

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

**(1*R*,2*R*)-ETAN-1,2-DİOL TİYADİYAZOL TÜREVLERİNİN
SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ**

**DOKTORA TEZİ
Arzu KARATEPE**

KİMYA BÖLÜMÜ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ahmet ÇETİN**

BİNGÖL-2020



T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**(1R,2R)-ETAN-1,2-DİOL TİYADİYAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ**

Prof. Dr. Ahmet ÇETİN danışmanlığında, Arzu KARATEPE tarafından hazırlanan bu çalışma 17.09.2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı Organik Kimya Bilim Dalı'nda Doktora Tezi **olarak oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Metin KOPARIR İmza :
Üye : Prof. Dr. Ahmet ÇETİN İmza :
Üye : Doç. Dr. Sevgi DURNA DAŞTAN İmza :
Üye : Doç. Dr. Fethi Ahmet ÖZDEMİR İmza :
Üye : Dr. Öğr. Üyesi Gülden KOÇAK İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulunun/...../..... tarih ve/.....
nolu kararı ile onaylanmıştır.

Doç. Dr. Zafer ŞİAR
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ

Doktora tezimi planlayıp yöneten, bilgi ve tecrübesi ile çalışmalarına yön veren, tezimin her aşamasında anlayışı ile yanımda olan kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet ÇETİN'e sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Araştırmalarım süresince desteğini esirgemeyen hocam Prof. Dr. Metin KOPARIR'a, Doç. Dr. Serhat KESER'e ve Dr. Cahit ÖREK'e, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Biyoloji bölümü öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Sevgi DURNA DAŞTAN'a; deneysel çalışmalarında göstermiş oldukları desteklerinden dolayı Fırat Üniversitesi Biyoloji Bölüm Öğretim Üyesi Prof. Dr. Sevda KIRBAĞ'a ve asistanı Şule İNCİ'ye teşekkürü borç bilirim.

Bu zamana kadar emeklerini ve dualarını esirgemeyen, canım annem ve canım babama sonsuz şükranlarımı sunarım.

Aynı zamanda bu zorlu süreçte desteklerini eksik etmeyen ve her daim yanımda olan eşim ve çocuklarıma da çok teşekkür ederim, iyiki varsınız.

Arzu KARATEPE
Bingöl 2020

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
TABLolar LİSTESİ	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1. Genel Bilgiler	3
2.2. Beşli Halkada Üç Adet Heteroatom İçeren Bileşikler.....	10
2.2.1. 1,3,4-tiyadiazoller	10
2.2.2. Elde Edilişleri.....	12
2.2.2.1. Açilhidrazinlerden	12
2.2.2.2. Tiyosemikarbazit ve Türevlerinden.....	13
2.2.2.3. Ditiyokarbazik Asit Tuzları ve Esterlerinden.....	15
2.2.2.4. Tiyohidrazitlerden Hareketle Sentezleri.....	15
2.2.2.5. Bitiyoüreden Hareketle Sentezleri.....	16
2.2.2.6. 1,3,4-Oksadiazollerden Hareketle Sentezleri	16
2.2.2.7. 4-Amino-5-merkpto-1,2,4-triazollerden Hareketle Sentezleri	16
2.2.2.8. Diğer Yöntemler ile 1,3,4-tiyodiazol Sentezi.....	17
2.3. Kimyasal Özellikleri.....	17
2.3.1. Sübstitüsyon Reaksiyonları	17
2.3.2. Siklizasyon Reaksiyonları	18
2.3.3. Kondenzasyon Reaksiyonları	18
2.4. Spektral Özellikleri.....	19

2.4.1. FT-IR Spektrumları.....	19
2.4.2. ¹ H-NMR Spektrumları	19
2.4.3. ¹³ C-NMR Spektrumları	19
2.5. Biyolojik Özellikleri.....	20
2.5.1. Antifungal Aktivite	20
2.5.2. Antibakteriyel Aktivite	21
2.5.3. Antiinflamatuvar ve Analjezik Aktivite.....	22
2.5.4. Antiviral Aktivite	23
2.5.5. Antikanserojen Aktivite	24
2.5.6. Antikonvülsan Aktivite	25
2.5.7. Antidepresan Aktivite	26
2.5.8. Antioksidan Aktivite	27
2.6. Serbest Radikaller, Oksidatif Stres ve Antioksidanlar	28
2.6.1. Lipit Peroksidasyonu ve Malondialdehit (MDA)	30
2.6.2. E Vitamininin Antioksidan Etkisi	31
2.6.3. A Vitamininin Antioksidan Etkisi.....	32
2.6.4. C Vitamininin Antioksidan Etkisi.....	32
2.7. Kanser.....	33
2.7.1. Apoptoz.....	35
2.7.2. Kolon Kanseri	35
3. MATERYAL VE YÖNTEM	36
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	36
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	36
3.2.1. Reaktifler.....	36
3.2.2. Çözücüler	37
3.3. Deneysel Kısım	37
3.3.1. (2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-2,3-dihidroksibütandihidrazit Sentezi (1).....	37
3.3.2. 2,2'-[(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(N-fenilhidrazin-1 karbotiyoamit) Sentezi (L1)	37
3.3.3. 2,2'-[(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(N-p-tolilhidrazin-1- karbotiyoamit) Sentezi (L2)	38

3.3.4. 2,2'-[(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(N-p-metoksifenil hidrazin-1-karbotiyomit) Sentezi (L3)	38
3.3.5. 2,2'-[(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis (N-alilhidrazin-1-karbotiyomit) Sentezi (L4)	39
3.3.6. 2,2'-[(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis (N-etilhidrazin-1-karbotiyomit) Sentezi (L5)	39
3.3.7. (1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1,2-bis[5-(fenilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol Sentezi (L6).....	40
3.3.8. (1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1,2-bis[5-(p-tolilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol Sentezi (L7).....	40
3.3.9. (1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1,2-bis[5-(p-metoksifenilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol Sentezi (L8).....	41
3.3.10. (1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1,2-bis[5-(alilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol Sentezi (L9).....	41
3.3.11. (1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1,2-bis[5-(etilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol Sentezi (L10).....	42
3.4. Antioksidan Aktivite	42
3.4.1. DPPH• Radikali Giderme Aktivitesi.....	42
3.4.2. ABTS•+ Yok Edici Testi	43
3.4.3. Hidroksil Radikali Yok Etme Aktivitesi.....	44
3.4.4. Test Bileşiklerinin <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Hücrelerindeki MDA ve Antioksidan Vitamin Düzeylerine Etkisi.....	44
3.4.4.1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Hücrelerindeki MDA ve C Vitamini Analizi	45
3.4.4.2. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Hücrelerindeki A ve E Vitamini Analizi	45
3.5. Hücre Kültürü Çalışmaları	45
3.5.1. Kullanılan Kimyasallar	45
3.5.2. Hücre Kültürleri	46
3.5.3. Hücre Sayımı.....	46
3.5.4. MTT Testi	46
3.5.5. Hücre Canlılık Testi	47
3.5.6. Kaspaz-3 Aktivitesinin Ölçümü.....	47

3.5.7. Trans-well Migration Testi	47
3.5.8. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) Testi.....	48
3.6. Antimikrobiyal Aktivite.....	48
3.6.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar	48
3.6.2. Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)	48
3.7. İstatistiksel Analiz	49
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	50
4.1. 2,2'-[(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(<i>N</i> -fenilhidrazin-1-karbotiyoamid) Karakterizasyonu (L1).....	50
4.2. 2,2'-[(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(<i>N</i> -p-tolilhidrazin-1-karbotiyoamid) Karakterizasyonu (L2).....	52
4.3. 2,2'-[(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(<i>N</i> -p-metoksifenilhidrazin-1-karbotiyoamid) Karakterizasyonu (L3)	54
4.4. 2,2'-[(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(<i>N</i> -alilhidrazin-1-karbotiyoamid) Karakterizasyonu (L4)	56
4.5. 2,2'-[(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(<i>N</i> -etilhidrazin-1-karbotiyoamid) Karakterizasyonu (L5)	58
4.6. (1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1,2-bis[5-(fenilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol'un Karakterizasyonu (L6).....	60
4.7. (1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1,2-bis[5-(p-tolilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol'un Karakterizasyonu (L7).....	62
4.8. (1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1,2-bis[5-(p-metoksifenilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol'un Karakterizasyonu (L8)	64
4.9. (1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1,2-bis[5-(alilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol'un Karakterizasyonu (L9).....	66
4.10. (1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1,2-bis[5-(etilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol'un Karakterizasyonu (L10).....	68
4.11. Bileşiklerin Antiradikal Aktivite Sonuçları.....	69
4.12. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Örneklerindeki MDA ve Vitamin Düzeyleri.....	70
4.13. Sentezlenen Bileşiklerin HT29 Hücrelerinde Sitotoksosite değerlerinin belirlenmesi	71

4.13.1. Sentezlenen Bileşiklerin HT29 Hücrelerinde Zamana Bağlı Hücre büyümesi	72
4.13.2. Sentezlenen Bileşiklerin HT29 Hücrelerinde Kaspaz-3 Aktivitesi.....	73
4.13.3. Sentezlenen Bileşiklerin HT29 Hücrelerinde 8-OHDG Düzeyleri.....	74
4.13.4. Sentezlenen Bileşiklerin HT29 Hücrelerinde Hücre Migrasyonu	75
4.14. Antimikrobiyal Aktivite Bulguları	76
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	86
KAYNAKLAR	89
ÖZGEÇMİŞ	107

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

ABTS	: 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
ATCC	: Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
BHT	: Bütillenmiş Hidroksi Toluen
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle Medium
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
FBS	: Fetal sığır serumu
HT29	: İnsan Kolon Kanseri Hücresi
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IC50	: %50 inhibisyon sağlayan ekstrakt konsantrasyonu
MDA	: Malondialdehit
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
MTT	: (3-[4,5-dimetiltiyazol-2-y1]-2,5-difeniltetrazolyum bromür)
PBS	: Fosfat Tamponu
TBA	: Tiyobarbutirik Asit
TCA	: Triklor Asetik Asit

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Klinikte kullanılan önemli bazı azot antifungaller.....	4
Şekil 2.2. Oksidatif stresin hücre yapısına etkisi	29
Şekil 2.3. Normal hücrelerin kanser hücrelerine dönüşümü (Karsinogenez)	34
Şekil 3.1. DPPH radikal aktivite (L).	43
Şekil 3.2. DPPH radikal aktivite (L) 30 dak sonra	43
Şekil 4.2. (L1) molekülünün ¹ H-NMR spektrumu.....	51
Şekil 4.3. (L1) molekülünün ¹³ C-NMR spektrumu.....	51
Şekil 4.4. (L2) molekülünün FT-IR spektrumu	52
Şekil 4.5. (L2) molekülünün ¹ H-NMR spektrumu.....	53
Şekil 4.6. (L2) molekülünün ¹³ C-NMR spektrumu.....	53
Şekil 4.7. (L3) molekülünün FT-IR spektrumu	54
Şekil 4.8. (L3) molekülünün ¹ H-NMR spektrumu.....	55
Şekil 4.9. (L3) molekülünün ¹³ C-NMR spektrumu.....	55
Şekil 4.10. (L4) molekülünün FT-IR spektrumu	56
Şekil 4.11. (L4) molekülünün ¹ H-NMR spektrumu.....	57
Şekil 4.12. (L4) molekülünün ¹³ C-NMR spektrumu.....	57
Şekil 4.13. (L5) molekülünün FT-IR spektrumu	58
Şekil 4.14. (L5) molekülünün ¹ H-NMR spektrumu.....	59
Şekil 4.15. (L5) molekülünün ¹³ C-NMR spektrumu.....	59
Şekil 4.16. (L6) molekülünün FT-IR spektrumu	60
Şekil 4.17. (L6) molekülünün ¹ H-NMR spektrumu.....	61
Şekil 4.18. (L6) molekülünün ¹³ C-NMR spektrumu.....	61
Şekil 4.19. (L7) molekülünün FT-IR spektrumu	62
Şekil 4.20. (L7) molekülünün ¹ H-NMR spektrumu.....	63
Şekil 4.21. (L7) molekülünün ¹³ C-NMR spektrumu.....	63
Şekil 4.22. (L8) molekülünün FT-IR spektrumu	64
Şekil 4.23. (L8) molekülünün ¹ H-NMR spektrumu.....	65
Şekil 4.24. (L8) molekülünün ¹³ C-NMR spektrumu.....	65

Şekil 4.25. (L9) molekülünün FT-IR spektrumu	66
Şekil 4.26. (L9) molekülünün ¹ H-NMR spektrumu.....	67
Şekil 4.27. (L9) molekülünün ¹³ C-NMR spektrumu.....	67
Şekil 4.28. (L10) molekülünün FT-IR spektrumu	68
Şekil 4.29. (L10) molekülünün ¹ H-NMR spektrumu.....	69
Şekil 4.30. (L10) molekülünün ¹³ C-NMR spektrumu.....	69
Şekil 4.31. 1,2-diol ve tiyadiazol bileşikleriyle muamele edilmiş <i>Saccharomyces cerevisiae</i> maya hücrelerinin MDA düzeyleri	71
Şekil 4.32. Bileşiklerle muamele edilmiş <i>Saccharomyces cerevisiae</i> maya hücrelerinin Vitamin E değerleri	71
Şekil 4.33. HT29 hücrelerinde bileşiklerin Hücre büyüme görüntüsü.....	72
Şekil 4.34. HT29 hücrelerinde bileşiklerin hücre büyüme grafiği	73
Şekil 4.35. HT29 hücrelerinde bileşiklerin Kaspaz-3 aktivite grafiği	74
Şekil 4.37. HT29 hücrelerinde bileşiklerin hücre migrasyon görüntüsü	75
Şekil 4.38. HT29 hücrelerinde bileşiklerin Hücre migrasyon grafiği	76

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. Endojen ve Eksojen Antioksidanlar.....	30
Tablo 4.1. L serisi bileşiklerin ABTS ⁺ , OH [*] , DPPH [*] radikal yok etme aktiviteleri	70
Table 4.2. Bileşiklerle muamele edilmiş <i>Saccharomyces cerevisiae</i> maya hücrelerinin MDA ve vitamin A, E, C değerleri	70
Tablo 4.3. HT29 hücrelerinde bileşiklerin IC50 düzeyleri	72
Tablo 4.4. Test bileşiklerin antifungal ve antimikrobiyal aktivite sonuçları	77

(1R,2R)-ETAN-1,2-DİOL TİYADİAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ

ÖZET

Bu çalışmada yeni 1,2-diol ve tiyadiazol türevleri sentezlendi ve kimyasal yapıları FT-IR, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR gibi teknikler kullanılarak aydınlatıldı.

Sentezlenen türevlerin *in vitro* antioksidan aktiviteleri; radikal yakalama potansiyelleri ve *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinde malondialdehit (MDA) ve antioksidan vitaminlerin miktarı üzerine etkisinin analizi biyokimyasal yöntemlerle araştırıldı. Deneysel çalışmalar sonucunda kullanılan bileşiklerin *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerindeki MDA ve E vitamini düzeylerini etkilediği görüldü. L9 kodlu tiyadiazol bileşiği oksidatif stres oluşturarak MDA düzeyinde kontrole göre anlamlı şekilde artma oluştururken, Vitamin E düzeyinde azalma meydana getirmiştir. L2 ve L8 kodlu bileşiklerin ise hem antiradikal testlerde hemde *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerindeki çalışma sonuçlarına göre antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edildi.

Ayrıca söz konusu türevler, *in vitro* koşullarda HT 29 (insan kolon adenokarsinoma) hücre hattı üzerinde denenerek antitümör özellikleri araştırıldı.

In vitro çalışmalarda, L4 ve L7 kodlu bileşiklerin HT 29 hücreleri canlılığı üzerinde kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olacak şekilde, kanserli hücrelerin çoğalmasını önlediği belirlendi.

Antimikrobiyal aktivite denemelerinde bütün maddelerin kullanılan mikroorganizmalar üzerinde belirgin bir etkiye sahip oldukları belirlendi. Bileşiklerin *in vitro* şartlarda önemli ve farklı biyolojik aktivitelere sahip olduğu tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: 1,2-diol, 1,3,4-tiyadiazol, antioksidan, antitümör, antimikrobiyal.

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF (1*R*,2*R*)-ETHAN-1,2-DIOL THIADIAZOLE DERIVATIVES

ABSTRACT

In this study, new 1,2-diol and thiadiazole derivatives were synthesized and their structures were illuminated using techniques such as FT-IR, ¹H-NMR and ¹³C-NMR.

In vitro antioxidant activities of synthesized derivatives; radical capture potentials and analysis of the effect of *Saccharomyces cerevisiae* cells on malondialdehyde (MDA) and the amount of antioxidant vitamins were investigated by biochemical methods. Compounds used as a result of experimental studies were found to affect MDA and vitamin E levels in *Saccharomyces cerevisiae* cells. L9 coded thiadiazole compound produced oxidative stress and significantly increased MDA level compared to control, while it decreased Vitamin E level. It can be said that L2 and L8 coded compounds have shown antioxidant activity in both antiradical tests and *Saccharomyces cerevisiae* cells.

In addition, the derivatives were tested on HT 29 (human colon adenocarcinoma) cell line *in vitro* conditions and their antitumor properties were investigated.

In *in vitro* studies, it was determined that the compounds coded L4 and L7 prevent the proliferation of cancerous cells, which is statistically significant over HT 29 cells viability compared to the control group.

In antimicrobial activity trials, all substances were determined to have a significant effect on the microorganisms used. It can be said that the compounds have shown significant and various biological activities in *in vitro* conditions.

Keywords: 1,2-diol, 1,3,4-thiadiazole, antioxidant, antitumour, antimicrobial.

1. GİRİŞ

Heteroatom içeren polifonksiyonel halkalı bileşiklerin sentezi, antimikrobiyal ve biyolojik aktiviteye sahip olmaları nedeniyle birçok araştırmacı için önemli alanlardan birini oluşturmaktadır. Bu tür bileşiklerden 1,3,4-tiyadiazoller ve türevlerinin biyolojik aktivitelerini oldukça çeşitli olduğu bilinmektedir.

Günümüzde, yoğun biyolojik aktivite göstermeleri nedeniyle azot içeren heterosiklik moleküller üzerine ilgi gittikçe artmaktadır. Tiyadiazoller biyolojik potansiyeli olan bileşiklerdir. Son yıllarda tiyadiazoller antitüberküler, anti-enflamatuar, antimalaryal, antikanser ve analjezik ilaçların yapısında bulunduğu için tıp alanında oldukça büyük uygulama alanı bulmuştur.

Tiyosemikarbazit gruplarının halkalaşmasından oluşan 1,3,4-tiyadiazollerin sahip olduğu biyolojik özellikler, bu bileşiklerin yeni türevlerinin sentezlenmesini artırmış ve farmasötik kimyada geniş bir uygulama alanı bulmasına yol açmıştır.

Tez çalışmamızda; biyolojik aktifliği yüksek 1,2-diol içeren yeni tiyosemikarbazit ve bunların halkalaşmasından oluşan 1,3,4-tiyadiazol türevleri sentezlendi ve bu bileşiklerin biyoaktivitesi araştırılarak bu konudaki çalışmalara katkıda bulunulmaya çalışıldı. Bu çalışmada sentezlenen bileşiklerinin karakterizasyonu için erime noktası, polarimetre, ¹³C-NMR, ¹H-NMR ve FT-IR spektrofotometre gibi çeşitli analiz yöntemleri kullanılmıştır.

Biyolojik aktivite testleri için sentezlenen yeni türevler, ABTS•+, DPPH ve hidroksil radikali yakalama aktivitesi ve *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinde Malondialdehit (MDA) ve antioksidan vitamin tayini gibi çeşitli in vitro yöntemler kullanılarak antioksidan özellikler incelendi. Ayrıca HT-29 insan kolon kanseri hücresi ve çeşitli

bakteri maya hücreleri kullanılarak *in vitro* antitümör ve antimikrobiyal özellikleri araştırıldı.

Son yıllarda 1,3,4-tiyadiazol ve 1,2-diol ile ilgili yapılan sentez ve biyolojik etkilerinin araştırılması çalışmaları önem kazanmıştır. Sentezlenen türevlerin literatüre ilk defa kazandırılması ve biyolojik aktivitelerinin incelenmesi çalışmayı özgün kılmaktadır. Çalışmamızda kullanılan bileşiklerin yüksek oranda biyolojik aktiviteye sahip olması durumunda daha ileri araştırmalarla ilaç sektöründe değerlendirilebileceği ve elde edilen bilgilerin literatüre kazandırılması önem arz etmektedir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Genel Bilgiler

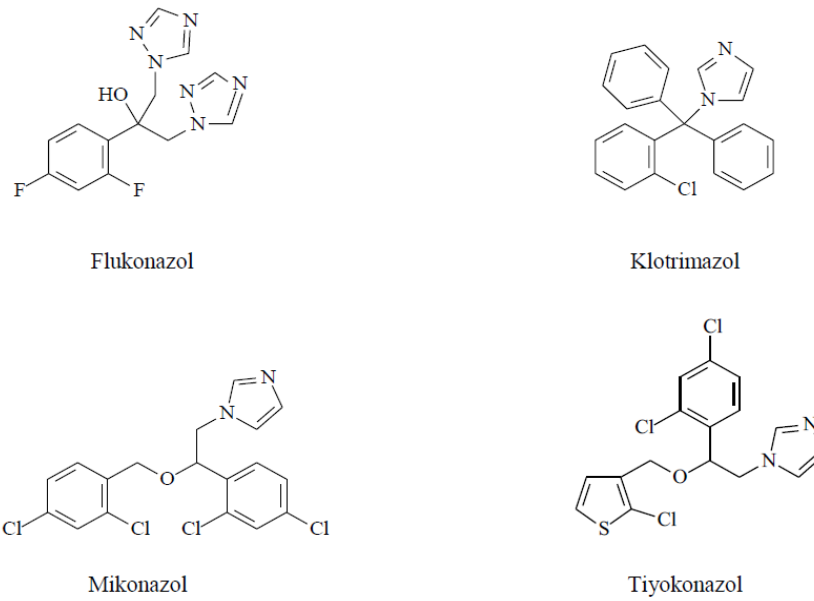
İnorganik ve organometalik bileşiklerin farmakolojik özellikleri ve etki mekanizmalarının kimyasal temellerinin incelenmesi, ilaç araştırmalarının ilk aşamaları için çok önemlidir (Bakhtiar ve ark., 1999).

Farklı farmakolojik özellikleri nedeniyle, azot ve kükürt bazlı heterosiklik bileşikler piyasada bulunan birçok ilaçta bulunmakta ve araştırmacılar tarafından çeşitli hastalıklar ve yeni ilaç keşifleri için son yıllarda daha fazla önem arz etmektedir. Literatür araştırması, çok çeşitli antibakteriyel ve diğer biyoaktiviteler için birçok indazol ve karbotiyoamit türevinin rapor edildiğini göstermiştir (Zhang ve ark., 2018; Murugavel ve ark., 2020). Tiyadiazol türevleri ve Schiff bazları da bu sınıf bileşikler olup, sahip oldukları birçok biyolojik ve farmakolojik aktivitelerinden dolayı geniş bir şekilde araştırılmaktadır.

Tiyadiazol türevi bileşiklerin; antimikrobiyal (Iizawa ve ark., 1993), antitüberküloz (Oruc ve ark., 2004), antioksidan (Foroumadi ve ark., 2003), antiinflammatuar (Kamal ve ark., 2006), antikonvulsan (Mullick ve ark., 2011), antidepresan and aniksolitik (Clerici ve ark., 2001), antihipertensif (Hasui ve ark., 2011), antikanser (Zheng ve ark., 2008) ve antifungal aktiviteleri (Chen ve ark., 2007) çalışılmıştır. Yine bu tür bileşiklerin lokal anestezi aktivite (Mazzone ve ark., 1993), kas gevşetici etkileri, sinir sistemi depresanı (Flaherty ve ark., 1996; Gravier ve ark., 1992), sitotoksikite ve *in vitro* antitüberküloz aktiviteleri araştırılmıştır (Costa ve ark., 1995; Foroumadi ve ark., 2001).

Heterosiklik bileşikler; antifungal, antibakteriyel gibi sahip oldukları pek çok biyolojik aktiviteleri sebebi ile en aktif gruplardan kabul edilirler. Hücre reseptörlerine ve enzimlere bağlanabilmelerini sağlayan azot atomu elektronca zengin olduğundan, heterosiklik azot bileşikleri ilgi odağı olmaya devam etmektedir. Son yıllarda çeşitli

biyolojik aktiviteye sahip olduğu görülen birçok azot bileşikleri sentezlenmiştir. Özellikle flukonazol, tiyokonazol, mikonazol, klotrimazol, itrakonazol ve linezolid gibi bazı azot türevleri klinikte antifungal aktiviteleri için kullanılmaktadır (Şekil 2.1). Hücre zarı biyosentezinin önemli bir basamağı olan ergosterol sentezinin inhibe edilmesi ile mantarları yok etme etkisi gösteren antifungal aktivite mekanizması azot bileşiklerinin en önemli aktivitelerindendir (Hegemann ve ark., 1993).



Şekil 2.1. Klinikte kullanılan önemli bazı azot antifungaller

Tiyadiazol, oksadiazol, tiyazol, oksazol ve imidazol gibi 5 üyeli heterosiklik halkayapısında ki bileşikler benzer biyolojik aktivite gösterebilirler. Önemli antimikrobiyal ve antiparazitik aktiviteleri tiyadiazol halkası içeren bileşiklerin sentezini ve kullanımını artırmıştır (Li ve ark., 2013).

Bazı doğal ürünler enantiyomerik olarak saf 1,2-diollerini içerir ve bu moleküller biyolojik olarak aktif bileşiklerin organik sentezinde değerli ara maddelerdir (Roa ve ark., 1989). Bunlar kolayca kiral epoksitlere (Kolb ve Sharpless 1992), aziridinlere ve amino alkollere (Lohray ve Ahuja 1991, Nicolaou ve ark., 2002) dönüştürülebilirler. Ayrıca, 1,2-diol işlevselliği bir dizi sentetik ve farmasötik ara maddede bulunur (Bian ve ark., 1992; Nelson ve ark., 1977; Parida ve ark., 1991).

Çeşitli 1,2-diollerden 1-fenil oktadekan-1,2-diol (Blaizot ve Mellier, 1928), hidrobenzoin (Li ve ark., 2004) ve 1,2-dihidro asenaftilendiol (Moriconi ve ark., 1959), yine rasem 1-(4-metilfenil)tridekan-1,2-diol, 1-(4-metoksifenil) tetradekan-1,2-diol, 1-(2-tiyofenil) hegzadekandekan-1,2-diol ve 1-(2-naftil)tridekan-1,2-diol gibi türevler 1,2-diollere örnek olarak daha önce çeşitli yöntemlerle sentezlenmişlerdir. Yine kiral 1,2-diollerden hidrobenzoin (Li ve ark., 2006) ve 1,2-dihidro asenaftilendiol (Moriconi ve ark., 1959) daha önce farklı yöntemlerle sentezlenmişlerdir.

1,3,4-tiyadiazol halkası içeren bileşik ilk defa 1894 yılında Pulvermacher (Pulvermacher 1894) tarafından 2 farklı yöntem ile sentezlenmiştir. Daha sonra 1896 yılında 2-amino-, 2-amino-5-metil, 2-fenilamino-5-fenil-1,3,4-tiyadiazol bileşikleri aynı sentez yöntemleri ile Freund ve Meinecke (Freund ve Meinecke 1896), Markwald ve Bott (Marckwald ve Bott 1896) tarafından sentezlenmiştir.

1901 yılında 1,3,4-tiyadiazol türevi bileşikler, 4-fenilbenzaltiyosemikarbazon'un demir (III) klorür ile oksidasyonu sonucunda kazanılmışlardır (Young ve Eyre 1901). 1942 yılında Arnold (Arnold 1942), tiyosemikarbazid'i, hidnokarpik asit klorür ile tepkimeye sokarak 2-norhidnokarpil-5-amino-1,3,4-tiyadiazol elde etmiştir. 1949 yılında Hoggart, 4-ariltiyosemikarbazidin fosforik asit ya da sülfürik asit ile tepkimesinden 2-amino-5-aril-1,3,4-tiyadiazol elde etmiştir (Hoggarth 1949). 2,5-disübstitüe-1,3,4-tiyadiazol bileşikler, tiyosemikarbazidlerin asit katalizörlüğünde çeşitli ortoesterlerin etanollü ortamda reaksiyonu sonucunda kazanılmışlardır (Coburn ve ark., 1973).

Tetrazollerin isotiyosiyanat ve tiyokarboksi asit klorür gibi elektrofilik ajanlarla ısıtılarak (Huisgen ve ark., 1961), tiyosemikarbazonlar potasyumferrisiyanat veya amonyumferrisülfat ile reaksiyona sokularak 1,3,4-tiyadiazol yapısında bileşikler elde edilebilmiştir (Martvon ve Stankovsky 1980). Rollas, 2-alkil/arilamino-5-[p-(1-fenil-3,5-dimetil-4-(1H)-pirazolilazo)-fenil]-1,3,4-tiyadiazollerini etanollü ortamda hidrazin hidrat ile katalizörsüz olarak redüksiyona uğratarak 2-(4-aminofenil)-5-alkil/arilamino-1,3,4-tiyadiazol yapısındaki bileşikler ilk kez sentezlemiştir (Rollas 1985). Foroumadi ve ark., 2-amino-5-substitüe-1,3,4-tiyadiazollerini tiyosemikarbazonları amonyumferrisülfat ile ve o/m/p-nitrobenzoik asitleri, tiyosemikarbazid ve fosforoksiklorür ile ısıtarak karşı gelen

ürünleri elde etmişlerdir (Foroumadi ve ark., 1999). 1,3,4-tiyadiazol yapısında bileşiklerini sentezlemek için farklı kimyasal yapılara sahip başlangıç maddeleri de kullanılmaktadır.

Kurzer, N-tiyobenzamidoguanidin'i elde etmek için, aminoguanidini karboksimetil ditiyobenzoat ile muamele etmiş, bu bileşiğin de hidroklorik asit ile reaksiyonu sonucunda 2-amino-5-fenil-1,3,4-tiyadiazol; asetik anhidrit reaksiyonuyla da 2-asetilamino-5-fenil-1,3,4-tiyadiazol kazanmıştır (Kurzer ve ark., 1961). Le ve ark., 5-sübstitüe tetrazollerini Appel tuzu ile muamele ederek hidrazonil klorür bileşiğini elde etmişler, bu bileşiği trifenil fosfin ile reaksiyona sokarak 1,3,4-tiyadiazollerini elde etmişlerdir (Le ve ark., 2000). Naglaa ve ark., konvansiyonel ve ultrasonik irradasyon koşullarında 1-metil-5-okso-3-fenil-2-pirazolin-4-tiyokarboksianilidi etanollü ortamda, trietilamin varlığında hidrojen halojenür ya da N,N'-difenil-oksalodi-hidrazonil diklorür ile muamele ederek sübstitüe 1,3,4-tiyadiazol veya bis(1,3,4-tiyadiazol) bileşiklerini kazanmışlardır (Naglaa ve ark., 2009).

Literatür araştırmamız sonucunda, 1,4-disübstitüe tiyosemikarbazidlerden hareketle 1,3,4-tiyadiazollerin sentezlenmesinde siklizasyon ajanı olarak genellikle asetik asit (Bakhite ve Radwan 1999), asetil klorür (Pulvermacher 1894), asit klorürleri (Arnold 1942; Clark ve ark., 1946.), hidroklorik asit (Dobosz ve ark., 1996), fosforik asit (Dutta ve ark., 1990), metansülfonik asit (Mazzone ve ark., 1982; Şahin 1999; Ram ve ark., 1990), ortofosforik asit (Gülerman ve ark., 1994) ve sülfürik asit (Padhy ve ark., 1999; Reddy ve ark., 1990; Soliman ve ark., 1984) kullanıldığını tespit ettik.

1,3,4-tiyadiazollerin sahip oldukları biyolojik aktiviteler de birçok araştırma konusu olmuştur (Supuran ve ark., 1996). Özellikle N-sübstitüe 2-amino-1,3,4-tiyadiazol türevlerinin antiproliferatif aktivite gösterdiği araştırılmıştır (Stewart ve ark., 1986). Tiyadiazol ligandlarının karbonik anhidraz enzimini (CA, EC 4.2.1.1) inhibe ettiği çalışmalar yapılmıştır (Borras ve ark., 1996). Benzer şekilde Cu(II) ve Zn(II) metal komplekslerinin antiepileptik etki gösterdiği çalışmalarında belirtmiştir (Alzuet ve ark., 1995). 2-(1-metil-5-nitro-1H-imidazol-2-il)-5(3,4,5-trisübstitüe-piperazin-1-il)-1,3,4-tiyadiazol türevlerinin pozitif kontrol grubu metronidazol ilacı ile *Helicobacter pylori*'ye karşı etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, bu bileşiğin beş kat daha aktif olduğu gözlemlenmiştir (Moshafi ve ark., 2011).

Comoutsis ve ark., tarafından sentezlenen 1,3,4-tiyadiazol bileşiminin piperidinsülfamoil ve metilpiperazinsülfamoil türevleri yüksek antifungal aktivite gösterirken, pirolidinsülfamoil türevi, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı yüksek antibakteriyel aktivite göstermiştir (Camoutsis ve ark., 2010).

Bazı tiyadiazol türevlerinin (2,2-bis-1,3,4-tiyadiazol) yapılan *in vivo* olarak BALB/3T3 farelerinde L1210 lösemi 6C3HED/OG lenfosarkoma, C1498 miyeloid lösemi, Ehrlich karsinoma, sarkoma 180, B16 melanoma ve X5563 miyeloma gibi lösemi türlerine karşı antitümör ve immünosupresif aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Amir ve ark., 1997; Bennett ve ark., 1990; Matsumoto ve ark., 1974).

Başka bir çalışmada, bazı tiyadiazol türevi bileşikler ratlara uygulandığında, lipid metabolizmasında peroksizom proliferatör aktive edici olduğu belirlenmiştir (Steppan ve ark., 2002). Ayrıca karaciğerdeki ünsilin değerini arttırdığı belirlenmiştir (Law ve ark., 1996).

2,6-ditersiyeer bütül fenol gruplarının 2-amino ve 2-hidroksi-1,3,4-tiyadiazol bileşiklerine 5 pozisyonundan bir metilenoksi ya da etilenoksi köprüsüyle bağlı bileşiklerin siklooksigenaz (COX) ve 5-lipoksigenaz (5-LOX) enzimlerine karşı seçimli inhibitör özelliği gösterdiği belirlenmiştir. Hem siklooksigenaz hem de lipoksigenaz enzimlerinin araşidonik asitten lökotrienlerin, prostoglandienlerin biyosentezindeki ara basamakları katalizleyen enzimler olduğu gözönüne alınırsa 1,3,4-tiyadiazollerin biyokimyasal önemi daha rahat anlaşılabilir (Glev ve Dewlin 1992).

Çeşitli 5-aril sübstütie tiyadiazollerin elde edilmesiyle ilgili bir çalışmada bazı tiyadiazol bileşiklerinin, inosin-5-monofosfat dehidrogenaz (IMPD) inhibisyonu ile guanosin trifosfat (GTP) seviyesini azalttığı ve böylece potansiyel bir aktivitenin ortaya çıktığı belirtilmektedir (Ram ve Nath 1994).

Wasfy ve ark., biyolojik aktif bileşikler elde etmek amacıyla tiyadiazol parçası içeren piridazinlerin yeni serilerini sentezlemişlerdir (Washy ve ark., 1996). 1,3,4-tiyadiazol türevlerinin -N=C-S- gruplarından dolayı biyolojik aktivite içerdiği bilindiğinden, Vashi ve ark., sentezledikleri 2,5-disübstitüye-1,3,4-tiyadiazol türevlerinin biyolojik aktivitelerini incelemişlerdir (Vashy ve ark., 1996). Ayrıca bu tür bileşiklerin lokal

anestezik aktiviteleri (Mazzone ve ark., 1993), sakinleştirici etkileri (Palaska ve ark., 2002), sitotoksiste ve *in vitro* antitüberküloz aktiviteleri araştırılmıştır (Foroumadi ve ark., 2001).

1,3,4-tiyadiazol, 1,2,4-triazol ve 1,3,4-oksadiazol yapısında ki heteroatomlu beş üyeli heterosiklik bileşikler üzerinde çokça çalışılan ve iyi bilinen karbohidrazitlerin halka kapanma reaksiyonları kullanılarak elde edilir (Fülöp ve ark., 1990). Uygun oksadiazol ve tiyadiazollerin vermiş oldukları metal komplekslerinin manyetik özellikleri ayrı bir inceleme konusu olmuştur (Bentiss ve ark., 2002).

1,3,4-tiyadiazol, 1,3,4-oksadiazol, 1,2,4-triazol-3-tiyon ve 1-açiltiyosemikarbazit türevlerinin ateş düşürücü ve mide ağrılarını (ülser, gastrit) iyileştirici etkisi olduğu saptanmıştır. Ayrıca sentezlenen bu bileşiklerde herhangi bir yan etki tespit edilmemiştir (Palaska ve ark., 2002).

Fareler üzerinde yapılan spesifik testlerde indol içeren 1,2,4-triazol ve 1,3,4-tiyadiazol türevlerinin kan, beyin hücrelerinin gelişmesini sağladığı ve depresyonu azalttığı saptanmıştır (Pandeya ve ark., 1999).

Yapılan birçok araştırma; 1,3,4- tiyadiazol, 1,3,4-oksadiazol ve 1,2,4-triazol halkası içeren moleküllerin önemli aktivitelere (analjezik, antiastimatik, diüretik, antifungal, antibakteriyel ve antiviral) sahip moleküller olduğunu göstermiştir (Holla ve ark., 1996; Pandeya ve ark., 2000; İnvidiata ve ark., 1991; Todoulou ve ark., 1994; Kidwai ve ark., 2001).

Koparır ve ark., aril, amin ve pirimidin grupları içeren tiyadiazol Schiff bazlarını siklo katılma tepkimesi kullanarak sentezlemiştir. Tiyadiazol halkasının çoğu pestisitlere etki eden ve diğer biyolojik aktivitelerinin N=C-S zincirinin oluşmasıyla ortaya çıkma ihtimalinin olduğunu açıklamışlardır (Koparır ve ark., 2005).

Bir çalışmada, 1,3,4-tiyadiazol'ün 5-fenil ligandı tiyosemikarbazit ve benzonitrilden sentezlenerek, kristal ve molekül yapısı incelenmiştir. Bu bileşiklerin farmakolojik, biyolojik ve antilösemik aktivitesi ve molekül içi H-bağı içeren yapıya sahip olduğu gösterilmiştir (Ishankhodzhaeva ve ark., 2001).

Başka bir çalışmada, N-arilmaleimitleri içeren 1,3,4-tiyadiazol türevlerinin monomerik boyaları diazotizasyon yoluyla sentezlemiş ve monomerik boyaların serbest radikal polimerizasyonu yoluyla polimerik boya sentezi gerçekleştirilmiştir. Polimerik boyalar çevresel etkilere ve süblimleşmeye karşı çok daha dayanıklı olmaktadır (Maradiya ve Patel 2002).

Kondenzasyon tepkimesi sonucu elde edilen 2-amino-1,3,4-tiyadiazol türevi ile üç dişli NNO, NNS ve NNN dönor Schiff bazları ve bunların çeşitli metal komplekslerinin *E. coli* gibi bakteri hücreleri üzerinde ki antimikrobiyal aktivitesinin kompleksleme ile arttığı tespit ifade edilmiştir (Chohan ve ark., 2002).

Görgülü ve ark., 2-amino-5-etil- ve metil-1,3,4-tiyadiazolün tek dişli karbomat ligantlarını ve tek çekirdekli metal komplekslerinin sentezini gerçekleştirmişlerdir. Bu yapıların aşınmayı önleyici yağ maddesi, antioksidan ve panzehir özelliklere sahip olmasından dolayı literatüre önemli katkı sağlanmıştır (Görgülü ve ark., 2002). Atalay ve ark., ise çeşitli 2-amino sübtitüe 1,3,4-tiyadiazol ve bunlardan elde edilen Schiff bazı türevlerinin sahip oldukları N=C-S bağlarından dolayı çeşitli biyolojik ve farmakolojik aktivite sergilediğini öne sürmüşlerdir (Atalay ve ark., 2005). N-sübtütiye 2-amino-5-(2,4-dihidroksifenil)-1,3,4-tiyadiazoller sentezlenerek yapıları aydınlatılan bir çalışmada, bileşiklerdeki 2,4-dihidroksifenil kısmının biyolojik aktivitelerde önem arzeden grup olduğunu ve bu alandaki çalışmaların ilgi odağı olmasına neden olduğunu vurgulamışlardır (Matysiak ve ark., 2006).

Yapılan çalışmalarda, aromatik ve heterosiklik sülfonamidler ve aminosülfonamid türevlerinin Schiff bazı metal komplekslerinin karbonik anhidraz inhibitör davranışlarının olduğunu tespit etmişlerdir (Hassan ve ark., 2001; Mahmood ve ark., 2004; Çakır ve ark., 2004).

