

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YENİ SENTEZLENMİŞ BAZI GEÇİŞ METAL
KOMPLEKSLERİNİN ANTİMİKROBİYAL, ANTİOKSİDAN VE
MUTAJENİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ahmet İsmail ÖZKAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR

Haziran – 2012

“ Bilim, en son aşamaya gelmediği için; bugün kabul ettiğini yarın ret, bugün reddettiğini yarın kabul edebilir!

Maddenin bölünmez ve en küçük parçası;

Dün: Atom,

Bugün: Kuark,

Yarın: ... ”

S. Remzi ÖZKAN

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
DİYARBAKIR

Ahmet İsmail ÖZKAN tarafından yapılan “Yeni Sentezlenmiş Bazı Geçiş Metal Komplekslerinin Antimikrobiyal, Antioksidan ve Mutajenik Aktivitelerinin Araştırılması” konulu bu çalışma, jürimiz tarafından BİYOLOJİ Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyesinin

Ünvanı Adı Soyadı

Başkan : Doç. Dr. Fikret UYAR.....

Üye : Doç. Dr. Hülya KARADEDE AKIN.....

Üye : Doç. Dr. Veysel TOLAN (Danışman).....

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 28/06/2012

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

.../...../2012

Prof. Dr. Hamdi TEMEL

ENSTİTÜ MÜDÜRÜ

(MÜHÜR)

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, aynı zamanda tezimin değerlendirilmesindeki katkılarından, her zaman olumlu tavır ve sözlerinden (“Amacımız bağcıyı dövmek değil, amacımız üzüm yemektir!”) dolayı değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Veysel TOLAN ’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamda kullanılan test bileşiklerini temin eden Kimya Bölümü Öğretim Elemanı Sayın Doç. Dr. Nermin BİRİCİK ’e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans boyunca desteklerini esirgemeyen Ziya Gökalp Eğitim Fakültesi İlköğretim Bölümü Fen Bilgisi Öğretmenliği Anabilim Dalı Öğretim Elemanı Sayın Doç. Dr. Mehmet DOĞRU ’ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Deney test yöntemlerini hem teorik hem de pratik olarak öğrenmemde yardımlarından dolayı Batman Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Elemanı Arş. Gör. Nesrin HAŞİMİ ’ye teşekkürlerimi sunarım.

Benden sevgilerini ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili Aileme, çalışmalarım süresince bilgilerini ve önerilerini paylaştıklarından dolayı değerli arkadaşlarım Alper KAZANCI, Fatma BAŞDEMİR, Ferit ÖZGEN, Uğur ŞEKER, Kemal YÜCE, Hacer KAYHAN, İlhan BALTA ve Moleküler Biyoloji Araştırma laboratuvarında beraber çalıştığımız değerli doktora/yüksek lisans arkadaşlarıma ve Kimya Bölümündeki doktora/yüksek lisans arkadaşlarıma sonsuz sevgilerimi sunarım.

Ayrıca cam atölyesinde görevli olan ve saf su temin eden Eşref ÖZER ’e de teşekkürlerimi sunarım.

Aynı zamanda 11-FF-33 numaralı projeyi desteklemesinden dolayı Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü’ne teşekkürlerimi sunarım.

Ahmet İsmail ÖZKAN

Haziran-2012

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VI
ÇİZELGE LİSTESİ.....	VII
ŞEKİL LİSTESİ.....	IX
KISALTMA VE SİMGELER.....	XI
1. GİRİŞ.....	1
-Canlı Sistemlerde Koordinasyon Bileşikleri.....	2
-Antibiyotikle İlgili Faktörler.....	5
1.1. Mikrobiyal Etki.....	5
-Mikrobiyal Yararlılık.....	7
-Antimikrobiyal Bileşiklerin Etki Mekanizmaları.....	7
-Baş Edilemeyen Sorun: Direnç Gelişimi.....	9
-Fagositoz: Serbest Radikal Savunma Sistemi.....	10
1.2. Antioksidan Etki.....	11
1.3. Mutajenite.....	16
-Salmonella/Mikrozom Mutajenite Testi.....	18
-Mutant Bakterilerin Kullanılması.....	19
-Mutantların Genetik Özellikleri: Tarama ve Seçme.....	20
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	23
-Geçiş Metal Kompleksleri.....	23
-Geçiş Metal Komplekslerin Etkileri.....	23
2.1. Geçiş Metal Komplekslerinin Antimikrobiyal Aktivitesi.....	26
2.2. Geçiş Metal Komplekslerinin Antioksidan Aktivitesi.....	30

2.3.	Geçiş Metal Komplekslerinin Mutajenik Aktivitesi.....	31
3.	MATERYAL ve METOT.....	35
3.1.	Materyal.....	35
3.1.1.	Kullanılan Çözücüler ve Test Bileşikleri.....	35
3.1.1.1	Test Bileşiklerinin Kimyasal Yapıları.....	36
3.1.2.	Antimikrobiyal.....	38
3.1.2.1.	Kullanılan Test Mikroorganizmaları.....	38
3.1.2.2.	Kullanılan Besi yerleri.....	39
3.1.3.	Antioksidan.....	39
3.1.3.1.	Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	39
3.1.4.	Mutajenite.....	40
3.1.4.1.	Kullanılan Test Bakterileri.....	40
3.1.4.2.	Kullanılan Besi yerleri ve Stok Çözeltiler.....	41
3.2.	Metot.....	46
3.2.1.	Antimikrobiyal Aktivite Deneyi.....	46
3.2.1.1.	Disk Difüzyon Yöntemi.....	46
3.2.2.	Antioksidan Aktivite Deneyi.....	47
3.2.2.1.	DPPH Radikal Süpürme Yöntemi.....	47
3.2.3.	Mutajenite Aktivite Deneyi.....	48
3.2.3.1.	Mutantların Genetik Özelliklerinin Taranması ve Seçilmesi.....	49
3.2.3.2.	AMES/ <i>Salmonella</i> Yöntemi.....	50
4.	BULGULAR ve TARTIŞMA.....	53
4.1.	Bulgular.....	53
4.1.1.	Antimikrobiyal.....	53
4.1.2.	Antioksidan.....	59
4.1.3.	Mutajenite.....	65
4.2.	Tartışma.....	74

4.2.1.	Antimikrobiyal.....	74
4.2.2.	Antioksidan.....	79
4.2.3.	Mutajenite.....	83
5.	SONUÇ ve ÖNERİLER.....	85
5.1.	Sonuçlar.....	85
5.1.1.	Antimikrobiyal.....	85
5.1.2.	Antioksidan.....	86
5.1.3.	Mutajenite.....	88
5.2.	Öneriler.....	90
6.	KAYNAKLAR.....	93
EK.1	111
EK.2	113
ÖZGEÇMİŞ	115

ÖZET

YENİ SENTEZLENMİŞ BAZI GEÇİŞ METAL KOMPLEKSLERİNİN ANTİMİKROBİYAL, ANTIOKSİDAN VE MUTAJENİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ahmet İsmail ÖZKAN

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

2012

Bu çalışmada yeni sentezlenmiş bazı geçiş metal komplekslerinin ve aminofosfin bileşiğinin biyolojik aktiviteleri antimikrobiyal, antioksidan ve mutajenite aktiviteleri açısından incelenmiştir.

Antimikrobiyal aktivite incelenmesinde kağıt disk difüzyon deneyi kullanılarak patojen olduğu bilinen beş farklı mikroorganizma olan iki Gram (-) negatif *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*, iki Gram (+) pozitif *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus pyogenes*, ve fungi *Candida albicans* üzerinde kağıt disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zon çapları belirlenerek denenmiştir. Elde edilmiş sonuçlara göre VT6 test bileşiği *Escherichia coli* ve *Pseudomonas*, VT8 test bileşiği *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, ve *Candida albicans* ve VT5, VT7 ve VT9 test bileşikleri *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, ve *Candida albicans* mikroorganizmaları üzerinde zayıf antimikrobiyal aktivitesinin olduğu belirlenmiştir.

Antioksidan aktivite DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi yardımıyla incelenmiştir. Pozitif (BHA, BHT ve AA) kontrollerin sonuçları ile karşılaştırılan test bileşiklerinin aktivite sonuçlarına göre VT5, VT6 ve VT7 test bileşiklerinin orta, VT9 test bileşiğinin iyi ve VT8 test bileşiğinin güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Mutajenite Ames/*Salmonella* mikrozom deneyi kullanılarak S9 mix (+) varlığında ve S9 mix (-) yokluğunda belirlenmiştir. Aktivite TA98 ve TA100 *Salmonella* mutant bakterileri üzerinde incelenmiştir. Aktivite sonuçlarına göre VT5 test bileşiği S9 mix (-) yokluğunda hem TA98 hem de TA100 üzerinde non-mutajenik fakat S9 mix (+) varlığında hem TA98 hem de TA100 üzerinde mutajenik, VT6 test bileşiği S9 mix (-) yokluğunda hem TA98 hem de TA100 üzerinde mutajenik fakat S9 mix (+) varlığında TA98 üzerinde non-mutajenik ve TA100 üzerinde mutajenik, VT7 test bileşiği S9 mix (-) yokluğunda hem TA98 hem de TA100 üzerinde mutajenik fakat S9 mix (+) varlığında hem TA98 hem de TA100 üzerinde non-mutajenik, VT8 test bileşiği S9 mix (-) yokluğunda hem TA98 hem de TA100 üzerinde non-mutajenik fakat S9 mix (+) varlığında TA98 üzerinde non-mutajenik ve TA100 üzerinde mutajenik olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Geçiş metaller, Disk difüzyon, DPPH, Ames testi, Mutajenite.

ABSTRACT

RESEARCHING ANTIMICROBIAL, ANTIOXIDANT AND MUTAGENIC ACTIVITIES OF SOME NEWLY SYNTHESIZED TRANSITION METAL COMPLEXES

MSc. THESIS

Ahmet İsmail ÖZKAN

DEPARTMENT OF BIOLOGY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF DICLE

2012

In this study, the biological activities of some newly synthesized transition metal complexes and aminophosphine compound have investigated via antimicrobial, antioxidant and mutagenicity activities.

Paper disk diffusion assay was using to determine antimicrobial activity of tested compounds against five certain pathogen microorganisms, two Gram (-) negative *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, two Gram (+) positive *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes* and a fungi *Candida albicans*, determined by evaluating of inhibition zone radius that occurred around paper disks. Results of inhibition zones showed that VT6 tested compound has a poor antimicrobial activity on both *Escherichia coli* and *Pseudomonas*, VT8 tested compound has a poor antimicrobial activity on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans* and VT5, VT7, VT9 tested compounds have a poor antimicrobial activity on *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, and *Candida albicans* microorganisms.

Antioxidant activity of tested compounds determined by scavenging activity of DPPH free radical. As comparison results of both tested compounds and positive (BHA, BHT and AA) controls, VT5, VT6 and VT7 tested compounds have a middle, VT9 tested compound has a good and VT8 tested compound has a powerful antioxidant activity against DPPH.

Mutagenicity activity has examined by using Ames/*Salmonella* microsome assay both in presence and absence of S9 mix. The activity examined both on TA98 and TA100 *Salmonella* mutant bacteria. The results showed that VT5 tested compound has a non-mutagenic activity on both TA98 and TA100 in absence of S9 mix (-) but has a mutagenic activity on both TA98 and TA100 in presence of S9 mix (+), VT6 tested compound has a mutagenic activity on both TA98 and TA100 in absence of S9 mix (-) but has a non-mutagenic activity on TA98 and has a mutagenic activity on TA100 in presence of S9 mix (+), VT7 tested compound has a mutagenic activity on both TA98 and TA100 in absence of S9 mix (-) but has a non-mutagenic activity on both TA98 and TA100 in presence of S9 mix (+), VT8 tested compound has a non-mutagenic activity on both TA98 and TA100 in absence of S9 mix (-) but has a non-mutagenic activity on TA98 and has a mutagenic activity on TA100 in presence of S9 mix (+).

Key Words: Transition metals, Disk diffusion, DPPH, Ames test, Mutagenicity.

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Cizelge No</u>		<u>Sayfa</u>
1.1.	Enzimlerin kofaktörü olan bazı inorganik iyonlar	2
1.2.	Çeşitli antibiyotiklerin etki mekanizmaları	8
3.1.1.	Kullanılan test bileşikleri	35
3.1.2.1.	Gram(+) pozitif ve Gram(-) negatif bakteri farklılıkları	38
3.1.4.1.	Test suşlarının genetik özellikler bakımından kontrolleri	40
3.2.3.	Mutajenite testinde kullanılan <i>Salmonella typhimurium</i> mutant suşun genetik özellikleri	49
4.1.1.1.	VT5 test bileşiğinin antimikrobiyal aktivite değerleri	54
4.1.1.2.	VT6 test bileşiğinin antimikrobiyal aktivite değerleri	55
4.1.1.3.	VT7 test bileşiğinin antimikrobiyal aktivite değerleri	56
4.1.1.4.	VT8 test bileşiğinin antimikrobiyal aktivite değerleri	57
4.1.1.5.	VT9 test bileşiğinin antimikrobiyal aktivite değerleri	58
4.1.2.1.	Kontrollerin DPPH serbest radikal % inhibisyon aktivite değerleri	59
4.1.2.2.	VT5 test bileşiğinin DPPH serbest radikal % inhibisyonu grafiği	60
4.1.2.3.	VT6 test bileşiğinin DPPH serbest radikal % inhibisyonu grafiği	61
4.1.2.4.	VT7 test bileşiğinin DPPH serbest radikal % inhibisyonu grafiği	62
4.1.2.5.	VT8 test bileşiğinin DPPH serbest radikal % inhibisyonu grafiği	63
4.1.2.6.	VT9 test bileşiğinin DPPH serbest radikal % inhibisyonu grafiği	64
4.1.3.1.	VT5 test bileşiğinin Ames <i>Salmonella</i> /Mikrozom aktivite değerleri	66
4.1.3.2.	VT6 test bileşiğinin Ames <i>Salmonella</i> /Mikrozom aktivite değerleri	68

4.1.3.3.	VT7 test bileşiminin Ames <i>Salmonella</i> /Mikrozom aktivite değerleri	70
4.1.3.4	VT8 test bileşiminin Ames <i>Salmonella</i> /Mikrozom aktivite değerleri	72
4.2.1.	Test bileşiklerinin 2000 µg/ml konsantrasyondaki aktivite sonuçları	76
4.2.2.	Test bileşiklerine ait DPPH süpürme aktivitelerinin karşılaştırma sonuçları	80

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Sekil No</u>		<u>Sayfa</u>
1.1.	Oksijenin taşınmasında görev alan hemoglobinin yapısı	2
1.2.	Canlı sistemlerde bulunan metal iyonları	3
1.3.	Vücut savunma sistemi tarafından patojenlere karşı serbest radikallerin üretilmesi	10
1.4.	Serbest radikal hasarının onarılması	14
1.5.	Antioksidan bileşiğinin serbest radikale elektron vermesi sonucu serbest radikalın nötrleştirilmesi	15
2.1.	Metal kompleks yapısının basit görünümü	24
4.1.2.1.	Pozitif ve Negatif kontrollerin DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği	59
4.1.2.2.	VT5 test bileşiğinin DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği	60
4.1.2.3.	VT6 test bileşiğinin DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği	61
4.1.2.4.	VT7 test bileşiğinin DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği	62
4.1.2.5.	VT8 test bileşiğinin DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği	63
4.1.2.6.	VT9 test bileşiğinin DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği	64
4.1.3.1.a.	VT5 test bileşiğinin TA98 üzerindeki mutajenik aktivite grafiği	67
4.1.3.1.b.	VT5 test bileşiğinin TA100 üzerindeki mutajenik aktivite grafiği	67
4.1.3.2.a.	VT6 test bileşiğinin TA98 üzerindeki mutajenik aktivite grafiği	69
4.1.3.2.b.	VT6 test bileşiğinin TA100 üzerindeki mutajenik aktivite grafiği	69
4.1.3.3.a.	VT7 test bileşiğinin TA98 üzerindeki mutajenik aktivite grafiği	71

4.1.3.3.b.	VT7 test bileşiminin <i>TA100</i> üzerindeki mutajenik aktivite grafiği	71
4.1.3.4.a.	VT8 test bileşiminin <i>TA98</i> üzerindeki mutajenik aktivite grafiği	73
4.1.3.4.b.	VT8 test bileşiminin <i>TA100</i> üzerindeki mutajenik aktivite grafiği	73

KISALTMALAR ve SİMGELER

<u>Sembol</u>	<u>Tanımı</u>
AA	: Askorbik Asit
BHA	: Bütillenmiş Hidroksi Anisol
BHT	: Bütillenmiş Hidroksi Toluen
CAT	: Katalaz
Cef.	: Cefuroxime sodium
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH	: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
Erit.	: Eritromisin
ETS	: Elektron Taşıma Sistemi
GP	: Glutasyon Peroksidaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
İm.	: İmipenem
K ₂ HPO ₄	: Potassium phosphate anhydrous
KH ₂ PO ₄	: Potassium dihydrogen orthophosphate
LPO	: Lipit peroksidasyonu
mm	: Milimetre
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
µg/kg	: Mikrogram/Kilogram
µg/µl	: Mikrogram/Mikrolitre
µg/ml	: Mikrogram/Mililitre
mM	: Mili Molar
MGA	: Minimal Glukoz Agar

<u>Sembol</u>	<u>Tanımı</u>
NA	: Nutrient Agar
NB	: Nutrient Broth
NaN ₃	: Sodyum Azid
Na ₂ HPO ₄	: Natrium phosphate anhydrous
NaCl	: Natrium chloride
ROS(ROT)	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süper Oksit Dismutaz
THF	: Tetrahidrofuran
UV	: Ultraviyole
% inh.	: İnhibisyon Yüzdesi
°C	: Santigrad derece
D.Ü.F.F.C.A.	: Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Cam Atölyesi
D.Ü.F.F.M.B.A.L.	: Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji Araştırma Laboratuvarı

1.GİRİŞ

Metaller, insanlık tarihi boyunca insan yaşamında özellikle tıpta önemli bir rol oynamaktadır. Biyolojik sistemlerdeki önemi son zamanlarda fark edilen çoğu metal günlük besinlerle zaten değişik miktarlarda alınmaktadır. Bununla birlikte canlı sistemlerde bazı metallerin eser miktarda bile olmaları toksik etki göstermektedir. Çoğu metalik elementler yaşayan sistemlerde çok önemli roller oynamaktadır. Metallerin karakteristik özellikleri kolayca elektron kaybederek biyolojik sıvılarda çözülebilmeye eğiliminde olabilmeleridir. Metal iyonları elektron yoksunu iken, proteinler ve DNA elektron bakımından zengin biyolojik moleküllerdir. Bu yüzden farklı durumdaki yükler, genel olarak metal iyonlarının biyolojik moleküllerle etkileşme eğilimine yol açar. Bu durum oksijen gibi canlı yaşamında çok önemli olan küçük moleküller ve iyonlar için metal iyonlarının affinitesine uygulanmaktadır. Metaller vücudun tamamına oksijen taşıma ve elektron yükü taşıma gibi geniş alanda görev almaktadırlar. Demir içeren bir protein olan Hemoglobin, oksijene demir yardımıyla bağlanarak bu hayati molekülü vücut dokularına taşır. Bununla beraber bütün hücrelerde gen ekspresyonu sırasında oluşan çözülmüş-DNA'yı tanıma sorunu, çinko parmak gibi protein motifleri olan spesifik DNA bağlanma proteinleri tarafından giderilir. Çinko (Zn) gibi çeşitli metal iyonları hücrelerdeki genlerin fonksiyonlarını düzenlemesi için küçük motifleri olan çinko-parmak'a yapısal iskelet sağlar. Krom, normal karbonhidrat ve lipid metabolizması için gerekli olan temel bir elementtir. Bundan yaklaşık 5000 yıl önce Mısırlılar bakırı kullanarak suyu sterilize etmişlerdir (Klug 1999, Anderson 2000, Sun ve ark. 2007, Tripathi 2009, Voytas ve Joung 2009).

Genel olarak, hücrede asit-baz dengesini sağlama ve kofaktör olmaları gibi birçok hayati işlevleri gören metallerin, aynı zamanda transport ve sinirsel iletim gibi işlevleri de bulunmaktadır (De Robertis ve De Robertis 1980, Bakhtiar ve ark. 1999).

Kimyasal reaksiyonları hızlandıran ancak kendisi reaksiyon sırasında değişmeyen ve tekrar tekrar kullanılabilen biyolojik katalizörler olan enzimler, aktivasyon için bir veya daha fazla (Fe, Mg, Mn) metal iyonları gibi kofaktörlere gereksinim duymaktadırlar. Metal iyonları ve kofaktörü oldukları enzimler Çizelge 1.1.'de gösterilmiştir.

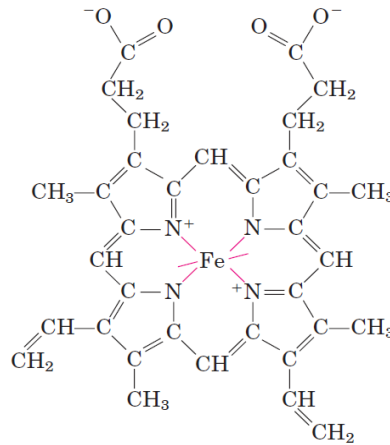
Çizelge 1.1. Enzimlerin kofaktörü olan bazı inorganik iyonlar (Yıldırımkaya 2003, Nelson ve Cox 2008)

İyonlar	Enzimler
Cu	Sitokrom Oksidaz
Fe	Sitokrom Oksidaz, Katalaz, Peroksidaz
K	Pirüvat kinaz
Mg	Hezokinaz, Glukoz-6-fosfataz, Pirüvat kinaz
Mn	Arginaz, Ribonükleotid redüktaz
Mo	Dinitrojenaz
Ni	Üreaz
Se	Glutasyon peroksidaz
Zn	Karbonik anhidraz, Alkol dehidrojenaz, Karboksipeptidaz A ve B

-Canlı Sistemlerde Koordinasyon Bileşikleri

Oksijenin tüm dokulara gereken miktarda taşınması önemli bir sorundur. Proteinlerdeki aminoasit yan zincirlerinin hiçbiri oksijen molekülü ile geri-dönüşümlü bağlanamaz. Aminoasit yan zinciri ile oksijen arasındaki etkileşim, demir (Fe) ve bakır (Cu) metalleri tarafından sağlanır. Serbest demir (Fe), DNA ile diğer makro moleküllere hasar verebilen oldukça yüksek reaktif olan hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olabilir. Fe, Zn, Ca, Mo ve Cu gibi metallerin bağlandığı proteinler metalloproteinler olarak adlandırılırlar (Roat-Malone 2002, Nelson ve Cox 2008, Hadjiliadis ve Sletten 2009).

Şekil 1.1.'de hemoglobinin yapısında bulunan ve oksijene bağlanan demir gösterilmektedir.

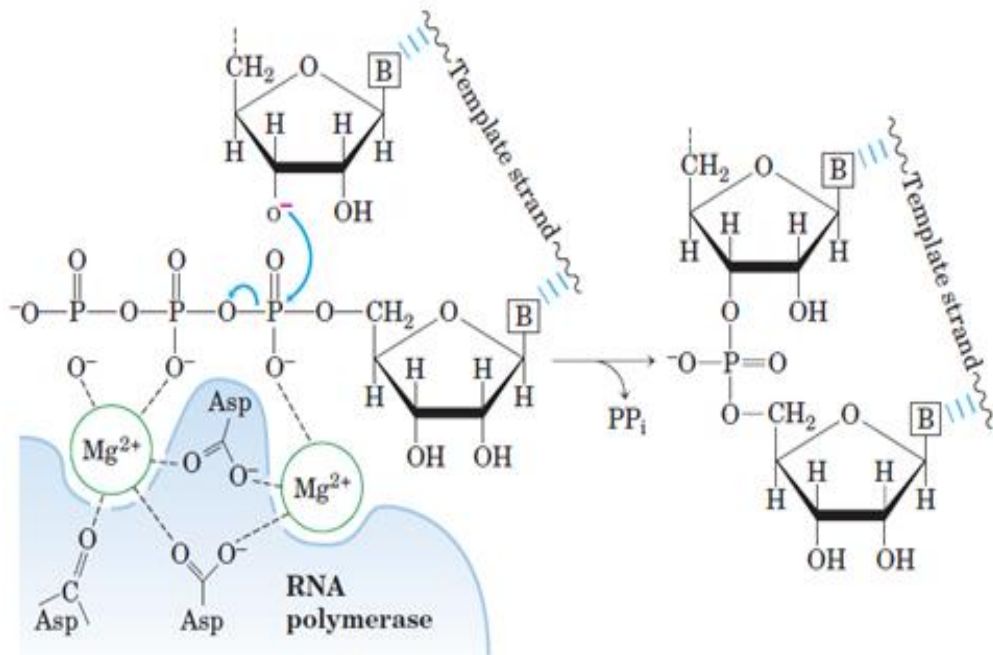


Şekil 1.1. Oksijenin taşınmasında görev alan hemoglobinin yapısı (Nelson ve Cox 2008)

Vücutta fizyolojik ve biyokimyasal fonksiyonlar sırasında; enzim kofaktörü olarak Magnezyum, insülin etkisini artırmada Krom, B₁₂ vitamininin bileşeni olarak Kobalt, oksidaz enzimleri ve sitozolik süperoksit dismutazın bileşeni olarak Bakır, glutatyon peroksidazın bileşeni olarak Selenyum, hemoglobinin yapısında bulunan Hem bileşeni olarak Demir, birçok enzimin kofaktörü olarak Manganez, Molibden ve Çinko'nun gerekli olduğu belirtilmiştir (Yıldırımkaya 2003, Krupanidhi ve ark. 2008).

Anyonlara (Cl⁻) ve katyonlara (Na⁺, K⁺) ayrılabilen tuzlar hücrede asit-baz dengesinde çok önemli bir rol almaktadır. Magnezyum gibi bazı inorganik iyonlar enzimatik aktivitelerde görev alan önemli kofaktörlerdir. Bunun yanında Na⁺, K⁺, Mg²⁺ ve Cl⁻ gibi iyonlar sinirsel iletimde ve transport işlemlerinde görev alırlar. Ayrıca Mn, Cu, Co, Se, Ni ve Zn gibi eser elementler de canlı hücreler için olmazsa olmazlardır (De Robertis ve De Robertis 1980).

Şekil 1.2.'de gösterildiği gibi canlı sistemlerde katalizör olarak görev alan Mg²⁺ iyonlarından biri NTP'nin α-fosfat üzerindeki 3'-hidroksil grubuna atağı kolaylaştırırken, diğer Mg iyonu pirofosfatın yer değiştirmesini kolaylaştırır. Ayrıca canlı organizmalar için hayati gerekliliği olan metal iyonları, bakteri hücre membranlarından iyon kanallarından geçerek bakteri hücrelerini öldürebilir (Nelson ve Cox 2008).



Şekil 1.2. Canlı sistemlerde bulunan metal iyonları (Nelson ve Cox 2008)

1960 yılında B. Rosenberg elektrik alanının bakteriler üzerindeki etkilerini inceleyebilmek için yaptığı düzenekte Pt (platin) elektrotlar kullanmıştır. Deney sonucunda test bakterilerinin büyüme ve gelişmelerindeki inhibisyonu fark etmiştir. Bakterinin bölünmemesindeki ve gelişmemesindeki nedeni araştırmış ve engelleme kaynağının elektrotlar olduğunu fark etmiştir. Çünkü elektrot olarak platin kullanmıştı. Platinin bakteriler üzerindeki etkilerinin fark edilmesinden buyana geçiş metallerine olan ilgi antimikrobiyal, antioksidan ve antikanser gibi birçok alanda artarak devam etmektedir.

Literatürlerde, metal komplekslerinin terapötik ajan olarak kullanılmasıyla son yıllarda artan öneme sahip olduğu ve bunun sonucunda kanser, artrit, ülser, diyabet, anemi ve kardiyovasküler gibi hastalıklarda kullanılabilir dikkat çekici birçok ilaç keşfine yol açtığı belirtilmiştir. Ayrıca antibiyotik dirençli suşların ortaya çıkmasıyla da araştırmacılar yeni nesil etkili antibiyotik bileşiklerin arayışına girmiştir (Anderson 2000, Sun ve ark. 2007).

Hücre membranı, DNA ve ribozomlar gibi hücreler için hayati önem taşıyan biyolojik moleküllere çeşitli ataklar yapması ve istenmeyen mikroorganizmaları uzaklaştırarak antimikrobiyal, vücut metabolizması ve çeşitli hastalıklar sırasında üretilen oldukça reaktif serbest radikallere elektron veya proton vererek etkisiz hale dönüştürmesi ve gıdaları/içecekleri bozulmadan daha uzun süre koruyabildiğinden antioksidan ve birçok mutajen tarafından oluşturulan ve fonksiyonel olmayan proteinlerin sentezlenmesine neden olan mutasyonun geri döndürülmesi veya kanser hücrelerinde DNA kırıkları oluşturulmasından dolayı da mutajenite deneyleri gibi birçok alanda geçiş metal kompleksleri kullanılmaktadır.

Günümüzde antioksidan ve antimikrobiyal özellikteki bileşiklerin önemi ve dış tedavisi, ilaç, gıda, kozmetik gibi kullanım alanlarındaki artış bu bileşiklere olan gereksinimi arttırmasıyla birlikte son zamanlarda antimikrobiyal ve antioksidan aktivite gösteren bileşiklere yönelik araştırmalar da artmıştır. Bununla beraber başta enfeksiyon hastalığı olmak üzere çevresel faktörler sonucu vücutta yoğun miktarda üretilen serbest radikaller lipid peroksidasyonu, protein peroksidasyonu ve DNA hasarı gibi birçok hastalığı da tetiklemektedir. Bu nedenle antioksidan takviyeler oksidatif zincir

reaksiyon başlamasını ve ilerlemesini inhibe eder veya geciktirir, böylece reaktif oksijenin hücreye zararını engeller veya onarır.

-Antibiyotikle İlgili Faktörler

Test bileşiğinin olası etki derecelerini absorpsiyon, dağılım ve eliminasyonu yoluyla mikroorganizmalar üzerinde *in vitro* koşullarda test etmek gerekir. Çünkü antibiyotiklerin (klindamisin, kloramfenikol gibi) bazıları bakterinin gelişme ve üremesini inhibe ederken, bazıları ise bakterileri direkt olarak öldürürler (Karaalp ve Kılıç 2006).

Bakterisidal etki antibiyotiklerde farklı özellikler gösterir. Konsantrasyona bağlı bakterisidal etki gösteren antibiyotiklerin dozları arttırılınca bakterisidal etkileri artar. Süreye bağlı bakterisidal etki gösteren antibiyotiklerde, MBC (minimal bakterisidal konsantrasyon) üzerindeki düzeyin sürdürülmesi bakterisidal etki için gereklidir. Dozu arttırmanın bir yararı yoktur. İlaç konsantrasyonu arttıkça ilaç düzeyi MBC altına düştükten sonra bile etkinlik süresi artar. Antibakteriyel ilaçlar mikroorganizma miktarının az olduğu erken dönemlerde daha etkilidir (Levinson 2004).

Ancak antibiyotiklerin uygunsuz ve gelişigüzel kullanımından dolayı da antimikrobiyal aktivitede önemli sorunlar yaşanmaktadır.

-Gelişigüzel Antibiyotik Kullanımının Sakıncaları:

- Direnç gelişimi
- Yüksek maliyet
- Sonuç alınmada gecikme.
- Süper mikroorganizma (Dirençli bakterilere bağlı transformasyon)

1.1.Mikrobiyal Etki

Mikroorganizmaları 1665'te tanımlayan Robert Hooke'un çalışmalarından haberi olan Antony Van Leeuwenhoek, 1684'te kendi yaptığı ve oldukça basit bir mikroskobu kullanarak çıplak gözle görülmeyen bu küçük canlıların varlığını keşfetmiştir. Pasteur'un 1880-1890 yılları arasında çeşitli hastalıklara karşı aşılar geliştirmesi ilk antimikrobiyal çalışma olmuş ve böylece ileriki antimikrobiyal

çalışmalara da öncülük etmiştir. Aynı yıllarda Christian Gram, yaptığı boyalarla bakterilerin boyandığını gözlemlemiş ve bakterileri (Gram (+) pozitif veya Gram (-) negatif olarak) sınıflandırmak için bugün bile kullandığımız Gram boyama metodunu ortaya çıkarmıştır. Daha sonraki yıllarda da Robert Koch bakterileri katı kültür ortamında üreterek şimdiki katı besi yerlerinin temelini atan ilk kişi olmuştur (Madigan ve Martinko 2010).

Mikrobiyal hastalıklar insanlığın başlangıcından beri var olmuştur. Bu yüzden dünyanın farklı bölgelerindeki araştırmacılar gerek doğal bileşikleri gerekse sentetik bileşikleri kullanarak insanlar arasında hastalık oluşturabilecek potansiyele sahip patojen mikroorganizmaların aşırı derecede çoğalmasını ve geniş alanlara yayılmasını önleyerek kontrol altına alabilecek farklı yöntemlerle bu hastalıkları alt etmenin yollarını araştırmaktadırlar.

Günümüzde birçok enfeksiyona bağlı hastalıkları kontrol edebilme imkanı olsa da, yapılan araştırmalarda mikroorganizmaların halen yaşam için büyük bir tehlike olduğunu göstermektedir. Çünkü her yıl milyonlarca insan yaygın mikrobiyal hastalıklar sonucu ölmektedir. Açıkçası mikroorganizmalar şimdi bile insan sağlığı için ciddi bir tehlike oluşturmaktadır. Ancak antimikrobiyal etkenlerin keşfi ile enfeksiyon hastalıkları kontrol altında tutulmaktadır.

Antimikrobiyal bileşiklere karşı oluşan tepki mekanizmasıyla baş edememe hastalık ve ölümlere sebep vermektedir. Bu nedenle ilaç olarak kullanılan antibiyotiklerin direnç geliştirmesi ciddi bir global sorundur. Antibiyotiklerin yaygın olarak kullanımları, antibiyotiklere karşı dirençliliğin gelişmesini arttırıcı bir güç olan seçici bir baskı uygulayarak hareket etmektedir (Lalitha 2004).

Mikroorganizmaların çoğu, büyüme, enerji üretimi ve üreme gibi yaşamsal süreçleri diğer hücrelerden bağımsız olarak yerine getirdiklerinden dolayı dünya üzerindeki tüm yaşam formlarını etkilerler. Mikroorganizmalar toprak verimi, antibiyotik üretimi ve insan proteinlerinin üretimi gibi pek çok büyük-ölçekli endüstriyel işler için kullanılmaktadır. Bununla beraber mikroorganizmalar insan aktivitelerinde ve dünyadaki yaşam ağında merkezi bir rol oynamaktadır. Organik maddelerin yıkımı ve anahtar besinlerin dönüşümü gibi işlemler mikrobiyal aktivitelere bağlıdır. Mikroorganizmalar, yüksek organizmalar için uygun olmayan yerlerde bile

yaşamalarından ve çeşitli fizyolojik yeteneklerinden dolayı dünyanın en iyi kimyacıları olarak görülmektedir (Madigan ve Martinko 2010).

