T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

POLİFLORLU AMİNOFENİL HİDRAZİN TÜREVLERİNİN ANTİMİKROBİYAL POTANSİYELLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mücella YILDIRIM

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA
2022

Prof. Dr. Faruk SÜZERGÖZ'ün danışmanlığında, Mücella YILDIRIM'ın hazırladığı "**Poliflorlu Aminofenil Hidrazin Türevlerinin Antimikrobiyal Potansiyellerinin**" konulu bu çalışma 21/01/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

İmza

Danışman: Prof. Dr. Faruk SÜZERGÖZ

Üye: Prof. Dr. Halil DEMİR

Üye: Doç. Dr. Arif PARMAKSIZ

Bu Tezin Biyoloji Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğinİ Onaylarım.

Doç. Dr. İsmail HİLALİ
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Harran Üniversitesi Bilimsel HÜBAP tarafından desteklenmiştir.
Proje No:19368

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı 5846sayılı Fikir veSanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET i
ABSTRACT..... ii
TEŞEKKÜR..... iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....iv
ÇİZELGELER DİZİNİ vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ vii
1. GİRİŞ ……...1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....4
2.1. Schiff Bazları 4
2.1.1. Schiff bazlarının tanımı 4
2.1.2. Schiff bazlarının sentez ve mekanizması.....6
2.1.3. Schiff bazlarının endüstride kullanımı.....12
2.1.4. Schiff bazlarının metal kompleksleri.....14
2.2. Antimikrobiyal Aktivite.....16
2.2.1. Schiff bazlarının antimikrobiyal etkileri.....17
2.3. Schiff Bazlarının Antibakteriyel Aktiviteleri.....18
2.4. Antimikrobiyal Ajan Araştırılmasında Kullanılan Yöntemler.....20
2.4.1. Difüzyon testleri 20
2.4.1.1 Disk difüzyon testi.....20
2.4.1.2.Epsilometre testi (E-Test).....21
2.4.2. Dilüsyon testleri.....21
2.4.2.1.Tüp dilüsyon…….22
2.4.2.2.Agardilüsyon…….22
2.5. Çalışma Kapsamında Kullanılan Bakteri Türleri 22
2.5.1. Escherichia coli..... 22
2.5.2. Pseudomonas aeruginosa 23
2.5.3. Staphylacoccus aureus 23
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....24
3.1. Materyal…….25
3.1.1. Kimyasal bileşikler.....24
3.1.2. Bakteri suşları 26
3.1.3. Besiyeri 26
3.1.4. Mc Farland standardı 27
3.1.5. MTT boyası 27
3.2. Yöntem.....27

3.2.1. Bileşiklerin analizlere hazırlanması.....27
3.2.1.1.Bileşiklerin sterilizasyonu 27
3.2.1.2.Bileşiklerin doz ayarlaması……...27
3.2.1.3.Kültür plaklarının hazırlanması 28
3.2.2. Bakteri kültürü.....28
3.2.3. MTT uygulaması 29
3.3. İstatistiksel analizler.....31
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....32
4.1. Araştırma Bulguları.....32
4.1.1.1.Bileşik1 ve Bileşik2nin *E.coli* üzerinde antibakteriyel etkileri……33
4.1.1.2. Bileşik3 ve Bileşik4ün *E.coli* üzerinde antibakteriyel etkileri.....34
4.1.1.3.Bileşik5 ve Bileşik6nın *E.coli* üzerinde antibakteriyel etkileri……..….35
4.1.1.4.Bileşik7 ve Bileşik8in *E.coli* üzerinde antibakteriyel etkileri 36
4.1.2. Gentamisin ve Siprofloksasinin *P.aeruginosa*üzerinde antibakteriyel etkileri.....38
4.1.2.1.Bileşik1 ve Bileşik2'nin *P.aeruginosa* üzerinde antibakteriyel etkilerİ……39
4.1.2.2.Bileşik3 ve Bileşik4'ün *P.aeruginosa*üzerinde antibakteriyel etkileri 40
4.1.2.3.Bileşik5 ve Bileşik6nın *P.aeruginosa* üzerinde antibakteriyel etkileri.....41
4.1.2.4.Bileşik7 ve Bileşik8'in *P.aeruginosa* üzerinde antibakteriyel etkileri 43
4.1.3. Gentamisin ve Siprofloksasinin *S.aureus* üzerinde antibakteriyel etkileri 44
4.1.3.1. Bileşik1 ve Bileşik2nin *S.aureus* üzerinde antibakteriyel etkileri 45
4.1.3.2.Bileşik3 ve Bileşik4'ün *S.aureus* üzerinde antibakteriyel etkileri.....46
4.1.3.3.Bileşik5 ve Bileşik6'nın *S.aureus* üzerinde antibakteriyel etkileri.....48
4.1.3.4.Bileşik7 ve Bileşik8'in *S.aureu s*üzerinde antibakteriyel etkileri.....49
4.2.Tartışma 52
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....55
5.1. Sonuçlar ……55
5.2. Öneriler 56
KAYNAKLAR 57
ÖZGEÇMİŞ 63

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

POLİFLORLU HİDRAZİN TÜREVLERİNİN ANTİMİKROBİYALPOTASİYELLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mücella YILDIRIM

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Faruk SÜZERGÖZ
Yıl:2022, Sayfa:63

Özellikle bakteri kaynaklı enfeksiyonların insan vücudu içerisinde gösterdiği reaksiyonların tedavi edilmesine yönelik ilaç uygulamalarında bakteriler tarafından gösterilen dirençler ve bu dirençlerin geçmişten günümüze bakterilerin genetiği üzerinde adaptasyonu ile gelişmesi, mevcut tıp literatüründe yer alan çözülemeyen sorunlar arasında başlarda yer almaktadır. Bu direncin oluşturduğu bakteri etkisinin vücut içerisinde sönümlendirilememesine yönelik artan risk kaynakçı birçok hastanın hayatı tehlike altında olmakta, farklı ölçekte hasta bireyler üzerinde uygulanan tedavilere ise hastalar cevap verememektedir. Bu adaptasyon içerisinde yer alan bakterilerde gözlenen ilaçlara/antibiyotiklere karşı gelişen dirençlerin evrilmesi, birçok antibiyotiğe karşı çoklu ilaç direncinin (MDR) gelişimi sağlamakta, bu hususta hastalar üzerinde uygulanan antimikrobiyal tedavi seçeneklerinde farklı yönelimlere sebep olunmaktadır. Bu yüksek lisans tez çalışması kapsamında Schiff baz ve türevlerine ait yeni sentezlenen bileşiklerin sahip olduğu antibakteriyel etkilerin tespitinin yanı sıra sahip olunan enfeksiyöz etkenlerin bir korelasyonu ile ilaç direncinin gelişmesi sebebiyle bakteri kaynaklı hastalıkların tedavi süreçlerinde kullanılası amaçlı farklı antiyotik ajanların geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu araştırma kapsamında Sekiz Poliflorlu Aminofenil Hidrazin Türevi Schiff bazının (Bileşik 1-8) antimikrobiyal etkileri *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde test edilmiştir. Bakteriler üzerinde bileşiklerin etki değelerinin (MIC50) ölçülmesi amaçlı kolormatik çalışma prensibine sahip MTT yöntemi kullanılmış olup, ortama eklenen MTT solüsyonunun indirgenmesi ile bakterilere ait yaşamsal aktivitelerin değişimi izlenmiştir. Her bir bileşene ait MIC50 değeerinin tespit edilmesi OD değerlerinin kullanılmasına istinaden MTT-formazan kristalleri vasıtasıyla çözülmüştür. MIC50 değerleri; *E. coli* için (6.98-20.0 µM), *S. aureus* için (13.9-27.4 µM) ve *P. aeruginosa* için (35.6-49.0 µM) aralıklarında belirlenmiştir. Bileşenler arasında yalnızca Bileşik 4 (6.98 uM), *E.coli* üzerinde dikkate değer MIC50 gösterdi. Bu hususta belirlenen değer aralıklarına istinaden yapılan yorumlar genellikle Schiff bazlarının, *E. Coli* bakterisi üzerinde orta segmentte antimikrobiyal özellik gösterdiğinin tespit edilmesi ile diğer bileşiklerin bakteriler üzerindeki MIC50 değerlerinin yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: Schiff bazları, Aminofenil Hidrazin, MTT, $MİK_{50}$, İlaç direnci.

ABSTRACT

MSc Thesis

INVESTIGATION OF THE ANTIBACTERIAL POTANTIOEL OF POLYFLUORINATED AMINOPHENYL HYDRAZINE DERIVATIVES

Mücella YILDIRIM

Harran University
Graduate School of Applied and Natural Science
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Faruk SÜZERGÖZ
Year:2022, Page:63

Especially in drug applications for the treatment of the reactions of bacterial infections in the human body, the resistance shown by bacteria and the development of these resistances on the genetics of bacteria from past to present are among the unsolved problems in the current medical literature. There is an increasing risk that the bacterial effect created by this resistance cannot be damped in the body, the lives of many welders are in danger, and the patients cannot respond to the treatments applied on sick individuals at different scales. The evolution of resistance to drugs/antibiotics observed in bacteria included in this adaptation leads to the development of multi-drug resistance (MDR) against many antibiotics, leading to different trends in antimicrobial treatment options applied on patients in this regard.Within the scope of this master thesis, it is aimed to determine the antibacterial effects of newly synthesized compounds of Schiff bases and derivatives, as well as to develop different antibiotic agents for use in the treatment processes of bacterial diseases due to the development of drug resistance with a correlation of infectious agents. In this study, the antimicrobial effects of Eight Polyfluorinated Aminophenyl Hydrazine Derivatives Schiff base (Compounds 1-8) were tested on Escherichia coli, Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa. In order to measure the effect values (MIC50) of the compounds on bacteria, the MTT method, which has a chromatic working principle, was used, and the change in the vital activities of the bacteria was monitored by reducing the MTT solution added to the medium. Determination of the MIC50 value for each component was resolved by means of MTT-formazan crystals based on the use of OD values. MIC50 values; It was determined in the ranges for E. coli (6.98-20.0 μM), S. aureus (13.9-27.4 μM), and P. aeruginosa (35.6-49.0 μM). Among the components, only Compound 4 (6.98 μM) showed remarkable MIC50 on E.coli. Comments made based on the value ranges determined in this regard, it was determined that Schiff bases generally showed antimicrobial properties in the middle segment on E. coli bacteria, and the MIC50 values of other compounds on bacteria were found to be high.

KEY WORDS: Schiff bases, Aminophenyl Hydrazine, MTT, MIC_{50}, Drug resistance.

TEŞEKKÜR

Yükseklisans eğitimim ve tez çalışma sürecimde bana her türlü yol gösteren, olumlu ve iyimser tavrıyla yanımda olan, bilgi ve deneyimleri ile çalışmamın tamamlanmasını sağlayan, manevi anlamda her türlü destek sağlayan kendisini tanımaktan büyük gurur duyduğum sayın danışman hocam Prof. Dr. Faruk SÜZERGÖZ' e sonsu teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımın her alanında yardımcı olan Şaduman ERSÖZ'e, MSc. Bestoon SHEKHANY ve Öğr. Görevlisi FatmaÖZER'e teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca yanımda olan aileme ve eşime de teşekkür ederim.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Schiff bazlarının genel yapısı....4
Şekil 2.2. Schiff bazlarının oluşummekanizması....6
Şekil 2.3. Azometin oluşumu....6
Şekil 2.4. İmin oluşumu....6
Şekil 2.5. Aldehit veya ketonların birincil aminlerle reaksiyonu....7
Şekil 2.6. Aldehitlerin veya ketonların hidrazin ve fenilhidrazin ile reaksiyonu....8
Şekil 2.7. Schiff bazısentezi birinci kademe....10
Şekil 2.8. Schiff bazı sentezi ikinci kademe....10
Şekil 2.9. Schiff bazlarının sınıflandırılması....11
Şekil 2.10. Schiff bazları NO,ONO,N2O2,ONS,NStipiligandlar....11
Şekil 2.11. Schiff bazı bakır kompleksi dimerhali....15
Şekil 2.12. İnhibisyonzonu....21
Şekil 2.13. E Test yöntemi....21
Şekil 2.14. Tüp dilüsyon yöntemiyle MİK....22
Şekil 3.1. Bileşik1'in açık formülü....24
Şekil 3.2. Bileşik2'nin açık formülü....24
Şekil 3.3. Bileşik3'ün açık formülü....25
Şekil 3.4. Bileşik4'ün açık formülü....25
Şekil 3.5. Bileşik5'in açık formülü....25
Şekil 3.6. Bileşik6'nın açık formülü....25
Şekil 3.7. Bileşik7'nin açık formülü....26
Şekil 3.8. Bileşik8'in açık formülü....26
Şekil 3.9. Kültür plakları hazırlanmasına dair örnek....28
Şekil 3.10. Bakteri kültürü hazırlanmasınadair örnek ……. ….29
Şekil 3.11. DMSO eklenerek MTT-formazon kristal plağı…….....…….30
Şekil 4.1.Gentamisin ve Siprofloksasinin *E.coli'*üzerine antibakteriyel etkileri....33
Şekil 4.2. Bileşik1ve Bileşik2'nin *E.coli'*üzerine antibakteriyel etkileri....33
Şekil 4.3. Bileşik3 ve Bileşik4'ün *E.coli'*üzerine antibakteriyel etkileri....36
Şekil 4.4. Bileşik5 ve Bileşik6'nın *E.coli'*üzerine antibakteriyel etkileri....36
Şekil 4.5. Bileşik7 ve Bileşik8'in *E.coli'*üzerine antibakteriyel etkileri....37
Şekil 4.6.Gentamisin ve Siprofloksasinin *P.aeruginosa* üzerine antibakteriyel etkileri....39
Şekil 4.7. Bileşik1ve Bileşik2'nin *P.aeruginosa* üzerine antibakteriyel etkileri....40
Şekil 4.8. Bileşik3 ve Bileşik4'ün *P.aeruginosa* üzerine antibakteriyel etkileri....41
Şekil 4.9. Bileşik5 ve Bileşik6'nın *P.aeruginosa* üzerine antibakteriyel etkileri....43
Şekil 4.10.Bileşik7ve Bileşik8'in *P.aeruginosa* üzerine antibakteriyel etkileri....44
Şekil 4.11.Gentamisin ve Siprofloksasinin *S.aureus* üzerine antibakteriyel etkileri....46

Şekil 4.12. Bileşik1 ve Bileşik2'nin *S.aureus* üzerine antibakteriyel etkileri.....47
Şekil 4.13. Bileşik3 ve Bileşik4'ün *S.aureus* üzerine antibakteriyel etkileri.....48
Şekil 4.14. Bileşik5 ve Bileşik6'nın *S.aureus* üzerine antibakteriyel etkileri.....50
Şekil 4.15. Bileşik7 ve Bileşik8'in *S.aureus* üzerine antibakteriyel etkileri.....51

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 4.1.Gentamisin ve Siprofloksasinin *E.coli* ile inkübasyonu sonucu.....32
Çizelge 4.2.Bileşik1 ve Bileşik2'nin *E.coli* ile inkübasyonu sonucu 33
Çizelge 4.3. Bileşik3 ve Bileşik4'ün *E.coli* ile inkübasyonu sonucu.....34
Çizelge 4.4. Bileşik5 ve Bileşik6'nın *E.coli* ile inkübasyonu sonucu.....36
Çizelge 4.5. Bileşik7veBileşik8'in *E.coli* ile inkübasyonu sonucu.....37
Çizelge 4.6.Gentamisin ve Siprofloksasinin *P.aeruginosa* ile inkübasyonu sonucu.....38
Çizelge 4.7. Bileşik1ve Bileşik2'nin *P.aeruginosa* ile inkübasyonu sonucu.....39
Çizelge 4.8.Bileşik3 ve Bileşik 4'ün *P.aeruginosa* ile inkübasyonu sonucu.....41
Çizelge 4.9. Bileşik5 ve Bileşik6'nın *P.aeruginosa* ile inkübasyonu sonucu.....42
Çizelge 4.10.Bileşik7 ve Bileşik8'nin *P.aeruginosa* ile inkübasyonu sonucu.....44
Çizelge 4.11.Gentamisin ve Siprofloksasinin *S.aureus* üzerine antibakteriyel etkileri.....45
Çizelge 4.12.Bileşik1ve Bileşik2'nin *S.aureus* ile inkübasyonu sonucu.....47
Çizelge 4.13. Bileşik3 ve Bileşik4'ün *S.aureus* ile inkübasyonu sonucu.....48
Çizelge 4.14.Bileşik5 ve Bileşik6'nın *S.aureus* ile inkübasyonu sonucu.....49
Çizelge 4.15.Bileşik7 ve Bileşik8'in *S.aureus* ile inkübasyonu sonucu.....50
Çizelge 4.16.MİK değerlerinin birlilkte görünümü.....51

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

µM	MikroMolar
µl	MikroLitre
UV-Vis	Ultraviyole ve Görünür Işık Absorpsiyon Spektroskopisi
DMSO	Dimetil Sülfoksid
ELİZA	EnzimİşaretliImmün Tepki Testi
MTT	Thiazolyl Blue TetrazoliumBromide
$MİK_{50}$	Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
MDR	MultidrugResistance
PDR	PandrugResistance
MCT-7	MemeKanseri
RR	RibonükleotitRedüktaz
A549	İnsan Akciğer Karsinoma
BGC823	İnsan Gastrit Kanser Hücre
OD	Optik Dansite
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
MCF-7	İnsan Göğüs Adeonakarsinoma
HT-29	Kolon Karsinoma
HepG2	HepatoselülerKarsinoma
EAC	Ehrlich Ascites Karsinoma
Rpm	Dakikadaki Devir Sayısı

1.GİRİŞ

Doğrudan veya dolaylı yoldan edindiği çeşitlendirilmiş yapısal farklılıklar sebebiyle bakteriler iç dinamiklerini çevresel bileşiklerin etmenlerinden karşı korumayı yüksek oranda başarmışlardır.Günümüzde özellikle patojen bakterilerin etkisinin giderimine yönelik antibiyotik üretimine gözlenen çoklu ilaç direncinin gelişiminde gözlenen zorlukların derecesini bu etmenlere karşı geliştirilen korumalar vasıtasıyla kazanmaktadırlar (Fodor ve ark., 2014; Banin ve ark., 2017). Dolayısıyla antibiyotiklere karşı oluşan bu direnç ve direncin gelişimi, dünya genelinde bilim literatüründehâlihazırda canlı sağlığını tehtid eden önemli bir problem olarak çalışılınmaktadır.

Literatür kapsamında yapılan başlıca çalışmalardahilinde, baktlerilerin uygulanan tedaviler kapsamında etkisinin azaltılmasına yönelik uygulanan ilaç tedavilerine karşın direnç kazandığı ispatlanmıştır. Bu dirence karşılık olarak günümüzde ilaç kombinasyonları, eski antibiyotik uygulamalarının (örn. Kolistin) yeniden kullanımı vb. çeşitli tedavi yaklaşımları uygulanmakta, ancak ilaç direncine karşılık yüksek performanslı bir çözüm geliştirilememiştir (Zhang ve ark., 2020).

Yakın geçmişte özellikle üçüncü kuşak olarak adlandırılan sefalosporinler, aminoglikozidler, ve karbapenemler vb. spektrum değer skalasının geniş olduğu antibiyotiklerin toplumlar içerisinde kullanım sıklığının artması başta *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobact*er vb. olmak üzere farklı bakteri çeşitlerinde çoğul antibiyotik direncinin artmasına sebep olmaktadır (Eser ve ark., 2018).

Belirtilen bu direnç değerlerinin yükselmesi, başta antibiyotik uygulamalarının yüksek seviyede olduğu enfeksiyon tedavi süreçlerinde ciddi problemleri de beraberinde getirmektedir. Özellikle kliniklerde sıklıkla karşılaşılan bu direnç mekanizmalarının bir araya gelmesiyle oluşan çoklu antibiyotik direnç seviyesinin (multidrug resistence, MDR) artışı kaynaklı bütün antibiyotiklere karşı dirençli (pandrug resistance, PDR) suş ortamların oluşmasına sebep olmaktadırlar (Falagas ve ark.,2008).

Ortamda yer alan aldehitler veya ketonların herhangi bir primer aminle verdiği kondenzasyon prosesi sonucu oluşan ürün grubu Schiff bazları olarak adlandırılmaktadır (Ermiş ve ark., 2005). Oluşan Schiff bazları; özellikle metallerin kimsasal reaksiyonlar öncesinde tasnifi ve tanımlandırılmasında önemli bir azot donör ligandı olarak kullanılmaktadırlar, bu kullanım şekli geçiş metallari (başta Al, Cu, Zn, Cr olmak üzere) çok sayıda metal ile sağlam kompleks moleküller oluşturması prensibine dayanmaktadır (Klayman,1983;Scovill,1984). Yakın geçmişte Kim ve Lee (1992), Mirabelli (1987) ve Patel (1989) tarafından temelleri atılan Schiff bazları ve oluşturduğu metal komplekslerinin detaylı kimyasal özelliklerinin tespit edilmesine yönelik çalışmalar günümüzde devam etmektedir.

Amirkhanov (1999) tarafından Schiff bazlarının farklı kullanım alanlarına yönelik geliştirilen uygulama teknikleri ile birlikte Schiff bazları; özellikle tıp ve biyolojik çalışmalar kapsamında yer alan metal komplekslerinin tanı ve tedavi uygulamaları başta olmak üzere farmakoloji ve biyoloji endüstrilerinde önemli bir konumda yer almaktadır. Ayrıca Schiff bazlarının protein sentezinde α-aminoasitlerin üretiminde görev alması ve bu uygulama zinciri içerisinde yer aldığı antimikrobiyal ve antitümörproseslerisebebiyle özellikle organizmalar için biyolojik öneme sahiptirler (Grabaric,1993). Özellikle yakın geçmişte antikanser konulu çalışmalara konu olan ve kanserle mücadele konulu uygulamalarda reaktif olarak kullanılan Schiff bazı ve komplekslerinin (Mutterties, 1989); fareler üzerinde uygulanan araştırma kapsamında yer alan bileşiklerin kuvvetli antikanser aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Patel, 1989).

