

T.C  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YENİ TETRAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU,  
PROTONASYON SABİTLERİNİN TAYİNİ, BİYOLOJİK AKTİFLİKLERİ, SİTOTOKSİK  
VE TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİNİN İNCELENMESİ

DOKTORA TEZİ

Öner EKİCİ

Anabilim Dalı: Kimya

Programı: Analitik Kimya

ELAZIĞ-2015

**T.C**  
**FIRAT ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YENİ TETRAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU,  
PROTONASYON SABİTLERİNİN TAYİNİ, BİYOLOJİK AKTİFLİKLERİ, SİTOTOKSİK  
VE TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİNİN İNCELENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Öner EKİCİ**

**(102117201)**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih :**  
**Tezin Savunulduğu Tarih : 15.06.2015**

**Tez Danışmanı :** Prof. Dr. Alaaddin ÇUKUROVALI (F.Ü)  
**Diğer Jüri Üyeleri :** Prof. Dr. Mehmet TÜFEKÇİ (K.T.Ü)  
Prof. Dr. Dursun PEHLİVAN (F.Ü)  
Prof. Dr. Süleyman SERVİ (F.Ü)  
Prof. Dr. İbrahim YILMAZ (K.M.Ü)

**HAZİRAN-2015**

**T.C  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YENİ TETRAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU,  
PROTONASYON SABİTLERİNİN TAYİNİ, BİYOLOJİK AKTİFLİKLERİ, SİTOTOKSİK  
VE TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİNİN İNCELENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Öner EKİCİ**

**Anabilim Dalı: Kimya**

**Programı: Analitik Kimya**

**HAZİRAN-2015**

## ÖNSÖZ

Bu çalışmanın doktora tezi olarak seçiminde, planlanmasında, yürütülmesinin her kademesinde bana yardımcı olan, çalışmalarım süresince benden her türlü anlayış ve ilgiyi esirgemeyen; bilgi, tecrübe ve hoşgörülerinden yararlandığım, kendisiyle çalışma fırsatına sahip olduğum için kendimi şanslı hissettiğim, bilim adamı sıfatı ve kişiliğiyle her zaman kendime örnek alacağım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Alaaddin ÇUKUROVALI'ya sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Ayrıca çalışmalarım süresince yönlendirici bilgilerinden istifade ettiğim, ufkumu genişleten saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. İbrahim YILMAZ, Yrd. Doç. Dr. Engin YILMAZ ve Yrd. Doç. Dr. Murat GENÇ'e teşekkür ederim.

Lisans ve lisansüstü eğitimlerim süresince, değerli bilgi ve tecrübeleriyle yetişmemde pay sahibi olan bütün hocalarıma ve çalışma arkadaşlarıma, bölüm teknisyeni Abdurrahman ÖKSÜZ ve bölüm şefi Mehmet ORHAN'a teşekkür ederim.

Hiçbir zaman desteğini benden esirgemeyen, çalışmalarımda maddeten ve manen bana destek olan anne ve babama (Gülseren-Ömer EKİCİ) teşekkürlerimi sunmayı bir görev bilmekteyim.

Bu tez çalışması boyunca her ne kadar dönüm noktası ve hücre-canlı yaşamdan bahsetmişsem de bana bu dünyada, hayatımın en mutlu ve en çaresiz anlarında yanımda olarak, gerçek bir dönüm noktası yaşatan sevgili hayat arkadaşım Müge GÜR'e bütün kalbimle sonsuz teşekkür ederim.

**Öner EKİCİ**  
**ELAZIĞ-2015**

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa No

|                                                                 |      |
|-----------------------------------------------------------------|------|
| ÖNSÖZ .....                                                     | II   |
| İÇİNDEKİLER.....                                                | III  |
| ÖZET .....                                                      | X    |
| SUMMARY .....                                                   | XI   |
| ŞEKİLLER LİSTESİ .....                                          | XII  |
| TABLolar LİSTESİ .....                                          | XXIV |
| SEMBOLLER VE KISALTMALAR LİSTESİ .....                          | XXVI |
| 1. GİRİŞ.....                                                   | 1    |
| 1.1. Genel Yapı ve Türevleri.....                               | 5    |
| 1.2. Tetrazol Sentez Yöntemleri .....                           | 6    |
| 1.2.1. 1,2 Bağı Oluşumu (1,2 ve 4,5 Bağları).....               | 6    |
| 1.2.2. 2,3 Bağı Oluşumu.....                                    | 7    |
| 1.2.3. 2,3 ve 4,5 Bağı Oluşumu .....                            | 8    |
| 1.2.4. 2,3 ve 3,4 Bağı Oluşumu .....                            | 8    |
| 1.3. Tetrazollerin Kimyasal Özellikleri .....                   | 10   |
| 1.4. Tetrazollerin Fiziksel Özellikleri.....                    | 11   |
| 1.5. Tetrazollerin Biyolojik Özellikleri .....                  | 11   |
| 1.6.1. Denge Sabitlerinin Tayininde Kullanılan Metotlar.....    | 13   |
| 1.6.1.1. Birinci Grup Metotlar .....                            | 13   |
| 1.6.1.1.1. Heterojen Denge Çalışmalarına Dayanan Metotlar ..... | 13   |
| 1.6.1.1.2. Elektrometrik Metotlar.....                          | 14   |
| 1.6.1.1.3. Diğer Metotlar.....                                  | 14   |
| 1.6.1.2. İkinci Grup Metotlar.....                              | 14   |
| 1.6.2. Potansiyometrik Metot.....                               | 14   |

## Sayfa No

|          |                                                                                                    |    |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.6.2.1. | Cam Elektrot.....                                                                                  | 16 |
| 1.6.2.2. | Gran Metodu ile Dönüm Noktası Tayini.....                                                          | 18 |
| 1.7.     | Denge Sabitlerini Hesaplama Metotları .....                                                        | 18 |
| 1.7.1.   | Grafiksel Metotlar .....                                                                           | 19 |
| 1.7.1.1. | Lineerleştirme Metodu.....                                                                         | 19 |
| 1.7.1.2. | Eğri Çakıştırma Metodu .....                                                                       | 19 |
| 1.7.1.3. | Projeksiyon-Şerit Metodu .....                                                                     | 20 |
| 1.7.1.4. | Bilgisayar ile Hesaplama Teknikleri.....                                                           | 20 |
| 1.8.     | Mikrobiyoloji .....                                                                                | 21 |
| 1.8.1.   | Escherichia Coli .....                                                                             | 22 |
| 1.8.2.   | Enterococcus sp. ....                                                                              | 22 |
| 1.8.3.   | Pseudomonas aeruginosa .....                                                                       | 23 |
| 1.9.     | Antimikrobiyal Reaktifler .....                                                                    | 23 |
| 1.10.    | Antioksidanlar ve Oksidasyon.....                                                                  | 24 |
| 1.11.    | Serbest radikaller ve Oksidatif Stres .....                                                        | 25 |
| 1.12.    | Sitotoksosite ve Kanser .....                                                                      | 26 |
| 1.13     | Literatür Araştırması.....                                                                         | 28 |
| 2.       | MATERYAL ve METOT .....                                                                            | 30 |
| 2.1.     | Kullanılan Kimyasal Maddeler .....                                                                 | 30 |
| 2.1.1.   | Sentezlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler .....                                                     | 30 |
| 2.1.2    | Titrasyonlarda Kullanılan Kimyasal Maddeler .....                                                  | 31 |
| 2.1.3.   | Biyolojik Aktivite, Antioksidan ve Sitotoksosite Çalışmalarında Kullanılan Kimyasal Maddeler ..... | 31 |
| 2.1.4.   | Kullanılan Çözücüler .....                                                                         | 32 |
| 2.1.4.1. | Etil Alkol.....                                                                                    | 32 |

**Sayfa No**

|          |                                                 |    |
|----------|-------------------------------------------------|----|
| 2.1.4.2. | Dioksan, DMSO, Kloroform, Aseton ve Benzen..... | 32 |
| 2.1.4.3. | Etanol ve n-hekzan .....                        | 33 |
| 2.1.4.4. | Dietil Eter .....                               | 33 |
| 2.1.4.5. | THF .....                                       | 33 |
| 2.1.4.6. | Petrol Eteri (40-60°C).....                     | 33 |
| 2.1.4.7. | Saf Su .....                                    | 33 |
| 2.1.5.   | Kullanılan Çözeltiler .....                     | 34 |
| 2.1.5.1. | Sodyum Hidroksit Çözeltisi .....                | 34 |
| 2.1.5.2. | Perklorik Asit Çözeltisi .....                  | 34 |
| 2.1.5.3. | Sodyum Perklorat Çözeltisi .....                | 34 |
| 2.1.5.4. | Sodyum Klorür Çözeltisi .....                   | 34 |
| 2.1.5.5. | Benzoik Asit Çözeltisi.....                     | 35 |
| 2.1.5.6. | Titrasyonu Yapılan Maddelerin Çözeltileri ..... | 35 |
| 2.2.     | Kullanılan Aletler .....                        | 35 |
| 2.2.1.   | Potansiyometre .....                            | 35 |
| 2.2.2.   | Titrasyon Kabı .....                            | 36 |
| 2.3.     | DeneySEL Kısım.....                             | 36 |
| 2.3.1.   | Genel Bilgi .....                               | 36 |
| 2.3.2.   | Aminlerin Sentezi .....                         | 37 |
| 2.3.3.   | Amitlerin Sentezi .....                         | 37 |
| 2.3.4.   | Tetrazollerin Sentezi.....                      | 38 |
| 2.3.5.   | Tiyazol Türevli Tetrazollerin Sentezi .....     | 38 |
| 2.3.6.   | Keton Türevli Tetrazollerin Sentezi .....       | 38 |
| 2.4.     | Potansiyometrik Titrasyonlar .....              | 39 |

|          |                                                                                                                                                 |    |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.4.1.   | Titrasyon Tekniği .....                                                                                                                         | 39 |
| 2.4.2.   | Kullanılan Çözeltilerin Kalibrasyonu.....                                                                                                       | 39 |
| 2.4.2.1. | Sodyum Hidroksit Çözeltilisinin Kalibrasyonu .....                                                                                              | 39 |
| 2.4.2.2. | Perklorik Asit Çözeltilisinin Kalibrasyonu .....                                                                                                | 40 |
| 2.4.2.3. | Kullanılan Hücrenin Kalibrasyonu .....                                                                                                          | 40 |
| 2.4.3.   | K <sub>Su</sub> Tayini .....                                                                                                                    | 41 |
| 2.4.4.   | Bileşiklerin Stokiyometrik Protonasyon Sabitlerinin Tayini .....                                                                                | 41 |
| 2.5.     | Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi .....                                                                                                     | 42 |
| 2.6.     | Antioksidan Kapasitelerinin İncelenmesi.....                                                                                                    | 43 |
| 2.6.1.   | İndirgeme Gücü .....                                                                                                                            | 44 |
| 2.6.2.   | Serbest Radikalleri Giderme Aktivitesi.....                                                                                                     | 44 |
| 2.6.3.   | Metal Şelatlama Aktivitesi.....                                                                                                                 | 45 |
| 2.7.     | Sitotoksik Etkilerinin İncelenmesi .....                                                                                                        | 46 |
| 2.7.1.   | Hücre Kültürü .....                                                                                                                             | 46 |
| 2.7.2.   | Hücre Canlılığı.....                                                                                                                            | 47 |
| 3.       | SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....                                                                                                                       | 48 |
| 3.1.     | Tiyazol Türevli Tetrazollerin Karakterizasyonu .....                                                                                            | 48 |
| 3.1.1.   | 2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: .....              | 49 |
| 3.1.2.   | 2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: .....            | 52 |
| 3.1.3.   | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... | 55 |
| 3.1.4.   | 2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: .....              | 58 |

|         |                                                                                                                                                       |
|---------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 3.1.5.  | 2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 61               |
| 3.1.6.  | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 64    |
| 3.1.7.  | N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 67                       |
| 3.1.8.  | N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 70                     |
| 3.1.9.  | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 73          |
| 3.1.10. | 2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 76              |
| 3.1.11. | N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 79            |
| 3.1.12. | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 82 |
| 3.1.13. | N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 85                |
| 3.1.14. | N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 88              |
| 3.1.15. | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 91   |
| 3.1.16. | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 94            |
| 3.1.17. | 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 97                        |
| 3.1.18. | 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 100                     |
| 3.1.19. | 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 103          |

|         |                                                                                                                                                   |
|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 3.1.20. | 2-(1-siklohekzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 106              |
| 3.1.21. | 2-(1-siklohekzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 109            |
| 3.1.22. | 2-(1-siklohekzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 112 |
| 3.1.23. | 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 115                    |
| 3.1.24. | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 118        |
| 3.2.    | Keton Türevli Tetrazollerin Karakterizasyonu ..... 121                                                                                            |
| 3.2.1.  | 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 121                                      |
| 3.2.2.  | 2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 124                                       |
| 3.2.3.  | 1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 127                                      |
| 3.2.4.  | 1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)-2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 130                                    |
| 3.2.5.  | 2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)etanon Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 133                                     |
| 3.2.6.  | 1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon Bileşiğinin Karakterizasyonu: ..... 136                                    |
| 3.3.    | Bileşiklerin Protonasyon Sabitlerinin İncelenmesi..... 138                                                                                        |
| 3.4.    | Bileşiklerin Antioksidan Etkinliğinin İncelenmesi ..... 156                                                                                       |
| 3.5.    | Bileşiklerin Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi..... 159                                                                                       |
| 3.6.    | Bileşiklerin Sitotoksik Etkilerinin WST-1 Yöntemi ile İncelenmesi..... 160                                                                        |
| 3.7.    | Bileşiklerin Yapılarının Değerlendirilmesi ..... 164                                                                                              |
| 3.8.    | Bileşiklerin Protonasyon Sabitlerinin Değerlendirilmesi ..... 166                                                                                 |

**Sayfa No**

|        |                                                                     |     |
|--------|---------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.8.1. | Protonasyon Sabitlerine Değiştirilen Çözücü Sisteminin Etkisi ..... | 174 |
| 3.8.2. | Protonasyon Sabitlerine Sübstitüentlerin Etkisi .....               | 174 |
| 3.9.   | Bileşiklerin Antioksidan Aktivitelerinin Değerlendirilmesi .....    | 175 |
| 3.10.  | Bileşiklerin Biyolojik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi.....       | 177 |
| 3.11.  | Bileşiklerin Sitotoksik Etkilerinin Değerlendirilmesi .....         | 178 |
| 4.     | KAYNAKLAR .....                                                     | 179 |
|        | ÖZGEÇMİş .....                                                      | 187 |

## ÖZET

Beş aşamalı olarak planlanan bu çalışmanın ilk aşamasında, tetrazol grubu içeren 30 adet yeni bileşik sentezlenerek karakterize edilmiştir. Karakterizasyonu işlemleri IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR ve DSC gibi enstrümantal analiz yöntemleri kullanılarak yapılmıştır.

İkinci aşamasında, sentezlenen tüm bileşiklerin protonasyon sabitleri % 60 dioksan - % 40 su ve % 80 DMSO - % 20 su ortamında, 25 ± 0.1 °C'ta, argon atmosferinde ve  $\mu = 0.1$  M sabit iyonik şiddette potansiyometrik metotla tayin edilmiştir. Potansiyometrik titrasyonlar sonucunda elde edilen titrasyon verileri Martell-Motekaitis tarafından geliştirilen BEST bilgisayar programı ile değerlendirilmiştir. Daha sonra bu değerler kullanılarak, oluşan türlerin konsantrasyonlarının pH ile değişimini gösteren dağılım diyagramları, yine Martell-Motekaitis tarafından geliştirilen SPEXY-C bilgisayar programı ile çizilmiştir. Tetrazol bileşiklerinin, bulunduğu susuz ortama bağlı olarak, titrasyonlarından elde edilen verilerden faydalanarak farklı sayılarda protonasyon sabitlerinin olduğu tespit edilmiştir.

Üçüncü aşamasında, sentezlenen 24 adet tiyazol grubu içeren yeni tetrazol bileşiklerinin biyolojik aktiviteleri gram pozitif ve gram negatif bakteri suşlarına karşı incelenmiştir. Test edilen bileşikler arasında, *P. Aeruginosa*'ye karşı en etkili bileşik 14 numaralı bileşiktir.

Dördüncü aşamada, sentezlenen 24 adet yeni tetrazol bileşiklerinin antioksidan kapasiteleri incelenmiş ve tartışılmıştır. Bu çalışmada, incelenen bütün bileşiklerin toplam antioksidan kapasiteleri, *in vitro* olarak, bileşiklerin serbest radikal giderme, metal şelatlama ve indirgeme gücü özellikleri açısından değerlendirilmiştir.

Çalışmanın son aşamasında ise, sentezlenen nitro grubu içeren 3 adet bileşiğin sitotoksik etkileri, MCF-7, MDA-231 ve MDA-435 insan meme kanseri hücreleri üzerinde, sitotoksitenin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan enzimatik test yöntemlerinden biri olan WST-1 yöntemi kullanılarak, 48 saatlik inkübasyon sonunda belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Tetrazol, Potansiyometrik Titrasyon, Protonasyon Sabiti, Biyolojik Aktivite, Antioksidan, WST-1, MCF-7, MDA-231, MDA-435, Sitotoksiste

## SUMMARY

### **Synthesis of New Tetrazole Derivatives, Characterization, Determination of Their Protonation Constants by Potentiometric Titration Method, Investigation of Biological Activities, Cytotoxic Properties and Total Antioxidant Capacities**

At the first stage of this work which was planned in five stages, thirty new compounds containing tetrazole were synthesized and characterized. In the characterization, instrumental techniques such as IR,  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR and DSC have been used.

At the second stage of the work, protonation constants of all the synthesized compounds were determined by potentiometric titration method in % 60 dioxane - % 40 water and % 80 DMSO - % 20 water media at  $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$  under argon and at constant ionic strength of  $\mu = 0.1$  M. Obtained data from the titrations were evaluated by a computer programme, BEST. After that, by using potentiometric titrations values, the distribution diagrams which are indicating the changes of concentrations of the emerging species were plotted as a function of pH by using computer program SPEXY-C, which developed by Martell-Motekaitis. It has been observed that the tetrazole ligands containing thiazole titrated here have a different number of protonation constants depending on non-aqueous media.

At the third stage of the work, the biological activities of the synthesized twenty four new tetrazole compounds containing thiazole were investigated by screening against gram positive and gram negative bacteria. Among the tested compounds, the most effective one was found to be compound coding as 14 against *P. Aeruginosa*.

At the fourth stage of the work, the antioxidant capacities of the synthesized twenty four new tetrazole compounds containing thiazole were investigated and discussed. In this study, the total antioxidant capacities of all compounds containing thiazole were evaluated by their free radical scavenging, metal chelating. and reducing power.

At the final stage of the work, the cytotoxic effects of the synthesized three new tetrazole compounds containing nitro group were determined on cancer cells by using WST-1 method, commonly used to evaluate the cytotoxicity, after 48 hours of incubation.

**Key Words:** Tetrazole, Potentiometric Titrations, Protonation Constants, Biological Activity, Antioxidant, WST-1, MCF-7, MDA-231, MDA-435, Cytotoxicity

## ŞEKİLLER LİSTESİ

### Sayfa No

|            |                                                                                                                                                                                                                                                |    |
|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1.1. | <i>E.Coli</i> 'nin peptioglikan yapısı.....                                                                                                                                                                                                    | 22 |
| Şekil 2.1. | Titrasyon kabı ve düzeneği.....                                                                                                                                                                                                                | 36 |
| Şekil 3.1. | 2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu.....                            | 49 |
| Şekil 3.2. | 2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....                                                                                                | 50 |
| Şekil 3.3. | 2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu.....                                                                                               | 51 |
| Şekil 3.4. | 2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu .....                       | 52 |
| Şekil 3.5. | 2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....                                                                                             | 53 |
| Şekil 3.6. | 2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....                                                                                            | 54 |
| Şekil 3.7. | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu ..... | 55 |
| Şekil 3.8. | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....                                                                                  | 56 |
| Şekil 3.9. | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....                                                                                 | 57 |

|             |                                                                                                                                                                                                                                                |    |
|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 3.10. | 2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu.....                            | 58 |
| Şekil 3.11. | 2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....                                                                                               | 59 |
| Şekil 3.12. | 2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu.....                                                                                               | 60 |
| Şekil 3.13. | 2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu .....                       | 61 |
| Şekil 3.14. | 2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....                                                                                             | 62 |
| Şekil 3.15. | 2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....                                                                                            | 63 |
| Şekil 3.16. | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu ..... | 64 |
| Şekil 3.17. | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....                                                                                  | 65 |
| Şekil 3.18. | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....                                                                                 | 66 |
| Şekil 3.19. | N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu.....                                  | 67 |
| Şekil 3.20. | N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....                                                                                                     | 68 |

- Şekil 3.21. N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu ..... 69
- Şekil 3.22. N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu ..... 70
- Şekil 3.23. N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu ..... 71
- Şekil 3.24. N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu ..... 72
- Şekil 3.25. N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu ..... 73
- Şekil 3.26. N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu ..... 74
- Şekil 3.27. N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu ..... 75
- Şekil 3.28. 2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu ..... 76
- Şekil 3.29. 2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu ..... 77
- Şekil 3.30. 2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu ..... 78
- Şekil 3.31. N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu ..... 79

|             |                                                                                                                                                                                                                                                   |    |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 3.32. | N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....                                                                                             | 80 |
| Şekil 3.33. | N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....                                                                                            | 81 |
| Şekil 3.34. | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu ..... | 82 |
| Şekil 3.35. | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....                                                                                  | 83 |
| Şekil 3.36. | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....                                                                                 | 84 |
| Şekil 3.37. | N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu .....                             | 85 |
| Şekil 3.38. | N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....                                                                                                 | 86 |
| Şekil 3.39. | N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....                                                                                                | 87 |
| Şekil 3.40. | N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu .....                         | 88 |
| Şekil 3.41. | N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....                                                                                               | 89 |
| Şekil 3.42. | N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....                                                                                              | 90 |

|             |                                                                                                                                                                                                                                                 |     |
|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Şekil 3.43. | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu ..... | 91  |
| Şekil 3.44. | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....                                                                                  | 92  |
| Şekil 3.45. | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....                                                                                 | 93  |
| Şekil 3.46. | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu .....          | 94  |
| Şekil 3.47. | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....                                                                                           | 95  |
| Şekil 3.48. | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....                                                                                          | 96  |
| Şekil 3.49. | 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu.....                                    | 97  |
| Şekil 3.50. | 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....                                                                                                       | 98  |
| Şekil 3.51. | 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....                                                                                                      | 99  |
| Şekil 3.52. | 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu.....                                | 100 |
| Şekil 3.53. | 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....                                                                                                     | 101 |

|             |                                                                                                                                                                                                                                              |     |
|-------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Şekil 3.54. | 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....                                                                                                 | 102 |
| Şekil 3.55. | 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu .....      | 103 |
| Şekil 3.56. | 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....                                                                                       | 104 |
| Şekil 3.57. | 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu ....                                                                                       | 105 |
| Şekil 3.58. | 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu .....                           | 106 |
| Şekil 3.59. | 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....                                                                                               | 107 |
| Şekil 3.60. | 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....                                                                                              | 108 |
| Şekil 3.61. | 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu .....                       | 109 |
| Şekil 3.62. | 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....                                                                                             | 110 |
| Şekil 3.63. | 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup> C-NMR spektrumu ....                                                                                             | 111 |
| Şekil 3.64. | 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu ..... | 112 |

- Şekil 3.65. 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu ..... 113
- Şekil 3.66. 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu .... 114
- Şekil 3.67. 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu..... 115
- Şekil 3.68. 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu ..... 116
- Şekil 3.69. 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu ..... 117
- Şekil 3.70. N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu ..... 118
- Şekil 3.71. N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu..... 119
- Şekil 3.72. N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu..... 120
- Şekil 3.73. 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon ile 2-Klor-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu ..... 121
- Şekil 3.74. 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon bileşiğine ait  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu..... 122
- Şekil 3.75. 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu ..... 123
- Şekil 3.76. 2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon ile 2-Klor-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu ..... 124

## **Sayfa No**

|             |                                                                                                                                                                              |     |
|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Şekil 3.77. | 2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon bileşiğine ait $^1\text{H}$ -NMR spektrumu.....                                                          | 125 |
| Şekil 3.78. | 2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon bileşiğine ait $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu .....                                                      | 126 |
| Şekil 3.79. | 1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon ile 2-Klor-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu .....     | 127 |
| Şekil 3.80. | 1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon bileşiğine ait $^1\text{H}$ -NMR spektrumu.....                                                         | 128 |
| Şekil 3.81. | 1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon bileşiğine ait $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu .....                                                     | 129 |
| Şekil 3.82. | 1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)-2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon ile 2-Klor-1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)etanon bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu ..... | 130 |
| Şekil 3.83. | 1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)-2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon bileşiğine ait $^1\text{H}$ -NMR spektrumu .....                                                      | 131 |
| Şekil 3.84. | 1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)-2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon bileşiğine ait $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu .....                                                   | 132 |
| Şekil 3.85. | 2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)etanon ile 2-Klor-1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)etanon bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu .....  | 133 |
| Şekil 3.86. | 2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)etanon bileşiğine ait $^1\text{H}$ -NMR spektrumu.....                                                        | 134 |
| Şekil 3.87. | 2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)etanon bileşiğine ait $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu .....                                                    | 135 |
| Şekil 3.88. | 1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon ile 2-Klor-1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)etanon bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu ..... | 136 |

## **Sayfa No**

|              |                                                                                                                                                                                                                                         |     |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Şekil 3.89.  | 1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon bileşiğine ait $^1\text{H}$ -NMR spektrumu .....                                                                                                                 | 137 |
| Şekil 3.90.  | 1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon bileşiğine ait $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu .....                                                                                                              | 138 |
| Şekil 3.91.  | 0.1 M $\text{NaClO}_4$ 'lı ortamda tiyazol türevli ligandların Dioksan (Sol) ve DMSO (Sağ) ortamındaki genel titrasyon eğrileri. (Eğri I, ortamda fazla kalan $\text{HClO}_4$ çözeltisi, Eğri II, protonlanmış maddenin çözeltisi)..... | 139 |
| Şekil 3.92.  | 0.1 M $\text{NaClO}_4$ 'lı ortamda keton türevli ligandların Dioksan ve DMSO ortamındaki genel titrasyon eğrisi. (Eğri I, ortamda fazla kalan $\text{HClO}_4$ çözeltisi, Eğri II, protonlanmış maddenin çözeltisi).....                 | 140 |
| Şekil 3.93.  | Tetrazol bileşiğinin genel olarak protonlanma dengeleri .....                                                                                                                                                                           | 142 |
| Şekil 3.94.  | 1 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:3 mol oranlarında, $\text{L:3H}^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı                                                                         | 143 |
| Şekil 3.95.  | 4 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:3 mol oranlarında, $\text{L:3H}^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı                                                                         | 143 |
| Şekil 3.96.  | 7 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:3 mol oranlarında, $\text{L:3H}^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı                                                                         | 144 |
| Şekil 3.97.  | 10 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:4 mol oranlarında, $\text{L:4H}^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı                                                                        | 144 |
| Şekil 3.98.  | 13 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:3 mol oranlarında, $\text{L:3H}^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı                                                                        | 145 |
| Şekil 3.99.  | 16 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında, $\text{L:2H}^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı                                                                        | 145 |
| Şekil 3.100. | 17 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:3 mol oranlarında, $\text{L:3H}^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı                                                                        | 146 |
| Şekil 3.101. | 20 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:3 mol oranlarında, $\text{L:3H}^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı                                                                        | 146 |

- Şekil 3.102. 23 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı 147
- Şekil 3.103. 24 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı 147
- Şekil 3.104. 25 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı 148
- Şekil 3.105. 26 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı 148
- Şekil 3.106. 27 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı 149
- Şekil 3.107. 1 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı .. 149
- Şekil 3.108. 4 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı .. 150
- Şekil 3.109. 7 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı .. 150
- Şekil 3.110. 10 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı .. 151
- Şekil 3.111. 13 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı .. 151
- Şekil 3.112. 16 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı .. 152
- Şekil 3.113. 17 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı .. 152
- Şekil 3.114. 20 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı .. 153

## **Sayfa No**

|                                                                                                                                                                                             |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Şekil 3.115. 23 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında, L:2H <sup>+</sup> , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı ..             | 153 |
| Şekil 3.116. 24 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında, L:2H <sup>+</sup> , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı ..             | 154 |
| Şekil 3.117. 25 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:1 mol oranlarında, L:H <sup>+</sup> , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı ..              | 154 |
| Şekil 3.118. 26 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:1 mol oranlarında, L:H <sup>+</sup> , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı ..              | 155 |
| Şekil 3.119. 27 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:1 mol oranlarında, L:H <sup>+</sup> , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı ..              | 155 |
| Şekil 3.120. Test reaktiflerinin farklı konsantrasyonlarının MCF-7 hücre dizisine uygulandıktan 48 saat sonra WST-1 yöntemine göre hesaplanan % hücre canlılık değerlerinin grafiği .....   | 161 |
| Şekil 3.121. Test reaktiflerinin farklı konsantrasyonlarının MDA-231 hücre dizisine uygulandıktan 48 saat sonra WST-1 yöntemine göre hesaplanan % hücre canlılık değerlerinin grafiği ..... | 162 |
| Şekil 3.122. Test reaktiflerinin farklı konsantrasyonlarının MDA-435 hücre dizisine uygulandıktan 48 saat sonra WST-1 yöntemine göre hesaplanan % hücre canlılık değerlerinin grafiği ..... | 163 |
| Şekil 3.123. Sentezlenen 15 No'lu maddenin DSC grafiği .....                                                                                                                                | 165 |
| Şekil 3.124. Amit grubunun rezonans sınır formülleri .....                                                                                                                                  | 166 |
| Şekil 3.125. Amit grubuna ait amit-imit tautomeri formları.....                                                                                                                             | 167 |
| Şekil 3.126. Molekül içi hidrojen bağının genel bileşik üzerinde gösterimi .....                                                                                                            | 168 |
| Şekil 3.127. Nötr ve protonlanmış tetrazolün numaralandırılmış tautomeri türleri .....                                                                                                      | 170 |

**Sayfa No**

|                                                                                                                                                                                            |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Şekil 3.128. Tetrazollerin farklı protonlanma yolları [79].....                                                                                                                            | 171 |
| Şekil 3.129. 14 No'lu bileşiğin <i>P.Aeruginosa</i> bakterisi üzerindeki etkisinin petrideki görünümleri (İki paralel deney).....                                                          | 177 |
| Şekil 3.130. Ampisilin (Sol) ve Gentamisin (Sağ) referans antibiyotiklerinin negatif kontrol ile birlikte <i>P.Aeruginosa</i> bakterisi üzerindeki etkilerinin petrideki görünümleri ..... | 177 |

## TABLÖLAR LİSTESİ

### Sayfa No

|            |                                                                                                                                                     |     |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tablo 1.1. | Tiyazol türevli tetrazol bileşiklerinin adları ve formülleri .....                                                                                  | 3   |
| Tablo 1.2. | Keton türevli tetrazol bileşiklerinin adları ve formülleri.....                                                                                     | 4   |
| Tablo 2.1. | Sentezlerde kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firmalar ve saflık dereceleri .....                                                     | 30  |
| Tablo 2.2. | Titrasyonlarda kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firmalar ve saflık dereceleri.....                                                   | 31  |
| Tablo 2.3. | Biyolojik aktivite, antioksidan ve sitotoksikite çalışmalarında kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firmalar ve saflık dereceleri ..... | 31  |
| Tablo 2.4. | İndirgeme gücü tayininde ilave edilen reaktif miktarları .....                                                                                      | 44  |
| Tablo 2.5. | Serbest radikal giderme tayininde ilave edilen reaktif miktarları.....                                                                              | 45  |
| Tablo 2.6. | Metal şelatlama aktivitesi tayininde ilave edilen reaktif miktarları .....                                                                          | 45  |
| Tablo 3.1. | Bileşiklerin (Tiyazol türevli) % 60 Dioksan - % 40 Su ortamındaki protonasyon sabitleri .....                                                       | 140 |
| Tablo 3.2. | Bileşiklerinin (Keton türevli) % 60 Dioksan - % 40 Su ortamındaki protonasyon sabitleri .....                                                       | 141 |
| Tablo 3.3. | Bileşiklerinin (Tiyazol türevli) % 80 DMSO - % 20 Su ortamındaki protonasyon sabitleri .....                                                        | 141 |
| Tablo 3.4. | Bileşiklerinin (Keton türevli) % 80 DMSO-% 20 Su ortamındaki protonasyon sabitleri .....                                                            | 141 |
| Tablo 3.5. | Maddelerin antioksidan etkinliğinin “indirgeme gücü metodu” ile elde edilen absorban değerleri .....                                                | 156 |
| Tablo 3.6. | Maddelerin antioksidan etkinliğinin “serbest radikal giderme metodu” ile elde edilen yüzde aktivite değerleri .....                                 | 157 |

## **Sayfa No**

|             |                                                                                                                                                                     |     |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tablo 3.7.  | Maddelerin antioksidan etkinliğinin ‘‘metal şelatlama aktivite metodu’’ ile elde edilen yüzde aktivite değerleri .....                                              | 158 |
| Tablo 3.8.  | Bileşiklerinin biyolojik aktivite değerleri .....                                                                                                                   | 159 |
| Tablo 3.9.  | Test reaktiflerinin farklı konsantrasyonlarının MCF-7 hücre dizisine uygulandıktan 48 saat sonra WST-1 yöntemine göre hesaplanan % hücre canlılık değerleri .....   | 160 |
| Tablo 3.10. | Test reaktiflerinin farklı konsantrasyonlarının MDA-231 hücre dizisine uygulandıktan 48 saat sonra WST-1 yöntemine göre hesaplanan % hücre canlılık değerleri ..... | 161 |
| Tablo 3.11. | Test reaktiflerinin farklı konsantrasyonlarının MDA-435 hücre dizisine uygulandıktan 48 saat sonra WST-1 yöntemine göre hesaplanan % hücre canlılık değerleri ..... | 162 |
| Tablo 3.12. | Gaz fazında bulunan nötr ve protonlanmış tetrazolün tautomer türleri için elde edilen serbest bağıl enerji değerleri .....                                          | 169 |
| Tablo 3.13. | Gaz fazında bulunan nötr ve protonlanmış tetrazolün tautomer türleri için elde edilen dipol moment değerleri .....                                                  | 169 |
| Tablo 3.14. | Gaz fazında bulunan nötr ve protonlanmış tetrazol türlerindeki 1,2-hidrojen yer değişimi için elde edilen serbest aktivasyon enerji değerleri .....                 | 170 |
| Tablo 3.15. | B3LYP/6-311++g(d,p) programı ile hesaplanan nötr ve protonlanmış tetrazolün tautomer türleri için elde edilen serbest solvatasyon enerji değerleri (kcal/mol) ..... | 173 |

## SEMBOLLER VE KISALTMALAR LİSTESİ

|                    |                                                                              |
|--------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| <b>A</b>           | : Absorbans                                                                  |
| $\lambda$          | : Dalga boyu (nm)                                                            |
| $\bar{\nu}$        | : Dalga sayısı ( $\text{cm}^{-1}$ )                                          |
| $\mu$              | : İyonik şiddet                                                              |
| $\emptyset$        | : Eşdeğerlik noktasından önce Gran fonksiyonu                                |
| $\emptyset'$       | : Eşdeğerlik noktasından sonra Gran fonksiyonu                               |
| <b>Sfit</b>        | : BEST bilgisayar programında kullanılan standart sapma                      |
| $E_{\text{hücre}}$ | : Hücre potansiyeli, mV                                                      |
| $E_{\text{hücre}}$ | : Hücre kalibrasyon sabiti                                                   |
| $E_j$              | : Sıvı temas potansiyeli                                                     |
| <b>F</b>           | : Faraday                                                                    |
| $H_t$              | : Toplam hidrojen iyonu konsantrasyonu                                       |
| $[X^{\pm n}]$      | : İyon molar konsantrasyonu                                                  |
| <b>k</b>           | : Nerns't faktörü                                                            |
| $K_{\text{su}}$    | : Suyun stokiometrik iyonlar çarpımı                                         |
| $L_t$              | : Ligandın analitik konsantrasyonu                                           |
| <b>pH</b>          | : Hidrojen iyonu konsantrasyonunun eksi logaritması                          |
| <b>r.t.</b>        | : Oda sıcaklığı                                                              |
| <b>IR</b>          | : Infrared                                                                   |
| <b>NMR</b>         | : Nükleer magnetik rezonans                                                  |
| <b>UV</b>          | : Ultraviyole                                                                |
| <b>DSC</b>         | : Diferansiyel taramalı kalorimetri                                          |
| <b>MIK</b>         | : Minimum inhibitör konsantrasyonu                                           |
| <b>ROT</b>         | : Reaktif oksijen türleri                                                    |
| <b>DPPH</b>        | : 1,1-Difenil-2-pikril-hidrazil                                              |
| <b>BHT</b>         | : Butillenmiş hidroksi toluen                                                |
| <b>BHA</b>         | : Butillenmiş hidroksi anisol                                                |
| <b>EDTA</b>        | : Etilen diammin tetra asetik asit                                           |
| <b>TCA</b>         | : Trikloroasetik asit                                                        |
| <b>Ferrozin</b>    | : 3-(2-Piridil)-5,6-difenil-1,2,4-triazin-4',4''-disülfonik asit sodyum tuzu |
| <b>MTT</b>         | : 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio bromid                   |
| <b>WST-1</b>       | : 4-[3-(4-iyotfenil)-2-(4-nitrofenil)-2H-5-tetrazolio]-1,3- benzendisülfonat |
| <b>TMS</b>         | : Tetrametilsilan                                                            |
| <b>DMSO</b>        | : Dimetilsülfoksit                                                           |
| $\text{CDCl}_3$    | : Kloroform- $d_6$                                                           |
| <b>THF</b>         | : Tetrahidrofuran                                                            |

## 1. GİRİŞ

Bir canlının var olabilmesi, doğada bulunan gerekli bileşenlerinin bir araya gelerek doğumundan ölümüne kadar ve öldükten sonra da bozunup yeniden doğaya dönmesine kadar olan tüm süreç organik reaksiyonlar dizisidir [1].

İnsanoğlu hayatı anlamlaştırmak ve geliştirmek için, insanlık tarihinin en başından beri her zaman yeni girişimler denemiştir. Hizmetine sunulan bu süreç içerisinde, ateşin bulunmasından insanı klonlamaya kadar birtakım imkânları insanoğlunun hayatına sunmuştur. Günümüzde ise çoğu araştırmacı yeni bileşikler sentezleyip, sentezlenen bu bileşiklerin biyolojik aktivitelerini tayin etmek için araştırmalar yapmışlardır. Özellikle organik kimyada önemli olan heterohalkalı bileşikler üzerine oldukça geniş araştırmalar yapılmış ve yapılmaya devam edilmektedir [1].

Tetrazol halkasının genel molekül yapısı  şeklinde olup, tetrazoller bir karbon atomu, dört azot atomu ve iki doymamışlık içeren beşli halka yapısında, organik heterosiklik bileşiklerdir.

Tetrazol ilk olarak 1885 yılında J.A. Bladin tarafından siyanojen ve fenilhidrazinin reaksiyonu sonucu, kondensasyon ürünü olan disiyanofenilhidrazin bileşiğinin incelenmesi sırasında bulunmuştur. Nitröz asit ile bu ürünün reaksiyonu sonucu oluşan yeni bileşik 5-siyano-2-feniltetrazol olarak adlandırıldı [2]. Bladin, bu çalışmasını sentezlenen bileşiğinin parçalanması ile oluşan tetrazolü karakterize ederek desteklemiştir [2, 3].

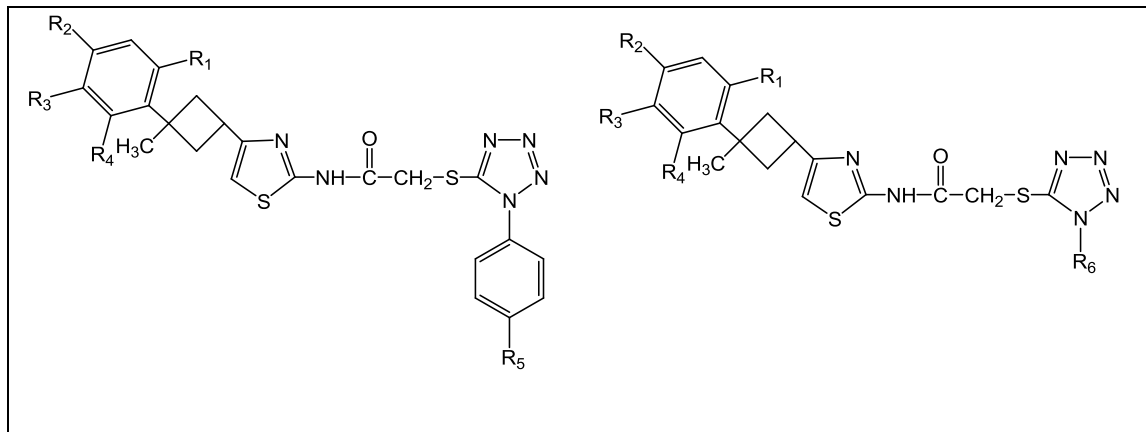
Tetrazol bileşiklerinin sistematik incelenmesi 20. yüzyılın ortalarından sonra başlamıştır. Bu alanda yapılan çalışmalar, Amerikalı ve Avrupalı bilim adamları tarafından bilinmekteydi fakat kimyasal özelliklerine ait önemli çalışmaları ise Rus bilim adamları tarafından gerçekleştirilmiştir.

Bu tez çalışmasının hedefleri şöyle sıralanabilir:

- Tablo 1.1** ve **Tablo 1.2**'de verilen bileşiklerin sentezi, IR,  $^1\text{H}$ -NMR, ve  $^{13}\text{C}$ -NMR gibi enstrümantal analiz yöntemleri ile karakterizasyonu,
- Sentezlenen bileşiklerin protonasyon sabitlerinin % 60 dioksan - % 40 su ve % 80 DMSO - % 20 su ortamında,  $25 \pm 0.1$  °C'ta, argon atmosferinde ve  $\mu = 0.1$  M sabit iyonik şiddette potansiyometrik metotla tayin edilmesi,

- c) Bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin, *E.Coli* ATCC 25922, *P.Aeruginosa* ATCC 27853, *E.Faecalis* ATCC 29212 ve *S.Aureus* ATCC 29213 bakterileri üzerinde denenmesi,
- d) Bileşiklerin antioksidan etkilerinin uygun metotlar ve standart antioksidan maddelerin seçimiyle incelenmesi,
- e) Seçilmiş bazı numuneler için sitotoksik etkilerinin incelenmesidir.

**Tablo 1.1.** Tiyazol türevli tetrazol bileşiklerinin adları ve formülleri

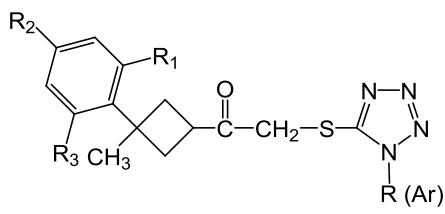


| Bileşik No | R <sub>1</sub>  | R <sub>2</sub>  | R <sub>3</sub>  | R <sub>4</sub>  | R <sub>5</sub>   | Molekül adı                                                                                                    |
|------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1          | H               | H               | H               | H               | F                | 2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid                 |
| 2          | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | H               | CH <sub>3</sub> | F                | 2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid               |
| 3          | CH <sub>3</sub> | H               | CH <sub>3</sub> | H               | F                | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid    |
| 4          | H               | H               | H               | H               | I                | 2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid                 |
| 5          | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | H               | CH <sub>3</sub> | I                | 2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid               |
| 6          | CH <sub>3</sub> | H               | CH <sub>3</sub> | H               | I                | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid    |
| 7          | H               | H               | H               | H               | CH <sub>3</sub>  | N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid                       |
| 8          | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | H               | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub>  | N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid                     |
| 9          | CH <sub>3</sub> | H               | CH <sub>3</sub> | H               | CH <sub>3</sub>  | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid          |
| 10         | H               | H               | H               | H               | OCH <sub>3</sub> | 2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid              |
| 11         | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | H               | CH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub> | N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid            |
| 12         | CH <sub>3</sub> | H               | CH <sub>3</sub> | H               | OCH <sub>3</sub> | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid |
| 13         | H               | H               | H               | H               | NO <sub>2</sub>  | N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid                |
| 14         | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | H               | CH <sub>3</sub> | NO <sub>2</sub>  | N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid              |
| 15         | CH <sub>3</sub> | H               | CH <sub>3</sub> | H               | NO <sub>2</sub>  | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid   |
| 16         | CH <sub>3</sub> | H               | CH <sub>3</sub> | H               | H                | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid            |

**Tablo 1.1.**'in devamı aşağıda verilmiştir.

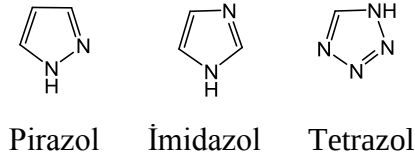
| Bileşik No | R <sub>1</sub>  | R <sub>2</sub>  | R <sub>3</sub>  | R <sub>4</sub>  | R <sub>6</sub>                                | Molekül adı                                                                                               |
|------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 17         | H               | H               | H               | H               | CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> | 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid                   |
| 18         | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | H               | CH <sub>3</sub> | CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> | 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid                 |
| 19         | CH <sub>3</sub> | H               | CH <sub>3</sub> | H               | CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> | 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid      |
| 20         | H               | H               | H               | H               | C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>                | 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid              |
| 21         | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | H               | CH <sub>3</sub> | C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>                | 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid            |
| 22         | CH <sub>3</sub> | H               | CH <sub>3</sub> | H               | C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>                | 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid |
| 23         | H               | H               | H               | H               | CH <sub>3</sub>                               | 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid                    |
| 24         | CH <sub>3</sub> | H               | CH <sub>3</sub> | H               | CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>               | N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid        |

**Tablo 1.2.** Keton türevli tetrazol bileşiklerinin adları ve formülleri

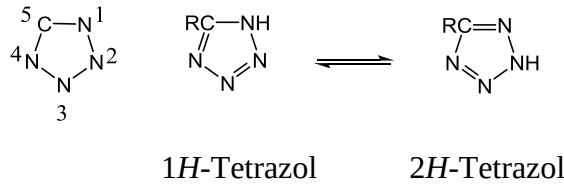
|  |                 |                 |                 |                                 |                                                                        |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|---------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| Bileşik No                                                                           | R <sub>1</sub>  | R <sub>2</sub>  | R <sub>3</sub>  | R (Ar)                          | Molekül adı                                                            |
| 25                                                                                   | H               | H               | H               | CH <sub>3</sub>                 | 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon   |
| 26                                                                                   | H               | H               | H               | CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> | 2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon    |
| 27                                                                                   | H               | H               | H               | C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>   | 1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon   |
| 28                                                                                   | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub>                 | 1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)-2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon |
| 29                                                                                   | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> | 2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)etanon  |
| 30                                                                                   | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>   | 1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon |

## 1.1. Genel Yapı ve Türevleri

Azoller, en az iki azot atomu ve yeteri kadar karbon atomundan oluşmuş, doymamışlık derecesi iki olan beşli halka yapısında, organik heterosiklik bileşiklerdir.



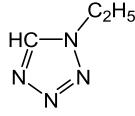
Tetrazoller başlıca 1H-Tetrazol ve 2H-Tetrazol olarak belirtilir ve aşağıda gösterildiği gibi saat yönünün tersine numaralandırılırlar [3, 4].



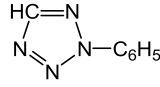
N-süstitüe olmamış tetrazoller hem 1H- ve hem de 2H- tautomerik yapılarında olup çözelti ortamında bu iki hal dengededir. Yüksek polariteye sahip çözücüler ve kolay elektron veren süstitüentler, genellikle 1H-Tetrazol fraksiyonunu arttıırırlar. DMSO'de tetrazol çözeltilsinin denge karışımında % 90–99 oranında 1H-tetrazol tautomerini içerdği, 5-siyano ve 5-triflorometiltetrazol çözeltilerinin ise büyük miktarda 2H-tautomerini içerdği, <sup>15</sup>N NMR spektroskopisi yöntemi ile belirlenmiştir. X-ışınları sonuçlarına göre ise katı halde 1H-tautomeri görülürken, sıvı halde 1H-ve 2H arasında, süstitüente bağlı olarak bir dengenin var olduğu bulunmuştur. Gaz fazında ise, hem yüksek güçlü fotoelektron spektroskopisi hem de teorik çalışmaların sonuçlarına göre 2H-tautomerinin daha fazla bulunduğu ispatlanmıştır [5, 6, 7].

Tetrazol, monosüstitüe türevleri üç, disüstitüe türevleri ise iki farklı yapıya sahiptir [2].

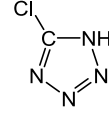
## Monosüstitüe Tetrazoller



1-Eiltetrazol

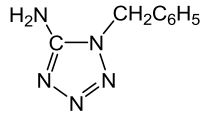


2-Feniltetrazol

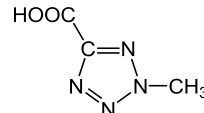


5-Klorotetrazol

## Disüstitüe Tetrazoller



1-Benzil-5-aminotetrazol



2-Metiltetrazol-5-karboksilikasit

## 1.2. Tetrazol Sentez Yöntemleri

Tetrazol türevlerinin sentezi için bir çok yöntem olmasına rağmen bunları sadece dört grupta toplamak mümkündür [2, 3, 8, 9].



I



II



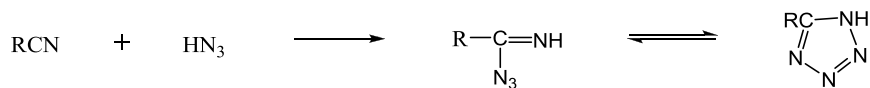
III



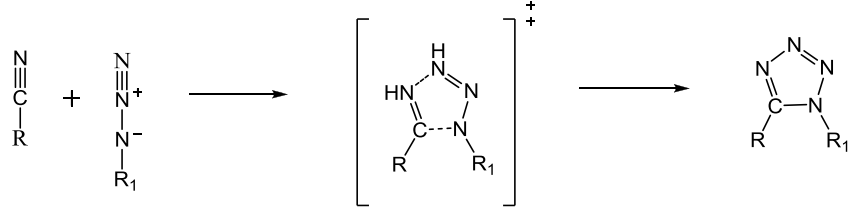
IV

### 1.2.1. 1,2 Bağ Oluşumu (1,2 ve 4,5 Bağları)

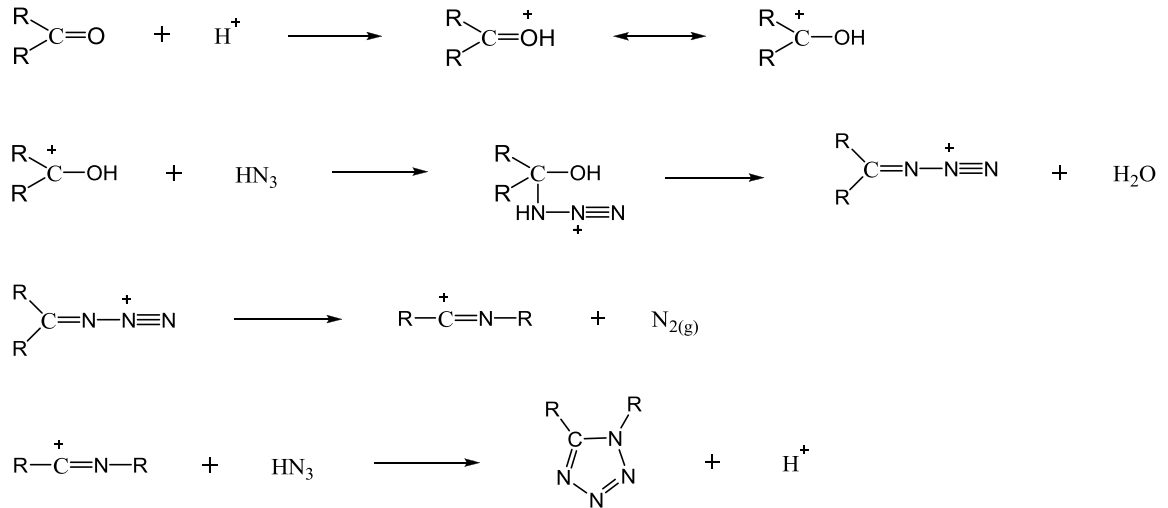
Hidrozoik asit ya da azür olarak bilinen yapılar, karbon-azot doymamış bağı içeren bileşiklere (siyanürler, siyanatlar, tiyosiyanatlar ve karbodiimitler) katılır [2, 10]. Tepkime ara ürününün imit azür yapısında olduğu düşünülmektedir. Bu yöntemle, 5-alkiltetrazoller yüksek verimle sentezlenirler. Ancak, reaksiyonun tamamlanması birkaç gün gerektirebilir. Hidrozoik asit yerine sodyum azür ya da amonyum azür kullanılarak reaksiyon süresi kısaltılabilir [2, 3, 7].



Organik azür bileşikleri ve RCN (nitriller) kullanıldığında, [2+3] katılması ile alkil tetrazoller oluşur [11].

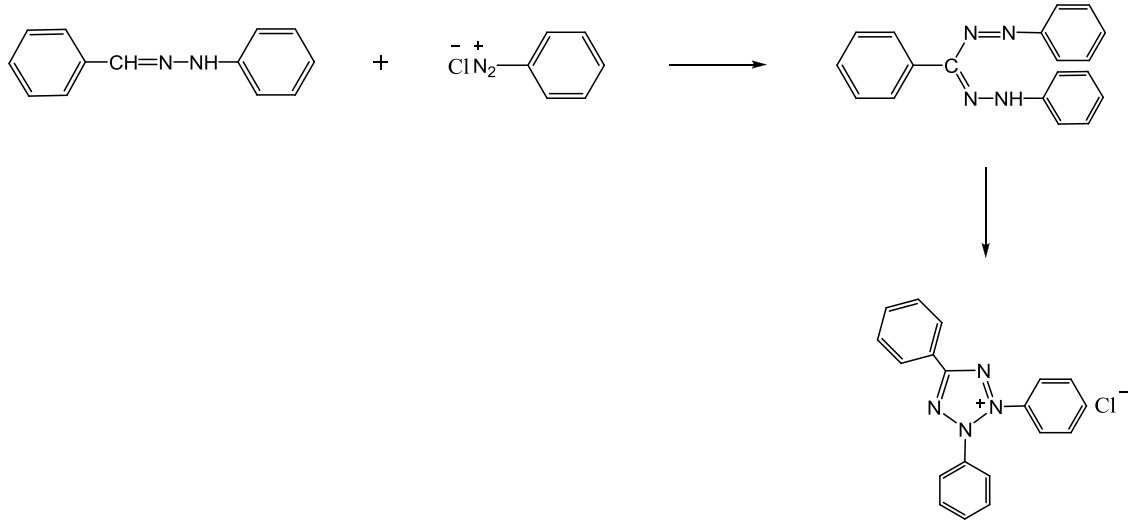


Tetrazol oluşumu için en önemli yöntemlerden biri de Schmidt reaksiyonudur. Bu reaksiyon, kuvvetli asitler varlığında ketonlarla azürler arasında gerçekleşir [2].



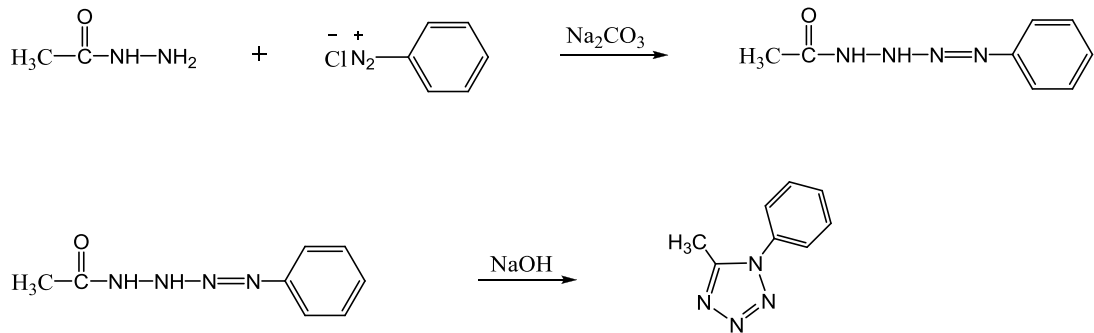
### 1.2.2. 2,3 Bağı Oluşumu

Formazanlar, diazonyum tuzları ile aldehit arilhidrazonların reaksiyonu sonucu meydana gelir. Bunlar oksidatif halka kapanması ile de tetrazolleri oluşturur [2, 3, 8].



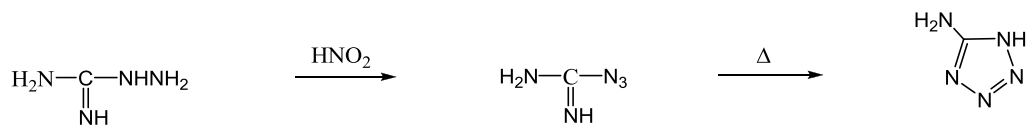
### 1.2.3. 2,3 ve 4,5 Bağı Oluşumu

Açılhidrazinlerle diazonyum bileşiklerinin bazik ortamdaki reaksiyonları, 1,5-disüstitüe tetrazol yapısında, 2,3 ve 4,5 bağlarını oluşturur [2, 3].

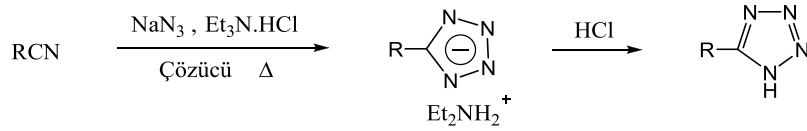


### 1.2.4. 2,3 ve 3,4 Bağı Oluşumu

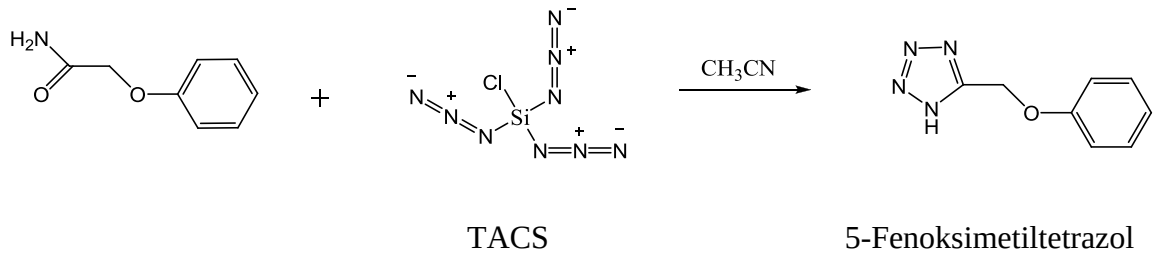
Aminoguanidin ile nitroz asidin reaksiyonu 2,3 ve 3,4 bağlarını oluşturur [2, 3, 8].



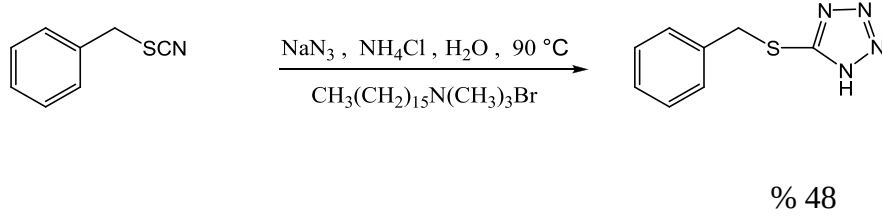
1958 yılında Robert Lofquist, amonyum klorür ve sodyum azürden yola çıkarak hidrozoik asit oluşumu ile 5-süstitüe tetrazolleri kolay bir şekilde sentezlemiştir [12].



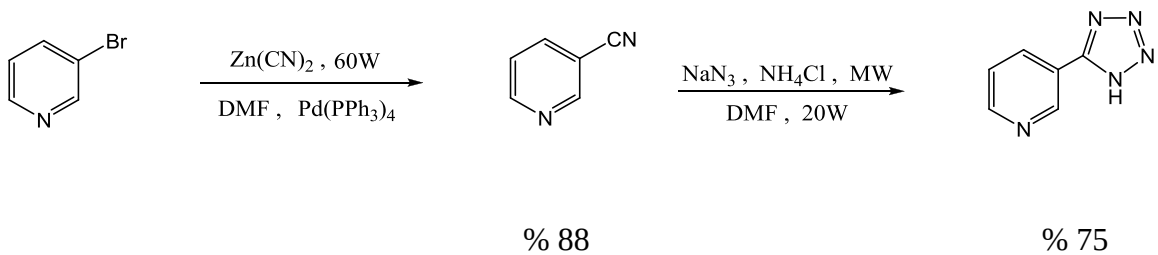
1997 yılında Abdel-Aziz ve Saad Elmorsy, triazidoklorosilan'ı (TACS) azür transfer maddesi olarak kullanmış ve primer amitlerden de yola çıkarak 5-süstitüe tetrazollerini sentezlemişlerdir.[13].



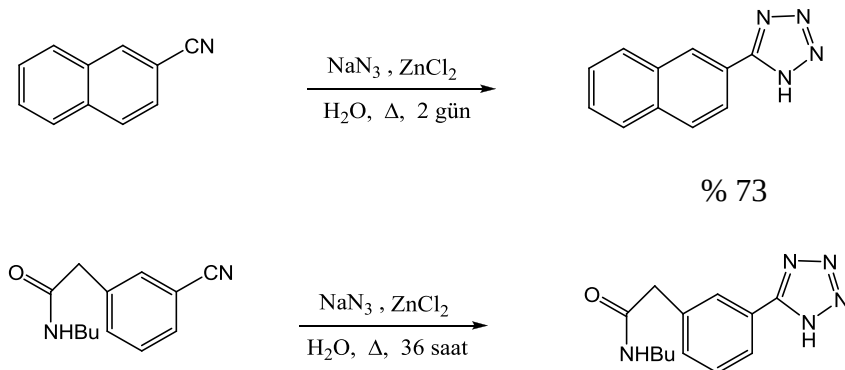
1998 yılında Jursic ve LeBlanc yaptıkları çalışmada, faz transfer katalizörü kullanarak, benziltiyosiyanattan 5-benziltiyotetrazolü % 48 verimle sentezlemişlerdir [12].



Son dönmelerde, tetrazollerin siyano gruplarından sentezi oldukça dikkat çekmekte olup yeni sentez yöntemleri ardı ardına ortaya çıkmıştır. Fakat tetrazoller kimyasal sınıfın önemli bir bölümünü oluşturmalarına rağmen, tetrazollerin bu yöntemle sentezi oldukça sınırlı olup bazı dezavantajları vardır. Genellikle reaksiyonlar uzun sürmekte ve tamamlanmaları yüksek sıcaklıklar gerektirmektedir. Ayrıca kullanılacak çözücü ve reaktif çeşidi de çok az olduğundan, azür kaynaklarını ve çözücülerini seçmek zordur. Bu dezavantajları gidermek için sarf edilen gayretler gün geçtikçe artmaktadır [14, 10].



2001 yılında Sharpless ve Demko, yaptıkları çalışmada, çözücü olarak suyun kullanıldığı ortamda nitrillerden yola çıkarak tetrazol türevlerini sentezlemişlerdir [15].



### 1.3. Tetrazollerin Kimyasal Özellikleri

Bir karbon ve dört azot atomuna sahip olan tetrazol halkası oldukça kararlı bir yapıya sahiptir ve bu kararlılığın gösterilmesinde, 5-siyano-2-feniltetrazol'un asidik, bazık, yükseltgen ve indirgen maddelere karşı tetrazole parçalanması sırasındaki gösterdiği direnç temel alınmıştır. [2, 3]. Tetrazol için hesaplanan rezonans enerjisi diğer heterohalkalardan oldukça yüksektir. Tetrazol için bu enerji 230-260 kJ/mol, imidazol için 60 kJ/mol, pirazol için 122 kJ/mol'dür. Tetrazol molekülü düzlemsel olup karbondan bir, pirol azotundan iki, piridin azotlarının her birinden birer elektron gelmek üzere, toplam altı elektrona sahip aromatik bir bileşiktir [3]. Tetrazol halkasının  $\pi$ -elektron sistemi ve endosiklik azot atomu üzerinde ortaklaşmamış elektron çiftinin bulunmasından dolayı çeşitli elektrofilik maddelerle kolayca reaksiyona girer [7].

Tetrazol zayıf asidik özellik gösterir ve asitliği asetik asid'e yakındır ( $\text{pK}_a = 4,76$ ). 5-Monosübstüte tetrazollerin asitliği, 5- konumundaki sübstitüentin yapısından çok etkilendiğinden, tetrazolün asitliği 5- konumundaki elektron çekici grup varlığında artar, elektron verici grup olduğunda ise azalır [2, 5, 16].

Bazı tetrazoller bazık özellik de gösterir ancak bazlık gücü anilininkinden daha zayıftır [2, 5].

#### 1.4. Tetrazollerin Fiziksel Özellikleri

Pek çok tetrazol bileşiği katıdır. Tetrazol grubunun en basit üyesi olan sübstitüe olmamış tetrazol, karakteristik kokulu ve sarı renkli bir katıdır. Suda ve alkolde kolayca, eter ve benzende ise az çözünür. Tetrazolün erime noktası 156 °C'dir. 2-Monosübstitüe tetrazollerin kaynama ve erime noktaları 1-monosübstitüe türevlerine göre genellikle daha düşüktür. 5-Monosübstitüe tetrazoller ise hidrojen bağı yaptığı için 1- veya 2-monosübstitüe tetrazollerden genellikle daha yüksek sıcaklıkta erir ve kaynarlar [2, 17].

#### 1.5. Tetrazollerin Biyolojik Özellikleri

Tetrazol halkaları, biyolojik aktif olan karboksilik asitler gibi davranırlar [18].

Kararlılıktan dolayı yeni geliştirilen ilaçlarda, karboksilli asit grupları yerine tetrazol grupları tercih edilmektedir. Buna bağlı olarak son dönemlerde tetrazol türevli bileşikler antikanser, antimikrobiyal, antihipertansif ve antialerjik bileşiklerin sentezlerinde tercih edilmektedirler [19].

1,5-Disübstitüe tetrazollerin alkil, sikloalkil, aril, amino ve amit grubu içeren türleri uyarıcı veya yatıştırıcı madde etkisi gösterirken, bazı 5-monosübstitüe tetrazoller ise ağrı kesici ve sakinleştirici etki gösterir [2].

Tetrazoller farmakolojik alanda yapılan araştırmalarda da oldukça önemlidir. Özellikle N-sübstitüe olmamış tetrazoller (5-sübstitüe-1H-tetrazoller) son yıllarda ilaç yapımında oldukça sık kullanılmaya başlanmıştır [12]. Literatürlerde tetrazol içeren ilaç maddelerinin büyük çoğunluğunu aril tetrazollerin oluşturduğu ve bu yapıların da büyük bir kısmının bifeniltetrazol yapısı içerdiği anlaşılmıştır.

#### 1.6. Protonasyon Dengeleri

Çözeltideki yüklü veya yüksüz bir baz'a, bir veya daha fazla proton bağlanması sonucu oluşan dengelerin denge sabitlerine *protonasyon sabitleri* adı verilir. Protonasyon sabitleri, türlerin aktivite oranları cinsinden yazılırsa termodinamik, türlerin konsantrasyonu oranları cinsinden yazılırsa stokiyometrik, türlerden bazıları aktivite bazıları da konsantrasyon cinsinden yazılırsa karışık sabitler denir. Bu sabitler, bir A bazına J tane proton

katılmasıyla ilgili dengeler incelendiğinde aşağıdaki denge reaksiyonlarından söz edilebilir.



.

.

.



Bu denge reaksiyonlarına ait protonasyon sabitleri,

$$K_1 = \{HA\}/\{H\}.\{A\} \quad (1.4)$$

$$K_2 = \{H_2A\}/\{H\}.\{HA\} \quad (1.5)$$

.

.

.

$$K_j = \{H_jA\}/\{H\}.\{H_{j-1}A\} \quad (1.6)$$

stokiyometrik sabitler,

$$K_1 = [HA]/[H].[A] \quad (1.7)$$

$$K_2 = [H_2A]/[H].[HA] \quad (1.8)$$

.

.

.

$$K_j = [H_jA]/[H].[H_{j-1}A] \quad (1.9)$$

karışık sabitler ise,

$$K_1 = [HA]/\{H\}.[A] \quad (1.10)$$

$$K_2 = [H_2A]/\{H\}.[HA] \quad (1.11)$$

$$K_j = [H_jA]/\{H\}.[H_{j-1}A] \quad (1.12)$$

şeklinde gösterilebilir.

Yukarıdaki eşitliklerde,  $[ ]$  konsantrasyonları,  $\{ \}$  aktiviteleri göstermektedir. Eşitliklerde kolaylık olması açısından türlerin yükleri gösterilmemiştir.

Asit-baz dengelerini incelemek ve protonasyon sabitlerini tayin etmek için çözeltideki denge durumunu bozmadan, türlerin aktivitelerini, konsantrasyonlarını veya bütün bir çözeltinin herhangi bir özelliğini ölçen fiziksel metotlar kullanılır.

### **1.6.1. Denge Sabitlerinin Tayininde Kullanılan Metotlar**

Denge sabitlerinin belirlenmesinde temelde iki yaklaşım kullanılır. Kinetik yaklaşım, reaksiyon hız sabitlerinin belirlenmesine dayanırken denge yaklaşımı ise denge durumunu bozmaksızın mevcut bütün türlerin serbest konsantrasyonlarını doğru ve kesin bir şekilde belirlemeye dayanır. Denge yaklaşımına dayalı olarak geliştirilmiş metotlar iki grupta toplanabilir.

#### **1.6.1.1. Birinci Grup Metotlar**

Çözeltide söz konusu denge reaksiyonuna iştirak eden türlerden bir veya birkaçının denge konsantrasyonunun doğrudan tayinine dayanan metotlardır. Bunlar da kendi aralarında üçe ayrılır.

##### **1.6.1.1.1. Heterojen Denge Çalışmalarına Dayanan Metotlar**

Farklı iki fazda bulunan türlerin konsantrasyonlarının belirlenmesine dayanan metotlardır. Çözünürlük ve dağılma metotları olarak ikiye ayrılır. Çözünürlük metotları, kompleks oluşturan maddelerin yanında çok az çözünen bir tuzun tayiniyle ilgilidir. Dağılma metotları ise iyonların birbiri ile karışmayan iki çözücü arasındaki dağılımı ile ilgilidir [20, 42].

#### **1.6.1.1.2. Elektrometrik Metotlar**

Elektrotlar arasındaki gerilimin değişiminden faydalanılarak çözeltideki türlerin konsantrasyonunun belirlenmesine dayanan metotlardır. Bu tip metotlar potansiyometrik ve polarografik metotlardır. Bu çalışmanın konusu olan potansiyometrik metotlar iyonik türlerin denge konsantrasyonunun uygun bir elektrot ile tayinine dayanır.

#### **1.6.1.1.3. Diğer Metotlar**

Renk değişiminden faydalanılarak konsantrasyonun belirlenmesine dayanan metotlardır. Kolorimetrik metot olarak da bilinirler.

#### **1.6.1.2. İkinci Grup Metotlar**

Bu gruptaki metotlar, iyonik türlerin oluşmasıyla sistemin fizikokimyasal özelliklerinde meydana gelen değişikliklerin ölçülmesine dayanan metotlardır. Spektrofotometrik, kondüktometrik, kriyoskopik, ebüliyoskopik ve kalorimetrik metotlar bu grup metotlar arasında sayılabilir [20, 42].

#### **1.6.2. Potansiyometrik Metot**

Ortamdaki türlerin konsantrasyonuna bağlı olarak, indikatör ve referans elektrotlar arasında oluşan potansiyelin ölçümüne dayanan metotlara potansiyometrik metot ya da potansiyometri adı verilir. Potansiyometrik ölçümlerde elektrotlar arasındaki potansiyel farkının doğmasına temel iki tip olay neden olur [21, 42].

Galvanik hücrelerin potansiyellerinin ölçülmesi, 19. yy'ın sonlarında metal ve hidrojen iyonlarının aktivitelerini tayin etmek için ve bazı metal iyonu ve komplekslerinin araştırılmasında kullanılmıştır [22, 42]. Potansiyometrik metot, o zamandan beri çözelti

kimyasının çeşitli dallarında yaygın olarak kullanılmaktadır. İyonlaşma denge ölçümlerinde kullanılabilecek en kolay ve en başarılı yöntemlerden biri potansiyometridir

- 1) Yükseltgenme-indirgenme dengeleri,
- 2) Membranın iki tarafında konsantrasyon farkının oluşumu.

Bilindiği gibi asit-baz reaksiyonları proton transfer reaksiyonlarıdır. Eğer kullanılan elektrot  $H^+$  iyonu seçici bir elektrot olursa, potansiyometriyi kullanarak denge sabiti hesaplanabilir.

Yükseltgenme-indirgenme dengesinde Nerns't eşitliği yazılacak olursa;



$$E = T_{Eo} + RT / nF \ln ( (X)^x (Y)^y / (P)^p (Q)^q ) \quad (1.14)$$

elde edilir. Burada  $T_{Eo}$ , bütün türler birim aktivitede olduğunda oluşan potansiyeldir ve *standart elektrot potansiyeli* adını alır. Eğer ortamın iyonik şiddeti sabit tutulacak olursa, Nerns't eşitliği şu hali alır.

$$E = E_o + \frac{RT}{nF} \ln \left( \frac{[X]^x [Y]^y}{[P]^p [Q]^q} \right) \quad (1.15)$$

Burada  $E_o$ , formal elektrot potansiyelidir ve aşağıdaki şekilde verilir:

$$E_o = T_{Eo} + RT / nF \ln ( \gamma X^x \gamma Y^y / \gamma P^p \gamma Q^q ) \quad (1.16)$$

**1.15** Eşitliğinden anlaşılacağı gibi potansiyometrik yöntemle hücrenin potansiyeli ölçülerek denge sabiti hesaplanabilir. Potansiyel farkının doğmasına neden olan diğer bir olay da membranın iki tarafında konsantrasyon farkının oluşmasıdır. Titrasyon için uygun tipik potansiyometrik hücre aşağıdaki gibi gösterilmiştir.

Referans yarı hücre/tuz köprüsü/deney çözeltisi/indikatör elektrot

Aktivite katsayılarının sabit sayılacağı varsayılarak Nerns't eşitliği konsantrasyon türleri cinsinden ifade edildiğinde hücrenin  $E_{mk}$ 'i şöyle yazılır.

$$E_{hücre} = E_i - E_{ref.} + E_J + E_s \quad (1.17)$$

Burada  $E_i$  ve  $E_{ref.}$  sırasıyla indikatör elektrot ve referans elektrodu bulunduran hücrenin potansiyelidir.  $E_j$  ve  $E_s$ , sırasıyla J ve s temaslarındaki sıvı temas potansiyelleridir. Pek çok indikatör elektrot tek bir S türünün konsantrasyonuna aşağıdaki bağıntıya göre cevap verir.

$$E_i = E_i^0 + \lambda_s RTF^{-1} \ln[s] \quad (1.18)$$

Burada  $E_i^0$  ve  $\lambda_s$  sabitlerdir.  $E_{ref.}$  ve  $E_j$  değerleri deney çözeltisindeki değişimlerden etkilenmeyeceğinden hücrenin Emk'ı aşağıdaki şekilde yazılabilir.

$$E_{hücre} = E_{hücre}^0 + \lambda_s RTF^{-1} \ln[s] + E_j \quad (1.19)$$

Buradaki  $E_{hücre}^0$  sabit ve şöyledir.

$$E_{hücre}^0 = E_i - E_{ref.} + E_j \quad (1.20)$$

$E_i^0$  ve  $E_j$  değerleri,  $E_j$ 'nin sabit kalması şartıyla aşağıdaki şekilde yazılabilir.

$$E_{hücre}^0 = E_{hücre}^0 + E_j \quad (1.21)$$

Bu şart geçerli olduğunda eşitlik 2.19 şöyle olur.

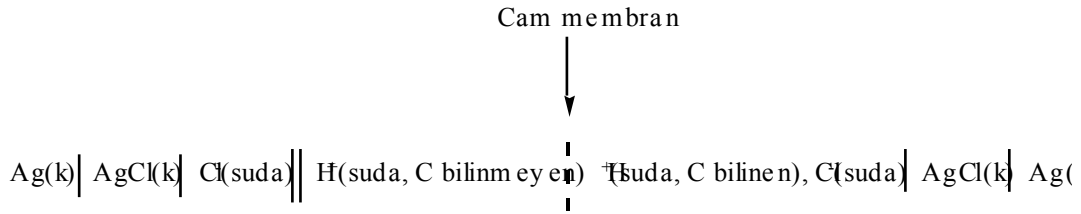
$$E_{hücre} = E_{hücre}^0 + \lambda_s RTF^{-1} \ln[s] \quad (1.22)$$

Görüleceği gibi hücrenin potansiyeli ölçülerek [S] değeri eşitlik (1.22)'den kolayca hesaplanabilir.

#### 1.6.2.1. Cam Elektrot

[H] tayin etmek için hidrojen elektrot kullanılabilir. Fakat bu elektrodun gerek hazırlanması ve gerekse kullanımı zor olduğu için son yıllarda  $H^+$  iyonu seçimine dayanan cam elektrot kullanılmaktadır.

Ticari olarak pek çok tipte cam elektrot mevcuttur. Bunların çoğunda  $H^+$  iyonu seçici cam membran, referans hücreyle temas eden  $H^+$  iyonu aktivitesi sabit çözeltiyi içeren bir tüpün ucuna yerleştirilmiştir. Deneylerde kullanılan kombine cam elektrotun şematik gösterimi aşağıda verilmiştir.



Burada potansiyelin değişmesinin nedeni; membranın iki tarafındaki konsantrasyonunun farklı olmasıdır. Özel yapılmış membranın yapısında  $\text{Na}_2\text{O}$  ve  $\text{SiO}_2$  bulunur. Silikatın içerisinde sodyum iyonları  $-\text{SiO}-\text{Na}^+$  şeklindedir. Membran mutlaka su içinde saklanmalıdır. Çünkü yüzeyde hidrat tabakasının oluşması gerekir. Membrandaki  $\text{Na}^+$  ile çözeltideki  $\text{H}^+$  iyonu yer değiştirir. Bu yer değiştirme temas halinde bulunduğu çözeltideki  $\text{H}^+$  konsantrasyonuna bağlıdır. Membranın iki tarafındaki  $[\text{H}]$  birbirinden farklı olacağından, bir potansiyel meydana gelir. Fakat şu unutulmamalıdır ki, membran ne kadar iyi olursa olsun, iki yüzü birbirinin aynısı olamaz. Bu nedenle asimetri potansiyeli dediğimiz bir potansiyel meydana gelir. Bu potansiyelin yanında tuz köprüsünden dolayı sıvı temas potansiyeli de oluşur. Asimetri ve sıvı temas potansiyeli göz önünde bulundurularak, cam elektrotla pH ölçümünü veren Nernst eşitliğini şu şekilde yazabiliriz:

$$E = \text{sabit} + RTF^{-1} \ln H + E_J \quad (1.23)$$

$$[\text{H}] = \gamma_{\text{H}}[\text{H}] \quad (1.24)$$

$$E = \text{sabit} + RTF^{-1} \ln \gamma_{\text{H}} + RTF^{-1} \ln [\text{H}] + E_J \quad (1.25)$$

$$E = E^0 + RTF^{-1} \ln [\text{H}] \quad (1.26)$$

$$E = E^0 - k\text{pH} \quad (1.27)$$

Burada  $E^0$ ; sıvı temas potansiyelini, aktivite sabitinden gelen büyüklüğü, asimetri potansiyelini, iç çözeltinin aktivitesinden gelen büyüklüğü içeren bir sabit,  $k$  ise  $RTF$  ve  $\ln 10$ 'u ihtiva eder. Bu sabit, elektrodun kalibrasyonu ile bulunur. Bunun için  $C_A$  konsantrasyonlu  $V_A$  hacimli kuvvetli asit,  $C_B$  konsantrasyonlu kuvvetli baz ile  $V_B$  hacimlerinde ilave edilerek titre edilir. Titrasyonun her noktasındaki  $H_t$  şu şekilde hesaplanır:

$$H_t = (C_A \times V_A - C_B \times V_B) / (V_A + V_B) \quad (1.28)$$

Hesaplanan  $H_t$  değerlerinden pH'lar hesaplanır ve ölçülen E'ler eşitlik 1.27 kullanılarak grafiğe geçirilir. Dikey eksenindeki kesim noktasından  $E^0$  eğimden de k sabiti bulunur [23, 42].

#### 1.6.2.2. Gran Metodu ile Dönüm Noktası Tayini

Potansiyometrik titrasyon verilerinin lineerleştirilmesinde kullanılan başlıca metot Gran metodudur [24, 42]. Bu metot titrimetrik verilere uygulanırken iki fonksiyon türetilir; bunlardan biri eşdeğerlik noktasından önce, diğeri eşdeğerlik noktasından sonra elde edilen verilerle ilgilidir. Bu fonksiyonlar, asidik bölgede  $\phi$ , bazik bölgede  $\phi'$  olarak tanımlanır. Her bir  $\phi$  fonksiyonu titrant hacmi V ile lineer olarak değişmekte ve eşdeğerlik noktasında sıfır olmaktadır. Böylece bu noktaya ulaşmak için gerekli hacim fonksiyonlarından elde edilen doğruların herhangi birinin veya her ikisinin hacimlerinin geçirildiği yatay ekseni kestiği noktadan bulunabilir.

Gran tarafından türetilen  $\phi, \phi'$  fonksiyonları titre edici-titre edilen sistemin durumuna bağlı olarak değişmektedir [25, 26, 42]. Kuvvetli asit-kuvvetli baz, kuvvetli asit-zayıf baz, kuvvetli baz-zayıf asit, çöktürme titrasyonları, kompleksleşme titrasyonları gibi bir çok sistemlere uygulanabilmektedir.

#### 1.7. Denge Sabitlerini Hesaplama Metotları

Denge sabitinin hesaplanmasında iki temel yaklaşım kullanılmaktadır. Bunlardan birincisi Rossotti tarafından verilen monogramlara dayanan lineer eğriler metodu, eğri çakıştırma metodu ve projeksiyon şerit metodu gibi grafiksel tekniklerdir. İkinci metot ise bilgisayar programlarının kullanıldığı tekniklerdir [22, 42].