-Mikrobiyal Yararlılık

Yaşamın kimyasal ve fiziksel temelini ileri düzeyde anlamamız, mikroorganizmaların çalışılmasıyla elde edilmiştir. Mikroorganizmalar enfeksiyon hastalıklarına neden oldukları gibi, B₁₂ vitamininin bitkilerde bulunmamasından dolayı, bu vitaminin mikroorganizmalar yoluyla elde edildiği belirtilmiştir (Yıldırımkaya 2003).

Ayrıca ekmeğin yapımı için hamurun mayalanmasında, sütün mayalanmasıyla yoğurt oluşumu ve kefir oluşumu gibi her gün tükettiğimiz besinlerin üretilmesinde de mikroorganizmalardan faydalanmaktayız. Mutluluğumuza neden olan sağlığın ve acı çektiğimiz birçok hastalığın nedeni de yine mikroorganizmalardır.

Ancak son zamanlarda artan çeşitli ilaçların gelişi güzel kullanılmaları sonucunda oluşan direnç gelişiminin artması beraberinde birçok patojen mikroorganizmaların geniş alanlara yayılmasına yol açmıştır (Coker ve ark. 2008).

-Antimikrobiyal Bileşiklerin Etki Mekanizmaları

Potansiyel antimikrobiyal aktiviteye sahip olan kimyasal maddelerin tek amacı mikroorganizmaların bölünme, gelişme ve artmasını herhangi bir basamakta engellemek veya apoptozise götürmektir. Çünkü Lewis (2000)'e göre, DNA hasarlı *E.coli* hücrelerinin programlı ölümü olayında; mutajenler tarafından DNA hasarı oluşumuyla transkripsiyonel represörlerin hidrolizi indüklenir ve SOS DNA onarım proteinlerinin ekspresyonunun aktifleştirilir böylece hücre bölünmesinde inhibisyona neden olur. Eğer hasar etkili bir şekilde onarırsa, hücre bölünmesi devam eder. Eğer hasar önemli derecede ise uzun süreli bölünme inhibisyonu hücre uzamasına ve otolize neden olan aktivatörün üretimiyle hücre parçalanmış olur.

Bunun için hücre üzerinde üç farklı yolla etkileşime gidebilir. Çizelge 1.2.'de gösterildiği gibi farklı bileşiklerin mikroorganizmalar üzerinde farklı etki mekanizmaları bulunmaktadır.

Çizelge 1.2. Çeşitli antibiyotiklerin etki mekanizmaları

Etki Ettiği Yer	Antibiyotikler	
Bakteri hücre duvarının sentezini inhibe ederek ve litik enzimleri aktive ederek etki oluşturanlar	Penisilinler	Ghooi ve Thatte 1995
	Sefalosporinler	Izaki ve ark. 1968
	Teikoplanin	Sieradzki ve Tomasz 1997
	İmipenem	
	Basitrasin	
	Vankomisin	Roy ve ark. 2001
	Aztreonam	
	Sikloserin	Tomasz ve Waks 1975
	Fosfomisin	Gobernado 2003
Sitoplazma membranının permeabilitesini değiştirerek etki oluşturanlar	Amfoterisin (Antifungal)	Cass ve ark. 1970
	Nistatin	
Bakteri ribozomlarında protein sentezini inhibe ederek etki oluşturanlar	Kloramfenikol	Sieradzki ve Tomasz 1997
	Eritromisin	
	Tetrasiklinler	
	Aminoglikozidler	Thompson ve ark. 2002
DNA ve mRNA sentezini bozarak etki oluşturanlar	Rifampisin	Wickner ve ark. 1972
	Kinolonlar	Drlica ve Zhao 1997
Bakteri metabolizması için gerekli bazı maddelerin sentezini (İntermediyer metabolizmayı) bozarak etki oluşturanlar	Sulfonamidler	Brown 1962
	İsoniazid	Desta ve ark. 2001
	Ethambutol	Takayama ve Kilburn 1989
	Trimethoprim	Dauber-Osguthorpe ve ark. 1988

Antibiyotik bileşiklerin etki mekanizmalarından birkaçı;

1. Hücresel membrana etki ederek membran geçirgenliğinin bozulmasına
2. Hücre membranından sitoplazmaya geçerek metabolizma için hayati öneme sahip ribozoma, onarım enzimlerine veya replikasyon enzimlerine bağlanarak hücrenin yaşamsal faaliyetini engellemesine
3. DNA atakları sonucu DNA'ya herhangi bir basamakta hasar vermesi ve hücrenin apoptozise girmesine yol açarak hücrenin yaşamına son verir (McManus 1997, Anderson 2000, Tenover 2006, Sun ve ark. 2007).

Çoğu interkalatör DNA'nın çift zincir konformasyonunu bozarak DNA replikasyonunun, transkripsiyonun ve onarımının normal mekanizmasını etkiler (Ratanaphan 2012).

-Baş Edilemeyen Sorun: Direnç Gelişimi

Basit görünümlü olmasına rağmen mikrobiyal hücreler yatay gen transferi dediğimiz transformasyon, transdüksiyon veya konjugasyon yoluyla çoğu antibiyotiklere karşı direnç kazanabildiği gibi antimikrobiyal ilaçların kullanımındaki artışa paralel olarak da direnç gelişmektedir. Bu yüzden daha etkili ve mikrobiyal hücrenin direnç oluşturamayacağı ve de uzun süre etkisini koruyabilecek, doğal veya sentetik bir bileşiğin bulunması yoluyla bakterilerin yayılmasına karşı kesin olarak mani olunması gerekmektedir.

Enfeksiyon sırasında çoğu antibiyotiklere karşı direnç geliştiren multi-ilaç-direnç (MİD) organizmaları, dünya genelindeki yayılmalarına devam ettiklerinden dolayı klinik olarak başarısızlığa neden olmuştur (Alekhun ve Levy 2007).

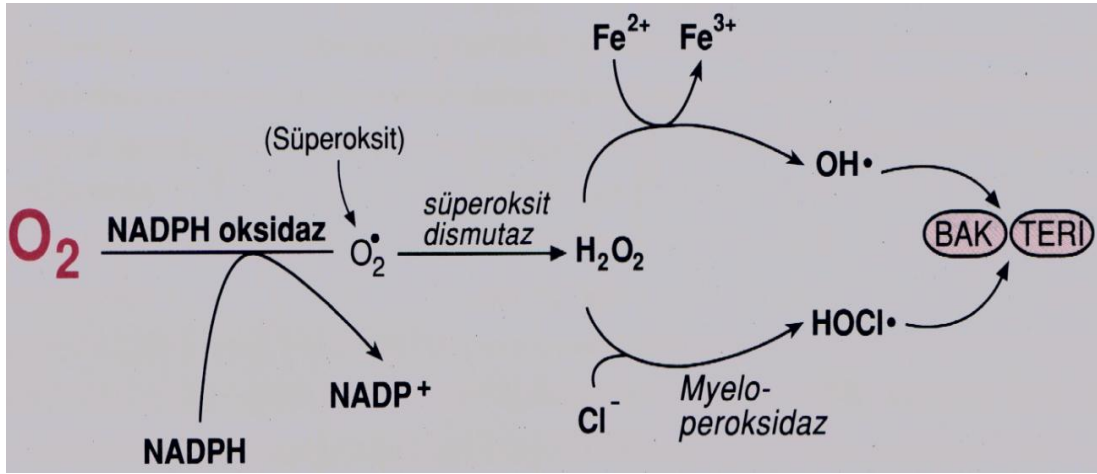
Mikroorganizmaların kullanılmasının temel nedenleri ve avantajları;

- Mikrobiyal hücreler çok hücreli organizmaların hücreleriyle birçok ortak biyokimyasal özelliğe sahiptir.
- Mikrobiyal hücreler laboratuvar kültüründe oldukça yüksek yoğunluklara ulaşabilir. Bu yüzden biyokimyasal çalışmalara oldukça uygundur.
- Mikroorganizmalar, insan dahil, yüksek organizmalardaki hücre işlevinin anlaşılması bakımından mükemmel modellerdir.

Mikrobiyal kontaminasyon gıda, içecek, kozmetik ve farmasötik endüstrisindeki en önemli konudur. Bu nedenle üretilen gıda ürünlerinin ve hayvanların, tüketicilere sağlıklı bir şekilde sunulmaması da birçok mikroorganizmanın üremesini desteklemekte ve birçok hastalığın yayılışına neden olmaktadır. Bu yolla bulaşan hastalıkların yayılışını önlemek için gıdaların uygun şekilde hazırlanması ve kontrol edilmesi gerekir. Sadece gıdaların (konserve, donmuş gıda ve kurutulmuş gıda vb.) bozulması bile, her yıl büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu durum antimikrobiyal maddelerin hastalıklara karşı mücadelenin yanı sıra gıda sektöründe de kullanılabilirliğini ortaya koymaktadır (Nout 1994, Tauxe 2001).

-Fagositoz: Serbest Radikal Savunma Sistemi

Çeşitli enfeksiyonlara bağlı hastalıklar süresince, vücut savunma sistemi tarafından serbest radikaller üretilir. Bakteriyel enfeksiyonda serbest radikallerin oluşturulması, önemli bir savunma mekanizmasıdır. Şekil 1.3'te enfeksiyon sırasında üretilen serbest radikallerin bakterilere karşı etkisi gösterilmektedir.



Şekil 1.3. Vücut savunma sistemi tarafından patojenlere karşı serbest radikallerin üretilmesi (Yıldırımkaya 2003)

Serbest radikaller; sitotoksitede, mikroorganizmalara karşı savunmada ve nörotransmisyon gibi doğal faaliyetlerde önemli bir rol oynamaktadırlar (Pala ve Tabakçioğlu 2007).

Fagositoz olayında nötrofil ve monositler, oksijene bağımlı ve oksijene bağımsız mekanizmalarla bakterileri öldürürler. Oksijene bağımlı mekanizma (myeloperoksidaz) sisteminde, fagositoz gerçekleştikten sonra lökosit hücre zarında bulunan $NADPH$

oksidaz, çevre dokudaki moleküler oksijeni süper okside çevirir. Oluşan süper oksit, süper oksit dismutaz (SOD) tarafından hidrojen perokside çevrilir. Lizozomal enzim varlığında peroksit ve klor iyonları bakterileri öldüren hipokloröz (HOCl)'e çevrilirler. Fazla peroksit iyonları, katalaz veya glutatyon peroksitaz enzimleri tarafından nötrale edilerek hücreye zarar vermesi önlenir (Yıldırımkaya 2003).

Metabolizma sonucunda üretilen serbest radikaller çeşitli enfeksiyonlara bağlı hastalıklar sırasında vücut savunma sistemi tarafından da üretilmektedir. Gutteridge (1995), hipokloröz asit (HOCl) gibi güçlü bazı oksidanların aktifleşmiş nötrofiller tarafından oluşturulduğunu belirtmiştir.

Literatürlerde, patojenlerin neden olduğu enfeksiyonu alt edebilmek için vücut savunma sistemi tarafından bol miktarda serbest radikallerin üretildiği bildirilmiştir (Akaike ve ark. 1998, Maeda ve Akaike 1998, Akaike 2001).

1.2.Antioksidan Etki

Bütün canlı organizmalar yaşamını devam ettirebilmek için metabolik faaliyetlere ihtiyaç duymaktadır. Her hücrede sadece yaşamak için yapılan günlük metabolik faaliyetler esnasında bile serbest radikaller üretilmekte ve iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalma durumunda da serbest radikaller oluşmaktadır (Blokina ve ark. 2003, Pala ve Tabakçioğlu 2007, Valko ve ark. 2007).

Her ne kadar ölüm ve doku hasarı ile sonuçlansa da, oksijen-merkezli serbest radikaller olan ROS (Reaktif Oksijen Türleri) ve diğer reaktif oksijen türleri olan NOS (Nitrik Oksit Türleri) hücrede sürekli olarak üretilmektedir. Çünkü oksijen, aerobik yaşamda karbon- ve hidrojen bakımından zengin substratları (besinleri) oksitleyerek (yakarak), yaşayan çoğu organizmalar için biyolojik faaliyetler esnasında kullanılan kimyasal ve ısı enerjisi olan metabolik enerjiyi üreterek karşıladığından dolayı oldukça önemlidir (Halliwell ve ark. 1994, Gutteridge 1995, Colak ve ark. 2010, Gressler ve ark. 2010).

Ancak okside edici ajanların detoksifiye edilmesindeki yetersizlik çeşitli enzimlerin hasarına da neden olmaktadır. Böylece yaşam sürelerinde bir kısalma gözlenir (Yıldırımkaya 2003).

Dış yörüngelerinde bir veya daha fazla paylaşılmamış elektrona sahip atom veya moleküller olan serbest oksijen radikalleri çok safhalı karsinogenezde başlatıcı ve ilerletici rol üstlenebilir, prokarsinojenleri aktif hale getirebilir, DNA hasarına yol açabilirler. Diğer taraftan antioksidan olarak gösterilen serbest radikal süpürücüleri hücreleri oksidatif hasara karşı korurlar (Özkan ve Fışkın 2004, Klaunig ve ark. 2010).

Oksijen ile belirli moleküller etkileştiği zaman yüksek reaktif radikallerin oluşması, domino taşları gibi bir zincir reaksiyonu başlatmasına neden olabilir. Asıl tehlikeleri DNA veya hücre membranı gibi önemli hücresel komponentlerle tepkimeye girdiği zaman ortaya çıkar. Çünkü serbest radikallerin biyolojik moleküllerle tepkimeye girmesi durumunda hücrelerin zayıf olarak fonksiyon görmelerine veya ölmelerine neden olurlar (Pala ve Tabakçioğlu 2007).

Vücutta kimyasal reaksiyonlar sonucunda moleküller, oksijen ile oksitlenmektedir. Oksijen molekülünün yüksek enerjili, kararlı olmayan serbest radikal formu almasıyla (özellikle mitokondri olmak üzere) hücresel metabolizma sonucu yan ürün olarak aşırı miktarda üretilen reaktif oksijen türleri (ROS), superoksit (O_2^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2), oluşum boyunca kararlı duruma geçmeye çalışarak insanlarda hastalanmayı ve yaşlanmayı arttırmaktadır. *In vitro* formdaki ROS (Reaktif oksijen türleri) yüksek reaktif ve potansiyel zarar vericidir. Bu nedenle oksijen, yaşam için en temel olmasına rağmen yaşlanma olayından sorumlu tutulmaktadır (Ames ve Gold 1991, Gutteridge 1995, Thannickal ve Fanburg 2000, Liu ve ark. 2002, Pala ve Tabakçioğlu 2007, Valko ve ark. 2007, Day 2009, Gressler 2010, Kumar ve ark. 2011).

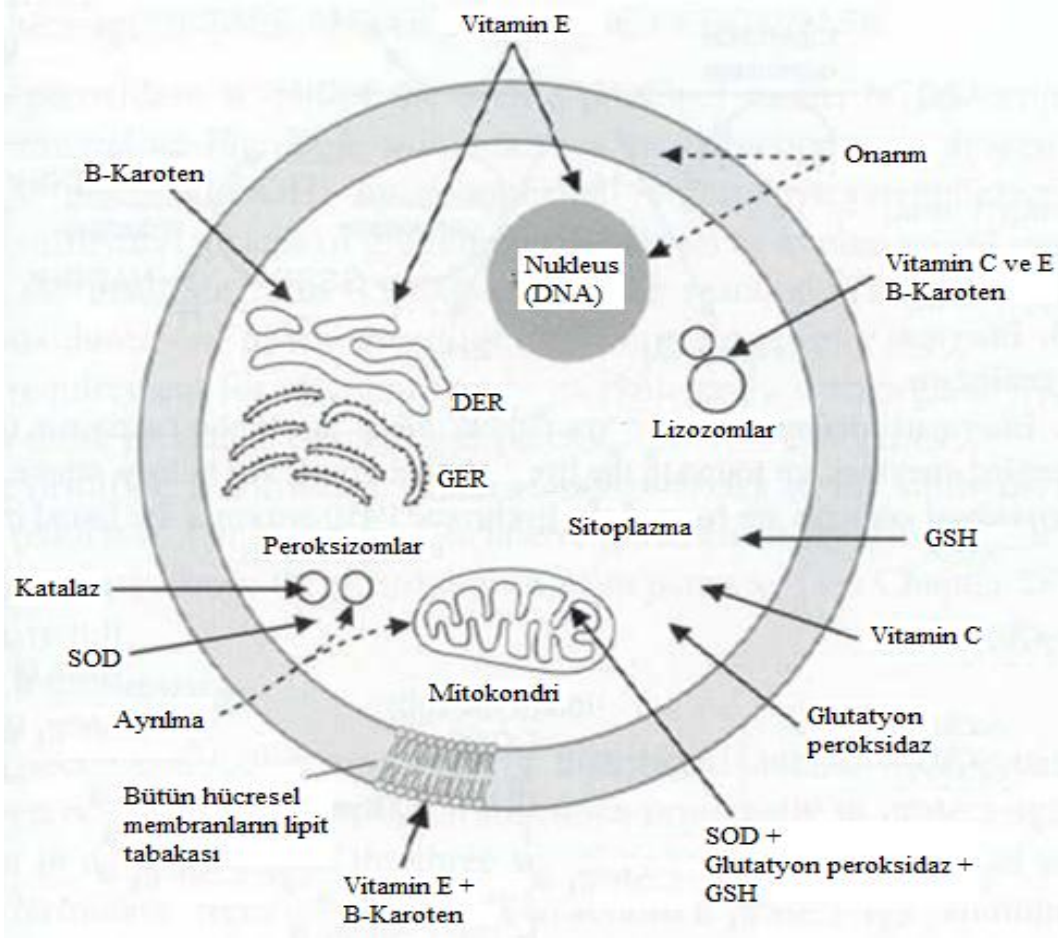
Ancak normal oksijen metabolizması süresince moleküller oksijenden türetilen ROS, hücre iletiminde de oldukça önemlidir (Pala ve Tabakçioğlu 2007, Day 2009).

Hidroksil radikali ($\cdot OH$) biyolojik moleküllere en çok atak yapabilen difüzyon destekli oldukça etkili bir oksidandır. Singlet oksijen çiftleşmemiş bir elektrona sahip olmadığı için serbest radikal değildir. Ancak oksijenin oldukça yüksek reaktif formudur. Diğer radikallerle kolayca etkileşebilen ve iki çiftleşmemiş elektrona sahip olan moleküller oksijen tarafından oluşan süperoksit anyonları, DNA, lipid ve protein gibi biyomoleküllere ataklar yapabilen reaktif oksijen türleridir (Halliwell 1994, Gutteridge 1995, Pala ve Tabakçioğlu 2007, Suksrichavalit ve ark. 2009).

Antioksidan savunma sistemi ile hidrojen peroksit ve hidroksil reaktif oksijen türlerinin üretimi arasındaki dengenin bozulması doku hasarına neden olan oksidatif stresi oluşturur. Biyolojik sistemlerde bulunan süperoksit ve hidroksil radikalleri oksidatif streste önemli bir rol oynar. Oksidatif stress, reaktif oksijen türlerinin üretimi ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulması olarak tanımlanmaktadır. Bu nedenle lipid peroksidasyonu miktarı doku hasarının en önemli belirtisidir (Gutteridge 1995, Day 2009, Diaz ve ark. 2009).

Vücudu serbest radikal hasarından koruyan antioksidan savunma sistemi, antioksidan enzimler ve antioksidan vitaminlerden oluşur. Serbest radikaller fizyolojik, patolojik ve de dış kaynaklara maruz kalma sonucunda üretilmektedir. E vitamini hücre membranını serbest radikal kaynaklı peroksidatif hasarlardan korur (Doğru-Pekiner 2003).

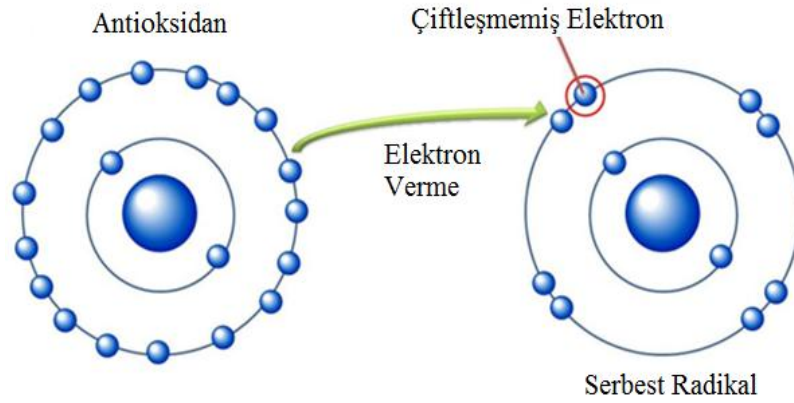
ROS, hayati öneme sahip genetik materyallere (DNA'ya) ataklar yaparak anormal hücre oluşumuna neden olur. Serbest radikallerle etkileşerek zincir reaksiyonunun bitirilmesini sağlayan, serbest radikalleri kontrol altında tutabilen, hayati moleküllerin zarar görmelerini engelleyen veya oluşan oksidatif stres kaynaklı hasarı ortadan kaldıran koruyucu maddelerin varlığı sayesinde serbest radikal üretimi birbirini dengede tutulmaktadır. Serbest radikallerin sebep olduğu hücre hasarının antioksidanlar tarafından onarılmasıyla hücre hasarın önlenmesi Şekil 1.4'te gösterilmektedir. Serbest radikal üretimi dengede olduğunda vücuda faydası, denge ortadan kalktığında da zararı bulunmaktadır. Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonlar sonucunda oluşan (kanser, kardiyovasküler ve katarakt gibi hastalıkları) hasarları önleyen, serbest radikalleri etkisizleştiren ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelere **antioksidan** denilmektedir (Ames ve Shigenaga 1992, Elliot 1999, Pala ve Tabakçioğlu 2007, Valko ve ark. 2007).



Şekil 1.4. Serbest radikal hasarının onarılması (URL-1)

Besinlerin işleme ve saklanmaları sırasında oksidasyonun oluşmaktadır. Ürünün tat ve kokusunun oksidasyon ile bozulmasını önlemek amacıyla sentetik antioksidan (bütillenmiş hidrokstoluen, BHT ve bütillenmiş hidrokstianisol, BHA, vb.) maddeler kullanılırken, içecek ürünlerinde herhangi bir bozulmayı önlemek için askorbik asit yaygın olarak kullanılmaktadır (Biggar 1975, Halliwell ve ark. 1995).

Antioksidan bileşikler, serbest radikallerin dış yörüngesindeki elektron eksikliğini gidererek serbest radikalın nötrleştirilmesini sağlar. Şekil 1.5'te gösterilmiştir. Böylece serbest radikallerin, hücrede hayati öneme sahip moleküllere elektrofilik ataklar yaparak hücresel hasarın oluşması engellenmektedir.

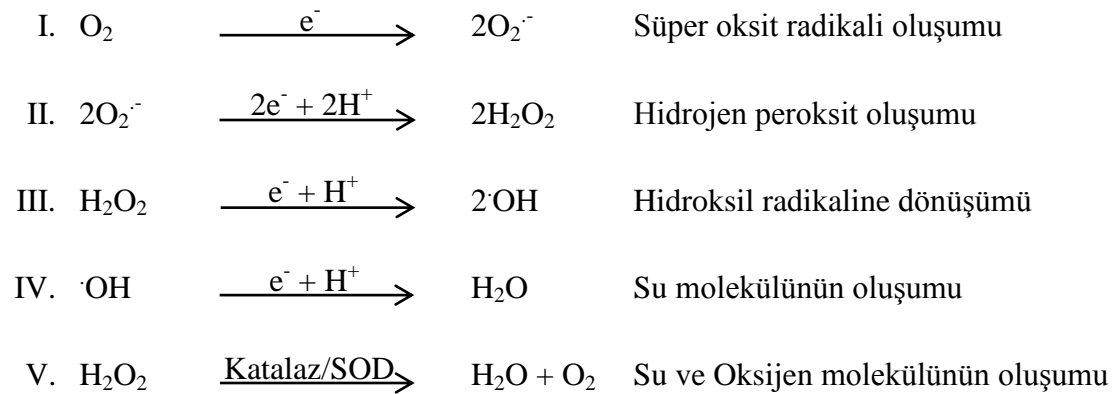


Şekil 1.5. Antioksidan bileşiğın serbest radikale elektron vermesi sonucu serbest radikalin nötrleştirilmesi (URL-2)

Moleküllerin, oksijen ile oksitlenmesi sonucu oksijen molekülünün kendisi serbest radikal formu alır. Moleküler halde bulunan oksijen, oksidasyon basamaklarında azaldıkça (indirgendikçe) H_2O_2 oluşur. Oksijene direkt olarak iki elektron transferiyle H_2O_2 üretilir. İstenmeyen H_2O_2 katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (Selenyum içeren) ve diğer peroksidazlar yardımıyla hücrelerden atılır (Gutteridge 1995, Stuehr ve ark. 2001, Yıldırımkaaya 2003, Koç 2007).

Bu nedenle doğal veya sentetik, endojen ve ekzojen antioksidanlar yardımıyla insan dokularını ve besin lipidlerini serbest radikallere karşı korumak gerekmektedir. Antiradikal antioksidanlar lipid radikallere hidrojen vericisi olarak hareket eder (Ames ve Gold 1991, Bondet ve ark. 1997).

Ayrıca serbest radikaller;



yoluyla etkisizleştirilmektedir (Blokhina ve ark. 2003, Winkler ve ark. 2007).

Antioksidanlar kendi elektronlarını serbest radikallere vererek serbest radikalin elektron kazanmasını sağlar. Böylece hücreye atak yapma gereksinimini ortadan

kaldırarak oksidasyon zincir reaksiyonu kıran antioksidan özellikli komplekslerin serbest radikallere proton vererek onları elimine eden potansiyel ilaçlar olarak kabul edildiği belirtilmiştir (Colak ve ark. 2010).

Fakat normal aerobik metabolizma süresince kesintisiz üretilen ve çeşitli biyolojik antioksidanlar tarafından güvenli bir şekilde uzaklaştırılan reaktif oksijen türleri (ROS)'ne karşı antioksidan koruma hiçbir zaman %100 etkili olmadığından dolayı savunma sistemi hasarı önlemede yeterli olamamaktadır. Bu nedenle antioksidan takviyesi veya antioksidan içeren besinler oksidatif hasarın azaltılmasında insan vücuduna yardımcı olarak kullanılabilir (Gutteridge 1995, Colak ve ark. 2010, Rumzhum ve ark. 2012).

1.3.Mutajenite

Bir organizmanın hemen hemen her karakteri mutasyonla değişebilir. Mutasyon, genomun nükleotid baz dizilimlerinde meydana gelen kalıtsal değişikliklerdir. Genomunun nükleik asit dizisinde meydana gelen kalıtsal değişiklikleri taşıyan organizmalar *mutant*, çeşitli kimyasal, fiziksel ve biyolojik maddeler mutasyon sıklığını arttırdığı için mutasyon indükleyici olan bu maddeler *mutajen* olarak adlandırılırlar.

Mutajenler, DNA'yı çok farklı şekillerde değiştirebilen böylece mutasyon oranını artıran kimyasal, fiziksel ya da biyolojik ajanlardır.

Bütün organizmalarda hücreleri ve genetik materyali yabancı maddelerin zararlı etkilerine karşı koruyan sistemler mevcuttur. Vücuda giren yabancı maddeler memelilerin karaciğer enzimleri ile metabolize olurlar. Ancak doğrudan kanserojen olan maddeler veya memelilerdeki biotransformasyon sonucunda oluşabilen elektrofilik özelliğe sahip ara ürünler, DNA'ya yapacakları ataklar sonucunda meydana gelen baz değişimleri onarılabilir, onarılamazlar veya yanlış onarılabilirler (Ames ve ark. 1973a, Suksrichavalit ve ark. 2009).

Birçok gıdanın daha uzun süreli kullanımını amaçlayan besin katkı maddeleri endüstrisindeki hızlı gelişmeler nedeniyle her geçen gün yeni bir kimyasal maddenin ortaya çıkmakta ve bu da günlük hayatımızda çok daha fazla potansiyel mutajenlere maruz kalmamız anlamına gelmektedir.

Birçok yeni sentetik kimyasal yaşamımıza her geçen gün daha fazla girmekte ve tıp, besin ve kozmetik alanlarında günlük yaşantımızın bir parçası haline gelmektedir.

Bundan dolayı kimyasal maddelerin mutajenik aktivitelerini belirlemede memeli deneylerinden daha kısa sürede sonuç verebilen, daha düşük maliyetli mutajenite test sistemleri geliştirilmesine neden olmuştur. Çünkü kimyasal maddelerin mutajenik etkisini gözlemlemek için deney hayvanlarının kullanımı hem pahalı hem de sonucun belirlenmesi zaman almaktadır. (Ames 1973).

Bazı mutasyonlar buldukları organizmaya bazı avantajlar sağladığından dolayı seçilebilir karakterdedir. Çünkü atasal suşun yaşamasına imkân vermeyen ve onları öldüren belli bir antibiyotik konsantrasyonunda antibiyotiğe dirençli olan mutant yaşayabilmekte ve bu nedenle seçilebilmektedir. Uygun çevresel koşulların oluşturarak, seçilebilir mutantları belirlemek ve izole etmek çok daha kolay olduğu literatürlerde belirtilmiştir (Dale ve Park 2004).

Mutant suşların kullanıldığı bu test sisteminde doğal veya sentetik test bileşiklerinin DNA'ya etkilerini ve kanserojen etkiye sahip olma potansiyellerini belirlenmesi sonucunda bileşiğin organizmanın kalıtımında herhangi bir değişiklik yapıp yapmadığının ortaya çıkarılması amaçlanmaktadır.

Birçok mutajenik madde aynı zamanda insan veya diğer hayvanlarda kanser oluşturabilen karsinojenik olabildiği için bu tarama testi, kanser ile de yakından ilgilidir.

Doğal veya sentetik bileşiklerin mutajen etkisi DNA'da meydana gelen hasarların kanser oluşumunun en büyük nedenlerinden biri olduğu bilinmektedir. Bu yüzden eşey (germ) hücrelerindeki DNA hasarı daha sonraki nesilde görülecek genetik düzensizlikler olarak gözlemlenebilir. Ancak vücut (somatik) hücrelerdeki DNA hasarı ile oluşan mutasyonlar normal hücre çoğalmasını önleyen ve koruyan DNA kodlarını değiştirerek hücre mekanizmasının bozulmasına ve kanserleşmeye öncülük eden kanserli hücrelerin ortaya çıkmasına yol açmaktadır (Ames ve ark. 1973b, Ames ve Gold 1991).

Mutajenik bir maddenin aynı zamanda mutlaka karsinojenik bir madde olması gerekmez. Ancak iki durum arasında paralellik olması, bakteri sisteminde mutajenik olan bir maddenin tehlikeli olma olasılığını ortaya koymaktadır (McCann 1975b).

Maron ve Ames (1983) kimyasal kanserojenlerin saptanmasına öncülük etmişlerdir. Bu amaçla Bruce Ames ve arkadaşları, bakteri mutantlarını kullanarak çevrede bulunan ve zararlı kimyasal madde olma potansiyeli taşıyan maddeleri belirleyebilecek *Salmonella* mutajenite test yöntemini geliştirmişlerdir. Bu yöntem geniş bakteri popülasyonlarında seçilebilir mutantların gözlenmesinde oldukça hassastır. Bu nedenle bakteriler, çeşitli kimyasalların potansiyel mutajenik etkilerini belirlemede bir tarama aracı olarak kullanılabilir. Bu yöntem kullanılabilmektedir.

-*Salmonella*/Mikrozom Mutajenite Testi

Dünya genelinde yaygın olan Ames *Salmonella* test sistemi kanseri değil, mutasyonu indükleyen kimyasalları ölçme yeteneğindedir. Bu nedenle *Salmonella* testi ile alınan pozitif sonuçlar genlerde mutasyonu indükleyen kimyasalların bir ölçümüdür (Maron ve Ames 1983, Mortelmans ve Zeiger 2000, Vedmaurthy ve ark. 2011).

Hayvanlarda kanserojen olan maddelerin yaklaşık %90'ı, bakterilerde mutajen olduğu belirlenmiştir (McCann 1975b).

En yaygın kullanılan kısa zamanlı test sistemlerinden biri *Salmonella*/ mikrozom testidir. Bu test sistemlerinin herhangi birinde veya genetik etkileri belirlemede kullanılan diğer testlerde, pozitif bir reaksiyona sebep olan herhangi bir ajan (kimyasal bileşik) genotoksik madde olarak tanımlanabilir. Çoğu kanserojenlerin mutajen oldukları ve mutajenite görüntüleme testlerinin birçok kimyasal kanserojeni belirlemede memeli testlerinden daha ucuz ve daha kısa süreli olduğu McCann ve Ames tarafından belirtilmiştir (Ames ve ark. 1973b, Ames 1979, Alanyalı ve ark. 2011).

Böylece fazla zaman harcanarak yapılan deney hayvanları üzerindeki denemelerin yerine az zamanda daha fazla parametre ve farklı değerlerde denemelere öncülük etmektedir.

Ames test sisteminde hızlı ve hassas sonuçların alınması birçok doğal ve sentetik bileşiğin daha önceden kanserojen derecelerinin tespit edilmesine olanak sağlamaktadır. Bu nedenle Ames test sistemi kanseri önleme çalışmalarında oldukça önemli bir yere sahiptir (McCann ve Ames 1976).

Ames testi kanseri önleme amaçlı çalışmalarda oldukça önemli bir yere sahip olduğu gibi insanların maruz kaldığı çevresel kanserojenleri ve mutajenleri belirleyip

kullanımlarını minimize etme özelliğini de bulundurmaktadır. Ayrıca bu test sistemi sayesinde hayvansal kanserojenite testlerinin yapılamadığı durumlarda bile kullanılması bu testin yaygın olmasındaki asıl etmenlerden biridir.

Yeni sentezlenen bileşikler, mutajenite bakımından rutin olarak test edilerek not alınmaktadır. Böylece bir ilacın mutajenik olduğunun tespiti durumunda mutajenik olmayan daha etkili ve güvenilir yeni formları türetilir (Bueding 1975, Hartman ve Hulbert 1975).

Son olarak test suşlarına ilave edilen R-plazmidi ile test sisteminin hassasiyeti arttırılmış böylece çok sayıda kanserojenin tespiti yapılmıştır (McCann ve ark. 1975a).

Kısa-zamanlı bakteriyel geri-dönüşümlü mutasyon deneyi olan Ames *Salmonella*/mikrozom mutajenite (*Salmonella* test; Ames test) testi histidin operonundaki çeşitli genlerinde farklı mutasyonlar taşıyan histidin-bağımlı *Salmonella* suşları üzerinde uygulanır. *Salmonella* test suşları eser miktarda histidin içeren minimal agar plakları üzerinde geliştiğinde sadece geri dönen bakteriler histidin-bağımsız (his^+) koloni oluştururlar. Her bir plaktaki kendiliğinden geri dönen koloni sayıları birbirine yakın değerdedir. Ancak bir mutajen plağa eklenince her bir plaktaki doza-bağımlı geri dönen koloni sayıları da artar (Mortelmans ve Zeiger 2000).

-Mutant Bakterilerin Kullanılması

- 1- Antibiyotiğe dirençlidir (R-faktör)
- 2- Okzotroflar (His^- , Bio^-). Çeşitli büyüme faktörlerine ihtiyaç duyarlar.
- 3- Hücre duvarının lipopolisakkarit tabakasını kodlayan Rfa ve DNA onarım sisteminde görevli olan UvrB genlerinde mutasyonlar oluşturulmuştur.

