



**TİYOFENLİ SCHIFF BAZI TÜREVLERİNİN
DFT ÇALIŞMASI VE ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTELERİ**

Ela ESMER DEMİR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
İLERİ TEKNOLOJİLER ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

EKİM 201

Ela ESMER DEMİR tarafından hazırlanan “TİYOFENLİ SCHİFF BAZI TÜREVLERİNİN DFT ÇALIŞMASI VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi İLERİ TEKNOLOJİLER Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Nevin SÜLEYMANOĞLU

Elektrik ve Enerji Teknolojileri Bölümü, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

İkinci Danışman: Doç. Dr. Şahin DİREKEL

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Giresun Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Başkan: Prof. Dr. Sema BİLGE OCAK

Elektrik ve Enerji Teknolojileri Bölümü, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Doç. Dr. Nurgül SEFEROĞLU

İleri Teknolojiler Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Doç. Dr. Ebru KONDOLOT SOLAK

Malzeme ve Malzeme İşleme Teknolojileri Bölümü, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Tez Savunma Tarihi : 22.10.2019

Jüri tarafından kabul edilen bu çalışmanın Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Ela ESMER DEMİR

22/10/2019

TİYOFENLİ SCHİFF BAZI TÜREVLERİNİN DFT ÇALIŞMASI VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Ela ESMER DEMİR

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ekim 2019

ÖZET

Bu tezin amacı; yeni sentezlenmiş amorf yapıdaki tiyofenli Schiff bazı türevlerinin yapısal parametrelerini, IR ve NMR spektral verilerini, Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi (DFT) yöntemi ile belirlemek, antibakteriyel ve antifungal özelliklerini seçilen 15 bakteri ve 4 mantar izolatu için in vitro olarak test etmektir. Schiff bazları analjezik, antifungal, antibakteriyel, antidepresan, antikanser, antikonvülsan ve antiinflamatuvar gibi önemli biyolojik özelliklere sahiptir. Bu özellikleri nedeniyle; yeni sentezlenmiş tiyofenli Schiff bazı türevlerinin toplum sağlığı için tehdit oluşturabilecek, seçilen 15 bakteri ve 4 mantar izolatına karşı etkinliği, Alamar mavisi eklenmiş mikrodilüsyon sıvı besiyeri yöntemi ile test edilmiştir. Testlerde, in vitro antimikrobiyal aktivite, Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) değerleri kullanılarak belirlenmiştir. Yeni sentezlenmiş ve yapısı spektroskopik yöntemler (IR, NMR) ile aydınlatılmış amorf formdaki tiyofenli Schiff bazı türevlerinin yapısal parametreleri ve bazı spektroskopik verileri Gaussian 09 paket programı kullanılarak; DFT yöntemi ile elde edilmiştir. DFT/B3LYP/6-311++G(d,p) yöntemi kullanılarak moleküllerin bağ açıları, bağ uzunlukları, dihedral açıları, IR ve NMR spektral verileri hesaplanmış, IR ve NMR spektral verileri deneysel değerlerle karşılaştırılmıştır. Teorik çalışma ileride ilaç geliştirme çalışmalarında antimikrobiyal özellik gösteren bileşiklerin tanınması ve yapısal özelliklerinin ortaya konulması açısından oldukça önemli ve gereklidir. Bulgular, in vitro antimikrobiyal aktivite sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde; özellikle mevcut tedavi yöntemlerinde sıkça karşılaşılan, patojenlerin kullanılan ilaçlara direnç geliştirmesi, toksik ve yan etkilerin yarattığı sağlık sorunları nedeniyle, güvenli, toksik olmayan ve yan etkileri oldukça düşük yeni veya alternatif ilaç geliştirmek için yapılan çalışmalara önemli bir katkı sağlanacaktır.

Bilim Kodu : 20203

Anahtar Kelimeler : Tiyofenli Schiff Bazı Türevleri, DFT, Antimikrobiyal Aktivite

Sayfa Adedi : 55

Danışman : Doç. Dr. Nevin SÜLEYMANOĞLU

İkinci Danışman : Doç. Dr. Şahin DİREKEL

DFT STUDY AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF SCHIFF BASES DERIVATES
WITH THIOPHENE
(M. Sc. Thesis)

Ela ESMER DEMİR

GAZİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

October 2019

ABSTRACT

The aim of this thesis is to determine using Density Functional Theory (DFT) method the structural parameters, IR and NMR spectral data of the newly synthesized Schiff base derivatives with thiophene and to test their antibacterial and antifungal properties against to the selected 15 bacteria and 4 fungi isolates. Schiff bases have important biological properties such as analgesic, antifungal, antibacterial, antidepressant, anticancer, anticonvulsant and antiinflammatory. Due to these features; in this study, the in vitro antimicrobial activities of newly synthesized Schiff base derivatives were tested against the selected 15 bacteria and 4 fungal isolates, which could pose a threat to the public health, by Microdilution broth assay with Alamar blue. In the tests, in vitro antimicrobial activity was determined by using the minimum inhibitory concentration (MIC) values. The structural parameters, IR and NMR spectral data of Schiff base derivatives in amorph form, to be newly synthesized and identified by spectroscopic methods (IR, NMR), were obtained by DFT method using the Gaussian 09 package program. The bond angle, bond lengths, dihedral angles, IR and NMR spectral data of the molecules were calculated by the DFT/B3LYP / 6-311 ++ G (d, p) method and theoretical spectral data were compared with the experimental ones. The theoretical study is very important and necessary for the identification of the antimicrobial agents and their structural properties. When the findings are evaluated together with the antimicrobial activity results; frequently encountered in the current treatment methods, because of the development of resistance to the drugs and the health problems caused by the toxic and side effects, a significant contribution will be provided to the studies conducted to develop new or alternative drugs that are safe, non-toxic and with low side effects.

Science Code : 20203
Key Words : Schiff Base Derivates With Thiophenes, DFT, Antimicrobial Activity
Page Number : 55
Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Nevin SÜLEYMANOĞLU
Co Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Şahin DİREKEL

TEŞEKKÜR

Bu çalışma boyunca bana her türlü yardımda bulunan, bilgi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren çok değerli hocam Doç. Dr. Nevin SÜLEYMANOĞLU'na (Gazi Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu) sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmam sırasında karşılaştığım zorlukların çözümlenmesinde, akademik alanda olduğu kadar beşeri ilişkilerde de fikirlerini paylaşarak, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirilen deneysel çalışmalarım sırasında yardımını hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Şahin DİREKEL'e (Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi) çok teşekkür ederim. Tez çalışmasında kullanılan Schiff bazlarının sentezi ve karakterizasyonu, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi Kimya bölümü, Organik Kimya araştırma laboratuvarında Prof. Dr. Yasemin ÜNVER tarafından (Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü) gerçekleştirilmiştir. Değerli hocam Prof. Dr. Yasemin ÜNVER'e teşekkürlerimi sunarım. DFT hesaplamaları Tübitak Ulakbim Yüksek Başarılı ve Grid hesaplama merkezinden destek alınarak ve Truba kaynakları kullanılarak yapılmıştır. Çalışmam için bu değerli katkılarından dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederim. Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 65/2019-04 kodu ile desteklenmiştir

Her koşulda ilerlemem için bana gereken motivasyon ve hayat görüşünü aşıl原因an değerli büyüklerim Asım ACAR ve Tansu HALICI'ya, her zaman yanımda olan ve bana güvenen babam Arif ESMER, annem Gülhanım ESMER ve ablam Emel ORUNLU'ya ve çalışmalarım süresince birçok fedakârlıkta bulunarak beni her zaman destekleyen sevgili eşim Recep Ali DEMİR'e sonsuz teşekkürlerim sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	vii
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Schiff Bazları	5
2.1.1. Schiff bazlarının eldesi.....	6
2.2. Moleküler Modelleme	7
2.2.1. Hartree-Fock yöntemi	8
2.2.2. Yoğunluk fonksiyoneli teorisi	9
2.2.3. Becke, 3 Parametrelî, Lee-Yang-Parr (B3LYP) karma yoğunluk fonksiyoneli teorisi	10
2.2.4. Temel setler	11
2.3. Gaussian 09	12
2.3.1. Gauss View 5	12
2.4. Antimikrobiyal Aktivite Belirleme Yöntemleri	13
2.4.1. Dilüsyon yöntemi	13
2.4.2. Difüzyon yöntemi.....	15
2.4.3. Besiyeri.....	16
2.4.4. Minimum inhibitör Konsantrasyonu	18

	Sayfa
3. MATERYAL VE METOD	19
3.1. Tiyofenli Schiff Bazı Türevlerinin Sentezi ve Karakterizasyonu	19
3.2. Moleküler Modelleme	20
3.2.1. Geometri optimizasyonu	20
3.2.2. Spektral analiz	20
3.3. İn vitro Antimikrobiyal Aktivite	21
3.3.1. Araç ve gereçler	21
3.3.2. Test edilen bakteri ve mayalar.....	22
3.3.3. Besiyerlerinin hazırlanması.....	23
3.3.4. Bileşiklerin stok çözeltilerinin hazırlanması	24
3.3.5. Alamar mavisinin hazırlanması.....	24
3.3.6. Antimikrobiyal aktivite testi.....	25
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	29
4.1. Teorik Hesaplamalar	29
4.1.1. Geometri optimizasyonu	29
4.1.2. IR ve NMR hesaplamaları.....	34
4.2. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları.....	36
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	43
KAYNAKLAR	45
EKLER	51
Ek-1. Bileşik I ve Bileşik II'nin IR ve NMR Spektrumları	52
ÖZGEÇMİŞ	55

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. Bileşik I ve Bileşik II'nin DFT/B3LYP//6-311++G(d,p) yöntemi ile elde edilen bağ uzunlukları	31
Çizelge 4.2. Bileşik I'in DFT/B3LYP//6-311++G(d,p) yöntemi ile elde edilen bağ açıları.....	31
Çizelge 4.3. Bileşik II'nin DFT/B3LYP//6-311++G(d,p) yöntemi ile elde edilen bağ açıları.....	32
Çizelge 4.4. Bileşik I'in DFT/B3LYP//6-311++G(d,p) yöntemi ile elde edilen torsiyon açıları	33
Çizelge 4.5. Bileşik II'nin DFT/B3LYP//6-311++G(d,p) yöntemi ile elde edilen torsiyon açıları	33
Çizelge 4.6. Bileşik I ve Bileşik II'nin seçilmiş, deneysel ve hesaplanmış (ölçeklendirilmiş) titreşim frekansları.....	34
Çizelge 4.7. Bileşik I ve Bileşik II'nin DMSO- <i>d</i> ₆ içindeki deneysel ve DMSO çözücünde DFT/B3LYP/6-311G(d,p) yöntemiyle hesaplanmış, ¹ H ve ¹³ C izotropik kimyasal kaymaları	35
Çizelge 4.8. Bileşiklerin MİK değerleri.....	40

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. a) Piridin, b) quinazolinon, c) benzimidazolün molekül yapıları	3
Şekil 2.1. Schiff bazlarının eldesine ait reaksiyon denklemi	5
Şekil 2.2. Schiff bazlarının oluşum mekanizması.....	6
Şekil 2.3. Schiff bazlarının sentezi	7
Şekil 3.1. Tiyofenli Schiff bazı türevleri için sentez tepkimesi.....	20

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. Bileşik I'ın DFT/B3LYP/6-311G++(d,p) yöntemi ile optimize edilmiş moleküler yapısı	Hata
! Yer işareti tanımlanmamış.30	
Resim 4.2. Bileşik II'nin DFT/B3LYP/6-311G++(d,p) yöntemi ile optimize edilmiş moleküler yapısı	30
Resim 4.3. Bileşik I'ın test edilen standart bakteri ve maya izolatlarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri	38
Resim 4.4. Bileşik II'nin test edilen standart bakteri ve maya izolatlarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri	39

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklamalar

ρ

Elektron olasılık yoğunluğu

Kısaltmalar

Açıklamalar

DFT

Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi

E_J

Elektronların Birbirlerini İtmesinden Kaynaklanan Enerji

E_T

Kinetik Enerji

E_V

Potansiyel Enerji

E_{XC}

Arta Kalan Diğer Elektron-Elektron Etkileşimlerini

E_{xc}

Değiş-Tokuş Korelasyon Enerjisi

1. GİRİŞ

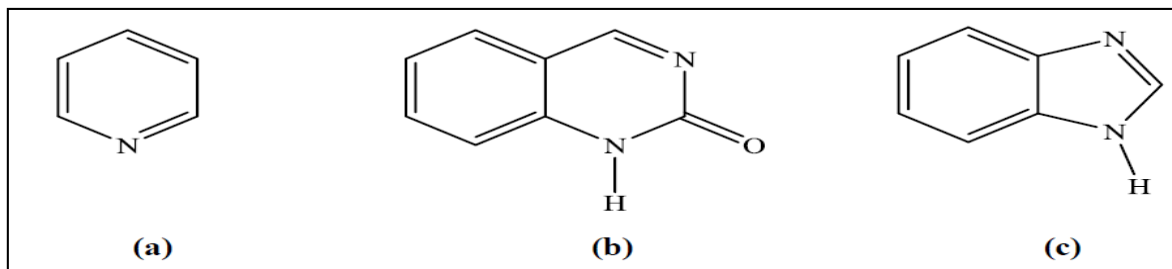
İnsan vücudu bakterilerin üremesi için gerekli olan sıcaklık, nem ve besin kaynaklarını içeren doğal bir ortamdır. Bakterilerin çoğu doğrudan dokuları hasara uğratarak hastalık oluştururken, bazıları toksinleri yoluyla hastalık oluştururlar (Özkuyumcu, 2010). Stafilokoklar toplumdan kazanılmış ve hastane kaynaklı enfeksiyon etkenleri arasında ilk sıralarda yer almaktadırlar (Tekin ve diğerleri, 2016). Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşlarında çoklu antibiyotik direnci 1980'li yılların başlarından itibaren ortaya çıkmış ve direnç sorununun giderek yaygınlaşması ile birlikte, MRSA tüm dünyada özellikle hastane enfeksiyonu salgınlarına yol açan çok ciddi bir sorun haline gelmiştir. Stafilokoklar insanlar ve hayvanlar üzerinde çeşitli enfeksiyonlara neden olmaktadır. *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) insanlarda genel enfeksiyonlara (follikülit, fronkülit, Ritter hastalığı, impetigo, tonsilit, stafilokok anjinleri, pnömoni, sepsis, endokardit, tromboflebit, otitis media, menenjit, perinefritik abse vb.), ameliyat sonrası yara enfeksiyonlarına, osteomyelit gibi rahatsızlıklara neden olmaktadır (Yüksekdağ ve Baltacı, 2013). *S.aureus* ile gelişen, ilaca oldukça dirençli enfeksiyonların %44'ü MRSA ile gelişmektedir. Bu bakterinin ölümlere katkısı %22, fazladan hastanede kalmaya katkısı %41 olarak belirlenmiştir. MRSA'nın fazladan çıkardığı maliyetin yıllık 380 milyon Euro olması da sorunun farklı bir boyutunu ortaya koymaktadır (Taşova, 2012). Geniş spektrumlu beta laktamaz üreten (GSBL) *Escherichia coli*: Başta üriner sistem enfeksiyonları olmak üzere, gastroenterit, hemorajik kolit ve genital sistem enfeksiyonlarına yol açmaktadır. Bu bakterilerin antibiyotik direnç oranları oldukça yüksektir ve gün geçtikçe de artmaktadır. *Pseudomonas aureginosa* solunum, sindirim, üriner sistem, kemik ve eklem hastalıklarında hastane enfeksiyonlarının % 10'undan sorumlu olup ağır yanıklı, kistik fibrozlularda ve kanser hastalarında yaşamı tehdit eden ciddi durumlar oluşturmaktadır. *Acinetobacter baumannii* solunum cihazı ilişkili pnömoni ve bakteriyemilerin de yer aldığı genel enfeksiyonların etiyolojik etkenleridir ve salgınlar oluşturabilirler (Akyar, 2010). Doğada çok fazla mantar türü bulunmasına karşın, bu türlerden yaklaşık 40-50'sinin bitki, hayvan ve insanlarda hastalık yaptığı bilinmektedir. İnsanların iç organları ve dokularına invaze olamayan mikroorganizmalar epidermise yerleşme eğilimindedir ve deri, saç ve tırnak gibi yüzeyel keratinize dokularda çoğalarak hastalık oluştururlar (Uslu ve diğerleri, 2004). Ciddi mantar enfeksiyonlarının görülme sıklığı dünya çapında artmıştır ve özellikle bağıışıklık

sistemi baskılanmış ve kritik hastalıklar arasında ciddi bir tehdit oluşturmaktadır (Bassetti ve Righi, 2015).

Schiff bazlarının analjezik, antifungal, antibakteriyel, antidepresan, antikanser, antikonvülsan ve antiinflamatuvar gibi biyolojik özelliklere sahip oldukları belirlenmiştir (Khurshid ve diğerleri, 2008; Unver ve Bektas, 2018). Ayrıca Schiff bazlarının, antimikrobiyal aktivitelerde insektisitler üzerindeki sinerjik etkilerde ve bitki büyüme düzenleyicilerinde oldukça etkili oldukları bilinmektedir (Jiang ve diğerleri, 2003). Günümüzde kullanılan tiagabin, etizolam, brotizolam gibi antiepileptik ilaçlar (AED'ler) yapılarında Schiff bazı yanı sıra aktif farmakofor grup olarak tiyofen içermektedirler (Sancak ve diğerleri, 2007; Unver ve diğerleri, 2014). Enzimlerin karbonil ve azot gruplu substratlarla etkileşimini ihtiva eden çeşitli enzimatik reaksiyonlarda Schiff bazları önemli ara maddelerdir (Yazıcı ve Karabağ, 1998).

Schiff bazlarının biyolojik sistemlerdeki önemi her geçen gün artmaktadır. Aromatik aminlerin Schiff bazları kemoterapide, oksijen taşıyıcı olarak bazı kimyasal tepkimelerde, antistatik madde olarak polimer teknolojisinde ve yapılarındaki bazı grupların ihtiva ettikleri özellikleri nedeniyle boyarmadde endüstrisinde kullanılmaktadırlar (Serin ve Gök, 1988).

Schiff bazları geçiş metalleri ile kompleks oluşturabilirler. Oluşturulan bu metal komplekslerinin başarılı seviyelerde anti kanser aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Tabassum ve diğerleri, 2013). Doğal fenilpropandan türetilen metoksillenmiş sinnamaldehitlerin Schiff bazları ve kalay metal kompleksleri antioksidan aktivite göstermektedirler. Ayrıca, aldoz grubu içeren Schiff bazlarının geçiş metal komplekslerinin anti-inflamatuvar etkinlik sergilediği ortaya konulmuştur (Karabıyık ve diğerleri, 2017). Schiff bazları ve metal kompleksleri patojenik bakterilere karşı antimikrobiyal etkinlik göstermektedirler. Bu özellikteki Schiff bazları yapılarında benzimidazol, quinazolinonlar, furaldehit, piridin, benzilditiyo karbazit vb. gibi heterosiklik halkalara sahiptirler (Kumar ve Ramesh, 2004).



Şekil 1.1. a) Piridin, b) quinazolinon, c) benzimidazolün molekül yapıları

Schiff bazlarının Glisin-Salisaldehit Ag(I) kompleksleri, Cucumber mosaic virüsüne karşı antiviral aktiviteye sahiptir (Kumar ve Ramesh, 2004). Aminoasit Schiff bazları, indol-3-karboksiliden-DL-valin, 3-karboksiliden-DL-alanin ve 3-karboksiliden-DL-glisin için antibakteriyel ve antifungal etkinlik test edilmiş, genel olarak etkili oldukları fakat 3-karboksiliden-DL-valin'nin diğerlerine göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç, bileşiklerin içerdiği karboksil grubunun varlığına bağlanmıştır (Sharma ve Dubey, 2002). (N-heteroaril)arilmetanamin Schiff bazları üzerine gerçekleştirilen antimikrobiyal ve antiviral aktivite çalışması, bileşiklerin Herpes simplex virüsüne (tip 2), Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere karşı hiçbir aktivite göstermediğini, buna karşın insan patojeni poliovirüs (tip 1) ve *Cryptococcus neoformans*'a karşı zayıf bir etki gösterdiği, ayrıca *Candida* türlerine karşı da aktif olduğunu ortaya koymuştur (Fioravanti ve diğerleri, 1996). *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus faecalis* üzerinde ninhidrin ve glisin türevi Schiff bazı metal (Co(II), Ni(II), Zn(II)) komplekslerinin etkili olduğu belirlenmiştir (Rao ve Reddy 1990). Seçici azot-kükürt donör ligandlarının antimikrobiyal ve sitotoksik aktiviteleri yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Kim ve Lee, 1992). Aminoasit Schiff bazları üzerine yapılan çalışmalar, Aminoasit Schiff bazlarının antibakteriyel ve antifungal etkilerinin olduğunu göstermektedir (Sharma ve Dubey, 2002).

