



**3-AMİNO-5-METİL İZOKSAZOL GRUBU İÇEREN İMİN
BİLEŞİKLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU,
ELEKTROKİMYASAL ÖZELLİKLERİ, BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ VE
TEORİK ÇALIŞMALARININ İNCELENMESİ**

Tuncay DEMİR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HAZİRAN 2025

ETİK BEYAN

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

- 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 çalışmada 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.

Tuncay DEMİR

18/06/2025

3-AMİNO-5-METİL İZOKSAZOL GRUBU İÇEREN İMİN BİLEŞİKLERİNİN
SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU, ELEKTROKİMYASAL ÖZELLİKLERİ,
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ VE TEORİK ÇALIŞMALARININ İNCELENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)

Tuncay DEMİR

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2025

ÖZET

Bu tez çalışması dört aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada; 3-amino-5-metil izoksazol reaktifi ile farklı aldehitlerden imin bileşikler (Schiff bazları) sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşikler sırasıyla; 2-ter-butyl-6-[(5-metil,1,2-oksazol-3-il)imino]metilfenol (Tbsal-izo), 5-metoksi-2-[(5-metil-1,2-oksazol-3-il)imino]metilfenol (4-Meosal-izo), 3-(2-metoksifenil)-N-(5-metil-1,2-oksazol-3-il)propan-1-imin(2-Meosin-izo), 1-(2,4-dimetoksifenil)-N-(5-metil-1,2-oksazol-3-il)metanimin (2,4-diMeo-izo). Sentezlenen bileşiklerin yapıları ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve FT-IR gibi spektroskopik yöntemlerle ve element analizi (CHNS) ölçümleriyle analiz edilmiş ve erime noktaları tayin edilmiş ve ayrıca Tbsal-izo un yapısı X-ışınları kırınım yöntemiyle desteklenmiştir. İkinci aşamada; Sentezlenen Schiff bazlarının antimikrobiyal aktiviteleri; Gram-pozitif bakterilere (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984) ve Gram-negatif bakterilere (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) karşı antibakteriyal aktiviteleri, *Candida Albicans* ATCC 10231 ve *Candida Parapsilosis* ATCC 22019 karşı antifungal aktiviteleri in vitro olarak test edilmiştir. Ayrıca bileşiklerin antibiyofilm aktiviteleri de araştırılmıştır. Tezin üçüncü aşamasında sentezlenen bileşiklerin bakteri enzimleriyle moleküler etkileşimlerini incelemek amacıyla moleküler yerleştirme çalışmaları (Moleküler doking) gerçekleştirildi. Aynı zamanda sentezlenen bileşiklerin farmakokinetik davranışları için ADME çalışmaları yapıldı ve hesaplamalar bileşiklerin iyi ilaç benzeri davranışlar gösterdiğini desteklemiş oldu. Tezin son aşamasında izoksazol halkası içeren Schiff bazlarının elektrokimyasal davranışları, susuz ortam olan 0,1 M tetrabutylamonyum-tetrafloroborat (TBATFB) içeren asetonitril (ACN) içeren çözeltisinde, camı karbon elektrot (GCE) üzerinde belirli bir potansiyel aralığında dönüşümlü voltametri (CV) yöntemi kullanılarak incelendi.

Bilim Kodu : 20103
Anahtar Kelimeler : İzoksazol, Schiff bazı, antimikrobiyal aktivite, elektrokimyasal, özellikler, Moleküler Docking, ADME
Sayfa Adedi : 95
Danışman : Prof. Dr. Ümmühan ÖZDEMİR ÖZMEN

INVESTIGATION OF SYNTHESIS, CHARACTERIZATION, ELECTROCHEMICAL
PROPERTIES, BIOLOGICAL ACTIVITIES AND THEORETICAL STUDIES OF
IMINES CONTAINING 3-AMINO-5-METHYL ISOXAZOLE GROUP

(M. Sc. Thesis)

Tuncay DEMİR

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

June 2025

ABSTRACT

This thesis was conducted in four main stages. In the first stage, a series of Schiff base compounds were synthesized through the condensation of 3-amino-5-methylisoxazole with various aldehydes. The resulting imine compounds include: 2-tert-butyl-6-[(5-methyl-1,2-oxazol-3-yl)imino]methylphenol (Tbsal-izo), 5-methoxy-2-[(5-methyl-1,2-oxazol-3-yl)imino]methylphenol (4-Meosal-izo), 3-(2-methoxyphenyl)-N-(5-methyl-1,2-oxazol-3-yl)propan-1-imine (2-Meosin-izo), and 1-(2,4-dimethoxyphenyl)-N-(5-methyl-1,2-oxazol-3-yl)methanimine (2,4-diMeo-izo). The structures of these compounds were confirmed using spectroscopic methods including ¹H-NMR, ¹³C-NMR, and FT-IR, along with elemental (CHNS) analysis. Their melting points were also determined, and also Tbsal-izo was supported with X-ray crystallography method. In the second stage, the antimicrobial activities of the synthesized Schiff bases were evaluated *in vitro*. Testing was conducted against: Gram-positive bacteria: *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 35984), Gram-negative bacteria: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), Fungi: *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida parapsilosis* (ATCC 22019). Additionally, their anti-biofilm activities were investigated to assess potential biofilm inhibition. In the third stage, molecular docking studies were performed to explore the interactions of the synthesized compounds with key bacterial enzymes. To further evaluate their drug-like potential, ADME (Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion) properties were predicted using computational tools. The results indicated favorable pharmacokinetic profiles, supporting their potential as drug-like candidates. In the final stage, the electrochemical properties of the synthesized Schiff bases were studied using cyclic voltammetry (CV). The experiments were carried out in an anhydrous acetonitrile (ACN) solution containing 0.1 M tetrabutylammonium tetrafluoroborate (TBATFB) as the supporting electrolyte. Measurements were performed on a glassy carbon electrode (GCE) over a defined potential range.

Science Code : 20103

Key Words : Isoxazole, Schiff base, antimicrobial activity, electrochemical properties,
Molecular Docking, ADME

Page Number : 95

Supervisor : Prof. Dr. Ümmühan ÖZDEMİR ÖZMEN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmamın planlanmasından tez yazımına kadar bütün aşamalarında ilgisini, bilgisini ve desteğini benden esirgemeyen, değerli hocam ve tez danışmanım Gazi Üniversitesi Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Ümmühan ÖZDEMİR ÖZMEN'e,

Elektrokimyasal özelliklerin tespitinde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocam Gazi Üniversitesi Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Demet UZUN'a,

X-Ray sonuçlarının hazırlanmasında desteğini esirgemeyen değerli hocam Atatürk Üniversitesi Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Ertan ŞAHİN'e,

Antimikrobiyal aktivite çalışmaları ve in-vitro biyofilm oluşturma deneylerinde desteğini esirgemeyen değerli hocam Ömer Halisdemir Üniversitesi Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Ali ÖZTÜRK'e,

Moleküler dinamik simülasyon çalışmalarında desteğini esirgemeyen değerli hocam Çankırı Karatekin Üniversitesi Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Saliha ALYAR'a

Yüksek lisans çalışmalarımı düzenli yapabilmem için gerekli izin konusunda desteğini esirgemeyen MEB Ortaöğretim Genel Müdürlüğü Öğretim Materyalleri ve İçerik Geliştirme Dairesi Kimya Komisyonu Başkanı Sayın Fatma Zerrin GÖRGÜN'e,

Beni alınteri ile okutup bu günlere gelmemi sağlayan işçi emeklisi elleri öpülesi kıymetli babam Kemal DEMİR'e; beni iyi bir insan olarak yetiştiren annem Meryem DEMİR'e; yüksek lisans çalışmamı bitirebilmek için hayatımızı düzenleyen, cesaret verip takdir eden iki çocuğumun annesi çok değerli eşim Nebahat DEMİR'e; moral ve motivasyon kaynaklarım olan oğullarım Ali Kaan DEMİR ve Çağatay Tuna DEMİR'e,

Teşekkür ediyorum.

Bu çalışmamı Mustafa Kemal ATATÜRK ve silah arkadaşlarının aziz ruhlarına ithaf ediyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	5
2.1. İzoksazol içeren bileşiklerin önemi.....	5
2.2. Tedavi amaçlı olarak kullanılan izoksazol içeren bileşikler ve ilaçlar	7
2.2.1. Antikanser etki gösteren bileşik ve ilaçlar	7
2.2.2. Antibakteriyel etki gösteren bileşik ve ilaçlar.....	9
2.2.3. Nörotoksik ve psikiyatrik etki gösteren bileşik ve ilaçlar	10
2.2.4. Antiromatizmal etki gösteren bileşik ve ilaçlar	12
2.2.5. Analjezik etki gösteren bileşik ve ilaçlar	13
2.2.6. Antihipertansif etki gösteren bileşik ve ilaçlar	13
2.3. Tedavi amaçlı olarak kullanılması planlanan izoksazol içeren bileşikler	14
2.4. Metal kompleksi olarak izoksazol içeren bileşikler ve önemi.....	18
3. MATERYAL VE YÖNTEM	27
3.1. Materyaller.....	27
3.2. Analizlerde kullanılan cihazlar.....	27
3.3 Bileşiklerin sentez yöntemi.....	27

Sayfa

3.3.1. 2-ter-butyl-6-[(5-metil-1,2-oksazol-3-il) imino] metilfenol (Tbsal-izo)	31
3.3.2. 5-metoksi-2-[(5-metil-1,2-oksazol-3-il) imino] metilfenol (4-Meosal-izo)	32
3.3.3. 3-(2-metoksifenil)-N-(5-metil-1,2-oksazol-3-il) popan-1-imin (2-Meosin-izo)	33
3.3.4. 1-(2,4-dimetoksifenil)-N-(5-metil-1,2-oksazol-3-il)metanimin (2,4-diMeo-izo)	33
3.4. Antibakteriyel aktivite çalışmaları	35
3.5. İn-vitro biyofilm oluşturma deneyi	35
3.6. Bileşiklerin bakteriyel biyofilmler üzerindeki etkisi.....	36
3.7. Moleküler yerleştirme çalışmaları.....	37
3.8. Siliko adme çalışmaları	37
3.9. Elektrokimyasal karakterizasyon çalışması	38
3.9.1. Kullanılan cihazlar.	38
3.9.2. Hücre ve elektrotlar.....	38
3.9.3. Kullanılan kimyasallar.	38
3.9.4. Dönüşümlü voltametri (cv).	39
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI.....	41
4.1. Tbsal-izo molekülünün tek kristal x-ışını yapı analizi.....	41
4.2. İzoksazol halkası içeren schiff bazlarının ır ve nmr yorumları	41
4.1.1. 2-ter-butyl-6-[(5-metil-1,2-oksazol-3-il) imino] metilfenol (Tbsal-izo) ...	41
4.1.2. 5-metoksi-2-[(5-metil-1,2-oksazol-3-il) imino] metilfenol (4-Meosal-izo)	53
4.1.3. 3-(2-metoksifenil)-N-(5-metil-1,2-oksazol-3-il) popan-1-imin (2-Meosin-izo)	58

	Sayfa
4.1.4. 1-(2,4-dimetoksifenil)-N-(5-metil-1,2oksazol-3-il)metanimin (2,4-diMeo-izo)	63
4.2. Antibakteriyel aktivite testi.....	68
4.2.1. Bileşik 1 (Tbsal-izo)	68
4.2.2. Bileşik 2 (4-Meosal-izo)	68
4.2.3. Bileşik 3 (2-Meosin-izo)	69
4.2.4. Bileşik 4 (2,4-diMeo-izo)	69
4.3. İn-vitro antibiyofilim aktivite deneyi	70
4.4. Sentezlenen bileşiklerin ilaç benzerlikleri	75
4.5. Moleküler yerleştirme çalışmaları.....	79
4.6. Bileşiklerin elektrokimyasal karakterizasyonu.....	83
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	89
KAYNAKLAR	91
ÖZGEÇMİŞ	95

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Tedavi amaçlı olarak kullanılması planlanan bileşikler	14
Çizelge 3.1. Sentezlenen bileşiklerin element analiz sonuçları	34
Çizelge 4.1. Tbsal-izo bileşiklerin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerleri tablosu	52
Çizelge 4.2. 4-Meosal-izo bileşiklerin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerleri tablosu.....	57
Çizelge 4.3. 2-Meosin-izo bileşiklerin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerleri tablosu.....	62
Çizelge 4.4. 2,4-diMeo-izo bileşiklerin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerleri tablosu	67
Çizelge 4.5. İzoksazol halkasına sahip Schiff bazı bileşiklerin FT-IR değerleri tablosu	68
Çizelge 4.6. İzoksazol bileşiklerin test edilen bakteri suşlarına karşı MİK değerleri ($\mu\text{g/mL}$).....	70
Çizelge 4.7. İzoksazol bileşiklerin test edilen mantar suşlarına karşı MİK değerleri ($\mu\text{g/mL}$).....	70
Çizelge 4.8. Bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda bakteri suşlarının türlerine karşı anti biyofilm inhibisyon yüzdeleri	73
Çizelge 4.9. Bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda <i>Candida</i> türlerine karşı anti biyofilm inhibisyon yüzdeleri.....	74
Çizelge 4.10. Seçili bileşikler için tahmini ADME sonuçları.....	76
Çizelge 4.11. Bileşiklerin 4GFD, 3KP3 ve 4JSC proteini ile etkileşimlerinden elde edilen parametrelerin sayısal değerleri	81

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. İzoksazol bileşiğinin yapısı.....	1
Şekil 1.2. Heteroatomik beş üyeli halka systemin sahip bileşik örneklerinin yapıları ...	1
Şekil 1.3. Sentezlenen izoksazol bileşiklerinin yapıları.....	3
Şekil 2.1. İbotenik asit ve muscimol bileşiklerinin yapıları.....	5
Şekil 2.2. Kloksasilin, dikloksasilin ve flukloksasilin bileşiklerinin yapıları.....	6
Şekil 2.3. İzoksazol bileşiğinin farklı biyolojik aktiviteleri.....	6
Şekil 2.4. HSP90 molekülünün yapısı.....	7
Şekil 2.5. Pürin ve Pirazol moleküllerinin yapıları	7
Şekil 2.6. VER-49009 ve VER-50589 moleküllerinin yapıları.....	8
Şekil 2.7. Tivozanip molekülünün yapısı.....	8
Şekil 2.8. Danazol molekülünün yapısı	9
Şekil 2.9. Sülfisoksazol molekülünün yapısı.....	9
Şekil 2.10. Sülfametaksazol molekülünün yapısı	10
Şekil 2.11. Risperidon molekülünün yapısı	10
Şekil 2.12. Paliperidon molekülünün yapısı	11
Şekil 2.13. İzokarboksazid molekülünün yapısı	11
Şekil 2.14. Zonisamid molekülünün yapısı.....	11
Şekil 2.15. İsoksaflutol molekülünün yapısı.....	12
Şekil 2.16. Valdekoksib molekülünün yapısı	12
Şekil 2.17. Leflunomid molekülünün yapısı.....	13
Şekil 2.18. Parekoksib molekülünün yapısı.....	13
Şekil 2.19. Sitaxentan molekülünün yapısı.....	13
Şekil 2.20. Sülfametaksazolün Metal Kompleksleri	19

Şekil	Sayfa
Şekil 2.21. SMZ metal komplekslerinin bakteriler karşısında MIC değerleri	19
Şekil 2.22. SMZ-CAL bileşiğinin metal kompleks sentezi	20
Şekil 2.23. SMZ, SMZ-CAL ve metal komplekslerinin biyolojik aktiviteleri	21
Şekil 2.24. SMZ-CAL ve metal komplekslerinin radikal temizleme aktiviteleri	21
Şekil 2.25. İç geçiş metalleriyle yapılan kompleksler	21
Şekil 2.26. iç geçiş metalleriyle oluşan komplekslerin biyolojik aktiviteleri	22
Şekil 2.27. İzoksazol grubu içeren schiff bazının cu ile yaptığı kompleksler	22
Şekil 2.28. Komplekslerin biyolojik aktiviteleri (3 Boyutlu)	23
Şekil 2.29. Schiff bazları ile metal komplekslerinin sentezi.....	24
Şekil 2.30. Bileşiklerin enzim aktivitesi	24
Şekil 2.31. Bileşiklerin biyolojik aktiviteleri	25
Şekil 2.32. Sülfametaksazol içeren kompleks sentezi	25
Şekil 2.33. Sülfisoksazol içeren kompleks sentezi	26
Şekil 2.34. Bileşiklerin karbonik anhidraz inhibisyonu.....	26
Şekil 3.1. İmin yapısının genel özellikleri	28
Şekil 3.2. İmin oluşumuna ait örnek tepkime	28
Şekil 3.3. Oluşan ve kırılan bağları gösteren genel bir imin oluşumu örneği.....	29
Şekil 3.4. İmin sentezi reaksiyon mekanizması	30
Şekil 3.5. İmin sentezi reaksiyon mekanizması 2	30
Şekil 3.6. İmin sentezi reaksiyon mekanizması 3	31
Şekil 3.7. Tbsal-izo bileşiğinin sentez yöntemi	32
Şekil 3.8. 4-Meosal-izo bileşiğinin sentez yöntemi	32
Şekil 3.9. 2-Meosin-izo bileşiğinin sentez yöntemi	33
Şekil 3.10. 2,4-diMeosal-izo bileşiğinin sentez yöntemi	34

Şekil	Sayfa
Şekil 4.1. (Tbsal-izo) bileşiğinin 3D yapıları.....	41
Şekil 4.2. Tbsal-izo molekülünün tek kristal yapı analizi.....	42
Şekil 4.3. Moleküller arası hidrojen bağı ve vdW etkileşimleri.....	42
Şekil 4.4. Tbsal-izo molekülünün sırasıyla <i>a,b,c</i> -eksenleri boyunca birim hücre ve kristal örgü görüntüsü 1	43
Şekil 4.5. Tbsal-izo molekülünün sırasıyla <i>a,b,c</i> -eksenleri boyunca birim hücre ve kristal örgü görüntüsü 2	44
Şekil 4.6. Tbsal-izo molekülünün sırasıyla <i>a,b,c</i> -eksenleri boyunca birim hücre ve kristal örgü görüntüsü 3	45
Şekil 4.7. Bağ uzunluklarının (Angstrom) tam listesi.....	46
Şekil 4.8. Burulma açılarının tam listesi.....	47
Şekil 4.9. Bağ açılarının (derece) tam listesi	48
Şekil 4.10. Tbsal-izo bileşiğinin reaktiflerle karşılaştırmalı FT-IR spektrumu	49
Şekil 4.11. Tbsal-izo [C ₁₅ H ₁₈ N ₂ O ₂] bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu.....	50
Şekil 4.12. Tbsal-izo [C ₁₅ H ₁₈ N ₂ O ₂] bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu	51
Şekil 4.13. 4-Meosal-izo bileşiğinin 3D yapıları	53
Şekil 4.14. 4-Meosal-izo bileşiğinin FT-IR spektrumu	54
Şekil 4.15. 4-Meosal-izo [C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₃] bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu.....	55
Şekil 4.16. 4-Meosal-izo bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu [C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₃]	56
Şekil 4.17. 2-Meosin-izo bileşiğinin 3D yapıları.....	58
Şekil 4.18. 2-Meosin-izo bileşiğinin IR spektrumu	59
Şekil 4.19. 2-Meosin-izo bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	60
Şekil 4.20. 2-Meosin-izo bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu	61
Şekil 4.21. (2,4-diMeo-izo) bileşiğinin 3D yapısı	63
Şekil 4.22. 2,4-diMeo-izo bileşiğinin IR spektrumu.....	64

Şekil	Sayfa
Şekil 4.23. 2,4-diMeo-izo bileşiğinin ^1H NMR spektrumu	65
Şekil 4.24. 2,4-diMeo-izo bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.....	66
Şekil 4.25. Bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda bakteri türlerine karşı antibiyofilm aktiviteleri	72
Şekil 4.26. Bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda <i>Candia</i> türlerine karşı antibiyofilm aktiviteleri.....	75
Şekil 4.27. Moleküllerin fizikokimyasal özelliklerine ilişkin radar çizimleri	78
Şekil 4.28. Tahmin edilen bileşiklerin Boiled-Egg grafiği	79
Şekil 4.29. 4FGD ve Tbsal-izo'nun moleküler bağlanma modu.....	82
Şekil 4.30. 4FGD ve 4-Meosal-izo'nun moleküler bağlanma modu.....	82
Şekil 4.31. 4FGD ve 2-Meosin-izo'nun moleküler bağlanma modu	82
Şekil 4.32. 4FGD ve 2,4-diMeo-izo'nun moleküler bağlanma modu	83
Şekil 4.33. Tbsal-izo için elde edilen dönüşümlü voltamogram.....	84
Şekil 4.34. 4-Meosal-izo için elde edilen dönüşümlü voltamogram	85
Şekil 4.35. 2-Meosin-izo için elde edilen dönüşümlü voltamogram	85
Şekil 4.36. 2,4-diMeo-izo için elde edilen dönüşümlü voltamogram.....	86
Şekil 4.37. 1 mM Tbsal-izo için farklı tarama hızlarında (50 mV/s-400 mV/s) elde edilen dönüşümlü voltamogram	86
Şekil 4.38. 1 mM 4-Meosal-izo için farklı tarama hızlarında (50 mV/s-400 mV/s) elde edilen dönüşümlü voltamogram.....	87
Şekil 4.39. 1 mM 2-Meosin-izo için farklı tarama hızlarında (50 mV/s-400 mV/s) elde edilen dönüşümlü voltamogram.....	87
Şekil 4.40. 1 mM 2,4-diMeo-izo için farklı tarama hızlarında (50 mV/s-400 mV/s) elde edilen dönüşümlü voltamogram.....	88

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler

Açıklamalar

°C	Derece Celcius
g	Gram
mg	Miligram
M	Molar derişim
mM	Milimolar derişim
mL	Mililitre
MHz	Megahertz
nm	Nanometre
s	Saniye
µL	Mikrolitre
v	Gerilme titreşimi
µM	Mikromolar derişim

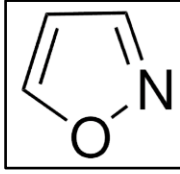
Kısaltmalar

Açıklamalar

ATCC	The American Type Culture Collection
CLSI	Laboratuvar Standartları Enstitüsü
CV	Kristal Viyole
DMEM	Dulbecco Modifiye Eagle Ortamı
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spektroskopisi
MDA-MB-231	İnsan Meme Kanseri Hücre Hattı
MHB	Mueller Hinton besiyeri
MIC	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
NMR	Nükleer Magnetik RezonansSpektroskopisi
OD	Optik Yoğunluk
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat

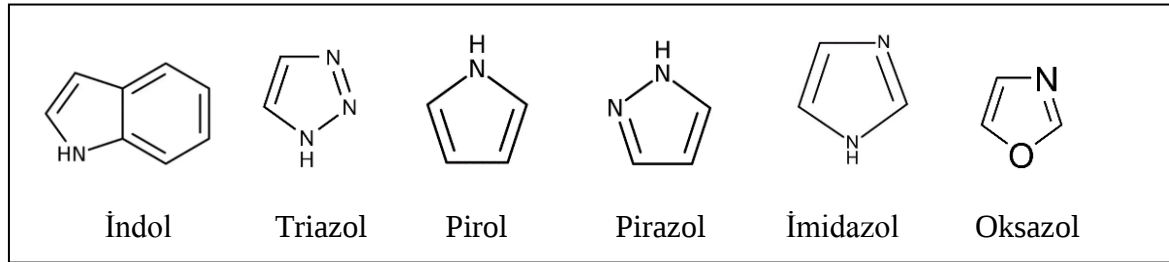
1. GİRİŞ

Heterosiklik bileşikler günlük yaşamda ve biyokimyasal süreçlerde önemli bir rol oynar. Ayrıca, yapısal çeşitliliği nedeniyle ilaçlarda ve farmasötik maddelerde yaygın kullanılan yapılardır. Araştırılan geniş bir heterosiklik grup içerisinde beş atomlu halkalı yapısında karbon atomlarının yanı sıra bitişik şekilde azot ve oksijen atomu bulunan izoksazol ilaç kimyası açısından oldukça önemli bir bileşiktir. İzaksozolün yapısında N ve O bulundurması hidrojen bağı yapabilmesini sağlarken, halkadaki pi bağları hidrofilik etkileşimleri mümkün kılar.



Şekil 1.1. İzoksazol bileşiğinin yapısı

Son yıllarda özellikle heteroatomik beş üyeli halka sistemine sahip birçok farmakolojik aktif molekül geliştirilmiştir. Bunlara indol, triazol, pirol, pirazol, imidazol, oksazol ve izoksazol örnek verilebilir.



Şekil 1.2. Heteroatomik beş üyeli halka sistemine sahip bileşik örneklerinin yapıları

İzoksazol halkası zayıf azot-oksijen bağı nedeniyle kolayca parçalanır ve diğer heterosiklikler, enaminler ve iminler gibi kompleks moleküllerin sentezinde kullanılan bileşikler sağlar [1]. 1888'de Ludwig Claisen, 1884'te Ceresole tarafından hidroksilamin ve benzoilasetondan elde edilen 3-metil-5-fenilizoksazolün (Claisen, 1888) heterosiklik bileşiğini tanımladı (M. Ceserole, 1884) [2]. Claisen, monoazol adını önerdi ancak daha sonra Hantzsch, molekülün izomerik halkası oksazol'den yola çıkarak (Hantzsch, 1888)

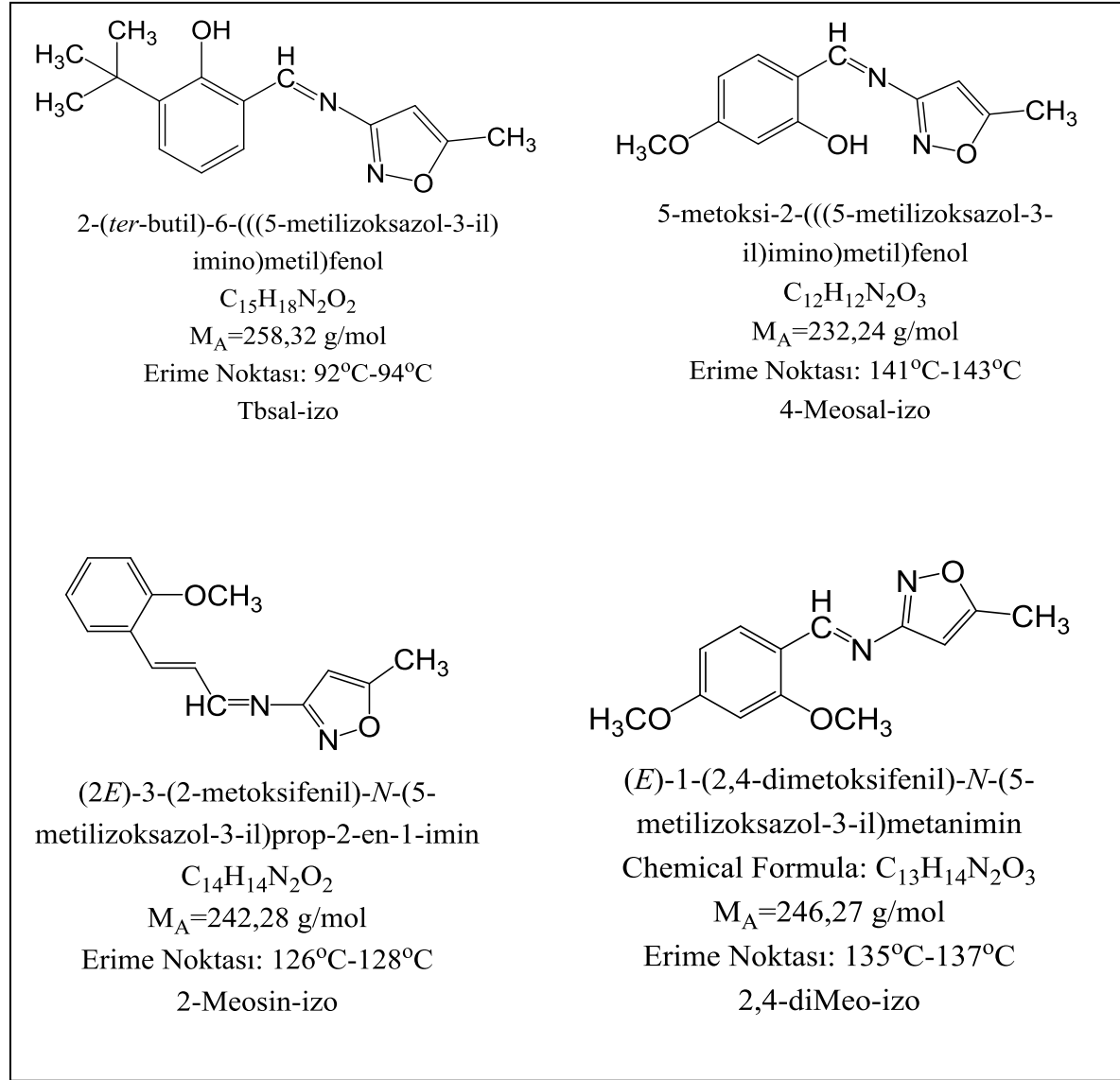
izoksazol olarak revize etti [3]. Quilico ve arkadaşları, 1930 ile 1946 arasındaki dönemde nitril oksitlerin alkenler ve alkinlerle reaksiyonu üzerine yapılan incelemelerde izoksazol kimyasına en önemli yaklaşımı sağladılar [4]. Birçok ilaç molekülü izoksazol türevleri içerir:

- Valdecoxib: COX-2 inhibitörü (ağrı kesici, antiinflamatuvar)
- Leflunomid: Romatoid artrit tedavisinde kullanılır
- Rofecoxib (tarihten kalkmış): Eski COX-2 inhibitörü
- Antibakteriyel ve antifungal ajanlarda yapısal motif olarak yer alır

Bu çalışmanın amacı, literatürde ilaç olarak önemi olan izoksazol grupları içeren farklı aromatik aldehit kondenzasyon tepkimesi Schiff bazları içeren yeni farmakolojik özelliğe sahip türler elde etmek ve bu türlerin antibakteriyel, antibiyofil, yeni nesil ilaç adayı olup olamayacağını tespit etmektir. Daha önceki çalışmalarda sülfonamitten türetilmiş sülfametaksazol ve sülfisoksazol ve bunların metal kompleksleri sentezlenmiş ve sentezlenen bileşiklerin spektroskopik özellikleri, anti-kanser, anti-karbonikanhidraz ve anti-mikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir [5]. Yeni ilaçların geliştirilmesindeki sınırlılık ve mikroorganizmaların var olan antibiyotiklere karşı direnç mekanizmaları geliştirmesi ile birlikte özellikle biyofilm oluşturan mikroorganizmalara karşı yeni antimikrobiyal ajanlara ihtiyaç olduğu anlaşılmıştır. Olgun biyofilmler çevresel stres etkenlerine, antibiyotiklere ve bağışıklık tepkisine karşı toleransı temsil ettiğinden, biyofilm büyümesiyle ilişkili enfeksiyonların ortadan kaldırılması oldukça zordur. Biyofilmler, en kötü çevresel koşullara bile direnen ve hatta antibiyotik tedavisinden dahi sağ çıkabilen kompakt bakteri yapılarıdır. Bununla birlikte antibiyotik tedavisi sırasında subklinik derişim (düşük konsantrasyon) biyofilme yayılabilir ve bu da bakteri hücrelerini öldürmek için yeterli olmamaktadır. Antibiyotik direncinin artan sıklığı ve biyofilmin birçok bakteri oluşturma yeteneği nedeniyle, çeşitli yeni ve anti-bakteriyel ve anti-biyofilm ajanlarının araştırılması giderek önem ve değer kazanmıştır [6,7].

Bu çalışmada farklı aldehit grupları ile izoksazol içeren yeni dört adet imin bileşikler 2-ter-butil-6-[(5-metil,1,2-oksazol-3-il)imino]metilfenol (Tbsal-izo) 5-metoksi-2-[(5-metil,1,2-oksazol-3-il)imino]metilfenol (4-Meosal-izo); 3-(2-metoksifenil)-N-(5-metil-1,2-oksazol-3-il)propan-1-imin (2-Meosin-izo); 1-(2,4-dimetoksifenil)-N-(5-metil-1,2oksazol-3-il)metanimin (2,4-diMeo-izo) sentezlendi (Şekil 1.3). Bileşiklerin antibakteriyel, antifungal,

antibiyofilim aktiviteleri araştırıldı. Elektrokimyasal karakterizasyon dönüşümlü voltogram ile tespit edildi.

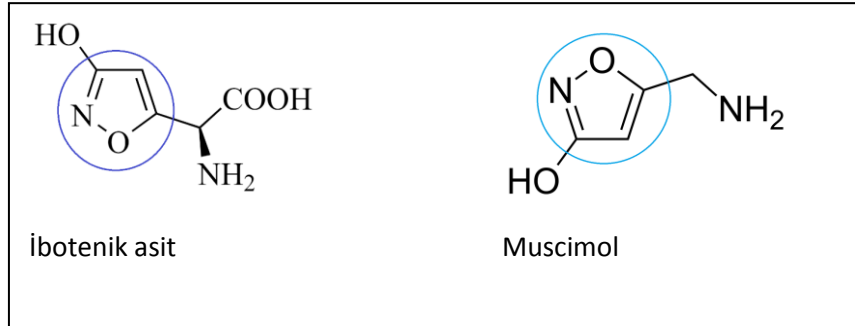


Şekil 1.3. Sentezlenen izoksazol bileşiklerinin yapıları

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

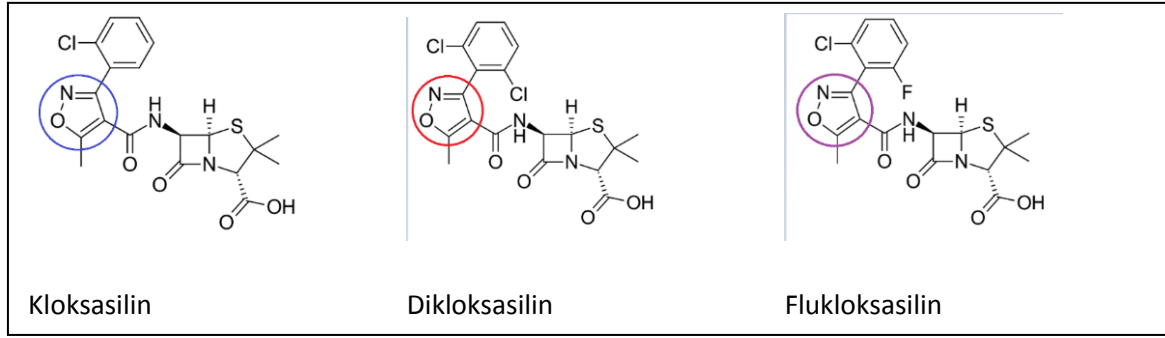
2.1. İzoksazol İçeren Bileşiklerin Önemi

Farklı halka sistemlerinde karşı izoksazol'un avantajları: altı üyeli halkalarda güçlükle gözlenebilen bazı etkileşimlerin, beş üyeli halka sisteminin belirli açıları sayesinde aynı hedefle ciddi etkileşimler kurabilmesi, hetero atomların (N,O) yan yana olması sayesinde hidrofilik etkileşimler geliştirebilmesi ve iyonlarla koordine bağlar yapabilmeleri, altı üyeli halkalara kıyasla yapısal ve fizikokimyasal özelliklerinin modifikasyonunda onlara üstünlük sağlayan, daha küçük molekül ağırlığına sahip olması, nispeten küçük boyutlarda olması nedeniyle daha az sterik engel oluşması ve böylece belirli hedeflerin küçük bağlanma bölgelerinin hedeflenebilmesi imkanı şeklinde özetlenebilir. İzoksazoller sentetik yöntemlerle elde edilebilir ve ayrıca doğal ürünlerde de bulunur. Özellikle, Amanita muscaria mantarından izole edilen ibotenik asit ve muscimol'un molekül yapısında izoksazol halkası bulunmaktadır. (Şema 1.4), Bu bileşikler sırasıyla N-metil-D-aspartat (NMDA) ve GABA reseptör sistemlerinin aktif merkezi sinir sistemi ajanlarını kullanır (Eugster ve diğerleri, 1965) [8].



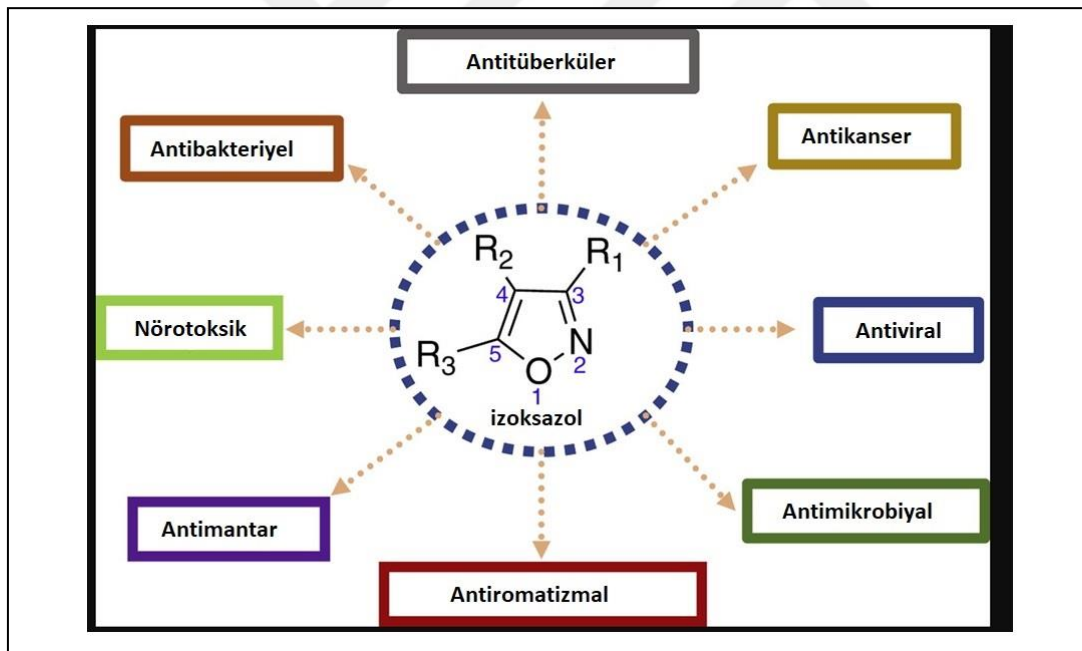
Şekil 2.1. İbotenik asit ve muscimol bileşiklerinin yapıları

Bazı COX-2 (siklooksijenaz-2) inhibitörü ilaç molekülleri ve β -laktamaz dirençli antibiyotikler olan kloksasilin, dikloksasilin, flukloksasilin gibi bilinen ilaç moleküllerinde bulunur (Şekil 1.5).



Şekil 2.2. Kloksasilin, dikloksasilin ve flukloksasilin bileşiklerinin yapıları

Diğer bazı heteroatomik halkalara göre daha kolay süstitüe edilebilmeleri sayesinde kolay türevlendirilebilir yapıya sahiplerdir. En önemlisi de biyolojik aktivite düzeyindeki çok yönlülükleri gibi sebeplerle ilaç adayı bileşiklerin tasarımında önemli yer almalarıdır (Şekil 2.3).