### 1.7.1. Grafiksel Metotlar

Bu yöntemde çizilen grafikler yardımıyla sabitler hesaplanır. Grafikler hem doğrusal hem de eğrisel şeklinde olabilir. Lineerleştirme metodu, eğri çakıştırma metodu ve projeksiyon şerit metodu en yaygın kullanılan grafiksel metotlardır.

#### 1.7.1.1. Lineerleştirme Metodu

Eşitlikleri bir takım doğrusal fonksiyonlara dönüştürmek mümkündür. Örneğin,

$$B = [HB]/[H].[B] \quad (1.29)$$

Eşitliğin logaritması alınır ve düzenlenirse;

$$\log [HB]/[B] = \log [B] + \log [H] \quad (1.30)$$

elde edilir. Bu eşitlik **Henderson-Hasselbach** eşitliği olarak bilinir. Log[H]'a karşılık log [BH]/[B] grafiğe geçirilirse eğimi bir olan bir doğru elde eldir. Doğrunun dikey eksenini kestiği yerden B bulunur.

#### 1.7.1.2. Eğri Çakıştırma Metodu

$\bar{j}$  ve [H] ölçümlerinden  $\beta_1^H$  ve  $\beta_2^H$  değerlerinin elde edilmesinde kullanılan grafiksel metotlardan bir grubu, oluşum eğrisinin şeklinin

$$P = (K_1^H/K_2^H)^{1/2} = (\beta_1^H / \beta_2^H)^{1/2} \quad (1.31)$$

oranına ve eğrinin log [H] eksenine göre durumunun ise sadece  $\beta_2^H$ 'a bağlı olması gerçeğine dayanır [27, 28, 29, 42]. Bunun böyle olduğu,

$$\bar{j} = [\beta_1^H[H] + 2[\beta_2^H[H]^2]/[1 + [\beta_1^H[H] + \beta_2^H[H]^2]] \quad (1.32)$$

eşitliğindeki [H] değeri aşağıda normalize edilmiş değişken cinsinden ifade edildiğinde anlaşılır.

$$H=(\beta_2^H)^{1/2} \quad (1.33)$$

eşitliği, eşitlik 2.32'de yerine konursa  $\bar{J}$  için;

$$\bar{J} = \frac{\rho h + 2 h^2}{1 + \rho h + h^2} \quad (1.34)$$

eşitliği elde edilir. Eşitlikte sadece  $\rho$  değerleri için  $\bar{J}$ 'ye 0-2 arası değerler verilerek, H değerleri hesaplandıktan sonra  $\bar{J}$ -log H teorik oluşum eğrileri çizilir. Çizilen eğrilerle deneysel oluşum eğrisi karşılaştırılır. Bunlardan hangisi ile çakışıyorsa o teorik eğrideki  $\beta$  değerleri sistemin protonasyon sabitleri olarak alınır.

#### 1.7.1.3. Projeksiyon-Şerit Metodu

Eğri çakıştırma metodu yorucu olduğundan bunun yerine projeksiyon-şerit metodu kullanılabilir[30, 42]. Bu amaçla Eşitlik 1.34'den bir takım sabit  $\bar{J}$  değerleri için hesaplanan  $\log K_1^H / K_2^H - \log H$  teorik eğri takımları kullanılır. Teorik eğriler için kullanılan yatay skala kullanılarak deneysel oluşum eğrisi grafiğe alınır. Böylece log [H] ekseninde oluşum eğrisinin projeksiyonunu gösteren bir şerit elde eldir. Bu projeksiyon şeridi log H eksenine paralel olacak şekilde, teorik eğriler üzerine, şerit üzerindeki her nokta  $\bar{J}$ 'nin uygun değeri için hesaplanan eğri ile çakışacak şekilde kaydırılır. Sonra ordinattan log  $K_1^H/K_2^H$  değeri hesaplanır; 1 olduğu noktadan hesaplanan  $\beta_2^H$ 'den yararlanarak  $K_1^H$  ve  $K_2^H$  hesaplanır [31, 42].

#### 1.7.1.4. Bilgisayar ile Hesaplama Teknikleri

Bilgisayarlı metotlarda da, grafiksel metotlarda olduğu gibi sabitlere bir takım değerler vererek hesaplanan analog büyüklüklerle, deneysel verileri mukayese etmek suretiyle

sabitler için en iyi sonuçlar bulunmaya çalışılır. Nihai değerler deneysel verilere en iyi uyan değerlerdir.

Günümüzde protonasyon sabitlerinin hesaplanmasında değişik prensiplere dayanan bir takım bilgisayar programları kullanılmakta ve düzenli olarak yeni programlar yayınlanmaktadır [32, 33, 42]. Bu programlar birbirleri ile karşılaştırıldığında, hiç bir programın diğerinden daha üstün olmadığı literatürde belirtilmektedir. Programlar ancak bazı detaylar yönünden birbirlerinden farklıdır [32, 42]. Bu programların algoritması, kütle denklikleri ve denge sabiti ifadelerini kullanarak hesaplanan verilerle, deneysel ölçümlerden elde edilen veriler arasındaki uyumu minimize etmeye dayanır [34, 42]. Potansiyometrik verilerden protonasyon sabitlerinin hesaplanmasında Motekaitis ve Martell tarafından 1982’de yayınlanan BEST ve PKAS bilgisayar programları kullanılmaktadır. Bu programlar FORTRAN 77 dilinde yazılmıştır [33, 35-38, 42]. Bu programlardaki temel algoritma aşağıdaki eşitlikle ifade edilebilir.

$$T_i = \sum_{j=1}^{NS} e_{ij} \beta_j \prod_{k=1}^i [C_k]^{e_{kj}} \quad (1.35)$$

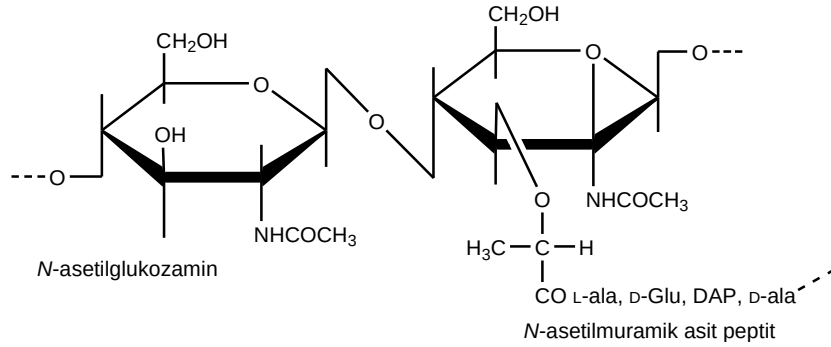
Bu eşitlik, i bileşeninin kütle denkligidir ve var olan türler içinde i bileşenini içeren bütün türlerin toplamını ifade etmektedir. Burada  $e_{ij}$  stokiyometrik katsayıyı,  $\beta_j$  toplam denge sabitini,  $[C_k]$  ise denge sabiti ifadesinde yer alan türlerin konsantrasyonunu ifade etmektedir. Bu kütle denkliklerinden faydalanılarak denge sabiti değerleri BEST bilgisayar programı kullanılarak hesaplanır.

BEST bilgisayar programından elde edilen veriler, tarafımızdan sentezlenen bileşiklerin protonasyon sabitlerinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

## 1.8. Mikrobiyoloji

Hücre duvarı, hücre veya stoplazmik membran ve sitoplâzmadan oluşan bakteri hücrelerinin çoğunluğu 0.75-4  $\mu\text{m}$  ölçülerindedir. Hücre duvar yapıları, N-asetilglikozamin ve N-asetil-3-O-1-karboksietil-glikozamin moleküllerinin birbirlerine peptit zincirlerle çapraz bağlanmasıyla meydana gelmiştir. Bakteriler gram boyasıyla boyanıp boyanmamalarına göre gram pozitif ve gram negatif olarak ikiye ayrılırlar. Gram pozitif

bakterilerin hücre duvarları poliribitol veya poligliserolfosfat moleküllerinin oligosakkarit yapıya kovalent bağ ile bağlanmasıyla meydana gelir [39].



Şekil 1.1. *E. Coli*'nin peptidoglikan yapısı

### 1.8.1. Escherichia Coli

Gram boyalarla kolay boyanabilir bir özelliğe sahip olan *E. coli* bakteri türü gram negatif grubundadır. Yaklaşık olarak boyu 2-6 µm ve eni 1.0-1.5 µm olan bu bakteri, düz, uçları yuvarlak çomakçık şeklinde bir yapıya sahiptir. Farklı kültürlerle göre farklı şekillerde bulunabilirler. Bu kültür ortamların bazılarında koka benzer küçük ve kısa şeklindeki bazılarında ise normalden uzun ve hatta Y harfi şeklinde dallanan filamanlı şekiller bulunabilirler. Her iki şeklin birlikte bulunması da istisnai bir durum olarak bilinir. Sahip oldukları kirpikleri sayesinde sanki hareketsizmiş gibi genellikle yavaş hareket ederler [40].

### 1.8.2. Enterococcus sp.

İnsan ve hayvan bağırsaklarında hareketsiz olarak bulunan bir bakteri türüdür. D grubu antijenleriyle tanınırlar. Genellikle bu bakteriler, 45 °C'de, pH 9'da ve de % 6.5 NaCl ortamlarında ürerler. Sebep olduğu en tehlikeli hastalık ise endokardittir [41].

### **1.8.3. Pseudomonas aeruginosa**

1.5-3 µm aralığında çok değişik uzunluklara sahip olan bu bakteriler 0.5 µm genişliğindedir. Sporsuz ve kapsülsüz çomakcıklar olan bu tür, bazen çift bazen de kısa zincir şeklinde görülür. Sahip oldukları, uçlarındaki bir, nadiren iki veya üç kirpikleri sayesinde çok hızlı hareket kabiliyetine sahip, kolay boyanabildiklerinden gram negatif grubuna dahil bir bakteri türüdür [40].

### **1.9. Antimikrobiyal Reaktifler**

Hastalıkları tedavi edici ve mikroorganizmaları ortadan kaldıracı özelliklerinden dolayı, antimikrobiyallar çok önemli kimyasallardır. Günümüzde çok çeşitli antimikrobiyal reaktif türleri bulunmaktadır. Seçilen belirli bir antimikrobiyal reaktif özel bir mikroorganizma veya hastalığa karşı uygulamadan önce, antimikrobiyalin toksisite özelliği, bulunduğu organizmaya zarar vermeksizin sadece özel bakteri türünü yok etmesi açısından, dikkate alınmalıdır.

Antibiyotikler, mikroorganizmalar tarafından üretilen önemli biyokimyasal maddeler olup uzun bir süredir tıbbi yarı sentetik model olarak kullanılırlar. Maalesef, hem hastaların hem de hücre kültürü analizi yapılmadan yazılan reçetelerin sebep olduğu kontrolsüz antibiyotik kullanımı, bakterilerin direncini artırmaktadır. Artan bu direnç ve bazı diğer problemler, antimikrobiyal amaçla kullanılan bitki ekstraktlarına olan ilginin artışına sebep olmuştur [42].

Her antimikrobiyal reaktif türü özel bir mikroorganizmaya karşı eşsiz bir etki mekanizması sergiler. Bu etki çoğunlukla hücrenin yapısı ile ilişkili olan mikroorganizmanın türüne bağlıdır. Örnek olarak, antimikrobiyal direnç mekanizmalarının bütünüyle etkilendiği gram negatif ve gram pozitif bakterilerin membran yapıları temel farklılıklara sahiptir [43].

Gıdaların, özellikle et ve et ürünlerinin kalitesi ve korunumu yönünden giderek artan önlem çalışmaları vardır. Sentetik koruyucular genellikle bu amaç için kullanılırken, yan etkilerinden dolayı kullanımları sınırlıdır. Bu yüzden, et ürünlerine mikrobiyal bulaşmanın üstesinden gelebilmek için, doğal koruyucular olarak kullanılan biyoaktif fitokimyasallar, hem müşteriler hem de gıda endüstrisi tarafından daha fazla tercih edilirler [44].

### 1.10. Antioksidanlar ve Oksidasyon

Antioksidan bir madde, diğer moleküllerin oksidasyonunu engelleyen bir moleküldür. Oksidasyon, bir maddeden diğer bir yükseltgen maddeye elektron veya hidrojen transferinin olduğu kimyasal bir reaksiyondur. Yükseltgenme reaksiyonları (oksidasyon) serbest radikallerin oluşumuna neden olabilir. Bu radikaller zincir reaksiyonlarını başlatabilir. Bu zincir reaksiyonları bir hücrede meydana geldiği zaman, hücrenin zarar görmesine ve hatta ölümüne neden olabilirler. Antioksidan moleküller bu zincir reaksiyonlarını, ara ürün olan, serbest radikalleri ortadan kaldırarak sonlandırır ve diğer yükseltgenme reaksiyonlarını kendi moleküllerinin yükseltgenmesi ile engeller. Bundan dolayı, tiyol, askorbik asit ve polifenol gibi antioksidanlar, indirgen maddelerdir [45].

Yükseltgenme reaksiyonları canlı için çok önemli olmasına rağmen aynı zamanda zarar verici de olabilir. Bitkiler ve hayvanlar, katalaz, süperoksit dismutaz ve çeşitli peroksidaz gibi enzimlerle birlikte glutatyon, vitamin C, vitamin A ve vitamin E gibi birçok antioksidan türünü sağlarlar. Yetersiz miktarda antioksidanlar veya enzimlerin inhibisyonu oksidatif strese sebep olurken, bu durum hücrelere zarar verebilir veya öldürebilir. Oksidatif stres hücre yapısına ve hücre fonksiyonuna reaktif oksijen içeren moleküller tarafından zarar verirken, aynı zamanda kanser dahil birçok hastalıkta önemli bir görev üstlenir. Antioksidanlar farmakolojide, özellikle felç ve nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde, yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Bu nedenle oksidatif stres, bazı hastalıkların hem sebepleri ve hem de sonuçları açısından dikkate alınmalıdır.

Antioksidanlar gıda takviyesinde yaygın bir şekilde kullanılıp, kanser, koroner arter ve hatta irtifa hastalıklarının (Akut dağ hastalığı) önlenmesinde de kullanılıp kullanılamayacağı üzerine birtakım araştırmalar yapılmıştır [46]. Bu alanda yapılan ilk çalışmalar, antioksidan takviyecilerinin sağlığa iyi geldiği söylenmesine karşılık daha sonraları, vitamin A, vitamin E ve beta-karoten dahil olmak üzere bunların farklı kombinasyonları üzerinde yapılan deneysel çalışmalar ölüm üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı gibi arttırdığı ile ilgili de herhangi bir bilgi vermemiştir [47, 48, 49]. Selenyum, vitamin E, vitamini C ve beta-karoten içeren antioksidanlarla ilgili yapılan bazı çalışmalar, kanser veya kanser artışı üzerinde takviyeciler ile birlikte kullanımın herhangi bir etkiye sahip olmadıklarını gösterir [50-56].

Antioksidanlar aynı zamanda gıda ve kozmetik koruyucusu olarak kullanılırken, benzin ve plastik gibi maddelerin bozulmalarını önlemek için de birçok endüstriyel kullanım alanına sahiptirler [57].

### 1.11. Serbest radikaller ve Oksidatif Stres

Atom ya da moleküllerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içeren maddelere serbest radikaller denilir. Bu serbest radikaller, üzerinde bulunduğu moleküle büyük bir reaktivite kazandırır. Serbest radikaller küçük moleküllü yapılar olup, düşük aktivasyon enerjisine sahip, kararsız yani kısa ömürlü moleküllerdir. Küçük yapıları olmaları onların hücre membranlarından geçmelerine kolaylık sağlar [58].

Metabolik yollarla veya çevresel faktörler ile vücutta meydana gelen hidroksil radikali (OH<sup>•</sup>), süperoksit anyonu (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) ve hidrojen peroksit gibi (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) reaktif oksijen türleri (ROT) ile antioksidan bileşikler arasında ortaya çıkan dengesizlik oksidatif strese neden olur. Bu süreç ise hücrenin önemli kısımlarında geri dönüşümü olmayan zararlara neden olarak, insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere sahip olmuş ve önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. [59].

Oksijen, aerobik yaşam için önemli bir element olmasına karşın bir takım toksik reaksiyon zincirlerinde (Oksidatif fosforilasyon solunum döngüsü), oksijenden türeyen radikaller olarak bilinen ve ROT diye adlandırılan türler olarak yer almaktadır. Ortaya çıkan bu radikal türler, hücredeki DNA, protein, lipid ve karbonhidratların oksidasyonuna neden olarak hücre yaşlanması, mutajenik değişiklikler, kardiyovasküler ve kanserli kısmın büyümesi gibi rahatsızlıklara yol açabilirler. Bu sonuçların ortadan kaldırılmasında ise antioksidanların, bu duruma sebep olan reaktif oksijen türler ve diğer serbest radikaller ile reaksiyona girerek bu türden sağlık riskleri ile savaşmanın en etkili yolu olmuştur [59].

Otooksidasyon, organik bir bileşiğin bulunduğu ortamdaki atmosferik oksijen ile kimyasal reaksiyona girmesi olarak adlandırılır. Otooksidasyon gıda uygulamasında lipid türlerini etkilediğinden, besin maddelerinin üretimi, dağıtımı ve depolanmasında lipid peroksidasyonu bu malzemelerin bozunmasına neden olur. Bundan dolayı gıda endüstrisi alanında besinlerin oksidasyona karşı korunması, besin değeri ve ekonomik açıdan büyük önem taşımaktadır [60].

### 1.12. Sitotoksosite ve Kanser

İhtiyacımız olan biyoaktif bileşikler gıda takviyesi sırasında alarak metabolizma ve sağlığımızı düzene sokmuş oluruz. 1980’li yıllarda vitamin eksikliğine neden olan yetersiz miktarda fito-antioksidantların alımı ve günümüzde kanser ve kardiyovasküler hastalığına neden olan çok fazla doymuş yağlar ile birlikte yine yetersiz miktarda fito-antioksidantların alımı olmuştur. Çok eski tarihlerden bu yana, bitki, sebze ve köklerinde bulunan biyoaktif bileşiklerin insan sağlığı üzerinde tedavi edici etkileri bilinmektedir. Batılı ülkeler geleneksel ilaçların kullanımını, üretilen modern ilaçlardan dolayı terk etmesine rağmen, Çin ve Japonya bu kullanım üzerinde yüzyıllar boyunca kendilerini geliştirerek tecrübe sahibi olmuş ve kanser tedavilerinde bizlere gerekli bilgileri sağlayan epidemiyolojik gözlemler toplamıştır [61].

Kanser hastalığı, yakın veya uzağındaki dokulara etki ederek normal gelişen hücrelerin fonksiyonuna zarar vererek anormal gelişimine sebep olan ve ölüm ile sonuçlanan kötü huylu tümör olarak bilinir [62]. Son zamanlarda kansere neden olan, hastalığın gelişimi sırasında dokuda meydana gelen değişikliklerin incelenmesinde ve tedavisinde umut verici gelişmeler olmasına rağmen, kardiyovasküler hastalığından sonra dünyada şu an bile en önemli ölüm nedenlerinden birisidir. Ülkemizde de bu hastalık kardiyovaskülerden sonra ölüm nedenleri arasında ikinci sıradadır. Yaş artışı ile birlikte kanser türünün artışı da bir sonuç olarak ortaya konulduğundan, zaman geçtikçe yaşlandığımız bu dünyada kanserin daha ciddi bir hastalık olabileceği düşüncesi aynı şekilde ortaya konulmaktadır. Teşhis yöntemlerinde ilerleme, yaşam süresinin uzaması ve ekolojik etkilerin de sebep olduğu bu durum kanser türü sayısında artış doğurmuştur [63].

Kanserin etiyolojisi, patogenezi, araştırılması ve son olarak onkojenik maddelerin ve onkojenlerin etkilerinin analizlerinde hayvan hücre kültürleri büyük önem taşımaktadır [64]. Hücre kültürü yöntemleri, hastalığa sebep olan etkenlerin doğrudan incelenmesi dolayısıyla kısa sürede sonuç elde edilmesi, istatistiksel olarak *in-vivo* araştırmalarıyla kıyaslama yapılamayacak kadar hücre kültürü kullanılması ve çok sayıda hayvanın yapılacak deneyler için telef edilmemesi gibi sebeplerden ötürü tüm dünyada yaygın bir kullanım potansiyeline sahiptir. Bundan dolayı, hayvan hücre kültürleri, kanser araştırmaları, biyokimyasal, sitogenetik, moleküler biyoloji, çeşitli hastalıkların teşhis ve tedavisi, doku ve deri mühendisliği, tüp bebek, kök hücreler, kısırlık tedavisi, proteinlerin

üretimi ve son olarak kozmetik gibi birçok uygulama alanında sıkça kullanılmaktadır [65, 66].

Hücre kültürü araştırmalarında (*in vitro*), hücre ölümünü, canlılığını ve çoğalmasını incelemek için en kullanışlı yöntemlerden biri olan 96 kuyucuklu plakaların kullanıldığı birçok yöntem mevcuttur. 96 kuyucuklu bu yöntemde çok sayıda farklı örnekler aynı anda ve hızlı bir şekilde analiz edilebilmektedir. Sitotoksikite deneyleri ayrıca hücre ölümü ve çoğalmasını değişken parametre fonksiyonlarına bağlı olarak da inceler [67].

Kimyasalların dokulara ve hücrelere vermiş olduğu etkinin çalışma mekanizmasını incelemeye sitotoksikite önemli bir faktördür. Sitotoksikite karsinogenesis ve inflasyonu gibi patolojik proseslerde önemli bir rol alırken, serbest radikaller, irritantlar ve genotoksinlerin de içinde bulunduğu reaktiflerin aktivitelerinde de bu rolü üstlenir [66]. Ayrıca, farklı ağır metal veya çeşitli organik bileşiklerin sitotoksik etkilerinin araştırılmasında, doku ve kültürlerin yanı sıra balık hücre hatları da kullanılarak bu etkinin araştırılması mümkündür [68].

*In vitro* sitotoksikite deneylerinde, hücre canlılığı, hücre proliferasyonu, membran bütünlüğü, DNA sentezi ve hücresel metabolizma gibi çeşitli parametreleri ölçen çeşitli sitotoksikite yöntemleri vardır. En çok kullanılan bu yöntemlerden; hücre canlılığını belirlemek için Neutral Red Uptake deneyi, Lowry Coomassie Blue ve Kenacid Blue deneyleri (toplam hücre proteini ve hücre proliferasyonunu belirlemek için), MTT (mitokondriyal aktivite ve hücresel metabolizmayı belirlemek için) ve İntraselüler Laktat Dehidrogenaz aktivite testi (hücre lizisini belirlemek için) kullanılarak hücrenin toksisitesi belirlenir [65].

### 1.13 Literatür Araştırması

Çalışmanın planlanması aşamasında yapılan literatür araştırmasında, tetrazoller ve özellikleri ile ilgili bir çok çalışma incelenmiştir. Fakat hem sentezleyip hem de özelliklerini incelemeyi düşündüğümüz türden maddeler, yani hem siklobütan hem de tiyazol grubu içeren maddelerimiz ile ilgili herhangi bir benzer çalışmaya rastlanmamıştır.

Önceki yıllarda, incelemiş olduğumuz çalışmaların birkaçı şöyledir.

Edyta Łukowska-Chojnacka ve arkadaşları [69], tetrazol halkası içeren bir grup alkol türevli bileşiklerin enantiyomerlerini, lipaz enziminin de katalizör olarak kullanıldığı bir takım kimyasal yollarla birbirinden ayırmışlardır.

Varadaraji Dhayanithi ve arkadaşları [70], bir grup 5-tiyo-tetrazol türevli bileşiklerini sentezleyerek bunların mikrobiyolojik özelliklerini incelemişlerdir.

A. A. A. Boraie [71], bazı tetrazol bileşiklerinin asitlik sabitlerini 25 °C’de, sabit iyonik şiddete sahip çeşitli sulu-organik çözücü ortamlarda pH ölçümleriyle belirlemiştir.

Umakant B. Patil ve arkadaşları [72], bakır asetat’ın katalizör olarak kullanıldığı çalışmada, çeşitli oksim türevlerinin sodyum azid ile reaksiyonu sonucu tetrazol sentezinde yeni bir metot geliştirmişlerdir.

Henry W. Altland [73], alkil veya aril grubu içeren 2-tetrazoliltiyo-3-aminopiridin bileşiğini etanol ortamında asidik şartlar altında kaynatarak tetrazol bileşiğinden, molekül içi aromatik nükleofilik süstitüsyon reaksiyon sonucu, alkil veya aril gruplarına bağlı olarak farklı iki ürün sentezlemiştir.

Eugene Lieber ve J. Ramachandran [74], organik izotiyosiyanatların sodyum azid ile etanol ve sulu ortamdaki reaksiyonlarını incelemişlerdir. Bu türden reaksiyonların daha yüksek bir verim ile gerçekleşebilmesi için suyun etanola göre daha avantajlı olduğunu göstermişlerdir.

Sam Yong Han ve arkadaşları [75], özellikle bir grup 1-alkil(aril)-1H-tetrazol-5-tiyon türevli bileşiklerini, alkil veya aril halojenürleri organik izotiyosiyanat, sodyum azid ve piridinin sulu ortam ve oda sıcaklığında bir arada bulunduğu karışıma ilave ederek, tek kap reaksiyon adı altında yüksek verimde sentezlemiştir.

Mark E. Schnute ve arkadaşları [76], yapmış oldukları çalışmada (piridin-4-il)-2H-tetrazol bileşiğini, osteoartrit hastalığı tedavisinde, MMP-13 (matrix metalloproteinase-13) inhibitörünü yüksek seçicilikle tanımlamak için yeni bir yapı modeli olarak ortaya çıkarmışlardır.

Eng-Chi Wang ve Gow-Juin Lin [77], aril ve alkil türevli aldehytleri, hidroksil amin ve ftalik anhidritin reaktif olarak kullanıldığı tek kap reaksiyonda, kolay şekilde iyi bir verim ile kendilerine uygun olan nitrillere dđnüştürmüşlerdir. Bu çalışmanın yapılan tez açısından önemi ise nitrillerden yola çıkarak, aşağıda belirtilen [78] numaralı referansa göre, tetrazollerin farklı bir sentez yöntemini denemek olmuştur.

J. A. Figueiredo ve arkadaşları [78], nitrillerden yola çıkarak yeni tetrazol türevlerini sentezlemişlerdir. Bu tezin ön denemelerinde, B planı olarak düşünölen nitrillerden tetrazol eldesinde, belirtilen [78] numaralı referanstan yararlanılmıştır.

Verónica Jiménez ve Joel B. Alderete [79], yaptıkları çalışmada, bir takım teorik programlar kullanılarak, triazol ve tetrazol yapılarının protonlanma ve tautomer formları üzerinde hesaplamalar yapmış, bu yapıların hangi durum veya pozisyonda daha kararlı olduklarını incelemiş ve deneysel sonuçlarla uyum içerisinde olduklarını açıklamışlardır. Potansiyometrik ölçümler sonucu elde edilen veriler, değerlendirme kısmında ele alınırken bu çalışmadan yararlanılmıştır.

Omer Kacar ve arkadaşları [80], sentezledikleri  $[PdCl(terpy)](sac).2H_2O$  kompleksinin çeşitli meme kanser hücre kültürleri üzerinde WST-1 yöntemini kullanarak bir antikanser reaktifi olarak kullanılıp kullanılamayacağını belirlemişler ve bunu kompleksin moleköl mekanizması üzerinden değerlendirmişlerdir. Bu tez çalışmasında ise sentezlenen maddelerin sitotoksik etkilerinin incelenmesi ve değerlendirilmesi kısmında, isimleri verilen saygın bilim adamlarının çalışması sayesinde yapılan tez açısından önemli katkıları bulunmuştur.

## 2. MATERYAL ve METOT

### 2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

#### 2.1.1. Sentezlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu çalışmanın sentez kısmında kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firmalar ve saflık dereceleri **Tablo 2.1.**'de verilmiştir. Bu maddeler saflaştırılmadan kullanılmıştır.

**Tablo 2.1.** Sentezlerde kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firmalar ve saflık dereceleri

| Maddenin Adı                  | Firmanın Adı  | Saflık Derecesi |
|-------------------------------|---------------|-----------------|
| 4-Florfenil izotiyosiyanat    | Alfa Aesar    | % 98            |
| 4-İyotfenil izotiyosiyanat    | Alfa Aesar    | % 97            |
| p-Tolil izotiyosiyanat        | Alfa Aesar    | % 97            |
| 4-Metoksifenil izotiyosiyanat | Alfa Aesar    | % 98            |
| 4-Nitrofenil izotiyosiyanat   | Alfa Aesar    | % 97            |
| Benzil izotiyosiyanat         | Alfa Aesar    | % 98            |
| Sikloheksil izotiyosiyanat    | Alfa Aesar    | % 98            |
| Fenil izotiyosiyanat          | Merck         | % 99            |
| Metil izotiyosiyanat          | Sigma-aldrich | % 97            |
| Etil izotiyosiyanat           | Sigma-aldrich | % 97            |
| Sodyum azit                   | Merck         | % 99            |
| Potasyum karbonat             | Yerli         | % 99            |
| Magnezyum sülfat              | Merck         | % 98            |
| Tiyoüre                       | Alfa Aesar    | % 99            |
| Sodyum bikarbonat             | A.D.R (Yerli) | % 99            |
| Potasyum bromür               | Merck         | Spektroskopik   |

### 2.1.2 Titrasyonlarda Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmanın potansiyometrik titrasyon kısmında kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firmalar ve saflık dereceleri **Tablo 2.2.**'de verilmiştir. Bu maddelerin bir kısmı saflaştırılmadan bir kısmı ise saflaştırıldıktan sonra kullanılmıştır.

**Tablo 2.2.** Titrasyonlarda kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firmalar ve saflık dereceleri

| Maddenin Adı     | Firmanın Adı  | Saflık Derecesi |
|------------------|---------------|-----------------|
| Benzoik asit     | Merck         | % 99            |
| Sodyum hidroksit | Sigma-aldrich | ≥ % 97          |
| Sodyum perklorat | Fluka         | > % 98          |
| Gümüş klorür     | Merck         | % 99            |
| Sodyum klorür    | Merck         | ≥ % 99.5        |

### 2.1.3. Biyolojik Aktivite, Antioksidan ve Sitotoksosite Çalışmalarında Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmanın biyolojik aktivite, antioksidan ve sitotoksosite kısmında kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firmalar ve saflık dereceleri **Tablo 2.3.**'de verilmiştir.

**Tablo 2.3.** Biyolojik aktivite, antioksidan ve sitotoksosite çalışmalarında kullanılan kimyasal maddeler, temin edildikleri firmalar ve saflık dereceleri

| Maddenin Adı                       | Firmanın Adı  | Saflık Derecesi |
|------------------------------------|---------------|-----------------|
| $\alpha$ -tokoferol                | Sigma-aldrich | ≥ % 96          |
| Butil hidroksi tolue (BHT)         | Alfa Aesar    | % 99            |
| Butil hidroksi anisol (BHA)        | Alfa Aesar    | % 96            |
| 2,2-Difenil-1-pikrilhidazil (DPPH) | Sigma-aldrich | -               |
| Ferrozin                           | Alfa Aesar    | % 97            |

**Tablo 2.3.**'ün devamı aşağıda verilmiştir.

| <b>Maddenin Adı</b>          | <b>Firmanın Adı</b> | <b>Saflık Derecesi</b> |
|------------------------------|---------------------|------------------------|
| Demir(II) klorür             | Merck               | % 99                   |
| Demir(III) klorür            | Merck               | % 99                   |
| Potasyum ferrisiyanür        | Merck               | % 99                   |
| Mueller hinton agar No.2     | HiMedia             | -                      |
| Mueller hinton Broth (Oxoid) | HiMedia             | -                      |
| Triklor asetik asit          | Merck               | % 99.5                 |
| DMEM/F12                     | Sigma-Aldrich       | -                      |
| FBS                          | Biochrom            | % 5                    |
| Penicillin                   | Biochrom            | -                      |
| Streptomycin                 | Biochrom            | -                      |
| Trypsin                      | Biochrom            | -                      |

#### **2.1.4. Kullanılan Çözücüler**

##### **2.1.4.1. Etil Alkol**

Ticari etil alkole, 120 °C'de kurutulmuş CuSO<sub>4</sub> ilave edilip 24 saat bekletildikten sonra metalik sodyum üzerinden damıtılarak kullanıldı.

##### **2.1.4.2. Dioksan, DMSO, Kloroform, Aseton ve Benzen**

Analitik saflıkta olan (Merck) bu maddeler, tez çalışmasının hem sentez hem de titrasyon ve biyolojik aktivite deneylerinde çözücü olarak kullanılmıştır.

#### **2.1.4.3. Etanol ve n-hekzan**

Analitik saflıkta olan (Sigma-aldrich) bu maddeler, tez çalışmasının hem sentez hem de antioksidan deneylerinde çözücü ve çöktürücü(n-hekzan) olarak kullanılmıştır.

#### **2.1.4.4. Dietil Eter**

Analitik saflıkta olan (Fluka) bu çözücü, ekstraksiyon işlemlerinde kullanılmıştır.

#### **2.1.4.5. THF**

Analitik saflıkta olan (Riedel-de Harën) bu madde, tez çalışmasının sentez kısmında çözücü olarak kullanılmıştır.

#### **2.1.4.6. Petrol Eteri (40-60 °C)**

Merck firmasından temin edilen bu madde, sentez kısmının kristallendirme işleminde, uygun çözücü olarak kullanılmıştır.

#### **2.1.4.7. Saf Su**

Kullanılan bütün çözeltilerin hazırlanmasında ve titrasyonlarda deiyonize su kullanılmıştır.

### **2.1.5. Kullanılan Çözeltiler**

#### **2.1.5.1. Sodyum Hidroksit Çözeltisi**

Titrant olarak kullanılan sodyum hidroksit çözeltisi, sodyum hidroksitten (Sigma-aldrich) yaklaşık 0.1 M olacak şekilde hazırlanmış ve primer standart benzoik aside karşı Gran metoduna göre ayarlanmıştır [26].

#### **2.1.5.2. Perklorik Asit Çözeltisi**

Riedel-de Harën firmasından temin edilen % 70'lik perklorik asitten yaklaşık 0.1 M'lık çözelti hazırlanmış ve ayarlı sodyum hidroksit çözeltisi kullanılarak Gran metoduna göre ayarlanmıştır [82].

#### **2.1.5.3. Sodyum Perklorat Çözeltisi**

Ortamın iyonik şiddetini  $\mu = 0.1$  M'da tutmak için sodyum perklorattan (Fluka) 1.0 M'lık çözelti hazırlanmış ve uygun hacimlerde ortama ilave edilerek kullanılmıştır. Ayrıca 0.1 M'lık gümüş klorürce doymuş sodyum perklorat tekrar hazırlanarak elektrot dolgu çözeltisi olarak kullanılmıştır.

#### **2.1.5.4. Sodyum Klorür Çözeltisi**

Merck firmasından temin edilen sodyum klorürden, deiyonize su kullanılarak 1 M'lık stok çözelti hazırlanmıştır.

#### **2.1.5.5. Benzoik Asit Çözeltisi**

Sodyum hidroksit çözeltisini ayarlamak için etüvde kurutulmuş benzoik asidin (Merck) 0.1 M'lık stok çözeltisi hazırlanmıştır.

#### **2.1.5.6. Titrasyonu Yapılan Maddelerin Çözeltileri**

Titrasyonu yapılacak olan bir kısım tetrazol bileşiklerinin 0.03 M'lık 10 mL stok çözeltileri hazırlanmıştır.

### **2.2. Kullanılan Aletler**

Sentezlenen maddelerin karakterizasyonu aşamasında kullanılan cihazlar: IR spektrumları için; Mattson 1000 FT-IR Spectrometer cihazı,  $^1\text{H}$ -NMR ve  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumları için; Bruker Ultra Shield 400 MHz NMR cihazı, erime noktası tayini için; Gallenkamp normal erime noktası tayin cihazı, pH ölçümleri için; Jenway 3040 Ion Analyser cihazı ve karıştırma-ısıtma işlemleri için ise; ARE Heating Magnetic Stirrer cihazı kullanılmıştır. Titrasyonlarda Orion 940 otomatik titratör, Haake DC3 model sirkülasyonlu su banyosu ve yerli yapım titrasyon hücresi kullanılmıştır (**Şekil 2.1**). Maddelerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi aşamasında, hazırlanan çözeltilerin absorbanlarını ölçmek için, T80+UV-Vis Spectrometer marka Double Beam UV-görünür bölge spektrofotometresi ve biyolojik aktivite ölçümlerinde ise sterilizasyonu sağlamak için Astell Scientific marka otoklav kullanılmıştır.

#### **2.2.1. Potansiyometre**

Potansiyometrik titrasyonlarda ölçümler, ORION 940 model pH-iyonmetre ve yazıcıya bağlı ORION 960 model otomatik titratör yardımıyla yapılmıştır. Ölçümlerde elektrot olarak referans kısmı Ag/AgCl cam-pH elektrodu kullanıldı. Sıvı temas potansiyelini minimuma indirmek için, elektrodun referans kısmının dolgu çözeltisi olan gümüş klorürce doymuş potasyum klorür çözeltisi boşaltılarak yerine gümüş klorürce

doymuş 0.01 M NaCl + 0.09 M NaClO<sub>4</sub> çözeltisi doldurulmuştur. Elektrot kullanılmadığı zamanlar saf su içerisinde saklanmıştır.

### 2.2.2. Titrasyon Kabı

Denge sabitleri sıcaklığa bağlı olarak değiştiği için titrasyonların sabit sıcaklıkta yapılması gerekmektedir. Ayrıca karbondioksitin bozucu etkisini önlemek için titrasyon kabının atmosfere kapalı olması ve içerisinden argon geçirilmesi gerekmektedir. Titrasyon kabı ve düzeneği **Şekil 2.1.**'de görülmektedir.



**Şekil 2.1.** Titrasyon kabı ve düzeneği

## 2.3. DeneySEL Kısım

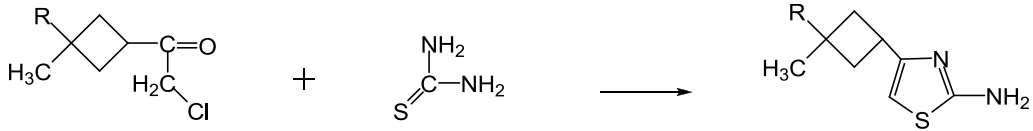
### 2.3.1. Genel Bilgi

Bu çalışmada adları ve formülleri **Tablo 1.1.** ve **Tablo 1.2.**'de verilen 30 adet tetrazol bileşiği sentezlenmiş, saflaştırılmış ve karakterize edilmiştir.

Sentezlenen tetrazol bileşiklerinin stokiometrik protonasyon sabitleri % 60 dioksan -% 40 su ve % 80 DMSO - % 20 su ortamında potansiyometrik yöntem ile tayin edilmiştir. Titrasyonlarda ortamın iyonik şiddeti sodyum perklorat ile  $\mu = 0.1$  M olacak şekilde sabit

tutularak argon atmosferinde ve  $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 'ta yapılmıştır. Hesaplamalarda BEST bilgisayar programı kullanılmıştır.

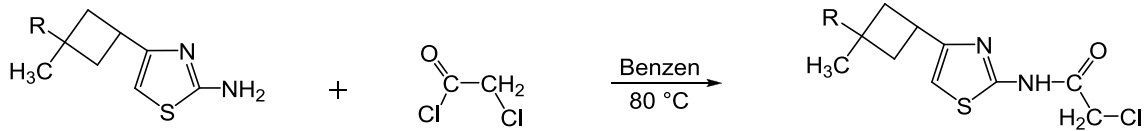
### 2.3.2. Aminlerin Sentezi



R= Benzen; mezitilen; p-ksilen

10 mmol tiyürenin 30 mL susuz etanoldaki çözeltisi üzerine, 10 mmol klor-  
ketonun 10 mL susuz etanoldaki sıcak çözeltisi damla damla ilave edildi. Reaksiyon 50-60  
 $^\circ\text{C}$ 'ta IR yöntemi ile takip edilerek devam ettirildi. Reaksiyon durdurulduktan sonra ortam  
% 5'lik  $\text{NH}_3$  çözeltisi ile nötürleştirildi. Oluşan çökelek süzülerek kurutulduktan sonra etil  
alkolde kristallendirildi.

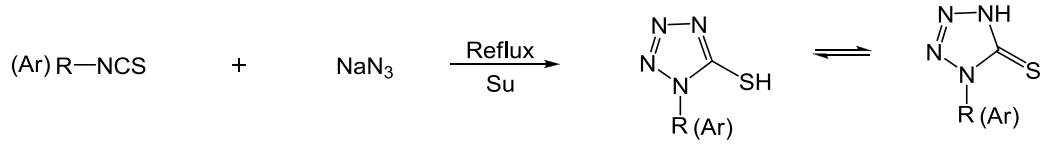
### 2.3.3. Amitlerin Sentezi



R= Benzen; mezitilen; p-ksilen

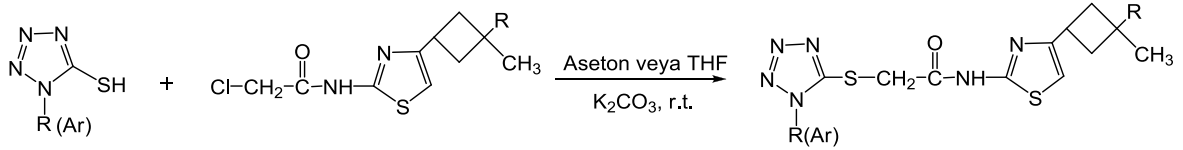
Yukarıdaki reaksiyon şemasına göre, amin bileşiklerinin 2.5 mmol'ü alınarak 20 mL  
mutlak benzende çözüldü. Üzerine klor asetil klorürün 5 mmol'ü 10 mL mutlak benzende  
çözülerek damla damla tiyazol çözeltisinin üzerine eklendi. Reaksiyon 80  $^\circ\text{C}$ 'ta IR yöntemi  
ile takip edilerek devam ettirildi. Reaksiyon durdurulduktan sonra ortam % 10'luk  
 $\text{NaHCO}_3$  çözeltisi ile nötürleştirildi. Oluşan çökelek süzülerek kurutulduktan sonra etil  
alkolde kristallendirildi.

### 2.3.4. Tetrazollerin Sentezi



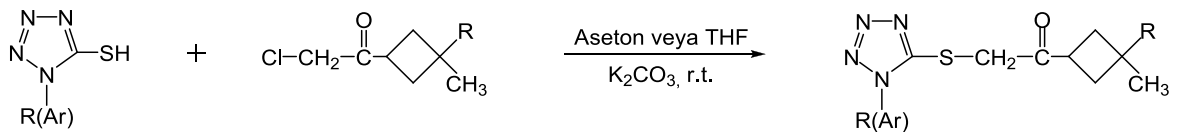
Yukarıdaki reaksiyon şemasına göre, sodyum azotür bileşiğinin 2.5 mmol'u alınarak 25 mL saf suda çözüldü. Üzerine aril ve alkil türevli izotiyosiyanat bileşiğinin 2.0 mmol'u ilave edildi. Reaksiyon izotiyosiyanat türevlerine göre belirli sürelerde kaynatılarak sonlandırıldı. Sonlandırılan ve soğutulan reaksiyon karışımının pH'ına bakılarak asidik ortamda çöktürme işlemi yapıldı; elde edilen çökelek uygun çözücü ve çözücü karışımlarında (petrol eteri - kloroform) kristallendirildi.

### 2.3.5. Tiyazol Türevli Tetrazollerin Sentezi



Yukarıdaki reaksiyon şemasına göre, sentezlenen tetrazol bileşiğinin 2.0 mmol'u alınarak 25 mL susuz aseton veya THF'de çözüldü. Üzerine amit bileşiğinin 2.0 mmol'u ilave edildi. Reaksiyon oda sıcaklığında ve K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> varlığında IR yöntemi ile takip edilerek, belirli sürelerde devam ettirildikten sonra, çözücü uzaklaştırıldı ve oluşan yağimsı madde uygun yöntemlerle çöktürülerek kristallendirildi.

### 2.3.6. Keton Türevli Tetrazollerin Sentezi



Yukarıdaki reaksiyon şemasına göre, sentezlenen tetrazol bileşiğinin 2.0 mmol'u alınarak 25 mL susuz aseton veya THF'de çözüldü. Üzerine keton bileşiğinin 2.0 mmol'u ilave edildi. Reaksiyon oda sıcaklığında ve K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> varlığında IR yöntemi ile takip edilerek, belirli saat aralıklarla devam ettirildikten sonra, çözücü uzaklaştırıldı ve oluşan yağmsı madde uygun yöntemlerle çöktürülerek kristallendirildi.

## 2.4. Potansiyometrik Titrasyonlar

### 2.4.1. Titrasyon Tekniği

Tetrazol bileşiklerinin protonasyon sabitlerini tayin etmek için yapılan potansiyometrik titrasyonlar, **Şekil 2.1.**'de gösterilen titrasyon hücresinde  $25 \pm 0.1$  °C'ta, argon atmosferinde ve 0.1 M sabit iyonik şiddette gerçekleştirilmiştir. Titrant olarak ayarlı sodyum hidroksit çözeltisi kullanılmıştır ve titrant ilavesi her defasında 0.05 mL olacak şekilde ayarlanmıştır. Titrasyonlar sonucunda elde edilen verilerden BEST bilgisayar programı kullanılarak protonasyon sabitleri tayin edilmiştir.

### 2.4.2. Kullanılan Çözeltilerin Kalibrasyonu

#### 2.4.2.1. Sodyum Hidroksit Çözeltisinin Kalibrasyonu

Titrant olarak kullanılan sodyum hidroksit çözeltisinin konsantrasyonunu belirlemek amacıyla benzoik asit çözeltisi hazırlanmış ve NaOH ile potansiyometrik olarak titre edilmiştir. Titrasyon verilerinden dönüm noktasının belirlenebilmesi için Gran'ın zayıf asit-kuvvetli baz sistemleri için türettiği  $\emptyset$  ve  $\emptyset'$  fonksiyonları hesaplanmıştır. Hesaplanan Gran fonksiyonlarının titrant hacmine karşı grafiğe geçirilmesiyle Gran eğrileri elde edilmiş ve bu eğrilerin mL<sub>titrant</sub> eksenini kestiği noktadan dönüm noktası belirlenmiştir.

#### 2.4.2.2. Perklorik Asit Çözeltisinin Kalibrasyonu

Tetrazol bileşiklerinin protonlanmasında kullanılan  $\text{HClO}_4$  asit çözeltisinin konsantrasyonunu belirlemek amacıyla,  $\text{HClO}_4$  asit çözeltisi ayarlı  $\text{NaOH}$  çözeltisiyle potansiyometrik olarak titre edilmiştir. Titrasyon verilerinden dönüm noktasının belirlenebilmesi için Gran'ın kuvvetli asit-kuvvetli baz sistemleri için türettiği  $\emptyset$  ve  $\emptyset'$  fonksiyonları hesaplanmıştır. Hesaplanan Gran fonksiyonlarının titrant hacmine karşı grafiğe geçirilmesiyle Gran eğrileri elde edilmiş ve bu eğrilerin  $\text{mL}_{\text{titrant}}$  eksenini kestiği noktadan dönüm noktası belirlenmiştir.

#### 2.4.2.3. Kullanılan Hücrenin Kalibrasyonu

Stokiyometrik protonasyon sabitlerinin tayininde kullanılan potansiyometrik titrasyon hücresi, kombine cam-pH elektrodu hidrojen iyonu aktivitesi yerine hidrojen iyonu konsantrasyonunu ölçecek şekilde kalibre edildi. Çalışmada kullanılan deney çözeltisinin iyonik şiddeti sabit tutulduğundan, hücre potansiyeli ( $E_{\text{hücre}}$ ) şu şekilde yazılabilir.

$$E_{\text{hücre}} = E_{\text{hücre}}^{\circ'} + E_j + k \log[H] \quad (2.1)$$

Burada  $E_{\text{hücre}}^{\circ'}$ , hidrojen iyonu konsantrasyonuna bağlı olmayan fakat elektrotun dolgu çözeltisindeki klorür iyonu aktivitesine ve deney çözeltisindeki hidrojen iyonlarının aktivite katsayılarına bağlı bir büyüklüğü gösterir [83]. Deney çözeltisinin iyonik şiddeti sodyum perkloratla hemen hemen sabit tutulduğundan, hidrojen iyonu aktivite katsayısı sabit kabul edilebilir.  $E_j$ , deney çözeltisi ile elektrotun dolgu çözeltisinin temas ettiği yerde ortaya çıkan sıvı-temas potansiyelidir. Elektrotun kalibrasyon eğimi olarak adlandırılan  $k$  sabiti, Nernst faktörüdür.  $[H]$  ise çözeltideki serbest hidrojen iyonu konsantrasyonunu gösterir.

Kalibrasyon sabitleri  $E_{\text{hücre}}^{\circ'}$  ve  $k$ , her iki farklı ortam için, 0.0995 M (Dioksan) veya 0.1091 M (DMSO) perklorik asit çözeltisinin, 0.0958 M (Dioksan) veya 0.0986 M (DMSO) sodyum hidroksit çözeltisiyle titrasyonu sonucunda tayin edildi. Titrasyonlarda

2.6 < pH < 3.3 aralığında elde edilen potansiyel değerleri ( $E_{hücre}$ ), kalibrasyon için kullanıldı.

Burada  $pH = -\log[H]$  ve bu pH bölgesinde  $E_j$  değeri sabit kabul edildi.  $\log[H]$  değerlerine karşı  $E_{hücre}$  grafiğe geçirildiğinde elde edilen doğrunun  $E_{hücre}$  eksenini kestiği yer  $E_{hücre}^0 (= E_{hücre}^0 + E_j)$ , eğimi ise  $k$  sabitidir.

En küçük kareler metodu ile tayin edilen  $E_{hücre}^0$  ve  $k$ 'dan faydalanılarak stokiyometrik protonasyon sabitlerinin tayininde yapılan titrasyonlarda ölçülen  $E_{hücre}$ 'lere karşı gelen hidrojen iyonu konsantrasyonu **Eşitlik 2.2**'den hesaplanmıştır.

$$\log[H] = (E_{hücre} - E_{hücre}^0) / k \quad (2.2)$$

#### 2.4.3. $K_{su}$ Tayini

% 60 Dioksan - % 40 su ve % 80 DMSO - % 20 su ortamında stokiyometrik  $K_{su}$  değerlerini tayin etmek için **Bölüm 2.4.2.3.**'te hücre kalibrasyonu amacıyla yapılan titrasyon verileri kullanıldı. Bunun için ayarlı perklorik asit çözeltisinin ayarlı sodyum hidroksit çözeltisiyle titrasyonunda bazik bölgede elde edilen verilerden ve kalibrasyon sabitlerinden serbest  $[H]$ , çözelti stokiyometrisinden ise  $[OH]$  hesaplanarak,

$$K_{su} = [H][OH] \quad (2.3)$$

bağıntısından stokiyometrik  $K_{su}$  değerleri hesaplanıp, her iki farklı ortam için  $pK_{su}$  değerleri **15.06** (Dioksan) ve **15.65** (DMSO) bulundu.

#### 2.4.4. Bileşiklerin Stokiyometrik Protonasyon Sabitlerinin Tayini

**Tablo 1.1.** ve **Tablo 1.2.**'de adları ve kimyasal formülleri verilen bir kısım tetrazol bileşiklerinin stokiyometrik protonasyon sabitlerini tayin etmek için, aşağıda bileşimi verilen çözeltiler, % 60 dioksan - % 40 su ve % 80 DMSO - % 20 su ortamında hazırlanmış, karbonatsız ayarlı NaOH çözeltisi ile potansiyometrik titrasyon hücresinde  $25 \pm 0.1$  °C'ta ve argon atmosferinde titre edilmiştir. Ortamın iyonik şiddeti  $NaClO_4$  ile  $\mu =$

0.1 M olacak şekilde ayarlanmıştır. Titrant olarak kullanılan ayarlı sodyum hidroksit çözeltisi de 0.1 M NaClO<sub>4</sub>'lı olacak şekilde hazırlandı.

**Deney çözeltisinin bileşimi:**

|                                       |                                            |
|---------------------------------------|--------------------------------------------|
| Tetrazollerin analitik konsantrasyonu | : 0.03 M                                   |
| Perklorik asitin konsantrasyonu       | : 0.0995 M (Dioksan) ve<br>0.1091 M (DMSO) |
| Dioksan ve DMSO hacmi (Sırasıyla)     | : 27.5 mL ve 37.5 mL                       |
| Toplam hacim                          | : 50 mL                                    |

Bu şekilde hazırlanan 50 mL'lik deney çözeltisi ayarlı sodyum hidroksit çözeltisi ile otomatik titratör kullanılarak titre edilmiştir. Otomatik titratör her 0.05 mL baz ilavesinden sonra hücre potansiyellerini ( $E_{\text{Hücre}}$ ), okuyacak şekilde programlanmıştır.  $E_{\text{Hücre}}$  potansiyeli, % 60 dioksan - % 40 su ve % 80 DMSO - % 20 su ortamı için bulunan kalibrasyon sabitleri ( $E_{\text{Hücre}}^0$  ve  $k$ ) kullanılarak hidrojen iyonu konsantrasyonları ( $[H]$ ) hesaplandı. Tetrazol bileşiklerinin analitik konsantrasyonları  $L_t$ , ortamdaki toplam proton konsantrasyonu  $H_t$  ve hesaplanan hidrojen iyonu konsantrasyonu  $[H]$  değerlerinden BEST bilgisayar programı kullanılarak protonasyon sabitleri hesaplandı.

## 2.5. Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi

Çalışmanın bu aşamasında, sentezlenen amit türevli tetrazol bileşiklerinin biyolojik aktiviteleri incelendi. İncelemeler, iki gram pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) ve iki gram negatif bakteri suşu (*Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) üzerinde yapıldı.

Çalışmada, tetrazol bileşiklerinin antibakteriyel duyarlılık testinde agar difüzyon metodu kullanılmıştır. Bu metot sırasıyla aşağıdaki basamaklardan oluşur.

- Çalışılan test organizmaları 10 ml'lik sıvı besi yerlerine aşılanarak ve 0,5 mcFarland bulanıklığına ulaşınca kadar 37 °C'te inkube edilmiştir,
- Steril bir pipet kullanılarak, istenilen bulanıklığa ulaşan kültürden belirli oranlarda (60 mL katı besiyerine 0.6 mL kültür) alınarak yaklaşık 45 °C'ye soğutulmuş katı besi yerine eklenir, iyice karıştırılır ve steril petri kaplarına dökülür,

- Petri kapları bek alevi etrafında kapakları yarım açık şekilde 15 dk kadar bekletilerek, süre sonunda kapakları tamamen kapatılır ve diğer işlemler için hazır edilir,
- Maddenin kaç farklı konsantrasyonunda (2-512 ppm) çalışılacak ise o kadar sayıda çukur, steril edilmiş insülin şırıngası yardımı ile petri kaplarına açılır,
- Çalışılacak her maddenin (tetrazol ve antibiyotik reaktif) uygun bir çözücünde (DMSO ve Su) farklı konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanarak, bir mikro pipet yardımıyla açılan her kuyucuğa belirli miktarda (50 µL) ilave edilir,
- İlavesi yapılan her petri kabı oda sıcaklığında veya buzdolabında (4 °C) iki saat kadar bekletilir sonra sıcaklığı yaklaşık 37 °C olan bir etüvde 24 saat kadar inkube edilir,
- Bu süre sonunda çukurlar etrafında üremenin olup olmadığı kontrol edilip, üremenin olmadığı en küçük konsantrasyon minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) olarak kabul edilir [87].

Her bir deney ikişer defa tekrarlandı. Çözücü olarak kullanılan DMSO'nun bakteri üremesi üzerinde herhangi bir etkisi yoktur. Standart antibiyotik olarak **Genta** (İ. Ulagay) ve **Ampisina** (M. Nevzat) kullanıldı.

## 2.6. Antioksidan Kapasitelerinin İncelenmesi

Bu aşamada, uygun metot ve standart antioksidan maddelerin seçimiyle bileşiklerin antioksidan etkileri incelendi. Uygun görülen bu metotlar maddelerin antioksidan kapasitelerini belirlemede destekleyici bir öneme sahip olduğundan üç farklı metot üzerinde çalışılmıştır. Bunlar;

- İndirgeme Gücü
- Serbest Radikalleri Giderme Aktivitesi
- Metal Şelatlama Aktivitesi

Çalışmada, sentezi yapılan her bir bileşiğin ve standartların 10 mg'ı etanolde çözülerek son hacim aynı çözücü ile 10 mL'ye tamamlanmıştır.

### 2.6.1. İndirgeme Gücü

Oyaizu metoduna göre yapılmıştır. Metodun prensibi, antioksidan bileşiklerin  $K_3Fe(CN)_6$ , TCA ve  $FeCl_3$  ile oluşturduğu renkli komplekslerin 700 nm’de absorbanlarının ölçümüne dayanmaktadır. Bu karışımın absorbanındaki artış maddenin indirgeme gücü ile doğru orantılıdır [84].

**Tablo 2.4.** İndirgeme gücü tayininde ilave edilen reaktif miktarları

| Reaktifler                  | S <sub>1</sub> | S <sub>2</sub> | S <sub>3</sub> | N <sub>1</sub> | N <sub>2</sub> | N <sub>3</sub> |
|-----------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Fosfat tamponu <sup>a</sup> | 2.4 mL         | 2.25 mL        | 2.0 mL         | 2.4 mL         | 2.25 mL        | 2.0 mL         |
| $K_3Fe(CN)_6$ <sup>b</sup>  | 2.5 mL         | 2.5 mL         | 2.5 mL         | 2.5 mL         | 2.5 mL         | 2.5 mL         |
| Bileşik                     | -              | -              | -              | 100 µL         | 250 µL         | 500 µL         |
| Standart                    | 100 µL         | 250 µL         | 500 µL         | -              | -              | -              |

(a= 0,2 M pH: 6,6; b= % 1; Kör= 2.5 mL TCA+2.5 mL saf su+0.5 mL  $FeCl_3$ )

**Tablo 2.4.**’de verilen hacimler santrifüj tüplerine aktarılarak iyice karıştırılmış ve 50 °C’te 20 dakika inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyonun ardından her bir deney tüpüne % 10’luk TCA çözeltisinden 2.5 mL ilave edilerek 3000 rpm’de 20 dakika santrifüjlenmiştir. Elde edilen berrak kısımdan 2.5 mL alınarak deney tüplerine aktarılmıştır. Sonra bu çözeltilerin üzerlerine 2.5 mL saf su ve % 0.1’lik  $FeCl_3$  çözeltisinden 0.5 mL ilave edilerek meydana gelen koyu lacivert rengin absorbanı 700 nm’de kör’e karşı UV spektrofotometresinde ölçülmüştür [81].

### 2.6.2. Serbest Radikalleri Giderme Aktivitesi

Blois metoduna göre yapılmıştır. Metodun prensibi, serbest radikal toplayıcılarının renkli serbest radikal olan DPPH’ı indirgemesine dayanır. 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH) kırmızı renkli kararlı bir serbest radikaldir. Bu serbest radikal antioksidan bileşikler tarafından giderildiğinde renk kırmızıdan sarıya döner. 517 nm’de ölçülen absorbandaki düşüş, maddenin serbest radikal giderme aktivitesi ile doğru orantılıdır [85].

**Tablo 2.5.** Serbest radikal giderme tayininde ilave edilen reaktif miktarları

| Reaktifler                   | S <sub>1</sub> | S <sub>2</sub> | S <sub>3</sub> | N <sub>1</sub> | N <sub>2</sub> | N <sub>3</sub> | Kontrol |
|------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------|
| Etanol                       | 2.95 mL        | 2.90 mL        | 2.85 mL        | 2.95 mL        | 2.90 mL        | 2.85 mL        | 3.0 mL  |
| DPPH <sup>•</sup><br>(0.1mM) | 1.0 mL         | 1.0 mL         | 1.0 mL         | 1.0 mL         | 1.0 mL         | 1.0 mL         | 1.0 mL  |
| Bileşik                      | -              | -              | -              | 50 µL          | 100 µL         | 150 µL         | -       |
| Standart                     | 50 µL          | 100 µL         | 150 µL         | -              | -              | -              | -       |

(Kör= 4 mL Etanol)

**Tablo 2.5.**'de verilen hacimler deney tüplerine aktarılarak iyice karıştırılmış ve oda sıcaklığında (karanlık ortam) yarım saat kadar bekletildikten sonra karışımın absorbansı 517 nm'de kör'e karşı UV spektrofotometresinde ölçülmüştür. Maddenin DPPH<sup>•</sup> serbest radikali giderme aktivitesi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır [81].

$$\% \text{ Serbest Radikal Giderme Aktivitesi} = (A_0 - A_1 / A_0) \times 100$$

A<sub>0</sub> = Kontrolün absorbansı

A<sub>1</sub> = Numune veya standardın absorbansı

### 2.6.3. Metal Şelatlama Aktivitesi

Dinis metoduna göre yapılmıştır. Metodun prensibi, ferrozin-Fe<sup>+2</sup> kompleks oluşumunun inhibisyonuna dayanmaktadır [86].

**Tablo 2.6.** Metal şelatlama aktivitesi tayininde ilave edilen reaktif miktarları

| Reaktifler                     | S <sub>1</sub> | S <sub>2</sub> | S <sub>3</sub> | N <sub>1</sub> | N <sub>2</sub> | N <sub>3</sub> | Kontrol |
|--------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------|
| Etanol                         | 3.70 mL        | 3.65 mL        | 3.60 mL        | 3.70 mL        | 3.65 mL        | 3.60 mL        | 3.75 mL |
| FeCl <sub>2</sub> <sup>a</sup> | 0.05 mL        | 0.05 mL        | 0.05 mL        | 0.05 mL        | 0.05 mL        | 0.05 mL        | 0.05 mL |
| Ferrozin <sup>b</sup>          | 0.2 mL         | 0.2 mL         | 0.2 mL         | 0.2 mL         | 0.2 mL         | 0.2 mL         | 0.2 mL  |
| Bileşik                        | -              | -              | -              | 50 µL          | 100 µL         | 150 µL         | -       |
| Standart                       | 50 µL          | 100 µL         | 150 µL         | -              | -              | -              | -       |

(a= 2mM; b= 5mM; Kör= 3.75 mL Etanol+0.05 mL FeCl<sub>2</sub>)

Bileşik ve standart çözeltilerinin **Tablo 2.6.**'da verilen hacimleri deney tüplerine aktarıldı. Her bir deney tüpünün üzerine yine verilen miktarlarda etanol ve FeCl<sub>2</sub> ilavesi yapılarak tüpler karıştırılıp, oda sıcaklığında 10 dk kadar bekletildi. Sonra Ferrozin-Fe<sup>2+</sup> kompleks oluşumu, ferrozin ilavesiyle başlatıldı ve deney tüpleri iyice karıştırılarak oda sıcaklığında 10 dk kadar bekletildi. Oluşan kompleksin rengi 562 nm'de UV spektrofotometresinde kör'e (ferrozin dışındakiler) karşı okundu [81].

Ferrozin-Fe<sup>2+</sup> kompleks oluşumunun inhibisyon yüzdesi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Metal Şelatlama Aktivitesi} = (A_0 - A_1 / A_0) \times 100$$

A<sub>0</sub> = Kontrolün absorbansı

A<sub>1</sub> = Numune veya standardın absorbansı

## **2.7. Sitotoksik Etkilerinin İncelenmesi**

Çalışmanın son aşamasında ise, sentezlenen amit türevli tetrazol bileşiklerinin antioksidan ve biyolojik aktiviteleri göz önüne alınarak, her iki özellikte de yüksek aktivite gösteren nitro gruplu tetrazol bileşiklerinin sitotoksik etkileri, Gazi Üniversitesi Moleküler Biyoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, MOBAM'da incelendi. İncelemeler, sitotoksik etkinin belirlenmesinde sıkça kullanılan yöntemlerden biri olan WST-1 yöntemi ile üç farklı meme kanser türü olan MCF-7, MDA-231 ve MDA-435 kanser hücreleri üzerinde yapıldı.

### **2.7.1. Hücre Kültürü**

Bu çalışmada kullanılan tüm hücreler, % 5 FBS, 100 U/ml penisilin ve 100 µg/ml streptomisin ilave edilerek hazırlanan DMEM/F12 (Dulbecco's modified Eagle medium-F12) ortamı ile beslendiler. Hücreler, % 5 CO<sub>2</sub>'li gaz ortamında ve 37 °C'deki inkübatörde kültüre edilerek, % 90-95 oranında sıkışık duruma (konfluent) geldikten sonra tripsin-EDTA kullanılarak flasklardan söküldü.

### 2.7.2. Hücre Canlılığı

Çökelek halindeki tetrazol bileşikleri dimetilsülfoksit içinde çözülerek, 100 mM konsantrasyonda stok çözeltileri hazırlanmıştır. Stok çözeltiden elde edilen seri çözeltiler ise deney gününde, DMEM/F12 ortamı ile seyreltme işlemleri yapılarak taze hazırlanarak kullanılmış ve her bir kuyucukta 7500 hücre olacak şekilde 96 kuyucuklu platelere hücre ekimi yapılmıştır. Ekimden sonraki gün, 10  $\mu$ M'dan 80  $\mu$ M aralığına kadar değişen konsantrasyondaki tetrazol bileşikleri ile muamele edilen hücreler, 48 saatlik inkübasyonlara bırakılmıştır. En yüksek tetrazol konsantrasyonunda, DMSO oranı % 0.1 oranında olduğu için, kontrol grubuna da besi yeri içinde % 0.1 oranında DMSO uygulanmıştır. İnkübasyon süreleri sonunda besiyeri ortamdan uzaklaştırılarak, daha sonra WST-1 kiti her bir kuyucuğa prosedür talimatlarına göre ilave edilmiştir. Hücre canlılığı, bu ilaveden 2 saat sonra 450 nm dalga boyunda ELIZA cihazında okunmuştur. Kontrol hücrelerinden elde edilen absorbans değerleri % 100 canlılık olarak kabul edildi ve reaktif uygulanan hücrelerin canlılığı kontrol hücreye oranla yüzde olarak okundu. Her bir deney en az 2 kez tekrarlanarak yapılmıştır.

### 3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu çalışma beş aşamadan oluşmaktadır. Birinci aşamada, adları ve formülleri **Tablo 1.1.** ve **Tablo 1.2.**'de verilen 30 adet tetrazol türevi bileşik sentezlenmiş, kristallendirme yöntemiyle saflaştırılmış ve karakterizasyonları yapılmıştır. Karakterizasyonda, IR,  $^1\text{H}$ -NMR ve  $^{13}\text{C}$ -NMR gibi enstrümantal analiz yöntemleri kullanılmıştır. İkinci aşamada, bileşiklerin % 60 dioksan -% 40 su ve % 80 DMSO - % 20 su ortamında stokiyometrik protonasyon sabitleri,  $25 \pm 0.1$  °C'ta, argon atmosferinde ve 0.1 M sodyum perkloratlı ortamda potansiyometrik metotla tayin edilmiştir. Hesaplamalarda BEST bilgisayar programı kullanılmıştır. Üçüncü ve dördüncü aşamada sırasıyla bileşiklerin antioksidan ve biyolojik aktiviteleri incelenmiş olup son aşamada ise sitotoksik özellikleri çalışılmıştır.

Laboratuvarımızda önceden sentezi ve karakterizasyonu yapılan bir miktar tiyazol türevli amin ve amit bileşikleri bu çalışmada da kullanılarak ihtiyaç duyulduğu takdirde **Bölüm 2.3.2.** ve **Bölüm 2.3.3.**'de belirtilen şekilde sentezlenmiştir. Bunlar yeni bir madde olmayıp karakterizasyon işlemlerine yer verilmemiştir. Sentezlenen bu maddelerin tetrazol halkasına bağlanmasıyla oluşan orijinal bileşiklerin karakterizasyonu yapılmıştır.

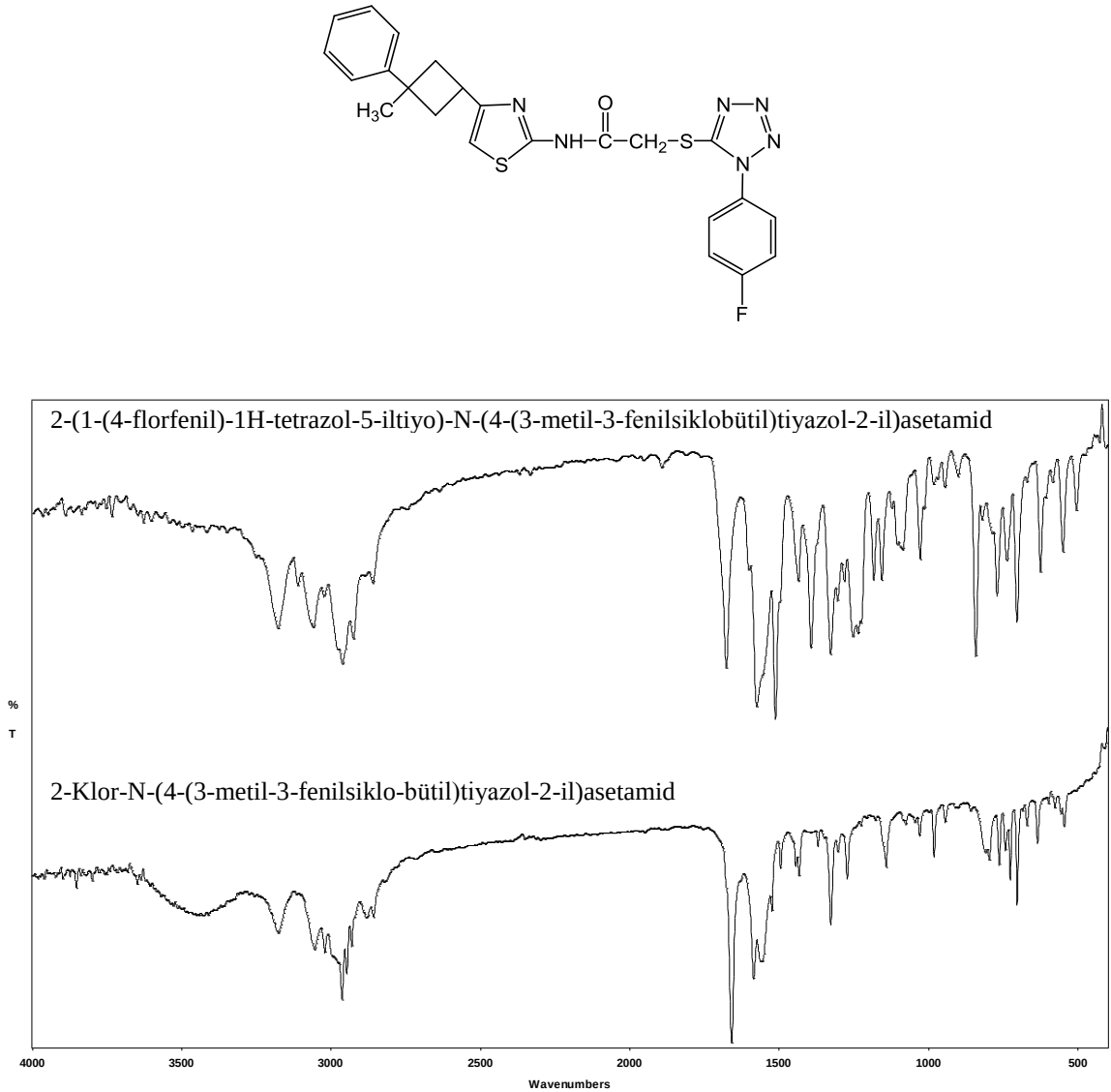
#### 3.1. Tiyazol Türevli Tetrazollerin Karakterizasyonu

Çalışmamızdaki bileşiklerin sentezi **Bölüm 2.3.5.**'de belirtilen şekilde gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapı formülleri ve adları **Tablo 1.1**'de verilmiştir.

Bu çalışmada sentezlenmiş olan her bir bileşiğe ait  $^1\text{H}$ -NMR, ve  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumları, ilgili bileşiğin altında verilmiştir. Bileşiklere ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumları değerlendirilirken numaralandırma sistemi kullanılmıştır. Yapılan numaralandırma sisteminin adlandırmayla ilgisi yoktur. Numaralandırma işlemi sadece keyfi olarak seçilmiştir.

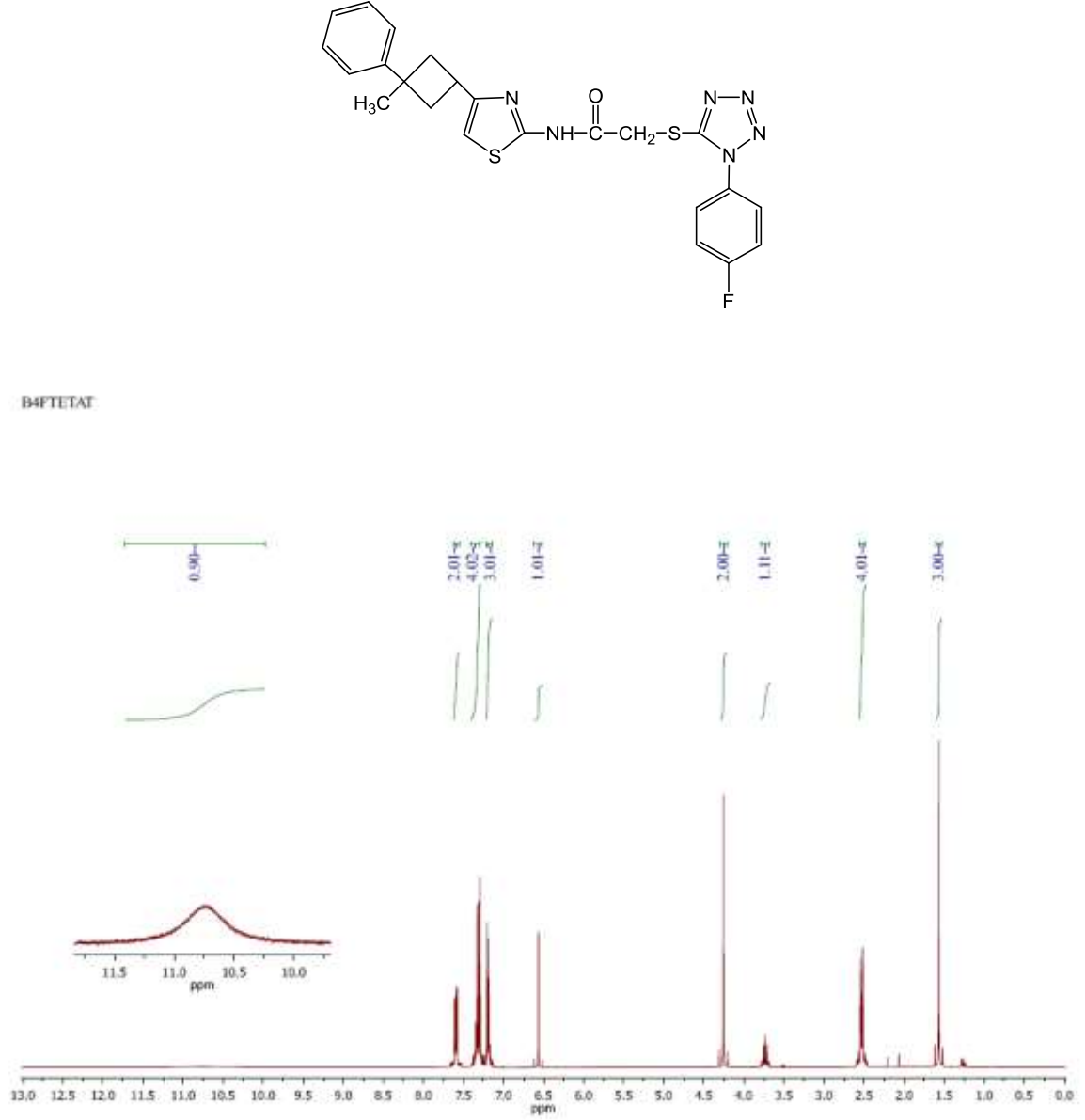
### 3.1.1. 2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Sarı çökelek, verim: % 69,  $M_A$ : 480,58 g/mol. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3178 (N-H), 3061 (Aromatik-H), 2963-2861 (Alifatik-H), 1677 (C=O), 1575 (tiyazol, C=N), 1513 (tetrazol, C=N), 625 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.1.**'de verilmiştir.



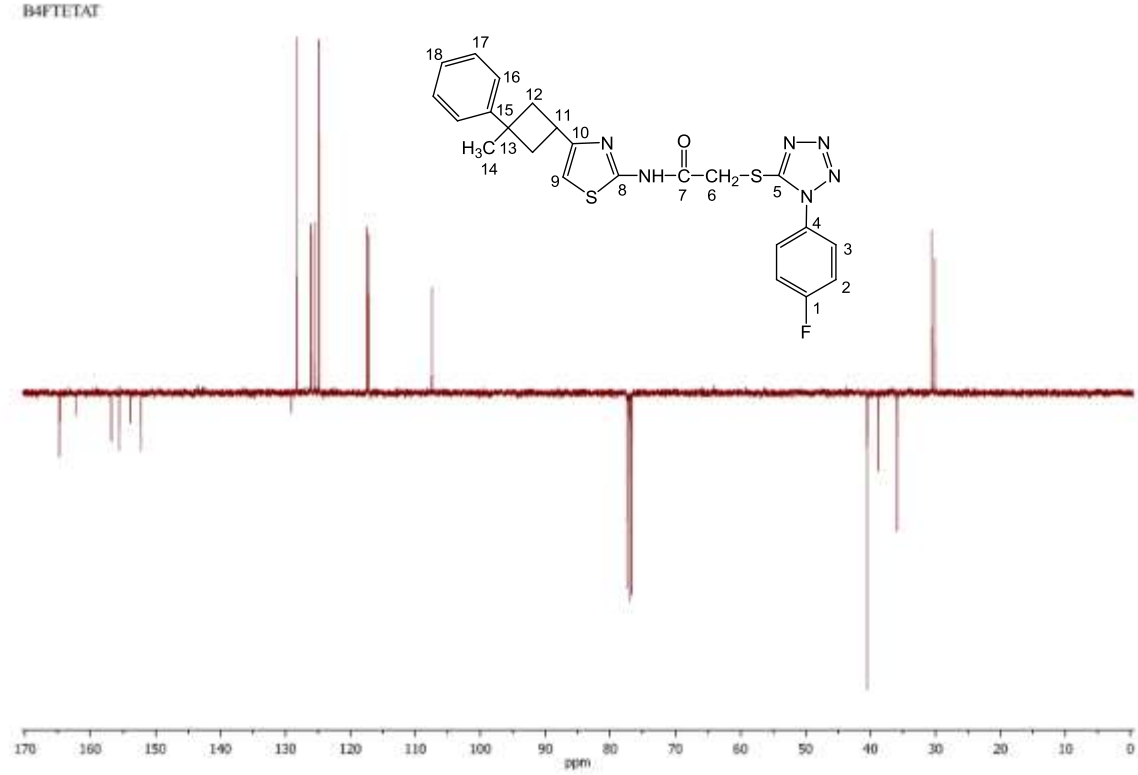
**Şekil 3.1.** 2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 1.57 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.52-2.54 (d, *j*=8.8 Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.69-3.78 (q, *j*=8.8 Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.26 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.55-6.57 (d, *j*=0.8 Hz, 1H, =CH-S-), 7.18-7.61 (m, 9H, fenil), 10.72 (s, 1H, -NH-). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.2.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.2.** 2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütül)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

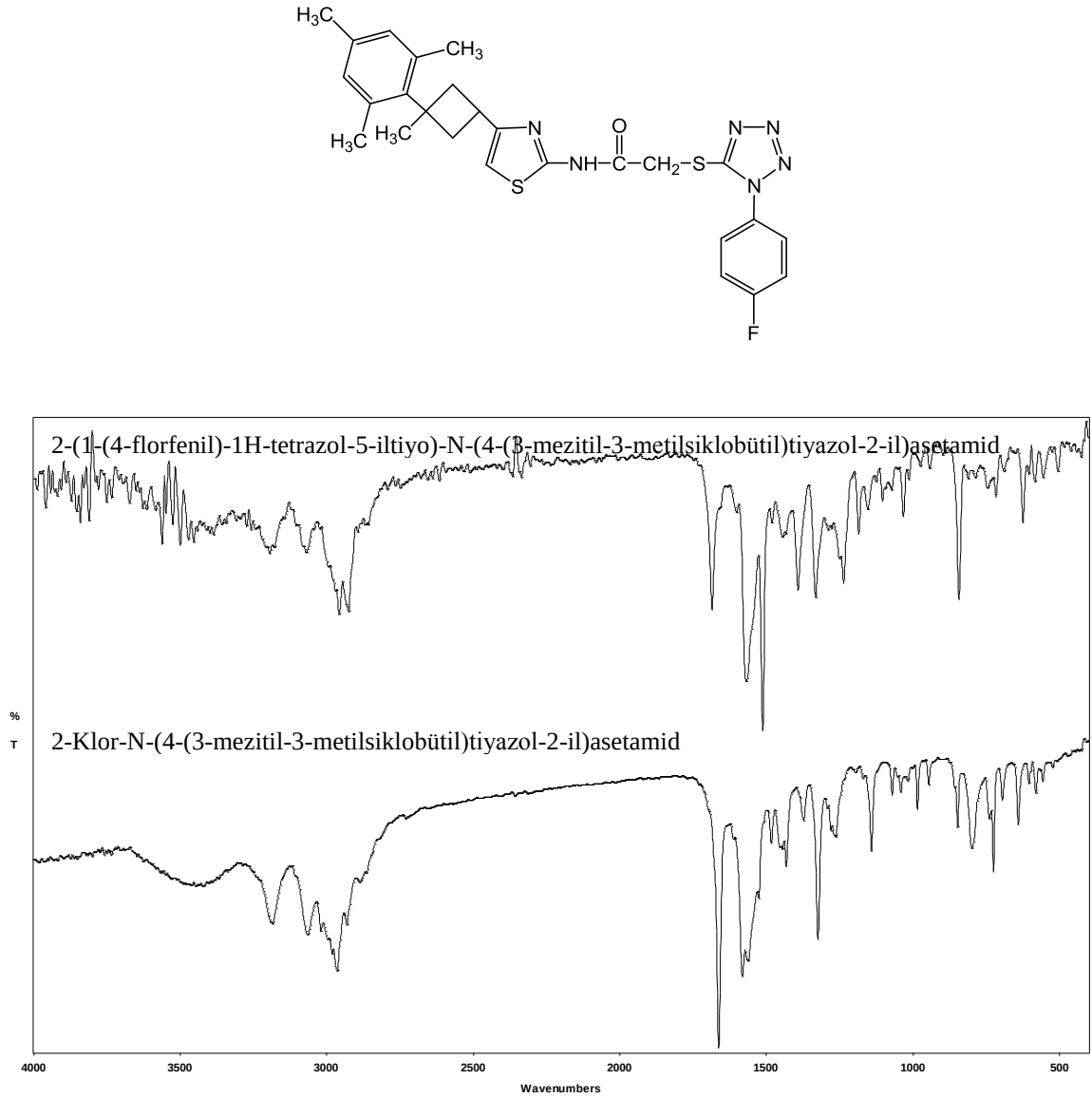
**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$ , ppm):** 164.72 ( $\text{C}_7$ ), 162.16 ( $\text{C}_1$ ), 156.76 ( $\text{C}_8$ ), 155.54 ( $\text{C}_{10}$ ), 153.82 ( $\text{C}_5$ ), 152.25 ( $\text{C}_{15}$ ), 129.10 ( $\text{C}_4$ ), 128.27 ( $\text{C}_{17}$ ), 126.03 ( $\text{C}_{18}$ ), 125.40 ( $\text{C}_3$ ), 124.77 ( $\text{C}_{16}$ ), 117.30 ( $\text{C}_2$ ), 107.47 ( $\text{C}_9$ ), 40.49 ( $\text{C}_{12}$ ), 38.86 ( $\text{C}_6$ ), 35.91 ( $\text{C}_{13}$ ), 30.59 ( $\text{C}_{11}$ ), 30.08 ( $\text{C}_{14}$ ). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.3.**'da verilmiştir.



