

BAZI 1-[2-(SÜBSTİTÜE PİROL-1-İL)ETİL]-2-METİL-5-
NİTROİMİDAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE
ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ecz. Ahmet Çağrı Karaburun

Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği Uyarınca
Farmasötik Kimya Anabilimdalı'nda
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

Danışman: Prof. Dr. Şeref DEMİRAYAK

Haziran 1997

Tezimin bir kısmından ve
tamamından fotokopi çek
izin veriyorum.

ÖZET

Bu çalışmada, bazı 1-[2-(süstitüe pirol-1-il)etil]-2-metil-5-nitroimidazol türevleri, metronidazol bileşğinden hazırlanan 2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazolil)etilamin dihidroklorür bileşğinin, beş değişik 1,4-dikarbonil türeviyle asetik asid içerisinde ısıtılmasıyla sentezlendi. Elde edilen bileşiklerin yapıları UV, IR, ¹H-NMR ve MASS spektroskopik verileri ve elementel analiz sonuçları kullanılarak aydınlatıldı. Bileşiklerin antimikrobiyal etkileri araştırıldı.

ANAHTAR KELİMELEK

Metronidazol, nitroimidazol, pirol, antimikrobiyal etki

SUMMARY

In this study, some 1-[2-(substituted pyrrol-1-yl)ethyl]-2-methyl-5-nitroimidazole derivatives were synthesized by reacting 2-(2-methyl-5-nitro-1H-imidazolyl)ethylamine dihydrochloride, which was prepared using metronidazole, with some 1,4-dicarbonyl compounds. The structure elucidation of the compounds were performed by UV, IR, ¹H-NMR and MASS spectroscopic data and elemental analyses results. Antimicrobial activities of the compounds were examined.

KEY WORDS

Metronidazole, nitroimidazole, pyrrole, antimicrobial activity

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	i
SUMMARY.....	ii
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.KAYNAK BİLGİLERİ.....	5
2.1.Nitroimidazol Türevleri Hakkında Bilgi.....	5
2.2.Pirol Türevleri Hakkında Bilgi.....	6
Pirolün Genel Sentez Yöntemleri	
2.2.1.Tip A Sentezi.....	7
2.2.2.Tip B Sentezi.....	10
2.2.3.Tip C Sentezi.....	15
2.2.4.Tip D Sentezi.....	15
2.2.5.Tip E Sentezi.....	15
3.GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	16
3.1.Araç ve Gereçler.....	16
3.1.1.Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	16
3.1.2.Kullanılan Elektronik Aletler.....	16
3.2.Başlangıç Maddelerinin Eldesi.....	17
3.2.1. α -Bromoasetofenon Türevlerinin Eldesi Genel Yöntem.....	17
3.2.2. 1-Fenil-3-karbetoksi-1,4-pentadion Türevlerinin Eldesi Genel Yöntem.....	17
3.2.3. 2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)etilamin dihidroklorür'ün Eldesi.....	17
3.2.4. 1-[2-(Süstitüe pirol-1-il)etil]-2-metil-5-nitroimidazol Türevlerinin Eldesi Genel Yöntem.....	18
3.3.Elde Edilen Bileşiklerin Analizi.....	19
3.4.Antimikrobiyal Etki Çalışmaları.....	20
3.4.1.Antibakteriyel Etki Testi Yöntemi.....	20
3.4.2.Antifungal Etki Testi Yöntemi.....	20

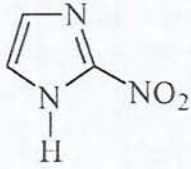
4.SONUÇ VE TARTIŞMA.....	22
4.1.Bileşiklerin Sentezi.....	22
4.1.1. Başlangıç Maddelerinin Eldesi.....	22
4.1.2. 1-[2-(Süstitüe pirol-1-il)etil]-2-metil-5-nitroimidazol Türevlerinin Eldesi.....	27
4.2.Elde Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini.....	43
4.2.1. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi.....	43
UV Bulguları.....	43
IR Bulguları.....	43
NMR Bulguları.....	43
MASS Bulguları.....	44
4.3.Antimikrobiyal Etki Bulguları.....	47
5.KAYNAKLAR.....	49
ÖZGEÇMİŞ.....	56

TABLO VE ŞEKİLLER

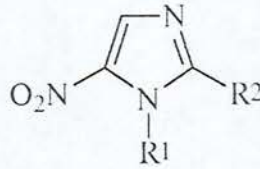
	<u>Sayfa</u>
Şekil 3.1. Bileşik 1'e ait UV Spektrumu.....	28
Şekil 3.2. Bileşik 1'e ait IR Spektrumu.....	28
Şekil 3.3. Bileşik 1'e ait NMR Spektrumu.....	29
Şekil 3.4. Bileşik 2'ye ait NMR Spektrumu.....	31
Şekil 3.5. Bileşik 3'e ait UV Spektrumu.....	33
Şekil 3.6. Bileşik 3'e ait IR Spektrumu.....	33
Şekil 3.7. Bileşik 3'e ait NMR Spektrumu.....	34
Şekil 3.8. Bileşik 3'e ait EI-MS Spektrumu.....	34
Şekil 3.9. Bileşik 3'e ait ES-MS Spektrumu.....	35
Şekil 3.10. Bileşik 4'e ait NMR Spektrumu.....	37
Şekil 3.11. Bileşik 5'e ait UV Spektrumu.....	39
Şekil 3.12. Bileşik 5'e ait IR Spektrumu.....	39
Şekil 3.13. Bileşik 5'e ait NMR Spektrumu.....	40
Şekil 3.14. Bileşik 5'e ait EI-MS Spektrumu.....	40
Şema 4.5 Bileşik 3'e ait Mass Parçalanma Şeması.....	45
Şema 4.6 Bileşik 5'e ait Mass Parçalanma Şeması.....	46
Tablo 1. Bileşikler İçin Elde Edilen Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) Değerleri.....	47

1- GİRİŞ VE AMAÇ

Azomisin'in (2-nitroimidazol), streptomyces türlerinden izolasyonu ve antibakteriyel ve antitrikomonal etkilerinin saptanmasıyla birlikte⁽¹⁾, nitroimidazol türevlerine olan ilgi de artmıştır. Ancak, 2-nitroimidazol türevlerinin sentezinin zor ve pahalı olması nedeniyle, çalışmaların yönü 5-nitroimidazol türevlerine çevrilmiştir. Gerçekte bu türevlerin önemi, imidazol yapısından ziyade, nitro grubundan ileri gelmektedir.⁽²⁻⁴⁾ Yani farmakoforik yapı nitro grubudur. Zira, nitro grubunun amino grubuna indirgenmesi sonucu elde edilen türevlerin etkisiz oldukları bilinmektedir. Bunun yanında, nitrofuran ve nitrotiyazol türevlerinin de benzer etkiler vermesi, bu görüşü doğrular yöndedir. Ancak, bu türevlerin nitro grubunun mikroorganizmada indirgenmesi sırasında oluşan reaktif ara ürünlerinin, mikroorganizmanın DNA'sına bağlanarak letal etkiyi ortaya çıkarttıkları konusunda kuramlar ileri sürülmüştür.⁽³⁾

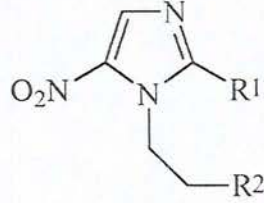


Azomisin



İlk 5-nitroimidazol türevlerinden olan, metronidazol'ün antitrikomonal özelliğinin keşfedilmesinden sonra, sayısız 5-nitroimidazol türevi sentezlenerek etkileri kanıtlanmış ve yapı-etki ilişkileri üzerinde çalışmalar yapılmış ve bunların çoğu klinik kullanım alanı bulmuştur.⁽²⁻⁵⁾ Metronidazol ilk olarak Trichomonas vaginalis'in oluşturduğu vajinitis'in topik tedavisi için kullanıma sürülmüştür. Daha sonra amebisidal aktiviteye de sahip olduğu saptanmış ve hem intestinal hem de hepatik amebiasis'e karşı kullanılmaya başlanmıştır. Bundan başka diğer protozoal hastalıklar olan giardiasis ve balantidiasis'e karşı da etkili olduğu görülmüştür.

Son zamanlarda, anaerob bakterilere karşı etkili olduğu bulunmuş. anaerob bakterilerin neden olduğu; sepsisemi, peritonitis, abseler, menenjit gibi ciddi enfeksiyonların tedavisinde oldukça önemli bir ilaç haline gelmiştir.



R¹

R²

Metronidazol

CH₃

OH

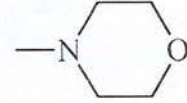
Tinidazol

CH₃

OSO₂CH₂CH₃

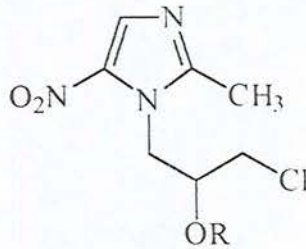
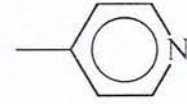
Nimorazol

H



Panidazol

CH₃

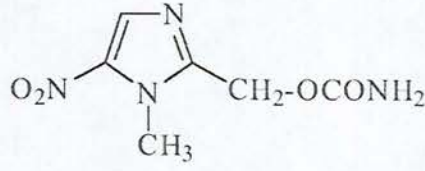


Ornidazol

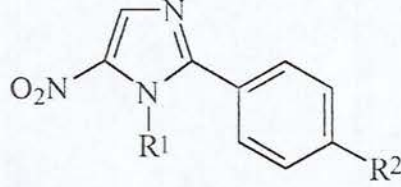
R

H

CH₃



Ronidazol



R¹

R²

Flunidazol

CH₂CH₂OH

F

MF nitroimidazol

CH₃

F

MCA nitroimidazol

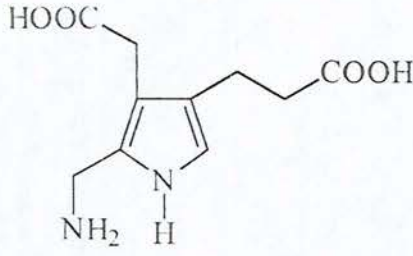
CH₃

CONH₂

Son zamanlarda, nitroimidazol türevlerinin hipoksiya selektif sitotoksik etki göstererek, antitümör olarak etki ettikleri de gösterilmiştir.^(6,7)

Deneyisel çalışmalarımızın yoğunluğu bazı pirol türevlerinin elde edilmesi yönündedir.

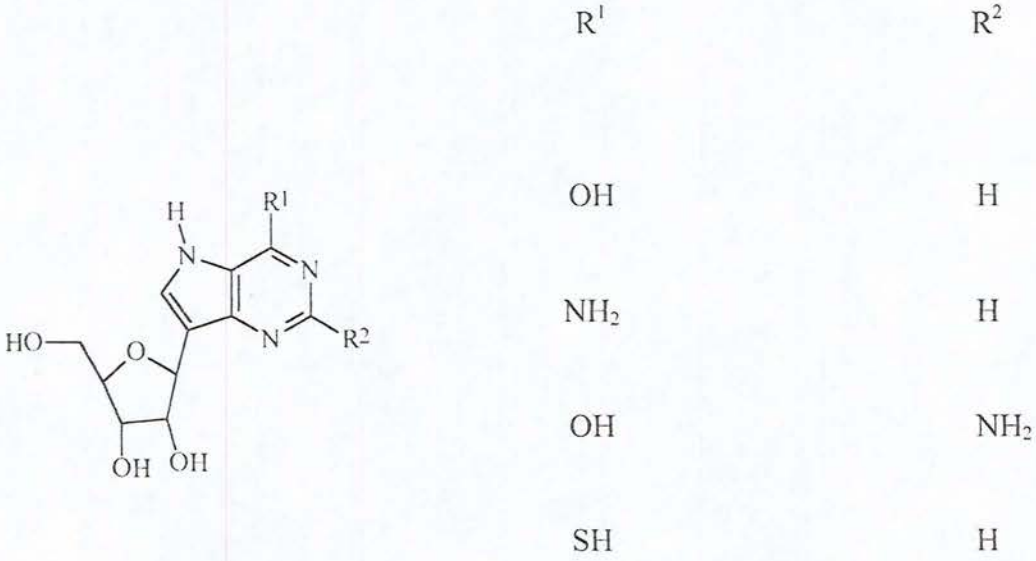
Pirol türevleri, biyolojik kaynaklarda sıklıkla rastlanılan bileşiklerdendir. Canlı hücrelerde bir pirol türevi olan porfobilinojen'in, bitkisel hücrelerdeki klorofil'in, hayvansal hücrelerde hem'in ve B₁₂ vitamin'inin sentezinde kullanıldığının keşfedilmesinden sonra, pirol türevlerine olan ilgi artmıştır.^(8,9)



Porfobilinojen

Bunun yanında, değişik biyolojik kaynaklardan pek çok pirol türevi makromoleküler yapıda antibiyotik izole edilerek etkileri saptanmıştır.⁽⁹⁾

9-Deazapurin çekirdeği içeren C-nükleotidleri, purin nükleotidlerinin antimetabolitleri olarak antikanser ajanlar şeklinde dizayn edilerek sentezlenmişler ve etkileri kanıtlanmıştır.⁽¹⁰⁻¹³⁾ (Şema 1.4)



Şema 1.4

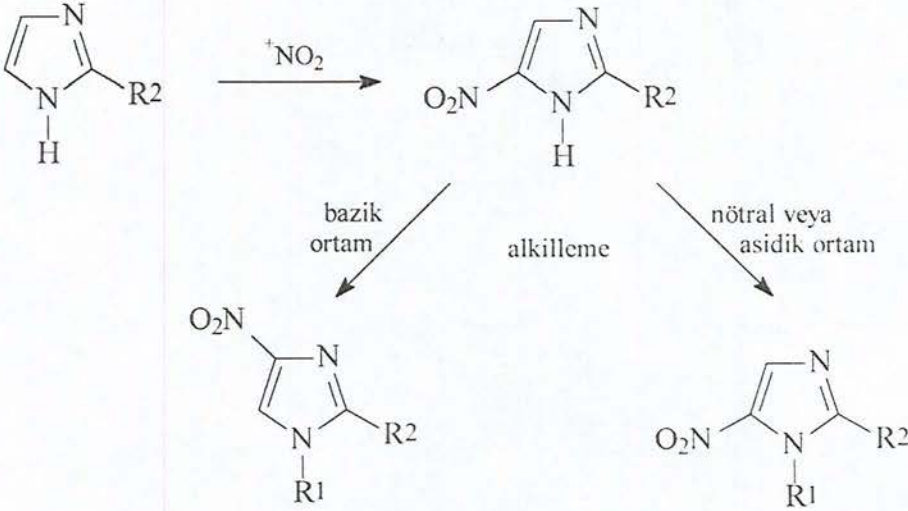
Metronidazol molekülündeki alkolik fonksiyonun, pek çok reaksiyonlara yatkın olması nedeniyle değişik yapılarla yer değiştirilerek yine etkili nitroimidazol türevlerine ulaşıldığı bilinmektedir.⁽²⁻⁴⁾ Bu bilgiler ışığında, bu çalışmamızda metronidazol molekülü temel alınarak hidroksil grubunun, amino grubuna çevrilmesi; buradan hareketle de bazı pirol türevlerinin sentezlenmesi ve elde edilen türevler için beklenen antibakteriyel etkinin araştırılması amaçlanmıştır.

2- KAYNAK BİLGİLERİ

2.1. Nitroimidazol Türevleri Hakkında Bilgi

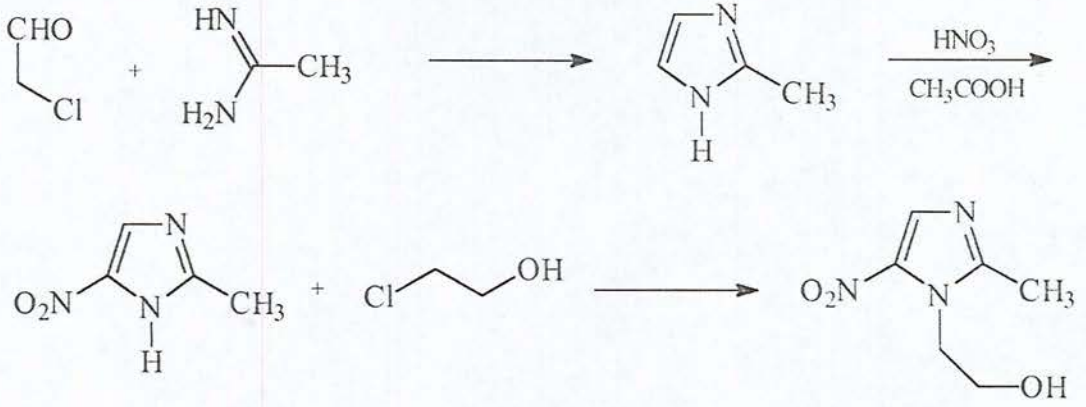
2-Sübstitüe imidazol türevlerinin nitrolanması; 4-(5-)nitroimidazollerini verir.⁽¹⁴⁾

Nitrolama ajanı olarak, nitrik asid/sülfirik asid ortamı veya nitrik asid/asetik asid ortamı kullanılabilir. Bu türevlerin alkillenmeleriyle, ya 1-alkil-4-nitro türevleri ya da 1-alkil-5-nitro türevleri elde edilir. İzomer oluşumu, uygulanan reaksiyon şartlarına bağlıdır. Nitroimidazol'ün bazik ortamda alkillenmesiyle 1-alkil-4-nitro türevi oluşurken; nötral veya asidik şartların uygulanmasıyla, genelde ana ürün 1-alkil-5-nitroimidazol türevi olarak elde edilir.^(5,15) Alkilleme ajanı olarak; alkil halojenürler, alkil sülfatları, alkil tosilatları, epoksitler veya akrilik asid esterleri ve metilvinil ketonları gibi Michael akseptörleri kullanılabilir. Ancak, Michael akseptörlerinin kullanılması durumunda, kantitatif yakın oranda 4-nitro izomerlerinin oluştuğu gösterilmiştir.⁽¹⁶⁾



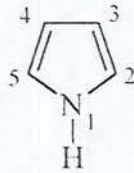
5-Nitroimidazol türevleri, antimikrobiyal etki bakımından önemli iken. 4-nitro türevleri; immunosupresan, aldehid dehidrogenaz inhibitörü, radyo sensitizer ve radyoterapi sinerjisti olarak farmakolojik öneme haizdirler.⁽¹⁷⁻²⁰⁾

Metronidazol'ün sentezi aşağıdaki gibi gösterilebilir:⁽²¹⁾



2.2. Pirol Türevleri Hakkında Bilgi

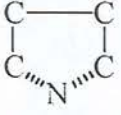
Pirol beş üyeli heterosiklik halkaların en basit üç üyesinden birisidir. Diğer iki üye furan ve tiyofendir. Pirolü diğer iki üyeden ayıran en önemli fark, elektrofilik süstitüsyon reaksiyonlarına çok daha yatkın olmasıdır.^(8,9) Bu özellik de yapıda yer alan azotun özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Pirolün numaralandırılması aşağıdaki gibidir:



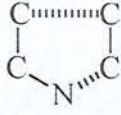
Pirolün Genel Sentez Yöntemleri

Pirol halka sisteminin oluşturulmasına yönelik, başlıca beş yöntemden söz edilebilir.