Dirençli mutantlar herhangi bakteri türünden elde edilebilir. Ancak ikinci ve üçüncü tipler basit olarak tanımlanan besi yerlerinde çoğaltılmadan kolayca izole edilemezler. Örneğin doğal tip bakteri inorganik tuzlar, enerji ve karbon kaynağı olarak glukoz, azot kaynağı olarak amonyum iyonları içeren minimal besi yerinde çoğalabilir. Fakat histidin okzotrof bakteri bu besi yerinde çoğalamaz. Çünkü ek olarak histidine ihtiyaç duyacaktır. Ancak parental suş da histidin bulunan besi yerinde çoğalabilecektir (Dale ve Park 2004).

Fakat sadece okzotrofların çoğalabileceği bir besi yerinin olması imkansız olduğu için bunu tersine dönüştürmek daha kolay olacaktır. Maron ve Ames (1983)'e göre, histidin bulunmayan besi yerinde okzotrof bakteri de çoğalamayacaktır. Bu iki besi yerinde oluşan koloniler karşılaştırma yoluyla elenerek okzotrof olan bakteri kolonileri belirlenir. Bu işlemler mutantların antibiyotiklere karşı dirençliliklerini ve UV radyasyonuna maruz bırakıldıktan sonra mutant bakterilerin geri dönüş sayılarını belirlemek için de uygulanır. Kolonilerin tümü master plaklarla karşılaştırılır ve alınacak koloniler belirlenir.

UV radyasyonu sonucu aynı DNA zinciri üzerinde bulunan pirimidin dimerleri arasında kovalent bağlanma meydana gelir. Bu pirimidin dimerleri replike olamamakta, bu nedenle hasar onarılmazsa hücre ölüme gider. Fotolizaz adı verilen bir enzim görünür ışık varlığında pirimidin artıklarını bağlayan kovalent bağları kırarak orijinal doğal baz sekansı haline getirir. Bu yüzden laboratuvarında mikrobiyal kültürlerle UV mutajenezis uygulandığında, UV uygulanmasından sonra geri dönüşü engellemek için kültürleri ışıktan (folyo ile sararak) uzaklaştırmak gerekmektedir (Dale ve Park 2004).

-Mutantların Genetik Özellikleri: Tarama ve Seçme

His⁻ : Her bir test suşunda DNA'daki tek bir bazın değişmesi, (çıkması veya eklenmesi) histidin operonunun farklı bölgelerinde çerçeve kayması mutasyonları oluşmaktadır. Bu suşların yardımı ile test bileşiklerinin hangi tür mutasyona neden olduğu ortaya çıkarılabilir (Ames ve ark. 1973b).

Bio⁻ : uvrB geninin kesilerek uzaklaştırılması esnasında teknik nedenlerden dolayı bu delesyonun biyotin (vitamin H denilen biyotinin sentezinden sorumlu) genine kadar uzandığı belirtilmiştir (Ames ve ark. 1973b, Maron ve Ames 1983)

rfa mutasyonu: Mutajenlerin hücreye girişte karşılaştıkları bakteri hücre membranındaki ilk engel lipopolisakkarit yapısıdır. Ancak lipopolisakkarit yapısı, bakteri suşlarında hücre duvarının lipopolisakkarit tabakasını kodlayan rfa geninde meydana getirilmiş bir mutasyon ile açılmıştır. Hücre duvarındaki bu mutasyon ile normalde hücre zarından geçemeyen büyük moleküllerin hücre içine girebilmesi sağlanmış böylece mutajeniteye olan hassasiyeti arttırılmıştır. Bu mutasyon kristal viyole duyarlılığı ile test edilir (Ames ve ark. 1973b).

uvrB mutasyonu: Bu mutasyona sahip suşlarda uvrB (DNA onarım sistemindeki kesip çıkarma görevini üstlenen enzimi kodlayan) genindeki delesyon sonucu enzim görevini yapamaz hale getirildiği belirtilmiştir (Maron ve Ames 1983).

R-Faktörü: Mutajenlerin daha hassas bir şekilde tespit edilebilmesi için TA98 ve TA100 suşlarına ampisilin direnç geni taşıyan pKM101 plazmidi (R plazmidi) aktararak türetilen bu yeni suşlar test sisteminin hassasiyetini büyük oranda arttırması sonucunda birçok mutajenin ve kanserojenin tespitinde kullanıldığı ifade edilmiştir (Ames ve ark. 1973a, McCann ve ark. 1975a, Levin ve ark. 1982).

Ames testi kanseri önleme amaçlı çalışmalarının tek amacı insanların maruz kaldığı çevresel kanserojenleri ve mutajenleri belirleyip kullanımlarını minimize etmektir.

-S9 Aktivasyon

Ancak mikroorganizmalar ve memelilerdeki detoksifiye edici enzim farklılıklarından dolayı *Salmonella* test sisteminde memelilerdeki biyotransformasyon olaylarının benzerini oluşturabilmek için rat karaciğer enzim karışımı içeren metabolik aktivasyon sistemi elde edilmeye çalışılmıştır. Bu karışımın kullanılmasıyla önceki çalışmalarda mutajenik aktivitesi gözlenmeyen birçok ajan, metabolik aktivasyonu (S9 karışımı) içeren test sistemi ile pozitif yani güçlü mutajenik aktivite verdiği gözlenmiştir (Ames ve ark. 1973b).

2.KAYNAK ÖZETLERİ

-Geçiş Metal Kompleksleri

Orbitallerinde (elektron yörüngeleri) boş yer olan merkez atomu (bir metal atomu (M) veya iyonu), üzerinde verebileceği $\bar{\nu}$ -çifti içeren (iyon veya molekül olan) ligandlarla (L) koordinasyon bağı ile bağlanarak koordinasyon bileşiği veya kısaca kompleksleri oluştururlar. Koordinasyon bileşiklerinin çoğu renkli ve katalitik özelliktedir.

-Geçiş Metal Komplekslerin Kullanım Alanları

Mangan (geçiş metali) sanayide, kuru-hücre pillerinde, camlarda, seramiklerde, boyalarda, pigmentlerde, toprak ve gıda takviyelerinde, 100 yıldır tıpta ve kanser ve sakatlıklarda kullanılmaktadır (Gerber ve ark 2002).

Platin-bazlı kemoterapi kombinasyonu halen bile özellikle testis, yumurtalık ve küçük hücre akciğer kanserleri solid tümörlerinde uygulanmaktadır (Tripathi 2009).

Palladyum ve alaşımları (petro)kimyada, otomotiv endüstrisinde, elektronik ve elektrik teknolojisinde, dişçilikte kullanılır. İnsanlar palladyuma dış uygulamalarıyla, mücevherlerle ve besinlerle maruz kalmaktadır. Palladyum, besinlerden ortalama 2 $\mu\text{g/gün}$ olarak alınmaktadır. Palladyuma oral yolla dış alaşımlarıyla, deri yoluyla palladyum içerikli mücevherlerle direkt olarak temasta bulunmaktadır. Son zamanlarda palladyuma maruz kalan çalışanlarla ilgili herhangi bir bilgi rapor edilmemiştir (WHO 2002).

-Geçiş Metal Komplekslerin Etkileri

Palladyum bileşiklerinin nükleik asitlere olan affinitesi birçok çalışmayla belirtilmiştir. Palladyum bileşikleri *in vitro* izole DNA ile etkileşebilir. Biri hariç çoğu palladyum bileşiklerinin *in vitro* bakterilerle veya memeli hücreler mutajenite (Ames test/*Salmonella typhimurium*) testlerinde negatif sonuçlar vermiştir. Palladyum iyonları *in vivo* ve *in vitro*'da görülen en önemli hücre fonksiyonları inhibe edebilme yeteneğine sahiptir. DNA/RNA biyosentezi en hassas hedefdir. Ayrıca birkaç palladyum

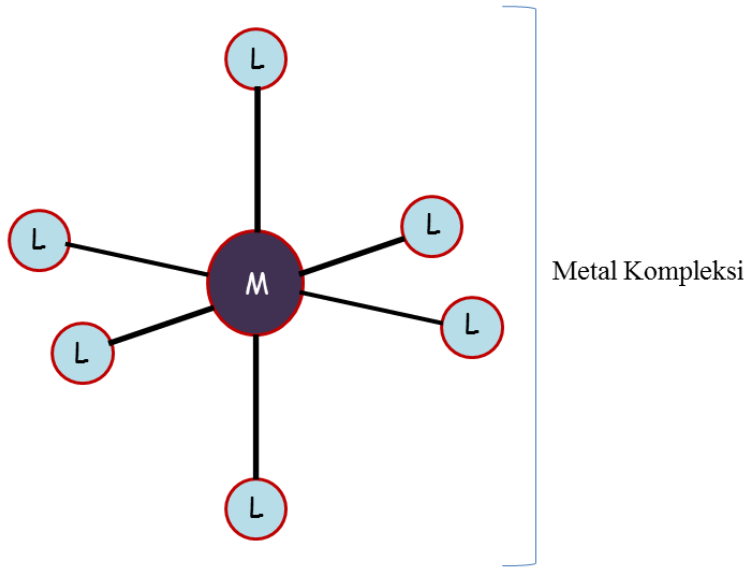
bileşikleri antiviral, antibakteriyel ve/veya fungisidal özelliklere sahip olduğu bulunmuştur (WHO 2002).

Cu(II) kompleksleri fizyolojik koşullarda kolay oksitlenebilmesi sayesinde iyi bir nükleaz gibi hareket eder (Khan ve ark. 2009).

Bir liganda en az bir geçiş metalinin bağlanması sonucu geçiş metal kompleksi oluşur. Literatürlerdeki bilgilere göre ligandlara bağlanmış geçiş metallerin oluşturduğu kompleksler ligandın sahip olduğu aktiviteyi hem arttırmakta hem de hızlandırmaktadır.

Koordinasyon bileşikler süper oksit (O_2^-) anyon radikallerinin dismutasyon katalizleyicisi gibi hareket edebilir (Patel ve ark. 2010).

Metal kompleksleri ligandlarla karşılaştırıldığında ana ligandlara göre daha fazla antimikrobiyal ve antiamebik aktivitelere sahip oldukları ortaya çıkarılmıştır (Mamba ve ark. 2010, Sharma ve ark. 2010, Sharma ve ark. 2011).



Şekil 2.1. Metal kompleks yapısının basit görünümü (M: Metal, L: Ligand) (URL-3)

Komplekslerin serbest liganda göre arttırılmış antifungal ve antibakteriyel aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir. Elde edilen antimikrobiyal görüntüleme bilgileri yardımıyla komplekslerin daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır (Raman ve ark. 2011). Ayrıca Colak ve ark. (2010) tarafından IC_{50} değerlerine göre komplekslerin serbest radikalleri elimine edebilecek potansiyele sahip oldukları ifade edilmiştir.

Bakır, bazı enzimlerin kofaktörüdür. Bakır, elektronları alır-verir ve dismutasyon, hidroksilasyon ve oksijenasyon reaksiyonlarında rol oynar. Antioksidan savunma sisteminde bulunan süper oksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi intrasellüler antioksidanların aktif merkezinde de metal iyonları bulunmaktadır (Gutteridge 1995, Yıldırımkaaya 2003).

Ayrıca Mamba ve ark. (2010)'a göre çeşitli terapötik ilaçları arasında seçim yapılırsa, seçilecek antifungal ilaçların diğer faktörleri arasında uzun etkililik süresi de olmalıdır. Var olanın yerine yeni bileşik eklemek için, çok daha düşük konsantrasyonlarda daha güçlü inhibitör aktivite göstermelidir.

Aslan ve ark. (2011) tarafından yapılmış çalışma sonucunda bütün komplekslerin tüm test bakterilerine karşı güçlü inhibisyon göstermiş olduğu, bu yüzden de bu bileşiklerin endüstriyel uygulamalarda kullanılmasının tavsiye edilebileceği ifade edilmiştir.

Hatta bazıları güçlü antibiyotiklerle yarışacak kadar yüksek aktivite gösterebilirler. Çünkü Guerra ve ark. (2005)'a göre tetrasiklinin Pd(II) kompleksi duyarlı iki *Escherichia coli*'nin ve 16 kat daha güçlü *Escherichia coli* HB101/pBR322'nin gelişimlerini inhibe etmede tetrasiklin kadar etkili olmuştur.

İnorganik kompleksler birçok terapötik amaçla uzun zamandır kullanılmaktadır. Belki de inorganik bileşikler (örneğin metal kompleksler) toksiktir diye ve böyle bir bileşiğin kontrollü kullanılması bazı biyolojik işlemleri baskılayabilir düşüncesinden dolayı kullanılmış veya denenmiştir (Bakhtiar ve ark. 1999).

İnorganik kimyanın tıpta kullanılması ve uygulanması büyümeye devam etmektedir. Kullanım yerleri olarak metal iyon hastalıkları, hedef metalloproteinlere ve organellere karşı kullanılan metal bazlı kemoterapötik ilaçları ve tıptaki radyoizotopları kapsamaktadır (Farrell 2002).

Yapılmış deney sonucunda altı yeni Au(I) komplekslerin antimikrobiyal aktiviteleri olduğunu bildirmiştir. Ancak antibakteriyel etki mekanizmasının bilinmediğini belirtmiştir (Özdemir ve ark. 2004). Fakat moleküller arası etkileşim yaparak lipofilik yan zincirleri bozduğu ve böylece bakteriyel hücrenin çift tabakalı

hücrel membranını birbirinden ayırmasına neden olduğu düşünülmektedir (Özdemir ve ark. 2010).

2.1.Geçiş Metal Komplekslerinin Antimikrobiyal Aktivitesi

Sharma ve ark. (2011) tarafından benzothiazoline ligandına ait bir seri Palladyum(II) ve Platin(II) kompleksleri sentezlenmiştir. Sentezledikleri ligand ve komplekslerin antimikrobiyal aktivitelerini *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Fusarium oxysporum* ve *Alternaria alternata* mikroorganizmaları üzerinde incelenmiştir. Metal komplekslerin, ligandlara göre daha fazla antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları ortaya çıkarılmıştır.

Sharma ve ark. (2010) tarafından 3-acetyl-2,5-dimethylthiophene thiosemicarbazone ve 3-acetyl-2,5- dimethylthiophene semicarbazone ligandlarına ait Pd(II) ve Pt(II) kompleksleri sentezlenmiştir. Hem ligandların hem de onların komplekslerinin antimikrobiyal aktiviteleri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Fusarium oxysporum* ve *Rhizopus nigricans* mikroorganizmaları üzerinde denenmiştir. Sonuç olarak; kompleksler, ana ligandlarla karşılaştırıldığında daha iyi antimikrobiyal ve antiamebik aktiviteler göstermiştir. Ayrıca bileşiklerin konsantrasyonları arttıkça fungi ve bakterilerin gelişimleri önemli oranda inhibe edildiği belirtilmiştir.

Mamba ve ark. (2010) tarafından yapılan çalışmada, cyclohexylamine-N-dithiocarbamate ligandının ve onun metal komplekslerinin *in vitro* antibakteriyel aktiviteleri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* ve antifungal aktiviteleri *Aspergillus flavus*, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* mikroorganizmaları üzerinde incelenmiştir. Metal kompleksleri, ana ligandlara göre daha yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Genellikle Zn kompleksleri bakteri gelişimi üzerinde etkili olmuş ve 50 µg/ml konsantrasyonunda geniş spektrumlu bakterisidal aktivite göstermiştir. Ni kompleksi 100-400 µg/ml konsantrasyonunda fungi gelişimi üzerinde daha etkili olmuştur.

Colak ve ark. (2010) tarafından yeni oxime-type ligandların bazı homo- ve heteronükleer Cu(II) ve Ni(II) komplekslerinin antimikrobiyal potansiyelleri

Escherichia coli, *Enterobacter aerogenes*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* mikroorganizmaları üzerinde denemişlerdir. MIK (Minimum İnhibitör Konsantrasyonu) sonuçlarına göre, komplekslerin ortalama değerinde antimikrobiyal aktivitesinin olduğunu gözlemlemişlerdir.

Raman ve ark. (2011) tarafından 3-4-dimethoxybenzylidene-4-aminoantipyrinyl-4-aminoethylphenol ve bir seri geçiş metal kompleksleri dizayn edilmiş ve sentezlenmiştir. Sonuçlar metal(II) komplekslerinin DNA'yla minör oluk yoluyla bağlanarak etkileştiğini ortaya çıkarmıştır. Etkileşim jel elektroforezi yardımıyla incelenmiştir. Test bileşiğinin antimikrobiyal aktivitesi *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermis*, *Klebsiella pneumoniae* ve antifungal aktivite *Aspergillus niger*, *Fusarium solani*, *Curvularia lunata*, *Rhizoctonia bataicola* ve *Candida albicans* mikroorganizmaları üzerinde denenmiştir. Kompleksler serbest liganda göre arttırılmış antifungal ve antibakteriyel aktiviteler göstermiştir. Antimikrobiyal görüntüleme bilgileri komplekslerin daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Spera ve ark. (2011) tarafından S-allyl-L-cysteine(deoxyalliin) ve onun Pd(II) kompleksinin antibakteriyel aktiviteleri disk difüzyon yöntemi kullanılarak antibiyogram deneyi ile değerlendirilmiştir. Pd(II) kompleksi Gram (+) pozitif *Staphylococcus aureus*, Gram (-) negatif *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakteri hücreleri üzerinde etkili bir antibakteriyel aktivite göstermiştir. Sonuç olarak inhibisyon zonları *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerinin palladyum(II) kompleksine daha duyarlı olduklarını göstermektedir.

Mishra ve ark. (2007)'na göre bazı yeni Platin(IV) ve Palladyum(II) thiodiamine kompleksleri sentezlenmiştir. Bu komplekslerin *in vitro* antifungal ve antibakteriyel aktiviteleri *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* ile *Aspergillus niger* ve Gram (-) negatif *Escherichia coli* mikroorganizmaları üzerinde gözlenmiştir. Standart antibiyotikle karşılaştırılmaları sonucunda komplekslerin iyi aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. Bu nedenle sitotoksik aktiviteleri de test edilmiştir.

Kovala-Dmertzia ve ark. (2001) tarafından 2-acetyl pyridine thiosemicarbazone ligandına ait yeni platin komplekslerinin bir serisi sentezlenmiştir. Yeni platin(II) kompleksleri ve ilgili palladyum(II) komplekslerinin antibakteriyel ve antifungal etkileri *in vitro* olarak patojenik mikroorganizmalar olan Gram (+) *Staphylococcus aureus* ve Gram (-) *Escherichia coli* bakterileri ve *Candida albicans* maya üzerinde çalışılmıştır. Komplekslerin Gram (+) bakteriler üzerinde tamamıyla letal etki gösterdiği, ancak Gram (-) bakteriler üzerinde bakterisidal etki göstermediği rapor edilmiştir.

Aslan ve ark. (2011) tarafından sentezlenmiş salicylaldehyde benzenesulfonylhydrazone ligandı ve onun Ni(II), Pd(II), Pt(II), Cu(II), Co(II) kompleksleri disk difüzyon yöntemi kullanılarak Gram (+) pozitif *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter aerogenes* ve Gram (-) negatif *Pseudomonas fluorescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* mikroorganizmalarına karşı *in vitro* antimikrobiyal ajanlar olarak uygulamışlardır. Bütün bakteri ve fungus çalışmalarında kimyasal zon çapları ile bazı antibiyotikler karşılaştırılarak görüntülemiştir. Sonuç olarak bütün kompleksler tüm test bakterilerine karşı güçlü inhibisyon gösterdiği ifade edilmiştir.

Castello ve ark. (2011) tarafından yapılmış çalışmada methionine sulfoxide (MetSO)'li yeni sentezlenmiş platin(II) kompleksinin antibakteriyel aktivitesi antibiyogram deneyi yardımıyla disk difüzyon yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Yapılmış olan bu çalışmada üç referans bakteri (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) kullanılmıştır. Platin(II) kompleksi Gram (-) negatif *Pseudomonas aeruginosa* bakteriyel hücrelerine karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir.

Guerra ve ark. (2005) tarafından tetrasiklin ailesinin üç antibiyotiğine (tetrasiklin, doksisisiklin ve klortetrasiklin) bağlanmış Pd(II) kompleksleri sentezlenmiştir. Bu üç komplekslerin bakterilerin gelişimleri üzerindeki tetrasikline duyarlılık ve dirençlilikleri çalışılmıştır. Tetrasiklinin Pd(II) kompleksi duyarlı iki *Escherichia coli*'nin ve 16 kat daha güçlü *Escherichia coli* HB101/pBR322 bakterisinin gelişimlerini inhibe etmede tetrasiklin kadar etkili olduğu bulunmuştur.

Prathima ve ark. (2010) tarafından benzyloxybenzaldehyde-4-phenyl-3-thiosemicarbazone ligandına bağlanmış Cu(II) ve Ni(II) kompleksleri hazırlanmıştır. Ligand ve onun metal komplekslerinin biyolojik etkileri *in vitro* olarak test edilmiştir. Antibakteriyel aktiviteleri Gram (-) negatif (*Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*) ve Gram (+) pozitif (*Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis*) bakterilerine karşı incelenmiştir. Hazırlanmış metal komplekslerinin aktivitesi ana ligandın aktivitesinden daha yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Serbest ligandın ve onun metal(II) komplekslerinin *in vitro* antioksidan aktiviteleri de incelenmiştir. Sonuç olarak ligand aktivitesi metal(II) komplekslerin aktivitesinden daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir.

Suda çözünebilen Ru(II)-arene kompleksleri sentezlenmiş ve antimikrobiyal özellikleri Allardyce ve ark. (2003) tarafından değerlendirilmiştir. Antibakteriyel aktivite *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* antifungal aktivite de *Candida albicans*, *Cladosporium resinae* ve *Trichophyton mentagrophyte* üzerinde denenmiştir. Bu bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerinin DNA'ya bağlı olmadığını görüldüğü bildirilmiştir. Fakat proteinlerle spesifik etkileşimleriyle alakalı olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca Ru(II) komplekslerinin Polio virüslerinin gelişmelerini inhibe ettiği ancak insan hücrelerinin gelişmesi üzerinde etkili olmadığı rapor edilmiştir.

Çok etkili yeni antimikrobiyal ajanlar olarak Fe, Co, Ni ve Cu komplekslerinin antimikrobiyal aktiviteleri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhymurium*, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* ve *Penicillium marneffeii* mikroorganizmaları üzerinde Siddiqi ve ark. (2010) tarafından denenmiştir. Sonuç olarak komplekslerin önemli aktiviteler gösterdiği ifade edilmiştir.

Zhang ve ark. (2010) tarafından 8-(2-pyridinylmethylthio)quinoline ligandına ait Cu, Cd, Zn, Ag geçiş metal komplekslerinin antimikrobiyal aktivitesi Gram (-) negatif ve Gram (+) pozitif bakteriler üzerinde denenmiştir. Kompleksler hem Gram (-) negatif hem de Gram (+) pozitif bakteriler üzerinde etkili olmuştur.

S ve N gibi çeşitli verici atom ligandlarının Pd(II) kompleksleri antitümör ve antiviral, antimalarial, antifungal ve antimikrobiyal aktiviteler gösterdiği Garoufis ve ark. (2009) tarafından rapor edilmiştir.

Özdemir ve ark. (2004) tarafından imidazolidin-2-lyidenes ligandının altı yeni Au(I) kompleksleri sentezlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis* üzerinde denenmiş ve minimum inhibitör konsantrasyonu (MIK) değerleri belirlenmiştir.

Özdemir ve ark. (2010) tarafından Ag(I)-n-heterocyclic carbene kompleksleri hazırlanmış ve *in vitro* antimikrobiyal aktiviteleri *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve fungi *Candida albicans* ve *Candida tropicalis* üzerinde gözlenmiştir. Yeni komplekslerin bir seri bakteri ve fungi üzerinde etkili antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları bulunmuştur.

2.2.Geçiş Metal Komplekslerinin Antioksidan Aktivitesi

Yeni oxime-type ligandların bazı homo- ve heteronükleer Cu(II) ve Ni(II) komplekslerinin antioksidan etkileri DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radikal süpürme aktivitesi komplekslerin hidrojen atomu veya elektron verme yeteneği, metanol-DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) çözeltisinin mor renginin açılmasıyla ölçülmüştür. IC₅₀ değerlerine göre kompleksler radikalleri elimine edecek potansiyele sahiptirler (Colak ve ark. 2010).

Co(II) ve Cu(II) komplekslerin antioksidan (serbest radikal süpürme, süper oksit radikal süpürme) aktiviteleri gözlenmiştir. Sonuçlar sentetik antioksidanlar BHA ve BHT ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak Co(II) ve Cu(II) kompleksleri farklı düzeylerde antioksidan aktivite göstermiştir. Kompleksler önemli serbest radikal süpürme ve süper oksit anyon radikal süpürme aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Kompleksler mükemmel süper oksit radikal süpürme aktivitesi göstermiştir (Keskin ve ark. 2010).

Metal iyonlarının birçok biyolojik aktivitesi olduğundan dolayı metal-bazlı terapötiklerin gelişimini sağlamıştır. Ancak önemli yan etkileri ve ilaca karşı oluşan dirençlilik, metal iyonlarının klinik olarak uygulamalarını sınırlamıştır. Platin kompleksleri DNA'ya cisplatinden farklı bağlanarak önemli farmakolojik özellikler gösterir. Rutenyum ve Altın kompleksli antitümör aktiviteleri de keşfedilmiştir. Diğer metal bazlı terapötik bileşiklerin süper oksit dismutaz mimikleri ve metal bazlı NO verici/süpürücü özellikleri incelenmiştir (Zhang ve ark. 2003)

Suksrichavalit ve ark. (2009)'e göre SOD deneyinde Cu(II) kompleksleri süper oksit dismutaz aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Ayrıca SOD aktivitesinin elektron affinitesi ile ilgili olduğu belirtilmiştir.

Prathima ve ark. (2010) tarafından yapılmış çalışmada benzyloxybenzaldehyde-4-phenyl-3-thiosemicarbazone ligandına bağlanmış Cu(II) ve Ni(II) kompleksleri hazırlanmıştır. Ligand ve onun metal komplekslerinin biyolojik etkileri *in vitro* olarak test edilmiştir. Serbest ligandın ve onun metal(II) komplekslerinin *in vitro* antioksidan aktiviteleri de incelenmiştir. Sonuç olarak ligand aktivitesi metal(II) komplekslerin aktivitesinden daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Li ve ark. (2011) tarafından iki yeni rutenyum kompleksi sentezlenmiştir. Elde ettikleri antioksidan aktivite sonuçlarına göre her iki Ru(II) komplekslerinin hidroksil radikali (-OH) üzerinde iyi aktivite gösterdiği rapor edilmiştir.

Choudhary ve ark. (2011) tarafından bir seri geçiş metal kompleksleri (Fe(III), Co(II) ve Cu(II)) sentezlenmiştir. Komplekslerin serbest radikal süpürme aktiviteleri 50-1000 µg/ml aralığındaki konsantrasyonlarla kararlı serbest radikal DPPH üzerinde denenmiştir. Bütün kompleksler iyi antioksidan aktiviteleri göstermiştir.

Liu ve ark. (2009) tarafından iki yeni Cu(II) kompleksleri sentezlenmiştir. Antioksidan aktivite hidroksil radikal ve süper oksit süpürme metodları yardımıyla *in vitro* olarak belirlenmiştir. Sonuçta kompleksler mannitol ve C vitamini gibi doğal antioksidanlardan mükemmel antioksidan (OH) aktivite gözlenmiştir. Bu kompleksler potansiyel antioksidanlar olarak kullanılabilir olduğu ifade edilmiştir.

2.3.Geçiş Metal Komplekslerinin Mutajenite Aktivitesi

Yeni oxime-type ligandların bazı homo- ve heteronükleer Cu(II) ve Ni(II) komplekslerinin DNA'ya bağlanması UV-Vis spektroskopi ile incelenmiştir. Komplekslerin üçünün interkalatif yolla, diğerlerinin farklı mekanizmalarla DNA'ya bağlandığı gösterilmiştir (Colak ve ark. 2010).

Elde edilen sonuçlar komplekslerin interkalatif moduyla DNA'ya bağladığını ortaya koymuştur. DNA-kesme çalışmalarında metal komplekslerin standart ilaçlara kıyasla daha iyi yetenekte olduğunu göstermiştir (Patel ve ark. 2010).

Cu, Co, Ni, ve Zn geçiş metal kompleksleri sentezlenmiş ve DNA'ya bağlanmaları incelenmiştir. Hem ligand ve hem de komplekslerin DNA'ya interkalasyon yolla bağlandığını ortaya koymuştur. Bu bileşiklerin antitümör aktivitesi 4 kanser hücre tipleri üzerinde test edilmiştir. Sonuç olarak DNA-bağlanma affinitesi ile ilgili olduğu düşünölen Cu-L>Ni-L~Co-L>Zn-L>>L antitümör aktivitesi gözlenmiştir (Jiang ve ark. 2010).

Be, Ga ve Sb bileşikleri ile *Salmonella* mutajenite deneyi yapılmıştır. Ancak hiçbir bileşiğın *Salmonella* üzerinde mutajenik aktivitesi bulunamamıştır (Kuroda ve ark. 1991).

Şimdiye kadar sadece Cr(VI), Sn(II) ve platin antitümör bileşik cisplatin(II) in genotoksik olduğu gösterilmiştir. (Lantzsch ve ark. 1997).

Geçiş metallerinin koordinasyon bileşiklerinin genetik toksikolojisi cisplatin(II) nin solid tümörlerin terapisinde uygulanmasından beri oldukça ilgi çekmektedir. Bu gibi bileşiklerin DNA ile reaksiyon doğası bilinmemektedir. Rodyum(III)'un birkaç koordinasyon bileşiklerinin bakteriyel deneylerde DNA-hasarı aktivitesi ve mutajenitesi için test edilmiştir. Sonuç olarak rodyum(III) ışığa hassas kompleksleri onarım-eksikliği bulunan bakteriyel suşlar üzerinde aydınlık ortamda karanlık ortamdanda daha toksiktir. Böyle çalışmalarda DNA ile etkileşimin kimyasal özellikleri anlaşılmiş olacaktır. Ayrıca DNA-metal etkileşimi çalışmaları daha sonraları yeni antitümör ajanların dizaynına yol açacaktır (LaVelle ve ark. 1986).

Mutajenik potansiyeli bulunan 16 metal türevleri ile yapılan çalışmada sadece iki Cr(VI) bileşiği güçlü mutajen olduğu gözlenmiştir (Marzin ve ark. 1985).

Rutenyum(II) kompleksleri sentezlenmiş ve DNA bağlanması ile ilgili yapılmış çalışmada plazmid DNA'nın tek zincir kesimini arttırmıştır (Ratanaphan ve ark. 2012).

Sentezlenmiş Ru(III) komplekslerinin DNA bağlanması ve kesme özellikleri incelenmiştir. Sonuçlar komplekslerin DNA'yı serbest ligandlardan daha hızlı kestğini ortaya çıkarmıştır (Raja ve ark. 2012).

21 farklı metal klorürler *Salmonella typhimurium* suşları üzerinde mutajenite için test edilmiştir. Sonuç olarak test suşu *S.typhimurium* üzerinde incelenen 21 farklı metal klorürler non-mutajen oldukları belirlenmiştir (Ogawa ve ark. 1987).

Berilyum düşük yoğunlukta ve yüksek çekim gücü sayesinde uzay mekiklerinden golf toplarına kadar geniş bir alanda kullanılmaktadır. Bunun yanında yapılmış çalışmalar berilyumun bir karsinojen olduğunu belirlemişlerdir. Bu amaçla yapılan tüm bakteriyel çalışmalarda test sonuçları negatif iken, memeli test sistemlerinde berilyum-kaynaklı mutasyonların, kromozomal düzensizliklerin ve hücre transformasyonunun kanıtlarını göstermiştir. Laboratuvarlar arası farklılıklar genotoksisite deneylerindeki verilerin çeşitliliğinde bir rol oynayabilir. Buna benzer olarak berilyumun farklı kimyasal formları mutajenisite ve karsenojenisite üzerinde önemli etkiye sahiptir. Bu nedenle berilyumun mutajenik ve karsinojenik aktivite mekanizması, ilgili berilyum kimyasal formları ile test edilmelidir (Gordon ve ark. 2003).

Krom, Nikel, Kadmiyum, Kobalt ve Arsenik çok iyi bilinen karsinojenler olmasına rağmen etki yöntemleri tamamen anlaşılammıştır. Kesin kanıtlar DNA onarım sisteminin Ni(II), Cd(II), Co(II) ve As(III) çok duyarlı hedefler olduğunu ve tümöre dönüşme riskini arttıracılabilecek çevresel ajanlar tarafından indüklenmiş DNA hasarının ve endojen DNA lezyonlarını uzaklaştırarak azalmasına öncülük ettiğini ortaya koymaktadır. Metal iyonların toksik yeteneği magnezyum iyonlarıyla yarışmaya girmesi veya DNA onarım enzimlerinin yapısı Çinko parmak'da Zn (çinko) iyonlarıyla yer değiştirmesine bağlıdır (Hartwig ve ark. 1998).

Suda çözünebilen ZnO nanopartiküllerinin mutajenisite testi *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535 ve TA1537 suşları üzerinde denenmiş ve tüm suşlar için mutajenite negatif sonuçlanmıştır (Yoshida ve ark. 2009).

3-OHAA tek başına kullanıldığında plazmid üzerinde çentiklere neden olacak herhangi bir plazmid gevşetme aktivitesi göstermemiştir. Ancak metal kofaktör Cu(II) plazmidde çentiklere neden olarak plazmidin gevşemesini indüklemiştir. Ancak aynı etki diğer metaller (Fe(II) ve Mn(II)) kullanıldığında gözlenememiştir. Ayrıca Cu(II)

konsantrasyonu arttıkça doza bağımlı DNA zincir kırıklarına neden olduğunu göstermiştir (Gadupudi ve ark. 2011).

Alanyalı ve ark. (2011) tarafından rutenyum kompleksleri sentezlenmiş ve *TA100* ile *TA98 Salmonella* suşları üzerinde Ames testi yardımıyla mutajenisitesini değerlendirmişlerdir. RuL_2BPt ve Cisplatin komplekslerinin 100 $\mu g/plt$ dozunda *TA98 Salmonella* suşu üzerinde mutajenik olarak etkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca RuL_3BPt kompleksinin maksimum mutajenik dozu *TA98* suşu üzerinde 25 $\mu g/plt$ olarak elde edilmiştir. Sonuç olarak kompleksler *TA98* üzerinde mutajenik olurken *TA100* üzerinde mutajenik etki gösterememişlerdir.

Tolan (2002) tarafından yapılmış çalışmada, insektisit olarak tarımda kullanılan Mancozeb, Maneb ve Thiodan kimyasal bileşiklerinin genotoksik potansiyelleri kısa zamanlı bakteriyel test sistemi *Salmonella*/mikrozom mutajenite test sistemi yardımıyla *Salmonella typhimurium TA98* ve *Salmonella typhimurium TA100* mutant suşları üzerinde S9 mix (+) varlığında ve S9 mix (-) yokluğunda aktiviteleri araştırılmıştır. Thiodan *S.typhimurium TA98* ve *TA100* suşları üzerinde S9 mix (+) varlığında ve (-) yokluğunda mutajenik aktivite göstermiştir. Maneb *S.typhimurium TA98* ve *TA100* suşları üzerinde S9 mix (+) varlığında mutajenik aktivite göstermiş, *S.typhimurium TA98* ve *TA100* suşları üzerinde S9 mix (-) yokluğunda non-mutajenik aktivite göstermiştir. Mancozeb *S.typhimurium TA98* ve *TA100* suşları üzerinde S9 mix (+) varlığında ve (-) yokluğunda non-mutajenik aktivite göstermiştir.