Schiff bazı ve bazlara ait metal komplekslerinin başta kanser oluşumu gözlenen dokular üzerinde antikanserişlevi kazandığının belirlenmesinin ardından; insan vücudunda kanserli hücre dokularının çaplarının azaltılması ve ilerleme ivmelerinin düşürülmesi amacıyla reaktif yapıda dokular içerisinde yer alması amacıyla araştırmalar 1979 tarihinde Mutterties tarafından başlatılmıştır.Bu süreç dahilinde başta fare dokusunda yer alan farklı tip kanser hücrelerinin ilerlemesinin durdurulmasına yönelik uygulanan *in vivo*araştırma projesi kapsamında Schiff bazı

komplekslerinin güçlü antikanser aktivitesinin gösterdiği belirlenmiştir(Patel,1989; Mishra ve ark. 2018).

Günümüzde Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organisation – WHO) tarafından belirlenen ve başta insan olmak üzere diğer canlıların sağlığına doğrudan veya dolaylı yoldan önemli bir tehlike oluşturabilmesi olası dirençli bakterilerin listesinin yayınlanmıştır. Bu liste kapsamında sahip olduğu direnç derecesine oranla yüksek seviye risk grubuna giren olan üç bakteri (*E. coli, P. Aeruginosa ve S. aureus*) hastane kaynaklı organizmalar olarak adlandırılmakta olup; özellikle sağlık kuruluşları, bakım ve huzur evleri gibi toplum sağlığı ile doğrudan ilişkili ortamlarda sıklıkla gözlendiği ifade edilmektedir. Ayrıca belirtilen bakteri aktivitesine yönelik etkin yeni antimikrobiyal ajanlara ihtiyaç duyulduğunu da belirtilmektedir (Havenga ve ark., 2019). İkinci derece risk grubunda yer alan bakteri gruplarına; farklı dokularda duodenum ülseri, mide ülseri veya mide kanserinin gelişmesine sebep olan *Helicobacter Pylori,* gıda zehirlenmesi ve çeşitli sindirim yolu indikasyonları sonucu kuvvetli ishale yol açan *Salmonella* ve gonokokkal enfeksiyonlar vasıtasıyla üreme sistemlerinde serviks ve rahimde gözlenen bel soğukluğuna neden olan *Neisseria gonorrhoeae*yer almaktadır. Listenin bir alt grubunda ise pnömoniye kaynak olarka gösterilen ve penisiline karşı dirençli olmasıyla bilinen *Streptococcus pneumoniae* üçüncü derece risk grubunda bulunmaktadır (Buud ve ark., 2019).

Bu yüksek lisans tez çalışmamız kapsamında; Schiff bazı türevlerinin yeni bir antimikrobiyal ajan olma kriter ve kapasitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaca uygun olarak alternatif antimikrobiyal ajanların geliştirilmesine yönelik Schiff bazı bileşiklerinin antibakteriyel özelliklerinin araştırılması planlanmıştır. Bu kapsamda poliflorlu aminofenil türevi Schiff bazı bileşiklerinin antimikrobiyal özellikleritest edilmiştir. Bileşiklerin, ilaç direnci geliştirme riski yüksek bakteriler sınıfına giren *E. Coli, P.aeruginosa ve S. aureus* üzerinde $MİK_{50}$ seviyeleri ilebelirlenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Schiff Bazları

Schiff bazları Alman kimyager Hugo Schiff (1869) tarafından ilk defa üretilen ve tanımlanan Schiff Bazları; aldehit veya keton bileşiklerinin, uygun koşul ve ortamlarda primer amin gruplarıyla bir kısmı organik molekül olmak üzere iki molekül arasından küçük ve polar bir molekül ayrılarak yeni bir molekül meydana gelmesi (kondenzasyon reaksiyonu) sonucu oluşan karbon-azot çiftbağı ve azometin bulunduran ürün grupları olarak tanımlanmaktadır. Bu baz gruplarının keşfinin ardından koordinasyon kimyası olarak ligand olarak (bir metale bağlanan bir atom, iyon veya molekül olarak) kullanılması ise (Pfeiffer ve ark., 1932) tarafından gerçekleştirilmiştir. Pfeiffer ve ark. (1932) bu çalışmasında Schiff bazlarında oluşan reaksiyon gruplarınınçift taraflı veoldukça dengeliolduğunu, reaksiyon seviyelerinin oldukça hızlı bir şekilde oluştuğunu ifade etmektedir.

2.1.1. Schiff Bazlarının Tanımı

Yapıları dahilinde farklı niteliklere sahip karbon-azot elementlerinin oluşturduğu çift-bağ yapısına sahip ileşikler azometin bileşikler, karbon-azotçiftbağındanoluşan fonksyionel grup ise *"azometin grubu"* olarak adlandırılmaktadır. Schiff bazları altta yer alan RCH=NR' genel formülüyle ifade edilmesiyle birlikte, formülüzasyonda yer alan R' birimi aril veya alkil sübstitüentleri ifade etmektedir.

$R\text{-}NH_2+R\text{-}CHOR\text{-}N=CH\text{-}R+H_2O$ Denklem (2.1)

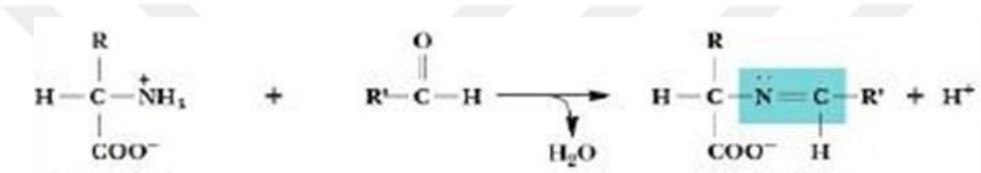
Schiff bazlarına ait bir diğer bağ grubu olan imin bağları; multispektral fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olmasının yanısıra canlı unsurların sahip olduğu biyolojiksistemler dahilindeönemliişlemlere sahiptir. Oluşan baz tepkimelerinde yer alan ve denklem 2.1. dahilinde gözlenen C=N bağı; kararsız yapıda olmasının yanısıra hidrolizlenebilir (büyük yapılı moleküllerin ortam içerisinde su molekül grupları ile tepkimeye girmesiyle birlikte oluşan ürün grubunun daha küçük yapılı moleküllere çevrildiği tepkimeler) ve tekrar

biçimlenebilir bir yapıya sahiptir. C=N bağ yapısında gerilme frekans değerleri içerisinde gözlenen yükselme değeleri genellikle Lewis asitleri içerisinde oluşan reaksiyon grubuyla veya imin atomlarının protonlanmasıyla oluşmaktadır (Wang ve Poirier, 1997). Oluşan Schiff bazlarının kararlı yapıda ve 4-5-6 halkaya sahip kompleksler oluşturması; yapı genelinde yer değiştirebilir hidrojen atomuma sahip bir fonksiyonel grubun bulunması ve azometin grubuna olabildiğinde yakın olması gerekmektedir (Patai, 1970). Bundan dolayı kompleks yapı oluşumu amaçlı üretim gruplarında hidroksilgrubu kararlı yapıyı stabilize eden birim olarak tepkime gruplarında tercihedilmektedir (Köksal,1999).

Schiff bazları sahip olduğu bu fiziksel avantajların yanı sıra stereo-elektronik yapılarının kolay ayarlanması, moleküler düzeyde çevre koordinasyon özellikleri, reaksiyon ortamında kolay sentezlenebilir oluşu ve bu kolaylığın getirisi olarak düşük maliyet değelerine sahip ve kolay ulaşılabilir olmaları sebebiyle geniş uygulama alanları dahilindelingand başlığı altında geçmişten günümüze doğru artan bir ivmeyle tercih edilmişlerdir. Bu ligandlar; aldehit ve keton grubu bileşiklerin birincil amin bileşikleri ile birlikte yoğunlaşması ile oluşmaktadırlar. Sayıca büyük olmasına kıyasla ligandların metaller ile bağ kurması esnasında görev alan birleşebilen verici atomlar, sayı olarak ortam içerisinde yeterli miktarda bulunmamaktadır. Bu sebepten dolayı tepkimelerde ortaya çıkan katalizör ihtiyacı genellikle azot, oksijen, kükürt, nitrojen ve sülfür olarak bilinmektedir. Bununla birlikte reaksiyon tepkimesine giren ligand bileşeni; metal tuzunun molar oranı, baz-iyon komplekslerinin katalitik aktivite performansı ve ligandın reaksiyona girdiği metal tuzu gibi faktörler de kompleksin şeklini ve yapısını etkileyebilmektedir. Schiff bazlarının bu kapsamda oluşturduğu ligandların yüksek verime sahip olmasına rağmen farklı karakteristiğe sahip yeni ligandlar üzerine performans verimi tabanlı araştırmalar devam etmektedir.Günümüz modern tıp ve biyolojik proseslerin yanı sıra teknolojik tarım, kataliz ve optik elektronik konu başlıklarında Schiff bazlarını konu alan uygulamalar detaylı bir şekilde araştırılmaktadır.

2.1.2. Schiff Bazlarının Sentez ve Mekanizması

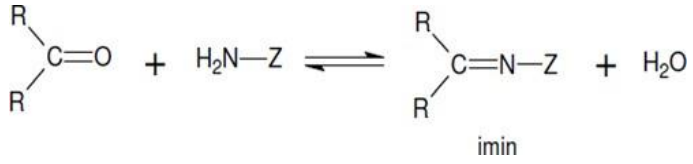
Ketonların herhangi bir primer aminle verdiği kondenzasyon tepkimesi sonucunda oluşanve karbon-azot atomları arasında kurulan bağ çifti (C=N) azometin bağı veya imin bağı şeklinde isimlendirilmektedir (Schiff, 1869). Kondenzasyon prosesinde özellikle aldehit molekülleri ile karbonil grubu (Şekil2.1.) bileşenleri arasında herhangi bir bağ kurulması durumunda yapı azometin (Şekil2.2) veya aldimin, keton molekülleri ile karbonil moleküllerinin bağ kurmasıyla oluşan yeni yapı iminketimin (Şekil2.3) olarak isimlendirilmektedir.



Şekil 2.2. Schiffbaz gruplarına ait temel yapıya yönelik oluşum mekanizması

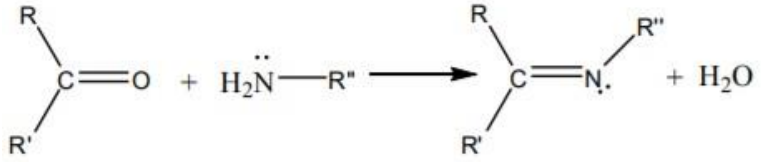


Şekil 2.3. Aldehit moleküllerine ait karbonil grubunun bağlanması vasıtasıyla oluşan Azometin yapısına ait temel oluşum mekanizması

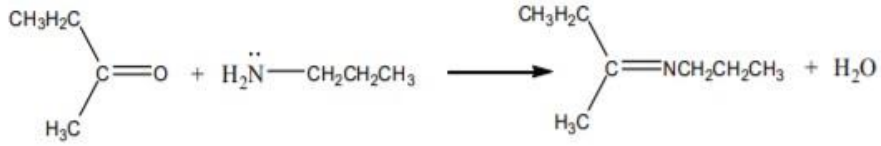


Şekil 2.4. Aldehit moleküllerine ait karbonil grubunun bağlanması vasıtasıyla oluşan imin yapısına ait temel oluşum mekanizması

➢ Aldehit veya ketonların birincil aminlerle reaksiyonundan

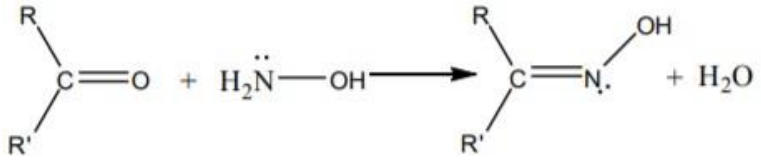


Aldehit veya keton 1° amin İmin [(*E*) ve (*Z*) izomerleri]

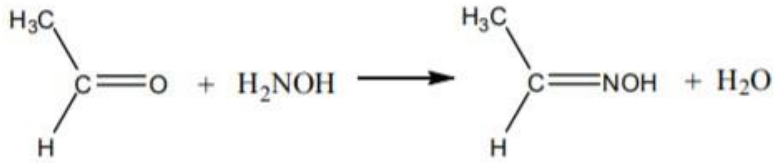


Bütanon 1° amin İmin

➢ Aldehit veya ketonların hidroksilamin ile tepkimesinden (Solomons, 2002)



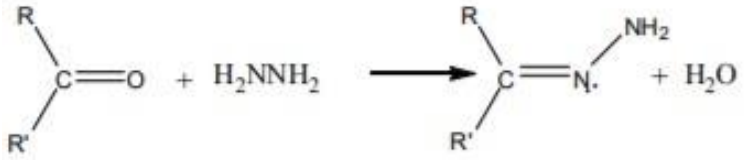
Aldehit Hidroksilamin Oksim [(*E*) ve (*Z*) izomerleri] veya keton



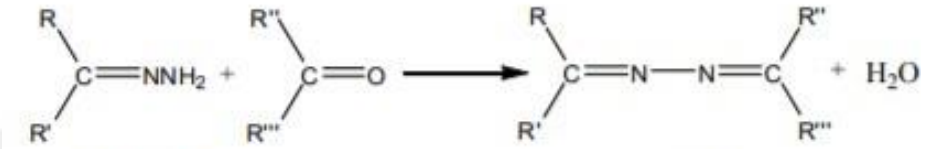
Asetaldehit Asetaldoksim

Şekil 2.5. Aldehit moleküllerine ait karbonil grubunun bağlanması vasıtasyla aldimin, keton molekülleri ile karbonil moleküllerinin bağ kurmasıyla oluşan yeni yapı

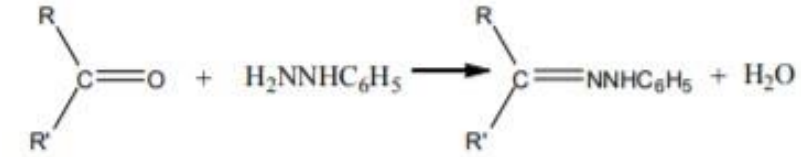
➢ Aldehit veya ketonların hidrazin ve fenilhidrazin ile tepkimesinden



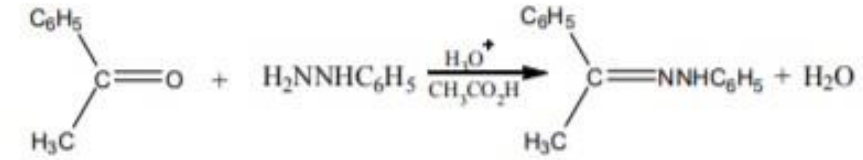
Hidrazin Hidrazon [(*E*) ve (*Z*) izomerleri]



Hidrazon Azin

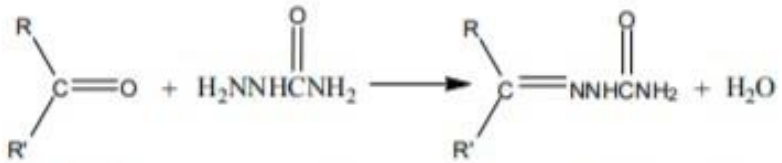


Fenilhidrazin Fenilhidrazon



Asetofenon Asetofenon fenilhidrazon

➢ Aldehit veya ketonların semikarbazit ile tepkimesinden (Solomons, 2002)

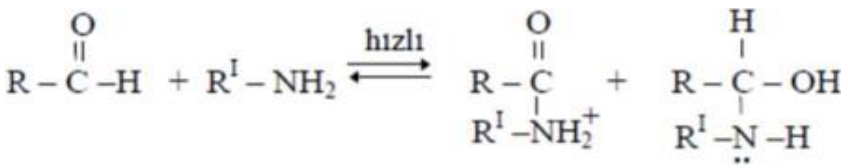


Aldehit Semikarbazit Semikarbazon veya keton

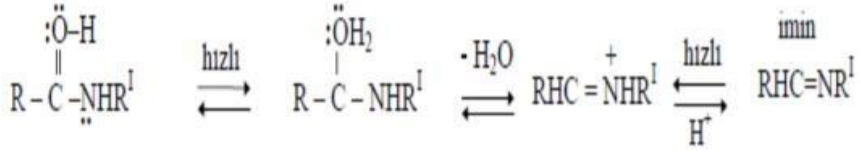
Şekil 2.6. Aldehitlerin veya ketonların hidrazin ve fenilhidrazinile reaksiyonu

Keton grubu bileşiklerden Schiff baz gruplarının üretimi amacıyla kurulan reaksiyonlar sırasında açığa çıkan su ile azetrop oluşturan bir çözücünün belirlenmesi, reaksiyon veriminin korunmasına ve arttırılmasına yönelik sıcaklık aralığının tespit edilmesi, reaksiyona uygun bir katalizörün belirlenmesi ve reaksiyona katılması ile ortamın pH aralığının stabil olması gibi etmenlerin göz önünde bulundurulması gerekmektedir (Uçan, 2002)(Şekil 2.4). Özellikle aromatik niteliğe sahip keton grubundan Schiff bazının üretimi amacıyla kurulan reaksiyon düzeni içerisinde, ortalamanın ~2-3 katı reaksiyon süresi ve yaklaşık olarak ~1.2 katı fazla yüksek sıcaklığa gereksinim duyulmaktadır (Bilmann, 1958; Patai, 1970) (Şekil 2.5). Aromatik ketonların aksine Schiff bazlarının aldehitler ile reaksiyon tepkimeleri çok daha uygun karşılanabilir koşullarda gerçekleşmekte olup, aromatik aldehitlerin kullanıldığı tepkime gruplarında normal şartlar altında seçilen çözücü grubunun çok daha düşük sıcaklıklarda yüsek reaksiyon veriminin ortaya çıktığı gözlenmektedir (Obalı, 2010). Obalı (2010) çalışmasında aromatik aldehitlerin yine aromatik aminler ile kondezyon tepkimemelerinde, amin grubunda elektron çekmesi esnasında para pozisyonunda yer alması tepkime özelinde reaksiyonun hızını arttırmaktadır. Kondenzasyon reaksiyonu sonucunda oluşan ürün grupları (ligandlar) foto-fiziksel özelliklere de sahip olmasından ötürü özellikle iki yönlü optik verilerin depolanmasında kullanılmaktadır (Rix, 2005)(Şekil 2.6).

Schiff bazlarının imin üretimine yönelik gerçekleştirilen tepkime grubunda iki farklı aşama içerisinde birincil aminler ile birlikte karbonik bileşiklerin reaksiyonları sonucunda sentezlenmektedir. Bu aşamaların ilkinde, birincil amin ve karbonil gurubunun son ürün olarak yer aldığı yoğunlaşma reaksiyonunda karbonil-amin ara bileşik grubu ile başlayan tepkime zinciri, Schiff bazlarının karbonil-amin grubunun dehidre olması ile devam etmektedir.



Şekil 2.7.Schiff bazlarının sentez uygulamasına ait ilk adım

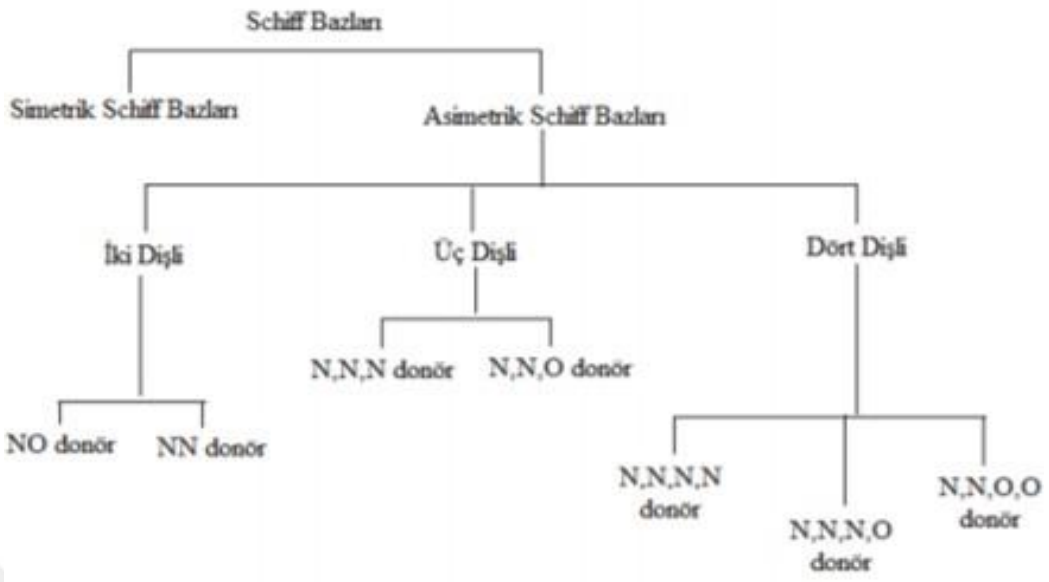


Şekil 2.8. Schiff bazlarının sentez uygulamasına ait ikinci adım

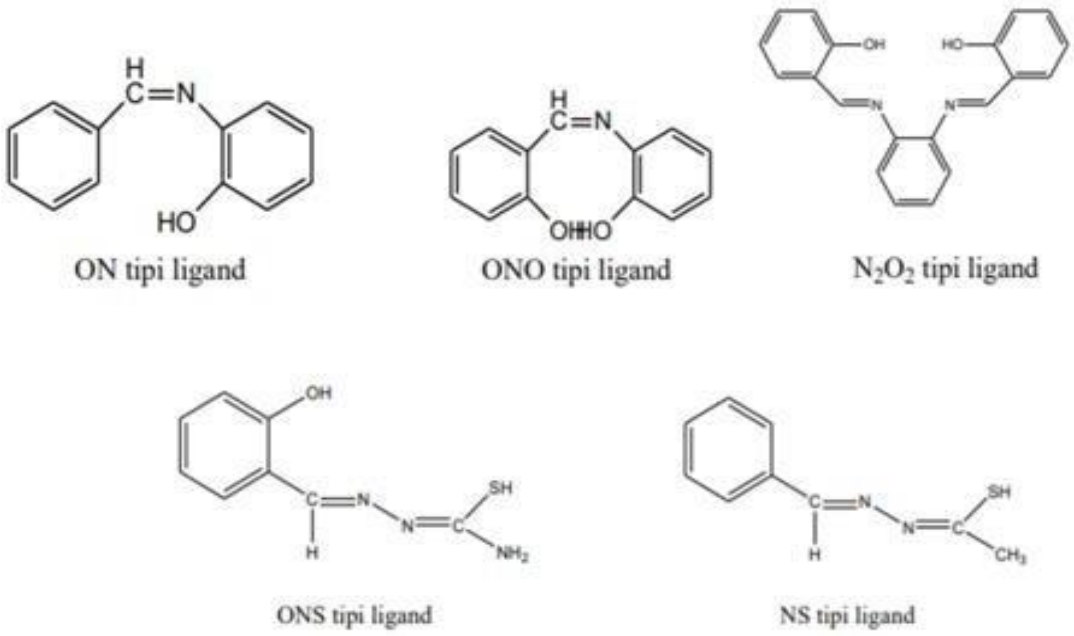
Bazlara ait sentez grubu ve bu senteze ait imin oluşum tepkimeleri, ortamın pH değerine bağlı bir reaksiyon zinciridir. Reaksiyon koşulları dahilinde ortamın pH değeri < 3 ise tepkime oluşan ürün grubu aminin tuzu oluşturarak serbest amin derişimini önemli ölçüde düşürmektedir. Bu düşüş özelinde, tepkimeye katılma basamağı yavaşlar ve ortamda asidite azalarak kademelerde yavaşlayan bir tepkime olarak devam etmektedir. Bu hususta Schiff bazlarına ait sentez tepkimeleri içerisinde en uygun pH değeri 3 ile 4 arasındadır.Schiff bazının fonksiyonel grup olarak Shifff bazları imin gruplarının orto durumunda (-OH, -NH2, -SH, -OCH3) sadece imin grupların (Ph-CH=N-Ph, Ph-CH=N-R) oluşturmaktadır yüksek performanslı bir ligard olmadığı Koç (2006) tarafından reaksiyon gruplarınca belirlenmiştir.

Schiff bazıları tepkime grupları yüksek hidroliz olmalarından kaynaklı sentezleri su içeren ortamlarda düşük performansla gerçekleşmektedir. Sentez reaksiyonlarında ortaya çıkan su molekülleri, azeotrop yapı gruplarını oluşturacağından dolayı bir çözücü yardımıyla ortamdan ayrılmalıdır (Hasanoğlu, 2009) (Şekil 2.9, Şekil 2.10).

Schiff bazları; poliamidleri, poliimidleri ve poliüreleri hazırlamak için monomerler olarak kullanılan diaminler vasıtasıyla üretilmesi; simetrik ve asimetrik (simetrik olmayan) Schiff bazları ile iki ayrı başlık altında incelemek mümkündür. Bu hususta (Choudhary ve ark.,2006) Schiff bazlarını, içerisinde yer alan donör atomlara ait atom sayısı ve atom türüne bağlı olarak dişli sayılarına ve alt başlık olarak *"NO,N_2O_2,ONO"* ligand olarak sınıflamıştır (Şekil 2.7, Şekil 2.8).



Şekil 2.9. Schiff baz gurplarının sahip olduğu simetriye uygun olacak şekilde sınıflandırılmasına ait diyagram



Şekil2.10. Schiff bazlarının atom türüne bağlı olarak dişli sayılarına ve alt başlık olarak *"NO,N_2O_2,ONO"* ligand olarak sınıflamıştır.

2.1.3. Schiff bazlarının endüstride kullanımı

Başta polimer üretim sanayi gruplarında sıklıkla kullanılan Schiff bazları, plastik endüstrisinde sıvı-kristal uygulama teknolojilerinin ve elektronik devre şemalarında bulunmasının yanı sıra kozmatik, renklendirme grupları ve analitik kimya uygulamalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Bazların içerisinde yer alan "kemoterapötik" aktiviteye duyarlı reseptörler vasıtaısyla özellikle kanserli doku üzerinde yer alan bileşikler ile iz elementler vasıtasıyla şelatlar oluşturması sebebiyle son yıllarda tedavi ve farmatolojik özellikleri sağlık endüstrisinde kullanılmaktadır. Aldehit ve ketonun birincil düzey amin grubu serbest şekilde ortam içerisinde yer alan oksijen atomu vb. tekil atom ve molekül gruplarının oksidasyonunda işlevinde görev almakta (Niederhoffer, 1984; Karlin, 1993) ve özellikle radyoaktif zenginleştirme proseslerinde uranyum yarılanmalarında yer alan tepkime izleyici rolünde, kalitetif ve kantitatif tayinlerde de ayrıca yer almaktadır (Yaşar, 2016). Bazların özellikle metaller ile kurduğu bağlar merkezine bağlı noktalarında tepkime süresinde oluşan ligandların modifikasyonları; metal komplekslerinin hidrofilik ve lipofilik özelliklerini dengeleyebilmesinden ötürü özellikle enzimatik fonksiyon gruplarında spektrofotometrik görev alarak metalik modifikasyonların analitik kimya gruplarında da yer aldığı da bu hususta ayrıca gözlenmektedir (Galanskı ve ark.,2005).

Bu reaksiyon zincilerinde oretaya çıkan karbonil bileşiklerinin tanımlandırılması bazlar ile oluşan kompleksler ile oluşmakta, reaksiyon sonucu oluşan Schiff bazlarının erime noktalarının uç seviyelerde olması yapıların sınıflarındırılma ve tanımlandırılmasında ayrı bir kullanım kolaylığı sağlamaktadır. Bazlar bu biyo reseptör uygulamalarına ek olarak DNA-RNA sentezlerinde yer alan tepkime durdurucu bir kodon oluşturmaya yönelik çalışan *"ribonükleotitredüktaz"* enzim grubunu inhibe ederek kodoun oluşumuna yönelik prosesi başlattığı gözlemlemişlerdir (Coryveark.,1985).

2008 yılında (Shabani ve ark.,2008) tarafından azot içerikli bazların insan vücudunda gözlenen myeloid lösemi oluşumunu kaynaklandıran K562 hücreleri ile birlikte Jurkat olarak adlandırılan T lenfosit karsinoma hücre aktivitelerine karşı antitümör aktivitleri arttırıcı Schiff bazı kökenli farklı metal komplekslerinin ligand formunda *"(CDP (6-(cyclohexylamino)- 1,3-dimethyl-5(2-pyridyl)furo[2,3-d]pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione)"* kullanılmasıyla kanser ve kemoterapi uygulamalarına yeni bir perfektif kazanılmıştır. Özellikle bazların üç-bakır kompleksilerinden elde edilen "*salisilaldehit-amino"* bileşikleri ile yapılan uygulamalar dahilinde BGC823 olarak adlandırılan gastrit kaynaklı timör dokusu üzerinde apoptozisi uyararak hücre döngülerinde tümör küçülümü kaynaklı modifikasyonlara sebep olduğu gözlenmiştir (Guo ve ark., 2009). Bu bulguya ek olarak bazlar kaynaklı biyosekansların in vivo şartlarda devam etmesi gerektiğini literatüre kazandırmışlardır.

Schiff bazları metal komplekslerin antimikrobiyal ve dokular üzerinde anti-kanser uygulamaları üzerine çalıştığı uygulamalar sonucunda, *in vitro* düzeyde yapılan bu uygulamalarda PdII metal kompleksinin insanlarda yer alan göğüs adenokarsinomasında bulunan MCF-7 hücre yapısı üzerinde çok güçlü antikanser etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Osowole ve ark., 2012). Yine in vitro ortam koşullarıunda bazların aynı adenokarsinomasında yer alan HT-29 hücrelerinde gözlenen kanserleşme hücrelerine karşı tepki gösterdiği tespit edilmiştir (Osowole ve Akpan, 2012). Ayrıca in vivo ortamda *vanillin semikarbazon* moleküllerinin EAC (*Ehrlich Ascites Karsinoma*) hücreleri üzerinde tümör küçülümü kaynaklı antikanser aktivite özelliğinin olduğu görülmüştür.(Moshin Ali ve ark.,2012). Bir diğer biyolojik reaksiyon serisi olan katekol tepkimeleri içerinde yer alan serbest oksijen ve aminoasit oksidasyonlarında ligand olarak görev alan Schiff bazları, koordinasyon kimyasında çeşitli görevler almakta, bu konu üzerine çeşitli çalışmalar literatür dahilinde (Niederhoffer ve ark., 1984; Karlin ve ark., 1993) tarafından başlatılmıştır.

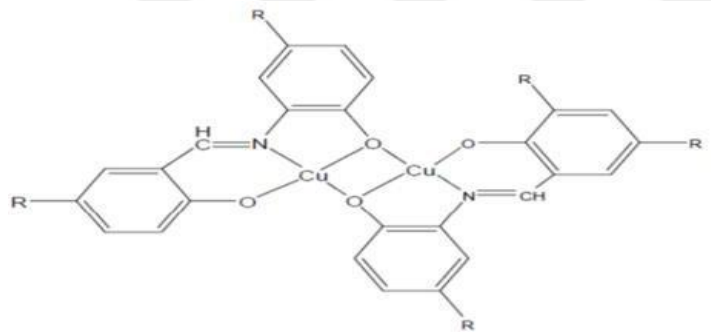
Schiff bazlarının sahip olduğu metal komplekslerin özellikle antitümör uygulamalarında popüler olması (Klayman ve ark., 1983; Scovill ve ark.,1982)

tarafından başlatılan çalışmalar ile başlamış olup; özellikle kükürt bağlı metal komplekslerinin bu dokular üzerinde hücre bölünme hızlarının düşürülmesine yönelik tepkime veriminin artması (Mirabelli ve ark., 1987) ve aldehitlerin primer amin grubuyla bağ yapıcı özelliklerinin keşfini (Patel ve ark., 1989) beraberinde getirmiştir. Bu keşitflerin ardından Schiff bazlarınınbaşta şelat sınıfı geçiş metallerine karşın sahip olduğu farmakolojik/kimyasal kuvvet potansiyelinin özellikle antiviral ve antienflamatuar ajan serilerinin keşfi, üretimi ve ilgili organizma ve dokular üzerinde kullanımna yönelik çalışmalar geliştirilmiştir (Singh ve Kumar, 2006). Ülkemizde ise Schiff bazlarına ait çinko-bakır komplekslerinin insan vücudu üzerinde oksidatif stresin azaltılmasına ve özellikle çinko uzantılı baz komplekslerinin doku hücreleri dahilinde antioksidan özelliklere sahip proseslere katkıda bulunduğunu laboratuvar çalışmaları vasıtasıyla keşfeden (Yılmaz ve ark.,2003); bakır türevli ligandların bu oksidatif stresi diğer ligandların aksine arttırdığı da ayrıca bulgularına eklemiştir. Ayrıca Mülazumoğlu (2009) çalışmasında aldehitlerin yer aldığı zincir tepkimelerine eklenen aromatik aminler ile oluşan Schiff bazlarının kararlılık yapıları aminlerin katıldığı aldehitler ile oluşan baz gruplarından daha kararlı olduğunu keşfetmiştir.

2.1.4. Schiff bazlarının metal kompleksleri

Yer aldığı tepkimeler özelinde tepkime içerisinde bulunan metal bileşikler ile kompleksler oluşturabilme özelliğini bulunan Schiff bazları; bu tepkimeler esnasında metal iyonları ile kararlı kompleksler oluşturabilecek kadar bazik karaktere sahip olmamaktadı. Bu sebepten ötürü, tepkimeler içerisinde kararlı komplekslerin oluşumuna yönelik gerekli olan hidrojen atomlarının kaynak oluşturacak ek bir gruba tepkime içerisinde ihtiyaç duyulmaktadır. Bu ihtiyaç tepkimeler içerisinde metal atomları ile beş veya altılı *şelat* (iki veya çok dişli bir kimyasal ligandın iyonik bir substrata bağlanması ile oluşan yapı) halkalarını genellikle hidroksil grubundan tercih edilmektedir. Bu şelat yapıları ile oluşan okzokromik gruplar özellike tekstil uygulamalarında boya maddesi olarak kullanılmaktadır.

Metalik karaktere sahip salisialdiminler; Cu(II) türevli iyonlara sahip olarak koordinasyon kimyasına yönelik güncel uygulamalara son yıllarda literatüre katılmaktadırlar. Kolay sentezlenebilir bir özelliğe sahip olan salisilaldimin lingardları 2-5 dişli yapı farklılıklarıyle özellikle metaller ile tek ve iki çekilrdekli kompleks yapıları oluşturabilmekte, bileşiklerin sübstitüentleri (substitunts) ise gerek fiziksel gerekse kimyasal olarak sahip olduğu çeşitliliği elektronik etkilere dayandırmaktadır(Takeuchi, 1982; Carbondo ve ark., 2000). Özellikle Cu(II) metalik kompleksinin yapısı "*5-sübstitüe salisilaldehit"* ve "*ansübstitüe o-aminofenol"* kaynaklı dimerler olduğu (Carbondo ve ark.,2000) tarafından belirlenmiştir. Cd(II) ve Cu(II) kaynaklı metal kompleksler ile polidente Schiff bazlarının sentezlenmesiyle oluşan bileşiklerin çeşitli organizmalar üzerinde etkilerini, kararlı yapıları ve baz etkinliğinin ardında oluşan aktivite zincirini potansiyometri lçümler vasıtasıyla incelemişlerdir (Gölcü ve ark.,2005)



Şekil 2.11. Schiff bazı bakır kompleksi dimer hali

Schiff bazları ile tepkimeye girerek metalik kompleks bileşiklerin sentezlenmesine yönelik geçmişten günümüze farklı teknikler ve tekniklere ait uyulamalar geliştirilmeye çalışılmış, bu hususta verimliliği ve tepkimelere ait fonksiyonel yapıların uygulanabilir olmasına yönelik üç adet yöntem öne çıkmıştır. Yöntemlerin uygulamaya geçiş tarihi sırasıyla; bazların metalik tuzlar ile doğrudan etkileşime girmesi (March ve ark., 1972) (Şekil 2.11), amin ve aldehitlere ait komplekslerin bir tepkime zincir grubu içerisinde kondenzasyonu (Krygowski ve ark., 1997) ve metal tuz, aldehit ile birlikte amin grubunun template olarak kondenzasyonu olarak öne çıkmaktadır. S-metilditiyokarbazit ile Salisilaldehit (aynı uygulama dahilinde asetilaseton kondenzasyon) tepkimesi

sonucu meydana gelen Schiff bazları; manganez ile oluşturduğu Mn(II) kökenli kompleksi; farklı ölçekte mikro-makro organizmalara yer alan enzim sistemlerinin içerisinde yer aldığı tepkime gruplarında katalizör görevi görmektedir. Bu tepkimeler dahilinde Ağır (2011) tarafından uygulanan çalışma dizisi; Mn(II) grubunun enzim tepkimelerinde bazlarla birlikte gerçekleştirdiği birçok yükseltgenme basamağını tespit etmiştir. Spektroskopik uygulama teknikleri ile oluşturulan Schiff bazı nikel şelatı; "*nikel-(II) N (-(2-Hidroksiasetofenon)"* olarak nitelendirilmiş olup bir diğer antitümor uygulama tekniği geliştirme çalışması dahilinde antikanser ajan niteliğinde MDR tümörünü gerileten bir uygulama haline gelmiştir (Banerjee, 2017). Güncel literatür dahilinde (Karaıarası ve ark... 2018) tarafından geliştirilen Schiff bazı ligandı ("*7-hidroksi-3- formilkromonu*") CuII iyonu ile komplek bileşeni oluşturması ile özellikle insan vücudunda yer alan akciğer karsinom (A549) ile meme kanseri (MCT-7) hücre metastaz grupları üzerinde tesiri sonucunda ileri seviyede tümör oluşumunun gerilediği tespit edilmiştir (Ling ve ark.,2012).

2.2. Antimikrobiyal aktivite

Doğada yer alan ve farklı ölçekte mikroorganizmaların çeşitli yaşam formları içerisinde; ilgili formları negatif etkileyecek bir çevre koşullarına sahip yapılaringelişmesiniengelleyebilen "*antimikrobiyal"* uygulama odaklı inhibitörler yer almaktadır. Bu maddeler; özellikle seçici toksitisiteye sahip olduklarından dolayı organizma içerisinde çeşitli konsantre değerlerinde ilgili mikroorganizma yapılarına karşı etkili olabilmektedir (Schlegel,1992; Demain,1999). Günümüzde farklı teknikler ve arkaplanlar ile geliştirilen antibiyotik uygulamalarına karşı direnç kazanan bakterilerin organizmlar dahilinde oluşturduğu enfeksiyonlar kaynaklı hastalıklar ve bu hastalıklara bağlı ölümlerde kayda değer bir artış gözlenmektedir. Bu direnç sahibi bakteri gruplarına karşın günümüzde risk grubunu oluşturan gruplar; bağışıklık sistemini baskılayan ilaçları periyodik olarak kullanan hastalar, yüksek-risk grubu dahilinde gerçekleştirilen ameliyatlar, kanser ve AIDS tedavisi gören hastalar, kök hücre tedavisi görenler ve yaşlılar olarak sınıflamak mümkündür (Nucci ve Maar, 2005). Bu hususta yer alan gruplara yönelik artan ölüm oranlarının düşürülmesi ve özellikle uygulanan tedavilerin olumlu

sonuçlanmasına istinaden yeni antimikrobiyal ajanların üretilmesine güncel tıp literatünde acil ihtiyaç duyulmaktadır.

2.2.1. Schiff bazlarının antimikrobiyal etkileri

Oluşturduğu bileşiklere yönelik tepkime proseslerinde görev alması ve sağladığı avantajlar nedeniyle genellikle sanayi gruplarında kullanılan Schiff bazlarının özellikle insan sağlığı uygulamalarına yönelik tekniklerde yer alması halihazırda literatüre yakın geçmişte girmiş çalışmalar ile başlamıştır.(Karthikeyan ve ark., 2006; Shi ve ark., 2007).

Schiff bazının Cu(II) kompleks bileşeninin maya şuşları üzerinde antifungal ve antibaktiriyel konulu aktvite değerlerinin ölçülmesine yönelik tarafından hazırlanan şuş deney setleri içerisinde "*[Cu(HL)(phen)(OAc)]"* kompleksinin *"C.Albicans"*ve*"A.Niger"*suşlarına karşı antibakteriyel özellik gösteriği tespit edilmiştir (Tabassum ve ark. 2013). Bu yıldan itibaren artan bir popüleriteye sahip olan Schiff bazları özellikle Shebl (2014) tarafından yine aynı şuşlar üzerinde farklı ligandların ve VO^{+2} kompekslerinin yine antibakteriyel özelliklere sahip olduğu, özelllikle kompleks yapıların bazlara ait ligandlardan daha fazla etkili olduğunu tespit etmiştir. Schiff bazlarının Cd(II) ve Cu(II) kompleks yapılarının sahip olduğu antimikrobiyal aktivitelerin tespitine yönelik*"C.tropicalis" ile "B.megaterium"* baktelerine karşı yüksek tesirli antimikrobiyal görevi gördükleri tespit edilmiştir (Gölcü ve ark., 2005). Bu gelişmeler akabinde ülkemiz içerisinde (Yıldız ve ark.,2015) tarafından anilin ve triflometil kaynaklı yeni bir baz ligandının antimiktrobiyal özellikleri; UV-Vis soğrulma karakterizasyonu vasıtasıyla incelenmiştir.

Bu antimikrobiyal aktivite araştırma sonucunda ligandın test edilen mikro organizmalara karşı ortalamanın ~4.5 katı yükek konsanstre değerlerinde ve ortalama 1.2 oranında daha kuru bir ortamda etkiliolduklarınıgözlemlemişlerdir. UV soğrulma karakterizasyonu konulu bir diğer çalışma olan içerisinde; sitotoksik ve antimikrobiyal aktivitelerin organizmaların DNA'ları içerisine interkalasyon yöntemiyle bileşik oluşturduğu gözlenmiştir. Bu oluşan

bileşiklerin sitotoksisitelerinin (toksin üretim aktivasyon değeri) tespitine yönelik MTT yöntemi çalışılarak kanser hücre hattı olarak bilinen "*hepatoselüler karsinoma (HepG2)"* yapısına karşı yüksek sitotoksik aktivite oluşturduğu tespit edilmiştir (Kiran ve ark.,2015).*"4-aminobenzoik"*asit türevi Schiff bazlarının*"S. Typhimurium, P. Aeruginosa, P.Vulgaris, E.Aerogenes ve E. Coli"* bakterileri üzerindeki etkileri incelenmiştir. DMSO (Dimetil Sülfoksit) çözeltisi içerisinde çözülen Schiff bazları ile birlikte ortalamadan çok daha düşük seviyede antimikrobiyal aktivite gösterdikleri gözlenmiştir (Parekh, 2005).

Klinik bir çalışma dahilinde; bazların çeşitli platin kompleks grupların içeirisnde organizmalar dahilinde antitümoral özelliklere sahip olduğu, buna istinaden halo-nitrovb.çeşitlerininde antimütöral özellik gösterdiğini belirtmişlerdir (Choudhary ve ark., 2006). Schiff bazlarına ait metal komplek bileşenlerinin bazların ligandlara kıyasla çok güçlü antimikrobiyal etkiye sahip olduklarını tespitini *"Şelasyon Teorisi"* adıyla literatüre katmışlardır (Mahadevan ve Palaniandavar, 2011). Bu teori; merkezde yer alan metal atomu iyonize ligand ile şelatlanması sonucunda polaritesini yitiren metal iyonunu ve delokalizasonunu anlamlandırarak metal kompleks yapıları içerisinde komplekslerin katıldığı enzimlerin bağlanma frekanslarında oluşan düşüşleri ifade etmektedir. Dolaylı yoldan organizmalar üzerinde protein sentezlerini durdurma ve belirtilen mikroorganizmanın yaşamsal döngüsünü tamamlanmasını amaçlamaktadır (Padjama ve ark., 2012).