Bu tezde, tiyofenli Schiff bazı türevlerinin moleküler modelleme çalışması GaussView 5 (Dennington ve diğerleri, 2009) programı ve Gaussian 09 (Frisch ve diğerleri, 2009) paket yazılımı kullanılarak; Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi (DFT) DFT/B3LYP yöntemi ile gerçekleştirilmiş, antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri Alamar mavisi eklenmiş mikrodilüsyon sıvı besiyeri yöntemi (Microdilution broth assay) ile *in vitro* olarak test edilmiştir. Testlerde, standart 15 bakteri ve 4 mantar izolatu üzerine tiyofenli Schiff bazı türevlerinin etkinliği minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerleri kullanılarak belirlenmiştir. Bu çalışmada; yeni sentezlenmiş amorf formdaki tiyofenli Schiff bazı

türevlerinin moleküler yapıları ilk kez yapılacak moleküler modelleme çalışması ile aydınlatmış, IR ve NMR spektral verileri elde edilmiş, bu veriler deneysel olanlarla karşılaştırılarak değerlendirilmiş ve bu orijinal bileşikler, seçilen 15 bakteri ve 4 mantar izolatına karşı antimikrobiyal aktivite açısından ilk kez test edilmiştir. Tiyofenli Schiff bazı türevlerinin seçilen bazı bakteri ve mantar izolatlarına karşı etkinliğinin test edilmesi; özellikle mevcut tedavi yöntemlerinde sıkça karşılaşılan, patojenlerin kullanılan ilaçlara direnç geliştirmesi, toksik ve yan etkilerin yarattığı sağlık sorunları nedeniyle alternatif ve yeni ilaçların geliştirilmelerinde kullanılabilecek bileşiklerinin araştırılması açısından son derece önemlidir.

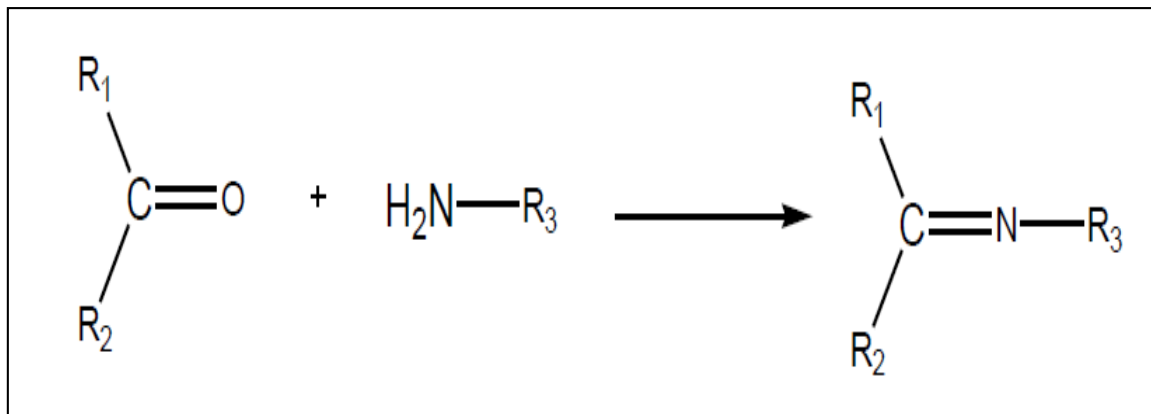
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Schiff Bazları

Schiff bazları ilk olarak 1869 yılında Alman kimyager Hugo Schiff tarafından sentezlenmiştir (Schiff 1869). Bir primer amin ve bir aktif karbonil grubunun kondenzasyonundan elde edilen ve azometin grubu ihtiva eden bileşikler (Şekil 2.1) Schiff tarafından “Schiff Bazları” olarak adlandırılmıştır (Orgel, 1960; Schiff, 1864). Primer aminlerin aldehit ve ketonlarla meydana getirdiği kondenzasyon ürünü olan Schiff bazları (Ermiş ve diğerleri, 2005), genel olarak $RCH=NR'$ şeklinde formülize edilirler. Bu formülde yer alan R ve R' aril ve/veya alkil sübstitüentleridir.

Schiff bazları başta organik kimya olmak üzere kimyanın farklı alanlarında sıkça kullanılan önemli bileşiklerdir. Bu nedenle Schiff bazları üzerine çok sayıda çalışma yapılmış ve bazı Schiff bazları biyolojik sistemlerde de kullanılmıştır (Chem ve Martel, 1987).

Schiff bazları ilk kez Pfeiffer (1937) tarafından ligand olarak kullanılmıştır. Schiff bazları iyi bir azot donör ligandı olarak da bilinmektedir. Koordinasyon bileşiğinin oluşması sırasında bu ligandlar metal iyonuna bir veya daha çok elektron çifti vermektedir. Schiff bazlarının oldukça kararlı 4, 5 veya 6 halkalı kompleksler oluşturabilmesi için yer değiştirebilir hidrojen atomuna sahip ikinci bir fonksiyonel grubun bulunması ayrıca azometin grubuna mümkün olduğu kadar yakın olması gereklidir. Bu grup çoğunlukla hidroksil grubudur (Patai ve diğerleri, 1970).

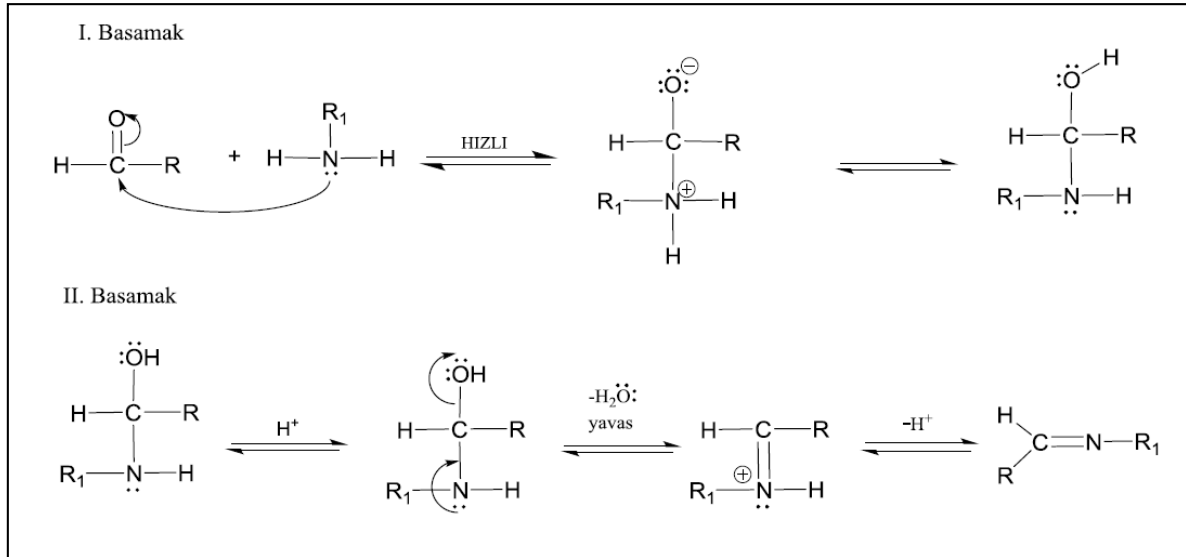


Şekil 2.1. Schiff bazlarının eldesine ait reaksiyon denklemi

2.1.1. Schiff bazlarının eldesi

Aldehitler ve ketonlar, primer aminler (RNH_2) ile tepkimeye girerek Schiff bazı veya iminler (RCH=NR veya $\text{R}_2\text{C=NR}$) şeklinde karbon-azot çift bağı bulunan bazik bileşikler oluştururlar (Wade, 1999).

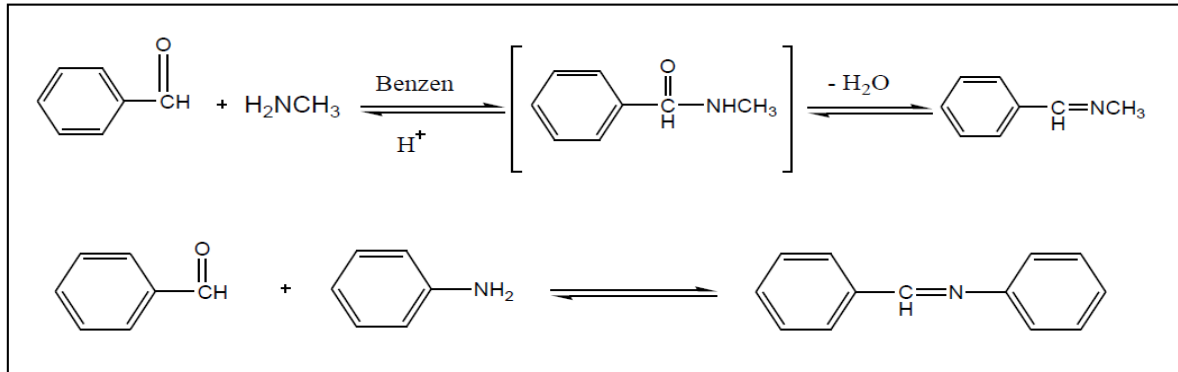
Schiff bazı oluşumu, iki basamaklı bir mekanizma olarak gerçekleşir. Oluşuma ilk basamak da nükleofilik amin kısmi pozitif yük taşıyan karbonil karbonuna katılır. Schiff bazı oluşumunun ikinci basamağında ise, azot bir proton kaybeder ve oksijene bir proton bağlanır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Schiff bazlarının oluşum mekanizması

Farklı çözücüler kullanılarak uygun reaksiyon şartları sağlandığında Schiff bazları sentezlenebilmektedir. Fakat genel olarak oda sıcaklığında ve geri soğutucu altında oluşturulan Schiff bazı reaksiyonlarında çözücü olarak etanol tercih edildiğinde iyi sonuçlar verir. Bunun yanında reaksiyonun gerçekleştiği MgSO_4 tarzında su tutan maddelerin ilavesi Schiff bazı oluşumunu kolaylaştırmaktadır (Cozzi, 2004). Mekanizmanın ilk aşamasında bir hidroksilamin, ardından suyun uzaklaştırılması ile Schiff bazı oluşur. Genel olarak hidroksilamin henüz oluşmadan su kaybı kendiliğinden gerçekleşir. Aminin fazlası kullanıldığı durumda, alkiliden-bisamin oluşumuna sebep olur. Bu durumdan oluşan bisamin kararlı olmadığı için amin grubunu kaybeder ve aldehitle etkileşerek Schiff bazına dönüşür (Kirk ve Othmer, 1954; Karaer, 1997). Amonyak vasıtasıyla elde edilen Schiff

bazıları dayanıklı değildir ve bu Schiff bazları bekletildiğinde polimerleşebilir. Amonyak ile elde etmek yerine birincil aminler kullanıldığında elde edilen bileşikler daha dayanıklıdır (Özbülbül, 2006).



Şekil 2.3. Schiff bazlarının sentezi

2.2. Moleküler Modelleme

Moleküler modelleme, moleküllerin matematiksel modellerinin ve özelliklerinin bilgisayar ortamında hesaplanması amacıyla oluşturulmuş bir yöntemdir. Bir bileşiğin yapısı ve kimyası deneysel yöntemlerle belirlenebilir, ancak hesaplama yolu ile öngörünün yapılabilmesi birçok açıdan son derece yararlıdır ve pek çok uygulama alanı bulmuştur. Örneğin farmakolojide yeni ilaçların geliştirilmesinde hesaplama yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır. İlaçları sentezlemeden önce yapılan Molekül Modelleme çalışmaları ile ilaçların yapıları hakkında ön bilgiye sahip olunabilir, ilaçta istenen özellikler belirlenebilir, para ve zaman kaybı önlenerek bu özelliklere uygun sentezler gerçekleştirilebilir. Bu yöntem ile deneysel verilerin analizi, deney öncesinde moleküler model oluşturma, deneysel verilerin yetersiz olduğu veya olmadığı durumlarda moleküler yapıların analizi gerçekleştirilebilir, moleküler geometri, moleküllerin geçiş halleri ve enerjileri, kimyasal reaktivite, moleküllerin IR, UV ve NMR spektrumları, konformasyon durumları, dipol momentleri ve termodinamik özellikleri hesaplanabilir.

Bilgisayarlı hesaplama metotlarında moleküler yapı ve benzer özellikleri inceleyen iki alan vardır. Bunlar moleküler mekanik ve elektronik yapı kuramlarıdır. Moleküler mekanik hesaplamaları moleküler yapının basit klasik-mekanik modelinin oluşturulmasına dayanır. Bu modelin bazı moleküllere uygulanması başarılı sonuçlar vermiştir (Kurt, 2003).

Elektronik yapı kuramı içerisinde yarı deneysel (semi-empirical) moleküler orbital yöntemleri ve ab initio yöntemleri yer alır.

Ab initio hesaplamalarında iki farklı matematiksel yaklaşım kullanılır; Hartree-Fock Öz Uyumlu Alan (HF-SCF) ve Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi (DFT). HF modelinde, elektron-elektron etkileşimleri için ortalama bir potansiyel temel alınır. Bu yaklaşım, molekül frekanslarının hesaplanması ve molekül geometrisinin belirlenmesi için uygundur. DFT modelinde, molekül dalga fonksiyonları yerine, elektron olasılık yoğunluğu (ρ) hesaplanır, molekül özelliklerinin elde edilmesinde çok daha doğru sonuçlar verir. E toplam elektronik enerji olmak üzere, enerji ifadesinin 1. ve 2. analitik türevleri alınarak spektroskopik büyüklükler hesaplanmıştır (Pulay, 1969; Pulay, 1987). Birinci türevlerin hesaplanması sonucunda geometrik optimizasyon yapılır. İkinci türevler kuvvet sabitini dolayısıyla titreşim frekanslarını verir. IR şiddetleri dipol momentlerin türevinden elde edilir. GAUSSIAN, GAMESS, HYPERCHEM, CACHE ab initio yöntemlerinin kullanıldığı bazı paket programlardır.

2.2.1. Hartree-Fock yöntemi

Hartree-Fock (HF) yöntemi, çoklu elektrona sahip atomların ve iyonların sahip oldukları özelliklerinin birçoğunu hassas olarak tanımlayabilir. 1928 yılında Hartree tarafından formülize edilen bu yaklaşımın başlangıç noktası zamandan bağımsız parçacık modelidir. Bu modelde her bir elektron, çekirdeğin çekim alanı ile diğer elektronların itme etkileşmelerinin ortalama etkisini hesaplayarak bir etkin potansiyelde hareket eder. Dolayısıyla, çok elektron içeren sistemlerdeki her bir elektron, kendine ait dalga fonksiyonu ile tanımlanır. Hartree, bu model ile bireysel elektron dalga fonksiyonlarının denklemlerini oluşturabildi ve ayrıca denklemleri çözmek için orijinal bir tekrarlama süreci önerdi.

HF yöntemi atomsal dalga fonksiyonlarının ve enerjilerinin bulunmasında ilk adım olarak sayılabilir ve bu yöntemin uygulanması yalnızca atomlarla sınırlı olmayıp bir molekül veya katıdaki elektronlar gibi farklı sistemlere de uygulanabilir (Leach, 2001).

2.2.2. Yoğunluk fonksiyoneli teorisi (DFT)

Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi (DFT)'nin ana fikri, elektronik sistemlerin enerjilerinin elektron olasılık yoğunluğu (ρ) cinsinden yazmaya olanak vermesidir (Borman, 1990). Hohenberh ve Kohn tarafından DFT'nin temelleri 1964 yılında atılmıştır. Birinci Hohenberg-Kohn teoremi, bir sistemin $V(r)$ potansiyelinin ve diğer bütün taban durum elektronik özelliklerinin belirlenmesinde taban durum elektron yoğunluğunun bilinmesinin yeterli olduğunu ortaya koymaktadır (Dobson, 1999).

Bu teorem,

$$V(r) \leftrightarrow n(r) \quad (2.1)$$

şeklinde gösterilebilir. Sistemin toplam taban durum enerjisi, yoğunluğun fonksiyoneli olarak ifade edilirken

$$E[n(r)] = F[n(r)] + \int n(r)V(r)d^3r \quad (2.2)$$

şeklinde ifade edilebilir. Bu denklemde yer alan $F[n(r)]$, yoğunluğun evrensel bir fonksiyoneli (Hohenberg ve Kohn 1964; Nagy 1988). $F[n(r)]$ 'nin evrenselliğinin anlamı, $V(r)$ potansiyeline bağlı olmaması ve atomlar, moleküller ya da katılar gibi tüm sistemler için aynı şekilde sahip olmasıdır (Harbola ve Banerjee, 2003). Hohenberg ve Kohn moleküllerin ya da katıların enerjisinin hesaplanmasında, çok parçacıklı dalga fonksiyonlarının temel değişken olarak alınmasının çözümü zorlaştırdığını öne sürmüşler, çok parçacık dalga fonksiyonunun yerine temel değişken olarak yer ve zamanın fonksiyonu olan elektron yoğunluğunu dikkate almışlardır. Bir başka deyişle, n adet elektronu bulunan bir sistemde, (r) aralıkta belirli bir noktadaki toplam elektronu gösterir. Elektronik enerji E , bir $\rho(r)$ fonksiyonuna denk gelen, $E(\rho)$ olarak ifade edilen, elektron yoğunluk fonksiyonudur. Yoğunluk Fonksiyonel Teoride, fonksiyonlar elektron yoğunluğunun fonksiyonlarıdır. DFT'nin elektronik enerjisi E , aşağıdaki şekilde tanımlanabilir:

$$E = E_T + E_V + E_J + E_{XC} \quad (2.3)$$

E_T = kinetik enerji (elektronların hareketinden kaynaklanan)

E_V = potansiyel enerji (Çekirdek-elektron çekimlerinden ve çekirdek çiftlerinin birbirini itmesinden kaynaklanan)

E_J = Elektronların birbirlerini itmesinden kaynaklanan enerji

E_{XC} = Arta kalan diğer elektron-elektron etkileşimlerini kapsayan enerjiyi ifade eder.

E_{XC} terimi çoğunlukla “değişim” ve “korelasyon” olarak iki bölüme ayrılır.

$$E_{XC}(\rho) = E_X(\rho) + E_C(\rho) \quad (2.4)$$

DFT yönteminde, çok parçacık dalga fonksiyonu yerine, temel değişken olarak, tek parçacık yoğunluğunun kullanılması ve dolayısıyla, sadece üç uzaysal koordinatın fonksiyonu olması nedeniyle; DFT çok büyük sistemlerin hesaplanmasında da oldukça kolaylık sağlamaktadır (Hohenberg ve Kohn, 1964).

2.2.3. Becke, 3 Parametrelili, Lee-Yang-Parr (B3LYP) karma yoğunluk fonksiyoneli teorisi

Dalga mekaniğini temel alan HF teorisi değiş tokuş enerjisinin hesaplanmasında kullanışlı değildir ve bu methodla korelasyon enerjileri hesaplanamaz fakat, kinetik enerji hesabı için uygundur. DFT modeli kullanılarak değiş tokuş ve korelasyon enerjilerinin hesaplanması daha uygun sonuçlar vermektedir. Tam enerji ifadesi için saf HF veya saf DFT modelleri yerine, her iki modelin enerji ifadelerinin, toplam enerji ifadesinde kullanılmasıyla karma modeller elde edilmiştir. Bu geliştirilen modeller ile toplam enerji, bağ uzunlukları, iyonizasyon enerjileri gibi pek çok büyüklük saf modellere göre daha doğru hesaplanmaktadır.

Literatürde; kinetik enerji fonksiyoneli: H28, TF27, değiş tokuş enerji fonksiyoneli: F30, D30, korelasyon enerji fonksiyonelleri: LYP, VWN gibi enerji fonksiyonelleri ile sıkça karşılaşılır (Kurt, 2003).

Bir karma modelde enerji ifadelerinin birleştirilmesiyle yeni bir enerji ifadesi bulunabilir. Değiş tokuş ve korelasyon enerjisi E^{XC} için Becke, aşağıda verilen karma modeli elde etmiştir.

$$E_{HF}^{XC} = C_{HF} E_{HF}^X + C_{DFT} E_{DFT}^X \quad (2.5)$$

Bu modelde verilen C'ler sabittir. BLYP ve B3LYP Becke'nin önerdiği karma modellerdir. LYP korelasyon enerjili ve üç parametrelili Becke karma metodu B3LYP'dir. Bu modelin değiş-tokuş ve korelasyon enerjisi;

$$E_{B3LYP}^{XC} = E_{LDA}^X + C_0(E_{HF}^X - E_{LDA}^X) + C_1\Delta E_{B88}^X + E_{VWN3}^C + C_2(E_{LYP}^C - E_{VWN3}^C) \quad (2.6)$$

ifadesi ile verilir. Burada;

E_{LDA}^X : yerel değiş-tokuş enerjisi,

E_{B88}^X : Becke 88 değiş-tokuş enerjisi

E_{VWN3}^{XC} : Vosko, Wilk ve Nusair korelasyon enerjisi,

C0, C1 ve C2 deneysel değerlerden türetilmiş katsayılarıdır ve değerleri C0=0,2, C1=0,7, C2=0,8 şeklindedir. Dolayısı ile B3LYP modeliyle elde edilen bir molekülün toplam elektronik enerjisi aşağıdaki gibidir;

$$E_{B3LYP} = E^T + E^V + E^J + E_{B3LYP}^{XC} \quad (2.7)$$

Burada; E_{B3LYP}^{XC} : B3LYP değiş tokuş ve korelasyon enerjisidir (Becke, 1993; Yılmaz, 2011).