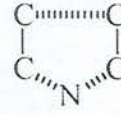
Bunlar, kullanılan reaktiflere ve bağların oluşum durumuna göre aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir:



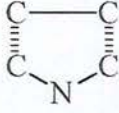
Tip A



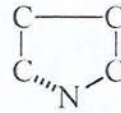
Tip B



Tip C



Tip D

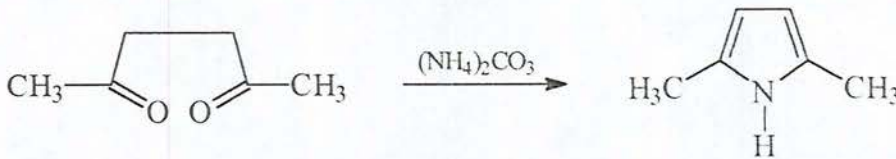


Tip E

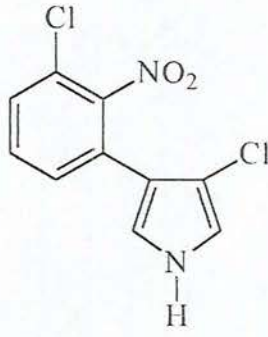
2.2.1. Tip A Sentezi

Bu çalışmada, bileşiklerimizin sentezinde de kullandığımız Tip A yöntemi, en basit pirol halkası kapatma yöntemidir. Bu yöntem, ilk uygulayıcılarının ismiyle; Paal-Knorr Sentezi olarak da bilinir. Sentezlerde, uygun bir 1,4-dikarbonil bileşiği, bir amonyak prekürsörüyle veya bir primer amin ile reaksiyona sokulur. Yöntemin uygulanabilirliğini kısıtlayan en önemli zorluk 1,4-dikarbonil bileşiğinin hazırlanmasındadır. Amonyak prekürsörü olarak, amonyum karbonat veya amonyum asetat kullanılabilir. Konuyla ilgili birkaç örnek aşağıda verilmiştir.

2,5-Hekzadion, amonyum karbonatla ısıtılarak 2,5-dimetilpirol elde edilmiştir.⁽²²⁾

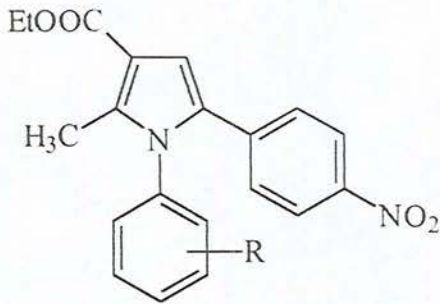
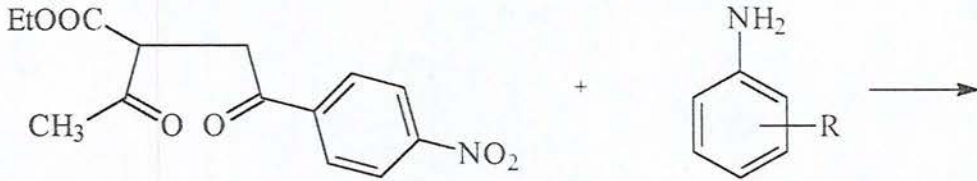
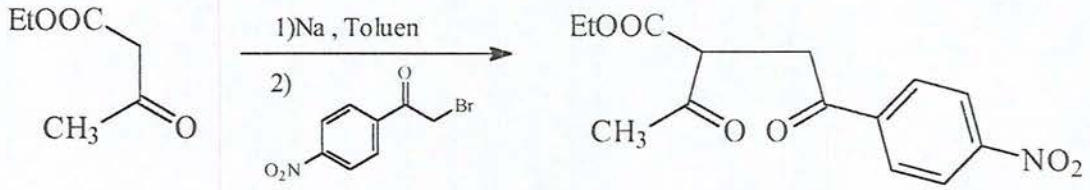


Pirolnitrin analogu bazı bileşiklerin antifungal etkilerinin saptanmasından sonra, değişik türevleri sentezlenmiş ve antifungal etkileri araştırılmıştır.⁽²³⁻²⁵⁾



Pirolnitrin

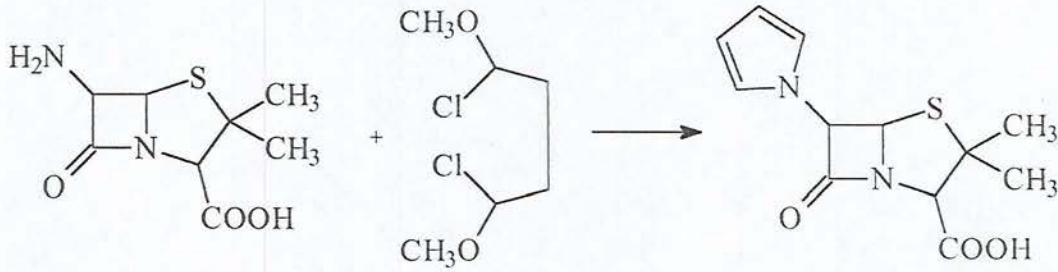
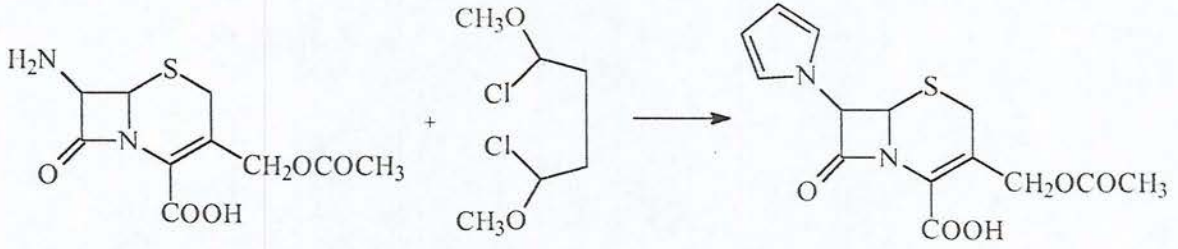
Önce etil asetoasetatın toluen içerisinde sodyum ile etkileştirilmesinden sonra ortama ilave edilen α -bromo-4'-nitroasetofenon ile reaksiyona sokulmasıyla 1,4-dikarbonil bileşiği kazanılmıştır. Bu bileşiğin, asetik asid içerisinde anilin türevleriyle ısıtılmasıyla, pirol türevlerine ulaşılmıştır.



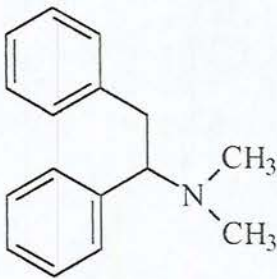
R = CH₃, Cl

Tip A'nın uygulanmasına, pirolün bir yan grup olarak değişik yapıların üzerinde oluşturulması sırasında sık sık rastlanmaktadır. Buna ait birkaç örnek aşağıda verilmiştir.

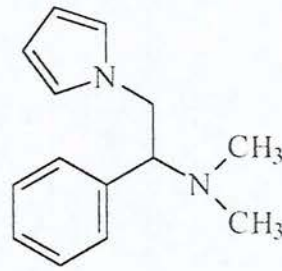
6-Aminopenisilanik asid ve 7-aminosefalosporanik asid, 1,4-dikloro-1,4-dimetoksibutan ile reaksiyona sokularak 6-(1-pirolil)penisilanik asid ve 7-(1-pirolil)sefalosporanik asid elde edilmiştir.⁽²⁶⁾



Mai ve arkadaşlarınca⁽²⁷⁾ yapılan bir çalışmada, yapı-etki ilişkileri çerçevesinde, morfinden hareketle dizayn edilip sentezlenmiş ve etkisi kanıtlanmış olan Lefetamine'nin, bir fenil halkası yerine, biyoizoster olarak pirol halkası düşünülmüş ve yeni antinosiseptif aktiviteye sahip bileşikler sentezlenmiştir.

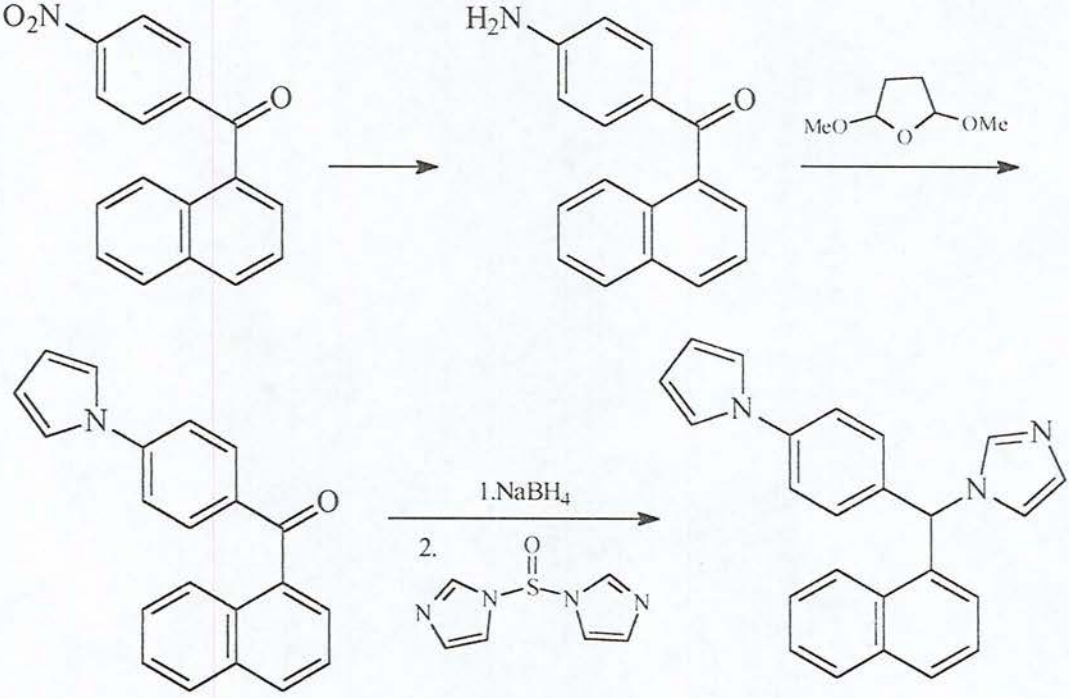


Lefetamine



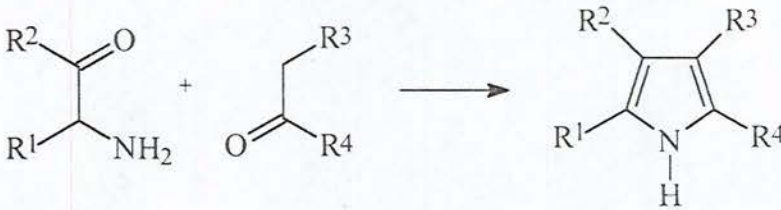
Benzer bir biyoizoster ilişkisi de, antifungal etkili bileşikler üzerinde düşünülmüştür.

1-İmidazolil antifungal bileşikler üzerinde yapılan çalışmalarda, bir aril grubu yerine pirolil grubu getirilerek, yine etkili bileşiklere ulaşıldığı bildirilmiştir.⁽²⁸⁾

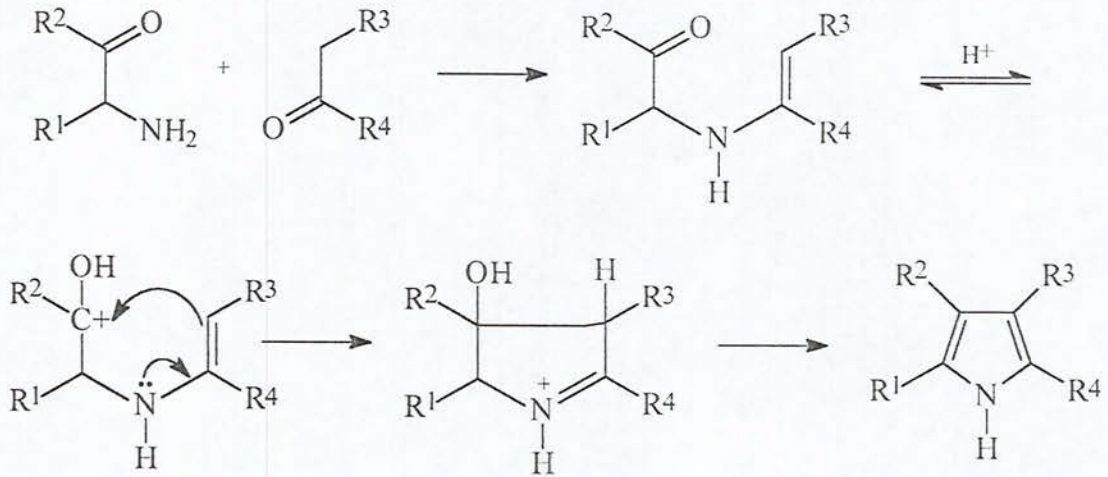


2.2.2. Tip B Sentezi

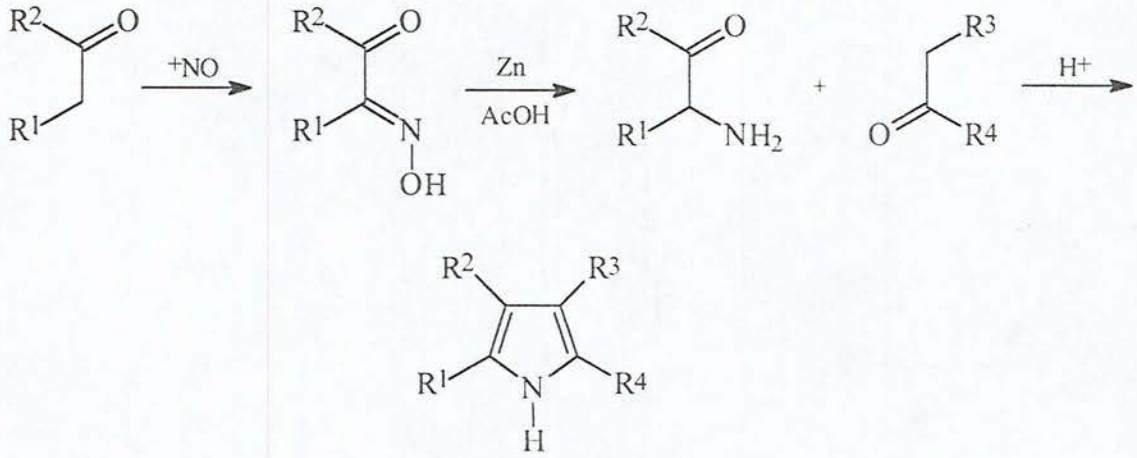
Bir α -aminoketon ile aktif metilen fonksiyonu taşıyan bir ketonun (Ör: β -diketon, β -ketoester) kondensasyonu ile süstitüe pirol türevleri elde edilmiştir.⁽²⁹⁻³⁷⁾



Ilıman kondensasyon şartları altında, iki reaktifin etkileşmesi sonucu oluşan aminokrotonik esteri izole etmek mümkün olabilir. Genelde reaksiyon asidik şartlarda yapıldığı için, aşağıdaki mekanizma önerilebilir.

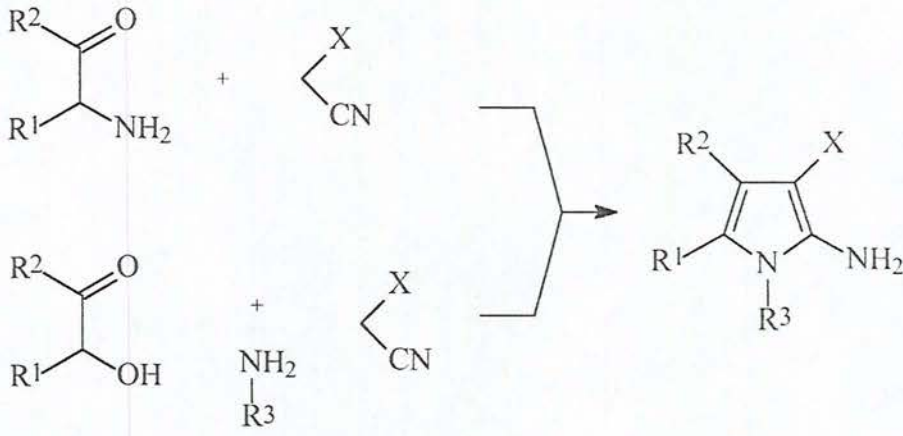


α -Aminoketon, çoğunlukla karbonil bileşiğinin nitrozasyonu ve bunu takiben indirgenmesi suretiyle, in situ olarak da hazırlanabilir.⁽⁸⁾



Bu yöntem 2-amino-3-siyano (veya karbetoksi) pirol türevlerinin sentezinde yaygın olarak kullanılmıştır.

Başlangıç maddesi olarak α -aminoketon türevleriyle α -konumunda elektron çekici bir sübstitüent bulunduran asetonitril türevleri kullanılmıştır.⁽²⁹⁾



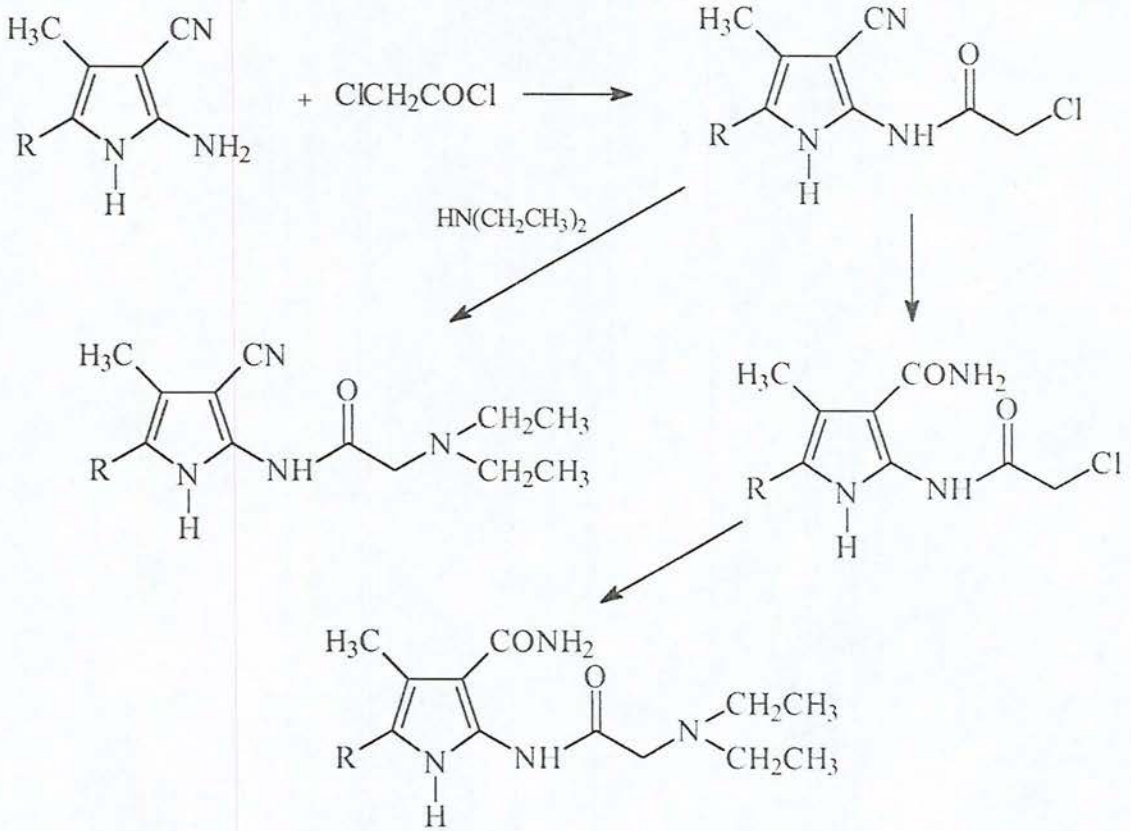
R¹, R² ; alkil, aril

R³ ; alkil

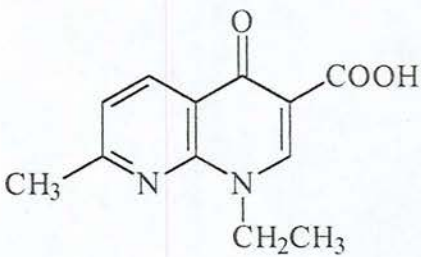
X = -CN, -COOCH₂CH₃, -SO₂-alkil

Elde edilen bu bileşiklerdeki pirol çekirdeği, benzen halkasının biyoizosteri olarak düşünülerek, değişik farmakolojik aktiviteler elde edilmesine yol açmıştır.

