



1,2,4-Triazol Yapısı Taşıyan Benzotiyazol Türevlerinin Sentezi ve Antifungal Aktiviteleri

Ulviye ACAR ÇEVİK ¹, Derya OSMANİYE ²

ÖZ

Amaç: Antifungal etkili ilaçların düzensiz kullanımı ile artan direnç gelişimi ve immün yetmezliği olan hastaların sayısındaki artış nedeniyle, son yıllarda fungal enfeksiyonların tedavisindeki başarısızlık giderek artmaktadır. Bu sorun, daha etkin yeni antifungal ilaçlara olan ihtiyacı doğurmaktadır. Günümüzde antiülseratif, antihelmintik, antiviral, antihistaminik, antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri nedeniyle pek çok tedavi alanında kullanılmakta olan benzotiyazol türevi bileşikler dikkat çekmektedir. Benzotiyazol halkası, DNA bazlarının (pürin ve pirimidin çekirdekleri) temel yapılarının izosteri olduğundan ve triptofan gibi aminoasitlerin doğal olarak yapısında bulunduğundan canlı organizmalar tarafından tanınmaktadır. Pek çok araştırma, benzotiyazol halkasının antifungal aktivitesini de kanıtlamıştır.

Gereç ve Yöntemler: Beş yeni bileşikten oluşan 2-Substitüe-N-(6-(1,2,4-triazol-1-il)benzo[d]tiyazol-2-il)-asetamid (5a-5e) serisi sentezlenmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapıları FT-IR (fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi), ¹H-NMR (proton nükleer manyetik rezonans), ¹³C-NMR (karbon nükleer manyetik rezonans) ve kütle spektroskopisi verileri kullanılarak aydınlatılmıştır. Bileşiklerin *in vitro* antifungal aktivitesi microbroth dilüsyon yöntemi kullanılarak dört farklı *Candida* türüne (*Candida krusei*, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* ve *Candida glabrata*) karşı değerlendirilmiştir. Ketakonazol referans ilaç olarak kullanılmıştır.

Bulgular: Sentezlenen bileşiklerin minimum inhibitör konsantrasyon değerleri incelendiğinde orta derecede antifungal aktivite gösterdikleri görülmektedir. Sentezlenen bileşikler içerisinde 5c kodlu bileşik *C. glabrata* ve *C. albicans*'a karşı referans ilaçtan daha yüksek etki göstermiştir.

Sonuç: Sentezlenen bileşiklerin antifungal potansiyelleri incelendiğinde umut verici sonuçlara ulaşıldığı görülmektedir. Bu nedenle, bu çalışmanın sonuçlarına göre, projede kullanılan sentez yöntemlerine bağlı olarak, sentezlenecek olan yeni bileşiklerin antifungal aktivitelerinin araştırılması önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Benzotiyazol; triazol; antifungal.

Synthesis and Antifungal Activities of Benzothiazole Derivatives Bearing a 1,2,4-Triazole Moiety

ABSTRACT

Aim: In recent years, therapy of fungal infections failure have increased because of the growing of multi-drug resistance due to anomalous used of antifungal drugs and number of immunocompromised patients who are susceptible to these infections. Hence there was need to most effective novel antifungal compounds on microorganisms. Nowadays, benzothiazole derivatives of used for various therapies due to antiulcerative, antihelmintic, antiviral, antihistaminic, antiinflammatory and antioxidant activities have been prominent. Benzothiazole ring was also recognized by organism; because of they were isosteres of basic structures of DNA bases (purine and pyrimidine moieties) and tryptophane amino acids. Additionally, researches have showed that antifungal activities of benzothiazole derivatives.

Material and Methods: A series of five new compounds of 2-Substitued-N-(6- (1,2,4-triazol-1-yl)benzo[d]thiazol-2-yl)-acetamide (5a-5e) derivatives were synthesized. The structures of the obtained compounds were elucidated using by FT-IR (fourier transform infrared spectroscopy), ¹H-NMR (proton nuclear magnetic resonance), ¹³C-NMR (carbon

1 Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya AD, Eskişehir, Türkiye

2 Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Doping ve Narkotik Bileşikler Analiz Laboratuvarı, Eskişehir, Türkiye

Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Ulviye ACAR ÇEVİK, e-mail: uacar@anadolu.edu.tr

Geliş Tarihi / Received: 17.07.2019, Kabul Tarihi / Accepted: 27.12.2019

nuclear magnetic resonance) and mass spectroscopy data. *In vitro* antifungal activity of the compounds against four *Candida* strains (*Candida crusei*, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* and *Candida glabrata*) was evaluated by microbroth dilution method. Ketaconazole was used as a reference drug.

