

Farklı Bir Yöntemle 2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)asetaldehit Eldesi

Melek GÖKMEN KARAKAYA*¹

¹Uşak Üniversitesi, Banaz Meslek Yüksekokulu, Kimya ve Kimyasal İşleme Teknolojileri Bölümü, 64500, Uşak, Türkiye

(Alınış / Received: 10.01.2023, Kabul / Accepted: 16.06.2023, Online Yayınlanma / Published Online: 25.08.2023)

Anahtar Kelimeler

2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)asetaldehit, Metronidazol, Yükseltgeme, FTIR, NMR, İTK

Öz: Metronidazol Dünya Sağlık Örgütü'nün temel ilaçlar listesinde yer alan ilk defa 1959 yılında Fransa'da Rhone Poulanc Araştırma laboratuvarında keşfedilen antibiyotik ve antiprotozoal ilaç etkin maddesidir. Metronidazolün insan vücudunda bulunan bakteriler tarafından ve araştırma laboratuvarlarında çeşitli metotlarla kontrollü olarak yükseltgenerek ilgili aldehite veya daha da yükseltgenerek ilgili asite yükseltgendiği 1975 yılından günümüze yayınlanan çalışmalarda gösterilmiştir. Birçok bilim insanı makalenin konusu aldehiti reaktif olarak kullanarak schiff bazı eldesi, oksim oluşumu ve redüktif aminasyon reaksiyonlarını yayınlamıştır. Metronidazolün yükseltgenmesi sucul ortamlar için önemlidir. Atık sulardaki metronidazolün arıtılması amacıyla, çeşitli yöntemlerle metronidazolün yükseltgenmesi için hesaplamalı ve deneysel çalışmalar literatürde mevcuttur. Bu çalışmada, literatürden farklı bir yöntemle 2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)asetaldehit, metronidazolün kontrollü yükseltgenmesi reaksiyonu ile elde edilmiştir. Bu reaksiyon, dibi yuvarlak bir reaksiyon balonunda oda sıcaklığında eşit ekivalentlerde metronidazol ve piridinyum klorokromatın diklorometan içindeki çözeltisinin 24 saat manyetik olarak karıştırılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Yükseltgenme reaksiyonu sonucunda elde edilen ham ürün yaklaşık yarı yarıya reaksiyona girmemiş metronidazolü ve yükseltgenmiş ürün aldehiti içermektedir. Ürünün ¹H-NMR, FTIR spektroskopik analizleri ve erime noktası tayini amacıyla saflaştırılması için İTK yöntemi kullanılmıştır.

A Different Method for Synthesis of 2-(2-Methyl-5-nitro-1H-imidazol-1-yl)acetaldehyde

Keywords

2-(2-methyl-5-nitro-1H-imidazol-1-yl)acetaldehyde, Metronidazole, Oxidation, FTIR, NMR, TLC

Abstract: Metronidazole was discovered for the first time in 1959 at the Rhone Poulanc Research laboratory in France. It is an antibiotic and antiprotozoal drug active substance, which is on the World Health Organization's list of essential drugs. It has been shown by the studies carried out since 1975 that metronidazole was oxidized to the related aldehyde or further oxidized to the related acid by the bacteria in the human body and in the research laboratories by various methods. Many scientists have published many articles, containing schiff base synthesis, oxime formation and reductive amination reactions, using as a reactive substance aldehyde, the subject of this article. The oxidation of metronidazole is important for aquatic environments. On this subject, various computational and experimental studies are available in the literature in order to treat wastewater with various oxidation methods. In this study, 2-(2-methyl-5-nitro-1H-imidazol-1-yl)acetaldehyde was obtained by the controlled oxidation reaction method which was different from the literature. In this method in a round bottom flask, equal equivalent metronidazole and pyridinium chlorochromate were solved in dichloromethane. The solution was stirred magnetically for 24 hours at room temperature. The crude product contains approximately half-and-half unreacted metronidazole and the product aldehyde. The product was purified by TLC method for ¹H-NMR, FTIR spectroscopic analysis and melting point determination.

