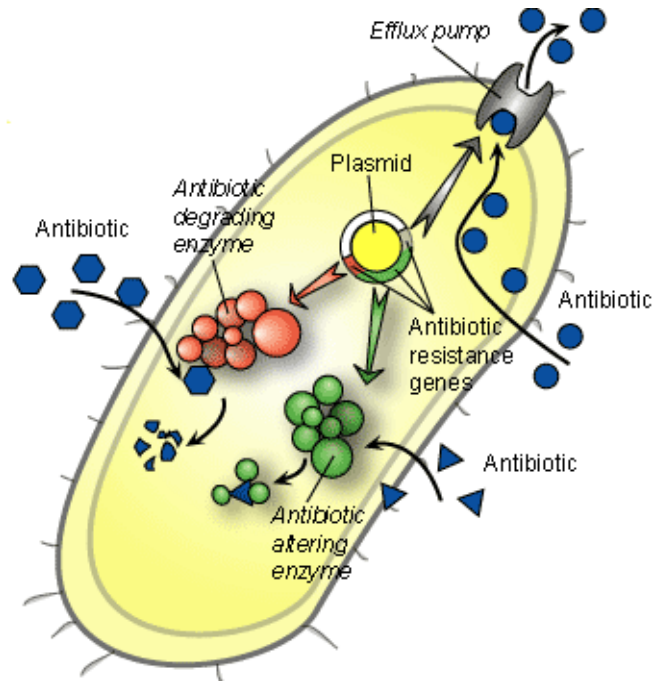
Dirençli bakteri, duyarlı bakteriyle sitoplazma köprüsü oluşturur ve R plazmidlerinden biri duyarlı hücreye geçer ve onu dirençli yapar.

Transformasyon

Bakterinin lizisi sonucu ortama dökülmüş R plazmidleri veya DNA kırıntıları duyarlı bakteri tarafından alınır, dirençli duruma geçer.

Hücreden hücreye taşınan bu direnç materyalleri bakteri hücresinde çeşitli olaylara neden olmaktadır.¹⁴ Bunlar;

- İlacı parçalayan veya değiştiren enzimlerin oluşması
- İlacın hücre içindeki hedefine bağlanması azalması
- Hücre çeperinin ilaca geçirgenliğinin azalması
- İlacın hücre dışına atılması (efflux)



şekil 5: Direnç genlerinin bakteri hücresinde neden olduğu olaylar

Bir kemoterapötik ajan çeşidine karşı duyarlılığını kaybeden bakteri türü, bu bileşiğe yakın kimyasal yapıda olan veya farklı yapıda olup, benzer etki mekanizmasına sahip olan bileşiklere de direnç kazanabilir. Birden fazla antibakteriyel bileşiğe karşı gelişen dirence “apraz Direnç” denir.

2.6. Antimikrobiyal Aktivite İçin *In Vitro* Tayin Yöntemleri

Kemoterapötiklerin mikroorganizma üzerindeki bakteriyostatik veya bakterisit etkinliklerini *in vitro* olarak saptamak veya mikroorganizmanın kullanılan kemoterapötik ajana karşı duyarlılığını *in vitro* olarak belirlemek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir.

Bu tayinlerin yapılması klinik tedavide uygun antimikrobiyalin uygun kullanılmasını sağlar. Sonuç olarak antimikrobiyal ajanlara karşı direnç gelişmesi de önlenmiş olur.

Antimikrobiyal aktivite *in vitro* koşullarda difüzyon ve dilüsyon olmak üzere iki yöntemle belirlenir.

Difüzyon yönteminde petri kutusunda hazırlanan katı besi yeri üzerine antibiyotik duyarlılık durumu saptanacak mikroorganizma yayılır ve üzerine belirli aralıklarla antibiyotik emdirilmiş diskler yerleştirilir. Her bir diskte bilinen dozda antibiyotik bulunur. İnkübasyondan sonra, antibiyotik diskleri çevresinde farklı çapa sahip üreme inhibisyon zonlarının oluşup oluşmadığı incelenerek değerlendirme yapılır. Hiç üreme inhibisyon zonu olmaması o mikroorganizmanın o antibiyotiğe dirençli olduğunu gösterir.¹⁶

Dilüsyon yönteminde antimikrobiyal ajanın MİK ve MBK değerleri saptanır. Dilüsyon yönteminde temel kural sıvı veya katı besi yeri içinde antimikrobiyalın belirli konsantrasyonları hazırlanarak mikroorganizma ile muamele edilir. İnkübasyondan sonra, antimikrobiyal ajanın hangi konsantrasyonda mikroorganizma üzerinde etkili olduğu belirlenir.¹⁶

Difüzyon yöntemi sadece katı besi yerlerine uygulanabildiği halde, dilüsyon yöntemi hem katı hem sıvı besi yerlerine uygulanabilir.

Sıvı besiyerlerinde mikroorganizmalarla antimikrobiyaller doğrudan temasta bulundukları için sonuçlar daha duyarlıdır. Ancak bu besiyerlerinde mikroorganizmalar üremeleri esnasında olabilecek değişikliklerden daha kolay etkilenirler.

In vitro olarak yapılan yöntemlerde Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI-Clinical and Laboratory Standarts Institue) tarafından belirlenen standartlar kullanılmaktadır.

Kullanılan yöntemlerin temel prensipleri farklı olsa da genel olarak dikkat edilmesi gereken noktalar vardır. Kullanılacak olan antibakteriyel ajan miktarının hassas olması, saf olması ve herhangi bir mikrobiyolojik etkinliği olmayan uygun çözücünde çözünmüş olması gerekmektedir.

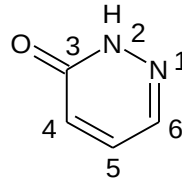
Standart olarak kullanılan antibakteriyel ajanlar hazırlanırken kimyasal ve fiziksel özellikleri göz önünde bulundurulmalıdır.

Deneylerde kullanılan malzemeler steril olmalıdır. Mikroorganizmaların besi yerlerine ekilecek olan inokulum miktarlarının standartlarına uygun olması gerekmektedir. Kullanılan besiyerleri mikroorganizmaların iyi üredikleri besi yerleri olmalı ve uygun pH da olmalıdır. Çünkü pH daki farklılıklar antimikrobiyal ajanların etki ve potensinde artmaya veya azalmaya neden olabilmektedir. İnkübasyon süresi kullanılan mikroorganizmanın cinsine göre uygun değerde olmalıdır.

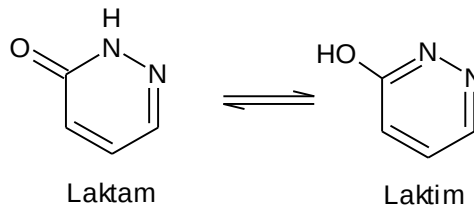
2.7. 3(2H)-Piridazinon ve Türevleri

2.7.1. 3(2H)-Piridazinon İle İlgili Genel Bilgiler

3(2H)-Piridazinon halkasının numaralandırılması aşağıda gösterildiği gibidir.



İki numaralı konumda sübstitüent içermeyen 3(2H)-piridazinon türevlerinde azot atomundaki serbest hidrojen den dolayı tautomer dengesi söz konusudur.

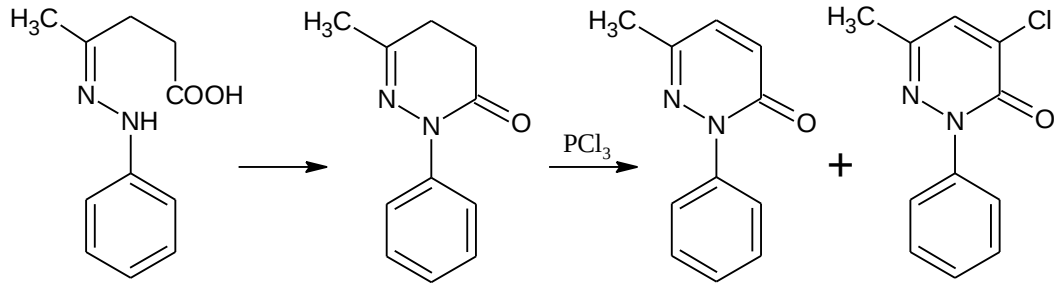


3(2H)-Piridazinonların baskın olarak laktam formunda bulunduğu spektral bulgular ile desteklenmiştir.^{18,19}

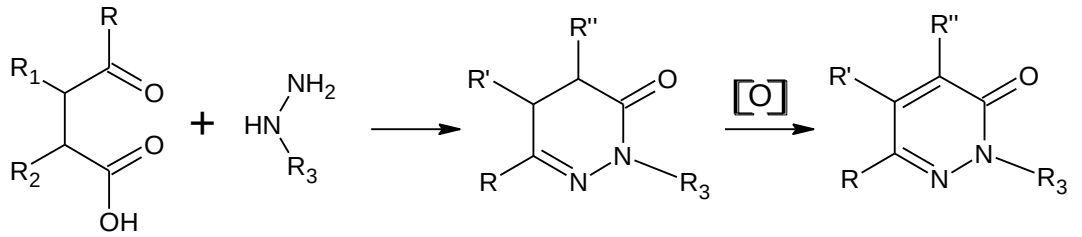
Halka içi laktam azotu sübstitüe olmayan 3(2H)-piridazinonların, zayıf asidik karakterde oldukları ve kuvvetli bazlar ile tuz oluşturabilecekleri bildirilmiştir.^{20,21,22}

2.7.2. 3(2H)-Piridazinonun Genel Sentez Yöntemleri

İlk piridazinon türevinin 1886 yılında Fischer tarafından, levülinik asit fenilhidrazonun siklizasyonu ve daha sonra oksidasyonu ile elde edildiği bildirilmiştir.²¹

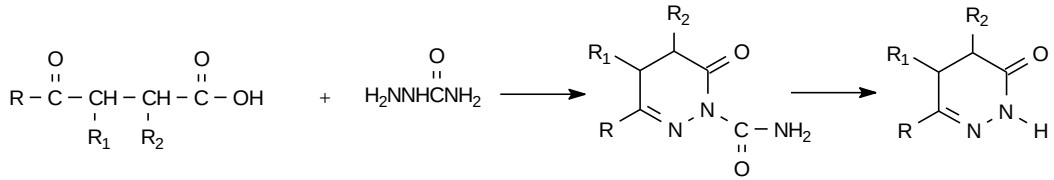


1,4-Keto asitlerin süstitüe veya süstitüe olmayan hidrazinler ile tepkimesinden 4,5-dihidro-3(2H)-piridazinonlar hazırlanmış ve daha sonra bu yapıların yükseltgenmesi ile 3(2H)-piridazinonlar elde edilmiştir.²³ Literatürde siklizasyonun genellikle tek basamakta yürüdüğü, fakat bazen ara ürün olarak hidrazonların elde edildiği literatürde kayıtlıdır.^{20,21}

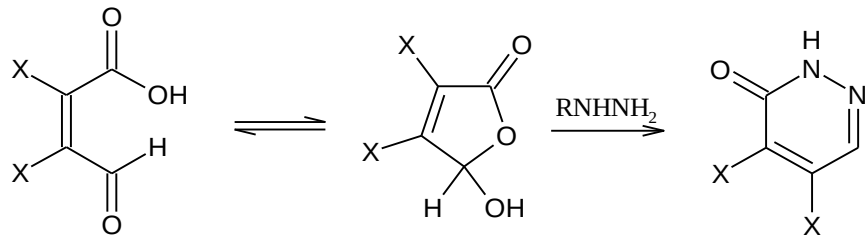


4,5-Dihidro-3(2*H*)-piridazinon türevlerinin yükseltgenmesinde kullanılan en yaygın yükseltgenme ajanının, glasiyel asetik asit içinde brom olduğu bildirilmiştir. ²³

1,4-keto asitlerin siklizasyonunda semikarbazitler de başarıyla kullanılmış ve tepkime koşullarına bağlı olarak N-karboksamido grubunun halkaya bağlı kaldığı veya halkadan koptuğu saptanmıştır. ^{24,25}



Musik asitlerin (α,β -doymamış 1,4-aldehido asitler) halojenli türevleri kullanılarak 4,5-dihalo-3(2*H*)-piridazinonlar elde edilmiş ve halojen sübstitüentlerinin nükleofiller ile kolayca yer değiştirebildiği bildirilmiştir. ²⁶⁻³¹

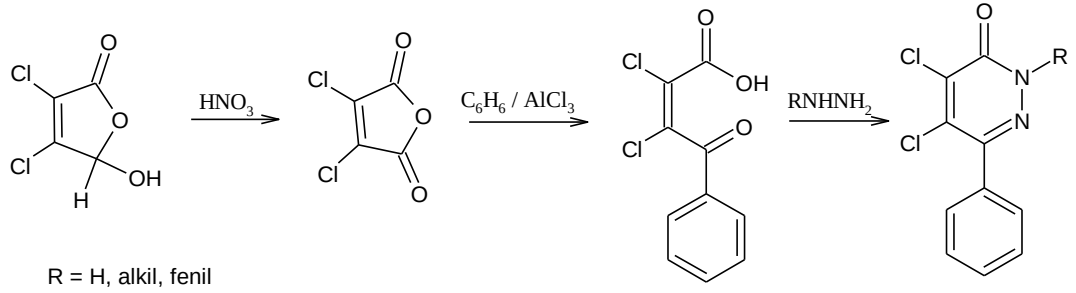


X = Cl, Br

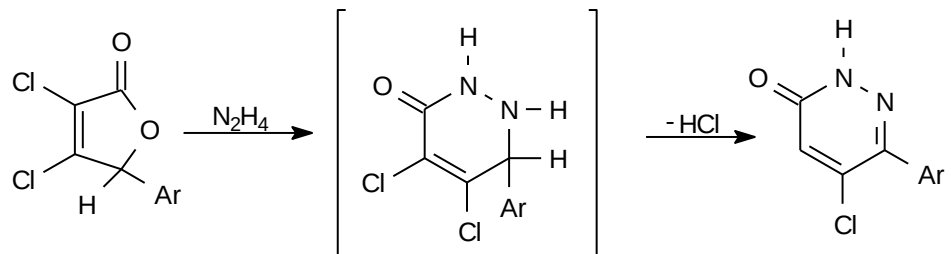
R = Alkil, fenil

Tepkimede hidrazin yerine semikarbazit kullanıldığında semikarbazon yapısının oluştuğu ve bu ara ürünün susuz asetik asit içinde ısıtılması ile 4,5-dihalo-3(2*H*)-piridazinonların elde edildiği bildirilmiştir. ²⁸

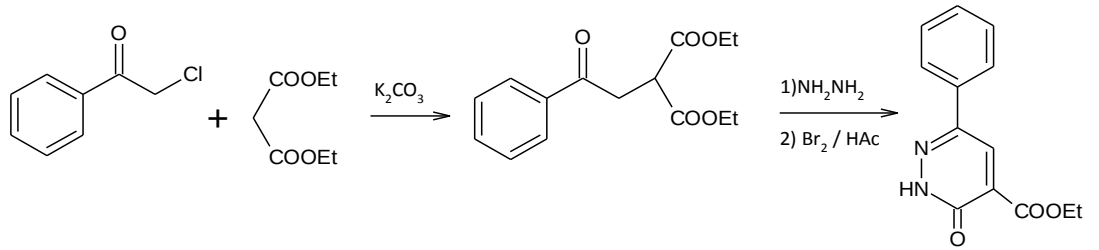
Mukoklorik asidin nitrik asit varlığında dikloromaleik anhidrite okside olduğu bildirilmiştir. Dikloromaleik anhidrite benzen varlığında, Friedel-Crafts açılması uygulandıktan sonra hidrazin veya süstitüe hidrazin ile tepkimeye sokulduğunda; 4,5-dikloro-6-fenil-2-süstitüe-3(2*H*)-piridazinon türevlerinin elde edildiği bildirilmiştir. ²⁹



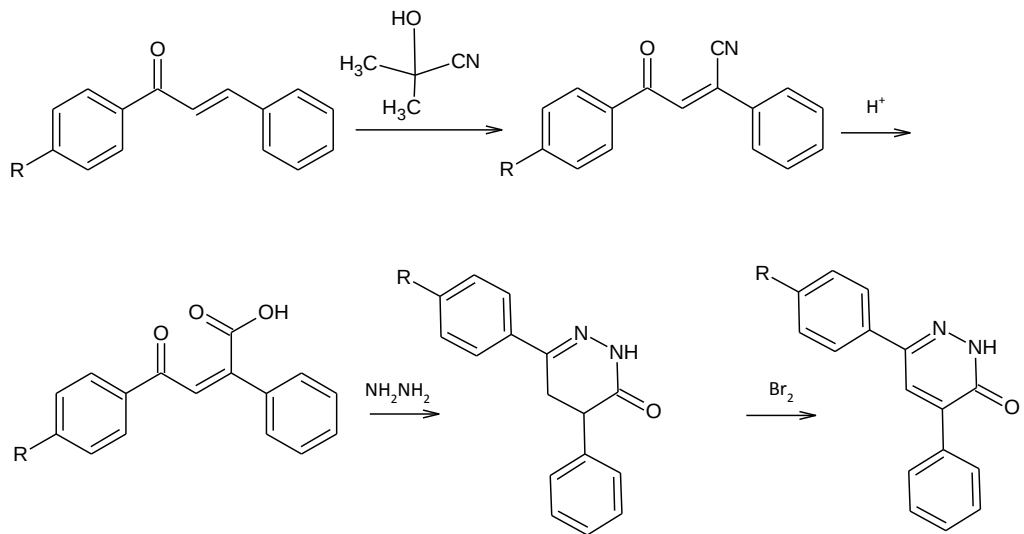
α,β -Dihalosinnamik asitlerin aromatik γ -laktonlarının hidrazin ile tepkimesinden piridazinon türevleri elde edilmiş ve tepkimede her zaman karbonil grubuna komşu klor atomunun ayrılması ile tek ürün oluştuğu saptanmıştır. ²⁹



Fenaçil klorür ve dietilmalonatın bazik ortamda tepkimesinden hazırlanan etil 2-karbetoksi-3-benzoilpropionatın, önce hidrazin ile halka kapama tepkimesi yapılarak 4,5-dihidropiridazinon türevi elde edilmiş, daha sonra brom ile yükseltgenmesinden 4-etoksikarbonil-6-fenil-3(2H)-piridazinon sentez edilmiştir.³²

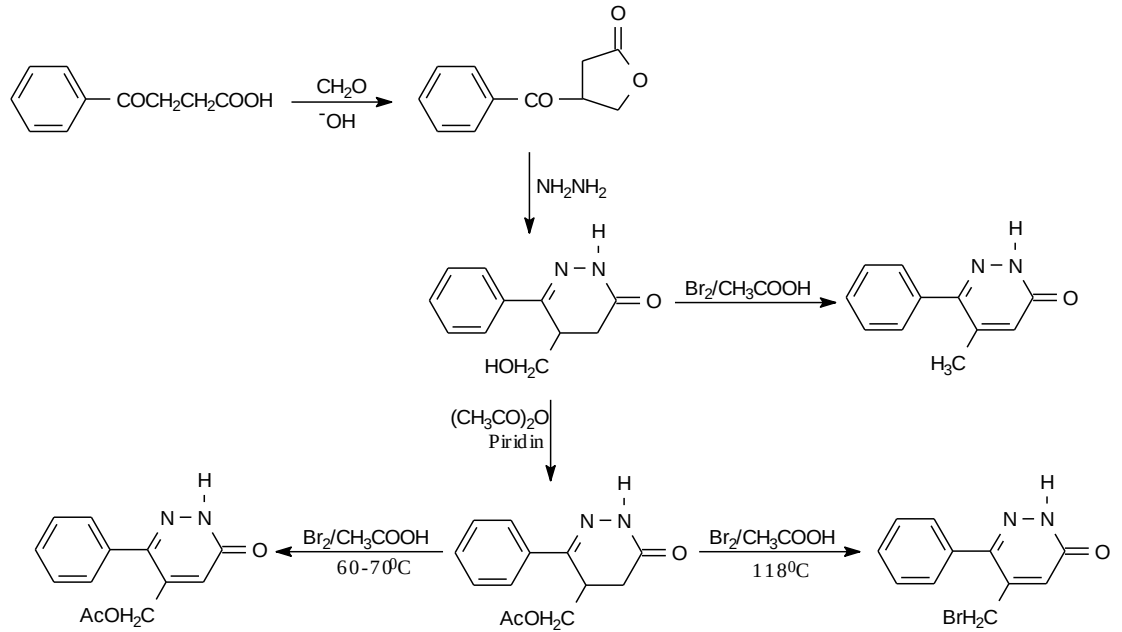


Süstitüe kalkonlara hidrojen siyanür katımıyla sentez edilen γ -ketonitrillerin 10 N hidroklorik asit ile hidrolizinden oluşan 2,4-diaril-4-oksobutanoik asitlerin, hidrazin hidrat ile kondenzasyonundan 4,6-diaril-4,5-dihidro-3(2H)-piridazinonlar elde edilmiştir. Dihidropiridazinon türevlerinin asetik asit içinde brom ile yükseltgenmesinden 4,6-diaril-3(2H)-piridazinonların hazırlandığı bildirilmiştir.³³



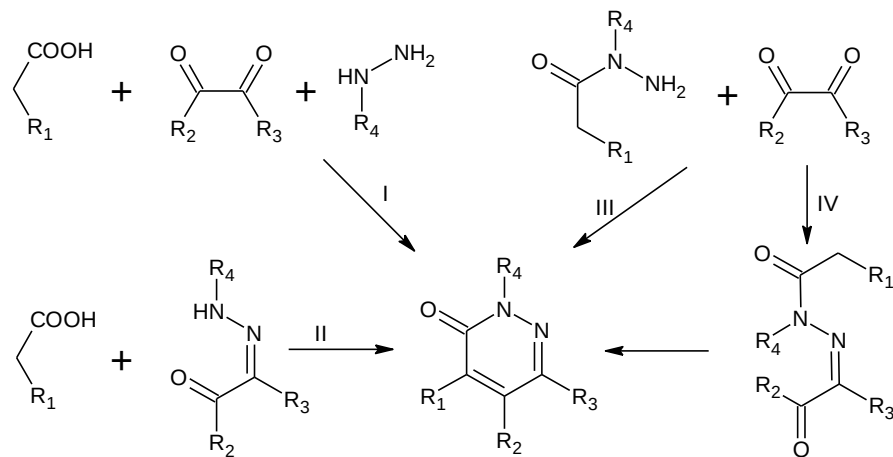
3-Benzoilpropanoik asidin bazik ortamda formaldehit ile tepkimesinden elde edilen β -benzoi- γ -butirolakton, aşırı hidrazin ile muamele edildiğinde 6-fenil-5-hidroksimetil-4,5-dihidro-3(2*H*)-piridazinon hazırlanmıştır. Hazırlanan bu bileşik, asetik asitli ortamda brom ile tepkimeye sokulduğunda 6-fenil-5-metil-3(2*H*)-piridazinon elde edilmiştir. 6-Fenil-5-asetiloksi-4,5-dihidro-3(2*H*)-piridazinonun asetik asit içinde brom ile 118 °C' deki tepkimesinden 6-fenil-5-bromometil-3(2*H*)-piridazinon elde edilirken, aynı tepkime 60-70 °C'de yapıldığında sadece halka yükseltgenmesi gerçekleşirken asetiloksi grubunun kopmadığı bildirilmiştir.