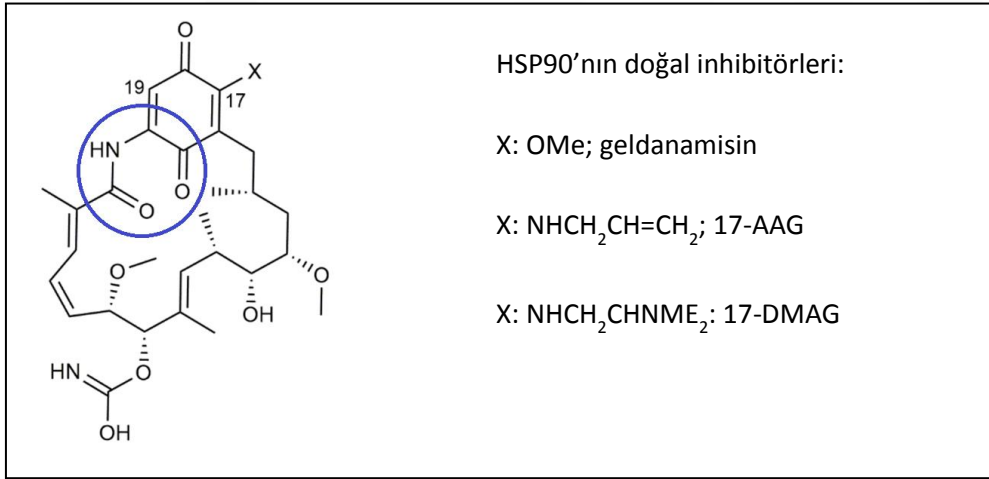


Şekil 2.3. İzoksazol bileşiğinin farklı biyolojik aktiviteleri

2.2. Tedavi Amaçlı Olarak Kullanılan İzoksazol İçeren Bileşikler ve İlaçlar

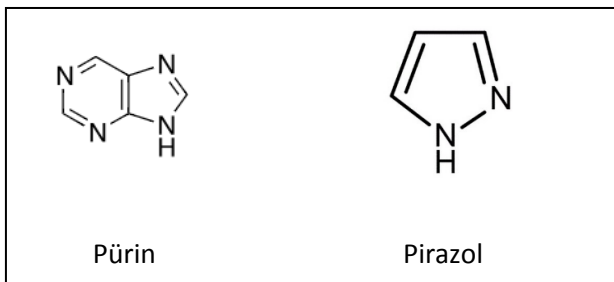
2.2.1. Antikanser etki gösteren bileşik ve ilaçlar

Kanser tedavisinde ısı şok proteinlerinin (heat shock proteins, HSPs) inhibe edilmesi ile kanser hücrelerinin çoğalmasının engellenmesi ve kemoterapik tedaviye karşı gösterdiği direncin azaltılması için izoksazol bileşiklerinden istifade edilmektedir. 2012 yılında Clarke ve ark. kanser hücrelerinin büyümesini ve hayatta kalmasını destekleyen çok sayıda mutasyona uğramış olan HSP90 (Şekil 2.4) proteininin doğal inhibitörlerini keşfederek bilim insanlarının ilaç üretiminde hedef olmasını sağlamıştır [9].



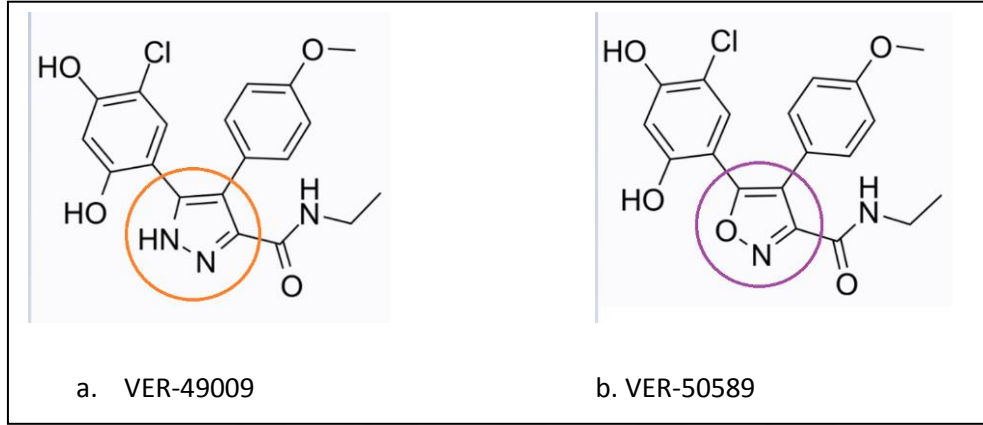
Şekil 2.4. HSP90 molekülünün yapısı

HSP90'ın doğal inhibitörlerini inceleyen araştırmacılar, burada yapıda (Şekil 2.4) mavi çember ile işaretlenmiş bölgenin özelliğinden dolayı önce bazı pürin türevleri ve ardından pirazol analogları tasarlamışlardır.



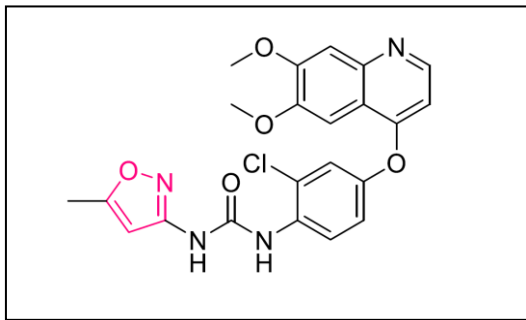
Şekil 2.5. Pürin ve Pirazol moleküllerinin yapıları

Yapılan çalışmalar içerisinde en dikkat çekici sonuçları ise tasarladıkları izoksazol analoglarında görmüşlerdir. 2005 yılında Dymock ve ark. geliştirdiği pirazol türevi olan VER-49009'a (Şekil 2.6.a) [10] karşın 2009 yılında Gaspar ve ark. geliştirdiği izoksazol türevi VER-50589'un (Şekil 2.6.b) kanser hücresinin büyümesini engellemesi 9 kat daha fazla ölçülmüştür [11].



Şekil 2.6. VER-49009 ve VER-50589 moleküllerinin yapıları

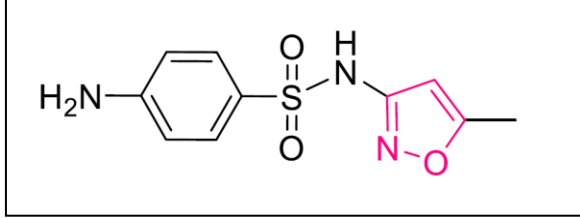
Fotivda ticari adıyla piyasaya sürülmüş böbrek kanseri tedavisinde kullanılan ilaç içerisindeki Tivozanip (Şekil 2.7.) molekülü bir izoksazol türevidir. Tirozin kinaz inhibitörüdür. Hipertansiyon hastalarında kullanılmaması tavsiye edilir. 2017 yılında Avrupa ilaç ajansı EMA tarafından 2021 yılında ABD gıda ve ilaç dairesi FDA tarafından onaylanmıştır.



Şekil 2.7. Tivozanip molekülünün yapısı

Danogen ticari adıyla endometriozis (çikolata kisti) ve fibrokistik meme rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılan ilacın içerisinde yer alan Danazol (Şekil 2.8.) molekülü bir izoksazol türevidir. 1971 yılında FDA onayı almıştır.

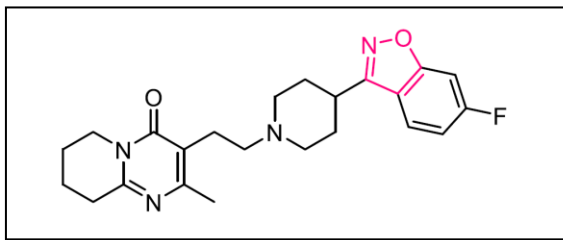
kullanılır. Ayrıca Primoxal yine trimetoprim ile birlikte at, köpek, sığır, koyun ve keçilerde duyarlı bakterilerden ileri gelen enfeksiyonların tedavisinde kullanılır.



Şekil 2.10. Sülfametaksazol molekülünün yapısı

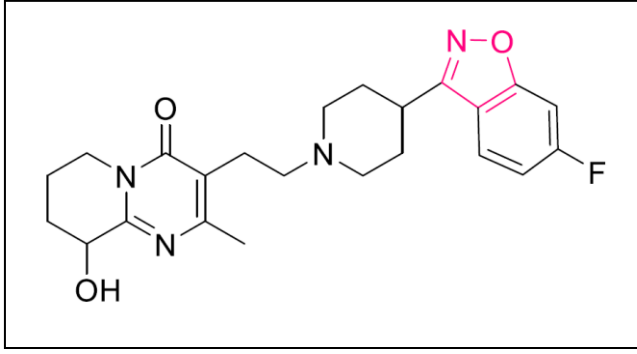
2.2.3. Nörotoksik ve psikiyatrik etki gösteren bileşik ve ilaçlar

Şizofreni için tedavisi onaylanmış benzizoksazol bileşiğinin yapısında izoksazol halkası olup antipsikotik ilaç grubuna dahildir. 2003 yılında Wei ve ark. yaptığı çalışmada, Şizofreni hastalarında kullanılan olanzapin, risperidon, ketiapin gibi atipik antipsikotikler ile yapılan tedavi sayesinde hastalığın ciddiyeti azalmış ve yatağa bağımlı hale gelmesine neden olan semptomların önlendiği görülmüştür [14]. 2010 yılında Saracino ve ark. Risperidon'un (Şekil 2.11.) otistik çocuklarda gözlenen asabiyet ve hırçınlık problemlerinin tedavisinde kullanılabileceğini göstermişlerdir [15]. Bipolar bozukluğun manik atağında, demans hastalarında gözlenen davranış bozukluklarında ve Obsesif kompulsif bozukluklarda kullanılmaktadır.



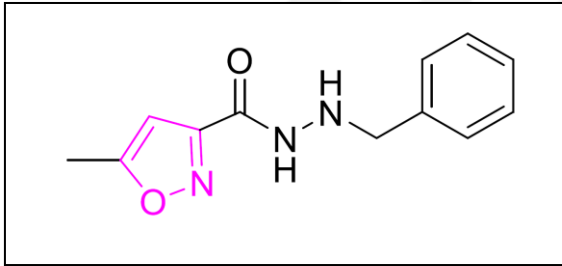
Şekil 2.11. Risperidon molekülünün yapısı

Paliperidon (Şekil 2.12.) risperidonun birincil aktif merkezi olan kiral bir merkeze sahiptir ve FDA tarafından şizofreni tedavisinde kullanılması için 2006 yılında onay verilmiştir. 2015 yılında Berwaerts ve ark. çalışmalarında paliperidon kullanımı ile desteklenmiş tedavi ile sağlığına kavuşan hastaların %93 'ünde şizofreni semptomlarının geri dönülmeyecek şekilde önlendiği görülmüştür [16].



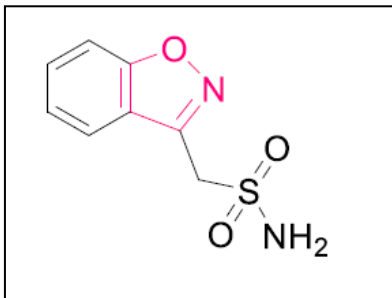
Şekil 2.12. Paliperidon molekülünün yapısı

Marplan ticari adıyla antidepresan amaçlı olarak kullanılan izokarboksazid (Şekil 2.13.) etken maddeli ilacın yapısında da izoksazol halkası bulunmaktadır. Seçici olmayan ve geri dönüşsüz monoaminoksidaz inhibitörü olarak sınıflandırılır. (MAOI) Epilepsi hastalarında düşük risk durumu gözlenirken kalp-damar ve karaciğer hastalığı bulunan kişilerde yüksek risk durumu gözlenir.



Şekil 2.13. İzokarboksazid molekülünün yapısı

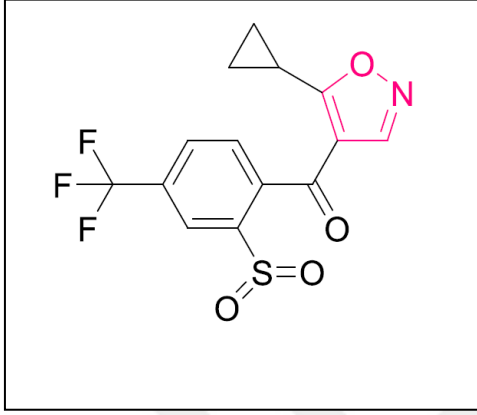
2007 yılında Biton ve ark. yaptığı çalışmada zonisamidin (Şekil 2.14) diğer antiepileptiklere göre klinik avantaj sağlayan bir karbonik anhidraz inhibitörü olduğu görüldüğü ayrıca diğer antiepileptiklerle karşılaştırıldığında ilaç-ilaç etkileşimi düşük olan güvenilirliği ve etkileri klinik olarak kanıtlanmış bir ilaç olduğu belirtilmiştir [17].



Şekil 2.14. Zonisamid molekülünün yapısı

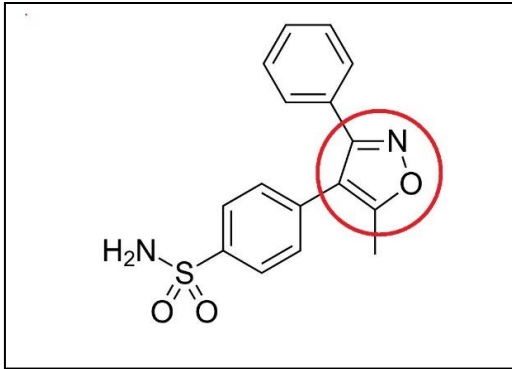
2.2.4. Antiromatizmal etki gösteren bileşik ve ilaçlar

2014 yılında Aizawa ve ark. yaptığı çalışmada kronik böbrek yetmezliğinin tedavisinde İzoksaflutol (Şekil 2.15) kullanılabileceği görülmüştür [18].



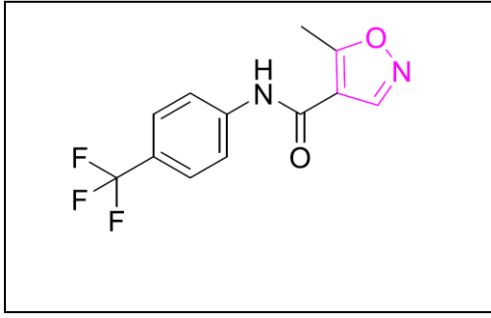
Şekil 2.15. İzoksaflutol molekülünün yapısı

Bextra ticari adıyla romatizma ve kireçlenme rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılan ve etken maddesi valdekoksib (Şekil 2.16) olan izoksazol halkasına sahip bir ilaçtır.



Şekil 2.16. Valdekoksib molekülünün yapısı

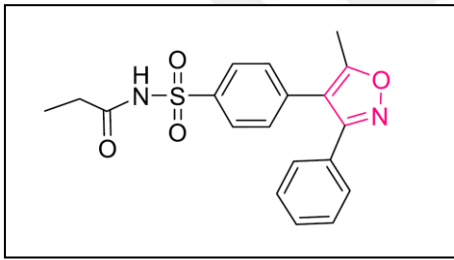
Arava ticari adıyla romatizma ve sedef hastalıklarının tedavisinde kullanılan etken maddesi leflunomid (Şekil 2.17) olan izoksazol halkasına sahip bir ilaçtır.



Şekil 2.17. Leflunomid molekülünün yapısı

2.2.5. Analjezik etki gösteren bileşik ve ilaçlar

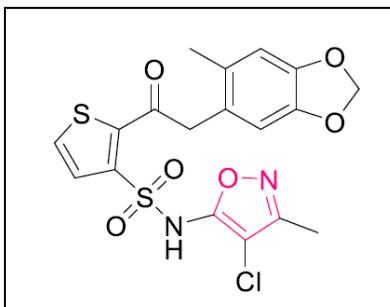
Cerrahi operasyonlarda ağrı kesici amaçlı enjeksiyon yöntemiyle uygulanan etken maddesi Parekoksib (Şekil 2.18) olan ilacın yapısında izoksazol halkası bulunmaktadır.



Şekil 2.18. Parekoksib molekülünün yapısı

2.2.6. Antihipertansif etki gösteren bileşik ve ilaçlar

Hipertansiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılan etken maddesi sitaxentan (Şekil 2.19) olan izoksazol halkasına sahip bir ilaç kullanılmaktadır.



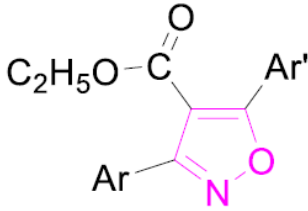
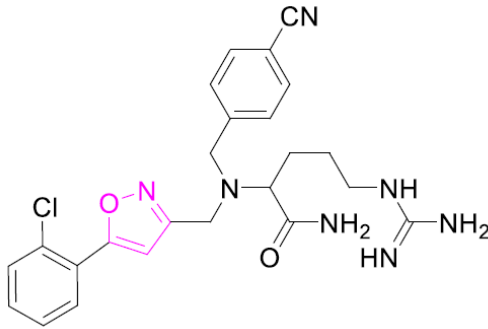
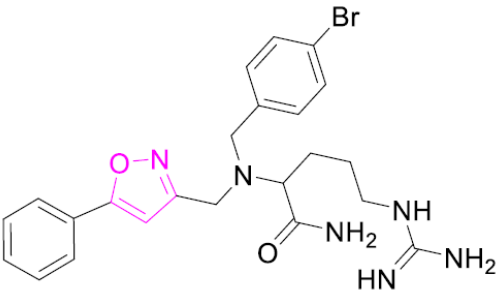
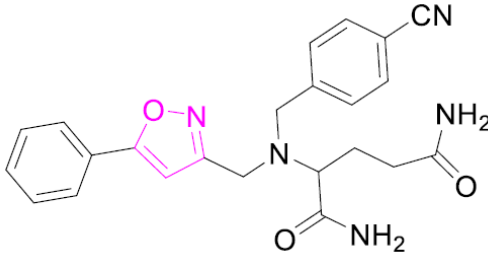
Şekil 2.19. Sitaxentan molekülünün yapısı

2.3. Tedavi Amaçlı Olarak Kullanılması Planlanan İzoksazol İçeren Bileşikler

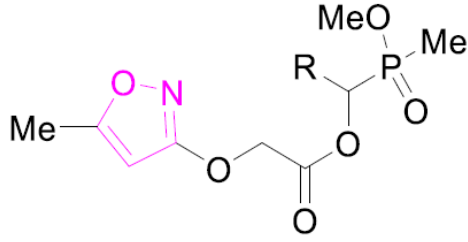
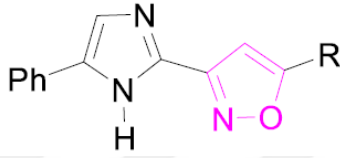
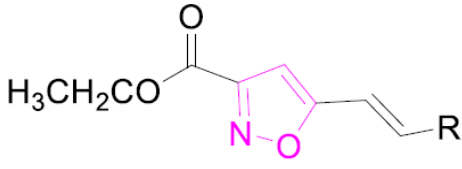
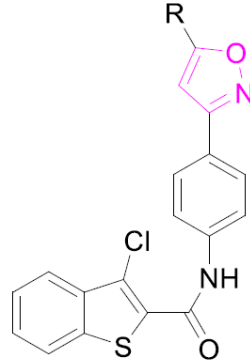
Çizelge 2.1. Tedavi amaçlı olarak kullanılması planlanan bileşikler

Bileşiğin Adı veya Kodu	Molekülün Yapısı	Kullanılması Düşünülen Alan
Metil-2-tienilketopolimetilen oksifenil- 4,5-dihidro-2-(alkil)oksazol		Pikornavirüs tedavisi
Karboksi/fosfono izoksazol amino asit		AMPA antagonist
(±)-epiboksidin		Anti nosiseptif ajan
İzoksazol-karboksamid analogu		İn-vivo antiplatelet aktivite
N, N-dialkilamino substitue izoksazol		Anti inflamatuvar ajan

Çizelge 2.1. (devam) Tedavi amaçlı olarak kullanılması planlanan bileşikler

Etil-3,5-diarilizoksazol-4-karboksilat	 Ar' = Ph, 4-CH₃OC₆H₄, 4-ClC₆H₄ Ar = 3,4-(CH₃O)₂C₆H₃, 3,4,5-(CH₃O)₂C₆H₂, 4-CH₃OC₆H₄	Antimikrobiyal
A9B1C2		Antitrombotik aktivite
A6B1C4		Antitrombotik aktivite
A9B1C2		Antitrombotik aktivite

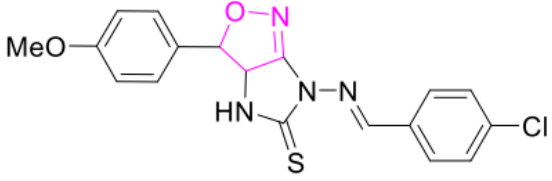
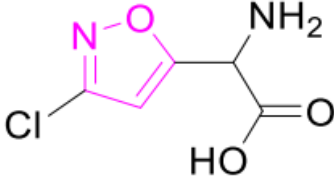
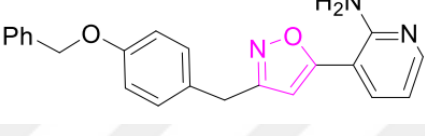
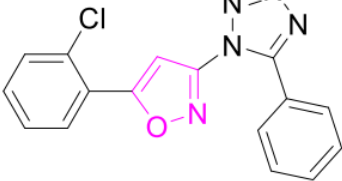
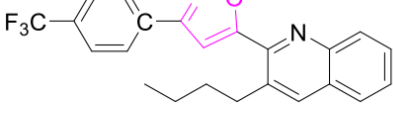
Çizelge 2.1. (devam) Tedavi amaçlı olarak kullanılması planlanan bileşikler

Metil-1-(5-metilizoksazol-3-oksiasetoksi)alkil metil fosfinat	 R = p-CH₃Ph, Ph, -CH₂CH₃, m-NO₂Ph	Herbisit aktivitesi
3-(benzimidazol-20-il)-5-arilizoksazol	 R = C₆H₅, 2-CleC₆H₄-, -CH=CH-C₆H₅, 4-CH₃-C₆H₄-, 4-CleC₆H₄	Antimikrobi-yal, Antikanser
5-(p-substituesitril)-izoksazol-3-karboksilik asit etil ester	 R = O₂N-C₆H₄-, (CH₃)₂-C₆H₄-	Antiinflamatu-ar
1-[p-30-kloro-20-benzo(b)tiyofenolamino)-5-aril-izoksazol	 R = 3-Cl-C₆H₄e, 3,4-(OCH₃)₂eC₆H₃-, 4-SCH₃-C₆H₄-, 4-N(CH₃)eC₆H₄-, 2-NO₂-C₆H₄-	Antitüberküler, antimikrobiyal

Çizelge 2.1. (devam) Tedavi amaçlı olarak kullanılması planlanan bileşikler

4,4'-((1E,1'E)-izoksazol-3,5-diilbis(eten-1,2-diil))bis(2-metoksifenol)		Antioksidan aktivite
KRIBB3		Tümör hücrelerinin yayılımının engellenmesi
İzoksazolinil amino alkol	R = CH₃-CH=CH₂, CH=CH₂, cyclopropyl	B-adrenerjik reseptörler için bağlanma afinitesi
7-amino-3a-4-dihidro-3H- [1] benzopirano[3,4-c] izoksazol	R₁ = H, CH₃ R₂ = CH₃, EtOH, (CH₃)₂N-CH₂CH₂-	α ₂ -adrenoseptör blokerleri, 5-HT geri alım inhibitörleri
4-[3-(4-florofenil)izoksazol-4-il]piridin		Antiinflamatu-ar
6-((4-(6-florobenzo[d]izoksazol-3-il)piperidin-1-il)-metil)-6,7-dihidro-1H-indazol-4(5H)-on		Antipsikotik

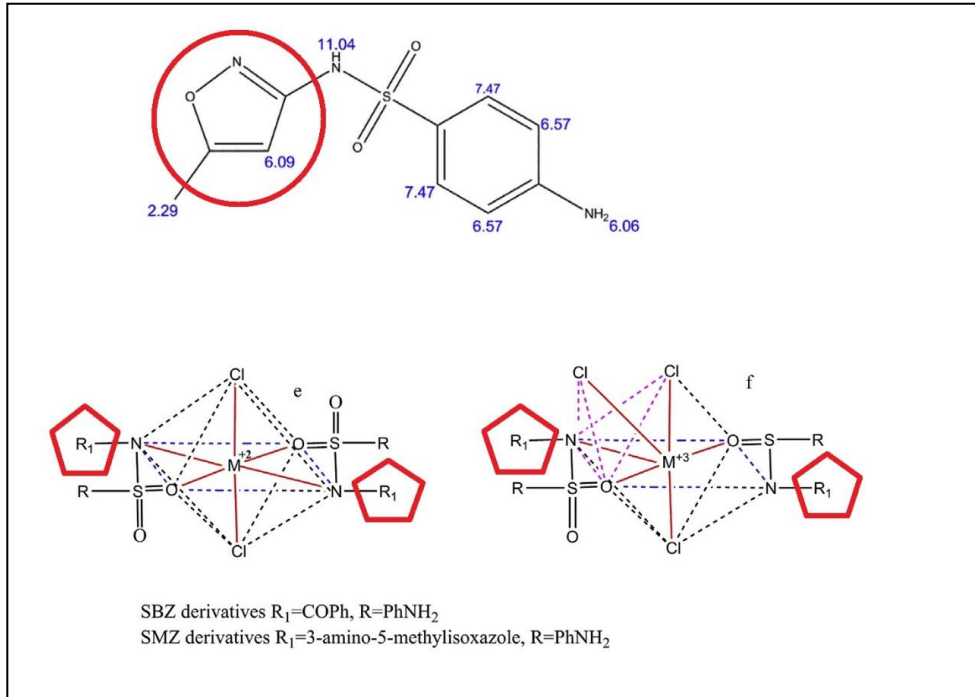
Çizelge 2.1. (devam) Tedavi amaçlı olarak kullanılması planlanan bileşikler

2,4-bis-(4'- folorofenilamino-6-[4'- (5''-(4'''-metoksifenil)- 2''-izoksazol-3''- il)fenilamin)-s-triazin		Antimikrobi- yal
Asiyisin		Antikanser
(2-aminopiridin-3-il) izoksazol	 R = OMe, H, 3-Br, 2-Cl, 2-OH, 3-NO ₂ , 3-OCH ₃ -4-OH	Anifungal
1-[5-(2- klorofenil)izoksazol-3- il]-5-fenil-1H-tetrazol		Antikanser
5-(3-alkilkinolin-2-il)- 3-aril izoksazol		Sitotoksik aktivite

2.4. Metal kompleksi Olarak İzoksazol İçeren Bileşikler ve Önemi

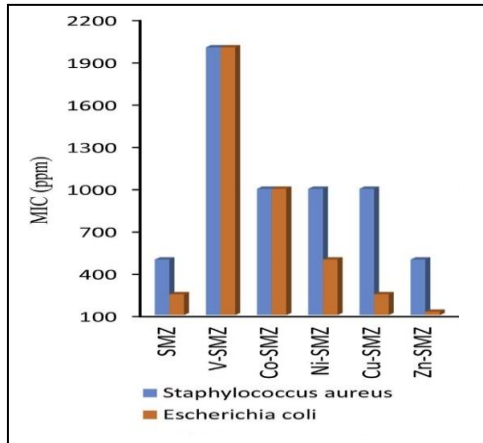
2019 yılında Rosdamizadeh ve ark. yaptığı çalışmada; Sülfametaksazol ile farklı metal kompleksleri (Şekil 2.20) sentezlenmiş olup antidiyabetik, antibakteriyel ve antitümör özellikleri incelenmiştir [19].

Sülfametaksazol'de bulunan N, S ve O atomlarının farklı konumlarda bulunması çok dişli ligand gibi davranmasına olanak tanır.



Şekil 2.20. Sülfametaksazolün Metal Kompleksleri

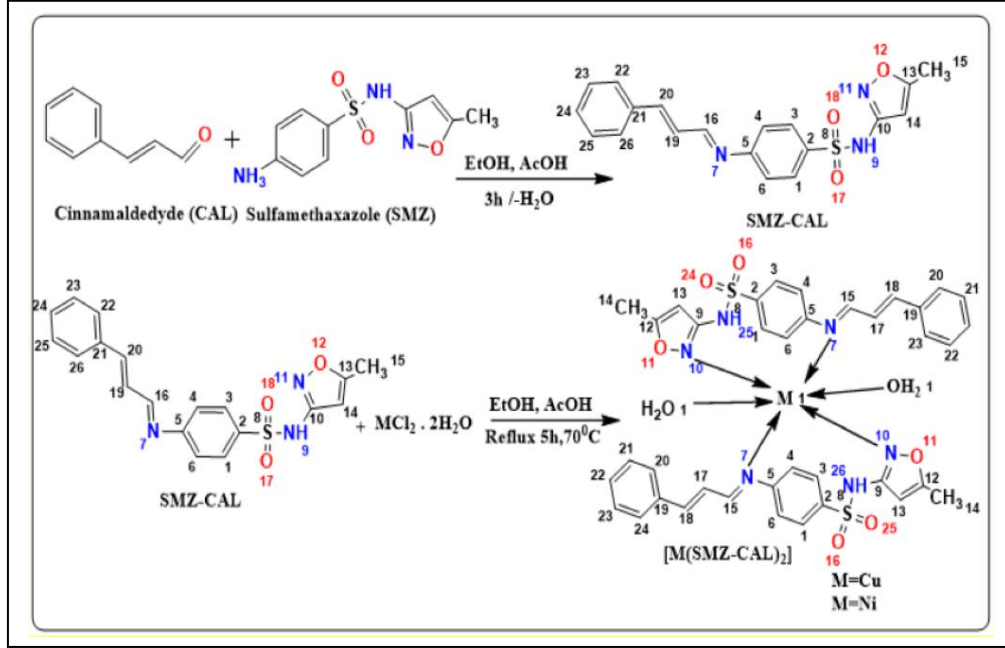
Seçilen iki bakteri suşuna karşı anti mikrobiyal etkilerinin MIC değerleri Şekil 2.21.'de yer almaktadır. Özellikle Zn-SMZ kompleksinin E.Coli' ye karşı iyi sonuç verdiği gözlenmiştir.



Şekil 2.21. SMZ Metal Komplekslerinin Bakteriler Karşısında MIC Değerleri

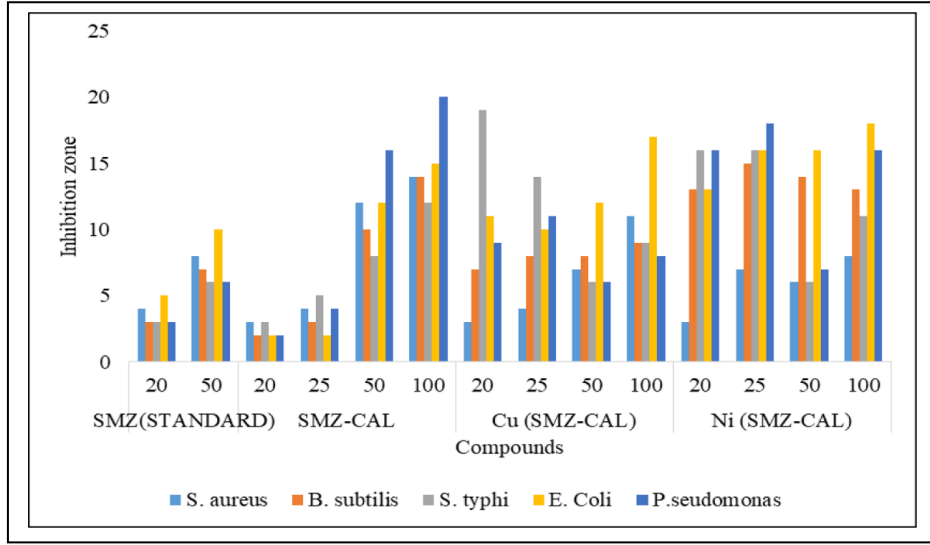
Aynı çalışmada; bakır kompleksinin antiinflamatuvar ve antiülserojenik özellikler gösterdiği ve Vanadyum kompleksinin ise terapötik ve antidiyabetik etki gösterdiği görülmüştür. 2023 yılında Alezzy ve ark. yaptığı çalışmada bakterilerde bulunan Dihidropteroat sentaz DHPS

enzimini inhibe eden sülfametaksazol-sinnemaldehit (SMZ-CAL) kompleksine yapığı metal koordinasyonu ile biyolojik aktivitesinin arttığı deneysel çalışmalar ile kanıtlanmıştır [20]. Burada komplekslerin (Şekil 2.22) bakteri DNA sına bağlanarak onu inhibe etmesi önemlidir. Ayrıca metal komplekslerin biyolojik membranlardan daha kolay geçtiğı ve taşındığı ifade edilmiştir.



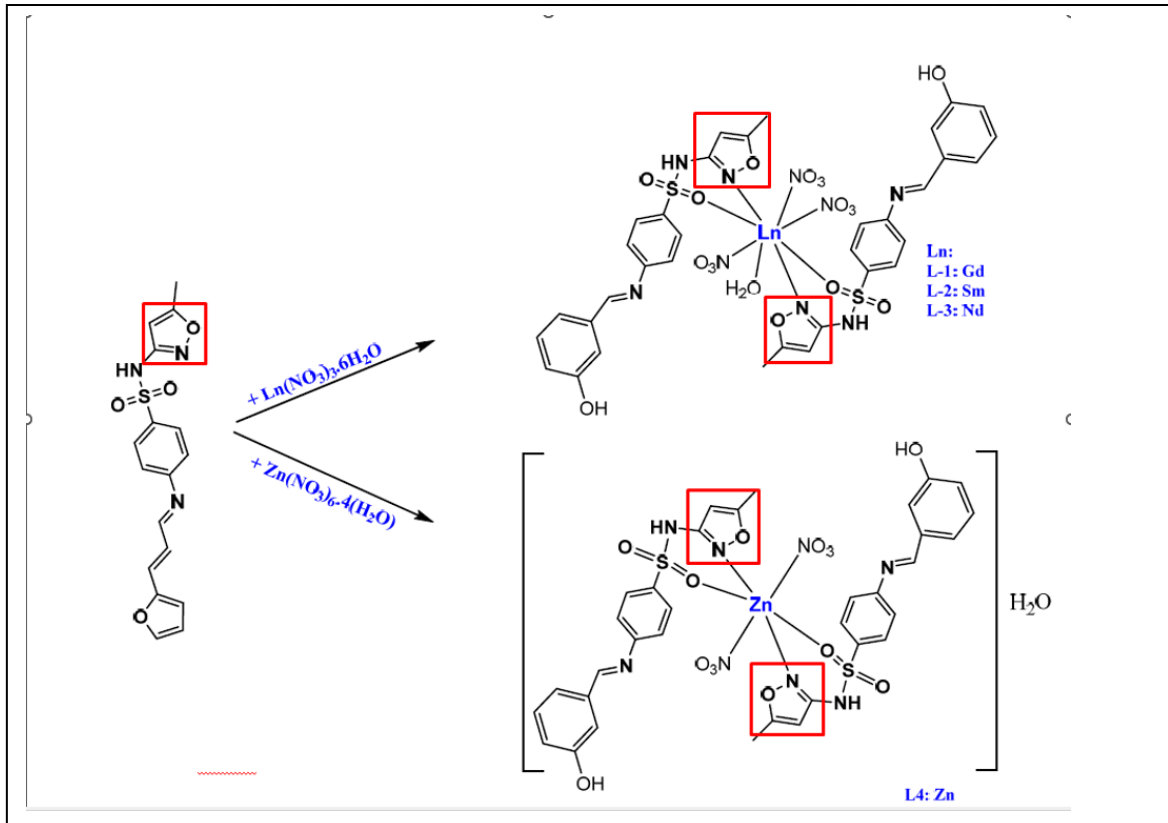
Şekil 2.22. SMZ-CAL bileşiğinin metal kompleks sentezi

Aynı çalışmada [20]; SMZ, SMZ-CAL ve metal komplekslerin insanlarda yaygın görülen bazı patojen mikroplara karşı hem biyolojik (Şekil 2.23) hem de radikal temizleme (antioksidan) aktiviteleri (Şekil 2.24) incelenmiştir. Özellikle Ni-kompleksinin aktivitesinin diğer örneklere göre daha olumlu sonuçlar verdiği görülmektedir.



Şekil 2.23. SMZ, SMZ-CAL ve metal komplekslerinin biyolojik aktiviteleri

2023 yılında Hawarin ve ark. yaptığı çalışmada elde ettikleri iç geçiş metal komplekslerin (Şekil 2.25) biyolojik aktiviteleri tabloda gösterilmiştir [21]. İç geçiş metallerinin anti-oksidan ve anti-hemolitik aktivite de başlangıç ligandından çok daha iyi sonuçlara ulaşmışlardır.