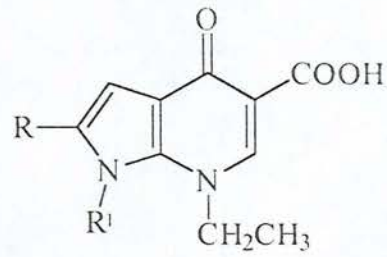
Johnson ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmada, Lidokain'in analogu olarak, bazı 2-aminopirol bileşikleri sentezlenerek, lokal anestetik ve antiaritmik etkileri saptanmıştır.⁽³⁸⁻³⁹⁾ 2-Amino-3-siyano-4,5-disüstitüe pirol, önce kloroasetilklorür ile reaksiyona sokularak, α-kloroasetamido türevi elde edilmiş; bileşiğin yapısında yer alan siyano grubu kısmi hidroliz ile karboksamido şekline çevrilmiştir. Her iki türevin de dietilamin ile reaksiyona sokulmasıyla Lidokain analoglarına ulaşılmıştır.



Biyozoster ilişkilerine ilginç bir örnek de, nalidiksik asid analogu olan pirolo[2,3-b]piridin türevi bileşiklerdir.⁽⁴⁰⁾

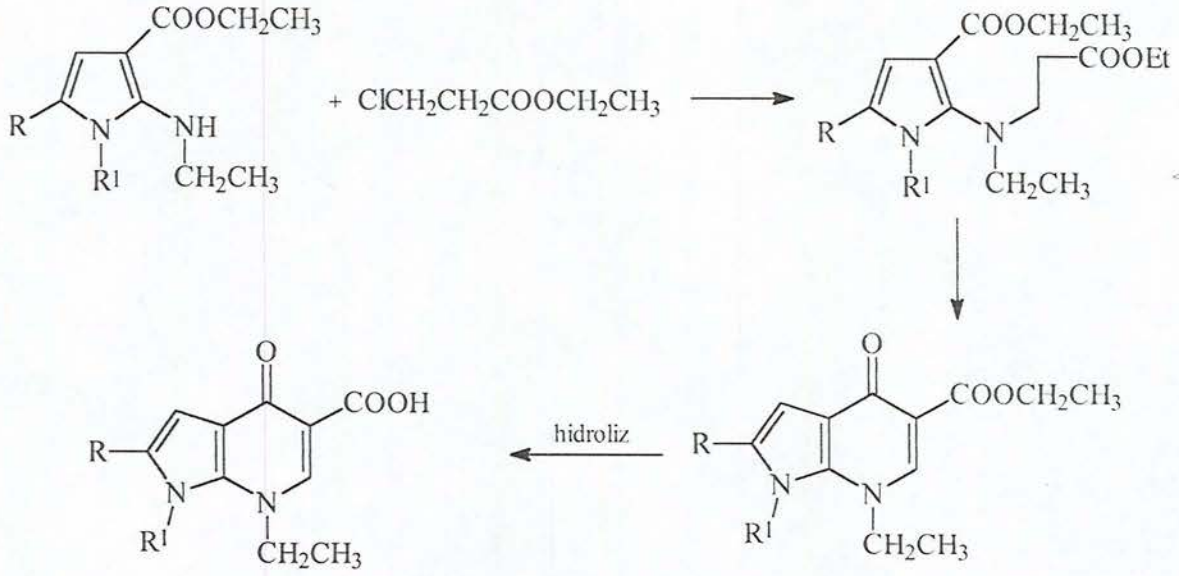


Nalidiksik asid

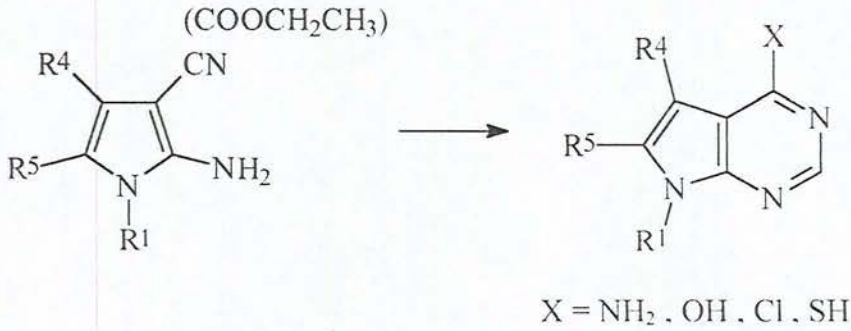


R = H, CH₃

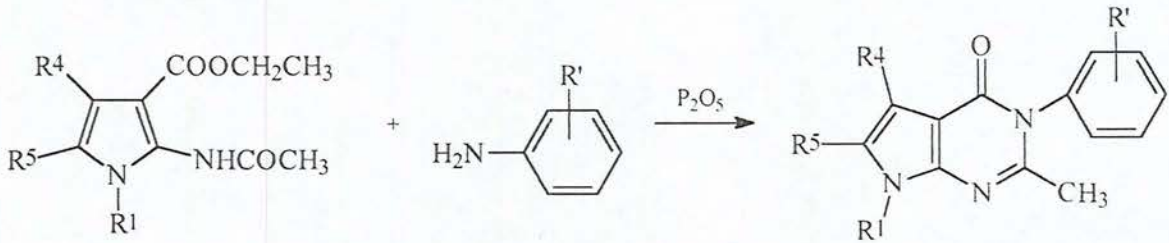
R¹ = H, CH₃, CH₂OCH₂C₆H₅



2-Amino-3-siyano (veya karbetoksi) pirol türevleri. genel bölümde de belirtildiği gibi 9-azapirinlerin sentezinde de başlangıç maddesi olarak kullanılabilirler.⁽⁴¹⁻⁴⁴⁾

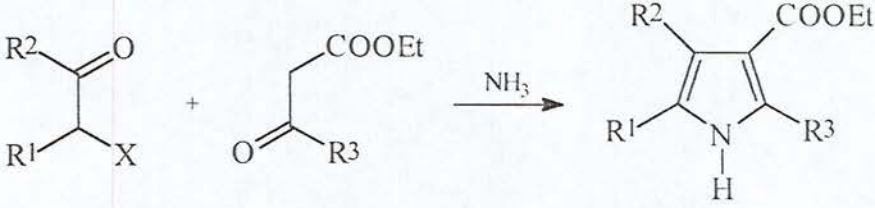


4-Kinoksalin grubu hipnotiklerdeki benzen halkasının yerine biyoizosteri olarak pirol halka sistemi getirilebilir.⁽⁴⁵⁾



2.2.3. Tip C Sentezi

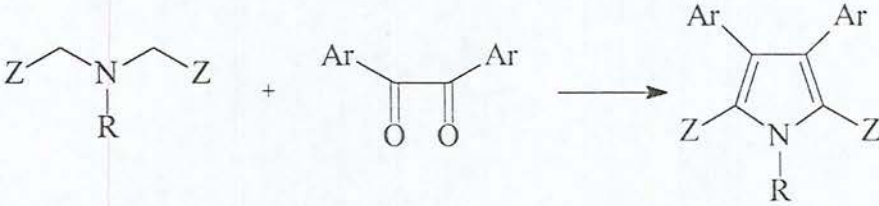
Özellikle, 2-alkil-3-karboksilik ester sübstitüe pirol türevlerinin sentezi için uygun bir yöntemdir. Bir α -haloketon veya aldehid ile bir β -ketoester, amonyak ile ya da bir primer amin ile reaksiyona sokulur.



Reaksiyon ara ürünü, α -halo'nun amonyağa atağı ile oluşması beklenen α -aminoketon ürünü değildir.⁽⁸⁾

2.2.4. Tip D Sentezi

Bir iminodiasetat veya dinitril, bir aromatik α -diketon bileşiği ile bazik şartlarda etkileştirilirse; 3,4-diaril-2,5-dikarboksilik asid türevleri elde edilir. Reaksiyon alifatik α -diketonlarla başarısız iken, dietil okzalal ile 3,4-dihidroksipirolleri verir.⁽⁴⁶⁾



2.2.5. Tip E Sentezi

Bu yöntemde Etil glisinatlarla bir β -keto ester veya β -dikarbonil bileşikleri kullanılır.⁽⁴⁷⁻⁴⁹⁾



3- GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Araç ve Gereçler

3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Metansülfonil klorür (Aldrich)

Sodyum azidür (Merck)

Trifenilfosfin (BDH)

Asetofenon (Merck)

4'-Kloroasetofenon (Merck)

4'-Nitroasetofenon (Aldrich)

Brom (Merck)

Etil asetoasetat (Merck)

Sodyum (Merck)

2,5-Hekzadion (Aldrich)

2,5-Dimetoksitetrahidrofuran (BDH)

Metronidazol (Nidazol[®] tabletlerinden ekstrakte edildi.)

3.1.2. Kullanılan Elektronik Aletler

Erime Derecesi Aleti: Gallenkamp Melting Point Apparatus

Elementel Analiz Aleti: Leco CHNS Elementel Analiz Aleti

Ultraviyole ve Görünür Alan Spektrofotometresi: Shimadzu UV.-Vis. 160 A
Spektrofotometre

İnfrared Spektrofotometresi: Shimadzu 435 IR Spektrofotometre

Nükleer Magnetik Rezonans Spektrometresi: Jeol JNM-EX 90A FT NMR
Spektrometre

Kütle Spektrometresi: VG Platform Kütle Spektrometre

3.2. Başlangıç Maddelerinin Eldesi

3.2.1. α -Bromoasetofenon Türevlerinin Eldesi A

Genel Yöntem

Asetofenon türevi (0,1 mol) 100 ml asetik asidde çözüldü. 1 ml hidrobromik asid ilave edildi. Elde edilen çözeltinin üzerine, brom (0,1 mol, 16 g) soğuk su banyosunda karıştırılarak damla damla ilave edildi. İlave işlemi bittikten sonra karışım 1 litre buzlu suya döküldü. Çöken madde emilerek süzüldü. Kağıtlar arasında sıkıştırılarak kurutuldu. Etanolden kristallendirildi.

3.2.2. 1-Fenil-3-karbetoksi-1,4-pentadion Türevlerinin Eldesi B

Genel Yöntem

Etil asetoasetat (44 mmol) toluen içerisinde çözüldü. Sodyum (44 mmol, 4,72 g) ilave edilerek oda sıcaklığında üç gün karıştırıldı. Karışım buz banyosunda soğutulularak uygun α -bromo asetofenon türevi (30 mmol) ilave edildi. Karışım bir saat daha karıştırıldıktan sonra oluşan süspansiyon oda sıcaklığında bir gece bekletildi. Toluene düşük basınç altında uçuruldu. Su ilave edilerek etil asetat ile ekstrakte edilip, düşük basınç altında çözücü uçuruldu. Elde edilen bileşik daha ileri bir temizleme işlemine tabi tutulmadan daha sonraki basamakta kullanıldı.

3.2.3. 2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)etilamin dihidroklorür'ün Eldesi

Bileşiğin eldesi üç basamakta gerçekleştirilmiştir.

2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)etil metansülfonat C.1

2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazolil)etanol (Metronidazol) (58 mmol, 10 g) üzerine metansülfonilchlorür (70 mmol, 5,4 ml) piridin içerisinde, buz banyosu üzerinde karıştırılarak; damla damla ilave edildi. İlave işlemi sonunda suya dökülerek çökmesi sağlanan ürün, tromptan süzülerek alındı, kloroformdan kristallendirildi.

2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)etilazidür C.2

2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazolil)etil metansülfonat (54mmol, 13.5g) dimetilformamid içinde çözüldü ve sodyumazidür (59 mmol, 3,8 g) eklenerek su banyosu üzerinde iki saat ısıtıldı. Reaksiyon bitiminde DMF tamamen uçurularak, kalıntı etil asetat ile ekstrakte edildi. Çözücü düşük basınç altında uçuruldu, kalıntı etil asetat-petrol eteri karışımından kristallendirildi.

2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)etilamin dihidroklorür C.3

2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazolil)etilazidür (54 mmol, 10.5 g) susuz THF içerisinde çözüldü, trifenilfosfin (54 mmol, 14,2 g) buz banyosu içerisinde soğutarak üzerine porsiyonlar halinde ilave edildi. Üç saat süreyle karıştırıldıktan sonra 100 ml konsantre HCl eklendi ve beş saat kaynatıldı. Kuruluğa kadar evapore edildikten sonra elde edilen kalıntı, distile su ve etil asetat ile partisyona tabi tutuldu. Sulu kısmın evapore edilmesiyle elde edilen kalıntı metanolden kristallendirildi.

3.2.4. 1-[2-(Süstitüe pirol-1-il)etil]-2-metil-5-nitroimidazol Türevlerinin Eldesi I-V Genel Yöntem:

2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazolil)etilamin dihidroklorür (41mmol, 1 g), uygun bir 1,4-diketon türevi (41 mmol) ve susuz sodyum asetat (82 mmol, 0,675 g) 20 ml asetik asid içinde otuz dakika kaynatıldı. 100 ml Buzlu suya dökülerek sodyum karbonat ile nötralize edildi. Oluşan çökelek süzülerek alındı. Uygun bir solvandan kristallendirildi.

3.3. Elde Edilen Bileşiklerin Analizi

Erime Noktası Tayini

Elde edilen bileşiklerin erime noktalarının saptanması, toz edilmiş maddenin bir ucu açık kapiller borulara ½ cm kadar doldurularak Gallenkamp erime noktası tayini cihazında yapılmış ve bulunan değerler düzeltilmemiştir.

C, H, N Tayini

Kristalize bileşiklerin C, H, N yüzdelerinin analizi bir Leco CHNS Elementel Analiz Aleti kullanılarak alınmıştır.

UV Spektrumlarının Alınması

Elde edilen bileşiklerin UV spektrumları, maddenin etanoldeki 10^{-5} molar civarındaki çözeltileri kullanılarak bir Shimadzu UV.-Vis. 160 A Spektrofotometre de alınmıştır.

IR Spektrumlarının Alınması

Elde edilen bileşiklerin IR spektrumları, maddenin yaklaşık %1 oranında KBr içine karıştırılarak hazırlanan tabletleri kullanılarak bir Shimadzu 435 IR Spektrofotometre’de alınmıştır.

NMR Spektrumlarının Alınması

Elde edilen bileşiklerin NMR spektrumları, yaklaşık 50 mg kadar maddenin DMSO- d_6 içindeki çözeltilisinde TMS’e karşı bir Jeol JNM-EX 90A FT NMR Spektrometre’de alınmıştır.

MS Spektrumlarının Alınması

Elde edilen bileşiklerin MS spektrumları, maddenin asetonitril’deki çözeltisi kullanılarak “Electron Impact” ve “Electron Sprey” teknikleri kullanılarak bir VG Platform Kütle Spektrometre’de alınmıştır.

3.4. Antimikrobiyal Etki Çalışmaları*

Elde ettiğimiz bileşiklerin antibakteriyel ve antifungal etkileri mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak araştırıldı.⁽⁵⁰⁻⁵²⁾

3.4.1. Antibakteriyel Etki Testi Yöntemi

Bileşiklerin antibakteriyel etkilerinin araştırılmasında kontrol suşlar olarak; E.coli ATCC 25922 ve S.aureus ATCC 25923, besiyeri olarak, Mueller-Hinton buyyon (pH:7,3) kullanıldı. Bileşiklerin çözülmesi için dimetilsulfoksit kullanılarak, çalışma sırasında 2048-0,12 µg/ml aralığında ve iki kat azalan dilüsyonları hazırlandı.

Mikrodilüsyon yönteminin uygulanmasında steril 96 çukurlu U tipi mikropiplaklar kullanıldı.

Bileşiklerin, besiyerinde iki kat azalan dilüsyonlarının her birinin iki kat azalan dilüsyonlarından sırasıyla ilk onbeş çukura 50 ml konuldu.

Daha sonra bu süspansiyonların üzerine önceden özel bir şekilde hazırlanmış olan bakteri süspansiyonundan 50 ml ilave edildi.

Böylece 1024-0,06 µg/ml aralığında dilüsyonlar elde edilmiş oldu. Mikropiplakların üzeri steril bir cam ile kapatılarak etrafı bantlandı. 35°C`de ve 24 saat süre ile inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, üreme sonucu oluşan bulanıklık dikkate alınarak, her mikroorganizma için bulanıklık göstermeyen ilk dilüsyon minimal inhibisyon konsantrasyonu (MİK) olarak saptanmıştır.

Çalışmalarda kontrol antibakteriyel madde olarak metronidazol ve ceftriaxone kullanıldı.

3.4.2. Antifungal Etki Testi Yöntemi

Bileşiklerin antifungal etkilerinin araştırılmasında kontrol suşlar olarak C.albicans ATCC 90028 ve T.glabrata ATCC 90030, besi yeri olarak RPMI-1640 sentetik besiyeri kullanıldı. Çalışmalarda kontrol antifungal madde olarak clotrimazole kullanıldı.

Antifungal testlerde mikrodilüsyon yöntemi, antibakteriyel test yöntemine benzer şekilde uygulandı.

Bileşiklerimiz için elde edilen antibakteriyel ve antifungal test sonuçları MİK değerleri olarak Tablo 1’de verilmiştir.

* = Mikrobiyolojik testler Doç.Dr.Nuri Kiraz (Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji A.B.D., Eskişehir) tarafından yapılmıştır.

4- SONUÇ VE TARTIŞMA

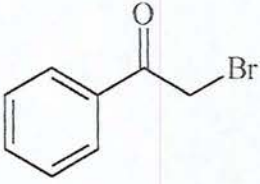
4.1 Bileşiklerin Sentezi

Bileşiklerin sentezi iki basamakta verilebilir:

4.1.1. Başlangıç Maddelerinin Eldesi

α -Bromoasetofenon Türevlerinin Eldesi

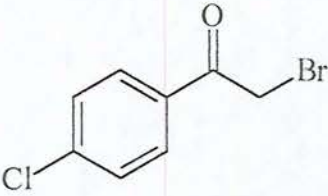
α -Bromoasetofenon A.1



Asetofenon (0,1 mol, 12 g) ve brom (0,1 mol, 16 g) kullanılarak Bölüm 3.2.1'de verilen yönteme göre elde edildi.

E.n.:49-51°C Lit.⁽⁵³⁾ E.n.:50°C

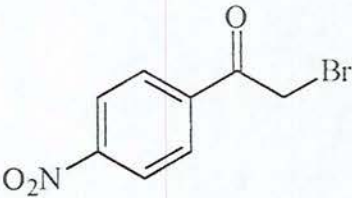
4'-Kloro- α -bromoasetofenon A.2



4'-Kloroasetofenon (0,1 mol, 15,45 g) ve brom (0,1 mol, 16 g) kullanılarak Bölüm 3.2.1'de verilen yönteme göre elde edildi.

E.n.:95-97°C Lit.⁽⁵⁴⁾ E.n.:96-97°C

4'-Nitro- α -bromoasetofenon A.3

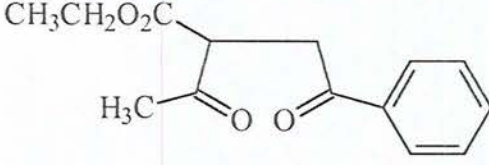


4'-Nitroasetofenon (0,1 mol, 16,5 g) ve brom (0,1 mol, 16 g) kullanılarak Bölüm 3.2.1'de verilen yönteme göre elde edildi.