**Şekil 3.3.** 2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR APT spektrumu

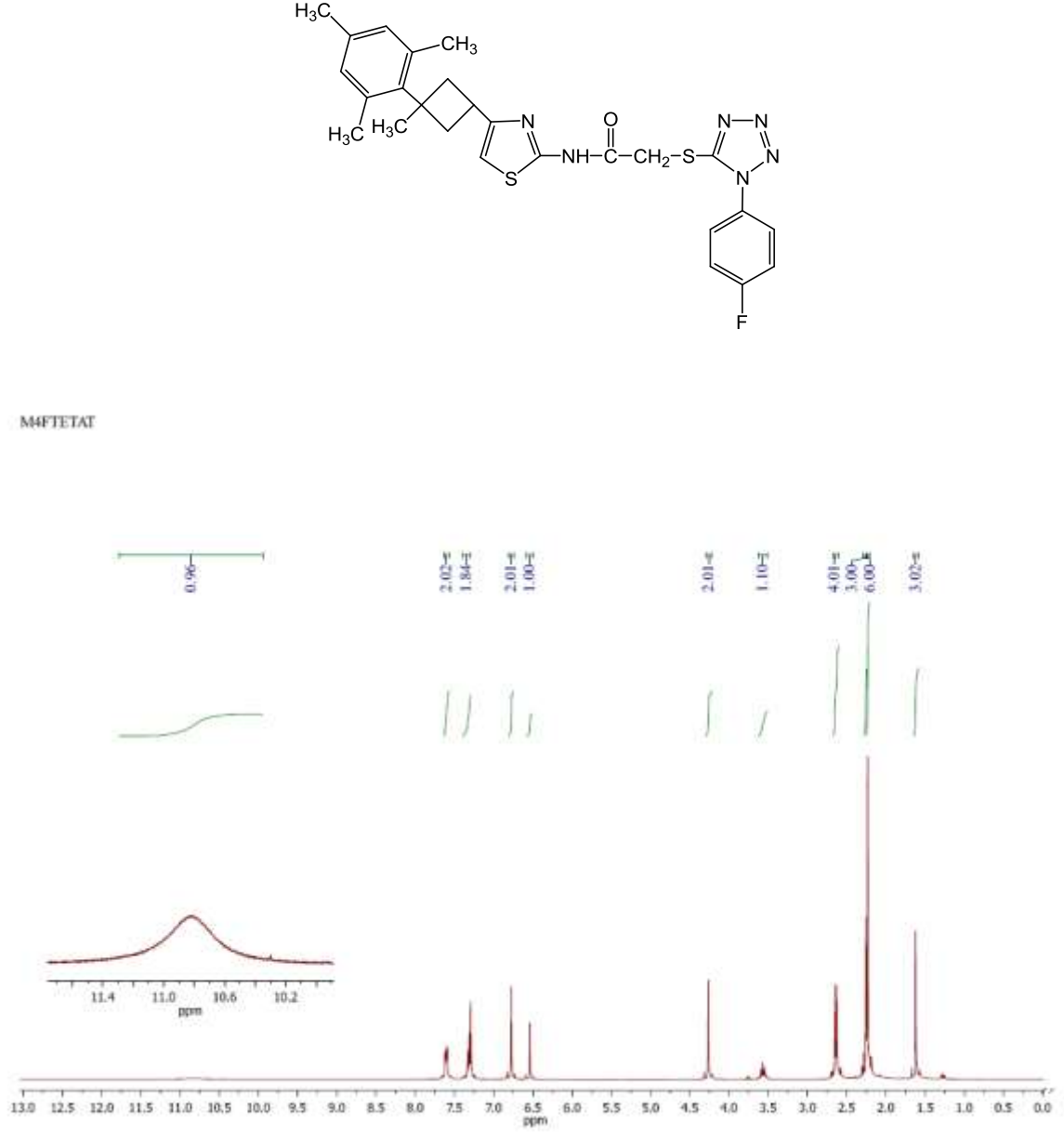
### 3.1.2. 2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Beyaz çökelek, verim: % 87,  $M_A$ : 522,66 g/mol. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3196 (N-H), 3074 (Aromatik-H), 2960-2865 (Alifatik-H), 1685 (C=O), 1569 (tiyazol, C=N), 1513 (tetrazol, C=N), 624 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.4.**'de verilmiştir.



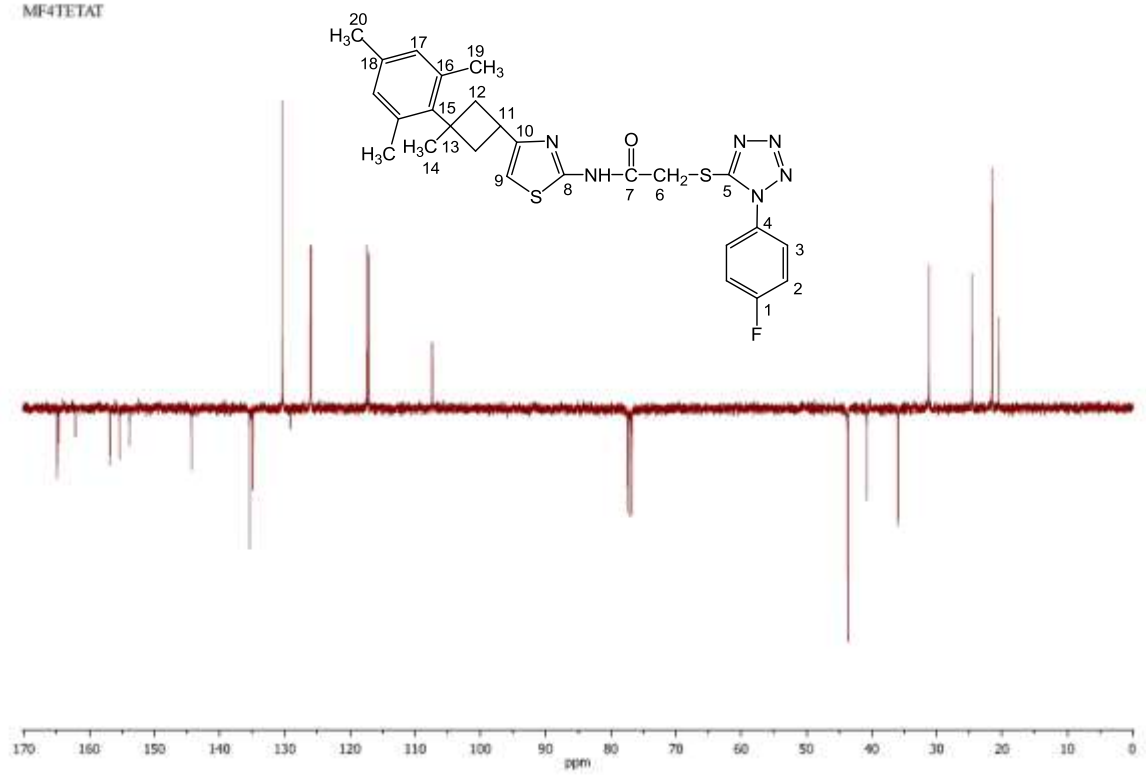
**Şekil 3.4.** 2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 1.62 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.23 (s, 6H, *o*-CH<sub>3</sub>), 2.25 (s, 3H, *p*-CH<sub>3</sub>), 2.63-2.65 (d, *j*=8.8 Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.52-3.61 (q, *j*=8.9 Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.27 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.54 (s, 1H, =CH-S-), 6.78-7.62 (m, 6H, fenil ve mezitil), 10.81 (s, 1H, -NH-). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.5.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.5.** 2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

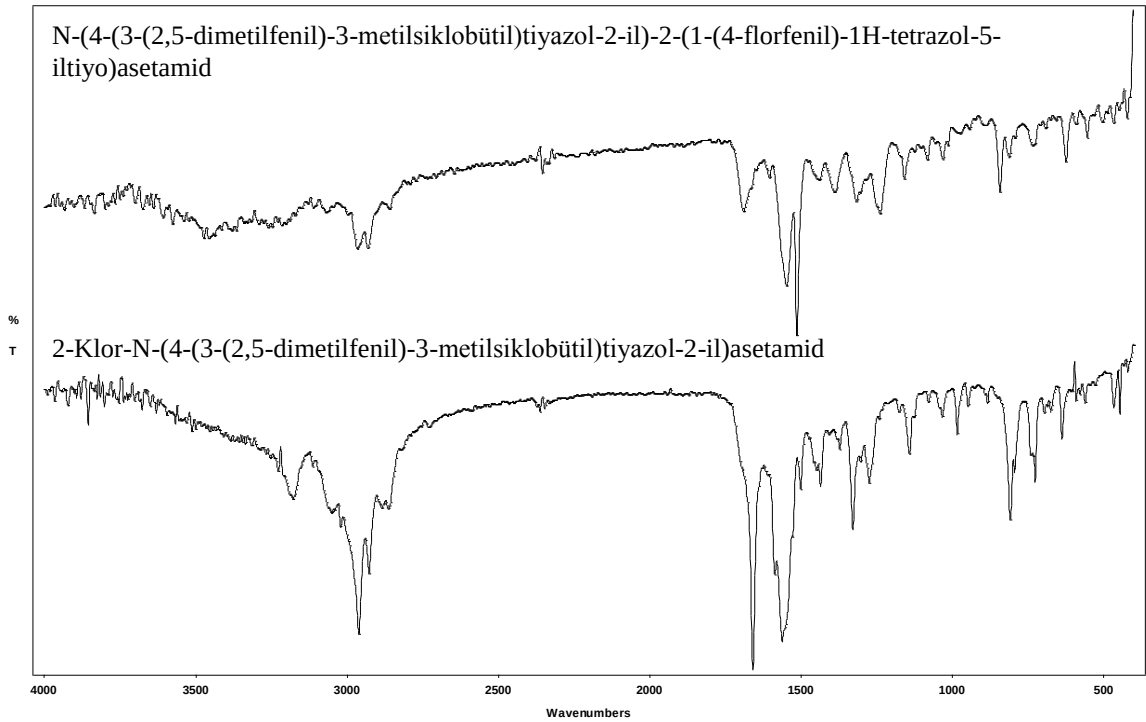
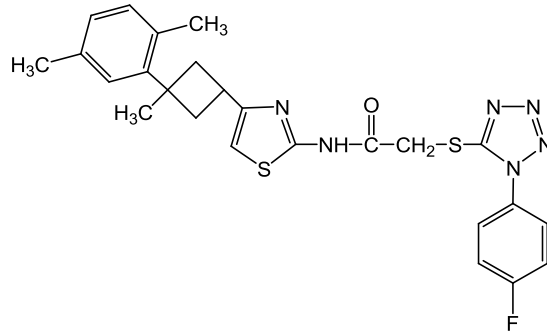
**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$ , ppm):** 164.78 ( $\text{C}_7$ ), 162.13 ( $\text{C}_1$ ), 156.81 ( $\text{C}_8$ ), 155.36 ( $\text{C}_{15}$ ), 153.80 ( $\text{C}_{10}$ ), 144.31 ( $\text{C}_5$ ), 135.36 ( $\text{C}_{16}$ ), 134.84 ( $\text{C}_{18}$ ), 130.35 ( $\text{C}_{17}$ ), 129.18 ( $\text{C}_4$ ), 126.03 ( $\text{C}_3$ ), 117.27 ( $\text{C}_2$ ), 107.39 ( $\text{C}_9$ ), 43.66 ( $\text{C}_{12}$ ), 40.74 ( $\text{C}_6$ ), 35.94 ( $\text{C}_{13}$ ), 31.71 ( $\text{C}_{11}$ ), 24.56 ( $\text{C}_{14}$ ), 21.51 ( $\text{C}_{20}$ ), 20.51 ( $\text{C}_{19}$ ). Bileşiğine ait spektrum **Şekil 3.6.**'da verilmiştir.



**Şekil 3.6.** 2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütül)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR APT spektrumu

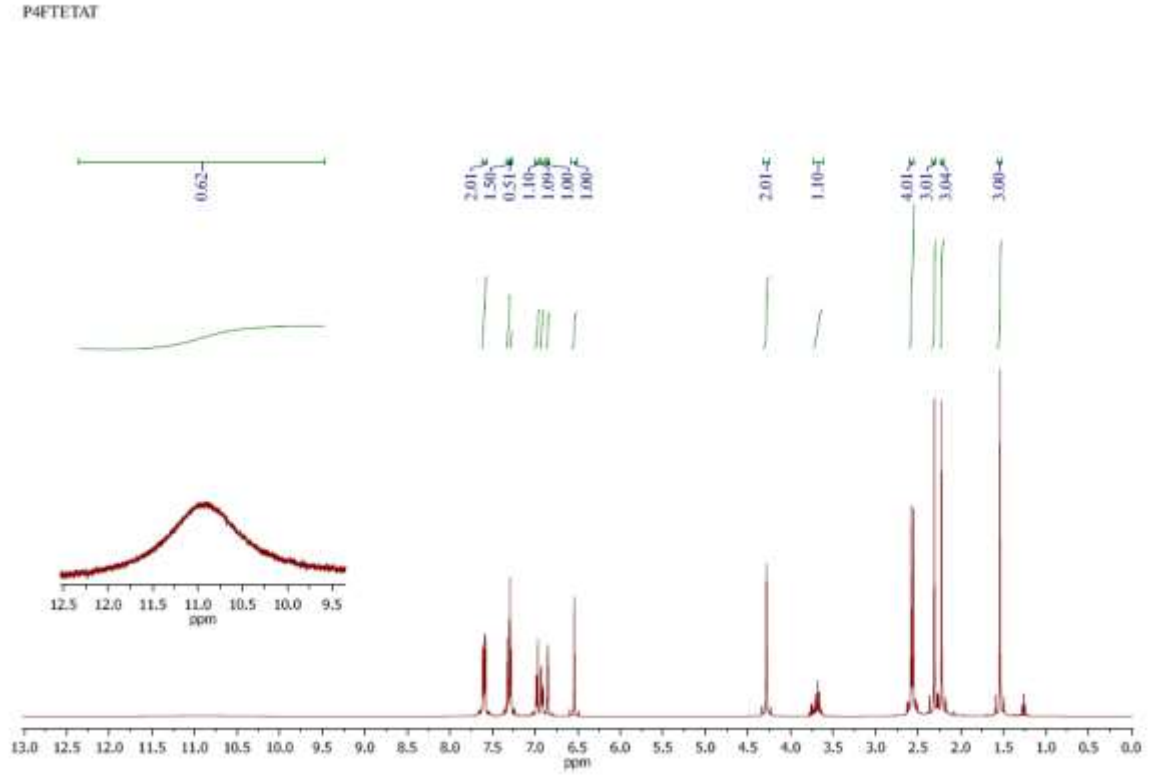
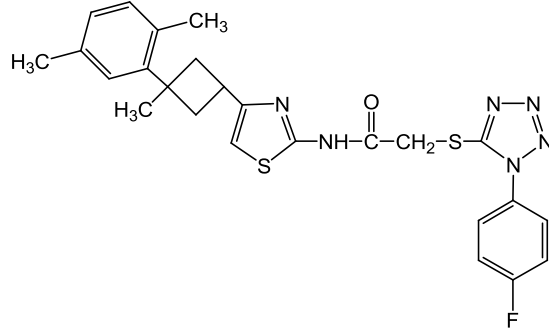
### 3.1.3. N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Sarı çökelek, verim: % 89,  $M_A$ : 508,63 g/mol. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3073 (Aromatik-H), 2967-2859 (Alifatik-H), 1689 (C=O), 1547 (tiyazol, C=N), 1513 (tetrazol, C=N), 624 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.7.**'de verilmiştir.



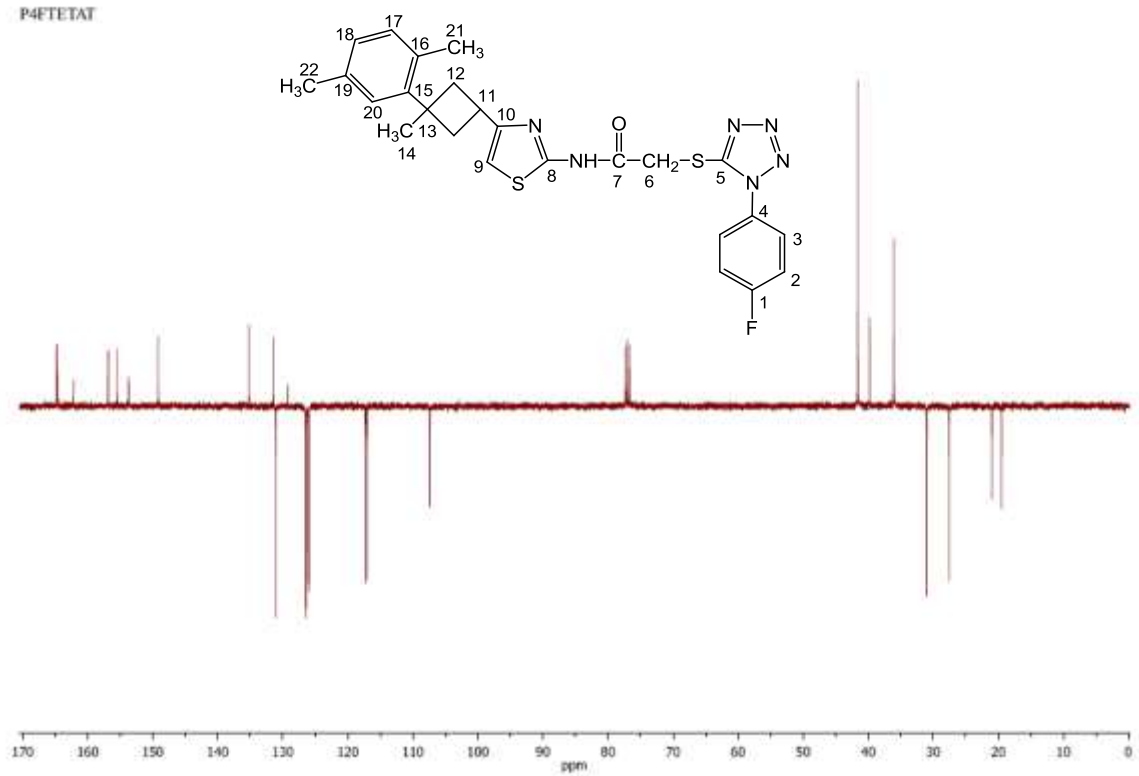
**Şekil 3.7.** N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 1.54 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.23 (s, 3H, *o*-CH<sub>3</sub>), 2.31 (s, 3H, *m*-CH<sub>3</sub>), 2.56-2.58 (d, *j*=8.8 Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.64-3.73 (q, *j*=8.6 Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.28 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.54 (s, 1H, =CH-S-), 6.85-7.62 (m, 7H, fenil ve *p*-ksilen), 10.92 (s, 1H, -NH-). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.8.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.8.** N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

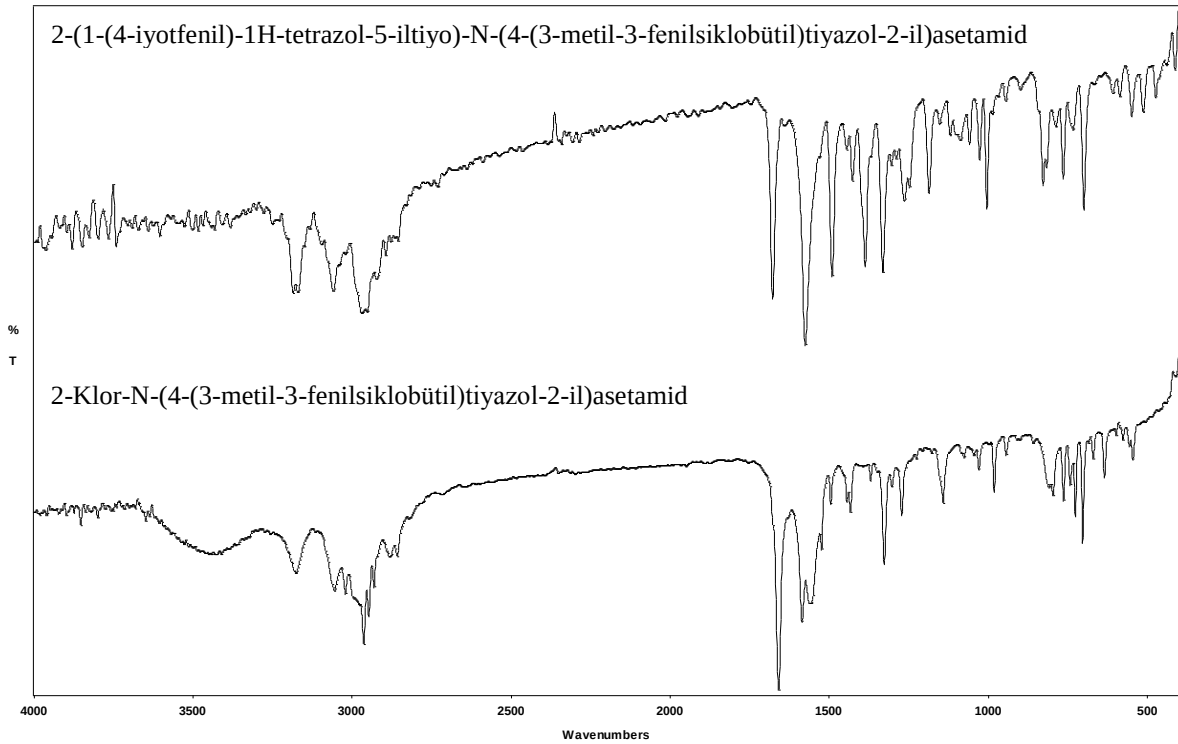
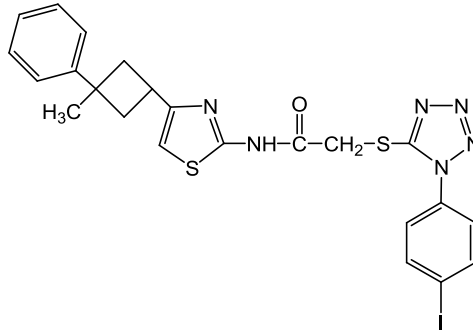
**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$ , ppm):** 164.73 ( $\text{C}_7$ ), 162.15 ( $\text{C}_1$ ), 156.85 ( $\text{C}_8$ ), 155.46 ( $\text{C}_{10}$ ), 153.73 ( $\text{C}_5$ ), 149.17 ( $\text{C}_{15}$ ), 135.20 ( $\text{C}_{19}$ ), 131.42 ( $\text{C}_{16}$ ), 131.09 ( $\text{C}_{17}$ ), 129.25 ( $\text{C}_4$ ), 126.47 ( $\text{C}_{18}$ ), 126.40 ( $\text{C}_3$ ), 126.05 ( $\text{C}_{20}$ ), 117.18 ( $\text{C}_2$ ), 107.39 ( $\text{C}_9$ ), 41.60 ( $\text{C}_{12}$ ), 39.77 ( $\text{C}_6$ ), 36.07 ( $\text{C}_{13}$ ), 30.98 ( $\text{C}_{11}$ ), 27.58 ( $\text{C}_{14}$ ), 20.98 ( $\text{C}_{22}$ ), 19.48 ( $\text{C}_{21}$ ) Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.9.**'da verilmiştir.



**Şekil 3.9.** N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR APT spektrumu

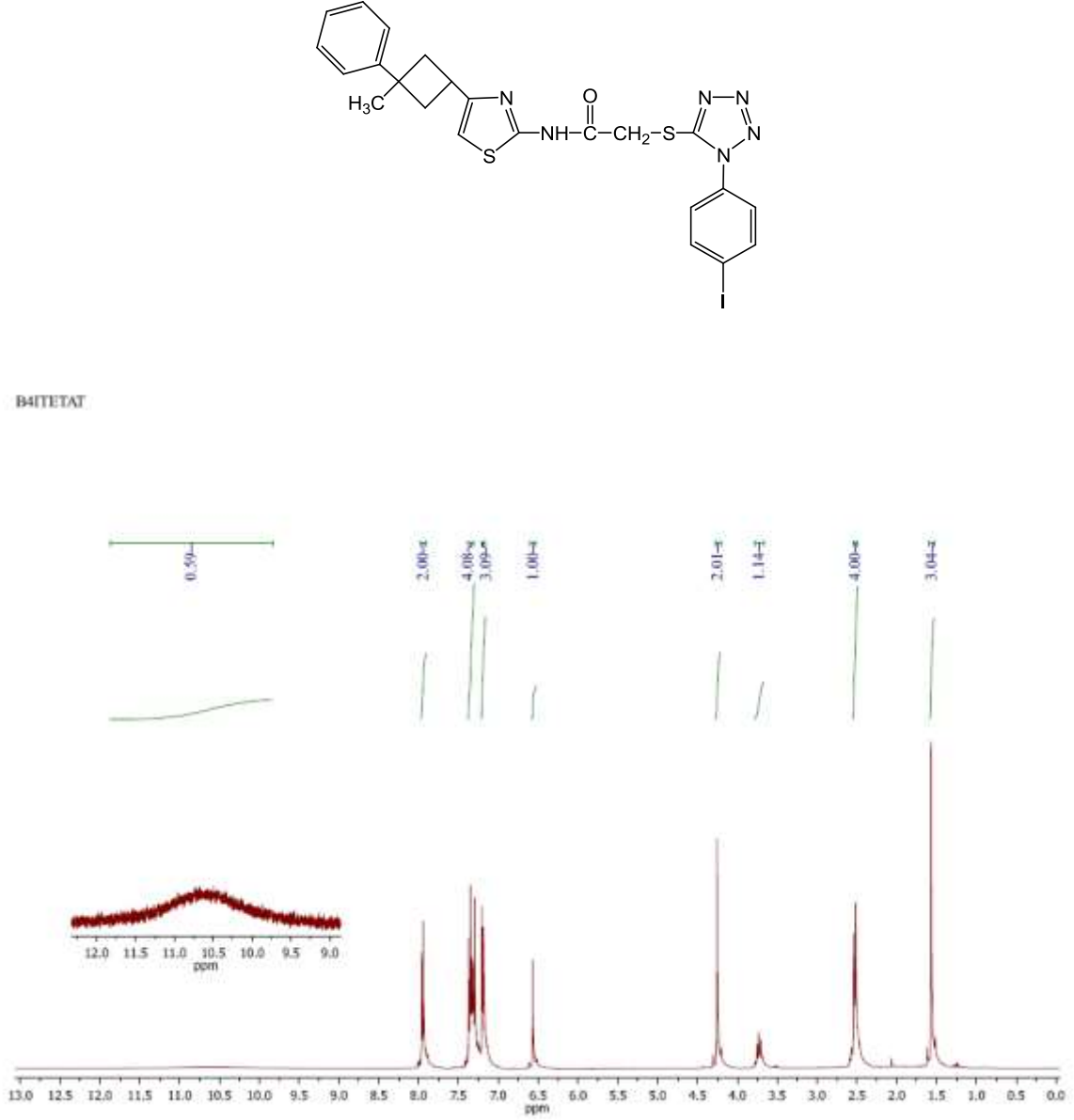
### 3.1.4. 2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Sarı kristal, verim: % 87,  $M_A$ : 588,49 g/mol, e.n: 156.6 °C. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3179 (N-H), 3059 (Aromatik-H), 2961-2850 (Alifatik-H), 1677 (C=O), 1576 (tiyazol, C=N), 1492 (tetrazol, C=N), 699 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.10.**'da verilmiştir.



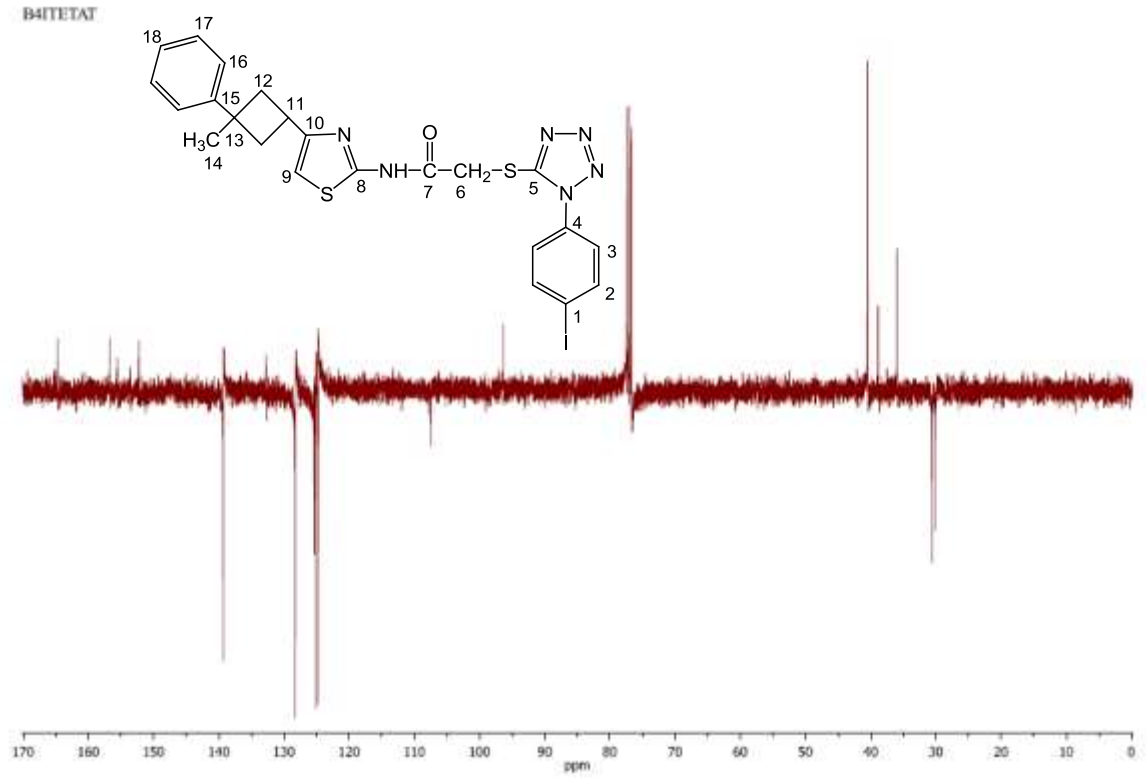
**Şekil 3.10.** 2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 1.57 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.52-2.54 (d, *j*=8.8 Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.69-3.78 (q, *j*=8.8 Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.25 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.57 (s, 1H, =CH-S-), 7.18-7.96 (m, 9H, fenil), 10.63 (s, 1H, -NH-). Bileşiğe ait spektrum Şekil 3.11.'de verilmiştir.



**Şekil 3.11.** 2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

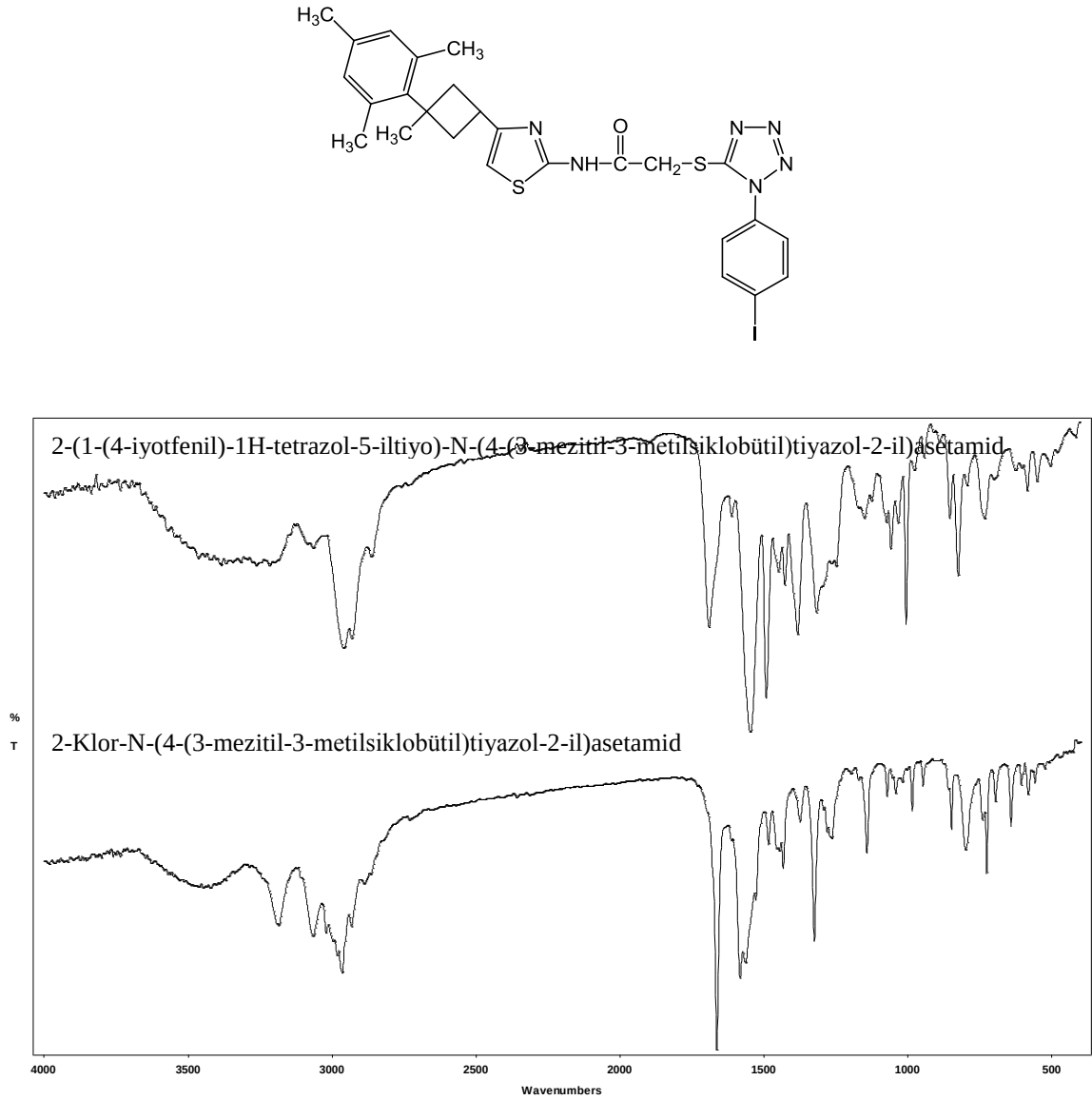
**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 164.69 (C<sub>7</sub>), 156.72 (C<sub>8</sub>), 155.53 (C<sub>10</sub>), 153.57 (C<sub>5</sub>), 152.23 (C<sub>15</sub>), 139.30 (C<sub>2</sub>), 132.77 (C<sub>4</sub>), 128.26 (C<sub>3</sub>), 125.39 (C<sub>17</sub>), 125.10 (C<sub>18</sub>), 124.74 (C<sub>16</sub>), 107.47 (C<sub>9</sub>), 96.37 (C<sub>1</sub>), 40.49 (C<sub>12</sub>), 38.86 (C<sub>6</sub>), 35.96 (C<sub>13</sub>), 30.58 (C<sub>11</sub>), 30.08 (C<sub>14</sub>). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.12.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.12.** 2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup>C-NMR APT spektrumu

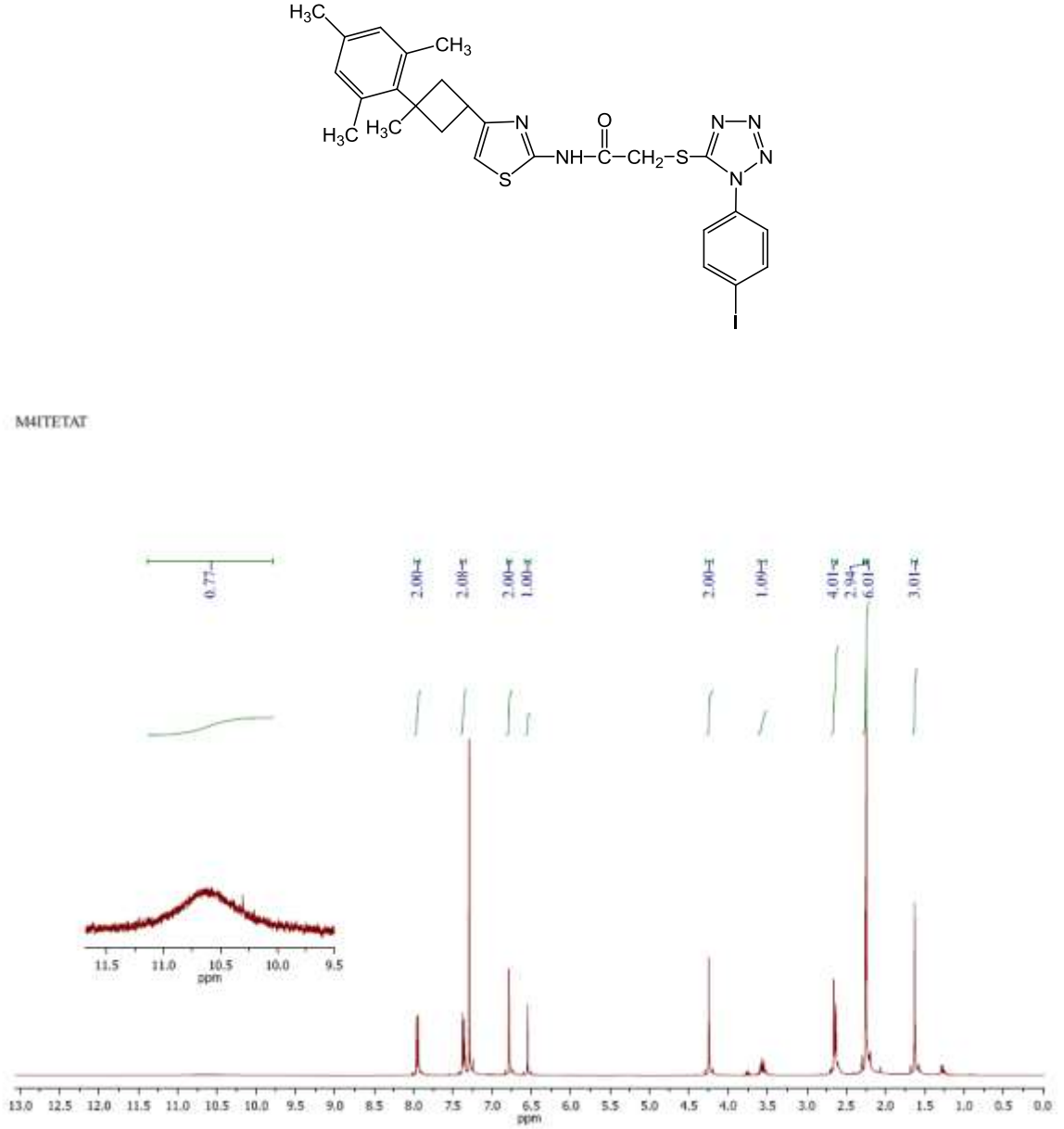
### 3.1.5. 2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Beyaz çökelek, verim: % 78,  $M_A$ : 630,57 g/mol. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3065 (Aromatik-H), 2959-2863 (Alifatik-H), 1690 (C=O), 1547 (tiyazol, C=N), 1491 (tetrazol, C=N), 733 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.13.**'de verilmiştir.



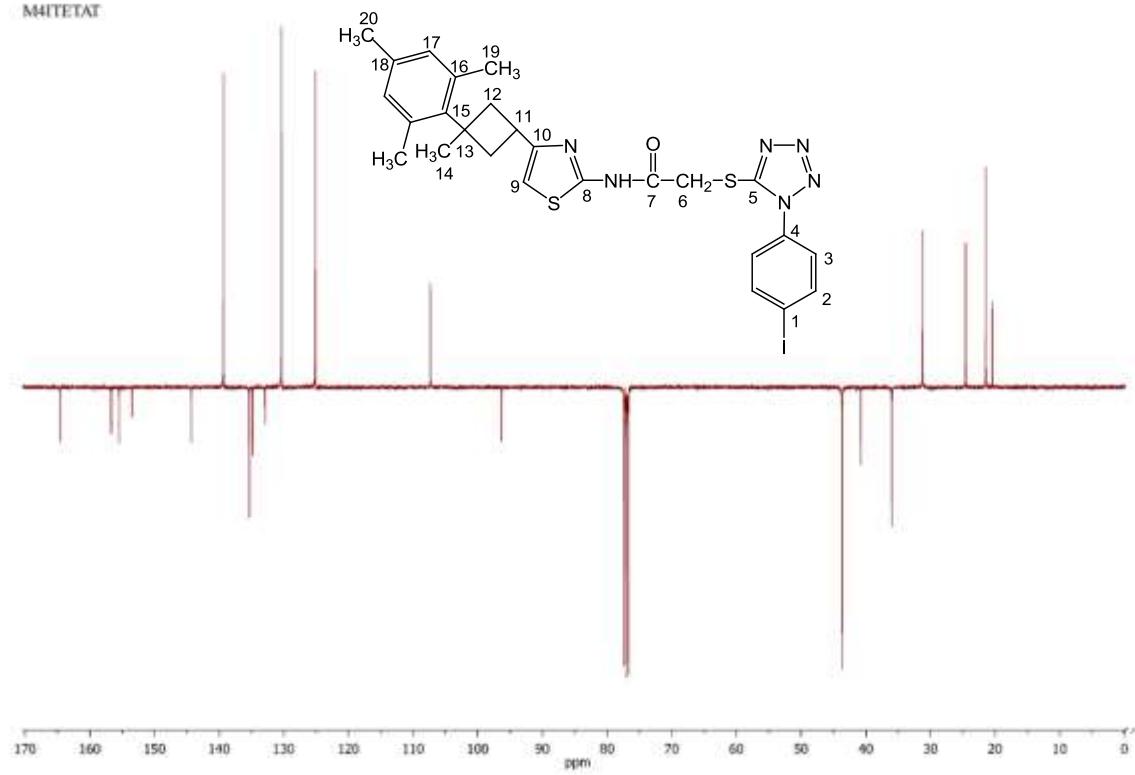
**Şekil 3.13.** 2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 1.63 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.24 (s, 6H, *o*-CH<sub>3</sub>), 2.25 (s, 3H, *p*-CH<sub>3</sub>), 2.63-2.66 (d, *j*=8.8 Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.52-3.61 (q, *j*=9.0 Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.24 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.55 (s, 1H, =CH-S-), 6.79 (s, 2H, mezitil), 7.36-7.38 (d, *j*=8.4 Hz, 2H, fenil), 7.94-7.96 (d, *j*=8.4 Hz, 2H, fenil), 10.60 (s, 1H, -NH-). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.14.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.14.** 2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

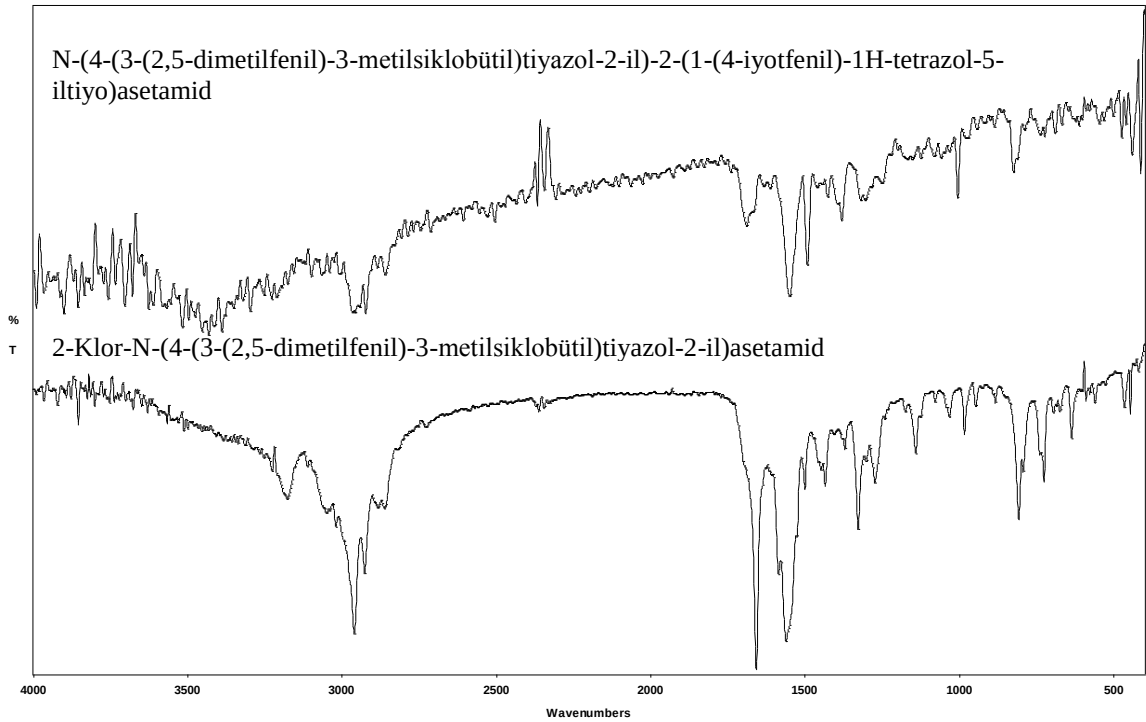
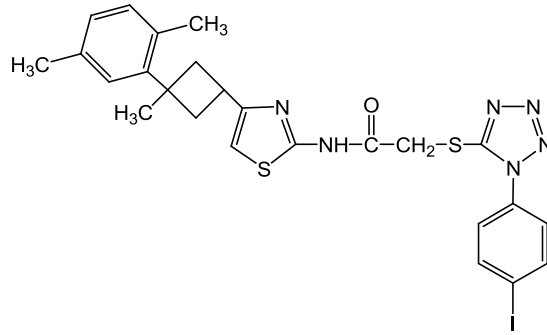
**$^{13}\text{C}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS,  $\delta$ , ppm):** 164.57 (C<sub>7</sub>), 156.68 (C<sub>8</sub>), 155.45 (C<sub>15</sub>), 153.49 (C<sub>10</sub>), 144.29 (C<sub>5</sub>), 139.30 (C<sub>2</sub>), 135.31 (C<sub>16</sub>), 134.76 (C<sub>18</sub>), 132.85 (C<sub>4</sub>), 130.35 (C<sub>17</sub>), 125.11 (C<sub>3</sub>), 107.31 (C<sub>9</sub>), 96.27 (C<sub>1</sub>), 43.68 (C<sub>12</sub>), 40.80 (C<sub>6</sub>), 35.97 (C<sub>13</sub>), 31.22 (C<sub>11</sub>), 24.57 (C<sub>14</sub>), 21.47 (C<sub>20</sub>), 20.46 (C<sub>19</sub>). Bileşiğe ait spektrum Şekil 3.15.'de verilmiştir.



**Şekil 3.15.** 2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR APT spektrumu

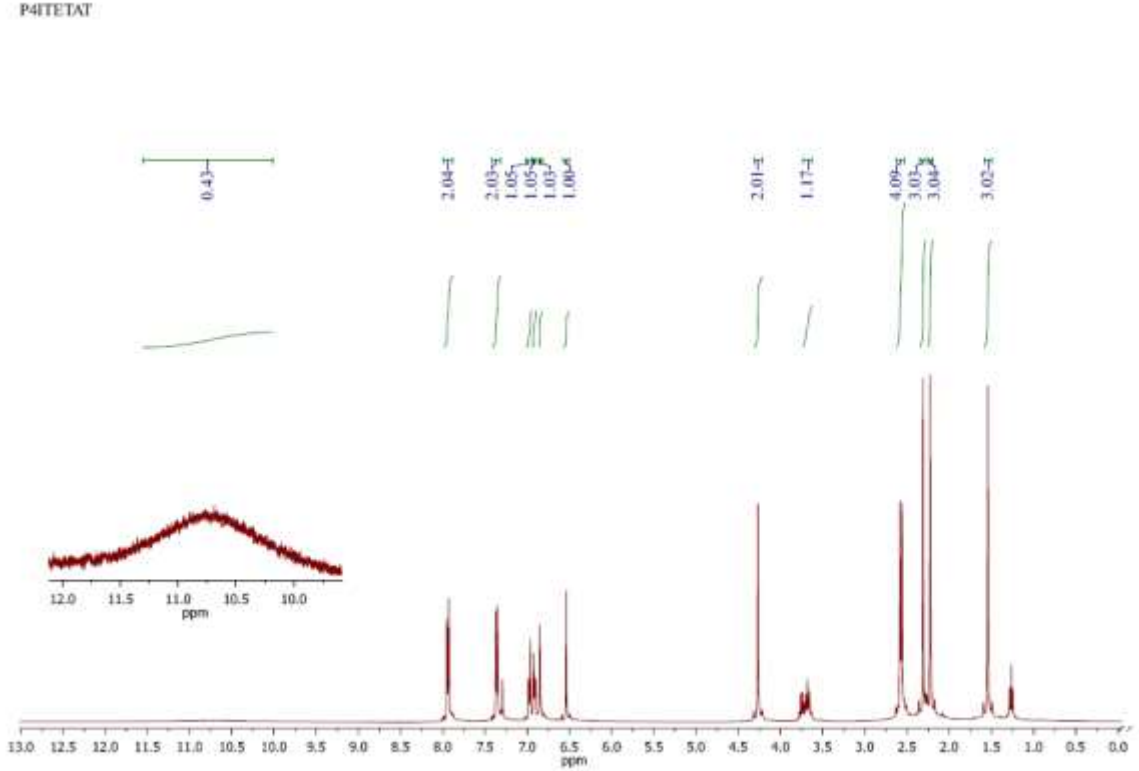
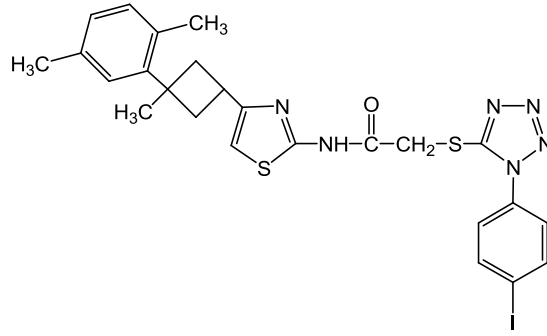
**3.1.6. N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:**

Beyaz çökelek, verim: % 85,  $M_A$ : 616,54 g/mol. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3067 (Aromatik-H), 2967-2860 (Alifatik-H), 1690 (C=O), 1550 (tiyazol, C=N), 1493 (tetrazol, C=N), 689 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.16.**'da verilmiştir.



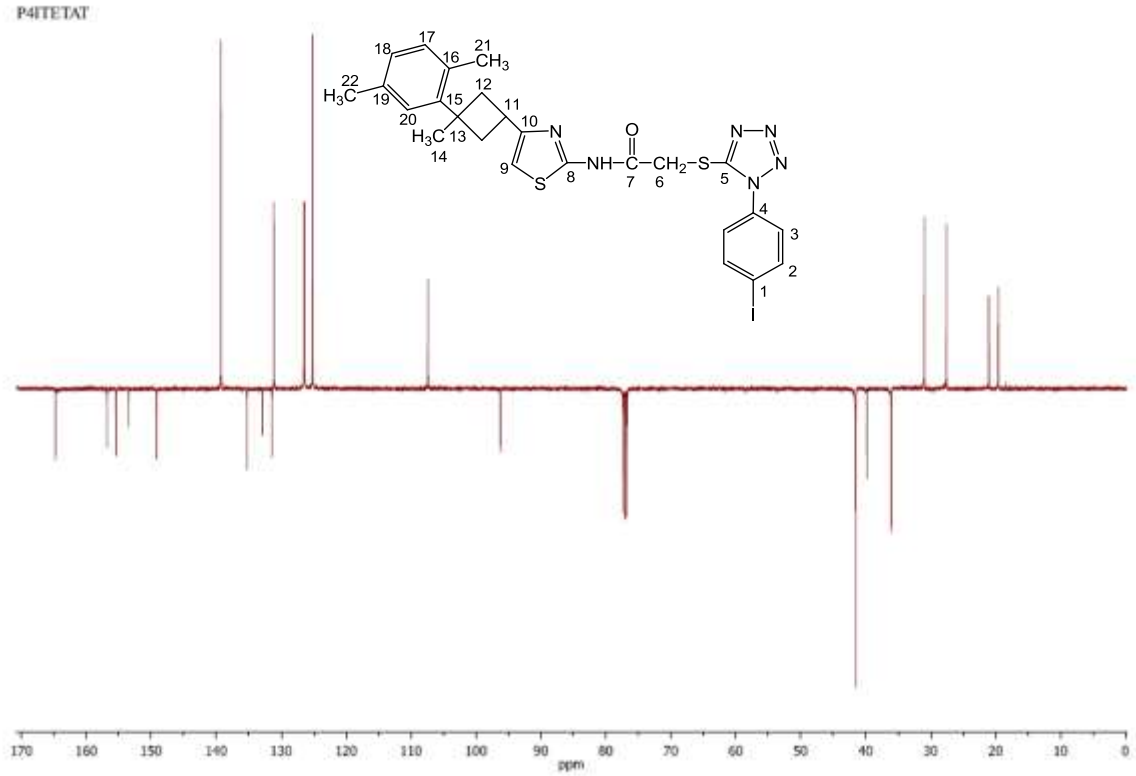
**Şekil 3.16.** N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS,  $\delta$ , ppm):** 1.54 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.23 (s, 3H, *o*-CH<sub>3</sub>), 2.31 (s, 3H, *m*-CH<sub>3</sub>), 2.56-2.58 (d,  $j=8.8$  Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.64-3.73 (q,  $j=9.0$  Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.27 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.54 (s, 1H, =CH-S-), 6.85 (s, 1H, *p*-ksilen), 6.90-6.92 (d,  $j=8.0$  Hz, 1H, *p*-ksilen), 6.96-6.98 (d,  $j=7.6$  Hz, 1H, *p*-ksilen), 7.35-7.37 (d,  $j=7.6$  Hz, 2H, fenil), 7.93-7.95 (d,  $j=7.6$  Hz, 2H, fenil), 10.73 (s, 1H, -NH-). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.17.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.17.** N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

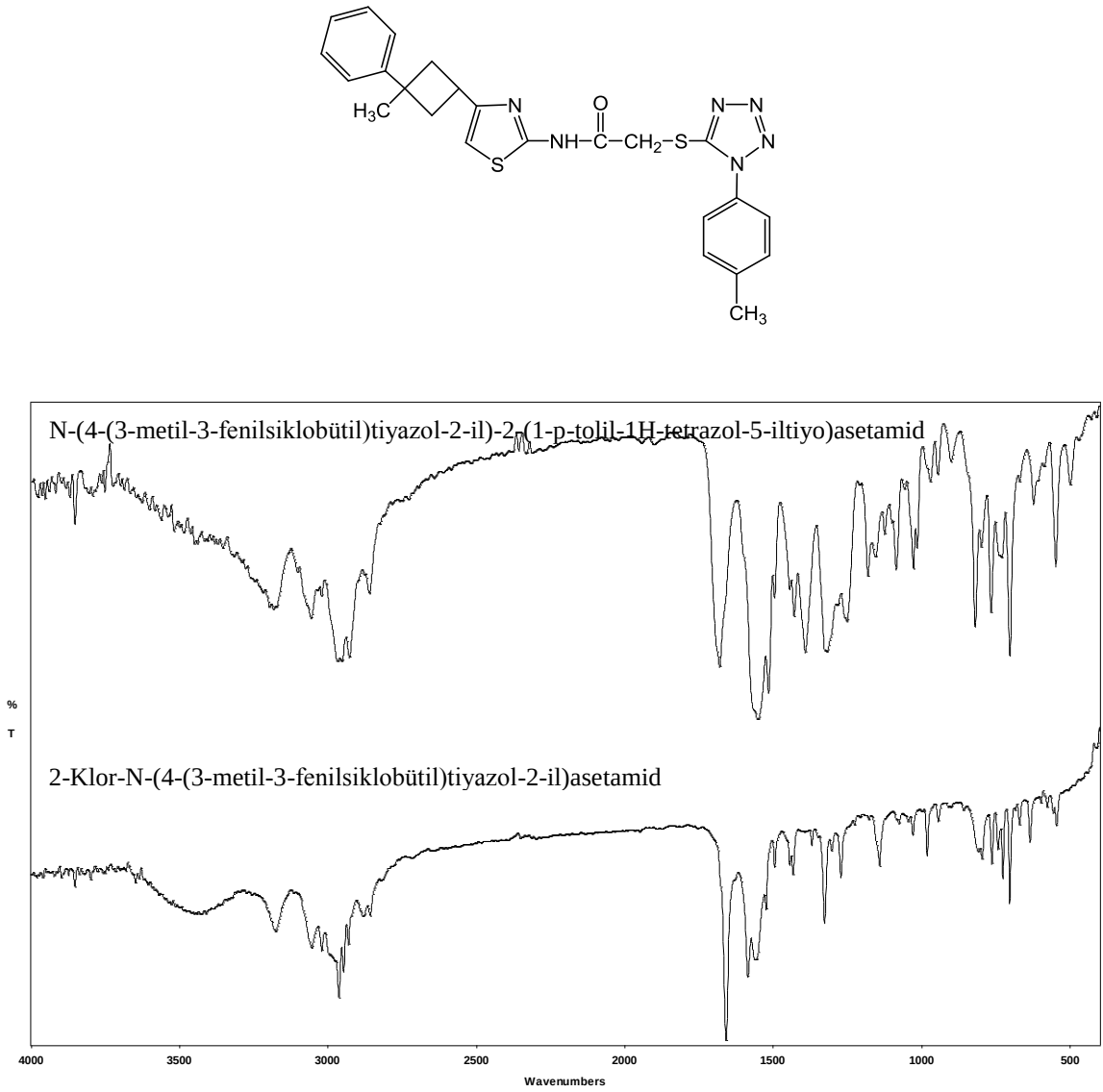
**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 164.73 (C<sub>7</sub>), 156.81 (C<sub>8</sub>), 155.43 (C<sub>10</sub>), 153.51 (C<sub>5</sub>), 149.15 (C<sub>15</sub>), 139.27 (C<sub>2</sub>), 135.23 (C<sub>19</sub>), 132.87 (C<sub>16</sub>), 131.43 (C<sub>4</sub>), 131.09 (C<sub>3</sub>), 126.48 (C<sub>17</sub>), 126.41 (C<sub>18</sub>), 125.12 (C<sub>20</sub>), 107.42 (C<sub>9</sub>), 96.25 (C<sub>1</sub>), 41.53 (C<sub>12</sub>), 39.78 (C<sub>6</sub>), 36.05 (C<sub>13</sub>), 30.95 (C<sub>11</sub>), 27.57 (C<sub>14</sub>), 21.04 (C<sub>22</sub>), 19.54 (C<sub>21</sub>) Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.18.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.18.** N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-iyotfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup>C-NMR APT spektrumu

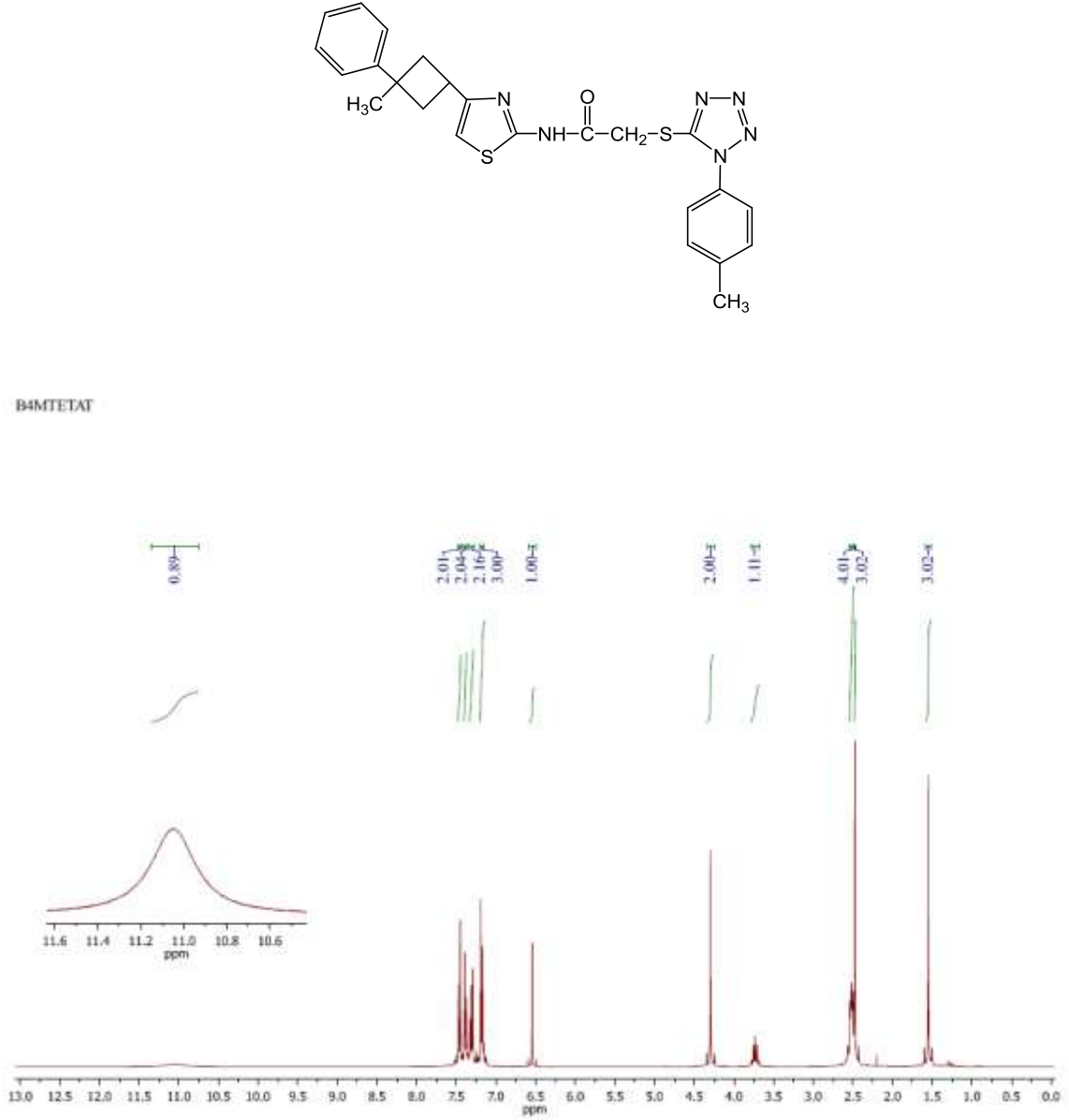
### 3.1.7. N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Beyaz kristal, verim: % 91,  $M_A$ : 476,62 g/mol, e.n: 152 °C. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3184 (N-H), 3057 (Aromatik-H), 2968-2860 (Alifatik-H), 1680 (C=O), 1556 (tiyazol, C=N), 1516 (tetrazol, C=N), 622 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.19.**'da verilmiştir.



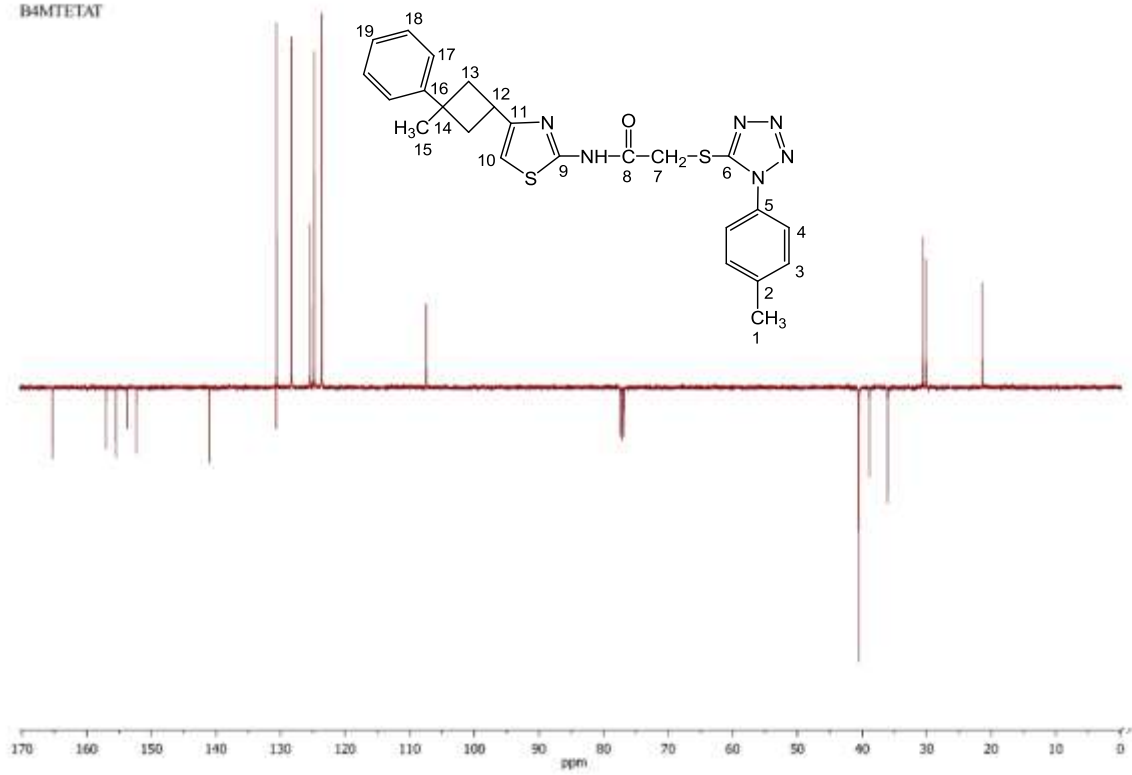
**Şekil 3.19.** N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 1.55 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.48 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>, *p*-tolil), 2.50-2.54 (m, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.69-3.78 (q, *j*=8.9 Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.30 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.55 (s, 1H, =CH-S-), 7.17-7.19 (m, 3H, fenil), 7.31-7.33 (d, *j*=8.0 Hz, 2H, fenil), 7.38-7.40 (d, *j*=8.4 Hz, 2H, fenil), 7.45-7.47 (d, *j*=8.4 Hz, 2H, fenil), 11.05 (s, 1H, -NH-). Bileşiğe ait spektrum Şekil 3.20.'de verilmiştir.



**Şekil 3.20.** N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

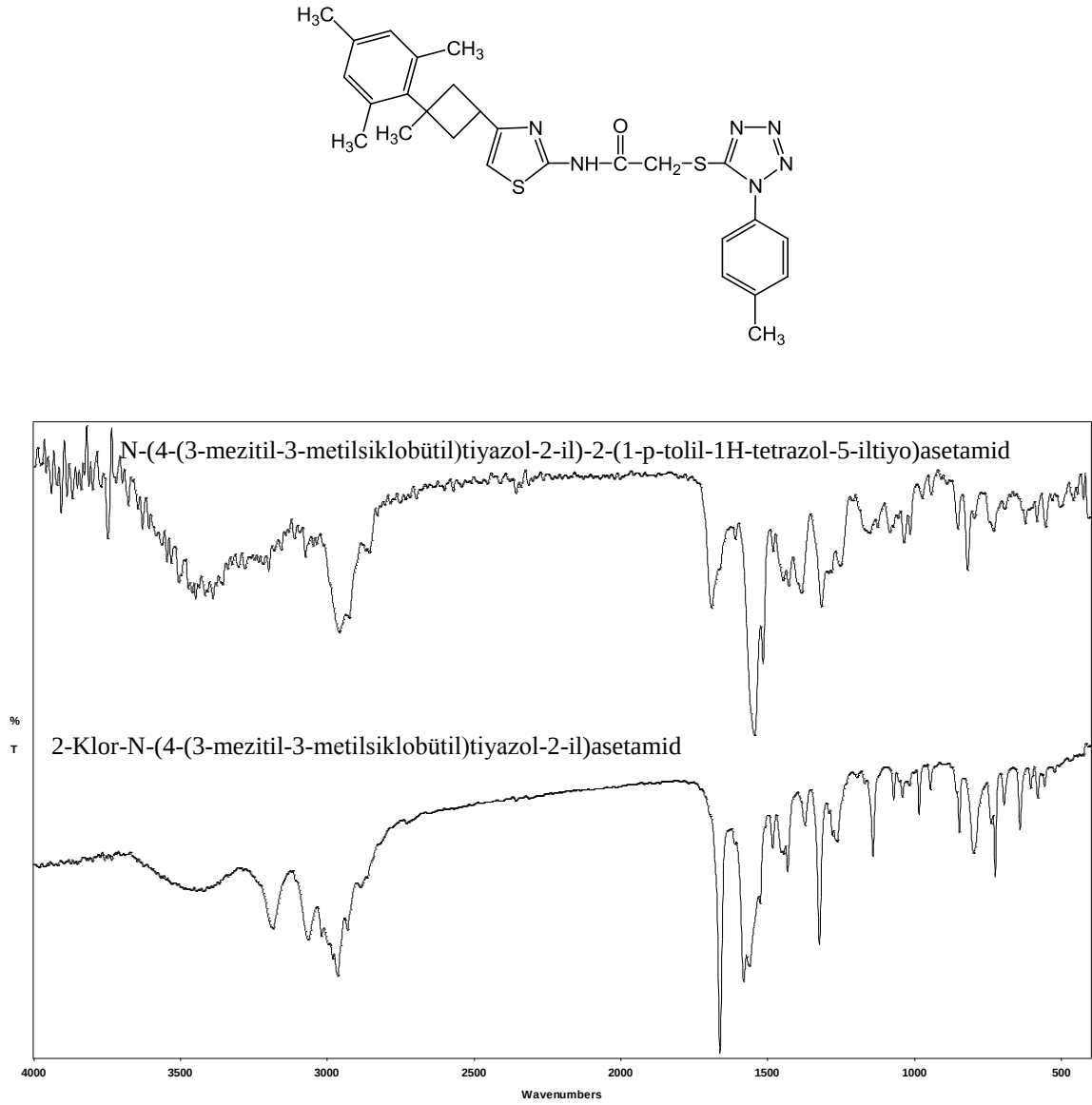
**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 165.27 (C<sub>8</sub>), 156.98 (C<sub>9</sub>), 155.47 (C<sub>11</sub>), 153.69 (C<sub>6</sub>), 152.28 (C<sub>16</sub>), 141.05 (C<sub>2</sub>), 130.65 (C<sub>5</sub>), 130.59 (C<sub>4</sub>), 128.26 (C<sub>3</sub>), 125.39 (C<sub>18</sub>), 124.78 (C<sub>19</sub>), 123.58 (C<sub>17</sub>), 107.43 (C<sub>10</sub>), 40.51 (C<sub>13</sub>), 38.84 (C<sub>7</sub>), 36.02 (C<sub>14</sub>), 30.61 (C<sub>12</sub>), 30.10 (C<sub>15</sub>), 21.38 (C<sub>1</sub>). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.21.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.21.** N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütül)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup>C-NMR APT spektrumu

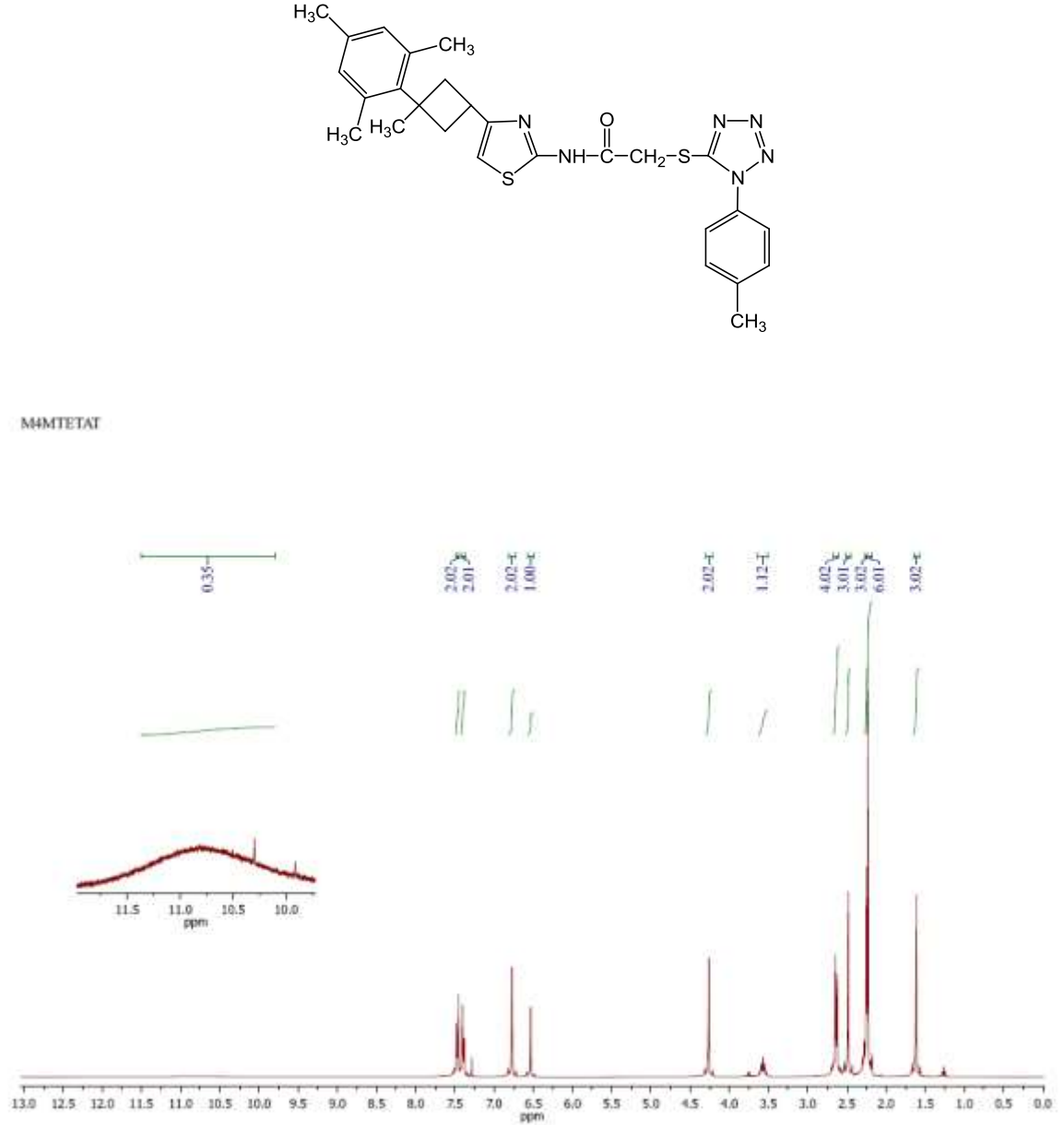
### 3.1.8. N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Sarı çökelek, verim: % 88,  $M_A$ : 518,70 g/mol. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3075 (Aromatik-H), 2960-2861 (Alifatik-H), 1691 (C=O), 1544 (tiyazol, C=N), 1516 (tetrazol, C=N), 622 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.22.**'de verilmiştir.