Tiyofen türevi içeren 1,2,4-triazol ve 1,3,4-tiyadiazol bileşiklerinin bir serisinin sentezlenerek antimikrobiyal aktivitelerinin bakteri ve maya hücrelerine karşı yüksek olduğu gösterilmiştir. Yine bu halkaya 5. konumdan sübtitüe olan gruplar antimikrobiyal aktiviteyi değiştirmiş ve sübtitüsyona bağlı olarak bu bu türevlerin etkileri benzer şekilde değişmiştir (Tehanchian ve ark., 2005). Kolavi ve ark., aynı yapıda birlikte

bulunan 1,3,4-tiyadiazol, imidazol türevi karbohidrazitleri piridazol türevlerinden yola çıkarak elde etmişler ve çeşitli biyolojik özelliklerinin araştırılmasının önemli olacağını ileri sürmüşlerdir (Kolavi ve ark., 2006).

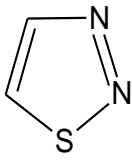
Bir başka araştırmada, MCF-7 ve L1210 hücrelerine uygulaması yapılan tiyadiazol türevi içeren Schiff bazı bileşikleri ve metal komplekslerinin süre ve doza bağımlı antitümör aktivitesinin ve ratların serum antioksidan ve oksidan parametrelerin düzeyleri üzerinde olan etkilerinin kontrol grubu ile karşılaştırılmalarında farklı etkilere sahip oldukları görülmüştür (Turan ve ark., 2011). Diğer taraftan, 1,3,4-tiyadiazollerden elde edilen Schiff bazı türevlerinin antimikrobiyal etkileri yoğun çalışılmaktadır (Pandey ve ark., 2011).

Bu bulgular ışığında, önemli biyolojik aktivite göstermesi beklenen 2,2'-[(2*R*,3*R*)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(R-hidrazin-1-karbotiyoamit) yapısında 5 ve (1*R*,2*R*)-1,2-bis[5-(*R*-amino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol yapısında 5 yeni bileşik sentezlenmiş, bu bileşiklerin yapıları aydınlatılmış ve biyolojik aktiviteleri incelenmiştir.

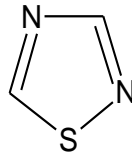
2.2. Beşli Halkada Üç Adet Heteroatom İçeren Bileşikler

2.2.1. 1,3,4-Tiyadiazoller

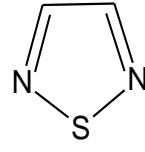
Karbon ve hidrojen dışında oksijen, kükürt ve azot gibi atomlardan birini veya birkaçını bulunduran ve mümkün olan en fazla konjuge çifte bağa sahip kapalı zincir sistemine heterosiklik bileşikler denir. Tiyadiazol; Hantzsch Widman adlandırılmasına göre yapısında bir kükürt atomu ve iki azot atomu içeren beşli heterosiklik bir halkadır (Ahmad ve ark., 2012). Tiyadiazollerin, oksadiazollerde olduğu gibi 1,2,3-, 1,2,4-, 1,2,5-, 1,3,4- tiyadiazol gibi izomer şekilleri olmakla birlikte, üzerinde en çok çalışma yapılan halkalar 1,2,4- ve 1,3,4-tiyadiazol türevleridir (Li ve ark., 2013).



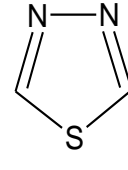
1,2,3-



1,2,4-

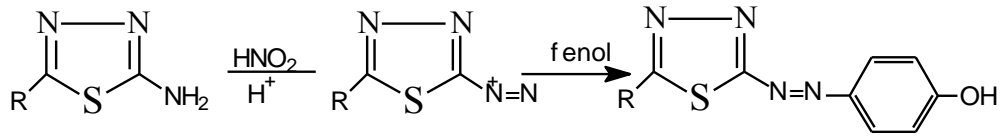


1,2,5-

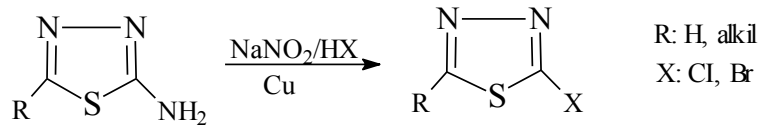


1,3,4-

1,3,4-tiyadiazol, renksiz, erime noktası 45 °C, kaynama noktası 203 °C olan aromatik karakterde, asitlere karşı oldukça dayanıklı ancak seyreltik alkali çinko, %30'luk hidrojen peroksit ile parçalanabilen bir bileşiktir. 2-amino-1,3,4-tiyadiazol türevleri diazonyum tuzları ile yüksek kenetleme yeteneğine sahip oldukları için nükleofillerle kolaylıkla yer değiştirebilirler. Bu yapılar diazolandıktan sonra fenollerle reaksiyonu sonucu, azo boyarmadde olarak kullanılan, 2-(4-dihidroksifenilaza)-1,3,4-tiyadiazollere dönüşürler.

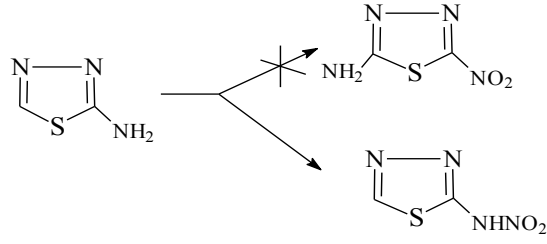


Bakır tuzları katalizörlüğünde Sandmeyer reaksiyonu verebilen 2-amino-1,3,4-tiyadiazoller ürün olarak 2-halojen-1,3,4-tiyadiazol türevlerini oluştururlar.



Sahip oldukları iki azot atomundan dolayı karbon atomlarında elektron yoğunluğunun azalması, 2-halojen-1,3,4-tiyadiazollerin nükleofilik gruplarla reaksiyona girme etkinliğinin artmasına neden olur ve bu onların yeni türevlerin sentezinde önemli ara ürün olarak kullanılmasına sebep olur.

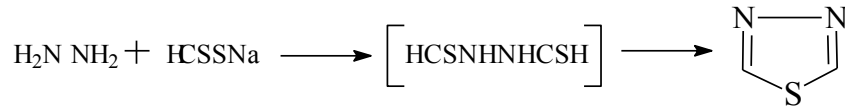
1,3,4-tiyadiazol halkasının nitrolanması başariyolmamıştır. Diğer taraftan 2-amino-1,3,4-tiyadiazolün dumanlı nitrik asit ile 40 °C'de etkileştirilmesi ile 5-nitro türevinin elde edildiği bildirilmiştir.



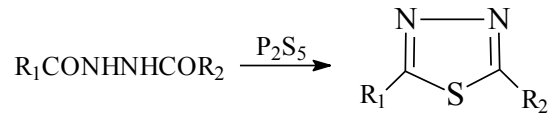
2.2.2 Elde Edilişleri

2.2.2.1. Açılhidrazinlerden

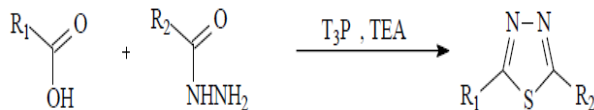
Hidrazin ve sodyum ditiyoformat reaksiyonu sonucu 1,3,4-tiyadiazol bileşikleri sentezlenmektedir.



Fosfor pentasülfürün dioksan içerisinde diaçılhidrazinlerle etkileşimi sonucu 2,5-disüstitüe-1,3,4-tiyadiazollerin elde edildiği bildirilmiştir (Shafiee ve ark., 1995; Sawhney ve Gupta 1991).



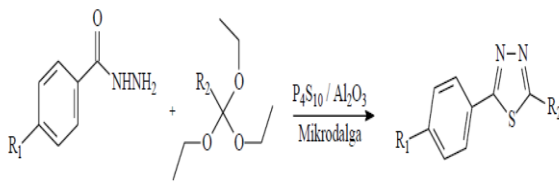
Augustine ve ark., trietanolamin (TEA) ve propilfosfonik anhidrit (T3P) kullanarak, tek basamaklı reaksiyon ile çeşitli asit türevlerinin hidrazitlerini sentezlemiş bunlardan süstitüe 1,3,4-tiyadiazol türevlerini elde etmişlerdir. 1,3,4-oksadiazol yan ürün olarak az miktarda oluşmuş ancak bu kolon kromatografisi veya rekristalizasyon ile elimine edilmiştir (Augustine ve ark., 2009).



R₁: Çeşitli aril, amin, piridin

R₂: H, tiyadiazol, aril, piridin

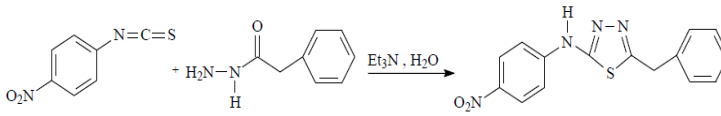
Polshettiwar ve ark., asit hidrazitlerden tek basamakla tiyadiazol elde etme yöntemi oluşturmuşlardır. Bu tiyadiazol türevleri alüminyum oksit (alümina) içinde fosfor pentasülfid kullanılarak hiçbir çözücü kullanılmadan mikrodalga (MD) ışıma yöntemi kullanılarak iyi verim ile sentezlenmiştir (Polshettiwar ve ark., 2008).



R₁: H, piridil, metoksi, halojen, furil, tiyenil

R₂: H, aril, etil

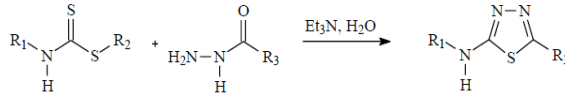
Aryanasab ve ark., çeşitli asit hidrazitleri su ve trietilamin varlığında, ditiyokarbamat veya izotiyosiyanat ile reaksiyona sokarak çeşitli tiyadiazol türevlerini elde etmişlerdir (Aryanasab ve ark., 2010).



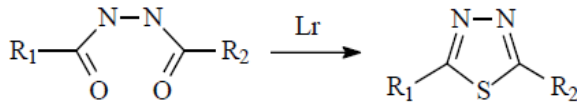
R₁: Ariller

R₂: Alkiler

R₃: Aril, piridin



Tiyadiazollerin diaçilhidrazinlerden hareketle sentezlerinde katalizör olarak Lawesson reaktifi (Lr) kullanılarak, yüksek kaynama noktasına sahip toluen gibi çözücü kullanımı ile verimi artırarak siklizasyon gerçekleştirilmiştir (Öztürk ve ark., 2007).

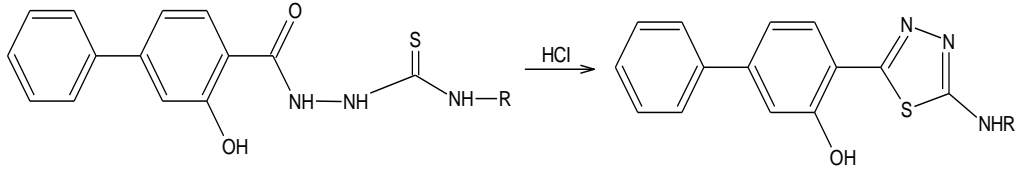


R₁: Ariller

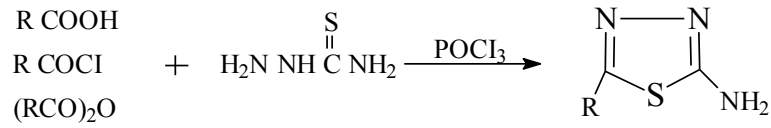
R₂: Alkiler ve ariller

2.2.2.2. Tiyosemikarbazit ve Türevlerinden

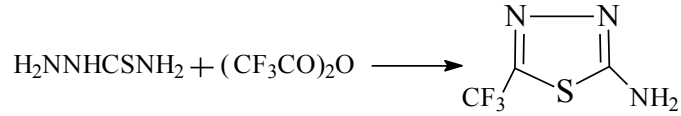
1-aroil-4-sübstitüe tiyosemikarbazit, biyolojik aktivite göstermesiyle ilginç bir bileşik sınıfını olarak bilinmektedir ve asitli ortamdaki halka kapanması reaksiyonu ile tiyadiazol türevlerinin sentezlenmesine olanak verir (Doğan ve ark., 1998; Kress ve ark., 1980).



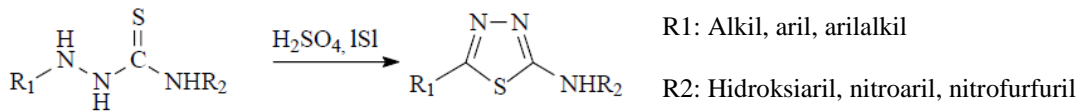
Tiyosemikarbazit ile karboksilik asitlerin reaksiyonu sonucu 2-amino-5-sübstitüe-1,3,4-tiyadiazoller sentezlenebilmektedir (Doğan ve ark., 1998; Rollas ve ark., 1996; Holla ve ark., 1998; Holla ve ark., 1998).



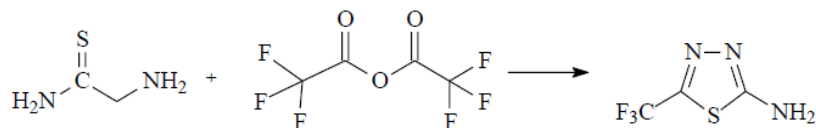
Yine, 2-amino-5-trifluormetil-1,3,4-tiyadiazol bileşiği, tiyosemikarbazit ve trifluorasetik asit anhidridinin soğukta ki reaksiyonu ile elde edilmiştir.



Bir çalışmada, tiyosemikarbazitlerin sülfürik asit varlığında ısıtılmasıyla 1,3,4-tiyadiazol türevleri elde edilmiştir (Solak ve Rollas 2006).

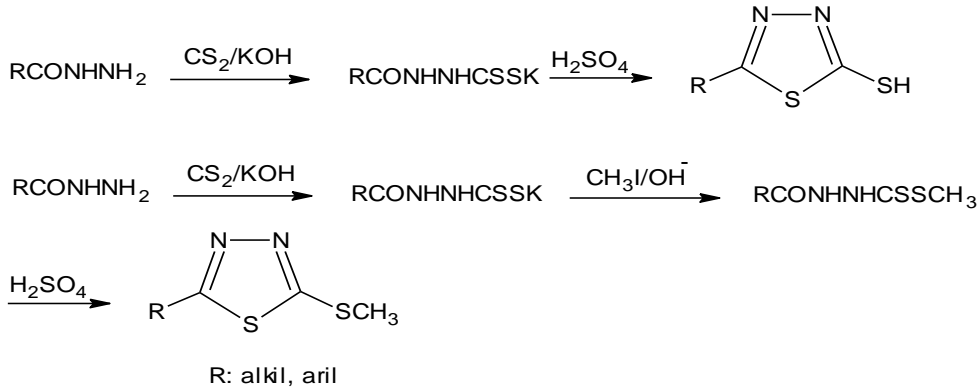


Başka bir çalışmada trifloroasetik anhidrit ve tiyosemikarbazit düşük sıcaklıklarda iki saat bekletilerek yüksek verimle 1,3,4-tiyadiazol elde edilmiştir (Alegaon ve ark., 2012).

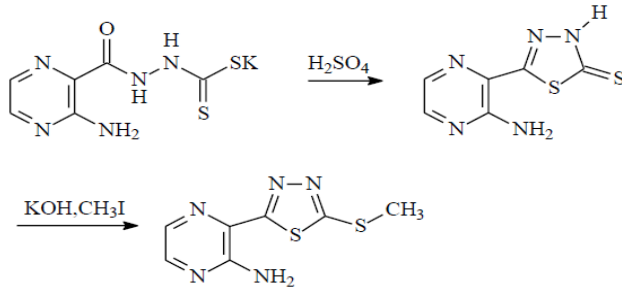


2.2.2.3. Ditiyokarbazik Asit Tuzları ve Esterlerinden

2-merkapt/alkil merkapt-5-sübstitüe-1,3,4-tiyadiazoller, ditiyokarbazik asit tuzlarından sentezlenebilirler. Açılıhidrazinlerin metil iyodürle bazik pH'de reaksiyonundan elde edilen esterlerin sülfürik asitle muamelesi veya karbon sülfür ve potasyum hidroksit'in metanol içerisinde karıştırılması sonucu oluşan 3-açılditiyokarbazit türevleri ile bu bileşikler elde edilebilir (Ambrogi ve ark., 1972).

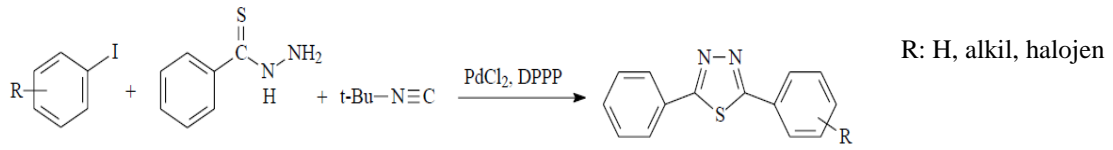


3-(5-(metiltiyo)-1,3,4-tiyadiazol-2-il)pirazin-2-amin türevi, 5-(3-Aminopirazin-2-il)-1,3,4-tiyadiazol-2(3H)-tiyon bileşiğinin potasyum hidroksit varlığında metil iyodürle reaksiyona sokulmasından elde edilmiştir (Milczarska ve ark., 2012).



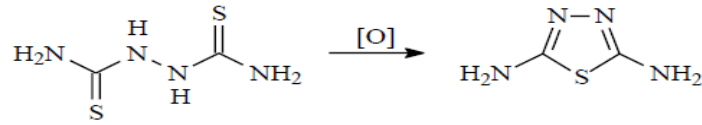
2.2.2.4. Tiyohidrazitlerden Hareketle Sentezleri

Bu yöntemde, sübstitüearil iyodür, tersiyer-bütıl izosiyanat ve benzotiyohidrazit karışımı; palladyum diklorür ve 1,3- bis(difenilfosfino) propan (DPPP) katalizörlüğünde 2-fenil-5-sübstitüefenil-1,3,4-tiyadiazol türevleri elde edilmiştir (Fan ve ark., 2015).



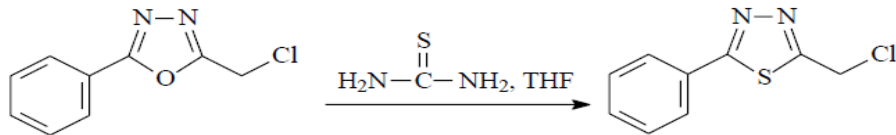
2.2.2.5. Bitiyüreden Hareketle Sentezleri

Bitiyürenin hidrojen peroksit ile oksidatif kondenzasyonundan diamino-1,3,4-tiyadiazol yapısının elde edildiği bildirilmiştir (Melenchuk ve ark., 2008).



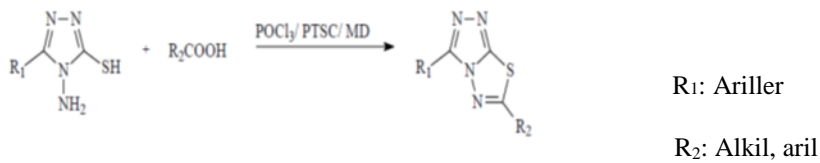
2.2.2.6. 1,3,4-Oksadiazollerden Hareketle Sentezleri

Oksadiazolden tetrahidrofuran (THF) ve tiyüre karışımı ortamında sentezlendiği bildirilmiştir (Padmavathi ve ark., 2011).



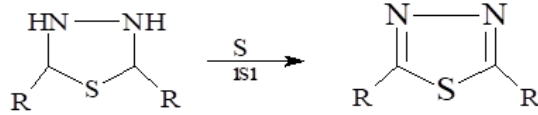
2.2.2.7. 4-Amino-5-merkпто-1,2,4-triazollerden Hareketle Sentezleri

Triazol bileşiginden, organik halojen asitli ortamda mikrodalga ışımaya kullanılarak triazolo-1,3,4-tiyadiazol bileşigi sentezlenmiştir (Swamy ve ark., 2006).



2.2.2.8. Diğer Yöntemler ile 1,3,4-tiyodiazol Sentezi

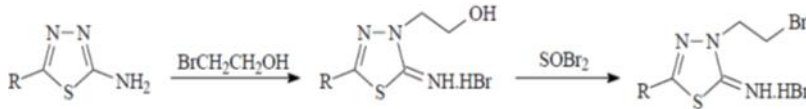
Diazometan ve tiyobenzoil klorür etkileşimi ile 2-fenil-1,3,4-tiyadiazol sentezlenmiştir. 2,5-dialkil-1,3,4-tiyadiazoller ise 2,5-dialkil-1,3,4-tiyadiazolidinlerin kükürtlü ortamda piperidin içerisinde ısıtılmasıyla elde edilmiştir.



2.3. Kimyasal Özellikleri

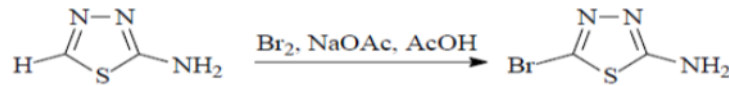
2.3.1. Sübstitüsyon Reaksiyonları

Cressier ve ark., 1,3,4-tiyadiazolü önce bromoetanol ve sonrasında tiyonil bromür ile etkileştirerek bazı imin hidrobromür bileşiklerini elde etmişlerdir (Cressier ve ark., 2009).

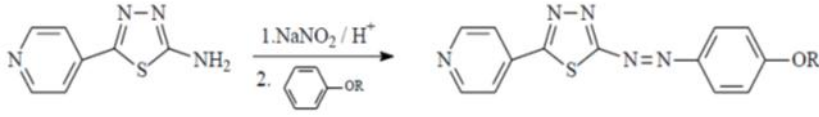


R: Tiyoalkil, alkil

Başka bir çalışmada, 1,3,4-tiyadiazol-2-amin, brom ile derişik asetik asit ve sodyum asetatlı ortamda elektrofilik sübstitüsyon reaksiyonuna sokularak 5-bromo-1,3,4-tiyadiazol-2-amin ürünü elde edilmiştir (Lachance ve ark., 2012).

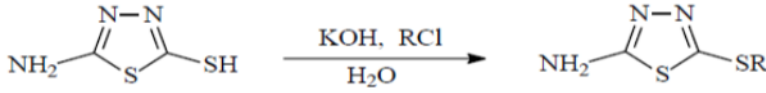


Yine, nitroz asit varlığında piridin-1,3,4-tiyadiazol-2-amin bileşiklerinin diazolama reaksiyonu için n-alkoksibenzen kullanımı sonucu 5-(4-Piridilazo)-5-(4-n-alkoksi)fenil-1,3,4-tiyadiazol türevlerinin elde edildiğini gösterilmiştir (Parra ve ark., 2001).



R: Alkil

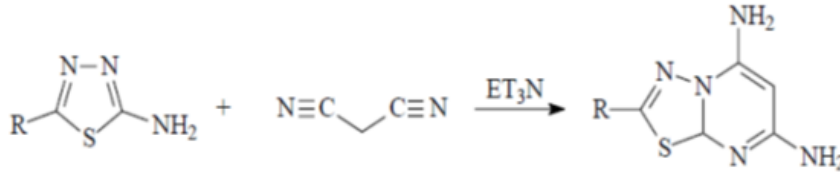
1,3,4-tiyadiazol-2-tiyoeter türevlerini elde etmek için, 5-amino-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyoller potasyum hidroksit ve alkil/aril halojenürlerle muamele edilmiştir (Clerici ve ark., 2001).



R: Alkil, aril, arilalkil, nitroaril

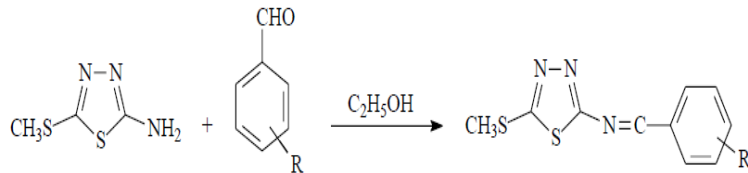
2.3.2. Siklizasyon Reaksiyonları

Taher ve ark., 2-sübstitüe-8aH-[1,3,4]tiyadiazolo[3,2-a]pirimidin- 5,7-diamin türevlerini elde etmek için malononitril ile trietilamin varlığında 2-amino-1,3,4- tiyadiazolü reaksiyona sokmuşlardır (Taher ve ark., 2012).



2.3.3. Kondenzasyon Reaksiyonları

Popiolek ve ark., Schiff bazlarını elde etmek için 5-metiltiyo-1,3,4-tiyadiazol-2-aminler ile aromatik aldehitlerin kondenzasyon reaksiyonun gerçekleştirmiş ve schiff bazını elde etmişlerdir (Popiolek ve ark., 2015).



R: Aril, halojen, aril halojenür

2.4. Spektral Özellikleri

2.4.1. FT-IR Spektrumları

1,3,4-tiyadiazol türevlerinin IR spektrumunda: 752-690 cm^{-1} aralığında C-S gerilim (Tu ve ark., 2008, Jatav ve ark., 2008), 1572-1550 cm^{-1} aralığında N-H bükülme (Shih ve ark., 2005), 1640-1520 cm^{-1} aralığında C=N gerilim (Matsiyak ve ark., 2010; Tu ve ark., 2008; Jha ve ark., 2012; Jatav ve ark., 2008; Mohsen ve ark., 2006) ve 3429-3090 cm^{-1} aralığında N-H gerilim (Shih ve ark., 2005; Tu ve ark., 2008; Salgın ve ark., 2007) titreşimleri görülmektedir. C-S gerilim bantlarının bazı çalışmalarda 2540-2545 cm^{-1} 'de görüldüğü bildirilmiştir (Jha ve ark., 2012).

5 numaralı konumda amino süstitüenti taşıyan türevlerde C-N gerilim titreşimleri 2210-2220 cm^{-1} aralığında görülmektedir (Mohsen ve ark., 2006).

2.4.2. ^1H -NMR Spektrumları

5-Süstitüe-1,3,4-tiyadiazol-2-amin türevlerinde metilen protonları 5,18-5,40 ppm arasında singlet (Sancak ve ark., 2007), 2 numaralı konumdaki amin grubuna ait proton süstitüente bağlı olarak 6,09-7,86 ppm arasında singlet (Shih ve ark., 2005; Clerici ve ark., 2001; Karki ve ark., 2015; Tingting ve ark., 2016), tiyadiazol Schiff bazlarına ait N=CH protonu 8,10-9,07 ppm arasında singlet şeklinde gözlenmiştir (Pandey ve ark., 2011; Solak ve Rollas 2006).

N-(5-(4-aminofenil)-1,3,4-tiyadiazol-2-il)-2-(dietilamino)asetamit bileşiğinde CH_3 protonları 2,17 ppm'de, CH_2 protonları 2,59-2,60 ppm arasında, NH protonu 2,89 ppm, NH_2 protonu 5,82 ppm ve aromatik halkaya ait protonlar 7,49 ppm'de gözlenmiştir (Pattan ve ark., 2009).

2.4.3. ^{13}C -NMR Spektrumları

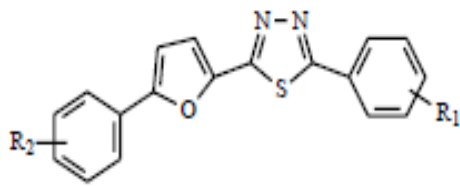
Çeşitli çalışmalarda sentezlenen tiyadiazol halkasına ait C-2 ve C-5 karbonları 164, 172 ppm (Pandavathi ve ark., 2011), 174, 149 ppm (Popiolek ve ark., 2015), 160, 155 ppm (Matsiyak ve ark., 2006), 137, 140 ppm ve benzen halkasına ait karbonlar 143-148

ppm'de (Yousif ve ark., 2014), 167, 151 ppm ve fenilamino grubuna ait karbon 139 ppm'de (Hamad ve ark., 2010) ve 163 ppm'de gözlenmiştir (Gupta ve ark., 2008).

2.5. Biyolojik Özellikleri

2.5.1. Antifungal Aktivite

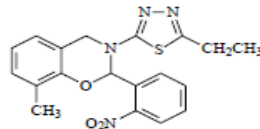
Cui ve ark., sentezledikleri 1,3,4- tiyadiazol bileşiklerinin yüksek antifungal aktivitesini *Pythophthora infestans* mikroorganizması üzerinde göstermişlerdir (Cui ve ark., 2015).



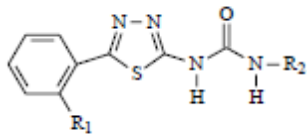
R1: Alkil, H

R2: H, halojen, alkil

Bir çalışmada, 1,3,4-tiyadiazol-oksazin bileşiğinin *Gibberella zae* üzerinde %70, *Scleatoria scleatorium* ve *Botrytis cinera* üzerinde ise %98, inhibitör aktivite gösterdiği bildirmiştir (Tang ve ark., 2015).



Başka bir çalışmada, 1,3,4-tiyadiazol-üre türevlerinin *Aspergillus niger* ve *Candida albicans*'a karşı antifungal aktivitesi belirlenmiştir (Bhing ve ark., 2015).

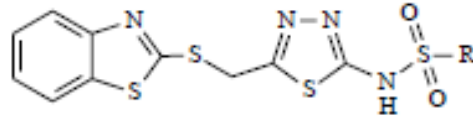


R1: H, hidroksi

R2: Aril, arilalkil, nitroaril, aril halojenür, piperidinil

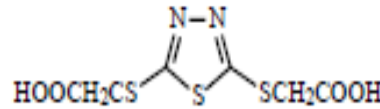
2.5.2. Antibakteriyel Aktivite

1,3,4-tiyadiazol-arilsülfonamid bileşiklerinin gram negatif *E. coli* ve *Aerobacter aerogens* ve gram pozitif *Bacillus megaterium* ve *B. subtilis* bakterilerine karşı yüksek aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Metha ve ark., 1997).

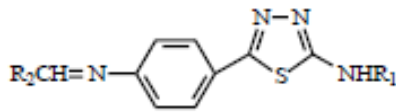


R: Aril

1,3,4-tiyadiazol-(sülfandiil)diasetik asit bileşiklerinin, gram negatif *E. coli* ve *P. aeruginosa*'ya ve gram pozitif *S. aureus*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Corynebacterium diphtheriae*'ye karşı *in vitro* antibakteriyel aktivitelerinin olduğu belirtilmiştir (Salimon ve ark., 2010).



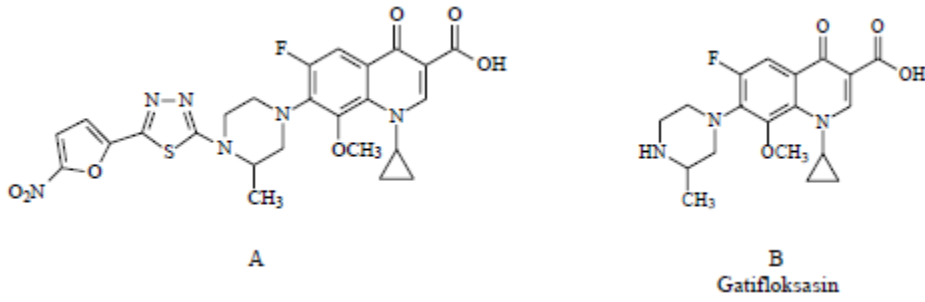
Yine alkil/aril-1,3,4-tiyadiazol-2-amin türevlerinin *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı antimikobakteriyel aktiviteye sahip olduğunu gözlenmiştir (Solak ve Rollas 2006).



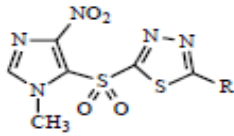
R1: Alkil, aril, arilalkil

R2: Hidroksiaril, nitroaril, nitrofurfuril

Bir çalışmada, siklopropil-1,3,4-tiyadiazol-3-karboksilik asit bileşiği sentezlenmiş ve *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *B. subtilis* ve *S. epidermidis* hücrelerinde gatifloksasinden daha etkili antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Jazayeri ve ark., 2009).



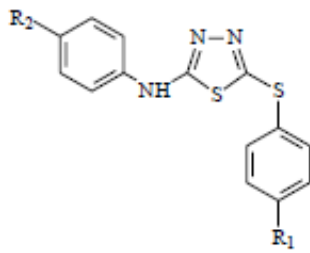
Letafat ve ark., sentezledikleri 1,3,4-tiyadiazol bileşiğinin, *S. Epidermidis*, *S. aureus* ve *B. subtilis* üzerinde etkili bir antibakteriyel aktivite sergilediğini göstermişlerdir (Letafat ve ark., 2011).



R: Alkoksiamino, nitrofuril, imidazolil

2.5.3. Antiinflamatuvar ve Analjezik Aktivite

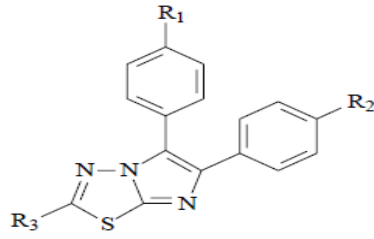
1,3,4-tiyadiazol-2-amin türevlerinin sülfonamid süstitüentinin seçici şekilde COX-2 enzimi inhibisyonu ile antiinflamatuvar etki gösterdiği bildirilmiştir (Sharma ve ark., 2008).



R1: Sülfonilklorür, sülfonilamino

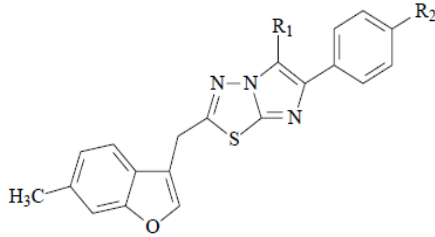
R2: Alkil, halojen, sülfonilklorür, sülfonilamino

Gadad ve ark., sentezledikleri imidazo-1,3,4-tiyadiazol türevlerinin COX-1'e nazaran COX-2 enzimini daha fazla inhibe ettiğini ve selektif COX-2 inhibisyonuyla antiinflamatuvar aktivite sergilediğini belirtmişlerdir (Gadad ve ark., 2008).



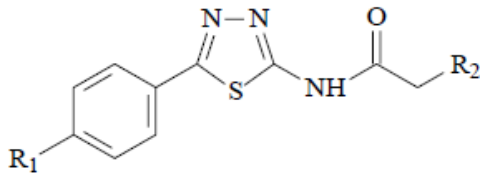
R1: H, alkoksi
 R2: H, alkoksi, alkiltiyo, alkilsülfonil
 R3: Alkil halojenür, sülfonilamino

Başka bir çalışmada, metilbenzofuran-1,3,4-tiyadiazol türevlerinin antiinflamatuvar ve analjezik aktiviteleri *in vivo* olarak gösterilmiştir (Jadhav ve ark., 2008).



R1: Alkoksi, siyano, morfolinil
 R2: Halojen, nitro

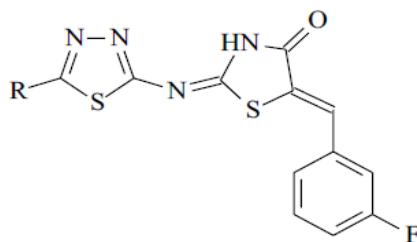
Yine, 1,3,4-tiyadiazol-asetamit türevlerinin sentezi ve yüksek antiinflamatuvar aktivitesi rapor edilmiştir (Jain ve Mishra 2014).



R1: H, halojen, alkil, alkoksi
 R2: Piperidin, piperazin, amin

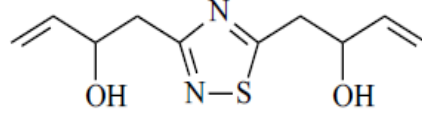
2.5.4. Antiviral Aktivite

Bir çalışmada, 1,3,4-tiyadiazol türevleri sentezlenmiş ve dengue virüs (DENV) infeksiyonlarının tedavisinde kullanılmış ve virüs üzerinde %80'den fazla etki gösterdiği bildirilmiştir (Manvar ve ark., 2016).

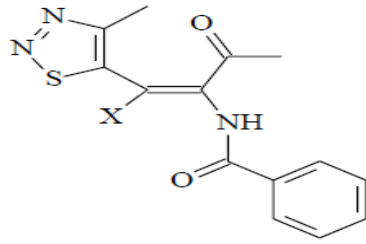


R: Aril halojenür, 3-piridil

Chen ve ark., 1,1'-(1,2,4-tiyadiazol-3,5-diil)bis(büt-3-en-2-ol) bileşiğini *Isatis indigotica*'dan izole etmiş ve 4 farklı izomerinin en az biri üzerinde olmak üzere herpes simplex virüs-1 (HSV-1), coxsackie virüs B3 ve influenza virüs A (H3N2)'den antiviral aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir (Chen ve ark., 2016).



Akrilamit'in 1,2,3-tiyadiazol içeren türevlerinin hepatit B virüsü (HBV) üzerinde yüksek *in vitro* antiviral aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Dong ve ark., 2010).

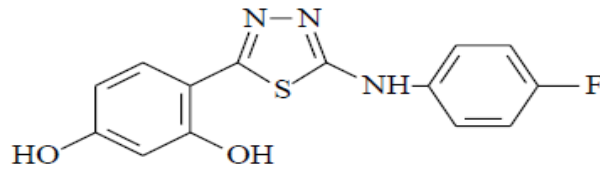


X: Cl, Br

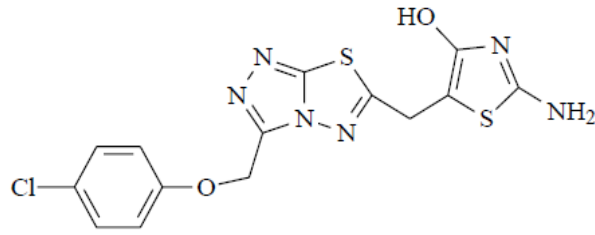
R: Morfolinil, piperidinil, alkil, halojen

2.5.5. Antikanserojen Aktivite

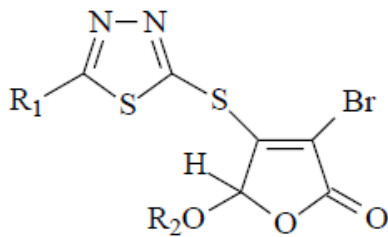
Rzeski ve ark., 1,3,4-tiyadiazol-benzen-1,3-diol'un akciğer, kolon ve sinir sistemindeki tümör hücrelerinin proliferasyonunu azalttığını belirtmişlerdir (Rzeski ve ark., 2007).



4-klorofenoksi)metil-1,3,4-tiyadiazol bileşiği İbrahim tarafından sentezlenmiş ve *in vitro* ve *in vivo* testlerde sitotoksik aktivite gösterdiği bildirilmiştir (İbrahim 2009).



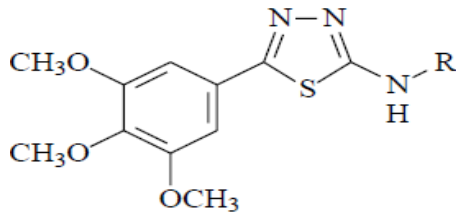
Yine, 1,3,4-tiyadiazol-sübstitüeoksifuran türevleri sentezlenmiş ve *in vitro* antikanserojen aktivitesini Hela hücre hatları üzerinde göstermişlerdir (Wei ve ark., 2009).



R1: Alkil

R2: Alkil, alkoksi, alkil halojenür, nitroalkil

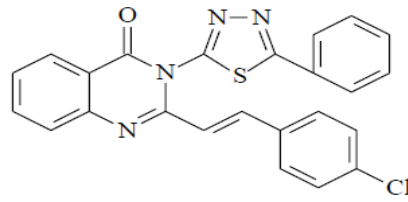
Bir çalışmada, (3,4,5-trimetoksifenil)-1,3,4-tiyadiazol türevlerinin sinir sistemi tümör hücrelerinde antikanserojen aktivitesi gösterilmiştir (Kumar ve ark., 2011).



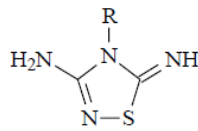
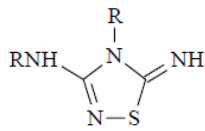
R: Aril, arilalkil, alkoksiaril, nitroaril

2.5.6. Antikonvülsan Aktivite

Sentezi yapılan 1,3,4-tiyadiazol-stirilkinazolin türevleri için maksimal elektroşok (MES) ve subkütan pentilentetrazol (sc-PTZ) testleri yapılmış ve bu türevlerden bazılarının yüksek antikonvülsan aktivite gösterdiği bunun yanı sıra bu etki sırasında nörotoksisite göstermediği bildirilmiştir (Jatav ve ark., 2008).

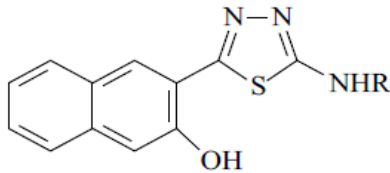


Başka bir çalışmada, sentezlenen dihidro-1,2,4-tiyadiazolidin bileşiklerinin hepsinin sc-PTZ ve MES testlerinde antikonvulsan aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (Gupta ve ark., 2008).



R: Aril, alkoksaril, aril halojenür

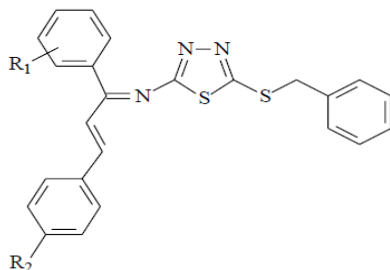
Bir çalışmada ise, 5 numaralı konumunda etilamino taşıyan, 1,3,4-tiyadiazol-naftalen bileşiğinin PTZ ile indüklenmiş konvülsiyonlara karşı sodyum valproattan daha yüksek koruma sağladığı gösterilmiştir (Doğan ve ark., 2002).



