

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

**CEFTRİAOXONE'UN FENİLALANİN VE DNA İLE
ETKİLEŞİMİNİN İNCELENMESİ VE ANTİMİKROBİYAL
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Fadhila M.A. OTHMAN

**Danışman Yrd. Doç. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU
Jüri Üyesi Prof. Dr. Fatma KANDEMİRLİ
Jüri Üyesi Yrd. Doç. Dr. Hakan Sezgin SAYİNER**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI**

KASTAMONU – 2017

TEZ ONAYI

Fadhila M. A. OTHMAN tarafından hazırlanan "**Ceftriaxone'un Fenilalanin ve DNA ile Etkileşiminin İncelenmesi ve Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde savunulmuş ve **oy birliği** ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Genetik ve Biyomühendislik Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman Yrd. Doç. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU
Kastamonu Üniversitesi

Jüri Üyesi Prof. Dr. Fatma KANDEMİRLİ
Kastamonu Üniversitesi

Jüri Üyesi Yrd. Doç. Dr. Hakan Sezgin SAYİNER
Adıyaman Üniversitesi

03/02/2017

Enstitü Müdür V. Prof. Dr. Temel SARIYILDIZ

TAAHHÜTNAME

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

İmza

Fadhila M.A. OTHMAN



ÖZET

Yüksek Lisans

CEFTRİAOXONE'UN FENİLALANİN VE DNA İLE ETKİLEŞİMİNİN İNCELENMESİ VE ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Fadhila M.A. OTHMAN

Kastamonu Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Genetik ve Biyomühendislik Ana Bilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU

Ceftriaxone ile fenilalanin arasındaki etkileşimin ve ceftriaxone ile Calf-Thymus Deoksiribonükleik asit (CT-DNA) arasındaki etkileşimin absorpsiyonu belirlenmiş ve ceftriaxone ve fenilalaninin seçilen bakteriler üzerindeki anti-bakteriyal aktiviteleri incelenmiştir. Farklı sıcaklıklar, inkübasyon süreleri ve PH değerlerinde ceftriaxone ile fenilalanin etkileşimi Ultraviyole-visible spektrofotometre (UV) ile belirlenmiş olup, absorpsiyon değerleri birbirine çok yakındı. CT-DNA ile ceftriaxone etkileşimi ise Ultraviyole-visible spektrofotometre (UV) ile fark edilebilir durumdaydı. Tek başına ceftriaxone ve ceftriaxone ile fenilalanin kombinasyonu, bu araştırmada kullanılan bakteriler üzerinde (*Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Proteus mirabilis* ATCC 25933, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (MRSA), *Sarcina lutea* ATCC 9341, *Salmonella typhimurium* NRRLE 4463, *Yersinia enterocolitica* ATCC 1501) inhibisyon zonu göstermiştir, fakat tek başına fenilalanin inhibisyon zonu göstermemiştir. Sonuçlarımız, CT-DNA ile ceftriaxone arasındaki etkileşim mekanizmalarını çözmeye yönelik olarak fikir verici niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: Ceftriaxone, fenilalanin, DNA etkileşimi, antimikrobiyal aktivite.

2017, 70 sayfa

Bilim Kodu: 923

ABSTRACT

MSc. Thesis

IDENTIFICATION OF INTERACTIONS OF CEFTRIAOXONE WITH PHENYLALANINE AND DNA AND DETERMINATION OF THEIR ANTIMICROBIAL ACTIVITIES

Fadhila M.A. OTHMAN
Kastamonu University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Genetic and Bioengineering

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Yasemin Çelik ALTUNOĞLU

The absorption of interaction between ceftriaxone with phenylalanine and interaction between ceftriaxone with Calf-Thymus Deoxyribonucleic acid (CT-DNA) were determined and antibacterial activity of ceftriaxone and phenylalanine was studied on selected bacteria. The interaction of ceftriaxone with phenylalanine in different temperatures, incubation times and PH values were determined by Ultraviolet-Visible spectrophotometer (UV) and the absorption rates were very close. The interaction of ceftriaxone with CT-DNA was noticeable by Ultraviolet-Visible spectrophotometer (UV). Ceftriaxone alone and ceftriaxone combined with phenylalanine showed inhibition zone but phenylalanine alone did not show any inhibition zone on the bacteria used in this research (*Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Proteus mirabilis* ATCC 25933, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (MRSA), *Sarcina lutea* ATCC 9341, *Salmonella typhimurium* NRRLE 4463, *Yersinia enterocolitica* ATCC 1501). Our results give an idea to explore the interaction mechanisms between ceftriaxone and CT-DNA.

Key Words: Ceftriaxone, phenylalanine, DNA interaction, antimicrobial activity.

2017, 70 pages

Science Code: 923

TEŞEKKÜR

Danışmanım Yrd. Doç. Dr. Yasemin Çelik Altunoğlu'na ve Prof. Dr. Fatma Kandemirli'ye, Doç. Dr. Mehmet Cengiz Balođlu'na, araştırma süresi boyunca sağladıkları rehberlikleri, destekleri, denetimleri ve değerli tavsiyeleri için, özel minnettarlığımı ve teşekkürlerimi sunmak istiyorum.

Eşime ve bütün aileme, hususi olarak anne ve babama ve arkadaşlarıma, özellikle Mohammed Ghanim ve Aisha Tarık'a bu araştırmalar boyunca gösterdikleri sabır ve verdikleri destek için içten teşekkürlerimi sunmak istiyorum.

Son olarak, ülkem olan Libya'ya burs için ve Kastamonu Üniversitesi'ne eğitim için teşekkür ediyorum.

Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı ve Kastamonu Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Laboratuvarının teknik personeline özel teşekkürlerimi kaydetmek istiyorum.

Fadhila M.A. OTHMAN
Kastamonu, Ocak, 2017

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
GRAFİKLER DİZİNİ.....	xi
TABLolar DİZİNİ	xiii
FOTOĞRAF ENDEKSİ	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Ceftriaxone	2
1.1.1. Ceftriaxone İle İlgili Genel Bilgiler.....	3
1.2. Amino Asitler	4
1.2.1. Fenilalanin	4
1.3. Deoksiribonükleik Asidin (DNA) Kimyasal Yapısı	5
1.3.1 Ultraviyole Visible Spektrofotometre (UV)	8
1.3.2. Bağlanma Sabiti (K_b).....	9
1.4. Antimikrobiyal Aktivite	9
2. KURAMSAL ÇERÇEVE	12
3. MATERYAL VE YÖNTEM	14
3.1. Stok Çözeltilerin Hazırlanması	14
3.2. Extinction Katsayısı	14
3.3. Fenilalanin ile Ceftriaxone'un Etkileşimi	15
3.4. CT-DNA ile Ceftriaxone Etkileşimi.....	16
3.5. Ceftriaxone ve Fenilalaninin Antimikrobiyal Aktivitesi.....	17
3.5.1. Maddenin Konsantrasyonu	18
3.5.2. Besiyerinin Hazırlanması.....	18
3.5.3 Mikroorganizma Türleri	18
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	19

4.1. Ceftriaxone için Sıcaklık Farklı PH Değerlerinin Extinction katsayısı Üzerindeki Etkisi.....	19
4.2. Zaman, Sıcaklık ve PH'nın Fenilalanin ile Ceftriaxone Etkileşimi Üzerindeki Etkisi.....	29
4.3. CT- DNA ile Ceftriaxone'un Etkileşimi	48
4.4. Antimikrobiyal Aktivite	52
4.4.1. Ceftriaxoneun ve fenilalaninin antimikrobiyal aktivite analizi	52
4.4.2. Fenilalanin ile Ceftriaxone kombinasyonunun antimikrobiyal etkinliği.....	54
5. SONUÇ	62
6. KAYNAKÇA	64
7. ÖZGEÇMİŞ	70

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

A	Adenin
ADHD	Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu
C	Sitozin
CT-DNA	Calf-Timus Deoksiribonüklenik asit
DH ₂ O	Damıtık su
DNA	Deoksiribonükleik asit
G	Guanin
M	Molar
RNA	Ribonükleik asit
T	Timin
Tris-HCl	Tris-hidroklorik asit
UV	Ultraviyole

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Penisilinin temel yapısının iskelet formülü.....	1
Şekil 1.2. Sefalosporinin temel yapısının iskelet formülü	2
Şekil 1.3. Karbapenem'in temel yapısının iskelet formülü.....	2
Şekil 1.4. Ceftriaxone'un Yapısı.....	3
Şekil 1.5. Fenilalaninin yapısı.....	5
Şekil 1.6. DNA yapısı	6
Şekil 1.7. Pirimidin halkası, pürin halkası ve azotlu bazlar	7
Şekil 1.8. Pentoz şekerinin kimyasal yapısı	7
Şekil 1.9. DNA molekülünde fosfat grubu.....	8



GRAFİKLER DİZİNİ

	Sayfa
Grafik 4.1. 25 °C sıcaklıkta PH:3 için Ceftriaoxone'un extinction katsayısı	19
Grafik 4.2. 30 °C sıcaklıkta PH:3 için Ceftriaoxone'un extinction katsayısı.....	20
Grafik 4.3. 40 °C sıcaklıkta PH:3 için Ceftriaoxone'un extinction katsayısı.....	20
Grafik 4.4. 50 °C sıcaklıkta PH:3 için Ceftriaoxone'un extinction katsayısı.....	21
Grafik 4.5. 60 °C sıcaklıkta PH:3 için Ceftriaoxone'un extinction katsayısı.....	21
Grafik 4.6. 25 °C sıcaklıkta PH:7 için Ceftriaoxone'un extinction katsayısı.....	22
Grafik 4.7. 30 °C sıcaklıkta PH:7 için Ceftriaoxone'un extinction katsayısı.....	23
Grafik 4.8. 40 °C sıcaklıkta PH:7 için Ceftriaoxone'un extinction katsayısı.....	23
Grafik 4.9. 50 °C sıcaklıkta PH:7 için Ceftriaoxone'un extinction katsayısı.....	24
Grafik 4.10. 60 °C sıcaklıkta PH:7 için Ceftriaoxone'un extinction katsayısı...	24
Grafik 4.11. 25 °C sıcaklıkta PH:9 için Ceftriaoxone'un extinction katsayısı...	25
Grafik 4.12. 30 °C sıcaklıkta PH:9 için Ceftriaoxone'un extinction katsayısı...	26
Grafik 4.13. 40 °C sıcaklıkta PH:9 için Ceftriaoxone'un extinction katsayısı ...	26
Grafik 4.14. 50 °C sıcaklıkta PH:9 için Ceftriaoxone'un extinction katsayısı ...	27
Grafik 4.15. 60 °C sıcaklıkta PH:9 için Ceftriaoxone'un extinction katsayısı ...	27
Grafik 4.16. 25 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:3)	30
Grafik 4.17. 30 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:3)	30
Grafik 4.18. 40 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:3)	31
Grafik 4.19. 50 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:3)	31
Grafik 4.20. 60 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:3)	32
Grafik 4.21. 25 °C sıcaklıkta 20 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:3)	32
Grafik 4.22. 30 °C sıcaklıkta 20 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:3)	33
Grafik 4.23. 40 °C sıcaklıkta 20 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:3)	33
Grafik 4.24. 50 °C sıcaklıkta 20 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:3)	34
Grafik 4.25. 60 °C sıcaklıkta 20 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:3)	34
Grafik 4.26. 25 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:7)	36
Grafik 4.27. 30 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:7)	36
Grafik 4.28. 40 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:7)	37
Grafik 4.29. 50 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:7)	37

Grafik 4.30. 60 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:7)	38
Grafik 4.31. 25 °C sıcaklıkta 20 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:7)	38
Grafik 4.32. 30 °C sıcaklıkta 20 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:7)	39
Grafik 4.33. 40 °C sıcaklıkta 20 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:7)	39
Grafik 4.34. 50 °C sıcaklıkta 20 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:7)	40
Grafik 4.35. 60 °C sıcaklıkta 20 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:7)	40
Grafik 4.36. 25 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:9)	42
Grafik 4.37. 30 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:9)	42
Grafik 4.38. 40 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:9)	43
Grafik 4.39. 50 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:9)	43
Grafik 4.40. 60 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:9)	44
Grafik 4.41. 25 °C sıcaklıkta 20 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:9)	44
Grafik 4.42. 30 °C sıcaklıkta 20 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:9)	45
Grafik 4.43. 40 °C sıcaklıkta 20 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:9)	45
Grafik 4.44. 50 °C sıcaklıkta 20 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:9)	46
Grafik 4.45. 60 °C sıcaklıkta 20 dakika için Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi (PH:9)	46
Grafik 4.46. 25 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone ve CT-DNA arasındaki etkileşim	49
Grafik 4.47. 30 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone ve CT-DNA arasındaki etkileşim	49
Grafik 4.48. 40 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone ve CT-DNA arasındaki etkileşim	50
Grafik 4.49. 50 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone ve CT-DNA arasındaki etkileşim	50
Grafik 4.50. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA), <i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076, <i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341, <i>Salmonella typhimurium</i> NRRLE 4463, <i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 1501 ve <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933 üzerindeki Ceftriaoxone, fenilalanin ve ceftriaoxone ile fenilalanin kombinasyonunun etkisi için istatistiksel analizler	59

TABLULAR DİZİNİ

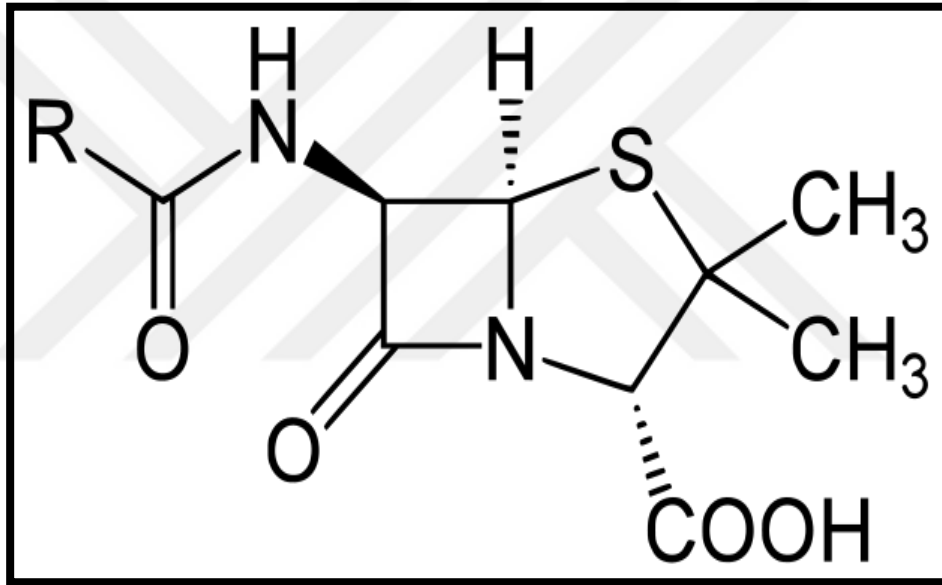
	Sayfa
Tablo 4.1. Ceftriaoxone'un farklı sıcaklık değerleri için PH:3'de belirlenen extinction katsayısı	22
Tablo 4.2. Ceftriaoxone'un farklı sıcaklık değerleri için PH:7 'de belirlenen extinction katsayısı	25
Tablo 4.3. Ceftriaoxone'un farklı sıcaklık değerleri için PH:9 'de belirlenen extinction katsayısı	28
Tablo 4.4. Fenilalanin ile Ceftriaoxone'un PH:3' etkileşimi için K_b değerleri..	35
Tablo 4.5. Fenilalanin ile Ceftriaoxone'un PH:7 etkileşimi için K_b değerleri...	41
Tablo 4.6. Fenilalanin ile Ceftriaoxone'un PH:9 etkileşimi için K_b değerleri...	47
Tablo 4.7. CT-DNA ile Ceftriaoxone'un etkileşimi için K_b değerleri.....	51
Tablo 4.8. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA) <i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076, <i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341, <i>Salmonella typhimurium</i> NRRLE 4463, <i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 1501 ve <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933 üzerindeki antimikrobiyal Ceftriaoxone ve fenilalanin etkinliği.	53
Tablo 4.9. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA), <i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076, <i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341, <i>Salmonella typhimurium</i> NRRLE 4463, <i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 1501 ve <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933 üzerindeki Ceftriaoxone ile fenilalanin kombinasyonunun antimikrobiyal aktivitesi.....	54

FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

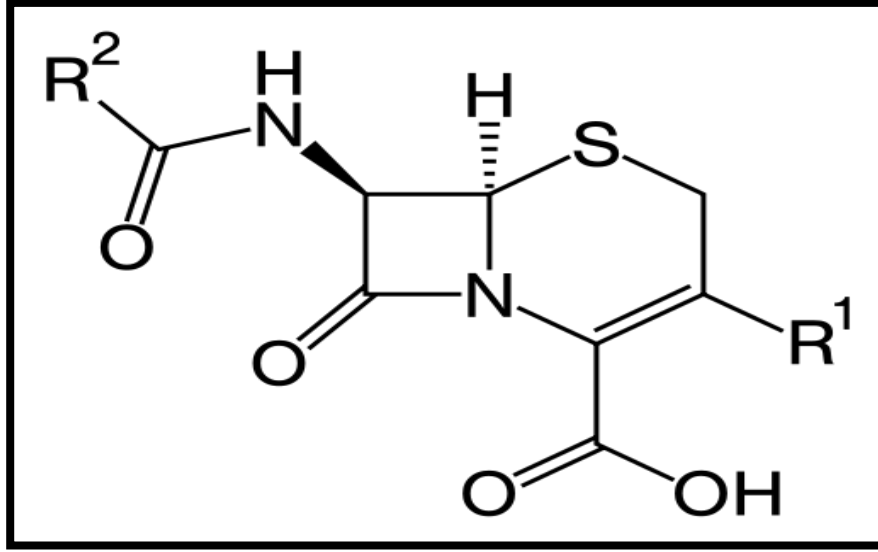
Fotoğraf 1.1. A petri kabı üzerindeki inhibisyon testini gösterirken, B petri kabı üzerinde inhibisyon zonu yoktur.....	10
Fotoğraf 3.1. UV-Visible Spektrofotometre (Thermo Scientific, ABD)	17
Fotoğraf 3.2. Quartz küvetler	17
Fotoğraf 4.1. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)'a karşı Ceftriaxone'un (C), fenilalaninin (P) Ceftriaxone ile fenilalanin kombinasyonunun (P+C) inhibisyon zonu	55
Fotoğraf 4.2. <i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076'a karşı Ceftriaxone'un (C), fenilalaninin (P) ve Ceftriaxone ile fenilalanin kombinasyonunun (P+C) inhibisyon zonu	56
Fotoğraf 4.3. <i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341'e karşı Ceftriaxone'un (C), fenilalaninin (P) ve Ceftriaxone ile fenilalanin kombinasyonunun (P+C) inhibisyon zonu	56
Fotoğraf 4.4. <i>Salmonella typhimurium</i> NRRLE 4463'e karşı Ceftriaxone'un (C), fenilalaninin (P) ve Ceftriaxone ile fenilalanin kombinasyonunun (P+C) inhibisyon zonu	57
Fotoğraf 4.5. <i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 1501'e karşı Ceftriaxone'un (C), fenilalaninin (P) ve Ceftriaxone ile fenilalanin kombinasyonunun (P+C) inhibisyon zonu	57
Fotoğraf 4.6. <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933e karşı Ceftriaxone'un (C), fenilalaninin (P) ve Ceftriaxone ile fenilalanin kombinasyonunun (P+C) inhibisyon zonu	58

1. GİRİŞ

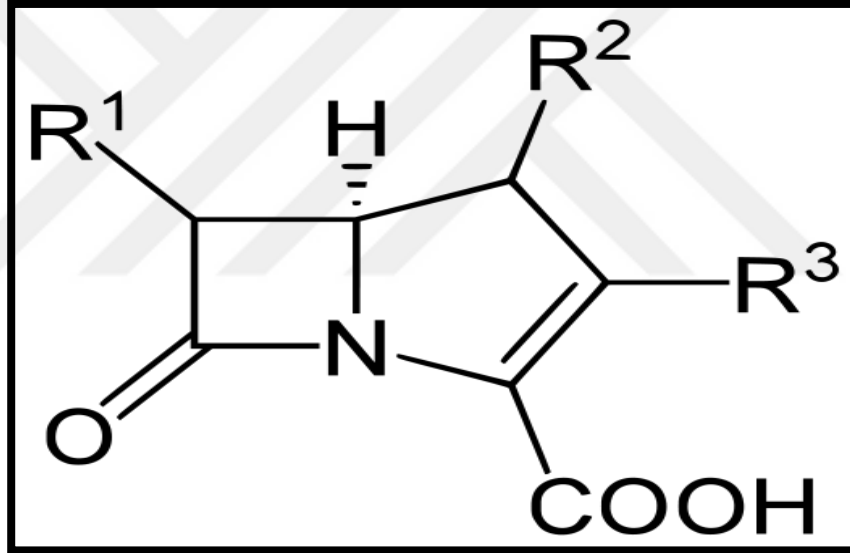
Antibiyotiklerin beta-laktam bileşikleri, bir beta-laktam halkasından oluşmaktadır. Beta-laktam halkası, üç karbon atomu ve bir nitrojenden oluşmuş olup dört üyeli bir halkadır. Buna beta-laktam denmektedir. Çünkü nitrojen molekülü, karbonil bakımından β -karbon ile birleştirilir ($C=O$). Bu yapıya sahip olan antibiyotiklere beta-laktam antibiyotikler denir ve bunlar penisilin ve penisilin türevlerini (Şekil 1.1), sefalosporinleri ve karbapenemleri içermektedir (Şekil 1.2, 1.3). Beta-laktam bileşikleri, bakterilerin hücre duvarı üretimini engellemektedir [1].



Şekil 1.1. Penisilin'in temel yapısının iskelet formülü [2]



Şekil 1.2. Sefalosporinin temel yapısının iskelet formülü [3]

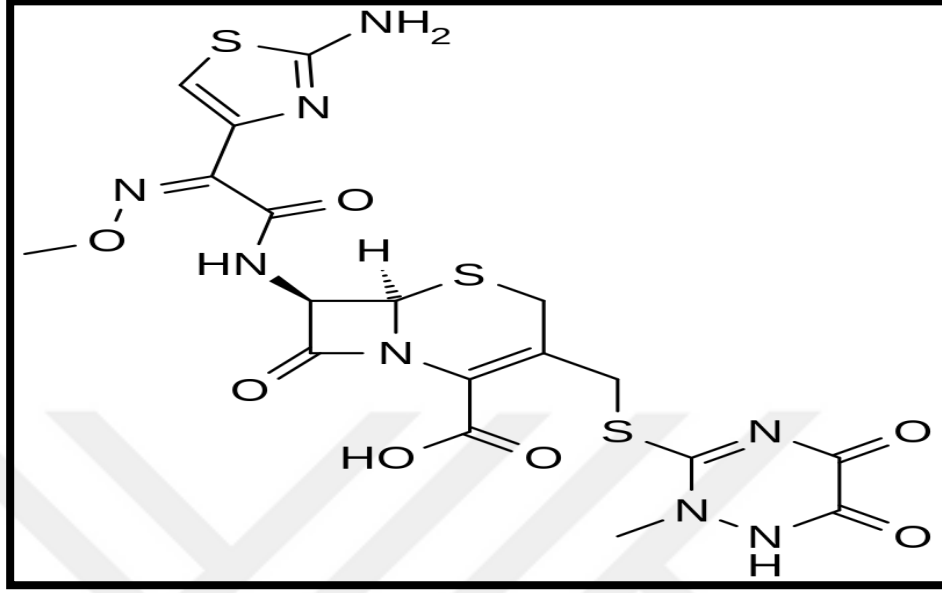


Şekil 1.3. Karbapenem'in temel yapısının iskelet formülü [4]

1.1. Ceftriaxone

Ceftriaxone, beta-laktam antibiyotikleri olarak sınıflandırılan üçüncü nesil bir sefalosporindir. Gram-pozitif bakterileri ve dirençli Gram-negatif bakterileri etkilemektedir ve bu da onu ikinci nesil sefalosporinden ayırır ve çoğu bakteriyel enfeksiyon için çok yararlıdır. Yaygın ismi Rocephin'dir ve akciğer iltihabı, deri iltihabı ve dahili abdomen iltihabı dahil olmak üzere çoğu enfeksiyonda etkilidir. Ameliyatlardan önce verilmesi, daha sonraki inflamasyonları engellemektedir ve bu

antibiyotik damar içine veya kas içine uygulanmalıdır [5]. Ceftriaoxone'un formülü, $C_{18}H_{18}N_8O_7S_3$ dür. Molar kütlesi ise 554.58 g/mol'dür (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. Ceftriaoxone'un Yapısı [6]

1.1.1. Ceftriaoxone İle İlgili Genel Bilgiler

Sefalosporin bileşikleri ilk defa, İtalyan bir bilim adamı olan Giuseppe Brotzu tarafından 1948 yılında Sardinya'da *Cephalosporium acrimonious*'den elde edilmiştir. Ceftriaoxone, Hoffman-La Roche tarafından 1980'li yılların başlarında keşfedilmiştir. Ceftriaoxone, üçüncü nesil bir sefalosporin antibiyotigidir ve bakterilerin hücre duvarının oluşturulması için gerekli olan proteinlerin yapımını engeller [7]. Ceftriaoxone antibiyotikleri, pek çok diğer antibiyotiğe dirençli olmayan mikropları tedavi etmek için kullanılır [8]. Ceftriaoxone, intramüsküler enjeksiyon veya enfüzyon yolu ile verilebilir [9]. Kalsiyum içeren solüsyonu hafifletmek için kullanılmaması gerekmektedir ve ayrıca kalsiyum içeren solventler damarların içine enjekte edilmemelidir [10]. Ceftriaoxone'un yan etkileri, cilt döküntüleri ve diyare ile sonuçlanan beyaz kan hücrelerindeki bir değişikliklerdir [11]. Ceftriaoxone, buna alerjisi olan ve penisiline alerjisi olan kişiler tarafından kullanılmalıdır. Bunlara ek olarak, Ceftriaoxone yeni doğan bebekler, özellikle de premature doğumlarda kullanılmamalıdır. Çünkü albuminden bilirubin izolasyonuna neden olmaktadır, bu da beyinde iltihaba sebep olmaktadır.

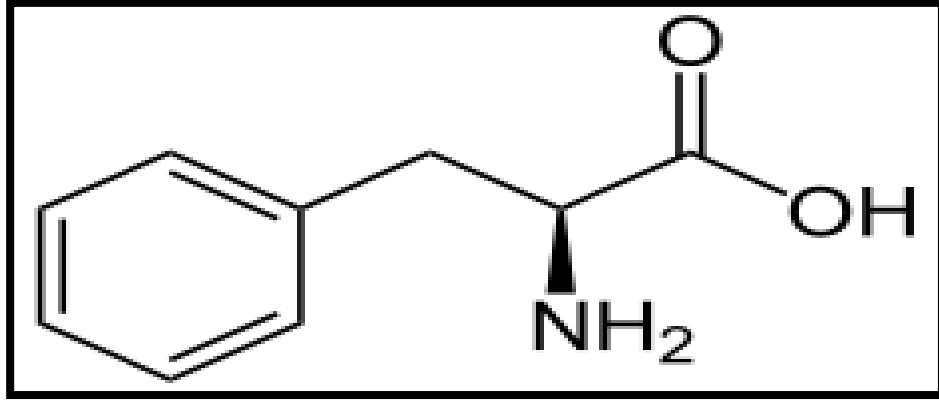
Ceftriaoxone'un fetüste anormalliklere neden olabildiği gözlemlenmiştir, bu sebeple hamile kadınlara verilmemelidir [12]. Ceftriaoxone, anne sütünde düşük konsantrasyonlarda salgılandığından bebeklerde zarara neden olması beklenmemektedir. Tehlikeli Ceftriaoxone'u kanıtlayan çalışmalar mevcut değildir. Fakat Ceftriaoxone'na duyarlılık yaşlı hastalarda gençlerden daha yaygındır [13]. Ceftriaoxone, kas içine veya damar içine verilir fakat ağız yoluyla verilemez. Ceftriaoxone dokulara ve merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarına karşı sıvı spinal kort gibi doku ve vücut sıvılarına nüfuz eder [14]. Ceftriaoxone, pek çok antibiyotik ile özellikle de gentamisin, tobramisin gibi aminoglikozitler ile ve ayrıca canlı bakteriyel aşılar ve kalsiyum içeren parenteral solüsyonlar ile etkileşir [15].

1.2. Amino Asitler

Amino asitler, bir amin grubu (NH₂) ve bir karboksil grubu (COOH) içeren bileşiklerdir. Amino asitlerin temel elementleri karbon (C), nitrojen (N₂), oksijen (O₂) ve hidrojen (H₂) [16]. Amino asitlerin üstün düzeni (l- veya d- izomerler), gliseraldehit referans alınarak sınıflandırılır. Prolin dışında, proteinlerdeki bütün amino asitlerde α -karbonuna (α -amino asit) bağlı olan esansiyel bir amino ve bir karboksil bağı vardır. β -amino asitte (örn. Taurin ve β - alanin gibi) bir amino grubu β -karbon atomuna bağlanır [17].

1.2.1. Fenilalanin

Fenilalanin, bir α -amino asittir ve üç hali vardır. D- fenilalanin: D-fenilalanin, ya tek bir enantiyomer olarak ya da rasemik karışımın bir parçası olarak doğal birleşme ile oluşturulabilir. L-fenilalanin ise proteinlerde bulunan tek biçimdir [18]. DL-fenilalanin, fenilalaninin iki halinin laboratuvarında birleşimidir [19]. Fenilalanin depresyon, dikkat eksikliği, hiperaktivite (ADHD), Parkinson hastalığı ve ağrı yönetiminin tedavisinde kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak vitiligo tedavisinde deri üzerinde doğrudan kullanılır [20]. Fenilalanin formülü C₆H₅CH₂CH (NH₂) COOH ve molar kütlesi ise 165.19 g/mol'dür (Şekil 1.5).



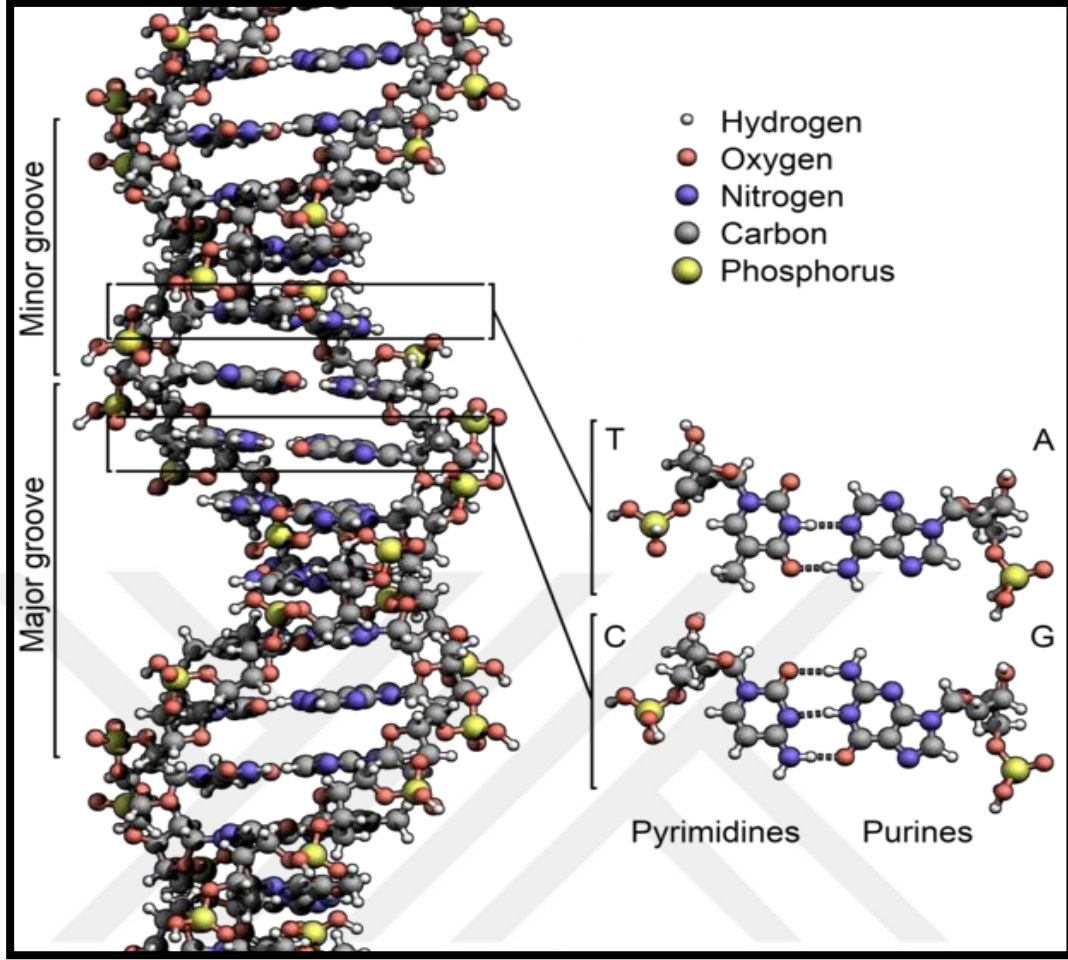
Şekil 1.5. Fenilalaninin yapısı

1.3. Deoksiribonükleik Asidin (DNA) Kimyasal Yapısı

Deoksiribonükleik asit (DNA), bütün hücrelerin çekirdeklerinde mevcuttur ve organizmalar için büyüme, gelişim v.b. ile ilgili genetik bilgiler içermektedir. Fosfat gruplarından dolayı DNA'nın negatif bir yükü vardır ve bu özellik elektriksel testlerde önemlidir. DNA suda çözünmektedir [21] (Şekil 1.6).

DNA, nükleotidlerden oluşmaktadır. Bir nükleotid şunları içerir:

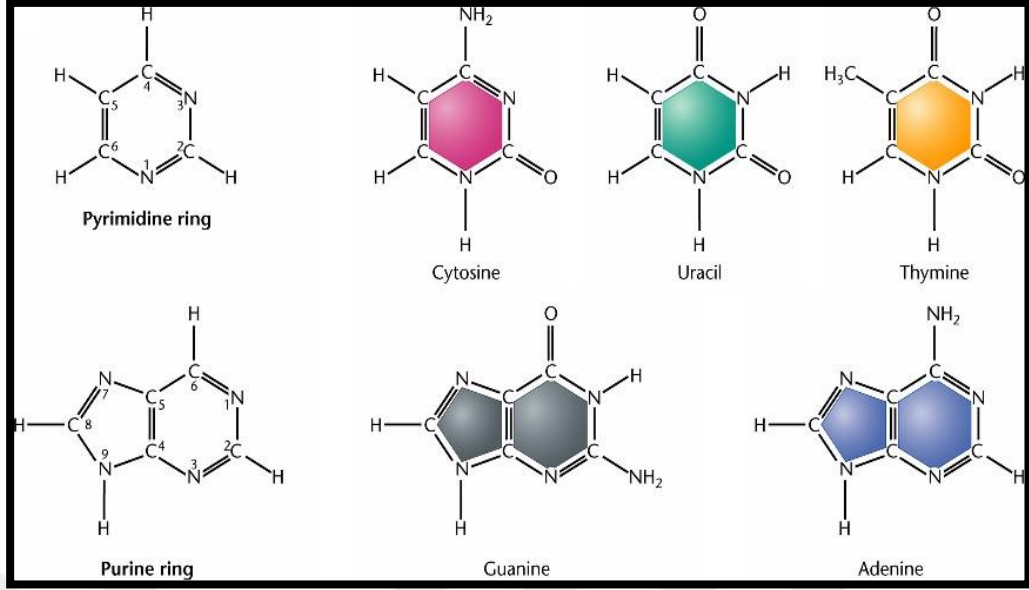
- Azotlu baz
- Pentoz şekeri
- Fosfat grubu [22].



Şekil 1.6. DNA yapısı [23]

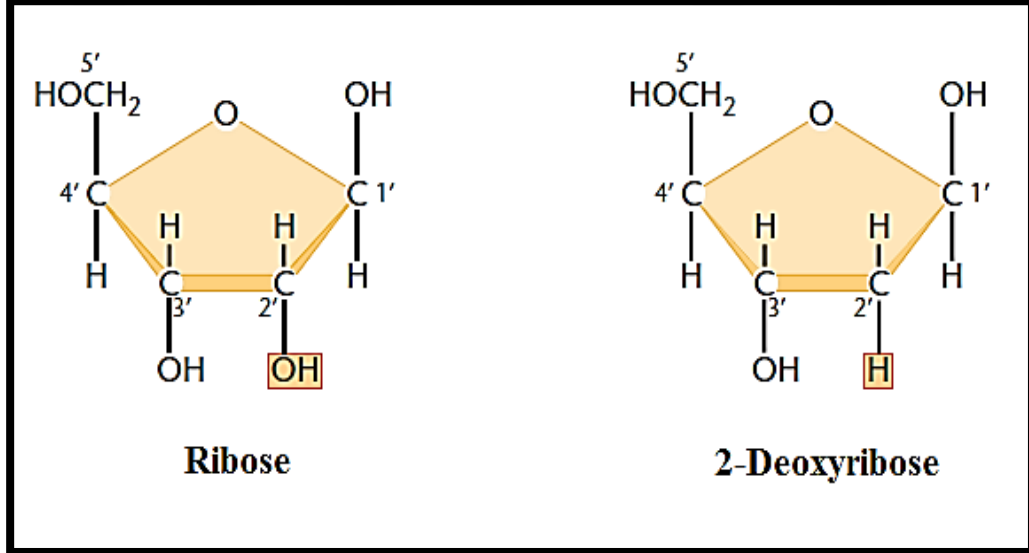
Azotlu Bazlar

Azotlu bazlar, yapıda bir nitrojen atomu içermektedir. DNA ve RNA'daki nükleobazlar, pirimidin ve pürinlerin türevleridir. Pirimidin, altı karbon atomu ve iki nitrojen atomu içeren halkasal aromatik heterojen bir organik bileşiktir. Bir pirimidin biçimi olan pirazin içinde, nitrojen atomları heterojen karbon halkasında 1.3 konumundadır ve nitrojen atomları halkanın 1.4 konumundadır. Pridazin diazinonda nitrojen atomları halkanın 1.2 konumundadır [24]. Nükleotit bazlarının üç türü, pirimidin türevleridir: Sitozin (C), Timin (T) ve Urasil (U)'dir. Pürinler, imidazol halkası ile kaynaşmış bir pirimidin halkasından oluşan organik halkasal heterojen aromatik bileşiklerdir. Nükleotit bazlarının iki türü pürin türevleridir: Adenin (A) ve Guanin (G) (Şekil 1.7).



Şekil 1.7. Pirimidin halkası, pürin halkası ve azotlu bazlar.

Pentoz Şeker

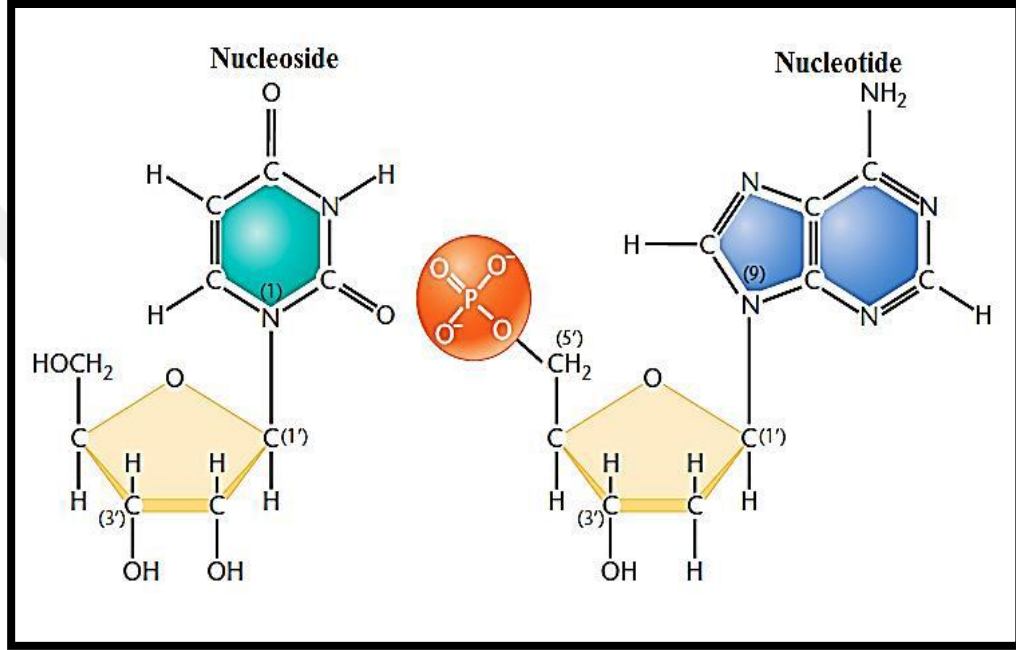


Şekil 1.8. Pentoz şekerinin kimyasal yapısı [25]

Nükleozit kimyasal birimi, bir pürin bazı veya pirimidin bazı ve bir riboz şekeri veya deoksiriboz şekeri içerir. Eğer nükleozitlere bir fosfat grubu eklenirse, nükleotit denilen bir başka kimyasal birim elde edilir [26] (Şekil 1.8).

Fosfat Grubu

Fosfat grubu, DNA'nın bel kemiğindeki şeker molekülleri arasında bir bağ görevi görmektedir. Fosfat grubu, şeker molekülünün 5' karbon atomundaki hidroksil grubuna bağlıdır. DNA'nın, nükleozitlerin ve nükleotidlerin yapısını açıklamak için iki temel terim kullanılmaktadır [27] (Şekil 1.9).



Şekil 1.9. DNA molekülünde fosfat grubu [28]

Şekerdeki C-1 atomu, azotlu baza bağlıdır. Pürin bazda şeker N-9 atomuna bağlıdır fakat pirimidin bazda şeker N-1'e bağlıdır. Fosfat grubu C-5, C-3 veya C-2 'e bağlıdır. Deoksiribonükleotidin şeker birimi, C-5 pozisyonunda Şekil (1.9) 'da gösterildiği gibi fosfata bağlıdır. Bu form, biyolojik sistemlerde yaygındır ve DNA ve RNA yapısında bulunur [29].

1.3.1. Ultraviyole-Visible Spektrofotometre (UV)

Ultraviyole-visible Spektrofotometre, her bir DNA dengesini ve küçük madde molekülleri ile olan etkileşimleri çalışmak için muhtemelen en basit ve genellikle kullanılan enstrümantal bir stratejidir. DNA ve küçük moleküller arasındaki etkileşim, UV-visible absorpsiyon Spektrofotometresi kullanılarak düzgün bir

şekilde izlenebilir. Dalga boylarının elektromanyetik radyasyonunun tutulumu, paylaşılmamış elektron gruplarına sahip elektronları veya molekülleri olan taneciklere göre 200 ve 800 nm civarında bir yerdedir. Bu yöntem hem nesnel hem de nicel incelemeler için kullanılabilir. Geniş çeşitlilikte ilaç maddeleri yakın aydınlıkta (200-380 nm) ve fark edilebilir elektromanyetik aralık konumlarında (380-800 nm) radyasyonu alıkoyduğu için bu yöntem farmasötik (ilaç) araştırmalarda kapsamlı şekilde kullanılmaktadır. Analitik yakınsama ve tüketilen ışık gücü arasındaki ilişki, spektrofotometrenin nicel kullanımlarının temel dayanağıdır. Bunlara ek olarak, molar absorptivite, belirsiz konum ve elementlerin asimilasyon bağının şekli ve genişliği, absorpsiyon spektrumuna göre atom altı yapı ve ortam ile belirlenebilir ve bu şekilde öznel inceleme için kullanılabilir [30].

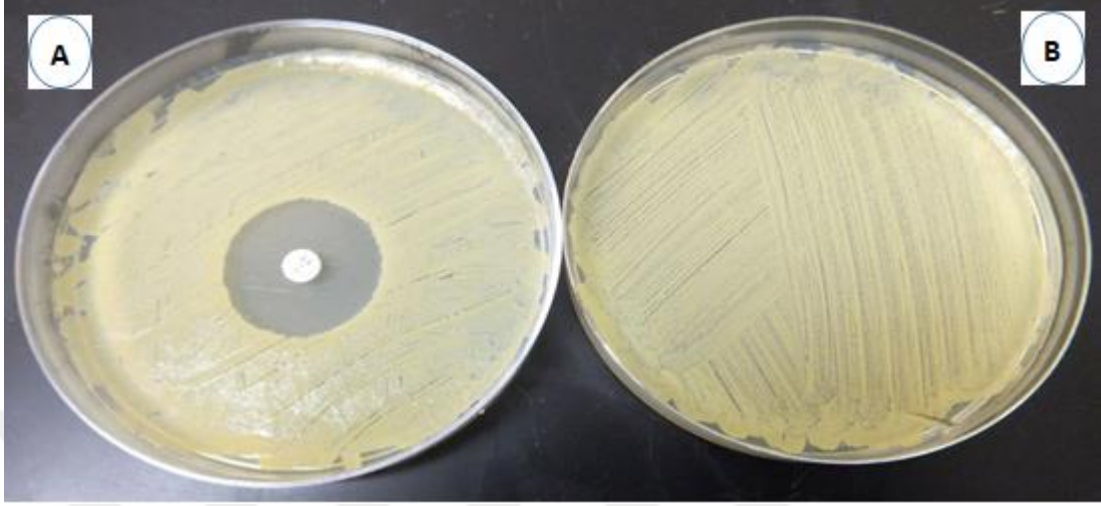
1.3.2. Bağlanma Sabiti (K_b)

Bağlanma sabitlerinin kimya alanında çalışırken belirlenmesi gerekmektedir. Bağlanma sabiti, stokiyometrinin belirlenmesi için ve kompleks bir konsantrasyonunun değerlendirilmesi için örnek yöntemlerdir. Komplekslerin bağlanma sabiti belirleme programları, kişisel bir bilgisayarda elektronik çizelge programlaması kullanılarak geliştirilmiştir [31].

1.4. Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal ilaçların 20. yüzyılda önemli bir iyileştirici rolü olmuştur. Bu ilaçlar, mikrobik hastalıklar ve mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların önlenmesi için kullanılır. İlaçlar, sadece mikropları öldürmek veya engellemek için tasarlanır ve hastalanan bir kişi üzerinde hiçbir etkisi yoktur veya minimum etkilidir. Bu kimyasal tedavi genel olarak “konak üzerinde güvenli bir şekilde mikroorganizmaları baskılayarak sistemik enfeksiyonları tedavi eden belirlenmiş kimyasal tedavi” anlamına gelen kemoterapi olarak adlandırılır [32]. Bir antibiyotik duyarlılık testi, antibiyotiklere dirençli bakterileri araştırır. Test bir laboratuvarda yapılır; bakteri ve antibiyotikler 12-24 saat için agar içeren petri kabı üzerine koyulur. Teknik, dirençli bakteriye en uygun antibiyotiği belirlemek için kullanılır. İnhibisyon zonu testi, antibiyotiklere dirençli bakterileri ölçmek için klinik olarak kullanılan bir

tekniktir ve bakterilerin aktivite düzeyini kıyaslamanın kolay bir yoludur [33]. Aşağıdaki resim, agar içeren petri kabı üzerindeki inhibisyon alanını göstermektedir.



Fotoğraf 1.1. A petri kabı üzerindeki inhibisyon testini gösterirken, B petri kabı üzerinde inhibisyon zonu yoktur.

Sefalosporin, en büyük antibiyotik ailelerinden biridir; beta-laktam ilk olarak 1948 yılında bakteri sporlarından izole edilmiştir. Hoffmann-La Roche 1980'li yılların ortasında Ceftriaxone'u bulmuştur. Ceftriaxone ve diğer sefalosporinler, sayısız farklı antibiyotikten etkilenmemeye eğilimli canlı hücreleri tedavi etmek için kullanılmıştır. Antibiyotiklerin beta-laktam grubu, sadece gram-pozitif bakterileri etkilemiştir fakat gram-negatif bakterilere karşı da etkili hale gelmiştir.

Bu çalışmada, farklı sıcaklıklarda ve farklı inkübasyon sürelerinde Ceftriaxone ile fenilalanin arasındaki etkileşimleri değerlendirebilmek için, Ceftriaxone'un, Ceftriaxone ile fenilalanin kombinasyonunun ve Ceftriaxone ile CT-DNA'nın extinction katsayısını Ultraviyole-visible Spektrofotometre (UV) ile belirlemeye karar verdik. Bunlara ek olarak, Ceftriaxone bazı bakteri türler için taramadan geçirilmiştir. Bu testlerde, tek başına Ceftriaxone'un, fenilalaninin ve Ceftriaxone ile fenilalanin kombinasyonunun antimikrobiyal aktivitesi Gram-pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (MRSA), *Sarcina lutea* ATCC 9341) ve Gram-negatif (*Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Salmonella typhimurium* NRRLE 4463, *Yersinia enterocolitica* ATCC 1501, *Proteus mirabilis* ATCC 25933) bakterilerde

Ceftriaxone ile fenilalanin kombinasyonunun bakteriler üzerindeki etkisini aydınlatmak için belirlenmiştir.



2. KURAMSAL ÇERÇEVE

Knapp vd. (1988), geniş yelpazede yaklaşık 1,400 klinik bakteri izolatına karşı Ceftriaxone'un antimikrobiyal aktivitesini belirlemeye çalışmıştır. Enterobacteriaceae, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, Staphylococci, Enterococci ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı Ceftriaxone etkinliğini göstermişlerdir [34].

Jarrahpour vd. (2004), D-fenilalanin ile bazı β -laktam bileşiklerinin sentezini ve antimikrobiyal etkinliğini gerçekleştirmiştir. Bunların bazıları, *Staphylococcus citrus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Klebsiella pneumonia*'ya karşı aktivite göstermiştir [35].

Sakıyan vd. (2004), bir kompleks olarak bazı amino asitler (glisin, L-alanin, L-fenilalanin, L-histidin, L-triptofan) ile 2-hidroksil-1- naftaldehit ve manganezin antimikrobiyal ve antifungal aktivitelerini belirlemeye çalışmıştır. Bu kompleksler, *in vitro* ortamda bazı Gram-pozitif (*Staphylococcus aureus* ve *Bacillus polymyxa*), Gram-negatif bakterilere (*Escherichia coli*) ve mantara (*Candida albicans*) karşı aktivite göstermiştir. Bununla birlikte, antimikrobiyal aktiviteler, amino aşındırıcı artışların genişleyen boyutu ile azalma eğilimi göstermiştir [36].

Pasticci vd. (2008), beş *Enterococcus faecalis* izolatı üzerinde Ceftriaxone ile ampisilinin antimikrobiyal etkinliğini incelemişler ve inhibisyon zonları göstermişlerdir [37].

Ghithan vd. (2013), flüoresans spektroskopisi ve ultraviyole (UV) absorpsiyon spektrumunu kullanarak Ceftriaxone ve insan serum albumini (HAS) arasındaki etkileşimi incelenmiştir. Ceftriaxone, insan serum albumininin (HAS) içsel floresansını baskılamak için güçlü bir kabiliyet göstermiştir. Bağlanma katsayısı (K) 298 K'da $K=1,02 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ olarak ölçülmüştür [38].

Patel vd. (2006), sefotaksim ve Ceftriaoxone'un UV absorpsiyon oranları ile ilgili çalışmayı spektrofotometrik yöntemler ile gerçekleştirmiş ve sefotaksim için $R^2 = 0.9944$ ve Ceftriaoxone için $R^2 = 0.9926$ olarak belirlenmiştir [39].

Sanbogni vd. (2006), *Haemophilus influenzae* klinik izolasyon grubunun, B-laktam antibiyotik grubuna karşı duyarlılığını belirlemek için klinik olarak bu grubun 9 yılını araştırmış ve sonuçlar çoğu B-laktam bileşiklerine karşı artan direnci göstermiştir [40].

Pakravan ve Masodian (2015), izatin- β -tiyosemirbazon (IBT) ve CT-DNA arasındaki etkileşimi, prob olarak Nötral Kırmızı (NR) boya kullanarak UV-visible spektrofotometre ile incelenmiştir. Küçük bir miktar Nötral Kırmızı (NR) dan dolayı azalan absorpsiyon yoğunluğuna dikkat çekmişler ve UV-visible spektrofotometre ile CT-DNA'nın artan konsantrasyonlarının IBT ile CT-DNA arasındaki etkileşimin absorpsiyon oranlarını da arttığını göstermişlerdir [41].

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Ceftriaxone'un formülü $C_{18}H_{18}N_8O_7S_3$ şeklindedir; moleküler ağırlığı ise 554.58g/mol'dür. Bu çalışmada, Ceftriaxone'un toz hali kullanılmıştır. L-fenilalaninin formülü $C_6H_5CH_2CH(NH_2)COOH$ şeklindedir ve moleküler ağırlığı 165.19 g/mol'dür.

3.1. Stok Çözeltilerin Hazırlanması

Stok Ceftriaxone çözeltisi, 10 ml Tris-HCl içinde 0,00554 gr Ceftriaxone çözülerek 1 Molar (M) derişimde olacak şekilde hazırlanmış ve ayrı ayrı PH:3, PH:7 ve PH:9 olacak şekilde ayarlanmıştır. Stok fenilalanin çözeltisi, 10 ml Tris-HCl içinde 0,00165 gr fenilalanin çözülerek 1 M derişimde olacak şekilde hazırlanmış ve ayrı ayrı PH:3, PH:7 ve PH:9 olacak şekilde ayarlanmıştır.

Bir molar Tris-HCl, 700 ml damıtık su (DH_2O) içerisinde 121.1 gr Tris baz çözülerek hazırlanmıştır ve HCl ile PH:7.5 olarak ayarlanmıştır [42]. Final solüsyon hacmi damıtık su ile 1 L'ye tamamlanmıştır, 0,5µ çapındaki filtreden geçirilmiş ve otoklavlanmıştır. Çözelti, oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir. Seyreltik Tris-HCl çözeltisi, 10 ml stok çözelti ve 90 ml damıtık sudan hazırlanmıştır [42].

3.2. Extinction Katsayısı

Extinction katsayısı, Ultraviyole-visible spektrofotometre (UV) kullanılarak hesaplanmıştır (Multiscan Go, Thermo Fischer, ABD) (Fotoğraf 3.1, 3.2). Beer Yasası, sabit molar absorpsiyonun özgül bir dalga boyunda çözeltilerdeki çözünük maddelerin konsantrasyonlarına bağlı olduğunu ifade etmektedir. Genleşme katsayıları, molar absorpsiyonun genel adıdır. Molar absorbans birimleri, konsantrasyon birimleri ve ışık yolu ölçümü ile dengelenmektedir [43].

Farklı konsantrasyonlar (10- 20- 30- 40 µM) elde etmek için Tris-HCl (PH:3) ile Ceftriaxone stok çözeltisini seyrelterek dört örnek hazırlanmıştır, farklı sıcaklıklarda (25°C-30°C-40°C-50°C-60°C) 5 dakika inkübe edilmiştir ve

Ultraviyole- visible spektrofotometre (UV) ile ölçülmüştür. Farklı konsantrasyonlar (10- 20- 30- 40 µM) elde etmek için Tris-HCl (PH:7) ile Ceftriaxone stok çözeltisini seyrelterek dört örnek hazırlanmıştır, farklı sıcaklıklarda (25°C-30°C-40°C-50°C-60°C) 5 dakika inkübe edilmiştir ve Ultraviyole- visible spektrofotometre (UV) ile ölçülmüştür. Farklı konsantrasyonlar (10- 20- 30- 40 µM) elde etmek için Tris-HCl (PH:9) ile Ceftriaxone stok çözeltisini seyrelterek dört örnek hazırlanmıştır, farklı sıcaklıklarda (25°C-30°C-40°C-50°C-60°C) 5 dakika inkübe edilmiştir ve Ultraviyole- visible spektrofotometre (UV) ile ölçülmüştür.

3.3. Fenilalanin ile Ceftriaxone'un Etkileşimi

Sabit Ceftriaxone konsantrasyonu (50 µM) ve farklı fenilalanin konsantrasyonları (0- 50- 100- 150- 200 µM) içeren beş örnek, Tris-HCl (PH:3) ile seyreltilmiş, farklı sıcaklıklarda (25°C- 30°C- 40°C- 50°C- 60°C) 5 ve 20 dakika boyunca inkübe edilmiş ve Ultraviyole- visible spektrofotometre (UV) ile ölçülmüştür. Sabit Ceftriaxone konsantrasyonu (50 µM) ve farklı fenilalanin konsantrasyonları (0- 50- 100- 150- 200 µM) içeren beş örnek, Tris-HCl (PH:7) ile seyreltilmiş, farklı sıcaklıklarda (25°C- 30°C- 40°C- 50°C- 60°C) 5 ve 20 dakika boyunca inkübe edilmiş ve Ultraviyole- visible spektrofotometre (UV) ile ölçülmüştür. Sabit Ceftriaxone konsantrasyonu (50 µM) ve farklı fenilalanin konsantrasyonları (0- 50- 100- 150- 200 µM) içeren beş örnek, Tris-HCl (PH:9) ile seyreltilmiş, farklı sıcaklıklarda (25°C- 30°C- 40°C- 50°C- 60°C) 5 ve 20 dakika boyunca inkübe edilmiş ve Ultraviyole- visible spektrofotometre (UV) ile ölçülmüştür.

$$\frac{[fenilalanin]}{(\epsilon_a - \epsilon_f)} = \frac{[fenilalanin]}{(\epsilon_b - \epsilon_f)} + \frac{1}{K_b(\epsilon_b - \epsilon_f)} \quad (3.1)$$

[fenilalanin], baz çiftleri halindeki fenilalanin konsantrasyonudur. ϵ_a , ϵ_f ve ϵ_b serbest ve bağlı Ceftriaxone genişleme katsayılarıdır. Özellikle, ϵ_f , Beer kanunu takip edilerek, sulu çözeltideki bir Ceftriaxone ölçüm eğrisi ile belirlenmiştir. ϵ_a , ölçülen absorbans ve Ceftriaxone konsantrasyonu, $A_{obs}/ [Ceftriaxone]$, arasındaki oran olarak belirlenmiştir. [fenilalanin]'ya karşılık bir [fenilalanin]/($\epsilon_a - \epsilon_f$) eğrisi, bir $1/(\epsilon_b -$

ϵ_f) eğimi ve $1/K_b$ ($\epsilon_b - \epsilon_f$) eşdeğer bir düşey bölüntü vermektedir; K_b , düşey bölüntüye göre eğim oranıdır [44].

3.4. CT-DNA ile Ceftriaxone Etkileşimi

Deneyde kullanılan CT-DNA, GE Healthcare Life of Sciences'dan satın alınmıştır. Yaklaşık 0.003 gr CT-DNA, 3 ml Tris-HCl (PH:7.4) içerisinde çözülmüştür. CT-DNA çözeltileri, 260 ve 280 nm dalga boyundaki UV ışıkta absorbe edilmiştir. Nükleotid konsantrasyonları, 260 nm'de molar absorpsiyon katsayısı ($\epsilon = 6600M^{-1}cm^{-1}$) kullanılarak UV absorpsiyon spektroskopisi ile belirlenmiştir. Sabit bir Ceftriaxone konsantrasyonundan (20 μM) altı örnek hazırlanmıştır ve farklı CT-DNA konsantrasyonları (0- 10- 20- 30- 40- 50 μM) Tris-HCl (PH:7) ile seyreltilmiştir, farklı sıcaklıklarda (25°C-30°C-40°C-50°C) 5 dakika inkübe edilmiştir ve etkileşim Ultraviyole- visible spektrofotometre (UV) ile ölçülmüştür.

$$\frac{[DNA]}{(\epsilon_a - \epsilon_f)} = \frac{[DNA]}{(\epsilon_b - \epsilon_f)} + \frac{1}{K_b(\epsilon_b - \epsilon_f)} \quad (3.2)$$

[DNA], baz çiftleri halindeki CT-DNA konsantrasyonudur. ϵ_a , ϵ_f ve ϵ_b serbest ve bağlı Ceftriaxone genleşme katsayılarıdır. Özellikle, ϵ_f , Beer kanunu takip edilerek, sulu çözeltideki bir Ceftriaxone ölçüm eğrisi ile belirlenmiştir. ϵ_a , ölçülen absorbans ve Ceftriaxone konsantrasyonu, $A_{obs}/ [Ceftriaxone]$, arasındaki oran olarak belirlenmiştir. [DNA]'ya karşılık bir $[DNA]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$ eğrisi, bir $1/(\epsilon_b - \epsilon_f)$ eğimi ve $1/K_b$ ($\epsilon_b - \epsilon_f$) eşdeğer bir düşey bölüntü vermektedir; K_b , düşey bölüntüye göre eğim oranıdır [44].

DNA deneyinde kullanılan donanım ve aletlerin fotoğrafları



Fotoğraf 3.1. UV-Visible Spektrofotometre (Thermo Scientific, ABD)



Fotoğraf 3.2. Quartz küvetler

3.5. Ceftriaxone ve Fenilalaninin Antimikrobiyal Aktivitesi

Bu materyallerin bazı bakteri türleri üzerindeki etkisini görmek için 1'er molar Ceftriaxone, fenilalanin ve fenilalanin ve Ceftriaxone kombinasyonu hazırlanmıştır.

3.5.1. Maddelerin Konsantrasyonu

Ceftriaxone ve fenilalanin seyreltik çözeltileri çift dilüsyon yöntemi ile hazırlanmıştır [45]. Ardından dilüsyonlar parçalar halinde filtre kağıdına koyulmuş ve kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra, Ceftriaxone ve fenilalanin antimikrobiyal aktivitesi test edilmiştir. Yaklaşık 0,5 ml Ceftriaxone stok çözeltisi ve 0,5 fenilalanin stok çözeltisi, Ceftriaxone ve fenilalanin kombinasyonunun antimikrobiyal aktivite analizi için karıştırılmıştır. Bu karışım, filtre kağıdına koyulmuş ve kurumaya bırakılmıştır. Besiyeri ortamı hazırlandıktan sonra, bakteriler petri kutularına aşılanmış ve daha sonra kuru çözeltiler içeren filtre kağıtları eklenmiştir. Son olarak, petri kaplarında 24 saat boyunca 37 °C sıcaklıkta inkübe edilmiştir.

3.5.2. Besiyerinin Hazırlanması

Besiyeri, üretici firma önerilerine göre hazırlanmıştır. Kısaca, 20 g nutrient agar 1000 ml damıtık su (DH₂O) içinde çözülmüştür ve otoklavda 121 °C sıcaklıkta 15 dakika dezenfekte edilmiştir. Besiyeri, 45-60 °C'ye soğutulmuş ve her 25 ml'si bir petri kutusunu doldurmak için kullanılmıştır. Kontaminasyonu önlemek için koruyucu kabin içinde oda sıcaklığında katılaşmaya bırakılmışlardır [46].

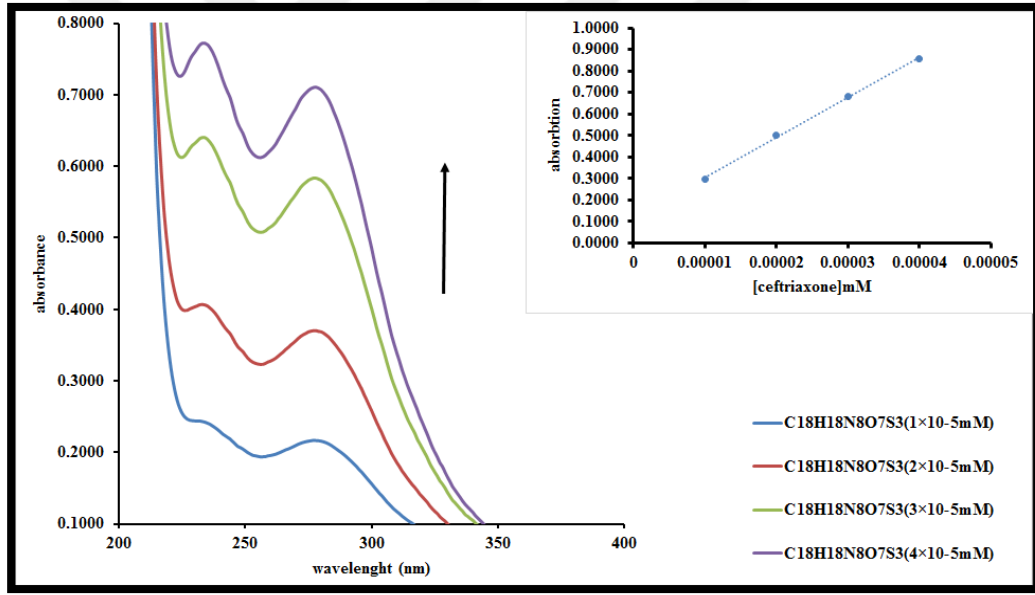
3.5.3. Mikroorganizma Türleri

Gram-negatif bakteriler (*Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Salmonella typhimurium* NRRLE 4463, *Yersinia enterocolitica* ATCC 1501, *Proteus mirabilis* ATCC 25933) ve Gram-pozitif bakterilerin (*Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (MRSA), *Sarcina lutea* ATCC 9341) standart türleri, Kastamonu Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümünden alınmıştır.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

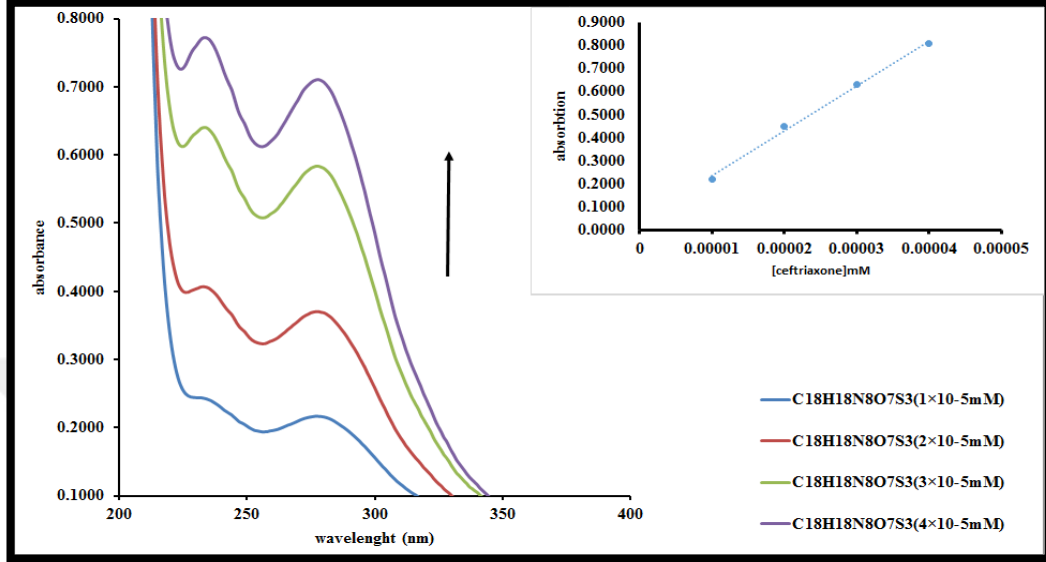
4.1. Ceftriaxone için Sıcaklık ve Farklı PH Değerlerinin Extinction Katsayısı Üzerindeki Etkisi

Ceftriaxone'un extinction katsayısı, $A=\epsilon c \ell$ denkleminde göre hesaplanmıştır; burada, ϵ molar absorbanstır (bu maddenin katsayısı), c bu türlerin konsantrasyon miktarıdır, ℓ ise yol uzunluğudur [47]. Yüksek absorpsiyon, 234 nm dalga boyunda saptanmıştır. Grafik 4.1' de, PH:3 'de 25 °C sıcaklıkta süre için farklı Ceftriaxone konsantrasyonlarının extinction katsayısı ve herbirinin Ultraviyole-Visible spektrofotometre (UV) ile absorpsiyon oranları gösterilmiştir.



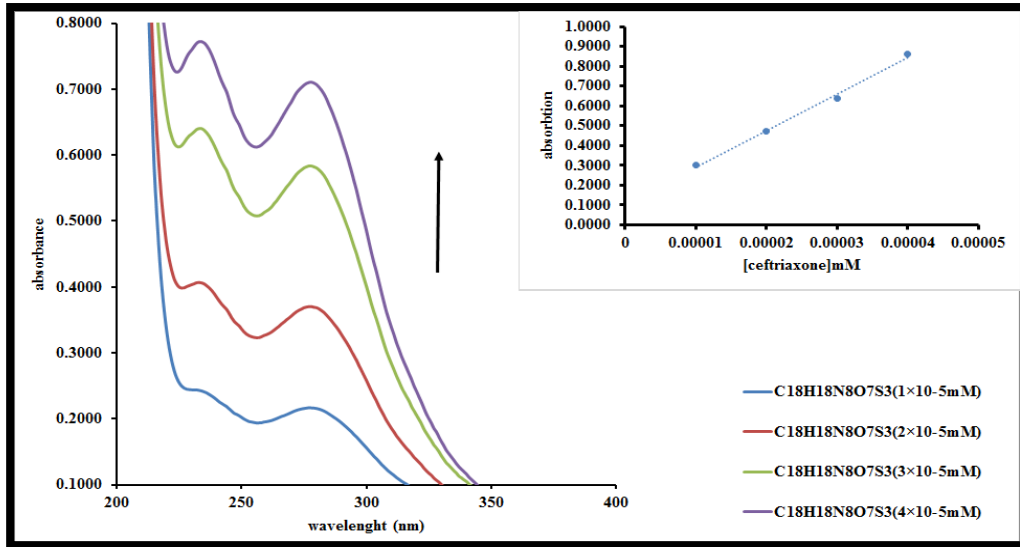
Grafik 4.1. 25 °C sıcaklıkta PH:3 için Ceftriaxone'un extinction katsayısı

Grafik 4.2’de, PH:3’de 30 °C sıcaklıkta farklı Ceftriaoxone konsantrasyonlarının extinction katsayısı ve her birinin Ultraviyole-visible spektrofotometre (UV) ile absorpsiyon oranları gösterilmiştir.



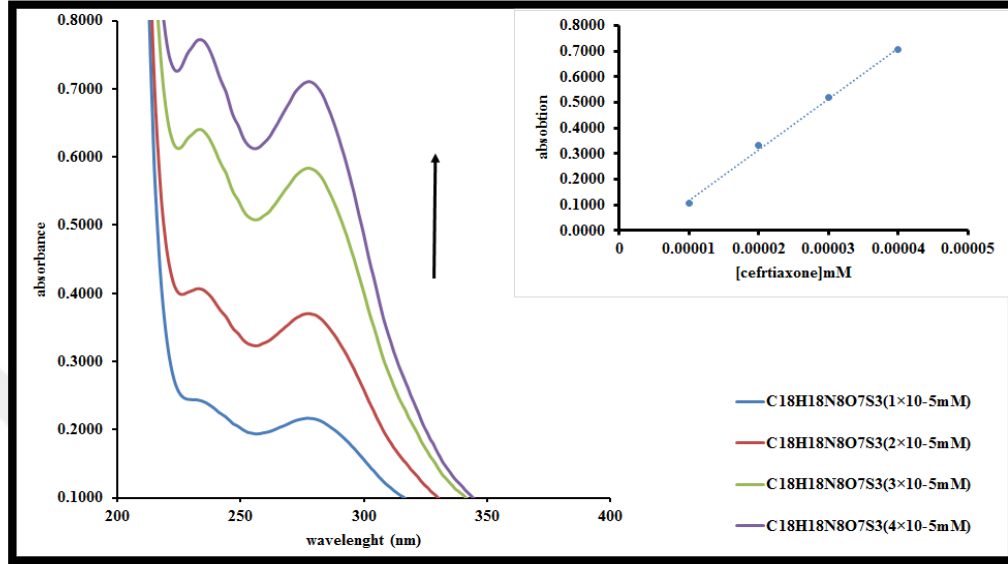
Grafik 4.2. 30 °C sıcaklıkta PH:3 için Ceftriaoxone’un extinction katsayısı

Grafik 4.3’de, PH:3’de 40 °C sıcaklıkta farklı Ceftriaoxone konsantrasyonlarının extinction katsayısı ve Ultraviyole-visible spektrofotometre (UV) ile her birinin absorpsiyon oranları gösterilmiştir.



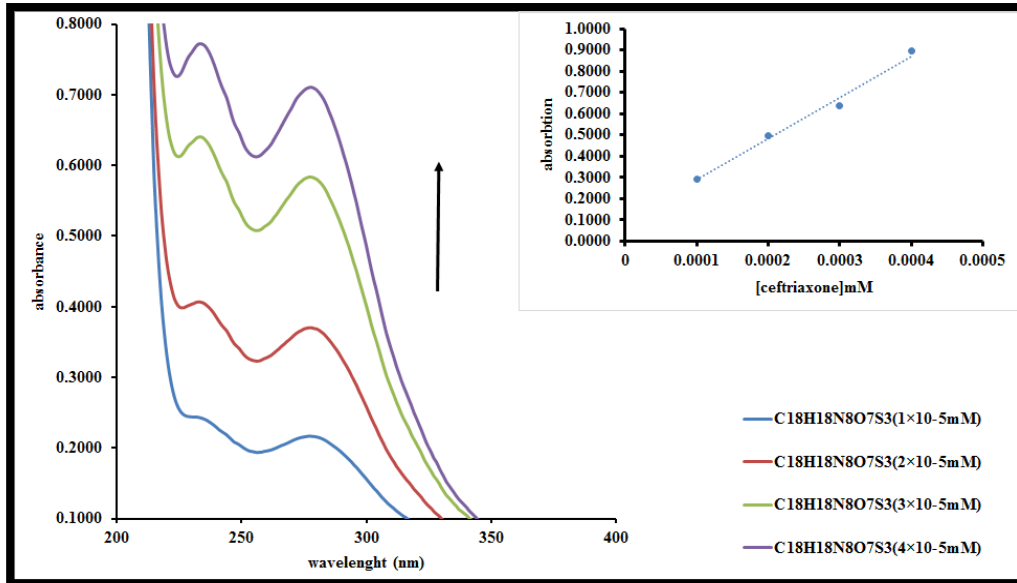
Grafik 4.3. 40 °C sıcaklıkta PH:3 için Ceftriaoxone’un extinction katsayısı

Grafik 4.4'de, PH:3'de 50 °C sıcaklıkta farklı Ceftriaxone konsantrasyonlarının extinction katsayısı ve Ultraviyole-visible spektrofotometre (UV) ile her birinin absorpsiyon oranları gösterilmiştir.



Grafik 4.4. 50 °C sıcaklıkta PH:3 için Ceftriaxone'un extinction katsayısı

Grafik 4.5'de, PH:3'de 60 °C sıcaklıkta farklı Ceftriaxone konsantrasyonlarının extinction katsayısı ve Ultraviyole-visible spektrofotometre (UV) ile her birinin absorpsiyon oranları gösterilmiştir.



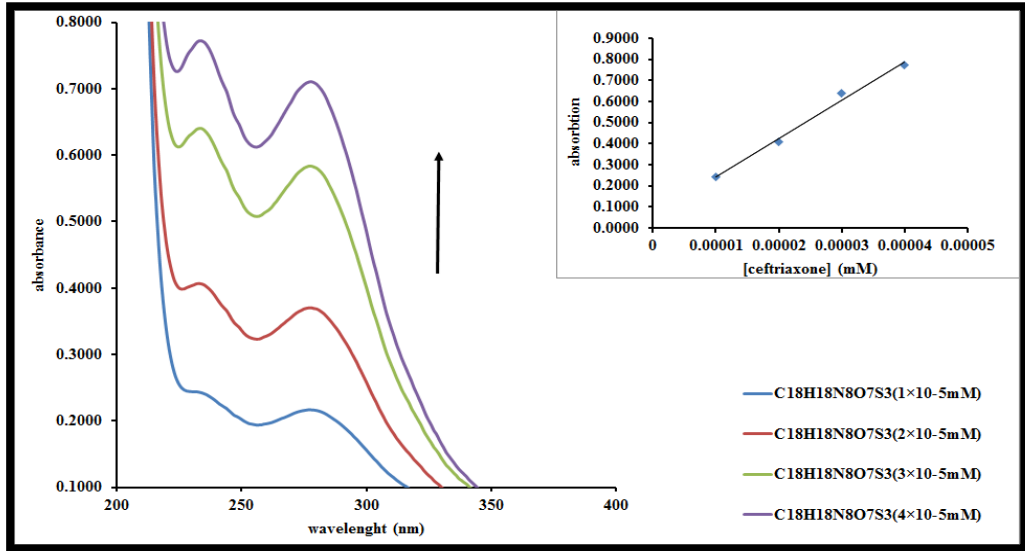
Grafik 4.5. 60 °C sıcaklıkta PH:3 için Ceftriaxone'un extinction katsayısı

Tablo 4.1. Ceftriaoxone'un farklı sıcaklık değerleri için PH:3 'de belirlenen extinction katsayısı

Sıcaklık	Extinction katsayısı
25°C	18647
30°C	19552
40°C	18525
50°C	19864
60°C	19394

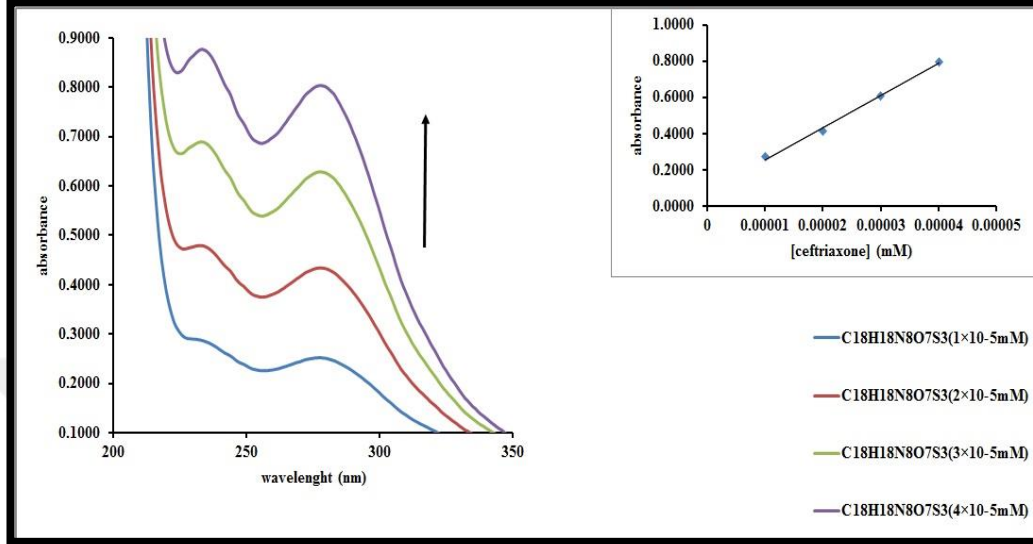
Tablo 4.1'de gösterildiği üzere, PH:3'de uygulanan farklı sıcaklıklara rağmen extinction katsayıları arasında önemli bir farklılık gözlenmemiştir.

Grafik 4.6' de, PH:7 'de 25 °C sıcaklıkta farklı Ceftriaoxone konsantrasyonlarının extinction katsayısı ve herbirinin Ultraviyole-Visible spektrofotometre (UV) ile absorpsiyon oranları gösterilmiştir.



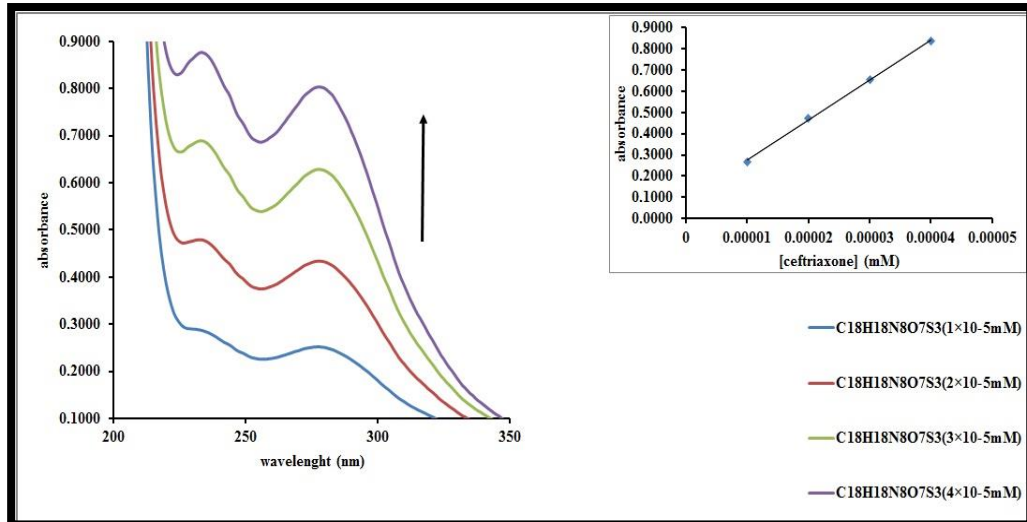
Grafik 4.6. 25 °C sıcaklıkta PH:7 için Ceftriaoxone'un extinction katsayısı

Grafik 4.7’de, PH:7’de 30 °C sıcaklıkta farklı Ceftriaxone konsantrasyonlarının extinction katsayısı ve her birinin Ultraviyole-visible spektrofotometre (UV) ile absorpsiyon oranları gösterilmiştir.



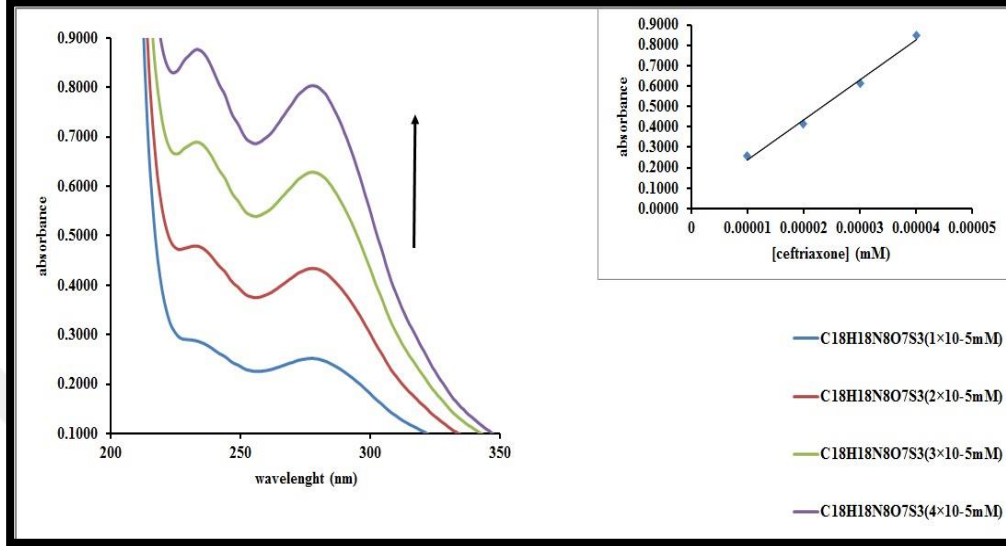
Grafik 4.7. 30 °C sıcaklıkta PH:7 için Ceftriaxone’un extinction katsayısı

Grafik 4.8’de, PH:7’de 40 °C sıcaklıkta farklı Ceftriaxone konsantrasyonlarının extinction katsayısı ve Ultraviyole-visible spektrofotometre (UV) ile her birinin absorpsiyon oranları gösterilmiştir.



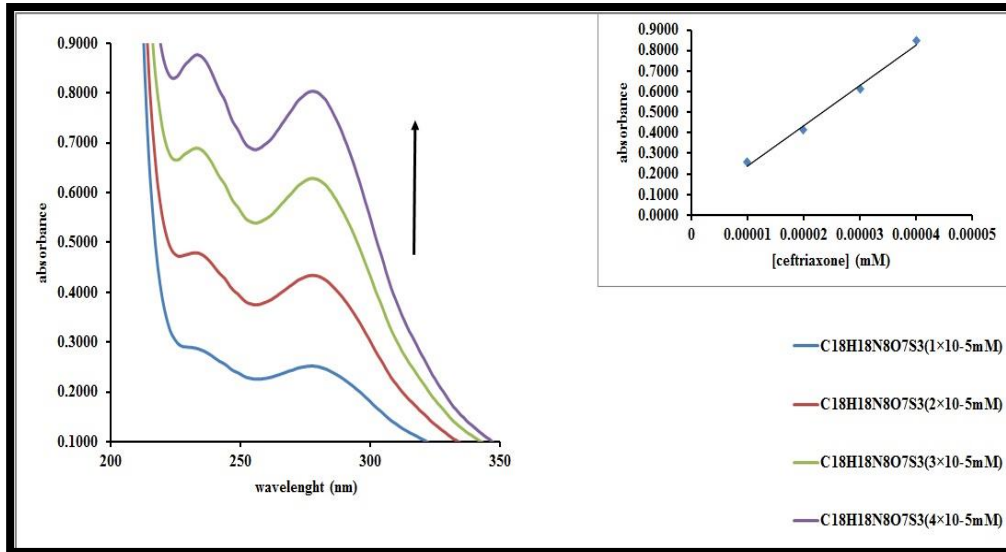
Grafik 4.8. 40 °C sıcaklıkta PH:7 için Ceftriaxone’un extinction katsayısı

Grafik 4.9’de, PH:7’de 50 °C sıcaklıkta farklı Ceftriaxone konsantrasyonlarının extinction katsayısı ve Ultraviyole-visible spektrofotometre (UV) ile her birinin absorpsiyon oranları gösterilmiştir.



Grafik 4.9. 50 °C sıcaklıkta PH:7 için Ceftriaxone’un extinction katsayısı

Grafik 4.10’de, PH:7’de 60 °C sıcaklıkta farklı Ceftriaxone konsantrasyonlarının extinction katsayısı ve Ultraviyole-visible spektrofotometre (UV) ile her birinin absorpsiyon oranları gösterilmiştir.



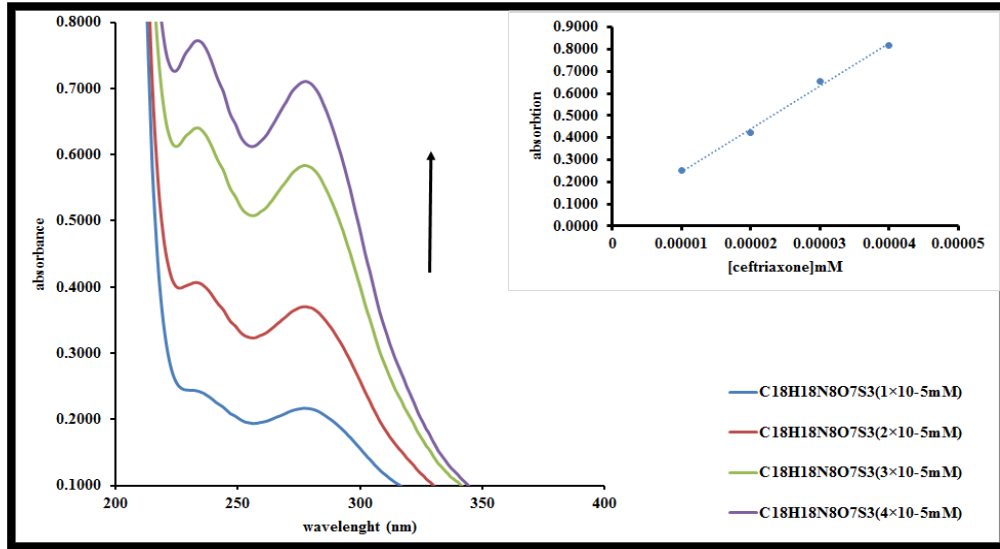
Grafik 4.10. 60 °C sıcaklıkta PH:7 için Ceftriaxone’un extinction katsayısı

Tablo 4.2. Ceftriaoxone'un farklı sıcaklık değerleri için PH:7'de belirlenen extinction katsayısı

Sıcaklık	Extinction katsayısı
25°C	18237
30°C	17714
40°C	18920
50°C	18725
60°C	19589

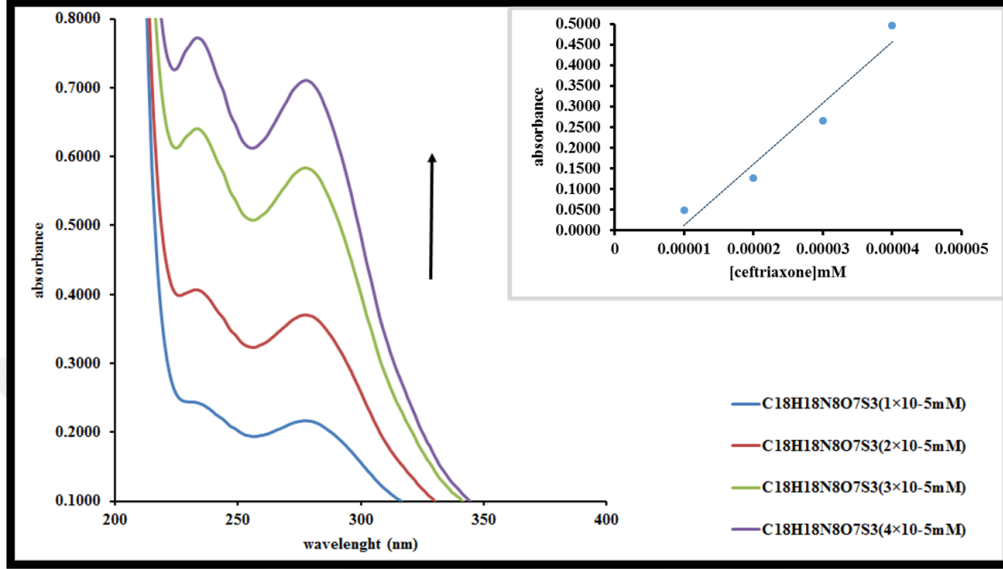
Tablo 4.2'de gösterildiği üzere, PH:7'de uygulanan farklı sıcaklıklara rağmen extinction katsayıları arasında önemli bir farklılık gözlenmemiştir.

Grafik 4.11' de, PH:9'de 25 °C sıcaklıkta farklı Ceftriaoxone konsantrasyonlarının extinction katsayısı ve herbirinin Ultraviyole-Visible spektrofotometre (UV) ile absorpsiyon oranları gösterilmiştir.



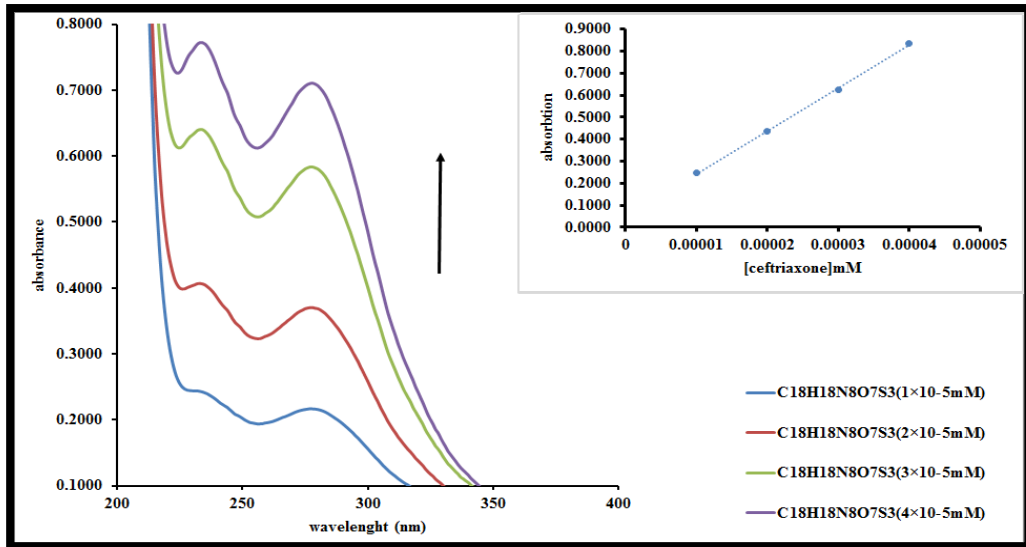
Grafik 4.11. 25 °C sıcaklıkta PH:9 için Ceftriaoxone'un extinction katsayısı

Grafik 4.12’de, PH:9’de 30 °C sıcaklıkta farklı Ceftriaoxone konsantrasyonlarının extinction katsayısı ve her birinin Ultraviyole-visible spektrofotometre (UV) ile absorpsiyon oranları gösterilmiştir.



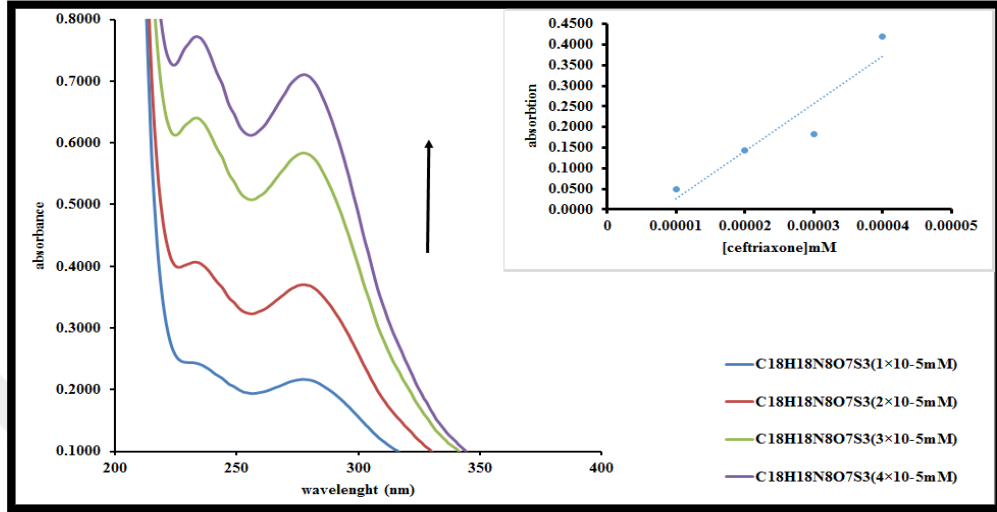
Grafik 4.12. 30 °C sıcaklıkta PH:9 için Ceftriaoxone’un extinction katsayısı

Grafik 4.13’de, PH:9’de 40 °C sıcaklıkta farklı Ceftriaoxone konsantrasyonlarının extinction katsayısı ve Ultraviyole-visible spektrofotometre (UV) ile her birinin absorpsiyon oranları gösterilmiştir.



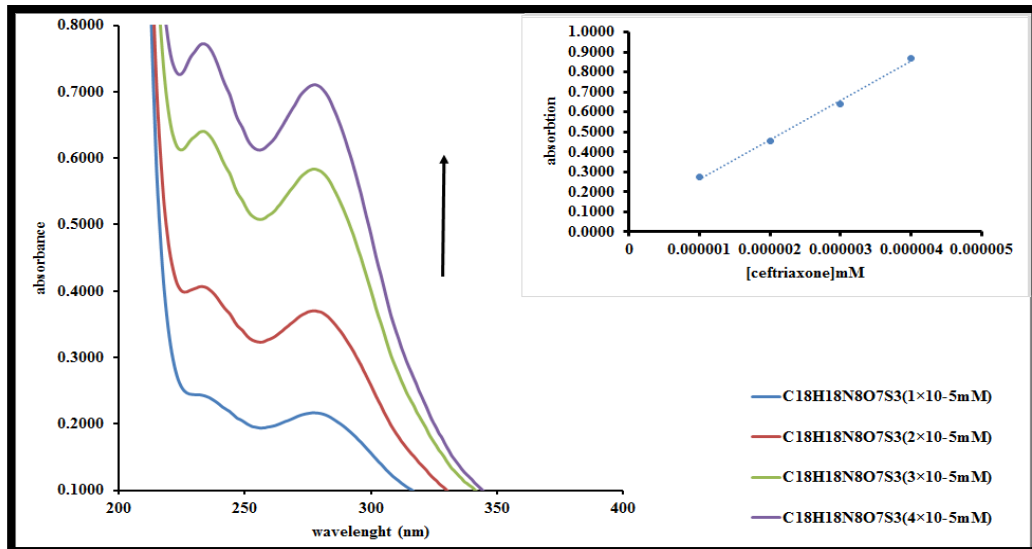
Grafik 4.13. 40 °C sıcaklıkta PH:9 için Ceftriaoxone’un extinction katsayısı

Grafik 4.14’de, PH:9’de 50 °C sıcaklıkta farklı Ceftriaxone konsantrasyonlarının extinction katsayısı ve Ultraviyole-visible spektrofotometre (UV) ile her birinin absorpsiyon oranları gösterilmiştir.



Grafik 4.14. 50 °C sıcaklıkta PH:9 için Ceftriaxone’un extinction katsayısı

Grafik 4.15’de, PH:9’de 60 °C sıcaklıkta farklı Ceftriaxone konsantrasyonlarının extinction katsayısı ve Ultraviyole-visible spektrofotometre (UV) ile her birinin absorpsiyon oranları gösterilmiştir.



Grafik 4.15. 60 °C sıcaklıkta PH:9 için Ceftriaxone’un extinction katsayısı

Tablo 4.3. *Ceftriaoxone* 'un farklı sıcaklık değerleri için PH:9'de belirlenen extinction katsayısı

Sıcaklık	Extinction katsayısı
25°C	19335
30°C	19000
40°C	19492
50°C	18900
60°C	19725

Tablo 4.3'de gösterildiği üzere, PH:9'de farklı sıcaklıklara rağmen extinction katsayıları arasında önemli bir farklılık gözlenmemiştir.

Patel vd. (2006), spektrofotometriyi kullanarak sefotaksim ve *Ceftriaoxone*'nu incelemiştir ve sefotaksim için $R^2 = 0,9944$ ve *Ceftriaoxone* için $R^2 = 0,9926$ olarak gösterilmiştir [48]. Bu sonuç, *Ceftriaoxone* için Ultraviyole-visible spektrofotometre (UV) ile belirlenen ve farklı sıcaklık değerleri ve inkübasyon süreleri için hesaplanan ve R^2 değerleri 0,9894 ve 0,9999 arasında değişen extinction katsayısı sonuçları ile uyumludur.

4- Dimetilaminobenzaldehit ile Spektrofotometrik yöntem kullanarak, Rind vd. (2008), farmasotik ürünlerin *Ceftriaoxone* içeriklerini tanımlamıştır. Reaksiyon, 397 nm dalga boyunda yüksek oranda stabil olduğu görülmüş ve 24 saat boyunca absorpsiyon oranlarında herhangi bir değişim göstermemiştir [49]. Sonuçlar, Ultraviyole-Visible spektrofotometre (UV) ile farklı sıcaklıklar ve farklı inkübasyon sürelerine rağmen, absorpsiyonun *Ceftriaoxone* için 234 nm daga boyunda yüksek olduğu çalışmamız ile tutarlıdır.

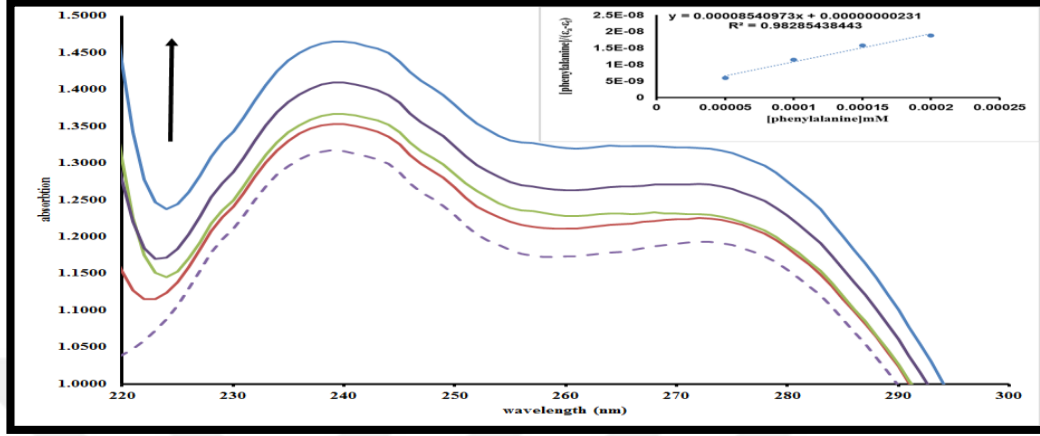
Agbaba vd. (1997), demir hidroksamat yöntemi kullanılarak spektrofotometre ile sefaleksim, Ceftriaoxone, sefiksim ve sefotaksimi incelemiştir. Zaman ve sıcaklık parametreleri ile β -laktam antibiyotiklerinin absorpsiyonlarını göstermişlerdir [50]. Bu sonuçların, Ultraviyole-Visible spektrofotometre (UV) ile belirlenen Ceftriaoxone için extinction katsayısı sonuçları ile uyumlu olduğunu görülmüştür.

Pasha vd. (2008), variamine blue kullanarak Ceftriaoxone, sefotaksim, sefaleksim ve sefadroksili içeren β -laktam grubunu antibiyotikleri belirlemek için spektrofotometre yöntemini uygulamıştır. Sefotaksim, Ceftriaoxone, sefadroksil ve sefaleksim için doğru eğim değerlerinin (R^2) 556 nm dalga boyu uzunluğunda sırasıyla 0.9980, 0.9992, 0.9996 ve 0.9991 olduğu bulunmuştur [51]. Bu sonuçlar, Ceftriaoxone için maksimum extinction katsayısının 234 nm dalga boyu uzunluğunda Ultraviyole-Visible spektrofotometre (UV) kullanılarak belirlenen farklı sıcaklıklarda bulunan Ceftriaoxone doğru eğim değerleri (R^2) ile benzerlik göstermiştir.

4.2. Zaman, Sıcaklık ve PH'nın Fenilalanin ile Ceftriaoxone Etkileşimi Üzerindeki Etkisi

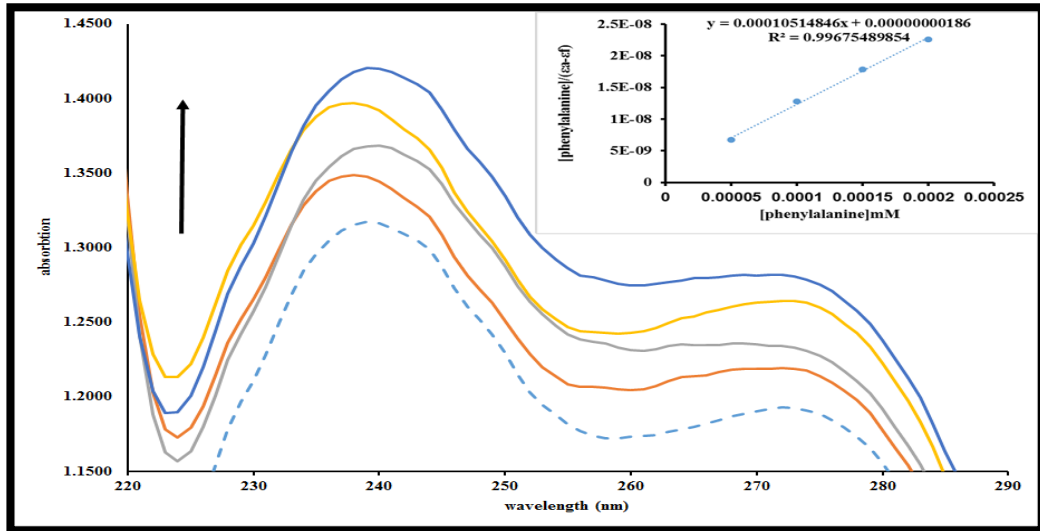
Aşağıda, yüksek bir değişiklik sergileyen, Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim gösterilmiştir.

Grafik 4.16’de, fenilalanin miktarı artırıldığı zaman 25 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:3’de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim absorpsiyon olarak bir artış göstermiştir.



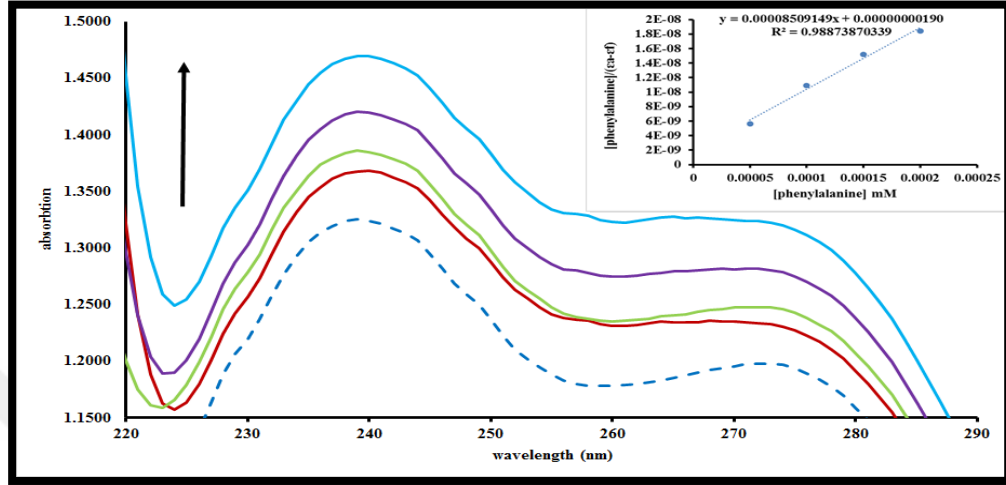
Grafik 4.16. 25 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:3’de Ceftriaoxone’un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone’un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (___) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.17’de, fenilalanin konsantrasyonu artırıldığı zaman 30 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:3’de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim absorpsiyon olarak bir artış örneği göstermiştir.



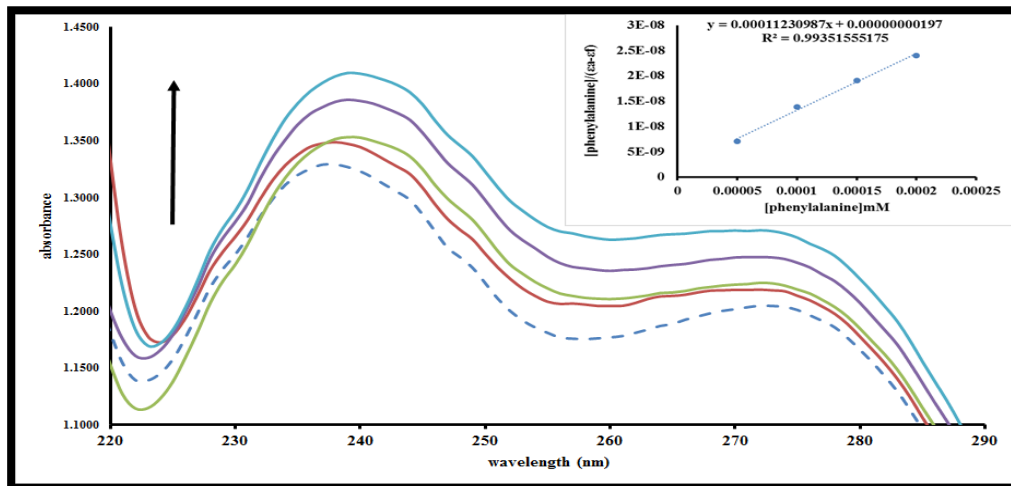
Grafik 4.17. 30 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:3’de Ceftriaoxone’un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone’un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (___) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.18’de, 40 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:3’de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim yine fenilalanin miktarındaki artış ile absorpsiyon açısından bir artış örneği göstermiştir.



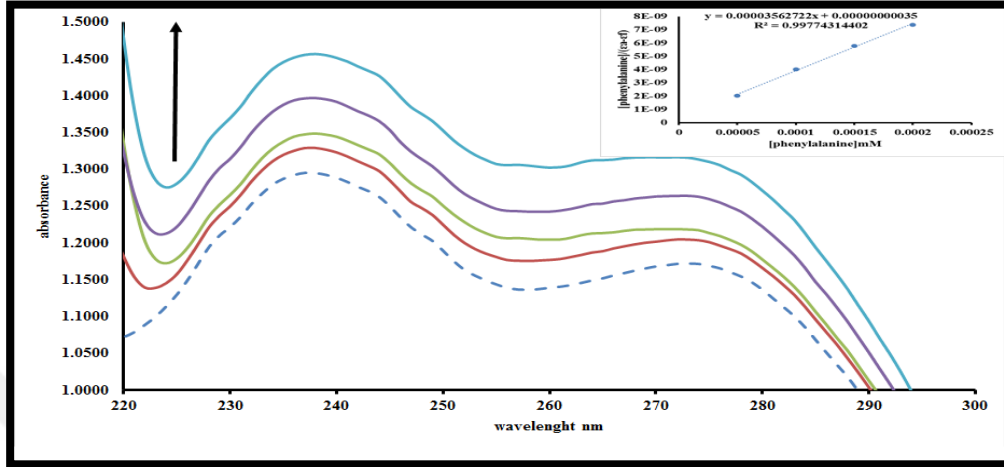
Grafik 4.18. 40 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:3’de Ceftriaoxone’un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone’un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (___) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.19’de, 50 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:3’de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim, fenilalanin konsantrasyonundaki artışa göre absorpsiyon açısından bir artış göstermiştir.



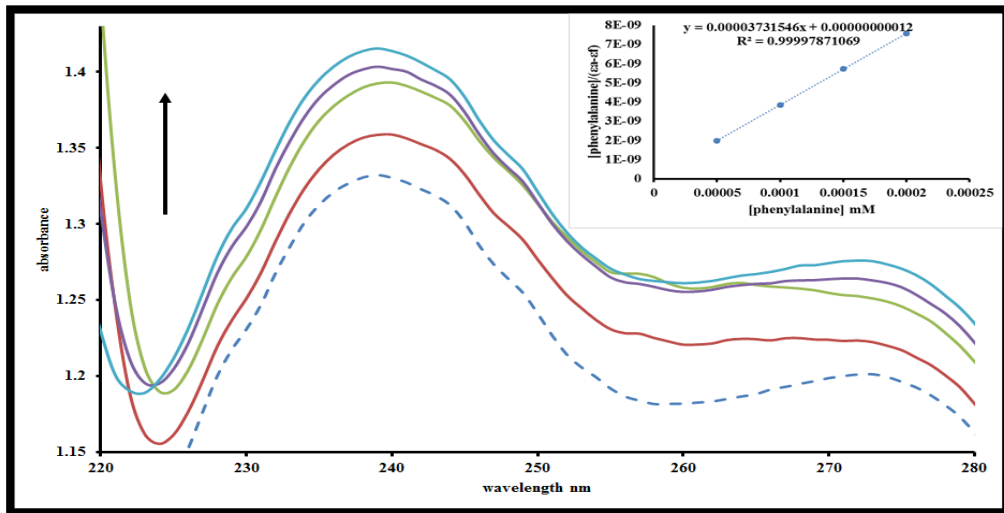
Grafik 4.19. 50 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:3’de Ceftriaoxone’un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone’un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (___) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.20'de, 60 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:3'de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim, çoğalan fenilalanin oranları ile ilişkili olarak absorpsiyon açısından bir artış örneği göstermiştir.



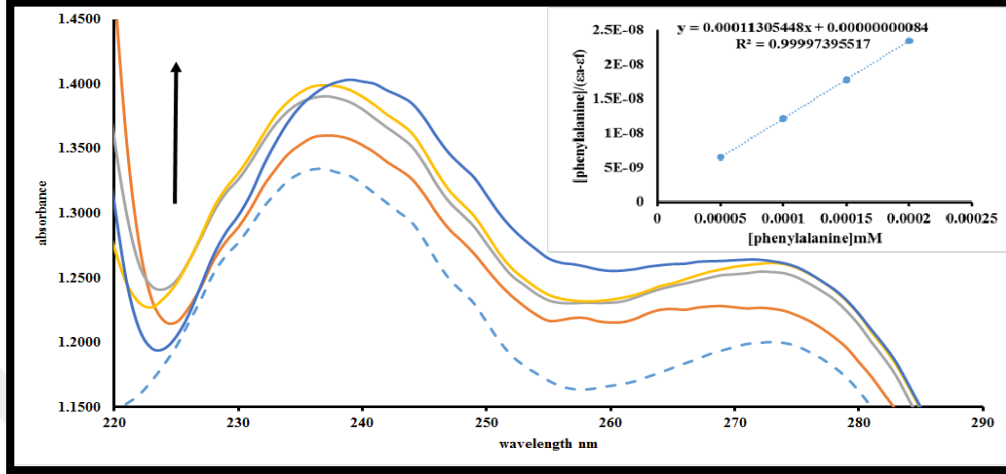
Grafik 4.20. 60 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:3'de Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone'un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (___) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.21'de, fenilalanin konsantrasyonu arttırıldığı zaman, 25 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:3'de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim, absorpsiyon açısından bir artış örneği göstermiştir.



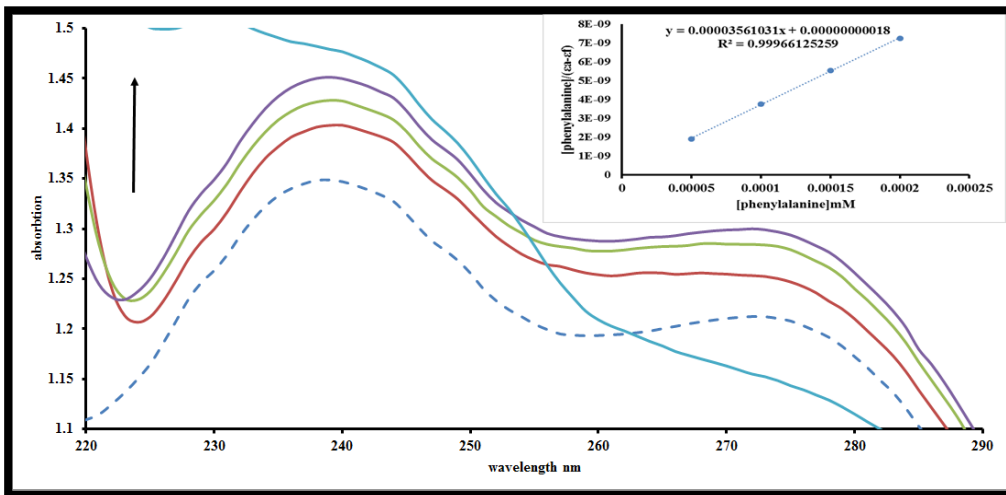
Grafik 4.21. 25 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:3'de Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone'un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (___) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.22’de, fenilalanin konsantrasyonundaki artışa göre, 30 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:3’de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim, absorpsiyon açısından artış göstermiştir.



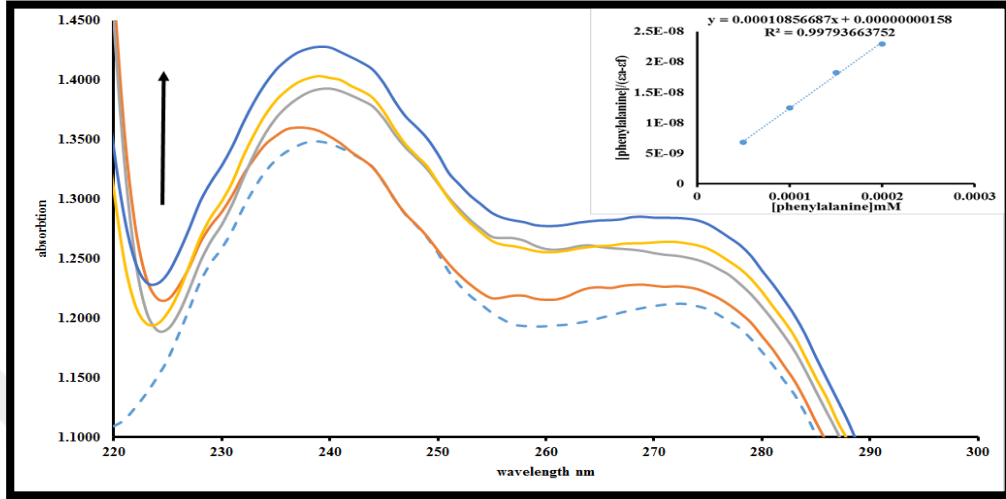
Grafik 4.22. 30 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:3’de Ceftriaoxone’un fenilalanin ile etkileşimi. (----) Ceftriaoxone’un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (___) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.23’de, 40 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:3’de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim, fenilalanin miktarındaki artış ile absorpsiyon açısından yine bir artış göstermiştir.



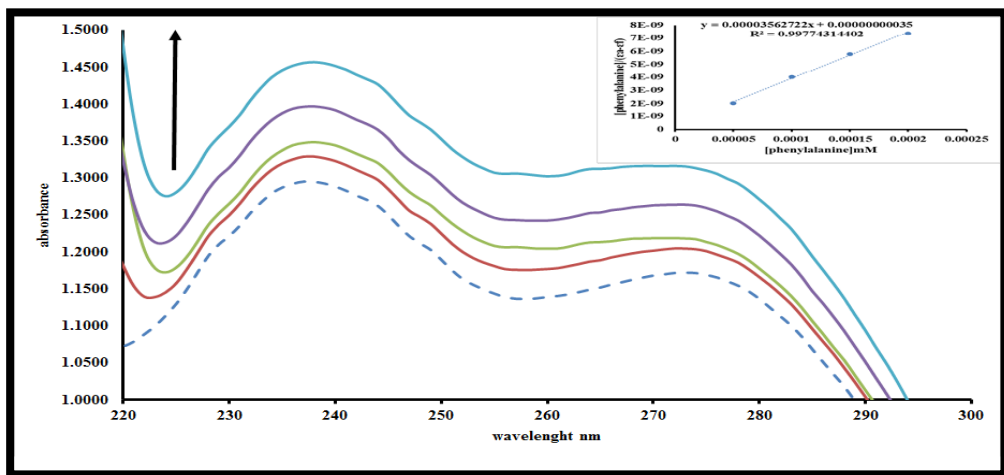
Grafik 4.23. 40 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:3’de Ceftriaoxone’un fenilalanin ile etkileşimi. (----) Ceftriaoxone’un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (___) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.24'da, 50 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:3'de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim, fenilalanin konsantrasyonundaki artışa göre absorpsiyon açısından artış göstermiştir.



Grafik 4.24. 50 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:3'de Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone'un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (___) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.25'de, 60 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:3'de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim, fenilalanin miktarlarındaki artışa göre absorpsiyon açısından yine bir artış göstermiştir.



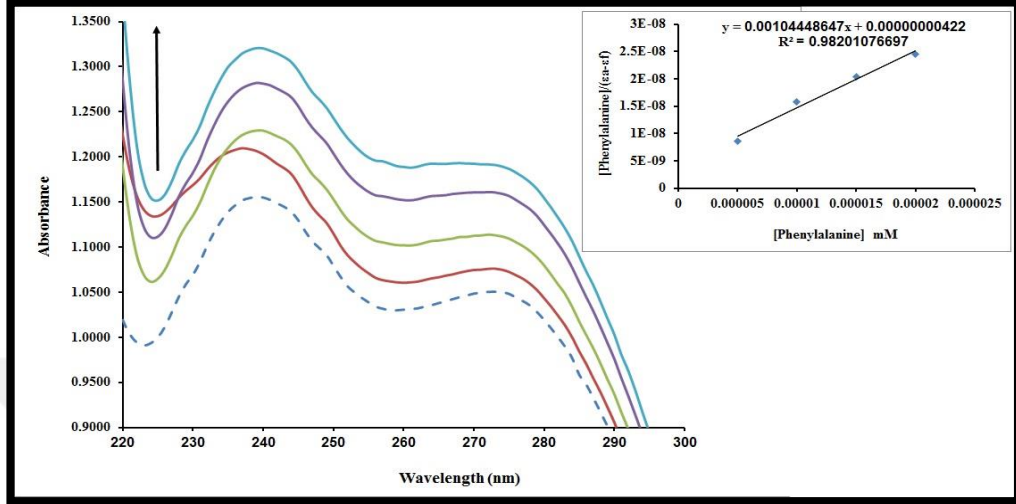
Grafik 4.25. 60 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:3'de Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone'un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (___) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Tablo 4.4. Fenilalanin ile Ceftriaoxone'un PH:3'de farklı sıcaklıklar ve inkübasyon sürelerindeki etkileşimi için K_b değerleri

Sıcaklıklar	5 dakika için K_b değerleri	20 dakika için K_b değerleri
25°C	$3,6 \times 10^4$	$1,01 \times 10^5$
30°C	$5,6 \times 10^4$	$1,3 \times 10^5$
40°C	$4,4 \times 10^4$	$5,8 \times 10^4$
50°C	$5,7 \times 10^4$	$6,8 \times 10^4$
60°C	$4,01 \times 10^4$	$9,1 \times 10^4$

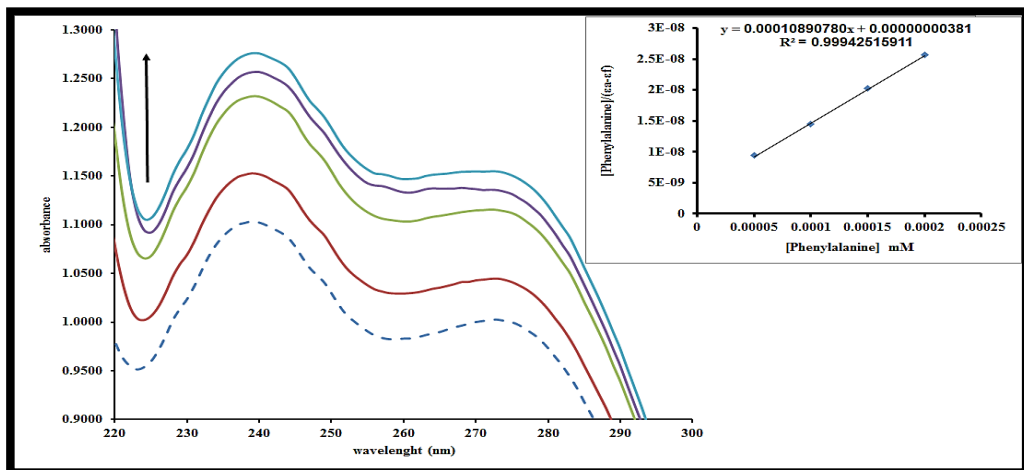
Yukarıdaki sonuçlar, fenilalanin konsantrasyonları ne kadar fazlaysa, Ceftriaoxone ve fenilalanin kombinasyonunun absorpsiyonunda da o kadar fazla artış olduğunu göstermiştir. Yani, 240 nm dalga uzunluğundaki artış, fenilalanin miktarındaki artış ile yükselir Tablo 4.4. 25 °C sıcaklıkta 5 dakika için fenilalanin ile Ceftriaoxone kombinasyonunun K_b değeri $3,6 \times 10^4$, 30 °C sıcaklıkta $5,6 \times 10^4$, 40 °C sıcaklıkta $4,4 \times 10^4$, 50 °C sıcaklıkta $5,7 \times 10^4$ ve 60 °C sıcaklıkta $4,01 \times 10^4$ idi. Yirmi dakika dakika inkübasyon süresi için 25 °C sıcaklıkta fenilalanin ile Ceftriaoxone kombinasyonunun K_b değeri $1,01 \times 10^5$, 30 °C sıcaklıkta $1,3 \times 10^5$, 40 °C sıcaklıkta $5,8 \times 10^4$, 50 °C sıcaklıkta $6,8 \times 10^4$ ve 60 °C sıcaklıkta $9,1 \times 10^4$ idi.

Grafik 4.26’de, fenilalanin miktarı artırıldığı zaman 25 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:7’de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim absorpsiyon olarak bir artış göstermiştir.



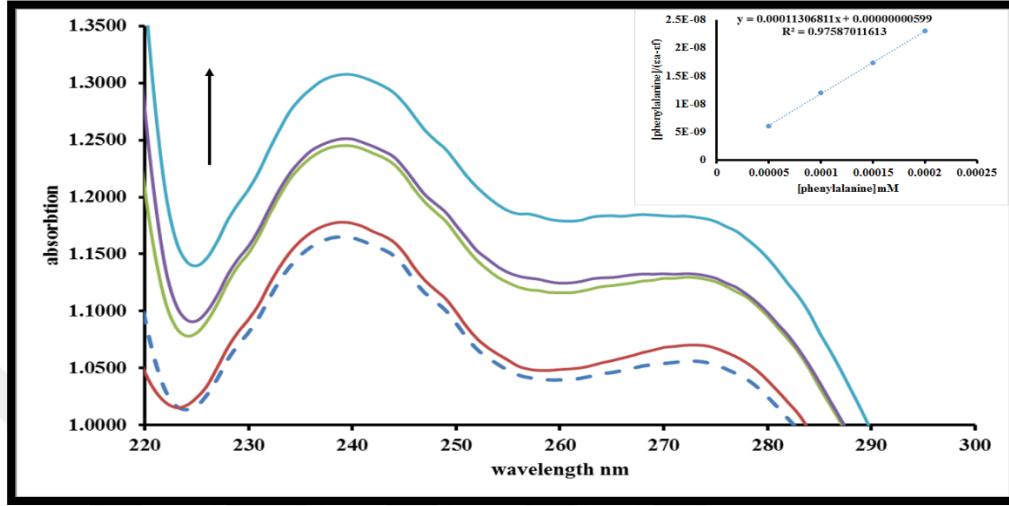
Grafik 4.26. 25 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:7’de Ceftriaoxone’un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone’un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (___) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.27’de, fenilalanin konsantrasyonu artırıldığı zaman 30 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:7’de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim absorpsiyon olarak bir artış örneği göstermiştir.



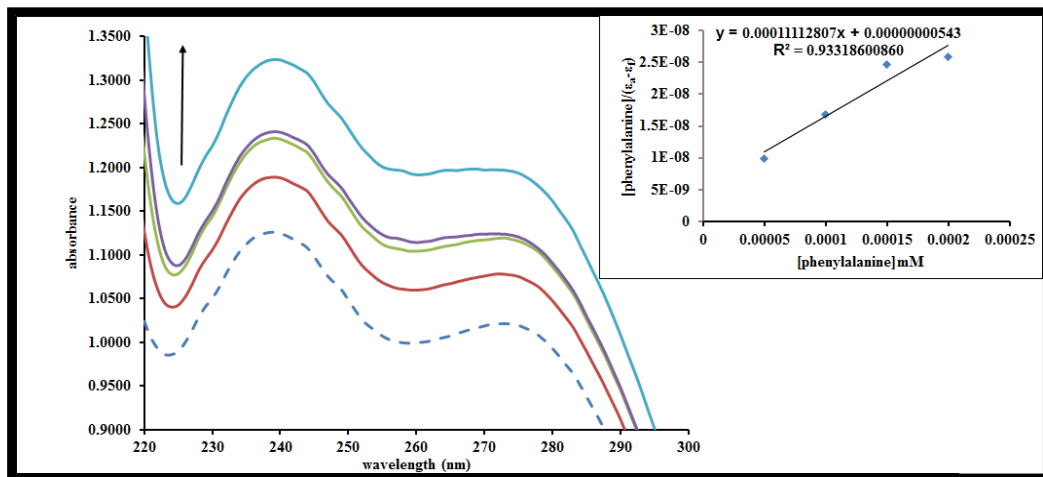
Grafik 4.27. 30 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:7’de Ceftriaoxone’un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone’un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (___) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.28’de, 40 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:7’de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim yine fenilalanin miktarındaki artış ile absorpsiyon açısından bir artış örneği göstermiştir.



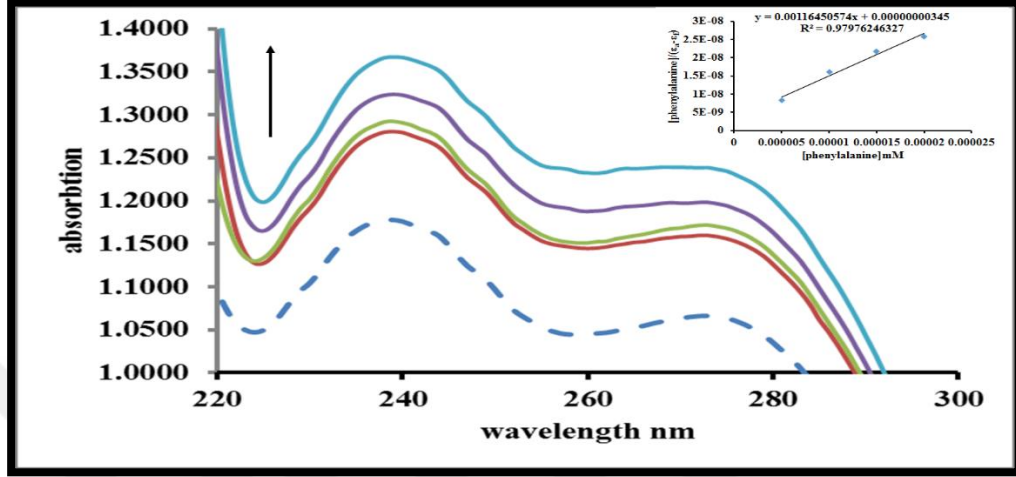
Grafik 4.28. 40 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:7’de Ceftriaoxone’un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone’un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (___) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.29’de, 50 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:7’de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim, fenilalanin konsantrasyonundaki artışa göre absorpsiyon açısından artış göstermiştir.



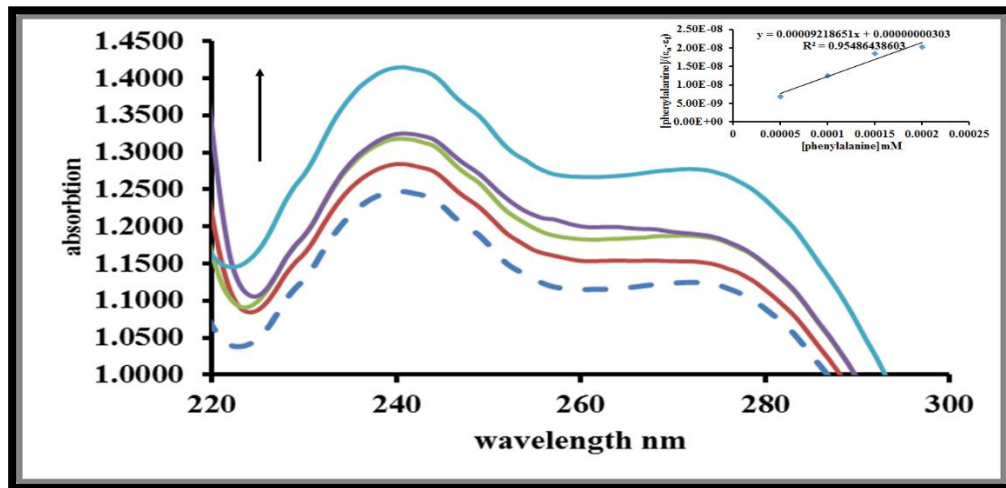
Grafik 4.29. 50 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:7’de Ceftriaoxone’un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone’un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (___) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.30'de, 60 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:7'de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim, çoğalan fenilalanin oranları ile ilişkili olarak absorpsiyon açısından bir artış örneği göstermiştir.



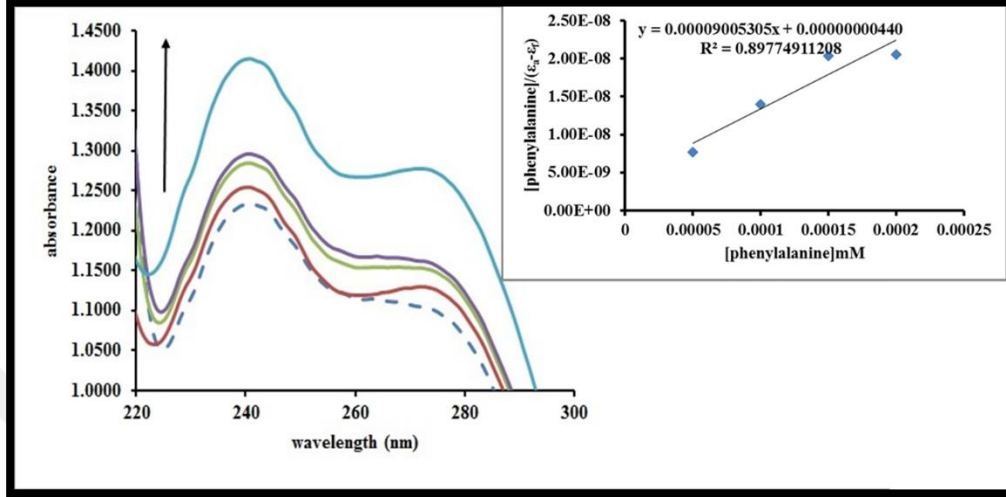
Grafik 4.30. 60 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:7'de Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone'un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (___) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.31'de, fenilalanin konsantrasyonu arttırıldığı zaman, 25 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:7'de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim, absorpsiyon açısından bir artış örneği göstermiştir.



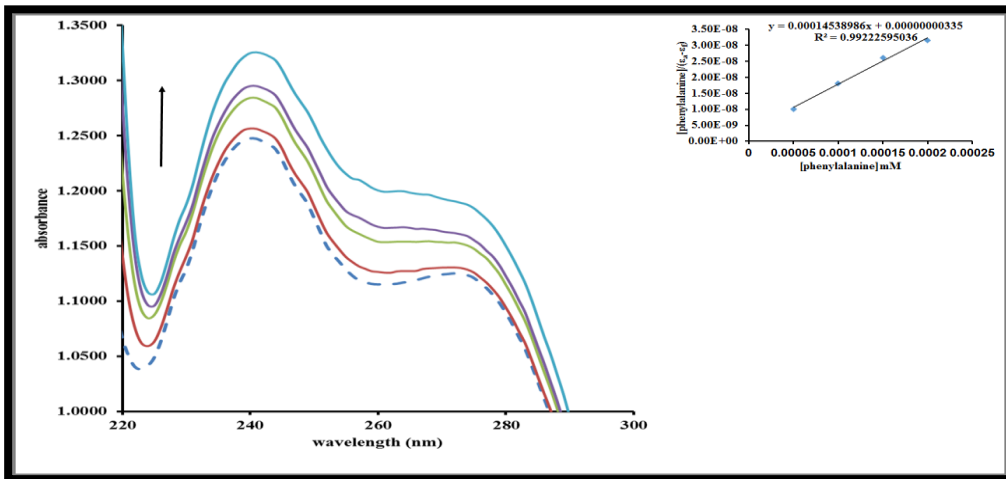
Grafik 4.31. 25 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:7'de Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone'un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (___) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.32’de, fenilalanin konsantrasyonundaki artışa göre, 30 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:7’de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim, absorpsiyon açısından artış göstermiştir.



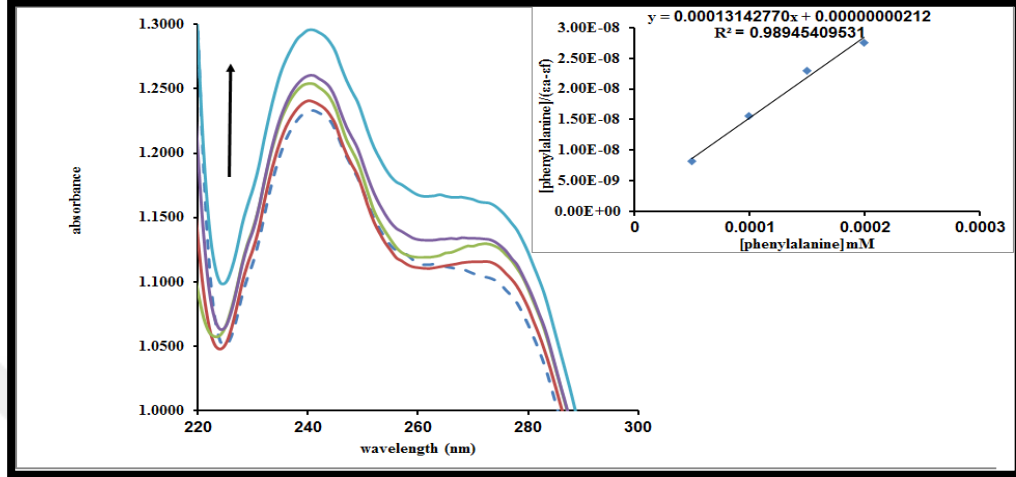
Grafik 4.32. 30 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:7’de Ceftriaoxone’un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone’un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (____) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.33’de, 40 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:7’de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim, fenilalanin miktarındaki artış ile absorpsiyon açısından yine bir artış göstermiştir.



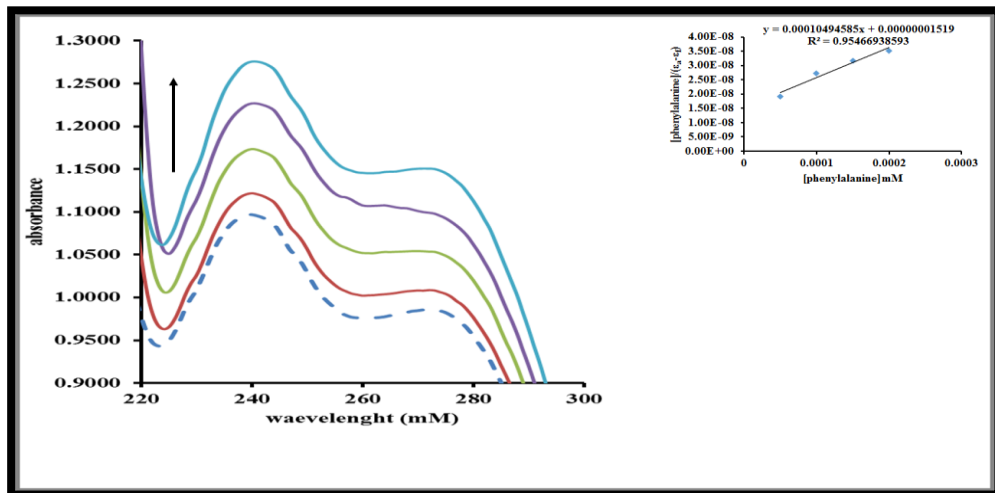
Grafik 4.33. 40 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:7’de Ceftriaoxone’un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone’un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (____) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.34'da, 50 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:7'de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim, fenilalanin konsantrasyonundaki artışa göre absorpsiyon açısından artış göstermiştir.



Grafik 4.34. 50 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:7'de Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone'un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (___) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.35'de, 60 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:7'de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim, fenilalanin miktarlarındaki artışa göre absorpsiyon açısından yine bir artış göstermiştir.



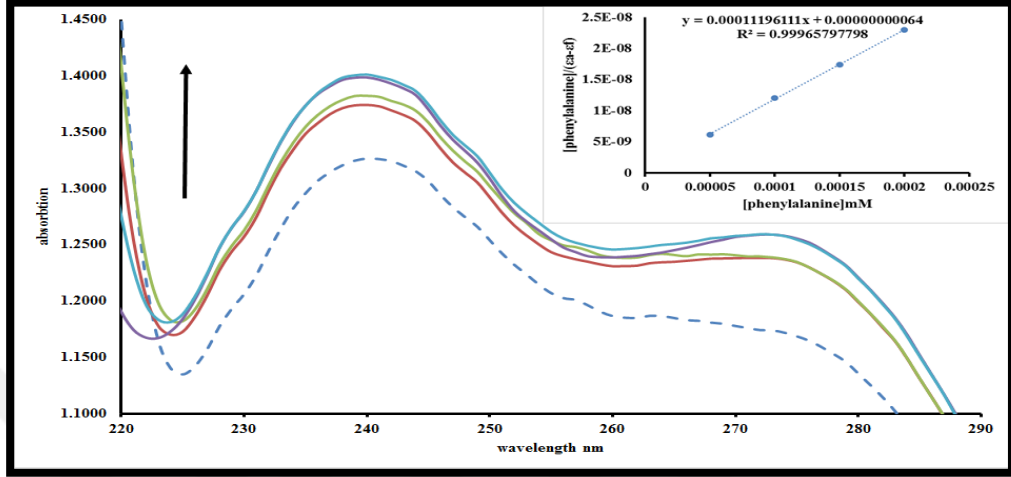
Grafik 4.35. 60 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:7'de Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone'un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (___) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Tablo 4.5. Fenilalanin ile Ceftriaxone'un PH:7'de farklı sıcaklıklar ve inkübasyon sürelerindeki etkileşimi için K_b değerleri

Sıcaklıklar	5 dakika için K_b değerleri	20 dakika için K_b değerleri
25°C	$2,4 \times 10^4$	$3,04 \times 10^4$
30°C	$2,8 \times 10^4$	$2,04 \times 10^4$
40°C	$1,8 \times 10^4$	$4,3 \times 10^4$
50°C	$2,05 \times 10^4$	$6,1 \times 10^4$
60°C	$3,3 \times 10^5$	$6,9 \times 10^3$

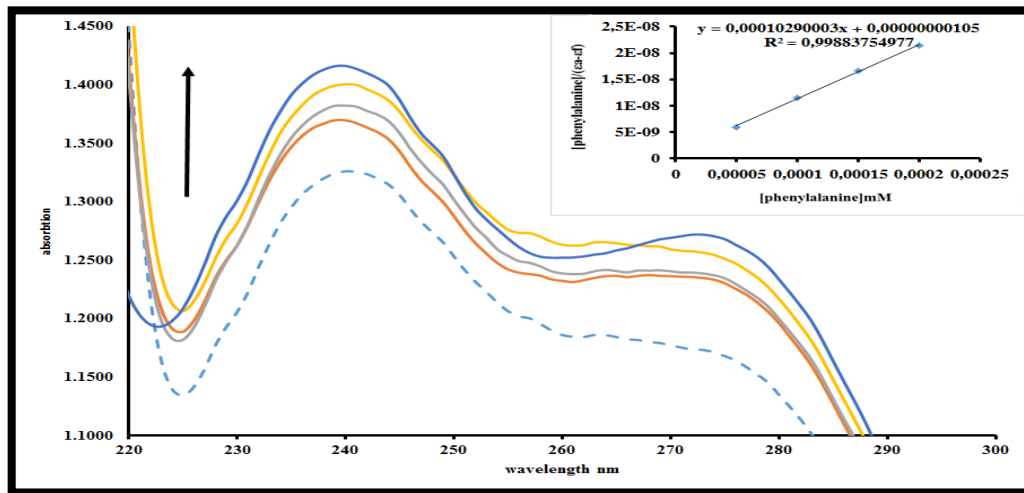
Yukarıdaki sonuçlar, fenilalanin konsantrasyonları ne kadar fazlaysa, Ceftriaxone ve fenilalanin kombinasyonunun absorpsiyonunda da o kadar fazla artış olduğunu göstermiştir. Yani, 240 nm dalga uzunluğundaki artış, fenilalanin miktarındaki artış ile yükselir. 25 °C sıcaklıkta 5 dakika için fenilalanin ile Ceftriaxone kombinasyonunun K_b değeri $2,4 \times 10^4$, 30 °C sıcaklıkta $2,8 \times 10^4$, 40 °C sıcaklıkta $1,8 \times 10^4$, 50 °C sıcaklıkta $2,05 \times 10^4$ ve 60 °C sıcaklıkta $3,3 \times 10^5$ idi. Yirmi dakika inkübasyon süresi için 25 °C sıcaklıkta fenilalanin ile Ceftriaxone kombinasyonunun K_b değeri $3,04 \times 10^4$, 30 °C sıcaklıkta $2,04 \times 10^4$, 40 °C sıcaklıkta $4,3 \times 10^4$, 50 °C sıcaklıkta $6,1 \times 10^4$ ve 60 °C sıcaklıkta $6,9 \times 10^3$ idi.

Grafik 4.36’de, fenilalanin miktarı artırıldığı zaman 25 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:9’da Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim absorpsiyon olarak bir artış göstermiştir.



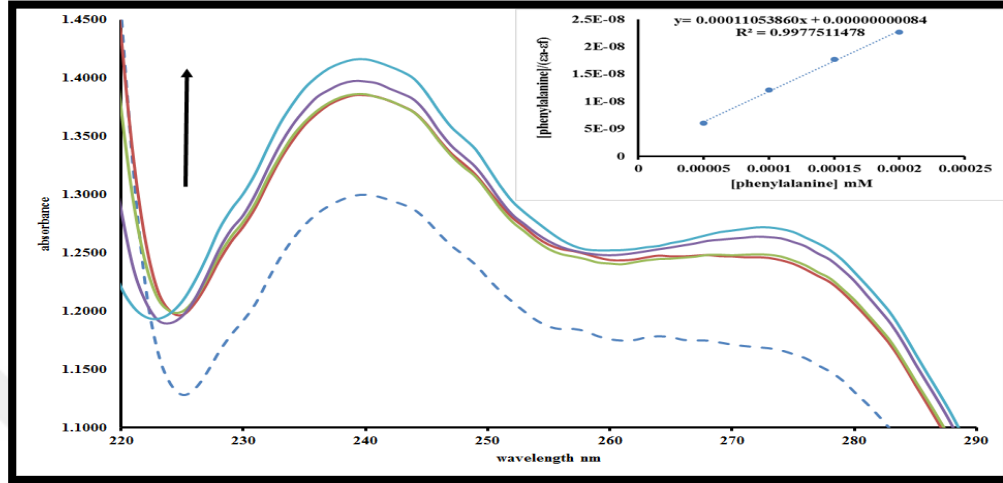
Grafik 4.36. 25 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:9’da Ceftriaoxone’un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone’un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (____) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.37’de, fenilalanin konsantrasyonu artırıldığı zaman 30 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:9’da Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim absorpsiyon olarak bir artış örneği göstermiştir.



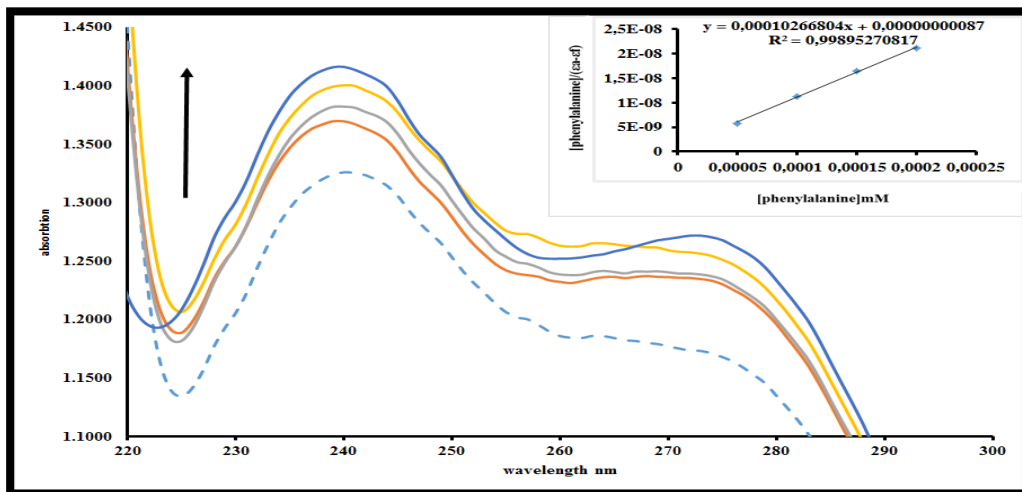
Grafik 4.37. 30 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:9’da Ceftriaoxone’un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone’un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (____) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.38’de, 40 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:9’da Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim yine fenilalanin miktarındaki artış ile absorpsiyon açısından bir artış örneği göstermiştir.



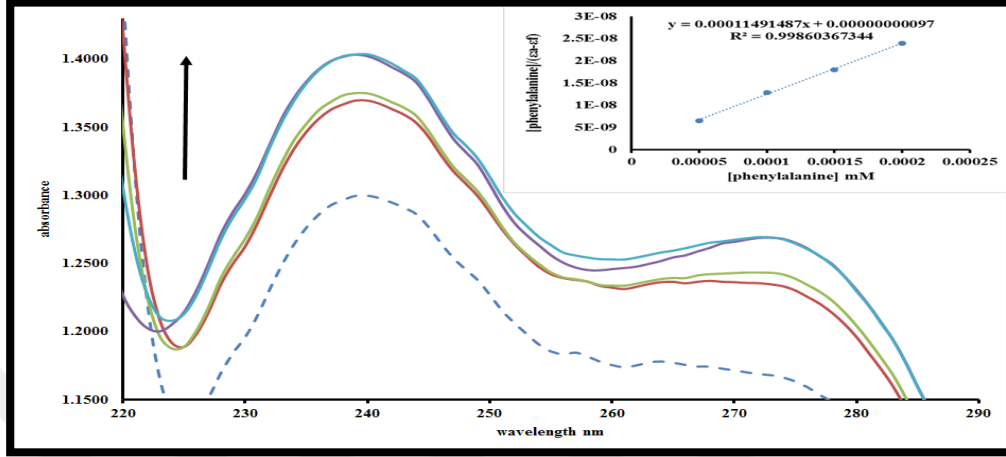
Grafik 4.38. 40 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:9’da Ceftriaoxone’un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone’un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (____) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.39’de, 50 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:9’da Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim, fenilalanin konsantrasyonundaki artışa göre absorpsiyon açısından artış göstermiştir.



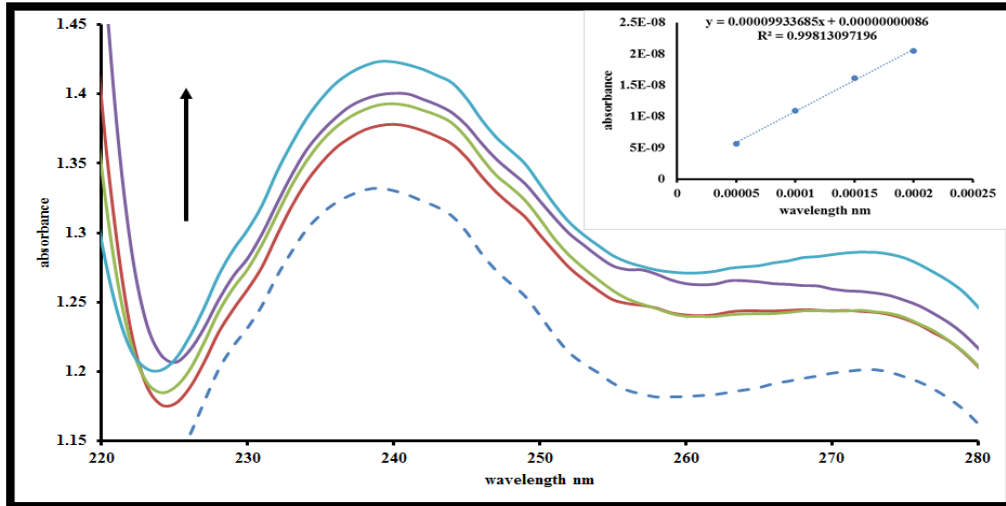
Grafik 4.39. 50 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:9’da Ceftriaoxone’un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone’un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (____) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.40'de, 60 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:9'da Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim, çoğalan fenilalanin oranları ile ilişkili olarak absorpsiyon açısından bir artış örneği göstermiştir.



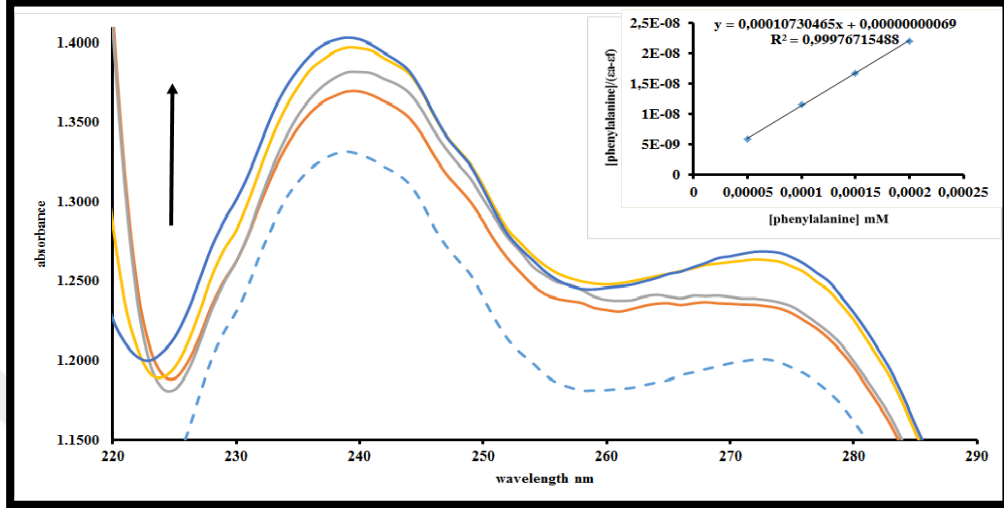
Grafik 4.40. 60 °C sıcaklıkta 5 dakika için PH:9'da Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone'un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (____) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.41'de, fenilalanin konsantrasyonu arttırıldığı zaman, 25 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:9'da Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim, absorpsiyon açısından bir artış örneği göstermiştir.



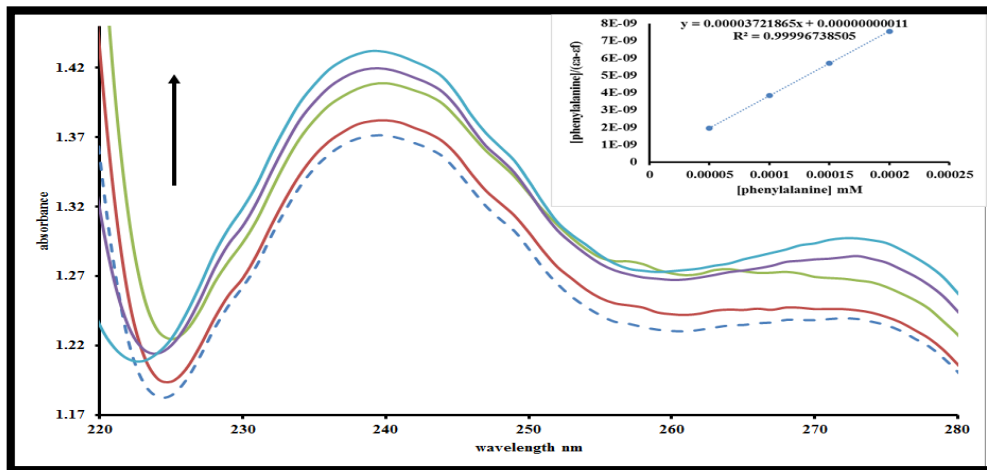
Grafik 4.41. 25 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:9'da Ceftriaoxone'un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone'un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (____) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.42’de, fenilalanin konsantrasyonundaki artışa göre, 30 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:9’da Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim, absorpsiyon açısından artış göstermiştir.



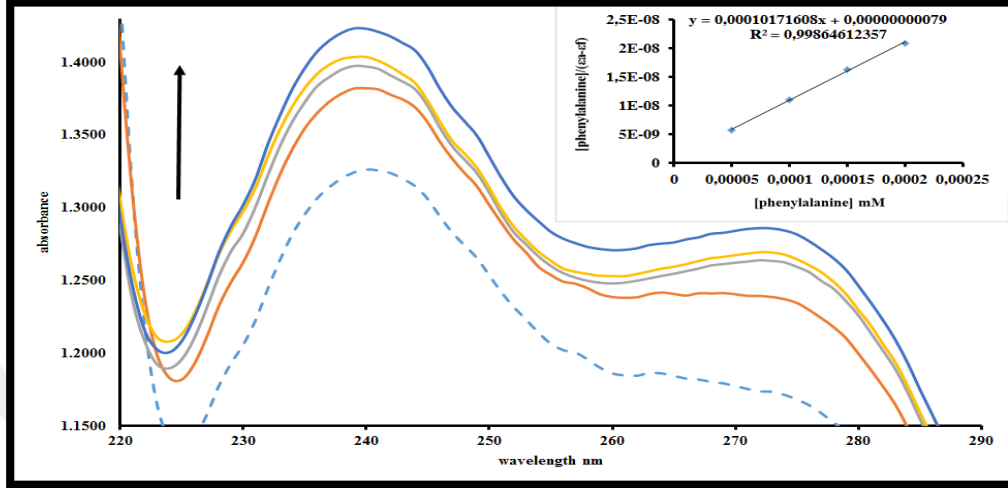
Grafik 4.42. 30 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:9’da Ceftriaoxone’un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone’un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (____) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.43’de, 40 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:9’da Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim, fenilalanin miktarındaki artış ile absorpsiyon açısından yine bir artış göstermiştir.



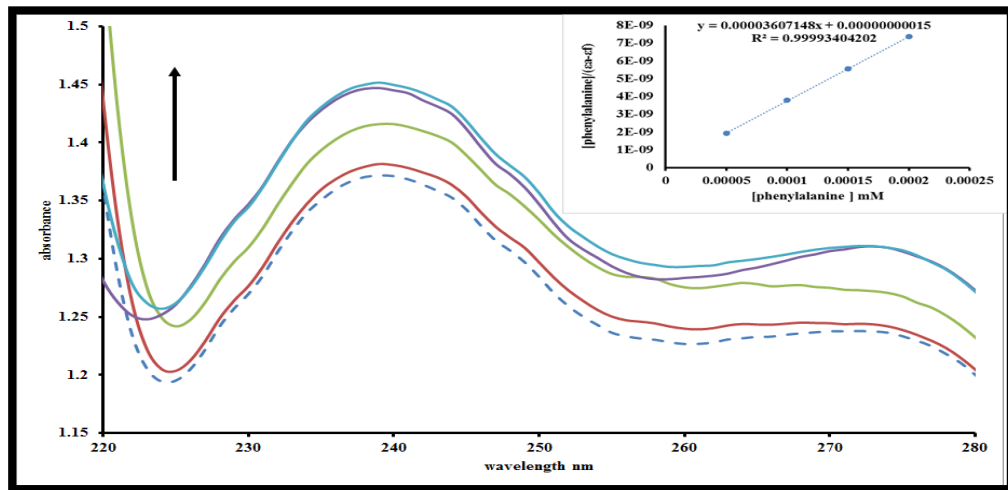
Grafik 4.43. 40 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:9’da Ceftriaoxone’un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone’un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (____) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.44’de, 50 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:9’da Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim, fenilalanin konsantrasyonundaki artışa göre absorpsiyon açısından artış göstermiştir.



Grafik 4.44. 50 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:9’da Ceftriaoxone’un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone’un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (___) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Grafik 4.45’de, 60 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:9’da Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim, fenilalanin miktarlarındaki artışa göre absorpsiyon açısından yine bir artış göstermiştir.



Grafik 4.45. 60 °C sıcaklıkta 20 dakika için PH:9’da Ceftriaoxone’un fenilalanin ile etkileşimi. (-----) Ceftriaoxone’un tek başına absorpsiyonunu göstermektedir ve (___) ise Ceftriaoxone ile farklı fenilalanin konsantrasyonlarının absorpsiyonunu göstermektedir.

Tablo 4.6. Fenilalanin ile Ceftriaoxone'un PH:9'da farklı sıcaklıklar ve inkübasyon sürelerindeki etkileşimi için K_b değerleri

Sıcaklıklar	5 dakika için K_b değerleri	20 dakika için K_b değerleri
25°C	$1,7 \times 10^5$	$1,16 \times 10^5$
30°C	$9,8 \times 10^4$	$1,5 \times 10^5$
40°C	$1,3 \times 10^6$	$1,2 \times 10^5$
50°C	$1,18 \times 10^5$	$1,28 \times 10^5$
60°C	$1,18 \times 10^5$	$7,9 \times 10^4$

Yukarıdaki sonuçlar, fenilalanin konsantrasyonları ne kadar fazlaysa, Ceftriaoxone ve fenilalanin kombinasyonunun absorpsiyonunda da o kadar fazla artış olduğunu göstermiştir. Yani, 240 nm dalga uzunluğundaki artış, fenilalanin miktarındaki artış ile yükselir. 25 °C sıcaklıkta 5 dakika için fenilalanin ile Ceftriaoxone kombinasyonunun K_b değeri $1,7 \times 10^5$, 30 °C sıcaklıkta $9,8 \times 10^4$, 40 °C sıcaklıkta $1,3 \times 10^6$, 50 °C sıcaklıkta $1,18 \times 10^5$ ve 60 °C sıcaklıkta $1,18 \times 10^5$ idi. Yirmi dakika inkübasyon süresi için 25 °C sıcaklıkta fenilalanin ile Ceftriaoxone kombinasyonunun K_b değeri $1,16 \times 10^5$, 30 °C sıcaklıkta $1,5 \times 10^5$, 40 °C sıcaklıkta $1,2 \times 10^5$, 50 °C sıcaklıkta $1,28 \times 10^5$ ve 60 °C sıcaklıkta $7,9 \times 10^4$ idi.

Pan vd. (2012), ışınırılık, UV-Visible spektroskopisi ve sirküler dikroizm gibi farklı spektroskopik teknikler kullanarak sığır serum albumin (BSA) ile Ceftriaoxone sodyumun etkileşimini incelemiştir. Ceftriaoxone'un sığır serum albuminine bağlanması, sığır serum albumininin (BSA) farklı sıcaklıklarda absorpsiyon oranlarını arttırmıştır [52]. Elde edilen bulgular, çalışmamızdaki Ultraviyole-Visible spektrofotometre (UV) kullanılarak PH:7'de farklı inkübasyon süreleri için fenilalanin ile Ceftriaoxone'un etkileşim sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Shahabadi vd. (2015), antiviral bir ilaç olan Tenofovir ve insan serum albumini (HSA) arasındaki etkileşimi incelemiştir. Tenofovir ve insan serum albumini (HSA) arasındaki etkileşim, Ultraviyole-Visible spektrofotometre ile araştırılmıştır. Deneysel sonuçlar, tenofovir ile insan serum albumininin (HSA) absorpsiyon oranlarında bir artış göstermiştir [53]. Bu sonuç, Ultraviyole-Visible spektrofotometre (UV) ile PH:7'de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşimin sonuçları ile tutarlılık göstermektedir.

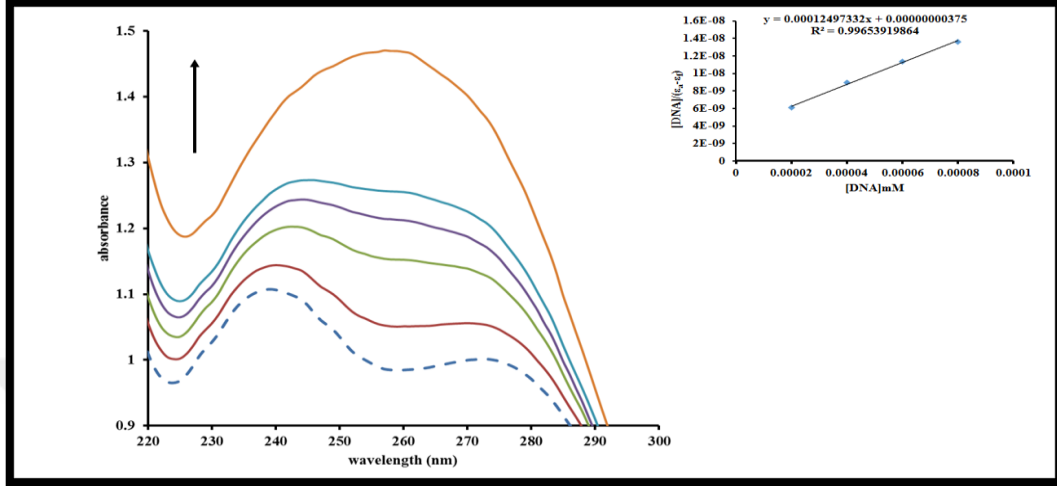
Wang vd. (2015), floresans sönümüne ve Ultraviyole-visible spektroskopik yöntemine göre aynı Ceftriaoxone ailesinde bulunan cefamandole ve sığır serum albumini (BSA) arasındaki etkileşimi incelemiştir. Farklı sıcaklıklarda belirlenen cefamandole-sığır serum albumin birleşmesi, absorpsiyon oranlarını arttırmaktaydı [54]. Bu absorpsiyon oranları, Ultraviyole-Visible spektrofotometre (UV) ile PH:7'de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşim açısından bizim absorpsiyon değerlerimiz ile benzerlik göstermektedir.

Hu ve Liu (2015), farklı spektroskopi teknikleri kullanarak cefodizime (CEF) ve insan serum albumini (HSA) arasındaki etkileşimi değerlendirmiştir. Sonuçlar, insan serum albumini (HSA) ile cefodizime kombinasyonunun absorpsiyon oranlarında artış göstermiştir [55]. Sonuç, Ultraviyole-Visible spektrofotometre (UV) ile farklı sıcaklık değerleri ve inkübasyon süreleri ile PH:7'de Ceftriaoxone ve fenilalanin arasındaki etkileşimin sonucu ile tutarlılık göstermektedir.

4.3. CT-DNA ile Ceftriaoxone'un Etkileşimi

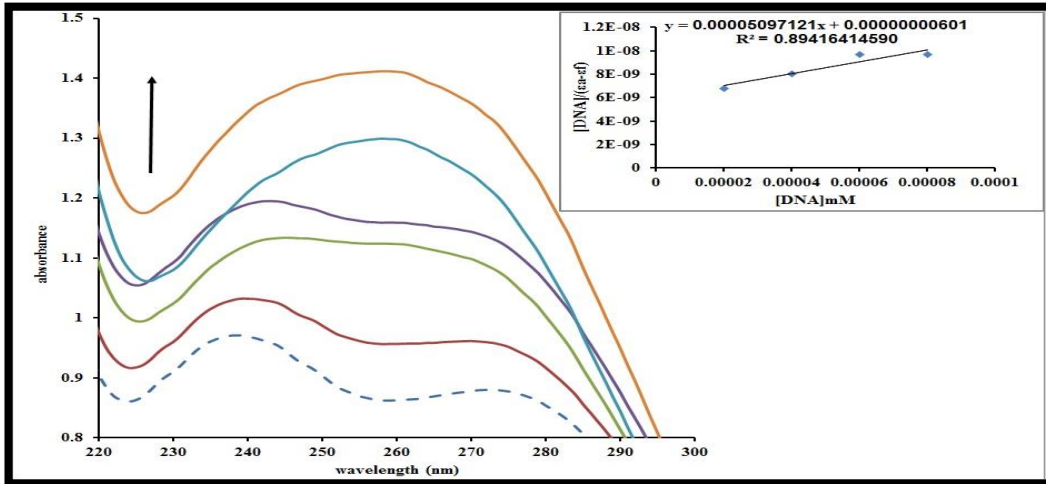
Aşağıdakiler, farklı sıcaklıklarda ve farklı inkübasyon sürelerinde PH:7'de Ceftriaoxone ve CT-DNA arasındaki reaksiyonlardır.

Grafik 4.46’de, PH:7’de 25 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaxone üzerindeki CT-DNA etkisi Ultraviyole-Visible spektrofotometre (UV) ile gösterilmiştir. CT-DNA konsantrasyonundaki artış absorpsiyon değerlerini yükseltmiştir.



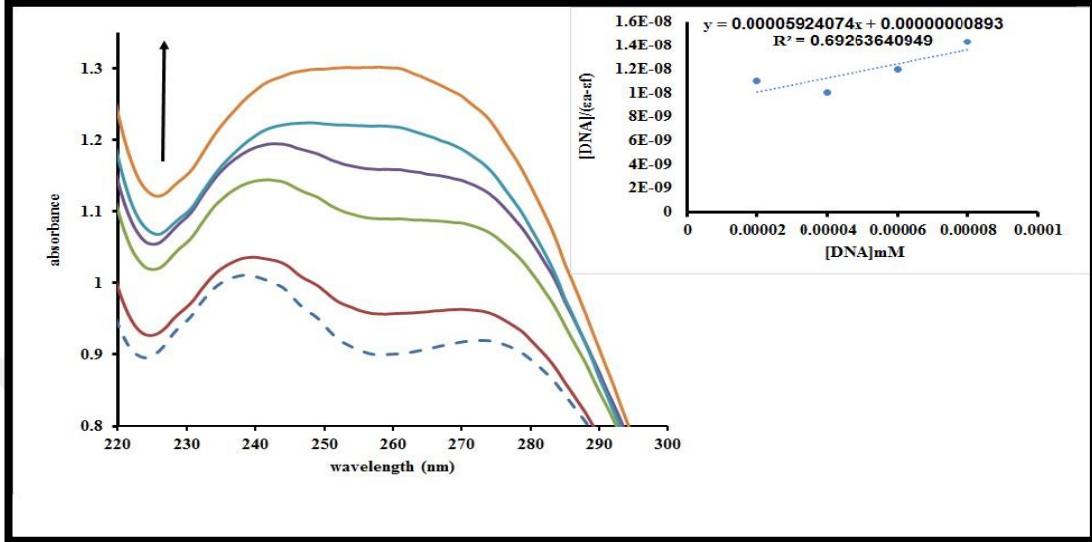
Grafik 4.46. 25 °C sıcaklıkta 5 dakika (PH:7) için Ceftriaxone ve CT-DNA arasındaki etkileşim. (-----) Ceftriaxone’un tek başına absorpsiyonudur ve (___) ise Ceftriaxone ile farklı CT-DNA konsantrasyonlarıdır.

Grafik 4.47’de, Ultraviyole-Visible spektrofotometreye (UV) ile PH:7’de 30 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaxone üzerindeki CT-DNA etkisi gösterilmiştir. CT-DNA konsantrasyonundaki artış absorpsiyon değerlerini yükseltmiştir.



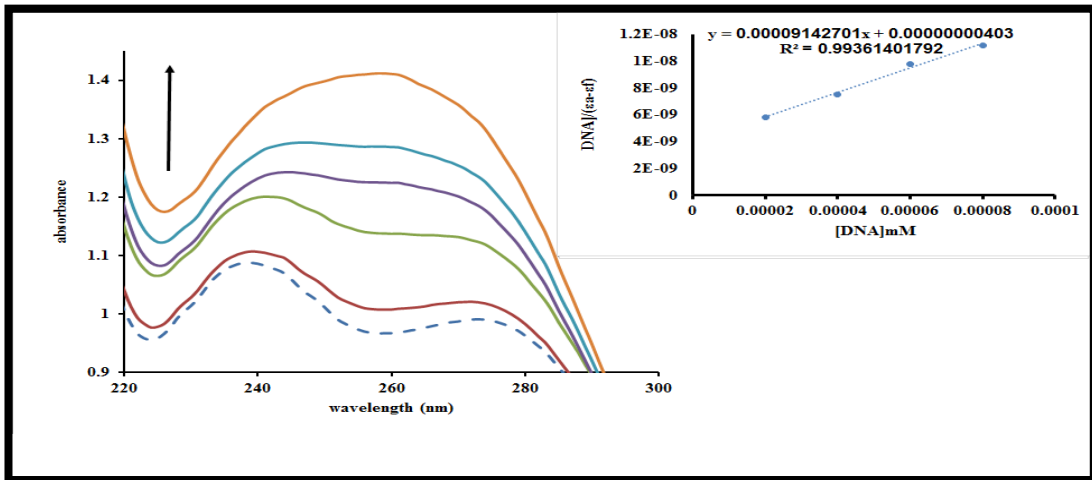
Grafik 4.47. 30 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaxone ve CT-DNA arasındaki etkileşim. (-----) Ceftriaxone’un tek başına absorpsiyonudur ve (___) Ceftriaxone ile farklı CT-DNA konsantrasyonlarıdır.

Grafik 4.48’de, Ultraviyole-Visible spektrofotometre (UV) ile PH:7’de 40 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone üzerindeki CT-DNA etkisi gösterilmiştir. CT-DNA konsantrasyonundaki artış absorpsiyon değerlerini yükseltmiştir.



Grafik 4.48. 40 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone ve CT-DNA arasındaki etkileşim. (-----) Ceftriaoxone’un tek başına absorpsiyonudur ve (____) Ceftriaoxone ile farklı CT-DNA konsantrasyonlarıdır.

Grafik 4.49’da, Ultraviyole-Visible spektrofotometre (UV) ile PH:7’de 50 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone üzerindeki CT-DNA etkisi gösterilmiştir. CT-DNA konsantrasyonundaki artış absorpsiyon değerlerini yükseltmiştir.



Grafik 4.49. 50 °C sıcaklıkta 5 dakika için Ceftriaoxone ve CT-DNA arasındaki etkileşim. (-----) Ceftriaoxone’un tek başına absorpsiyonudur ve (____) Ceftriaoxone ile farklı CT-DNA konsantrasyonudur.

Aşağıdaki gibi eski sonuçlardan yola çıkarak, Ceftriaxone ile daha yüksek CT-DNA konsantrasyonları farklı sıcaklıklarda absorpsiyon oranlarını arttırmıştır. Böylece aşağıdaki tabloda gösterilen K_b değerleri de değişmiştir Tablo 4.3.

Tablo 4.7. *CT-DNA ile Ceftriaxone'un etkileşimi için K_b değerleri (PH:7)*

Sıcaklık	K_b değerleri
25°C	$3,3 \times 10^4$
30°C	$8,4 \times 10^3$
40°C	$6,6 \times 10^3$
50°C	$2,2 \times 10^4$

Ceftriaxone ve CT-DNA kombinasyonu K_b değerleri, 25°C sıcaklıkta $3,3 \times 10^4$, 30°C sıcaklıkta $8,4 \times 10^3$, 40°C sıcaklıkta $6,6 \times 10^3$ ve 50°C sıcaklıkta $2,2 \times 10^4$ idi.

Pakravan ve Masoudian (2015), CT-DNA ile IBT etkileşimini incelemiştir ve bunların bağlanması ile ilgili bulgular elde etmiştir. Bir ek mekanizma, CT-DNA ile IBT'nin etkileşimini desteklemiştir. Prob olarak Nötral Kırmızı (NR) boyasını kullanarak fizyolojik tamponda (PH:7.4) UV-Visible Spektrofotometre ile çalışmışlardır [56]. Bu da, Ultraviyole-Visible spektrofotometre (UV) ile farklı sıcaklıklarda ve inkübasyon sürelerinde Ceftriaxone ve CT-DNA arasındaki etkileşim ile tutarlılık göstermektedir.

Kong vd. (2012), PH:7.4'de ışınırlık ve sirküler dikroizm spektroskopileri ile insülin ve CT-DNA arasındaki etkileşimi değerlendirmiştir. Sonuçlar, CT-DNA'nın artan konsantrasyon miktarlarının absorpsiyon oranlarında bir artış sağladığını göstermiştir [57]. Bu da, PH:7'de yapılan Ceftriaxone ve artan CT-DNA konsantrasyonları arasındaki etkileşim incelendiğinde artan absorpsiyon oranları gösteren sonuçlarımız ile uyumludur.

Kong vd. (2011), polimiksin B (PMB) ve DNA arasındaki etkileşimi değerlendirmiştir. Sonuçlara göre, artan polimiksin B konsantrasyonu, DNA ile absorpsiyonun artmasına neden olmaktadır [58]. Bu çalışma da, Ceftriaoxone ile artan CT-DNA konsantrasyonlarının Ultraviyole-Visible spektrofotometre (UV) ile belirlenen absorpsiyon oranlarında bir artışa neden olduğu Ceftriaoxone ve CT-DNA arasındaki etkileşim sonuçları ile uygunluk göstermektedir.

Pradeep vd. (2016), bpy (2,2'-bipiridin), phen (1,10-fenantrolin) or 2,9-dmp (2,9-dimetil 1,10-fenantrolin) içeren hedeflenen antikanser rutenyum (II) kompleks birimleri ile inceleme yapmıştır ve bir dallanmış polietilenimin molekülü (Rul-BPEI) üzerinde sabitlemiştir. Bu kompleks ile CT-DNA arasındaki etkileşim, absorpsiyon spektroskopisi ile incelenmiştir [59]. Bu etkileşim, bizim çalışmamızda incelenen Ceftriaoxone ile CT-DNA arasındaki etkileşim ile tutarlılık göstermiştir.

Bir başka çalışmada, metaller ve farklı PUC19 DNA konsantrasyonları arasındaki etkileşim, elektroforez jel tekniği ve UV-spektrofotometri kullanılarak değerlendirilmiştir. Ekleme ile DNA'ya geçiş metalinin baz çiftleri halinde ligand vasıtasıyla gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Ligandların bağlanması, DNA'ya geçiş metalinin nispi bağlanma etkililiğinden daha düşüktür, özellikle [Cu (L1) (L2) Cl₂] kompleksinin anlamlı bir DNA'ya bağlama kabiliyeti vardır. Geçiş metali miktarındaki artış, jel elektroforezinde bantların hareketliliğinde bir düşüşe yol açmaktadır, bu da DNA ile metal iyonunun etkileşiminde bir artış olduğunu göstermektedir [60].

4.4. Antimikrobiyal Aktivite

4.4.1. Ceftriaoxone'un ve fenilalaninin antimikrobiyal aktivite analizi

Bu çalışmada, bir grup bakteri üzerinde Ceftriaoxone ve fenilalanin etkisini görmek için deney üç defa tekrar edilmiştir. *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Salmonella typhimurium* NRRLE 4463, *Yersinia enterocolitica* ATCC 1501, *Proteus mirabilis* ATCC 25933 çalışmada kullanılan Gram-negatif bakterilerdir ve *Staphylococcus*

aureus ATCC 43300 (MRSA), *Sarcina lutea* ATCC 9341 ise çalışmada Gram-pozitif bakteriler olarak kullanılmıştır.

Tablo 4.8. *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (MRSA), *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Sarcina lutea* ATCC 9341, *Salmonella typhimurium* NRRLE 4463, *Yersinia enterocolitica* ATCC 1501 ve *Proteus mirabilis* ATCC 25933 üzerindeki antimikrobiyal Ceftriaoxone ve fenilalanin etkinliği.

No.	Bakteri varyantı	Ceftriaoxone	Fenilalanin
1	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	18,3mm	0
2	<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	16,67mm	0
3	<i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341	36,3mm	0
4	<i>Salmonella typhimurium</i> NRRLE 4463	20,3mm	0
5	<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 1501	25,3mm	0
6	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933	43,3mm	0

Ceftriaoxone'un, bu testte kullanılan bütün bakteri türleri üzerinde etkilerinin olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, fenilalanin ise gerek gram pozitif gerekse gram negatif herhangi bir bakteri türü üzerinde etkisizdir.

4.4.2. Fenilalanin ile Ceftriaxone kombinasyonunun antimikrobiyal etkinliği

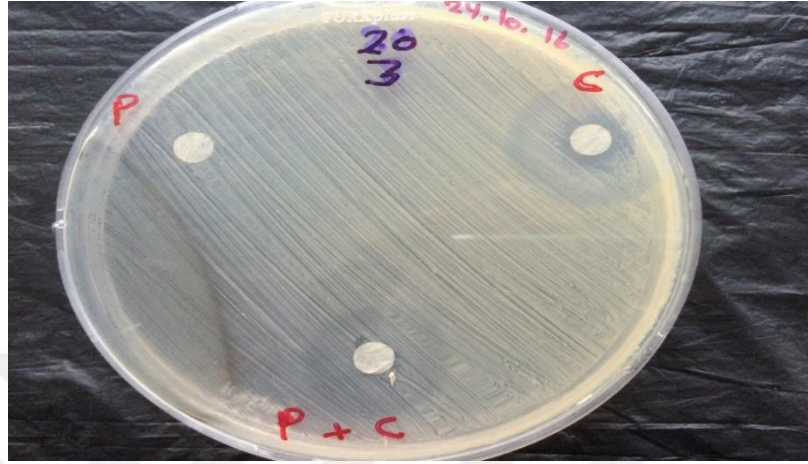
Aynı bakteri türleri üzerindeki etkisini görmek için Ceftriaxone fenilalanin ile karıştırılmıştır ve bütün bakteri türleri üzerinde birkaç farklı etki gözlemlenmiştir.

Tablo 4.9: *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (MRSA), *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Sarcina lutea* ATCC 9341, *Salmonella typhimurium* NRRLE 4463, *Yersinia enterocolitica* ATCC 1501 ve *Proteus mirabilis* ATCC 25933 üzerindeki Ceftriaxone ile fenilalanin kombinasyonunun antimikrobiyal aktivitesi.

No.	Bakteri varyantı	Ceftriaxone ile Fenilalanin kombinasyonu
1	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	12,3mm
2	<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	15,0mm
3	<i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341	33,67mm
4	<i>Salmonella typhimurium</i> NRRLE 4463	17,3mm
5	<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 1501	24,3mm
6	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933	48,3mm

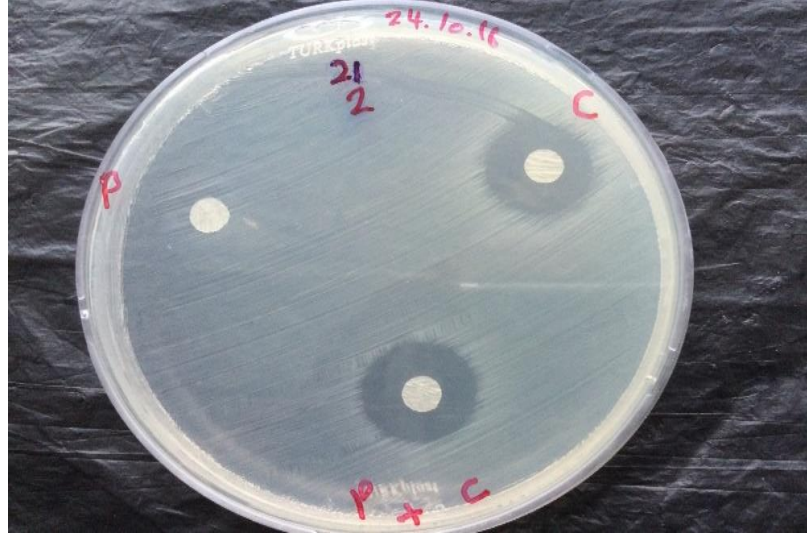
Bu testte kullanılan bütün gram pozitif ve gram negatif bakteriler, Ceftriaxone ile fenilalanin kombinasyonuna karşı duyarlılık göstermiştir.

Ceftriaoxone'un, fenilalaninin ve Ceftriaoxone ile fenilalanin kombinasyonunun farklı bakteri türlerine karşı oluşturduğu inhibisyon zonları, (4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5 ve 4.5) fotoğraflarında gösterilmiştir.



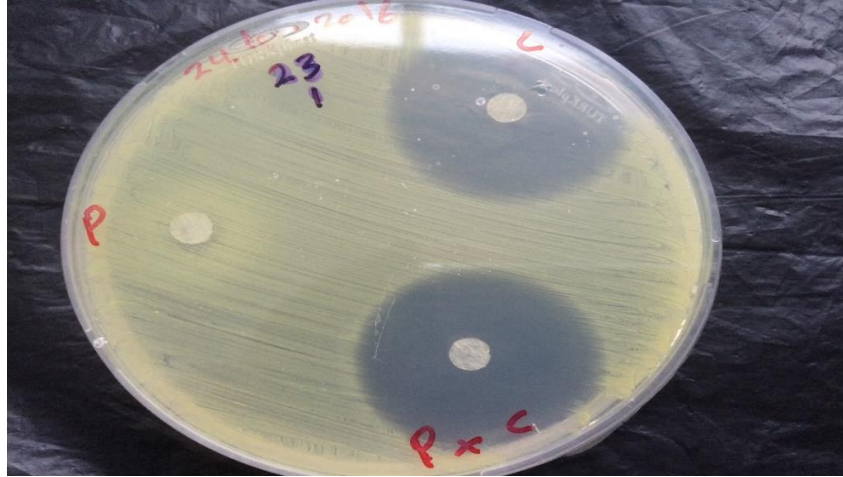
Fotoğraf 4.1. *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (MRSA)'a karşı Ceftriaoxone'un (C), fenilalaninin (P) ve Ceftriaoxone ile fenilalanin kombinasyonunun (P+C) inhibisyon zonu.

Petri kabında Fotoğraf 4.1, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, Ceftriaoxone'na ve Ceftriaoxone ile fenilalanin kombinasyonuna karşı duyarlıydı fakat fenilalanine karşı duyarlı değildi.



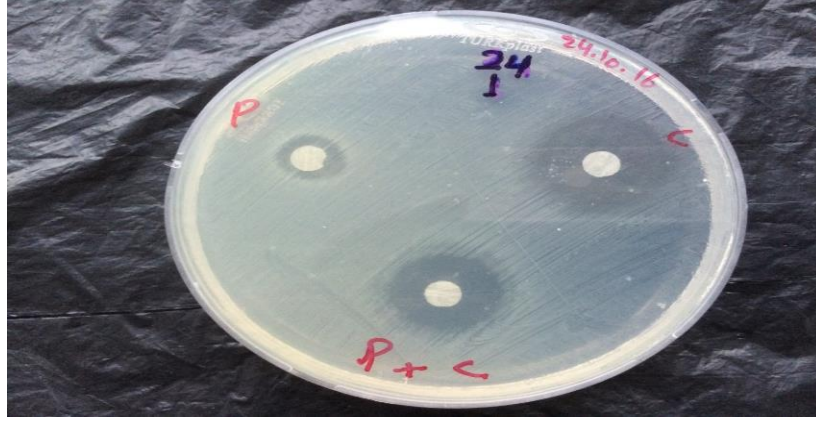
Fotoğraf 4.2. *Salmonella enteritidis* ATCC 13076'a karşı Ceftriaoxone'un (C), fenilalaninin (P) ve Ceftriaoxone ile fenilalanin kombinasyonunun (P+C) inhibisyon zonu.

Petri kabında Fotoğraf 4.2, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, Ceftriaoxone'na ve Ceftriaoxone ile fenilalanin kombinasyonuna karşı duyarlıydı fakat fenilalanine karşı duyarlı değildi.



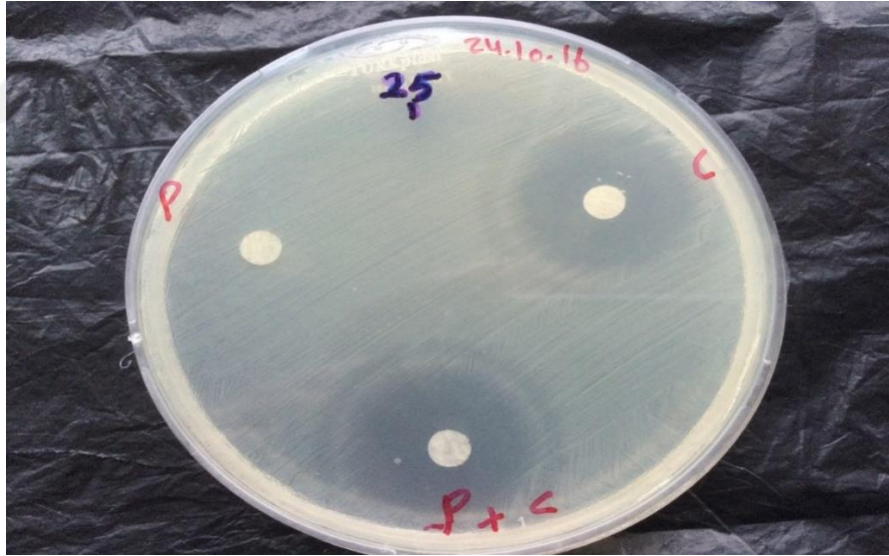
Fotoğraf 4.3. *Sarcina lutea* ATCC 9341'e karşı Ceftriaoxone'un (C), fenilalaninin (P) ve Ceftriaoxone ile fenilalanin kombinasyonunun (P+C) inhibisyon zonu.

Petri kabında Fotoğraf 4.3, *Sarcina lutea* ATCC 9341, Ceftriaoxone'na ve Ceftriaoxone ile fenilalanin kombinasyonuna karşı duyarlıydı fakat fenilalanine karşı duyarlı değildi.



Fotoğraf 4.4. *Salmonella typhimurium* NRRLE 4463'e karşı Ceftriaoxone'un (C), fenilalaninin (P) ve Ceftriaoxone ile fenilalanin kombinasyonunun (P+C) inhibisyon zonu.

Petri kabında Fotoğraf 4.4, *Salmonella typhimurium* NRRLE 4463, Ceftriaoxone'na ve Ceftriaoxone ile fenilalanin kombinasyonuna karşı duyarlıydı fakat fenilalanine karşı duyarlı değildi.



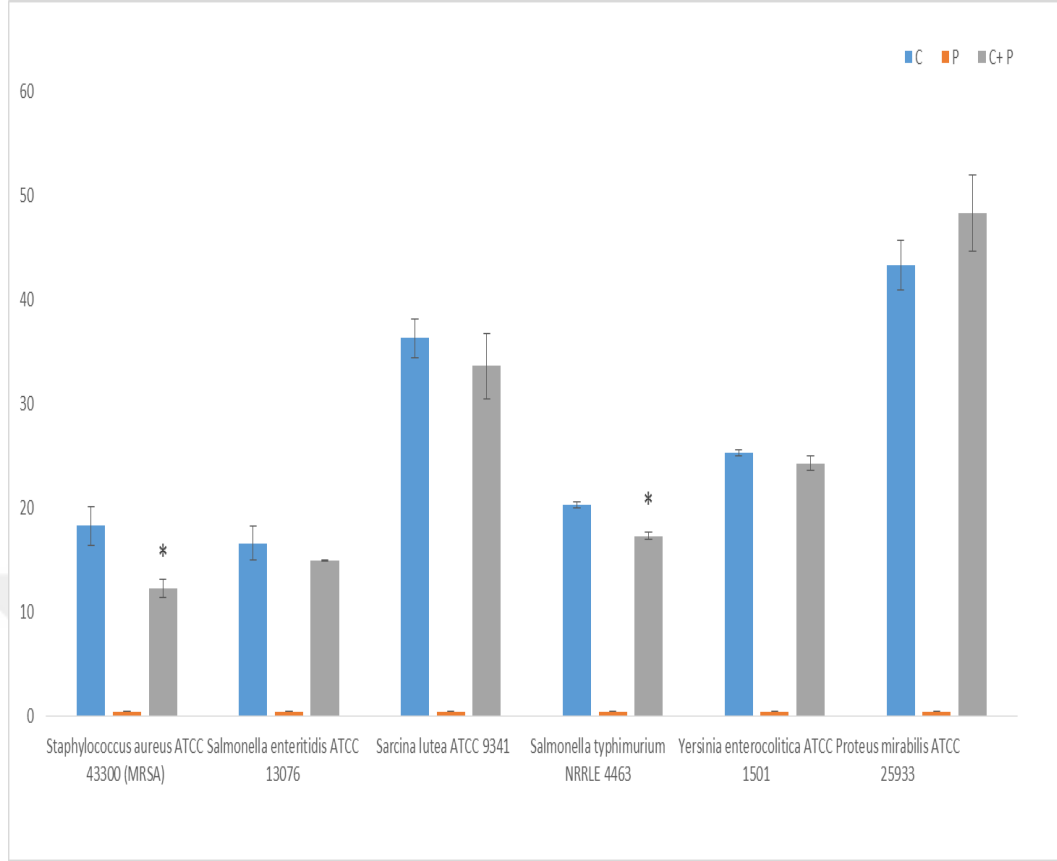
Fotoğraf 4.5. *Yersinia enterocolitica* ATCC 1501'e karşı Ceftriaoxone'un (C), fenilalaninin (P) ve Ceftriaoxone ile fenilalanin kombinasyonunun (P+C) inhibisyon zonu.

Petri kabında Fotoğraf 4.5, *Yersinia enterocolitica* ATCC 15014463, Ceftriaoxone'na ve Ceftriaoxone ile fenilalanin kombinasyonuna karşı duyarlıydı fakat fenilalanine karşı duyarlı değildi.



Fotoğraf 4.6 *Proteus mirabilis* ATCC 25933e karşı Ceftriaoxone'un (C), fenilalaninin (P) ve Ceftriaoxone ile fenilalanin kombinasyonunun (P+C) inhibisyon zonu.

Petri kabında Fotoğraf 4.6, *Proteus mirabilis* ATCC 25933, Ceftriaoxone'na ve Ceftriaoxone ile fenilalanin kombinasyonuna karşı duyarlıydı fakat fenilalanine karşı duyarlı değildi.



Grafik 4.50. *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (MRSA), *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Sarcina lutea* ATCC 9341, *Salmonella typhimurium* NRRLE 4463, *Yersinia enterocolitica* ATCC 1501 ve *Proteus mirabilis* ATCC 25933 üzerindeki Ceftriaxone, fenilalanin ve Ceftriaxone ile fenilalanin kombinasyonunun etkisi için istatistiksel analiz (mm cinsinden inhibisyon zonuna göre hesaplanmıştır) ANOVA analizi, $P < 0.05$ (*)’de Ceftriaxone (\pm SEM) ve Ceftriaxone ile fenilalanin kombinasyonu açısından anlamlı farklılıklar göstermiştir. C: Ceftriaxone, P: fenilalanin, C+P: fenilalanin ile birleştirilmiş Ceftriaxone.

Ceftriaxone ve Ceftriaxone ile fenilalanin kombinasyonunun antibakteriyel aktivitesi, bazı gram negatif ve gram pozitif bakteri varyantları üzerinde saptanmıştır, bununla birlikte fenilalaninin tek başına bu bakteriler üzerinde herhangi bir etkisi gözlenmemiştir.

Ceftriaxone ile fenilalaninin antogonistik etkisi, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (MRSA), *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Sarcina lutea* ATCC 9341, *Salmonella typhimurium* NRRLE 4463 ve *Yersinia enterocolitica* ATCC 1501’de gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, bu etki istatistiksel olarak sadece *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (MRSA) ve *Salmonella typhimurium* NRRLE 4463 ($P < 0.05$).

için anlamlıydı. Bunun yanı sıra, Ceftriaxone ile fenilalaninin sinerjistik etkisi *Proteus mirabilis* ATCC 25933 için gözlemlenmiştir. Ceftriaxone ile fenilalaninin karışımı, Gram (-) ve Gram (+) bakteri türleri üzerinde sinerjistik veya antogonistik etkilere neden olabilir.

Knapp vd. (1988), *in vitro* Ceftriaxone'un antimikrobiyal aktivitelerini incelemiştir ve bazı Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı aktivite göstermiştir [61]. Sonuç, bu çalışmadaki Ceftriaxone'un antimikrobiyal aktivite sonuçları ile tutarlılık göstermektedir.

Jarrahpour vd. (2004), B-laktam halkası içeren bazı bileşikler ile amino asit D-fenilalaninin etil esterinin reaksiyonunu incelemiştir. Bu bileşikler, *Escherichia coli*, *Staphylococcus citrus*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Bacillus subtilis*'e karşı test edilmiştir. Bu bileşiklerin bazıları, potansiyel antimikrobiyal aktiviteler göstermiştir [62]. Bu çalışma, mevcut çalışmadaki Ceftriaxone ile fenilalanin kombinasyonunun antimikrobiyal aktivite sonuçları ile uyumluluk göstermektedir.

Sakıyan vd. (2004), bir kompleks olarak bazı amino asitler (glisin, L-alanin, L-fenilalanin, L-histidin, L-triptofan) ile 2-hidroksil-1- naftaldehit ve manganezin antimikrobiyal ve antifungal aktivitelerini değerlendirmiştir. Bu komplekslerin bazıları *in vitro* ortamda bazı Gram-pozitif (*Staphylococcus aureus* ve *Bacillus polymyxa*), Gram-negatif bakterilere (*Escherichia coli*) ve mantara (*Candida albicans*) karşı aktivite göstermiştir. Bununla birlikte bu antimikrobiyal aktiviteler, amino asit rezidülerinin artan miktarı ile azalma eğilimi göstermiştir (63). Bu çalışma, Ceftriaxone ile fenilalanin kombinasyonunun bazı bakteriler üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri ile tutarlılık göstermektedir.

Neu vd. (1981), sefalosporin ile birleştirilmiş Ceftriaxone'un antimikrobiyal aktivitelerini çalışmış ve sonuçları diğer β -laktam antibiyotiklerin antimikrobiyal aktiviteleri ile karşılaştırmıştır. Bu bileşik, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis*'e karşı sefalotin veya sefamandol'dan daha az aktiftir. Bununla birlikte bileşiğin 3,1 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonu çoğu *Staphylococcus aureus* izolatını inhibe etmekte sefotiksin, sefotaksim ve moksalaktam ile eşdeğerdir. Ceftriaxone, 0,25

$\mu\text{g/ml}$ altındaki konsantrasyonlarda *Streptococcus pyogenes* ve *Streptococcus pneumoniae*'yi engellemiştir fakat *Streptococcus faecalis*, 25 $\mu\text{g/ml}$ 'nin üstünde konsantrasyonlara ihtiyaç duymuştur. *Neisseria gonorrhoeae* ve *Haemophilus influenzae*, 0,1 $\mu\text{g/ml}$ ' den daha düşük düzeyde sefotaksim tarafından engellenmiştir. Ceftriaxone'un 0,006 $\mu\text{g/ml}$ 'luk konsantrasyonu ile pek çok *Proteus* türü üzerinde moksalaktam ve sefotaksim ile benzer inhibe edici aktiviteye sahipti. Ceftriaxone, *Bacteroides fragilis*'a karşı sefotiksin veya moksalaktam'dan nispeten daha az aktifti ve izolatların %90'ını engellemek için 100'den fazla mikroorganizma/ml gerektirmektedir. Bunlara ek olarak, Ceftriaxone *Pseudomonas aeruginosa*'a karşı sefoperazondan daha az aktifti. Ceftriaxone, çoğu plazmid kaynaklı beta laktamazlara karşı stabildi, fakat koromozal kökenli bazı *Enterobacter*, *Proteus* ve *Bacteroides* beta-laktamazları ile hidrolize edilebilmiştir [64]. Bu çalışma, çalışmamızda Ceftriaxone'un antimikrobiyal aktivite sonuçları ile tutarlılık göstermiştir.

5. SONUÇ

Kısaca özetlemek gerekirse, Ceftriaxone ve fenilalanin etkileşimlerinin reaksiyonları artış eğilimindedir. Ceftriaxone'un, Ultraviyole-Visible spektrofotometre kullanılarak CT-DNA ile etkileşimi incelenmiştir ve bağlanma şekli ile ilgili önemli deliller elde edilmiştir. Fenilalanin ile Ceftriaxone kombinasyonunun PH:3'de K_b değerleri, 5 dakika için 25°C sıcaklıkta $3,6 \times 10^4$, 30°C sıcaklıkta $5,6 \times 10^4$, 40°C sıcaklıkta $4,4 \times 10^4$, 50°C sıcaklıkta $5,7 \times 10^4$ ve 60°C sıcaklıkta $4,01 \times 10^4$ idi ve 20 dakika için 25°C sıcaklıkta $1,01 \times 10^5$, 30°C sıcaklıkta $1,3 \times 10^5$, 40°C sıcaklıkta $5,8 \times 10^4$, 50°C sıcaklıkta $6,8 \times 10^4$ ve 60°C sıcaklıkta $9,1 \times 10^4$ idi. Fenilalanin ile Ceftriaxone kombinasyonunun PH:7'de K_b değerleri, 5 dakika için 25°C sıcaklıkta $2,4 \times 10^4$, 30°C sıcaklıkta $2,8 \times 10^4$, 40°C sıcaklıkta $1,8 \times 10^4$, 50°C sıcaklıkta $2,05 \times 10^4$ ve 60°C sıcaklıkta $3,3 \times 10^5$ idi ve 20 dakika için 25°C sıcaklıkta $3,04 \times 10^4$, 30°C sıcaklıkta $2,04 \times 10^4$, 40°C sıcaklıkta $4,3 \times 10^4$, 50°C sıcaklıkta $6,1 \times 10^4$ ve 60°C sıcaklıkta $6,9 \times 10^3$ idi. Fenilalanin ile Ceftriaxone kombinasyonunun PH:9'da K_b değerleri, 5 dakika için 25°C sıcaklıkta $1,7 \times 10^5$, 30°C sıcaklıkta $9,8 \times 10^4$, 40°C sıcaklıkta $1,3 \times 10^6$, 50°C sıcaklıkta $1,18 \times 10^5$ ve 60°C sıcaklıkta $1,18 \times 10^5$ idi ve 20 dakika için 25°C sıcaklıkta $1,16 \times 10^5$, 30°C sıcaklıkta $1,5 \times 10^5$, 40°C sıcaklıkta $1,2 \times 10^5$, 50°C sıcaklıkta $1,28 \times 10^5$ ve 60°C sıcaklıkta $7,9 \times 10^4$ idi. Ceftriaxone ile CT-DNA'nın PH:7'de K_b değerleri ise, 25°C sıcaklıkta $3,3 \times 10^4$, 30°C sıcaklıkta $8,4 \times 10^3$, 40°C sıcaklıkta $6,6 \times 10^3$ ve 50°C sıcaklıkta $2,2 \times 10^4$ idi. Ceftriaxone, Gram-negatif (*Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Salmonella typhimurium* NRRLE 4463, *Yersinia enterocolitica* ATCC 1501, *Proteus mirabilis* ATCC 25933) bakterilere ve Gram-pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (MRSA), *Sarcina lutea* ATCC 9341) bakterilere karşı etkiler sergilemiştir. Bunlara ek olarak, fenilalanin ile Ceftriaxone'un birleşimi, çalışmadaki bütün gram-negatif bakterilere (*Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Salmonella typhimurium* NRRLE 4463, *Yersinia enterocolitica* ATCC 1501, *Proteus mirabilis* ATCC 25933) ve Gram-pozitif bakterilere (*Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (MRSA), *Sarcina lutea* ATCC 9341) karşı etki göstermiştir. Tek başına fenilalanin ise çalışılan bakteri türleri üzerinde herhangi bir etki göstermemiştir. Ceftriaxone ile fenilalaninin beraber kullanımı, Ceftriaxone'un gücünü arttırabilir. Ayrıca yapılan UV

absorbsiyon analizlerine göre sonuçlarımız, CT-DNA ile Ceftriaxone arasındaki etkileşim mekanizmalarını çözmeye yönelik olarak fikir verici niteliktedir.



KAYNAKLAR

- [1] Ehmman, D. E., Jahić, H., Ross, P. L., Gu, R. F., Hu, J., Kern, G., ... & Fisher, S. L. (2012). Avibactam is a covalent, reversible, non- β -lactam β -lactamase inhibitor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(29), 11663-11668.
- [2] Ghuyssen, J. M. (1994). Molecular structures of penicillin-binding proteins and β -lactamases. *Trends in microbiology*, 2(10), 372-380.
- [3] Abraham, E. P., & Newton, G. G. F. (1961). The structure of cephalosporin C. *Biochemical Journal*, 79(2), 377.
- [4] De Sarro, A., Ammendola, D., Zappala, M., Grasso, S., & De Sarro, G. B. (1995). Relationship between structure and convulsant properties of some beta-lactam antibiotics following intracerebroventricular microinjection in rats. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 39(1), 232-237.
- [5] Steadman, E., Raisch, D. W., Bennett, C. L., Esterly, J. S., Becker, T., Postelnick, M., ... & Scheetz, M. H. (2010). Evaluation of a potential clinical interaction between ceftriaxone and calcium. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(4), 1534-1540.
- [6] Rajan, V. S., Sng, E. H., Thirumoorthy, T., & Goh, C. L. (1982). Ceftriaxone in the treatment of ordinary and penicillinase-producing strains of *Neisseria gonorrhoeae*. *The British journal of venereal diseases*, 58(5), 314-316.
- [7] Schaad, U. B., McCracken, G. H., Looock, C. A., & Thomas, M. L. (1981). Pharmacokinetics and bacteriologic efficacy of moxalactam, cefotaxime, cefoperazone, and rocephin in experimental bacterial meningitis. *Journal of Infectious Diseases*, 143(2), 156-163.
- [8] Balant, L. P., Dayer, P., & Auckenthaler, R. (1985). Clinical pharmacokinetics of the third generation cephalosporins. *Clinical pharmacokinetics*, 10(2), 101-143.
- [9] Valesova, H., Mailer, J., Havlik, J., Hulinska, D., & Hercogova, J. (1995). Long-term results in patients with Lyme arthritis following treatment with ceftriaxone. *Infection*, 24(1), 98-102.
- [10] Li, Y., & Lu, J. (2006). Chemiluminescence flow-injection analysis of β -lactam antibiotics using the luminol-permanganate reaction. *Luminescence*, 21(4), 251-255.
- [11] Nau, R., Sörgel, F., & Eiffert, H. (2010). Penetration of drugs through the blood-cerebrospinal fluid/blood-brain barrier for treatment of central nervous system infections. *Clinical microbiology reviews*, 23(4), 858-883.

- [12] Shah, V. S., Weber, R. J., & Nahata, M. C. (2011). Contradictions in contraindications for drug-drug interactions. *Annals of Pharmacotherapy*, 45(3), 409-411.
- [13] Bradley, J. S., Wassel, R. T., Lee, L., & Nambiar, S. (2009). Intravenous ceftriaxone and calcium in the neonate: assessing the risk for cardiopulmonary adverse events. *Pediatrics*, 123(4), e609-e613.
- [14] Valesova, H., Mailer, J., Havlik, J., Hulinska, D., & Hercogova, J. (1995). Long-term results in patients with Lyme arthritis following treatment with ceftriaxone. *Infection*, 24(1), 98-102.
- [15] Kishore, K., Raina, A., Misra, V., & Jonas, E. (1993). Acute verapamil toxicity in a patient with chronic toxicity: possible interaction with ceftriaxone and clindamycin. *Annals of Pharmacotherapy*, 27(7-8), 877-880.
- [16] Davies, J. S. (1998). *Amino Acids, Peptides and Proteins* (Vol. 29). Royal society of chemistry.
- [17] Wu, G. (2009). Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino acids*, 37(1), 1-17.
- [18] Sreevaram, T., Raju, A. G., Kumar, N. V., & Sailaja, B. B. V. Influence of Dielectric Constant on Protonation Equilibria of Phenylalanine and Maleic Acid in Ethylene Glycol-Water Mixtures.
- [19] Christianson, D. W., Mangani, S., Shoham, G., & Lipscomb, W. N. (1989). Binding of D-phenylalanine and D-tyrosine to carboxypeptidase A. *Journal of Biological Chemistry*, 264(22), 12849-12853.
- [20] Reuss, S., Weiss, C., & Bayerl, C. (2006). Phenylalanine and UVA for Vitiligo patients: Probability of an effective treatment. *Medical hypotheses*, 67(1), 199-200.
- [21] Yakovchuk, P., Protozanova, E., & Frank-Kamenetskii, M. D. (2006). Base-stacking and base-pairing contributions into thermal stability of the DNA double helix. *Nucleic acids research*, 34(2), 564-574.
- [22] Watson, J. D., & Crick, F. H. (2004). A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171.
- [23] Lindahl, T. (1993). Instability and decay of the primary structure of DNA. *nature*, 362(6422), 709-715.
- [24] Berg, J. M., Tymoczko, J. L., & Stryer, L. (2002). RNA synthesis and splicing.
- [25] Sell, D. R., & Monnier, V. M. (1989). Structure elucidation of a senescence cross-link from human extracellular matrix. Implication of pentoses in the aging process. *Journal of Biological Chemistry*, 264(36), 21597-21602.
- [26] Berg, J. M., Tymoczko, J. L., & Stryer, L. (2002). RNA synthesis and splicing.

- [27] Vyas, J., Nowling, R. J., Maciejewski, M. W., Rajasekaran, S., Gryk, M. R., & Schiller, M. R. (2009). A proposed syntax for Minimoto Semantics, version 1. *BMC genomics*, 10(1), 1
- [28] Schneider, B., Patel, K., & Berman, H. M. (1998). Hydration of the phosphate group in double-helical DNA. *Biophysical journal*, 75(5), 2422-2434.
- [29] Ghosh, A., & Bansal, M. (2003). A glossary of DNA structures from A to Z. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, 59(4), 620-626.
- [30] Miyawa, J. H., & Schulman, S. G. (2001). Ultraviolet-Visible Spectrophotometry. *Handbook of Pharmaceutical Analysis*, 187.
- [31] Hirose, K. (2001). A practical guide for the determination of binding constants. *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, 39(3-4), 193-209.
- [32] Zakaria, Z. A., Raden Mohd. Nor, R. N. S., Hanan Kumar, G., Abdul Ghani, Z. D. F., Sulaiman, M. R., Rathna Devi, G., ... & Fatimah, C. A. (2006). Antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic properties of *Melastoma malabathricum* leaves aqueous extract in experimental animals. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 84(12), 1291-1299.
- [33] Manke, M. B., Dhawale, S. C., & Jamkhande, P. G. (2015). Helminthiasis and medicinal plants: a review. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(3), 175-180.
- [34] Knapp, C. C., Sierra-Madero, J. U. A. N., & Washington, J. A. (1988). Antibacterial activities of cefpodoxime, cefixime, and ceftriaxone. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 32(12), 1896-1898.
- [35] Jarrahpour, A. A., Shekarriz, M., & Taslimi, A. (2004). Asymmetric synthesis and antimicrobial activity of some new mono and bicyclic β -lactams. *Molecules*, 9(11), 939-948.
- [36] Sakıyan, I., Logoglu, E., Arslan, S., Sari, N., & Şakıyan, N. (2004). Antimicrobial activities of N-(2-hydroxy-1-naphthalidene)-amino acid (glycine, alanine, phenylalanine, histidine, tryptophane) Schiff bases and their manganese (III) complexes. *Biometals*, 17(2), 115-120.
- [37] Pasticci, M. B., Mencacci, A., Moretti, A., Palladino, N., Maria Lapalorcia, L., Bistoni, F., & Baldelli, F. (2008). In vitro antimicrobial activity of ampicillin-ceftriaxone and ampicillin-ertapenem combinations against clinical isolates of *Enterococcus faecalis* with high levels of aminoglycoside resistance. *The open microbiology journal*, 2(1).
- [38] MM, A. T., Ghithan, J., Abu-Taha, M. I., Darwish, S. M., & Abu-Hadid, M. M. (2014). Spectroscopic approach of the interaction study of ceftriaxone and human serum albumin. *Journal of Biophysics and Structural Biology*, 6(1),

- [39] Patel, S. A., Patel, N. M., & Patel, M. M. (2006). Spectrophotometric estimation of cefotaxime and ceftriaxone in pharmaceutical dosage forms. *Indian journal of pharmaceutical sciences*.
- [40] Sanbongi, Y., Suzuki, T., Osaki, Y., Senju, N., Ida, T., & Ubukata, K. (2006). Molecular evolution of β -lactam-resistant Haemophilus influenzae: 9-year surveillance of penicillin-binding protein 3 mutations in isolates from Japan. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 50(7), 2487-2492.
- [41] Pakravan, P., & Masoudian, S. (2015). Study on the Interaction between Isatin- β -Thiosemicarbazone and Calf Thymus DNA by Spectroscopic Techniques. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 14(1), 111.
- [42] Aviv, H., & Leder, P. (1972). Purification of biologically active globin messenger RNA by chromatography on oligothymidylic acid-cellulose. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 69(6), 1408-1412.
- [43] Christianson, D. W., Mangani, S., Shoham, G., & Lipscomb, W. N. (1989). Binding of D-phenylalanine and D-tyrosine to carboxypeptidase A. *Journal of Biological Chemistry*, 264(22), 12849-12853.
- [44] M. Sirajuddin; S. Ali & A. Badshah. (2013). Drug–DNA interactions and their study by UV–Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltammetry. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 124, Page NO: 1-19.
- [45] Eloff, J. N. (1998). A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta medica*, 64(08), 711-713.
- [46] Atlas, R. M. (2010). *Handbook of microbiological media*. CRC press.
- [47] Christianson, D. W., Mangani, S., Shoham, G., & Lipscomb, W. N. (1989). Binding of D-phenylalanine and D-tyrosine to carboxypeptidase A. *Journal of Biological Chemistry*, 264(22), 12849-12853.
- [48] Patel, S. A., Patel, N. M., & Patel, M. M. (2006). Spectrophotometric estimation of cefotaxime and ceftriaxone in pharmaceutical dosage forms. *Indian journal of pharmaceutical sciences*.
- [49] Rind, F. M. A., Laghari, M. G. H., Memon, A. H., Mughal, U. R., Almani, F., Memon, N., ... & Maheshwari, M. L. (2008). Spectrophotometric determination of ceftriaxone using 4-Dimethylaminobenzaldehyde. *Pak. J. Anal. Environ. Chem*, 9(1), 43-48.
- [50] Agbaba, D., Eric, S., Karljikovic-Rajic, K., Vladimirov, S., & Zivanov-Stakic, D. (1997). Spectrophotometric determination of certain cephalosporin's using ferrihydroxamate method. *Spectroscopy letters*, 30(2), 309-319.

- [51] Pasha, C., & Narayana, B. (2008). A simple method for the spectrophotometric determination of cephalosporins in pharmaceuticals using variamine blue. *Eclética Química*, 33(2), 41-46.
- [52] Pan, J., Ye, Z., Cai, X., Wang, L., & Cao, Z. (2012). Biophysical study on the interaction of ceftriaxone sodium with bovine serum albumin using spectroscopic methods. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 26(12), 487-492.
- [53] Shahabadi, N., Hadidi, S., & Feizi, F. (2015). Study on the interaction of antiviral drug 'Tenofovir' with human serum albumin by spectral and molecular modeling methods. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 138, 169-175.
- [54] Wang, Q., Liu, X., Su, M., Shi, Z., & Sun, H. (2015). Study on the interaction characteristics of cefamandole with bovine serum albumin by spectroscopic technique. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 136, 321-326.
- [55] Hu, T., & Liu, Y. (2015). Probing the interaction of cefodizime with human serum albumin using multi-spectroscopic and molecular docking techniques. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 107, 325-332.
- [56] Pakravan, P., & Masoudian, S. (2015). Study on the Interaction between Isatin- β -Thiosemicarbazone and Calf Thymus DNA by Spectroscopic Techniques. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 14(1), 111.
- [57] Kong, L., Liu, Z., Hu, X., Liu, S., & Li, W. (2012). Interaction between insulin and calf thymus DNA, and quantification of insulin and calf thymus DNA by a resonance Rayleigh scattering method. *Microchimica Acta*, 179(3-4), 307-313.
- [58] Kong, L., Liu, Z., Hu, X., & Liu, S. (2011). Interaction of polymyxin B with ds-DNA, and determination of DNA or polymyxin B via resonance Rayleigh scattering and resonance non-linear scattering spectra. *Microchimica Acta*, 173(1-2), 207-213.
- [59] Pradeep, I., Balajothi, B., Arunachalam, S., Dhivya, R., Vinothkanna, A., Akbarsha, M. A., & Sekar, S. (2016). Fluorescent active ruthenium (ii) complex units containing bpy or phen or dmp ligands anchored on branched poly (ethylenimine): DNA binding and in vitro biological assessment. *RSC Advances*, 6(38), 31831-31839.
- [60] Liu, J., Zhang, T., Lu, T., Qu, L., Zhou, H., Zhang, Q., & Ji, L. (2002). DNA-binding and cleavage studies of macrocyclic copper (II) complexes. *Journal of inorganic biochemistry*, 91(1), 269-276.
- [61] Knapp, C. C., Sierra-Madero, J. U. A. N., & Washington, J. A. (1988). Antibacterial activities of cefpodoxime, cefixime, and ceftriaxone. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 32(12), 1896-1898.

- [62] Jarrahpour, A. A., Shekarriz, M., & Taslimi, A. (2004). Asymmetric synthesis and antimicrobial activity of some new mono and bicyclic β -lactams. *Molecules*, 9(11), 939-948.
- [63] Sanbongi, Y., Suzuki, T., Osaki, Y., Senju, N., Ida, T., & Ubukata, K. (2006). Molecular evolution of β -lactam-resistant *Haemophilus influenzae*: 9-year surveillance of penicillin-binding protein 3 mutations in isolates from Japan. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 50(7), 2487-2492.
- [64] Neu, H. C., Meropol, N. J., & Fu, K. P. (1981). Antibacterial activity of ceftriaxone (Ro 13-9904), a beta-lactamase-stable cephalosporin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 19(3), 414-423.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Fadhila.M.A. OTHMAN
Doğum Yeri ve Yılı : 03. 10. 1989 - Shahat. Libya
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : moftahamir@yahoo.com



Eğitim Durumu

Lise : Suleiman Khater
Lisans : Sağlık Uzmanlığı Yüksek Enstitüsü – Medikal Laboratuar