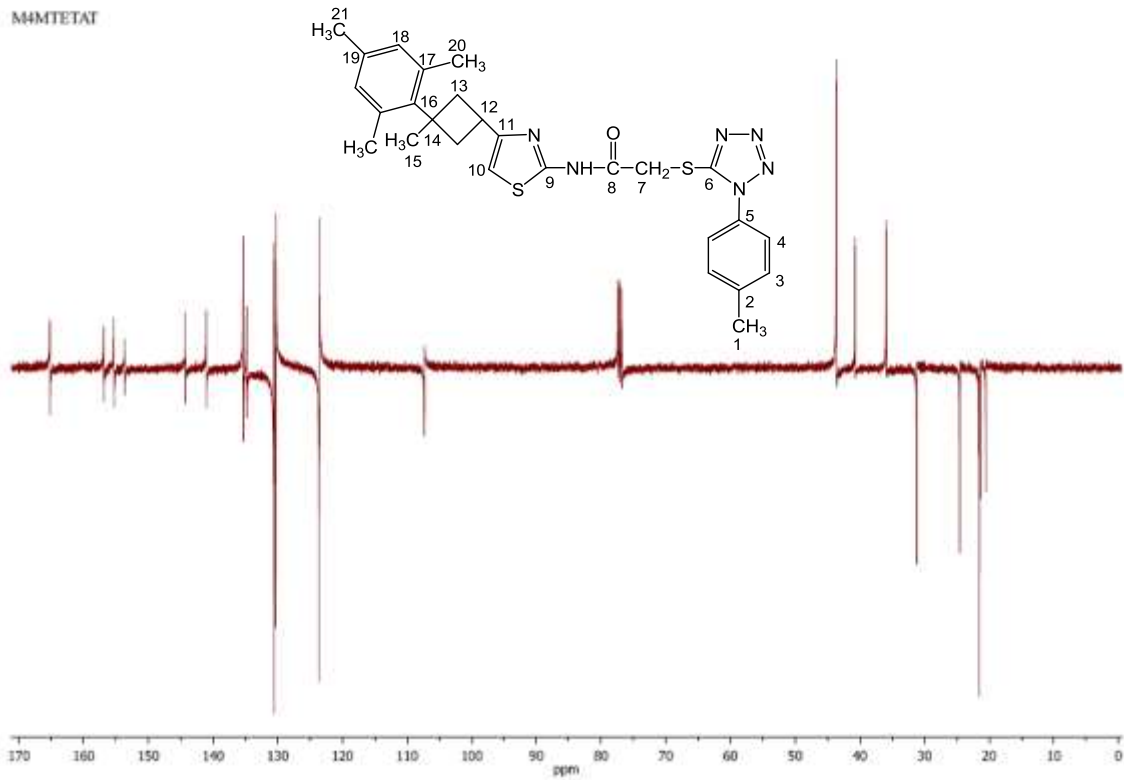
**Şekil 3.22.** N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS,  $\delta$ , ppm):** 1.61 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.23 (s, 6H, *o*-CH<sub>3</sub>), 2.25 (s, 3H, *p*-CH<sub>3</sub>), 2.48 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>, *p*-tolil), 2.62-2.65 (d, *j*=8.8 Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.52-3.61 (q, *j*=9.0 Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.26 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.53 (s, 1H, =CH-S-), 6.77 (s, 2H, mezitil), 7.38-7.40 (d, *j*=8.4 Hz, 2H, fenil), 7.46-7.48 (d, *j*=8.4 Hz, 2H, fenil), 10.81 (s, 1H, -NH-). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.23.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.23.** N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

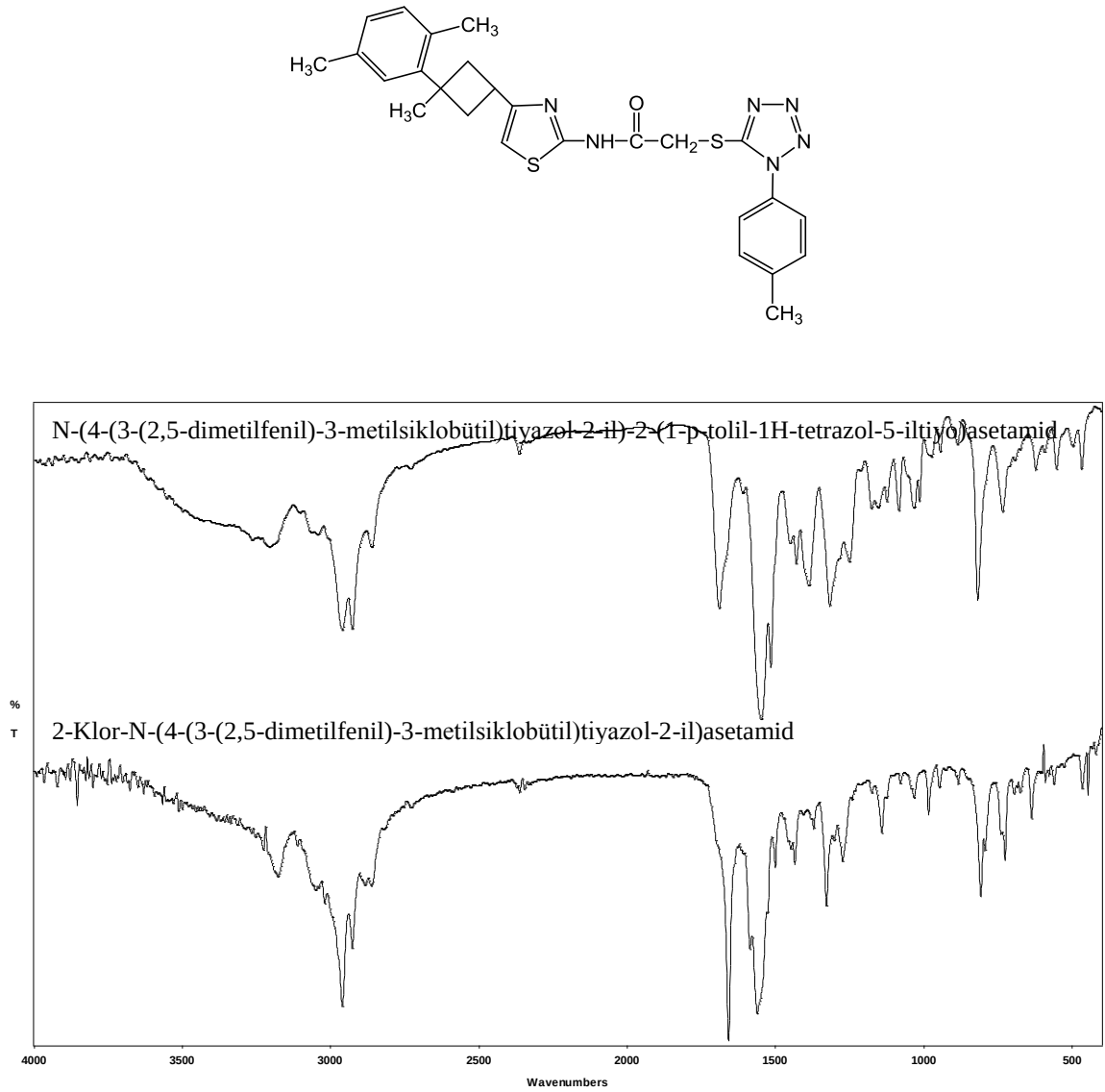
**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$ , ppm):** 165.21 ( $\text{C}_8$ ), 156.87 ( $\text{C}_9$ ), 155.34 ( $\text{C}_{16}$ ), 153.64 ( $\text{C}_{11}$ ), 144.30 ( $\text{C}_6$ ), 141.04 ( $\text{C}_2$ ), 135.35 ( $\text{C}_{17}$ ), 134.81 ( $\text{C}_{19}$ ), 130.58 ( $\text{C}_4$ ), 130.32 ( $\text{C}_{18}$ ), 123.56 ( $\text{C}_3$ ), 107.31 ( $\text{C}_{10}$ ), 43.61 ( $\text{C}_{13}$ ), 40.74 ( $\text{C}_7$ ), 35.92 ( $\text{C}_{14}$ ), 31.23 ( $\text{C}_{12}$ ), 24.56 ( $\text{C}_{15}$ ), 21.53 ( $\text{C}_{21}$ ), 21.37 ( $\text{C}_1$ ), 20.53 ( $\text{C}_{20}$ ). Bu maddenin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu alınırken yeterli miktarda puls gönderilmediğinden, bir ipso (hidrojensiz) karbon olan  $\text{C}_5$  numaralı karbon atomundan şiddetli bir sinyal alınamamıştır. Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.24.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.24.** N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütül)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR APT spektrumu

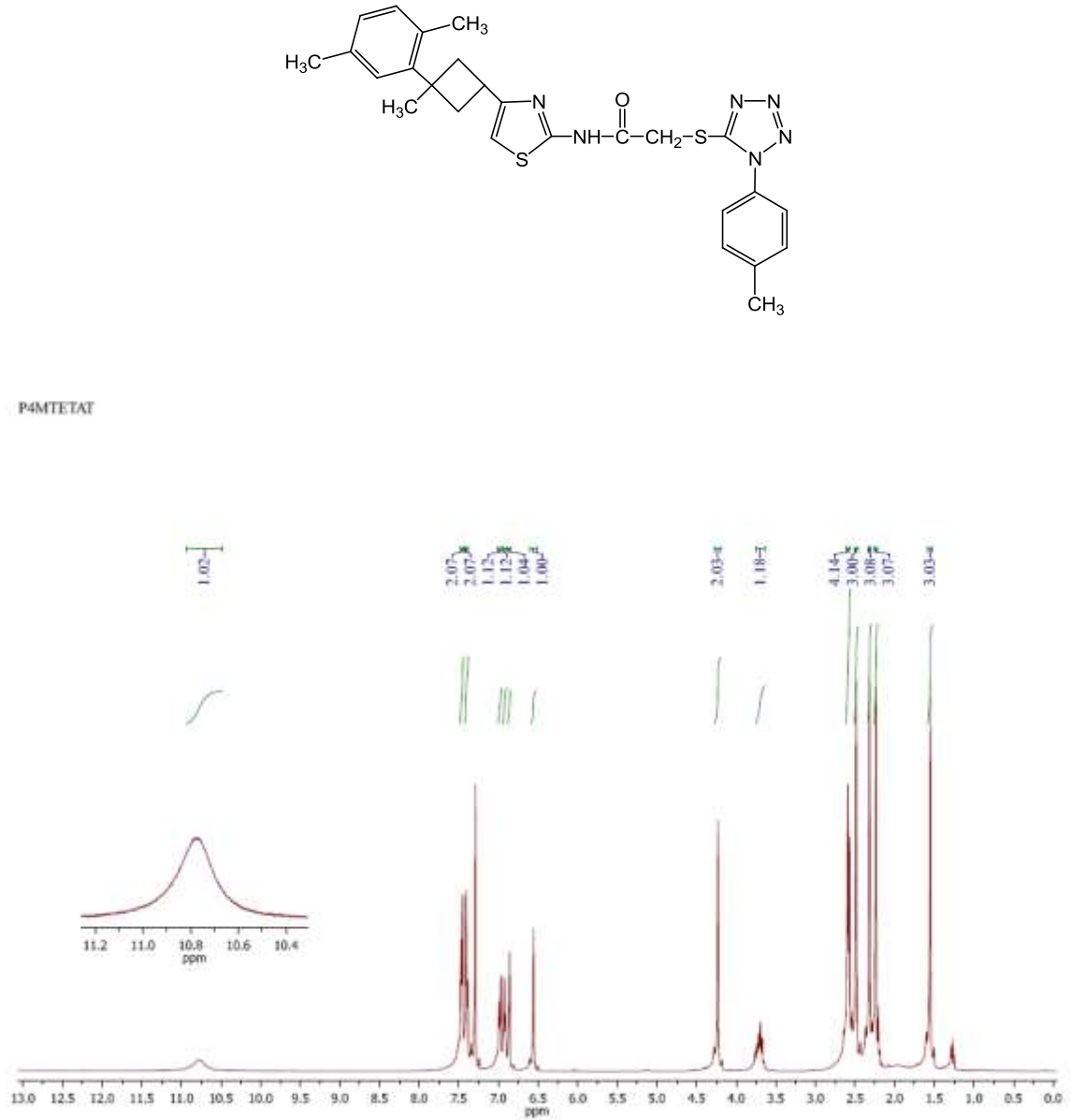
### 3.1.9. N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Sarı kristal, verim: % 87,  $M_A$ : 504,67 g/mol, e.n: 110-117 °C. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3209 (N-H), 3055 (Aromatik-H), 2962-2861 (Alifatik-H), 1690 (C=O), 1548 (tiyazol, C=N), 1516 (tetrazol, C=N), 622 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.25.**'de verilmiştir.



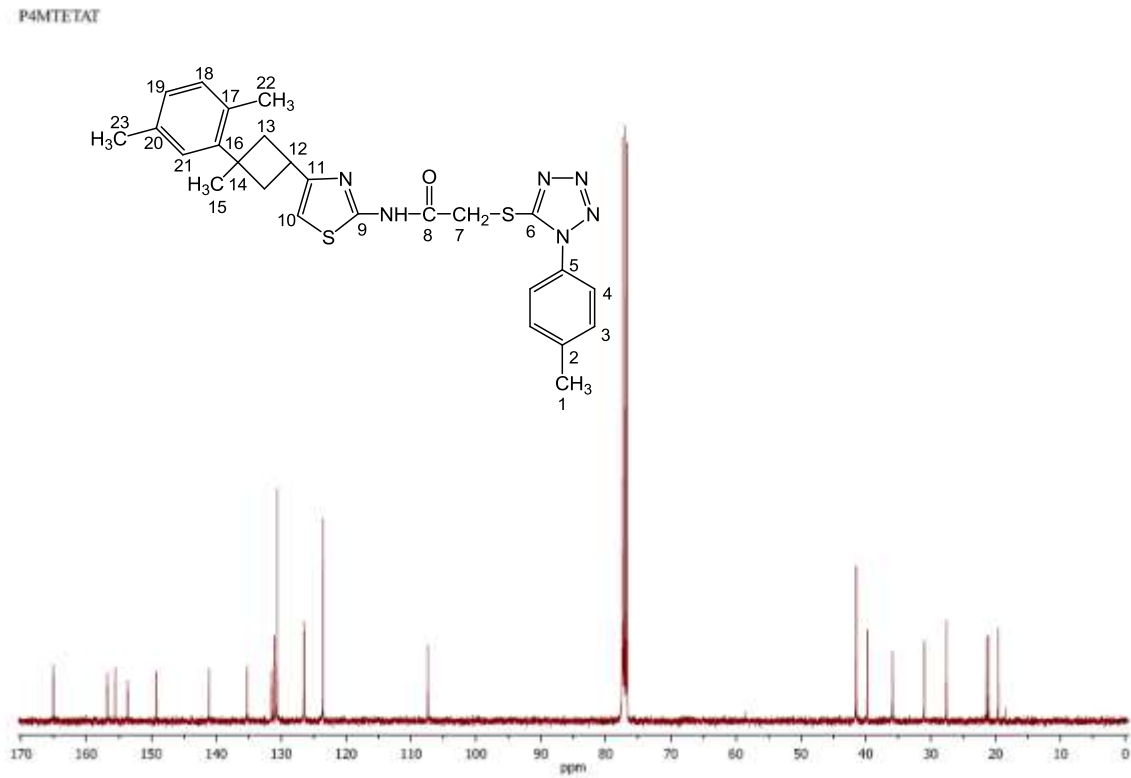
**Şekil 3.25.** N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 1.55 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.24 (s, 3H, *o*-CH<sub>3</sub>), 2.32 (s, 3H, *m*-CH<sub>3</sub>), 2.48 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>, *p*-tolil), 2.57-2.59 (d, *j*=8.4 Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.65-3.74 (q, *j*=9.4 Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.23 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.55 (s, 1H, =CH-S-), 6.86 (s, 1H, *p*-ksilen), 6.91-6.93 (d, *j*=7.6 Hz, 1H, *p*-ksilen), 6.97-6.99 (d, *j*=7.6 Hz, 1H, *p*-ksilen), 7.39-7.41 (d, *j*=6.8 Hz, 2H, fenil), 7.45-7.47 (d, *j*=7.2 Hz, 2H, fenil), 10.76 (s, 1H, -NH-). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.26.**'da verilmiştir.



**Şekil 3.26.** N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

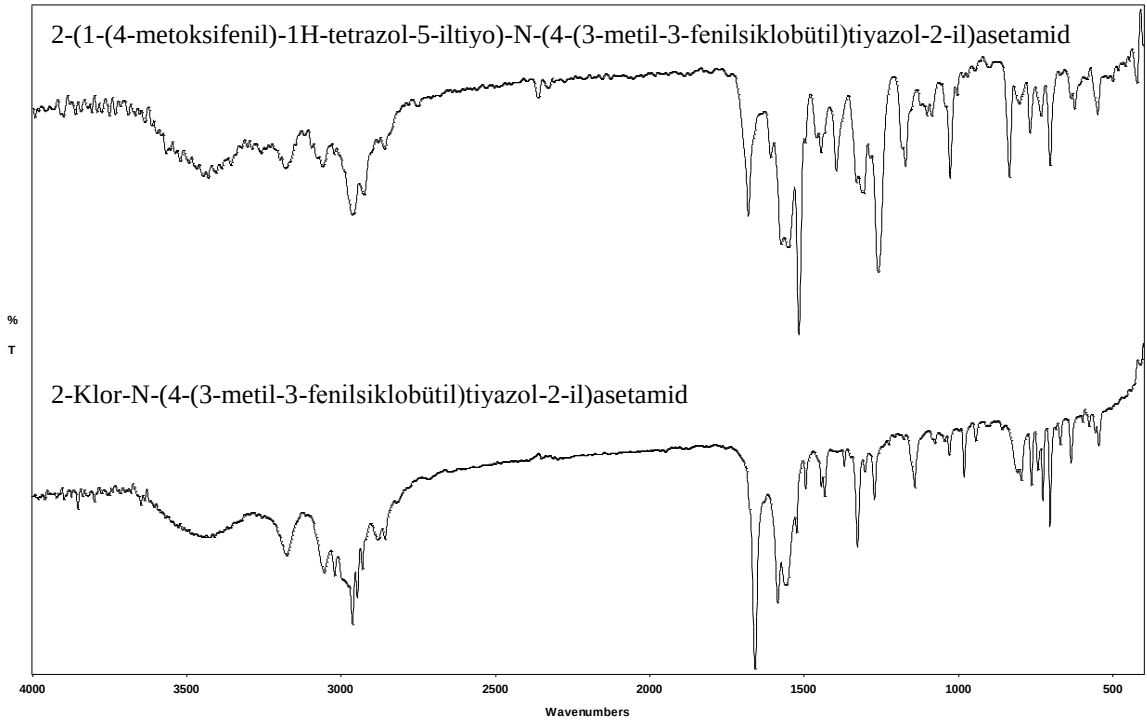
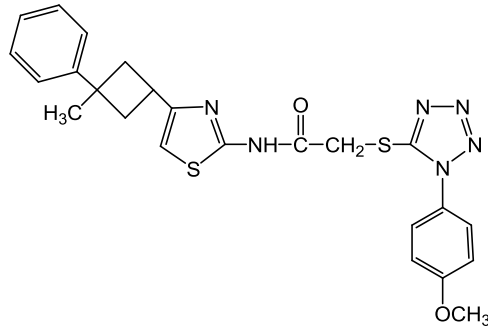
**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$ , ppm):** 165.04 ( $\text{C}_8$ ), 156.73 ( $\text{C}_9$ ), 155.53 ( $\text{C}_{11}$ ), 153.64 ( $\text{C}_6$ ), 149.17 ( $\text{C}_{16}$ ), 141.11 ( $\text{C}_2$ ), 135.25 ( $\text{C}_{20}$ ), 131.47 ( $\text{C}_4$ ), 131.09 ( $\text{C}_{17}$ ), 130.61 ( $\text{C}_{18}$ ), 126.49 ( $\text{C}_3$ ), 126.45 ( $\text{C}_{19}$ ), 123.56 ( $\text{C}_{21}$ ), 107.38 ( $\text{C}_{10}$ ), 41.46 ( $\text{C}_{13}$ ), 39.79 ( $\text{C}_7$ ), 35.85 ( $\text{C}_{14}$ ), 30.99 ( $\text{C}_{12}$ ), 27.55 ( $\text{C}_{15}$ ), 21.37 ( $\text{C}_{23}$ ), 21.08 ( $\text{C}_1$ ), 19.59 ( $\text{C}_{22}$ ). Bu maddenin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumunda toplam karbon atomu sayısı 23 olması beklenirken bir karbon atomu eksik çıkmaktadır. Bunun ise bir ipso karbon atomu olan  $\text{C}_5$  numaralı karbon olduğu düşünülmektedir. Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.27.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.27.** N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütül)tiyazol-2-il)-2-(1-p-tolil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu

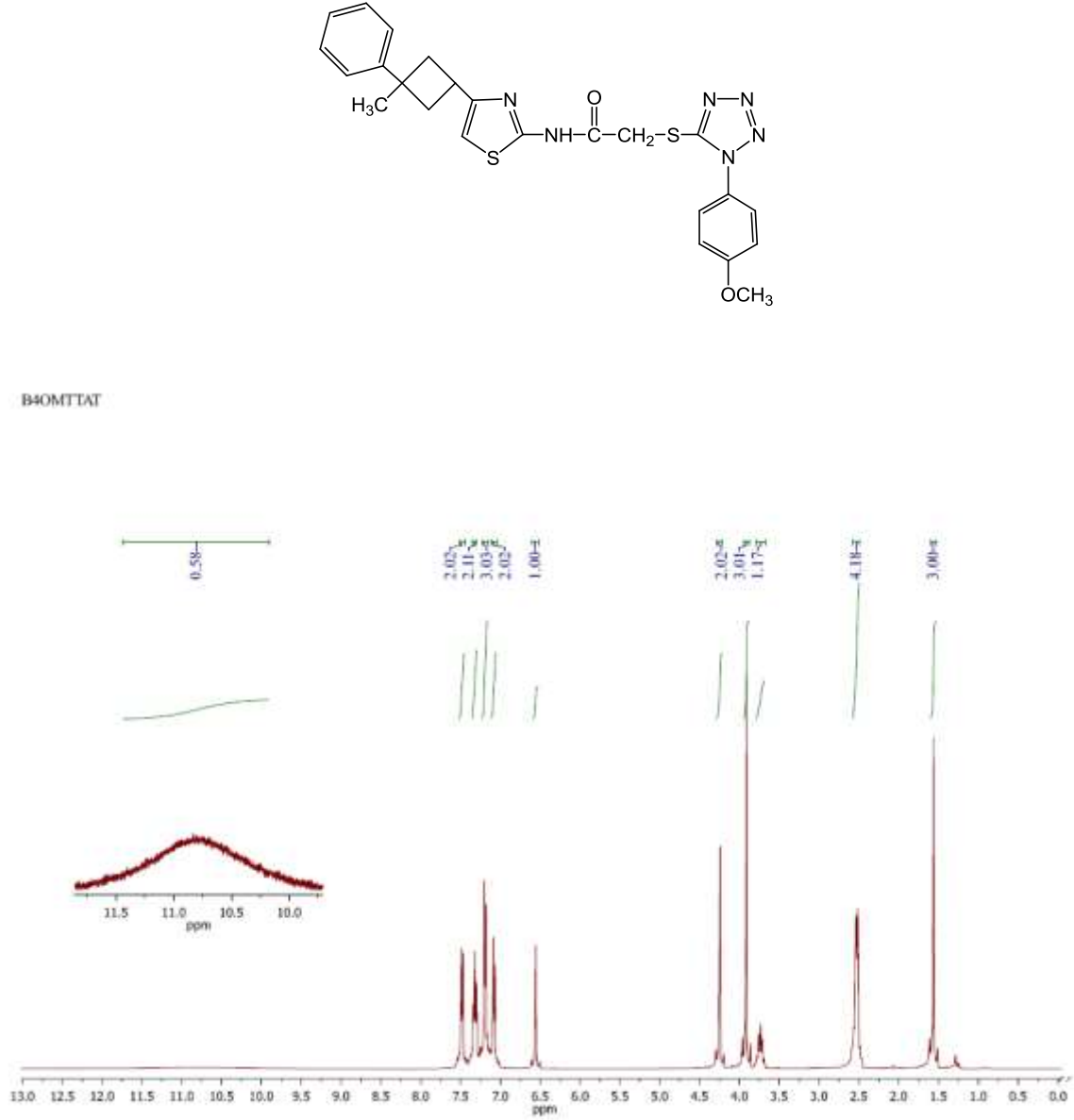
**3.1.10. 2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:**

Sarı çökelek, verim: % 94,  $M_A$ : 492,62 g/mol. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3184 (N-H), 3062 (Aromatik-H), 2965-2858 (Alifatik-H), 1680 (C=O), 1564 (tiyazol, C=N), 1517 (tetrazol, C=N), 624 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.28.**'de verilmiştir.



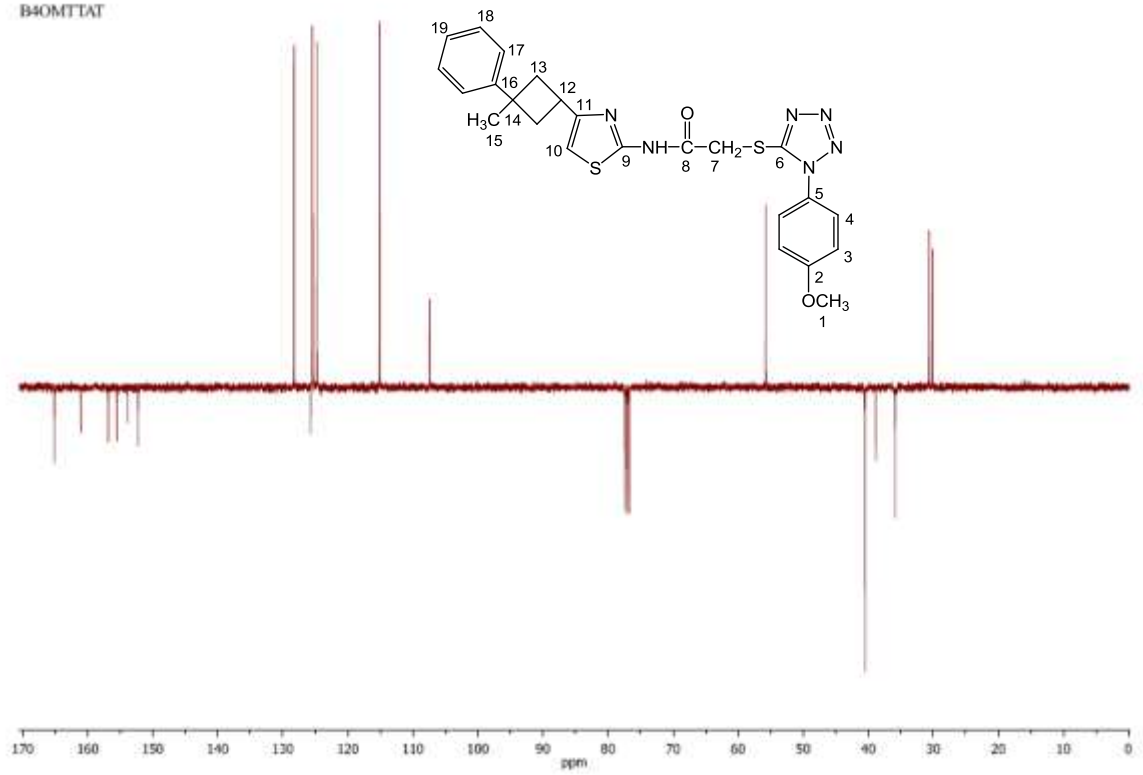
**Şekil 3.28.** 2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 1.56 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.51-2.54 (d, *j*=8.8 Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.69-3.78 (q, *j*=8.9 Hz, 1H, >CH-siklobütan), 3.91 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 4.24 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.55 (s, 1H, =CH-S-), 7.07-7.09 (d, *j*=8.0 Hz, 2H, fenil), 7.18-7.34 (m, 5H, fenil), 7.47-7.49 (d, *j*=8.0 Hz, 2H, fenil), 10.81 (s, 1H, -NH-). Bileşiğe ait spektrum Şekil 3.29.'da verilmiştir.



**Şekil 3.29.** 2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

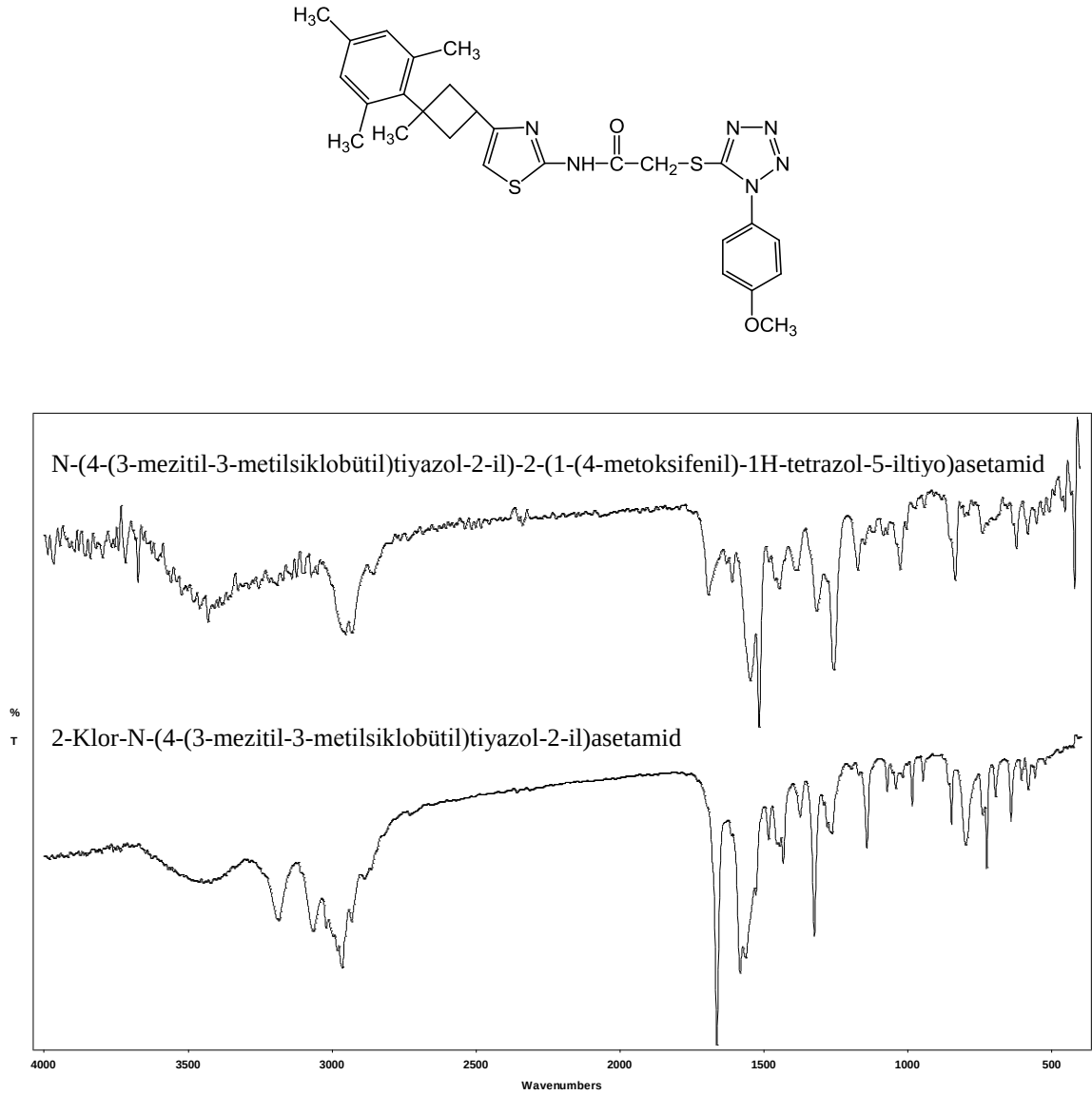
**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$ , ppm):** 165.11 ( $\text{C}_8$ ), 161.08 ( $\text{C}_9$ ), 156.84 ( $\text{C}_2$ ), 155.54 ( $\text{C}_{11}$ ), 153.84 ( $\text{C}_6$ ), 152.26 ( $\text{C}_{16}$ ), 128.26 ( $\text{C}_{18}$ ), 125.73 ( $\text{C}_5$ ), 125.45 ( $\text{C}_{19}$ ), 125.38 ( $\text{C}_{17}$ ), 124.78 ( $\text{C}_4$ ), 115.12 ( $\text{C}_3$ ), 107.39 ( $\text{C}_{10}$ ), 55.76 ( $\text{C}_1$ ), 40.50 ( $\text{C}_{13}$ ), 38.84 ( $\text{C}_7$ ), 35.87 ( $\text{C}_{14}$ ), 30.61 ( $\text{C}_{12}$ ), 30.08 ( $\text{C}_{15}$ ). Bileşiğe ait spektrum Şekil 3.30.'da verilmiştir.



**Şekil 3.30.** 2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütül)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR APT spektrumu

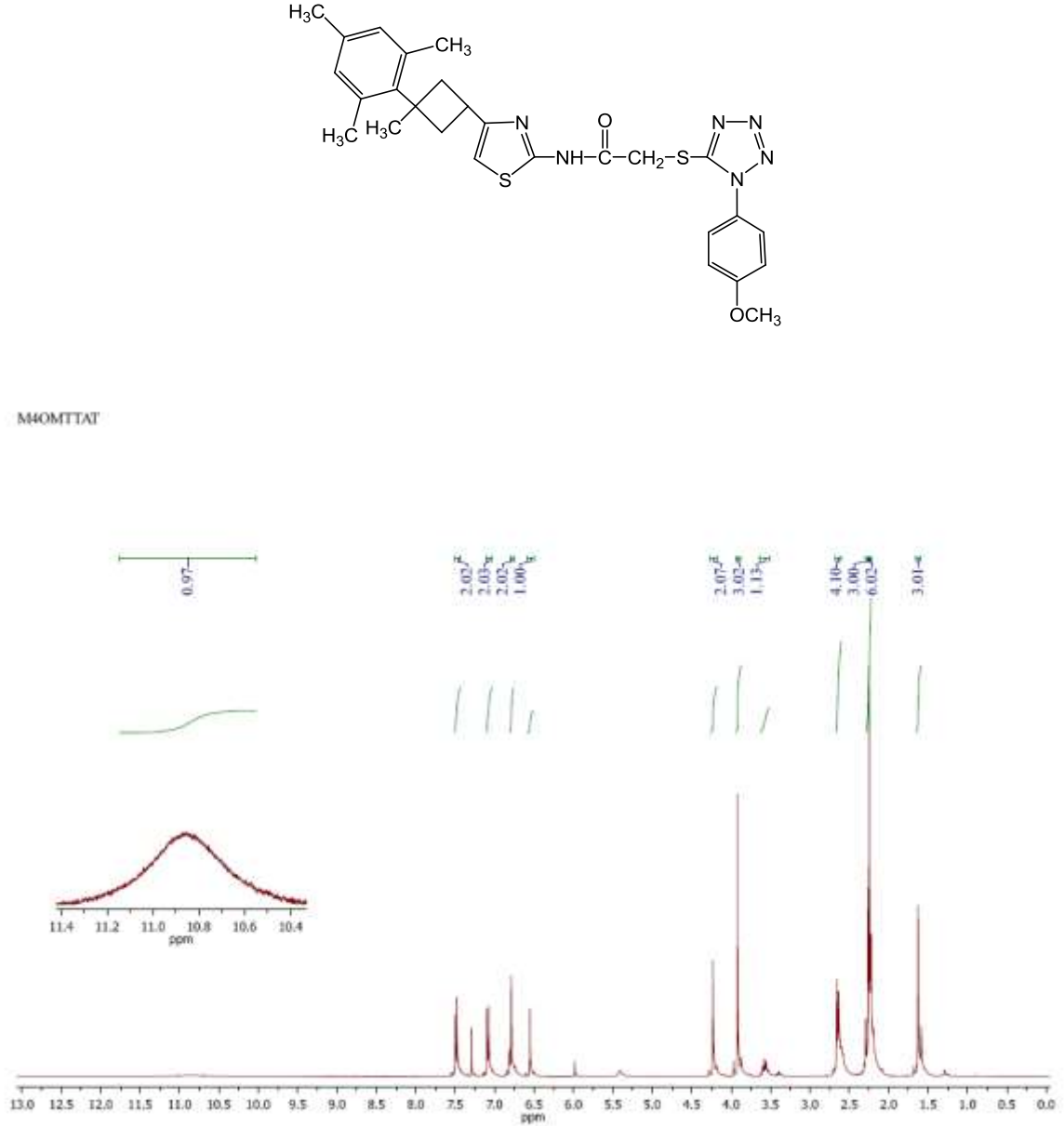
### 3.1.11. N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Beyaz çökelek, verim: % 82,  $M_A$ : 534,70 g/mol. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3062 (Aromatik-H), 2954-2856 (Alifatik-H), 1693 (C=O), 1547 (tiyazol, C=N), 1516 (tetrazol, C=N), 623 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.31.**'de verilmiştir.



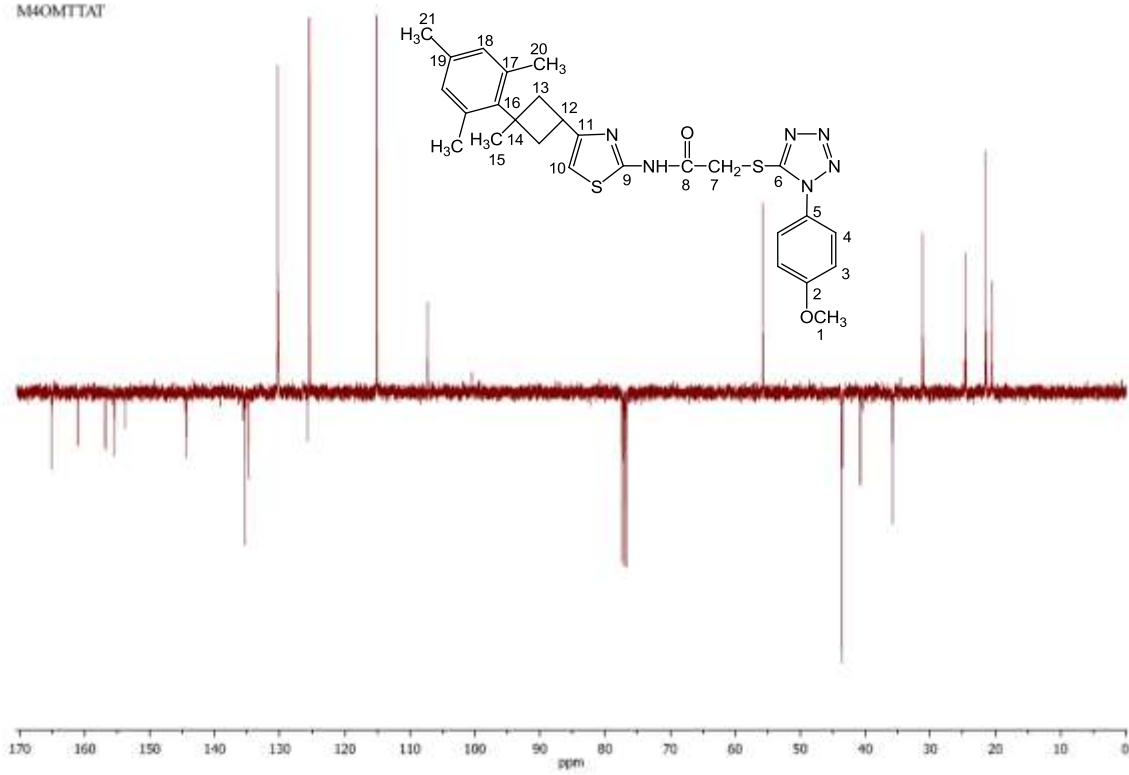
**Şekil 3.31.** N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS,  $\delta$ , ppm):** 1.63 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.25 (s, 6H, *o*-CH<sub>3</sub>), 2.26 (s, 3H, *p*-CH<sub>3</sub>), 2.64-2.66 (d,  $j=9.2$  Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.53-3.62 (q,  $j=8.9$  Hz, 1H, >CH-siklobütan), 3.92 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 4.23 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.55 (s, 1H, =CH-S-), 6.79 (s, 2H, mezitil), 7.08-7.10 (d,  $j=8.8$  Hz, 2H, fenil), 7.48-7.50 (d,  $j=9.2$  Hz, 2H, fenil), 10.87 (s, 1H, -NH-). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.32.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.32.** N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

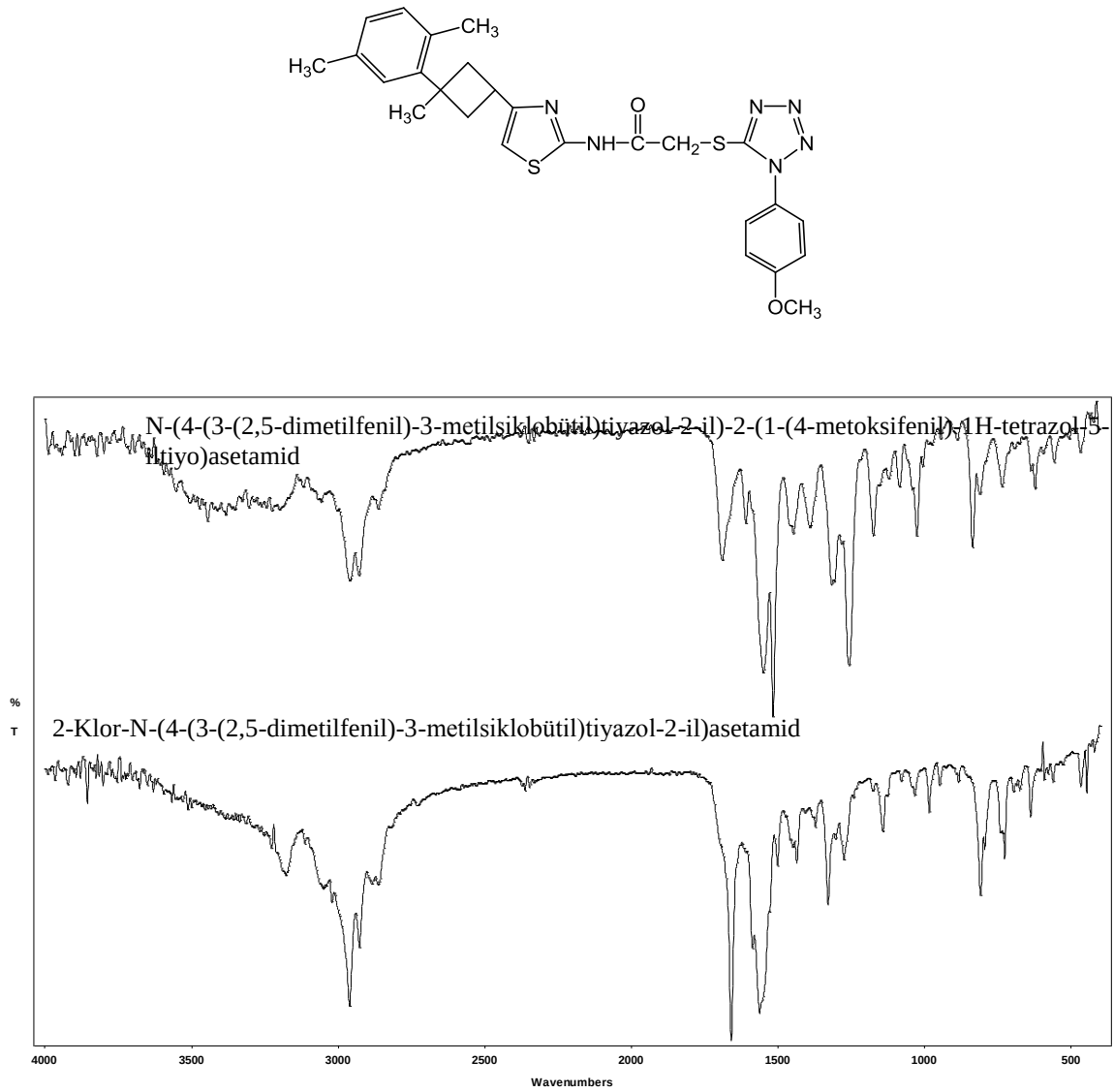
**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$ , ppm):** 165.06 ( $\text{C}_8$ ), 161.08 ( $\text{C}_9$ ), 156.81 ( $\text{C}_2$ ), 155.40 ( $\text{C}_{16}$ ), 153.80 ( $\text{C}_{11}$ ), 144.32 ( $\text{C}_6$ ), 135.38 ( $\text{C}_{17}$ ), 134.82 ( $\text{C}_{19}$ ), 130.31 ( $\text{C}_{18}$ ), 125.75 ( $\text{C}_5$ ), 125.45 ( $\text{C}_4$ ), 115.12 ( $\text{C}_3$ ), 107.30 ( $\text{C}_{10}$ ), 55.76 ( $\text{C}_1$ ), 43.58 ( $\text{C}_{13}$ ), 40.74 ( $\text{C}_7$ ), 35.83 ( $\text{C}_{14}$ ), 31.22 ( $\text{C}_{12}$ ), 24.65 ( $\text{C}_{15}$ ), 21.46 ( $\text{C}_{21}$ ), 20.53 ( $\text{C}_{20}$ ). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.33.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.33.** N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütül)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR APT spektrumu

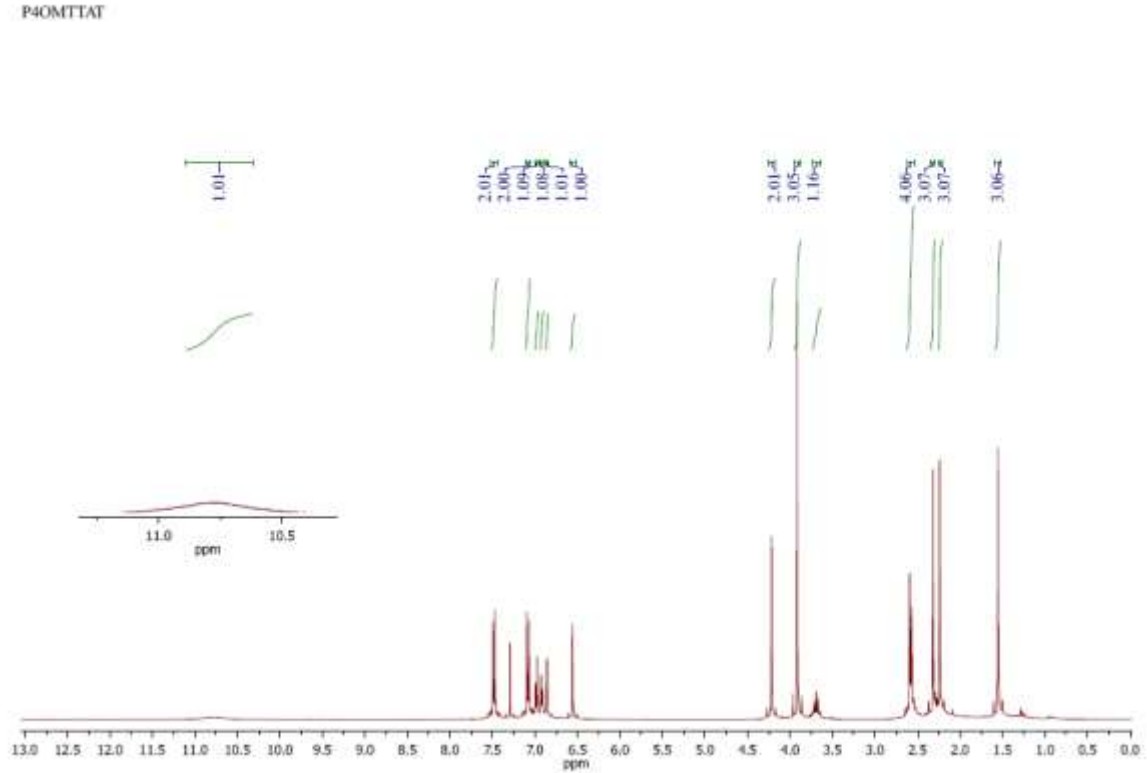
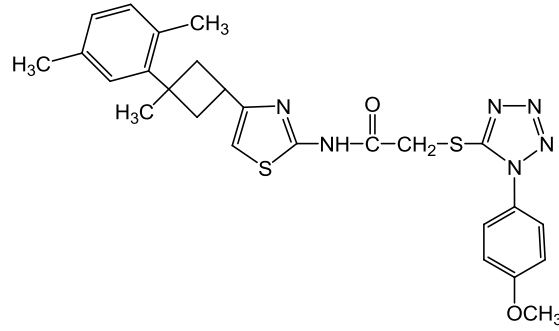
### 3.1.12. N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Beyaz çökelek, verim: % 88,  $M_A$ : 520,67 g/mol. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3060 (Aromatik-H), 2960-2864 (Alifatik-H), 1690 (C=O), 1550 (tiyazol, C=N), 1516 (tetrazol, C=N), 622 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.34**’de verilmiştir.



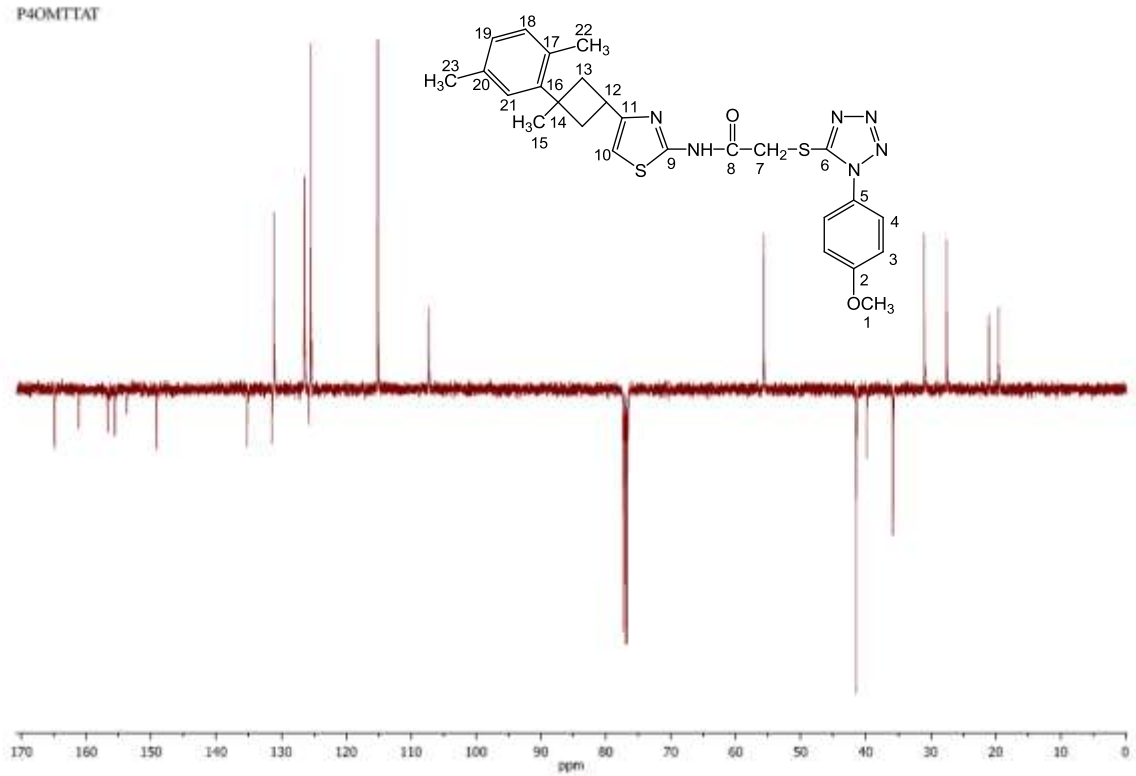
**Şekil 3.34.** N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS,  $\delta$ , ppm):** 1.55 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.24 (s, 3H, *o*-CH<sub>3</sub>), 2.32 (s, 3H, *m*-CH<sub>3</sub>), 2.57-2.59 (d,  $j$ =9.2 Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.65-3.74 (q,  $j$ =8.9 Hz, 1H, >CH-siklobütan), 3.82 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 4.22 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.56 (s, 1H, =CH-S-), 6.86 (s, 1H, *p*-ksilen), 6.91-6.93 (d,  $j$ =7.6 Hz, 1H, *p*-ksilen), 6.98-7.00 (d,  $j$ =7.6 Hz, 1H, *p*-ksilen), 7.07-7.09 (d,  $j$ =8.8 Hz, 2H, fenil), 7.47-7.49 (d,  $j$ =8.8 Hz, 2H, fenil), 10.76 (s, 1H, -NH-). Bileşiğe ait spektrum Şekil 3.35.'de verilmiştir.



**Şekil 3.35.** N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

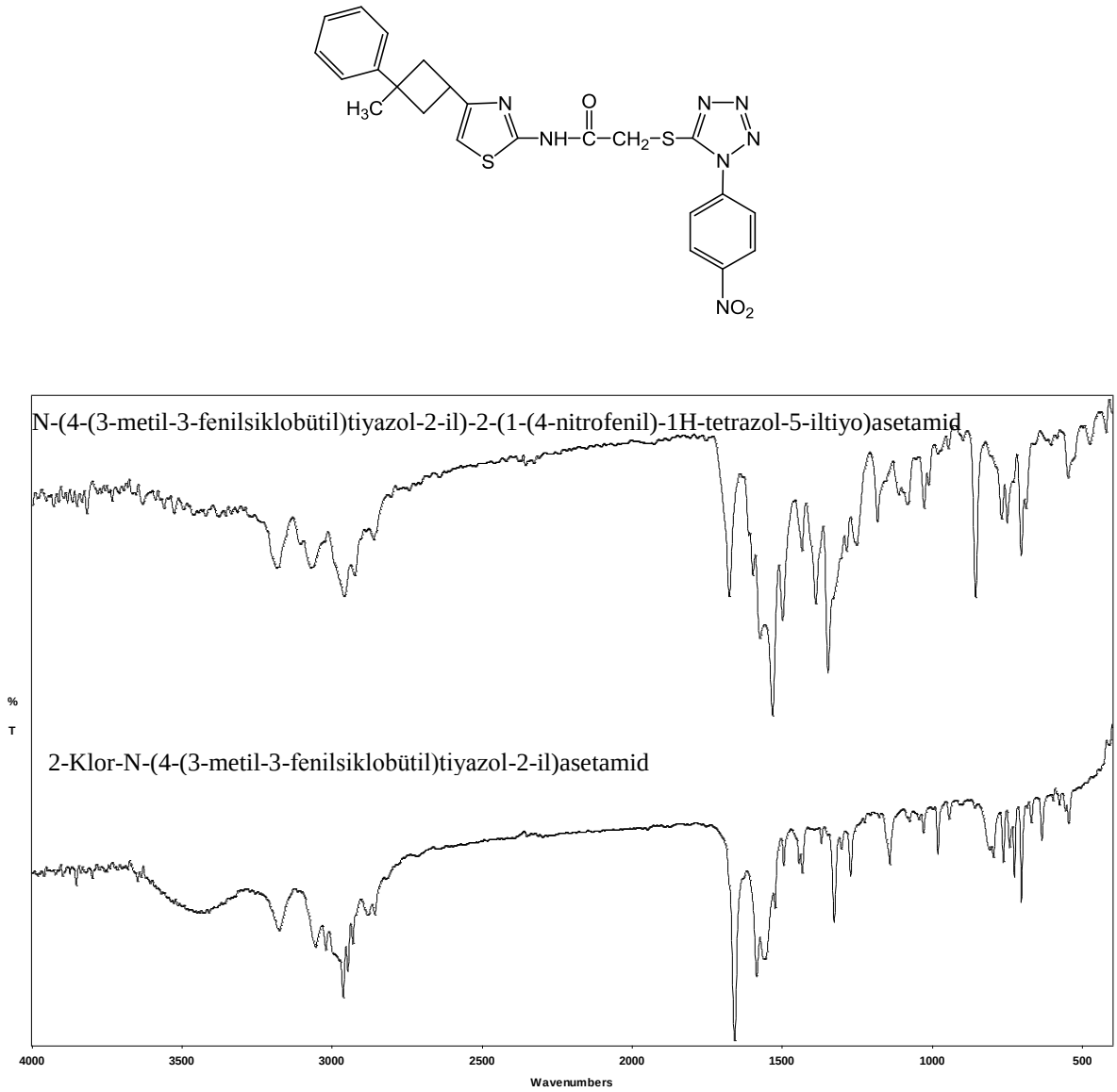
**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$ , ppm):** 164.87 ( $\text{C}_8$ ), 161.14 ( $\text{C}_9$ ), 156.72 ( $\text{C}_2$ ), 155.58 ( $\text{C}_{11}$ ), 153.75 ( $\text{C}_6$ ), 149.15 ( $\text{C}_{16}$ ), 135.21 ( $\text{C}_{20}$ ), 131.43 ( $\text{C}_{17}$ ), 131.08 ( $\text{C}_{18}$ ), 126.46 ( $\text{C}_{19}$ ), 126.41 ( $\text{C}_{21}$ ), 125.77 ( $\text{C}_5$ ), 125.44 ( $\text{C}_4$ ), 115.14 ( $\text{C}_3$ ), 107.29 ( $\text{C}_{10}$ ), 55.73 ( $\text{C}_1$ ), 41.48 ( $\text{C}_{13}$ ), 39.82 ( $\text{C}_7$ ), 35.82 ( $\text{C}_{14}$ ), 30.98 ( $\text{C}_{12}$ ), 27.56 ( $\text{C}_{15}$ ), 21.03 ( $\text{C}_{23}$ ), 19.54 ( $\text{C}_{22}$ ). Bileşiğe ait spektrum Şekil 3.36.'da verilmiştir.



**Şekil 3.36.** N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-metoksifenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR APT spektrumu

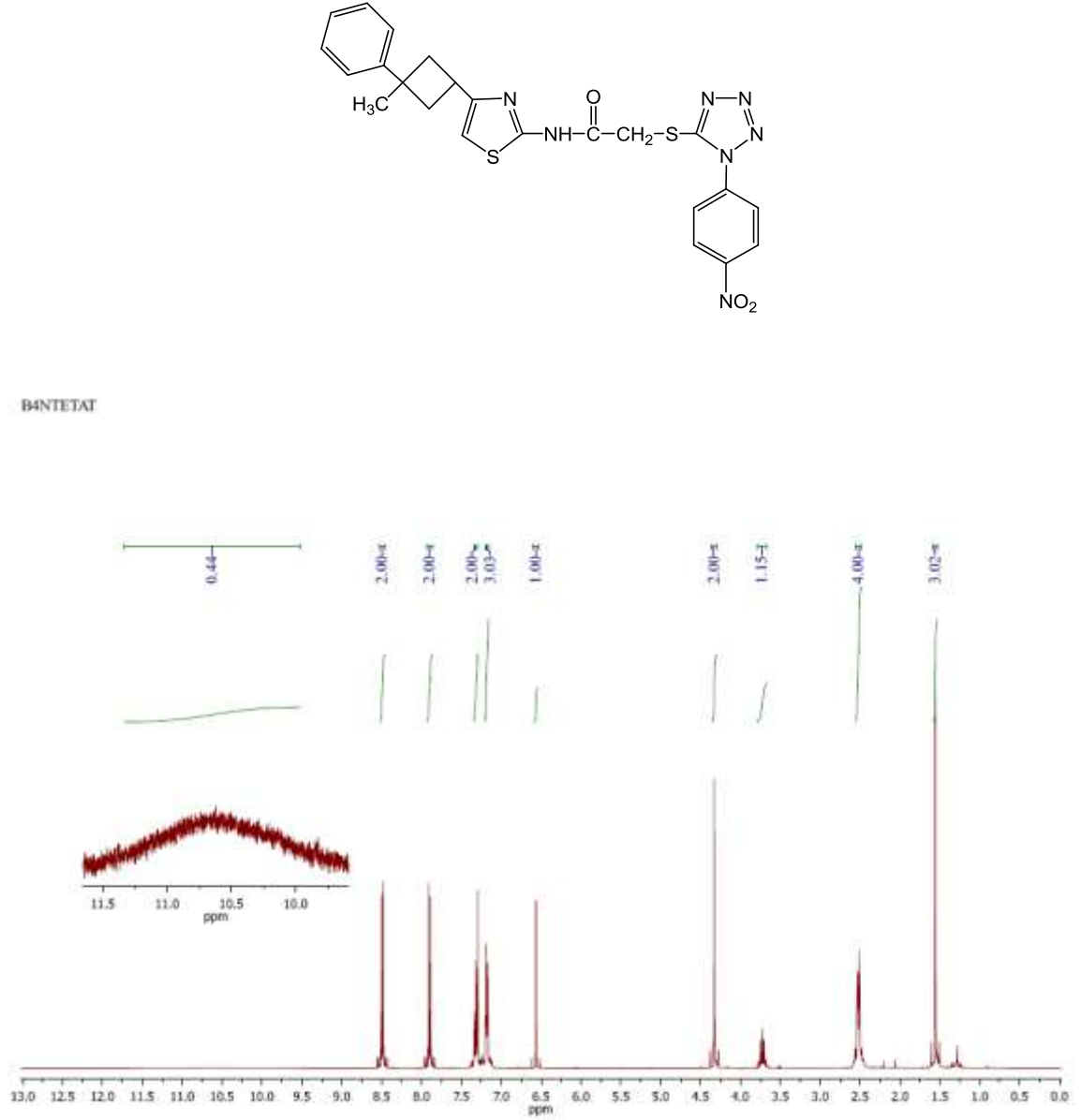
### 3.1.13. N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Sarı çökelek, verim: % 74,  $M_A$ : 507,59 g/mol. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3181 (N-H), 3072 (Aromatik-H), 2961-2862 (Alifatik-H), 1677 (C=O), 1555 (tiyazol, C=N), 1532 (N-O, asimetric gerilme), 1500 (tetrazol, C=N), 1347 (N-O, simetric gerilme), 703 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum Şekil 3.37.'de verilmiştir.



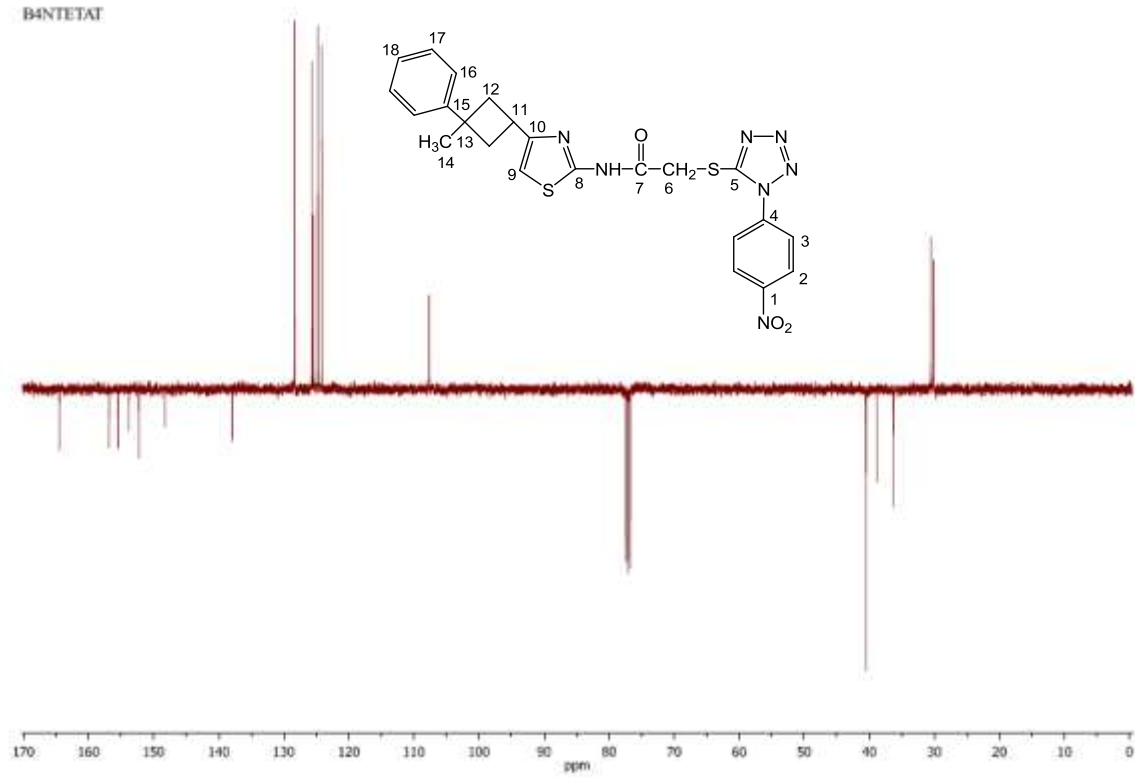
**Şekil 3.37.** N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS,  $\delta$ , ppm):** 1.56 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.51-2.53 (d,  $j=8.8$  Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.68-3.77 (q,  $j=8.9$  Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.33 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.56-6.57 (d,  $j=0.8$  Hz, 1H, =CH-S-), 7.17-7.34 (m, 5H, fenil), 7.89-7.91 (d,  $j=9.2$  Hz, 2H, fenil), 8.48-8.50 (d,  $j=8.8$  Hz, 2H, fenil), 10.66 (s, 1H, -NH-). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.38.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.38.** N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütül)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

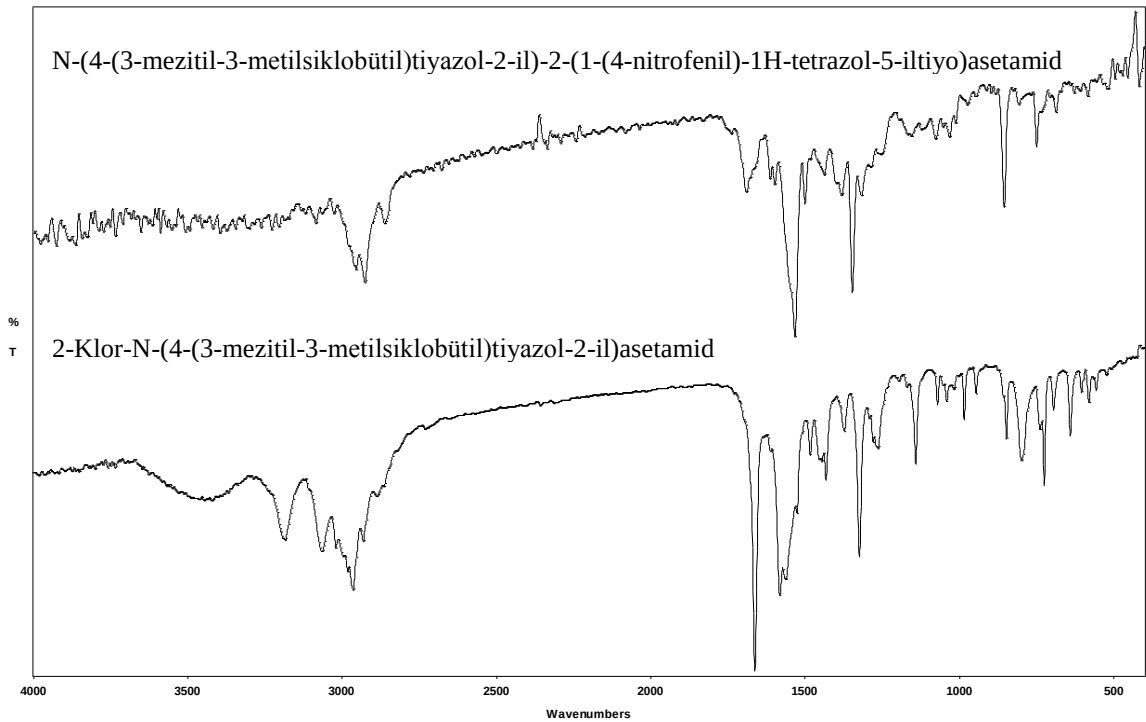
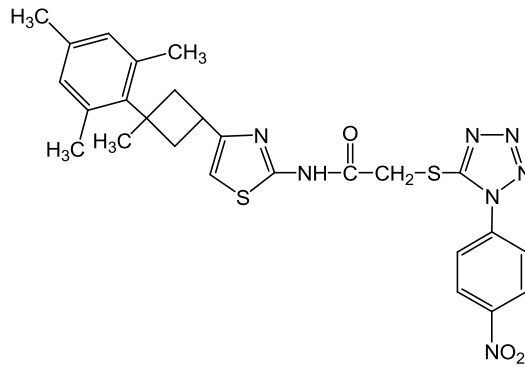
**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 164.49 (C<sub>7</sub>), 156.82 (C<sub>8</sub>), 155.42 (C<sub>10</sub>), 153.83 (C<sub>5</sub>), 152.24 (C<sub>15</sub>), 148.26 (C<sub>1</sub>), 137.91 (C<sub>4</sub>), 128.28 (C<sub>17</sub>), 125.62 (C<sub>3</sub>), 125.43 (C<sub>18</sub>), 124.75 (C<sub>16</sub>), 124.12 (C<sub>2</sub>), 107.62 (C<sub>9</sub>), 40.51 (C<sub>12</sub>), 38.86 (C<sub>6</sub>), 36.26 (C<sub>13</sub>), 30.56 (C<sub>11</sub>), 30.12 (C<sub>14</sub>). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.39.**'da verilmiştir.



**Şekil 3.39.** N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütül)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup>C-NMR APT spektrumu

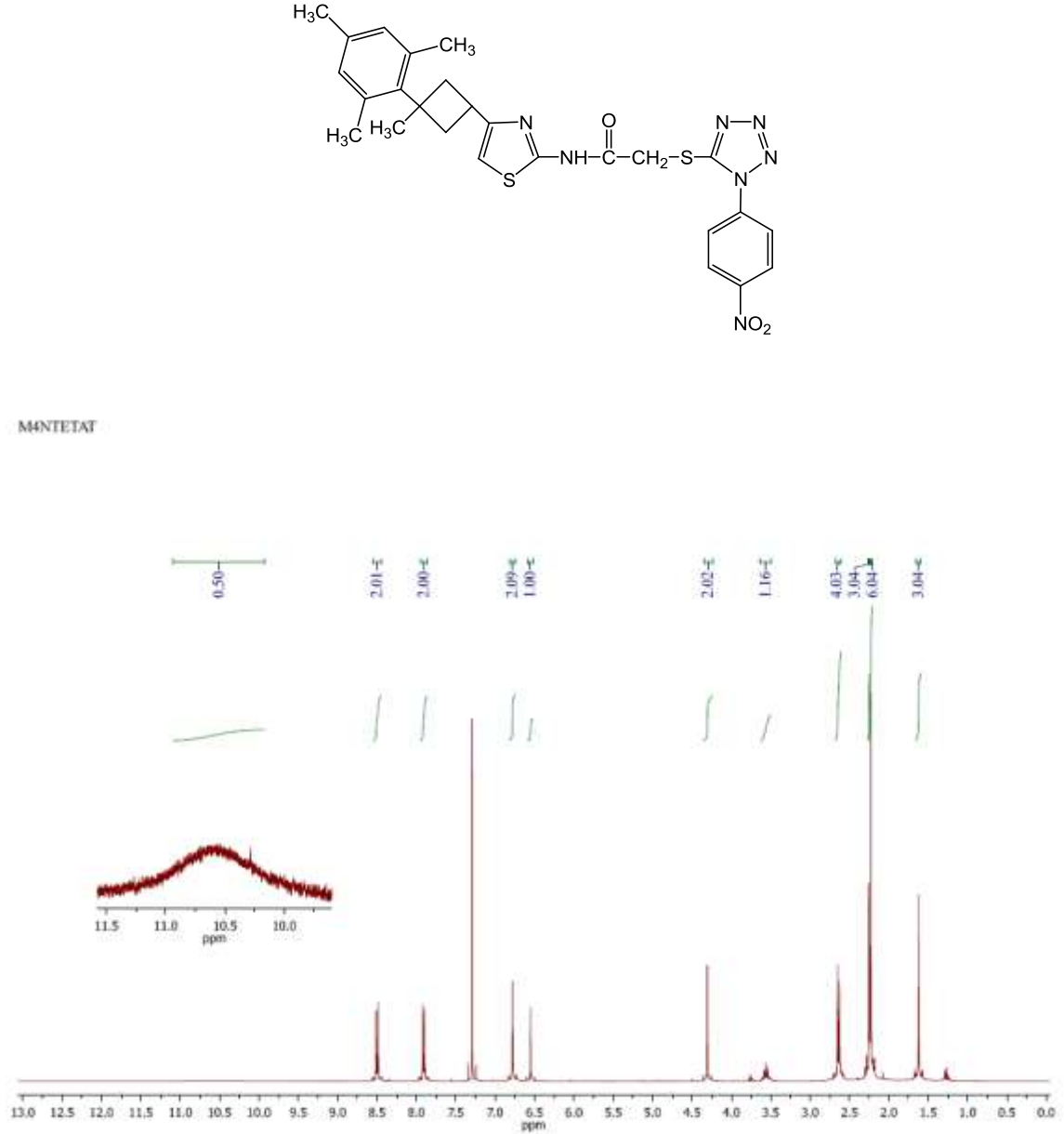
### 3.1.14. N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Sarı çökelek, verim: % 44,  $M_A$ : 549,67 g/mol. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3087 (Aromatik-H), 2960-2861 (Alifatik-H), 1692 (C=O), 1559 (tiyazol, C=N), 1534 (N-O, asimetrik gerilme), 1500 (tetrazol, C=N), 1347 (N-O, simetrik gerilme), 687 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.40.**'da verilmiştir.



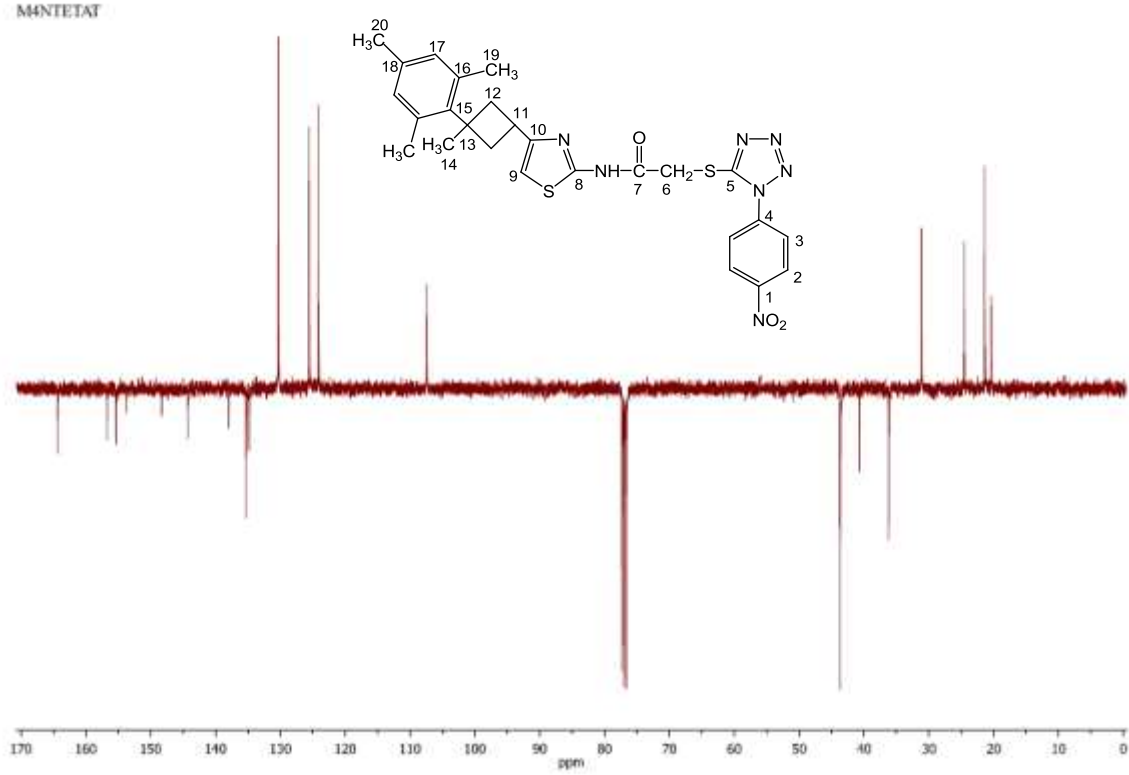
**Şekil 3.40.** N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS,  $\delta$ , ppm):** 1.62 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.23 (s, 6H, *o*-CH<sub>3</sub>), 2.25 (s, 3H, *p*-CH<sub>3</sub>), 2.63-2.65 (d,  $j=8.8$  Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.52-3.61 (q,  $j=8.7$  Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.31 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.55 (s, 1H, =CH-S-), 6.78 (s, 2H, mezitil), 7.90-7.92 (d,  $j=9.2$  Hz, 2H, fenil), 8.49-8.51 (d,  $j=9.2$  Hz, 2H, fenil), 10.61 (s, 1H, -NH-). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.41.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.41.** N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütül)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

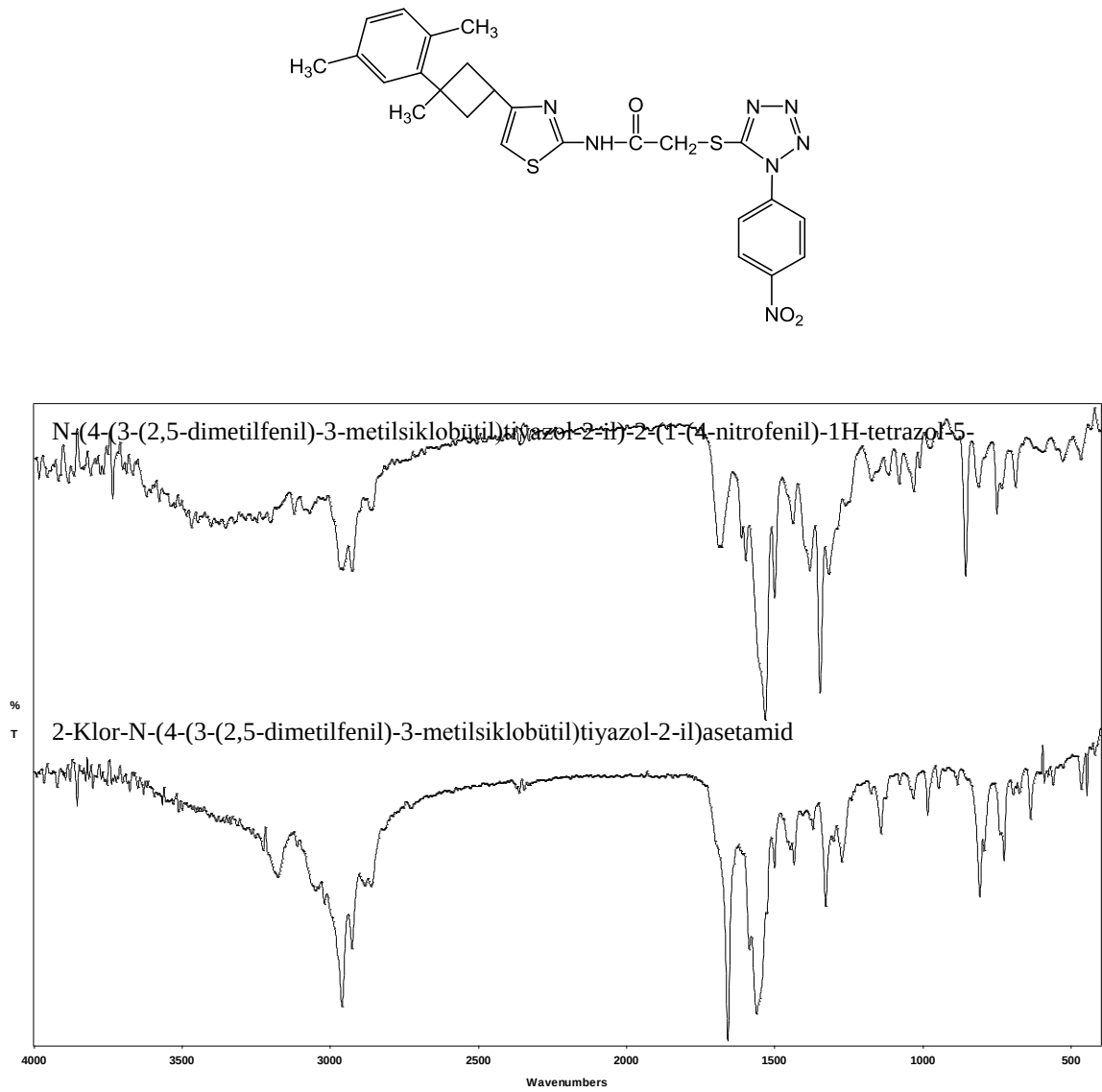
**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$ , ppm):** 164.30 ( $\text{C}_7$ ), 156.70 ( $\text{C}_8$ ), 155.36 ( $\text{C}_{15}$ ), 153.74 ( $\text{C}_{10}$ ), 148.33 ( $\text{C}_5$ ), 144.28 ( $\text{C}_1$ ), 137.94 ( $\text{C}_4$ ), 135.31 ( $\text{C}_{16}$ ), 134.81 ( $\text{C}_{18}$ ), 130.36 ( $\text{C}_{17}$ ), 125.57 ( $\text{C}_3$ ), 124.11 ( $\text{C}_2$ ), 107.44 ( $\text{C}_9$ ), 43.70 ( $\text{C}_{12}$ ), 40.78 ( $\text{C}_6$ ), 36.23 ( $\text{C}_{13}$ ), 31.18 ( $\text{C}_{11}$ ), 24.59 ( $\text{C}_{14}$ ), 21.45 ( $\text{C}_{20}$ ), 20.45 ( $\text{C}_{19}$ ). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.42.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.42.** N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütül)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR APT spektrumu

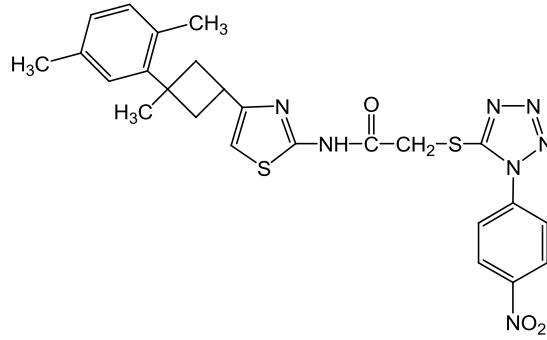
**3.1.15. N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:**

Sarı çökelek, verim: % 75,  $M_A$ : 535,64 g/mol. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3123 (N-H), 3072 (Aromatik-H), 2963-2862 (Alifatik-H), 1685 (C=O), 1554 (tiyazol, C=N), 1533 (N-O, asimetrik gerilme), 1500 (tetrazol, C=N), 1347 (N-O, simetrik gerilme), 687 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.43.**'de verilmiştir.

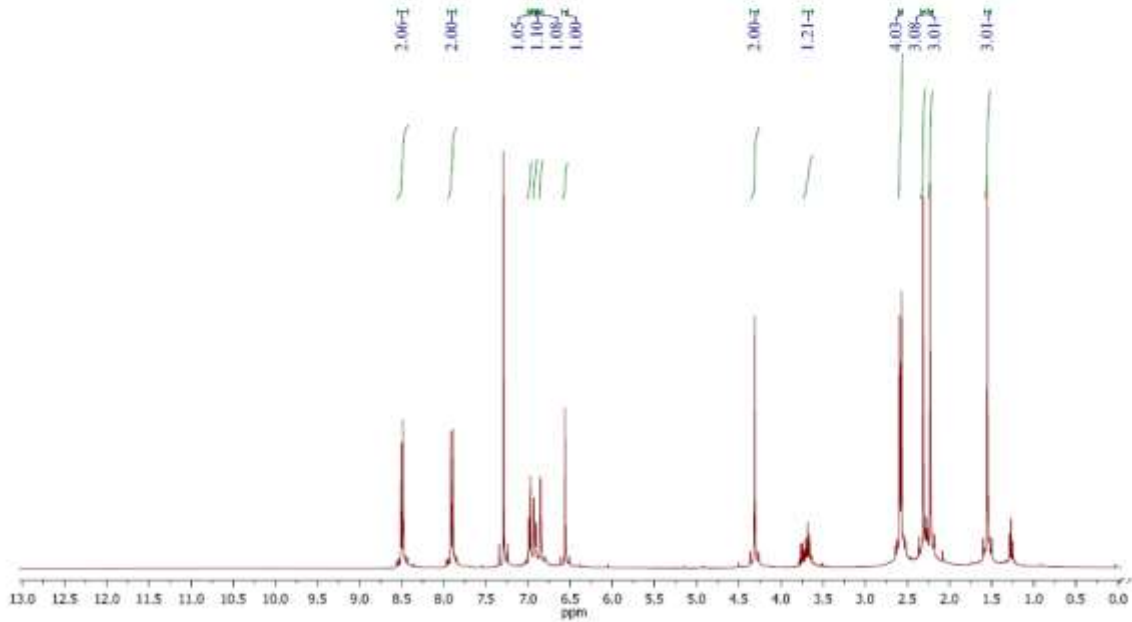


**Şekil 3.43.** N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 1.55 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.23 (s, 3H, *o*-CH<sub>3</sub>), 2.31 (s, 3H, *m*-CH<sub>3</sub>), 2.57-2.59 (d, *j*=8.8 Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.64-3.73 (q, *j*=9.0 Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.31 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.56 (s, 1H, =CH-S-), 6.85 (s, 1H, *p*-ksilen), 6.91-6.93 (d, *j*=7.6 Hz, 1H, *p*-ksilen), 6.97-6.99 (d, *j*=7.6 Hz, 1H, *p*-ksilen), 7.89-7.92 (d, *j*=8.8 Hz, 2H, fenil), 8.49-8.51 (d, *j*=8.8 Hz, 2H, fenil). Yapıya ait -NH-piki spektrumda gözlemlenememiştir. Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.44.**'de verilmiştir.