1. Giriş

Metronidazol (MTZ) ilk defa 1959 yılında Fransa da Rhone Poulanc Araştırma laboratuvarında keşfedilmiştir [1]. Metronidazol Dünya Sağlık Örgütünün temel ilaçlar listesinde yer alır. Mide, karaciğer, deri, vajina, eklemler, beyin ve omurilik, akciğer, kalp veya kan dolaşımının bakteriyel infeksiyonların tedavisi için dünya çapında kullanılan yarı sentetik 5-nitroimidazol grubu antiprotozoal ve antibiyotik ilaç etkin maddesidir. Trikomonas vajinalis adlı kamçılı bir protozoonun neden olduğu trichomoniasis, amiplerin neden olduğu amipli dizanteri ve giardia lamblanın neden olduğu giardiasis tedavilerinde kullanımı örnek verilebilir. Bir dizi aerobik ve anaerobik bakteri ve parazit türlerini içeren etiyolojik ajanların sebep olduğu gastrointestinal infeksiyonların tedavisinde Flagyl® olarak pazarlanan metronidazol tek başına veya diğer terapötik ilaçlarla 60 yıldan uzun süredir klinik kullanımdadır [2-5]. Bu infeksiyonlardan biri hafif ila orta şiddette *Clostridium difficile* (*C. Difficile*) infeksiyonudur (CDI). CDI antibiyotik kullanımına bağlı ishalin önde gelen nedenidir. Soğuk algınlığı veya grip gibi viral bir infeksiyonun tedavisinde kullanılmaz.

Hayvan deneylerinde (farelerde ve ratlarda) metronidazol molekülünde bulunan elektro pozitif azot ve elektronegatif oksijen içeren nitro grubunun nükleik asitler, amino asitler gibi vücutta bulunan yapı taşları ile etkileşime girmesinden dolayı belirli kanser veya tümör türlerine neden olduğu düşünülmektedir [6-10]. Güçlü kanserojen davranışı nedeniyle, Amerika Birleşik Devletlerinde MTZ'nin diğer nitroimidazol (other nitroimidazoles) adı ile 6. Sırada hayvanlarda ekstra etiket kullanımı yasaklanmış ilaçlar (Drugs prohibited for extralabel use in animals.) kategorisinde, "(a) The following drugs, families of drugs, and substances are prohibited for extralabel animal and human drug uses in food-producing animals." "Türkçe çevirisi: (a) Aşağıdaki ilaçlar, ilaç aileleri ve maddeler, gıda üreten hayvanlarda etiket dışı hayvan ve insan ilacı kullanımı için yasaklanmıştır." (a) maddesinde 1987 yılında yerini almıştır [11]. Avrupa Ülkelerinde metronidazol, 2010 yılında (EU) 37/2010 Nolu Komisyon kararının eki Tablo 2 de (yasaklanan maddeler) yer almıştır ve gıda üreten hayvanlarda kullanımı yasaklanmıştır [10-13]. Ancak insan popülasyonundaki klinik kullanımı hala artmaktadır. Tedavi için metronidazol kullanan insanlarda bu tür etkilerin görülüp görülmeyeceği henüz bilinmemektedir [11]. Bu nedenle, karsinogenezde yer alan mekanizmaları açıklamak için düzenli araştırma çalışmaları gereklidir.

Metronidazol molekülü nitro grubu içermesinden dolayı birçok kristallendirme deneyleri için iyi bir reaktif olarak kullanılmıştır. Çeşitli kristalleri literatürde mevcuttur [14-16].

Bu çalışmada metronidazol literatürde verilen metotlardan farklı bir metot kullanılarak 2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)asetaldehit bileşiğine kontrollü bir şekilde yükseltgenmiştir. Bu aldehit bileşiği, amin grubu içeren çeşitli moleküllerle schiff bazı eldesi için reaktif olarak yaklaşık elli yıl önce literatürde yerini almıştır. Bu aldehit ile oksim eldesi, primer aminlerle redüktif aminasyon reaksiyonu sonucu sekonder amin eldesi ve sekonder aminlerle redüktif aminasyon reaksiyonu ile tersiyer amin eldesi gibi çalışmalar günümüzde hala sürdürülmektedir [17-27]. Schiff bazı eldesi organik kimyada önemli bir alana sahiptir ve schiff bazları ligant olarak da görev yapabilmektedir [28, 29].

