



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**DİOKSİM TÜREVİ Ni(II) ve Pd(II) METAL
KOMPLEKSLERİN SENTEZİ VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

Nameer Mohanad DHEYAB DHEYAB

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalını

AĞUSTOS-2020
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.



Nameer Mohanad DHEYAB DHEYAB
24.07.2020

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dioksim Türevi Ni(II) ve Pd(II) Metal Komplekslerin Sentezi Ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi
Nameer Mohanad DHEYAB DHEYAB

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Bilge TANER

2020, 43 Sayfa

Jüri

Doç. Dr. Bilge TANER
Prof.Dr. Mustafa ŞAHİN
Doç.Dr. Mustafa TOPKAFA

Bu çalışmada, dikloroglioksim ile 4-isopropil anilin (cumidine) grubunun kondenzasyon reaksiyonu ile *vic*-dioksim ligandı ve bu ligandın Ni(II) ve Pd(II) kompleksleri sentezlenmiştir. Sentezlenen ligandların ve komplekslerin yapısı, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve FT-IR çalışmaları ile aydınlatılmıştır. Çalışmanın son kısmında sentezlenen, 4-isopropil anilin (cumidine) türevi simetrik dioksim ligandı ve onun Ni⁺², Pd⁺² komplekslerinin disk diffüzyon yöntemi ve mikrodilüsyon broth metodu kullanılarak *in-vitro* antibakteriyel etkileri incelenmiştir. Minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri gözle ve spektrofotometrik olarak bulunmuştur. Nazokomiyal enfeksiyon etmeni bir dizi patojen bakteri üzerinde denenen bileşiklerden kompleksler etkisiz yada düşük etki göstermesine rağmen, ligandın özellikle gram pozitif bakterilere karşı kayda değer etki gösterdiği bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Antibakteriyel aktivite, kompleks, MİK, *vic*-dioksim

ABSTRACT

MS THESIS

Synthesis and Examination of Dioxime Derivative Ni (II) and Pd (II) Metal Complexes and their Biological Activities

Nameer Mohanad DHEYAB DHEYAB

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE

Advisor: Doç. Dr. Bilge TANER

2020, 43 Pages

Jury

Doç. Dr. Bilge TANER

Prof.Dr. Mustafa ŞAHİN

Doç.Dr. Mustafa TOPKAFA

In this study, the vic-dioxime ligand based on the dichloroglixime compound and its Ni(II) and Pd(II) complexes were synthesized. Structures of synthesized ligands and complexes were illuminated by ¹H-NMR, ¹³C-NMR and FT-IR studies. Synthesized p-isopropyl aniline (cumidine) derivative symmetric dioxime ligand synthesized in the last part of the study and its *in-vitro* antibacterial effects of Ni⁺², Pd⁺² complexes were investigated using disc diffusion method and microdilution broth method. Minimum inhibitory concentration (MIC) values were found visually and spectrophotometrically. Although complexes from the compounds tested on a number of pathogenic bacteria cause ineffective or low effect of nosocomial infection, Ligand has been found to have significant effect especially against gram positive bacteria.

Keywords: : Antibacterial, activity, complex, MIC, *vic*-dioxime

ÖNSÖZ

Bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, her zaman desteğini gördüğüm, değerli danışman hocam Doç. Dr. Bilge Taner'e sonsuz saygımı ve şükranımı sunarım.

Tez çalışmam sırasında antibakteriyal çalışmalarımı yapmama imkan sağlayan ve tezime önemli katkıda bulunan hocam Dr. Öğr. Üyesi. Fatih SEVGİ'ye desteğini gördüğüm, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Prof. Dr. Pervin Soylu'ya teşekkür ederim.

Çalışmam boyunca bana her anlamda destek olan laboratuvar arkadaşım Ayşe Mahmut'a ayrıca emeği geçen herkese teşekkür ederim.

Bu günlere gelmemde maddi ve manevi büyük katkıları olan annem ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Nameer Mohanad DHEYAB DHEYAB
KONYA-2020

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
1. GİRİŞ	1
1.1. Oksimler ve Adlandırılması.....	2
1.2. Mono Oksim Bileşiklerinin Sentez Yöntemleri	4
1.3. <i>vic</i> -Dioksim Bileşiklerinin Sentezi Yöntemleri	5
1.3.1. Keton Bileşiklerinden Sentez Yöntemi	5
1.3.2. Diaminden Kondenzasyon ile Sentez Yöntemi	6
1.4. Oksimlerin Metal Kompleksleri	7
1.5. Oksimlerin Kullanım Alanları.....	8
1.6. Oksimlerin Spektral Özellikleri.....	9
1.6.1. UV-VIS Özellikleri	10
1.6.2. IR (Kızılötesi) Özellikleri.....	10
1.6.3. ¹ H NMR Özellikleri.....	11
1.6.4. ¹³ C NMR Özellikleri	11
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	12
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	15
3.1. Materyal	15
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	15
3.1.2. Kullanılan Cihazlar	15
3.2. Kimyasal Sentezler ve Karakterizasyon	16
3.2.1. Diklorglioksim Sentezi.....	16
3.2.2. 1,2 bis [4-izopropilanilin]- <i>vic</i> -dioksim Sentezi (HL ₁)	17
3.2.3. Ni(HL ₁) ₂ Kompleksinin Eldesi	18
3.2.4. Pd(HL ₁) ₂ Kompleksinin Eldesi.....	18
3.3. Biyolojik Çalışmada Kullanılan Materyaller	19
3.3.1. Disk difüzyon yöntemi ile antibakteriyel aktivite tayini	19
3.3.2. Mikrodilüsyon broth yöntemi ile antibakteriyel aktivite tayini	20
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	22
4.1. Sentezlenen Bileşiklerin Karakterizasyonu.....	22
4.2. Sentezlenen Maddelerin Biyolojik Aktiviteleri.....	27
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	31
KAYNAKLAR	32

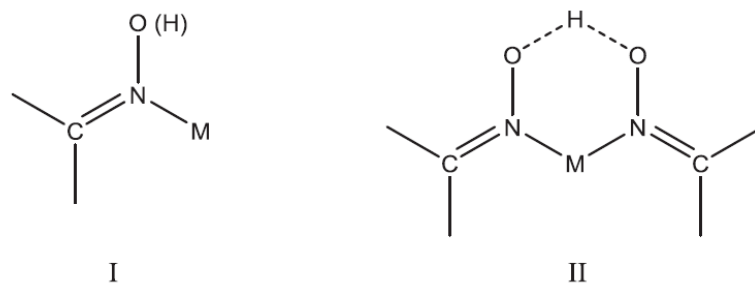
SİMGELER VE KISALTMALAR

ATCC	: Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu
DMSO	: Dimetilsülfoksit
MHA	: Mueller Hinton Agar
MHB	: Mueller Hinton Broth
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
MRSA	: Metisilene Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>



1. GİRİŞ

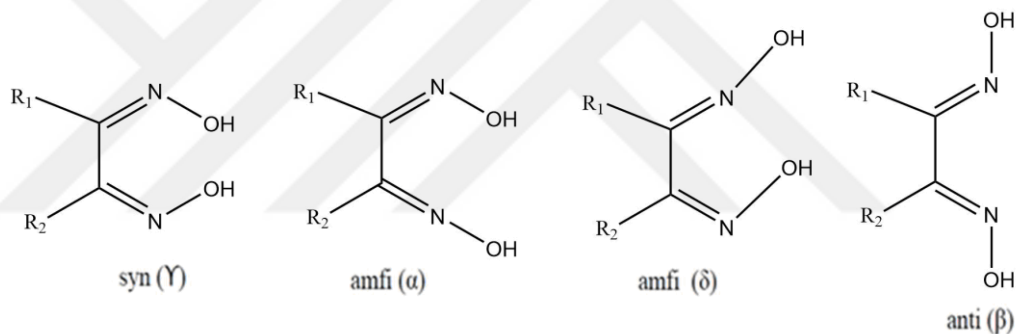
Oksim ismi, oksijen ve imin kelimelerinin bir kombinasyonundan oluşmaktadır (Chakravorty, 1974). Oksim bileşiği, genel formül $[R_1R_2C]NOH$ olan iminlere ait kimyasal bir bileşiktir; buradaki R_1 , bir organik yan zincirdir, R_2 ise organik grup veya hidrojen olabilir. Oksimler, amfoterik bir grup ($C=NOH$) ile karakterize edilmiştir, çünkü hafif asidik bir hidroksil grubu ve hafif bazik bir azot atomu içerirler (Chakravorty, 1974). Oksim bileşikleri analitik, biyokimyasal, antifungal, antibakteriyel, antimikrobiyal reaktifler ve ayrıca ağır metallerin ekstraksiyonu için yüksek yeteneklerinden dolayı gittikçe daha fazla önemli hale gelmektedir (Demir ve ark., 2008; Yaul ve ark., 2009). Bir ligand olarak oksim grubunda azot ve/veya oksijen atomu(ları) geçiş metalleri ile kompleks oluştururlar (Şekil 1.1) (Kukushkin ve Pombeiro, 1999; Chitrapriya ve ark., 2010; Babahan ve ark., 2013; Topal ve ark., 2015). Oksimler ve metal kompleksleri, fiziksel, kimyasal özellikleri, reaktiviteleri, tıp, biyoorganik sistemler, kataliz, elektrokimyasal ve elektrooptik sensörler alanlarında birçok önemli alanda uygulamalarından dolayı güncel ilgi alanına girmektedir (Malmström, 1993; Jurisson ve Lydon, 1999; Volkert ve Hoffman, 1999; Laranjeira ve ark., 2000; Kandaz ve ark., 2002).



Şekil 1.1. Oksim-metal komplekslerinin en yaygın yapı tipleri.

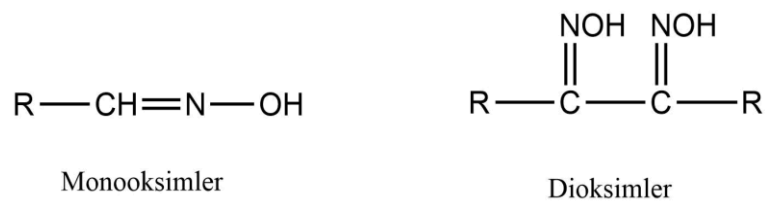
1.1. Oksimler ve Adlandırılması

Aldehitlerin ve ketonların hidroksil amin (NH_2OH) ile tepkimesi sonucu oluşan, karbon-azot çifte bağı ve hidroksil grubu taşıyan bileşiklere ($\text{R}-\text{C}=\text{N}-\text{OH}$), oksiminin kısaltmasıyla oksim adı verilir. İki oksim grubu bulunduran bileşiklere dioksim denir. İki oksim grubu komşu karbon atomlarına bağlandığında, bu bileşiklere komşu (çevresel) anlamına gelen vicinal veya *vic*-dioxime denir. $-\text{OH}$ grubu, oksimdeki $\text{C}=\text{N}$ etrafında geometrik izomerizme sebep olur ve bu izomerler birbirinden ayrılabilir. OH grubunun *vic*-Dioksimlerdeki pozisyonuna göre dört izomerik yapı vardır. Hidrojen atomu ve hidroksil grubu aldoksilerde *syn*- formunda aynı tarafta iken; bu iki grup zıt taraflarda bulunduğu, konfigürasyon *anti*-forma dönüşür. *Anti*- formu en kararlı kompleksleri oluştururken, *amfi*- formu en az kararlı kompleksleri oluşturur, *syn*-formunda ise kompleks oluşumuna pek rastlanmaz.. Aşağıdakiler *syn*- *amphi*- ve *anti*-formları verilmiştir (Şekil 1.2) (Kurtoglu, 1999).



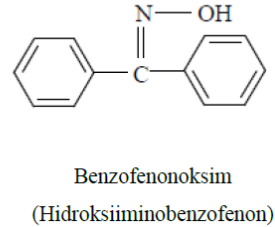
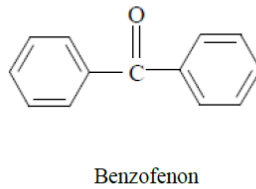
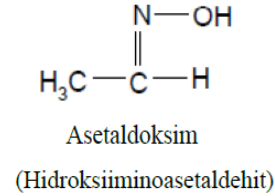
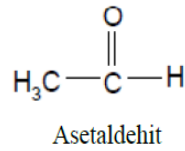
Şekil 1.2. *vic*-Dioksimlerin izomerleri

Oksimler, aldehitlerin ve ketonların hidroksilamin ile yoğunlaşma bileşikleri olarak tanımlanabilir. Organik moleküldeki oksim gruplarının sayısına göre; Mono, di, tri ve tetraoksimler adlandırılması yapılırken, koordinasyon bileşiklerinde monoksimler ve *vic*-dioksimler ligandları olarak adlandırılır. Basit mono- ve di-oksimplerin genel formülleri aşağıda verilmiştir. (Şekil 1.3) (Başkale, 2007)).



Şekil 1.3. Basit mono-oksimplerin ve dioksimlerin genel formülü

Oksim kelimesi genel bir isimdir. Aldehitler ve ketonlardan oluşan oksimler adlandırılırken; oksim kelimesi, aldehitler ve ketonların adlarının sonuna eklenir: asetaldoksim, benzofenonoksim, v.b. gibi. Baz bir keton veya bir aldehit olduğu sürece, oksime "hidroksiimino" da denir.