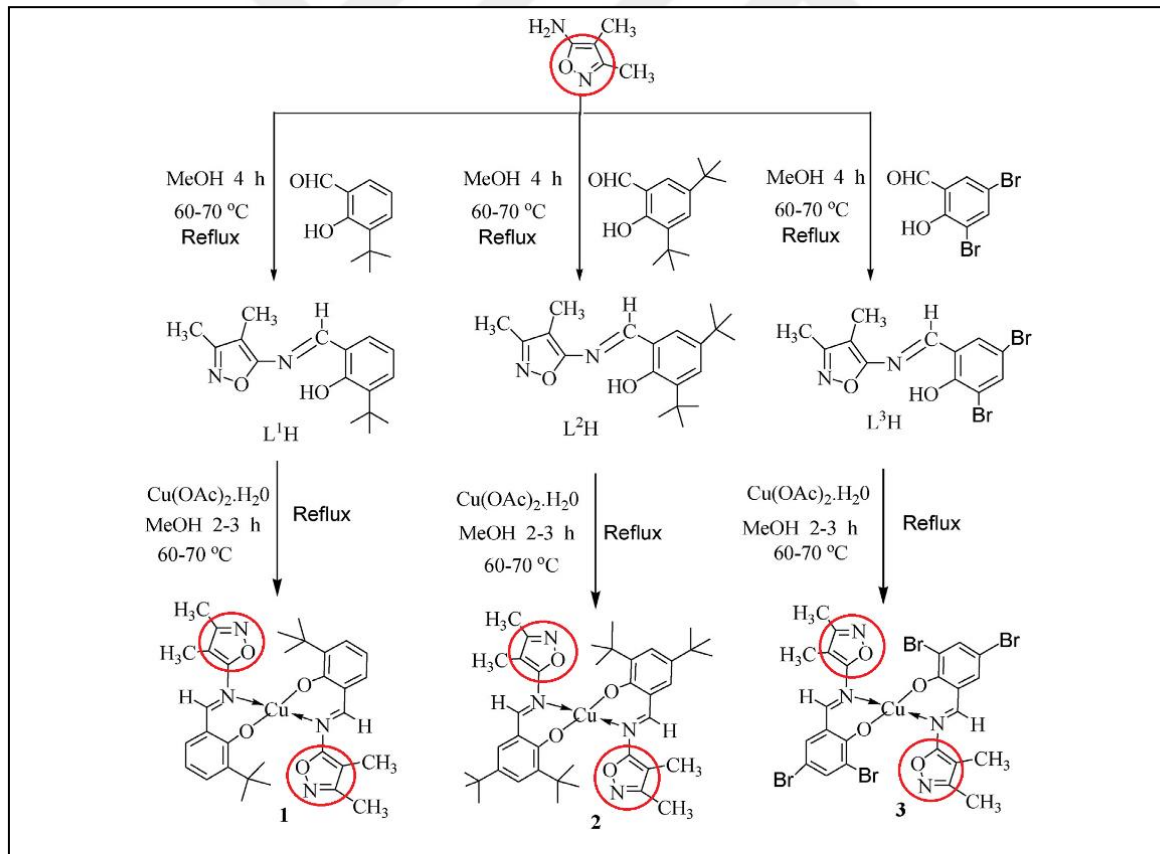


Şekil 2.25. İç geçiş metalleriyle yapılan kompleksler

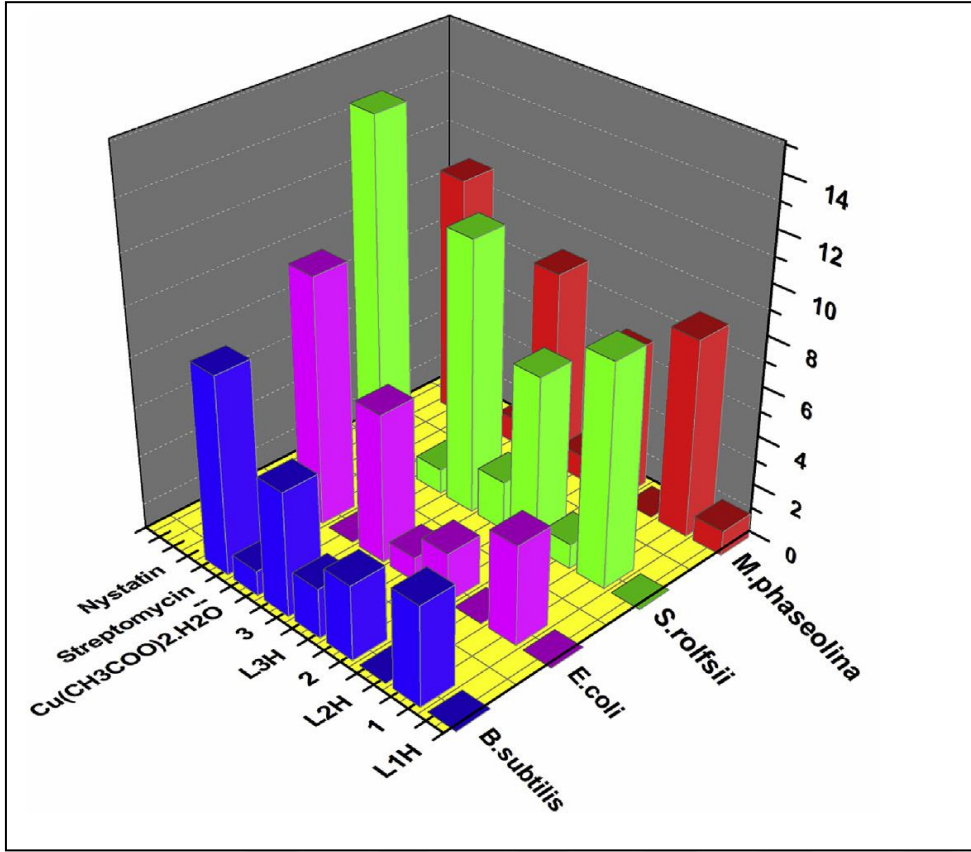
Chemical	Total Phenols (mg/mL)	Antioxidant Activity		Anti-Hemolytic Activity		Anti-Inflammatory Activity	
		Inhibition (%)	IC ₅₀ µg/m	Inhibition (%)	IC ₅₀ µg/m	Inhibition (%)	IC ₅₀ µg/m
Ln L	0.279 ± 0.003	55.1 ± 0.003	0.7372	45.75 ± 0.002	0.8081	83.94	0.1738
Gd L1	0.296 ± 0.001	80.7 ± 0.002	0.5015	6.56 ± 0.001	0.7805	99.96	0.3918
Sm L2	0.29 ± 0.006	44.78 ± 0.004	0.6201	40.7 ± 0.001	0.562	99.545	0.7063
Nd L3	0.683 ± 0.001	80.734 ± 0.001	0.7188	37.01 ± 0.001	0.7643	99.55	0.6743
Zn L4	0.209 ± 0.02	30.5 ± 0.02	0.7185	27.23 ± 0.003	0.4768	99.093	0.748

Şekil 2.26. İç geçiş metalleriyle oluşan komplekslerin biyolojik aktiviteleri

2019 yılında Ganji ve ark. izoksazol halkası içeren Schiff bazının Cu ile yaptığı komplekslerin (Şekil 2.27) biyolojik aktivitelerinin (Şekil 2.27 ve Şekil 2.28) incelendiği çalışmada özellikle antifungal etkisinin standarda göre daha yüksek olduğu görülmüştür [22].

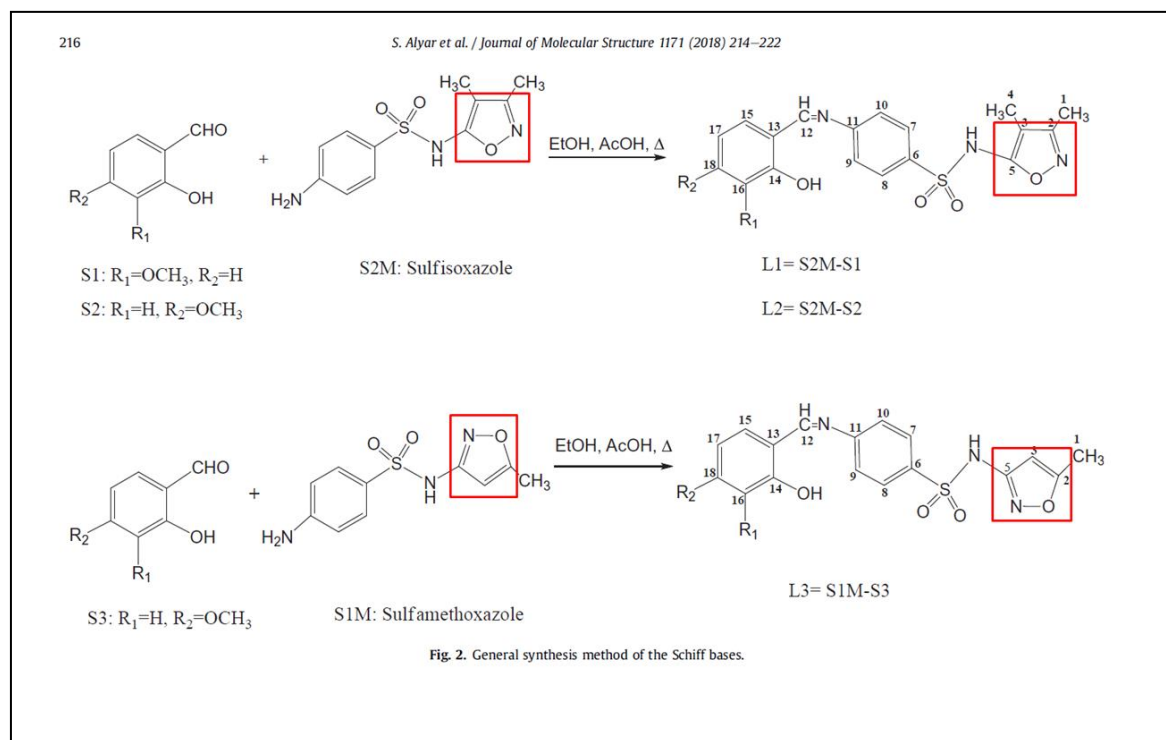


Şekil 2.27. İzoksazol grubu içeren schiff bazının cu ile yaptığı kompleksler



Şekil 2.28. Komplekslerin biyolojik aktiviteleri (3 boyutlu)

2018 yılında Alyar ve ark. yaptığı çalışmada farklı aldehitler kullanılarak izoksazol grubu içeren Schiff bazları ile metal komplekslerinin sentezi (şekil 2.29) çalışılmış antibakteriyel ve CAII enzim aktiviteleri incelenmiştir [23].



Şekil 2.29. Schiff bazları ile metal komplekslerinin sentezi

Bileşiklerin hem enzim (şekil 2.31) hem de antibakteriyel aktiviteleri (Şekil 2.32) incelendiği zaman Cu (II) komplekslerinin diğer bileşiklere göre daha iyi sonuç verdiği gözlenmiştir.

Table 6
Carbonic anhydrase inhibition data for compounds.

Compounds	Isoenzymes IC ₅₀ values μM	
	hCA I	hCA II
(L1)	—	173
(L2)	—	346
(L3)	—	231
Pd(L1) ₂	34	69
Pd(L2) ₂	57	16
Pd(L3) ₂	138	46
Cu(L1) ₂	14	6
Cu(L2) ₂	18	22
Cu(L3) ₂	6	7
Acatazalamide	0.77	0.017

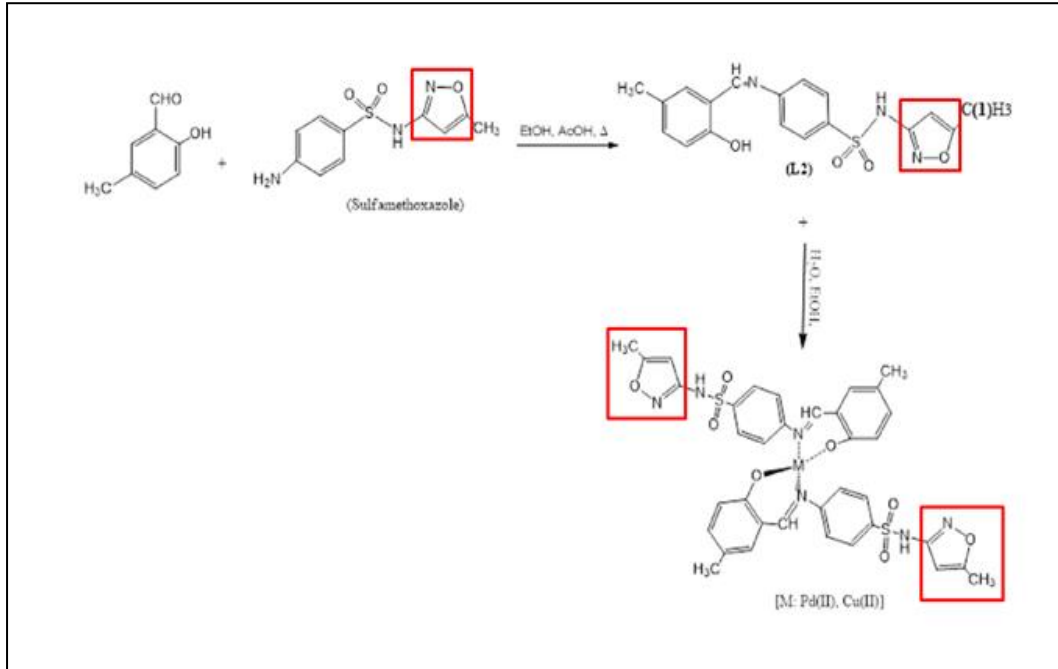
Şekil 2.30. Bileşiklerin enzim aktivitesi

Table 5
The MICs of antibacterial activity of the compounds.

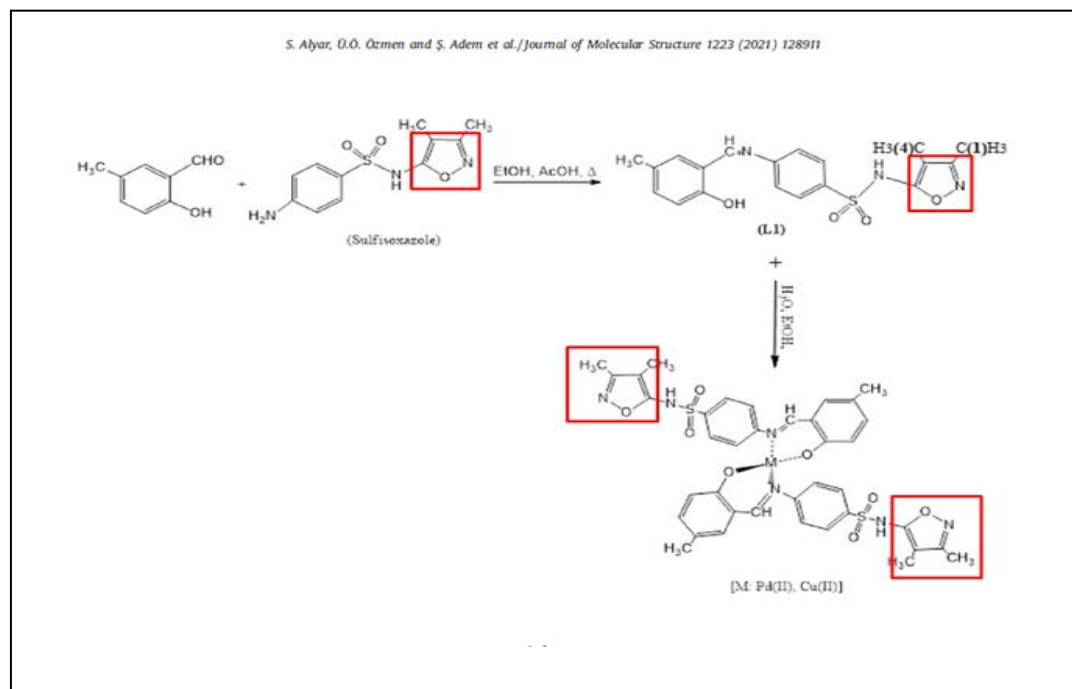
Compounds	MIC $\mu\text{g/mL}$			
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. maltophilia</i>
	100%	100%	100%	100%
(L1)	64	128	128	64
(L2)	64	64	64	32
(L3)	64	64	128	64
Pd(L1) ₂	64	128	64	32
Cu(L1) ₂	32	32	64	32
Cu(L2) ₂	32	32	64	32
Pd(L2) ₂	64	64	128	64
Cu(L3) ₂	64	256	64	32
Pd(L3) ₂	64	16	64	32
Sulfametaxazol	64	64	128	64
Sulfisoxazole	>256	>256	>256	>256

Şekil 2.31. Bileşiklerin biyolojik aktiviteleri

2021 yılında Alyar ve ark. yaptığı başka bir çalışmada izoksazol içeren sulfametaksazol (Şekil 2.33) ve sülfisaksazol (Şekil 2.34) içeren Schiff bazları ve Cu(II)/Pd(II) komplekslerinin CAII enzimi üzerinde inhibisyon ve antikanser etkileşimleri (Şekil2.35) çalışılmıştır [24].



Şekil 2.32. Sülfametaksazol içeren kompleks sentezi



Şekil 2.33. Sülfisoksazol içeren kompleks sentezi

Carbonic anhydrase inhibition data for compounds.		
Compounds	Isoenzymes hCA II	
	MW g/mol	IC ₅₀ values µM
S2M-S1	385.44	–
Pd(S2M-S1) ₂	872.42	20
Cu(S2M-S1) ₂	832.43	10
S1M-S1	428.50	–
Pd(S1M-S1) ₂	960.42	42
Cu(S1M-S1) ₂	918.55	67
Acatazamide		0.017

Şekil 2.34. Bileşiklerin karbonik anhidraz inhibisyonu

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyaller

Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler Sigma-Aldrich ve Merck firmalarından temin edilmiştir.

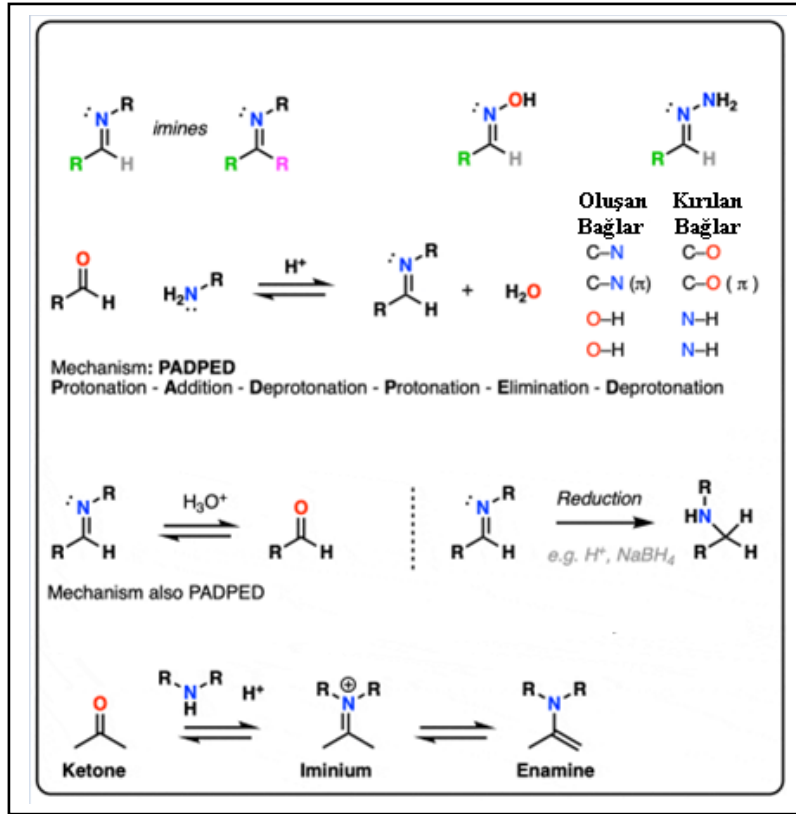
Kullanılan kimyasallar; 3-metil-5-amino izoksazol, 3-ter-butil-2-hidroksi benzaldehit, 4-metoksi salisilaldehit, 2-metoksi sinemaldehit, 2,4-dimetoksi benzaldehit, DMSO (Dimetil sülfoksit), Etanol, Hidroklorik asit, Asetik Asit.

3.2. Analizlerde Kullanılan Cihazlar

- Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin yapısal analizleri için kullanılan FT-IR spektrumları Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü laboratuvarlarında mevcut bulunan Mattson-1000 Model FT-IR spektrofotometresi ile 4000-400 cm^{-1} aralığında,
- Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin yapısal analizleri için kullanılan ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları DMSO ortamında Bruker Ultrashield 300 MHz sıvı NMR spektrometresi kullanılarak Gazi Üniversitesi Merkez Laboratuvarından alınmıştır.
- Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin element analizleri Thermo Scientific marka Flash 2000 organic elemental analyzer model element analiz cihazı ile Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Araştırma Laboratuvarında alınmıştır
- Bileşiklerin sentezi için Heidolph marka ısıtıcılı manyetik karıştırıcılar kullanılmıştır.
- Sentezlenen bileşiklerin safsızlıklarının uzaklaştırılması aşamasında Büchi marka vakum cihazı (evaporatör) kullanılmıştır.
- Bileşiklere ait erime noktası tespiti ve tayini SRS Optimelt erime noktası cihazı ile yapılmıştır.
- Kimyasal maddeler 0,1 miligrama duyarlı Shimadzu marka AUX120 model hassas terazi kullanılarak tartılmıştır.

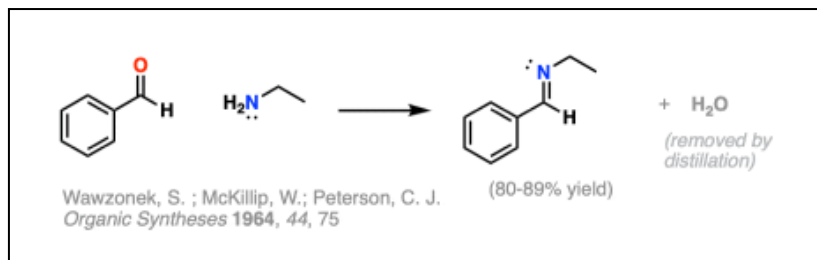
3.3. Bileşiklerin Sentez Yöntemi

Sentezini yapmak istediğimiz imin bileşikleri (Schiff bazı – aromatik aldehit) $\text{C}=\text{O}$ bağı yerine $\text{C}=\text{N}$ bağı içeren aldehit ve ketonların azot analoglarıdır (Şekil 3.1.). Bir aldehit veya ketona birincil amin eklenerek oluşurlar. Bu işlem bir molekül H_2O çıkışı gerçekleşen kondenzasyon tepkimesidir.



Şekil 3.1. İmin yapısının genel özellikleri

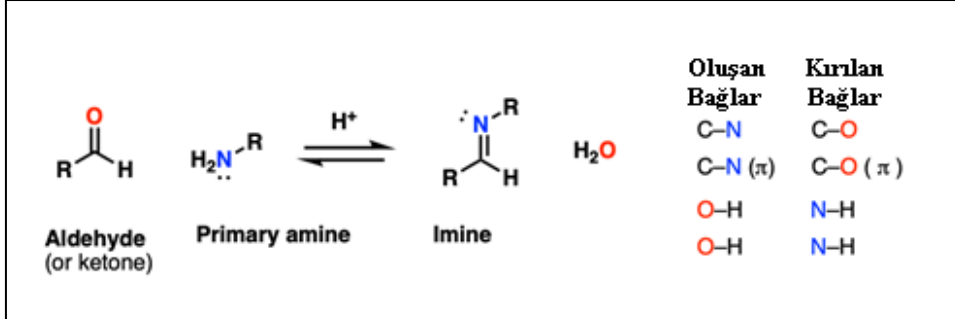
İminlerin oluşma reaksiyonları genellikle basittir. Bir çözeltiye önce birincil amin ve aldehit ya da keton eklenerek su çıkışının sağlanması ile kondenzasyon tepkimesi sonucu imin elde edilir (Şekil 3.2) [25].



Şekil 3.2. İmin oluşumuna ait örnek tepkime

Kondenzasyon tepkimesi oldukça hızlı gerçekleşir. Oluşan su damıtma yoluyla uzaklaştırıldıktan sonra kristallendirme ile yüksek verimde imin bileşiği elde edilir. Reaksiyonun hızlanması için asit katalizörü kullanılabilir. Asit, potansiyel ayrılan grupları eşlenik asitlerine dönüştürerek ve böylece onları daha iyi ayrılan gruplar haline getirerek eliminasyon reaksiyonlarını hızlandırır. Asit, karbonil oksijenini protonlar ve

böylece karbonil karbonunu daha iyi bir elektrofil haline getirerek reaksiyonu hızlandırır (Şekil 3.3). İşte oluşan ve kırılan bağları gösteren genel bir imin oluşumu örneği.

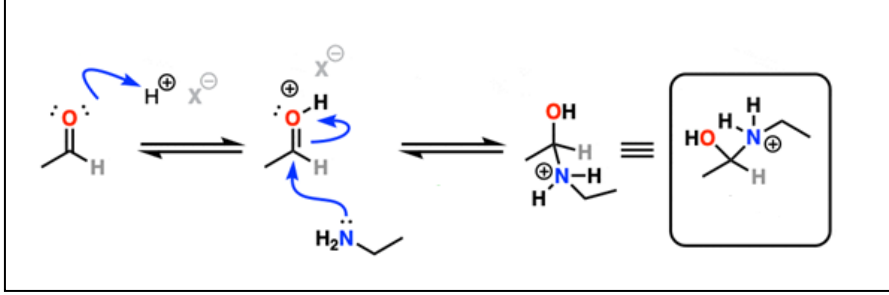


Şekil 3.3. Oluşan ve kırılan bağları gösteren genel bir imin oluşumu örneği

Kolayca görülebileceği gibi, iki yeni C-N bağı ve iki O-H bağı oluşur ve iki C-O bağı ve iki N-H bağı kopar. Dikkat edilmesi gereken bir diğer şey de başlangıç reaktifleri (aldehit/keton ve birincil amin) ve ürünler (imin ve su) dengededir.

Le Chatelier ilkesini uygulayarak tahmin edebileceğiniz gibi, geri tepkimenin gerçekleşmesini önlemek için imin oluşurken suyu uzaklaştırmak yardımcı olacaktır. Pratikte, bu genellikle $MgSO_4$ veya moleküler elekler gibi bir kurutma maddesi kullanılarak veya suyu bir Dean-Stark Düzenegi ile izole ederek yapılabilir. Ancak aromatik aldehit veya aromatik ketonlardan elde edilen iminlerin alifatik aldehit ve ketonlardan elde edilenlere göre hidroliz olması zor olacağından denge ürünler lehine hareket etmektedir ve verim yüksektir.

Reaksiyonun mekanizmasına değinecek olursak eğer, hafif asit varlığında, nötr aldehit/keton ile aldehit/ketonun konjuge asidi arasında bir denge olacaktır, bu nedenle 1. adım oksijenin protonlanmasıdır. Protonlandıktan sonra, karbonil, elektrofilik karbonil karbonuna amin nükleofilinin eklenmesini sağlarken, C-N oluşturabilir ve C-O'yu (π) kırabilir (Şekil 3.4).



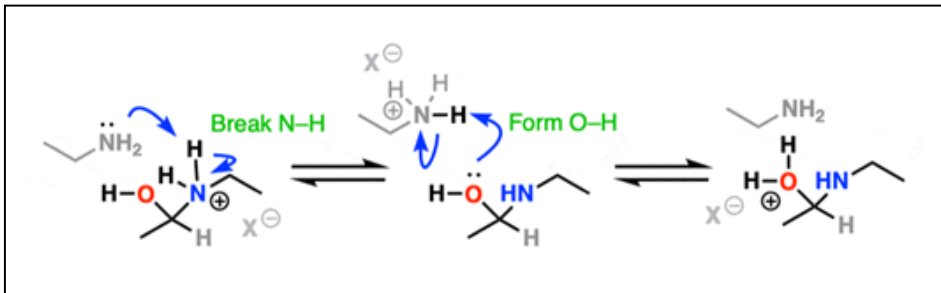
Şekil 3.4. İmin sentezi reaksiyon mekanizması

Karbonun hibritleşmesi sp^2 'den sp^3 'e değişti. Şimdi nötr bir OH ve pozitif yüklü bir amin (yani bir amonyum) içeren tetrahedral bir ara ürün oluşmaktadır.

Sonraki adımda O-H ve C-N (pi) oluşturmamız ve ayrıca C-O ve iki N-H bağının kırılması gerekmektedir.

Bu noktada eliminasyonun gerçekleşmesi pek olası değildir çünkü azotun C-N (pi) oluşturmak için kullanabileceği bir elektron çifti olmadığı gibi, ayrılan grup nispeten güçlü bir baz olan hidroksit iyonu, $(OH)^-$ olacaktır.

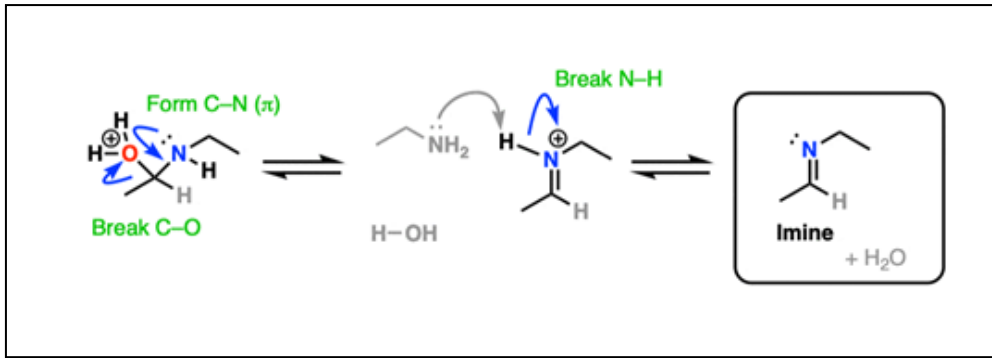
Azotun bir baz (aminin fazlası) tarafından deprotonasyonu (Şekil 3.5.) ve ardından oksijenin asit tarafından protonlanması (Şekil 3.5.) gerçekleşecektir. Bunu tek adımda, N-H'yi deprotonlamak için OH kullanarak göstermek hatalı olacaktır. İki adımlı bir süreci göstermek daha doğrudur.



Şekil 3.5. İmin sentezi reaksiyon mekanizması 2

Bu iki adım birlikte bir protonun (H^+) nitrojenden oksijene kaymasını etkiler. Bu nedenle deprotonasyon-protonasyon süreci (veya tersi) genellikle proton transferi olarak adlandırılır. C-N (pi) bağının oluşumu ve C-O bağının kırılması için suyun eliminasyonu ve buna eşlik eden C-N (pi) oluşumu gereklidir. (Şekil3.6.) Asit yokluğunda, eliminasyon çoğu iminin

oluşumunda hızı belirleyen adımdır; asit eklenmesi bu adımın hızını özellikle alifatik aldehitlerin kullanıldığı reaksiyonlarda büyük ölçüde hızlandırır. Burada pH'ın optimum değeri 4-5 aralığında gözlemlenir, pH değeri 4'ün altına düştüğünde ise reaksiyon hızının azaldığı gözlemlenir. Asit katalizli reaksiyonlarda ayrılan grubu $(OH)^-$ değil H_2O olarak göstermek gereklidir. Çünkü $(OH)^-$ baz olduğundan asit katalizörlüğünde var olamaz. Eliminasyon, iminyum tuzu (veya iminyum iyonu) olarak adlandırılan iminin eşlenik asidiyle sonuçlanır. Pozitif yüklü azotun deprotonasyonu (Şekil 3.6.) bize nötr imini verir.

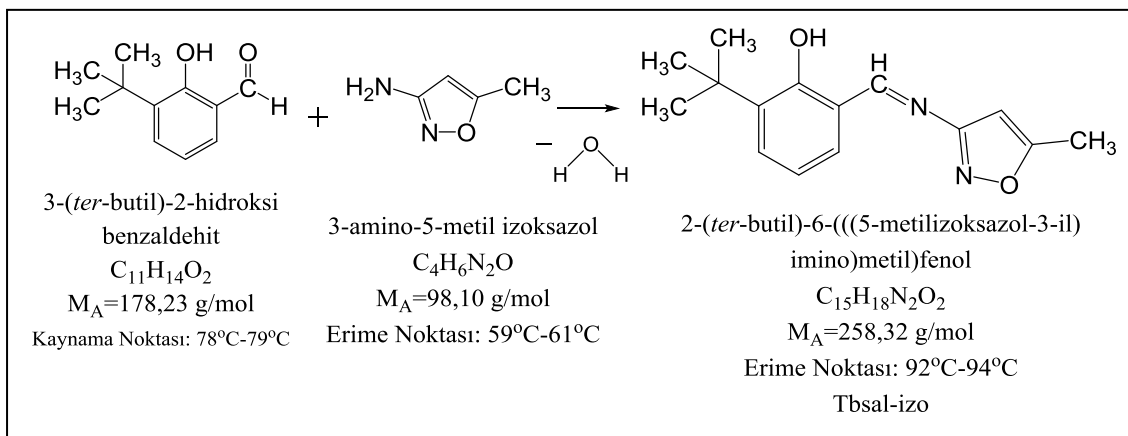


Şekil 3.6. İmin sentezi reaksiyon mekanizması 3

3.3.1. 2-ter-butil-6-[(5-metil-1,2-oksazol-3-il) imino] metilfenol (Tbsal-izo)

0,1 mmol 3-amino-5-metil izoksazol ile 0,12 mmol 3-ter-butil-2-hidroksi benzaldehit 20mL etil alkol içerisinde geri soğutucu altında yaklaşık 4 saat 40 °C sıcaklıkta çözündürülür. Tepkimede aromatik aldehit kullanıldığı için asit katalizörüne gerek duyulmamıştır. TLC ile reaksiyon ilerlemesi gözlemlenir (n-heksan içerisinde %30'luk etil asetat).

Reaksiyon karışımı soğutularak kristallendirilir, ayrılan Schiff bazı (2-ter-butil-6-[(5-metil-1,2-oksazol-3-il) imino] metilfenol (Tbsal-izo)) süzülür soğuk etanolla yıkanıp etüvde kurutulur. (Şekil 3.7) Kapalı formülü $C_{15}H_{18}N_2O_2$ Molekül ağırlığı (M_A)= 258,32 g/mol Erime noktası: 94°C

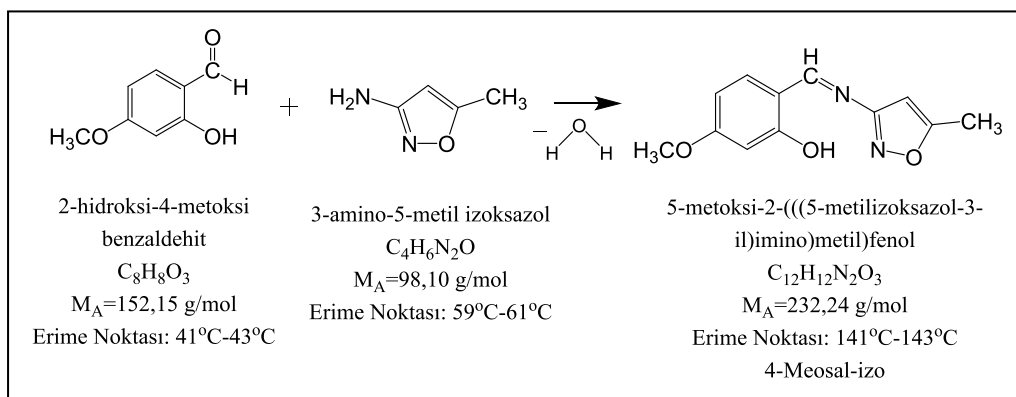


Şekil 3.7. Tbsal-izo bileşiğinin sentez yöntemi

3.3.2. 5-metoksi-2-[(5-metil-1,2-oksazol-3-il) imino] metilfenol (4-Meosal-izo)

0,1 mmol 3-amino-5-metil izoksazol ile 0,12 mmol 4-metoksi salisilaldehit 20mL etil alkol içerisinde geri soğutucu altında yaklaşık 4 saat 50°C sıcaklıkta çözündürülür. Tepkimede aromatik aldehit kullanıldığı için asit katalizörüne gerek duyulmamıştır. TLC ile reaksiyon ilerlemesi gözlemlenir (n-heksan içerisinde %30'luk etil asetat).

Reaksiyon karışımı soğutulularak kristallendirilir, ayrılan Schiff bazı (5-metoksi-2-[(5-metil-1,2-oksazol-3-il) imino] metilfenol (4-Meosal-izo)) süzülür soğuk etanolle yıkanıp etüvde kurutulur. (Şekil 3.8) Kapalı formülü $C_{12}H_{12}N_2O_3$ Molekül ağırlığı (M_A)= 232,24 g/mol Erime noktası: 143°C

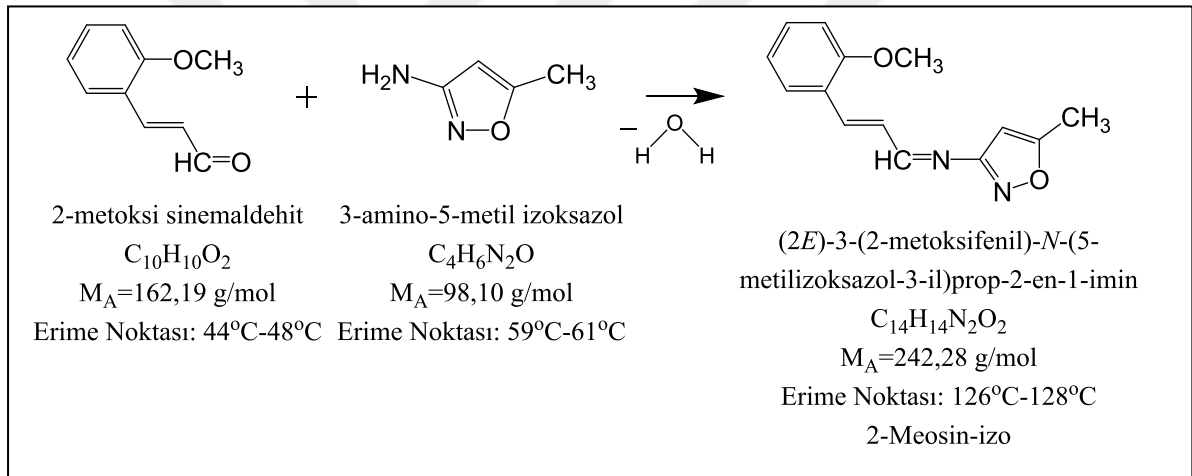


Şekil 3.8. 4-Meosal-izo bileşiğinin sentez yöntemi

3.3.3. 3-(2-metoksifenil)-N-(5-meti-1,2-oksazol-3-il) popan-1-imin (2-Meosin-izo)

0,1 mmol 3-amino-5-metil izoksazol ile 0,12 mmol 2-metoksi sinemaldehit 20mL etil alkol içerisinde geri soğutucu altında yaklaşık 4 saat 50°C sıcaklıkta çözündürülür. Tepkimede aromatik aldehit kullanıldığı için asit katalizörüne gerek duyulmamıştır. TLC ile reaksiyon ilerlemesi gözlemlenir (n-heksan içerisinde %30'luk etil asetat).

Reaksiyon karşımı soğutularak kristallendirilir, ayrılan Schiff bazı (3-(2-metoksifenil)-N-(5-meti-1,2-oksazol-3-il) popan-1-imin (2-Meosin-izo)) süzülür soğuk etanolle yıkanıp etüvde kurutulur. (Şekil 3.9) Kapalı formülü $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ Molekül ağırlığı (M_A)= 242,28 g/mol Erime noktası: 128°C



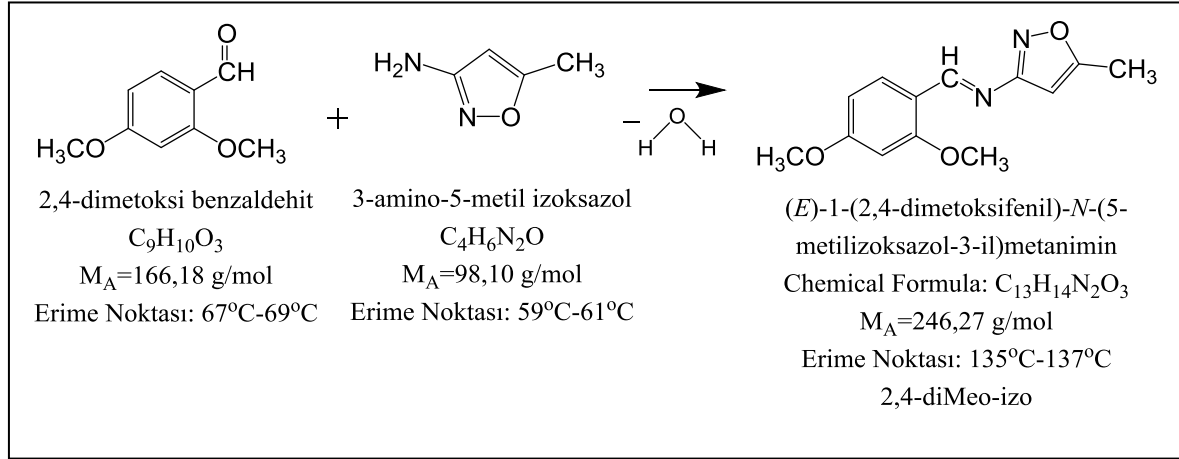
Şekil 3.9. 2-Meosin-izo bileşiğinin sentez yöntemi

3.3.4. 1-(2,4-dimetoksifenil)-N-(5-metil-1,2oksazol-3-il)metanimin (2,4-diMeo-izo)

0,1 mmol 3-amino-5-metil izoksazol ile 0,12 mmol 2,4-dimetoksi benzaldehit 20mL etil alkol içerisinde geri soğutucu altında yaklaşık 4 saat 50°C sıcaklıkta çözündürülür. Tepkimede aromatik aldehit kullanıldığı için asit katalizörüne gerek duyulmamıştır. TLC ile reaksiyon ilerlemesi gözlemlenir (n-heksan içerisinde %30'luk etil asetat).