34

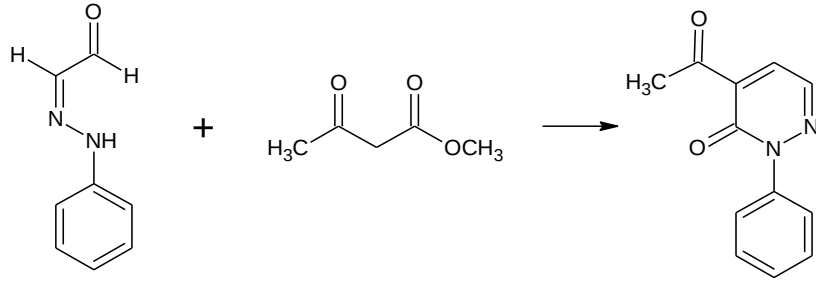


1954 yılında Schmidt ve Druey, 3(2*H*)-piridazinonların eldesi için çok kullanışlı ve kolay uygulanabilir bir yöntem geliştirmişlerdir. 1,2-Dikarbonil bileşiği, aktif metilen grubu taşıyan karboksilik asit türevi, mono veya sübstitüe olmayan hidrazin kullanılarak 3(2*H*)-piridazinon türevlerini hazırlamışlardır. Çeşitli 4, 5, 6-sübstitüe 3(2*H*)-piridazinon türevleri bu yöntemle hazırlanmıştır.³⁵⁻³⁷

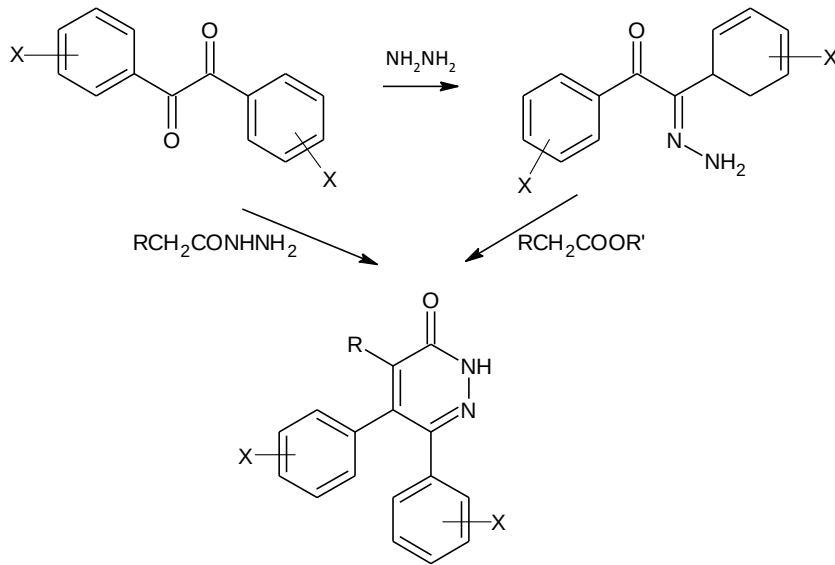
Tepkime, üç bileşiğin tek basamakta kondenzasyonu ile yürümesine rağmen **(yolak a)**, iki bileşiğin kondenzasyonu ile 3(2*H*)-piridazinon halkasının oluşumu tercih edilen bir sentetik yoldur. Böylece ilk önce diketonun monohidrazonu **(yolak b)** veya asidin hidraziti **(yolak c)** hazırlanır ve bunlar üçüncü komponent ile tepkimeye sokularak siklizasyon gerçekleştirilir. Tüm türevlerde siklizasyonun genellikle absolu etanol içinde sodyum etoksit ile yapıldığı, fakat bazen glasyal asetik asit-amonyum asetatın da kullanıldığı bildirilmiştir. Eğer yolak c'de katalizör kullanılmazsa ara ürün olarak hidrazido-hidrazonun **(yolak d)** oluşacağı ve bu yapının katalizör varlığında 3(2*H*)-piridazinon türevini verdiği literatürde kayıtlıdır.^{20,21,35-37}



Glioksal monofenilhidrazon ve metil asetoasetatın, katalitik miktarda piperidin varlığında, çözücü kullanılmadan yapılan tepkimesinden 2-fenil-4-asetil-3(2*H*)-piridazinonun elde edildiği bildirilmiştir.³⁸



Süstitüe asetik asit ester türevi ile bir benzil monohidrazon türevinin veya bir benzil türevi ile asetik asit hidraziti türevinin kondenzasyonundan 4-süstitüe 5,6-diaril-3(2*H*)-piridazinonların hazırlandığı bildirilmiştir.³⁹

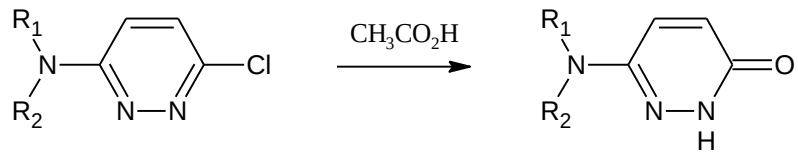


R = CN, COOEt, CH_3O , C_6H_5

R' = H, alkil

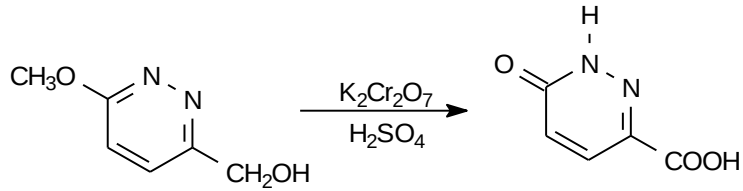
X = H, 4-Cl, 4-F

Piridazin halkası üzerindeki halojen veya alkoksil gruplarının hidrolizi ile 3(2*H*)-piridazinonların hazırlanabileceği bildirilmiştir.²¹ Halojen hidrolizi için asetik asit tek başına veya sodyum veya potasyum asetat ile birlikte kullanılmıştır.⁴⁰ Alkolik hidrojen klorür ve sülfürik asit de bu tepkimede kullanılmıştır.⁴¹

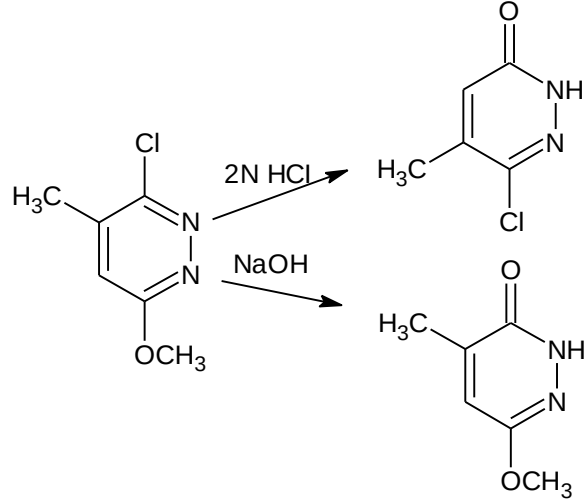


$\text{R}_1, \text{R}_2 = \text{Alkil, siklik alkil}$

3-Hidroksimetil-6-metokspiridazinin, sülfürik asit varlığında potasyum dikromat ile muamelesinden 6-karboksi 3(2*H*)-piridazinonunun elde edildiği bildirilmiştir.²¹



Alkoksü sübstütüentlerinin hidrolizi için seyreltik sulu halojenli asitlerin kullanıldığı bildirilmiştir. Alkali çözeltilerin de hidrolizde kullanılabileceği, fakat sulu halojenli asitlerin tercih edildiği bildirilmiştir.⁴²

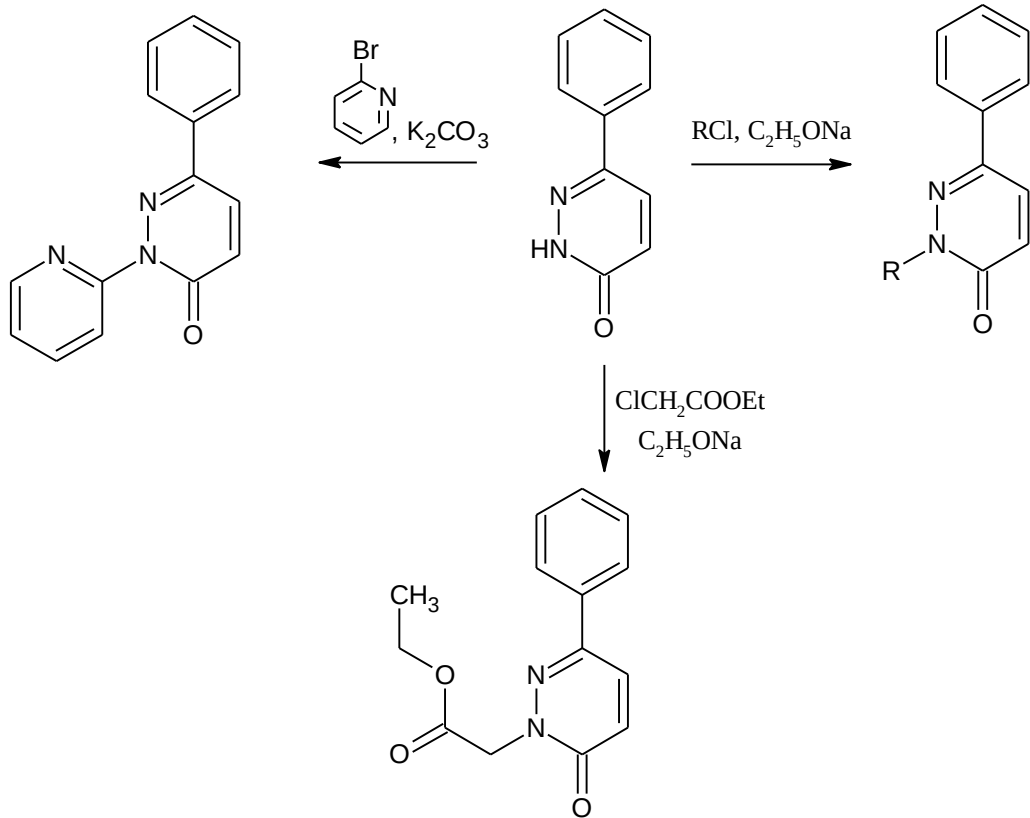


Sulu alkali çözeltilerin de hidroliz için kullanılabileceği, fakat halkadaki diğer hassas gruplar nedeniyle asidik reaktiflerin genellikle tercih edildiği bildirilmiştir.^{21,43}

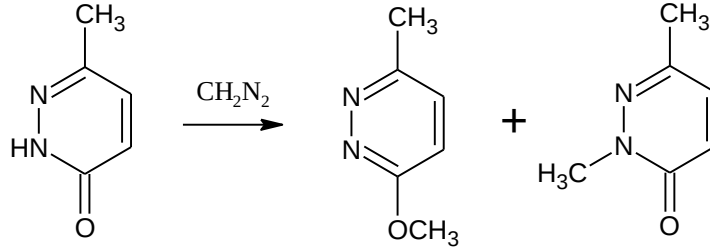
2.7.3. 3(2H)-Piridazinon Yapısının Kimyasal Tepkimeleri

2.7.3.1. 3(2H)-Piridazinonların Alkilleme Tepkimeleri

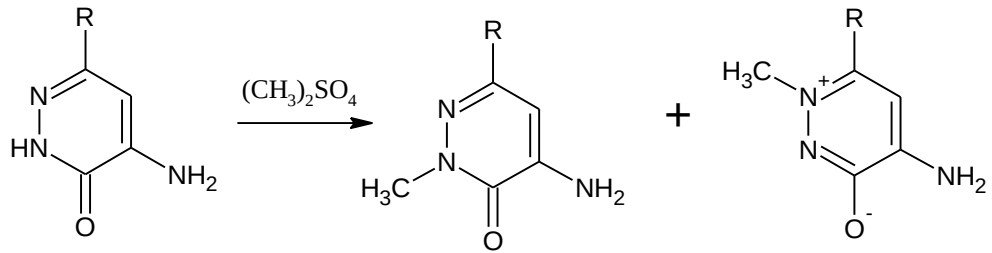
Piridazinonlarda alkilasyon tepkimelerinin azot veya oksijen üzerinden yürüdüğü, baz varlığında alkil halojenür veya dialkil sülfat kullanıldığı zaman genellikle N-alkilasyon ürününün elde edildiği bildirilmiştir.^{44,20,21,45-47} Aminoalkil halojenürler, α -halo asit ve esterler, 2-aminopiridin gibi diğer alkilasyon ajanları ile de genellikle N-süstitüe türevlerin oluştuğu literatürde kayıtlıdır.⁴⁸



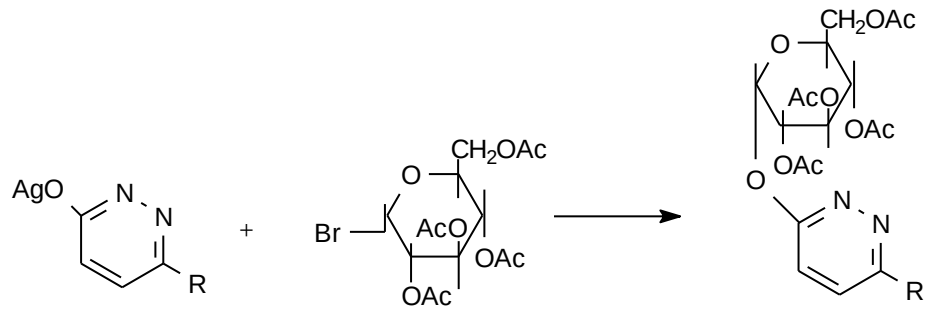
6-Metil-3(2*H*)-piridazinonun diazometan ile alkilasyonunda 6-metil-3-metokspiridazin elde edilmiştir. Aynı tepkimede N-metil bileşiğinin de oluştuğu belirlenmiştir. ^{19,21}



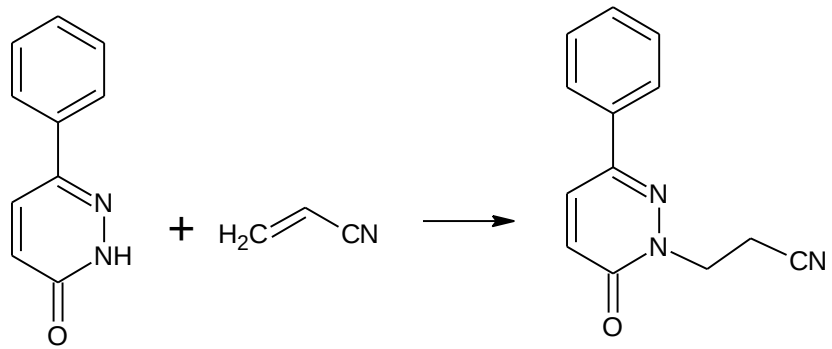
Sübstitüe piridazinonlarda ise alkilleme tepkimeleri daha karmaşıktır. Örneğin, 6-sübstitüe 4-amino-3(2*H*)-piridazinonun dimetil sülfat ile alkilasyonunda, 6. konum sübstitüe değilse 2-metilpiridazinon ve 1-metilbetain elde edilirken, 6. konumda metil, metoksi, klor gibi hacimli gruplar varsa betain oluşumu baskılanmış ve % 80 oranında 2-metilpiridazinon elde edilmiştir. ⁴⁹



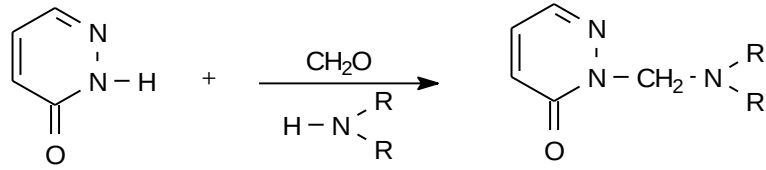
Eğer ara ürün olarak piridazinonun gümüş tuzu kullanılır ve oluşan tuz bromotetraasetilglikozit ile tepkimeye sokulursa yüksek verimle glikozilokspiridazin meydana geleceği, gümüş tuzu kullanılmadığı takdirde N-sübstitüe türevinin elde edildiği bildirilmiştir.²¹



3(2*H*)-Piridazinonların ve maleik hidrazit türevlerinin aktif olefinler ile Michael benzeri katım tepkimesi verdikleri ve tepkimede sadece N- sübstitüe ürünlerin oluştuğu literatürde kayıtlıdır.⁵⁰

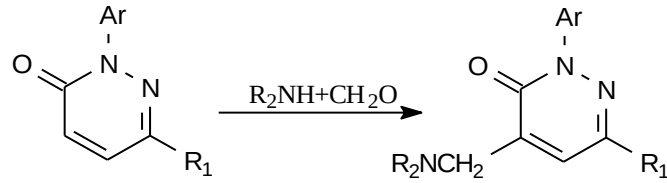


3(2*H*)-Piridazinon ve maleik hidrazit türevlerinin hidroksimetilasyon ve Mannich tepkimelerini verecek kadar asidik karakterde oldukları bildirilmiştir. Her iki bileşikte de sübstitüe ürünlerin daima azot atomu üzerinden elde edildiği bildirilmiştir. ^{51,52}



R = Alkil, siklikalkil

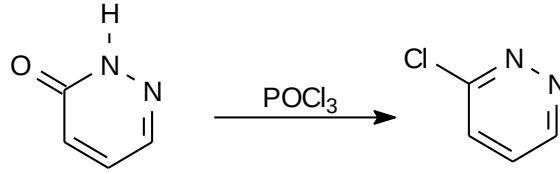
2-Aril-3(2*H*)-piridazinonlar ile yapılan Mannich tepkimesinde aminoalkilasyonun karbonil grubuna komşu konumdan yürüdüğü bildirilmiştir. ²¹



R₁ = Alkil; R₂ = alkil, siklikalkil

2.7.3.2. 3(2H)-Piridazinonların Halojenlenmesi

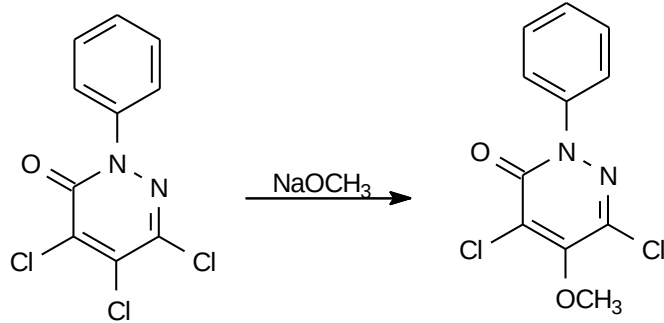
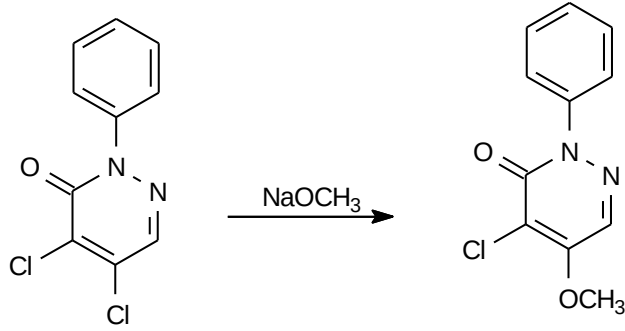
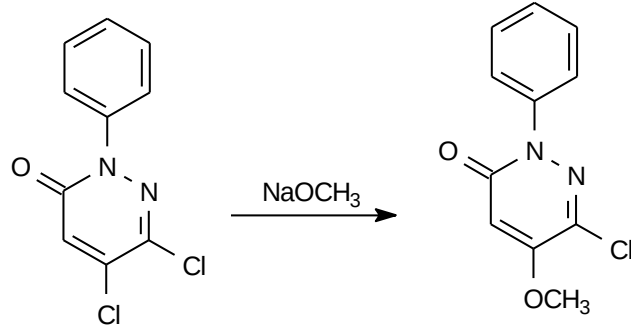
Piridazinonların -NH-CO- grubu halojenleme reaktiflerinin etkisi ile -N=CX- grubuna dönüşür.^{20,21} En yaygın olarak kullanılan halojenleme ajanı fosfor oksiklorürdür. Bu bileşik yalnız veya fosfor triklorür veya fosfor pentaklorür ile birlikte kullanılabilir. Fosfor oksibromür ise bromopiridazinlerin hazırlanmasında kullanılmıştır.^{53,54}