2.2.4. Temel setler

Orbitaller matematiksel olarak tanımlanırken temel set olarak adlandırılır. Moleküller atomlardan oluşur ve aynı cinsteki atomlar farklı cinsteki molekülde benzer özellik gösterirler. Bu nedenle moleküler orbital, atomik orbitallere ait çizgisel toplamlar olarak yazılabilir.

$$\psi_i = \sum_{\mu=1}^N c_{\mu i} \phi_{\mu} \quad (2.8)$$

Yukarıda verilen eşitlik ψ_i orbitali ile ϕ_{μ} atomik orbitalleri arasındaki bağıntıyı verir. Denklemden moleküler orbitallerin katsayısı $C_{\mu i}$ ile verilir. ϕ_{μ} atomik orbitalleri temel fonksiyonlar şeklinde adlandırılabilir. Temel fonksiyonlar (basis functions),

$$g(\alpha, \vec{r}) = cx^n y^m z^l e^{-\alpha r^2} \quad (2.9)$$

Gaussian-tipinde atomik fonksiyon olarak verilir. Denklemden a , fonksiyon genişliği belirlemede kullanılan bir sabitken; c ise α , l , m ve n ye bağımlı bir sabit olarak kullanılır.

2.3. Gaussian 09

Bu çalışmada molekül modelleme hesaplamaları Gaussian 09 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çeşitli şartlar altında ve geniş bir yelpaze oluşturan moleküler sistemlerini modellemek adına tasarlanan Gaussian, kuantum mekaniğinin temel yasalarını kullanarak hesaplamalar yapar. Gaussian kimyacıların, fizikçilerin ve mühendislerin, kimyayla ilgili olan yerleşmiş ve yeni gelişmekte olan ilgi alanları hakkında araştırma yapmak üzere, moleküller üzerinde ve deneysel açıdan incelenmesi imkansız ya da çok zor olan durağan türleri ve bileşikleri de kapsayan (örneğin kısa ömürlü ara birimler ile geçiş yapıları vb.) kesin veya potansiyel reaksiyonlarda çalışmak amaçlı kullanılmaktadır (ODTÜ, 2019).

Gaussian 09 moleküler mekanik, yarı-denel ve ab initio yöntemlerini bulunduran çok kapsamlı bir programdır. Bu yöntemler için birçok teori ve temel set seçeneği sunar. Gaussian 09 programı kullanılarak atom ve moleküllerin enerjileri hesaplanabildiği gibi, atom ve moleküllerin geometrik optimizasyonları yapılabilir ve enerjiye bağlı olan titreşim frekansları, kuvvet sabitleri ve dipol momentleri bu program yardımıyla hesaplanabilir. Ayrıca IR ve Raman spektrumları, termokimyasal özellikleri, bağ ve tepkime enerjileri, molekül orbitalleri, atom yükleri, çok kutuplu momentler, NMR ve manyetik duyarlılık titreşimsel şiddetleri, elektron ilgisi ve iyonlaşma enerjileri, kutuplanabilirlik ve hiperkutuplanma, elektrostatik potansiyel ve elektron yoğunluğu gibi birçok özellik atom ve moleküller özelinde hesaplanabilir. Bu hesaplamalar gaz fazında, çözelti içinde veya kristal yapıları dikkate alınarak gerçekleştirilebilir (Frish ve diğerleri, 2009).

2.3.1. Gauss View 5

Bir grafik ara yüzü olan Gauss View 5 Gaussian paket programlarında giriş (input) dosyaları hazırlamak ve gaussian yapılarının çıktılarını görselleştirmek üzere hazırlanmıştır. Gauss

view programı molekülleri görsel hale getirerek bu molekülleri dilediğimiz gibi döndürmeye, hareket ettirmeye ve moleküllerde değişiklik yapmaya olanak sağlar. Bunlara ek olarak karmaşık hesaplamalarda bile kolaylıkla giriş dosyalarının oluşturulmasını sağlar. Gaussian programı tarafından sonuçlar hesaplanabilir ve bu hesaplanan sonuçları grafiğe dökerek inceleme imkanı verir. Elde edilen sonuçlar; optimize edilmiş moleküler yapılar, moleküler orbitaller, elektrostatik potansiyel yüzeyi, atomik yükler, IR, Raman, NMR, VCD spektrumları, titreşim frekanslarına bağlı normal mod animasyonları olarak sıralanabilir (Foresman ve Frisch, 1996).

2.4. Antimikrobiyal Aktivite Belirleme Yöntemleri

Enfeksiyonlara neden olan mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı duyarlılıklarına göre enfeksiyon etkeninin duyarlı bulunduğu en uygun antimikrobiyal ajan ile tedavi edilmektedir. Mikroorganizmaların antimikrobiyal duyarlılığı dilüsyon ve difüzyon yöntemleri olmak üzere iki farklı yöntem ile belirlenmektedir (Murray ve diğerleri, 2009).

2.4.1. Dilüsyon yöntemi

Kantitatif sonuç veren dilüsyon yöntemlerinde sonuçları, besiyeri ve antimikrobiyal maddenin stabilitesi, hazırlanan inokulumun yoğunluğu, inkübasyonun süresi ve sıcaklığı etkilemektedir (Rios ve diğerleri, 1988; Ötük, 1992).

Sıvı ve agar dilüsyon yöntemleri mikroorganizmaların üremelerini durduran, mikroorganizmaları öldüren en az antimikrobiyal madde konsantrasyonlarının çoğunlukla mg/ml türünden tespitine yarayan testlerdir. Dilüsyon yöntemleri zor üreyen ve disk difüzyon yöntemiyle duyarlılık testi yapılması mümkün olmayan bakterilerin test edilmesine imkan sağlar.

Dilüsyon; sıvı (buyyon) veya katı (agarlı) besiyerlerinde antimikrobiyal maddelerin seri olarak sulandırılması ve her bir sulandırım alanına, duyarlılığı belirlenecek bakterinin belirli sayıda bakteri içeren süspansiyonundan eşit olarak eklenmesi ile yapılmaktadır. Sulandırımalar uygun sıcaklıkta (35-37 °C'de) ve mikroorganizmanın üremesi için uygun sürede (16-20 saat) bekletilir ve ardından elde edilen sonuçlar ile bakterinin üremesini

durduran en düşük miktardaki antimikrobiyal madde miktarı minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) tespit edilir (Murray ve diğerleri, 2009).

Tüp dilüsyon

Tüp dilüsyon "makro" veya "mikro" dilüsyon şeklinde uygulanabilir. Bu yöntemlerin temelde prensibi benzerdir. Makrodilüsyonda deney tüpleri kullanılarak gerçekleştirilirken, mikrodilüsyon "U" veya "V" tabanlı "mikroplaklar" kullanılarak gerçekleştirilir. Tüp dilüsyon metodu gerçekleştirilirken besiyeri olarak katyon (kalsiyum ve magnezyum) ilaveli Mueller-Hinton buyyon kullanılmaktadır.

Test edilecek antibiyotikler öncelikle özel çözücüler içerisinde hazırlanır ve ardından kullanılacak sıvı besiyerinde yarı yarıya azalan sulandırımı yapılır. Mikroorganizmaların standart inokulumu (1×10^6 CFU/ml) hazırlanarak, antimikrobiyalın farklı sulandırımını içeren her bir tüpe eşit olarak ilave edilir. Ayrıca üremenin takibi amaçlı antibiyotik bulunmayan kontrol tüpüne de ilave edilir. Bakteri eklenmemiş, yalnızca besiyeri içeren bir tüp ya da çukur da besiyerinin kontrol edilmesi için hazırlanır. Besiyerlerinin $35-37^\circ\text{C}$ 'de bir gece inkübe edilmesinin ardından bakteri üremesini gösteren bulanıklık yönünden incelenir. Bakterinin üremesini engelleyen, göz ile görünür bir bulanıklığa sahip olmayan en düşük ilaç konsantrasyonu, minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) olarak belirlenir (Demirpek ve Dizer, 2010).

Agar dilüsyon

Agar dilüsyon yöntemi prensip olarak tüp dilüsyon metoduyla çok benzerdir. Tüp dilüsyon yönteminden farklı olarak, agar dilüsyon yönteminde antibiyotik sulandırımı agar içerisine konur ve petri kaplarına dökülür. Bu uygulama ile plakların her birinde eklenen antibiyotiğin farklı konsantrasyonları vardır. Bu yöntemin uygulanmasında Mueller-Hinton Agar besiyeri önerilmektedir.

McFarland 0.5 bulanıklığına göre bakterinin yoğunluğu ayarlanır, sonrasında 1/10 oranında sulandırılarak 10^7 CFU/ml bakteri elde edilir. Hazırlanmış olan bakteri süspansiyonundan manuel ya da özel inokülatörler aracılığıyla 1-2 ml inokülasyonları yapılır. Bu işlem ile agar yüzeyindeki bakterinin ortalama sayısı 10^4 CFU/ml olur. İnoküle edilen bu plaklar 35°C 'de

16-20 saat süreyle bekletilir. İnkübasyonun ardından elde edilen MİK değeri üremenin durdurulduğu en düşük antibiyotiğin konsantrasyonu olarak kaydedilir (Demirpek ve Dizer, 2010).

2.4.2. Difüzyon yöntemi

Difüzyon yöntemi teknik açıdan kolay bir yöntemdir, ancak yöntem sırasında analizin sonucunu etkileyebilecek aşağıdaki noktalara dikkat edilmelidir: Besiyerleri saf olacak şekilde hazırlanmalı, deneyde kullanılan agarın tipi, konsantrasyonu ve petri kutusundaki kalınlığı eşit olmalı, standart izolatların ve çalışılacak olan diğer izolatların sıvı besiyerindeki süspansiyonunun konsantrasyonu standart olmalı, diskler mikroorganizma ekiminin ardından 15 dakika içerisinde yerleştirilmeli ve besiyerleri beklenmeden inkübasyona bırakılmalıdır (Ötük, 1992).

Disk difüzyon yöntemi

Disk difüzyon yönteminin temeli, belirli bir konsantrasyona sahip antibiyotiklerin katı haldeki besiyerine yayılması yani difüze olmasıdır (Parekh ve Chanda, 2007). Laboratuvarlarda rutin antibiyotik duyarlılığı saptamasında en çok tercih edilen yöntem disk difüzyon testleridir. Kirby-Bauer tarafından geliştirilen ve bu isimle de anılan bu yöntem hem ucuz hem de uygulaması basittir. Disk difüzyon yöntemi, kağıt disklere emdirilmiş olan antibiyotiğin, duyarlılığı araştırılan mikroorganizmanın inoküle edildiği besiyerine yayılmasını temel alır. Bu amaç doğrultusunda; belirli miktarlarda antibiyotik emdirilmiş kâğıt diskler, çalışılacak olan mikroorganizmanın yoğun olarak ekildiği katı besiyerlerine konulur. Disklerdeki antibiyotik zaman içinde agara doğru yayılırken, eş zamanlı inoküle edilen mikroorganizma da üremeye başlar. Belirli bir süre inkübasyonun ardından antibiyotiğin inhibitör konsantrasyonlarının sağlandığı disklerin etrafında üreme saptanmaz. Test edilen mikroorganizma kullanılan antibiyotiğe ne kadar duyarlıysa, diskin çevresinde oluşan inhibisyon zonu o oranda geniş olarak gözlemlenecektir. Elde edilen inhibisyon zonunun çapı mm cinsinden ölçülerek, standart zon tablolarıyla karşılaştırılarak değerlendirilir ve test edilen mikroorganizmanın kullanılan antibiyotik ajanlara karşı duyarlılığı tespit edilir.

Bu yöntem ile incelenmek üzere seçilen mikroorganizma trypticase soy buyyonda yaklaşık 2 saat boyunca 37°C'de bekletilir. Üremenin ardından McFarland 0.5 (1×10^8 CFU / ml)'e

göre ayarlanır ve standart bir yoğunluk elde edilir (McFarland standardı, sıvı bir besiyerinin içerisindeki bakteri sayısını saptamak üzere geliştirilmiştir). Elde edilen bakteri süspansiyondan steril bir eküvyona emdirilerek alınan örnek, Mueller-Hinton agar besiyerinin yüzeyine sürülerek yayılır. Ardından farklı antibiyotikler emdirilmiş diskler bir steril pens kullanılarak besiyeri yüzeyine yerleştirilerek hafif bastırılır. Yöntem sırasında, inhibisyon zonlarının çakışmasını önlemek için en az iki disk arasında 22 mm, petrinin kenarından ise 14 mm uzaklıkta olacak şekilde yerleştirilmelidir. İşlemleri takiben besiyerleri 18-24 saat süre boyunca 35-37°C'de inkübasyona bırakılır ve oluşan inhibisyon zonları cetvelle ölçülerek kaydedilir (Demirpek ve Dizer, 2010).

E-test

Günümüz koşullarında agar bazlı besiyerlerinde difüzyon yöntemiyle MİK (minimum inhibitör konsantrasyon) değerlerinin belirlenmesine imkan veren farklı yöntemler de mevcuttur. E-test yöntemi bu prensibi temel alan bir yöntemdir. MİK bir mikroorganizmanın üremesini engelleyen minimum ilaç konsantrasyonu olarak tanımlanır.

E-test yöntemi kullanılırken değerlendirilecek olan bakteri 0.5 McFarland yoğunluğuna getirilerek Mueller- Hinton agar yüzeyine bir steril eküvyon yardımıyla sürülür. Daha sonra, agarın yüzeyine, belirli bir antibiyotiğin yüksek konsantrasyondan düşük konsantrasyona doğru azalan E-test stripleri (şerit) konulur. Plaklar 18-24 saat aralığında 35-37°C'de inkübe edilerek MİK değeri saptanır. Test sonunda elde edilen MİK değeri, stripin çevresinde oluşan elips şeklindeki inhibisyonun strip üzerindeki ölçek ile kesiştiği nokta okunarak belirlenir (Demirpek ve Dizer, 2010).

2.4.3. Besiyeri

Mikroorganizmaların gelişebilmesi için ihtiyaç duydukları ve mikroorganizmaların gelişme koşullarını içeren ortam besiyeri olarak adlandırılır. Besiyeri içeriğinde, mikroorganizmanın gelişimi için gerekli olan organik ve inorganik maddeler, gelişme faktörleri ve su bulunur. Mikroorganizmaların gelişim özellikleri birbirlerine göre farklılıklar gösterir. Bu nedenle laboratuvarında geliştirilebilmeleri adına değişik bileşimlerde farklı ortamların hazırlanması gereklidir. Besiyerleri kullanım amacı ve kullanım yeri göz önüne alınarak katı veya sıvı

formda hazırlanabilir. Suni olarak hazırlanan katı besiyerleri agar olarak isimlendirilirken, sıvı olarak hazırlanan besiyerine buyyon veya broth adı verilir (Özçelik ve diğerleri, 2011).

Kanlı Agar besiyeri mikroorganizmaların çoğunun üretilmesi ve hemoliz reaksiyonlarının belirlenmesi amacıyla tercih edilen agarlı besiyeridir. Besiyerinin içerisinde bulunan besin içeriği zengin olması birçok mikroorganizmanın üremesi için uygundur. Besiyeri pH'sının 7,4 olması bakteri hemolizinin belirgin olmasını sağlar. Taze defibrine edilmiş koyun kanı hemoliz reaksiyonu uygun kanların başında gelir (Halkman ve Sağdaş, 2005).

Eosin Methylene-Blue (EMB) Agar besiyeri in vitro standart mikrobiyolojik testlerde, Enterobacteriaceae ailesinin patojen türleri ve koliform bakteriler için seçici katı besiyeri olarak kullanılmaktadır. Besiyeri başta Gram pozitif bakteriler olmak üzere eşlik eden floranın da gelişimini baskılayan boyalar içerir. EMB, laktoz ve sakkaroz karbohidratların negatif olduğu Salmonella ve Shigella'nın ayırımında kullanılmak için geliştirilmiş bir besiyeridir, ancak, *E. coli* tanımlanmasında ve koliform grubu bakterilerin sayısının belirlenmesinde de kullanılmaktadır. Bir günlük 35-37°C'deki inkübasyondan sonra Salmonella ve Shigella gibi laktoz ve sakkaroz negatif bakteriler amber renginde, saydam koloniler oluştururken, *E. coli* menekşe renginde ve ışığın yansımalarıyla yeşilimsi metalik röfle (parlak) görünen koloniler, Klebsiella, Enterobacter ve diğer koliform grubu bakteriler mor-pembe-menekşe renginde, mukoid (sümüksü), ortası gri-kahverengi koloniler oluşturabilir. Ancak sürme veya yayma yöntemiyle ekim yapılması durumunda metalik parlaklık izlenebilir (Halkman ve Sağdaş, 2005).

Maya ve küflerin üretilmesinde Sabouraud Dextrose Agar (SDA) in vitro olarak tercih edilen katı besiyerlerinin başında gelmektedir. Dermatofit mantarlarının üretilmesi, izolasyonu ve identifikasyonunda kullanılmaktadır. İçerisinde indikatör bulunmayan besiyeri, yüksek miktardaki karbonhidrat içeriği sayesinde mantarların gelişmesini sağlar. SDA'nın pH'sının (5.4) düşük olması bakterilerin üremesini engellemektedir. Şayet yoğun bir bakteri kontaminasyonu olan klinik materyalden izolasyon yapılacaksa, besiyerine otoklavlama işleminden sonra 45-50°C'de uygun bir antibiyotik (örneğin, 500 mg/L cycloheximide) eklenebilir. Besiyerine 100 mg/L triphenyltetrazolium chloride eklenirse *Candida albicans* kolay bir şekilde izole edilebilir (Halkman ve Sağdaş, 2005).

Mueller Hinton Broth Besiyeri bakterilerin antibiyotiklere veya sulfonamitlere olan duyarlılıklarını in vitro olarak belirlemek için kullanılan sıvı besiyeridir. Ayrıca bu besiyeri MİK değerlerinin saptanmasında da kullanılmaktadır (Halkman ve Sağdaş, 2005).

Sabouraud Dextrose Broth Besiyeri aynı SDA besiyeri gibi maya ve küflerin in vitro üretilmesinde kullanılan sıvı bir besiyeridir. Zengin karbonhidrat içeriği, inhibitör içermemesi, bakterilerin üremesini baskılamak için düşük pH'da olması ile SDA besiyerine benzer özelliktedir. Modifiye edilerek içerisine antibiyotikte eklenerek bakteri kontaminasyonu engellenebilir (Halkman ve Sağdaş, 2005).

Alamar mavisi (resasurin) bakteriyel üremenin varlığında bir kimyasal redüksiyon sonucunda sıvı besiyerinin rengini koyu maviden parlak pembeye değiştiren bir oksüdo-redüksiyon indikatörüdür (Seesom ve diğerleri, 2013).

Alamar mavisi bazı hücrelerde (lenfosit) ve diğer hücre serilerinde çoğalma ve hücreye toksik etkinin araştırması çalışmalarında kullanılabilir metot olduğu belirtilmiştir. Florometrik/kolorometrik üreme göstergesi olarak Alamar mavisi ile metabolik aktivite saptanması yapılabilmektedir (O'Brien ve diğerleri, 2000).

2.4.4. Minimum inhibitör Konsantrasyonu (MİK)

Antimikrobiyal maddelerin test edilmesi sırasında mikrobiyal gelişiminin tamamını yok eden ya da mikrobiyal gelişimi engelleyen en düşük konsantrasyon, Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) olarak belirlenir. Antimikrobiyal etkisi olan bileşiklerin seyreltilip, seyreltilen bu bileşiklerin sıvı besiyeri veya katı besiyerine belirli oranlarda eklenmesiyle oluşturulan besi ortamlarının kullanılması sayesinde MİK belirlenir. Antimikrobiyal özelliğe sahip olan bir madde için elde edilecek olan MİK değeri, inkübasyon sıcaklığı, inokulum miktarı, mikroorganizma vb. analiz koşullarına bağlı olarak değişir (Courvalin ve diğerleri, 2010).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Tiyofenli Schiff Bazı Türevlerinin Sentezi ve Karakterizasyonu

Bu tezde, yapısı aydınlatılmış orjinal nitelikte olan tiyofenli Schiff bazı türevleri üzerine çalışılmıştır. Tiyofenli Schiff bazı türevleri için sentez tepkimesi Şekil 3.1 de verilmektedir.

1-(4-(((5-feniltiyofen-2-il)metilene)amino)fenil)etan-1-on (I) sentezi:

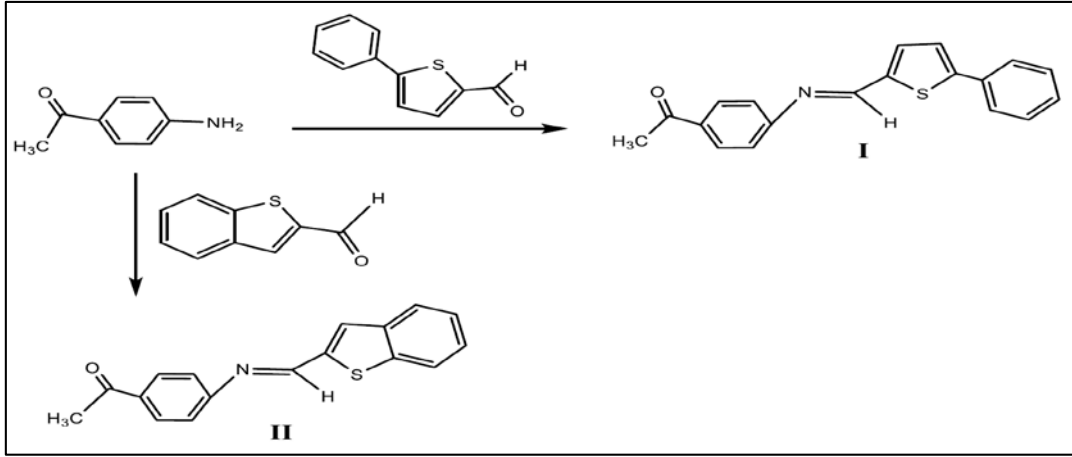
4-Amino-asetofenon (0.01mol) ile 5-feniltiyofen-2- karboksialdehit (0.01 mol) karışımı yükseltme borusu içeren 50 ml'lik bir balon içerisinde yağ banyosunda 180-200 °C'de 1 saat ısıtıldı. Reaksiyon, ince tabaka kromatografisi (TLC) ile izlendi ve reaksiyonun optimal zamanı belirlendi. Reaksiyon içeriği oda sıcaklığına soğutuldu. Oluşan katı ham ürün DMSO-su (1:3)'dan kristallendirildi. Ele geçen ürün % 86.50. E.N: 172-174 °C.

1-(4-((benzo[b]tiyofen-2-ilmetilene)amino)fenil)etan-1-on (II) sentezi:

4-Amino-asetofenon (0.01mol) ile benzo [b] tiyofen-2-karboksialdehit (0.01 mol) karışımı yükseltme borusu içeren 50 ml'lik bir balon içerisinde yağ banyosunda 180-200 °C'de 1 saat ısıtıldı. Reaksiyon, ince tabaka kromatografisi (TLC) ile izlendi ve reaksiyonun optimal zamanı belirlendi. Reaksiyon içeriği oda sıcaklığına soğutuldu. Oluşan katı ham ürün DMSO-su (1:2)'dan kristallendirildi. Ele geçen ürün % 88.65. E.N: 184-186 °C.

Yeni sentezlenmiş amorf yapıdaki bileşiklerin katı formdaki IR spektrumları, Perkin Elmer FTIR 1600 (4000-400 cm⁻¹) spektrofotometre cihazında, ¹H-NMR, ¹³C-NMR spektrumları Bruker marka 400 MHz'lik NMR cihazında DMSO-*d*₆ çözücüsü ile kaydedilmiş ve yapıları karakterize edilmiştir. Bileşik I için; IR spektrumu, Ek Şekil 1'de ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları sırasıyla, Ek Şekil 2 ve Ek Şekil 3'de verilmektedir. Bileşik II için; IR spektrumu, Ek Şekil 4'de, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları sırasıyla, Ek Şekil 5 ve Ek Şekil 6'da verilmektedir.

Bileşik I ve Bileşik II'nin IR ve NMR spektrumlarından (Ek Şekil1-6) elde edilen spektral veriler, hesaplamalardan elde edilen değerler ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.1. Tiyofenli Schiff bazı türevleri için sentez tepkimesi

3.2. Moleküler Modelleme

Yeni sentezlenmiş ve yapısı spektroskopik yöntemler (IR, NMR) ile aydınlatılmış amorf formdaki tiyofenli Schiff bazı türevlerinin moleküler modelleme çalışması, GaussView 5 programı ve Gaussian 09 paket yazılımı kullanılarak; Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi (DFT), (DFT/B3LYP) yöntemi ile gerçekleştirilmiş ve bileşiklerin yapısal parametreleri, IR ve NMR spektral verileri elde edilmiştir.

3.2.1. Geometri optimizasyonu

Bu çalışmada kullanılan tiyofenli Schiff bazı türevleri amorf formda elde edilmiştir. Bu nedenle bileşiklerin moleküler yapılarına ait özellikler teorik olarak belirlenmiştir. Yeni sentezlenmiş tiyofenli Schiff bazı türevlerinin (Bileşik I ve Bileşik II) moleküler modelleme çalışmasında; tüm hesaplamalar DFT/B3LYP yöntemi kullanılarak, 6-311++G(d,p) seviyesinde gerçekleştirilmiş ve moleküllerin yapısı optimize edilerek üç boyutlu geometrik yapısı belirlenmiştir. Bu yolla, amorf formdaki tiyofenli Schiff bazı türevlerinin moleküler yapılarında bağ uzunlukları, bağ açıları, dihedral açıları gibi yapısal parametreleri elde edilmiştir (Peng ve diğerleri, 1996; Stephens ve diğerleri 1994).

3.2.2. Spektral analiz

Tiyofenli Schiff bazı türevlerinin IR titreşim frekansları DFT/B3LYP yöntemi ve 6-311++G(d,p) temel seti kullanılarak hesaplanmış ve gaz formunda hesaplanan titreşim

frekansı değerlerinin katı halde kaydedilen deneysel frekans değerlerine uygunluğu iki ölçek faktörü ile sağlanmıştır. Hesaplanan frekanslar B3LYP/6-311G++(d, p) yöntemi için 1700 cm^{-1} 'in altındaki değerlerde 0,983 ve 1700 cm^{-1} 'in üzerindeki değerlerde 0,958 katsayıları ile çarpılarak ölçeklendirilmiştir (Abbas ve diğerleri,2014; Gökce ve diğerleri 2016). $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ kimyasal kayma hesaplamaları için, Bileşik I ve Bileşik II'nin moleküler yapıları öncelikli olarak IEFPCM yöntemi kullanılarak, B3LYP/6-311++G(d,p) düzeyde DMSO çözücüsünde optimize edilmiştir. $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ kimyasal kaymalarının hesaplanmasında standart GIAO/B3LYP/6-311G++(d,p) (Gauge-Independent Atomic Orbital) yaklaşımı kullanılmıştır (Ditchfield, 1972; Wolinski ve diğerleri, 1990). 6-311G++(d,p) temel seti ile yapılan hesaplamalarda TMS ölçeğinde $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ kimyasal kaymalarını tanımlamak için; $^1\text{H-NMR}$ kimyasal kayma değerleri 31.9681 ppm ve $^{13}\text{C-NMR}$ kimyasal kayma değerleri 184.0184 ppm skala faktörleri kullanılarak hesaplanmıştır (Süleymanoğlu ve diğerleri, 2019).

3.3. İn vitro Antimikrobiyal Aktivite

3.3.1. Araç ve gereçler

Antimikrobiyal testlerde kullanılan cihaz ve gereçler ve kullanım amacı aşağıda verilmektedir.

Derin dondurucu: Standart bakteri ve maya izolatlarının saklanması için kullanılmıştır.

Hassas terazi: Sentezlenen maddelerin ve besiyerlerinin tartımında (Precisa, İsviçre) kullanılmıştır.

pH metre: Besiyerlerinin pH değerlerinin ölçülmesi için kullanılmıştır.

Vorteks: Sentezlenen maddelerin çözülmesi ve standart bakteri ve maya izolatlarının hazırlanması sırasında karıştırılması için (Boeco, Almanya) kullanılmıştır.

Etüv: Antibakteriyel ve antifungal çalışmada kullanılacak bakteri ve mayaların besiyerlerinde üretilmesi için (JEIO TECH, Kore) kullanılmıştır.

Otoklav: Besiyelerinin ve solüsyonların sterilizasyonu için (ALP, Japonya) kullanılmıştır.

Pastör fırını: Cam tüplerin sterilizasyonu için (JSR, Kore) kullanılmıştır.

Laminar akımlı biyogüvenlik kabini: Antimikrobiyal deney çalışmaları sırasında kontaminasyonun engellenmesi amacıyla (ESCO, ABD) kullanılmıştır.

Buzdolabı: Besiyeleri, kullanılan çözeltilerin ve solüsyonların saklanması için (Arçelik, Türkiye) kullanılmıştır.

Otomatik pipetler: Tek kanallı otomatik pipetler mikropyletlere madde ve bakterilerin aktarılması amacıyla (NICHIRYO, Japonya) kullanılmıştır.

Tek kullanımlık plastik öze (Laborant, 4010, Türkiye): Bakteri ve mayaların canlandırılması sırasında ekim işleminde kullanılmıştır.

Ependorf tüpü (Copp Expell, 45316, Danimarka): Laboratuvarda analiz edilen maddelerin çözülmesi için kullanılmıştır.

96 Kuyucuklu mikroplyet: Antimikrobiyal çalışmalarda kullanılmıştır.

3.3.2. Test edilen bakteri ve mayalar

Bileşiklerin in vitro antimikrobiyal aktivite çalışmasında, American Type Culture Collection (ATCC)'dan elde edilen; *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 17666, *Proteus mirabilis* ATCC 25933, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Shigella flexneri* ATCC 12022, *Yersinia enterocolitica* ATCC 9610, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Citrobacter freundii* ATCC 8090, *Streptococcus agalactiae* ATCC 13813, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 olmak üzere 15 standart bakteri izolatına karşı antibakteriyel aktivite ve *Candida albicans* ATCC 14053, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida krusei* ATCC 6258 ve *Candida tropicalis* ATCC 750 olmak üzere 4 standart mantar izolatına karşı antifungal aktiviteleri test edilmiş ve değerlendirilmiştir.

3.3.3. Besiyerlerinin hazırlanması

Kanlı agar besiyerinin hazırlanması

Üretici firmanın önerileri doğrultusunda dehidre toz besiyeri 37 g/L konsantrasyonda olacak şekilde hassas terazide tartıldı, üzerine distile su eklenerek 1 L'ye tamamlandı ve eritildi. Besiyeri otoklavda 121°C'de 15 dakika bekletilerek sterilize edildi. Besiyeri otoklavdan çıkartılarak 45-50°C'ye kadar soğutuldu ve pH kontrolleri yapıldı (6,8±0,2). Üzerine kan bankasından elde edilen, serolojik testleri negatif ve miyadı sona ermiş %5 oranında (50 ml) insan kanı ilave edildi ve karıştırıldı. Steril petri kutularına besiyeri kalınlığı 4 mm olacak şekilde yaklaşık 20'şer mL döküldü. Katılaştıran besiyeri +4°C'de buzdolabına kaldırılarak kullanılıncaya kadar saklandı.

Eosin Methylene-Blue (EMB) agar besiyerinin hazırlanması

Üretici firmanın önerileri doğrultusunda dehidre toz besiyeri 37 g/L konsantrasyonda olacak şekilde hassas terazide tartıldı, üzerine distile su eklenerek 1 L'ye tamamlandı ve eritildi. Besiyeri otoklavda 121°C'de 15 dakika bekletilerek sterilize edildi. Besiyeri otoklavdan çıkartılarak 45-50°C'ye kadar soğutuldu ve pH kontrolleri yapıldı (6,8±0,2). Steril petri kutularına besiyeri kalınlığı 4 mm olacak şekilde yaklaşık 20'şer mL döküldü. Katılaştıran besiyeri +4°C'de buzdolabına kaldırılarak kullanılıncaya kadar saklandı.

Sabouraud Dextrose Agar (SDA) besiyerinin hazırlanması

Üretici firmanın önerileri doğrultusunda dehidre toz besiyerinden 40 g/L konsantrasyonda olacak şekilde hassas terazide tartıldı, üzerine distile su eklenerek 1 L'ye tamamlandı ve eritildi. Besiyeri otoklavda 121°C'de 15 dakika bekletilerek sterilize edildi. Besiyeri otoklavdan çıkartılarak 45-50°C'ye kadar soğutuldu ve pH kontrolleri yapıldı (5,4±0,2).

Steril petri kutularına besiyeri kalınlığı 4 mm olacak şekilde yaklaşık 20'şer mL döküldü. Katılaştıran besiyeri +4°C'de buzdolabına kaldırılarak kullanılıncaya kadar saklandı.

Mueller Hinton Broth (MHB) besiyerinin hazırlanması

Üretici firmanın önerileri doğrultusunda dehidre toz besiyerinden 21 g/L konsantrasyonda olacak şekilde hassas terazide tartıldı, üzerine distile su eklenerek 1 L'ye tamamlandı ve eritildi. Besiyeri otoklavda 121°C'de 15 dakika bekletilerek sterilize edildi. Besiyeri otoklavdan çıkartılarak pH kontrolleri yapıldı ($7,4\pm 0,2$). Besiyeri +4°C'de buzdolabına kaldırılarak kullanılıncaya kadar saklandı.

Sabouraud Dextrose Broth (SDB) besiyerinin hazırlanması

Üretici firmanın önerileri doğrultusunda dehidre toz besiyerinden 30 g/L konsantrasyonda olacak şekilde hassas terazide tartıldı, üzerine distile su eklenerek 1 L'ye tamamlandı ve eritildi. Besiyeri otoklavda 121°C'de 15 dakika bekletilerek sterilize edildi. Besiyeri otoklavdan çıkartılarak pH kontrolleri yapıldı ($5,4\pm 0,2$). Besiyeri +4°C'de buzdolabına kaldırılarak kullanılıncaya kadar saklandı.

3.3.4. Bileşiklerin stok çözeltilerinin hazırlanması

Sentezlenmiş olan toz haldeki bileşikler hassas terazi yardımıyla 20 mg tartılarak steril ependorf tüpler içerisine konuldu. Üzerlerine test edilen mikroorganizmalara karşı inhibitör etki göstermeyen oranda, yani toplam hacimde %10'u geçmeyecek şekilde 100 µl dimetilsülfoksit (DMSO, Sigma-Aldrich, USA) eklenerek çözülmesi için iyice vortekslendi. Üzerlerine 900 µl distile su eklenerek karıştırıldı ve bileşiklerin stok çözeltileri 20 mg/ml olacak şekilde hazırlandı. Son olarak, çözeltiler 0,45 mikrometre çaplı şırınga ucu membran filtreden geçirilerek steril edildi.

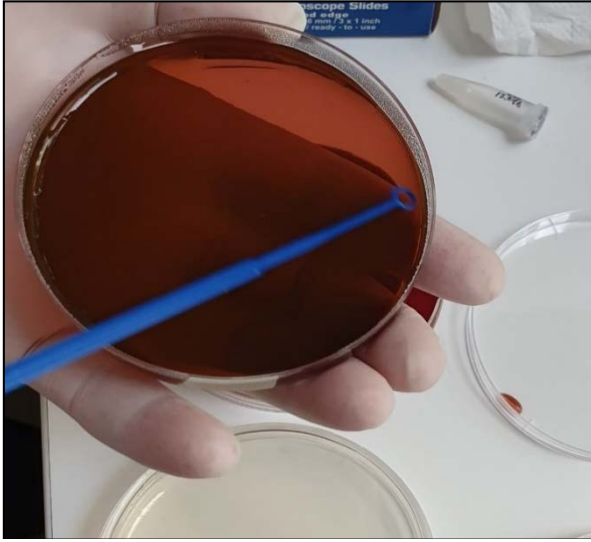
3.3.5. Alamar mavisinin hazırlanması

Antimikrobiyal aktivitenin incelenmesinde indikatör boya olarak Alamar mavisi (Sigma-Aldrich, USA) kullanıldı. Distile su içerisinde yaklaşık 10mg/mL olacak şekilde çözülerek Alamar mavisinin stok solüsyonu hazırlandı. Bu solüsyon 0.45 µm çapında steril membran filtreden geçirilerek süzüldü ve sterilizasyon sonrası steril bir tüp içerisinde toplandı.

3.3.6. Antimikrobiyal aktivite testi

Antibakteriyel ve antifungal aktivite testlerinde, bileşiklerin minimum inhibitör konsantrasyonlarının (MİK) belirlenmesi için tabanı düz olan 96 kuyucuklu steril mikropleytlar kullanılmıştır.

İlk olarak -80°C 'de derin dondurucuda muhafaza edilmiş olan 15 standart bakteri izolatu çözülerek Kanlı Agar (Merck) ve Eozin Meliten Blue (EMB, Merck) Agar besiyerlerine pasajlanarak canlandırıldı ve saflık kontrolleri yapıldı. Aynı şekilde mantar izolatları dondurucudan alınarak çözüldü ve Sabouraud Dextrose Agar (SDA, Merck) besiyerine pasajlanarak canlandırıldı ve saflık kontrolleri yapıldı (Resim 3.1).



Resim 3.1. Bakterilerin pasajlanması

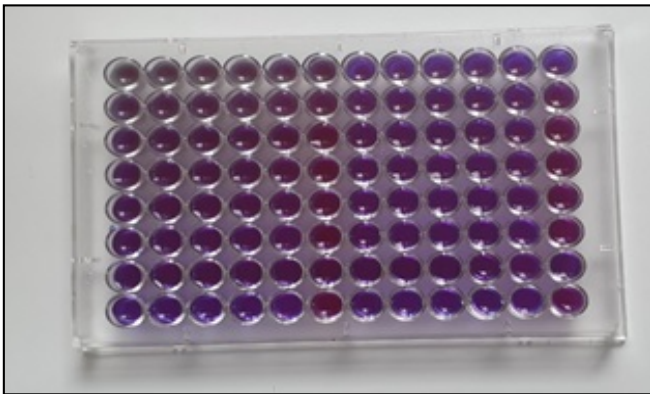
Bir gece bekletilmiş standart bakteri izolatları steril bir tüp içerisine Müeller Hinton Broth (MHB) besiyeri ilave edilerek ml'sinde $10^7 - 10^8$ CFU/ml (CFU/ml=colony forming unit/ml, kob/ml=koloni oluşturan birim/ml) arasında bakteri olacak şekilde McFarland 0,5 standart bulanıklığına göre ayarlanarak yapıldı (Resim 3.2). Mantar izolatları benzer şekilde steril bir tüp içerisine SDB besiyeri ilave edilerek ml'sinde $10^7 - 10^8$ kob/ml arasında olacak şekilde McFarland 1 standart bulanıklığına göre ayarlandı.



Resim 3.2. Bakterilerin McFarland 0.5 bulanıklığının ölçülmesi

Test edilecek her bir bakteri izolatu için mikropleytin 8 kuyucuk içeren bir sütunu kullanıldı. Steril mikropleytlerin tüm kuyucuklarına 100 μ L steril MHB besiyeri eklendi. İlk kuyucuğa steril stok bileşik çözeltilisinden 100 μ L eklendi ve iyice pipetlenerek homojen olarak karışması sağlandı. Sonra ilk kuyucuktan pipetle 100 μ L ikinci kuyucuğa transfer ederek 1/2 oranında sulandırıldı. Aynı şekilde bu işlem 6. kuyucuğa kadar yapıldı ve son kuyucuktan alınan 100 μ L çözeltili dışarı atıldı. Mikropleytlerde konsantasyonları 10 mg/ml ile 312 μ g/ml aralığında olacak şekilde MBH besiyeri içerisinde seri dilüsyon yapılmış oldu. Bu kuyucukların üzerlerine hazırlanmış olan standart bakteri süspansiyonlarından 100 μ L eklenerek pipetaj yapıldı.

Negatif kontrol olarak; içerisinde 100 μ L MHB besiyeri bulunan 7. kuyucuğa sadece 100 μ L stok bileşik çözeltilisinden eklendi. Pozitif kontrol olarak; içerisinde 100 μ L MHB besiyeri bulunan 8. kuyucuğa 100 μ L bakteri süspansiyonundan eklendi. Mikropleyt kapağı kapatıldıktan sonra 20 saat etüvde 37°C de bekletilerek inkübe edildi. Bu sürenin sonunda tüm kuyucuklara 20 μ L alamar mavisi eklenerek tekrar etüve kaldırıldı ve 4 saat daha bekletildi (Resim 3.3).



Resim 3.3. Alamar mavisi eklenmiş kuyucuklar

Testin değerlendirilmesi; inkübasyon sonrasında kuyucuktaki karışımın pembe renge dönmesi pozitif bakteriyel üreme olarak yorumlanırken, mavi rengin değişmeden kalması bakteri üremesinin olmadığı şeklinde yorumlandı. MİK değeri maviden pembeye dönüşmeyen en büyük dilüsyon değeri olarak belirlendi.

Bileşiklerin antifungal aktivite çalışması, SDB besiyerinde ve antibakteriyel aktivite çalışmasında kullanılan yöntem izlenerek yapılmıştır. MİK değerleri bakteriler için 24 saat, mantarlar için 24-48 saat sonrasında gözlemlenerek kaydedilmiştir. Her bileşik için testler iki kez tekrarlanmıştır. Ayrıca bakteriyel çalışma için Amikasin, mantar çalışması için Amfoterisin B standart ilaç olarak, kontrol amaçlı kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

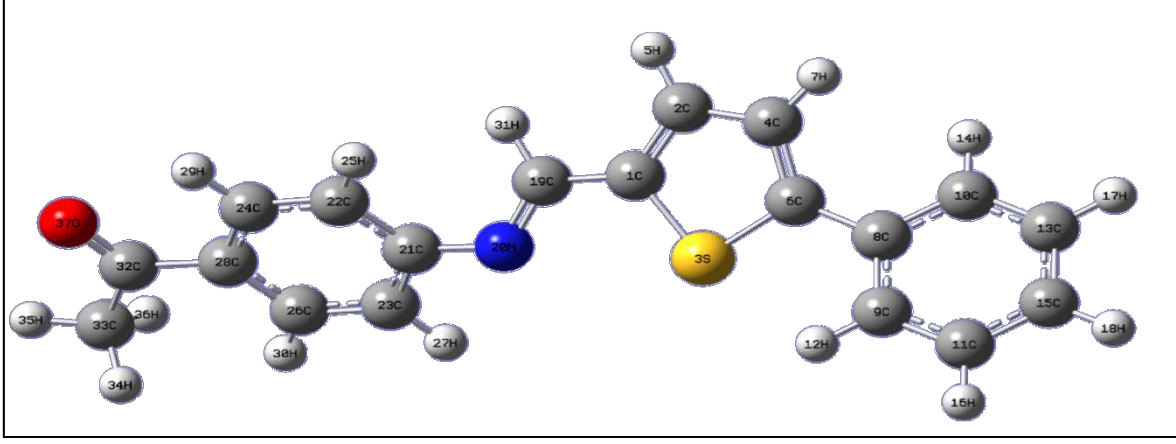
4.1. Teorik Hesaplamalar

4.1.1. Geometri optimizasyonu

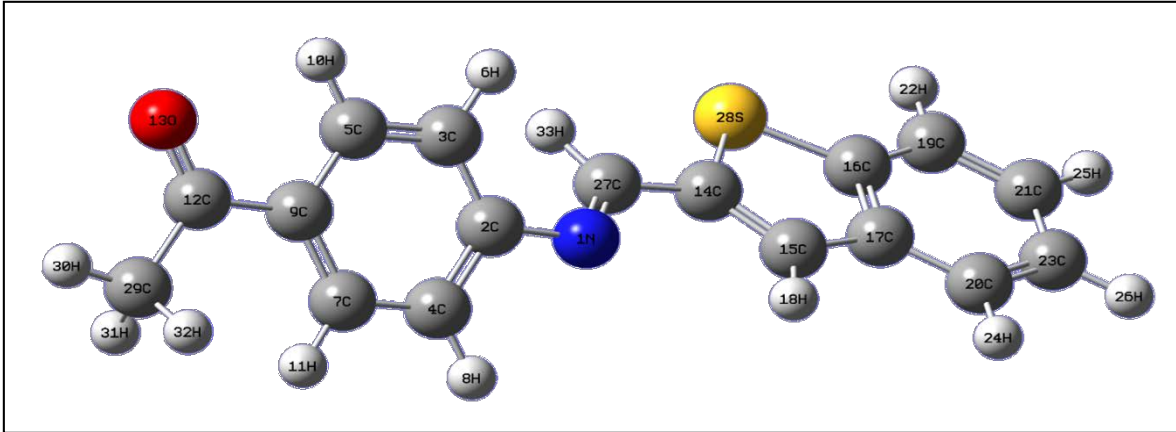
Tiyofenli Schiff bazı türevleri, Bileşik I ve Bileşik II'nin yapısal parametreleri, Gaussian 09 yazılımı ve GaussView 5 moleküler görselleştirme programı kullanılarak, DFT/B3LYP/6-311++G(d,p) yöntemiyle elde edildi. Bileşik I ve Bileşik II'nin üç boyutlu moleküler yapısı Resim 4.1 ve 4.2'de, yapısal parametreleri Çizelge 4.1-4.5'de sunulmuştur. Çizelge 4.1 de bileşiklerin bağ uzunlukları, Çizelge 4.2 ve 4.3'de bağ açıları ve Çizelge 4.4 ve 4.5'de torsiyon açıları verilmektedir.

Gaz fazdaki Bileşik I ve Bileşik II'nin hesaplanmış yapısal parametreleri ile tek kristal yapıli bileşiklerin X-ışını difraksiyonu ile elde edilen yapısal parametrelerinin yakın sonuçlar sağlayıp sağlamadığı büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle Bileşik I ve Bileşik II'nin optimizasyonu ile elde edilen yapısal parametreler, tek kristal yapıli benzer bileşiklerin yapısal parametreleri ile karşılaştırıldı. Bileşiklerin optimizasyonunda kullanılan yöntemin ve baz setlerinin uygunluğunu kontrol etmek için bu karşılaştırma oldukça önemlidir. Bileşik I ve Bileşik II'nin tiyofen halkalarındaki S-C bağı uzunlukları sırasıyla 1.748, 1.746/1.7498 ve 1.7661 Å olarak hesaplanmıştır. Literatürde, benzer tek kristal yapılar için bu uzunluklar 1.706/1.723 Å (Ünver ve diğerleri, 2006), 1.700/ 1.710 Å (Süleymanoğlu ve diğerleri, 2011) ve 1.7475/1.7481 Å (Hemanathan ve diğerleri, 2018) olarak verilmektedir. Tiyofen ve fenil halkalarını birbirine bağlayan her iki molekülün N = C çift bağının uzunluğu sırasıyla, 1.282/1.2799 Å; literatürde verilen değeri ise 1.278 Å'dur (Iskeleli ve diğerleri, 2015). Feniletanol grubunda çift bağı O = C uzunluğunun hesaplanan değeri sırasıyla, 1.2185/1.2182 Å ve literatürdeki değeri 1.208 Å'dur (Ustabaş ve diğerleri, 2009). Bileşik I ve Bileşik II'nin bağ açıları, O37=C32-C28/O13=C12-C9, C21-N20-C19/C2-N1-C27 ve S3-C1-C19 /S28-C14-C27; sırasıyla, 120.8 /120.7, 120.5 /120.2 ve 122.2 / 119.40 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler literatürde verilen değerlerle uyumludur (Iskeleli ve diğerleri, 2015; Ünver ve diğerleri, 2006; Ustabaş ve diğerleri, 2009). Bileşik I ve Bileşik II'nin bağ uzunluk ve bağ açısı değerleri ile literatürdeki benzer tek kristal yapıların bağ uzunluk ve bağ

açı değerleri çok yakın sonuçlara sahiptir. Bu nedenle uygun yöntemin ve baz setinin seçildiği sonucuna varılabilir.



Resim 4.1. Bileşik I'in DFT/B3LYP/6-311G++(d,p) yöntemi ile optimize edilmiş moleküler yapısı



Resim 4.2. Bileşik II'nin DFT/B3LYP/6-311G++(d,p) yöntemi ile optimize edilmiş moleküler yapısı

Teorik çalışma ileride ilaç geliştirme çalışmalarında antimikrobiyal özellik gösteren bileşiklerin tanınması ve yapısal özelliklerinin ortaya konulması açısından son derece önemli ve gereklidir. Bu çalışmalar antimikrobiyal aktivite sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde bazı toksik ve yan etkiler nedeniyle alternatif ilaç tasarımı ve geliştirilmesi çalışmalarında dikkate alınabilecek bileşikler hakkında fikir vermesi açısından önemli bir katkı sağlayacaktır.

Çizelge 4.1. Bileşik I ve Bileşik II'nin DFT/B3LYP//6-311++G(d,p) yöntemi ile elde edilen bağ uzunlukları

Bağ Uzunlukları (Å)	Bileşik I	Bağ Uzunlukları (Å)	Bileşik II
C1-C2	1,3798	N1-C2	1,3997
C1-S3	1,7460	N1-C27	1,2799
C1-C19	1,4407	C2-C3	1,4074
C2-C4	1,4122	C2-C4	1,4032
C2-H5	1,0830	C3-C5	1,3858
S3-C6	1,7480	C3-H6	1,0840
C4-C6	1,3802	C4-C7	1,3876
C4-H7	1,0817	C4-H8	1,0833
C6-C8	1,4673	C5-C9	1,4024
C8-C9	1,4045	C5-H10	1,0833
C8-C10	1,4054	C7-C9	1,4031
C9-C11	1,3911	C7-H11	1,0833
C9-H12	1,0841	C9-C12	1,4964
C10-C13	1,3906	C12-O13	1,2182
C10-H14	1,0836	C12-C29	1,5182
C11-C15	1,3940	C14-C15	1,3673
C11-H16	1,0841	C14-C27	1,4524
C13-C15	1,3946	C14-S28	1,7661
C13-H17	1,0842	C15-C17	1,4287
C15-H18	1,0839	C15-H18	1,0817
C19-N20	1,2820	C16-C17	1,4186
C19-H31	1,0980	C16-C19	1,3976
N20-C21	1,3982	C16-S28	1,7498
C21-C22	1,4081	C17-C20	1,4090
C21-C23	1,4036	C19-C21	1,3872
C22-C24	1,3856	C19-H22	1,0836
C22-H25	1,0840	C20-C23	1,3832
C23-C26	1,3874	C20-H24	1,0843
C23-H27	1,0833	C21-C23	1,4077
C24-C28	1,4027	C21-H25	1,0839
C24-H29	1,0834	C23-H26	1,0838
C26-C28	1,4033	C27-H33	1,0974
C26-H30	1,0833	C29-H30	1,0887
C28-C32	1,4956	C29-H31	1,0939
C32-C33	1,5186	C29-H32	1,0940
C32-O37	1,2185		
C33-H34	1,0939		
C33-H35	1,0887		
C33-H36	1,0940		

Çizelge 4.2. Bileşik I'in DFT/B3LYP//6-311++G(d,p) yöntemi ile elde edilen bağ açıları

Bağ Açılı (°)	Bileşik I	Bağ Açılı (°)	Bileşik I
C2-C1-S3	110,86	C1-C19-N20	122,77
C2-C1-C19	126,95	C1-C19-H31	115,02
S3-C1-C19	122,18	N20-C19-H31	122,20
C1-C2-C4	113,35	C19-N20-C21	120,52
C1-C2-H5	122,66	N20-C21-C22	123,25
C4-C2-H5	123,99	N20-C21-C23	117,96
C1-S3-C6	91,66	C22-C21-C23	118,73
C2-C4-C6	113,35	C21-C22-C24	120,40
C2-C4-H7	123,66	C21-C22-H25	119,66
C6-C4-H7	122,96	C24-C22-H25	119,91
S3-C6-C4	110,78	C21-C23-C26	120,50

Çizelge 4.2. (devam) Bileşik I'in DFT/B3LYP//6-311++G(d,p) yöntemi ile elde edilen bağ açıları

Bağ Açıları (°)	Bileşik I	Bağ Açıları (°)	Bileşik I
S3-C6-C8	121,30	C21-C23-H27	118,50
C4-C6-C8	127,92	C26-C23-H27	120,99
C6-C8-C9	121,45	C22-C24-C28	120,99
C6-C8-C10	120,24	C22-C24-H29	120,74
C9-C8-C10	118,30	C28-C24-H29	118,26
C8-C9-C11	120,80	C23-C26-C28	120,88
C8-C9-H12	119,68	C23-C26-H30	118,79
C11-C9-H12	119,51	C28-C26-H30	120,33
C8-C10-C13	120,75	C24-C28-C26	118,47
C8-C10-H14	119,61	C24-C28-C32	118,65
C13-C10-H14	119,62	C26-C28-C32	122,88
C9-C11-C15	120,31	C28-C32-C33	118,84
C9-C11-H16	119,57	C28-C32-O37	120,82
C15-C11-H16	120,12	C33-C32-O37	120,34
C10-C13-C15	120,34	C32-C33-H34	110,97
C10-C13-H17	119,60	C32-C33-H35	108,68
C15-C13-H17	120,06	C32-C33-H36	10,98
C11-C15-C13	119,50	H34-C33-H35	109,36
C11-C15-H18	120,26	H34-C33-H36	107,47
C13-C15-H18	120,24	H35-C33-H36	109,35

Çizelge 4.3. Bileşik II'nin DFT/B3LYP//6-311++G(d,p) yöntemi ile elde edilen bağ açıları

Bağ Açıları (°)	Bileşik II	Bağ Açıları (°)	Bileşik II
C2-N1-C27	120,20	C17-C16-C19	121,62
N1-C2-C3	123,14	C17-C16-S28	111,24
N1-C2-C4	117,98	C19-C16-S28	127,14
C3-C2-C4	118,83	C15-C17-C16	112,16
C2-C3-C5	120,34	C15-C17-C20	129,09
C2-C3-H6	119,67	C16-C17-C20	118,75
C5-C3-H6	119,96	C16-C19-C21	118,29
C2-C4-C7	120,45	C16-C19-H22	120,99
C2-C4-H8	118,58	C21-C19-H22	120,72
C7-C4-H8	120,96	C17-C20-C23	119,58
C3-C5-C9	120,99	C17-C20-H24	119,76
C3-C5-H10	120,74	C23-C20-H24	120,66
C9-C5-H10	118,27	C19-C21-C23	120,99
C4-C7-C9	120,86	C19-C21-H25	119,44
C4-C7-H11	118,76	C23-C21-H25	119,57
C9-C7-H11	120,38	C20-C23-C21	120,76
C5-C9-C7	118,50	C20-C23-H26	119,84
C5-C9-C12	118,60	C21-C23-H26	119,40
C7-C9-C12	122,90	N1-C27-C14	121,91
C9-H11-O13	120,75	N1-C27-H33	121,66
C9-C12-C29	118,86	C14-C27-H33	116,42
O13-C12-C29	120,39	C14-S28-C16	91,01
C15-C14-C27	128,48	C12-C29-H30	108,69
C15-C14-S28	112,17	C12-C29-H31	110,99
C27-C14-S28	119,35	C12-C29-H32	110,96
C14-C15-C17	113,42	H30-C29-H31	109,36
C14-C15-H18	122,04	H30-C29-H32	109,33
C17-C15-H18	124,55	H31-C29-H32	107,48

Çizelge 4.4. Bileşik I'in DFT/B3LYP//6-311++G(d,p) yöntemi ile elde edilen torsiyon açıları

Torsiyon Açılı (°)	Bileşik I	Torsiyon Açılı (°)	Bileşik I
S3-C1-C2-C4	-0,34	H16-C11-C15-H18	0,40
S3-C1-C2-H5	-179,60	C10-C13-C15-C11	-0,06
C19-C1-C2-C4	179,74	C10-C13-C15-H18	179,77
C19-C1-C2-H5	0,48	H17-C13-C15-C11	-179,35
C2-C1-S3-C6	0,44	H17-C13-C15-H18	0,48
C19-C1-S3-C6	-179,63	C1-C19-N20-C21	176,66
C2-C1-C19-N20	179,26	C31-C19-N20-C21	-4,57
C2-C1-C19-H31	0,42	C19-N20-C21-C22	-39,70
S3-C1-C19-N20	-0,65	C19-N20-C21-C23	143,28
S3-C1-C19-H31	-179,50	N20-C21-C22-C24	-178,74
C1-C2-C4-C6	0,00	N20-C21-C22-C25	-0,82
C1-C2-C4-H7	-178,08	C23-C21-C22-C24	-1,74
H5-C2-C4-C6	179,25	C23-C21-C22-C25	176,18
H5-C2-C4-H7	1,17	N20-C21-C23-C26	179,54
C1-S3-C6-C4	-0,44	N20-C21-C23-C27	-1,07
C1-S3-C6-C8	179,74	C22-C21-C23-C26	2,38
C2-C4-C6-S3	0,33	C22-C21-C23-C27	-178,23
C2-C4-C6-C8	-179,87	C21-C22-C24-C28	0,19
H7-C4-C6-S3	178,43	C21-C22-C24-C29	179,61
H7-C4-C6-C8	-1,77	C25-C22-C24-C28	-177,73
S3-C6-C8-C9	-29,24	C25-C22-C24-C29	1,69
S3-C6-C8-C10	151,12	C21-C23-C26-C28	-1,47
C4-C6-C8-C9	150,98	C21-C23-C26-C30	179,12
C4-C6-C8-C10	-28,66	C27-C23-C26-C28	179,15
C6-C8-C9-C11	-179,49	C27-C23-C26-C30	-0,26
C6-C8-C9-H12	-0,77	C22-C24-C28-C26	0,75
C10-C8-C8-C11	0,15	C22-C24-C28-C32	-179,93
C10-C8-C9-H12	178,88	C29-C24-C28-C26	-178,68
C6-C8-C10-C13	179,16	C29-C24-C28-C32	0,64
C6-C8-C10-H14	-2,24	C23-C26-C28-C24	-0,11
C9-C8-C10-C13	-0,49	C23-C26-C28-C32	-179,40
C9-C8-C10-H14	178,11	C30-C26-C28-C24	179,29
C8-C9-C11-C15	0,23	C30-C26-C28-C32	0,01
C8-C9-C11-H16	179,72	C24-C28-C32-C33	-179,55
H12-C9-C11-C15	-178,50	C24-C28-C32-O37	0,53
H12-C9-C11-H16	1,00	C26-C28-C32-C33	-0,26
C8-C10-C13-C15	0,45	C26-C28-C32-O37	179,82
C8-C10-C13-H17	179,75	C28-C32-C33-H34	59,66
H14-C10-C13-C15	-178,15	C28-C32-C33-H35	179,94
H14-C10-C13-H17	1,14	C28-C32-C33-H36	-59,77
C9-C11-C15-C13	-0,28	O37-C32-C33-H34	-120,43
C9-C11-C15-H18	179,89	O37-C32-C33-H35	-0,14
H16-C11-C15-C13	-179,77	O37-C32-C33-H36	120,14

Çizelge 4.5. Bileşik II'nin DFT/B3LYP//6-311++G(d,p) yöntemi ile elde edilen torsiyon açıları

Torsiyon Açılı (°)	Bileşik II	Torsiyon Açılı (°)	Bileşik II
C27-N1-C2-C3	-41,00	C27-C14-C15-H18	-0,13
C27-N1-C2-C4	141,84	S28-C14-C15-C17	0,00
C2-N1-C27-C14	176,64	S28-C14-C15-H18	180,00
C2-N1-C27-H33	-4,46	C15-C14-C27-N1	-2,38
N1-C2-C3-C5	-178,90	C15-C14-C27-H33	178,67
N1-C2-C3-H6	-0,94	S28-C14-C27-N1	177,48
C4-C2-C3-C5	-1,76	S28-C14-C27-H33	-1,46
C4-C2-C3-H6	176,20	C15-C14-S28-C16	0,00

Çizelge 4.5. (devam) Bileşik II'nin DFT/B3LYP//6-311++G(d,p) yöntemi ile elde edilen torsiyon açıları

Torsiyon Açılı (°)	Bileşik II	Torsiyon Açılı (°)	Bileşik II
N1-C2-C4-C7	179,80	C27-C14-S28-C16	-179,89
N1-C2-C4-H8	-0,96	C14-C15-C17-C16	0,00
C3-C2-C4-C7	2,51	C14-C15-C17-C20	179,91
C3-C2-C4-H8	-178,24	H18-C15-C17-C16	-179,99
C2-C3-C5-C9	0,10	H18-C15-C17-C20	-0,08
C2-C3-C5-H10	179,62	C19-C16-C17-C15	179,92
H6-C3-C5-C9	-177,85	C19-C6-C17-C20	0,00
H6-C3-C5-H10	1,67	S28-C16-C17-C15	0,00
C2-C4-C7-C9	-1,62	S28-C16-C17-C20	-179,92
C2-C4-C7-H11	178,99	C17-C16-C19-C21	0,02
H8-C4-C7-C9	179,16	C17-C16-C19-H22	-179,99
H8-C4-C7-H11	-0,24	S28-C16-C19-C21	179,93
C3-C5-C9-C7	0,83	S28-C16-C19-H22	-0,08
C3-C5-C9-C12	-179,80	C17-C16-S28-C14	0,00
H10-C5-C9-C7	-178,71	C19-C16-S28-C14	-179,92
H10-C5-C9-C12	0,66	C15-C17-C20-C23	-179,92
C4-C7-C9-C5	-0,07	C15-C17-C20-H24	0,08
C4-C7-C9-C12	-179,41	C16-C17-C20-C23	-0,01
H11-C7-C9-C5	179,32	C16-C17-C20-H24	179,98
H11-C7-C9-C12	-0,03	C16-C19-C21-C23	-0,02
C5-C9-C12-O13	0,06	C16-C19-C21-H25	180,00
C5-C9-C12-C29	179,93	H22-C19-C21-C23	179,99
C7-C9-C12-O13	179,40	H22-C19-C21-H25	0,00
C7-C9-C12-C29	-0,73	C17-C20-C23-C21	0,01
C9-C12-C29-H30	-179,79	C17-C20-C23-H26	179,99
C9-C12-C29-H31	-59,49	H24-C20-C23-C21	-179,98
C9-C12-C29-H32	59,95	H24-C20-C23-H26	-0,01
O13-C12-C29-H30	0,08	C19-C21-C23-C20	0,00
O13-C12-C29-H31	120,38	C19-C21-C23-H26	-179,97
O13-C12-C29-H32	-120,18	H25-C21-C23-C20	179,99
C27-C14-C15-C17	179,88	H25-C21-C23-H26	0,02

4.1.2. IR ve NMR hesaplamaları

Bileşik I ve Bileşik II için IR hesaplamaları, gaz fazında DFT/B3LYP/6-311++G(d,p) yöntemiyle ve aynı yöntemle optimize edilmiş yapılar üzerinden gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin yapılarını doğrulamak için dikkate alınan bazı titreşim bantları (Ek Şekil 1 ve Ek Şekil 4) ve bu bantlara karşılık gelen hesaplanmış IR titreşim frekansları Çizelge 4.6'da verilmektedir.