R: Alkil, aril, arilalkil

2.5.7. Antidepresan Aktivite

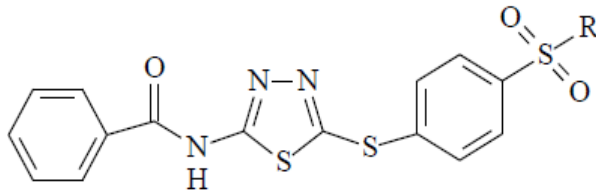
Yusuf ve ark., sentezledikleri bir seri bileşiklerden; metoksifenil-1,3,4-tiyadiazol ve dimetilamino-1,3,4-tiyadiazol türevlerinin antidepresan aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir (Yusuf ve ark., 2008).



R1: H, halojen, hidroksi, metoksi

R2: H, halojen

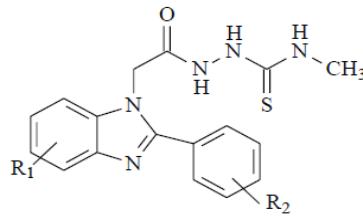
Yine, sentezi yapılan sülfamoilfenil-1,3,4-tiyadiazol ve sülfanil-1,3,4-tiyadiazol türevlerinden 4-((5-benzamido-1,3,4-tiyadiazol-2-il)tiyo)benzen-1-sülfonil klorür'ün antidepresan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Pattanayak ve ark., 2009).



R: Amin, Cl

2.5.8. Antioksidan Aktivite

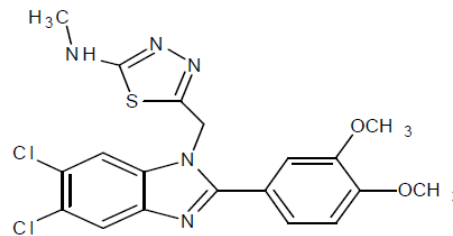
Kuş ve ark., N-metil-2-(2-(2-süstitüefenil-1H-süstitübenzo[d]imidazol-1-il)asetil) tiyosemikarbazit türevlerinin radikal süpürücü etkisini 2,2-difenil-1- pikrilhidrazil (DPPH) üzerinde denemiş ve güzel sonuçlar elde etmişlerdir (Kuş ve ark., 2008).



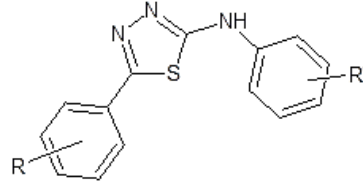
R₁: H, halojen

R₂: H, halojen, alkoksi, ariloksi

Bazı yeni benzimidazol-1,3,4-tiyadiazoller, Kuş ve diğerleri tarafından sentezlenmiş ve antioksidan özellikler açısından çeşitli *in vitro* sistemler kullanılarak test edilmiştir. En aktif bileşik lipit peroksidasyonunu 1×10^{-3} M konsantrasyonda hafifçe inhibe etmiştir (Kuş ve ark., 2008).



Khan ve ark., dehidratif siklizasyon yoluyla 4,5-diikameli 2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-tiyonlar ve 2,5-diikameli-1,3,5-tiyazollerden oluşan yeni bir seri hazırlamış ve bileşiklerin tamamı antioksidan aktivite açısından test edilmiştir (Khan ve ark., 2010).



2.6.Serbest Radikaller, Oksidatif Stres ve Antioksidanlar

Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içeren basit bir atom veya kompleks yapıya sahip herhangi organik bir molekül olabilir. Bünyesinde bulundurdukları ortaklanmamış elektron, söz konusu kimyasal türün reaktivitesini olağanüstü şekilde artırarak reaktivitesi çok yüksek olan yüksek enerjili, çok etkin, kısa ömürlü ve izole edilemeyen kimyasal türler haline dönüştürür (Kılınç 2002; Stoian ve ark., 1996).

Oksidanlar, başlıca glukozun oksidasyonu sırasında olmak üzere organizmada tüm anabolik ve katabolik reaksiyonlar sırası ve sonrasında sürekli bir oluşum ve "endojen antioksidanlar" adı verilen moleküller tarafından sürekli etkisizleştirilme süreci içindedirler. Sağlıklı bir organizmada oksidan düzeyi ve antioksidanların bunları etkisizleştirme gücü bir denge (homeostazis) içindedir (Repine 1991).

Oksidanlar, sahip oldukları tek elektronlarından dolayı başka moleküller ile kolayca elektron alışverişi yapabilenler (radikaller) ve elektron eksiklikleri olmadığı halde başka moleküllerle radikallerden daha zayıf bir şekilde bileşenler (non-radikaller) olmak üzere 2 grupta toplanırlar (Halliwell ve Gutteridge 1999).

1. Radikaller

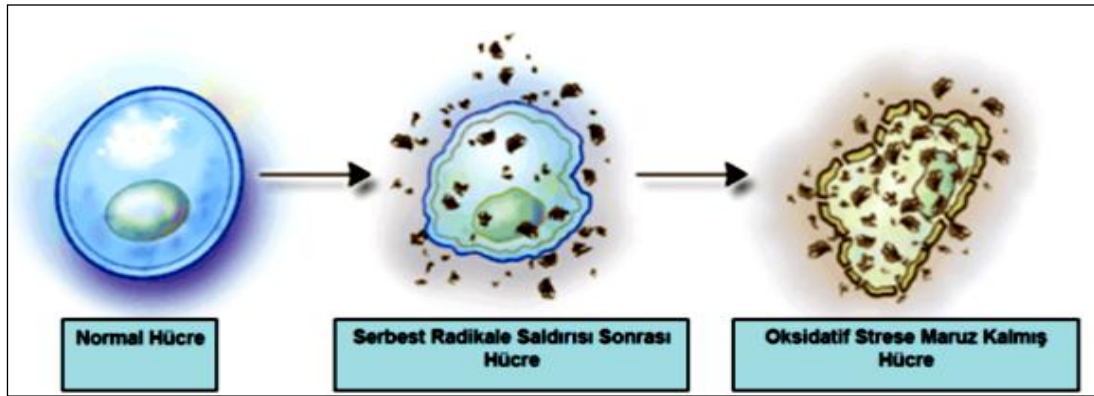
- Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$)
- Hidroksil radikali ($HO\cdot$)
- Alkoksil radikali ($LO\cdot$)
- Peroksit radikali ($LOO\cdot$)

2. Non-Radikaller

- Hidrojenperoksit (H_2O_2)
- Lipit hidroperoksitler ($LOOH$)
- Hipoklorik asit ($HOCl$)

Serbest radikaller tıpta, biyolojide, biyokimyada, toksikolojide ve gıdaların bozulmasında aldıkları rol ile itibarı ile gittikçe artan bir öneme sahiptir. Şeker hastalığı, katarakt, kanser, Parkinson, romatoit artrit ve yaşlanma süreci oksidan moleküllerin etkin olduğu kabul edilen hastalıklar arasında sayılmaktadır (Sudha ve ark., 2001). Oksidanlar, protein, lipid, karbonhidrat, nükleik asitler gibi organizmanın yapı elemanlarını bozarak ve yararlı enzimleri inhibe ederek zararlı etkilere yol açarlar (Nordberg ve Arner 2001).

“Oksidatif hasar veya oksidatif stres” serbest radikallerin hücre fonksiyonları ve hücre artışı üzerine yaptığı kötü etki olarak tanımlanır (Şekil 2.2.).



Şekil 2.2. Oksidatif stresin hücre yapısına etkisi (Ekcharyawat ve ark. 2013)

Serbest radikaller; temel hücresel bileşenleri (proteinler, lipidler ve nükleik asitler) hasara uğratma kapasitesine sahiptirler. Hemen her hastalığın bir dereceye kadar oksidatif strese bağlı olduğu kabul edildiği günümüzde, kanser, yaşa bağlı olarak bağışıklık yetersizliği ya da hipertansiyon gibi çeşitli hastalıklar bununla ilişkilendirilmektedir (Kayalı ve ark., 2004). Bu etkilerden korunmak için canlı organizmalar, antioksidan olarak ifade edilen savunma sistemine sahiptirler. Antioksidanlar, genellikle yapısında fenolik fonksiyon taşıyan ve serbest radikallerin oluşumunu önleyen ya da mevcut radikalleri süpürerek hücrenin zarar görmesini engelleyen moleküller olarak tanımlanabilmektedir (Kähkönen ve ark., 1999; Nagai ve ark., 2005).

Antioksidanlar, metabolitin oksidasyonunu önemli derecede geciktiren ya da inhibe eden düşük konsantrasyonlu "herhangi bir substrat" olarak tanımlanmaktadır. Antioksidanlar endojen (doğal) ve eksojen (ilaçlar ve gıdalar) olmak üzere başlıca 2 ana

gruba ayrılırlar. Hücrelerin hem membran hem de sıvı kısımlarında bulunabilirler (Nordberg ve Arner 2001; Repine 1991).

Tablo 2.1. Endojen ve Eksojen Antioksidanlar

A- Endojen (Doğal) Antioksidanlar		
I. Enzimler	II. Makromoleküller	III. Mikromoleküller
- Süperoksid dismutaz	- Seruloplazmin	- E vitamini ve analogları
- Katalaz	- Transferrin	- C vitamini
-Glutatyon peroksidaz	- Ferritin	- Tiyoil içerenler: GSH
- Glutatyon redükaz	- Hemogloblin	-N-asetil sistein, Metiyonin kaptopril
- Hidroperoksidaz	- Miyogloblin	- A vitamini-β-karoten
- Sitokrom -C oksidaz		- Glikoz
		- Ürik asit
		- Ubikinon
		- Bilirubin
B - Eksojen Antioksidanlar (İlaçlar)		Gıda Antioksidanları
- NADPH oksidaz inhibitörleri		- Bütil Hidroksitoluen (BHT)
-Endojen antioksidan aktiviteyi artıran maddeler		- Bütil Hidroksianisol (BHA)
- Non-enzimatik serbest radikal toplayıcıları		- Sodyum benzoat
- Demir redoks döngüsü inhibitörleri		- Etoksikuin
- Nötrofil adezyon inhibitörleri		- Propilgalat
- Rekombinant h-SOD		
- 21 - Aminosteroidler, Indopamid		
- Sitokinler, Flavonoidler		
- Ksantin oksidaz inhibitörleri		
- Barbitüratlar, Trimetazidin		

Antioksidanların, etki mekanizmaları dört şekilde yürümektedir:

1. Radikal oluşumunu önleme veya oluşan radikalleri daha az zararlı hale getirme (Scavenging)
2. Oksidantlara bir hidrojen aktararak aktivitesini söndürme (Quenching)
3. Zincirleme şeklinde devam eden tepkimeleri belli yerlerinden kırarak, oksidan etkiyi durdurma (Chain Breaking)
4. Oksidatif hasar görmüş biyomolekülü onarma (Repair) (Gökpınar ve ark., 2006)

2.6.1. Lipit Peroksidasyonu ve Malondialdehit (MDA)

Hücre membranının yapısını oluşturan doymamış yağ asidi yapılı glikolipid, sterol, gliserit ve fosfolipit gibi bileşenlerin radikallerin etkisi ile peroksitler, alkoller, etan, pentan, hidroksi yağ asitleri ve aldehitler gibi farklı ürünlere yıkılması olayına “Lipit Peroksidasyonu” denir. Serbest radikaller çok reaktif oldukları için canlı organizmada yükseltgenebilen bütün hücre yapıları ile etkileşim oluştururlar (Nordberg ve ark., 2001).

Çeşitli patolojik durumlar sırasında birçok hücre tipinde O₂'nin redüksiyonundan oluşan türlerin olağan dışı ve şiddetli üretimiyle karakterize oksidatif stresin meydana geldiği günümüzde iyi bilinmektedir. Bu oksidatif stresin genel bir sonucu, hücre organizasyonunun az ya da çok degradasyonu ile sonuçlanan hücre lipidlerinin peroksidasyonudur (Nordberg ve Arner 2001).

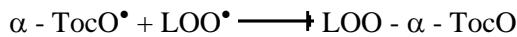
Lipid peroksidasyonu membran yapısını direkt ve diğer hücre bileşenlerine ise reaktif aldehytlere üreterek indirekt olarak zarar veren çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Bu bileşikler birçok hastalığa ve doku hasarına sebep olabilecek şekilde ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Peroksidasyon sonucu meydana gelen MDA, çapraz bağlanma ve polimerizasyon ile membran komponentlerine eder. Bunun neticesinde intrinsik membran özelliklerini değiştirebilen deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi olaylar meydana gelir. Bu değişimler, MDA'nın karsinogenik, genotoksik ve mutajenik etkisini açıklar. Böylece meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Lipid peroksidasyonunu kontrol etmek ve azaltmak için antioksidanlar kullanımı önemlidir (Köse ve Doğan 1992).

2.6.2.E Vitamininin Antioksidan Etkisi

E vitamininin normal fizyolojik süreçlerde ve farklı hastalık durumlarındaki rolü sürekli olarak araştırılmıştır. E vitamini diğer biyolojik moleküllerden daha fazla peroksit radikalleriyle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu önler ve hücre yapısını koruyarak güçlü bir antioksidan etki gösterir (Nordberg ve Arner, 2001). Lipid peroksidasyonunda oluşan peroksit radikalleriyle reaksiyona girerek çok fazla zayıf ve etkisiz bir radikal olan tokoferoksil radikalini oluşturur.



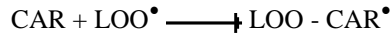
Daha sonra tekrar ikinci bir radikalle reaksiyona girerek radikal olmayan bir ürün olan LOO - TocO'yi oluşturur.



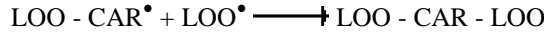
Böylece her tokoferol molekülü, lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını önleyerek antioksidan etkisini gösterir (Wolf ve ark., 1998).

2.6.3. A Vitamininin Antioksidan Etkisi

Konjuge polienlerin büyük kısmı benzer biyolojik aktiviteye sahiptir. Karotenoitler, aktif oksijen çeşitlerini durdurmada etkili olan pigmentler olarak lipid peroksidasyonu esnasında ortaya çıkan radikalleri önlemede etkilidir. Karotenoitlerin uzun, konjuge, çift bağlı sistemleri radikal saldırılarına karşı onları üstün hale getirmektedir. β - karotenin (CAR) peroksil radikali ile direkt olarak reaksiyona girebileceği ve karbon merkezli radikal oluşturarak rezonans kararlı hale geleceği belirtilmektedir (Nikolai ve ark., 2001).



Karotenoitler α -tokoferollerde görüldüğü gibi iki peroksil radikali ile reaksiyona girebilir (Young ve Woodside 2001).



Bununla birlikte bu antioksidan etki burada bitmez. Aşağıda gösterildiği gibi çoklu rezonans kararlılığı ile bir karoten molekülü, karbon merkezli radikaller oluşturarak iki peroksil radikale daha etki eder.



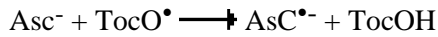
β -karoten ile peroksil radikalının reaksiyonundan oluşan ürünlerin bazısı son zamanlarda ESR ile tarif edilmiştir. Ürünler bazı epoksitler ile β -karotenin karbonil türevleridir (Kennedy ve Liebler 1991; Nikolai ve ark., 2001).

2.6.4. C Vitamininin Antioksidan Etkisi

Suda çözünebilir vitaminlerden olan askorbik asit bir ketolaktondur ve kollajenin prolin ve lizin birimlerinin hidroksilasyon reaksiyonlarında koenzim olarak görev alır (Tüzün 1997, Emerk 1997).

C vitamininin güçlü antioksidan aktivitesi sahip olduğu güçlü indirgeyici aktivitesinden kaynaklanmaktadır. Hidroksil ve süperoksit radikali ile kolayca reaksiyona girerek onların temizlenmesinde rol oynar (Akkuş 1995; Granada 1998). C vitamininin etkili bir singlet oksijen temizleyicisi olduğu da belirtilmektedir (Kılınç 1985).

Ayrıca C vitamini askorbat radikali oluşturarak, radikalik tokoferollerin yenilenmesini sağlar (Wolf ve ark., 1998).



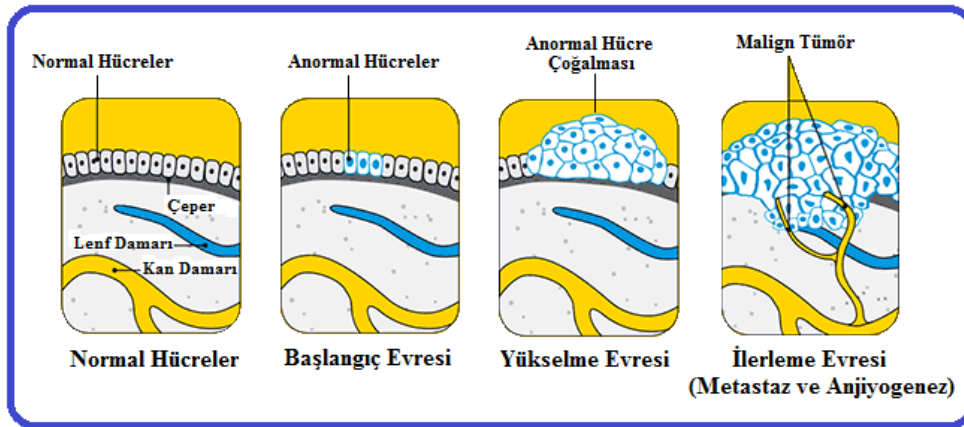
2.7. Kanser

Hücrelerin proliferasyonu (çoğalması), hücrelerin iki yavru hücreye bölünmesi üzerinden gerçekleşmektedir. Çevresel ve genetik faktörlerin etkisiyle hücrelerin kontrolsüz olarak çoğalması ve yayılması sonucu kanser olarak tanımlanan hastalık gelişir (Terzioğlu ve ark., 2013). Kanser yalnızca bir tür hastalık olmayıp, farklı nedenlerle ve semptomlarla tanımlanmış çok fazla hastalığın birleşimi olarak tanımlanmaktadır (Silverstein ve ark., 2006; Ruddon 2007; Xuan ve ark., 2014). Sürekli ve kontrolsüz bir şekilde bölünen ve çoğalan hücreler kümelenme yaparak dokularda tümör oluşumuna sebebiyet verirler. Meydana gelen tümörler benign (iyi huylu) ve malign (kötü huylu) kanser olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Çevredeki dokuya veya vücudun diğer uzak bölgelerine yayılmadan oluştukları yerlerde kalan tümörler, Benign tümörlerdir. Çevre dokulara veya kan ve lenf sistemi ile vücuttaki diğer bölgelere taşınarak çoğalan (metastaz) tümörler ise Malign tümörlerdir. Kanseri tehlikeli kılan, malign tümörlerin oluşturduğu metastaz durumudur (Bertram 2000; Cooper ve ark., 2004).

Organizmalardaki kanserin nedenleri günümüzde kesin olarak bilinmemekle birlikte risk faktörleri; fizyolojik ve metabolik süreçlere ve genetik faktörlere, aile öykülerine, yaşam şekillerine, cinsiyete, yaşa, beslenmeye bağlı olarak değişebilmektedir. Ayrıca hastayı kansere yatkın hale getiren genler, kanser oluşumuna neden olan radyasyona maruziyet, virüsler, çeşitli kimyasallardır (Williams 2001; Yokuş ve ark., 2012). Ayrıca, ilerleyen yaş gruplarında bu hastalığın daha fazla görülmesi, yaşam boyunca oluşan mutasyonların toplu etkisi ile ilişkilendirilmiştir (Lüleyap 2008).

Normal hücreden kanser hücresine dönüşüm başlangıç, yükselme ve ilerleme aşamalarını kapsayan çok basamaklı bir süreçtir ve karsinogenez olarak ifade edilir (Şekil 2.3). Başlangıç aşamasında, hasara uğrayan DNA'nın onarımının sağlanmaması durumunda klonal yayılmayla hücre proliferasyonu başlar ve DNA aktarımı yavru hücrelere gerçekleşir. Çevredeki hücrelerin baskılayıcı etkisi oluşumu durdurabilir. Fakat herhengi bir etkenle bu ortadan kalkarsa başlangıç hücreleri çoğalarak dokuda birikir ve böylelikle yükselme aşamasını meydana getirirler. Bu aşamadan sonra genetik ve epigenetik değişimlerin katkısı ile ilerleme aşaması olarak bilinen süreçte hücrelerin dokulara metastaz yapması ile sonuçlanabilir. Artık hücre proliferasyonu uyarıdan bağımsızdır ve metabolik ve morfolojik özelliklerde değişim, hızlı gelişim, invazyon, metastaz gibi özellikler bu aşamanın belirtileridir (Takım 2015).

Kanserli hücrelerde görülen hücre çoğalması ihtiyaç haline bakılmaksızın, kontrolsüz bir şekilde gerçekleşmektedir. Kanser hücresi, dokuya has olan yapısal özelliğini kaybetmiş olup, apoptoz mekanizması ya bozulmuş ya da durmuş olan normal hücrelere göre küçük ancak nükleusları daha büyük olan hücrelerdir. Kanserleşen hücrede genellikle şeker tüketimi fazla olduğu için anaerobik solunum oranı yüksektir. Ayrıca yine metabolik değişikliklerle enzimlerinde miktar ve işlev bakımından değişiklikler olmuştur ve antijenik özellikleri de farklılaşmıştır (Dilsiz 2009).



Şekil 2.3. Normal hücrelerin kanser hücrelerine dönüşümü (Karsinogenez) ("How cancer starts" 2020)

2.7.1. Apoptoz

Apoptoz; hasar görmüş ya da neoplastik hücrelerin hem fizyolojik hem de patolojik olarak istenmemesi durumu ve programlanmış olarak yok edilmesi olarak tanımlanmaktadır (Koç 2012). Hücre çoğalmasının kontrolsüz bir şekilde artması ve apoptoz işlevinin azalması, karsinogeneze aracılık etmektedir. Organizmadaki hücre sayısı homeostazinin korunmasında oldukça önemlidir. Apoptoz, organizmanın bazı dokularında ve hücrelerinde sürekli olarak meydana gelmekte ve bu şekilde ölüm ve yapım dinamiği devam eder ancak bu durum değişirse birçok hastalığın ortaya çıkması kaçınılmaz olur. AIDS, arteriosklerozis ve nörodejeneratif gibi hastalıklar apoptozun hızlandığı, bazı otoimmün ve kanser gibi hastalıklar apoptozun yavaşladığı durumları işaret edebilir (Lüleyap 2008).

Hücrede apoptozun kontrolünde; sistein proteazlar (kaspazlar; kaspaz-8, 9 ve 3) ve kaspaz aktivasyonunu düzenleyen Bcl-2 gen ailesi olmak üzere, iki protein ailesi önemli bir rol oynamaktadır. Apoptozu düzenleyen genlerin mutasyonu da kanser oluşumuna sebebiyet vermektedir. Hücrenin varlığı apoptozu indükleyen ve inhibe eden Bcl-2 (antiapoptotik), Bax ve p53 (apoptotik) genlerine bağlıdır (Kopnin 2000; Yokuş ve ark., 2012).

2.7.2. Kolon Kanseri

Kolorektal kanserler neticesinde ölüm, kadınlarda meme kanserinden, erkeklerde ise akciğer kanserinden kanserden sonra ikinci sıradadır (Jemal ve ark., 2007). Kolorektal kanser (KRK), Batı Avrupa, İskandinavya, Kuzey Amerika, Avustralya ve Yeni Zelanda ve tüm dünyada yaygın olarak rastlanan kanser sonucu meydana gelen ölümlerin %10'u civarındadır. Genellikle bu kanser büyük oranda sol kolonda, oransal olarak daha az sağ kolonda görülmekle birlikte çok az oranda ise aynı anda birden fazla odakta birden görülebilmektedir. Kolorektal kanser erkeklerde bir miktar daha sık görülmekle beraber erkek/kadın oranı 1,34'tür. Hayat boyu kolorektal kanser görülme oranı erkeklerde %6,14, kadınlarda ise %5,92 olarak bildirilmesine rağmen mortalite oranları kadınlarda daha yüksektir (Kuşakçioğlu 2003).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

- Cam malzeme olarak; damlatma hunileri, ayırma hunileri, çeşitli ebatlarda balonlar, soğutucular, beherler, erlenmayerler, büretler, kılcal borular ve deney tüpleri
- Tartımlar için elektronik terazi: Chyo J.L.180
- IR spektrumları için Perkin ElmerSpectrumOne FT-IR spektrofotometre
- ¹H-NMR spektrumlarının alınması için Bruker 400 MHz NMR spektrometre
- ¹³C-NMR spektrumlarının alınması için Bruker 400 MHz NMR spektrometre
- Polarimetrik ölçümler için POLS-1 polarimetre (Sodyum lambası, 589 nm)
- DSC ölçümleri için HITACHI-DSC7020
- TGA ölçümleri için HITACHI-STA7300
- UV-VIS ölçümleri için Shimadzu UV Pharmaspec 1700
- Kurutma işlemi için Memmert M50 model etüv
- Erime noktası tayin cihazı (Gallenkamp)
- Magnetik ve mekanik karıştırıcılar
- 100 ve 360°C'lik termometreler
- Otomatik pipetler
- Desikatör

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

3.2.1. Reaktifler

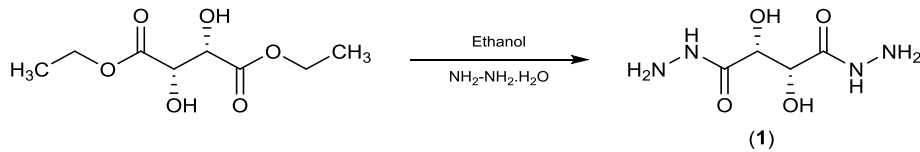
Dietil-(2*R*,3*R*)-2,3-dihidrobütandionat, hidrazin monohidrat, fenil izotiyosiyanat, p-tollil izotiyosiyanat, p-metoksi fenil izotiyosiyanat, allil izotiyosiyanat, etil izotiyosiyanat, sülfirik asit.

3.2.2. Çözücüler

Etil alkol, asetonitril, dietileter, aseton, dioksan, metanol, DMF, DMSO, CCl₄, kloroform ve NMR spektrumları için DMSO-d₆, CDCl₃.

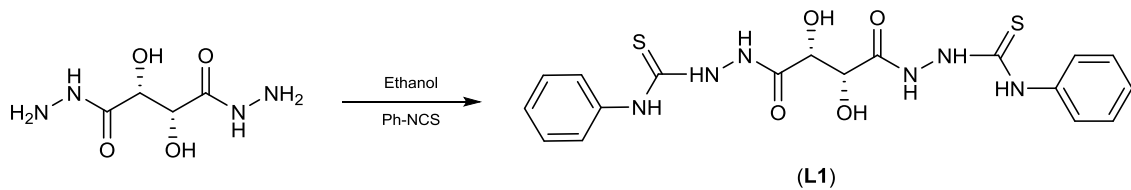
3.3. Deneysel Kısım

3.3.1. (2R,3R)-2,3-dihidroksibütandihidrazit Sentezi (1)



İki ağızlı 100 ml lik reaksiyon balonu, termometre, geri soğutucu ve manyetik balık kullanılarak reaksiyon düzeneği hazırlandı. Reaksiyon balonuna 10 mmol (2,62 gr) dietil(2R,3R)-2,3-dihidrobütandionat ve 50 ml mutlak etil alkol eklendi. Reflaks süreci başladıktan sonra üzerine 20 mmol hidrazin monohidrat eklendi. Yaklaşık 4 saat sonra reaksiyon balonunda katı (2R,3R)-2,3-dihidroksibütandihidrazit oluşmaya başladı. Reaksiyon takibi ince tabaka kromatografisi ile yapıldı ve tepkime sonucu oluşan katı süzülüp, kurutulduktan sonra kristallendirildi. Elde edilen ürünün yapısı FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR teknikleri ile aydınlatıldı. Verim %85, (1,51 gr).

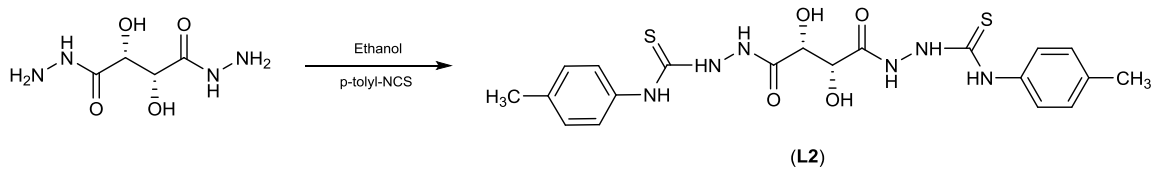
3.3.2. 2,2'-[(2R,3R)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(N-fenilhidrazin-1 karbotiyoamit) Sentezi (L1)



İki ağızlı 100 ml lik reaksiyon balonu, termometre, geri soğutucu ve manyetik balık kullanılarak reaksiyon düzeneği hazırlandı. Reaksiyon balonuna 10 mmol (1,78 gr) (2R,3R)-2,3-dihidroksibütandihidrazit ve 50 ml mutlak etil alkol eklendi. Reflaks süreci başladıktan sonra üzerine 20 mmol (2340 mL) fenil izotiyosiyanat eklendi. Yaklaşık 4 saat sonra reaksiyon balonunda katı 2,2'-[(2R,3R)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-

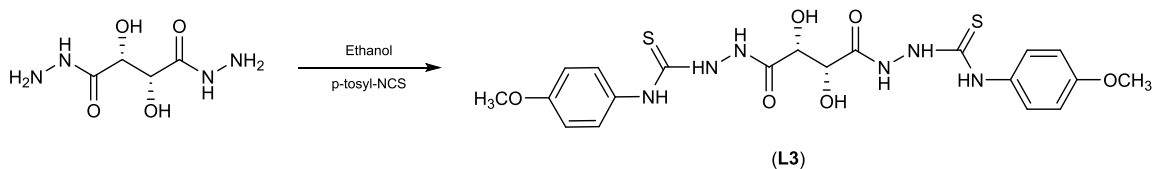
diil]bis(*N*-fenilhidrazin-1-karbotiyoamit) oluşmaya başladı. Reaksiyon takibi ince tabaka kromatografisi ile yapıldı ve tepkime sonucu oluşan katı süzülüp, kurutulduktan sonra kristallendirildi. Elde edilen ürünün yapısı FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR teknikleri ile aydınlatıldı. Verim %75, (2,48 gr).

3.3.3. 2,2'-[(2*R*,3*R*)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(*N*-*p*-tolilhidrazin-1-karbotiyoamit) Sentezi (L2)



İki ağızlı 100 ml lik reaksiyon balonu, termometre, geri soğutucu ve manyetik balık kullanılarak reaksiyon düzeneği hazırlandı. Reaksiyon balonuna 10 mmol (1,78 gr) (2*R*,3*R*)-2,3-dihidroksibütandihidrazit ve 50 ml mutlak etil alkol eklendi. Reflaks süreci başladıktan sonra üzerine 20 mmol (2,98 gr) *p*-tolil izotiyosiyanat eklendi. Yaklaşık 4 saat sonra reaksiyon balonunda katı 2,2'-[(2*R*,3*R*)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(*N*-*p*-tolilhidrazin-1-karbotiyoamit) oluşmaya başladı. Reaksiyon takibi ince tabaka kromatografisi ile yapıldı ve tepkime sonucu oluşan katı süzülüp, kurutulduktan sonra kristallendirildi. Elde edilen ürünün yapısı FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR teknikleri ile aydınlatıldı. Verim %70, (3,33 gr).

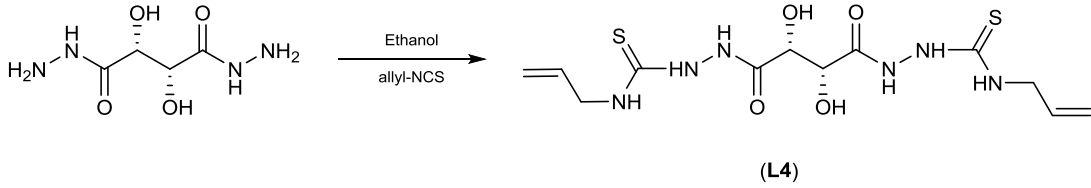
3.3.4. 2,2'-[(2*R*,3*R*)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(*N*-*p*-metoksifenil hidrazin-1-karbotiyoamit) Sentezi (L3)



İki ağızlı 100 ml lik reaksiyon balonu, termometre, geri soğutucu ve manyetik balık kullanılarak reaksiyon düzeneği hazırlandı. Reaksiyon balonuna 10 mmol (1,78 gr) (2*R*,3*R*)-2,3-dihidroksibütandihidrazit ve 50 ml mutlak etil alkol eklendi. Reflaks süreci başladıktan sonra üzerine 20 mmol (3,30 gr) *p*-metoksifenil izotiyosiyanat eklendi. Yaklaşık 4 saat sonra reaksiyon balonunda katı 2,2'-[(2*R*,3*R*)-2,3-dihidroksi-1,4-

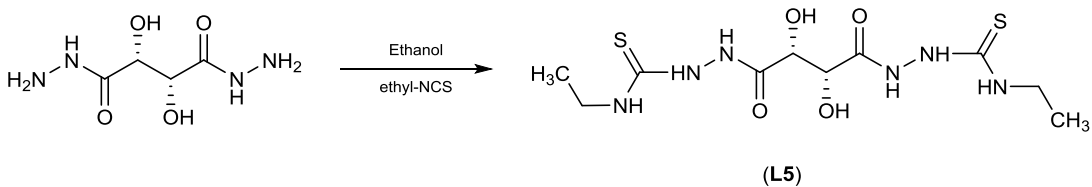
dioksibütan-1,4-diil]bis(*N*-*p*- metoksifenil hidrazin-1-karbotiyoamit) oluşmaya başladı. Reaksiyon takibi ince tabaka kromatografisi ile yapıldı ve tepkime sonucu oluşan katı süzülüp, kurutulduktan sonra kristallendirildi. Elde edilen ürünün yapısı FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR teknikleri ile aydınlatıldı. Verim %68, (3,45 gr).

3.3.5. 2,2'-[(2*R*,3*R*)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis (*N*-alilhidrazin-1-karbotiyoamit) Sentezi (L4)



İki ağzılı 100 ml lik reaksiyon balonu, termometre, geri soğutucu ve manyetik balık kullanılarak reaksiyon düzeneği hazırlandı. Reaksiyon balonuna 10 mmol (1,78 gr) (2*R*,3*R*)-2,3-dihidroksibütandihidrazit ve 50 ml mutlak etil alkol eklendi. Reflaks süreci başladıktan sonra üzerine 20 mmol (1,96 mL) alil izotiyosiyanat eklendi. Yaklaşık 4 saat sonra reaksiyon balonunda katı 2,2'-[(2*R*,3*R*)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(*N*-alil hidrazin-1-karbotiyoamit) oluşmaya başladı. Reaksiyon takibi ince tabaka kromatografisi ile yapıldı ve tepkime sonucu oluşan katı süzülüp, kurutulduktan sonra kristallendirildi. Elde edilen ürünün yapısı FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR teknikleri ile aydınlatıldı. Verim %69, (2,60 gr).

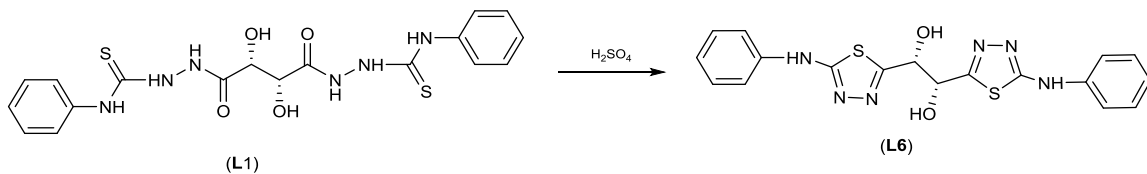
3.3.6. 2,2'-[(2*R*,3*R*)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis (*N*-etilhidrazin-1-karbotiyoamit) Sentezi (L5)



İki ağzılı 100 ml lik reaksiyon balonu, termometre, geri soğutucu ve manyetik balık kullanılarak reaksiyon düzeneği hazırlandı. Reaksiyon balonuna 10 mmol (1,78 gr) (2*R*,3*R*)-2,3-dihidroksibütandihidrazit ve 50 ml mutlak etil alkol eklendi. Reflaks süreci başladıktan sonra üzerine 20 mmol etil izotiyosiyanat (1,74 mL) eklendi. Yaklaşık 4 saat

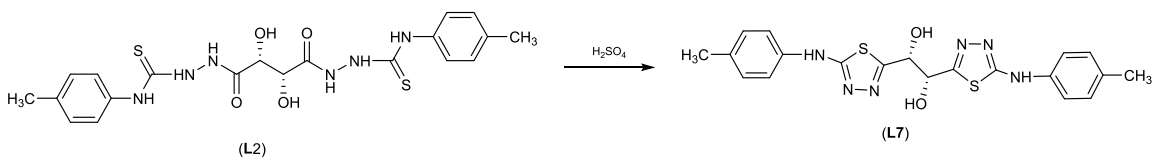
sonra reaksiyon balonunda katı 2,2'-[(2*R*,3*R*)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(*N*-etil hidrazin-1-karbotiyoamit) oluşmaya başladı. Reaksiyon takibi ince tabaka kromatografisi ile yapıldı ve tepkime sonucu oluşan katı süzülüp, kurutulduktan sonra kristallendirildi. Elde edilen ürünün yapısı FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR teknikleri ile aydınlatıldı. Verim %71, (2,50 gr).

3.3.7. (1*R*,2*R*)-1,2-bis[5-(fenilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol Sentezi (L6)



İki ağızlı 100 ml lik reaksiyon balonu, termometre, geri soğutucu ve manyetik balık kullanılarak reaksiyon düzeneği hazırlandı. Reaksiyon balonuna 10 mmol (4,48 gr) 2,2'-[(2*R*,3*R*)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(*N*-fenilhidrazin-1-karbotiyoamit (L1) 2 mL su ihtiva eden 5 mL derişik H₂SO₄ çözeltisi içerisinde 60 °C'de 1 saat ısıtıldı. Karışım soğutuldu, içerisine 100 g buz katıldı. Amonyum hidroksit çözeltisi ile nötürleştirildi. Oluşan katı saf su ile yıkandıktan sonra süzülerek etanolde kristallendirildi. Elde edilen ürünün yapısı FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR teknikleri ile aydınlatıldı. Verim %52, (2,14 gr).

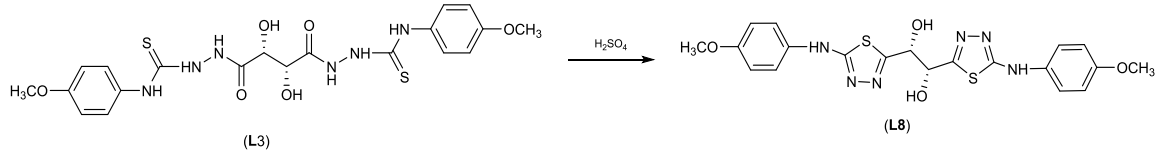
3.3.8. (1*R*,2*R*)-1,2-bis[5-(*p*-tolilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol Sentezi (L7)



İki ağızlı 100 ml lik reaksiyon balonu, termometre, geri soğutucu ve manyetik balık kullanılarak reaksiyon düzeneği hazırlandı. Reaksiyon balonuna 10 mmol (4,76 gr) 2,2'-[(2*R*,3*R*)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(*N*-*p*-tolilhidrazin-1-karbotiyoamit (L2) 2 mL su ihtiva eden 5 mL derişik H₂SO₄ çözeltisi içerisinde 60 °C'de 1 saat ısıtıldı. Karışım soğutuldu, içerisine 100 g buz katıldı. Amonyum hidroksit çözeltisi ile nötürleştirildi. Oluşan katı saf su ile yıkandıktan sonra süzülerek etanolde

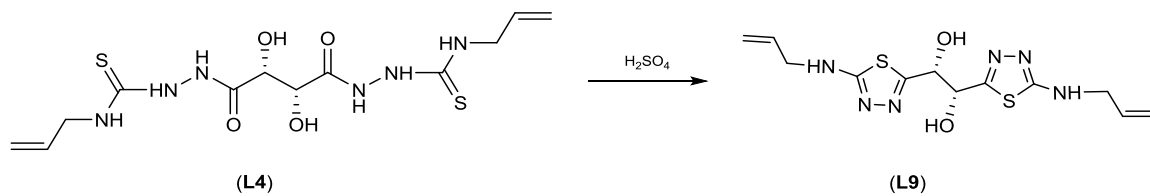
kristallendirildi. Elde edilen ürünün yapısı FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR teknikleri ile aydınlatıldı. Verim %49, (2,20 gr).

3.3.9. (1*R*,2*R*)-1,2-bis[5-(*p*-metoksifenilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol Sentezi (L8)



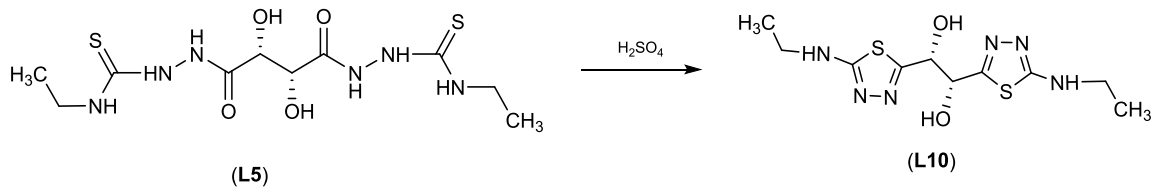
İki ağızlı 100 ml lik reaksiyon balonu, termometre, geri soğutucu ve manyetik balık kullanılarak reaksiyon düzeneği hazırlandı. Reaksiyon balonuna 10 mmol (5,0 gr) 2,2'-[(2*R*,3*R*)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(*N*-metoksifenil hidrazin-1-karbotiyo amit (L3) 2 mL su ihtiva eden 5 mL derişik H₂SO₄ çözeltisi içerisinde 60 °C'de 1 saat ısıtıldı. Karışım soğutuldu, içerisine 100 g buz katıldı. Amonyum hidroksit çözeltisi ile nötürleştirildi. Oluşan katı saf su ile yıkandıktan sonra süzülerek etanolde kristallendirildi. Elde edilen ürünün yapısı FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR teknikleri ile aydınlatıldı. Verim %52, (2,45gr).