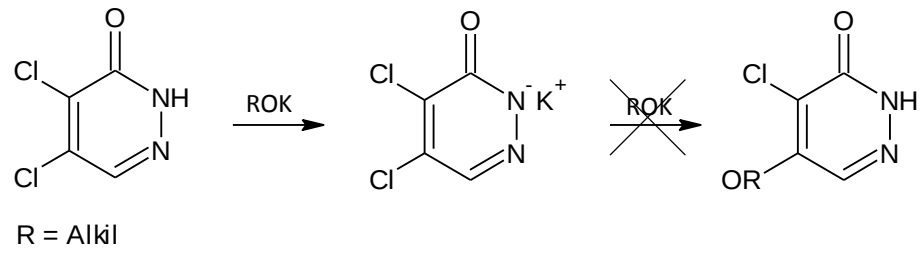
2.7.3.3. 3(2H)-Piridazinonlarının Nükleofilik Yer Değiştirme Tepkimeleri

Piridazin halkası üzerinde elektronegatif süstitüent taşıyan bileşiklerin nükleofilik yer değiştirme tepkimelerine karşı aktif oldukları bildirilmiştir. Nükleofillerle karşı bu ilgi, piridazinonlarda karbonil grubunun aktive edici etkisiyle (elektron çekici) etkisiyle açıklanır ve bu etki β konumunda en güçlüdür. Örneğin, halopiridazinonlar çeşitli nükleofiller ile tepkime verirler. Amonyak, aminler ve hidrazin çok sık kullanılan reaktiflerdir. Laktam yapısının azot atomu bir alkil veya aril süstitüenti taşıyorsa, güçlü bazik nükleofiller ile tepkime rahatlıkla yürür.^{20,21}

5,6-Dihalo, 4,5-dihalo ve 4,5,6-trihalo-3(2*H*)-piridazinonların nükleofiller ile tepkimesinden karşılık gelen 5-süstitüe ürünler elde edilmiştir. 4. Konumda klor atomu taşıyan 3(2*H*)-piridazinonların, 5. konumda klor atomu taşıyan piridazinonlardan daha az aktif olduğu, fakat 6. konumda klor atomu taşıyanlara göre daha kolay yer değiştirebildiği bildirilmiştir.^{21,55,56}

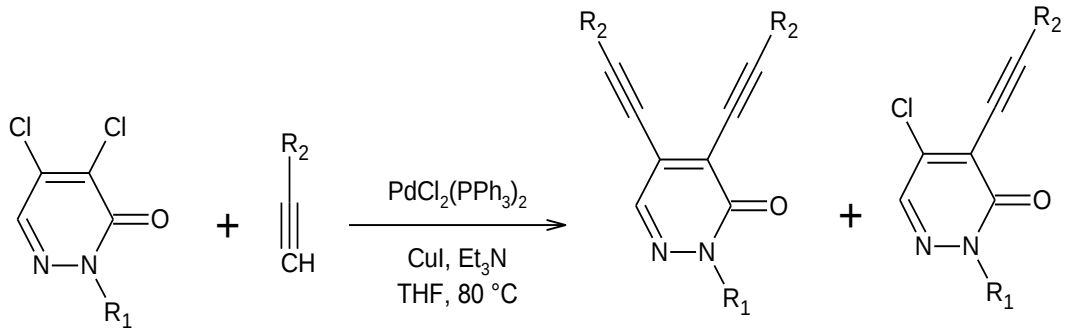


Azotun süstitüent taşımadığı halopiridazinonların güçlü bazik nükleofiller ile hiç tepkime vermediği veya çok yavaş tepkimeye girdiği bildirilmiştir. Bunun nedeninin piridazinonların asidik karakterde olmaları sebebiyle güçlü bazik koşullarda iyonize olmaları ve oluşan negatif yükün diazin sistemini nükleofilik yer değıştirme tepkimesine karşı aktif olmayan hale getirmesi olduğu düşünölmektedir. Pek çok durumda sodyum karbonat gibi zayıf bazik katalizörler kullanılarak bu zorluğun üstesinden gelinebileceği ve zayıf bazik nükleofiller ile halopiridazinonların iyi tepkime verdikleri bildirilmiştir. ^{21,55}

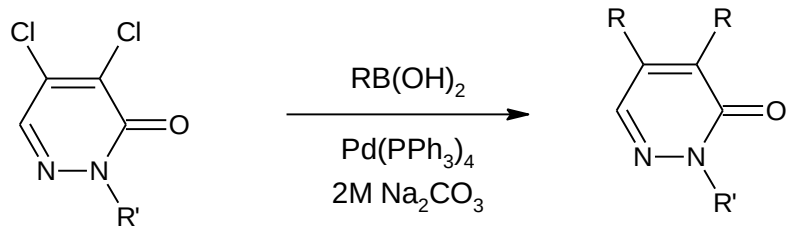


2.7.3.4. Diğer Tepkimeleri

3(2*H*)-Piridazinon türevi bileşiklerinin paladyum katalizörü varlığında alkin bileşikleri ile Sonogashira tepkimesi verdikleri ve bu tepkimenin 4,5-dialkinil-3(2*H*)-piridazinon türevi bileşiklerin sentez edilmesi amacıyla kullanıldığı bildirilmiştir.⁵⁷



Ayrıca 3(2*H*)-piridazinon türevi bileşiklerinin paladyum katalizörü varlığında organoboron bileşikleri ile Suzuki tepkimesi verdikleri literatürde kayıtlıdır.⁵⁸



2.7.4. 3(2H)-Piridazinon Halkasının Spektral Özellikleri

2.7.4.1. İnfrared Spektroskopisi

2-(Hidroksimetil)-6-fenil-3(2H)-piridazinon türevinde C=O gerilim bandının 1650 cm^{-1} 'de gözlemlendiği bildirilmiştir. ⁵⁹

6-Fenil-5-metil-3(2H)-piridazinonun $3150\text{-}2900\text{ cm}^{-1}$ 'de N-H, 1650 cm^{-1} 'de C=O, $1570\text{-}1510\text{ cm}^{-1}$ 'de C=C aromatik gerilim bandlarına sahip olduğu bildirilmiştir. ³⁴

4,6-Difenil-2-arilpiperazinilalkil-3(2H)-piridazinon türevlerinde $1650\text{-}1630\text{ cm}^{-1}$ 'de C=O, $1600\text{-}1440\text{ cm}^{-1}$ 'de C=N, C=C gerilim bandlarının gözlemlendiği bildirilmiştir. ⁴⁴

2.7.4.2. ^1H -Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi

5-Metil-3(2H)-piridazinonun DMSO- d_6 içinde alınan spektrumunda N-H protonunun $\delta\ 12.6\text{ ppm}$ 'de, piridazinon halkasının 4. ve 5. konumlarındaki protonların ise sırasıyla $\delta\ 6.58$ ve 7.66 ppm 'de gözlemlendiği bildirilmiştir. ⁶⁰

6-Fenil-5-metil-3(2H)-piridazinonun CDCl_3 içinde alınan ^1H -NMR spektrumunda N-H protonunun $\delta\ 8.40\text{ ppm}$ 'de, $\delta\ 6.86\text{ ppm}$ 'de ise piridazinon halkasına ait protonun sinyali belirlenmiştir. ³⁴

2.8. 3(2*H*)-Piridazinon Türevlerinin Biyolojik Etkileri

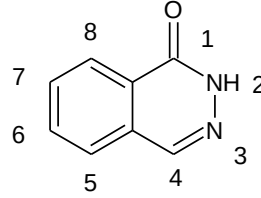
3(2*H*)-Piridazinon türevi bileşiklerin de; analjezik^{44,52,61,62}, antienflamatuvar^{61,52}, antipiretik⁵², antihipertansif³⁹, antiülser⁵⁹, aldoz redüktaz inhibitörü⁶³, antioksidan⁶³, antiallerjik⁶⁴, bronkospazmolitik⁶⁵, antibakteriyel^{7,8,66,67}, antifungal^{7,8}, antitüberküler⁶⁸, antitümör^{69,70}, etki gösterdikleri bildirilmiştir.

2.9. 1(2H)-Fitalazinon ve Türevleri

2.9.1. 1(2H)-Fitalazinon ile İlgili Genel Bilgiler

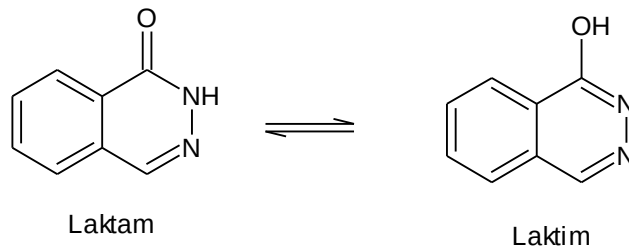
1(2H)-Fitalazinon halkası için literatürde 1-hidroksifitalazin, 1-fitalazon, 1,2-dihidrofitalazon gibi farklı isimler kullanıldığı bildirilmiştir.⁷¹

1(2H)-Fitalazinon halkasının numaralandırılması aşağıda gösterildiği gibidir.



1(2H)-Fitalazinon alkolden kristallendiğinde renksiz iğne şeklindedir. Erime noktası 182°C olarak bildirilmiştir.⁷¹ 20°C'de su içindeki pKa sabiti 11.99 olarak literatürde kayıtlıdır.⁷³ 1(2H)-Fitalazinon alkali ortamda çözündüğü, ancak 2 numaralı konumda sübstitüent taşıyan türevlerin alkali içinde çözünmeyeceği bildirilmiştir.

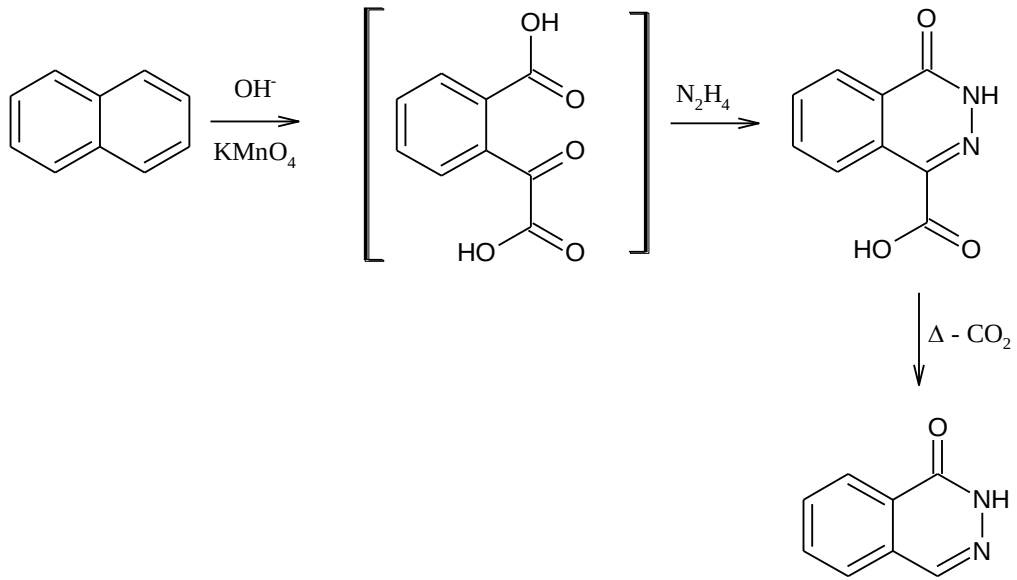
2. konumda sübstitüent taşımayan 1(2H)-fitalazinonun laktam-laktim tautomerisine sahip olduğu bildirilmiştir.^{71,72}



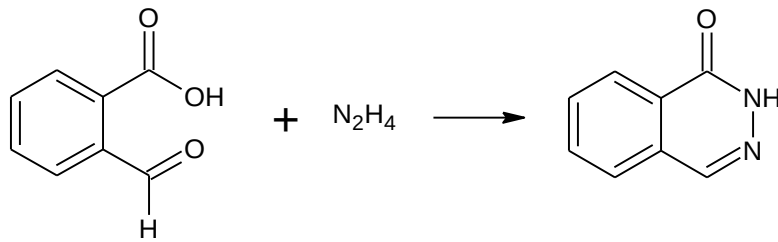
1(2H)-Fitalazinon baskın olarak laktam formunda bulunduğu spektral bulgular ile desteklenmiştir.^{71,74-76}

2.9.2. 1(2H)-Fitalazinon Halkasının Genel Sentez Yöntemleri

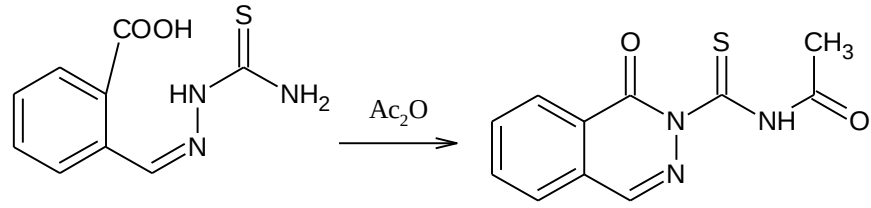
Naftalenin bazik ortamda potasyum permanganat ile reaksiyonundan yüksek verim ile 1-okso-2H-fitalazin-4-karboksilik asit sentez edilmiş ve daha sonra bu bileşiğin dekarboksilasyonu ile 1(2H)-fitalazinonun elde edildiği bildirilmiştir.^{71,72}



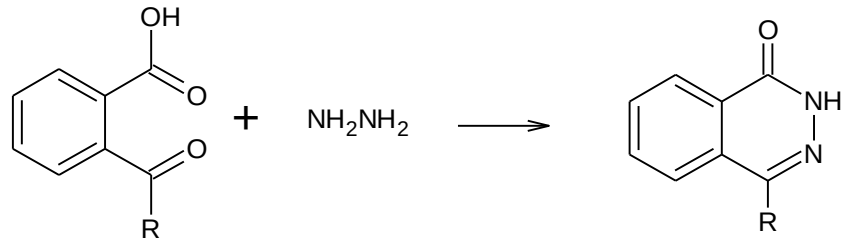
2-Formilbenzoik asidin hidrazin ile tepkimesinden 1(2H)-fitalazinonun elde edildiği literatürde kayıtlıdır.⁷⁷



Musante ve Fabbrini, 2-formilbenzoik asidin tiyosemikarbazit ile reaksiyonundan elde ettiği tiyosemikarbazon türevini asetik asit anhidriti ile ısıtarak 2-süstitüe-1(2*H*)-fitalazinonu elde etmiştir. ⁷⁸

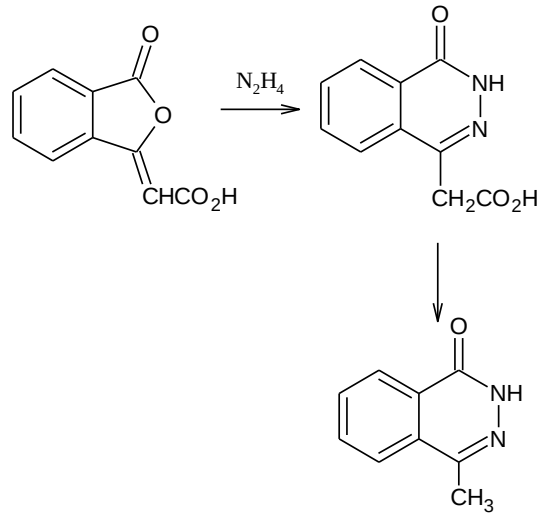


Süstitüe 2-açılbenzoik asitlerin hidrazin ile tepkimesinden 1(2*H*)-fitalazinon türevlerinin elde edildiği bildirilmiştir. ^{71,72}

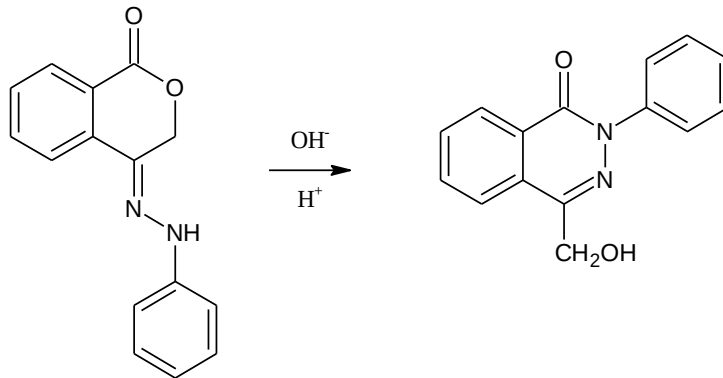


R = alkil veya aril

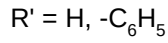
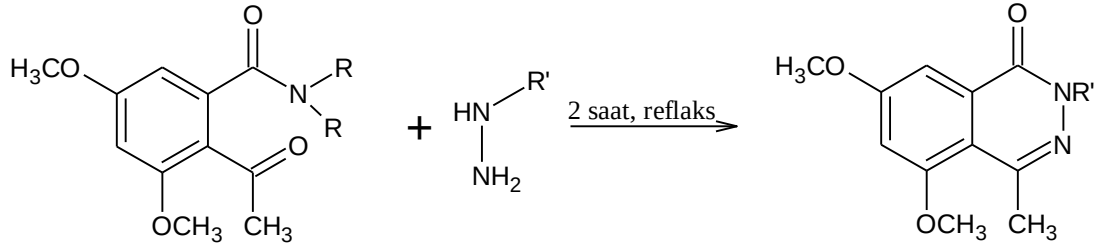
Foldeak ve arkadaşları, (3-okso-2-benzofuran-1-(3H)-iliden)etanoik asit ile hidrazinin tepkimesinden 4-okso-3,4-fitalazin-1-asetik asiti elde ettiklerini ve daha sonra bu asidin nitrobenzen içinde 170 °C’de dekarboksilasyonu ile yüksek verimle 4-metil-1(2*H*)-fitalazinonu sentez ettiklerini bildirmişlerdir.⁷⁹



Knott, 4-(2-fenilhidraziniliden)-3,4-dihidro-1*H*-izokromen-1-on bileşiğinin sulu alkali ortamda 2-fenil-4-hidroksi-metil-1(2*H*)-fitalazinona dönüştüğünü bildirmiştir.⁸⁰

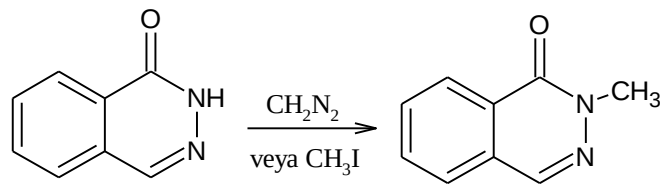


Yapılan başka bir çalışmada, *N,N*-dialkil-2-asetil-4,6-dimetoksibenzamidin, fenilhidrazin veya hidrazin ile reaksiyonundan ilgili 1(2*H*)-fitalazinon türevlerini verdiği bildirilmiştir.^{71,72}



2.9.3. 1(2*H*)-Fitalazinon Halkasının Kimyasal Tepkimeleri

1(2*H*)-Fitalazinonun bazik ortamda alkil halojenürler ile reaksiyonundan 2-sübstitüe-1(2*H*)-fitalazinon türevlerinin elde edildiği bildirilmiştir. 1(2*H*)-Fitalazinon bileşiğinin diazometan yada metil iyodür ile baz varlığında yüksek bir verim ile 2-metil-1(2*H*)-fitalazinon bileşiğini verdiği literatürde kayıtlıdır.^{71,72,81}

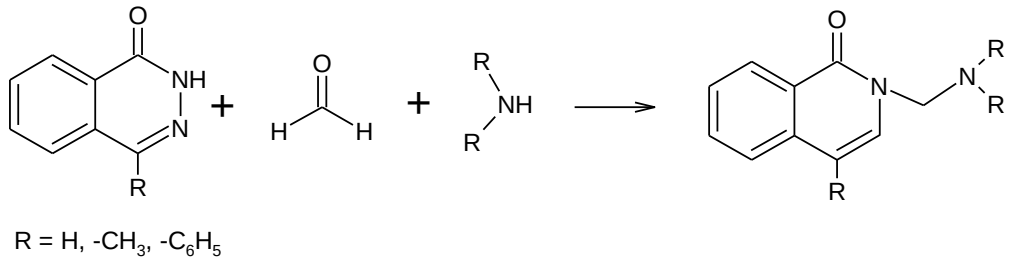


Benzer şekilde 1(2*H*)-fitalazonların, baz varlığında dimetil sülfat ile alkilasyonu ilgili 2-metil türevlerini verdiği literatürde kayıtlıdır.⁸²