Results: When the minimum inhibitor concentration values of the synthesized compounds were examined, it was seen that they showed moderate antifungal activity. Among the synthesized compounds, the compound **5c** had a higher effect against *C. glabrata* and *C. albicans* than the reference drug.

Conclusion: When the antifungal potentials of the synthesized compounds are examined, it is seen that promising results are reached. Therefore, according to the results of this study, it is suggested to investigate the antifungal activities of the new compounds to be synthesized, depending on the synthesis methods used in the project.

Keywords: Benzothiazole; triazole; antifungal.

GİRİŞ

Son yıllarda, sistemik mantar enfeksiyonlarının görülme sıklığı, farklı antibiyotik kullanımı, organ ve kemik iliği naklinin yaygın uygulanması, ilaç bağımlılığının artması ve bağışıklık sistemini baskılayan hastalıklar gibi çeşitli faktörlerin sonucu olarak çarpıcı bir şekilde artmaktadır (1-3).

Günümüzde, mantar enfeksiyonlarını tedavi etmek için mevcut antifungal ajanlar, polienler (örneğin, amfoterisin B ve nistatin) (4), ekinokandinler (örneğin, kasofungin ve mikafungin) (5) azoller (örneğin, ketokonazol, flukonazol, vorikonazol ve itraconazol) (6) ve antimetabolitler (örneğin, 5-florositozin) (7) dahil olmak üzere, etki mekanizmalarına göre dört kategoriye ayrılabilir. Bu ajanlar arasında azol grupları, antifungal tedavide en yaygın kullanılanlardır (8).

Ergosterol, membran akışkanlığı, enzim aktivitesi, hücre morfolojisi, membran geçirgenliği ve hücre döngüsü ilerlemesinde önemli bir rol oynayan mantar hücre duvarının önemli bir bileşenidir (9). Mantar hücrelerinde bir monoksijenaz olan Lanosterol-14 α -demetilaz (14-DM, CYP51), mantarlarda sterol biyosentezinin temel enzimidir. Azol antifungal ajanları, heterosiklik azot atomunun altıncı ligand olarak bağlandığı bir mekanizma ile enzimin aktif bölgesindeki heme demirine bağlanır, böylece aktif bölgenin yapısını değiştirerek enzimi inhibe eder (10).

Steroidalkada P-450'ye bağımlı demetilasyonun, memeli hücrelerinde tıpkı maya ve mantarlardaki gibi olduğu ve kolesterol sentezinde rol oynadığı bildirilmektedir. Ancak azollerin insanlarda kolesterol sentezini inhibe etmeleri için gerekli dozları, maya ve mantarlarda ergosterol sentezini inhibe etmek için gerekli dozları ile karşılaştırıldığında oldukça yüksek konsantrasyona gereksinim gösterdikleri saptanmıştır. Başka bir deyişle mantarların sitokrom P-450 enziminin, bu ilaçlara memelilerin aynı enzimine kıyasla en az 1000 kez daha duyarlı oldukları belirtilmektedir (11).

Klinik olarak kullanılan antifungal ilaçlar, dar aktivite spektrumu, optimal olmayan farmakokinetik ve ilaç direncinin ortaya çıkması (genellikle azoller) gibi belirli

sınırlamalara sahiptir. Bu nedenle, antifungal ajanların geliştirilmesine hala ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu amaçla bu çalışmada yeni benzotriazol ve triazol türevi bileşikler sentezlenmiş, 4 farklı *Candida* türü üzerinde etkileri araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma 10.02.2019-20.05.2019 tarihleri arasında yapılmıştır. Çalışmadaki bileşiklerin sentezi Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Araştırma Laboratuvarında, Bileşiklerin analizi ve aktivitesi ise Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Doping ve Narkotik Analiz Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Sentez Çalışmaları

Mikro dalga destekli 4-(1,2,4-triazol-1-il)-1-nitrobenzen sentezi (1)

4-Floro-1-nitrobenzen (4,24 mL, 0,04 mol) 30 mL hacimli vial içerisine alınmış üzerine 10 mL DMF, K₂CO₃ (5,52g, 0,04 mol) ve 1,2,4-triazol (2,76 g, 0,04 mol) ilave edilmiştir. Reaksiyon karışımı, mikrodalga sentez reaktöründe 200°C sıcaklık ve 10 bar basınç altında 15 dakika tutulmuştur. Reaksiyon süresi bitiminde vial içeriği buzlu suya dökülerek ürün çöktürülmüş, bol su ile yıkanmış, kurutulmuş ve etanolden kristallendirilmiştir.