Çizelge 4.6. Bileşik I ve Bileşik II'nin seçilmiş, deneysel ve hesaplanmış (ölçeklendirilmiş) titreşim frekansları (cm⁻¹)

Seçilen titreşim frekansları*	Bileşik I		Bileşik II	
	Deneysel	Hesaplanan	Deneysel	Hesaplanan
v(=CH)	3065,23	3062,16	3071,95	3060,40
v(C=O)	1672,84	1664,03	1668,62	1665,26
v(C=N)	1611,80	1640,58	1618,06	1641,51
v(C=C)	1573,79	1592,89	1585,79	1597,73
	1450,72	1463,33	1567,16	1527,34

*Titreşim modları: v, gerilme titreşimi

Çizelge 4.6’da görülebileceği gibi, deneysel veriler ve hesaplama yoluyla elde edilen titreşim frekansları genel olarak uyumludur. Buna karşın, deneysel ve hesaplanmış değerler arasında gözlenen dikkate değer sapmalar, moleküller arasındaki zayıf etkileşimlerin varlığı ile açıklanabilir.

Bileşik I ve Bileşik II’nin NMR spektrumları (sırasıyla, Ek Şekil 2 ve 3/ Ek Şekil 5 ve 6) DMSO içinde kaydedilmiştir. Bu nedenle öncelikli olarak bileşiklerin yapısı DMSO içinde, DFT/B3LYP/6-311++G(d,p) yöntemiyle optimize edildi. GIAO ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR hesaplamaları DMSO çözücü ortamında DFT/B3LYP/6-311++G(d,p) yöntemiyle ve DMSO içinde optimize edilmiş yapılar kullanılarak gerçekleştirildi. Hesaplanmış NMR (^1H - ve ^{13}C -) spektral verileri Çizelge 4.7’de deneysel değerlerle birlikte verilmektedir.

Çizelge 4.7. Bileşik I ve Bileşik II’nin DMSO- d_6 içindeki deneysel ve DMSO çözücünde DFT/B3LYP/6-311G(d,p) yöntemiyle hesaplanmış, ^1H ve ^{13}C izotropik kimyasal kaymaları (bütün değerler ppm biriminde)

Bileşik I			Bileşik II		
Atom	Deneysel	Hesaplanan	Atom	Deneysel	Hesaplanan
C1	148,93	155,00	C2	154,82	165,66
C2	136,30	143,44	C3	121,97	122,58
C4	125,22	129,81	C4	121,97	131,32
C6	141,49	168,22	C5	130,13	135,85
C8	133,43	141,87	C7	130,13	138,46
C9	126,31	133,84	C9	135,05	138,77
C10	126,31	133,24	C12	197,58	207,78
C11	129,60	135,97	C14	139,51	153,78
C13	129,60	135,67	C15	123,31	130,61
C15	129,35	136,06	C16	140,97	156,51
C19	155,45	161,65	C17	142,63	146,49
C21	155,25	165,40	C19	125,46	129,23
C22	121,73	122,80	C20	125,93	132,60
C23	121,73	131,24	C21	132,50	133,44
C24	130,13	135,84	C23	127,55	131,89
C26	130,13	138,74	C27	157,01	161,99
C28	134,58	139,62	C29	26,36	30,19
C32	197,30	208,09	H6	7,40-7,53	7,46
C33	26,97	29,48	H8	7,40-7,53	7,75
H5	7,68	7,80	H10	8,00-8,05	8,54
H7	7,76-7,80	7,63	H11	8,00-8,05	8,36
H12	7,76-7,80	8,01	H18	8,11	8,64
H14	7,76-7,80	8,12	H22	8,00-8,05	8,24
H16	7,35-7,50	7,81	H24	8,00-8,05	8,36
H17	7,35-7,50	7,71	H25	7,40-7,53	7,82
H18	7,35-7,50	7,75	H26	7,40-7,53	7,84
H25	7,35-7,50	7,49	H30	2,58	2,04
H27	7,35-7,50	7,60	H31	2,58	3,00
H29	8,00	8,51	H32	2,58	3,04
H30	8,00	8,37	H33	8,99	8,71
H31	8,82	8,82			
H34	2,58	3,04			
H35	2,58	2,06			
H36	2,58	2,99			

IR ve NMR teorik spektrumları, moleküllerin optimize yapıları üzerinden yapılan hesaplamalar sonucu elde edildiği için; hesaplanmış ve deneysel spektral verilerin uyumu, aynı zamanda yapısal parametrelerin doğru belirlenebildiğinin bir göstergesidir ve bu nedenle de oldukça önemlidir. Hesaplamalardan elde edilen spektral parametreler ile deneysel veriler karşılaştırılarak, dikkate alınan bileşiklerin yapısal özelliklerinin doğru bir şekilde belirlenebildiği ortaya konulabilir. Amorf yapıdaki bileşiklerin yapısal parametreleri bu şekilde güvenle belirlenebilir. Ek olarak, IR ve NMR spektral verilerinde gözlenen deneysel değerlerden sapmalar (sırasıyla Çizelge 4.6 ve 4.7), zayıf moleküller arası etkileşimlerin varlığını ortaya koymaktadır.

4.2. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

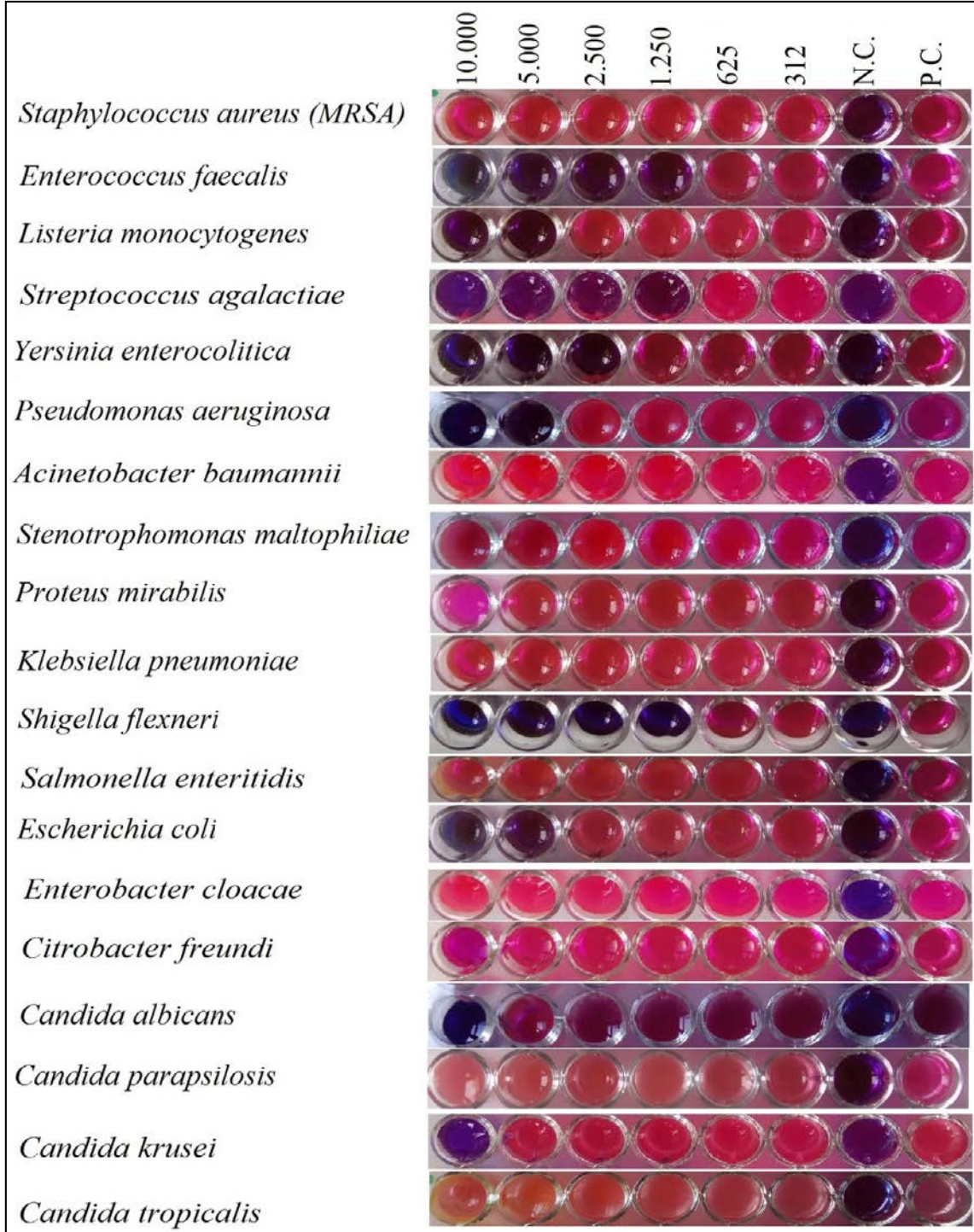
Alamar mavisi eklenen bileşiklerin etüvde 4 saat bekletilmesinin ardından yapılan değerlendirmede; kuyucuklarda alamar mavisinin renginin değişmemesi üremenin olmadığı, rengin pembeye dönmesi üremenin olduğu şeklinde yorumlandı. Bileşiklerin test edilen standart bakteri izolatlarına karşı antibakteriyel aktiviteleri MİK değeri belirlenerek kaydedildi (Resim 4.3 ve 4.4). Eğer pozitif kontrolde üreme gözlenmemişse bir gün daha beklenerek 48 saat sonra tekrar değerlendirildi. Çalışmada standart ilaç olarak Amikasin kullanıldı.

Sonuçlar değerlendirildiğinde; Bileşik I'nin *Shigella flexneri*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida krusei* ve *Candida albicans* izolatlarına karşı farklı düzeylerde antibakteriyel ve antifungal aktivite gösterdiği ve MİK değerlerinin sırasıyla, 1.250 µg/ml, 1.250 µg/ml, 1.250 µg/ml, 2.500 µg/ml, 5.000 µg/ml, 5.000 µg/ml, 5.000 µg/ml, 10.000 µg/ml ve 10.000 µg/ml olduğu, ve Bileşik II'nin *Shigella flexneri*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Stenotrophomonas maltophiliae*'ya karşı etkili olduğu (sırayla MİK değeri: <312µg/ml, 2.500 µg/ml, 2.500 µg/ml, 2.500 µg/ml, 5.000 µg/ml, 10.000 µg/ml, 10.000 µg/ml ve 10.000 µg/ml) saptandı (Resim 4.3 ve 4.4).

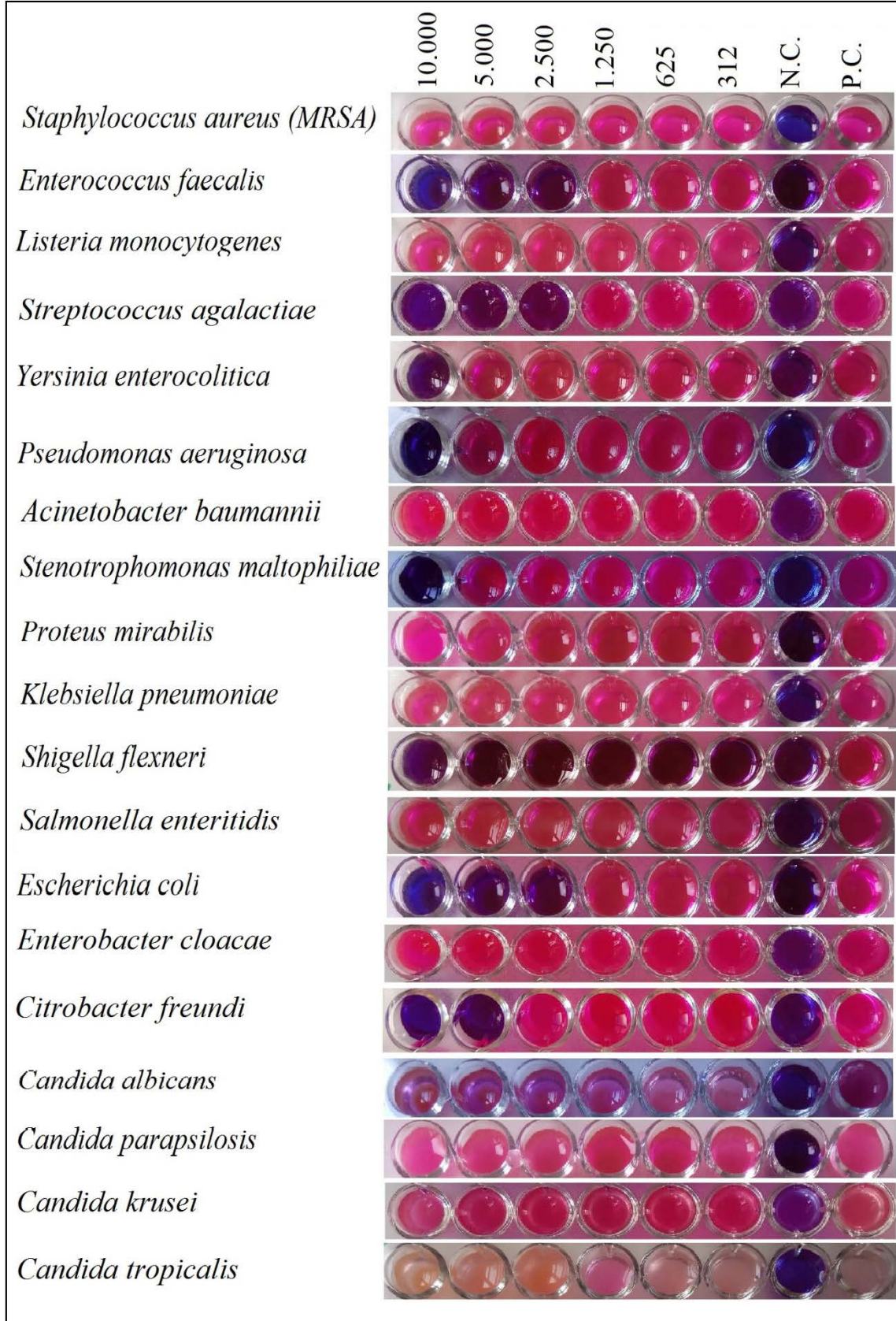
Bileşik I'nin 8 bakteri (*Proteus mirabilis*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophiliae*, *Salmonella enteritidis*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*) ve 2 maya (*Candida parapsilosis* ve *Candida*

tropicalis) izolatına karşı çalışılan konsantrasyonlarda hiçbir antibakteriyel ve antifungal aktivite göstermediği belirlendi. Bileşik II'nin ise 7 bakteri (*Proteus mirabilis*, *Listeria monocytogenes*, *Acinetobacter baumannii*, *Salmonella enteritidis*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Klebsiella pneumoniae*) ve 4 maya (*Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* ve *Candida tropicalis*) izolatına karşı çalışılan konsantrasyonlarda hiçbir antibakteriyel ve antifungal aktivite göstermediği belirlendi (Resim 4.3 ve 4.4).

Bileşiklerin test edilen standart bakteri ve maya izolatlarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri, Çizelge 4.8'de verilen MİK değerleri ile ortaya konulmuştur.



Resim 4.3. Bileşik I'in test edilen standart bakteri ve maya izolatlarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri (Dilüsyon konsantrasyon aralığı 10000-312 µg/ml, N.C.:Negatif Kontrol, P.C.:Pozitif Kontrol)



Resim 4.4. Bileşik II'nin test edilen standart bakteri ve maya izolatlarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri (Dilüsyon konsantrasyon aralığı 10000-312 µg/ml, N.C.:Negatif Kontrol, P.C.:Pozitif Kontrol)

Çizelge 4.8. Bileşiklerin MİK değerleri

Bakteri ve mantar İzolatları	MİK değerleri (µg/ml)	
	Bileşik I	Bileşik II
<i>Shigella flexneri</i>	1.250	≤ 312
<i>Yersinia enterocolitica,</i>	2.500	10.000
<i>Listeria monocytogenes</i>	5.000	>10.000
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>10.000	>10.000
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	>10.000	> 10.000
<i>Enterococcus faecalis</i>	1.250	2.500
<i>Escherichia coli</i>	5.000	2.500
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5.000	10.000
<i>Stenotrophomonas maltophiliae</i>	>10.000	10.000
<i>Proteus mirabilis</i>	>10.000	>10.000
<i>Salmonella enteritidis</i>	>10.000	>10.000
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1.250	2.500
<i>Enterobacter cloacae</i>	>10.000	>10.000
<i>Acinetobacter baumannii</i>	>10.000	>10.000
<i>Citrobacter freundii</i>	>10.000	5.000
<i>Candida albicans</i>	10.000	>10.000
<i>Candida parapsilosis</i>	>10.000	>10.000
<i>Candida krusei</i>	10.000	>10.000
<i>Candida tropicalis</i>	>10.000	>10.000

İskeleli ve arkadaşları tarafından, 11 bakteri izolatına karşı in vitro antibakteriyel ve 8 mantar izolatına karşı antifungal aktivite çalışması yapılmış, bazı Schiff bazı bileşiklerinin *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* ve *Enterococcus faecalis* türü bakterilere karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (İskeleli ve diğerleri, 2015).

Süleymanoğlu ve arkadaşları, yedi farklı bakteri ve bir mantar izolatına karşı yaptıkları antimikrobiyal aktivite çalışmasında, 1,2,4 triazol türevlerinin, *Shigella flexneri* ve *Listeria monocytogenes* bakterilerine karşı dikkate değer antibakteriyel aktivite gösterdiklerini fakat çalışılan mantar izolatına karşı etkili olmadıklarını belirlemişlerdir (Süleymanoğlu ve diğerleri, 2017).

Reiss ve arkadaşları, bazı Schiff bazı bileşiklerinin *Escherichia coli*, *Staphylococcus pyogenes* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi bazı bakterilere karşı antibakteriyel aktivitelerini değerlendirmişler ve N-(2-furanylmethylene)-3-aminodibenzofuran ile hazırlanmış komplekslerin bazı yaygın hastalıkların nedeni olan *Escherichia coli* bakterisine karşı tedavide kullanılabileceğini bildirmişlerdir (Reiss ve diğerleri, 2009).

Matar ve arkadaşları, Schiff bazlarının farklı benzaldehid türevleri ile reaksiyona sokulmasıyla hazırladıkları bileşikleri, iki kat seri dilüsyon yöntemiyle bir dizi patojenik Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriye ve *Candida*'ya karşı antimikrobiyal aktiviteleri için *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Bu bileşiklerin, Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı bakterisit aktivitesi yerine bakteriyostatik aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. 24 µg/ml MİK değerine sahip bileşiğin belirgin antikandida aktivitesi sergilediği ve bu nedenle, ümit verici ve potansiyel bir antifungal madde olarak kabul edilebileceği; ileride daha iyi bir ilaç adayı olabilecek şekilde bileşiğin yapısı üzerinde değişiklikler yapılabileceğini belirtmişlerdir (Matar ve diğerleri, 2015).

Demir Mülazımoğlu ve arkadaşları, Schiff bazları ve metal kompleksleri üzerine yapılan çalışmada, metal komplekslerinin, serbest Schiff bazlarına kıyasla bakteriler üzerinde daha etkili olduğunu, ancak Schiff bazlarının etkilerinin de kendi aralarında değişebileceğini ifade etmişlerdir. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre, serbest Schiff bazlarının, disk difüzyon yöntemi ile bakteriler üzerinde de etkili olabileceğini belirlemişlerdir (Mülazımoğlu ve diğerleri, 2010).

Da Silva ve arkadaşları, yayınlamış oldukları bir mini derlemede Schiff bazlarının endüstriyel uygulamalar için yaygın olarak araştırıldığını belirtmişlerdir. Bununla birlikte, bu sınıftaki bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin daha fazla araştırması gerektiğini belirtmişlerdir. Bu konuda birçok araştırma yapılmaya başlandığını ancak, Schiff bazlarının patojenler üzerindeki etkilerini açıklayan bir dizi raporun son zamanlarda artmış olduğunu, Schiff bazı bileşiklerinin, daha etkili antimikrobiyal ajanların tasarlanması için umut verici potansiyellerinin olduğunu gösterildiğini ifade etmişler. Bu alandaki ilerlemelerle, Schiff bazlarının yapı ve aktivite ilişkilerinin yanı sıra bu bileşiklerin etki mekanizmalarının analizinin yapılması gerektiğini vurgulamışlardır (da Silva ve diğerleri, 2011).