E.n.:97-98°C Lit.⁽⁵⁵⁾ E.n.:98°C

1-Fenil-3-karbetoksi-1,4-pentadion Türevlerinin Eldesi

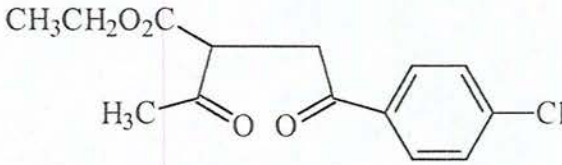
1-Fenil-3-karbetoksi-1,4-pentadion B.1



Etil asetoasetat (44 mmol, 5,72 g) ve α -bromoasetofenon (30 mmol, 5,97 g) kullanılarak Bölüm 3.2.2'de verilen yönteme göre elde edildi.

Sıvı madde Lit.⁽⁵⁶⁾ K.n.:120°C/0.2 mmHg

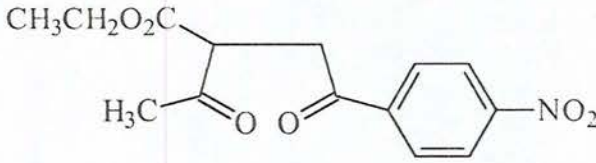
1-(4'-Klorofenil)-3-karbetoksi-1,4-pentadion B.2



Etil asetoasetat (44 mmol, 5,72 g) ve 4'-kloro- α -bromoasetofenon (30 mmol, 7 g) kullanılarak Bölüm 3.2.2'de verilen yönteme göre elde edildi.

E.n.:32-33°C Lit.⁽⁵⁷⁾E.n.:34°C

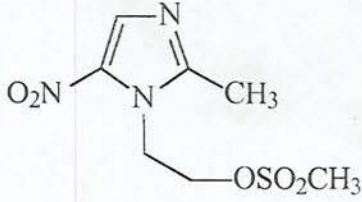
1-(4'-Nitrofenil)-3-karbetoksi-1,4-pentadion B.3



Etil asetoasetat (44 mmol, 5,72 g) ve 4'-nitro- α -bromoasetofenon (30 mmol, 7,32 g) kullanılarak Bölüm 3.2.2'de verilen yönteme göre elde edildi.

E.n.:45-46°C Lit.⁽²³⁾E.n.:47-48°C

2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazolil)etil metansülfonat C.1

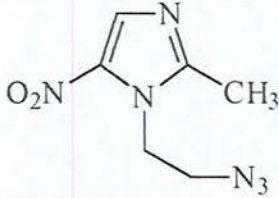


2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazolil)etanol (Metronidazol) (58 mmol, 10 g) ve metansülfonilchlorür (70 mmol, 5,4 ml) kullanılarak Bölüm 3.2.3'de verilen yönteme göre elde edildi.

E.n.:152-154°C

Lit.⁽⁶⁾ E.n.:153-154°C

2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazolil)etilazidür C.2

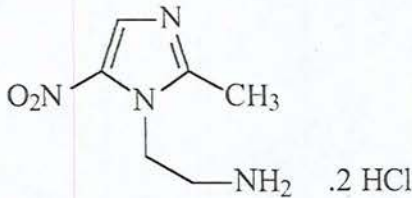


2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazolil)etil metansülfonat (54mmol, 13.5g) ve sodyumazidür (59 mmol, 3,8 g) kullanılarak Bölüm 3.2.3'de verilen yönteme göre elde edildi.

E.n.:56-58°C

Lit.⁽⁶⁾ E.n.:56-58°C

2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazolil)etilamin dihidroklorür C.3

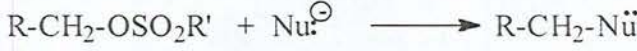


2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazolil)etilazidür (54 mmol, 10.5 g) ve trifenilfosfin (54 mmol, 14,2 g) kullanılarak Bölüm 3.2.3'de verilen yönteme göre elde edildi.

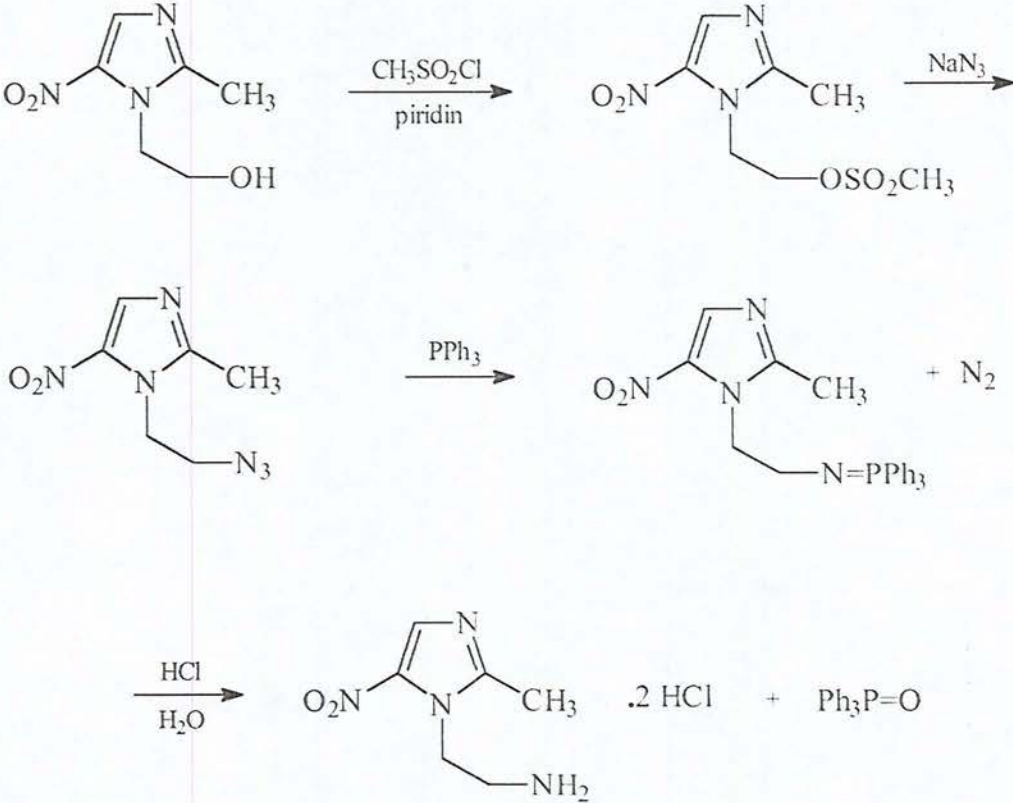
E.n.:192-194°C

Lit.⁽⁶⁾ E.n.:194-194.5°C

Birinci basamakta başlangıç maddesi olarak Metronidazol kullanılmıştır. Madde, piridin içerisinde metansülfoniklorür ile reaksiyona sokularak; metilsülfonata çevrilmiştir. Sülfonat grubunun nükleofilik süstitüsyon reaksiyonlarında, çok iyi ayrılabilir bir grup olduğu bilinmektedir.⁽⁵⁸⁾



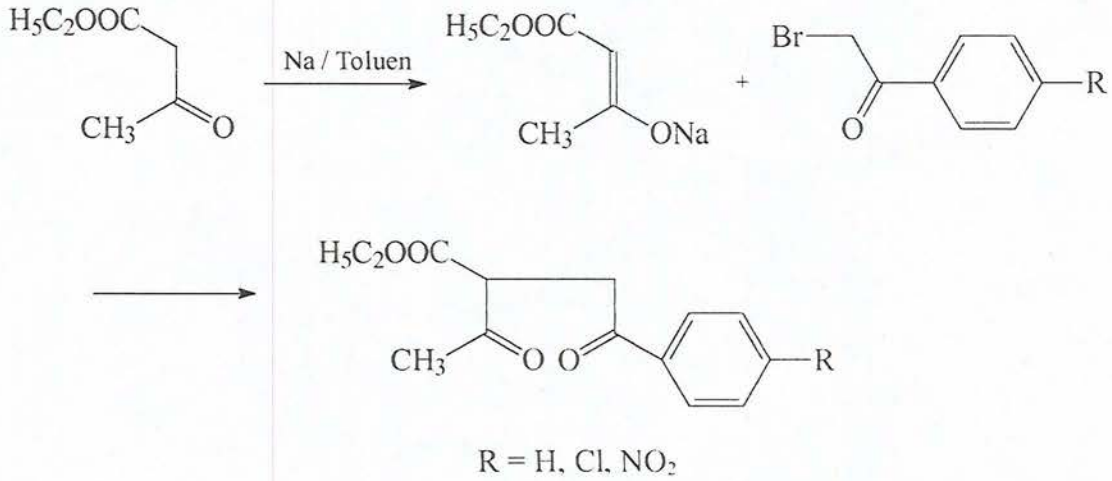
Bu bileşiğin sodyum azidür ile N,N-dimetilformamid içinde ısıtılmasıyla 1-(2-azidoetil)2-metil-5-nitroimidazol türevine ulaşılmıştır. Azido grubunun amine indirgenmesi için literatürde değişik reaktifler kullanılmıştır. Bunlardan belli başlıları; lityumalüminyumhidrür, platin veya palladyum ile katalitik indirgeme, trifenilfosfin, sodyumborhidrür-trimetilsililchlorür sistemi olarak sayılabilir. Trifenilfosfin ile olan indirgeme reaksiyonu dışındakilerin tümü, nitro grubunu da indirgediği için, bizim bileşiğimizin indirgenmesine uygun değildir. (Şema 4.1)



Şema 4.1

Pirol türevlerine geçişte kullanılan diğer reaktif grubu 1,4-dikarbonil türevi bileşiklerdir. 1,4-Dikarbonil bileşiği olarak, 1,4-dikarbonil prekürsörü olarak davranan 2,5-dimetoksitetrahydrofuran, 2,5-hekzadion (asetonilaseton) ve 1-aril-3-karbetoksi-1,4-pentadion türevleri kullanılmıştır. Bunlardan 2,5-dimetoksitetrahydrofuran ve 2,5-hekzadion bileşikleri ticari olarak elde edildiği halde, üç 1-aril-3-karbetoksi-1,4-pentadion türevi çalışmalarımız sırasında elde edilerek kullanılmıştır.

Bunun için; susuz toluen içinde, etil asetoasetat'ın sodyum metaliyle muamele edilmesiyle oluşturulan ara ürün, α -bromo-4'-sübstitüe asetofenon türevleriyle reaksiyona sokulmuştur. (Şema 4.2)



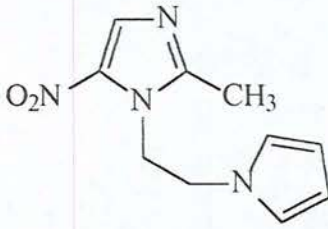
Şema 4.2

Başlangıç maddelerinin hazırlanmasında literatürde verilen yöntemler kullanılmıştır. Sıvı halde bulunan bileşik B.2 dışındaki tüm bileşikler katı kristalize halde bulunmaktadır ve deneysel olarak bulunan erime noktaları ile literatür verileri arasında uyum gözlenmiştir.

4.1.2. 1-[2-(Süstitüe pirol-1-il)etil]-2-metil-5-nitroimidazol Türevlerinin Eldesi I-V

Bölüm 4.1.1'de verilen başlangıç maddeleri, 2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazolil)etilamin ve 1-aril-3-karbetoksi-1,4-pentadion'un reaksiyona sokulmasıyla beş adet yeni bileşik sentezlenmiştir.

1-[2-(pirol-1-il)etil]-2-metil-5-nitroimidazol (I)



2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazolil)etilamin dihidroklorür (41 mmol, 1 g) ve 2,5-dimetoksitetrahydrofuran (41 mmol, 0,53 ml) kullanılarak Bölüm 3.2.4'de verilen genel yönteme göre elde edildi. Etanolden kristallendirildi.

Verim: % 63 E.n.:146-147°C

Analiz : C₁₀H₁₂N₄O₂ için

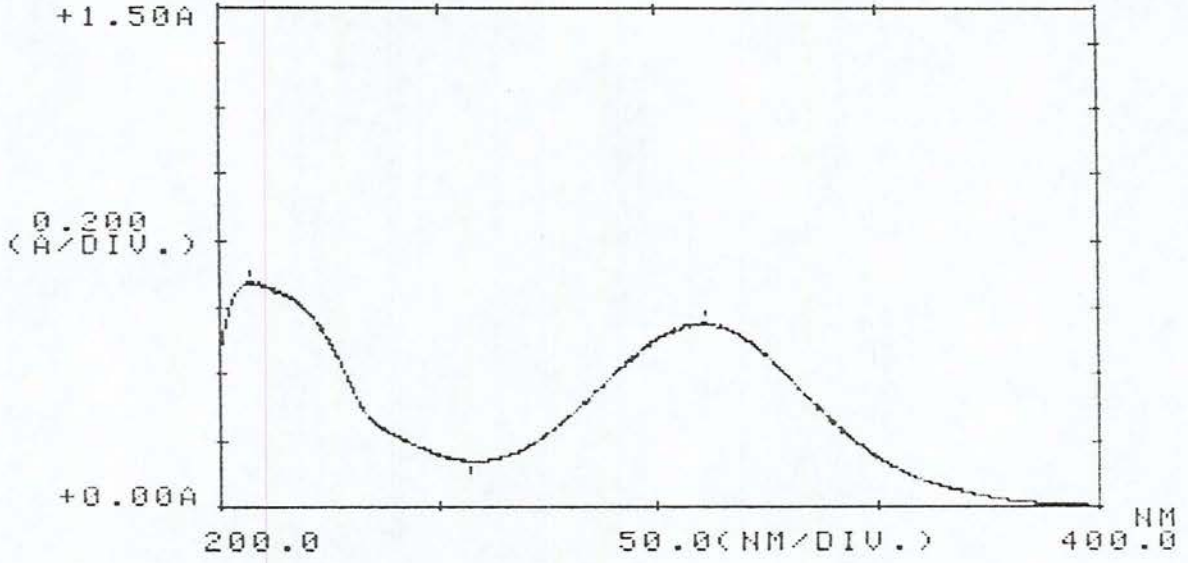
Hesaplanan : C:54,53 H:5,49 N:25,44

Bulunan : C:54,57 H:5,653 N:24,97

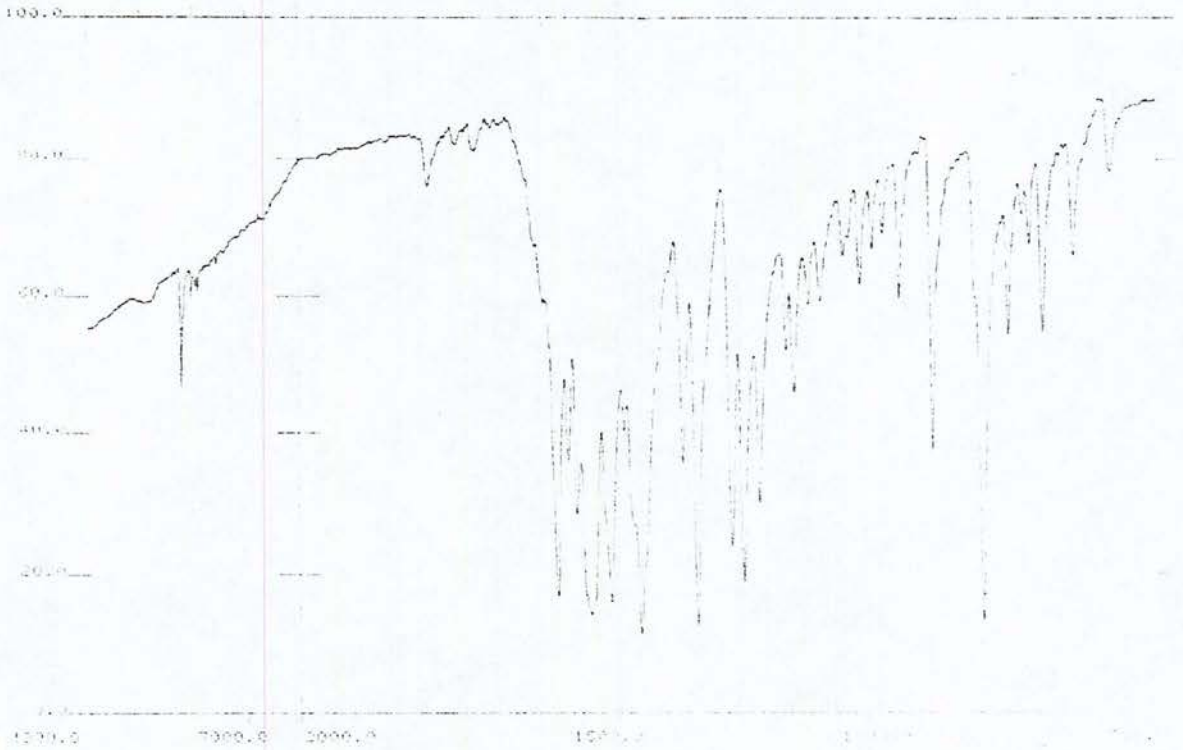
UV(EtOH) λ (nm)(log ϵ): 207.2 (4,04), 310.6 (3,95).

IR(KBr) ν_{maks} (cm⁻¹):3117 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2984-2879 (Alifatik C-H gerilim bandı, 1561-1458 (C=N ve C=C gerilim bandları), 1520 (N=O Asimetrik gerilim bandı), 1364 (N=O Simetrik gerilim bandı).

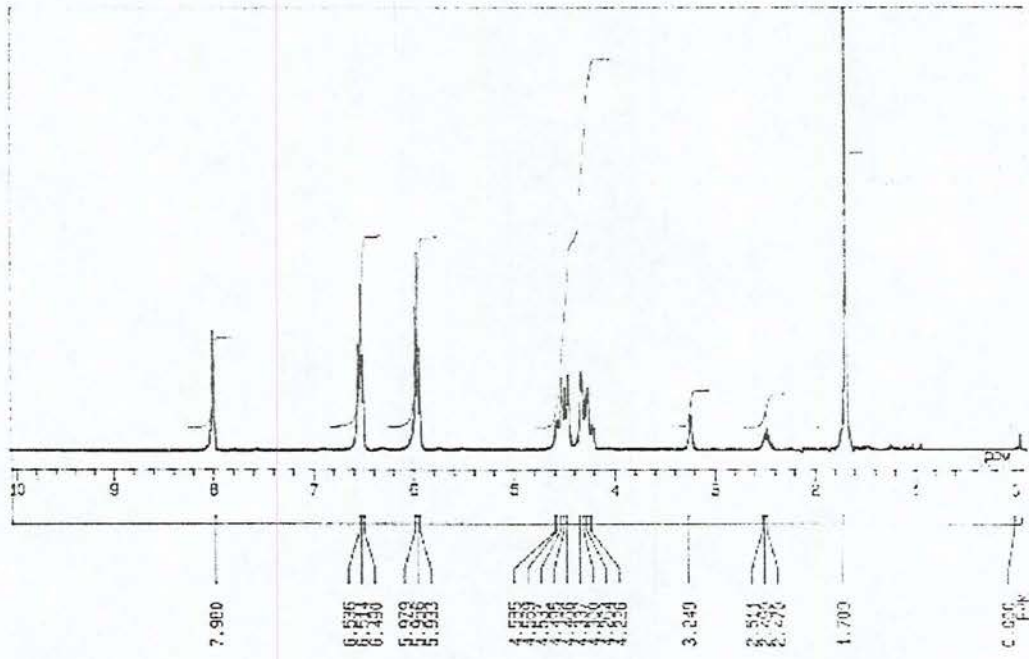
$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 1.71(3H, s, İmidazol-2- CH_3 protonları), 4.30(2H, t, Pırol-1- CH_2 - protonları), 4.49(2H, t, İmidazol-1- CH_2 - protonları), 5.95(2H, t, j:2.09; 2.08, Pırol-3,4-H protonları), 6.51(2H, t, j:2.09; 1.98, Pırol-2,5-H protonları), 7.98(1H, s, İmidazol-4-H protonu).