3.3.10. (1*R*,2*R*)-1,2-bis[5-(alilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol Sentezi (L9)



İki ağızlı 100 ml lik reaksiyon balonu, termometre, geri soğutucu ve manyetik balık kullanılarak reaksiyon düzeneği hazırlandı. Reaksiyon balonuna 10 mmol (3,76 gr) 2,2'-[(2*R*,3*R*)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(*N*-alilhidrazin-1-karbotiyo amit (L4) 2 mL su ihtiva eden 5 mL derişik H₂SO₄ çözeltisi içerisinde 60 °C'de 1 saat ısıtıldı. Karışım soğutuldu, içerisine 100 g buz katıldı. Amonyum hidroksit çözeltisi ile nötürleştirildi. Oluşan katı saf su ile yıkandıktan sonra süzülerek etanolde kristallendirildi. Elde edilen ürünün yapısı FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR teknikleri ile aydınlatıldı. Verim %51, (1,61gr).

3.3.11. (1R,2R)-1,2-bis[5-(etilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol Sentezi (L10)



İki ağızlı 100 ml lik reaksiyon balonu, termometre, geri soğutucu ve manyetik balık kullanılarak reaksiyon düzeneği hazırlandı. Reaksiyon balonuna 10 mmol (3,52 gr) 2,2'-[(2R,3R)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(N-etilhidrazin-1-karbotiyoamit (L5) 2 mL su ihtiva eden 5 mL derişik H₂SO₄ çözeltisi içerisinde 60 °C'de 1 saat ısıtıldı. Karışım soğutuldu, içerisinde 100 g buz katıldı. Amonyum hidroksit çözeltisi ile nötrleştirildi. Oluşan katı saf su ile yıkandıktan sonra süzülerek etanolde kristallendirildi. Elde edilen ürünün yapısı FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR teknikleri ile aydınlatıldı. Verim %47, (1,60 gr).

3.4. Antioksidan Aktivite

Antiradikal Aktivitelerin Belirlenmesi: Standart antioksidan ve sentezlenen bileşikler, DMSO'da 5000 µM konsantrasyonda çözüldü.

3.4.1. DPPH• Radikali Giderme Aktivitesi

Serbest radikal giderme, Shimada ve ark., 'nın metoduna göre bazı modifikasyonlarla yapıldı. Serbest radikal olarak DPPH•'ın (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) 1 mM'lık derişimleri hazırlanarak kullanıldı. Ölçüm yapılacak tüplere maddeler farklı hacimlerde ilave edilerek toplam hacimleri 3 mL olacak şekilde saf etanol ile tamamlandı. Böylece maddelerin farklı derişimleri elde edilmiş oldu. Örneklerin farklı derişimlerini içeren bu tüplere stok DPPH• çözeltisinden 1 mL ilave edildi ve 30 dk. oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edildi. Örneklerin absorbanları etanole karşı 517 nm de ölçülerek kaydedildi. Etanol ve DPPH• çözeltisi kontrol olarak kullanıldı. Azalan absorban geriye kalan DPPH• radikal giderme aktivitesini vermektedir (Shimada ve ark., 1992).

$$\%DPPH\bullet \text{ Yok Etme Aktivitesi} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

A₀ = Kontrolün absorban değeri

A₁ = Madde ilave edildikten sonraki absorban değeri



Şekil 3.1. DPPH radikal aktivite (L)



Şekil 3.2. DPPH radikal aktivite (L) 30 dak sonra

3.4.2. ABTS•+ Yok Edici Testi

Bu metotta 2,45 mM $K_2S_2O_8$ ve 7 mM ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (1:1) çözeltileri oda sıcaklığında ve karanlıkta 16 saat süre ile inkübe edildi. Bu çözeltinin absorbansı 734 nm'de $1,660 \pm 0,02$ absorbansına ulaşılan kadar etil alkolle seyreltildi (kontrol absorbansı). Bu radikal çözeltisinden 4'er mL deney tüplerine alındı ve üzerine madde çözeltileri eklendi. Karanlıkta 2 saat inkübasyonun ardından absorbans değerleri 734 nm'de PBS (Fosfat Tamponu, pH=7,4)'den oluşan köre karşı kaydedildi (Yu ve ark., 2002).

$$- \% \text{ABTS Yok Etme Aktivitesi} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A_0 = Kontrolün absorbans değeri

A_1 = Madde ilave edildikten sonraki absorbans değeri

3.4.3. Hidroksil Radikali Yok Etme Aktivitesi

500 μL – 3,6 mM deoksiriboz, 200 μL - 100 μM FeCl_3 , 200 μL - 10^4 mM EDTA, 100 μL - 1 mM H_2O_2 ve 100 μL - 1 mM askorbik asit çözeltisinden oluşan karışıma belirli hacimlerde madde çözeltileri eklenerek vortekste iyice karıştırıldı. Karışımlar 37 °C’de 1 saat süre ile bekletildi ve üzerine 1 mL %2,8 TCA ve 1 mL %1,0 TBA eklendikten sonra 50 °C’de 30 dk. inkübe edildi. İnkübasyon sonrası örnekler bütanol ile muamele edilerek ayrılan fazların 532 nm dalga boyunda UV’de absorbansları kaydedildi (Halliwell ve ark., 1987).

$$- \% \text{OH Yok Etme Aktivitesi} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A_0 = Kontrolün absorbans değeri

A_1 = Madde ilave edildikten sonraki absorbans değeri

3.4.4. Test Bileşiklerinin *Saccharomyces cerevisiae* Hücrelerindeki MDA ve Antioksidan Vitamin Düzeylerine Etkisi

Sentezlenen 1,2-diol ve tiyadiazol bileşiklerinin hücre içindeki antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi için *Saccharomyces cerevisiae* maya hücreleri kullanıldı. *Saccharomyces cerevisiae* tek hücreli Fungi alemine dahil olan bir mikroorganizmadır. Mayaların ortak özellikleri olan karbonhidratları fermente etme yanında yüksek vitamin içeriğine sahip olmasından dolayı besin olarak değerleri fazladır. *Saccharomyces cerevisiae*’ın bazı türleri diğer vitaminler ve B vitaminini sentezlerler. Maya hücreleri sıklıkla moleküler düzeyde bir model olarak metabolizmanın oksidatif strese yanıtı çalışmalarında kullanılmaktadır (Herdeiro ve ark., 2006). İnsan ve maya genomunun dizileri %23 ortaktır.

Çalışmamızda, *Saccharomyces cerevisiae* hücreleri Malt extract broth’da aşılandı ve etüvde 25 °C’de inkübe edildi. Ekspansiyon kısmından alınan 10^6 hücre/mL hücre deneysel çalışmalar için kullanıldı. Bu tüplere maddeler 50 μM son derişim

ihtiva edecek şekilde eklendi, tüplerdeki DMSO miktarı eşitlendi ve karıştırıldı. Aynı hacimde DMSO ilave edilen tüpler kontrol grubu olarak kullanıldı ve tüm örnekler 24 saat inkübe edildi.

3.4.4.1. *Saccharomyces cerevisiae* Hücrelerindeki MDA ve C Vitamini Analizi

MDA ve C vitamini analizi için hücre içeren bütün tüplere 250 µL - %15'lik trikloroasetik ve 750 µL - 0,5 M HClO₄'den ilave edilerek karıştırıldı. Hücrelerden elde edilen lizat 5 dakika 4500 devirde santrifüjlendikten sonra süpernatant dikkatlice alınarak HPLC'de analizlendi (Karatepe 2004).

3.4.4.2. *Saccharomyces cerevisiae* Hücrelerindeki A ve E Vitamini Analizi

Bu amaçla hücre örneklerinin üzerine %1'lik H₂SO₄ içeren etil alkolden 0,3 mL ilave edilerek karışım 2500 devirde 5 dakika vortekslenip sonra santrifüjlendi. Daha sonra örnekler üzerine 250 µL n-hekzan eklendi. Böylece ortamda bulunan yağda çözünen vitaminler hekzan fazına geçmiş oldu ve santrifüjlenen tüplerden hekzan ayrılarak cam tüpe alındı. Bu işlem üç defa tekrarlandı. Ekstrakte edilen hekzan, kuru azot altında uzaklaştırılıp kalıntı 100 µL mobil fazda çözüldü. Örneklerdeki A Vitamini 326 nm ve E Vitamini 296 nm dalga boyunda İnertsil 5µ C-18 (15 cm x 4,6 mm) kolonu ve metanol: kloroform: diklormetan (47: 42: 11) fazında akış hızı dakikada 1 mL olacak şekilde HPLC ile analizlendi (Catignani 1983; Henning ve ark., 1997).

3.5. Hücre Kültürü Çalışmaları

3.5.1. Kullanılan Kimyasallar

Pensilin-streptomisin Biological Industries'den (İsrail) ve Fetal calf serum (FCS), dimetilsülfoksit (DMSO), NaOH, NaCl ve HCl Merck'ten (Dormstadt, Almanya) satın alındı. Deneysel çalışmalarda kullanılacak diğer kimyasallar Sigma-Aldrich'ten (St. Louis, MO, USA) temin edildi. Yapılan tüm deney safhalarında bi-distile su kullanıldı. Test edilecek farklı 1,2-diol ve tiyadiazol bileşikleri DMSO'da çözülerek son derişimleri 5, 10 ve 20 µM olacak şekilde hücre ortamına bırakıldı.

3.5.2. Hücre Kültürleri

Bu çalışmalar, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Moleküler Araştırmalar Laboratuvarında yapıldı. Çalışmada insan kolon kanseri hücre hattı olan HT29 kullanıldı ve ATCC den ticari olarak temin edildi. HT29 hücreleri 25 cm²'lik flasklara ekildi. Hücre kültürü ortamı olarak %10 FBS, Penicilin-Streptomycin (100 ünite), L-Glutamine ve NaHCO₃ içeren DMEM besiyeri kullanılmıştır. Hücreler 37 °C'de, %5 CO₂ ve %95 nem içeren ortamda inkübasyona bırakılıp çoğaltıldı. Büyüyen hücreler pasajlanırken Tripsin-EDTA eklenerek CO₂ etüvünde yaklaşık 1 dakika tutuldu. Daha sonra besiyeri eklenerek hücreler falkon tüpe toplanıp oda sıcaklığında 1000 rpm'de 5 dakika santrifüjlendi. Üst faz atılıp çöken pellet medyuma süspansiyon edilip hücre sayımı yapılarak kültür platelerine ekim yapıldı.

3.5.3. Hücre Sayımı

Yapılan çalışmada 96, 24 ve 12 kuyucuklu platalere ekim yapıldıktan sonra geçen süre sonunda Tripan Mavisi ile boyayıp Thoma lamı (Iso Lab) üzerinde bulunan toplam alanı 1 mm² olan ve Lamel yapıştırıldığında sayım bölgesinin yüksekliği de 0,1 mm olan sayım bölgelerinden faydalanıldı.

Sayım için; 10 µL hücre süspansiyonu üzerine 15 µL PBS eklenir ve 25 µL Tripan Mavisi çözeltisi konulur ve oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildikten sonra Thoma Lamına 10 µL yüklenerek ışık mikroskobunda sayım yapılır. Bu durumda ölü hücreler, canlı hücreler boyanmaz. Yalnızca metilen mavisi ile boyanmış ölü hücreler sayılarak işlem gerçekleştirilebilir. Seyrelme faktörü de dikkate alınarak mL başına düşen hücre sayısı hesaplanarak her bir kuyucuğa ekilecek olan hücre miktarı belirlenir.

3.5.4. MTT Testi

MTT testi (3-[4,5-dimetiltiyazol-2-yil]-2,5-difenil tetrazolyum bromür) hücrenin metabolik aktivitesini değerlendirmek için kullanılan kolorimetrik bir analiz yöntemidir. Hücreler, suda çözünen MTT'yi çözünür olmayan mor renkli formazana dönüştürürler. Formazan daha sonra çözünür hale getirilir ve konsantrasyonu optik yoğunluk ile belirlenir.

Hücre canlılığının saptanması için MTT yöntemi kullanılmıştır. HT29 hücreleri 96 kuyucuk plate'e ekildi. Hücrelerin yapışmasını takiben sentezlenen moleküller 0 μM , 0,1 μM , 1 μM , 10 μM , 100 μM , 1000 μM konsantrasyonunda kuyucuklara eklendi. Kuyucuklara 24 saat sonra 12 mM'lık MTT çözeltisinde 10 μL eklenip 4 saat 37°C' de %5 CO₂ içeren etüvde inkübasyona bırakıldı. 4 saat sonunda oluşan mor renkli formazan kristallerini çözmek için 0,01M HCl ile çözülen SDS' ten 100 μL eklenip 37 °C' de %5 CO₂ içeren etüvde inkübasyona bırakıldı. 4 saat sonra oluşan mor rengin absorbansı 570 nm'de Elisa plaka okuyucu ile ölçüldü.

MTT deneyleri sonucunda IC50 değerleri Graphpad programı kullanılarak hesaplandı. IC50 degerleri 10 μM altında olan bileşiklerde anti-kanser etki potansiyel çalışmaları yapılmıştır.

3.5.5. Hücre Canlılık Testi

Bileşiklerin HT29 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkilerini araştırmak için, 24 saat süresince besiyeri içerisinde ki final konsantrasyonları antibiyotik derişimini dahil etmeksizin 10 μM olacak şekilde araştırılan bileşikler HT29 hücreleri üzerinde uygulandı. İnkübasyon sonrasında, hücre canlılıklarını tespit etmek için metilen blue boyaması yapıldı. Hücreler PBS solusyonu içinde hazırlanmış %1 SDS çözeltisi ile ekstrakte edildi ve metilen blue solusyonu ile boyandı. Mikroplate reader ile 600 nm'de absorbansları ölçüldü.

3.5.6. Kaspaz-3 Aktivitesinin Ölçümü

HT29 hücreleri 10 μM konsantrasyonda bileşik içeren ortamda 24 saat 12 well plate içerisinde inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, hücreler, cell lysis tampon ile patlatıldı. Kaspaz-3 aktivite testi için, "caspase-3 activity assay kiti" kullanılarak, üretici firmanın talimatları doğrultusunda kit prosedürü uygulandı (Invitrogen).

3.5.7. Trans-well Migration Testi

Hedef üründen aktif bileşenlerin taranması amacıyla kullanılan migrasyon testi, içerisine 8.0 μm por büyüklüğüne sahip membrane yerleştirilmiş olan 24 well'lik hücre kültür plate'lerinde gerçekleştirildi. Kısaca, daha aşağıda olan bölme kemoatraktant olarak %10

FBS içeren 800 µl DMEM ile dolduruldu. Daha üstteki well bölmesine, 200 µl serum free DMEM içerisinde toplam 1×10^4 HT29 hücresi ekildi ve sırasıyla 10 µM bileşikler uygulanarak 24 saat 37 °C de inkübe edildi. 24 saat sonunda normoksik koşullar altında, göç eden hücreler kristal viola ile boyandı. Resimler bir inverted mikroskop kullanılarak çekildi. İstatistiksel açıdan önemli farklılıkları belirlemek için, göç eden hücreler daha sonra sayıldı ve analiz edildi. Göç eden hücreler metanol ile fikse edildi ve boyandı.

3.5.8. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) Testi

8-OHdG seviyesinin ölçülmesi için, hücre lizatı içerisinde “genomik DNA ekstraksiyon kiti” kullanılarak genomik DNA ekstrakte edildi (Invitrogen, USA), ve 8-OHdG testi üretici firmanın talimatları doğrultusunda kit protokolüne uygun olarak uygulandı (Cell Biolabs, USA).

3.6. Antimikrobiyal Aktivite

3.6.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar

Çalışmada *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603, *Escherichia coli* ATCC25322, *Bacillus subtilis* DSM32 ve *Candida albicans* FMC17 suşları kullanılmıştır. Mikroorganizmalar Fırat Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonundan alındı.

3.6.2. Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)

Çalışmada kullanılacak olan stok solüsyon 1000 mg/mL olarak hazırlanmıştır. Hazırlanan solüsyondan başlangıç konsantrasyonu 1 mg/mL olacak şekilde 6 kez sulandırma işlemi yapılmıştır. Daha sonra her bir kuyucuğa 100 mL besiyeri ilave edilmiştir. Özütün sulandırma işlemi 1mg/ mL den başlayarak sırasıyla 0,5 mg/ml, 0,25 mg/mL, 0,125 mg/ mL, 0,0625 mg/ mL, 0,03125 mg/ mL ve son konsantrasyon 0,015625 mg/ mL olacak şekilde pipetaj uygulanmıştır. Son olarak her bir kuyucuğa 100 mL test mikroorganizması eklenerek mikroorganizmaların büyümesi beyaz pellet ya da bulanıklık varlığında gözlenmiştir.

Elde edilen verilere göre ekstraktların mik (minimal inhibisyon konsantrasyonu) 0,1 mg/mL'den daha düşükse yüksek, 0,1 mg/mL - 0,5 mg/mL arasındaysa orta, 0,5 mg/mL- 1 mg/mL arasında ise zayıf olarak değerlendirilir (Morales ve ark., 2008). İnkübasyon süresinin sonunda, inhibisyon bölgeleri besiyerinde mm olarak değerlendirildi.

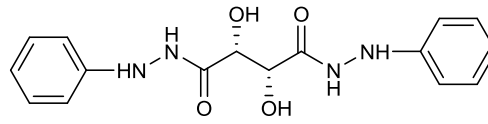
3.7. İstatistiksel Analiz

Saccharomyces cerevisiae maya hücreleri ile yapılan çalışma için istatistiksel analizlerde SPSS (Amerika, New York, IBM) versiyon 22 kullanılmıştır. Kontrol grubu ve diğer grupların ikili karşılaştırılması independent sample t-test analizi ile yapılmıştır. P değeri 0,05'ten küçük olması durumunda gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Hücre kültürü çalışmaları için sonuçların değerlendirilmesi için ANOVA testi post hoc Dunnett's yöntemi ile Graphpad Prism 7,0 programı kullanıldı (Graphpad). Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verildi. Bileşiklerin hücre hatları üzerinde ki etkilerini karşılaştırmak için Paired Samples testi kullanıldı.

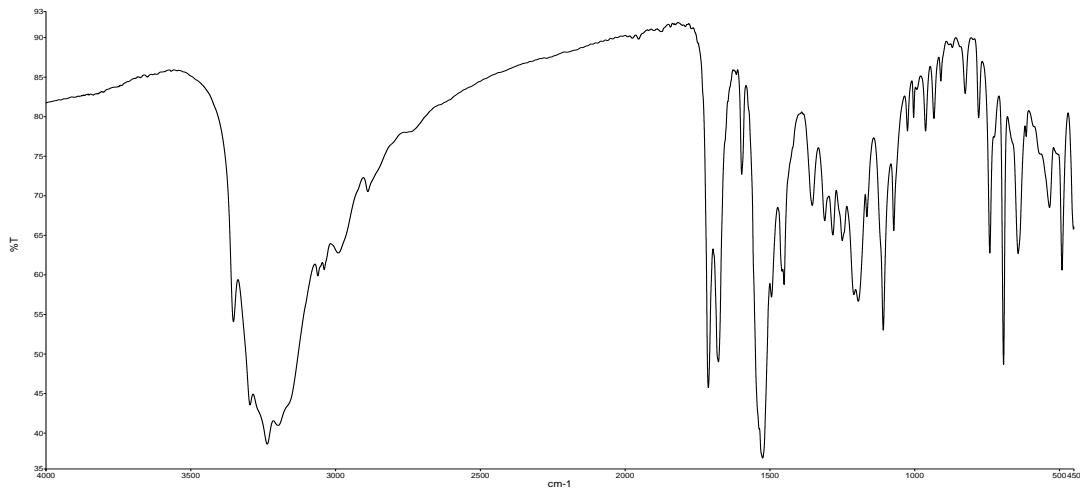
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. 2,2'-[(2R,3R)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(*N*-fenilhidrazin-1-karbotiyoamit) Karakterizasyonu (L1)

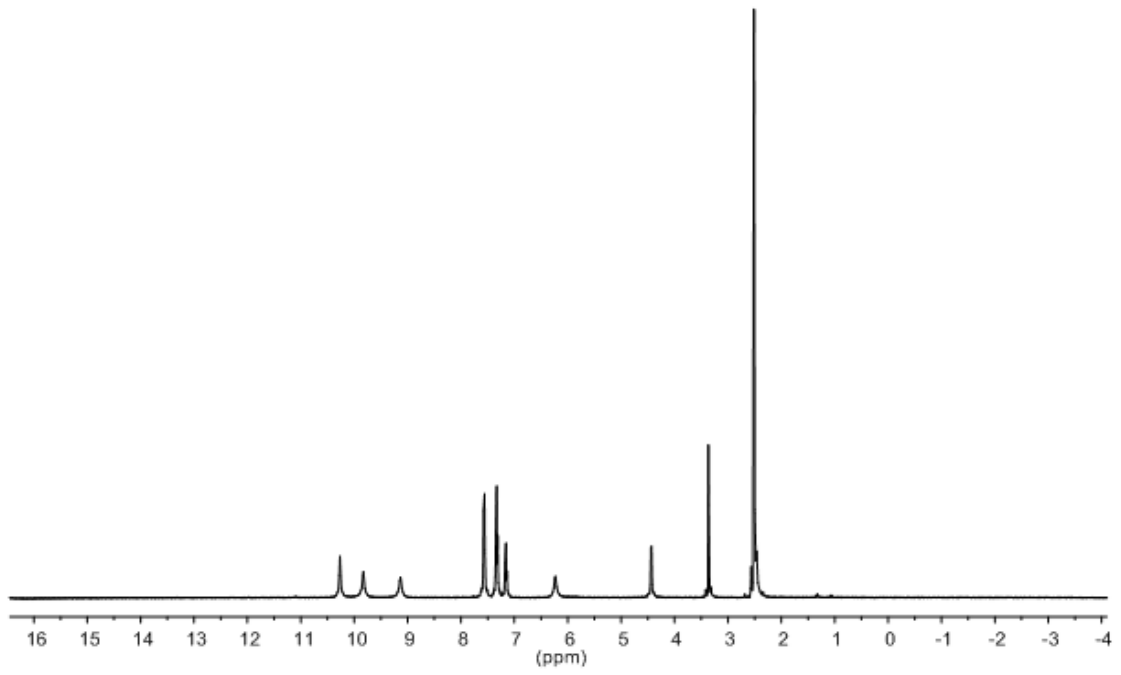
Erime noktası: 213-214 °C; **FT-IR (KBr, cm⁻¹, ν):** 3352-3236 (hidrojen bağı yapmış OH, NH), 3072-3107 (Ar-H), 2870-2914 (C-H), 1677 (NH-C=O), 1267 (C=S); **¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm):** 4,43 (d, 2H, 2xCH, *J* = 4,81 Hz), 6,22 (br, 2H, 2xOH), 7,16 (t, 2H, 2xCH, Ar-H, *J* = 7,31 Hz), 7,33 (t, 4H, Ar-H, *J* = 7,67 Hz), 7,57 (d, 4H, Ar-H, *J* = 7,57 Hz), 9,12 (s, 2H, 2xNH-NH-C=O), 9,83 (s, 2xNH-NH-C=O), 10,27 (s, 2H, 2xNH-C=S); **¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm):** 73,38, 125,13, 126,28, 128,61, 139,33, 171,67, 180,16; **Molekül Ağırlığı:** 448 (C₁₈H₂₀N₆O₄S₂), **Elementel analiz (teorik):** C, 48,20; H, 4,49; N, 18,74; S, 14,30; **deneysel,** C, 48,11; H, 4,39; N, 18,69; S, 14,33; [α]_D²⁰ -8,462° (*c* 1, etanol).



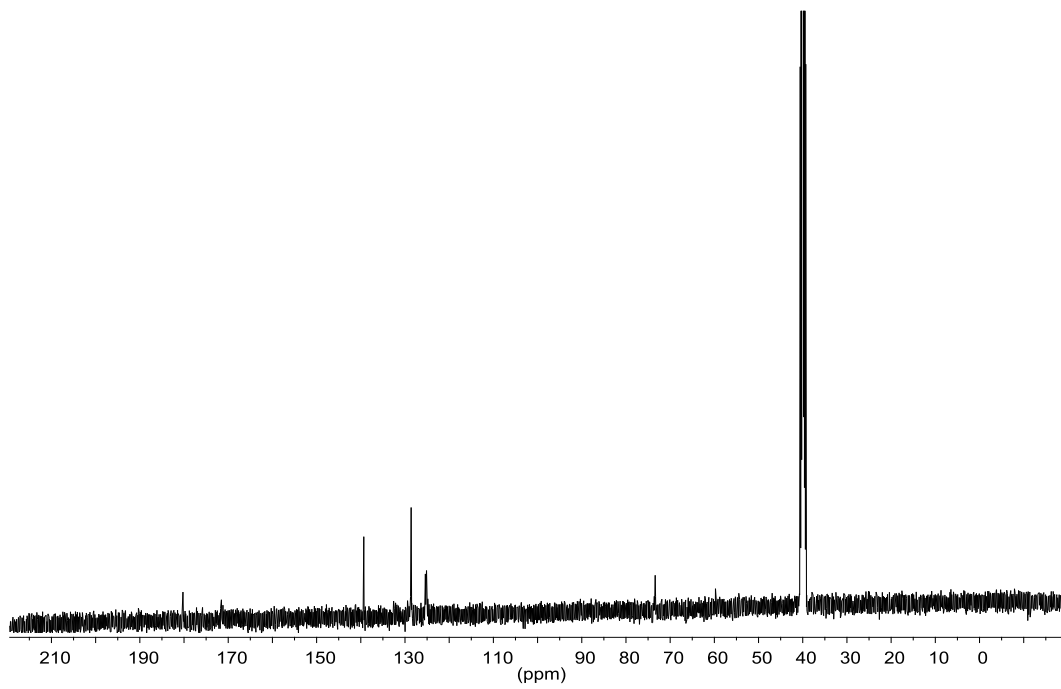
(L1)



Şekil 4.1. (L1) molekülünün FT-IR spektrumu



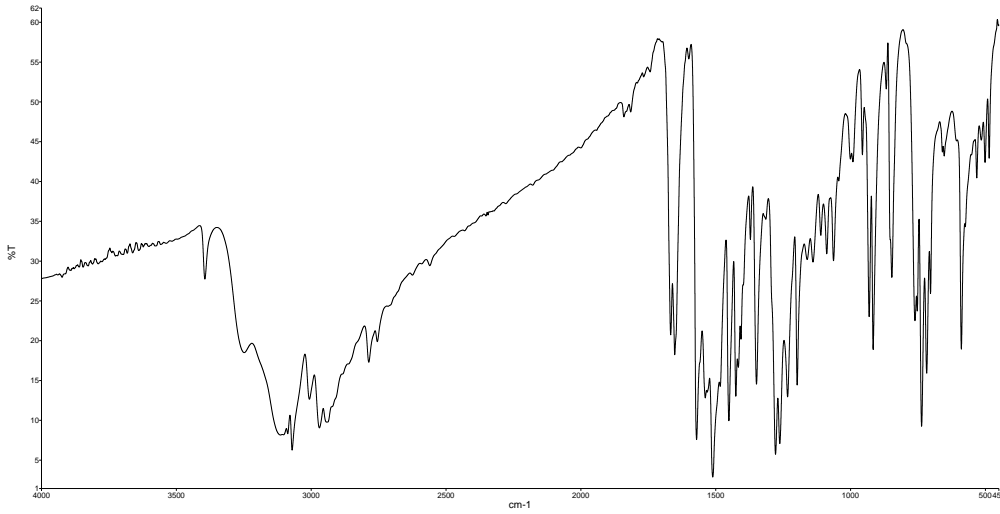
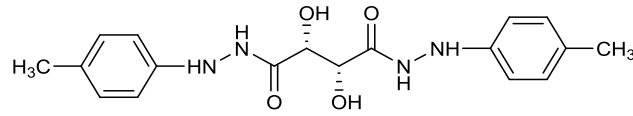
Şekil 4.2. (L1) molekülünün $^1\text{H-NMR}$ spektrumu



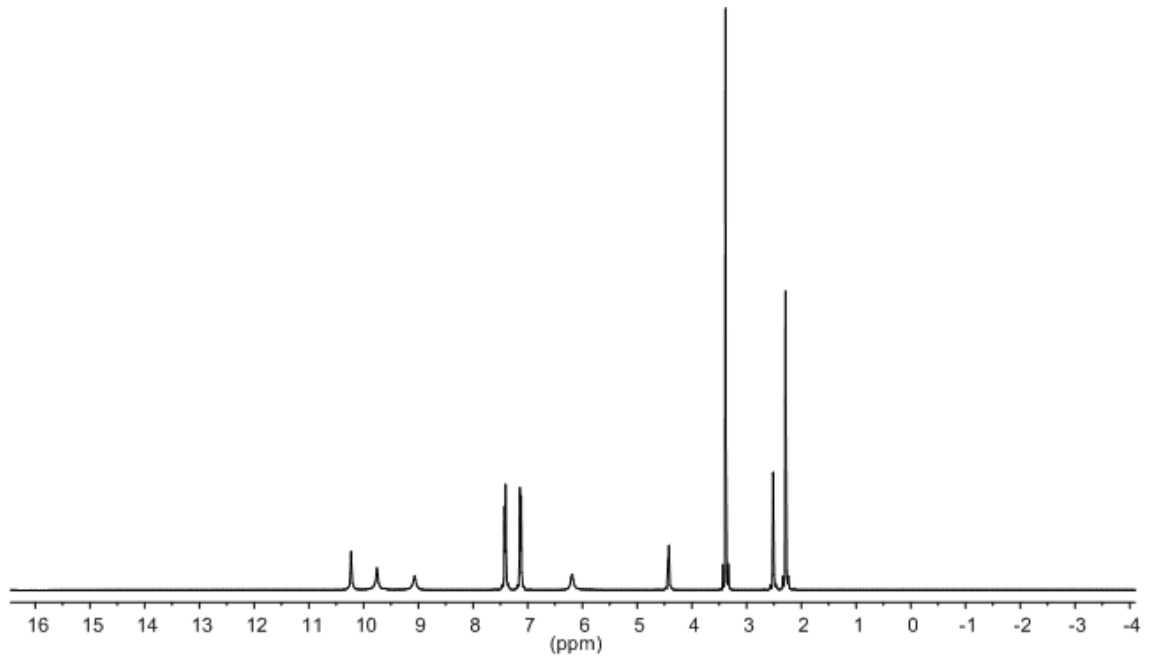
Şekil 4.3. (L1) molekülünün $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumu

4.2. 2,2'-[(2R,3R)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(N-p-tolilhidrazin-1-karbotiyoamit) Karakterizasyonu (L2)

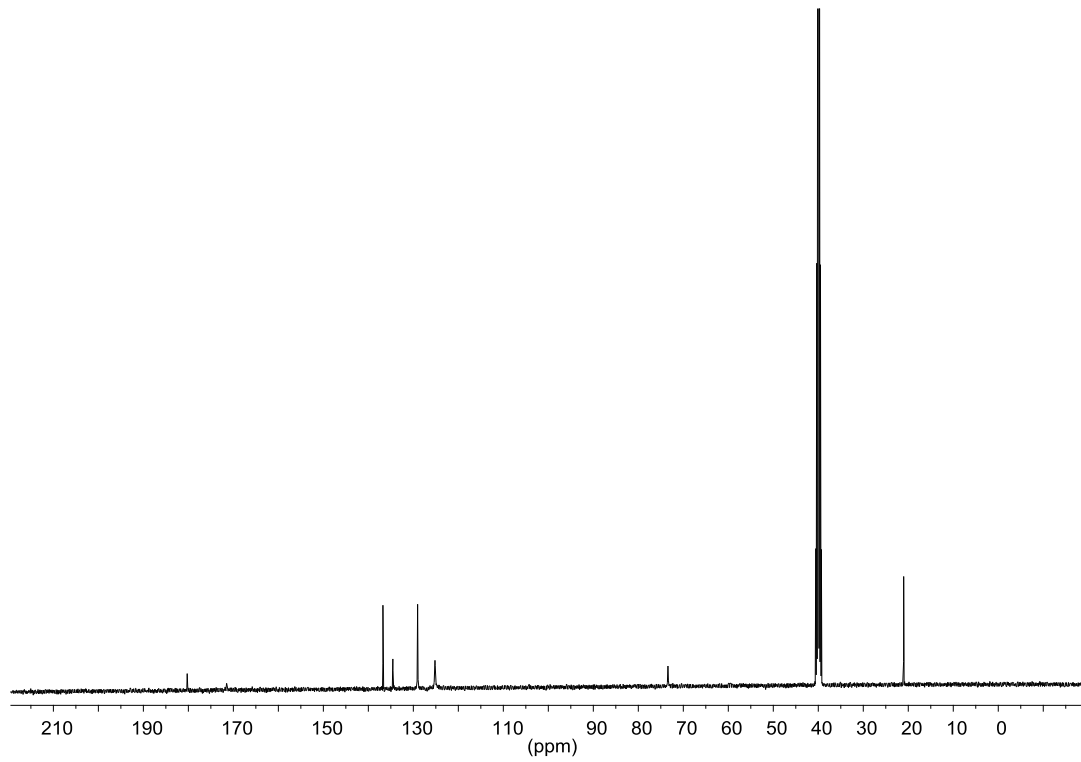
Erime noktası: 221-222 °C; **FT-IR (KBr, cm⁻¹, ν):** 3394-3400 (hidrojen bağı yapmış OH, NH), 3070-3113 (Ar-H), 2925-2960 (C-H), 1645 (NH-C=O), 1282 (C=S); **¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ , ppm):** 2,29 (s, 6H, 2xAr-CH₃), 4,43 (d, 2H, 2xCH, *J* = 5,21), 6,19 (br, 2H, 2xOH), 7,13 (d, 4H, Ar-H, *J* = 8,30 Hz), 7,42 (d, 4H, Ar-H, *J* = 8,20 Hz), 9,07 (s, 2H, 2xNH-NH-C=O), 9,76 (s, 2xNH-NH-C=O), 10,23 (s, 2H, 2xNH-C=S); **¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆, δ , ppm):** 21,02, 73,41, 123,19, 129,05, 134,55, 136,76, 171,50, 180,26; **Molekül Ağırlığı:** 476 (C₂₀H₂₄N₆O₄S₂), **Elementel analiz (teorik):** C, 50,40; H, 5,08; N, 17,63; S, 13,46; **deneysel,** C, 50,33; H, 4,99; N, 17,21; S, 13,44; $[\alpha]_D^{20}$ -11,364° (*c* 1, etanol).



Şekil 4.4. (L2) molekülünün FT-IR spektrumu



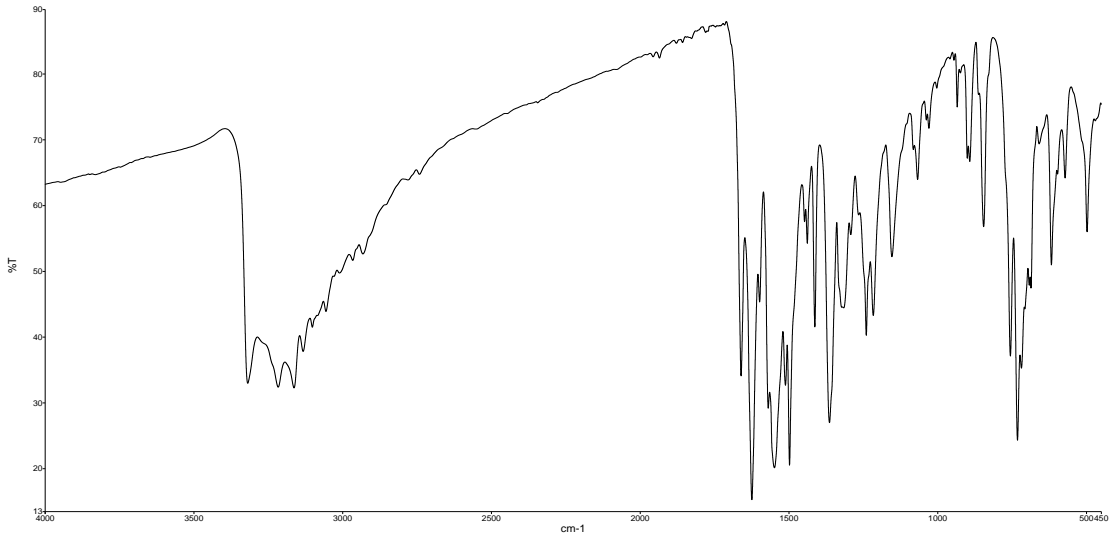
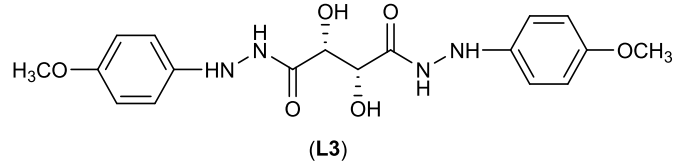
Şekil 4.5. (L2) molekülünün $^1\text{H-NMR}$ spektrumu



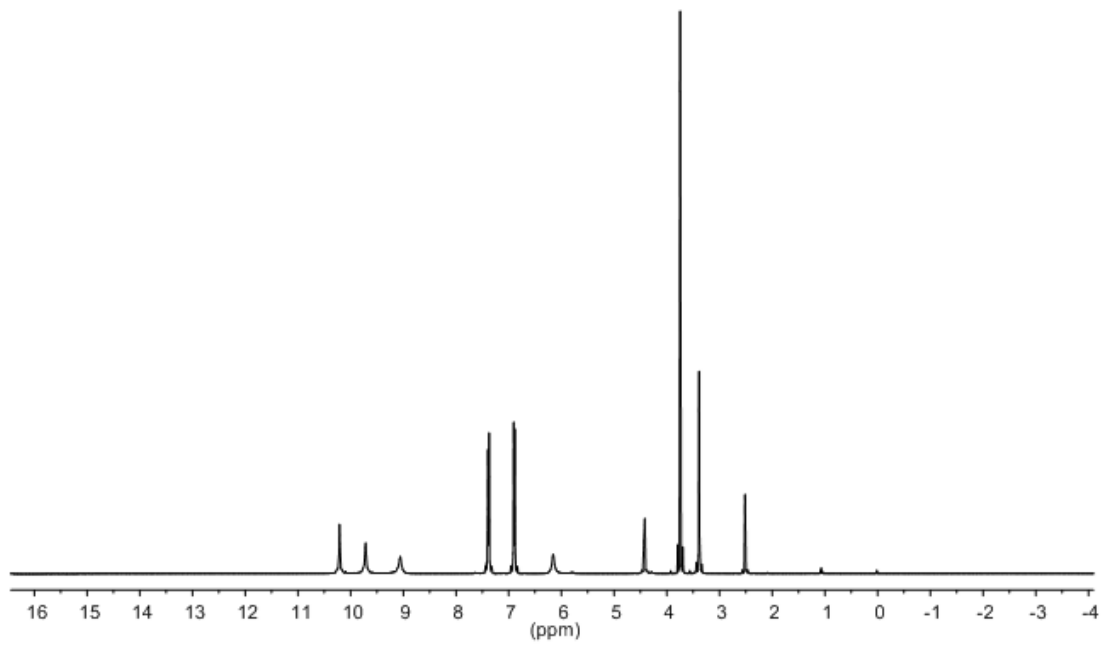
Şekil 4.6. (L2) molekülünün $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumu

4.3. 2,2'-[(2*R*,3*R*)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(*N*-*p*-metoksifenil hidrazin-1-karbotiyoamit) Karakterizasyonu (L3)

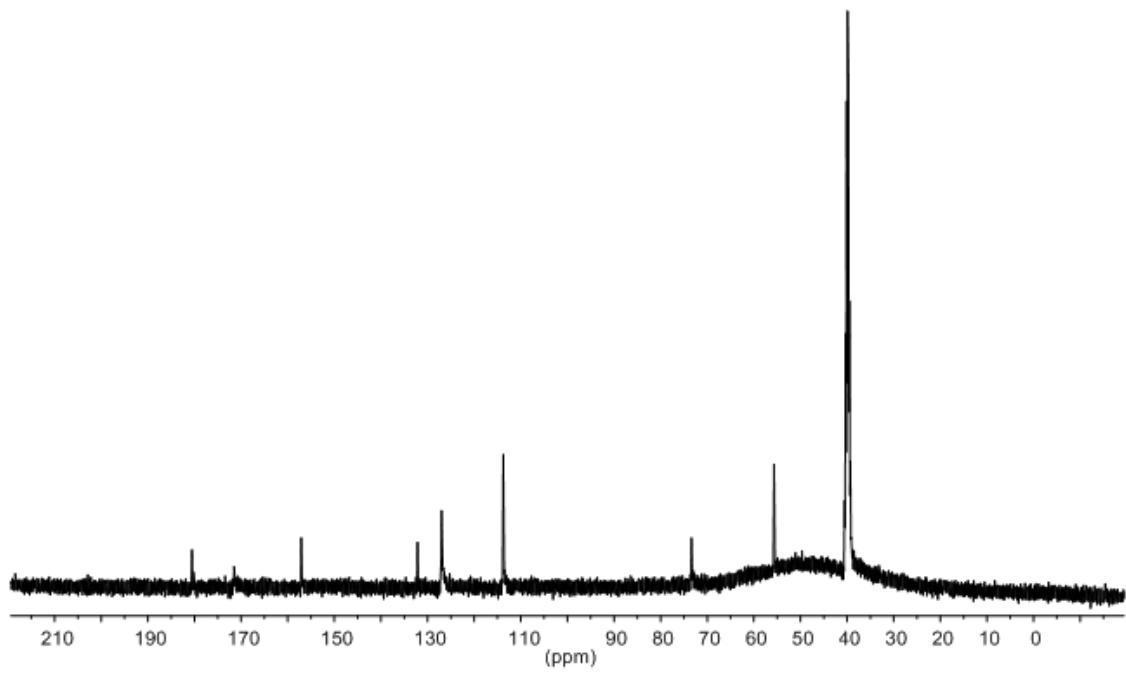
Erime noktası: 224-225 °C; **FT-IR (KBr, cm⁻¹, ν):** 3255-3319 (hidrojen bağı yapmış OH, NH), 3130-3160 (Ar-H), 2930-2958 (C-H), 1660 (NH-C=O), 1279 (C=S), 1255 (C-O-C); **¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm):** 3,75 (s, 6H, 2xAr-OCH₃), 4,43 (d, 2H, 2xCH, *J* = 5,21 Hz), 6,16 (br, 2H, 2xOH), 6,90 (d, 4H, Ar-H, *J* = 8,93 Hz), 7,38 (d, 4H, Ar-H, *J* = 8,88 Hz), 9,06 (s, 2H, 2xNH-NH-C=O), 9,72 (s, 2xNH-NH-C=O), 10,21 (s, 2H, 2xNH-C=S); **¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm):** 55,68, 73,39, 113,75, 127,00, 132,16, 157,10, 171,53, 180,55; **Molekül Ağırlığı:** 508 (C₂₀H₂₄N₆O₆S₂), **Elementel analiz (teorik):** C, 47,23; H, 4,76; N, 16,52; S, 12,61; **deneySEL**, C, 47,11; H, 4,56; N, 16,33; S, 12,59; [α]_D²⁰ -17,201° (*c* 1, etanol).