Barnabas ve arkadaşları, Sulfamerazine Schiff-base kompleksleri üzerinde yapmış oldukları antibakteriyel aktivite çalışmasında *E.coli* ve *S.aureus* izolatlarına karşı sentezlemiş olan maddelerin iyi bir antibakteriyel aktiviteye sahip olduklarını belirtmişlerdir (Barnabas ve diğerleri, 2019). Daha önce yapılan bazı çalışmalarda Schiff bazı türevlerinin antibakteriyel etkilerinin olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (İskeleli ve diğerleri, 2015).

Jian Lv ve arkadaşları, Schiff bazları içeren iki bileşik ile yaptıkları antibakteriyel aktivite çalışmalarında *E.coli* izolatına karşı elde ettikleri MİK değerleri $>64\mu\text{g/ml}$ ve $32\mu\text{g/ml}$, bu çalışmada Bileşik I ve Bileşik II için, *E.coli* izolatına karşı elde ettiğimiz MİK değerleri sırasıyla, $5.000\mu\text{g/ml}$ ve $2.500\mu\text{g/ml}$ 'dir. Benzer şekilde *Pseudomonas aeruginosa* izolatına karşı elde edilen MİK değerleri $>64\mu\text{g/ml}$ ve $32\mu\text{g/ml}$, Bileşik I ve Bileşik II için sırasıyla *Pseudomonas aeruginosa* izolatına karşı elde ettiğimiz MİK değerleri $5.000\mu\text{g/ml}$ ve $10.000\mu\text{g/ml}$ şeklindedir. Jian Lv ve arkadaşlarının *Candida albicans* ile yapmış oldukları antimikrobiyal aktivite çalışmasında MİK değerleri $32\mu\text{g/ml}$ ve $4\mu\text{g/ml}$ olarak elde edilmiştir (Jian Lv ve diğerleri, 2006). Bu çalışmada, Bileşik I ve Bileşik II için sırasıyla *Candida albicans* izolatına karşı elde ettiğimiz MİK değerleri $10.000\mu\text{g/ml}$ ve $>10.000\mu\text{g/ml}$ 'dir.

Schiff bazı türevleri önemli biyolojik özellikleri ile ilgi çekmekte ve antimikrobiyal aktivite çalışmalarında oldukça fazla yer almaktadırlar. Bu potansiyelleri nedeniyle çalışmamızda; yeni sentezlenmiş tiyofen içeren Schiff bazı türevlerinin antimikrobiyal aktiviteleri, seçilen 15 bakteri ve 4 mantar izolatu için test edilmiş ve elde edilen sonuçlar DFT çalışması ile belirlenmiş yapısal özellikleri ile birlikte değerlendirilerek sunulmuştur. Bu çalışma; bileşiklerin yeni sentezlenmesi ve seçilen bakteri ve mantar izolatlarına karşı ilk kez test edilmesi nedeniyle diğer çalışmalardan farklıdır ve bu alandaki çalışmalara değerli bir katkı sağlayacaktır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada; yeni sentezlenmiş, yapısı IR ve NMR spektroskopik yöntemleriyle doğrulanmış tiyofenli Schiff bazı türevleri, 1-(4-(((5-feniltiyofen-2-il) metilene) amino)fenil)etan-1-on (I) ve 1-(4-((benzo[*b*]tiyofen-2-ilmetilene)amino)fenil)etan-1-on (II) üzerine moleküler modelleme çalışması ve in vitro antimikrobiyal aktivite çalışması gerçekleştirilmiştir. Moleküler modelleme çalışmasında, Bileşik I ve Bileşik II'nin moleküler yapıları optimize edilmiş, IR ve NMR spektral verileri elde edilmiştir. Bileşiklerin yapısal parametreleri ve titreşim frekansları, gaz fazında DFT/B3LYP/6-311G(d,p) yöntemiyle hesaplanmıştır. NMR spektral verilerinin deneysel verilerle en uygun şekilde karşılaştırılması amacıyla; bileşikler çözücü ortamında (DMSO içinde) tekrar optimize edilmiş ve NMR hesaplamaları bu optimize yapılar üzerinden gerçekleştirilmiştir. Geometri optimizasyonu ile elde edilen yapısal parametreler literatürde verilen benzer yapıların parametreleri ile karşılaştırılmış ve uyumlu olduğu görülmüştür. Elde edilen bağ uzunlukları, bağ açıları ve dihedral açılar literatür ile uyumludur.

IR ve NMR spektral verileri deneysel sonuçlar ile karşılaştırılmış ve genel olarak uyumlu olduğu belirlenmiştir. Hesaplamalar moleküler etkileşimleri içermediğinden, IR ve NMR verilerinde deneysel değerlerden dikkate değer sapmalar, moleküller arasındaki zayıf etkileşimlere bağlanabilir. IR ve NMR verileri birlikte değerlendirildiğinde; birbirini destekleyen bu sapmalar moleküller arası zayıf etkileşimlerin varlığını ortaya koymaktadır.

Bileşiklerin antimikrobiyal aktivite çalışması değerlendirildiğinde; Bileşik I'in 8 bakteri (*Proteus mirabilis*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Salmonella enteritidis*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Klebsiella pneumoniae*) ve 2 maya (*Candida parapsilosis* ve *Candida tropicalis*) izolatına karşı, Bileşik II'nin, 7 bakteri (*Proteus mirabilis*, *Listeria monocytogenes*, *Acinetobacter baumannii*, *Salmonella enteritidis*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Klebsiella pneumoniae*) ve 4 maya (*Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* ve *Candida tropicalis*) izolatına karşı çalışılan konsantrasyonlarda hiçbir antibakteriyel ve antifungal aktivite göstermediği ve bileşiklerin, çalışılan diğer bakteri ve maya izolatlarına karşı farklı düzeylerde antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir.

Buna karşın, antimikrobiyal aktivite çalışması; Bileşik I ve Bileşik II'nin *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus agalactiae* ve *Shigella flexneri* izolatlarına karşı antibakteriyel olarak dikkate değer antibakteriyel aktiviteye sahip olduklarını göstermektedir. Bileşik II, *Shigella flexneri* izolatına karşı önemli antibakteriyel etkinliğe sahiptir (MİK değeri $\leq 312 \mu\text{g/ml}$) ve bu bileşikler üzerinde, özellikle de Bileşik II için, bir ilaç adayı olarak daha ileri çalışmalara devam edilebileceği kanısına varılmıştır. Bu sonuçlar in vivo çalışmalar ile desteklenerek, alternatif ilaç geliştirmek için yapılan çalışmalara önemli bir katkı sağlanabilir. Sentezlenen bileşiklerin ilaç olarak kullanılabilmesi için; deneysel hayvan modellerinde in vivo kontrol çalışmalarına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Abbas, A., Gökce, H., Bahçeli, S. ve Naseer, M. M. (2014). Spectroscopic (FT-IR, Raman, NMR and UV–vis.) and quantum chemical investigations of (E)-3-[4-(pentyloxy)phenyl]-1-phenylprop-2-en-1-one. *Journal of Molecular Structure*, 1075, 352-364.
- Akyar I. (2010). Süper bakteriler için antibiyotik arayışı. *Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 1(2), 62-67.
- Ayşena, D. M., Birolb, Ö. and Bedrettina, M. (2010). Synthesis and antibacterial activity of schiff base derivatives. *International Journal of Drug Development & Research*, 2(1), 102-107.
- Barnabas, M. J., Parambadath, S., Nagappan, S. and Ha, C. S. (2019). Sulfamerazine Schiff-base complex intercalated layered double hydroxide: Synthesis, characterization, and antimicrobial activity. *Heliyon*, 5(4), e01521.
- Bassetti, M. and Righi, E. (2015, October). Overview of fungal infections-the Italian experience. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 36(05), 796-806. Thieme
- Becke, A. D. (1993). A new mixing of Hartree–Fock and local density-functional theories. *The Journal of Chemical Physics*, 98(2), 1372-1377.
- Borman, S. (1990). Density-functional theory gains following among chemists. *Chemical Engineering News*, 68(15), 22-30.
- Chen, D. and Martell, A. E. (1987). Dioxygen affinities of synthetic cobalt schiff base complexes. *Inorganic Chemistry*, 26(7), 1026-1030.
- Courvalin, P., Leclercq, R. and Rice, L. B. (2010). *Antibiogram*. Portland, Or.: ESKA publisher/ASM Press.
- Cozzi, P. G. (2004). Metal–salen schiff base complexes in catalysis: Practical aspects. *Chemical Society Reviews*, 33(7), 410-421.
- Da Silva, C. M., da Silva, D. L., Modolo, L. V., Alves, R. B., de Resende, M. A., Martins, C. V. and de Fátima, Â. (2011). Schiff bases: A short review of their antimicrobial activities. *Journal of Advanced Research*, 2(1), 1-8.
- Demirpek, U. ve Dizer, U. (2010). Tuberculous meningitis: Evaluation and review of 32 cases. *Clinical Microbiology & Infection*, 16.
- Dennington, R., Keith, T. and Millam, J. (2009). *Gauss view version 5* Shawnee Mission, Kansas.. Semichem Incorporated Company
- Ditchfield, R. (1972). Molecular orbital theory of magnetic shielding and magnetic susceptibility. *The Journal of Chemical Physics*, 56(11), 5688-5691.
- Dobson, J. F. (1999). Electron density functional theory. *International Journal of Modern Physics B*, 13(05n06), 511-523.

- Ermış, E., Berber, H. ve Dal, H. (2005). *N*-(2,2 ϕ -metilenbis(metoksifenil)-salisilidin ve *n*-(2,2 ϕ -metilenbis(metoksifenil)-2-hidroksi-1-naftalidin-metilamin bileşiklerinin sentezi ve fenolimin keto-amin tautomerlerinin araştırılması. XIX. Ulusal Kimya Kongresi, Kuşadası.
- Fessenden, R. J. and Fessenden, J. S. (1992). *Organik kimya*. (4. Baskı). (Çeviri Editörü: Uyar, T.). Ankara: Güneş Kitabevi.
- Fioravanti, R., Biava, M., Donnarumma, S., Porretta, G. C., Simonetti, N., Villa, A. and Pompei, R. (1996). Synthesis and microbiological evaluations of (N-heteroaryl) arylmethanamines and their Schiff bases. *Farmaco*, 51(10), 643-652.
- Foresman, J. B. and Frisch, A. (1996). *Exploring chemistry with electronic structure methods: A guide to using gaussian*. Pittsburgh, PA: Gaussian.
- Gökce, H., Öztürk, N., Taşan, M., Alpaslan, Y. B. ve Alpaslan, G. (2016). Spectroscopic characterization and quantum chemical computations of the 5-(4-pyridyl)-1 H-1, 2, 4-triazole-3-thiol molecule. *Spectroscopy Letters*, 49(3), 167-179.
- Halkman, K. ve Sağdaş, Ö. (2005). *Merck Mikrobiyoloji El Kitabı*. Ankara:Başak Matbaacılık.
- Harbola, M. K. and Banerjee, A. (2003). Many-electron problem in terms of the density: From Thomas–Fermi to modern density-functional theory. *Journal of Theoretical and Computational Chemistry*, 2(02), 301-322.
- Hemanathan, K., Raja, R. and Murugesan, K. S. (2018). 8, 9-Dimethoxybenzo [b] naphtho [2, 3-d] thiophene. *IUCrData*, 3(9), x181257.
- Hohenberg, P. and Kohn, W. (1964a). Inhomogeneous electron gas. *Physical Review*, 136(3B), A1133-A1138.
- Hohenberg, P. and Kohn, W. (1964b). Inhomogeneous electron gas. *Physical Review*, 136(3B), B864- B871.
- İlhan, S., Savaroğlu, F., Çolak, F., İşçen, C. F. ve Erdemgil, F. Z. (2006). Antimicrobial activity of palustriella commutata (Hedw.) ochyra extracts (Bryophyta). *Turkish Journal of Biology*, 30(3), 149-152.
- İnternet: Frisch, M.J., Trucks, G.W., Schlegel, H.B., Scuseria, G.E. and Robb, M.A. (2009). GAUSSIAN 09, Revision C.01; Gaussian, Inc.: Wallingford, CT. Web: https://scholar.google.com/citations?user=a_WQvWkAAAAJ&hl=en, adresinden 01 Eylül 2019’da alınmıştır.
- İnternet: Odtü (2019). “Gaussian Yazılımı Nedir?”, Web: <https://faq.cc.metu.edu.tr/tr/sss/gaussian-yazilimi-nedir>, Son Erişim Tarihi: 14.01.2019.
- İskeleli, N. O., Alpaslan, Y. B., Direkel, Ş., Ertürk, A. G., Süleymanoğlu, N. ve Ustabaş, R. (2015). The new Schiff base 4-[(4-Hydroxy-3-fluoro-5-methoxy-benzylidene) amino]-1, 5-dimethyl-2-phenyl-1, 2-dihydro-pyrazol-3-one: Experimental, DFT calculational studies and in vitro antimicrobial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 139, 356-366.

- Jiang, J. J., Chang, T. C., Hsu, W. L., Hwang, J. M. and Hsu, L. Y. (2003). Synthesis and biological activity of sulfur-containing aryl-aldehyde Schiff bases. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 51(11), 1307-1310.
- Karabıyık, H., Kırılmış, C. ve Karabıyık, H. (2017). Geometry dependence of electron donating or accepting abilities of amine groups in 4, 4'-disulfanedıylbis (methylene) dithiazol-2-amine: Pyramidal versus planar. *Journal of Molecular Structure*, 1141, 650-659.
- Karaer, H. (1997). *Schiff bazlarına diazonyum tuzlarının kenetlenmesi ile oluşan bazı azo-azometin boyarmaddelerinin sentezi ve yapılarının spektroskopik tekniklerle incelenmesi*. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Kim, J. C. and Lee, Y. H. (1992). Synthesis and evaluation of uracil-6-carboxaldehyde Schiff base as potential antitumor agents. *Korean Journal Medicine Chemistry*, 2, 64-69.
- Kirk, O. and Othmer, D. F. (1954). *Encyclopedia of chemical technology*. ABD: Jhon Wiley and Sons.
- Kumar, D. and Rawat, D. S. (2013). Synthesis and antioxidant activity of thymol and carvacrol based Schiff bases. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23(3), 641-645.
- Kumar, K. N. ve Ramesh, R. (2004). Synthesis, characterization, redox property and biological activity of Ru (II) carbonyl complexes containing O, N-donor ligands and heterocyclic bases. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 60(12), 2913-2918.
- Lv, J., Liu, T., Cai, S., Wang, X., Liu, L. and Wang, Y. (2006). Synthesis, structure and biological activity of cobalt (II) and copper (II) complexes of valine-derived schiff bases. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 100(11), 1888-1896.
- Matar, S. A., Talib, W. H., Mustafa, M. S., Mubarak, M. S. and AlDamen, M. A. (2015). Synthesis, characterization, and antimicrobial activity of Schiff bases derived from benzaldehydes and 3, 3'-diaminodipropylamine. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(6), 850-857.
- Molvi, K. I., Mansuri, M., Sudarsanam, V., Patel, M. M., Andrabi, S. M. A. and Haque, N. (2008). Synthesis, anti-inflammatory, analgesic and antioxidant activities of some tetrasubstituted thiophenes. *Journal Enzyme Inhibition and Med Chemistry*, 23(6), 829-838.
- Murray, R. P., Baron, J. E., Jorgensen, J. H., Landry, L. M. and Pfaller, A. M. (2009). *Klinik mikrobiyoloji*. (Çev. Başustaoglu, A., Kubar, A., Yıldiran, Ş. T., Tanyüksel, M.). Ankara: Atlas Kitapçılık.
- Nagy, Á. (1998). Density functional. Theory and application to atoms and molecules. *Physics Reports*, 298(1), 1-79.
- O'brien, J., Wilson, I., Orton, T. and Pognan, F. (2000). Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *European Journal of Biochemistry*, 267(17), 5421-5426.

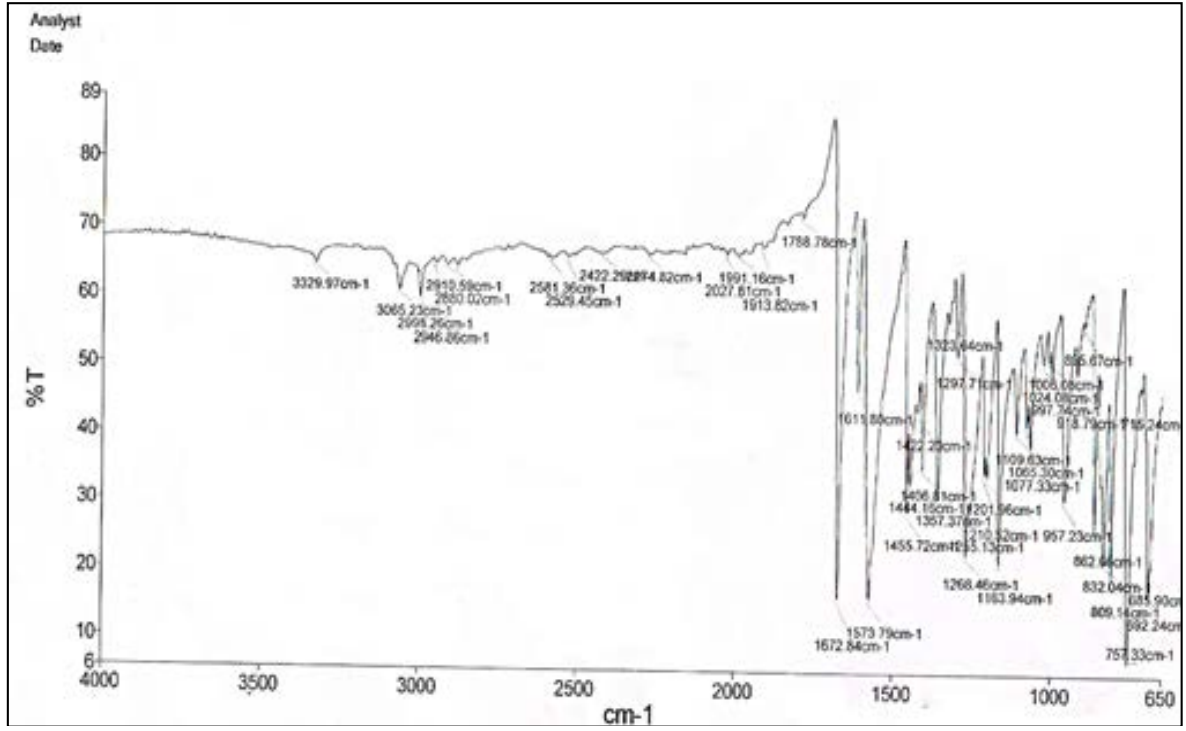
- Orgel, L. E. (1960). *Introduction to transition-metal chemistry: Ligand-Field Theory*. London: Methuen & Co Ltd.
- Ötük, G. (1992). Antibiyogramların değerlendirilmesi. *Antibiyotikler*, 11-17.
- Özbülbül, A. (2006). Oligofenol esaslı yeni tip oligomer Schiff bazlarının sentezi ve karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Özçelik, B., Kartal, M. ve Orhan, I. (2011). Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids, and phenolic acids. *Pharmaceutical Biology*, 49(4), 396-402.
- Özkuyumcu, C. (2010). Bakteriye patogenezin mekanizmaları. İçinde: *Tıbbi mikrobiyoloji*. (1. Baskı). (Çev. Başustaoğlu, A.C., Yıldırım, Ş.T., Tanyüksel, M., Yapar, M.). Ankara: Atlas Kitapçılık.
- Parekh, J. and Chanda, S. (2007). In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plants. *Turkish Journal of Biology*, 31(1), 53-58.
- Patai, S. (1970). *Carbon-nitrogen double bond*. New Jersey: John Wiley & Sons Ltd.
- Peng, C., Ayala, P. Y., Schlegel, H. B. and Frisch, M. J. (1996). Using redundant internal coordinates to optimize equilibrium geometries and transition states. *Journal of Computational Chemistry*, 17(1), 49-56.
- Pfeiffer, P., Hesse, T., Pfitzner, H., Scholl, W. and Thielert, H. (1937). Innere kompleksalze der aldimin-und azoreihe. *Journal für Praktische Chemie*, 149(8-10), 217-296.
- Pulay, P. (1969). Ab initio calculation of force constants and equilibrium geometries in polyatomic molecules: I. Theory. *Molecular Physics*, 17(2), 197-204.
- Pulay, P. (1987). Analytical derivative methods in quantum chemistry. *Advances in Chemical Physics*, 69, 241-286.
- Rao, N.S. and Reddy, M.G. (1990). Studies on the synthesis, characterisation and antimicrobial activity of new Co(II), Ni(II) and Zn(II) complexes of Schiff base derived from ninhydrin and glycine. *Biology Metal*, 3(1),19-23.
- Reiss, A., Florea, S., Caproiu, T. and Stanica, N. (2009). Synthesis, characterization, and antibacterial activity of some transition metals with the Schiff base N-(2-furanylmethylene)-3-aminodibenzofuran. *Turkish Journal of Chemistry*, 33(6), 775-783.
- Rios, J. L., Recio, M. C. and Villar, A. (1988). Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. *Journal of Ethnopharmacology*, 23(2-3), 127-149.
- Sancak, K., Er, M., Ünver, Y., Yildirim, M., Degirmencioglu, I. ve Serbest, K. (2007). Cu (II), Ni (II) and Fe (II) complexes with a new substituted [1, 2, 4] triazole Schiff base derived from 4-amino-5-(thien-2-yl ethyl)-2, 4-dihydro-3H-1, 2, 4-triazol-3-one and 2-hydroxy-1-naphthaldehyde: synthesis, characterization and a comparison of theoretical and experimental results by Ab initio calculation. *Transition Metal Chemistry*, 32(1), 16-22.

- Schiff, H. (1864). Mittheilungen aus dem Universitätslaboratorium in Pisa: eine neue Reihe organischer Basen. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 131(1), 118-119.
- Schiff, H. (1869). Untersuchungen über salicinderivate. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 150(2), 193-200.
- Seesom, W., Jaratrungtawee, A., Suksamrarn, S., Mekseepralard, C., Ratananukul, P. and Sukhumsirichart, W. (2013). Antileptospiral activity of xanthenes from *Garcinia mangostana* and synergy of gamma-mangostin with penicillin G. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13(1), 182.
- Serin, S. ve Gök, Y. (1988). Hidroksi schiff bazı metal komplekslerinin tekstil boyamacılığında kullanılabilirliğinin incelenmesi. *T. Kimya DC*, 12(3), 325-331.
- Sharma, P.K. and Dubey, S.N. (2002). Synthesis and structural studis of iron (II)complexes with *N*-salicylidene-and *N*-(2-hydroxy-1-naphthylidene) aminoacids. *Indian Journal of Chemistry*, 33A, 1113-1115.
- Stephens, P. J., Devlin, F. J., Chabalowski, C. F. N. and Frisch, M. J. (1994). Ab initio calculation of vibrational absorption and circular dichroism spectra using density functional force fields. *The Journal of Physical Chemistry*, 98(45), 11623-11627.
- Süleymanoğlu, N., Ustabaş, R., Alpaslan, Y. B., Ünver, Y., Turan, M. ve Sancak, K. (2011). Synthesis, spectroscopic characterization, calculational studies and in vitro antitumoral activity of 4-(3-(1H-imidazol-1-yl) propyl)-(thiophen-2-ylmethyl)-1H-1, 2, 4-triazol-5 (4H)-one. *Journal of Molecular Structure*, 989(1-3), 101-108.
- Süleymanoğlu, N., Ustabaş, R., Ünver, Y., Alpaslan, Y. B., Direkel, Ş. ve Karaman, Ü. (2019). 5-Phenyl thiophene amino phenol derivatives: Synthesis, spectroscopic characterization, computational study and antimicrobial activity. *Journal of Molecular Structure*, 1182, 36-46.
- Süleymanoğlu, N., Ünver, Y., Ustabaş, R., Direkel, Ş. ve Alpaslan, Y. B. (2017). Theoretical and antimicrobial activity study for ethyl {4-[3-(1 H-imidazole-1-yl) propyl]-3-methyl-5-oxo-4, 5-dihydro-1 H-1, 2, 4-triazol-1-yl} acetate. *Spectroscopy Letters*, 50(2), 96-101.
- Tabassum, S., Amir, S., Arjmand, F., Pettinari, C., Marchetti, F., Masciocchi, N. and Pettinari, R. (2013). Mixed-ligand Cu (II)-vanillin Schiff base complexes; effect of coligands on their DNA binding, DNA cleavage, SOD mimetic and anticancer activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 60, 216-232.
- Taşova, Y. (2012). Dirençli gram pozitif bakteri infeksiyonlarında güncel tedavi. *Yoğun Bakım Dergisi*, 10(3), 147-64.
- Tekin, S. Z., Aksaray, S., Bozkurt, F., Albayrak, G. ve Taşcıoğlu, J. (2016). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilokok türlerinde vankomisin direncinin araştırılması. *Family Practice and Palliative Care*, 1(2), 43-47.
- Unver, Y. ve Bektas, E. (2018). Synthesis and Biological Activity of New Schiff Bases of Benzylideneamine Bearing Thiophene, 1, 2, 4-triazolone, 1, 3, 4-oxadiazole, Morpholine Moieties. *Letters in Drug Design & Discovery*, 15(7), 706-712..

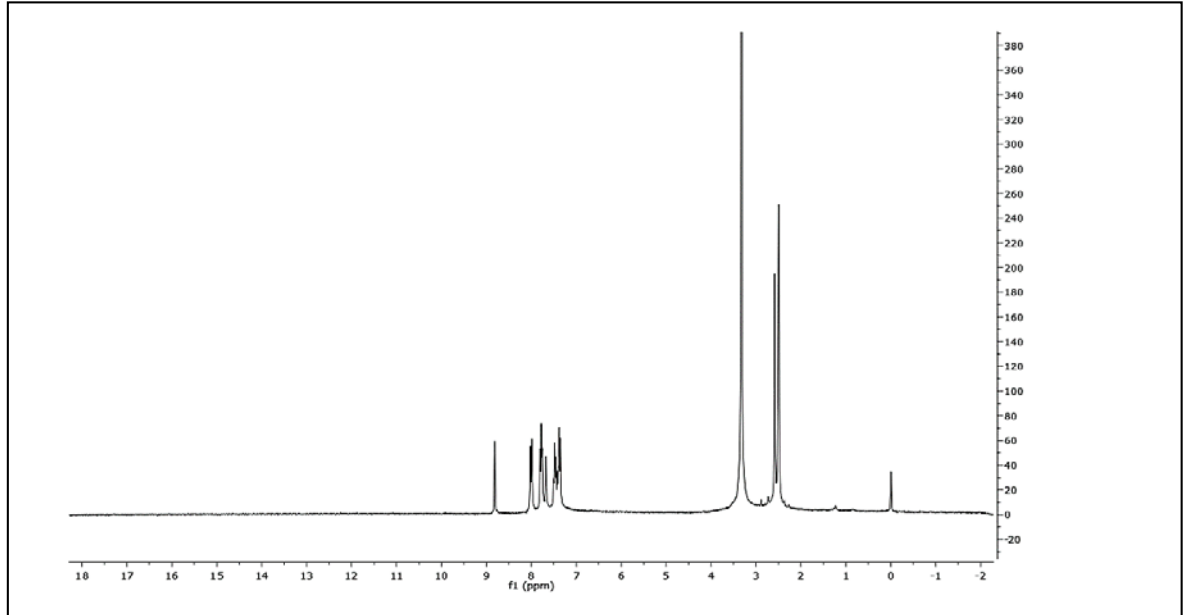
- Uslu, H., Aktaş, A.E., Ayyıldız, A. ve Melikoğlu, M. (2004). Farklı klinik tanımlı hastalardaki dermatofitik ayak etkenleri. *Atatürk Üniversitesi Tıp Dergisi*, 36, 83-87.
- Ustabaş, R., Ünver, Y., Suleymanoğlu, N., Çoruh, U. ve Sancak, K. (2009). 2-Benzoylmethyl-4-[(2-benzylideneethylidene) amino]-5-(2-thienylmethyl)-2H-1, 2, 4-triazol-3 (4H)-one. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*, 65(5), o1006-o1007.
- Ünver, Y., Sancak, K., Çelik, F., Birinci, E., Küçük, M., Soylu, S. ve Burnaz, N. A. (2014). New thiophene-1, 2, 4-triazole-5 (3)-ones: Highly bioactive thiosemicarbazides, structures of Schiff bases and triazole-thiols. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 84, 639-650.
- Ünver, Y., Ustabaş, R., Çoruh, U., Sancak, K. ve Vazquez-Lopez, E. M. (2006). 3, 3'-Bis (2-thienylmethyl)-4, 4'-(butane-1, 4-diyl) bis (4, 5-dihydro-1H-1, 2, 4-triazol-5-one). *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*, 62(9), o3938-o3939.
- Wade, L.G. (1999). *Organic chemistry*. USA: Pearson Education.
- Wolinski, K., Hinton, J. F. and Pulay, P. (1990). Efficient implementation of the gauge-independent atomic orbital method for NMR chemical shift calculations. *Journal of the American Chemical Society*, 112(23), 8251-8260.
- Yazıcı, A. ve Karabağ, E.T. (1988). *Aminoasitlerden türeyen Schiff bazlarının metal komplekslerinin araştırılması*. Bitirme Projesi, İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, İstanbul.
- Yılmaz, İ. ve Çukurovalı, A. (2003). Synthesis, characterization and antimicrobial activity of the Schiff bases derived from 2, 4-disubstituted thiazoles and 3-methoxysalicylaldehyde, and their cobalt (II), copper (II), nickel (II) and zinc (II) complexes. *Transition Metal Chemistry*, 28(4), 399-404.
- Yüksekdağ, Z. N. ve Baltacı, N. (2013). Staphylococcus aureus türlerinde biyofilm ve biyofilm oluşumundan sorumlu genler. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 43, 77-83.

EKLER

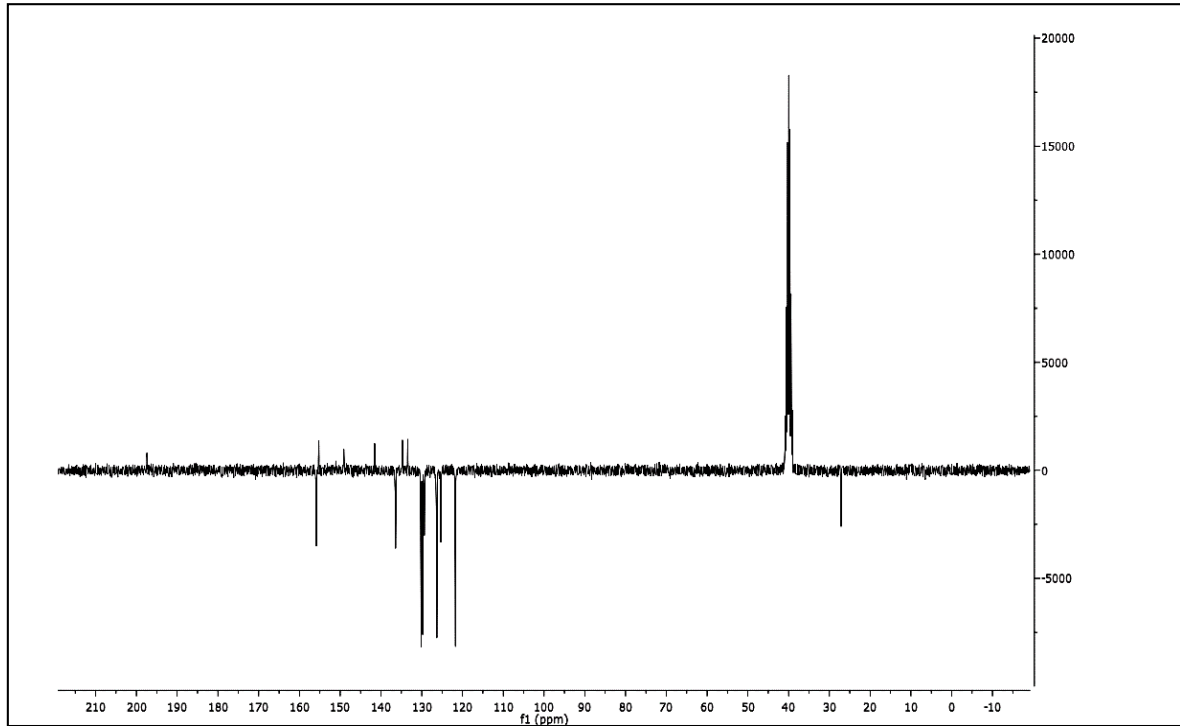
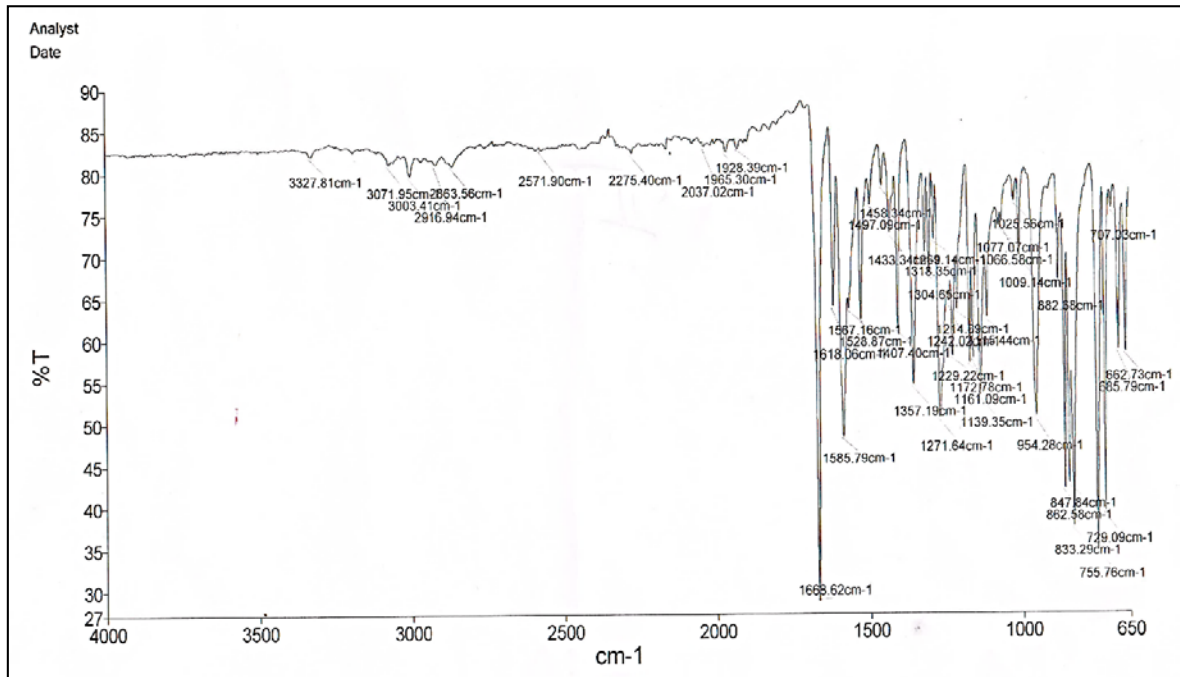
Ek-1. Bileşik I ve Bileşik II'nin IR ve NMR Spektrumları



Şekil E.1. Bileşik I'in IR spektrumu

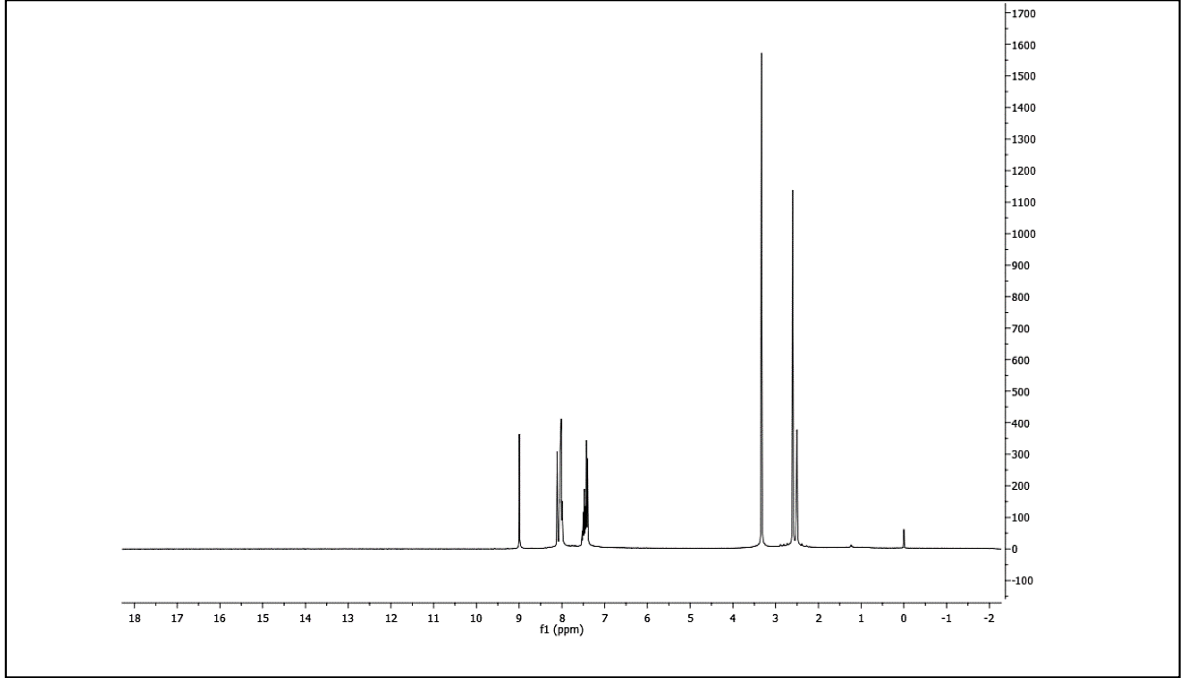
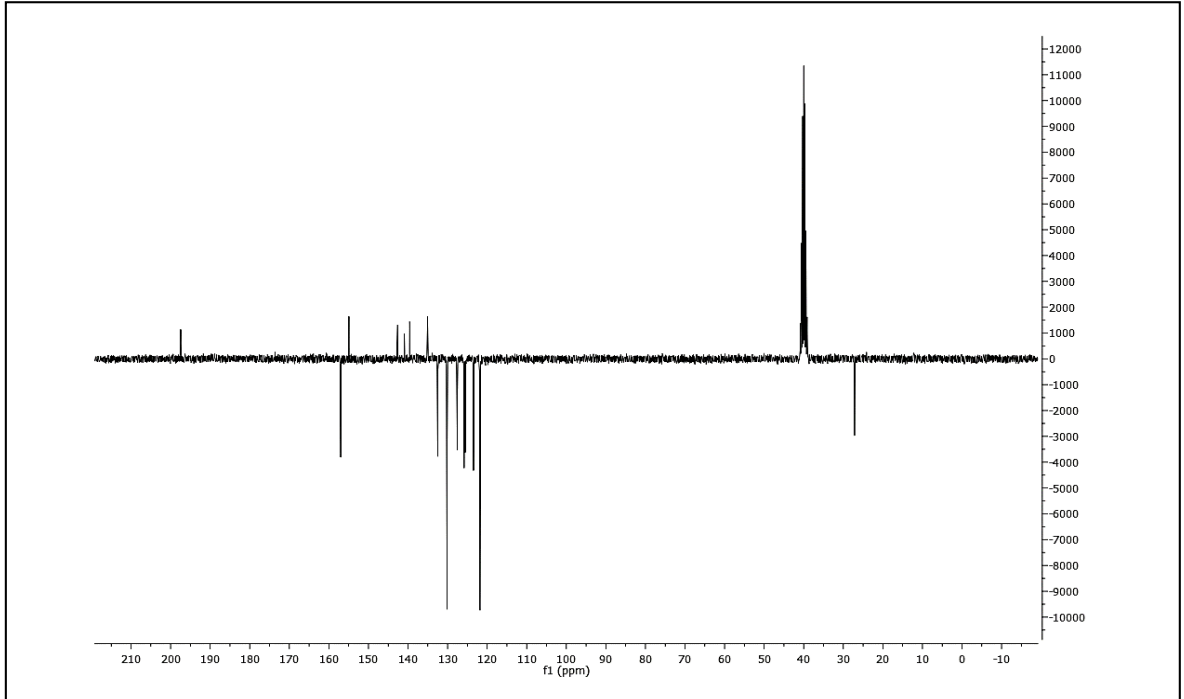
Şekil E.2. Bileşik I'in ¹H-NMR spektrumu

Ek-1. (devam) Bileşik I ve Bileşik II'nin IR ve NMR Spektrumları

Şekil E.3. Bileşik I'in ^{13}C -NMR spektrumu

Şekil E.4. Bileşik II'nin IR spektrumu

Ek-1. (devam) Bileşik I ve Bileşik II'nin IR ve NMR Spektrumları

Şekil E.5. Bileşik II'nin ¹H-NMR spektrumuŞekil E.6. Bileşik II'nin ¹³C-NMR spektrumu

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ESMER, Ela
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 12.03.1990, Ankara
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 0 543 954 44 91
 e-mail : esmerdemir.ela@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / İleri Teknolojiler	Devam ediyor
Lisans	Erciyes Üniversitesi / Biyomedikal Mühendisliği	2013
Lise	YDA Kalaba Lisesi	2008

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2016- Halen	STH Teknoloji A.Ş	Üretim Sorumlusu
2014-2016	Nüve A.Ş	Kalite Kontrol Sorumlusu

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

- Esmer-Demir, E., Süleymanoğlu, N., Direkel, Ş. ve Ünver, Y. (2019/1-5 Mayıs). *Tiyofenli schiff bazı türevlerinin antibakteriyel aktivitesi*. 34. ANKEM Kongresi, Sözlü Bildiri, Marmaris.
- Esmer-Demir, E., Süleymanoğlu, N., Direkel, Ş. ve Ünver Y. (2019/4-8 Eylül). *New schiff base derivatives with thiophene; DFT study and antimicrobial activity*. 35. Uluslar Arası Fizik Kongresi, Sözlü Bildiri, Bodrum.



GAZİ GELECEKTİR..