Şekil 3.1. Bileşik 1'in UV Spektrumu

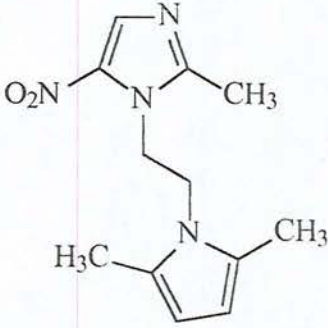


Şekil 3.2. Bileşik 1'in IR Spektrumu



Şekil 3.3. Bileşik 1'in NMR Spektrumu

1-[2-(2,5-dimetilpirol-1-il)etil]-2-metil-5-nitroimidazol (II)



2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazolil)etilamin dihidroklorür (41 mmol, 1 g) ve 2,5-hekzadion (41 mmol, 0,5 ml) kullanılarak Bölüm 3.2.4'de verilen genel yönteme göre elde edildi. Etanolden kristallendirildi.

Verim: % 72 E.n.: 151-152°C

Analiz : C₁₂H₁₆N₄O₂ için

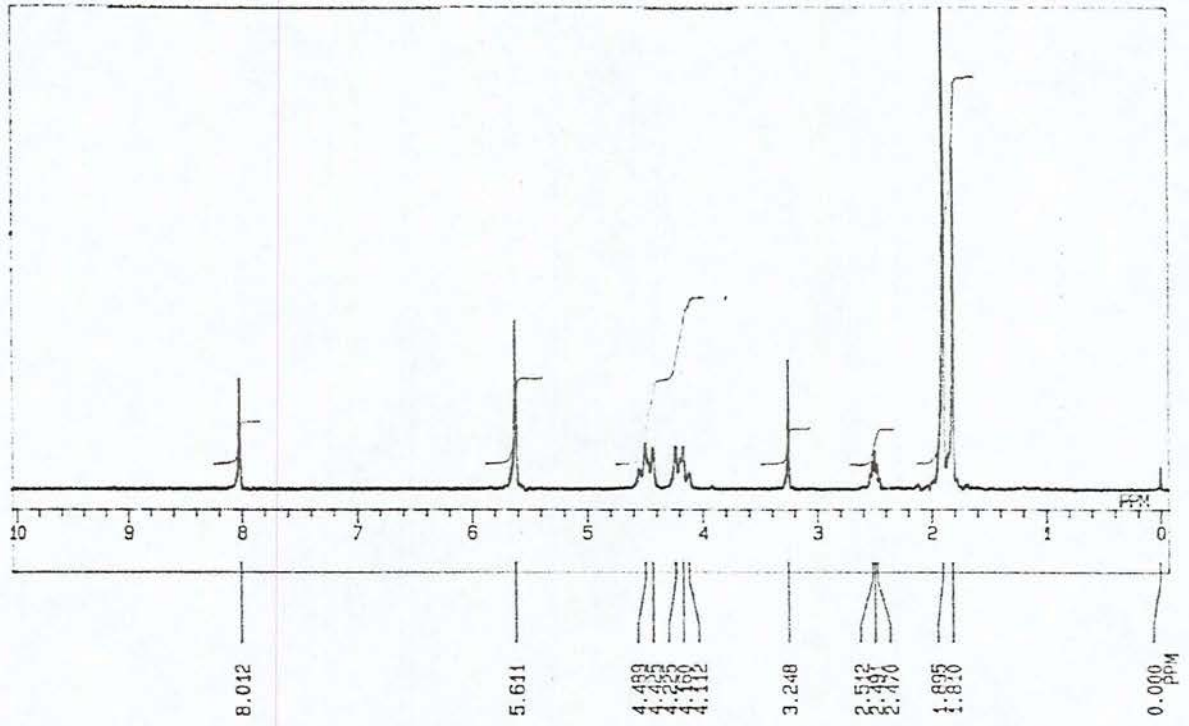
Hesaplanan : C:58,05 H:6,49 N:22,56

Bulunan : C:58,10 H:7,222 N:22,06

UV(EtOH) λ (nm)(log ϵ): 207 (4.03), 220 (4.02), 307.4 (3.95).

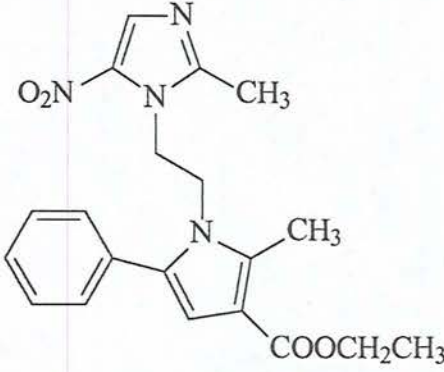
IR(KBr) ν_{maks} (cm⁻¹):3101 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2989-2857 (Alifatik C-H gerilim bandı), 1577-1466 (C=N ve C=C gerilim bandları), 1521 (N=O Asimetrik gerilim bandı), 1375 (N=O Simetrik gerilim bandı).

¹H-NMR (90 MHz) (DMSO-d₆) δ (ppm): 1.81(3H, s, İmidazol-2-CH₃ protonları), 1.89(6H, s, Prol-2,6-CH₃ protonları), 4.17 (2H, t, Prol-1-CH₂- protonları), 4.47 (2H, t, İmidazol-1-CH₂- protonları), 5.61(2H, s, Prol-3,4-H protonları), 8.01(1H, s, İmidazol-4-H protonu).



Şekil 3.4. Bileşik 2'nin NMR Spektrumu

1-[2-(2-metil-3-karbetoksi-5-fenilpirol-1-il)etil]-2-metil-5-nitroimidazol (III)



2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazolil)etilamin dihidroklorür (41 mmol, 1 g) ve 1-fenil-3-karbetoksi-1,4-pentadion (41 mmol, 1,02 g) kullanılarak Bölüm 3.2.4'de verilen genel yönteme göre elde edildi. Etanolden kristallendirildi.

Verim: % 77 E.n.: 160-161°C

Analiz : C₂₀H₂₂N₄O₄ için

Hesaplanan : C:62,81 H:5,80 N:14,65

Bulunan : C:62,65 H:6,471 N:14,48

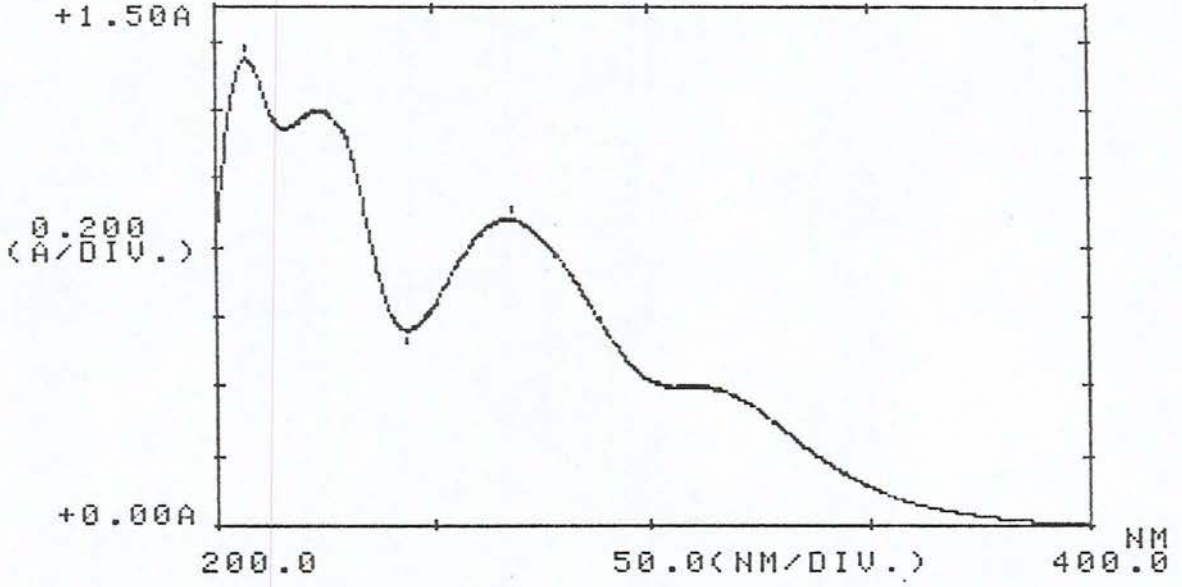
UV(EtOH) λ (nm)(log ϵ): 207,2 (4,49), 225 (4,44), 268,2 (4,31), 310 (3,96).

IR(KBr) ν_{maks} (cm⁻¹):3129,3073,3040 (Aromatik C-H gerilim bandları), 2979, 2903,2850 (Alifatik C-H gerilim bandları), 1677 (C=O gerilim bandı), 1606-1540 (C=N ve C=C gerilim bandları), 1526 (N=O Asimetrik gerilim bandı), 1374 (N=O Simetrik gerilim bandı), 1260,1188,1077 (C-O gerilim bandları), 698,756 (Mono süstitüe benzen).

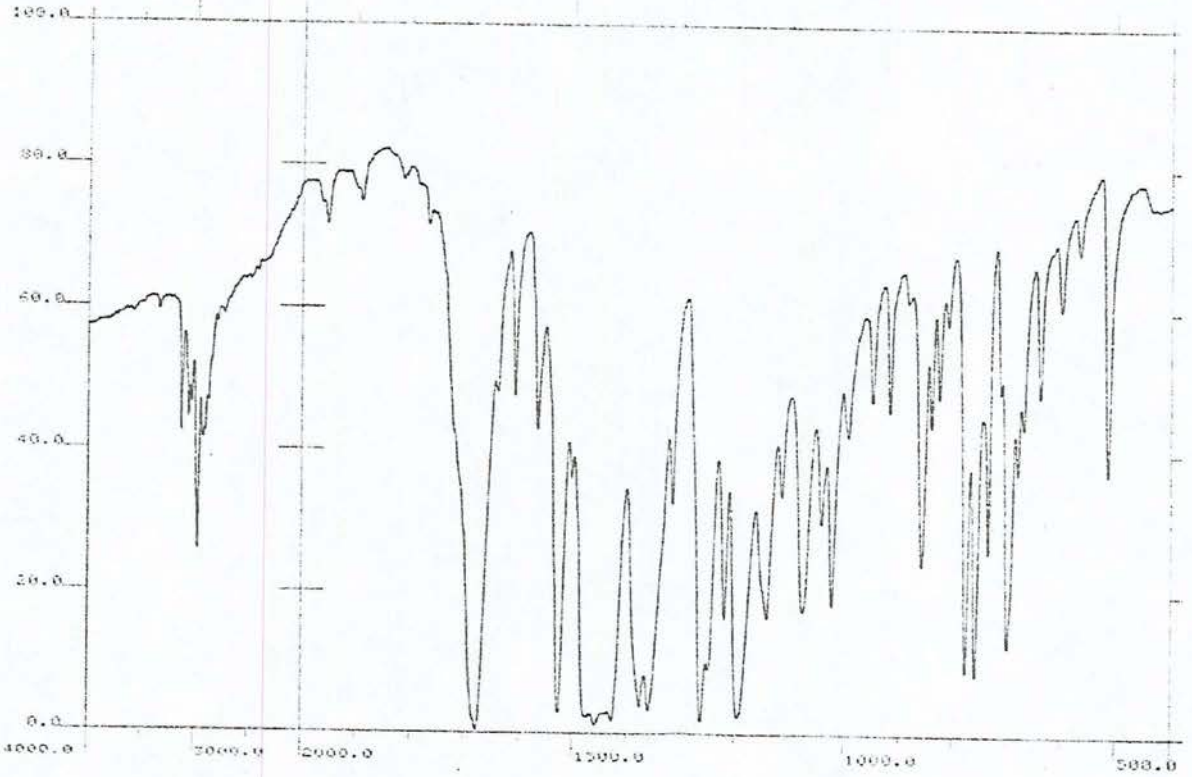
¹H-NMR (90 MHz) (DMSO-d₆) δ (ppm): 1,27(3H, t, COOCH₂-CH₃ protonları), 1,68(3H, s, İmidazol-2-CH₃ protonları), 2,57(3H, s, Pirol-2-CH₃ protonları), 4,18(2H, q, COOCH₂-CH₃ protonları), 4,30(2H, t, Pirol-1-CH₂- protonları), 4,55(2H, t, İmidazol-1-CH₂- protonları), 6,33(1H, s, Pirol-4-H protonu), 6,96-7,31(5H, m, Pirol-5-fenil protonları), 7,59(1H, s, imidazol-4-H protonu).

EI-MS: m/z: 337, 336, 306, 263(%100).

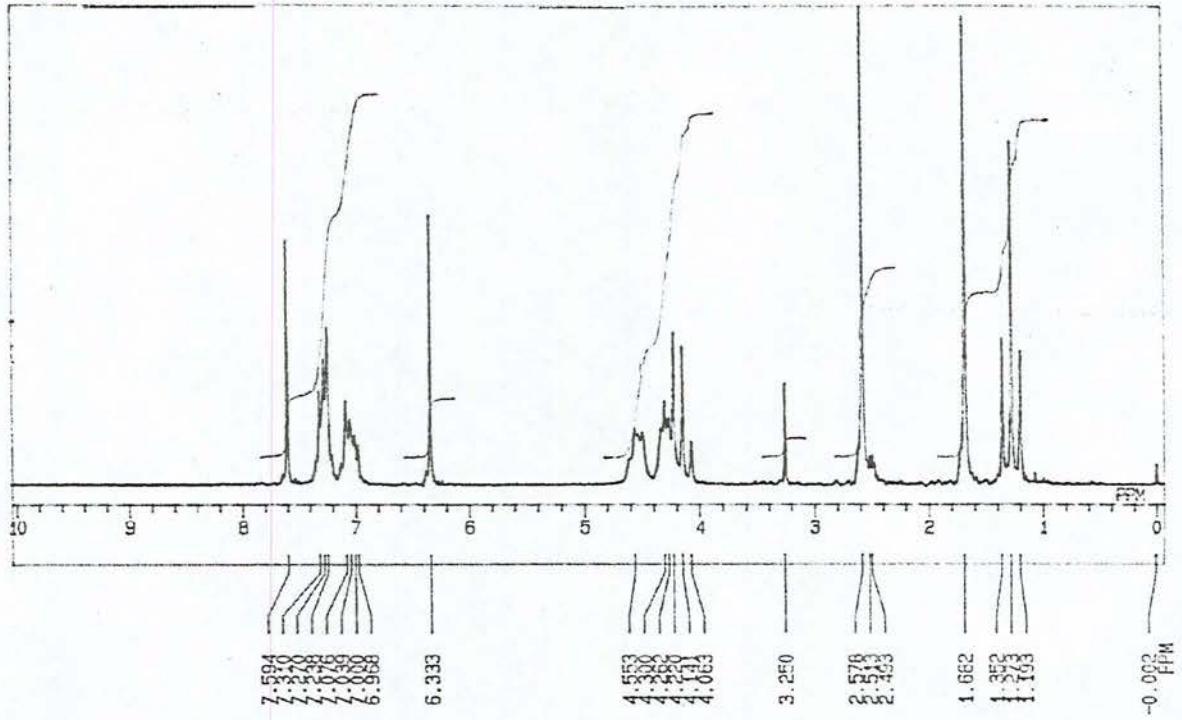
ES-MS: m/z: 383(m+1), 337(%100).



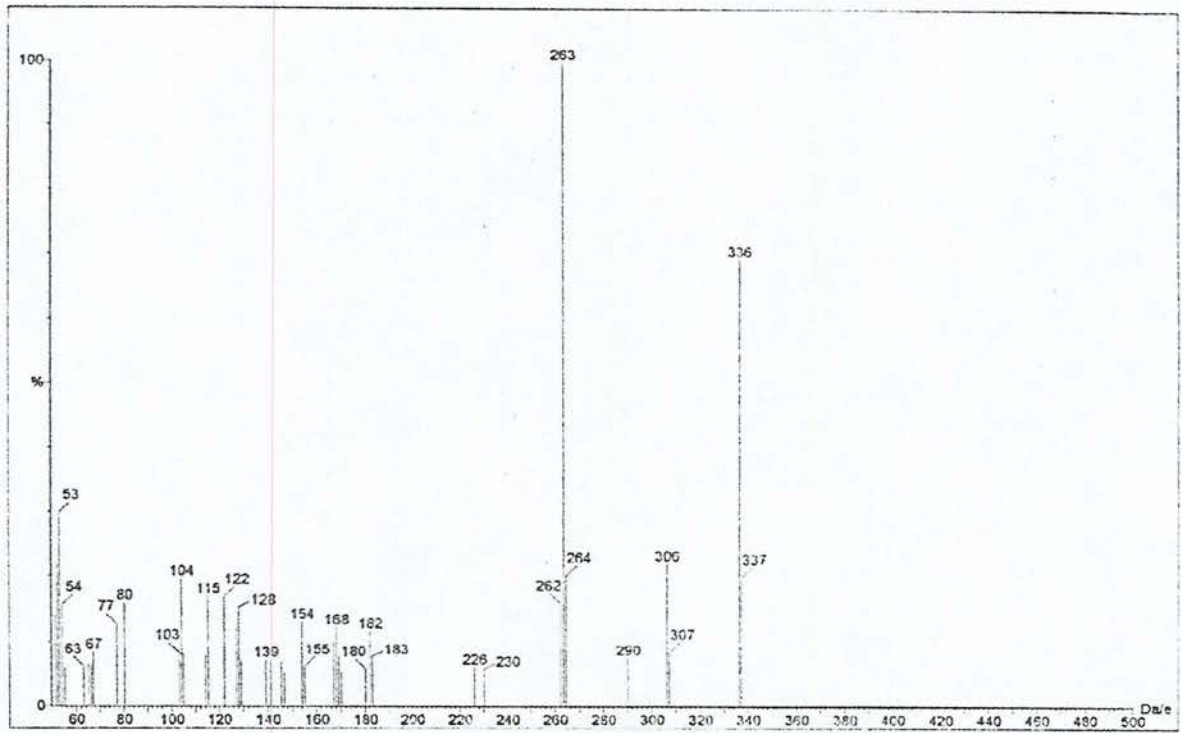
Şekil 3.5. Bileşik 3'ün UV Spektrumu



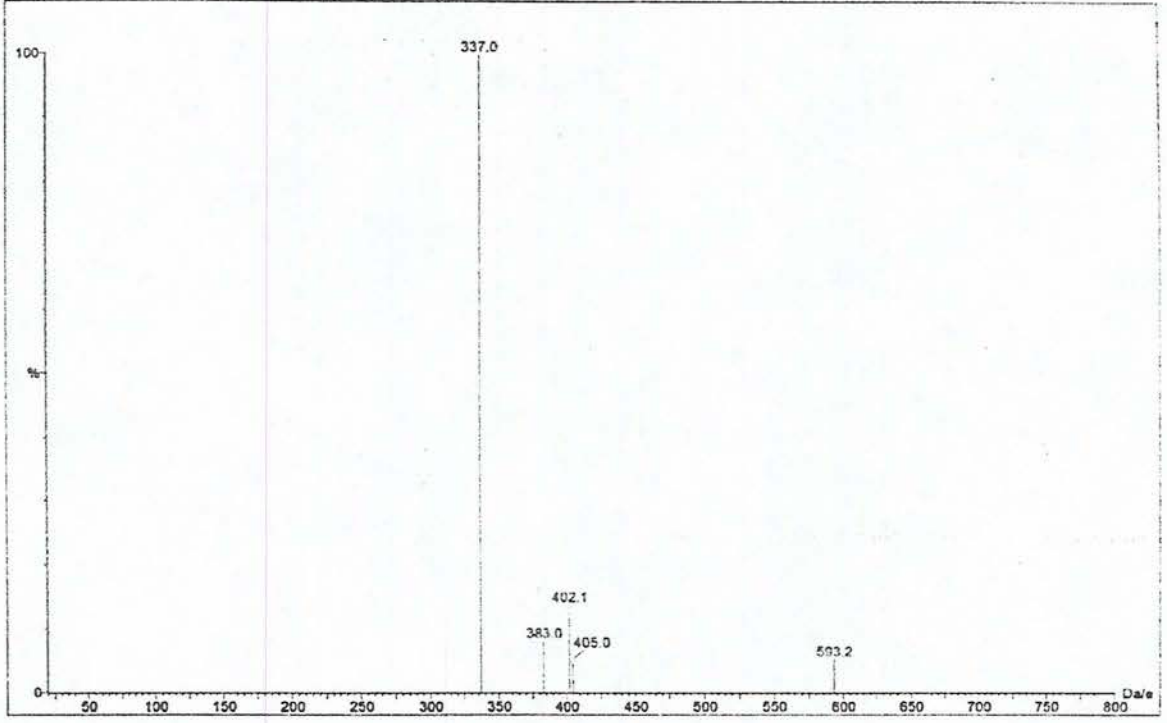
Şekil 3.6. Bileşik 3'ün IR Spektrumu



Şekil 3.7. Bileşik 3'ün NMR Spektrumu

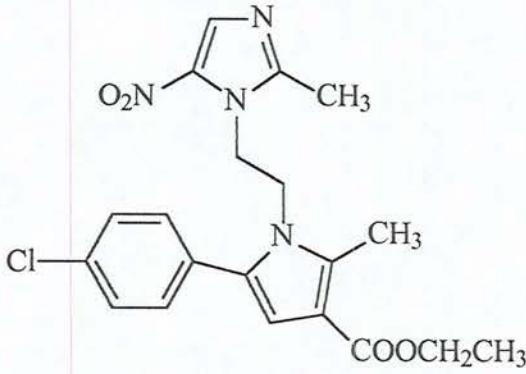


Şekil 3.8. Bileşik 3'ün EI-MS Spektrumu



Şekil 3.9. Bileşik 3'ün ES-MS Spektrumu

1-[2-[2-metil-3-karbetoksi-5-(4'-klorofenil)pirol-1-il]etil]-2-metil-5-nitroimidazol (IV)



2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazolil)etilamin dihidroklorür (41 mmol, 1 g) ve 1-(4'-klorofenil)-3-karbetoksi-1,4-pentadion (41 mmol, 1,16 g) kullanılarak Bölüm 3.2.4'de verilen genel yöntemle elde edildi. Etanolden kristallendirildi.

Verim: % 77 E.n.: 203-204°C

Analiz : C₂₀H₂₂N₄O₄ için

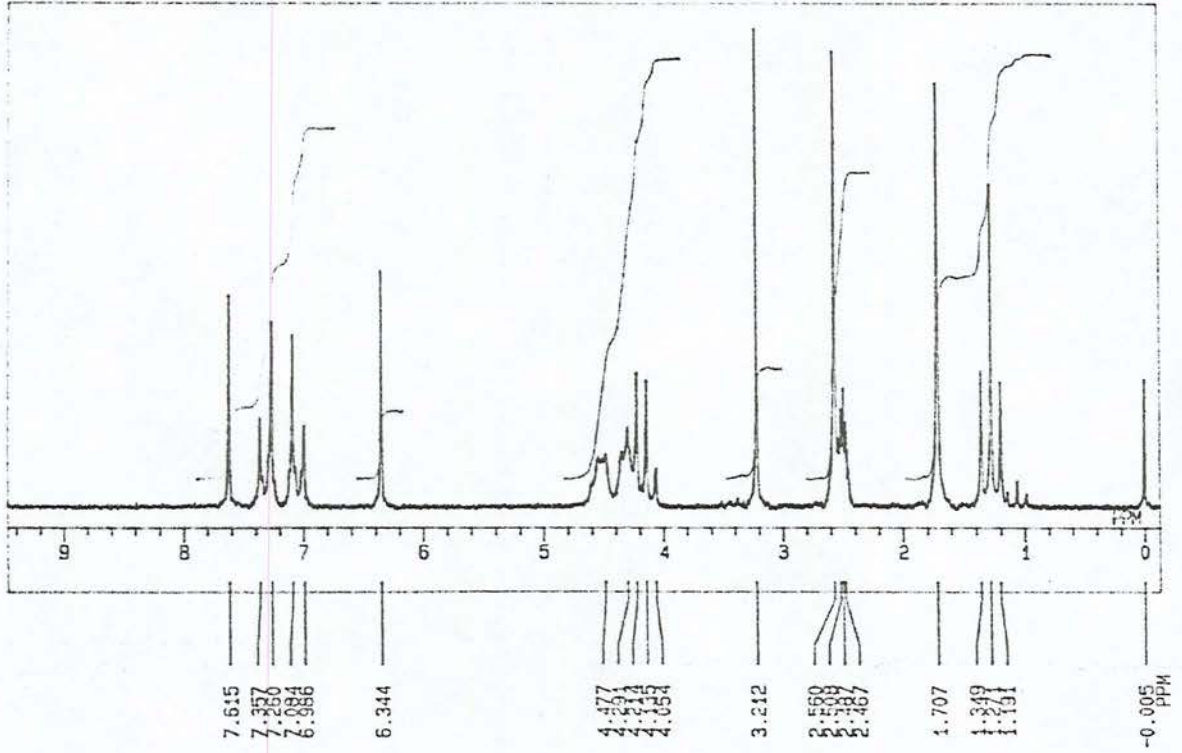
Hesaplanan : C:57,62 H:5,07 N:13,44

Bulunan : C:57,56 H:4,933 N:13,30

UV(EtOH) λ (nm)(log ϵ): 205,6 (4,46), 225 (4,39), 272,2 (4,24).

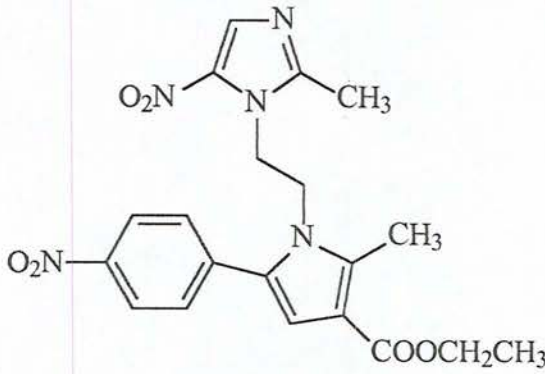
IR(KBr) ν_{maks} (cm⁻¹):3137,3089 (Aromatik C-H gerilim bandları), 2984,2952,2895 (Alifatik C-H gerilim bandları), 1692 (C=O gerilim bandı), 1560-1426 (C=N ve C=C gerilim bandları), 1519 (N=O Asimetrik gerilim bandı), 1366 (N=O Simetrik gerilim bandı), 1260, 1182,1085 (C-O gerilim bandları), 834 (1,4-Disübstitüe benzen).

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz) (DMSO-d_6) δ (ppm): 1,27(3H, t, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ protonları), 1,70 (3H, s, İmidazol-2- CH_3 protonları), 2,56(3H, s, Pırol-2- CH_3 protonları), 4,17(2H, q, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ protonları), 4,30(2H, t, Pırol-1- CH_2 - protonları), 4,50(2H, t, İmidazol-1- CH_2 - protonları), 6,34(1H, s, Pırol-4-H protonu), 7,03(2H, d, j:8,79 Hz Aromatik-2,6-H protonları), 7,31(2H, d, j:8,68Hz Aromatik-3,5-H protonları), 7,61(1H, s, İmidazol-4-H protonu).



Şekil 3.10. Bileşik 4'ün NMR Spektrumu

1-[2-[2-metil-3-karbetoksi-5-(4'-nitrofenil)pirol-1-il]etil]-2-metil-5-nitroimidazol (V)



2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazolil)etilamin dihidroklorür (41 mmol, 1 g) ve 1-(4'-nitrofenil)-3-karbetoksi-1,4-pentadion (41 mmol, 1,21 g) kullanılarak Bölüm 3.2.4'de verilen genel yönteme göre elde edildi. Dimetilformamiddan kristallendirildi.

Verim: % 83 E.n.: 235-236°C

Analiz : C₂₀H₂₁N₅O₆ için

Hesaplanan : C:56,19 H:4,95 N:16,38

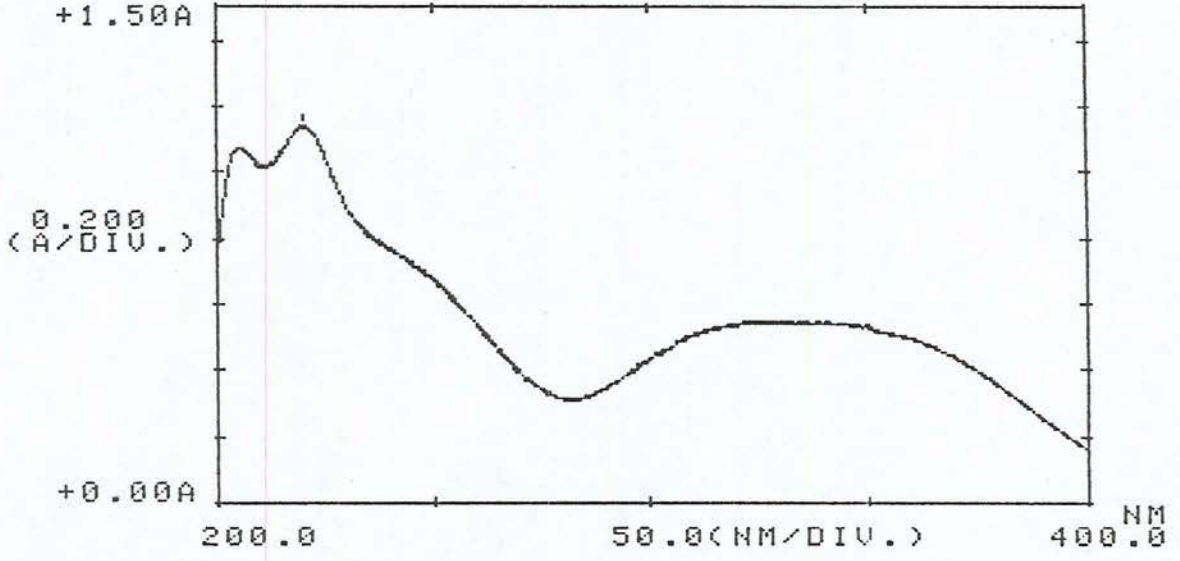
Bulunan : C:56,43 H:4,95 N:16,56

UV(EtOH) λ (nm)(log ϵ): 205 (4,42), 220 (4,45), 335 (4,13).

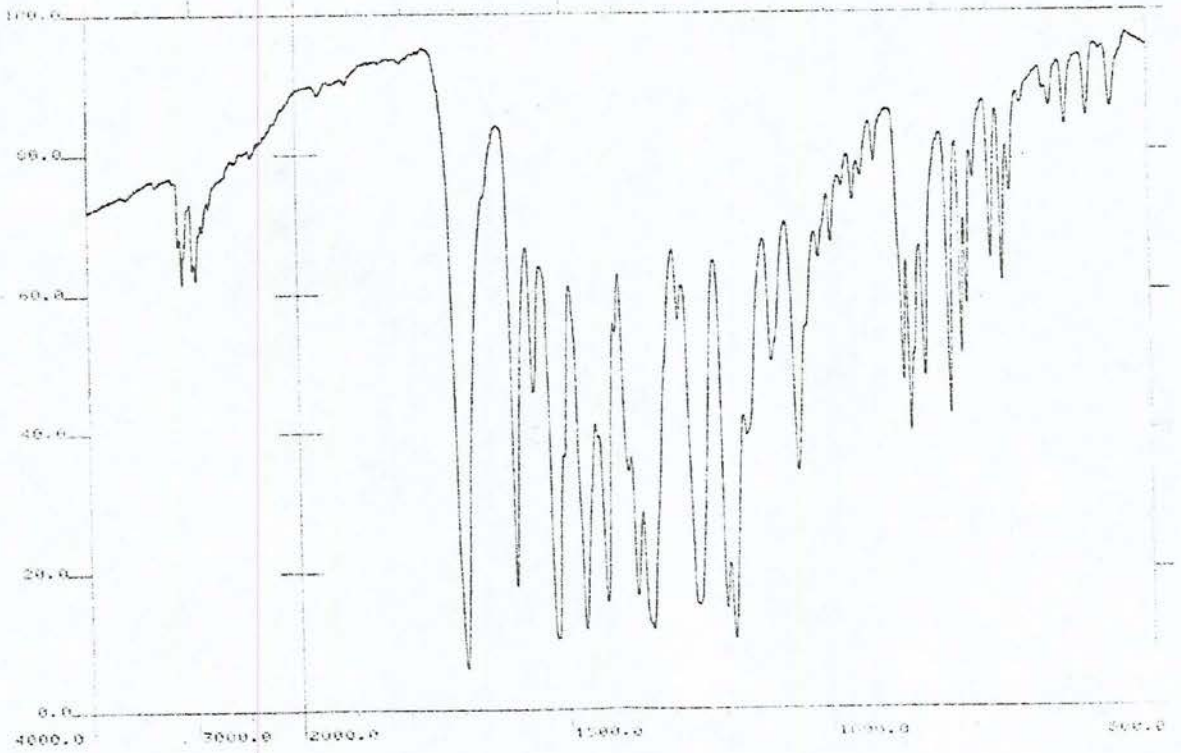
IR(KBr) ν_{maks} (cm⁻¹):3137,3105 (Aromatik C-H gerilim bandları), 2995,2960,2839 (Alifatik C-H gerilim bandları), 1689 (C=O gerilim bandı), 1597-1424 (C=N ve C=C gerilim bandları), 1521 (N=O Asimetrik gerilim bandı), 1360 (N=O Simetrik gerilim bandı), 1245, 1177,1061 (C-O gerilim bandları), 849 (1,4-Disübstitüe benzen).

¹H-NMR (90 MHz) (DMSO-d₆) δ (ppm): 1,27(3H, t,COOCH₂CH₃ protonları), 1,71(3H, s, İmidazol-2-CH₃ protonları), 2,61(3H, s, Prol-2-CH₃ protonları), 4,19(2H, q, COOCH₂CH₃ protonları), 4,35(2H, t, Prol-1-CH₂- protonları), 4,65(2H, t, İmidazol-1-CH₂- protonları), 6,54(1H, s, Prol-4-H protonu), 7,34(2H, d, j:8,90 Hz Aromatik-2,6-H protonları), 7,56(1H, s, İmidazol-4-H protonu), 8,09(2H, d, j:8,91 Hz Aromatik-3,5-H protonları).

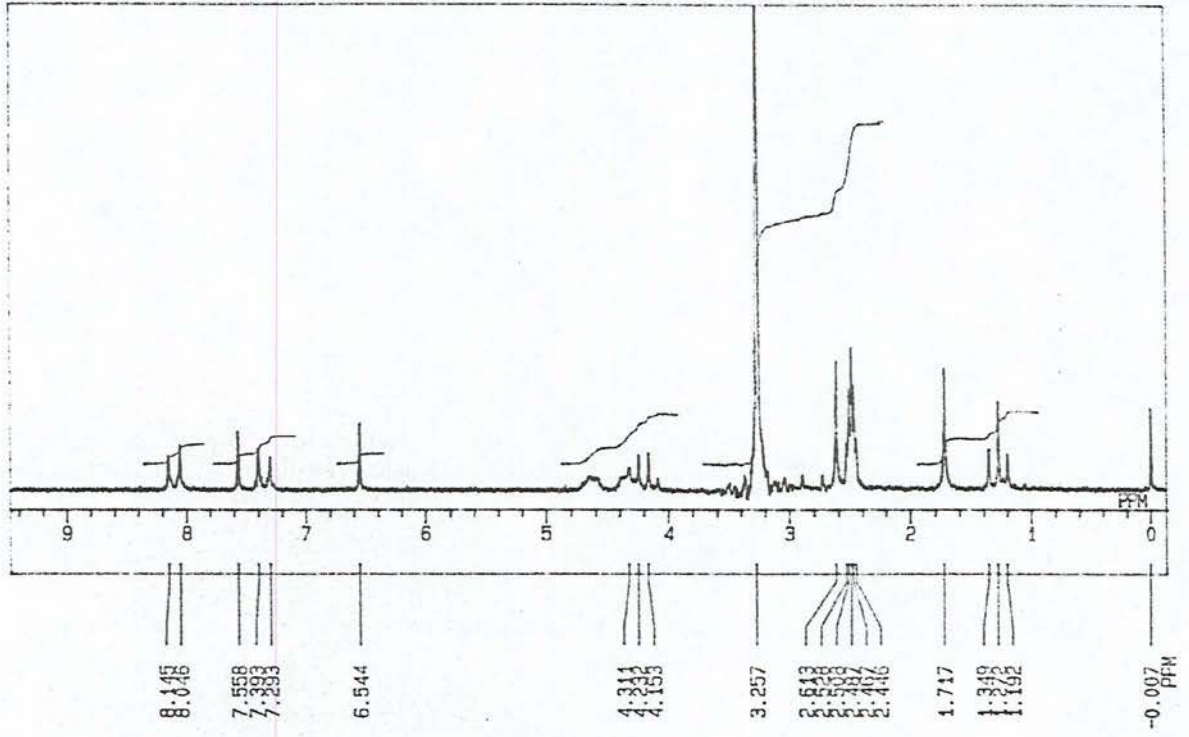
EI-MS: m/z: 382,27 , 381,28 , 351,27 , 308,30 , 262,34 , 44,75(%100).