Şekil 4.7. (L3) molekülünün FT-IR spektrumu



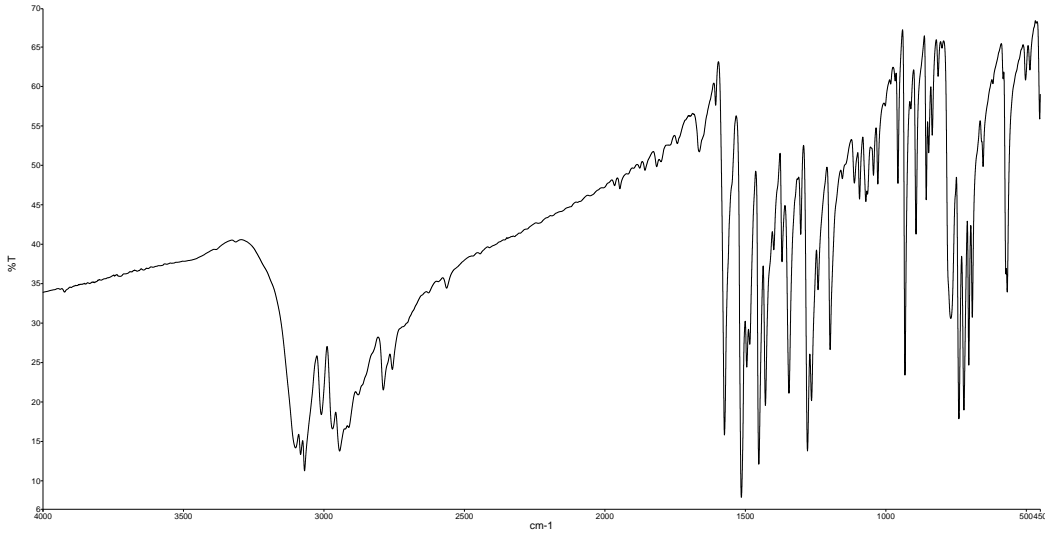
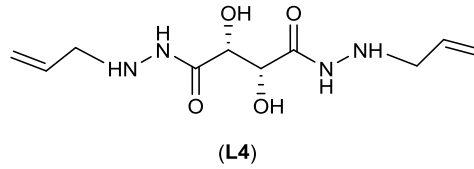
Şekil 4.8. (L3) molekülünün $^1\text{H-NMR}$ spektrumu



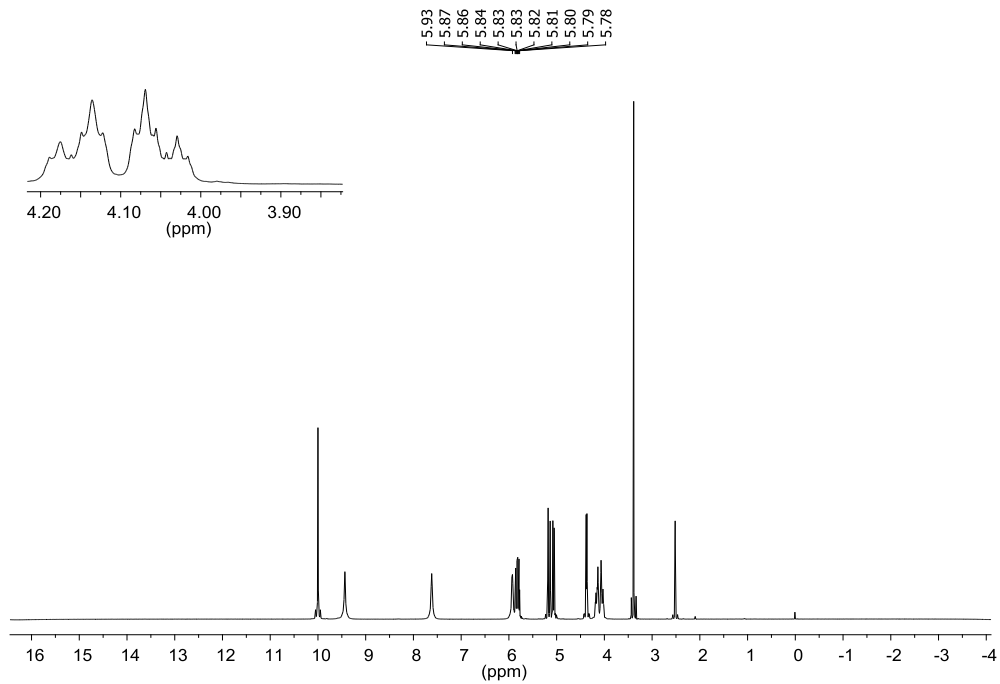
Şekil 4.9. (L3) molekülünün $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumu

4.4. 2,2'-[(2*R*,3*R*)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(*N*-alilhidrazin-1-karbotiyoamit) Karakterizasyonu (L4)

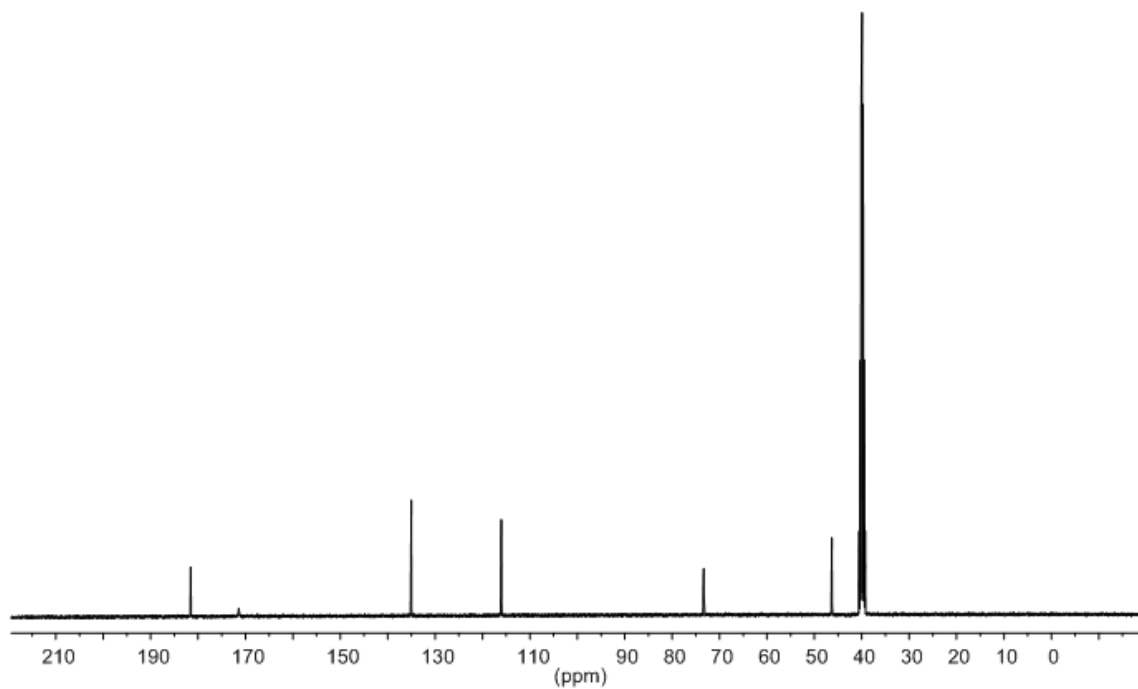
Erime noktası: 182-183 °C; **FT-IR (KBr, cm⁻¹, ν):** 3205-3285 (hidrojen bağı yapmış OH, NH), 2842-2893 (C-H), 1647 (NH-C=O), 1255 (C=S); **¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ , ppm):** 4,06 (dt, 2H, 2xH₁, $J = 16$ Hz, 5,42 Hz), 4,15 (dt, 2H, 2xH₂, $J = 16$ Hz, 5,42 Hz), 4,37 (d, 2H, 2xCH-OH, $J = 6,4$ Hz), 5,06 (dd, 2H, 2xH₅-cis, $J = 10$ Hz, 1,5 Hz), 5,16 (dd, 2H, 2xH₄-trans, $J = 16$ Hz, 1,5 Hz), 5,82 (m, 2H, 2xH₃), 5,93 (br, 2H, 2xOH), 7,62 (s, 2H, 2xNH-NH-C=O), 9,44 (s, 2xNH-NH-C=O), 10,01 (s, 2H, 2xNH-C=S); **¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆, δ , ppm):** 46,32, 73,34, 116,02, 135,02, 171,42, 181,57; **Molekül Ağırlığı:** 376 (C₁₂H₂₀N₆O₄S₂), **Elementel analiz (teorik):** C, 38,29; H, 5,35; N, 22,32; S, 17,04; **deneysel,** C, 38,31; H, 5,33; N, 22,29; S, 16,99; $[\alpha]_D^{20} -7,341^\circ$ (c 1, etanol).



Şekil 4.10. (L4) molekülünün FT-IR spektrumu



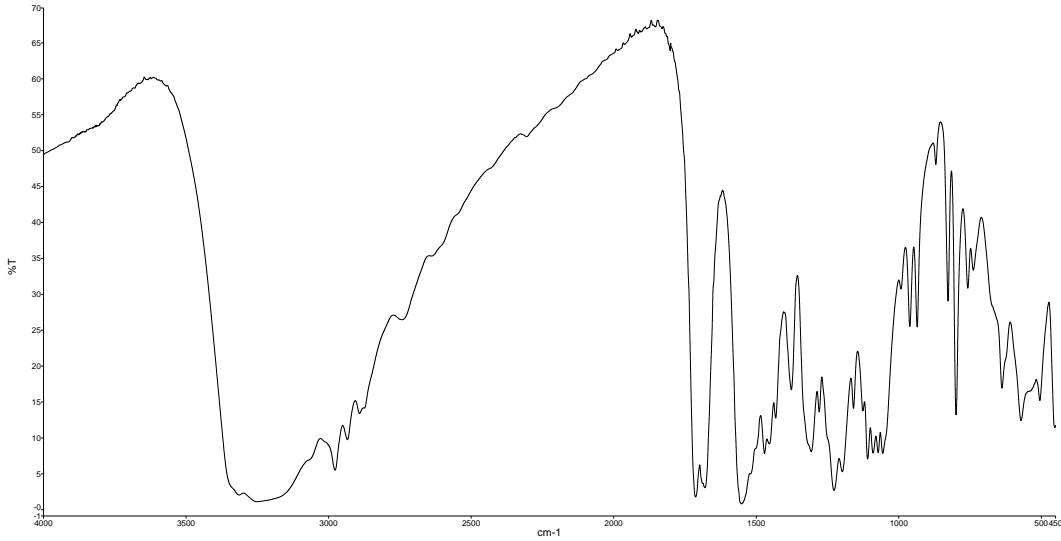
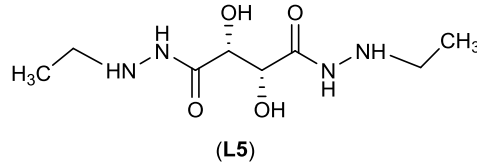
Şekil 4.11. (L4) molekülünün ^1H -NMR spektrumu



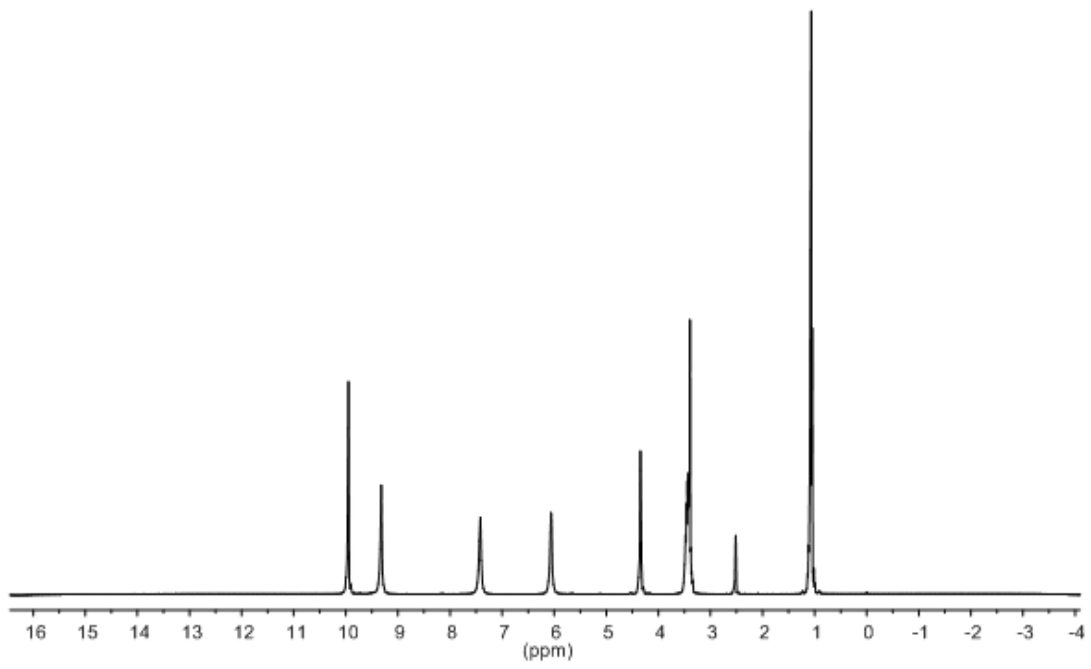
Şekil 4.12. (L4) molekülünün ^{13}C -NMR spektrumu

4.5. 2,2'-[(2R,3R)-2,3-dihidroksi-1,4-dioksibütan-1,4-diil]bis(*N*-etilhidrazin-1-karbotiyoamit) Karakterizasyonu (L5)

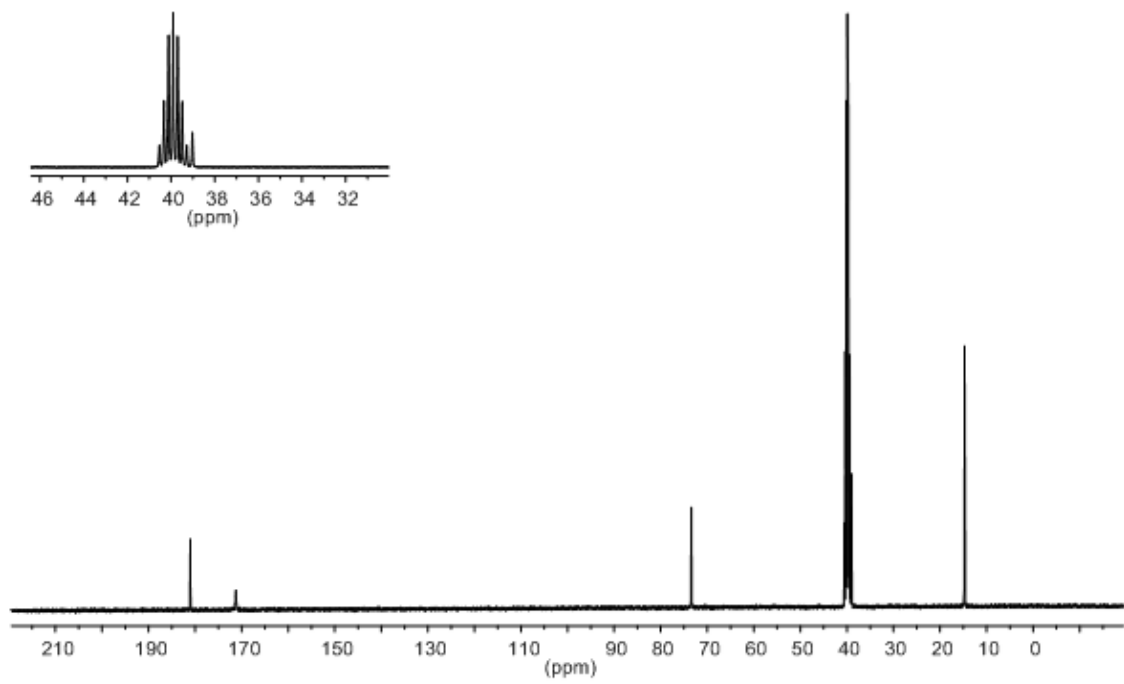
Erime noktası: 179-180 °C; **FT-IR (KBr, cm⁻¹, ν):** 3253 (hidrojen bağı yapmış OH, NH), 2943-2977 (C-H), 1679 (NH-C=O), 1278 (C=S); **¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ , ppm):** 1,07 (t, 6H, 2xCH₂-CH₃, $J = 7,17$ Hz), 3,39-3,46 (m, 4H, 2xCH₂-CH₃), 4,34 (d, 2H, 2xCH, $J = 5,10$ Hz), 6,06 (br, 2H, 2xOH), 7,42 (s, 2H, 2xNH-NH-C=O), 9,32 (s, 2xNH-NH-C=O), 9,95 (s, 2H, 2xNH-C=S); **¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆, δ , ppm):** 14,73, 39,03, 73,42, 171,26, 181,03; **Molekül Ağırlığı:** 352 (C₁₀H₂₀N₆O₄S₂), **Elementel analiz (teorik):** C, 34,08; H, 5,72; N, 23,85; S, 18,26; **deneysel,** C, 33,99; H, 5,51; N, 23,92; S, 18,12; $[\alpha]_D^{20}$ -6,921° (c 1, etanol).



Şekil 4.13. (L5) molekülü' nün FT-IR spektrumu



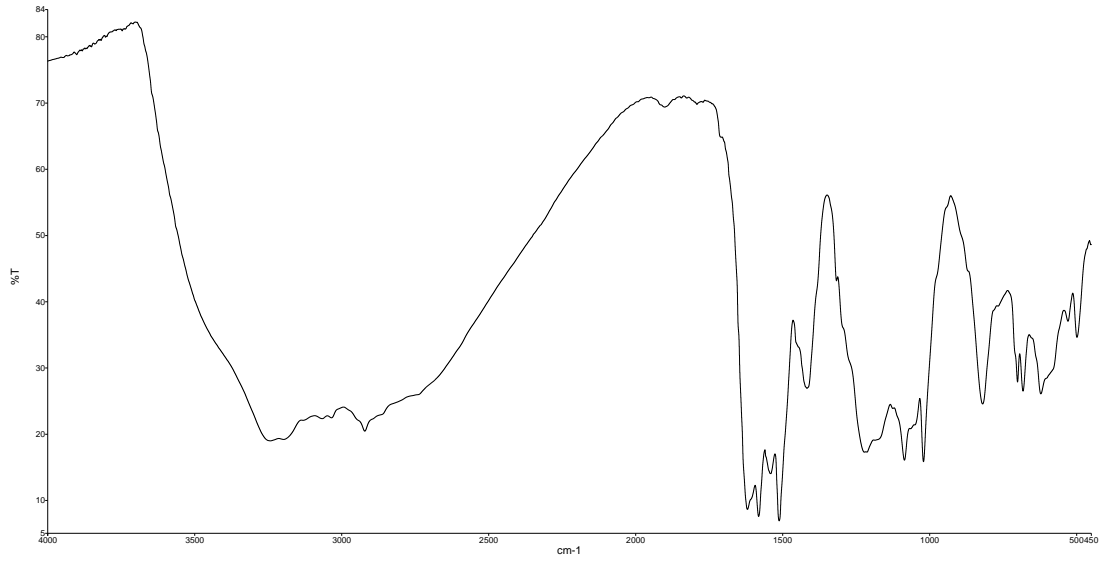
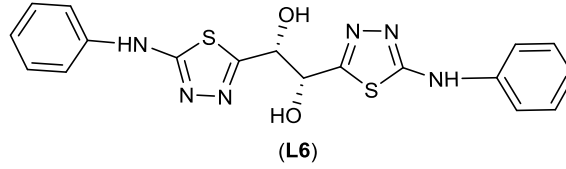
Şekil 4.14. (L5) molekülünün $^1\text{H-NMR}$ spektrumu



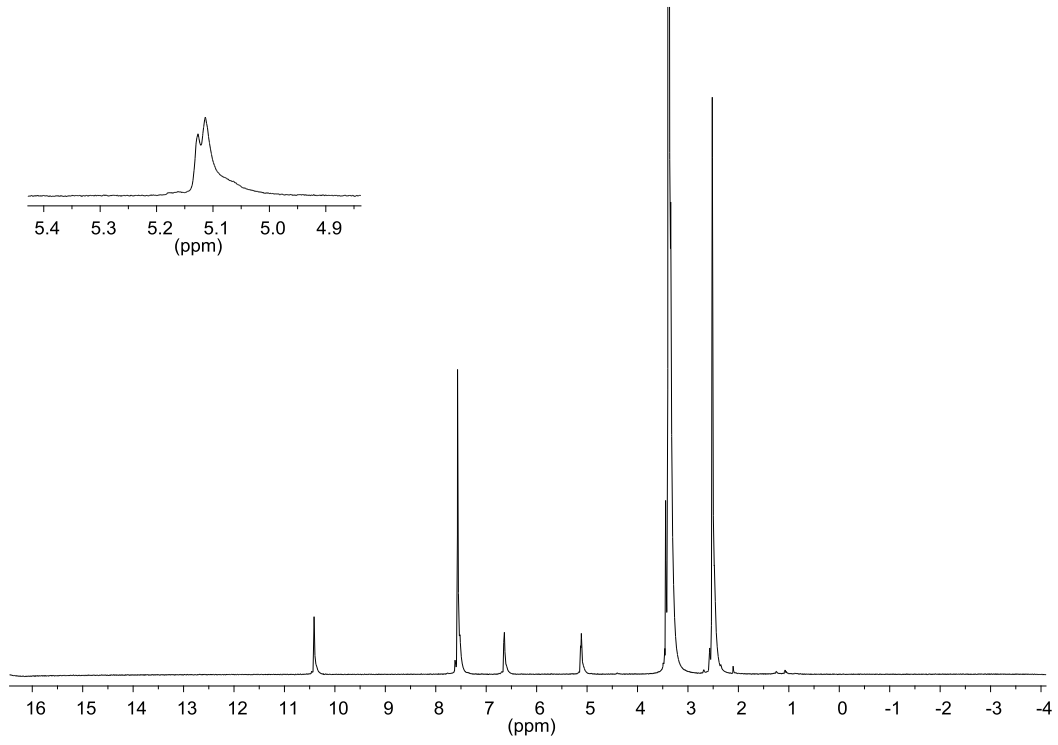
Şekil 4.15. (L5) molekülünün $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumu

4.6. (1*R*,2*R*)-1,2-bis[5-(fenilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol'un Karakterizasyonu (L6)

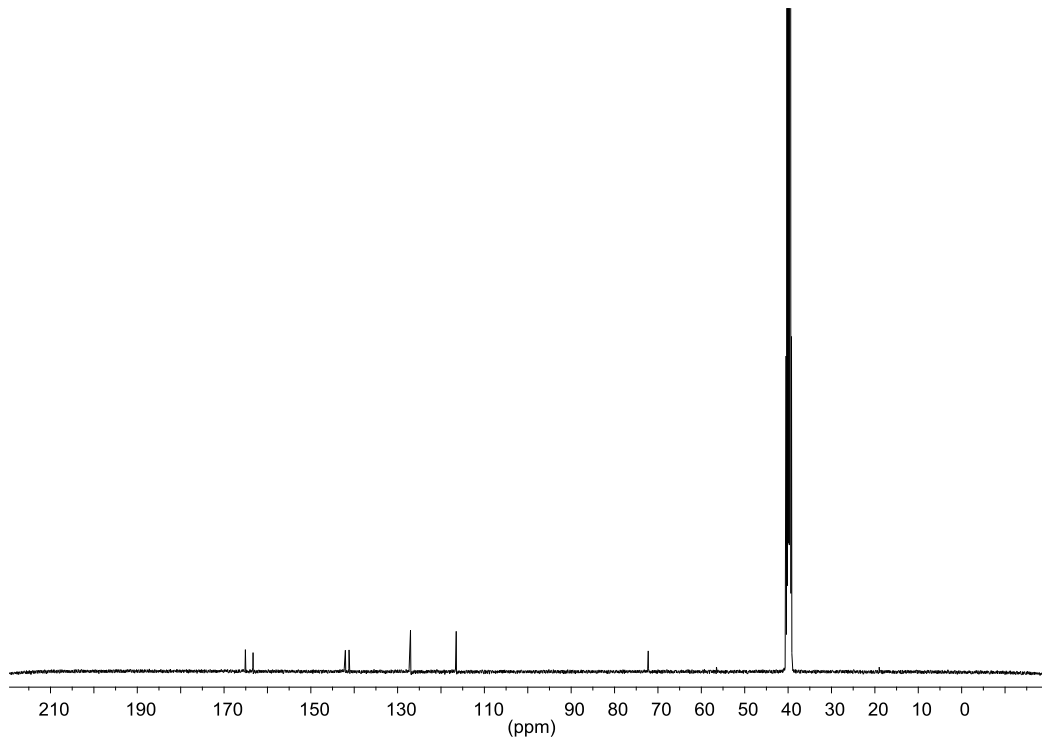
Erime noktası: 251-252 °C; **FT-IR (KBr, cm⁻¹, ν):** 3330-3480 (OH), 3211 (NH), 3035-3066 (Ar-H), 1590 (C=N), 777 (C-S-C); **¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm):** 5,43 (d, 2H, 2xCH, *J* = 5,12 Hz), 6,64 (s, 2H, 2xOH), 7,56-7,65 (m, 10H, 2xAr-H), 10,41 (s, 2H, 2xNH); **¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm):** 72,24, 116,49, 127,03, 141,19, 142,04, 163,31, 165,08; **Molekül Ağırlığı:** 412 (C₁₈H₁₆N₆O₂S₂), **Elementel analiz (teorik):** C, 52,41; H, 3,91; N, 20,37; S, 15,55; **deneysel,** C, 51,67; H, 3,84; N, 20,11; S, 15,62; [α]_D²⁰ -13,749° (*c* 1, etanol)



Şekil 4.16. (L6) molekülünün FT-IR spektrumu



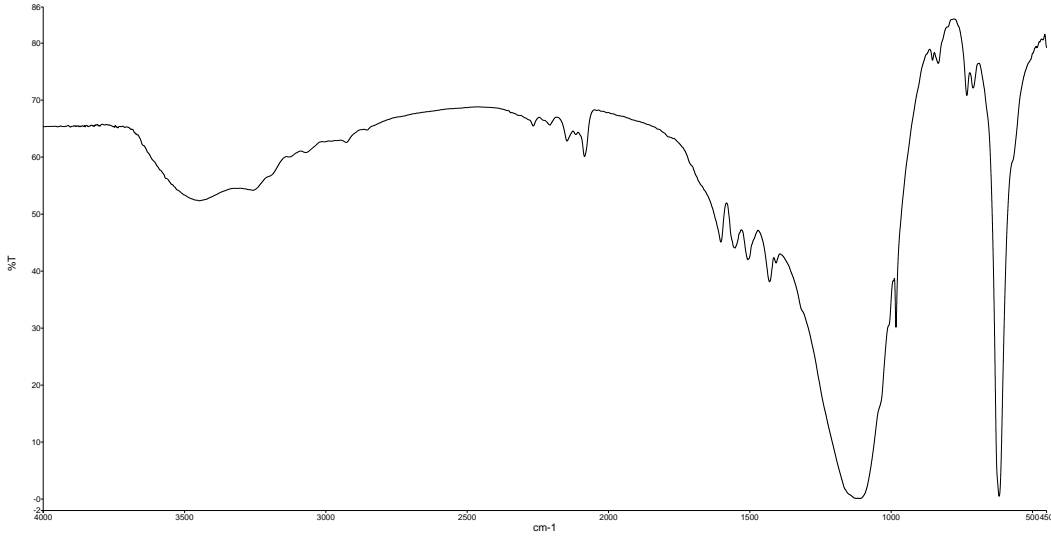
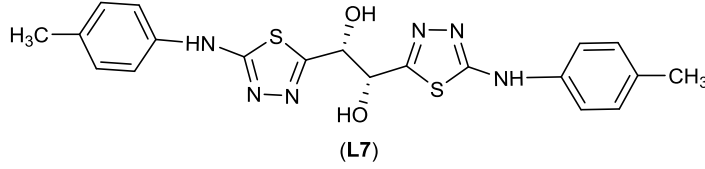
Şekil 4.17. (L6) molekülünün $^1\text{H-NMR}$ spektrumu



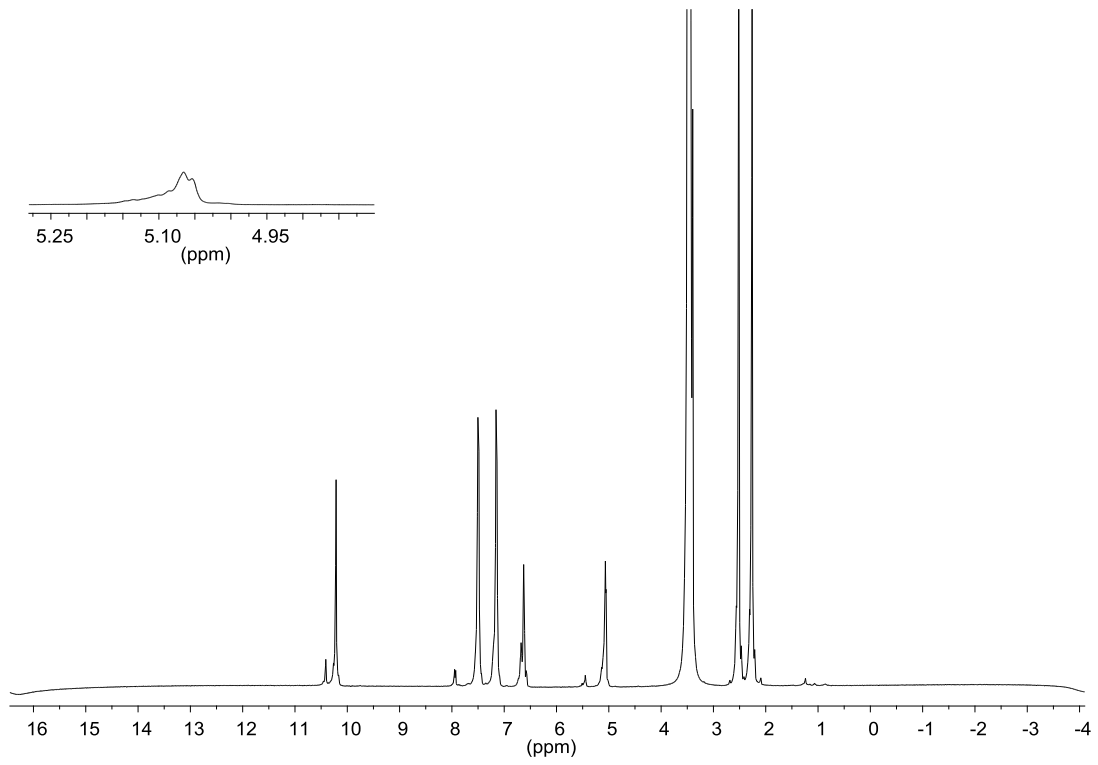
Şekil 4.18. (L6) molekülünün $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumu

4.7. (1*R*,2*R*)-1,2-bis[5-(*p*-tolilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol'un Karakterizasyonu (L7)

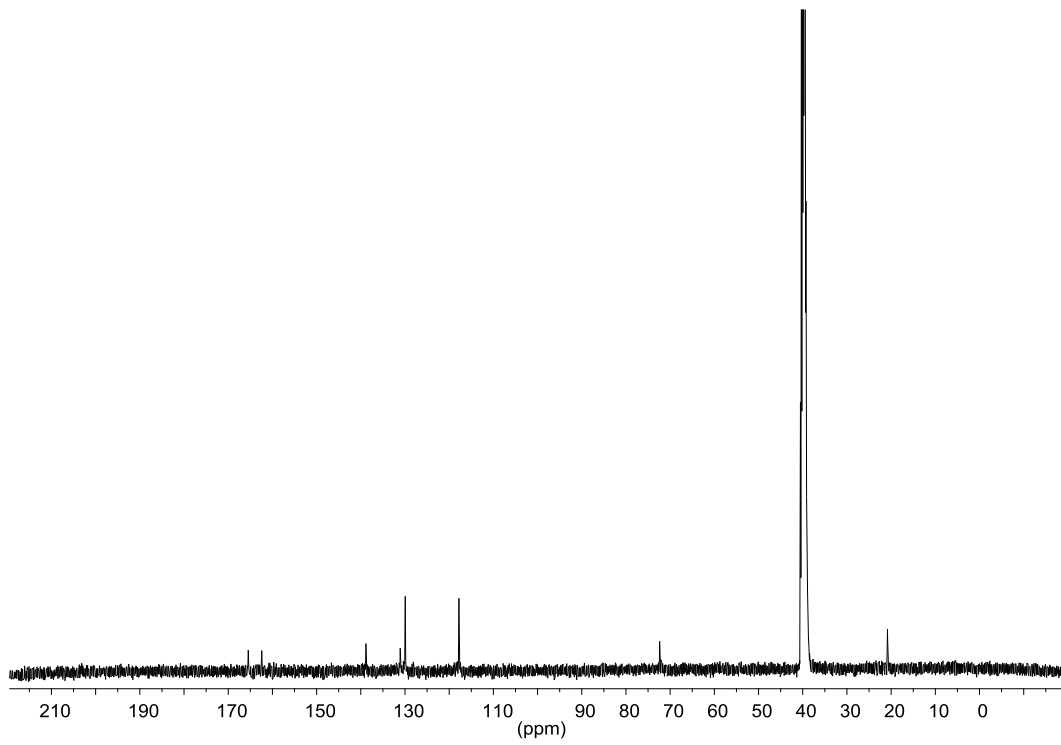
Erime noktası: 256-257 °C; **FT-IR (KBr, cm⁻¹, ν):** 3386-3412 (OH, NH), 3075-3121 (Ar-H), 2925-2960 (C-H), 1497 (C=N), 1130 (N-N), 776 (C-S-C); **¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm):** 2,26 (s, 6H, 2xAr-CH₃), 5,07 (d, 2H, 2xCH, *J* = 5,23), 6,63 (s, 2H, 2xOH), 7,15 (d, 4H, Ar-H, *J* = 7,8 Hz), 7,49 (d, 4H, Ar-H, *J* = 8,00 Hz), 10,33 (s, 2H, 2xNH); **¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm):** 20,82, 72,38, 117,80, 129,94, 131,08, 138,84, 162,41, 165,46; **Molekül Ağırlığı:** 440 (C₂₀H₂₀N₆O₂S₂), **Elementel analiz (teorik):** C, 54,53; H, 4,58; N, 19,08; S, 14,56; **deneysel,** C, 54,33; H, 4,67; N, 19,21; S, 14,44; [α]_D²⁰ -19,244° (*c* 1, etanol).



Şekil 4.19. (L7) molekülünün FT-IR spektrumu



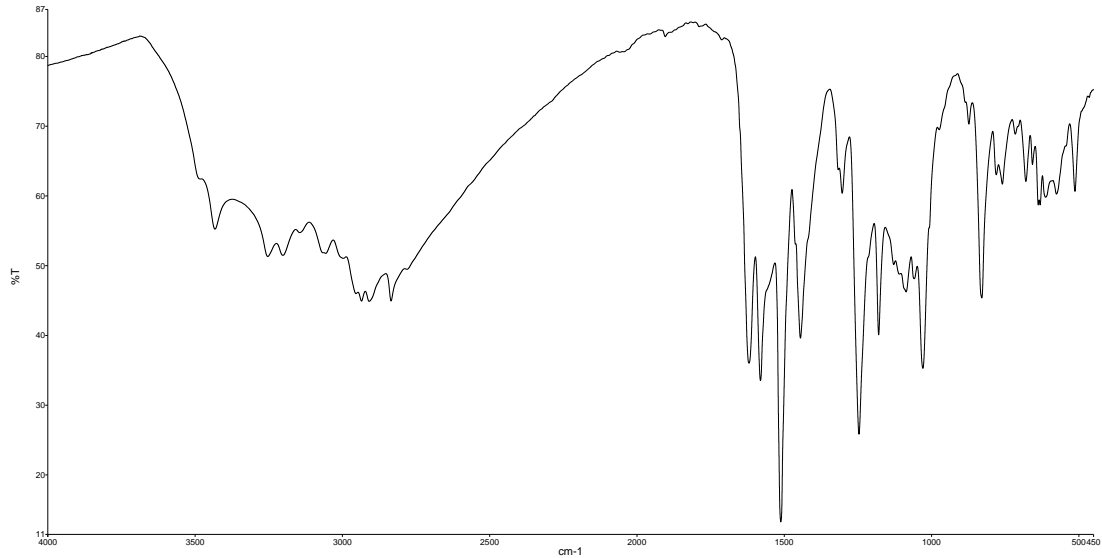
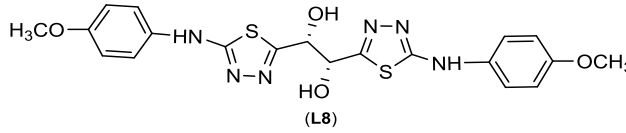
Şekil 4.20. (L7) molekülünün $^1\text{H-NMR}$ spektrumu



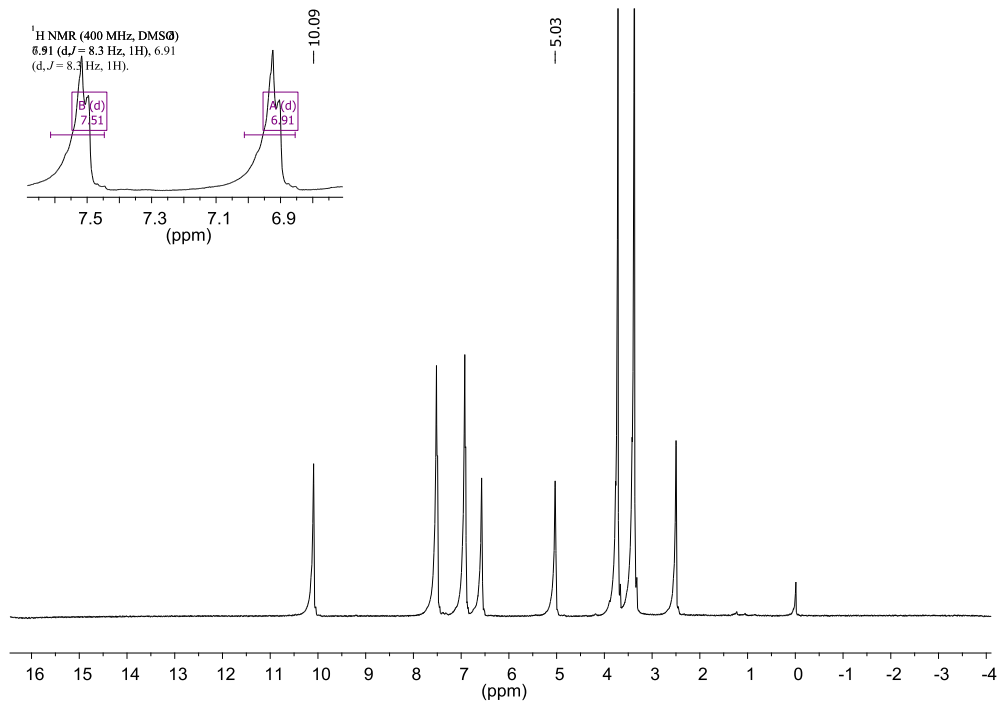
Şekil 4.21. (L7) molekülünün $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumu

4.8. (1*R*,2*R*)-1,2-bis[5-(*p*-metoksifenilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol'un Karakterizasyonu (L8)

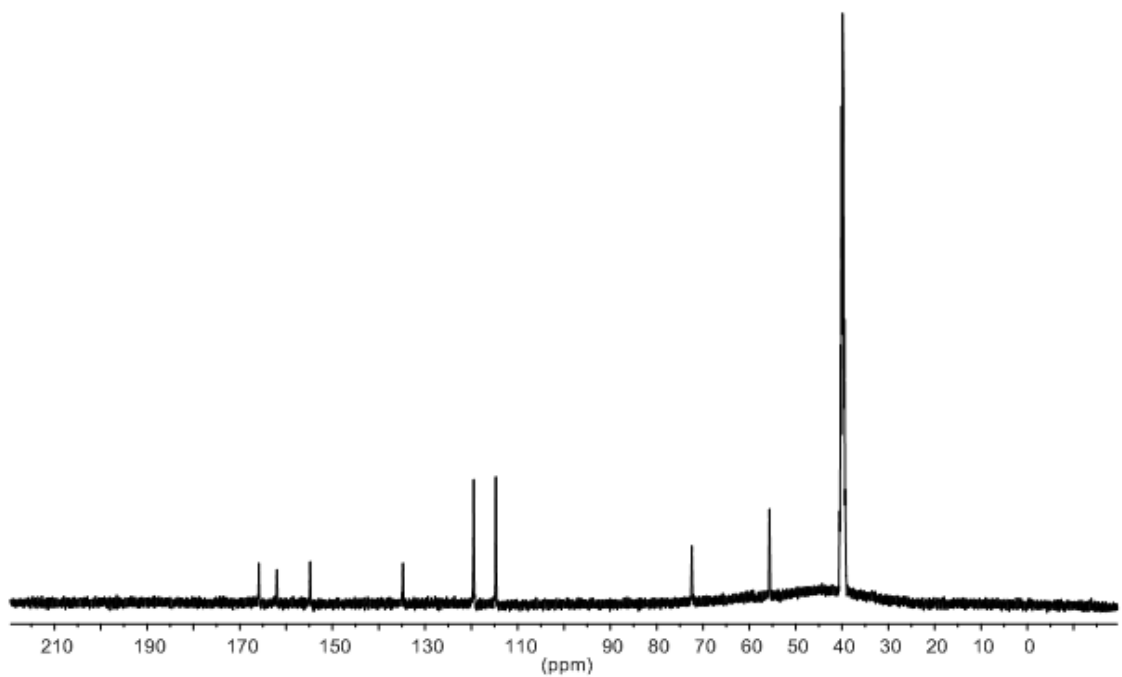
Erime noktası: 269-270 °C; **FT-IR (KBr, cm⁻¹, ν):** 3275-3312 (hidrojen bağı yapmış OH, NH), 3130-3160 (Ar-H), 2930-2958 (C-H), 1537 (C=N), 1250 (C-O-C), 1137 (N-N), 773 (C-S-C); **¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ , ppm):** 3,72 (s, 6H, 2xAr-OCH₃), 5,03 (s, 2H, 2xCH), 6,57 (s, 2H, 2xOH), 6,91 (d, 4H, Ar-H, $J = 8,30$ Hz), 7,51 (d, 4H, Ar-H, $J = 8,30$ Hz), 10,09 (s, 2H, 2xNH); **¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆, δ , ppm):** 55,67, 72,43, 114,73, 119,51, 134,79, 154,82, 162,01, 165,87; **Molekül Ağırlığı:** 472 (C₂₀H₂₀N₆O₄S₂), **Elementel analiz (teorik):** C, 50,13; H, 4,27; N, 17,78; S, 13,57; **deneysel,** C, 50,09; H, 4,33; N, 17,73; S, 13,51; $[\alpha]_D^{20}$ -14,116° (c 1, etanol).



