

**T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İZATİN TÜREVLERİNİN DNA KORUMA, ETKİLEŞİM ve
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN ANALİZLERİ ve
SEFTRİAKSON-FENİLALANİN KOMBİNASYONUNUN
SİNERJİSTİK ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Mohamed A. Ganim RAMADAN

**Danışman
Jüri Üyesi
Jüri Üyesi
Jüri Üyesi
Jüri Üyesi**

**Doç. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU
Prof. Dr. Fatma KANDEMİRLİ
Doç. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU
Doç. Dr. Gökhan ZENGİN
Doç. Dr. Ahmet UYSAL**

**DOKTORA TEZİ
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI**

KASTAMONU – 2019

TEZ ONAYI

Mohamed A. Ganim RAMADAN tarafından hazırlanan "**İzatin Türevlerinin DNA Koruma, Etkileşim ve Antimikrobiyal Aktivitesinin Analizleri ve Seftriakson-Fenilalanin Kombinasyonunun Sinerjistik Etkilerinin Değerlendirilmesi**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde savunulmuş ve oy birliği ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Genetik ve Biyomühendislik Anabilim Dalı**'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

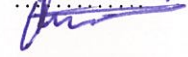
Danışman

Doç. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU
Kastamonu Üniversitesi



Jüri Üyesi

Prof. Dr. Fatma KANDEMİRLİ
Kastamonu Üniversitesi



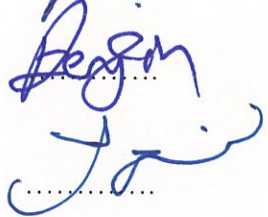
Jüri Üyesi

Doç. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU
Kastamonu Üniversitesi



Jüri Üyesi

Doç. Dr. Gökhan ZENGİN
Selçuk Üniversitesi



Jüri Üyesi

Doç. Dr. Ahmet UYSAL
Selçuk Üniversitesi



22/02/2019

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Hasbi YAPRAK



TAAHHÜTNAME

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildirir ve taahhüt ederim.

Mohamed A. Ganim RAMADAN



ABSTRACT

Ph.D. Thesis

ANALYSIS OF DNA PROTECTION, INTERACTION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ISATIN DERIVATIVES AND EVOLUTION OF SYNERGISTIC EFFECTS OF CEFTRIAXONE- PHENYLALANINE COMBINATION

Mohamed A. Ganim RAMADAN

Kastamonu University
Institute of Science
Department of Genetics and Bioengineering

Assoc. Prof. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU

Isatin, thiosemicarbazone and their derivatives, have been widely used in biological applications such as antimicrobial, antiviral and anticancer therapies. Herein, twenty-seven isatin and thiosemicarbazone derivative compounds with 5-Fluoro-isatin and 5-Methoxy and metal complex were re-synthesized and evaluated for DNA binding analysis including DNA protection studies using plasmid DNA (pUC19) and DNA interaction experiments using Calf-Thymus DNA (CT-DNA). All compounds were also utilized *in vitro* assay to assess the antimicrobial activity of compounds against twenty-one different pathogenic bacterial strains. All the synthesized compounds exhibited DNA protection activity which ranged from 11,7 to 59,5 % DNA protected. In general, among them, I3-(N-2-MP)-TSC had the greatest DNA protective activity. For DNA binding analysis, it was used for the isatin, thiosemicarbazone and their derivatives but not for the compounds with 5-Fluoro-isatin and 5-Methoxy complex. All compounds used for the DNA binding analysis had the same constant concentration (40 μ M), which interacts with CT-DNA. It was also observed that DNA interactions gave a high intrinsic binding constant ($K_b = 1,72 \times 10^4 \text{ M}^{-1} - 9,73 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$). Besides, several derivatives of isatin thiosemicarbazone exhibited significant and selective antibacterial activity with low concentration. These compounds primarily affected Gram positive bacteria but were not effective against *P. vulgaris* and *E. coli*. The Gram positive methicillin-resistant *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) was the most influenced strain by these compounds. It was found that methyphenyl group at isatin was essential for its antibacterial activity for MRSA. The other compounds isatin thiosemicarbazone combined with Fluoro-isatin and 5-Methoxy and metal complex inhibited Gram positive and Gram negative bacteria with mild to moderate inhibition zones. Some compounds contain nickel and zinc metals but there were no significant for increasing the antimicrobial activities or DNA protections.

Ceftriaxone belongs to the third-generation β -lactam antibiotics and it is useful for the treatment of a number of infectious diseases caused by both Gram positive and Gram negative bacteria. Phenylalanine is an essential aromatic amino acid of a human being, from which dopamine and norepinephrine neuro-transmitters are being synthesized. In the present study, we examined their combined efficacy against different types of pathogenic bacterial strains. The aim of this study designed to investigate the affect of Ceftriaxone combination with Phenylalanine on antimicrobial activates for both Gram positive and Gram negative bacteria that were including *K. pneumonia*, *S. aureus* ATCC 25923, *P. vulgaris*, *E. coli*, *S. marcescens*, *S. epidermis*, Alpha haemolytics Streptococcus, *E. faecium*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *E. durans*, *S. kentucky*, *E. aerogenes* ATCC 13048 and *C. albicans* ATCC 26555 were exposed to ceftriaxone and phenylalanine based on disk-diffusion method. Minimum inhibition concentration (MIC) was determined with ceftriaxone. Then 1mM ceftriaxone and 1mM phenylalanine solutions were mixed and observed greater zone of inhibition than ceftriaxone or phenylalanine alone against above mentioned bacterial strains. These results might open up a new avenue for using phenylalanine in combination with ceftriaxone to lower MIC level for better antibacterial effect, to reduce side effects of antibiotics, and to reduce emerging threats of antibiotic resistance bacteria. In this study, the combined use of phenylalanine and ceftriaxone has revealed increased antimicrobial sensitivity against some selected both Gram positive and Gram bacteria *in vitro*.

Keywords: Isatin thiosemicarbazone derivatives, 5-Fluoro isatin, 5-Methoxy isatin, Antimicrobial activity, DNA binding analysis, DNA protections

2019, 105 page

Science Code: 923

ÖZET

Doktora Tezi

İZATİN TÜREVLERİNİN DNA KORUMA, ETKİLEŞİM ve ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN ANALİZLERİ ve SEFTRİAKSON-FENİLALANİN KOMBİNASYONUNUN SİNERJİSTİK ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Mohamed A. Ganim RAMADAN

Kastamonu Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Genetik ve Biyomühendislik Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU

İzatin, tiyosemikarbazon ve türevleri, antimikrobiyal, antiviral ve antikanser tedavileri gibi biyolojik uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, 5-Floro izatin ve 5-Metoksi ve metal kompleksinden oluşan yirmi yedi izatin ve tiyosemikarbazon türevi bileşiği, yeniden sentezlenmiş ve plazmid DNA (pUC19) kullanılarak yapılan DNA koruma çalışmaları ve buzağı timüs DNA (Buzağı Timus DNA, CT-DNA) kullanılarak DNA etkileşimi deneyleri içeren DNA bağlama analizi için değerlendirilmiştir. Tüm bileşikler ayrıca, yirmi bir farklı patojenik bakteri suşuna karşı bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmek için *in vitro* analizde kullanılmıştır. Sentezlenen tüm bileşikler, % 11,7 ila 59,5 oranında DNA koruma etkinliği göstermiştir. Genelde, I3- (N-2-MP) -TSC en büyük DNA koruyucu etkinliğe sahiptir. DNA bağlama analizi için izatin, tiyosemikarbazon ve bunların türevleri kullanılmış, ancak 5-Floro izatin ve 5-Metoksi kompleksine sahip bileşikler kullanılmamıştır. DNA bağlama analizi için kullanılan tüm bileşikler aynı sabit konsantrasyona (40 µM) sahiptir ve CT-DNA ile etkileşime girmişlerdir. Ayrıca DNA etkileşimlerinin yüksek bir içsel bağlama sabiti sağladığı görülmüştür ($K_b = 1,72 \times 10^4 \text{ M}^{-1} - 9,73 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$). Ayrıca, birçok izatin tiyosemikarbazon türevi, düşük konsantrasyonda önemli ve seçici antibakteriyel etkinlik sergilemiştir. Bu bileşikler öncelikle Gram pozitif bakterileri etkilemiştir. Ancak *P. vulgaris* ve *E. coli*'ye karşı etki göstermemişlerdir. Gram pozitif metisiline dirençli *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) bu bileşiklerden en çok etkilenen tür olmuştur. İzatin' deki metilfenil grubunun, MRSA'nin antibakteriyel etkinliği için gerekli olduğu bulunmuştur. Diğer bileşikler, Floro-izatin ve 5-Metoksi ve metal kompleksi ile birleştirilen izatin tiyosemikarbazon, hafif ila orta derecede inhibisyon zonları ile Gram pozitif ve Gram negatif bakterileri inhibe etmiştir. Bazı bileşiklere nikel ve çinko metalleri eklenmiş, ancak bu antimikrobiyal etkinlikleri veya DNA korumalarını arttırmada önemli bir fark yaratmamıştır.

Seftriakson üçüncü kuşak β -laktam antibiyotiklere aittir ve hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilerin neden olduğu bir dizi bulaşıcı hastalığın tedavisinde faydalıdır. Fenilalanin, dopamin ve norepinefrin nöro-vericilerinin sentezlendiği bir insan için gerekli bir aromatik amino asididir. Bu çalışmada ayrıca, bunların farklı patojenik bakteri suşlarına karşı kombine etkinlikleri incelenmiştir. Bu çalışmanın amacı, *K. pneumonia*, *S. aureus* ATCC 25923, *P. vulgaris*, *E. coli*, *S. marcescens*, *S. epidermis*, Alfa hemolitik Streptococcus, *E. faecium*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *E. durans*, *S. kentucky*, *E. aerogenes* ATCC 13048 ve *C. albicans* ATCC 26555 olmak üzere hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakteriler için Seftriakson Fenilalanin kombinasyonunun antimikrobiyal maddeler üzerindeki etkisini araştırmak için tasarlanmıştır. Bu etki seftriakson ve fenilalanin ile disk-difüzyon yöntemi ve minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ile belirlenmiştir. Daha sonra, 1mM seftriakson ve 1mM fenilalanin çözeltileri karıştırılmış ve yukarıda belirtilen bakteriyel suşlara karşı tek başına seftriakson veya fenilalaninden daha fazla inhibisyon zonu gözlenmiştir. Bu sonuçlar, fenilalaninin seftriakson ile kombinasyon halinde daha iyi antibakteriyel etkisi açısından MİK seviyesinin düşürülmesi, antibiyotiklerin yan etkilerinin ve antibiyotik dirençli bakterilerin ortaya çıkma tehditlerinin azaltılması için yeni bir yol açabilir. Bu çalışmada, fenilalanin ve seftriaksonun bir arada kullanılması, *in vitro* seçilmiş bazı Gram pozitif ve Gram bakterilere karşı antimikrobiyal duyarlılığın arttığını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: İzatin tiyosemikarbazon türevleri, 5-Floro izatin, 5-Metoksi izatin, Antimikrobiyal etkinlik, DNA bağlanma analizi, DNA koruma

2019, 105 sayfa
Bilim Kodu: 923

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her aşamasında yaptığı rehberlik, verdiği cesaret, paylaştığı paha biçilmez tavsiyeleri ile benim bir bilim insanı olarak gelişmeme yardımcı olan danışmanın Doç. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU'na saygılarımı sunuyorum.

Tezimin kimya bölümünün hazırlanması sürecinde bana değerli bilgi ve tavsiyeleriyle yol gösteren Prof. Dr. Fatma KANDEMİRLİ ve Doç. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU'na saygı ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Bana burs desteği sağlayan Ülkem Libya'ya ve doktora eğitimi tamamladığım Kastamonu Üniversitesi'ne doktora şükranlarımı sunuyorum.

Merkezi Araştırma Laboratuvarı ve Genetik Bölümündeki tüm araştırma öğrencilerine yardımları ve arkadaşlıkları için teşekkür ediyorum.

Araştırma öğrencileri Aisha T. Abdelsalam ve Şerife Yerlikaya'ya yardımları için özellikle teşekkür etmek istiyorum.

Bu çalışmalar boyunca verdikleri cesaret ve gösterdikleri sabırdan dolayı başta eşim olmak üzere tüm aileme teşekkür ediyorum.

Mohamed A. Ganim RAMADAN
Kastamonu, Şubat, 2019

İTHAF

Bu Bilimsel Çalışma

- Annemin ve babamın ruhlarına,
- Eşime,
- Kızım Reem ve Oğullarım Walid, Taha ve Yassin'e

ithaf edilmiştir.

Mohamed A. G. Ramadan

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ ONAYI.....	ii
TAAHHÜTNAME.....	iii
ABSTRACT.....	iv
ÖZET.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xv
TABLolar DİZİNİ	xvii
BÖLÜM I.....	1
1. GİRİŞ	1
1.1. İsatın ve İsatın Türevleri	1
1.2. Tiyosemikarbazon.....	2
1.3. 5- Floro-İzatin Tiyosemikarbazon Türevleri	3
1.4. 5-Metoksi izatin Tiyosemikarbazon Türevleri	3
1.5. Metal Kompleks İle Birleştirilen İzatin Türevleri	3
1.6. Bakteriyel Enfeksiyonlar	4
1.6.1. Antimikrobiyal Direnç.....	8
1.6.2. Antibiyotiğe Alternatifler	9
1.7. DNA.....	10
1.7.1. DNA Koruma	11
1.7.2. DNA Etkileşimi	11
1.8. Çalışmanın Amacı.....	12
2. KURAMSAL ÇERÇEVE	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM	21
3.1. Kimyasal Bileşikler.....	21
3.2. Antimikrobiyal Etkinlik.....	21
3.2.1. Mikroorganizma Suşları	21
3.2.2. Stok Çözeltilerin Hazırlanması	23
3.2.3. İnokülasyon Prosedürleri.....	25

3.3. DNA Etkileşimi	25
3.3.1. DNA Etkileşimi İçin Stok Çözeltilerin Hazırlanması	25
3.3.2. Sönüm Katsayısı	26
3.4. DNA Koruma Testi	27
3.4.1. Agaroz Jelin Hazırlanması	28
3.5. İstatistiksel Analiz	28
4. BULGULAR	29
4.1. Antimikrobiyal Etkinlik	29
4.1.1. Levofloksasin ve Zosyn	29
4.2. İzatin ve İzatin Tiyosemikarbazon Türevleri Grubu	30
4.2.1. İzatin 3-N-2- Metoksifenil -Tiyosemikarbazon	30
4.2.2. İzatin 3-N-4- Metoksifenil -Tiyosemikarbazon	31
4.2.3. İzatin 3-N-3-Florofenil-Tiyosemikarbazon	33
4.2.4. İzatin 3-N-4-Florofenil-Tiyosemikarbazon	33
4.2.5. İzatin 3-N-2-Metoksifenil-Tiyosemikarbazon	34
4.2.6. İzatin 3-N-2-Klorofenil-Tiyosemikarbazon	34
4.2.7. İzatin 3-N-2,4-Diklorofenil-Tiyosemikarbazon	35
4.2.8. İzatin 3-N-Siklohekszil-Tiyosemikarbazon	36
4.3. 5-Floro izatin Tiyosemikarbazon Komplekslerinin Antimikrobiyal Etkinliği	37
4.3.1. 5-Floro izatin 3-[(N-4-Metoksifenil)- Tiyosemikarbazon]	38
4.3.2. 5-Floro izatin 3-[(N-2- Metoksifenil)- Tiyosemikarbazon]	38
4.3.3. 5-Floro izatin 3-[(N-3-metoksifenil)- Tiyosemikarbazon]	39
4.3.4. 5-Floro izatin 4-(3-metoksifenil)3- Tiyosemikarbazon) çinko (II)	40
4.4. 5-Metoksi izatin Tiyosemikarbazon Komplekslerinin Antimikrobiyal Etkinliği	41
4.4.1. 5- Metoksi izatin 3-[(N-4-Klorofenil) - Tiyosemikarbazon]	41
4.4.2. 5-Metoksi izatin 3 - [(N-4-iyodofenil) - tiyosemikarbazon]	42
4.4.3. 5-Metoksi izatin 3 - [(N-fenil) - tiyosemikarbazon]	43
4.4.4. 5- Metoksi izatin 3 - [(N-siklohekszil) - tiyosemikarbazon]	44
4.4.5. 5-Metoksi izatin - [(N-3 Metoksi fenil) – Tiyosemikarbazon]	44
4.4.6. Bis (5-Metoksi izatin) -4- (2,4 Diklorofenil) -3-Tiyosemikarbazon) Çinko(I)	45
4.4.7. Bis (5-Metoksi izatin) -4- (fenil) -3-tiyosemikarbazon) çinkonun (II)	46
4.4.8. Bis (5-Metoksi izatin) -4- (N-benzaldhit 1) -3-tiyosemikarbazon) nikelin ...	46
4.4.9. Bis (5-Metoksi izatin) -4- (3-Metoksi fenil) -3-Tiyosemikarbazon)	

Çinkonun (II)	47
4.5. DNA Koruma.....	48
4.5.1. İzatin ve İzatin Tiyosekarkabazon Türevlerinin DNA Koruması	48
4.5.2. 5 Floro izatin Tiyosemikarkabazon ve Türevlerinin DNA Koruması.....	49
4.5.3. 5-Metoksi izatin Tiyosemikarkabazon ve Türevlerinin DNA Koruması	50
4.6. DNA Etkileşimleri	53
4.6.1. I3-[(N-2-MP)-TSC]	53
4.6.2. I3-[(N-4-MP)-TSC]	54
4.6.3. I3-[(N-3-FP)-TSC]	54
4.6.4. I3-[(N-4-FP)-TSC]	55
4.6.5 I3-[(N-2-MXP) -TSC]	56
4.6.6. I3-[(N-2-CP)-TSC]	57
4.6.7. I3-[(N-2, 4-DCP)-TSC]	58
4.6.8. I3-[(N-CHX) TSC]	59
5. SONUÇ VE TARTIŞMA	61
5.1. Antimikrobiyal Etkinlik.....	61
5.1.1. İzatin ve İzatin Tiyosemikarkabazon Türevlerinin Antimikrobiyal Etkinliği	61
5.1.2. 5 Floro izatin Tiyosemikarkabazon ve Türevlerinin Antimikrobiyal Etkinliği ..	63
5.1.2. 5-Metoksi izatin Tiyosemikarkabazon ve Türevlerinin Antimikrobiyal Etkinliği	64
5.2. DNA Koruma.....	65
5.2.1. İzatin ve İzatin Tiyosemikarkabazon Türevlerinin DNA Koruması	65
5.2.2. 5 Floro izatin Tiyosemikarkabazon ve Türevlerinin DNA Koruması	65
5.2.3. 5 Metoksi izatin Tiyosemikarkabazon ve Türevlerinin DNA Koruması	66
5.3. DNA Etkileşimi	66
BÖLÜM II.....	68
6. GİRİŞ	68
7. KURAMSAL ÇERÇEVE	69
8. MATERYAL VE YÖNTEM	72
8.1. Stok Çözeltilerinin Hazırlanması.....	72
8. 2. Mikroorganizma Suşları	72
8. 3. İnokulumun Hazırlanması.....	73
8. 4. Antibakteriyel Etkinlik	73
8. 5. İstatistiksel Analiz.....	74

9. BULGULAR VE TARTIŞMA	75
10. SONUÇLAR	79
KAYNAKLAR	81
EKLER.....	91
ÖZGEÇMİŞ	102

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DSÖ.....	Dünya Sağlık Örgütü
MRSA	Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
CT-DNA.....	Buzağı Timus DNA (Buzağı Timus DNA)
DMSO	Dimetil sülfoksit
MIC.....	Minimum inhibisyon konsantrasyonu

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1. 1. İzatin'in kimyasal yapısı.....	1
Şekil 1. 2. 5 - Floro-İzatinin Kimyasal Yapısı	3
Şekil 1. 3. 5-Metoksi izatinin Yapısı.....	3
Şekil 4. 1. Levofloksasin ve Zosyn'in kullanılan bakterilere karşı antimikrobiyal etkinlikleri.	30
Şekil 4. 2. İzatin 3 - [(N-2-metilfenil) - tiyosemikarbazonun antimikrobiyal etkinliği ..	31
Şekil 4. 3. İzatin 3 - [(N-4-metilfenil) - tiyosemikarbazonun antimikrobiyal etkinliği ..	32
Şekil 4. 4. İzatin 3 - [(N-3-florofenil) - tiyosemikarbazon] 'un antimikrobiyal etkinliği	33
Şekil 4. 5. İzatin 3 - [(N-4-florofenil) - tiyosemikarbazon] 'un antimikrobiyal etkinliği	34
Şekil 4. 6. İzatin 3 - [(N-2-klorofenil) - tiyosemikarbazon] 'un antimikrobiyal etkinliği	35
Şekil 4. 7. İzatin 3 - [(N-2,4-diklorofenil) - tiyosemikarbazonun antimikrobiyal etkinliği	36
Şekil 4. 8. İzatin 3 - [(N-siklohekszil) - tiyosemikarbazon] 'un antimikrobiyal etkinliği	37
Şekil 4. 9. 5floroİzatin 3 - [(N-2-metofenil)) - tiyosemikarbazonun antimikrobiyal etkinliği	39
Şekil 4. 10. 5-F-İzatin 3 - [(N-3-metoksifenil) - tiyosemikarbazonun antimikrobiyal etkinliği	40
Şekil 4. 11. 5-F-İzatin-4- (3-Metoksifenil) -3-tiyosemikarbazon) çinkonun (II) antimikrobiyal	40
Şekil 4. 12. 5-Metoksi izatin 3 - [(N-4-klorofenil) - tiyosemikarbazonun antimikrobiyal etkinliği	42
Şekil 4. 13. 5-Metoksi izatin 3 - [(N-4-iyodofenil) - tiyosemikarbazonun antimikrobiyal etkinliği].....	43
Şekil 4. 14. 5-Metoksi izatin 3 - [(N-fenil) - tiyosemikarbazonun antimikrobiyal etkinliği	43
Şekil 4. 15. 5-5-Metoksi izatin 3 - [(N-siklohekszil) - tiyosemikarbazonun antimikrobiyal	44
Şekil 4. 16. 5-Metoksi izatin - [(N-3 Metoksifenil) - tiyosemikarbazonun antimikrobiyal etkinliği	45
Şekil 4. 17. Bis (5-metoksi izatin) -4- (2,4 diklorofenil) -3-tiyosemikarbazon) çinkonun(I)	45
Şekil 4. 18. Bis (5-Metoksi izatin) -4- (fenil) -3-tiyosemikarbazon) çinkonun (II) antimikrobiyal	46
Şekil 4. 19. Bis (5-Metoksi izatin) -4- (N-benzaldhit 1) -3-tiyosemikarbazon) nikelin .	47
Şekil 4. 20. Bis (5-metoksi izatin) -4- (3-Metoksifenil) -3-tiyosemikarbazon) çinkonun (II).....	47

Şekil 4. 21. İzatin ve İzatin tiyosemikarbazon türevleri bileşiklerinin DNA koruma yüzdeleri ve	49
Şekil 4. 22. 5 Floro zatin tiyosemikarbazon ve türevlerinin bileşiklerinin DNA koruma	50
Şekil 4. 23. 5-Metoksi izatin tiyosemikarbazon ve türevlerinin bileşiklerinin DNA koruma	52
Şekil 4. 24. 5-Metoksi izatin tiyosemikarbazon ve türevlerinin bileşiklerinin DNA koruma	52
Şekil 4. 25. CT-DNA yokken İzatin 3 - [(N-2-metilfenil) - tiyosemikarbazon]'un spektral	53
Şekil 4. 26. CT-DNA yokken İzatin 3 - [(N-4-metilfenil) - tiyosemikarbazon]'un spektral	54
Şekil 4. 27. CT-DNA yokken İzatin 3 - [(N-3-florofenil) - tiyosemikarbazon]'un spektral	55
Şekil 4. 28. CT-DNA yokken İzatin 3 - [(N-4-florofenil) - tiyosemikarbazon]'un spektral	56
Şekil 4. 29. CT-DNA yokken İzatin 3 - [(N-2-metoksifenil) - tiyosemikarbazon]'un spektral	57
Şekil 4. 30. CT-DNA yokken İzatin 3 - [(N-2-klorofenil) - tiyosemikarbazon]'un spektral	58
Şekil 4. 31. CT-DNA yokken İzatin 3 - [(N-2,4-diklorofenil) - tiyosemikarbazon]'un spektral	59
Şekil 4. 32. CT-DNA yokken İzatin 3 - [(N-siklohekszil) - tiyosemikarbazon]'un spektral	60
Şekil 9. 1 <i>E. coli</i> , <i>S. marrescens</i> ve <i>E. faecium</i> 'un seftriakson inhibisyon zonları MİK analizi.	75
Şekil 9. 2. Seçilen bakteriyel suşlarına karşı seftriakson, fenilalanin ve bunların bir karışımının	77
Şekil 9. 3. <i>E. coli</i> , <i>S. marrescens</i> , <i>L. monocytogenes</i> ve <i>E. aerogenes</i> 'in seftriakson...	77

TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 3. 1. <i>Kodları ve Kısaltmalarıyla Kimyasal Bileşikler</i>	22
Tablo 3. 2. <i>Bakteriler ve Gram boyaları</i>	23
Tablo 3. 3. <i>Bileşiklerin Moleküler Ağırlıkları</i>	24
Tablo 4. 1. <i>İzatin ve izatin tiyosemikarbazon türevleri bileşikleri</i>	30
Tablo 4. 2. <i>5-Metoksi-izatin tiyosemikarbazon ve kompleksleri grubu</i>	41
Tablo 4. 3. <i>İzatin ve izatin tiyosemikarbazon türevlerinin DNA koruma yüzdeleri</i>	48
Tablo 4. 4. <i>5 Floro-izatin tiyosemikarbazon ve türevlerini, DNA koruma yüzdeleri</i>	50
Tablo 4. 5. <i>5-Metoksi - izatin tiyosemikarbazon ve türevlerinin DNA koruması</i>	51
Tablo 8. 1. <i>Seftriakson ve fenilalanin deneyi için kullanılan mikroorganizma türleri</i>	72
Tablo 9. 1. <i>Seftriaksonun MİK analizi</i>	76

RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa
Resim 4. 1. İzatin ve izatin tiyosemikarbazon türevleri bileşiklerinin DNA koruma yüzdeleri ve	49
Resim E. 1 1, 2, 3, 4, 5 Bileşiklerin DNA koruması (%) ve plazmid DNA koruma jel.....	101
Resim E. 2 6, 7, 8, 9, 10 Bileşiklerin DNA koruması (%) ve plazmid DNA koruma jel.....	101
Resim E. 3 11, 12,13,14,15 Bileşiklerin DNA koruması (%) ve plazmid DNA koruma jel.....	101
Resim E. 4 16, 17,18,19,20 Bileşiklerin DNA koruması (%) ve plazmid DNA koruma jel.....	101
Resim E. 5 22, 23, 24,25,26,29 Bileşiklerin DNA koruması (%) ve plazmid DNA koruma jel.....	101

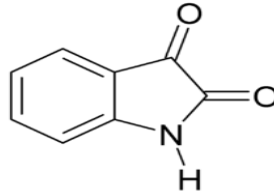
BÖLÜM I

1. GİRİŞ

1.1. İzatin ve İzatin Türevleri

İzatin (2,3-dioksindol) ve İzatin'in indol türevi, heterosiklik bileşiklerin önemli bir sınıfıdır¹ ve entetik olarak önemli bir substrattır. ² Daha büyük bir tür heterosiklik bileşiklerin sentezi için kullanılabilir. İzatin bazı biyolojik özelliklere sahip bir kimyasal bileşik türüdür ve birçok ilacın sentezi için yaygın olarak kullanılır.^{1, 2} Bu kimyasal bileşik, Isatis cinsi bitkilerde, *Couroupita guianensis*, *Cleanthes* boyasında ve ayrıca *Strobilanthes cusia'nın* yaprak ve köklerinde bulunur.³ Buna ilavaten İzatin'in Buffo kurbağalarının parotid bezi salgılarında ve de memeli dokusunda ve ayrıca adrenalın metabolizması sırasında insanlardaki yaşayan organizmanın kimyasal işlemlerinde bulunduğundan söz edilmektedir.²

Manju ve ark. (2011), Erdman ve Laurent'in 1841'de ilk kez İzatin ürün bileşliğini indigo boyasının nitrik ve kromik asitlerle oksidasyonu yoluyla elde ettiklerini bildirmişlerdir.⁴ Ayrıca, kemoterapi değeri nedeniyle İzatin ve türevlerine büyük ilgi vardır.⁵ İzatin, beyindeki asetilkolinin düzenlenmesinde stres altındaki dopamin seviyesini artırarak önemli bir rol oynadığı ⁶ ve çok çeşitli merkezi sinir sistemi aktivitesine sahip olduğu bilinmektedir.⁷ İzatin geniş bir biyolojik aktiviteye sahiptir, çünkü İzatin, Şekil 1.1'de gösterildiği gibi çok sayıda heterojen molekül oluşturabilen indol halka yapısına sahiptir.⁸



Şekil 1. 1. İzatin'in kimyasal yapısı

İzatin ve türevleri, antimikrobiyal, antihelmintik, antiviral, antienflamatuvar, analjezikler, antikonvülsan, antioksidan özelliklerine, merkezi sinir sistemi depresan aktiviteleri ve bazı enfeksiyon türlerine karşı koruma dahil biyolojik bir avantaja sahiptir.^{6, 8} İzatin, pek çok ilaçta sıkça kullanılan çok yönlü bir kimyasal yapı taşıdır.^{2,8} İzatin ve tiyosemikarbazid bileşiklerinden ve bunların mineral komplekslerinden türetilmiş Schiff bazları, çeşitli yapısal çeşitlilik ve aktif tıbbi etkenlerin ortak bir özelliği olan en önemli kimyasal bileşik kategorilerinden biridir.⁹

İzatin, mavi bir türev oluşturarak amino asit prolin için renk reaktifi olarak kullanılır. Bu özellik, bu amino asidin polenlerde kâğıt kromatografisi kullanılarak diğer bitkisel materyallerde belirlenmesi için veya prolin artıklarına sahip polimer bağlı bileşiklerin tespiti için kullanılmaktadır.¹⁰

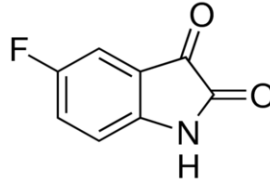
1.2. Tiyosemikarbazon

Tiyosemikarbazonlar: Oksijen atomunun yerine bir kükürt atomu içeren bir semikarbazondur. Uzun süredir tiyosemikarbazon, 1946'dan beri insan hastalıkları için profilaktik terapötik olarak kullanılmaktadır. Tiyosemikarbazonlar bazı virüslere karşı iyi bir antiviral aktiviteye sahip olması açısından bilnen ilk antiviral bileşikler olarak kaydedilmiştir.¹¹ Bunun yanında, tiyosemikarbazon bileşiğinin, antibakteriyel, antitümör, antifungal aktiviteler ve sodyum kanalı bloke edici gibi kimya dalları ve tıp üzerindeki geniş kapsamlı biyolojik aktivitelerinden dolayı önemli bir yeri vardır.^{12, 13}

Lipofilik olan metal yapıli komplekslere sahip tiyosemikarbazon, hücre zarından geçerek metali hücre içinde serbest bırakabilir. Serbest şelatör, daha sonra hücre zarı içinden geçebilen ve bunları hücreden çıkarabilen hücrelerin içindeki demir ile karmaşık hale getirebilir. Tiyosemikarbazonun anti-proliferatif aktivitesi, DNA bağlanmasına ve bölünmesine, apoptozun indüklenmesine, hücre enzim inhibisyonuna bağlı olabilir.¹⁴

1.3. 5- Floro-İzatin Tiyosemikarbazon Türevleri

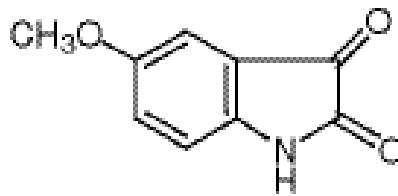
Florlu heterosiklik bileşikler, çeşitli teknolojik gelişmeler için önemlidir ve çeşitli farmasötiklerin sentezinde önemli ara ürünler haline gelmiştir. Al-Romaizan (2014), flor atomlarının heterosiklik bir azot molekülü ile kombinasyonunun, florlanmamış analoglarına kıyasla sıklıkla farmakolojik özellik gösterdiğini bildirmiştir.¹⁵ 5-Floro İzatinin moleküler formülü $C_8H_4FNO_2$ şeklindedir (Şekil 1.2) ve moleküler ağırlığı = 165.12 Mol. 443-69-6.moldür.



Şekil 1. 2. 5 - Floro-İzatinin Kimyasal Yapısı

1.4. 5-Metoksi izatin Tiyosemikarbazon Türevleri

Şekil 1.3'te gösterildiği gibi 5 Metoksi izatinin molekül ağırlığı 177.16 mol, erime noktası 199-202 °C ve soğuk suda çözünebilir özelliktedir. Bitkilerde de alternatif İzatin bulunmaktadır. Karayipler karotis bitkisi *Melochia tomentosa*'dan ve ayrıca bazı mantarlardan elde edilen melosatin (fenilpentil İzatinler) örnek olarak verilebilir.¹⁶



Şekil 1. 3. 5-Metoksi-İzatinin Yapısı

1.5. Metal Kompleks İle Birleştirilen İzatin Türevleri

Uzun süredir arsenik, gümüş ve bakır gibi metaller antimikrobiyal madde olarak çeşitli şekillerde kullanılmıştır. Ancak ne yazık ki hareket tarzları hakkında çok az şey anlaşılmıştır. Bakteriyel metal iyonlarının direnci ilk olarak yirminci yüzyılın ikinci yarısında keşfedilmiş ve artık çok sayıda bakterinin detaylı direnç mekanizmaları

anlaşılmıştır.¹⁷ İzatinin mikroplara karşı önemi bilinmekte ve İzatine metal eklenmesinin bu bileşiğin mikroplara karşı etkinliğini artırabileceğine inanılmaktadır.

Patojenlerde ve patojen olmayanlarda bulunan bakteriyel antimikrobiyal metal iyon dirençleri, mikrobiyologların bu dirençlerin varlığını anlayabilmesinden çok önce de mevcuttur. Şimdilerde, metalin metal iyon direncini kodlayan genetik elemanların, çoklu ilaç direnci ve yatay gen transferini kolaylaştırmada güçlü bir rol oynadığı görülmektedir.¹⁷

1.6. Bakteriyel Enfeksiyonlar

Bakteriyel enfeksiyonlar, özellikle üçüncü dünya ülkelerinde, büyük bir problemdir ve dünya çapında ciddi hastalık ve ölüm nedenidir. Ayrıca, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde, bazı patojenik bakterilerin taşıdığı risk, kanser ve virüs enfeksiyonuna bağışıklık yetersizliği için uzun kemoterapi tedavileri nedeniyle, enfekte kişinin bu bakteriyel enfeksiyona karşı savunmasını zayıflatmaktadır. Dünyadaki bakterilerin çoğu, enfekte hayvanlar veya insanlar veya her ikisi ile bulaşmaktadır. Bazı bakteri türleri, vücutların içinde veya yüzeyinde yaşayabilir ve kalın bağırsakta yaşayan ve gıdaların sindirimini destekleyen laktik asit bakterileri gibi vücutların sağlıklı kalmasına yardımcı olur. Bu tür bakteriler, diğer dış bakteriler tarafından kolonileşmeye direnerek sağlıklı bir besinsel bitki örtüsünün korunmasında önemli bir rol oynamaktadır. Tüm bunların yanı sıra, bazı bakteri türleri yoğurt, peynir ve ekşi süt ve şarap gibi bazı yiyecek türlerini üretilmesi avantajına sahiptir. Çalışmalar, dünyadaki tüm bakterilerin % 1'inden daha azının enfekte hastalıklardan sorumlu olduğunu gösterse de, kesin bir rakam olmadığı için bunun sadece kaba bir tahmin olduğu düşünülmektedir.

DSÖ'nün raporlarına göre, en yaygın bakteriyel enfeksiyonlar, antibiyotik direnci probleminin solunum yolu enfeksiyonları, ishal, menenjit ve hastane enfeksiyonları gibi daha belirgin olduğu durumlardır. İnsanları enfekte eden antibiyotiğe dirençli mikroorganizmalar, bu insanlar için daha uzun hastanede kalma sürelerine neden

olmakta ve daha az etkili, daha toksik ve daha pahalı olabilen iki veya daha fazla antibiyotik kombinasyonu ile tedavi gerektirmektedir.¹⁸

Staphylococcus aureus, çok çeşitli klinik belirtilere neden olan temel bakteriyel insan patojenlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Antibiyotik direncinin yüksek olması nedeniyle aureus adlı tür, kolonilerde katı ortamda yetiştirildiğinde altın rengine sahiptir.¹⁹ *S. aureus*, hastanede daha az bağışıklığa sahip olanları etkileyen ve koloniler halinde olan önemli bir patojendir. Bu bakteri normalde cildin yüzeyinde ve insan farenksinin üst kısmında bulunur. Üretra, vajina, burun, cilt ve gastrointestinal sistem enfeksiyonlarına neden olabilir.^{19, 20}

Escherichia coli, insanlarda ve hayvanlarda enfeksiyonların önemli nedenlerinden biri olan Gram negatif bakterilerden biridir. Bu bakteri suşu idrar yolu enfeksiyonlarına, gastrointestinal enfeksiyonlara ve yenidoğan menenjitine neden olabilir. *E. coli* insan ve hayvanda ishal ile ilişkilendirilir. *E. coli* enfeksiyonlarının tedavisi, antimikrobiyal direncin ortaya çıkması ile tehdit altındadır.²¹ *E. coli*, hem tıbbi alanda hem de endüstriyel alanda geniş çaplı uygulamalarda ve rekombinant DNA teknolojisi alanında en yaygın kullanılan mikroorganizmadır.²¹

Klebsiella pneumonia, pnömoni, sepsis, yumuşak doku enfeksiyonları ve enfekte idrar yolu sistemi gibi birçok hastalıktan sorumlu olan önemli bir bakteridir. Bu patojen, çoğunlukla topluluk ve hastane kaynaklı enfeksiyonlarla ilişkilidir. Tian ve arkadaşları (2016), *K. pneumonia*'nın yetişkin popülasyonunda *E. coli*'den sonra Gram negatif kan dolaşımı enfeksiyon bakterilerinin en yaygın nedenlerinden biri olduğunu bildirmiştir.²²

Pseudomonas aeruginosa Gram negatif fermente olmayan bir bakteridir ve oportünist bir patojendir. *P. aeruginosa* zatürre, sepsis ve idrar yolu enfeksiyonu gibi hastane enfeksiyonlarına neden olabilir. Florokinolonlar, beta-laktamlar, aminoglikozitler ve birçok antibiyotiğe yüksek dirençli olması nedeniyle ciddi bir klinik problem olarak kabul edilir. Antibiyotiklerin aşırı kullanımı ve sağlık hizmeti ortamında dirençli mikroorganizmaların yayılmasını önlediğine inanılan kontrol önlemlerinin başarısızlığı

nedeniyle bakteriyel enfeksiyonların ve antibiyotiklere dirençli bakteri sayısının artma nedenleridir.²³

Streptococcus pneumonia'nın, genel olarak fatal pnömoni ve pnömoniye neden olan en yaygın bakterilerden biri olduğuna inanılmaktadır. *S. pneumonia*, toplum kaynaklı bir solunum yolu enfeksiyonlarına neden olur ve 1970'lerden önce, bu bakteriler penisilin ve diğer birçok antimikrobiyotiğe karşı hassas durumdaydı.²⁴

File (2006), 1990'larda, antibiyotik kullanımının artmasına bağlı olarak ilaca dirençli *S. pneumoniae*'de belirgin bir artış olduğunu bildirmiştir.²⁵ Alfa-hemolitik Streptokokas, endokardit ve bakteriyemi ve bazen de menenjit için önemli bir nedendir.²⁶

Regli (2015), Avrupa'da ve özellikle Fransa'da *Enterobacter aerogenes* bakterilerinin, son otuz yıl boyunca hastanelerde hastane kaynaklı enfeksiyon salgınlarından sorumlu olan önemli bir oportünist ve çok dayanıklı bakteriyel patojen olarak tanımlandığını belirtmiştir.²⁷

Listeria, Gram pozitif bakterilerdendir ve çevrede yaygın olarak bulunan fakültatif anaerobik çubuklardır. Listeria enfeksiyonları bir halk sağlığı sorununu temsil eder ve ölüm oranı % 30' a kadar yüksek olabilir. Hastalık öncelikle yaşlıları, yenidoğanları ve immün sistemi baskılanmış bireyleri etkiler.²⁸

Salmonella, Gram negatif, fakültatif bakterilerdir ve Enterobacteriaceae familyasına aittir. İlk tanınması 1880'de Eberth tarafından yapılmış ve daha sonra insanlardaki tifo hastalığından sorumlu olan basil izolasyonu yapılmıştır. Salmonella'nın neden olduğu hastalıkların yaygınlığı, aslında halk sağlığı boyutundadır. Salmonelloz, küresel olarak ciddi ishal hastalıklarına neden olan bir hastalıktır ve gıdaların kontaminasyonu ile birlikte düşük su hijyeni ile doğrudan ilişkilidir.²⁹

Serratia marcescen, Enterobacteriaceae familyasına aittir ve hayvanlar, toprak, su, hava, bitkiler ve hatta yiyeceklerde bulunabilmektedir. Bu bakteri türü, solunum yolu

enfeksiyonu, sepsis, menenjit, idrar yolu enfeksiyonu, yara enfeksiyonları ve toplumda ve hastanelerde edinilen enfektif endokarditlere neden olduğu bildirilen birçok enfeksiyona neden olur.³⁰ Önceleri patojenik olmayan şekilde düşünülen *Serratia marcescens*, son yıllarda aminoglikozitler ve florokinolonlar arasında sayılmaktadır.³¹ Bu organizmanın neden olduğu hastane enfeksiyonunu, β -laktam, aminoglikozitler ve florokinolonlar dâhil olmak üzere antimikrobiyal maddelere karşı çoklu direnç kazanabilmesi nedeniyle tedavi etmek genellikle zordur.³¹

Yersinia enterocolitica Gram negatif bakterilerdir ve şekline göre kokobasillusdur, fakültatif olarak anaerobiktir. Bu bakteri 22 ila 30 °C arasındaki sıcaklıklarda iyi bir hareketliliğe sahiptir. Hafif gastroenteritten mezenterik lenfadenite kadar çeşitli bağırsak hastalıklarına ve şiddet derecelerinde farklı gastrointestinal hastalıklara neden olan istilacı bir bakteridir. *Y. enterocolitica* ayrıca artrit ve eritema nodosum dâhil olmak üzere enfeksiyon sonrası immünolojik komplikasyonlara yol açabilir.³²

Enterococcus, Gram pozitifdir ve çift veya kısa zincirlerde ortaya çıkar. İnsanların ve hayvanların bağırsaklarında yaşayan ortakçı bir bakteridir. Bu bakteriler çoklu antibiyotik direncine sahiptir ve hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olan en patojenik bakterilerden biri olarak kabul edilir.³³

Proteus türleri, Gram negatif ve çubuk şekilli olan, oldukça hareketli fakültatif anaerobik bakterilerdir. Proteus, kültür ortamlarında çoğalma yetenekleriyle farklılaşmaktadır. *Proteus mirabilis* ve *Proteus vulgaris*, insanlarda en fazla yara enfeksiyonlarına ve idrar yolu enfeksiyonlarına neden olan bakteridir. Bu bakteriler çoğunlukla nozokomiyal, inatçı ve çoklu antibiyotik direnci nedeniyle tedavisi zordur. Bu bakterilerin birçok suşu önceleri β -laktamlara ve Florokinolon antibiyotiklerine karşı hassastı ancak şimdi antibiyotik florokinolonların ve geniş spektrumlu sefalosporinin direncindeki kademeli artış bu türlerin klinik izolatlarında görülmektedir.³⁴

1.6.1. Antimikrobiyal Direnç

Antimikrobiyaller birçok bakteri enfeksiyonu suşu için temel bir tedavi yöntemidir. İnsan ve hayvanlar için ölüm ve hastalığı azaltmış ve enfekte bir hastanın bakteriden kurtulmasını sağlayabilmektedirler.

Çoklu antibiyotik direncine sahip bakteriyel enfeksiyonlar, antibiyotiklere duyarlı patojenlere göre daha yüksek ölüm, hastalık oranlarına ve tedavi maliyetlerine yol açmaktadır. Bununla birlikte, antibiyotiğe dirençli bakteri ile enfekte olan kişiler genellikle daha fazla hastanede kalma sürelerine sahiptir ve hastaların enfeksiyonlarını kontrol etmek için ikiden fazla antibiyotiği birleştiren tedaviler gerekmektedir.³⁵ Bazı antibiyotikler, bakteriyel patojenler arasındaki direncin yayılması nedeniyle zaman içinde etkilerini yitirme eğilimindedir.

Suay-García (2014) bakteriyel antibiyotik direncin dört temel direnç mekanizması olduğunu bildirmiştir: birincisi, antibiyotiği etkisiz hale getiren enzimlerin üretimi yoluyla antibiyotiğin değiştirilmesidir. İkincisi, terapötik hedefler olarak işlev gören bakteriyel proteinlerin değiştirilmesidir. Üçüncüsü, zar geçirgenliğindeki değişimlerle kimyasal maddenin hücreye antibiyotiğin aktif pompalanmasıyla hücreye girmesinin önlenmesidir.³⁶ Antimikrobiyal direncin patojenik bakteriler arasında yayılması, hem hastane ortamında hem de toplumda artmaktadır.

S. aureus, Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa*, Enterococcus spp., *Acinetobacter* spp. ve *Neisseria gonorrhoeae* gibi Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler çoklu antibiyotiğe en dirençli suşlardır.³⁷

S. aureus ve Enterococcus spp. şu anda antibiyotik direnci açısından büyük zorluklar teşkil eden türlerdir ve onbeş yıldan beri *S. aureus* (MRSA), antibiyotik direncindeki en büyük oyuncu olmuştur. Bu durum dünya çapında bir problemdir ve metisilin duyarlı *S. aureus*'a karşı klinik sonuçlar üzerinde önemli bir etkisi vardır.³⁸ Günümüzde, *S. aureus*'un çoğu suşu penisilinlere karşı dirençlidir ve hastanelerde yaygındır ve çoğu toplumda ortaya çıkmaktadır.³⁹

Yeni kimyasal bileşikler son 30 yılda bazı antibiyotiklere alternatif olarak sentezlenmiştir. Yeni tedavi mekanizmaları olan stafilokok enfeksiyonları ile mücadele için çok ihtiyaç duyulan yeni ilaç beklentileri, klinik öncesi ve erken ticari gelişimde olanlara odaklanarak değerlendirilecektir.⁴⁰ Antibiyotikler diğer ilaçlar gibi değildir, çünkü bakteriyel patojenler arasındaki antibiyotik direnci nedeniyle zamanla etkinliklerini kaybederler. Bu nedenle, hiçbir antibiyotik sınıfı bu fenomenden kaçamaz, Gram negatif patojenlerle antibiyotik krizi şu anda Gram pozitif bakterilerden daha ciddidir.⁴¹

1.6.2. Antibiyotiğe Alternatifler

Antibiyotik aktivitelerinin azalması ve patojenlerin direncinin artması nedeniyle, şimdi yeni antimikrobiyal tedaviler ve yeni antibiyotiklerin düşük oranda gelişme göstermesi nedeniyle, hem insan hem de hayvanlar için yeni antibiyotikler ve antibiyotik alternatifleri dikkate alınması gerekmektedir. Bulaşıcı hastalığın tedavisi için ürünler geliştirilmelidir. Bulaşıcı hastalığın önlenmesi, bu antibiyotiklere karşı mikrobiyal direnç nedeniyle diğer bulaşıcı olmayan hastalık tedavisinden farklıdır. Bu nedenle yeni terapötik maddelerin geliştirilmesi, tıbbi kimyadaki temel amaçlardan biridir. Antibiyotiklere dirençli bakteriler çevrede su, hava, insanlar ve vahşi yaşamla yüksek oranda yayılabilir. Bu nedenle bu bakterilerin çevreye yayılmasını azaltmak için, bu bakterilerin potansiyel direnç gelişiminin iyi bir plan yapılması gerekmektedir.

Mikroorganizmaları etkileyen bazı antibiyotiklere, mikroplar üzerindeki etkisinin zayıf veya güçlü olmasına bakılmaksızın birçok alternatif bitki ve kimyasal bileşik vardır. Diğer bileşiklerle birlikte izatin ve izatin türevleri, günümüzde dünya çapında en önemli kimyasal bileşiklerden biridir. Bu bileşikler, birçok patojenik bakteri suşuna karşı etkili olma potansiyelleri nedeniyle, tıbbi kimya alanında önemlidir.

Khan ve Maalik (2015) bir çalışmalarında, İzatinin tiyosemikarbazon ve disatropirolidin türevlerinin, *M. tuberculosis*'in büyümesini önlediğini ve izatin-3fenilhidrazonun, *E. coli*, *S. aureus* *P. vulgaris*, *P. aeruginosa* ve *P. aeruginosa*'ya karşı amoksisilin ve

norfloksasin referans antibiyotiklerinden daha fazla antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.⁴²

Zhang ve arkadaşları (2015), 51 taneden 21'inin izatin-ios-tiyosemikarbazon türevi olduğunu, minimum inhibisyon konsantrasyonlu bileşiklerin, metisiline dirençli *S. aureus* ve vankomisine dirençli *Enterococcus*'un büyümesini önlediğini bildirmiştir. Bu "bilinen" izatin- β -tiyosemikarbazon bileşiklerinin, klinik olarak izole edilmiş bir MRSA suşuna karşı önemli bir anti-Gram pozitif patojen aktivitesi sergilediği ilk çalışmadır.⁴³

İndol halkasının, doğal olarak meydana gelen birçok bileşikte, özellikle de alkaloitler, fungal metabolitler ve deniz doğal ürünlerinde bulunduğu çok kez belirtilmiştir. İndol ve indol türevleri, antimikrobiyal aktivitelerden çok biyolojik özelliklere sahiptir.^{8, 9, 45}

1.7. DNA

Deoksiribonükleik asit (DNA), tüm canlı organizmalardaki kalıtsal bir malzemedir. Bir insanın vücudundaki her hücre aynı DNA'ya sahiptir ve DNA'nın çoğu hücrelerin çekirdeğinde bulunur ve ayrıca mitokondriyal DNA adı verilen mitokondride de bulunabilen az miktarda DNA vardır. DNA, adenin, guanin, sitozin ve timin olmak üzere dört kimyasal maddeden oluşur. İnsan vücudunda, DNA yaklaşık 3 milyar bazdan oluşur, bu bazların yaklaşık % 99'u tüm insanlarda aynıdır. Hücrelerdeki bu bazların sırası, vücut için bir organizmanın oluşturulması noktasında mevcut bilgiyi belirler.

DNA bazları, her biri şeker molekülüne ve fosfat molekülüne bağlı baz çiftleri olarak adlandırılan birimler oluşturmak üzere, adenin ile timini ve sitozin ile guanin ile birbirine bağlanır. Baz, şeker ve fosfat birlikte nükleotit olarak adlandırılır. Nükleotitler, çift sarmal olarak adlandırılan bir spiral oluşturan iki uzun şerit halinde sıralanır ve çift sarmal yapı, merdivenin basamaklarını oluşturan baz ve merdivenin dikey kenarlarını oluşturan şeker fosfat molekülleri ile bir merdiven gibi görünür. DNA kopyalanabilir ve kendisi için kopyalar oluşturabilir ve çift sarmaldaki her bir DNA zinciri, baz dizisini çoğaltmak için bir model görevi görebilir, ardından hücreler her yeni hücreyi

böldüğünde, eski hücrede bulunan DNA'nın bir kopyası haline gelir. DNA dizileri, vücudumuzdaki işlerin çoğunu yapan karmaşık moleküller olan protein sentezi için kullanılan mesajlara dönüştürülür.⁴⁶

1.7.1. DNA Koruma

DNA'nın hücre fonksiyonlarına etkileyen zararı hücre ölümü veya kansere neden olur. DNA hasarı replikasyonlar ve transkripsiyon gibi normal hücresel işlemleri engeller. DNA hasarına iç ve dış kaynaklar neden olabilir ve farklı türlerde genetik ve kanserli hastalıklarla ilişkili olabilir. Ayrıca biyolojik materyal, kimyasal ve toksik materyaller gibi birçok DNA hasarı nedenleri vardır. Böylece DNA onarımı, DNA nükleotit dizilerini doğal duruma geri getirmek için bir mekanizma sağlar. Oksijen ve güneş ışığı ultraviyole ışığı, çoğu organizma için iki ana genotoksik maddelerdir.⁴⁷

Serbest radikaller, atomik veya moleküler orbitallerde bir veya daha fazla eşleştirilmemiş elektron içeren moleküller veya moleküler fragmanlar olarak tanımlanabilir. Bu eşlenmemiş elektron veya elektronlar genellikle serbest radikallere önemli derecede reaktivite verir. Oksijenden türetilen radikaller, kimyasal sistemimizle canlı sistemlerde üretilen en önemli radikal türler sınıfını temsil eder ve bu araştırmada bunların DNA hasarını koruyup korumadıkları gösterilmiştir.⁴⁷

1.7.2. DNA Etkileşimi

Eksojen küçük moleküller ile DNA etkileşiminin araştırılması ve incelenmesi uzun yıllardır yoğun şekilde gerçekleştirilmektedir. Bu tarz çalışmalar hastalıkların önlenmesi ve tıbbi verimliliğin iyileştirilmesi için DNA'yı hedef alan yeni ve daha etkili farklı ilaçların taranmasına bakış açısı sağlamaktadır.

De Almeida ve arkadaşları (2015), DNA'nın birçok heterosiklik aromatik bileşiklerle güçlü bir ilişki içinde olduğunu bildirmiştir. Bu nedenle DNA ve kemoterapötik ilaç çalışmaları, kanser hücrelerinin yok edilmesinde iyi ve kilit rol oynamaktadır.⁴⁸

Mostafa ve arkadaşları (2013), DNA'ya bağlanan ilaçların çoğunun kovalent bağ oluşumları ile olmadığını, ancak moleküller arası etkileşim kuvveti olduğunu, dolayısıyla etkileşimsel bağlamanın çoğunlukla kovalent olmayan ve dengelenmiş bir işlem olduğunu belirtmiştir. Grove bağlama, hidrofobik birleşme ve spesifik olmayan elektrostatik yüzey bağlama dahil olmak üzere üç kovalent olmayan DNA ilaç etkileşimi modu olduğu bildirilmektedir. Metal komplekslerinin ilacın etkisini arttırdığı bilinmektedir ve terapötik bir maddenin etkinliği genellikle metal iyonlarıyla koordinasyon halinde arttırılabilmektedir.⁴⁹

1.8. Çalışmanın Amacı

Dünyada Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı yüksek direnç gösteren yeni antimikrobiyal etken geliştirme eksikliği dikkat çekmektedir. Bu nedenle, bu durum, antimikrobiyal olarak yeni kimyasal arayışına ve antibiyotiklere yeni bir alternatif keşfetmeye ve / veya halk sağlığının geleceği için çok önemli olan diğer antibiyotiklerle kombinasyonları araştırmaya yöneltmiştir. Ayrıca çalışmamız, fenilalanin ile seftriakson kombinasyonunun antimikrobiyal aktivite üzerine etkilerini araştırmak üzere tasarlanmıştır. Yeni kimyasal bileşiklerin, DNA etkileşimleri ve korumaları üzerindeki etkilerini gözlemlmeleri için DNA etkileşimi ve DNA korumaları da gerçekleştirilmiştir.

2. KURAMSAL ÇERÇEVE

Bu çalışmada kullanılan kimyasal bileşikler olan izatin türevleri, yeni sentezlenmiş bileşiklerdir. Bununla birlikte, yeni izatin türevleri bileşikleri ve bazı bakteri suşlarına karşı kompleksleri hakkında yayınlanmış birçok makale vardır. Ancak yapısal açıdan bizim izatin türevleri bileşiklerimizden tamamen farklıdır ve bu durum karşılaştırma yapmamızı zorlaştırmaktadır.

Genel olarak, Schiff bazlarını sentezlemek için birkaç reaksiyon yolu vardır. Hossain (2017), en yaygın yolun, geri akış koşullarında aminin bir aldehit veya keton ile asit katalizörlü yoğunlaşma reaksiyonu olduğunu bildirmiştir. Bu reaksiyondaki ilk adım, normal olarak kararsız bir karbonil amin ara maddesi ile sonuçlanan ve karbonil karbona bir amin nükleofilik azot atomu saldırısıdır ve bir su molekülünün elimine edilmesi nedeniyle bir C = N bağı oluşur ve elde edilen ürün imin olarak adlandırılır⁹. İzatin tiyosemikarbazon molekül formülü $C_9H_8N_4OS$ şeklindedir ve molekül ağırlığı 220,251g/moldür.

İhtiyaç duyulan izatin türevlerinin bileşiklerinin tipine bağlı olarak yeni izatin türevlerinin sentezlenmesi için birçok yol vardır. İzatin alkil türevlerinin hazırlama yöntemlerinden biri, izatin tuzlarının alkil halojenürler ve sülfatlarla reaksiyonudur. Bu tuzların hazırlanmasına yönelik çeşitli yöntemler, örneğin, izatinin, tolüen içindeki sodyum veya kalsiyum hidritlerle, dimetilformamid veya aseton içerisinde potasyum karbonat ile reaksiyonunu içerir.⁸³

İzatin ayrıca *Melochia tomentosa*'daki melosatin alkaloidleri (metoksi fenilpentil İzatinler) gibi birçok farklı görüntüde de bulunmaktadır.⁹ Joaquim (2001), izatin türevlerinin sentezi için klasik yöntemlerin, hepsinin substrat olarak anilin kullanan Stolle prosedürü, Gassman prosedürü ve Sandmeyer'in usulü olduğunu belirtmektedir.² Sandmeyer yöntemi en eski ve en sık kullanılan izatin sentezi yöntemidir. Bu yöntem, anilinin sulu sodyum sülfat içindeki kloral hidrat ve hidroksilamin hidroklorid ile

reaksiyonuna dayanır ve izolasyondan sonra konsantre sülfürik asit ile işleme sokulduğunda, yaklaşık % 75 verimle izatin sağlayan bir izonitrosoasetanilit oluşturur.²

Sunita ve arkadaşları (2016), tiyosemikarbazonların, tiyosemikarbazitine uygun aldehitler veya ketonlarla yoğunlaştırılmasıyla elde edilebilen bir bileşik sınıfı olduğunu bildirmiştir. Çoğu komplekslerde tiyosemikarbazonlar metallere kükürt ve hidrazinik azot atomları vasıtasıyla bağlanabilir. Bunlar çok iyi ligandlardır, çünkü biyolojik aktivitelerinin enzimlerin mineral merkezleriyle koordine etme yetenekleriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir.⁵⁶

Girija (2017), 5-Floro izatin Schiff baz bileşiklerinin, 5-Floro İzatinin etanolde farklı aromatik aldehitler ile yoğunlaştırılmasıyla hazırlanabileceğini ve reaksiyonun, geleneksel mikrodalga yöntemiyle sülfürik asit veya buzul asetik asit ile gerçekleştirilebileceğini bildirmiştir.⁴⁴

Mikrodalga kaynaklı organik reaksiyon geliştirme kimyası hızlı organik sentez için kullanılır, daha yüksek sıcaklık koşullarını korur ve reaksiyonu minimum sürede tamamlamak için hızla dönen bir karıştırıcıya sahiptir.⁴⁶ İzatinin Schiff bazları, bakır II, nikel, çinko gibi metallerin kompleksleştirilmesinde ligandlar olarak kullanılmaktadır.⁸⁴

Tiyon (C = S) ve tiyol (C-S) grupları içeren bu bileşikler, geçiş metal iyonları için potansiyel verici ligandları olarak organik reaktifler arasında önemli bir pozisyonda bulunur. Tiyosemikarbazonlar, farmasötik ve biyolojik olarak aktif maddelerin sentezi için güçlü bir araçtır ve bu nedenle, tıbbi kimyada yaygın olarak kullanılmaktadır.⁵⁶ Sagdinc (2009), tiyosemikarbazon ilaçlarının, virüsün bileşenleri olan bakır iyonlarına bağlanarak virüs büyümesini inhibe edebileceğini ileri sürmüştür.⁵⁷

Pelosi (2010), tiyosemikarbazon bileşiklerinin kansere karşı kullanımlarında umut verici alanlardan biri olarak geliştirildiğini ve antitümör aktivitelerinin son derece farklı olduğunu ve tümör hücrelerinin tipolojisine çok bağımlı olduğunu bildirmiştir.⁵⁸

İzatin-3-tiyosemikarbazonların çinko kompleksleri (II) ve civa bileşiğinin (II) timik immünoglobulinler tarafından koordine edildiği ve dört yüzlü yapılara sahip oldukları belirtilmiştir.⁵⁵ Pelosi (2010), metal bileşiklerinin yüksek oluşum sabitine dayanarak bu bileşikler için ilk eylem hipotezinin, demiri hücre ortamından izole etme kabiliyetleri olduğunu belirtmiştir. Yazar ayrıca, tiyokemalazazonun daha çok ilgi çektiği alanların yaygınlaştığını bildirmiştir. Antitümörlerine, antiprotozoalları, antibakteriyel veya antiviral aktivitelerine göre ve tüm durumlarda reaksiyonlarının metal iyonlarıyla etkileşime girdiği bulunmuştur.⁵⁸

Bakteriyel enfeksiyon, implante edilmiş biyomalzemelerin ciddi bir komplikasyonudur. Garcia ve arkadaşları (2017), 2011 yılında, protez enfeksiyonlarının tüm diz ve kalça eklemi protezi ameliyatlarının % 1,3-1,6'sında meydana geldiğini bildirmiştir.²¹ Antimikrobiyal maddenin bir tür bölgeye bırakılmasının bakteriyel tutunmanın ve mikrobiyal filmlerin oluşumunun önlenmesinde etkinliğinin yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, doku mühendisliğinde bakteriyel tutunmaya direnebilecek yeni biyomedikal kaplamaların geliştirilmesine ilgi artmaktadır.⁵⁹

Akmatov ve arkadaşları (2014) *S. aureus*'un insan vücudunu normal florasının bir parçası olarak engelleyebileceğini bildirmiştir. Sağlıklı insanların yaklaşık % 30'unda, çoğunlukla burnun ön kısmında *S. aureus* yaşar.⁶⁰ Bu bakteri, soğuk algınlığı veya virüs enfeksiyonları gibi vücut bağışıklığının düştüğü durumlarda patojenik hale gelir ve ciddi enfeksiyonlara neden olur.⁴⁰ *S. aureus* kullanılarak birçok antibiyotiğin direncinin geliştirilmesi, mobil genetik elemanların yatay genlerinin yerini değiştirerek kazanç belirleyicileri içerir. Bu belirleyiciler, onları potansiyel olarak inhibe edici moleküllerden veya rakiplerinden korumak için antibiyotik üreticilerinde gelişmiştir.

Dünyadaki farklı antibiyotiklere karşı çok fazla direnç vardır. Naghavi - Behzad ve ark. (2015) çalışmalarında metisiline dirençli *S. aureus* türlerinin, örneklerinin % 64,7'sinin eritromisin antibiyotiğine dirençli olduğunu, % 50,0'inin sefoksitine, % 14,7'sinin mupirocin'e, % 2,9'unun vankomisine ve linezolide dirençli olduğunu bulmuşlardır.⁶¹

Evans ve Titlow (1998), çalışmaların da, eşsiz genotipli on yedi metisiline dirençli *S. aureus*'un (MRSA), siprofloksazin veya levofloksazine direnç gösterip göstermediğini araştırmışlar ve dört suşun levofloksazine dirençli olduğunu ve sekiz suşun siprofloksazine dirençli olduğunu göstermişlerdir.⁶² *E. coli*'deki antibiyotik direnç oranları, özellikle florokinolonlar ve üçüncü ve dördüncü kuşak sefalosporinler açısından hızla artmaktadır.⁶³

Nijerya'da yapılan bir çalışmada, toplam 137 *E.coli* izolatu, idrar yolu enfeksiyonları için yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere duyarlılıkları ve standart yöntemlerle virülans maddelerinin edinimi açısından incelenmiştir. İzolatlar nitrofurantoin (% 7,3) dışında kullanılan tüm antibiyotikler için % 51,1 -% 94,3 arasında yüksek ve geniş direnç göstermiştir. 50 (% 36,5) izolattan biri kullanılan 11 antibiyotiğin 10'una dirençli çıkmıştır.⁶⁴

Jang (2011), levofloksasin antibiyotiğinin *E. coli* direncine oranlarını 2005 'de % 29,49, 2006' da % 26,51, 2007'de % 40,21, 2008'de % 43,20 ve 2009'da % 31,75 olduğunu belirtmiştir.³⁸ Antibiyotik direnci tüm dünyada gelişmiş ve pnömokok pnömonisi çocuklarda en sık görülen serotipler haline gelmiştir. Pnömonikal hastalık oranları iki yaşından küçük çocuklar arasında ve 65 yaşın üzerindeki yetişkinlerde en yüksektir.⁴¹

Pnömonokok direncin yeni florokinolonlara (levofloksasin, gatifloksasin, moksifloksasin, gemi floksasin) prevalansı düşüktür (% 2'den az). Bazı ülkelerde direnç önemli ölçüde artmış ve Kanada'da pnömokok izolatlarının prevalansı, florokinolonlara duyarlılığı azalmış, 1993'te % 0'dan 1997-98'de % 1,7'ye yükselmiştir.²⁵

Öte yandan, Regli (2015) *Enterobacter aerogenes* suşlarının antibiyotik direnç mekanizmaları geliştirme konusunda geniş bir yeteneğe sahip olduğunu, doğal olarak, birinci kuşak sefalosporinlere direnç sağlayan düşük bir seviyede kromozomal AmpC beta-laktamaz tipi sefalosporinaz ifade ettiklerini ve kromozomal kazanılmış beta

laktamaz direnç mekanizmalarının, kromozomal AmpC sefalosporinazın aşırı üretimine neden olduğunu bildirmektedir.²⁷

Listeria suşlarının çeşitli kaynaklardan izole edilmiş olan penisilin, ampisilin, tetrasiklin, streptomisin, klindamisin ve hatta oksycilin ve vankomisinine direnç göstermesinin önemli bir halk sağlığı sorunu olduğunu gösteren farklı çalışmalar mevcuttur.²⁸

Moreno ve ark. (2015), *Listeria* spp.'nin flüorokinolona karşı yüksek bir direnç seviyesine sahip olmasına rağmen, üçüncü ve dördüncü kuşak sefalosporinlere karşı doğal direnç gösterdiğini, fakat test edilen *Listeria* izolatlarının şu anda penisilin, ampisilin, gentamisin ve trimethoprim-sülfametoksazol gibi lestriases tedavisi için kullanılan antibiyotiklere duyarlı olduğunu ortaya koymaktadır.²⁸

Chhetri ve arkadaşlarının (2014) *Salmonella* türüne yönelik çalışmalarında, *S. paratyphi* A'ya dirençli florokinolon görülmemişken, *S. typhi* izolatlarının % 8'i siprofloksasine dirençli ve % 3'ü levofloksasin antibiyotiklerine dirençli bulunmuştur.⁶⁵ *Serratia marcescens* ile ilgili başka bir çalışmada, ampisilin ve birinci ve ikinci kuşak sefalosporinler de dâhil olmak üzere birçok antibiyotiğe karşı yüksek direnci nedeniyle, tedavi edilmesi çok zor olabilecek ciddi enfeksiyonlara neden olduğu görülmüştür.³⁰ Çin'de hastane temelli yaptığı çalışmasında, Jia (2014) *E. faecium* ve *E. faecalis*'in (1,157 *Enterococcus* türünün izolatlarının % 91,7'sini oluşturduğu) antibiyotiklere ve levofloksasine karşı çoklu direnç oranının önemli derecede yüksek olduğunu göstermiştir.³³

Pakravan (2013), indol halkasının 5., 6. ve 7. pozisyonlarındaki elektron çekme gruplarının kullanılmasının, 5. pozisyonundaki ikame işleminin en uygun olduğu şekilde, izatinin antimikrobiyal aktivitesini büyük ölçüde arttırdığını belirtmiştir. Bu şaşırtıcı değildir çünkü C-5 ikamesi daha önce bir dizi indol bazlı bileşik için artan biyolojik aktivite ile ilişkilendirilmiştir.⁸ Aromatik bir halkanın üçüncü pozisyonda yer değiştirmesinin antimikrobiyal özelliklerle ilişkili olduğu bildirilmiştir⁶⁶. İzatin ve türevleri, organik kimyada önemli rol oynayan kimyasal bileşiklerdir. İzatinin C-3

karbonil grubu çok yüksek reaktiviteye sahiptir ve bu nedenle izatin organik sentezde birçok farklı uygulamaya sahiptir ve karbonil grubu sıkı merkez gibi reaksiyona girer.⁵

Temel Schiff bileşiklerinin bakteri ve mantarlarla etkileşime girme şekilleri moleküler yapıya göre değişmektedir. Genel olarak, antimikrobiyal aktivite, halojenlerin girişi ile artar. Antimikrobiyal aktivitenin bir dizi halojen içinde karşılaştırılması, beşinci sırada izatinin klor, flor veya brom ile ikame edilmesinin daha aktif bileşikler ürettiğini göstermiştir. Alternatif elektronlar ve nitro gruplarının varlığı, etkiyi bir antimikrobiyal madde olarak değiştirebilir.⁶⁶

Komplekslerin, mikrobiyal büyümenin inhibe edilmesinde ligandlardan daha etkili olduğu belirtilmiştir. Mikrobiyal aktivite ile bu komplekslerin yapısı arasındaki tam yapı aktivite ilişkisi arasındaki ilişkinin belirlenmesi zor olsa da, Pakravan (2013) ayrıca şelasyonun komplekslerin aktivitesini arttırmasının mümkün olduğunu belirtmiştir.⁶⁶

Aliasghar ve arkadaşlarının (2007) çalışmasında, on iki izatin, 5-floroizatin ve benzil-izatin bileşiği, mikroorganizmalar için herhangi bir inhibisyonu olmayan *E. coli* ve *S. auras*, *S. cerevisiae*, *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal veya antifungal aktivite göstermediği kaydedilmiştir.¹⁰

Nathani ve ark., 2011 yılında bazı yeni izatin türevi bileşikler, N- [3- (2-Okso-1,2-dihidro-indol-3-iliden-hidrazinokarbonil)-benzil] -nikotinamid sentezlemişler, test edilen bileşikler, üç bakteri *S.aureus*, *B.subtills* ve *E.coli* suşuna karşı hafif ila orta derecede antibakteriyel aktivite sergilemiştir ve test edilen bileşikler arasında, 5-F, 5-CH₃ sübstitüsyonlu bileşik, en iyi antimikrobiyal aktiviteyi göstermiştir. Antimikrobiyal çalışma, izatinin 5. pozisyonundaki klor, brom veya flor ile ikame edilmesinin bir seri olarak daha aktif bileşikler ürettiğini ortaya koymuştur.⁶⁷

Nirmal ve arkadaşları (2010), sentezlenen bileşiklerinin anti-mikrobiyal aktivitesinin, mikroorganizmanın biyolojik zarından geçmesini kolaylaştıran, molekülün lipofilik

karakterini artırabilen çok yönlü farmakoforlar ve floro grubunun varlığından kaynaklanabileceğini ve böylece büyümelerini inhibe edeceğini açıklamaktadır.⁶⁸

Oksidatif stres, asit, alkalın, UV ve metal gibi DNA'ya zarar verebilecek çok çeşitli stresler vardır. Fenton reaksiyonu ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+}$) , DNA, proteinler ve lipid gibi hücresel bileşenlere zarar veren oldukça zararlı hidroksil radikallerini üretir.⁶⁹ Louis-J. L. ve ark. (2014) çeşitli mevcut *in vitro* DNA çalışmaları arasında kırma analizleri olduğunu bildirmiştir.⁶⁹ Fenton reaksiyonuna dayanan DNA kırma deneyi, *in vivo* biyolojik durumu, hücre içi demir gibi endojen varlıklardan hidroksil serbest radikallerinin üretilmesiyle taklit eder. Fenton reaksiyonunun keşfi 100 yıldan eski bir zamana dayanmaktadır.^{70, 80} Bu reaksiyon sırasında, H_2O_2 OH'da şu reaksiyona göre demirden elektron transferi ile ayrılır: $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \bullet\text{OH} + ^-\text{OH}$. Reaksiyon sırasında DNA kırma analizinde yüksek oranda reaktif ve güçlü bir oksitleyici tür olan OH oluşumu gerçekleşir.⁷¹ Plazmid DNA'nın ilk aşırı sargılı konfigürasyonunu, bu durumdan, jel üzerinde değiştirilmiş elektroforetik mobilite özellikleri sergileyen, açık dairesel ve çentikli lineer formlara değiştirmektedir.⁷⁰

DNA koruma testi, proteinlerin veya kimyasalların koruyucu özelliklerinin *in vitro* karakterizasyonu için basit, hızlı ve sağlam bir araçtır. Bu test, DNA'nın zarar verici bir oksidatif reaksiyona maruz bırakılmasını ve ilgili bileşiğin çeşitli konsantrasyonlarının eklenmesini içerir. DNA hasarının bileşik konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak azalması veya artması jel elektroforezi kullanılarak görselleştirilir.⁷¹

İzatin'in tiyosemikarbazon Schiff bazı ile yeni türevleri, buzağı timus DNA' sı (CT-DNA) ile etkileşimin olup olmadığını görmek için sentezlenir. Parvaneh ve Shahla (2015), tiyosemikarbazonların, çeşitli DNA ve RNA virüslerine karşı geniş spektrumlu bir antiviral aktiviteye sahip olduğu bilinen ilk antiviral bileşikler olduğunu belirtmektedir. İzatin hidrazonları, DNA sentezinin inhibisyonu dâhil olmak üzere çeşitli alanlarda geniş uygulamaları olan ilginç bir bileşik sınıfı oluşturur¹¹. Ayrıca, izatin- β -tiyosemikarbazon ve CT-DNA 'sının interkalasyon mekanizması ve absorpsiyon spektrumu ile güçlü bir etkileşime sahip olduğunu ve izatin- β -tiyosemikarbazon ve CT-

DNA 'nın, DNA konsantrasyonu arttıkça, spektrumda yüksek derecede hipokromizmin geliştiğini bulmuşlardır. Hipokromizm, genellikle aromatik kromofor ve baz çiftleri arasındaki güçlü istifleme etkileşiminden kaynaklanır ve intrinsik bağlanma sabiti ($1,03 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$)' dir.¹¹

Shahbazy ve ark. izatin ve izatin-3-izonikotinihidrazon (IINH) ve izatin-tiyosemikarbazon (IBT) türevleri'nin CT-DNA ile etkileşimlerini incelemişlerdir. İçsel bağlanma sabitleri olan Kb değerleri [IBT CT-DNA] için $1,03 \times 10^5$ ve [IINH-CT-DNA] için $1,09 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1}$ bulunmuş ve kabaca diğer ara ölçeklerle karşılaştırılabilir olduğunu gözlemlemişlerdir. Buna karşılık, izatin, CT-DNA viskozitesinde önemli bir artış olmadan, groove modundan ($K_b [\text{İzatin-CT-DNA}] = 7,32 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1}$) CT-DNA ile bağlanmaktadır.⁷

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu tez kapsamında, DNA etkileşimi ve DNA koruma çalışmaları Kastamonu Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü' nde ve mikrobiyoloji ile kimya çalışmaları ise Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1. Kimyasal Bileşikler

Bu çalışmada, izatin ve izatin tiyosemikarbazon türevleri, 5-Floro-izatin tiyosemikarbazon türevleri, 5-Metoksit izatin tiyosemikarbazon türevlerinin yirmi yedi yeni bileşiği kullanılmış ve bunların bazıları metallerle birleştirilmiştir. Bu bileşikler, Kastamonu Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Bölümünde Mühendislik Laboratuvarlarında sentezlenmiştir (Tablo 3.1).

3.2. Antimikrobiyal Etkinlik

3.2.1. Mikroorganizma Suşları

Yirmi bir farklı Gram pozitif ve Gram negatif bakteri suşu seçilmiş ve yirmi yedi izatin, 5-floro-izatin ve 5-metoksi izatin türevlerinin metal kompleksleri ile antibakteriyel etkinliği test etmek için kullanılmıştır. Mikroorganizma suşlarının bazıları Gazi Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Bölümü'nden ve bazıları ise Kastamonu Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü'nden sağlanmıştır. Tablo 3.2'de gösterildiği gibi yirmi bir bakteri suşundan 11'i Gram pozitif ve 10'u Gram negatif bakteridir.

Tablo 3. 1. Kodları ve Kısaltmalarıyla Kimyasal Bileşikler

Kod	BİLEŞİKLER	KISALTMA
1	İzatin 3-[(N-2- metoksifenil)- tiyosemikarbazon]	I3N2MetPTSC
2	İzatin 3-[(N-4- metoksifenil)- tiyosemikarbazon]	I3N4MetPTSC
3	İzatin 3-[(N-3-florofenil)- tiyosemikarbazon]	I3N3FPTSC
4	İzatin 3-[(N-4-florofenil)- tiyosemikarbazon]	I3N4FPTSC
5	İzatin 3-[(N-2-metoksifenil)- tiyosemikarbazon]	I3N2MXPTSC
9	İzatin 3-[(N-2-klorofenil)- tiyosemikarbazon]	I3N2CloPTSC
14	İzatin 3-[(N-2,4-diklorofenil)- tiyosemikarbazon]	I3N-2,4-DicPTSC
16	İzatin 3-[(N- sikloheksil- tiyosemikarbazon]	I3N-CycHxTSC
6	5-Floro izatin 3-[(N-4- Metoksifenil)- tiyosemikarbazon]	5FI3(N4MXPTSC
18	5-Floro izatin 3-[(N-2- Metoksifenil)- tiyosemikarbazon]	5FI3(N2MetPTS
25	5-Floro izatin 3-[(N-3-Metoksifenil)- tiyosemikarbazon]	5FI3(N3MXPTSC]
28	5- Floro izatin 4-(3-Metoksifenil)-3- tiyosemikarbazon) çinko (II)	5FI4-(3MXP)-3-TSC) Z(II)
7	5- Metoksi izatin 3-[(N-4-Metoksifenil)- tiyosemikarbazon]	5MxI3N4MPTSC
8	5- Metoksi izatin 3-[(N-2- Metoksifenil)- tiyosemikarbazon]	5-MxI3N2MPTSC
10	5- Metoksi izatin 3-[(N-2,4-diklorofenil)- tiyosemikarbazon]	5MxI3N2,4DCPTSC
11	5- Metoksi izatin 3-[(N-4-nitrofenil)- tiyosemikarbazon]	5-MxI3N4NPTSC
12	5- Metoksi izatin 3-[(N-4-klorofenil)- tiyosemikarbazon]	5MxI3N4CPTSC
13	5- Metoksi izatin 3-[(N-4-iodofenil)- tiyosemikarbazon]	5MxI3N4NICPTSC
15	5- Metoksi izatin 3-[(N-fenil)- tiyosemikarbazon]	5-MxI3NPTSC
17	5- Metoksi izatin 3-[(N- sikloheksil)- tiyosemikarbazon]	5MxI3NCXTSC
19	Bis(5-Metoksi izatin)-4-(4-iodofenil)-3- tiyosemikarbazon) çinko (II)	B(5-M-I)-4-(4-IP)-3-TSC) Z(II)
20	Bis(5-Metoksi izatin)-4-(2,4 diklorofenil)-3- tiyosemikarbazon) çinko I)	B(5-M-I)-4-(2,4 DCP)-3-TSC) Z(I)
22	Bis(5-Metoksi izatin)-4-(fenil)-3- tiyosemikarbazon) nikel (II)	B(5-M-I)-4-P)-3-TSC) N(II)
23	Bis(5-Metoksi izatin)-4-(fenil)-3- tiyosemikarbazon) çinko (II)	B(5-M-I)-4-P)-3-TSC) Z(II)
24	Bis(5-Metoksi izatin)-4-(N- benzaldehit I)-3- tiyosemikarbazon) nikel (II)	B(5-M-I)-4-(N-B 1)-3-TSC) N(II)
26	5- Methoksi izatin -(N-3Metoksifenil)- tiyosemikarbazon]	5-MXI-[(N-3MXP)-TSC)
29	Bis(5-Metoksi izatin)-4-(3Metoksifenil)-3- tiyosemikarbazon) çinko (II)	B(5-M-I)-4-(3MXP)-3-TSC) Z(II)

Tablo 3. 2. Bakteriler ve Gram boyaları

	BAKTERİ SUŞLARI	KISALTMALAR	G. Boya
1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>	-
2	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	+
3	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>S. aureus</i>	+
4	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>P. vulgaris</i>	-
5	<i>Escherichia coli</i>	<i>E. coli</i>	-
6	<i>Serratia marcescens</i>	<i>S. marcescens</i>	-
7	<i>Staphylococcus epidermis</i>	<i>S. epidermis</i>	+
8	<i>Alpha Haemolytic streptococcus</i>	<i>Alpha H. streptococcus</i>	+
9	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>E. faecium</i>	+
10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>	-
11	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644	+
12	<i>Enterococcus durans</i>	<i>E. durans</i>	+
13	<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	<i>E. aerogenes</i> ATCC 13048	-
14	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	<i>S. aureus</i> ATCC 43300	+
15	<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	<i>S. enteritidis</i> ATCC 13076	-
16	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 10015	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 10015	+
17	<i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341	<i>S. lutea</i> ATCC 9341	+
18	<i>Salmonella typhimurium</i> NRRLE 4463	<i>S. typhimurium</i> NRRLE 4463	-
19	<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 1501	<i>Y. enterocolitica</i> ATCC 1501	-
20	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933	<i>P. mirabilis</i> ATCC 25933	-
21	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 25212	<i>E. faecalis</i> ATCC 25212	+

3.2.2. Stok Çözeltilerin Hazırlanması

Yirmi yedi bileşiğin stok çözeltileri, Tablo 3.3'te gösterildiği gibi 0,4 molar son konsantrasyon verecek şekilde steril test tüplerinde bileşiklerin 1 ml Dimetil Sülfoksit (DMSO) içinde çözülmesiyle moleküler ağırlıklarına göre hazırlanmıştır. Pozitif sonuç veren kimyasal bileşiklerin minimum inhibisyon konsantrasyonları (MİK), bir dizi azalan konsantrasyonun hazırlanması için DMSO ile seyreltilmiş ve 0,4 molar kimyasal için (MİK) daha uygun olduğu bulunmuştur. Her bir stok çözeltisi damla yöntemi ile (~ 20 ul), steril bir 5 mm filtre kağıdı diskine uygulanmış. Filtre kağıdı diskleri stok çözeltileri ile yüklenmiş ve kullanılan solventi buharlaştırmak ve sterilize etmek için steril koşullar altında 30 °C'de 2-3 saat kurutulmuştur.

Tablo 3. 3. Bileşiklerin Moleküler Ağırlıkları

NO.	Kimyasal İsimler	M.A. gm /mol	Ağırlık gm/ml	Konsantrasyon M
1	I3-[(N-2-MP)-TSC]	310,3736	0.12414944	0.4
2	I3-[(N-4-MP)-TSC]	310,3736	0.12414944	0.4
3	I3-[(N-3-FP)-TSC]	314,3374	0.12573496	0.4
4	I3-[(N-4-FP)-TSC]	314,3374	0.12573496	0.4
5	I3-[(N-2-MXP)-TSC]	326,373	0.1305492	0.4
9	I3-[(N-2-CP)-TSC]	330,802	0.1323208	0.4
14	I3-[(N-2,4-DCP)-TSC]	365,2571	0.14610284	0.4
16	I3-[(N-CHX)-TSC]	302,3946	0.12095784	0.4
6	5-F-I3-[(N-4-MXP)-TSC]	344,3634	0.13774536	0.4
18	5-F-I3-[(N-2-MP)-TSC]	344,3634	0.13774536	0.4
25	5-F-I3-[(N-3-MXP)-TSC]	344,3634	0.13774536	0.4
28	5-F-I4-(3MXP)-3-TSC) Z(II)	735,1084	0.29404336	0.4
7	5-MXI3-[(N-4-MP)-TSC]	356,398	0.14255956	0.4
8	5-MXI3-[(N-2-MP)-TSC]	356,3989	0.14255956	0.4
10	5-MXI3-[(N-2,4 DCP)-TSC	395,2831	0.15811324	0.4
11	5-MXI3-[(N-4 NP)-TSC	371,3705	0.1485482	0.4
12	5-MXI3-[(N-4 CP)-TSC	360,828	0.1443312	0.4
13	5-MXI3-[(N-4 IP)-TSC	452,269	0.1809076	0.4
15	5-MXI-3-[(N-P)-TSC	326,373	0.1305492	0.4
17	5-MXI-3-[(N-CX)-TSC]	332,4206	0.13296824	0.4
19	B(5-M-I)-4-(4-IP)-3-TSC) Z(II)	967,9022	0.38716088	0.4
20	B(5-M-I)-4-(2,4 DCP)-3-TSC) Z(I)	853,9303	0.34157	0.4
22	B(5-M-I)-4-P)-3-TSC) N(II)	709,4234	0.28376936	0.4
23	Is(5-M-I)-4-P)-3-TSC) Z(II)	716,11	0.2864440	0.4
24	B(5-M-I)-4-(N-B 1)-3-TSC) N(II)	707,4937	0.28299748	0.4
26	5-MXI-[(N-3MXP)-TSC)	356,3989	0.14255956	0.4
27	B(I)-4-(3MXP)-3-TSC) Z(II)	716,11	0.2864440	0.4
29	B(5-M-I)-4-(3MXP)-3-TSC) Z(II)	744,1632	0.29766528	0.4

Tek başına DMSO, DMSO içeren yüklü filtre kağıdı diskleri ile bu tür bakteri türlerinde herhangi bir etkisinin olup olmadığını görmek için doğrudan negatif çözücü olarak da kullanılmış ve solventi buharlaştırmak için steril koşullarda 30 °C'de 2-3 saat kurumaya bırakılmış ve aynı sıcaklıkta bileşiklerle oda sıcaklığında bekletilmiştir.

Geniş spektrumlu antibiyotikler, levofloksasin (Thermo Scientific™, Oxoid™, Amerika) ve zosyn (Thermo Scientific™, Oxoid™, Amerika) bu çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Levofloksasin, florokinolon adı verilen antibiyotik grubundan biridir. Zosyn, her ikisi de (geniş spektrumlu) bir antibiyotik olan bir kombinasyondan oluşan (piperasilin ve tazobaktam) bir antibiyotiktir. Levofloksasin

geniş antimikrobiyal aktivite spektrumuna sahiptir ve Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı etkilidir bu nedenle mükemmel kanıtlanmış klinik etkinliği ve advers gastrointestinal reaksiyonların düşük görölme sıklığı ve birçok bakteriyel enfeksiyonun tedavisinde kullanılmasından dolayı siprofloksasinden daha iyi bir seğim olabilir.

3.2.3. İnokölasyon Prosedürleri

Yirmi yedi farklı kimyasal bileşik, pozitif kontrol levofloksasin ve zosyn antibiyotikleri ve negatif kontrol DMSO, disk difüzyon yöntemi kullanılarak 21 bakteri suşuna karşı test edilmiştir.⁹⁸ Her bakteri suşu, 5 ml'lik bir sıvı besiyerine inoküle edilmiş, 37 °C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Normal steril salin çözeltisi hazırlanmış ve 5 ml'lik test tüplerinde sterilize edilmiştir. Her bakteri süspansiyonu, steril tuzlu su çözeltisi tüpünün bir tüpüne, steril hücre damlatıcı ile 10⁸ görünür hücre ünitesine sahip olan 0,5 McFarland standartlarına eşit oluncaya kadar damla damla edklenmiştir (CFU). McFarland standartlarının yoğunluğunun doğruluğu spektrofotometre tarafından 1 cm ışık yolu ile geręekleřtirilmiř ve 0.5 McFarland standardı ile absorbans okuması (625-nm'de 0.08-0.1) yapılmıştır.⁸⁷ Muller Hinton agar besi yeri hazırlanmış ve sterilize edilmiştir. Daha sonra 100 mm steril petri kaplarına (4,0 - 0,5 mm kalınlığında) dökölmüştür. Ardından, steril pamuklu çubuklarla hazırlanan bakteriyel süspansiyon bu besi yerine yayılmıştır. Kimyasal bileşiklerin süspansiyonu ile yüklenen diskleri uygulamadan önce güvenlik kabiniinde birkaç dakika kurumaya bırakılmıştır. Kimyasal ile yüklenen plakalar, 37 °C'de 18-24 saat inkübe edilmiş ve antibakteriyel aktivitenin sonuçları, disk kâğıdı da dâhil olmak üzere inhibisyon bölgelerinin test edilen bakterilere karşı ölçölmesiyle hesaplanmıştır.

3.3. DNA Etkileşimi

3.3.1. DNA Etkileşimi İçin Stok Çözeltilerin Hazırlanması

UV-görünür absorpsiyon spektrumları, 1 cm ışık yolunda kuvars küvetleri yardımıyla Multiskan Go Spektrofotometre (Thermo Scientific™, Oxoid™, Amerika) kullanılarak incelenmiştir. Bu deneyde kullanılan buzağı timus DNA (CT-DNA), GE Healthcare of

Sciences'dan (Amerika) satın alınmıştır. CT-DNA çözeltilerinin UV oranı, optik yoğunluk 260 ve 280 nm'de absorbe edilmiştir.

Nükleotidin konsantrasyonu, 260 nm'de molar emme katsayısı ($\epsilon = 6600\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) kullanılarak ultra violet (UV) absorpsiyon spektroskopisi ile belirlenmiştir. Yirmi yedi bileşiğin stok çözeltileri, 1000 μM elde etmek üzere Tris-HCL: DMSO (%30:%70) içerisinde çözündürülerek hazırlanmıştır. Tris-HCL'nin pH'sı 7'de sabitlenmiş ve örnekler 37 °C'de 5 dk karıştırılmıştır.^{11, 85}

Kimyasalların DNA ile içsel bağlanma sabiti veya birleşme sabiti (K_b) Benesi-Hildebrand denklemi kullanılarak belirlenmiştir.⁸⁵ Test bileşikleri ve CT-DNA arasındaki içsel bağlanma sabiti K_b , aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır:

$$\frac{[DNA]}{(\epsilon_a - \epsilon_f)} = \frac{[DNA]}{(\epsilon_b - \epsilon_f)} + \frac{1}{K_b(\epsilon_b - \epsilon_f)}$$

Burada [DNA] CT-DNA konsantrasyonu, ϵ_a , ϵ_f ve ϵ_b açık, serbest ve bağlı bileşiklerin sönme katsayılarıdır. Özellikle, ϵ_f Beer yasasını takiben izole edilmiş bileşiklerin sulu çözelti içindeki bir kalibrasyon eğrisi ile tespit edilmiştir. ϵ_a , ölçülen absorbans ile bileşik konsantrasyonu arasındaki oran olarak belirlenmiştir. $[DNA] / (\epsilon_a - \epsilon_f)$ ile $[DNA] / (\epsilon_b - \epsilon_f)$ eğim ve $1 / K_b (\epsilon_b - \epsilon_f)$ ye eşit bir y-kesişimi vermektedir. K_b , eğimin y-kesişimine oranıdır.^{85, 86}

3.3.2. Sönüm Katsayısı

Sönüm katsayısının hesaplanması, UV spektrofotometre ile gerçekleştirilmiş ve molar emilim olarak belirtilmiştir. Sönüm katsayısının hesaplanması için, bileşikler moleküler ağırlıklarına (0.00001 mmol) dayanarak tartılmış ve 10 ml dimetil sülfoksit (DMSO) içinde çözülmüştür. Kimyasalların seri seyreltilmesi, 10, 15, 20, 25, 30, 35 ve 40 μl dahil olmak üzere farklı hacimlerde hazırlanmıştır. Tüm dilüsyonlar, DMSO ile 500

μ l'ye kadar seyreltilmiştir. Daha sonra, her seyreltinin emiciliği, $A = \epsilon c l$ olan bir denkleme dayalı bir sönüm katsayısını hesaplamak için ölçülmüştür.

3.4. DNA Koruma Testi

DNA koruma analizi, *E. coli*'den izole edilen California Üniversitesi plazmidi olan pUC19 DNA'sı (pDNA) kullanılarak yapılmıştır. DNA konsantrasyonu, spektrofotometrik olarak doğrulanmıştır. Fenton'ın reaktifi, 30 mM H₂O₂, 50 mM askorbik asit ve 80 mM FeCl₃ kullanılarak hazırlanmış ve daha sonra 10 ml damıtılmış su ilave edilmiştir.⁸⁷

Çift sarmallı DNA, yaygın yöntem kullanılarak jel elektroforezi ile izole edilmiştir. Tanımlanan büyüklükte DNA parçaları, hazırlayıcı agaroz jel elektroforezi ile yapılmıştır. Daha sonra yatay bir agaroz jeline elektroforez ve DNA'nın flüoresan etidyum bromür boya ile boyanarak, ultraviyole (UV) ışıkla aydınlatılırken ilgili parçayı içeren bir agaroz bloğu kesilmiştir.⁸⁸ Her bileşik, 0,0165 molar ve 0,102 molar iki konsantrasyonda 1 mL mutlak etanol içerisinde hazırlanmış ve 24 saat tutulmuştur. Daha sonra 5 dakika boyunca 600 rpm'de santrifüjlenmiş ve süzenler toplanmıştır.

Kullanılan pDNA'nın konsantrasyonu yaklaşık 230 ng/ μ l olup, plazmid, Gene JET Plazmid Miniprep Kitinin (Thermo Scientific, ABD) saflaştırma protokollerine göre hazırlanmıştır. Numuneler, 4 μ l pDNA, 3 μ l Fenton reaktifi 3 μ l kimyasal ve 10 μ l damıtılmış su ilave edilerek hazırlanmıştır. Negatif kontrol sadece 4 μ l pDNA ve 16 μ l distile su içerecek şekilde, Pozitif kontrol 4 μ l pDNA, 3 μ l Fenton reaktifi ve 13 μ l distile sudan hazırlanmıştır. Numuneler 37 °C'de 30 dakika inkübe edilmiş, daha sonra 4 μ l yükleme boyası (Thermo Scientific, ABD) ilave edilmiştir. DNA, 45 dakika boyunca % 1' lik agaroz jel üzerinde yürütülmüş ve daha sonra ultraviyole ışığı altında görselleştirilmiştir. Tüm deneyler üç kez tekrarlanmış ve bant yoğunluğu jel görüntü analiz yazılımı (Quantum, Vision-Capt., Vilber Lourmat SAS, Fransa) ile belirlenmiştir. DNA koruma testi, farklı bileşiklerin Fenton reaktifleri tarafından üretilen hidroksil radikal hasarına karşı koruyucu yeteneğini göstermek için gerçekleştirilmiştir

3.4.1. Agaroz Jelin Hazırlanması

Jel, 0,8 gram agaroz tozunun 100 ml kaynar tampon çözeltisi (TAE) içinde çözülmesiyle hazırlanmıştır. Çözelti daha sonra yaklaşık 55 °C'ye soğutulmuş ve 5 µl etidyum bromür boya ilave edilmiş ve bir kalıp tepsisine dökülmüş ve tarak yardımıyla kuyucuklar oluşturulmuştur. Jel, bir ucunda pozitif bir elektrot ve diğer ucunda negatif bir elektrot içeren tamponla doldurulmuş bir elektroforez haznesine daldırılmıştır. Numuneler, bileşenlerle karıştırılarak elektroforez için hazırlanmış, bu numuneler, bir mikro-pipet ile örnek kuyucuklarına yüklenmiştir.

3.5. İstatistiksel Analiz

Tüm deneyler üç kez tekrarlanmıştır. İstatistiksel analizler Minitab versiyon 17 kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

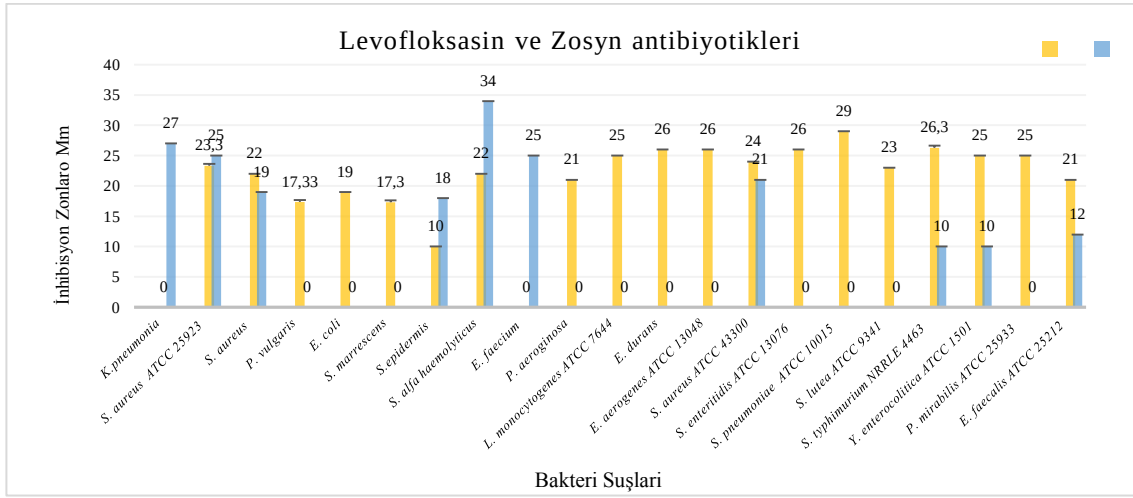
4.1. Antimikrobiyal Etkinlik

Antibakteriyel ilaçların yanlış kullanımı, bugün dünyanın en ciddi halk sağlığı sorunlarından biri olmaktadır. Genel olarak toplum, doktorlar ve hastaneler, ilaçların uygun şekilde kullanılmasının sağlanmasında ve antibakteriyel direnç gelişiminin en aza indirilmesinde rol oynamaktadır.²⁷ Bu nedenle, yeni alternatif antibakteriyel etkenleri keşfetmek, halk sağlığının geleceği için çok önemlidir. Bu çalışmada kullanılan antimikrobiyal etkenler için, tüm bu yeni sentezlenmiş bileşikler, referans antibiyotiler Levofloksasin ve zosyn'e karşı agar-plaka difüzyon yöntemi ile antibakteriyel aktivite açısından *in vitro* test edilmiştir.

4.1.1. Levofloksasin ve Zosyn

Pozitif kontrol Levofloksasin, kullanılan tüm bakterileri etkilemiş ve Levofloksasin'e direnç gösteren *K. pneumonia* ve *E. faecium* hariç farklı inhibisyon bölgeleri göstermiştir. Zosyn ayrıca Şekil 4. 1'de gösterildiği gibi *P. vulgaris*, *E. coli*, *S. marrescens*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *E. durans*, *E. aerogenes* ATCC 13048, *S. enteritidis* ATCC 13076, *S. pneumonia* ATCC 10015, *S. lutea* ATCC 9341, *P. mirabilis* ATCC 25933 dışında kullanılan bakterileri de etkilemiştir.

Dimetil Sülfoksit (DMSO) tek başına negatif kontrol olarak kullanılmış ve bu çalışmada kullanılan tüm bakteri türleri üzerinde herhangi bir etki göstermemiştir. DMSO'nun biyolojik taramadaki rolünü açıklığa kavuşturmak için, sadece DMSO çözeltileri ile ayrı çalışmalar yapılmış ve herhangi bir bakteri suşuna karşı aktivite göstermediği anlaşılmıştır.⁵⁹



Şekil 4. 1. Levofloksasin ve Zosyn'in kullanılan bakterilere karşı antimikrobiyal etkinlikleri.

4.2. İzatin ve İzatin Tiyosemikarbazon Türevleri Grubu

Bu grupta, Tablo 4. 1'te gösterildiği gibi, izatin ve tiyosemikarbazon da dâhil olmak üzere çoğu fenil içeren farklı yapılara sahip sekiz kimyasal bileşik bulunmaktadır.

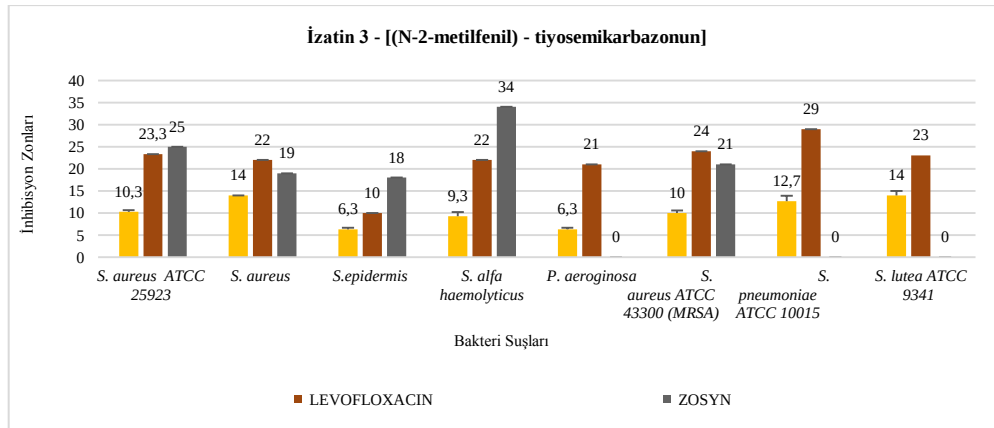
Tablo 4. 1. İzatin ve izatin tiyosemikarbazon türevleri bileşikleri

Kimyasal numarası	Kimyasal İsmi	Kısaltma ismi
1	İzatin 3-N-2-metoksifenil- tiyosemikarbazon	I3-[(N-2-MP)-TSC]
2	İzatin 3-N-4- metoksifenil - tiyosemikarbazon	I3-[(N-4-MP)-TSC]
3	İzatin 3-N-3-florofenil- tiyosemikarbazon	I3-[(N-3-FP)-TSC]
4	İzatin 3-N-4- florofenil - tiyosemikarbazon	I3-[(N-4-FP)-TSC]
5	İzatin 3-N-2-metoksifenil- tiyosemikarbazon	I3-[(N-2-MXP)-TSC]
9	İzatin 3-N-2-klorofenil- tiyosemikarbazon	I3-[(N-2-CP)-TSC]
14	İzatin 3-N-2,4-diklorofenil- tiyosemikarbazon	I3-[(N-2,4-DCP)-TSC]
16	İzatin 3-N-sikloheksil- tiyosemikarbazon	I3-[(N-CHX)TSC]

4.2.1. İzatin 3-N-2- Metoksifenil -Tiyosemikarbazon

Bu bileşik farklı inhibisyon bölgeleri olan yirmi bir bakteri suşundan sekizini (% 38) etkilemiştir. Bu suşların yedisi (% 87,5) Gram pozitif bakterilerdir. İnhibe edilen

bakteriler arasında *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus*, *S. epidermis*, *Alfa-hemolitik Streptococcus*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ATCC 43300, *S. pneumoniae* ATCC 10015 ve *S. lutea* ATCC 9341 sayılabilir ve sadece *P. aeruginosa*, Gram negatif bakteri olup diğerleri Gram pozitifdir. Genel olarak, bu bileşik 6 ila 14 mm arasında değişen inhibisyon zon çapları göstermiştir. Gram negatif bakteri *P. aeruginosa* 6,3 mm ile en küçük inhibisyon zonuna sahiptir. *S. aureus* ve *S. lutea* ATCC 9341, bu bileşik tarafından 14 mm'lik en büyük inhibisyon bölgesine sahiptir. Bunu, Şekil 4.2.'de gösterildiği gibi 12,7 mm ile *S. pneumoniae* ATCC 10015 takip etmiştir. Çoğu bakteri suşunda orta ile iyi etkinlik gösteren bu bileşik tüm bakterileri etkileyen pozitif kontrol antibiyotik levofloksasin ile karşılaştırıldığında bakterilere etkinliği ılımlı ila orta derecede olmuştur. I3 - [(N-2-MP) -TSC] bileşiği, üç bakteri suşu için (*P. aeruginosa*, *S. pneumoniae* ATCC 10015 ve *S. lutea* ATCC 9341) Zosyn'den daha iyidir. Çünkü Zosyn, bu suşlar üzerinde herhangi bir etki yapmamıştır. Aynı zamanda, I3 - [(N-2-MP) -TSC] bileşiği, özellikle *S. pneumoniae* ATCC 10015 ve *S. lutea* ATCC 9341 üzerinde etkili olmuştur.



Şekil 4. 2. İzatin 3 - [(N-2- metoksilfenil) - tiyosemikarbazonun antimikrobiyal etkinliği

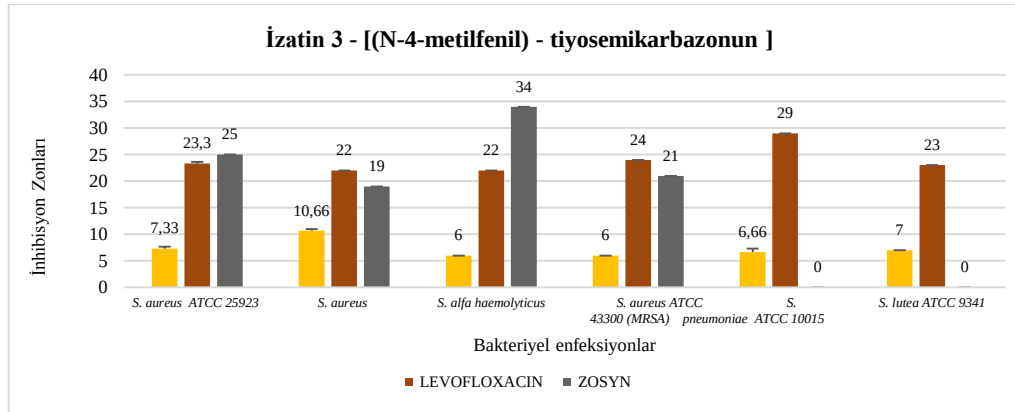
4.2.2. İzatin 3-N-4- Metoksilfenil -Tiyosemikarbazon

Bu bileşik, *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus*, *alfa-hemolitik Streptococcus*, *S. aureus* ATCC 43300, *S. pneumonia* ATCC 10015 ve *S. lutea* ATCC 9341 dâhil altı bakteri

suşunu etkilemiştir. Bunların hepsi Gram pozitif bakterilerdir ve inhibisyon zonlarının çapları 6 ile 10,66 mm arasında değişmiştir. Levofloksasin antibiyotiğine kıyasla hafif ila orta şiddette antibakteriyel olarak etkinlik gösteren bu bileşik, *S. pneumonia* ATCC 10015 ve *S. lutea* ATCC 9341'e zosyn antibiyotiğinden daha fazla etkinlik göstermiştir, çünkü bu iki bakteri Zosin antibiyotiğe karşı tamamen dirençlidir.

Bileşik I3 - [(N-2-MP) -TSC] ve bileşik I3 - [(N-4-MP) -TSC] arasındaki fark, metil yapısının bileşiğin yapısındaki dört numaralı pozisyonudur. Ancak I3 - [(N-2-MP) -TSC] I3 - [(N-4-MP) -TSC] 'den daha iyi sonuçlar vermiştir. Çünkü daha büyük inhibisyon zonları ile daha fazla bakteri suşunu etkilemiştir. *S. aureus* bu iki bileşiğe karşı daha hassastır ve bu çalışmadaki diğer bileşiklerle karşılaştırıldığında Şekil 4.2. ve 4.3'da gösterildiği gibi en yüksek inhibisyon zonuna sahiptir.

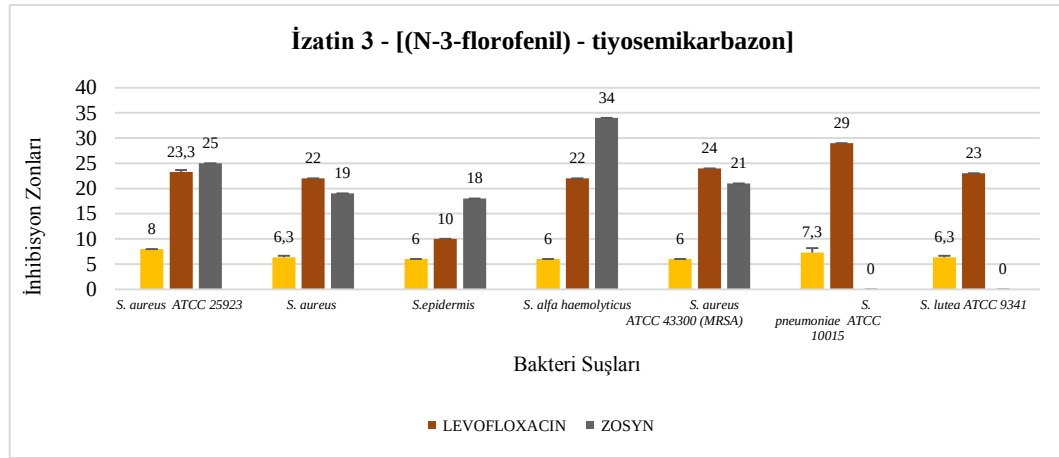
I3 - [(N-4-MP) -TSC] bileşiği, Gram pozitif bakterilerin hücre duvarı üzerinde bu bileşiğin etki modunu ve bunun için bu etki özgülüğünü açıklayabilen Gram negatif bakterilerin herhangi birini etkilememiştir.



Şekil 4. 3. İzatin 3 - [(N-4- metoksilfenil) - tiyosemikarbazonun antimikrobiyal etkinliği

4.2.3. İzatin 3-N-3-Florofenil-Tiyosemikarbazon

Tiyosemikarbazon ile kimyasal yapının üçüncü pozisyonunda floro-fenil içeren bu kompleks, *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus*, *S. epidermis*, *Alfa-hemolitik Streptococcus*, *S. aureus* ATCC 43300, *S. pneumonia* ATCC 10015 ve *S. lutea* ATCC 9341 dahil olmak üzere yedi Gram pozitif bakteri suşunu inhibe ederken, Gram negatif bakteriler ise bu bileşikten etkilenmemiştir. Bu kompleks, izatin, metilfenil ve tiyosemikarbazon (Şekil 4.3.) oluşan diğer bileşiklerle karşılaştırıldığında küçük inhibisyon zonları (6-8 mm) göstermiştir. Şekil 4.4'de gösterildiği gibi, bu bileşik iki bakteri suşuna etki etmeyen zosyn antibiyotiği ile karşılaştırıldığında, *S. pneumonia* ATCC 10015 ve *S. lutea* ATCC 9341 için iyi bir antibakteriyel olarak kabul edilebilir.

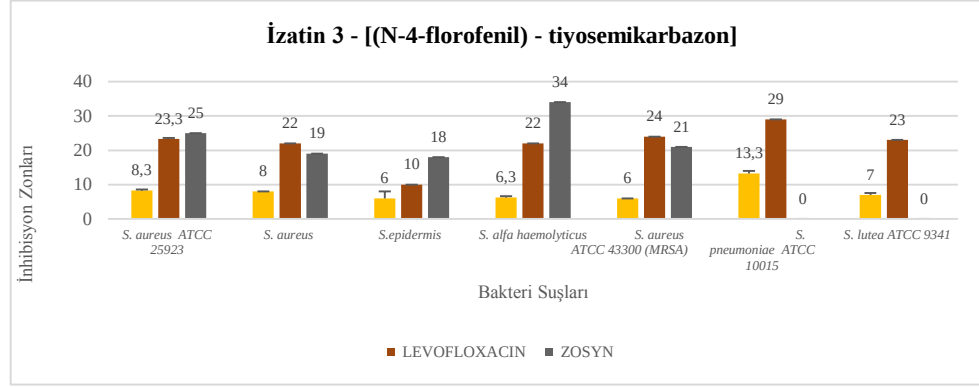


Şekil 4. 4. İzatin 3 - [(N-3-florofenil) - tiyosemikarbazon] 'un antimikrobiyal etkinliği

4.2.4. İzatin 3-N-4-Florofenil-Tiyosemikarbazon

İzatin 3-[(N-4-florofenil) -tiyosemikarbazon], İzatin 3-[(N-3-florofenil) -tiyosemikarbazon] ile aynı sonuçları göstermiştir. Bu iki bileşik florofenilin üç yerine dördüncü pozisyonunda olması dışında aynı kimyasal bileşik yapılara sahiptir. Bu nedenle, *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus*, *S. epidermis*, *Alfa-hemolitik Streptococcus*, *S. aureus* ATCC 43300, *S. pneumonia* ATCC 10015 ve *S. lutea* ATCC 9341 dâhil olmak üzere yedi Gram pozitif bakteri suşu üzerinde aynı inhibisyon etkisine sahiptir. Aralarındaki

tek fark, Şekil 4.5. ve Şekil 4.4'de gösterildiği gibi bileşik I3 - [(N-4-FP-TSC] 'nin, *S. pneumonia* ATCC 10015 (13.3 mm) için, I3 - [(N-3-FP)-TSC]' den daha geniş inhibisyon zonuna sahip olmasıdır.



Şekil 4. 5. İzatin 3 - [(N-4-florofenil) - tiyosemikarbazon] 'un antimikrobiyal etkinliği

4.2.5. İzatin 3-N-2-Metoksifenil-Tiyosemikarbazon

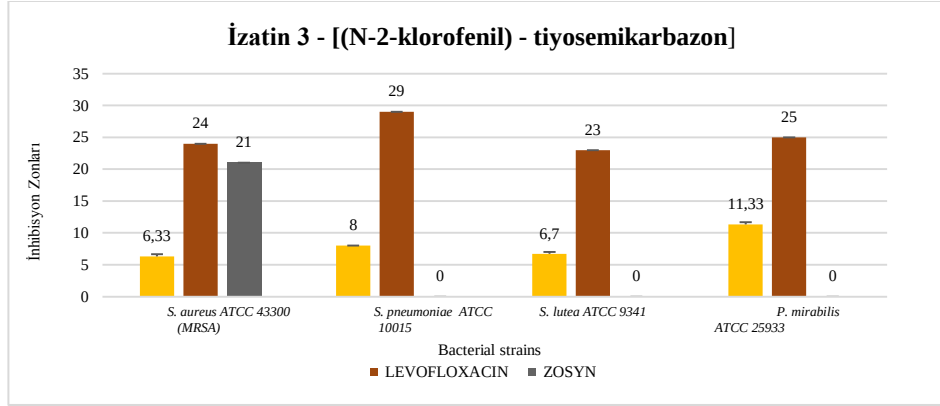
İzatin 3 - [(N-2-metoksifenil) - tiyosemikarbazon] bileşiği bu çalışmada incelenen herhangi bir bakteri suşu üzerinde herhangi bir etki göstermemiş ve tüm suşlar, bu bileşiğe karşı dirençli çıkmıştır.

I3 - [(N-2-MP) -TSC] ve I3 - [(N-2-MXP) -TSC] arasındaki fark, metilfenil ve metoksifenildir. Oksijen grubu ve metoksi grubu, oksijene bağlı metil grubundan oluşan ve belki metoksifenile yedi bakteri suşunu etkilemek için iyi bir güç veren fonksiyonel gruptur.

4.2.6. İzatin 3-N-2-Klorofenil-Tiyosemikarbazon

İzatin 3 - [(N-2-klorofenil) -tiyosemikarbazon, izatin ve tiosemikarbazon içeren bir klorofenil bileşiktir. Bu bileşik dört bakteri suşunu etkilemiştir. Bunlardan üçü Gram pozitif *S. aureus* ATCC 43300, *S. pneumonia* ATCC 10015 ve *S. lutea* ATCC 9341 ve biri 11,3 mm'lik bir inhibisyon zonu ile Gram negatif *P. mirabilis* ATCC 25933' dir. Bu

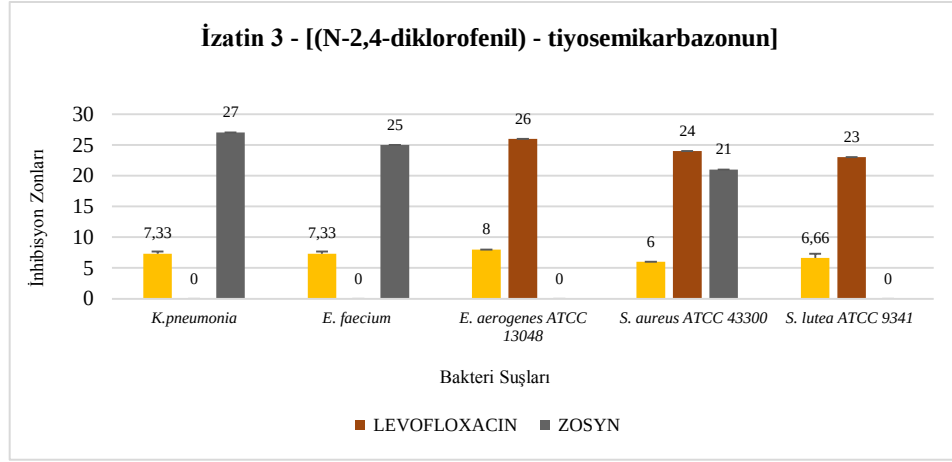
kompleks bileşik, Şekil 4.6'da gösterildiği gibi Gram negatif bakterilerden *P. mirabilis* ATCC 25933'ü etkileyen tek bileşiktir. *P. mirabilis* ATCC 25933 bakterisi birçok antibiyotiğe çoklu dirence sahip olarak bilinir. Bu bileşikle karşılaştırıldığında kontrol antibiyotiği zosyn, *S. pneumonia* ATCC 10015 ve *S. lutea* ATCC 9341 dışındaki bakteri türlerini etkilememektedir.



Şekil 4. 6. İzatin 3 - [(N-2-klorofenil) - tiyosemikarbazon] 'un antimikrobiyal etkinliği

4.2.7. İzatin 3-N-2,4-Diklorofenil-Tiyosemikarbazon

İzatin ve tiyosemikarbazonun yanı sıra 2, 4 pozisyonlarında bir diklorofenil içeren bu bileşik, beş bakteri suşunu etkilemiştir. Bunların ikisi, *K. pneumonia* ve *E. aerogenes* ATCC 13048 Gram pozitif bakterilerden daha geniş inhibisyon zonları olan Gram negatif bakterilerdir. Gram pozitif bakteriler, *E. faecium*, *S. aureus* ATCC 43300 ve *S. lutea* ATCC 934 bu kompleksten etkilenmiştir. Gram negatif bakteriler ise *K. pneumonia* ve *E. aerogenes* ATCC 13048 olup sırasıyla Şekil 4.7'da gösterildiği gibi çapı 8 ve 7.3 mm inhibisyon zonları sergilemiştir. *K. pneumonia* geniş spektrumlu antibiyotik levofloksasin tarafından inhibe edilmemiş olmasına rağmen, bu bileşiğin, *K. pneumonia* üzerinde etkili olması gelecekte antimikrobiyal olarak iyi bir etkiye sahip olabileceği anlamına gelebilir. *E. aerogenes* ATCC 13048 ve *S. lutea* ATCC 934 ayrıca zosyn pozitif kontrol antibiyotiğine karşı dirençlidir ve dolayısıyla inhibisyon zonu görülmemiştir. Bu nedenle izatin ve tiyosemikarbazon ile diklorofenil, gelecekte Gram negatif bakterilerin kontrolünde iyi bir rol oynayabilir.

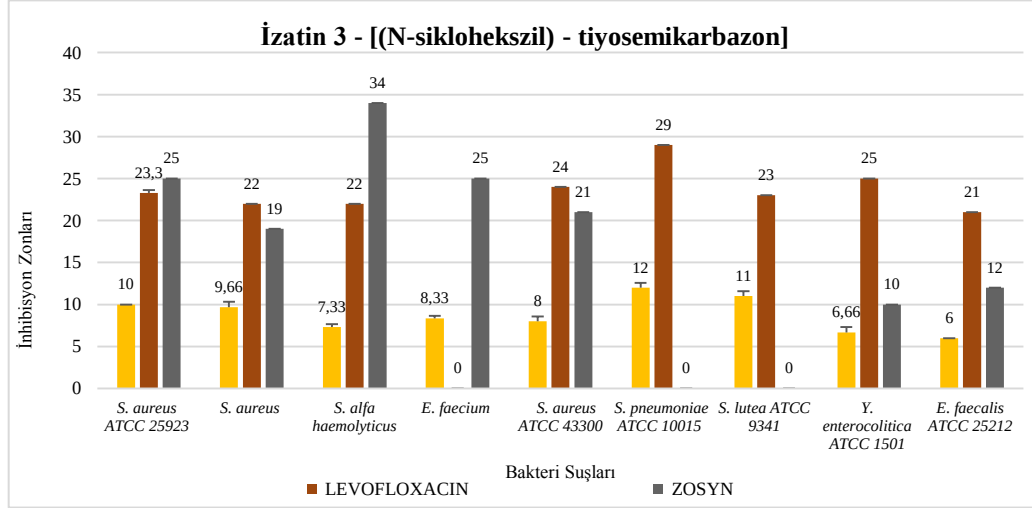


Şekil 4. 7. İzatin 3 - [(N-2,4-diklorofenil) - tiyosemikarbazonun antimikrobiyal etkinliği

4.2.8. İzatin 3-N-Siklohekszil-Tiyosemikarbazon

İzatin 3 - [(N-siklohekszil) -tiyosemikarbazon bileşiği, bu gruptaki diğer son yedi bileşikten tamamen farklı olarak izatin, siklohekszil ve tiyosemikarbazondan oluşur. Bu bileşik altı karbon atomu içeren siklohekszilden oluşur. Bu kompleks dokuz bakteri suşunu etkilemiş ve bu çalışmanın bu grubundaki en etkili bileşik olarak kaydedilmiştir. Bu durum belki de siklohekszil varlığından kaynaklanıyor olabilir. Bu bileşik, *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus*, *Streptococcus alfa-hemolitik*, *E. faecium*, *S. aureus* ATCC 43300, *S. pneumonia* ATCC 10015, *S. lutea* ATCC 9341, *Y. enterocolitica* ATCC 1501 ve *E. faecalis* ATCC 25212 suşlarını inhibe etmiştir. Bu dokuz bakteriden 6'sı (% 88,9) Gram pozitif iken sadece *Y. enterocolitica* ATCC 1501 Gram negatif bakteridir. İnhibisyon zonu 6 ila 12 mm arasında değişmiştir ve *S. pneumonia* ATCC 10015 12 mm çapı ile en yüksek inhibisyon zonuna sahipken *E. faecalis* ATCC 25212 yaklaşık 6 mm ile en düşük zona sahiptir. Kontrol pozitif antibiyotiği Levofloksasin ve zosyn ile karşılaştırıldığında, Levofloksasin *E. faecium* bakterilerini etkilemezken, bileşğimiz yaklaşık sekiz mm çapında bu bakteri için inhibisyon zonu sergilemiştir. Zosyn, aynı bakteri suşları üzerinde iyi sonuçlar vermesine rağmen, *S. pneumonia* ATCC 10015, *S. lutea* ATCC 934'ü etkilememiştir. Şekil 4.8.'de gösterildiği gibi bu yapı bileşiği, *Y.*

enterocolitica ATCC 1501'i inhibisyon bölgesi 6,7 mm ile inhibe eden bu grubun tek bileşigidir.



Şekil 4. 8. İzatin 3 - [(N-siklohekszil) - tiyosemikarbazon] 'un antimikrobiyal etkinliğı

4.3. 5-Floro izatin Tiyosemikarbazon Komplekslerinin Antimikrobiyal Etkinliğı

Bu grupta, farklı pozisyonlarda ve çinkolarda metoksifenil veya metofenil ile birlikte Floro-İzatin tiyosemikarbazon içeren dört bileşik kompleks vardır. Bunlar:

5-Floro izatin 3-[(N-4-metoksifenil)- tiyosemikarbazon]

5-Floro izatin 3-[(N-2- metoksifenil)- tiyosemikarbazon]

5-Floro izatin 3-[(N-3-metoksifenil)- tiyosemikarbazon]

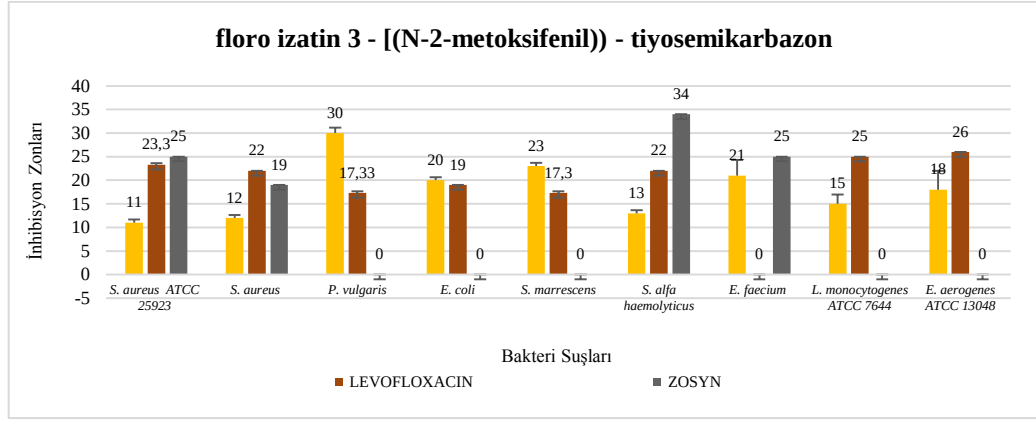
5-Floro izatin 4-(3-metoksifenil)3-tiyosemikarbazon) çinko (II)

4.3.1 5-Floro izatin 3-[(N-4-Metoksifenil)- Tiyosemikarbazon]

Floro izatin ve tiyosemikarbazon içeren N-4-metoksifenil içeren bu kimyasal bileşik, incelenen tüm bakteri suşları üzerinde herhangi bir etki ve inhibisyon zonu sergilememiştir.

4.3.2. 5-Floro izatin 3-[(N-2- Metoksifenil)- Tiyosemikarbazon]

Bu bileşik, hem kontrol pozitif antibiyotikler levofloksasin hem de zosyn ile karşılaştırıldığında çok iyi antimikrobiyal etkinlik göstermiştir ve dokuz Gram pozitif ve Gram negatif bakteri suşları için 11 ile 30 mm çapı arasında değişen geniş inhibisyon zonları sergilemiştir. Bu bileşiğin etkilediği bakteriler *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus*, *P. vulgaris*, *E. coli*, *S. marrescens*, *Alfa hemolitik Streptococcus*, *E. faecium*, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *E. aerogenes* ATCC 13048 olmuştur. Gram negatif bakteriler için Levofloksasin ve Zosyn'den daha iyi sonuçlar vermiş ve *P.vulgaris*, *E. coli* ve *S. marrescens* için sırasıyla 30, 20 ve 23 mm inhibisyon zonu göstermiştir. Aynı zamanda, Gram pozitif bakterilerden *E. faecium* için 21 mm çapında ihibisyon zonu göstermiştir ve *L. monocytogenes* ATCC 7644, *E. aerogenes* ATCC 13048 bakterileri üzerinde levofloksasin antibiyotiğinden daha etkili olmuştur. Bu bileşik, zosyn antibiyotikten daha iyidir. Çünkü zosyn, bu iki bakteri suşu üzerinde, Şekil 4.9'de gösterildiği gibi herhangi bir etki yapmamıştır. Bu bileşik, diğer bileşiklere kıyasla toplam yaklaşık olarak en fazla (% 44,4) Gram negatif bakteriyi etkileyen bileşiktir. Bu bileşik, yapısal olarak tüm bakterilerde herhangi bir bakteri etki veya inhibisyon zonu vermeyen 5-F-I3 - [(N-2-MP) -TSC] bileşiğini anımsatmaktadır. Fakat aralarındaki fark 5-F-I3-[(N-2-MP)-TSC]'nin dördüncü pozisyonunda metoksifenil yerine ikinci pozisyonunda metofenil içermesidir.

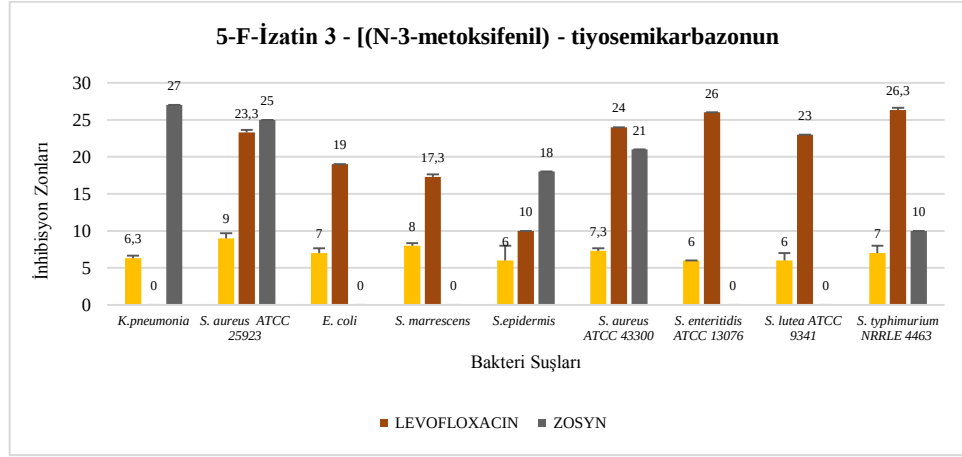


Şekil 4. 9. 5floro izatin 3 - [(N-2- metoksifenil)] - tiyosemikarbazonun antimikrobiyal etkinliği

4.3.3. 5-Floro izatin 3-[(N-3-metoksifenil)- Tiyosemikarbazon]

5-F-I3 - [(N-3-MXP) -TSC] bileşiği metoksifenilin dört yerine üçüncü pozisyonunda olması dışında yapısal olarak 5-Floro izatin 3 - [(N-4-metoksifenil) - tiyosemikarbazon] ile aynıdır ve bu nedenle bu bileşik, *K. pneumonia*, *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli*, *S. marrescens*, *S. epidermis*, *S. aureus* ATCC 43300, *S. enteritidis* ATCC 13076, *S. lutea* ATCC 9341, *S. typhimurium* NRRLE 4463 olmak üzere dokuz Gram pozitif ve negatif bakteri için inhibisyon zonu verebilmektedir. Diğer yandan 5-F-I3-[(N-2-MP)-TSC] , 11-30 mm inhibisyon uzunu çaplarıyla 6-9 mm inhibisyon çapı sergileyen 5-F-I3 - [(N-2-MP) -TSC]ten daha etkilidir ve bu durum metoksifenil yerine metofenilin varlığına bağlı olabilir.

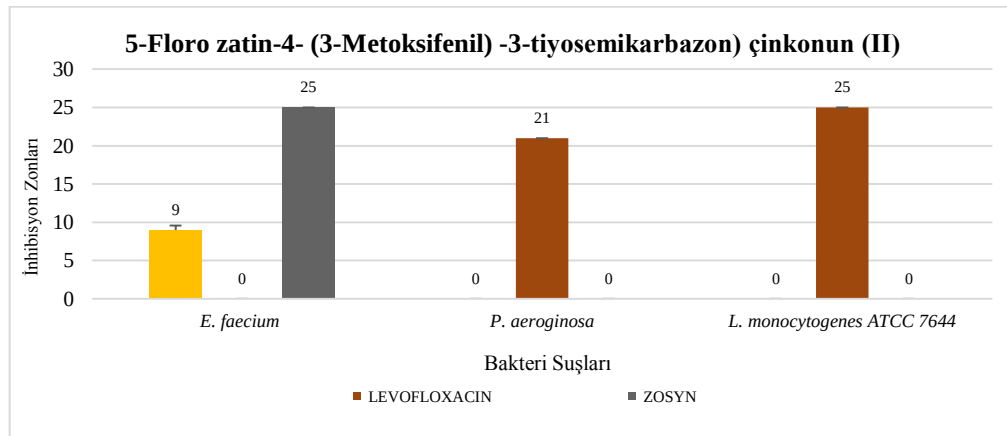
5-F-I3 - [(N-3-MXP) -TSC] Gram pozitif bakterilerden daha fazla Gram negatif bakterilerde etkilidir. Bu grupta *Salmonella spp.*, *S. enteritidis* ATCC 13076 ve *S. typhimurium* NRRLE 4463'u inhibe eden tek bileşiktir. Aşağıdaki bakteriler antibiyotik Zosyn'den etkilenmemiş olmasına ve buna direnç göstermesine rağmen, bu bileşikler *S. marrescens*, *S. enteritidis* ATCC 13076 ve *S. lutea* ATCC 9341 bakterileri üzerinde hafif de olsa Şekil 4.10'te gösterildiği gibi bir etkiye sahiptir.



Şekil 4. 10. 5-Floro izatin 3 - [(N-3-metoksifenil) - tiyosemikarbazonun antimikrobiyal etkinliği

4.3.4. 5-Floro izatin 4-(3-metoksifenil)3- Tiyosemikarbazon) çinko (II)

Yapısına Çinko (II) metal eklenen bu bileşik, 9 mm çapındaki bir inhibisyon zonuyla sadece bir Gram pozitif bakteri suşunu (*E. faecium*) etkilenmiştir. Pek çok makale bazı metallerin eklenmesinin bakteri üzerindeki etkilerini ve inhibisyon zonlarını arttırdığını öne sürse de, bu durum bu çinko (II) olan bileşikte tespit edilmemiştir. Bu bileşik, Şekil 4.11'te gösterildiği gibi, *E. faecium* bakterileri üzerinde geniş spektrumlu antibiyotik Levofloksasin'den daha iyi sonuç vermiştir.



Şekil 4. 11. 5-Floro izatin-4- (3-Metoksifenil) -3-tiyosemikarbazon) çinkonun (II) antimikrobiyal etkinliği

4.4. 5-Metoksi izatin Tiyosemikarbazon Komplekslerinin Antimikrobiyal Etkinliği

Bu grupta, tiyosemikarbazonlu 5-Metoksi izatin sentezlenmiş ve diğer kimyasallarla birleştirilmiştir. Bazıları da metallerle birleştirilmiştir. Bu gruptaki onbeş bileşikten altı tanesi (%40) alışmada kullanılan bakteri suşlarına karşı bir etkinlik göstermemiştir, bunlar: 5MxI3N4MPTSC, 5-MxI3N2MPTSC, 5MxI3N2, 4DCPTSC, 5-MxI3N4NPTSC, B(5-M-I)-4-(4-IP)-3-TSC) Z(II), B(5-M-I)-4-P)-3-TSC) N(II).

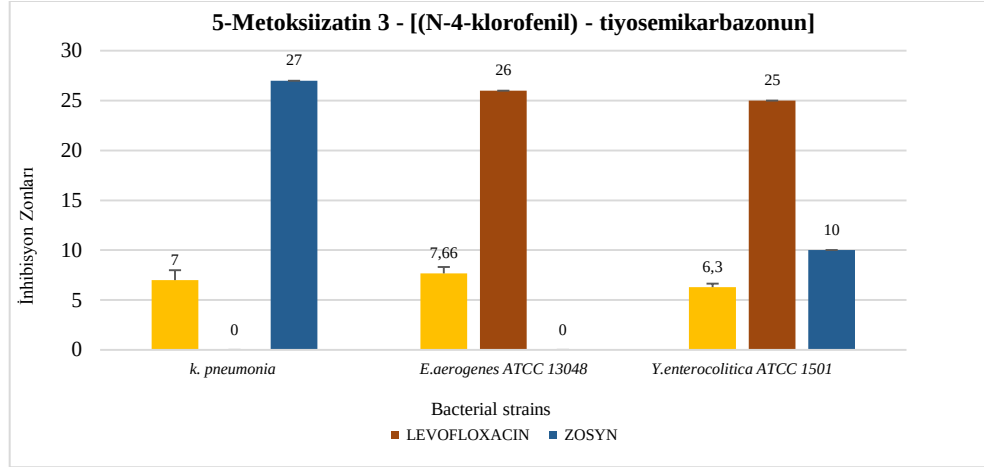
Tablo 4. 2. 5-Metoksi-izatin tiyosemikarbazon ve kompleksleri grubu

Kimyasal İsmi	Kısaltma ismi
1- 5- Metoksi izatin 3-[(N-4-metofenil)- tiyosemikarbazon]	5MxI3N4MPTSC
2- 5- Metoksi izatin 3-[(N-2-metofenil)- tiyosemikarbazon]	5-MxI3N2MPTSC
3- 5-Metoksi izatin 3-[(N-2,4-diklorofenil)- tiyosemikarbazon	5MxI3N2,4DCPTSC
4- 5- Metoksi izatin 3-[(N-4-nitrofenil)- tiyosemikarbazon]	5-MxI3N4NPTSC
5- 5- Metoksi izatin 3-[(N-4-klorofenil)- tiyosemikarbazon	5MxI3N4CPTSC
6- 5- Metoksi izatin 3-[(N-4-iodofenil)- tiyosemikarbazon]	5MxI3N4NICPTSC
7- 5- Metoksi izatin 3-[(N-fenil)- tiyosemikarbazon]	5-MxI3NPTSC
8- 5- Metoksi izatin 3-[(N-sikloheksil)- tiyosemikarbazon]	5MxI3NCXTSC
9- 5- Metoksi izatin -(N-3 Metoksifenil)- tiyosemikarbazon]	5-MXI-[(N-3MXP)-TSC)
10- Bis(5- Metoksi izatin)-4-(4-iodofenil)-3- tiyosemikarbazon) inko (II)	B(5-M-I)-4-(4-IP)-3-TSC) Z(II)
11- Bis(5- Metoksi izatin)-4-(2,4 diklorofenil)-3- tiyosemikarbazon) inko (I)	B(5-M-I)-4-(2,4 DCP)-3-TSC) Z(I)
12- Bis(5- Metoksi izatin) -4-(fenil)-3- tiyosemikarbazon) nikel (II)	B(5-M-I)-4-P)-3-TSC) N(II)
13- Bis(5- Metoksi izatin)-4-(fenil)-3- tiyosemikarbazon) inko (II)	Is(5-M-I)-4-P)-3-TSC) Z(II)
14- Bis(5- Metoksi izatin)-4-(N-benzaldehit I)-3- tiyosemikarbazon) nikel	B(5-M-I)-4-(N-B 1)-3-TSC) N(II)
15- Bis(5- Metoksi izatin)-4-(3Metoksifenil)-3- tiyosemikarbazon) inko (II)	B(5-M-I)-4-(3MXP)-3-TSC) Z(II)

4.4.1. 5- Metoksi izatin 3-[(N-4-Klorofenil) - Tiyosemikarbazon]

Bu bileşik,  Gram negatif bakteri suşu üzerinde hafıf bir etkiye sahiptir: *K. pneumonia*, *E. aerogenes* ATCC 13048 ve *Y. enterocolitica* ATCC 1501. Bu bileşikten hiçbir Gram pozitif bakteriyi etkilememiştir. Bu bileşiğin 5-Metoksi izatinin arkasındaki

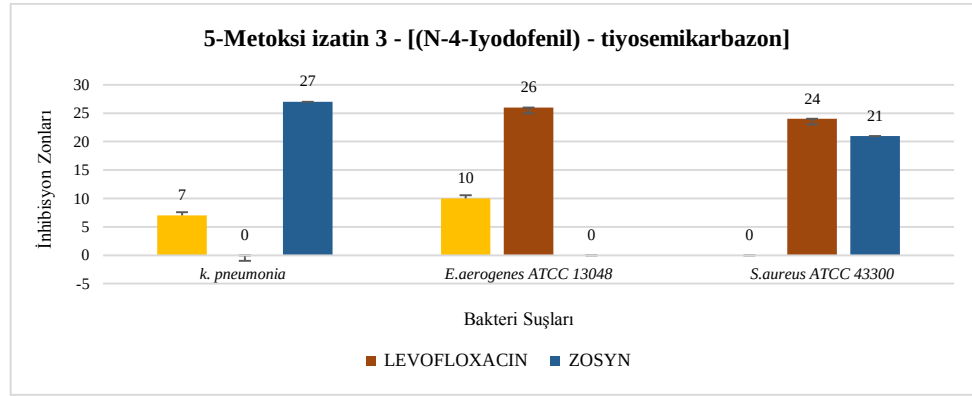
N-4-klorofenil ve tiyosemikarbazonun oluşması Gram negatif bakterileri etkileme nedeni olabilir. Kontrol pozitif antibiyotiklerle karşılaştırıldığında, *K. pneumonia* etkilemesi açısından levofloksasin'den ve *E. aerogenes* ATCC 13048'i etkilemesi açısından zosyn'den daha iyidir. Bu iki bakteri, Şekil 4.12'te gösterildiği gibi Levofloksasin ve zosyn'e dirençli çıkmıştır.



Şekil 4. 12. 5-Metoksi izatin 3 - [(N-4-klorofenil) - tiyosemikarbazonun antimikrobiyal etkinliği

4.4.2. 5-Metoksi izatin 3 - [(N-4-iyodofenil) - tiyosemikarbazon]

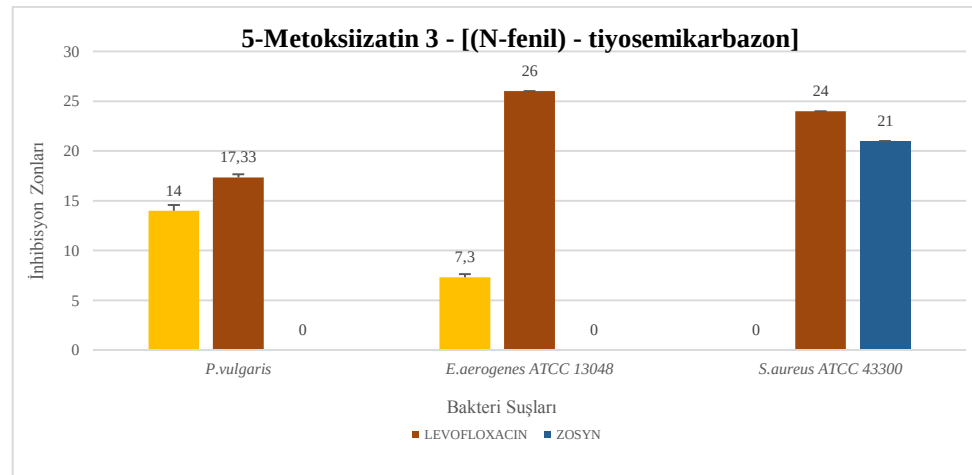
Yapısı üzerinde metoksi izatin ve tiyosemikarbazonun yanı sıra iyodofenil barındıran bu kimyasal bileşik, son bileşiğinde iodo yerine fenil (klorofenil) renk içeren –Metoksi izatin 3 - [(N-4-klorofenil) -tiyosemikarbazon] 'a benzemektedir. Her iki bileşik de Gram negatif bakteri suşlarında *K. pneumonia* ve *E. aerogenes* ATCC 13048 orta derecede inhibisyon zonu sergilemiştir. *K. pneumonia* farklı antibiyotik tiplerine çok dirençli bakterilerden biri olarak kabul edilir. Ancak bu bileşiklerin her ikisi de bu iki bakteri suşunu inhibe etmiştir. Ayrıca 5-Metoksi izatin 3 - [(N-4-iyodofenil) - tiyosemikarbazon] *Y. enterocolitica* ATCC 1501 bakterisini Şekil 4.13'da gösterildiği gibi etkilemiştir.



Şekil 4. 13. 5-Metoksi izatin 3 - [(N-4-iyodofenil) - tiyosemikarbazonun antimikrobiyal etkinliği]

4.4.3. 5-Metoksi izatin 3 - [(N-fenil) - tiyosemikarbazon]

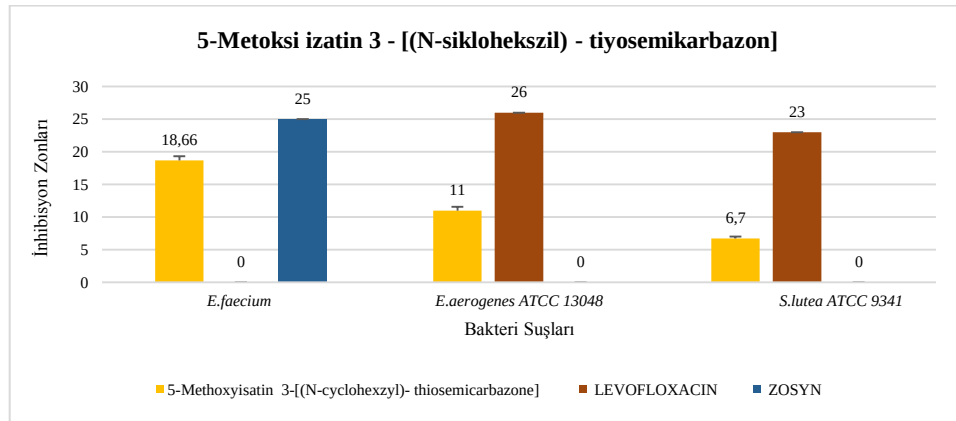
Bu bileşik Metoksi izatin ve tiyosemikarbazonlu fenil dışında kimyasal madde içermez ve Gram negatif bakteri *P. vulgaris* ve *E. aerogenes* ATCC 13048'in iki suşuna karşı etki etmiştir. Bu bileşik (14 mm) geniş spektrumlu antibiyotik Levofloksasin (17 mm) ile karşılaştırıldığında *P. vulgaris*'e karşı iyi etki göstermiştir. Şekil 4.14'de gösterildiği gibi, bileşik *E. aerogenes* ATCC 13048 bakterilerine karşı sıfır etki gösteren Zosyn'den daha iyi bir etkiye sahiptir.



Şekil 4. 14. 5-Metoksi izatin 3 - [(N-fenil) - tiyosemikarbazonun antimikrobiyal etkinliği]

4.4.4. 5- Metoksi izatin 3 - [(N-siklohekszil) - tiyosemikarbazon]

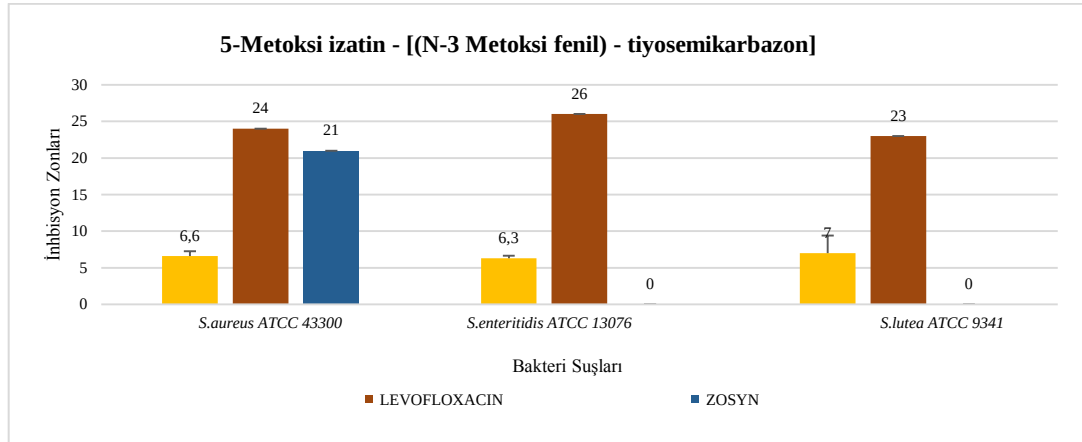
Bileşik yapısının üçüncü konumunda, siklohekszil içeren bu bileşik ile üç bakteri inhibe edilmiştir. Bu bakterilerin ikisi Gram pozitif ve biri Gram negatif bakteri olan *E. faecium*, *E. aerogenes* ATCC 13048 ve *S. lutea* ATCC 9341'dir. Bu bileşik *E. faecium*'a 18.7 mm çapında iyi bir inhibisyon zonu göstermiştir. Bu bakteri için inhibisyon zonu vermeyen bu bileşik, levofloksasin antibiyotikğine göre iyi bir etki göstermiştir. Ayrıca Şekil 4.15'de gösterildiği gibi *E. aerogenes* ATCC 13048 ve *S. lutea* ATCC 9341'e karşı Zosyn'den daha iyi etki göstermiştir.



Şekil 4. 15. 5- Metoksi izatin 3 - [(N-siklohekszil) - tiyosemikarbazonun antimikrobiyal Etkinliği

4.4.5. 5-Metoksi izatin - [(N-3 Metoksi fenil) – Tiyosemikarbazon]

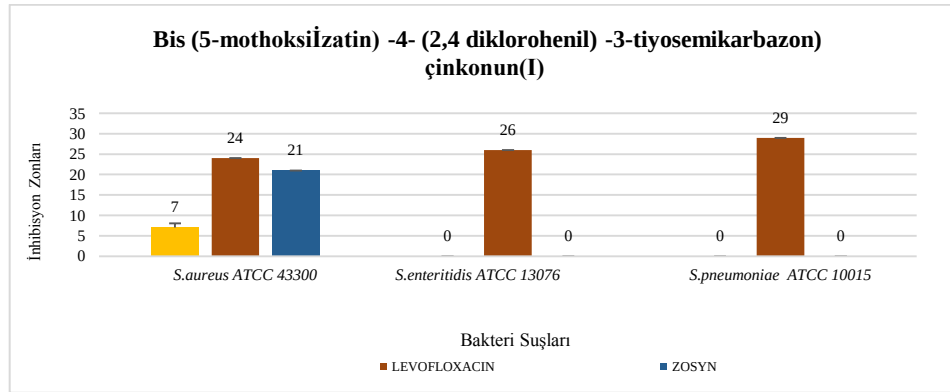
Bu bileşik (5- Metoksi izatin-N-3Metoksi fenil) tiyosemikarbazon ile 5-Metoksiİzatin göre hafif etki göstermiştir. *S. lutea* ATCC 9341'de sadece 7 mm *S. aureus* ve *S. enteritidis* ATCC 13076'da sırasıyla 6.6 ve 6.3 mm inhibisyon zonu göstermiştir Şekil 4.16.



Şekil 4. 16. 5-Metoksi izatin - [(N-3 Metoksi fenil) - tiyosemikarbazonun antimikrobiyal etkinliği

4.4.6. Bis (5-Mothoksi izatin) -4- (2,4 Diklorohenil) -3-Tiyosemikarbazon) Çinko(I)

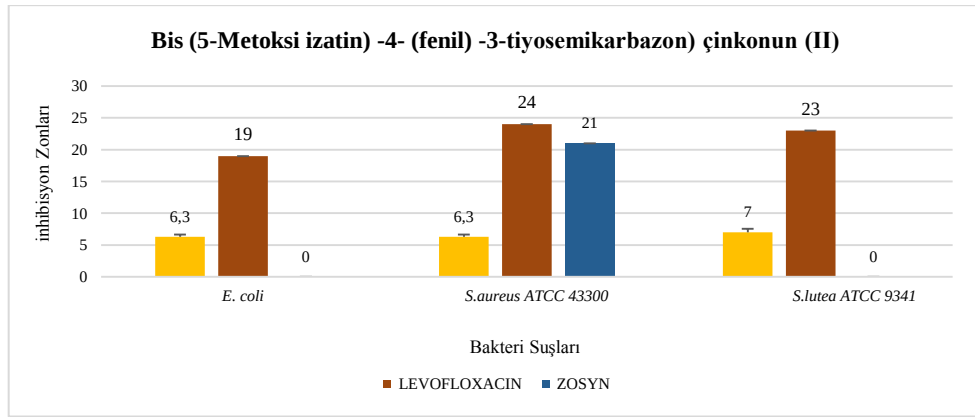
Yalnızca bir mikroorganizma *S. enteritidis* ATCC 13076 bu bileşik tarafından hafif inhibisyon zonu ile inhibe edilmiştir. İki kontrol antibiyotiği olan Levofloksasin ve zosyn ise bu mikroorganizmaya, sırasıyla 24 ve 21 mm ile etki göstermiştir. Bileşik çinko I ile birleştirilmesine rağmen, sadece bir bakteri türünü etkilemiştir. Bu etki, kontrol antibiyotiklerine kıyasla ılımlı olmuştur. Bu, çinko gibi bazı metallerin varlığının, Şekil 4.17'de gösterildiği gibi bileşiklerin bakterilere karşı etkinliğini artırdığını gösteren birçok çalışmaya aykırıdır.



Şekil 4. 17. Bis (5-metoksi izatin) -4- (2,4 dikloro fenil) -3-tiyosemikarbazon) çinkonun(I) antimikrobiyal etkinliği

4.4.7. Bis (5-Metoksi izatin) -4- (fenil) -3-tiyosemikarbazon) çinkonun (II)

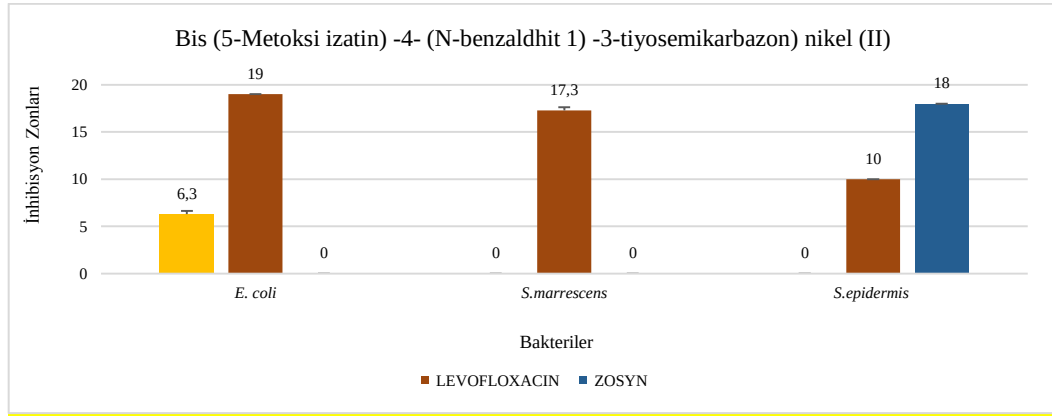
Bu bileşik *E.coli*, *S. aureus* ATCC 43300 ve *S. lutea* ATCC 9341'e karşı sırasıyla 6.3, 6.3 ve 7 mm inhibisyon zonu ile hafif bir etki göstermiştir. Şekil 4.18'de gösterildiği gibi Çinko II'nin varlığı bu bileşik üzerindeki fenilin dördüncü pozisyonu, çinko (II) içermeyen 5-Metoksi izatin 3 - [(N-fenil) - tiyosemikarbazon] ile karşılaştırıldığında inhibisyon zonlarında herhangi bir artış yapmamıştır.



Şekil 4. 18. Bis (5-Metoksi izatin) -4- (fenil) -3-tiyosemikarbazon) çinkonun (II) antimikrobiyal etkinliği

4.4.8. Bis (5-Metoksi izatin) -4- (N-benzaldehyt 1) -3-tiyosemikarbazon) nikelin

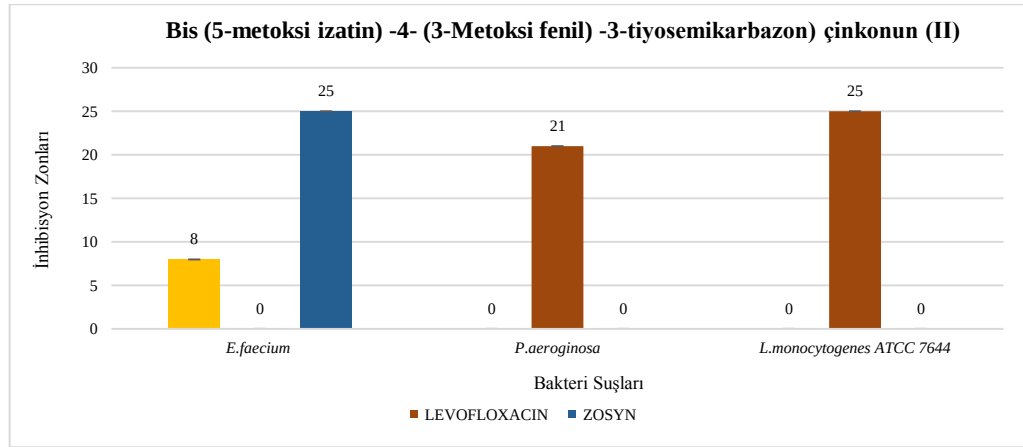
Bu bileşikten etkilenen sadece bir Gram negatif bakteri vardır. *E.coli*, bu bileşikten, çapı 6.3 mm olan hafif inhibisyon zonuyla etkilenmiştir. Benzaldehit ile karıştırılan ve nikel metal içeren gruptaki tek bileşiktir. Bu bileşik Şekil 4.19'de gösterildiği gibi *E.coli* için inhibisyon zonu vermeyen zosyn antibiyotiğinden daha iyidir.



Şekil 4. 19. Bis (5-Metoksi izatin) -4- (N-benzaldhit 1) -3-tiyosemikarbazon) nikelin antimikrobiyal etkinliği

4.4.9. Bis (5-Metoksi izatin) -4- (3-Metoksi fenil) -3-Tiyosemikarbazon) Çinkonun (II)

Sadece bir Gram pozitif bakteri bu bileşikten 8 mm çapında inhibisyon zonu ile etkilenmiştir. Her ne kadar kontrol pozitif antibiyotik levofloksasinden daha iyi olsa da zosyn antibiyotiğinden daha az etkilidir. Ayrıca, bu bileşik, ikinci pozisyonda çinko (II) metalinin eksik olduğu -5-Metoksi izatin - [(N-3 Metoksifenil)-tiyosemikarbazon] bileşiğinden etkilenen bakteri sayısı açısından daha az etkili olmuştur ve bu durum sadece bir bakteri suşunun etkilemesinin nedeni olabilir Şekil 4.20.



Şekil 4. 20. Bis (5-metoksi izatin) -4- (3-Metoksifenil) -3-tiyosemikarbazon) çinkonun (II) antimikrobiyal etkinliği

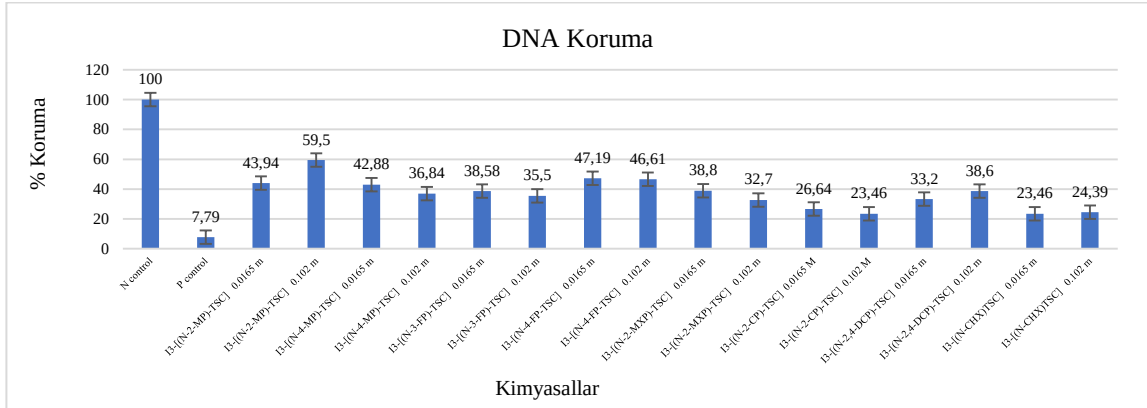
4.5. DNA Koruma

4.5.1. İzatin ve İzatin Tiyosekarbazon Türevlerinin DNA Koruması

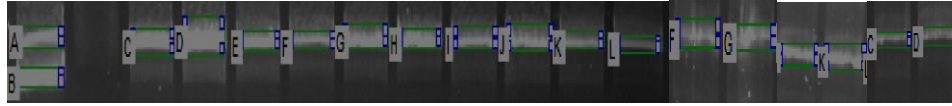
Sonuçlar, DNA hasarının, Tablo 4.3'te gösterildiği gibi, izatin ve izatin tiyosemikarbazon türevleri bileşikleri tarafından iyi bir korunmaya sahip olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada kullanılan bileşiklerin hepsinde iki farklı konsantrasyon kullanılmış (0,0165 ve 0,102 molar) ve bunların hepsi DNA koruma açısından farklı yüzdelere sergilemiştir. 0,102 molar konsantrasyona sahip I3 - [(N-2-MP) -TSC] bileşiği, en yüksek DNA koruma aktivitesine (% 59,5) sahip olarak kaydedilmiştir. İzatin tiyosemikarbazon ile N-4-florofenil içeren bu bileşiği, Şekil 4.3'te ve Resim No. 4.1'de gösterildiği üzere izatin tiyosemikarbazon ile birlikte N-2-metilfenil içeren I3 - [(N-4-FP-TSC] 0,0165 molar (47,19), ardından I3 - [(N-4-FP-TSC] 0,102 molar (% 46,6) ve I3 - [(N-2-MP) -TSC] 0,0165 molar (% 43,9) ile DNA koruma aktivitesi göstermiştir. Şaşırtıcı olan, bazı bileşiklerin düşük konsantrasyonun, Tablo 4.3.'da gösterilen yüksek konsantrasyondan daha koruyucu etki göstermesidir.

Tablo 4. 3. İzatin ve izatin tiyosemikarbazon türevlerinin DNA koruma yüzdeleri

Numune No.	Kimyasal adı	Ortalama%	SEM
	Negatif kontrol	100	0
	Pozitif kontrol	7,79	7,79
1	I3-[(N-2-MP)-TSC] 0.0165 M	43,94	9,33
	I3-[(N-2-MP)-TSC] 0.102 M	59,5	18,1
2	I3-[(N-4-MP)-TSC] 0.0165 M	42,88	9,09
	I3-[(N-4-MP)-TSC] 0.102 M	36,84	6,74
3	I3-[(N-3-FP)-TSC] 0.0165 M	38,58	7,26
	I3-[(N-3-FP)-TSC] 0.102 M	35,5	13,3
4	I3-[(N-4-FP-TSC] 0.0165 M	47,19	8,76
	I3-[(N-4-FP-TSC] 0.102 M	46,61	3,96
5	I3-[(N-2-MXP)-TSC] 0.0165 M	38,8	14
	I3-[(N-2-MXP)-TSC] 0.102 M	32,7	15,5
9	I3-[(N-2-CP)-TSC] 0.0165 M	26,64	2,91
	I3-[(N-2-CP)-TSC] 0.102 M	23,46	0
14	I3-[(N-2,4-DCP)-TSC] 0.0165 M	33,2	11,2
	I3-[(N-2,4-DCP)-TSC] 0.102 M	38,6	19,5
16	I3-[(N-CHX)TSC] 0.0165 M	23,46	0,46
	I3-[(N-CHX)TSC] 0.102 M	24,39	0,39



Şekil 4. 21. İzatin ve İzatin tiyosemikarbazon türevleri bileşiklerinin DNA koruma yüzdeleri ve plazmid DNA testinin jel görüntüsü



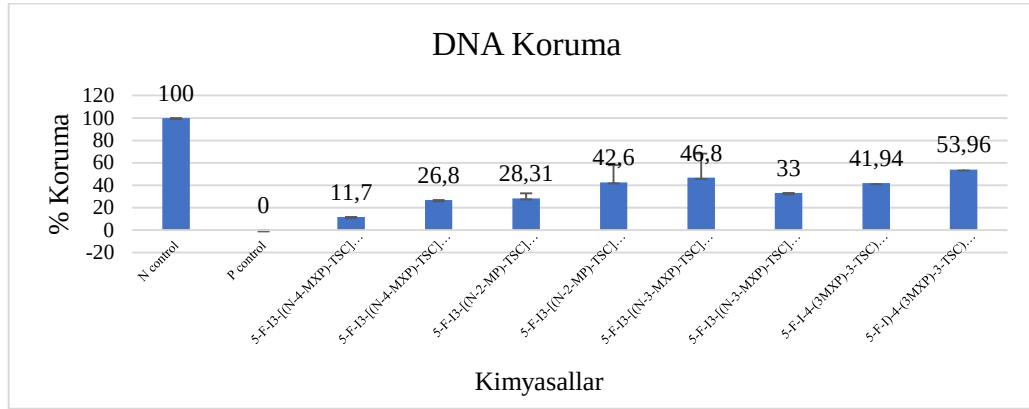
Resim 4. 1. İzatin ve izatin tiyosemikarbazon türevleri bileşiklerinin DNA koruma yüzdeleri ve plazmid DNA testinin jel görüntüsü

4.5.2. 5 Floro izatin Tiyosemikarbazon ve Türevlerinin DNA Koruması

Bu kimyasal bileşikler grubu üzerinde 5-Flo-ro-izatin tiyosemikarbazon ve türevlerinin tümü, DNA'nın korunmasında, orta dereceden iyi dereceye koruma çeşitliliği göstermiştir. 5-FI-4- (3MXP) -3-TSC) Z (II) 0,102 molar bileşiği en iyi koruma yüzdesini (%54) vermiştir. Tabloda 4.4 ve Şekil 4.22'te gösterildiği gibi bu bileşiği, içerdiği çinko (II) metal ve 3-Metoksifenil) -3-tiyosemikarbazon ile 5-F-I3 - [(N-3-MXP) -TSC] 0,0165 molar (% 46,8) ve 5-F -I3 - [(N-2-MP) -TSC] 0,102 molar (% 42,6) takip etmektedir

Tablo 4. 4. 5 Floro-izatin tiyosemikarbazon ve türevlerini, DNA koruma yüzdeleri

Numune No.	Kimyasal İsmi	Ortalama	SEM
	Negatif kontrol	100	0
	Pozitif kontrol	0	0
6	5-F-I3-[(N-4-MXP)-TSC] 0.0165 M	11,7	0
	5-F-I3-[(N-4-MXP)-TSC] 0.102 M	26,8	0
18	5-F-I3-[(N-2-MP)-TSC] 0.0165 M	28,31	4,58
	5-F-I3-[(N-2-MP)-TSC] 0.102 M	42,6	15,4
25	5-F-I3-[(N-3-MXP)-TSC] 0.0165 M	46,8	21,4
	5-F-I3-[(N-3-MXP)-TSC] 0.102 M	33	0
28	5-F-I-4-(3MXP)-3-TSC) Z(II) 0.0165 M	41,94	2,01
	5-F-I-4-(3MXP)-3-TSC) Z(II) 0.102 M	53,96	1,99



Şekil 4. 22. 5 Floro-İzatin tiyosemikarbazon ve türevlerinin bileşiklerinin DNA koruma yüzdeleri ve plazmid DNA testinin jel görüntüsü

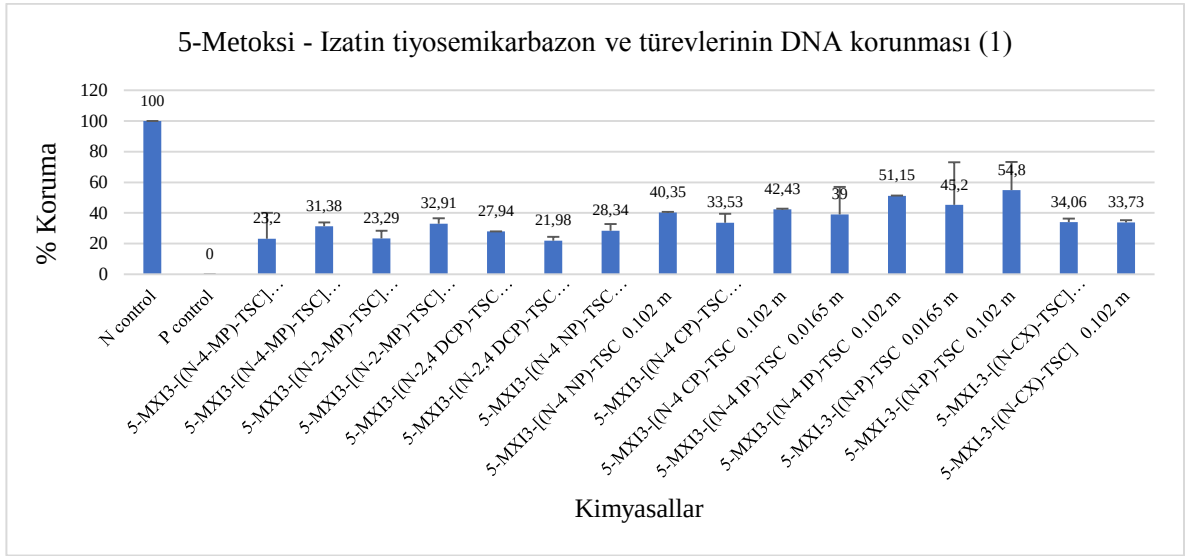
4.5.3. 5-Metoksi izatin Tiyosemikarbazon ve Türevlerinin DNA Koruması

Bu grupta, farklı yapıları olan elli farklı bileşiğin hepsi DNA korumaları için değişkenlik göstermiştir Tablo 4.5. % 50'den fazla DNA koruma sağlayan dört bileşik, 5-MXI-3 - [(NP) -TSC 0,102 molar, 5-MXI - [(N-3MXP) -TSC) 0,102 molar, 5-MXI3 - [(N'dir. -4 IP) -TSC 0.102 molar ve B (5-MI) -4-P) -3-TSC) N (II) 0,0165 molar sırasıyla yüzde 54,8, 54,33, 51,15 ve 50 DNA koruma özelliği göstermiştir. En düşük DNA koruması, Şekil 4.23 ve Şekil 4.24'de gösterildiği üzere 5-MXI3 - [(N-2,4 DCP) -TSC 0,102 molar

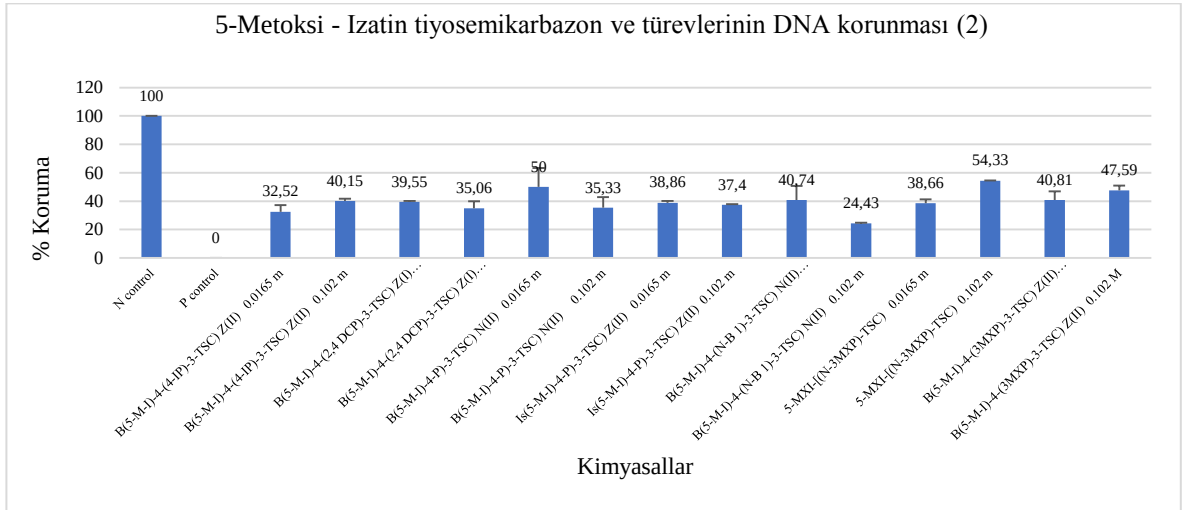
(% 21,9), 5-MXI3 - [(N-4-MP) -TSC] 0,0165 molar (% 23,29) ve 5-MXI3 - [(N-2-MP) -TSC] 0,0165 (%23,20) bileşiklerine aittir.

Tablo 4. 5. 5-Metoksi izatin tiyosemikarbazon ve türevlerinin DNA koruması

Numune No.	Kimyasal İsmi	Ortalama	SEM
	Negatif kontrol	100	0
	Pozitif kontrol	0	0
7	5-MXI3-[(N-4-MP)-TSC] 0.0165 M	23,2	16,8
	5-MXI3-[(N-4-MP)-TSC] 0.102 M	31,38	2,41
8	5-MXI3-[(N-2-MP)-TSC] 0.0165 M	23,29	5,03
	5-MXI3-[(N-2-MP)-TSC] 0.102 M	32,91	3,67
10	5-MXI3-[(N-2,4 DCP)-TSC] 0.0165 M	27,94	0
	5-MXI3-[(N-2,4 DCP)-TSC] 0.102 M	21,98	2,39
11	5-MXI3-[(N-4 NP)-TSC] 0.0165 M	28,34	4,41
	5-MXI3-[(N-4 NP)-TSC] 0.102 M	40,35	0,35
12	5-MXI3-[(N-4 CP)-TSC] 0.0165 M	33,53	5,99
	5-MXI3-[(N-4 CP)-TSC] 0.102 M	42,43	0,43
13	5-MXI3-[(N-4 IP)-TSC] 0.0165 M	39	17,9
	5-MXI3-[(N-4 IP)-TSC] 0.102 M	51,15	0,15
15	5-MXI-3-[(N-P)-TSC] 0.0165 M	45,2	27,9
	5-MXI-3-[(N-P)-TSC] 0.102 M	54,8	18,5
17	5-MXI-3-[(N-CX)-TSC] 0.0165 M	34,06	2,22
	5-MXI-3-[(N-CX)-TSC] 0.102 M	33,73	1,54
19	B(5-M-I)-4-(4-IP)-3-TSC) Z(II) 0.0165 M	32,52	4,77
	B(5-M-I)-4-(4-IP)-3-TSC) Z(II) 0.102 M	40,15	1,66
20	B(5-M-I)-4-(2,4 DCP)-3-TSC) Z(I) 0.0165 M	39,55	0,615
	B(5-M-I)-4-(2,4 DCP)-3-TSC) Z(I) 0.102 M	35,06	4,79
22	B(5-M-I)-4-P)-3-TSC) N(II) 0.0165 M	50	13,4
	B(5-M-I)-4-P)-3-TSC) N(II) 0.102 M	35,33	7,41
23	Is(5-M-I)-4-P)-3-TSC) Z(II) 0.0165 M	38,86	1,29
	Is(5-M-I)-4-P)-3-TSC) Z(II) 0.102 M	37,4	0,4
24	B(5-M-I)-4-(N-B 1)-3-TSC) N(II) 0.0165 M	40,74	9,9
	B(5-M-I)-4-(N-B 1)-3-TSC) N(II) 0.102 M	24,43	0,43
26	5-MXI-[(N-3MXP)-TSC] 0.0165 M	38,66	2,62
	5-MXI-[(N-3MXP)-TSC] 0.102 M	54,33	0,33
29	B(5-M-I)-4-(3MXP)-3-TSC) Z(II) 0.0165 M	40,81	6,16
	B(5-M-I)-4-(3MXP)-3-TSC) Z(II) 0.102 M	47,59	3,39



Şekil 4. 23. 5-Metoksi izatin tiyosemikarbazon ve türevlerinin bileşiklerinin DNA koruma yüzdeleri.



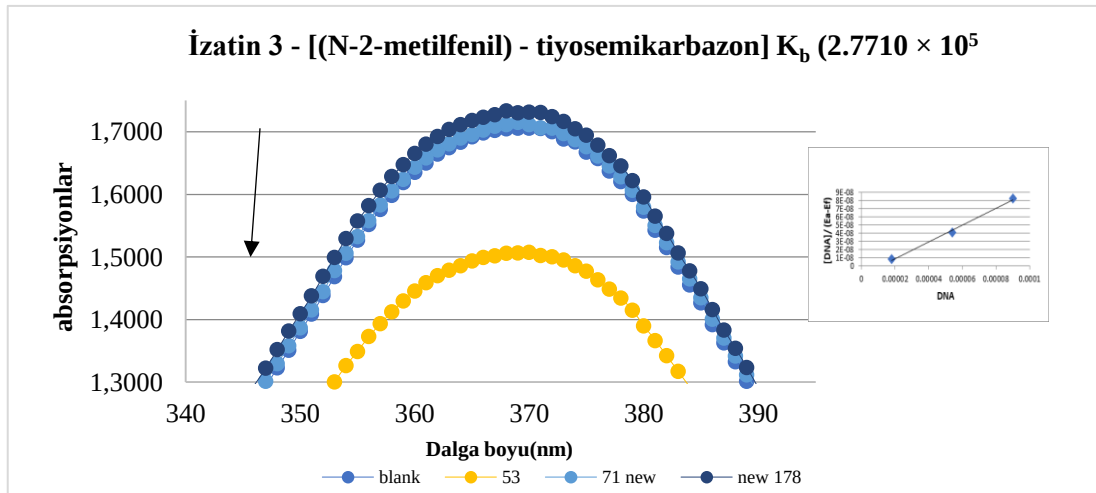
Şekil 4. 24. 5-Metoksi izatin tiyosemikarbazon ve türevlerinin bileşiklerinin DNA koruma yüzdeleri.

4.6. DNA Etkileşimleri

İzatin'in yeni tiyosemikarbazon türevleri buzağı timus DNA (CT-DNA) ile etkileşimin olup olmadığını görmek için ayrıca yeniden sentezlenmiştir. Elektronik absorpsiyon spektroskopisi, bileşiklerin DNA ile etkileşimlerini araştırmanın en yaygın yoludur. DNA'yı interkalasyon yoluyla bağlayan bileşikler genellikle aromatik bir kromofor ve baz DNA çiftleri arasında kuvvetli bir π - π istifleme etkileşimi içeren interkalasyon modundan dolayı hipokromik ve bathokromik ile sonuçlanır.⁹

4.6.1. I3-[(N-2-MP)-TSC]

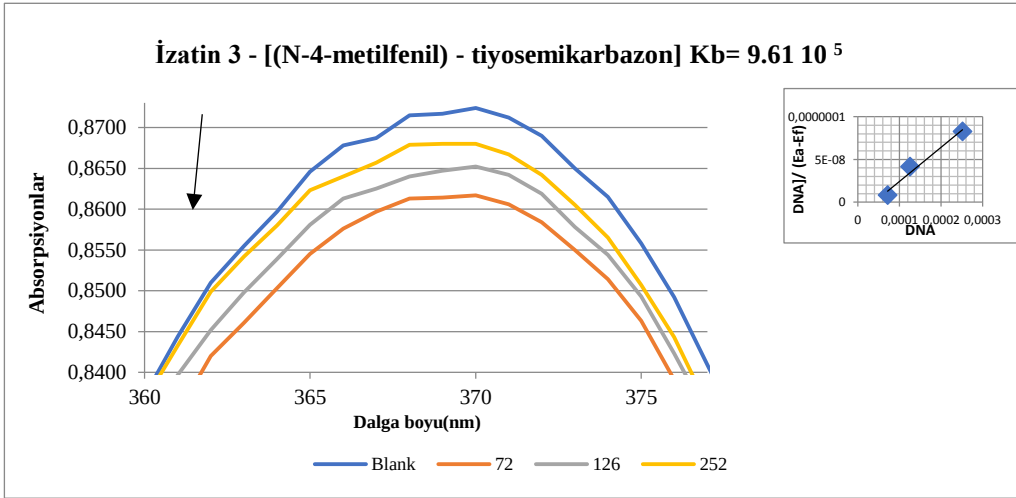
Bu bileşik, CT-DNA konsantrasyonu (0-52 ila 72-178 μ M) ile etkileşime giren sabit bir konsantrasyona (40 μ M) sahiptir ve dalga boyu 345-390 nm'de absorbe edilmiştir. CT-DNA ile I3 - [(N-2-MP) -TSC] için absorbans değeri, bileşiğin artan CT-DNA konsantrasyonları ile azalmıştır (Şekil 4.25). Sonuçlar bu bileşik ile CT-DNA arasında negatif bir korelasyon olduğunu göstermiştir. Bu sonuç, bileşik ve CT-DNA komplekslerinin artan CT-DNA konsantrasyonları ile absorbansı azalttığı ve bağlanma sabitinin K_b ($2,7710 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) olduğu anlamına gelmektedir.



Şekil 4. 25. CT-DNA yokken İzatin 3 - [(N-2-metilfenil) - tiyosemikarbazon] 'un spektral absorbansı (--) ve (__)CT-DNA varlığında CT-DNA miktarında artış durumundaki değeri. Bileşik = 40 μ M. Siyah ok (↓) artan CT-DNA konsantrasyonları ile absorbanstaki değişimi gösterir.

4.6.2. I3-[(N-4-MP)-TSC]

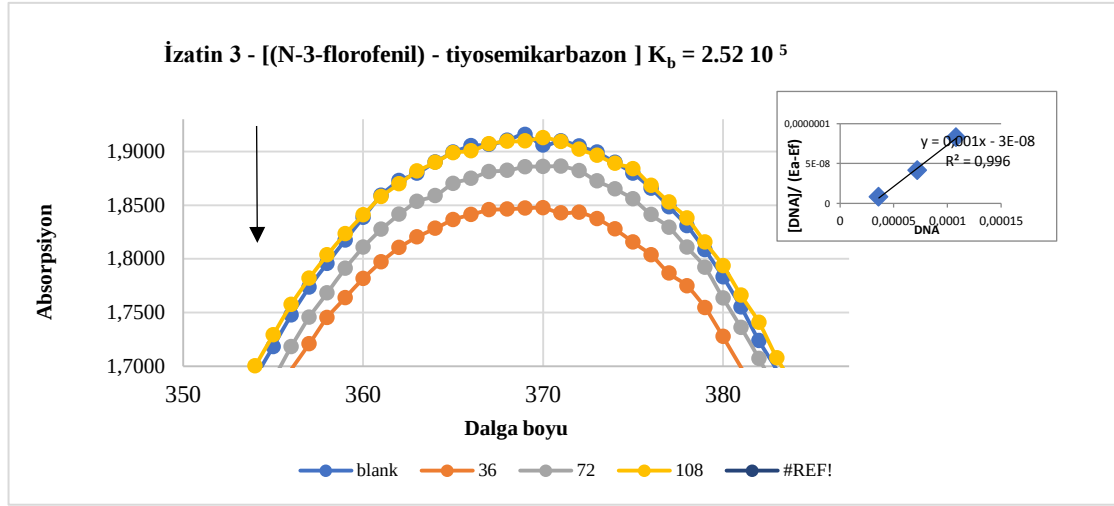
Bileşik I3 - [(N-4-MP) -TSC] sabit bir konsantrasyona (40 μ M) sahip ve CT-DNA (0-72 ila 126-178 μ M) ile etkileşime girmiştir. Dalga boyu 360–378 nm'de absorbe edilmiştir. Absorbans değeri I3 - [(N-4-MP) -TSC] ve CT-DNA kompleksi, artan CT-DNA konsantrasyonları ile azalmış ve bağlanma sabiti, Şekil 4.26'da gösterildiği gibi K_b ($9,61 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) idir.



Şekil 4. 26. CT-DNA yokken İzatin 3 - [(N-4-metilfenil) - tiyosemikarbazon]'un spektral absorbansı (--) ve (—) CT-DNA varlığında CT-DNA miktarında artış durumundaki değeri. Bileşik = 40 μ M. Siyah ok (↓) artan CT-DNA konsantrasyonları ile absorbanstaki değişimi gösterir.

4.6.3. I3-[(N-3-FP)-TSC]

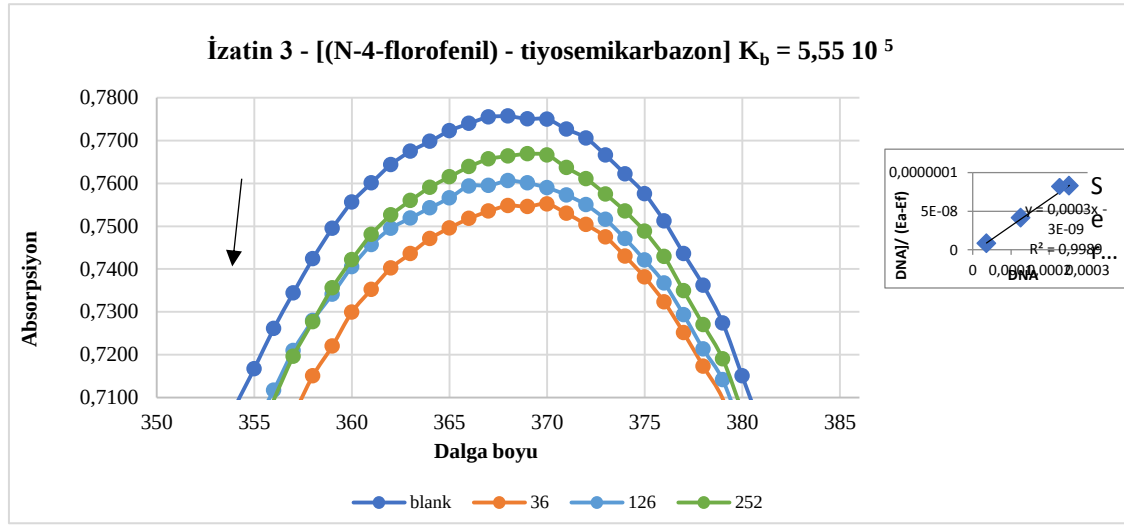
Bileşik I3 - [(N-3-FP) -TSC] sabit bir konsantrasyona (40 μ M) sahiptir ve CT-DNA (0-36 ila 72-108 μ M) ile etkileşime girmiştir. Dalga boyu 355-380 nm'de absorbe edilmiştir. I3 - [(N-3-FP) -TSC] ve CT-DNA kompleksi için absorbans değeri, artan CT-DNA konsantrasyonları ile azalmış ve Şekil 4.27'de gösterildiği gibi bağlanma sabiti K_b ($2,52 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) dir.



Şekil 4. 27. CT-DNA yokken İzatin 3 - [(N-3-florofenil) - tiyosemikarbazon 'un spektral absorpsiyonu (--) ve ()CT-DNA varlığında CT-DNA miktarında artış durumundaki değeri. Bileşik = 40 μ M. Siyah ok (↓) artan CT-DNA konsantrasyonları ile absorbanstaki değişimi gösterir.

4.6.4. I3-[(N-4-FP-TSC)]

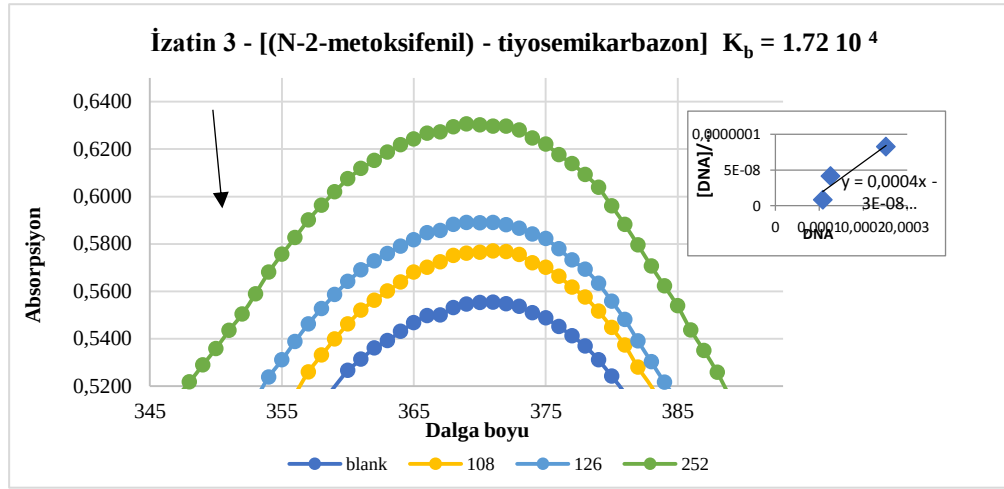
Bileşik I3 - [(N-4-FP-TSC)] sabit bir konsantrasyona (40 μ M) sahiptir ve CT-DNA (0-36 ila 126-252 μ M) ile etkileşime girmiştir. Dalga boyu 355-380 nm'de absorbe edilmiştir. I3 - [(N-4-FP-TSC)] ve CT-DNA kompleksi absorpsiyon değeri, CT-DNA konsantrasyonları arttıkça azalırken, bağlanma sabitinin K_b ($5,55 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) olduğu Şekil 4,28'de görülmektedir.



Şekil 4. 28. CT-DNA yokken İzatin 3 - [(N-4-florofenil) - tiyosemikarbazon 'un spektral absorbansı (--) ve (—) CT-DNA varlığında CT-DNA miktarında artış durumundaki değeri. Bileşik= 40μM. Siyah ok (↓)artan CT-DNA konsantrasyonları ile absorbanstaki değişimi gösterir.

4.6.5 I3-[(N-2-MXP) -TSC]

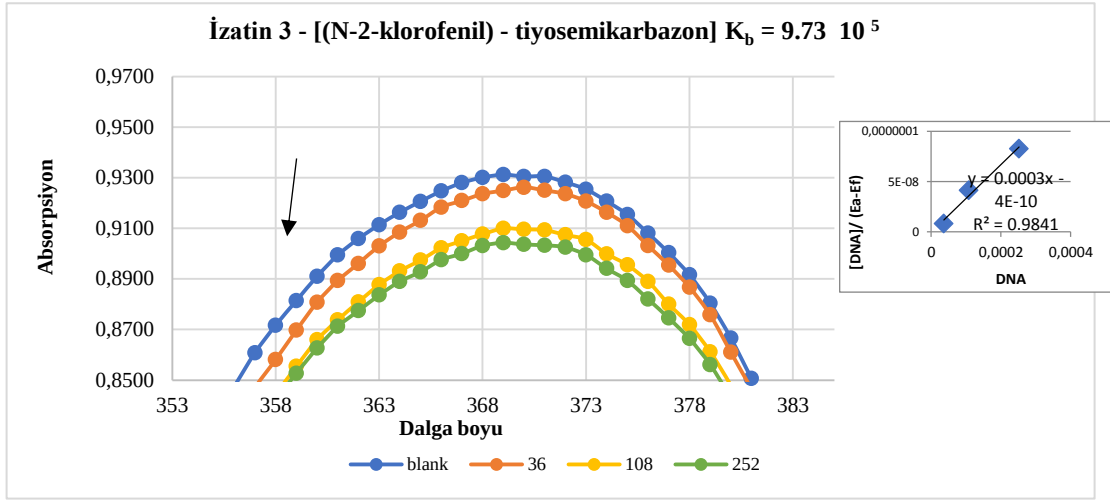
Bileşik I3 - [(N-2-MXP) -TSC] sabit bir konsantrasyona (40 μM) sahiptir ve CT-DNA (0-108 ila 126–252 μM) ile etkileşime girmiştir. Dalga boyu 348-390 nm'de absorbe edilmiştir. I3 - [(N-2-MXP) -TSC] ve CT-DNA kompleksi için absorbans değeri, artan CT-DNA konsantrasyonları ile azalırken, bağlanma sabiti Şekil 4.29'de gösterildiği gibi $K_b(1,72 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1})$ ' dir.



Şekil 4. 29. CT-DNA yokken İzatin 3 - [(N-2-metoksifenil) - tiyosemikarbazon]'un spektral absorbanı (--) ve (—) CT-DNA varlığında CT-DNA miktarında artış durumundaki değeri. Bileşik = 40μM. Siyah ok (↓) artan CT-DNA konsantrasyonları ile absorbanstaki değişimi gösterir.

4.6.6. I3-[(N-2-CP)-TSC]

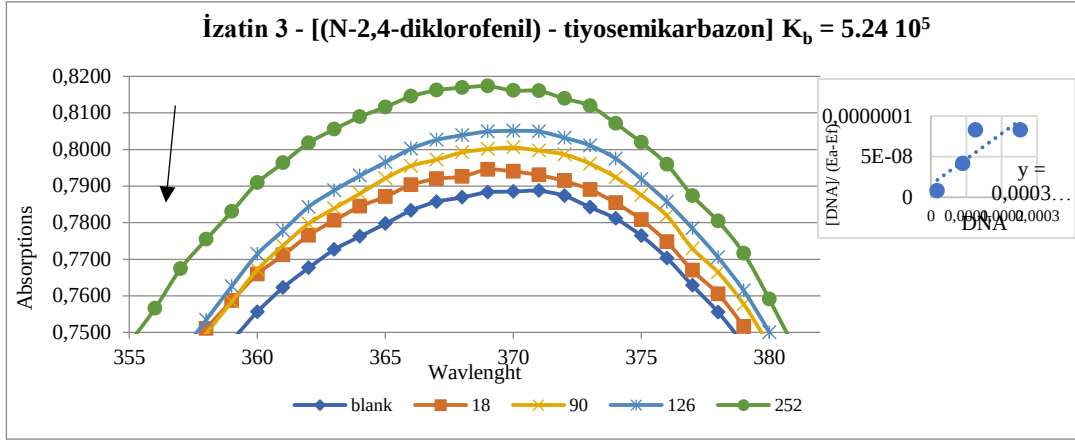
Bileşik I3 - [(N-2-CP) -TSC] sabit bir konsantrasyona (40 μM) sahiptir ve CT-DNA (36 - 108 - 252 μM) ile etkileşime girmiştir. Dalga boyu 355-380 nm'de absorbe edilmiştir. I3 - [(N-2-CP) -TSC] ve CT-DNA kompleksi için absorban değeri artan CT-DNA konsantrasyonları ile artmış ve Şekil 4.30'de gösterildiği gibi bağlanma sabiti $K_b \times (9,73 \times 10^5 \text{ M}^{-1})$ olarak bulunmuştur.



Şekil 4. 30. CT-DNA yokken İzatin 3 - [(N-2-klorofenil) - tiyosemikarbazon]'un spektral absorbansı (--) ve (—) CT-DNA varlığında CT-DNA miktarında artış durumundaki değeri. Bileşik= 40 μ M Siyah ok (↓) artan CT-DNA konsantrasyonları ile absorbanstaki değişimi gösterir.

4.6.7. I3-[(N-2, 4-DCP)-TSC]

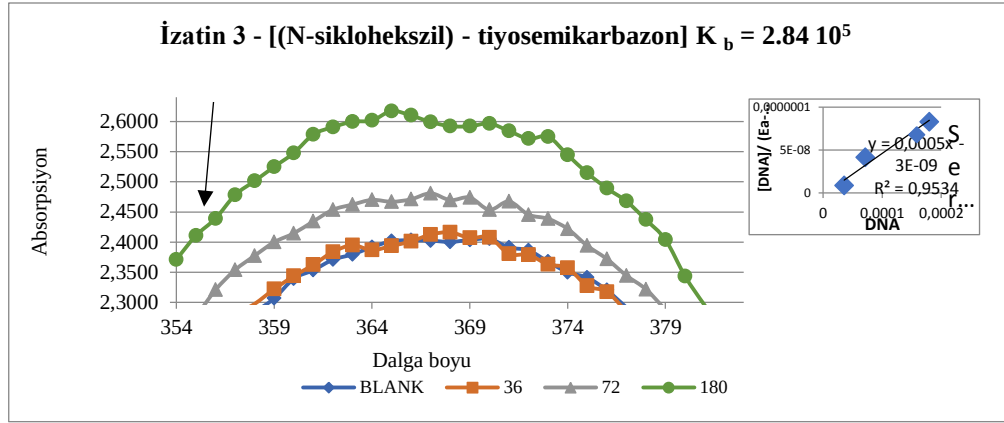
Bileşik I3 - [(N-2,4-DCP) -TSC] sabit bir konsantrasyona (40 μ M) sahiptir ve CT-DNA (0-18 ila 90-126-252 μ M) ile etkileşime girmiştir. Dalga boyu 355 - 380 nm'de absorbe edilmiştir. I3 - [(N-2, 4-DCP) -TSC] ve CT-DNA kompleksi için absorbans değeri, artan CT-DNA konsantrasyonları ile azalmış ve bağlanma sabiti, Şekil 4,31'de gösterildiği gibi K_b ($5,24 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) olarak kaydedilmiştir.



Şekil 4. 31. CT-DNA yokken İzatin 3 - [(N-2,4-diklorofenil) - tiyosemikarbazon]'un spektral absorbansı (--) ve (—) CT-DNA varlığında CT-DNA miktarında artış durumundaki değeri. Bileşik = 40 μ M. Siyah ok ($\downarrow$) artan CT-DNA konsantrasyonları ile absorbanstaki değişimi gösterir.

4.6.8. I3-[(N-CHX) TSC]

Bu bileşik I3 - [(N-CHX) TSC] sabit bir konsantrasyona (40 μ M) sahiptir ve CT-DNA (0-36 ila 72-180 μ M) ile etkileşime girmiştir. Dalga boyu 350-380 nm'de absorbe edilmiştir. I3 - [(N-CHX) TSC] ve CT-DNA kompleksi için absorbans değeri, artan CT-DNA konsantrasyonları ile azalmıştır ve Şekil 4,32'te gösterildiği gibi bağlanma sabiti, K_b ($2,84 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) olarak bulunmuştur.



Şekil 4. 32. CT-DNA yokken İzatin 3 - [(N-siklohekszil) - tiyosemikarbazon]'un spektral absorbansı (--) ve (—)CT-DNA varlığında CT-DNA miktarında artış durumundaki değeri. Bileşik = 40 μ M. Siyah ok ($\downarrow$)artan CT-DNA konsantrasyonları ile absorbanstaki değişimi gösterir.

Sabit bir konsantrasyondaki (40 μ M) bileşikler, CT-DNA konsantrasyonu (0-252 μ M) ile etkileşime girmiştir. Absorbe edilen dalga boyu 345-390 nm arasında değişmiştir. CT-DNA ve bileşik komplekslerinin absorbans değeri, bileşik I3 - [(N-2-CP) -TSC] dışındaki tüm bileşikler için azalmıştır. Sekiz bileşiğin ve DNA bağlayıcı maddelerin tümü güçlü bir absorpsiyon göstermiştir ve bileşik ve CT-DNA kompleksleri için absorbans değerleri, I3 - [(N-2-CP) -TSC] hariç tüm bileşiklerde artan CT-DNA konsantrasyonları ile azalmıştır. Bileşiklerin DNA bağlanma sabitlerinin değişimi aşağıdaki sırada çıkmıştır:

I3-[(N-2-MP) -TSC] K_b ($2,7710 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$)	I3-[(N-4-MP)-TSC] K_b ($9,61 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$)
I3-[(N-3-FP) -TSC] K_b ($2,52 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$)	I3-[(N-4-FP-TSC] K_b ($5,55 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$)
I3-[(N-2-MXP) -TSC] K_b ($1,72 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$)	I3-[(N-2-CP)-TSC] K_b ($9,73 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$)
I3-[(N-2, 4-DCP) -TSC] K_b ($5,24 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$)	I3-[(N-CHX) TSC] K_b ($2,84 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$)

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

5.1. Antimikrobiyal Etkinlik

5.1.1. İzatin ve İzatin Tiyosemikarbazon Türevlerinin Antimikrobiyal Etkinliği

Çalışmamızda, sentezlenen tüm bileşiklerimiz test edilen Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı *in vitro* olarak farklı antibakteriyal etkinlik sergilemiştir. Bu bileşiklerin farklı etkinlikleri, izatin ve tiyosemikarbazonun yanı sıra farklı kimyasal yapı kombinasyonları ile de ilişkilendirilmiştir. Bu bileşikler, yirmi bir patojenik bakteriye karşı antimikrobiyal etkinlik açısından değerlendirilmiş ve bu bakteriler % 52,4 oranında Gram pozitif bakterileri etkilerken % 47,6 oranında Gram negatif bakterileri etkilemişlerdir. Bu yirmi bir bakteri suşundan, izatin tiyosemikarbazon türev bileşiklerinden etkilenen on dört (% 66,7) suş olmuştur. Bu 14 bakteri suşundan % 64,2'i Gram pozitif ve % 37,5'i Gram negatiftir. *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) ve *S. lutea* ATCC 9341, bu bileşiklerden en çok etkilenen bakterilerdir. Sekiz bileşikten yedisi bu bakteri suşlarını inhibe etmiştir. Bunları 6 bileşik ile *S. pneumonia* ATCC 10015 bakterisi takip etmektedir. I3 - [(N-2-MXP) -TSC] ise bu gruptaki hiçbir bakteri suşunu etkilemeyen tek bileşik olarak bulunmuştur.

K. pneumonia, *P. aeruginosa*, *E. aerogenes* ATCC 13048, *Y. enterocolitica* ATCC 1501 ve *P. mirabilis* ATCC 2593 Gram negatif bakterilerinin her biri sadece bir bileşik tarafından inhibe edilmiştir. *P. vulgaris*, *E. coli* ve *S. marcescens* Gram negatif suşları, kullanılan bileşiklerin hiçbirisi tarafından inhibe edilmemiş ve bunlara karşı dirençli çıkmıştır. Pozitif kontrol geniş spektrumlu antibiyotikleri (Levofloksasin ve Zosyn) farklı inhibisyon sonları sergilemiştir. *K. pneumonia* ve *E. faecium* Levofloksasin'e dirençli çıkmış, ancak bileşik İzatin 3 - [(N-2,4-diklorofenil) - tiyosemikarbazon, hem *K. pneumonia* hem de *E. faecium* için çapı 7,5 mm olan bir inhibisyon zonu sergilemiştir. Dolayısıyla, bu bileşiğin Levofloksasin'den daha etkili olduğu anlamına gelmektedir. *P. aeruginosa*, *E. aerogenes* ATCC 13048, *S. pneumonia* ATCC 10015, *S. lutea* ATCC

9341 ve *P. mirabilis* ATCC 25933, zosyn geniş spektrumlu antibiyotiğe karşı dirençli çıkmış, ancak test edilen bileşiklerin bazıları tarafından etkilenmişlerdir.

Pakravan ve ark. (2013), çeşitli izatin-N-Mannich ve izatin-3 tiyosemikarbazonların ve ikame edilmiş indolinonların bazılarının Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel etkinlik gösterdiğini bildirmiştir⁸. Her ne kadar bu bileşiğin bileşimi bileşiklerimizden biraz farklı olsa da, sonuçlarımızla tutarlıdır. Çalışmamızda, *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) kullanılan test bileşiklerinin çoğundan etkilenmiştir. Ancak Rossolini ve ark. (2014) metisiline dirençli *S. aureus*'un (MRSA) antibiyotik direnci krizinde en büyük oyuncu olduğunu bildirmiştir.³⁷

Çalışmamız malzemelerin bileşimindeki küçük farklılıklara rağmen Khan ve Maalik (2015) 'in bileşiklerinin, *E. coli*, *S. aureus* *P. vulgaris*, *P. aeruginosa* ve *P. aeruginosa*'ya karşı referans antibiyotik amoksisilin ve norfloksasinden daha iyi antimikrobiyal etkinliğe sahip oldukları çalışmalarıyla uyumludur.⁴²

Zhang ve ark. (2015), minimum inhibisyon konsantrasyonuna sahip 51 İzatin-β-tiyosemikarbazon türevi bileşiğinden 20'sinin, metisiline dirençli *S. aureus* ve vankomisine dirençli *Enterococcus*'un büyümesini inhibe ettiğini bildirmiştir. Bu, “bilinen” İzatin-β-tiyosemikarbazon bileşiklerinin, klinik olarak izole edilmiş bir MRSA suşuna karşı önemli bir anti-Gram pozitif patojen aktivitesi sergilediği ilk çalışmadır. Bu sonuçlar, bu bakteri türlerine karşı sonuç veren sentezlenmiş bileşiklerimizin sonuçlarıyla tutarlıdır.⁴³

Sandra ve ark. (2008) karşılaştırma için Sulfametoksazol, trimetoprim ve klotrimazol incelemiş ve artan etkinlik sonucuna ulaşmışlardır. Tüm bileşikleri, *S. aureus*, *B. anthracis* (ligand hariç) ve *P. aeruginosa*'ya karşı trimethoprimden daha yüksek etkinlik göstermiş ve Hg (II) ile komplekslenmiş *E. coli*'ye karşı düşük etkinlik sergilerken, *P. mirabilis* Zn (II)'e karşı trimethoprimden daha iyi aktivite göstermiştir. Öte yandan trimethoprim ile Pd (II) kompleksleri aynı etkinliği sergilerken, *S. faecalis*'e karşı Hg (II) ve Pd (II) kompleksleri daha yüksek aktivite göstermiş. Zn (II) kompleksinin

trimetoprim ile aynı etkinliği göstermiştir. Bu sonuçlar çalışmamızın sonuçlarıyla tutarlıdır.⁸⁹

İzatin'in bakteri inhibisyonu mekanizması, proteazların inhibisyonu veya modülasyonunu, translasyonun başlatılmasını ve neo-vaskülarizasyonu ve tübülün polimerizasyonunu içermektedir.³¹

Metal tabanlı İzatin içeren sülfonamidlerini inceledikleri çalışmada Chohan ve ark. (2006) metal ligandlarının yanı sıra tüm ligandların *C. diphtheria* ve *S. typhi*'ye karşı zayıf etkinlik gösterdiği sonucuna ulaşmışlardır. Ayrıca çalışmalarında bütün bileşikler diğer bakteri suşlarına karşı orta derecede etkinlik göstermiştir. Bunun yanı sıra, tüm ligandların çinko (II) komplekslerinin tüm türlere oranla en etkili olduğunu bildirmişlerdir.⁸²

5.1.2. 5 Floro izatin Tiyosemikarbazon ve Türevlerinin Antimikrobiyal Etkinliği

Bu bileşik grubu, kimyasal yapılarının farklı pozisyonlarda metoksifenil veya metofenilinin yanında 5 Floro-izatin tiyosemikarbazonu içerir. Bu bileşikte, 5-F-I3 - [(N-4-MXP) -TSC] hariç bu bileşik için test edilen tüm bakteriler için farklı inhibisyon zonları ve antimikrobiyal etkinlikler kaydedilmiştir. Bunun nedenine yönelik net için bir açıklama olmamakla birlikte, N-4-metoksifenil'in pozisyonu buna neden olmuş olabilir.

Patela ve ark. (2006), antimikrobiyal çalışmanın, izatinin 5. pozisyonunda florin ve klor ve brom gibi maddelerle ikamesinin, bir dizi içinde daha etkin bileşikler ürettiğini ortaya koyduğunu bildirmiştir.⁹⁰ Çalışmamızda kullanılan bu yeni bileşikler, her iki kontrol pozitif antibiyotik ile karşılaştırıldığında bazı bakteri suşlarına karşı iyi bir etki göstermiş ve bazılarında geniş spektrumlu kontrol antibiyotiklerden 30 mm çapa kadar daha geniş inhibisyon zonu sergilemişlerdir. Bu bakteri suşları, *P. vulgaris*, *E. coli*, *S. marrescens*, *E. faecium*, *L. monocytogenes* ATCC 7644 ve *E. aerogenes* ATCC 13048'dir.

Bu gruptaki bileşikler, bu çalışmadaki en büyük gruptur ve diğer gruplarla karşılaştırıldığında Gram negatif bakterileri % 46,7 oranında etkilemiştir. Saito ve ark. (2007) *P. vulgaris* bakterisinin sıklıkla hastane kaynaklı kalıcı mikroorganizma olduğunu ve ayrıca birçok antibiyotiğe dirençli olması ve florokinolonlara ve geniş spektrumlu sefalosporin direncinde bir artışın görüldüğünden bu bakteri tedavisinin zor olduğunu bildirmiştir³⁴. Ancak bileşiğimiz dünyadaki antibiyotik direnci problemlerinden biri olarak kabul eden bu *S. enteritidis* ATCC 13076 ve *S. typhimurium* NRRLE 4463 bakteri suşuna karşı çok iyi bir etki sağlamıştır.

5-F-I4- (3MXP) -3-TSC) Z (II) bileşiği, bu gruptaki en zayıf bileşiktir ve çinko (II) metalin varlığına rağmen 9 mm çapında bir inhibisyon zonu ile sadece bir Gram pozitif bakteriyi *E. faecium*'u inhibe etmiştir. Bu sonuç, metal içeren bileşiklerin bakteriyel olarak daha fazla etkin olduğunu bildiren Varkey ve ark. (2013) ve Vaidya ve arkadaşlarının (2017) çalışmalarıyla tutarsızlık gösterirken^{81, 91} Hobman ve Crossman'ın (2014) çalışmasıyla örtüşmektedir.¹⁷

5.1.2. 5-Metoksi izatin Tiyosemikarbazon ve Türevlerinin Antimikrobiyal Etkinliği

Farklı pozisyonlarda farklı kimyasal ve metallerin yanı sıra izatin tiyosemikarbazonlu 5-metoksi'den oluşan bu bileşik grubundaki bileşiklerin çoğu, *E. faecium*'e karşı 18.7 mm inhibisyon gösteren 5-Metoksiİzatin 3 - [(N)-siklohekzil) - tiyosemikarbazon] ve *E. aerogenes* ATCC 13048'e karşı 10 mm çapında inhibisyon zonu sağlayan 5-Metoksiizatin 3 - [(N-4-iyodofenil) - tiyosemikarbazon] hariç, antibiyotikleri levofloksasin ve zosin kıyasla hafif antimikrobal etkinlik sağlamıştır. Bazı bileşikler, nikel ve çinko içermelerine rağmen, bu bakterilere karşı hafif etki göstermişlerdir. Nikel ve çinkonun inhibisyon açısından fark yaratmaması Varkey ve ark. (2013) ve Vaidya ve ark (2017) 'nin çalışmaları ile örtüşmemektedir.^{81, 91}

5.2. DNA Koruma

5.2.1. İzatin ve İzatin Tiyosemikarbazon Türevlerinin DNA Koruması

Bu çalışmadaki farklı kimyasalların, Fenton bileşiği tarafından üretilen hidroksil radikal hasarına karşı farklı konsantrasyonlarda koruma yeteneğini göstermek üzere DNA koruma testi gerçekleştirilmiştir.

Bu bileşikler, yeni bileşikler olması nedeniyle DNA koruması açısından bu bileşiklerle ilgili herhangi bir araştırma bulunmamaktadır. Bu nedenle, bu çalışmanın bulgularına başka bir çalışmaya referans vermek zordur. Osman ve ark (2015), tüm odun ekstralarının DNA koruması sergiledikleri çalışmalarında ardıcın diri odununun 10 mg/mL’ de, en yüksek DNA koruma aktivitesini verdiğini (% 84), bunu ardıcın 5 mg/mL’ nin % 83 ile takip ettiğini ve zeytin odununun 10 mg/mL’ ile % 71 oranında DNA koruma özelliği gösterdiğini rapor etmişlerdir.⁸⁷ Odunların kimyasal içerikleri düşünüldüğünde, koruma aktivitesinin bu kimyasal içerikten kaynaklandığı düşünülebilir.

Reaktif hidroksil radikalleri tüm biyolojik sistemlerde oluşur ve canlı hücrelerde hemen hemen her moleküle zarar verebilir. Ayrıca, DNA’da nükleotitleri birleştirir ve mutajenez ile sonuçlanan iplik bozulmasına neden olurlar. Bu nedenle, etkinlik için hidroksil radikalleri olan bu bileşikler bu gün daha önemli hale gelmiş ve bu kimyasallar iyi DNA korumaları göstermiştir.

5.2.2. 5 Floro izatin Tiyosemikarbazon ve Türevlerinin DNA Koruması

5-Floro-izatin tiyosemikarbazon ve bunun türevlerinde, 0.102 molar konsantrasyona sahip bileşik 5-FI) -4- (3MXP) -3-TSC) Z (II), diğer bileşiklere kıyasla % 54 oranında iyi koruma sağlamıştır. Bunu % 47 koruma oranıyla 5 -F-I3 - [(N-3-MXP) -TSC] 0,0165 M takip etmektedir. Bu bileşikte şaşırtıcı olan, düşük konsantrasyonun, yüksek konsantrasyona 0,102 M göre daha iyi koruma sağlamasıdır. 5-F-I3 - [(N-4-MXP) -TSC] bileşiği, en düşük koruma yüzdesini göstermiş ve bu bileşik, bu çalışmada kullanılan

bakterileri etkilememiştir. Aslında, antimikrobiyal etkinlikler ile diğer bileşikler üzerindeki DNA korumaları arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

5.2.3. 5 Metoksi izatin Tiyosemikarbazon ve Türevlerinin DNA Koruması

5-Metoksi - izatin tiyosemikarbazon ve türevleri de farklı konsantrasyonlarda farklı DNA koruma varyasyonlarına sahiptir. Bu gruptaki DNA koruması için en iyi bileşikler 5-MXI-3 - [(NP) -TSC) 0,102 molar, 5-MXI - [(N-3MXP) -TSC) 0,102 molar, 5-MXI3 - [(N) idi. -4 IP) -TSC 0.102 molar, B (5-MI) -4-P) -3-TSC) N (II) 0.0165 molar ve B (5-MI) -4- (3MXP) -3-TSC) Z (II) 0,102 molar, sırasıyla % 55,% 54,% 51,% 50 ve % 48 oranlarına sahiptir. Metallerin varlığı, DNA korumaları için herhangi bir etki yapmamıştır. Ayrıca bakteri üzerindeki etkileri ve DNA korumaları arasında bir ilişki bulunamamıştır. Çünkü bu bileşiklerin bazıları bakterileri etkilememiş, fakat DNA'ya karşı iyi koruma sağlamıştır. Yüksek konsantrasyonlu bileşiklerin (0,102 molar) birkaç tanesinin açıklama olmaksızın bu bazın aksine olması dışında, düşük 0,0165 mollerden daha iyi DNA konsantrasyonu verdiği kaydedilmiştir.

Genel olarak bu sentezlenmiş bileşikler, iyi bir DNA koruma yüzdesi sağlamıştır ancak ne yazık ki benzer bileşikler ve karşılaştırılacak çalışmalar literatürde bulunamamıştır.

5.3. DNA Etkileşimi

DNA etkileşimleri için, izatin ve izatin grubu tiyosemikarbazon türevleri, DNA etkileşmesine maruz bırakılmıştır. Bu bileşiklerin DNA etkileşimi, CT-DNA komplekslerini, bu komplekslerin CT-DNA'ya yönelik interkalatif aktivitesini yansıtan yüksek bir içsel bağlanma sabiti ($k_b = 1,72 \times 10^4 \text{ M}^{-1} - 9,73 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) sergilemiştir. Farklı araştırmacılar, tiyosemikarbazon ve CT-DNA arasındaki etkileşimi de incelemişlerdir. Bir çalışmada, IBT (İzatin- β -tiyosemikarbazon) ve CT-DNA etkileşimi araştırılmış ve bir prob olarak nötr kırmızı boya ve UV-Vis absorpsiyon spektrumu (70, 71 ve 72) kullanılmıştır.⁸⁶

Sonuçlarımız Amna Q. ve ark.'nın (2014) tiyosemikarbazon Schiff bazlarının izatin ile altı yeni Cu (II) komplekslerinin CT-DNA ile yüksek içsel bağlanma sabit etkileşimi verdiğini bildirdiği çalışma ile uyumludur⁹². İnsülin ve CT-DNA arasındaki etkileşimle ilgili bir başka çalışma, 7,4' lük bir pH'ta absorpsiyon, floresans ve dairesel dikroizm spektroskopileri açısından incelenmiştir. Karışımın absorbansının, CT-DNA konsantrasyonunun artmasıyla azaldığı ve bu çalışmada K_b değerlerinin, K_b değerlerimizle aynı olan $4,8 \times 10^5$, $1,0 \times 10^3$ and $5,4 \times 10^2$ olduğu sonucuna varılmıştır.⁹³ Çalışmamızda, CT-DNA ile bileşiklerin karışımının absorbansı, CT-DNA konsantrasyonunun artmasıyla azalmıştır. Dolayısıyla, sonuçlarımız Kong ve ark.'nın (2012) bir insülin ve CT-DNA karışımı ile absorbansta bir azalma ve artan DNA konsantrasyonu gösterdiği çalışma ile örtüşmektedir. Çalışmamız ayrıca Shahbazy ve ark.'nın (2017) izatin ve izatin-3-isonicotinilhydrazone (IINH) ve İzatin- β -tiyosemikarbazon (IBT) ve CT-DNA türevlerinin etkileşimi ile içsel bağlanma (K_b [IBT-CT-DNA] = $1,03 \times 10^5$ and K_b [IINH-CT-DNA] = $1,09 \times 10^5$ L mol⁻¹) gözlemledikleri çalışmalarıyla da uyumludur. Bu bileşikler kabaca diğer interkalasyon ile karşılaştırılabilir. Ancak izatin CT-DNA viskozitesinde önemli bir artış olmadan bir groove modu (K_b [İzatin-CT-DNA] = $7,32 \times 10^4$ L mol⁻¹) aracılığıyla CT-DNA'ya bağlanmaktadır.⁷²

DNA'yı interkalasyon yoluyla bağlayan bileşikler genellikle hipokromizm ve bathochromism ve aromatik kromofor ve deoksiribonükleik asit baz çiftlerinde meydana gelen bu istifleme etkileşimi ile sonuçlanır⁹⁴. İnterkalasyon modu, aromatik bir kromofor ve baz DNA çiftleri arasında güçlü bir π - π istifleme etkileşimi içerir.¹¹

BÖLÜM II

6. GİRİŞ

Antibiyotikler yaygın olarak çeşitli bulaşıcı hastalıklara karşı tedavi edici ve önleyici ilaç olarak kullanılır. Bununla birlikte, bu ilaçların gelişigüzel kullanımı, dünya çapında antimikrobiyal direnç patojenlerinin ortaya çıkmasına yol açan halk sağlığı sorunlarının en önemlilerinden biridir.^{50, 51} Böylece, bu durumun üstesinden gelmek için, şifalı otlar, şifalı bitkiler, canlı organizmalar gibi farklı kaynaklardan gelen yeni antimikrobiyal maddeleri bulmak ve halk sağlığı tehditlerini önlemek için tek başına veya başka kimyasal maddeler veya etkenler ile birlikte yeni alternatif antibiyotik sentezi yapmak için çeşitli araştırmalar yapılmıştır.⁵²

7. KURAMSAL ÇERÇEVE

Seftriakson, çeşitli bulaşıcı hastalıklara karşı tedavi edici ve önleyici ilaç olarak yaygın şekilde kullanılan geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Bununla birlikte, bu ilaçların gelişigüzel kullanımı, dünya çapında antimikrobiyal direnç patojenlerinin ortaya çıkmasına yol açan halk sağlığı sorunlarının en önemlilerinden biridir^{50, 51}. Böylece, bu durumun üstesinden gelmek için, şifalı otlar, şifalı bitkiler, canlı organizmalar gibi farklı kaynaklardan gelen yeni antimikrobiyal maddeleri bulmak ve halk sağlığı tehditlerini önlemek için tek başına veya başka kimyasal maddeler veya etkenler ile birlikte yeni alternatif antibiyotik sentezi yapmak için çeşitli araştırmalar yapılmıştır.⁵² Seftriakson, menenjit, idrar yolu enfeksiyonları, cilt enfeksiyonları, kulak enfeksiyonları, bel soğukluğu ve diğer hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan üçüncü kuşak ameliyat sonrası enfeksiyon riskini azaltmak için ameliyat öncesi de kullanılır.⁵³

Scott ve ark. (2008) ve Spector ve ark. (1987), seftriaksonun kan-beyin bariyeri boyunca taşındığını^{73, 74} ve Koomhin ve ark. (2012),⁷⁵ seftriakson tedavisinin hipokampustaki hipokampal cornu ammonis 1 (CA1) ve cornu ammonis 3 (CA3) nöronal sayısını arttırdığını ve Morris su labirentinde mekânsal öğrenme ve hafıza performansını arttırdığını bildirmişlerdir. Dentat girus ve sübiklüm arasındaki alanı oluşturan Cornu Ammonis (CA) alt alanı CA3, CA2 ve CA1 bölgesine bölünmüştür. Mümkün olan en yüksek kan ve beyin omurilik sıvısı (BOS) konsantrasyonlarını elde etmek için hastaya bakteriyel menenjit tedavisi için intravenöz seftriakson uygulanır.⁹⁹ *In vitro*, seftriakson, hücre duvarı sentezini inhibe ederek hem Gram pozitif hem de Gram negatif aerobik ve anaerobik bakterilere etki gösterir. Ayrıca, seftriakson, Penicillinas ve Cephalosporinas ve genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz dâhil olmak üzere çeşitli β -laktamazlar tarafından hidrolize karşı istikrarlı olsa da, artık birçok bakteri suşu bu ilaca dirençli hale gelmektedir.¹⁰⁰ Acharya ve ark. tifo ateşi olan hastalarda seftriaksonun farmakokinetiğini incelemişler ve bu hastaların seftriakson tedavisine iyi yanıt verdiğini belirtmişlerdir.¹⁰¹

Sayiner ve ark.¹⁰² Hem planlı hem de aşamalı bir mekanizma olarak yarı ampirik Parametre Yöntemini 6 (PM6) kullanarak fenilalanin ve seftriakson arasındaki etkileşimi incelemişlerdir. Kan-beyin bariyeri (BBB) suda çözünür maddelerin kandan sinir sistemine geçişini ve beyin parankimi penetrasyonunu da sınırlar ve bir bariyer görevi görür. Glukoz, amino asit öncüleri ve nörotransmitter gibi bazı özel taşıma sistemlerinin geçişini mümkün kılar.^{103, 76} Bununla birlikte, bariyer kolaylaştırılmış taşınım sistemi, beyin kılcal endotel lümen zarları üzerinde bulunur. Bu özellikler sayesinde, genellikle kan-beyin bariyeri arasında iki yönlü besin taşıma sistemi sağlanır.⁷⁷ Bu taşıma sistemi ayrıca fenilalanin, lösin ve diğer nötr amino asitler için nötr bir amino asit taşıma sistemi içerir.⁷⁸ Nötr amino asitlerin taşınmasında rol alan büyük nötr amino asit taşıyıcı tip 1 sistemi, beyinde aktif ilaç taşınmasına yönelik hedefler olarak yaygın şekilde kullanılır.⁷⁸ Beyni toksik ve zararlı bileşiklere tutarken, BBB ayrıca birçok ilaç molekülü için bir engel teşkil eder. Merkezi sinir sistemini (CNS) etkileyen hastalıklar için kullanılan ilaçlar bu engeli aşmada sınırlı bir yeteneğe sahiptir.⁷⁹ Beynin ilaç hedeflemesi ile ilgili çalışmalar Alzheimer, Parkinson, Huntington, amiotrofik lateral skleroz, multipl skleroz, inme, beyin travması, omurilik yaralanması, beyin kanseri gibi CNS hastalığına, AIDS, doğumsal ataksiler ve doğumsal metabolik hastalıklar gibi beyindeki viral enfeksiyonlara karşı gerçekleştirilmiştir.¹⁰⁴

Fenilalanin gerekli amino asitlerden biridir ve vücudumuzun sağlık için buna ihtiyacı vardır. Ancak bunu kendisini üretemez, yiyeceklerden elde edebilir^{54, 105}. Doğal olarak fenilalanin, proteinlerde bulunan doğal formunda annelerin anne sütünde bulunur⁷⁵. Fenilalanin, protein ve beyin kimyasallarını sentezlemek için ihtiyaç duyulan başka bir amino asit olan vücut içinde tiroşine dönüşür. Fenilalanin eksikliği kafa karışıklığı, enerji eksikliği, depresyon, uyuşukluk, hafıza sorunları, iştahsızlık gibi birçok sağlık sorununa neden olur.⁵⁴

Bu nedenle, bu çalışma fenilalanin ile seftriakson kombinasyonunun antimikrobiyal etkinlik açısından araştırmak için tasarlanmıştır. Bir seftriakson ve fenilalanin karışımının, farklı mikroorganizmalara karşı artan bir inhibisyon bölgesine neden

olduğunu gözlemlenmiştir. Bu çalışma, bazı patolojik durumların tedavisi için seftriaksonun kullanılabilir uygulamasını sağlamıştır.

8. MATERYAL VE YÖNTEM

8.1. Stok Çözeltilerinin Hazırlanması

Seftriaksonun 1mM stok çözeltileri ve fenilalaninin 1mM stok çözeltileri, steril damıtılmış su ile ve steril test tüplerinde hazırlanmıştır. Her stok çözeltiden, 500 µl (0,3 mol/L seftriakson ve 0,3 mol/L fenilalanin) alınmış ve fenilalanin ve seftriakson stok çözeltilisini elde etmek için aynı steril test tüpüne dökülmüştür.

8. 2. Mikroorganizma Suşları

Seftriakson, fenilalanin ve bunların kombinasyonunun antibakteriyel etkinliğini test etmek için farklı Gram pozitif ve Gram negatif bakteri türleri seçilmiştir. Seftriakson *Candida albicans*'a duyarlı değildir, ancak fenilalanin eklendikten sonra herhangi bir etkisinin olup olmadığını görmek için üzerinde deney yapılmıştır. Mantar suşu olarak *C. albicans* ATCC 26555 kullanılmıştır. Kullanılan suşlar Tablo 8.1’ de gösterilmiştir.

Tablo 8. 1. Seftriakson ve fenilalanin deneyi için kullanılan mikroorganizma türleri

Bakteri türleri	Gram (+)	Gram (-)
<i>K. pneumonia</i>		X
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	X	
<i>P. vulgaris</i>		X
<i>E. coli</i>		X
<i>S. marrescens</i>		X
<i>S. epidermis</i>	X	
<i>Alfa haemolytica Streptococcus</i>	X	
<i>Enterococcus faecium</i>	X	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		X
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	X	
<i>Enterococcus durans</i>	X	
<i>Salmonella kentucky</i>		X
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048		X
<i>Candida albicans</i> ATCC 26555	maya	

Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC), üç tip bakteri *E. coli*, *S. marrescens* ve *E. faecium* için seftriakson ile gerçekleştirilmiştir. Bu bakterilerin seçilme sebebi, seftriaksonun stok çözeltisi ile test edilen farklı bakterilerde en büyük inhibisyon zone vermiştir. Farklı konsantrasyonlarda MIC analizi için makro titrasyonu kullanılmıştır.

Makro seyreltme, normal damıtılmış su kullanılarak yapılmış, standart test tüplerinin her birine 1 ml steril damıtılmış su ilave edilmiştir. Makro titrasyon, çift seyreltme kullanılarak birinci tüpe Seftriakson stok çözeltisinden ilave edilerek yapılmıştır. Steril diskler, her seyreltmeden 50 µl doldurulmuş ve seyreltmenin bakteriler üzerindeki etkisini görmek için bakteri plakaları kullanılmış ve sonra konsantrasyon hesaplanmıştır.

8. 3. İnokulumun Hazırlanması

İnokulum, seçici olmayan bir ortam olan Nutrient agar kullanılarak 18 ila 24 saatlik bir agar plakasından seçilen izole edilmiş kolonilerin doğrudan bir sıvı besi yeri süspansiyonu kullanılarak hazırlanmıştır. Süspansiyon, 0,5 McFarland bulanıklık standardına eşdeğer bulanıklık elde etmek için ayarlanmış ve antibakteriyel analiz için kullanılmıştır.

8. 4. Antibakteriyel Etkinlik

Antibakteriyel aktivite, Andrews'ün disk difüzyon yöntemi standardına dayanan 14 farklı mikroorganizma suşu ve *C. albicans*'a karşı incelenmiştir.⁹⁸ Muller Hinton agar ortamı hazırlanmış ve sterilize edilmiş, ardından ortalama 4.0-0.5 mm derinlik verecek şekilde 100 mm steril petri kabının üzerine dökülmüştür.^{87, 105} Steril 5 mm çapındaki kağıt disklere 50 µl seftriakson ve fenilalanin çözeltisi uygulanmıştır.^{87, 105} Seftriakson ve fenilalanin çözeltileri ile yüklenen diskler, solventi buharlaştırmak için steril koşullarda 37 °C'de 18-20 saat kurumaya bırakılmıştır. Çözeltinin yüklenmesi sırasında, bir pipet ucu ile disk üzerinde aşırı basınç oluşmasını önlemek için önlem alınmıştır. Sıcaklığın dengelenmesi için diskler kullanımdan önce yaklaşık 1-2 saat oda

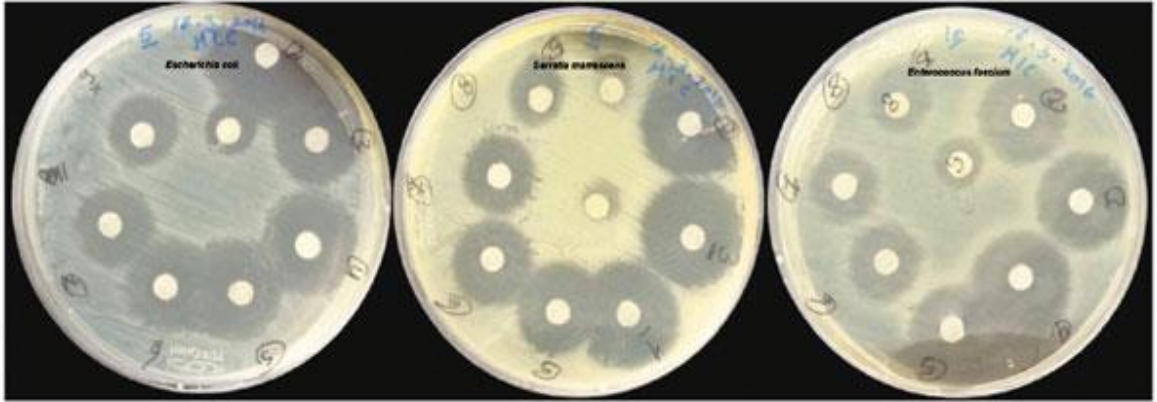
sıcaklığında bırakılmıştır. Böylece, sıcak oda havası soğuk kaplara ulaştığında oluşabilecek yoğunlaşma miktarı minimuma indirilmiştir. Her bakteri suşu ve *C. albicans* türünün her biri, 5 ml'lik sıvı besiyerine inoküle edilmiş ve inokulasyon, 37 °C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Normal steril tuzlu su çözeltisi hazırlanmış ve 5 ml'lik test tüplerinde sterilize edilmiştir. Her bakteri süspansiyonu steril tuzlu su çözeltisi tüpünün bir tüpüne steril damlalık ile damla damla türbidite, 0,5 (Hücre oluşturuucu birim) 10^8 CFU McFarland standartlarına eşit olana kadar ilave edilmiştir. Daha sonra önceden hazırlanmış bakteri süspansiyonu, Muller Hinton agar besiyeri petri kabına pamuk steril pamuklu çubuklarla yayılmış ve seftriakson, fenilalanin süspansiyonu ve bunların karışımı ile yüklenen diskleri uygulamadan önce birkaç dakika süreyle bir kabinde kurumaya bırakılmıştır. İnkübe edilen plakalar, 37 °C'de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. Daha sonra test organizmalarına karşı disk içeren inhibisyon zonları ölçülerek antibakteriyel etkinlik hesaplanmıştır.

8. 5. İstatistiksel Analiz

Her bakteri suşu için beş tekrar ile deneyler gerçekleştirilmiştir. Tedavi etkilerinin anlamlılığı, tek yönlü ANOVA ve Minitab 15'in genel doğrusal modeli (GLM) ile % 5 olasılık seviyesinde belirlenmiştir.

9. BULGULAR VE TARTIŞMA

Seftriakson, β -laktam antibiyotik grubuna aittir ve genellikle enfeksiyon hastalıkları için kullanılır. Bunun yanında, çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda nöroprotektif etkilerinin olduğu gösterilmiştir ^{95,96}. Fenilalanin, diğer amino asitlerin biyosentezi ve birçok protein ve enzim için önemli bir fonksiyon gibi önemli bir role sahiptir. Bu amino asit, dopamin ve norepinefrin nörotransmitterlerinin tirozin ve biyosentezinin dönüşümünden sorumludur. D-formu bir ağrı kesici olarak işlev görürken, fenilalaninin L-formu proteinlere dâhil edilir. Fenilalaninin bu özellikleri nedeniyle, fenilalaninin seftriakson ile birlikte antimikrobiyal etkinliği incelenmiştir. Bu amaçla, ilk olarak seftriaksonlu üç bakteri türü için MİK saptanmıştır (Şekil 9.1). Seftriakson için optimum MİK değeri 0.000675 g / ml'dir. MİK analizinin tüm sonuçları Tablo 9.1 'de gösterilmiştir. Seftriakson ile MİK tespit edildikten sonra, fenilalanin, tüm mikroorganizmalar için sadece antimikrobiyal analizde kullanılmıştır. Beklendiği gibi, fenilalanin herhangi bir antibakteriyel etkinlik göstermemiştir. Son olarak, seftriakson ve fenilalanin karıştırılmış ve bütün bakteri ve mantar suşlarına karşı birleşik etkinliklerini anlamak için disk difüzyon yöntemi ile incelenmiştir.

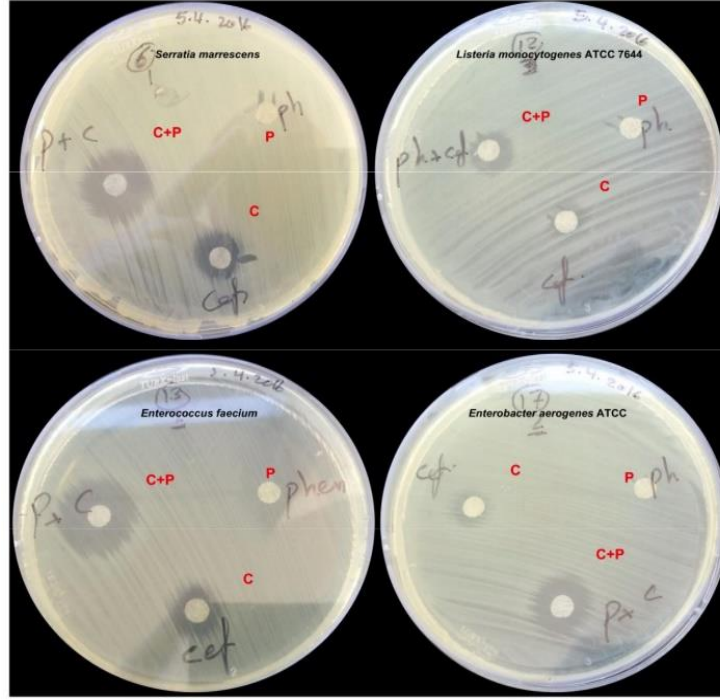


Şekil 9. 1 *E. coli*, *S. marrescens* ve *E. faecium*'un seftriakson inhibisyon zonları MİK analizi.

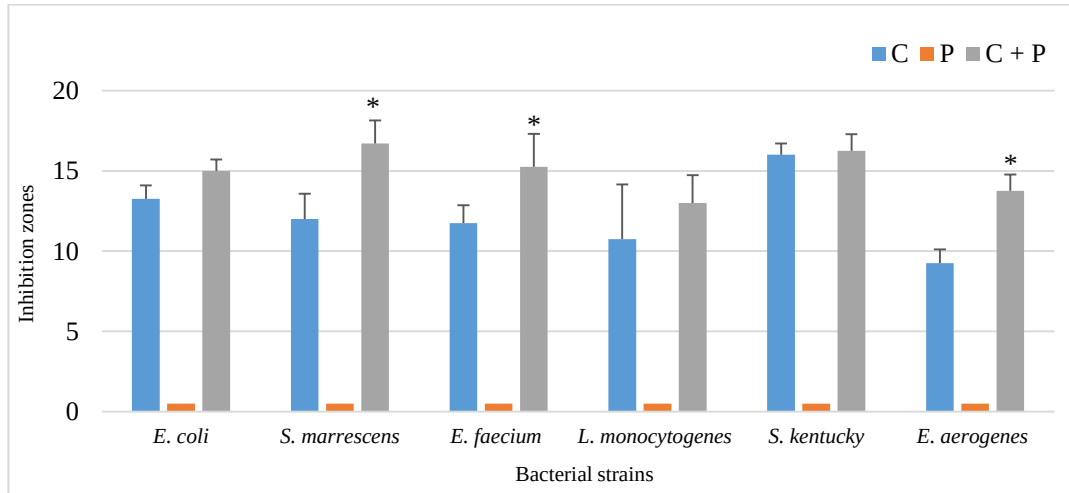
Tablo 9. 1. *Seftriaksonun MİK analizi.*

Bakteri Türü	Seftriakson (g\ml)(mm)									
	0.1729	0.0864	0.0432	0.0216 1	0.0010 80	0.0054 0	0	0.0013 51	0.0006 75	0.0003 37
<i>E. coli</i>	28	26	22	20	20	18	17	15	10	0
<i>S. marrescens</i>	25	25	23	23	20	18	15	11	0	0
<i>E. faecium</i>	24	23	22	21	20	16	15	13	10	0

Test edilen bakteri ve mantar suşlarının çoğu insan ve hayvanlar için patojeniktir ve farklı hastalık türlerine neden olur. Bu çalışmada, Tablo 8.1'de gösterildiği gibi 13 suştan dokuz tanesi hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakteri için tek başına seftriaksona karşı direnç göstermiştir. Sonuçlar, MİK'li seftriaksonun 6 - 15 mm arasında değişen inhibisyon zonu ile altı farklı bakteri türünü (% 46) etkilediğini göstermiştir. Şaşırtıcı şekilde, seftriakson ve fenilalanin karışımı uygulamasında, seftriaksonun tek başına kullanımı karşılaştırıldığında inhibisyon zon çapında bir artış olduğunu gözlenmiştir. Tüm bakteri suşlarının tek başına fenilalaninden etkilenmemesine rağmen, seftriakson ve fenilalanin kombinasyonu açıkça *E.coli*, *S. marrescens*, *E. faecium*, *L. monocytogenes*, *S. kentucky* ve *E. aerogenes* bakteri suşlarında inhibisyon zonlarında bir artışa neden olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 9.2). Özellikle bunlardan üçü (*S. marrescens*, *E. faecium* ve *E. aerogenes*), tek başında seftriaksondan farklı olarak istatistiksel olarak ($p < 0.05$) farklı olan seftriakson ve fenilalanin karışımından açıkça etkilenmiştir (Şekil 9.3).



Şekil 9. 2. *E. coli*, *S. marrescens*, *L. monocytogenes* ve *E. aerogenes*'in seftriakson ve fenilalanin karışımı inhibisyon zonları



Şekil 9. 3. Seçilen bakteriyel suşlarına karşı seftriakson, fenilalanin ve bunların bir karışımının mm olarak inhibisyon zonları açısından antimikrobiyal etkinliği. C: seftriakson, P: fenilalanin, C+P: seftriakson ve fenilalanin karışımı. ANOVA analizi, seftriakson ile seftriakson ve fenilalanin karışımı arasındaki ortalama farkları ($\pm$ SEM) $P < 0.05$ (*) olarak göstermektedir.

L. monocytogenes ve *S. marrescens*, seftriaksondan sırasıyla 11 mm ve 12 mm'lik inhibisyon zonuyla etkilenmiştir. Ayrıca, en yüksek ve en düşük inhibisyon zonları sırasıyla *S. marrescens* ve *L. monocytogenes*'de gözlenmiştir. Ek olarak, Gram negatif bakteri suşları, *E. coli*, *S. marrescens*, *E. faecium* ve *S. kentucky*, seftriakson ve fenilalanin kombinasyonundan, Gram pozitif bakteri suşlarından daha fazla etkilenmiştir. Seftriakson ve fenilalanin stok çözeltilerinin karıştırılmasının, sadece seftriakson veya fenilalaninden daha fazla inhibisyon zon bölgesi sağladığı çok açıktır. Bu çalışma, MİK'li seftriaksonun altı (% 46) bakteri türüne karşı 6 ila 15 mm arasında inhibisyon zonuyla antibakteriyel etkinliğe sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca iki stok çözeltilisinin (fenilalaninli seftriakson) birlikte eklendiği ve sadece seftriakson karşılaştırıldığında inhibisyon zonları çapında bir artışa neden olduğu gözlenmiştir. Kan beyin bariyerinde, taşıyıcı kolaylaştırılmış taşınım sistemleri için fenilalanin kullanılmaktadır. Seftriakson esas olarak merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarına ve diğer sistem enfeksiyon sistemlerine uygulanır.⁹⁷

10. SONUÇLAR

Özetle, antibiyotik direncini artıran bakteriyel enfeksiyonun neden olduğu hastalıkların yüksek oranda görülme sıklığı, ilaç etkileşimi ve DNA korumaları konularının tıbbi araştırmalarda daha aciliyet gerektirme nedenidir. Bu tezde, 5-Floro-izatin, 5-Metoksi ve metal kompleksi ile birleştirilen izatin-tiyosemikarbazonlarla birleştirilen yirmi yedi farklı kimyasal bileşiğin farklı biyolojik özellikleri sunulmuştur. Bu kimyasal bileşikler, kimyasal yapılarına göre, izatin ve izatin türevleri, 5-Floro-izatin tiyosemikarbazon türevleri ve 5-Metoksi-izatin tiyosemikarbazon türevleri olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Bu bileşikler, yirmi bir farklı Gram pozitif ve Gram negatif bakteriye karşı antimikrobiyal etkinliği araştırmak için ve ayrıca DNA koruma ve DNA etkileşimleri açısından incelenmiştir. Kimyasal kompleksler, bu tezde kullanılan bakteriler için farklı derecede orta seviyede inhibisyon zonları gösterirken, Gram pozitif MRSA esas olarak bu bileşiklerden etkilenmiştir. İzatin ve izatin türevlerinde İzatin 3 - [(N-siklohekszil) -tiyosemikarbazon] bileşiği, kullanılan en etkili bileşiktir. *S. aureus* ve *S. lutea* ATCC 9341 bakterilerine karşı daha büyük bir inhibisyon bölgesi gözlenirken (14 mm), bunu *S. pneumoniae* ATCC 10015 (13 mm) takip etmiştir. Grup 5-Floro-izatin tiyosemikarbazon türevlerinde ise 5-floroizatin 3 - [(N-2-metofenil) -tiyosemikarbazon] Gram negatif bakterilerden *P. vulgaris*, *S. Marrescens* ve *E. coli* için sırasıyla 30, 23 ve 20 mm ile en iyi ve en geniş inhibisyon zonunu göstermiştir.

Test edilen bu bileşikler, toksisite çalışmalarından sonra gelecekteki tedaviler için faydalı olabilir. Bileşiklerin farklı bakteri türlerine karşı farklı etkinlikleri, izatin tiyosemikarbazon, 5-Floro-izatin tiyosemikarbazon türevleri veya 5-Metoksi-izatin tiyosemikarbazon türevleri ile birleştirildiğinde farklı kimyasal yapılarla bağıntılı olabilir. Geniş spektrumlu antibiyotikler levofloksasin ve zosyn pozitif kontrol olarak kullanılmış ve bazı bakteriler bunlara direnç göstermiştir.

Genel olarak, bu tezdeki tüm bileşiklerin DNA'ya karşı koruyucu özelliği bulunmakta ve koruma oranları % 11,7 -% 59,5 arasında değişmiştir. Yirmi yedi bileşiğin tümü için iki

farklı konsantrasyon kullanılmıştır (0,0165 ve 0,102 M) ve I3-[(N-2-MP)-TSC] 0,102 M en yüksek DNA koruma oranına sahiptir. Bunu 5-MXI-3-[(N-P)-TSC bileşiği 0,102 M konsantrasyon ile (54.8%) izlemektedir. Ardından 5-MXI-[(N-3MXP)-TSC] 0,102 M (54,33%), B(5FI)-4-(3MXP)-3-TSC Z(II) 0,102 M (54%), 5-MXI3-[(N-4 IP)-TSC 0,102 M (51,15%), 5-MXI3-[(N-4 IP)-TSC 0,102 M. (50%) bileşikler DNA koruma aktivitesi göstermiştir.

İzatin-tiyosemikarbazonlara ait 8 kimyasal madde, DNA etkileşimlerini değerlendirmek için ayrıca kullanılmıştır. Bu bileşiklerin CT-DNA ile etkileşime girmeleri hesaplanmıştır. Her kompleks farklı bir konsantrasyona sahiptir (0-252 μ M arasında değişen) ve absorpsiyon dalga boyu 345-390 nm arasında değişmektedir. DNA etkileşimleri hesaplamalarında yüksek içsel bağlanma sabiti elde edilmiştir ($K_b = 1,72 \times 10^4 \text{ M}^{-1} - 9,73 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) Sentezlenen izatin tiyosemikarbazon türevleri arasında yapı etkinlik ilişkilerinin ve uygun modifikasyonun daha fazla araştırılması bakteri veya kanser hücreleri için daha etkili ilaç katkıları sağlayabilir.

Sadece bakteriyel suşlarda ve fenilalanin ile kombinasyon halinde kullanılan seftriakson antibiyotiğinin kullanılması sonucunda zon çaplarındaki değişiklikler ölçülmüş ve sonuçlar *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Özellikle merkezi sinir sistemini etkileyen ilaçlarda, hedefe yönelik ve düşük dozlarda, ideal antibiyotik kullanımı için vazgeçilmez olan ve minimal yan etkileri olan az sayıda hedef antibiyotik ile tedavi edilir. Fenilalanin, akut bakteriyel menenjitin, antibiyotiklerin kan beyin bariyeri boyunca geçişini kolaylaştırmada ve daha düşük bir antibiyotik iyileştirici terapötik etki sağlamasında özellikle etkili olduğu durumlarda bir seçenek olabilir. Bu araştırma, bu iki önemli molekülün birlikte kullanılmasının patojenik bakteri suşları üzerinde sinerjik bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Seftriaksonun fenilalaninli antimikrobiyal uygulamalarının bulaşıcı hastalıkların tedavisi için yeni bir yol açabileceğine inanılmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Grewal, S. A., (2014). İzatin Derivatives with Several Biological Activities, *International Journal of Pharmaceutical Research*, 6(1).
2. Joaquim, F. M., Simon, J. G., & Angelo, C. P. (2001). The Chemistry of İzatin: Review from 1975 to 1999, *Journal Braz. Chem. Soc*, 12 (3), 273-324.
3. Khan, A. F., & Maalik, A. (2015). Advances in Pharmacology of İzatin and its Derivatives, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* October, 14(10): 1937-1942.
4. Manju, P., Neeraj, K. S., Priyanka, & Jha, K.K. (2011). The synthetic and biological multiplicity of İzatin: a review *Journal Adv. Sci. Res*, 2(2), 35-44.
5. Bhanupriya, B., Devender, P., Nadeem S., Shamsheer A., & Waquar, A. (2010). Search for Biological Active İzatins: A Short Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 2(4), 229-235
6. Mathur, G., & Nain, S. (2014). Recent Advancement in Synthesis of İzatin as Anticonvulsant Agents: A Review. *Med chem*, 4: 417-427. doi:10.4172/2161-0444.1000173
7. Bhattacharya, S.K., Mitra, S.K. & Acharya, S.B. (1991). The anxiogenic activity of İzatin, a putative biological factor, in rodents. *J Psychopharmacol* 5, 202–206.
8. Pakravan, P., Kashanian, S., Khodaei, M. M., & Harding, F. J. (2013). Biochemical and pharmacological characterization of İzatin and its derivatives: from structure to activity. *Pharmacological Reports*, (65) 313-3.
9. Hossain, S., C. M. Zakaria, M. C., & E-Zahan, K. (2017). Structural and Biological Activity Studies on Metal Complexes Containing Thiosemicarbazone and İzatin Based Schiff Base: A Review. *Asian J. Research Chem.* 10(1).
10. Aliasghar, J., Dariush K., Erik D., Chanaz S., & Jean M. B. (2007). Synthesis, Antibacterial, Antifungal and Antiviral Activity Evaluation of Some New bis-Schiff Bases of İzatin and Their derivatives Molecules, (12) 1720-1730.
11. Parvaneh, P., & Shahla, M. (2015). Study on the Interaction between İzatin- β -Tiyosemikarbazon and Buzağı Timus DNA by Spectroscopic Techniques. *Iran J Pharm Res.*, 14(1), 111–123.

12. Jouad, E. M., Larcher, G., Allain, M., Riou, A., & Bouet G. M. (2001). Synthesis, structure and biological activity of nickel (II) complexes of 5-methyl 2-furfural thiosemikarbazon. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 86 (2-3), 565-571.
13. Rakesh, T., Naimish, C., & Manish, K. S. (2011). Synthesis and characterization of some new thiosemicarbazide derivatives and their transition metal complexes, *Chem. Pharm. Res.*, 3(2), 290-297.
14. de Almeida, S.M., Lafayette, E.A., da Silva, L.P., Amorim C.A., de Oliveira, T.B, Ruiz, A.L., de Carvalho, J.E., de Moura, R.O., Beltrão, E.I., de Lima, M. C., de & Carvalho, J. L.(2015). Synthesis, DNA Bnding, and Antiproliferative Activity of Novel Acridine-Thiosemikarbazon Derivatives, *Int J Mol Sci.*16(6):13023-42.
15. Al-Romaizan, N. A., Makki, S.T. M., & Abdel-Rahman, M.R. (2014), Synthesis of New Fluorine/Phosphorus Substituted 6-(2'-Amino Phenyl)-3-Thioxo- 1,2,4-Triazin-5(2H, 4H)One and Their Related Alkylated Systems as Molluscicidal Agent as against the Snails Responsible for Bilharziasis Diseases, *International Journal of Organic Chemistry*, (4) 154-168.
16. Sonawane, P. R., & Tripathi, R. R. (2013), The chemistry and synthesis of 1H-indole-2,3-dione (Ízatin) and its derivatives. *International Letters of Chemistry, Physics, and Astronomy*, 7(1) 30-36.
17. Hobman, L. J., & Crossman, C. L. (2014). Bacterial antimicrobial metal ion resistance. *Journal of Medical Microbiology* 64: 471-497
18. World Health Organization. Antimicrobial resistance: global report on surveillance (2014).
19. Harris, G. L., Foster, J. S., & R.G. Richards, G. R. (2002), An introduction to *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifying and quantifying *S. aureus* adhesions in relation to adhesion to biomaterials: review, *European Cells, and Materials* (4) 39-60.
20. Rao, Q., Shang, W., Hu, X., & Rao, X. (2015), *Staphylococcus aureus* ST121: a globally disseminated hypervirulent clone, *Journal of Medical Microbiology*, (64), 1462–1473
21. Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, F. M., & Di Ilio, C., (2013). *Escherichia coli* in Europe: An Overview, *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 10, 6235-6254.
22. Tian, L., Tan, R., Chen, Y., Sun, J., Liu, J., Qu, H., & Wang, X. (2016). Epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in a teaching

hospital: factors related to the carbapenem resistance and patient mortality, Antimicrobial Resistance and Infection Control 5(48)

23. Ruh, E., Gazi, U., Güvenir, M., Süer, K., & Çakir, N. (2016). Antibiotic resistance rates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from a university-affiliated hospital in North Cyprus, Turk Hij Den Biyol Derg, 73(4): 333 - 344
24. Ortqvist, A., Hedlund, J., & Kalin, M. (2005). *Streptococcus pneumoniae*: epidemiology, risk factors, and clinical features, Semin Respir Crit Care Med. 26(6):563-74.
25. File T. M. Jr. (2006). Clinical implications and treatment of multiresistant *Streptococcus pneumoniae* pneumonia Clin Microbiol Infect, 12 (3): 31–41
26. Nachamkin, I., Lynch, R., J., & Dalton, P. H., (1982). Evaluation of a Rapid System for Species Identification of Alpha-Hemolytic Streptococci, Journal of Clinical Microbiology, 16. (3) 521-524
27. Regli, D. A., & M. J., (2015). *nterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment, Front Microbial, 6: 392.
28. Moreno, Z. L., Paixão, R., Gobbi, D. D., Raimundo, C. G., Ferreira, P. T., Moreno, M. A., Hofer, E., Reis, M. C., Mattél, R. G., & Matté, H. M. (2014). Characterization of antibiotic resistance in *Listeria* spp. isolated from slaughterhouse environments, pork and human infections. Journal of Infection in Developing Countries, Tramaniglio, 8(4)416-423.
29. Forstinus, O. N., Dickson, Ihenriochi Dickson, I. D. & Chinyere, Q. A. (2015). Epidemiology of Salmonella and Salmonellosis, International Letters of Natural Sciences (47) 54-73.
30. A. Hejazi, A., & F. R. Falkiner, R. F. (1997). *Serratia marcescens*, J. Med. Microbiol. 46, 903-912
31. Yang, H., Cheng, J., Hu, L., Zhu, Y., & Li, J. (2012). Mechanisms of antimicrobial resistance in *Serratia marcescens* African Journal of Microbiology Research 6(21)4427-4437.
32. Falcão, J. P. & Falcão, D.P. (2006). Importance of *Yersinia enterocolitica* in medical microbiology, Journal of basic and applied pharmaceutical sciences, 27(1):9-19.

33. Wei Jia, W., Li, G., & Wang, W., (2014). Prevalence and Antimicrobial Resistance of Enterococcus Species: A Hospital-Based Study in China. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 11, 3424-3442.
34. Saito, S. R., Okugawa, W., Kumita, K., Sato, T., Chida, N., Okamura, K., Moriya, K., & Koike, K. (2007). Clinical epidemiology of ciprofloxacin-resistant *Proteus mirabilis* isolated from urine samples of hospitalised patients. *Clinical Microbiology and Infection*, 13 (12)1204-1206
35. Pendleton, J. N., Gorman, S. P. & Gilmore, B. F. (2013). Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther.* (11) 297-308.
36. Suay-García, B., & Pérez-Gracia, M.T. (2014). The Antimicrobial Therapy of the Future: Combating Resistances. *Jounrnal Infect. Dis. Ther.* (2)146.
37. Rossolini, G. M., Arena, F., Pecile, P., & Pollini S. (2014), Update on the antibiotic resistance crisis. *Curr Opin Pharmacol.* (18) 56-60
38. Raynerö C. & Munckhof, W. J., (2005). Antibiotics currently used in the treatment of infections caused by *Staphylococcus aureus*. *Intern Med J.* 35(2)3-16.
39. Fernández, J., Bert, F., Hélène, M., Chanoine, N. (2016). the challenges of multi-drug-resistance in hepatology, 65 (5) 1043–1054/
40. Foster, J, T. (2017). Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects, *FEMS Microbiology Reviews*, 41(3) 430–449.
41. Jang, H. W., Yoo, H. D., & Park, W. S., (2011). Prevalence of and Risk Factors for Levofloksasin-Resistant *E. coli* Isolated from Outpatients with Urinary Tract Infection. *Korean J Urol.* 52(8): 554–559.
- Khan, A. F., & Maalik, A. (2015). Advances in Pharmacology of İzatin and its Derivatives, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* October, 14(10): 1937-1942.
42. Zhang, X. M., Guo, H., Li, Z. S., Song, F. H., Wang, W. M., Dai, H. Q., Zhang, L. X. & Wang, J. G. (2015). Synthesis and evaluation of İzatin- β -tiosemikarbazonas as novel agents against antibiotic-resistant Gram -positive bacterial species. *Eur J Med Chem.* 28(101):419-30.
43. Giriya, S.V., AshokBabu, K. & Prathyusha, K. (2013). Comparative study and synthesis of some 5-Fluoro İzatin Schiff Bases and evaluation of their pharmacological actions, *International Journal of PharmTech Research*, 5(3) 1404-1409.

44. El-Faham, A., Hozzein, N. W., A.M.Wadaan, A.M., Khattab, N. S., Ghabbour, A. H., KunFun, H. & Rafiq-Siddiqui, M. (2015). Microwave Synthesis, Characterization, and Antimicrobial Activity of Some Novel İzatin Derivatives, *Journal of Chemistry ID* 716987, 8.
45. Travers, A., & Muskhelishvili, G., (2015). DNA structure and function. *FEBS Journal*. DOI: 10.1111/febs.13307.
46. Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., J. Rhodes, J. C., & Telser, J., (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence, *Molecular and Cellular Biochemistry* 266: 37–56.
47. de Almeida, S.M., Lafayette, E.A., da Silva, L.P., Amorim C.A., de Oliveira, T.B, Ruiz, A.L., de Carvalho, J.E., de Moura, R.O., Beltrão, E.I., de Lima, M. C., de & Carvalho, J. L.(2015). Synthesis, DNA Bnding, and Antiproliferative Activity of Novel Acridine-Tiosemikarbazon Derivatives, *Int J Mol Sci*.16(6):13023-42.
48. Mostafa, K. R., Ahmad Desoky, M. M., Nabawia, M. I. & Ali, A. M. (2013). Synthesis, characterization, DNA interaction, thermal and *in vitro* biological activity investigation of some Ni(II)-İzatin bishydrazone complexes, *Journal of the Iranian Chemical Society*; 11, 4; 1147-1163
49. Hashem, S., Nasrollah, A. & Rajabi, M., (2013). Rational antibiotic prescribing: a local issue or global concern. *EXCLI J*; 12: 384-95.
50. Walsh, C.T., Timothy, A.W. (2014). Prospects for new antibiotics: a molecule-centered perspective. *J Antibiot*; 67: 7-22.
51. Ozkan, O.E., Gokhan, Z. & Akça M, et al. (2015). DNA protection, antioxidant, antibacterial and enzyme inhibition activities of heartwood and sapwood extracts from juniper and olive woods. *RSC Adv*; 5: 729-50.
52. Balant, L., Dayer, P., & Auckenthaler, R. (1985). Clinical pharmacokinetics of the third generation cephalosporins. *Clin Pharmacokinet*; 10(2): 101-43.
53. <http://umm.edu/health/medical/altmed/supplement/phenylalanine2\2016> University of Maryland and medical center, (2016).
54. Kandemirli, F., *et al* (2012). Quantum Chemical Calculations for some İzatin Tiosemikarbazon. Tomofumi Tada, *Quantum chemistry – molecules for innovations* (25-58). Published by InTech Janeza Trdine 9, 51000 Rijeka, Croatia.

55. Sunita, A., Chaudhari, P., Vasant, M. P. Nilesh, P., Kiran, G. *et al.* (2016). Synthesis of novel thiosemicarbazide derivatives of disubstituted n-arylmaleimides, world journal of pharmaceutical research, (5)4, 172-180.
56. Sagdinc, S., Köksoy, B., Kandemirli, F., Bayari, H. S., (2009), Theoretical and spectroscopic studies of 5-fluoro-İzatin-3- (N-benzyltiosemikarbazon) and its zinc(II) complex, Journal of Molecular Structure, (917) 63–70
57. Pelosi, G. (2010), Tiosemikarbazon Metal Complexes: From Structure to Activity, The Open Crystallography Journal, 21(3)16-28.
58. Garcia F. V., Mallinson, D., Alexiou, P., Khadra, I., Mullen, A. B., Pelecanou, M., Sagnou, M., & Lamprou, D. A. (2017). İzatin tiosemikarbazons promote honeycomb structure formation in spin-coated polymer films: concentration effect and release studies RSC Adv., (7)12945–12952.
59. Akmatov, M. K., Mehraj, J., Gatzemeier, A., Stroßmüller, J., Witte, W., Krause, G. & Pessler, F. (2014). Serial home-based self-collection of anterior nasal swabs to detect *Staphylococcus aureus* carriage in a randomized population-based study in Germany. Int. J. Infect. Dis. (25) 4–10.
60. Naghavi-Behzad, M., *et al.*, (2015), *Staphylococcus aureus*: resistance pattern and risk factors J Anal Res Clin Med, 3(1): 43-50.
61. Evans, E. M., & B. Titlow, B. W. (1998). Levofloxacin selects fluoroquinolone-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* less frequently than ciprofloxacin, Journal of Antimicrobial Chemotherapy 41, 285–288.
62. Collignon, P., (2009). Resistant *Escherichia coli*, We Are What We Eat, *Clinical Infectious Diseases*, 49, Issue 2, 15 202–204.
63. Olorunmola, O. F., Kolawole, O. D., & Lamikanra, A. (2013). Antibiotic Resistance and Virulence Properties in *Escherichia Coli* Strain from Cases of Urinary Tract Infections. Afr J Infect Dis. 7(1)1–7.
64. Chhetri, A., Manandhar, A., Shah Y, Simkhada, R.C., Paudyal, R., Amatya, J. & Shrestha, J. (2014). Comparison of Antibiotic Susceptibility of Levofloxacin with Other Commonly Tested Antibiotics Against *Salmonella Enterica* Serovar (Typhi And Paratyphi A). NJMS 03(1).
65. Bhattacharya, S.K., Mitra, S.K. & Acharya, S.B. (1991). The anxiogenic activity of İzatin, a putative biological factor, in rodents. J Psychopharmacol 5, 202–206.
66. Nathani, R. B., Pandya, S. K., Jeni, M. M. & Pate, R. M. (2011). Synthesis and antimicrobial activity of some new İzatins derivatives. Der Pharma Chemica, 3(4):367-372

67. Nirmal, R., Ajay Babu.Ch., & Prasad Rao, M (2010). Synthesis and antimicrobial evaluation of novel schiff bases analogue of 3-(4-Amino) Phenylimino) 5- Fluoroindolin-2-one. International Journal of Pharma and Bio Sciences. Vol.1/Issue-3
68. Louis J. L., Christe B., Mona S., Karine M., Emmanuelle V., Didier B., & Jean-C. R. (2014), Optimization of a DNA Nicking Assay to Evaluate *Oenocarpus bataua* and *Camellia sinensis* Antioxidant Capacity, Int. J. Mol Sci. 15(10): 18023–18039.
69. Louis-Jérôme Leba, Christe Brunschwig, Mona Saout, Karine Martial, Emmanuelle Vulcain, Didier Bereau, and Jean-Charles Robinson (2014), Optimization of a DNA Nicking Assay to Evaluate *Oenocarpus bataua* and *Camellia sinensis* Antioxidant Capacity, Int. J. Mol Sci. 15(10): 18023–18039.
70. Goldstein S., Meyerstein D. & Czapski G. (1993), The Fenton reagents. Free Radic. Biol. Med. 15:435–445.
71. Karas V. O., Westerlaken, I., & Meyer A. S. (2013), Application of an *in vitro* DNA protection assay to visualize stress mediation properties of the Dps protein, J Vis Exp. 31; (75).
72. Shahbazy, M., Pakravan, P. & Kompany-Zareh, M. (2017), Multivariate spectrochemical analysis of interactions of three common Ízatin derivatives to Buzağı Timus DNA *in vitro* . Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 35(12).
73. Scott, V.M., William, A.P., Kristin, K.J., Lori, K. & Joseph, A..P. (2008). Safety of ceftriaxone sodium at extremes of age. Expert Opin Drug Saf; 7(5): 515-23.
74. Spector, R. (1987). Ceftriaxone transport through the blood-brain barrier. J Infect Dis; 156(1): 209-11.
75. Koomhin P, Tilokskulchai K, Tapechum S. (2012) Ceftriaxone improves spatial learning and memory in chronic cerebral hypoperfused rats. Sci Asia; 38: 356-63.
76. Pollay, M. (1996). Blood-Brain Barrier, Cerebral Edema. In: Wilkins RH, Rengachary SS, Ed. Neurosurgery. New York, Mc Graw Hill Book Co.; 335-44.
77. Pardridge, W. M., (2003). Blood-brain barrier drug targeting: the future of brain drug development. Mol Interv; 3(2): 90105.
78. Tsuji, A. (1999). Tamai II. Carrier-mediated or specialized transport of drugs across the blood- brain barrier. Adv Drug Deliv Rev; 36(2-3): 277-90.

79. Pardridge, W. M. (2005). The blood-brain barrier: a bottleneck in brain drug development. *NeuroRx*, 2 (1): 3-14.
80. Ganim, A.M., Baloglu, C. M., Aygun, A., Altunoglu1, C. Y., Sayiner, S. H., Kandemirli, F., Fatih Sen, F. (2018). Analysis of DNA protection, interaction and antimicrobial activity of İzatin derivatives *International Journal of Biological Macromolecules*. 09.084
81. Varkey, J. A., Dlamini, D. M., Mansuetus, B. A., & Tiruneh, T. A. (2013). Germicidal Action of Some Metals/Metal Ions in Combating *E. coli* Bacteria in Relation to Their Electro-Chemical Properties *Journal of Water Resource and Protection*, 5, 1132-1143
82. Chohan, H. Z., Shaikh, U. A. & Naseer, M. M., (2006), Metal-based İzatin-bearing sulfonamides: their synthesis, characterization and biological properties, *Appl. Organometal. Chem.* 20: 729–739
83. Mesropyan, E. G. & Avetisya, A. A. (2009). New İzatin Derivatives, *Russian Journal of Organic Chemistry*, 45(11) 1599 – 1607.
84. Anand, P. M., Rudra, M., Rajendra, J., & Santosh, G. (2012). Synthesis of New VO(II), Co(II), Ni (II) and Cu(II) Complexes with İzatin-3-Chloro-4-Floroaniline and 2-Pyridinecarboxylidene-4-aminoantipyrine and their antimicrobial studies, *Mycobiology.*, 40 (1), 20–26.
85. Benesi, H. A. & Hildebrand, J. H. (1949). Spectrophotometric investigation of the Interaction of Iodine with aromatic hydrocarbons. *J. Am. Chem. Soc.*, 71, 2703–2707.
86. Sirajuddin, M. & Ali, S., Badshah, A. (2013). Drug–DNA interactions and their study by UV Visible, Fluorescence spectroscopies, and cyclic voltammetry. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 124, Page NO: 1-19.
87. Osman, E. O., Gokhan, Z.; Mehmet, A.; Mehmet, C. B. (2015). DNA protection, antioxidant, antibacterial and enzyme inhibition activities of heartwood and sapwood extracts from juniper and olive woods. *RSC Adv.*, 5, 729-50.
88. Dirk, G. & Edgar, S. (1996). Protection of DNA during Preparative Agarose Gel Electrophoresis against Damage Induced by Ultraviolet Light, *Bio. Techniques*. 21, 898-903
89. Sandra, S. K.; Blaga C. R.; Sofija P. S.; Svetlana, S. Antimicrobial activity of some İzatin-3- tiosemikarbazon complexes *J. Serb. Chem. Soc.* 2008. 73 (1) 7–13

90. Patela, A., Baria, S., Talelea, G., Patela, J., & Sarangapanib, M. (2006). Synthesis and Antimicrobial Activity of Some New İzatin Derivatives, Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 4: 249-254.
91. Vaidya, Y. M., McBain, J. A., Butler, A. J., Craig E. Banks, E. C. & Whitehead, A. K. (2017). Antimicrobial Efficacy and Synergy of Metal Ions against *Enterococcus faecium*, *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* in Planktonic and Biofilm Phenotypes. Scientific RepoRts, 7: 5911
92. Amna, Q. A., Siang G. T., Naser E., Mohamed B. K. A. & Abdul Majid, A. M. (2014). Synthesis of copper (II) complexes of İzatin tiosemikarbazon derivatives: *In vitro* anti-cancer, DNA binding, and cleavage activities. *Polyhedron*, 74, 6–15.
93. Kong, L.; Liu, Z.; Hu, X.; Liu, S.; Li, W. Interaction between insulin and Buzağı Timus DNA, and quantification of insulin and Buzağı Timus DNA by a resonance Rayleigh scattering method. *Microchimica Acta*, 179(3-4), 307-313.
94. Sun, H., Xiang, J., Liu, Y., Li, L., Li, Q., Xu, G., & Tang, Y. A.(2011). Stabilizing and denaturing dual-effect for natural polyamines interacting with G-quadruplexes depending on concentration. *Biochimie*. 93(8), 1351-1356
95. Bisht, R., Kaur, B., Gupta, H., & Prakash, A. (2014). Ceftriaxone mediated rescue of nigral oxidative damage and motor deficits in the MPTP model of Parkinson's disease in rats. *Neurotoxicology*, 44: 71-79.
96. Rothstein, J.D., Patel, S., Regan, M.R., *et al.* (2005), Beta-lactam antibiotics offer neuroprotection by increasing glutamate transporter expression. *Nature*, 433(7021): 73-7.
97. Rajpurohit, H., Vinay, Kumar, B. M., Sharadamma, K. C., Radhakrishna, P.M. (2011). In-Vitro Activity of Ceftriaxone in Combination with Sulbactam and Tazobactam *Escherichia Coli*. *IJPBS* 2011; 1(4): 545-50.
98. Andrews, J. M. BSAC (2005). Standardized disc susceptibility testing method (version 4) *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56, 60–76
99. Bradley, J. S., Farhat, C., Stamboulion, D., Branchini, O. G., Debbag, R., Compogiannis, L. S. (1994). Ceftriaxone therapy of bacterial meningitis: cerebrospinal fluid concentrations and bactericidal activity after intramuscular injection in children treated with dexamethasone. *Pediatrinfects dis j.* 13(8); 724-728.

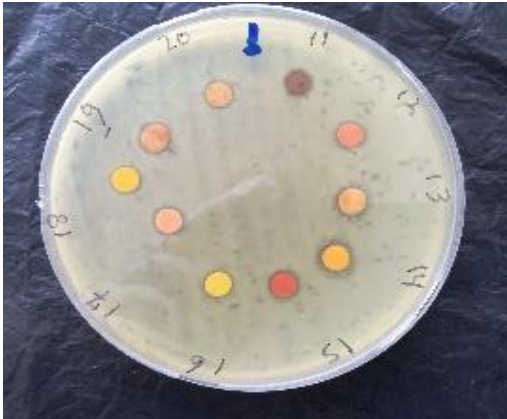
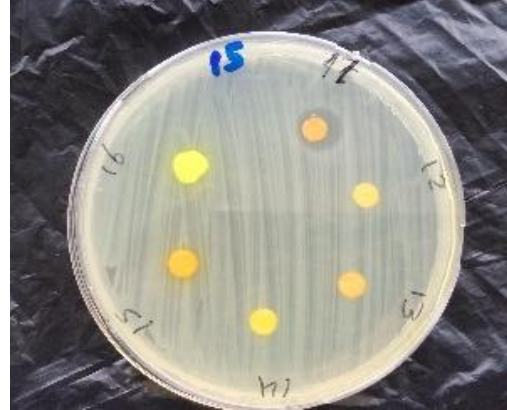
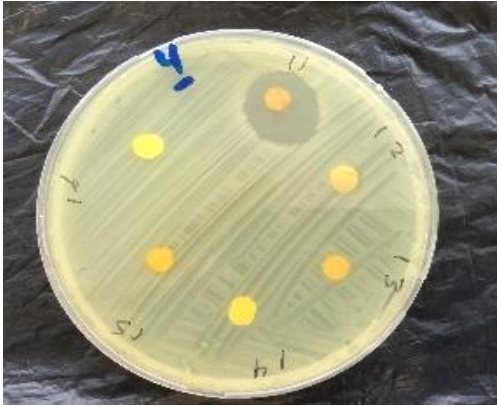
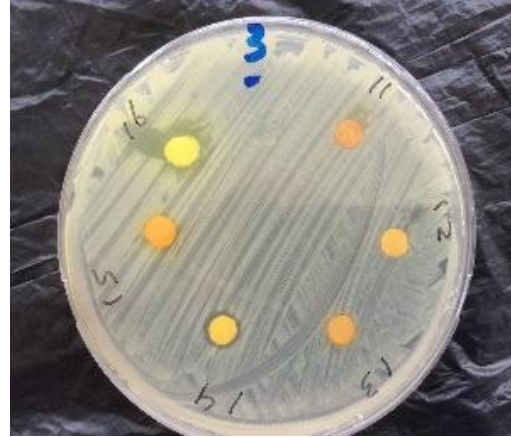
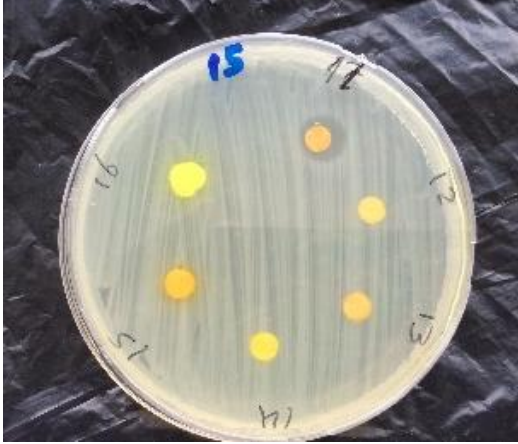
100. Himanshu, R., Vinay, K., Sharadamma, K. C. & Radhakrishna, P. M. (2012). Comparative study of antimicrobial activity of ceftriaxone in combination with Sulbactam and Tazobactam using disc diffusion method. IRJP. 3 (5): 331-334.
101. Acharya, G., Crevoisier, C., & Butler, T. *et al* (1994). Pharmacokinetics of Ceftriaxone in Patients with Typhoid Fever. Antimicroblal Agents and Chemotherapy, Oct. 2415-2418.
102. Sayiner, H. S., & Kandemirli, F. (2016). The reaction mechanism study of ceftriaxone and phenylalanine. Journal of International Research in Medical and Pharmaceutical Sciences; 9(2): 83-90.
103. Kan-Beyin Bariyeri. (2001). Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 1: 94-99.
104. Pardridge, W.M. (2006). Molecular Trojan horses for blood-brain barrier drug delivery. Curr Opin Pharmacol; 6(5): 494-500.
105. Sayiner, S. H., Ganim, A. M., Altunoglu, C. T., Baloglu, C. M. & Kandemirli, F. (2017) Ceftriaxone and Phenylalanine Combination as Broad Spectrum Antimicrobials Therapy. Current Drug Therapy, Vol. 12, No. 23.

EKLER

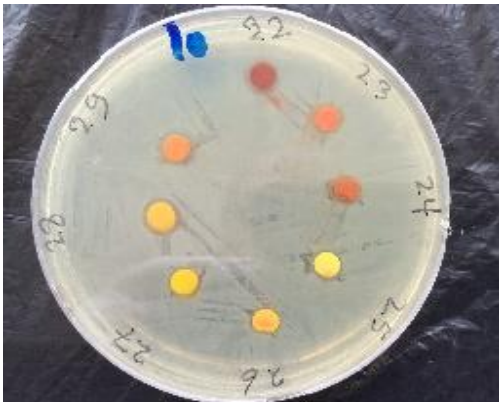
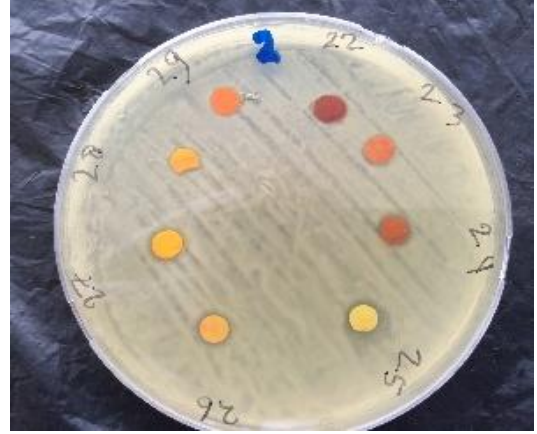
Ekler 1: Test bileşikleri için kullanılan bazı bakteri suşlarının inhibisyon zonlarını gösteren bazı petri resimleri

Ekler 2: DNA korumasının (%) ve plazmid DNA korumasının jel görünümü resimleri

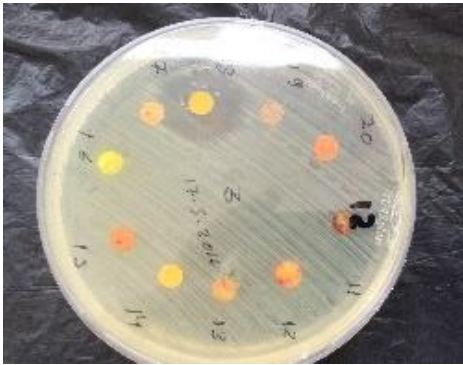
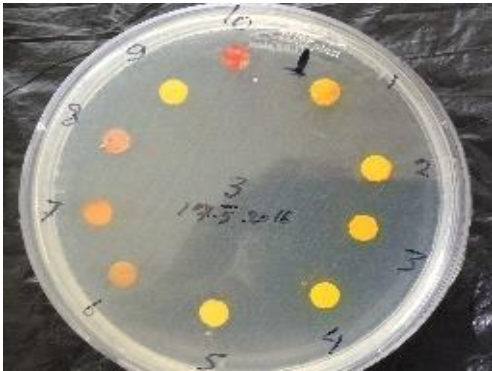
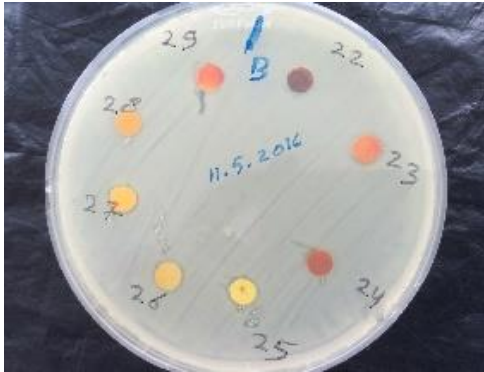
Ek 1: Test bileşikleri için kullanılan bazı bakteri suşlarının inhibisyon zonlarını gösteren bazı plaka resimleri



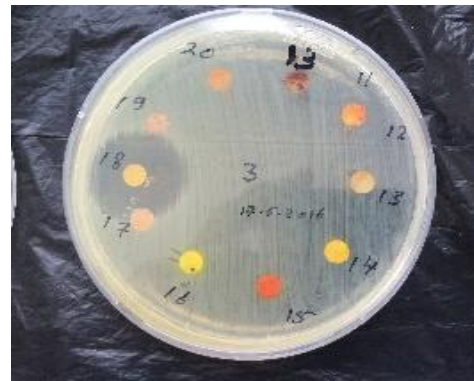
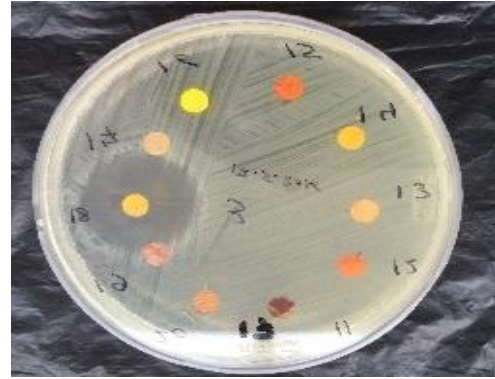
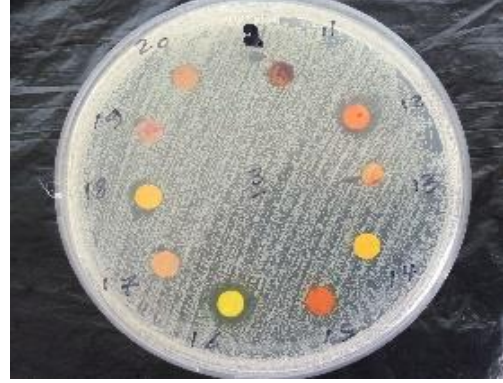
Ek I'in devamı



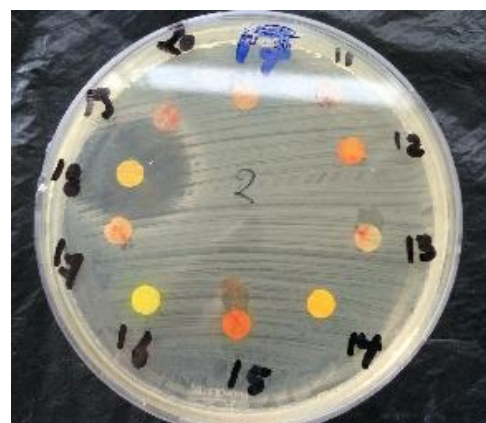
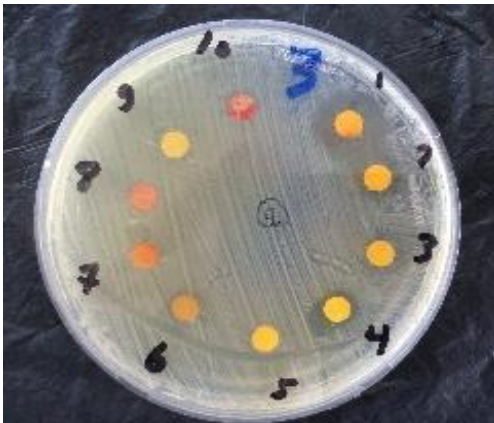
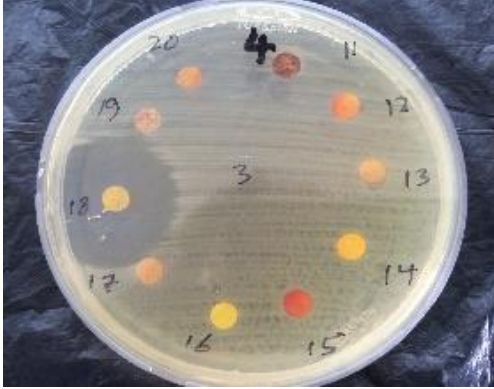
Ek I'in devamı



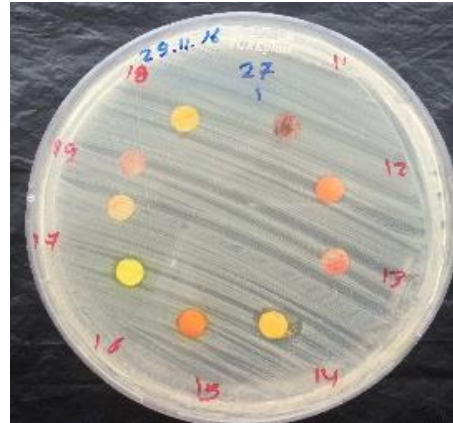
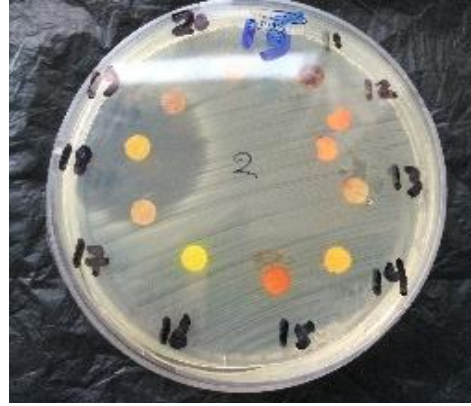
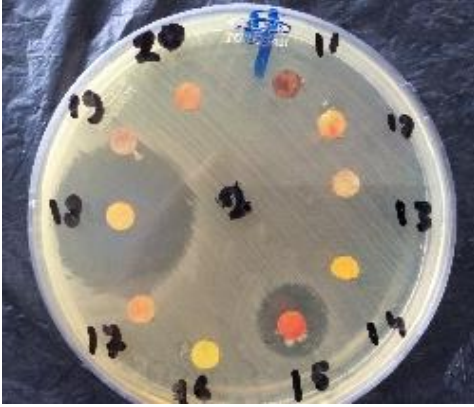
Ek I'in devamı



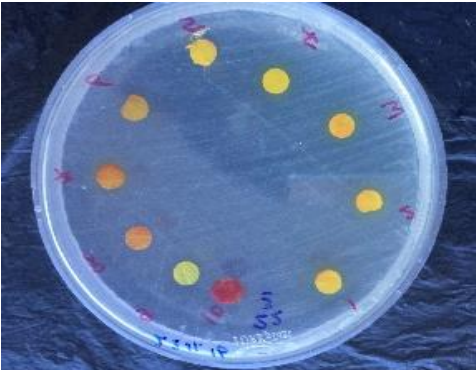
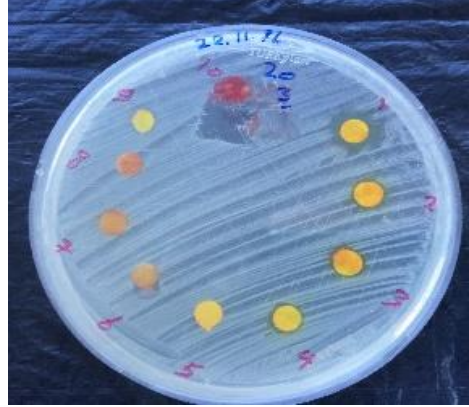
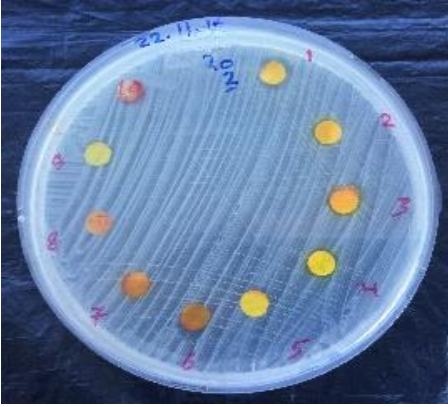
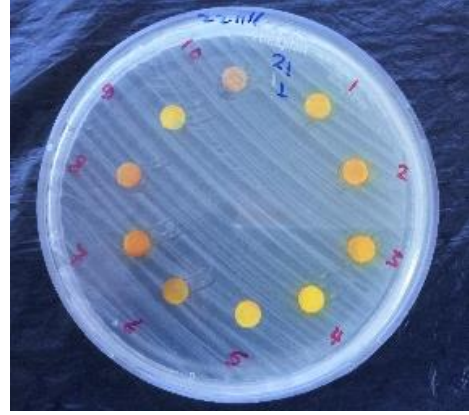
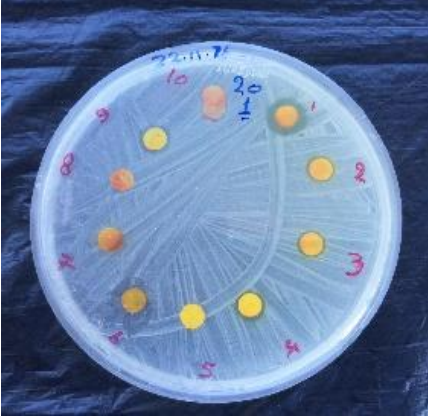
Ek I'in devamı



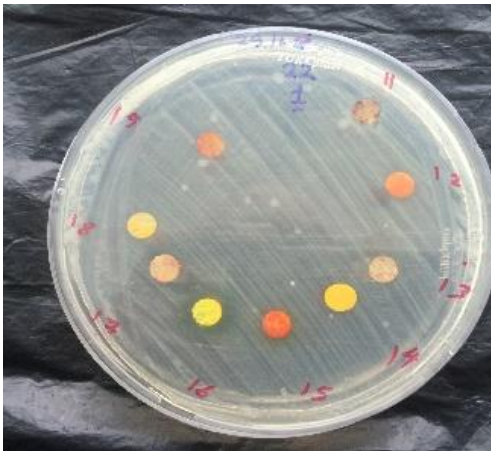
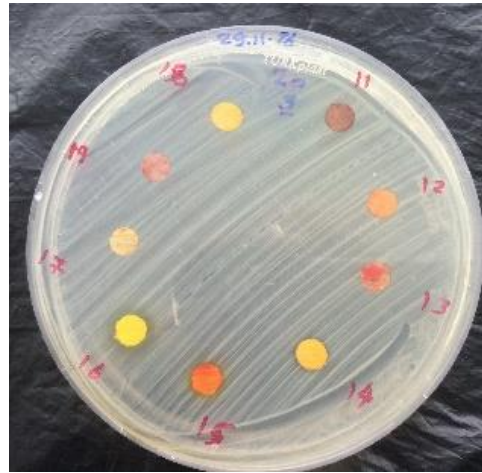
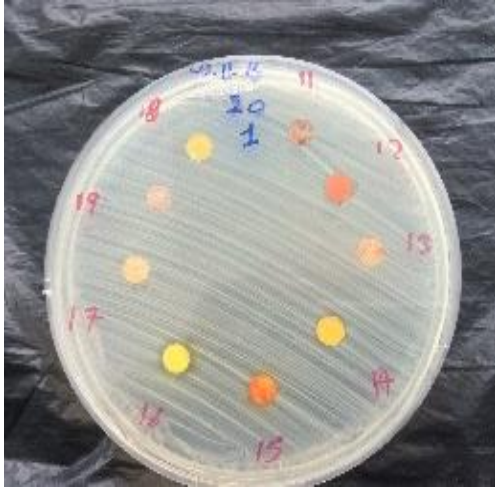
Ek I'in devamı



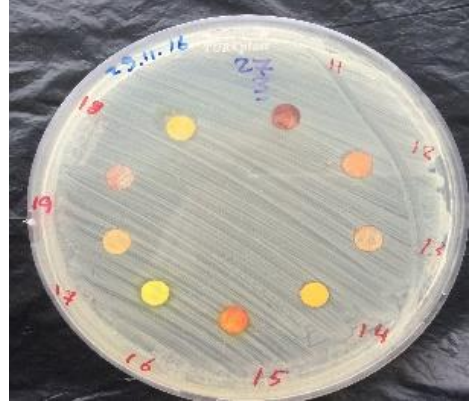
Ek I'in devamı



Ek I'in devamı



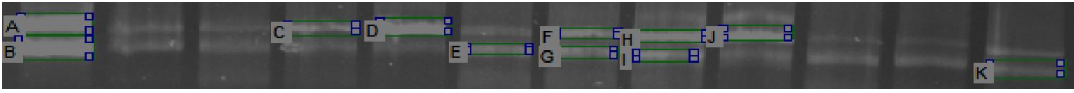
Ek I'in devamı



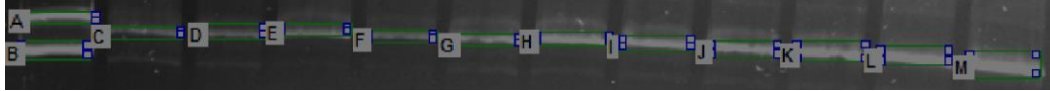
**Ek 2: DNA korumasının (%) ve plazmid DNA korumasının jel görünümü
resimleri**



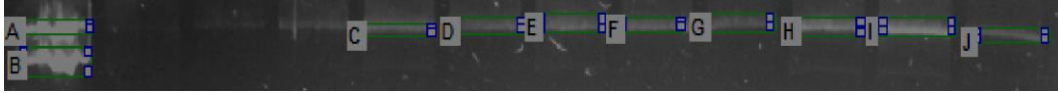
Resim E. 1 1, 2, 3, 4, 5 Bileşiklerin DNA koruması (%) ve plazmid DNA koruma jel görünümü



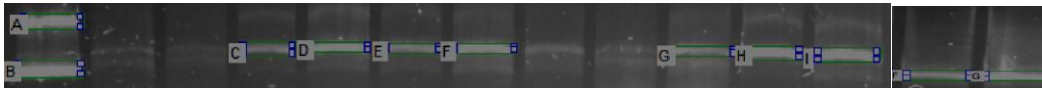
Resim E. 2 6, 7, 8, 9, 10 Bileşiklerin DNA koruması (%) ve plazmid DNA koruma jel görünümü



Resim E. 3 11, 12, 13, 14, 15 Bileşiklerin DNA koruması (%) ve plazmid DNA koruma jel görünümü



Resim E. 4 16, 17, 18, 19, 20 Bileşiklerin DNA koruması (%) ve plazmid DNA koruma jel görünümü



Resim E. 5 22, 23, 24, 25, 26, 29 Bileşiklerin DNA koruması (%) ve plazmid DNA koruma jel görünümü

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Ve Soyadı: Mohamed A. Ganim. Ramadan
Ülkesi: Libya
İletişim Adresi: Kastamonu Üniversitesi
Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik
Bölümü Kastamonu /TÜRKİYE



Öğrenim Bilgileri

Lisans: 1985- Trablus Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Trablus-LİBYA
Yüksek Lisans: 1999- Bingazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Laboratuvar-Tıbbi
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bingazi/LİBYA
Doktora: 2019- Kastamonu Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık
Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Kastamonu
TÜRKİYE

Alman Eğitimler

- * 1988 – two months training in diagnostic Microbiology and Immunology in BOXTEL-HOLLAND. Institute
- *1994–1995 Postgraduate student for MSc degree, part one on Microbiology, Immunology, Hematology, and Biochemistry.
- * 1995 – 1997 Postgraduate student for MSc degree part two Medical Microbiology.
- * Training course in ISO /IEC 17025 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. (Tripoli-Libya 14/11/5/2006).
- * Training course in ISO 15189 by Swedish Board for accreditation and Conformity Assessment, SWEDAC (Benghazi- Libya November 2007).

Eserler

Fatih Sen & Mohamed Abdulhamid Ganim & Mehmet Cengiz Baloglu & Aysenur Aygun & Hakan Sezgin Sayiner & Yasemin Celik Altunoglu & Fatma Kandemirli & Buse Demirkan & Esra Kuyuldar & Ela Bulut. Synergistic and Antagonistic Effects of Phenylalanine and Various Antibiotics on the Growth of Pathogenic Bacteria. BioNanoScience <https://doi.org/10.1007/s12668-019-0597-9> (2019).

Mohamed Abdulhamid Ganim, Mehmet Cengiz Baloglu, Aysenur Aygun, Yasemin Celik Altunoglu, Hakan Sezgin Sayiner, Fatma Kandemirli, Fatih Sen, Analysis of DNA protection, interaction and antimicrobial activity of İzatin derivatives. International Journal of Biological Macromolecules. 2018.09.08 BIOMAC-10519.

Mohamed Abdulhamid Ganim, Yasemin Çelik Altunoğlu, Hakan Sezgin Sayiner, Fatma Kandemirli, Mehmet Cengiz Baloglu, *DNA Protection And Antibacterial Activities Of İzatin 3-(n-cyclohexyl)tiosemikarbazon Against Different Types Of Bacteria*. 19. Uluslararası Biyoteknoloji Konferansı, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi 1-3 Aralık 2017.

Hakan Sezgin Sayiner, Mohamed Abdulhamid Ganim, Yasemin Celik Altunoglu, Mehmet Cengiz Baloglu, and Fatma Kandemirli, *Ceftriaxone and Phenylalanine Combination as Broad Spectrum Antimicrobials Therapy*. Current Drug Therapy, 2017, Cilt. 12, No. 23.

Hakan S. Sayiner, Nser Ahmed Massoud Mohammed, Mohamed Abdulhamid Ganim, Cengiz Baloglu, Yasemin Celik Altunoglu, Murat Saracoglu, Fatma Kandemirli, *Antibacterial Activities of İzatin-3-Tiosemikarbazon Derivatives and Their Metal Complexes against Different Types of Bacteria*, International Journal of Science and Engineering Investigations, Cilt 6, Sayı 61, Şubat 2017.

M.A.Ganim, M.El-Amari, M.Fieturi, H.Elgoal, H.Hawil, S.Belkheir. *Detection of coliform and E.coli bacteria in bottled water in Benghazi – Libya*. Uluslararası Su yönetimi / Çölleşme ve Tarımsal Yöntemler Sempozyumu İstanbul / Türkiye 24-26 Ekim 2015.

Mailud El-Amari¹, Salah Mursi², Mofah El-Feturi¹and Mohamed A. Ganim, *Knowledge atuide and practice about the use of Green tea among Al-Arab Medical University Students*, African J. Biol. Sci., 8 (1): 83-94 (2012) ISSN 1687-4870

Mohamed A. Ganim, *The Alarming Silent Hepatitis C And Hepatitis B Infection In patients with renal involvement in Benghazi*. Birinci Uluslararası Farmasötik Bilim Konferansı, 22-24 Aralık 2009

Buzgeia M, Ganim M A, Abd El Aziz H, Pandey D, Ben Ali A. *Study of the Dietary Pattern and Dietary Adequacy of Preschool Children in Al Beida*, Libya Bienali

Konferansı 27-29 Aralık 2007 (Düzenleyen:Hindistan Ulusal Bilimler Derneği, Jabalpur Bölümü)

I.A.A. Taher, M.A. Ganim. A.I. AL-Twaty, R.S. Tobgi. *Etiology of acute diarrhea in hospitalized children in Libya*. Klinik mikrobiyoloji dergisi 5 Ek 3: 1999.

Master Tezi: Bingazi-Libya'daki Hastanede yatan çocuklarda akut ishal hastalıkları: Etiyoloji ve klinik özellikler. Ağustos 1999, AL-Arab Tıp Üniversitesi Tıp Fakültesi

Ganim A.M., Taher A.I., AL-Tawaty I.A. & Tobgi S.R. *Rotavirus infection in children in Benghazi Libya*, Dördüncü Jamahiriya Tıp Bilimleri Kongresi, Bingazi 1-4 / 11/1998

Mohamad M., Qasim M., Boughrara S., Ganim M., Taher I., AL-Tawaty A. *C-Reactive protein (CRP) in Gastroenteritis*. Dördüncü Jamahiriya Tıp Bilimleri Kongresi, Bingazi 1-4 / 11/1998

Ganim A.M. and Gadalla Y. *How Bronchoscopic Tools are Helpful in the diagnosis of lower respiratory tract infection*. Dördüncü Jamahiriya Tıp Bilimleri Kongresi, Bingazi 1-4 / 11/1998

Ganim A.M., Taher A.I., AL-Tawaty I.A. & Tobgi S.R., *etiology of acute diarrhea in Hospitalized children in Benghazi-Libya*. Birinci Tıp Bilimlerinde Lisansüstü çalışmalar Konferansı (Mart 1997).

Ganim A.M., Taher A.I. & Tobgi S.R., *The antibacterial activity of Honey against wound infecting species of bacteria*. Jamahiria 3. Tıp Bilimleri Konferansı, Bingazi-Libya, Haziran 1996.

Bilimsel Toplantı

- * 3. Mağrip Laboratuar Tıbbı Konferansı, Trablus-Libya, (Kasım-1997)
- * 4.Tıp Bilimleri Konferansı, Bingazi-Libya, (Kasım-1998)
- * Garyounis Üniversitesi Tıp Fakültesi Birinci Bilimsel Kongresi,Bingazi-Libya, (25-27 Şubat 2005)
- * 2. Enfeksiyon Hastalıkları Konferansı, Trablus-Libya, (15-18 Mayıs 2009)
- * Avrupa Komisyonu Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar ve Gıda Katkı Maddeler Çalıştayı, Trablus-Libya, (24/05/2010)
- * Al-Arab Tıp Üniversitesi Kalite Güvencesi Çalıştayı, Bingazi-Libya, (2010)
- * Garyuonis Üniversitesi 2. Kalite Güvence Konferansı, Bingazi-Libya (4-6 Aralık 2010)

* Garyuonis Üniversitesi Kalite Güvencesi Çalıştayı - Bingazi-Libya (1-2 Ocak 2011)

Yürütülen Görevler

1. Laboratuvar ve Veterinerlik Bölüm Başkanı, Ghot-Sultan Kümes Hayvanları ve Süt Projesi , Bingazi-Libya, (4/1986 - 12/1994)
2. Danışman, Kümes Hayvanı Hastalıklarının Teşhisi Projesi, Bingazi-Libya, (7/ 1997 7 / 1996-12)
3. Başkan, Libya Doğu Bölgesi Merkezi Gıda ve Veteriner Laboratuvarı,(2 / 1999– 6/1999)
- 4- Öğretim Görevlisi (Kısmi Zamanlı), Al-Arab Tıp Üniversitesi, Halk Sağlığı Fakültesi, Gıda Mikrobiyolojisi Anabilim Dalı, (2001- 2002)
- 5- Öğretim Görevlisi (Tam Zamanlı), Al- Arab Tıp Üniversitesi, Halk Sağlığı Fakültesi, Gıda Mikrobiyolojisi ve Gıda Hijyeni Anabilim Dalı, (2002- Halen Devam ediyor)
- 6- Kalite Güvence Koordinatörü, Halk Sağlığı Fakültesi, (2006-Halen Devam ediyor)
- 7- Genel Müdür, Yüksek lisans Çalışmaları Merkezi, Al-Arab Tıp Üniversitesi, (7-2007- 5-2010)
- 8- Bölüm Başkanı, Al-Arap Tıp Üniversitesi, Halk Sağlığı Fakültesi, Bulaşıcı Hastalıklar ve Tropikal Tıp Anabilim Dalı, (2008-30.3.2013)