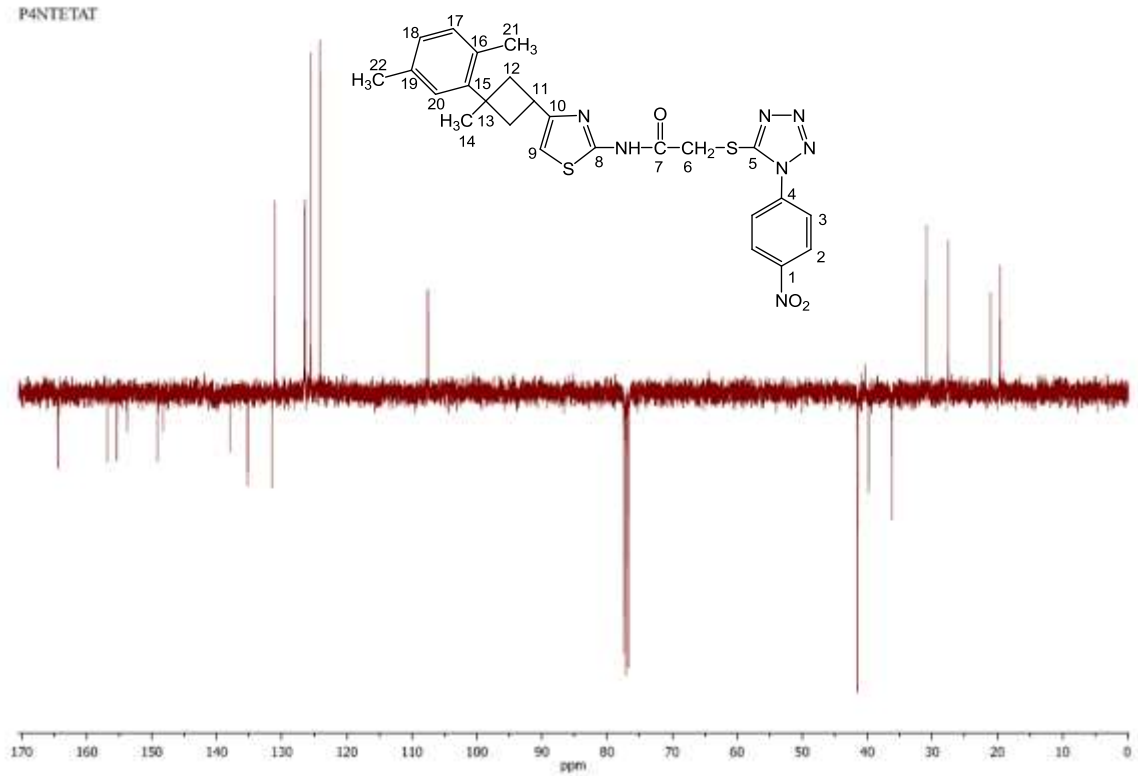


P4NTETAT



**Şekil 3.44.** N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

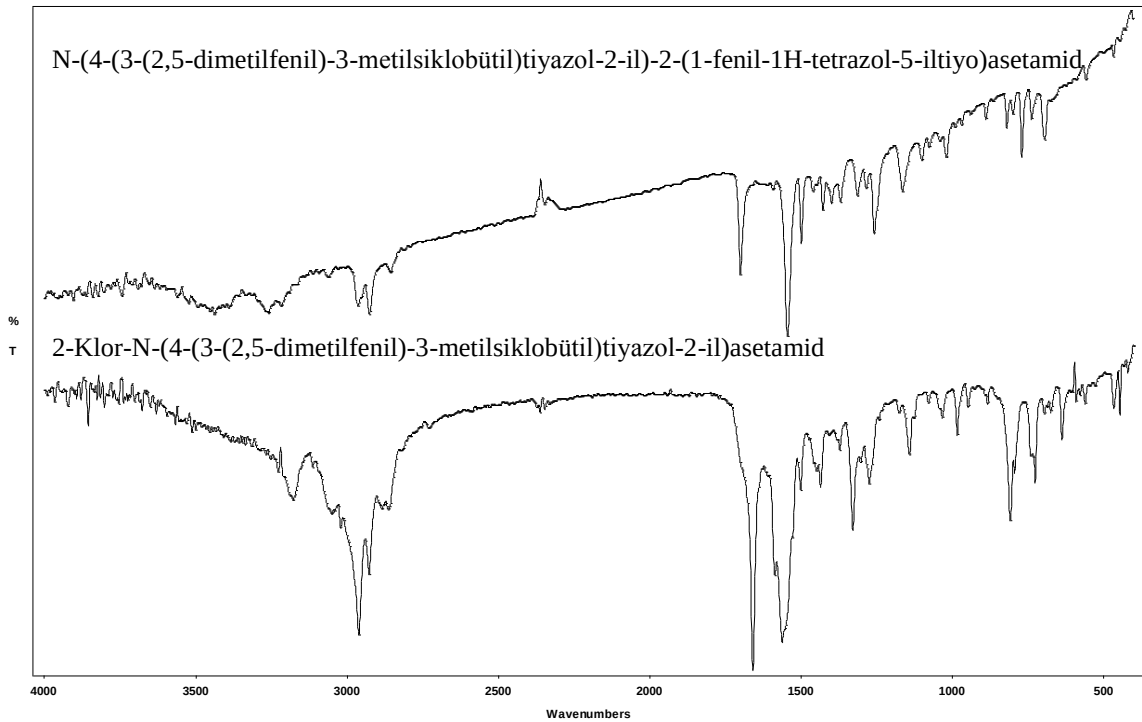
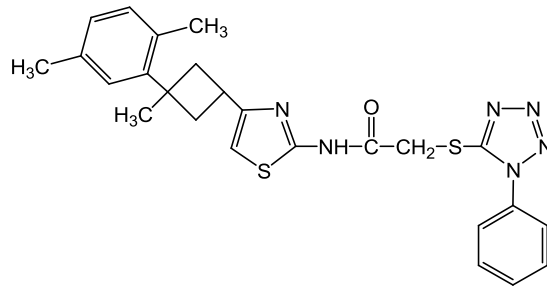
**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 164.42 (C<sub>7</sub>), 156.80 (C<sub>8</sub>), 155.35 (C<sub>10</sub>), 153.78 (C<sub>5</sub>), 149.14 (C<sub>15</sub>), 148.26 (C<sub>1</sub>), 137.93 (C<sub>4</sub>), 135.27 (C<sub>19</sub>), 131.46 (C<sub>16</sub>), 131.11 (C<sub>17</sub>), 126.52 (C<sub>3</sub>), 126.43 (C<sub>18</sub>), 125.61 (C<sub>2</sub>), 124.11 (C<sub>20</sub>), 107.55 (C<sub>9</sub>), 41.49 (C<sub>12</sub>), 39.77 (C<sub>6</sub>), 36.24 (C<sub>13</sub>), 30.91 (C<sub>11</sub>), 27.57 (C<sub>14</sub>), 21.07 (C<sub>22</sub>), 19.57 (C<sub>21</sub>) Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.45.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.45.** N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütilyazol-2-il)-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup>C-NMR APT spektrumu

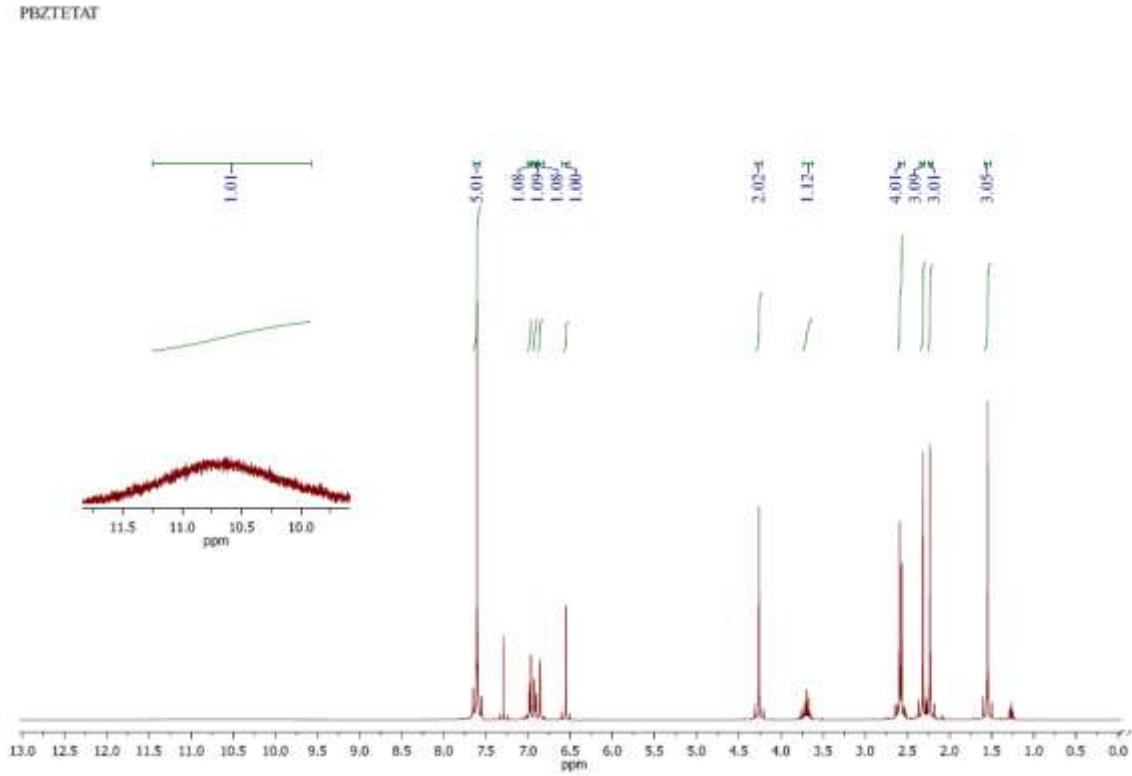
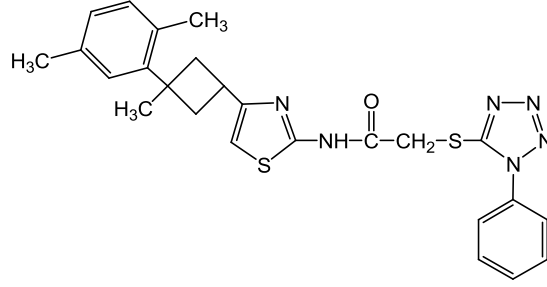
### 3.1.16. N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Açık pembe kristal, verim: % 80,  $M_A$ : 490,64 g/mol, e.n: 204,2 °C. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3261 (N-H), 3063 (Aromatik-H), 2965-2855 (Alifatik-H), 1700 (C=O), 1544 (tiyazol, C=N), 1498 (tetrazol, C=N), 694 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum Şekil 3.46.'da verilmiştir.



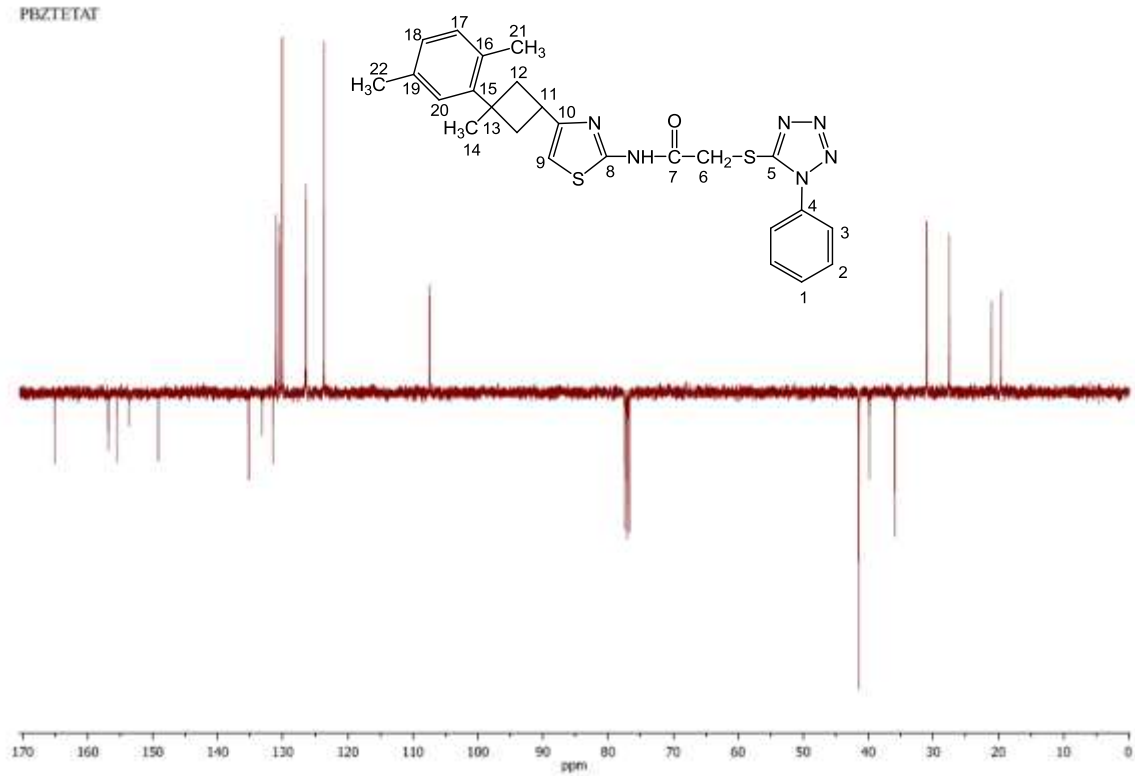
**Şekil 3.46.** N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS,  $\delta$ , ppm):** 1.55 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.23 (s, 3H, *o*-CH<sub>3</sub>), 2.31 (s, 3H, *m*-CH<sub>3</sub>), 2.57-2.59 (d,  $j=8.8$  Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.65-3.74 (q,  $j=8.9$  Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.26 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.55 (s, 1H, =CH-S-), 6.86 (s, 1H, *p*-ksilen), 6.91-6.93 (d,  $j=7.6$  Hz, 1H, *p*-ksilen), 6.97-6.99 (d,  $j=7.6$  Hz, 1H, *p*-ksilen), 7.58-7.61 (m, 5H, fenil), 10.64 (s, 1H, -NH-). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.47.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.47.** N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

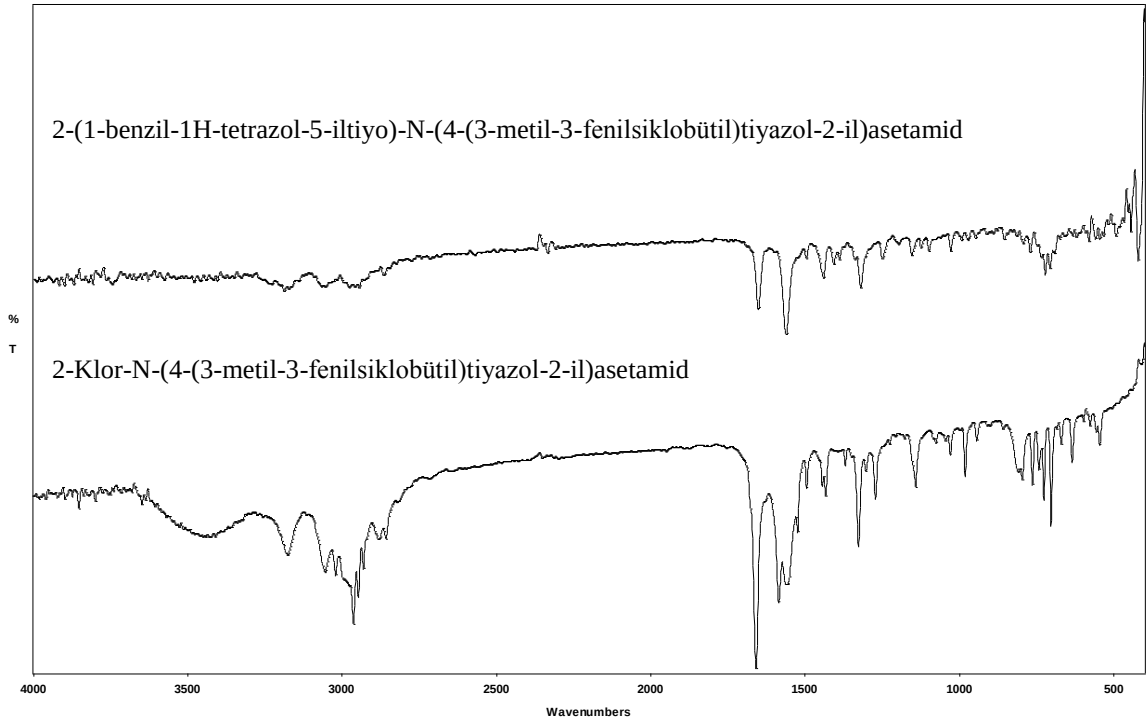
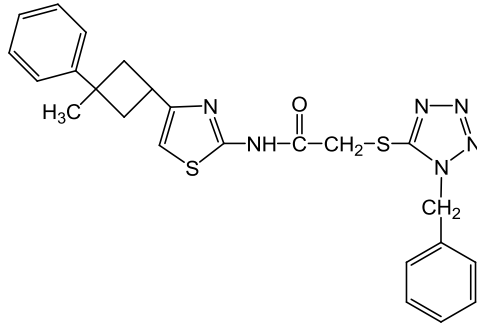
**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 165.01 (C<sub>7</sub>), 156.81 (C<sub>8</sub>), 155.46 (C<sub>10</sub>), 153.65 (C<sub>5</sub>), 149.16 (C<sub>15</sub>), 135.25 (C<sub>19</sub>), 133.16 (C<sub>4</sub>), 131.47 (C<sub>16</sub>), 131.09 (C<sub>17</sub>), 130.61 (C<sub>1</sub>), 130.09 (C<sub>2</sub>), 126.49 (C<sub>18</sub>), 126.44 (C<sub>3</sub>), 123.68 (C<sub>20</sub>), 107.41 (C<sub>9</sub>), 41.46 (C<sub>12</sub>), 39.79 (C<sub>6</sub>), 35.93 (C<sub>13</sub>), 30.97 (C<sub>11</sub>), 27.56 (C<sub>14</sub>), 21.08 (C<sub>22</sub>), 19.59 (C<sub>21</sub>) Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.48.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.48.** N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup>C-NMR APT spektrumu

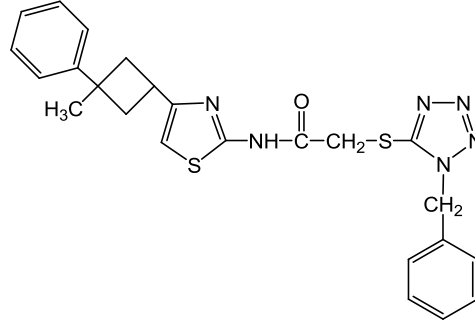
### 3.1.17. 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Beyaz kristal, verim: % 69,  $M_A$ : 476,62 g/mol, e.n: 188,4 °C. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3184 (N-H), 3064 (Aromatik-H), 2982-2868 (Alifatik-H), 1651 (C=O), 1562 (tiyazol, C=N), 1590-1535 (tetrazol, C=N, belirtilen aralıktadır), 706 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.49.**'da verilmiştir.

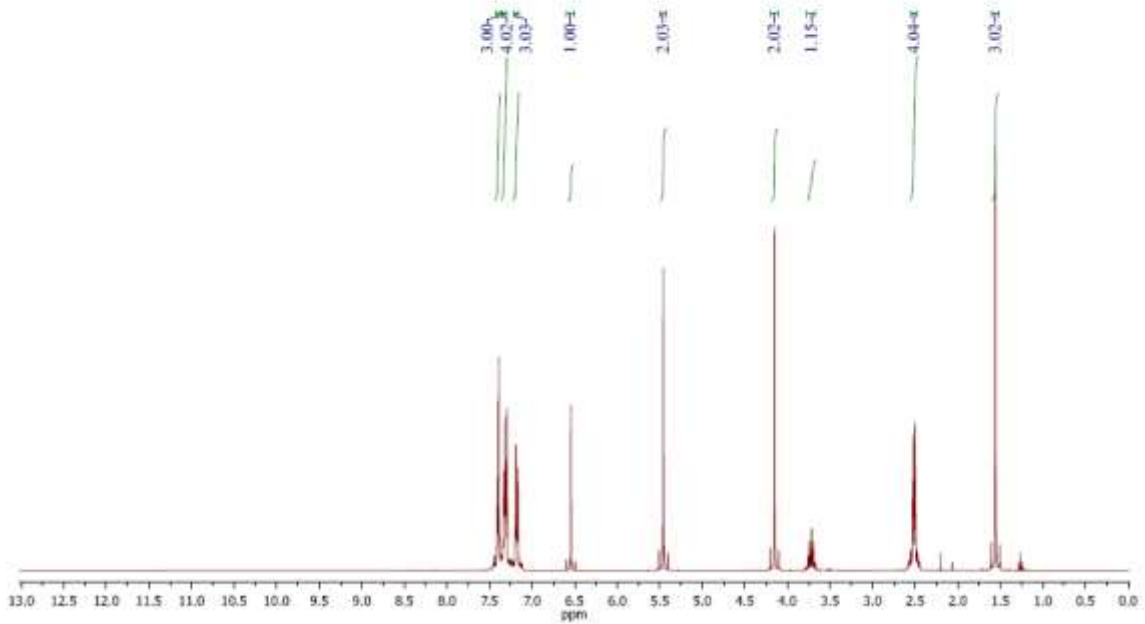


**Şekil 3.49.** 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS,  $\delta$ , ppm):** 1.56 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.50-2.52 (d,  $j=9.2$  Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.67-3.76 (q,  $j=8.7$  Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.15 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 5.46 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-, benzil), 6.53-6.55 (d,  $j=0.4$  Hz, 1H, =CH-S-), 7.17-7.41 (m, 10H, fenil). Yapıya ait -NH- piki spektrumda gözlemlenememiştir. Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.50.**'de verilmiştir.

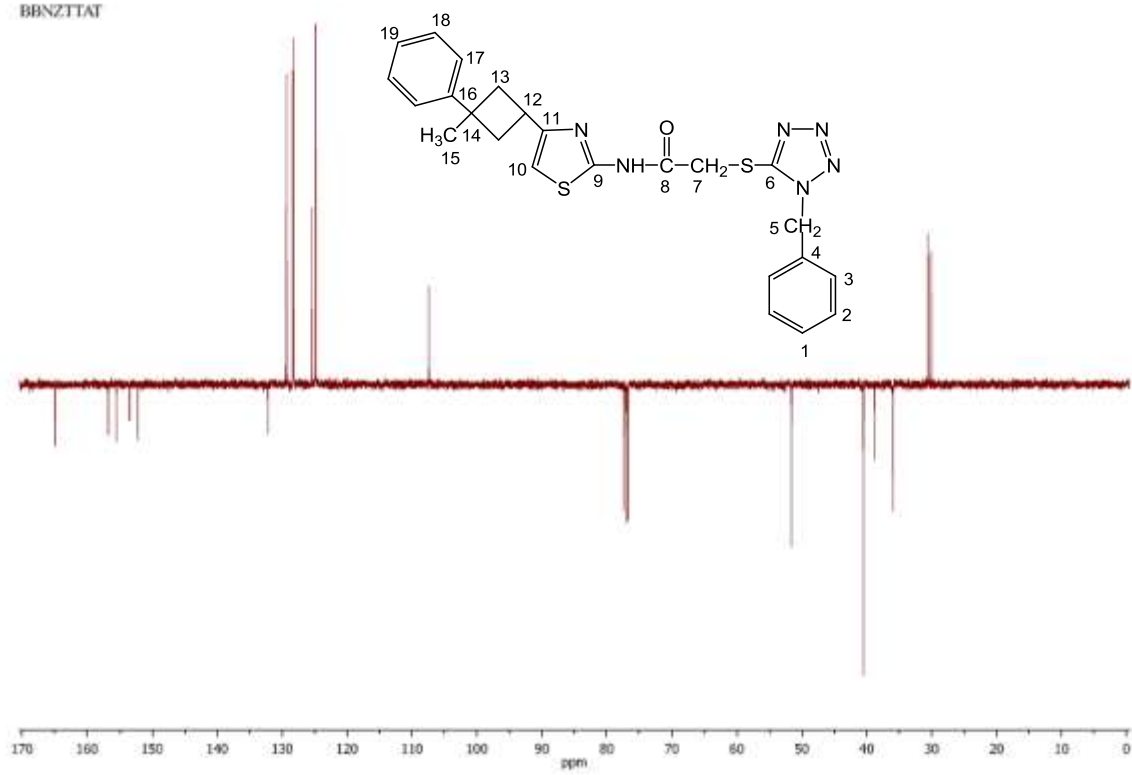


BBNZZTAT



**Şekil 3.50.** 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyu)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütül)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

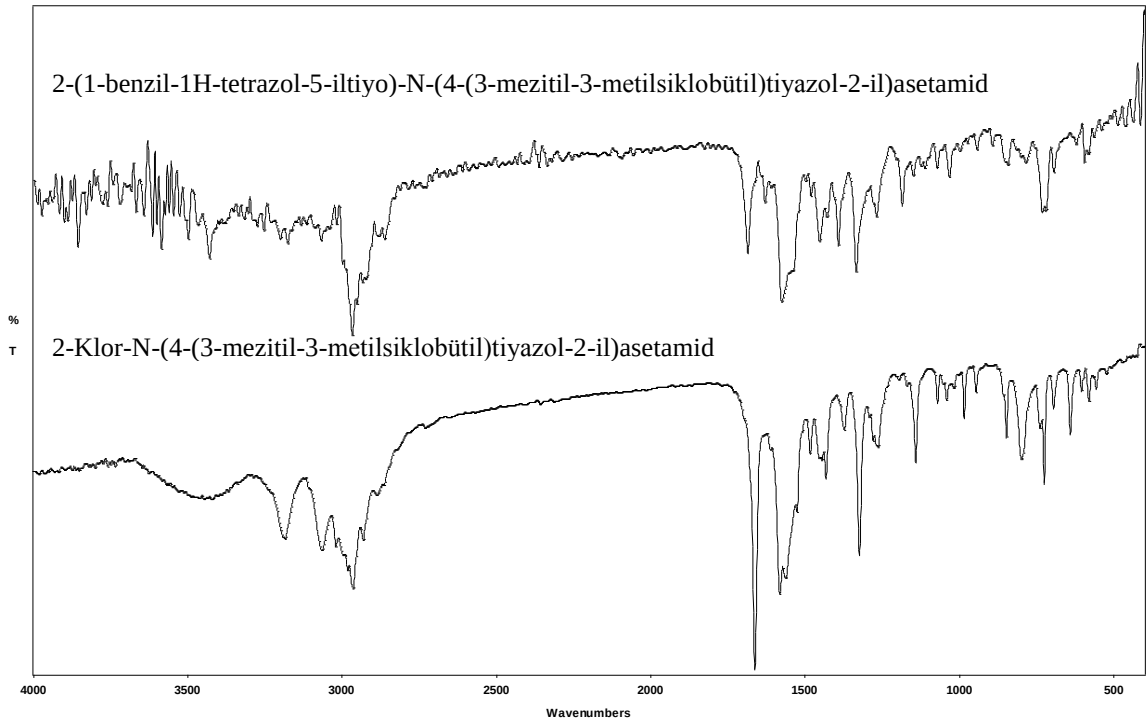
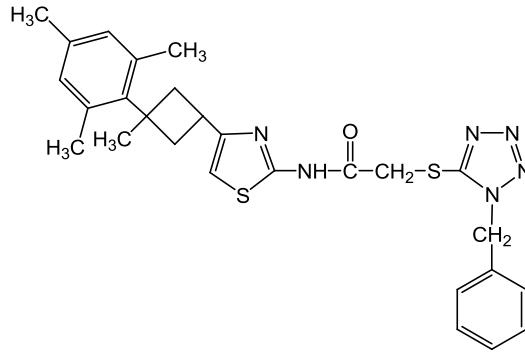
**$^{13}\text{C}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS,  $\delta$ , ppm):** 164.90 (C<sub>8</sub>), 156.75 (C<sub>9</sub>), 155.51 (C<sub>6</sub>), 153.45 (C<sub>11</sub>), 152.25 (C<sub>16</sub>), 132.15 (C<sub>4</sub>), 129.37 (C<sub>2</sub>), 129.30 (C<sub>18</sub>), 128.38 (C<sub>3</sub>), 128.25 (C<sub>1</sub>), 125.38 (C<sub>19</sub>), 124.77 (C<sub>17</sub>), 107.38 (C<sub>10</sub>), 51.57 (C<sub>5</sub>), 40.49 (C<sub>13</sub>), 38.84 (C<sub>14</sub>), 35.97 (C<sub>7</sub>), 30.58 (C<sub>12</sub>), 30.07 (C<sub>15</sub>). Bileşiğe ait spektrum Şekil 3.51.'de verilmiştir.



**Şekil 3.51.** 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütöl)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR APT spektrumu

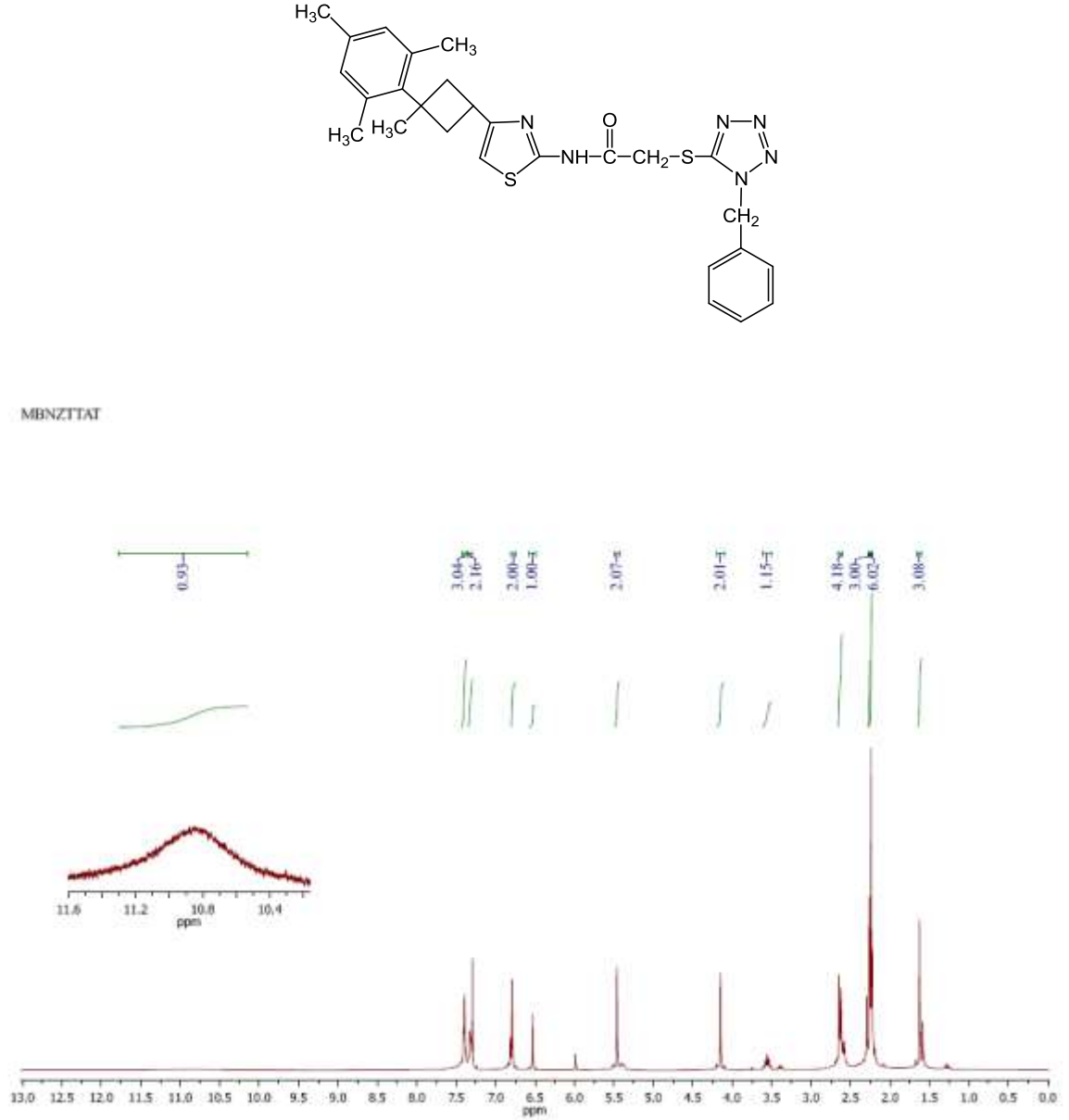
### 3.1.18. 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Sarı çökelek, verim: % 83,  $M_A$ : 518,70 g/mol. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3192 (N-H), 3069 (Aromatik-H), 2970-2861 (Alifatik-H), 1685 (C=O), 1576 (tiyazol, C=N), 1601-1508 (tetrazol, C=N, belirtilen aralıktadır), 693 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.52.**'da verilmiştir.



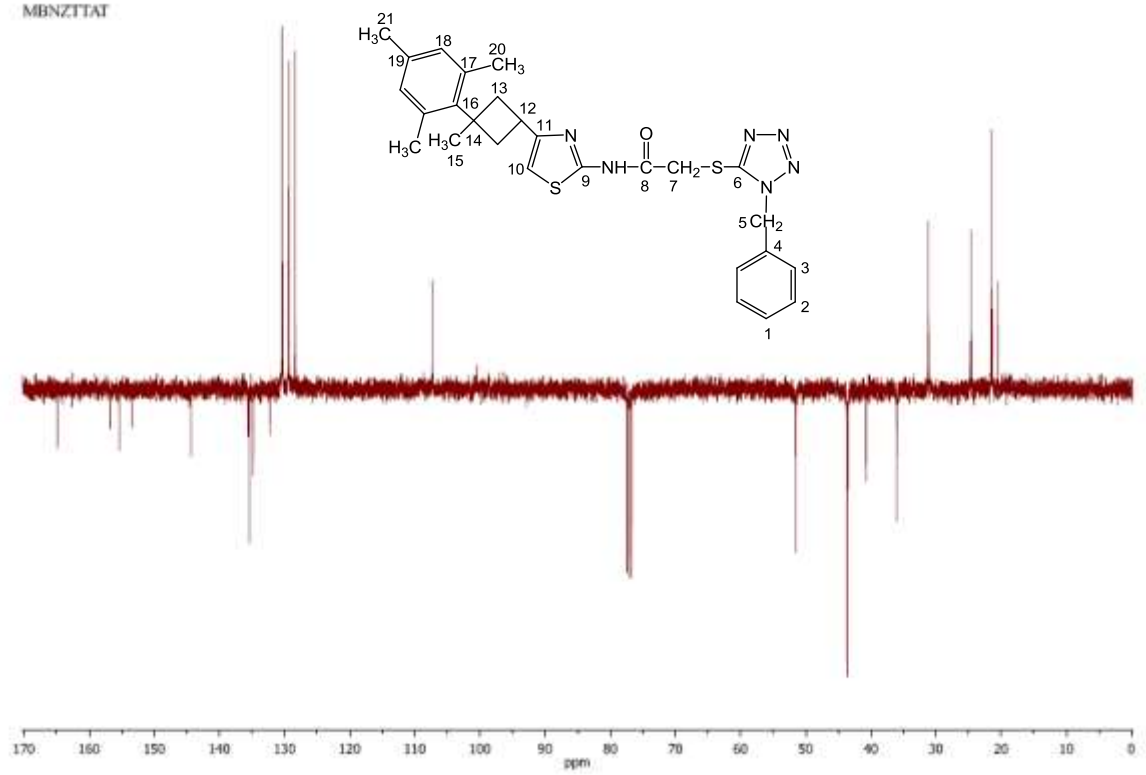
**Şekil 3.52.** 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS,  $\delta$ , ppm):** 1.63 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.24 (s, 6H, *o*-CH<sub>3</sub>), 2.26 (s, 3H, *p*-CH<sub>3</sub>), 2.62-2.65 (d,  $j=8.8$  Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.51-3.60 (q,  $j=9.0$  Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.15 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 5.46 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-, benzil), 6.53 (s, 1H, =CH-S-), 6.79 (s, 2H, mezitil), 7.31-7.43 (m, 5H, fenil), 10.86 (s, 1H, -NH-). Bileşiğe ait spektrum Şekil 3.53.'de verilmiştir.



**Şekil 3.53.** 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

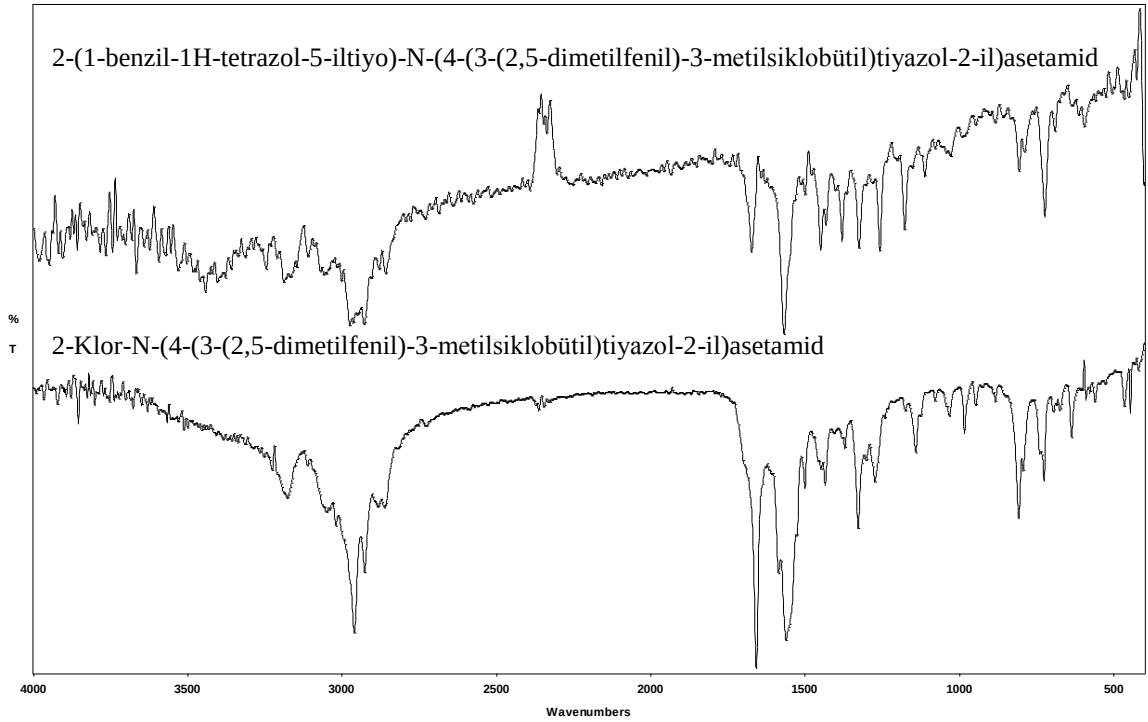
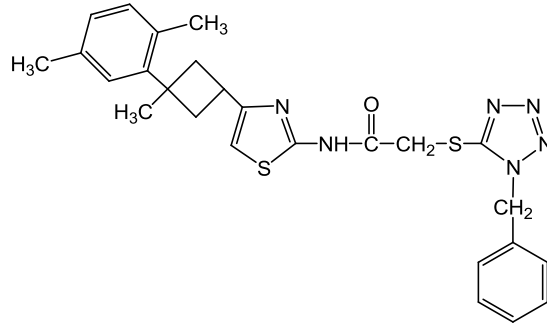
**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$ , ppm):** 164.82 ( $\text{C}_8$ ), 156.77 ( $\text{C}_9$ ), 155.36 ( $\text{C}_{16}$ ), 144.35 ( $\text{C}_6$ ), 135.60 ( $\text{C}_{11}$ ), 135.37 ( $\text{C}_{17}$ ), 134.79 ( $\text{C}_4$ ), 132.20 ( $\text{C}_{19}$ ), 130.37 ( $\text{C}_{18}$ ), 130.25 ( $\text{C}_2$ ), 129.32 ( $\text{C}_3$ ), 128.35 ( $\text{C}_1$ ), 107.26 ( $\text{C}_{10}$ ), 51.54 ( $\text{C}_5$ ), 43.60 ( $\text{C}_{13}$ ), 40.73 ( $\text{C}_7$ ), 36.00 ( $\text{C}_{14}$ ), 31.16 ( $\text{C}_{12}$ ), 24.65 ( $\text{C}_{15}$ ), 21.44 ( $\text{C}_{21}$ ), 20.51 ( $\text{C}_{20}$ ). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.54.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.54.** 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR APT spektrumu

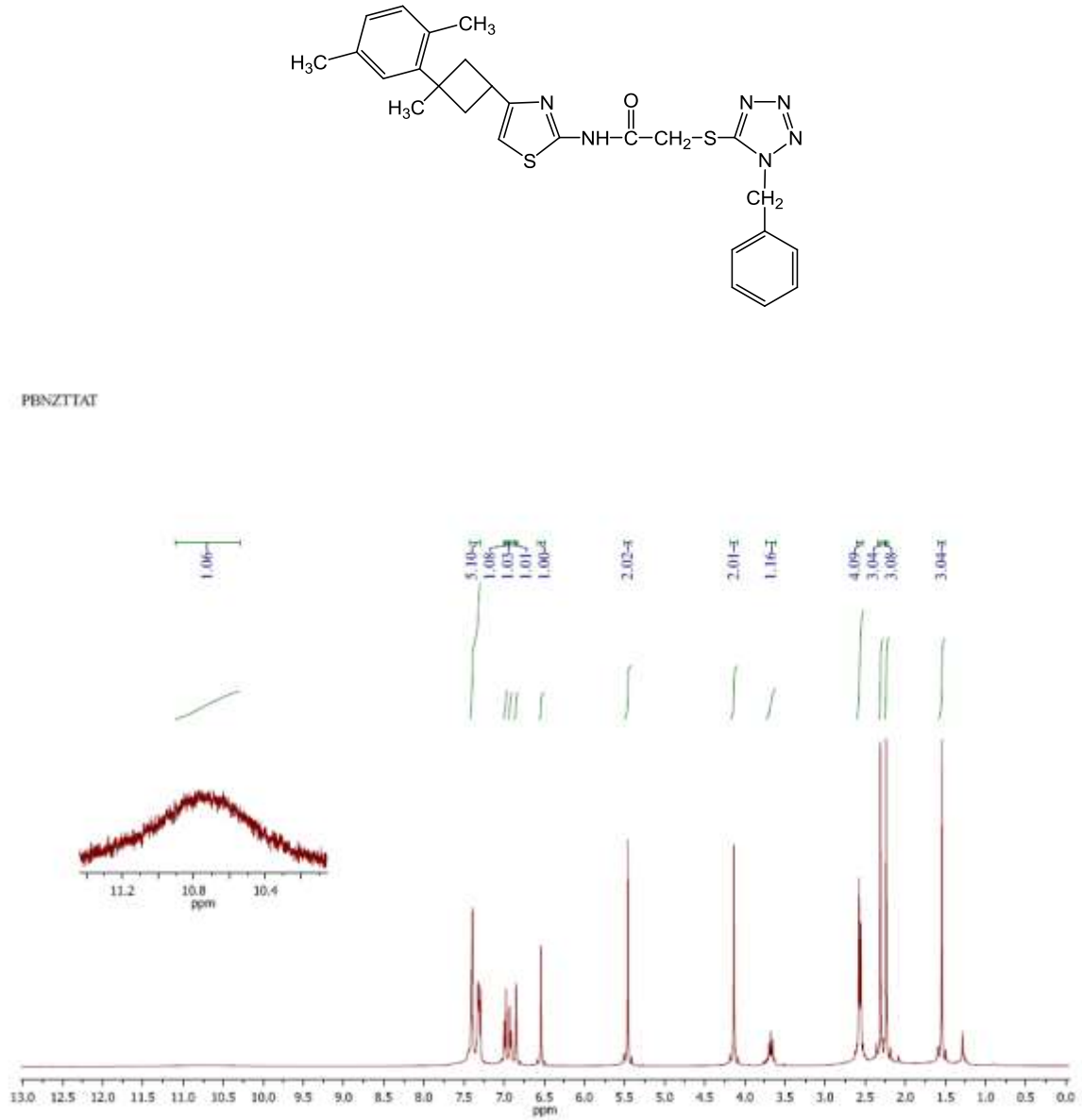
### 3.1.19. 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Beyaz çökelek, verim: % 89,  $M_A$ : 504,67 g/mol. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3177 (N-H), 3063 (Aromatik-H), 2976-2861 (Alifatik-H), 1673 (C=O), 1569 (tiyazol, C=N), 1600-1540 (tetrazol, C=N, belirtilen aralıktadır), 690 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum Şekil 3.55.'de verilmiştir.



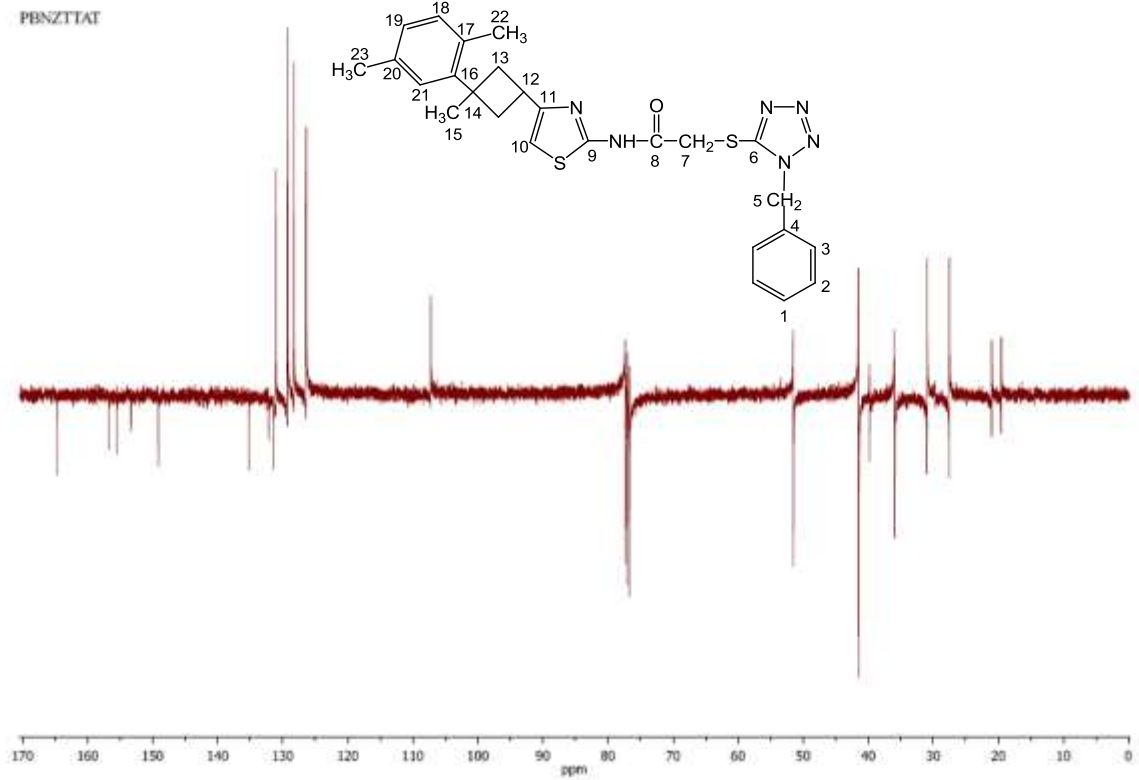
**Şekil 3.55.** 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 1.55 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.24 (s, 3H, *o*-CH<sub>3</sub>), 2.31 (s, 3H, *m*-CH<sub>3</sub>), 2.56-2.58 (d, *j*=8.8 Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.63-3.72 (q, *j*=8.9 Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.14 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 5.46 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-, benzil), 6.54 (s, 1H, =CH-S-), 6.85 (s, 1H, *p*-ksilen), 6.91-6.93 (d, *j*=7.6 Hz, 1H, *p*-ksilen), 6.98-7.00 (d, *j*=7.6 Hz, 1H, *p*-ksilen), 7.31-7.40 (m, 5H, fenil), 10.72 (s, 1H, -NH-). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.56.**'da verilmiştir.



**Şekil 3.56.** 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

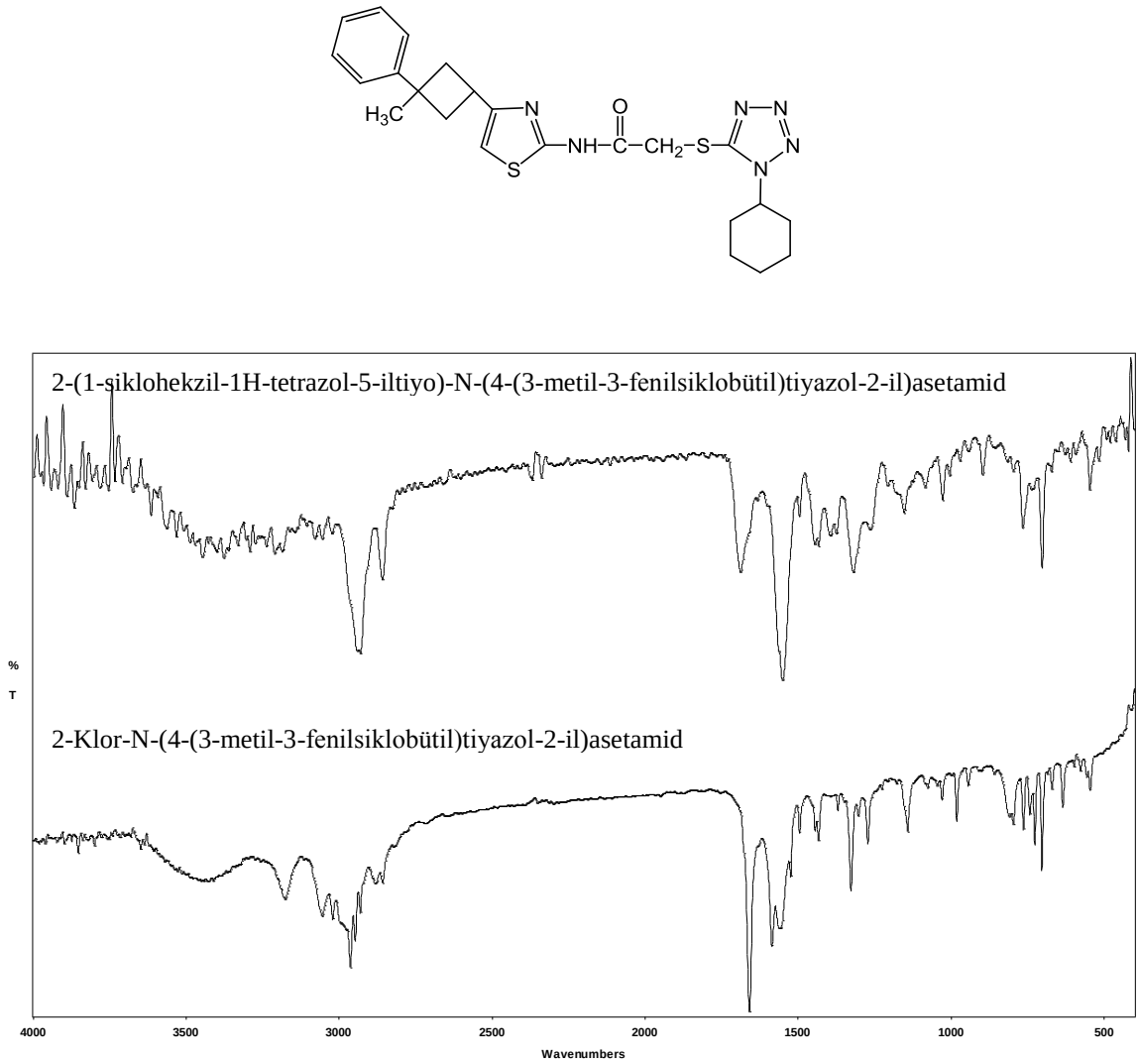
**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$ , ppm):** 164.71 ( $\text{C}_8$ ), 156.69 ( $\text{C}_9$ ), 155.49 ( $\text{C}_6$ ), 153.34 ( $\text{C}_{11}$ ), 149.14 ( $\text{C}_{16}$ ), 135.19 ( $\text{C}_4$ ), 132.16 ( $\text{C}_{20}$ ), 131.41 ( $\text{C}_{17}$ ), 131.07 ( $\text{C}_{18}$ ), 129.32 ( $\text{C}_2$ ), 129.27 ( $\text{C}_3$ ), 128.30 ( $\text{C}_{19}$ ), 126.44 ( $\text{C}_1$ ), 126.39 ( $\text{C}_{21}$ ), 107.26 ( $\text{C}_{10}$ ), 51.55 ( $\text{C}_5$ ), 41.48 ( $\text{C}_{13}$ ), 39.79 ( $\text{C}_7$ ), 35.97 ( $\text{C}_{14}$ ), 30.95 ( $\text{C}_{12}$ ), 27.55 ( $\text{C}_{15}$ ), 21.02 ( $\text{C}_{23}$ ), 19.53 ( $\text{C}_{22}$ ). Bileşiğe ait spektrum Şekil 3.57.'de verilmiştir.



**Şekil 3.57.** 2-(1-benzil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütül)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR APT spektrumu

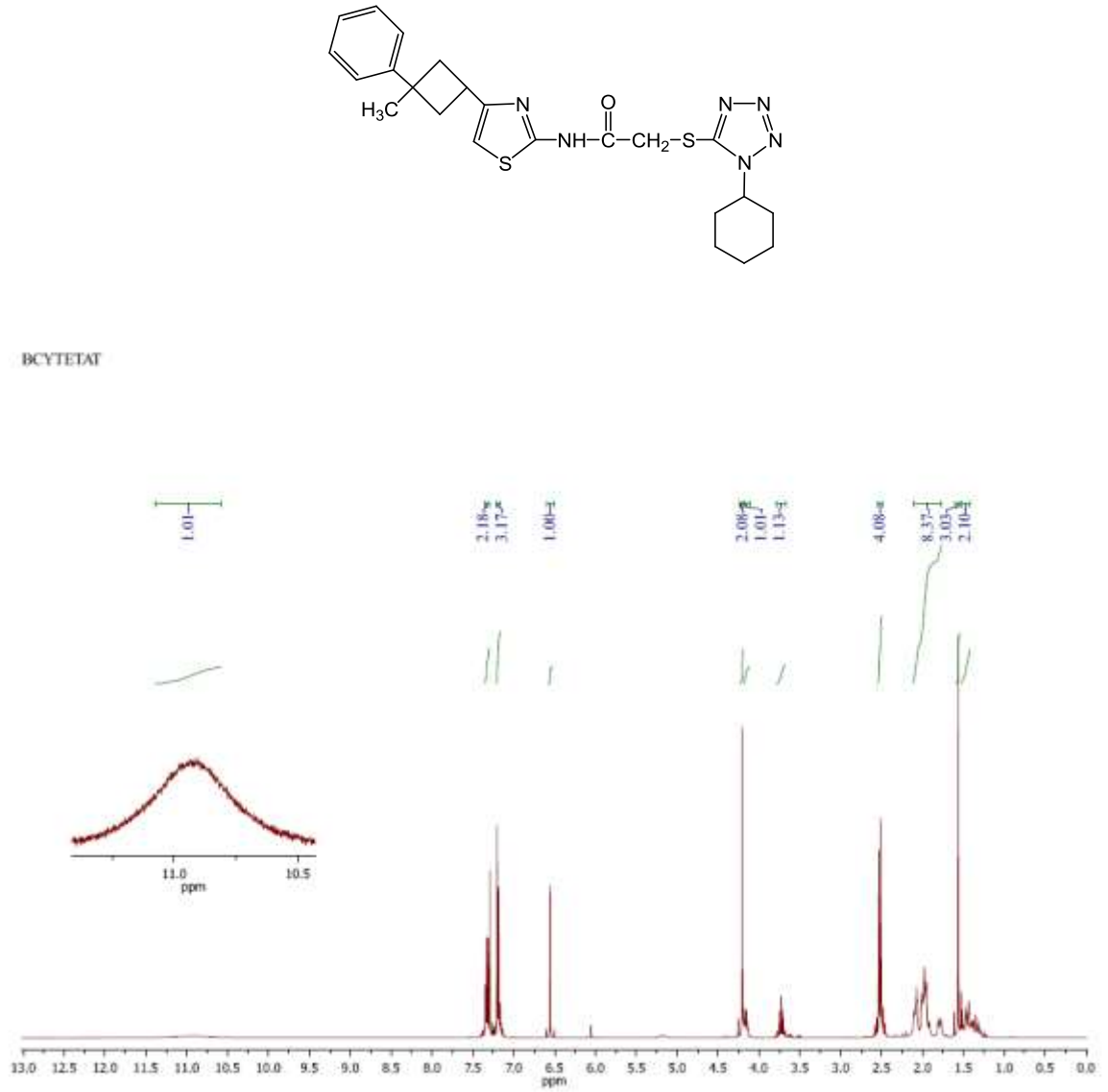
### 3.1.20. 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Sarı çökelek, verim: % 82,  $M_A$ : 468,64 g/mol. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3198 (N-H), 3066 (Aromatik-H), 2936-2858 (Alifatik-H), 1689 (C=O), 1551 (tiyazol, C=N), 1593-1513 (tetrazol, C=N, belirtilen aralıktadır), 703 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.58.**'de verilmiştir.



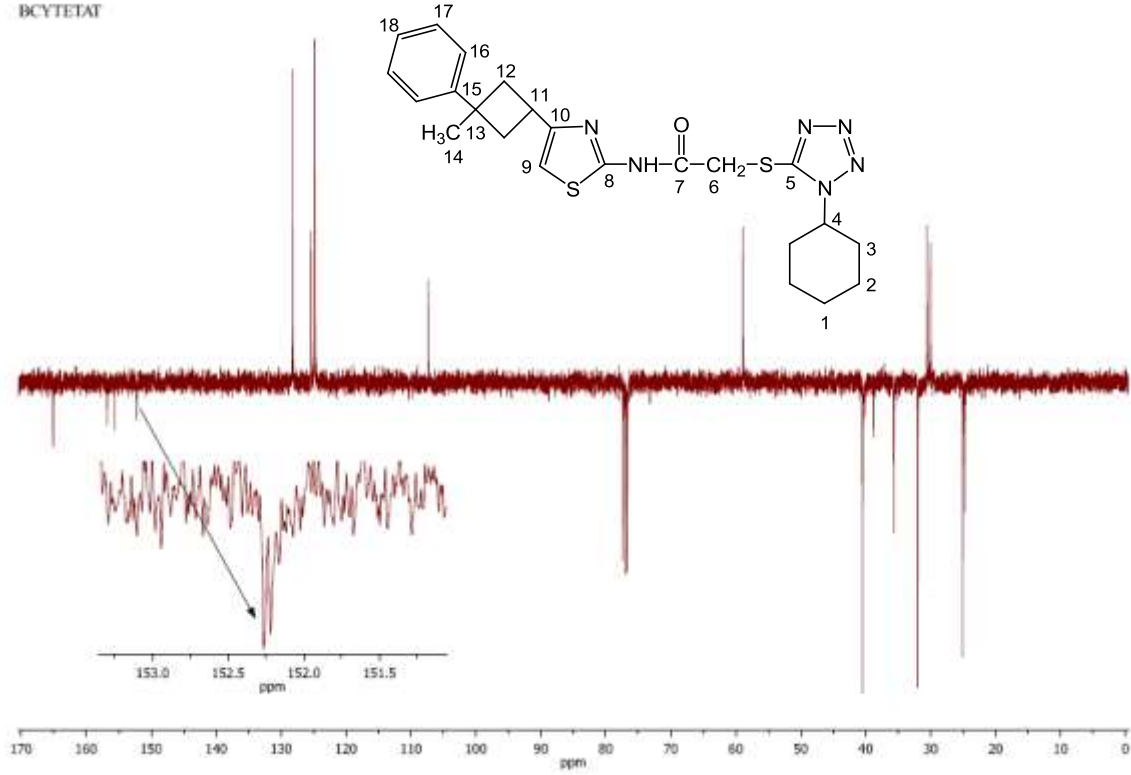
**Şekil 3.58.** 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS,  $\delta$ , ppm):** 1.42-1.53 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-, sikloheksil), 1.56 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 1.74-2.11 (m, 8H, -CH<sub>2</sub>-, sikloheksil), 2.51-2.53 (d,  $j=8.8$  Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.68-3.77 (q,  $j=9.0$  Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.12-4.18 (q,  $j=8.0$  Hz, 1H, >CH-, sikloheksil), 4.20 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.53-6.55 (d,  $j=0.8$  Hz, 1H, =CH-S-), 7.15-7.36 (m, 5H, fenil), 10.94 (s, 1H, -NH-). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.59.**'da verilmiştir.



**Şekil 3.59.** 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

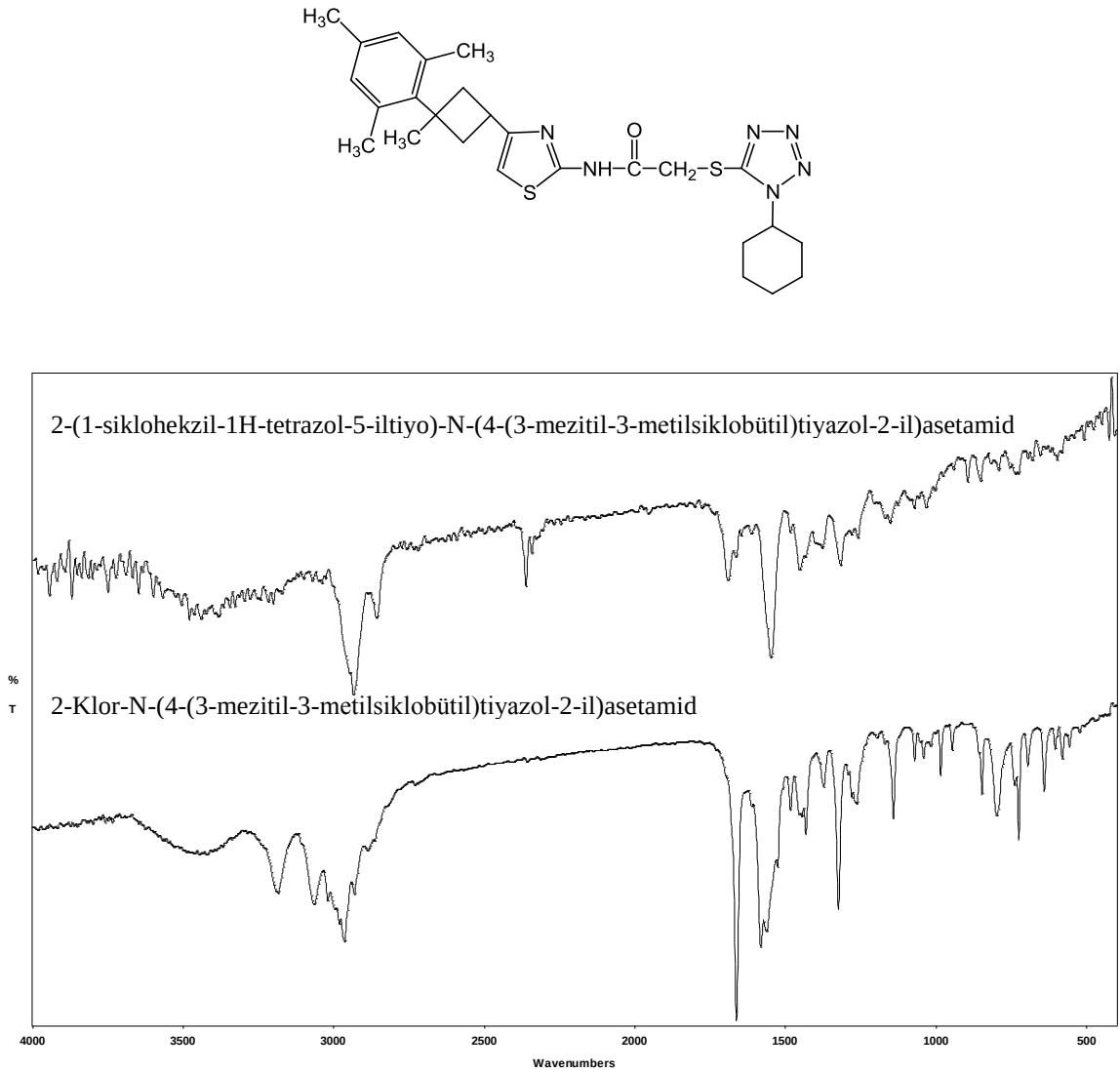
**$^{13}\text{C}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS,  $\delta$ , ppm):** 165.09 (C<sub>7</sub>), 156.79 (C<sub>8</sub>), 155.60 (C<sub>5</sub>), 152.26 (C<sub>10</sub>), 152.22 (C<sub>15</sub>), 128.26 (C<sub>17</sub>), 125.37 (C<sub>18</sub>), 124.78 (C<sub>16</sub>), 107.32 (C<sub>9</sub>), 58.89 (C<sub>4</sub>), 40.49 (C<sub>12</sub>), 38.84 (C<sub>13</sub>), 35.69 (C<sub>6</sub>), 32.02 (C<sub>3</sub>), 30.60 (C<sub>11</sub>), 30.06 (C<sub>14</sub>), 25.09 (C<sub>1</sub>), 24.75 (C<sub>2</sub>). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.60.**'da verilmiştir.



**Şekil 3.60.** 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütül)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR APT spektrumu

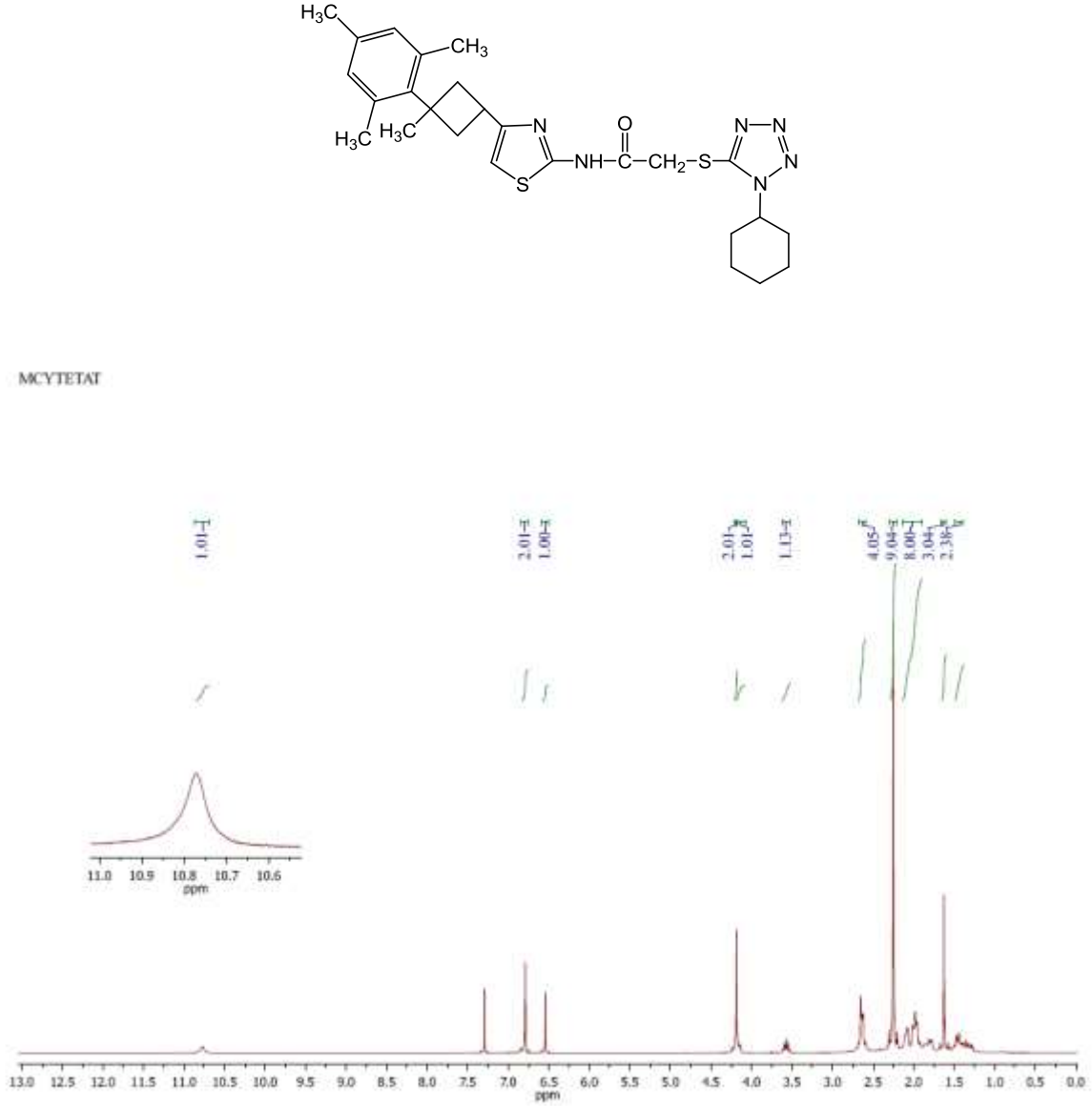
**3.1.21. 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:**

Beyaz çökelek, verim: % 73,  $M_A$ : 510,72 g/mol. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3043 (Aromatik-H), 2935-2858 (Alifatik-H), 1692 (C=O), 1549 (tiyazol, C=N), 1587-1516 (tetrazol, C=N, belirtilen aralıktadır.), 681 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.61.**'de verilmiştir.



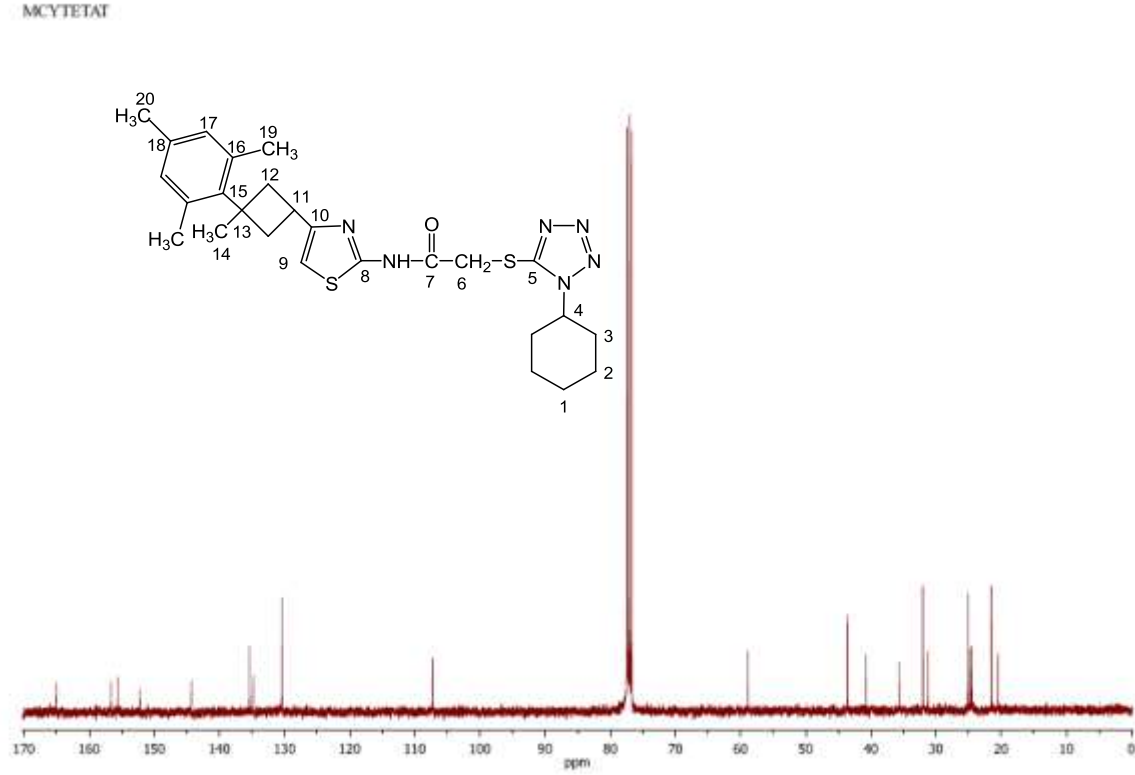
**Şekil 3.61.** 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS,  $\delta$ , ppm):** 1.40-1.50 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-, sikloheksil), 1.63 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 1.90-2.13 (m, 8H, -CH<sub>2</sub>-, sikloheksil), 2.25 (s, 9H, *o*-CH<sub>3</sub> ve *p*-CH<sub>3</sub>, mezitil), 2.60-2.68 (m, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.53-3.62 (q, *j*=9.0 Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.12-4.18 (m, 1H, >CH-, sikloheksil), 4.19 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.55 (s, 1H, =CH-S-), 6.79 (s, 2H, mezitil), 10.77 (s, 1H, -NH-). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.62.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.62.** 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

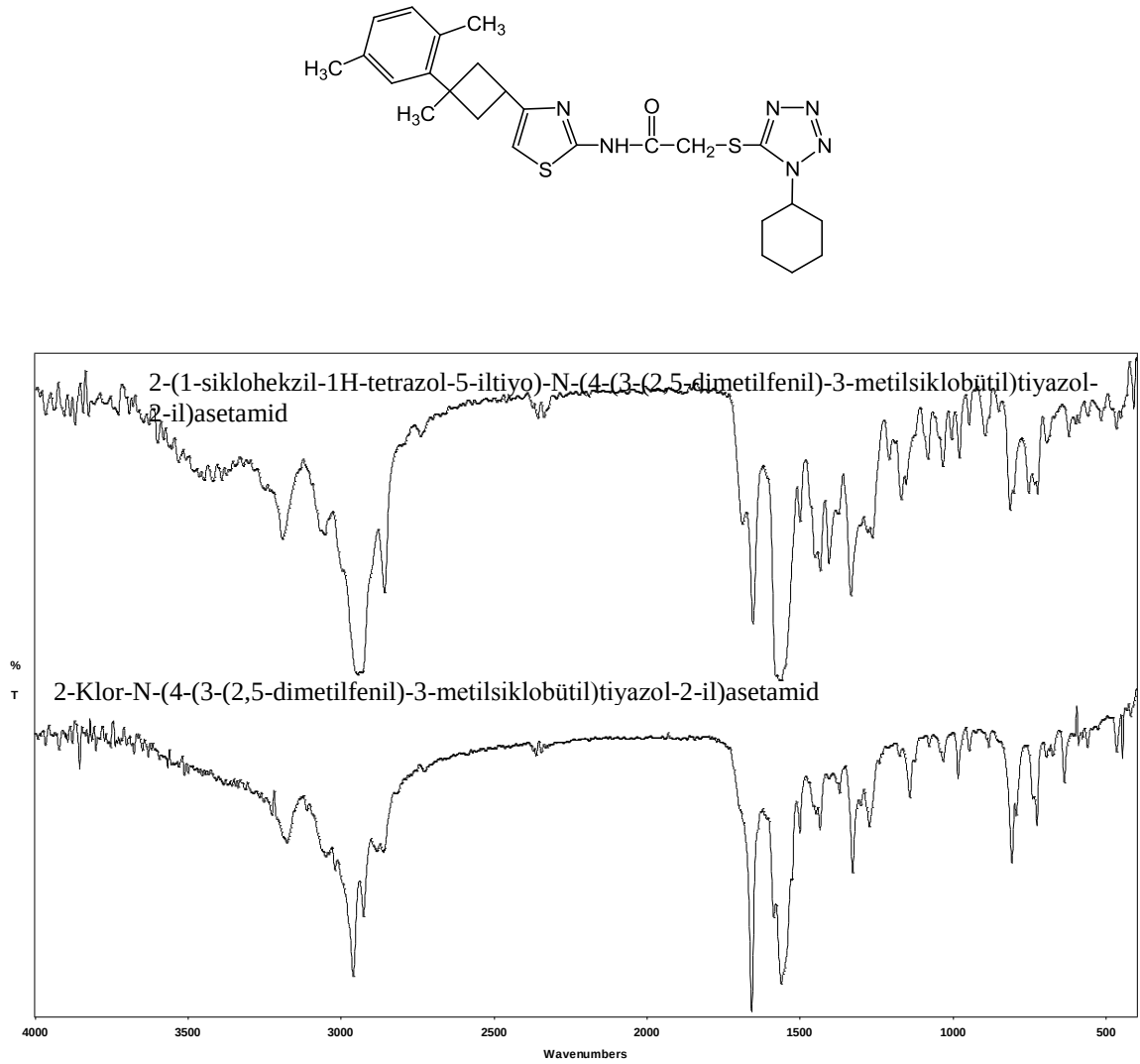
**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$ , ppm):** 165.04 ( $\text{C}_7$ ), 156.64 ( $\text{C}_8$ ), 155.54 ( $\text{C}_{15}$ ), 152.21 ( $\text{C}_5$ ), 144.31 ( $\text{C}_{10}$ ), 135.35 ( $\text{C}_{16}$ ), 134.78 ( $\text{C}_{18}$ ), 130.36 ( $\text{C}_{17}$ ), 107.23 ( $\text{C}_9$ ), 58.89 ( $\text{C}_4$ ), 43.62 ( $\text{C}_{12}$ ), 40.78 ( $\text{C}_6$ ), 35.63 ( $\text{C}_{13}$ ), 32.03 ( $\text{C}_3$ ), 31.26 ( $\text{C}_{11}$ ), 25.09 ( $\text{C}_{14}$ ), 24.75 ( $\text{C}_1$ ), 24.53 ( $\text{C}_2$ ), 21.52 ( $\text{C}_{20}$ ), 20.50 ( $\text{C}_{19}$ ). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.63.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.63.** 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-mezitil-3-metilsiklobütül)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu

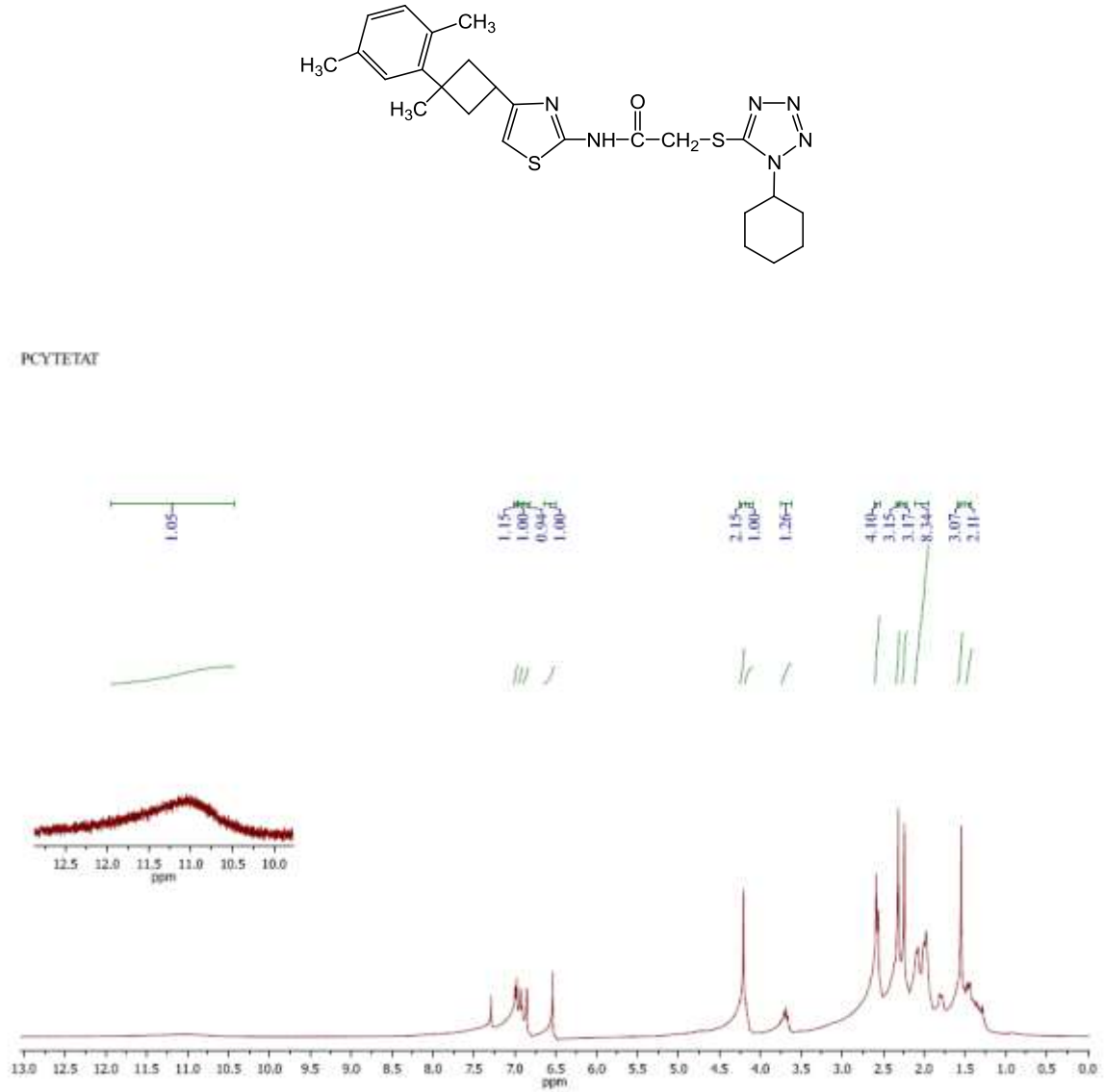
### 3.1.22. 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Sarı kristal, verim: % 77,  $M_A$ : 496,69 g/mol, e.n: 186,8 °C. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3193 (N-H), 3053 (Aromatik-H), 2947-2858 (Alifatik-H), 1654 (C=O), 1565 (tiyazol, C=N), 1600-1513 (tetrazol, C=N, belirtilen aralıktadır.), 622 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.64.**'de verilmiştir.