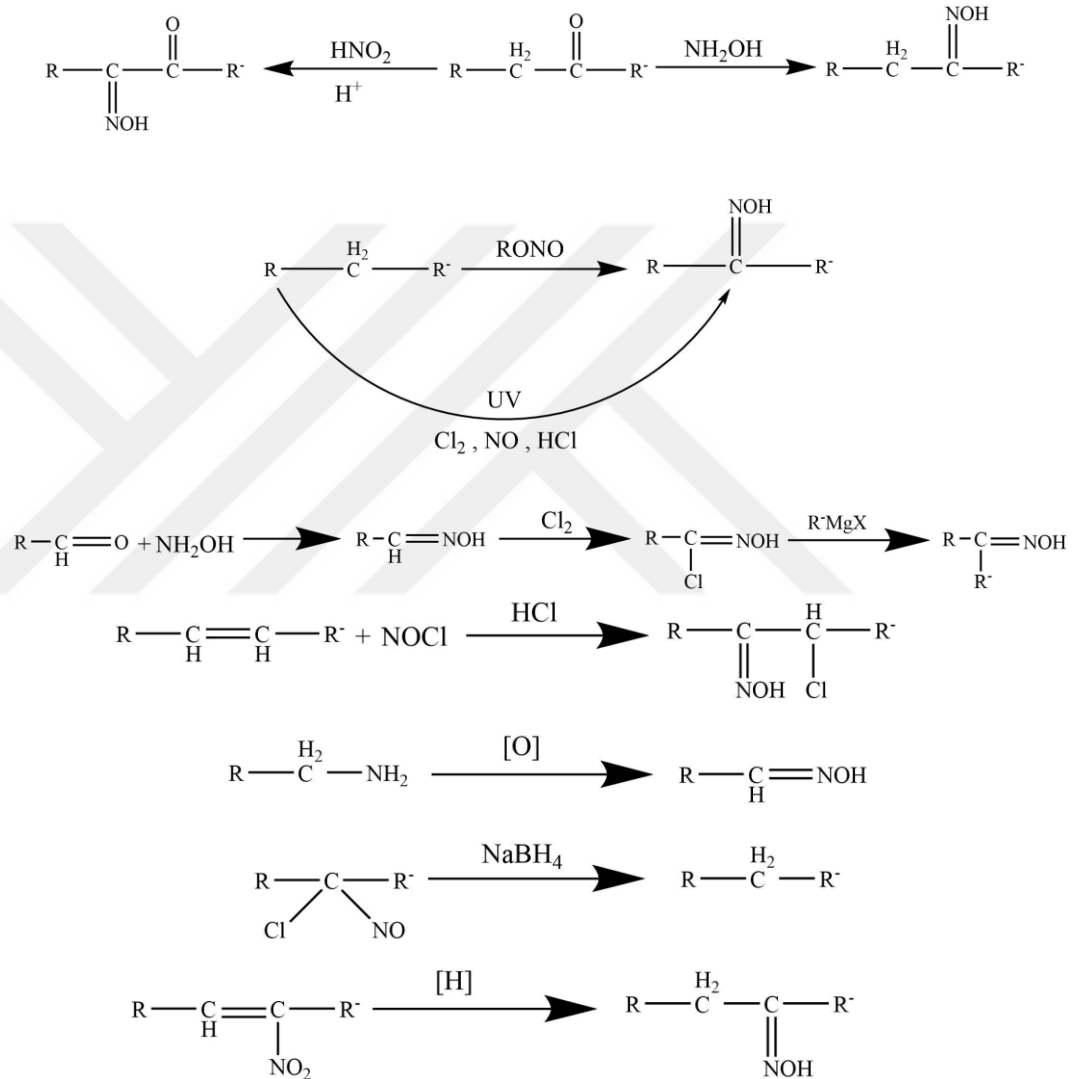


Şekil 1.4. Bazı Oksim Bileşiklerinin Adlandırılması

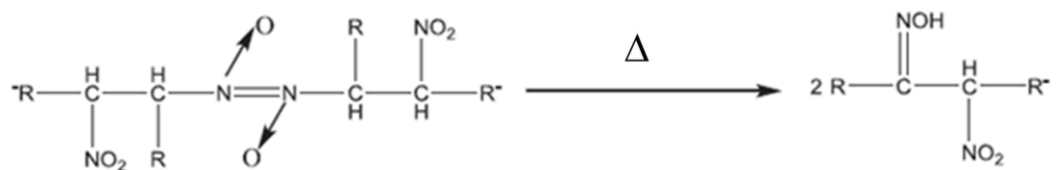
Bununla birlikte, oksimler nitrozo bileşiklerinin yapısal izomerleri olduğundan, "izonitrozo" terimi de kullanılmaktadır. (Smith, 1966). Normal olarak süstitüe edilmiş oksimlerin nitronlar gibi daha yüksek dereceler olduğu kabul edilir. Bu bileşikler, "nitron" adı verilen hipotetik bileşik türüdür. Karbon(α -) içindeki süstitüentler ve azot (N-) içindeki süstitüentler " α,α -difenil-N-metil nitron" olarak gösterilir.

1.2. Mono Oksim Bileşiklerinin Sentez Yöntemleri

Oksimlerin sentezinde çeşitli yöntemler kullanılır. En yaygın sentez yöntemi Şekil 1.5’de gösterilmiştir. Karbonil bileşiklerinin oksidasyonu ve aktif metilen bileşiklerinin nitrosasyonu oksimlerin hazırlanmasında bilinen en iyi iki yöntemdir. İzomerizasyon reaksiyonları ayrıca oksim sentezi için bilinen yöntemlerden biri olarak kabul edilir (Şekil 1.6) (Motaleb ve Selim, 2019).



Şekil 1.5. Oksim bileşiklerinin sentezi

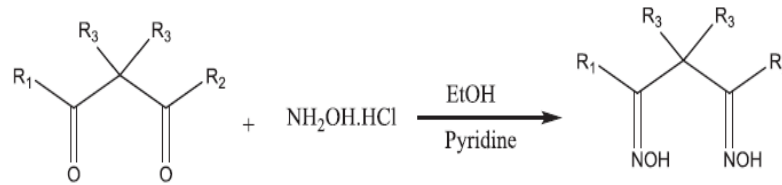


Şekil 1.6. İzomerleştirme reaksiyonları ile dioksimlerin sentezi

1.3. *vic*-Dioksim Bileşiklerinin Sentezi Yöntemleri

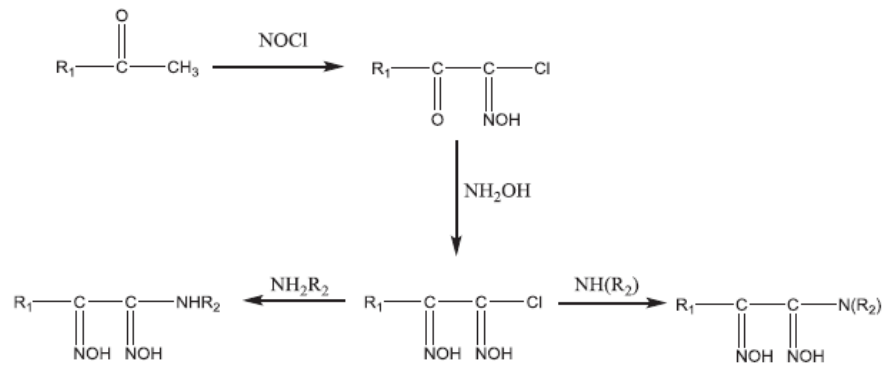
1.3.1. Keton Bileşiklerinden Sentez Yöntemi

- (a) **1,3-dikarbonil bileşikleri:** 1,3-dioksimlerin sentezinde en yaygın kullanılan yöntem (Gnichtel ve Boehringer, 1980; Stephanidou-Stephanatou, 1985) piridin varlığında karşılık gelen 1,3-dikarbonil bileşiklerinin hidroksilamin hidroklorür ile tepkimesidir (Şekil 1.7).



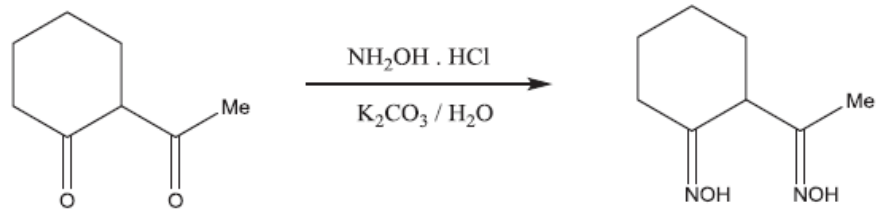
Şekil 1.7. 1,3-dioksimlerin sentezi.

- (b) **α -metil keton:** 1-Kloro-1,2-dion-1-oksime oluşturmak üzere α -metil keton bileşiğinin NOCl ile reaksiyonundan sonra, hidroksilamin hidroklorür çözeltisi ile muamele edilir. İstenilen dioksim ligandı oluşturmak için bir amin türevi ilave edilir (Şekil 1.8) (Su ve ark., 2000).



Şekil 1.8. α -metil keton bileşiğinde dioksimlerin sentezi.

- (c) **Diğer örnekler:** Siklik dioksimlerin sentezi, karşılık gelen dikarbonil bileşiğinin sudaki hidroksilamin hidroklorür ve potasyum karbonat ile etkileşmesiyle oluşur (Şekil 1.9) (Kotali ve Papageorgiou, 1991).

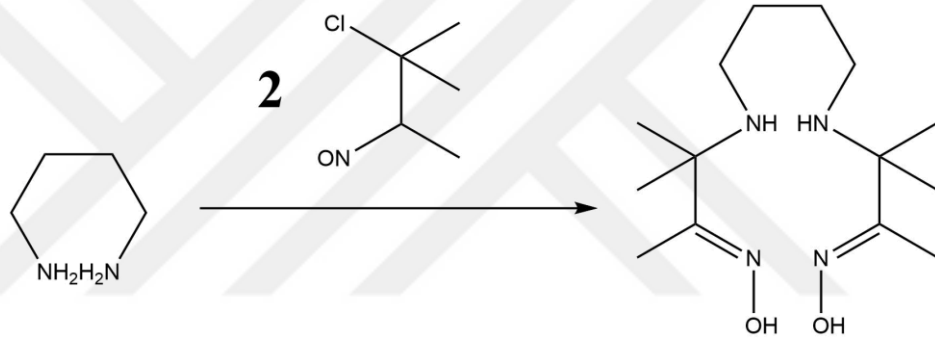


Şekil 1.9. Siklik dioksimlerin sentezi

1.3.2. Diaminden Kondenzasyon ile Sentez Yöntemi

(a) 2-kloro-3-nitrosobütan ile

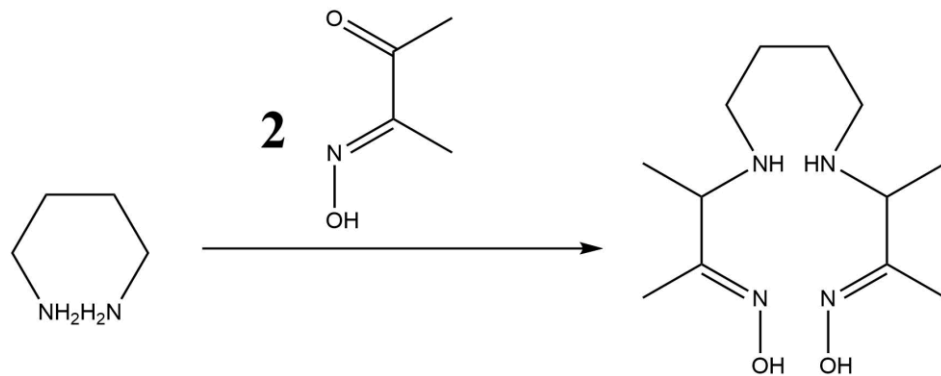
1,4 diaminobütan bileşiğinden çıkarak, 2-kloro-2-metil-3-nitrosobütan çözeltisi ilave edilerek dioksim bileşiği sentezlenebilir (Şekil 1.10). (Archer ve ark., 1999).



Şekil 1.10. 4,9-diaza-3,3,10,10 tetrametildodekan-2,11-dion sentezi

(b) Monooksimler ile Diaminlerin Kondenzasyon ile Sentez Yöntemi

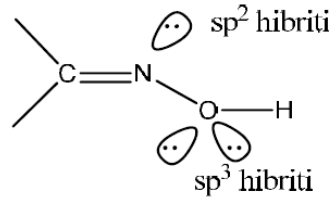
Butan-2,3-dion monooksim çözeltisi, 1,4-diaminobütan çözeltisi ile muamele edilerek dioksim bileşiği sentezlenmektedir (Şekil 1.11) (Archer ve ark., 1999).



Şekil 1.11. 4,9-Diaza-3,10-dimetildodekan 2,11 dion dioksim sentezi

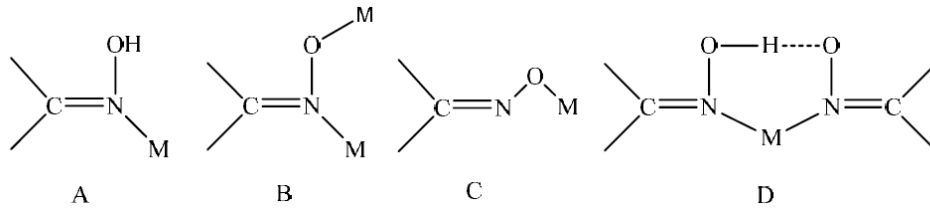
1.4. Oksimlerin Metal Kompleksleri

Oksimler, organik özelliklere sahip ligantlardır. (Şekil 1.12). Yapısında bulunan bir çift ortaklanmamış elektrona sahip azot atomu sp^2 , iki çift ortaklanmamış elektrona sahip oksijen atomu sp^3 hibrit orbitallerini kullanır. Bu nedenle oksimler, bu eşleşmemiş elektronları kullanır ve koordine kovalent bağ yaparak çeşitli şekillerde bağlanabilirler (Darendeli, 2014).



Şekil 1.12. Oksim ligantlarının donör atomlarının hibrit orbitalleri

Oksim ligandları özellikle de geçiş metallerine çeşitli şekillerde bağlanabilirler. Ancak genellikle azot atomu üzerinden bağlanma tercih edilir (Şekil 1.13).



Şekil 1.13. Mono oksimlerin metallere bağlanma şekilleri

Oksimler, geçiş metal iyonlarıyla konjuge baz şeklinde tepkime verirler. (A) Formunda bir oksim konjuge bazı olarak işlev görür. (D) durumunda, oksim grubunun kendi formu ve konjuge bazı vardır ve O-H-O köprüsü üzerinde tek bir hidrojen atomu paylaşılır. (B) ve (D) oksim komplekslerinin en yaygın şeklidir. (C) durumunda, oksim anyon metale oksijen yoluyla bağlanır. (Chakravorty, 1974). *vic*-Dioksim ligandlarının geçiş metal kompleksleri kararlı kompleks oluştururlar. Bu komplekslerin özellikleri;

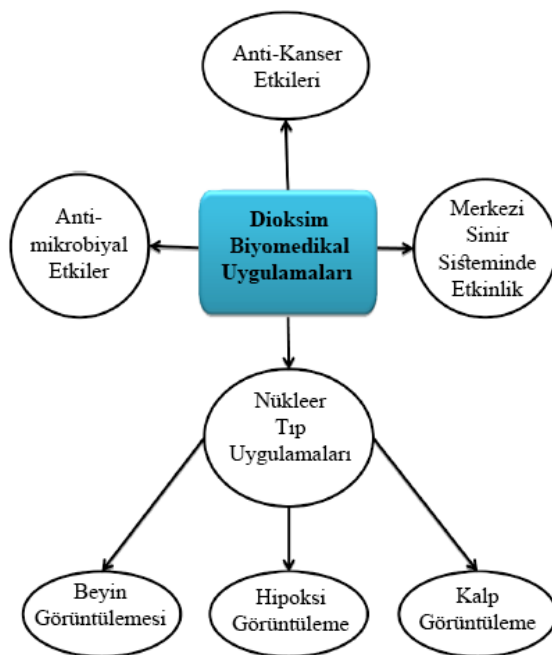
- I.** *vic*-Dioksim'in Fe(II), Co(II) ve Ni(II) kompleksleri düşük spinlidir.
- II.** Kompleks bileşiklerde, metal/ligand oranı 1:2 olduğu durumda molekülü daha kararlı hale getiren bir hidrojen köprüsüne sahiptir.
- III.** Geri bağlanma yardımıyla kompleksin stabilitesi daha da geliştirilir.

IV. Kare düzlem yapıya sahip Fe(II), Co(II), Cu(II) ve Pd(II) kompleksleri sentezlenebilir. Bu komplekslerde, tek dişli bir ligand, z eksenini boyunca metal ile koordine değildir (Darendeli, 2014).

1.5. Oksimlerin Kullanım Alanları

Oksimler; organik, analitik, inorganik, endüstriyel ve biyokimyanın birçok alanında çeşitli amaçlar için kullanılır. Son yıllarda, bazı *vic*-dioksim kompleksinin anti-tümör etkilerinin belirlenmesi, yarı iletken üretiminde kullanımları ve sıvı kristal özelliklerine sahip olmaları birçok alanda kullanılmalarını sağlamıştır. Bazı oksimler ve bunların çeşitli oksialkil ve amino türevleri fizyolojik ve biyolojik özelliklere sahiptir. Motor yağları, boyalar, epoksi reçineleri ve lastiklerin bazı özelliklerini geliştirmek için bir katkı maddesi olarak da kullanılır.

Oksim bileşiklerinin türevlerinin tıpta kullanımı günümüzde giderek artmaktadır (Abele ve ark., 2004). *vic*-Dioksim bileşiklerinin biyomedikal uygulamaları Şekil 1.14' de özetlenmiştir.



Şekil 1.14. *vic*-Dioksim biyomedikal uygulamaları

Radyofarmasötiklerin tasarımında birkaç yeni sınıf dioksim metal kompleksi geliştirilmiş ve kullanılmıştır (Tablo 1.1). Bu bileşikler sentezlerinin kolaylığı, ^{99m}Tc 'nin birleştirilme kolaylığı, şelatlama gücü ve uygulama esnekliği bakımından

önem taşımaktadır. Bu oksim bileşikleri nükleer tıp alanında önemli uygulama alanı bulmuştur (Motaleb ve Selim, 2019).

Tablo 1.1.Nükleer tıpta en sık kullanılan dioksimler

Bileşikler	Hedef organlar	Hayvan araştırması	Etiketleme için izotoplar	Yapı
Hekzametilpropilen aminoksim (HMPAO)	Beyin	İnsan Kitleri	^{99m}Tc	
Propilen amin oksim (PnAO)	Beyin oksijen yetmezliği	Fareler	^{99m}Tc ^{64}Cu	

1.6. Oksimlerin Spektral Özellikleri

Spektroskopik yöntemlerin geliştirilmesi ile, oksimlerin yapısı hakkında daha fazla bilgi elde edildi ve izomerlerinin dönüşümü kapsamlı bir şekilde araştırıldı. X ışını kırınım çalışmaları ile birçok oksimin ve metal kompleksinin yapılarını tamamen aydınlatılmıştır. X-ışını çalışmaları yapılmayan oksimlerin yapılarını belirlemede UV - VIS, IR ve $^1\text{H-NMR}$ spekturumu ile $^{13}\text{C-NMR}$ çalışmaları geniş oranda yardımcı olur. Ek olarak, oksim floresan spektrofotometrisi ile floresan yoğunluğu ölçülerek nicel ve nitel çalışmalar yapılır (Öztürk, 2016).

1.6.1. UV-VIS Özellikleri

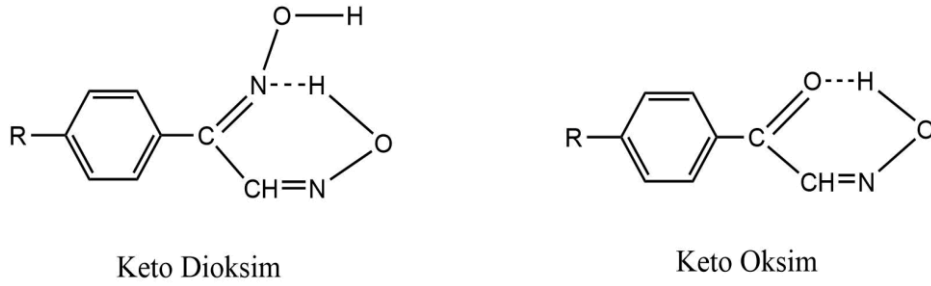
Oksimlerin UV-VIS spektrumunda, C=N grubunun $n \rightarrow \pi^*$ elektronik geçiş bandı en önemli ve karakteristik absorpsiyon bandı olup gözlenen aralık yaklaşık 250-300 nm'dir. Bu bileşikler ve geçiş metalleri tarafından oluşturulan komplekslerde, geçiş bandı $n \rightarrow \pi^*$ belirli uzun dalga boylarına geçer. Aromatik halkalar içeren bileşiklerde ise bu geçişlerin absorpsiyon bantları, aromatik halkanın absorpsiyon bantları ile çakışabilir.

UV-VIS spektrumlarını ve karmaşık geometrileri açıklamak için yararlı ipuçları sağlayan d-d geçiş absorpsiyon yoğunlukları düşüktür ve organik çözücüler içindeki çözünürlükleri bu geçişleri gözlemlemeyi zorlaştırır. Ek olarak, d-d geçişinin bandı ligandın bandı ile çakışabileceğinden, bu durumda bu bantları ayırmak zordur (Öztürk, 2016).

1.6.2. IR (Kızılötesi) Özellikleri

Oksim bileşiklerinin IR spektrumlarında önemli karakteristik pikler gözlenir. Bu pikler sentezlenen bileşiklerin karakterizasyonunda önemlidir. Oksim gruplarına ait, -OH gerilme titreşimi yaklaşık $3300-3130 \text{ cm}^{-1}$, C=N titreşimi yaklaşık $1660-1600 \text{ cm}^{-1}$ ve oksimin tipik N-O titreşimi yaklaşık $1000-920 \text{ cm}^{-1}$ 'dir. Yaklaşık 1600 cm^{-1} 'de glioksim grubuna ait zayıf ve tek bir C=N titreşim piki gözlenir, bu pik bileşiğin *anti-glioksim s-trans* formunu gösterir. Bu pik mono-süstitüe *anti-glioksim*lerde daha iyi görülür. bu bölgedeki *amphi*-kloro glioksim orta şiddette çıkan çift pik *s-cis* formundan ileri gelir. Oksimlerin -OH piki, çözücüye veya KBr tabletine bağlı olarak farklı pozisyonlarda görünebilir. KBr tabletlerde alındığında, asimetric bileşiklerde çift pikler ve simetric süstitüe edilmiş glioksimlerde tek pik olarak görülür. Oksimlerdeki çift (N-O) bağının çevresindeki titreşimi, 1000 ve 920 cm^{-1} arasında güçlü bir absorpsiyon gösterirken konfigürasyona bağlı olarak önemli ölçüde farklılık göstermemektedir.

Ketoksim ve dioksimde moleküller arası hidrojen bağı (O-H ...O) nedeniyle, O-H...O gerilme absorpsiyonunu $1730-1710 \text{ cm}^{-1}$ 'de meydana gelir. Ketoksim ve dioksimdeki hidrojen bağları Şekil 1.15'de gösterilmektedir. (Öztürk, 2016)



Şekil 1.15. Keto diksimin ve Oksimin hidrojen bağı.

1.6.3. ^1H NMR Özellikleri

Monoksimde, gözlenen -OH protonu, ^1H -NMR spektrumunda yaklaşık 9-13 ppm arasında gözlenir. Dioksimlerde, -OH protonunun çevresine göre, *trans*, *amphi* ve *cis*-geometrik izomerlerin durumuna göre, ^1H -NMR spektrumunda fark gözlenir. *anti*-dioksimlerde OH piki geniş bir singlet gibi görünürken, protonlarından biri *amphi*-dioksimlerde (O-H...N) oluşması nedeniyle daha düşük bir bölgeye geçer, Diğeri normal konumunda görünür, bu yüzden iki singlet olarak görünür. Bununla birlikte, simetrik süstitüe olmamış *vic*-dioksimlerde, OH protonu iki ayrı singlet olarak ortaya çıkar. Bu protonlar, D_2O eklendiğinde döteryumun ile yerdeğiştirir ve ^1H -NMR spektrumunda kaybolur. (Öztürk, 2016)

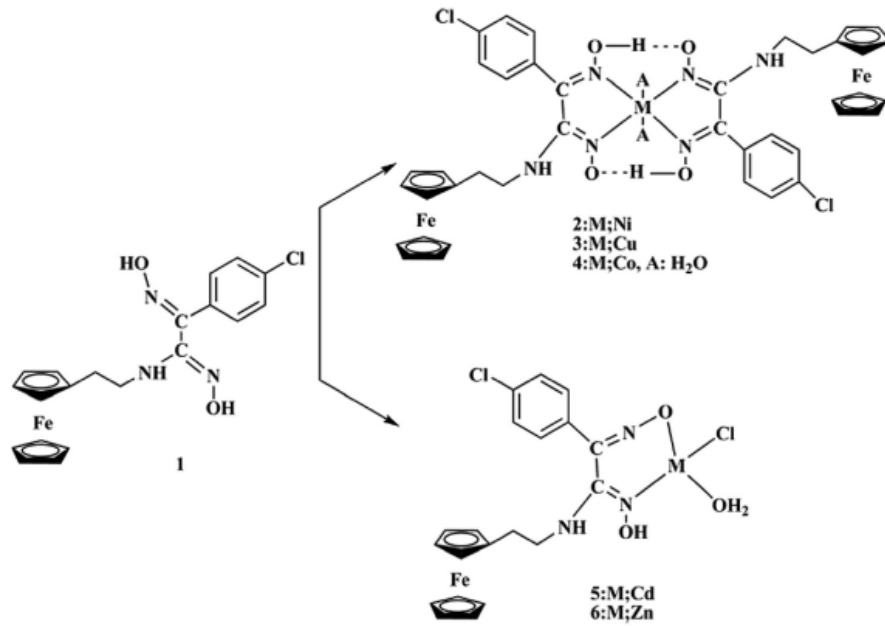
1.6.4. ^{13}C NMR Özellikleri

^{13}C -NMR spektrumunda, oksimlere ait en önemli pik -C=N-OH grubuna ait karbonun pikidir. Bu pik, monoksimlerde 145-165 ppm ve glioksimlerde 140-155 ppm arasında gözlenir. (Ertas ve ark., 1987).

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Koordinasyon bileşiklerin reaksiyon mekanizması ve yapılarının aydınlatılması ile ilgili araştırmalar biyokimya, farmasötik kimya, boyalar, polimer kimyası ve tarım gibi birçok alanda büyük önem taşımaktadır. Koordinasyon bileşiklerinin önemli bir grubunu oluşturan *vic*-dioksim ve komplekslerinin sentez ve yapısal aydınlatma çalışmaları üzerine birçok araştırma gerçekleştirilmiştir. Koordinasyon bileşikleri arasında önemli bir grup olan oksimler yapı aydınlatılmasında daha çok NMR, IR, x-ışın kırınımı yöntemi kullanılmıştır (Özcan ve Mirzaoğlu, 1988; Karatas ve ark., 1992; Gupta ve ark., 2006; Dutta ve ark., 2009).

Bu çalışmada, ferrosen grubu ihtiva eden *vic*-dioksim bileşikleri ve kompleksleri sentezlenmiştir (Şekil 2.1). Sentezlenen bileşiğin yapısı çeşitli teknikler kullanılarak aydınlatılmıştır.. Bu ligand ile komplekslerin detaylı kütle spektroskopisi çalışmaları yapılmıştır (Deveci ve Taner, 2013).