Şekil 4.22. (L8) molekülünün FT-IR spektrumu



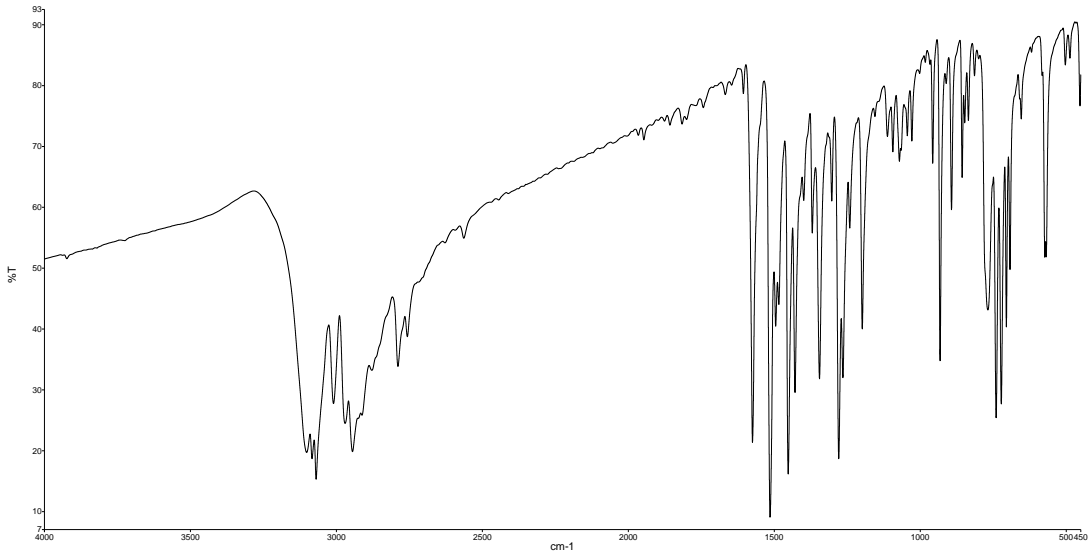
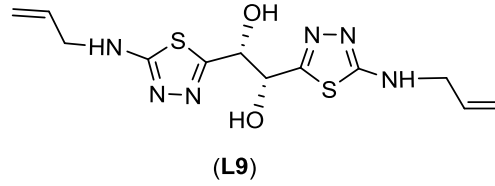
Şekil 4.23. (L8) molekülünün ¹H-NMR spektrumu



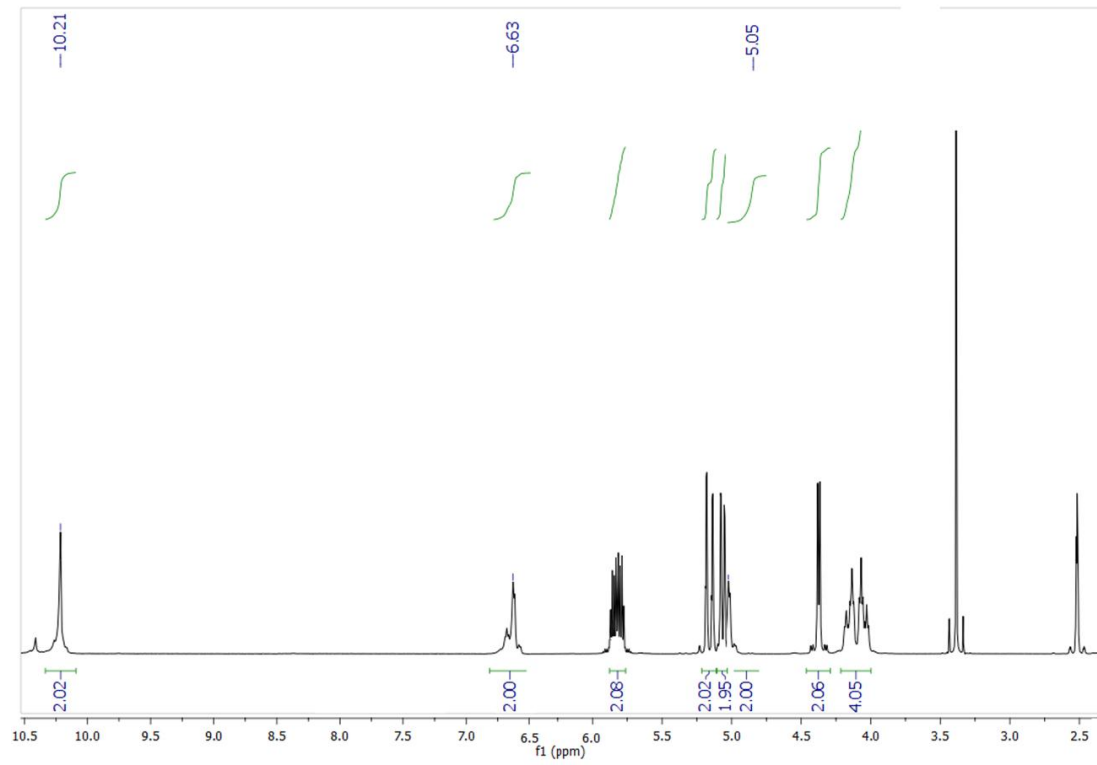
Şekil 4.24. (L8) molekülünün ¹³C-NMR spektrumu

4.9. (1*R*,2*R*)-1,2-bis[5-(alilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol'un Karakterizasyonu (L9)

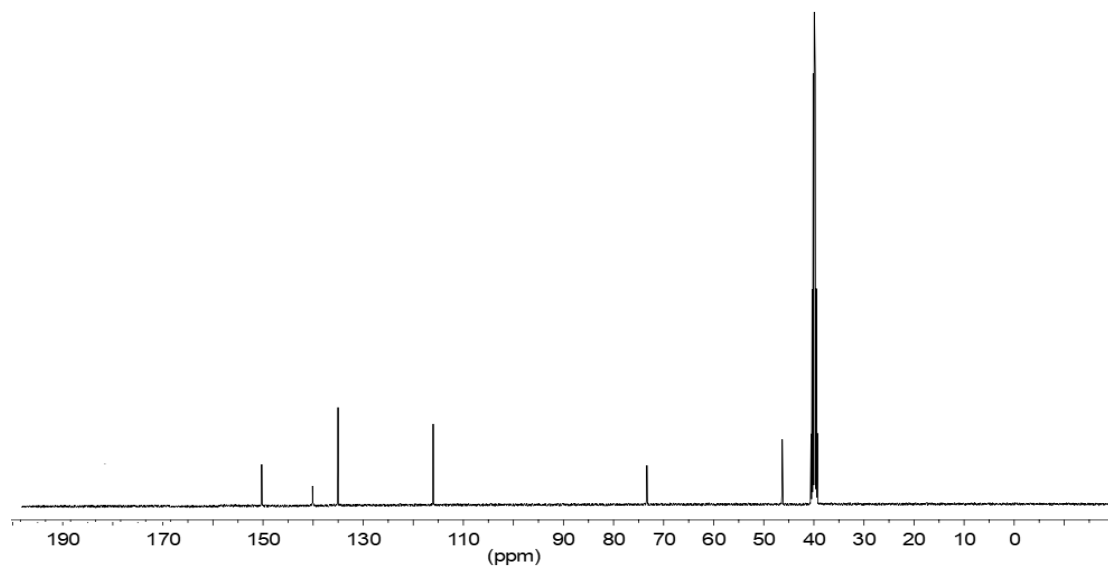
Erime noktası: 196-198 °C; **FT-IR (KBr, cm⁻¹, ν):** 3293-3345 (hidrojen bağı yapmış OH, NH), 2842-2893 (C-H), 1540 (C=N), 1145(N-N), 777 (C-S-C); **¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm):** 4,10 (dt, 2H, 2xH₁, *J* = 15,89 Hz, 5,36 Hz), 4,16 (dt, 2H, 2xH₂, *J* = 16 Hz, 5,42 Hz), 4,37 (d, 2H, 2xCH-OH, *J* = 6,50 Hz), 5,06 (dd, 2H, 2xH₅-cis, *J* = 10,34 Hz, 1,62 Hz), 5,16 (dd, 2H, 2xH₄-trans, *J* = 16 Hz, 1,69 Hz), 5,78-5,93 (m, 2H, 2xH₃), 6,63 (s, 2H, 2xOH), 10,21 (s, 2H, 2xNH); **¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm):** 46,34, 73,53, 116,09, 135,08, 140,04, 150,09; **Molekül Ağırlığı:** 340 (C₁₂H₁₆N₆O₂S₂), **Elementel analiz (teorik):** C, 42,34; H, 4,74; N, 24,69; S, 18,84; **deneysel,** C, 42,17; H, 4,70; N, 24,73; S, 18,88; [α]_D²⁰ -13,462° (*c* 1, etanol).



Şekil 4.25. (L9) molekülünün FT-IR spektrumu



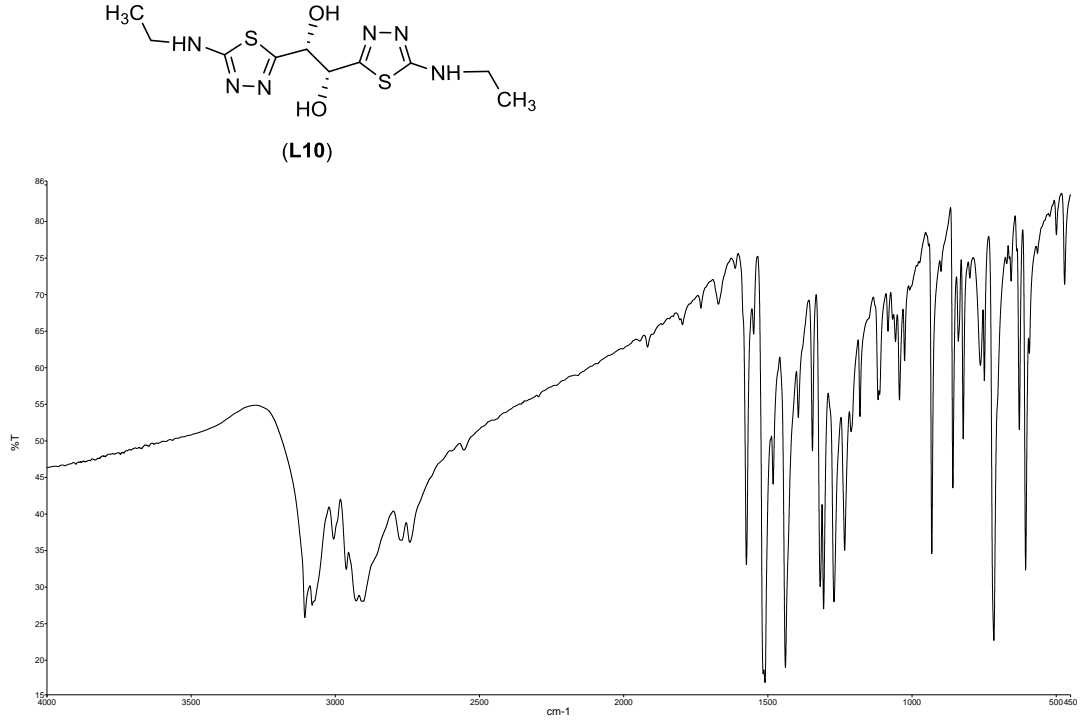
Şekil 4.26. (L9) molekülünün $^1\text{H-NMR}$ spektrumu



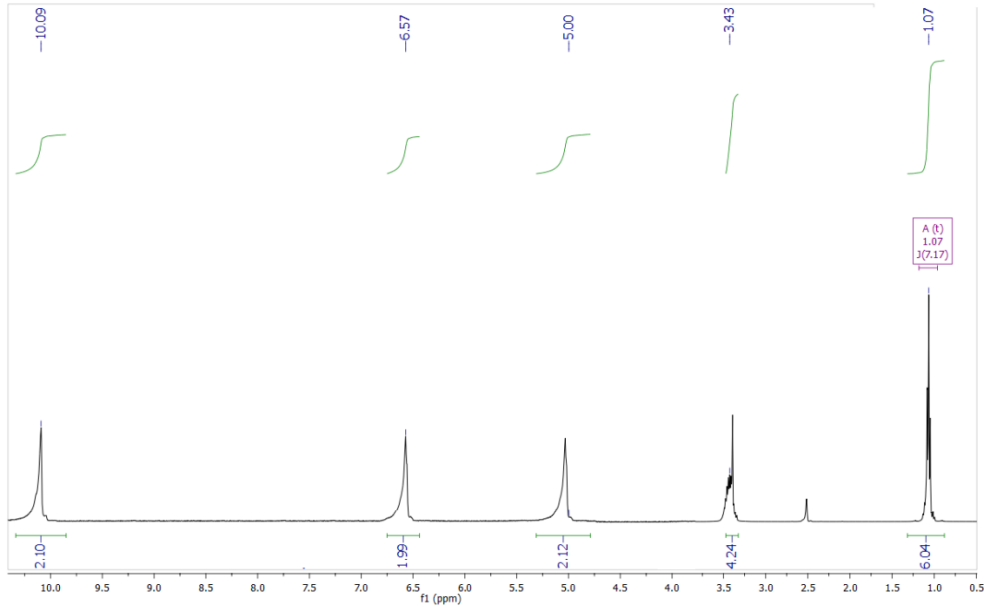
Şekil 4.27. (L9) molekülünün $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumu

4.10. (1*R*,2*R*)-1,2-bis[5-(etilamino)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol'un Karakterizasyonu (L10)

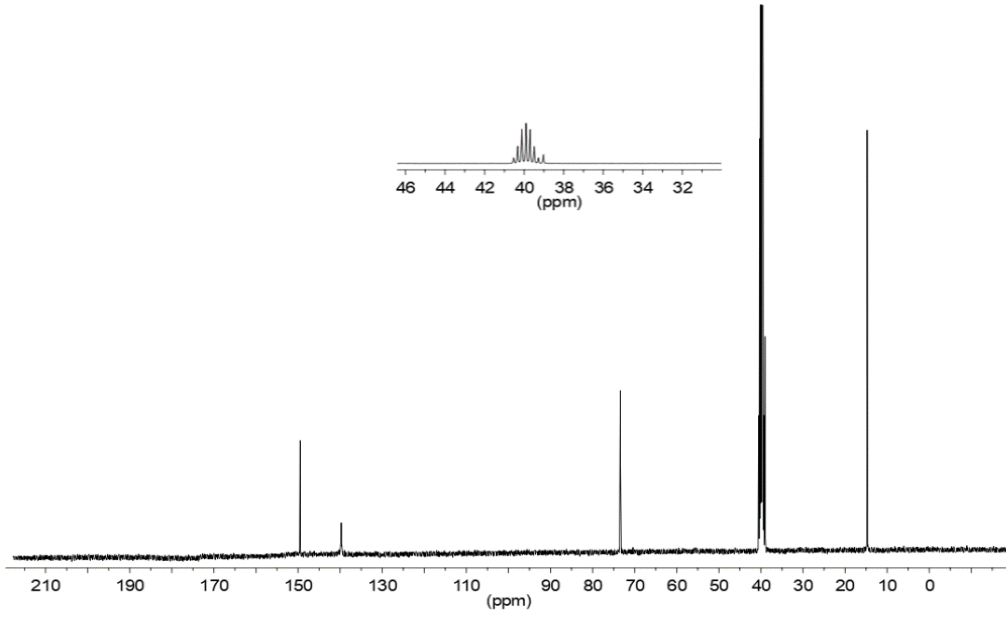
Erime noktası: 195-196 °C; **FT-IR (KBr, cm⁻¹, ν):** 3155-3201 (hidrojen bağı yapmış OH, NH), 2955-2977 (C-H), 1567 (C=N), 1140 (N-N), 780 (C-S-C); **¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm):** 1,07 (t, 6H, 2xCH₂-CH₃, *J* = 7,17 Hz), 3,39-3,43 (m, 4H, 2xCH₂-CH₃), 5,00 (d, 2H, 2xCH, *J* = 5,11 Hz), 6,57 (s, 2H, 2xOH), 10,09 (s, 2H, 2xNH); **¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm):** 14,27, 39,04, 73,43, 139,09, 150,05; **Molekül Ağırlığı:** 316 (C₁₀H₁₆N₆O₂S₂), **Elementel analiz (teorik):** C, 37,96; H, 5,10; N, 26,56; S, 20,27; **deneysel,** C, 38,01; H, 5,08; N, 26,47; S, 20,21; [α]_D²⁰ -14,356° (c 1, etanol).



Şekil 4.28. (L10) molekülünün FT-IR spektrumu



Şekil 4.29. (L10) molekülünün ^1H -NMR spektrumu



Şekil 4.30. (L10) molekülünün ^{13}C -NMR spektrumu

4.11. Bileşiklerin Antiradikal Aktivite Sonuçları

L serisi bileşiklerin antiradikal aktivite sonuçları Tablo 4.1’de gösterilmiştir. Buna göre, ABTS+• radikali giderme testinde L1, L2, L3, L4, L5, L8 ve L10 kodlu bileşikler standart antioksidan BHT’den daha yüksek antiradikal aktivite göstermiştir. OH• radikali

giderme testinde L2, L7 ve L8 kodlu bileşikler standart antioksidan BHT'den daha yüksek antiradikal aktivite göstermiştir. DPPH• radikali giderme testinde ise L1, L2, L3, L5 ve L8 kodlu bileşikler standart antioksidan BHT'den daha yüksek antiradikal aktivite göstermiştir.

Tablo 4.1. L serisi bileşiklerin ABTS⁺, OH•, DPPH• radikal yok etme aktiviteleri

Örnekler	ABTS ⁺ Yok Etme (%) (500µL)	OH• Yok Etme (%) (500 µL)	DPPH• Yok Etme (%) (500 µL)
L1	99,82	56,85	94,48
L2	99,40	99,36	94,36
L3	99,52	36,27	93,60
L4	99,52	53,38	85,10
L5	99,70	10,55	93,72
L6	87,41	23,54	55,36
L7	39,87	92,93	15,54
L8	99,34	96,46	94,61
L9	18,11	34,73	ag
L10	94,96	20,19	ag
BHT	93,25	91,87	93,54

ag: aktivite gözlenmedi

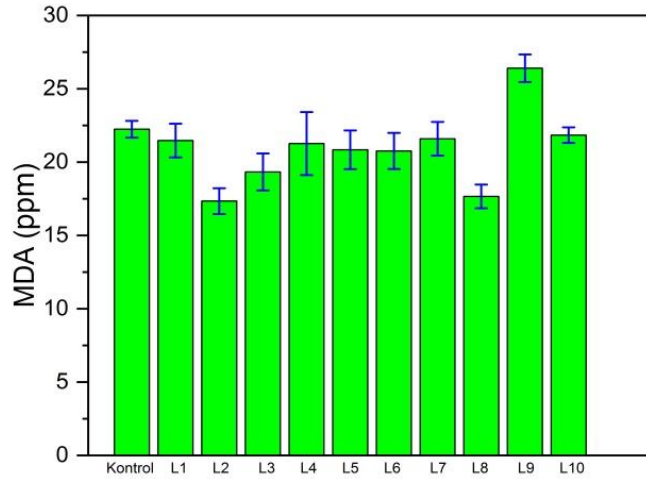
4.12. *Saccharomyces cerevisiae* Örneklerindeki MDA ve Vitamin Düzeyleri

L kodlu bileşikler ile etkileştirilmiş *Saccharomyces cerevisiae* maya hücrelerine ait MDA, Vitamin A, E, C düzeyleri Tablo 4.2, şekil 4.31 ve şekil 4.32'de verilmiştir.

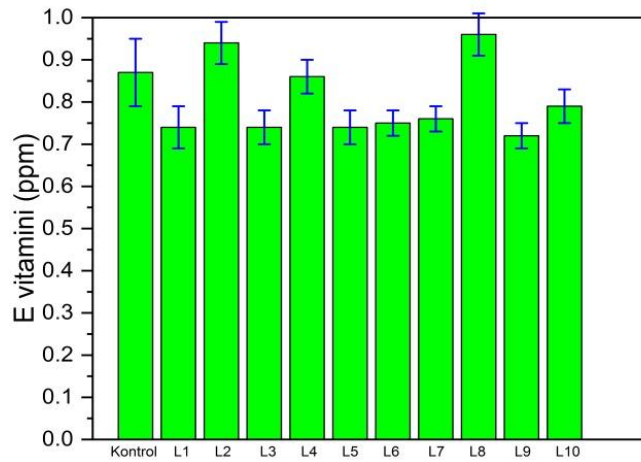
Table 4.2. Bileşiklerle muamele edilmiş *Saccharomyces cerevisiae* maya hücrelerinin MDA ve vitamin A, E, C değerleri

Gruplar	C vitamin, ppm	MDA, ppm	Vitamin A, ppm	Vitamin E, ppm
Kontrol	0,79±0,036	22,24±0,57	0,07±0,009	0,87±0,08
L1	0,72±0,045	21,47±1,15	0,07±0,011	0,74±0,05
L2	0,84±0,042	17,34±0,88**	0,08±0,003	0,94±0,05*
L3	0,69±0,055	19,33±1,26*	0,08±0,007	0,74±0,04
L4	0,74±0,072	21,26±2,15	0,07±0,005	0,86±0,04
L5	0,74±0,061	20,84±1,32	0,07±0,004	0,74±0,04
L6	0,75±0,081	20,76±1,23	0,07±0,006	0,75±0,03
L7	0,75±0,066	21,59±1,15	0,07±0,007	0,76±0,03
L8	0,85±0,065	17,66±0,81**	0,08±0,004	0,96±0,05*
L9	0,64±0,095	26,40±0,94*	0,07±0,004	0,72±0,03*
L10	0,74±0,079	21,84±0,53	0,06±0,008	0,79±0,04

*p < 0,05; **p < 0,01



Şekil 4.31. 1,2-diol ve tiyadiazol bileşikleriyle muamele edilmiş *Saccharomyces cerevisiae* maya hücrelerinin MDA düzeyleri



Şekil 4.32. Bileşiklerle muamele edilmiş *Saccharomyces cerevisiae* maya hücrelerinin Vitamin E değerleri

4.13. Sentezlenen Bileşiklerin HT29 Hücrelerinde Sitotoksite değerlerinin belirlenmesi

Kolon kanseri hücresi HT29, sentezlenen bileşiklerin değişen derişimlerde (10-1000 μM) dozları uygulanarak 24 saat inkübasyona bırakıldı. Hücrelerde IC50 değerleri Graphpad programında hesaplanarak hücre ölümlerinin %50 oranındaki olduğu konsantrasyonlar tespit edildi. Bu konsantrasyonlarda NCBI kanser enstitüsü tarafından kabul gören üst sınır limit olan 10 μM dikkate alındı. 10 μM konsantrasyon altında IC50 değerine sahip

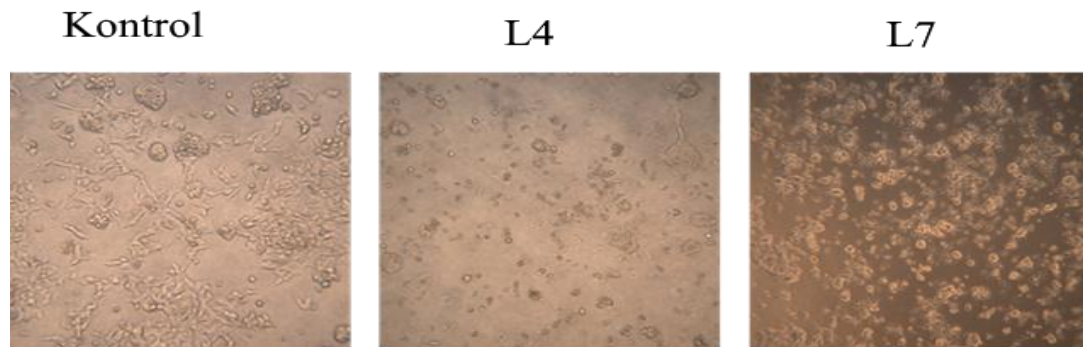
olan bileşikler seçilerek antikanser potansiyel etkileri araştırıldı. Elde ettiğimiz sonuçlara göre L4 (7.77 μM) ve L7 (9.10 μM) bileşiklerinin IC50 değerlerinin düşük olması sebebiyle antikanser çalışmalara bu bileşikler ile devam edildi.

Tablo 4.3. HT29 hücrelerinde bileşiklerin IC50 düzeyleri

	HT29
Bileşik kodu	IC50 (μM)
L1	162,14
L2	13,42
L3	290,25
L4	7,77
L5	12,24
L6	27,35
L7	9,10
L8	14,52
L9	303,76
L10	14,06

4.13.1. Sentezlenen Bileşiklerin HT29 Hücrelerinde Zamana Bağlı Hücre büyümesi

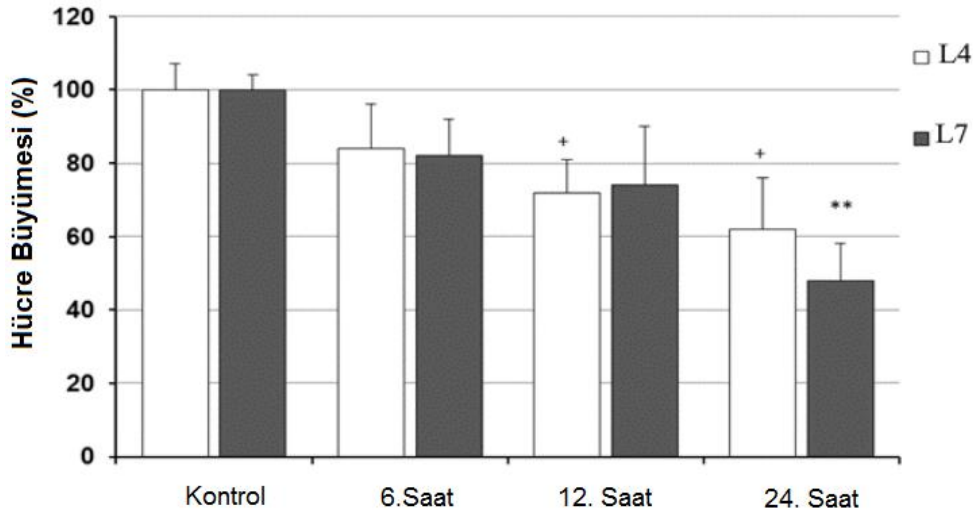
HT29 Kolon kanseri hücreleri üzerine L4 ve L7 bileşikleri 10 μM konsantrasyonda inkübe edilmiş morfolojik olarak değişiklikleri takip edilmiştir. Hücre büyümeleri morfolojik olarak 24. saatte incelendiği zaman L4 ve L7 gruplarında şekilde görüldüğü gibi hücre-hücre etkileşiminin azaldığı ve morfolojik olarak kontrol hücrelerine göre farklılık gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.33. HT29 hücrelerinde bileşiklerin Hücre büyüme görüntüsü

HT29 kolon kanseri hücreleri üzerine L4 ve L7 bileşikleri 10 μM konsantrasyonda zamana bağlı olarak inkübe edilmiş ve hücre büyümeleri takip edilmiştir. Hücre

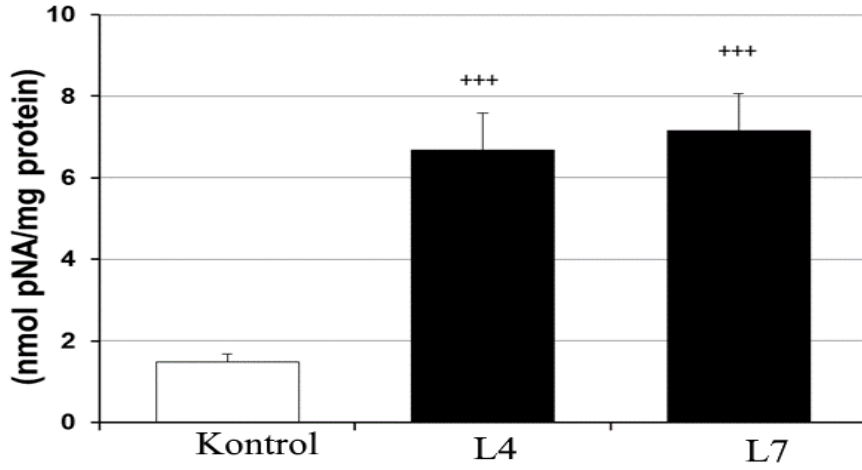
büyümleri kontrole göre kıyaslandığı zaman 12. saatte L4 ($p<0,05$) bileşiğinin hücre büyümlerinin azaldığı görülmektedir. 24. saat hücre büyümleri kontrole göre kıyaslandığı zaman L4 ($p<0,05$) ve L7 ($p<0,01$) bileşiklerinin hücre büyümlerinin istatistiksel olarak azaldığı görülmektedir. L4 ve L7 bileşikleri zaman bağılı olarak hücre büyümlerini durdurmuş ve hücreler üzerindeki etkileri zamana bağılı olarak artmıştır.



Şekil 4.34. HT29 hücrelerinde bileşiklerin hücre büyüme grafiği

4.13.2. Sentezlenen Bileşiklerin HT29 Hücrelerinde Kaspaz-3 Aktivitesi

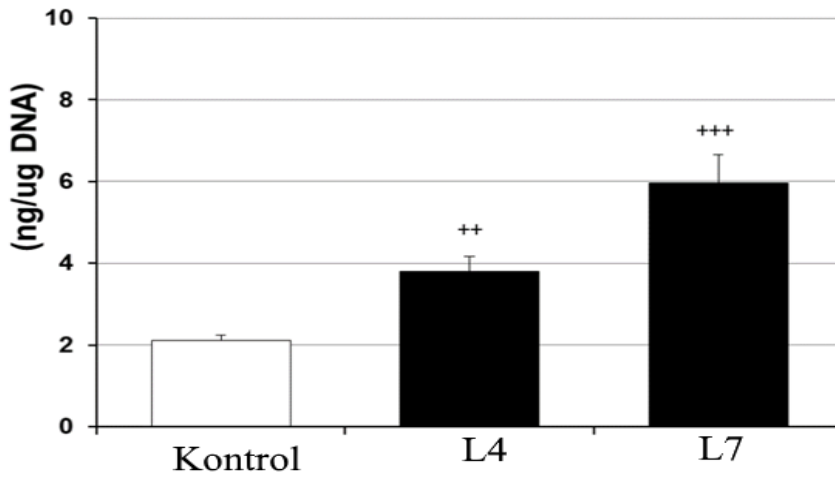
HT29 Kolon kanseri hücreleri üzerine L4 ve L7 bileşikleri $10 \mu\text{M}$ konsantrasyonda 24 saat inkübe edilerek hücrede apoptoz için önemli bir belirteç olan kaspaz-3 düzeyleri ölçülmüştür. Bileşiklerin Kaspaz-3 aktiviteleri incelendiği zaman L4 ve L7 bileşiklerinin kaspaz-3 düzeylerini anlamlı derecede arttırdığı görülmektedir ($p<0,001$).



Şekil 4.35. HT29 hücrelerinde bileşiklerin Kaspaz-3 aktivite grafiği

4.13.3. Sentezlenen Bileşiklerin HT29 Hücrelerinde 8-OHDG Düzeyleri

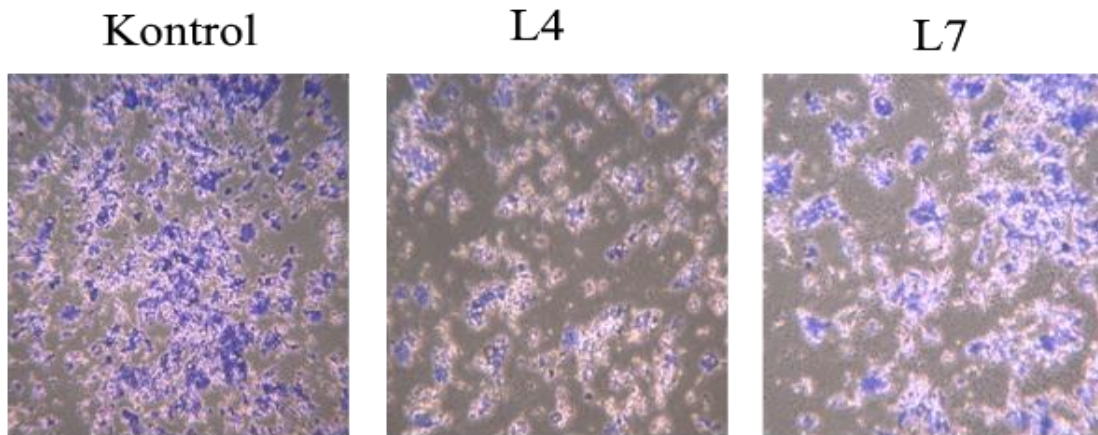
Hücreler üzerinde ilaçların DNA hasarı yaratıp yaratmadığı ve bu hasarla apoptoz mekanizmasına gidip gitmediği araştırılmıştır. HT29 Kolon kanseri hücreleri üzerine L4 ve L7 bileşikleri 10 μ M konsantrasyonda 24 saat inkübe edilerek hücrede DNA hasarı için önemli bir belirteç olan 8-OHDG düzeyleri ölçülmüştür. Bileşiklerin 8-OHDG aktiviteleri incelendiği zaman L4 ($p < 0,01$) ve L7 ($p < 0,001$) bileşiklerinin 8-OHDG düzeylerini anlamlı derecede artırdığı görülmektedir. İlaçların DNA hasarı yaratma potansiyellerinin olduğu ve hücre ölümü üzerinde etkili olduğu yapılan deneylerle gösterilmiştir.



Şekil 4.36. HT29 hücrelerinde bileşiklerin 8OHDG düzeyleri grafiği

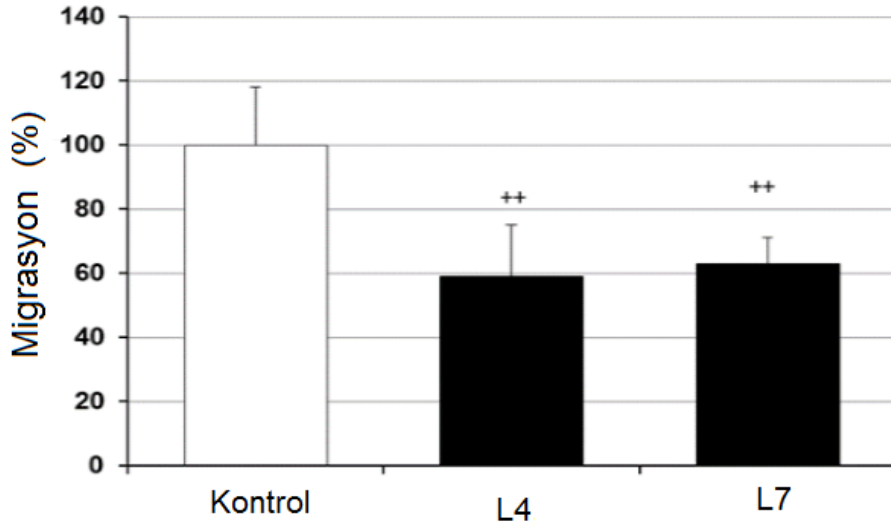
4.13.4. Sentezlenen Bileşiklerin HT29 Hücrelerinde Hücre Migrasyonu

HT29 Kolon kanseri hücreleri üzerine L4 ve L7 bileşikleri 10 μ M konsantrasyonda 24 saat inkübe edilerek hücre migrasyonu üzerinde etkisi incelenmiştir. Migrasyon çalışmalarında metastazik yeteneği fazla olan hücreler özel membran içeren platelerden geçerek başka yerlere gitmeye çalışırlar. Kanserde trans-well migrasyon deneyleri metastazın modeli olarak kabul edilir. Migrasyon çalışmasında hücreler ne kadar çok görünürse migrasyon o kadar fazladır. Yani hücreler doku içerisinde o kadar fazla yerleşerek kanserleşmeyi başlatırlar. Migrasyon sonuçlarına bakıldığı zaman kontrol deney grubunda membran üzerinde hücrelerin yüksek miktarda boyandığı, ortama L4 ve L7 eklenmesi ile hücrelerin migrasyonunun azaldığı görülmüştür. Hücrelerin boyanma ve görüntülerine göre L4 bileşiğinin daha etkili bir şekilde migrasyonu azalttığı görülmektedir.



Şekil 4.37. HT29 hücrelerinde bileşiklerin hücre migrasyon görüntüsü

Migrasyon değerlerine bakıldığında kontrol grubunda %100 olarak kabul edilen migrasyonun L4 grubunda 59 ± 14 ($p < 0,01$) ve L7 grubunda 63 ± 6 ($p < 0,01$) anlamlı derecede azaldığı görülmektedir. Sentezlenen bileşiklerin migrasyonu engelleme düzeyleri antikanser özelliğinin yanında ilerlemiş tümörler içinde etkin olabileceklerinin bir göstergesidir.



Şekil 4.38. HT29 hücrelerinde bileşiklerin Hücre migrasyon grafiği

4.14. Antimikrobiyal Aktivite Bulguları

Tablo 4.4.'den anlaşılacağı üzere maddelerin farklı antimikrobiyal aktiviteleri olduğu görülmektedir.