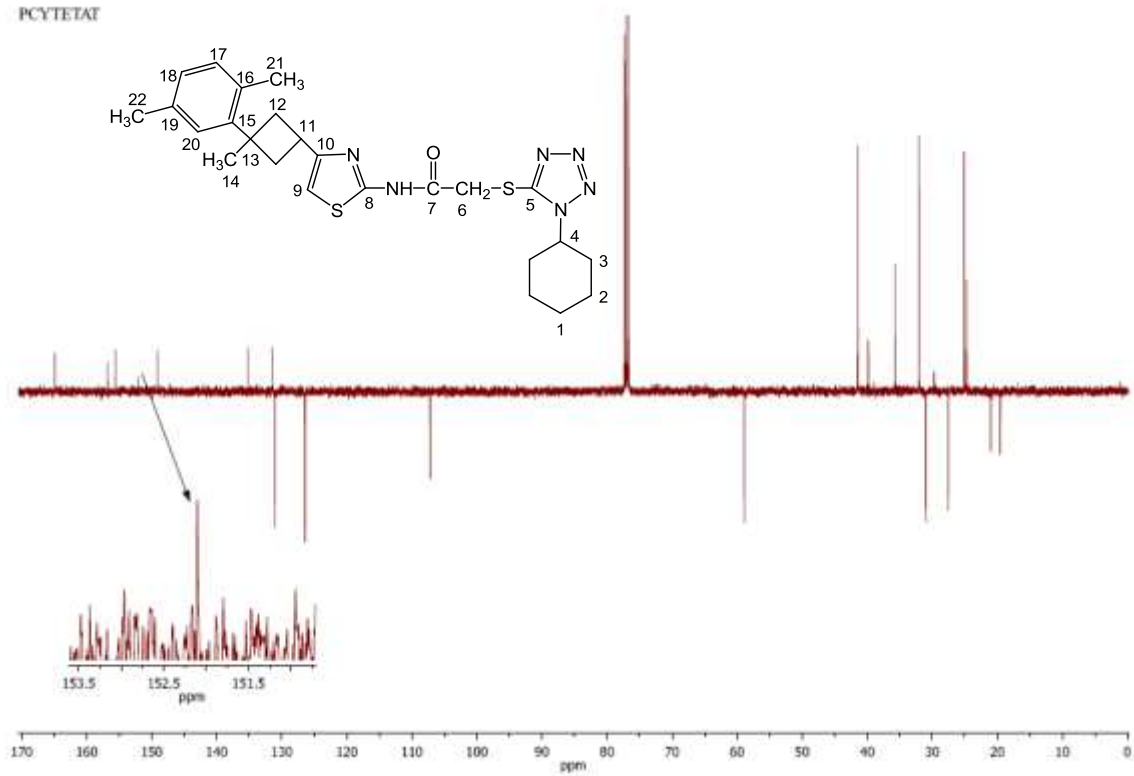
**Şekil 3.64.** 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 1.35-1.48 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-, sikloheksil), 1.55 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 1.75-2.14 (m, 8H, -CH<sub>2</sub>-, sikloheksil), 2.24 (s, 3H, *o*-CH<sub>3</sub>), 2.32 (s, 3H, *m*-CH<sub>3</sub>), 2.56-2.58 (d, *j*=8.8 Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.64-3.73 (q, *j*=8.7 Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.05-4.20 (q, *j*=7.8 Hz, 1H, >CH-, sikloheksil), 4.21 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.54 (s, 1H, =CH-S-), 6.85 (s, 1H, *p*-ksilen), 6.91-6.93 (d, *j*=8.0 Hz, 1H, *p*-ksilen), 6.98-7.00 (d, *j*=7.6 Hz, 1H, *p*-ksilen), 11.04 (s, 1H, -NH-). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.65.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.65.** 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

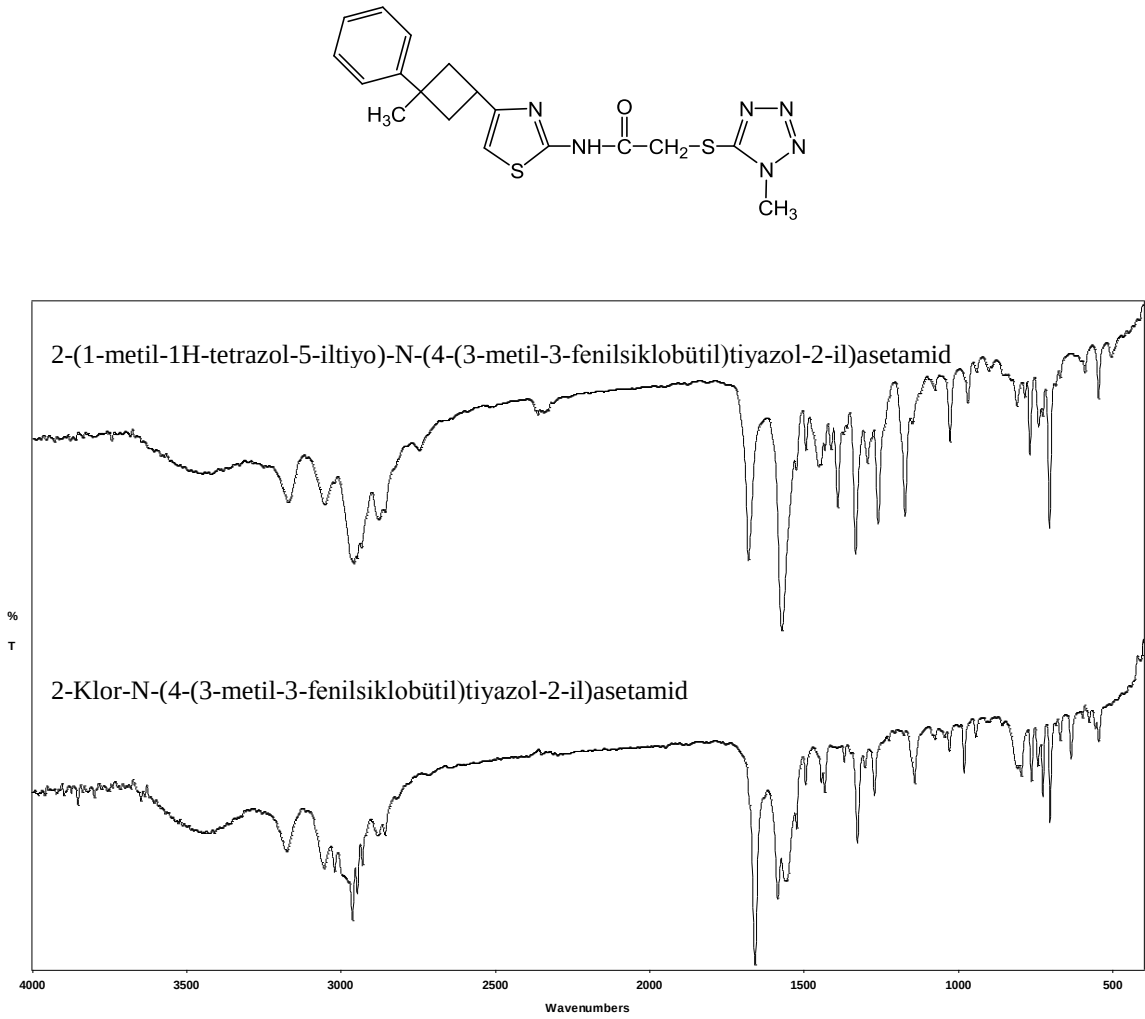
**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$ , ppm):** 164.89 ( $\text{C}_7$ ), 156.74 ( $\text{C}_8$ ), 155.60 ( $\text{C}_5$ ), 152.10 ( $\text{C}_{10}$ ), 149.14 ( $\text{C}_{15}$ ), 135.20 ( $\text{C}_{19}$ ), 131.42 ( $\text{C}_{16}$ ), 131.08 ( $\text{C}_{17}$ ), 126.44 ( $\text{C}_{18}$ ), 126.40 ( $\text{C}_{20}$ ), 107.21 ( $\text{C}_9$ ), 58.92 ( $\text{C}_4$ ), 41.45 ( $\text{C}_{12}$ ), 39.83 ( $\text{C}_6$ ), 35.68 ( $\text{C}_{13}$ ), 32.03 ( $\text{C}_3$ ), 30.96 ( $\text{C}_{11}$ ), 27.55 ( $\text{C}_{14}$ ), 25.08 ( $\text{C}_1$ ), 24.75 ( $\text{C}_2$ ), 21.02 ( $\text{C}_{22}$ ), 19.53 ( $\text{C}_{21}$ ). Bileşiğe ait spektrum Şekil 3.66.'da verilmiştir.



**Şekil 3.66.** 2-(1-sikloheksil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR APT spektrumu

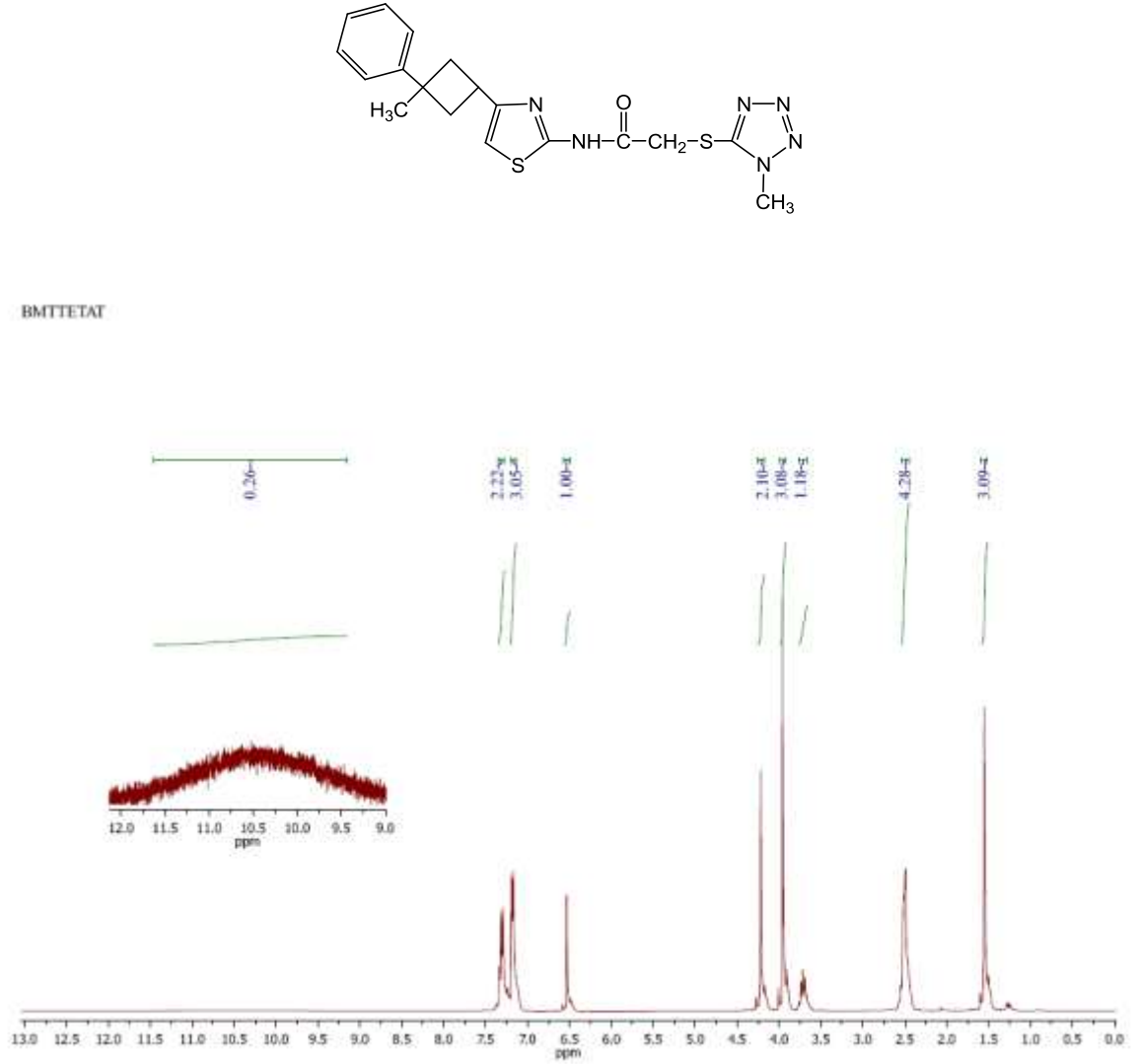
### 3.1.23. 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Beyaz çökelek, verim: % 59,  $M_A$ : 588,49 g/mol. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3173 (N-H), 3054 (Aromatik-H), 2960-2858 (Alifatik-H), 1681 (C=O), 1573 (tiyazol, C=N), 1613-1506 (tetrazol, C=N, belirtilen aralıktadır.), 705 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.67.**'de verilmiştir.



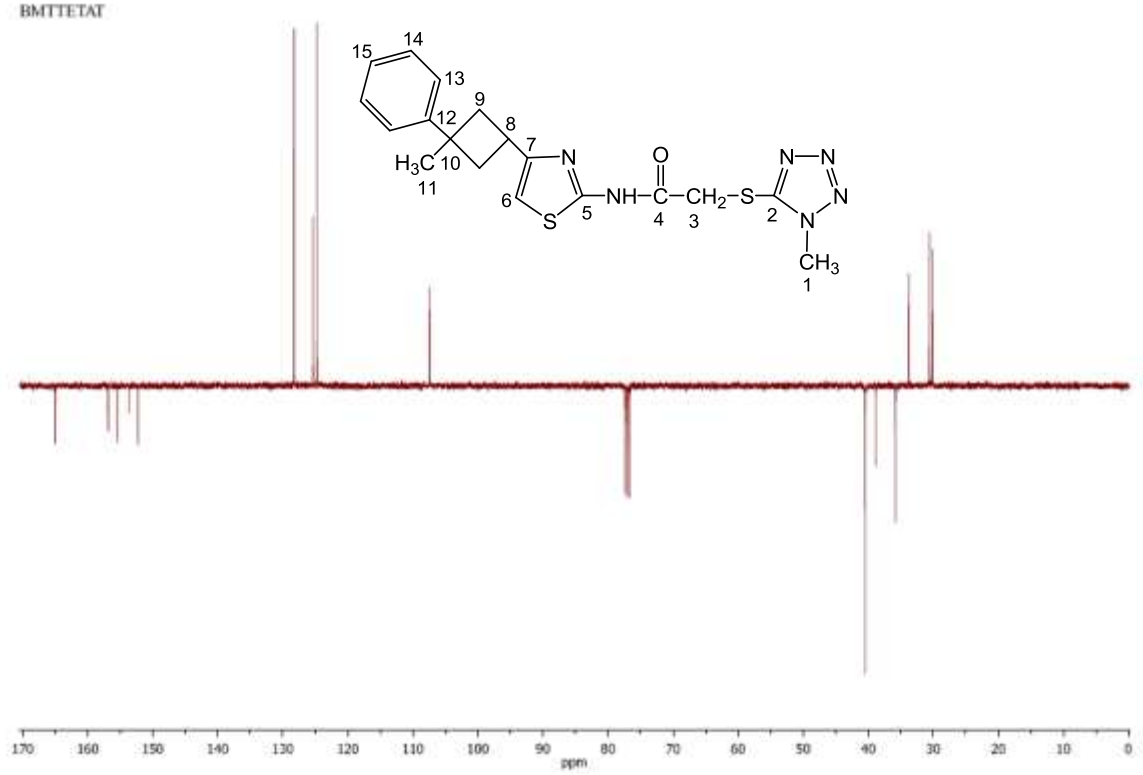
**Şekil 3.67.** 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 1.55 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.49-2.51 (d, *j*=8.4 Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.67-3.76 (q, *j*=8.4 Hz, 1H, >CH-siklobütan), 3.96 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>, tetrazol), 4.22 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.53 (s, 1H, =CH-S-), 7.17-7.34 (m, 5H, fenil), 10.51 (s, 1H, -NH-). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.68.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.68.** 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütül)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

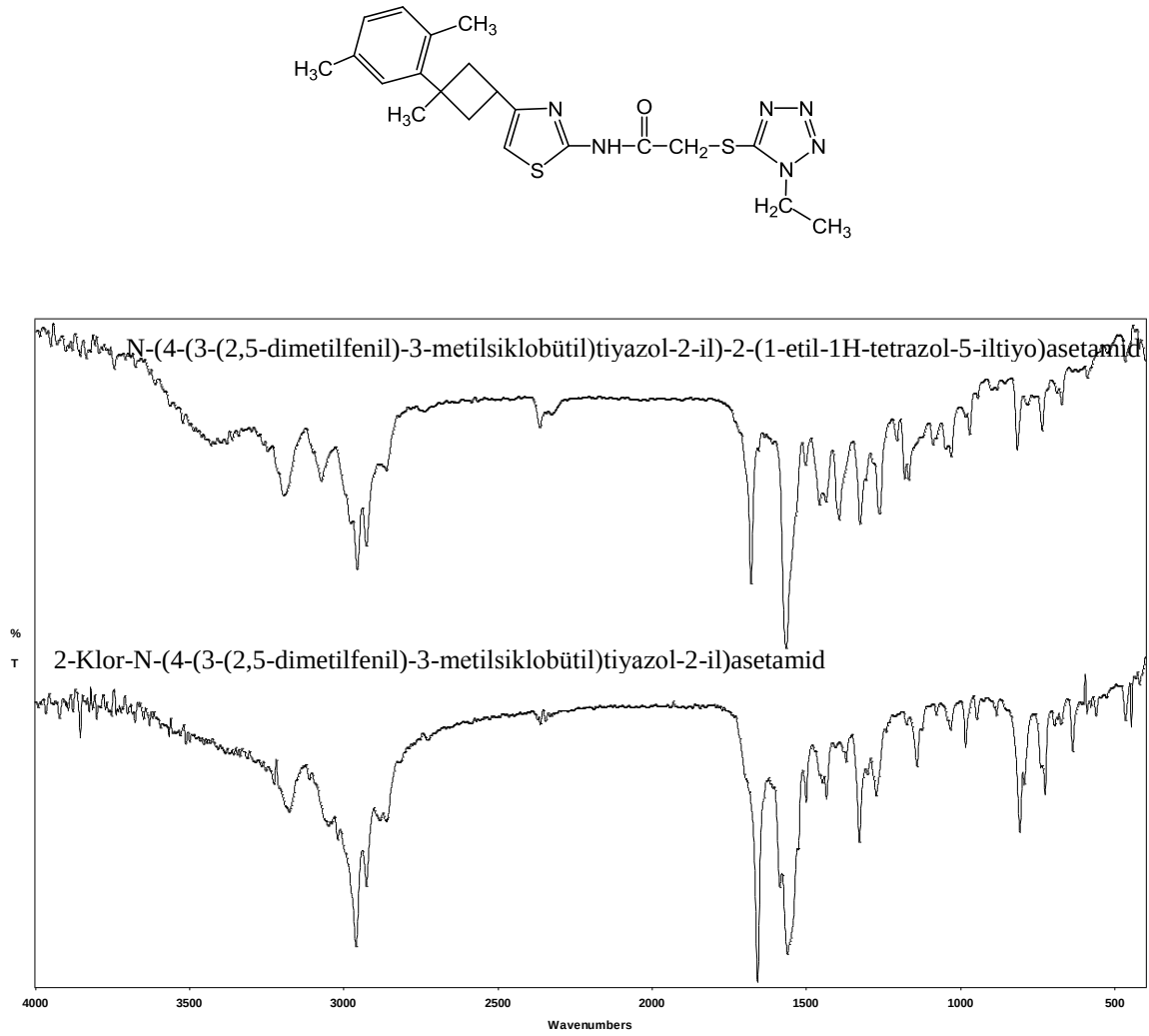
**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 164.95 (C<sub>4</sub>), 156.86 (C<sub>5</sub>), 155.43 (C<sub>2</sub>), 153.65 (C<sub>7</sub>), 152.29 (C<sub>12</sub>), 128.25 (C<sub>14</sub>), 125.38 (C<sub>15</sub>), 124.78 (C<sub>13</sub>), 107.41 (C<sub>6</sub>), 40.50 (C<sub>9</sub>), 38.83 (C<sub>10</sub>), 35.84 (C<sub>3</sub>), 33.72 (C<sub>1</sub>), 30.58 (C<sub>8</sub>), 30.09 (C<sub>11</sub>), Bileşiğıe ait spektrum Şekil 3.69.'da verilmiştir.



**Şekil 3.69.** 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütül)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğıne ait <sup>13</sup>C-NMR APT spektrumu

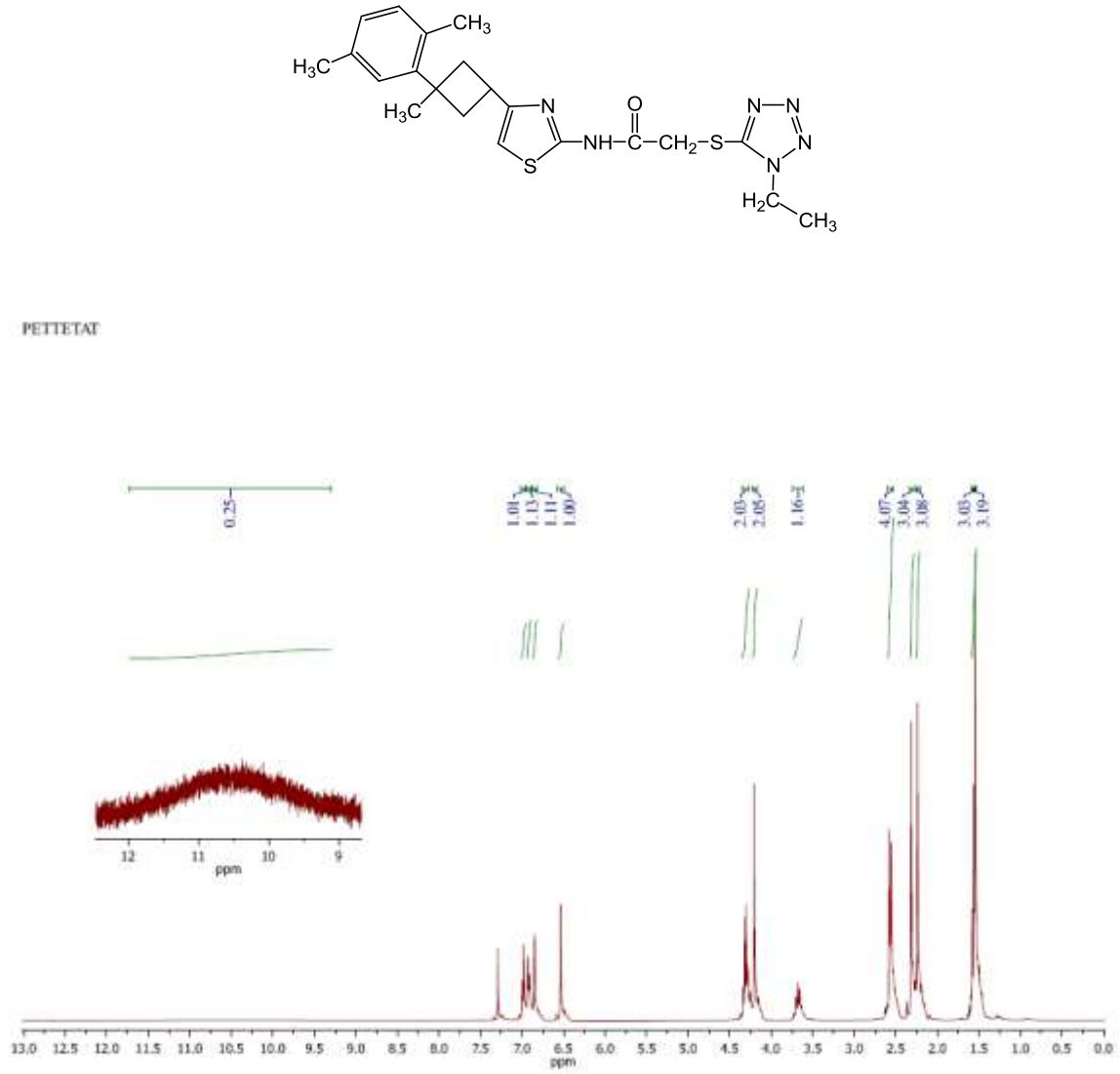
### 3.1.24. N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Sarı kristal, verim: % 47,  $M_A$ : 442,60 g/mol, e.n: 162,2 °C. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3195 (N-H), 3074 (Aromatik-H), 2956-2861 (Alifatik-H), 1680 (C=O), 1566 (tiyazol, C=N), 1597-1516 (tetrazol, C=N, belirtilen aralıktadır.), 671 (tiyazol, C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.70.**'de verilmiştir.



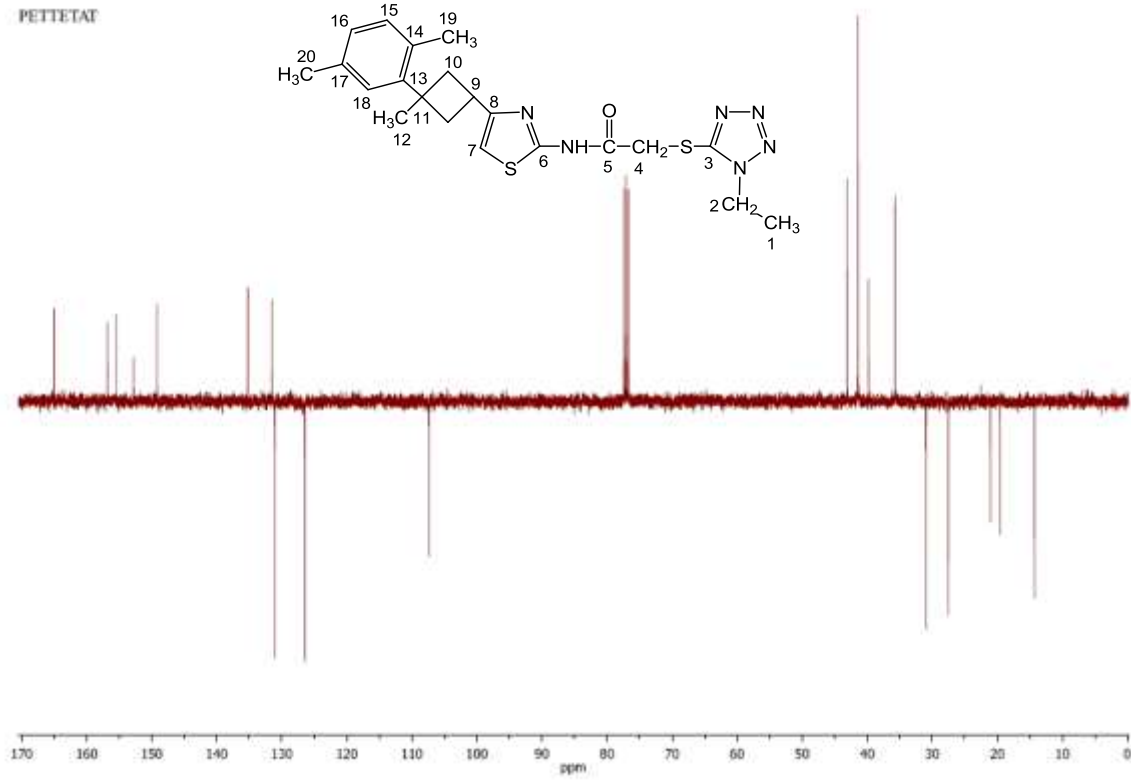
**Şekil 3.70.** N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 1.55-1.58 (t, *j*=7.2 Hz, 3H, -CH<sub>3</sub>, tetrazol), 1.55 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.24 (s, 3H, *o*-CH<sub>3</sub>), 2.32 (s, 3H, *m*-CH<sub>3</sub>), 2.56-2.58 (d, *j*=8.8 Hz, 4H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.64-3.73 (q, *j*=8.9 Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.20 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 4.28-4.34 (q, *j*=7.3 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-, tetrazol), 6.54 (s, 1H, =CH-S-), 6.85 (s, 1H, *p*-ksilen), 6.91-6.93 (d, *j*=7.6 Hz, 1H, *p*-ksilen), 6.98-7.00 (d, *j*=7.6 Hz, 1H, *p*-ksilen), 10.49 (s, 1H, -NH-). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.71.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.71.** N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 164.95 (C<sub>5</sub>), 156.78 (C<sub>6</sub>), 155.45 (C<sub>3</sub>), 152.81 (C<sub>8</sub>), 149.17 (C<sub>13</sub>), 135.25 (C<sub>17</sub>), 131.48 (C<sub>14</sub>), 131.09 (C<sub>15</sub>), 126.48 (C<sub>16</sub>), 126.45 (C<sub>18</sub>), 107.34 (C<sub>7</sub>), 43.06 (C<sub>10</sub>), 41.44 (C<sub>2</sub>), 39.78 (C<sub>4</sub>), 35.71 (C<sub>11</sub>), 30.94 (C<sub>9</sub>), 27.55 (C<sub>12</sub>), 21.08 (C<sub>20</sub>), 19.59 (C<sub>19</sub>), 14.30 (C<sub>1</sub>). Bileşiğe ait spektrum Şekil 3.72.'de verilmiştir.



**Şekil 3.72.** N-(4-(3-(2,5-dimetilfenil)-3-metilsiklobütil)tiyazol-2-il)-2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)asetamid bileşiğine ait <sup>13</sup>C-NMR APT spektrumu

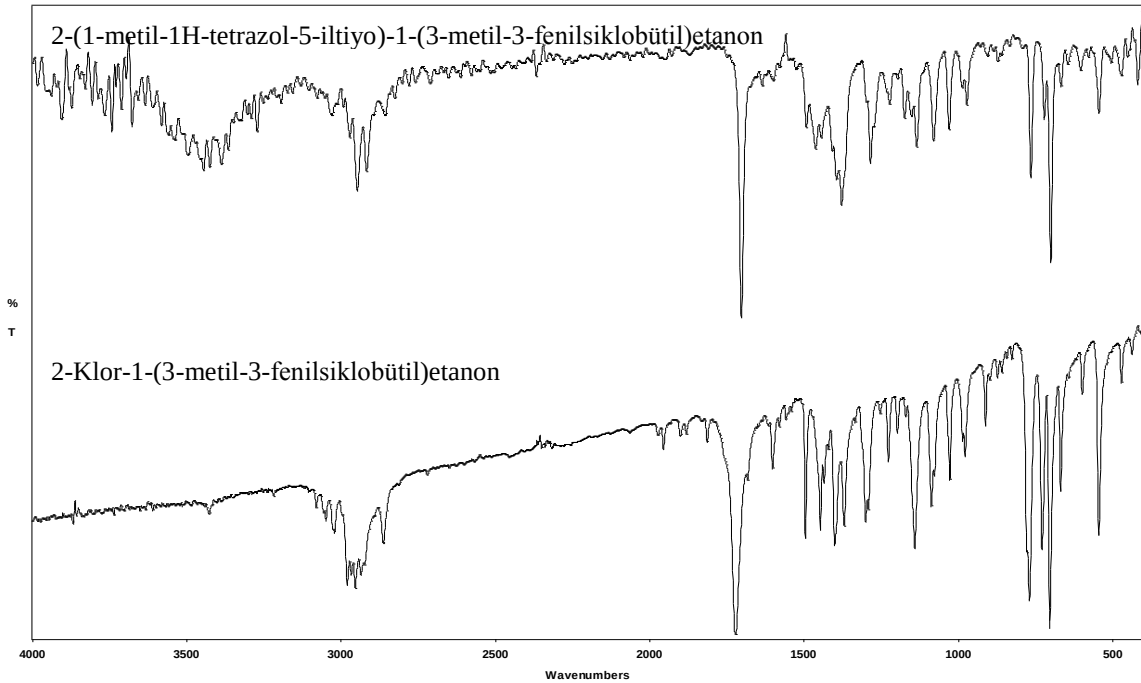
### 3.2. Keton Türevli Tetrazollerin Karakterizasyonu

Keton türevli bileşiklerin sentezi **Bölüm 2.3.6.**'da belirtilen şekilde gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapı formülleri ve adları **Tablo 1.2**'de verilmiştir.

Sentezlenen her bir bileşiğe ait  $^1\text{H}$ -NMR, ve  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumları, ilgili bileşiğin altında verilmiştir. Bileşiklere ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumları değerlendirilirken numaralandırma sistemi kullanılmıştır. Yapılan numaralandırma sisteminin adlandırmayla ilgisi yoktur. Numaralandırma işlemi sadece keyfi olarak seçilmiştir.

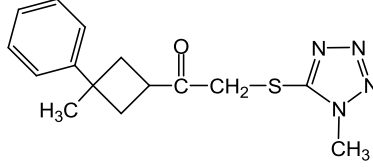
#### 3.2.1. 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Beyaz çökelek, verim: % 74,  $M_A$ : 302,39 g/mol. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3033 (Aromatik-H), 2972-2858 (Alifatik-H), 1703 (C=O), 1463 (tetrazol, C=N), 722 (C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.73.**'de verilmiştir.

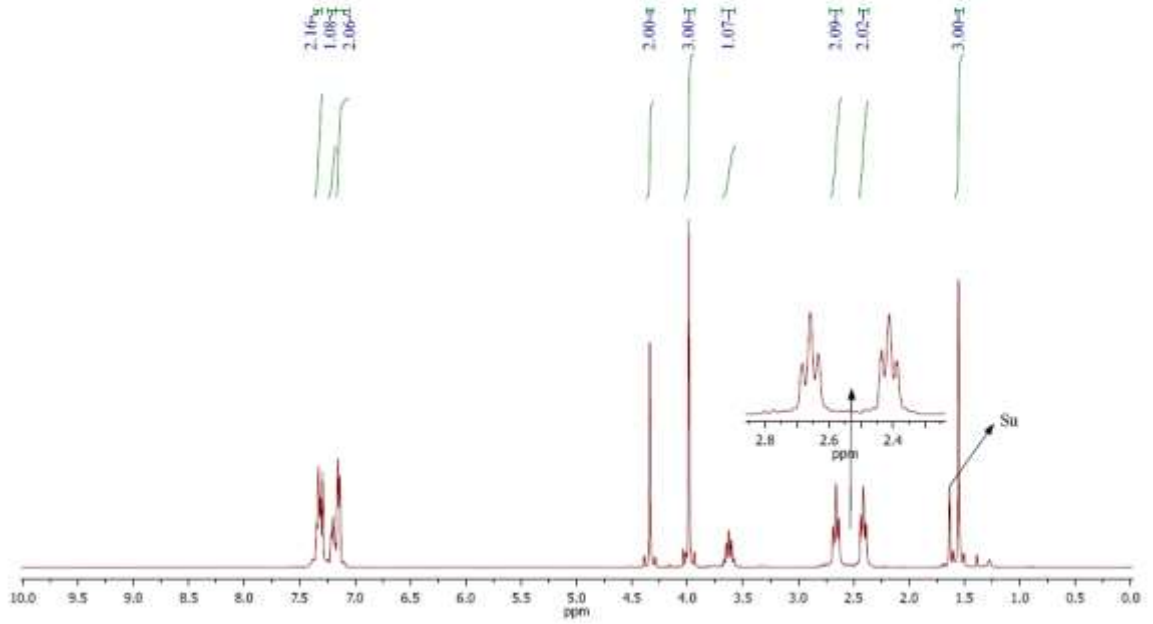


**Şekil 3.73.** 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon ile 2-Klor-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 1.55 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.39-2.44 (t, *j*=9.6 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 2.63-2.68 (t, *j*=10.0 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-siklobütan), 3.58-3.67 (q, *j*=9.0 Hz, 1H, >CH-siklobütan), 3.99 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>, tetrazol), 4.34 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 7.14-7.16 (d, *j*=6.4 Hz, 2H, fenil), 7.18-7.22 (t, *j*=7.0 Hz, 1H, fenil), 7.31-7.35 (t, *j*=7.2 Hz, 2H, fenil). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.74.**'de verilmiştir.



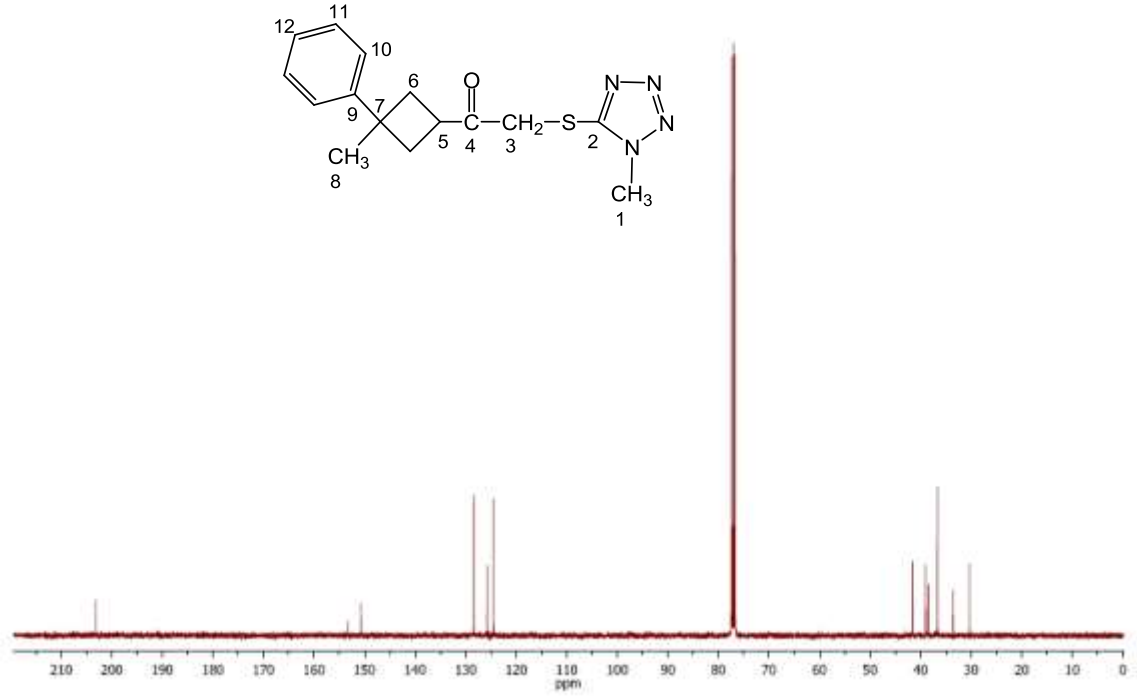
BZMTETKT



**Şekil 3.74.** 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$ , ppm):** 203.20 ( $\text{C}_4$ ), 153.38 ( $\text{C}_2$ ), 150.70 ( $\text{C}_9$ ), 128.37 ( $\text{C}_{11}$ ), 125.75 ( $\text{C}_{12}$ ), 124.54 ( $\text{C}_{10}$ ), 41.59 ( $\text{C}_5$ ), 39.04 ( $\text{C}_3$ ), 38.55 ( $\text{C}_7$ ), 36.71 ( $\text{C}_6$ ), 33.58 ( $\text{C}_1$ ), 30.34 ( $\text{C}_8$ ). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.75.**'de verilmiştir.

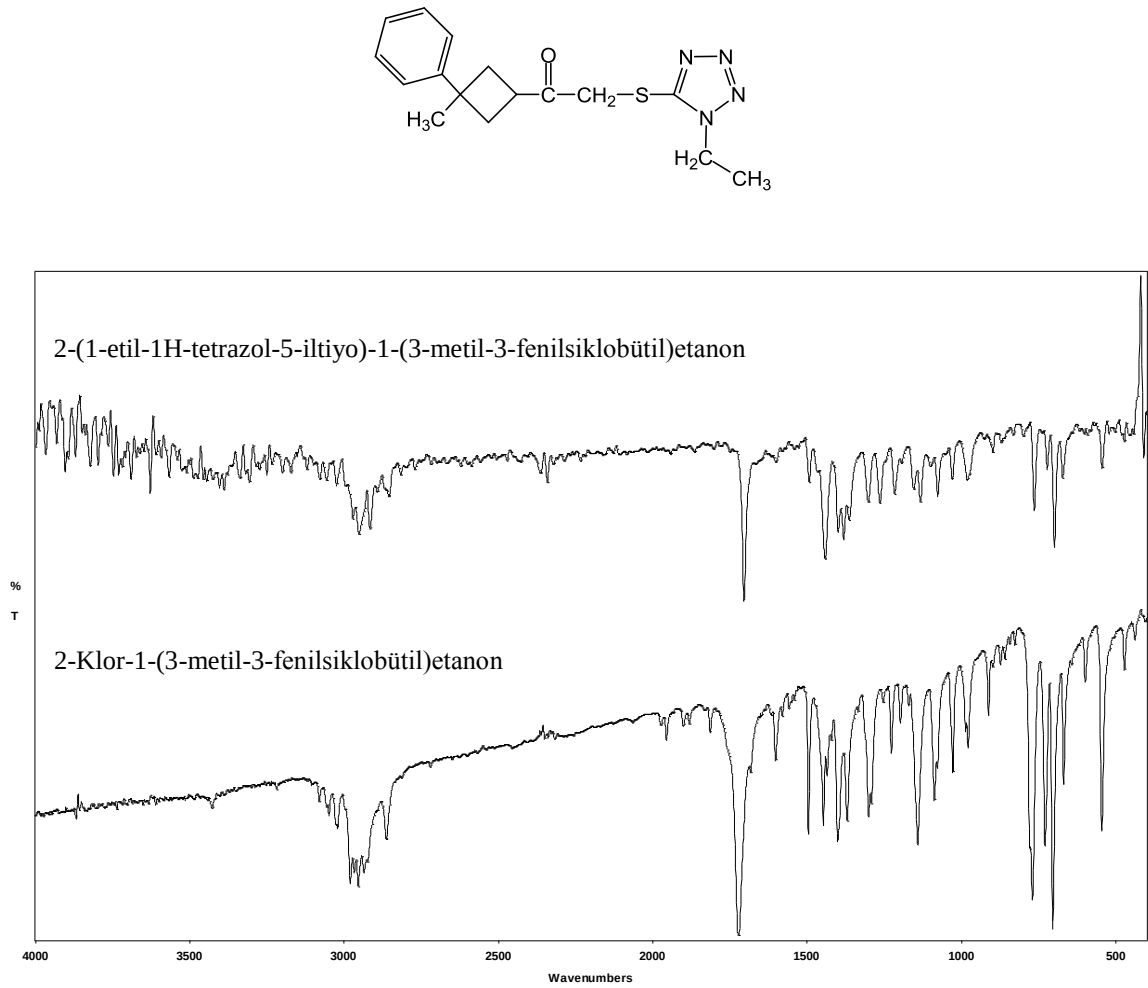
BZMTETKT



**Şekil 3.75.** 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-metil-3-fenilsiklobütıl)etanon bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu

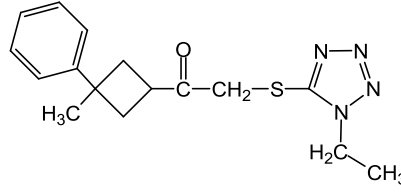
### 3.2.2. 2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Beyaz kristal, verim: % 64,  $M_A$ : 316,42 g/mol, e.n: 79,9 °C. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3025 (Aromatik-H), 2972-2855 (Alifatik-H), 1704 (C=O), 1443 (tetrazol, C=N), 722 (C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.76.**'da verilmiştir.

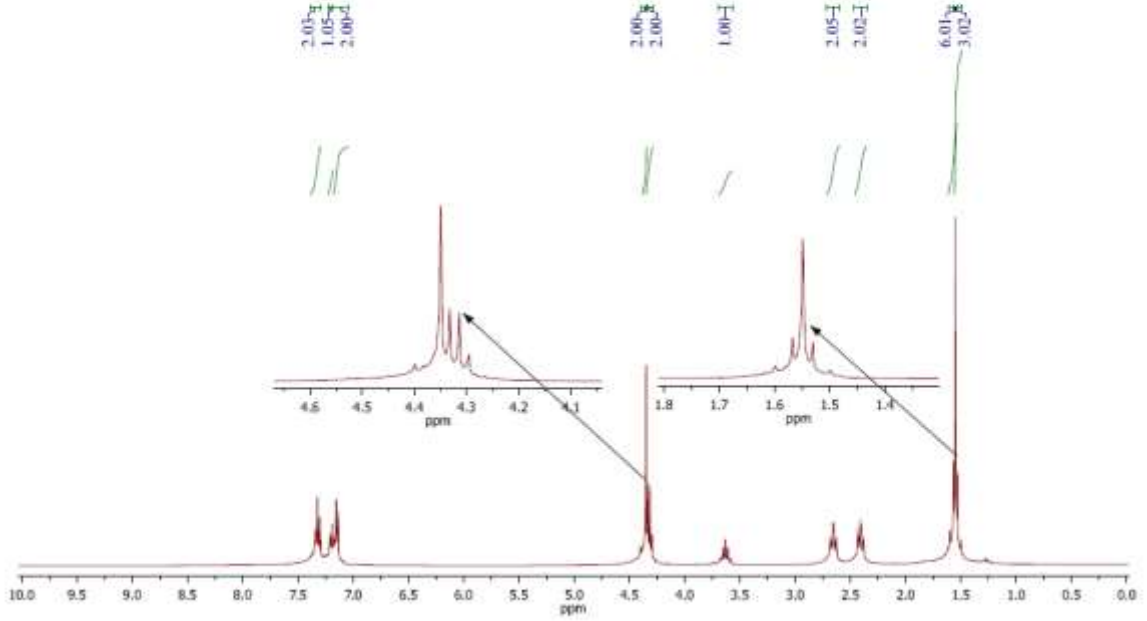


**Şekil 3.76.** 2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon ile 2-Klor-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS,  $\delta$ , ppm):** 1.53-1.57 (t,  $j=7.4$  Hz, 3H, -CH<sub>3</sub>, tetrazol), 1.55 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.38-2.43 (t,  $j=9.0$  Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-,siklobütan), 2.63-2.68 (t,  $j=9.4$  Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-,siklobütan), 3.58-3.68 (q,  $j=9.1$  Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.30-4.35 (q,  $j=6.8$  Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-, tetrazol), 4.35 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 7.13-7.15 (d,  $j=7.6$  Hz, 2H, fenil), 7.17-7.21 (t,  $j=7.2$  Hz, 1H, fenil), 7.30-7.34 (t,  $j=7.4$  Hz, 2H, fenil). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.77.**'de verilmiştir.

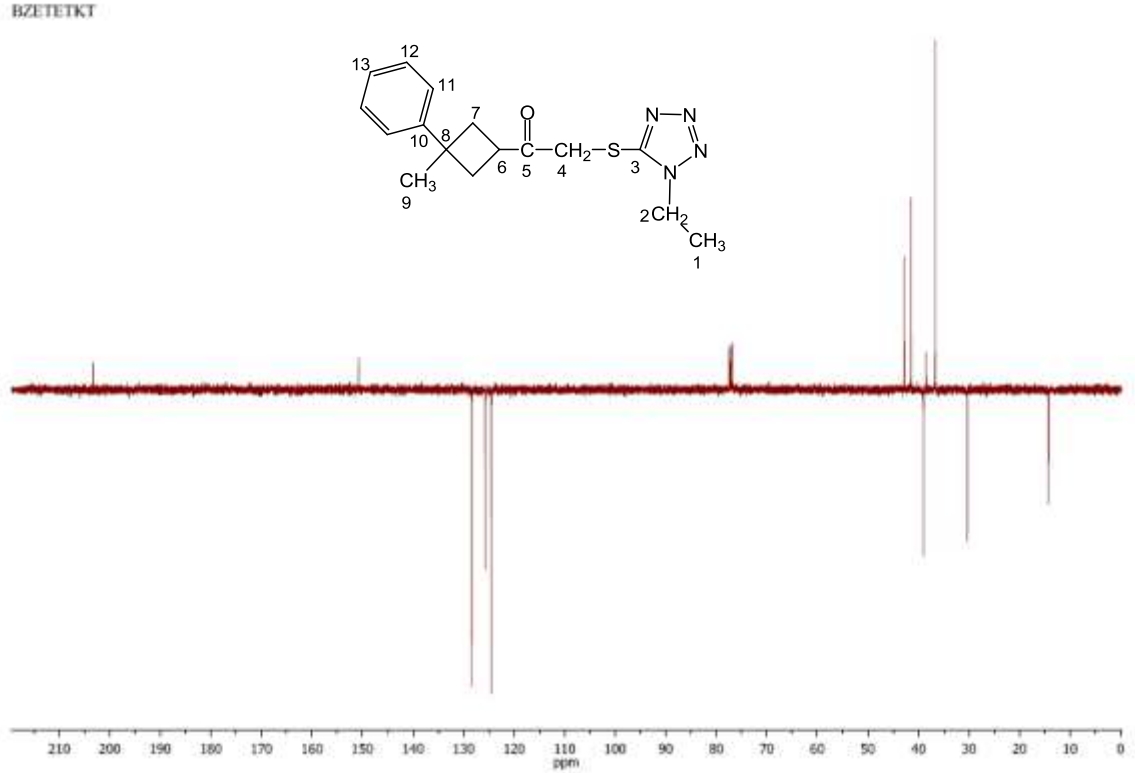


BZETETKT



**Şekil 3.77.** 2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-metil-3-fenilsiklobütül)etanon bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

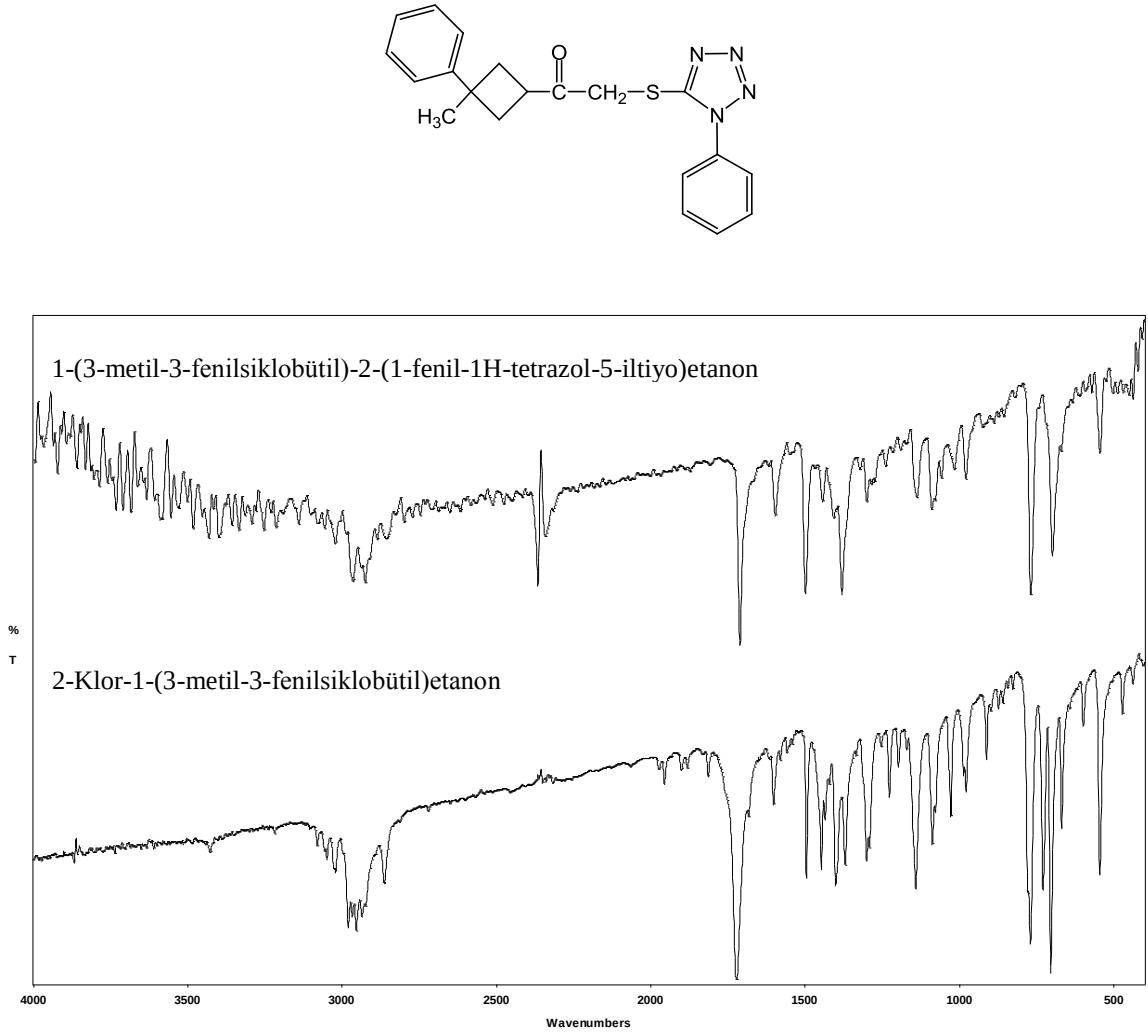
**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$ , ppm):** 203.31 ( $\text{C}_5$ ), 150.73 ( $\text{C}_{10}$ ), 128.36 ( $\text{C}_{12}$ ), 125.73 ( $\text{C}_{13}$ ), 124.54 ( $\text{C}_{11}$ ), 42.81 ( $\text{C}_4$ ), 41.51 ( $\text{C}_2$ ), 39.02 ( $\text{C}_6$ ), 38.53 ( $\text{C}_8$ ), 36.71 ( $\text{C}_7$ ), 30.33 ( $\text{C}_9$ ), 14.30 ( $\text{C}_1$ ). Toplam karbon sayısının bir eksik olduğu görülmektedir. Bunun  $\text{C}_3$  numaralı karbon atomuna ait olduğu düşünülmektedir. Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.78.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.78.** 2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR APT spektrumu

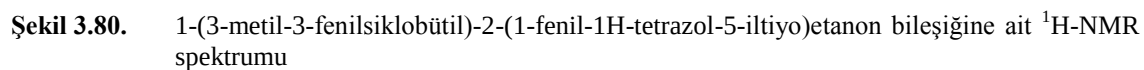
### 3.2.3. 1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Beyaz kristal, verim: % 69,  $M_A$ : 364,46 g/mol, e.n: 121 °C. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3024 (Aromatik-H), 2966-2858 (Alifatik-H), 1712 (C=O), 1499 (tetrazol, C=N), 686 (C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.79**.’da verilmiştir.

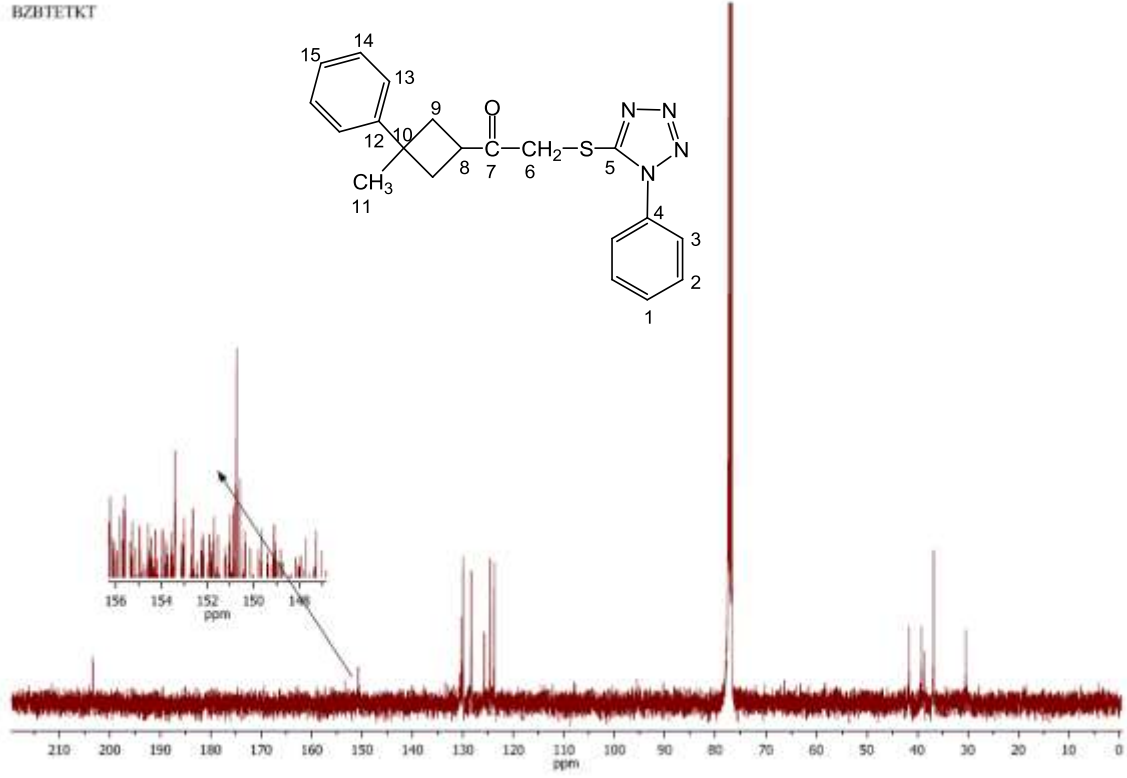


**Şekil 3.79.** 1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon ile 2-Klor-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

BZHTETKT



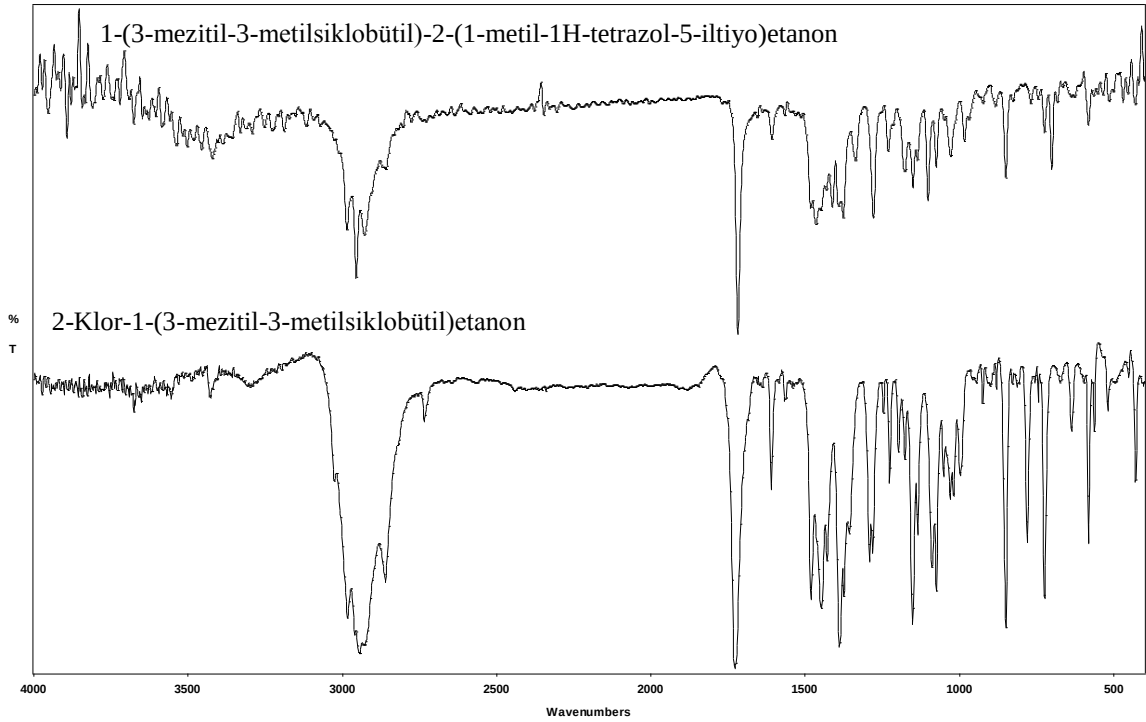
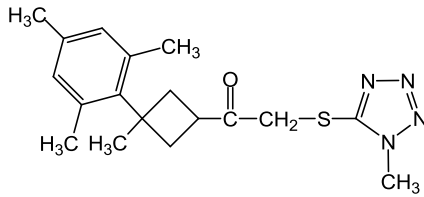
**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$ , ppm):** 203.32 ( $\text{C}_7$ ), 153.41 ( $\text{C}_5$ ), 150.72 ( $\text{C}_{12}$ ), 130.33 ( $\text{C}_4$ ), 129.95 ( $\text{C}_1$ ,  $\text{C}_2$ ), 128.37 ( $\text{C}_{14}$ ), 125.74 ( $\text{C}_{15}$ ), 124.55 ( $\text{C}_{13}$ ), 123.77 ( $\text{C}_3$ ), 41.63 ( $\text{C}_8$ ), 39.13 ( $\text{C}_6$ ), 38.56 ( $\text{C}_{10}$ ), 36.74 ( $\text{C}_9$ ), 30.34 ( $\text{C}_{11}$ ). Bileşiğine ait spektrum **Şekil 3.81.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.81.** 1-(3-metil-3-fenilsiklobütıl)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu

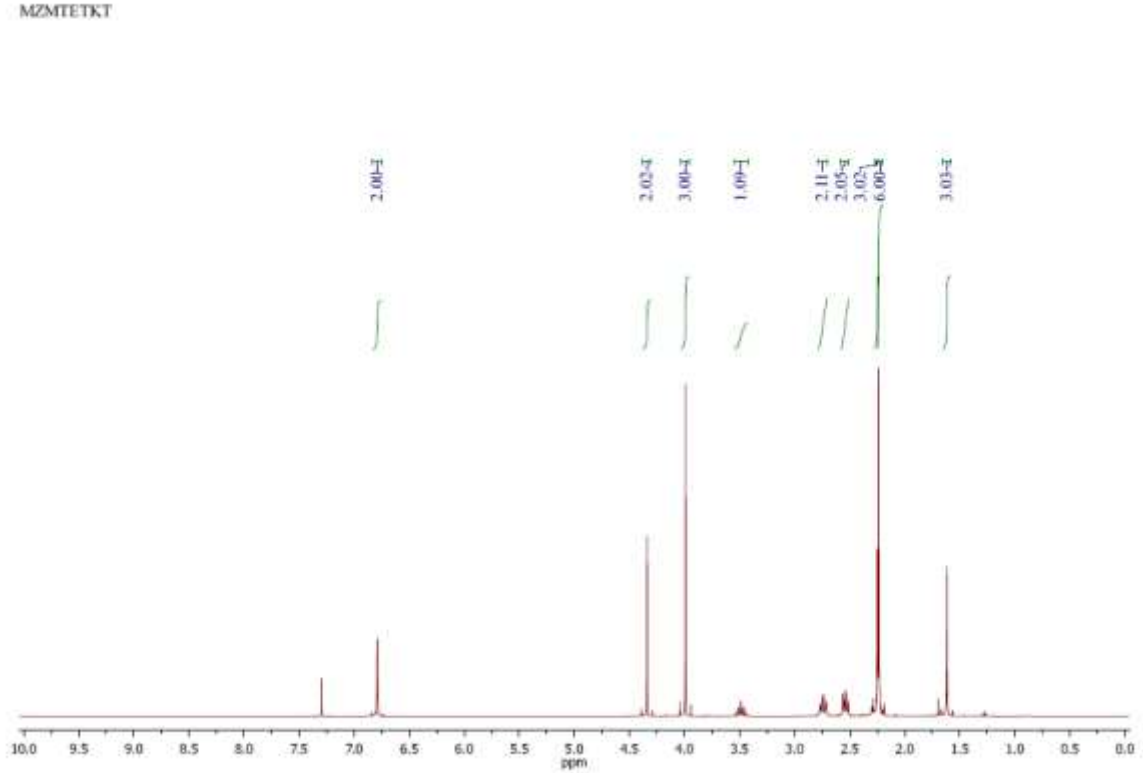
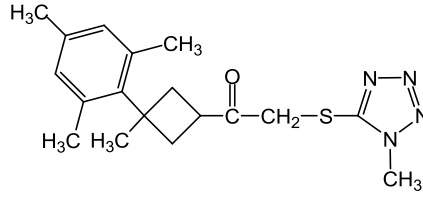
### 3.2.4. 1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)-2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Sarı kristal, verim: % 65,  $M_A$ : 344,47 g/mol, e.n: 134,0 °C. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3026 (Aromatik-H), 2985-2862 (Alifatik-H), 1718 (C=O), 1483 (tetrazol, C=N), 701 (C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.82.**'de verilmiştir.



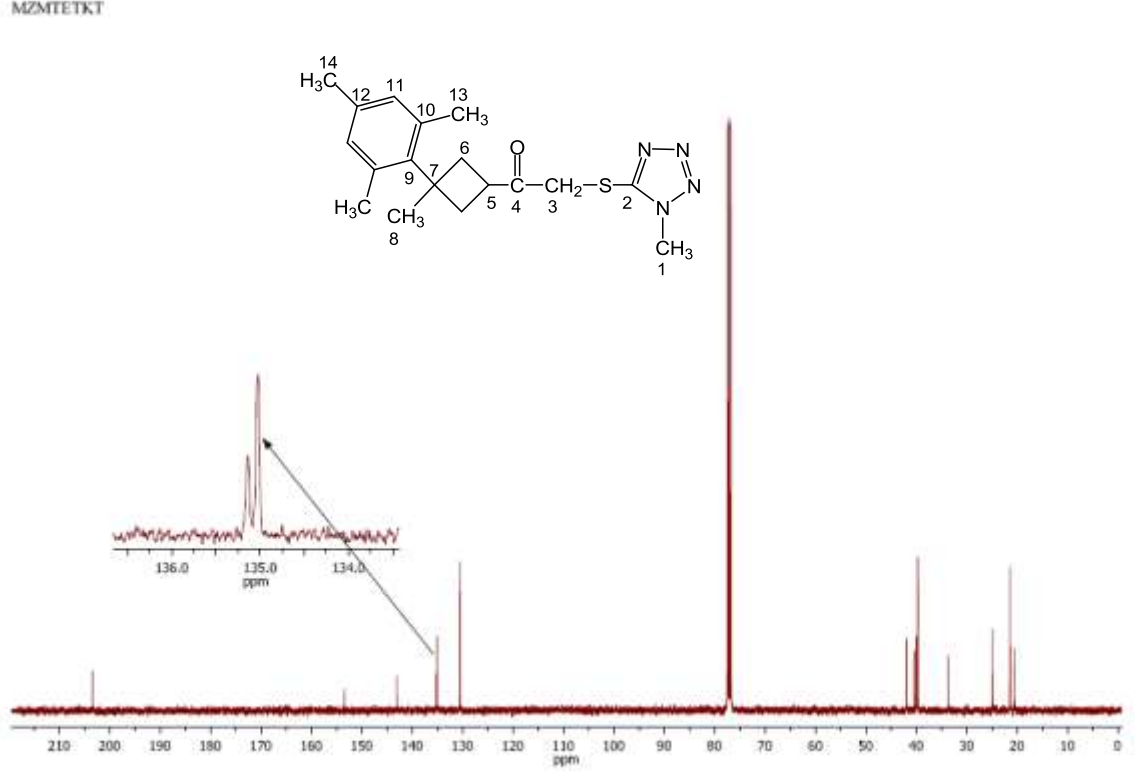
**Şekil 3.82.** 1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)-2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon ile 2-Klor-1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)etanon bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 1.62 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.24 (s, 6H, *o*-CH<sub>3</sub>), 2.25 (s, 3H, *p*-CH<sub>3</sub>), 2.51-2.56 (t, *j*=10.0 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-,siklobütan), 2.72-2.77 (t, *j*=9.6 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-,siklobütan), 3.44-3.53 (q, *j*=9.1 Hz, 1H, >CH-siklobütan), 3.99 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>, tetrazol), 4.34 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.79 (s, 2H, mezitil). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.83.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.83.** 1-(3-mezitil-3-metilsiklobütül)-2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiy)etanon bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

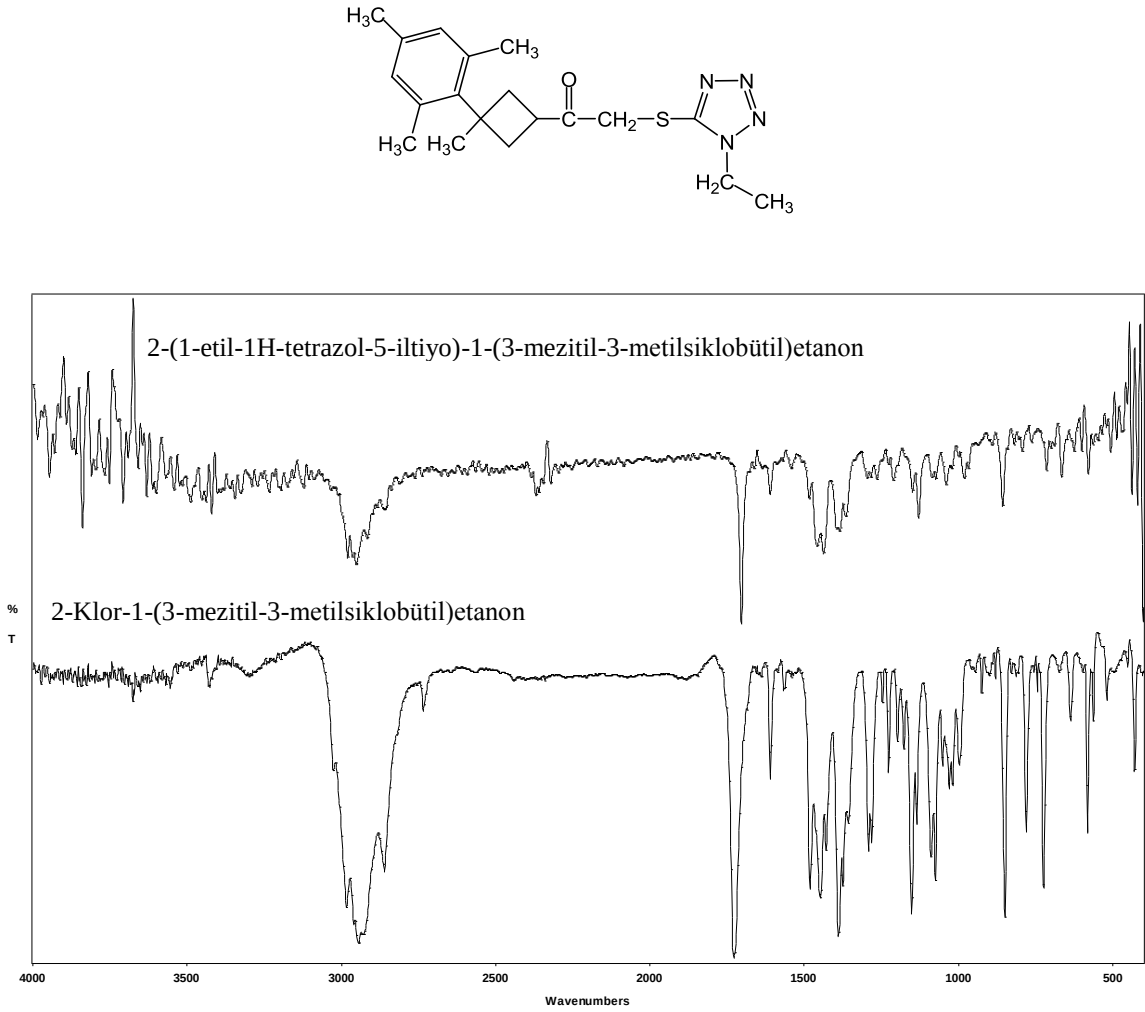
**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , TMS,  $\delta$ , ppm):** 203.36 ( $\text{C}_4$ ), 153.39 ( $\text{C}_9$ ), 142.97 ( $\text{C}_2$ ), 135.14 ( $\text{C}_{10}$ ), 135.02 ( $\text{C}_{12}$ ), 130.45 ( $\text{C}_{11}$ ), 41.87 ( $\text{C}_5$ ), 40.42 ( $\text{C}_3$ ), 39.92 ( $\text{C}_6$ ), 39.67 ( $\text{C}_7$ ), 33.60 ( $\text{C}_1$ ), 24.87 ( $\text{C}_8$ ), 21.41 ( $\text{C}_{14}$ ), 20.47 ( $\text{C}_{13}$ ). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.84.**'de verilmiştir.



**Şekil 3.84.** 1-(3-mezitil-3-metilsiklobütül)-2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon bileşiğine ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu

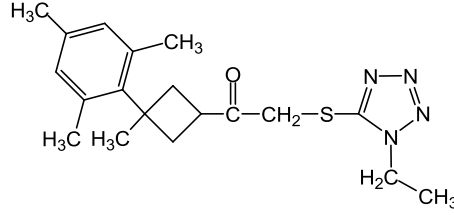
### 3.2.5. 2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)etanon Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Beyaz kristal, verim: % 78,  $M_A$ : 358,50 g/mol, e.n: 134,0 °C. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3035 (Aromatik-H), 2980-2862 (Alifatik-H), 1704 (C=O), 1484 (tetrazol, C=N), 665 (C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.85.**'de verilmiştir.

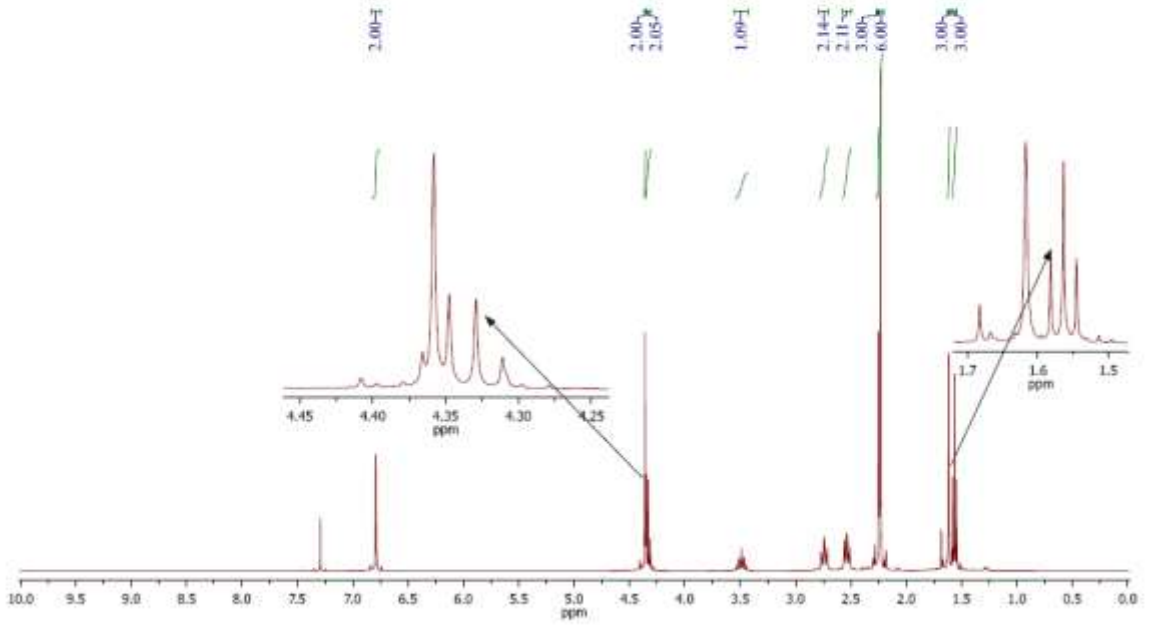


**Şekil 3.85.** 2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)etanon ile 2-Klor-1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)etanon bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 1.55-1.58 (t, *j*=7.4 Hz, 3H, -CH<sub>3</sub>, tetrazol), 1.62 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.23 (s, 6H, *o*-CH<sub>3</sub>), 2.25 (s, 3H, *p*-CH<sub>3</sub>), 2.51-2.56 (t, *j*=10.0 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-,siklobütan), 2.72-2.77 (t, *j*=9.6 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-,siklobütan), 3.44-3.53 (q, *j*=9.1 Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.31-4.37 (q, *j*=7.3 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-, tetrazol), 4.36 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.79 (s, 2H, mezitil). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.86.**'da verilmiştir.



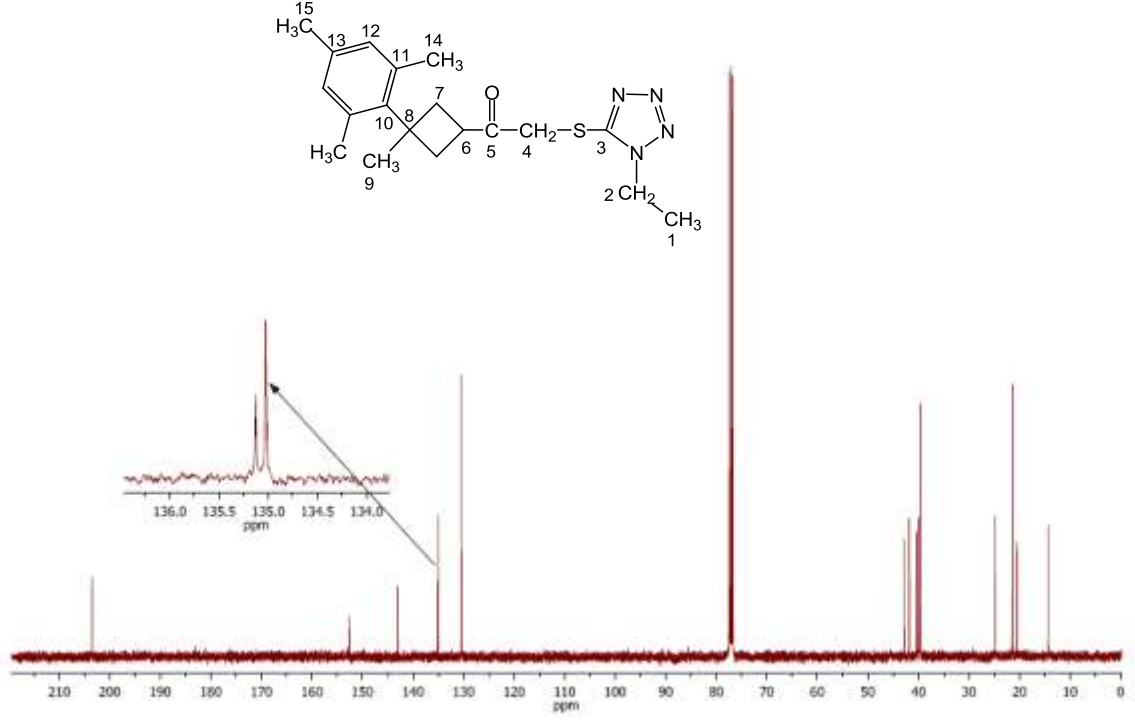
MZETETKT



**Şekil 3.86.** 2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-mezitil-3-metilsiklobütıl)etanon bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 203.46 (C<sub>5</sub>), 152.52 (C<sub>10</sub>), 142.97 (C<sub>3</sub>), 135.13 (C<sub>11</sub>), 135.02 (C<sub>13</sub>), 130.44 (C<sub>12</sub>), 42.82 (C<sub>6</sub>), 41.79 (C<sub>4</sub>), 40.41 (C<sub>2</sub>), 39.92 (C<sub>7</sub>), 39.67 (C<sub>8</sub>), 24.87 (C<sub>9</sub>), 21.40 (C<sub>15</sub>), 20.47 (C<sub>14</sub>), 14.33 (C<sub>1</sub>). Bileşiğıne ait spektrum Şekil 3.87.'de verilmiştir.

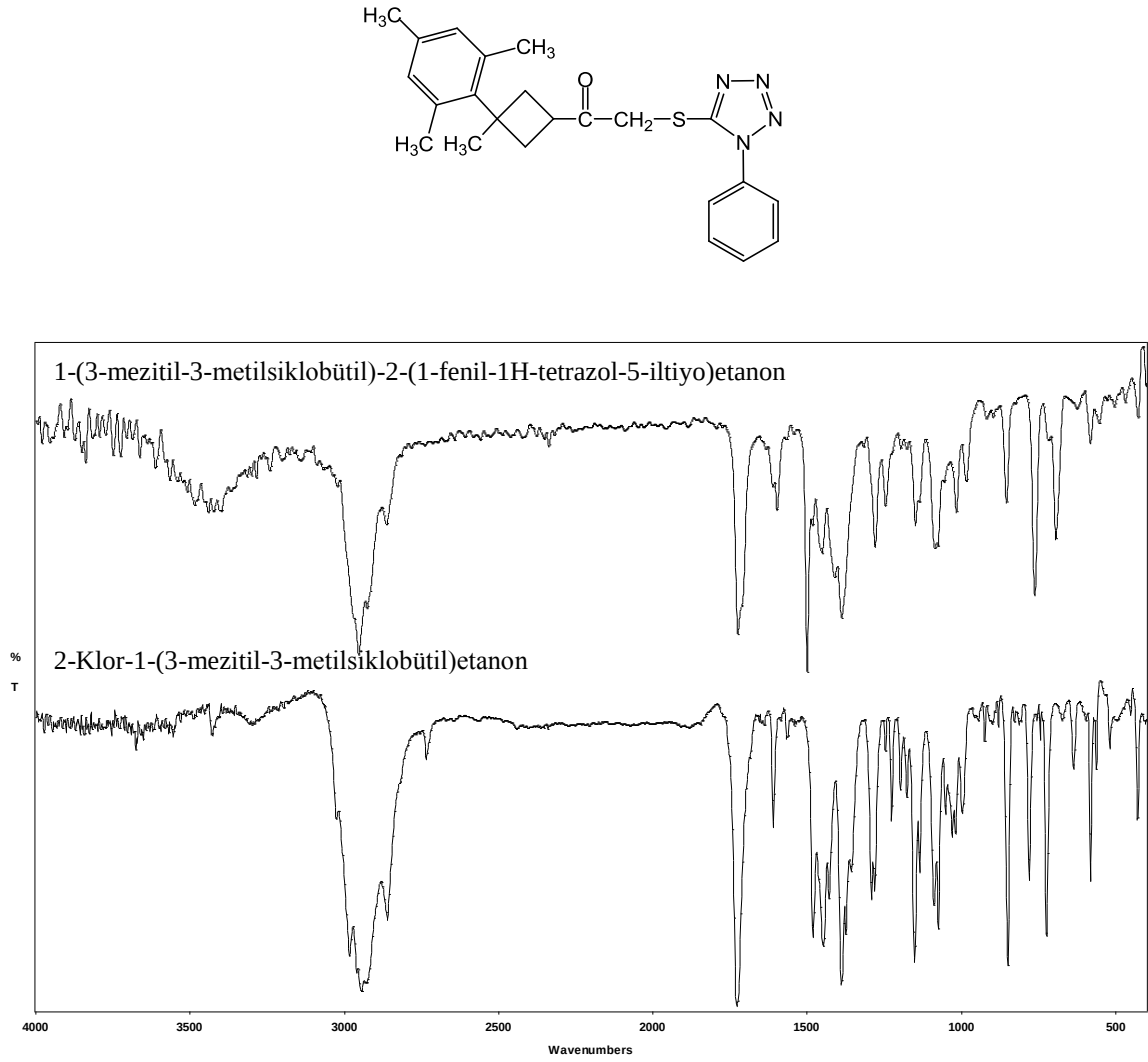
MZETETKT



**Şekil 3.87.** 2-(1-etil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-mezitil-3-metilsiklobütıl)etanon bileşiğıne ait <sup>13</sup>C-NMR spektrumu

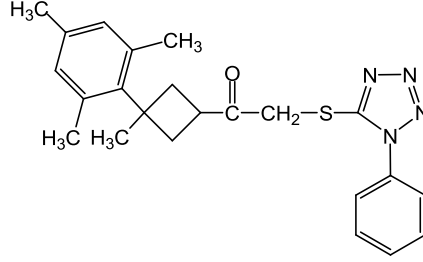
### 3.2.6. 1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon Bileşiğinin Karakterizasyonu:

Beyaz kristal, verim: % 40,  $M_A$ : 406,54 g/mol, e.n: 83-85 °C. IR (KBr,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3030 (Aromatik-H), 2953-2863 (Alifatik-H), 1717 (C=O), 1500 (tetrazol, C=N), 694 (C-S-C). Bileşiğe ait karşılaştırmalı spektrum **Şekil 3.88.**'de verilmiştir.

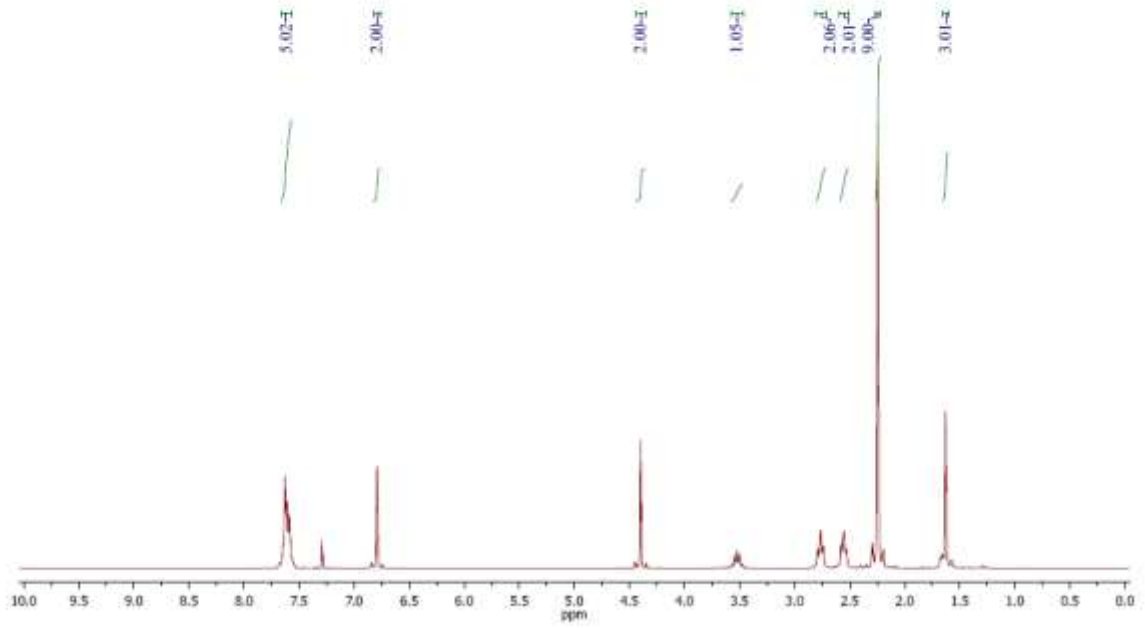


**Şekil 3.88.** 1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon ile 2-Klor-1-(3-mezitil-3-metilsiklobütil)etanon bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 1.63 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.25 (s, 9H, *o*, *p*-CH<sub>3</sub>), 2.53-2.58 (t, *j*=9.2 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-,siklobütan), 2.74-2.79 (t, *j*=9.8 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-,siklobütan), 3.48-3.57 (q, *j*=9.4 Hz, 1H, >CH-siklobütan), 4.40 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-S-), 6.79 (s, 2H, mezitil), 7.58-7.63 (m, 5H, fenil). Bileşiğe ait spektrum **Şekil 3.89.**'da verilmiştir.