Reaksiyon karşımı soğutularak kristallendirilir, ayrılan Schiff bazı (1-(2,4-dimetoksifenil)-N-(5-metil-1,2oksazol-3-il)metanimin (2,4-diMeo-izo)) süzülür soğuk etanolle yıkanıp

etüvde kurutulur. (Şekil 3.10) Kapalı formülü $C_{13}H_{14}N_2O_3$ Molekül ağırlığı (M_A)= 246,27 g/mol Erime noktası: 137°C



Şekil 3.10. 2,4-diMeosal-izo bileşiğinin sentez yöntemi

Çizelge 3.1. Sentezlenen bileşiklerin element analiz sonuçları (Teorik değerler parantez içinde verilmiştir.)

Bileşikler	Molekül formülü (Molekül kütlesi)	Erime Noktası(°C)	% C	% H	% N
Tbsal-izo	$C_{15}H_{18}N_2O_2$ (258,32 g/mol)	92-94	68,59 (69,74)	6,98 (7,02)	12,42 (12,39)
4-Meosal-izo	$C_{12}H_{12}N_2O_3$ (232,24 g/mol)	141-143	61,85 (62,06)	4,91 (5,21)	21,13 (20,67)
2-Meosin-izo	$C_{14}H_{14}N_2O_2$ (242,28 g/mol)	126-128	70,03 (69,41)	5,19 (5,82)	14,15 (13,21)
2,4-diMeo-izo	$C_{13}H_{14}N_2O_3$ (246,27 g/mol)	135-137	62,30 (63,40)	5,19 (5,73)	20,26 (19,49)

3.4. Antibakteriyel Aktivite Çalışmaları

Bileşiklerin antibakteriyel ve antibiyofilm aktivite çalışmaları Ömer Halisdemir Üniversitesi Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ali Öztürk tarafından Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Bakteri kökenleri ve kültür koşulları

Bileşiklerin antibakteriyel özellikleri Gram-pozitif bakterilere (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984) ve Gram-negatif bakterilere (*Escherichia coli* ATCC 8739 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 22853) karşı teste tabi tutuldu. Tüm suşlar Ömer Halisdemir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı kültür havzasından elde edildi. Suşlar saklama tüplerine (mikrobank) konularak çalışmanın gerçekleştirileceği güne kadar -80°C’de saklandı. Saklanan suşlar %5’lik koyun kanlı agar (OXOID, İtalya) pasajları yapılarak aerobik koşullarda 37 °C’de 24-48 saat inkübasyon ile canlandırıldı.

Antibakteriyel duyarlılık testi

Bu çalışmada, broth mikrodilüsyon (BMD) metodu ile *in vitro* duyarlılık testi CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) talimatlarına uygun olarak gerçekleştirildi [26]. Her izoksazol bileşiği için 2048 µg/mL’den başlayarak 4 µg/mL’ye kadar seri dilüsyonlar yapıldı. Bakteri süspansiyonu $1,5-2,0 \times 10^5$ CFU/mL olacak şekilde hazırlandı ve hazırlanan bakteri süspansiyonundan 100 µL çeşitli izoksazol bileşiği derişimleri içeren mikropilaka kuyucuklarına aktarıldı. Mikropilakalar 35°C’de 24 saat inkübe edilerek her bileşik için minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri belirlendi. Deneyde referans antibakteriyel ajan olarak sülfisoksazol ve sülfametoksazol bileşikleri kullanıldı.

3.5. İn-vitro Biyofilm Oluşturma Deneyi

Biyofilm oluşturma deneyi için 96 kuyulu düz tabanlı mikropilaka kullanıldı. Kısaca, Mueller-Hinton Broth (MHB) besiyerinde 0,5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ bakteri/mL) bakteri süspansiyonu hazırlandı ve mikropilakanın her bir kuyucuğuna süspansiyondan 100 µL ilave edildi. Plakalar 24 saat süre boyunca 37°C sıcaklıkta bir çalkalayıcı inkübatörde 180 rpm’de

inkübe edildi. İnkübe işleminin ardından, bağlanmamış hücreleri uzaklaştırmak için plaklar üç kez fosfat tamponlu salinle (PBS) yıkandı. Her kuyuya 200 µl taze MHB besiyeri ilave edildi ve plakalar biyofilm gelişimi için 180 rpm'de çalkalanarak 37 °C sıcaklıkta 72 saat süresince inkübe edildi. Negatif kontrol olarak her plağın son üç kuyucuğuna sadece MHB Mueller-Hinton Broth besiyeri eklendi.

Biyofilm oluşumunu ölçmek için Kristal Viyole (KV) yöntemi kullanılarak boyama yapıldı [27]. Biyofilm oluşumundan sonra, her kuyucuk iki sefer PBS (Fosfat Tamponlu Salin) ile yıkandı ve mikro plaklar 25 dakika boyunca 35°C sıcaklıkta kurutuldu. Yıkanan biyofilmler 45 dakika süreyle 200 µl %0,04 Kristal viyole çözeltisi kullanılarak boyandı. Boyanan kuyucuklar üç kez PBS ile yıkandı ve 200 µl %95 etanol eklenerek 45 dakika süreyle hücrelere bağlanan boyanın geri çözülmesi sağlandı. Süre sonunda mikropalakların optik dansitesi (OD) 595 nm'de spektrofotometre cihazı (Thermo Fisher Scientific, ABD) ile ölçüldü. Her izolat üç kez teste tabi tutuldu ve biyofilm üretim miktarları, üç testin absorbans değerlerinin aritmetik ortalaması olarak rapor edildi. Biyofilm oluşumu OD değerlerine göre negatif, zayıf ve kuvvetli biyofilm şeklinde yorumlanarak raporlaştırıldı.

3.6. Bileşiklerin Bakteriyel Biyofilmler Üzerindeki Etkisi

Biyofilm oluşturma aşamaları ve yapışma fazı tamamlandıktan sonra üstteki sıvı mikro plaklardan uzaklaştırıldı. Daha önceden antibakteriyel aktivite deneyinde her bileşik için belirlenmiş olan MİK değerlerinden yola çıkılarak her izoksazol türevi bileşiğinden elde edilen üç farklı konsantrasyon (MİK, 2×MİK ve 4×MİK) teste tabi tutuldu. Daha sonra hazırlanan izoksazol türevi bileşiklerinin (Schiff bazları) konsantrasyonlarından her bir kuyucuğa 100 µL ilave edildi ve 37 °C sıcaklıkta 24–48 saat çalkalanarak inkübasyona tabi tutuldu. İnkübe işleminin ardından mikropalaklar üç kez PBS ile yıkandı ve her kuyuya 100 µL %0,1'lik Kristal Viyole çözeltisi ilave edildi. 25 °C sıcaklıkta beş dakika bekletildikten sonra plakalar PBS ile üç kez tekrar yıkandı. Daha sonra her bir kuyucuğa 150 µL 0,04 N HCl-izopropanol ve 50 µL %0,25'lik sodyum dodeasil sülfat (SDS) ilave edilerek her kuyucuğun OD'si 590 nm'de okundu. Deneyde, yalnızca MHB ve bakteri süspansiyonlarını içeren kuyucuklar pozitif kontrol olarak belirlendi [41-43]. Biyofilm inhibisyon oranları pozitif kontrollerle karşılaştırılarak yüzde (%) olarak belirtildi. Biyofilm inhibisyon oranı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı. Biyofilm inhibisyon oranı = (OD kontrol-OD örnek / OD kontrol) × 100.

3.7. Moleküler Yerleştirme Çalışmaları

Molegro Virtual Docker MVD 2019.7.0 uygulamasının [28] geçici lisansı kullanılarak yerleştirme çalışmaları yürütülmüş ve EADock DSS algoritması düzenlenerek işletilmiştir [29]. Hesaplamalar yapılırken DFT'ye uygulanan hibrid fonksiyonel yaklaşımlarından olan B3LYP fonksiyoneli ve 6-311G**(d, p) temel seti kullanılarak optimizasyon işlemi tamamlanmış olup ligand yapısı Gaussian'da *.pdb formatında kaydedilmiştir. Bileşiklerin yerleştirileceği hedef reseptör olarak Gram-pozitif bakterilerin (S. epidermidis, PDB ID: 3KP3) kristal yapısı, Gram-pozitif bakterilerin reseptörü (S. aureus, PDB ID: 4GFD) ve hümanize Xenopus MDM2'nin (PDB ID: 4JSC) kristal yapısı seçildi ve bu yapılar Protein Veri Bankası (PDB) web sitesinden PDB formatında temin edilmiştir [30]. Daha önce de belirtildiği gibi, analiz edilen bileşiklerin başlangıç 3 boyutlu yapılarını da içeren girdi dosyaları GaussView kullanılarak oluşturulmuş ve sonrasında geometri optimizasyon çalışmaları yapılarak en düşük enerjiye sahip yapıları elde etmek amacıyla Gaussian 09 kullanılmıştır [31].

3.8. Siliko ADME çalışmaları

ADME, matematiksel modeller simüle edip geliştirerek organizmada ilaç Emilimi, dağılımı, metabolizması ve atılım süreçlerini inceler. Bileşik keşif çalışmalarının farmakodinamiğinin ilaç geliştirme aşamaları kapsamında kritik bir rol oynadığı göz önüne alındığında, bu çalışmalar ilaç tasarımı açısından hayati öneme sahiptir. Sonuç olarak, ADME tabanlı metodolojiler maliyet etkin ilaç tasarımı ve geliştirmeyi kolaylaştırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. İsviçre ADME, ADME özelliklerini değerlendirmek için tasarlanmış web tabanlı araçlardan sadece biridir [32]. Bu platform, çalışmadaki tüm bileşiklerin ADME özelliklerini hesaplamak için kullanıldı. ADME özellikleri SwissADME kullanılarak hesaplandı [33].

3.9. Elektrokimyasal Teknikler

3.9.1. Kullanılan cihazlar

EİS, CV, ve DPV ölçümlerinde, üç elektrot bulunan sistemli hücre standı içeren Electrochemical Work Station CHI 660B adlı elektro analitik ölçüm cihazı kullanıldı. Tartım işlemleri için 0,1 mg duyarlılığına sahip Ohaus Corp. (ABD) marka PA214C model elektronik terazi kullanılarak gerçekleştirildi. pH düzenlemesi, Thermo markasının Orion 5 Star modeli olan dijital pH metre cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. FTIR spektrumları, elmas cins mercek kullanılarak KBr pelet başlığı ve ATR içeren bir Thermo Scientific Nicolet IS5 (USA) spektrofotometresi ile tespit edildi.

SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) analizi görüntüleri, JSM-6060LV, JEOL Ltd, Japon model taramalı elektron mikroskobu (0,5–30 kV) kullanılarak elde edildi. Tüm sulu çözeltiler ve yıkama işlemleri için kullanılan saf su, HUMAN POWER I+ cihazıyla elde edilen ultra saf sudur (18,2 MΩ.cm). GCE yüzeyi parlatıldıktan sonra, yüzeyinde kalabilecek safsızlıkları ortadan kaldırmak ve çözelti hazırlama esnasında tam çözünmeyi sağlamak amacıyla, 35 kHz frekansına sahip Sonorex marka ultrasonik banyosu (Bandelin Electronic) kullanıldı. Bütün elektrokimyasal çalışmalarda, oksijeni ortamdan uzaklaştırarak inert bir ortam sağlamak için %99,999 saflıkta N₂ gazı kullanıldı.

3.9.2. Hücre ve elektrotlar

Elektrokimyasal hücre üçlü elektrot sisteminden oluşmakla birlikte, çalışma elektrotları olarak GCE (BASi, MF 2012) ve modifiye GCE (3ATT-GCE), referans elektrot olarak sulu ortamlarda Ag/AgCl/KCl(doy.) (BASi, MF 2052) ve karşıt elektrot olarak ise Pt tel (BASi, MF 2013) kullanıldı. Susuz ortam referans elektrodu (BASi, MF 2062) olarak Ag/AgNO₃ (0,01 M) kullanıldı. Susuz ortam, 0,1 M TBATFB'nin ACN'de çözülmesi ile hazırlandı. Bütün deneyler oda sıcaklığında (25±1 °C) yapıldı.

3.9.3. Kullanılan kimyasallar

Deneylerde sarf edilecek kimyasal maddeler analitik saflıkta olup; herhangi bir saflaştırma işlemine ihtiyaç duyulmadı. Fosforik asit (%85, H₃PO₄), CC (%99), fenol (Ph), potasyum klorür (KCl, %99), 2-nitrofenol (2-NPh) ve glukoz Sigma-Aldrich firmasından temin edildi.

4-aminofenol (4-APh), TBATFB, ACN, sodyum fosfat dibazik (Na_2HPO_4 , %99,5), sülfürik asit (%96, H_2SO_4), borik asit (H_3BO_3 , %99,5), sodyum dihidrojen fosfat (NaH_2PO_4 , >%99), ferrosen, $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, sodyum asetat (NaAc, %99), hidroklorik asit (%37), asetik asit (buzlu HAc, %100), sodyum hidroksit (%99), ve $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, Merck firmasından satın alındı. Destek elektrolitin (PBS, pH 7,0) stok çözeltisi, 0,1 M olacak şekilde NaH_2PO_4 ve Na_2HPO_4 'ün belirli miktarlarda ultra saf suda çözülerek; 1 L'ye seyreltilmesiyle hazırlandı. Stok Britton-Robinson (BR) tamponu (0,1 M), 2,70 mL derişik H_3PO_4 , 2,30 mL derişik HAc ve 2,47 g H_3BO_3 'ün ultra saf su ile 1 L'ye seyreltilmesiyle hazırlandı. Asetat tamponu (ABS) (NaAc-HAc , pH 5,0), 0,1 M NaAc ve HAc'nin belirli hacim oranlarında karıştırılmasıyla hazırlandı. Tampon çözeltilerin pH değerlerini ayarlamak için 1 M hidroklorik asit (HCl) ve/veya sodyum hidroksit (NaOH) çözeltileri kullanıldı. Hazırlanan stok çözeltiler laboratuvarında 4°C sıcaklıkta saklandı

3.9.4. Dönüşümlü voltametri (CV)

İlk defa 1964 yılında Nicholson ve Shain [34] tarafından geliştirilen bu yöntem ile elektrot yüzeyinde oluşabilecek adsorpsiyon tepkimelerinin türünü belirlemek ve elektrot tepkimelerinin dönüşümlü olup olmadığını anlamak amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Yöntemde potansiyel, zamanla doğrusal olarak değişir. Bu değişme hızına *tarama hızı* denir. Potansiyel taraması ileri yönde belirli bir potansiyel değerine eriştikten sonra doğrusal olarak azalacak şekilde ters çevrildiğinde yöntem *dönüşümlü voltametri (CV)* adını alır.



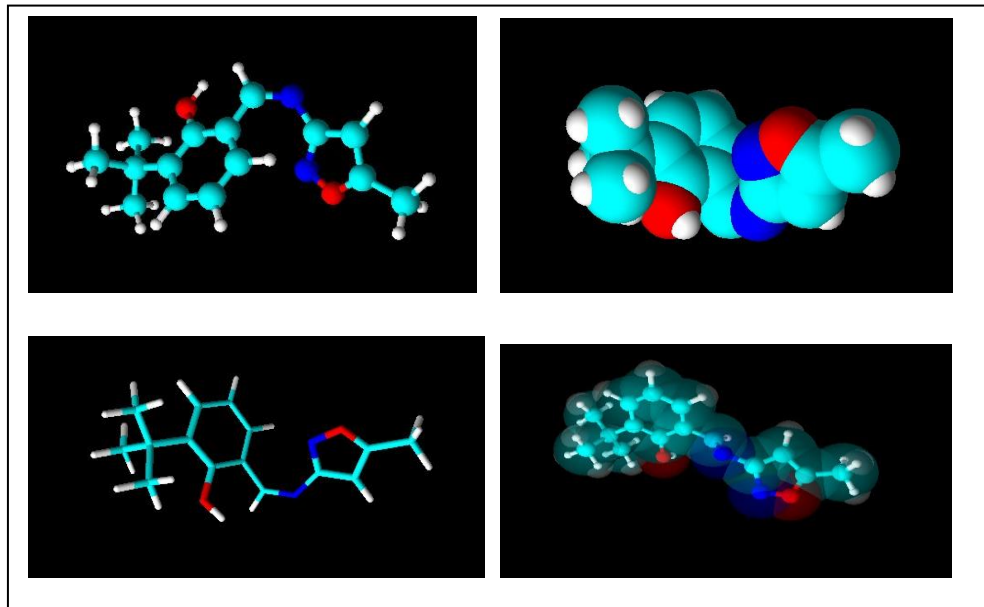
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI

Sentezlenen bileşikler sırasıyla; 2-ter-butil-6-[(5-metil-1,2-oksazol-3-il) imino] metilfenol (*Tbsal-izo*); 5-metoksi-2-[(5-metil-1,2-oksazol-3-il) imino] metilfenol (*4-Meosal-izo*); 3-(2-metoksifenil)-N-(5-metil-1,2-oksazol-3-il) popan-1-imin (*2-Meosin-izo*); 1-(2,4-dimetoksifenil)-N-(5-metil-1,2-oksazol-3-il)metanimin (*2,4-diMeo-izo*)'dur. Bileşiklerin yapıları $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ ve FT-IR, spektroskopik yöntemlerle ve element analizi (CHNS) ile tayin edilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin antibakteriyel, antibiyofilm aktiviteleri in vitro olarak değerlendirilmiş, teorik hesaplamaları ve elektrokimyasal özellikleri incelenmiştir.

4.1. İzoksazol Halkası İçeren Schiff Bazlarının IR ve NMR Yorumları

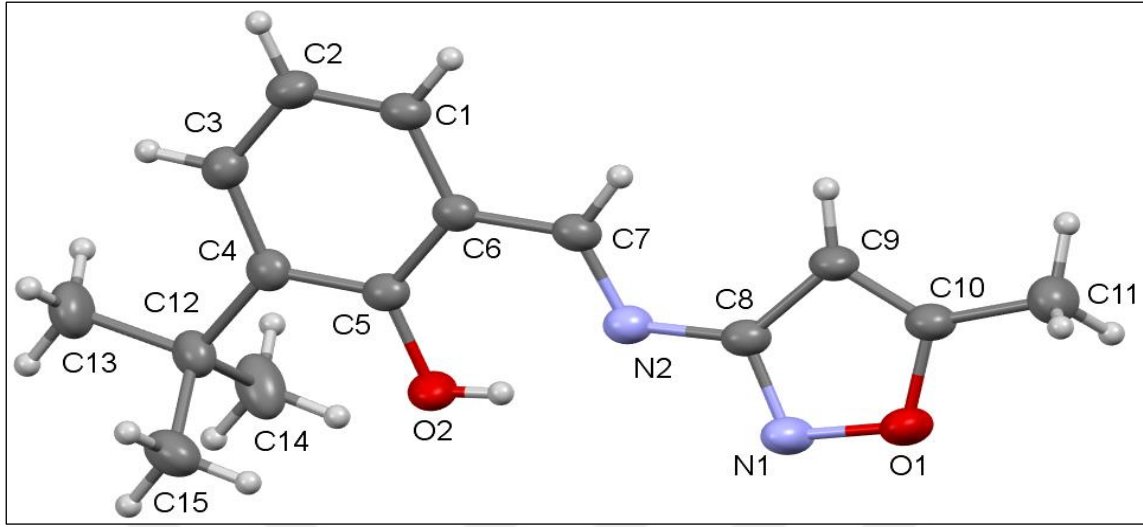
Bu bölümde bileşiklerin $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ ve FT-IR spektrumları verilmiş ve analizleri yapılmıştır. Ayrıca *Tbsal-izo* bileşiğinin Tek Kristal X-ışını yapı analizi yapılmıştır. Bileşiklerin ChemSketch ve ChemDraw programları kullanılarak yapıları üç boyutlu (3D) olarak verilmektedir. Sentezlenen bileşiklerin FTIR spektrumunda gözlenen seçilmiş titreşim frekansları Çizelge 4.5'te verilmektedir.

4.1.1. 2-ter-butil-6-[(5-metil-1,2-oksazol-3-il) imino] metilfenol (*Tbsal-izo*)

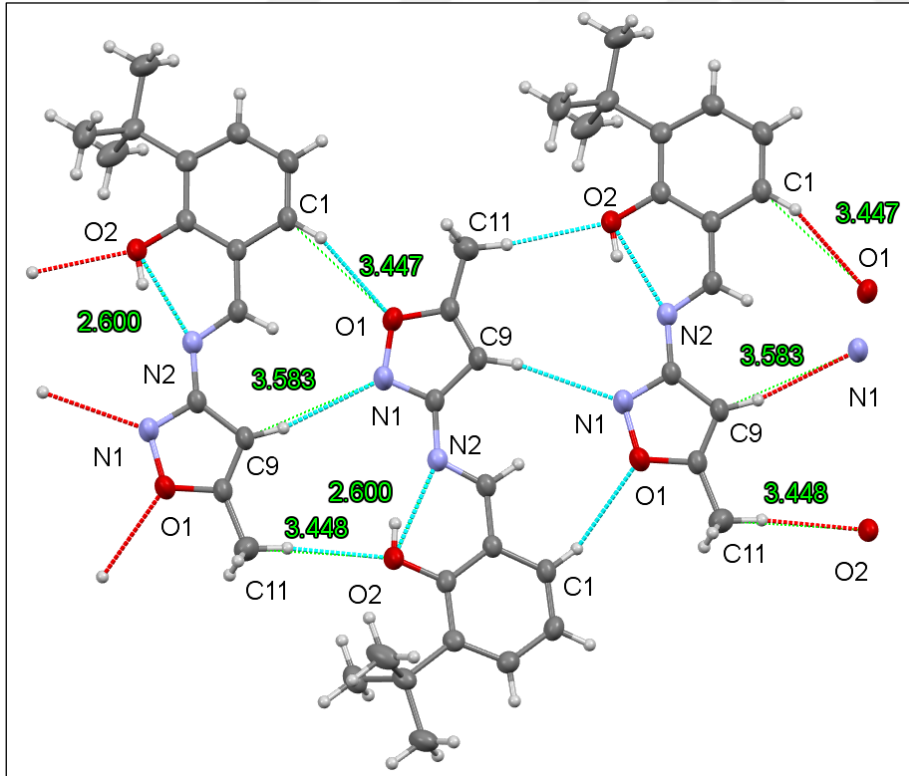


Şekil 4.1. (*Tbsal-izo*) bileşiğinin 3D yapıları

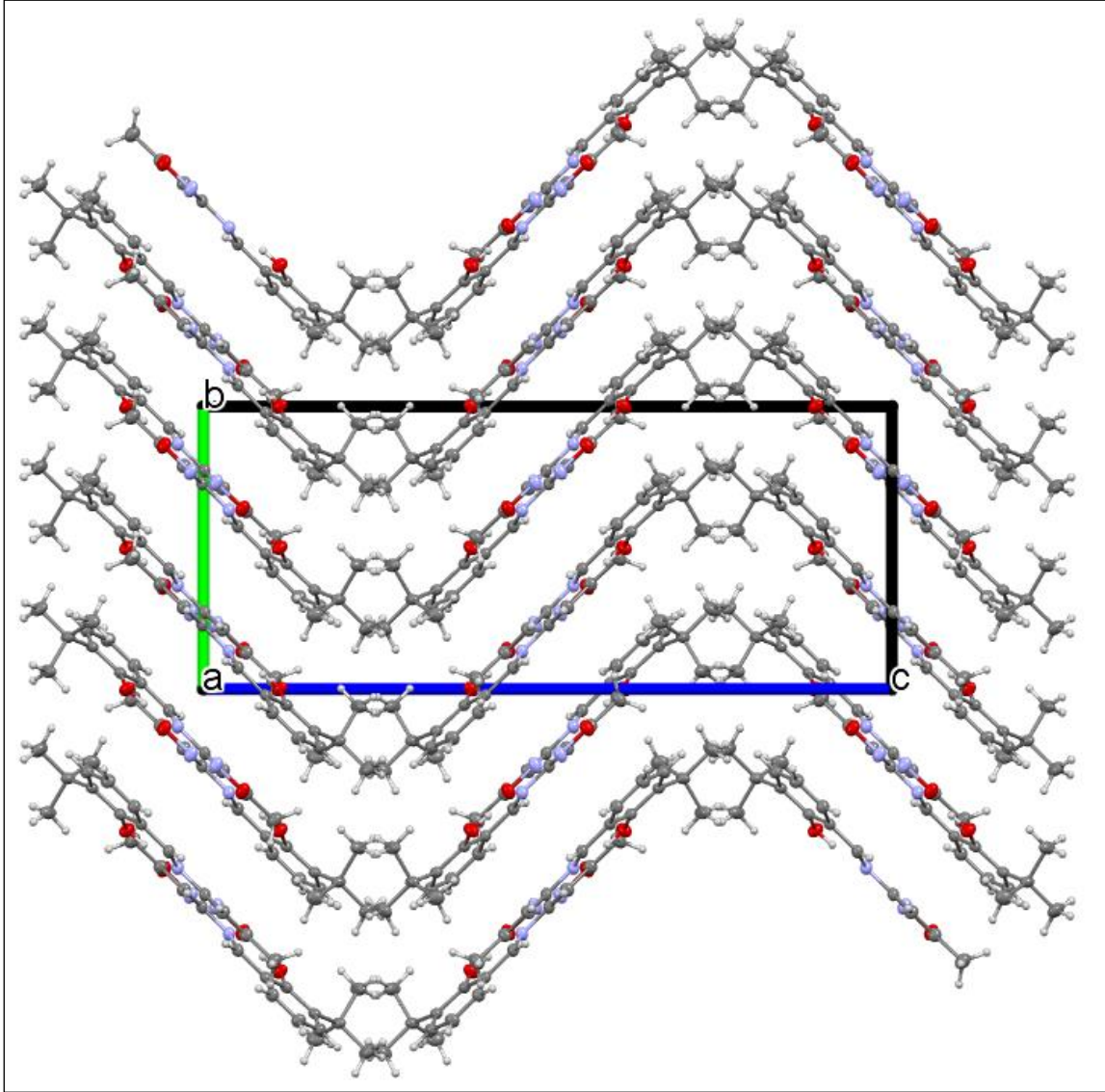
Tbsal-izo bileşiğinin Tek Kristal X-ışını Yapı Analizi



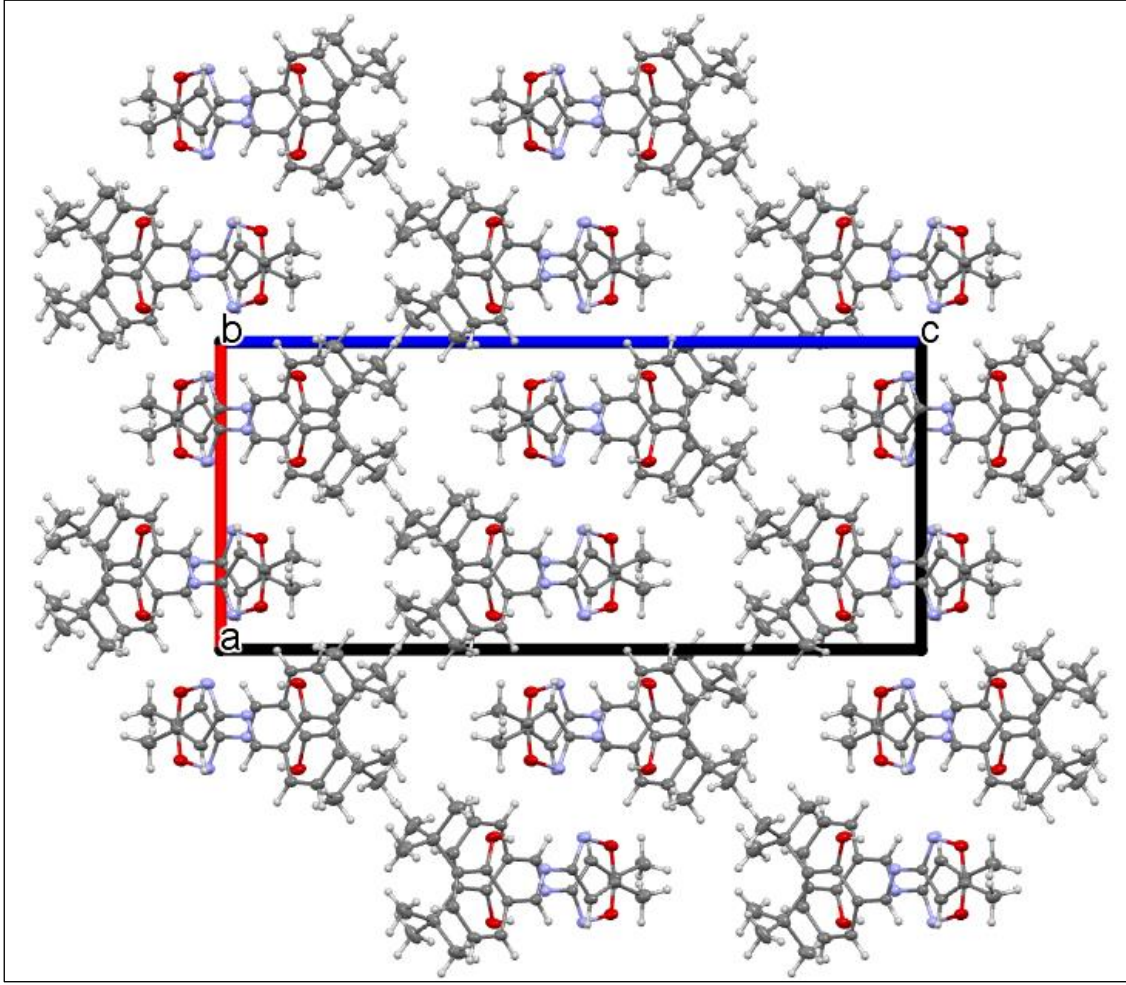
Şekil 4.2. Tbsal-izo molekülünün tek kristal yapı analizi (ORTEP) (Termal elipsoitler %40 olasılıkta verilmiştir.)



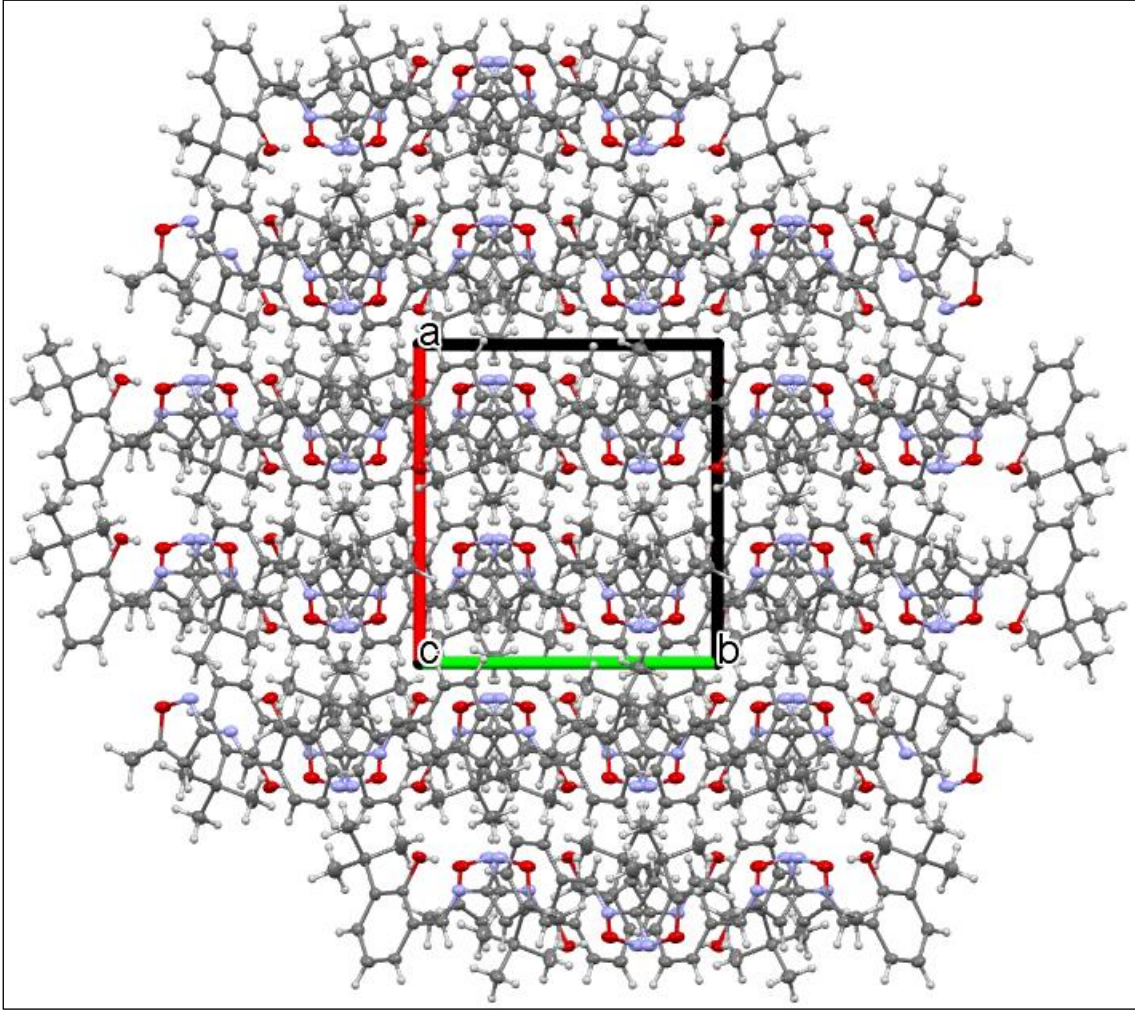
Şekil 4.3. Moleküller arası hidrojen bağı ve vdW etkileşimleri



Şekil 4.4. Tbsal-izo molekülünün sırasıyla a, b, c -eksenleri boyunca birim hücre ve kristal örgü görüntüsü 1



Şekil 4.5. Tbsal-izo molekülünün sırasıyla *a,b,c*-eksenleri boyunca birim hücre ve kristal örgü görüntüsü 2



Şekil 4.6. Tbsal-izo molekülünün sırasıyla a, b, c -eksenleri boyunca birim hücre ve kristal örgü görüntüsü 3

O(1) - C(10)	1.352(3)	O(2) - H(2)	0.820(2)
O(2) - C(5)	1.352(3)	N(2) - C(8)	1.395(3)
N(2) - C(7)	1.292(3)	N(1) - C(8)	1.308(3)
C(8) - C(9)	1.417(4)	C(5) - C(4)	1.416(4)
C(5) - C(6)	1.413(3)	C(4) - C(3)	1.389(4)
C(7) - H(7)	0.930(3)	C(7) - C(6)	1.440(3)
C(1) - H(1)	0.930(3)	C(1) - C(6)	1.403(3)
C(1) - C(2)	1.358(4)	C(10) - C(9)	1.337(4)
C(10) - C(11)	1.490(4)	C(9) - H(9)	0.930(3)
C(12) - C(14)	1.535(4)	C(12) - C(13)	1.528(4)
C(12) - C(15)	1.538(4)	C(2) - H(2)	0.930(3)
C(2) - C(3)	1.392(4)	C(3) - H(3)	0.930(3)
C(11) - H(11A)	0.960(3)	C(11) - H(11B)	0.960(3)
C(11) - H(11C)	0.960(3)	C(14) - H(14A)	0.960(4)
C(14) - H(14B)	0.960(4)	C(14) - H(14C)	0.960(3)
C(13) - H(13A)	0.960(3)	C(13) - H(13B)	0.960(4)
C(13) - H(13C)	0.960(4)	C(15) - H(15A)	0.960(3)
C(15) - H(15B)	0.960(3)	C(15) - H(15C)	0.960(3)

Şekil 4.7. Bağ uzunluklarının (Angström) tam listesi

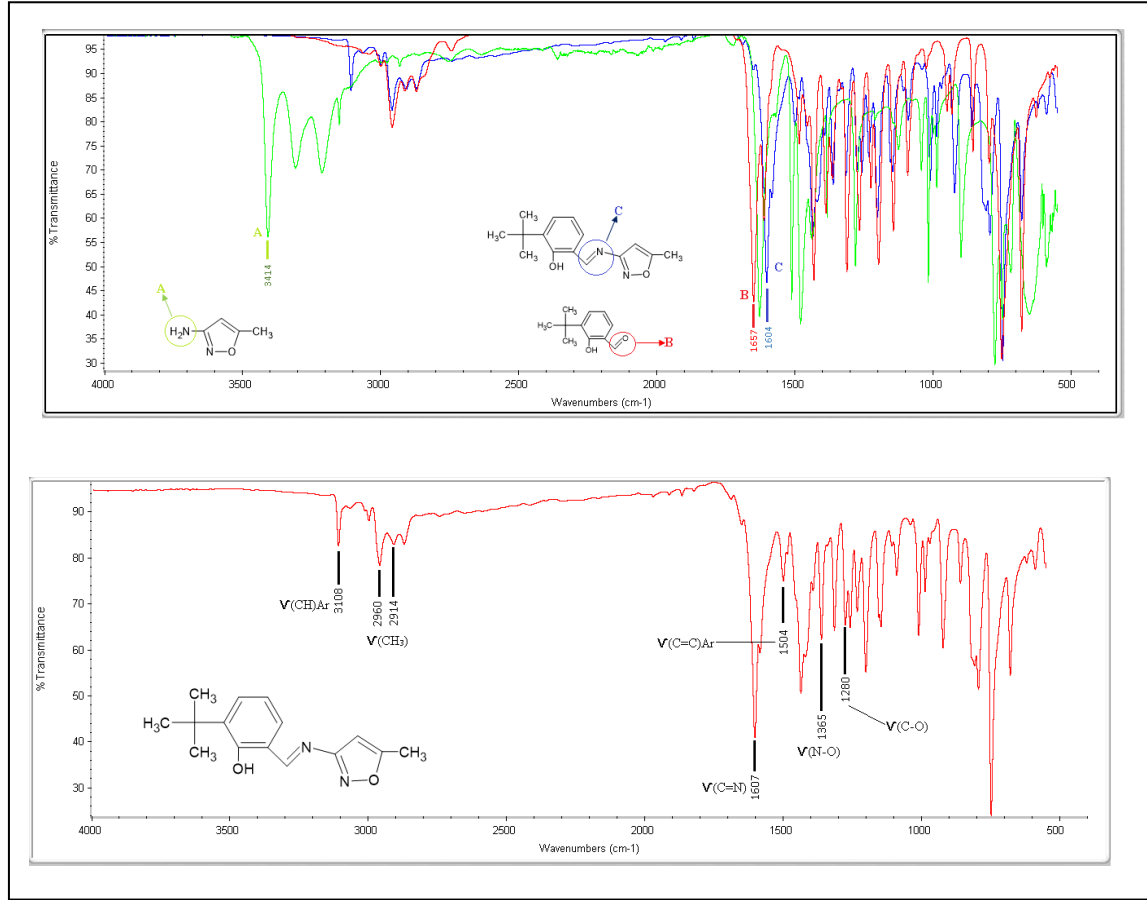
H(2) - O(2) - C(5) - C(4)	179.6
H(2) - O(2) - C(5) - C(6)	0.4
C(7) - N(2) - C(8) - N(1)	170.9
C(8) - N(2) - C(7) - H(7)	-0.6
C(8) - N(2) - C(7) - C(6)	179.4
C(7) - N(2) - C(8) - C(9)	-9.9
N(2) - C(8) - C(9) - C(10)	179.7
N(2) - C(8) - C(9) - H(9)	-0.3
N(1) - C(8) - C(9) - C(10)	-1.0
N(1) - C(8) - C(9) - H(9)	179.0
O(2) - C(5) - C(4) - C(3)	178.5
O(2) - C(5) - C(6) - C(7)	1.3
O(2) - C(5) - C(6) - C(1)	-178.6
C(4) - C(5) - C(6) - C(7)	-177.8
C(4) - C(5) - C(6) - C(1)	2.2
C(6) - C(5) - C(4) - C(3)	-2.4
C(5) - C(4) - C(3) - C(2)	1.0
C(5) - C(4) - C(3) - H(3)	-179.0
N(2) - C(7) - C(6) - C(5)	-2.6
N(2) - C(7) - C(6) - C(1)	177.3
H(7) - C(7) - C(6) - C(5)	177.4
H(7) - C(7) - C(6) - C(1)	-2.7
H(1) - C(1) - C(6) - C(5)	179.4
H(1) - C(1) - C(6) - C(7)	-0.6
H(1) - C(1) - C(2) - H(2)	-0.7
H(1) - C(1) - C(2) - C(3)	179.3
C(2) - C(1) - C(6) - C(5)	-0.6
C(2) - C(1) - C(6) - C(7)	179.4
C(6) - C(1) - C(2) - H(2)	179.3
C(6) - C(1) - C(2) - C(3)	-0.7
O(1) - C(10) - C(9) - C(8)	0.8
O(1) - C(10) - C(9) - H(9)	-179.2
O(1) - C(10) - C(11) - H(11A)	171.3
O(1) - C(10) - C(11) - H(11B)	51.3
O(1) - C(10) - C(11) - H(11C)	-68.7
C(11) - C(10) - C(9) - C(8)	-178.6
C(11) - C(10) - C(9) - H(9)	1.4
C(9) - C(10) - C(11) - H(11A)	-9.3
C(9) - C(10) - C(11) - H(11B)	-129.3
C(9) - C(10) - C(11) - H(11C)	110.7
C(13) - C(12) - C(14) - H(14A)	61.9
C(13) - C(12) - C(14) - H(14B)	-58.1
C(13) - C(12) - C(14) - H(14C)	-178.1
C(14) - C(12) - C(13) - H(13A)	-179.4
C(14) - C(12) - C(13) - H(13B)	60.6
C(14) - C(12) - C(13) - H(13C)	-59.4
C(15) - C(12) - C(14) - H(14A)	178.7
C(15) - C(12) - C(14) - H(14B)	58.7
C(15) - C(12) - C(14) - H(14C)	-61.3
C(14) - C(12) - C(15) - H(15A)	63.0
C(14) - C(12) - C(15) - H(15B)	-57.0
C(14) - C(12) - C(15) - H(15C)	-177.0
C(15) - C(12) - C(13) - H(13A)	62.1
C(15) - C(12) - C(13) - H(13B)	-57.8

Şekil 4.8. Burulma açılarının tam listesi

H(2)-O(2)-C(5)	109.5(2)	C(8)-N(2)-C(7)	119.5(2)
N(2)-C(8)-N(1)	116.6(2)	N(2)-C(8)-C(9)	131.9(2)
N(1)-C(8)-C(9)	111.5(3)	O(2)-C(5)-C(4)	119.0(2)
O(2)-C(5)-C(6)	119.8(2)	C(4)-C(5)-C(6)	121.2(2)
C(5)-C(4)-C(3)	116.3(2)	N(2)-C(7)-H(7)	118.7(3)
N(2)-C(7)-C(6)	122.6(2)	H(7)-C(7)-C(6)	118.7(3)
H(1)-C(1)-C(6)	119.8(3)	H(1)-C(1)-C(2)	119.8(3)
C(6)-C(1)-C(2)	120.4(3)	C(5)-C(6)-C(7)	122.1(2)
C(5)-C(6)-C(1)	119.1(2)	C(7)-C(6)-C(1)	118.8(2)
O(1)-C(10)-C(9)	109.3(3)	O(1)-C(10)-C(11)	115.1(3)
C(9)-C(10)-C(11)	135.5(3)	C(8)-C(9)-C(10)	105.2(2)
C(8)-C(9)-H(9)	127.4(3)	C(10)-C(9)-H(9)	127.4(3)
C(14)-C(12)-C(13)	107.8(3)	C(14)-C(12)-C(15)	109.9(3)
C(13)-C(12)-C(15)	107.4(3)	C(1)-C(2)-H(2)	120.0(3)
C(1)-C(2)-C(3)	120.0(3)	H(2)-C(2)-C(3)	120.0(3)
C(4)-C(3)-C(2)	123.1(3)	C(4)-C(3)-H(3)	118.5(3)
C(2)-C(3)-H(3)	118.5(3)	C(10)-C(11)-H(11A)	109.5(3)
C(10)-C(11)-H(11B)	109.5(3)	C(10)-C(11)-H(11C)	109.5(3)
H(11A)-C(11)-H(11B)	109.5(3)	H(11A)-C(11)-H(11C)	109.5(3)
H(11B)-C(11)-H(11C)	109.5(3)	C(12)-C(14)-H(14A)	109.5(3)
C(12)-C(14)-H(14B)	109.5(3)	C(12)-C(14)-H(14C)	109.5(3)
H(14A)-C(14)-H(14B)	109.5(3)	H(14A)-C(14)-H(14C)	109.5(3)
H(14B)-C(14)-H(14C)	109.5(3)	C(12)-C(13)-H(13A)	109.5(3)
C(12)-C(13)-H(13B)	109.5(3)	C(12)-C(13)-H(13C)	109.5(3)
H(13A)-C(13)-H(13B)	109.5(3)	H(13A)-C(13)-H(13C)	109.5(3)
H(13B)-C(13)-H(13C)	109.5(3)	C(12)-C(15)-H(15A)	109.5(3)
C(12)-C(15)-H(15B)	109.5(3)	C(12)-C(15)-H(15C)	109.5(3)
H(15A)-C(15)-H(15B)	109.5(3)	H(15A)-C(15)-H(15C)	109.5(3)
H(15B)-C(15)-H(15C)	109.5(3)		

Şekil 4.9. Bağ açılarının (derece) tam listesi

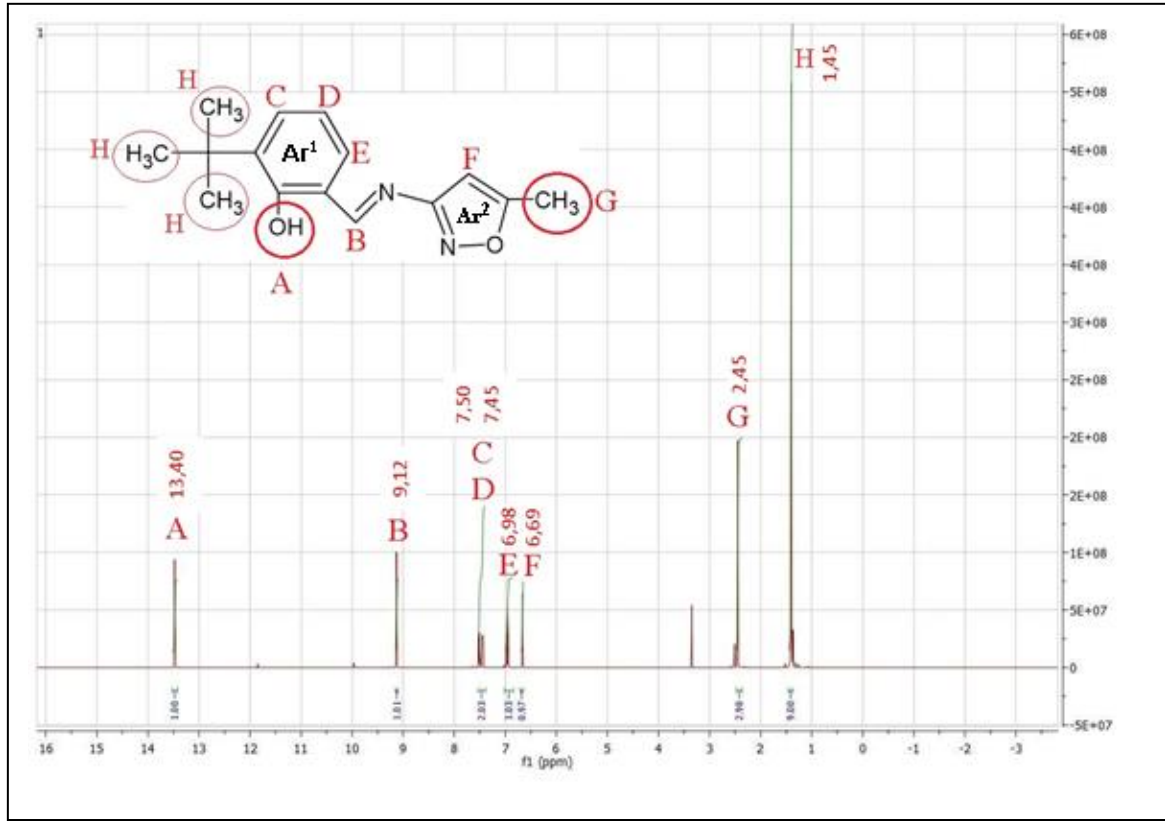
Tbsal-izo bileşiğinin FT-IR Spektrum yorumu



Şekil 4.10. Tbsal-izo bileşiğinin reaktiflerle karşılaştırmalı FT-IR spektrumu

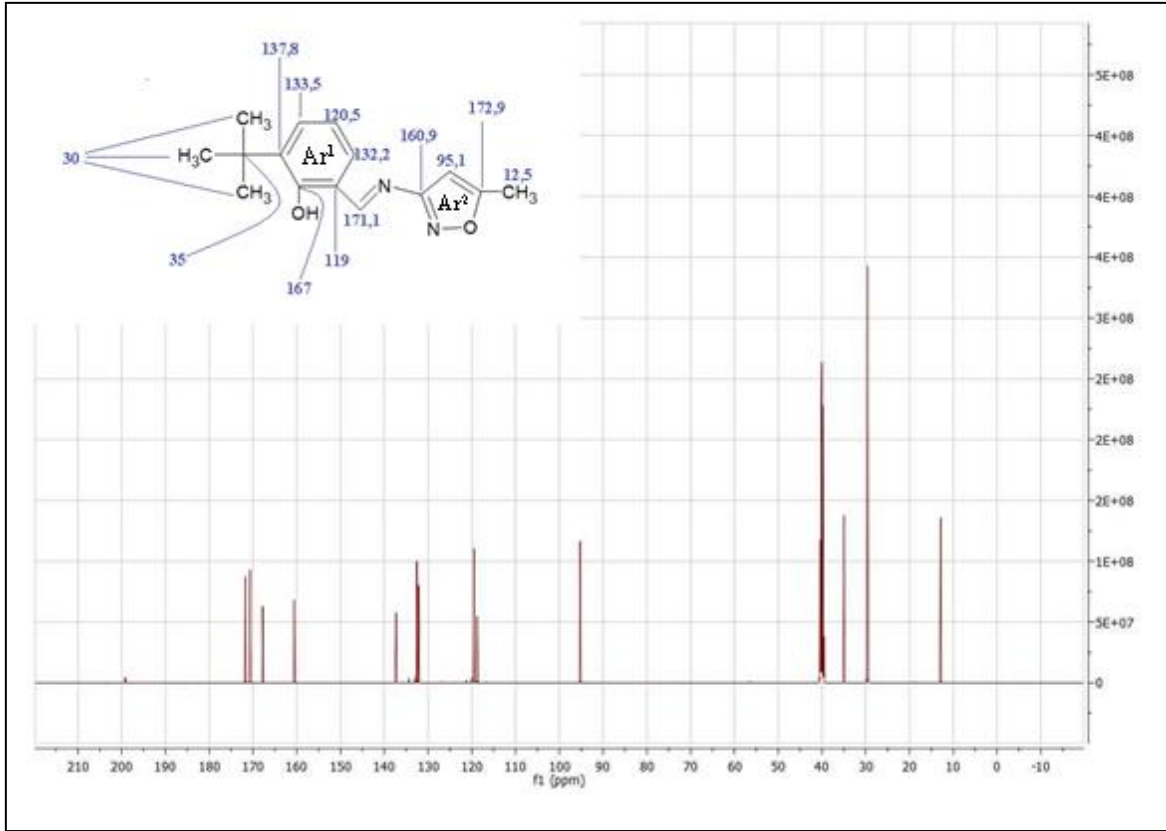
Sentez için kullanılan reaktiflere ait spektrumlar incelendiğinde 3414 cm^{-1} 'de bandın 3-metil-5-amino izoksazole ait amin grubunun $\nu(\text{NH}_2)$ gerilme titreşimi olduğu ayrıca 1657 cm^{-1} 'de bandın ise 3-ter-butil-2-hidroksi benzaldehitin karbonil grubunun $\nu(\text{C=O})$ gerilme titreşimine ait olduğu gözlemlenmiştir. Ürün olarak elde edilen Tbsal-izo bileşiğinin FT-IR spektrumu incelenmiş ve amin grubu $\nu(\text{NH}_2)$ ile karbonil grubuna $\nu(\text{C=O})$ ait gerilme titreşimlerinin olmaması ve TLC kontrolü ile ürün oluştuğu desteklenmiş ve böylece NMR analizine geçilmiştir. Tbsal-izo bileşiğinin FT-IR spektrumunda 3106 cm^{-1} 'de bandında gözlemlenen bant $\nu(\text{CH})_{\text{Ar}}$ gerilme titreşimini, 2960 cm^{-1} ve 2914 cm^{-1} 'de bantlar ise $\nu(\text{CH}_3)$ asimetrik ve simetrik gerilme titreşimlerini, 1607 cm^{-1} 'deki titreşim frekansında gözlemlenen kuvvetli bant $\nu(\text{C=N})$ imin gerilmesine ait titreşimi, 1504 cm^{-1} 'deki bant ise $\nu(\text{C=C})_{\text{Ar}}$ gerilme titreşimini, 1365 cm^{-1} 'deki bant $\nu(\text{N-O})$ gerilme titreşimini ve 1280 cm^{-1} 'deki bant $\nu(\text{C-O})$ gerilme titreşimi olarak tespit edilmiştir [35].

Tbsal-izo [$C_{15}H_{18}N_2O_2$] bileşiğinin 1H -NMR Spektrum yorumu



Şekil 4.11. Tbsal-izo [$C_{15}H_{18}N_2O_2$] bileşiğinin 1H -NMR spektrumu

Tbsal-izo bileşiğinin DMSO- d_6 çözücüsü kullanılarak alınan 1H -NMR spektrumu Şekil 4.11.' de kimyasal kayma değerleri ise Çizelge 4.1.'de verilmektedir. Tbsal-izo bileşiğinin 1 protona karşılık gelen (OH) ait tekli pik (A) 13,40 ppm'de, (HC=N-C) imin grubuna bağlı hidrojene ait pik (B) 9,12 ppm de, aromatik halkaya ait protonlara karşılık gelen çoklu pikler Ar^1 'de (C, D, E) 6,98-7,90 ppm aralığında, (CH₃) Ar^2 'ye bağlı 3 protona karşılık gelen tekli pik (G) 2,45 ppm, izoksazol halkasının 4. konumuna ait 1 protona karşılık gelen pik (HC=C-CH₃) Ar^2 (F) 6,69 ppm ve aromatik halkaya bağlı tersiyer bütilde (C(CH₃)₃) Ar^1 'de bulunan 9 protona karşılık gelen tekli pik (H) 1,45 ppm de gözlenmektedir.

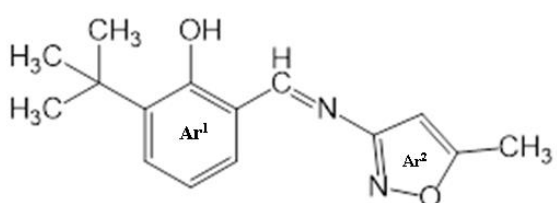


Şekil 4.12. Tbsal-izo [C₁₅H₁₈N₂O₂] bileşiğinin ¹³C-NMR spektrumu

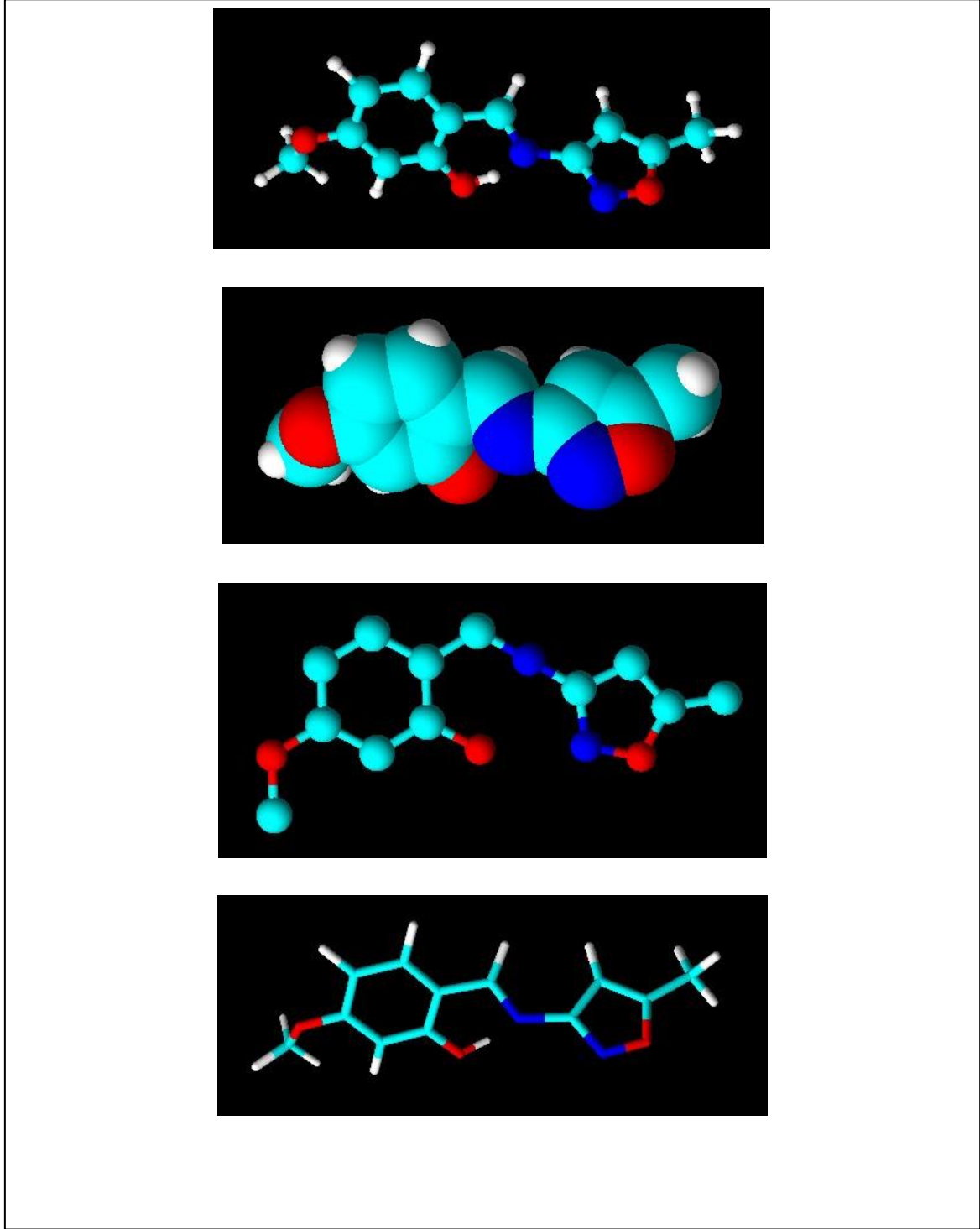
Tbsal-izo [C₁₅H₁₈N₂O₂] bileşiğinin ¹³C-NMR Spektrum yorumu

Tbsal-izo bileşiğinin DMSO-d₆ çözücüsü kullanılarak alınan ¹³C-NMR spektrumu Şekil 4.12.'te kimyasal kayma değerleri ise Çizelge 4.1.'de verilmektedir. Bileşikteki OH grubunun bağlı olduğu (C-OH) Ar¹ karbonuna ait pik 167,0 ppm de, aromatik halkaya bağlı tersiyer bütildaki tersiyer karbon atomuna (C(CH₃)₃) Ar¹ ait pik 35,0 ppm iken tersiyer karbona bağlı olan üç karbona karşılık gelen pik (C(CH₃)₃) Ar¹ 30,0 ppm; tersiyer karbonun bağlı olduğu aromatik halkadaki karbona (C-C(CH₃)₃) Ar¹ ait olan pik 137,8 ppm'de ve imin grubunun bağlı olduğu aromatik halkadaki karbona (C-C=N) Ar²'ye ait olan pik 119,0 ppm'de ve aromatik halkanın karbonlarına ait olan pikler (C) Ar¹ sırasıyla 133,5 ppm, 120,5 ppm, 132,2 ppm'de; imin karbonuna HC=N ait pik 171,1 ppm'de, izoksazol halkasında azot atomuna bağlı olan karbona ait (N=C) Ar²'ye ait pik 160,9 ppm'de izoksazol halkasında oksijen atomunun bağlı olduğu karbona (O-C) Ar²'ye ait pik 172,9 ppm'de, izoksazol halkasının 4 konumundaki karbona ait pik (HC=CCH₃) Ar²'ye ait pik 95,1 ppm'de izoksazol halkasına bağlı olan metil grubundaki karbona ait olan (CCH₃) Ar²'ye ait pik 12,5 ppm'de gözlenmiştir.

Çizelge 4.1. Tbsal-izo bileşiklerin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerleri tablosu

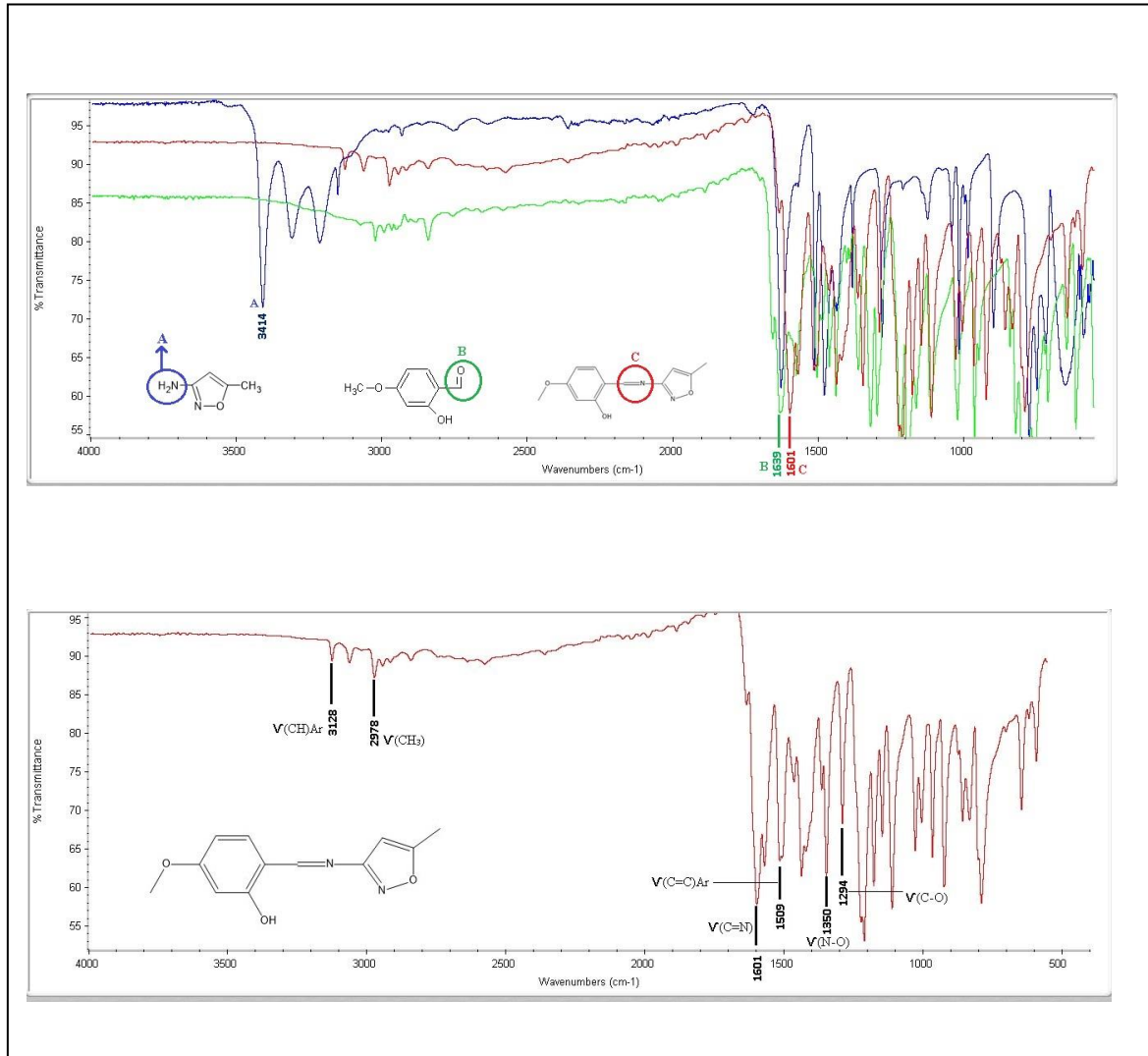
 2-(<i>ter</i>-butil)-6-(((5-metilizoksazol-3-il)imino)metil)fenol $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$ $M_A=258,32 \text{ g/mol}$ Erime Noktası: 92°C-94°C Tbsal-izo			
Grup	^1H -NMR	Grup	^{13}C -NMR
(C-OH) Ar ¹	13,40 (s,1H)	(C-OH) Ar ¹	167,0
(N=CH)	9,12 (s,1H)	(N=CH)	171,1
		(N=C) Ar ²	160,9
(CH) Ar ¹	7,50 (s, 1H), 7,45 (1H), 6,98(1H), 6,69 (1H)	(CH) Ar ¹	137,8; 133,5; 132,2; 120,5; 119,
		(C-CH ₃) Ar ²	172,9
(C-CH ₃) Ar ²	2,45 (s,3H)	(C-CH ₃) Ar ²	12,5
		(C=C) Ar ²	95,1
(C(CH ₃) ₃) Ar ¹	1,45 (s,9H)	(C(CH ₃) ₃) Ar ¹	30,0
		(C(CH ₃) ₃) Ar ¹	35,0

4.1.2. 5-metoksi-2-[(5-metil-1,2-oksazol-3-il) imino] metilfenol (4-Meosal-izo)



Şekil 4.13. 4-Meosal-izo bileşiğinin 3D yapısı.

4-Meosal-izo bileşiğinin FT-IR Spektrum yorumu

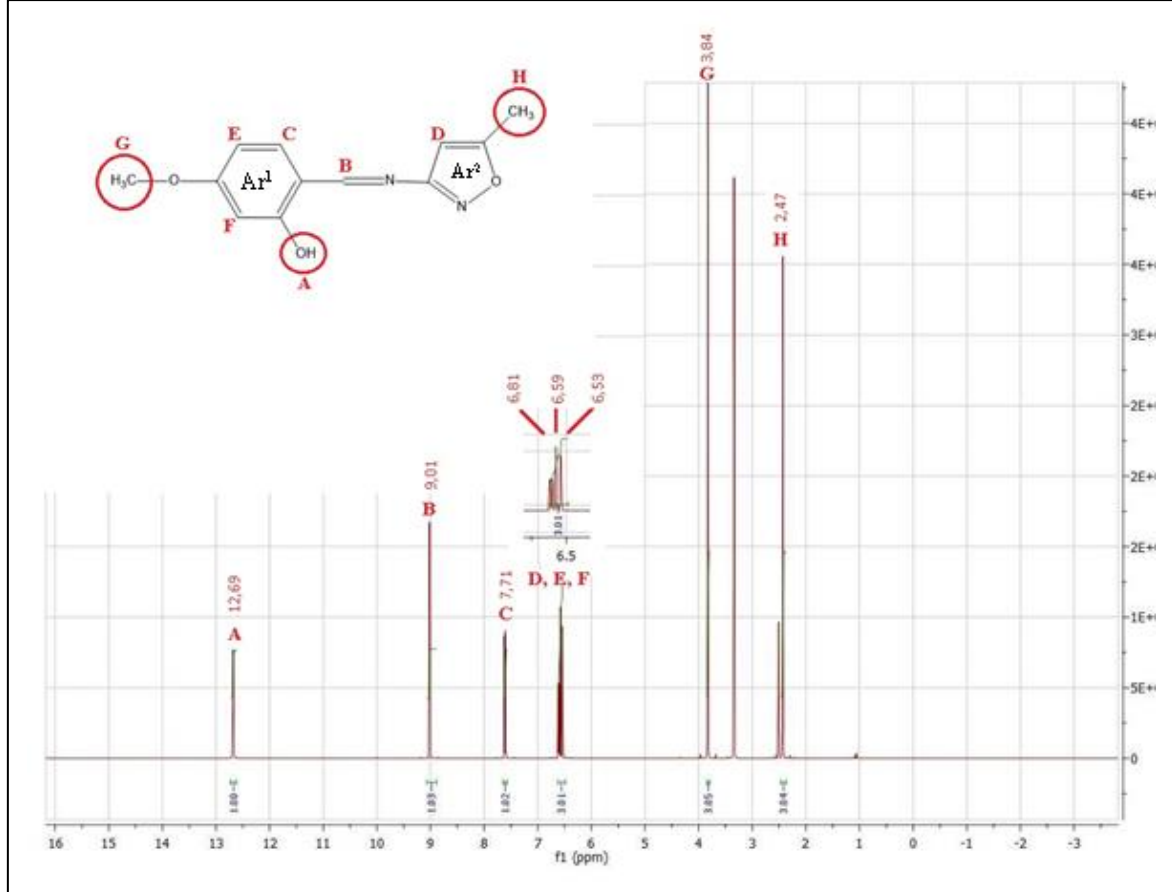


Şekil 4.14. 4-Meosal-izo bileşiğinin FT-IR spektrumu

Sentez için kullanılan reaktiflere ait spektrumlar incelendiğinde 3414 cm^{-1} 'de bandın 3-metil-5-amino izoksazole ait amin grubunun $\nu(\text{NH}_2)$ gerilme titreşimi olduğu ayrıca 1639 cm^{-1} 'de bandın ise 4-metoksi salisilaldehitin karbonil grubunun $\nu(\text{C=O})$ gerilme titreşimine ait olduğu gözlemlenmiştir. Ürün olarak elde edilen 4-Meosal-izo bileşiğinin FT-IR spektrumu incelenmiş ve amin grubu $\nu(\text{NH}_2)$ ile karbonil grubuna $\nu(\text{C=O})$ ait gerilme titreşimlerinin olmaması ve TLC kontrolü ile ürün olduğu desteklenmiş ve böylece NMR analizine geçilmiştir. 4-Meosal-izo bileşiğinin FT-IR spektrumunda 3128 cm^{-1} 'de bandında gözlemlenen $\nu(\text{CH})_{\text{Ar}}$ gerilme titreşimini, 2978 cm^{-1} 'de bant ise $\nu(\text{CH}_3)$ asimetrik ve simetrik gerilme titreşimlerini, 1601 cm^{-1} 'deki titreşim frekansında gözlemlenen kuvvetli bant $\nu(\text{C=N})$ imin gerilmesine ait titreşimi, 1509 cm^{-1} 'deki bant ise $\nu(\text{C=C})_{\text{Ar}}$ gerilme titreşimini,

1350 cm^{-1} 'deki bant $\nu(\text{N-O})$ gerilme titreşimini ve 1294 cm^{-1} 'deki bant $\nu(\text{C-O})$ gerilme titreşimi olarak tespit edilmiştir.

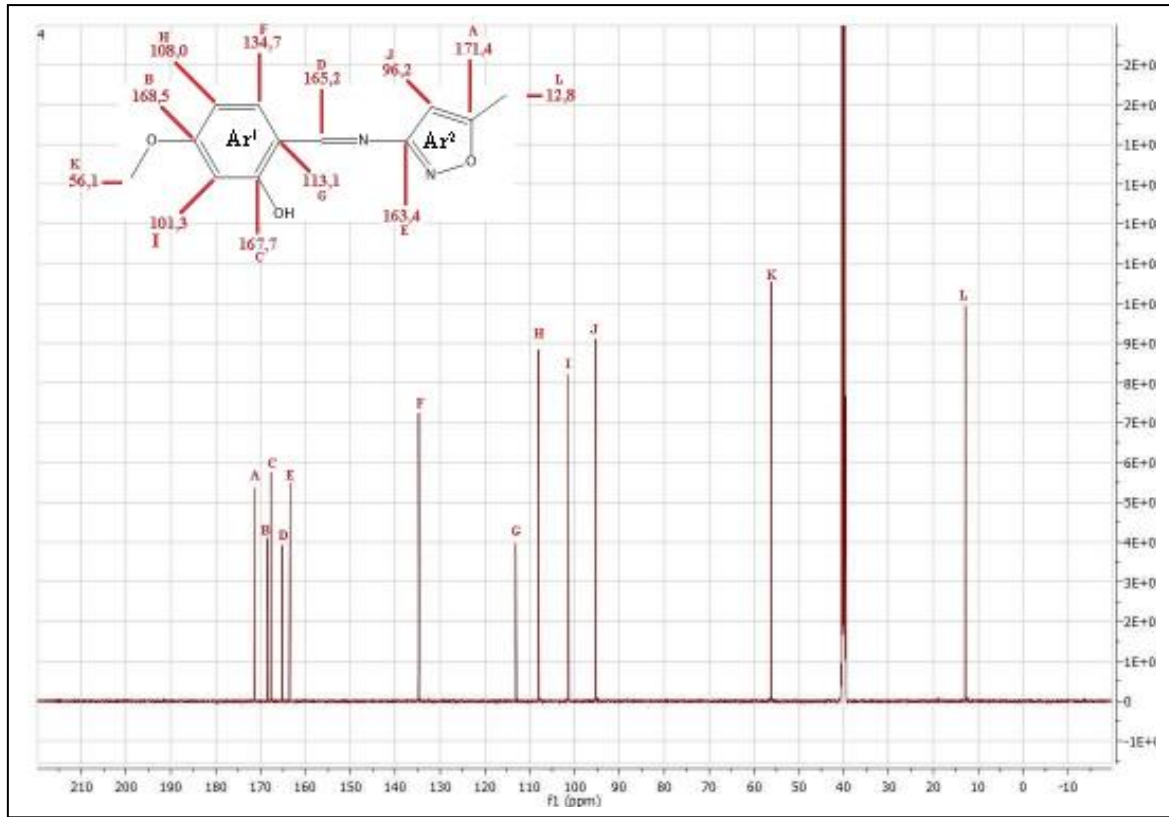
4-Meosal-izo [$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$] bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ Spektrum yorumu



Şekil 4.15. 4-Meosal-izo [$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$] bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu

4-Meosal-izo bileşiğinin DMSO- d_6 çözücüsü kullanılarak alınan $^1\text{H-NMR}$ spektrumu Şekil 4.15.' da kimyasal kayma değerleri ise Çizelge 4.2.'de verilmektedir. 4-Meosal-izo bileşiğinin 1 protona karşılık gelen (OH) Ar^1 ait tekli pik (A) 12,69 ppm'de, HC=N imin grubuna bağlı hidrojene ait pik (B) 9,01 ppm de, aromatik halkaya ait protonlara (C-H) Ar^1 karşılık gelen çoklu pikler (C, E, F) 6,53-7,71 ppm aralığında, izoksazol halkasının 4. konumuna (C-H) Ar^2 ait 1 protona karşılık gelen pik (D) 6,81 ; izoksazol halkasına bağlı metil grubundaki (C- CH_3) Ar^2 3 protona karşılık gelen tekli pik (H) 2,47; ve aromatik halkaya bağlı metoksi C(OCH_3) Ar^1 grubundaki 3 protona karşılık gelen tekli pik (G) 3,84 ppm de gözlenmiştir.

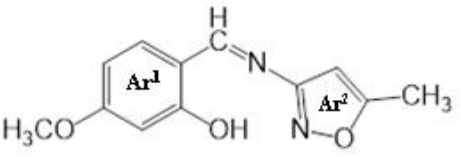
4-Meosal-izo [$C_{12}H_{12}N_2O_3$] bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrum yorumu

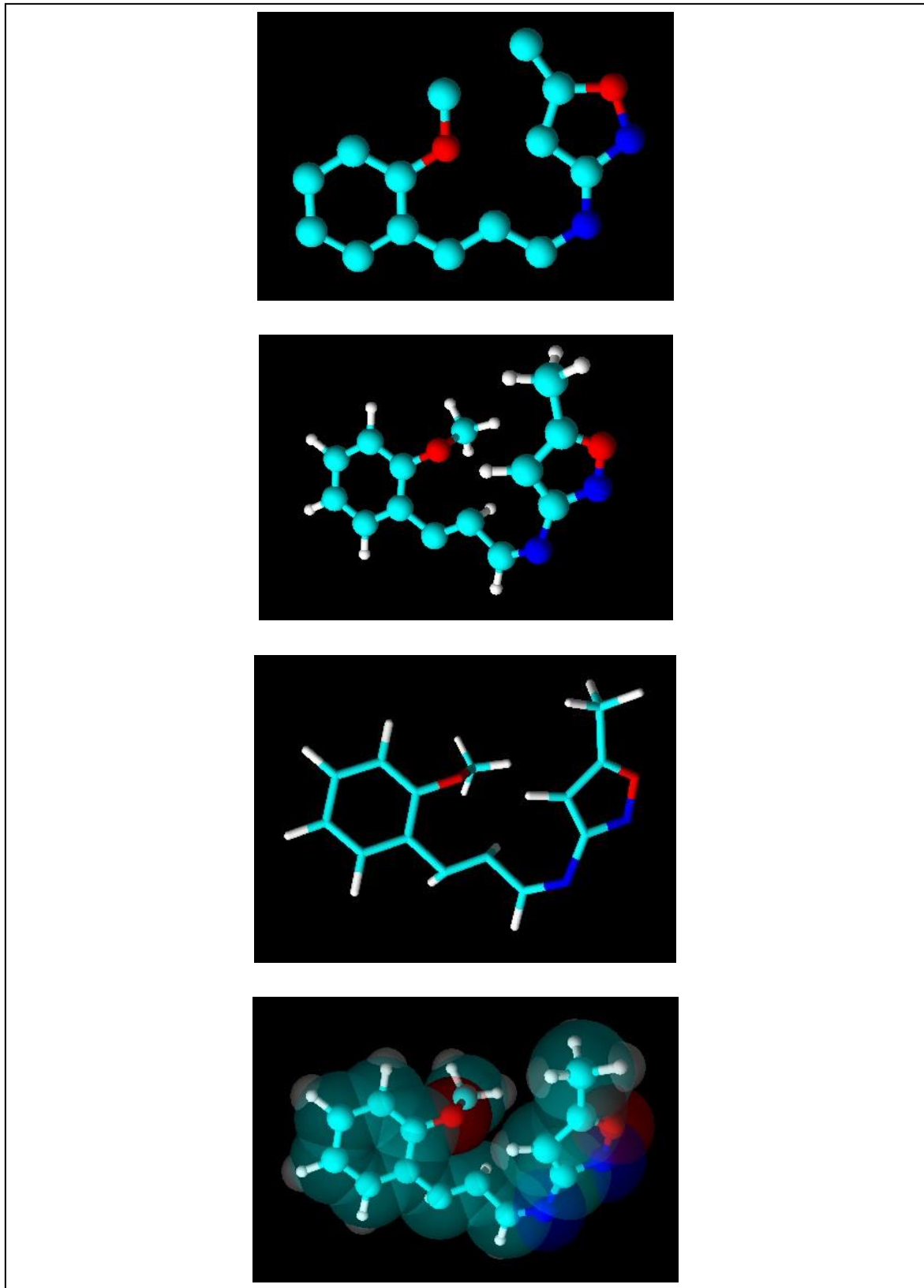


Şekil 4.16. 4-Meosal-izo bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu [$C_{12}H_{12}N_2O_3$]

4-Meosal-izo bileşiğinin DMSO- d_6 çözücüsü kullanılarak alınan ^{13}C -NMR spektrumu Şekil 4.16.'te kimyasal kayma değerleri ise Çizelge 4.2.'de verilmektedir. Bileşikteki OH grubunun bağlı olduğu (C-OH) Ar^1 karbonuna ait pik (C) 167,7 ppm de, aromatik halkaya bağlı metoksi grubundaki karbon atomuna (C-OCH₃) Ar^1 ait pik (K) 56,1 ppm iken metoksi grubunun bağlı olduğu karbona (C-OCH₃) Ar^1 karşılık gelen pik (B) 168,5 ppm, aromatik halkadaki karbona ait pikler (C) Ar^1 (F, G, H, I) sırasıyla 134,7 ppm, 113,1 ppm 108,0 ppm 101,3 ppm'de; imin karbonuna (HC=N) ait pik (D) 165,2 ppm'de, izoksazol halkasında (N=C) Ar^2 karbona ait (E) 163,4 ppm'de, izoksazol halkasındaki (O-C) Ar^2 ait pik (A) 171,4 ppm'de, izoksazol halkasının (C=C) Ar^2 ait pik (J) 96,2 ppm'de, izoksazol halkasına bağlı olan metil grubundaki karbona (C-CH₃) Ar^2 ait olan pik (L) 12,8 ppm'de gözlenmiştir.

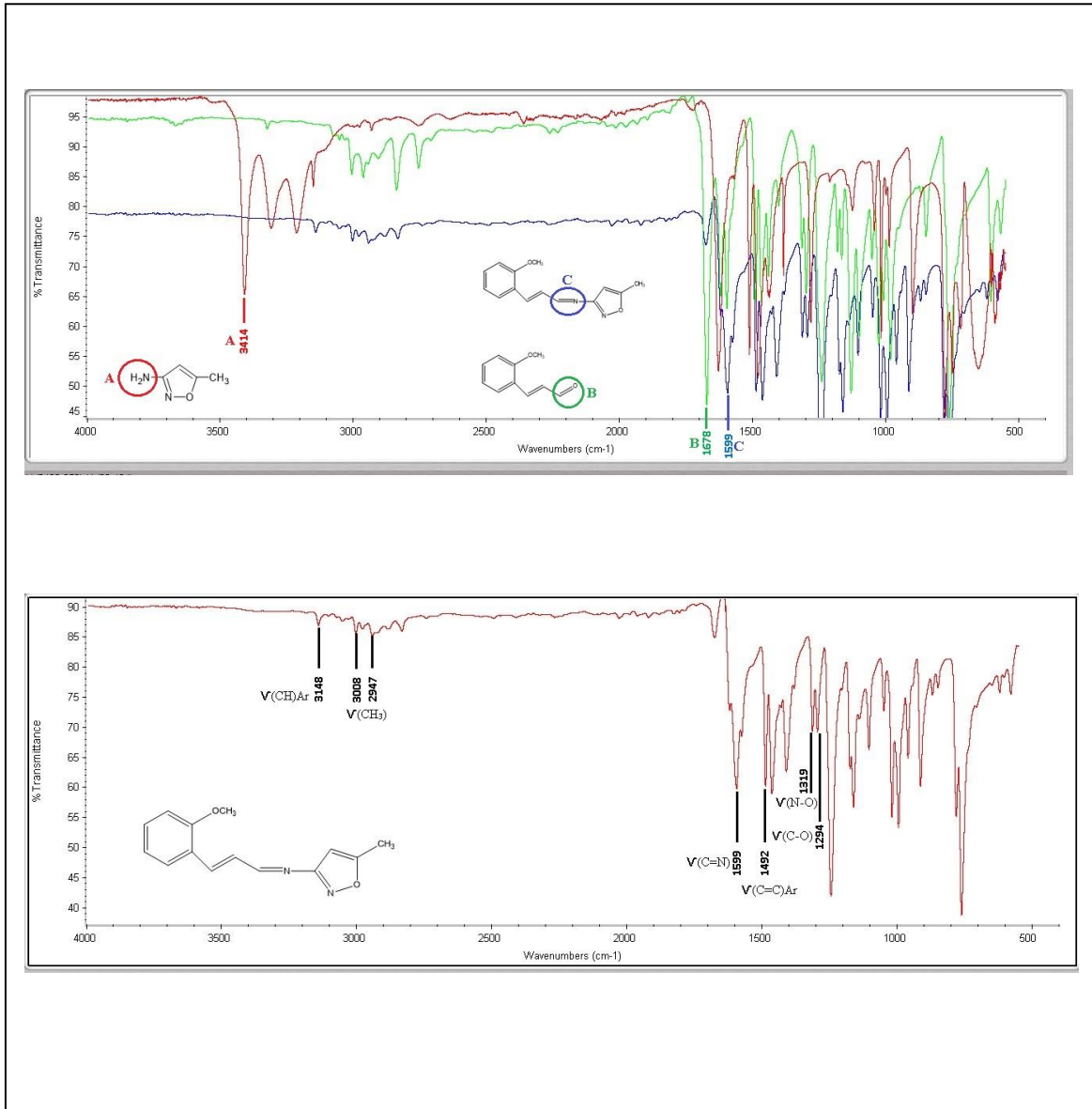
Çizelge 4.2. 4-Meosal-izo bileşiklerin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerleri tablosu

 5-metoksi-2-(((5-metilizoksazol-3-il)imino)metil)fenol $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$ $M_A=232,24 \text{ g/mol}$ Erime Noktası: 141°C-143°C 4-Meosal-izo			
Grup	^1H -NMR	Grup	^{13}C -NMR
(OH) Ar ¹	12,69 (s,1H)	(C-OH) Ar ¹	167,7
(N=CH)	9,01 (s,1H)	(N=CH)	165,2
-		(N=C) Ar ²	163,4
(CH) Ar ¹	7,71 (s, 1H), 6,59 (s, 1H), 6,53 (s, 1H),	(CH) Ar ¹	134,7 113,1 108,0 101,3
(C-H) Ar ²	6,81 (s, 1H)	(O-C) Ar ²	171,4
(C-OCH ₃) Ar ¹	3,84 (s, 3H)	(C-CH ₃) Ar ²	12,8
		(C=C) Ar ²	96,2
(C- CH ₃) Ar ²	2,47 (s, 3H)	(C-OCH ₃) Ar ¹	168,5
		(C-OCH ₃) Ar ¹	56,1

4.1.3. 3-(2-metoksifenil)-N-(5-meti-1,2-oksazol-3-il) popan-1-imin (2-Meosin-izo)

Şekil 4.17. 2-Meosin-izo bileşiğinin 3D yapısı

2-Meosin-izo bileşiğinin FT-IR Spektrum yorumu

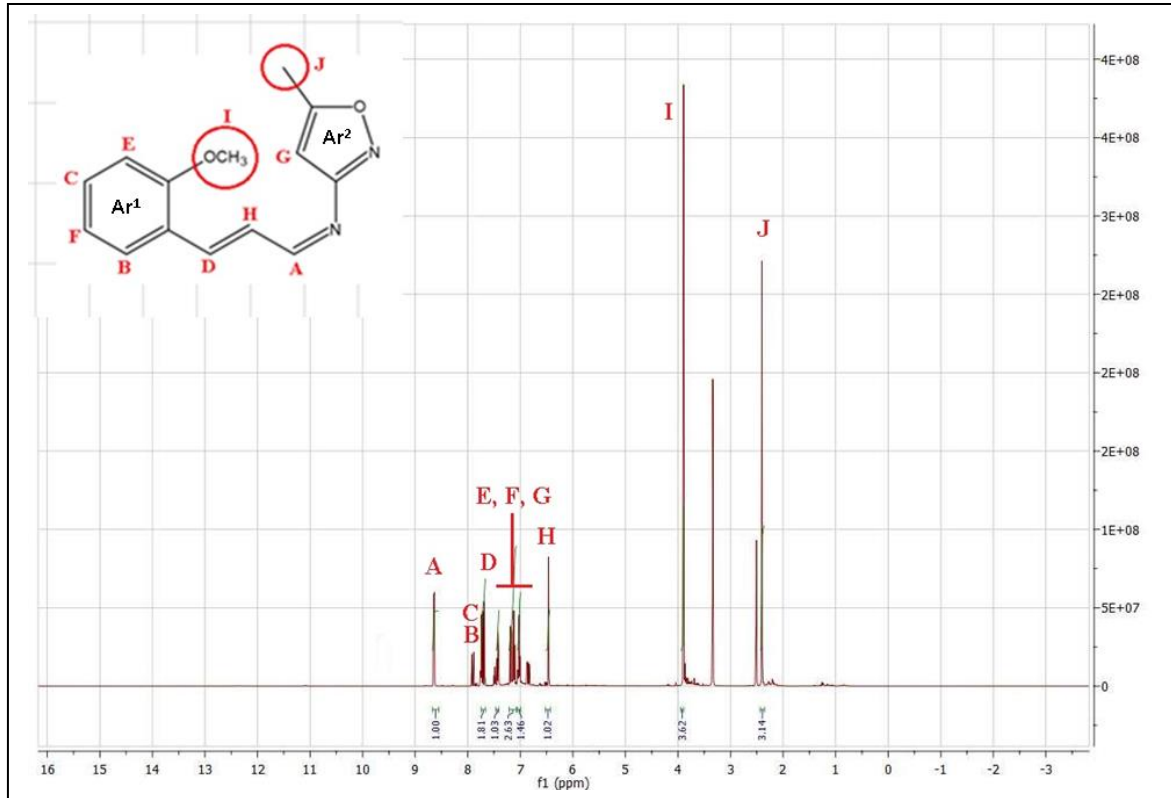


Şekil 4.18. 2-Meosin-izo bileşiğinin IR spektrumu

Sentez için kullanılan reaktiflere ait spektrumlar incelendiğinde 3414 cm^{-1} 'de bandın 3-metil-5-amino izoksazole ait amin grubunun $\nu(\text{NH}_2)$ gerilme titreşimi olduğu ayrıca 1678 cm^{-1} 'de bandın ise 3-ter-butyl-2-hidroksi benzaldehitin karbonil grubunun $\nu(\text{C}=\text{O})$ gerilme titreşimine ait olduğu gözlemlenmiştir. Ürün olarak elde edilen 2-Meosin-izo bileşiğinin FT-IR spektrumu incelenmiş ve amin grubu $\nu(\text{NH}_2)$ ile karbonil grubuna $\nu(\text{C}=\text{O})$ ait gerilme titreşimlerinin olmaması ve TLC kontrolü ile ürün olduğu desteklenmiş ve böylece NMR analizine geçilmiştir. 2-Meosin-izo bileşiğinin FT-IR spektrumunda 3148 cm^{-1} 'de bandında gözlemlenen bant $\nu(\text{CH})_{\text{Ar}}$ gerilme titreşimini, 2947 cm^{-1} 'de bant ise $\nu(\text{CH}_3)$ asimetrik ve

simetrik gerilme titreşimlerini, 1599 cm^{-1} 'deki titreşim frekansında gözlemlenen kuvvetli bant $\nu(\text{C}=\text{N})$ imin gerilmesine ait titreşimi, 1492 cm^{-1} 'deki bant ise $\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{Ar}}$ gerilme titreşimini, 1319 cm^{-1} 'deki bant $\nu(\text{N}-\text{O})$ gerilme titreşimini ve 1294 cm^{-1} 'deki bant $\nu(\text{C}-\text{O})$ gerilme titreşimi olarak tespit edilmiştir.

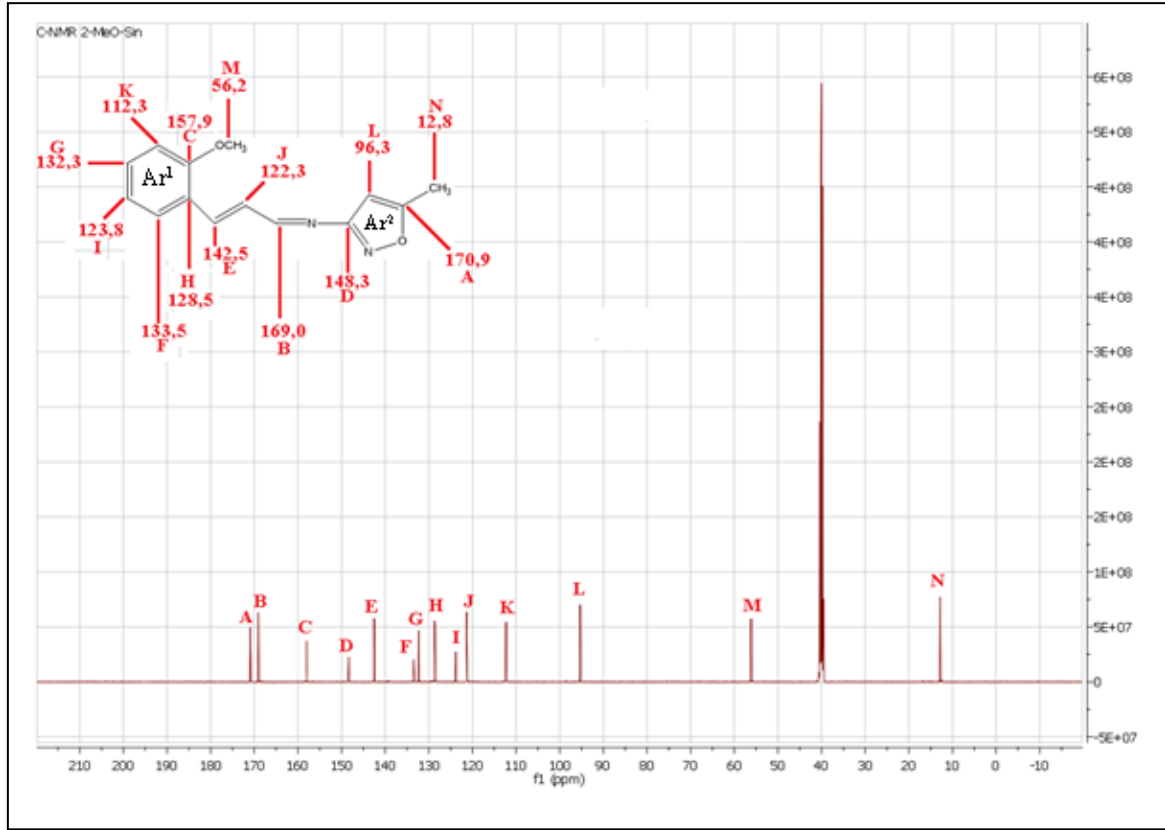
2-Meosin-izo $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ bileşiğinin ^1H -NMR Spektrum yorumu



Şekil 4.19. 2-Meosin-izo bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu

2-Meosin-izo bileşiğinin DMSO- d_6 çözücüsü kullanılarak alınan ^1H -NMR spektrumu Şekil 4.19.' da kimyasal kayma değerleri ise Çizelge 4.3.'de verilmektedir. 2-Meosin-izo, $(\text{HC}=\text{N})$ imin grubuna bağlı hidrojene ait pik (A) $8,64\text{ ppm}$ de, aromatik halkaya ait protonlara (C-H) Ar^1 karşılık gelen çoklu pikler (B, F, C, E) $7,15\text{ ppm}$ (m, 2H), $7,72\text{ ppm}$ (m, 2H) ppm aralığında, imin grubuna bağlı $(\text{C}-\text{CH}=\text{CH}-\text{C}=\text{N})$ alifatik pi bağı yapmış karbonlarda 2 protona karşılık gelen pikler (D,H) $6,47\text{ ppm}$ ve $7,42\text{ ppm}$; izoksazol halkasının 4. konumuna (C-H) Ar^2 ait 1 protona karşılık gelen pik (G) $7,00\text{ ppm}$; izoksazol halkasına bağlı metil grubundaki 3 protona (C- CH_3) Ar^2 karşılık gelen tekli pik (J) $2,40\text{ ppm}$; ve aromatik halkaya bağlı metoksi (C- OCH_3) Ar^1 grubundaki 3 protona karşılık gelen tekli pik (I) $3,88\text{ ppm}$ de tespit edilmiştir.

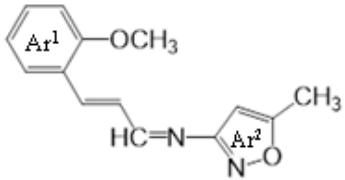
2-Meosin-izo bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrum yorumu



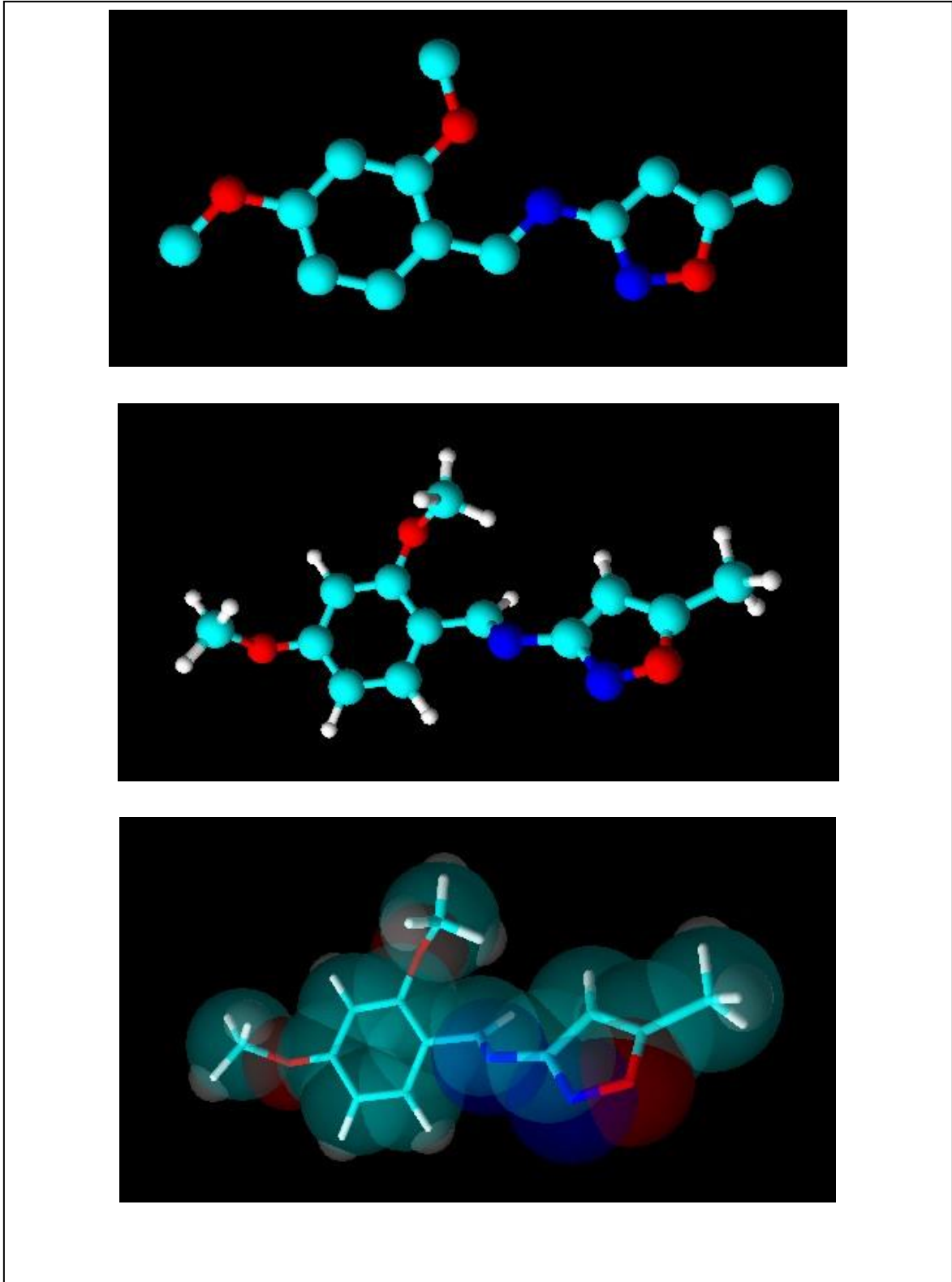
Şekil 4.20. 2-Meosin-izo bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu

2-Meosin-izo bileşiğinin DMSO- d_6 çözücüsü kullanılarak alınan ^{13}C -NMR spektrumu Şekil 4.20.'te kimyasal kayma değerleri ise Çizelge 4.3.'de verilmektedir. Bileşikteki metoksi grubunun bağlı olduğu (C-OCH₃) Ar¹ karbona ait pik (C) 157,9 ppm de, aromatik halkaya bağlı metoksi grubundaki karbon atomuna (C-OCH₃) Ar¹ ait pik (M) 56,2 ppm, aromatik halkadaki diğer beş karbona (C) Ar¹ ait olan pikler (K, G, I, F, H) 112,3 ppm, 132,3 ppm, 123,8 ppm, 133,5 ppm, 128,5 ppm'de; imin karbonuna (HC=N) ait pik (B) 169,0 ppm'de, imin grubuna bağlı alifatik pi bağı yapmış (C-CH=CH-C=N) karbonlara ait pikler (J, E) 122,3 ppm, 142,5 ppm, izoksazol halkasında azot atomuna bağlı olan karbona ait (N=C) Ar² pik (D) 148,3 ppm'de izoksazol halkasında oksijen atomunun bağlı olduğu karbona (O-C) ait pik (A) 170,9 ppm'de, izoksazol halkasının 4 konumundaki karbona (C=C) Ar² ait pik (L) 96,3 ppm'de izoksazol halkasına bağlı olan metil grubundaki karbona (C-CH₃) Ar² ait olan pik (N) 12,8 ppm'de gözlenmiştir.

Çizelge 4.3. 2-Meosin-izo bileşiklerin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerleri tablosu

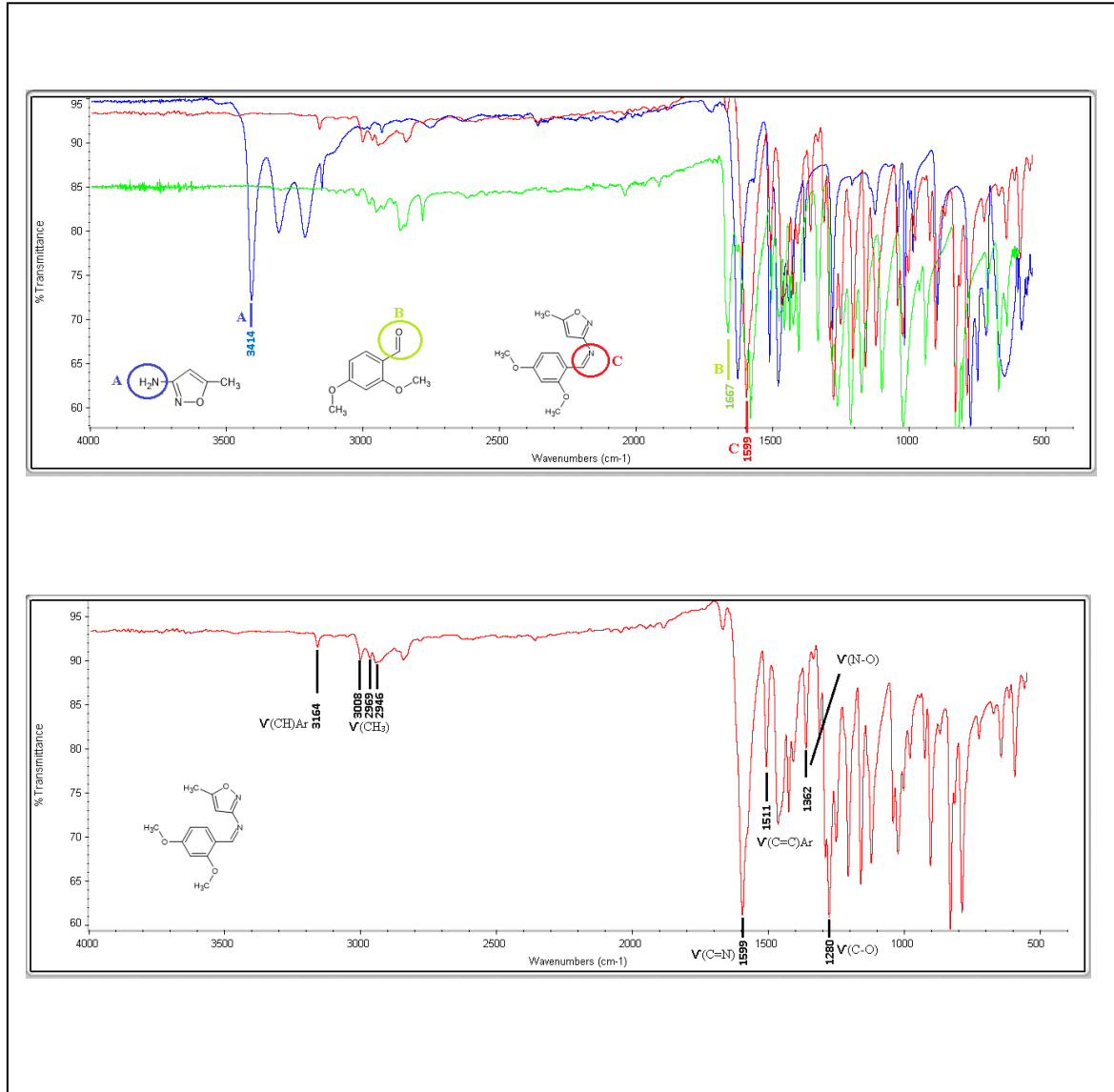
 (2E)-3-(2-metoksifenil)-N-(5-metilizoksazol-3-il)prop-2-en-1-imin $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ $M_A=242,28$ g/mol Erime Noktası: 126°C-128°C 2-Meosin-izo			
Grup	^1H -NMR	Grup	^{13}C -NMR
(OCH_3) Ar^1	3,88 (s,3H)	(C-OCH_3) Ar^1	157,9
(HC=N)	8,64 (s,1H)	(N=CH)	169,0
-		(N=C)	148,3
(C-H) Ar^1	7,72 (s, 2H), 7,15 (s, 2H),	(C) Ar^1	112,3 132,3 123,8 133,5 128,5
(C-H) Ar^2	7,00 (1H)	(O-C) Ar^2	170,9
		(C-CH_3) Ar^2	12,8
(CH=CH-C=N)	7,42 (1H) 6,47 (1H)	(C=C) Ar^2	96,3
(C-CH_3) Ar^2	2,40 (s,3H)	(C-OCH_3) Ar^1	56,2
		(CH=CH-C=N)	122,3 142,5

4.1.4. 1-(2,4-dimetoksifenil)-N-(5-metil-1,2oksazol-3-il)metanimin (2,4-diMeo-izo)



Şekil 4.21. (2,4-diMeo-izo) bileşiğinin 3D yapısı

2,4-diMeo-izo bileşiğinin FT-IR Spektrum yorumu

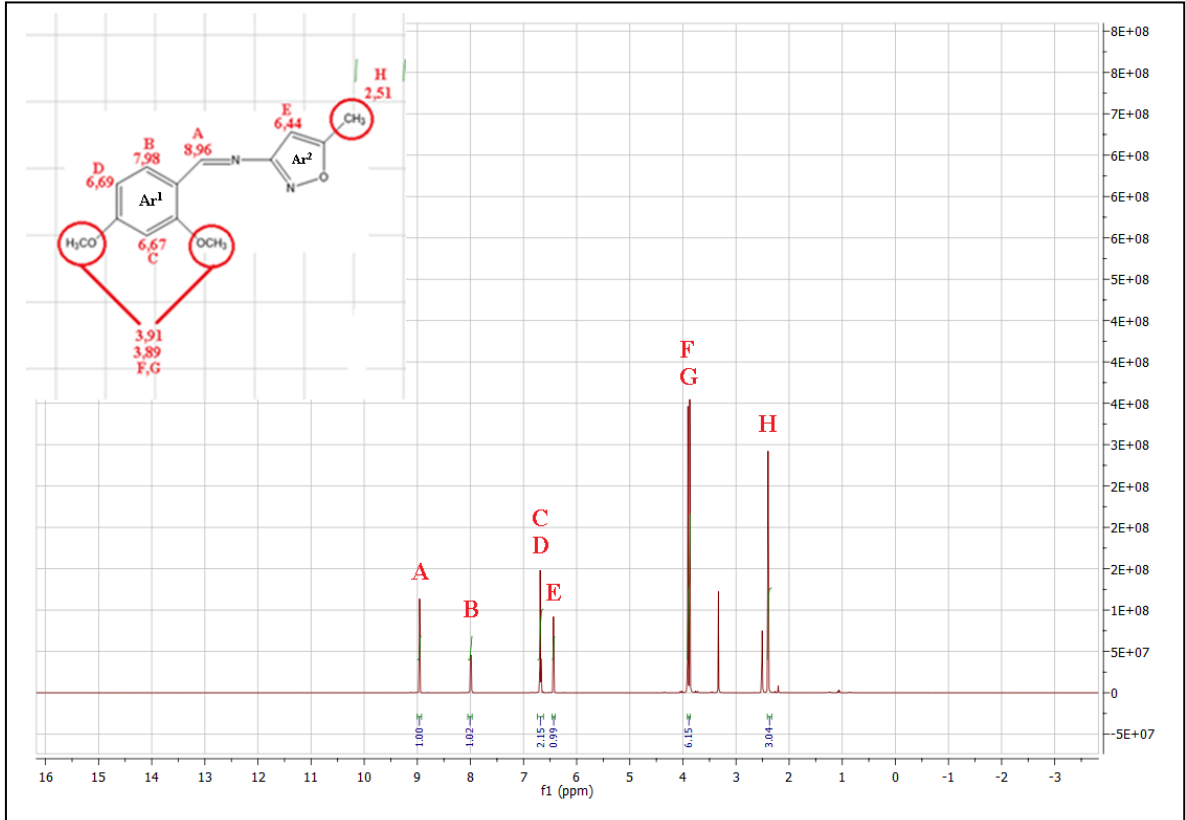


Şekil 4.22. 2,4-diMeo-izo bileşiğinin IR spektrumu.

Sentez için kullanılan reaktiflere ait spektrumlar incelendiğinde 3414 cm^{-1} 'de bandın 3-metil-5-amino izoksazole ait amin grubunun $\nu(\text{NH}_2)$ gerilme titreşimi olduğu ayrıca 1667 cm^{-1} 'de bandın ise 2,4-dimetoksi benzaldehit karbonil grubunun $\nu(\text{C=O})$ gerilme titreşimine ait olduğu gözlemlenmiştir. Ürün olarak elde edilen 2-Meosin-izo bileşiğinin FT-IR spektrumu incelenmiş ve amin grubu $\nu(\text{NH}_2)$ ile karbonil grubuna $\nu(\text{C=O})$ ait gerilme titreşimlerinin olmaması ve TLC kontrolü ile ürün olduğu desteklenmiş ve böylece NMR analizine geçilmiştir. 2-Meosin-izo bileşiğinin FT-IR spektrumunda 3164 cm^{-1} 'de bandında gözlemlenen bant $\nu(\text{CH})_{\text{Ar}}$ gerilme titreşimini, 2969 cm^{-1} 'de bant ise $\nu(\text{CH}_3)$ asimetrik ve simetrik gerilme titreşimlerini, 1599 cm^{-1} 'deki titreşim frekansında gözlemlenen kuvvetli

bant $\nu(\text{C}=\text{N})$ imin gerilmesine ait titreşimi, 1511 cm^{-1} 'deki bant ise $\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{Ar}}$ gerilme titreşimini, 1362 cm^{-1} 'deki bant $\nu(\text{N}-\text{O})$ gerilme titreşimini ve 1280 cm^{-1} 'deki bant $\nu(\text{C}-\text{O})$ gerilme titreşimi olarak tespit edilmiştir.

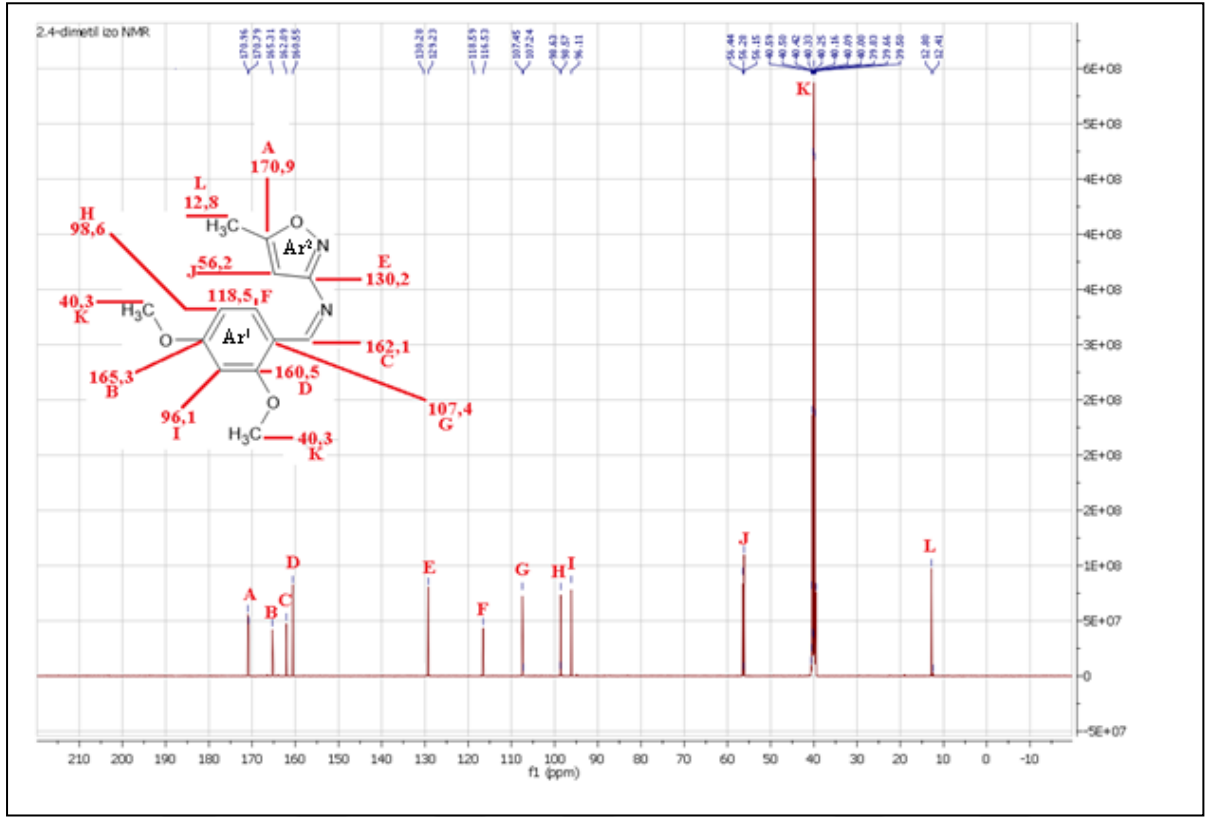
2,4-diMeo-izo bileşiğinin ^1H -NMR Spektrum yorumu



Şekil 4.23. 2,4-diMeo-izo bileşiğinin ^1H NMR spektrumu.

2,4-diMeo-izo bileşiğinin DMSO- d_6 çözücüsü kullanılarak alınan ^1H -NMR spektrumu Şekil 4.23.' da kimyasal kayma değerleri ise Çizelge 4.4.'de verilmektedir. 2,4-diMeo-izo bileşiğinin 1 protona karşılık gelen ($\text{HC}=\text{N}$) imin grubuna bağlı hidrojene ait pik (A) 8,96 ppm de, aromatik halkaya ait protonlara ($\text{C}-\text{H}$) Ar^1 karşılık gelen çoklu pikler (B, C, D) 7,98 ppm, 6,67 ppm, 6,69 ppm , izoksazol halkasının 4. konumua ($\text{C}-\text{H}$) Ar^2 ait 1 protona karşılık gelen pik (E) 6,44 ; izoksazol halkasına bağlı metil grubundaki 3 protona ($\text{C}-\text{CH}_3$) Ar^2 karşılık gelen tekli pik (H) 2,51; ve aromatik halkaya bağlı metoksi (OCH_3) $_2$ Ar^1 grubundaki 6 protona karşılık gelen pikler (F, G) 3,89 ppm ve 3,91 ppm'de gözlenmektedir.

2,4-diMeo-izo bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrum yorumu



Şekil 4.24. 2,4-diMeo-izo bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.

2,4-diMeo-izo bileşiğinin DMSO- d_6 çözücüsü kullanılarak alınan ^{13}C -NMR spektrumu Şekil 4.24.'te kimyasal kayma değerleri ise Çizelge 4.4.'de verilmektedir. Bileşikteki aromatik halkaya bağlı metoksi gruplarındaki karbon atomlarına ($\text{C}-\text{OCH}_3$) Ar^1 'e ait pik (K) 40,3 ppm iken metoksi gruplarının bağlı olduğu karbon atomlarına ($\text{C}-\text{OCH}_3$) Ar^1 'e karşılık gelen pikler (B, D) 165,3 ppm ve 160,5 ppm, aromatik halkadaki diğer dört karbona (C) Ar^1 ait olan pikler (F, G, H, I) 118,5 ppm, 107,4 ppm, 98,6 ppm, 96,1 ppm; imin karbonuna ($\text{HC}=\text{N}$) ait pik (C) 162,1 ppm'de, izoksazol halkasında azot atomuna bağlı olan karbona ait ($\text{N}=\text{C}$) Ar^2 pik (E) 130,2 ppm'de izoksazol halkasında oksijen atomunun bağlı olduğu karbona ($\text{O}-\text{C}$) Ar^2 ait pik (A) 170,9 ppm'de, izoksazol halkasının 4 konumundaki karbona ($\text{C}=\text{C}$) Ar^2 ait pik (J) 56,2 ppm'de izoksazol halkasına bağlı olan metil grubundaki karbona ($\text{C}-\text{CH}_3$) Ar^2 ait olan pik (L) 12,8 ppm'de gözlenmiştir.

Çizelge 4.4. 2,4-diMeo-izo bileşiklerin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR değerleri tablosu

(<i>E</i>)-1-(2,4-dimetoksifenil)-<i>N</i>-(5-metilizoksazol-3-il)metanimin Chemical Formula: $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$ $M_A=246,27$ g/mol Erime Noktası: 135°C-137°C 2,4-diMeo-izo			
Grup	^1H -NMR	Grup	^{13}C -NMR
(N=CH)	8,96 (s,1H)	(N=CH)	162,1
-		(N=C) Ar ²	130,2
(CH) Ar ¹	7,98 (s, 1H), 6,67 (s, 1H), 6,69 (s, 1H),	(CH) Ar ¹	118,5 107,4 98,6 96,1
(CH) Ar ²	6,44 (s, 1H)	(O-C) Ar ²	170,9
(OCH ₃) ₂ Ar ¹	3,89 (s,3H) 3,91 (s,3H)	(C-CH ₃) Ar ²	12,8
		(C) Ar ²	56,2
(C-CH ₃) Ar ²	2,51 (s,3H)	(C-OCH ₃) ₂ Ar ¹	165,3 160,5
		(C-(OCH ₃) ₂ Ar ¹	40,3 40,3

Çizelge 4.5. İzoksazol halkasına sahip Schiff bazı bileşiklerin FT-IR değerleri tablosu.