Metronidazol ve potasyum dikromat reaktif olarak kullanılarak 2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)asetaldehit bileşiği eldesi ilk defa 1975 yılında Samuel Sidney Berg ve arkadaşları tarafından literatüre geçmiştir [17]. 1998 yılında Li-Xi Yang ve arkadaşları ilk basamakta okzalil klorür reaktif ve çözücü olarak diklorometan, ikinci basamakta dimetil sülfoksit ve üçüncü basamakta trietilamin reaktif kullanarak metronidazolden aldehit elde etmişlerdir [20]. Ding ve arkadaşları 2008 yılında çözücü olarak diklorometan, reaktif olarak dimetil sülfoksit ve okzalil klorür kullanarak hazırlanmış çözeltinin -78° santigratta 20 dakikada soğumasını sağladıktan sonra 1 saat -78°C da manyetik olarak karışmasını sağlamışlardır. Sonra trietilamin ekleyerek 1 saat daha -78°C da manyetik olarak karışmasını beklemişler ve bu aşamadan sonra oda sıcaklığına gelmesine müsaade etmişler ve su ilave ederek reaksiyonu bitirip, ilgili aldehit ürünü elde etmişlerdir [24]. 2013 yılında Singh ve arkadaşları reaktif olarak asetik asit ve N-bromoftalimid, katalizör olarak perklorik asit ve çözücü olarak su kullanarak 24 saatte, 35°C da ilgili aldehit bileşiğini elde etmişlerdir [18].

2014 yılında Anderson ve arkadaşları Li-Xi Yang ve arkadaşlarının kullandığı metodu geliştirerek makalenin başlığı olan aldehiti sentezlemişlerdir [30]. Yine 2014 yılında Khan ve arkadaşları metronidazolü bazik ortamda permanganat kullanarak 48 saatte 25°C da ilgili aldehite yükseltgemişlerdir [31]. Günümüzde Ma ve beraber çalıştığı kişiler, Ding ve arkadaşları gibi dimetil sülfoksit ve okzalil klorür kullanarak -78°C da metronidazolü ilgili aldehite yükseltgemişlerdir [26]. Bu çalışmada oda sıcaklığında diklorometan içinde metronidazol piridinyum klorokromat ile yükseltgenerek makalenin başlığı aldehite yükseltgenmiştir.

Biyolojik sistemlerde spesifik etki/etkiler için tasarlanmış ilaçlar sucül çevre için özel bir atık sınıfında değerlendirilirler [32]. Çeşitli ilaç bileşikleri sucül ekosisteme belediyelerin kanalizasyon arıtma tesislerinden ve/veya endüstrinin arıtma tesislerinden girmektedir [33]. İlaç atıkları özellikle antibiyotik atıkları sucül çevrede bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesine neden

olmaktadır [34-37]. Metronidazolün suda yükseltgenerek bozulması çok önemlidir ve bu amaçlarla çeşitli çalışmalar yapılmıştır [32, 38, 39, 40].

2. Materyal ve Metot

2.1. Materyal

Çalışmada kullanılan metronidazole Across firmasından, çözücüler ve TLC Silica gel 60 F254 Merck firmasından, Piridinyum klorokromat Sigma-Aldrich firmasından ticari olarak satın alındı ve herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı. Çözücüyü vakumda uzaklaştırmak için Heidolph Laborota 4000 efficient rotary evaporatör, TLC kontrolü için CAMAG UV lambası (366 nm), erime noktası tayini için Stuart automatic melting point SMP40 cihazı, tartım işlemleri için Precisa XB 220A hassas terazi kullanıldı.

2.2. Metot

2.2.1. Deneysel Prosedür

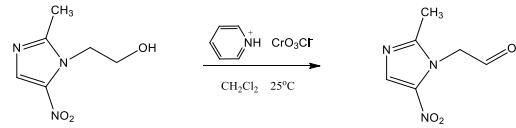
Metronidazole ticari olarak satın alındı. 100 mL lik dibi yuvarlak bir balonda metronidazol (1.0 mmol, 0.171 g) diklorometan (80 mL) içinde dışarıdan tuz buz ile soğutularak manyetik olarak karıştırılmaya başlandı. Ticari olarak satın alınmış piridinyum klorokromat (1.0 mmol, 0.215 g) ilave edildi. 24 saat oda sıcaklığında manyetik olarak karıştırıldı. Reaksiyon TLC de kontrol edildi. Mobil faz olarak hekzan : etilasetat : etanol ; 10 : 5,5 : 1 oranlarında hazırlanan çözelti kullanıldı. Elde edilen aldehitin ince tabakada yürüdüğü yolun, çözücünün yürüdüğü yola oranı R_{fURUN} 0.40, metronidazolün yürüdüğü yolun çözücünün yürüdüğü yola oranı R_{fMTZ} 0.25 olarak hesaplanmıştır. Makalenin konusu aldehit % 48 verimle literatürden farklı olarak sarı katı madde olarak elde edildi. İlgili literatürde aldehitin fiziksel durumu belirtilmemiştir [26]. Erime noktası Start point 90.6°C End point 92.6°C Mean value 91.6°C Clear Point 92.6°C olarak ölçüldü. Sentezlenen aldehitin nükleer manyetik rezonans spektroskopisi analiz sonuçları literatür verileriyle uyum içindedir. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 9.75 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 5.22 (s, 2H), 2.51 (s, 3H). Burada 9.75 ppm deki tekli pik aldehit protonuna, 7.98 ppm deki tekli pik aromatik protonuna, 5.22 deki tekli pik $-(CH_2)-$ metilen protonlarına ve 2.51 deki tekli pik aromatik halkada süstitüe $-(CH_3)$ protonlarına aittir. 7.22 ppm deki pik döterokloroforma ait piktir.

2.2.2. Spektroskopik Analiz

Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi analizleri Varian 400 MHz NMR cihazı ile Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünde Prof. Dr. Cavit KAZAZ tarafından gerçekleştirilmiştir. FTIR spektroskopisi Perkin Elmer cihazı ile Uşak Üniversitesi UBATAM da alınmıştır.

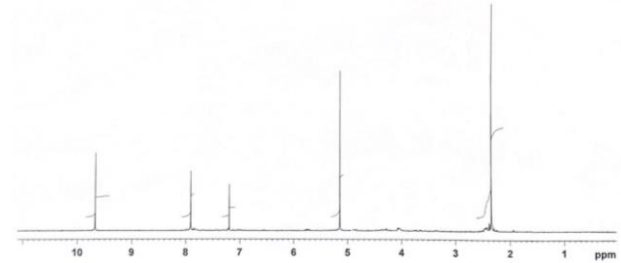
3. Bulgular

Metronidazole piridinyum klorokromat ile diklorometan içinde aldehite yükseltgenerek literatürden farklı yöntemle 56910-52-2 CAS numaralı 2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)asetaldehit açık sarı katı olarak elde edilmiştir. Erime noktası 91.6°C olarak tespit edilmiştir. Reaktif metronidazol ve ürün 2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)asetaldehitin açık formüllerini gösteren reaksiyon denklemi Şekil 1. de verilmiştir. Literatürde verilen metotlardan farklı bir yöntemle elde edilen makalenin konusu aldehitin hekzan : etilasetat : etanol ; 10 : 5,5 : 1 oranlarında hazırlanan mobil faz ile ince tabakada yürütülmesi sonucu aldehitin aldığı yolun çözücünün aldığı yola oranı 0.45 (R_f) olarak bulunmuştur. 1H -NMR Spektrumu literatürde verilen değerlerle uyum içindedir.



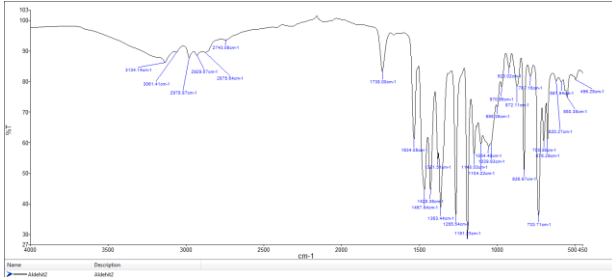
Şekil 1. Metronidazolün metilen klorür içinde pridinyum klorokromat ile oda sıcaklığında 2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)asetaldehite yükseltgenmesini gösteren reaksiyon denklemi

Şekil 2. de 2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)asetaldehitin 1H -NMR spektroskopisi verilmiştir.

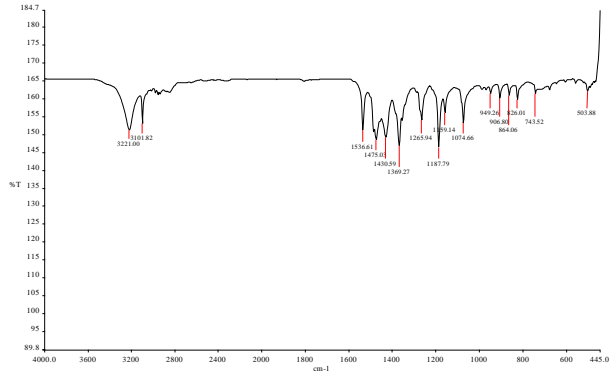


Şekil 2. 2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)asetaldehitin 1H -NMR Spektroskopisi

Diklorometanda çözülmüş 2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)asetaldehitin FTIR Spektroskopisi Şekil 3. de verilmiştir. FTIR (cm^{-1} , CH_2Cl_2): 3134, 3061, 2978, 2929, 2875, 2743, 1738, 1534, 1467, 1428, 1381, 1363, 1265, 1191, 1148, 1104, 1054, 1039, 998, 970, 928, 872, 826, 787, 733, 700, 676, 620, 587, 550, 496. Spektrumda en belirgin bantlardan biri karbonil grubuna ait 1720-1740 cm^{-1} arasında beklenen 1738 cm^{-1} de gözlenen aldehit grubuna ait piktir. Şekil 4. de verilen metronidazolün FTIR spektroskopisinde 3221 cm^{-1} de gözlenen geniş şiddetli hidroksil ($-O-H$) grubundaki gerilme Şekil 3. teki spektrumda gözlenmemiştir. Bu durum hidroksil ($-OH$) grubunun aldehit ($-HC=O$) grubuna yükseltgendiğini göstermektedir.



Şekil 3. Metilen klorürde çözülmüş 2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)asetaldehitin FTIR Spektroskopisi



Şekil 4. Metilen klorürde çözülmüş metronidazolün FTIR Spektroskopisi

Zhenkum ve arkadaşları çalışmalarında ilgili aldehitin sentezini şu şekilde yazmışlardır. -78°C de 350 mL metilen klorürde çözülmüş, manyetik olarak karıştırılan susuz dimetil sülfoksit (DMSO) (51 mL, 719 mmol) çözeltisine, 2M 35 mL metilen klorürde hazırlanmış okzalil klorür çözeltisi yavaş bir şekilde ilave edilir. Bu çözelti 20 dakika -78°C da karıştırılır ve metronidazolün (10 g, 58 mmol) DMSO (50 mL) ve CH_2Cl_2 (100 mL) içindeki çözeltisi ilave edilerek -78°C da 1 saat daha karıştırılır. Daha sonra bu çözeltiye trietilamin (100 mL, 719 mmol) ilave edilerek 1 saat daha -78°C da karışmasına izin verilir. Süre bitiminde reaksiyon karışımının oda sıcaklığına yükselmesine izin verilir. HPLC için uygun ultra saf su (200 mL) reaksiyon karışımına ilave edilir ve CH_2Cl_2 (3×300 mL) ile ekstraksiyon yapılır. Organik fazlar birleştirilir ve susuz Na_2SO_4 üzerinden kurutulur ve süzülür. Çözücü vakumda uzaklaştırılır. Reaksiyon ürün karışımı silika jel dolgulu kolonda MeOH : CH_2Cl_2 (3:97) mobil fazı ile ayrılır. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) 89.75 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 5.22 (s, 2H), 2.51 (s, 3H) [26].

Zhenkum ve arkadaşları çalışmalarında -78°C ye inmişlerdir. Bu çalışmada kriyogenik sıcaklığa inilmemiştir. Çevre için avantajlı bir yükseltgenme metodu oluşturulmuştur. Ancak verim (%48) düşüktür. Verimi arttırmak için reaksiyon şartları değiştirilmiştir. İlk olarak süre uzatılmıştır ve 12 saatte bir ince tabaka kromatografisi (İTK) ile kontrol edilmiştir. Verim artmamıştır ve beşinci günün sonunda ürün kaybolmuştur. Yükseltgeyici reaktif piridinyum klorokromatın ekvivalenti 2 katına çıkartıldığında da verimin artmadığı görülmüştür. Çözücü olarak aseton tercih edildiğinde reaksiyon başlatıldıktan 24 saat sonra ince tabaka

kromatografisi ile reaksiyonun gidişatı incelendiğinde ürünün az miktarda oluştuğu tespit edilmiş ve 48 saat sonra reaksiyona girmemiş metronidazolün ve az miktarda oluşan ürünün ortamda parçalandığı görülmüştür. Bu durum atık sularındaki metronidazolün tek ve çok lambalı tübüler fotoreaktörlerde UV/ H_2O_2 işlemi ile bozulması ile karşılaştırılabilir [32, 38].

4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada 2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)asetaldehit molekülü, metronidazole ve pridyum klorokromat reaktifleri ile diklorometan çözücü olarak kullanılarak literatürden farklı bir yöntemle elde edilmiştir. Deneysel prosedürde belirtilen çözücüde Rf değeri hesaplanmıştır. Literatürde verilen prosedürde verim yüksektir, ancak kriyogenik sıcaklıkta çalışmak gerekmektedir. Yeni geliştirilen metot oda sıcaklığında işlemektedir. Kriyogenik sıcaklığa ulaşamayan laboratuvarlar için ideal bir metottur. Sentetik organik kimya alanında sürdürülebilirliği destekleyen bir sentez yöntemi keşfedilmiştir. Proton nükleer manyetik rezonans spektroskopisi analizi literatür verileri ile uyum içindedir. Ancak ilgili literatürlerde reaksiyon ürünü 2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)asetaldehit molekülünün fiziksel durumundan bahsedilmemiştir [26]. Ürün bu çalışmada açık sarı renkli katı olarak elde edilmiştir ve erime noktası ortalama değer 91.6°C olarak ölçülmüştür. Metronidazoledeki hidroksi grubunun yükseltgenmesi ile elde edilen aldehit molekülü, literatürde belirtildiği gibi diğer organik bileşiklere örneğin schiff bazına, oksim bileşiğine, hetero halkalı bileşiklere geçiş için önemli bir reaktif molekül olarak kullanılmıştır ve muhtemel çeşitli yeni moleküller için reaktif olarak kullanılmaya devam edilecektir. Makalenin yazarı tarafından bu molekülle ilgili çalışmalar devam etmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Uşak Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2015/MF008 nolu "Climbazole ve Metronidazole Türevlerinin Sentezi" başlıklı bilimsel araştırma projesi olarak desteklenmiştir. Proton nükleer manyetik rezonans spektroskopik analizi Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünde gerçekleştirilmiştir. Prof. Dr. Abdullah MENZEK ve Prof. Dr. Cavit KAZAZ'a teşekkür ederim.

Etik Beyanı

Bu çalışmada, "Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi" kapsamında uyulması gerekli tüm kurallara uyulduğunu, bahsi geçen yönergenin "Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiğine Aykırı Eylemler" başlığı altında belirtilen eylemlerden hiçbirinin gerçekleştirilmediğini taahhüt ederim.

Kaynakça

- [1] Cosar, C., Julou, L. 1959. Activity of (Hydroxy-2'Ethyl)-1 Methyl-2 Nitro-5 Imidazole (8823, RP) in Experimental *Trichomonas vaginalis* Infections. *Ann. Inst. Pasteur*, 96(2), 238-41.
- [2] Leitsch, D. 2019. A review on metronidazole: an old warhorse in antimicrobial chemotherapy. *Parasitology*, 146(9), 1167-1178.
- [3] Nicol, C. S., Barrow, J., Redmond, A. 1960. Flagyl (8823 RP) in the treatment of trichomoniasis. *British Journal of Venereal Diseases*, 36(3), 152.
- [4] Rodin, P., King, A. J., Nicol, C. S., Barrow, J. 1960. Flagyl in the treatment of trichomoniasis. *British Journal of Venereal Diseases*, 36(3), 147.
- [5] Leitsch, D. 2019. A review on metronidazole: an old warhorse in antimicrobial chemotherapy. *Parasitology*, 146(9), 1167-1178.
- [6] Rustia, M., Shubik, P. 1979. Experimental induction of hepatomas, mammary tumors, and other tumors with metronidazole in noninbred Sas: MRC (WI) BR rats. *Journal of the National Cancer Institute*, 63(3), 863-868.
- [7] Cavaliere, A., Bacci, M., Amorosi, A., Del Gaudio, M., Vitali, R. 1983. Induction of lung tumors and lymphomas in BALB/c mice by metronidazole. *Tumori Journal*, 69(5), 379-382.
- [8] Bendesky, A., Menéndez, D., Ostrosky-Wegman, P. 2002. Is metronidazole carcinogenic? *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 511(2), 133-144.
- [9] Cavaliere, A., Bacci, M., Vitali, R. 1984. Induction of mammary tumors with metronidazole in female Sprague-Dawley rats. *Tumori Journal*, 70(4), 307-311.
- [10] Adil, M., Iqbal, W., Adnan, F., Wazir, S., Khan, I., Khayam, M. U., Kamal, M.A., Ahmad, S., Ahmed, J., Khan, I. N. 2018. Association of metronidazole with cancer: a potential risk factor or inconsistent deductions? *Current Drug Metabolism*, 19(11), 902-909.
- [11] Code of Federal Regulation. 1987. Title 21, Chapter I, Part 530, Subpart E, § 530.41 Drugs prohibited for extralabel use in animals. [21 CFR 530.41\(a\)\(6\)](#) and [https://www.ecfr.gov/current/title-21/chapter-I/subchapter-E/part-530/subpart-E/section-530.41#p-530.41\(a\)\(6\)](https://www.ecfr.gov/current/title-21/chapter-I/subchapter-E/part-530/subpart-E/section-530.41#p-530.41(a)(6)) (Erişim Tarihi: 13.01.2023)
- [12] Commission Regulation. 2010. (EU) No 37/2010, on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin, Official Journal of the European Union, L 15/1. [:L:2010:015:0001 :0072:en:PDF](https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:015:0001:0072:en:PDF) (Erişim Tarihi: 13.01.2023)
- [13] Sales of veterinary antimicrobial agents in 31 European countries in 2019 and 2020, Trends from 2010 to 2020 Eleventh ESVAC report. https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/sales-veterinary-antimicrobial-agents-31-european-countries-2019-2020-trends-2010-2020-eleventh_en.pdf (Erişim Tarihi: 13.01.2023)
- [14] Kalinowska-Lis, U., Felczak, A., Chęcińska, L., Zawadzka, K., Patyna, E., Lisowska, K., Ochocki, J. 2015. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of water-soluble silver (I) complexes of metronidazole drug and selected counter-ions. *Dalton Transactions*, 44(17), 8178-8189.
- [15] Athar, F., Husain, K., Abid, M., Agarwal, S. M., Coles, S. J., Hursthouse, M. B. Maurya, M.R., & Azam, A. 2005. Synthesis and Anti-Amoebic Activity of Gold (I), Ruthenium (II), and Copper (II) Complexes of Metronidazole. *Chemistry & biodiversity*, 2(10), 1320-1330.
- [16] Ahmadi, F., Shabrandi, N., Hosseinzadeh, L., Azizian, H. 2019. Two DNA binding modes of a zinc-metronidazole and biological evaluation as a potent anti-cancer agent. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, 38(7), 449-480.
- [17] BERG, S. S., BW, S. 1975. Derivatives of 4-and 5-nitro-2-methylimidazol-1-yl-acetaldehyde. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 10(2), 171-177.
- [18] Singh, S. K., Khan, M. U., Swami, M. N., Parihar, S.S., Tiwari, S., Nigam, S. K. 2013. Kinetics of oxidation of metronidazole with N-bromophthalimide in aqueous acetic acid medium, *International Journal of Green and Herbal Chemistry*, 2(3), 535-542.
- [19] Craighead, M., Palin, R., Murray, N., Lindsay, D. 2012. Preparation and use of redox derivatives of known pharmaceutical compounds. *World Intellectual Property Organization*, WO2012063085 A2 2012-05-18.
- [20] Yang, L.X., Hofer, K.G., 1998. Pharmaceutical compounds comprising polyamines substituted with electron-affinic groups, *World Intellectual Property Organization*, WO9814190 A1 1998-04-09.
- [21] Yang, L. X., Hofer, K. G. 1996. Reductive amination of nitroimidazole aldehyde with diamines using sodium triacetoxyborohydride. *Tetrahedron letters*, 37(34), 6081-6084.
- [22] Baxter, E. W., Reitz, A. B. 2004. Reductive aminations of carbonyl compounds with borohydride and borane reducing agents. *Organic reactions*, 59, 1-714.

- [23] Goerlitzer, K., Klanck, S. 2000. Metronidazole Derivatives with Intramolecular Equivalents of Reduction. *Chem Inform*, 31(10), no-no.
- [24] Ding, C.Z., Kim, I.H., Wang, J., Ma, Z., Jin, Y., Combrink, K.D., Lu, G., Lynch, A.S., 2008. Preparation of nitroheteroaryl-containing rifamycin derivatives as antibacterial agents, World Intellectual Property Organization, WO2008008480 A2 2008-01-17.
- [25] Xu, B., Ding, X., Wu, Y., Cui, L., Qian, P., Wang, D., Zhao, Y. 2018. Synthesis and antibacterial activity of oxazolidinone derivatives containing nitro hetero aromatic moiety. *Chemical Research in Chinese Universities*, 34(1), 51-56.
- [26] Ma, Z., He, S., Yuan, Y., Zhuang, Z., Liu, Y., Wang, H., Chen, J., Xu, X., Ding, C., Molodtsov, V., Lin, W., Robertson, G.T., Weiss, W.J., Pulse, M., Nguyen, P., Duncan, L., Doyle, T., Ebright, R.H., Lynch, A. S. 2022. Design, Synthesis, and Characterization of TNP-2198, a Dual-Targeted Rifamycin-Nitroimidazole Conjugate with Potent Activity against Microaerophilic and Anaerobic Bacterial Pathogens. *Journal of medicinal chemistry*, 65(6), 4481-4495.
- [27] Lee, R.E., Cherian, P.T., Hurdle, J.G., Wu, X. 2015. Treatments for gastrointestinal conditions, World Intellectual Property Organization, WO2015138753 A1 2015-09-17.
- [28] K Hijazi, A., A Taha, Z., M Ajlouni, A., M Al-Momani, W., M Idris, I., A Hamra, E. 2017. Synthesis and biological activities of lanthanide (III) nitrate complexes with N-(2-hydroxynaphthalen-1-yl) methylene) nicotinohydrazide Schiff Base. *Medicinal Chemistry*, 13(1), 77-84.
- [29] Soğukömeroğulları, H. G., Başaran, E. 2022. Hidrazon Türevi Yeni Fe (II), Co (II), Ni (II) ve Cu (II) Komplekslerinin Sentezi ve Karakterizasyonu. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 26(2), 216-222.
- [30] Anderson, R. F., Smaill, J. B., Patterson, A. V., Ashoorzadeh, A., Ackerley, D. F., Copp, J. N., Mowday, A.M., Williams, E.M., Guise, C.P., Koch, C., Kachur, A., Dolbier Jr, W. R. 2015. U.S. Patent Application No. 14/368,261.
- [31] Khan, A. A. P., Khan, A., Asiri, A. M., Azum, N., Rub, M. A., Khan, S. B., Rahman, M.M., Al-Youbi, A. O. 2014. Study of the base-catalysed oxidation of the anti-bacterial and anti-protozoal agent metronidazole by permanganate ion in alkaline medium. *Research on Chemical Intermediates*, 40(4), 1703-1714.
- [32] Johnson, M. B., Mehrvar, M. 2008. Aqueous metronidazole degradation by UV/H₂O₂ process in single-and multi-lamp tubular photoreactors: kinetics and reactor design. *Industrial & engineering chemistry research*, 47(17), 6525-6537.
- [33] Watkinson, A. J., Murby, E. J., Kolpin, D. W., Costanzo, S. D. 2009. The occurrence of antibiotics in an urban watershed: from wastewater to drinking water. *Science of the total environment*, 407(8), 2711-2723.
- [34] Elmolla, E. S., Chaudhuri, M. 2009. Degradation of the antibiotics amoxicillin, ampicillin and cloxacillin in aqueous solution by the photo-Fenton process. *Journal of hazardous materials*, 172(2-3), 1476-1481.
- [35] Elmolla, E. S., Chaudhuri, M. 2010. Degradation of amoxicillin, ampicillin and cloxacillin antibiotics in aqueous solution by the UV/ZnO photocatalytic process. *Journal of hazardous materials*, 173(1-3), 445-449.
- [36] Luo, Y. I., Mao, D., Rysz, M., Zhou, Q., Zhang, H., Xu, L., JJ Alvarez, P. 2010. Trends in antibiotic resistance genes occurrence in the Haihe River, China. *Environmental science & technology*, 44(19), 7220-7225.
- [37] Chee-Sanford, J. C., Mackie, R. I., Koike, S., Krapac, I. G., Lin, Y. F., Yannarell, A. C. Maxwell, S., Aminov, R. I. 2009. Fate and transport of antibiotic residues and antibiotic resistance genes following land application of manure waste. *Journal of environmental quality*, 38(3), 1086-1108.
- [38] Mohajerani, M., Mehrvar, M., Ein-Mozaffari, F. 2010. CFD modeling of metronidazole degradation in water by the UV/H₂O₂ process in single and multilamp photoreactors. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 49(11), 5367-5382.
- [39] Wang, Q. Q., Wang, D. X., Wu, Y. L., Li, L. X., Sun, X. Y. 2022. Synthesis of polyoxometalate-based complexes and photocatalytic degradation of metronidazole. *Journal of Solid State Chemistry*, 309, 122966.
- [40] Yıldız, B., Yücel, A., & Hanay, Ö. 2022. In-situ generation of H₂O₂ in heterogeneous Fenton-like process with Fe/Ni bimetallic particle for Metronidazole degradation. *Separation Science and Technology*, 1-15.