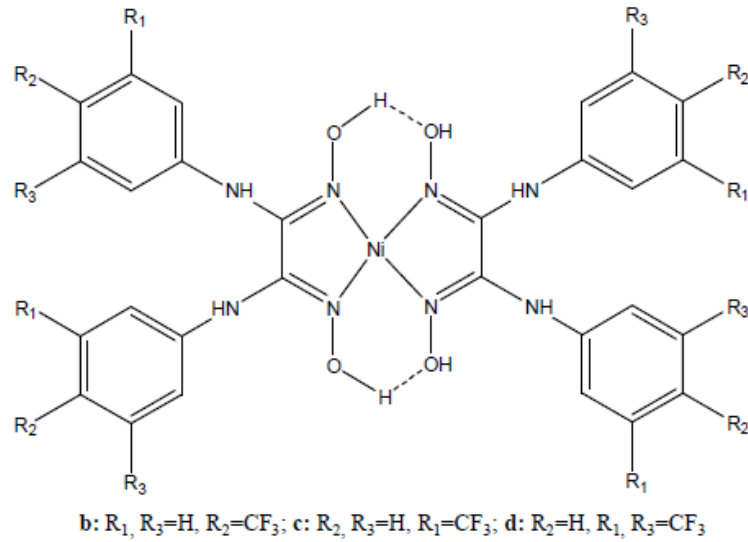


Şekil 2.1. Ferrosen grubu içeren *vic*-dioksim bileşikleri ve komplekslerinin sentezi

Bu çalışmada, kumarin içeren yeni *vic*-dioksim ligandı (S,S-bis-[4-metilkumarinil]-ditiyoglioksim) ve bu ligandın mono ve dinükleer kompleksleri sentezlenmiştir. Sentezlenmiş bileşiklerin element analizi, ¹H-NMR, FT-IR, UV-Vis

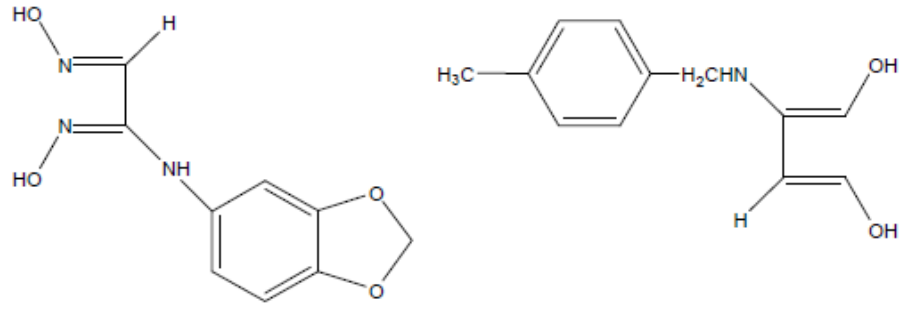
ile LSI-MS tekniği kullanılarak aydınlatılmıştır. Ligandın elektrokimyasal çalışmaları incelendiğinde, oksim ve kumarin gruplarına ait indirgenme potansiyelleri belirlenmiştir. Ni(II), Cu(II), Co(II) and Zn(II) komplekslerinin elektrokimyasal çalışmalarında ise, oksim ve kumarin gruplarına ait indirgenme potansiyelerinin yanı sıra metallere ait indirgenme potansiyelleri belirlenmiştir (Özer ve ark., 2008).

Bu araştırmada, N, N'-bis (3-triflorometil-fenilamino) oksim ve N, N'-bis (3,5-diflorometilfenilamino) oksim sentezlediler Ligand ve Ni(II) kompleksinin yapılarını aydınlatmak için spektroskopik teknikler kullanıldı. Ek olarak, bu komplekslerin süperkritik karbondioksit içindeki çözünürlüğü incelenmiştir. (Güzel ve ark., 2007).



Şekil 2.2. Güzel ve ark.'nın Sentezledikleri komplekslerin genel bir göstemi.

Bu çalışmada 3,4-metilendioksafenilaminogliksim ve N-(4-metilbenzil) aminogliksim ligandları ve yapıları Co⁺², Ni⁺², Cu⁺², Cd⁺² ve Zn⁺² iyonlarının sentezi ile; elementel, IR, UV-Vis, ¹H-NMR analizi manyetik suseptibilite teknikleri ile aydınlatılmıştır (Yildirim ve ark., 2007).



Şekil 2.3. Yıldırım ve ark.'nın Sentezledikleri ligandların genel formülü.

Bu çalışmada, tiyosemikarbazon birimleri içeren iki yeni vicinal dioksim ligandları sentezlenmiş ve ^1H NMR, ^{13}C NMR, heteronükleer çoklu kuantum korelasyonu, kütle spektroskopisi ve UV-Vis kullanılarak karakterize edilmiştir. Ayrıca, homotrinükleer nikel (II), bakır (II) ve kobalt (II) 3:2'lik bir metal-ligand oranına sahip kompleksler hazırlanmıştır (Babahan ve ark., 2017).

Dioksimlerin genel sentetik metotlarını ve dioksimlerin uygulamalarına (metal komplekslerinin uygulamaları) kısa bir genel bakış sağlamıştır. Dioksimlerin metallerle kompleksleşme özellikleri birçok araştırmalara yer verilmiş ve bu bileşiklerin antimikrobiyal ve theranostik ajanlar gibi çok çeşitli uygulamaları gösterilmiştir (Motaleb ve Selim, 2019).

Bu çalışmada, *vic*-dioksim ligand, (1E, 2E) -2- (hidroksiimino)-N'- [(1E) -2-okso-2-feniletilden]etanhidroksihidrazid ve bu ligandın Cu(II) ve Ni(II) komplekslerini sentezlemiştir. Bu bileşiklerin, Caco-2 heterojen insan epitel kolorektal adenokarsinom hücreleri üzerindeki *in vitro* sitotoksik ve apoptotik etkileri değerlendirilmiştir (Çelik ve ark., 2019).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

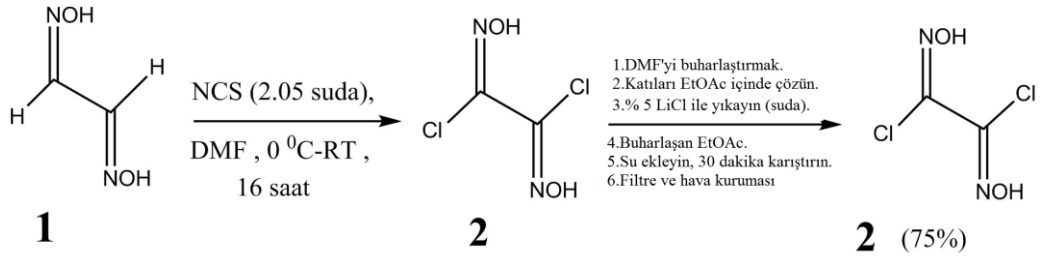
- Diklorogliksim
- 4-İzopropilanilin
- Gliksim
- N,N-Dimetilformamid
- Etil asetat
- LiCl
- MgSO₄
- NiCl₂.6H₂O
- PdCl₂
- NaOH
- Trietilamin
- N-klorosüksinimid
- Etanol

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

- Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi (FT-IR)
- Proton Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (¹H NMR)
- Erime Noktası Tayin Cihazı
- pH-metre Cihazı
- Manyetik Karıştırıcı Isıtıcı
- Elektronik Teraziler
- Vakum Desikatörü
- McFarland Densitometer Biosan Den-1
- Mikroplaka Okuyucu : BioTek µQuant
- Otomatik dispenser: BioTek MicroFill Microplate Dispenser
- Nüve İnkübatör EN 055
- Otooklav : Nüve OT 4060.

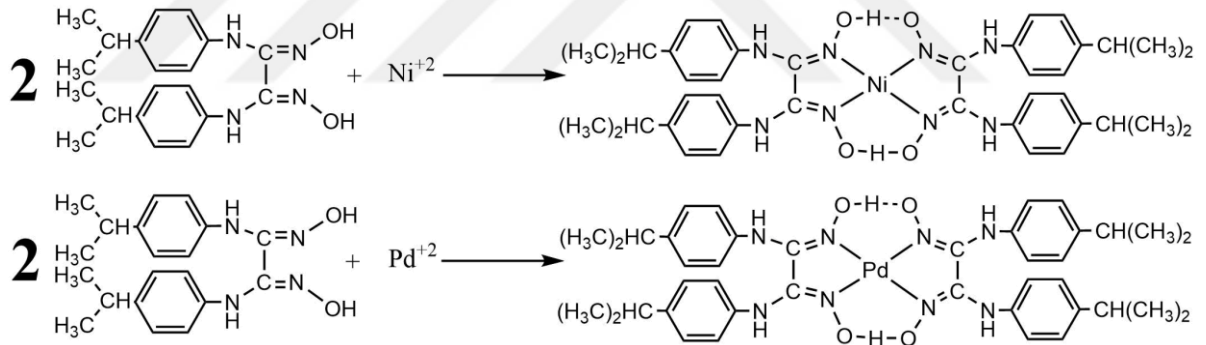
3.2. Kimyasal Sentezler ve Karakterizasyon

Bu çalışmada öncelikle diklorgliksim bileşiği literatürdeki metot kullanılarak yüksek verimle sentezlemiştir (Wingard ve ark. 2016).



Şekil 3.1. Diklorgliksim Sentez Yöntemi

Daha sonraki aşamada, 4-izopropilanilin ile diklorogliksim bileşiğinin kondenzasyon reaksiyonu ile *vic*-dioksim ligandı sentezlenmiş, elde edilen ligandın Ni(II) ve Pd(II) kompleksleri hazırlanmıştır.

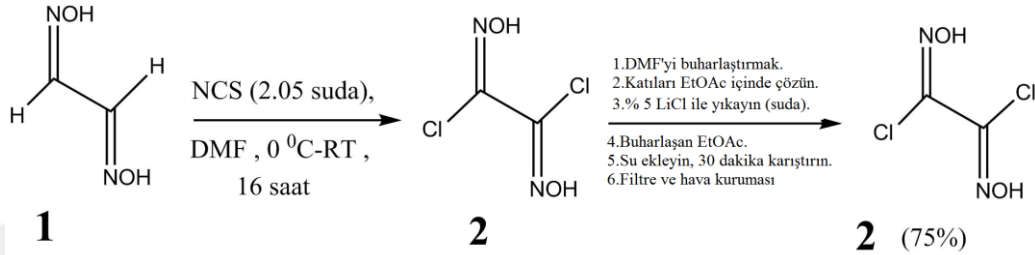


Şekil 3.2. *vic*-Dioksim Ligandı ve Komplekslerinin Sentezi

3.2.1. Diklorgliksim Sentezi

Mekanik bir karıştırma çubuğu bulunan 1000 mL'lik yuvarlak dipli bir şişeye, gliksim (30.0 g, 0.341 mol) ve 340 mL DMF ilave edildi. Gliksim çözüldükten sonra, çözelti bir buz banyosunda 0 °C'ye kadar soğutuldu ve 2 saat boyunca 8 eşit kısımda N-klorosüksinimid (95.2 g, 0.699 mol) ilave edildi. Son kısım eklendikten sonra, reaksiyon karışımı gece boyunca karıştırıldı, buz banyosu yavaşça oda sıcaklığına kadar ısıtıldı. 70 °C'de döner bir buharlaştırıcı kullanılarak DMF, mümkün olduğunca düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Ham katı, 400 mL EtOAc içerisinde

çözündürüldü ve nihai organik faz, %5 sulu LiCl çözeltisi (3x333 mL) ile yıkandı. Organik faz, magnezyum sülfat üzerinde kurutuldu ve süzüldü. EtOAc, 40 °C'de döner bir buharlaştırıcı kullanılarak indirgenmiş basınç altında uzaklaştırıldı. Oluşan beyaz katı 700 ml su içinde süspansiyon edildi ve 30 dakika kuvvetli bir şekilde karıştırıldı. Bu süre zarfında su rengi renksizden yeşile döndü. Beyaz katı süzüldü ve 1 saat boyunca vakum altında tutuldu. Bu malzeme gece boyunca bir çeker ocakta havayla kurutuldu ve ince beyaz bir toz halinde 40.1 g (% 75) diklorogliksim (2) elde edildi.

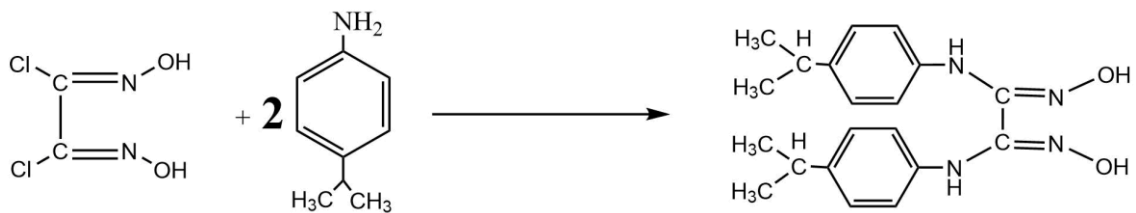


Şekil 3.3. Diklorogliksim Sentez Yöntemi

3.2.2. 1,2 bis [4-izopropilanilin]-*vic*-dioksim Sentezi (HL₁)

4-izopropilanilin (0,27 g, 2 mmol) etanolde (15 ml) çözülüp, 25 ml etanolde çözülmüş *anti*-diklorogliksim (0.157 g, 0.1 mmol) çözeltisine yavaşça eklendi. Balondaki karışım 4 saat oda sıcaklığında karıştırıldı ve reaksiyondan sonra ince tabaka kromatografisi ile takip edildi. Ardından saf su eklenerek ligandlar çöktürüldü. Çöken ligand süzüldü, soğuk suyla yıkandı, kurutuldu ve bir su-etanol karışımından (1: 2) kristalleştirildi. Verim: 75%; IR ν (cm⁻¹): 3460 (N-H), 3380 (O-H), 2969.74 (C-H), 1605 (C=N), 1604 (C=C, Ar), 1367 (N-O), 1216.31 (N-H). ¹H NMR (500 MHz, DMSO) 10.31 (s, 2H, O-H), 8.01 (s, 2H, N-H), 6.95 (d, 2H, Ar-H), 6.74 (d, 2H, Ar-H), 2.76 (m, 2H, -CH), 1.15 (d, 12H, -CH₃). ¹³C NMR (500 MHz, DMSO) δ C 24.65, 33.31, 119.67, 126.44, 137.90, 141.90, 143.32.

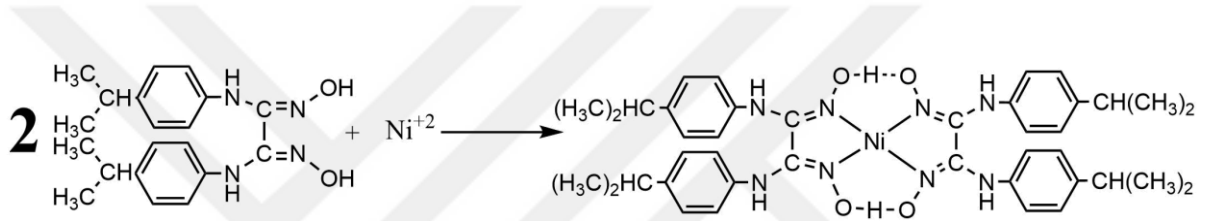
MS (ESI) hesaplanan: C₂₀H₂₆N₄O₂ [M⁺] m/z: 354.21 bulunan: 354.670.



Şekil 3.4. 1,2 bis [4-izopropilanilin]-*vic*-dioksim Sentez Yöntemi

3.2.3 Ni(HL₁)₂ Kompleksinin Eldesi

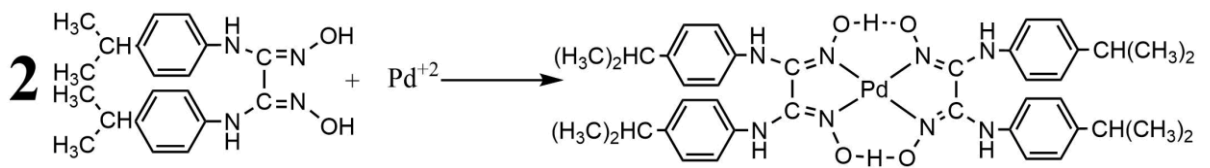
HL₁ (0.4695g, 0.42 mmol) ligandı 20 mL etanolde çözülmüş ve 5 ml etanolde çözülmüş nikel(II) klorür hekza hidrat (0.0420g, 0.21 mmol) çözeltisi üzerine yavaş yavaş eklenmiştir. Bu karışım, oda sıcaklığında % 1 NaOH ile pH'ı 7 olacak şekilde karıştırıldı. Daha sonra geri soğutucu altında 50 °C ısıtılarak 1 saat karıştırıldı. Tepkime sonunda çözelti oda sıcaklığına kadar soğutuldu, süzülerek kurutuldu. Verim: 85%; IR ν (cm⁻¹): 3364 (N-H), 2956 (C-H), 1739 (OH..O), 1563 (C=N), 1364 (C=C, Ar), 1364 (N-O), ¹H NMR (500 MHz, DMSO) 1.14 (d, 24H, -CH₃), 2.76 (m, 4H, -CH), 6.45-8.65 (m, 8H, ArH), 8.27 (s, 2H, NH), 17.22 (s, 2H, OH). MS (ESI) hesaplanan: C₄₀H₅₀N₈O₄Ni [M⁺] m/z: 764.33 C₄₀H₅₀N₈O₄Ni [M⁺+1] m/z: bulunan: 765.898



Şekil 3.5. Ni(HL₁)₂ kompleksi eldesinin gösterimi

3.2.4 Pd(HL₁)₂ Kompleksinin Eldesi

HL₁ (0.5 g, 0.45 mmol) ligandı 20 mL etanolde çözülmüş ve 5 mL etanolde çözülmüş paladyum(II)klorür (0.0411g, 0.23 mmol) çözeltisi üzerine yavaş yavaş eklenmiştir. Bu karışıma 0.5 g sodyum asetat eklenerek manyetik karıştırıcılı ısıtıcı ile geri soğutucu altında 70-75 °C de karıştırarak ısıtılmıştır. Tepkime sonunda çözelti oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve pH değeri 6 olarak tespit edilmiştir. Oluşan metal kompleksi süzülerek vakum desikatöründe kurutulmuştur. Verim: 60%; IR ν (cm⁻¹): 3362 (N-H), 2955 (C-H), 1739 (OH..O), 1563 (C=N), 1362 (C=C, Ar), 1364 (N-O),. MS (ESI) hesaplanan: C₄₀H₅₀N₈O₄Pd [M⁺] m/z: : 812.30 C₄₀H₅₀N₈O₄Pd [M⁺+1] m/z: bulunan: 813.66



Şekil 3.6. Pd(HL₁)₂ kompleksi eldesinin gösterimi

3.3 Biyolojik Çalışmada Kullanılan Materyaller

Çalışmada kullanılan mikroorganizmalardan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, MRSA *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* JM109, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bakterileri standart suşlardır ve Selçuk Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Müeller Hinton Broth, Müeller Hinton Agar besiyerleri Merck firmasından temin edilmiştir.

Disk difüzyon çalışmasında kullanılan steril antibiyotik emdirilmemiş 6 mm çaplı boş diskler Oxoid firmasından, Klaritromisin (CLR, 15 mcg), Bioanalyse firmasından temin edilmiştir.

Mikrodilüsyon Broth yönteminde kullanılan 96 kuyucuklu U tabanlı polistiren mikrotitrasyon plakları İsolab firmasından, 8 kanallı mikropipet Socorex firmasından, Klaritromisin (Klacid) Abbott firmasından ve temin edilmiştir.

3.3.1. Disk difüzyon yöntemi ile antibakteriyel aktivite tayini

Sentezlenen bileşiklerin antibakteriyel etkilerinin belirlenmesinde Bauer ve ark. (1966) yöntemi kullanılmıştır (Bauer ve ark., 1966). Bu amaçla 5 adet gram-pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, MRSA *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) ve 3 adet gram-negatif (*Escherichia coli* JM109, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) olmak üzere 8 mikroorganizma ile çalışılmıştır.

Deney için sentezlenen maddelerin steril şartlarda 10 mg/mL konsantrasyonunda DMSO ile stok çözeltileri hazırlandı. Bakteriler için besiyeri olarak Mueller-Hinton Agar (MHA) kullanılmıştır. MHA hazırlanıp sterilize edildikten sonra steril petrilere 4 mm kalınlıkta olacak şekilde döküldü. Katılaştıran agar üzerine Mc. Farland No: 0,5 (10^8 cfu/mL) yoğunluğuna Müeller Hinton Broth kullanılarak ayarlanmış bakteri kültürlerinden 100 µL eklenerek steril eküvyonla homojen bir şekilde yayıldı. Steril antibiyotik emdirilmemiş 6 mm çaplı (Oxoid) disklere sentezlenen maddelerin stok

çözeltilerinden 15 µL emdirilerek petrilere yerleştirildi. Böylelikle her bir diskte 150 µg madde olacak şekilde her bir maddenin diskleri hazırlandı. Pozitif kontrol olarak Klaritromisin (CLR, 15 mcg), Negatif Kontrol olarak sadece DMSO emdirilmiş disk kullanıldı. Besiyerleri 37°C' de 24 saat inkübe edilmiş ve bu süre sonunda disk sınırından inhibisyon zonunun bittiği, bakteri üremesinin başladığı sınıra kadar olan dairesel çap mm olarak ölçüldü. Bakteriler üzerinde denenen maddelerin zon çapları Çizelge 4.2'de verildi. Deneyle iki tekrarlı ve sonuçlar ortalama olarak verilmiştir.

3.3.2. Mikrodilüsyon broth yöntemi ile antibakteriyel aktivite tayini

Sentezlenen bileşiklerin antibakteriyel etkileri, minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri bulunarak test edildi. MİK değerleri mikrodilüsyon broth yöntemine göre 96 kuyucuklu mikrotitrasyon plaklarında gözle ve mikropilaka okuyucuyla spektrofotometrik olarak tespit edilmiştir (Kang ve ark., 2008; Jorgensen ve Turnidge, 2015)

MİK ölçümleri, 5 adet gram-pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, MRSA *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) ve 3 adet gram-negatif (*Escherichia coli* JM109, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) olmak üzere 8 mikroorganizma üzerinde yapılmıştır.

Antibakteriyel etki testi için, sentezlenen bileşiklerin DMSO içerisinde 4,096 mg/mL stok çözeltileri hazırlandı. Aktif haldeki bakteri kültürlerinden steril mikropipet yardımı ile Mc. Farland 0,5'e göre Müeller Hinton Broth (MHB) besiyerine bakteriler eklendi. Mc. Farland 0,5 bulanıklık standardına göre hazırlanan bakterilerden 1/100 oranında MHB ile seyreltme yapılarak yaklaşık olarak 10^6 cfu mL⁻¹ olacak şekilde bakteri stok kültürleri hazırlandı.

Mikrodilüsyon Broth yöntemi ile MİK tayini için; 96 kuyucuklu steril mikrotitrasyon plaklarının bütün kuyucuklarına otomatik dispenser cihazı (BioTek, MicroFill) ile 100 µL MHB besiyeri eklendi. Plakların ilk kuyucuklarına sentezlenen maddelerin stok çözeltilerinden 100 µL ilave edildi. İlk kuyucuktaki maddelerden 8 kanallı mikropipet (Socorex) yardımı ile 100'er µL alınarak 10. kuyucuğa kadar ½ seri dilüsyonlar hazırlandı. 11. kuyucuk besiyeri ve mikroorganizma içeren pozitif kontrol, son kuyucuk sadece besiyeri içeren negatif kontrol olarak seçildi. Daha sonra otomatik

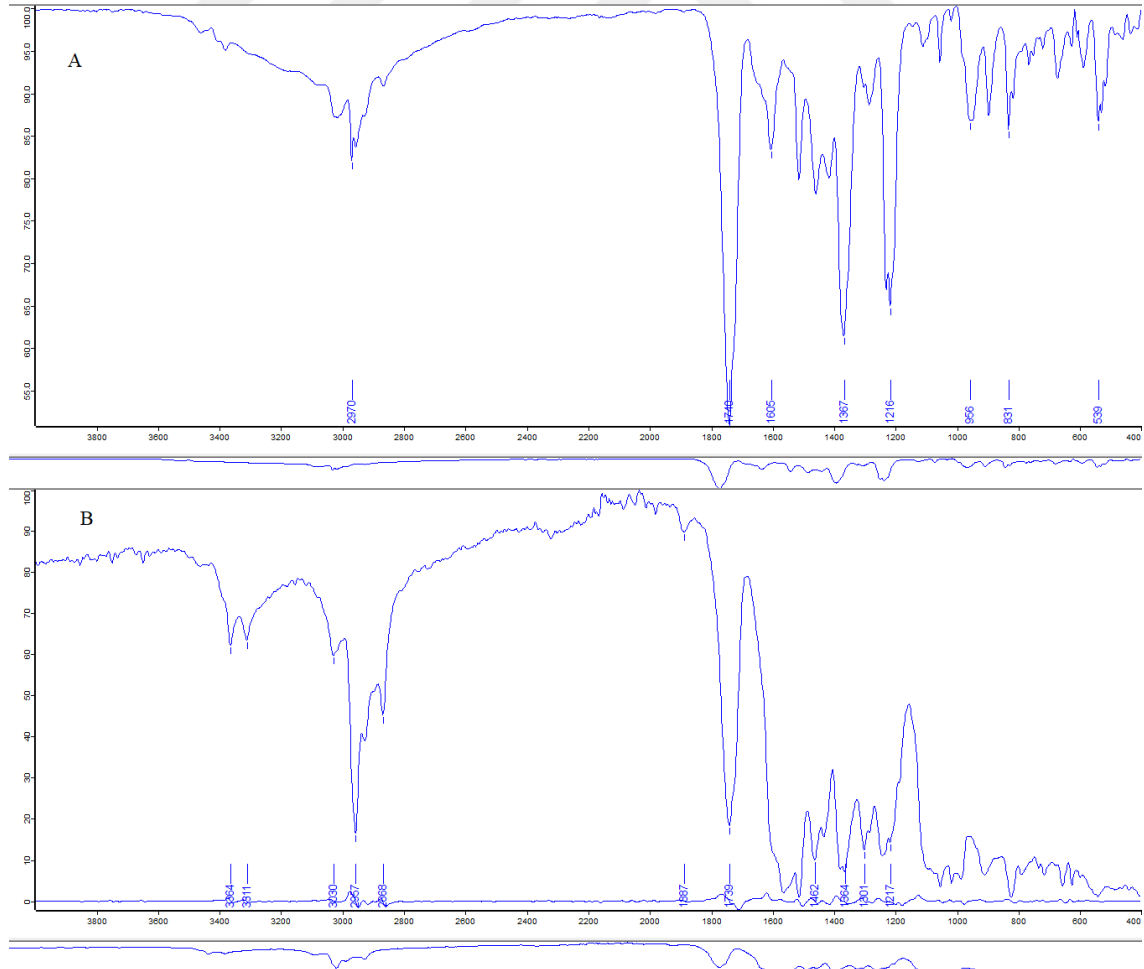
dispenser ile mikrotitrasyon plaklarının 12. sırası hariç bütün kuyucuklara stok bakteri kültürlerinden 100 µL ilave edilerek kapakları kapatıldı. Aynı işlemler kontrol standardı olarak kullanılan Klaritromisin için de uygulandı. Böylelikle kuyucuklarda $\approx 5 \times 10^5$ cfu mL⁻¹ yoğunlukta bakteriyle birlikte ilk kuyucukta 1024 µg/mL olmak üzere ½ azalan konsantrasyonlarda sentez maddeleri bulunmaktadır (kontrol standardı olan klaritromisin ilk kuyucukta 128 µg/mL olacak şekilde ayarlanmıştır). 24 saat süreyle 37°C de inkübe edilen plaklarda üremenin görülmediği en düşük konsantrasyonu temsil eden kuyucuk MİK değeri olarak kabul edilmiştir. MİK değerleri ayrıca mikropilaka okuyucu (BioTek, µQuant) ile 600 nm dalga boyundaki absorbanlar ölçülerek spektrofotometrik olarak da doğrulanmıştır. Deneyler çift tekrarlıdır ve sonuçlar Çizelge 4.3’de verilmiştir.

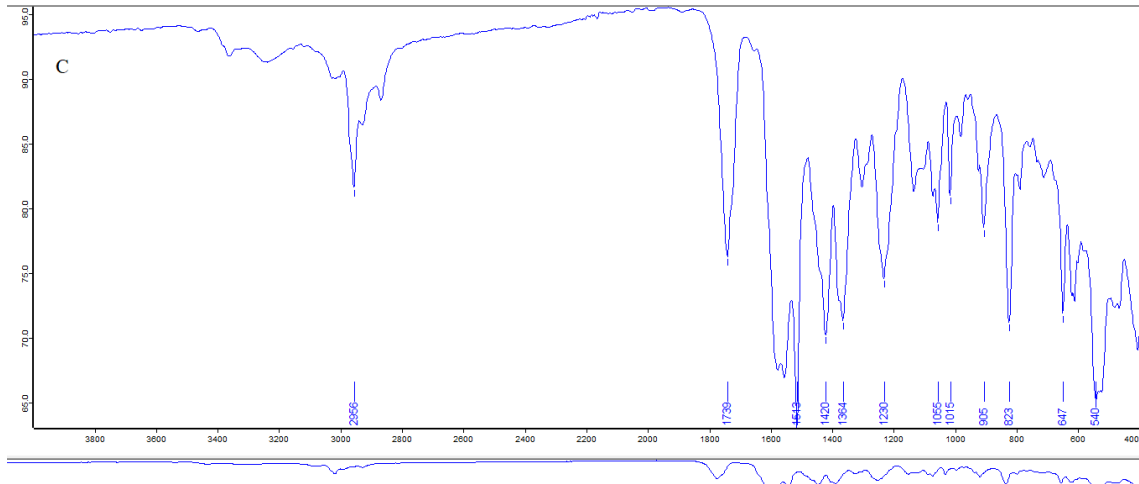


4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Sentezlenen Bileşiklerin Karakterizasyonu

Sentezlenen ligandın (HL₁) IR spektrumu incelendiğinde; 3460 cm⁻¹ (N-H), 3380 cm⁻¹ (O-H), 1605 cm⁻¹ (C=N), 1562 cm⁻¹ (C=C, Ar), 1367 cm⁻¹ (N-O) gerilimlerine ait pikler görülmektedir. 4-izopropilanilin bileşiği için -NH₂ grubuna ait 3430 cm⁻¹ ve 3384 cm⁻¹'de asimetrik ve simetrik gerilme titreşimlerinin, oksim ligandının oluşması durumunda ve NH'a ait 3460 cm⁻¹'de ve oksim OH'larına ait 3380 cm⁻¹'de titreşim absorpsiyon bandlarının ortaya çıktığı görülmüştür. Ligandın sentezlendiğini gösteren diğer önemli veri, 1605 cm⁻¹'de (C=N) gerilmelerine ait piklerdir. Bileşiklere ait spektrumlarda dikkati çeken en önemli özellik, ligand ve komplekslerine ait benzer grupların titreşimlerine ait bantların çok az kaymalarla yerlerini muhafaza etmeleridir. Bu komplekslerin kızılötesi spektrumlarını incelerken, ligandların görünmez (OH---O) bükülme titreşimi, 1739 cm⁻¹'de molekül içi hidrojen köprülerinin varlığını gösterdi. (Çizelge 4.1).



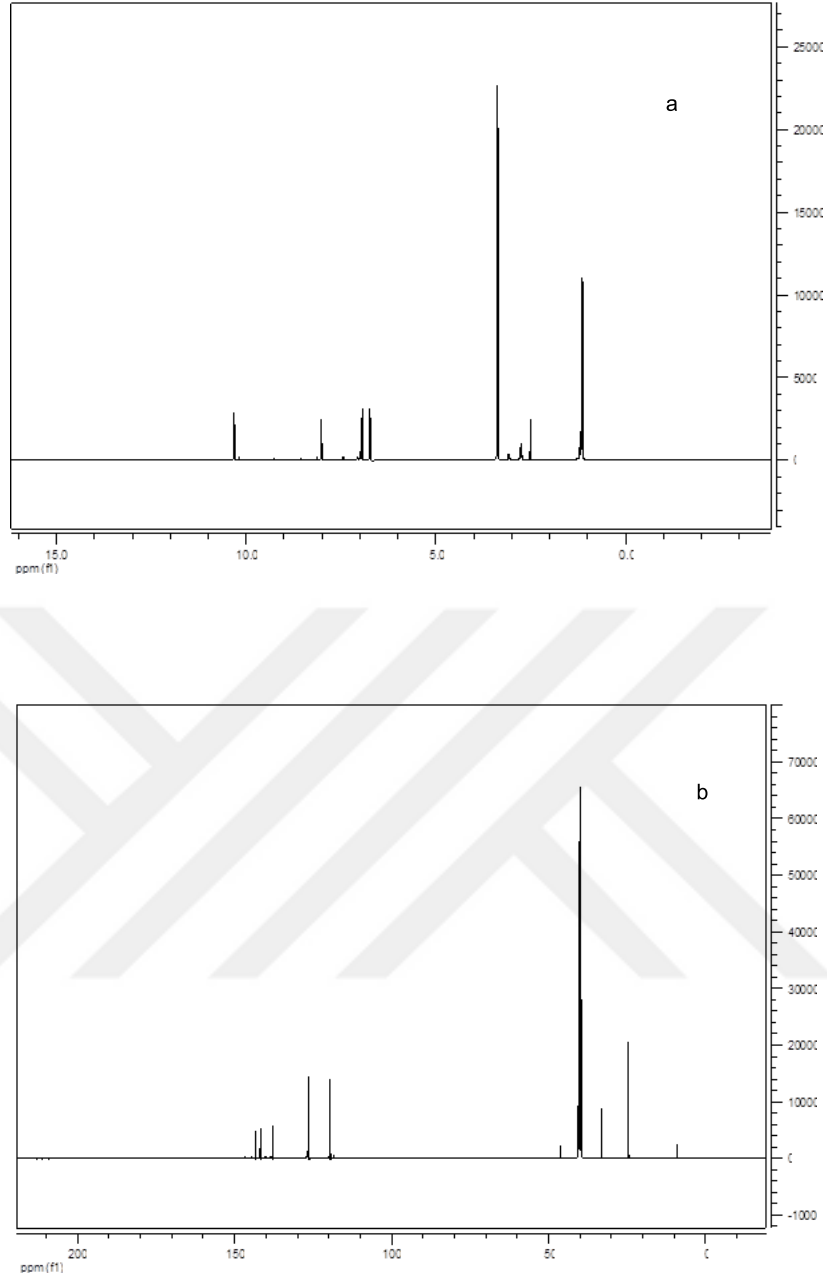


Şekil 4.1. a) 1,2 bis [4-izopropilanilin]-*vic*-dioksim b) Ni(HL₁)₂ kompleksi
c) Pd(HL₁)₂ kompleksi IR spektrumu

Çizelge 4.1 Sentezlenen maddelerin karakteristik FT-IR bantları (cm⁻¹)

Bileşik	$\nu(\text{NH})$	$\nu(\text{OH})$	$\nu(\text{OH}\cdots\text{O})$	$\nu(\text{C}=\text{N})$	$\nu(\text{NO})$
HL ₁	3460	3380	-	1605	1367
Ni(HL ₁) ₂	3364	-	1739	1563	1364
Pd(HL ₁) ₂	3362	-	1739	1576	1364

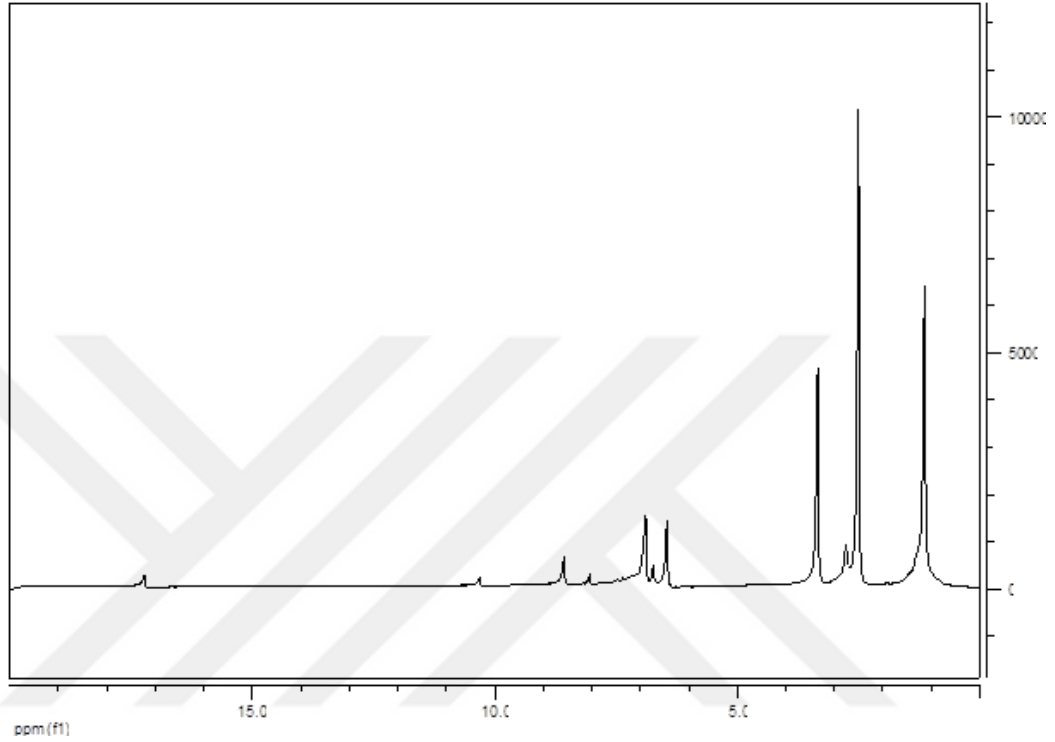
Sentezlenen ligandın (HL₁) ¹H-NMR spektrumu değerlendirildiğinde; 6.95, 6.74, 2.76 1.15 ppm değerlerinde görülen pikler 4-izopropilanilin bileşiğine ait olan sinyallerdir. 4-izopropilanilin bileşiğinin, diklorglioksime bağlanması sonucu oluşan –NH grubuna ait 8.01 ppm’de singlet pik gözlenmiştir. Bu pikin ¹H NMR spektrumunda gözlenmesi ligandın sentezlendiğini gösteren en önemli bulgudur. Ayrıca 10.31 ppm’de gözlenen ve 2 hidrojen atomuna ait olan singlet pik, aynı kimyasal çevreye sahip olan *anti* konumundaki –OH gruplarına aittir (Şekil 4.2a). Bu bileşiğin ¹³C-NMR spektrumu yapıdaki C atomlarını net bir şekilde göstermiştir. Ligandın yapısındaki oksim gruplarına (–C=NOH) ait sinyalin 143.32 ppm’de gözlenmesi yapıyı doğrulamaktadır. Aromatik yapıdaki karbon atomu sinyalleri 119.67, 126.44, 137.90, 141.90’de gözlenmiştir (Şekil 4.2b). Ek olarak, bileşiğin kütle spektrumu alınarak [M]⁺ moleküler iyon piiki yapıyı doğrulamıştır (Şekil 4.4a).



Şekil 4.2. Sentezlenen ligandın (HL_1) a) ^1H NMR spektrumu b) ^{13}C NMR spektrumu

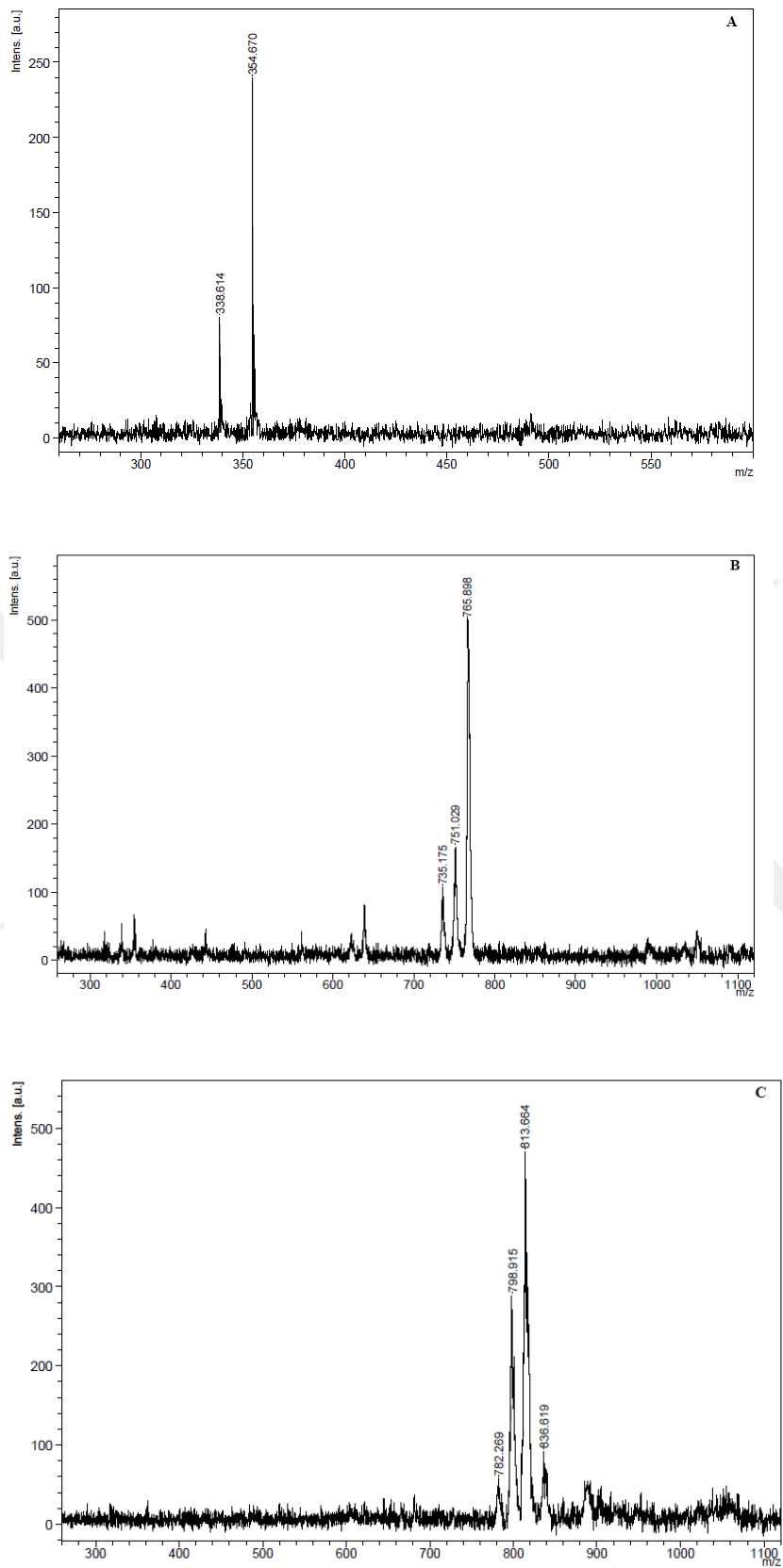
$\text{Ni}(\text{II})$ ve $\text{Pd}(\text{II})$ komplekslerinin ^1H -NMR spektrumuna bakıldığında, piklerin yaygınlaştığı ve karmaşıklığın birbirlerine yaklaştıkça arttığı gözlemlendi. Yayvanlaşmanın nedeni izotop etkisi ile açıklanabilir. Piklerde üst üste binmeler meydana gelir, çünkü paramanyetik olan ve belirli bir I (spin kuantum sayısı) değerine sahip metal atomlarının izotopları hidrojen ile etkileşime giriyor. Ligandın ve onun $\text{Ni}(\text{II})$ ve $\text{Pd}(\text{II})$ kompleksinin kimyasal kayma değerleri karşılaştırıldığında, kompleksleşme sonucu kimyasal kayma değerlerinde farklılık görülmektedir. Beklendiği gibi, kompleks

spektrumundaki bu farklılıklar ligandın metal atomu ile koordine edildiğini gösterir. Ayrıca ligandın Ni(II) metali ile kompleks oluşturması esnasında oluşan O-H---O grubuna ait kimyasal kayma değeri geniş bir singlet pik olarak 17.22 ppm görülmektedir ve bu değer literatürdeki oksim çalışmaları ile uyum içindedir.



Şekil 4.3. Sentezlenen Ni(HL₁)₂ kompleksinin ¹H NMR spektrumu

Ayrıca Ni(II) kompleksinin FAB yöntemine göre kaydedilen kütle spektrumu spektrumunda yapıyı doğrulayacak şekilde [M+1]⁺ mol kütlelerinin bir fazlası olan pik 765.89'da bulunduğu gözlenmiştir(Şekil 4.4b). Pd(HL₁)₂ kompleksinin ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde pikler nikel kompleksi gibi net değildir. Bu kompleksin yapısını doğrulamadaki en önemli veri kütle spektrumunun kaydedilmesidir. Kompleksin kütle spektrumunda, [M+1]⁺ mol kütlelerinin bir fazlası olan pik 813.66'da bulunduğu gözlenmiştir(Şekil 4.4c).



Şekil 4.4. Sentezlenen bileşiklerin kütle spektrumu a) HL₁ b) Ni(HL₁)₂ c) Pd(HL₁)₂

4.2. Sentezlenen Maddelerin Biyolojik Aktiviteleri

Tez çalışmasında sentezlenen yeni 4-isopropil anilin (cumidine) türevi simetrik vic-dioksim ligandı ve onun Ni^{+2} , Pd^{+2} komplekslerinin *in-vitro* antibakteriyel etkilerinin araştırılması amacı ile “Disk Diffüzyon Yöntemi” ve “Mikrodilüsyon Broth Metodu” kullanılmıştır. Bu amaçla 5 adet gram-pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, MRSA *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) ve 3 adet gram-negatif (*Escherichia coli* JM109, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) olmak üzere 8 mikroorganizma ile çalışılmıştır.

Disk difüzyon metodu takip edilerek gerçekleştirilen antibakteriyel etki sonuçları Çizelge 4.2’de ve inhibisyon zonlarının görüntüleri Şekil 4.5’de verilmiştir (Bauer ve ark.,1966). Bu maddelerin antibakteriyel etkileri, standart Klaritromisin (CLR, 15 mcg) antibiyotiği ile karşılaştırılmıştır. Negatif Kontrol olarak da DMSO emdirilmiş diskler kullanılarak çözücünün antibakteriyel etkisinin olup olmadığı test edilerek herhangi bir etki göstermediği bulunmuştur.

Çizelge 4.2. Sentezlenen maddelerin disk difüzyon metoduna göre antibakteriyel aktiviteleri*

Madde	Gram-pozitif bakteriler					Gram-negatif bakteriler		
	<i>S. a</i>	MRSA	<i>S. e</i>	<i>B. c</i>	<i>E. f</i>	<i>E. c</i>	<i>K. p</i>	<i>P. a</i>
L	26	19	17	18	13	-	14	-
L ₂ (Ni)	10	9	8	10	8	-	-	-
L ₂ (Pd)	-	-	-	-	-	-	-	-
CLR	27	-	-	27	23	8	21	14
DMSO	-	-	-	-	-	-	-	-

* : Değerler, 6 mm’lik disk çapı dâhil inhibisyon zonlarının çaplarını (mm) göstermektedir.

S. a : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

MRSA : Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ATCC 43300

S. e : *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984

B. c : *Bacillus cereus* ATCC 11778

E. f : *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

E. c : *Escherichia coli* JM109

K. p : *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603

P. a : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

CLR : Klaritromisin (CLR, 15 mcg)

DMSO : Dimetil sülfoksit (negatif kontrol)

- : Etkisiz

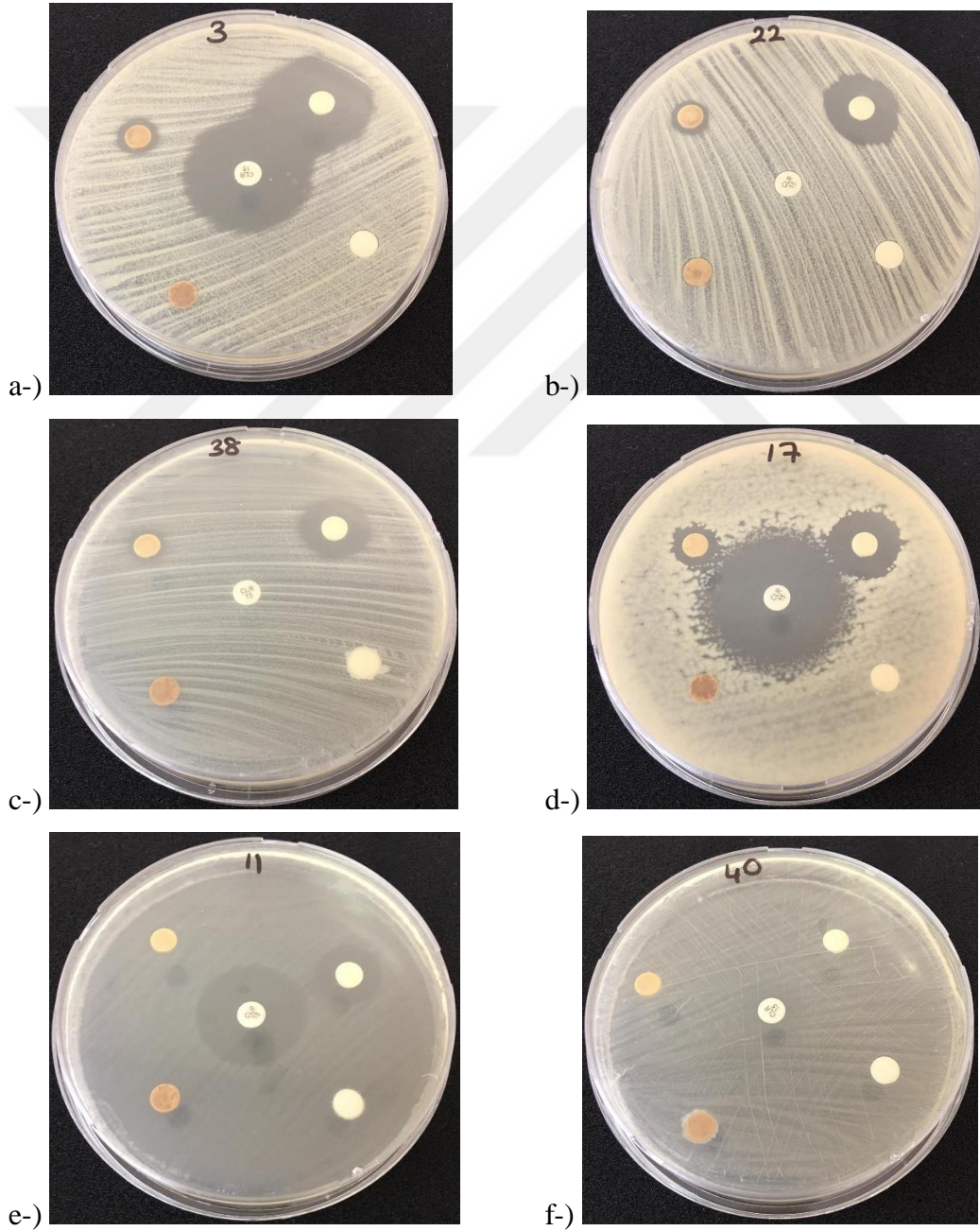
Çizelge 4. 3. Sentezlenen maddelerin Mikrodilüsyon Broth Yöntemi ile antibakteriyel aktiviteleri (MİK, µg/mL)

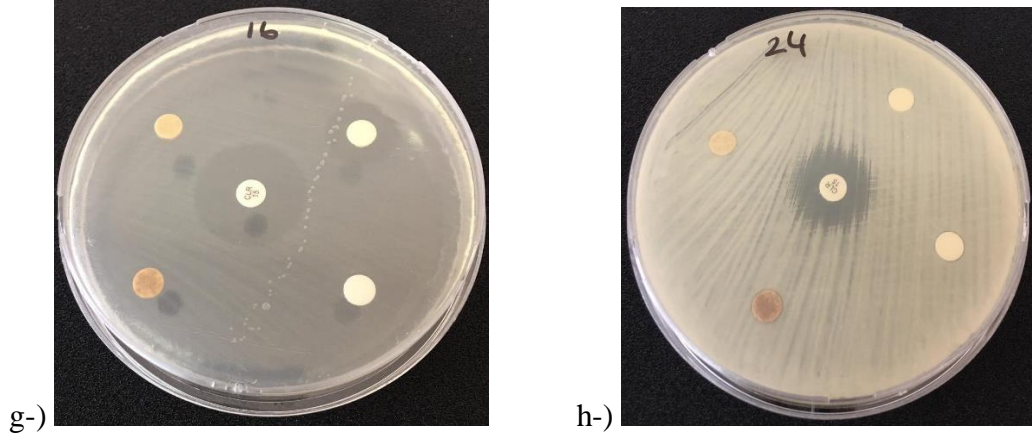
Madde	Gram-pozitif bakteriler					Gram-negatif bakteriler		
	<i>S. a</i>	MRSA	<i>S. e</i>	<i>B. c</i>	<i>E. f</i>	<i>E. c</i>	<i>K. p</i>	<i>P. a</i>
L	4	4	4	<2	8	256	8	512
L ₂ (Ni)	64	64	64	64	64	512	64	512
L ₂ (Pd)	1024	1024	1024	512	512	512	512	512
CLR	0,5	>128	>128	<0,25	1	64	0,5	64

- S. a* : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 MRSA : Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ATCC 43300
S. e : *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984
B. c : *Bacillus cereus* ATCC 11778
E. f : *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
E. c : *Escherichia coli* JM109
K. p : *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603
P. a : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
 CLR : Klaritromisin

Sonuçlar incelendiğinde sentezlenen ligandın bakteriler üzerinde oldukça etkili olduğu gözlenmiştir. Komplekslerden Pd(II) kompleksinin bakteriler üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı, Ni(II) kompleksinin ise orta derecede etkili olduğu bulunmuştur. 4-isopropil fenil türevi simetrik bir dioksim olan ligand; test edilen gram pozitif bakteriler üzerinde daha etkili olurken, gram negatifler içerisinde sadece *Klebsiella pneumoniae* ya karşı orta derecede etki göstermiştir. Liganda en duyarlı bakteri 26 mm zon çapı değeriyle *Staphylococcus aureus* olmuştur. Kontrol antibiyotiği klaritromisininin zon çapı olan 27 mm değeriyle yaklaşık aynı etkiye sahip olan ligandın MİK değeri de 4 µg/mL olarak ölçülmüştür. Bu değerler dioksimin, fırsatçı bir patojen olan *Staphylococcus aureus* üzerinde oldukça etkili olduğunu göstermektedir. Hastane enfeksiyonlarında önemli bir enfeksiyon etmeni olan metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) bakterisi klinik örneklerden sıklıkla izole edilen ve birçok antibiyotiğe yüksek direnç oranlarıyla dikkat çeken bir bakteridir. Kontrol antibiyotiği olan klaritromisininin etki göstermediği MRSA'ya karşı ligand, 19 mm zon çapı ve 4 µg/mL MİK değeriyle oldukça etkili olduğu bulunmuştur. *Staphylococcus epidermidis* nozokomiyal (hastane kaynaklı) enfeksiyonlara neden olan fırsatçı bir patojendir. Özellikle katater, protez ve implantlar gibi vücuda sonradan eklenen tıbbi cihazlarda biofilm oluşumuna neden olmasıyla bilinen dirençli bir bakteridir (Fey ve Olson, 2010). Ligand, kontrol antibiyotiği olan klaritromisininin etki göstermediği *S. epidermidis* üzerinde 17 mm zon çapı ve 4 µg/mL MİK değeriyle önemli bir antibakteriyel aktivite göstermiştir. *Bacillus*

cereus'a karşı ise 18 mm zon çapı ve <2 $\mu\text{g/mL}$ MİK değeriyle dikkat çeken ligandın antibakteriyel etkisinin stafilokoklar dışında farklı gram pozitif türler üzerinde de etkili olduğu bulunmuştur. Sağlıklı bireylerde patojenik olmamakla birlikte bağışıklığı düşük veya baskılanmış hastalarda nozokomiyal enfeksiyonlara yol açan fırsatçı bir patojen *Enterococcus faecalis*'e karşı ligand, 13 mm zon çapı ve 8 $\mu\text{g/mL}$ MİK değeriyle orta derecede etkili olmuştur. Ligand test edilen üç gram negatif bakteri içinde *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde antibakteriyel etki göstermezken, *Klebsiella pneumoniae*'ya karşı 14 mm zon çapı ve 8 $\mu\text{g/mL}$ MİK değeriyle orta derecede etki göstermiştir.





Şekil 4.5. Disk diffüzyon metoduna göre maddelerin bakteriler üzerindeki inhibisyon zonları. Maddelerin petrideki yerleşme düzeni; sağ üst: Ligand, sol üst: L₂(Ni), sol alt: L₂(Pd) sağ alt: DMSO, orta: CLR. a-) *Staphylococcus aureus*, b-) MRSA c-) *Staphylococcus epidermidis*, d-) *Bacillus cereus*, e-) *Enterococcus faecalis*, f-) *Escherichia coli*, g-) *Klebsiella pneumoniae*, h-) *Pseudomonas aeruginosa*.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, dikloroglioksim bileşiğine dayanan *vic*-dioksim ligandı ve bunun Ni(II) ve Pd(II) kompleksleri sentezlenmiştir. Sentezlenen ligandların ve komplekslerin yapısı, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve FT-IR çalışmaları ile aydınlatılmıştır.

“Disk Diffüzyon Yöntemi” ve “Mikrodilüsyon Broth Metodu” kullanılarak sentezlenen *vic*-dioksim ligandı ve Ni(II) ve Pd(II) komplekslerinin, *in-vitro* ortamda antibakteriyel etkileri incelenmiştir. Bu amaçla 5 adet gram-pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, MRSA *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) ve 3 adet gram-negatif (*Escherichia coli* JM109, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) olmak üzere 8 mikroorganizma ile çalışılmıştır.

Sentezlenen ligand ve komplekslerin potansiyel biyoaktif özellikleri sıklıkla hastane enfeksiyonlarına neden olması ile ön planda olan ve antibiyotiklere direnç kazanma potansiyelleri yüksek olan bir dizi standart gram negatif ve pozitif bakteri suşu üzerinde denenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde ligandın önemli derecede antibakteriyel etki gösterdiği ve biyoaktif bir ajan olarak değerlendirilebilecek potansiyele sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Komplekslerin antibakteriyel etkileri ise beklenenin aksine düşük yada etkisizdir. Pd(II) kompleksi bakterler üzerinde etki göstermezken, Ni(II) kompleksi düşük etki göstermiştir. Ligandın gösterdiği bu ilginç antibakteriyel özellik, mekanizma çalışmalarıyla aydınlatılıp daha kapsamlı çalışmaların yapılması için teşvik edicidir.

KAYNAKLAR

- Abele, E., Abele, R. ve Lukevics, E., 2004, Pyrrole Oximes: Synthesis, Reactions, and Biological Activity, *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 40 (1), 1-15.
- Archer, C. M., Burke, J. F., Canning, L. R., Edwards, B. ve King, A. C., 1999, Radiometal complexes that localise in hypoxic tissue, Google Patents.
- Babahan, I., Coban, E. P. ve Biyik, H., 2013, Synthesis, characterisation and antimicrobial activities of vic-dioxime derivatives containing heteroaromatic hydrazone groups and their metal complexes, *Maejo International Journal of Science and Technology*, 7 (1), 26-41.
- Babahan, I., Özmen, A. ve Aslan, K., 2017, Synthesis and use of dioxime ligands for treatment of leukemia and colon cancer cells, *Applied Organometallic Chemistry*, 31 (11), e3752.
- Başkale, G., 2007, Mononükleer ve polinükleer rutenyum-oksım komplekslerinin sentezi ve molekül yapısı, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C. ve Turck, M., 1966, Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method, *American Journal of Clinical Pathology*, 45 (4-ts), 493-496.
- Çelik, T. A., Sarikavakli, N. ve Aslantürk, Ö. S., 2019, In vitro cytotoxic and apoptotic effect of vic-dioxime ligand and its metal complexes, *Applied Organometallic Chemistry*, 33 (4), e4818.
- Chakravorty, A., 1974, Structural chemistry of transition metal complexes of oximes, *Coordination Chemistry Reviews*, 13 (1), 1-46.
- Chitrapriya, N., Mahalingam, V., Zeller, M., Lee, H. ve Natarajan, K., 2010, Synthesis, characterization, DNA binding and cleavage studies of Ru(II) complexes containing oxime ligands, *Journal of Molecular Structure*, 984 (1), 30-38.
- Darendeli, B., 2014, Dioksim Türevi Metal Komplekslerin Depozisyon İşlemlerinde Öncül Olarak Kullanılabilirliklerinin İncelenmesi, *Çukurova Üniversitesi*, Adana, 106.
- Demir, I., Bayrakçı, M., Mutlu, K. ve Pekacar, A. İ., 2008, Synthesis and Characterization of a Novel Iminooxime Schiff Base Ligand and Its Complexation with Copper (II), Nickel (II), Zinc (II), Cadmium (II), and Cobalt (II), *Acta Chimica Slovenica*, 55 (1).
- Deveci, P. ve Taner, B., 2013, Synthesis, spectroscopic, and cyclic voltammetric studies of ferrocene containing vic-dioxime ligand and its complexes with Ni(II), Cu(II), Co(II), Cd(II) and Zn(II), *Inorganica Chimica Acta*, 405, 326-330.
- Dutta, G., Kumar, K. ve Gupta, B. D., 2009, Cobaloximes with Bis(thiophenyl)glyoxime: Synthesis and Structure–Property Relationship Study, *Organometallics*, 28 (12), 3485-3491.
- Ertas, M., Ahsen, V., Gül, A. ve Bekâröğlü, Ö., 1987, Synthesis of bis (ferrocenylamino) glyoxime and its nickel (II) complex, *Journal of organometallic chemistry*, 333 (3), 383-385.
- Fey, P. D. ve Olson, M. E., 2010, Current concepts in biofilm formation of Staphylococcus epidermidis, *Future Microbiology*, 5 (6), 917-933.
- Gnichtel, H. ve Boehringer, U., 1980, Die Beckmann-Reaktion bei phenylsubstituierten 1,3-Dioximen, *Chemische Berichte*, 113 (4), 1507-1513.

- Gupta, B. D., Yamuna, R. ve Mandal, D., 2006, Cobaloximes with Mixed Dioximes of Glyoxime and Diphenylglyoxime: Synthesis, Characterization, CV, X-ray Studies, and Crystal Packing, *Organometallics*, 25 (3), 706-714.
- Güzel, B., Avşar, G. ve Cınkır, H., 2007, Supercritical Carbon Dioxide-Soluble Fluorous vic-Dioxime Ligands and their Ni(II) Complexes: Synthesis, Characterization and Solubility Properties, *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry*, 37 (10), 801-804.
- Jorgensen, J. H. ve Turnidge, J. D., 2015, Susceptibility Test Methods: Dilution and Disk Diffusion Methods*, In: Manual of Clinical Microbiology, 11th Edition, Eds: American Society of Microbiology, p. 1253-1273.
- Jurisson, S. S. ve Lydon, J. D., 1999, Potential technetium small molecule radiopharmaceuticals, *Chemical Reviews*, 99 (9), 2205-2218.
- Kandaz, M., Yılmaz, İ., Keskin, S. ve Koca, A., 2002, Synthesis, spectroscopy and redox properties of a novel (E-E) vic-dioxime and its mono-, di- and trinuclear complexes bearing an 18-membered N₂O₂S₂ macrocycle, *Polyhedron*, 21 (8), 825-834.
- Kang, M.-S., Choi, E.-K., Choi, D.-H., Ryu, S.-Y., Lee, H.-H., Kang, H.-C., Koh, J.-T., Kim, O.-S., Hwang, Y.-C., Yoon, S.-J., Kim, S.-M., Yang, K.-H. ve Kang, I.-C., 2008, Antibacterial activity of pyrrolidine dithiocarbamate, *Fems Microbiology Letters*, 280 (2), 250-254.
- Karatas, I., Ucar, H. ve İrez, G., 1992, Synthesis of some substituted bis (vic-dioximes) and their polymeric metal complexes, *CHIMICA ACTA TURCICA-ISTANBUL*, 20, 167-167.
- Kotali, A. ve Papageorgiou, V. P., 1991, THE CHEMISTRY OF 1,3-DIOXIMES. A BRIEF REVIEW, *Organic Preparations and Procedures International*, 23 (5), 593-610.
- Kukushkin, V. Y. ve Pombeiro, A. J. L., 1999, Oxime and oximate metal complexes: unconventional synthesis and reactivity, *Coordination Chemistry Reviews*, 181 (1), 147-175.
- Kurtoglu, M., 1999, Noniyonik grup içeren yeni oksim bileşiklerinin bu bileşiklerin metal komplekslerinin sentezlenmesi ve karakterizasyonu, *Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Adana, 84s.*
- Laranjeira, M. C., Marusak, R. A. ve Lappin, A. G., 2000, Driving force effects in proton coupled electron transfer, *Inorganica Chimica Acta*, 300, 186-190.
- Malmström, B. G., 1993, Vectorial Chemistry in Bioenergetics: Cytochrome c Oxidase as a Redox-Linked Proton Pump, *Accounts of Chemical Research*, 26 (6), 332-338.
- Motaleb, M. A. ve Selim, A. A., 2019, Dioximes: Synthesis and biomedical applications, *Bioorganic chemistry*, 82, 145-155.
- Özcan, E. ve Mirzaoğlu, R., 1988, Synthesis of Four New Substituted Arylamino-glyoximes and Their Complexes with Copper(II), Nickel(II), Cobalt(II), and Palladium(II), *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry*, 18 (6), 559-574.
- Özer, M., Kandaz, M., Rıza Özkaya, A., Bulut, M. ve Güney, O., 2008, Fluorescent vic-dioxime-type ligand and its mono- and dinuclear complexes: The preparation, spectroscopy, and electrochemistry of its various complexes, *Dyes and Pigments*, 76 (1), 125-132.
- Öztürk, S., 2016, Yeni vic-dioksim ve komplekslerinin sentezi ile özelliklerinin incelenmesi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.*

- Smith, P. A. S., 1966, The Chemistry of Open-chain Organic Nitrogen Compounds: Derivatives of oxidized nitrogen: hydrazines to nitrates, WA Benjamin, p.
- Stephanidou-Stephanatou, J., 1985, Oxidative cyclization of some 1,3-dioximes with lead tetraacetate, *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 22 (2), 293-295.
- Su, Z. F., Ballinger, J. R., Rauth, A. M., Abrams, D. N. ve Billingham, M. W., 2000, A novel amine-dioxime chelator for technetium-99m: Synthesis and evaluation of 2-nitroimidazole-containing analogues as markers for hypoxic cells, *Bioconjugate Chemistry*, 11 (5), 652-663.
- Topal, T., Kart, H. H., Tunay Taşlı, P. ve Karapınar, E., 2015, Synthesis and structural study on (1E,2E,1'E,2'E)-3,3'-bis[(4-bromophenyl)-3,3'-(4-methy-1,2-phenylene diimine)] acetaldehyde dioxime: A combined experimental and theoretical study, *Optics and Spectroscopy (English translation of Optika i Spektroskopiya)*, 118 (6), 865-881.
- Volkert, W. A. ve Hoffman, T. J., 1999, Therapeutic radiopharmaceuticals, *Chemical Reviews*, 99 (9), 2269-2292.
- Yaul, S. R., Yaul, A., Pethe, G. B. ve Aswar, A. S., 2009, Synthesis and characterization of transition metal complexes with N, O-chelating Hydrazone Schiff base ligand, *Am-Euras. J. Sci. Res*, 4 (4), 229-234.
- Yildirim, B., Özcan, E. ve Deveci, P., 2007, New glyoxime derivatives and their transition metal complexes, *Russian Journal of Coordination Chemistry*, 33 (6), 417-421.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Nameer Mohanad DHEYAB DHEYAB
Uyruğu : Irak
Doğum Yeri ve Tarihi : 18.08.1993
Telefon : 05355927519
Faks :
e-mail : Nameermohanad@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	
Üniversite	: Kerkük Üniversitesi	2016
Yüksek Lisans	:	
Doktora	:	

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
-----	-------	--------

UZMANLIK ALANI

YABANCI DİLLER

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR