

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

**5-FLUORO- İSATİN TİYOSEMİKARBOZON TÜREVLERİNİN  
DNA İLE ETKİLEŞİMİNİN İNCELENMESİ VE  
ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Sana Ali Mustafa SOOF**

**Danışman Yrd. Doç. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU  
Jüri Üyesi Doç. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU  
Jüri Üyesi Yrd. Doç. Dr. Hakan Sezgin SAYİNER**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK BÖLÜMÜ**

**KASTAMONU – 2017**

## TEZ ONAYI

**Sana Ali Mustafa SOOF** tarafından hazırlanan “**5-Fluoro-İsatin Tiyosemikarbozon Türevlerinin DNA İle Etkileşiminin İncelenmesi ve Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi**” adlı 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

Doç. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU  
Kastamonu Üniversitesi

Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Hakan Sezgin SAYİNER  
Adıyaman Üniversitesi

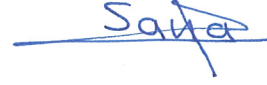
03/02/ 2017

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  
Sana Ali Mustafa SOOF



## ÖZET

Yüksek Lisans  
5-FLUORO-İSATİN TİYOSEMİKARBOZON TÜREVLERİNİN DNA İLE  
ETKİLEŞİMİNİN İNCELENMESİ VE ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN  
BELİRLENMESİ

Sana Ali Mustafa SOOF

Kastamonu Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Genetik ve Biyomühendislik Ana Bilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU

5-Fluoro-isatin-3-(N-2-Fluoro fenil) tiyosemikarbozon, 5-Fluoro isatin-3-(N-4-Fluoro fenil) tiyosemikarbozon, 5-Fluoro fenil-3-(N-4-Nitro fenil) tiyosemikarbozon, 5-Fluoro fenil-3-(N-2-Fluoro fenil)-Zn tiyosemikarbozon, 5-Fluoro fenil-3-(N-4-Fluoro fenil)-Zn tiyosemikarbozon ve 5-Fluoro isatin-3-(N-4-Nitro fenil)-Zn tiyosemikarbozon, 5-Fluoro isatin tiyosemikarbazit türevlerinin reaksiyonu ile sentezlenmiştir. Seçilen bakteriler için antibakteriyal aktivite incelenmiştir. Sentezlenen bu moleküller ile buzağı timus DNA'nın (CT-DNA) etkileşimini incelemek için Ultraviyole-visible (UV-Vis) spektroskopik yöntem kullanılmıştır. Bileşikler (1-6), *Serratia marrescens*, *Staphylococcus huminis*, *Staphylococcus edidermis* ve *Klebsiella pneumonia* üzerinde inhibisyon zonları göstermiştir. Bileşikler (1-6), CT-DNA ile de etkileşim sergilemiştir. Bu bileşikler, CT-DNA ve mikroorganizmalar üzerindeki etkilerine göre potansiyel ilaçlar olabilir. Bunun yanında bu bileşiklerin *in vivo* aktivitesi ve toksisitesini değerlendirmek için ileri araştırmaların yapılması önerilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** 5-Fluro isatin tiyosemikarbazon, DNA etkileşimi, antimikrobiyal aktivite.

**2017, 55 sayfa**

**Bilim Kodu: 923**

## ABSTRACT

MSc. Thesis

### IDENTIFICATION OF INTERACTION OF 5- FLUORO ISATIN THIOSEMICARBAZONE DERIVATIVES WITH DNA AND DETERMINATION OF THEIR ANTIMICROBIAL ACTIVITIES

Sana Ali Mustafa SOOF

Kastamonu University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Genetics and Bioengineering

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU

**Abstract:** 5-Fluoro isatin -3-(N-2-Fluoro phenyl) thiosemicarbazone, 5-Fluoro isatin -3-(N-4-Fluoro phenyl) thiosemicarbazone, 5-Fluoro isatin -3-(N-4-Nitro phenyl) thiosemicarbazone, 5-Fluoro isatin -3-(N-2-Fluoro phenyl)-Zn thiosemicarbazone, 5-Fluoro isatin -3-(N-4-Fluoro phenyl)-Zn thiosemicarbazone and 5-Fluoro isatin -3-(N-4-Nitro phenyl)-Zn thiosemicarbazone were synthesized by the reaction of 5-Fluoro isatin thiosemicarbazide derivatives. Antibacterial activity was studied for selected bacteria. Ultraviolet-visible (UV-Vis) spectroscopic method was used to investigate the interaction of Calf Thymus DNA (CT-DNA) with these synthesized molecules. The compounds (1-6) showed inhibition zones on *Serratia marrescens*, *Staphylococcus huminis*, *Staphylococcus edidermis* and *Klebsiella pneumonia*. In addition, compounds (1-6) displayed interaction with CT-DNA. These compounds may be potential drugs according to their effects on CT-DNA and microorganisms. Besides further studies may be suggested to evaluate *in vivo* mode of action and toxicity of these compounds.

**Key Words:** 5-Fluoro-isatin thiosemicarbazone, DNA interaction, antimicrobial activity.

**Year 2017, 55 pages**

**Science Code: 923**

## TEŞEKKÜR

Söz konusu tezin başarılı bir şekilde tamamlanmasına katkıda bulunan aşağıda bahsi geçen kişilere teşekkürlerimi sunuyorum. Danışmanım Yrd. Doç Dr. Yasemin Çelik Altunoğlu ve Prof. Dr. Fatma Kandemirli'ye en candan teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca, harika danışmanlığı ve bilgi birikimini paylaşma kabiliyeti için de teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca, Doç. Dr. Mehmet Cengiz Baloğlu ve Prof. Dr. Fatma Kandemirli'ye çalışmamın her anında ve her aşamasında ayırdıkları zaman, tavsiyeleri ve sabırları için teşekkür ediyorum. Bunun yanında yardımları ve değerli zamanları için Kastamonu Üniversitesi çalışanlarına, özellikle Genetik ve Biyomühendislik Laboratuvarı çalışanlarına teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca, jüri üyelerine zamanları, çabaları ve tavsiyeleri için minnettarım. Öğrenim fırsatını bana verdiği için ülkeme (Libya) minnettarım ve çalışmam süresince verdikleri desteği sürdürdükleri için tüm aileme, özellikle anne ve babama ve eşime de özel olarak teşekkür ediyorum.

Son olarak, destekleri için Kastamonu Üniversitesindeki tüm yıl boyunca benimle birlikte olan herkese ve tüm sınıf arkadaşlarıma teşekkür ediyorum.

Sana Ali Mustafa SOOF  
Kastamonu, Şubat, 2017

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
ŞEKİLLER.....	ix
TABLolar .....	x
GRAFİKLER .....	xi
1. GİRİŞ .....	1
1.1. Tiyosemikarbazit.....	1
1.2. 5-Fluoro İsatın Tiyosemikarbozon.....	4
1.3. DNA Yapısı.....	5
1.4. Nükleozit Difosfatlar ve Nucleozit Trifosfatlar .....	8
1.5. Ultraviyole-Görölür Spektrofotometre.....	9
1.6. Biyolojik Aktiviteler .....	11
1.6.1. Antimikrobiyal Aktivite .....	11
2. KURAMSAL ÇERÇEVE .....	13
3.MATERYAL VE YÖNTEM .....	16
3.1. Ligand ve İsatın Tiyosemikarbozon Metal Kompleksi Sentezi .....	16
3.1.1. 4-Nitro Tiyosemikarbazit Sentezi .....	16
3.1.2. 4- Fluro Tiyosemikarbazit Sentezi .....	17
3.1.3. 5- Fluro isatin-3- (N-2-Fluro fenil) TSC Sentezi (H2FI2FTSC).....	18
3.1.4. 5- Fluro isatin -3-(N-4-Fluro fenil) TSC Sentezi (H2FI4FTSC).....	18
3.1.5. 5-Fluro isatin -3-(N-4-Nitro fenil) TSC Sentezi (H2FI4NTSC) .....	18
3.1.6. 5- Fluro isatin-3-(N-2-Fluro fenil) TSC (H2FI2FPTSC) + Çinko Sentezi .....	18
3.1.7. 5- Fluro isatin-3-(N-4-Fluro fenil) TSC (H2FI2FPTSC) + Çinko Sentezi .....	19
3.1.8.5- Fluro isatin-3-(N-4-Nitro fenil) TSC (H2FI2FPTSC) + Çinko Sentezi .....	19

3.2. Extinction Katsayısı.....	19
3.3. CT-DNA ile İsatın Tiyosemikarbozon Komplekslerinin Absorbans Spektrumu .....	20
3.4. Antimikrobiyal Aktiviteler .....	21
3.4.1. Mikroorganizma suşları.....	21
3.4.2. Bakteri İzolasyonu.....	22
3.4.3. Besiyerinin Hazırlanması .....	23
3.4.4. Mikrobiyal Aktivite Testi.....	24
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA .....	25
4.1. UV-Vis analizine göre Ligand ve İsatın Tiyosemikarbozon Metal Komplekslerinin Extinction Katsayısı .....	25
4.1.1. 5- Fluro isatin-3-(N-2-Fluro fenil) TSC (H <sub>2</sub> FI <sub>2</sub> FPTSC) .....	26
4.1.2. 5- Fluro isatin-3-(N-4-Fluro fenil) TSC (H <sub>4</sub> FI <sub>2</sub> FPTSC).....	27
4.1.3. 5- Fluro isatin-3-(N-4-Nitro fenil) TSC (H <sub>4</sub> NI <sub>2</sub> FPTSC) .....	28
4.1.4. 5- Fluro isatin-3-(N-2-Fluro fenil) TSC (H <sub>2</sub> FI <sub>2</sub> FPTSC) + Zn .....	29
4.1.5. 5- Fluro isatin-3-(N-4-Fluro fenil) TSC (H <sub>2</sub> FI <sub>4</sub> FPTSC) + Zn .....	30
4.1.6. 5- Fluro isatin-3-(N-4-Nitro fenil) TSC (H <sub>4</sub> NI <sub>2</sub> FPTSC) + Zn.....	31
4.2. CT-DNA ile İsatın Tiyosemikarbozonun Absorbans Spektrumu .....	33
4.3. Antimikrobiyal Aktiviteler.....	39
5. SONUÇ .....	44
KAYNAKLAR .....	45
ÖZGEÇMİŞ .....	55



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DNA	Deoksiribonükleik Asit
4-Ptsc	4-Fenil Tiyosemikarbozon
RNA	Ribonükleik Asit
MTB H37RV	Mycobacterium Tüberküloz H37rv
HIV	İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
Zn	Çinko
Ni	Nikel
Co	Kobalt
Cu	Bakır
Fe	Demir
Pd	Paladyum
Pt	Platin
A	Adenin
G	Guanin
C	Sitozin
T	Timin
H	Hidrojen
Ibt	İzatin B-Tiyosemikarbazon
3-Mbtsc	3-Metibütanol Tiyosemikarbazon
Puc19	Kaliforniya, Plasmid Üniversitesi 19
Uv-Vis	Ultraviyole-Görülür Spektroskopi
H	Saat
Gr	Gram
Ml	Milimetre
mmol	Milimol
mM	Mili Molar
µl	Mikro Litre
PDB	Protein Veri Bankası
DFT	Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi
DMSO	Dimetil Sülfoksit
CT-DNA	Buzağı Timus Deoksiribonükleik Asit
ITSC	İzatin Tiyosemikarbazon
ATP	Adenozin Trifosfat
GTP	Guanozin Trifosfat
NMP	Nükleozid monofosfat
NDPs	Nükleozid Difosfat
NTPs	Nükleozid Trifosfat

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 1.1. Tiyosemikarbazit yapısı .....	1
Şekil 1.2. İsatın 3-Tiyosemikarbozon Yapısı .....	2
Şekil 1.3. 5-Fluoro isatin Yapısı .....	4
Şekil 1.4. DNA Yapısı .....	5
Şekil 1.5. Pirimidin Halkası ve Pürin Halkası .....	6
Şekil 1.6. Azotlu bazlar .....	6
Şekil 1.7. Pentoz şekeri .....	7
Şekil 1.8. Nükleozid ve nükleotid .....	7
Şekil 1.9. Nükleozid dNDP– NTP .....	8
Şekil 1.10. 4-Nitro Tiyosemikarbazit Yapısı .....	17
Şekil 1.11. 4-Fluro Tiyosemikarbazit Yapısı .....	17

## TABLULAR DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Tablo 3.1. Sentezlenen kimyasal bileşiklerin listesi .....	16
Tablo 3.2. Farklı bakteri türlerinin listesi. ....	22
Tablo 4.1. Kimyasal bileşiklerin listesi.....	25
Tablo 4.2. 0,1 M konsantrasyon ile sentezlenen bileşiklerin antimikrobiyal aktivite inhibisyon zonları.....	39



## GRAFİKLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Grafik 4.1. 5-Fluoro isatin-3-(N-2-Fluoro fenil) TSC Extinction katsayısı.....	26
Grafik 4.2. 5-Fluoro isatin-3-(N-4-Fluoro fenil) TSC Extinction katsayısı.....	27
Grafik 4.3. 5-Fluoro isatin-3-(N-4-Nitro fenil) TSC Extinction katsayısı .....	28
Grafik 4.4. 5-Fluoro isatin-3-(N-2-Fluoro fenil) TSC (H2FI2FPTSC)+ Zn'nin Extinction katsayısı .....	29
Grafik 4.5. 5-Fluoro isatin-3-(N-4-Fluoro fenil) TSC (H2FI4FPTSC)+ Zn'nin Extinction katsayısı .....	30
Grafik 4.6. 5-Fluoro isatin-3-(N-4-Nitro fenil) TSC (H4NI2FPTSC)+ Zn'nin Extinction katsayısı .....	31
Grafik 4.7. 5-Fluoro isatin-3-(N-2-Fluoro Fenil) Tiyosemikarbozon bileşiği ile CT-DNA etkileşimi .....	34
Grafik 4.8. 5-Fluoro isatin-3-(N-4-Fluoro Fenil) Tiyosemikarbozon bileşiği ile CT-DNA etkileşimi .....	35
Grafik 4.9. 5-Fluoro isatin-3-(N-4-Fluoro Fenil) Tiyosemikarbozon bileşiği ile CT-DNA etkileşimi .....	35
Grafik 4.10. 5-Fluoro isatin-3-(N-2-Fluoro Fenil) Tiyosemikarbozon+Zn bileşiği ile CT-DNA etkileşimi .....	36
Grafik 4.11. 5-Fluoro isatin-3-(N-4-Fluoro Fenil) Tiyosemikarbozon+Zn bileşiği ile CT-DNA etkileşimi .....	36
Grafik 4.12. 5-Fluoro isatin-3-(N-4-Nitro Fenil) Tiyosemikarbazon + Zn bileşiği ile CT.DNA etkileşimi.....	37
Grafik 4.13. <i>Klebsiella pneumonia</i> , <i>Serratia marrescens</i> , <i>Staphylococcus humini</i> ve <i>Staphylococcus edidermis</i> 'e karşı 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 bileşikleri için inhibisyon zonları .....	40

## FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Fotoğraf 3.1. (a) UV-Vis Spektrofotometre, (b) Kuvars Küvetler.....	20
Fotoğraf 3.2. Besiyerinin Hazırlanması .....	23
Fotoğraf 3.3. Besiyeri ile petri kutularının doldurulması.....	23
Fotoğraf 4.1. (a): <i>Klebsiella pneumonia</i> , (b): <i>Serratia marrescens</i> , (c): <i>Staphylococcus huminis</i> , (d): <i>Staphylococcus edidermis</i> için ligand ve isatin-Tiyosemikarbazonun metal komplekslerinin inhibisyon zonları .....	41



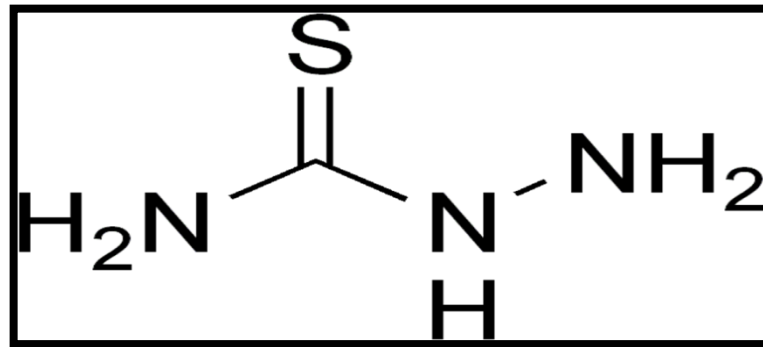
# 1. GİRİŞ

## 1.1. Tiyosemikarbazit

Tiyosemikarbazit, beyaz bir kristal tozudur ve kokusuzdur. Bu madde, ketonlar ve sabit metaller için bir ayıraç olarak, fotoğraf için ve rodentisid olarak kullanılmaktadır. Bir tiyosemikarbazit, oksijen atomu yerine sülfür partikülü olan bir türevidir. Yapı, cis adaptasyonundaki protonlu katyonlardan, örneğin, C-S bağına (çift bağ, uzunluk yarı m-çizgisi) doğru kıvrılan  $-NH-NH_2$  bağı ile klorür anyonlarından oluşmaktadır. Baskılama,  $-NH_2^+$ ,  $-NH_2$  (sola yayılan çift bağ) ve  $Cl^-$  ve  $S^+$  olan NH bağları ile çerçeveselendirilen hidrojen bağları ile belirlenmektedir [1].

Non-hidrojen molekülünün ayrılma stratejisi, neredeyse düzlemseldir ve burada hidrazin  $NH_2$  bağı ve sülfür atomu, C-NH grubu için de olduğu gibi bir transpozisyon halindedir.

C-S, C-N1, C-N1, N2-N3 için bağ uzunlukları sırasıyla 1,685 Å, 1,313 Å, 1,337 Å, 1,399 Å şeklindedir. SCN2, SCN ve CN2-N3 için bağ açıları sırasıyla 119,7, 118,8 ve 112,5'dur. Hidrazinin N(3)'ü için ise 0,04 şeklindedir ve tiyoüre ayrımı üzerinden seviyenin dışındadır [2]. Tiyosemikarbazit yapısı Şekil 1.1'de verilmiştir.

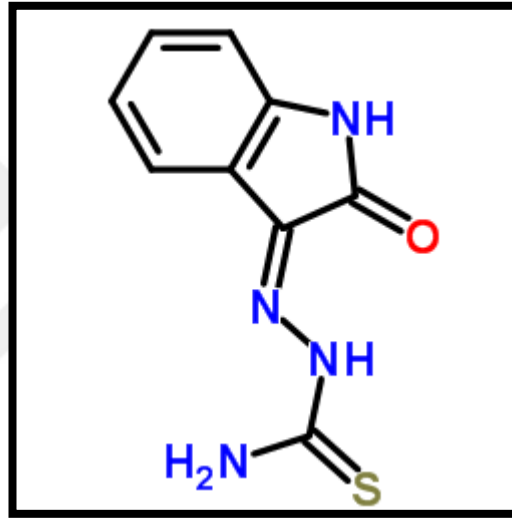


Şekil 1.1. Tiyosemikarbazit yapısı [3].

Benzer şekilde tiyosemikarbazit, tiyosemikarbazit kesitinde elektron delokalizasyonuna yorulan antibakteriyal özelliklere sahiptir [4].

4-Metil-3-tiyosemikarbazit yutulması, ölüme neden olabilir. 4-Metil-3-tiyosemikarbazit, “solunum sisteminin, derinin ve gözlerin tahriş olmasına neden olduğu için tehlikeli bir madde” olarak sınıflandırılmaktadır [5].

İsatin tiyosemikarbozon, semikarbazit ve aldehit veya keton reaksiyonu ile sentezlenen bir imin türüdür. Semikarbazitin terminal NH<sub>2</sub> grubu ve bir aldehit veya ketonun reaksiyonu ile elde edildiklerinden bunlara amin türevleri denmektedir. Farklı tiyosemikarbozon türevleri bulunmaktadır. Bunlardan bir tanesi Isatin 3-tiyosemikarbozondur (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. İsatın 3-Tiyosemikarbazon Yapısı [6].

Tiyosemikarbozon türevlerinin antikanser, antimikrobiyal, antitümör, antitüberküler, sodyum kanal blokeri gibi çok yönlü biyolojik ve farmalojik faaliyetleri vardır [6-7]. Tiyosemikarbozonların antikanser etkileri, DNA sentezinin hız sınırlayıcı aşamalarına katılan bir bileşik olan ribonükleotid redüktaz engeline atfedilmiştir [8].

Tiyosemikarbozonlar, insan hastalıkları için potansiyel profilaktik tedavi ajanları olarak en erken 1946'dan başlayan çok uzun bir geçmişe sahiptir. Tiyosemikarbozonlar, bazı DNA ve RNA virüslerine karşı geniş spektrumlu bir antiviral etkinliğe sahip olduğu bilinen ilk antiviral bileşiklerdir. Güney Hindistan'da, 1965 yılında, metisazon veya marboran olarak adlandırılan N-metil isatin-β-tiyosemikarbozonun, çiçek hastalığı kemoprofilaksisi için etkili bir antiviral ilaç olarak kullanıldığı ve bu ilacın gönüllü insanlarda denendiği gözlemlenmiştir [7].

İsatin- $\beta$ -tiyosemikarbozon türevlerinin, Vaksinia virüsleri ve Moloney leukemia gibi virüsler için bir dizi antiviral faaliyette bulunduğu izlenimini verdiği bildirilmiştir [9-10]. Bunlara ek olarak, bazı isatin- $\beta$ -tiyosemikarbozon türevlerinin, nörovaksin ve farelerdeki bazı farklı poksvirüs kontaminasyonlarına karşı yüksek faaliyeti vardır [11]. İsatinin tiyosemikarbozonu son derece aktif bulunmuştur [12]. Geçkin vaksinia virüs soylarının gelişimi, isatin- $\beta$ -tiyosemikarbozon ile engellenebilir [13].

Heterosiklik tiyosemikarbozonlar, memeli hücrelerinde DNA öncülerinin sentezinde anahtar bir enzim olan ribonükleotid redüktazı engelleyerek yaptığı yararlı tedavi özellikleri sebebiyle uygulanmıştır [14]. *Mycobacterium tuberculosis*'e (MTB H37Rv) karşı isatin-3-tiyosemikarbozon aktivitesi, bazı farklı çalışmalarda ortaya konmuştur [15]. İsatinin tiyosemikarbozon türevleri, HIV nükleoprotein sentezinin inhibisyonu için de test edilmiştir [16].

Tiyosemikarbozonların, ilaç sanayiinde önemli bir yeri vardır. Karbonil ve C=N grupları içeren pek çok heterosiklik kompleksler, organik sentezde bu bileşikleri kullanarak sentezlenen triazol ve tiazol gibi biyolojik olarak önemli moleküllerin sentezi için önemlidir [17].

Tiyosemikarbazit ve onun hidrazonları gibi hidrazin alt gruplarının kimyası, geniş yapay, bilimsel uygulamalar ve biyolojik faaliyetlerinden dolayı önemli ilgi konularından biridir [18-19].

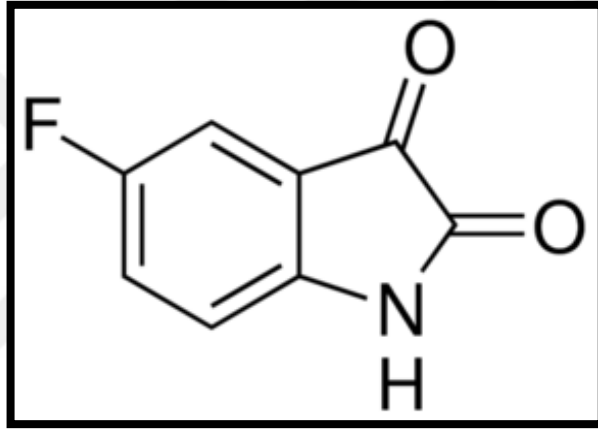
İsatin Tiyosemikarbozon kompleksleri ve türevleri, hücre hatlarının yarı geçirgen zarları üzerinden geçiş kabiliyetlerinden dolayı anti kanser [20], anti-HIV [21], antibakteriyal [22], antiviral [23] ve antifungal [24] gibi biyolojik aktivitelerde özel bir rol oynamaktadır [25, 26]. İsatin türevleri, antineoplastik, antihipertansif ve yatıştırıcı etkileri olan farmalojik özelliklerinden dolayı yararlıdır [27-44]. İsatin-tiyosemikarbozon türevleri, antimikrobiyal, antikanser, antiviral, tüberküloz, antiplasmodiyal ve sitotoksik etkinlikler içeren kemoterapotik özelliklerin büyük kısmını açıklamak için kullanılmıştır [27-31, 33, 34, 37, 45, 46]. İsatin tiyosemikarbozonlar, nitrojen ve sülfür vasıtasıyla potansiyel bağlanma yeri sağlayan



başarılı ligandlardır [34-49]. Pek çok organik ve organometalik bileşikler, tiyosemikarbozon ile sentezlenmiştir [50].

### 1.2. 5-Fluoro İsatın Tiyosemikarbozon

5-Fluoro isatin tiyosemikarbozon, isatin tiyosemikarbozon komplekslerinden sentezlenen bir bileşiktir. 5-Fluoro isatin, Sunitinib (Sutent) ilacının kılavuzu olarak kaydedilmiştir. 5-Fluoro isatin, gastrointestinal stromal tümör ve renal hücreli karsinom tedavisi için 2006 yılında Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından bilimsel olarak saptanmıştır [51].



Şekil 1.3. 5-Fluoro isatin yapısı [52].

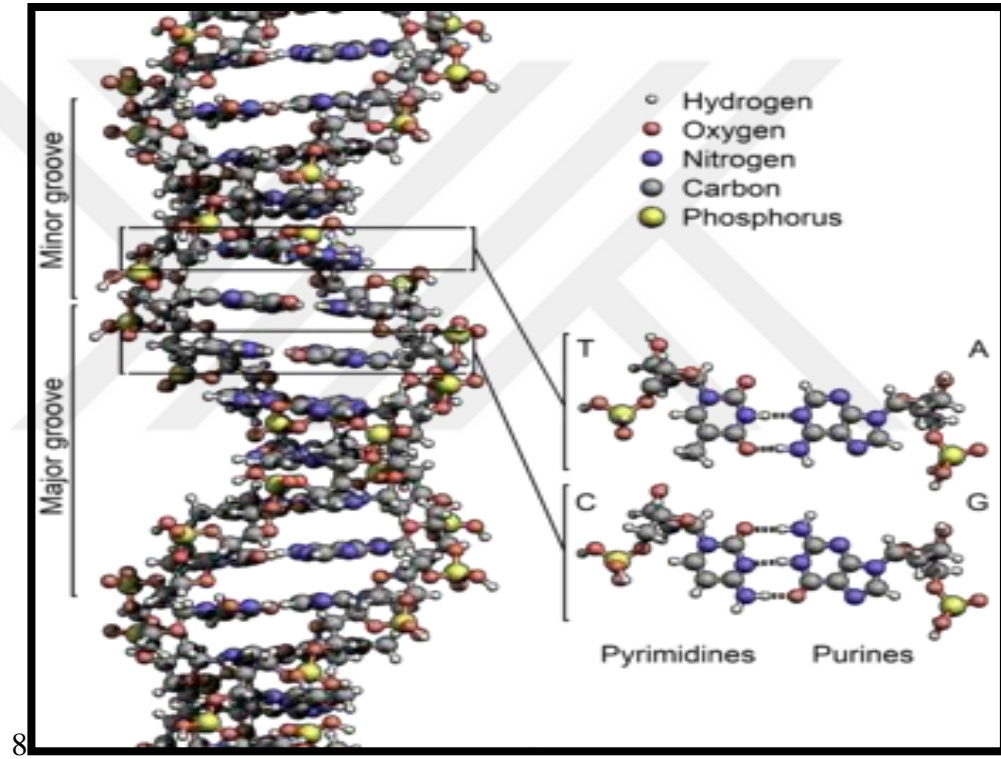
### 5- Fluoro isatin:

- $^{19}\text{F}$  manyetik eko spektroskopisi ile peroksinitritin canlı hücrede tespiti için reaksiyona dayalı ekskavatör olarak [53],
- Canlı akciğerdeki non-invazif peroksinitrit ( $\text{ONOO}(-)$ ) oluşumunun belirlenmesinde interferon- $\gamma$  ( $\text{IFN-}\gamma$ ) ile uyarılmış epitelyal hücrelerde [53],
- Herhangi bir organik solvent veya asit katalizörü kullanılmadan su süspansiyon ortamında aromatik temel bis-aminler ile kuvvetlendirme aracılığıyla bis-Schiff bazları sentezinde kullanılmıştır [54].

### 1.3. Deoksiribonükleik Asit (DNA) Yapısı

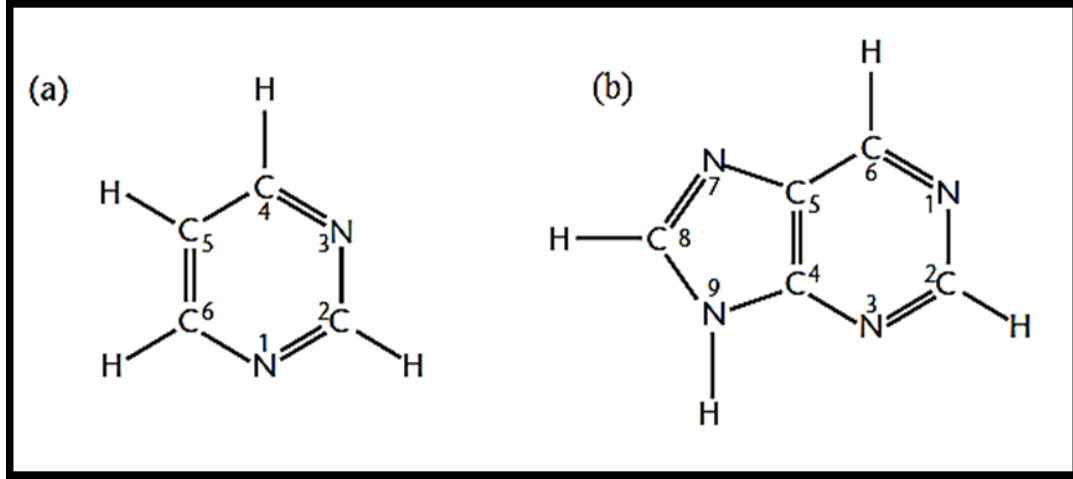
DNA, üç bileşen içeren nükleotidlerden (mononükleotidler) oluşmaktadır:

- Azotlu baz
- Pentoz (beş karbonlu şeker)
- Fosfat grubu



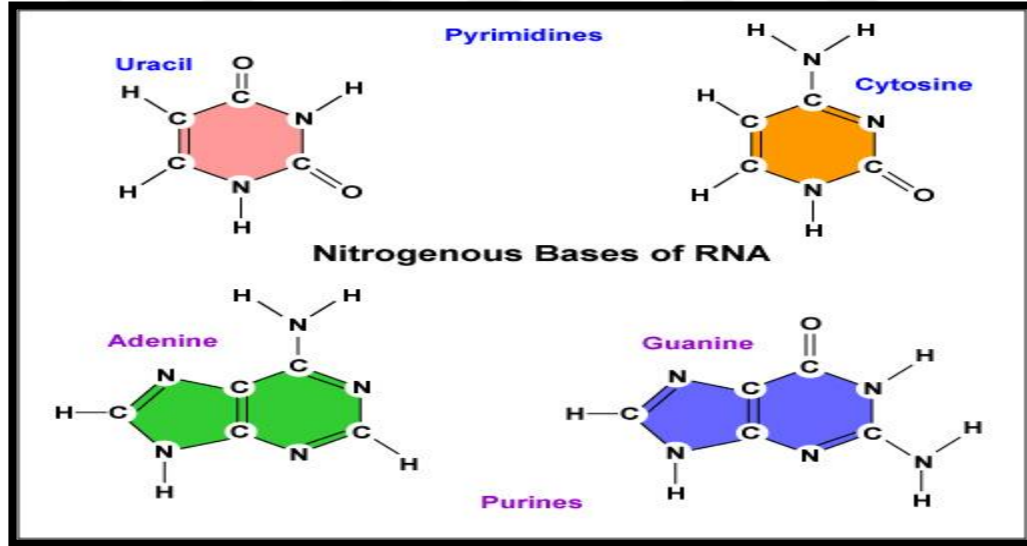
Şekil 1.4. DNA'nın yapısı [55].

Azotlu bazlar, iki tür baza sahiptir: çift halkalı pürinler ve tek halkalı pirimidinler. Nitrojen ve karbon atomu, pürin halkası ve pirimidin halkası yapısındadır. Pürin halkası ve pirimidin halkasındaki özdeş atomlar, farklı şekilde numaralandırılmıştır (Şekil 1.4, Şekil 1.5) [55, 56].



Şekil 1.5. Pirimidin Halkası [a] ve Pürin Halkası [b] [56].

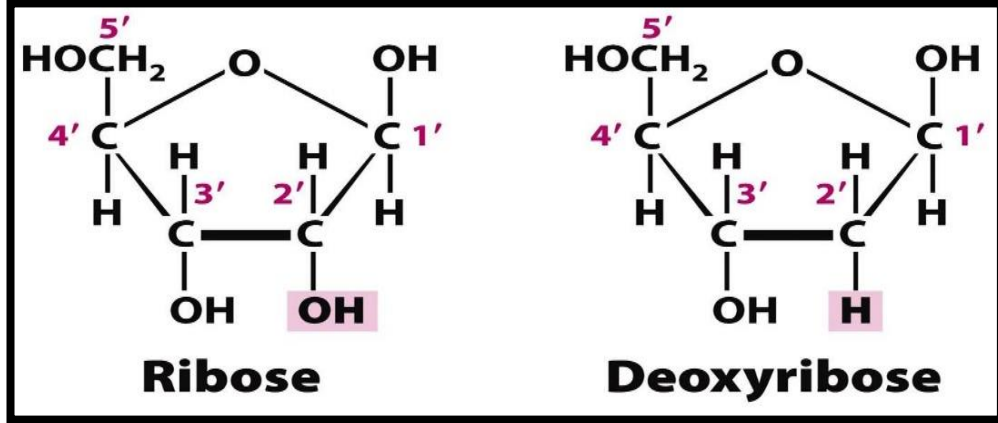
Pürin halkasının iki çeşidi vardır: Adenin (A) ve Guanin (G). Bunun yanı sıra, Urasil (U), Sitozin (C) ve Timin (T) diye adlandırılan üç tane pirimidin halkası türü vardır. DNA ve ribonükleik asitler (RNA), azotlu bazlar olarak Guanin, Adenin ve Sitozinden oluşmaktadır. Fakat DNA’da Timin bazı varken, RNA’da ise Timin bazı yerine Urasil bazı bulunmaktadır (Şekil 1.6) [57].



Şekil 1.6. Azotlu bazlar [57].

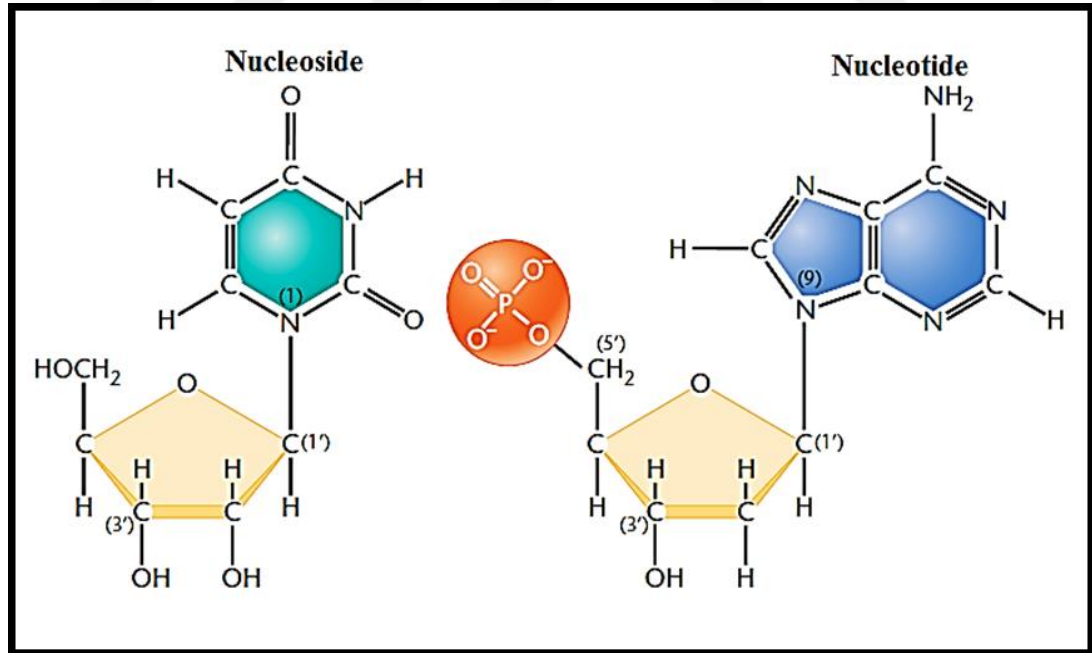
DNA ve RNA arasındaki bir diğer fark, pentoz şekerlerdir. DNA’daki şeker deoksiriboz denilmekte ve RNA’daki şekerin ismi ise ribozdur. Deoksiriboz, C-2 konumunda bir hidrojen atomu içermektedir fakat ribozun C-2 konumunda bir

hidroksil grubu vardır. Bu sebeple, deoksiriboz daha çok 2-deoksiriboz olarak adlandırılır (Şekil 1.7) [58].



Şekil 1.7. Pentoz şekeri [58].

Nükleozit kimyasal birimi, pürin veya pirimidin bazları ve bir riboz şekeri veya deoksiriboz şekeri ihtiva eder. Eğer nükleozite bir fosfat grubu eklenirse, nükleotid adı verilen bir diğer kimyasal birim meydana gelecektir (Şekil 1.8) [59].



Şekil 1.8. Nükleozid ve nükleotid [59].

Azotlu baz, şekerdeki C-1 atomuna bağlanır. Şeker, pürin bazındaki N-9 atomuna bağlanır, fakat farklı olarak pirimidin bazında şeker N-1'e bağlanır. Fosfat grubu, Şekil

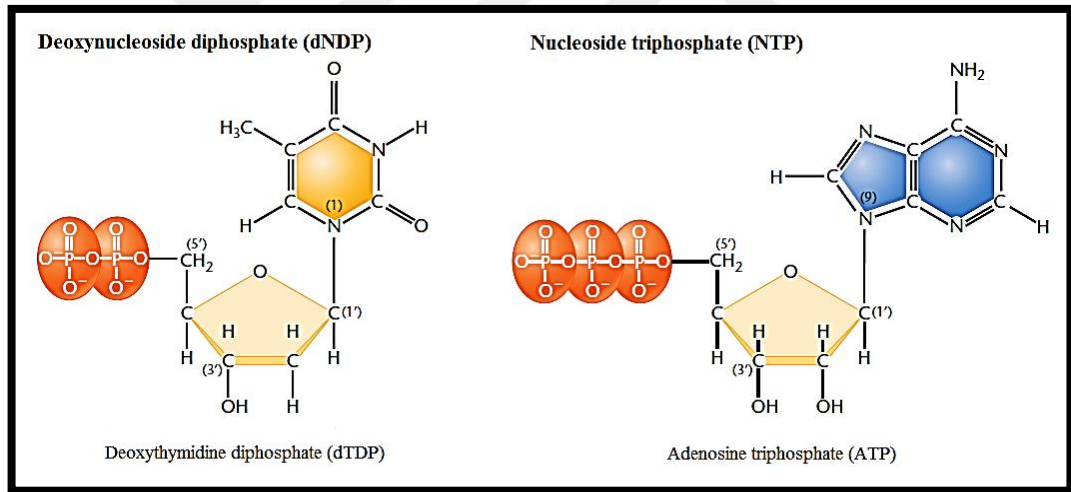
1.8.'de görüldüğü gibi deoksiriboz şekerde C-5'e bağlanır [58]. Bu form, biyolojik sistemlerde bilinen formdur ve DNA ve RNA formülünde bulunur.

#### 1.4. Nükleozid Difosfatlar ve Trifosfatlar

Nükleotidlerin diğer ismi, nükleozid monofosfattır (NMP). Fosfat grubuna göre, nükleozid fosfatlara şu isim verilir:

- Nükleozid Difosfatlar (NDPler) (bir fosfatlı grup).
- Nükleozid Trifosfatlar (NTP'ler) (iki fosfatlı gruplar) (Şekil 1.9).

Trifosfat formu, hücre içerisindeki nükleik asitlerin sentezinde ilk molekül olarak kullanılır dolayısıyla hücresel etkinlikler açısından çok önemlidir [60].



Şekil 1.9. Nükleozid fosfatlar; NDP ve NTP [61].

Buna ek olarak, hücredeki adenozin trifosfat (ATP) ve guanozin trifosfattan (GTP) gelen büyük miktardaki enerjilerinden dolayı hücre biyoenerjitiğinde çok önemlidirler. Bu enerji, terminal fosfat grubunu eklemeye veya çıkarmaya kullanılmaktadır. Bu özellikten dolayı hem ATP hem de GTP pek çok hücresel etkinlikte yer almaktadır [60]. Serbest bırakılan enerji (GTP veya ATP hidrolizinin sonucu olarak GDP veya ADP ve inorganik fosfat (Pi) hücresel reaksiyonları yönlendirmek için kullanılmaktadır [60].

## 1.5. Ultraviyole-Visible (UV-Vis) Spektrofotometre

Her DNA denkleminin ve ayrıca küçük madde molekülleri ile olan etkileşimlerin öğrenilmesi için büyük ihtimalle en basit ve genel olarak en çok kullanılan enstrümantal bir stratejidir. DNA ve küçük moleküller arasındaki etkileşim, UV-Vis spektrofotometre kullanılarak başarılı bir şekilde izlenebilir [62].

UV-Vis spektrofotometre ile görür bölgede gözlemlenen bandın maksimumundaki kayma konumu analiz edilerek ligandlar ve DNA arasındaki etkileşim incelenebilir. [62-65].

Nükleik asitler, pirimidin (CT) ve pürin (AG) parçalarındaki kromoforik gruplardan dolayı elektron geçişleriyle açıklanabilen 260 nm'de maksimum absorpsiyon vermektedir. Bu geçişlerin olma şansı yüksektir, dolayısıyla molar absorptivite ( $\epsilon$ ) $10^4$  M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> düzeyindedir [66].

Bu teknik, 260 nm'de absorpsiyon değeri ölçümü ile DNA konsantrasyonunun doğrulanmasına izin vermektedir. Nükleik asidin saflığı, absorpsiyon oranları ile açıklanabilmektedir (A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> ve A<sub>260</sub>/A<sub>230</sub>). Bu oran, DNA'nın proteinden yeterince arınmış olduğunu doğrulamak için 1,8 ile 1,9 arasında olmalıdır [67].

pH veya iyonik basınç gücündeki farklılık ile maksimum absorpsiyondaki genellikle de molar absorptivitedeki küçük değişiklikler meydana gelebilir. Serbest ilaç UV-Vis absorpsiyon spektrumları ve ilaç-DNA komplekslerinin absorpsiyon spektrumları arasında varyasyonlar bulunmaktadır.

Bileşikler ile DNA'nın bağlanması, aromatik kromofor ve deoksiribonükleik asit baz çifti arasında meydana gelen toplayıcı bir etkileşim olan hipokromik ve batokromik etkiyi ortaya çıkarır. Hipokromizm, CT-DNA konsantrasyonunun artması ile meydana gelen absorpsiyondaki düşüştür. Ayrıca, CT-DNA konsantrasyonunun artmasıyla absorpsiyonda meydana gelen bir artış ise hiperkromizm olarak adlandırılmaktadır [68].

Kromofor ve deoksiribonükleik asit bazları indirgenmeleri arasındaki uzaklığa göre elektronik etkileşiminin dayanıklılığı azalabilmektedir. Hipokromik bazlar, araya giren bir bileşik ve deoksiribonükleik asit arasındaki mesafeyi azaltarak meydana gelmektedir [69,70].

Hiperkromik etki, özdeş deoksiribonükleik asit konformasyon ve bileşim açısından değişikliklerini ve kompleksin ve DNA etkileşiminin süresini yansıtmaktadır. Hipokromik etki DNA soğurumunu bariz bir şekilde azaltmaktadır.

İstifleyici etkileşimler, hidrojen bağları ve tamamlayıcı bazlar arasındaki hidrofobik etki, iki DNA zincirinin bağlanması için önemli bir nedendir. Örneğin, hidrojen bağı sınırlı absorbansına göre aromatik halkanın rezonansını sınırlandırmaktadır. Eğer DNA çift sarmalı denatüre edici ajanlarla muamele edilirse, DNA çift sarmal etkileşimine zarar verecektir ve daha sonra çift sarmal, organize olmayan bir yapı olan iki tekli diziye ayrılacaktır. Aynı zamanda, çeşitli bazlar serbest haldedir ve tamamlayıcı bazlar ile hidrojen bağı oluşturamazlar. Bu sebeple baz-baz etkileşimi azalır ve DNA çözeltisinin UV absorbansı artar. Çift sarmallı DNA absorbansı, aynı konsantrasyondaki tek iplikli DNA için olduğundan % 40 daha düşük olacaktır. Bunlara ek olarak, DNA omurgasının fosfat grubuna elektrostatik çekim yoluyla bağlanan yüklü katyonların varlığı nedeniyle hipokromik etki kaçınılmaz şekilde meydana gelmektedir. Bu da, sekonder DNA yapılarında bir küçülmeye ve kapsamlı bir hasara neden olabilir [71,72]. Hipokromik etki ayrıca, ya harici bir bağlantıya ya da DNA sarmal yapısının kısmi çözülmesine bağlanabilmektedir [73].

Hipokromik etki ayrıca, ya harici bir bağlantıya ya da DNA'nın heliks yapısının kısmi çözülmesine bağlanmaktadır [73].

Eğer gerçeği yansıtmayan profiller içerisinde önemli kayma değişiklikleri olmadan güçlü bir etkileşim mevcut olmazsa, hipokromik veya hiperkromik etkiler meydana getirilebilir [66, 74].

## **1.6. Biyolojik Aktiviteler**

Tiyosemikarbozon grubunun, yüksek biyolojik etkinliği vardır ve bunlar çok uygun ligandlardır.

Bu ligandların biyolojik etkinlikleri, enzimlerdeki metal merkezini düzenleme kabiliyetleri olduğundan anhatar öneme sahiptirler [75]. Hayatımızda önemli bir parçayı temsil ederler. Tiyosemikarbozon türevleri, çeşitli doğal ve farmalojik etkinliklerinden dolayı da özel bir öneme sahiptir.

Tiyosemikarbozon türevleri, odak duyu sisteminin, bakteriyel kontaminasyonun tedavisinde ve bunlara ek olarak acı giderme amaçlı olarak tıpta kullanılmaktadır [76].

Tiyosemikarbozonlar, farmasötik ve biyoaktif maddelerin karışımında yer alırlar ve bu şekilde tedavi biliminin bir parçası olarak geniş ölçüde kullanılırlar. Bunlara ek olarak, tiyosemikarbozonlar nerdeyse her bilim dalında kendi kullanım alanlarını oluşturmuştur [77].

### **1.6.1. Antimikrobiyal Etkinlik**

Antimikrobiyal ilaçların 20. yüzyılda önemli bir iyileştirici rolü vardır. İlaçlar, mikropları engellemek veya öldürmek için tasarlanmıştır ve bunlarla enfekte kişiler üzerinde minimum etkisi vardır veya hiçbir etkisi yoktur. Bu kimyasal tedaviye genel olarak kemoterapi denilmektedir ve mikroorganizmayı bastırarak sistemik enfeksiyonları tedavi eden belirlenmiş kimyasal tedavi anlamına gelmektedir [78].

Her ne kadar tiyosemikarbozon asit kompleksleri ve ligandları bilinse de, yine de bu bileşiklerin saldırgan, antifungal ve antibakteriyal etkinlikleri ile ilgili yeterli bilgi bulunmamaktadır [79].

Bu çalışmada ise, 5-Fluoro-isatin (2-Fluoro fenil) tiyosemikarbozon (TSC), 5-Fluoro-isatin (4- Fluoro fenil) tiyosemikarbozon (TSC), 5-Fluoro-isatin (4-Nitro fenil) tiyosemikarbozon (TSC), Zn ile 5-Fluoro-isatin (2- Fluoro fenil) tiyosemikarbozon



(TSC), Zn ile 5-Fluoro-isatin (4- Fluoro fenil) tiyosemikarbozon (TSC) ve Zn ile 5-Fluoro-isatin (4-Nitro fenil) tiyosemikarbozon (TSC) bileşiklerinin sentezini gerçekleştirdik. Bunlara ek olarak, buzağı timus DNA'sı (CT-DNA) ile bu bileşiklerin etkileşimini ve bunların Tablo 1'de gösterilen bazı Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler üzerindeki antibakteriyal etkinliğini ve *Candida albicans* ATCC 26555 üzerindeki antifungal etkinliğini inceledik.



## 2. KURAMSAL ÇERÇEVE

Ventakesha vd. (2016), metal kompleksler için analitik ve spektral veriler aracılığıyla 3-Metilbutanali olan tiyosemikarbazitten elde edilen 3-Metilbütanal tiyosemikarbozonu (MBTSC) betimlemiş ve sentezlemiştir.

Buna benzer şekilde, Monica vd. (2015), yeni sekiz tane (Z)-2-(akridin-9-metilin)-N-fenil-hidrazin-karbo-tiyoamid (3a-h) türevi oluşturmuştur. Bu bileşiklerin özellikle 3f bileşiğinin CT-DNA baz çiftlerine karşı yüksek afinite gösterdiği, ayrıca dokuz farklı (kolon (HT-29) lösemi (K-562), göğüs (MCF7), akciğer (NCI-460), böbrek (786-O), yumurtalık (OVCAR), göğüs direnci (NCI-ADR), prostat (PC-3), ve gliyom (U251) insan tümör hücre hattına karşı da *in vitro* ortamda antitümör aktivitesi gösterdiğini keşfetmişlerdir. Bununla birlikte, anti-proliferatif analizdeki en aktif bileşik 3 (a-f) idi. Dolayısıyla, bu sonuçlar göstermiştir ki, hem CT-DNA ile bağlanma sabitleri hem de anti-proliferatif aktiviteler, tiyosemikarbazon parçalarının fenil halkası yer değişimi ve akridin birleşmesi tarafından etkilenmiştir. Buna ek olarak, tiyosemikarbazit parçası, DNA bağlayıcılığı olan yeni akridin-tiyosemikarbozon türevleri sağlamıştır. Bununla birlikte, fenil halkası üzerindeki sübstitüentlerin özellikleri hem DNA-bağlanması hem de anti-proliferatif özellikleri tarafından etkilenmiştir [81].

Bunlara ek olarak, Qasem vd. (2014), isatin parçası ile tiyosemikarbozon Schiff bazının yeni türevlerini sentezlemiş ve karakterize etmiştir. Bu bileşiklerin CT-DNA ile olan etkileşiminin en yüksek kesim aktivitesinin L1-L3'de olduğu yüksek içsel bağlanma sabiti gösterdiğini bulmuşlardır. Bunlara ek olarak, L3, L6 ve L2 de insan kolon kanseri hücre hattında (HCT 116) iyi bir anti kanser aktivitesi sergilemiştir [82].

Pachenko vd. (2014), N, N'-bi (salisilidin) tiyosemikarbazit ile bakır (II), nikel ve alkali-toprak elementlerinin heterometal komplekslerini sentezlemiş ve karakterize etmiştir. Bunların, sadece s-elementi doğasından etkilenmiş olan yarı iletken materyallerin özelliklerine sahip olduğunu keşfetmişlerdir [83].

Bir diğerk yandan, Satyr vd. (2013), 5-Fluoroisatin ve 2-semikarbazitten 5 bileşik üretmiştir. Bu sentetik bileşiklerinin, *S. aureus*, *E. coli* ve *B. subtilis* dahil olmak üzere bazı bakteri suşlarının yanı sıra *P.crysogenium* ve *A. niger* dahil olmak üzere bazı mantarlara karşı da iyi antimikrobiyal etkiler sergilediğini bildirmişlerdir [84].

Reshma vd. (2013), yeni tiyosemikarbazit türevleri serisini sentezlemiş ve Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı antibakteriyal aktivitelerini değerlendirmiştir. Mevcut çalışmada, tiyosemikarbazit bileşikler sınıfını temsil eden hidrazin-karbotiyat ve hidrazin-karbotiyamid sentezi yapılmıştır. Yeni sentezlenen bileşiklerin hepsi spektral verileri kullanılarak karakterize edilmiş ve daha sonra antibakteriyal aktivite yeteneklerini tahmin etmek için kullanılmıştır. Antibakteriyal aktivite, standart ilaç olarak Streptomisin kullanılarak seri sulandırma yöntemine göre gerçekleştirilmiştir [84].

Parul vd. (2012), N4-tiyosemikarbozon parçasının halkalı aminler, akrilik ve alifatik vasıtasıyla değiştirildiği kolay ve basit bir prosedür ile tiyosemikarbozonları sentezlemiştir. Farklı tiyosemikarbozon bileşiklerinin spesifik fungal ve bakteriyel patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitesinin olduğunu görmüşlerdir. Çeşitli tiyosemikarbozon türevleri, *Aspergillus flavans*, *Candida albicans* gibi fungal kültürlerle ve *Saprophyticus*, *Bacillus cereus*, *Moraxella catarhalis*, *Staphylococcus*, *S. epidermidis* ve çeşitli bakteriyel kültürlerle karşı laboratuvarında test edilmiştir [86].

Kumar ve Sankar vd. (2009), ( $C_{11}H_{12}N_4O_3S$  (IIa),  $C_{12}H_{14}N_4O_3S$  (IIb),  $C_{18}H_{18}N_4O_3S$  (IIc),  $C_{15}H_{19}N_7O_3S$  (IId),  $C_{16}H_{14}N_4O_3S$  (IIe),  $C_{13}H_{16}N_4O_2S$  (IIf),  $C_{14}H_{18}N_4OS$  (IIg),  $C_{13}H_{17}N_5OS$  (IIh) ve  $C_{14}H_{13}N_5OS$  (IIi) dahil olmak üzere isatin-tiyosemikarbozonlardan dokuz tane bileşiği sentezlemiştir. Bunlara ek olarak, bu dokuz bileşiğin *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Alternaria*, *Drosellaria* ve *Curvlarneria*'ya karşı antifungal aktivitesinin yanı sıra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus magati*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Echerichia coli* gibi bazı bakterilere karşı da antibakteriyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir [87].

Konstantinovici vd. (2008), Pd (II), Zn (II), Co (II), Cu (II), Hg (II) ve Ni (II) ile isatin-3-tiyosemikarbozon komplekslerini sentezlemiş ve *in vitro* olarak dört mantar

ve yedi patojenik bakteriye karşı antimikrobiyal aktivitelerini değerlendirmiştir. Geçiş metalinin komplekslerin etkinliğini arttırdığını bildirmişlerdir. Buldukları sonuçlar, komplekslerin anti-amoebik etkinliğini kendilerinin belirli ligandlarından daha fazla arttırdığını doğrulamıştır. Bunlara ek olarak, sũreęler test organizmasının etkili inhibisyonunun gũstergesi olmuştur [88].

Bunun aksine, Jarrahpour vd. (2007), İsatın benzilisatin'nin on iki yeni bis-Schiff bazını ¼retmiřtir. 3a-31 kompleksinin, *S. cerevisiae* (ATCC 28383) ve *C. albicans* (CIP 1180-79)'a karşı hiçbir anti-fungal etkinliğinin olmadığını gũrmüşlerdir. Ayrıca, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı da hiçbir antibakteriyal etkinlik gözlemlenmemiştir [89].

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Ligand ve İsatın Tiyosemikarbazon Metal Kompleksi Sentezi

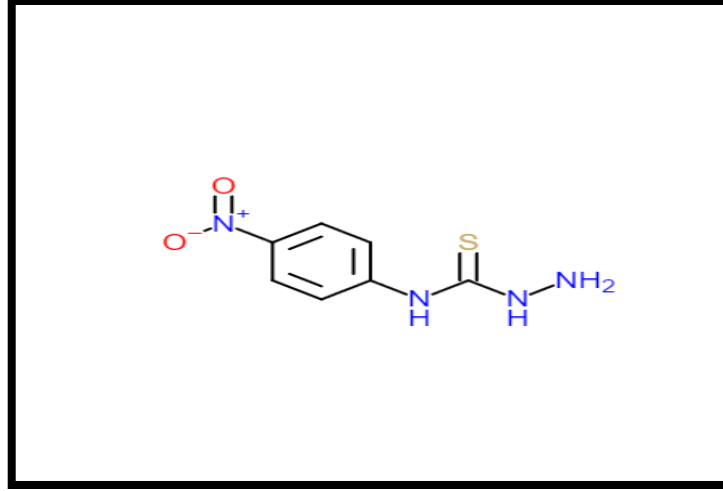
Bileşikler, Kastamonu Üniversitesi'nde Biyomedikal Mühendisliği Laboratuvarında hazırlanmıştır.

Tablo 3.1. Sentezlenen kimyasal bileşiklerin listesi

No	Bileşiklerin Adı
1	5-Fluro isatin-3-(N-2-Fluro fenil) Tiyosemikarbazon (H2FI2TSC)
2	5- Fluro isatin -3-(N-4 Fluro- fenil) Tiyosemikarbazon (H2FI4FTSC)
3	5- Fluro isatin -3-(N-4-Nitro fenil) Tiyosemikarbazon (H2FI4NTSC)
4	5- Fluro isatin -3-(N-2- Fluro fenil) Tiyosemikarbazon (H2FI2FPTSC) +Zn (II)
5	5- Fluro isatin -3-(N-4- Fluro fenil) Tiyosemikarbazon (H2FI4FPTSC)+Zn(II)
6	5- Fluro isatin -3-(N-4-Nitro fenil) Tiyosemikarbazon (H2F4NFPTSC) +Zn (II)

##### 3.1.1. 4-Nitro Tiyosemikarbazit Sentezi

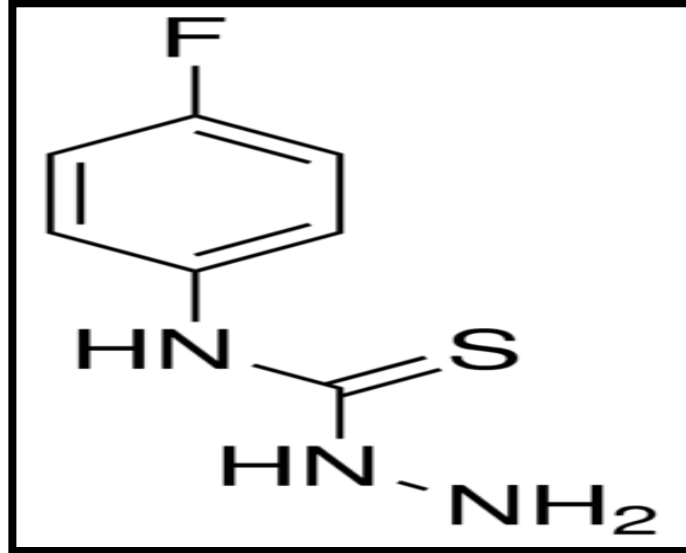
Bir mmol 0,225 g hidrazin monohidrat, 20 ml etanol içinde çözülmüş ve 5 mmol 0,90090 g 4-Nitro fenil izotiyosiyanat damla damla yavaş bir şekilde damlatılarak eklenmiştir. Daha sonra 40 ml etanol içinde eritilmiştir. Karışım 3 saat karıştırıldıktan sonra buzlu su banyosunda çöktürülmüştür. Pelet filtre edilmiştir, etanol ve dietil eter ile yıkanmış ve kurutulmuştur [90].



Şekil 1.10. 4-Nitro Tiyosemikarbazit Yapısı.

### 3.1.2. 4-Fluro Tiyosemikarbazit Sentezi

Bir mmol 0,225 g hidrazin monohidrat 20 ml etanol içinde çözülmüş ve 0,01 mmol 1,563 g 4-Nitro fenil izotiyosiyanat damla damla yavaş bir şekilde damlatılarak eklenmiştir. Daha sonra 40 ml etanol içinde eritilmiştir. Karışım, 3 saat karıştırıldıktan sonra buzlu su banyosunda çökeltilmiştir. Pelet filtre edilmiştir, etanol ve dietil eter ile yıkanmış ve kurutulmuştur [90].



Şekil 1.11. 4-Fluro Tiyosemikarbazit Yapısı

### **3.1.3. 5-Fluro İsatın-3- (N-2-Fluro fenil) TSC Sentezi (H2FI2FTSC)**

Yaklaşık 1,5 mmol 0,253g 5-Fluro isatin, 15 ml etanol içinde 50-55<sup>0</sup>C sıcaklıkta su banyosunda eritilmiştir ve daha sonra etanol 15 ml ve 1,5 mmol 0,27783 g 4-Fluro fenil tiyosemikarbazit karışımı damla damla yavaş bir şekilde eklenmiştir. 3 dakika karıştırıldıktan sonra, 2 veya 3 damla derişik asetik asit karışıma eklenmiştir. Karışım, 75 <sup>0</sup>C sıcaklıkta 6 saat karıştırıldıktan sonra geri çekilmiştir. Karışım daha sonra çöktürülmüştür. Pelet filtre edilmiştir, etanol ve dietil eter ile yıkanmış ve kurutulmuştur [90].

### **3.1.4. 5-Fluro İsatın -3-(N-4-Fluro fenil) TSC Sentezi (H2FI4FTSC)**

Yaklaşık 1,5 mmol 0,253g 5-Fluro isatin, 15 ml etanol içinde 50-55<sup>0</sup>C sıcaklıkta su banyosunda eritilmiştir ve daha sonra etanol 15 ml ve 1,5 mmol 0,27783 g 4-Fluro fenil tiyosemikarbazit karışımı damla damla yavaş bir şekilde eklenmiştir. 3 dakika karıştırıldıktan sonra, 2 veya 3 damla derişik asetik asit karışıma eklenmiştir. Karışım, 75<sup>0</sup>C sıcaklıkta 6 saat karıştırıldıktan sonra geri çekilmiştir. Karışım daha sonra çöktürülmüştür. Pelet filtre edilmiştir, etanol ve dietil eter ile yıkanmış ve kurutulmuştur [90].

### **3.1.5. 5-Fluro İsatın -3-(N-4-Nitro fenil) TSC Sentezi (H2FI4NTSC)**

Yaklaşık 1,5 mmol 0,253g 5-Fluro isatin, 15 ml etanol içinde 50-55<sup>0</sup>C sıcaklıkta su banyosunda eritilmiştir ve daha sonra etanol 15 ml ve 1,5 mmol 0,318345 g 4-Nitro fenil tiyosemikarbazit karışımı damla damla yavaş bir şekilde eklenmiştir. 3 dakika karıştırıldıktan sonra 2 veya 3 damla derişik asetik asit karışıma eklenmiştir. Karışım, 75<sup>0</sup>C sıcaklıkta 6 saat karıştırılmıştır [90].

### **3.1.6. 5-Fluro İsatın-3-(N-2-Fluro fenil) TSC (H2FI2FPTSC) + Çinko Sentezi**

Yaklaşık bir mmol 0,3323279g 5-Fluro isatin-3-N-2-Fluro fenil tiyosemikarbozon, 15 ml etanol içinde 50-55<sup>0</sup>C sıcaklıkta eritilmiştir. Daha sonra, 0,5 mmol 0,1097 g çinko asetat dihidrat damla damla yavaş bir şekilde eklenmiştir ve 15 ml etanol

solüsyonunda çözülmüştür. Karışım, yaklaşık 75<sup>0</sup>C sıcaklıkta 6-9 saat boyunca karıştırılmıştır. Çinko kompleksi, bir gün karıştırıldıktan sonra çökeltilmiştir. Pelet filtre edilmiştir, etanol ve dietil eter ile yıkanmış ve kurutulmuştur [90].

### **3.1.7. 5-Fluro İsatın-3-(N-2-Fluro fenil) TSC (H2FI2FPTSC) + Çinko Sentezi**

Yaklaşık bir mmol 0,3323279g 5-Fluro isatin-3-(N-2-Fluro fenil) tiyosemikarbozon, 15 ml etanol içinde 50-55<sup>0</sup>C sıcaklıkta eritilmiştir. Daha sonra, 0,5 mmol 0,1097 g çinko asetat dehidrat damla damla yavaş bir şekilde eklenmiştir ve 15 ml etanol solüsyonunda çözülmüştür. Karışım, yaklaşık 75<sup>0</sup>C sıcaklıkta 6-9 saat boyunca karıştırılmıştır. Çinko kompleksi, bir gün karıştırıldıktan sonra çökeltilmiştir. Pelet filtre edilmiştir, etanol ve dietil eter ile yıkanmış ve kurutulmuştur [90].

### **3.1.8. 5-Fluro İsatın-3-(N-4-Nitro fenil) TSC (H2FI2FPTSC) + Çinko Sentezi**

Yaklaşık bir mmol 0,359335 g 5-Fluro isatin-3-(N-4-Nitro fenil) tiyosemikarbozon, 15 ml etanol içinde 50-55<sup>0</sup>C sıcaklıkta eritilmiştir. Daha sonra, 0,5 mmol 0,1097 g çinko asetat dehidrat damla damla yavaş bir şekilde eklenmiştir ve 15 ml etanol solüsyonunda çözülmüştür. Karışım, yaklaşık 75<sup>0</sup>C sıcaklıkta 6-9 saat boyunca karıştırılmıştır. Çinko kompleksi, bir gün karıştırıldıktan sonra çökeltilmiştir. Pelet filtre edilmiştir, etanol ve dietil eter ile yıkanmış ve kurutulmuştur [90].

## **3.2. Extinction Katsayısı**

Extinction katsayısı, Ultraviyole-Visible spektrofotometre (UV-Vis) kullanılarak hesaplanmıştır (Multiscan Go, Thermo Fischer, ABD). Beer Yasası, sabit molar absorpsiyonunun, özgül bir dalga boyunda çözeltilerdeki çözünmüş maddelerin konsantrasyonlarına bağlı olduğunu ifade etmektedir. Extinction katsayıları, molar absorbansın en bilinen adıdır. Molar absorbans üniteleri, konsantrasyon üniteleri ve ışık yolu ölçümü ile nötrleştirilmektedir [91].

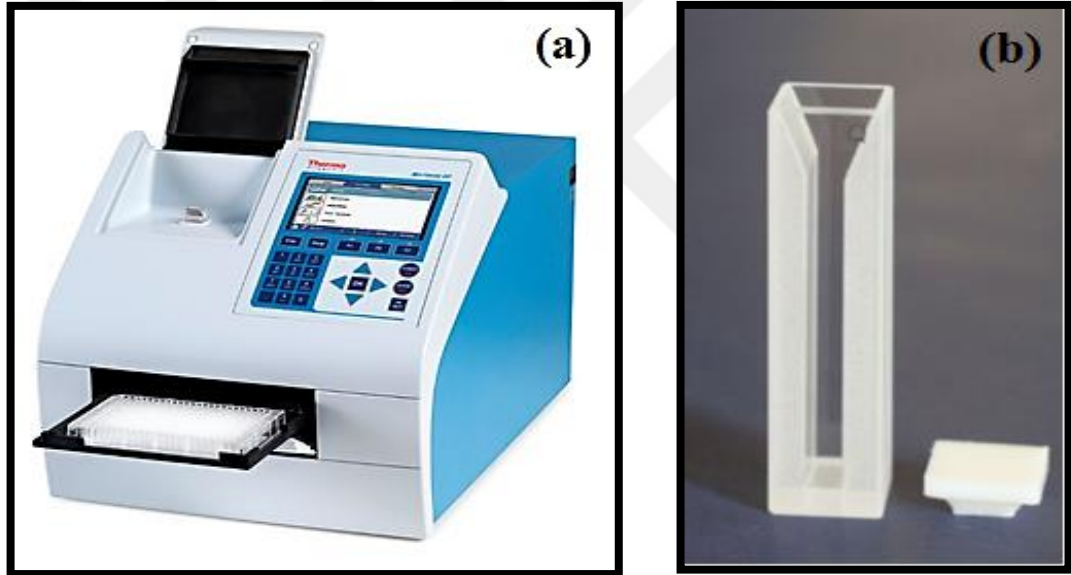
İncelenen bileşikler, moleküler ağırlıklarına (0,00001 mmol) göre ölçülmüştür ve 10 ml dimetil sülfoksit (DMSO) içinde eritilmiştir, daha sonra incelenen bileşiklerin farklı



hacimleri (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 ve 50 $\mu$ l) alınmış ve DMSO ile 500  $\mu$ l olacak şekilde seyreltilmiştir. Şu denkleme göre extinction katsayısını hesaplamak için absorbans ölçülmüştür:  $A = \epsilon c \ell$ , burada,  $\epsilon$  molar extinction katsayısı,  $c$  solüsyonun konsantrasyon miktarı,  $\ell$  ise yol uzunluğudur.

### 3.3. CT-DNA İle İsatın Tiyosemikarbozon Komplekslerinin Absorbans Spektrumu

Bir cm ışık yolu genişliğinde kuvars banyo küvetleri kullanılarak kaydedilen bir spektrofotometrede (Multi Scan Go, Thermo Scientific, ABD), UV- Visible absorbans spektrumu incelenmiştir (Fotoğraf 3.1).



Fotoğraf 3.1. (a) UV- Vis Spektrofotometre, (b) Kuvars Küvetler.

CT-DNA solüsyonlarının UV absorbansı (GE Healthcare Life of Sciences) 260 ve 280 nm'dedir. Nükleotid konsantrasyonu, 260 nm'de molar absorpsiyon katsayısı ( $\epsilon = 6600M^{-1}cm^{-1}$ ) kullanılarak UV absorpsiyon spektroskopisi ile belirlenmiştir. Bileşikler 1, 2, 3 ve 4, Tris-HCl: DMSO (%35: %65) içinde eritilerek hazırlanmıştır, bileşikler 5 ve 6 ise 1000  $\mu$ M elde etmek için Tris-HCl: DMSO (%20:%80) içinde çözülerek hazırlanmıştır [92]. Benesi-Hildebrand denklemine göre [93], CT-DNA ile ilacın iç bağlanma sabiti (K) belirlenebilir. Bileşikler 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 ile CT-DNA arasındaki iç bağlanma sabiti, CT-DNA ile tiyosemikarbozon türevlerinin etkileşimini

incelemek için hesaplanmıştır. CT-DNA ile 5-Fluoro isatin thiosemicarbozone türevleri için aşağıdaki denklem  $K_b$ 'ye göre, iç bağlanma sabiti belirlenmiştir:

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

[DNA], baz çiftleri halindeki CT-DNA konsantrasyonudur.  $\epsilon_a$ ,  $\epsilon_f$  ve  $\epsilon_b$  serbest ve bağlı bileşiklerin (1, 2, 3, 4, 5 ve 6) extinction katsayılarıdır. Özellikle,  $\epsilon_f$ , Beer kanununu izleyerek, sulu çözeltide izole edilen bileşiklerin (1, 2, 3, 4, 5 ve 6) kalibrasyon eğrisi kullanılarak belirlenmiştir.  $\epsilon_a$ , ölçülen absorbans ve bileşiklerin (1, 2, 3, 4, 5 ve 6) konsantrasyonu arasındaki oran olarak belirlenmiştir,  $A_{obs}/[bileşikler (1, 2, 3, 4, 5 ve 6)]$  karşısında bir  $[DNA]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$  eğrisi,  $1/(\epsilon_b - \epsilon_f)$  eğimi ve  $1/K_b (\epsilon_b - \epsilon_f)$ 'ye eşit bir düşey bölüntü (y) vermektedir;  $K_b$ , düşey bölüntüye göre eğim oranıdır [92-94].

### 3.4. Antimikrobiyal Aktiviteler

İsatin-3-tiyosemikalbozon türevlerinin ve metal komplekslerinin bazı mantar ve bakteri türlerine karşı olan *in vitro* antimikrobiyal aktiviteleri, agar petri kabına yayma yöntemi ile analiz edilmiştir [95].

#### 3.4.1. Mikroorganizma suşları

Bazı Gram pozitif (*Enterococcus fascism*, *Enterococcus durians*, *Serrati marcescen*, *Staphylococcus aureus* ATCC, *Staphylococcus huminis*, *Staphylococcus epidermitis*, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Alfa haemolytic streptococcus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 2592) ve Gram-negatif (*Escherichia coli*, *Salmonella kentucky*, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus*) bakteriler, 5-Fluoro isatin tiyosemikalbozon türevlerinin antibakteriyal aktivitesini test etmek için seçilmiştir. Mantar *Candida albicans* ATCC 26555 ise 5-Fluoro isatin tiyosemikalbozon türevlerinin anti-fungal etkinliğini test etmek için kullanılmıştır. Standart suşlar, Kastamonu Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden temin edilmiştir.

### 3.4.2. Bakteri İzolasyonu

Farklı bakteri türleri ve bir fungus, antimikrobiyal analiz için kullanılmıştır. Bunların bazıları hastalardan izole edilmiş ve patojenik olarak sınıflandırılmıştır. Bakteri suşları, nutrient agarın içine taşınarak ve 37°C sıcaklıkta 18 saat inkübasyon ile tekrar edilmiş ve aseptik koşullarda petri kaplarına doldurulmuştur. Anti-fungal ve antibakteriyal etkinliği test etmek için kağıt disk yöntemi kullanılmıştır [90, 95, 96].

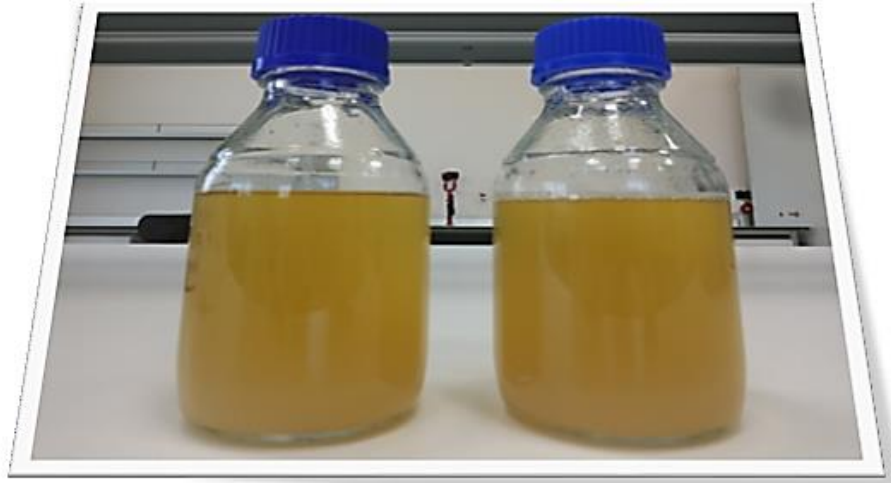
Çalışmamızda kullanılan bütün mikroorganizma türleri, Tablo 3.2’de gösterilmektedir.

Tablo 3.2. Farklı mikroorganizma türlerinin listesi

Mikroorganizma No	Mikroorganizmanın adı
1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
2	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29523
3	<i>Staphylococcus aureus</i>
4	<i>Proteus vulgaris</i>
5	<i>Echerichia coli</i>
6	<i>Serratia marcescens</i>
7	<i>Staphylococcus huminis</i>
8	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
9	<i>Alpha-hemolytic streptococcus</i>
10	<i>Enterococcus faecium</i>
11	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
12	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644
13	<i>Enterococcus faecium</i>
14	<i>Enterococcus durans</i>
15	<i>Salmonella kentucky</i>
16	<i>Enterobacteraerogenes</i> ATCC 13048
17	<i>Candida albicans</i> ATCC 26555

### 3.4.3. Besiyerinin Hazırlanması

Besiyeri, imalatçı firma talimatlarına göre parçalar dahil edilerek hazırlanmıştır. Kısaca, 20 g besleyici agar, 1000 ml damıtık su (dH<sub>2</sub>O) içinde çözülmüştür ve otoklavda 121 °C sıcaklıkta 15 dakika için dezenfekte edilmiştir. Besiyerinin tamamı, 45-60 °C sıcaklığa kadar soğutulmuş ve besiyerinin 25 ml'si, petri kabına doldurulmuştur. Fotoğrafta 3.3'de gösterildiği gibi kontaminasyondan kaçınmak için koruyucu kabin içinde oda sıcaklığında katılaşmaya bırakılmışlardır [90, 95, 96].



Fotoğraf 3.2. Besiyerinin hazırlanması



Fotoğraf 3.3. Besiyeri ile petri kutularının doldurulması

#### 3.4.4. Mikrobiyal Aktivite Testi

Disk-difüzyon yöntemi, mikrobiyal aktivite testleri için kullanılmıştır. Yeni sentezlenen tiyosemikarbozon türevi bileşikler, güçlü solvent dimetil sülfoksit (DMSO) içinde eritilmiştir. Hazırlanan solvent, steril filtre kağıdı disklerine uygulanmıştır. Daha sonra, filtre kağıt diskleri, UV'ye maruz bırakılmış ve güvenlik kabini içinde oda sıcaklığında bir gece kurumaya bırakılmıştır. Bu deneyde DMSO negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Bütün deneyler, üç defa tekrarlanmıştır.

Bir bakteri suşu kolonisi, 37<sup>0</sup>C sıcaklıkta 24 saat boyunca nutrient broth besiyerinde inkübasyona bırakılmıştır. Bakteri örneklerinin hazırlanması, 0,5 McFarland'a eşit yoğunluk elde etmek için % 0,9 steril tuz çözeltisine bakteri süspansiyonu eklenerek yapılmıştır. 1000 ml besiyeri hazırlanmış ve 120<sup>0</sup>C sıcaklıkta 20 dakika süresince otoklavlanmıştır ve besiyeri steril petri kutularına dökülmüştür. Bakteri süspansiyonu, steril bir eküvyon ile agar yüzeyinin tamamı üzerine dağıtılmış ve diskleri yerleştirmeden önce oda sıcaklığında 5-10 dakika süresince kurumaya bırakılmıştır. Madde ve DMSO ile doldurulan steril diskler, agar yüzeyine yerleştirilmiştir ve agara yapıştırmak için nazik bir şekilde baskı uygulanmıştır ve daha sonra petri kapları 37<sup>0</sup>C sıcaklıkta 24 saat süresince inkübasyona bırakılmıştır. Yirmidört saat sonunda, disk dahil olmak üzere inhibisyon zonları ölçülerek sonuç alınmıştır. Alanın çapları, mm olarak ölçülmüştür ve disk difüzyon testi üç kere yapılmıştır. Tüm aşamalardan sonra, petri kapları 120<sup>0</sup>C sıcaklıkta 20 dakika süresince sterilize edilmiştir ve tehlikeli biyolojik madde olarak uygun şekilde ayrılmıştır [97, 98].

## 4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

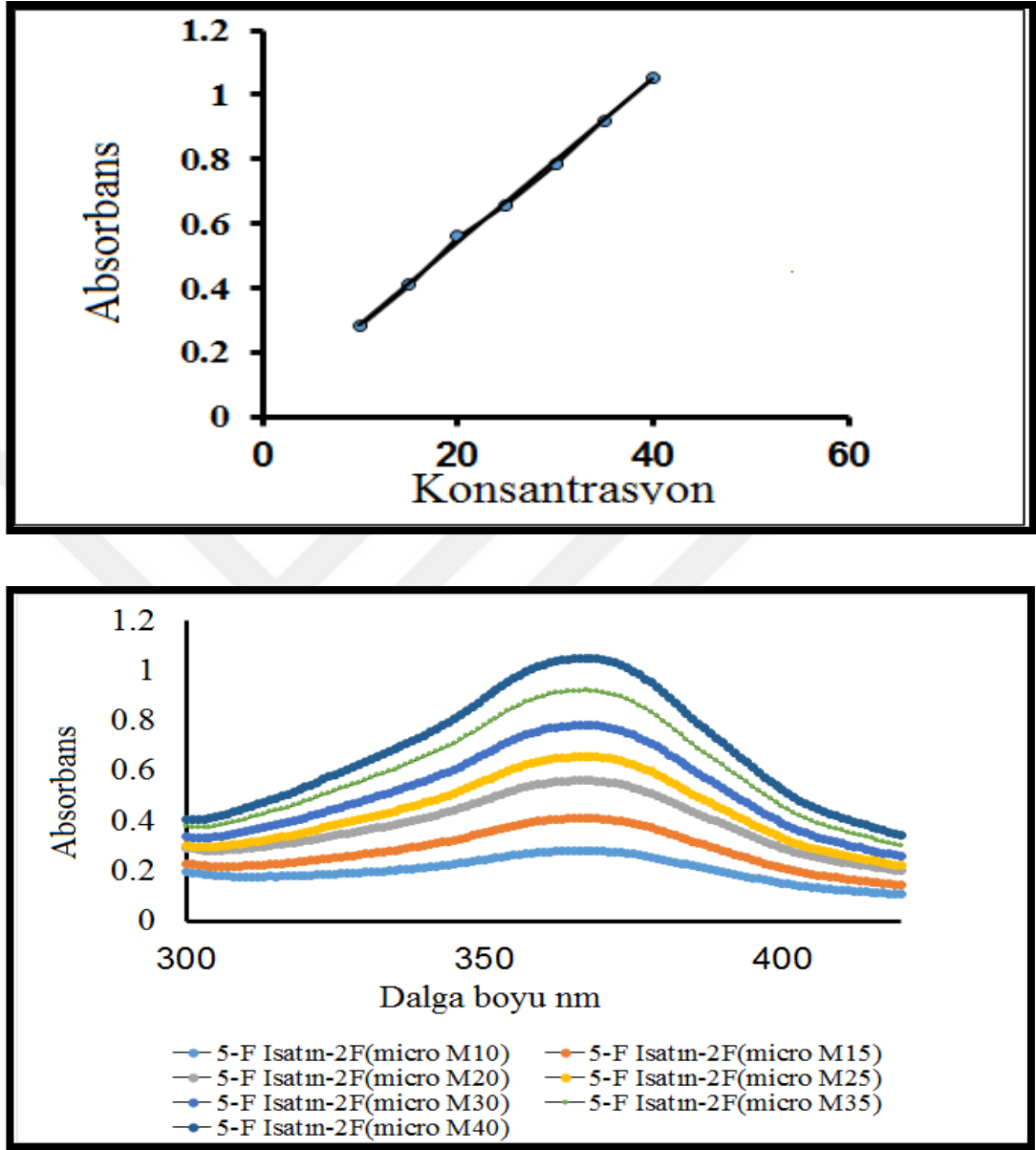
### 4.1. UV Analizine Göre İsatın Tiyosemikarbazon Ligand ve Metal Komplekslerinin Extinction Katsayısı

İsatın tiyosemikarbazon türevlerinin extinction katsayısı, aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır:  $A = \epsilon c \ell$ , burada;  $\epsilon$  molar extinction katsayısı,  $c$  solüsyonun konsantrasyon miktarı,  $\ell$  ise yol uzunluğudur.

Tablo 4.1. Kimyasal bileşiklerin listesi

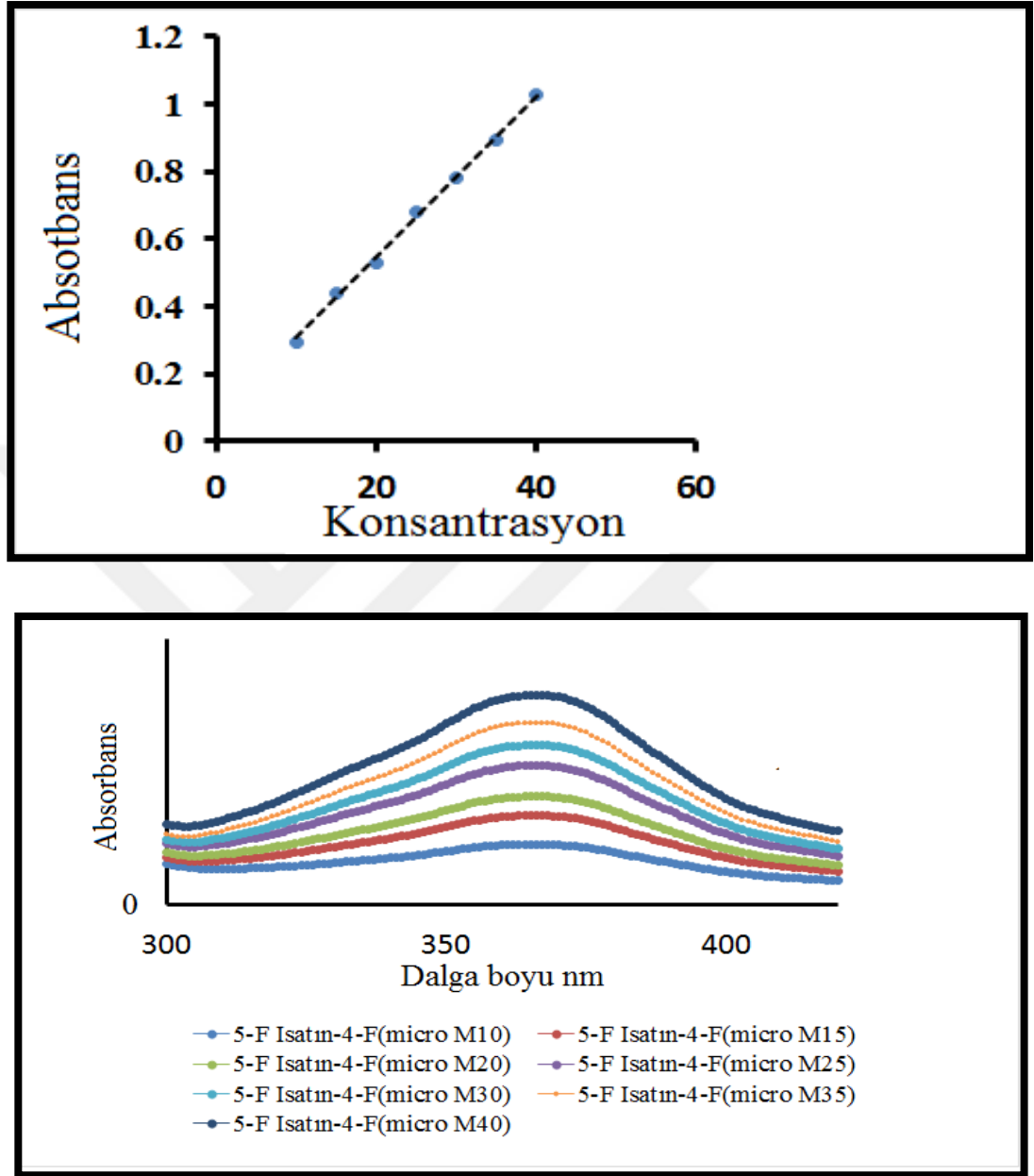
No	Bileşiklerin Adı
1	5-Fluro isatin-3-(N-2-Fluro fenil) TSC (H2FI2FPTSC)
2	5- Fluro isatin -3-(N-4- Fluro fenil) TSC (H4FI2FPTSC)
3	5- Fluro isatin -3-(N-4-Nitro fenil) TSC (H4NI2FPTSC)
4	5- Fluro isatin -3-(N-2- Fluro fenil) TSC (H2FI2FPTSC) + Çinko
5	5- Fluro isatin -3-(N-4- Fluro fenil) TSC (H2FI4FPTSC) + Çinko
6	5- Fluro isatin -3-(N-4- Nitro fenil) TSC (H4nI2FPTSC) + Çinko

#### 4.4.1. 5-Fluoro İsatın-3-(N-2-Fluoro fenil) TSC (H2FI2FPTSC)



Grafik 4.1. 5-Fluoro isatin-3-(N-2-Fluoro fenil) TSC(H2FI2FPTSC)'nin Extinction katsayısı.

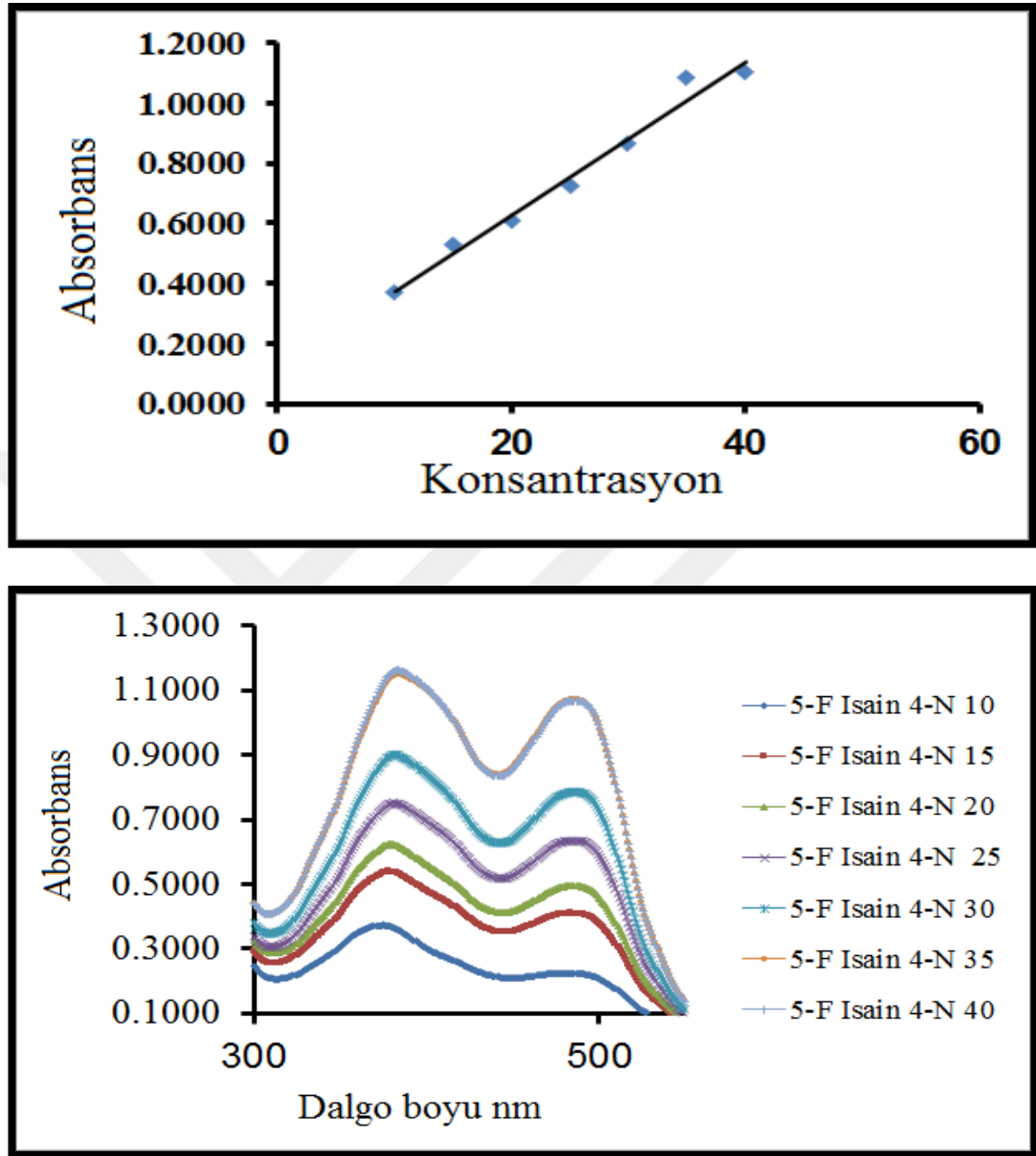
#### 4.1.2. 5-Fluro İsatın-3-(N-4-Fluro fenil) TSC (H4FI2FPTSC)



Grafik 4.2. 5-Fluro isatin-3-(N-4-Fluro fenil) TSC (H2FI4FPTSC)'nin Extinction katsayısı

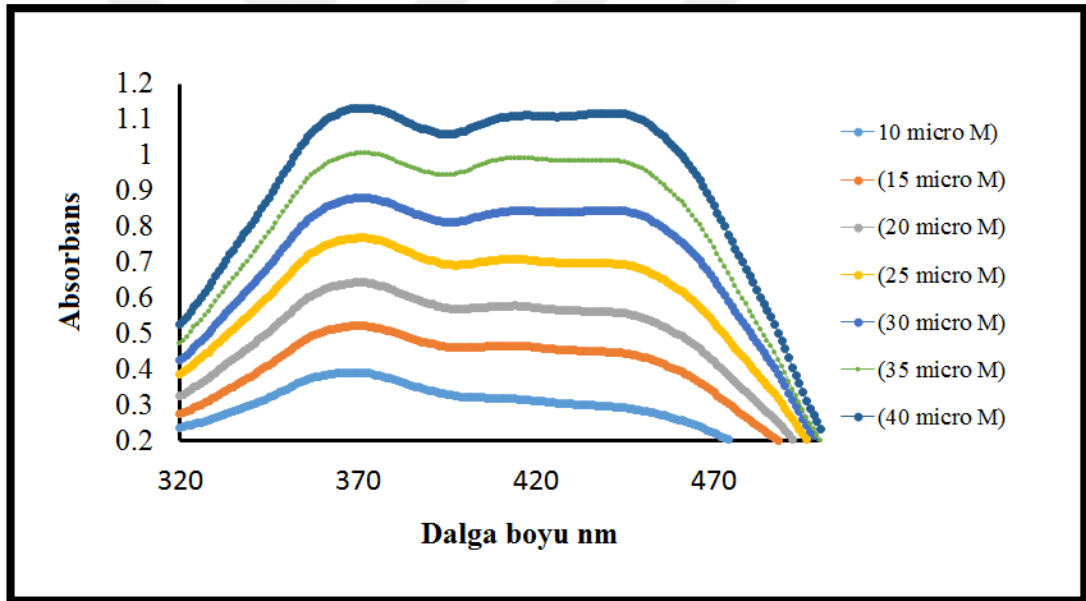
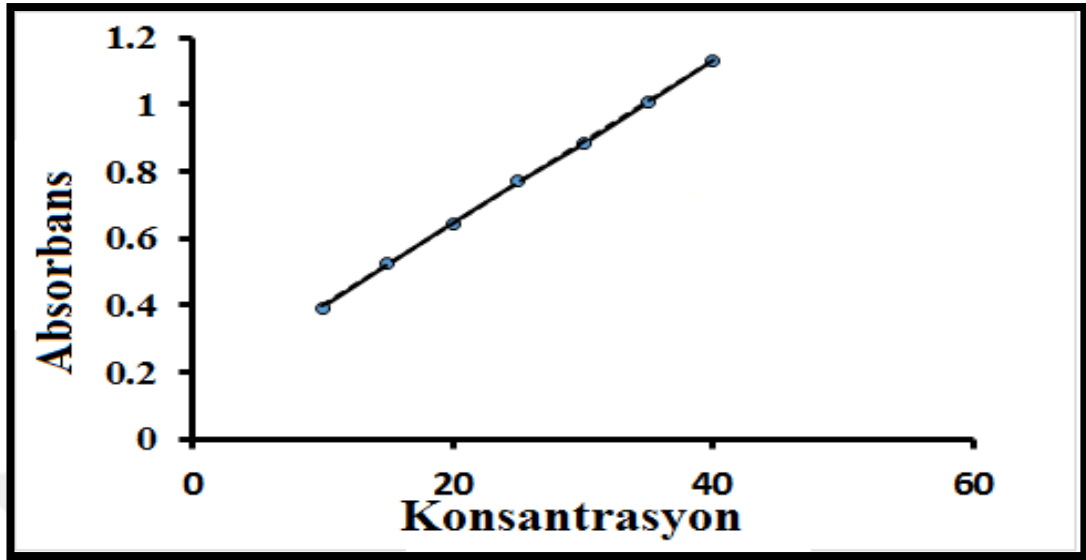


#### 4.1.3. 5-Fluoro İsatın-3-(N-4-Nitro fenil) TSC (H4NI2FPTSC)



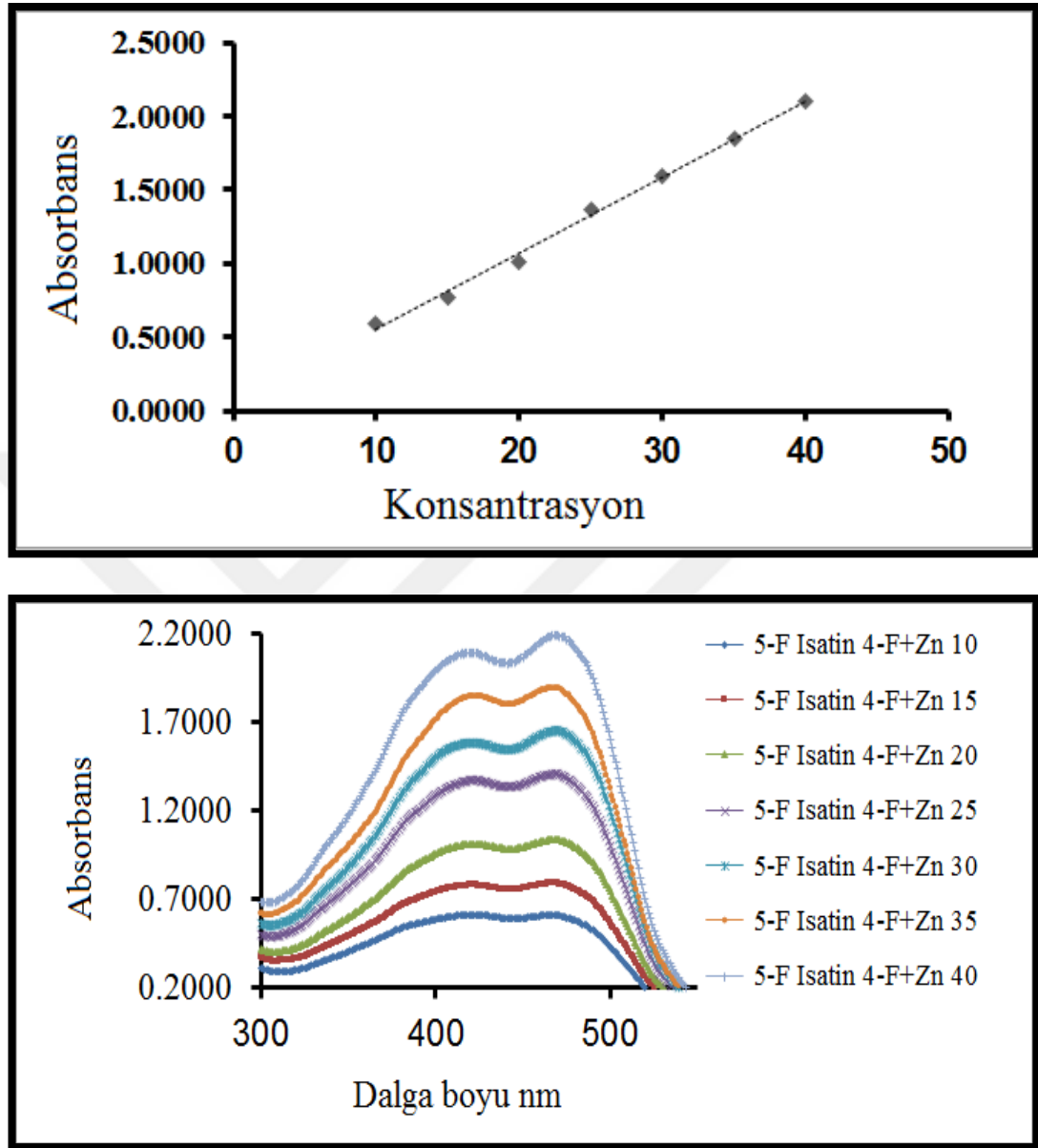
Grafik 4.3. 5-Fluoro isatin-3-(N-4-Nitro fenil) TSC (H4NI2FPTSC)'nin Extinction katsayısı

#### 4.1.4. 5-Fluoro İsatın-3-(N-2-Fluro fenil) TSC (H2FI2FPTSC) + Zn



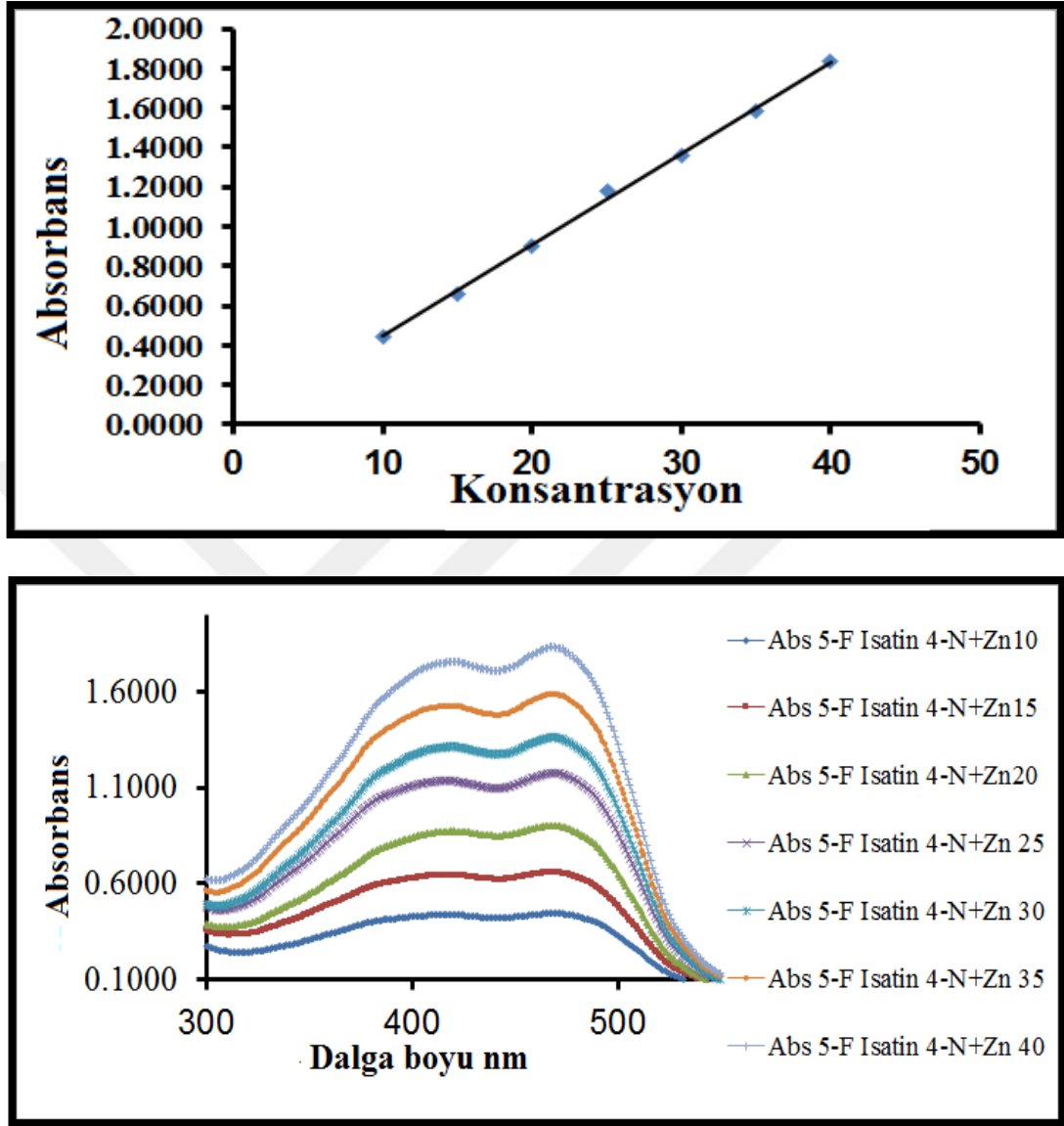
Grafik 4.4. 5-Fluoro isatin-3-(N-2-Fluro fenil) TSC (H2FI2FPTSC)+Zn'nin Extinction katsayısı.

#### 4.1.5. 5-Fluoro İsatın-3-(N-4-Fluro fenil) TSC (H2FI4FPTSC) + Zn



Grafik 4.5. 5-Fluoro isatin-3-(N-4-Fluro fenil) TSC (H2FI4FPTSC)+Zn'nin Extinction katsayısı

#### 4.1.6. 5-Fluro İsatın-3-(N-4-Nitro fenil) TSC (H4NI2FPTSC) + Zn



Grafik 4.6. 5-Fluro isatin-3-(N-4-Nitro fenil) TSC (H2FI4NFPTSC)+Zn'nin Extinction katsayısı

5-Fluro isatin-3-(N-2-Fluro fenil) Tiyosemikarbozon bileşiği, 10-15-20-25-30-35-40  $\mu$ M konsantrasyonlarını elde etmek için DMSO ile seyreltilmiştir. Bu bileşik, 286 nm dalga uzunluğunda UV ışığı absorbe etmiştir ve absorbans değeri, artan 5-Fluroisatin-3-(N-2-Fluro fenil) Tiyosemikarbozon (H2FI2FPTSC) konsantrasyonları ile yükselme eğilimindedir (Grafik 4.1).

5-Fluoro isatin-3-(N-4-Fluoro fenil) tiyosemikarbozon bileşiği, 10-15-20-25-30-35-40  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarını elde etmek için DMSO ile seyreltilmiştir. Bu bileşik, 367 nm dalga uzunluğunda UV ışığı absorbe etmiştir ve absorbans değeri, artan 5-Fluoroisatin-3-(N-4-Fluoro fenil) Tiyosemikarbozon ( $\text{H}_2\text{FI}_4\text{FPTSC}$ ) konsantrasyonları ile yükselme eğilimindedir (Grafik 4.2).

5-Fluoro isatin-3-(N-4-Nitro fenil) tiyosemikarbozon bileşiği, 10-15-20-25-30-35-40  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarını elde etmek için DMSO ile seyreltilmiştir. Bu bileşik, 387 nm dalga uzunluğunda UV ışığı absorbe etmiştir ve absorbans değeri, artan 5-Fluoroisatin-3-(N-4-Nitrofenil) Tiyosemikarbozon ( $\text{H}_2\text{FI}_4\text{NPTSC}$ ) konsantrasyonları ile yükselme eğilimindedir (Grafik 4.3).

5-Fluoro isatin-3-(N-2-Fluoro fenil) tiyosemikarbozon+Zn bileşiği, 10-15-20-25-30-35-40  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarını elde etmek için DMSO ile seyreltilmiştir. Bu bileşik, 374 nm dalga uzunluğunda UV ışığı absorbe etmiştir ve absorbans değeri, artan 5-Fluoroisatin-3-(N-2-Fluoro fenil) tiyosemikarbozon ( $\text{H}_2\text{FI}_2\text{FPTSC}$ ) + Zn (II) [ $\text{Zn}(\text{HFI}_2\text{FPTSC})_2$ ] konsantrasyonları ile yükselme eğilimindedir (Grafik 4.4).

5-Fluoro isatin-3-(N-4-Fluoro fenil) tiyosemikarbozon+Zn bileşiği, 10-15-20-25-30-35-40  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarını elde etmek için DMSO ile seyreltilmiştir. Bu bileşik, 470 nm dalga uzunluğunda UV ışığı absorbe etmiştir ve absorbans değeri, artan 5-Fluoroisatin-3-(N-4-Fluoro fenil) Tiyosemikarbozon ( $\text{H}_2\text{FI}_4\text{FPTSC}$ ) + Zn (II) [ $\text{Zn}(\text{HFI}_4\text{FPTSC})_2$ ] konsantrasyonları ile yükselme eğilimindedir (Grafik 4.5).

5-Fluoro isatin-3-(N-4-Nitro fenil) tiyosemikarbozon+Zn bileşiği, 10-15-20-25-30-35-40  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarını elde etmek için DMSO ile seyreltilmiştir. Bu bileşik, 472 nm dalga uzunluğunda UV ışığı absorbe etmiştir ve absorbans değeri, artan 5-Fluoroisatin-3-(N-4-Nitro fenil) Tiyosemikarbozon ( $\text{H}_2\text{FI}_4\text{NPTSC}$ ) + Zn (II) [ $\text{Zn}(\text{HFI}_4\text{NPTSC})_2$ ] konsantrasyonları ile yükselme eğilimindedir (Grafik 4.6).

Önceki çalışmalarda, Pasha vd. (2008),  $\beta$ -laktam isatin tiyosemikarbozon türevlerinin absorpsiyonunu spektrofotometrik yöntemle göre ölçmüşler ve absorbansın 556 nm dalga boyunda olduğunu görmüşlerdir [99]. Bunlara ek olarak, Herrador vd. (1987)

tarafından, metilglioksal bi(4-fenil-3-tiyosemikarbozon) için spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır ve dimetilformamid içindeki bir dizi katyon belirlemiştir. Bunlara ek olarak, reaksiyonun 455 nm dalga boyunda yüksek oranda sabit olduğu görülmüştür [100]. Çalışmamızda ise UV-Vis spektrofotometre ile 5-Fluoro isatin tiyosemikarbozon türevlerinin absorpsiyonu, benzer sıcaklık ve inkübasyon süresine rağmen 472 nm dalga boyunda daha yüksekti.

#### **4.2. CT-DNA İle İsatın Tiyosemikarbozon Kompleksinin Absorbans Spektrumu**

CT DNA'nın mevcut olması ve olmaması halinde 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 numaralı bileşiklerin UV-Vis absorpsiyon spektrumu belirlenmiştir.

Sabit bir konsantrasyondaki (40  $\mu$ M) 5-Fluoro isatin-3-(N-2-Fluoro fenil) tiyosemikarbozon bileşiği, farklı CT-DNA konsantrasyonları (0-10-30-40-50-70  $\mu$ M) ile etkileşimde bulunmuştur ve 368 nm dalga boyunda absorpsiyon sağlamıştır. Bir numaralı bileşik ve CT-DNA kompleksi için absorbans değeri, artan CT-DNA konsantrasyonları ile düşüş göstermiştir (Grafik 4.7).

Sabit bir konsantrasyondaki (40  $\mu$ M) 5-Fluoro isatin-3-(N-4-Fluoro fenil) tiyosemikarbozon bileşiği, farklı CT-DNA konsantrasyonları (0-10-30-40-50-70  $\mu$ M) ile etkileşimde bulunmuştur ve 426-427 nm dalga boyunda absorpsiyon sağlamıştır. Absorbans değeri, artan CT-DNA konsantrasyonları ile düşüş göstermiştir (Grafik 4.8).

Sabit bir konsantrasyondaki (40  $\mu$ M) 5-Fluoro isatin-3-(N-4-Nitro fenil) tiyosemikarbozon bileşiği, farklı CT-DNA konsantrasyonları (0-10-30-40-50  $\mu$ M) ile etkileşimde bulunmuştur ve 370 nm dalga boyunda absorpsiyon sergilemiştir. Üç numaralı bileşik ve CT-DNA kompleksi için absorbans değeri, yükselen CT-DNA konsantrasyonları ile artma eğilimi göstermiştir (Grafik 4.9).

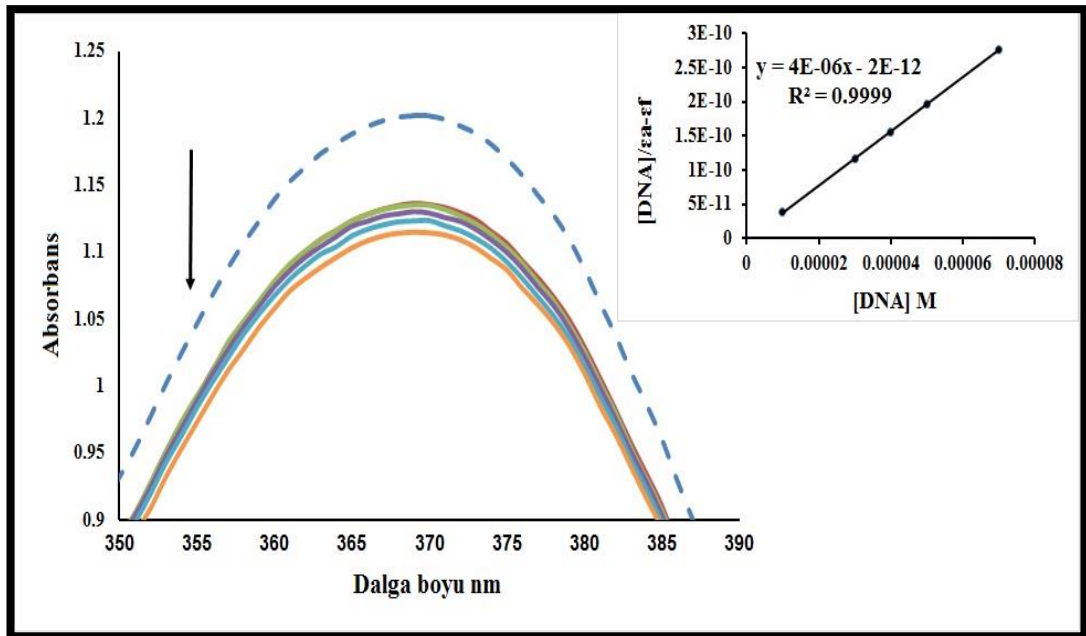
Sabit bir konsantrasyondaki (40  $\mu$ M) 5-Fluoro isatin-3-(N-2-Fluoro fenil) tiyosemikarbozon + Zn bileşiği, CT-DNA konsantrasyonları (0-40-50-70-80  $\mu$ M) ile etkileşimde bulunmuştur ve 371 nm dalga boyunda absorpsiyon sergilemiştir. Bu

kompleks için absrobans değeri, yükselen CT-DNA konsantrasyonları ile artış göstermiştir (Grafik 4.10).

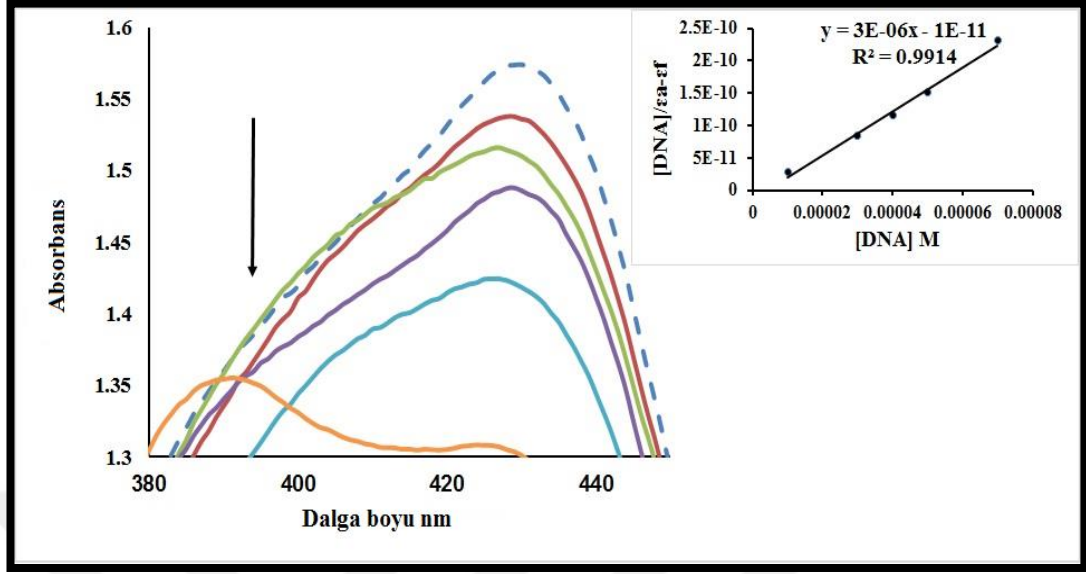
Sabit bir konsantrasyondaki (40  $\mu\text{M}$ ) 5-Fluro isatin-3-(N-4-Fluro fenil) tiyosemikarbazon + Zn bileşiği, farklı CT-DNA konsantrasyonları (0-10-30-40-50  $\mu\text{M}$ ) ile etkileşimde bulunmuştur ve 371 nm dalga boyunda absorpsiyon sergilemiştir. Beş numaralı bileşik ve CT-DNA kompleksi için absorbans değeri, artan CT-DNA konsantrasyonlarına yönelik olarak bir düşüş örneği göstermiştir (Grafik 4.11).

Sabit bir konsantrasyondaki (40  $\mu\text{M}$ ) 5-Fluro isatin-3-(N-4-Nitro fenil) tiyosemikarbozon + Zn bileşiği, farklı CT-DNA konsantrasyonları (0-10-30-40-50  $\mu\text{M}$ ) ile etkileşimde bulunmuştur ve 371 nm dalga boyunda absorpsiyon sergilemiştir. Altı numaralı bileşik ve CT-DNA kompleksi için absorbans değeri, artan CT-DNA konsantrasyonları ile bağlantılı olarak bir düşüş eğilimi göstermiştir (Grafik 4.12).

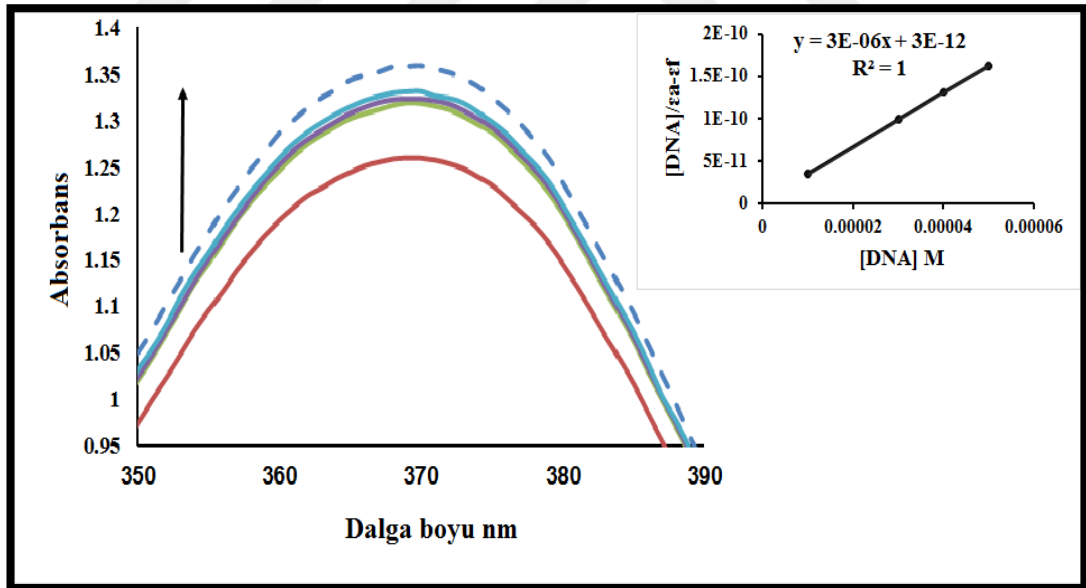
Bunlara ek olarak, 1-6 bileşikleri için iç bağlanma sabiti ( $K_b$ ) değerleri, sırasıyla,  $1,8 \times 10^6$ ;  $2,5 \times 10^5$ ;  $1,2 \times 10^6$ ;  $1,3 \times 10^5$ ;  $5,2 \times 10^5$  and  $1,2 \times 10^5$  şeklindeydi.



Grafik 4.7. CT-DNA yokluğunda (-----) ve CT-DNA bulunması (——) halinde artan CT-DNA miktarları ile 1 numaralı bileşimin spektral absorbansı. [Bileşik 1] = 40 $\mu\text{M}$ ; [CT-DNA] = (0-10-30-40-50-70  $\mu\text{M}$ ). Siyah ok ( $\downarrow$ ), artan CT-DNA konsantrasyonu ile absorbandsdaki değişimi göstermektedir.

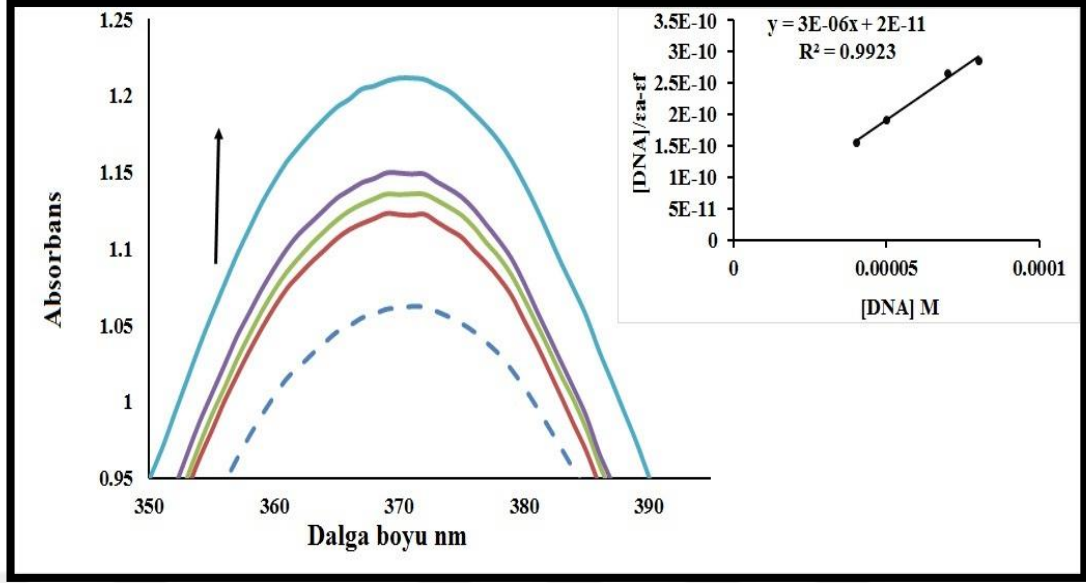


Grafik 4.8 CT-DNA yokluğunda (-----) ve CT-DNA bulunması (—) halinde artan CT-DNA miktarları ile 2 numaralı bileşiğin absorbans spektrumu. [Bileşik 2] = 40 $\mu$ M; [CT-DNA] = (0-10-30-40-50-70  $\mu$ M). Siyah ok ( $\downarrow$ ), artan CT-DNA konsantrasyonu ile absorbansdaki değişimi göstermektedir.

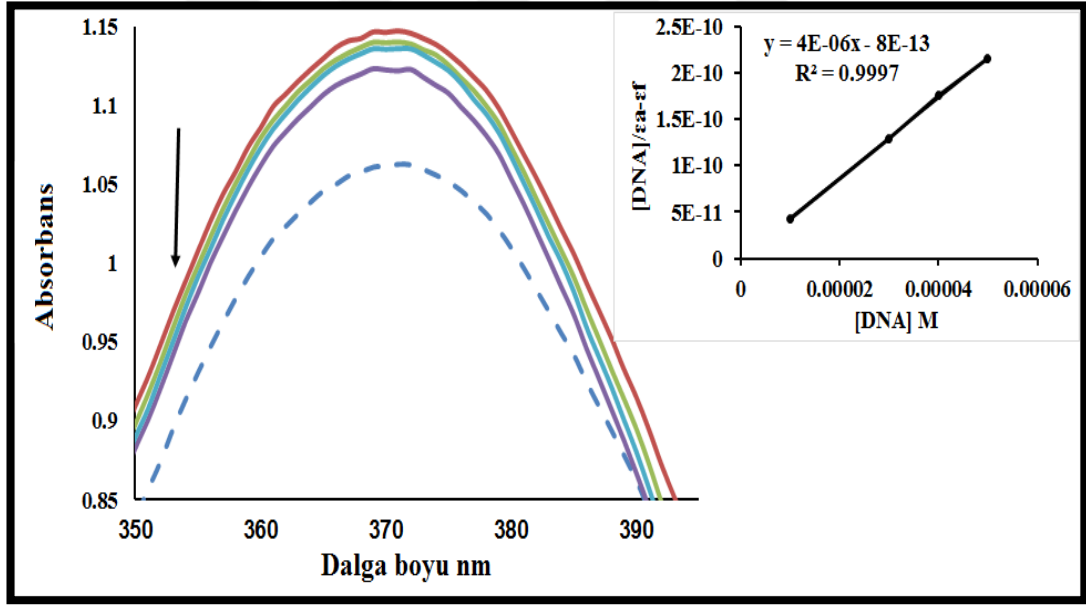


Grafik 4.9. CT-DNA yokluğunda (-----) ve CT-DNA bulunması (—) halinde artan CT-DNA miktarları ile 3 numaralı bileşiğin absorbans spektrumu. [Bileşik 3] = 40 $\mu$ M; [CT-DNA] = (0-10-30-40-50  $\mu$ M). Siyah ok ( $\downarrow$ ), artan CT-DNA konsantrasyonu ile absorbansdaki değişimi göstermektedir.

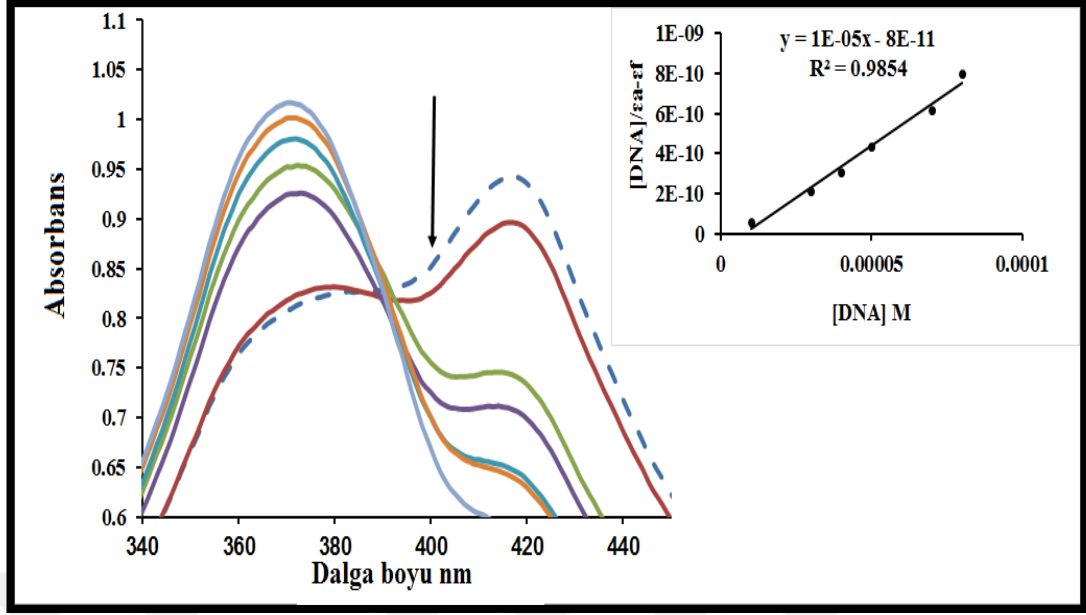




Grafik 4.10. CT-DNA yokluğunda (-----) ve CT-DNA bulunması (——) halinde azalan CT-DNA miktarları ile 4 numaralı bileşiğin absorbans spetrumu. [Bileşik 4] = 40 $\mu$ M; [CT-DNA] = (0-40-50-70-80  $\mu$ M). Siyah ok ( $\uparrow$ ), artan CT-DNA konsantrasyonu ile absorbansdaki değişimi göstermektedir



Grafik 4.11. CT-DNA yokluğunda (-----) ve CT-DNA bulunması (——) halinde artan CT-DNA miktarları ile 5 numaralı bileşiğin absorbans spetrumu. [Bileşik 5] = 40 $\mu$ M; [CT-DNA] = (0--10-30-40-50  $\mu$ M). Siyah ok ( $\downarrow$ ), artan CT-DNA konsantrasyonu ile absorbansdaki değişimi göstermektedir.



Grafik 4.12. CT-DNA yokluğunda (-----) ve CT-DNA bulunması (——) halinde azalan CT-DNA miktarları ile 6 numaralı bileşimin absorbans spektrumu. [Bileşik 6] = 40 $\mu$ M; [CT-DNA] = (0-10-30-40-50-70-80  $\mu$ M). Siyah ok ( $\downarrow$ ), artan CT-DNA konsantrasyonu ile absorbansdaki değişimi göstermektedir.

Masoudian ve Pakravan (2015), isatin- $\beta$ -tiyosemikarbozon (IBT) ve CT-DNA arasındaki etkileşimi incelemiştir. Prob olarak nötral kırmızı renk kullanılmış ve fizyolojik tampon ile (PH:7.4) UV-Vis absorpsiyonu incelenmiştir. Elde ettikleri sonuçlar, CT-DNA ile 1, 2, 5 ve 6 numaralı bileşiklerin etkileşim sonuçları ile uyumludur. Bu spektral değişiklikler, DNA bazları içerisinde 1, 2, 5 ve 6 numaralı bileşiklerin interkalasyonu ile düzenli şekildedir. İnterkalasyon yapan kromoforun elektron durumu ve DNA baz çiftleri arasındaki etkileşim, hipokromik etkilerin sebebi olabilir. Küçük batokromik kaymalar, interkalasyonun ardından CT-DNA baz çiftleri arasındaki dizilişlerinden dolayı 1, 2, 5 ve 6 bileşiklerindeki ligandların  $\pi$  ve  $\pi^*$  değişim enerjisindeki azalma ile daha iyi açıklanabilmektedir.

Sirajuddin ve Badshah (2013), trifeniltin (IV) karboksilat kompleksinin [SnPh<sub>3</sub>(O<sub>2</sub>CCH<sub>2</sub>SXyl)] DNA ile etkileşimini incelemiştir. Artan DNA konsantrasyonlarının, kompleksin absorpsiyon bantlarını etkilediğini ve bunun hiperkromizme eğilim ile sonuçlandığını gözlemlemişlerdir [101]. Bu sonuçlar, CT-DNA ile 3 ve 4 numaralı komplekslerin sonuçları ile uyumludur.

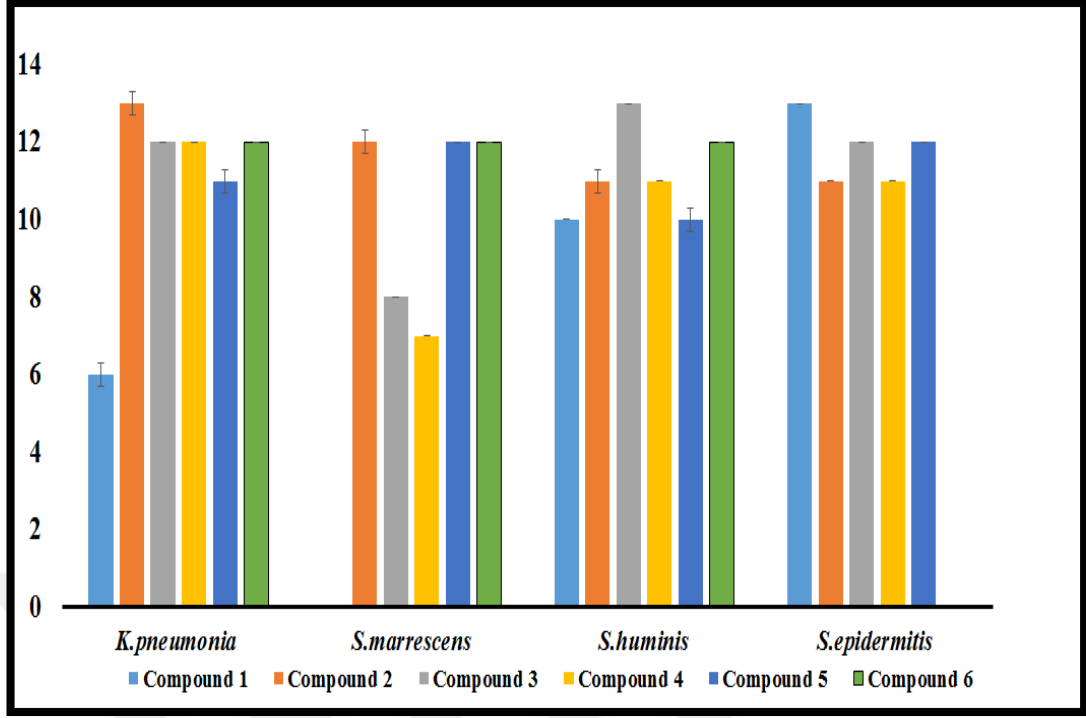
Bunlara ek olarak, Kong vd. (2011), polimiksin B (PMB) ve DNA arasındaki etkileşimi incelemiştir. Sonuçlara göre absorbans değeri, artan CT-DNA konsantrasyonları ile artış göstermiştir [102] ve bu da bu çalışmadaki CT-DNA ile 3 ve 4 numaralı bileşik komplekslerinin UV absorpsiyon sonuçları ile uyumludur.

Kong vd. (2012), PH:7,4'de absorpsiyon, flüoresan ve sirküler dikroizm spektroskopilerine göre insülin ve CT-DNA arasındaki etkileşimi değerlendirmiştir. Sonuçlara göre, artan CT-DNA konsantrasyonu ile absorbans değerleri düşüş göstermektedir. Bu sonuçlar, CT-DNA ile 1, 2, 5 ve 6 numaralı bileşik kompleksleri UV absorpsiyon sonuçları ile tutarlılık göstermektedir. Bu çalışmadaki  $K_b$  değerleri  $4,8 \times 10^5$ ,  $1,0 \times 10^3$  ve  $5,4 \times 10^2$  şeklindeyken [103] bizim çalışmamızdaki 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 numaralı bileşikler için  $K_b$  değerleri ise sırasıyla,  $1,8 \times 10^6$ ;  $2,5 \times 10^5$ ;  $1,2 \times 10^6$ ;  $1,3 \times 10^5$ ;  $5,2 \times 10^5$  ve  $1,2 \times 10$  şeklindedir.

### 4.3. Antimikrobiyal Aktiviteler

Tablo 4.2. 0,1 M konsantrasyonu ile sentezlenen bileşiklerin antimikrobiyal aktivite inhibisyon zonları

NO	Bakteri Türü	Sentez Maddesi Molaritesi 0.1					
		Bileşik (1)	Bileşik (2)	Bileşik (3)	Bileşik (4)	Bileşik (5)	Bileşik (6)
1	<i>K.pneumoni</i>	6mm	13mm	12mm	12mm	11mm	12mm
2	<i>S.aureus</i> ATCC	-	-	-	-	-	-
3	<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	-	-
4	<i>Proteus</i>	-	-	-	-	-	-
5	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-
6	<i>S.Marcescens</i>	-	13mm	8mm	7mm	12mm	12mm
7	<i>S.huminis</i>	10mm	11mm	13mm	11mm	10mm	12mm
8	<i>S.edidermis</i>	13mm	11mm	12mm	11mm	12mm	-
9	<i>Alfa haemolytic streptococcus</i>	-	-	-	-	-	-
10	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	-	-	-	-
11	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-
12	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	-	-	-	-	-	-
13	<i>Enterococcus durans</i>	-	-	-	-	-	-
14	<i>Salmonella Kentucky</i>	-	-	-	-	-	-
15	<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	-	-	-	-	-	-
16	<i>Candida albicans</i> ATCC 26555	-	-	-	-	-	-



Grafik 4.13. *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus marcescens*, *Staphylococcus huminis*, *Staphylococcus epidermitis*'e karşı 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 numaralı bileşikler için inhibisyon zonları.

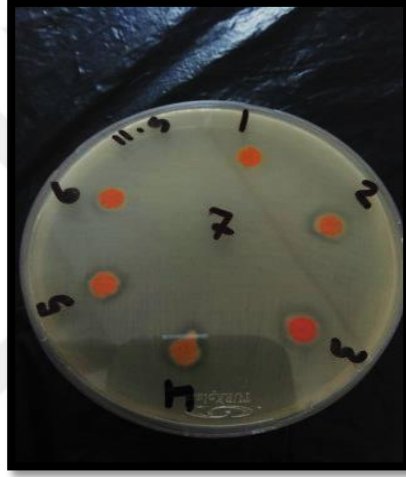
5-Fluoro isatin tiyosemikarbozon türevlerinin antibakteriyal etkinliği, Gram negatif (*E. coli*, *S. kentucky*, *E. aerogenes* ATCC 13048, *K. pneumonia*, *P. aeruginosa*, *Proteus*) ve Gram pozitif (*E. faecium*, *E. durans*, *S. marcescens*, *S. aureus* ATCC, *S. huminis*, *S. edidermis*, *L. monocytogenes* ATCC 7644, Alfa *S. haemolytica*, *S. aureus* ATCC 25923) bakterilere karşı test edilmiştir. Buna ek olarak, bu bileşiklerin anti-fungal etkinliğini test etmek için mantar *C. albicans* ATCC 26555 kullanılmıştır. Disk difüzyon yöntemi, antimikrobiyal test için kullanılmıştır ve üç kez tekrar edilmiştir. Bileşikler (1, 2, 3, 4, 5, 6), 0,1 M konsantrasyonda idi.



(a)



(b)



(c)



(d)

Fotoğraf 4.1. (a): *Klebsiella pneumoniae* (b): *Serratia marcescens* (c): *Staphylococcus huminis*, (d): *Staphylococcus edidermis* için ligand ve isatin-tiyosemikarbozonun metal komplekslerinin inhibisyon zonları.

Gram negatif (*E. coli*, *P. aerogenes* ATCC 13048, *S. kentucky*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Proteus*) ve Gram pozitif (*S. aureus* ATCC 25923, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *E. durans*, *S. aureus* ATCC, *S. marcescens*, *E. faecium*) bakteriler ve mantar *C. albicans* ATCC 26555 test edilmiştir fakat bu 6 bileşik için hiçbir inhibisyon zonu gözlemlenmemiştir.

1, 2, 3, 4, 5 ve 6 numaralı bileşikler, bazı Gram pozitif *Serratia marcescens*, *Staphylococcus huminis* ve *Staphylococcus edidermis* bakterileri ve Gram-negatif *Klebsiella pneumoniae* bakterilerine karşı Tablo 4.1’de gösterildiği gibi antimikrobiyal etkinlikler sergilemiştir.

Bir numaralı bileşik, 13 mm inhibisyon zonu ile *Staphylococcus edidermis*'e ve 10 mm inhibisyon zonu ile *Staphylococcus huminis*'e karşı yüksek antimikrobiyal etkinlik göstermiştir ve 6 mm inhibisyon zonu ile *Klebsiella pneumonia* 'ya karşı zayıf antimikrobiyal etkinlik gözlemlenmiştir.

İki numaralı bileşik, hem *Klebsiella pneumonia* hem de *Serratia marcescens*'e karşı 13 mm'e eşit geniş inhibisyon zonu ve *Staphylococcus huminis* ve *Staphylococcus edidermis*'e karşı 11 mm'ye eşit inhibisyon zonu sergilemiştir.

Bileşik 3, *Staphylococcus huminisa*'ya karşı 13 mm inhibisyon zonu ile ve *Staphylococcus edidermis*, *Klebsiella pneumonia* ve *Serratia marcescens*'e karşı 11 mm'ye eşit inhibisyon zonu ile antimikrobiyal etkinlik göstermiştir.

Bileşik 4, *Klebsiella pneumonia*'ya karşı 12 mm'ye eşit inhibisyon zonu ve *Staphylococcus huminisa*, *Staphylococcus edidermis*'e karşı 11 mm'ye eşit inhibisyon zonu göstermiştir fakat 7 mm inhibisyon zonu ile *Serratia marcescens*'e karşı zayıf inhibisyon zonu gözlemlenmiştir.

Bileşik 5, *Staphylococcus edidermis* ve *Serratia marrescens*'e karşı 12 mm inhibisyon zonu ile ve sırasıyla, 11 mm, 10 mm inhibisyon zonu ile *Klebsiella pneumonia* ve *Staphylococcus huminis*'e karşı iyi antimikrobiyal etkinlik sergilemiştir.

Bileşik 6, *Klebsiella pneumonia*, *Serratia marcescens* ve *Staphylococcus huminis*'e karşı 12 mm inhibisyon zonu ile antimikrobiyal etki göstermiştir.

Çalışmamızda 5-Fluoro isatin türevleri [5-Fluoro isatin-3-(N-2-Fluoro fenil) Tiyosemikarbozon, 5- Fluoro isatin -3-(N-4- Fluoro fenil) Tiyosemikarbozon, 5-Fluoro isatin -3-(N-4-Nitro fenil) Tiyosemikarbozon, 5- Fluoro isatin -3-(N-2- Fluoro fenil) Tiyosemikarbozon +çinko, 5- Fluoro isatin -3-(N-4- Fluoro fenil) Tiyosemikarbozon +çinko ve 5-Fluoro isatin-3-(N-4-Nitro fenil) Tiyosemikarbozon +çinko) bileşikleri] *K. pneumonia*, *Candida albicans* dahil olmak üzere Gram negatif bakterilerin yanı sıra *Serratia marcescens*, *Staphylococcus huminis* ve *Staphylococcus edidermis* dahil olmak üzere Gram pozitif bakterilere karşı da antimikrobiyal aktivite

ortaya çıkarmıştır. Fakat hiçbiri *Candida albicans* (ATCC 26555)'a karşı herhangi bir antifungal aktivite göstermemiştir.

Bunun aksine, Jarrahpour vd. (2007), aynı temel 5-Fluoro isatin (3a-31) bileşiğinden elde edilen türevleri çalışmış ve *S. cerevisiae* (ATCC 28383) ve *C. albicans* (CIP 1180-79)'a karşı herhangi bir anti-fungal etkinlik veya *S. cerevisiae*, *S. aureus*, *C. albicans* ve *E.coli*'ye karşı herhangi bir antibakteriyal etkinlik sergilememiştir [91]. Bununla birlikte, Sastry v.d. (2013), 5-Fluoroisatin bileşiğini ve 3-semikarbazit türevlerini (A1-A5) test etmiştir ve bu bileşiklerin, *A. niger* ve *P. crysogenium*'e karşı anti-fungal etkinlik göstermenin yanı sıra Gram pozitif olarak *S. aureus*, *B. subtilis* ve Gram negatif olarak *E. coli*, *P. vulgaris* dahil olmak üzere bazı bakteri suşlarına karşı başarılı antimikrobiyal aktiviteler sergilediğini keşfetmiştir [84]. Bunlara ek olarak, Kumar vd. (2009), isatin-tiyosemikarbozon türevlerinden olan bazı bileşiklerin (Ila-lli), *C. albicans*, *A. niger*, *Alternaria*, *Drosellaria* ve *Curvlarneria*'ye karşı anti-fungal etkinlik göstermenin yanı sıra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus magati*, *Klebsiella pneumoniae* ve *E. coli* bakterilerine karşı da antibakteriyal etkinlik gösterdiğini keşfetmiştir [87].

Önceki çalışmalarda ve bu çalışmada bildirilen bu sonuçlar arasındaki farklılıklar, bileşiklerin konsantrasyonu, test mikroorganizmalarının türünün konsantrasyonu, materyaller ve yöntemler, hacim ve nitelik, çevresel koşullar, alan ve hava arasındaki farklılıklardan kaynaklanabilir.



## 5. SONUÇ

Özetlemek gerekirse, 5-Fluoro isatin -3-(N-2-Fluoro fenil) tiyosemikarbozon, 5-Fluoro isatin -3-(N-4-Fluoro fenil) tiyosemikarbozon, 5-Fluoro isatin -3-(N-4-Nitro fenil) tiyosemikarbozon, 5-Fluoro isatin-3-(N-2-Fluoro fenil)+Zn tiyosemikarbozon, 5-Fluoro isatin-3-(N-4-Fluoro fenil)+Zn tiyosemikarbozon ve 5-Fluoro isatin -3-(N-4-Nitro fenil)+Zn tiyosemikarbozonun absorbans değerleri, bu bileşiklerin artan konsantrasyonlarına göre artmaktadır. UV-Vis spektrofotometre tekniği kullanılarak CT-DNA ile 1-6 numaralı bileşiklerin etkileşimini kontrol etmek için bu bileşikler CT-DNA ile incelenmiştir ve bağlayıcı hali için yeterli kanıtlar bulunmuştur. 1-6 numaralı bileşiklerin  $K_b$  değerleri sırasıyla,  $1,8 \times 10^6$ ;  $2,5 \times 10^5$ ;  $1,2 \times 10^6$ ;  $1,3 \times 10^5$ ;  $5,2 \times 10^5$  and  $1,2 \times 10^5$  şeklindedir. 1-6 numaralı bileşikler, *Serratia marrescens*, *Staphylococcus huminis* ve *Staphylococcus edidermis*'yi içeren Gram-pozitif bakterilere ve *K. pneumonia*'yi içeren Gram-negatif bakterilere karşı etki göstermiştir. Bunlara ek olarak, 1-6 numaralı bileşikler, *Candida albicans*'a (ATCC 26555) karşı herhangi bir anti-fungal etkinlik göstermemiştir. Bu bileşikler, CT-DNA ve mikroorganizmalar üzerindeki etkilerine göre potansiyel ilaçlar olabilir. Bu bileşiklerin *in vivo* etki şekli ve toksisitesini değerlendirmek için daha fazla araştırmanın yapılması gerekli olabilir.

## KAYNAKLAR

- [1] Col.ghi, L., Lanfredi, A. M. M., & Tiripicchio, A. (1976). Crystal and Molecular Structure of Thiosemicarbazide Hydrochloride. *Jornal of Chemical Society Perkin Trans, 1808-1810*.
- [2] Domiano, P., Gasparri, G. F., nardelli, M., & Sgarabotto, P. (1969). The Crystal and Molecular Structure of Thiosemicarbazide. *Jornal of Acta Crystallograph, 25, 343-349*.
- [3] URL-1 <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Thiosemicarbazide> adresinden 03.11.2016 tarihinde alınmıştır.
- [4] Nandi, Kumar, A., Chaudhuri, S., Mazumdar, S. K., & Ghosh, S. (1984). Effect of Chlorine Substitution on the Structure and Activity of 4-Phenylthiosemicarbazide, Crystal and Molecular Structure of 4-(4Chlorophenyl) thiosemicarbazide. *Jornal of Chemical Society, Perkin Trans, (2): 1729-1733*.
- [5] URL-2 <https://en.wikipedia.org/wiki/4-Methyl-3-thiosemicarbazide> adresinden 04.11.2016 tarihinde alınmıştır.
- [6] URL-3 [http://www.chemspider.com/Chemical-Structure isatin 4510345.html](http://www.chemspider.com/Chemical-Structure/isatin_4510345.html) adresinden 04.11.2016 tarihinde alınmıştır.
- [7] Venkatesha, K., Venkannab B., Chandra Sekharc, B. K. & Mukkantia, K. (2015). Synthesis, Characterization & Biological Activity of Some New Thiosemicarbazide Derivatives and Their Transition Metal Complexes. *Jornal of Chemical and Pharmaceutical Research, 7 (8), 437-445*.
- [8] URL-4 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2142599724> adresinden 05.02.2016 tarihinde alınmıştır.
- [9] Quenelle, D. C., Keith, K. A. & Kern, E. R. (2006). In-vitro and In-vivo Evaluatio of Isatin- $\beta$ -Thiosemicarbazone and Marboran against Vaccinia and Cowpox Virus Infections. *antivirus Research, 71 (1): 24-30*.
- [10] Sebastian, L., Desai, A., Shampur, M. N., Perumal, Y., Sriram, D., & Vasanthapuram, R. (2008). N-methylisatin-Beta-Thiosemicarbazone Derivative (SCH 16) is An Inhibitor of Japanese Encephalitis Virus Infection in-vitro and in-vivo. *Jornal of Virology, 5 (64), 1-12*.
- [11] Bauer, D. J., & Sadler, P. W. (1960). The Structure-Activity Relationships of the Antiviral Chemotherapeutic Activity of Isatin  $\beta$ -Thiosemicarbazone. *British Journal of Pharmacological, 15, 101-110*.

- [12] Bal, T. R., Aand, B., Yogeewari, P. & Sriram, D. (2005). Synthesis and Evaluation of Anti-HIV Activity of Isatin  $\beta$ -Thiosemicarbazone Derivatives. *Bioorganic & Medical Chemistry Letter*, 15 (20), 4451-4455.
- [13] Adibi, H., Khodaei, M. M., Pakravan, P. & Abiri, R. (2010). Synthesis, Characterization, and in-vitro Antimicrobial Evaluation of Hydrazone and Bishydrazone Derivatives of Isatin. *Jornal of Pharmaceutical Chemistry*, 44, 219-227.
- [14] O'Sullivan, D. G., Sadler, P. W., & Russell, V.(1964). The Influence of Isatin  $\beta$ -Thiosemiearbazone on the Development of Neurovaeinia Virus in Cells as Shown by Electron Microseopy. *Archives of Virology Jornal*, 45, 650-656.
- [15] Altun, A., Kumru, M., & Dimoglo, A. (2001). Study of Electronic and Structural Features of Thiosemicarbazone and Thiosemicarbazide Derivatives Demonstrating Anti-HSV-1 Activity. *Jornal of Molecular Structure-Theochem*, 535, 235-246.
- [16] Woodson, B., & Joklik, W. K. (1965). The Inhibition of Vaccinia Virus Multiplication by Iisatin- $\beta$ -Thiosemicarbazone. *Jornal of Biochemistry*, 54, 946-953.
- [17] Vatsa, G., Pandey, O. P. & Sengupta, S. K. (2005). Synthesis, Spectroscopic and Toxicity Studies of Titanocene Chelates of Isatin- $\beta$ -Thiosemicarbazones. *Bioinorganic Chemistry & Applicatios Jornal*, 3, 151-161.
- [18] Aboul-Fadl, T. & Bin-Jubair, F.A.S. (2010). Anti-tubercular Activity of Isatin Derivatives. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 1, 113-126.
- [19] Selvam, P., Chandramohan, M., Clercq, E. D., Witvrouw, M., & Pannecouque, C. (2001). Synthesis and Anti-HIV Activity of 4-[(1, 2-dihydro-2-oxo-3H-indol-3-ylidene) Amino]-N(4,6-Dimethyl-2-Pyrimidinyl)-Benzene Sulfonamide and its Derivatives. *Europian Jornal of Pharmaceutical Science*, 14, 313-316.
- [20] Yogeewari, P., Banerjee, D., Bhat, P., Thomas, A., Srividya, M., Shriram, D. (2011). Novel Isatinyl Thiosemicarbazones Derivatives as Potential Molecule to Combat HIV-TB Co-Infection. *Europian Jornal of Medical Chemistry*, 46, 106-121.
- [21] Siddiqui, N., Singh, O. (2003). Antibacterial Activity of some 4-N-substituted Thiosemicarbazides and Thiosemicarbazones. *Indian Jornal of Pharmaceutical Science*, 65 (4), 423-425.

- [22] Chipeleme, A., Gut, J., Rosenthal, B. P. J., Chibale, K. (2007). Design, Synthesis, and Antimalarial Activity of Structural Chimeras of Thiosemicarbazone and Ferroquine Analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17 (1):6434-6438.
- [23] Shipman, J. C., Smith, S. H., Drach, J. C., Klayman, D. L. (1981). Antiviral Activity of 2-AcetylpyridineThiosemicarbazones Against Herpes Simplex Virus. *Antimicrobl Agents. Jornal of Chemotherapy*, 19 (4), 685-682.
- [24] Siwek, A., Stefanska, J., Dzitko, K., Ruszezak, A. (2012). Antifungal Effect of 4-Arylthiosemicarbazides Against Candida Species. Search for molecular basis of Antifungal Activity of Thiosemicarbazide Derivatives. *Jornal of Molecular Modeling*, 18, 4159-4170.
- [25] Thomas, A. M., Naik, A. D., Nethaji, M., Chakravarty, A. R. (2004). Synthesis, Crystal Structure and Photo-Induced DNA Cleavage Activity of Ternary Copper(II)- Thiosemicarbazone Complexes Having Heterocyclic Bases. *Inorganic Chemistry Acta*, 357, 2315-2323.
- [26] Seleem, H. S., El-Shetary, B. A., Khalil, S. M. E., Mostafa, M., Shebl, M. (2005). Structural Diversity Incopper(II) Complexes of Bis(thiosemicarbazone) and Bis(semicarbazone) Ligands. *Jornal of Coordination Chemistry*, 58, 479-493.
- [27] URL-3 [Http://ghr.nlm.nih.gov/handbook/basics/dna](http://ghr.nlm.nih.gov/handbook/basics/dna) adresinden 01.03.2016 tarihinde alınmıştır.
- [28] Da Silva, J. F. M., Garden, S. J., Pinto, A. C. (2001). The Chemistry of Isatins: a Review from 1975 to 1999. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 12 (3), 273-324.
- [29] Pandeya, S. N., Smith, a S., Jyoti, M., Sridhar, S. K. (2005). Biological Activities of Iisatin and its Derivatives. *Jornal of Acta Pharmaceutical*, 55, 27-46.
- [30] Vine, K. L., Matesic, L., Locke, J. M., Ranson, M., Skropeta, D. (2009). Cytotoxic and Anticancer Activities of Isatin and its Derivatives: A comprehensive review from 2000-2008. *Anti-Cancer Agents Medical Chemistry*, 9, 397-414.
- [31] Chiyanzu, I., Hansell, E., Gut, J., Rosenthal, P. J., McKerrow, J. H., Chibale, K. (2003). Synthesis and Evaluation of Isatins and Thiosemicarbazone Derivatives Against Cruzain, Falcipain-2 and Rhodesain. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 13, 3527-3530.
- [32] Chiyanzu, I., et al. (2005). Design, Synthesis and Anti-plasmodial Evaluation in Vitro of New 4-aminoquinoline Isatin Derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 13, 3249-3261.

- [33] Chen, L. R., et al. (2005). Synthesis and evaluation of isatin derivatives as effective SARS coronavirus 3CL protease inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 15, 3058-3062.
- [34] Sriram, D., Yogeeswari, P., Gopal, G. (2005). Synthesis, Anti-HIV and Anti-Tubercular Activities of Lamivudine Prodrugs. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 40 (12), 1373–1376.
- [35] Pirrung, M. C., Pansare, S. V., Das Sarma, K., Keith, K. A., Kern, E. R. (2005). Combinatorial Optimization of Isatin- $\beta$ -Thiosemicarbazone as Anti-Poxvirus Agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 48 (8), 3045–3050.
- [36] Patel, A., Bari, S., Talele, G., Patel, J., Sarangapani, M. (2006). Synthesis and Antimicrobial Activity of Some New Isatin Derivatives. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 4, 249-254.
- [37] Beauchard, A., et al. (2006). Synthesis of Novel 5-Substituted Indirubins as Protein Kinases Inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14, 6434-644.
- [38] Terzioglu, N., et al. (2006). Synthesis and Primary Antiviral Activity Evaluation of 3-Hydrazono-5-Nitro-2-Indolinone Derivatives. *ARKIVOC Journal*, (i), 109-118.
- [39] Hyatt, J. L., et al. (2007). Selective Inhibition of Carboxyl esterases by Isatins, Indole-2, 3-Diones. *Journal of Medicinal Chemistry*, 50, 1876-1885.
- [40] Ravichandran, V., Mohan, S, Kumar, K. S. (2007). Synthesis and Antimicrobial Activity of Mannich Bases of Isatin and its Derivatives with 2-[(2, 6 dichlorophenyl) amino] phenylacetic acid. *ARKIVOC Journal*, (xiv), 51-57.
- [41] Guzel, O., Karali, N., Salman, A. (2008). Synthesis and Antituberculosis Activity of 5-Methyl/trifluoromethoxy-1H-Indole-2,3-Dione-3-Thiosemicarbazone Derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16, 8976-8987.
- [42] Smitha, S., Pandeya, S. N., Stables, J. P., Ganapathy, S. (2008). Anticonvulsant and Sedative-hypnotic Activities of N-acetyl/methyl Isatin Derivatives. *Journal of science and pharmaceutical*. 76, 621-636.
- [43] Singh, U. K., Pandeya, S. N., Singh, A., Srivastava, B. K., Pandey, M. (2010). Synthesis and Antimicrobial Activity of Schiff's and N-Mannich Bases of Isatin and its Derivatives with 4-amino-N-carbamimidoyl Benzene Sulfonamide. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 2, 151-154.

- [44] Banerjee, D., Yogeewari, P., Bhat, P., Thomas, A., Srividya, M., Sriram, D. (2011). Novel Isatinylthiosemicarbazones Derivatives as Potential Molecule to Combat HIV-TB co-infection. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46, 106-121.
- [45] Quenelle, D. C., Keith, K. A., Kern E R. In Vitro and in Vivo Evaluation of Isatin- $\beta$ -thiosemicarbazone and Marboran against Vaccinia and Cowpox Virus Infections. *Antiviral Research Journal*, 71, 24-30.
- [46] Hall, M. D., et al. (2009). Synthesis, Activity, and Pharmacophore Development for Isatin- $\beta$ -thiosemicarbazones with Selective Activity toward Multidrug-Resistant Cells. *Journal of Medicinal Chemistry*, 52, 3191-3204.
- [47] Pandeya, S. N., Sriram, D., Nath, G., DeClercq, E. (1999). Synthesis, Antibacterial, Antifungal and Anti-HIV Activities of Schiff and Mannich Bases Derived from Isatin Derivatives and N-[4-(4-Chlorophenyl)thiazole-2-yl] thiosemicarbazide. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 9 (1), 25–31.
- [48] Pirrung, M. C., Pansare, S. V., Das Sarma, K., Keith, K. A., Kern, E. R. (2005). Combinatorial Optimization of Isatin- $\beta$ -thiosemicarbazone as Antipoxvirus Agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 48 (8), 3045–3050.
- [49] Sriram, D., Perumal, Y. (2003). Towards the Design and Development of Agents with Broad Spectrum Chemotherapeutic Properties for the Effective Treatment of HIV/AIDS. *Current Medicinal Chemistry*, 10 (17), 1689–1695.
- [50] Moorthy, N. S. H. N., Cerqueira, N. M. F. S. A., Ramos, M. J., Fernandes, P. A. (2013). Aryl- and Hetero Aryl-Thiosemicarbazone Derivatives and their Metal Complexes. *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery*, 8 (2), 168-182.
- [51] Almeida, M. R., Leitão, G. G., Silva, B. V., Barbosa, J. P., & Pinto, A. C. (2010). Counter- Current chromatography separation of isatin derivatives using the sandmeyer methodology. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 21(4), 764-769.
- [52] URL4<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/366978?lang=en&region=TR> adresinden 24.08.2016 tarihinde alınmıştır.
- [53] Bruemmer, K. J., Merrikhihaghi, S., Lollar, C. T., Morris, S. N. S., Bauer, J. H., Lippert, A. R. (2014). <sup>19</sup>F magnetic resonance probes for live-cell detection of peroxynitrite using an oxidative decarbonylation reaction. *Chemical Communications*, 50(82), 12311-12314.
- [54] Jarrahpour, A. A., & Khalili, D. (2006). Synthesis of some new bis-Schiff bases of isatin and 5-fluoroisatin in a water suspension medium. *Molecules*, 11(1), 59-63.

- [55] DNA and its Structure, Function, Types, Modes of Replication and Repair.
- [56] URL5 <https://www.pinterest.com/gitaseti/purine-and-pyrimidine-synthesis> adresinden 24.08.2016 tarihinde alınmıştır.
- [57] URL6 <https://www.pinterest.com/explore/nitrogenous-base/> It has taken on 24.08.2016 tarihinde alınmıştır.
- [58] URL7 <http://pratclif.com/biologie-moleculaire/dna/Sugars.html> adresinden 24.08.2016 tarihinde alınmıştır.
- [59] URL8 <http://bio3400.nicerweb.net/Locked/media/ch10/nucleotide.html> adresinden 24.08.2016 tarihinde alınmıştır.
- [60] Rastogi, S. & Dwivedi, U. N. (2007). Biomolecules (Introduction, Structure and Function). Nucleic acids. 1-39.
- [61] URL9 <http://bio3400.nicerweb.net/Locked/media/ch10/NDP-NTP.html> adresinden 24.08.2016 tarihinde alınmıştır.
- [62] Sun, H., et al. (2011). A Stabilizing and Denaturing Dual-Effect for Natural Polyamines Interacting with G-quadruplexes Depending on Concentration. *Jornal of Biochimie*, 93, 1351–1356.
- [63] Jaumot, J., Gargallo, R. (2012). Experimental Methods for Studying the Interactions Between G-quadruplex Structures and Ligands. *Current Pharmaceutical Design*, 18 (14), 1900–1916.
- [64] Wei, C., Wang, J., Zhang, M. (2010). Spectroscopic Study on the Binding of Porphyrins to (G4T4G4)<sub>4</sub> Parallel G-quadruplex. *Biophysical Chemistry*, 148, 51–55.
- [65] Bhadra, K., Kumar, G. S. (2011). Interaction of Berberine, Palmatine, Coralyne, and Sanguinarine to Quadruplex DNA: a Comparative Spectroscopic and Calorimetric Study, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1810, 485–496.
- [66] Gonzalez-Ruiz, V., Olives, A. I., Martin, M. A., Ribelles, P., Ramos, M. T., Menendez, J. C. (2011). An Overview of Analytical Techniques Employed to Evidence Drug–DNA Interactions. Applications to the Design of Genosensors, in: M.A. Komorowska, S. Olszynska-Janus (Eds.). *Biomedical Engineering, Trends, Research and Technologies. In Tech*, 65–90.
- [67] Benesi, H. A., Hildebrand, J. H. (1949). Spectrophotometric Investigation of the Interaction of Iodine with Aromatic Hydrocarbons. *Journal of the American Chemical Society*, 71, 2703–2707.
- [68] Liu, J., et al. (2002). DNA-Binding and Cleavage Studies of Macrocyclic Copper (II) Complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 91, 269–276.

- [69] Sirajuddin, M., Ali, S., Haider, A., Shah, N. A., Shah, A., Khan, M. R. (2012). Synthesis, Characterization, Biological Screenings and Interaction with Calf Thymus DNA as well as Electrochemical Studies of Adducts Formed by Azomethine [2-((3,5-dimethylphenylimino)methyl)phenol] and Organotin(IV) Chlorides. *Polyhedron*, 40 (1), 19–31.
- [70] Sirajuddin, M., Ali, S., Shah, N. A., Khan, M. R., Tahir, M. N. (2012). Synthesis, Characterization, Biological Screenings and Interaction with Calf Thymus DNA of a Novel Azomethine 3-((3,5-dimethylphenylimino)methyl)Benzene-1,2-diol Spectrochim. Spectrochimica Acta Part A: *Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 94, 134–142.
- [71] Arjmand, F., Jamsheera, A. (2011). DNA Binding Studies of New Valine Derived Chiral complexes of Tin(IV) and Zirconium(IV), Spectrochim. Spectrochimica Acta Part A: *Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 78, 45–51.
- [72] Pratviel, G., Bernadou, J., Meunier, B. (1998). DNA and RNA Cleavage by Metal Complexes. *Advances in Inorganic Chemistry*, 45, 251.
- [73] Shahabadi, N., Kashanian, S., Khosravi, M., Mahdavi, M. (2010). Multispectroscopic DNA Interaction Studies of a Water-Soluble Nickel(II) Complex Containing Different Dinitrogen Aromatic Ligands. *Transition Metal Chemistry*, 35, 699–705.
- [74] Kumar, K. A., Reddy, K. L., Vidhisha, S., Satyanarayana, S. (2009). Synthesis, Characterization and DNA Binding and Photocleavage Studies of [Ru(bpy)<sub>2</sub>BDPPZ]<sub>2</sub>, [Ru(dmb)<sub>2</sub>BDPPZ]<sub>2</sub> and [Ru(phen)<sub>2</sub>BDPPZ]<sub>2</sub><sup>+</sup> complexes and their Antimicrobial Activity. *Applied Organometallic Chemistry*, 23, 409–420.
- [75] Alomar, K. (2009). Synthesis, Crystal Structure and Characterization of 3-thiophene . Aldehyde Thiosemicarbazone and its Complexes with Cbalt(II), Nickel(II) and Copper(II). *Polyhedron*, 28 (7), 1273-1280.
- [76] Chandra, S. (2005). Spectroscopic and Biological Studies on Newly Synthesized Nickel (II) Complexes of Semicarbazone Thiosemicarbazones. *Spectrochimica Acta Part A*, 62, 1089.
- [77] Chandra, S., Parmar, S., & Kumar, Y. (2009). Synthesis, Spectroscopic, and Antimicrobial Studies on Bivalent Zinc and Mercury complexes of 2-formylpyridine thiosemicarbazones. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 1-6.
- [78] Tripathi, K.D. (2006). Essentials of Medicinal Pharmacology, 6th edition. *Jaypee Brothers Medical Publishers, New Delhi*, 667.
- [79] Jouad, E. M., et al. (2001). *Journal of Inorganic Biochemistry*, 86, 565.



- [80] Venkatesha, K., Rayamb, P., Sekha, K. B. C., Mukkantia, K. (2016). Synthesis, Characterization and Biological Activity of Some New Thiosemicarbazide Derivatives and their Transition Metal Complexes. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 7(1), 258-266.
- [81] Almeida, S. M. V., Lafayette, E. A., da Silva, L. P. B. G., Amorim, C. A. D. C., de Oliveira, T. B., Ruiz, A. L. T. G., ... & Júnior, L. B. D. C. (2015). Synthesis, DNA Binding, and Antiproliferative Activity of Novel Acridine-Thiosemicarbazone Derivatives. *International journal of molecular sciences*, 16(6), 13023-13042.
- [82] Ali, A. Q., Teoh, S. G., Salhin, A., Eltayeb, N. E., Ahamed, M. B. K., & Majid, A. A. (2014). Synthesis of isatin thiosemicarbazones derivatives: In vitro anti-cancer, DNA binding and cleavage activities. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 125, 440-448.
- [83] Panchenko, T., Evseeva, M., & Ranskiy, A. (2014). Copper (II) and Nickel (II) with N, N'-Bis (Salicylidene) Thiosemicarbazide Heterometal Complex Compounds. *Chemist & Chemical Technology*, 8 (3), 241-248.
- [84] Sastry, V. G., AshokBabu, K., & Prathyusha, K. (2013). Comparative Study And Synthesis Of Some 5-Fluoro Isatin Schiff Bases And Evaluation Of Their Pharmacological Actions. *International Journal of PharmTech Research*, 3 (5), 1404-1409.
- [85] Nevagi, R. J. & Dhake, A. S. (2013). Antibacterial Activity of Thiosemicarbazide Derivatives. *Der Pharma Chemica*, 5 (2), 45-49.
- [86] Parul, N., Subhangkar, N. & Arun, M. (2012). Antimicrobial Activity of Different Thiosemicarbazone Compounds Against Microbial Pathogenics. *International Research Journal of Pharmacy*, 3 (5), 350-363.
- [87] Pervez, H., Chohan, Z. H., Ramzan, M., Nasim, F. U. H., & Khan, K. M. (2009). Synthesis and biological evaluation of some new N4-substituted isatin-3- thiosemicarbazones. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 24(2), 437-446.
- [88] Konstantinovici, S. S., Radovanovic, B. C., Sovilj, S. P. & Stanojevis. (2008). Antimicrobial Activity of Some Isatin-3-Thiosemicarbazone Complexes. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 73 (1), 7-13.
- [89] Jarrahpour, A., Khalili, D., De Clercq, E., Salmi, C., & Brunel, J. M. (2007). Synthesis, antibacterial, antifungal and antiviral activity evaluation of some new bis-Schiff bases of isatin and their derivatives. *Molecules*, 12(8), 1720-1730.

- [90] Kandemirli, F., et al. (2012). Quantum Chemistry-Molecules for Innovations, Quantum chemical calculations for some isatin thiosemicarbazones. *Quantum Chemistry Molecules for Innovations*, 2 (3), 25-58.
- [91] Technical Resource. A guide to Understanding Extinction Coefficients, with Emphasis on Spectrophotometric Determination of Protein Concentration. *Journal of the Extension coefficient*, 73 (1), 7–13.
- [92] P, Pakravan & S, Masoudian. (2015). Study on the Interaction between Isatin- $\beta$ -Thiosemicarbazone and Calf Thymus DNA by Spectroscopic Techniques. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 14 (1) Page NO: 111-123.
- [93] H, A, Benesi & J,H, Hildebrand. (1949). Spectrophotometric investigation of the interaction of iodine with aromatic hydrocarbons. *Journal. Chemical Society* 71, 2703–2707.
- [94] 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.
- [95] Prathima, B., Subba Rao, Y., Chalapathi, P.V., Reddy, Y. P., Varada Reddy, A. (2012). Spectral, Structural and Biological Analysis of Cr (III) Complex with Benzyloxybenzaldehyde-4-Phenyl-3-Thiosemicarbazone. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4 (3), 167-174.
- [96] Venkatesha, K., Rayamb, P., Sekha, K. B. C., Mukkantia, K. (2016). Synthesis, Characterization and Biological Activity of Some New Thiosemicarbazide Derivatives and their Transition Metal Complexes. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutica Technology*, 7 (1), 258-266.
- [97] Osman Emre Ozkan; Gökhan Zengin; Mehmet Akça; Mehmet Cengiz Baloğlu; Çağrı Olgun; Ergin Murat Altuner; Saim Ates; Abdurrahman Aktümsek & Hasan Vurdu. (2015). DNA protection, antioxidant, antibacterial and enzyme inhibition activities of heartwood and sapwood extracts from juniper and olive woods. *The Royal Society of Chemistry*, 5, 72950–72958.
- [98] N. Sharath; Halehatty S. Bhojya Naik; B. Vinay Kumar & Joy Hoskeri. (2011). Antibacterial, Molecular Docking, DNA Binding and Photocleavage Studies on Novel Heterocyclic Pyrazoles. *British Journal of Pharmaceutical Research*, 1(2) Page NO: 46-65.
- [99] 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.

- [100] Herrador, M. A., Jimenez, A. M., & Asuero, A. G. (1987). Spectrophotometric determination of zinc in potable waters and insulin with methylglyoxal bis (4-phenyl-3-thiosemicarbazone). *Analyst*, *112*(9), 1237-1246.
- [101] Sirajuddin, M., Ali, S., & Badshah, A. (2013). Drug–DNA interactions and their study by UV–Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *124*, 1-19.
- [102] 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.
- [103] 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.

## ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad : Sana Ali Mustafa SOOF  
Doğum Tarihi : 30.3.1986 Masallata.Libya  
Medeni Durumu : Evli  
Yabancı Dil : İngilizce  
E-posta : sana.soof@gmail.com



### Eğitim Bilgileri

Lise : Jalie Tahade  
Lisans : Sağlık Uzmanlığı Yüksek Enstitüsü –Medikal Laboratuar