İşaretleme	Tbsal-izo cm ⁻¹	4-Meosal-izo cm ⁻¹	2-Meosin-izo cm ⁻¹	2,4-diMeo-izo cm ⁻¹
$\nu(\text{C-H})_{\text{Ar}}$	3108	3128	3148	3164
$\nu(\text{C-H})$	3960 2914	2978 2978	3008 2947	3008 2969
$\nu(\text{C=N})$	1607	1601	1599	1599
$\nu(\text{C=C})_{\text{Ar}}$	1504	1509	1492	1511
$\nu(\text{N-O})$	1365	1350	1319	1362
$\nu(\text{C-O})$	1280	1294	1294	1280

4.2. Antimikrobiyal Aktivite Testi

4.2.1. Bileşik 1 (Tbsal-İzo)

Bu bileşik hem Gram-negatif (*E. coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853) hem de mantar türlerine karşı 10 mg/mL'nin üzerinde MIC değerleri göstermiştir; yani bu mikroorganizmalar üzerinde belirgin bir antimikrobiyal aktivite sergilememektedir. Ancak Gram-pozitif bakterilere karşı (*S. aureus* ATCC 29213 ve *S. Epidermidis* ATCC 35984) 5 mg/mL MIC değeri ile orta düzeyde bir etki göstermiştir. Yine de bu değerler referans antibiyotiklerle karşılaştırıldığında (örneğin *S. aureus* ATCC 29213 için sülfisaksazol 5 mg/mL, *S. Epidermidis* ATCC 35984 için 0.312 mg/mL), aktivitesinin sınırlı olduğu görülmektedir.

Candida albicans ATCC 10231 ve *C. parapsilosis* ATCC 22019 suşlarına karşı >10 mg/mL MIC değeri göstermiştir. Bu, Bileşik 1'in her iki *Candida* türüne karşı da antifungal etki göstermediğini veya etkinliğinin çok zayıf olduğunu gösterir. Referans antifungal olan flukonazol ile karşılaştırıldığında (*C. albicans* için 0.02 mg/mL, *C. parapsilosis* için 0.04 mg/mL), Bileşik 1'in antifungal etkisinin son derece düşük olduğu görülmektedir.

Genel olarak, Bileşik 1'in antimikrobiyal potansiyeli düşüktür.

4.2.2. Bileşik 2 (4-Meosal-İzo)

Bu bileşik hem bakterilere hem de mantarlara karşı dikkat çekici bir aktiviteye sahiptir. Tüm bakteri türlerine karşı 1.25 mg/mL MIC değeri göstermiş olup, bu değer Gram-negatif bakteriler için sülfisaksazol ve sülfametaksazol ile benzer düzeydedir. Gram-pozitiflere karşı

ise referans ilaçlardan daha etkili sonuçlar vermektedir (örneğin *S. aureus*'a karşı MIC değeri 1.25 mg/mL iken, referans ilaçlarda 5 mg/mL'dir).

Antifungal etkinlik açısından, *C. albicans* ATCC 10231'e karşı 0.16 mg/mL ve *C. parapsilosis* ATCC 22019'a karşı 0.312 mg/mL MIC değeri ile en güçlü antifungal aktiviteye sahip bileşiktir. Flukonazol kadar güçlü olmasa da, sentezlenen bileşikler arasında en etkili antifungal aday olarak öne çıkmaktadır.

4.2.3. Bileşik 3 (2-Meosin-İzo)

Bileşik 3, hem Gram-negatif bakterilere (*E. coli* ve *P. aeruginosa*) hem de Gram-pozitif bakterilere (*S. aureus* ve *S. epidermidis*) karşı 1.25 mg/mL MIC değerine sahiptir. Bu, tüm test edilen bakteri suşlarında tutarlı ve orta düzeyde bir antibakteriyel etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Referans ilaçlarla kıyaslandığında:

- *E. coli* ve *P. aeruginosa* için MIC değerleri, sülfisaksazol ve sülfametaksazol ile eşdeğerdir (1.25 mg/mL).
- *S. aureus* için Bileşik 3'ün MIC değeri (1.25 mg/mL), referans ilaçlara göre çok daha iyidir (ikisi de 5.00 mg/mL).
- *S. epidermidis* için ise Bileşik 3 ve sülfametaksazol aynı seviyede etkilidir (0.625 mg/mL).

Antifungal etkisi ise *Candida* türlerine karşı orta düzeydedir (her iki suş için 0.625 mg/mL). Bu değer Bileşik 2'ye göre daha zayıf, ancak Bileşik 1 ve 4'e göre daha güçlü bir antifungal aktiviteye işaret etmektedir.

4.2.4. Bileşik 4 (2,4-diMeo-İzo)

Bu bileşik en düşük MIC değerlerine sahip olup, özellikle antibakteriyel etkisiyle öne çıkmaktadır. *E. coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853'e karşı 0.625 mg/mL, *S. Aureus* ATCC 29213'e karşı 0.312 mg/mL ve *S. Epidermidis* ATCC 35984'e karşı 0.625 mg/mL MIC değerleriyle referans ilaçlardan daha güçlü bir antibakteriyel etki göstermektedir. Bu da onun geniş spektrumlu ve güçlü bir antibakteriyel ajan adayı olduğunu göstermektedir.

Antifungal aktivitesi ise *C. albicans* için 0.625 mg/mL ve *C. parapsilosis* için 0.312 mg/mL ile orta düzeydedir. Bu açıdan, Bileşik 2 kadar etkili olmasa da mantarlara karşı belirli bir etki potansiyeli taşımaktadır.

Çizelge 4.6. İzoksazol bileşiklerin test edilen bakteri suşlarına karşı MİK değerleri(µg/mL)

Bileşikler	Antibakteriyal Aktivite (MIC, mg/mL)			
	Gram-negative bacteria		Gram-positive bacteria	
	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>S. epidermidis</i> ATCC 35984
1	>10	>10	5	5
2	1,25	1,25	1,25	1,25
3	1,25	1,25	1,25	1,25
4	0,625	0,625	0,312	0,625
Sulfisoxazole	1,25	1,25	5,00	0,312
Sulfamethoxazole	1,25	1,25	5,00	0,625

Çizelge 4.7. İzoksazol bileşiklerin test edilen mantar suşlarına karşı MİK değerleri(µg/mL)

Bileşikler	Antifungal Activity (MIC, mg/mL)	
	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019
1	>10	>10
2	0,16	0,312
3	0,625	0,625
4	0,625	0,312
Fluconazole	0,02	0,04

4.3. *İn-Vitro* Antibiyofilm Aktivite Deneyi

Bileşiklerin antibiyofilm aktivite özellikleri 96-kuyulu düz tabanlı bir mikropalakada araştırıldı. Kullanılan bileşiklerinin antibiyofilm aktivitesi, test edilen suşların her bir bileşiğin üç farklı dilüsyonuna (MİK, 2×MİK ve 4×MİK) maruz bırakılmasıyla KV (Kristal Viyole) yöntemiyle değerlendirildi. (Boyama yöntemlerinden Krisal Viyole yöntemi biyofilm miktarının saptanmasında kullanılan yöntemlerden birisidir.)

Gram negatif bakterilere karşı antibiyofilm aktivite

4-Meosal-İzo, *E. coli* ATCC 25922 üzerinde orta düzeyde antibiyofilm aktivite göstermiş (%29,0–48,2 arası). Ancak *P. aeruginosa* ATCC 27853 için aktivitesi zayıf ya da negatif (%-38,4'e kadar düşen inhibisyon oranları), bu da bu bileşiğin Gram negatif bakterilere karşı genel antibiyofilm potansiyelini sınırlıyor.

2-Meosin-İzo, *E. coli* ATCC 25922 üzerinde MİK düzeyinde düşük bir inhibisyon (%4,9) gösterse de 2x ve 4x MİK'te %44,9 ve %49,4 gibi anlamlı inhibisyon değerleri gözlenmiş. *P. aeruginosa* ATCC 27853 için ise benzer şekilde yüksek konsantrasyonlarda bir miktar aktivite var ancak MİK'te inhibisyon oranı negatife (%-102,6) düşüyor; bu da etkinliğin doza bağımlı olduğunu ancak çok kararlı olmadığını düşündürüyor.

2,4-Dimeo-İzo, *E. coli* ATCC 25922'ye karşı en iyi antibiyofilm aktivite gösteren yeni bileşik olarak öne çıkıyor (%58,4–63,7 inhibisyon). *P. aeruginosa* ATCC 27853'e karşı ise etkisi oldukça düşük olup pozitif fakat zayıf (%7,3) ya da düşük düzeyde kalıyor.

Gram negatif bakterilerde referans ilaçlar olan Sülfizoksazol ve Sülfometoksazol çok yüksek inhibisyon oranlarıyla (%80–87) yeni bileşiklerden çok daha üstün bir performans sergilemiştir. Ancak 2,4-Dimeo-İzo, özellikle *E. coli* ATCC 25922 üzerinde bu referanslara en yakın sonucu veren aday olarak dikkat çekmektedir.

Gram pozitif bakterilere karşı antibiyofilm aktivite

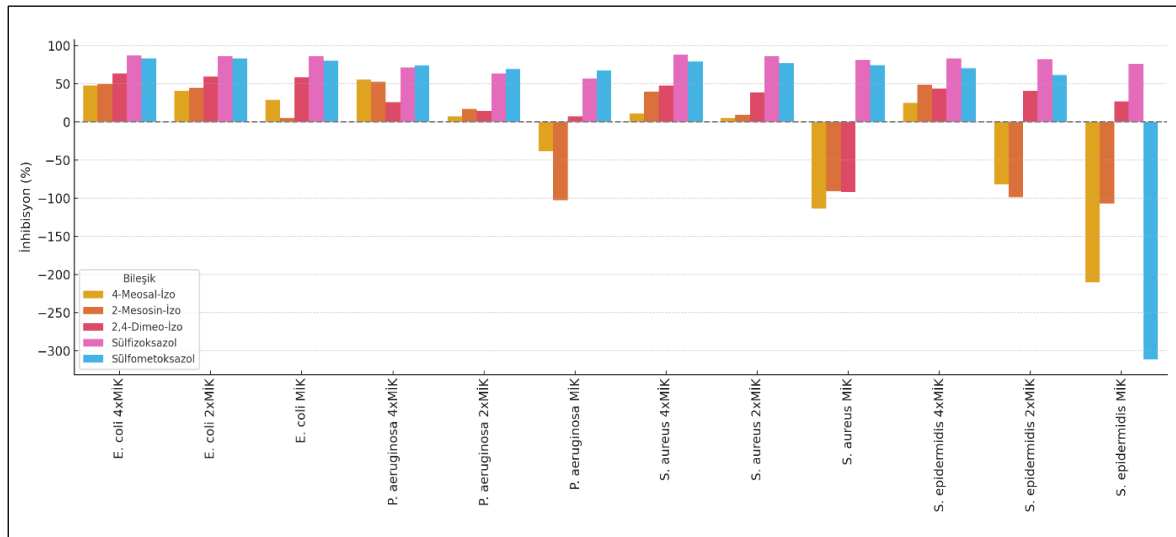
2,4-Dimeo-İzo, Gram pozitiflerde özellikle 4xMİK'te %47,3 (*S. aureus* ATCC 29213) ve %43,4 (*S. epidermidis* ATCC 35984) gibi dikkate değer pozitif inhibisyon oranlarına ulaşmıştır. Bu, bu bileşiğin yüksek konsantrasyonlarda Gram pozitif biyofilmler üzerinde etkili olduğunu gösteriyor.

2-Meosin-İzo, *S. aureus* ATCC 29213 için 4xMİK'te %39,7 gibi bir inhibisyon göstermiştir. Oysa aynı bileşik MİK düzeyinde (%-91,1 ila -107,0 arası *S. aureus* ATCC 29213, %-98,4 *S. epidermidis* ATCC 35984) negatif sonuçlar veriyor. Bu da doza bağlı bir aktiviteyi destekler.

4-Meosal-İzo, yine *S. aureus* ATCC 29213 üzerinde 4xMİK'te %11,0 inhibisyon sağlamıştır. Öte yandan bu bileşik, *S. aureus* üzerinde negatif inhibisyon (%-113,7'ye kadar) ve *S. epidermidis* ATCC 35984'te daha da kötü (%-210,1'e kadar) sonuçlar vermiş. Bu bileşiğin düşük konsantrasyonlarda Gram pozitifler üzerinde antibiyofilm aktiviteye sahip değildir.

Buna karşın, referans ilaçlar Sülfizoksazol ve Sülfometoksazol her iki Gram pozitif suşta da yüksek inhibisyon oranlarıyla (%70–88 arası) en güçlü ajanlar olarak öne çıkmaktadır. Ancak yeni bileşikler, özellikle yüksek dozlarda gösterdikleri etkilerle alternatif antibiyofilm adayları olarak dikkate alınabilir.

Elde edilen veriler, antibiyofilm etkinliğin hem bakteri suşuna hem de uygulanan konsantrasyon düzeyine bağlı olduğunu göstermektedir. Özellikle Gram pozitif suşlara karşı yüksek konsantrasyonlarda (özellikle 4xMİK) belirgin antibiyofilm aktivite saptanmıştır. En dikkat çekici sonuçlar, 2,4-Dimeo-İzo bileşiği ile elde edilmiştir. Bu bileşik, *S. aureus* ATCC 29213 ve *S. epidermidis* ATCC 35984 suşlarına karşı sırasıyla %47,3 ve %43,4 oranında biyofilm inhibisyonu ile öne çıkmıştır. Aynı zamanda *E. coli* ATCC 25922 suşunda da %63,7'ye ulaşan inhibisyon oranıyla geniş spektrumlu bir aktivite profili sergilemiştir.



Şekil 4.25. Bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda bakteri türlerine karşı antibiyofilm aktiviteleri

Çizelge 4.8. Bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda bakteri suşlarına türlerine karşı antibiyofilm inhibisyon yüzdeleri.

Bileşikler	<i>E. coli</i> ATCC 25922			<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853		
	4xMİK	2xMİK	MİK	4xMİK	2xMİK	MİK
4-Meosal-İzo	48,2	41,2	29,0	55,5	7,3	-38,4
2-Meosin-İzo	49,4	44,9	4,9	52,3	17,2	-102,6
2,4-dimeo-İzo	63,7	59,6	58,4	25,8	14,6	7,3
Sülfizoksazol	86,8	86,3	85,8	71,5	63,7	57,0
Sülfometoksazol	83,3	82,8	80,5	74,1	69,6	67,4
Bileşikler	<i>S. aureus</i> ATCC 29213			<i>S. epidermidis</i> ATCC 35984		
	4xMİK	2xMİK	MİK	4xMİK	2xMİK	MİK
4-Meosal-İzo	11,0	4,8	-113,7	24,8	-82,2	-210,1
2-Meosin-İzo	39,7	9,6	-91,1	48,8	-98,4	-107,0
2,4-dimeo-İzo	47,3	38,4	-91,8	43,4	40,3	27,1
Sülfizoksazol	88,2	86,7	81,6	83,6	82,1	76,1
Sülfometoksazol	79,4	76,9	74,5	70,3	61,5	-310,9

MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu

Bileşiklerin *Candida* biyofilmlerine karşı antibiyofilm aktiviteleri

Çizelge 4.9.'da sunulan verilere göre, yeni sentezlenen bileşiklerin ve referans ilaç Flukonazol'un *Candida albicans* ATCC 10231 ve *C. parapsilosis* ATCC 22019 suşları üzerindeki antibiyofilm inhibisyon yüzdeleri değerlendirilmiştir. Deney, MİK, 2xMİK ve 4xMİK konsantrasyonlarında gerçekleştirilmiş olup, bileşiklerin antifungal etkinlikleri karşılaştırılmıştır.

4-Meosal-İzo bileşiği, *C. albicans* ATCC 10231 üzerinde son derece yüksek inhibisyon yüzdeleri göstermiştir (4xMİK'te %98, 2xMİK'te %89). Ancak, MİK konsantrasyonunda negatif bir değer (-112) kaydedilmesi, düşük konsantrasyonlarda etkinliğini kaybettiğini düşündürmektedir. *C. parapsilosis* ATCC 22019 üzerinde ise bu bileşik etkisiz kalmıştır (4xMİK'te %20, MİK'te -15). Bu sonuçlar, bileşiğin *C. albicans* ATCC 10231'e karşı seçici bir etkiye sahip olduğunu ancak spektrumunun dar olduğunu göstermektedir.

2-Mesosin-İzo, *C. albicans* ATCC 10231 için 4xMİK'te %93 gibi yüksek bir inhibisyon yüzdesi sergilemiş, ancak MİK değerinde % -23 gibi negatif bir değerle düşük konsantrasyonlarda etkisiz olmuştur. *C. parapsilosis* ATCC 22019 üzerindeki etkisi ise oldukça zayıftır (4xMİK'te %6, MİK'te -23). Bu bileşik de *C. albicans* ATCC 10231'e karşı

daha etkili olmakla birlikte geniş spektrumlu bir antifungal ajan olarak kullanılamayacağını ortaya koymaktadır.

2,4-diMeo-İzo, bileşiğin geniş bir konsantrasyon aralığında etkili olduğunu düşündürmektedir. *C. albicans* ATCC 10231 üzerinde 4xMİK değerinde %90 gibi yüksek bir inhibisyon yüzdesi gösterirken MİK değerinde %85 gibi olumlu bir değer kaydetmiştir. *C. parapsilosis* ATCC 22019 üzerinde ise 4xMİK'te %38 gibi orta düzeyde bir inhibisyon sergilemiş, ancak MİK'te -11 gibi negatif bir değer almıştır.

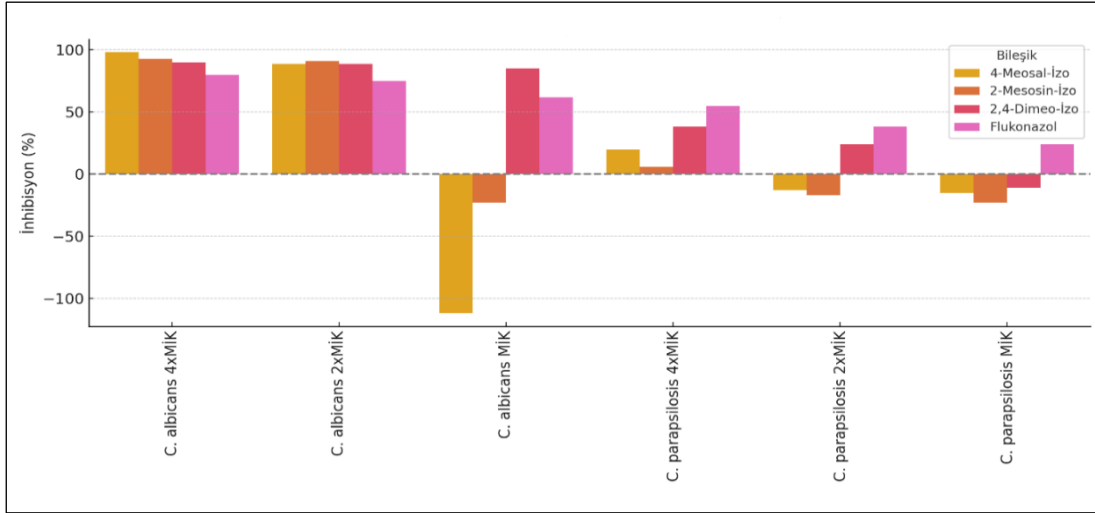
Referans ilaç Flukonazol, her iki *Candida* türü üzerinde tutarlı ve olumlu inhibisyon yüzdeleri göstermiştir (*C. albicans* ATCC 10231 için 4xMİK'te %79,9, *C. parapsilosis* ATCC 22019 için ise %55).

Sonuç olarak, 4-Meosal-İzo ve 2,4-diMeo-İzo bileşikler, *C. albicans* ATCC 10231 üzerinde Flukonazol'den daha yüksek inhibisyon yüzdeleri göstermiştir. Ancak, bu bileşiklerin *C. parapsilosis* ATCC 22019 üzerindeki zayıf etkisi, spektrumlarının dar olduğunu ortaya koymaktadır. 2,4-dimeo-İzo, özellikle geniş konsantrasyon aralığında etkili olması nedeniyle, *C. albicans* enfeksiyonlarına karşı umut verici bir aday olarak öne çıkmaktadır. Flukonazol ise her iki *Candida* türüne karşı dengeli ve güvenilir etkinliği ile halen önemli bir referans ilaç olduğunu kanıtlamıştır. Bu bileşiklerin *C. parapsilosis* ATCC 22019 üzerindeki etkinliğini artırmak için yapılacak modifikasyonlar, antifungal spektrumlarını genişletebilir.

Çizelge 4.9. Bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda *Candia* türlerine karşı anti biyofilm inhibisyon yüzdeleri

Bileşikler	<i>C. albicans</i> ATCC 10231			<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019		
	4xMİK	2xMİK	MİK	4xMİK	2xMİK	MİK
4-Meosal-İzo	98	89	-112	20	-13	-15
2-Mesosin-İzo	93	91	-23	6	-17	-23
2,4-dimeo-İzo	90	89	85	38	24	-11
Flukonazol	79,9	75,0	61,9	55,0	38,1	24,0

MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu



Şekil 4.26. Bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda *Candia* türlerine karşı antibiyofilm aktiviteleri.

4.4. Sentezlenen Bileşiklerin İlaç Benzerlikleri

İlaç benzerliğinin incelenmesi, yeni ilaçların araştırılmasında ve mevcut ilaçların geliştirilmesinde ilaç dönüşüm oranını artıran yararlı bir uygulamadır. Temel olarak, araştırılan moleküllerin fizikokimyasal parametreler ve yapı açısından mevcut ilaçlarla benzerliklerini dikkate alarak araştırmayı yönlendirir. Günümüzde, moleküler yapılarla doğrudan ilişkili olan ve birçok farklı ilaç araştırma kuruluşu tarafından önerilen ilaç benzerliği parametreleri, paket programlar ve internet sayfaları aracılığıyla kullanılabilir. Sentezlenen bileşikler için ilaç benzerliği analizlerinde kullanılan önemli parametreler Çizelge 4.10.'da verilmiştir. Tabloya göre, sentezlenen bileşiklerin tamamı Lipinski, Muegge, Ghose, Veber ve Egan kurallarını tam olarak karşılamaktadır. Çeşitli ilaç araştırma kuruluşları tarafından tanımlanan ve farklı sınırlara sahip olan bu kurallar kümesi, araştırılan bileşiklerin ilaç olma potansiyelini sağlaması için gerekli önemli koşullardır. Çizelge 4.10.'dan görülebileceği gibi, yaygın olarak kullanılan ateş düşürücü ve ağrı kesici ilaç parasetamol, Lipinski, Veber ve Egan kurallarını karşılamaktadır ancak Ghose ve Muegge kurallarını ihlal etmektedir [36, 37, 38, 39]. Biyoyararlanım radarının pembe bölgesi, oral biyoyararlanım için optimum fizikokimyasal bölgeyi yansıtır ve moleküllerin oral uygulama için kabul edilebilir olduğunu gösterir [39]. Şekil 4.27.'daki biyoyararlanım radarlarında gösterildiği gibi, bileşikler esneklik, çözünmezlik, lipofilisite, doygunluk, boyut ve polarite gibi fizikokimyasal özelliklere sahip oldukları için biyoyararlanım radar paneli için kabul edilebilirdir.

Çizelge 4.10. Seçili bileşikler için tahmini ADME sonuçları

Özellikler	Bileşikler				
	(1) Tbsal-izo	(2) 4-Meosal- izo	(3) 2-Meosin-izo	(4) 2,4-diMeo-izo	Parasetamol
Fizikokimyasal Özellikler					
Mol. kütle (g/mol)	258,32	232,24	242,2	246,26	151,16
Ağır atom sayısı	19	17	18	18	11
Aromatik ağır atom sayısı	11	11	11	11	6
Csp3 oranı	0,33	0,17	0,14	0,23	0,12
Dönebilen bağ sayısı	3	3	4	4	2
Hidrojen bağı alıcı sayısı	4	5	4	5	2
Hidrojen bağı verici sayısı	1	1	0	0	2
Molar refraktivite	58,62	63,68	71,59	68,15	42,78
TPSA (Å ²)	76,46	67,85	47,62	56,85	49,33
Lipofilité					
Log Po/w (iLOGP)	3,01	2,26	2,88	2,93	1,21
Log Po/w (XLOGP3)	3,72	2,02	2,80	2,35	0,46
Log Po/w (WLOGP)	3,74	2,45	3,30	2,75	1,16
Log Po/w (MLOGP)	2,67	1,31	2,33	1,58	0,91
Log Po/w (SILICOS-IT)	3,97	2,72	3,5	3,23	0,89
Consensus Log Po/w	3,42	2,15	3,01	2,57	0,93
Suda çözünürlük					
Log S (ESOL)	-4,02	-2,83	-3,29	-3,04	-1,34
Çözünürlük (mol/L)	9,65x10 ⁻⁵	1,47 x10 ⁻³	5,08 x10 ⁻⁴	9,21x10 ⁻⁴	4,59x10 ⁻²
Sınıfı	Az çözünür	Çözünür	Çözünür	Çözünür	Çok çözünür
Log S (Ali)	-4,64	-3,07	-3,46	-3,18	-1,06
Çözünürlük (mol/L)	2,28 x10 ⁻⁵	8,47 x10 ⁻⁴	3,49x10 ⁻⁴	6,55x10 ⁻⁴	8,62x10 ⁻²
Sınıfı	Az çözünür	Çözünür	Çözünür	Çözünür	Az çözünür
Log S (SILICOS-IT)	-4,88	-3,80	-4,46	-4,50	-2,19
Çözünürlük (mol/L)	1,33 x10 ⁻⁵	1,60 x10 ⁻⁴	3,47 x10 ⁻⁵	3,18 x10 ⁻⁵	6,43x10 ⁻³
Sınıfı	Az çözünür	Çözünür	Az çözünür	Az çözünür	Çözünür
Farmakinetik Değerler					
GI absorption	Yüksek	Yüksek	Yüksek	Yüksek	Yüksek
BBB permeant	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet
P-gp alt katman	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır
CYP1A2 inhibitör	Evet	Evet	Evet	Evet	Hayır
CYP2C19 inhibitör	Evet	Hayır	Evet	Evet	Hayır
CYP2C9 inhibitör	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır
CYP2D6 inhibitör	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır
CYP3A4 inhibitör	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır
Deri geçirgenliği (cm/s)	-5,23	-6,28	-5,79	-6,13	-6,90

Çizelge 4.10. (devam) Seçili bileşikler için tahmini ADME sonuçları

İlaç Benzerliği					
Lipinski	Evet 0 ihlal	Evet 0 ihlal	Evet 0 ihlal	Evet 0 ihlal	Evet 0 ihlal
Ghose	Evet	Evet	Evet	Evet	Hayır; 1 ihlal: MW<160
Veber	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet
Egan	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet
Muegge	Evet	Evet	Evet	Evet	Hayır; 1 ihlal: MW<200
Biyoaktivite değeri	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55
Medikal kimya					
PAINS	0 uyarı	0 uyarı	0 uyarı	0 uyarı	0 uyarı
Brenk	1 uyarı: imine_1	1 uyarı: imine_1	1 uyarı: imine_1	1 uyarı: imine_1	1 uyarı: hidrokinon
Lead-likeness (ilaç adayı)	Hayır; 1 ihlal: XLOGP3>3,5	Hayır; 1 ihlal: MW<250	Hayır; 1 ihlal: MW<250	Hayır; 1 ihlal: MW<250	Hayır; 1 ihlal: MW<250
Sentetik erişilebilirlik	3,10	2,88	3,07	2,98	1,00

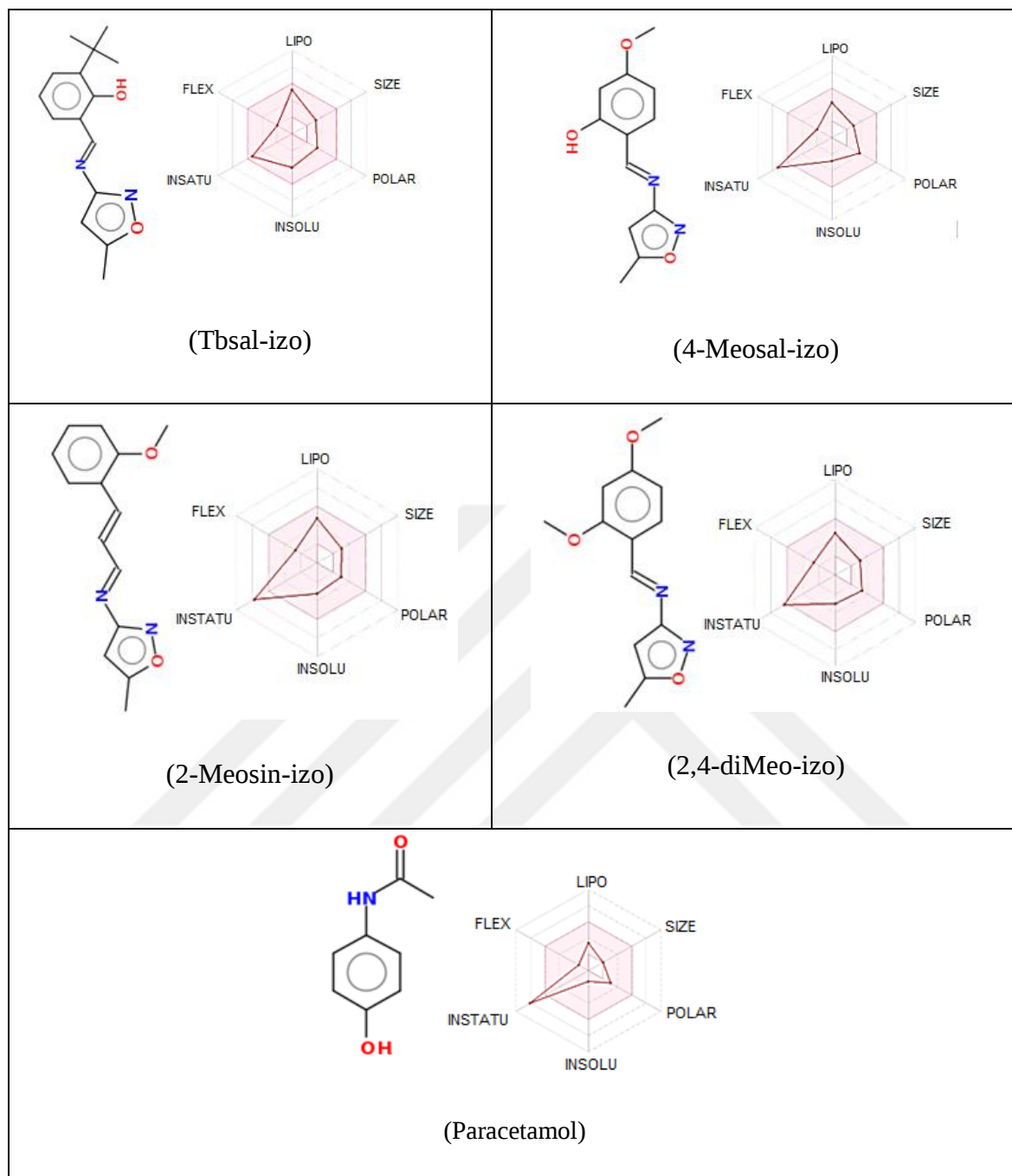
Kriterler: Lipinski(Pfizer) filter: $MW \leq 500$; $MLOGP \leq 4,15$; $N \text{ or } O \leq 10$; $NH \text{ or } OH \leq 5$

Ghose filter: $160 \leq MW \leq 480$; $-0,4 \leq WLOGP \leq 5,6$; $40 \leq MR \leq 130$; $20 \leq \text{atoms} \leq 70$

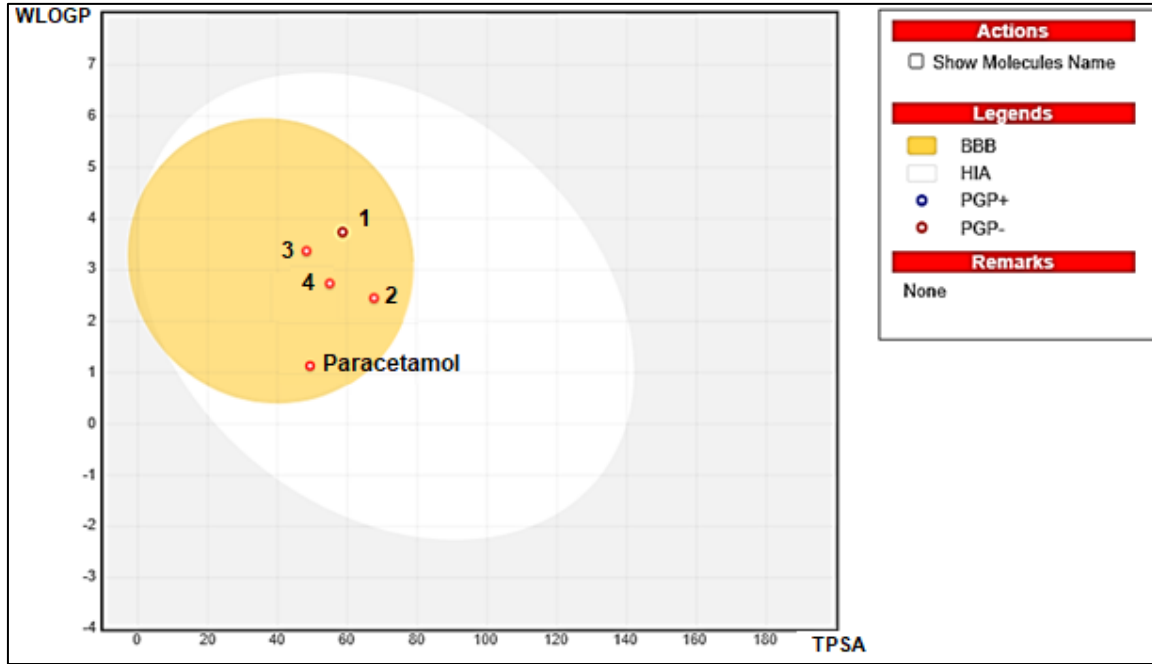
Veber (GSK) filter: Rotatable bonds ≤ 10 ; $TPSA \leq 140$

Egan (Pharmacia) filter: $WLOGP \leq 5,88$; $TPSA \leq 131,6$

Muegge (Bayer) filter: $200 \leq MW \leq 600$; $-0,2 \leq WLOGP \leq 5$; $TPSA \leq 150$; Num. Rings ≤ 7 ; Num. Carbon > 4 ; Num. Heteroatoms > 1 ; Num. Rotatable bonds ≤ 15 ; H-bond acc. ≤ 10 ; H-bond don. ≤ 5



Şekil 4.27. Moleküllerin fizikokimyasal özelliklerine ilişkin radar çizimleri (Kriterler: LIPO: $-0.7 < \text{XLOGP3} < +5.0$, SIZE: $150 \text{ g/mol} < \text{MW} < 500 \text{ g/mol}$; POLAR: $20 \text{ Å}^2 < \text{TPSA} < 130 \text{ Å}^2$; INSOLU: $0 < \log S < 6$; FLEX: $0 < \text{dönebilir bağlar} < 9$; INSTATU: $0.25 < \text{Csp3} < 1$).



Şekil 4.28. Tahmin edilen bileşiklerin Boiled-Egg grafiği

Şekil 4.28.'deki Boiled-Egg grafiği, ADME parametreleri GI (gastrointestinal emilim) ve BBB'yi (kan-beyin bariyeri) gösterir. Bu grafikte, sarı alan olası BBB geçirgenliği için alanlar ve beyaz alan olası GI emilimi için alanlar içerir. Ek olarak, mavi noktalar (PGP+), P-gp'nin aktif bir substrat olduğunu ve kırmızı noktalar (PGP-), P-gp'nin bir substrat olmadığını gösterir [40]. Sarı alanda incelenen bileşiklerin varlığı, bunların yüksek gastrointestinal emilime ve düşük beyin geçirgenliğine sahip olduğu anlamına gelirken, kırmızı nokta (PGP-) bulunması, bunların P-gp'nin bir substratı olmasının öngörülmediği anlamına gelmektedir.

4.5. Moleküler Yerleştirme Çalışmaları

Moleküler yerleştirme hesaplamaları, enzim-ligand etkileşimlerinin moleküler düzeyde anlaşılmasını sağlayarak biyolojik süreçlerin mekanizmalarını açıklamak için değerli bir araç görevi görür. Bu yaklaşım, hedef moleküllerin bağlanma yerlerini, etki mekanizmalarını ve etkileşim modellerini belirlemeye yardımcı olurken, aynı zamanda deneysel bulguları destekleme ve yorumlamada önemli bir rol oynar. Enzimler ve küçük moleküller veya proteinler arasındaki etkileşimler, biyolojik aktivitenin temel belirleyicileri arasındadır. Bu nedenle, bu etkileşimlerin yapısı, gücü ve özgüllüğü, biyolojik etkilerin doğasını ve kapsamını anlamak için büyük önem taşır [41, 42]. Sentezlenen bileşiklerin

antimikrobiyal enzimlerle moleküler etkileşimlerini incelemek için, tüm bileşikler en yüksek aktiviteyi gösteren *S. aureus* ile ayrıntılı olarak incelenmek üzere seçildi. Moleküler yerleştirme çalışmalarının bir sonucu olarak, hedef ilaç adayları ile *S. aureus*'un 4FGD proteini arasında önemli etkileşimler gözlemlendi. Ligand-4FGD komplekslerinin bağlanma enerjileri -122,545 ila -90,369 kcal/mol arasında değişirken, toplam uygunluk puanları -77,989 ila -61,298 kcal/mol arasında değişti. Ligandlar arasında, bileşik 4, 4FGD ile en güçlü bağlanma afinitesini ve en düşük kompleks enerjisini gösterdi. Buna karşılık, bileşik 1 aynı proteine karşı en zayıf bağlanma enerjisini gösterdi (Çizelge 4.11.).

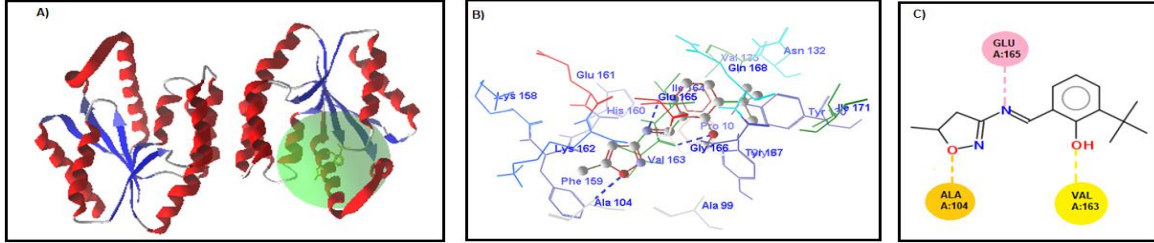


Çizelge 4.11. Bileşiklerin 4FGD, proteini ile etkileşimlerinden elde edilen parametrelerin sayısal değerleri

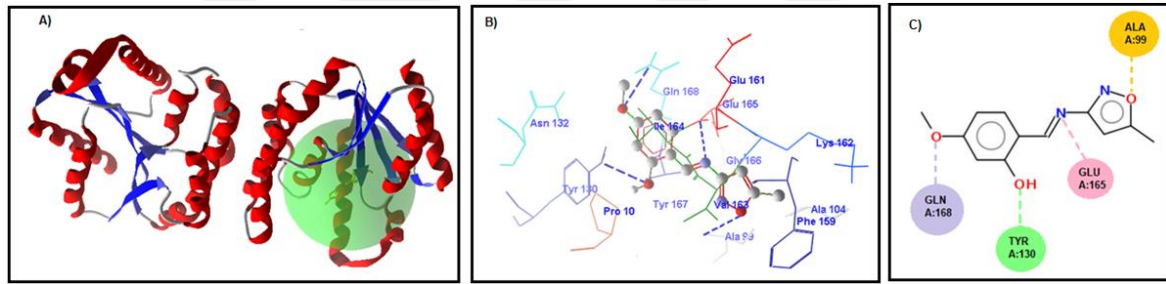
Alıcı	Bileşikler	MolDock Sonucu	Sterik etkileşim	Hidrojen bağı kkal/mol	Hidrojen bağı kalıntı uzunluğu	A.a-ligand	$\Delta G(\text{Bağ})$ (kkal/mol)
4FGD (S. aureus)	(Tbsal-izo)	-42,250	-33,660	-4,437	Val163(A) (2.226 Å) Glu165(A) (3.101 Å) Ala104(A) (2.226 Å)	$\text{C}=\text{O}-\text{OH}$ $\text{NH}-\text{C}=\text{N}$ $\text{NH}-\text{OCH}_3$	-5,259
	(4-Meosal-izo)	-52,777	-47,767	-5,109	Gln168(A) (2.862 Å) Tyr130(A) (2.226 Å) Glu165(A) (3.101 Å) Ala99(A) (2.226 Å)	NH_2-OCH_3 $\text{OH}-\text{OH}$ $\text{NH}-\text{C}=\text{N}$ $\text{NH}-\text{Isoxazole}-\text{O}$	-6,287
	(2-Meosal-izo)	-53,656	-46,555	-6,199	Glu165(A) (3.101 Å) Val163(A) (3.099 Å) Ala104(A) (2.226 Å) Tyr130(A) (2.226 Å)	$\text{NH}-\text{C}=\text{N}$ $\text{NH}-\text{C}=\text{N}$ $\text{NH}-\text{Isoxazole}-\text{O}$ $\text{OH}-\text{OCH}_3$	-7,001
	(2,4-diMeo-izo)	-68,897	-54,434	-8,001	Ala99(A) (2.099 Å) Ala99(A) (2.190 Å) Glu165(A) (2.226 Å) Tyr130(A) (2.226 Å) Tyr167(A) (2.226 Å)	$\text{NH}-\text{Isoxazole}-\text{O}$ $\text{NH}-\text{Isoxazole}-\text{N}$ $\text{NH}-\text{C}=\text{N}$ $\text{OH}-\text{OCH}_3$ $\text{NH}-\text{OCH}_3$	-9,258

En yüksek biyolojik aktiviteyi ve en güçlü bağlanma etkileşimini gösteren bileşik (2,4-diMeo-izo), 4FGD proteiniyle toplam beş hidrojen bağı oluşturdu. Bu bağlardan ikisi, ligandın izoksazol halkasının oksijen ve azot atomları ile Ala99 kalıntısının NH protonu arasında gerçekleşti ve bağ uzunlukları sırasıyla 2,099 Å ve 2,190 Å olduğu görüldü. Üçüncü bağ, ligandın C=N grubunun azot atomu ile Glu165'in NH grubu arasında; dördüncü bağ, ligandın metoksi (OCH₃) grubunun oksijen atomu ile Tyr130'un hidroksil (OH) protonu

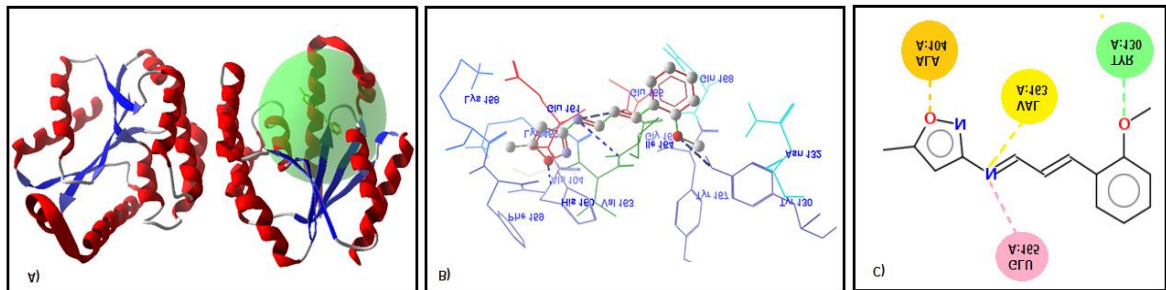
arasında; beşinci bağ ise ligandın NH protonu ile Tyr167'nin metoksi oksijeni arasında oluşmuştur. Şekil 4.29., Şekil 4.30., Şekil 4.31. ve Şekil 4.32. 4FGD bağlanma bölgesinde en güçlü etkileşimleri gösteren bileşiklerin moleküler yerleştirme modlarını göstermektedir.



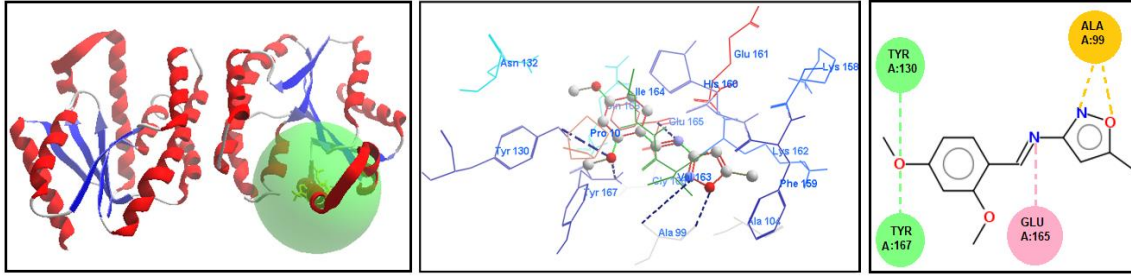
Şekil 4.29. (A) 3B etkileşim yerleştirilmiş poz görünümü (yeşil alan: aktif bölge); (B) 4FGD ve Tbsal-izo'nun moleküler bağlanma modu (kesikli kalın mavi çizgi, hidrojen bağları; bağlanmamış amino asitler, sterik etkileşimler); (C) Tbsal-izo ve 4FGD tarafından yapılan hidrojen bağlarının iki boyutlu gösterimi



Şekil 4.30. (A) 3B etkileşim yerleştirilmiş poz görünümü (yeşil alan: aktif bölge); (B) 4FGD ve 4-Meosal-izo'nun moleküler bağlanma modu (kesikli kalın mavi çizgi, hidrojen bağları; bağlanmamış amino asitler, sterik etkileşimler); (C) 4-Meosal-izo ve 4FGD tarafından yapılan hidrojen bağlarının iki boyutlu gösterimi



Şekil 4.31. (A) 3B etkileşim yerleştirilmiş poz görünümü (yeşil alan: aktif bölge); (B) 4FGD ve 2-Meosal-izo'nun moleküler bağlanma modu (kesikli kalın mavi çizgi, hidrojen bağları; bağlanmamış amino asitler, sterik etkileşimler); (C) 2-Meosal-izo ve 4FGD tarafından yapılan hidrojen bağlarının iki boyutlu gösterimi



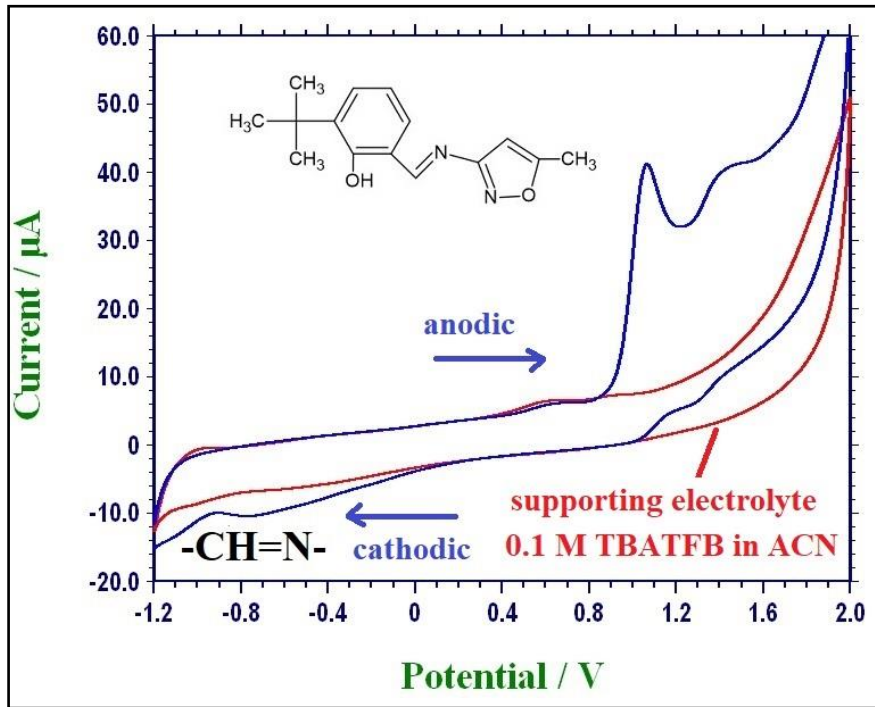
Şekil 4.32. (A) 3B etkileşim yerleştirilmiş poz görünümü (yeşil alan: aktif bölge); (B) 4FGD ve 2,4-diMeo-izo'nun moleküler bağlanma modu (kesikli kalın mavi çizgi, hidrojen bağları; bağlanmamış amino asitler, sterik etkileşimler); (C) 2,4-diMeo-izo ve 4FGD tarafından yapılan hidrojen bağlarının iki boyutlu gösterimi

4.6. Bileşiklerin Elektrokimyasal Karakterizasyonu

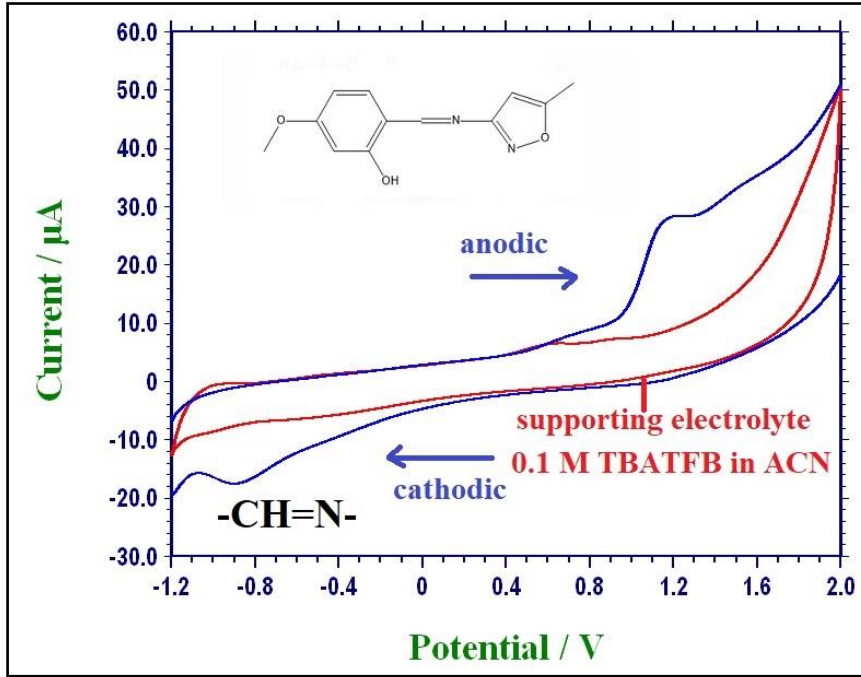
Fizyolojik olarak aktif izoksazol türevleri çeşitli hastalıkların tedavisinde uygulamalara sahip olduğundan, bu türevlerin elektrokimyasal davranışları verimli kullanımları için çok faydalıdır. İzoksazol türevleri elektro-redüksiyon mekanizmasının açıklaması, bileşiklerin yapısındaki redüksiyon süreçlerine bağlıdır ve biyolojik yol için bir model olarak kullanılabilir. İzoksazol türevleri ilaç endüstrisinde yaygın olarak kullanıldığından, kimyasal ve biyolojik süreçlerdeki mekanizmalarını ve farmakolojik aktivitelerini anlamak için elektrokimyasal redüksiyonlarını bilmek önemlidir. Bu nedenle bu bölümde bileşiklerin elektrokimyasal davranışları incelenmiştir. Öncelikle 0,1 M tetra butil amonyum tetra floroborat içeren asetonitril destek elektrodun -1,2-2 v arasında dönüşümlü voltamogramı alınmış ve daha sonra bu ortamda 1mM olacak şekilde Tbsal-izo (Şekil 4.33.), 4-Meosal-izo (Şekil 4.34.), 2-Meosin-izo (Şekil 4.35.), 2,4-diMeo-izo (Şekil 4.36.) bileşiklerine ait yükseltgenme ve indirgenme pikleri gözlemlenmiştir.

İlk olarak Tbsal-izo olarak adlandırılan bileşikte 1,082 V ile 1,48 V civarında gözlenen pikler hidroksil grubu ve izoksazol halkası ilişkin yükseltgenmeye ait olduğu -0,791 V' da gözlenen indirgenme pikinin ise Schiff bazındaki imin bağına ait olduğu tespit edilmiştir. 4-Meosal-izo için voltamogramı incelendiğinde yükseltgenme piklerinin 1,138 V ile 1,45 V civarında olduğu 2-Meosin-izo 1,293 V ve 2,4-diMeo-izo içinde 1,119 V civarında pikler gözlemlendi. İmin bağının indirgenmesine ait pikin ise Tbsal-izo için -0,791V' da 4-Meosal-izo için -0,874 V, 2-Meosin-izo için -0,651 V iken 2,4-diMeo-izo içinse -0,742 V olduğu görüldü. 4-Meosal-izo'daki indirgenme pikinin daha geç görünmesinin sebebi metoksi grubunun elektron alışverişini zorlaştırdığı için daha negatif potansiyelde indirgenmediği

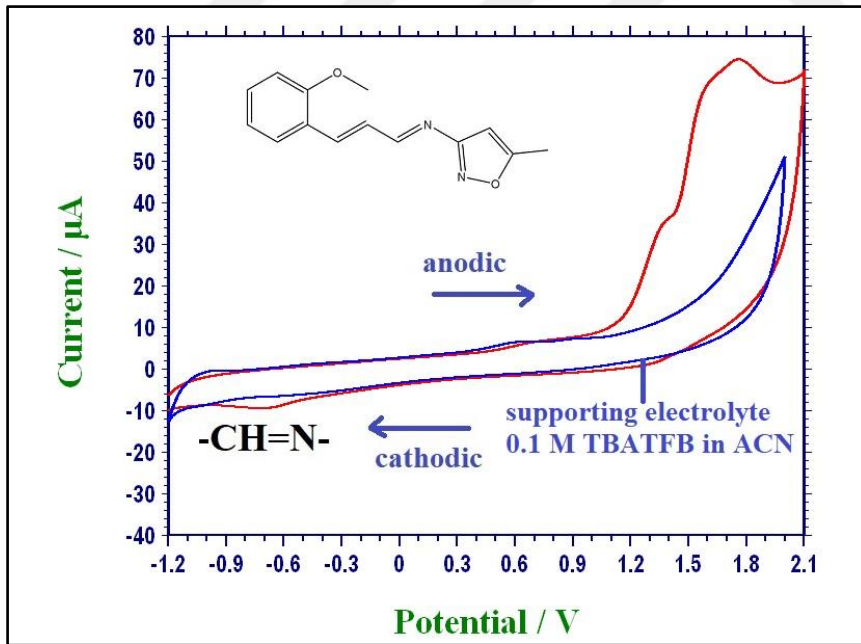
gözlendi. Böylece Schiff bazlarının sentezlendiği elektrokimyasal olarak karakterize edildi. Tbsal-izo (Şekil 4.37.), 4-Meosal-izo (Şekil 4.38.), 2-Meosal-izo (Şekil 4.39.), 2,4-diMeo-izo (Şekil 4.40.) için tarama hızı çalışması yapıldı. 50-400 mV/s tarama hızlarında pik akımları değerlerinin logaritması tarama hızlarının logaritmasına karşı grafiğe geçirildiğinde her dört madde içinde ilk yükseltgenme piklerine ait elektron alışverişinin difüzyon kontrollü olduğu imin bağının indirgenmesine ait elektron alışverişinin ise adsorpsiyon kontrollü olduğu sonucuna varıldı.



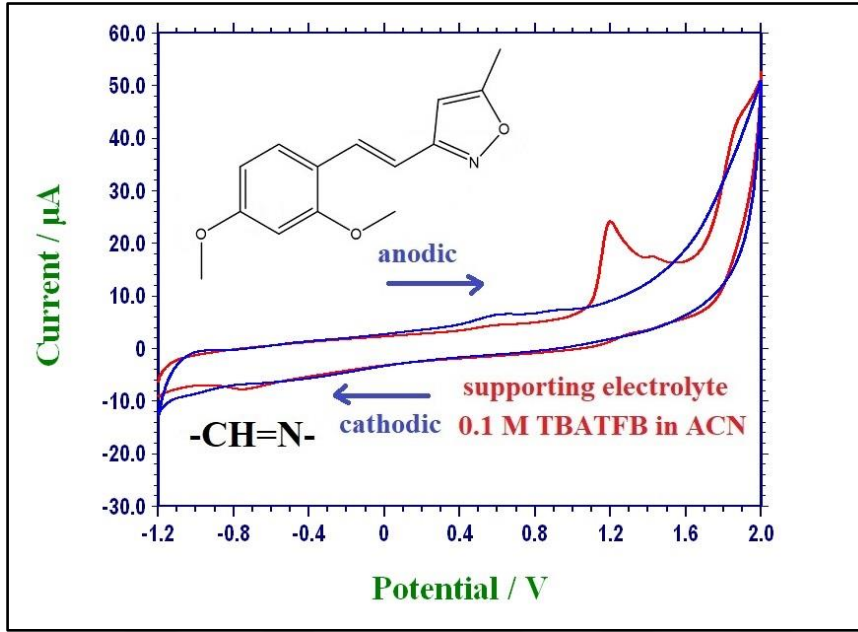
Şekil 4.33. Tbsal-izo için elde edilen dönüşümlü voltamogram (0,1 M TBATFB içeren ACN ortamında, 0,1 V/s tarama hızında)



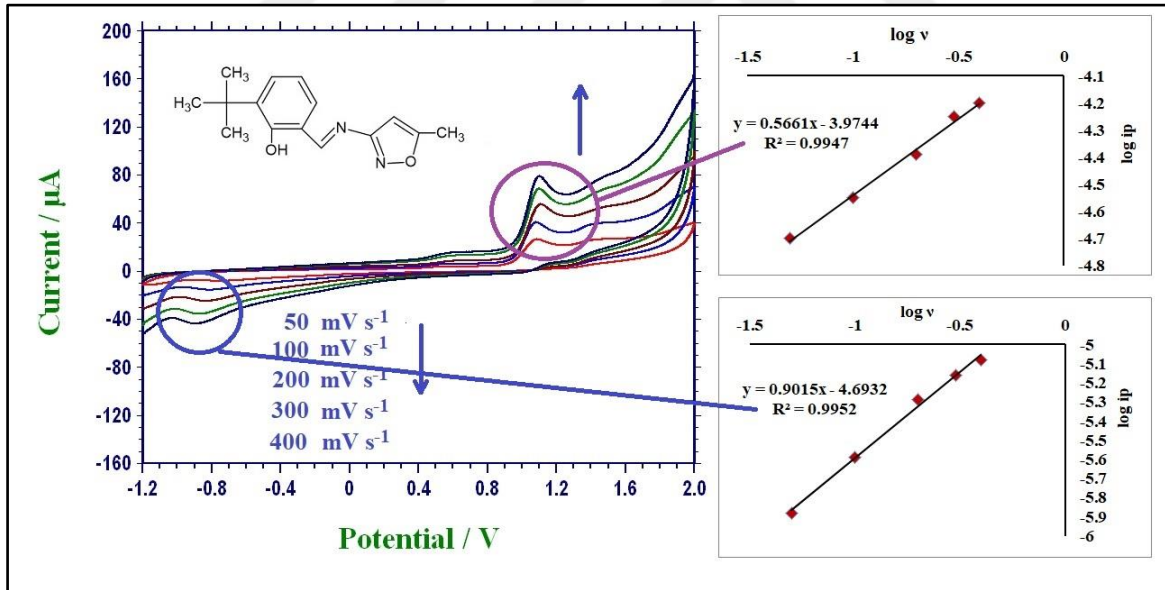
Şekil 4.34. 4-Meosal-izo için elde edilen dönüşümlü voltamogram (0,1 M TBATFB içeren ACN ortamında, 0,1 V/s tarama hızında)



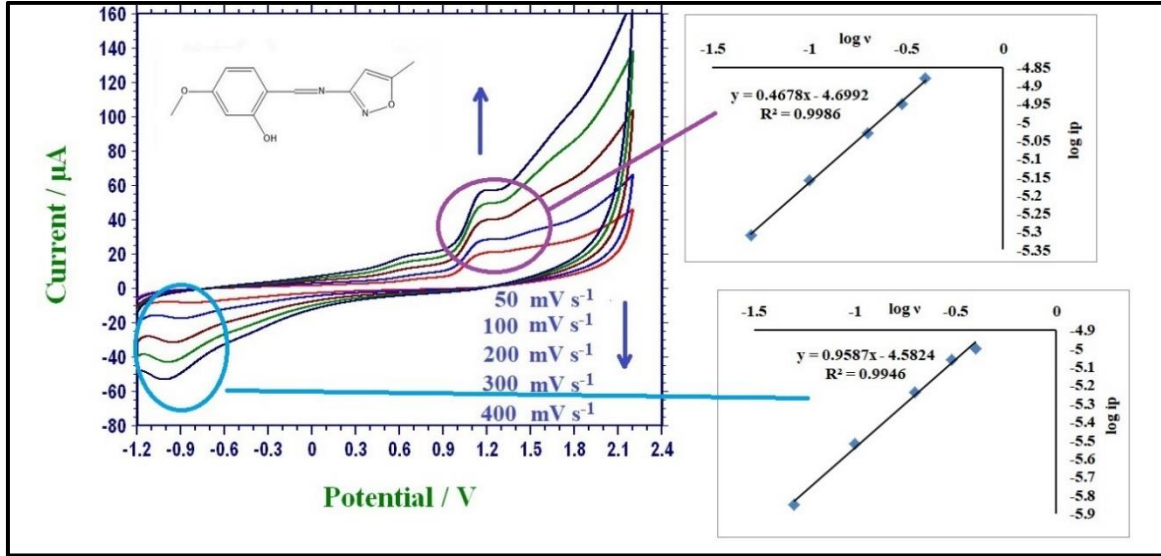
Şekil 4.35. 2-Meosin-izo için elde edilen dönüşümlü voltamogram (0,1 M TBATFB içeren ACN ortamında, 0,1 V/s tarama hızında)



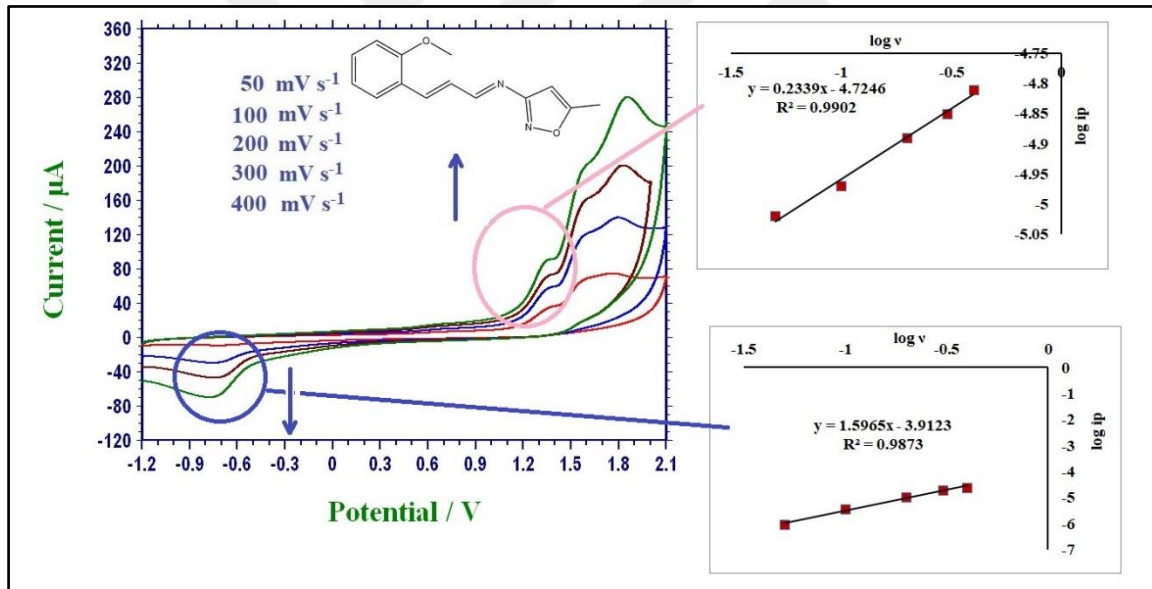
Şekil 4.36. 2,4-diMeo-izo için elde edilen dönüşümlü voltamogram (0,1 M TBATFB içeren ACN ortamında, 0,1 V/s tarama hızında)



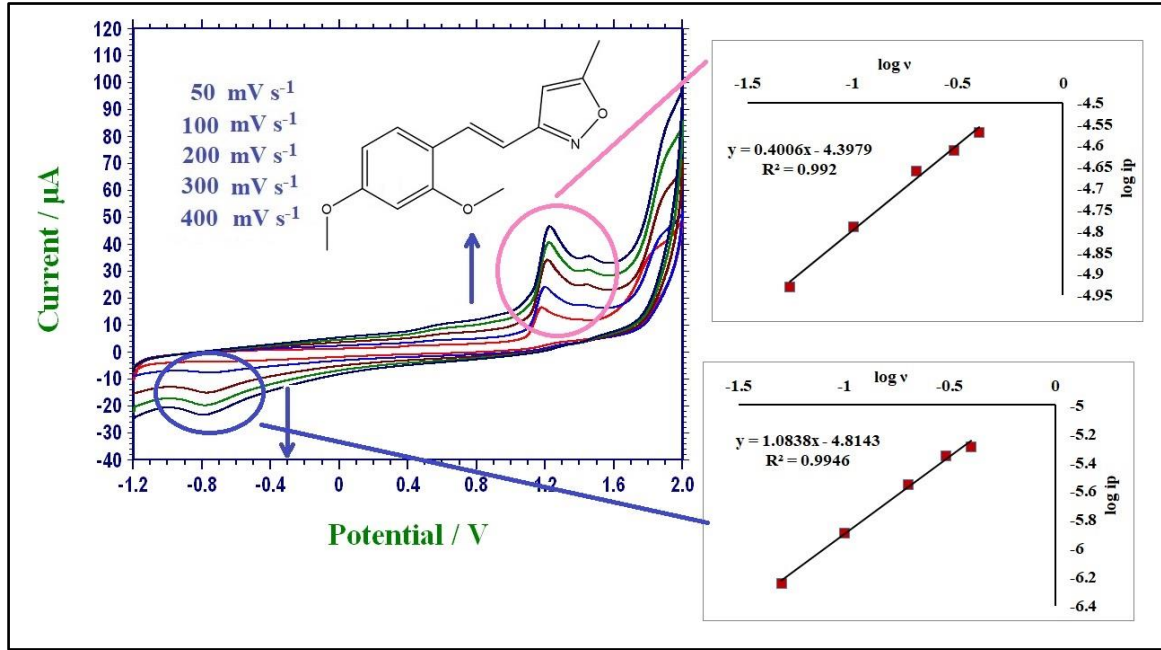
Şekil 4.37. 1 mM Tbsal-izo için farklı tarama hızlarında (50 mV/s-400 mV/s) elde edilen dönüşümlü voltamogram (0,1 M TBATFB içeren ACN ortamında).



Şekil 4.38. 1 mM 4-Meosal-izo için farklı tarama hızlarında (50 mV/s-400 mV/s) elde edilen dönüşümlü voltamogram (0,1 M TBATFB içeren ACN ortamında).



Şekil 4.39. 1 mM 2-Meosin-izo için farklı tarama hızlarında (50 mV/s-400 mV/s) elde edilen dönüşümlü voltamogram (0,1 M TBATFB içeren ACN ortamında).



Şekil 4.40. 1 mM 2,4-diMeo-izo için farklı tarama hızlarında (50 mV/s-400 mV/s) elde edilen dönüşümlü voltamogram (0,1 M TBATFB içeren ACN ortamında).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Klinik olarak kullanılmakta olan antibiyotiklere ve anti-bakteriyel ajanlara karşı ilaç direnci, dünyanın en ciddi halk sağlığı sorunlarından birini teşkil etmektedir. İzoksazol halkasına sahip Schiff bazı bileşiklerinin avantajlı fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı farmasötik ajan olarak kullanılabilir olduğu kanıtlanmış durumdadır. Çalışmamızda elde ettiğimiz Tbsal-izo, 4-Meosal-izo, 2-Meosin-izo ve 2,4-diMeo-izo bileşikleri ilk kez sentezlendiği için özgün bir çalışma olmuştur. Sentezlenen bileşiklerin TLC (İnce Tabaka Kromatografisi), FTIR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, x-ray kristallografisi spektroskopik yöntemler olarak, dönüşümlü voltomogramları alınarak elektrokimyasal yönden incelenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin çeşitli mikroorganizmalar üzerinde antibakteriyel ve antibiyofilm aktiviteleri incelendi. İzoksazol halkasına sahip Schiff bazı bileşiklerinin Tbsal-izo haricindeki örneklerinde bakteri üremesinin referans maddeler düzeyinde engellendiği ve önceden oluşturulmuş biyofilm üzerinde yüksek antibiyofilm aktivitesi görüldüğü tespit edildi. *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 29213 ve *S. epidermidis* ATCC 35984'ün biyofilm suşlarında güçlü antibiyofilm aktivite belirlendi.

Özellikle *S. aureus* suşunda bütün izoksazol grubu içeren bileşikler yüksek antibiyofilm oranına ulaşıldı. Sentezlenen bileşiklerin farmakokinetiğini tahmin etmek için yapılan ADME çalışmalarında bu bileşiklerin iyi ilaç benzeri davranışlar gösterdiği tespit edildi. Sonuçlar izoksazol halkası içeren Schiff bazı bileşiklerinin bakteriyel enzim sistemleri ile güçlü bağlanma etkileşimlerine sahip olduğunu gösterdi. Deneysel sonuçlar ve *in silico* çalışmalar sonucunda izoksazol halkası içeren Schiff bazı bileşiklerinin aktivitesinin genellikle moleküldeki substituent olan metoksi gruplarının mevcudiyetinde arttığı görüldü. Sonuç olarak sentezlediğimiz bileşiklerinin gelecekte bulaşıcı hastalıkların önlenmesinde Gram-pozitif bakterilere (*S. aureus* ve *S. epidermidis*) karşı güçlü birer inhibitör olabileceği ve potansiyel olarak kullanılabilecek ilaçlar olabileceği ön görüldü.



KAYNAKLAR

1. Barco, A., Benetti, S., Baraldi, P.G., Guernari, M., Pollini, G.P., Simoni, D. (1981). 3,5-Disubstituted Isoxazoles as a Latent Aldol Moiety: Application to the Synthesis of (+)[6]-Gingerol. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 9(1), 599–600.
2. Ceserole, M. (1884). Ueber Benzoylacetone und Isonitrosobenzoylacetone. *Chemische Berichte*, 17(1), 812–817.
3. Hantzsch, A. (1888). Untersuchungen über Axole. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 250(3), 1–6.
4. Quilico, A., D'Alcontres, G.S., Grünanger, P. (1950). A New Reaction of Ethylenic Double Bonds. *Nature*, 166(1), 226–227.
5. Alyar, S., Özmen, Ü. Ö., Karacan, N., Şentürk, O. Ş., Udachin, K. A. (2008). Tautomeric properties, conformations and structure of 2-hydroxyacetophenone methanesulfonylhydrazone. *Journal of Molecular Structure*, 889(1-3), 144-149.
6. Kalia, V. C., Patel, S. K., Lee, J. K. (2023). Bacterial biofilm inhibitors: An overview. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 264(1), 115389.
7. Balázs, V. L., Nagy-Radványi, L., Filep, R., Kerekes, E., Kocsis, B., Kocsis, M., Farkas, Á. (2021). In vitro antibacterial and antibiofilm activity of Hungarian honeys against respiratory tract bacteria. *Foods*, 10(7), 1632.
8. Eugster, CH., Müller, G.F.R. and Good, R. (1965). Wirkstoffe Aus Amanita Muscaria: Ibotensäure und Muscazon. *Tetrahedron Letters*, 6(23), 1813–1815.
9. Hoelder, S., Clarke, P. A., and Workman, P. (2012). Discovery of small molecule cancer drugs: Successes, challenges and opportunities. *Molecular Oncology*, 6(2), 155-176.
10. Dymock, B.W. (2005), Novel, potent small-molecule inhibitors of the molecular chaperone Hsp90 discovered through structure-based design. *Journal of Medicinal Chemistry*, 48(13), 4212-4215.
11. Gaspar, N., Sharp, S.Y., Pacey, S., Jones, C., Walton, M., Vassal, G., Eccles, S., Pearson, A., Workman, P. (2009). *Cancer Research*, 69(5), 1966-1975.
12. Ertürk, A. (2015). *Schiff bazı ligantları ve metal komplekslerinin sentezi ve yapılarının incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
13. Selingül, Çakır. (2023). *Sülfizoksazol ve sülfametoksazol ilaçlarından türetilen schiff bazlarının yapısal ve elektronik özelliklerinin incelenmesi, antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

14. Wei, Z., Bai, O., Richardson, J.S., Mousseau, D.D., Li, X.M. (2003) Olanzapine protects PC12 cells from Oxidative stress induced by hydrogen peroxide. *Journal of neuroscience Research*. 73, 364-368.
15. Saracino, M.A., De Palma, A., Boncompagni, G. ve Raggi, M.A. (2010). Analysis of risperidone and its metabolite in plasma and saliva by LC with coulometric detection and a novel MEPS procedure. *Talanta*, 81(4-5), 1547-1553.
16. Berwaerts, J., Liu, Y., Gopal, S., Nuamah, I., Xu, H., Savitz, A., Coppola, D., Schotte, A., Remmerie, B., Maruta, N., Hough, D.W. (2015). Efficacy and Safety of the 3-Month Formulation of Paliperidone. *European Psychiatry*, 30(1) , 28–31.
17. Biton, V. (2007). Clinical Pharmacology and Mechanism of Action of Zonisamide, *Clinical Neuropharmacology*, 30(4), 230-240.
18. Aizawa, Hiroyasu. (2014). Isoxaflutole. *Handbook of Metabolic Pathways of Xenobiotics*; 1-2.
19. Shahnaz, Rostamizadeh. (2019). Synthesis of sulfamethoxazole and sulfabenzamide metal complexes; evaluation of their antibacterial activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 171, 364-371.
20. Abdulmajeed, A. Alezzy. (2023) Synthesis, characterization, and biological studies of novel N (cinnamylidene) sulfamethoxazole (SMZ-CAL) and its metal complexes. *Journal of Molecular Structure*, 1299, 137069.
21. Al-Hawarin, J. I., Abu-Yamin, A. A., Abu-Saleh, A. A. A. A., Saraireh, I. A., Almatarneh, M. H., Hasan, M., Al-Douri, Y. (2023). Synthesis, Characterization, and DFT Calculations of a New Sulfamethoxazole Schiff Base and Its Metal Complexes. *Materials*, 16(14), 5160.
22. Nirmala, Ganji. (2018). Copper(II) complexes with isoxazole Schiff bases: Synthesis, spectroscopic investigation, DNA binding and nuclease activities, antioxidant and antimicrobial studies . *Journal of Molecular Structure* , 1173(1), 173-182.
23. Alyar, S. (2018). Synthesis, characterization, antimicrobial activity, carbonic anhydrase enzyme inhibitor effects, and computational studies on new Schiff bases of Sulfa drugs and their Pd(II), Cu(II) complexes. *Journal of Molecular Structure*, 1171(1), 214-222.
24. Alyar, S. (2021). Synthesis, spectroscopic characterizations, carbonic anhydrase II inhibitory activity, anticancer activity and docking studies of new Schiff bases of sulfa drugs. *Journal of Molecular Structure*, 1223, 128911.
25. Wawzonek, S., McKillip, W., Peterson, C. J. (1964). *Organic Syntheses*, 44-75.
26. Wikler, M. A. (2006). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard. *Clinical and laboratory standards institute*, 26.

27. Scorei, R. I., Rotaru, P. (2011). Calcium fructoborate potential anti-inflammatory agent. *Biological Trace Element Research*, 143, 1223-1238
28. Bitencourt-Ferreira, G., de Azevedo, W.F. Jr. (2019). Molegro Virtual Docker for Docking. *Methods Mol Biol*, 2053, 149-167.
29. İnternet: EADock DSS algoritmasına dayalı yerleştirme motorları <http://www.swissdock.ch>, Son Erişim Tarihi: 15.02.2024.
30. İnternet: GaussView, 3 boyutlu yapı programı ve Gaussian 09 programları <http://www.gaussian.com>, Son Erişim Tarihi: 11.03.2024.
31. İnternet: RCSB Protein Veri Bankası (PDB), <https://www.rcsb.org> , Son Erişim Tarihi: 13.03.2024.
32. Mahanthesh, M. T., Ranjith, D., Raghavendra, Y., Jyothi, R., Narappa, G., Ravi, M. V. (2020). *J. Pharmacogn and Photochem*, 9(3), 1799–1809.
33. İnternet: Küçük moleküllerin farmakokinetiğini, ilaç benzerliğini ve tıbbi kimyaya uygunluğunu değerlendirmek için ücretsiz bir web aracı. <http://www.swissadme.ch> , Son Erişim Tarihi: 11.03.2024.
34. Nicholson, R. S. and Shain, I. (1964). Theory of stationary electrode polarography. Single scan and cyclic methods applied to reversible, irreversible, and kinetic systems. *Analytical Chemistry*, 36(4), 706-723.
35. Eryılmaz, S., Gül, M., İnkaya, E., Taş, M. (2016). Isoxazole derivatives of alpha-pinene isomers: Synthesis, crystal structure, spectroscopic characterization (FT-IR/NMR/GCeMS) and DFT studies, *Journal of Molecular Structure*, 1108, 209-222.
36. Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., Feeney, P. J., (1997). *Advanced Drug Delivery Reviews*, 23(1–3), 3–25.
37. Ghose, A. K., Viswanadhan, V. N., Wendolosk, J. J. (1999). *Journal of Combinatorial Chemistry*, 1(1), 55–68.
38. Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H. Y., Smith, B. R., Ward, K. W., Kopple, K. D. (2002). *Journal of Medicinal Chemistry*, 45(12), 2615–2623.
39. Muegge, I., Heald, S. L., Brittelli, D. (2001). *Journal of Medicinal Chemistry*, 44(12), 1841–1846.
40. Hassan, S.S., Zhang, W.D., Jin, H., Basha, S. H., Sasi Priya, S.V.S. (2020), *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 40(9), 1-15.
41. Wójcikowski, J., Danek, P. J., Basińska-Ziobroń, A., Pukło, R., Daniel, W. A. (2020). *Pharmacol Reports*, 72, 612–621.
42. Mermer, A., Bayrak, H., Alyar, S., Alagumuthu, M. (2020). Molecular docking studies on enzyme–ligand interactions, *Journal of Molecular Structure*, 1208, 127891.





Gazili olmak ayrıcalıktır