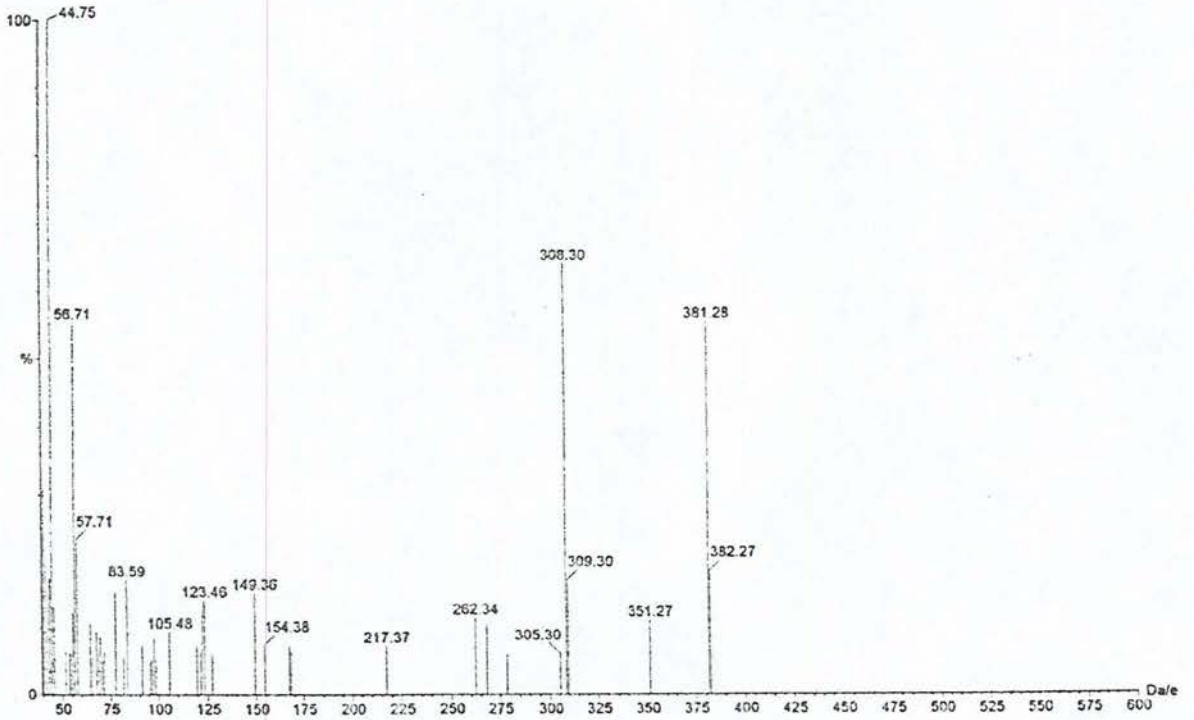
Şekil 3.11. Bileşik 5'in UV Spektrumu



Şekil 3.12. Bileşik 5'in IR Spektrumu



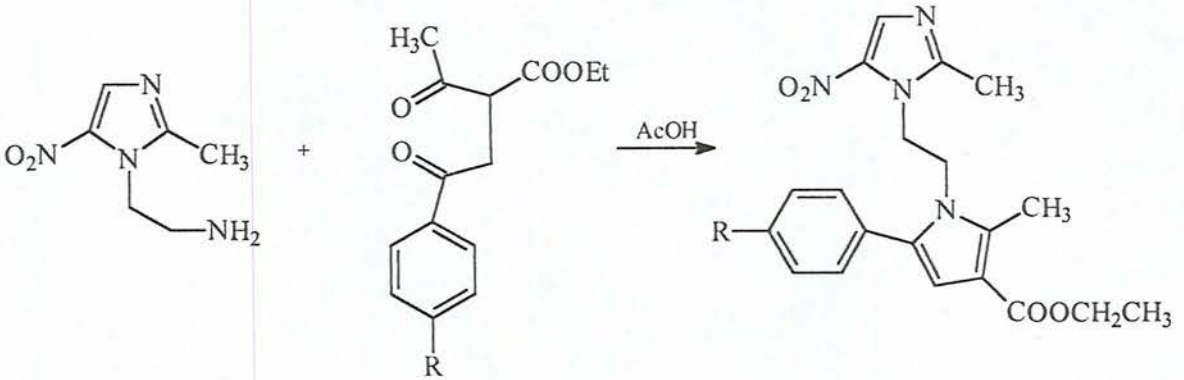
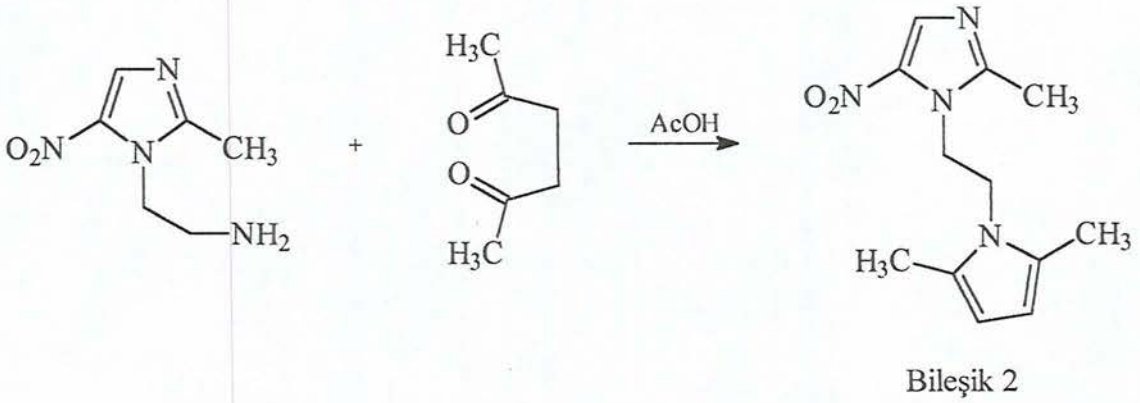
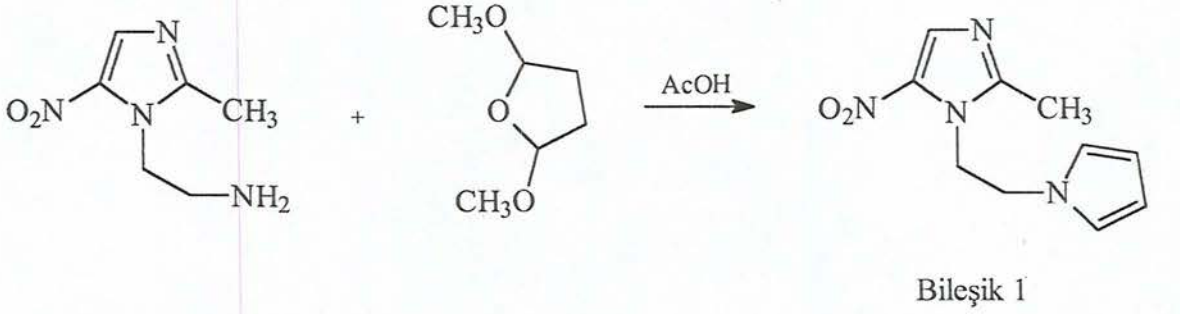
Şekil 3.13. Bileşik 5'in NMR Spektrumu



Şekil 3.14. Bileşik 5'in EI-MS Spektrumu

İkinci basamakta pirol halkasının oluşturulması sağlanmıştır. Genel bölümde de açıklanmış olduğu gibi, pirol halkasının oluşturulmasında, Paal-Knorr yöntemi uygulanmıştır. Bunun için; 1-(2-aminoetil)-2-metil-5-nitroimidazol, asetik asit içinde uygun bir 1,4-dikarbonil bileşiği ile ısıtılmıştır.

Reaksiyon denklemleri ve elde edilen bileşikler aşağıda verilmiştir. (Şema 4.3)

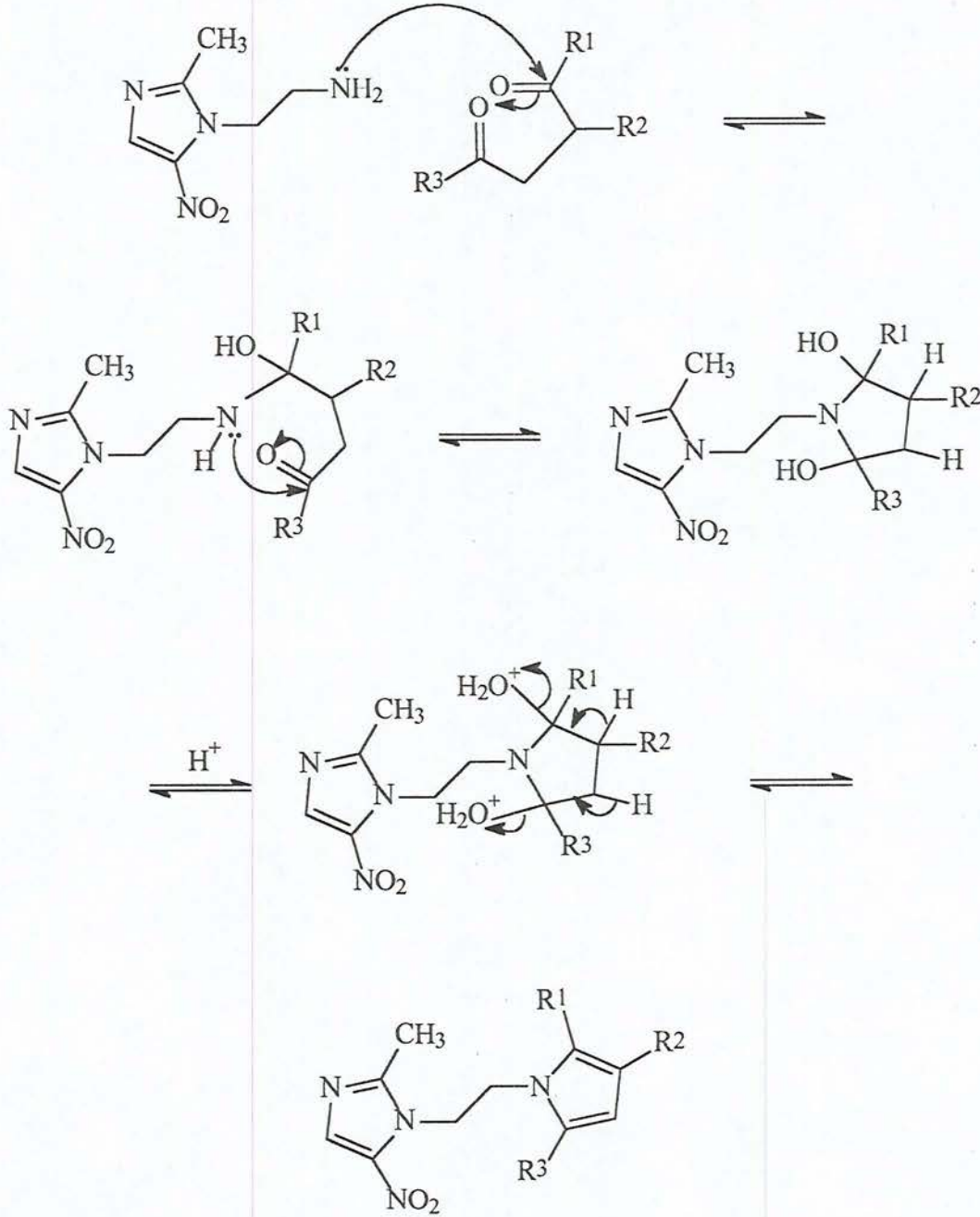


Şema 4.3

Reaksiyon mekanizması aşağıdaki gibi önerilebilir.

2,5-Dimetoksitetrahydrofuran, bir diasetal olarak düşünülerek, 1,2-diformiletan olarak yazılırsa; 1,4-dikarbonil bileşiklerini genel olarak aşağıdaki gibi gösterebiliriz.

(Şema 4.4)



Şema 4.4

4.2. Elde Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini

Tüm bileşiklerimiz için yapılan C,H,N analizinde elde edilen değerlerin, hesaplanmış olan teorik değerlerle uyum içinde olması bileşiklerin yapılarını doğrular yöndedir.

4.2.1. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi

UV Bulguları

Bileşiklerin UV spektrumları incelendiği zaman, basit pirol ve 2,6-dimetilpirol kalıntıları taşıyan ilk iki bileşiğin UV spektrumlarının, metronidazolün kendisinin UV spektrumuna⁽⁵⁹⁾ benzediği görülmektedir ve 310 nm civarındaki absorpsiyon bandları elde edilmektedir.

Diğer üç bileşik aril ve ester grubu kalıntısı taşımaktadırlar. Bunlardan üçüncü ve dördüncü bileşiğin UV spektrumları birbirine benzemekte; 270, 225 ve 207 nm civarında gözlenen ana bandlara ilave olarak 315 nm civarında bir omuz gözlenmektedir. Aril kalıntısı üzerinde ikinci bir nitro grubu içeren beşinci bileşikte, bu nitro grubunun etkisiyle, üçüncü ve dördüncü bileşiklerin spektrumlarına göre kırmızıya kayma gözlenmiş ve ana band 335 nm de elde edilmiştir.

IR Bulguları

Bileşiklerimiz için beklenen IR bandları, beklenen frekans değerlerinde elde edilmiştir. Tüm bileşikler için ortak olan nitro grubuna ait N=O asimetric ve simetric gerilim bandları, 1520 ve 1370 cm^{-1} civarında kuvvetli bandlar halinde görülmüşlerdir.

Son üç bileşik için ortak olan ester grubuna ait karakteristik C=O gerilim bandları, 1670-1690 cm^{-1} arasında gözlenmişlerdir. Yine ester grubu için karakteristik olan C-O gerilim bandları 1260, 1180, 1070 cm^{-1} civarında elde edilmişlerdir.

NMR Bulguları

Bileşiklerimizin ¹H-NMR spektrumları DMSO-d₆ içinde 90 MHz NMR'de alınmış ve beklenen pikler elde edilmiştir. Tüm bileşiklerimiz için ortak olan imidazol ve pirol kalıntılarını bağlayan etilen zincirindeki metilen protonları, her iki metilen grubunun kimyasal

çevresinin birbirine yakın olmasından dolayı; bozulmuş iki triplet olarak gözlenmişler. bazen de multiplet görüntüsüne sahip olmuşlardır.

Ester grubu içeren bileşiklerde, etil grubunun metilen protonları yukarıda sözü edilen etilen zincirinin metilen protonlarından birisiyle overlap yapmış durumda rezonans vermişlerdir.

Diğer ortak yapılara ait protonlar, imidazol kalıntısındaki 2-CH₃ ve 4-H protonlarıdır. Metil protonları 1,7 ppm, 4-H protonları da 8 ppm civarında rezonansa uğramışlardır.

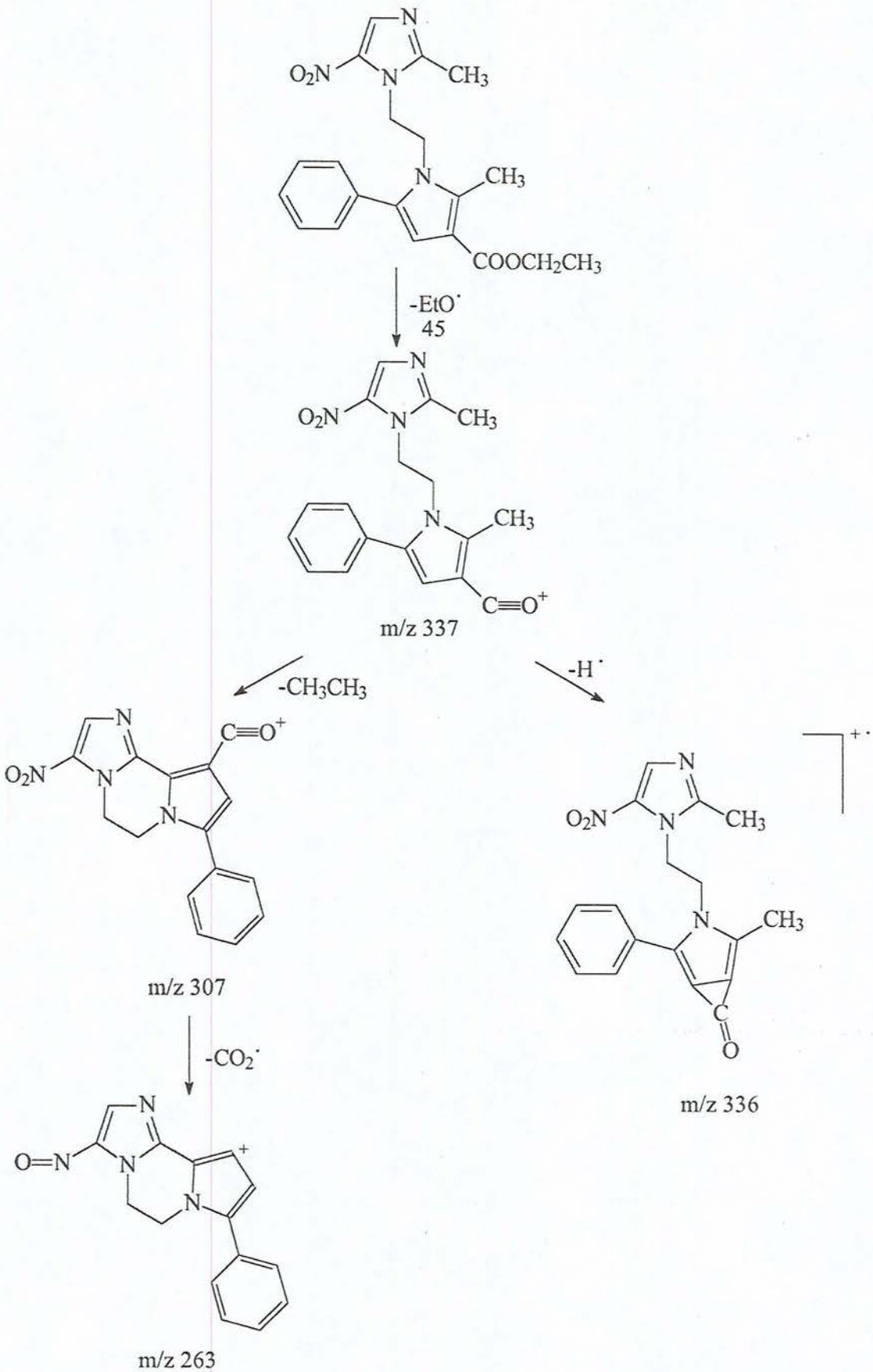
Pirol kalıntısı içeren Bileşik I'de pirolün 2,5-H ve 3,4-H protonları 6,51 ve 5,95 ppm de iki triplet olarak görülmüşler ve j değerleri pirol türevleri için karakteristik olan yaklaşık 2 Hz civarında bulunmuştur.⁽⁶⁰⁾

İmidazol çekirdeğinin ikinci konumundaki metil protonları, elektronik etkilenmeler göz önüne alınarak Bileşik II'de pirol kalıntısının 2,5-dimetil protonlarından daha düşük alanda rezonans vermesi beklenirken, çok az da olsa daha yüksek alanda rezonansa uğramıştır. Bunun nedeni, π -eksesif bir halka sistemi olan pirol çekirdeğinin anizotropik etkilerle metil protonlarının beklenenden daha fazla perdelenmeme etkisi altında kalmasına bağlanabilir.

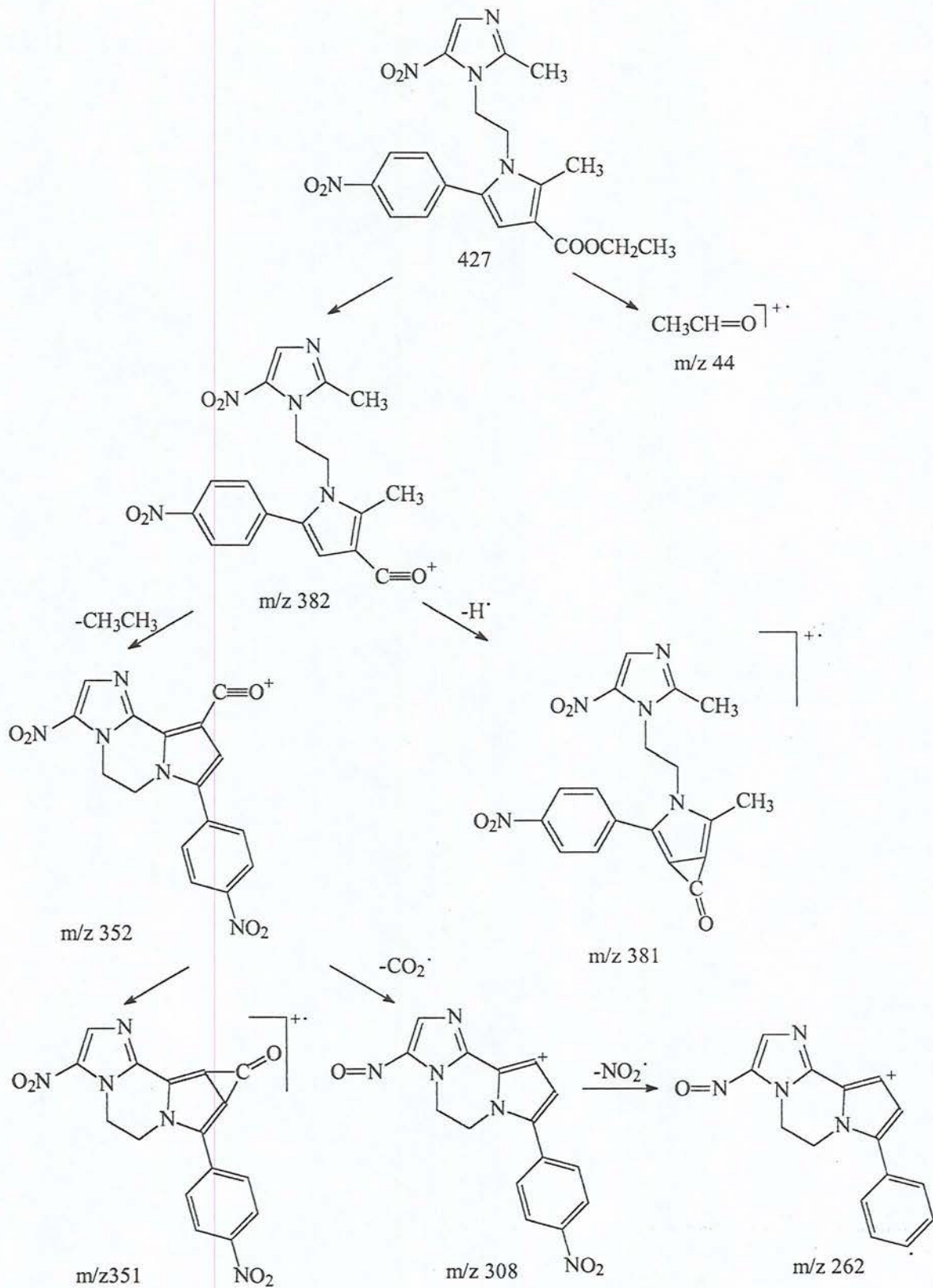
Bileşik IV ve V'de bulunan 1,4-disüstitüe benzen kalıntısının protonlarına ait karakteristik dubletler elde edilmiş ve bu gibi aromatik yarılmalarda karakteristik olan 8-9 Hz j değerleri bulunmuştur.

