*http://dergipark.gov.tr/trkjnat*
*Trakya University Journal of Natural Sciences, 18(1): 49-54, 2017*
*ISSN 2147-0294, e-ISSN 2528-9691*
*DOI: 10.23902/trkjnat.291076*

**Araştırma Makalesi/Research Article**

# 3-(2-HİDROKSİETİL)-1-(3-AMİNOPROPİL)-1H-İMİDAZOL-3-İUM BROMİD SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ

Gühergül ULUÇAM

Trakya Üniversitesi, Kimya Bölümü, Anorganik Kimya Anabilim Dalı, Edirne
Corresponding author: e-mail: gulergul@trakya.edu.tr

Alınış (Received): 09 Şubat 2017, Kabul (Accepted): 17 Nisan 2017, Erken Görünüm (Online First): 22 Mayıs 2017, Basım (Published): 15 June 2017

**Özet:** Bir N-heterohalka karben tuzu olarak, *3-(2-hidroksietil)-1-(3-aminopropil)-1H-imidazol-3-ium bromid*, *3-(1H-imidazol-1-il)propan-1-amin* ile *2-bromoetanol'*ün reaksiyonu sonucunda sentezlenmiştir. Tuz, N-heterohalka karbenlerin en kararlı gruplarından biri olan imidazol tuzu olarak da isimlendirilebilir. Ürünün moleküler yapısı FTIR, $^{1}$H NMR, $^{13}$C NMR, GS-MS, elemental analiz yöntemleri ile aydınlatılmıştır. Ayrıca, antimikrobiyal, antifungal ve antikanser aktiviteleri incelenmiştir. Probit analizi yapılarak, HeLa ve HepG2 kanser hücre serileri üzerinde 24 saatlik uygulama sonrası $IC_{50}$ değerlerinin sırasıyla 155,955µM ve 76,769µM olduğu saptanmıştır. Sentezlenen maddenin sağlıklı fare embriyonik fibroblast (MEF) hücreleri üzerinde zararlı bir etkisine rastlanmamıştır. *Escherichia coli* (Migula, 1895) O157:H7, *Listeria monocytogenes* (Pirie, 1940) ATCC 19115 bakterileri ve *Candida albicans* (Berhout, 1923) ATCC 10231 mayası üzerinde ise 32µM'lık konsantrasyonda kayda değer antimikrobiyal ve antifungal aktivitesinin de olduğu belirlenmiştir.

***Anahtar kelimeler:*** Imidazol, karben, antibakterial aktivite, antifungal aktivite, antikanser aktivite.

## Synthesis, Characterization and Biological Activities of 3-(2-Hydroxyethyl)-1-(3-Aminopropyl)-1H-Imidazole-3-Ium Bromide

**Abstract:** *3-(2-hydroxyethyl)-1-(3-aminopropyl)-1H-imidazole-3-ium bromide* as an N-heterocyclic carbene salt was synthesized by the reaction of *3-(1H-imidazole-1-yl )propane -1-amine* with *2-bromoethanol*. The salt can also be named as imidazole salt which is one of the most stable group of N-heterocyclic carbenes. The molecular structure of the product was elucidated by FTIR, $^{1}$H NMR, $^{13}$C NMR, GS-MS and elemental analysis. The antimicrobial, antifungal and anticancer activities of the imidazole salt were also examined. The probit analysis revealed that $IC_{50}$ values on HeLa and HepG2 cell lines were 155.955µM and 76.769µM, respectively, at the end of 24 hours treatment. It also was determined that the product has no harmful effect on healthy mouse embryonic fibroblasts (MEF) cells. Significant antimicrobial and antifungal activities of the salt on *Escherichia coli* (Migula, 1895) O157:H7 and *Listeria monocytogenes* (Pirie, 1940) ATCC 19115 bacteria and the yeast *Candida albicans* (Berhout, 1923) ATCC 10231 were determined at a concentration value of 32µM.

***Key words:*** Imidazole, carbene, antibacterial activity, antifungal activity, anticancer activity.

## Giriş

Organik ve tıbbi kimyadaki önemi nedeniyle ilk kez izole edilebildiği 1991 yılından bugüne kadar N-heterohalka karbenler üzerindeki araştırmalar sürmektedir (Arduengo ve ark. 1991, Elser ve ark. 2016, Karatas ve ark. 2016). Söz konusu bu moleküller organik sentezlerde, katalizde ve makro moleküler kimyada belirgin roller oynamaktadırlar (Herrmann ve Köcher 1997). İmidazol türevli N-heterohalka karbenler, anti-tümör (Wang ve ark. 2002), antibakteriyel (Joshi ve ark. 2010), antiallerjik (Shelke ve ark. 2009), antiinflamatuar (Mohammadi ve ark. 2012) gibi pek çok biyolojik aktivite de göstermektedir (Boussessi ve ark. 2016). Bu yüzden bu moleküller biyokimyada ve tıpta hayati derecede önemlidir (Zheng ve ark. 2016). Aynı zamanda, yüksek σ-donor özelliğe sahip olmaları sebebiyle, organometalik kompleksler için uygun ligand özellikleri sağlamaktadırlar (Cavell ve McGuinness 2004, Danopoulos ve ark. 2007, Liu ve ark. 2007, Hahn ve Jahnke 2008, Yiğit ve ark. 2016). Bu nedenle imidazol türevli metal komplekslerinin giderek artan önemle çalışılmasına devam edilmektedir (Herrmann ve Köcher 1997, Liu ve ark. 2004, Despagnet-Ayoub ve Grubbs 2005, Özdemir ve ark. 2015, Şahin ve ark. 2015).

Bu çalışmada daha önce Mi ve ark. (2006) tarafından sentezlenen bir N-heterohalka karben tuzu olan *3-(2-hidroksietil)-1-(3-aminopropil)-1H-imidazol-3-ium bromid* (HAİB*)* farklı başlangıç maddesi kullanarak yeniden sentezlenmiştir. HAİB moleküler yapısı FTIR, $^{1}$H NMR, $^{13}$C NMR, GS-MS ve elemental analiz olarak sayılabilecek spektroskopik teknikler kullanılarak karakterize edilmiştir. Elde edilen bileşiğin bu yapı aydınlatması gerçekleştikten sonra HAİB molekülünün, ilgili literatürden edinilebilen bilgi kapsamında ilk kez antikanser, antimikrobiyal ve antifungal aktiviteleri incelenmiştir.

## Materyal ve Metot

*Cihazlar*

HAİB molekülünün $^{1}H$- ve $^{13}C$-NMR spektrumları, döteryum oksit ($D_2O$) çözücüsünde sırasıyla Varian 300MHz ve Varian 75,5MHz'de alınmıştır. FTIR spektrumu ise KBr peletleri hazırlanarak 450-4000$cm^{-1}$ aralığında Perkin-Elmer BXII spektrometresi ile ölçülmüştür. Kütle spektrumu, Thermo Finnigan Trace DSQ GC/MS cihazı kullanılarak elektron impakt tekniği ile elde edilmiştir. C, H ve N için element analizi, Perkin-Elmer 2400 CHN elementel analiz cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Biyolojik aktivitelerin belirlenmesinde absorbans ölçümleri için Thermoscientific Multiskan Go multiplate spektrofotometresi kullanılmıştır.

*Sentez*

Hedeflenen kimyasalın sentezlenmesinde başlangıçta Wang ve ark. (2013) tarafından uygulanan iki farklı yöntem benimsendi. Yöntemler arasındaki temel farklılık, birinde reaksiyonlar oda sıcaklığında uygun çözücü kullanılarak gerçekleştirilirken diğerinde geri akış (reflaks) tekniğinin kullanılmasıdır. Ancak geri akış tekniği içeren yöntem uygulandığında çözücü karışımı olarak 5 hekzan:1 etanol kullanılan ince tabaka kromotografisinde (Thin Layer Chromotography, TLC) fazla sayıda madde oluşumu gözlendi. Bu nedenle bu yöntemin uygulanmasına son verildi. Başarılı olunan yöntemde, 10mmol *3-(1H-imidazol-1-il)propan-1-amin*, tetrahidrofuran içerisinde çözülerek oda sıcaklığında karıştırıldı. Daha sonra 11mmol *2-bromoetanol* ilave edildi. Karışım 15 saat karıştırıldı. Reaksiyonun tamamlanması TLC analizi ile izlendi. Reaksiyon tamamlandıktan sonra çözücü uçuruldu. Yağımsı kıvamda açık kahve renkli ürün 1,73g miktarında %69 verimle elde edildi.

*Ürün* : $C_8H_{16}BrN_3O_2$

*Hesaplanan %* : C 38,41; H 6,45; N 16,80.

*Ölçülen %* : C 38,33; H 6,47; N 16,71.

*$^{1}H$ NMR (300MHz, $D_2O$, δ, ppm)*: 7,80 (s, 1H, NCHN), 7,24 (d, 1H, HC=CH ), 6,99 (d, 1H, HC=CH), 3,16 (t, 2H, N-$CH_2$), 3,12 (t, 2H, N-$CH_2$), 2,96 (t, 2H, $CH_2$-OH), 2,86 (t, 2H, $CH_2$-$NH_2$), 2,23 (m, 2H, $CH_2$-$CH_2$-$CH_2$).

*$^{13}C$ NMR (*75,5MHz, *$D_2O$, δ, ppm):* 136,10 (NCHN), 123,06 (HC=CH), 122,17 (HC=CH), 59,57($CH_2$-OH), 56,44 (N-$CH_2$), 52,12 (N-$CH_2$), 49,50 ($NH_2$-$CH_2$), 26,45 ($CH_2$-$CH_2$-$CH_2$).

*FTIR (KBr, $cm^{-1}$)*: 3400, 3175, 2953, 1628, 1513, 1457, 1400, 1285, 1233, 1109, 1084, 1030, 922, 883, 755, 663, 508.

*MS(ESI) (m/z)*: 169,03 $[M+H]^+$

*Antikanser Aktivite*

Antikanser aktivitesinin belirlenebilmesi için MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid) yöntemi kullanılmıştır. Yöntem kültür ortamında, mitokondrial aktivitesi devam eden canlı hücrelerin kantitasyonunu sağlar. Tek tabakalı kültürlerde sitotoksisite ölçümleri veya toksik madde varlığında hücre canlılığının belirlenmesinde doğruluğu, hız ve nispi basitliği nedeniyle yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (Fotakis ve ark. 2005). Sarı renkli olan MTT, canlı hücrelerin mitokondrilerinde bulunan süksinat-dehidrojenaz enzimi ile bağlanır. Bunun sonucunda suda çözünmeyen mor renkli katı kristaller oluşur. Bu oluşumun absorbansı spektrofotometrede ölçülerek canlı hücrelerin yoğunluğu belirlenir (Mosmann 1983).

İnsan rahim ağzı kanseri (HeLa), karaciğer kanseri (HepG2) ve sağlıklı fare embriyonik fibroblast (MEF) hücre hatları Amerikan Tip Kültür Kolleksiyonundan (ATCC, Manassas, VA, USA) satın alınmıştır. Hücre hatları %5 FBS (Fetal Bovine Serum: Yeni Doğan Sığır Serum) (Life Technologies GIBCO, Grand Island, NY, USA), %1 penisilin streptomisin, %1 L-glutamin içeren Dulbecco's modified Eagle's Medium (DMEM) (Life Technologies GIBCO, Grand Island, NY, USA) ve HAMS F12 (1:1) besiyerinde 37ºC de %5 $CO_2$ içeren inkübatörde kuluçka edilmiştir. Yeterli sayıya ulaşan hücreler 96'lık plakalara yüz binlik ($10^5$) eşit hücre olacak şekilde ekilmiş ve 24 saat aynı koşullarda inkübe edildikten sonra 400µM'dan başlayarak yarı yarıya seyreltmek suretiyle 7 doz uygulanmıştır. Kontrol olarak muamele edilmemiş hücreler kullanılmıştır. Doz etkisi için 24 saat beklendikten sonra MTT %-oran canlılık testi yapılmıştır. Test için 5mg/ml konsantrasyonda hazırlanan MTT çözeltisi 20µL/kuyucuk olacak şekilde eklenmiş ve 2-4 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasındaki kuyucuklardaki solüsyonlar uzaklaştırılmış ve her bir kuyuya 200µL ultra saf dimetilsülfoksit (DMSO) eklenmiş ve 5 dakika karanlıkta beklenmiştir. Sonuçlar 492nm de mikroplaka okuyucuda spektrofotometrik yöntemle okunmuştur.

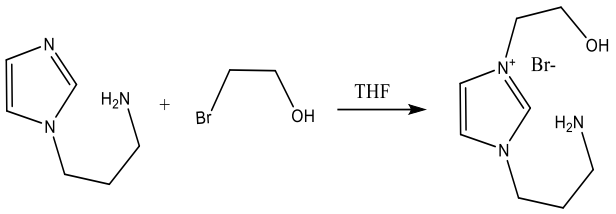
*Antibakteriyal ve Antifungal aktiviteler*

Çalışmada, Klinik Laboratuar Standartlar Enstitüsü (CLSI) tarafından önerilen Besiyeri Mikro-Seyreltme (Broth Microdilution) yöntemi kullanılarak minimum inhibisyon konsantrasyon (MIC) değerleri belirlenmiştir. Bu amaçla *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* (Rosenbach, 1884) ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Salmonella thphimurium* (Lignieres, 1900) A*TCC 14028*, *Bacillus cereus* (Frankland & Frankland, 1887) ATCC 11778 bakterileri ve *Candida albicans* (Berhout, 1923) ATCC 10231 mayası 24 saat 37ºC de Tryptic Soy besiyerinde inkübe edilmiş, McFarland Skalası da 0,5'e ayarlanmıştır. Antibiyotik kontrolü olarak bakteri kültüründe Ampisilin ve Gentamisin, maya kültüründe ise Amphotericin B kullanılmıştır. Sterilite amacıyla antibiyotikler ve çözünen madde stok çözeltileri 0,45µm steril filtreden süzülmüşlerdir. Madde konsantrasyonları 32µM'dan başlayarak yarı yarıya seyreltmek suretiyle altı doz olacak şekilde ayarlanmıştır. 96 lık plakanın her bir kuyusuna besiyerinden 150µL, bakteri ve maya

kültürlerinden 30µL ve HAİB maddesinden 20µL ekilmiştir. Sterilite kontrolü olarak sadece madde eklenmiş, besiyeri büyüme kontrolü olarak sadece mikroorganizma ekilmiş besiyeri kullanılmıştır. Bütün mikroplakalar 24 saat 37ºC de inkübe edilmiştir ve 600nm'de absorbans ölçülerek grafikler hazırlanmıştır.

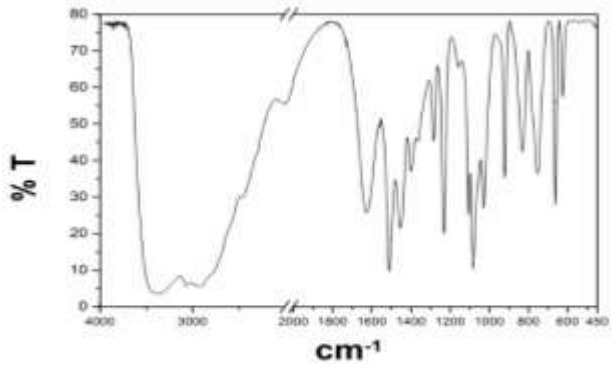
**Sonuçlar ve Tartışma**

HAİB molekülünün sentezlenmesini açıklayan kimyasal reaksiyon modeli Şekil 1'de gösterilmektedir. Oda sıcaklığında gerçekleştirilen reaksiyon sonucunda elde edilen ürün, bir karben halkasına ve alifatik amin grubuna sahip olması nedeniyle asimetrik bir geometrik yapıya sahiptir. Bu yapıdan anlaşılacağı üzere molekül, seçilecek uygun reaksiyon koşulları ile karben ucundan metallerle kompleks oluşturabileceği gibi alifatik kollarındaki aktif uçları ile ligand olarak davranabilecek özelliklere de sahiptir.



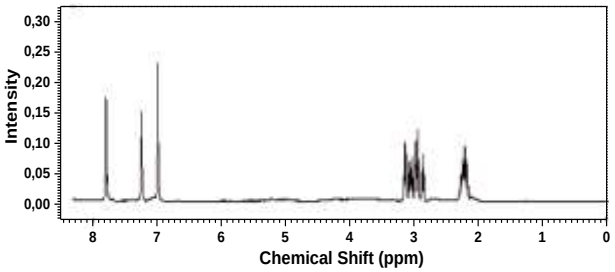

**Şekil 1.** HAİB molekülünün sentezlenmesini açıklayan kimyasal reaksiyon (THF: tetrahidrofuran).

Sentezlenen molekülün yapısal bütünlüğünün doğrulanması için kullanılan ilk yöntem FTIR spektroskopisi olup, ilgili spektrum Şekil 2'de verilmiştir.

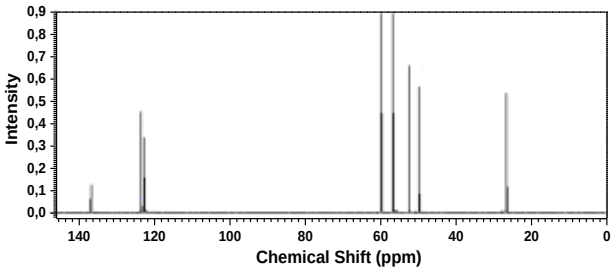



**Şekil 2.** HAİB molekülünün FTIR spektrumu

Bu FTIR spektrumuna göre OH gerilme titreşimleri moleküller arası etkileşmeler ve hidrojen bağları nedeniyle 3500-3000cm$^{-1}$ aralığında geniş bir bantta gözlenebilmektedir. Bu aralıkta 3175cm$^{-1}$ de NH gerilmesi ve 2953cm$^{-1}$ de CH gerilmesi beklentilere uygun olarak ortaya çıkmaktadır (Karabacak ve Kurt 2009, Kose ve ark. 2013). 1640-1560cm$^{-1}$ aralığında NH düzlem içi eğilmesine ait pik 1628cm$^{-1}$ ve 900-650cm$^{-1}$ aralığında, NH düzlem dışı eğilmesine ait pik 755cm$^{-1}$ gözlenmiştir (Bhat ve ark. 2016). Sırasıyla 1300-1000cm-$^{1}$ ve 1000-750cm$^{-1}$ aralığında olması gereken düzlem içi ve düzlem dışı CH salınımları (Bhat ve ark. 2016), deneyde 1233cm$^{-1}$ ve 922cm$^{-1}$ gözlenmektedir. Birbirlerine çok yakın değerlere sahip olan CN titreşim modları imidazol için Ramasamy tarafından 1468, 1440, 1367 ve 1325cm$^{-1}$ de verilmiştir (Ramasamy 2015). Buna göre deneysel sonuçlarda sırasıyla 1457, 1400, 1375 ve 1285cm$^{-1}$ de gözlenen titreşim modları, CN modları olarak atanmıştır. FTIR sonuçları beklenen moleküler konfigürasyonu doğrular niteliktedir. Ancak aynı doğrulama NMR yöntemiyle de yapılmıştır.

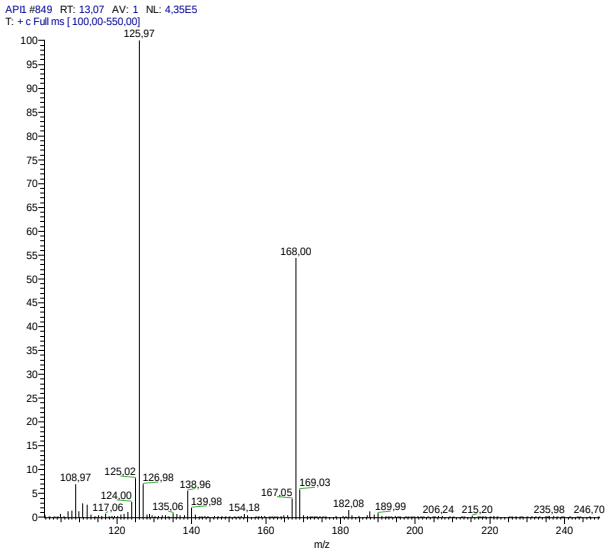



**Şekil 3.** HAİB molekülünün $^{1}$H NMR spektrumu




**Şekil 4.** HAİB molekülünün $^{13}$C NMR spektrumu

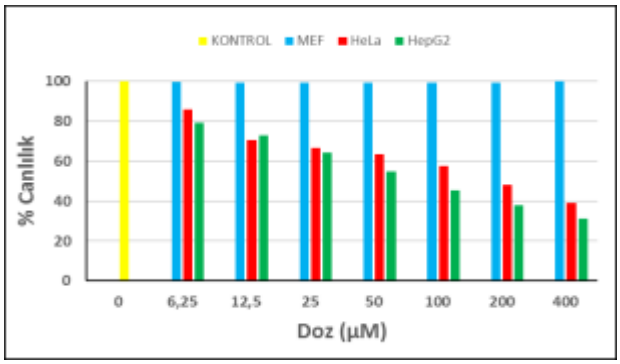
HAİB $^{1}$H ve $^{13}$C NMR spektrumları Şekil 3 ve Şekil 4'de verilmektedir. $^{1}$H NMR spektrumuna göre 7,80ppm de bir singlet, 7,24ppm ve 6,99ppm de iki adet dublet piki imidazol halkasını göstermektedir. Sırasıyla 3,16ppm, 3,12ppm, 2,96ppm, 2,86ppm'de tripletler ve 2,23ppm'deki multiplet, imidazol kollarındaki alifatik yapıyı desteklemektedir. NMR Spektrumu $D_2O$ çözücüsünde alındığı için OH ve $NH_2$ ait pikler gözükmemektedir. $^{13}$C NMR spektrumundaki sekiz adet karbon ön görüldüğü gibi gözlenmektedir. 136,10ppm (NCHN), 123,06ppm (C<u>H</u>=CH), 122,17ppm'de (CH=C<u>H</u>) gözlenen üç karbon imidazol karbonlarını ve 59,57ppm (C<u>H</u>$_2$-OH), 56,44ppm (N-$CH_2$), 52,12ppm (N-$CH_2$), 49,50ppm ($NH_2$-$CH_2$), 26.45ppm'deki ($CH_2$-C<u>H</u>$_2$-$CH_2$) beş adet karbon ise alifatik yapıya ait karbonları göstererek HAİB'in varlığını işaret etmektedirler. Bu sonuçlar daha önce aynı molekül için bulunan imidazol halkasına ait protonlarının 7,20-6,98ppm aralığında, alifatik yapıdaki protonlarının 4,15-2,08ppm aralığında, imidazol halkasına ait karbonların 139,2-123,6ppm aralığında, alifatik yapıdaki karbonların ise 62,5-33,9ppm aralığında bulunması ile uyumludur (Mi ve ark. 2005, Mi ve ark. 2006). Ayrıca imidazol halkası NMR verilerinin *1-(Benzofuran-2-il(fenil)metil)-3-butil-2-metil-1H-imidazol-3-ium iyodit* molekülünün imidazolü ilgilendiren NMR sonuçları Wang ve ark. ile de aynıdır (Wang ve ark. 2013). Elemental analiz sonuçları ve Şekil 5'de gösterilen kütle spektrumu da HAİB'in sentezlendiğini desteklemektedir.




**Şekil 5.** HAİB molekülünün kütle spektrumu

*Antikanser Aktivite*

Sentezlenen tuzun sitotoksik etkileri HeLa insan rahim ağzı kanseri, HepG2 insan hepatoma kanseri ve sağlıklı MEF hücre serilerinde denenmiştir. Yapılan denemede 96 kuyucuklu plaklara yöntem kısmında belirtilen şekilde ekilen hücrelere, HAİB maddesi 6,25-400µM doz aralıklarında 7 farklı konsantrasyonda ve 6 tekrarlı uygulanmıştır. Uygulamada kullanılan HeLa, HepG2 ve MEF hücre serileri karbondioksitli inkübatörde kültüre alınmış ve HAİB'in HeLa, HepG2 ve MEF hücre serilerinde 24 saat süresince hücre canlılığı üzerindeki etkisi incelenmiştir.



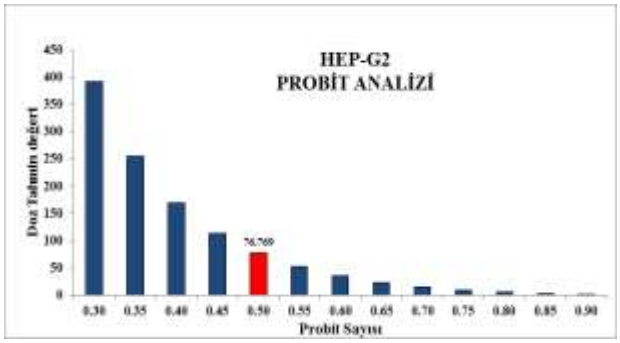

**Şekil 6.** MEF, HeLa, HepG2 hücre serisinde 24 saat süreyle 6,25-400µM doz aralıklarında HAİB uygulamasının hücre canlılığına etkisi. Sarı renk gösterilen kontrol çubuğu her üç hücre için de muamele edilmemiş hücreleri temsil etmektedir.

HeLa ve HepG2 hücre serilerinde farklı konsantrasyonlar ile uygulanan HAİB 24 saatlik uygulama sonrasında hücre canlılığını istatistik olarak anlamlı seviyede düşürmüştür ($p<0,0001$). Sağlıklı MEF hücreleri üzerinde herhangi bir etkiye rastlanmamıştır (Şekil 6). HeLa ile yapılan çalışmada 24 saatlik uygulama sonrasında kontrole kıyasla en yüksek canlı hücre oranı 6,25µM uygulama konsantrasyonunda %86,02±0,07 olarak belirlenirken, HepG2 için aynı oran %79,00±0,03 olarak belirlenmiştir. 400µM HAİB konsantrasyon ortamdaki HeLa hücrelerin sadece %38,83±0,77'si, HepG2 hücrelerinin ise sadece %31,03±0,05'si canlı kalmıştır.

Çalışma kapsamında 24 saatlik HAİB uygulaması sonucu belirlenen yüzde canlılık değerleri kullanılarak her bir doz için kontrole kıyasla oluşan ölüm oranları belirlenmiştir. Bu oranlar kullanılarak probit analizi yapılmış ve HAİB'nin 24 saatlik uygulama sonrası $IC_{50}$ değerlerinin 400µM üst sınır dozu seçimin altında kalarak HeLa hücre serisi üzerinde 155,955µM (Şekil 7), HepG2 hücresi üzerinde ise, 76,769µM olduğu saptanmıştır (Şekil 8).




**Şekil 7.** HeLa hücre serisinde 24 saatlik HAİB uygulaması sonrasında MTT testi sonuçları kullanılarak yapılan probit analizi ve $IC_{50}$ değeri. $IC_{50}$ değerinin gözlenebilmesi için Probit sayıları ve karşılık gelen doz tahmin değerlerinin tümü şekle yansıtılmamıştır.



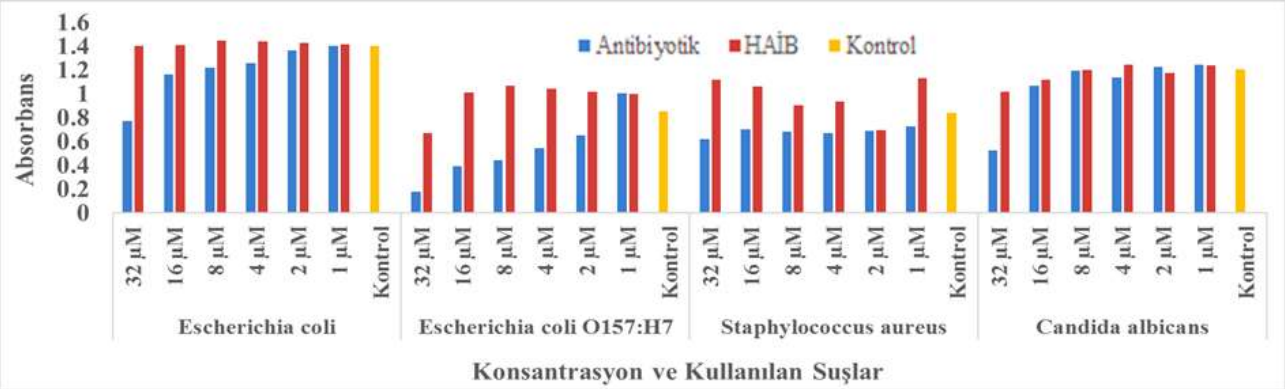

**Şekil 8.** HepG2 hücre serisinde 24 saatlik HAİB uygulaması sonrasında MTT testi sonuçları kullanılarak yapılan probit analizi ve $IC_{50}$ değeri. $IC_{50}$ değerinin gözlenebilmesi için Probit sayıları ve karşılık gelen doz tahmin değerlerinin tümü şekle yansıtılmamıştır.

$IC_{50}$ değerleri üzerinden yapılan gözlemlere göre HAİB'in HepG2 üzerinde HeLa'ya kıyasla iki kat etkili olmasına rağmen bu değerler diğer imidazol tuzlarının bu çalışmada kullanılan kanser hücrelerinden farklı kanser hücreleri üzerinde gösterdiği ve $IC_{50}$ değerlerinin 1µM–20µM aralığında olduğu dozlara göre (Wang ve ark. 2013) oldukça yüksektir. Ancak, diğer sağlıklı hücreler için bir genelleme yapılamamakla birlikte HAİB'in sağlıklı MEF hücreleri üzerinde herhangi zararlı bir etkisinin gözlenmemesi de olumlu bir sonuç oluşturmaktadır.

*Antibakteriyal ve Antifungal Aktivite*

HAİB'in antimikrobiyal ve antifungal aktiviteleri 1, 2, 4, 8, 16 ve 32µM'lık konsantrasyonlarda altı bakteri ve bir maya üzerinde araştırılmıştır. Bakterilerde ampisilin ve gentamisin, maya da ise amphotericin-b antibiyotikleri aynı konsantrasyonlarda kontrol olarak kullanılmıştır. 96 kuyucuklu plakalara ekilen bakteri ve maya üzerine HAİB ve antibiyotik konsantrasyonları ayrı ayrı ilave edilmiş ve 37ºC de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda elisa plaka okuyucuda 600nm dalga boyunda okumaları yapılarak absorbans değerleri ölçülmüştür.

Aktivite testlerinin uygulandığı altı bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella thphimurium* A*TCC 14028*, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 iken, antifungal aktivite *Candida albicans* ATCC 10231 mayası üzerinde belirlenmiştir. Elde edilen sonuçların bazıları antibiyotik kontrolleri ile birlikte Şekil 9'da gösterilmiştir. *S. aureus, B. cereus* ve *L. monocytogenes* üzerindeki sonuçlar absorbans ölçümlerindeki istatistik olarak hatalı sonuçlar nedeniyle verilmemiştir.




**Şekil 9.** HAİB tuzunun üç bakteri ve bir maya üzerindeki antimikrobiyal aktivite grafiği (Değerler % canlılık olarak hesaplanarak grafiğe aktarılmıştır).

HAİB'in *E. coli* ATCC 25922 ve *S. thphimurium* A*TCC 14028*, bakterilerinde hiçbir etkisi görülmez iken *E. coli* O157:H7 ve *C. albicans* ATCC 10231 mayası üzerinde 32µM doz için orta dereceli aktivite gösterdiği söylenebilir. Ancak antibiyotiklere kıyasla bu etkiler 32µM'dan daha yüksek dozların denenmesine gerek olmadığını açıklığa kavuşturmaktadır.

Bir N-heterohalka karben tuzu olarak sentezlenen molekülü elemental analiz ve kütle spektrometresi ile doğrulandığı gibi aynı zamanda NMR ve FTIR spektrumları ile de kontrol edilmiştir. NMR spektrumları molekülün karben halka yapısını ve alifatik uzantılarını doğrulamakla birlikte döteryum oksit çözücüsü kullanarak ölçüldüğü için OH ve NH uzantılarını vermemiştir. Bu eksiklik beklenen frekanslarında elde edilen NH ve OH modlarının FTIR spektrumunda gözlenmesi ile giderilmiş ve molekülün sentezi tam anlamıyla doğrulanmıştır. Molekülün antikanser, antibakteriyel ve antifungal etkileri istatistik olarak anlamlıdır ve sağlıklı hücre üzerinde zararlı etki gözlenmemesi uygulama potansiyelinin olabileceği anlamını taşımaktadır. Ayrıca, çeşitli varyasyonlarda metallerle kompleks yapabilme özellikleri sentezlenen ürüne ligand olarak da önem kazandırmaktadır.

## Kaynaklar


1. Arduengo, A.J., Harlow, R.L. & Kline, M. 1991. A stable crystalline carbene. *Journal of the American Chemical Society*, 113 (1): 361-363.
2. Bhat, S.A., Faizan, M., Alam, M.J. & Ahmad, S. 2016. Vibrational and electronic spectral analysis of 2,3-pyrazinedicarboxylic acid: A combined experimental and theoretical study. *Spectroscopy Letters*, 49 (7): 449-457.
3. Boussessi, R., Dalbouha, S., Timón, V., Komiha, N., Jaïdane, N. & Senent, M.L. 2016. Stability of Van der Waals complexes of the greenhouse effect gases CH4 and SF6 with imidazole in gas mixtures containing CO2. *Computational and Theoretical Chemistry*, 1094: 82-91.
4. Cavell, K.J. & McGuinness, D.S. 2004. Redox processes involving hydrocarbylmetal (N-heterocyclic carbene) complexes and associated imidazolium salts: ramifications for catalysis. *Coordination Chemistry Reviews*, 248 (7-8): 671-681.
5. Danopoulos, A.A., Tsoureas, N., Macgregor, S.A. & Smith, C. 2007. Phosphine- and Pyridine-Functionalized N-Heterocyclic Carbene Methyl and Allyl Complexes of Palladium. Unexpected Regiospecificity of the Protonation Reaction of the Dimethyl Complexes. *Organometallics*, 26 (2): 253-263.
6. Despagnet-Ayoub, E. & Grubbs, R.H. 2005. A Ruthenium Olefin Metathesis Catalyst with a Four-Membered N-Heterocyclic Carbene Ligand. *Organometallics*, 24 (3): 338-340.
7. Elser, I., Frey, W., Wurst, K. & Buchmeiser, M.R. 2016. Molybdenum Imido Alkylidene Complexes Containing N- and C-Chelating N-Heterocyclic Carbenes. *Organometallics*, 35 (24): 4106-4111.
8. Fotakis, G., Cemeli, E., Anderson, D. & Timbrell, J.A. 2005. Cadmium chloride-induced DNA and lysosomal

damage in a hepatoma cell line. *Toxicology in Vitro*, 19 (4): 481-489.

9. Hahn, F.E. & Jahnke, M.C. 2008. Heterocyclic carbenes: synthesis and coordination chemistry. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 47 (17): 3122-3172.

10. Herrmann, W.A. & Köcher, C. 1997. N-Heterocyclic Carbenes. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 36 (20): 2162-2187.

11. Joshi, R.S., Mandhane, P.G., Shaikh, M.U., Kale, R.P. & Gill, C.H. 2010. Potassium dihydrogen phosphate catalyzed one-pot synthesis of 2,4,5-triaryl-1H-imidazoles. *Chinese Chemical Letters*, 21 (4): 429-432.

12. Karabacak, M. & Kurt, M. 2009. The spectroscopic (FT-IR and FT-Raman) and theoretical studies of 5-bromo-salicylic acid. *Journal of Molecular Structure*, 919 (1–3): 215-222.

13. Karatas, M.O., Olgundeniz, B., Gunal, S., Ozdemir, I., Alici, B. & Cetinkaya, E. 2016. Synthesis, characterization and antimicrobial activities of novel silver(I) complexes with coumarin substituted N-heterocyclic carbene ligands. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 24 (4): 643-650.

14. Kose, E., Atac, A., Karabacak, M., Nagabalasubramanian, P.B., Asiri, A.M. & Periandy, S. 2013. FT-IR and FT-Raman, NMR and UV spectroscopic investigation and hybrid computational (HF and DFT) analysis on the molecular structure of mesitylene. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 116: 622-634.

15. Liu, Q.-X., Xu, F.-B., Li, Q.-S., Song, H.-B. & Zhang, Z.-Z. 2004. Formation of the Fluorescent Complexes [(carbene)2MII(CN)2] (M = Ni, Pd, Pt) by C−C Bond Cleavage of CH3CN. *Organometallics*, 23 (3): 610-614.

16. Liu, Q.-X., Zhao, X.-J., Wu, X.-M., Guo, J.-H. & Wang, X.-G. 2007. New mercury(II) and silver(I) complexes containing NHC metallacrown ethers with the π–π stacking interactions. *Journal of Organometallic Chemistry*, 692 (25): 5671-5679.

17. Mi, X., Luo, S. & Cheng, J.P. 2005. Ionic liquid-immobilized quinuclidine-catalyzed Morita-Baylis-Hillman reactions. *The Journal of Organic Chemistry*, 70 (6): 2338-2341.

18. Mi, X., Luo, S., Xu, H., Zhang, L. & Cheng, J.-P. 2006. Hydroxyl ionic liquid (HIL)-immobilized quinuclidine for Baylis–Hillman catalysis: synergistic effect of ionic liquids as organocatalyst supports. *Tetrahedron*, 62 (11): 2537-2544.

19. Mohammadi, A.L.I., Keshvari, H., Sandaroos, R., Rouhi, H. & Sepehr, Z. 2012. A novel polymeric catalyst for the one-pot synthesis of 2,4,5-triaryl-1H-imidazoles. *Journal of Chemical Sciences*, 124 (3): 717-722.

20. Mosmann, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65 (1-2): 55-63.

21. Özdemir, İ., Düşünceli, S.D., Kaloğlu, N., Achard, M. & Bruneau, C. 2015. Synthesis of ruthenium N-heterocyclic carbene complexes and their catalytic activity for β-alkylation of tertiary cyclic amines. *Journal of Organometallic Chemistry*, 799-800: 311-315.

22. Ramasamy, R. 2015. Vibrational spectroscopic studies of imidazole. *Armenian Journal of Physics*, 8 (1): 51-55.

23. Shelke, K.F., Sapkal, S.B., Shitole, N.V., Shingate, B.B. & Shingare, M.S. 2009. Microwave-Assisted Synthesis of 3-Styrylchromones in Alkaline Ionic Liquid. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 30 (12): 2883-2886.

24. Şahin, Z., Gürbüz, N., Özdemir, İ., Şahin, O., Büyükgüngör, O., Achard, M. & Bruneau, C. 2015. N-Alkylation and N,C-Dialkylation of Amines with Alcohols in the Presence of Ruthenium Catalysts with Chelating N-Heterocyclic Carbene Ligands. *Organometallics*, 34 (11): 2296-2304.

25. Wang, L., Woods, K.W., Li, Q., Barr, K.J., McCroskey, R.W., Hannick, S.M., Gherke, L., Credo, R.B., Hui, Y.H., Marsh, K., Warner, R., Lee, J.Y., Zielinski-Mozng, N., Frost, D., Rosenberg, S.H. & Sham, H.L. 2002. Potent, orally active heterocycle-based combretastatin A-4 analogues: synthesis, structure-activity relationship, pharmacokinetics, and in vivo antitumor activity evaluation. *Journal of Medicinal Chemistry*, 45 (8): 1697-1711.

26. Wang, X.Q., Liu, L.X., Li, Y., Sun, C.J., Chen, W., Li, L., Zhang, H.B. & Yang, X.D. 2013. Design, synthesis and biological evaluation of novel hybrid compounds of imidazole scaffold-based 2-benzylbenzofuran as potent anticancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 62: 111-121.

27. Yiğit, B., Yiğit, M., Dağdeviren, Z. & Özdemir, İ. 2016. Synthesis of silver(I) and palladium(II) N-heterocyclic carbene complexes and their use as catalysts for the direct C5 arylation of heteroaromatic compounds. *Transition Metal Chemistry*, 41 (7): 751-757.

28. Zheng, G.-C., Cai, Z.-B., Pan, Y.-L., Bai, L., Zhou, Y.-T., Li, S.-L. & Tian, Y.-P. 2016. Synthesis and two-photon absorption properties of novel 2-substituted-4,5-diphenyl-1H-imidazoles. *Tetrahedron*, 72 (22): 2988-2996.