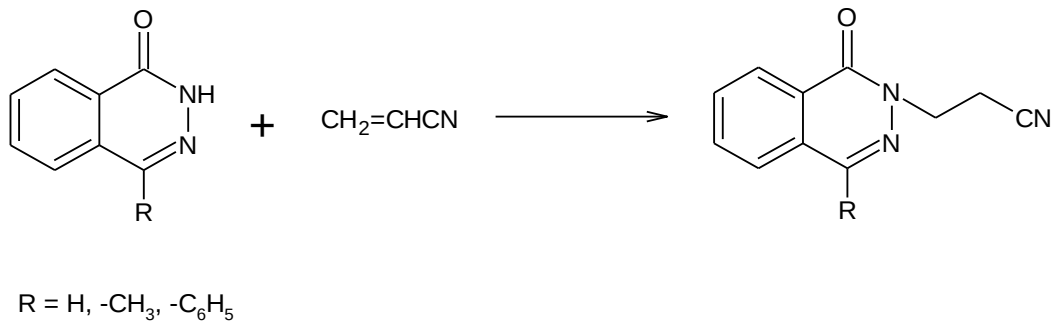
Gümüş tuzları varlığında alkilasyonun oksijen üzerinden yürüdüğü bildirilmiştir.^{71,72}

1(2*H*)-Fitalazinon türevlerinin %96'lık sülfürik asit ve potasyum nitrat ile nitrasyonunun düşük verimde 5-nitro ve 8-nitro-1(2*H*)-fitalazinonları verdiği literatürde kayıtlıdır.⁸³

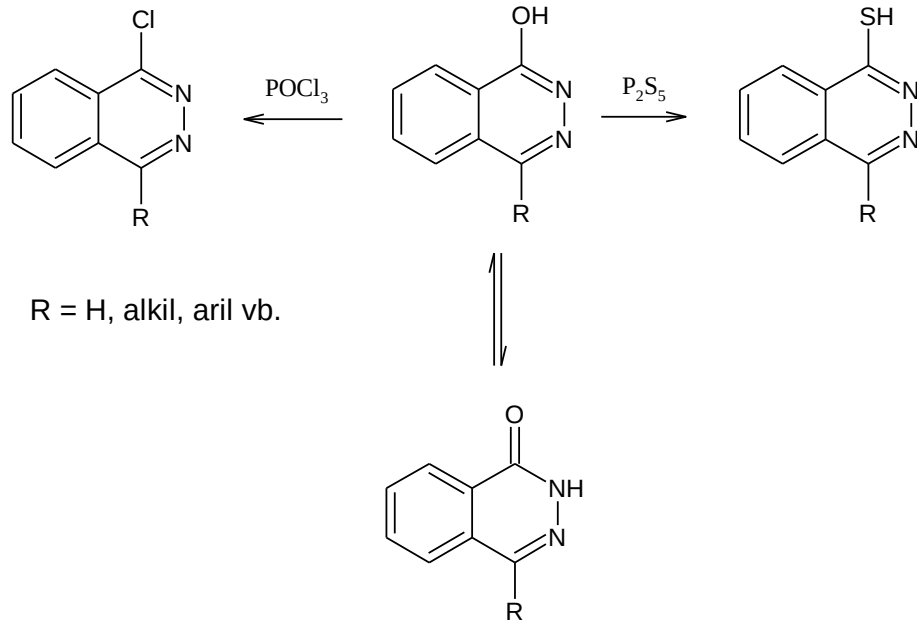
Mustafa ve arkadaşları 1(2*H*)-fitalazinonların Mannich tepkimesi verdiklerini bildirmiştir.⁸⁴



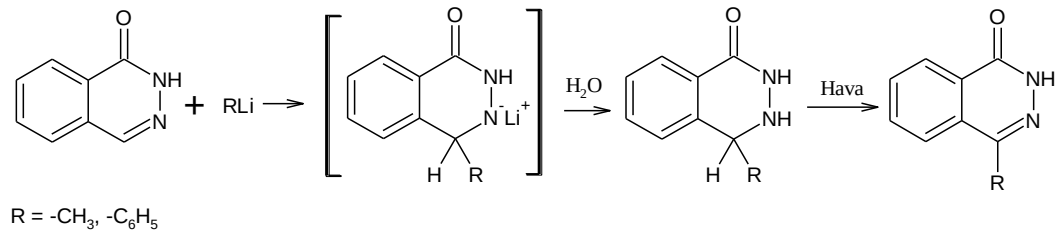
1(2*H*)-Fitalazinonun akrilonitril ile tepkimesinden 2-(3-propionitril)-1(2*H*)-fitalazinonun sentez edildiği bildirilmiştir.⁸⁴



1(2*H*)-Fitalazinonların fosfor pentasülfür veya fosfor oksiklorür ile tepkimesinden sırasıyla 1-tiyo ve 1-klorofitalazinlerin elde edildiği bildirilmiştir.^{71,72}



Hirsch ve Orphanos, 1(2*H*)-fitalazinondan hareketle organolityum bileşikleri varlığında 4-sübstitüe-1(2*H*)-fitalazinon türevlerinin elde ettiklerini bildirmiştir.⁸⁵



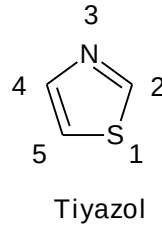
2.10. 1(2H)-Fitalazinon Türevlerinin Biyolojik Etkileri

1(2H)-Fitalazinon türevi bileşiklerin; antiplatelet⁸⁶, antihipertansif⁸⁷, analjezik ve antienflamatuvar^{88,89}, antimikrobiyal^{9,10,90-93}, antitümör⁹⁴, antidiyabetik⁹⁵ aktivitelere sahip oldukları literatürde kayıtlıdır.

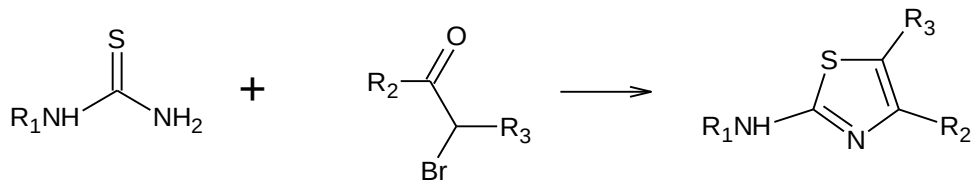
2.11. Tiyazol ve Türevleri

2.11.1. Tiyazol İle İlgili Genel Bilgiler

Tiyazol halkası aşağıda gösterildiği gibi numaralandırılmaktadır. Halkanın adlandırılmasında IUPAC 1,3-tiyazol ismini kullansa da, söz konusu heterosiklik halka için tiyazol terimi daha yaygın olarak kullanılmaktadır.⁹⁶

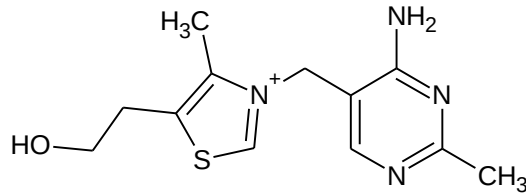


İlk kez Hantzsch tarafından tiyoüre ve α -halo karbonil bileşiklerinin reaksiyonu sonucu tiyazollerin elde edildiği bildirilmiştir.⁹⁶



Tiyazolün kendisi doğada bulunmamasına rağmen, tiyazol halkası peptit alkaloidleri ve siklopeptitler gibi birçok doğal ürünün yapısında bulunmaktadır. Bu ürünler önemli antibiyotik ve antifungal özelliklere sahiptir. Ayrıca deniz ürünlerinden izole edilen doğal tiyazol ürünleri ise antineoplastik ve sitotoksik aktivite göstermektedir.⁹⁶

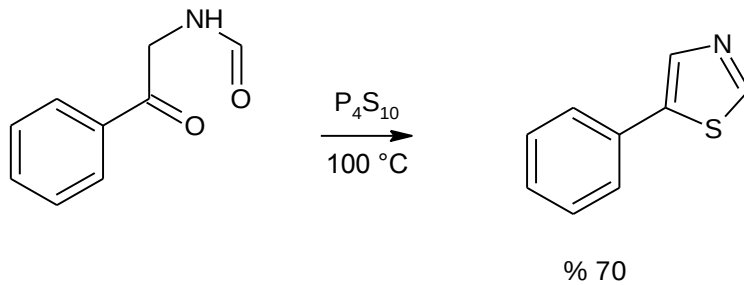
Tiyazol halkası içeren en önemli doğal ürün tiyamin (Vitamin B1)'dir.⁹⁶



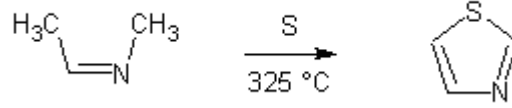
Tiyamin

2.11.2. Tiyazol Yapısının Genel Sentez Yöntemleri

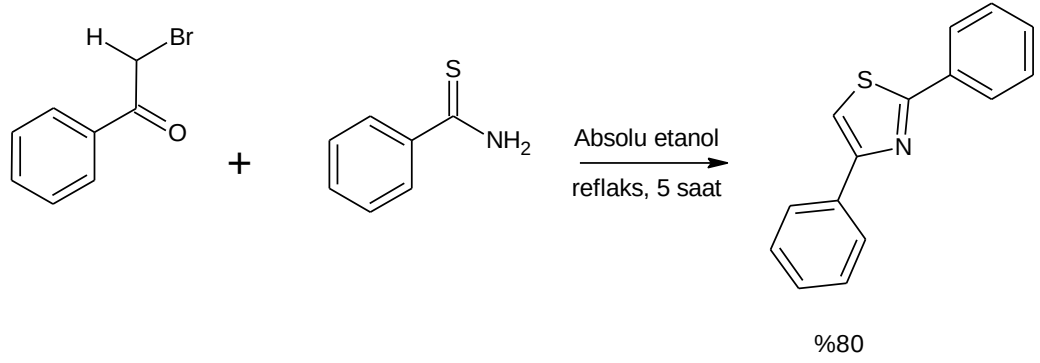
Tiyazol türevleri α -açilamino karbonillerin kükürt verici bir ajan ile tepkimesinden sentezlenebilmektedir.⁹⁶



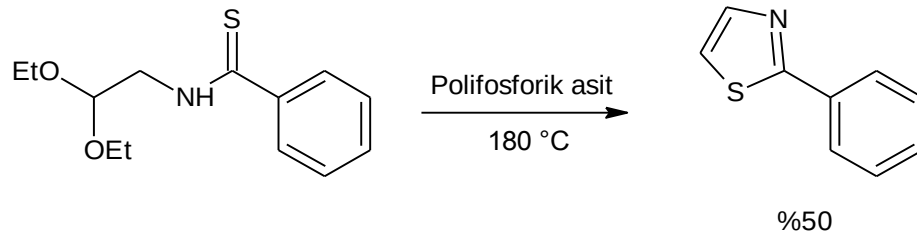
N-alkiliminlerin 300°C üzeri sıcaklıklarda gaz fazdaki elementel kükürt ile tepkimesinden tiyazol türevleri elde edilmektedir.⁹⁶



Tiyazol türevleri α-halo ketonların tiyoamitler ile reaksiyonundan da oluşmaktadır.⁹⁶



Tiyoaçilamino asetallerden hareketle asit katalizli halka kapama reaksiyonu ile tiyazol türevleri sentezlenmiştir.⁹⁶



3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Kimyasal Çalışmalar

3.1.1. Materyal ve Yöntem

3.1.1.1. Kimyasal Bileşikler

Bu çalışmada kullanılan tüm çözücüler teknik ve analitik niteliktedir. Alüminyum klorür, benzen, hidroklorik asit, brom, asetik asit, amonyak, potasyum karbonat, etil bromoasetat, 1(2*H*)-fitalazinon, Merck, süksinik anhidrit, hidrazin hidrat, potasyum tiyosiyanat, 2-bromoasetofenon, 2-bromo-4-kloroasetofenon, 2-bromo-4-metoksiasetofenon, 2-bromo-4-metilasetofenon, 2-bromo-4-florasetofenon, 2-bromo-4-trifloroasetofenon, Aldrich firmasının ürünleridir.

3.1.1.2. Sentez Yöntemleri

3.1.1.2.1. 4-Okso-4-fenilbutanoik asit⁹⁷

16 ml (0.2 mol) Benzen iki boyunlu bir balona alındı. 20 g (0.2 mol) süksinik anhidrit ve 54 g (0.4 mol) alüminyum klorür karışımı porsiyonlar halinde benzen içeren balona ilave edildi. Karışım 40-50 °C'de 20 dakika geri çeviren soğutucu altında ısıtıldı. Süre sonunda balon içeriği 40 ml HCl asit içeren buzlu suya boşaltıldı. Çöken madde süzüldü ve kurutuldu. Verim 30 g (%84.27).

3.1.1.2.2. 6-Fenil-4,5-dihidro-3(2*H*)-piridazinon⁹⁸

10 g (0.06 mol) 4-Okso-4-fenilbutanoik asit ve 4 ml (0.12 mol) hidrazin hidrat (%64'lük) 120 ml etanol içinde geri çeviren soğutucu altında 2 saat ısıtıldı. Süre sonunda balon içeriği soğutuldu. Çöken ürün süzüldü ve kurutuldu. Verim 8.15 g (%83,42).

3.1.1.2.3. 6-Fenil-3(2H)-piridazinon⁹⁹

10 g (0.06 mol) 6-Fenil-4,5-dihidro-3(2H)-piridazinon 120 ml glasiyel asetik asit içeren iki boyunlu balona alındı. 60-70 °C'de maddenin tamamı çözüldükten sonra, üzerine 3.24 ml (0.066 mol) brom damla damla ilave edildi. İlave sonunda 3 saat geri çeviren soğutucu altında ısıtıldı. Süre sonunda balon içeriği soğutuldu, buzlu suya döküldü. Madde çöktükten sonra yaklaşık 100 ml derişik amonyak ilave edilerek nötralleştirildi. Çöken ürün süzöldü ve kurutuldu. Verim 9 gr (% 91.09).

3.1.1.2.4. Etil [(6-fenil-3-okso-2H-piridazin-2-il)]asetat¹⁰⁰

7 g (0.04 mol) 6-Fenil-3(2H)-piridazinon, 22.5 g (0.16) potasyum karbonat 120 ml DMF içinde 10 dakika oda ısısında karıştırıldı. Daha sonra üzerine 11.3 ml (0.1 mol) etil bromoasetat ilave edildi ve oda ısısında 2.5 saat karıştırıldı. Süre sonunda balon içeriği buzlu suya boşaltıldı. Çöken ürün süzöldü ve kurutuldu. Verim 9 gr (% 85.71).

3.1.1.2.5. 2-(6-Fenil-3-okso-2H-piridazin-2-il)asetohidrazit¹⁰¹

9 g (0.035 mol) Etil [(6-fenil-3-okso-2H-piridazin-2-il)]asetat ve 7.8 ml (0.105 mol) hidrazin hidrat 120 ml etanol içinde 2 saat geri çeviren soğutucu altında ısıtıldı. Süre sonunda balon içeriği soğutuldu. Çöken ürün süzöldü ve kurutuldu. Verim 7 g (81.96 %).

3.1.1.2.6. 2-[(6-Fenil-3-okso-2H-piridazin-2-il)asetil]hidrazinkarbotiyoamit

6 ml H₂O ve 1 ml HCl asit karışımında çözünmüş 1.2 g (0.012 mol) potasyum tiyosiyanat üzerine, 1.5 g (0.006 mol) 2-(6-fenil-3-okso-2H-piridazin-2-il)asetohidrazit ilave edildi. Balon içeriği su banyosunda 1 saat karıştırıldı. Süre sonunda balon içeriği süzüldü ve kurutuldu. Ürün etil alkolden kristallendirildi. Verim 0.45 g (%24.19). Erime derecesi 228 °C.

3.1.1.2.7. 2-(6-Fenil-3-okso-2H-piridazin-2-il)-N'-(4-sübstitüefenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit Türevlerinin Genel Sentez Yöntemleri

0.9 g 2-[(6-Fenil-3-okso-2H-piridazin-2-il)asetil]hidrazinkarbotiyoamit üzerine uygun 2-bromoasetofenon türevleri ilave edilerek 90 ml absolu etanol içinde, geri çeviren soğutucu altında 1.5 saat ısıtıldı. Ürünler bulgular kısmında açıklandığı şekilde elde edildikten sonra, uygun çözücünden kristallendirildi.

3.1.1.2.8. Etil [(1-okso-2H-fitalazin-2-il)]asetat¹⁰²

7 g (0.048 mol) 1(2H)-Fitalazinon, 26.5 g (0.192 mol) potasyum karbonat 120 ml DMF içinde 10 dakika oda ısısında karıştırıldı. Daha sonra üzerine 16 ml (0.144 mol) etil bromoasetat ilave edildi ve oda ısısında 2.5 saat karıştırıldı. Süre sonunda balon içeriği buzlu suya boşaltıldı. Çöken ürün süzüldü ve kurutuldu. Verim 7 g (%64).

3.1.1.2.9. 2-(1-Okso-2*H*-fitalazin-2-il)asetohidrazit¹⁰²

7 g (0.03 mol) Etil [(1-okso-2*H*-fitalazin-2-il)]asetat ve 6.75 ml (0.09 mol) hidrazin hidrat 120 ml etanol içinde 2 saat geri çeviren soğutucu altında ısıtıldı. Süre sonunda balon içeriği soğutuldu, çöken ürün süzüldü ve kurutuldu. Verim 5.6 g (%84).

3.1.1.2.10. 2-[(1-Okso-2*H*-fitalazin-2-il)-asetil]hidrazinkarbotiyoamit

6 ml su ve 1 ml HCl asit karışımında çözünmüş 1.33 g (0.012 mol) potasyum tiyosiyanat üzerine 1.5 g (0.006 mol) 2-(1-okso-2*H*-fitalazin-2-il)asetohidrazit ilave edildi. Balon içeriği su banyosunda 1 saat karıştırıldı. Süre sonunda balon içeriği süzüldü ve kurutuldu. Ürün etil alkolden kristallendirildi. Verim 0.45 g (%23.68). Erime derecesi 233 °C.

3.1.1.2.11. 2-(1-Okso-2*H*-fitalazin-2-il)-*N'*-(4-sübstitüefenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit Türevlerinin Genel Sentez Yöntemi

0.95 g 2-[(1-Okso-2*H*-fitalazin-2-il)-asetil]hidrazinkarbotiyoamit üzerine uygun 2-bromoasetofenon türevleri ilave edilerek 90 ml absolu etanol içinde, geri çeviren soğutucu altında 1 saat ısıtıldı. Süre sonunda çöken madde süzülü, kurutuldu. Ürünler bulgular kısmında açıklandığı şekilde uygun çözücünden kristalize edildi.

3.2. Analitik Kontroller

3.2.1. Erime Derecesi Tayini

Bileşiklerin erime dereceleri "Elektrothermal 9300" erime derecesi tayin cihazında saptanmıştır.

3.2.2. İnce Tabaka Kromatografisi İle Yapılan Kontroller

3.2.2.1. Materyal

Plaklar: Bu çalışmada Silikajel 60 F₂₅₄ hazır plakları kullanılmıştır.

Çözücü sistemleri: İnce tabaka kromatografisi çözücü sistemleri aşağıda belirtilmiştir.

S-1: Benzen: Metanol (45:5)

S-2: Aseton: Hekzan (40:10)

3.2.2.2. Yöntem

Sürüklenme Şartları: Çözücü sistemleri kromatografi kuvvetlerine konulduktan sonra oda sıcaklığında doygunluğu sağlanmıştır. Sentezlenen bileşikler ve başlangıç maddeleri uygun çözücülerde çözülerek hazırlanan plakalara tatbik edilmiştir. Oda sıcaklığında bildirilen çözücü sistemlerinde sürüklenerek R_f değerleri hesaplanmıştır.

Lekelerin Belirlenmesi: Sentezlenen bileşikler ve başlangıç maddelerine ait lekeler, UV lambası (254nm ve 366 nm) kullanılarak belirlenmiştir.

3.2.3. Spektroskopik Yöntemler

3.2.3.1. ¹H-NMR Spektrumları

Spektrumlar maddelerin DMSO-d₆ içindeki çözeltilerinden yararlanılarak Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarundaki Varian Mercury 400, 400MHz High Performance Digital FT-NMR spektrofotometresinden kayıt edildi.

3.2.3.2. IR Spektrumları

Spektrumlar Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarundaki Perkin Elmer Spektrum 400 FT-IR/FT-NIR spektrofotometresinde ATR Sampling Accessory yöntemi ile kaydedildi. Sonuçlar dalga sayısı (cm⁻¹) cinsinden değerlendirildi.

3.2.4. Elementel Analizler

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarundaki CHNS-932 (LECO) Elementel Analiz cihazında yapılmıştır.

3.2.5. Kütle

Bileşiklerin tam kütle ölçümleri, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez laboratuvarında, ultraperformanslı yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (UPLC) (Waters Corporation, Milford, USA) ile birleştirilmiş Micromass LCT Premier XE, Waters (Milford, MA, USA) marka yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresinde (HRSM), elektron sprey iyonizasyon (ESI) yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir.

3.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Biyolojik aktivite çalışmaları Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yapılmıştır.

3.3.1. Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite Çalışmaları

3.3.1.1. Mikroorganizmalar

Çalışmada, *Escherichia coli* ATCC 25922, *E.coli* izolat (ESBL: Extended spectrum beta lakamaz enzimi içerir, bütün beta laktam antibiyotiklere dirençlidir), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *P.aeruginosa* izolat, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *S.aureus* izolat MRSA (metisiline dirençli *S.aureus*), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *E.faecalis* izolat, *Candida albicans* ATCC 10231, *C.krusei* ATCC 6258 suşları kullanılmıştır.

3.3.1.2. Mikrodilüsyon Yöntemi

Çalışmada Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-S16¹⁰³ ve M27-A¹⁰⁴ önerileri doğrultusunda mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak yeni sentezlenen bileşiklerin ve standart antibiyotiklerin minimum inhibisyon konsantrasyonları (MİK) saptanmıştır.

Mueller Hinton Agar (MHA) (Merck), Mueller Hinton Broth (MHB) (Merck), Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (Merck), Sabouraud Liquid Medium (SLM) (Merck) ve MOPS ile pH:7'ye tamponlanmış L-glutamin içeren RPMI 1640 besiyeri (Sigma) kullanılmıştır. MHA, MHB,

SDA ve SLM 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak, RPMI besiyeri, milipor filtreden süzülerek steril edilmiştir.

Bakteriler için MHA, mayalar için SDA kültür plaklarında üretilmiş olan kolonilerden 3–5 tanesi seçilmiş ve öze ile alınarak sırasıyla MHB ve SLM besiyerlerine aktarılmıştır. Sıvı besiyerlerindeki kültürler sırasıyla 37 °C'de ve 35°C'de 0.5 McFarland standardına ulaşınca kadar inkübe edilip, kültürün bulanıklığı, üzerine sıvı besiyeri eklenerek ayarlanmıştır. Ayarlanmış inokulum süspansiyonu hazırlandıktan sonra 15 dakika içinde inokülasyon sonunda her kuyucukta bakteriler için 10^4 CFU/mL, mayalar için 10^3 CFU/mL olacak şekilde sıvı besiyerinde sulandırılmıştır.

Bakteri inokülasyonu yapılacak olan mikrodilüsyon plaklarının her kuyucuğuna 100µL katyon ayarı yapılmış MHB, maya inokülasyonu yapılacak olan mikrodilüsyon plaklarının her kuyucuğuna 100µL MOPS ile pH:7'ye tamponlanmış L-glutamin içeren RPMI 1640 besiyeri eklenmiştir.

Çalışmada, ampisilin (Mustafa Nevzat İlaç Sanayii), ofloksasin (Zhejiang Huangyan East Asia Chemical CO. Ltd.), Gentamisin (Paninkret Chem. Pharm.), Flukonazol (Pfizer) ve amfoterisin B (Bristol Myers Squibb) üretici firmalardan temin edilen standartları kullanılmıştır.

Antibiyotiklerin stok solüsyonlarının hazırlanmasında kullanılan çözücüler aşağıda verilmiştir.

Antibiyotik	Çözücü
Ampisilin	0.1M pH:8 fosfat tamponu
Ofloksasin	0.1 M NaOH
Gentamisin	Distile su
Flukonazol	1:9 su:etanol
Amfoterisin B	Distile su

Antibakteriyel ve antifungal etkileri araştırılan yeni sentezlenen bileşikler dimetil sülfoksit (DMSO) (Merck) ile çözülmüştür.

Stok solüsyonları hazırlanan antibiyotikler ve yeni sentezlenen bileşikler, mikrodilüsyon plaklarının ilk kuyucuklarına 100µL hacimde eklenmiştir. Böylece stok solüsyondaki madde konsantrasyonu çift katlı olarak sulandırılmış olur. Çok kanallı mikropipet kullanılarak çift katlı dilüsyona devam edilip mikrodilüsyon plaklarının takip eden kuyucuklarında da antibiyotik konsantrasyonu her defasında yarı yarıya azaltılmıştır.

Dilüsyon işlemi tamamlandıktan sonra, mikrodilüsyon plağındaki her kuyucuğa, hazırlanan inokulum süspansiyonlarından 10µL inokülasyon yapılmıştır.

Her mikrodilüsyon plağında sadece besiyeri ve mikroorganizma içeren ve sadece besiyeri içeren kontrol kuyucukları eklenmiştir. Ayrıca kullanılan tüm çözücülerin antimikrobiyal etkilerine bakılmıştır.

Bakteri inoküle edilmiş mikrodilüsyon plakları 37°C’de 16–20 saat, maya inoküle edilmiş mikrodilüsyon plakları 35°C’de 24–48 saat süre ile aerop koşullarda etüvde inkübe edilmiştir.

MİK, mikroorganizmanın mikrodilüsyon kuyucuklarındaki üremesini tamamen inhibe eden en düşük ilaç konsantrasyonu olarak saptanmıştır.

3.3.2. Antimikobakteriyel Aktivite Çalışmaları

3.3.2.1. Mikroorganizma

Çalışmada virülen olduğu bilinen *Mycobacterium tuberculosis* H37RV ATCC 27294 suşu kullanılmıştır.

3.3.2.2. Mikrodilüsyon Yöntemi

Çalışmada mikrodilüsyon yöntemi olarak mikropleyt alamar mavisi yöntemi (MABA) kullanılmıştır.¹⁰⁵

Mycobacterium tuberculosis H37RV ATCC 27294 suşunun 7H11 Middlebrook agar besiyerinde (Becton Dickinson) subkültürü yapılmıştır. Mc Farland-1 bulanıklık standardına göre bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Süspansiyon için %0.04 Tween–80 ve %0.2 bovin serum albumin kullanılmıştır. Süspansiyon 1:25 oranında 7H9GC

broth (Becton Dickinson) besiyerinde dilüe edilmiş ve inokulum olarak bu bakteri süspansiyonu kullanılmıştır

İzoniazit (sigma) distile suda çözülerek 8µg/ml konsantrasyonda hazırlanmıştır.

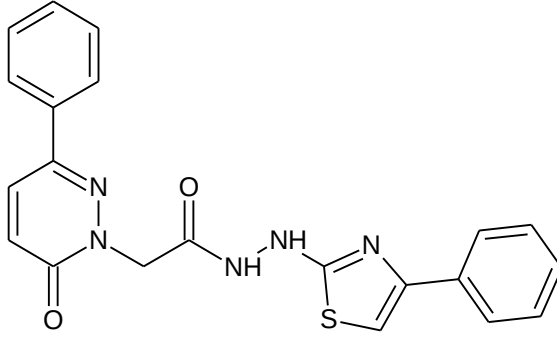
96 kuyucuklu mikropleytin en dış sırasına buharlaşmayı engellemek için 200µl steril distile su koyulmuştur. Kalan kuyucuklara 100µl 7H9GC sıvı besiyeri eklenmiştir. Stok solüsyonları hazırlanan antibiyotikler ve yeni sentezlenen bileşikler, mikrodilüsyon plaklarının ikinci kuyucuklarına 100µL hacimde eklenmiştir. Böylece stok solüsyondaki madde konsantrasyonu çift katlı olarak sulandırılmış olur. Çok kanallı mikropipet kullanılarak çift katlı dilüsyona devam edilip mikrodilüsyon plaklarının takip eden kuyucuklarında da madde konsantrasyonu her defasında yarı yarıya azaltılmıştır.

Son kuyucuğun madde ve ilaç içermemesi sağlanarak mikroorganizma kontrolü olarak kullanılmıştır. Bütün kuyucuklara 100µl *Mycobacterium tuberculosis* suşunun önceden hazırlanan inokulum solüsyonu eklenmiştir. Mikropleytler parafilmle kaplanarak 37 °C'de 5 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda 1:1 oranında alamar mavisi (AbD Serotec) ve %10 tween 80 süspansiyon taze olarak hazırlanmış ve 50µl süspansiyon mikroorganizma kontrol kuyucuklarından birine konulmuştur. Tekrar 37°C de 1 gece inkübasyona bırakılmıştır. Ertesi gün rengin pembeye dönüşmesi sonucunda diğer kuyulara da aynı şekilde hazırlanan alamar mavisi süspansiyonu eklenmiş ve 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Ertesi gün bütün renkler izlenmiş ve minimum inhibisyon konsantrasyonu değeri olarak maviden pembeye dönüşen en düşük konsantrasyon tespit edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Kimyasal Çalışmalar

4.1.1. 2-(6-Fenil-3-okso-2H-piridazin-2-il)-N'-(4-fenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit (Bileşik 1)



0.9 g (0.003 mol) 2-[(6-Fenil-3-okso-2H-piridazin-2-il)asetil]hidrazinkarbotiyoamit ve 0.6 g (0.003 mol) 2-bromoasetofenondan hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Süre sonunda balon içeriği rotavaporda kuruluğa kadar uçuruldu. Yağlı içerik diklorometan-etil asetat karışımı ile katılaştırıldı. Çöken madde süzüldü ve kurutuldu. Metanolden kristallendirildi. Verim 0.1 gr (%8.33).

Beyaz renkte kristallerdir. Bileşiğin erime derecesi 192.4 °C'dir. Su, etanol ve diklormetanda çözünmez, dimetil sülfoksitte çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde, S-1 ve S-2 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.32; 0.70'dir.

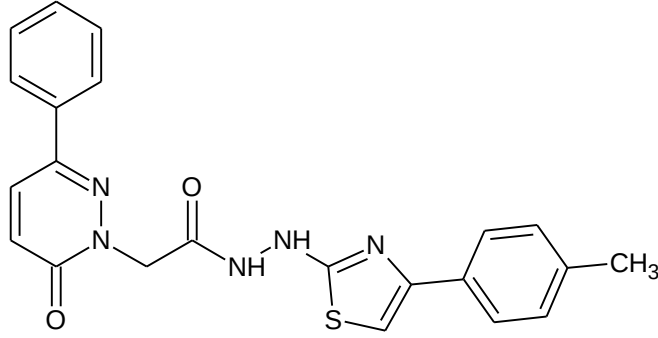
IR spektrumunda 3228 (N-H gerilim, hidrazit); 3100 (C-H gerilim, aromatik); 2947 (C-H gerilim, alifatik); 1696 (C=O, laktam); 1656 (C=O, hidrazit); 1441-1590 cm^{-1} (C=N, C=C gerilim, aromatik) bantları görülmüştür.

^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6) δ 10.58, 10.06, 9.81, 9.58 (4s, 2H, -NH); 8.07-8.03 (dd, 1H, H^5); 7.88-7.22 (m, 11H, fenil protonları, tiyazol protonu); 7.09-7.04 (dd, 1H, H^4); 5.01, 4.87 (2s, 2H, $-\text{CH}_2\text{CO}$) ppm'de pikler görülmüştür.

Kapalı Formül: $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$				
Elementel analiz	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan	62.52	4.25	17.36	7.95
Bulunan	61.87	4.34	17.42	8.03

Kütle m/z (ESI^+): 404 ($\text{M}+1$, 100)

4.1.2. 2-(6-Fenil-3-okso-2H-piridazin-2-il)-N'-[4-(4-metilfenil)-1,3-tiyazol-2-il] asetohidrazit (Bileşik 2)



0.9 g (0.003mol) 2-[(6-Fenil-3-okso-2H-piridazin-2-il)asetil]hidrazinkarbotiyoamit ve 0.7 g (0.003 mol) 2-bromo-4-metil asetofenondan hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Süre sonunda balon içeriği rotavaporda kuruluğa kadar uçuruldu. Yağlı içerik diklorometan-etil asetat karışımı ile katılaştırıldı. Çöken madde süzüldü ve kurutuldu. Etanolden kristallendirildi. Verim 0.27 g (% 22.5).

Beyaz renkte kristallerdir. Bileşiğin erime derecesi 211.7 °C'dir. Su, etanol ve diklormetanda çözünmez, dimetil sülfoksitte çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde, S-1 ve S-2 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.31; 0.71'dir.

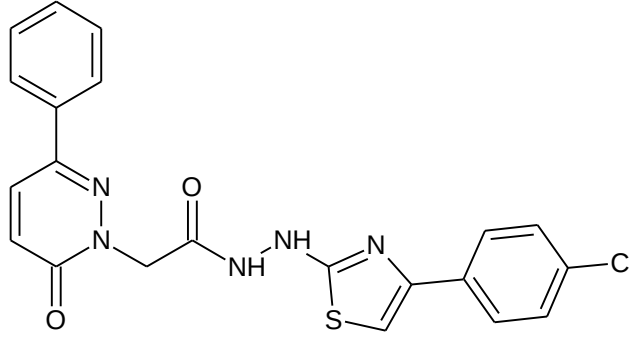
IR spektrumunda 3227 (N-H gerilim, hidrazit); 3101 (C-H gerilim, aromatik); 2939 (C-H gerilim, alifatik); 1696 (C=O, laktam); 1656 (C=O, hidrazit); 1590-1440 (C=N, C=C gerilim, aromatik); 838 cm⁻¹ (1,4-disübstitüe benzen) bantları görülmüştür.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ 10.60, 10.08, 9.81, 9.58 (4s, 2H, -NH); 8.11-8.06 (dd, 1H, H⁵); 7.91-7.17 (m, 10H, fenil protonları, tiyazol protonu); 7.12-7.07 (dd, 1H, H⁴); 5.04, 4.90 (2s, 2H, -CH₂CO); 2.32, 2.30 (2 s, 3H, -CH₃) ppm'de pikler görülmüştür.

Kapalı Formül: C ₂₂ H ₁₉ N ₅ O ₂ S				
Elementel analiz	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan	63.29	4.59	16.78	7.68
Bulunan	63.08	4.76	16.51	7.62

Kütle m/z (ESI⁺): 418 (M+1,100)

4.1.3. 2-(6-Fenil-3-okso-2H-piridazin-2-il)-N'-[4-(4-klorofenil)-1,3-tiyazol-2-il] asetohidrazit (Bileşik 3)



0.9 g (0.003 mol) 2-[(6-Fenil-3-okso-2H-piridazin-2-il)asetil]hidrazinkarbotiyoamit ve 0.7 gr (0.003 mol) 2-bromo-4-kloro asetofenondan hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Süre sonunda çöken ürün süzüldü ve kurutuldu. Etanolden kristallendirildi. Verim 0.2 g (%16.6).

Beyaz renkte kristallerdir. Bileşiğin erime derecesi 218.3 °C'dir. Su, etanol ve diklormetanda çözünmez, dimetil sülfoksitte çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde, S-1 ve S-2 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.31; 0.74'dür.

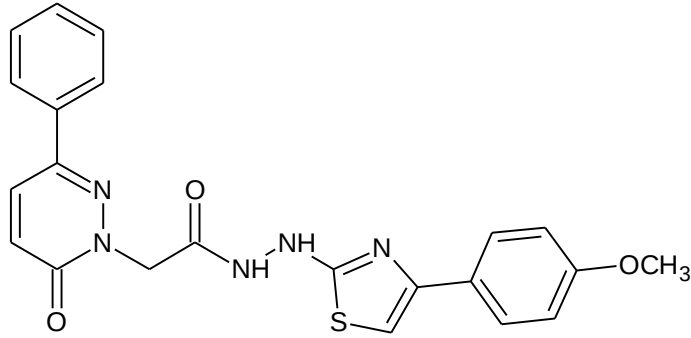
IR spektrumunda 3230 (N-H gerilim, hidrazit); 3100 (C-H gerilim, aromatik); 2949 (C-H gerilim, alifatik); 1693 (C=O, laktam); 1655 (C=O, hidrazit); 1589 -1441 (C=N, C=C gerilim, aromatik); 836 cm⁻¹ (1,4-disübstitüe benzen) bantları görülmüştür.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ 10.61, 10.09, 9.87, 9.64 (4s, 2H, -NH); 8.11-8.06 (dd, 1H, H⁵); 7.91-7.41 (m, 9H, fenil protonları); 7.33 (s, 1H, tiyazol protonu); 7.12-7.07 (dd, 1H, H⁴); 5.03, 4.90 (2s, 2H, -CH₂CO) ppm'de pikler görülmüştür.

Kapalı Formül: C ₂₁ H ₁₆ ClN ₅ O ₂ S				
Elementel analiz	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan	57.60	3.68	15.99	7.32
Bulunan	57.57	3.66	15.88	7.38

Kütle m/z (ESI⁺): 438 (M+1,100)

4.1.4. 2-(6-Fenil-3-okso-2H-piridazin-2-il)-N'-[4-(4-metoksifenil)-1,3-tiyazol-2-il] asetohidrazit (Bileşik 4)



0.9 g (0.003 mol) 2-[(6-Fenil-3-okso-2H-piridazin-2-il)asetil]hidrazinkarbotiyoamit ve 0.7 g (0.003 mol) 2-bromo-4-metoksi asetofenondan hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Süre sonunda balon içeriği rotavaporda kuruluğa kadar uçuruldu. Yağlı içerik diklorometan-etil asetat karışımı ile katılaştırıldı. Çöken madde süzüldü ve kurutuldu. Etanolden kristallendirildi. Verim 0.15 g (%12.5).

Sarı kristallerdir. Bileşiğin erime derecesi 208.7 °C'dir. Su, etanol ve diklormetanda çözünmez, dimetil sülfoksitte çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde, S-1 ve S-2 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.29; 0.67'dir.

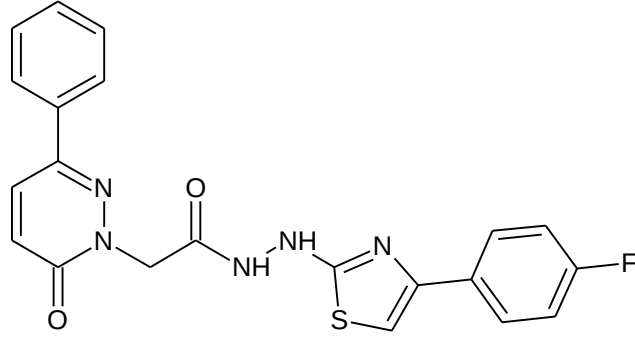
IR spektrumunda 3233 (N-H gerilim, hidrazit); 3045 (C-H gerilim, aromatik); 2948 (C-H gerilim, alifatik); 1693 (C=O, laktam); 1673 (C=O, hidrazit); 1595 -1440 (C=N, C=C gerilim, aromatik); 830 cm⁻¹ (1,4-disübstitüe benzen) bantları görülmüştür.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ 10.59, 10.07, 9.80, 9.57 (4s, 2H, -NH); 8.11- 8.06 (dd, 1H, H⁵); 7.91-7.07 (m, 10H, fenil protonları, tiyazol protonu); 6.97-6.91 (dd, 1H, H⁴); 5.04, 4.90 (2s, 2H, -CH₂CO); 3.78, 3.77 (2s, 3H, -OCH₃) ppm'de pikler görülmüştür.

Kapalı Formül: C ₂₂ H ₁₉ N ₅ O ₃ S				
Elementel analiz	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan	60.96	4.42	16.16	7.40
Bulunan	60.99	4.41	16.03	7.49

Kütle m/z (ESI⁺): 434 (M+1,100)

4.1.5. 2-(6-Fenil-3-okso-2H-piridazin-2-il)-N'-[4-(4-florofenil)-1,3-tiyazol-2-il]asetohidrazit (Bileşik 5)



0.87 g (0.003 mol) 2-[(6-Fenil-3-okso-2H-piridazin-2-il)asetil]hidrazinkarbotiyoamit ve 0.65 g (0.003 mol) 2-bromo-4-floroasetofenondan hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Süre sonunda balon içeriği rotavaporda kuruluğa kadar uçuruldu. Yağlı içerik diklorometan-etil asetat karışımı ile katılaştırıldı. Çöken madde süzüldü ve kurutuldu. Etanolden kristallendirildi. Verim 0.15 g (%12.5).

Sarı kristallerdir. Bileşiğin erime derecesi 192.7 °C'dir. Su, etanol ve diklormetanda çözünmez, dimetil sülfoksitte çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde, S-1 ve S-2 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.30; 0.72'dir.

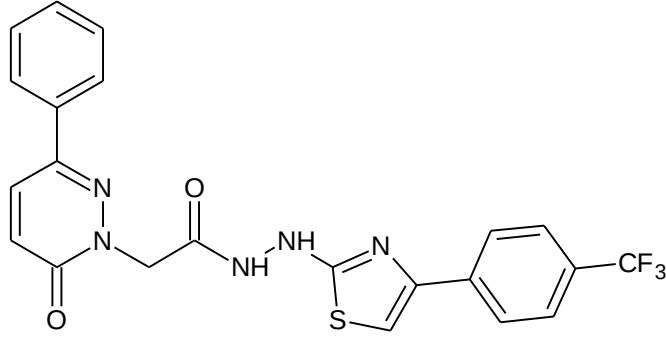
IR spektrumunda 3235 (N-H gerilim, hidrazit); 3044 (C-H gerilim, aromatik); 2948 (C-H gerilim, alifatik); 1694 (C=O, laktam); 1660 (C=O, hidrazit); 1591-1441 (C=N, C=C gerilim, aromatik); 830 cm⁻¹ (1,4-disübstitüe benzen) bantları görülmüştür.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ 10.58, 10.06, 9.82, 9.60 (4s, 2H, -NH); 8.07-8.03 (dd, 1H, H⁵); 7.89-7.15 (m, 10H, fenil protonları, tiyazol protonu); 7.09-7.04 (dd, 1H, H⁴); 5.00, 4.87 (2s, 2H, -CH₂CO) ppm'de pikler görülmüştür.

Kapalı Formül: C ₂₁ H ₁₆ FN ₅ O ₂ S				
Elementel analiz	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan	59.85	3.83	16.62	7.61
Bulunan	59.83	3.86	16.46	7.95

Kütle m/z (ESI⁺): 422 (M+1,100)

4.1.6. 2-(6-Fenil-3-okso-2H-piridazin-2-il)-N'-[4-(4-triflorometilfenil)-1,3-tiyazol -2-il]asetohidrazit (Bileşik 6)



0.76 g (0.0025) mol 2-[(6-Fenil-3-okso-2H-piridazin-2-il)asetil]hidrazinkarbotiyoamit ve 0.67 g (0.002mol) 2-bromo-4-trifloro metilasetofenondan hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Süre sonunda balon içeriği rotavaporda kuruluğa kadar uçuruldu. Yağlı içerik diklorometan-etil asetat karışımı ile katılaştırıldı. Çöken madde süzüldü ve kurutuldu. Etanolden kristallendirildi. Verim 0.14 g (%12.17).

Beyaz, toz şeklinde kristallerdir. Bileşiğin erime derecesi 220.5 °C'dir. Su, etanol ve diklormetanda çözünmez, dimetil sülfoksitte çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde, S-1 ve S-2 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.32; 0.77'dir.

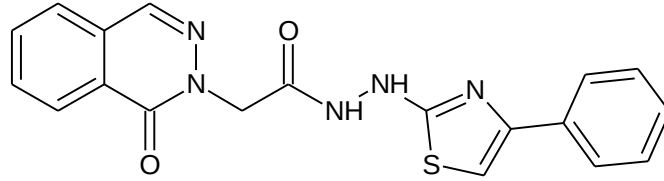
IR spektrumunda 3216 (N-H gerilim, hidrazit); 3067 (C-H gerilim, aromatik); 2958 (C-H gerilim, alifatik); 1693 (C=O, laktam); 1659 (C=O, hidrazit); 1590-1444 (C=N, C=C gerilim, aromatik); 836 cm⁻¹ (1,4-disübstitüe benzen) bantları görülmüştür.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ 10.62, 10.09, 9.90, 9.68 (4s, 2H, -NH); 8.08-7.43 (m, 11H, H⁵, fenil protonları, tiyazol protonu); 7.09-7.07 (dd, 1H, H⁴); 5.01, 4.88 (2s, 2H, -CH₂CO) ppm'de pikler görülmüştür.

Kapalı Formül: C ₂₂ H ₁₆ F ₃ N ₅ O ₂ S				
Elementel analiz	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan	56.05	3.42	14.85	6.80
Bulunan	56.01	3.41	14.73	6.88

Kütle m/z (ESI⁺): 472 (M+1,100)

4.1.7. 2-(1-Okso-2*H*-fitalazin-2-il)-*N'*-(4-fenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit
(Bileşik 7)



1g (0.003 mol) 2-[(1-Okso-2*H*-fitalazin-2-il)-asetil]hidrazinkarbotiyoamit ve 0.75 g (0.003 mol) 2-bromo-asetofenon dan hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Butanolden kristallendirildi. Verim 0.12 g (%10).

Somon renginde kristallerdir. Bileşiğin erime derecesi 224.7 °C'dir. Su, etanol ve diklormetanda çözünmez, dimetil sülfoksitte çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde, S-1 ve S-2 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.27; 0.80'dir.

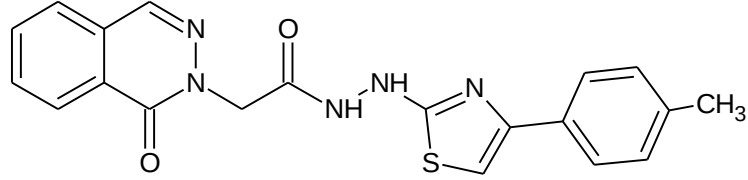
IR spektrumunda 3197 (N-H gerilim, hidrazit); 3031 (C-H gerilim, aromatik); 2874 (C-H gerilim, alifatik); 1684 (C=O, laktam); 1658 (C=O, hidrazit); 1587-1441 cm^{-1} (C=N, C=C gerilim, aromatik) bantları görülmüştür.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ 10.55, 10.06, 9.86, 9.58 (4s, 2H, -NH); 8.47, 8.44 (2 s, 1H, H⁴); 8.27 (d, 1H, H⁸); 7.99-7.81 (m, 5H, H^{5,6,7}, fenil protonları); 7.41-7.26 (m, 4H, fenil protonları, tiyazol protonu); 5.02, 4.88 (2s, 2H, -CH₂O) ppm'de pikler görülmüştür.

Kapalı Formül: C ₁₉ H ₁₅ N ₅ O ₂ S				
Elementel analiz	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan	60.46	4.01	18.56	8.50
Bulunan	60.50	3.88	18.32	8.37

Kütle m/z (ESI⁺): 378 (M+1,100)

4.1.8. 2-(1-Okso-2H-fitalazin-2-il)-N'-(4-metilfenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit (Bileşik 8)



0.95 g (0.003 mol) 2-[(1-Okso-2H-fitalazin-2-il)-asetil]hidrazinkarbotiyoamit ve 0.81 g (0.003 mol) 2-bromo-4-metilasetofenondan hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Etanolden kristallendirildi. Verim 0.07 g (%5.38).

Somon renginde kristallerdir. Bileşiğin erime derecesi 229.9 °C'dir. Su, etanol ve diklormetanda çözünmez, dimetil sülfoksitte çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde, S-1 ve S-2 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.27; 0.82'dir.

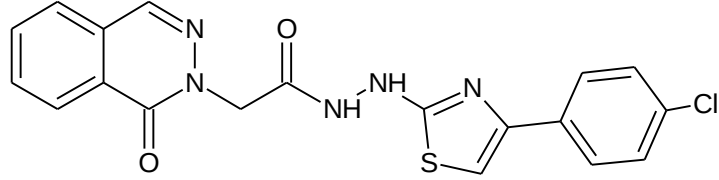
IR spektrumunda 3233 (N-H gerilim, hidrazit); 3065 (C-H gerilim, aromatik); 2991 (C-H gerilim, alifatik); 1623 (C=O, laktam); 1571 (C=O, hidrazit); 1571-1452 (C=N, C=C gerilim, aromatik); 822 cm⁻¹ (1,4-disüstitüe benzen) bantları görülmüştür.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ 10.50, 10.01, 9.79, 9.51 (4s, 2H, -NH); 8.43, 8.41 (2 s, 1H, H⁴); 8.24 (d, 1H, H⁸); 7.96-7.84 (m, 3H, H^{5,6,7}); 7.68 (d, 2H, fenil H^{2,6}); 7.17-7.15 (m, 3H, fenil H^{3,5} protonları, tiyazol protonu); 4.99, 4.85 (2 s, 2H, -CH₂O); 2.29, 2.27 (2s, 3H, -CH₃) ppm'de pikler görülmüştür.

Kapalı Formül: C ₂₀ H ₁₇ N ₅ O ₂ S				
Elementel analiz	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan	61.37	4.38	17.89	8.19
Bulunan	61.45	4.47	17.73	8.09

Kütle m/z (ESI⁺): 392 (M+1,100)

4.1.9. 2-(1-Okso-2H-fitalazin-2-il)-N'-(4-klorofenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit (Bileşik 9)



0.9 g (0.003 mol) 2-[(1-Okso-2H-fitalazin-2-il)-asetil]hidrazinkarbotiyoamit ve 0.78 g (0.003 mol) 2-bromo-4-kloro asetofenondan hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Butanolden kristallendirildi. Verim 0.4 g (% 33.33).

Somon renginde kristallerdir. Bileşiğin erime derecesi 238.4 °C'dir. Su, etanol ve diklormetanda çözünmez, dimetil sülfoksitte çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde, S-1 ve S-2 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.28; 0.83'tür.

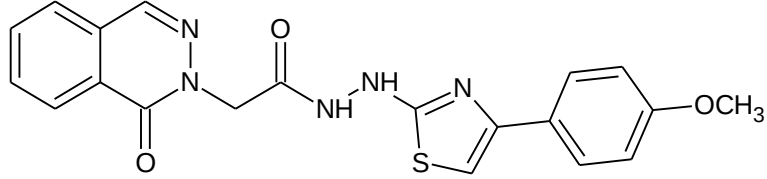
IR spektrumunda 3206 (N-H gerilim, hidrazit), 3110 (C-H, aromatik), 2956 (C-H, alifatik), 1674 (C=O, laktam), 1645 (C=O, hidrazit); 1588-1453 (C=N, C=C gerilim, aromatik); 829 cm⁻¹ (1,4-disüstitüe benzen) bantları görülmüştür.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ 10.56, 10.06, 9.88, 9.62 (4s, 2H, -NH); 8.47, 8.44 (2 s, 1H, H⁴); 8.27 (d, 1H, H⁸); 7.99-7.82 (m, 5H, H^{5,6,7}, fenil H^{2,6}), 7.48-7.43 (m, 2H, fenil H^{3,5} protonları); 7.33 (s, 1H, tiyazol protonu); 5.01, 4.88 (2 s, 2H, -CH₂O) ppm'de pikler görülmüştür.

Kapalı Formül: C ₁₉ H ₁₄ ClN ₅ O ₂ S				
Elementel analiz	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan	55.41	3.43	17.00	7.79
Bulunan	55.42	3.49	16.84	7.82

Kütle m/z (ESI⁺): 412 (M+1,100)

4.1.10 2-(1-Okso-2*H*-fitalazin-2-il)-*N'*-(4-metoksifenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit (Bileşik 10)



0.98 g (0.003 mol) 2-[(1-Okso-2*H*-fitalazin-2-il)-asetil]hidrazinkarbotiyoamit ve 0.84 g (0.003 mol) 2-bromo-4-metoksi asetofenondan hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Etanolden kristallendirildi. Verim 0.16 g (% 16.37).

Beyaz renkte kristallerdir. Bileşiğin erime derecesi 219.8 °C'dir. Su, etanol ve diklormetanda çözünmez, dimetil sülfoksitte çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde, S-1 ve S-2 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.26; 0.79' dur.

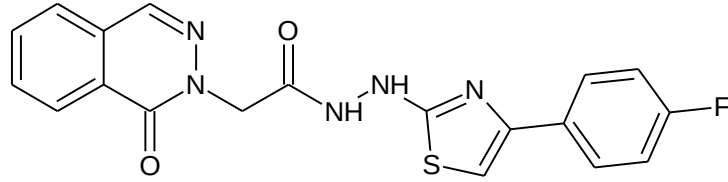
IR spektrumunda 3267 (N-H gerilim, hidrazit); 3075 (C-H gerilim, aromatik); 2950 (C-H gerilim, alifatik); 1685 (C=O, laktam); 1645 (C=O, hidrazit); 1590-1451 (C=N, C=C gerilim, aromatik); 829 cm^{-1} (1,4-disübstiüe benzen) bantları görülmüştür.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ 10.53, 10.04, 9.81, 9.53 (4s, 2H, -NH); 8.46, 8.44 (2 s, 1H, H⁴); 8.27 (d, 1H, H⁸), 7.99-7.87 (m, 3H, H^{5,6,7}); 7.80-7.73 (d, 2H, fenil H^{2,6}); 7.22, 7.08 (2s, 1H, tiyazol protonu); 6.95 (d, 2H, fenil H^{3,5}); 5.02, 4.87 (2 s, 2H, -CH₂O); 3.78, 3.77 (s, 3H, -OCH₃) ppm'de pikler görülmüştür.

Kapalı Formül: C ₂₀ H ₁₇ N ₅ O ₃ S				
Elementel analiz	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan	58.96	4.21	17.19	7.87
Bulunan	58.97	4.16	16.98	7.95

Kütle m/z (ESI⁺): 408 (M+1,100)

4.1.11. 2-(1-Okso-2H-fitalazin-2-il)-N'-(4-florofenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit (Bileşik 11)



0.9 g (0.003 mol) 2-[(1-Okso-2H-fitalazin-2-il)-asetil]hidrazinkarbotiyoamit ve 0.73 g (0.003 mol) 2-bromo-4-floroasetofenondan hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Butanolden kristallendirildi. Verim 0.5 g (%41.66).

Somon renginde kristallerdir. Bileşiğin erime derecesi 233.8 °C'dir. Su, etanol ve diklormetanda çözünmez, dimetil sülfoksitte çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde, S-1 ve S-2 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.27; 0.82'dir.

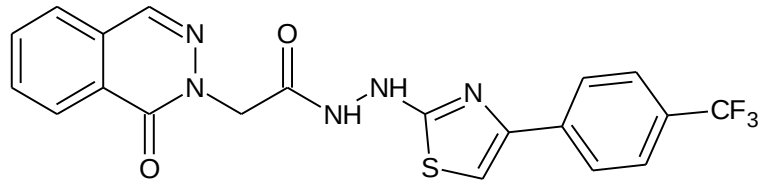
IR spektrumunda 3257 (N-H gerilim, hidrazit); 3078 (C-H gerilim, aromatik); 2899 (C-H gerilim, alifatik); 1684 (C=O, laktam); 1654 (C=O, hidrazit); 1578 -1452 (C=N, C=C gerilim, aromatik); 840 cm⁻¹ (1,4-disüstitüe benzen) bantları görülmüştür.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ 10.55, 10.06, 9.87, 9.60 (4s, 2H, -NH); 8.47, 8.44 (s, 1H, H⁴); 8.28 (d, 1H, H⁸); 7.97-7.84 (m, 5H, H^{5,6,7}, fenil H^{2,6}); 7.24-7.19 (m, 3H, fenil H^{3,5}, tiyazol protonu); 5.02, 4.88 (2s, 2H, -CH₂O) ppm'de pikler görülmüştür.

Kapalı Formül: C ₁₉ H ₁₄ FN ₅ O ₂ S				
Elementel analiz	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan	57.71	3.57	17.71	8.11
Bulunan	57.34	3.77	17.45	7.92

Kütle m/z (ESI⁺): 396 (M+1,100)

4.1.12. 2-(1-Okso-2H-fitalazin-2-il)-N'-(4-triflorometilenfenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit (Bileşik 12)



0.95 g (0.003 mol) 2-[(1-Okso-2H-fitalazin-2-il)-asetil]hidrazinkarbotiyoamit ve 0.92 g (0.003 mol) 2-bromo-4-asetofenondan hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Butanolden kristallendirildi. Verim 0.7 g (%58.33).

Beyaz renkte kristallerdir. Bileşiğin erime derecesi 237.3 °C'dir. Su, etanol ve diklormetanda çözünmez, dimetil sülfoksitte çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde, S-1 ve S-2 çözücü sistemlerinde R_f değerleri sırasıyla 0.29; 0.85'tir.

IR spektrumunda 3209 (N-H gerilim, hidrazit); 3085 (C-H gerilim, aromatik); 2953 (C-H gerilim, alifatik); 1676 (C=O, laktam); 1646 (C=O, hidrazit); 1587-1526 (C=N, C=C gerilim, aromatik); 846 cm⁻¹ (1,4-disüstitüe benzen) bantları görülmüştür.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆) δ 10.60, 10.10, 9.95, 9.69 (4s, 2H, -NH); 8.47, 8.44 (2 s, 1H, H⁴); 8.29 (d, 1H, H⁸); 8.09-8.03 (d, 2H, H^{2,6}); 7.99-7.74 (d, 2H, fenil H^{5,6,7}); 7.79-7.74 (d, 2H, fenil H^{3,5}); 7.64, 7.51 (2 s, 1H, tiyazol protonu); 5.03, 4.89 (2s, 2H, -CH₂O) ppm'de pikler görülmüştür.

Kapalı Formül: C ₂₀ H ₁₄ F ₃ N ₅ O ₂ S				
Elementel analiz	% C	% H	% N	% S
Hesaplanan	53.93	3.17	15.72	7.20
Bulunan	53.72	3.33	15.59	7.29

Kütle m/z (ESI⁺): 446 (M+1,100)

4.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

4.2.1. Antibakteriyel, Antifungal ve Antimikobakteriyel Aktivite Sonuçları

Tablo 1: Sentezlenen Bileşiklerin Test Edilen Mikroorganizmalara Karşı MİK (µg/ml) Değerleri

Bileşikler	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>E.coli</i> izolat (ESBL)	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>P.aeruginosa</i> izolat	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	<i>S.aureus</i> izolat (MRSA)	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	<i>E.faecalis</i> izolat (VRE)	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	<i>C.krusei</i> ATCC 6258
1	64	64	64	64	64	64	64	64	32	32
2	64	64	64	64	64	64	64	64	32	32
3	64	64	64	64	64	64	64	64	32	32
4	64	64	64	64	64	64	64	64	32	32
5	64	64	64	64	64	64	64	64	32	32
6	64	64	64	64	64	64	64	64	32	32
7	64	64	64	64	128	128	64	64	32	64
8	64	64	64	64	128	128	64	64	32	64
9	64	64	64	64	128	128	64	64	32	64
10	64	64	64	64	128	128	64	64	32	64
11	64	64	64	64	128	128	64	64	32	64
12	64	64	64	64	128	128	64	64	32	64
Ampisilin	8	64	-	-	<2	32	<2	4	-	-
Gentamisin	<2	64	<2	32	<2	64	4	4	-	-
Ofloksasin	<2	16	<2	32	<2	<2	<2	<2	-	-
Flukonazol	-	-	-	-	-	-	-	-	1	64
Amfoterisin B	-	-	-	-	-	-	-	-	<0.25	0.5

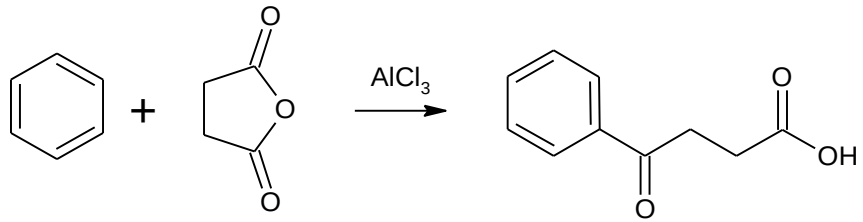
Tablo 2: Sentezlenen Bileşiklerin *Mycobacterium tuberculosis* ve izolatına karşı MİK (µg/ml) Değerleri

Bileşikler	<i>M. tuberculosis</i> H37RV ATCC 27294	<i>M. tuberculosis</i> izolat
1	32	16
2	32	16
3	32	16
4	32	16
5	32	16
6	32	32
7	32	8
8	32	8
9	32	16
10	32	16
11	32	16
12	32	32
İzoniazit	<0.25	<0.25

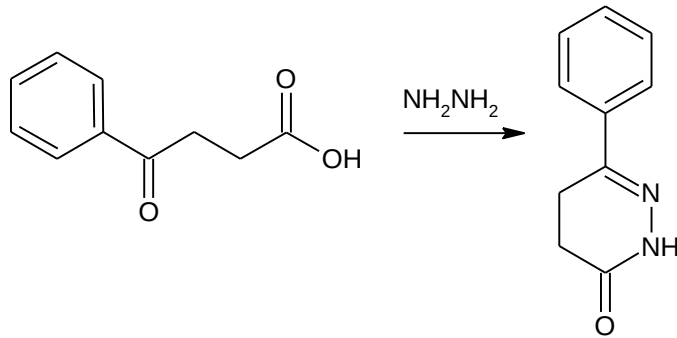
5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda 3(2*H*)-piridazinon ve 1(2*H*)-fitalazinon halkalarının 2. konumlarında *N'*-(4-sübstitüefenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit yapısına sahip oniki yeni bileşiğin sentezi yapıldı, yapıları kanıtlandı ve *in vitro* testler ile bileşiklerin antibakteriyel, antifungal ve antimikobakteriyel etkileri değerlendirildi.

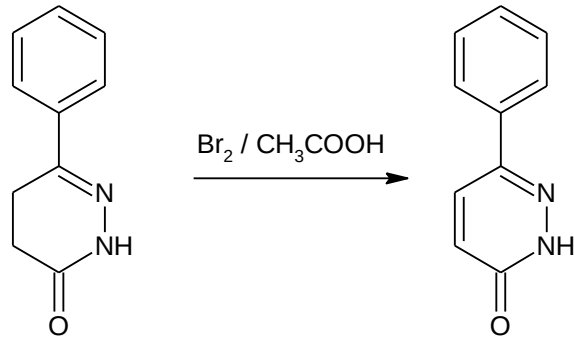
3(2*H*)-piridazinon halkasına sahip bileşiklerin sentezi benzenden hareketle gerçekleştirilmiştir. Friedel Crafts açılme tepkimesi koşullarında; alüminyum klorür varlığında benzenin süksinik anhidrit ile tepkimesinden 4-fenil-4-oksobutanoik asit sentez edilmiştir.⁹⁷



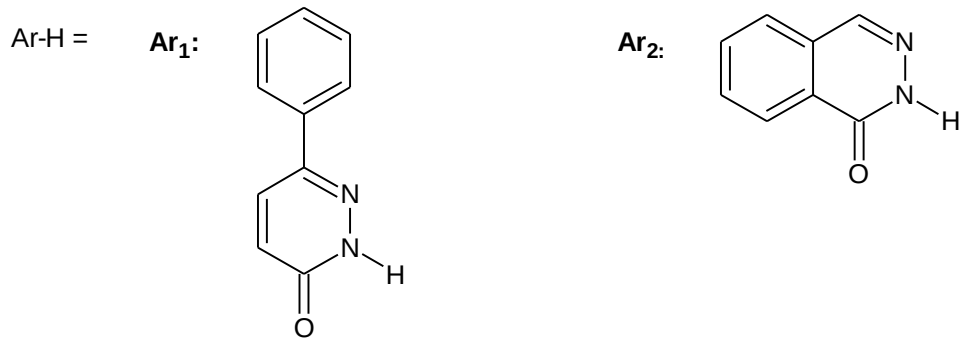
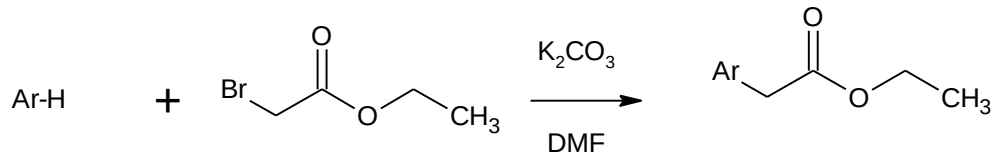
4-Fenil-4-oksobutanoik asidin etanol içinde hidrazin hidrat ile tepkimesinden 6-fenil-4,5-dihidro-3(2*H*)-piridazinon hazırlanmıştır.⁹⁸



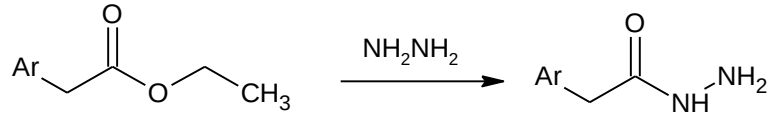
6-Fenil-4,5-dihidro-3(2*H*)-piridazinon türevinin glasyal asetik asit içinde brom ile yükseltgenme tepkimesinden 6-fenil-3(2*H*)-piridazinon elde edilmiştir. ⁹⁹



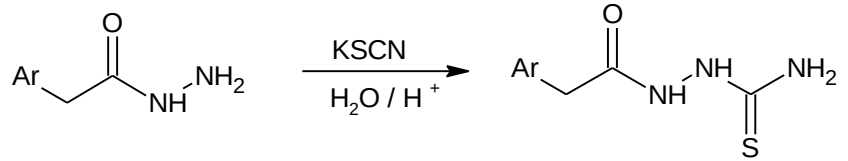
6-Fenil-3(2*H*)-piridazinon ve ticari olarak mevcut 1(2*H*)-fitalazinonun DMF içinde potasyum karbonat varlığında etil bromoasetat ile tepkimesinden sırasıyla ve etil [(6-fenil-3-okso-2*H*-piridazin-2-il)]asetat ve etil [(1-okso-2*H*-fitalazin-2-il)]asetat türevleri sentez edilmiştir. ¹⁰⁰



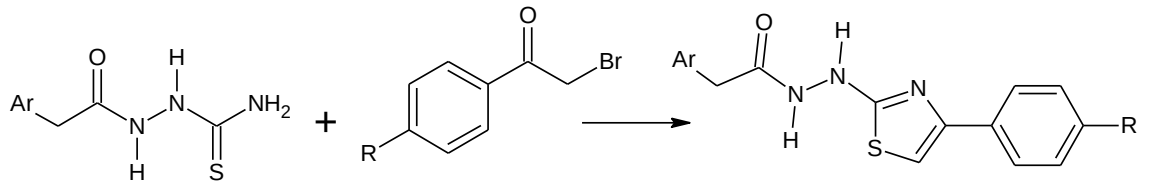
Ester türevlerinin etanol içinde hidrazin ile kaynatılmasından asetohidrazit türevleri hazırlanmıştır. ¹⁰¹



Asetohidrazit türevlerinin sulu asit ortamda potasyum tiyosiyanat ile tepkimesinden asetilhidrazinkarbotiyoamit türevleri sentez edilmiştir.



Daha sonra, asetilhidrazinkarbotiyoamitlerin etanol içinde 2-bromoasetofenon türevleri ile tepkimesinden *N'*-(4-sübstitüefenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit yapısında oniki yeni bileşik sentez edilmiştir.



Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin yapıları IR, $^1\text{H-NMR}$, Mass ve elementel analiz verileri ile kanıtlanmıştır.

2-(6-Fenil-3-okso-2*H*-piridazin-2-il)-*N'*-(4-sübstitüefenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit türevi bileşiklerin IR spektrumlarında; N-H gerilim bandı 3235-3216 cm^{-1} arasında, halka karboniline ait pik 1696-1693 cm^{-1} arasında ve asetohidrazite ait karbonil gerilim piki 1673-1655 cm^{-1} arasında gözlenmiştir.

2-(1-Okso-2*H*-fitalazin-2-il)-*N'*-(4-sübstitüefenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit türevi bileşiklerin IR spektrumlarında; N-H gerilim bandı 3247-3197 cm^{-1} arasında, halka karboniline ait pik 1711-1674 cm^{-1} arasında, asetohidrazite ait karbonil gerilim piki 1658-1623 cm^{-1} arasında gözlenmiştir.

3(2*H*)-Piridazinon türevlerinin (Bileşik 1-6) $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarında δ 10.62-9.57 ppm arası N-H protonlarına ait sinyaller görölmüştür. 1(2*H*)-Fitalazinon türevlerinin (Bileşik 7-12) $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarında δ 10.60-9.51 ppm arası N-H protonlarına protonlarına ait sinyaller görölmüştür.

3(2*H*)-Piridazinon türevlerinden Bileşik 1, 2, 3, 4 ve 5'in $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarında H^5 protonu δ 8.11-8.03 ppm aralığında dubletin dubleti (dd) olarak, 6 numaralı bileşiğin H^5 protonu ise δ 8.08-7.43 ppm aralığında fenil ve tiyazol protonları ile birlikte multiplet olarak görölmüştür. Bileşik 1, 2, 3, 4, 5 ve 6'nın H^4 protonu δ 7.12-6.91 ppm aralığında dd olarak görölmüştür.

1(2*H*)-Fitalazinon türevlerinden Bileşik 7, 8, 9, 10, 11 ve 12'e ait ^1H -NMR spektrumlarında H^4 protonu iki ayrı singlet şeklinde görülmüştür. Bu bileşiklere ait H^8 protonu ise dublet olarak görülmüştür.

3(2*H*)-Piridazinon türevlerinden Bileşik 1, 2, 4 ve 5'in ^1H -NMR spektrumlarında tiyazol halkası protonu diğer iki fenil halkası protonları ile birlikte multiplet olarak gözlenirken, Bileşik 3'de fenil halkalarına ait protonlar ve tiyazol protonu ise sırasıyla multiplet ve singlet olarak gözlenmiştir.

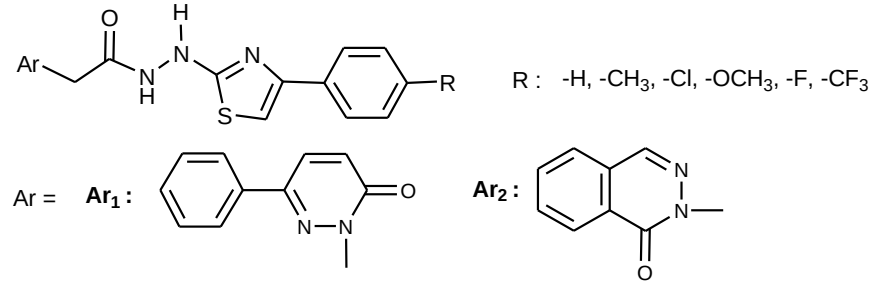
1(2*H*)-Fitalazinon türevlerinden Bileşik 7, 8, 9, 10 ve 11 'in H^5 , H^6 ve H^7 protonlarına ait sinyaller 7.99-7.82 ppm aralığında multiplet olarak gözlenmiştir. Bileşik 12'nin H^5 , H^6 ve H^7 protonlarına ait sinyaller ise 7.99-7.74 ppm aralığında dublet olarak gözlenmiştir.

3(2*H*)-Piridazinon türevlerine ait yan zincirdeki metilen protonları 5.04-4.87 ppm aralığında, ve 1(2*H*)-fitalazinon türevlerine ait metilen protonları ise 5.03-4.85 ppm aralığında iki ayrı singlet olarak gözlenmiştir.

Hem 3(2*H*)-piridazinon ve hem de 1(2*H*)-fitalazinon halkalarının 2. konumlarında *N'*-(4-sübstitüefenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit türevi taşıyan bileşiklerin ^1H -NMR spektrumlarında; yan zincirdeki N-H protonları, metilen protonları, fenil halkası üzerindeki metil ve metoksi protonlarına ait sinyaller tek bir singlet yerine iki ayrı singlet olarak görülmüştür. Ayrıca, 3(2*H*)-piridazinon halkasının 4 ve 5. konumlarındaki protonlar bir dublet yerine dubletin dubleti (dd) olarak görülmüştür. Benzer şekilde, 1(2*H*)-fitalazinon halkasının 4. konumundaki proton tek bir singlet yerine iki singlet olarak görülmüştür.

Bileşiklerin ^1H -NMR spektrumlarında; yan zincirdeki metilen, fenil halkası üzerindeki metil, metoksi ve N-H protonlarına ait sinyallerin tek bir singlet yerine iki ayrı singlet olarak görülmesi asetohidrazit yan zincirinin çeşitli rotamerlerinden ileri gelebilir. Söz konusu rotamerlerde serbest rotasyonun engellenmiş olması bu protonların farklı yerlerde sinyal vermesine neden olabilir. Bu durum daha önce anabilim dalımızda sentezi gerçekleştirilen bazı bileşiklerde ve literatürde rastladığımız bir durumdur.^{106,107} Sözü edilen rotamerizmde, her bir singlet çiftinin integral değerine dayanarak rotamerizm oranının 1/4 olduğu söylenebilir.

Elektrospray iyonizasyon (ESI) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen Mass analizlerinde, bütün sonuç bileşikler pozitif iyonizasyon tekniği ile $(\text{M}+1)^+$ iyonları halinde % 100 bağıl intensiteleri ile kolayca izlenmiştir.



Tablo 3: Sentezlenen Bileşiklerin Test Edilen Mikroorganizmalara Karşı MİK (µg/ml) Değerleri

Bileşikler	Ar	Ar	R	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	Ar ₁	-	-H	64	64	64	64	64	64	64	64	32	32	32	16
2	Ar ₁	-	-CH ₃	64	64	64	64	64	64	64	64	32	32	32	16
3	Ar ₁	-	-Cl	64	64	64	64	64	64	64	64	32	32	32	16
4	Ar ₁	-	-OCH ₃	64	64	64	64	64	64	64	64	32	32	32	16
5	Ar ₁	-	-F	64	64	64	64	64	64	64	64	32	32	32	16
6	Ar ₁	-	-CF ₃	64	64	64	64	64	64	64	64	32	32	32	32
7	-	Ar ₂	-H	64	64	64	64	128	128	64	64	32	64	32	8
8	-	Ar ₂	-CH ₃	64	64	64	64	128	128	64	64	32	64	32	8
9	-	Ar ₂	-Cl	64	64	64	64	128	128	64	64	32	64	32	16
10	-	Ar ₂	-OCH ₃	64	64	64	64	128	128	64	64	32	64	32	16
11	-	Ar ₂	-F	64	64	64	64	128	128	64	64	32	64	32	16
12	-	Ar ₂	-CF ₃	64	64	64	64	128	128	64	64	32	64	32	32
Ampisilin	-	-	-	8	64	-	-	<2	32	<2	4	-	-	-	-
Gentamisin	-	-	-	<2	64	<2	32	<2	64	4	4	-	-	-	-
Ofloksasin	-	-	-	<2	16	<2	32	<2	<2	<2	<2	-	-	-	-
Flukonazol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	64	-	-
Amfoterisin B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<0.25	0.5	-	-
Izoniazit	-	-	-	64	64	64	64	128	128	64	64	32	64	<0.25	<0.25

A: *E.coli* ATCC 25922, B: *E.coli* izolat (ESBL), C: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, D: *P.aeruginosa* izolat, E: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, F: *S.aureus* izolat (MRSA), G: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, H: *E.faecalis* izolat (VRE), I: *Candida albicans* ATCC 10231, J: *C.krusei* ATCC 6258, K: *M. tuberculosis* H37RV ATCC 27294, L: *M. tuberculosis* izolat

Sentezlenen bileşikler; *Escherichia coli* ATCC 25922, *E.coli* izolat (ESBL), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *P.aeruginosa* izolat, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *S.aureus* izolat, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *E. faecalis* izolat, *Candida albicans*, ATCC 10231, *Candida krusei* ATCC 6258, *Mycobacterium tuberculosis* H37RV ATCC 27294 ve *M. tuberculosis* izolatına karşı etkinlikleri açısından incelenmiştir. Referans olarak ampisilin, gentamisin, ofloksasin, flukonazol, amfoterisin B ve izoniazit kullanılmıştır.

Antibakteriyel aktivite sonuçlarına göre; bileşiklerin çalışmamızda kullanılan Gram-negatif bakterilere, ayrıca Gram-pozitif bakterilerden *E. faecalis* ve izolatına karşı 64 µg/ml'lik MİK değeri ile etkili olduğu belirlenmiştir. Gram-pozitif bakterilerden *S. aureus* ve onun izolatına karşı 3(2*H*)-piridazinon halkası taşıyan türevlerin (Bileşik 1-6) 64 µg/ml'lik, 1(2*H*)-fitalazinon halkası taşıyan türevlerin ise (Bileşik 7-12) 128 µg/ml'lik konsantrasyonda etkili oldukları tespit edilmiştir.

Antimikobakteriyel aktiviteleri bakımından, tüm bileşiklerin *M. tuberculosis*'e karşı 32 µg/ml MİK değeri ile *M. Tuberculosis* izolatına karşı ise 8-32 µg/ml arasında değişen MİK değerleri ile etki gösterdikleri bulunmuştur. Bileşik 7 ve bileşik 8 *M.Tuberculosis* izolatına karşı 8 µg/ml'lik MİK değeri ile en etkili türevlerdir. Her iki bileşikte 1(2*H*)-fitalazinon türevi olup, bileşik 7 yan zincirde tiyazole bağlı nonsüstitüe fenil halkası taşıırken, bileşik 8 yan zincirde tiyazole bağlı fenil halkasının para konumunda metil grubu taşır.

Bileşiklerin antifungal aktiviteleri değerlendirildiğinde, tüm bileşiklerin *C. albicans*'a karşı 32 µg/ml'lik konsantrasyonda etkili oldukları, *C. krusei*'ye karşı 3(2*H*)-piridazinon halkası taşıyan türevlerin (Bileşik 1-6) 32 µg/ml'lik konsantrasyonda, 1(2*H*)-fitalazinon halkası taşıyan türevlerin ise (Bileşik 7-12) 64 µg/ml'lik konsantrasyonda etkili oldukları belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında, çalışmamızda kullanılan hem Gram-negatif hem de Gram-pozitif bakterilerin test edilen bileşiklere karşı dikkate değer bir duyarlılığı tespit edilmemiştir. Fakat *M.Tuberculosis*'ın ve özellikle izolatının bileşiklere karşı daha duyarlı oldukları belirlenmiştir. Başka bir deyişle, bileşiklerin genel olarak *M.Tuberculosis*'e, onun izolatına ve funguslara karşı Gram bakterilere oranla daha etkili olduklarını söyleyebiliriz.

Çalışmamızın bundan sonraki aşamasında, 3(2*H*)-piridazinon, 1(2*H*)-fitalazinon ve yan zincirde tiyazole bağlı fenil halkası üzerinde farklı sübstitüentler taşıyan türevlerin sentez edilmesi ve bu türevlerin antimikobakteriyel ve antifungal etkilerinin değerlendirilmesi planlanmaktadır.

6. ÖZET

Çalışmamızda 3(2*H*)-piridazinon ve 1(2*H*)-fitalazinon halkalarının 2. konumlarında *N'*-(4-sübstitüefenil-1,3-tiyazol-2-il)asetohidrazit yapısı taşıyan oniki yeni bileşiğin sentezi yapıldı ve yapıları ¹H-NMR, IR, Mass ve elementel analiz verileri ile kanıtlandı. Daha sonra, bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri çeşitli Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteri türlerine, funguslara ve *M. Tuberculosis* H37Rv' e karşı değerlendirildi.

Elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında, genel olarak bileşiklerin *M. Tuberculosis*'e, onun izolatına ve funguslara karşı Gram bakterilere oranla daha etkili olduklarını söyleyebiliriz.

Ayrıca 1(2*H*)-fitalazinon türevi bileşik 7 ve 8'in 8 µg/ml'lik MİK değeri ile *M. Tuberculosis* izolatına karşı en etkili bileşikler oldukları tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: 3(2*H*)-piridazinon, 1(2*H*)-fitalazinon, tiyazol, antimikrobiyal aktivite.

7. SUMMARY

In this study, twelve new compounds carrying *N'*-(4-substitutedphenyl-1,3-thiazole-2-yl)acetohydrazide structure at position 2 of 3(2*H*)-pyridazinone and 1(2*H*)-phthalazinone rings were synthesized and their structures were confirmed by ¹H-NMR, IR, Mass and elemental analysis. After that, their antimicrobial activities were evaluated various Gram-positive and Gram-negative strains of bacteria, fungi and *M. Tuberculosis* H37Rv.

As obtained results, we might say that the compounds were generally more active against *M. Tuberculosis*, its isolate and fungi than Gram bacteria.

Moreover, compound 7 and compound 8, which are 1(2*H*)-phthalazinone derivatives, were the most active compounds against *M. Tuberculosis* isolate.

Key Words: 3(2*H*)-pyridazinone, 1(2*H*)-phthalazinone, thiazole, antimicrobial activity.

8. KAYNAKLAR

1. Grare M, Mourer M, Fonyanay S, Regnouf-de-Vains JB. In vitro activity of para guanidinoethylcalix[4]arene against susceptible and antibiotic-resistant Gram-negative and Gram-positive bacteria. J Antimicrob Chemother 2007;60: 575-581.
2. <http://celalkarlikaya.trakya.edu.tr/Tüberküloz Ders Notları>
3. http://www.who.int/tb/publications/2011/mdr_report_2011/en/index.html.
4. Williams AD, Lemke TL, Editors. Foye's Principles of Medicinal Chemistry. 5th. USA: Lippincott Williams and Wilkins; 2002.
5. Ghannoum MA, Rice LB. Antifungal Agents: Mode of Action, Mechanisms of Resistance, and Correlation of These Mechanisms with Bacterial Resistance. Clinical Microbiology Reviews 1999; 12(4): 501–517.
6. Perea S, Patterson TF, Antifungal Resistance in Pathogenic Fungi, Antimicrobial Resistance, 2002; 35: 1073-1080.
7. Kandi NG, Mohamed MI, Zaky HT, Mohamed MS. A New Pyridazine Derivatives. Effects on a Biological System. Tinctoria 1996; 93(3): 4049.
8. Purohit DM, Shah VH. Novel Method of Synthesis and Antimicrobial Evaluation of 2-Aroyl-6-hydroxy/chloro/hydrazino/carboxymethoxy-3(2H)-pyridazinones. Heterocycl Commun 1997; 3(3): 267-271.
9. Kassem EM, Kamel MM, El-Zahar M. New 1(2H)-Phthalazinones with Potential Antimicrobial Activity. Pharmazie 1990; 45: 215-216.
10. El-Tamaty ESH, Abdel-Fattah ME, El-Deen IM. Synthesis and Biological Activity of Some 4-Benzyl-1(2H)-Phthalazinone Derivatives Indian J Chem 1996, 35B, 1067-1072.
11. Balladka KS, Bettadapura GK, Chenna GD, Basavapattana RB, Hanumanthappa. Synthesis, Characterization, *In Vitro* and Molecular Docking Studies of New 2,5-Dichloro Thienyl Substituted Thiazole Derivatives for Antimicrobial Properties. Eur J Med Chem 2010; 45: 3490-3496.
12. Bharti SK, Nath G, Tilak R, Singh SK. Synthesis, Anti-Bacterial and Anti-Fungal Activities of Some Novel Schiff Bases Containing 2,4-Disubstituted Thiazole Ring. Eur J Med Chem 2010; 45: 651-660

13. Liaras K, Geronikaki A, Glamoclija J, Ciric A, Sokovic A. Thiazole-Based Chalcone As Potent Antimicrobial Agents. Synthesis and Biological Evaluation. Bioorg & Med Chem 2011; 19: 3235-3140.
14. Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 11. Baskı. Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd Şti; 2005.
15. Akgün H, Çalış Ü, Balkan A, Dalkara S, Bilgin A, Erdoğan H, Erol D, Ertan M, Özkanlı F, Palaska E, Saraç S, Şafak C. Farmasötik Kimya. 1. Baskı. Ankara: Irmak Matbaası; 2000.
16. Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel RM. Tıbbi Mikrobiyoloji. Küçükler MA, Tümbay E, Anç Ö, Erturan Z(Çev), 9. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti; 2002.
17. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. Mikrobiyoloji. 4.baskı. İzmir: Asya Tıp Kitabevi; 2005.
18. Matrai E. Infrared Spectroscopic Studies on Polarity and Tautomerism of 3(2*H*)-Pyridazinone Derivatives. J Mol Struct 1997; 467-472.
19. Overend WG, Turton LM, Wiggins LF ve ark. The Conversion of Sucrose into Pyridazine Derivatives. Part X. The Properties and Structure of 3-Methyl-6-pyridazone, 1:3-Dimethyl-6-pyridazone and Some Derivatives of Pyridazine. J Chem Soc 1950: 3500-3505.
20. Tisler M, Stanovnik B. Pyridazines. In: Katritzky AR, Boulton AJ, editörler. Advances in Heterocyclic Chemistry Vol. 9, Academic Press, New York (1968).
21. Castel RN. Pyridazines, Weissberger A, Taylor EC, editörler. The Chemistry of Heterocyclic Compounds Vol. 28, John Wiley and Sons, New York (1973).
22. Albert A, Phillips JN. Ionization Constants of Heterocyclic Substances. Part II. Hydroxy-derivatives of Nitrogenous Six-membered Ring compounds. J Chem Soc 1956: 1294-1304.
23. Steck E, Brundage RP, Fletcher LT. Pyridazine Derivatives. I. Some Amebocidal 3-Pyridazones. J Am Chem Soc 1953; 75: 1117-1119.
24. Pechmann HV. Ueber Dicrotonsäure. Chem Ber 1900; 33: 3323-3341.
25. Machemer H. Umwandlung von γ -Ketosaure-estern in Pyridazine- und Pyrazolin Derivate. Chem Ber 1933; 66B: 1031-1033.

26. Santagati NA, Duro F, Caruso A, Trombadore S, Amico-Roxas M. Synthesis and Pharmacological Study of A Series of 3(2*H*)-pyridazinones as Analgesic and Antiinflammatory Agents. *IL Farmaco* 1985; 40(12): 921-929
27. Homer RF, Gregory H, Wiggins LF. The Conversion of Sucrose into Pyridazine Derivatives. Part III. Constitutional Studies on the Products of Chlorination of 2,6-Dimethyl-3-pyridazone. *J Chem Soc* 1948: 2191-2194.
28. Mowry DT. Moco-chloric Acid II. Reactions of the Aldehyde Group. *J Am Chem Soc* 1953; 75: 1909-1910.
29. Dury K. Neue Wege in der Chemie der Pyridazone. *Angew Chem* 1965; 77: 282-290.
30. Kuraishi T. 4,5-Disubstituted Pyridazines. I *Pharm Bull* 1956; 4: 497-499.
31. Cho SD, Chung JW, Choi WY, Kim SY, Yoon YJ. Synthesis of Novel Pyridazine Acyl-nucleosides. *J Het Chem* 1994; 31: 1199-1208.
32. Wermuth CG, Schlewer G, Bourguignon JJ, Maghioros G, Bouchet MJ, Moire C, Kan JP, Worms P, Biziere K. 3-Aminopyridazine Derivatives with Atypical Antidepressant, Serotonergic and Dopaminergic Activities. *J Med Chem* 1989; 32: 528-537
33. Coudert P, Couquelet J, Tronche P. A New Synthesis Route to 4, 6-pyridazinones and Some of Their Derivatives. *J Het Chem* 1988; 25: 799-802.
34. Ravina E, Teran C, Santana L, Garcia N, Estevez I. Pyridazine Derivatives, IX. Synthesis of 2*H*-Pyridazin-3-ones with Arylpiperazinyl Groups. *Hetero* 1990; 31(11): 1967-1974.
35. Schmidt P, Druey J. Heilmittelchemische Studien in der Heterocyclischen Reihe. Pyridazine VII. Zur neuen Pyridazine-Synthese. Methylpyridazine. *Helv Chim Acta* 1954; 37: 1467-1471.
36. Schmidt P, Druey J. Pyridazine II. Eine neue Pyridazinsynthese. *Helv Chim Acta* 1954; 37: 134-140.
37. Jucker E, Suess R. Darstellung Basisch Substituierter Pyridaz-6-one. *Hel Chim Acta* 1959; 42: 2509-2514.

38. Jolivet S, Toupet L, Texier-Boullet F, Hamelin J. Unusual and Stereoselective Ring Closure of Unsaturated Monohydrazones with β -Ketoesters in a Solvent-Free Reaction. *Tetra Lett* 1996; 52(16): 5819-5832.
39. Buchman R, Scozzie JA, Ariyan ZS, Heilman RD, Rippin DJ, Pyne WJ, Powers LJ. Antihypertensive 5,6-Diarilpyridazin-3-ones. *J Med Chem* 1980; 23(12): 1398-1405.
40. Sircar I, Weishaar RE, Kobylarz D, Moos WH, Bristol JA. Cardiotonic Agents. 7. Inhibition of Separated Forms of cyclic Nucleotide Phosphodiesterase From Guinea Pig Cardiac Muscle by 4,5-Dihydro-6[4-(1H-imidazol-1-yl)phenyl]-3(2H)-pyridazinones and Related Compounds. Structure-Activity Relationships and Correlation with in Vivo Positive Inotropic Activity. *J Med Chem* 1987; 30(11): 1955-1962.
41. Croosland I. The Conjugate Addition of *tert*-Butylmagnesium Chloride to 3,6-Disubstituted Pyridazines. *Acta Chem Scand* 1962; 16(8): 1877-1881.
42. Lintholter S, Kristensen AA, Rosenorn R, Nielsen SE, Kaaber H. The Preparation of some 3,6-Disubstituted 4-methylpyridazine. *Acta Chem Scand* 1961; 15: 1660-1666.
43. Maki Y, Obata K. Ring-Contraction from Pyridazinone Derivatives to Pyrazolone Derivatives. *Chem Pharm Bull* 1964; 12(2): 176-182.
44. Rohet F, Rubat C, Coudert P, Albuisson E, Couquelet J. Synthesis and Trazodone-like Analgesic Activity of 4-Phenyl-6-aryl-2-[3-(4-arylpiperazin-1-yl)pyridazin-3-ones. *Chem Pharm Bull* 1996; 44(5): 980-986.
45. King JA, Mcmillan FH. The Preparation of Some Pyridazonyl Acids. *J Am Chem Soc* 1952; 74: 3222-3224.
46. Matyus P, Kasztreiner E, Makk N, Diesler E, Czako K, Rabloczky G, Jaszlist L, Horvath E, Cseh G, Horvath E, Aranyi P. Synthesis, Antihypertensive and α -Adrenoreceptor Activity of Novel 2-aminoalkyl-3(2H)-pyridazinones. *Eur J Med Chem* 1992; 27: 107-114.
47. Castanier L, Rubat C, Coudert P, Albuisson E, Chopineau J, Couquelet J. Synthesis of New Serotonergic 2-Substituted 4,6-

- diaryl Pyridazin-3-ones. *Arzneim-Forsch/Drug Res* 1995; 45(II): 947-951.
48. Nitta Y, Yoneda F, Ohtaka T, Kato T. Synthese der Derivate des 6-Phenyl-3(2*H*)-pyridazinons. *Chem Pharm Bull* 1964; 12(1): 69-73.
 49. Nakagome T, Misaki A, Murano A. Synthesis of Pyridazine Derivatives. XIV. On the Methylation of 4-Amino-3(2*H*)-pyridazinone Derivatives. *Chem Pharm Bull* 1966; 14(10): 1090-1096.
 50. Feuer H, Harmertz R. The Chemistry of Maleic Hydrazide II. The Course of the Michael-type Addition. *J Am Chem Soc* 1958; 80: 5877-5880.
 51. Sayed AA, Jahine H, Zaher HA, Sherif O. Some More Reactions of 3(2*H*)-pyridazinones. *Indian J Chem* 1975; 13: 1142-1144.
 52. Rubat C, Coudert P, Tronche P, Bastide J, Bastide P, Privat AM. Synthesis and Pharmacological Evaluation of N-Substituted 4,6-Diaryl-3-pyridazinones as Analgesic, Antiinflammatory and Antipyretic Agenst. *Chem Pharm Bull* 1989; 37(10): 2832-3835.
 53. Nannini G, Biasoli G, Perrone E, Forgione A, Buttinoni A, Ferrari M. Synthesis and Pharmacological Activity of Some 5,6,-Diphenyl pyridazines. *Eur J Med Chem – Chim Ther* 1979; 14(1): 53-60.
 54. Steiner G, Gries J, Lenke D. Synthesis and Antihypertensive Activity of New 6-Heteroaryl-3-hydrazinopyridazine Derivatives. *J Med Chem* 1981; 24: 59-63.
 55. Castle RN, Kaji K. The Synthesis of Substituted Pyridazines. *J Het Chem* 1965; 2: 463-472.
 56. Mason JW, Salisbury RG. Studies in the Diazine System II. A New Synthesis of 1-Alkyl-6(1*H*)-pyridazinones. *J Het Chem* 1968; 5: 555-557.
 57. Coelho A, Sotelo E, Ravina E. Pyridazine derivatives Part 33: Sonogashira approaches in the synthesis of 5-substituted-6-phenyl-3(2*H*)-pyridazinones. *Tetra Lett* 2003; 59(14): 2477–2484.
 58. Bert UVM, Omar R, Janez K, Guy LFL, Eddy E, Jef R, Roger AD, Achiel H. Suzuki Reactions On Chloropyridazinones: An Easy Approach Towards Arylated 3(2*H*)-pyridazinones. *Tetra Lett* 2001;57: 1323-1330

59. Yamada T, Shimamura H, Tsukamoto Y, Yamaguchi A, Ohki M. Pyridazinones. 3. Synthesis, Antisecretory and Antiulcer Activities of 2-Cyanoguanidine Derivatives. *J Med Chem* 1983; 26: 1144-1149.
60. Yanai M, Takeda S, Nishikawa M. A New Alkylation of Pyridazines with Nitromethane and Nitroethane. *Chem Pharm Bull* 1977; 25(8): 1856-1861.
61. Takaya M, Sato M, Terashima K, Tanizawa H. A New Nonsteroidal Analgesic-Anti-inflammatory Agent. Synthesis and Activity of 4-Ethoxy-2-methyl-5-morpholino-3(2*H*)-pyridazinone and Related Compounds. *J Med Chem* 1979; 22(1): 53-58.
62. Dal Piaz V, Giovannoni MP, Cicicani G, Barlocco D, Giardina G, Petrone G, Clarke GD. 4,5-Functionalized 6-Phenyl-3(2*H*)-pyridazinones: Synthesis and Evaluation of Antinociceptive Activity. *Eur J Med Chem* 1996; 31: 65-70.
63. Coudert P, Albusson E, Boire JY, Duroux E, Bastide P, Cougelet J. Synthesis of Pyridazine Acetic Acid Derivatives Possessing Aldose Reductase Inhibitory Activity and Antioxidant Properties. *Eur J Med Chem* 1994; 29: 471-477
64. Matsukado M, Tanikawa K, Shikada K, Sakoda R. 5-(Benzylamino)-4-halo-3(2*H*)-pyridazinones, Their Preparation and Antiallergic Pharmaceuticals Containing Them, *Eur. Pat. Appl.* EP 201, 765 (Cl, C07D237/14), 20 Nov 1986, *Jp Appl.* 85/91, 612, 27 Apr 1985; 56 pp, C.A., 106, 143986u, 1987.
65. Corsano S, Strappaghetti G, Scapicchi R, Scalise O. Synthesis and Bronchospasmolytic Properties of Some Pyridazinone Derivatives. *Bioorganic & Med Chem Lett* 1993; 3(12): 2713-2716.
66. Sumitomo Chemical Co. Ltd.: 4-Sulfanilamido-3(2*H*)-pyridazinones, Belg. 649,968, Nov. Japan Appl. July 1 and 3, 1963; 26 pp, C.A., 63, 11581f, 1965.
67. Shozo K, Akitada N, Takanobu I, Kimie K, Genzo O. The Mannich Reaction of Malcic Hydrazide and Related Compounds. *Yakugaku Zasshi* 1966; 86(11): 1099-1104.
68. Kaji K. 2-Phenyl-4,5-bis(dihalobenzylthio)-3-pyridazinones as Antitubercular Drugs, Japan 69 08,858 (Cl. 16E 463), 24 Apr 1969, Appl. 21 Oct 1966 2pp, C.A., 71, 30486w, 1969.

69. Zikan V, Semonsky M. Compounds with Antineoplastic Action. XVIII. Some 4-Substituted 3-(p-methoxyphenyl)-6-pyridazinones. Collect Czech Chem Commun 1967; 32(6): 2374-2377.
70. Marui S, Aso K, Yamaoka M, Ikeyama S. Antitumor Agents, Novel 3(2H)-pyridazinone Derivatives and Their Preparation. Eur Pat Appl EP 665,223 (Cl. C07D237/16), 02 Aug 1995 Jp. Appl. 94/8,855, 28 Jan 1994; 99pp, C.A., 123, 340167e, 1995.
71. Castle RN. Condensed Pyridazines Including Cinnolines and Phthalazines. In: Weissberger A, Taylor EC, The Chemistry of Heterocyclic Compounds. New York: John Wiley and Sons; 1973. p. 376-392
72. Elderfield RC. Heterocyclic Compounds Vol.6, John Wiley and Sons, New York; 1957.
73. Albert A, Phillips JN. Ionization Constants of Heterocyclic Substances. II. Hydroxy-Derivatives of Nitrogenous Six-Membered Ring-Compounds. J Chem Soc 1956; 1294-1304.
74. Sheinker YN, Pomerantsev YI. Tautomerism of Derivatives of Heterocyclic Compounds. IX. Salt Structure of Heterocyclic Hydroxy Derivatives. Zhur Fizich Khim 1959; 33: 1819-1828.
75. Mason SF. The Tautomerism of N-Heteroaromatic Hydroxy-Compounds. J Chem Soc 1957; 4874-4880.
76. Albert A, Barlin GB. Ionization Constants of Heterocyclic Substances. V. Mercapto Derivatives of Diazines and Benzodiazines. J Chem Soc 1962; 3129-3141.
77. Biniecki S, Gutkowska BN. Hydrazinophthalazine and Thiocyanatophthalazine. Acta Poloniae Pharmac 1955; 11: 27-30.
78. Musante C, Fabbrini L. Derivatives of Isonicotinic Acid. Synthetic Antituberculous Agents. Farmaco 1953; 8: 264-274.
79. Foldeak S, Puodziunas A, Daugirdiene D, Puodziuniene I, Kost AN. Phthalazine and Related Heterocycles. IX. Derivatives of Phthalazon-4-yl-1-acetic acid. Khim -Farma Zhur 1969; 3(12): 5-8.
80. Knott EB. Isochroman-1,4-dione and Some of Its Reactions. J Chem Soc 1963; 402-410.
81. Vanags G, Matskanova MA. Reaction of Hydrazine Hydrate with 2-Nitroindan-1,3-dione. Zhur Obsh Khim 1956; 26: 1963-1968.

82. Atkinson CM, Brown CW, Simpson JCE. Reactions In The Phthalazine Series. J Chem Soc 1956: 1081-1083.
83. Kanahara S. Studies on Phthalazines and Related Compounds. 8. Nitration of 1(2*H*)-Phthalazones. J Pharma Soc Jap 1964; 84: 483-489.
84. Mustafa A, Asker W, Harhash AH, Kassab NAL, Elnagdi MH. Reactions with 4-substituted Isoxazolin-5-ones-II. Tetra Lett 1964; 20(5): 1133-1140.
85. Hirsch A, Orphanos DG. The Action of Organolithium Compounds on Phthalazine and 1(2*H*)-Phthalazinone. J Het Chem 1966; 3(1): 38-41.
86. Coelho A, Sotelo E, Fraiz N, Yanez M, Laguna R, Canob E, Ravina E. Pyridazines. Part 36: Synthesis and Antiplatelet Activity Of 5-Substituted 6-Phenyl-3(2*H*)-Pyridazinones. Bioorg Med Chem Lett 2004; 14: 321-324.
87. Demirayak Ş, Karaburun AC, Beis R. Some Pyrrole Substituted Aryl Pyridazinone and Phthalazinone Derivatives and Their Antihypertensive Activities. Eur J Med Chem 2004; 39(12): 1089-1095.
88. Dogruer DS, Küpeli E, Yeşilada E, Şahin MF. Synthesis of New 2-[1(2*H*)-Phthalazinon-2-yl]-acetamide and 3-[1(2*H*)-Phthalazinon-2-yl]-propanamide Derivatives as Antinociceptive and Anti-inflammatory Agents. Arch Pharm Pharmm Med Chem 2004; 337: 303-310.
89. Mosaad SM, Mohamed IH, Nageh AAT, Sherifa MH, Goudah A. Synthesis and anti-inflammatory evaluation of some consensed [4-(3,4-dimethylfenil)-1(2*H*)-okso-phthalazin-2-yl]acetic acid hydrazide. Eur J Med Chem 2010; 45: 1267-1277.
90. Kassim EM, Abd-El-Nour KN, El-Diwany AI, Abou-Aiad TH. Synthesis and Relation Between The Antimicrobial activity and Dipole Moment of Some Phthalazinone Derivatives. Ind J Chem 1996; 35B(7): 692-696.
91. Mohammed FK. . Synthesis, Reactions and Antimicrobial Activity on Some Novel Phthalazinones Deriatives. Der Chem Sin 2010; 1(1): 20-31.

92. Ajjanna MS, Kallam RVR, Jathi K, Palusa SKM, Et Al. Synthesis and Antimicrobial Activity af 2-Substituted [4-(1,3,4-oxadiazol-2-yl-methyl)]phthalazin-1(2*H*)-one Derivatives. Eur J Med Chem 2010; 45: 4983-4989.
93. Samar AA, Rafika RK, Aisha HA, Haya AA. Synthesis and Reactions af Some Novel 4-Biphenyl-4(2*H*)-Phthalazin-1-One Derivatives With An Expected Antimicrobial Activity. J Saudi Chem Soc 2011; 15: 59-65.
94. Shulan Z, Yanfag Z, Yajing L, Dong C, Weihuan L, Qiaoling Z, Chengcheng D, Lin X, Ping G. Synthesis and Antitumor Activities af Novel 1,4-Disubstituted Phthalazine Derivatives. Eur J Med Chem 2010; 45: 3504-3510.
95. Madhavan GR, Chakrabarti R, Kumar SKB, Et Al. Novel Phthalazinone and Benzoxazinone Containing Thiazolidinediones As Antidiabetic and Hypolipidemic Agents. Eur J Med Chem 2001; 36(7-8): 627-637.
96. Kikelj D, Urleb U. Thiazoles. Scie of Synth 2002; 11: 627-833.
97. Mogilaiah K, Reddy NV, Reddy GR. An Efficient and Novel Method for the Synthesis of β -Aroylpropionic Acids Under Solvent-Free Conditions. Syn Commu 2003; 33(18): 3109-3113.
98. Kane JM, Huber EW, Miller FP, Kehne JH. Synthesis and pharmacology of 3-Aryl-5,6-Dihidro-6-Oxo-1(4*H*)-Pyridazine Acetic Acid Derivatives. Pharmazie 1990; 47: 249-251.
99. Edgar AS, Brundage RP, Fletcher LT. Pyridazine Derivatives. 1. Some Amebacidal 3-Pyridazones. Contribution From The Sterling-Winthrop Research Institue 1953. Vol 25. p. 1117-1119.
100. Yoshihiro N, Fumio Y, Takayuki O, Toshio K. Synthese der derivatives des 6-Phenyl-3(2*H*)-Pyridazinones. Chem Pharm Bull 1964; 12: 69
101. King JA. Hydrazides of Pyridazonyl-Substituted alkanoic acids. US 2832780, 1958.
102. Abd El-Baset Hassanien AZ. Phthalazinone In Heterocyclic Synthesis: Synthesis of Some S- Triazole, S-Triazolothiadiazine, S-Triazolothiadiazine, And S-Triazolothiadiazole Derivatives As Pharmaceutical Interest. From Phosphorus, Sulfur and Silicon and the Related Elements 2003; 178(9): 1987-1997.

103. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (formerly NCCLS), Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 6th Informational Supplement. CLSI M100-S16, Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Wayne, Pennsylvania, USA, 2006.
104. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (formerly NCCLS), Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeast Approved Standard, M27-A, Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Wayne, Pennsylvania, USA, 2006.
105. Scott G, Franzblau RS, Witzig JC, McLaughlin PT, Guillermo M, et al. Rapid, Low-Technology MIC Determination with Clinical *Mycobacterium tuberculosis* Isolates by Using the Microplate Alamar Blue Assay. J. Clinical Microbiology, 1998; 36(2): 362–366.
106. Dogruer DS, Onkol T, Ozkan S, Ozgen S, Sahin MF. Synthesis and Antimicrobial Activity of Some 3(2H)-Pyridazinone and 1(2H)-Phthalazinone Derivatives. Turkish J of Chem 2008; 32(4): 469-479.
107. Dimmrock JR, Patil SA, Sardessai MS, Mazurek M. Anticonvulsant Evaluation of Some 3-Oxo and 3-Thiosemicarbazono Analogues of 1-Aryl-1-ethylthio-nonanes and Related Coumpounds. Pharmazie 1987; 42: 111-113.

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı : Cem
Soyadı : Yamalı
Doğum Yeri ve Tarihi : Ankara 1986
Eğitimi : Kırıkkale Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakültesi
Kimya Bölümü
(2005-2009)
Sincan Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi
(2000-2004)

Yabancı Dili : İngilizce

TEŐEKKÖR

Tez çalışmamız süresince hem kimyaya dair hem de hayata dair dersler aldığım, sabrı, özverisi ve iyi niyeti ile her daim yol gösterici olan çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Deniz Songöl Doğruer'e,

Yüksek lisans çalışmalarıma gerekli olanağı sağladığı için Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Tuncel ÖZDEN'e,

Yardımlarını, desteklerini ve bilgilerini esirgemeyen değerli hocalarıma ve arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.