4-(1,2,4-triazol-1-il)anilin sentezi (2)

Toz çinko (22,75 g, 0,35 mol) on eşit (2,275 g x 10) porsiyona bölünmüştür. 4-(1,2,4-triazol-1-il)-1-nitrobenzen (6,65 g, 0,035 mol), 100 ml etanol ve 100 ml %25'lik hidroklorik asit-HCl karışımı içinde çözülmüştür. Hazırlanan çözeltiye bir porsiyon toz çinko ilave edilerek oda sıcaklığında, manyetik tabanlı ısıtıcı karıştırıcı üzerinde çok kuvvetli şekilde karışması sağlanmıştır. Kalan toz çinko porsiyonlar halinde ve 15 dakika aralıklarla karışıma ilave edilmiştir. İlave işlemi tamamlandıktan sonra karışım, geri çeviren soğutucu altında 1 saat kaynatılmıştır. Reaksiyon içeriği buzlu su üzerine dökülmüş, %10'luk sodyum hidroksit çözeltisi ile bazikleştirilerek ürün ve yan ürünlerin çökmesi sağlanmıştır. Çökelek, kloroform ile 100'er ml'lik 3 porsiyon halinde ekstrakte edilerek saflaştırılmıştır. Kloroformlu fazlar birleştirilerek susuz sodyum sülfat üzerinden geçirilmiştir. Kloroform, rotavaporda uçurulmuş ve ürün kazanarak alınmıştır. Ham ürün, etanolden kristallendirilmiştir.

6-(1,2,4-triazol-1-il)benzo[d]tiyazol-2-amin sentezi (3)

Potasyum tiyosiyanat (1,92 g, 0,02 mol) asetik asit içerisinde çözülmüştür. Hazırlanan çözeltinin içerisine 4-(1,2,4-triazol-1-il)anilin (2) (3,2 g, 0,02 mol) ilave edilerek buz banyosuna alınmıştır. Bir damlatma hunisine brom (0,024 mol) ve asetik asit konularak damla damla hazırlanan çözeltiye ilave edilmiştir. Damlatma işlemi bittikten sonra karışım oda sıcaklığında bir gün boyunca karıştırılmaya devam etmiştir. Çöken kısım süzülerek alınmış, su içinde kaynatılıp tekrar süzülür. Süzüntüye buz eklenerek amonyak ile nötrleştirilmiştir. Beyaz renkli çöken ürün süzülerek alınmıştır.

N-(6-(1,2,4-triazol-1-il)benzo[d]tiyazol-2-il)-2-kloroasetamit sentezi (4)

6-(1,2,4-triazol-1-il)benzo[d]tiyazol-2-amin (3) (1,76 g 0,011 mol), 100 mL tetrahidrofur-THF içerisinde çözülmüştür. Karışım, trietilamin (1,6 ml, 0,03 mol)

ilavesiyle manyetik tabanlı ısıtıcı karıştırıcı üzerinde hazırlanan buz banyosuna alınmıştır. Bir damlatma hunisine kloroasetil klorür (0,9 ml, 0,011 mol) ve 10 ml THF konulmuştur. Kloroasetil klorür ve THF karışımı çok yavaş ve dikkatli şekilde buz banyosundaki çözelti üzerine damla damla ilave edilmiştir. Bu esnada çözeltinin kuvvetli bir biçimde karıştırılmasına özen gösterilmiştir. Damlatma işlemi bitiminde karışım buz banyosundan çıkartılıp oda sıcaklığında bir saat daha karıştırılmıştır. THF çeker ocağa uçurulduktan sonra kahve renkli ürün kazınarak alınmıştır. Ham ürün etanolden kristallendirilmiştir.

2-Sübstitüe-N-(6-(1,2,4-triazol-1-il)benzo[d]tiyazol-2-il)-asetamit (5a-5e) türevlerinin genel sentez yöntemi
N-(6-(1,2,4-triazol-1-il)benzo[d]tiyazol-2-il)-2-kloroasetamit (**4**) (0,24 g, 0,001 mol), potasyum karbonat (0,138 g, 0,001 mol) ve sekonder amin türevleri (0,001 mol) 30 ml aseton içerisinde çözölmüştür. Elde edilen çözelti geri çeviren soğutucu altında ve 40 °C'de 12 saat ısıtılarak karıştırılmıştır. Reaksiyon kabı ağzı açık bir şekilde oda sıcaklığında bir gün boyunca kendi haline bırakılarak aseton ortamdan uzaklaştırılmıştır. Kalıntı üzerine su dökülerek katılaşması sağlanmıştır. Süzülerek alınan ürün, bol miktar su ile yıkanmış, kurutulmuş ve etanolden kristallendirilmiştir.

İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) Çalışmaları ve Ahkonma Faktör (Retention Factor- R_f) Değerlerinin Saptanması

Anlatılan bütün sentez çalışmalarında reaksiyonların kontrolü İTK uygulamaları ile gerçekleştirilmiştir. Belli zaman aralıkları ile deney balonlarından alınan numuneler ve sentezler de kullanılan başlangıç maddelerinin etanoldeki çözeltileri adsorban olarak seçilen sikajel 60 F₂₅₄ kaplı, önceden uygun çözücü karışımları ile doyurulmuş alüminyum plaklara kılcal boru yardımıyla tatbik edilmiş ve hareketli fazlar içerisinde sürüklenmesi sağlanmıştır. Lekelerin saptanmasında, ultraviyole ışığı (254 nm ve 366 nm) kullanılmıştır. İTK sonucuna göre reaksiyonlara son verilmiş ya da devam edilmiştir. Bu çalışma kapsamındaki her bir sentezin kontrolü için uygun İTK hareketli fazları, farklı çözücü karışımları deneyerek bulunmuştur. Yöntem A, B ve C'de anlatılan sentezlerin kontrolü için uygun hareketli fazın petrol eteri : etil asetat (3:1), yöntem D'deki sentezin kontrolü için uygun hareketli fazın petrol eteri : etil asetat (1:1), olduğuna karar verilmiştir.

Erime Noktalarının Tespiti

Sentezlenen bileşiklerin erime noktalarının (E.n) saptanması, toz edilen maddenin, bir ucu açık kapiller borulara ½ cm kadar doldurularak Elektrotermal erime noktası tayini cihazında yapılmış ve bulunan değerler düzeltilmemiştir.

¹H NMR Spektrumlarının Alınması

Proje kapsamındaki sonuç bileşiklerin ¹H NMR spektrumları, 5 mg sentez ürününün 0,5 ml döteryo dimetilsülfoksit içindeki çözeltilsinin, tetra metil silan'a karşı 500 MHz'lik NMR spektrometresine uygulanması sonucu alınmıştır.

IR Spektrumlarının Alınması

Proje kapsamındaki sonuç bileşiklerin IR spektrumları, az miktar sentez ürününün ATC IR spektrofotometresine uygulanması sonucu alınmıştır.

Kütle Analizi

İmg madde tartılarak 1ml asetonitril-su karışımında çözülmüş, LC-MS8040 (Shimadzu Kyoto, Japonya) cihazı kullanılarak analiz edilmiştir.

Antifungal Aktivite Testi

Antifungal aktivite testi EUCAST kesin yöntemi EDef 7,1'e (12) göre gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen bileşikler, *C. glabrata* (ATCC 90030), *C. krusei* (ATCC 6258), *C. parapsilosis'e* (ATCC 22019) ve *C. albicans'a* (ATCC 24433) karşı *in vitro* büyüme önleyici aktiviteleri için test edilmiştir.

Maya suşları canlandırılmak üzere -85 °C'den çıkarılarak içinde Sabouraud Dextrose Agar (SDA) bulunan petrilere ekilmiş ve 37°C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra gelişen kültürlerin, McFarland 0,5-2,5x10⁵ cfu /mL tüpüne göre bulanıklık ayarı yapılmıştır.

Test edilecek bileşikler, 1,6 mg olmak üzere tartılarak steril flakonlara aktarılmış ve üzerlerine 2 mL saf DMSO eklenmiştir. Bileşiklerin dimetilsülfoksit-DMSO içinde tam olarak çözümleri ve homojen bir karışım hale gelmeleri sağlanmıştır.

Deney için 96 "U" tipi kuyucuklara sahip mikrotitrasyon petrilere (Brand) kullanılmıştır. Hazırlanmış bileşik karışımları mikropipetörler yardımıyla 100 µL olacak şekilde sırasıyla kuyucuklara aktarılmıştır. Tüm konsantrasyonlar kuyucuklara aktarıldıktan sonra, maya kültürlerinden 100'er µL pipetlenmiştir. Son sütun mikroorganizma kontrolüne, son satır da test maddesinin kontrolüne ayrılmıştır. Bu işlemlerden sonra mikrotitrasyon petrilere kapakları kapatılarak 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmış ve bu süre sonunda kuyucuklarda üremenin varlığının ya da yokluğunun daha iyi gözlenebilmesi için her kuyuya resazurin (20 ug / mL) ilave edilmiştir. Daha sonra renklenme için 37°C'de 3 saat daha inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda üremenin gözlenmediği en düşük konsantrasyon yani minimum inhibe edici konsantrasyon mg/mL olarak belirlenmiştir. Deneyler çift paralel olarak tekrarlanmıştır. Standart antifungal madde olarak ketokonazol kullanılmıştır.

BULGULAR

Sentez çalışmaları

Bu çalışma kapsamında sentezi gerçekleştirilen 5 adet yeni benzo[*d*]tiyazol-triazol türevi bileşiğin yapıları IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve mass spektroskopik verileri yardımıyla aydınlatılmıştır (Şema 1).

N-(6-(1,2,4-triazol-1-il)benzo[*d*]tiyazol-2-il)-(2-piperidin-1-il)asetamit (5a)

DeneySEL E.n. 221,5-223,7 °C. Verim %72.

IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3109 (N-H), 1668 (C=O gerilim bandı) 1620-1420 (C=C ve C=N gerilim bandları). **¹H-NMR (500 MHz) (DMSO-*d*₆) δ (ppm):** 1,38-1,40 (2H, m, piperidin), 1,52-1,55 (4H, m, piperidin), 2,38-3,41 (6H, m, piperidin, -COCH₂), 7,88 (1H, d, $J_1=9,0$ Hz, benzo[*d*]tiyazol-C₄), 7,92 (1H, dd, $J_1=9,0$ Hz, $J_2=2,0$ Hz, benzo[*d*]tiyazol-C₅), 8,25 (1H, s, triazol), 8,50 (1H, s, benzo[*d*]tiyazol-C₇), 9,28 (1H, s, triazol). **¹³C-NMR (125 MHz) (DMSO-*d*₆) δ (ppm):** 22,50, 24,82, 25,68, 55,87, 56,79, 64,54, 121,82, 122,94, 124,58, 125,77, 127,44, 142,66, 152,50, 153,46, 167,40, 168,23. **ESI-MS [M+H]⁺ :** 343.

***N*-(6-(1,2,4-triazol-1-il)benzo[d]tiyazol-2-il)-(2-(4-metil-piperidin)-1-il)asetamit (5b)**

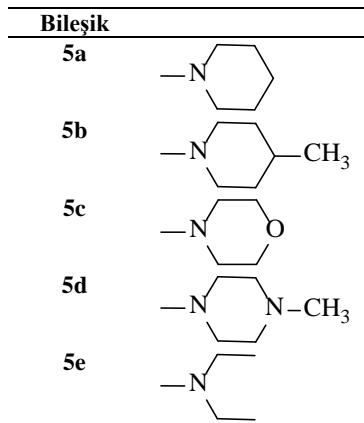
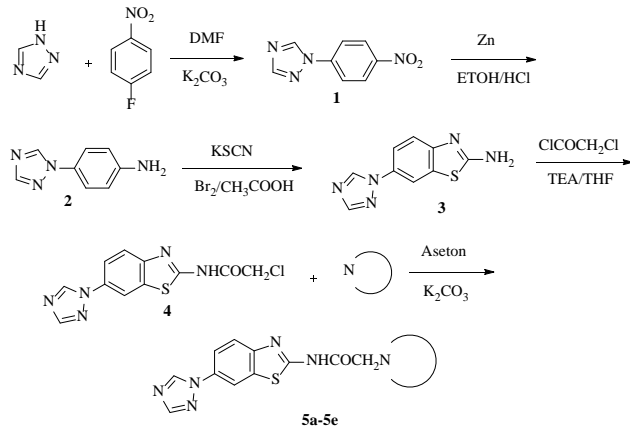
Deneyisel E.n. 235,7-237,1 °C. Verim %75.

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$: 3118 (N-H), 1668 (C=O gerilim bandı) 1620-1393 (C=C ve C=N gerilim bandları). **¹H-NMR (500 MHz) (DMSO-*d*₆) $\delta(\text{ppm})$** : 1,08 (3H, d, -CH₃), 1,38-1,40 (5H, m, piperidin), 2,40-2,52 (4H, m, piperidin), 3,32-3,41 (2H, s, -COCH₂), 7,88 (1H, d, $J=9,0$ Hz, benzotiyazol-C₄), 7,92 (1H, dd, $J_1=9,0$ Hz, $J_2=2,0$ Hz, benzotiyazol-C₅), 8,25 (1H, s, triazol), 8,49 (1H, s, benzotiyazol-C₇), 9,28 (1H, s, triazol). **¹³C-NMR (125 MHz) (DMSO-*d*₆) $\delta(\text{ppm})$** : 20,48, 31,18, 33,24, 34,32, 54,65, 55,67, 63,97, 121,45, 122,34, 124,47, 125,58, 127,72, 142,84, 153,22, 155,72, 166,88, 168,54. **ESI-MS [M+H]⁺**: 357.

***N*-(6-(1,2,4-triazol-1-il)benzo[d]tiyazol-2-il)-2-morfolinoasetamit (5c)**

Deneyisel E.n. 217,9-219,4 °C. Verim %78.

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$: 3116 (N-H), 1703 (C=O gerilim bandı) 1629-1408 (C=C ve C=N gerilim bandları). **¹H-NMR (500 MHz) (DMSO-*d*₆) $\delta(\text{ppm})$** : 2,50-2,54 (4H, m, morfolin), 3,38-3,42 (4H, m, morfolin), 3,61 (2H, s, -COCH₂), 7,90 (1H, d, $J=9,0$ Hz, benzotiyazol-C₄), 7,91 (1H, dd, $J_1=9,0$ Hz, $J_2=2,0$ Hz, benzotiyazol-C₅), 8,25 (1H, s, triazol), 8,49 (1H, s, benzotiyazol-C₇), 9,29 (1H, s, triazol). **¹³C-NMR (125 MHz) (DMSO-*d*₆) $\delta(\text{ppm})$** : 54,84, 55,12, 63,94, 66,17, 67,25, 121,18, 122,38, 124,96, 125,52, 127,54, 142,20, 153,18, 154,42, 166,62, 168,47. **ESI-MS [M+H]⁺**: 345.

**Şema 1.** 5a-5e Kodlu bileşiklerin sentez şeması***N*-(6-(1,2,4-triazol-1-il)benzo[d]tiyazol-2-il)-(2-(4-metil-piperazin)-1-il)asetamit (5d)**

Deneyisel E.n. 262,4-264,5 °C. Verim %74.

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$: 3109 (N-H), 1676 (C=O gerilim bandı) 1620-1410 (C=C ve C=N gerilim bandları). **¹H-NMR (500 MHz) (DMSO-*d*₆) $\delta(\text{ppm})$** : 2,16 (3H, s, -CH₃), 2,40-3,39 (10H, m, piperazin, -COCH₂), 7,90 (1H, d, $J=9,0$ Hz, benzotiyazol-C₄), 7,92 (1H, dd, $J_1=9,0$ Hz, $J_2=2,0$ Hz, benzotiyazol-C₅), 8,26 (1H, s, triazol), 8,49 (1H, s, benzotiyazol-C₇), 9,29 (1H, s, triazol). **¹³C-NMR (125 MHz) (DMSO-*d*₆) $\delta(\text{ppm})$** : 47,66, 54,35, 55,22, 58,24, 59,17, 63,48, 121,66, 123,44, 123,51, 124,49, 126,86, 142,32, 152,28, 153,74, 166,65, 167,94. **ESI-MS [M+H]⁺**: 358.

***N*-(6-(1,2,4-triazol-1-il)benzo[d]tiyazol-2-il)-2-(diethylmino)asetamit (5e)**

Deneyisel E.n. 238,7-240,3 °C. Verim %69.

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$: 3049 (N-H), 1680 (C=O gerilim bandı) 1620-1395 (C=C ve C=N gerilim bandları). **¹H-NMR (500 MHz) (DMSO-*d*₆) $\delta(\text{ppm})$** : 1,01 (6H, t, -CH₃), 2,65-2,68 (4H, m, -CH₂), 3,41 (2H, s, -COCH₂), 7,88 (1H, d, $J=9,0$ Hz, benzotiyazol-C₄), 7,91 (1H, dd, $J_1=9,0$ Hz, $J_2=2,0$ Hz, benzotiyazol-C₅), 8,26 (1H, s, triazol), 8,50 (1H, s, benzotiyazol-C₇), 9,28 (1H, s, triazol). **¹³C-NMR (125 MHz) (DMSO-*d*₆) $\delta(\text{ppm})$** : 14,66, 52,16, 63,44, 121,48, 122,74, 124,66, 125,51, 126,78, 142,81, 152,47, 153,75, 165,52, 167,81. **ESI-MS [M+H]⁺**: 331.

Antifungal Aktivite Çalışmaları

Sentezi gerçekleştirilen triazol türevlerinin antifungal etki potansiyelleri mikrodilüsyon tekniği kullanılarak çeşitli *Candida* türleri üzerinde test edilmiştir. Mikrobiyolojik çalışmalar sonucunda her bileşik için mikroorganizmalara karşı gözlenen MİK değeri kaydedilmiştir. Aktivite çalışmalarında fungus türleri olarak *Candida crusei*, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* ve *Candida glabrata* kullanılmıştır. Sentez edilen bileşiklerin antifungal etkinliklerini karşılaştırmak amacıyla standart ajan olarak triazol halkası taşıyan ketakonazol kullanılmıştır. Mikrobiyolojik çalışmalar sonucunda elde edilen MİK değerleri Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. Sentezlenen bileşiklere ait MİK ($\mu\text{g/mL}$) değerleri

Bileşik	<i>C. krusei</i> (ATCC6258)	<i>C. glabrata</i> (ATCC90030)	<i>C. albicans</i> (ATCC102)	<i>C. parapsilosis</i> (ATCC 7330)
5a	25	25	25	25
5b	12,5	25	12,5	25
5c	6,25	3,125	3,125	6,25
5d	12,5	6,25	12,5	6,25
5e	6,25	12,5	12,5	6,25
Ketakonazol	6,25	12,5	12,5	6,25

MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, $\mu\text{g/mL}$: mikrogram/mililitre, *C. krusei*: *Candida krusei*, *C. glabrata*: *Candida glabrata*, *C. albicans*: *Candida albicans*, *C. parapsilosis*: *Candida parapsilosis*.

Tablo 1 incelendiğinde bazı bileşiklerin kayda değer antifungal aktivite potansiyellerinin olduğu göze çarpmaktadır. Seri içerisinde 5c kodlu bileşik *C. glabrata* ve *C. albicans*'a karşı referans ilaca göre daha etkili olduğu bulunmuştur.

TARTIŞMA

Sentezlenen bileşiklerin kimyasal yapıları incelendiğinde, bütün bileşiklerde ortak olarak amid (-NHCO) fonksiyonel grubunun mevcut olduğu göze çarpmaktadır. Bileşiklerin IR spektrumlarında bu grup üzerinde yer alan karbonile (C=O) ait spesifik gerilim bandı 1668-1703 cm^{-1} aralığında elde edilmiştir. Bütün sentez bileşiklerinde birden fazla aromatik halka sistemi mevcuttur. Bu halkaların taşıdığı olduğu C=C ve C=N gruplarına ait gerilim bandları 1420-1620 cm^{-1} aralığında elde edilmiştir. NMR spektrumları alınan bileşiklerin kimyasal yapılarında, ortak olarak benzotriazol ve triazol halka sistemleri bulunmaktadır. Bu halkalardan benzotriazol halkasının 4. konumunda bulunan proton tüm bileşiklerde 7,88-7,90 ppm aralığında dublet olarak gözlenmiştir. Benzotriazol halkasının 5. konumunda bulunan protona ait pik tüm bileşiklerde 7,91-7,92 ppm aralığında dubletin dubleti şeklinde gözlenmiştir. Orto konumunda bulunan proton dublet yarılma sağlarken, meta konumunda bulunan proton dublet pikin tekrar yarılmasına neden olmuştur. 7. konumunda bulunan proton ise 8,49-8,50 ppm aralığında singlet şeklinde gözlenmiştir. Triazol halka isteminde yer alan protonlar 8,25-8,26 ve 9,28-9,29 ppm aralığında singlet olarak gözlenmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin antifungal aktivite sonuçları incelendiğinde serideki tüm bileşiklerin orta düzeyde etki gösterdikleri görülmektedir. Seri içerisinde morfolin yapısı taşıyan **5c** kodlu bileşiğin *C. krusei* ve *C. parapsilopsis'e* karşı referans ilaç ketakonazol ile eşit düzeyde aktivite gösterdiği bulunmuştur. 4-Metilpiperazin yapısı taşıyan **5d** kodlu bileşiğin referans ilaca benzer etki potansiyeline sahip olduğu bulunmuştur. **5e** kodlu bileşiğin test edilen tüm *Candida* suşları üzerinde referans ilaç ile aynı düzeyde etki gösterdiği bulunmuştur. Seri içerisinde sentezlenen bileşiklerin yapıları incelendiğinde morfolin yapısı taşıyan **5c** kodlu bileşiğin ön plana çıktığı görülmektedir. Ayrıca, sentezlenen bileşiklerin benzer antifungal etki potansiyeline sahip olması sentezlenen bileşiklerin genel yapısının funguslar üzerinde etkili olduğunu göstermektedir.

SONUÇ

Bu çalışma kapsamında benzotriazol-triazol halka sisteminin sahip olduğu potansiyel antifungal etki dikkate alınarak 5 adet yeni bileşik sentezlenmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapıları IR, $^1\text{H-NMR}$ ve mass spektroskopik yöntemleri ile aydınlatılmıştır. Sentez bileşiklerini antifungal etki testlerine tabi tutulmuş ve MİK değerleri kaydedilmiştir. Elde edilen mikrobiyolojik bulgular **5c** kodlu bileşiğin antifungal etki potansiyelinin *C. glabrata* ve *C. albicans* türleri üzerinde referans ilaçtan daha yüksek düzeyde olduğunu göstermiştir. Zorlu bir süreç olan yeni ilaç etkin maddesi geliştirme zincirinin ilk halkasını oluşturan Farmasötik Kimya alanında yapılan bu çalışmadan elde edilen antifungal aktivite sonuçları umut verici niteliktedir. Bu nedenle, bu çalışma sonuçlarına göre, ileride gerçekleştirilecek çalışmalarda proje kapsamında kullanılan sentez yöntemlerine bağlı kalarak, sentez edilecek yeni bileşiklerin antifungal aktivitelerinin araştırılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Shi C, Liu C, Liu J, Wang Y, Li J, Xiang M. Anti-Candida activity of new azole derivatives alone and in combination with fluconazole. *Mycopathologia*. 2015; 180(3-4): 203-7.
2. Cao X, Sun Z, Cao Y, Wang R, Cai T, Chu W, et al. Design, synthesis, and structure-activity relationship studies of novel fused heterocycles-linked triazoles with good activity and water solubility. *J Med Chem*. 2014; 57(9): 3687-706.
3. Ramirez-Villalva A, Gonzalez-Calderon D, Gonzalez-Romero C, Morales-Rodriguez M, Jauregui-Rodriguez B, Cuevas-Yanez E, et al. A facile synthesis of novel miconazole analogues and the evaluation of their antifungal activity. *Eur J Med Chem*. 2015; 97: 275-9.
4. Odds FC, Brown AJ, Gow NA. Antifungal agents: mechanisms of action. *Trends Microbiol*. 2003; 11(6): 272-9.
5. Heeres J, Meerpoel L, Lewi P. Conazoles. *Molecules*. 2010; 15(6): 4129-88.
6. Danne AB, Choudhari AS, Chakraborty S, Sarkar D, Khedkar VM, Shingate BB. Triazole-diindolylmethane conjugates as new antitubercular agents: synthesis, bioevaluation, and molecular docking. *Med Chem Comm*. 2018; 9(7): 1114-30.
7. Zhao D, Zhao S, Zhao L, Zhang X, Wei P, Liu C, et al. Discovery of biphenyl imidazole derivatives as potent antifungal agents: design, synthesis, and structure-activity relationship studies. *Bioorg Med Chem*. 2017; 25(2): 750-8.
8. Maertens JA. History of the development of azole derivatives. *Clin Microbiol Infect*. 2004; 10(1): 1-10.
9. Jacob KS, Ganguly S, Kumar P, Poddar R, Kumar A. Homology model, molecular dynamics simulation and novel pyrazole analogs design of *Candida albicans* CYP450 lanosterol 14 α -demethylase, a target enzyme for antifungal therapy. *J Biomol Struct Dyn*. 2016; 35(7): 1-44.
10. Wani MY, Ahmad A, Shiekh RA, Al-Ghamdi KJ, Sobral AJ. Imidazole clubbed 1,3,4-oxadiazole derivatives as potential antifungal agents. *Bioorg Med Chem*. 2015; 23(15): 4172-80.
11. Ayhan G. Yeni Bazı antifungal bileşiklerin sentezleri üzerinde çalışmalar [Yüksek Lisans Tezi]. Ankara: Ankara Üniversitesi; 1988.
12. EUCAST. Definitive document EDef 7.1: method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agents for fermentative yeasts. 2008; 14(4): 398-405.