2.3. Schiff bazlarının antibakteriyel aktiviteleri

Mikrobiyal aktivitelere benzer şekilde bakteriyel ölçekte gelişen bakteriyel direnç; benzer risk gruplarında küresel düzeyde insan başta olmak üzere canlı sağlığını karşısında tehlike oluşturan önemli bir diğer unsurdur. Literatürde yer alan çok sayıda akademik çalışma dahilinde bakterilerin, ilgili hastalığın tedavisi süresince maruz kaldığı ilaç uygulamalarına karşın direç kazandığını kanıtlamıştır. İlgili ilaç tedavisi esnasında; farklı bir antibiyotik formülasyonunun üretimi ve uygulanması, kolistin vb. güncel olmayan bir antibiyotiğin tedavide kullanılması

veya farklı antibiyotik kombinasyonlarının kullanılması vb. tedavi methotları kalıcı bir uygulama sağlayamaması üzerine etkin bir antibakteriyel ajana ithiyacı devam etmektedir.

Bu hususta Schiff bazları üzerine yakın geçmişte polimerik Schiff bazlarının polieter reaksiyonu olarak bilinen Jeffamin ED *("8-hidroksikinolin- 2-karboksaldehit"* ve uçlarda amin grubuna bağlı bileşik grubu) tepkime gruplarının oluşturulması ve akabinde öncelikli olarak antifungal ve antibakteriyel özellik kazanımı üzerine çalışmalar gerçekleştirmiştir (Mledenovave ark., 2002). Schiff bazlarının *"Mycobacterium tuberculosis"* bakterisi üzerinde oluşturduğu blokaj etkisi *in vitro* ve fareler üzerinde *in vivo* uygulama esaslarına bağlı olacak şekilde test edilmiş (Hearn ve Cynamon, 2003). Bu testler sonucunda düşük toksisite oranına karşın bakteri blokajında yüksek aktivite özelliği tespit edilmiştir. Bu çalışmanın ardından*"o-fenilendiaminvepfenilendiaminilesalisilaldehit'in,o-fenilendiaminvep-fenilendiaminile2-furaldehit"* reaksiyonu ile sentezlediği bazların yanı sıra yan ürün olarak oluşan Pt(II) kompleks yapısını UV soğrulma methodu ile analiz etmiştir (Gaballa ve ark., 2007). Bu analiz içerisinde başta *"E.coli, P. aereuguinosa, S. Aureus ve B. Subtilis"* bakterilerine karşın antibakteriyel etkilerin yanı sıra antifungal çıklarında, intibör tarafından yoğunlaştırılmış değerleri ile birlikte tespit edilmiştir.

Ülkemizde Schiff bazlarına ait Pl(II) ve Pt(II) kompleksilerinin sahip oldukları antimikrobiyal etkiler farklı bakteri grupları üzerinde test edilmiştir olup, insan bağışıklık sistemi üzerinde oluşan *"L-lymphoblastic leukomia"* kanser hücrelerine sahip dokular üzerinde düşük oranda sitotoksik bazlı etkileşimlere rastlanmıştır (Akbar ve ark., 2002). Bu çalışmaya benzer şekilde yapılan *Alternaria* ve *Fusarium* mantar gruplarına karşın antifungal üretim prosesleri içerisinde Schiff bazlarının aktivite miktarlarını gözlemlemişlerdir (Temel ve ark.,2004). Schiff bazlarının patojenik ortamda antibakteriyel ve antifungal özelliklerine yönelik verim analizi çalışmalarını yürüten Şakıyan ve ark. (2004) mantarlar üzerinde antifungal proseslerin bakterilere kıyasla çok daha etkin olduğu sonucuna varmışlardır.Polidentate Schiff bazına ait ligandların; yapılarında bakır ve

kadmiyum içerikli metalik kompeksler karşısında aktive olamadığı laboratuvar testleri vasıtasıyla belirlemiştir (Gölci ve ark., 2005).

Sentezlenen yeni nötral Schiff bazları ve zirkon ve bakır metalkompleksleri *"P. aeruginosa, E. coli, S. aureus, Bacillus subtilis"* bakterileri ile "*Rhizoctoniabataicola, Aspergillusniger"* mantarları üzerinde blokajprosesleri ilgili deney gruplarında yer alan çukurdifüzyon yöntemi vasıtasıylauygulanma analizlerine dahil edilmiş ve çalışma sonucunda metal komplekslerin, serbest halde ligandlardan bloke konusunda yüksek verime sahip bir antibakteriyel tepkimeye potansiyeline sahip olduğunu belirtmiştir (Raman ve ark., 2005).

2.4. Antimikrobiyal Ajan Araştırılmasında Kullanılan Yöntemler

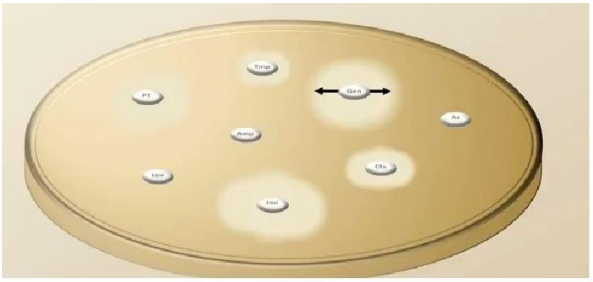
Mevcut literatür kapsamında antimikrobiyalduyarlılığın kestirimine yönelik uygulanan testler içerisinde iki farklıyöntemkullanılma olup "*difüzyon"* ve *"dilüsyon"* olarak ikiye ayrılmaktadır.

2.4.1. Difüzyon Testleri

2.4.1.1. Disk difüzyon testi

Kirby Bauer tarafından laboratuvar rutinleri belirlenen ve kontrol testlerinin başarılı bir şekilde tamamlanmasıyla Disk Difüzyon testi olarak isimlendirilerek literatüre girmiştir. Antibiyotik eklenen kağıt disk yüzeyler üzeinde uygulanan test; duyarlılığı tespit edilecek organizmaların aşılanması, bu organizmaların disk üzerinde sübvanse yayılımınına ve bu yayılımın hızının tespiti mantığına dayanmaktadır. Test düzeneği içerisinde çözülen ve agara doğru ilerleyen disk parçalarının yanı sıra ortama dahil olan organizmaların belirli bir ivme ile çoğalmaya başlaması beklenmektedir. Belirli bir inkübasyon zamanının geçmesiyle birlikte disklerin etrafından oluşan genişlemenin ivmesi sıfıra yakınsar, bu yakınsama ortamda yer alan organizmaların sahip olduğu antibiyotik duyarı ile doğru bir orantıya sahiptir. Oluşan bu duyar yakınsamasına yönelik diskler gözlenen inhibenin çap miktarının milimetre cinsinden ölçülmesiyle; uluslarası geçerliliğe sahip kataloglarda yer alan inhibe oranları ile karşılaştırılarak

duyarlılığın değer aralığına yönelik yorumlamalar yapılabilinmektedir.



Şekil 2.12. Disk difüzyon testinde bir antimikrobiyal maddenin etrafında bakteri büyümesinin olmadığı alana karşılık gelen İnhibisyon Zonu'na ait şematik tasarım (Raman ve ark., 2005)

2.4.1.2. Epsilometre testi (E-Test)

Katı besiyer ortamlarında; difüzyon vasıtasıyla MİK$_{50}$ ("*minimum inhibitör konsantrasyon"* olarak adlandırılmakla birlikte herhangi bir organizmanın ortam dahilinde üremesine engel olan en az ilaç konsantrasyon seviyesi anlamını taşımaktadır) seviyelerinin tespit edilmesine olanak sağlayan teknikler de halihazırda kullanılmaktadır.

Bu teknikler dahilinde yer alan E-test yöntemi;>0.5 McFared yoğunluğuna sahip olan bakteri grubu steil bir agar/etüve yayılır. Agar yüzeyine test kapsamında belirli bir antibiyotik gradyenine sahip e-test şeritleri dahil edilir. Bu şeritler 18 ile 24 saat süre dahilinde ve 35 derece sabit sıcaklıkta inkübe edilerek konsantrasyon ölçümleri yapılır.



Şekil 2.13. Epsilometre testine ait yöntem uygulamalarına yönelik şematik gösterim (Raman ve a ark., 2005)

2.4.2. Dilüsyon testleri

2.4.2.1. Tüp dilüsyon

Tüp dilüsyon veya tüp seyreltme olarak adlandırılan teknik grubu içerisinde makro veya mikro ölçekte uygulanabilme olanağının yanı sıra teste konu olan orgaizmaların seyretilmesine olanak sağlanmakta ve genellikle bir dilüsyon çözeltilesi üzerinde uygulanmaktadır. Uygulama alanında organizmaların üremesine yönelik hazırlanan besiyeri, kalsiyum ve magnezyum elementerince zengin *"Mueller-Hilton"* buyyon kiti kullanılmaktadır. Dilüsyonlar 1'er mL eklenerek bakteri üremesinin sıfıra doğru indirgendiği ve belirgin bir bulanıklığın olmadığı en düşük yoğunluk değeri konsantrasyon değeri olarak belirlenir.



Şekil 2.14.Tüp dilüsyon yöntemiyle MİK (Gölci ve ark., 2005)

2.4.2.2. Agardilüsyon

Tüp seyretme yönteminden farklı olarak agar içerisinde antibiyotik dilüsyonun agar ortamına yerleştirilmesi ve farklı antibiyotik konsantrasyonların agar içerisinde dilüsyonlar vasıtasıyla organizmaların konsatre değerlerinin ölçülmesine olanak sağlanmasıdır.

2.5. Çalışma Kapsamında Kullanılan Bakteri Türleri

2.5.1. Escherichia coli

*"Enterobactericeae"*familyasına ait olan "*Escherichia Coli (E. coli)";* çubuk şeklinde sporsuz üreme özelliğinde (optimum 37°C de azami olarak 44°C'de üreme özelliğine sahip) ve oldukça yüksek hareket kabiliyetine sahip, gram negatif ve fırsatçı patojen özellikli anaerob bakteriler sınıfında yer almaktadır. Geçmişte zararsız olarak nitelendirilen "*E. coli"* günümüzde enterotoksijenik ve özellikle

insan vücudu üzerinde patojenik özelllikler gösterdiği güncel literatürçalışmalarında oldukça sık yer almaktadır.

2.5.2. Pseudomonas aeruginosa

"Pseudomonadaceae" familyasına ait "*Pseudomonasaeruginosa"* kapsülsüz yapısı ile *"E.coli"*den ayrılmakta olup benzer şekilde hareketli yapısı ve sporsuz olarak üreyebilmesi (30-37°C arasında kolaylıkla) ile tanımlandırılan gram negatif özellikli aerobik bakteri grubundandır. Özellikle glikoz ve karbon kökenli karbonhidratları oksidasyon reaksiyon gruplarıyla parçalanmasıyla oluşturdukları asit türevlerini oluşturmaktadırlar. "*Pseudomonas aeruginosa"*'nın proteolitik enzim ve enterotoksinhücre dışı salgılara sahip olması muthelif hastalıkların oluşmasına sebep olmaktadırlar. İnsan vücudu başta olmak üzere canlı dokuları üzerinde solunum sitemlerinin yanı sıra deri ve iç organlarda enfeksiyonlara, nodül ve ülser gruplarının oluşumuna sebep olmasıyla bilinmektedirler.

2.5.3. Staphylacoccus aureus

Başta insanlar olmak üzere diğer canlı grupları için piyojenik enfeksiyonlar vasıtasıyla gıda zehirlenmelerine neden olan stafilokok grubu bakteri sınıfında yer alan "*Staphylacoccusaureus";* kapsülsüz ve sporsuz üreme özelliğine sahip gram pozitif bakteri sınıfında yer almaktadır. İnsan vücudu özelinde vücudun farklı noktalarında kolonize olma üzelliğine sahip olmasıyla birlikte özellikle bağırsak florasında ve burun mukozalarında yer alabilir. Glikoz başta olmak üzere karbonhidratların parçalanması sonucunda laktik asit üretiminde sağlayan bakteri grubu NaCl içeren (<%10) ortamda üreyebilme özelliğine sahiptirler.

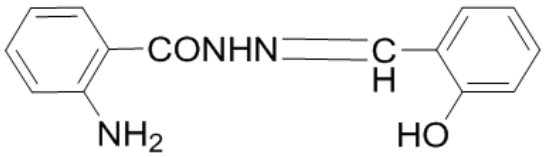
3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1.Materyal

3.1.1. Kimyasal bileşikler

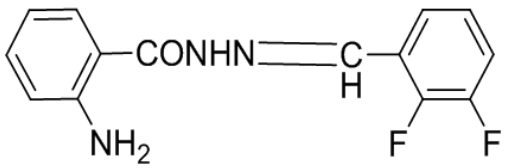
Bu tez kapsamında kullanılan Poliflorlu Aminofenil Hidrazin Türevi Schiff bazları Bileşik 1-8 olarak adlandımış olup *"Harran ÜniversitesiFenEdebiyat Fakültesi Anorganik Kimya Anabilim Dalı'na"* ait laboratuvar imkanları dahilinde temin edilmiştir (Schiff,1960). Temin aşamasının ardından kimyasallarsterilize edilmek üzere; 10 mM doz içeriğine sahip olacak şekilde alkol ile çözünmesinin ardından şırınga tipi filtre (20 nM por çap geçirim miktarına sahip) uygulamasına tabii tutulmuştur.

Bileşik 1: 2-NH_2hd- SAL; MA**:** 255 gr/mol



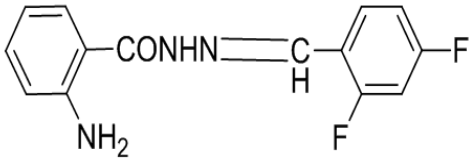
Şekil 3.1. Tez kapsamında kullanılan Bileşik1'e ait açık formül.

Bileşik 2: 2-NH_2hd-2,3F_2-benzal MA: 275 gr/mol



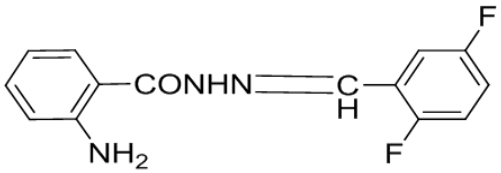
Şekil 3.2. Tez kapsamında kullanılan Bileşik2'ye ait açık formül.

Bileşik 3: 2-NH_2hd-2,4F_2-benzal MA: 275 gr/mol



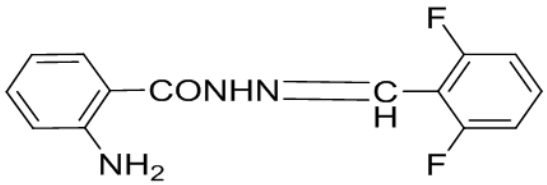
Şekil 3.3.Tez kapsamında kullanılan Bileşik3'e ait açık formül.

Bileşik 4: 2-NH_2hd-2,5F_2-benzal MA: 275 gr/mol



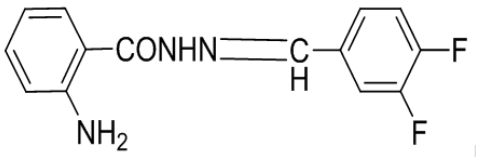
Şekil 3.4.Tez kapsamında kullanılan Bileşik4'e ait açık formül.

Bileşik 5: 2-NH_2hd-2,6F_2-benzal MA: 275 gr/mol



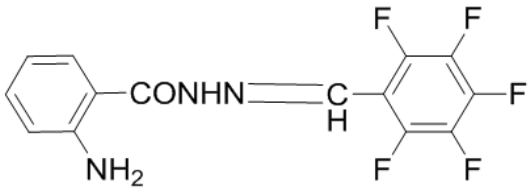
Şekil 3.5. Tez kapsamında kullanılan Bileşik5'e ait açık formül.

Bileşik 6: 2-NH_2hd-3,4F_2-benzal MA: 275 gr/mol



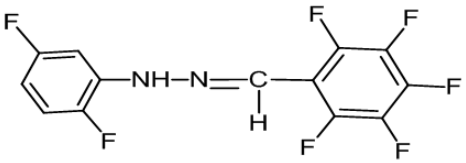
Şekil 3.6. Tez kapsamında kullanılan Bileşik6'ya ait açık formül.

Bileşik 7: 2-NH_2hd- F_5-benzal MA: 329 gr/mol



Şekil 3.7.Tez kapsamında kullanılan Bileşik7'ye ait açık formül.

Bileşik 8: 2,5-F2phHz-F5-benzal MA: 322 gr/mol



Şekil 3.8.Tez kapsamında kullanılan Bileşik8'e ait açık formül.

3.1.2. Bakteri suşları

Bu yüksek lisans tez çalışması kapsamında; *"Escherichiacoli"*(ATCC25922), *"Pseudomonasaeruginosa"*(ATCC 27853) ve *"Staphylococcus aureus"*(ATCC 29213) bakterilerine ait liyofilize bakteri suşlarıkullanılmıştır. Tez kapsamında direnç oluşumuna yönelik yakınsamaların ölçülmesi amacıyla oluşturulan deney setlerinde kullanılan bakteri suşlarının; hâlihazırda küresel bazda en çok direnç geliştiren ve hastane enfeksiyonu olarak nitelendirilen güçlü direnç oluşumlarını yüksek oranda iç dinamiklerinde geliştiren bakteri gruplarından seçilmesi amaçlanmıştır.

3.1.3. Besiyeri

Bakterilerin aktifleştirilmesi amacıyla; antibakteriyel etki testlerinde Ek-1 içerisinde yer alan Müller Hinton Broth (Merck) besiyer ortamı kullanılmıştır.

3.1.4. McFarland standardı

Besiyerlerinin hazırlanmasının ardından 0.5 Mc Farland eşdeğerliğinde bakteri sayısı, ölçüt değer ile kalibre edilmesi amacıyla ($0.5x10^6$ CFU/mL) bakteri sayısının ölçümü için McFarland standartı hazırlanmıştır.

3.1.5. MTT boyası

Çalışmamızda bakterilerin canlılığını saptamak amacıyla; M6494 katalog numarasına sahip MTT (*"3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5 Dipheny ltetrazolium Bromide"*) boyası kullanılmıştır. Çalışma kapsamında kullanılan MTT boyası 250µ M olacak şekilde hazırlandı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bileşiklerin analizlere hazırlanması

Poliflorlu Aminofenil Hidrazin Türevi schiff bazı bileşiklerine ait molar çözeltiler; 1 nM yoğunluk konsantre aralığına denk gelecek modekül ağılıklarına sahip bir şekilde Sartorius marka hassas ölçüm yapabilen bir terazi eşliğinde tartılarak alkolde çözülmüştür.

3.2.1.1. Bileşiklerin sterilizasyonu

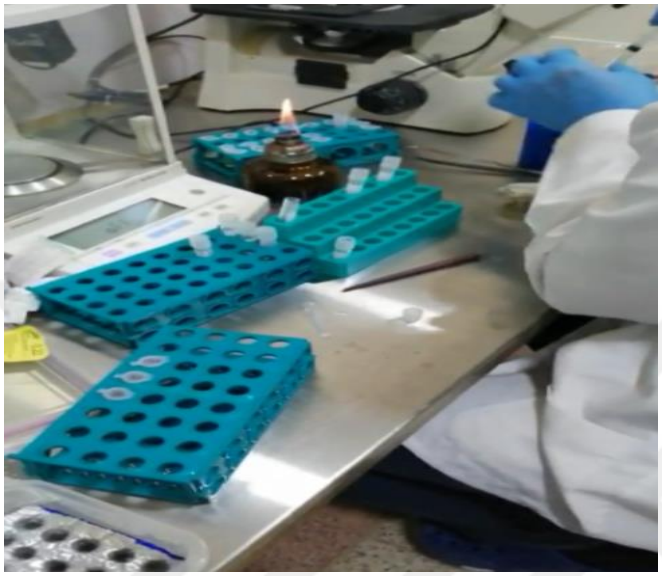
Tartılan bileşiklerin çözünmesi amaçlı önceden alkol içerisinde çözülen bileşiklerin 20 µM por çaplı filtrelerden geçirilerek sterilizasyon işlemi başlatılmış olup, total molar ağırlıkları 10 mM olacak şekilde ayarlanmış bir şekilde sterilizasyon gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.2. Bileşiklerin doz ayarlaması

Poliflorlu Aminofenil Hidrazin Türevi schiff bazı bileşikleri; alkol içerisinde logaritmik olarak artan 1-1000 µM aralığında çözünme işleminin ardından kültür plaklarında ekim yapılmıştır.

3.2.1.3. Kültür plaklarının hazırlanması

Doz değerleri ayarlanan bileşikler; 96 adet kuyucuk olarak adlandırılan saklama alanlarında logaritmik olarak artan 1, 10, 100 ve 1000 µ M dozlarındakültür plaklarına 10 µL hacim miktarına sahip üçlü (triple projection) düzeninde eklenmiştir.



Şekil 3.9 Kültür plakları hazırlanmasına dair örnek (Köksal,1999)

3.2.2. Bakteri kültürü

Kültür plakalarının hazırlanması ile birlikte lifofilize bakteri suşlarına ait canlandırma ortamı hazırlanarak ilk kültür üretimlerine başlanmıştır. Bu hususta canlandırma prosesi öncesi 100 mL erlende 50 mL hacme sahip olacak şekilde hazırlanan canlandırmamediumu 121°C sıcaklık değerinde ~15 dakika süre ile otoklavda sterilize edilmiştir.

Otoklav sonrası sterilize edilencanlandırma ortamı (ilk hacim 5-7 mL, çözündükten sonra 50 mL ye aktarılarak) liyofilize formdaki kültürler aseptik koşullarda aktarılmıştır. Bu canlandırmaortamları 35 °C sıcaklığa ve 120 rpm'de (round per minute / bir dakika içerisinde dönüş sayısı) dairesel hareketle karıştırılmıştır. Bu çalkalama/karıştırılma işleminin ardından inkübatör içerisinde 24 saat bekletilip, bakteri kültürünün canlanması sağlanmıştır. 24 saatin ardından canlandırma ortamından aldığımız bakteri kültürü; petri kaplarında hazırlanmış

katıbesi yerine (müller hinton agar, 39 g/L) aktarılmıştır. Bu aktarılan bileşen inkübatör içeriside 37°C sıcaklık değerinde 48 saat süreyle bekletilerek; bakterinin katı besiyeri yüzeyinde çoğalması sağlanmıştır. 48 saat sonunda inkübatörden alınan petri kapları, daha sonraki uygulamalarda kullanılmak üzere +4°C'de saklanmıştır. Bileşiklerin eklendiği her kuyucuk alanına; $0.5x10^6$CFU/mL miktarında bakteri suşları eklenerek sabit 37 °C sıcaklık değerinde 24 saat inkübe edilmiştir.