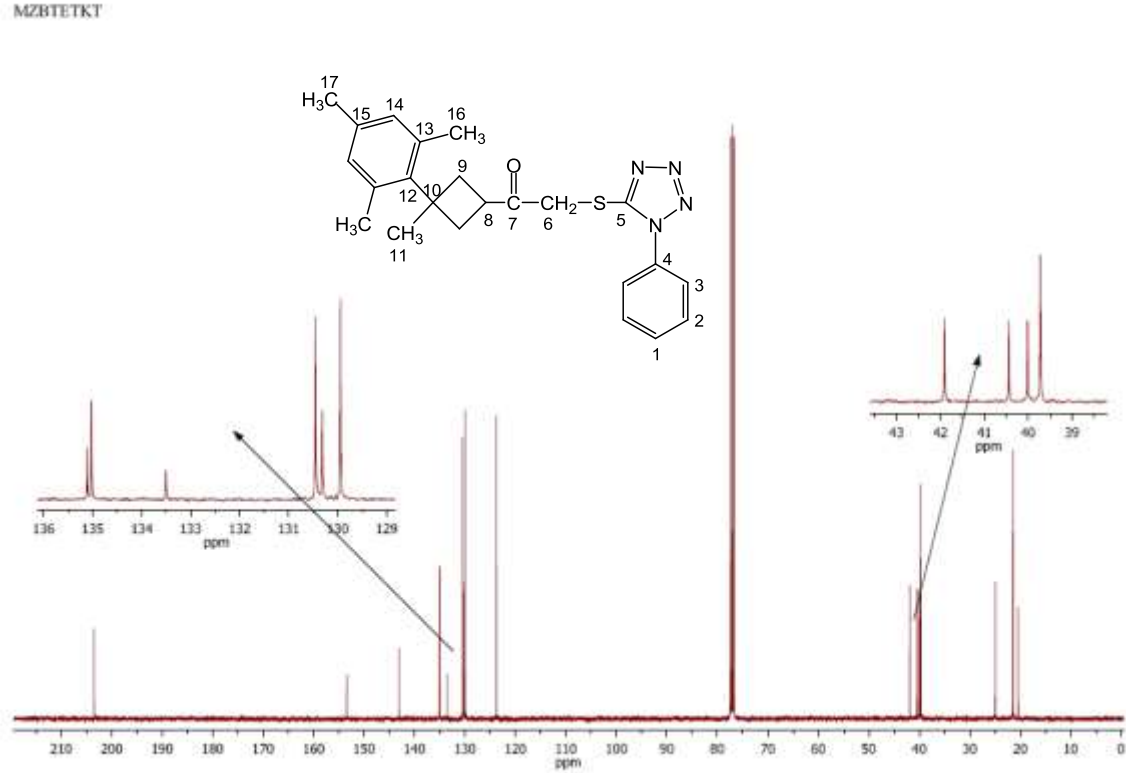


MZBTETKT



**Şekil 3.89.** 1-(3-mezitil-3-metilsiklobütül)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon bileşiğine ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS, δ, ppm):** 203.46 (C<sub>7</sub>), 153.44 (C<sub>12</sub>), 143.00 (C<sub>5</sub>), 135.11 (C<sub>13</sub>), 135.02 (C<sub>15</sub>), 133.50 (C<sub>4</sub>), 130.45 (C<sub>14</sub>), 130.31 (C<sub>2</sub>), 129.94 (C<sub>1</sub>), 123.78 (C<sub>3</sub>), 41.90 (C<sub>8</sub>), 40.44 (C<sub>6</sub>), 40.01 (C<sub>9</sub>), 39.72 (C<sub>10</sub>), 24.89 (C<sub>11</sub>), 21.41 (C<sub>17</sub>), 20.47 (C<sub>16</sub>). Bileşiğe ait spektrum Şekil 3.90.'da verilmiştir.



**Şekil 3.90.** 1-(3-mezitil-3-metilsiklobütül)-2-(1-fenil-1H-tetrazol-5-iltiyo)etanon bileşiğine ait <sup>13</sup>C-NMR spektrumu

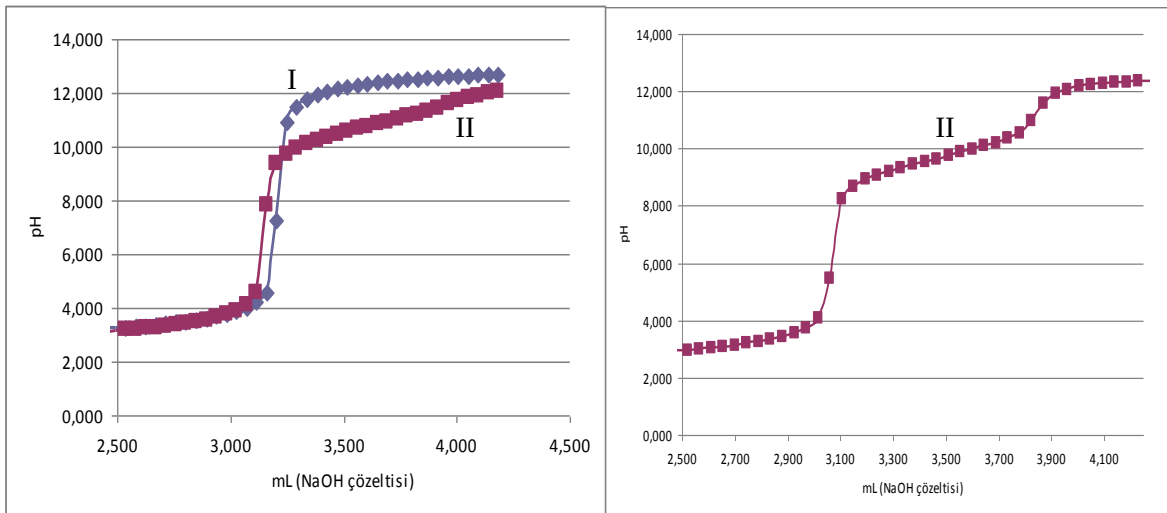
### 3.3. Bileşiklerin Protonasyon Sabitlerinin İncelenmesi

Tetrazol bileşiklerinin % 60 dioksan - % 40 su ve % 80 DMSO - % 20 su ortamında stokiyometrik protonasyon sabitleri  $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 'ta, argon atmosferinde ve  $\mu = 0.1\text{ M}$  sodyum perkloratlı ortamda potansiyometrik metotla tayin edilmiştir. Hesaplamalarda BEST bilgisayar programı kullanılmıştır. Potansiyometrik tayinlere başlanmadan önce, tayin edilecek olan sabitlerin stokiyometrik protonasyon sabitleri olması istendiğinden tayinlerde kullanılan potansiyometrik titrasyon hücresi hidrojen iyonu aktivitesi yerine,

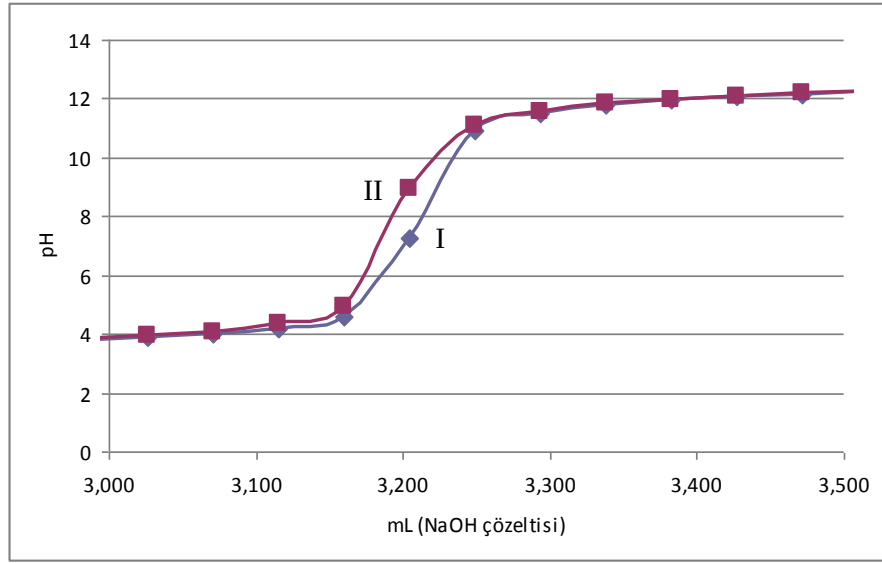
hidrojen iyonu konsantrasyonunu ölçecek şekilde kalibre edilmiştir. Kalibrasyon sabitleri olan  $E^{\circ}_{\text{hücre}}$  ve  $k$  değerleri kuvvetli asit-kuvvetli baz titrasyonundan elde edilen mV değerlerinin pH'a karşı grafiğe geçirilmesiyle çizilen  $E_{\text{hücre}} - \log[H]$  eğrilerinden yararlanılarak bulunmuştur. Eğrilerin lineerliği en küçük kareler metodu kullanılarak değerlendirilmiş ve regresyon katsayısı  $r$  değerinin 1'e çok yakın olduğu görülmüştür. Nernst faktörü olan  $k$  değeri, 25 °C için teorik değeri olan 59.16 mV'a çok yakın bulunmuştur. Kalibrasyon sabitleri en az üç deneyin ortalaması alınarak belirlenmiş olup, her bir titrasyon serisinden önce deneyler tekrarlanarak sonuçlar kontrol edilmiştir.

Titrasyonlarda, titrant olarak kullanılan sodyum hidroksit çözeltisinin ayarlanmasında Gran metodu kullanılmış ve bu metotla ilgili  $\phi, \phi'$  fonksiyonlarının doğrusal olduğu görülmüştür. Böylece hem baz çözeltilerinin ayarlanması daha doğrulukla yapılmış ve hem de bazların karbondioksit ile kirlenip kirlenmediği kontrol edilmiştir.

Kullanılan hücrenin kalibrasyonu yapıldıktan sonra **Bölüm 2.4.4**'te anlatıldığı gibi titrasyonlar yapılmış ve titrasyonlarda elde edilen mV değerlerinden **Eşitlik 1.27** kullanılarak pH'lar hesaplanmıştır. Elde edilen  $mL_{\text{titrant}} - \text{pH}$  veri çiftlerinin BEST bilgisayar programında değerlendirilmesiyle tetrazol bileşiklerinin protonasyon sabitleri hesaplanmış, **Şekil 3.91.** ve **Şekil 3.92.**'de de görüldüğü gibi titrasyon eğrileri çıkarılmıştır.



**Şekil 3.91.** 0.1 M  $\text{NaClO}_4$ 'lı ortamda tiyazol türevli ligandların Dioksan (Sol) ve DMSO (Sağ) ortamındaki genel titrasyon eğrileri. (Eğri I, ortamda fazla kalan  $\text{HClO}_4$  çözeltisi, Eğri II, protonlanmış maddenin çözeltisi)



**Şekil 3.92.** 0.1 M NaClO<sub>4</sub>'lı ortamda keton türevli ligandların Dioksan ve DMSO ortamındaki genel titrasyon eğrisi. (Eğri I, ortamda fazla kalan HClO<sub>4</sub> çözeltisi, Eğri II, protonlanmış maddenin çözeltisi)

Çalışmamızda belirtilen sabitler en az iki deneyin ortalaması olup, değerlerin standart sapması % 1'den küçük bulunmuştur. Tayin edilen protonasyon sabitlerinin tamamı aşağıda gösterilen tablolarda verilmiştir.

**Tablo 3.1.** Bileşiklerin (Tiyazol türevli) % 60 Dioksan - % 40 Su ortamındaki protonasyon sabitleri

| Bileşikler | Log<br>K <sub>NH(Amit)</sub> | Log<br>K <sub>NH(Tetrazol)</sub> | Log<br>K <sub>NH(Tetrazol)</sub> | Log<br>K <sub>NH(Tiyazol)</sub> | Log β <sup>H</sup> |
|------------|------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|--------------------|
| 1          | 10.40                        | 2.85                             | 2.46                             | -                               | 15.71              |
| 4          | 10.34                        | 3.42                             | 2.32                             | -                               | 16.08              |
| 7          | 10.27                        | 2.59                             | 2.27                             | -                               | 15.13              |
| 10         | 10.46                        | 3.21                             | 2.80                             | 2.20                            | 18.67              |
| 13         | 9.69                         | 2.74                             | 2.28                             | -                               | 14.71              |
| 16         | 10.39                        | 2.20                             | -                                | -                               | 12.59              |
| 17         | 10.65                        | 2.31                             | 2.12                             | -                               | 15.08              |
| 20         | 10.32                        | 2.54                             | 2.42                             | -                               | 15.28              |
| 23         | 10.19                        | 2.54                             | -                                | -                               | 12.73              |
| 24         | 10.37                        | 2.44                             | -                                | -                               | 12.81              |

(s<sub>fit</sub>≤0.01)

**Tablo 3.2.** Bileşiklerin (Keton türevli) % 60 Dioksan - % 40 Su ortamındaki protonasyon sabitleri

| Bileşikler | Log $K_{NH(Tetrazol)}$ | Log $K_{NH(Tetrazol)}$ | Log $\beta^H$ |
|------------|------------------------|------------------------|---------------|
| 25         | 3.64                   | 2.69                   | 6.33          |
| 26         | 2.34                   | 2.21                   | 4.55          |
| 27         | 2.41                   | 2.20                   | 4.61          |

( $s_{fit} \leq 0.01$ )

**Tablo 3.3.** Bileşiklerin (Tiyazol türevli) % 80 DMSO - % 20 Su ortamındaki protonasyon sabitleri

| Bileşikler | Log $K_{NH(Amit)}$ | Log $K_{NH(Tetrazol)}$ | Log $\beta^H$ |
|------------|--------------------|------------------------|---------------|
| 1          | 9.98               | 2.76                   | 12.74         |
| 4          | 9.94               | 3.95                   | 13.89         |
| 7          | 9.49               | 3.01                   | 12.50         |
| 10         | 9.95               | 3.11                   | 13.06         |
| 13         | 9.86               | 3.27                   | 13.13         |
| 16         | 9.91               | 2.09                   | 12.00         |
| 17         | 9.97               | 2.77                   | 12.74         |
| 20         | 10.10              | 2.02                   | 12.12         |
| 23         | 9.97               | 2.21                   | 12.18         |
| 24         | 10.02              | 2.37                   | 12.39         |

( $s_{fit} \leq 0.01$ )

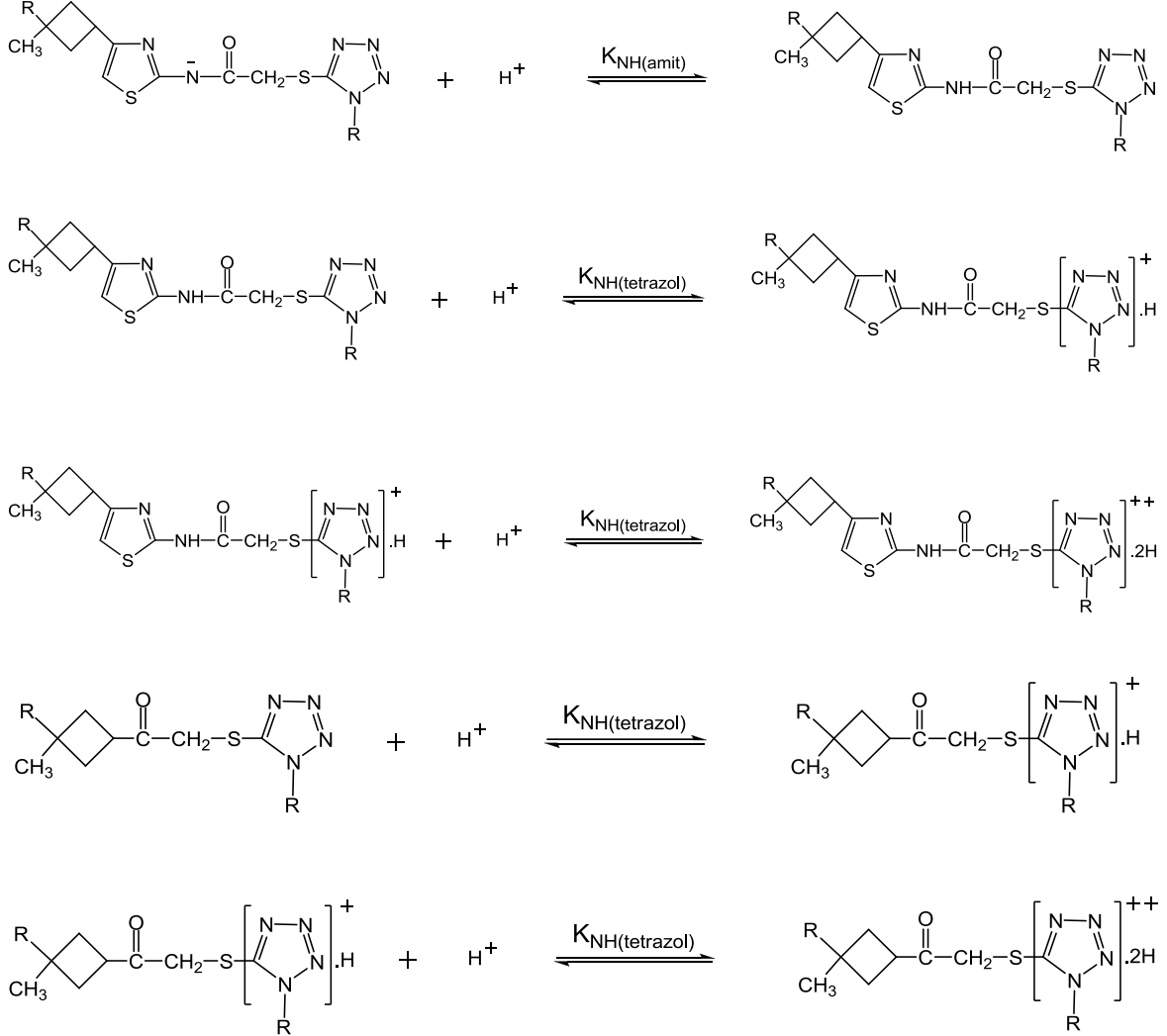
**Tablo 3.4.** Bileşiklerin (Keton türevli) % 80 DMSO-% 20 Su ortamındaki protonasyon sabitleri

| Bileşikler | Log $K_{NH(Tetrazol)}$ | Log $\beta^H$ |
|------------|------------------------|---------------|
| 25         | 3.14                   | 3.14          |
| 26         | 3.24                   | 3.24          |
| 27         | 3.32                   | 3.32          |

( $s_{fit} \leq 0.01$ )

Bileşiklerin titrasyonlarından elde edilen verilerin BEST bilgisayar programında değerlendirilmesi sonucu bu bileşikler için farklı çözücü ortamlarında farklı protonasyon

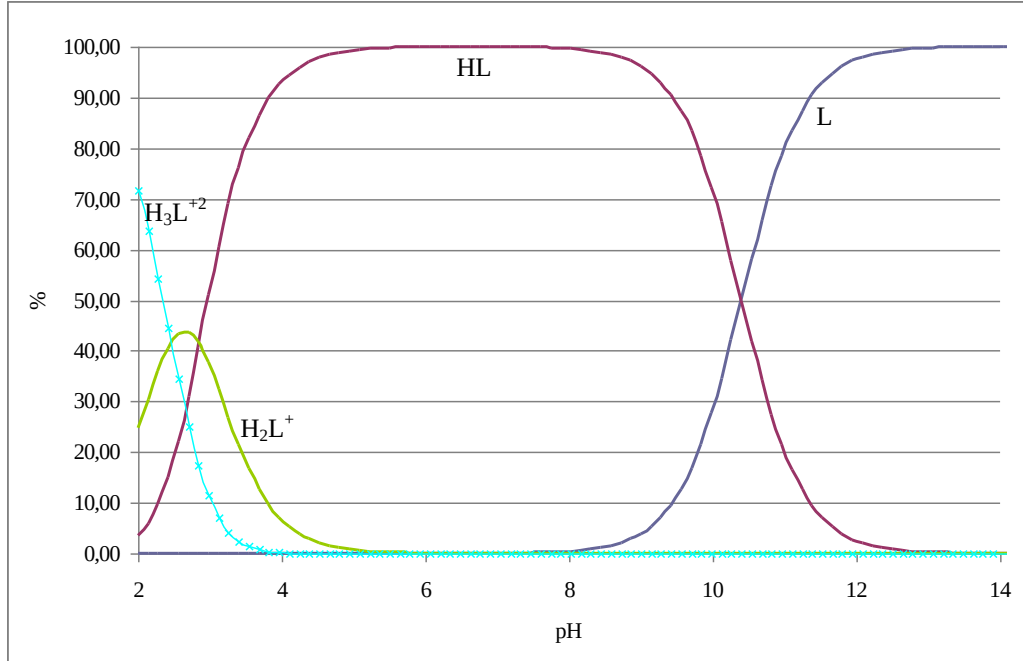
sabitleri bulunmuştur. Bunlardan biri amit fonksiyonel grubuna ait azot atomunun protonasyonu iken diğeri tetrazol halkasındaki azot atomlarının protonasyonudur.



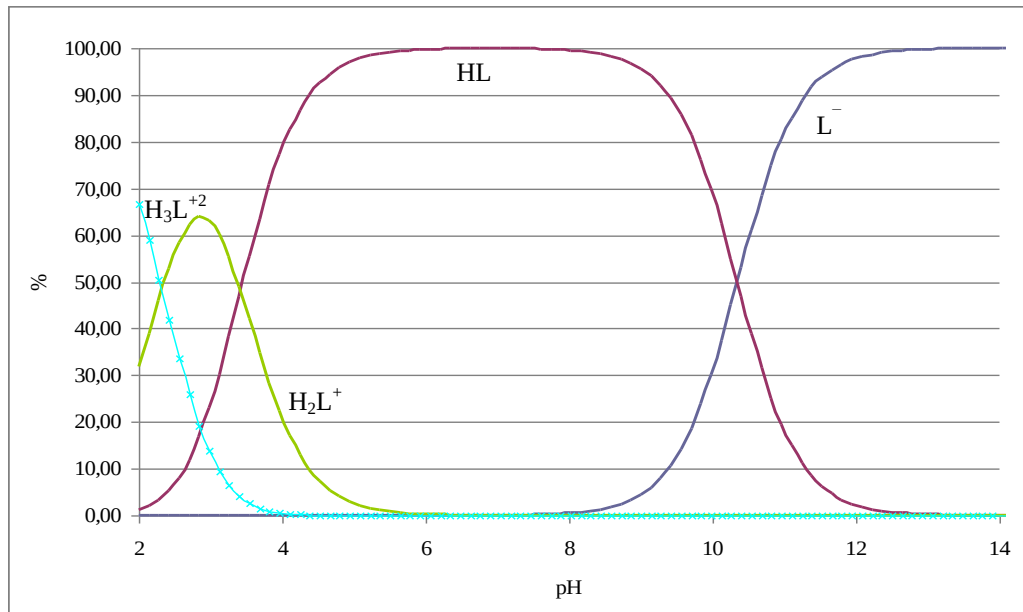
**Şekil 3.93.** Tetrazol bileşiğinin genel olarak protonlanma dengeleri

Çözelti ortamında oluşan türlerin oluşum yüzdelерinin ve bu türlerin maksimum verimle izole edilebileceği şartların belirlenebilmesi için türlerin pH ile dağılımlarının incelenmesi önemlidir. pH'ın bir fonksiyonu olarak çözelti ortamında oluşan türlerin dağılımı ancak dağılım diyagramları çizilerek bulunabilir. Bu amaçla yukarıdaki tablolarda verilen potansiyometrik protonasyon sabitleri SPEXY-C bilgisayar programında değerlendirilerek çalışılan bütün bileşiklerin dağılım diyagramları çizilmiştir.

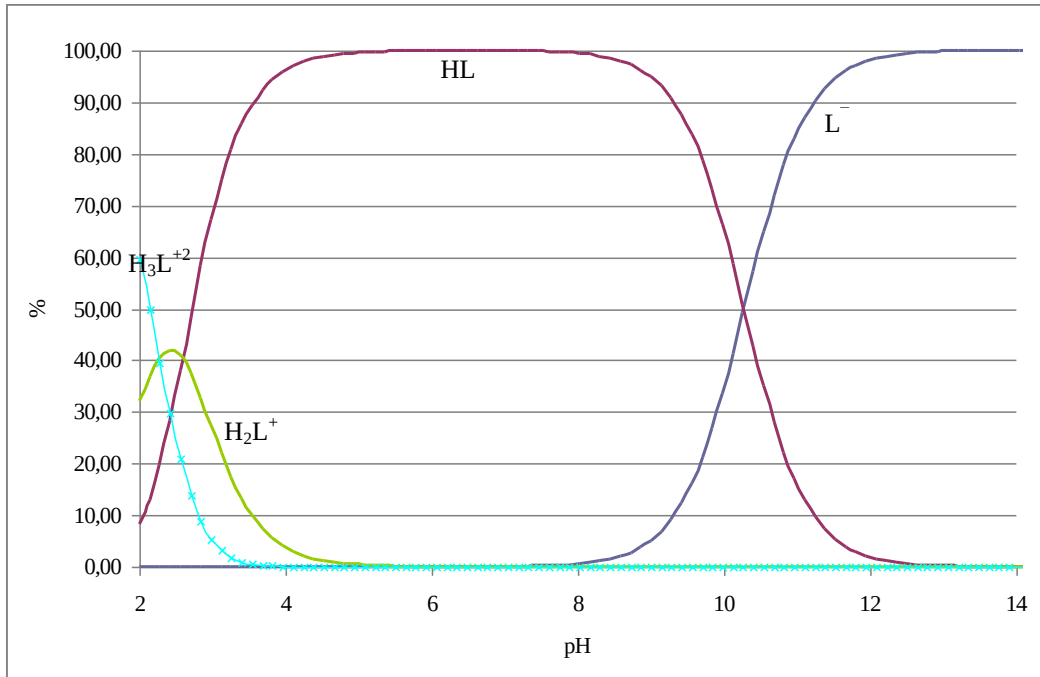
Çalışmada sentezlenen 30 adet bileşiğin 13 tanesi iki farklı çözücü ve çözücü oranlarında protonasyonları çalışılmış olup dağılım diyagramları aşağıdaki şekillerde gösterilmiştir.



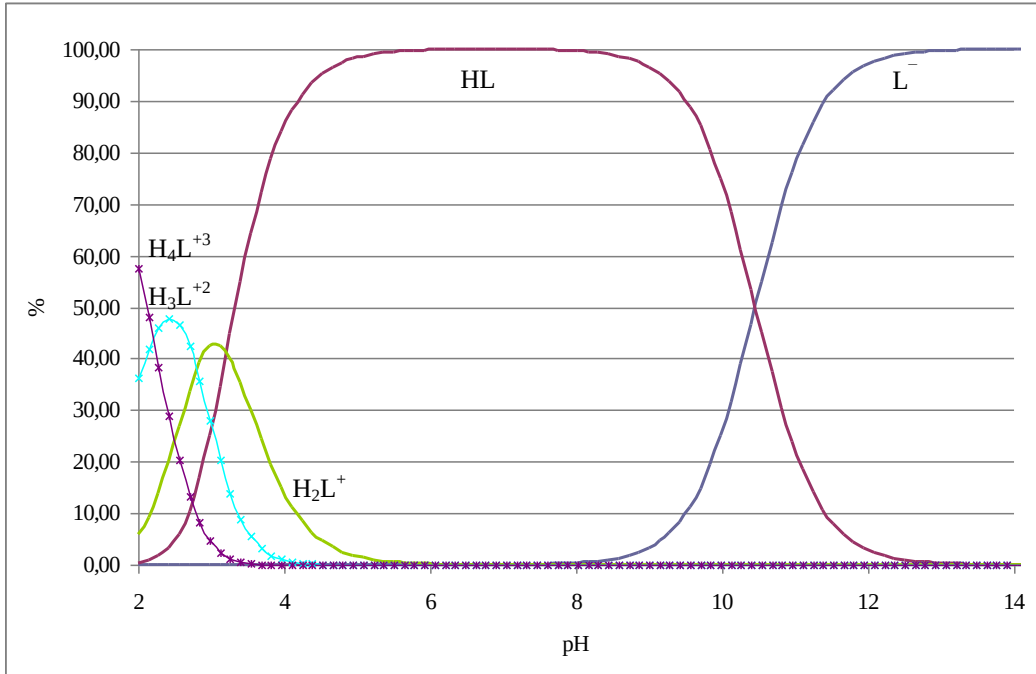
**Şekil 3.94.** 1 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:3 mol oranlarında, L:3H<sup>+</sup>, içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı



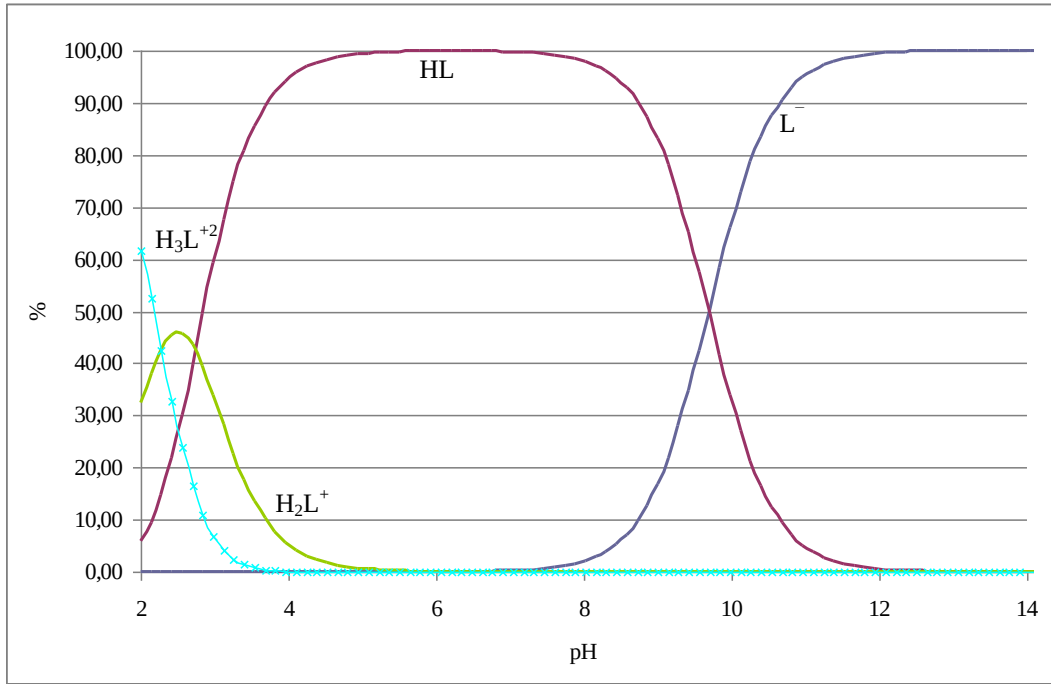
**Şekil 3.95.** 4 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:3 mol oranlarında, L:3H<sup>+</sup>, içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı



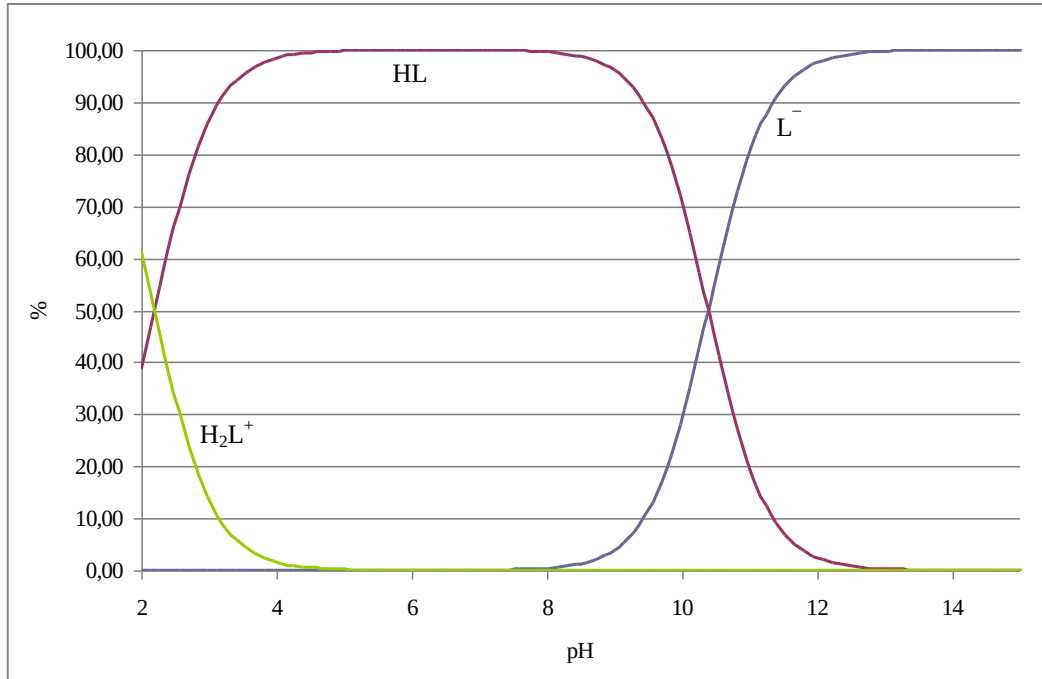
**Şekil 3.96.** 7 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:3 mol oranlarında,  $L:3H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı



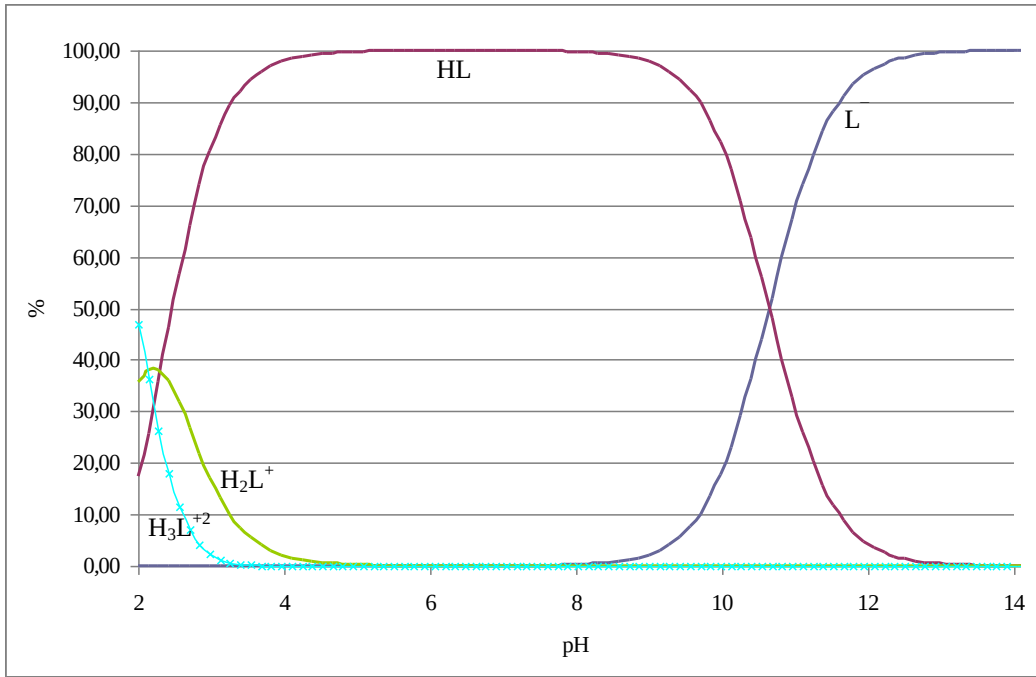
**Şekil 3.97.** 10 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:4 mol oranlarında,  $L:4H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı



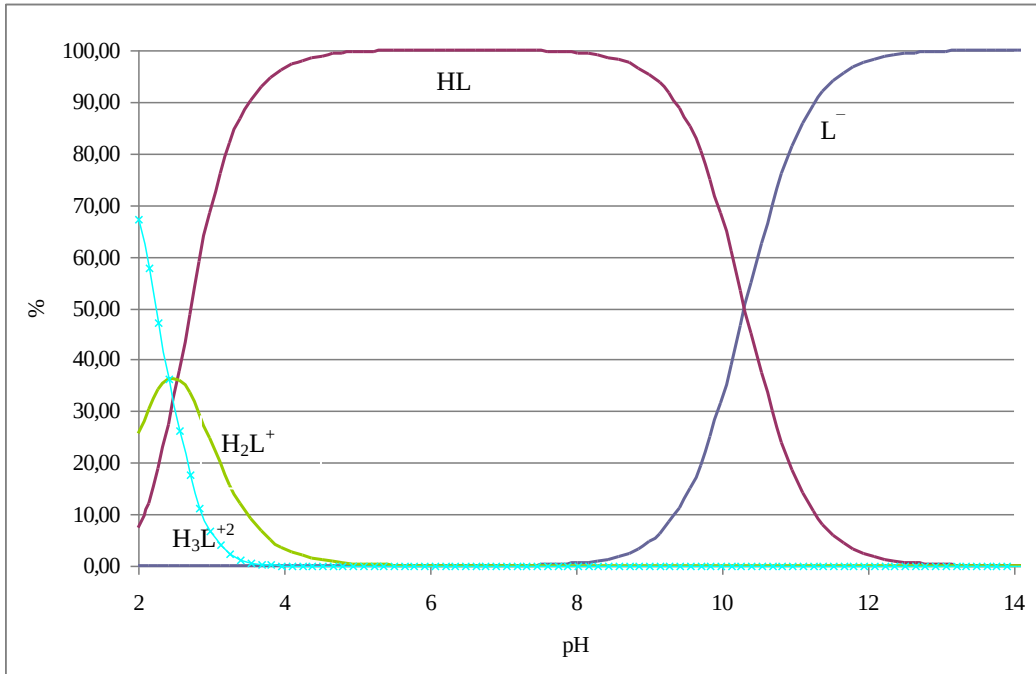
**Şekil 3.98.** 13 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:3 mol oranlarında,  $L:3H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı



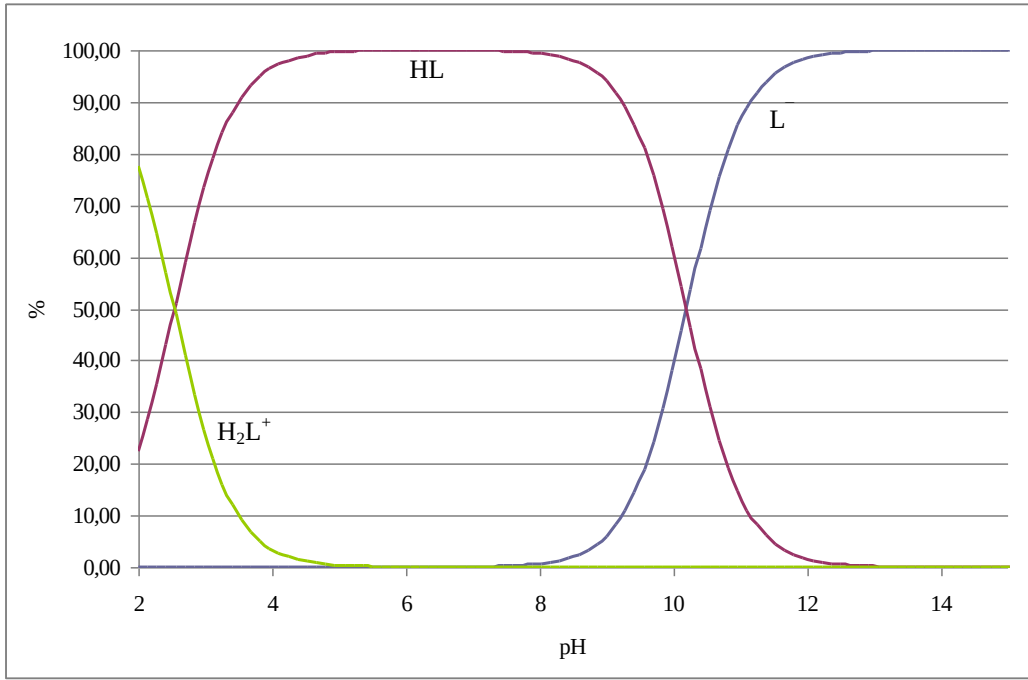
**Şekil 3.99.** 16 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı



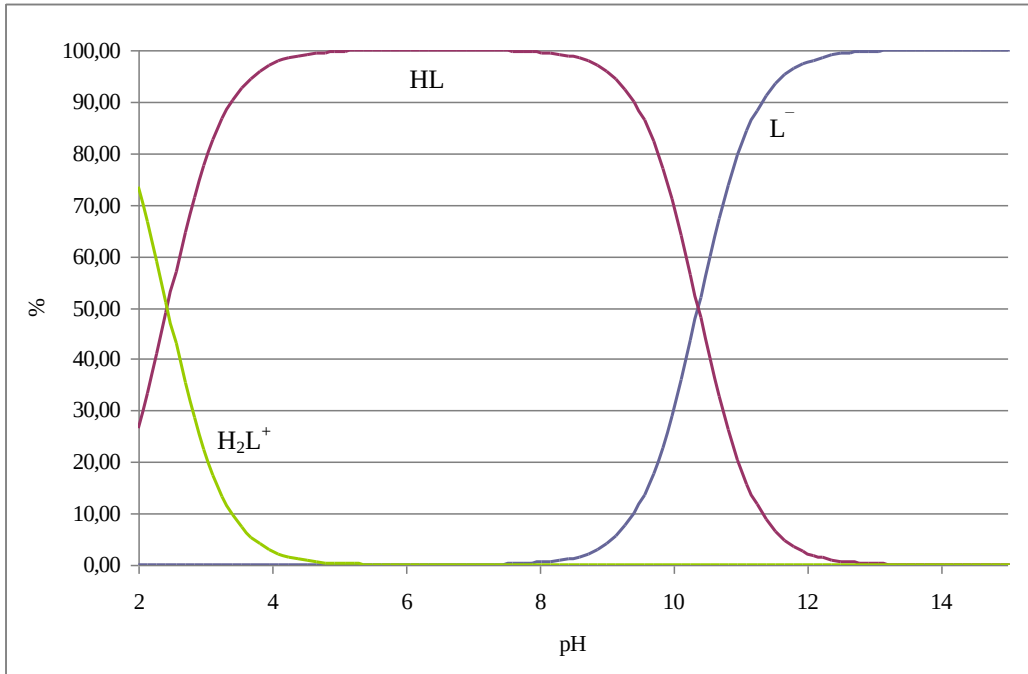
**Şekil 3.100.** 17 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:3 mol oranlarında,  $L:3H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı



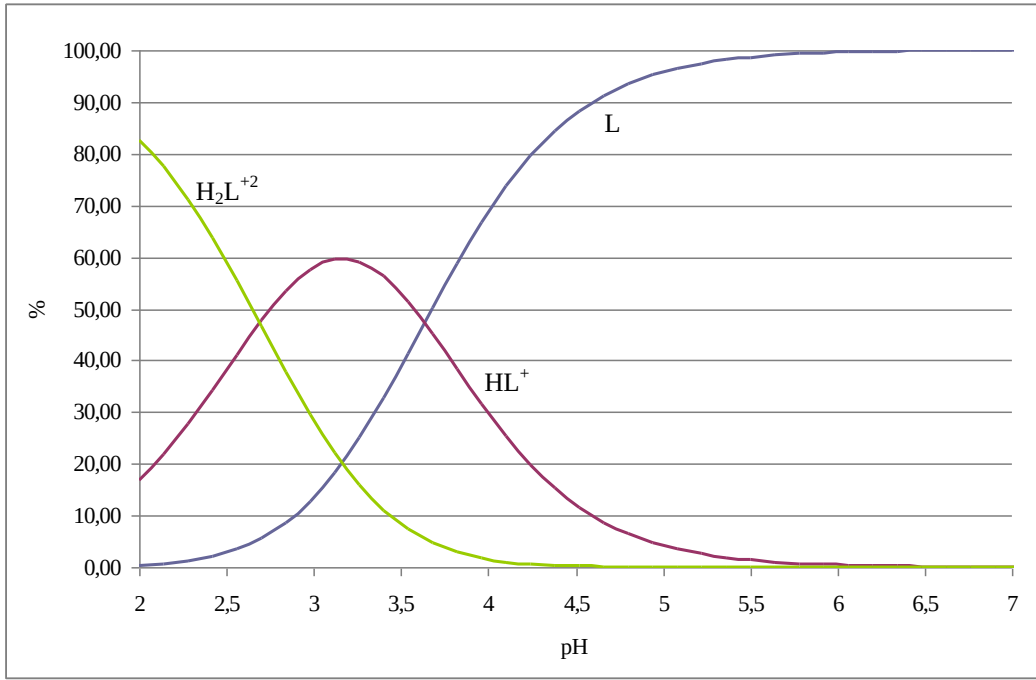
**Şekil 3.101.** 20 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:3 mol oranlarında,  $L:3H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı



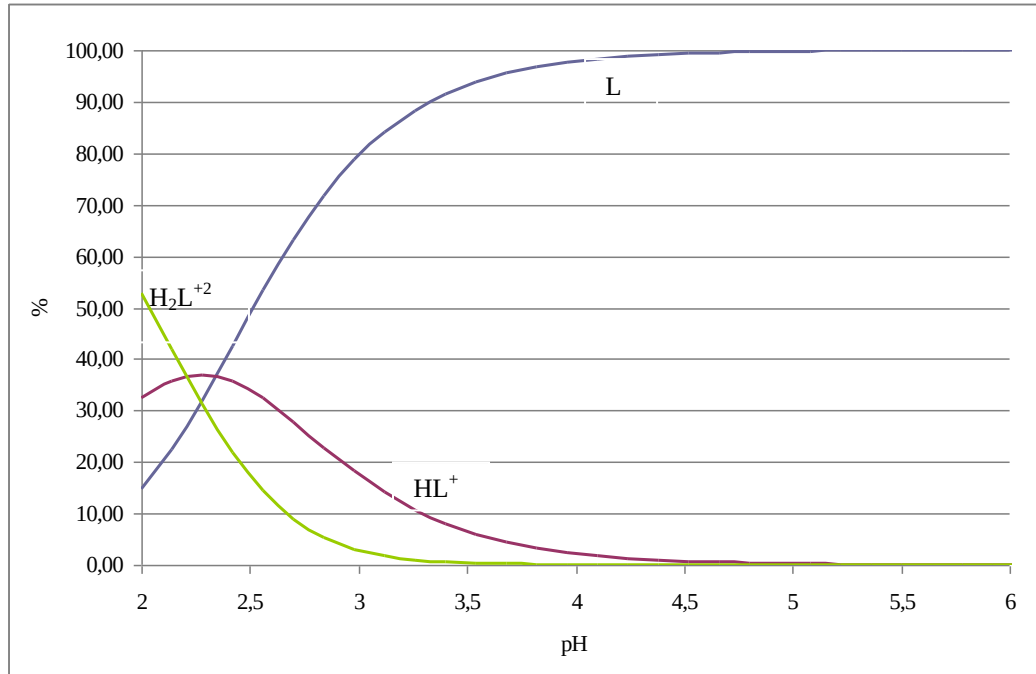
**Şekil 3.102.** 23 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı



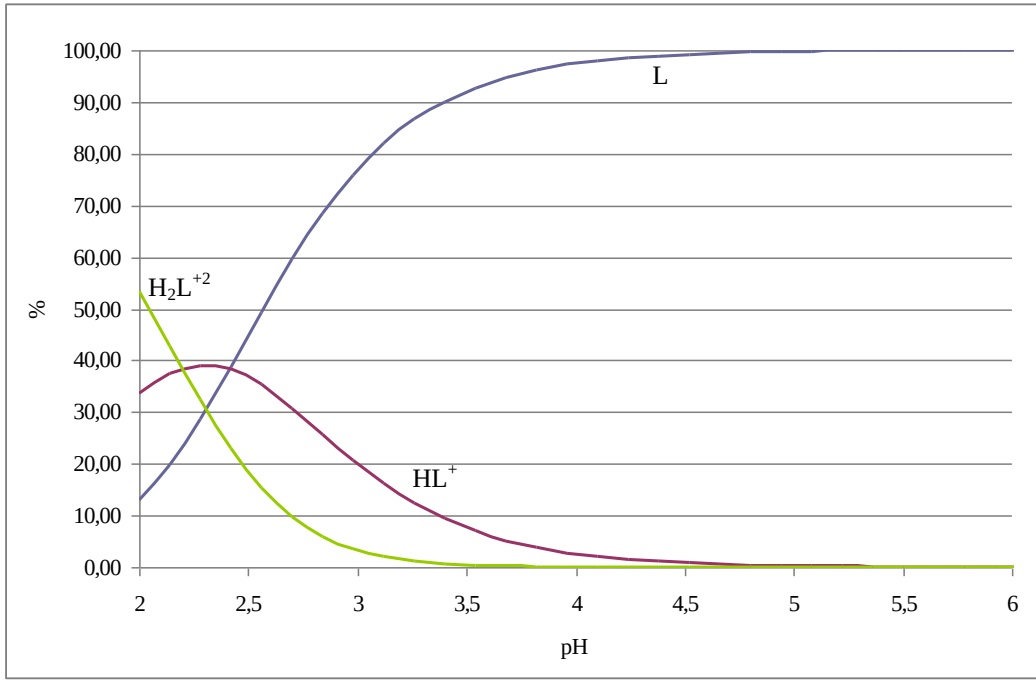
**Şekil 3.103.** 24 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı



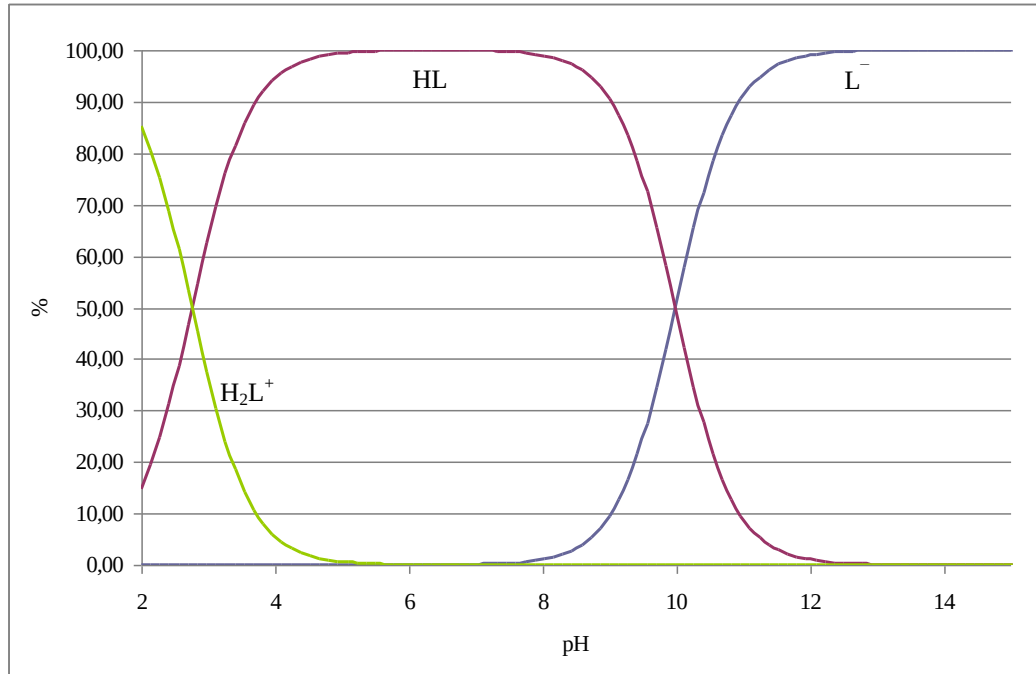
**Şekil 3.104.** 25 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı



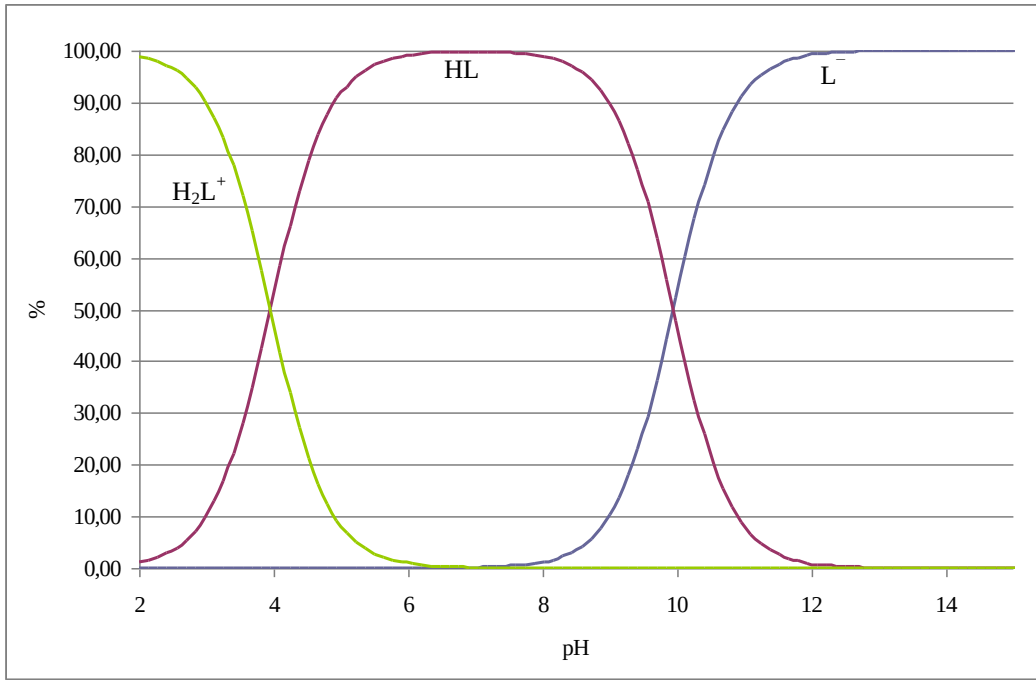
**Şekil 3.105.** 26 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı



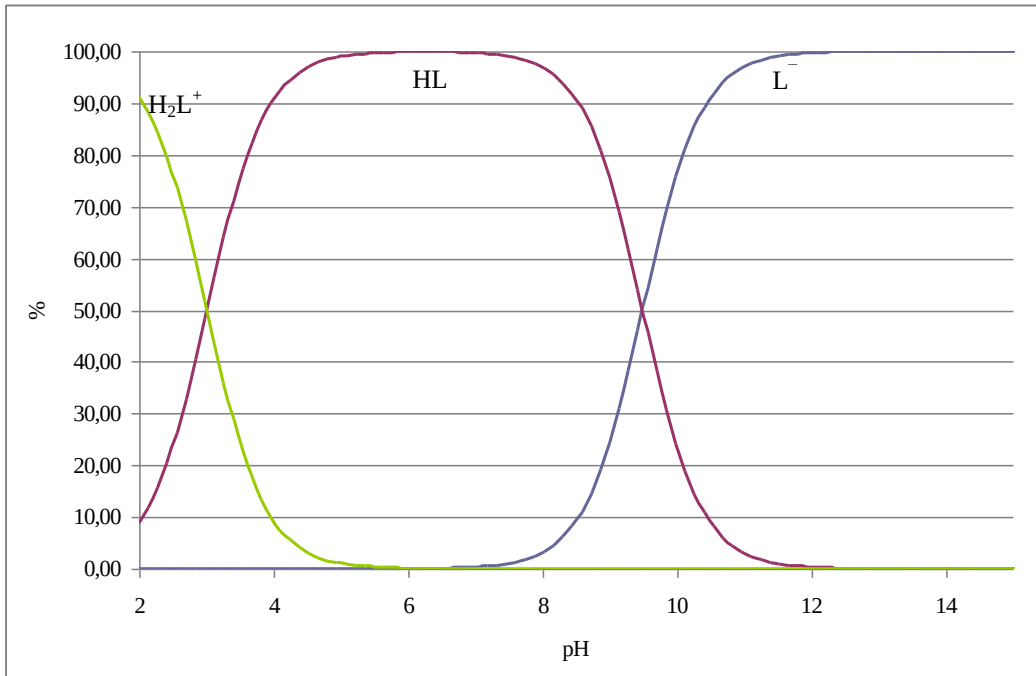
**Şekil 3.106.** 27 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 60 Dioksan - % 40 Su ortamında) % dağılımı



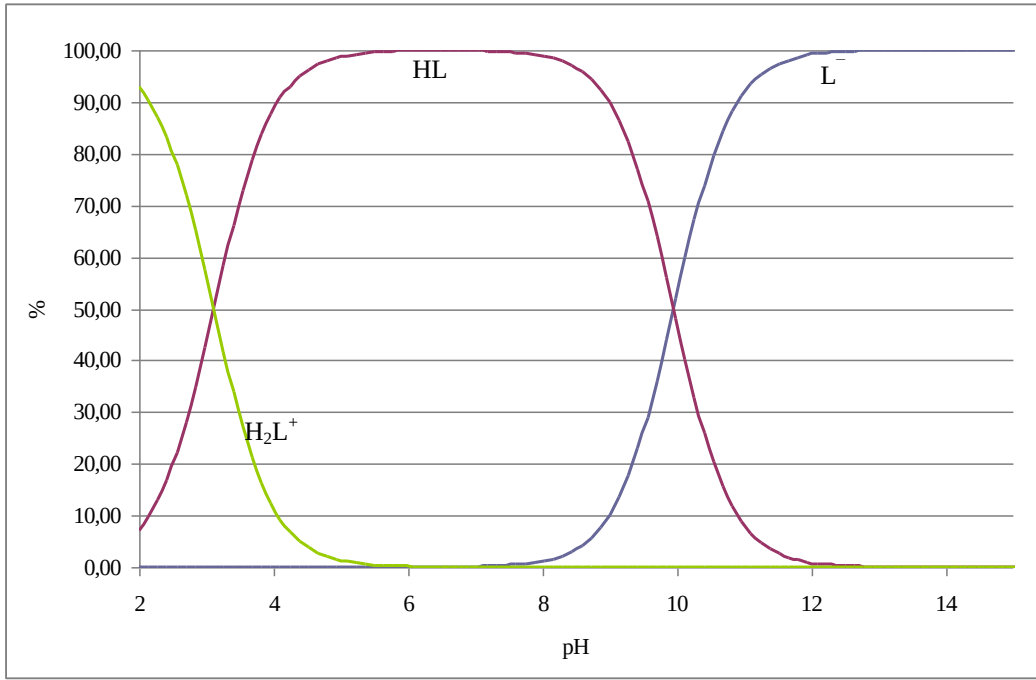
**Şekil 3.107.** 1 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı



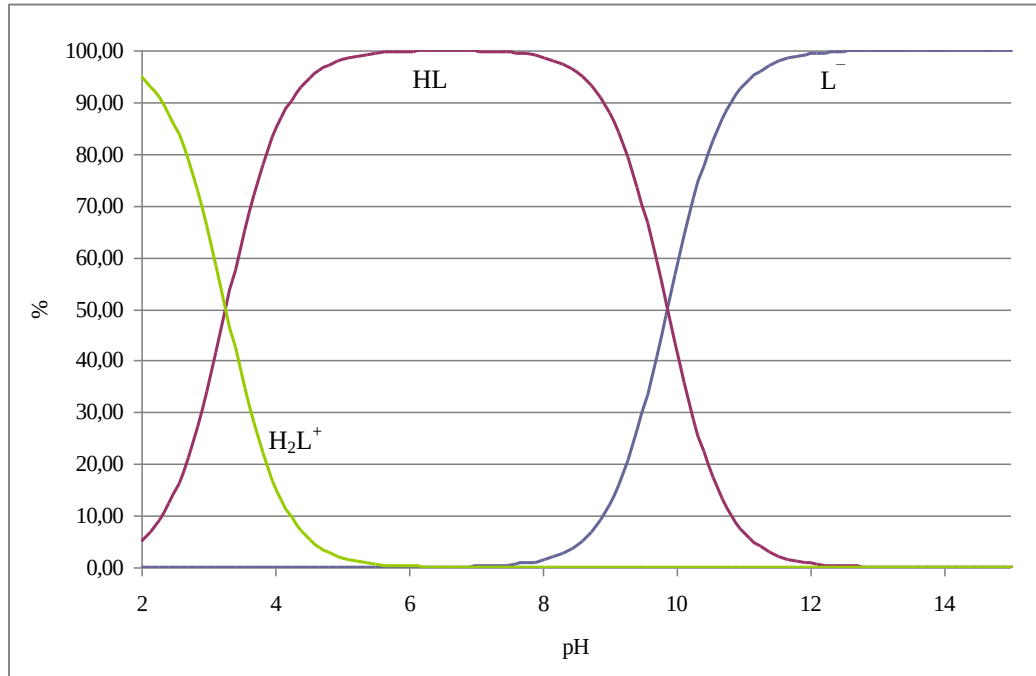
**Şekil 3.108.** 4 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında, L:2H<sup>+</sup>, içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı



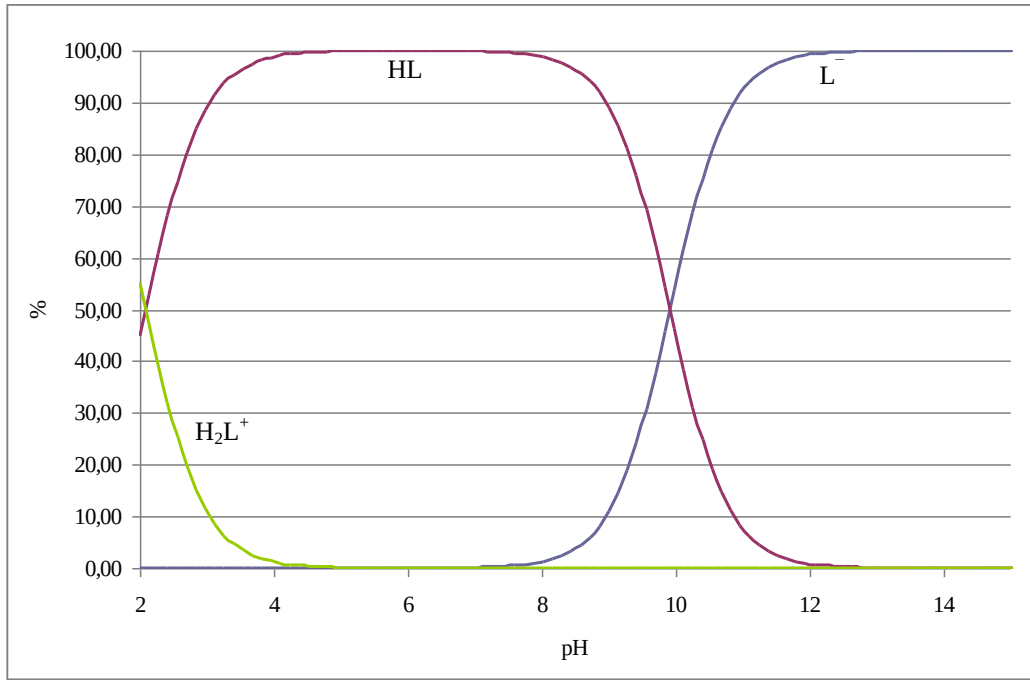
**Şekil 3.109.** 7 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında, L:2H<sup>+</sup>, içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı



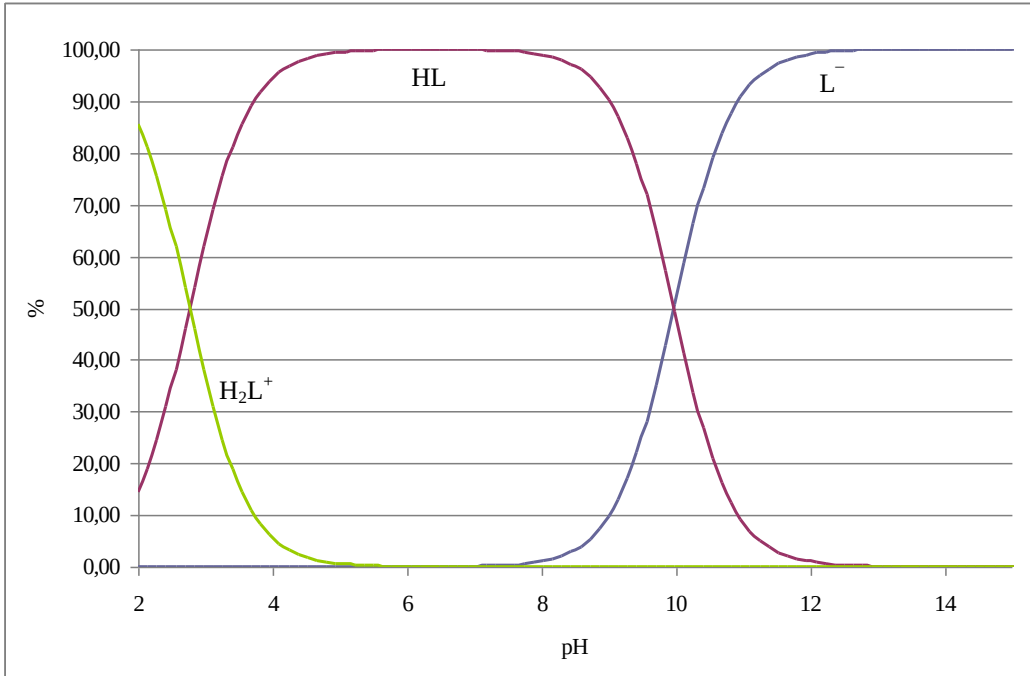
**Şekil 3.110.** 10 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında, L:2H<sup>+</sup>, içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı



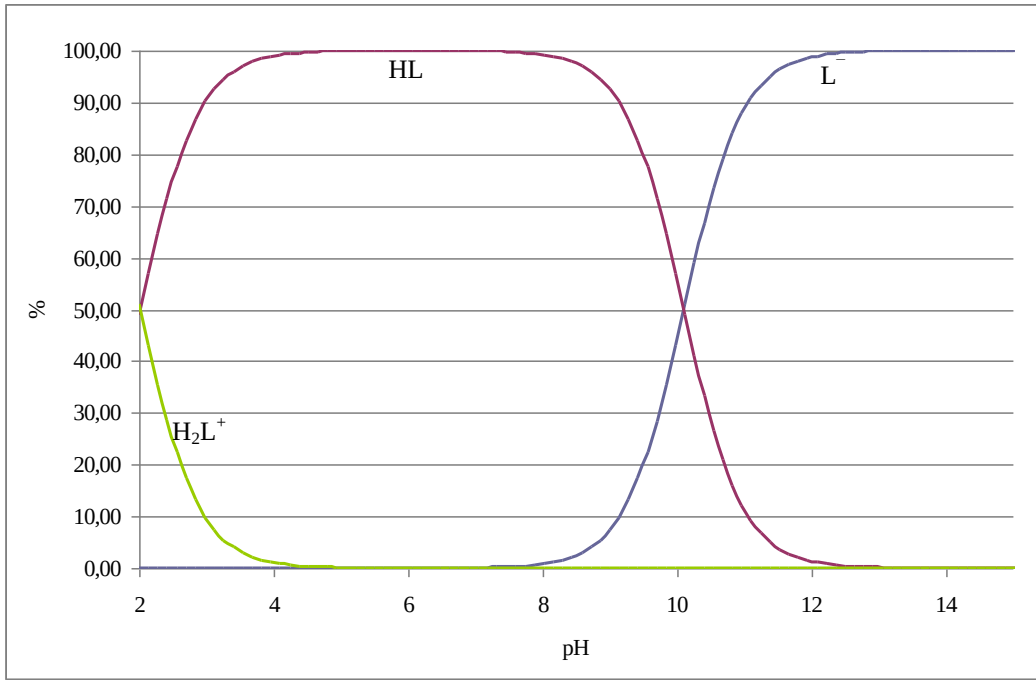
**Şekil 3.111.** 13 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında, L:2H<sup>+</sup>, içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı



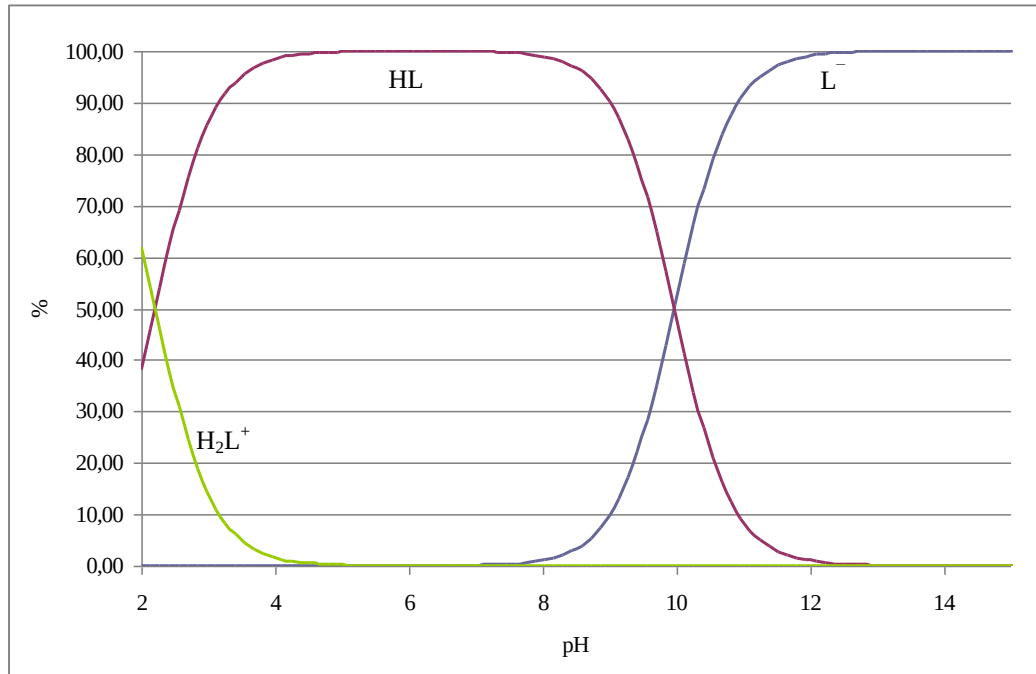
**Şekil 3.112.** 16 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı



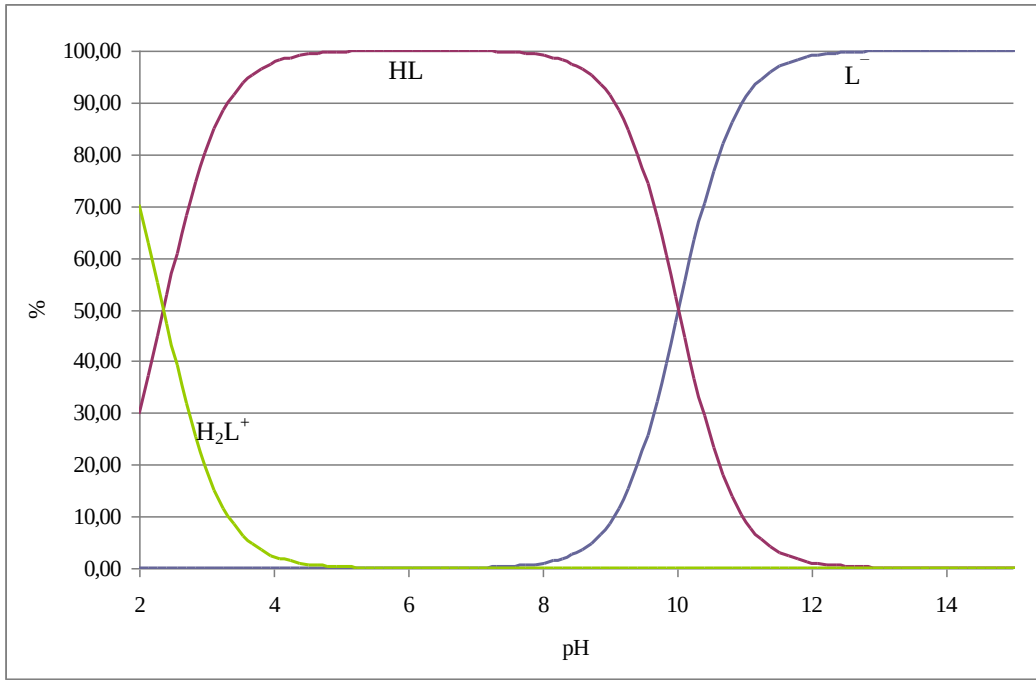
**Şekil 3.113.** 17 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı



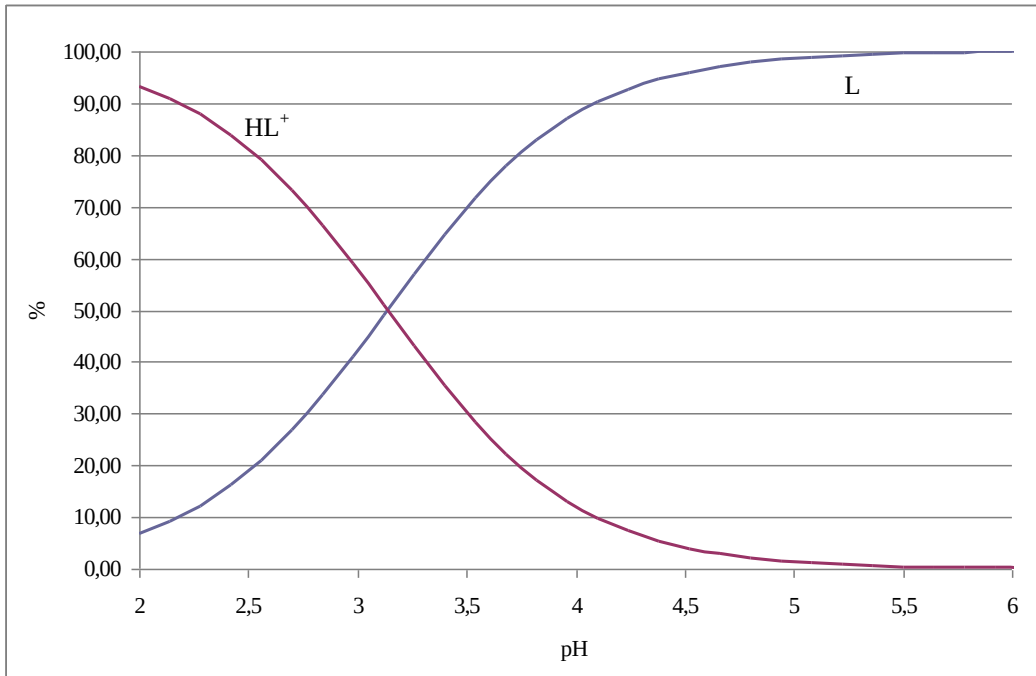
**Şekil 3.114.** 20 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı



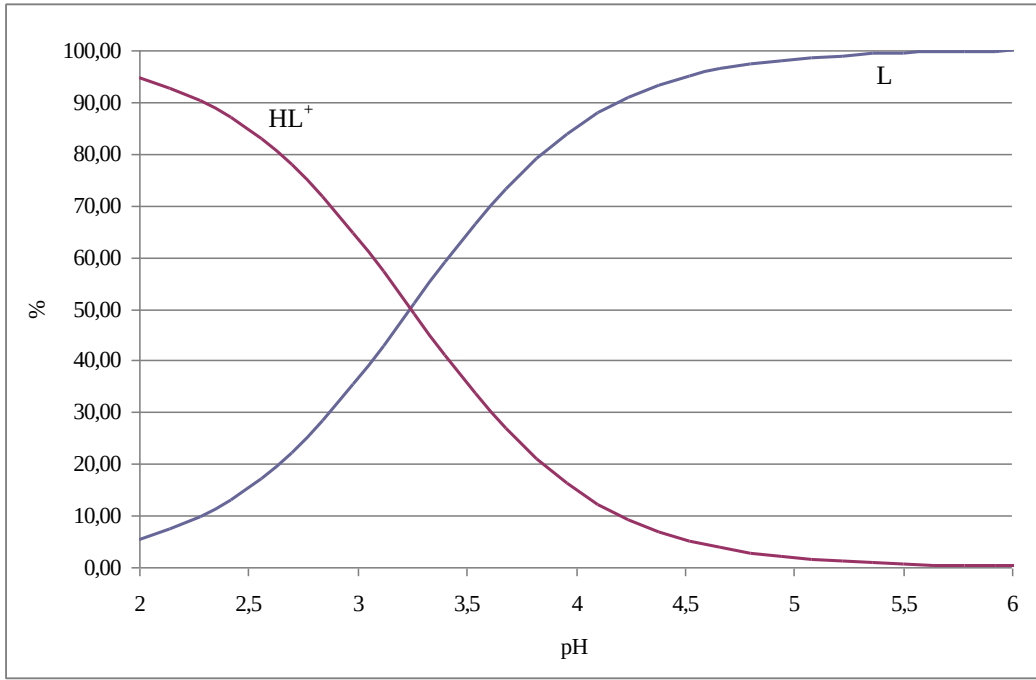
**Şekil 3.115.** 23 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı



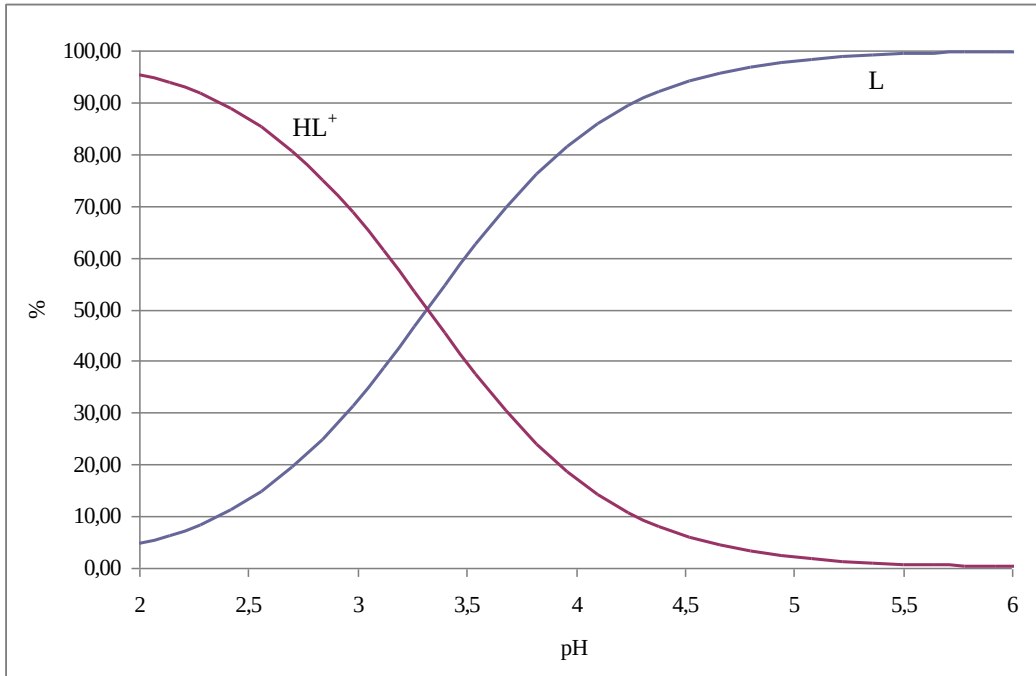
**Şekil 3.116.** 24 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:2 mol oranlarında,  $L:2H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı



**Şekil 3.117.** 25 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:1 mol oranlarında,  $L:H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı



**Şekil 3.118.** 26 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:1 mol oranlarında,  $L:H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı



**Şekil 3.119.** 27 No'lu bileşiğin pH'ın fonksiyonu olarak 1:1 mol oranlarında,  $L:H^+$ , içeren çözeltide oluşan türlerin (% 80 DMSO - % 20 Su ortamında) % dağılımı

### 3.4. Bileşiklerin Antioksidan Etkinliğinin İncelenmesi

Bileşiklerin antioksidan etkinliği üç farklı metotla incelenerek, absorbans değerleri spektrofotometrik metot ile elde edilmiştir. Çalışmamızda belirtilen sabitler en az üç deneyin ortalaması olup, tayin edilen aktivite ve absorbans değerlerinin tamamı aşağıda gösterilen Tablolarda verilmiştir.

**Tablo 3.5.** Maddelerin antioksidan etkinliğinin “İndirgeme gücü metodu” ile elde edilen absorbans değerleri

| Bileşikler | 100 µL (Abs) | 250 µL (Abs) | 500 µL (Abs) |
|------------|--------------|--------------|--------------|
| 1          | 0.081        | 0.080        | 0.088        |
| 2          | 0.071        | 0.072        | 0.075        |
| 3          | 0.069        | 0.070        | 0.083        |
| 4          | 0.079        | 0.077        | 0.083        |
| 5          | 0.068        | 0.065        | 0.070        |
| 6          | 0.067        | 0.065        | 0.077        |
| 7          | 0.087        | 0.089        | 0.099        |
| 8          | 0.071        | 0.070        | 0.076        |
| 9          | 0.075        | 0.077        | 0.089        |
| 10         | 0.084        | 0.086        | 0.090        |
| 11         | 0.075        | 0.074        | 0.081        |
| 12         | 0.070        | 0.068        | 0.082        |
| 13         | 0.098        | 0.098        | 0.077        |
| 14         | 0.043        | 0.031        | 0.019        |
| 15         | 0.086        | 0.061        | 0.010        |
| 16         | 0.060        | 0.056        | 0.059        |
| 17         | 0.083        | 0.081        | 0.085        |
| 18         | 0.075        | 0.076        | 0.081        |
| 19         | 0.067        | 0.065        | 0.071        |
| 20         | 0.099        | 0.104        | 0.119        |
| 21         | 0.077        | 0.076        | 0.086        |
| 22         | 0.087        | 0.090        | 0.096        |

**Tablo 3.5.’in devamı aşağıda verilmiştir.**

|                     |       |       |       |
|---------------------|-------|-------|-------|
| 23                  | 0.080 | 0.082 | 0.085 |
| 24                  | 0.066 | 0.069 | 0.085 |
| BHT                 | 0.529 | >1.00 | >1.00 |
| BHA                 | 0.887 | >1.00 | >2.00 |
| $\alpha$ -tocoferol | 0.329 | 0.656 | >1.00 |

**Tablo 3.6.** Maddelerin antioksidan etkinliğinin “serbest radikal giderme metodu” ile elde edilen yüzde aktivite değerleri

| Bileşikler | 50 $\mu$ L (%A) | 100 $\mu$ L (%A) | 150 $\mu$ L (%A) |
|------------|-----------------|------------------|------------------|
| 1          | 4.38            | 4.61             | 4.21             |
| 2          | 4.34            | 6.93             | 5.93             |
| 3          | 7.06            | 7.74             | 8.00             |
| 4          | 5.76            | 5.44             | 4.94             |
| 5          | 1.28            | 1.43             | 0.94             |
| 6          | 7.59            | 7.53             | 7.89             |
| 7          | 3.56            | 3.56             | 3.77             |
| 8          | 2.75            | 1.20             | 1.14             |
| 9          | 5.10            | 6.10             | 5.96             |
| 10         | 3.66            | 2.50             | 2.93             |
| 11         | 2.86            | 2.01             | 1.78             |
| 12         | 5.91            | 5.55             | 5.74             |
| 13         | 1.23            | 1.79             | 1.34             |
| 14         | 0.13            | -                | -                |
| 15         | 4.10            | 3.13             | 3.20             |
| 16         | 6.94            | 6.47             | 5.66             |
| 17         | 4.72            | 3.13             | 3.24             |
| 18         | 3.13            | 3.16             | 4.92             |
| 19         | 7.77            | 6.45             | 6.82             |
| 20         | 3.26            | 2.84             | 2.75             |
| 21         | 1.51            | 0.54             | 0.57             |
| 22         | 3.65            | 3.78             | 4.89             |

**Tablo 3.6.’**nin devamı aşağıda verilmiştir.

|                     |       |       |       |
|---------------------|-------|-------|-------|
| 23                  | 7.24  | 7.33  | 6.12  |
| 24                  | 10.28 | 11.73 | 12.24 |
| BHT                 | 65.57 | 80.98 | 85.69 |
| BHA                 | 90.53 | 90.70 | 90.43 |
| $\alpha$ -tocoferol | 90.78 | 91.81 | 91.55 |

**Tablo 3.7.** Maddelerin antioksidan etkinliğinin ‘‘metal şelatlama aktivite metodu’’ ile elde edilen yüzde aktivite değerleri

| Bileşikler | 50 $\mu$ L (%A) | 100 $\mu$ L (%A) | 150 $\mu$ L (%A) |
|------------|-----------------|------------------|------------------|
| 1          | 0.23            | 4.64             | -                |
| 2          | 3.93            | 2.69             | 4.12             |
| 3          | 1.72            | 6.85             | 5.17             |
| 4          | 2.03            | 5.07             | 2.20             |
| 5          | 4.90            | 3.31             | 5.69             |
| 6          | 2.95            | 5.93             | 6.91             |
| 7          | 2.28            | 1.87             | 5.35             |
| 8          | 6.32            | 4.32             | 3.98             |
| 9          | 7.36            | 4.69             | 8.75             |
| 10         | 0.39            | 3.45             | 1.62             |
| 11         | 7.14            | 7.17             | 6.06             |
| 12         | 6.92            | 2.49             | 6.51             |
| 13         | 3.41            | 1.96             | 18.31            |
| 14         | 63.16           | 81.25            | 80.01            |
| 15         | 82.03           | 85.02            | 77.95            |
| 16         | 3.24            | 6.62             | 4.56             |
| 17         | 0.86            | 4.37             | 3.63             |
| 18         | 5.04            | 8.46             | 6.04             |
| 19         | 2.05            | 3.87             | 7.86             |
| 20         | 5.16            | 5.70             | 2.34             |
| 21         | 7.30            | 9.87             | 7.84             |
| 22         | 8.40            | 2.25             | 5.94             |

**Tablo 3.7.**'nin devamı aşağıda verilmiştir.

|                     |       |       |       |
|---------------------|-------|-------|-------|
| 23                  | 1.79  | 4.65  | 0.55  |
| 24                  | 3.76  | 10.84 | 8.36  |
| EDTA                | 79.28 | 97.11 | 98.62 |
| BHT                 | -     | -     | -     |
| BHA                 | -     | -     | -     |
| $\alpha$ -tocoferol | -     | -     | -     |

### 3.5. Bileşiklerin Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi

Çalışmada sentezlenen bileşiklerin biyolojik aktiviteleri *E.Coli* ATCC 25922, *P.Aeruginosa* ATCC 27853, *E.Fecalis* ATCC 29212, *S.Aureus* ATCC 29213 standart bakterileri üzerinde denenmiş ve sonuçlar **Tablo 3.8.**'de verilmiştir.

**Tablo 3.8.** Bileşiklerinin biyolojik aktivite değerleri

| Bileşikler | E. Coli<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | S. Aureus<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | E. Faecalis<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | P. Aeruginosa<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) |
|------------|---------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|
| 1          | -                               | -                                 | -                                   | -                                     |
| 2          | -                               | -                                 | -                                   | -                                     |
| 3          | -                               | -                                 | -                                   | -                                     |
| 4          | -                               | -                                 | -                                   | -                                     |
| 5          | -                               | -                                 | -                                   | -                                     |
| 6          | -                               | -                                 | -                                   | -                                     |
| 7          | -                               | -                                 | -                                   | -                                     |
| 8          | -                               | -                                 | -                                   | -                                     |
| 9          | -                               | -                                 | -                                   | -                                     |
| 10         | -                               | -                                 | -                                   | -                                     |
| 11         | -                               | -                                 | -                                   | -                                     |
| 12         | -                               | -                                 | -                                   | -                                     |
| 13         | -                               | -                                 | -                                   | 128                                   |

**Tablo 3.8.**'in devamı aşağıda verilmiştir.

|            |     |    |     |   |
|------------|-----|----|-----|---|
| 14         | 192 | 48 | 256 | 3 |
| 15         | -   | -  | -   | - |
| 16         | -   | -  | -   | - |
| 17         | -   | -  | -   | - |
| 18         | -   | -  | 192 | - |
| 19         | -   | -  | -   | - |
| 20         | -   | -  | -   | - |
| 21         | -   | -  | -   | - |
| 22         | -   | -  | -   | - |
| 23         | -   | -  | -   | - |
| 24         | -   | -  | 128 | - |
| Gentamisin | 2   | 2  | 64  | 2 |
| Ampisilin  | 2   | 4  | 4   | 4 |

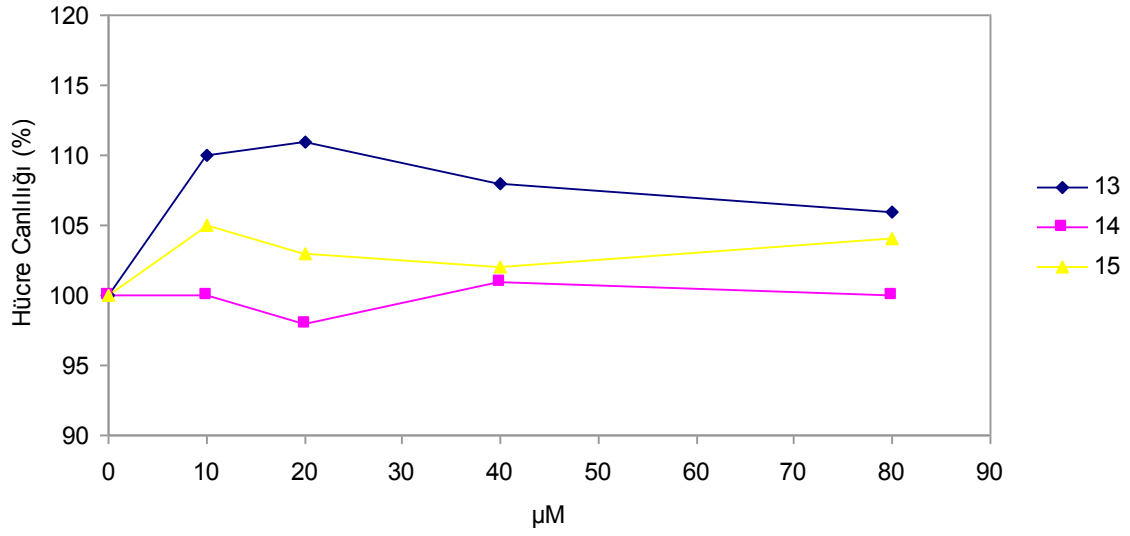
### 3.6. Bileşiklerin Sitotoksik Etkilerinin WST-1 Yöntemi ile İncelenmesi

MCF-7 hücreleri 48 saat süreyle, bileşikleri temsilen, 13, 14 ve 15 no'lu bileşiklerinin farklı konsantrasyonları ile (10, 20, 40, 80  $\mu$ M) inkübasyona tabi tutulduktan sonra üzerinde çalışılan kanserli hücre tipinin canlılık oranlarında meydana gelen değişimler WST-1 yöntemi ile belirlenip elde edilen sonuçlar **Tablo 3.9.** ve **Şekil 3.120.**'de yüzde (%) hücre canlılığı olarak gösterilmiştir.

**Tablo 3.9.** Test reaktiflerinin farklı konsantrasyonlarının MCF-7 hücre dizisine uygulandıktan 48 saat sonra WST-1 yöntemine göre hesaplanan % hücre canlılık değerleri

| Gruplar (N=2) | 10 $\mu$ M | 20 $\mu$ M | 40 $\mu$ M | 80 $\mu$ M |
|---------------|------------|------------|------------|------------|
| Kontrol*      | 100        | 100        | 100        | 100        |
| 13            | 110        | 111        | 108        | 106        |
| 14            | 100        | 98         | 101        | 100        |
| 15            | 105        | 103        | 102        | 104        |

(\*:% 0.1 DMSO)



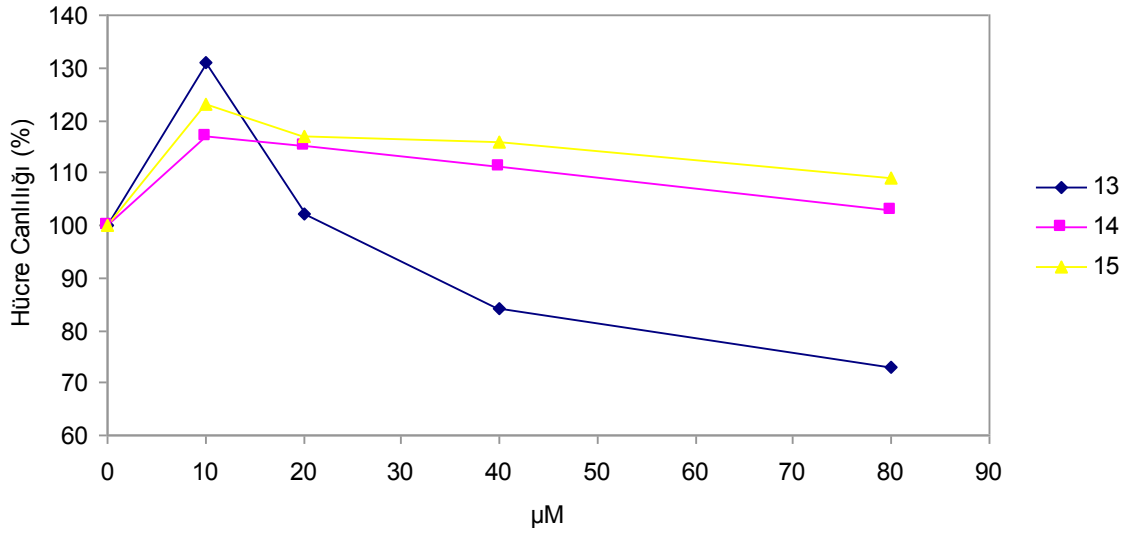
**Şekil 3.120.** Test reaktiflerinin farklı konsantrasyonlarının MCF-7 hücre dizisine uygulandıktan 48 saat sonra WST-1 yöntemine göre hesaplanan % hücre canlılık değerlerinin grafiği

MDA-231 hücreleri 48 saat süreyle, bileşikleri temsilen, 13, 14 ve 15 no'lu bileşiklerinin farklı konsantrasyonları ile (10, 20, 40, 80 µM) inkübasyona tabi tutulduktan sonra üzerinde çalışılan kanserli hücre tipinin canlılık oranlarında meydana gelen değişimler WST-1 yöntemi ile belirlenip elde edilen sonuçlar **Tablo 3.10.** ve **Şekil 3.121.**'de yüzde (%) hücre canlılığı olarak gösterilmiştir.

**Tablo 3.10.** Test reaktiflerinin farklı konsantrasyonlarının MDA-231 hücre dizisine uygulandıktan 48 saat sonra WST-1 yöntemine göre hesaplanan % hücre canlılık değerleri

| Gruplar (N=2) | 10 µM | 20 µM | 40 µM | 80 µM |
|---------------|-------|-------|-------|-------|
| Kontrol*      | 100   | 100   | 100   | 100   |
| 13            | 131   | 102   | 84    | 73    |
| 14            | 117   | 115   | 111   | 103   |
| 15            | 123   | 117   | 116   | 109   |

(\*:% 0.1 DMSO)



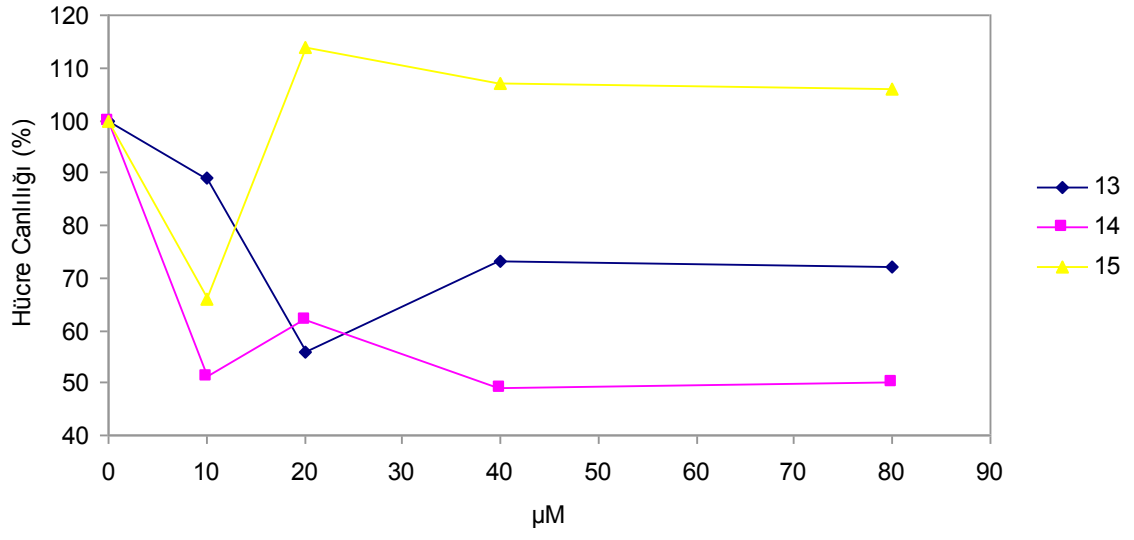
**Şekil 3.121.** Test reaktiflerinin farklı konsantrasyonlarının MDA-231 hücre dizisine uygulandıktan 48 saat sonra WST-1 yöntemine göre hesaplanan % hücre canlılık değerlerinin grafiği

MDA-435 hücreleri 48 saat süreyle, bileşikleri temsilen, 13, 14 ve 15 no'lu bileşiklerinin farklı konsantrasyonları ile (10, 20, 40, 80 µM) inkübasyona tabi tutulduktan sonra üzerinde çalışılan kanserli hücre tipinin canlılık oranlarında meydana gelen değişimler WST-1 yöntemi ile belirlenip elde edilen sonuçlar **Tablo 3.11.** ve **Şekil 3.122.**'de yüzde (%) hücre canlılığı olarak gösterilmiştir.

**Tablo 3.11.** Test reaktiflerinin farklı konsantrasyonlarının MDA-435 hücre dizisine uygulandıktan 48 saat sonra WST-1 yöntemine göre hesaplanan % hücre canlılık değerleri

| Gruplar (N=2) | 10 µM | 20 µM | 40 µM | 80 µM |
|---------------|-------|-------|-------|-------|
| Kontrol*      | 100   | 100   | 100   | 100   |
| 13            | 89    | 56    | 73    | 72    |
| 14            | 51    | 62    | 49    | 50    |
| 15            | 66    | 114   | 107   | 106   |

(\*:% 0.1 DMSO)



**Şekil 3.122.** Test reaktiflerinin farklı konsantrasyonlarının MDA-435 hücre dizisine uygulandıktan 48 saat sonra WST-1 yöntemine göre hesaplanan % hücre canlılık değerlerinin grafiği

### 3.7. Bileşiklerin Yapılarının Değerlendirilmesi

Sentezlenen bileşiklerin yapıları birbirine benzediğinden, yapı değerlendirmesi ile ilgili yorumlar sadece iki bileşik üzerinden yapılmıştır. Bunlardan biri tiyazol diğeri ise keton içeren tetrazol türevi bileşiklerdir. Yapı değerlendirmesine geçmeden önce, bu çalışmada sentezlenen ve diğer maddeler için de benzer yorumlarda bulunabileceğimiz, 1 ve 25 no'lu maddeler üzerinde değerlendirmeler yapılmıştır. **Şekil 3.1.**'de 2-(1-(4-florfenil)-1H-tetrazol-5-iltiyo)-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid ile 2-Klor-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklobütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu verilmiştir. Spektrum incelendiğinde 2-Klor-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklo-bütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğinin tetrazol halkasına bağlanması sonucu yapıya ait karbonil pikinin  $1659\text{ cm}^{-1}$ 'den  $1677\text{ cm}^{-1}$ 'e kaydığı ve  $1575\text{ cm}^{-1}$ 'de (tiyazol, C=N) pikine ek olarak  $1513\text{ cm}^{-1}$ 'de (tetrazol, C=N) piki görülmektedir. Ayrıca 2-Klor-N-(4-(3-metil-3-fenilsiklo-bütil)tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait olan  $726\text{ cm}^{-1}$ 'deki ( $-\text{CH}_2\text{-Cl}$ ) pikinin kaybolduğu ve yerine  $841\text{ cm}^{-1}$ 'de (C-S-C) grubuna ait bir pikin oluştuğu görülmektedir. Sentezlenen bazı maddelerde, -NH- piki gözlenememiştir. Bu pikin net olarak gözlemlenememesinin nedeni, **Şekil 3.123.**'de de gösterildiği gibi molekül içi hidrojen bağı olup, bu etkinin piklerin genişlemesine ve daha düşük dalga sayısına kaymasına neden olmasıdır. Yapılan bu IR değerlendirmesi, sentezlenen yeni yapı hakkında olumlu sonuçlar gösterse de diğer karakterizasyon yöntemleri olan  $^1\text{H-NMR}$  ve  $^{13}\text{C-NMR}$ 'ından elde edilen spektrumlar incelenmeden yapı hakkında kesin bir yorum yapmak doğru değildir.

Bu bileşiğe ait **Şekil 3.2.**'deki  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu incelendiğinde, çıkış maddesindekilere ek olarak, oluşan yeni yapıda aromatik bölgede fazladan dört tane hidrojen atomu olması, bu yapının oluştuğunu göstermektedir.

Yine aynı bileşiğe ait **Şekil 3.3.**'deki  $^{13}\text{C-NMR}$  spektrumu incelendiğinde,  $162.16\text{ ppm}$ 'de görülen  $\text{C}_1$ 'e ait pik,  $117.30\text{ ppm}$ 'de görülen  $\text{C}_2$ 'e ait pik,  $125.40\text{ ppm}$ 'de görülen  $\text{C}_3$ 'e ait pik,  $129.10\text{ ppm}$ 'de görülen  $\text{C}_4$ 'e ait pik ve son olarak  $153.82\text{ ppm}$ 'de görülen  $\text{C}_5$ 'e ait pik bu yeni yapının oluştuğunu göstermektedir.

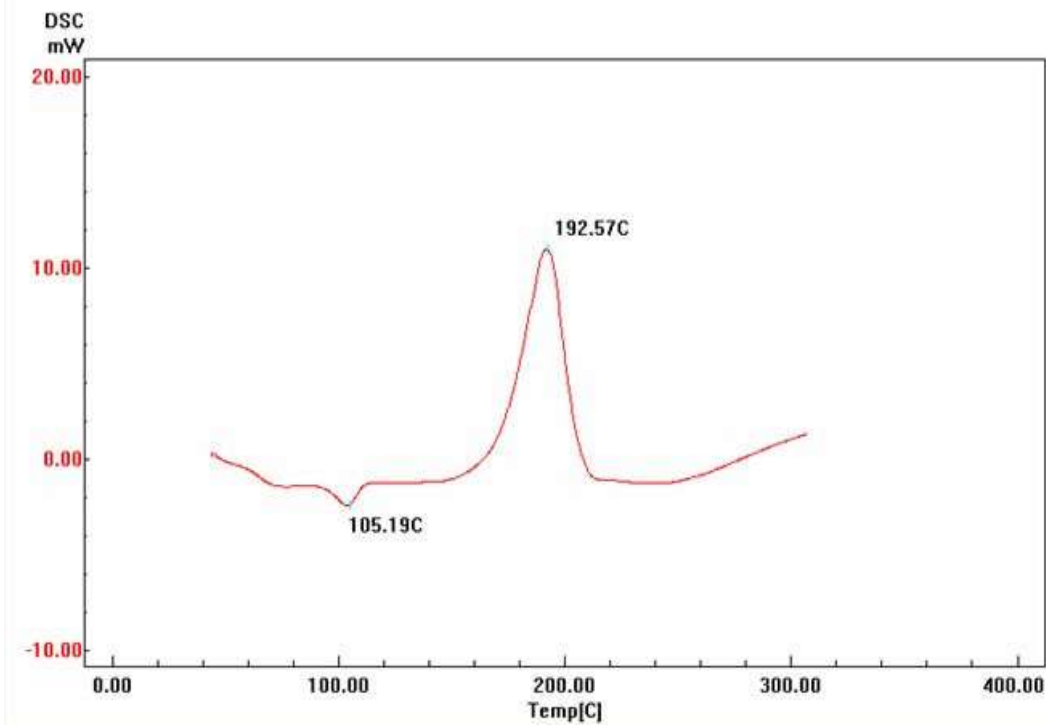
Bu yapı değerlendirmesinde, keton türevli tetrazol bileşiklerinin karakterizasyonu, sadece 25 no'lu bileşik üzerinde yapılmıştır. Yukarıda da ifade edildiği gibi, bu gruba ait diğer bileşikler de, 25 no'lu bileşiğin yapısı ile benzer durumdadırlar. **Şekil 3.73.**'de 2-(1-metil-1H-tetrazol-5-iltiyo)-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon ile 2-Klor-1-(3-metil-3-

fenilsiklobütil)etanon bileşiklerine ait karşılaştırmalı IR spektrumu verilmiştir. Spektrum incelendiğinde, 2-Klor-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon bileşiğinin tetrazol halkasına bağlanması sonucu yapıya ait karbonil pikinin  $1721\text{ cm}^{-1}$ 'den  $1703\text{ cm}^{-1}$ 'e kaydığı ve  $1463\text{ cm}^{-1}$ 'de ise (tetrazol, C=N) grubuna ait yeni bir pik oluştuğu görülmektedir. Ayrıca 2-Klor-1-(3-metil-3-fenilsiklobütil)etanon bileşiğine ait  $729\text{ cm}^{-1}$ 'deki ( $-\text{CH}_2\text{-Cl}$ ) pikinin kaybolduğu ve yerine  $722\text{ cm}^{-1}$ 'de (C-S-C) grubuna ait yeni bir pik oluştuğu görülmektedir.

Bu bileşiğe ait **Şekil 3.74.**'deki  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu incelendiğinde, yeni yapının spektrumunda 3.99 ppm'de üç protonluk yeni singlet, yapının oluştuğunu göstermektedir.

Yine aynı bileşiğe ait **Şekil 3.75.**'deki  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu incelendiğinde, 33.58 ppm'de  $\text{C}_1$ 'e ait pik ve 153.38 ppm'de görülen  $\text{C}_2$ 'e ait pikler yeni yapının oluştuğunu işaret etmektedir.

Yapıları değerlendirilen ve saf oldukları anlaşılan maddelerin erime noktaları normal erime yöntemiyle bulunmuştur. Sentezlenen maddelerin bir kısmı kristal yapıda olup tek erime noktasına sahip iken, bir kısım maddeler amorf yapıda olduğundan düzgün bir erime noktası göstermemişlerdir. Bundan dolayı, bu tür maddeler DSC yöntemi ile incelenerek, grafikleri alınmıştır. Bu tez çalışmasında, elde edilen bu grafikler birbirine benzer olduğundan sadece tek bir maddenin DSC grafiği diğer benzer yapıda olan maddeleri temsilen **Şekil 3.123**'de verilmiştir.

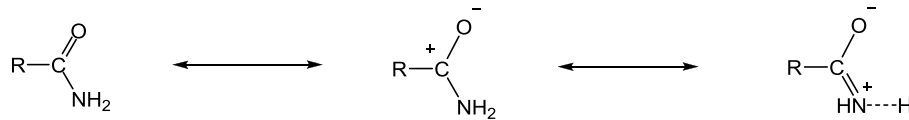


**Şekil 3.123.** Sentezlenen 15 No'lu maddenin DSC grafiği

### 3.8. Bileşiklerin Protonasyon Sabitlerinin Değerlendirilmesi

Bileşiklerin titrasyonu, deneysel kısımda anlatıldığı şekilde yapılmış, titrasyondan elde edilen veriler BEST bilgisayar programlarında değerlendirilerek protonasyon sabitleri hesaplanmıştır. Bu bileşiklerin titrasyonları sonucunda bileşiğin farklı bölgesine ait birden çok protonasyon sabiti bulunmuştur.

Bileşiklerin basamaklı olarak gerçekleşen protonasyon dengelerinde, ilk protonasyonun öncelikle hangi protonasyon bölgesinde gerçekleştiğinin bilinmesi çok önemlidir. Yapıların, ilk protonasyonunun hangi protonasyon bölgesinde gerçekleştiğini anlamak için şöyle düşünülür. Moleküler türlerin düşük dielektrik sabitli çözücü ortamlarında, iyonik türlerin ise yüksek dielektrik sabitli çözücü ortamlarında kararlı olması yani daha iyi solvatize olması beklenir. Suyun 25 °C'taki dielektrik sabiti 80.4, dioksanınki ise 2.01'dir. Dolayısıyla dioksan çözücü oranı arttıkça ortamın dielektrik sabiti de azalmaktadır. Çalışılan ilk ortam % 60 dioksan - % 40 su ortamı olduğu için dielektrik sabiti ve polaritesi düşüktür. Buna göre çalışılan bileşiklerin birinci protonasyonu, zayıf bir asit olan amit grubunun azot atomu üzerinden olduğu söylenebilir. Aşağıda da genel olarak gösterilen amit grubunun rezonans sınır formülü, bize yapıdaki NH protonunun zayıf asidik özellik gösterdiğini net bir şekilde açıklar.

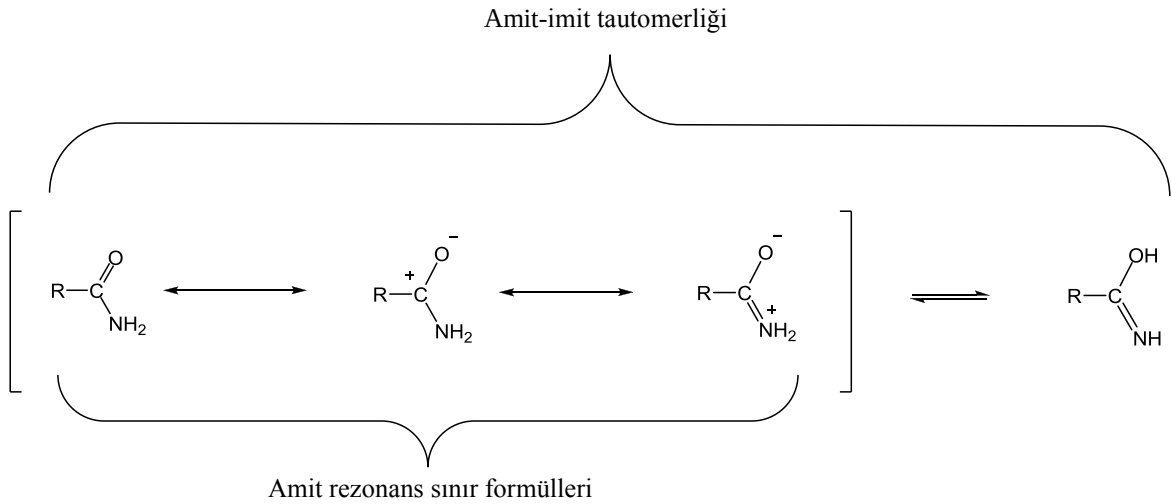


Şekil 3.124. Amit grubunun rezonans sınır formülleri

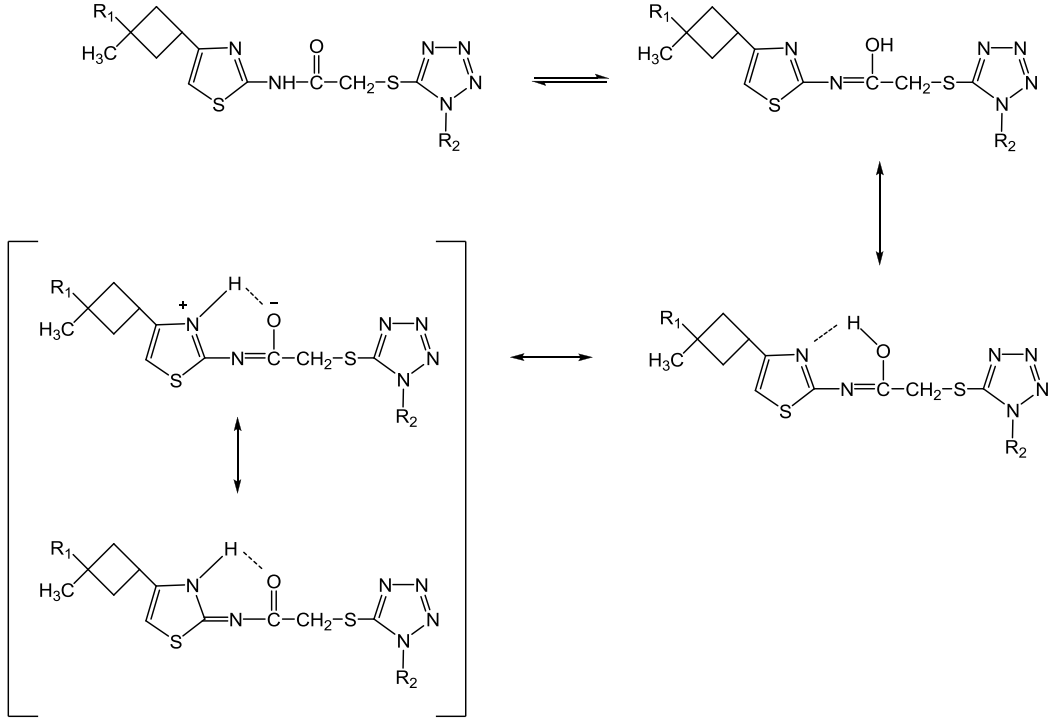
Bileşiklerin ikinci protonasyonunun ise tiyazol veya tetrazol halkasındaki azot atomları üzerinden gerçekleşebileceği tahmin edilmektedir. Bulunan protonasyon sabitlerinin, tahmin edilen bu bölgelerin hangilerine ait olduğu sorusunun cevabı ise tiyazol içermeyen keton türevli bileşiklerin titrasyonu yapılarak, elde edilen sabitlerin karşılaştırılmasıyla bulunmuş ve gerçek protonlanmanın hangi bölgelere ait olduğu kesin bir şekilde ortaya konmuştur. Ayrıca tiyazol türevli bileşiklerde, amit grubundaki azot atomuna bağlı protonun, amit-imit tautomerisinin gerçekleşmesiyle, tiyazol halkasındaki azot atomu arasında molekül içi hidrojen bağı olduğu bilinmektedir. Buradaki hidrojen

bağının gerçekleşebilmesi için azot atomunun sahip olduğu elektronlarını hidrojenle arasında oluşan bağa vermesi gerekmektedir. Bu da, tiyazol halkasındaki azot atomunun elektronca fakirleşeceği ve dolayısıyla bazlığının tetrazol halkasındaki azot atomlarına göre azalacağı anlamına gelmektedir. Bundan dolayı, ortama ilave edilen protonun tiyazol halkasına değil, tetrazol halkasındaki azot atomlarını öncelikli olarak tercih ettiği anlaşılmaktadır. Sonuç olarak, yapıdaki ikinci protonlanma bölgesi tetrazol halkası üzerindedir.

Aşağıda gösterilmiş olan amit-imit tautomeri formları, molekül içinde oluşan hidrojen bağının nasıl bir şekilde meydana geldiğini, rezonans sınır formüllerini de göz önüne alarak göstermektedir.



**Şekil 3.125.** Amit grubuna ait amit-imit tautomeri formları



**Şekil 3.126.** Molekül içi hidrojen bağının genel bileşik üzerinde gösterimi

Yukarıda yapılan açıklamalara göre, ikinci protonlanan bölge tetrazol halkasıdır. Ayrıca protonlanma sabitlerinin yazıldığı tablolar, bu halkadaki azot atomlarının da kendi aralarında protonlanma derecelerinin olduğunu göstermektedir. Dioksan ortamında yapılan titrasyonlar sonucunda her iki gruptaki bileşiklerin tetrazol halkaları, en fazla iki azot atomu üzerinden protonlanmıştır. Protonlanan yerlerin neresi olduğu ise literatür araştırması kapsamında, Jiménez V. ve arkadaşı Alderete J.B.'nin [79] yapmış olduğu teorik bir çalışmaya göre yorumlanarak belirlenmiş olup çalışmamıza önemli bir **referans** olmuştur. İncelenen bu çalışmada, yüksek doğrulukta hesaplamalar yapan farklı bilgisayar programları kullanılarak, gaz fazındaki triazol ve tetrazollerin protonlanma ve tautomeri formları üzerinde birtakım hesaplamalar yapılmıştır. Çalışmadaki nötr ve protonlanmış moleküllerin serbest bağıl enerjisi, aktivasyon enerjisi, solvasyon enerjisi ve dipol momentleri gibi birçok özellik teorik olarak hesaplanarak, moleküllerin her iki durumdaki tautomeri formlarından hangisinin daha kararlı bir yapıda olacağı, hesaplanan bu değerler yardımıyla belirtilmiştir. Ayrıca, elde edilen teorik sonuçların yapılan deneysel çalışmalarla uyum içerisinde olduğu da belirtilmiştir [79].

Bu çalışmada [79] elde edilen teorik sonuçlar, tetrazol molekülünün hem nötr ve hem de protonlanmış tautomeri formları ve dengeleri aşağıda tablo ve şekil olarak verilmiştir.

Bu bilgilerden faydalanarak, tez çalışmasındaki bileşiklerin ikinci protonasyon bölgesi olan tetrazol halkasındaki azot atomlarının sıralı protonasyonlarının hangileri olabileceği belirlenmiştir.

**Tablo 3.12.** Gaz fazında bulunan nötr ve protonlanmış tetrazolün tautomer türleri için elde edilen serbest bağıl enerji değerleri [79]

| <b>Nötr</b>         | <b>Tautomer</b>  | <b>B3LYP/6-311++g(d,p)</b> | <b>CBS-4M</b> | <b>CBS-QB3</b> |
|---------------------|------------------|----------------------------|---------------|----------------|
|                     | T <sub>1</sub>   | 2.42                       | 3.55          | 2.27           |
|                     | T <sub>2</sub>   | 0.00                       | 0.00          | 0.00           |
| <b>Protonlanmış</b> | T <sub>1-2</sub> | 16.27                      | 16.15         | 16.44          |
|                     | T <sub>1-3</sub> | 0.32                       | 0.00          | 0.53           |
|                     | T <sub>1-4</sub> | 0.00                       | 0.97          | 0.00           |
|                     | T <sub>2-3</sub> | 14.75                      | 12.60         | 14.86          |

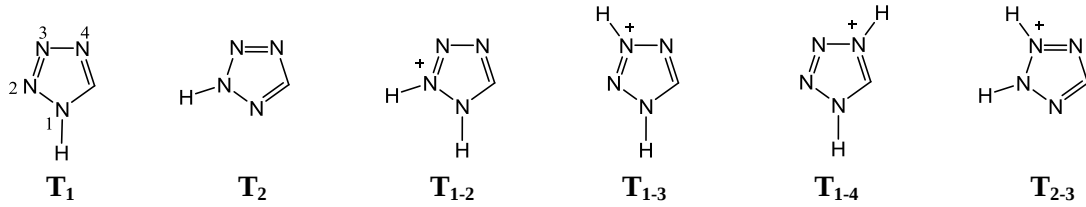
**Tablo 3.13.** Gaz fazında bulunan nötr ve protonlanmış tetrazolün tautomer türleri için elde edilen dipol moment değerleri [79]

| <b>Nötr</b>         | <b>Tautomer</b>  | <b>B3LYP/6-311++g(d,p)</b> | <b>CBS-4M</b> | <b>CBS-QB3</b> |
|---------------------|------------------|----------------------------|---------------|----------------|
|                     | T <sub>1</sub>   | 5.55                       | 5.50          | 5.61           |
|                     | T <sub>2</sub>   | 2.31                       | 2.13          | 2.21           |
| <b>Protonlanmış</b> | T <sub>1-2</sub> | 6.21                       | 6.09          | 6.14           |
|                     | T <sub>1-3</sub> | 1.86                       | 1.97          | 1.97           |
|                     | T <sub>1-4</sub> | 5.36                       | 5.44          | 5.57           |
|                     | T <sub>2-3</sub> | 3.65                       | 3.59          | 3.67           |

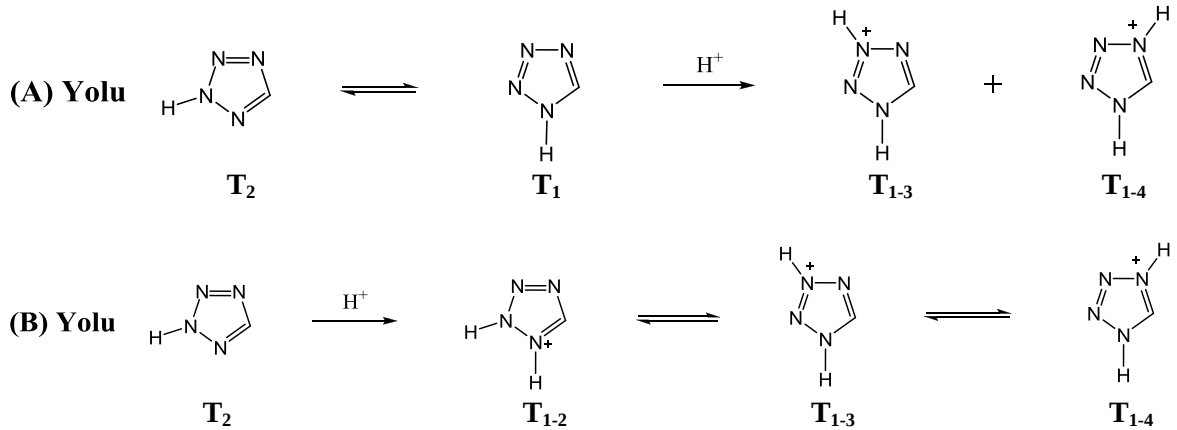
**Tablo 3.14.** Gaz fazında bulunan nötr ve protonlanmış tetrazol türlerindeki 1,2-hidrojen yer değişimi için elde edilen serbest aktivasyon enerji değerleri [79]

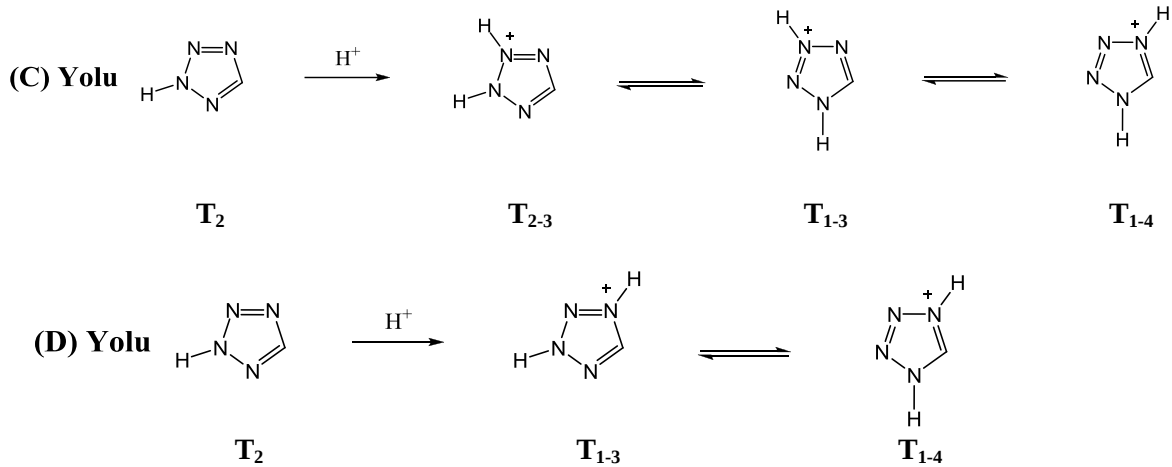
| Nötr         | Tautomer                      | B3LYP/6-311++g(d,p) | CBS-4M | CBS-QB3 |
|--------------|-------------------------------|---------------------|--------|---------|
|              | $T_2 \rightarrow T_1$         | 52.38               | 51.95  | 50.09   |
| Protonlanmış | $T_{1-2} \rightarrow T_{1-3}$ | 47.16               | 48.21  | 47.03   |
|              | $T_{1-3} \rightarrow T_{1-4}$ | 63.33               | 62.54  | 60.16   |
|              | $T_{2-3} \rightarrow T_{1-3}$ | 20.01               | 30.47  | 24.91   |

Tablolarda her bir durum için gösterilen enerji değerleri, 298.15 K ve 1 atm standart şartlarda, **kcal/mol** olarak rapor edilmiştir. Enerji değerleri ve dipol momentlerin bağli olarak değerlendirilmesi önemli sonuçlar vermektedir. Bu sonuçlar, çalışmamızdaki maddeler ile aşağıdaki dengeler karşılaştırarak değerlendirildiğinde, tetrazol halkasındaki azot atomlarının basamaklı protonlanma dengelerini yorumlamamızda fayda sağlamaktadır.



**Şekil 3.127.** Nötr ve protonlanmış tetrazolün numaralandırılmış tautomeri türleri [79]





Şekil 3.128. Tetrazollerin farklı protonlanma yolları [79]

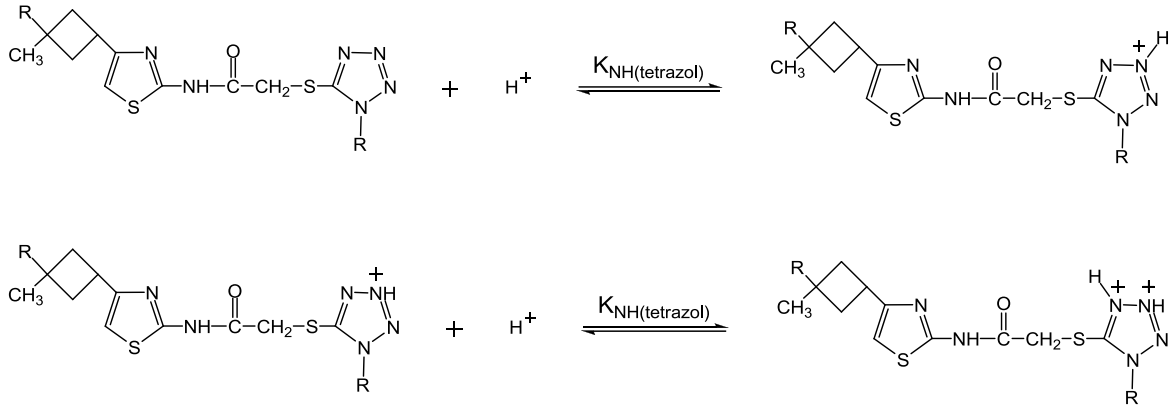
Tetrazolün basamaklı protonlanma dengeleri ile ilgili olarak gaz fazındaki H-tetrazol halkasının tautomerik türleri hakkında incelemeler yapmak gerekir. **Tablo 3.9.** incelendiğinde H-tetrazolün sadece iki yapıda bulunabileceği çalışmada ifade edilmiştir. Bunlardan biri T<sub>1</sub> iken diğer tür T<sub>2</sub> yapısındadır. Bu iki tür ayrıca birbirinin tautomeri durumundadır.

Bu konu kapsamında, Jiménez V. ve arkadaşı Alderete J.B. [79] yapmış olduğu çalışmada şöyle bir açıklama getirmiştir: Teorik olarak hesaplanan, molekül veya geçişlere ait olan serbest bağl enerjisi, serbest aktivasyon enerjisi ve dipol moment gibi değerlerin küçük olduğu tautomerik yapılar veya bir takım tautomerik geçişler daha kararlıdır. Bu duruma, ilk olarak T<sub>1</sub> ve T<sub>2</sub> tautomerlerini örnek verirsek, bu belirtilen iki türden sadece T<sub>2</sub> yapısının T<sub>1</sub>' e göre daha kararl olacağı söylenebilir. Çünkü T<sub>2</sub>' ye ait olan serbest bağl enerji, diğer türün enerjisinden daha azdır. Yani, H-tetrazol molekülü, bu duruma göre gaz fazında iken 2H-tetrazol olarak daha kararl bir şekilde bulunmaktadır.

Bu tez çalışmasında ise bileşiklerdeki tetrazol halkasının T<sub>2</sub> değil, T<sub>1</sub> pozisyonunda olduğu görülmektedir. Değerlendirmeler bundan dolayı T<sub>1</sub> tautomeri üzerinden yapılmıştır. Şimdi, T<sub>1</sub> türündeki halkaya ait olan azot atomlarının protonlanma sıraları veya bazlık dereceleri bu anlatılanlar ışığında nasıl yorumlanabilir? Bu sorunun cevabı yine **Tablo 3.9.** ve **Tablo 3.10.**'un incelenmesiyle bulunabilir.

Serbest bağl enerjilerin bulunduğu tabloya tekrar bakarsak, protonlanmış tetrazol tautomeri türleri arasından en kararl yapının T<sub>1-3</sub> ve T<sub>1-4</sub> türlerinin olduğu enerji değerlerinden anlaşılmaktadır. Referans çalışmadaki üç bilgisayar programının hesapladığı

bu enerji değerleri birbirine çok yakın olduğundan ve düzgün bir öncelik sıralaması olmadığından, bu iki türün hangisinin en kararlı olduğunu, dipol momentlerine bakarak bu kararlılığı açıklamaya çalışacağız. Tablodan T<sub>1-3</sub> ve T<sub>1-4</sub> protonlanmış türlerine ait dipol moment değerlerine baktığımız zaman, en küçük dipol momente sahip olan ve aynı zamanda da en kararlı yapı gösteren T<sub>1-3</sub> protonlanmış tautomeri türüdür. Bu türün ise T<sub>1-3</sub>→T<sub>1-4</sub> geçişini yapabilmesi için **Tablo 3.11.**'deki serbest aktivasyon enerjilerine bakıldığında bu geçişe ait olan enerji değeri çok fazla olduğundan, bu geçişin olması diğer geçiş türlerine göre çok zor ihtimaldir. Yani özet olarak şunu söyleyebiliriz; tez çalışmasındaki bileşiklerimizi gaz fazında protonlamaya çalışsaydık, tetrazol azotlarının ilk protonlanması aşağıda gösterildiği gibi T<sub>1-3</sub> şeklinde olurken, yapıyı ikinci kez protonlamaya çalıştığımızda ise T<sub>1-4</sub> şeklinde olması beklenirdi.



Yukarıda anlatıldığı gibi protonlanma reaksiyonlarıyla da gösterilen durum sadece gaz fazı ortamında geçerlidir. Fakat çalışmalarımızı gerçekleştirdiğimiz ortam belirli bir dielektrik sabitine ( $\epsilon = 25.1$ ) sahip susuz çözücü ortamıdır. Bu ortam için gerçekleşen protonasyon dengelerinin mantığı buraya kadar anlatılan bilgiler dâhilinde olup sadece çözücü ortamının getirmiş olduğu serbest solvasyon enerjisinin bu protonlanma sıralamasını değiştirmesi söz konusudur. Bu değişim gaz fazında gerçekleşen protonlanmanın tam tersi bir durumdur. Yani bu ortamda tetrazol halkası ilk olarak T<sub>1-4</sub> konumunda protonlanırken, yapının ikinci yerden protonlandığı konum ise T<sub>1-3</sub> konumudur. Yani, bir önceki olayın tam tersi bir durum söz konusudur. Bu duruma sebep olan serbest solvasyon enerji değişiminin ( $\Delta G_{\text{solv}}$ ) farklı dielektrik sabitlerine karşılık gelen değerleri ise **Tablo 3.15.**'de gösterilmiştir.



### 3.8.1. Protonasyon Sabitlerine Değiştirilen Çözücü Sisteminin Etkisi

Maddelerin titrasyonunun yapıldığı diğer bir susuz ortam ise % 80 DMSO - % 20 su ortamıdır. Dipolar aprotik çözücü sınıfında olan DMSO, bir önceki titrasyonlarda kullanılan dioksan çözücüsünün özelliklerine göre yüksek dielektrik sabiti ve dipol momente sahip bir susuz ortam çözücüsüdür. Bu sınıfta bulunan protofilik çözücülerden en çok tercih edilenler arasındadır. Çünkü bu çözücünün bazlık özelliğinin sudan daha kuvvetli ve otoprotoliz sabitinin de küçük olması nedeniyle, içinde çok zayıf asitlerin titrasyonu rahat bir şekilde yapılabilir. Ayrıca çözücünün cam elektrot üzerine de bir etkisi olmadığından, asit-baz titrasyonlarda tercih edilir [88]. Kısaca özetlenmesi gerekirse, DMSO'nun zayıf moleküler asitlerin titrasyonlardaki başarısı dioksana göre daha fazladır. Bu tez çalışmasında ise bu farklılığı, sentezlenen maddelerde bulunan amit grubuna ait azot atomu üzerindeki protonun titrasyonundan **Şekil 3.91.**'de de görüldüğü gibi rahatlıkla anlayabiliriz. Fakat zayıf bir baz olan tetrazol halkasının bir önceki dioksan ortamındaki iki yerden protonasyonu, bu yeni çözücü sisteminde tek bir yerden protonasyonu şeklinde gerçekleşmektedir. Bu da çözücü değişikliğinin getirmiş olduğu bir dezavantajdır.

### 3.8.2. Protonasyon Sabitlerine Sübstitüentlerin Etkisi

Sentezlenen bileşiklerin bazlığına etki eden faktörlerden bir tanesi de sübstitüentlerdir. Sübstitüentler bu bileşiklerin bazlığını indüktif, rezonans ve sterik olarak etkilemektedir. Titrasyonları yapılmayan diğer maddelerin ise siklobütan tarafında mezitilen ve *p*-ksilen gibi farklı sübstitüentler vardır. Tiyazol tarafındaki siklobütan halkasına bağlı alkil grupları protonasyon bölgelerine oldukça uzak olduğu için bunların protonasyon sabitlerine her hangi bir etkisinin olacağı düşünülmemektedir. Laboratuvarımızda, kendi yüksek lisans tezim de dahil olmak üzere yapılan çalışmaların [89, 90] sonuçları, bu düşüncüyü destekler nitelikte olduğunu göstermektedir. Bundan dolayı bu maddelerin titrasyonuna çalışmamızda yer verilmemiştir.

### 3.9. Bileşiklerin Antioksidan Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

Çalışmanın bu aşamasında, sentezlenen bileşiklerin antioksidan aktiviteleri, serbest radikal giderme aktivitesi, indirgeme gücü ve metal şelat aktivitesi yöntemleriyle, BHT, BHA,  $\alpha$ -tokoferol ve EDTA gibi standart antioksidan maddeler üzerinde incelenmiş ve sonuçlar **Tablo 3.5.**, **Tablo 3.6.** ve **Tablo 3.7.**'de verilmiştir.

İndirgeme kapasitesi yüksek olan bileşikler, zararlı serbest radikallerin etkilerini ortadan kaldırarak onları karalı ürünlere dönüştürür ve bu radikallerin sebep olduğu zincirleme reaksiyonlarını da sonlandırarak önemli bir rol üstlenirler [91].

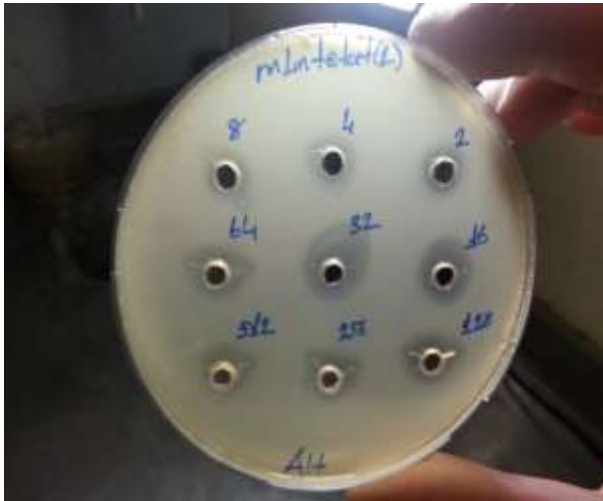
Bileşiklerin antioksidan aktivitelerini belirlemede tayin edilen "indirgeme gücü" önemli bir belirleyici olarak kabul edilir [92]. Bu çalışmada, 700 nm'de yapılan absorbans ölçümlerindeki artış aktivite ile doğru orantılıdır. Bu dalga boyunda yapılan ölçümler **Tablo 3.5.**'de gösterilmiştir. Tabloda, bileşiklerin çalışılan konsantrasyona karşılık absorbansları ve bu absorbans artışlarındaki değişiklikler yer almaktadır. Bu absorbans ve değişikliklerin kontrol ve standart antioksidan maddelerinkine göre düşük çıkması bu bileşiklerin indirgeyici bir özellikte olmadıklarını göstermektedir.

Kararlı bir serbest radikal olan DPPH' molekülü, antioksidan özellik gösteren bir madde tarafından bir elektron veya hidrojen radikali alarak kararlı bir moleküle dönüşür. Bu yöntemle dayanarak yapılan antioksidan aktivitelerinin değerlendirilmesinde, kullanılan serbest radikal giderme metodu en çok tercih edilen metotlardan birisidir [93]. DPPH', 517 nm'de etanol ortamında maksimum absorbans gösteren bir moleküldür. Bileşiklerin, maksimum absorbans gösterdiği, bu dalga boyunda yapılan absorbans ölçümlerindeki azalma, bu bileşiklerin antioksidan aktiviteleriyle değerlendirilir. DPPH' molekülünün absorbansındaki bu azalma, antioksidan ve oksidan molekülleri arasında gerçekleşen reaksiyonda, hidrojen radikali veya elektron vermesi yoluyla serbest radikal giderilerek bu azalma gerçekleşir [94]. Bu çalışmada, incelenen bileşiklerin ve standart maddelerin yüzde antioksidan aktiviteleri, 517 nm'de yapılan absorbans ölçümlerinden faydalanarak, elde edilen sonuçlar **Tablo 3.6.**'da verilmiştir. Yapılan absorbans ölçümleri, bileşiklerin standart antioksidanlardan çok daha düşük aktivitede olduğunu gösterir. Absorbans değerlerinin kontrolün absorbansına göre de çok az düşüş göstermesi, bileşiklerin, özellikle 24 no'lu bileşiğin, çok iyi olmasa da serbest radikal giderme aktivitesine sahip olduğunu göstermektedir.

Çalışılan metotlardan “metal şelatlama yöntemi” ise Ferrozin-Fe<sup>+2</sup> kompleks oluşumuna dayanır. Bu yöntemde şelat oluşturan reaktifler, ortama ilave edilen Fe<sup>+2</sup> iyonu ile kompleks oluşturarak, sonradan ferrozin ilavesiyle gerçekleşecek Ferrozin-Fe<sup>+2</sup> kompleks oluşumunu inhibe ederler. Bu inhibisyona bağlı olarak absorbans değerindeki azalmanın ölçülmesi, bileşiklerin metal şelatlama aktivitelerini belirler [95]. Bu çalışmada ölçümler, Ferrozin-Fe<sup>+2</sup> kompleksinin etanolde maksimum absorpsiyon yaptığı 562 nm dalgaboyunda yapılmıştır. Bu dalgaboyunda ölçülen absorbansdaki artış, bileşiklerin antioksidan özelliklerini belirlemede bir potansiyel ölçü olan metal şelatlama aktivitesi ile ters orantılıdır. **Tablo 3.7.**'de verilen bileşik ve standartların metal şelatlama aktivitelerine bakarsak, BHT, BHA ve  $\alpha$ -tokoferol standart antioksidan maddelerin aktivite göstermediği görülmektedir. Diğer metotlarda önemli bir antioksidan özellik gösteren bu standartlar, bu metotta ise şelatör görevinde bulunamayarak sekonder bir antioksidan özellik gösterememişlerdir. 14 ve 15 no'lu bileşikler yüksek metal şelatlama aktivitesine sahip iken, kalan bileşikler, BHT, BHA ve  $\alpha$ -tokoferol gibi aktivite göstermeyen standartlardan az da olsa bir sekonder antioksidan görevinde bulunmaktadır. Diğer standart madde EDTA molekülü ise çok yüksek bir aktiviteye sahip iken, 14 no'lu bileşiğin tüm konsantrasyonları, 15 no'lu bileşiğin ise en düşük konsantrasyonu hariç diğer tüm konsantrasyonları, EDTA molekülüne göre düşük aktivite sergilemiştir.

### 3.10. Bileşiklerin Biyolojik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

Sentezlenen tiyazol türevli tetrazol bileşiklerinin biyolojik aktiviteleri *E.Coli* ATCC 25922, *P.Aeruginosa* ATCC 27853, *E.Faecalis* ATCC 29212, *S.Aureus* ATCC 29213 standart bakterileri üzerinde incelenmiş ve sonuçlar **Tablo 3.8.**'de verilmiştir. Bu çalışmada, biri Gentamisin diğeri Ampisilin olmak üzere iki adet referans antibiyotik kullanılmıştır. Bileşiklerden, çalışılan şartlarda *P.Aeruginosa* bakterisi için 14 no'lu bileşiğin, kullanılan bu referanslardan sadece Ampisina'dan daha etkin olduğu bulunmuştur.



Şekil 3.129. 14 No'lu bileşiğin *P.Aeruginosa* bakterisi üzerindeki etkisinin petrideki görünümü (İki paralel deney)



Şekil 3.130. Ampisilin (Sol) ve Gentamisin (Sağ) referans antibiyotiklerinin negatif kontrol ile birlikte *P.Aeruginosa* bakterisi üzerindeki etkilerinin petrideki görünümü

### 3.11. Bileşiklerin Sitotoksik Etkilerinin Değerlendirilmesi

MCF-7, MDA-231 ve MDA-435 meme kanser hücreleri üzerine test reaktiflerinin uygulanmasından 48 saat sonra, artan konsantrasyonlarına bağlı olarak, hücre canlılığındaki değişimler WST-1 yöntemi ile incelenmiş, sonuçlar **Bölüm 3.6.**'da tablo ve şekil olarak verilmiştir.

13, 14 ve 15 no'lu test reaktiflerinin incelenen bütün konsantrasyonları, MCF-7 hücre kültürü üzerinde herhangi bir sitotoksik etki göstermemiştir. Diğer kanser türü olan MDA-231 hücre dizisine uygulanan test reaktiflerinden 14 ve 15 no'lu reaktiflerin, kontrol grubuna göre herhangi bir sitotoksik etki göstermediği belirlenmiş, 13 no'lu test reaktifinin de bu hücre üzerindeki sitotoksik etkisi, 40  $\mu$ M konsantrasyonda başlamış ve 80  $\mu$ M konsantrasyondaki % canlılık azalması çok az da olsa, bir artışa neden olmuştur.

Sitotoksik etkileri incelenen test reaktiflerinin uygulandığı son hücre türü ise MDA-435 kanser hücresidir. 15 no'lu reaktifin 10  $\mu$ M konsantrasyonu kanser hücresi üzerinde sitotoksik etki göstermiş olsa da, yüksek konsantrasyonları herhangi bir etki göstermemiştir. Bunun sebebi, 10  $\mu$ M'da yapılan ölçümün hatalı olduğu, bundan dolayı başlangıç konsantrasyonun da diğer konsantrasyonlar gibi sitotoksik etkiye sahip olmadığını söyleyebiliriz. Diğer test reaktiflerinden 13 ve 14 no'lu reaktiflerin, MDA-435 kanser hücresi üzerinde göstermiş olduğu sitotoksik etki, 10  $\mu$ M konsantrasyonda başlamıştır. Bu konsantrasyondaki en fazla sitotoksik etkinliğe sahip test reaktifi, % 51 hücre canlılığı ile 14 no'lu bileşiktir. Hücre canlılığı incelenen bütün konsantrasyonlarda yaklaşık olarak ~% 50 civarındadır.

#### 4. KAYNAKLAR

- [1] **Fidan, İ.**, 2006. Yeni 4-tiyazolidinon bileşiklerinin tek kap yöntemiyle sentezi, *Yüksek Lisans Tezi*, Y.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [2] **Elderfield, R. C.**, 1981. Tetrazoles, tetrazines and purines and related ring systems, *Heterocyclic Compounds*, John Wiley & Sons, Inc., New York, **8**, 2-105.
- [3] **Grimmet, M. R.**, 1979. Diazoles, triazoles, tetrazoles and their benzo analogue, *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, Pergamon Press, Oxford, **4**, 357-410.
- [4] **Elguero, J., Marzin, C., Linda, P.**, 1976. The tautomerism of heterocycles, advances in heterocyclic chemistry, *Academic Press*, New York, 287-291.
- [5] **Trifonov, R. E., Alkorta I., Ostrovskii V.A., Elguero J.**, 2004. A theoretical study of the tautomerism and ionization of 5-substitued NH-tetrazoles, *Theo Chem.*, **668**, 123-132.
- [6] **Wong, M. W., Toung, R. L., Wentrup, C.**, 1993. Tautomeric equilibrium and hydrogen shifts of tetrazole in the gas phase and in solution, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 2465-2467.
- [7] **Palmer, M. H.**, 1967. Tetrazoles, The Tauotomerism of Heterocycles 1st ed., *Edward Arnold Ltd.*, Edinburg, 287-288.
- [8] **Palmer, M. H.**, 1975. The Structure and Reactions of Heterocyclic Compounds, *Edward Arnold Ltd.*, London, 399-403.
- [9] **Gilchrist, T. L.**, 1976. Pyrazoles, Triazoles, and Tetrazoles, *Heterocyclic Chemistry*, Cambridge University Press, Cambridge, 195-204.
- [10] **Kamijo, S., Jin, T.**, 2003. Tetrazole synthesis via the palladium-catalyzed three component coupling reaction, *Molecular Diversity*, **6**, 181-192.
- [11] **Himo, F., Demko, Z. P., Sharpless, K. B.**, 2002. Mechanism of tetrazole formation by addition of azide to nitriles, *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 12210-12216.
- [12] **Herr, R. J.**, 2002. 5-Substitüted-1H-tetrazoles as carboxylic acid isosteres: Medicinal chemistry and synthetic methods, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **10**, 3379-3393.

- [13] **Aziz, A. S., Elmorsy, S. S.**, 1997. A novel approach for the synthesis of 5-substituted tetrazole derivatives from primary amides in mild one-step method, *Tetrahedron Letters*, **38(7)**, 1257-1260.
- [14] **Alterman, M., Hallberg, A.**, 2000. Fast Microwave-Assisted Preparation of Aryl and Vinyl Nitriles and Corresponding Tetrazoles from Organo-halides, *J.Org. Chem.*, **65**, 7984-7989.
- [15] **Demko, Z. P., Sharpless, K. B.**, 2001. Preparation of 5-substituted-1H-tetrazoles from nitriles in water, *J. Org. Chem.*, **66**, 7945-7949.
- [16] **Pozharskii, A. F., Soldatenkov, A. T., Katritzky, A. R.**, 1978. Heterocycles in Life and Society, *John Wiley & Sons*, New York, 15-20.
- [17] **Schonfield, K., Grimmett, M. R., Keene, B. R. T.**, 1976. The Azoles, Heteroaromatic Nitrogen Compounds, *Cambridge University Press*, Cambridge, 1-31.
- [18] **Anderson, D. W., Campbell, M. M., Malik, M.**, 1990. Tetrazolyl peptides and the tetrazole analogue of 3-aminonocardicin acid, *Tetrahedron Letters*, **31(12)**, 1755-1758.
- [19] **Dabbagh, A. H., Mansoori, Y.**, 2002. New azoic dyes containing (1H)-tetrazole and azido group, *Dyes and Pigments*, **54**, 37-46.
- [20] **Yatmirski, K. B., and Vasil'ev, V.P.**, 1960. Stability constants of complex compound consultants, *Editor*, Bureau, New York.
- [21] **Tslip, P. J., Closier, M.D., and Neville, M.C.**, 1974. *J. Med. Chem.*, **17**, no. 207.
- [22] **Rosotti, F. S. C., and Rosotti, H.**, 1961. Determination of stability constants, *McGraw Hill Book Company Inc.*, New York.
- [23] **Doğan, A.**, 2000. *Doktora tezi*, G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [24] **Gran, G.**, 1952. *Analyst*, **7**, 661.
- [25] **Rosotti, F. S. C., and Rosotti, H.**, 1965. *J. Chem. Education*, **42**, 375.
- [26] **Serjeant, E. P.**, 1984. Potentiometry and potentiometric titrations, New York.
- [27] **Sillen, L. G.**, 1956. Some graphical methods for determining equilibrium constants ii. On curve-fitting methods for two-variable data, *Acta Chem. Scand*, **186**, no. 10.
- [28] **Irwing, H. A. R. H.**, 1953. Methods for computing successive constants from experimental formation curves, *J. Chem. Soc.*,

- [29] **D. A. S. Drysen, L.G.**, 1953. Studies on the extraction of metal complex. V.Two-parameter equations for a complex formation system and their application to the two-phase distribution of metal complexes, *Acta Chem. Scand*, **663**, no. 7.
- [30] **Rosotti, F. S. C., Rosotti, H., and Sillen, L.G.**, 1956. Some graphical methods of determining equilibrium constants iii. A projection strip method for two parameter system, *Acta Chem. Scand*, **10**, 203.
- [31] **P. Büyük**, 1997. Bazı alifatik diaminlerin su-etanol karışımlarında protonasyon dengelerinin incelenmesi, *Yüksek lisans tezi*, G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [32] **Leggett, D. J.**, 1985. Computational methods for the determination of formation constants, *Plenium Press*, New York and London.
- [33] **Martell, A.E., and Motekaitis, R.J.**, 1988. The Determination and Use of Stability Constants, *VCH*.
- [34] **Demirelli, H.**, 2002. Bazı alfa-amino asitlerin salisilaldehit ile oluşturduğu schiff bazlarının oluşum, protonasyon ve Ni(II), Cu(II), Zn(II) metal iyonlarıyla oluşturduğu komplekslerin kararlılık sabitlerinin potansiyometrik metot ile tayini, *Doktora tezi*, G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [35] **Motekaitis, R. J., and Martell, A.E.**, 1982. *Can. J.Chem.*, **60**, 168-173.
- [36] **Motekaitis, R. J., and Martell, A.E.**, 1982. *Can. J.Chem.*, **60**, 2403.
- [37] **Gans, P., Sabatini, A., and Vacca, A.**, 1985. *J. Chem. Soc.*, Dalton Trans, 1195.
- [38] **Castro De, B., Lima, J. L. F. C., and Reis, S, J.**, 1995. *Pharm. Biomed. Anal.*, AP 13, 465.
- [39] **Hugo (Editor), W. B.**, 1998. *Pharmaceutical microbiology*, Blackwell Science.
- [40] **Bilgehan, H.**, 2000. Klinik mikrobiyoloji özel bakteriyoloji ve bakteri enfeksiyonları, *Barış yayınları fakülteler kitapevi*, İzmir.
- [41] **Fritz. Kayser, H.**, 2005. Medical microbiology, Thieme, Stuttgart. New York.
- [42] **Friedman, M.**, 2007. Overview of Antibacterial, Antitoxin, Antiviral and Antifungal Activities of Tea Flavanoids and Teas, *Mol. Nutr. Food Res.*, **51**, 116-134.
- [43] **Holley, A. R., and Patel, D.**, 2005. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials, *Food Micro.*, **22**, 273-292.

- [44] **Ahn, J., Grün, I.U., and Mustapha, A.,** 2007. Effects of Plant Extracts on Microbial Growth, Color Change and Lipid Oxidation in Cooked Beef, *Food Micro.*, **24**, 7-14.
- [45] **Sies, Helmut.,** 1997. Oxidative Stres: Oxidants and Antioxidants, *Experimental physiology*, **82(2)**, 291–5.
- [46] **Baillie, J. K., Thompson, A. A. R., Irving, J. B., Bates, M. G. D., Sutherland, A. I., MacNee, W., Maxwell, S. R. J., Webb, D. J.,** 2009. Oral Antioxidant Supplementation Does Not Prevent Acute Mountain Sickness: Double Blind, Randomized Placebo-Controlled Trial, *QJM*, **102(5)**, 341–8.
- [47] **Bjelakovic, G., Nikolova, D., Gluud, C.,** 2013. Meta-Regression Analyses, Meta-Analyses, and Trial Sequential Analyses of The Effects of Supplementation with Beta-Carotene, Vitamin A, and Vitamin E Singly or In Different Combinations on All-Cause Mortality: Do We Have Evidence for Lack of Harm?, *Plos One*, **8(9)**, e74558.
- [48] **Abner, EL., Schmitt, FA., Mendiando, MS., Marcum, JL., Kryscio, RJ.,** 2011. Vitamin E and All-Cause Mortality: a Meta-Analysis, *Curr Aging Sci.*, **4(2)**, 158–70.
- [49] **Bjelakovic, G., Nikolova, D., Gluud, LL., Simonetti, RG., Gluud, C.,** 2007. Mortality In Randomized Trials of Antioxidant Supplements for Primary and Secondary Prevention: Systematic Review and Meta-Analysis, *JAMA.*, **297(8)**, 842–57.
- [50] **Vinceti, M., Dennert, G., Crespi, CM., et al.,** 2014. Selenium for Preventing Cancer, *Cochrane Database Syst Rev.*, **3**, CD005195.
- [51] **Pais, R., Dumitraşcu, DL.,** 2013. Do Antioxidants Prevent Colorectal Cancer? A Meta-Analysis, *Rom. J. Intern Med.*, **51(3-4)**, 152–63.
- [52] **Cortés-Jofré, M., Rueda, JR., Corsini-Muñoz, G., Fonseca-Cortés, C., Caraballos, M., Bonfill Cosp, X.,** 2012. Drugs for Preventing Lung Cancer in Healthy People, *Cochrane Database Syst. Rev.*, **10**, CD002141.
- [53] **Jeon, YJ., Myung, SK., Lee, EH., et al.,** 2011. Effects of Beta-Carotene Supplements on Cancer Prevention: Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials, *Nutr. Cancer*, **63(8)**, 1196–207.
- [54] **Jiang, L., Yang, KH., Tian, JH., et al.,** 2010. Efficacy of Antioxidant Vitamins and Selenium Supplement in Prostate Cancer Prevention: a Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials, *Nutr. Cancer*, **62(6)**, 719–27.
- [55] **Bjelakovic, G., Nikolova, D., Simonetti, RG., Gluud, C.,** 2008. Systematic Review: Primary and Secondary Prevention of Gastrointestinal Cancers with Antioxidant Supplements, *Aliment. Pharmacol. Ther.*, **28(6)**, 689–703.

- [56] **Bardia, A., Tleyjeh, IM., Cerhan, JR., et al.,** 2008. Efficacy of Antioxidant Supplementation in Reducing Primary Cancer Incidence and Mortality: Systematic Review and Meta-Analysis, *Mayo Clin. Proc.*, **83(1)**, 23–34.
- [57] **Dabelstein, Werner., Reglitzky, Arno., Schütze, Andrea., Reders, Klaus.,** 2007. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*.
- [58] **Jensen, S. J. K.,** 2003. Oxidative Sress and Free Radicals, *Journal of Molecular Structure (Theochem)*, 666–667: 387–392.
- [59] **Yavaşer, R.,** 2011. Doğal ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması, *Yüksek lisans tezi*, A.M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- [60] **Van den Berg, R., Haenen, G. R. M. M., Van den Berg, H., Bast, A.,** 1999. Applicability of an Improved Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) Assay for Evaluation of Antioxidant Capacity Measurements of Mixtures, *Food Chemistry*, **66**, 511-517.
- [61] **Signorelli, P., and Ghidoni, R.,** 2005. Resveratrol as an Anticancer Nutrient: Molecular Basis, Open Questions and Promises, *Journal of Nutritional Biochemistry*, **16**, 449-466.
- [62] **Mathur, R., Gupta, S.K., Singh, N., Sandeep, M., Kochupillai, V., and Velpandian, T.,** 2006. Evaluation of The Effect of Withania somnifera Root Extract On Cell Cycle and Angiogenesis, *J. of Ethnopharmacology*, **105(3)**, 336-344.
- [63] **Yalçın, A., Nevruz, O., Arpacı, F., Gülhan, Ö., Hasde, M., and Beyan, C.,** 2003. *Gülhane Tıp Dergisi*, **45(2)**, 96-200.
- [64] **Kılıç, V.,** 2002. Kanserojenesis’de Ras ve P53 Proteinlerinin Rolü Üzerine Bir Çalışma, *Yüksek lisans tezi*, A.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- [65] **Gad, S.C.,** 2000. *In vitro toxicology*, Second Edition, Taylor & Francis, New York.
- [66] **Putnam, K. P., Bombick, D. W., and Doolittle, D. J.,** 2002. Evaluation of Eight In Vitro Assays for Assessing The Cytotoxicity of Cigarette Smoke Condansate, *Toxicology In Vitro*, **16**, 599-607.
- [67] **Weyermann, J., Lochmann, D., and Zimmer, A.,** 2005. A Practical Note On The Use of Cytotoxicity Assays, *International Journal of Pharmaceutics*, **288**, 369-376.
- [68] **Fent, K.,** 2001. Fish Cell Lines as Versatile Tools in Ecotoxicology: Assessment of Cytotoxicity, Cytochrome P4501A Induction Potential and Estrogenic Activity of Chemicals and Environmental Samples, *Toxicology in Vitro*, **15**, 477-488.

- [69] **Lukowska-Chojnacka, E., Bernaś, U., and Pleniewicz, J.,** 2012. Lipase-catalyzed enantioseparation of alcohols containing a tetrazole ring, *Tetrahedron: Asymmetry*, **23**, 136-143.
- [70] **Dhayanithi, V., Syed, S. S., and et al.,** 2011. Synthesis of selected 5-thio-substituted tetrazole derivatives and evaluation of their antibacterial and antifungal activities, *J. Serb. Chem. Soc.*, **76(2)**, 165-175.
- [71] **Boraei, A. A. A.,** 2001. Acidity constants of some tetrazole compounds in various aqueous-organic solvent media, *J. Chem. Eng. Data*, **46**, 939-943.
- [72] **Patil, B. U., Kumthekar, R. K., and Nagarkar, M. J.,** 2012. A novel method for the synthesis of 5-substituted 1H-tetrazole from oxime and sodium azide, *Tetrahedron Letters*, **53**, 3706-3709.
- [73] **Altland, W. H.,** 1976. Smiles rearrangement of 2-Tetrazolylthio-3-aminopyridines, *J. Org. Chem.*, Vol. **41**, No. 21, 3395-3399.
- [74] **Lieber, E., and Ramachandran, J.,** 1959. Isomeric 5-(substituted)aminothiazole and 1-substituted-tetrazolinethiones, *Can. J. Chem.*, Vol. **37**, 101-109.
- [75] **Han, S. Y., Lee, W. J., Kim, H. J., and et al.,** 2012. A facile one-pot synthesis of 1-Substituted Tetrazole-5-thiones and 1-Substituted 5-Alkyl(aryl)sulfanyltetrazoles from Organic Isothiocyanates, *Bull. Korean Chem. Soc.*, Vol. **33**, No. 1, 55-59.
- [76] **Schnute, M. E., O'Brien, P. M., Narha, J., and et al.,** 2010. Discovery of (pyridin-4-yl)-2H-tetrazole as a novel scaffold to identify highly selective matrix metalloproteinase-13 inhibitors for the treatment of osteoarthritis, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **20**, 576-580.
- [77] **Wang, E. C., and Lin, G. J.,** 1998. A new one pot method for the conversion of aldehydes into nitriles using hydroxyamine and phthalic anhydride, *Tetrahedron Letters*, **39**, 4047-4050.
- [78] **Figueiredo, J. A., Ismael, M. I., Pinheiro, J. M., and et al.,** 2012. Facile synthesis of oxo-/thioxopyrimidines and tetrazoles C-C linked to sugars as novel non-toxic antioxidant acetylcholinesterase inhibitors, *Carbohydrate Research*, **347**, 47-54.
- [79] **Jiménez, V., and Alderete, J. B.,** 2006. Complete Basis Set Calculations on The Tautomerism and Protonation of Triazoles and Tetrazole, *Journal of Molecular Structure: Theochem.*, **775**, 1-7.
- [80] **Kacar, O., Adiguzel, Z., Yilmaz, V. T., and et al.,** 2014. Evaluation of the molecular mechanisms of a palladium(II) saccharinate complex with terpyridine as an anticancer agent, *Anti-Cancer Drugs*, **25(1)**, 17-29.

- [81] **Kemer, G.**, 2007. Bazı Yeni 1,2,4-Triazol Türevlerinin Sentezi, Antioksidan ve Asitlik Özelliklerinin İncelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, K.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- [82] **Perrin, D. D., and Armarego, W. L. F.**, 1966. Purification of laboratory chemicals, vol. **148**, *Pergamon Press*.
- [83] **R. H.**, 1978. The study of ionic equilibria, *Longman*, London and New York.
- [84] **Oyaizu, M.**, 1986. Studies on Product of Browning Reaction Prepared From Glucosamine, *Japan, Nutri.*, **44**, 307.
- [85] **Blois, M. S.**, 1958. Antioxidant Determinations By The Use of a Stable Free Radical, *Nature*, **26**, 1199.
- [86] **Dinis, T. C. P., Madeira V. M. C., and Almeida, L. M.**, 1994. Action of Phenolic Derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as Inhibitors of Membrane Lipid Peroxidation and as Peroxyl Radical Scavengers, *Arch. Biochem. Biophys.*, **315**, 161.
- [87] **Choudhary, I. M. ve Thomsen, W. J.**, 2001. Bioassay Techniques For Drug Development, *Harwood Academic Publishers*, 8-10.
- [88] **Gündüz T.**, 1998. Susuz Ortam Reaksiyonları, Birinci baskı, Gazi Büro Kitabevi.
- [89] **Yılmaz, İ.**, 2002. Bazı schiff bazları ile metal komplekslerinin sentezi, protonasyon ve kararlılık sabitlerinin potansiyometrik metotla tayini, *Doktora Tezi*, F.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- [90] **Ekici, Ö.**, 2010. Yeni tiyazolidin-4-on türevlerinin sentezi, karakterizasyonu ve protonasyon sabitlerinin tayini, *Yüksek Lisans Tezi*, F.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- [91] **Bae. S. H., and Suh. H. J.**, August 2007. Antioxidant Activities of Five Different Mulberry Cultivars in Korea, *LWT - Food Science and Technology*, Volume 40, Issue **6**, 955-962.
- [92] **Meir, S., Kanner, J., Akiri B., and Hadas, S. P.**, 1995. Determination and Involvement of Aqueous Reducing Compounds in Oxidative Defense Systems of Various Senescing Leaves, *J. Agri. Food. Chem.*, **43**, 1813.
- [93] **Soares, J. R., Dinis, T. C. P., Cunha A. P., and Ameida, L. M.**, 1997. Antioxidant Activities of Some Extracts of Thymus Zygis, *Free Raical Res.*, **26**, 469.
- [94] **Duh, P. D., Tu Y. Y., and Yen, G. C.**, 1999. Antioxidant Activity of Water Extract of Harng Jyur, (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Lebn. Wissen. Techno.*, **32**, 269.

- [95] **Yamaguchi, F., Ariga, T., Yoshimira Y., and Nakazawa, H.,** 2000. Antioxidative and Anti-glycation Activity of Garcinol From *Garcinia Indica* Fruit Rind, *J. Agri. Food. Chem.*, **48**, 180.

## ÖZGEÇMİŞ

1985 Elazığ doğumluyum. Üniversite öncesi ilk ve ortaöğrenimimi farklı yerlerde tamamladım. İlköğrenimimi, Dört Yol Atatürk İlkokulu, Elazığ Fırat İlkokulu ve İzmir Dokuz Eylül İlköğretim okulunda tamamladım. Orta öğrenimimi, Kars Sarıkamış Şehit Binbaşı Bedir Karabıyık Anadolu Lisesinde başlayıp, Konya Selçuklu Anadolu Lisesinde 2003 yılında tamamladım. 2008 yılında Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünü bitirdim. Aynı yıl Eylül ayında Fen Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Bilim Dalında başladığım Yüksek Lisans programını 2010 yılında tamamladım. 2011 yılında da Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Bilim Dalında Doktora programına başladım.

Y. Kim. Öner EKİCİ