MASS Bulguları

Bileşik III ve V için yapılan EI-MS spektrumlarında ester grubu içeren bileşiklerde genellikle görüldüğü gibi moleküler iyon piki gözlenememiş, bunun yerine M-EtOH piki elde edilebilmiştir. Bileşik III için yapılan ES-MS spektrumunda moleküler iyon piki yine ancak %10 civarında gözlenirken, M-EtOH'a ait pik %100 olarak bulunmuştur. Bileşik III ve V'e ait parçalanma şemaları Şema 4.5 ve Şema 4.6'da gösterilmiştir.



Şema 4.5



Şema 4.6

4.3. Antimikrobiyal Etki Bulguları

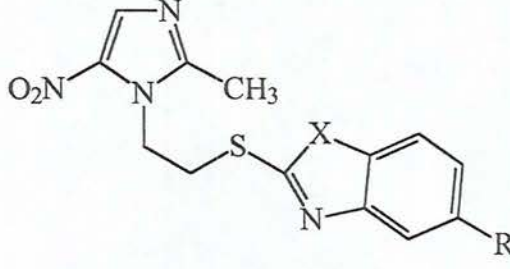
Bileşiklerimizin antibakteriyel ve antifungal etkileri gereç ve yöntemler bölümünde de belirtildiği gibi mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak araştırılmış ve sonuçlar MİK değerleri olarak Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1: Bileşiklerin Antibakteriyel ve Antifungal Etkileri (MİK µg/ml)

Bileşik	E.coli	S.aureus	C.albicans	T.glabrata
1	256	128	>1024	>1024
2	256	128	>1024	>1024
3	256	128	>1024	>1024
4	512	256	>1024	>1024
5	512	256	>1024	>1024
Metronidazol	>1024	>1024	–	–
Ceftriaxone	0.06	2	16	8
Clotrimazole	–	–	2	2

Metronidazol’ün kendisi anaerob bakteri ve protozoonların neden olduğu bazı enfeksiyonların tedavisinde kullanılan önemli bir ilaçtır. Bu nedenle metronidazol’dan hareketle elde ettiğimiz bileşiklerimizin de bu yönde değerlendirilmesi gerektiği düşünülebilir. Ancak, daha önce yapmış olduğumuz bir çalışmada⁽⁶¹⁾ yine metronidazol’dan

hareketle elde edilmiş olan 1-[2-(5-sübstitüe benzazol-2-il)tiyoetil]-2-metil-5-nitroimidazol türevlerinden bazılarının aerob bakterilere karşı oldukça etkili oldukları saptanmıştır. Bu



X = NH, S, O

R = H, CH₃, NO₂

sonuca dayanarak, bu çalışmada elde ettiğimiz bileşiklerin de aerob bakterilere (E.coli ve S.aureus) karşı etkili olabilecekleri düşünülerek etki testleri yapılmıştır. Ancak sonuçların verildiği Tablo 1'den de görüldüğü gibi bileşiklerimiz için belirgin bir antibakteriyel etki elde edilememiştir.

Literatürde bazı pirol türevlerinin⁽²³⁻²⁵⁾ oldukça yüksek antifungal etki verdikleri bilinmektedir. Buradan hareketle bileşiklerimizin iki fungusu (C.albicans ve T.glabrata) karşı etkileri denenmiştir. Ancak bileşiklerimizin tamamen etkisiz oldukları görülmüştür.

İleride bileşiklerimizin anaerob bakterilere karşı etkileri de denenecektir.

5-KAYNAKLAR

1. C.Cosar, L.Julou, Activity of 1-(2-hydroxyethyl)-2-methyl-5-nitroimidazole in experimental *Trichomonas vaginalis* infections, **Ann.Inst.Pasteur**, **96**, 238-241 (1954). CA 53: 10508.
2. M.E.Wolf, Burger's Medicinal Chemistry, Part II, Fourth Ed., John Wiley and Sons N.Y.,1979.
3. W.O.Foye, T.L.Lemke, D.A.Williams, Principles of Medicinal Chemistry, Fourth Ed., Williams and Wilkins Pub.,1995.
4. J.N.Delgado, W.A.Remers, Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry, Ninth Ed., J.B.Lippincott Comp. N.Y.,1991.
5. K.Butler, H.L.Howes, J.E.Lynch, D.K.Piric, Nitroimidazole Derivatives. Relationship between Structure and Antitrichomonal Activity, **J.Med.Chem.**, **10**, 891-897 (1967).
6. M.P.Hay, W.R.Wilson, J.W.Moselen, B.D.Palmer, W.A.Denny, Hypoxia-Selective Antitumor Agents. 8.Bis(nitroimidazolyl)alkene carboxamides: A New Class of Hypoxia-Selective Cytotoxins and Hypoxic Cell Radiosensitisers, **J.Med.Chem.**, **37**, 381-391 (1994).
7. M.P.Hay, H.H.Lee, W.R.Wilson, P.B.Roberts, W.A.Denny, Hypoxia-Selective Antitumor Agents. 10.Bis(nitroimidazoles) and Related Bis(nitroheterocycles): Development of Derivatives with Higher Rates of Metabolic Activation under Hypoxia and Improved Aqueous Solubility, **J.Med.Chem.**, **38**, 1928-1941 (1995).
8. R.A.Jones, G.P.Bean, The Chemistry of Pyrroles, Academic Press, London, 1977.

9. R.A.Jones, Pyrroles Part II, The Chemistry of Heterocyclic Comp., John Wiley and Sons N.Y.,1992.
10. J.A.Secrist III, P.S.Liu, Studies Directed toward a Total Synthesis of Nucleoside Q. The Annulation of 2,6-Diaminopyrimidin-4-one with α -Halo Carbonyls to Form Pyrrolo-[2,3-d]pyrimidines and Furo[2,3-d]pyrimidines, **J.Org.Chem.**, **43**, 3937-3941 (1978).
11. M.I.Lim, R.S.Klein, J.J.Fox, A New Synthesis of Pyrrolo[3,2-d]pyrimidines "9-Deazapurines" via 3-Amino-2-carboalkoxypyrroles, **J.Org.Chem.**, **44**, 3826-3829, (1979).
12. H.D.Winkeler, FF.Seela, 4-Amino-7-(β -D-arabinofuranosyl)pyrrolo[2,3-d]pyrimidin- die Synthese von Ara-Tubercidin durch Phasentransferkatalyse, **Chem.Ber.**, **113**, 2069-2080 (1980).
13. M.I.Lim, W.V.Ren, B.A.Otter, R.S.Klein, Synthesis of "9-Deazaguanosine" and Other New Pyrrole[3,2-d]pyrimidine C-Nucleosides, **J.Org.Chem.**, **48**, 780-788 (1983).
14. M.R.Grimmett, Advances in Imidazole Chemistry, Adv.Heterocyclic Chem.,12,103 (1970). Ed. A.R.Katritzky, A.J.Boulton, Academic Press,1970.
15. C.Cosar, C.Crisan, R.Horclois, R.M.Jacop, J.Robert, S.Tchelitchef, R.Viaud, Nitroimidazoles, Preparation et Activite Chimiotherapeutique, **Arzneimittel Forsch**, **16**, 23-29 (1996).
16. A.K.S.Bhujanga Rao, C.Gundu Rao, B.B.Singh, N-Substitution of 2-Methyl-4(5)-nitro-1H-imidazole: A New High-Yielding Method for Preparation of 4-Nitro Isomers, **J.Org.Chem.**, **55**, 3702-3704 (1990).
17. M.E.Wolf, Burger's Medicinal Chemistry. Part III, Fourth Ed., John Wiley and Sons N.Y.,1979.

18. R.Klink, K.G.R.Pachler, R.Gottschlich, Nitrefazole, a 4-nitroimidazole derivative with a strong inhibitory effect on aldehyde dehydrogenase. Synthesis and structural assignment, *Arzneimittel Forsch*, **35**, 1220-1222, 1985.
19. J.Morgenstern, R.Otto, S.Scheithauer, Bromination of 4-nitroimidazoles, Ger. (East) DD 260062 (Cl, C07D233/92) 14 Sep 1988, CA 110: 231634.
20. R.Chibber, I.J.Stratford, I.Ahmed, A.B.Robbins, D.Goodgame, B.Lee, Radio-sensitization of mammalian cells by transition metal complexes containing nitroimidazole ligands, *Int.J.Radiat.Oncol.,Biol.,Phys.*, **10**, 1213-1215, 1984. CA 101: 225872.
21. R.M.Jacob, L.R.Gilbert, C.Crisan, Nitroimidazolealkanols and acyl derivatives. U.S. 2944061 July 5, 1960. CA 55: 1657.
22. B.S.Furniss, A.J.Hannaford, P.W.G.Smith, A.R.Tatchell, Vogel's Textbook of Practical Org.Chem. Fifth Ed., John Wiley and Sons Inc., N.Y., 1148, 1989.
23. G.Flacchioni, G.C.Porretta, M.Scalzo, Pyrrolnitrin Analogues, VI- Unusual Pathway in the Knorr Synthesis between N-(4-nitrophenacyl)dimethylanilines and Ethyl acetoacetate, *Il Farmaco*, **34**, 987-1004 (1979).
24. V.Collotta, L.Cecchi, F.Melani, G.Filacchioni, C.Martini, S.Gelli, A.Lucacchini, Tricyclic Heteroaromatic Systems. Synthesis of 1,3 and 1,2 Disubstituted [1]Benzopyrano[4,3-b]pyrrol-4-ones and Structure-Activity Relationships as Benzodiazepine Receptor Ligands. *Il Farmaco*, **46**, 1139-1154 (1991).
25. G.C.Porretta, M.Biava, R.Fioravanti, M.Fischetti, C.Melino, F.Venza, P.Bolle, B.Tita, Research on Antibacterial and Antifungal Agents. VIII. Synthesis and Antimicrobial Activity of 1,4-Diarylpyrroles, *Eur.J.Med.Chem.*, **27**, 717-722 (1992).

26. T.H.Chan, S.D.Lee, 1,4-Dichloro-1,4-dimethoxybutane as a Mild Reagent for the Conversion of Primary Amines to Pyrroles. Synthesis of a Pyrrole Compound from Tobacco, **J.Org.Chem.**, **48**, 3059-3061 (1983).
27. A.Mai, R.Di Santo, S.Massa, M.Artico, G.C.Pantaleoni, R.Giorgi, M.F.Coppolino, A.Barrachini, Pyrrolobenzodiazepines with Antinociceptive Activity: Synthesis and Pharmacological Activities, **Eur.J.Med.Chem.**, **30**, 593-601 (1995).
28. M.Artico, G.Stefancich, R.Silvestri, S.Massa, G.Apuzzo, M.Artico, G.Simonetti, Research on Antibacterial and Antifungal Agents. 16. Synthesis and Antifungal Activities of 1-[α -(1-Naphtyl)benzyl]imidazole Derivatives and Related 2-Naphtyl Isomers, **Eur.J.Med.Chem.**, **27**, 693-699 (1992).
29. S.M.Bayomi, D.Y.Haddad, J.W.Sowell, One Step Synthesis of 6,7-Dimethyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrrolo[1,2-a][1,3]pyrimidines, **J.Heterocyclic Chem.**, **21**, 1367-1368, 1984.
30. W.Zimmermann, K.Eger, Zur Synthese substituierter Chinazoline und Pyrimidine, **Arch.Pharm.**, **312**, 552-555, 1979.
31. R.W.Johnson, R.J.Mattson, J.W.Sowell, Synthesis of Substituted 2-Amino-3-cyano-4-methylpyrroles, **J.Heterocyclic Chem.**, **14**, 383-385 (1977).
32. H.J.Roth, H.George, F.Assadi, Synthese Phenylsubstituierter Pyrrole, **Arch.Pharm.**, **303**, 753-759 (1970).
33. H.George, H.J.Roth, Zur Synthese substituierter Pyrrole, **Arch.Pharm.**, **307**, 669-673 (1974).
34. H.Pichler, G.Folkes, H.J.Roth, K.Eger, Synthese von 7-unsubstituierten 7H-Pyrrolo[2,3-d]-pyrimidinen, **Liebigs Ann.Chem.**, 1485-1505 (1986).

35. R.J.Mattson, L.C.Wang, J.W.Sowell, Synthesis of Substituted 2-Amino-3-(alkyl or aryl)sulfonylpyrroles, **J.Heterocyclic Chem.**, **17**, 1793-1796 (1980).
36. J.A.S.Laks, J.R.Ross, S.M.Bayomi, J.W.Sowell,Sr, Synthesis of N-1-Substituted 2-Amino-3-t-butoxycarbonyl-4,5-dimethylpyrroles, **Synthesis**, **36**, 291-293 (1983).
37. J.M.Sinambela, W.Zimmermann, H.J.Roth, K.Eger, Aminosäuren als Synthesebausteine von Pyrrolo[1,2-a]- und [2,3-d]anellierten Heterobicyclen, **J.Heterocyclic Chem.**, **23**, 393-395 (1986).
38. R.W.Johnson, T.H.Keenan, J.W.Kosh, J.W.Sowell,Sr, Synthesis of Substituted 2-Aminopyrrole Analogs of Lidocaine I, **J.Pharm.Sci.**, **68**, 317-320 (1979).
39. R.W.Johnson, T.H.Keenan, J.W.Kosh, J.W.Sowell,Sr, Synthesis of Substituted 2-Aminopyrrole Analogs of Lidocaine II, **J.Pharm.Sci.**, **68**, 955-958 (1979).
40. E.Toja, G.Tarzia, P.Ferrari, G.Tuan, Pyrrolopyridine Analogs of Nalidixic Acid. 1.Pyrrolo[2,3-b]pyridines, **J.Heterocyclic Chem.**, **23**, 1555-1560 (1986).
41. J.Davoll, Pyrrolo[2,3-d]pyrimidines, **J.Chem.Soc.**, 131-138 (1960).
42. N.S.Girgis, A.Jorgensen, E.B.Pedersen, Phosphorus Pentoxide in Organic Synthesis;XI. A New Synthetic Approach to 7-DeazaHypoxanthines,**Synthesis**, **38**, 101-105 (1985).
43. S.R.Etson, R.J.Mattson, J.W.Sowell,Sr, Synthesis of Substituted Pyrrolo[2,3d]pyrimidine-2,4-diones, **J.Heterocyclic Chem.**, **16**, 929-933 (1979).
44. H.J.Roth, K.Eger, Über zwei neue Ringsysteme, ein Pyrrolo[2,3-d]azinid und ein Pyrrolo[2,3-e]thiadiazin, **Arch.Pharm.**, **308**, 186-189 (1975).

45. A.Jorgensen, Synthesis of 3,7-Dihydro-4H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-ones, **Heterocycles**, **24**, 997-1006 (1986).
46. A.Merz, RR.Schropp, E.Dötterl, 3,4-Dialkoxypyrroles and 2,3,7,8,12,13,17,18-Octaalkoxyporphyrins, **Synthesis**, 795-800 (1995).
47. S.Mataka, K.Takahashi, Y.Tsuda, M.Tashiro, Preparation of Ethyl 3,5-Disubstituted Pyrrole-2-carboxylates from 1,3-Diketones and Ethyl Glycinate Hydrochloride, **Synthesis**, 157-159 (1982).
48. G.H.Walizei, E.Breitmaier, Pyrrole aus 3-Alkoxyacrolein und CH-aciden α -Aminoessigsäure-Derivaten, **Synthesis**, 337-391 (1989).
49. H.K.Hombrecher, G.Hortler, Synthesis of Pyrroles via Ethyl N-(3-Oxo-1-alkenyl)glycinates, **Synthesis**, 389-391 (1990).
50. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, Fourth Informational Supplement; Approved standart, NCCLS Document M-100-S4, Villanova, 1992.
51. M.R.Mc Ginnis, M.G.Rinaldi, Antifungal drugs: Mechanism of action, drug resistance, susceptibility testing and assays of activity in biological fluids, Ed. V.Lorian, Antibiotics in Laboratory Medicine, 3rd Ed., Williams and Wilkins, London. Los Angeles, 198, 1991.
52. M.Rodetsky, R.C.Wheeler, M.H.Roe, J.K.Todd, Microtiter broth dilution method for yeast susceptibility testing with validation by clinical outcome, **J.Clin.Microbiol.**, **24**, 600, 1986.

53. R.N.Cawper, L.H.Davidson, α -Bromoacetophenone, **Org.Syn.Coll.Vol., 2**, 480 (1943).
54. F.Kröhnke, Theory and practice of the halogenation of active methyl and methylene groups, **Chem.Ber., 69B**, 921-935, 1936.
55. C.Engler, O.Zielke, Einige weitere Derivate des Acetophenons, **Chem.Ber., 22**, 203-207, 1889.
56. M.Scalzo, G.C.Porretta, F.Chimenti, M.C.Casanova, S.Panico, N.Simonetti, Ricerche Su Sostanze ad Attivita Antibatterica ed Antifungina; Nota VI- Sintesi ed attivita microbiologica di nuovi derivati 1,5-diarilpirrolici, **Il Farmaco, 43**, 665-676 (1988).
57. M.Scalzo, G.C.Porretta, F.Chimenti, A.Bolasco, M.C.Casanova, N.Simonetti, A.Villa, Ricerche Su Sostanze ad Attivita Antibatterica ed Antifungina; Nota V- Sintesi ed attivita microbiologica di nuovi derivati 1,5-diarilpirrolici, **Il Farmaco, 43**, 677-691 (1988).
58. J.March, Advanced Organic Chemistry, Reactions, mechanisms and structure, 3rd Ed., John Wiley & Sons, N.Y., 1985.
59. T.Mills, W.N.Price, P.T.Price, J.C.Roborson, Instrumental Data for Drug Analysis Volume 1, Elsevier N.Y., 358-359, 1982.
60. R.M.Silverstein, G.C.Bassler, T.C.Morrill, Spectrometric Identification of Organic Compounds, John Wiley & Sons, New York, 1991.
61. Ş.Demirayak, N.Kiraz, Some Nitroimidazole Derivatives as Possible Antibacterial Agents, **Il Farmaco, 48**, 443-446, 1993.