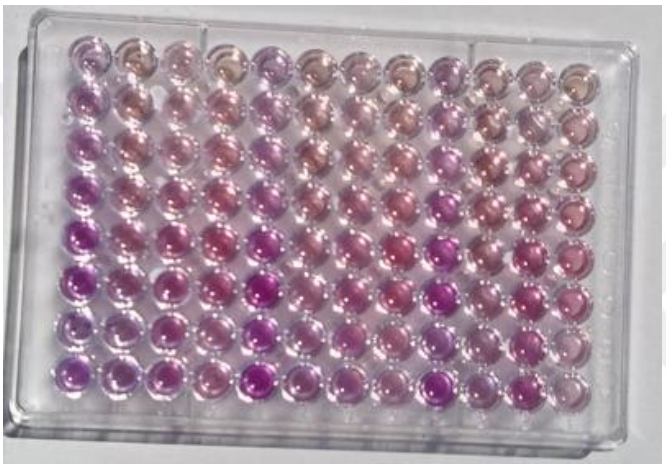
Şekil 3.10. Bakteri kültürü hazırlanmasına dair örnek (Köksal,1999)

3.2.3. MTT uygulaması

MTT *"(3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür)"*sarı renk içeriğine sahip bir tetrazolium tuzu olarak bilinmekle birlikte; dehidrogenaz aktiviteleriyle suda çözünmesi zor olan mavi-mor rekli formazan tuzlarından oluşmaktadır (Köksal,1999).Ortam dahilinde oluşan bakteri sayısının sıfır anı olarak ifade edilen başlangıç oranında yer alan bakteri sayısına oranı; oluşanformazan tuzlarının miktarına bağlı olarak hesaplanmaktadır(Holst ve ark, 2005).

Poliflorlu Aminofenil Hidrazin Türevi Schiff bazı bileşiklerinin eklenmesiyle toplam olarak doksan altı adet kuyucuk olarak tabir edilen minör kültür ortamları içerisinde 24 saat süreyle inkübasyon işlemine geçilmiştir. Bu

inkübe sırasında 37 °C' de bekleyen kültür plakları; içerdiği canlı ve ölü bakterilere ait oransal korelasyonun kestirmine yönelik MTT testi uygulamasına geçilmiştir. Bu uygulama amacına bağlı olarak 250 µM konsantrasyonunda MTTsolüsyonu, kültür kuyucuklarına 10 µL seviyesinde eklenerek aynı kültür ortamında ortalama olarak dört saat daha inkübe edilmiştir. Bu aşamadan itibaren reaksiyon zincirleriyle MTT kültür kuyucuklarında canlı bakteriler tarafından MTT-formazana çevrilerek kültür kuyucukları içerisinde tetrazoliumtuzlarına dönüştürülmüştür.



Şekil 3.11. DMSO eklenerek MTT-formazan kristallerinin çözündüğü kültür plağı (Holst ve ark, 2005)

İnkübasyon sonrası meydana gelen MTT-formazanın çözülmesi amacıyla; her bir kuyucuğa 100µL dimetil sülfoksid (DMSO) eklenmiştir. Eklenen DMSO vasıtasıyla kültür kuyucukları içerisinde çözünen MTT-formazan seviyesi ile renk şiddet değerleri arasında pozitif korelasyona paralel artış gözlenmiştir. Elde edilen bu bulgular spektrofotometre cihazı altında renk skalalarının ayrımına yönelik kolormimetrik olarak analiz edilmek amacıyla ELİZA plak okuyucuya (ThermoScientific) aktarılmıştır. Kültür plakları, optimum soğrulma denge değerinin ede edildiği 570nM dalgaboyuna karşılık gelen frekans değerinde okuma değerleri elde edilmiştir. Kültür kuyucuklarından elde edilen yoğunluk miktarına bağlı optik dansite (OD) değerleri; herbir bileşiğin ve pozitif kontrol olarak kullanılan antibiyotiklerin sahip olduğu $MİK_{50}$ değerlerininbelirlenmesinde kullanılmıştır.

3.3. İstatistiksel analizler

Test kuyucuklarından elde edilen verilerin homojenlik testi yapılarak test edilmesi amacıyla elde edilen OD test değerleri üzerine korelasyon tespiti ve veri setinde yer alan varyans değerlerin tespitine yönelik doğrusal regrasyon (Linear Regression) analiz yöntemi kullanılmıştır. Test kuyucukları ve kontrol ile elde edilen OD değerlerinden, solvent körü kuyucuklarının sahip olduğu OD değerleri ortaya çıkarılmıştır.

Pozitif kontrol ile çalışmamızda kullandığımız bileşik(1-8)'in sitotoksik etki düzeyleri gösterilen formülle hesaplanmıştır. Elde edilen bulgular, ortalama ve standart sapma (SD) olarak ifade edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Araştırma Bulguları

4.1.1. Gentamisin ve Siprofloksasinin E. Coli üzerinde antibakteriyel etkileri

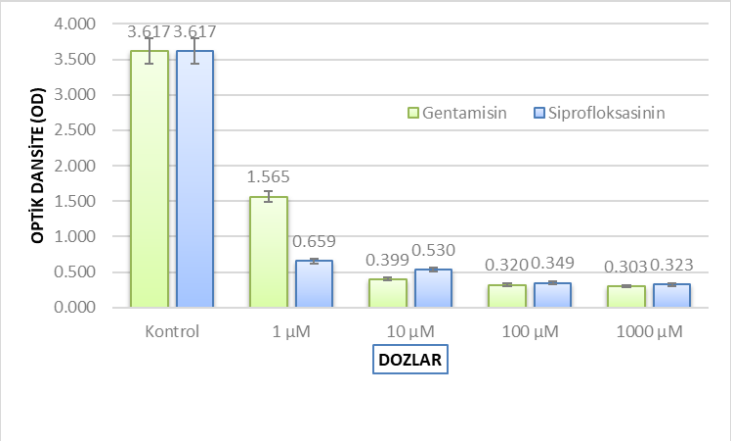
Kültür ortamında inkübasyonunun ardından uygulanan MTT testine ait sonuçlar ve bu sonucların daha detaylı bir şekilde değerlendirilmesine yönelik soğrulma değerlerine veren OD ölçümüne yönelik sapma değerlerini; birim kültür üzerinde yer alan homojenite analizlerini ve uygulanan antibakteriyel grubunun sahip olduğu etki düzeyini yüzdesel bazda Çizelge4.1'desunulmaktadır.

Çizelge 4.1. Gentamisin ve Siprofloksasinin *E. coli* üzerinde ölçülen OD değer ortalamaları ve antibakteriyeletki yüzdeleri.

			Dozlar(µM)				Homojenite Testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
Genta	OD değeri	3.617±0.0059	1.565±0.120	0.399±0.0052	0.320±0.005	0.303±0.045	P=0.114
	Antibakteriyeletki		%56.7	%89.0	%91.1	%91.6	
Sipro	OD değeri	3.617±0.0059	0.659±0.012	0.530±0.01	0.349±0.018	0.323±0.015	P=0.008
	Antibakteriyeletki		%81.8	%85.3	%90.3	%91.1	

Ortalama 18 saatlik inkübasyon uygulamasının ardından; *E. coli'* bakterisinin üzerine Gentamisin ve Siprofloksasin etkisinin test edildiği kültür ortamına ait MTT testi vasıtasıyla OD soğrulma parametrelerine yönelik birim soğrulma – sahip olunan dozaj grafiği Şekil 4.1.1 içerisinde sütunlarhalinde verilmektedir.

OD yakınsama değerleri üzerinde yapılan doğrusal regresyon analizinde, Gentamisinin *E.coli* üzerindeki $MİK_{50}$ değerine ait model katsayısı 2.53µM olarak çıktı vermiştir. Buna ek olarak; Siprofloksasin bakterisine ait $MİK_{50}$ model katsayı değeri değeri 2.36µM olarak bulunmuştur.



Şekil 4.2 Gentamisin ve Siprofloksasinin değişen konsantrasyonlarda *E.coli* ile inkubasyonundan elde edilen OD değerleri.

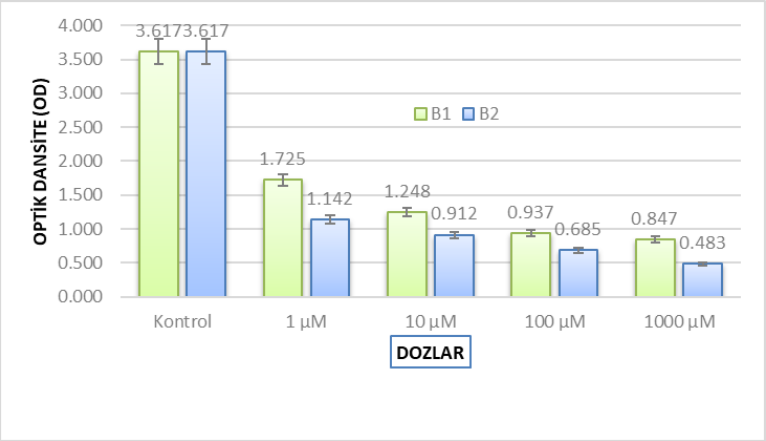
4.1.1.1. Bileşik1 ve Bileşik2'nin *E.coli* üzerinde antibakteriyel etkileri

Kültür ortamının inkübasyonunun ardından uygulanan MTT testine ait sonuçlar ve bu sonuçların değerlendirilmesine yönelik soğrulma değerlerine veren OD ölçümüne yönelik sapma değerlerini; birim kültür üzerinde homojenite analizlerini ve uygulanan antibakteriyel grubunun sahip olduğu etki düzeyini yüzdesel bazda Çizelge4.2'de sunulmaktadır.

Çizelge 4.2. Bileşik 1 ve Bileşik 2' nin *E. coli* üzerinde ölçülen OD değer ortalamaları ve antibakteriyeletki yüzdeleri.

			Dozlar(µM)				Homojenite Testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
B1	OD değeri	3.617±0,059	1.725±0.1	1.248±0.339	0.937±0.169	0.847±0.02	P=0.086
	Antibakteriyeletki		%52.3	%65.5	%74.1	%76.6	
B2	OD değeri	3.617±0.059	1.142±0.134	0.912±0.03	0.685±0.078	0.483±0.029	P=0.249
	Antibakteriyeletki		%68.4	%74.8	%81.1	%86.7	

Ortalama 18 saatlik inkübasyon uygulamasının ardından; *E. coli'* bakterisi üzerine Bileşik 1 ve Bileşik 2 kültür ortamına ait MTT testi vasıtasıyla OD soğrulma parametrelerine yönelik birim soğrulma – sahip olunan dozaj grafiği Şekil 4.2 içerisinde farklı renk sütunları dahilinde verilmektedir.



Şekil 4.3. Bileşik1 veBileşik 2'nindeğişen konsantrasyonlarda *E.coli* ile inkubasyonundan elde edilen OD değerleri.

OD ölçümüne yönelik sapma değerlerinin yüzdesel regresyonanalizinde; Bileşik 1' in *E. coli* bakterisi üzererinde sahip olduğu $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 39.93 µM bulunmuşken, Bileşik2'nin$MİK_{50}$ağırlık varyansı 104.30µMşeklinde model çıktısına ait veri gözlenmektedir.

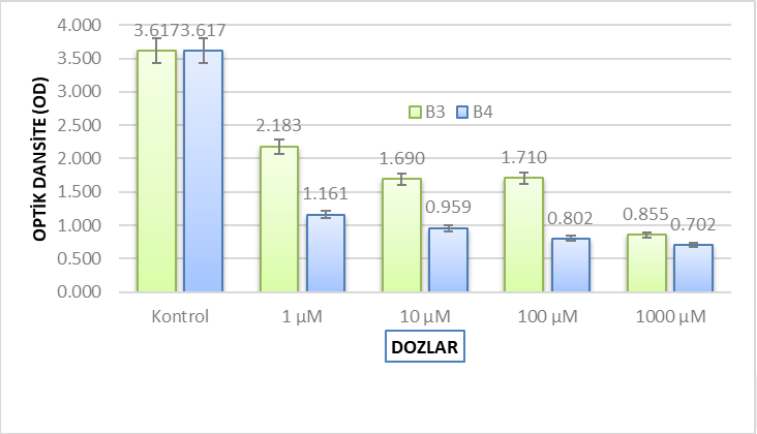
4.1.1.2. Bileşik3 ve Bileşik4'ün *E.coli* üzerinde antibakteriyel etkileri

Kültür ortamının inkübasyonunun ardından uygulanan MTT testine ait sonuçlar ve bu sonucların daha detaylı bir şekilde değerlendirilmesine yönelik soğrulma değerlerine veren OD ölçümüne yönelik sapma değerlerini; birim kültür üzerinde homojenite analizlerini ve uygulanan antibakteriyel grubunun sahip olduğu etki düzeyini yüzdesel bazda Çizelge 4.3'de sunulmaktadır.

Çizelge 4.3. Bileşik 3 ve Bileşik 4'ün *E. coli* üzerinde ölçülen OD değer ortalamaları ve antibakteriyeletki yüzdeleri.

			Dozlar(µM)				Homojenite Testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
B3	OD değeri	3.617±0.059	2.183±0.213	1.690±0.102	1.710±.0.105	0.855±0.09	P=0.112
	Antibakteriyeletki		%39.6	%53.3	%52.7	%76.4	
B4	OD değeri	3.617±0.059	1.161±0.097	0.959±0.017	0.802±0.172	0.702±0.081	P=0.05
	Antibakteriyeletki		%67.9	%73.5	%77.8	%80.6	

Ortalama 18 saatlik inkübasyon uygulamasının ardından; *E. coli'* bakterisi üzerine Bileşik 3 ve Bileşik 4 kültür ortamına ait MTT testi vasıtasıyla OD soğrulma parametrelerine yönelik birim soğrulma – sahip olunan dozaj grafiği Şekil 4.3 içerisinde farklı renk sütunları dahilinde verilmektedir.



Şekil 4.3. Bileşik 3 ve Bileşik 4' ün değişen konsantrasyonlarda*E.coli* ile inkubasyonundan elde edilen OD değerleri

OD ölçümüne yönelik sapma yüzdesel regresyonanalizinde; Bileşik 3' in *E. coli* bakterisi üzererinde sahip oldğu $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 58.11 µM bulunmuşken, Bileşik4'nin $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 38.47µM şeklinde model çıktısına ait veri gözlenmektedir.

4.1.1.3. Bileşik5 ve Bileşik6'nın *E.coli* üzerinde antibakteriyel etkileri

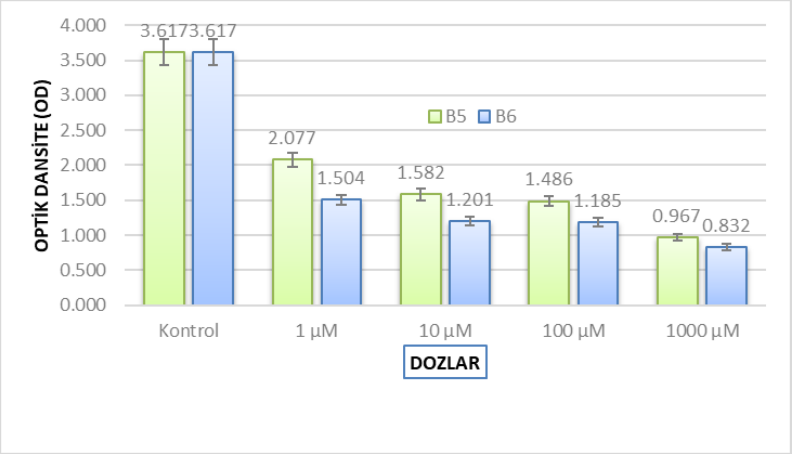
Kültür ortamının inkübasyonunun ardından uygulanan MTT testine ait sonuçlar ve bu sonucların daha detaylı bir şekilde değerlendirilmesine yönelik soğrulma değerlerine veren OD ölçümüne yönelik sapma değerlerini; birim kültür üzerinde yer alan bakteriofajı veren homojenite analizlerini ve uygulanan antibakteriyel grubunun sahip olduğu etki düzeyini yüzdesel bazda Çizelge 4.4.'de sunulmaktadır.

Ortalama 18 saatlik inkübasyon uygulamasının ardından; *E. coli'* bakterisi üzerine Bileşik 5 ve Bileşik 6 kültür ortamına ait MTT testi vasıtasıyla OD soğrulma parametrelerine yönelik birim soğrulma – sahip olunan dozaj grafiği Şekil 4.4 içerisinde farklı renk sütunları dahilinde verilmektedir.

Çizelge 4.4. Bileşik 5 ve Bileşik 6' nın *E. coli* üzerinde ölçülen OD değer ortalamaları ve antibakteriyeletki yüzdeleri.

			Dozlar(µM)				Homojenite Testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
B5	OD değeri	3.617±0.059	2.077±0.358	1.582±0.092	1.486±0.319	0.967±0.063	P=0.019
	Antibakteriyeletki		%42.6	%56.3	%58.9	%73.3	
B6	OD değeri	3.617±0.059	1.504±0.437	1.201±0.301	1.185±0.113	0.832±0.026	P=0.451
	Antibakteriyeletki		%58.4	%66.8	%67.2	%77.0	

OD ölçümüne yönelik sapma değerlerinin Linear olarak ifade de edilen yüzdesel regresyonanalizinde; Bileşik 5' in *E. coli* bakterisi üzererinde sahip olduğu $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 38.29 µM, Bileşik6'nın $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 48.30µM şeklinde model çıktısına ait veri gözlenmektedir.



Şekil4.4. Bileşik5 ve Bileşik6'nın değişen konsantrasyonlarda *E.coli* ile inkubasyonundan elde edilen OD değerleri.

4.1.1.4. Bileşik7 ve Bileşik8'in *E.coli* üzerinde antibakteriyel etkileri

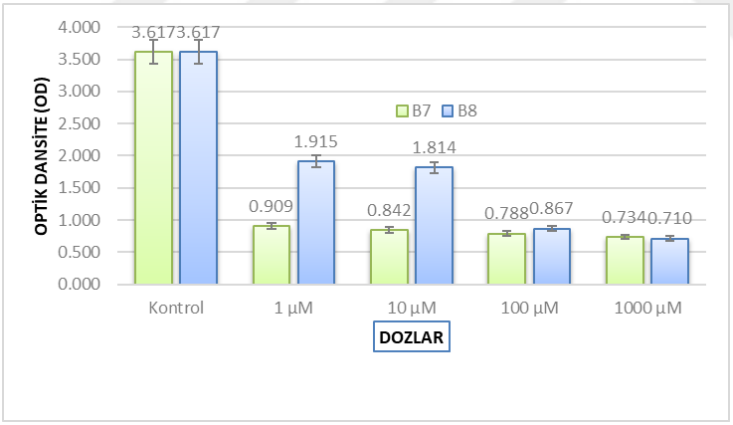
Kültür ortamının inkübasyonunun ardından uygulanan MTT testine ait sonuçlar ve bu sonucların daha detaylı bir şekilde değerlendirilmesine yönelik soğrulma değerlerine veren OD ölçümüne yönelik sapma değerlerini; birim kültür üzerinde yer alan bakteriofajı veren homojenite analizlerini ve uygulanan antibakteriyel grubunun

sahip olduğu etki düzeyini yüzdesel bazda Çizelge 4.5.'de sunulmaktadır.

Çizelge 4.5. Bileşik 7 ve Bileşik 8' in *E. coli* üzerinde ölçülen OD değer ortalamaları ve antibakteriyeletki yüzdeleri.

			Dozlar(µM)				Homojenite Testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
B7	OD değeri	3.617±0.059	0.909±0.127	0.842±0.169	0.788±0.134	0.734±0.097	P=0.04
	Antibakteriyeletki		%74.9	%76.7	%78.2	%79.7	
B8	OD değeri	3.617±0.059	1.915±0.064	1.814±0.137	0.867±0.184	0.710±0.044	P=0.12
	Antibakteriyeletki		%47.0	%49.9	%76.0	%80.4	

Ortalama 18 saatlik inkübasyon uygulamasının ardından; *E. coli'* bakterisi üzerine Bileşik 7 ve Bileşik 8 kültür ortamına ait MTT testi vasıtasıyla OD soğrulma parametrelerine yönelik birim soğrulma–sahip olunan dozaj grafiği Şekil 4.5 içerisinde farklı renk sütunları dâhilinde verilmektedir.



Şekil 4.5. Bileşik 7 ve Bileşik 8' in değişen konsantrasyonlarda *E.coli* ile inkubasyonundan elde edilen OD değerleri.

OD ölçümüne yönelik sapma değerlerinin Linear olarak ifade de edilen yüzdesel regresyon analizinde; Bileşik 7' in *E. coli* bakterisi üzererinde sahip olduğu $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 79.92 µM bulunmuşken, Bileşik8'nin $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 33.93µM şeklinde model çıktısına ait veri gözlenmektedir.

4.1.2. Gentamisin ve Siprofloksasinin *P.aeruginosa*üzerinde antibakteriyel etkileri

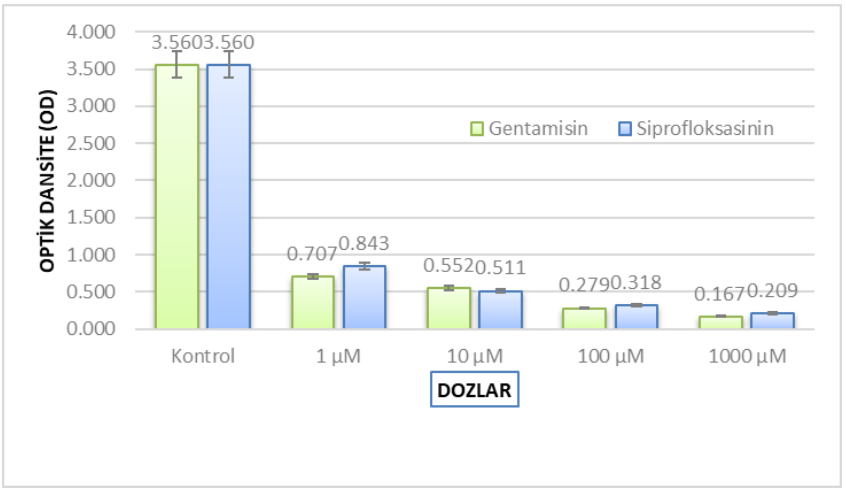
Kültür ortamının inkübasyonunun ardından uygulanan MTT testine ait sonuçlar ve bu sonucların daha detaylı bir şekilde değerlendirilmesine yönelik soğrulma değerlerine veren OD ölçümüne yönelik sapma değerlerini; birim kültür üzerinde yer alan bakteriofajı veren homojenite analizlerini ve uygulanan antibakteriyel grubunun sahip olduğu etki düzeyini yüzdesel bazda Çizelge 4.6.'da sunulmaktadır.

Çizelge 4.6. Gentamisin ve Siprofloksasinin *P.aeruginosa* üzerinde ölçülen OD değer ortalamaları ve antibakteriyeletki yüzdeleri.

			Dozlar(µM)				Homojenite Testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
Genta	OD değeri	3.560±0.132	1.665±0.07	0.707±0.021	0.552±0.095	0.167±0.029	P=0.136
	Antibakteriyeletki		%80.1	%84.5	%92.2	%95.3	
Sipro	OD değeri	3.560±0.0132	0.873±0.053	0.511±0.093	0.318±0.057	0.209±0.068	P=0.0014
	Antibakteriyeletki		%76.3	%85.7	%91.1	%94.1	

Ortalama 18 saatlik inkübasyon uygulamasının ardından; *P. aeruginosa* üzerine Gentamisin ve Siprofloksasin ilekültür ortamına ait MTT testi vasıtasıyla OD soğrulma parametrelerine yönelik birim soğrulma–sahip olunan dozaj grafiği Şekil 4.6 içerisinde farklı renk sütunları dâhilinde verilmektedir.

OD ölçümüne yönelik sapma değerlerinin Linear olarak ifade de edilen yüzdesel regresyonanalizinde; Bileşik 3' in *P.aeruginosa*bakterisi üzererinde sahip oldğu $M\dot{I}K_{50}$ ağırlık varyansı 2.63 µM bulunmuşken, Siprofloksasinin'nin $M\dot{I}K_{50}$ ağırlık varyansı 2.50µM şeklinde model çıktısına ait veri gözlenmektedir.



Şekil 4.6. Gentamisin ve Siprofloksasinin değişen konsantrasyonlarda *P. aeruginosa* ile inkubasyonundan elde edilen OD değerleri.

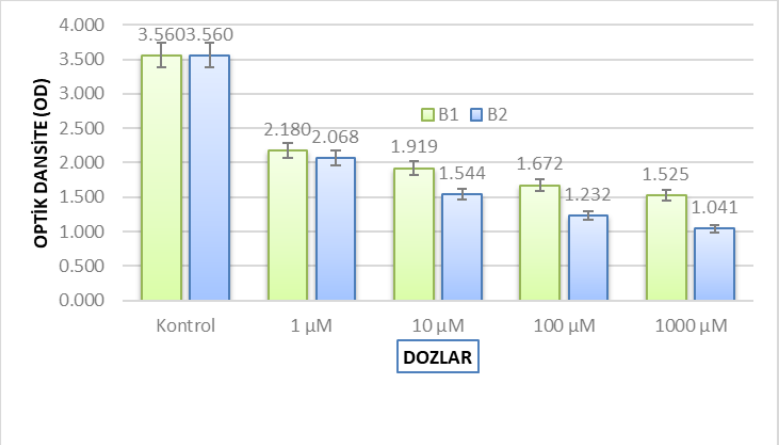
4.1.2.1. Bileşik1 ve Bileşik2'nin *P.aeruginosa* üzerinde antibakteriyel etkileri

Kültür ortamının inkübasyonunun ardından uygulanan MTT testine ait sonuçlar ve bu sonucların daha detaylı bir şekilde değerlendirilmesine yönelik soğrulma değerlerine veren OD ölçümüne yönelik sapma değerlerini; birim kültür üzerinde yer alan bakteriofajı veren homojenite analizlerini ve uygulanan antibakteriyel grubunun sahip olduğu etki düzeyini yüzdesel bazda Çizelge 4.7.'de sunulmaktadır.

Çizelge 4.7. Bileşik 1 ve Bileşik 2' nin *P.aeruginosa* üzerinde ölçülen OD değer ortalamaları ve antibakteriyeletki yüzdeleri.

			Dozlar(µM)				Homojenite Testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
B1	OD değeri	3.560±0.132	2.180±0.381	1.919±0.312	1.672±0.06	1.842±0.464	P=0.156
	Antibakteriyeletki		%38.8	%46.1	%53.0	%57.2	
B2	OD değeri	3.560±0.132	2.068±0.025	1.544±0.101	1.232±0.50	1.041±0.009	P=0.409
	Antibakteriyeletki		%41.94	%56.6	%65.4	%70.7	

18 saatlik inkübasyon uygulamasının ardından; *P. aeruginosa* üzerine Bileşik 1 ve Bileşik 2ilekültür ortamına ait MTT testi vasıtasıyla OD soğrulma parametrelerine yönelik birim soğrulma–sahip olunan dozaj grafiği Şekil 4.7 içerisinde farklı renk sütunları dâhilinde verilmektedir.



Şekil 4.7. Bileşik 1 ve Bileşik 2' nin değişen konsantrasyonlarda *P. aeruginosa* ile inkubasyonundan elde edilen OD değerleri.

OD ölçümüne yönelik sapma değerlerinin Linear olarak ifade de edilen yüzdesel regresyon analizinde; Bileşik 1' in *P.aeruginosa* bakterisi üzererinde sahip oldğu $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 40.83 µM bulunmuşken, Bileşik2'nin $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 92.78 µM şeklinde model çıktısına ait veri gözlenmektedir.

4.1.2.2. Bileşik3 ve Bileşik4'ün *P.aeruginosa* üzerinde antibakteriyel etkileri

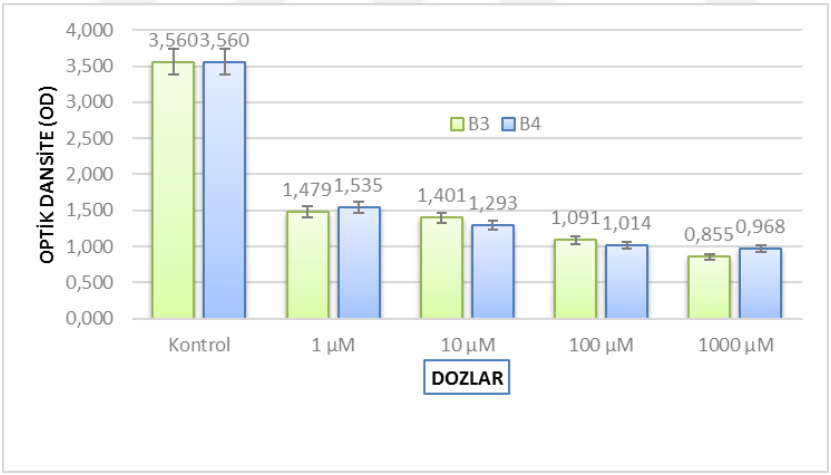
Kültür ortamının inkübasyonunun ardından uygulanan MTT testine ait sonuçlar ve bu sonucların daha detaylı bir şekilde değerlendirilmesine yönelik soğrulma değerlerine veren OD ölçümüne yönelik sapma değerlerini; birim kültür üzerinde yer alan bakteriofajı veren homojenite analizlerini ve uygulanan antibakteriyel grubunun sahip olduğu etki düzeyini yüzdesel bazda Çizelge 4.8.'de sunulmaktadır.

18 saatlik inkübasyon uygulamasının ardından; *P. aeruginosa* üzerine Bileşik 3 ve Bileşik 4 ilekültür ortamına ait MTT testi vasıtasıyla OD soğrulma parametrelerine yönelik birim soğrulma–sahip olunan dozaj grafiği Şekil 4.8 içerisinde farklı renk sütunları dâhilinde verilmektedir.

Çizelge 4.8. Bileşik 3 ve Bileşik 4' ün *P.aeruginosa* üzerinde ölçülen OD değer ortalamaları ve antibakteriyeletki yüzdeleri.

			Dozlar(µM)				Homojenite Testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
B3	OD değeri	3.716±0.01	2.925±0.08	2.878±0.05	2.472±0.18	2.209±0.07	P=0.126
	Antibakteriyeletki		%58.5	%60.6	%69.4	%76.0	
B4	OD değeri	3.716±0.01	2.743±0.13	2.412±0.08	2.361±0.09	2.264±0.02	P=0.022
	Antibakteriyeletki		%26.2	%35.1	%36.5	%39.1	

OD ölçümüne yönelik sapma değerlerinin Linearolarak ifade de edilen yüzdesel regresyonanalizinde; Bileşik 3' in *P.aeruginosa* bakterisi üzererinde sahip olduğu $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 73.92 µM bulunmuşken, Bileşik 4'nin $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 39.30 µM şeklinde model çıktısına ait veri gözlenmektedir.



Şekil 4.8. Bileşik 3 ve Bileşik 4' ün değişen konsantrasyonlarda *P. aeruginosa* ile inkubasyonundan elde edilen OD değerleri.

4.1.2.3. Bileşik5 ve Bileşik6'nın *P.aeruginosa* üzerinde antibakteriyel etkileri

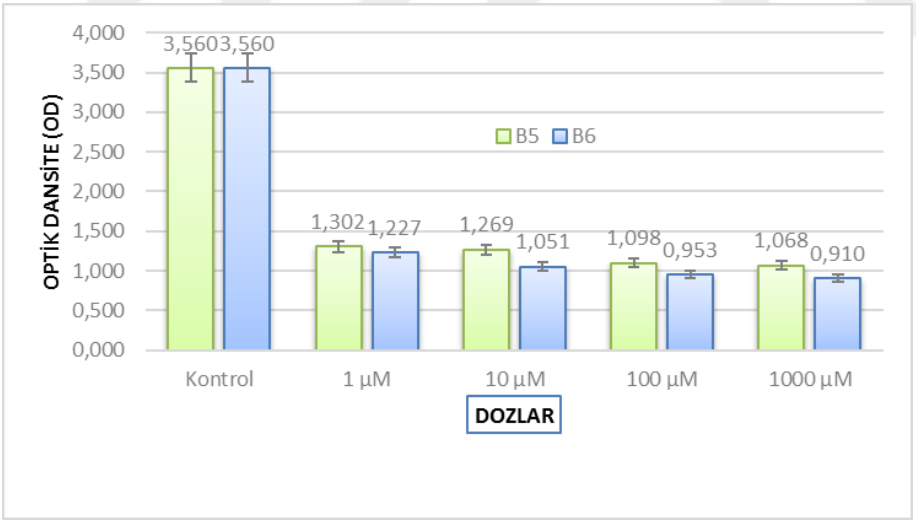
Kültür ortamının inkübasyonunun ardından uygulanan MTT testine ait sonuçlar ve bu sonucların daha detaylı bir şekilde değerlendirilmesine yönelik soğrulma değerlerine veren OD ölçümüne yönelik sapma değerlerini; birim kültür üzerinde yer alan bakteriofajı veren homojenite analizlerini ve uygulanan antibakteriyel grubunun

sahip olduğu etki düzeyini yüzdesel bazda 4.9.'de sunulmaktadır.

Çizelge 4.9. Bileşik 5 ve Bileşik 6' nın *P.aeruginosa* üzerinde ölçülen OD değer ortalamaları ve antibakteriyeletki yüzdeleri.

			Dozlar(µM)				Homojenite Testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
B5	OD değeri	3.560±0.132	1.302±0.426	1.269±0.367	1.098±0.18	1.068±0.221	P=0.09
	Antibakteriyeletki		%63.4	%64.4	%69.2	%70.0	
B6	OD değeri	3.560±0.132	1.227±0.405	1.051±0.417	0.953±0.123	0.910±0.170	P=0.570
	Antibakteriyeletki		%65.5	%70.5	%73.2	%74.4	

18 saatlik inkübasyon uygulamasının ardından; *P. aeruginosa* üzerine Bileşik 5 ve Bileşik 6 ilekültür ortamına ait MTT testi vasıtasıyla OD soğrulma parametrelerine yönelik birim soğrulma–sahip olunan dozaj grafiği Şekil 4.9 içerisinde farklı renk sütunları dâhilinde verilmektedir.



Şekil 4.9. Bileşik 5 ve Bileşik 6' nın değişen konsantrasyonlarda *P. aeruginosa* ile nkubasyonundan elde edilen OD değerleri.

OD ölçümüne yönelik sapma değerlerinin Lineerolarak ifade de edilen yüzdesel regresyonanalizinde; Bileşik 5' in *P.aeruginosa*bakterisi üzererinde sahip oldğu $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 39.66 µM bulunmuşken, Bileşik6'nin $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 49.60µMşeklinde model çıktısına ait veri gözlenmektedir.

4.1.2.4. Bileşik7 ve Bileşik8'in *P. aeruginosa* üzerinde antibakteriyel etkileri

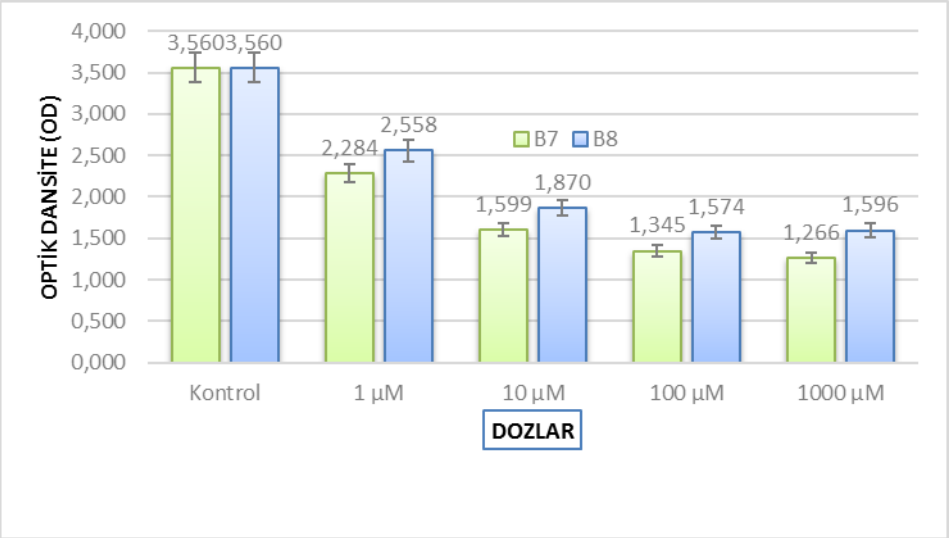
Kültür ortamının inkübasyonunun ardından uygulanan MTT testine ait sonuçlar ve bu sonucların daha detaylı bir şekilde değerlendirilmesine yönelik soğrulma değerlerine veren OD ölçümüne yönelik sapma değerlerini; birim kültür üzerinde yer alan bakteriofajı veren homojenite analizlerini ve uygulanan antibakteriyel grubunun sahip olduğu etki düzeyini yüzdesel bazda Çizelge 4.10.'de sunulmaktadır.

Çizelge 4.10. Bileşik 7 ve Bileşik 8' in *P.aeruginosa* üzerinde ölçülen OD değer ortalamaları ve antibakteriyeletki yüzdeleri.

			Dozlar(µM)				Homojenite testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
B7	OD değeri	3.560±0.132	2.284±0.509	1.599±0.161	1.345±0.273	1.266±0.223	P=0.171
	Antibakteriyeletki		%35.8	%55.1	%62.2	%64.4	
B8	OD değeri	3.560±0.132	2.558±0.678	1.870±0.922	1.574±0.215	1.596±0.078	P=0.202
	Antibakteriyeletki		%28.1	%47.5	%55.8	%55.2	

18 saatlik inkübasyon uygulamasının ardından; *P. aeruginosa* üzerine Bileşik 7 ve Bileşik 8 ilekültür ortamına ait MTT testi vasıtasıyla OD soğrulma parametrelerine yönelik birim soğrulma–sahip olunan dozaj grafiği Şekil 4.10 içerisinde farklı renk sütunları dâhilinde verilmektedir.

OD ölçümüne yönelik sapma değerlerinin Linearolarak ifade de edilen yüzdesel regresyonanalizinde; Bileşik 7' in *P.aeruginosa*bakterisi üzererinde sahip olduğu $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 83.39 µM bulunmuşken, Bileşik8'in $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 35.60µM şeklinde model çıktısına ait veri gözlenmektedir.



Şekil 4.10. Bileşik 7 ve Bileşik 8' in değişen konsantrasyonlarda *P. aeruginosa* ile inkubasyonundan elde edilen OD değerleri.

4.1.3. Gentamisin ve Siprofloksasinin *S.aureus* üzerinde antibakteriyel etkileri

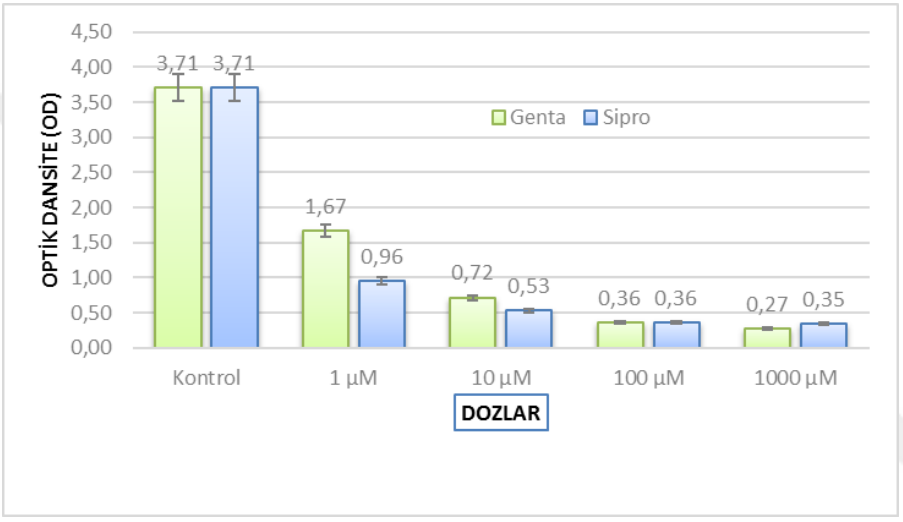
Kültür ortamının inkübasyonunun ardından uygulanan MTT testine ait sonuçlar ve bu sonucların daha detaylı bir şekilde değerlendirilmesine yönelik soğrulma değerlerine veren OD ölçümüne yönelik sapma değerlerini; birim kültür üzerinde yer alan bakteriofajı veren homojenite analizlerini ve uygulanan antibakteriyel grubunun sahip olduğu etki düzeyini yüzdesel bazda Çizelge 4.11.'de sunulmaktadır.

Çizelge 4.11. Gentamisin ve Siprofloksasinin *S.aureus* üzerinde ölçülen OD değer ortalamaları ve antibakteriyeletki yüzdeleri.

			Dozlar(µM)				Homojenite Testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
Genta	OD değeri	3.716±0.05	1.665±0.08	0.716±0.06	0.357±0.02	0.274±0.17	P=0.141
	Antibakteriyeletki		%55.2	%80.7	%90.4	%92.6	
Sipro	OD değeri	3.716±0.05	0.958±0.12	0.532±0.01	0.318±0.06	0.345±0.034	P=0.002
	Antibakteriyeletki		%74.2	%85.7	%90.3	%90.7	

Ortalama 16 saatlik inkübasyon uygulamasının ardından; *P.aeruginosa* bakterisinin Gentamisin Siprofloksasin ile kültür ortamına ait MTT testi vasıtasıyla OD soğrulma parametrelerine yönelik birim soğrulma – sahip olunan dozaj grafiği Şekil 4.11 içerisinde farklı renk sütunları dahilinde verilmektedir.

18 saatlik inkübasyon uygulamasının ardından; *S. aureus* üzerine Gentamisin ve Siprofloksasinin ilekültür ortamına ait MTT testi vasıtasıyla OD soğrulma parametrelerine yönelik birim soğrulma–sahip olunan dozaj grafiği Şekil 4.11 içerisinde farklı renk sütunları dâhilinde verilmektedir.



Şekil 4.11. Gentamisin ve Siprofloksasinin değişen konsantrasyonlarda *S.aureus*ile inkubasyonundan elde edilen OD değerleri.

OD ölçümüne yönelik sapma değerlerinin Linear olarak ifade de edilen yüzdesel regresyon analizinde; Gentamisinin *S.aureus* bakterisi üzererinde sahip olduğu $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 2.21 µM bulunmuşken, Siprofloksasinin'nin $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 2.28µM şeklinde model çıktısına ait veri gözlenmektedir.

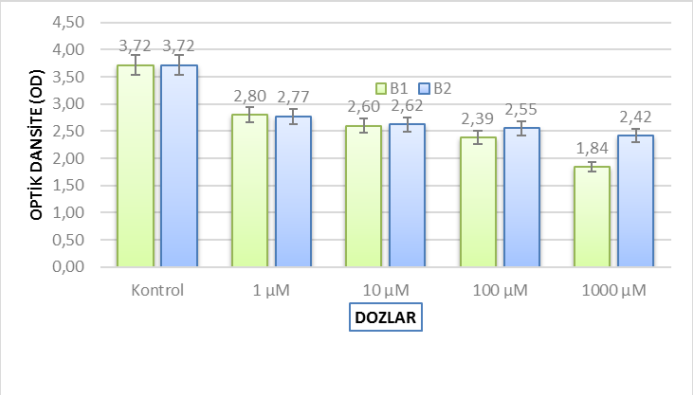
4.1.3.1. Bileşik1 ve Bileşik2'nin *S.aureus* üzerinde antibakteriyel etkileri

Kültür ortamının inkübasyonunun ardından uygulanan MTT testine ait sonuçlar ve bu sonucların daha detaylı bir şekilde değerlendirilmesine yönelik soğrulma değerlerine veren OD ölçümüne yönelik sapma değerlerini; birim kültür üzerinde yer alan bakteriofajı veren homojenite analizlerini ve uygulanan antibakteriyel grubunun sahip olduğu etki düzeyini yüzdesel bazda Çizelge 4.12.'de sunulmaktadır.

Çizelge 4.12. Bileşik 1 ve Bileşik 2' nin *S.aureus* üzerinde ölçülen OD değer ortalamaları ve antibakteriyel etki yüzdeleri.

			Dozlar(µM)				Homojenite Testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
B1	OD değeri	3.716±0.05	2.799±0.16	2.60±0.06	2.386±0.14	1.84±0.06	P=0.212
	Antibakteriyeletki		%24.7	%30.1	%35.8	%50.4	
B2	OD değeri	3.716±0.05	2.774±0.11	2.619±0.44	2.552±0.11	2.419±0.09	P=0.495
	Antibakteriyeletki		%25,4	%29,5	%31,3	%34.9	

18 saatlik inkübasyon uygulamasının ardından; *S. aureus* üzerine Bileşik 1 ve Bileşik 2 ilekültür ortamına ait MTT testi vasıtasıyla OD soğrulma parametrelerine yönelik birim soğrulma–sahip olunan dozaj grafiği Şekil 4.12 içerisinde farklı renk sütunları dâhilinde verilmektedir.



Şekil 4.12. Bileşik 1 ve Bileşik 2'nin değişen konsantrasyonlarda*S.aureus*ile inkubasyonundan elde edilen OD değerleri.

OD ölçümüne yönelik sapma değerlerinin Linear olarak ifade de edilen yüzdesel regresyonanalizinde; Bileşik 1' in *S.aureus* bakterisi üzererinde sahip olduğu $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 9.01 µM bulunmuşken, Bileşik 2'nin $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 4.21 µM şeklinde model çıktısına ait veri gözlenmektedir.

4.1.3.2. Bileşik3 veBileşik4'ün *S.aureus* üzerinde antibakteriyel etkileri

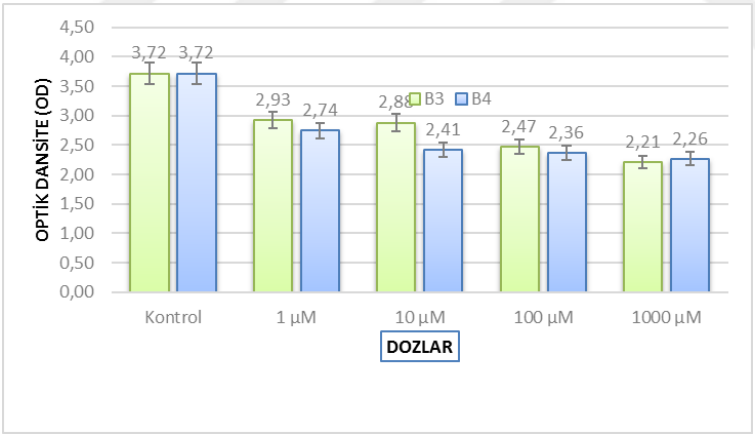
Kültür ortamının inkübasyonunun ardından uygulanan MTT testine ait sonuçlar ve bu sonucların daha detaylı bir şekilde değerlendirilmesine yönelik soğrulma değerlerine veren OD ölçümüne yönelik sapma değerlerini; birim kültür üzerinde yer

alan bakteriofajı veren homojenite analizlerini ve uygulanan antibakteriyel grubunun sahip olduğu etki düzeyini yüzdesel bazda Çizelge4.13.'de sunulmaktadır.

Çizelge 4.13. Bileşik 3 ve Bileşik 4' ün *S.aureus* üzerinde ölçülen OD değer ortalamaları ve antibakteriyeletki yüzdeleri.

			Dozlar(µM)				Homojenite Testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
B3	OD değeri	3.716±0.05	2.925±0.008	2.878±0.44	2.472±0.18	2.209±0.12	P=0.126
	Antibakteriyeletki		%21.3	%22.6	%33.5	%40.6	
B4	OD değeri	3.716±0.05	2.743±0.38	2.412±0.15	2.361±0.53	2.264±0.11	P=0.022
	Antibakteriyeletki		%26.2	%35.1	%36.55	%39.1	

18 saatlik inkübasyon uygulamasının ardından; *S. aureus* üzerine Bileşik 3 ve Bileşik 4 ilekültür ortamına ait MTT testi vasıtasıyla OD soğrulma parametrelerine yönelik birim soğrulma–sahip olunan dozaj grafiği Şekil 4.13 içerisinde farklı renk sütunları dâhilinde verilmektedir.



Şekil 4.13. Bileşik 3 ve Bileşik 4'ün değişen konsantrasyonlarda *S.aureus* ile inkubasyonundan elde edilen OD değerleri.

OD ölçümüne yönelik sapma değerlerinin Linear olarak ifade de edilen yüzdesel regresyonanalizinde; Bileşik 3' in *S.aureus* bakterisi üzererinde sahip olduğu $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 22.83 µM bulunmuşken, Bileşik 4'nin $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 8.67µM şeklinde model çıktısına ait veri gözlenmektedir.

4.1.3.3. Bileşik5 ve Bileşik6'nın *S.aureus* üzerinde antibakteriyel etkileri

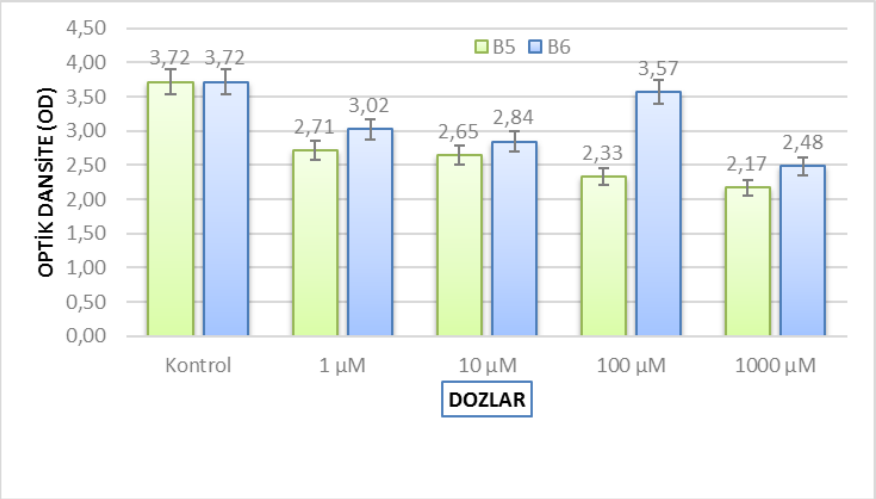
Kültür ortamının inkübasyonunun ardından uygulanan MTT testine ait sonuçlar ve bu sonuçların daha detaylı bir şekilde değerlendirilmesine yönelik soğrulma değerlerine veren OD ölçümüne yönelik sapma değerlerini; birim kültür üzerinde yer alan bakteriofajı veren homojenite analizlerini ve uygulanan antibakteriyel grubunun sahip olduğu etki düzeyini yüzdesel bazda Çizelge 4.14.'de sunulmaktadır.

Çizelge 4.14. Bileşik5 ve Bileşik6'nın *S.aureus* üzerinde ölçülen OD değer ortalamaları ve antibakteriyel etki yüzdeleri.

			Dozlar(μM)				Homojenite Testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
B5	OD değeri	3.716±0.05	2.713±0.26	2.645±0.36	2.33±0.87	2.167±0.05	P=0.125
	Antibakteriyeletki		%27.0	%28.8	%37.3	%41.7	
B6	OD değeri	3.716±0.05	3.021±0.10	2.844±0.05	3.571±0.08	2.480±0.07	P=0.658
	Antibakteriyeletki		%18.7	%23.5	%39	%33.3	

Ortalama 16 saatlik inkübasyon uygulamasının ardından; *S.aureus*' un Bileşik - 5 ve Bileşik - 6 kültür ortamına ait MTT testi vasıtasıyla OD soğrulma parametrelerine yönelik birim soğrulma – sahip olunan dozaj grafiği Şekil 4.1 içerisinde farklı renk sütunları dahilinde verilmektedir.

18 saatlik inkübasyon uygulamasının ardından; *S. aureus* üzerine Bileşik 5 ve Bileşik 6 ilekültür ortamına ait MTT testi vasıtasıyla OD soğrulma parametrelerine yönelik birim soğrulma–sahip olunan dozaj grafiği Şekil 4.14 içerisinde farklı renk sütunları dâhilinde verilmektedir.



Şekil 4.14. Bileşik 5 ve Bileşik 6'nın değişen konsantrasyonlarda*S.aureus*ile inkubasyonundan elde edilen OD değerleri.

OD ölçümüne yönelik sapma değerlerinin Linear olarak ifade de edilen yüzdesel regresyonanalizinde; Bileşik 5' in *S.aureus* bakterisi üzererinde sahip olduğu $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 13.31 µM bulunmuşken,Bileşik 6'nin$MİK_{50}$ağırlık varyansı 9.32µMşeklinde model çıktısına ait veri gözlenmektedir.

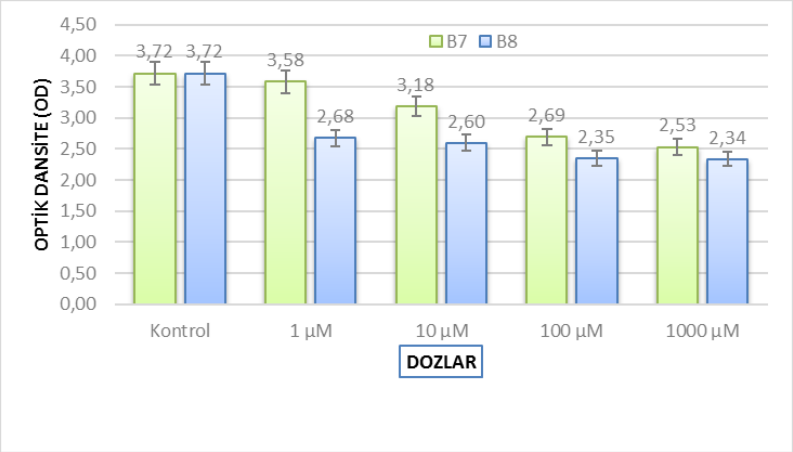
4.1.3.4. Bileşik7 ve Bileşik8'in *S.aureus* üzerinde antibakteriyel etkileri

Kültür ortamının inkübasyonunun ardından uygulanan MTT testine ait sonuçlar ve bu sonucların daha detaylı bir şekilde değerlendirilmesine yönelik soğrulma değerlerine veren OD ölçümüne yönelik sapma değerlerini; birim kültür üzerinde yer alan bakteriofajı veren homojenite analizlerini ve uygulanan antibakteriyel grubunun sahip olduğu etki düzeyini yüzdesel bazda Çizelge 4.15.'de sunulmaktadır.

Çizelge 4.15. Bileşik 7 ve Bileşik 8' in *S.aureus* üzerinde ölçülen OD değer ortalamaları ve antibakteriyeletki yüzdeleri.

			Dozlar(µM)				Homojenite Testi
		Kontrol	1	10	100	1000	
B7	OD değeri	3.716±0.05	3.584±0.05	3.182±0.52	2.6925±0.47	2.5286±0.09	P=0.318
	Antibakteriyeletki		%37	%14.4	%27.6	%32	
B8	OD değeri	3.716±0.05	2.678±0.15	2.593±0.14	2.350±0.01	2.335±0,08	P=0.283
	Antibakteriyeletki		%28.1	%30.2	%36.8	%37.2	

18 saatlik inkübasyon uygulamasının ardından; *S. aureus* üzerine Bileşik 7 ve Bileşik 8 ilekültür ortamına ait MTT testi vasıtasıyla OD soğrulma parametrelerine yönelik birim soğrulma–sahip olunan dozaj grafiği Şekil 4.15 içerisinde farklı renk sütunları dâhilinde verilmektedir.



Şekil 4.15. Bileşik 7 ve Bileşik 8'indeğişen konsantrasyonlarda *S.aureus* ile inkubasyonundan elde edilen OD değerleri.

OD ölçümüne yönelik sapma değerlerinin Linear olarak ifade de edilen yüzdesel regresyonanalizinde; Bileşik 7' in *S.aureus* bakterisi üzererinde sahip olduğu $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 22.2 µM bulunmuşken, Bileşik 8'in $MİK_{50}$ ağırlık varyansı 27.4 µMşeklinde model çıktısına ait veri gözlenmektedir.

Çizelge 4.16. $MİK_{50}$ değerlerinin birlikte görünümü

	$MİK_{50}$değerleri (uM)		
Bileşikler	*E. coli*	*P.aeruginosa*	*S.aureus*
Gentamisin	2.02	2.53	1.9
Siprofloksasin	1.8	1.7	2.4
Bileşik1	13.3	35.6	27.1
Bileşik2	6.9	41.5	19.3
Bileşik3	20.0	40.3	15.8
Bileşik4	9.67	38.3	16
Bileşik5	19.1	38	16.8
Bileşik6	14.2	49.1	13.9
Bileşik7	9.1	46.0	22.2
Bileşik8	13.9	39.4	27.4

4.2.Tartışma

Çalışmada, güncel literatür kapsamında yer alan enfeksiyon hastalıklarının tedavi süreçlerinde ilaç direç seviyelerinin yüksek olduğu hastalıklara başarılı sonuç alım oranının yükseltilmesine olanak sağlanması amacıyla; Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization) tarafından yayınlanan ilaç direnci yüksek üç farklı bakteri üzerinde (*E. Coli,P. Aeruginosa* ve *S. aureus*) Schiff bazı türevlerinin antibakteriyel etkileri incelenmiştir.

Schiff bazlarına ait ligandların dokular üzerinde başta antikanser olmak üzere antibiyotik ve antimikrobiyal etkileri literatürde (Mutterties ve ark. 1979) tarafından geliştirilmeye başlanmıştır. Jalbout ve ark. (2006) tarafından *"2-hidroksiasetofenonile3,3'-diaminobenzofenon"* bileşeninin *C. Albicans'*a, *E. coli*'yeve *S. aureus*'a karşın minimum inhibitör konsantrasyon ($MİK_{50}$) değeri >100 µg mL^{-1} olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyon değeri çalışmamızda elde edilen $MİK_{50}$ değerleriyle karşılaştırıldığında oldukça yüksek düzeydedir.

Farklı türlerde sentezlenebilen ve bu farklı sentezlerin başta aldehit veya amin gruplarının niteliğine göre modifikasynlara sahip olduğu güncel literatür araştırmaları dahilinde belirlenen Schiff bazlarının; mikroorganizmalar vedokular üzerinde antikanser (Chen ve ark., 2003), antimikrobiyal ve antifungal (Panneerselvam,2005) özellikler taşıdığı laboratuvar çalışmaları sonucunda tespit edilmiştir (Chohan, 2002) Salisilaldehit kökenli Schiff bazının metal kompleksleri *E. coli, P. aeruginosa ve S. aureus* üzerinde yüksek performanslı antimiktrobiyal uygulamalara destek verebileceği belirtilmektedir. Bu çalışmalara kıyasla tez çalışmamızda kullanılan aminofenil hidrazin türevlerininde sahip olduğu antimikrobiyal kapasitenin yüksek seviyede verimli olduğu tespit edilmiştir.

Schiff bazlarının oluşturduğu metal kompleks bileşenlerinin ligandlara kıyasla çok daha yüksek verime sahip antiviral özelliği gösterdiği Jianhua ve ark. (2003) tarafından tespit edilmiştir. Özellikle glisin/ninhidrin bazlı baz metal grubu kompleksleri ile gerçekleştirilen reaksiyon zincirleri sonucunda stereokimyasal koşulların hakim olduğu deney setleri içerisinde Schiff bazlarının mono-bazik 'Glisin ve ninhidrin türevi Schiff bazı metal (Zn(II),(Ni(II)),(Co(II)) kompleksleri ileyapılan

çalışma sonucunda bileşiklerin oktahedral stereokimya özellik gösterdiklerini ve Schiff bazlarının mono bazik tridentate ligand' özelliğine sahip bileşiklere benzer niteliklere sahip olduğu yapılan klinik çalışmalar eşiliğinde tespit edilmiştir. Metal komplekslerin sahip olduğu yüksek seviyeli elektron iteraksiyonuna sahip ligandların içerdiği biyolojik aktivite seviyesinin yüksekliği ve özellikle bakır içerikli kompleks bazların bu aktivasyon seviyesi kaynaklı sahip olduğu antibakteriyel kazanım Reddy ve ark. (1994) tarafından literatüre ilk katkı olarak sunulmuştur. Panneerselvam ve ark. (2005) tarafından salisilaldehit kökenli Schiff bazının metal kompleksleri *"E. coli, P.aeruginosa ve S. aureus"* üzerinde morfolintürev antibakteriyel etkilerini çalışmış olup, salisilaldehit kökenli bazların serbest Schiff baz ligandlarına kıyasla daha yüksek performanslı antimiktrobiyal etkileri gözlenmiştir.

Abacıoğlu ve ark. (2018) tarafından uygulanan A549 hücreleri üzerinde MTT methodolojisinin kullanımına yönelik salisilaldimin ligandları ve bu ligandlara ait bakır kompleksleri kullanılmıştır. Bu ligand kullanımında;*"1,1,7,7-tetra-metil-jululidin-N-oktil-salisilaldimin(Cu(II))"* kompleksi üzerinde sitotoksik tesir gözlenmiştir. Bu özelliklerden dolayı bu metal komplekslerin *Proteusmirabilis, E.coli, S.faecalis* ve *S.aureus* üzerinde etkili oldukları görülmüştür (Rao ve Reddy1990). Literatür kapsamında yer alan bu çalışmalar dahilinde Schif bazı ligandları ve bu ligandlara ait komplekslerinin sahip olduğu yapısal özellikler; ortam dahilinde yer alan mikrobiyolojik aktiviteye tesir ettiğini göstermektedir.

Schiff bazlarının özellikle antibakteriyel özelliklerini kendi aralarında kıyaslamak ve birim zamanda verim grafiklerinin ortaya konulması amacıyla Sharma ve Dubey (1994) tarafından *"3-carbaxylidene-DL-glycine, Indole-3-carbaxylidene-DL-valine,3-carbaxylidene-DL-alanine"* bazlarının antibakteriyel uygulama alanlarında diğer bazlara kıyasla daha yüksek etki gösterdiğini tespit etmiştir.

Fioravanti ve ark. (1996) tarafından uygulanan Schiff bazlarının antiviral uygulamalara yönelik ilaç gelişimi odaklı çalışmaları dahilinde uçuk (Herpes simplex) virüsüne karşın özellikle insan vücudu içerisinde lokal olarak aktivitesini durdurucu etkisinin; Schiff bazları özelinde "*Cryptococcus neoformans, Poliovirus veCandida"*türlerine karşı antibakteriyel aktivite gösterdiğitespit edilmiştir.

Fioravanti ve ark. (1996)'nin ardından Pandeya ve ark. (1999) isatin türevlerini baz oluşum reaksiyonlarına ekleyerek oluşturduğu Schiff bazlarını agar dilüsyon ile HIV başta olmak üzere farklı derecede patojen etkileşime sahip çok çeşitli mantar ve bakteriye karşı antifungal / antibakteriyel özelliklerini araştırmışlardır.

Dokular öznelinde antimikrobiyalveantitümör tedavi yöntemlerinin uygulanma süreçleri dahilinde, farklı dizilime sahip çeşitli α-aminoasitlerinoluşmasındaSchiffbazlarının rolü son derece önemlidir. (Grabaricve ark., 1993).Dığrak ve ark. (1997) tarafından yürütülen ve antibiyotik uygulamalarında kullanılan *"1,5-dien-3-ol"* grubunun sahip olduğu antibakteriyeletkinliğin; mevcut koşullarda antibakteriyel olarak görev alması beklenenSchiffbazlarının gösterdiği antibakteriyel etkileşim veriminden daha yüksek verime sahip olduğu gözlenmiştir. Bakteri ortamında bu verim farkının, yapay antibiyotiklerin yapısında yer alan alkol türevlerinden kaynaklanma olasığını tartışma kısımlarında paylaşmışlardır. Tez çalışmasındaSchiffbazı türevlerinin, sabit bir konsantrasyonda olan bakteri ortamındaki antibakteriyel etkilerinin; kendiaralarında var olan yapısal farklılıklardan etkilendiği gözlenmiştir.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Tez çalışması kapsamında sekiz adet aminofenil hidrazin türevi Schiff bazı ligandının ilaç direnci olarak ifade edilen antibiyotik direncine yüksek seviyede sahip ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından tehlikeli bakteri klasmanlarında yer alan farklı *E. coli, P. aeruginosa ve S. aureus* bakterileri üzerinde antimikrobiyal etmenlerinin tespit edilmesi planlanmış ve MTT yöntemi ile test edilerek, her bir bileşiğe ait $MİK_{50}$değerleri belirlenmiştir.

İncelenen bu bakteri grubuna karşın geliştirilen en güçlü aktibakteriyel etki *E. coli* üzerine oluşturulan kültür düzeneği içerisinde yer alan Bileşik 2' in6.9 µM $MİK_{50}$ değeri ile gözlenmiştir. *P. aerogenosa* üzerinde antibakteriyel etki Bileşik 1ile35.6 µM $MİK_{50}$ değerine *S. aureus*üzerinde antibakteriyel etki Bileşik 6 ile 13.9 µM $MİK_{50}$ değerine sahip olarak bulunmuştur.

Deney düzenekleri kapsamında pozitif kontrol olarak yer alan *gentamisin*ve *siprofloksasinin*antibakteriyellerinin sahip olduğu etki düzeyi ile bileşiklerin sahip olduğu antibakteriyel etkinin karşılaştırılmasında; Bileşik 2, 4 ve 7'nin *E. coli* üzerinde dikkate değer bir antibakteriyel bir kapasite olduğu izlenmiştir. Bileşiklerin *P. Aeruginosa ve S.aureus'*a karşı antibakteriyel etki göstergesi olan $MİK_{50}$ değerlerininçerisinde µM'dan yüksek olduğu ve kontrol grubu antibiyotiklerin etkilerinden oldukça zayıf oldukları gözlenmiştir.

5.2. Öneriler

Tez çalışmasında yer alan ve antibakteriyel özellikleri tartışılan aminofenil hidrazin türevi Schiff bazı ligandlarının alkol çözünen formları kullanılmıştır. Bundan dolayı hidrazin ve bazlara ait suda çözünebilen tuz bileşenlerinin sentezlenmesiyle birlikte elde edilen yeni bileşenlerin antimikrobiyal ve antibakteriyel etkileri farklı seviyelere sahip olabileceği ve bu türevlerle oluşturulabilecek deney setlerinde ise farklı sonuçlar elde edilebilmesi mümkündür. Ayrıca deneyler kapsamında MTT yöntemine istinaden ATP-TCA renk skalasından farklı bir kimyasal renklendirme prosesinin uygulanması srasında spektrometre üzerinde renk kodonlarının birebir kestirimi sağlanamayabilir. Bu açıdan bakıldığında, luminesans temelli ATP-TCA yöntemi, bileşiklerin renk interferenslerinden etkilenmeden daha net sonuçlara ulaşılmasını sağlayabilir.

WHO tarafından belirtilen ilaç direncine sahip diğer bakteri türleri üzerinde sitotoksik ve antibakteriyel aktivite belirlenmesine yönelik deney setlerinin oluşturulması literatüre faydalı olacağını düşünmekteyiz.

Bileşiklerin metal komplekslerinin(Cu, Pd ve Pt vb.) tez kapsamında incelenen üç ayrı bakteri grubu üzerinde antimikrobiyal etkilerinin araştırılmasının, aminofenil hidrazin türevi Schiff bazlarının daha yüksek antibakteriyel kapasitelerine rastlanabileceğine inanmaktayız.

KAYNAKLAR

ABACIOĞLU, E., 2018. Heterohalkalı salisilaldiminler ve bakır komplekslerinin A549 akciğer karsinom hücre hattı üzerine antikanser etkilerinin araştırılması. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa.

AĞIR,H., 2011. Bazı Schiff Bazları ve Mn(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) Komplekslerinin Nükleolitik Aktivitelerinin İncelenmesi. Rize Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,Yüksek Lisans Tezi, Rize.

BANERJEE, K., BISWAS, M.K. and CHOUDHURI, S.K., 2017. Anewly Synthesized Nickel Chelate Canselectively Target and Overcome Multidrug Resistance in Cancer Through Redox Imbalance both Invivo and Invitro JBiolInorgChem,22:1223-1249.

BANIN, E., HUGHES, D., KUIPERS, and O. P., 2017. Bacterial pathogens, antibiotics and antibiotic resistance. FEMS microbiology reviews, 41.3: 450-452.

BARILE,F.A.,1994.Introduction to invitro cytotoxicology mechanisms and methods. CRCres,Florida,USA,240s.

BILMAN, J.H and TAI, K.M., 1958. Reduction of Schiffbases, II.Benzhydrylamines and structurally related compounds. J.Of Org. Chem., 23:5355-539.

BUDD, E., CRAMP, E., SHARLAND, M., HAND, K., HOWARD, P., WİLSON, P. and HOPKİNS, S., 2019. Adaptation of the WHO Essential Medicines List for national antibiotic stewardship policy in England: being AWaRe. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 74(11), 3384-3389.

BULUT,H.,KARATEPE,M.,TEMEL,H.,ŞEKERCİ,M.veKOPARIR, M.,2005.Studies on the Antiviral and Cytotoxic Activity of Schiff bases derived from1,2-bis-(o-and paminophenoxy) ethane and salicylaldehyde. Asian Journal of Chemistry,14(7):2793-2796.

CARBONARO,L.,LIANG,G.G.,ISOLA,M.,andSENATORE,L.,2000.Kinetic StudyofLigandReleasePrometedbyAmmoniumIononBis(NAlkylsaliclaldiminato)Zinc(II)complexesinAproticSolvent.Inorg.Chem.Acta.,303(1):40-46.

CHEN,A.S.,TAGUCHI,T.,AOYAMA,S.,SUGIURA,M.,HARUNA,M.,WANG, M. W. and MIWA, I., 2003. Antioxidant activity of a Schiff base ofpyridoxal and aminoguanidine.FreeRadicbiolMed.CHOHAN,Z.H,1;35(11):1392

CHOHAN,Z.H.,RAU,A.,NOREEN,S.,SCOZZAFAVA,A.andSUPURAN,C.T.,2002.Antibacterial cobalt(II), nickel(II) and zinc(II) complexes of nicotinic acid derived Schiff bases.J.EnzymeInhib. MedChem, 17(2):101-6.

CHOUDHARY,D.,PAUL,S.,GUPTA,R.and CLARK,J.H.,2006.Catalytic Properties of Several Palladium Complexes Covalently Anchored Onto Silica For The Aerobic Oxidation Of Alcohols. Green Chemistry,8:479–482

CORY,J.G.,CARTER,G.L.,BACON,P.E.,T'ANG,A AND LİEN, E.J., 1985. Inhibition of ribonucleotide reductase and L1210 cell growth by N-hydroxy-N'-amino guanidine derivatives.Biochem.Pharmacol,34:1124-1130.

DIĞRAK,M.,SELVI,S.,AHMEDOV,M.A.ve BAĞCI,E.,1997.1,5-dien 3ol'lerinanti mikro biyaletkilerinin incelenmesi. XII.Ulusal Kimya Kongresi, Y.Y

Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü,Van,s.677.

ESER, F.,YILMAZ, G. R., GÜNER, R., TUFAN, Z. K., GÜVEN, T., ve AÇIKGÖZ, Z. C., 2018. Karbapenem dirençli enterobacteriacae enfeksiyonları: Risk faktörleri. Akd Tıp D, 4: 144-51.

FAROOQ,M.A.,SCOZZAFAVA,A. and SUPURAN,C.T.,2002.Antibacterial Schiff basesofoxalyl-hydrazine/daimideincorporatingpyrrolylandsalicylylmoietiesandoftheirzinc(II)complexes.J.EnzymeInhib.MedChem,17(1):1-7

FALAGAS, M. E. and KARAGEORGOPOULOS, D. E., 2008. Pandrug resistance (PDR), extensive drug resistance (XDR), and multidrug resistance (MDR) among Gram-negative bacilli: need for international harmonization in terminology. Clinical infectious diseases, 46: 1121-1122.

FERNÁNDEZ-G, J. M.,DEL RIO-PORTILLO, F., QUIROZ-GARCÍA, B.,TOSCANO,R.A.and SALCEDO,R.,2001.The Structures of Some Orto-Hydroxy Schiff Base Ligands.JournalofMoleculartructure,561:197-207.

FIORAVANTI,R.,BIAVA,M.,DONNARUMMA,S.,PORRETTA,G.C.,SIMONETTI and POMPEI,R., 1996. Synthesis and microbiological evaluations of (N-heteroaryl) aryl methenamine and their Schiff bases.Farmaco,51(10):643-52.

GABALLA,A.S.,ASKER,M.S.,BARAKAT,A.S.and TELEB,S.M.,2007. Synthesis, characterization and biological activity of some platinum(II) complexes with Schiff bases derived from salicylaldehyde, 2-furaldehyde and phenylenediamine".Spectrochimica

GALANSKI,M., JAKUPEC, M,A and KEPPLER, B.K., 2005. Update of the Preclinical Situation of Anticancer Platinum Complexes: Novel Design Strategies and Innovative Analytical Approaches.Current Medicinal Chemistry,12:2075-2094.

GÖLCÜ, A., DOLAZ, M.ve DAĞCI, E., K., 2005. Synthesis of a binuclear copper complex of the antihypertensive drug pindolol. KSU J Sci Eng, 8: 4-9.

GÜNDÜZ,T., 1994. Çevre Sorunları, Koordinasyon Kimyası. Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Ankara.

GUO,A.J.,XU, X.S., HU,Y.H., M.Z.WANG and TAN,X., 2010. Effects of ternary complexes of copper with salicylaldehyde aminoacid Schiff base coordination compounds on the proliferation of BGC823 cells. ChineseJournalofCancer,29;277-282.

HASANOĞLU, E., 2009. Koordinasyon Kimyası. Niğde Üniversitesi, Fen BilimleriEnstitüsü,YüksekLisans Tezi,Niğde.

HAVENGA, B., NDLOVU, T., CLEMENTS, T., REYNEKE, B., WASO, M. and KHAN, W., 2019) Exploring the antimicrobial resistance profiles of WHO critical priority list bacterial strains. *BMC microbiology*, *19*: 1-16.

HEARN,M.and CYNAMON, M., 2003. İzoniazidin asillenmiş türevlerinin Mycobacterium tuberculosis'e karşı invitro ve invivo aktiviteleri. İlaç tasarımı ve keşfi,18(4):103

HOLST,C.M.and OREDSSON,S.M.,2005. Comparison of three cytotoxicity test in the evaluation of the cytotoxicity of a spermine analog on humanb reast can cercelllines, ToxicologyinVitro,19:379-387

İSPIR,E., 2005. Si İçeren Schiff Bazları ve Metal Komplekslerinin Sentezi ve Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana

JALBOUT, A.F.,JARRAHPOUR,A.A., BRUNEL,J.M., SALMI,C., REZAEIS and TRZASKOWSKIB., 2006. Synthesis, Physical Characterization, Antibacterial and antifungal activities of anovelbis (3-((E)-1-(2-hydroxyphenyl) ethylideneamino)phenyl)methanone".Molbank,M484.

JESMIN, M., ALİ, M. M., and KHANAM, J.A., 2010. Antitumor activities of some Schiff bases derived from benzoin, salicylaldehyde, aminophenol and2, 4dinitrophenylhydrazine. Thai.Pharm.Sci.,34:20-31.

JIANHUA, W., WEN, L. and YUANLIANG, W., 2003. "The new Progress in the studies on antibacterial properties of Schiff bases and its metal complexes".Taylor&Francis,178(12):2563-2579.

KALAIARASI,G.,REXJ.S.,DHARANI,S.,RATH,N.P.and RABHAKARAN,R., 2018. Mar New Cationic and Neutral Copper (II) Complexes Containinghydroxy-4-oxo-4[H]-Chromene Derived on Pincer Ligands: Synthesis Characterization and In vitro Biological Evaluations. J Photochem Photobiol,180:77-88.

KARTHIKEYAN, M.S., PRASADD.J., POOJARYB., BHATK.S., HOLLAND. S. and KUMARIN. S., 2006. Synthesis and Biological Activity of Schiff and Mannich Bases Bearing2,4-dichloro-5-fluorophenyl. Bioorganic &MedicinalChemistry,14(22):7482-7489.

KIRAN,T., PRASANTHV. G., BALAMURALI, M.M., VASAVI, C.S.,MUNUSAMIP., SATHIYANARAYANAK.L. and PATHAKM., 2015. Synthesis, Spectroscopic Characterisation and invitro Studies of New Heteroleptic Copper(II) Complexes Derived From 2-hydroxy NapthaldehydeSchiff's Bases and N, N Donor Ligands: Antimicrobial, DNA Binding and Cytotoxic Investigations. InorganicaChimica Acta,433:26-34

KOÇ, Z.E., 2006. Tripodal Schiff Bazlı Ligandların Sentezi ve Metal Komplekslerinin İncelenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,Doktora Tezi,Konya.

KOGAN,V.A., OSIPOV,O.A., MINKIN,V.I and GORELOV, M.I., 1963. Dipole Moments and the Structure of the Internally Complex Connections of Copper with the Aromatic Schiff ovymi Bases.Dokl.Akad.NaukSSStL,153(3):594-596.

KÖKSAL,H.,DOLAZ,M.,TÜMER,M.ve SRIN,S.,2001.Copper(II),Cobalt, Nickel (II), Palladium (II) and Zinc (II) complxes of the Schiff BaseLigands derived from 2,6-diacetylpyridine and phthaldialdehyd. Synth ReactInorMet-OrgChem,31(7):1141-1162.

KRYGOWSKI, T. M., 1997. Yük yoğunluğu tanımlayıcıları açısından benzenoidhidrokarbonaromatikliği.Kanada kimyadergisi,75 (9):1174-1181.

LANGDON, S. P., 2004. Cancer Cell Culture, Methods and Protocols, HumanaPress. NewJersey,360.

LING, J., RONG, M. and ZHANG,M., 2012. Qiu.Photo-stimulated self-

healingpolyurethane containing dihydroxyl coumarin derivatives. Polymer, 53:2691-2698.

MAHADEVAN,S.and PALANIANDAVAR,M., 1998. Spectroscopic and Voltametric Studies on Copper Complexes of 2,9-Chemistry,37(4):693-700.

MESTAV B., 2015. Synthesis ana Spectral, Antimicrobial, Anion Sensing and DNABindingProperties of SchiffBase Podants and TheirMetal Complexes.RussianJournalofGeneralChemistry,85(9):2149-2162.

MARCH,J., 1972.AdvancedOrganicChemistry. Wiley, NY,USA.

MÜLAZIMOĞLU, A.D., 2009. Bazı Schiff bazlarının sentezi, antibakteriyel aktivitelerinin ve elektrokimyasal davranışlarının incelenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.

MUETTERTIES, E.L., RHODIN, T.N., BAND,E., BRUCKER, C.F. ve PRETZER, W. R., 1979. Clusters and surfaces. Chemical Reviews, 79(2): 91-137.

NIEDERHOFFER,E. C, TIMMONS, J.H. and MARTEL, A. G.,1984.Thermodynamics Of Oxygen Binding In Natural And Synthetic Dioxygen Complexes Chem.Rev,84:137-203.

NUCCI,M ve MARR, K.A., 2005. Ortaya çıkan mantar hastalıkları. Klinik Bulaşıcı Hastalıklar, 41(4):521-526.

OBALI, A., 2010. Değişik Uçlu Schıff Bazların Salen/Saloph Metal Komplekslerinin Sentezi ve Yapılarının Aydınlatılması. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi,Konya.

OSOWOLE, A.A and AKPAN, E.J., 2012. Synthesis, Spectroscopic Characterisation, In-Vitro Anticancer and Antimicrobial Activities of Some Metal(II) Complexes of3-{4,6-DimethoxyPyrimidinyl) EuropeanJournalofAppliedSciences,4:14-20.

OSOWOLE, A. A.,OTT, I. and OGUNLANA, O. M., 2012. Synthesis, Spectroscopic, Anticancer and Antimicrobial Properties of Some Metal(II) Complexes of (Substituted) Nitrophenol Schiff Base.HiicChemistry, 206417:6.

PAJAMA, M., PRAGATHIJ., ANUPAMAB ve KUMARIC.G., 2012. Synthesis, Spectral Characterisation, Molecular Modeling, and Antimicrobial Studies of Cu(II), Ni(II), Co(II), Mn(II) and Zn(II) Complexes of ONO Schiff Base.Journal of Chemistry,9(4):2145-2154.

PANDEYA,S.N, SRIRAM,D., NATH,G and DECLERCQ,E.,1999.Synthesis, antibacterial antifungal and anti-HIV activities of Schiff and Mannich bases derived from isatind erivativesandN-[4-4'-chlorophenyl)thiazol-2-al] Eur.J.PharmSci,9(1):25-31.

PAREKH,J.,INAMDHAR,P.,NAIR,R.,BALUJA,S.andCHANDA,S.,2005.Synthesis and antibacterial activity of some Schiff bases derived from 4-aminobenzoic acid.J.Serb.Chem.Soc.,70(10): 1155–1161.

PATAI, S.,1970.Chemistry Of The Carbon-Nitrogen Double Bond.

PATEL,V.K.,VASANWALA,A.M.and JEJURKAR,C.R.,1989.Synthesis of mixed Schiff base complexes of Cu(II) and Ni(II)and their spectral, magnetic and antifungal studies. Indian Journal of Chemistry, 28(A): 719-721.

PFEIFFER,P., BREITH,E., LÜBBE,E.and TSUMAKI,T.,1932.Thcylische Orthokondesierte Neben valenzringe, Annalen Der Chemie,492:81-127.

RAMAN, N. and RAVICHANDRAN, S., 2005. New neutral Schiff base and itsmetal

complexes derived from mannich base,N-(1-Morpholinobenzyl) acetamide.Polish J.Chem.,79:1107-1114.

RAMAN,N.,KULANDAISAMY,A.andJEYASUBRAMANIAN,K.,2002.Synthesis, structural characterization, redox and antimicrobial studies of chiff base copper(II), nickel(II), cobalt(II), manganese(II), zinc(II) and oxovanadium(II) complexes derived from benzil and 2-aminobenzyl alcohol.PolishJ.Chem.,76:1085-1094.

RAMAN, N. and THANGARAJA, C., 2005. Synthesis, structural characterization,cyclic voltammetric and antibacterial studies of tetraaza13-memberedmacrocyclic copper(II), nickel(II),cobalt(II) and zinc(II) complexes derived from the Schiff base 3-salicylidene– 2,4-di (imino-4'- ntipyrinyl) pentane ando-phenylenediamine. PolishJ.Chem.,79:1123-1134.

RAO, N. S., and REDDY, M. G., 1990. Studies on the synthesis, characterization, and antimicrobial activity of new Co(II), Ni(II), and Zn(II) complexes of Schiff base derivedfromninhydrinandglycine.Biol.Met.,3(1):19-23.

REDDY, K.H and LINGAPPA,Y., 1994. Synthesis and characterization of copper(II) complexes of physiologically active tridentate Schifd bases. Ind. JChem.,A(33):919-923.

SACCONI,L.,CIAMPOLINI, M.,MAGGIO,F. and REDEL,G., 1962. Studies in Coordination Chemistry the Dielectric Polarization of Some Metal Complexes of N.J.Amer.Chem.Soc,82(4):815-818.

ŞAHIN,M., 2007. Kitosanın Schıff Baz Türevlerinin Sentezi ve Metal Komplekslerinin İncelenmesi.Selçuk Üniversitesi,FenBilimleriEnstitüsü, Doktora Tezi,Konya.

SCHIFF, H., 1864. Mittheilungen aus dem Universitätslaboratorium in Pisa: Eineneue Reiheorganischer Basen.AnnalenderChemie,131:118.

SCHLEGEL,H., 1992. Produktion Sekundarer Metabolite. All gemeine Mikrobiologie, Georg-ThiemeVerlag,362-371.

SHABANI,F .,GHAMMAMY, S., MEHRANI, K., TEİMOURI, M. B., SOLEİMANİ,M., and KAVİANİ, S., 2008. Antitumor Activity of 6-(cyclohexylamino)-1, 3-dimethyl-5(2-pyridyl)furo[2,3-d]pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione and Its Ti(IV), Zn(II), Fe(III) and Pd(II) Complexes on K562 and Jurkat Cell Lines. Hindawi Publishing Corporation BioinorganicChemistry,2008:501021.

SHARMA,P,K.,ve DUBEY,S.N.,2002. Synthesis and structural studies of iron(II) complexes with N-salicylidene-andN-(2-hydroxy-1-naphthylidene) aminoacids. Ind.J.Chem.,33

SHEBLM., 2014. Synthesis, Spectroscopic Characterisation and Antimicrobial Activity of Binuclear Metal Complexes of A New Asymetrical Schiff Base Ligand: DNA Binding Affinity of Copper(II) Complexes. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy,117:127-137.

SINGH, P. K. and KUMAR, D. N., 2006. Spectral studies on cobalt (II), nickel (II) and copper(II) complexes of naphthaldehyde substituted aroyl hydrazones SpectrochimicaActaPartA,64:853-858.

TABASSUM S., AMIR, S., ARJMAND, F., PETTINARI, C., MARCHETTI,

F.,MASCHIOCCHIN.,LUPIDIG and PETTINARIR., 2013. Mixed-Ligand Cu(II)-Vanilin Schiff Base Complexes; Effect of Coligands on Their DNA Binding, DNA Cleavage, SOD Mimetic and Anticancer Activity. EuropeanJournalofMedicinalChemistry,60:216-232.

UÇAN, Y.S., 2002. İminoksimli Schiff Bazlarının Sentezi ve Geçiş Metal Komplekslerinin İncelenmesi. Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Niğde.

VANCO,J., SVAJLENOVA, O., RACANSKA, E., MUSELIK, J. and VALENTOVA,J., 2004. Antiradicalactivity of different copper(II) Schiff base complexes and heir effect on alloxan-induced diabetes, J. Trace Elements in Medicine and Biology,18:155

WANG, Y. and POIRIER, R. A., 1997. Factors That Influence the C=N Stretching Frequency in Imines. JournalPhys.Chem.,101:907-912.

YAMADA, S., and TAKEUCHI, A., 1982. The Conformation and Intere on version of Schiff Base Complexes of Nickel(II) and Copper(II), Coord. Chem. Rev.,43:187-204.

YAŞAR, S., 2016. Yeni Nesil Kanser İlaçları: Rutenyum Komplekslerinin Kanserli Hücrelerdeki Etkileri.TürkiyeKimya Derneği,2:8.

YILDIZ,M.,TANE., DEMIR,N.,YIDIRIM,N., ÜNVER,H., KIRAZ,A.RAMAN,N., KULANDAISAMY,A.and JEYASUBRAMANIAN,K., 2002. Synthesis, structura characterization, redox and antimicrobial studies of Schiff base copper(II), nickel(II), cobalt(II), manganase(II), zinc(II) and oxovanadium(II) complexes derived from benzil and 2-aminobenzyl alcohol.PolishJ.Chem.,76:1085-1094.

YILMAZ, İ., 2003. Synthesis, characterization and anti microbialactivity of the Schiff bases Derived from 2,4-disubstituted thiazolesand 3-methoxysalicylaldehyde and theircobalt (II), copper (II), nickel (II), andzinc (II) complexes. TransitionMetalChemistry,28(4):399-404.

ZHANG, Y., ZHAO, C., WANG, Q., WANG, X., CHEN, H., LI, H. and WANG, H. 2020. Evaluation of the in vitro activity of new polymyxin B analogue SPR206 against clinical MDR, colistin-resistant and tigecycline-resistant Gram-negative bacilli. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 75: 2609-2615.