L1'in *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* için MİK değerleri sırasıyla 0,125, 0,0625, 0,125, 0,0625 mg/mL olarak hesaplanmıştır ancak *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. L2'nin *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* için MİK değerleri sırasıyla 0,125, 0,0625, 0,250, 0,15625 mg/mL olarak hesaplanmıştır. *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal etki göstermediği tespit edilmiştir. L3'ün *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* için MİK değerleri sırasıyla 0,0625, 0,03125, 0,125, 0,0625 mg/mL olarak hesaplanmıştır. *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal etki göstermediği tespit edilmiştir. L4'ün *Bacillus subtilis* ve *Klebsiella pneumoniae* için MİK değerleri sırasıyla 0,25, 0,0625mg/mL olarak hesaplanmıştır. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal etki göstermediği tespit edilmiştir. L5'in *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* için MİK değerleri sırasıyla 0,0625, 0,0625, 0,015625 mg/mL olarak hesaplanmıştır. *Staphylococcus aureus* ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal etki göstermediği tespit edilmiştir. L6'nın *Staphylococcus aureus*,

Bacillus subtilis, *Klebsiella pneumoniae*, *C. albicans* ve *Escherichia coli* için MİK değerleri sırasıyla 0,125, 0,125, 0,125, 0,0625, 0,125 mg/mL olarak hesaplanmıştır. L7'nin *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* için MİK değerleri sırasıyla 0,5, 0,125, 0,03125, 0,0625 mg/mL olarak hesaplanmıştır ancak *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. L8'in *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* için MİK değerleri sırasıyla 0,125, 0,25, 0,0625, 0,0625 mg/mL olarak hesaplanmıştır ancak *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. L9'un *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *C. albicans*'a ve *Escherichia coli* için MİK değerleri sırasıyla 0,03125, 0,125, 0,125, 0,0625 mg/mL olarak hesaplanmıştır ancak *Bacillus subtilis*'e karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. L10'un *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* için MİK değerleri sırasıyla 0,03125, 0,0625 mg/mL olarak hesaplanmıştır ancak *Bacillus subtilis*, *C. albicans*'a ve *Escherichia coli*'ye karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir.

Tablo 4.4. Test bileşiklerin antifungal ve antimikrobiyal aktivite sonuçları

	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>C. albicans</i>	<i>E.coli</i>
L1	0,125	0,0625	0,125	-	0,0625
L2	0,125	0,0625	0,25	-	0,015625
L3	0,0625	0,03125	0,125	-	0,0625
L4	-	0,25	0,0625	-	-
L5	-	0,0625	0,0625	-	0,015625
L6	0,125	0,125	0,125	0,0625	0,125
L7	0,5	0,125	0,03125	-	0,0625
L8	0,125	0,25	0,0625	-	0,0625
L9	0,03125	-	0,125	0,125	0,0625
L10	0,03125	-	0,0625	-	-

Bu çalışmada, 1,2-diol ve 2,5-disübstitüe-1,3,4-tiyadiazol yapısına sahip çeşitli biyolojik aktiviteler göstermesi beklenen 10 yeni bileşiğin sentezi yapılmış ve yapılar IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, Polarimetre, erime noktası tayini ve eleman analiz sonuçlarına ait veriler yardımıyla kanıtlanmıştır.

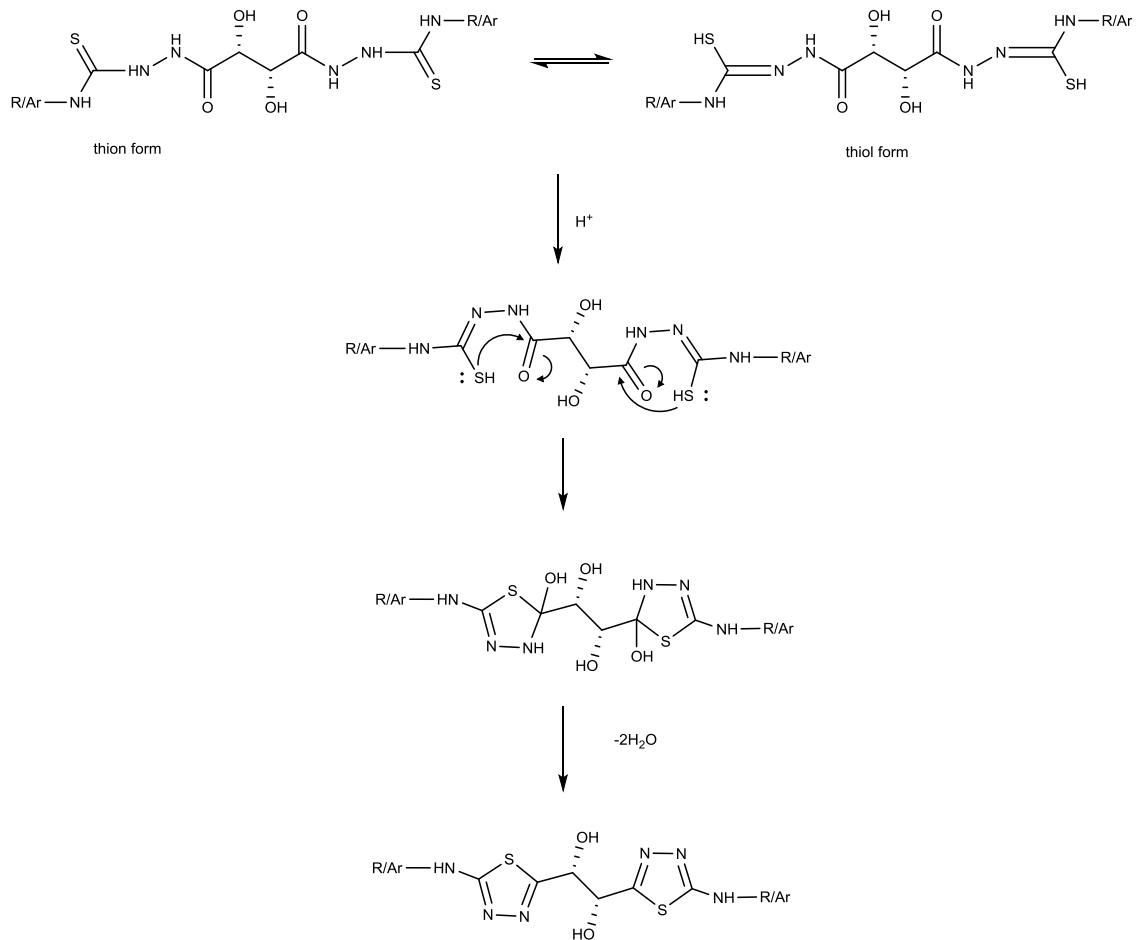
Sentezi yapılan bileşiklerin antioksidan özellikleri DPPH, ABTS ve OH radikali yakalama aktivitesi yöntemleri ve *Saccharomyces cerevisiae* maya hücrelerinde,

antitümör aktiviteleri HT29 insan kolon kanseri hücresi kullanılarak ve antimikrobiyal aktiviteleri ise çeşitli bakteri ve maya hücreleri üzerinde belirlenmiştir.

Kimyasal Tartışma

Aşağıda reaksiyon oluşum meknizmasında görüldüğü gibi asidik ortamda, bis-(1-açıl-4-süstitüe-3-tiyosemikarbazit) türevlerindeki 3 numaralı konumda bulunan kükürt atomlarının ortaklanmamış elektronlarının, tiyosemikarbazitin bir numaralı konumunda bulunan açıl karbonillerine atağı ve ardından 2 mol su çıkışı ile bis[5-(süstitüe)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol halkası elde edilir (Şekil 5.1).

4-Süstitüe tiyosemikarbazit türevlerinin (bileşik L1-L5) IR spektrumlarında; 1645-1679 cm^{-1} arasında C=O gerilimi, 1255-1282 cm^{-1} arasında C=S gerilim pikleri görülmekteyken, 2-süstitüe bis[5-(süstitüe)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]etan-1,2-diol (bileşik L6-L10), türevlerinde bu bantlar kaybolmakta bunların yerine 1497-1590 cm^{-1} arasında C=N gerilim pikleri görülmektedir. Bunlara ek olarak, 3201-3412 cm^{-1} arasında hidrojen bağı yapmış NH, OH gerilim, 3035-3160 cm^{-1} arasında aromatik ve alilik C-H gerilim, 2842-2977 cm^{-1} arasında alifatik C-H gerilim bantları, 1250 cm^{-1} de C-O ve 773-780 cm^{-1} de C-S bantlarına rastlanmaktadır.



Şekil 5.1. Maddelerin oluşumu için önerilen reaksiyon mekanizması

Tiyosemikarbazit türevlerinde (L1-L5) 1H -NMR spektrumlarında 7,42-10,27 ppm aralığında görülen tiyosemikarbazit protonlarına ait (NH-C=O, NH-NH, NH-C=S) yayvan, singletler (3 tane); L6-L10 kodlu bileşiklerde ise 10,09-10,41 ppm aralığında (NH), bir singlete dönüşmektedir. Tiyosemikarbazit türevlerinde (L1-L5) ^{13}C -NMR spektrumlarında 180,16-180,57 ppm deki (C=S) sinyali ile 171,42-171,67 ppm'deki (C=O) sinyali L6-L10 bileşiklerinde kaybolmuş yerine sırasıyla 139,09-165,87, 140,04-163,35 ppm aralığında 1,3,4-tiyadiazol halka karbonlarının iki sinyaline rastlanılmaktadır.

Bir çalışmada, 1,3,4-tiyadiazol türevi sentezi yapılmış ve yapı tayininde kullanılan IR spektrumunda; 610 cm^{-1} civarında C-S gerilim, 1250 cm^{-1} civarında C-N gerilim, 1600 cm^{-1} civarında C=O gerilim ve 3470 cm^{-1} civarında N-H gerilim bantları gözlenmiştir (Pattan ve ark., 2009).

Yine, 1,3,4-tiyadiazol bileşiğine ait ¹H-NMR değerlerinin; 2,64 (s, 3H, CH₃), 7,26-7,29 (m, 2H, ArH), 7,46-7,53 (m, 1H, ArH), 8,15-8,20 (m, 1H, ArH), 8,99 (s, 1H, =CH) ppm olduğu bildirilmiştir (Popiolek ve ark., 2015).

Parra ve ark., 'nın sentezlediği 1,3,4-tiyadiazol türevleri için ¹³C-NMR değerlerinin; 175,3, 164,1, 163,8, 137,6, 127,0 (kuaterner aromatik C), 166,8 (N=CH), 150,7, 132,7, 121, 115,1 (aromatik C), 68,5 (OCH₂), 31,8, 29,5, 29,3, 29, 25,9, 22,6, 14 (alifatik C) ppm olduğu bildirilmiştir (Parra ve ark., 2001).

Sentezi yapılan bütün bileşiklerin IR, ¹H-NMR spektrumları benzer yapılar için bildirilen değerlerle uyum içerisindedir. Değerlendirilen ¹³C-NMR spektrumları da önerilen yapıları destekler niteliktedir (Koparı ve ark., 2005).

Biyolojik Tartışma

Son yıllarda antioksidan özellik gösteren doğal olmayan bileşiklerin üretimi ve bunların biyolojik sistemler üzerindeki etkileri, canlıyı olumsuz yönde etkilemeyen, biyomoleküllerin bozunmasını geciktiren veya engelleyen eksojen ve endojen antioksidanlarla çalışmalar gün geçtikçe artmakta ve her geçen gün büyük ilgi alanı olmaktadır (Hussain ve ark., 2013; McClements and Decker 2000).

Özellikle insanların durağan yaşam tarzı, doğal yaşam alanlarının azalması, yiyecek ve içeceklerin genetiğinin değiştirilmesi, doğal olan yiyeceklerin tüketiminin azalması, betonarme yapıların çoğalması ve devamlı strese maruz kalma sonucunda, canlıların karşı karşıya kaldığı oksidatif stres düzeyleri de artmaktadır. Son zamanlarda yapılan araştırmalar da, farklı ve çeşitli hastalıkların ortaya çıkması ve hastalığın gelişimi üzerinde serbest radikallerin etkilerinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Bu bağlamda; antioksidan nitelikli sentetik veya doğal bileşiklerin laboratuvar koşullarında sentezlenmesi, oksidatif stresi azaltacak çeşitli yöntemlerin bulunması ilgi çeken konuların başında gelmektedir.

1,2-diol ve tiyadiazol bileşiklerinin antiinflamatuvar, antihipertansif, antioksidan, antimikrobiyal, enzim inhibitörü, antitüberküloz, antitumor ve antidepresan gibi birçok biyolojik özelliklere sahip olduğu yapılan çalışmalarla ortaya koyulmuştur. Sahip

oldukları bu farklı ve geniş farmakolojik özelliklerinden dolayı bu bileşikler tıp, eczacılık, organik kimya, farmasötik kimya ve biyokimyada yaygın olarak kullanılmaktadır.

Tez çalışmamızda Bingöl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde sentezlenmiş ve karakterize edilmiş olan 5 adet 1,2-diol ve 5 adet tiyadiazol bileşiğinin in vitro çeşitli biyolojik özelliklerinin araştırılması Fırat Üniversitesi ve Sivas Cumhuriyet Üniversitesi biyokimya ve mikrobiyoloji laboratuvarlarında farklı yöntemler kullanılarak deneysel çalışmalarla araştırılmıştır.

Antiradikal Aktiviteleri

L serisi bileşiklerin antiradikal aktivite sonuçları Tablo 4.1’de gösterilmiştir. Buna göre, L1- L10 olarak kodladığımız 1,2-diol ve tiyadiazol bileşiklerinin ABTS+• radikali giderme testinde L1, L2, L3, L4, L5, L8 ve L10 kodlu bileşikler standart antioksidan BHT’den daha yüksek antiradikal aktivite göstermiştir. OH• radikali giderme testinde L2, L7 ve L8 kodlu bileşikler standart antioksidan BHT’den daha yüksek antiradikal aktivite göstermiştir. DPPH• radikali giderme testinde ise L1, L2, L3, L5 ve L8 kodlu bileşikler standart antioksidan BHT’den daha yüksek antiradikal aktivite göstermiştir.

Standart antioksidan olan BHT ile kıyaslandığında özellikle L2 ve L8 bileşiklerinin iyi derecede antiradikal aktiviteye sahip oldukları söylenebilir.

***Saccharomyces Cerevisiae* Hücrelerindeki MDA ve Vitamin Düzeyleri**

Elde edilen sonuçlar, Tablo 4.2.’ye göre incelendiğinde, L9 kodlu tiyadiazol bileşiğinin kontrole göre anlamlı şekilde MDA düzeyini artırdığı ve vitamin E düzeyini azalttığı belirlenmiştir. Bu durum L9 bileşiğinin lipid peroksidasyonunu artırarak hasar oluşumuna sebep olduğunun göstergesi olabilir. L2 kodlu 1,2-diol ve L8 kodlu tiyadiazol bileşiğimiz ise kontrole göre anlamlı şekilde MDA düzeyini düşürmüş ve vitamin E düzeyini artırmıştır (Şekil 4.31.; Şekil 4.32.). Bu sonuçlardan L2 ve L8 bileşiklerinin antioksidan potansiyellerinin bulunduğu yorumu yapılabilir. Diğer bileşikler sayısal olarak bazı değişiklikler oluşturmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Literatürde yapılan çalışma sonuçları incelendiğinde çalışmamızla uyum gösteren 1,3,4-tiyadiazol halkası içeren çeşitli türevlerinin antioksidan etkisi olduğunu ortaya koyan bilimsel çalışmalar mevcuttur. Yeni bir sınıf sitirilsülfonilmetil-1,3,4-tiyadiazol ve piyrazol ve izoksazolil-1,3,4 tiyadiazol bileşikleri sentezlenmiş ve özellikle fenil içeren türevlerin daha yüksek aktivite sergilediği gösterilmiştir (Reddy ve ark., 2017).

6-[3-(4-florofenil)-1H-pirazol-4-il]-3-[(2naftiloksi)metil][1,2,4] triazol [3,4-b]-[1,3,4] tiyadiazol (FPNT) ve 6-[3-(4klorofenil)-1H-pirazol-4-il]-3-[(feniloksi)metil]-[1,2,4] triazolo [3,4b][1,3,4] tiyadiazol (CPPT) bileşikleri sentezlenmiş ve in vitro antioksidan aktivitesi DPPH ve ABTS yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. Sonuçlarda FPNT'nin çok iyi aktivite sergilediği gösterilmiştir (Dhanya ve ark., 2010).

1,3,4-tiyadiazollerin antioksidan aktivite çalışmaları; bu grubun tiyol, tiyosülfonik asit ve fosforotiyoat türevlerinin mükemmel aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu aktivite tiyol içeren aromatik grupların varlığı ile ilişkili bir biyolojik aktivite olarak açıklanabilmektedir (Cressier ve ark., 2009). Prouillac ve ark., tiyadiazollerin tiyol ve aminotiyol türevlerini sentezlemiş ve antioksidan yeteneklerini test etmişlerdir. Bu yeni bileşikler DPPH• and ABTS•+ serbest radikallerine karşı yüksek aktivite göstermiştir (Prouillac ve ark., 2009).

Bu çalışmanın sonucunda L9 bileşiğinin oksidatif strese sebep olduğu, L2 ve L8 bileşiklerinin antioksidan gibi davranış sergilediği söylenebilir.

Sentezlenen Bileşiklerin HT29 Hücrelerinde Sitotoksisite Değerleri

Yapılan sitotoksisite çalışmalarında Tablo 4.3.'de görüldüğü üzere L4 ve L7 bileşikleri insan kolon kanseri hücresi HT29 üzerinde etkili antitümör aktiviteye sahiptir. Şekil 4.33 ve Şekil 4.34.'e göre L4 ve L7 bileşikleri hücre büyümelerini durdurmuş ve hücreler üzerindeki etkileri zamana bağlı olarak artmıştır.

Yine bileşiklerin Kaspaz-3 aktiviteleri incelendiği zaman L4 ve L7 bileşiklerinin kaspaz-3 düzeylerini anlamlı derecede arttırdığı Şekil 4.35.'de görülmektedir.

Hücreler üzerinde bileşiklerin DNA hasarı yaratıp yaratmadığı ve bu hasarla apoptoz mekanizmasına gidip gitmediği HT29 kolon kanseri hücreleri üzerinde araştırıldığında, L4 ve L7 bileşiklerinin 10 µM konsantrasyonda 24 saat inkübasyon sonrasında hücrede DNA hasarı için önemli bir belirteç olan 8-OHdG düzeylerini anlamlı derecede arttırdığı görülmektedir (Şekil 4.36.).

Sentezlenen bileşiklerin migrasyonu engelleme düzeylerine bakıldığında (Şekil 4.37. ve Şekil 4.38.) antikanser özelliğinin yanı sıra ilerlemiş tümörler içinde etkin olabileceklerinin bir göstergesi olarak düşünülebilir. Bileşiklerin DNA hasarı yaratma potansiyellerinin olduğu ve hücre ölümü üzerinde etkili olduğu yapılan deneylerle gösterilmiştir. 2-aminotiyadiazol (ATDA) bileşiğinin antikanser aktivitesi olduğu anlaşıldıktan sonra 1,3,4-tiyadiazol yapısında olan bileşiklerin sentezi artmış ve bu yeni türevlerinde benzer etkide oldukları bildirilmiştir. Bu bilgilerin ışığında, Matysiak ve ark., 5-süstitüe-2-(2,4-dihidroksi-fenil)-1,3,4-tiyadiazol bileşiklerini sentezlemişler ve sitotoksik etkilerini SW707, A549 ve T47D insan hücre hatlarını kullanarak in vitro olarak cisplatin referansına karşı kıyaslamışlardır. Çalışmanın sonucunda 2-(2,4-dihidroksifenil)-5-(4-metoksi benziloksi)-1,3,4-tiyadiazol bileşiğinin T47D hücre hattına karşı ($IC_{50} = 3,0 \pm 1,5 \mu g mL^{-1}$) cisplatinden ($IC_{50} = 6,2 \pm 1,5 \mu g mL^{-1}$) daha aktif olduğunu, SW707 ve A549 hücre hatlarına karşı da cisplatine yakın etki gösterdiğini bildirmişlerdir (Matysiak ve ark., 2006). 2-(4-florofenilamino)-5-(2,4-dihidroksifenil)-1,3,4-tiyadiazol bileşiğinin sinir sistemi ve periferik kanserlerden elde edilen tümör hücrelerine karşı in vitro antikanser ve antiproliferatif etkisi test edilen bir çalışmada bileşiğin aktif olduğu ve normal hücrelere toksik etkisinin bulunmadığını belirtilmiştir (Rzeski ve ark., 2007). Bir seri 5-süstitübenzoilamino-2-[(4-benzil)tiyo]-1,3,4-tiyadiazollerden 5-(p-florobenzoilamino)-2-[(4-florobenzil) tiyo]-1,3,4-tiyadiazol bileşiğinin imatinibe duyarlı ve dirençli lösemi hücrelerine yüksek etki gösterdiği belirtilmiştir (Radi ve ark., 2008). Kiral 1,3,4-tiyadiazol türevlerinin bir serisi sentezlenmiş (Wei ve ark., 2009) ve bileşiklerin hepsinin Hella kanser hücre hatlarında antikanser aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Mavrova ve ark., 2009). Kai ve ark., tarafından N1-asetilamino-(5-alkil/aryl-1,3,4-tiyadiazol-2il)-5-florourasil türevleri sentezlenmiş ve A-549 (insan akciğer kanseri), Bcap-37 (insan göğüs kanseri) hücreleri üzerinde test edilmiştir. Sonuçlara göre özellikle fenil türevleri her iki hücre hattı üzerinde yüksek aktivite sergilemiştir (Kai ve ark., 2008). N-süstitüye 2-amino-5-(2,4-

dihidroksifenil)-1,3,4-tiyadiazol türevleri sentezlenmiş ve SW707 (rektal), HCV29T (mesane), A549 (akciğer) and T47D (göğüs) hücre hatlarında antiproliferatif aktiviteleri incelenmiştir (Matsiyak ve ark., 2006). Alkil ve morfinoalkil türevleri fenil türevlerine oranla daha az aktivite göstermiştir. En büyük aktiviteyi cisplatin ile kıyaslamasında, 2-(2,4- diklorofenilamino)-5-(2,4-dihidroksifenil)-1,3,4-tiyadiazol göstermiştir.

Bir seri 3,6-disübstitüye triazol[3,4-b]tiyadiazol türevleri sentezlemiş ve sitotoksik aktiviteleri 60 çeşit insan kanser hücresinde denemiştir. Bazılarının 10^{-5} ile 10^{-7} M derişimlerde etkili olduğunu göstermiştir (İbrahim 2009).

Yeni türev olarak 2,5-sübstitüye-1,3,4-tiyadiazoller Mavrova ve ark., tarafından sentezlenmiş ve sitotoksisite çalışmaları sonucunda, n-etil-5(4,5,6,7-tetrahidro-1-benzotien-2-il)-1,3,4-tiyadiazol-2-amin bileşiğinin ikinci pozisyondaki etil-amino türevinin in vitro olarak timositlere karşı yüksek aktivite sergilediğini göstermişlerdir (Mavrova ve ark., 2009).

Antimikrobiyal Aktivite

Maddelerin antimikrobiyal aktivitesi *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603, *Escherichia coli* ATCC25322, *Bacillus subtilis* DSM32 ve *Candida albicans* FMC17 suşları kullanılarak incelendi. Kimyasalların MİK değerlerinin, 0,015625 ile 0,0625 mg/mL aralığında farklı mikroorganizmalar üzerinde etkili olduğunu söyleyebiliriz (Tablo 4.4.).

Elde edilen sonuçlara göre L1 ve L2 *Bacillus subtilis* ve *Escherichia coli*'ye; L3 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* ve *Escherichia coli*'ye karşı; L4 *Klebsiella pneumoniae*'ye karşı; L5 *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli*'ye karşı; L6 *C. albicans*'a karşı; L7 ve L8 *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli*'ye karşı; L9 *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'ye karşı; L10 *Klebsiella pneumoniae* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Foroumadi ve ark., bir seri nitroaril-1,3,4 tiyadiazol türevi sentezlemişler ve *in vitro* antimikrobiyal aktivitesini Gram positif ve Gram negatif bakteri hücrelerinde

denemişlerdir. Bu türevlerin Gram pozitif bakteri hücrelerinden *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* ve *Micrococcus* üzerinde antimikrobiyal ilaç olan gatifloxacin'e yakın etki gösterdiğini belirlemiştir (Foroumadi ve ark., 2008).

Bazı heterosiklik 4,6-disübstitüe-1,2,4-triazol-1,3,4-tiyadiazol türevleri sentezlenmiş ve *in vitro* olarak test edilmiştir. Bileşiklerden aromatik grubu yoğun olanların daha etkili antibakteriyel aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Rangappa ve ark., 2006).

Foroumadi ve ark., yaptıkları bir çalışmada 1,3,4-tiyadiazol bileşiklerini sentez etmişler ve bileşiklerin gram pozitif bakterilere karşı siprofloksazin, norfloksazin ve enoksazinden daha aktif olduklarını göstermişlerdir (Foroumadi ve ark., 2003). (2-(5-nitro-2-furil)-5-etiltiyo-1,3,4-tiyadiazol bileşiğinin *Mycobacterium tuberculosis* suşuna karşı 0,78 µg mL⁻¹ MİK değeri gösterdiği ve sitotoksik etkisinin de 0,9 µg mL⁻¹ de görüldüğü bildirmiştir (Foroumadi ve ark., 2002). Thomasco ve ark., moleküler modifikasyon ile antibakteriyel ajan olan Linezolidin yapısında yer alan morfolin halkası yerine 1,3,4-tiyadiazol halkası ve asetamido grubu yerine tiyoasetamido grubu içeren bileşiklerin Gram pozitif ve Gram negatif organizmalara karşı antibakteriyel etkilerinin arttığını bildirmişlerdir (Thomasco ve ark., 2003).

Bir seri N-[5-(5-nitro-2-heteroaril)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]tiyomorfolin bileşiklerinin antimikrobiyal aktivitesi amoksisilin ve metronidazol referansına karşı *in vitro helicobacter pylori* suşuna karşı incelenmiş ve bu bileşiklerin bazılarının aktif olduğunu belirtmişlerdir (Mirzaei ve ark., 2008). Bandy ve Rauf, 2-benzoilamino-5-sübstitüe-1,3,4-tiyadiazol bileşiklerinin antibakteriyel etkilerinin *S. albus*, *S. typhi* ve *E. coli* suşuna karşı olduğunu belirtmişlerdir (Bandy ve Rauf 2008). Nitroaril-1,3,4-tiyadiazol yapısı içeren gatifloksasin analoglarından 1-siklopropil-6-floro-7-[4-[5-(5-nitrofuran-2-il)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]-3-metilpiperazin-1-il]-8-metoksi-4-okso-karboksilik asidin çeşitli mikro organizma suşlarına karşı gatifloksazinden daha yüksek veya eşit antibakteriyel etki gösterdiğini tespit etmişlerdir (Jazayeri ve ark., 2009).

Yapılan tüm literatür araştırması 1,3,4-tiyadiazol çekirdeği içeren yapıların kaydadeğer etkilere sahip olduğunu ve bu nedenle üzerinde yoğun olarak çalışıldığını göstermiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Son yıllarda giderek artan hazırlanması kolay gıdaların ortaya çıkışı, gıda sektöründe çeşitlenme, kozmetik sanayii ürünlerinde çeşitliliğin artışı, teknolojik ürünlerin artışı ve endüstrileşme, hayatımızı yüksek oranda kolaylaştırsada, pek çok yeni hastalığın ortaya çıkması sebebi ile hayatımızda zorlaştırmaktadır. Bu sorunların ortadan kaldırılması veya azaltılması için etkili, ucuz ve kullanımının kolay, yan etkileri düşük olan değişik yöntem, teknik ve uygulamalar geliştirilmektedir.

Diğer taraftan hastalıklarla mücadelede yeni ilaçların bulunması, yeniden sentezlenmesi ve geliştirilmesi araştırmacıların fazlaca üzerinde durdukları konuların başında gelmektedir. Elbetteki ilaç etkili olabilecek bu yeni doğal ya da sentetik maddelerin, yan etkilerinin mümkün olduğu kadar az olması, hastalıklı hücreyi iyileştirirken sağlıklı hücrelere zarar vermemesi, ucuza mal edilebilmesi, kullanımının kolay olması gibi nitelikler, bu çalışmalarda önem verilen hedeflerdir.

Çalışmamız kapsamında, özgün olarak sentezlediğimiz bileşiklerin yapılarını tayin etmek için kullanılan yöntemler sonucunda önerilen yapıların uygunluğu ortaya konulduktan sonra, in vitro olarak çeşitli biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi ve bu aktivitelerin karşılaştırılması gerçekleştirilmiştir. Tez çalışmamızda ki maddelerimizin çeşitli ve önemli bazı biyolojik aktivitelerinin olduğu görülmektedir. Antioksidan, antitümör ve antimikrobiyal aktivitelerde öne çıkan maddelerin yapı-aktivite ilişkisi açıklanmaya çalışılmıştır.

Bir maddenin antioksidan kapasitesinin değerlendirilmesinde birkaç farklı yöntem kullanılması sağlıklı sonuçların elde edilmesi için önemlidir.

Bazı antioksidanların, hücrelerdeki ROS miktarlarını ve DNA hasarını azaltarak tümör hücre proliferasyonunun oluşmasına ve tümör büyümesinin hızlanacağına inanılmaktadır. Bu doğrultuda erken dönemdeki hastalık gelişmesi durumunda ki veya kanserlerde risk altında olan kişilerde antioksidan kullanımlarının güvenilir olamayacağı neticesine varılmıştır (Sayın ve ark., 2014). Bu sebeple oksidatif stress ve alakalı hücrelerde antioksidanların etkilerinin incelendiği teferruatlı çalışmalara daha çok yer verilmektedir (Kısmalı ve Sel 2012). Bu bağlamda, tez çalışmamızda farklı özgün 1,2-diol ve 1,3,4-tiyadiazol bileşiklerinin biyolojik özellikleri kapsamlı olarak analiz edilmeye çalışılmıştır.

Yapılan çalışmada in vitro antioksidan aktivite sonuçlarına bakıldığında bütün bileşikler farklı oranlarda aktif bulunmuştur. Ancak özellikle antiradikal çalışmalarında L2 ve L8 kodlu bileşikler *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinde ki sonuçlardada olduğu gibi öne çıkmakta ve farklı yöntemlerde benzer sonucu vermektedir.

L4 ve L7 bileşiklerinin hücre proliferasyonunu azalttığı, apoptozda önemli yeri olan kaspaz-3 aktivitesini artırdığı, hücrede DNA hasarı için önemli bir belirteç olan 8-OHdG düzeylerini anlamlı derecede artırdığı ve bu sonuçla bu maddelerin DNA hasarı yaratma potansiyellerinin olduğu, yine metastazın modeli olarak kabul edilen migrasyon çalışmasında ortama L4 ve L7 eklenmesi ile hücrelerin migrasyonunun azaldığı görülmüştür.

Diğer taraftan antimikrobiyal çalışmalarımızda, L3 kodlu bileşik üç mikroorganizmaya etkin olmakla birlikte, L2, L7, L8 kodlu bileşikler birkaç farklı mikroorganizma üzerinde etkili olmuştur. Kullanılan maddelerden bütün biyolojik özelliklerine bakıldığında L4 ve L9 alil türevi olduğu ve özellikle L9'un oksidatif hasar oluşturduğu, L4'ün antioksidan aktivitesinin zayıf olduğu, antitümör ve antimikrobiyal aktivitelerinin oksidatif hasar oluşturarak gösterebilecekleri söylenebilir.

L2 ve L8 bileşikleri ise yapılarında sırasıyla p-tolil ve p-metoksifenil grupları içermektedirler ve yüksek antioksidan aktiviteye ve antimikrobiyal aktiviteye sahiptirler. Bu özellikleri onların aromatik gruplarından kaynaklanabilir ve onları değerli kılar. L7 bileşiğide p-tolil grubu içermektedir ancak etkili bir antioksidan aktiviteye sahip olmamakla beraber güçlü bir antitümör etki göstermiştir.

Bu sonuçlar doğrultusunda aromatik grupların biyolojik aktivitedeki önemi bir kez daha ortaya çıkmıştır.

Sentezini gerçekleştirdiğimiz ve farklı biyolojik aktivitelerini in vitro çalışmalarıla ortaya koymaya çalıştığımız bu tez kapsamında elde edilen sonuçların mevcut literatür çalışmalarına katkı sağlayacağına, daha detaylı çalışmalar için önemli ön bilgiler içerdiğine ve daha sonra yapılacak bilimsel çalışmalarda, model moleküllerin seçimi ve dizaynında yararlı olabilecek nitelikte sonuçlara sahip olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

Ahmad T, Singh AK, Jaiswal N (2012) Synthesis and Pharmacological Activity of 1,3,4Thiadiazole Derivatives: a Review. *Int. Res. J. Pharm* 3(3): 70-82

Akkuş İ (1995) Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. *Mimoza Yayınları*. Konya 3: 9-16

Alegaon SG, Alagawadi KR, Sonkusare PV, Chaudhary SM, Dadwe DH, Shah AS (2012) Novel imidazo[2,1-b][1,3,4]thiadiazole carrying rhodanine-3-acetic acid as potential antitubercular agents. *Bioorg Med Chem Lett* 22: 1917-21

Alzuet G, Ramirez JA, Borrás J, Carugo M (1995) Metal complexes of the carbonic anhydrase inhibitor methazolamide (Hmacm). Crystal structure of the $Zn(macm)_2(NH_3)_2$. Anticonvulsant properties of the $Cu(macm)_2(NH_3)_3(H_2O)$. *J. Inorg. Biochem* 57: 219-234

Ambrogi V, Bloch K, Daturi S, Logemann W, Parenti MA (1972) Synthesis of pyrazine derivatives as potential hypoglycemic agents. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 61(9): 1483

Amir M, Dhar N, Tiwari SK (1997) Synthesis and antiinflammatory activity of some new indole and indazole derivatives. *Indian J. Chemistry* 36: 96-100

Arnold H (1942) Über höher-C-alkylierte 2-amino-1,3,4-thiadiazole und ihre sulfanilamidderivate. *Ber* 75: 87-95

Aryanasab F, Halimehjani AZ, Saidi MR (2010) Dithiocarbamate as an efficient intermediate for the synthesis of 2-amino-1,3,4-thiadiazoles in water. *Tetrahedron Lett* 51: 790-2

Atalay Y, Yakuphanoglu F, Sekerci M, Avcı D, Basoglu A (2005) Theoretical studies of molecular structure and vibrational spectra of 2-amino-5-phenyl-1,3,4-thiadiazole. *Spectrochimica Acta Part A* 1-5

Augustine JK, Vairaperumal V, Narasimhan S, Alagarsamy P, Radhakrishnan A (2009) Propylphosphonic anhydride (T3P): an efficient reagent for the one-pot synthesis of 1,2,4-oxadiazoles, 1,3,4-oxadiazoles and 1,3,4-thiadiazoles. *Tetrahedron* 65: 9989-96

Bakhtiar R, Ochiai E (1999) Pharmacological application of inorganic complexes. *General Pharm* 32: 525-540

Blaizot P, Mellier MTH (1958) Some derivatives from fatty aryl alkyl ketones. *Oleagineux* 13: 85-7

Banday MR, Rauf A (2008) Synthesis and evaluation of in vitro antibacterial activity of novel 2,5-disubstituted-1,3,4-thiadiazoles from fatty acids. *Chinese Chemical Letters* 19: 1427-1430

Bennett JE, Rall TW, Nies AS, Taylor (1990) *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8th.Edition, Pergamon Press, Newyork 1165-1181

Bentiss F, Lagrenee M, Wignacourt JP, Holt EM (2002) Complexes of cobalt(II), nickel(II) and copper(II) with a thia ligand; 2,5-bis(2-pyridyl)-1,3,4-thiadiazole: structural identification. *Polyhedron* 21: 403-408

Bertram JS (2000) The molecular biology of cancer. *Molecular aspects of medicine* 21(6): 167-223

Bhinge SD, Chature V, Sonawane LV (2015) Synthesis of Some Novel 1,3,4Thiadiazole Derivatives And Biological Screening for Antimicrobial, Antifungal And Anthelmintic Activity. *Pharm Chem J* 49(6): 367-72

Bian D, Bosetti A, Cesti P, Golini P (1992) Enzymatic resolution of 1,2-diols: preparation of optically pure dropropizine. *Tetrahedron Lett* 33: 3231-3234

Borras J, Cristea T, Gheorghe A, Supura, CT, Tudor V (1996) Synthesis and Structure of the Dimeric Copper(II) Complex Tetrakis[N-thiazol-2-yl-(4-methylphenyl) sulfonamidate] dicopper(II). *Metal Based Drugs* 3: 143-146

Camoutsis C, Geronikaki A, Ciric A, Sokovic M, Zoumpoulakis P, Zervou M (2010) Sulfonamide-1,2,4-thiadiazole Derivatives as Antifungal and Antibacterial Agents: Synthesis, Biological Evaluation, Lipophilicity, and Conformational Studies *Chem Pharm Bull* 58(2): 160-167

Catignani GL, Bieri JG (1983) Simultaneous Determination of Retinol and α -Tocopherol in Serum of Plasma by Liquid Chromatography. *Clinical Chemistry* 29(4): 708-712

Chen CJ, Song SY, Xu GF, Bhandary PS (2007) Synthesis and antifungal activities of 5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-2sulfonyl-1,3,4-thiadiazole and 5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-2-sulfonyl-1,3,4-oxadiazole derivatives. *Bioorganic& Medicinal Chemistry* 15: 3981-3989

Chen MH, Lin S, Wang YN, Zhu CG, Li YH, Jiang JD, Shi JG (2016) Antiviral stereoisomers of 3,5-bis(2-hydroxybut-3-en-1-yl)-1,2,4-thiadiazole from the roots of *Isatis indigotica*. *Chin Chem Lett* 27: 643-8

Chohan ZH, Pervez H, Rauf A, Scozzafava A, Supuran CT (2002) Antibacteriyal Co(II), Cu (II), Ni (II) and Zn(II) complexes of thiadiazole derived furanyl, thiophenyl and pyrrolyl Schiff bases. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 17: 117-122.

Clark JH, English JP, Winnek PS, Marson HW, Cole QP, Clapp JW (1946) Studies in chemotherapy, XII. Some sulfonilamidoheterocycles. *J. Am. Chem. Soc* 68: 96-99

Clerici, F, Pocar D, Guido, M. (2001) Synthesis of 2-amino-5-sulfanyl-1,3,4-thiadiazole derivatives and evaluation of their antidepressant and anxi-olytic activity. *Journal of Medicinal Chemistry* 44: 931-936

Coburn RA, Bhoosman B, Glennon RAJ (1973) New method for the methylation of thiadiazoles. *Org. Chem* 38: 3947

Cooper G, Hausman R (2004) *The cell a molecular approach*. Sinauer: ASM Press Washington, Sinauer Associates. 141-156

Costa K, Correa Lima DLB, Galdino RMO (1995) Substituted imidazolidinediones and thiazolidinediones: synthesis, structure and cytotoxic activity. *J. Pharm. Belg* 50(1): 5-10

Cressier D, Prouillac C, Hernandez P, Amourette C, Diserbo M, Lion C, Rima G (2009) Synthesis, antioxidant properties and radioprotective effects of new benzothiazoles and thiadiazoles. *Bioorg Med Chem* 17: 5275-84

Cui ZN, Li YS, Hu DK, Tian H, Jiang JZ, Wang Y, Yan XJ (2016) Synthesis and fungicidal activity of novel 2,5-disubstituted-1,3,4- thiadiazole derivatives containing 5-phenyl-2-furan. *Epub* 2015: 1-15

Çakır Ü, Ugras H, Özensoy Ö, Sinan S, Arslan O (2004) In Vitro Inhibition Effects of some New Sulfonamide Inhibitors on Human Carbonic Anhydrase I and II. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 19(3): 257-261

Dhanya S, Arun MI, Prakash S (2010) 6-[3-(4-Fluorophenyl)-1H-pyrazol-4-yl]-3-[(2-naphthyloxy)methyl][1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazole as a potent antioxidant and an anticancer agent induces growth inhibition followed by apoptosis in HepG2 cells. *Arabian Journal of Chemistry* 3: 211-217

Dobosz M, Pitucha M, Wujec M (2013) The reactions of cyclization of thiosemikarbazide derivates to 1,2,4-triazole or 1,3,4-thiadiazole system. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research* 53 (1): 31-38

Deohate PP Synthesis, structural study and biological activity of bridgehead nitrogen containing triazolo-thiadiazine derivatives. *Chemistry Science Transactions* 2(2): 556-560

Doğan HN, Rollas S, Erdeniz H (1998) Synthesis, structure elucidation and antimicrobial activity of some 3-hydroxy-2-naphthoic acid hydrazide derivatives. *Il Farmaco* 53: 462-467

Dogan HN, Duran A, Rollas S, Sener G, Uysal MK, Gulen D (2002) Synthesis of New 2,5-Disubstituted-1,3,4-thiadiazoles and Preliminary Evaluation of Anticonvulsant and Antimicrobial Activities. *Bioorg Med Chem* 10: 2893-2898

Dong WL, Liu ZX, Liu XH, Li ZM, Zhao WG (2010) Synthesis and antiviral activity of new acrylamide derivatives containing 1,2,3-thiadiazole as inhibitors of hepatitis B virus replication. *Eur J Med Chem* 45: 1919-26

Dutta MM, Goswami BN, Katakya JCS (1990) Studies on biologically active heterocycles. Part – II. Synthesis and antifungal activity of some new 2substitutedamino-5-(2,4-dichlorophenyl)-1,3,4-oxadiazoles and thiadiazoles. *J. Indian Chem. Soc* 64(3): 195-197

Ekchariyawat P, Arunee T, Stitaya S, Pongsak U (2013) Involvement of GRIM-19 in apoptosis induced in H5N1 virus-infected human macrophages. *Innate Immunity* 19(6): 655-662

Emerk K, Onat T (1997) *Temel Biyokimya*, 2. Baskı, Saray Medikal Yayıncılık ve Tic. Ytd. Şti., İzmir 3(1):135-152

Fan XY, Jiang X, Zhang Y, Chen ZB, Zhu Y M (2015) Palladium-catalyzed one-pot synthesis of diazoles via tert-butyl isocyanide insertion. *Org Biomol Chem* 13: 10402-8

Flaherty P, Greenwood TD, Manheim AL, Wolfe JF (1996) Synthesis and evaluation of N-(phenylacetyl)trifluoromethanesulfonamides as anticonvulsant agents. *J. Med. Chem* 39: 1509- 1513

Foroumadi A, Daneshtalab M, Shafiee A (1999) Synthesis and in vitro antifungal and activity of 2-aryl-5-phenylsulfonyl-1,3,4-thiadiazole derivatives. *Arzeim.Forsch./Drugs Res* 49(II): 1038-42

Foroumadi F, Mirzaei M, Shafiee A (2001) Antituberculosis agents, I: Synthesis and antituberculosis activity of 2-aryl-1,3,4-thiadiazole derivatives. *Farmaco* 56(8): 610-12

Foroumadi A, Mirzaei M, Shafiee A (2001) Antituberculosis agents II. Evaluation of in vitro antituberculosis activity and cytotoxicity of some 2-(1-methyl-5-nitro-2-imidazolyl)-1,3,4-thiadiazole derivatives. *Il Farmaco* 56: 621-623

Foroumadi A, Asadipour A, Mirzaei M, Karimi J, Emami S (2002) Antituberculosis agents. Synthesis, evaluation of in vitro antituberculosis activity and cytotoxicity of some 2-(5-nitro-2-furyl)-1,3,4-thiadiazole derivatives. *Il Farmaco* 57: 765-769

Foroumadi A, Kaini Z, Mansouri S (2003) Antituberculosis agents VIII. Synthesis and in vitro antimycobacterial activity of alkyl alpha-[5-(5-nitro-2-thienyl)-1,3,4-thiadiazole-2-ylthio]acetates. *Farmaco* 58: 1073-1076

Foroumadi A, Kaini Z, Rahmani A (2003) Synthesis and in vitro antibacterial evaluation of N-[5-(5-nitro-2-thienyl)-1,3,4-thiadiazole-2-yl] piperazinyl quinolones *Eur. J. Med. Chem* 38: 851-854

Foroumadi A, Jazayeri S, Moshafi MH, Firoozpour L, Emami S, Rajabalian S, Haddad M, Pahlavanzadeh F, Esnaashari M, Shafiee A (2008) Synthesis and antibacterial activity of nitroaryl thiadiazole-gatifloxacin hybrids. *European Journal of Medicinal Chemistry* 44: 1205-1209

Freund M, Meinecke C (1896) Ueber derivative des thiobiazolins. *Ber* 29: 2511-2517

Fülöp F, Semega E, Dombi C, Bernath G (1990) Saturated heterocycles, part 161 [1]. Synthesis of 2-hydroxycycloalkyl-substituted 1,3,4-oxadiazoles, 1,3,4-thiadiazoles and 1,2,4-triazoles. *J. Heterocyclic Chem* 27: 951

Gadad AK, Palkar MB, Anand K, Noolvi MN, Boreddy TS, Wagwade J (2008) Synthesis and biological evaluation of 2-trifluoromethyl/sulfonamido-5,6-diaryl substituted imidazo[2,1-b]-1,3,4-thiadiazoles: A novel class of cyclooxygenase-2 inhibitors. *Bioorg Med Chem* 16: 276-83

Glev RW, Dewlin TW (1992) *Textbook of Biochemistry with clinical Correlation*, Second Edition, A Willey and Sons, New York 4: 205-234

Görgülü AO, Çukurovalı A (2002) Synthesis and characterization of two 2-amino-5-alkyl-1,3,4-thiadiazolyl carbamate ligands and their Co(II), Ni(II), and Zn(II) complexes. *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry* 33(6): 1033-1042

Granado F, Olmedilla B, Gil-Martinez E, Blanco I, Millan I, Rojas-Hidalgo E (1998) Carotenoids, Retinol and Tocopherols in Patients with Insulin - Dependent Diabetes Mellitus and Their Immediate Relatives. *Clin. Sci (Colch)* 94(2): 189-195

Gravier D, Dupin P, Casadebaig F, Hou G, Boisseau M, Bernard H (1992) Synthesis and in vitro study of platelet antiaggregant activity of some 4-quinazolinone derivatives. *Pharmazie* 47: 91-94

Gupta A, Mishra P, Kashaw SK, Jatav V, Stables JP (2008) Synthesis and anticonvulsant activity of some novel 3-aryl amino/amino-4-aryl-5-imino-D2-1,2,4thiadiazoline. *Eur J Med Chem* 43: 749-54

Gülerman N, Rollas S, Ülgen M (1994) Synthesis of some substituted 1,3,4-thiadiazole derivatives. *J. Pharm. Univ. Mar* 10(1): 11-16

Gökpınar Ş, Koray T, Akçiçek E, Göksan T, Durmaz Y (2006) Algal Antioksidanlar. Su Ürünleri Dergisi 23(1): 85-89

Halliwell B, Gutteridge JMC, Aruoma O (1987) The deoxyribose method: a simple "test tube" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. *Analytical Biochemistry* 165: 215–219

Halliwell B, Gutteridge WMC (1999) *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford Medicine Press 246-351

Hamad NS, Al-haidery NH, Al-Masoudi IA, Sabri M, Sabri L, Al-Masoudi NA (2010) Amino Acid Derivatives, Part 4: Synthesis and Anti-HIV Activity of New Naphthalene Derivatives. *Arch Pharm Chem Life Sci* 343: 397-403

Hassan M, Scozzafava A, Chohan ZH, Supuran CT (2001) Carbonic anhydrase inhibitors: metal complexes of a sulfanilamide derived Schiff base and their interaction with isozymes I, II and IV. *Journal of Enzyme Inhibition* 16: 499-505

Hasui T (2011) Identification of benzoxazin-3-one derivatives as novel, potent, and selective nonsteroidal mineralocorticoid receptor antagonists. *Journal of Medicinal Chemistry* 54: 8616-8631

Hegemann L, Toso SM, Lahijani KI, Webster GF, Uitto J (1993) Direct Interaction of Antifungal Azole-Derivatives with Calmodulin: A Possible Mechanism for Their Therapeutic Activity. *J Invest Dermatol* 100(3): 343-6

Henning SM, Swendseid ME, Ivandic BT, Liao F (1997) Vitamins C, E and A and Hemre oxygenase in rats fed methyl/folate-deficient diets. *Free Radic Biology Medicine* 23(6): 936-942

Herdeiro RS, Pereira MD, Panek AD, Eleutherio EC (2006) Trehalose protects *Saccharomyces cerevisiae* from Lipid peroxidation during oxidative stress. *Biochimica et Biophysica Acta* 1760(3): 340–346

Hoggarth E (1949) Compounds related to thiosemicarbazide. Part II. 1 Benzoylthio semicarbazides. *J. Chem. Soc* 1163-1167

Holla BS, Poojary KA, Kallurya B (1996) Synthesis, Characterization and Antifungal Activity of Some N-Bridged heterocycles Derived From 4-Methoxyphenyl)-4-amino-5-Mercapto-1,2,4-Triazole. *IL Farmaco* 51: 793-799

Holla BS, Sarojini BK, Gonsalves R (1998) Synthesis of Some new Biologically-Active Thiadiazolotriazonones. *IL Farmaco* 53: 395-398

Holla BS, Gonsalves R, Shenoy S (1998) Studies on some N-bridged heterocycles derived from bis-[4-amino-5-mercapto-1,2,4-triazol-3-yl] alkanes. *IL Farmaco* 53: 574-578

How cancer starts. (2020) Retrieved 25.06.2020, from <https://www.cancervic.org.au/cancer-information/what-is-cancer>

Huisgen R, Sturm HJ, Seidel M (1961) *Chem Abst.* 55/23537a., *Chem. Ber* 94: 1555

Husain A, Rashid M, Shaharyar M, Siddiqui AA, Mishra R (2013) Benzimidazole clubbed with triazolo-thiadiazoles and triazolo-thiadiazines: New anticancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* 62: 785-798

Iizawa Y, Okonogi K, Hayashi R (1993) Therapeutic effect of cefozopran (SCE-2787), a new parenteral cephalosporin, against experimental infections in mice. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 37: 100-105

Ishankhodzhaeva MM, Kadyıova SA, Surazhskaya MD, Parpiev NA, Kozmin PA (2001) Crystalline and Molecular Structure of 2-Amino-5-phenyl-1,3,4-thiadiazole. *Russ. J. of Org. Chem* 32(5): 721-723

Invidiata FP, Grimaudo S, Giammanco P, Giammanco L (1991) Synthesis and pharmacological properties of 6-substituted 3-(pyridine-4-yl)-1,2,4-triazole [3,4-b][1,3,4]thiadiazoles. *IL Farmaco* 46: 1489-1495

İbrahim DA (2009) Synthesis and biological evaluation of 3,6-disubstituted [1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazole derivatives as a novel class of potential antitumor agents. *Eur J Med Chem* 44: 2776-81

Jadhav VB, Kulkarni MV, Rasal VP, Biradar SS, Vinay MD (2008) Synthesis and anti-inflammatory evaluation of methylene bridged benzofuranyl imidazo[2,1b][1,3,4]thiadiazoles. *Eur J Med Chem* 43: 1721-9

Jain SK, Mishra P (2014) Evaluation of analgesic and anti-inflammatory activity of some 2,5-disubstituted-1,3,4-thiadiazole. *Pharm Lett* 6(3): 146-50

Jatav V, Mishra P, Kashaw S, Stables JP (2008) CNS depressant and anticonvulsant activities of some novel 3-[5-substituted 1,3,4-thiadiazole-2-yl]-2-styryl quinazoline4(3H)-ones. *Eur J Med Chem* 43: 1945-54

Jatav V, Kashaw S, Mishra P (2008) Synthesis, antibacterial and antifungal activity of some novel 3-[5-(4-substitutedphenyl) 1,3,4-thiadiazole-2-yl]- 2-styryl quinazoline4(3H)-ones. *Med Chem Res* 17: 169-81

Jazayeri S, Moshafi HM, Firoozpour L, Emami S, Rajabalian S, Haddad M, Pahlavanzadeh F, Esnaashari M, Shafiee A, Foroumadi A (2009) Synthesis and

antibacterial activity of nitroaryl thiadiazole–gatifloxacin hybrids. *Eur J Med Chem* 44: 1205-1209

Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Smigal C, Thun MJ (2007) Cancer statistic. *CA Cancer J Clin* 57: 43-66

Jha A, Murthy YLN, Sanyal U, Durga G (2012) Rapid synthesis, characterization, anticancer and antimicrobial activity studies of substituted thiadiazoles and their dinucleating ligand metal complexes. *Med Chem Res* 9: 2548-56

Kähkönen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha J-P, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M (1999) Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry* 47(10): 3954-3962

Kai Z, Jun H, Jie Z (2008) Synthesis and antitumor activity of N 1-acetylamino-(5-alkyl/aryl-1,3,4-thiadiazole-2-yl)-5-fluorouracil derivatives. *Chinese Chemical Letters* 19: 1281–1284

Kamal MD, Hassan AG, Eman AR (2006) Synthesis, anticonvulsant, and anti-inflammatory evaluation of some new benzotriazole and benzofuran-based heterocycles. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 14: 3672–3680

Karatepe M (2004) Simultaneous Determination of Ascorbic Acid and Free Malondialdehyde in Human Serum by HPLC-UV. *LC GC North America* 22(4): 362-365

Kanofsky JR (1989) Singlet oxygen production by biological systems. *Chemico Biological Interactions* 70: 1-28

Karki SS, Rana V, Sivan RU, Kumar S, Renuka V, Ramareddy SA, Subbarao PG, Si SC (2015) Synthesis and Antiinflammatory Activity of Some Imidazo[2,1-b][1,3,4]Thiadiazole Derivatives. *Acta Pol Pharm* 72: 931-6

Kayalı R, Çakatay U (2004) Basic mechanisms of protein oxidation. *Cerrahpaşa J med* 35: 83-89

Kennedy TA, Liebler DC (1991) Peroxyl Radical Oxidation of β -Caratone: Formation of β -Caratone Epoxides, *Chem. Res. Toxicol* 4: 290-295

Khan I, Ali S, Hameed S, Rama NH, Hussain MT, Uddin R, Khan A, Chaudhary MI (2010) Synthesis, antioxidant activities and urease inhibition of some new 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole derivatives. *Eur J Med Chem* 45: 5200-5207

Kılınç K (1985) Oksijen Radikalleri, Üretilmeleri, Fonksiyonları, Toksik Etkileri, *Biyokimya Dergisi* 10 : 60-89

Kılınç K (2002) Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp Dergisi 33(2): 110-118

Kısmalı G, Sel T (2012) Paraquat ile oluşturulmuş oksidatif stresin hep2 hücrelerinde apoptozis üzerine etkisinin araştırılması. Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi 26(2): 79-85

Kidwai M, Sapra P, Misra P, Saxena RK, Singh M (2001) Microwave assisted solid support synthesis of novel 1,2,4-triazolo[3,4-b]-1,3,4-thiadiazepines as potent antimicrobial agents. Bioorganic and Medicinal Chem 9: 217-220

Koç LY (2012) Bazı bitki ekstrelerinin antimikrobiyal, antioksidan ve sitotoksik etkileriyle, kanserli dokularda adenozin deaminaz enzimi üzerine etkisi. University of Ankara

Kolavi G, Hegde V, Khazi AI (2006) Novel pyridazine fused heterocyclic system: A new route for the synthesis of 2-alkyl/aryl[1,3,4]thiadiazole [2',3':2,3]imidazo[4,5-d]pyridazin-8(7H)-one. Synthetic. Commun 36: 1837-1843

Kolb HC, Sharpless KB (1992) A simplified procedure for the stereospecific transformation of 1,2-diols into epoxides. Tetrahedron 48: 10515-10530

Kopnin B (2000) Targets of oncogenes and tumor suppressors: key for understanding basic mechanisms of carcinogenesis. Biochemistry c/c of biokhimiia 65(1): 2-27

Koparır M (2005) 2,5,7-triaryl-5H-[1,3,4]thiadiazolo[3,2-a] pyrimidin-6[7H]-ones. Asian Journal of Chemistry 17(3): 1689

Koparır M, Cansız A, Cetin A (2005) Synthesis of (1R,2R)-1,2-bis-(5-(4-hydroxynaphthalen-1-ylazo)[1,3,4]thiadiazol-2-yl)-ethane-1,2-diol. Chem. of Natural Compounds 41: 5-10

Köse K, Doğan P (1992) Lipid Peroksidasyonu, Erciyes Üniv. Tıp Dergisi 340-350

Kress TJ, Costantino SM (1980) A convenient and general synthesis of 2-amino-1,3,4-thiadiazoles. Dehydration of acylthiosemicarbazides with methanesulfonic acid. J. Heterocyclic Chem 17: 607

Kurzer F (1961) Thiadiazoles Part XI: Synthesis and cyclization of N-(thiobenzamido)-guanidines and related compounds. J. Chem. Soc 1617-1625

Kus C, Kilcigil AG, Ozbey S, Kaynak FB, Kaya M, Coban T, Eke BC (2008) Synthesis and antioxidant properties of novel N-methyl-1,3,4- thiadiazol-2-amine and 4-methyl-2H-1,2,4-triazole-3(4H)-thione derivatives of benzimidazole class. Bioorg Med Chem 16: 4294-303

Kuşakçioğlu Ö (2003) Kolorektal Kanser Hastalıkları. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri 1-27

Lachance N, Gareau Y, Guiral S, Huang Z, Isabel E, Leclerc JP, Leger S, Martins E, Nadeau C (2012) Discovery of potent and liver-targeted stearoyl-CoA desaturase (SCD) inhibitors in a bispyrrolidine series. *Bioorg Med Chem Lett* 22: 980-4

Law RE, Meehan WP, XI XP (1996) Troglitazone inhibits vascular smooth muscle cell growth and intimal hyperplasia. *J. Clin. Invest* 98: 1897-1905

Le V, Rees CW, Sivadasan S (2000) From tetrazoles via hydrazoneoyl chlorides to 1,3,4-thiadiazole oligomers. *Tetrahedron Letters* 41: 9407

Letafat B, Mohammadhosseini N, Asadipour A, Foroumadi A (2011) Synthesis and In Vitro Antibacterial Activity of New 2-(1-Methyl-4-nitro-1H-imidazol-5-ylsulfonyl)1,3,4-thiadiazoles. *Internet J Chem* 8(3): 1120-3

Li YG, Tian QS, Zhao J, Feng Y, Li MJ, You TP (2004) Asymmetric pinacol coupling of aromatic aldehydes catalyzed by a new titanium-Schiff base complex. *Tetrahedron: Asymmetry* 15(11): 1707-1710

Li X, Zhao G, Cao WG (2006) An efficient method for catalytic asymmetric reduction of diketones and application of synthesis to chiral 2,5-diphenylpyrrolidine and 2,5-diphenylthiolane. *Chinese Journal of Chemistry* 24(10): 1402-1405

Li Y, Geng J, Liu Y, Yu S, Zhao G (2013) Thiadiazol-a Promising Structure in Medicinal Chemistry. *Chem Med Chem* 8: 27-41

Lohray BB, Ahuja JR (1991) Synthesis of homochiral amino alcohols, aziridines and diamines via homochiral cyclic sulphites. *J. Chem. Soc* 95-97

Lüleyap H (2008) Moleküler Genetiğin Esasları, Nobel Kitabevi. İzmir 437-445

Mahmood-UI H, Chohan ZH, Andrea S, Supuran CT (2004) Carbonic anhydrase inhibitors: Schiff's Bases of aromatic and heterocyclic sulfonamides and their metal complexes. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 19(3): 263-267

Manvar D, Küçükgül İ, Erensoy G, Tatar E, Deryabaşoğulları G, Reddy H, Talele TT, Cevik O, Kaushik-Basu N (2016) Discovery of conjugated thiazolidinonethiadiazole scaffold as anti-dengue virus polymerase inhibitors. *Biochem Biophys Res Commun* 469: 743-7

Maradiya HR, Patel VS (2002) Thiadiazole-based monomeric and polymeric dyes for cellulose triacetate fiber. *International Journal of Polymer Anal. Charact* 7: 314-330

Marckwald W, Bott A (1896) Ueber das 1-benzoyl-4-phenylthiosemicarbazid. Ber 29: 2914–2919

Martvon A, Stankovsky S (1980) Chem. Abst. 93/186246h. Chem. Zvesti 34: 118-20

Matsumoto T, Ootsu K, Okada Y (1974) Effects of 2,2-(Methylenediimino)bis-1,3,4-thiadiazole (NSC-143019) on Tumor Growth and Immune Responses in Mice. Cancer Chemotherapy Rept 58: 331-334

Matysiak J, Opolski A (2006) Synthesis and antiproliferative activity of N-substituted 2-amino-5-(2,4-dihydroxyphenyl)-1,3,4-thiadiazoles. Bioorg Med Chem 14: 4483-9

Matysiak J, Niewiadomy A, Yakuphanoglu F, Atalay Y, Sekerci M (2010) Application of sulfinyl bis(2,4-dihydroxythiobenzoyl) in the synthesis of N substituted 2-amino-5-(2,4-dihydroxyphenyl)-1,3,4-thiadiazoles. Synthetic Communications 36: 1621-1630

Mavrova AT, Wesselinova D, Tsenov YA, Denkova P (2009) Synthesis, cytotoxicity and effects of some 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole derivatives on immunocompetent cells. Eur. J. Med. Chem 44: 63-69

Mazzone G, Bonina F, Puglisi G, Reina RA, Cosentino C, Blandino G (1982) Synthesis and biological evaluation of some 5-aryl-2-amino-1,3,4-oxa(thia)diazoles. Farmaco, Ed. Sci 37(10): 685-700

Mazzone G, Pignatello R, Mozzone S (1993) Synthesis and biological evaluation of some 1,3,4-thiadiazoles. IL Farmaco 48: 1207-1224

Mazzone G, Pignatello R, Panico A, Penisi G, Castana R (1993) Synthesis and local anesthetic activity of alkylaminoacyl derivatives of 2-amino-1,3,4-thiadiazol. Farmaco 48: 1207-1210

McClements DJ, Decker EA (2000) Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions: Impact of Molecular Environment on Chemical Reactions in Heterogeneous Food Systems. Journal Food Science 65(8): 1270-1282

Melenchuk TV, Danilova EA, Styrapan MG, Islyaikin MK (2008) Synthesis and Properties of Diaminothiadiazoles. Russ J Gen Chem 78(3): 480-484

Metha DS, Vashi BS, Shah VS (1997) Synthesis and Antimicrobial Activity of 2-Arylsulfonamido-5-(Benzthiazol-2'-yl-Thiomethyl)-1,3,4-thiadiazoles. Asian J Chem 9(6): 333-5

Milczarska B, Gobis K, Foks H, Lukasz G, Sowinski P (2012) The Synthesis of 3-Amino-pyrazine-2-carbohydrazide and 3-Amino-N0-methylpyrazine-2-carbohydrazide Derivatives. J Heterocycl Chem 49: 845-50

Mirzai J, Siavoshi F, Emami S, Safari F, Khoshayand MR, Shafiee A, Foroumadi A (2008) Synthesis and in vitro anti-Helicobacter pylori activity of N-[5-(5-nitro-2-heteroaryl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl]thiomorpholines and related compounds. *Eur. J. Med. Chem* 43: 1575-1580

Mohsen A, Gomaa M, Hassan AA, Shehatta HS (2006) Synthesis of Novel Thiazole and Pyrrolothiadiazine Derivatives from Aldehyde Thiosemicarbazones. *Heteroat. Chem* 17(4): 261-6

Moriconi EJ, O'connor WF, Kuhn LP, Keneally EA, Wallenberger FT (1959) Intramolecular hydrogen bonding of vicinal diols in cyclic systems. II. OH...O and OH... π -electron bonding in cis- and trans-1,2-diaryl-1,2-acenaphthenediols. *Journal of the American Chemical Society* 81: 6472-6477

Moshafi HM, Sorkhi M, Emami S, Nakhjiri M, Yahya-Meymandi A, Negahbani AS, Siavoshi F, Omrani M, Alipour E, Vosoghi M, Shafiee A, Foroumadi A (2011) 5-Nitroimidazole-based 1,3,4-Thiadiazoles: Heterocyclic Analogs of Metronidazole as Anti-Helicobacter pylori Agents. *Arch Pharm Chem Life Sci* 11: 178-83

Mullick P, Suroor AK, Surajpal V, Ozair A (2011) Thiadiazole derivatives as potential anticonvulsant agents. *Bulletin of the Korean Chemical Society* 32: 1011-1016

Murugavel S, Deepa S, Ravikumar C, Ranganathan R, Alagusundaram P (2020) Synthesis, structural, spectral and antibacterial activity of 3,3a,4,5-tetrahydro-2H-benzo[g]indazole fused carbothioamide derivatives as antibacterial agents. *Journal of Molecular Structure* 1222: 1-8

Nagai T, Myoda T, Nagashima T (2005) Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (tsukushi) *Equisetum arvense* L. *Food chemistry* 91(3): 389-394

Naglaa MR, Tamer SS, Mohamed FM (2009) Ultrasound assisted synthesis of some new 1,3,4-thiadiazole and bi (1,3,4-thiadiazole) derivatives incorporating pyrazolone moiety. *Ultrasonic Sonochemistry* 16: 70-74

Nelson WL, Wennerstrom JE, Sankar SRJ (1977) Synthesis and reactions of Thiadiazoles. *Org. Chem* 42: 1006-1012

Nicolaou KC, Huang X, Snyder SA, Rao PB, Bela M, Reddy MV (2002) A New Method for the Stereoselective Synthesis of Thiadiazoles. *Angew. Chem. Int* 41: 834

Nikolai EP, Tatyana VL, Tatyana AK, Lowell PK (2001) Carotenoids as Scavengers of Free Radicals in a Fenton Reaction : Antioxidants or Pro - Oxidants? *Free Rad. Bio. and Med* 31(3): 398-404

Nordberg J, Arner ESJ (2001) Reactive Oxygen Species, Antioxidants and The Mammalian Thioredoxin System. *Free Rad. Biol. and Med* 31(11): 1287-1317

Oruc EE (2004) 1,3,4-thiadiazole derivatives. Synthesis, structure elucidation, and structure-antituberculosis activity relation-ship investigation. *Journal of Medicinal Chemistry* 47: 6760-6767

Ozturk T, Ertas E, Mert O (2007) Use of Lawesson's Reagent in Organic Syntheses. *Chem Rev* 107: 5210-78

Padmavathi V, Reddy GD, Reddy SN, Mahesh K (2011) Synthesis and biological ctivity of 2-(bis((1,3,4-oxadiazolyl)/1,3,4thiadiazolyl)methylthio)methylene)malononitriles. *Eur J Med Chem* 46: 136773

Palaksa E, Şahin G, Kehcen P, Durlu NT, Altnok G (2002) Synthesis and anti-inflammatory activity of 1-acylthiosemicarbazides, 1,3,4-oxadiazoles, 1,3,4-thiadiazoles and 1,2,4-triazole-3-thiones. *IL Farmaco* 57: 101-107

Pandey A, Dewangan, Verma, S, Mishra A, Dubey RD (2011) Synthesis of Schiff bases of 2-amino-5-aryl-1,3,4-thiadiazole And its Analgesic, Anti-Inflammatory, AntiBacterial and Anti-Tubercular Activity. *Int. J. Chemtech. Res* 3(1): 178-84

Pandeya SN, Sriram D, Nath G, Declercq E (1999) Synthesis, antibacterial, antifungal and anti-HIV activities of Schiff and Mannich bases derived from isatin derivatives and N-[4-(4'-chlorophenyl)thiazol-2-yl] thiosemicarbazide. *European Journal of pharmaceutical Sciences* 9: 25-31

Pandeya SN, Sriram D, Nath G, De Clercq E (2000) Synthesis, Antibacterial, Antifungal and Anti-HIV Evaluation of Schiff and Mannich Bases of Isatin and its Derivatives with Triazole. *Arzneim,-Forsch./ Drug Res* 50: 55-59

Parida S, Dordick JSJ (1991) Synthesis and Biological Activity of 1,2-diols. *Am. Chem. Soc* 113: 2253-2259

Parra M, Alderete J, Zunniga C, Gallardo H, Hidalgo P, Vergera J, Hernandez S (2001) Azo compounds and Schiff 's bases derived from 5-(4-pyridyl)-2-amino-1,3,4thiadiazole: synthesis, mesomorphic properties and structural study by semi-empirical calculations. *Liq Cryst* 28(11): 1659-66

Pattanayak P, Sharma R, Sahoo PK (2009) Synthesis and evaluation of 2-amino-5sulfanyl-1,3, 4-thiadiazoles as antidepressant, anxiolytic, and anticonvulsant agents. *Med Chem Res* 18: 351-61

Pattan SR, Kekare P, Dighe NS, Nirmal SA, Musmade DS, Parjane SK, Daithankar AV (2009) Synthesis and biological evaluation of some 1, 3, 4thiadiazoles. *J Chem Pharm Res* 1(1): 191-8

Polshettiwar V, Varma RS (2008) Greener and rapid access to bio-active heterocycles: one-pot solvent-free synthesis of 1,3,4-oxadiazoles and 1,3,4-thiadiazoles. *Tetrahedron* 49: 879-83

Popiolek L, Matraszek M, Piasecka P, Pataj K, Binczak M, Celiski M, Biernasiuk A (2015) Synthesis and In vitro Antimicrobial Activity of New Schiff Bases of 1,3,4-thiadiazole and 1,2,4-triazole. *Int. Res. J. Pure Appl. Chem* 7(2): 69-77

Prouillac C, Vicendo P, Garrigues JC, Poteau R, Rima G (2009) Evaluation of new thiadiazoles and benzothiazoles as potential radioprotectors: free radical scavenging activity in vitro and theoretical studies (QSAR, DFT). *Free Rad Biol Med* 46: 1139-1148

Pulvermacher G (1894) Ueber einige abkömmlinge des thiosemicarbazids und umsetzungsproducte derselben. *Ber* 27: 613-630

Radi M, Crespan E, Botta G, Federico F, Maga G, Manetti F, Corradi V, Mancini M, Santucci MA, Schenone S, Botta M (2008) Discovery and SAR of 1,3,4-thiadiazole derivatives as potent AbI tyrosine kinase inhibitors and cytodifferentiating agents. *Bioorg Med. Chem. Lett* 18: 1207-1211

Ram VJ, Mishra L, Pandey NH, Kushwaha DS, Pieters LC, Vlietink AJ (1990) Bis heterocycles as potential chemotherapeutic agents. X. Synthesis of bis(4-arylthiosemicarbazido)-bis(2-arylamino-1,3,4-thiadiazol-5-yl) and bis(4-aryl-1,2,4-triazolin-3-thione-5-yl)pentanes and related compounds. *J. Heterocyclic Chem* 27: 351-355

Ram VJ, Nath M (1994) Benzylmalononitriles, a versatile sython for the synthesis of azoles and azines as antimalarials. *Indian Journal of Chem* 33: 1048-1052

Rao AVR, Bose DS, Gurjar MK, Ravindranatran T (1989) *Tetrahedron*, 45 (1989) 70317040; (b) Seydenpenn J. *Chiral Auxiliaries and Ligands in Asymmetric Synthesis*, John Wiley: New York, (1995); (c) Wright A.E., Schafer M., Midland S., Munnecke D.E., Sims J.J. *Tetrahedron Lett.* 30: 5699-5702

Reddy KR, Mogilaiah K, Swamy B, Sreenivasulu B (1990) Synthesis of some 1,8-naphthyridinyl-thiosemicarbazides, triazoles and thiadiazoles. *Acta Chimica Hungarica* 127(1): 45-50

Reddy GM, Durgamma S, Siyamaiah K, Yamini G (2017) Synthesis and Antioxidant Activity of Stryryl-1,3,4-Thiadiazoles, Pyrazolyl-1,3,4-Thiadiazoles and Isoxazolyl-1,3,4-Thiadiazoles. *Indian J. of Chem* 56: 325-333

Repine JE (1991) Oxidant - Antioxidant Balance: Some Observation From Studies of Ischemia Reperfusion in Isolated Perfused Rat Hearts. *The Am. J. of Med* 91: 45-53

Rollas S (1985) Reductive cleavage of azo compounds with hydrazine hydrate and some new 1,3,4-thiadiazoles derivatives. *J. Pharm. Univ. Mar* 1(1-2): 59-68

Rollas S, Karakuş S, Durgun BB (1996) Synthesis and antimicrobial activity of some 1,4-disubstituted thio-semicarbazide and 2,5-disubstituted-1,3,4-thiadiazole derivatives. *II Farmaco* 51(12): 811-814

Rzeski W, Matysiak J, Szerszen MK (2007) Anticancer, neuroprotective activities and computational studies of 2-amino-1,3,4-thiadiazole based compound. *Bioorg Med Chem* 15: 3201-7

Ruddon RW (2007) *Cancer Biology*. Oxford University Press New York 4: 223

Salgın GU, Gökhan KN, Göktaş Ö, Köysal Y, Kılıç E, Işık Ş, Aktay G, Özalp M (2007) 1-Acylthiosemicarbazides, 1,2,4-triazole-5(4H)-thiones, 1,3,4-thiadiazoles and hydrazones containing 5-methyl-2-benzoxazolinones: Synthesis, analgesic-anti-inflammatory and antimicrobial activities. *Bioorg Med Chem* 15: 5738-51

Salimon J, Salih N, Hameed A, Ibraheem H, Yousif E (2010) Synthesis and Antibacterial Activity of Some New 1,3,4-Oxadiazole and 1,3,4-Thiadiazole Derivatives. *J Appl Sci Res* 6(7): 866-70

Sancak K, Unver Y, Er M (2007) Synthesis of 2-acylamino, 2-aroylamino and ethoxycarbonyl imino-1,3,4-thiadiazoles as antitumor agents. *Turk J Chem* 31(2): 125-34

Sawhney SN, Gupta A (1991) Treatment of hazardous organic and inorganic compounds, a review. *Indian Journal of Chemistry* 30: 407-412

Sayın VI, Ibrahim XM, Larsson E, Nilsson AJ, Lindahl P, Bergo OM (2014) Antioxidants Accelerate Lung Cancer Progression in Mice. *Science Translational Medicine* 6: 221-225

Shafiee A, Naimi E, Mansobi P, Foroumadi A, Shekari M (1995) Syntheses of substituted-oxazolo-1,3,4-thiadiazoles, 1,3,4-oxadiazoles, and 1,2,4-triazoles. *J. Heterocyclic Chem* 32: 1235

Sharma R, Sainy J, Chatuvedi SC (2008) 2-Amino-5-sulfanyl-1,3,4-thiadiazoles: A new series of selective cyclooxygenase-2 inhibitors. *Acta Pharm* 58: 317-26

Shih MH, Wu CL (2005) Efficient syntheses of thiadiazoline and thiadiazole derivatives by the cyclization of 3-aryl-4-formylsydnone thiosemicarbazones with acetic anhydride and ferric chloride. *Tetrahedron* 61: 10917-25

Shimada K, Fujikawa K, Yahara K, Nakamura T (1992) Antioxidant properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 945-948

Silverstein A, Silverstein V, Silverstein Nunn L (2006) *Cancer Conquering a Deadly Disease*. A division of Lerner Publishing Group Minnesota 11-12

Solak N, Rollas S (2006) Synthesis and antituberculosis activity of 2-(aryl/alkylamino)-5-(4aminophenyl)-1,3,4-thiadiazoles and their Schiff bases. *Arkivoc* 12: 173-81

Soliman R, Mokhtar HM, El Sadany SK (1984) Synthesis of new 8-(5 substitutedamino-1,3,4-oxadiazol-2-yl) and 8-(5-substitutedamino-1,3,4-thiadiazol-2-yl)methoxy quinolines with antibilharzial activity. *J. Pharm. Sci* 73(3): 403-405

Stoian I, Oros A, Moldoveanu E (1996) Apoptosis and Free Radicals, *Biochem. and Mol Med* 59: 93-97

Steppan CM, Lazar MA (2002) Resistin and obesity-associated insulin resistance. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 13(1): 18-23

Stewart A, Cynthia C, Ackerly CC, Myers CF (1986) Clinical and clinical pharmacologic studies of 2-amino-1,3,4-thiadiazole. *J. Cancer Chemother. Pharmacol* 16: 287-291

Sudha K, Ashalatha VR, Anjali R (2001) Oxidative Stress and Antioxidants in Epilepsy. *Clinica Chimica Acta* 303: 19-24

Supuran CT, Barboiu M, Luc C, Pop E, Brewster ME (1996) Carbonic anhydrase inhibitors part 14. Synthesis of mono- and bis- pyridinium salt derivatives of 2-amino-5-2 aminophenyl and 2-amino-5-(3-amino propyl) 1,3,4-thiadiazole and their interaction with isozyme II. *Eur. J. Med. Chem* 31: 596

Swamy SN, Basappa Priya BS, Prabhuswamy B, Doreswamy BH, Prasad JS, Rangappa KS (2006) Synthesis of pharmaceutically important condensed heterocyclic 4,6-disubstituted-1,2,4-triazolo- 1,3,4-thiadiazole derivatives as antimicrobials. *Eur J Med Chem* 41: 531-8

Şahin G (1999) Bazı 1,3,4-oksadiazol, 1,3,4-tiyadiazol ve 1,2,4-triazol türevleri üzerinde çalışmalar. H.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara 41-46

Taher AT, Georgrey HH, El-Subbagh, HI (2012) Novel 1,3,4-heterodiazole analogues: Synthesis and in-vitro antitumor activity. *Eur J Med Chem* 47: 44551

Takım K (2015) Tunceli Dağ Sarımsağı'nın (*Allium tuncelianum*) in vitro Antioksidan Kapasitesinin Ölçülmesi, Ratlarda Antioksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi Ve Antikanser Özelliğinin Belirlenmesi. İÜ Fen Bil. Ens., Kimya ABD. TC İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Malatya, 76-79.

Tang ZL, Xia ZW, Chang SH, Wang ZX (2015) Synthesis and fungicidal activity of novel 2-aryl-3-(1,3,4-thiadiazolyl)-6(8)-methyl-1,3-benzoxazines. *Bioorg Med Chem Lett* 25: 3378-81

Tehranchian S, Akbarzadeh T, Fazeli MR, Jamalifar H, Shafiea A (2005) Synthesis and antibacterial activity of 1-[1,2,4-triazol-3-yl] and 1-[1,3,4-thiadiazol-2-yl]-3-methylthio-6,7-dihydrobenzo[c]thiophen-4(5H)ones. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 15: 1023-1025

Terzioğlu G, Keskin A, Demirel G (2013) Hücre Proliferasyonu Ölçüm Yöntemleri ve Çeşitli Ticari Proliferasyon Kitlerinin Karşılaştırılması. *Turk J Immunol* 1(3): 74-89

Thomasco LM, Gadwood RC, Weaver EA, Ochoada JM, Ford CW, Zurenko GE, Hamel JC, Stapert D, Moerman JK, Schaadt RD, Yagi BH (2003) The synthesis and antibacterial activity of 1,3,4-thiadiazole phenyl oxazolidinone analogues. *Bioorg. Med. Chem. Lett* 13: 4193-4196

Tingting L, Yichao W, Renshuai L, Lin M, Minyong L, Hao F (2016) Improved Antiproliferative Activities of a New Series of 1,3,4-Thiadiazole Derivatives Against Human Leukemia and Breast Cancer Cell Lines. *Chem Res Chin Univ* 32(5): 768-74

Todoulou OG, Papadaki VA, Valiraki FEC, Ikeda S, De Clercq E (1994) Synthesis and anti-myxovirus activity of some novel N,N'-disubstituted thioureas. *Eur. J. Med. Chem* 29: 127-131

Tu GG, Li S, Huang HM, Li G, Xiong F, Mai X, Zhu HW, Kuang BH, Xu WF (2008) Novel aminopeptidase N inhibitors derived from 1,3,4-thiadiazole scaffold. *Bioorg Med Chem* 16: 6663-8

Turan N, Topçu MF, Ergin Z, Sandal S, Tuzcu M, Akpolat N, Yılmaz B, Şekerci M, Karatepe M (2011) Por-oxidant and antiproliferative effects of the 1,3,4-thiadiazole-based Schiff base and its metal complexes. *Drug and Chemical Tox* 34(4): 369-378

Tüzün C (1997) *Biyokimya*, 3. Baskı, Palme Yayıncılık, 151-187, Ankara

Vashy BS, Mehta DS, Shah YH (1996) Synthesis of 2,5-disubstituted-1, 3, 4-oxadiazole, 1,5-disubstituted-2-mercapto-1,3,4-triazole and 2,5-disubstituted-1,3,4-thiadiazole derivatives as potential antimicrobial agents. *Indian journal of chemistry. Sect. B: Organic chemistry, including medical chemistry* 3(35): 111-115

Washy AAF, Nassar SA, Eissa AMF (1996) Synthesis and Biological Effevtes of New Thiadiazoles Derivatives. *Ind. J of Chem* 35: 1218-1220

Wei MX, Feng L, Li XQ, Zhou XZ, Shao ZH (2009) Synthesis of new chiral 2,5disubstituted 1,3,4-thiadiazoles possessing-butenolide moiety and preliminary evaluation of in vitro anticancer activity. *Eur J Med Chem* 44: 3340-4

Williams GM (2001) Mechanisms of chemical carcinogenesis and application to human cancer risk assessment. *Toxicology* 166(1-2): 3-10

Wolf R, Wolf D, Ruocco V (1998) Vitamin E : The Radical Protector. *J. of Eur. Academy of Derm. and Ver* 10: 103-117

Yokuş B, Çakır DÜ (2012) Kanser biyokimyası. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* (1): 7-18

Young G, Eyre W (1901) Oxidation of benzalithiosemicarbazone. *J. Chem. Soc* 79: 5460-64

Young IS, Woodside JV (2001) Antioxidants in Health and Disease. *J. Clin. Pathol* 54(3): 176-86

Yousif E, Rentschler E, Salih N, Salimon J, Kameed A, Katan M (2014) Synthesis and antimicrobial screening of tetra Schiff bases of 1,2,4,5-tetra (5-amino- 1,3,4thiadiazole-2-yl)benzene. *J Saudi Chem Soc* 18: 269-75

Yusuf M, Khani RA, Ahmed B (2008) Syntheses and anti-depressant activity of 5-amino1, 3, 4-thiadiazole-2-thiol imines and thiobenzyl derivatives. *Bioorg Med Chem* 16: 8029-34

Xuan H, Li Z, Yan H, Sang Q, Wang K, He Q, Wang Y, Hu F (2014) Antitumor Activity of Chinese Propolis in Human Breast Cancer MCF-7 and MDA-MB-231 Cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 11: 280120

Zhang SG, Liang CG, Zhang WH (2018) Recent advances in indazole-containing derivatives: synthesis and biological perspectives. *Molecules* 23(11): 2783

Zheng KB. (2008) Synthesis and antitumor activity of N1-acetylamino-(5-alkyl/aryl-1,3,4-thiadiazole-2-yl)-5-fluorouracil deriva- tives. *Chinese Chemical Letters* 19: 1281-1284

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 2003 yılında Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nden mezun oldum. 2005 yılında Fırat Üniversitesi Ortaöğretim Fen ve Matematik Alanları Eğitimi Bölümünde Tezsiz Yüksek Lisans'ımı tamamladım. 2012 yılında Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Bölümü Kimya Ana Bilim Dalı'nda Tezli Yüksek Lisans'ı bitirdim. Evli ve üç çocuk annesiyim.