3.MATERYAL ve METOT

3.1.MATERYAL

3.1.1.Kullanılan Çözücüler ve Test Bileşikleri

Kullanılan Çözücüler

Bu çalışmada yeni sentezlenmiş 5 farklı test bileşiği kullanılmıştır. Test bileşiklerinin *in vitro* antimikrobiyal, antioksidan ve mutajenite aktiviteleri için VT5, VT6, VT8 ve VT9 Dimetil Sülfoksit (DMSO) ve VT7 Tetrahidrofüran (THF) çözücüsü içerisinde taze olarak hazırlanıp kullanılmıştır. Bu aktiviteleri incelemek için en uygun yöntemler sırasıyla Disk Difüzyon, DPPH serbest radikal süpürme ve Ames test sistemleri olarak belirlenmiştir.

Kullanılan Test Bileşikleri

Bu çalışmada kullanılmış olan 5 farklı test bileşiği Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Nermin BİRİCİK tarafından sentezlenmiştir.

Deney aşamalarında test bileşikleri olarak kullanılan yeni sentezlenmiş geçiş metal kompleksleri ve aminofosfin bileşiği Çizelge 3.1.1.'de belirtilmiştir.

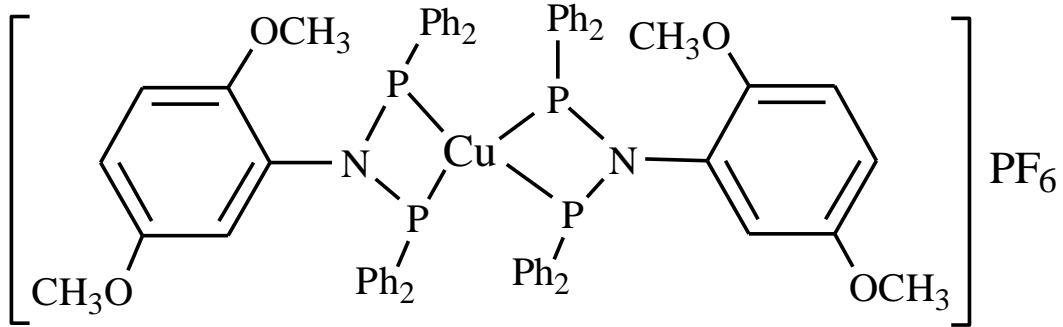
Çizelge 3.1.1. Kullanılan test bileşikleri

Kod	Açıklama
VT5	[Bis(N,N-Bis(difenilfosfino)-2,5-dimetoksianilin)Cu(I)]hekzaflorofosfat
VT6	[Bis(N,N-bis(difenilfosfino)-3,5-dimetoksianilin)Cu(I)]hekzaflorofosfat
VT7 (Ligand)	N,N-Bis(difenilfosfino)-Benzilanilin
VT8	Dikloro[N,N-bis(difenilfosfino)-4-aminodifenilamin]Pd(II)
VT9	Dikloro[N,N-Bis(difenilfosfino)-3,5-dimetoksianilin]Pd(II)

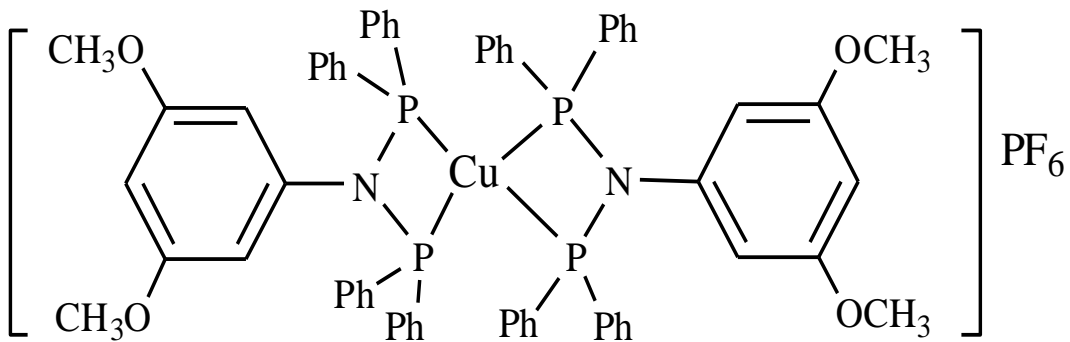
3.1.1.1. Test Bileşiklerinin Kimyasal Yapıları

Kod **Açıklama**

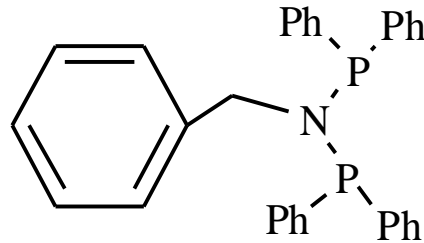
VT5 : [Bis(N,N-Bis(difenilfosfino)-2,5-dimetoksianilin)Cu(I)]hekzaflorofosfat



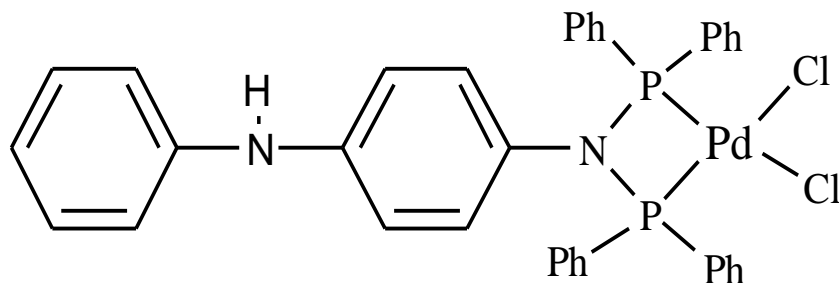
VT6 : [Bis(N,N-bis(diphenylphosphino)-3,5-dimethoxyaniline)Cu(I)]hekzaflorofosfat



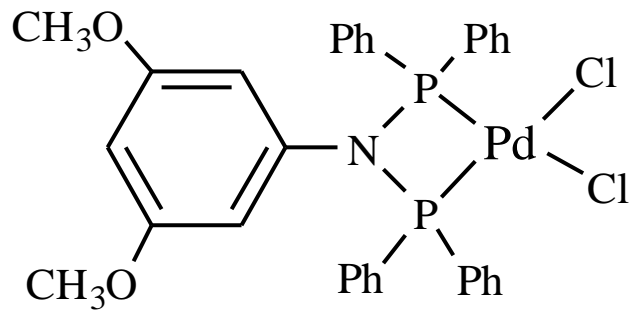
VT7 : N,N-Bis(difenilfosfino)-Benzilanilin
(Ligand)



VT8 : Dikloro[N,N-bis(difenilfosfino)-4-aminodifenilamin]Pd(II)



VT9 : Dikloro[N,N-Bis(difenilfosfino)-3,5-dimetoksianilin]Pd(II)



3.1.2.Antimikrobiyal

3.1.2.1.Kullanılan Test Mikroorganizmaları

Yaygın olarak bilinen ve patojen olduğu kesin olan iki Gram (-) negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853), iki Gram (+) pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615) ve fungi olarak *Candida albicans* ATCC 10231 test mikroorganizmaları kullanıldı. Eritromisin, bakteri ribozomlarında protein sentezinin inhibe edilmesi, İmipenen ve Cefuroxime sodium antibiyotikleri, bakteri hücre duvarı sentezini inhibe edilmesi ve litik enzimlerinin aktive edilmesiyle aktivite göstermesi için kullanılmıştır.

Çizelge 3.1.2.1. Gram (+) pozitif ve Gram (-) negatif bakteri farklılıkları

Yapı	Gram (+) Pozitif Bakteri	Gram (-) Negatif Bakteri
Peptidoglukan	Kalın	İnce
Ribozom	30s (16s) ve 50s (23s ve 5s)	30s (16s) ve 50s (23s ve 5s)
DNA	Sitoplazmada dağınık	Sitoplazmada dağınık
Plazmid	Ektrakromozomal spesifik özellikler sağlar	Ektrakromozomal spesifik özellikler sağlar
Hücre zarı	Çift tabakalı fosfolipid	Çift tabakalı çift fosfolipid
Teikoik asit	Hücre yüzeyinin negatif elektrik yükünden sorumlu	Bulunmaz
Lipopolisakkarit	Bulunmaz	Endotoksin oluşturur.
Periplazma	Bulunmaz	Sitoplazmik zar ile dış zar arasındadır. Enzimler ve taşıyıcı proteinler bulunur.

3.1.2.2.Kullanılan Besi Yerleri

Nutrient Broth Besi Yeri

1000 ml için

Nutrient Broth	8 g
Distile Su	1000 ml

Hazırlanışı: 8 g Nutrient Broth (NB) tartılır. Bir miktar distile su içerisinde çözüldükten sonra toplam hacim 1000 ml oluncaya kadar üzerine distile su ilave edilir. Sterilizasyon için 121°C 10 dakika otoklava konur. Otoklavdan çıkardıktan sonra istenilen hacimlere bölünür.

Nutrient Agar Besi Yeri

1000 ml için

Nutrient Agar	20 g
Distile Su	1000 ml

Hazırlanışı: 20 g Nutrient Agar (NA) tartılır. Bir miktar distile su içerisinde çözüldükten sonra toplam hacim 1000 ml oluncaya kadar üzerine distile su eklenir. Sterilizasyon için 121°C 10 dakika otoklava konur. Otoklavdan çıkardıktan sonra steril kabinde bir miktar soğutulup her petri kabına 25 ml dökülür.

3.1.3.Antioksidan

3.1.3.1.Kullanılan Kimyasal Maddeler

En yaygın antioksidan değerlendirilmesi 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) serbest radikal süpürme aktivitesidir. Test bileşiği tarafından azaltılan DPPH serbest

radikalinin menekşe rengi değişerek sarı renge dönüşür. Elde edilen absorbands değerleri ölçüldükten sonra antioksidan kapasitesi belirlenir.

Bu nedenle antioksidan aktivite deneyinde DPPH serbest radikal olarak kullanılmıştır. Metanol çözücü olarak kullanılmıştır. Askorbik asit (AA), Bütillenmiş Hidroksi Anizol (BHA) ve Bütillenmiş Hidroksi Toluen (BHT) pozitif kontroller olarak kullanılmıştır.

3.1.4.Mutajenite

3.1.4.1.Kullanılan Test bakterileri

Mutajenite deneyinde *Salmonella Typhimurium TA98* ve *Salmonella Typhimurium TA100* mutant bakteri suşları kullanıldı. Deneye başlamadan önce temin edilen test suşları taşıdıkları genetik özellikler bakımından Çizelge 3.1.4.1.'de gösterilen şekildeki gibi kontrolden geçtikten sonra test bileşikleri denendi.

Çizelge 3.1.4.1. Test suşlarının genetik özellikler bakımından kontrolleri (Mortelmans ve ark. 2000)

		TA98	TA100
Histidin-Biyotin gereksinimini belirlemek için	MGA	Üreme yok	Üreme yok
	MGA + His + Bio	Üreme var	Üreme var
Hücre duvarındaki LPS'de rfa mutasyonunu belirlemek için	NA + Kristal viyole	Disk etrafında yaklaşık 15 cm şeffaf bir zon oluşur	Disk etrafında yaklaşık 15 cm şeffaf bir zon oluşur
UvrB mutasyonunu belirlemek için	NA+UV+Karanlık	Üreme yok	Üreme yok
Ampisiline dirençlilik (pKM101 plazmidi)	NA+Ampisilin	Üreme var	Üreme var
Genetik özelliklerden geçenler için	Master plak	Bütün özellikleri geçenler alınır	Bütün özellikleri geçenler alınır

3.1.4.2. Kullanılan Besi Yerleri ve Stok Çözeltiler

Vogel-Bonner-E Ortamı (50x VB Tuzları): Minimal agarda kullanılmak üzere hazırlandı.

	<u>1000 ml için</u>
Distile Su (45°C)	670 ml
Magnezyum sülfat (MgSO ₄ .7H ₂ O)	10 g
Sitrik asid monohidrat	100 g
Potasyum fosfat (K ₂ HPO ₄)	500 g
Sodyum amonyum fosfat (NaH ₂ NH ₄ PO ₄ .4H ₂ O)	175 g

Hazırlanışı: Tuzlar distile suya sırasıyla ilave edildikten sonra sıcakta manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Önce eklenen tuz tamamen çözüldükten sonra sıradaki tuz eklendi. Tuzların hepsi sırasıyla çözüldükten sonra toplam son hacim 1000 ml'ye tamamlandı. Ve iki ayrı 1000 ml'lik cam erlenlere ayrıldı. Ağızları gevşek olarak kapatıldıktan sonra sterilizasyon için 121°C 20 dakika otoklava konuldu. Çözelti soğuduktan sonra ağızları sıkıca kapatıldı.

0.5 mM Histidin/Biyotin Çözeltisi: Mutajenite deneylerinde kullanılmak üzere, her 100 ml'lik yumuşak agara 0.5 mM Histidin/Biyotin çözeltisinden 10 ml ilave edildi.

	<u>250 ml için</u>
D-Biyotin (MA: 247.3)	30.9 mg
L-Histidin-HCl (MA: 191.7)	24.0 mg
Distile Su	250 ml

Hazırlanışı: 0.5 mM Histidin-Biyotin çözeltisi hazırlandıktan sonra sterilizasyon için 121°C 20 dakika otoklava konuldu. Çözelti soğuduktan sonra cam

erlen içerisinde +4°C'de muhafaza edildi.

Yumuşak Agar: Mutajenite deneylerinde kullanılmak üzere hazırlandı.

1000 ml için

Agar	6 g
Sodyum Klorür (NaCl)	5 g
Distile Su	1000 ml

Agar sıcak su banyosu, mikrodalga fırını veya otoklava konularak çözülebilir. Yumuşak agar hazırlandı ve ağzları gevşek olarak kapatıldıktan sonra sterilizasyon için 121°C 20 dakika otoklava konuldu. İyiçe karıştırıldıktan sonra 100 ml'lik hacimlere ayrıldı. Yumuşak agar soğuduktan sonra ağzı sıkıca kapatıldı.

Ampisilin Çözeltisi (8 mg/ml): Suşların ampisiline dirençlilik özelliğinin kontrolünde, R faktör plazmidi taşıyan suşların master plaklarının hazırlanmasında kullanıldı.

100 ml için

Ampisilin trihidrat	0.8 g
Sodyum Hidroksit (NaOH)	100 ml

Ampisilin çözeltisi hazırladıktan sonra cam erlen içerisinde +4°C'de muhafaza edildi.

Kristal-Viyole Çözeltisi: Suşların rfa mutasyonu olup olmadığını kontrol etmek amacıyla kullanıldı.

100 ml için

Kristal Viyole	0.1 g
Distile Su	100 ml

Tuz Çözeltisi (1.65 M KCl + 0.4 M MgCl₂): S9 karışımı mutajenite deneylerinde kullanılmak üzere hazırlandı.

500 ml için

Potasyum Klorür (KCl)	61.5 g
Magnezyum Klorür (MgCl ₂ .6H ₂ O)	40.7 g
Distile Su	500 ml (Toplam son hacim)

Sodyum-Fosfat Tamponu (0.2 M, pH 7.4): S9 karışımı mutajenite deneylerinde kullanılmak üzere hazırlandı.

500 ml için

0.2 M Sodyum dihidrojen fosfat (NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O)	60 ml (13.8 g/500 ml)
0.2 M Disodyum hidrojen fosfat (Na ₂ HPO ₄)	440 ml (14.2 g/500 ml)

Bu değerler yaklaşık değerlerdir. Bu nedenle tampon pH metre ile test edildi. pH 7.4'ten çok daha düşük olduğun zaman, fazladan 0.2 M Disodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄) tamponu eklendi. pH 7.4'e ayarlanan tampon 121°C 20 dakika sterilizasyon için otoklava konuldu.

0.1 M NADP çözeltisi (Nikotin Adenin Dinükleotid Fosfat): S9 karışımı mutajenite deneylerinde kullanılmak üzere hazırlandı.

5 ml için

NADP (MA: 765.4)	383 mg
Steril Distile Su	5 ml

5 ml steril saf su içerisinde tartılan NADP çözüldü. Işıktan etkilenmemesi için renkli veya metal folyo ile sarılmış olan şişe içerisinde hazırlandı. Daha sonra -20°C'de muhafaza edildi. Çalışma esnasında vorteks yardımıyla çözüldü ve buz banyosu

içerisinde çalışıldı. Soğutucudaki NADP çözeltisi 6 ay boyunca dayanıklıdır.

1 M Glukoz-6-Fosfat Çözeltisi: S9 karışımı mutajenite deneylerinde kullanılmak üzere hazırlandı.

10 ml için

Glukoz-6-Fosfat (G-6-P)	2.82 g
Steril Saf Su	10 ml

10 ml steril saf su içerisinde tartılan G-6-P çözüldü. Işıktan etkilenmemesi için renkli veya metal folyo ile sarılmış olan şişe içerisinde hazırlandı. Daha sonra -20°C’de muhafaza edildi. Çalışma esnasında vorteks yardımıyla çözüldü ve buz banyosu içerisinde çalışıldı. Soğutucudaki G-6-P çözeltisi 6 ay boyunca dayanıklıdır.

S9 karışımı (Rat Karaciğer Mikrozomal Enzimleri + Kofaktörleri): S9 karışımı mutajenite deneylerinde kullanılmak üzere hazırlandı.

50 ml için

Rat Karaciğeri S9	2.0 ml(%4)
Mg-Cl ₂ -KCl tuz çözeltisi	1.0 ml
1 M Glukoz-6-Fosfat	0.25 ml
0.1 M NADP	2.0 ml
0.2 M Fosfat tamponu, pH 7.4	25.0 ml
Steril Distile Su	19.75 ml

Çözeltiler taze hazırlandı ve buz içerisinde muhafaza edildi. S9 tek kullanımlık olduğu için tekrar dondurulmadı.

Minimal Glukoz Agarlı Ortam (MGA): Mutajenite deneylerinde kullanılmak üzere hazırlandı.

	<u>1000 ml için</u>
Agar	15 g
Distile Su	930 ml
50X VB tuz çözeltisi	20 ml
Glukoz (%40'lık)	50 ml

15 g agar cam erlen içerisine bırakıldıktan sonra üzerine 930 ml distile su ilave edildi. Agar çözeltisi, 50X VB ve %40'lık glukoz çözeltileri 121°C 20 dakika sterilizasyon için ayrı erlenler içerisinde otoklava konuldu. Biraz soğuduktan sonra agar çözeltisi üzerine 20 ml 50X VB tuzu ve 50 ml Steril Glukoz çözeltisi ilave edildi. İyiye karıştırıldıktan sonra petri kaplarına 25 ml döküldü.

3.2.METOT

Bakteriyel deneylerin tamamı ve besi yerlerinin petri kaplarına dökülme işlemleri steril kabinde ve steril malzemeler kullanılarak uygulanmıştır. Çözücü kontrollerinde VT7 bileşiği için THF ve VT5, VT6, VT8 ve VT9 test bileşikleri için DMSO kullanıldı.

3.2.1.Antimikrobiyal Aktivite Deneyi

3.2.1.1.Disk Difüzyon Yöntemi

Antimikrobiyal aktivite belirlenmesinde küçük değişikliklerle disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır (NCCLS 1997). Antimikrobiyal aktivite deneyi 15 µl test bileşiği emdirilmiş 6 mm çaplı kâğıt disk difüzyon yöntemi ile iki Gram (-) negatif (*E.coli* ve *P.aeruginosa*), iki Gram (+) pozitif (*S.aureus* ve *S.pyogenes*) ve maya olarak *C.albicans* mikroorganizmaları üzerinde denendi. Bileşikler DMSO ve THF içerisinde çözülmüş ve hazırlanan 120-250-400-800-1600-2000 µg/ml konsantrasyonlarında çift tekrarlar olarak aktivite incelendi. Negatif kontrol olarak DMSO ve THF kullanıldı. Pozitif kontrol olarak standart antibiyotik olan Eritromisin, İmipenem ve Cefuroxime sodium kullanıldı. Komplekslerin antimikrobiyal aktiviteleri elde edilen inhibisyon zonlarının ortalama çap değerleri ölçülerek değerlendirildi.

-Sıvı besi yerine ekim: İyi izole edilmiş test bakterilerin master plaklarından steril kabinde steril öze yardımıyla bir miktar kültür alınıp 40 ml'lik nutrient broth sıvı besi yerlerine iyice aktarıldı. Daha sonra 120 rpm çalkalama hızındaki shakerda *E.coli*, *P.aeruginosa*, *S.aureus* ve *S.pyogenes* mikroorganizmaları 37°C'de, *C.albicans* ise 30°C'de ortalama 17 saat gecelik inkübe edildi.

-Katkı besi yerine ekim: Gecelik inkübasyondan sonra sıvı besi yeri ortamında çoğalmış bakteri kültüründen mikropipet yardımıyla 0.1 ml alınarak nutrient agar içeren petri kaplarına ekim yapıldı. Ekim işlemi steril cam bağetlerle her tarafa eşit dağılacak şekilde iyice yayıldı.

-Disklerin ekim yapılmış agar plaklarına uygulanması: Ekimi yapılmış olan katı besi yerleri kuruduktan sonra 6mm çapındaki steril boş diskler katı kültür yüzeyine steril pens yardımıyla bırakıldıktan sonra disklerin agar yüzey ile tam teması sağlamak için biraz basınç uygulandı. Daha sonra seri olarak hazırlanmış farklı konsantrasyonlara

sahip test bileşiklerinden 0.015 ml mikropipet yardımıyla alınıp 6 mm çapındaki boş disklerle emdirildi. Tüm test bakteri ekimlerinin yapıldığı petrilere ayrı ayrı test bileşikleri uygulandıktan sonra ortalama 5 dakika soğuklandı. Daha sonra 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Ayrıca agar yüzey ile temas eden boş diskin yeri değiştirilmedi ve/veya kullanılmadı.

-Plaklardaki disklerin okunması ve yorumlanması: İnkübasyondan 16 ile 18 saat sonra her bir petri incelendi. Kültür ekiminin doğru olduğu petri kaplarındaki disklerin etrafında oluşan şeffaf zonlar cetvel yardımıyla mm (milimetre) olarak ölçüldü. Tam inhibisyonların olduğu zon çapları ile disk çapları değerlendirildi. Zonlar en yakın milimetre olarak değere yuvarlandı. Böylece antimikrobiyal aktivite derecesi belirlendi.

3.2.2. Antioksidan Aktivite Deneyi

3.2.2.1. DPPH Radikal Süpürme Yöntemi

Antioksidan aktivite belirlenmesinde DPPH radikal süpürme yöntemi kullanılmıştır (Burits ve ark. 2000, Cuendet ve ark. 1997, Dapkevicius ve ark. 1998). Antioksidan aktivite deneyinde DPPH ayıraç olarak kullanılmıştır. %0.004 DPPH-metanol çözeltisinden 5 ml içeren her bir tüp içerisine, hazırlanan kontrol ve test bileşiği seri konsantrasyonlarından ayrı ayrı 50 µl eklenerek denendi. Vorteksle 30 sn karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Bileşikler DMSO ve THF içerisinde çözülmüş ve hazırlanan 120-250-400-800-1600-2000 µg/ml konsantrasyonlarında çift tekrarlar olarak aktivite incelendi. Negatif kontrol olarak DMSO ve THF kullanıldı. Pozitif kontrol olarak BHT, BHA ve AA kullanıldı. Test bileşiklerinin antioksidan aktiviteleri spektrofotometre yardımıyla 517 nm dalga boyunda elde edilmiş renk değişimleri ölçülerek değerlendirildi. Elde edilen absorbans değerleri kullanılarak formül yardımıyla süpürülen DPPH yüzdesi belirlendi.

$$\text{Süpürülen DPPH \%} = [(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{ÖRNEK}}) / A_{\text{DPPH}}] \times 100$$

A_{DPPH} : DPPH-metOH (Kontrol)’un bulunduğu tüpün absorbans değeri

$A_{\text{ÖRNEK}}$: Test bileşiklerinin bulunduğu tüpün absorbans değeri

-DPPH-metanol çözeltisinin hazırlanması: Serbest radikal olarak DPPH radikali kullanıldı. 0.004 g DPPH tartıldıktan sonra 100 ml metanol içerisinde manyetik karıştırıcı yardımıyla çözüldü. Çözüldükten sonra her bir cam tüpe 5 ml DPPH çözeltisi dağıtıldı.

-Pozitif Kontrollerin Hazırlanması: Pozitif kontrol olarak BHA, BHT ve AA bileşikleri kullanılmıştır. BHA ve BHT bileşiklerinden %0.02 konsantrasyona sahip çözelti hazırlamak için 0.001 g, AA bileşiğinden 4.45 mM konsantrasyona sahip çözelti hazırlamak için 0.004 g tartılıp 5 ml metanol içerisinde çözümlenerek hazırlanmıştır. Hazırlanmış olan kontrollerden mikropipet yardımıyla 0.05 ml alınıp, DPPH çözeltisi dağıtılmış cam tüplere ilave edildi. Tüm tüpler vortekslendikten sonra hızlı bir şekilde 30 dakika karanlık oda sıcaklığında bekletildi.

-Test bileşiklerinin uygulanması: Seri olarak hazırlanmış farklı konsantrasyonlara sahip test bileşiklerinden 0.05 ml mikropipet yardımıyla alınıp DPPH çözeltisi dağıtılmış cam tüplere ilave edildi. Test bileşiği eklenen tüp ortalama 5 saniye orta hızda vortekslendi. Böylece test bileşiğinin cam tüpler içerisinde her tarafa yayılması sağlandı. Tüm tüpler vortekslendikten sonra hızlı bir şekilde 30 dakika karanlık oda sıcaklığında bekletildi.

-Tüplerdeki renk değişiminin okunması ve yorumlanması: Metanol ile sıfırlandı. DPPH-metanol-test bileşiği çözeltisi 30 dakika boyunca karanlıkta bekletildikten sonra oluşan renk açılması, 517 nm dalga boyunda Quartz küvet içerisinde spektrofotometre yardımıyla absorbans değerleri okundu. Test bileşiğinin absorbans değerleri kontrol ile karşılaştırıldıktan sonra antioksidan aktivite derecesi belirlendi.

3.2.3.Mutajenite Deneyi

Deneyde kullanılacak mutant test suşlarının genetik özellikleri ve belirlenecek mutajen bileşik türleri de Çizelge 3.2.3.'te belirtilmiştir.

Çizelge 3.2.3. Mutajenite testinde kullanılan *Salmonella typhimurium* mutant suşun genetik özellikleri (Ames, University of California, Berkeley, Ca., USA)

Suş	His ⁻	LPS	Onarım	pKM101	Mutasyon	Bileşik sınıfı
<i>TA98</i>	+	Rfa mut.	uvrB mut.	+	...CG yanında -1	Çerçeve kaymasına neden olan mutajenler
<i>TA100</i>	+	Rfa mut.	uvrB mut.	+	...AT CG transisyon	Baz çifti yer değişimine neden olan mutajenler

3.2.3.1. Mutantların Genetik Özelliklerinin Taranması ve Seçilmesi

-Histidin Gereksinim Kontrolü: His⁻ karaktere sahip test suşları seçici agar ortamında, MGA plaklarına ekilmeleri yardımıyla kontrol edilmiştir. Tüm test suşlarındaki uvrB delesyonu biyotin geninde de delesyona neden olduğu için histidine ek olarak biyotine de gereksinim duymaktadır. Bu nedenle kontrol plakları histidin içermez, fakat biyotin içerirler. Plaklar 37°C’de bir gece inkübe edilmiştir Üreme gözlenmemelidir (Mortelmans ve ark. 2000).

-Rfa Mutasyon Kontrolü: rfa mutasyonuna sahip test suşları, kristal viyole duyarlılıkları yardımıyla test edilebilirler. Test edilecek suşa ait gecelik kültürden alınan örnekler, NA plaklarına ekilmiştir. 1 mg/ml konsantrasyona sahip kristal viyole çözeltisinden emdirilen steril kağıt diskler plağın ortasına yerleştirilen plaklar 37°C’de bir gece inkübe edilmiştir. Şeffaf bir zon gözlenmelidir (Ames ve ark. 1973).

-UvrB Mutasyon Kontrolü: uvrB mutasyonu, UV (Ultra viyole) ışınlarına duyarlılık testleri yardımıyla kontrol edilmiştir. Test suşlarının gecelik kültürlerinden alınan örnekler NA plaklarına tek koloni düşecek şekilde ekildi ve 37°C’de bir gece inkübe edilmiştir. Ertesi sabah üreyen tek koloniler, steril kürdanlar yardımıyla ayrı ayrı alınarak NA plaklarına çizgi metoduyla ekildi. Ekim sonunda plağın kapağı açılarak 15watt’lık germisidal UV lambasına 33 cm uzaklıkta 8 saniye boyunca ışlandıktan sonra alüminyum folyo ile sarılan plaklar 37°C’de bir gece inkübe edilmiştir. Üreme gözlenmemelidir (Ames ve ark. 1973).

-R-Faktör (RF) Kontrolü: R-faktörü taşıyan test (*TA98* ve *TA100*) suşlarının plazmidlerinin stabil olmaması ve bakterinin bu plazmidleri kaybedebilme olasılıklarına

karşı, ampisiline dirençlilikleri düzenli olarak test edilmiştir. Ampisilin dirençlilik testi için, Histidin+Biyotin+Ampisilin içeren MGA plaklar hazırlanarak R-faktörü test edilecek suşların ekimi yapılmıştır. Ampisilin aktivitesini kontrol etmek için aynı plakta plazmid içermeyen suşlarda test edilmiştir. Plaklar 37°C’de bir gece inkübe edilmiştir. Üreme gözlenmelidir (McCann ve ark. 1975).

-Kendiliğinden Geri Dönüş Kontrolü: Test suşlarının histidine bağımlı olmayan kendiliğinden geri dönüşü, mutajenite deneylerinde rutin olarak ölçüldü ve her plakta kendiliğinden geri dönen bakteri sayısı olarak ifade edilmiştir. Kendiliğinden geri dönüş frekanslarını belirleyebilmek için MGA plaklar hazırlandı. 100 ml yumuşak agar 45°C’de eritilerek üzerine steril 0.5 mM L-Histidin-HCl/Biyotin çözeltisinden 10 ml eklendikten sonra ayrı ayrı her tüpe 2 ml olacak şekilde steril tüplere dağıtıldı. Bu tüplere her suşun gecelik kültüründen 0.1 ml eklendi ve MGA plaklarına dökülüp yayılmıştır (Maron ve Ames 1983). Plaklar 37°C’de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra geriye dönen kolonilerin sayımları yapılmıştır. Her bir suş için birden fazla tekrarlar yapılmış ve ortalama değerleri alınmıştır.

3.2.3.2.Salmonella/Mutajenite Test Sistemi

Mutantların genetik özellikleri taranıp seçildikten sonra mutajenik aktivite belirlenmesi Maron ve Ames (1983) yöntemine göre yapılmıştır. Ames/Salmonella testi S9 mix varlığında ve S9 mix yokluğunda olmak üzere 2 ayrı grup olarak denenmiştir. Test bileşiği, test suşu ve S9 mix karışımının tüplerdeki yumuşak agara ilave edilmesi ve vortekslenip MGA yüzeyine yayılma işlemleri toplamda 20 saniyeyi geçmeyecek şekilde yüzeye eşit yayılması sağlanmıştır. Farklı test bileşiklerinin farklı konsantrasyonlarına sahip plaklar 37°C’de 48 ve 72 saat inkübe edilmiştir. inkübasyondan sonra koloni sayımları yapılmıştır.

Mutajenite deneyinde histidin/biyotin eklenmiş yumuşak agardan 2 ml içeren her bir 13x100 mm’lik cam tüpe sırasıyla 0.5 ml S9 mix, 100 µl test bileşiği ve test suşu kültüründen 0.1 ml ilave edilip 3 sn vorteksledikten sonra oda sıcaklığında bekletilmiş MGA plaklarına dökülüp yayılarak denenmiştir. Üst agar donmadan plağın tüm yüzeyine yayılmasını sağlamak için karıştırma+dökme+yayma 20 saniyeyi geçmeyecek şekilde yapılmıştır. Test edilecek bileşik S9 mix (+) varlığında ve S9 mix (-) yokluğunda, pozitif ve negatif kontroller aynı deney esnasında gerçekleştirilmiştir.

Bileşikler DMSO ve THF içerisinde çözülmüş ve hazırlanan 50-100-200-400 µg/plk konsantrasyonlarında çift tekrarlar olarak aktivite incelendi. Her deneye paralel olarak spontan revertant kontrol (Test bileşiği veya çözücü bulunmayan), solvent kontrol (DMSO ve THF kontrolü) ve pozitif kontroller (2-AF ve Sodyum Azid) uygulandı. Pozitif kontrol olarak *TA98* için 2-AF ve *TA100* için Sodyum Azid kullanıldı. Test bileşiklerinin mutajenite aktiviteleri geri dönen bakteri kolonileri sayılarak değerlendirildi.

-Sıvı besi yerine ekim: İyi izole edilmiş test bakterilerin çizgi ekim yapılmış master plaklarından steril kabinde steril öze yardımıyla bir miktar kültür alınıp 40 ml'lik nutrient broth sıvı besi yerlerine iyice aktarıldı. Daha sonra 120 çalkalama hızındaki shakerda 37°C'de ortalama 13 saat gecelik inkübe edildi.

-Yumuşak agarlı tüplerin hazırlanması ve bakteri ekimi: 10 ml 0.5 mM Histidin-Biyotin çözeltisi içeren 100 ml yumuşak agardan her bir petri için 2 ml alınıp ortalama 45°C'de bulunan steril cam tüplere dağıtıldı. Gecelik inkübasyondan sonra sıvı besi yeri ortamında çoğalmış bakteri kültüründen mikropipet yardımıyla 0.1 ml alınarak yumuşak agar-histidin-biyotin içeren tüplere bırakıldı. Yumuşak agar katılaşmaya başlamadan önce hızlı bir şekilde test bileşikleri ilave edildi.

-Test bileşiklerinin uygulanması: Seri olarak hazırlanmış farklı konsantrasyonlara sahip test bileşiklerinden 0.1 ml mikropipet yardımıyla alınıp ekimi yapılmış olan yumuşak agarlı tüplere ilave edildi. Test bileşiği eklenen tüp ortalama 3 saniye en düşük hızda vortekslendi. Tüm test bakteri ekimlerinin yapıldığı tüpler ortalama 20 saniye içerisinde minimal glukoz agar plaklarına yayıldı. Ayrıca yumuşak agarın minimal glukoz agar plak yüzeyinin her tarafına yayılması sağlandı. Petri kaplarındaki yumuşak agar tamamen katılaştıktan sonra 37°C'de 48 ve 72 saat inkübasyona bırakıldı.

-Petri plaklarının okunması ve yorumlanması: İnkübasyondan 48 ile 72 saat sonra her bir petri incelendi. Kültür ekiminin doğru olduğu petri kaplarındaki oluşan bakteri koloniler sayıldı. Test bileşiğinin farklı konsantrasyonuna sahip petri kaplarındaki koloni sayıları not edildikten sonra pozitif ve negatif kontrol plaklarındaki koloni sayıları ile karşılaştırmalar yaparak mutajenik aktivite derecesi belirlendi.

4.BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1.Bulgular

Bu çalışmada VT5, VT6, VT7, VT8 ve VT9 test bileşiklerinin antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon, antioksidan aktivitesi DPPH serbest radikal süpürme yöntemi ile belirlenmiştir. Ayrıca bu bileşiklerin mutajenik potansiyelleri Ames testi ile S9 mix varlığında (+) ve yokluğunda (-) aktiviteleri belirlenmeye çalışılmıştır.

4.1.1.Antimikrobiyal

Test bileşiklerinin disk difüzyon yöntemine göre *E.coli* ATCC 25922 *P.aeruginosa* ATCC 27853, *S.aureus* ATCC 25923, *S.pyogenes* ATCC 19615 ve *C.albicans* ATCC 10231 test mikroorganizmaları üzerinde denenen antimikrobiyal aktivite sonuçları Çizelge 4.1.1.1., 4.1.1.2., 4.1.1.3., 4.1.1.4. ve 4.1.1.5.'de gösterilmiştir.

Pozitif kontrol olarak standart antibiyotikler olan Eritromisin, İmipenem ve Cefuroxime sodium kullanıldı. Negatif kontroller olarak DMSO ve THF çözücüleri kullanılmıştır. Komplekslerin antimikrobiyal aktiviteleri elde edilen inhibisyon zonlarının ortalama çap değerleri ölçülerek değerlendirildi. Aktivite değerleri test bileşiklerine ait çizelgelerde belirtilmiştir.

VT5 → [Bis(N,N-Bis(difenilfosfino)-2,5-dimetoksianilin)Cu(I)]hekzaflorofosfat**Çizelge 4.1.1.1.** VT5 test bileşiminin 24 saatlik inkübasyon sonrası antimikrobiyal aktivite değerleri

VT5	<i>E.coli</i>	<i>S.pyogenes</i>	<i>S.aureus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>C.albicans</i>
Erit.	12.5±0.5	18.5±0.5	20.5±0.5	10.5±0.5	Z.Y.
İm.	12±1	26±1	27.5±0.5	12.5±0.5	Z.Y.
Cef.	Z.Y.	8±0	8.5±0.5	Z.Y.	Z.Y.
DMSO	Z.Y.	Z.Y.	Z.Y.	Z.Y.	Z.Y.
120 µg/ml	7±0	Z.Y.	7±0	7±0	Z.Y.
250 µg/ml	7±0	Z.Y.	7±0	7±0	Z.Y.
400 µg/ml	7±0	Z.Y.	7±0	7±0	Z.Y.
800 µg/ml	7±0	Z.Y.	7±0	7±0	8±0
1600 µg/ml	7±0	Z.Y.	7±0	7±0	8±0
2000 µg/ml	7±0	7±0	7±0	7±0	8±0

Z.Y.: Zon Yok

Zon çapları disklerin (6mm) çapını içerecek şekilde yapılmış ölçümlerin ortalama değerleridir.

Çizelge 4.1.1.1.'deki sonuçlara göre VT5 test bileşiminin *E.coli* ATCC 25922, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *S.aureus* ATCC 25923, *S.pyogenes* ATCC 19615 ve *C.albicans* ATCC 10231 mikroorganizmalarına karşı zayıf antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Ancak negatif kontrol olarak kullanılmış DMSO'nun herhangi bir antimikrobiyal aktivite gösteremediği gözlenmiştir.

VT6 → [Bis(N,N-bis(difenilfosfino)-3,5-dimetoksianilin)Cu(I)]hekzaflorofosfat

Çizelge 4.1.1.2. VT6 test bileşiğinin 24 saatlik inkübasyon sonrası antimikrobiyal aktivite değerleri

VT6	<i>E.coli</i>	<i>S.pyogenes</i>	<i>S.aureus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>C.albicans</i>
Erit.	12.5±0.5	18.5±0.5	20.5±0.5	10.5±0.5	Z.Y.
İm.	12±1	26±1	27.5±0.5	12.5±0.5	Z.Y.
Cef.	Z.Y.	8±0	8.5±0.5	Z.Y.	Z.Y.
DMSO	Z.Y.	Z.Y.	Z.Y.	Z.Y.	Z.Y.
120 µg/ml	7±0	Z.Y.	Z.Y.	7±0	Z.Y.
250 µg/ml	7±0	Z.Y.	Z.Y.	7±0	Z.Y.
400 µg/ml	7±0	Z.Y.	Z.Y.	7±0	Z.Y.
800 µg/ml	7±0	Z.Y.	Z.Y.	7±0	Z.Y.
1600 µg/ml	7±0	Z.Y.	Z.Y.	7±0	Z.Y.
2000 µg/ml	7±0	Z.Y.	Z.Y.	7±0	Z.Y.

Z.Y.: Zon Yok

Zon çapları disklerin (6mm) çapını içerecek şekilde yapılmış ölçümlerin ortalama değerleridir.

Çizelge 4.1.1.2.'deki sonuçlara göre VT6 test bileşiği *E.coli* ATCC 25922 ve *P.aeruginosa* ATCC 27853 mikroorganizmaları üzerinde zayıf antimikrobiyal aktivite gösterirken, *S.aureus* ATCC 25923, *S.pyogenes* ATCC 19615 ve *C.albicans* ATCC 10231 mikroorganizmalarına karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite gösterememiştir.

Ayrıca negatif kontrol olarak kullanılmış DMSO'nun da herhangi bir antimikrobiyal aktivite gösteremediği belirlenmiştir.

VT7 (Ligand)→ N,N-Bis(difenilfosfino)-Benzilanilin**Çizelge 4.1.1.3.** VT7 test bileşiminin 24 saatlik inkübasyon sonrası antimikrobiyal aktivite değerleri

VT7	<i>E.coli</i>	<i>S.pyogenes</i>	<i>S.aureus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>C.albicans</i>
Erit.	12.5±0.5	18.5±0.5	20.5±0.5	10.5±0.5	Z.Y.
İm.	12±1	26±1	27.5±0.5	12.5±0.5	Z.Y.
Cef.	Z.Y.	8±0	8.5±0.5	Z.Y.	Z.Y.
THF	8±0	7±0	7±0	7.5±0.5	9±0
120 µg/ml	10±1	9±0	10±1	7.5±0.5	9.5±0.5
250 µg/ml	8.5±0.5	8.5±0.5	9.5±0.5	8±0	10±1
400 µg/ml	9±0	9±0	11.5±1.5	9.5±0.5	9±0
800 µg/ml	10.5±0.5	9±0	8.5±0.5	8±0	10.5±1.5
1600 µg/ml	8±0	9±0	10±0	8±0	8.5±0.5
2000 µg/ml	9±0	8±0	8.5±0.5	8.5±0.5	8±0

Z.Y.: Zon Yok

Zon çapları disklerin (6mm) çapını içerecek şekilde yapılmış ölçümlerin ortalama değerleridir.

Çizelge 4.1.1.3.'deki sonuçlara göre VT7 test bileşiminin *E.coli* ATCC 25922, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *S.aureus* ATCC 25923, *S.pyogenes* ATCC 19615 ve *C.albicans* ATCC 10231 mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği gözlenmiştir.

Ayrıca negatif kontrol olarak kullanılmış THF'nin de zayıf antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

VT8 → Dikloro[N,N-bis(difenilfosfino)-4-aminodifenilamin]Pd(II)

Çizelge 4.1.1.4. VT8 test bileşiğinin 24 saatlik inkübasyon sonrası antimikrobiyal aktivite değerleri

VT8	<i>E.coli</i>	<i>S.pyogenes</i>	<i>S.aureus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>C.albicans</i>
Erit.	12.5±0.5	18.5±0.5	20.5±0.5	10.5±0.5	Z.Y.
İm.	12±1	26±1	27.5±0.5	12.5±0.5	Z.Y.
Cef.	Z.Y.	8±0	8.5±0.5	Z.Y.	Z.Y.
DMSO	Z.Y.	Z.Y.	Z.Y.	Z.Y.	Z.Y.
120 µg/ml	7±0	7±0	7±0	Z.Y.	7±0
250 µg/ml	7±0	7±0	7±0	Z.Y.	7±0
400 µg/ml	7±0	7±0	7±0	Z.Y.	7±0
800 µg/ml	7±0	7±0	7.5±0.5	Z.Y.	7.5±0.5
1600 µg/ml	7±0	7±0	7±0	Z.Y.	7±0
2000 µg/ml	7±0	7±0	7±0	Z.Y.	8±0

Z.Y.: Zon Yok

Zon çapları disklerin (6mm) çapını içerecek şekilde yapılmış ölçümlerin ortalama değerleridir.

Çizelge 4.1.1.4.'deki sonuçlara göre VT8 test bileşiği *E.coli* ATCC 25922, *S.aureus* ATCC 25923, *S.pyogenes* ATCC 19615 ve *C.albicans* ATCC 10231 mikroorganizmalarına karşı zayıf antimikrobiyal aktivite gösterirken, *P.aeruginosa* ATCC 27853 mikroorganizmasına karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite gösterememiştir.

Ayrıca negatif kontrol olarak kullanılmış DMSO'nun da herhangi bir antimikrobiyal aktivite gösteremediği belirlenmiştir.

VT9→ Dikloro[N,N-Bis(difenilfosfino)-3,5-dimetoksianilin]Pd(II)**Çizelge 4.1.1.5.** VT9 test bileşiğinin 24 saatlik inkübasyon sonrası antimikrobiyal aktivite değerleri

VT9	<i>E.coli</i>	<i>S.pyogenes</i>	<i>S.aureus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>C.albicans</i>
Erit.	12.5±0.5	18.5±0.5	20.5±0.5	10.5±0.5	Z.Y.
İm.	12±1	26±1	27.5±0.5	12.5±0.5	Z.Y.
Cef.	Z.Y.	8±0	8.5±0.5	Z.Y.	Z.Y.
DMSO	Z.Y.	Z.Y.	Z.Y.	Z.Y.	Z.Y.
120 µg/ml	7±0	7±0	7±0	7±0	7±0
250 µg/ml	7±0	7±0	7±0	7±0	7±0
400 µg/ml	7±0	7.5±0.5	7±0	7±0	7±0
800 µg/ml	7±0	7±0	7.5±0.5	7±0	7±0
1600 µg/ml	7±0	8±0	7±0	7±0	8±0
2000 µg/ml	7±0	7.5±0.5	8±0	7±0	8±0

Z.Y.: Zon Yok

Zon çapları disklerin (6mm) çapını içerecek şekilde yapılmış ölçümlerin ortalama değerleridir.

Çizelge 4.1.1.5.'deki sonuçlara göre VT9 test bileşiğinin *E.coli* ATCC 25922, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *S.aureus* ATCC 25923, *S.pyogenes* ATCC 19615 ve *C.albicans* ATCC 10231 mikroorganizmalarına karşı zayıf antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

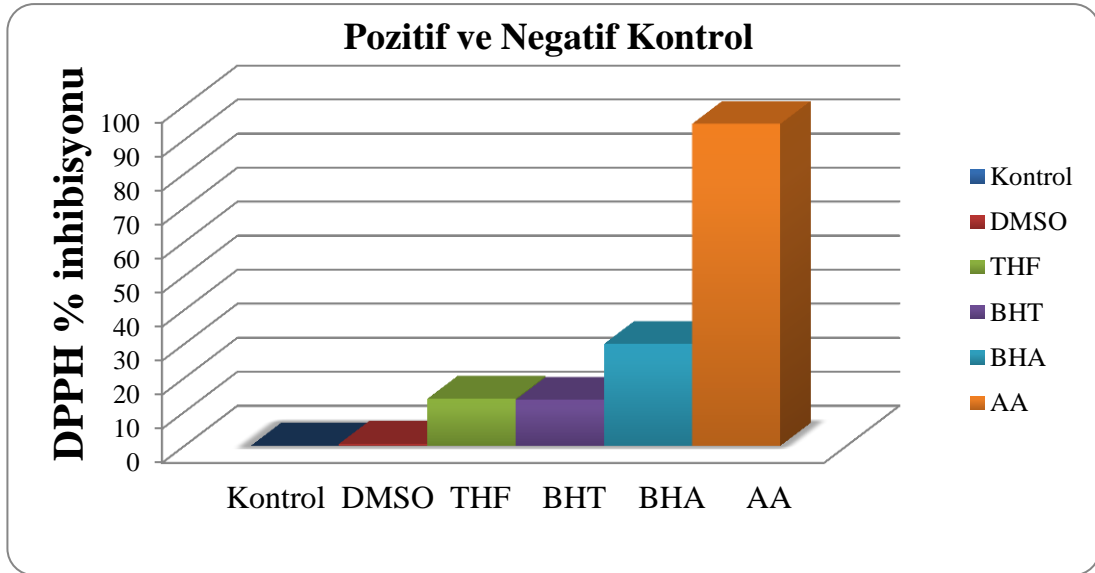
Ayrıca *S.pyogenes* ATCC 19615 ve *C.albicans* ATCC 10231 mikroorganizmalarına karşı konsantrasyon artışına bağlı olarak zon çapının arttığı gözlenmiştir.

Ancak negatif kontrol olarak kullanılmış DMSO'nun herhangi bir antimikrobiyal aktivite gösteremediği belirlenmiştir.

4.1.2. Antioksidan

Pozitif kontrol olarak standart antioksidanlar olan BHA, BHT ve AA kullanıldı. Negatif kontroller olarak DMSO ve THF çözücülerini kullanılmıştır. Komplekslerin antioksidan aktiviteleri elde edilen inhibisyon değerlerinin ortalama değerleri hesaplanarak değerlendirildi.

Kontrollere ait DPPH serbest radikal süpürme aktivite değerleri Çizelge 4.1.2.1. ve Şekil 4.1.2.1.'de, Test bileşiklerine ait aktivite değerleri Çizelge 4.1.2.2., 4.1.2.3., 4.1.2.4., 4.1.2.5. ve 4.1.2.6.'de belirtilmiştir. Ayrıca Kontrollere ve Test bileşiklerine ait DPPH serbest radikal süpürme aktivite değerleri Şekil 4.1.2.2., 4.1.2.3., 4.1.2.4., 4.1.2.5. ve 4.1.2.6.'de birlikte karşılaştırılarak gösterilmiştir.



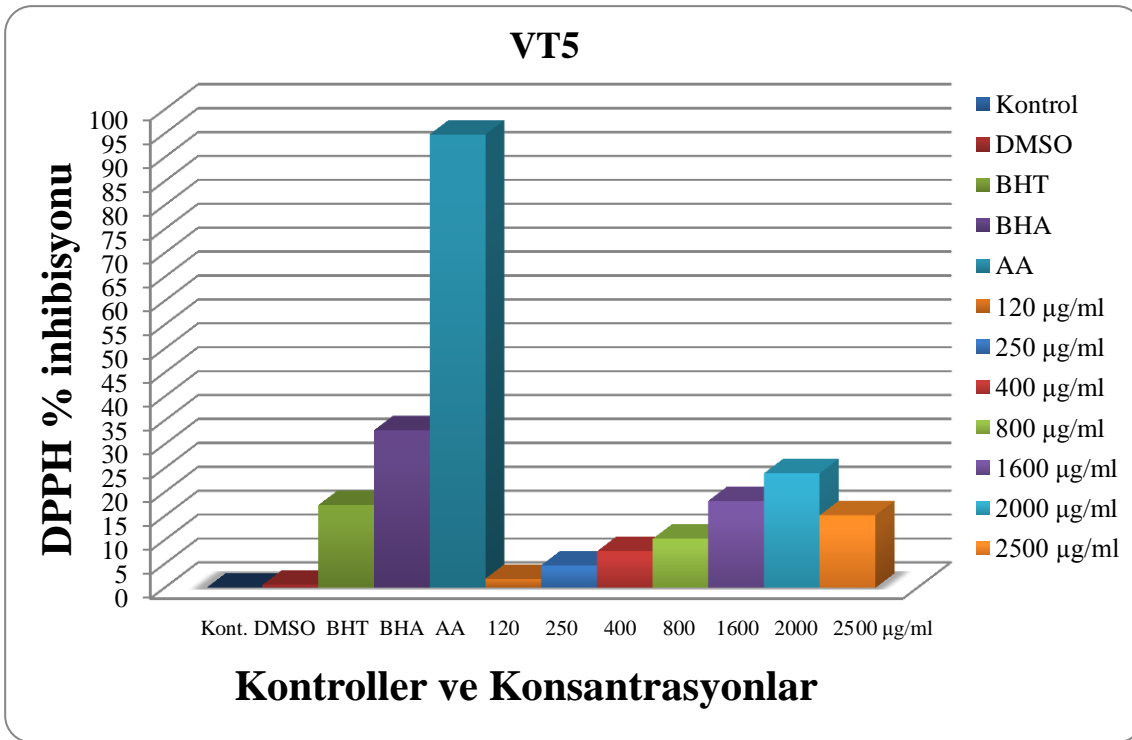
Şekil 4.1.2.1. Pozitif ve Negatif kontrollerin DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği

Şekil 4.1.2.1.'deki sonuçlara göre pozitif kontrollerden THF'nin DPPH serbest radikaline karşı süpürme aktivitesi belirlenmiştir.

Çizelge 4.1.2.1. Kontrollerin DPPH serbest radikal % inhibisyon aktivite değerleri

Kontrollerin % inhibisyon değerleri				
Negatif kontrol (Çözücüler)		Pozitif kontrol (Standart antioksidanlar)		
DMSO	THF	BHT	BHA	AA
0.8±0.04	13.9±1.9	14.7±2.6	30.9±2.9	94.7±2.0

VT5 → [Bis(N,N-Bis(difenilfosfino)-2,5-dimetoksianilin)Cu(I)]hekzaflorofosfat



Şekil 4.1.2.2. VT5 test bileşiğinin DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği

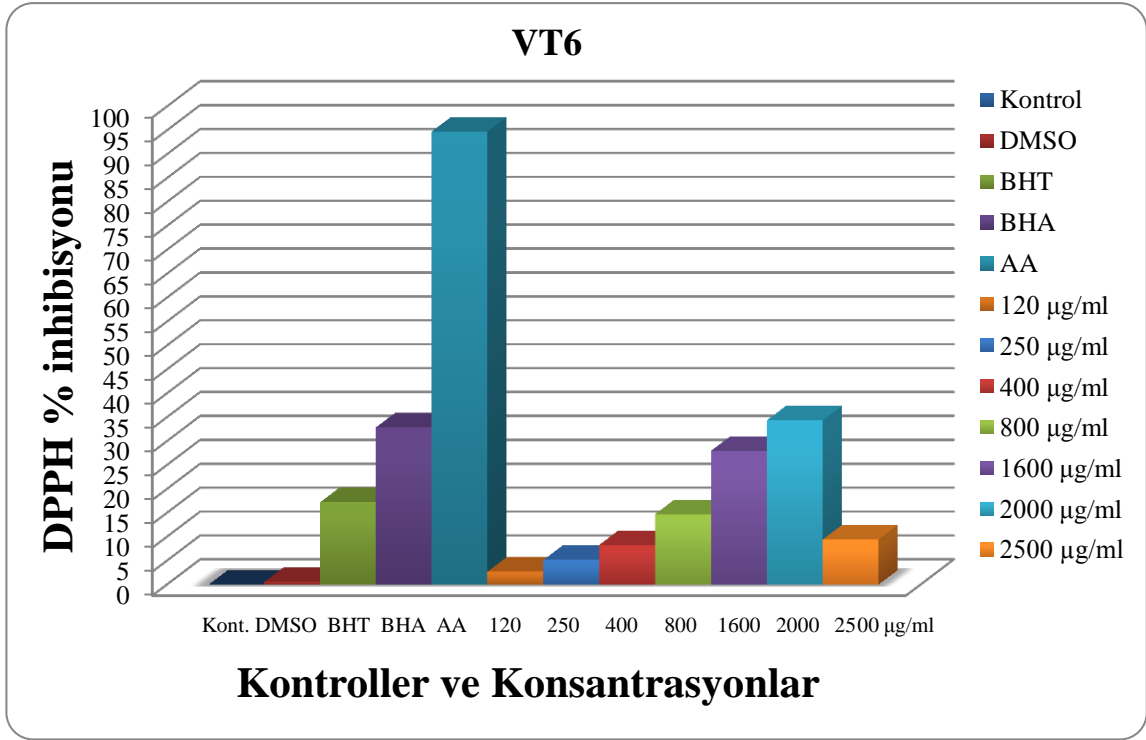
Şekil 4.1.2.2.'deki sonuçlara göre VT5 test bileşiğinin DPPH serbest radikale karşı süpürme aktivitesi belirlenmiştir. Ayrıca test bileşiğinin sahip olduğu konsantrasyon artışına bağlı olarak aktivitede de bir artış gösterdiği gözlenmiştir.

Çizelge 4.1.2.2. VT5 test bileşiğinin DPPH serbest radikal % inhibisyon aktivite değerleri

Test bileşiğinin konsantrasyonu (µg/ml)							
	120	250	400	800	1600	2000	2500
VT5	1.9±0.5	4.7±0.3	7.6±1.0	10.2±1.0	18.2±0.6	24.0±0.3	14.9±0.2

Çizelge 4.1.2.2.'de VT5 test bileşiğinin DPPH serbest radikale karşı gösterdiği aktivite değerleri verilmiştir. Bu değerlere göre VT5 test bileşiği en yüksek antioksidan aktiviteyi 2000 µg/ml konsantrasyonda göstermiştir. Ancak negatif kontrol olarak kullanılmış DMSO'nun herhangi bir süpürme aktivitesini gösteremediği belirlenmiştir.

VT6 → [Bis(N,N-bis(difenilfosfino)-3,5-dimetoksianilin)Cu(I)]hekzaflorofosfat



Şekil 4.1.2.3. VT6 test bileşiğinin DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği

Şekil 4.1.2.3.'deki sonuçlara göre VT6 test bileşiğinin DPPH serbest radikale karşı süpürme aktivitesi belirlenmiştir. Ayrıca test bileşiğinin sahip olduğu konsantrasyon artışına bağlı olarak aktivitede de bir artış gösterdiği gözlenmiştir.

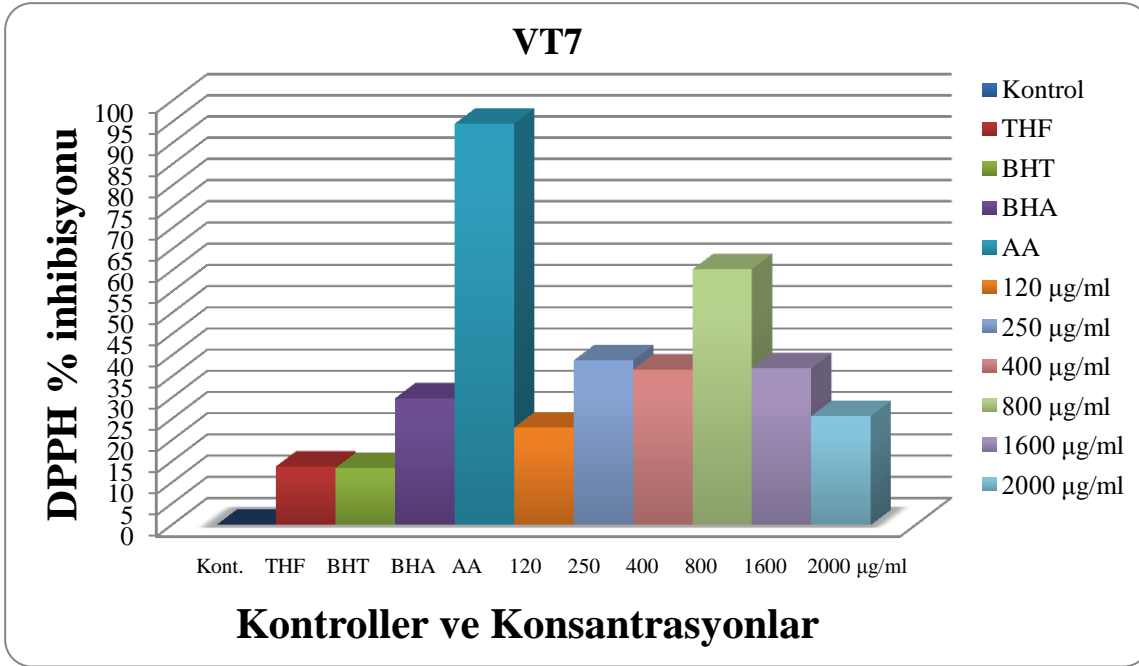
Çizelge 4.1.2.3. VT6 test bileşiğinin DPPH serbest radikal % inhibisyon aktivite değerleri

Test bileşiğinin konsantrasyonu (µg/ml)							
	120	250	400	800	1600	2000	2500
VT6	2.7±0.5	5.2±1.5	8.3±2.9	14.7±5.4	28.0±9.2	34.4±11.9	9.4±0.5

Çizelge 4.1.2.3.'de VT6 test bileşiğinin DPPH serbest radikale karşı gösterdiği aktivite değerleri verilmiştir. Ayrıca elde edilmiş değerlere göre VT6 test bileşiği en yüksek antioksidan aktiviteyi 2000 µg/ml konsantrasyonda göstermiştir.

Ancak negatif kontrol olarak kullanılmış DMSO'nun herhangi bir süpürme aktivitesini gösteremediği belirlenmiştir.

VT7 (Ligand)→ N,N-Bis(difenilfosfino)-Benzilanilin



Şekil 4.1.2.4. VT7 test bileşiğinin DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği

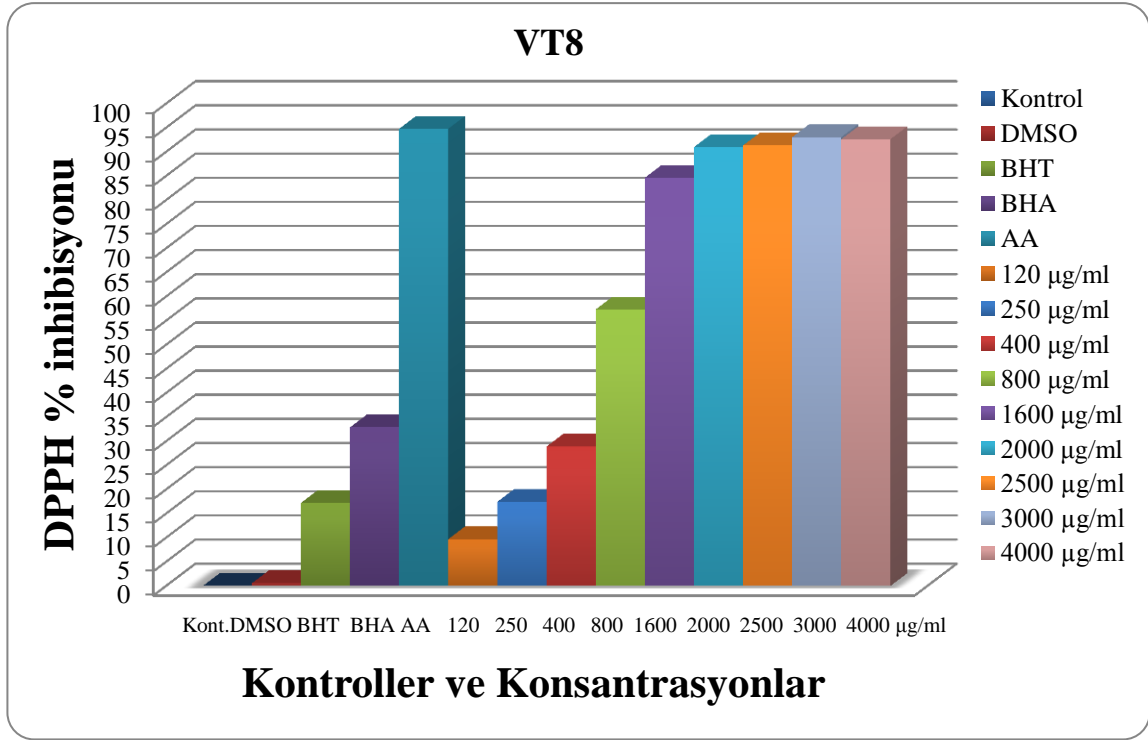
Şekil 4.1.2.4.'deki sonuçlara göre VT7 test bileşiğinin DPPH serbest radikaline karşı süpürme aktivitesi belirlenmiştir. Ayrıca test bileşiğinin sahip olduğu konsantrasyon artışına bağlı olarak aktivitede de bir artış gösterdiği, ancak daha yüksek konsantrasyonlarda inhibisyonda azalma gözlenmiştir.

Çizelge 4.1.2.4. VT7 test bileşiğinin DPPH serbest radikal % inhibisyon aktivite değerleri

Test bileşiğinin konsantrasyonu (µg/ml)						
	120	250	400	800	1600	2000
VT7	23.0±5.8	38.8±9.6	36.7±10.1	60.3±16.7	37.0±0.8	25.7±13.1

Çizelge 4.1.2.4.'de VT7 test bileşiğinin DPPH serbest radikaline karşı gösterdiği aktivite değerleri verilmiştir. Bu değerlere göre VT7 test bileşiği en yüksek antioksidan aktiviteyi 800 µg/ml konsantrasyonda göstermiştir. Ayrıca VT7 test bileşiğinin 800 µg/ml konsantrasyonu DPPH serbest radikalın %25'inden fazlasını inhibe ettiği gözlenmiştir. Ancak negatif kontrol olarak kullanılmış THF'nin de DPPH süpürme aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir.

VT8 → Dikloro[N,N-bis(difenilfosfino)-4-aminodifenilamin]Pd(II)



Şekil 4.1.2.5. VT8 test bileşiğinin DPPH serbest radikal % inhibisyonu grafiği

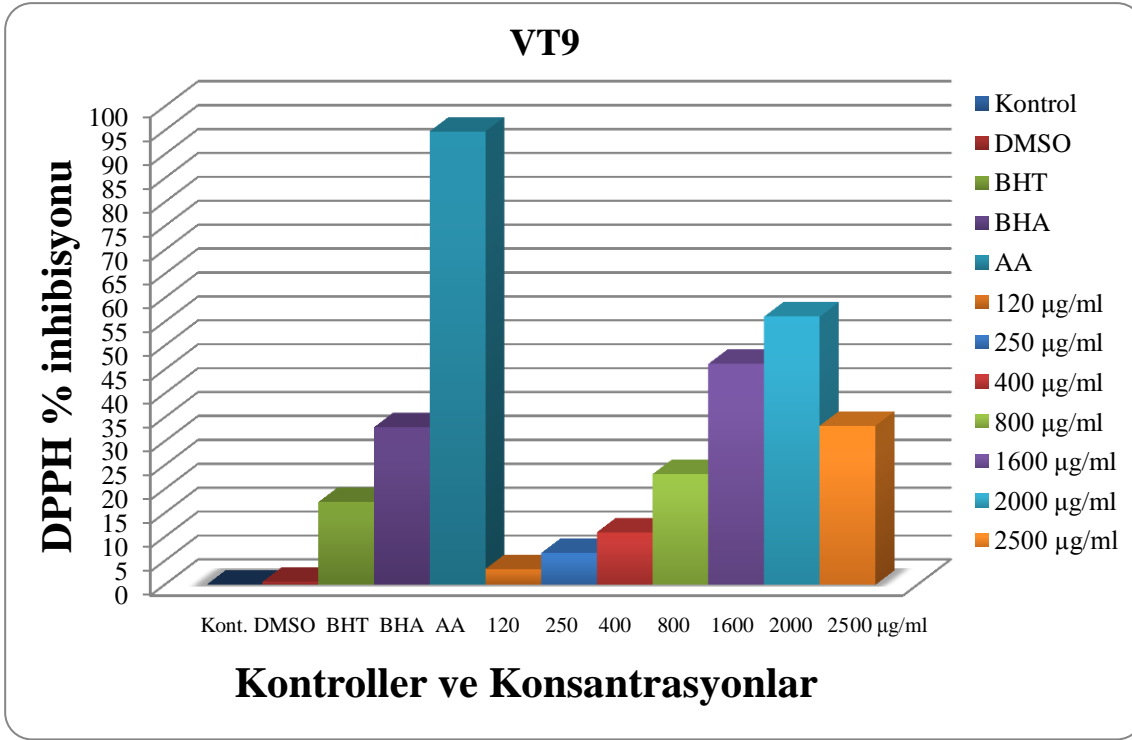
Şekil 4.1.2.5.'deki sonuçlara göre VT8 test bileşiğinin DPPH serbest radikale karşı süpürme aktivitesi belirlenmiştir. Ayrıca test bileşiğinin sahip olduğu konsantrasyon artışına bağlı olarak aktivitede de bir artış gösterdiği gözlenmiştir.

Çizelge 4.1.2.5. VT8 test bileşiğinin DPPH serbest radikal % inhibisyon aktivite değerleri

Test bileşiğinin konsantrasyonu (µg/ml)									
	120	250	400	800	1600	2000	2500	3000	4000
VT8	9.7±0.2	17.5±0.8	28.9±0.02	57.3±0.4	84.6±8.5	91.0±2.5	91.3±0.08	93.0±0.04	92.0±0.6

Çizelge 4.1.2.5.'de VT8 test bileşiğinin DPPH serbest radikale karşı gösterdiği aktivite değerleri verilmiştir. Bu değerlere göre VT8 test bileşiği en yüksek antioksidan aktiviteyi 2000 µg/ml konsantrasyonda göstermiştir. Ayrıca VT8 test bileşiğinin 2000 µg/ml konsantrasyonu DPPH serbest radikalın %90'ından fazlasını inhibe ettiği gözlenmiştir. Ancak negatif kontrol olarak kullanılmış DMSO'nun herhangi bir süpürme aktivitesini gösteremediği belirlenmiştir.

VT9→ Dikloro[N,N-Bis(difenilfosfino)-3,5-dimetoksianilin]Pd(II)



Şekil 4.1.2.6. VT9 test bileşiğinin DPPH serbest radikal % inhibisyonu grafiği

Şekil 4.1.2.6.'deki sonuçlara göre VT9 test bileşiğinin DPPH serbest radikaline karşı süpürme aktivitesi belirlenmiştir. Ayrıca test bileşiğinin sahip olduğu konsantrasyon artışına bağlı olarak aktivitede de bir artış gösterdiği gözlenmiştir.

Çizelge 4.1.2.6. VT9 test bileşiğinin DPPH serbest radikal % inhibisyon aktivite değerleri

Test bileşiğinin konsantrasyonu (µg/ml)							
	120	250	400	800	1600	2000	2500
VT9	3.3±0.6	6.6±1.9	11.0±2.0	23.1±3.4	46.2±6.3	56.1±7.7	33.5±0.8

Çizelge 4.1.2.6.'de VT9 test bileşiğinin DPPH serbest radikaline karşı gösterdiği aktivite değerleri verilmiştir. Bu değerlere göre VT9 test bileşiği en yüksek antioksidan aktiviteyi 2000 µg/ml konsantrasyonda göstermiştir. Ayrıca VT9 test bileşiğinin 2000 µg/ml konsantrasyonu DPPH serbest radikalın %50'sinden fazlasını inhibe ettiği gözlenmiştir. Ancak negatif kontrol olarak kullanılmış DMSO'nun herhangi bir süpürme aktivitesini gösteremediği belirlenmiştir.

4.1.3.Mutajenite

Test bileşiklerinin mutajenik aktiviteleri *Salmonella typhimurium* TA98 ve TA100 mutant suşları kullanılarak *Salmonella*/Mutajenite test sistemiyle incelenen mutajenik aktivite sonuçları Çizelge 4.1.3.1., 4.1.3.2., 4.1.3.3. ve 4.1.3.4.'de gösterilmiştir. Ayrıca mutajenik aktivite sonuçları Şekil 4.1.3.1.(a ve b), 4.1.3.2.(a ve b), 4.1.3.3.(a ve b) ve 4.1.3.4.(a ve b)'de grafik halinde gösterilmiştir.

Pozitif kontrol olarak güçlü mutajenler olan 2-AF (TA98) ve NaN₃ (TA100) kullanıldı. Negatif kontroller olarak DMSO ve THF çözücüleri kullanılmıştır. Komplekslerin mutajenik aktiviteleri S9 mix (+) varlığında ve S9 mix (-) yokluğunda elde edilen geri dönen koloni sayılarının ortalama değerleri hesaplanarak değerlendirildi. Aktivite değerleri test bileşiklerine ait çizelge ve grafiklerde belirtilmiştir.

VT5→ [Bis(N,N-Bis(difenilfosfino)-2,5-dimetoksianilin)Cu(I)]hekzaflorofosfat**Çizelge 4.1.3.1.** VT5 test bileşiminin 72.saatteki Ames *Salmonella*/Mikrozom aktivite değerleri

VT5	TA98		TA100	
	-S9 mix	+S9 mix	-S9 mix	+S9 mix
Kontrol	41.5±9.5	143±37	880±220	564±246
DMSO	26±1	61.5±11.5	1000±120	332±44
NaN₃	Y.	Y.	550±90	2760±1320
2-AF	64.5±17.5	64±16	Y.	Y.
50 µg/plt	41±12	41.5±2.5	734±542	3760±1360
100 µg/plt	33±2	49±1	240±80	1700±500
200 µg/plt	36±0	48±10	305±263	270±270
400 µg/plt	35±3	5040±560	0±0	990±90

Y.: Yapılmadı

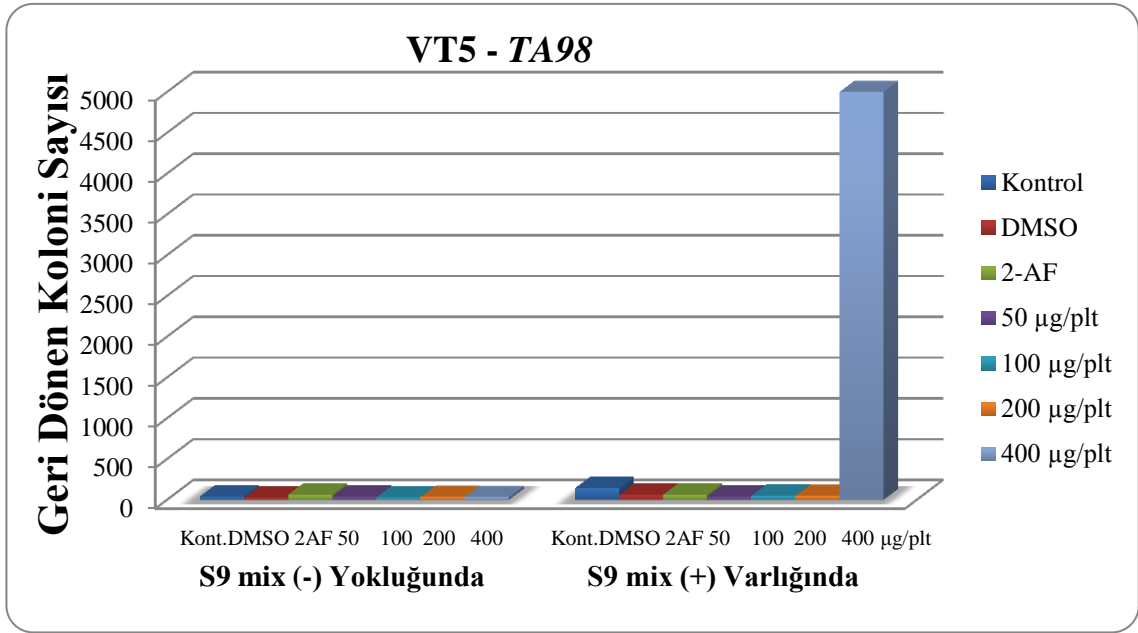
Çizelgede gösterilmiş koloni sayıları elde edilmiş geri dönen koloni sayılarının ortalama değerleridir.

Çizelge 4.1.3.1.'deki sonuçlara göre S9 mix (+) varlığında TA98 mutant bakterisi üzerinde 400 µg/plt ve TA100 mutant bakterisi üzerinde 50 µg/plt konsantrasyonlarda mutajenik aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Ancak S9 mix (-) yokluğunda TA98 ve TA100 mutant bakterileri üzerinde mutajenik aktivite gözlenmemiştir.

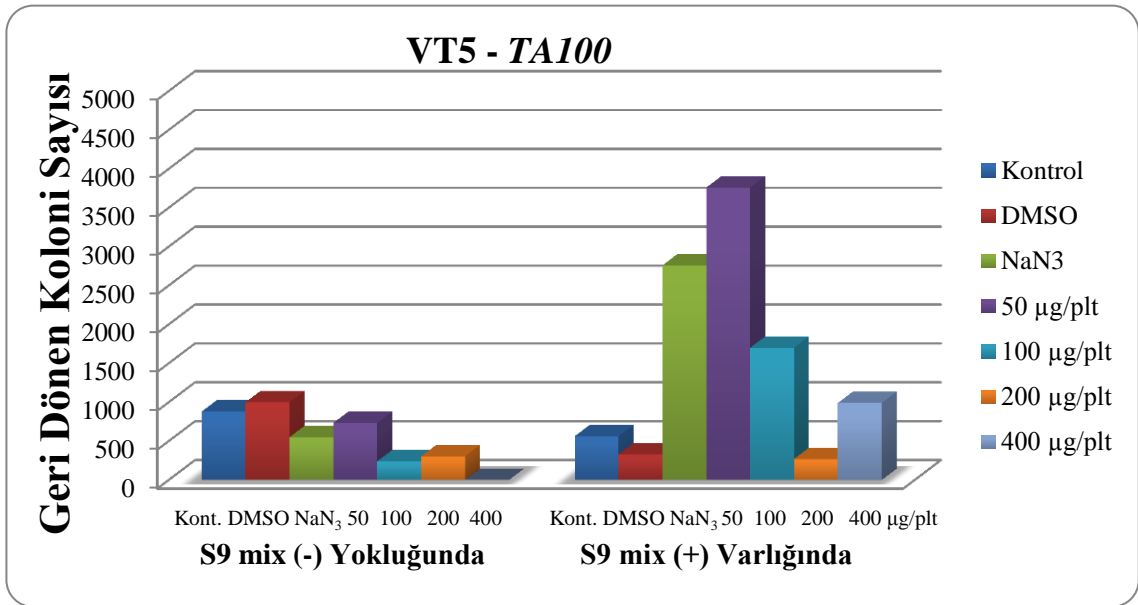
Ayrıca negatif kontrol olarak kullanılmış DMSO'nun da herhangi bir mutajenik aktivite gösteremediği belirlenmiştir.

Test bileşiminin gözlenen mutajenik aktivitesi, mutajen bileşiklerin elde edilmiş aktivitelerinden daha yüksek değerlerde olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.1.3.1.a. VT5 test bileşiğinin 72.saatteki TA98 üzerindeki mutajenik aktivite grafiği

Şekil 4.1.3.1.a.'daki grafikte VT5 test bileşiğinin 72.saatte TA98 üzerinde S9 mix (+) varlığında 400 µg/plt konsantrasyonda mutajenik olduğu gözlenmiştir.



Şekil 4.1.3.1.b. VT5 test bileşiğinin 72.saatteki TA100 üzerindeki mutajenik aktivite grafiği

Şekil 4.1.3.1.b.'deki grafikte VT5 test bileşiğinin 72.saatte TA100 üzerinde S9 mix (+) varlığında 50 µg/pl ve 100 µg/pl konsantrasyonlarda mutajenik olduğu gözlenmiştir.

VT6→ [Bis(N,N-bis(difenilfosfino)-3,5-dimetoksianilin)Cu(I)]hekzaflorofosfatÇizelge 4.1.3.2. VT6 test bileşiğinin 72.saatteki Ames *Salmonella*/Mikrozom aktivite değerleri

VT6	TA98		TA100	
	-S9 mix	+S9 mix	-S9 mix	+S9 mix
Kontrol	41.5±9.5	143±37	880±220	564±246
DMSO	26±1	61.5±11.5	1000±120	332±44
NaN₃	Y.	Y.	550±90	2760±1320
2-AF	64.5±17.5	64±16	Y.	Y.
50 µg/plt	23.5±6.5	57±3	510±170	0±0
100 µg/plt	35.5±3.5	49.5±16.5	1660±100	0±0
200 µg/plt	88±6.5	61.5±3.5	342.5±22.5	2080±0112
400 µg/plt	39.5±9.5	83.5±38.5	630±30	0±0

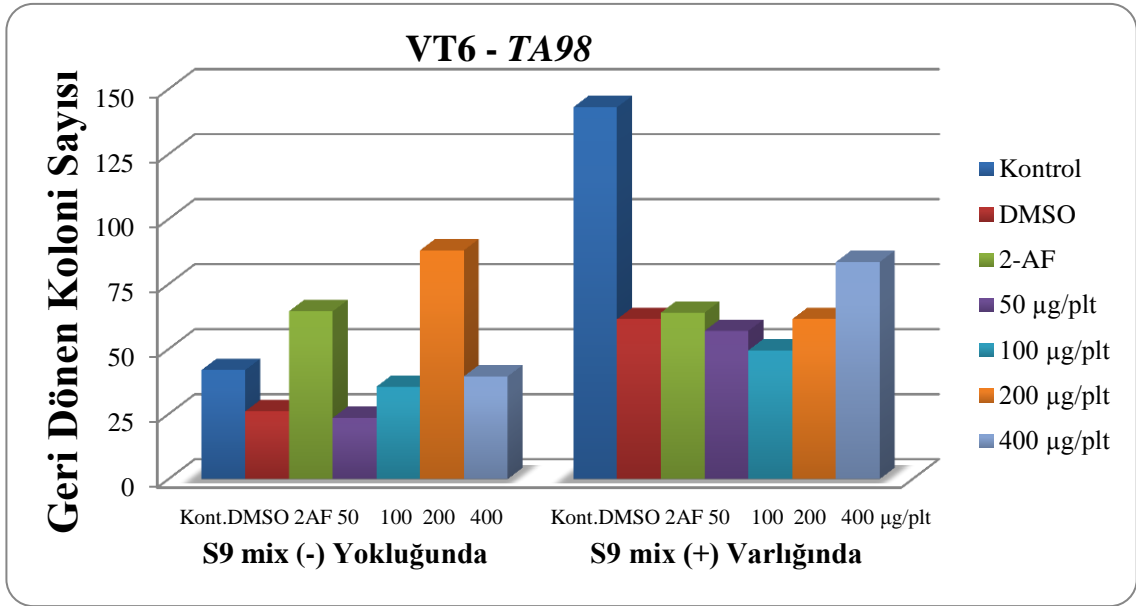
Y.: Yapılmadı

Çizelgede gösterilmiş koloni sayıları elde edilmiş geri dönen koloni sayılarının ortalama değerleridir.

Çizelge 4.1.3.2.'deki sonuçlara göre S9 mix (-) yokluğunda TA98 mutant bakterisi üzerinde mutajenik aktivite gözlenmişken, S9 mix (+) varlığında TA98 mutant bakterisi üzerinde mutajenik aktivite gözlenmemiştir.

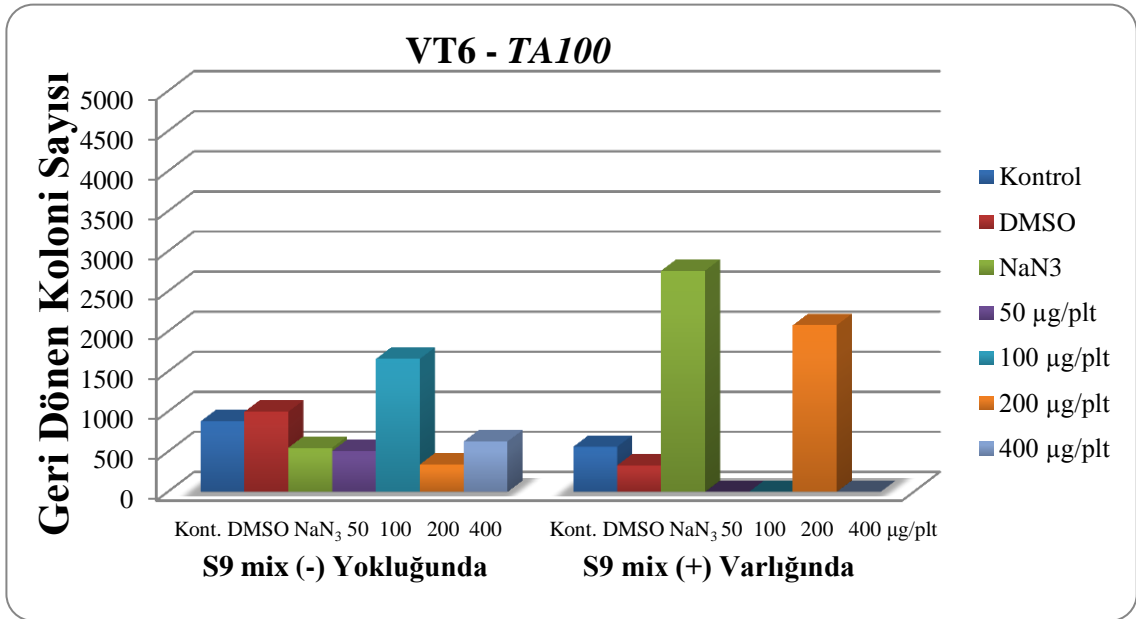
Ancak TA100 mutant bakterisi üzerinde S9 mix (-) yokluğunda 100 µg/plt ve S9 mix (+) varlığında 200 µg/plt konsantrasyonda mutajenik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca negatif kontrol olarak kullanılmış DMSO'nun da herhangi bir mutajenik aktivite göstermediği gözlenmiştir.

Test bileşiğinin gözlenen mutajenik aktivitesi, mutajen bileşiklerin elde edilmiş aktivitelerinden daha düşük değerlerde olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.1.3.2.a. VT6 test bileşiğinin 72.saatteki TA98 üzerindeki mutajenik aktivite grafiği

Şekil 4.1.3.2.a.'daki grafikte VT6 test bileşiğinin 72.saatte TA98 üzerinde S9 mix (+) varlığında 200 µg/plt konsantrasyonda zayıf mutajenik olduğu gözlenmiştir.



Şekil 4.1.3.2.b. VT6 test bileşiğinin 72.saatteki TA100 üzerindeki mutajenik aktivite grafiği

Şekil 4.1.3.2.b.'deki grafikte VT6 test bileşiğinin 72.saatte TA100 üzerinde S9 mix (-) yokluğunda 100 µg/pl ve S9 mix (+) varlığında 200 µg/pl konsantrasyonlarda mutajenik olduğu gözlenmiştir.

VT7 (Ligand)→ N,N-Bis(difenilfosfino)-Benzilanilin**Çizelge 4.1.3.3.** VT7 test bileşiğinin 72.saatteki Ames *Salmonella*/Mikrozom aktivite değerleri

VT7	TA98		TA100	
	-S9 mix	+S9 mix	-S9 mix	+S9 mix
Kontrol	41.5±9.5	143±37	880±220	564±246
THF	111.5±3.5	111.53.5	2000±400	760±40
NaN₃	Y.	Y.	550±90	2760±1320
2-AF	64.5±17.5	64±16	Y.	Y.
50 µg/plt	35±3	74.5±1.5	1807±993	52±32
100 µg/plt	3840±960	60.5±8.5	2800±800	106±94
200 µg/plt	33±28	60.5±3.5	1040±720	93±3
400 µg/plt	1±0	54.5±27.5	509±166	76.5±3.5

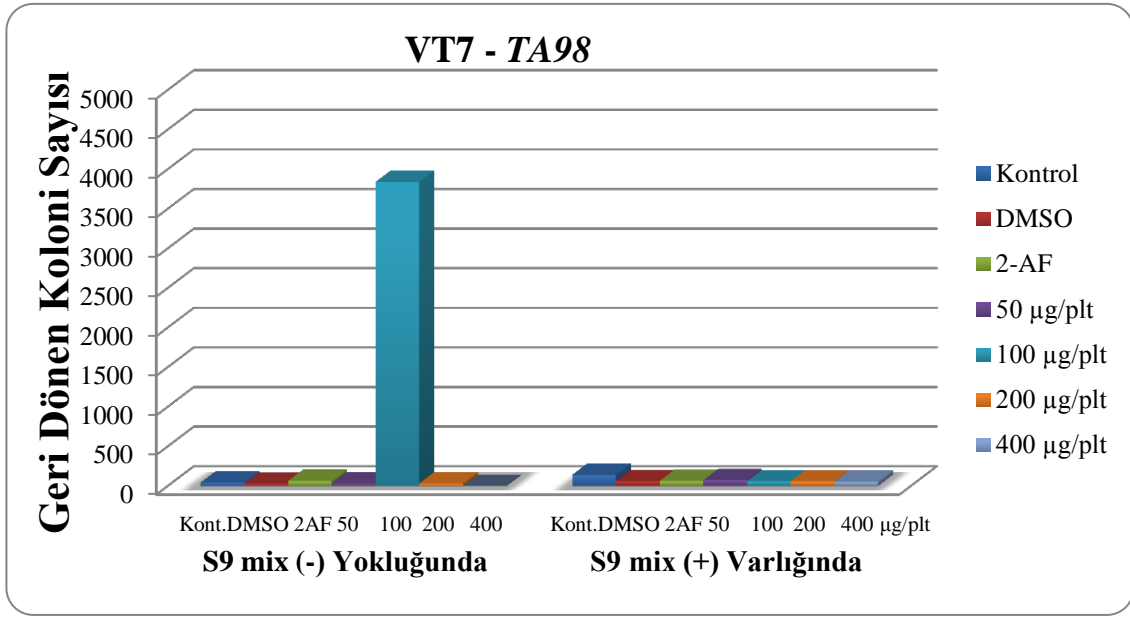
Y.: Yapılmadı

Çizelgede gösterilmiş koloni sayıları elde edilmiş geri dönen koloni sayılarının ortalama değerleridir.

Çizelge 4.1.3.3.'deki sonuçlara göre TA98 ve TA100 mutant bakterileri üzerinde S9 mix (-) yokluğunda 100 µg/plt konsantrasyonda mutajenik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca negatif kontrol olarak kullanılmış THF'nin da mutajenik aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

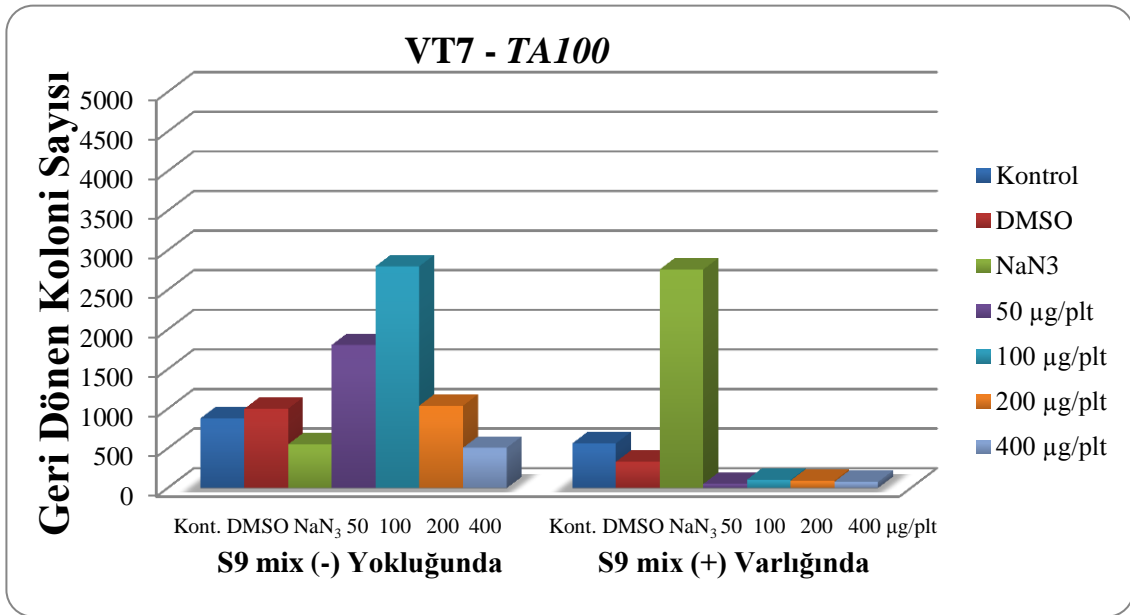
Ancak S9 mix (+) varlığında TA98 ve TA100 mutant bakterileri üzerinde mutajenik aktivite gözlenmemiştir.

Test bileşiğinin gözlenen mutajenik aktivitesi, mutajen bileşiklerin elde edilmiş aktivitelerinden daha yüksek değerlerde olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.1.3.3.a. VT7 test bileşiğinin 72.saatteki TA98 üzerindeki mutajenik aktivite grafiği

Şekil 4.1.3.3.a.'daki grafikte VT7 test bileşiğinin 72.saatte TA98 üzerinde S9 mix (-) yokluğunda 100 µg/plt konsantrasyonda mutajenik olduğu gözlenmiştir.



Şekil 4.1.3.3.b. VT7 test bileşiğinin 72.saatteki TA100 üzerindeki mutajenik aktivite grafiği

Şekil 4.1.3.3.b.'deki grafikte VT7 test bileşiğinin 72.saatte TA100 üzerinde S9 mix (-) yokluğunda 50 µg/plt ve 100 µg/plt konsantrasyonlarda mutajenik olduğu gözlenmiştir.

VT8→ Dikloro[N,N-bis(difenilfosfino)-4-aminodifenilamin]Pd(II)**Çizelge 4.1.3.4.** VT8 test bileşiğinin 72.saatteki Ames *Salmonella*/Mikrozom aktivite değerleri

VT8	TA98		TA100	
	-S9 mix	+S9 mix	-S9 mix	+S9 mix
Kontrol	69.5±41.5	64±17	81±71	21±2
DMSO	59.5±24.5	59±13	19.5±8.5	17.5±5.5
NaN₃	Y.	Y.	124.5±6.5	20±3
2-AF	82±134	37±3	Y.	Y.
50 µg/plt	28.5±0.5	58.5±1.5	65±31	13.5±0.5
100 µg/plt	50.5±14.5	111±74	1±1	9±3
200 µg/plt	74.5±48.5	34.5±2.5	0.5±0.5	31.5±6.5
400 µg/plt	37.5±7.5	23±3	24±20	2960±240

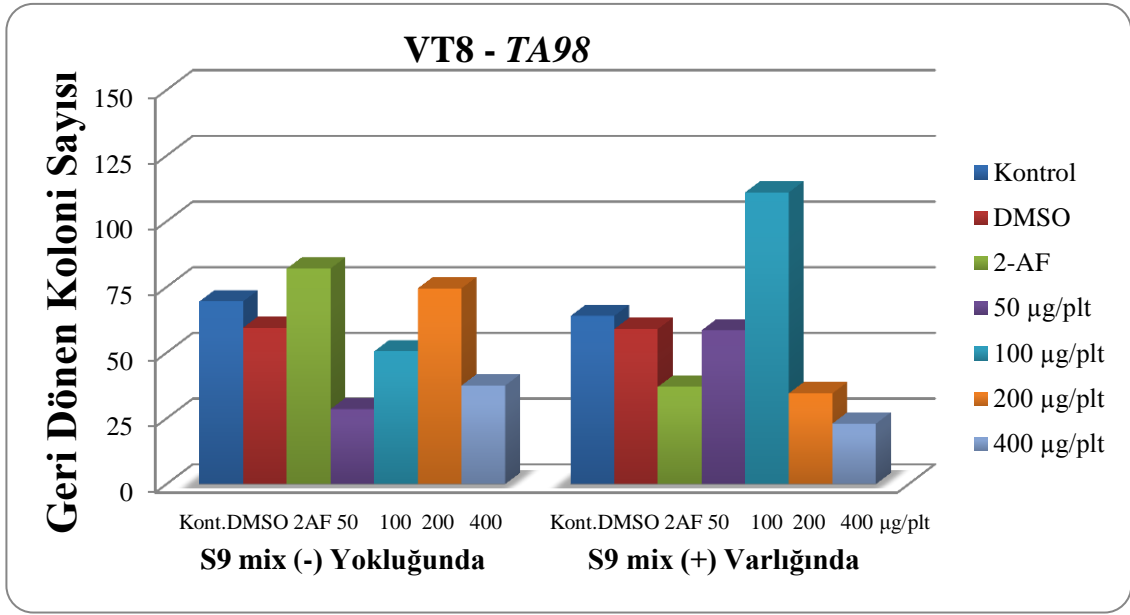
Y.: Yapılmadı

Çizelgede gösterilmiş koloni sayıları elde edilmiş geri dönen koloni sayılarının ortalama değerleridir.

Çizelge 4.1.3.4.'deki sonuçlara göre S9 mix (+) varlığında ve S9 mix (-) yokluğunda TA98 mutant bakterisi üzerinde mutajenik aktivite gözlenmemiştir. Ayrıca negatif kontrol olarak kullanılmış DMSO'nun da herhangi bir mutajenik aktivite gösteremediği gözlenmiştir.

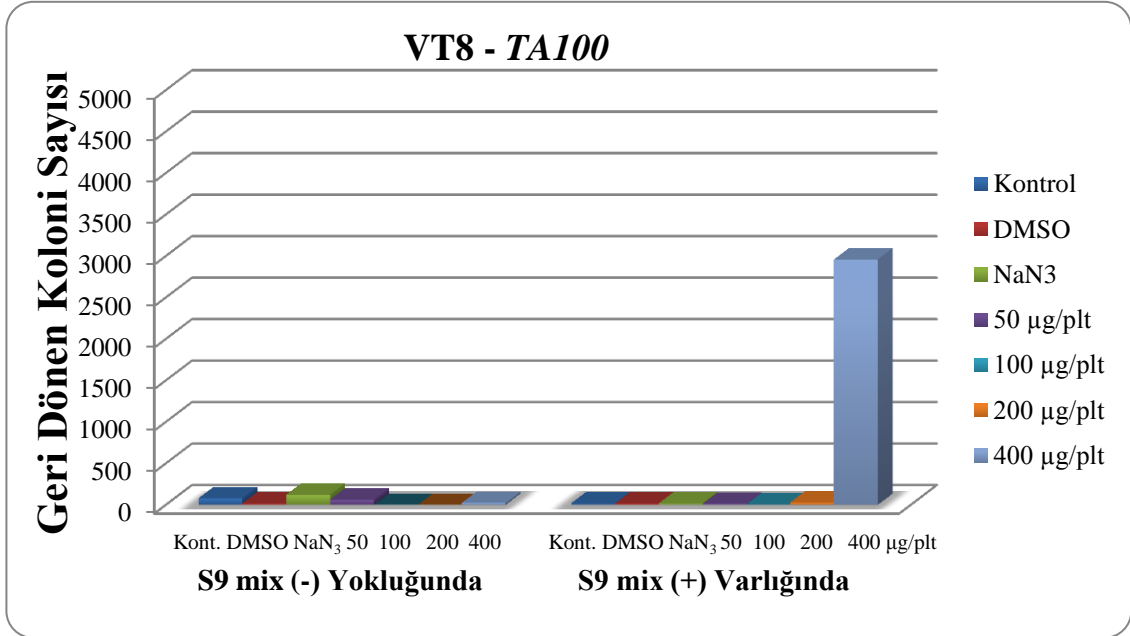
Test bileşiğinin gözlenen mutajenik aktivitesi, mutajen bileşiklerin elde edilmiş aktivitelerinden daha yüksek değerlerde olduğu belirlenmiştir.

Ancak TA100 mutant bakterisi üzerinde S9 mix (-) yokluğunda 400 µg/plt konsantrasyonda mutajenik aktivite gösterdiği belirlenirken, TA100 mutant bakterisi üzerinde S9 mix (+) varlığında mutajenik aktivite gözlenmediği belirlenmiştir.



Şekil 4.1.3.4.a. VT8 test bileşiğinin 72.saatteki TA98 üzerindeki mutajenik aktivite grafiği

Şekil 4.1.3.4.a.'daki grafikte VT8 test bileşiğinin 72.saatte TA98 ve TA100 üzerinde S9 mix (-) yokluğunda ve S9 mix (+) varlığında konsantrasyonlarda mutajenik aktivite gözlenmemiştir.



Şekil 4.1.3.4.b. VT8 test bileşiğinin 72.saatteki TA100 üzerindeki mutajenik aktivite grafiği

Şekil 4.1.3.4.b.'deki grafikte VT8 test bileşiğinin 72.saatte TA100 üzerinde S9 mix (+) varlığında 400 µg/plt konsantrasyonda mutajenik olduğu gözlenmiştir.

4.2.TARTIŞMA

4.2.1.Antimikrobiyal

Komplekslerin sahip olduğu biyotesirliklik, *in vitro* olarak Gram (+) pozitif ve Gram (-) negatif ve fungi olmak üzere birbirlerinden (hücre zarı yapısı ve ribozomal olarak) farklı özellikler taşıyan birkaç mikroorganizma üzerinde antimikrobiyal potansiyelleri incelenmiştir.

Test bileşiklerinin farklı konsantrasyonlarından emdirilmiş 6 mm çaplı kağıt disklerin etrafında oluşan şeffaf zonlar mm olarak çapları ölçülmüştür. Ancak disklerin etrafında ya çok küçük ya da herhangi bir zon oluşumu gözlenmemiştir. Elde edilmiş bu değerlere göre farklı test bileşikleri farklı mikroorganizmalar üzerinde zayıf antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Bazı kompleksler hem Gram (+) pozitif hem de Gram (-) negatif bakteriler üzerinde etkili olduğu gözlenmişken, bazı komplekslerin de sadece tek bir tip mikroorganizma üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir.

Geçiş metal kompleksleri hem Gram (-) negatif hem de Gram (+) pozitif bakteriler üzerinde etkili olmuştur (Zhang ve ark. 2010). Ancak Kovala-Dmertzia ve ark. (2001) göre kompleksler Gram (+) bakteriler üzerinde tamamıyla letal etki gösterirken, Gram (-) bakteriler üzerinde bakterisidal etki göstermemiştir.

Farklı organizmalara karşı farklı test bileşiklerinin farklı antimikrobiyal aktivitelerinde gözlenebilen etki çeşitliliğinin birçok nedeni olabilir. Test bileşiklerinin aktivitelerinde gözlenen farklılığının en belirgin nedenleri mikrobiyal hücrelerin;

- Hücre zarının impermeabilitesine veya efflux pompasına,
- Hücre duvarı sentezinin engellenmesi
- Hücre duvarının parçalanıp parçalanmamasına (Bakteri ve fungi),
- Ribozomlarındaki farklılıklarına (Bakteri ve fungi arasındaki farklılık),
- Test bileşiklerinin etkinlik derecelerine (Hücresel hasar oluşturabilmesine),
- DNA'ya olan ilgilerine (DNA hasarına),
- Proteinlerle test bileşiklerinin arasındaki spesifik etkileşimlerine,
- Test bileşiklerinin sahip oldukları kararlılıklarının özellikle nötral ve asidik şartlarda azalmasıyla da ilgili olabilir (Rogachev ve ark. 1999, Hooper 2001,

Spahn ve ark. 2001, Allardyce ve ark. 2003, Coyle 2005, Lu ve ark. 2006, Pellerito ve ark. 2006, Alekshun ve Levy 2007, Mishra ve ark. 2008, Colak ve ark. 2010, Dunkle ve ark. 2010, Özdemir ve ark. 2010, Spera ve ark. 2011).

Metal komplekslerinin test mikroorganizmaları üzerindeki aktiviteleri; bakteri hücrelerinden difüzyon veya hücre duvarıyla etkileşim, hücre duvarının parçalanması veya DNA hasarı ile ilgili olabileceği belirtilmiştir (Pellerito ve ark. 2006, Mishra ve Kaushik 2008, Khan ve ark. 2009).

Aynı zamanda Allardyce ve ark. (2003) suda çözünebilen Ru(II) komplekslerinin sahip oldukları antimikrobiyal aktivitelerinin DNA'ya bağlı olmadığını görmüşlerdir. Fakat proteinlerle spesifik etkileşimleriyle alakalı olabileceğini ifade etmişlerdir. Ru(II) komplekslerinin, Polio virüslerinin gelişmelerini inhibe ettiğini ancak insan hücrelerinin gelişmesi üzerinde etkili olmadığını gözlemişlerdir.

Fakat metal kompleksleri her zaman ligandan daha yüksek aktivite gösteremeyebilirler. Bu durum Prathima ve ark. (2010) tarafından ligand aktivitesi metal(II) komplekslerin aktivitesinden daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmiştir.

Farklı mikroorganizmaların kullanılması, test bileşiklerinin farklı mikroorganizmalar üzerindeki etkisi hakkında bilgi vermesi bakımından önemlidir. Bunların başında test bileşiklerinin Gram (+) ve Gram (-) bakteriyel farklılık veya antibakteriyel-antifungal farklılıklar üzerindeki etki derecesi gelmektedir.

Çünkü peptidoglukan tabakası bakteriyel hücre duvarının temel bileşenidir. Hücre duvarının zayıflamasını ve hücre parçalanmasını engellemektedir (Brötz ve Sahl 2000, Dziarski ve Gupta 2006). Teikoik asit yapı bakterileri antimikrobiyal yağ asitlerinden koruduğu gözlenmiştir (Kohler ve ark. 2009).

Ayrıca lipopolisakkarit yapı Gram (-) negatif bakterilerin dış membranında bulunan ve ilaç moleküllerinin hücreye giriş hızını yavaşlatan önemli bir hücre komponentidir (Hasdemir 2007). Periplazmik boşlukta bulunan çeşitli enzimler antimikrobiyal ajanları parçalayabilmektedir (Coyle 2005, Arısoy 2011).

Çizelge 4.2.1. Test bileşiklerinin 2000 µg/ml konsantrasyondaki aktivite sonuçları

	Gram (-) Bakteriler		Gram (+) Bakteriler		Fungi
	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.pyogenes</i>	<i>S.aureus</i>	<i>C.albicans</i>
Erit.	12.5±0.5	10.5±0.5	18.5±0.5	20.5±0.5	Z.Y.
İm.	12±1	12.5±0.5	26±1	27.5±0.5	Z.Y.
Cef.	Z.Y.	Z.Y.	8±0	8.5±0.5	Z.Y.
DMSO	Z.Y.	Z.Y.	Z.Y.	Z.Y.	Z.Y.
THF	8±0	7±0	7±0	7.5±0.5	9±0
VT5	7±0	7±0	7±0	7±0	7±0
VT6	7±0	7±0	Z.Y.	Z.Y.	Z.Y.
VT7	9±0	8.5±0.5	8±0	8.5±0.5	8±0
VT8	7±0	Z.Y.	7±0	7±0	8±0
VT9	7±0	7±0	7.5±0.5	8±0	8±0

Z.Y.: Zon Yok

Zon çapları disklerin (6mm) çapını içerecek şekilde yapılmış ölçümlerin ortalama değerleridir.

Çizelge 4.2.1.'de gösterilmiş olan sonuçlara göre;

-VT5 sabit zayıf aktivite göstermesine rağmen hem Gram (+) ve Gram (-) antibakteriyel hem de antifungal aktivite göstermiştir. Bu durumda peptidoglukan tabakasının kalın veya ince olması veya teikoik asidin, lipopolisakkaritin, periplazmanın bulunup bulunmaması veya mikrobiyal ribozom farklılığının da VT5 karşısında herhangi bir etkisinin bulunmadığı düşünülmektedir.

-VT6 sadece Gram (-) bakteriler üzerinde aktivite göstermiştir. Bu durumda peptidoglukan tabakasının kalınlığı veya mikrobiyal ribozom farklılığının VT6 test

bileşiminin karşısında etkili olduğu, ancak teikoik asit ve lipopolisakkaritin etkili olmadığı düşünülmektedir.

-VT7 ortalama aktivite göstermesine rağmen hem Gram (+) ve Gram (-) antibakteriyel hem de antifungal aktivite göstermiştir. Bu durumda peptidoglukan tabakasının kalın veya ince olması veya teikoik asidin, lipopolisakkaritin, periplazmanın bulunup bulunmaması veya mikrobiyal ribozom farklılığının VT7 karşısında herhangi bir etkisinin bulunmadığı düşünülmektedir. Ancak çözücü olarak kullanılmış THF'nin zayıf da olsa aktivite üzerinde etkisi olduğu gözlenmiştir.

-VT8 hem Gram (+) ve Gram (-) hem de antifungal sabit zayıf aktivite göstermiştir. Ancak daha yüksek antifungal aktivite gözlenmiştir. Ayrıca *P.aeruginosa* üzerinde antibakteriyel aktivite göstermemiş ancak bir diğer Gram (-) bakteri olan *E.coli* üzerinde aktivite göstermiştir. Bu durumda peptidoglukan tabakasının kalın veya ince olması veya teikoik asidin, lipopolisakkaritin, periplazmanın bulunup bulunmaması veya mikrobiyal ribozom farklılığının VT8 karşısında herhangi bir etkisinin bulunmadığı sadece spesifik proteinlerin etkili olduğu düşünülmektedir.

-VT9 Gram (-) sabit zayıf aktivite gözlenmiş, ancak Gram (+) ve Fungi üzerinde az da olsa artan bir aktivite gözlenmiştir. Bu durumda peptidoglukan tabakasının kalınlığının VT6 test bileşiminin karşısında etkili olduğu, ancak teikoik asit veya lipopolisakkarit veya mikrobiyal ribozom farklılığının etkili olmadığı düşünülmektedir. Ayrıca spesifik proteinlerin olması da aktivite gözlenmesini engelleyememiş olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak pozitif kontrol kullanılmış cefuroxime sodium standart antibiyotiklerinin bile aktivite gösteremediği durumda bile test bileşiklerinin tümünün aktivite göstermiş olduğu belirlenmiştir.

Ayrıca zayıf antimikrobial etkinin sebebi metal komplekslerin membrandan içeri geçememesi veya plazmidler tarafından sentezlenen ve bileşiği küçük parçalara ayıran veya azaltan enzimler tarafından veya hücre içine alınmış test bileşiklerinin efflux pomp denilen atık pompası tarafından dışarı atılması rol almış olduğu düşünülmektedir. Çünkü Alekshun ve Levy (2007) tarafından efflux pompasının birçok türden antibiyotikleri dışarı attığı belirtilmiştir.

İç ve dış membran permeabilitesindeki değişikliklere bağlı olarak ya test bileşiğinin hücre içine alımındaki azalmadan ya da bileşiğin hızla dışarı atılmasını sağlayan aktif pompa sistemlerinden kaynaklanan bakteriyel membran değişiklikleri yoluyla zayıf aktiviteye neden olabilir.

Bu etkilerle beraber bir diğer neden de literatürlerde farklı boyuttaki disklerin (disk çapı büyüdükçe emdirilecek madde miktarı artar) kullanımına bağlı olarak diske emdirilen (yüksek konsantrasyonlu) madde miktarıdır.

Spera ve ark. yaptıkları çalışmada, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* bakterileri üzerinde disk difüzyon yöntemi uygulamış ancak kullandıkları 10 mm çaplı steril kağıt disklere 1.60 mg Paladyum(II) kompleksi emdirmişlerdir.

100 µl kültür besiyeri yerine yayılmış ve steril 6 mm-çaplı disklere 50 µl çözülmuş ekstrakt emdirilmiştir (Aslan ve ark. 2011).

Komplekslerdeki konsantrasyon artışı ile Gram (+) pozitif ve Gram (-) negatif mikroorganizmalar üzerindeki aktivite sonucu olarak gelişme inhibisyonu da artmaktadır (Colak ve ark. 2010). Çünkü test bileşiklerinin konsantrasyonları arttıkça aktiviteyi belirleyen inhibisyon derecesi de artar (Sharma ve ark. 2011).

Antimikrobiyal aktivite 2 cm çaplı kâğıt disk difüzyon ile *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Fusarium oxysporum* ve *Alternaria alternata* mikroorganizmaları üzerinde denenmiştir. Bileşiklerden elde edilmiş aktivite sonuçları ana ligandlarla kıyaslandığında daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları gözlenmiştir (Sharma ve ark. 2011).

Mamba ve ark. (2010) tarafından antimikrobiyal aktivite 15 µl test bileşiği emdirilmiş 6 mm çaplı kâğıt disk difüzyon yöntemi ile *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* mikroorganizmaları üzerinde denenmiştir. Bileşikler DMSO içerisinde çözülmuş ve hazırlanan 15-30-100-200-400 µg/disk konsantrasyonlarında üçlü ve dörtlü tekrarlar olarak aktivite incelenmiştir.

Antibakteriyel ve antifungal sonuçlar ligandların aktivitelerinin metal ile koordinasyon yaptığı zaman daha baskın hale geldiğini göstermektedir (Sharma ve ark. 2011). Pd(II) koordinasyonlu tetrasiklin dirençli suşlarda önemli derecede antibiyotik aktiviteyi arttırmıştır. Pd(II)'li klortetrasiklin kompleksi serbest tetrasiklinden 16 kat daha güçlü olduğu Guerra ve ark. (2005) tarafından belirtilmiştir.

Bunun yanında terasiklinin Pd(II) kompleksi pratikte duyarlı ve dirençli *E.coli* bakterilerinin gelişimini inhibe etmede tetrasiklin kadar etkilidir. Ayrıca tetrasikline dirençli bakteriyel suş olan *E.coli* HB101/pBR322 ye karşı 16 kat daha güçlü olduğu Garoufis ve ark. (2009) tarafından belirtilmiştir.

Ayrıca bitki ham ekstratlarında çok fazla bitkisel bileşik bulunmaktadır. Bu bileşiklerin daha az konsantrasyonda daha yüksek aktivite göstermeleri sinerjistik etkiden dolayı olabilir. Ancak bu çalışmada kullandığımız test bileşiği saf haldedir. Bu yüzden bitkisel ekstratlarla aynı konsantrasyonlarda hazırlanan test bileşiklerinde sinerjistik etki oluşturacak herhangi bir durum söz konusu değildir.

Çünkü farklı deneylerde esansiyel yağların ve saf bileşiklerin etkilerine bakıldığı ve karşılaştırma sonuçları üç monoterpenlerin ve t-anethole'ün yağdaki tek serbest radikal süpürücü bileşikler olmadığını gösterdiği ve sinerjistik etkilerinin olma olasılığı bulunduğu Beckstrom-Sternberg ve Duke (1994) tarafından ifade edilmiştir (Burits and Bucar 2000).

4.2.2.Antioksidan

Elde ettiğimiz antioksidan sonuçlara göre tüm bileşikler antioksidan aktiviteye sahiptir. Saf olan ve sinerjistik olarak etkileyecek herhangi bir bileşik olmadığında 2 mg/ml gibi daha düşük konsantrasyonlarda bile %90'lara varan yüksek antioksidan aktivite göstermişlerdir.

Ancak sinerjistik olarak birbirini etkileyebilecek bileşiklere sahip bitki ekstratları üzerine yapılmış çalışmada, Karaşin (2011)'e göre 5 mg/ml konsantrasyona sahip bitkiden yaprakta %9.7, çiçekte %38.0 DPPH serbest radikal süpürme aktivite değerleri elde edilmiştir.

Normal aerobik metabolizma süresince kesintisiz üretilen ve çeşitli biyolojik antioksidanlar tarafından güvenli bir şekilde uzaklaştırılan reaktif oksijen türleri

(ROS)'ne karşı antioksidan korumanın hiçbir zaman %100 etkili olmaması, yaşam için önemli bir anahtar olan vücut antioksidan savunma sisteminin başarısız veya yetersiz olduğu zaman antioksidan takviyeler tamamlayıcı bir güç olabilecektir (Gutteridge 1995).

Çünkü vücudun antioksidan savunma kapasitesini aşarak üretilen serbest radikal miktarı ile üretilen antioksidan savunma gücü arasındaki dengenin bozulmasına neden olur. Çiftleşmemiş elektron serbest radikallere reaktif özellik kazandırarak protein, lipid (hücre membranı) ve DNA gibi birçok hayati öneme sahip biyolojik yapılarda hasara neden olabilmektedir.

Çizelge 4.2.2. Test bileşiklerine ait DPPH süpürme aktivitelerinin karşılaştırma sonuçları

	En Yüksek Aktivite		Aktivitedeki Düşüş	
	Konsantrasyon (µg/ml)	İnhibisyon Yüzdesi (%)	Konsantrasyon (µg/ml)	İnhibisyon Yüzdesi (%)
VT5	2000	24.0+0.3	2500	14.9+0.2
VT6	2000	34.4+11.9	2500	9.4+0.5
VT7	800	60.3+16.7	1600	37.0+0.8
VT8	3000	93.0+0.04	4000	92.0+0.6
VT9	2000	56.1+7.7	2500	33.5+0.8

Çizelge 4.2.2.'de gösterilmiş olan sonuçlara göre;

-VT5 2000 µg/ml en yüksek DPPH süpürme aktivitesi olan %24 oranında inhibisyon gözlenmiş ancak sonraki konsantrasyon artışı olan 2500 µg/ml konsantrasyonda DPPH süpürme aktivitesi %14 olarak gözlenmiştir. Bu nedenle en başlangıçtaki aktivite artışının nedeninin DPPH süpürme aktivitesindeki artışın test bileşiğinin konsantrasyonuna bağlı olduğu, ancak DPPH süpürme aktivitesindeki düşüşün test bileşiğinin konsantrasyonuna bağlı olmadığı düşünülmektedir. Çünkü kompleksin sahip olduğu H (protonların), daha fazla miktardaki DPPH serbest

radikalini inhibe ederek inhibisyon yüzdesini arttıracak kadar yeterli olmadığı düşünülmektedir.

-VT6 2000 µg/ml en yüksek DPPH süpürme aktivitesi olan %34 oranında inhibisyon gözlenmiş ancak sonraki konsantrasyon artışı olan 2500 µg/ml konsantrasyonda DPPH süpürme aktivitesi %9 olarak gözlenmiştir. Bu nedenle en başlangıçtaki aktivite artışının nedeninin DPPH süpürme aktivitesindeki artışın test bileşiğinin konsantrasyonuna bağlı olduğu, ancak DPPH süpürme aktivitesindeki düşüşün test bileşiğinin konsantrasyonuna bağlı olmadığı düşünülmektedir. Çünkü kompleksin sahip olduğu H (protonların), daha fazla miktardaki DPPH serbest radikalini inhibe ederek inhibisyon yüzdesini arttıracak kadar yeterli olmadığı düşünülmektedir.

-VT7 800 µg/ml en yüksek DPPH süpürme aktivitesi olan %60 oranında inhibisyon gözlenmiş ancak sonraki konsantrasyon artışı olan 1600 µg/ml konsantrasyonda DPPH süpürme aktivitesi %37 olarak gözlenmiştir. Bu nedenle en başlangıçtaki aktivite artışının nedeninin DPPH süpürme aktivitesindeki artışın test bileşiğinin konsantrasyonuna bağlı olduğu, ancak DPPH süpürme aktivitesindeki düşüşün test bileşiğinin konsantrasyonuna bağlı olmadığı düşünülmektedir. Çünkü kompleksin sahip olduğu H (protonların), daha fazla miktardaki DPPH serbest radikalini inhibe ederek inhibisyon yüzdesini arttıracak kadar yeterli olmadığı düşünülmektedir. Ayrıca aktivitenin gözlenmesinde çözücü olarak kullanılmış THF'nin de etkisinin olduğu düşünülmektedir.

-VT8 3000 µg/ml en yüksek DPPH süpürme aktivitesi olan %93 oranında inhibisyon gözlenmiş ancak sonraki konsantrasyon artışı olan 4000 µg/ml konsantrasyonda DPPH süpürme aktivitesi %92 olarak gözlenmiştir. Bu nedenle en başlangıçtaki aktivite artışının nedeninin DPPH süpürme aktivitesindeki artışın test bileşiğinin konsantrasyonuna bağlı olduğu, ancak DPPH süpürme aktivitesindeki düşüşün test bileşiğinin konsantrasyonuna bağlı olmadığı düşünülmektedir. Çünkü kompleksin sahip olduğu H (protonların), daha fazla miktardaki DPPH serbest radikalini inhibe ederek inhibisyon yüzdesini arttıracak kadar yeterli olmadığı düşünülmektedir.

-VT9 2000 µg/ml en yüksek DPPH süpürme aktivitesi olan %56 oranında inhibisyon gözlenmiş ancak sonraki konsantrasyon artışı olan 2500 µg/ml konsantrasyonda DPPH süpürme aktivitesi %33 olarak gözlenmiştir. Bu nedenle en başlangıçtaki aktivite artışının nedeninin DPPH süpürme aktivitesindeki artışın test bileşiğinin konsantrasyonuna bağlı olduğu, ancak DPPH süpürme aktivitesindeki düşüşün test bileşiğinin konsantrasyonuna bağlı olmadığı düşünülmektedir. Çünkü kompleksin sahip olduğu H (protonların), daha fazla miktardaki DPPH serbest radikalini inhibe ederek inhibisyon yüzdesini arttıracak kadar yeterli olmadığı düşünülmektedir.

Çünkü Choudhary ve ark. (2011) göre DPPH azaltıcı ajanlar tarafından H transferi ile renksizleştirilir. Böylece kararlı nitrojen radikali olan DPPH serbest radikalleri inhibe edilmektedir.

Sonuç olarak VT5, VT6, VT7 ve VT9 test bileşikleri, pozitif kontrol olarak kullanılmış BHA ve BHT standart antioksidanlar kadar iyi aktivite göstermiştir. VT8 test bileşiği ise standart antioksidan olarak kullanılan AA kadar güçlü antioksidan aktivite göstermiştir.

Ayrıca semenlerde antioksidan kapasitesi dondurup-çözme işlemi süresince lipit peroksidasyonunu önlemede yetersizdir. Bu yüzden dondurup-çözme işlemi tarafından indüklenen oksidatif strese karşı sperm hücrelerini koruması için antioksidanlar verilmektedir (Nadolu 2010).

Merkezi sinir sisteminde etkili olan Li⁺ depresyon terapisinde nörotransmitter maddelerin düzenlenmesinde kullanılır (Bakhtiar ve ark. 1999).

Oksijen metabolizmasının bir ürünü olan superoksit anyonu oksidatif doku hasarını tetikleyebilmektedir. Bu nedenle parkinson ve alzheimer hastalıkları gibi sinirsel düzensizliklerle bağlantılı oldukları düşünülmektedir (Rafique ve ark. 2010).

Antioksidan aktiviteye sahip test bileşiklerinin kan beyin bariyerini geçip geçemediği yeşil floresan bileşiklerle araştırılmalıdır. Geçebildiği kesinleşen test bileşiği günümüzde her yerde maruz kaldığımız serbest radikallere bağlı beyin hasarlarında kullanılabilir. Böylece daha sağlıklı merkezi sinir sistemine sahip olunabilir.

Kan beyin bariyeri, beynin ekstrasellüler ortamının sıkı bir şekilde düzenlenmesini sağlayan bir sistemdir (Yılmaz 2006).

Aynı zamanda komplekslerin ölçülebilir DPPH süpürme aktivitelerinin olması hem antioksidan hem de DNA bağlanma çalışmaları ile elde edilen sonuçlar yeni antitümör ilaçları ve antioksidanlar bulma ve dizayn etme ve belki de komplekslerin nükleik asitlerle etkileşim mekanizmalarının anlaşılmasına yardımcı olabilmesi bakımından araştırmacılar tarafından kabul edilmiştir (Colak ve ark. 2010).

4.2.3.Mutajenite

Ames yöntemi geniş bakteri popülasyonlarında seçilebilir mutantların gözlenmesinde oldukça hassastır. Ayrıca S9 mix kullanılarak bakteri hücresi memeli hücresine benzetilmektedir. Böylece bakteriler, çeşitli kimyasalların potansiyel mutajenik etkilerini belirlemede bir tarama aracı olarak kullanılabilir (Maron ve Ames 1983).

Farklı mutasyonlara sahip farklı mutant suşların geri dönmeleri, farklı mutajenler tarafından geri döndürülmektedir. Bu nedenle çerçeve kayması mutasyonlarına neden olan mutajenlerin belirlenebilmesi için *S.typhimurium TA98* suşu, baz değişimine neden olan mutajenlerin belirlenebilmesi için *S.typhimurium TA100* suşu kullanılmaktadır.

VT5 test bileşiği S9 mix (-) yokluğunda hem *TA98* hem de *TA100* mutant suşlar üzerinde herhangi bir mutajenik etki göstermemiş ancak S9 mix (+) varlığında hem *TA98* hem de *TA100* mutant suşlar üzerinde mutajenik aktivite göstermiştir.

Çünkü memelilerdeki biyotransformasyonun benzerini oluşturmak için kullanılmış S9 mix'in kullanılmasıyla önceki çalışmalarda mutajenik aktivitesi gözlenmeyen birçok ajan, metabolik aktivasyonu (S9 karışımı) içeren test sistemi ile pozitif yani güçlü mutajenik aktivite verdiği gözlenmiştir (Ames ve ark. 1973b).

VT6 test bileşiği S9 mix (-) yokluğunda ve S9 mix (+) varlığında *TA98* üzerinde mutajenik aktivite göstermemiş ancak S9 mix (-) yokluğunda ve S9 mix (+) varlığında *TA100* üzerinde mutajenik aktivite göstermiştir.

VT7 test bileşiği S9 mix (+) varlığında hem *TA98* hem de *TA100* mutant bakterileri üzerinde mutajenik aktivite göstermemiş, ancak S9 mix (-) yokluğunda hem

TA98 hem de *TA100* mutant bakterileri üzerinde mutajenik aktivite göstermiştir. Ayrıca THF çözücüsünün de mutajenik aktivitesi gözlenmiştir. Çünkü mutajenik olan bileşikler farklı deneylerde farklı çözücülerin kullanılmasından dolayı non-mutajenik olarak gözlemlenebileceği Rannung ve ark. (1974) tarafından belirtilmiştir.

VT8 test bileşiği S9 mix (-) yokluğunda hem *TA98* hem de *TA100* mutant bakterileri üzerinde mutajenik aktivite göstermemiş, ancak S9 mix (+) varlığında hem *TA98* hem de *TA100* mutant bakterileri üzerinde mutajenik aktivite göstermiştir.

Mutajenik bir maddenin aynı zamanda mutlaka karsinojenik bir madde olması gerekmez (McCann 1975b). Ancak iki durum arasında paralellik olması, bakteri sisteminde mutajenik olan bir maddenin tehlikeli olma olasılığını ortaya koymaktadır.

Mutajenik potansiyeli bulunan 16 metal türevleri ile yapılan çalışmada sadece iki Cr(VI) bileşiği güçlü mutajen olduğu gözlenmiştir (Marzin ve ark. 1985).

Elde edilmiş sonuçlara göre test bileşiklerinin bir kısmı S9 mix (+) varlığında bir kısmı da S9 mix (-) yokluğunda mutajenik aktivite göstermiştir. Bu durumda S9 mix (-) yokluğunda non-mutajenik aktivite gösteren test bileşiklerinin S9 mix (+) varlığında mutajenik aktivite göstermeleri, S9 mix (+) varlığında oluşan metabolitlere bağlı olduğu anlaşılmaktadır.

Metal bileşiklerin genotoksik etkisinin belirlenmesinde en yaygın olarak Ames testinin kullanıldığı ve sadece birkaç metal bileşiğin açık şekilde pozitif sonuç verdiği, şimdiye kadar test edilmiş palladyum bileşiklerinin ise negatif sonuç verdiği belirtilmiştir (Baker 1984, Uno and Morita1993).

Ayrıca test bileşiklerinin belirlenmiş mutajenik dozlarının dışındaki konsantrasyonların DNA üzerinde kırıklara neden olarak koloni sayılarındaki azalmaya yol açtığı düşünülmektedir.

Çünkü metal iyonların toksik yeteneği magnezyum iyonlarıyla yarışmaya girmesi veya DNA onarım enzimlerinin yapısı çinko parmak'da zinc iyonlarıyla yer değiştirmesine bağlı olduğu Hartwig ve ark. (1998) tarafından belirtilmiştir.

Cu(II) kompleksinin konsantrasyonu arttıkça doz artışına bağımlı olarak komplekslerin DNA'da zincir kırıklarına neden olduğu gösterilmiştir (Gadupudi ve ark. 2011).

5.SONUÇ ve ÖNERİLER

5.1.Sonuçlar

5.1.1.Antimikrobiyal

Pozitif kontroller olarak kullanılan antibiyotiklerden Eritromisin ve İmipenem'in tüm test mikroorganizmalarına karşı güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği, Cefuroxime sodium antibiyotiğinin ise sadece *S.aureus* ATCC 25923 ve *S.pyogenes* ATCC 19615 üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.1.1.1.'deki gösterilmiş VT5 test bileşiği sonuçlarına göre *E.coli* ATCC 25922 *P.aeruginosa* ATCC 27853, *S.aureus* ATCC 25923 üzerinde konsantrasyon artışına rağmen sabit zayıf antibakteriyel aktivite gösterirken, konsantrasyonun en yüksek olduğu 2000 µg/ml'de *S.pyogenes* ATCC 19615 test bakterisine karşı antibakteriyel aktivite başlangıcı gözlenmiştir. Ayrıca başlangıçta *C.albicans* ATCC 10231 test mikroorganizması üzerinde aktivite gözlenmemesine rağmen, konsantrasyon artışı 800 µg/ml olduğunda zayıf ancak diğer test mikroorganizmalarıyla karşılaştırıldığında daha yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.1.1.2.'de, elde edilmiş VT6 test bileşiği sonuçlarına göre *E.coli* ATCC 25922 ve *P.aeruginosa* ATCC 27853 üzerinde konsantrasyon artışına rağmen sabit zayıf antibakteriyel aktivite gözlenirken, konsantrasyonun en yüksek olduğu 2000 µg/ml'de bile *S.aureus* ATCC 25923, *S.pyogenes* ATCC 19615 ve *C.albicans* ATCC 10231 test mikroorganizmalarına karşı antibakteriyel aktivite başlangıcı gözlenmemiştir.

Çizelge 4.1.1.3.'deki VT7 test bileşiği sonuçlarına göre *E.coli* ATCC 25922, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *S.aureus* ATCC 25923, *S.pyogenes* ATCC 19615 ve *C.albicans* ATCC 10231 üzerinde konsantrasyon artışının olmasına rağmen değişken antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.1.1.4.'deki belirlenmiş VT8 test bileşiği sonuçlarına göre *E.coli* ATCC 25922 *S.pyogenes* ATCC 19615, *S.aureus* ATCC 25923 ve *C.albicans* ATCC 10231 üzerinde konsantrasyon artışına rağmen sabit zayıf antibakteriyel aktivite gösterirken, konsantrasyonun en yüksek olduğu 2000 µg/ml'de *C.albicans* ATCC 10231 test

bakterisine karşı daha yüksek bir antifungal aktivite başlangıcı gözlenmiştir. Ayrıca diğer test bileşikleriyle karşılaştırıldığında, VT8 test bileşğinde konsantrasyonun en yüksek olduğu 2000 µg/ml'de bile *P.aeruginosa* ATCC 27853 test mikroorganizması üzerinde herhangi bir antibakteriyel aktivite gözlenmemiştir.

Çizelge 4.1.1.5.'deki VT9 test bileşiği sonuçlarına göre *E.coli* ATCC 25922, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *S.aureus* ATCC 25923, *S.pyogenes* ATCC 19615 ve *C.albicans* ATCC 10231 üzerinde konsantrasyon artışına rağmen sabit zayıf antibakteriyel aktivite gözlenirken, konsantrasyonun en yüksek olduğu 2000µg/ml'de *S.pyogenes* ATCC 19615, *S.aureus* ATCC 25923 ve *C.albicans* ATCC 10231 test bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite artışının başlangıcı olarak gözlenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre test bileşiklerinin tümü *E.coli* ATCC 25922 test bakterisi üzerinde etkili iken; *S.pyogenes* ATCC 19615 bakterisi üzerinde VT7, VT8 ve VT9 test bileşikleri; *S.aureus* ATCC 25923 test bakterisi üzerinde VT5, VT7, VT8 ve VT9 test bileşikleri; *P.aeruginosa* ATCC 27853 test bakterisi üzerinde VT5, VT6, VT7 ve VT9 test bileşikleri; *C.albicans* ATCC 10231 test mikroorganizması üzerinde VT5, VT7, VT8 ve VT9 test bileşikleri etkili olmuşlardır.

Sonuç olarak test bileşiklerinin çoğu bütün test mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Ancak test bileşiklerinden antimikrobiyal aktivite elde edilmesine rağmen test bileşiklerinin etki mekanizmaları bilinmemektedir. Ayrıca negatif kontrol olarak kullanılmış DMSO'nun herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermediği gözlenmiştir.

5.1.2.Antioksidan

Pozitif kontroller olarak kullanılan antioksidanlardan BHT %14, BHA %30 ve AA %94 DPPH serbest radikal inhibisyon aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.1.2.2.'deki gösterilmiş VT5 test bileşiği sonuçlarına göre, DPPH serbest radikali üzerinde konsantrasyon artışına bağlı olarak antioksidan aktivitede de artış gözlenmiştir. VT5 test bileşğinde konsantrasyonun en yüksek olduğu 2000 µg/ml'de %24 DPPH serbest radikal inhibisyon aktivitesi gözlenmiştir. Ayrıca elde edilmiş aktivite sonuçları diğer test bileşiklerinde daha düşük olmasına rağmen; BHA pozitif kontrolü ve VT7 test bileşiği aktivite sonuçlarına yakın, BHT pozitif

kontrolünden daha yüksek aktivite gösteren sonuçlar elde edilmiştir. VT5 test bileşiğinin kontrollerle karşılaştırılması Şekil 4.1.2.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.2.3.'deki gösterilmiş VT6 test bileşiği sonuçlarına göre, DPPH serbest radikali üzerinde konsantrasyon artışına bağlı olarak antioksidan aktivitede de artış gözlenmiştir. VT6 test bileşiğinde konsantrasyonun en yüksek olduğu 2000 µg/ml'de %34 DPPH serbest radikal inhibisyon aktivitesi gözlenmiştir. Ayrıca elde edilmiş aktivite sonuçları orta derecede olmasına rağmen; BHA, BHT pozitif kontrolünden ve VT5, VT7 test bileşiklerinden daha yüksek aktivite gösteren sonuçlar elde edilmiştir. VT6 test bileşiğinin kontrollerle karşılaştırılması Şekil 4.1.2.3.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.2.4.'deki gösterilmiş VT7 test bileşiği sonuçlarına göre, DPPH serbest radikali üzerinde konsantrasyon artışına bağlı olarak değişken antioksidan aktivite gözlenmiştir. Ayrıca konsantrasyon artışına bağlı olarak aktivitede düşüş gözlenmiştir. VT7 test bileşiğinde konsantrasyonun en yüksek olduğu 2000 µg/ml'de %25 inhibisyon aktivitesi gözlenirken daha düşük konsantrasyon olan 800 µg/ml'de %60 DPPH serbest radikal inhibisyon aktivitesi gözlenmiştir. Ayrıca yüksek konsantrasyonda elde edilmiş aktivite sonuçları orta derecede olmasına rağmen; BHA pozitif kontrolü ve VT5 test bileşiği aktivite sonuçlarına yakın, BHT pozitif kontrolünden daha yüksek aktivite gösteren sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca negatif kontrol olarak kullanılmış THF'nin de DPPH süpürme aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. VT7 test bileşiğinin kontrollerle karşılaştırılması Şekil 4.1.2.4.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.2.5.'deki gösterilmiş VT8 test bileşiği sonuçlarına göre, DPPH serbest radikali üzerinde konsantrasyon artışına bağlı olarak antioksidan aktivitede de artış gözlenmiştir. VT8 test bileşiğinde konsantrasyonun en yüksek olduğu 2000 µg/ml'de %91 DPPH serbest radikal inhibisyon aktivitesi gözlenmiştir. Ayrıca elde edilmiş aktivite sonuçları BHA, BHT pozitif kontrolünden ve VT5, VT6, VT7, VT9 test bileşiklerinden daha yüksek aktivite gösteren sonuçlar elde edilmiştir. Ancak pozitif kontrol AA aktivite sonuçlarına yakın antioksidan aktivite sonuçları gözlenmiştir. VT8 test bileşiğinin kontrollerle karşılaştırılması Şekil 4.1.2.5.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.2.6.'deki gösterilmiş VT9 test bileşiği sonuçlarına göre, DPPH serbest radikali üzerinde konsantrasyon artışına bağlı olarak değişken antioksidan aktivite gözlenmiştir. VT9 test bileşiğinde konsantrasyonun en yüksek olduğu 2000 µg/ml'de %56 inhibisyon aktivitesi gözlenmiştir. Ayrıca elde edilmiş aktivite sonuçları orta derecede olmasına rağmen; BHA, BHT pozitif kontrolünden ve VT5, VT7 test bileşiklerinden daha yüksek aktivite gösteren sonuçlar elde edilmiştir. VT9 test bileşiğinin kontrollerle karşılaştırılması Şekil 4.1.2.6.'de verilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre tüm test bileşiklerinin DPPH serbest radikalini süpürerek antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca negatif kontrol olarak kullanılmış DMSO'nun herhangi bir antioksidan aktivite göstermediği, ancak VT7 test bileşiği çözücüsü olarak kullanılan THF çözücüsünün ise %13 inhibisyonla serbest radikal süpürme aktivitesine sahip olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak test bileşiklerinin tümü DPPH serbest radikali üzerinde etkili olmuşlardır.

5.1.3.Mutajenite

Her deneyde test suşlarının kendiliğinden geri dönme özgüllüklerini ve S9 karışımının etkisini doğrulamak için mutajenik etkileri bilinen kimyasal maddeler (pozitif mutajenler) kullanılarak rutin olarak pozitif mutajenik etki kontrolleri yapıldı.

Pozitif kontroller olarak kullanılan mutajenlerden 2-AF *Salmonella typhimurium* TA98 ve NaN₃ *Salmonella typhimurium* TA100 test suşları üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.1.3.1.'deki 72.saat sonuçlarına göre VT5 test bileşiği S9 mix (-) yokluğunda konsantrasyon artışına bağlı olarak TA98 mutant bakteri üzerinde herhangi bir mutajenik aktivite gözlenmemiş, ancak TA100 mutant bakteri üzerinde geri dönen koloni sayılarında azalış gözlenmiştir. S9 mix (+) varlığında TA98 mutant bakteri üzerinde 400 µg/plt konsantrasyonda, TA100 mutant bakteri üzerinde 50 µg/plt konsantrasyonda mutajenik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca S9 mix (+) varlığında TA100 mutant bakteri üzerinde 50 µg/plt konsantrasyonundan sonraki artan konsantrasyonlarda geri dönen koloni sayılarında azalış gözlenmiştir.

Çizelge 4.1.3.2.'deki 72.saat sonuçlarına göre VT6 test bileşiği S9 mix (-) yokluğunda konsantrasyon artışına bağlı olarak *TA98* mutant bakteri üzerinde herhangi bir mutajenik aktivite gözlenmemiş, ancak *TA100* mutant bakteri üzerinde 100 µg/plt konsantrasyonda mutajenik aktivite gözlenmiştir. Ayrıca 50 µg/plt konsantrasyonundan sonraki artan konsantrasyonlarda geri dönen *TA100* koloni sayılarında azalış gözlenmiştir. S9 mix (+) varlığında *TA98* mutant bakteri üzerinde herhangi bir mutajenik aktivite gözlenmemiş, ancak *TA100* mutant bakteri üzerinde 200 µg/plt konsantrasyonda mutajenik aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.1.3.3.'deki 72.saat sonuçlarına göre VT7 test bileşiği S9 mix (-) yokluğunda *TA98* ve *TA100* mutant bakterileri üzerinde 100 µg/plt konsantrasyonda mutajenik aktivite gözlenmiş, ancak konsantrasyon artışına ve azalışına bağlı olarak *TA98* ve *TA100* mutant bakterileri üzerinde herhangi bir mutajenik aktivite gözlenmemiştir. Ayrıca 100 µg/plt konsantrasyonundan sonraki artan ve azalan konsantrasyonlarda geri dönen *TA98* ve *TA100* koloni sayılarında azalış gözlenmiştir. S9 mix (+) varlığında *TA98* ve *TA100* mutant bakterileri üzerinde herhangi bir mutajenik aktivite gözlenmemiştir. Ayrıca negatif kontrol olarak kullanılmış THF'nin de *TA98* ve *TA100* mutant bakterileri üzerinde mutajenik aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.1.3.4.'deki 72.saat sonuçlarına göre VT8 test bileşiği S9 mix (-) yokluğunda konsantrasyon artışına bağlı olarak *TA98* ve *TA100* mutant bakterileri üzerinde herhangi bir mutajenik aktivite gözlenmemiştir. S9 mix (+) varlığında *TA98* mutant bakteri üzerinde 100 µg/plt konsantrasyonda zayıf mutajenik aktivite belirlenmiş, *TA100* mutant bakteri üzerinde 400 µg/plt konsantrasyonda mutajenik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca S9 mix (+) varlığında *TA100* mutant bakteri üzerinde 400 µg/plt konsantrasyonundan önceki azalan konsantrasyonlarda ve *TA98* mutant bakteri üzerinde 100 µg/plt konsantrasyonundan sonraki artan ve azalan konsantrasyonlarda geri dönen koloni sayılarında azalış gözlenmiştir.

“İki kat kuralı”na göre değerlendirilmiş olan sonuçlara göre test bileşiklerinin tümü, S9 mix (+) varlığında ve/veya S9 mix (-) yokluğunda *TA98* ve *TA100* mutant bakterileri üzerinde mutajenik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca negatif kontrol olarak kullanılmış DMSO'nun herhangi bir mutajenik aktivite göstermediği, ancak VT7

test bileşiği çözücüsü olarak kullanılan THF çözücüsünün mutajenik aktivitesine sahip olduğu gözlenmiştir.

Çünkü *Salmonella*/mutajenite test sisteminde bir bileşiğin mutajen olarak adlandırılması için histidin protroflarının kendiliğinden geri dönen koloni sayısından en az iki kat fazla olması ya da iki katından az olduğu durumlarda da doza bağlı bir artışın gözlenmesi gerekmektedir (Maron ve Ames 1983).

5.2.Öneriler

Antimikrobiyal aktivite çalışmaları için daha yüksek konsantrasyonda aktiviteler incelenmelidir. Farklı sıcaklık ve farklı çözücülerle hazırlanan seri konsantrasyonlar denenmelidir.

Böylece daha yüksek konsantrasyona, farklı sıcaklıklara ve farklı çözücülere ait aktivite sonuçları elde edilecek ve test bileşiklerinin daha ileriki çalışmalarda kullanılabilirlikleri belirlenecektir.

Çünkü Rannung ve ark. (1974) tarafından mutajenik olan bileşiklerin farklı deneylerde farklı çözücülerin kullanılmasından dolayı non-mutajenik olarak gözlemlenebileceği belirtilmiştir.

Ancak herhangi bir bileşiğin deney sonucunun negatif çıkması o bileşiğin başka deneylerde kullanılmayacağı anlamına gelmemektedir. Bu nedenle yapılmış olan bu çalışma daha ileriki çalışmaların yapılmasına katkı sağlaması umulmaktadır. Ayrıca test bileşiklerinin etki mekanizmaları ve etkiledikleri moleküller belirlenerek daha güçlü ve uzun süreli aktiviteye sahip yeni bileşikler sentezlenmelidir.

Deney sonuçları komplekslerin bioaktivitesinin seçici olduğunu göstermiştir.

Ayrıca VT8 test bileşiğinin mükemmel DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi göstermiş olmasından dolayı da bu kompleksin serbest radikallerin etkili süpürücülerinin yeni bir türü olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışma sonucunda DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi gözlenmiş olan bu test bileşiklerinin günlük hayatta kullanılabilir potansiyellerini ve diğer reaktif oksijen türleri (ROS) üzerindeki etkilerini belirleyebilmek için çalışmalar yapılmalıdır.

Bu test bileşiklerinin elde edilmiş sonuçları, deney hayvanlarında test edildikten sonra elde edilecek sonuçları ile karşılaştırılarak kesin mutajen olup olmadıkları ortaya konmalıdır. Çünkü kısa zamanlı mutajenite test sistemleri yardımıyla mutajenik yanıtın saptanması, mutajenik bulunan kimyasalın mutajen ve/veya kanserojen olduğunu tek başına ortaya koymayacağı gibi negatif yanıtın da diğer bazı kısa zamanlı bakteriyel test sistemleri ve deney hayvanlarında tümör indüksiyonu ile test edilmesi gerekmektedir.

Ayrıca geçiş metal kompleksinin ilaç olarak geliştirilmesinin kolay olmadığını, bütün yan etki ve sınırlamalara rağmen geçiş metallerin halen bile en fazla kullanılan kemoterapötik ajanlar olduğu Rafique ve ark. (2010) tarafından belirtilmiştir.

Tolan (2002) tarafından *E.coli* PQ37 test suşu üzerinde yaptığı çalışmada mutajenik aktivite gösteren Maneb, Mancozeb ve Thiodan gibi mutajenik maddelerin kullanılmasıyla mutajenik maddelerin konsantrasyon artışına bağlı olarak β -galaktosidaz ve alkalin fosfataz gibi enzimlerin ünite sayılarında azalış gözlemlendiği belirtilmiştir.

Bu nedenle, deneylerle gözlenen sonuçlar daha ileriki araştırmaların yapılması için cesaretlendirmektedir.

6.KAYNAKLAR

Akaike, T. 2001. Role of free radicals in viral pathogenesis and mutation. *Reviews in Medical Virology*, 11: 87-101.

Akaike, T., Suga, M., Maeda, H. 1998. Free radicals in viral pathogenesis: molecular mechanisms involving superoxide and NO. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 217: 64-73.

Alanyalı, F.S., Ergin, E., Artagan, O., Benkli, K. 2011. Investigation of genotoxic effects of some ruthenium complexes according to cis-platinum. *International Journal of Pharmacology*, 7: 96-105.

Alekshun M.N., Levy, S.B. 2007. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*, 128: 1037-1050.

Allardyce, C.S., Dyson, P.J., Ellis, D.J., Salter, P.A., Scopelliti, R. 2003. Synthesis and characterisation of some watersoluble ruthenium(II)–arene complexes and an investigation of their antibiotic and antiviral properties. *Journal of Organometallic Chemistry*, 668: 35-42.

Ames, B.N. 1973. Carcinogens are mutagens: their detection and classification. *Environmental Health Perspectives*, 115-118.

Ames, B.N. 1979. Identifying environmental chemicals causing mutations and cancer. *Science*, 204: 587-593.

Ames, B.N., Durston, W.E., Yamasaki, E., Lee, F.D. 1973(a). Carcinogens are mutagens: a simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. *The Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 70: 2281-2285.

Ames, B.N., Gold, L.S. 1991. Endogenous mutagens and the causes of aging and cancer. *Mutation Research*, 250: 3-16.

Ames, B.N., Lee, F.D., Durston, W.E. 1973(b). An improved bacterial test system for detection and clasification of mutagens and carcinogens. *The Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 70: 782-786.

Ames, B.N., Shigenaga, M.K. 1992. Oxidants are a major contributor to aging. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 21: 85-96.

Anderson, R.A., 2000. Chromium as a dietary supplement. *Metals in Medicine: Targets, Diagnostics, and Therapeutics*, 36.

Arsoy, E.S. 2011. Gram-negatif hastane enfeksiyonlarının sağaltımı. *Journal of Pediatric Infection*, 5: 152-156.

Aslan, H.G., Özcan, S., Karacan, N. 2011. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of salicylaldehyde benzenesulfonylhydrazone(hsalbsmh) and its nickel(II), palladium(II), platinum(II), copper(II), cobalt(II) complexes. *Inorganic Chemistry Communications*, 14: 1550-1553.

Baker, R.S.U. 1984. Evaluation of metals in *in vitro* assays, interperatation of data and possible mechanisms of action. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 7: 191-212.

Bakhtiar, R., Ochiai, E.I. 1999. Pharmacological applications of inorganic complexes. *General Pharmacology*, 32: 525-540.

Biggar, C.A., Eskin, N.A.M., Vaisey, M., Johnston, B. 1975. Oxidative deterioration of canned lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) treated with antioxidants. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 32: 227-232.

Blokhina, O., Virolainen, E., Fagerstedt, K.V. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*, 91: 179-194.

Bondet, V., Brand-Williams, W., Berset, C. 1997. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH. free radical method. *Lebensmittel-Wissenschaft und- Technologie*, 30: 609-615.

Brown, G.M. 1962. The biosynthesis of folic acid. *The Journal of Biological Chemistry*, 237: 536-540.

Brötz, H., Sahl, H.G. 2000. New insights into the mechanism of action of lantibiotics-diverse biological effects by binding to the same molecular target. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 46: 1-6.

Bueding, E. 1975. Dissociation of mutagenic and other toxic properties from schistosomicides. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 1: 329-334.

Burits, M., Bucar F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14: 323-328.

Cass, A., Finkelstein, A., Krespi, V. 1970. The ion permeability induced in thin lipid membranes by the polyene antibiotics nystatin and amphotericin B. *The Journal of General Physiology*, 56: 100-124.

Castello, W.S., Spera, M.B.M, Gomes, A.F., Gozzo, F.C., Lustrri W.R., Formiga, A.L.B., Corbi, P.P. 2011. Synthesis, spectroscopic characterization, and antibacterial assays *in vitro* of a new platinum(II) complex with methionine sulfoxide. *Journal of Coordination Chemistry*, 64: 272-280.

Catterall, F.S., Coombs, M.M., Ioannides, C., Sepiol, J.J., Wilson, J. 2001. Mutagenicity of bay-region amino-substituted cyclopenta[a]phenanthrenes and 2- and 5-aminochrysene. *Mutation Research*, 492: 7-11.

Chabner, B.A. 2010. Barnett Rosenberg: in memoriam (1924-2009). *Cancer Research*, 70: 428-429.

Choudhary, A., Sharma, R., Nagar, M., Mohsin, M., Meena, H.S. 2011. Synthesis, characterization and antioxidant activity of some transition metal complexes with terpenoid derivatives. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 56: 911-917.

Coker, R., Atun, R., McKee, M. 2008. Health systems and the challenge of communicable diseases, *Experiences from Europe and Latin America*, 66-76.

Colak, A., Terzi, Ü., Col, M., Karaoglu, Ş.A., Karaböcek, S., Küçükdumlu, A., Ayaz, F.A. 2010. DNA binding, antioxidant and antimicrobial activities of homo- and heteronuclear copper(II) with new oxime-type ligands. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45: 5169-5175.

Coyle, M.B. 2005. Manual of antimicrobial susceptibility testing. American society for microbiology, Departments of Laboratory Medicine and Microbiology University of Washington Seattle, Washington 98195.

Cuendet, M., Hostettmann, K., Potterat, O. 1997. Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fargrea blumei*. *Helvetica chimica acta*, 80: 1144-1152.

Dale, J.W., Park, S.F. 2004. Molecular genetics of bacteria, 4th ed., John Wiley & Sons Ltd, 1-337, England.

Dapkevicius, A., Venskutonis, R., Beek, T.A.V., Linsen, J.P.H. 1998. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in lithuania. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77: 140-146.

Day B.J. 2009. Catalase and glutathione peroxidase mimics. *Biochemical pharmacology*, 77: 285-296.

De Robertis, E.D.P., De Robertis, E.M.F. 1980. Cell and Molecular Biology, 7th ed., 70, USA.

Dest, Z., Soukhova, N.V., Flockhart, D.A. 2001. Inhibition of cytochrome P450 (CYP450) isoforms by isoniazid: potent inhibition of CYP2C19 and CYP3A. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 45: 382-392.

Diaz, A.M., Villalonga, R., Cao, R. 2009. Antioxidative properties of copper(II) complexes. *Journal of Coordination Chemistry*, 62: 100-107.

Doğru-Pekiner, B. 2003. Vitamin E as an antioxidant. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 32: 243-267.

Drlica, K., Zhao, X. 1997. DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 61: 377-392.

Dunkle, J.A., Xiong, L., Mankin, A.S., Cate, J.H.D. 2010. Structures of the *Escherichia coli* ribosome with antibiotics bound near the peptidyl transferase center explain spectra of drug action. *The Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 17152-17157.

Dziarski, R., Gupta, D. 2006. The peptidoglycan recognition proteins (PGRPs). *Genome Biology*, 7: 232.1-232.13.

El-Asmy, A.A., Al-Abdeen, A.Z., El-Maaty, W.M.A., Mostafa, M.M. 2010. Synthesis and spectroscopic studies of 2,5-hexanedione bis(isonicotinylhydrazone) and its first row transition metal complexes. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 75: 1516-1532.

Elliott, J.G. 1999. Application of the antioxidant. Vitamins in foods and beverages, World Congress Center, Atlanta, Georgia, Erişim: [ift.confex.com/direct/ift/98annual/techprogram/accepted/14-5.htm] Erişim tarihi: 08.05.2012.

Farrell, N. 2002. Biomedical uses and applications of inorganic chemistry. An overview. *Coordination Chemistry Reviews*, 232: 1-4.

Gadupudi, G.S., Chung, K.T. 2011. Comparative genotoxicity of 3-hydroxyanthranilic acid and anthranilic acid in the presence of a metal cofactor Cu (II) *in vitro*. *Mutation Research*, 726: 200-208.

Garoufis, A., Hadjikakou, S.K., Hadjiliadis, N. 2009. Palladium coordination compounds as anti-viral, anti-fungal, anti-microbial and anti-tumor agents. *Coordination Chemistry Reviews*, 253: 1384-1397.

Gerber, G.B., Leonard A., Hantson P. 2002. Carcinogenicity, mutagenicity and teratogenicity of manganese compounds. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 42: 25-34.

Ghooi, R.B., Thatte, S.M. 1995. Inhibition of cell wall synthesis — is this the mechanism of action of penicillins. *Medical Hypotheses*, 44: 127-131.

Gobernado, M. 2003. Fosfomicina. *Revista Espanola de Quimioterapia*, 16: 15-40.

Gordon, T., Bowser, D. 2003. Beryllium: genotoxicity and carcinogenicity. *Mutation Research*, 533: 99-105.

Gressler, V., Moura, S., Flores, A.F.C., Flores, D.C., Colepicolo, P., Pinto, E. 2010. Antioxidant and antimicrobial properties of 2-(4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl)-pyrimidine and 1-carboxamidino-1H-pyrazole derivatives. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 21: 1477-1483.

Guerra, W., de Andrade Azevedo, E., de Souza Monteiro, A.R., Buciarelli-Rodriguez, M., Chartone-Souza, E., Nascimento, A.M., Fontes, A.P., Le Moyec, L., Pereira-Maia, E.C. 2005. Synthesis, characterization, and antibacterial activity of three palladium(II) complexes of tetracyclines. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 99: 2348-2354.

Gutteridge, J.M.C. 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 41: 1819-1828.

Hadjiliadis, N., Sletten, E. 2009. Metal complexes-DNA interactions, 1st ed. Blackwell Publishing Ltd., 1-524, Great Britain.

Halliwell, B. 1994. Free radicals and antioxidants: A personal view. *Nutrition reviews*, 52: 253-265.

Halliwell, B., Murcia, M.A., Chirico, S., Aruoma, O.I. 1995. Free radicals and antioxidants in food and *in vivo*: What they do and how they work. Critical reviews in *Food Science and Nutrition*, 35: 7-20.

Hartman, P.E., Hulbert, P.B. 1975. Genetic activity spectra of some antischistosomal compounds, with particular emphasis on thioxanthenones and

benzothiopyranoindazoles. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 1: 243-270.

Hartwig, A. 1998. Carcinogenicity of metal compounds: possible role of DNA repair inhibition. *Toxicology Letters*,102-103: 235-239.

Hasdemir, U. 2007. Çoklu ilaç direncinde bakteri hücre duvarı organizasyonu ve aktif pompa sistemlerinin rolü. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 41: 309-327.

Hernández-Marin, E., Barbosa, A., Martínez, A. 2012. The metal cation chelating capacity of astaxanthin. Does this have any influence on antiradical activity. *Molecules*, 17: 1039-1054.

Hooper, D.C. 2001. Mechanisms of action of antimicrobials: Focus on fluoroquinolones. *Clinical Infectious Diseases*, 32: 9-15.

Izaki, K., Matsubishi, M., Strominger, J.L. Biosynthesis of the peptidoglycan of bacterial cell walls. *The journal of biological chemistry*, 243: 3180-3192.

Jiang, J., Tang, X., Dou, W., Zhang, H., Liu, W., Wang, C., Zheng, J. 2010. Synthesis and characterization of the ligand based on benzoxazole and its transition metal complexes: DNA-binding and antitumor activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 104: 583-591.

Karaalp, A., Kılıç, G. 2006. Farmakoloji tus ve stajlar için konu kitabı. Tumer, 1-361.

Karaşin, N. 2011. Diyarbakır ve çevresinde yetişen *Cynara syriaca* metanol ekstraktının antimikrobiyal, antioksidan ve mutajenik aktivitesinin belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, 1-51.

Keskin, B., Peksel, A., Avcıata, U., Gül, A. 2010. Radical scavenging and *in vitro* antifungal activities of Cu(II) and Co(II) complexes of the t-butylphenyl derivative of porphyrazine. *Journal of Coordination Chemistry*, 63: 3999-4006.

Khan, S., Nami, S.A.A., Siddiqi, K.S., Husain, E., Naseem I. 2009. Synthesis and characterization of transition metal 2,6-pyridinedicarboxylic acid derivatives, interactions of Cu(II) and Ni(II) complexes with DNA *in vitro*. ***Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy***, 72: 421-428.

Klaunig, J.E., Kamendulis, L.M., Hocevar, B.A. 2010. Oxidative stress and oxidative damage in carcinogenesis. ***Toxicologic Pathology***, 38: 96-109.

Klug, A. 1999. Zinc finger peptides for the regulation of gene expression. ***Journal of Molecular Biology***, 293: 215-218.

Koç, M. 2007. Ratlarda indometazin ile oluşturulan gastrik hasar üzerine askorbik asit'in gastroprotektif etkilerinin ve bu etkilerin antioksidant sistem ile ilişkisinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, 1-112.

Kohler, T., Weidenmaier, C., Peschel, A. 2009. Wall teichoic acid protects *Staphylococcus aureus* against antimicrobial fatty acids from human skin. ***Journal of bacteriology***, 191: 4482-4484.

Kovala-Dmertzis, D., Demertzis, M.A., Miller, J.R., Papadopoulou, C., Dodorou, C., Filousis, G. 2001. Platinum(II) complexes with 2-acetyl pyridine thiosemicarbazone synthesis, crystal structure, spectral properties, antimicrobial and antitumour activity. ***Journal of Inorganic Biochemistry***, 86: 555-563.

Krupanidhi, S., Sreekumar, A., Sanjeevi, C.B. 2008. Copper & biological health. ***Indian Journal of Medical Research***, 128: 448-461.

Kumar, R.V., Kumar, S., Shashidhara, S., Anitha, S., Manjula, M. 2011. Comparison of the antioxidant capacity of an important hepatoprotective plants. ***International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research***, 3: 48-51.

Kuroda, K., Endo, G., Okamoto, A., Yoo, Y.S., Horiguchi, S. 1991. Genotoxicity of beryllium, gallium and antimony in short-term assays. ***Mutation Research***, 264: 163-170.

Lalitha, M.K., 2004. Manual on Antimicrobial susceptibility testing. Erişim: [www.biodiamed.gr/files/uploads/Manual_on_Antimicrobial_Susceptibility_Testing.pdf] Erişim Tarihi: 08.05.2012.

Lantzsch, H., Gebel, T. 1997. Genotoxicity of selected metal compounds in the SOS chromotest. *Mutation Research*, 389: 191-197.

LaVelle, J.M., Krause, R.A. 1986. Rhodium(III) complexes as genotoxic agents: photochemical effects and their implications. *Mutation Research*, 172: 211-222.

Levin, D.E., Yamasaki, E., Ames, BN. 1982. A new *Salmonella* tester strain, TA97, for the detection of frameshift mutagens. A run of cytosines as a mutational hot-spot. *Mutation Research*, 94: 315-330.

Levinson, W. 2004. Lange, Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji, 8th ed. Çeviri: Tuncay Özgünen, Güneş kitabevi, 73-98, İstanbul.

Lewis, K. 2000. Programmed death in bacteria. *Microbiology and molecular biology reviews*, 64: 503-514.

Li, Z.Z., Liang, Z.H., Huang, H.L., Liu, Y.J. 2011. Ruthenium (II) complexes: cellular uptake, cytotoxicity, DNA-binding, photocleavage and antioxidant activity studies. *Journal of Molecular Structure*, 1001: 36-42.

Liu, J., Atamna, H., Ames, B.N. 2002. Delaying brain mitochondrial decay and aging with mitochondrial antioxidants and metabolites. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 959: 133-66.

Liu, Z.C., Wang, B.D., Yang, Z.Y., Li, Y., Qin, D.D., Li, T.R. 2009. Synthesis, crystal structure, DNA interaction and antioxidant activities of two novel water-soluble Cu²⁺ complexes derivated from 2-oxo-quinoline-3-carbaldehyde schiff-bases. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44: 4477-4484.

Lu, X., Wang, M., Qi, J., Wang, H., Li, X., Gupta, D., Dziarski, R. 2006. Peptidoglycan recognition proteins are a new class of human bactericidal proteins. *The journal of biological chemistry*, 281: 5895-5907.

Madigan, M.T., Martinko, J.M. 2010. Brock mikroorganizmaların biyolojisi, 11th ed., Çeviri: Cumhur Çökmüş, Palme yayıncılık, Ankara.

Maeda, H., Akaike, T. 1998. Nitric oxide and oxygen radicals in infection, inflammation, and cancer. *Biochemistry (Moscow)*, 63: 854-65.

Mamba, S.M., Mishra, A.K., Mamba, B.B., Njobeh, P.B., Dutton, M.F., Fosso-Kankeu, E. 2010. Spectral, thermal and *in vitro* antimicrobial studies of cyclohexylamine-n-dithiocarbamate transition metal complexes. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 77: 579-587.

Maron, D.M., Ames, B.N. 1983. Revised methods for *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Research*, 113: 173-215.

Marzin, D.R., Phi, H.V. 1985. Study of the mutagenicity of metal derivatives with *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutation Research*, 155: 49-51.

McCann, J., Ames, B.N. 1976. Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella*/microsome test: assay of 300 chemicals: discussion. *The Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 73: 950-954.

McCann, J., Choi, E., Yamasaki, E., Ames, B.N. 1975 (b). Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella*/microsome test: assay of 300 chemicals. *The Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 72: 5135-5139.

McCann, J., Spingarn, N.E., Kabori, J., Ames, B.N. 1975 (a). Detection of carcinogens as mutagens: bacterial tester strains with R factor plasmids. *The Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 72: 979-983.

McManus, MC. 1997. Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 54: 1420-1433.

Mishra, A.K., Kaushik, N.K. 2007. Synthesis, characterization, cytotoxicity, antibacterial and antifungal evaluation of some new platinum(IV) and palladium(II)

complexes of thiodiamines. *European Journal Of Medicinal Chemistry*, 42: 1239-1246.

Mishra, A.K., Kaushik, N.K. 2008. Nickel(II) thiohydrazide and thiodiamine complexes: Synthesis, characterization, antibacterial, antifungal and thermal studies. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 69: 842–848.

Mortelmans, K., Zeiger, E. 2000. The Ames *Salmonella*/microsome mutagenicity assay. *Mutation Research*, 455: 29-40.

Nadolu, D. 2010. The effects of antioxidants on the cytological parameters of cryopreserved buck semen. *Romanian Biotechnological Letters*, 15: 26-32.

NCCLS(National Committee for Clinical Laboratory Standards). 1997. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test; 6th ed. Approved Standard, wayne pa. M2-A6.

Nelson, D.L., Cox M.M. 2008 Lehninger principles of biochemistry, 5th ed., W. H. Freeman and Company, 154, USA.

Nout, M.J.R. 1994. Fermented foods and food safety. *Food Research International*, 27: 291-298.

Ogawa, H.I., Tsuruta, S., Niyitani, Y., Mino, H., Sakata, K., Kato, Y. 1987 Mutagenicity of metal salts in combination with 9-aminoacridine in *Salmonella typhimurium*. *Japanese Journal of Genetics*, 62: 159-162.

Dauber-Osguthorpe, P., Roberts, V.A., Osguthorpe, D.J., Wolff, J., Genest, M., Hagler, A.T. 1988. Structure and energetics of ligand binding to proteins: *Escherichia coli* dihydrofolate reductase-trimethoprim, a drug-receptor system. *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics*, 4: 31-47.

Özdemir, İ., Denizci, A., Öztürk, H.T., Çetinkaya, B. 2004. Synthetic and antimicrobial studies on new gold(I) complexes of imidazolidin-2-lyidenes. *Applied Organometallic Chemistry*, 18: 318-322.

Özdemir, İ., Gürbüz, N., Doğan, Ö., Günal, S., Özdemir, İ. 2010. Synthesis and antimicrobial activity of ag(I)-n-heterocyclic carbene complexes derived from benzimidazol-2-lyidenes. *Applied Organometallic Chemistry*, 24: 758-762.

Özkan, A., Fışkın, K. 2004. Serbest oksijen radikalleri, karsinogenez ve antioksidant enzimler. *International Journal of Hematology and Oncology*, 14: 52-60.

Pala, F.S., Tabakçioğlu, K. 2007. Free radicals: our enemies or friends. *Advances in Molecular Biology*, 1: 63-69.

Patel, M.N., Dosi, P.A., Bhatt, B.S. 2010. Antibacterial, DNA interaction and superoxide dismutase activity of drug based copper(II) coordination compounds. *Polyhedron*, 29: 3238–3245.

Pellerito, C., Nagy, L., Pellerito, L., Szorcsik, A. 2006. Biological activity studies on organotin(IV)_{n+} complexes and parent compounds. *Journal of Organometallic Chemistry*, 691: 1733–1747.

Prathima, B., Subba, R.Y., Adinarayana, R.S., Reddy Y.P., Varada R.A. 2010. Copper(II) and nickel(II) complexes of benzyloxybenzaldehyde-4-phenyl-3-thiosemicarbazone: synthesis, characterization and biological activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 77: 248-252.

Rafique, S., Idrees, M., Nasim, A., Akbar, H., Amin Athar, A. 2010. Transition metal complexes as potential therapeutic agents. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, 5: 38-45.

Raja G., Butcher, R.J., Jayabalakrishnan, C. 2012. Synthesis, characterization, DNA binding and cleavage properties and anticancer studies of ruthenium(III) Schiff base complexes. *Transition Metal Chemistry*, 37: 169-174.

Raman, N., Sobha, S., Thamarachelvan, A. 2011. A novel bioactive tyramine derived schiff base and its transition metal complexes as selective DNA binding agents. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 78: 888-898.

Rannung, V., Johansson, A., Ramel, C., Wachmeister, C.A. 1974. The mutagenicity of vinyl chloride after metabolic activation. *Ambio*, 3: 194-197.

Ratanaphan, A., Nhugeaw, T., Temboot, P., Hansongnern, K. 2012. DNA-binding properties of ruthenium(II) complexes with bidentate ligand 5-chloro-2-(phenylazo)pyridine. *Transition Metal Chemistry*, 37: 207-214.

Roat-Malone, R.M. 2002. Bioinorganic Chemistry: A short-course. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, 1-544, New Jersey.

Rogachev, I., Gusion, V., Gusion, A., Cortina, J.L., Gressel, J., Warshawsky, A. 1999. Spectrophotometric determination of copper complexation properties of new amphiphilic dithiocarbamates. *Reactive and Functional Polymers*, 42: 243-254.

Roy, R.S., Yang, P., Kodali, S., Xiong, Y., Kim, R.M., Griffin, P.R., Onishi, H.R., Kohler, J., Silver, L.L., Chapman, K. 2001. Direct interaction of a vancomycin derivative with bacterial enzymes involved in cell wall biosynthesis. *Chemistry & Biology*, 8: 1095-1106.

Rumzhum, N.N., Rahman, M., Kazal, K. 2012. Antioxidant and cytotoxic potential of methanol extract of *Tabernaemontana divaricata* leaves. *International Current Pharmaceutical Journal*, 1: 27-31.

Sharma, K., Singh, R., Fahmi, N., Singh, R.V. 2010. Microwave assisted synthesis, characterization and biological evaluation of palladium and platinum complexes with azomethines. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 75: 422-427.

Sharma, K., Singh, R.V., Fahmi, N. 2011. Palladium(II) and platinum (II) derivatives of benzothiazoline ligands: synthesis, characterization, antimicrobial and antispermatic activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 78: 80-87.

Siddiqi, Z.A., Khalid, M., Kumar, S., Shahid, M., Noor, S. 2010. Antimicrobial and SOD activities of novel transition metal complexes of pyridine-2,6-dicarboxylic

acid containing 4-picoline as auxiliary ligand. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45: 264-269.

Sieradzki, K., Tomasz, A. 1997. Suppression of β -lactam antibiotic resistance in a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* through synergic action of early cell wall inhibitors and some other antibiotics. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 39: 47-51.

Spahn, C.M.T., Beckmann, R., Eswar, N., Penczek, P.A., Sali, A., Blobel, G., Frank, J. 2001. Structure of the 80S ribosome from *Saccharomyces cerevisiae*-tRNA-ribosome and subunit-subunit interactions. *Cell*, 107: 373-386.

Spera, M.B., Quinão, F.A., Ferraresi, D.K., Lustri, W.R., Magalhães, A., Formiga, A.L., Corbi, P.P. 2011. Palladium(II) complex with S-allyl-L-cysteine: new solid-state NMR spectroscopic measurements, molecular modeling and antibacterial assays. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 78: 313-318.

Stuehr, D., Pou, S., Rosen, G.M. 2001. Oxygen reduction by nitric-oxide synthases. *The Journal of Biological Chemistry*, 276: 14533-14536.

Suksrichavalit, T., Prachayasittikul, S., Nantasenamat, C., Isarankura-Nayudhya, C., Prachayasittikul, V. 2009. Copper complexes of pyridine derivatives with superoxide scavenging and antimicrobial activities, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44: 3259-3265.

Sun, R.W., Ma, D.L., Wong, E.L., Che, C.M. 2007. Some uses of transition metal complexes as anticancer and anti-HIV agents. *Dalton Transactions*, 21: 4884-4892.

Takayama, K., Kilburn, J.O. 1989. Inhibition of synthesis of arabinogalactan by ethambutol in *Mycobacterium smegmatis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 33: 1493-1499.

Tauxe, R.V. 2001. Food safety and irradiation: protecting the public from foodborne infections. *Emerging Infectious Diseases*, 7: 516-521.

Tenover, F.C. 2006. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *American Journal of Medicine*, 119: 3-10.

Thannickal, V.J., Fanburg, B.L. 2000. Reactive oxygen species in cell signaling. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, 279: 1005-1028.

Thompson, J., O'connor, M., Mills, J.A., Dahlberg, A.E. 2002. The protein synthesis inhibitors, oxazolidinones and chloramphenicol, cause extensive translational inaccuracy in vivo. *Journal of Molecular Biology*, 322: 273-279.

Tolan, V. 2002. Bazı pestisitlerin ve dicle nehri yüzey suyunun genotoksik potansiyelinin kısa zamanlı bakteriyel test sistemleri ile araştırılması. Doktora tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, 1-146.

Tomasz, A., Waks, S. 1975. Mechanism of action of penicillin: Triggering of the pneumococcal autolytic enzyme by inhibitors of cell wall synthesis. *The Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 72: 4162-4166.

Tripathi, K. 2009. A Review – Can metal ions be incorporated into drugs. *Asian Journal of Research in Chemistry*, 2: 14-18.

Uno, Y., Morita, M. 1993. Mutagenic activity of some platinum and palladium complexes. *Mutation Research*, 298: 269-275.

URL-1 Erişim: [www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01s.pdf], Erişim tarihi: 27.07.2012.

URL-2 Erişim: [bestofbothworldsaz.com/tag/free-radical-theory-of-aging], Erişim tarihi: 27.07.2012.

URL-3 Erişim: [mtdg.materials.drexel.edu/Research/Structure-drivenProperties], Erişim tarihi: 27.07.2012.

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39: 44-84.

Vedmaurthy, R.B., Padmanabhan, S., Vijayan, M., Jamal, Z.A., Kunjumman, J., Narayanan, M.L. 2011. Compatibility of different solvents with *Salmonella typhimurium* mutant strains in bacterial reverse mutation assay. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4: 283-284.

Voytas, D.F., Joung, J.K. 2009. DNA binding made easy. *Science*, 326: 1491-1492.

Wan-Ibrahim, W.I., Sidik, K., Kuppusamy, U.R. 2010. A high antioxidant level in edible plants is associated with genotoxic properties. *Food chemistry*, 122: 1139-1144.

Warra, A.A. 2011. Transition metal complexes and their application in drugs and cosmetics – A Review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3: 951-958.

WHO, 2002. Environmental Health Criteria, 226 Palladium.

Wickner, W., Brutlag, D., Schekman, R., Kornberg, A. 1972. RNA synthesis initiates in vitro conversion of M13 DNA to its replicative form. *The Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 69: 965-969.

Winkler, B.S., Boulton, M.E., Gottsch, J.D., Sternberg, P. 2007. Oxidative damage and age-related macular degeneration. *Molecular Vision*, 5: 1-27.

Yıldırımkaaya, M. 2003. Özet biyokimya tus ve diğer sınavlar için. MN medikal&Nobel, 1-362, Ankara.

Yılmaz, N. 2006. Kan-beyin bariyerinin Fizyopatolojisi. *Van Tıp Dergisi*, 13: 25-27.

Yoshida, R., Kitamura, D., Maenosono, S. 2009. Mutagenicity of water-soluble ZnO nanoparticles in Ames Test. *The Journal of Toxicological Sciences*, 34: 119-122.

Zhang, C.X., Lippard, S.J. 2003. New metal complexes as potential therapeutics. *Current Opinion in Chemical Biology*, 7: 481–489.

Zhang, J.A., Pan M., Yang, R., She, Z.G., Kaim, W., Fan, Z.J., Su, C.Y. 2010. Structure, biological and electro chemical studies of transition metal complexes from N,S,N' donor ligand 8-(2-pyridinylmethylthio)quinoline. *Polyhedron*, 29: 581-591.

EK.1.Kullanılan Kimyasal Maddeler

Adı	Üretici Firma
Kağıt Diskler	Oxoid Blank Discs
DMSO	Merck
THF	Merck
Metanol	Sigma-Aldrich
Etanol	Sigma-Aldrich
DPPH	Sigma
BHA	Sigma
BHT	Sigma
AA	Fluka
Biyotin	Sigma
Histidin	Merck
NA	Merck
NB	Merck
S9	Sigma
Glukoz	Sigma-Aldrich
NaCl	Merck
MgSO ₄ .7H ₂ O	Sigma-Aldrich
Sitrik asit	Sigma-Aldrich
K ₂ HPO ₄	Merck
Agar	Oxoid
NaH ₂ PO ₄ .4H ₂ O	Merck
KCl	Sigma-Aldrich
MgCl ₂ .6H ₂ O	Merck
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	Merck
Na ₂ HPO ₄	Merck
B-NADP	Sigma
G-6-P	Sigma

EK.2.Kullanılan Cihazlar

Adı	Modeli	Bulunduğu Yer
Distile Su Cihazı	Jencons Autostill™ 8000X	D.Ü.F.F.C.A.
Otoklav	HMC Hirayama	D.Ü.F.F.M.B.L.
Steril Kabin	Telstar AV100	D.Ü.F.F.M.B.L.
Çalkalayıcı	Memmert	D.Ü.F.F.M.B.L.
Etüv	Thermo Scientific	D.Ü.F.F.M.B.L.
Spektrofotometre	Varian Cary	D.Ü.F.F.M.B.L.
PH Metre	Mettler Toledo	D.Ü.F.F.M.B.L.
Vorteks	VWR International	D.Ü.F.F.M.B.L.
Manyetik Karıştırıcı	Heidolph	D.Ü.F.F.M.B.L.
Hassas Terazı	Gec Avery	D.Ü.F.F.M.B.L.
Derin Dondurucu	Harris	D.Ü.F.F.M.B.L.
İnkübatör	Sanyo	D.Ü.F.F.M.B.L.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı: Ahmet İsmail
Soyadı: ÖZKAN
Doğum Tarihi: 1983
Doğum Yeri: DİYARBAKIR
Yabancı Dil: İngilizce

EĞİTİM BİLGİLERİ

İlkokul: Alıpınar İlköğretim Okulu
Ortaokul: Diyarbakır Nevzat Ayaz Anadolu Lisesi
Lise: Diyarbakır Nevzat Ayaz Anadolu Lisesi
Lisans: Dicle Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans: Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı