



T.C.

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**



**4-METİLBENZO[d]TİYAZOL-2-AMİN TÜREVLERİNİN
BİYOLOJİK AKTİVİTE VE DNA İLE ETKİLEŞİMLERİNİN
ARAŞTIRILMASI
Elif MERDAMERT
Biyoloji Anabilim Dalı**

ÇANAKKALE

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

4-METİLBENZO[d]TİYAZOL-2-AMİN TÜREVLERİNİN
BİYOLOJİK AKTİVİTE VE DNA İLE ETKİLEŞİMLERİNİN

ARAŞTIRILMASI

Elif MERDAMERT

Biyoloji Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih:31/01/2018

Tez Danışmanı:

Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR

ÇANAKKALE

Elif MERDAMERT tarafından Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR yönetiminde hazırlanan ve **31/01/2018** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**4-metilbenzo[d]tiyazol-2-amin Türevlerinin Biyolojik Aktivite ve DNA ile Etkileşimlerinin Araştırılması**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR

Başkan

Doç. Dr. Tülay KILIÇASLAN AYNA

Üye

Doç. Dr. Mustafa YILDIZ

Üye

Prof. Dr. Levent GENÇ

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:.....

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir. Proje Numarası: FYL-2017-1084

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI



Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Elif MERDAMERT

TEŞEKKÜR

Eğitimim boyunca göstermiş olduğu sabır ve değerli bilgileri ile deneyimlerini benimle paylaşan ve her türlü zorlukta yol göstericiliği için danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR'e,

Tezimdeki çalışma bileşiklerinin temini için ve çalışma süresince de bilgilerini esirgemeyen Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Mustafa YILDIZ'a,

Ames çalışmaları için kullanılan suşların teminini sağlayan Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Hülya SİVAS'a; çalışma bakterilerinin ve mayalarının temini için Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mustafa YAMAÇ'a,

Laboratuvar çalışmalarımda yardımları ile bana destek olan, Merve BALLI YÜKSEL'e, Mehmet Ali YILDIRIM'a, Bahar GÖK'e, Pınar GÖK İNAN'a ve Melike SARAÇOĞLU'na, yüksek lisans eğitimim boyunca maddi manevi desteğini esirgemeyen manevi ablam Nurşen DEMİRCAN'a, lisans eğitimimden beri her zorlukta yanımda olan ve bu zorlukları benimle birlikte göğüsleyerek aşmamda yardımcı olan M. Eray BOZYEL'e, hayatımın her evresinde beni destekleyen, sevgilerini ve ilgilerini esirgemeyip bana her zaman hoşgörülü ve fedakar davranan değerli aileme, özellikle annem Cahide MERDAMERT'e ve manevi desteğini benden esirgemeyen her zaman bana moral veren, beni destekleyen, motive eden ve benimle gurur duyduğundan emin olduğum, çok sevgili halam Şefika MERDAMERT'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Elif MERDAMERT
Çanakkale, Ocak 2018

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
Abs	Absorbans
A	Adenin
ϵ	Molar Sönüm Katsayısı
BHT	Bütillendirilmiş Hidroksi Toluen
C	Sitozin
CFU	Koloni Oluşturan Birim
Cd	Kadmiyum
cm	Santimetre
Cr	Krom
Co	Kobalt
CT-DNA	Calf Thymus-Dana Timus-DNA
Cu	Bakır
DMF	Dimetil Formamid
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EDTA	Etilendiamintetraasetik Asit
EtOH	Etanol
Fe	Demir
FRAP	Ferrik İyon İndirgeme Gücü
g	Gram
G	Guanin
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
H ₂ SO ₄	Sülfirik Asit
HB	Histidin/Biyotin
HBA	Histidin/Biyotin/Ampisilin
IC ₅₀	İnhibisyon Konsantrasyonu
Kob	Koloni Oluşturan Birim
Ln	Lantanit
M	Molarite

MA	Molekül Ağırlığı
mg	Miligram
MGA	Minimal Glikoz Agar
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
mL	Mililitre
mM	Milimolar
Mn	Mangan
Mo	Molibden
N	Normalite
NA	Nutrient Agar
NB	Nutrient Broth
Ni	Nikel
NPD	4- Nitro- <i>o</i> -Fenilendiamin
OH	Hidroksit
RPMI	Roswell Park Memorial Institute Medyum
S9	Sıçan Karaciğer Mikrozomal Enzimi
SA (NaN ₃)	Sodyum Azid
Se	Selenyum
sn	Saniye
T	Timin
TAE	Tris-Asetik asit-EDTA
UV	Ultraviyole
UV-Vis	Ultraviyole-Görünür Bölge
Zn	Çinko
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre

ÖZET

4-METİLBENZO[*d*]TİYAZOL-2-AMİN TÜREVLERİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTE VE DNA İLE ETKİLEŞİMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Elif MERDAMERT

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR

31/01/2018, 87

Bu çalışmada, 4-metilbenzo[*d*]tiyazol-2-amin türevlerinin biyolojik aktivite ve DNA ile etkileşimleri ile çalışıldı. Biyolojik aktivite olarak Antimutajenik, Mutajenik, Antimikrobiyal ve Antioksidan özellikleri, DNA ile etkileşimlerinde ise DNA kesme ve DNA bağlanma özellikleri araştırıldı.

Mutajenite ve antimutajenite özellikleri *Salmonella typhimurium* TA98 ve TA100 mutant suşları kullanılarak Ames testi ile incelendi. Her bileşik için çalışılan tüm konsantrasyonların mutajenik özellikte olmadığı, ancak konsantrasyona bağlı olarak antimutajenik özellik gösterdikleri belirlendi. Antimikrobiyal çalışmalar broth mikrodilüsyon yöntemine göre yapıldı. 4-Metilbenzo[*d*]tiyazol-2-amin türevlerinin bakteriler ve mayalar üzerinde etkili olduğu gözlemlendi. Bileşiklerin potansiyel antioksidan aktiviteleri pozitif kontrol olan bütil hidroksi tolüen (BHT) ile birlikte UV-Vis spektrofotometresinde ölçüldü. Bileşiklerin BHT'den daha yüksek aktivite gösterdiği tespit edildi.

DNA kesme etkinliği, agaroz jel elektroforezi yöntemi kullanılarak pBR322 plazmid DNA ile çalışıldı. Üç bileşiginde hem hidrolitik olarak hem de oksidatif ajan varlığında DNA kesme aktivitelerinin olduğu görüldü. Bileşiklerin DNA bağlanmaları UV-Vis absorpsiyon titrasyonu metodu ile araştırıldı. UV-Vis sonuçlarına göre bileşiklerin CT-DNA'ya elektrostatik olarak bağlandığı bulundu.

Anahtar sözcükler: Benzotiyazol Türevleri, DNA Bağlanma, DNA Kesme, Antimikrobiyal Aktivite, Mutajenik/Antimutajenik, Antioksidan

ABSTRACT

INVESTIGATION OF BIOLOGICAL ACTIVITIES AND DNA INTERACTION OF 4-METHYLBENZO[*d*]THIAZOLE-2-AMINE DERIVATIVES

Elif MERDAMERT

Canakkale Onsekiz Mart University

Institute of Natural and Applied Science

Department of Biology Master Thesis

Advisor: Asst. Prof. Dr. Neslihan DEMİR

31/01/2018, 87

In this study, 4-methylbenzo[*d*]thiazole-2-amine derivatives were studied for their biological activity and interaction with DNA. Antimutagenic, mutagenic, antimicrobial and antioxidant properties were performed as a research of biological activity. Interactions with DNA was studied using property of DNA cleavage and DNA binding.

Salmonella typhimurium TA98 and TA100 mutant strains were studied by Ames test in order to determine the mutagenic and antimutagenic properties. All concentrations tested for each compound were not mutagenic, but were found to be antimutagenic depending on concentration. Antimicrobial studies were performed according to broth microdilution method. 4-Methylbenzo[*d*]thiazol-2-amine derivatives were observed to be effective on bacteria and yeast. Potential antioxidant activities of the compounds were measured in a UV-Vis spectrophotometer with butyl hydroxy toluene (BHT) as a positive control. It was found that the compounds had higher activity than BHT.

The DNA cleavage efficiency was performed by agarose gel electrophoresis method with using pBR322 plasmid DNA. Within three compounds it was seen that DNA cleavage activities were both hydrolytically and in the presence of oxidative agent. DNA binding of the compounds was investigated by UV-Vis absorption titration method. According to the results of UV-Vis, the compounds were electrostatically bound to CT-DNA.

Keywords: Derivatives of Benzothiazole, DNA binding, DNA cleavage, Antimicrobial Activity, Mutagenic/Antimutagenic, Antioxidant

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ SINAVI SONUÇ FORMU	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2	
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	3
2.1. Schiff Bazları	3
2.2. Benzotiyazoller	4
2.3. Deoksiribonükleik Asit (DNA).....	5
2.4. Mutasyonlar.....	7
2.4.1. Gen Mutasyonları	7
2.4.1.1. Baz Değişimi Mutasyonu.....	7
2.4.1.2. Çerçeve Kayması Mutasyonu	8
2.4.2. Kromozom Mutasyonları.....	9
2.4.2.1. Kromozomlarda Sayı Değişimleri	9
2.4.2.2. Kromozomlarda Yapı Değişimleri.....	10
2.5. DNA Kesme	10
2.5.1. Oksidatif Kesme	11
2.5.2. Hidrolitik Kesme	11
2.6. DNA Bağlanma	12
2.6.1. Kovalent Bağlanma	12
2.6.2. Kovalent Olmayan Bağlanma.....	13
2.6.2.1. İnterkalasyon Yoluyla Bağlanma.....	14
2.6.2.2. Elektrostatik Etkileşimler	14
2.6.2.3. Oluklara Bağlanma	15
2.7. Schiff Bazlarının DNA ile Etkileşimlerinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler	16

2.7.1. Agaroz Jel Elektroforez Yöntemi	16
2.7.2. UV-Vis Absorpsiyon Yöntemi	18
2.8. Antimikrobiyal Aktivite	19
2.9. Mutajenik ve Antimutajenik Aktivite	20
2.9.1. Mutajenik Aktivite.....	20
2.9.2. Antimutajenik Aktivite.....	21
2.10. Ames Testi	22
2.11. Antioksidan Savunma Sistemlerinde Schiff Bazlarının Yeri.....	24
2.12. Schiff Bazlarının Biyolojik Aktiviteleri ve DNA'yla Etkileşimleri ile İlgili Yapılmış Çalışmalar.....	26
BÖLÜM 3	
MATERYAL VE YÖNTEM.....	36
3.1. Materyal	36
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Schiff Bazları	36
3.2. DNA Kesme Aktivite Çalışmaları	37
3.2.1. Agaroz Jel Elektroforez Yöntemi.....	38
3.3. DNA Bağlanma Çalışmaları	38
3.3.1. UV-Vis Absorpsiyon Titrasyonu.....	39
3.4. Antimikrobiyal Aktivite	39
3.4.1. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Besiyerleri.....	39
3.4.2. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Mikroorganizmalar	40
3.4.3. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon Testi (MİK).....	40
3.5. Mutajenite ve Antimutajenite.....	41
3.5.1. Mutajenite ve Antimutajenite Çalışmalarında Kullanılan Stok Çözeltiler ve Besiyerleri.....	41
3.5.2. Suşların Genetik Özelliklerinin Kontrolü.....	45
3.5.2.1. Suşların Histidin Gereksinimi.....	45
3.5.2.2. <i>Rfa</i> Mutasyon Kontrolü	46
3.5.2.3. <i>uvrB</i> Mutasyon Kontrolü	46
3.5.2.4. R Faktör Kontrolü.....	46
3.5.2.5. Suşların Gecelik Kültürlerinin Hazırlanması.....	46
3.5.2.6. Mutajenite ve Antimutajenite Çalışmalarının Yapılışı	47
3.6. Ames Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi	48
3.6.1. Mutajenik Özelliklerin Değerlendirilmesi.....	48
3.6.2. Antimutajenik Özelliklerin Değerlendirilmesi	48

3.7. Antioksidan Çalışmaları.....	49
3.7.1. DPPH Radikali Süpürücü Etkisi.....	49
BÖLÜM 4	
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	50
4.1. Benzotiyazol Türevi Schiff Bazlarının DNA ile Etkileşimleri	50
4.1.1. Jel Elektroforez Yöntemi ile DNA Kesme Bulguları.....	50
4.1.2. DNA Bağlanma Sonuçları.....	52
4.2. Antimikrobiyal Aktivite Bulguları.....	55
4.3 Mutajenik ve Antimutajenik Aktivite Bulguları	57
4.3.1. Suşlara Ait Genetik Özelliklerin Kontrolü	57
4.3.1.1. Histidin Gereksinimleri.....	57
4.3.1.2. <i>rfa</i> Mutasyonu Kontrolü	58
4.3.1.3. <i>uvrB</i> Mutasyonu Kontrolü	58
4.3.1.4. R Faktörü Kontrolü.....	59
4.3.2. 4-Metilbenzo[<i>d</i>]tiyazol-2-amin Türevlerinin Mutajenik Aktivite Bulguları.....	59
4.3.3. 4-Metilbenzo[<i>d</i>]tiyazol-2-amin Türevlerinin Antimutajenik Aktivite Bulguları.....	63
4.4. 4-Metilbenzo[<i>d</i>]tiyazol-2-amin Bileşiklerinin Antioksidan Özellikleri.....	67
BÖLÜM 5	
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	71
KAYNAKLAR	73
ÖZGEÇMİŞ	I

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Schiff bazı sentezi.....	3
Şekil 2.2. Benzotiyazol bileşiğinin yapısı.....	4
Şekil 2.3. DNA'nın yapısını oluşturan nükleotid.....	5
Şekil 2.4. DNA'daki bağların oluşumu.....	6
Şekil 2.5. a. DNA sarmalında oluşan küçük ve büyük oluklar b. DNA'nın sarmal yapısı.....	6
Şekil 2.6. Baz değişimi mutasyonları.....	8
Şekil 2.7. Çerçeve kayması mutasyonu.....	9
Şekil 2.8. DNA'daki farklı bağlanma şekillerinin şematik gösterimi.....	13
Şekil 2.9. Etidyumun interkalasyon ile baz çiftleri arasına bağlanması.....	14
Şekil 2.10. DNA'ya elektrostatik olarak bağlanma.....	15
Şekil 2.11. DNA'nın küçük oluşuna bağlanmış Hoechst 33258.....	16
Şekil 2.12. pBR322 plazmid DNA.....	17
Şekil 2.13. a. Jel elektroforezinde plazmid DNA'ya ait üç formun görünümü b. Plazmid DNA'nın 3 formu.....	18
Şekil 2.14. UV-Vis absorpsiyon titrasyonunda dalga boylarındaki kaymalar.....	19
Şekil 2.15. Antimutajen etki mekanizmaları.....	21
Şekil 3.1. <i>N</i> -Ferosenkarboksilidene-4-metilbenzo[<i>d</i>]tiyazol-2-amin (Bileşik 1).....	36
Şekil 3.2. 2-Etoksi-6-((4-metilbenzo[<i>d</i>]tiyazol-2-yilimino)metil)phenol (Bileşik 2).....	36
Şekil 3.3. 4-((4-Metilbenzo[<i>d</i>]tiyazol-2-yilimino)metil)benzene-1.3-diol (Bileşik 3).....	37
Şekil 4.1. a. Hidrolitik kesme b. Oksidatif kesme	51
Şekil 4.2. Bileşik 1'in UV-Vis absorpsiyon titrasyonu.....	53
Şekil 4.3. Bileşik 2'nin UV-Vis absorpsiyon titrasyonu.....	53
Şekil 4.4. Bileşik 3'ün UV-Vis absorpsiyon titrasyonu.....	54
Şekil 4.5. <i>S. typhimurium</i> TA98 mutant suşunun HB ve MGA plaklarında üreme sıklığı.....	57
Şekil 4.6. TA100 mutant suşunun HB ve MGA plaklarında üreme sıklığı.....	57
Şekil 4.7. TA98 ve TA100 mutant suşlarındaki kristal viyole hassasiyeti.....	58
Şekil 4.8. TA98 ve TA100 mutant suşları uvrB delesyon kontrolü.....	58
Şekil 4.9. TA98 ve TA100 mutant suşları R faktörü kontrolü.....	59
Şekil 4.10. TA98 ve TA100 mutant suşlarının pozitif kontrolü.....	59
Şekil 4.11. TA98 ve TA100 mutant suşlarının spontan kontrolü.....	60
Şekil 4.12. TA98 ve TA100 mutant suşlarının spontan kontrolü.....	60
Şekil 4.13. Bileşik 1, Bileşik 2 ve Bileşik 3'ün farklı konsantrasyonlarının <i>S. typhimurium</i> TA98 mutant suşu üzerindeki mutajenik etkileri.....	62
Şekil 4.14. Bileşik 1, Bileşik 2 ve Bileşik 3'ün farklı konsantrasyonlarının <i>S. typhimurium</i> TA100 mutant suşu üzerindeki mutajenik etkileri.....	62
Şekil 4.15. 4-Metilbenzo[<i>d</i>]tiyazol-2-amin türevi bileşiklerin <i>S. typhimurium</i> mutant suşu TA98 üzerindeki inhibisyon oranları.....	66
Şekil 4.16. 4-Metilbenzo[<i>d</i>]tiyazol-2-amin türevi bileşiklerin <i>S. typhimurium</i> mutant suşu TA100 üzerindeki inhibisyon oranları.....	66
Şekil 4.17. 4-Metilbenzo[<i>d</i>]tiyazol-2-amin türevlerinin ve BHT'nin absorbans değerleri.....	68
Şekil 4.18. 4-Metilbenzo[<i>d</i>]tiyazol-2-amin türevlerinin DPPH radikalini süpürücü etkisi.....	68

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2.1. Ames testinde kullanılan çeşitli mutant suşlar ve genetik özellikleri.....	23
Çizelge 3.1. Çalışmalarda kullanılan mutant suşlara ait genotipik özellikler.....	45
Çizelge 4.1. 4-metilbenzo[<i>d</i>]tiyazol-2-amin türevlerinin MİK değerleri (µg/mL).....	55
Çizelge 4.2. 4-metilbenzo[<i>d</i>]tiyazol-2-amin türevi bileşiklerin farklı konsantrasyonlarının TA98 ve TA100 suşu üzerindeki mutajenik etkileri.....	61
Çizelge 4.3. 4-metilbenzo[<i>d</i>]tiyazol-2-amin türevi bileşiklerin farklı konsantrasyonlarının TA98 ve TA100 mutant suşları üzerindeki antimutajenik etkileri.....	65



BÖLÜM 1

GİRİŞ

Kanser, sağlıklı hücrelerdeki genetik bilgilerin farklı sebepler ile değişime uğraması sonucunda hücrelerin bölünme kontrolünü kaybederek ve kontrolsüz olarak çoğalmasıyla ortaya çıkan bir hastalıktır. Kanser tedavisinde cerrahi ve radyoterapi yöntemlerine ek olarak tercih edilen bir başka etkili yol da kemoterapötik ajanların kullanımınıdır. Yeni kemoterapötik ajan geliştirme çalışmaları; kanserin görülme sıklığına, progresyon hızına ve ölüm oranlarına bağlı olarak devam etmektedir. Schiff bazlarının kemoterapik özelliklerinden dolayı bu bileşiklerin endüstriyel alanda ve ilaç sektöründe kullanımlarının olduğu bilinmektedir. Schiff bazlarının eser elementler ile yaptıkları şelatlar dikkat çekmektedir. Bu özellikleri dolayısıyla çok geniş farmakolojik aktiviteleri bulunmaktadır (Wenwu ve ark., 2000).

Organizmaların canlılığını sürdürebilmesinin yanında biyolojik olarak gelişebilmesi için gereken tüm bilgileri taşıyan en önemli yapı DNA'dır. Bundan dolayı DNA, antitümöral ilaçlar başta olmak üzere antifungal, antiviral ve diğer tür ilaçların geliştirilmesinde birincil hedef moleküldür. Doğal DNA bağlayıcı nükleazlara kıyasla, yapay nükleazların düşük molekül ağırlıklı ve daha az reaktif koşulları olduğu bulunmuştur (Sreedhara ve ark., 2000). Buna bağlı olarak, küçük moleküllerin DNA'ya bağlanması, ilaç-DNA etkileşimlerinin anlaşılmasında son derecede yararlıdır. DNA, elektron zengini bazlar, ana veya küçük oluklar da dahil olmak üzere geçiş metalleri için birçok potansiyel bağlanma alanı sunmaktadır (Reddy ve Shilpa, 2010).

Mutajen maddelerin DNA'nın yapısında meydana getirdiği hasarlar bu maddelerin kanser ile doğrudan ilişkilendirilmesine neden olmaktadır. Yine de mutajenlerin kanser hastalığının dışında birçok kronik dejeneratif hastalıklara da neden oldukları bilinmektedir (Weisburger, 2001; Bhattacharya, 2011). İnsan sağlığının korunması için çevrede bulunan kanserojen ve mutajen maddelerin tespit edilerek etkilerinin değerlendirilmesi ve çalışmaların bu doğrultuda geliştirilmesi önemlidir (Debnath ve ark., 1991).

Bazı metal türevi antioksidanlar için yapılan araştırmalar, reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu oksidatif hasara bağlı çeşitli bozukluklar ve hastalıklarla ilgili serbest radikallerin temizlenmesinde yüksek kapasiteli bileşiklerin tanımlanması için çok dikkat ve çaba gerekli olduğunu ortaya koymuştur. Halen, sentetik antioksidanlar yaygın olarak kullanılmaktadır çünkü bunlar doğal antioksidanlara göre daha etkili ve daha ucuzdur.

Günümüzde bir dizi Schiff bazı metal kompleksi ROS etkili ortaya çıkan oksidatif hasarı temizlemek için antioksidan olarak araştırılmıştır. Bu nedenle, daha verimli sonuçlar almak için, farklı etki mekanizmalarına sahip yeni ilaçların keşfi, direnç oluşturan ajanların etkisini inhibe etmek veya ortadan kaldırmak için gerekli olacaktır. Bu yüzden birçok biyolojik aktiviteye sahip Schiff bazlarının yenilerinin sentezlenmesinin çeşitli kanser ve mikrobiyal hastalıklar üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

Bu bilgilerden yola çıkarak çalışmamızda, 4-metilbenzo[d]tiyazol-2-amin türevlerinin biyolojik aktivite ve DNA ile etkileşimlerinin araştırılması amaçlanmıştır.

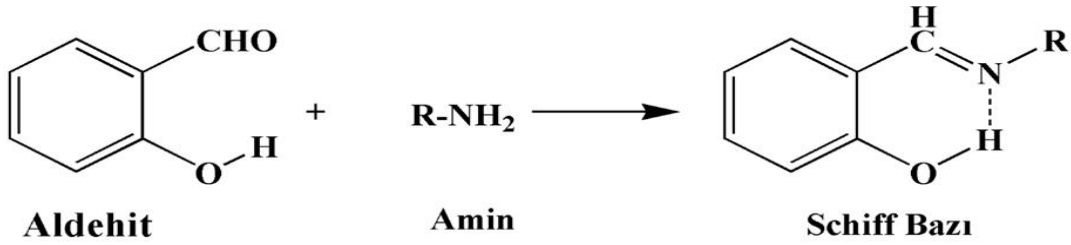


BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Schiff Bazları

1864 yılında Hugo Schiff, bir aldehidin bir amin ile reaksiyona sokulmasıyla Schiff bazının ilk sentezini bildirmiştir (March, 1992). "Schiff Bazları" (imin) adı ile bilinen azometin bileşikleridir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Schiff bazı sentezi

Schiff bazları; yapıları, esneklikleri ve ilave donör atomlara sahip olmalarından dolayı önemli bileşik türlerindedir. Koordinasyon özelliklerinin, yapılarındaki çeşitlilik ve sübstitüentlerinin konumları aracılığıyla değiştirilebilir özellikte olmasından dolayı Schiff bazlarının geçiş metali kompleksleri yaygın bir şekilde çalışılmaktadır. Bu komplekslerin merkezindeki metal, aktif kısım olmasıyla katalizör olarak işlev görür ve kimyasal reaksiyonları başarılı bir şekilde katalizleyebilmektedir. Bu yüzden Schiff bazlarının geçiş metalleriyle olan kompleksleri, sentezlerinin ucuz ve kolay olmasıyla kimyasal ve termal kararlılıklarından dolayı çeşitli organik yapıların katalizinde kullanılmaktadırlar (Abbo ve ark., 2005).

İnhibitör görevi de gören Schiff bazlarının, benzen halkasının üzerindeki fonksiyonel gruplara özgü bir şekilde inhibisyon etkilerinin değiştiği bulunmuştur (Agrawal ve ark., 2004). Bu inhibisyon etkisinin, Schiff bazlarının sentezinde kullanılan aldehit ve aminlerden kaynaklı olduğu belirlenmiş, molekülde herhangi bir amin grubunun varlığında inhibisyon etkinliğinin arttığı gözlemlenmiştir (Desai ve ark., 1986).

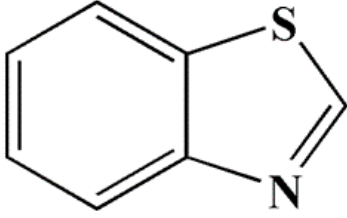
Schiff bazlarının, salisilaldehitin çok dişli ligandları kullanılarak sentezlenen geçiş metalleri ile kararlı ve kompleks bileşikler oluşturmasından faydalanılarak, iyona özgü elektrotların yapımında da kullanımı bulunmaktadır (Abbaspour ve ark., 2002). Schiff bazlarının antikanser aktivitesine sahip olduğunun bildirilmesinden sonra tıp dünyasındaki önemleri artarak kanserle mücadele etmede reaktif olarak kullanılmaları araştırılmaktadır

(Wenwu ve ark., 2000).

Schiff bazlarının yapılarında bulunan gruplardan elde edilen metal komplekslerinin renkli maddeler olmasından dolayı bu bileşiklerin boya sanayiinde özellikle de tekstil sektöründe pigment madde olarak kullanımı bulunmaktadır (Zeishen ve ark., 1990). Bunun yanısıra polimer teknolojisi ile ilaç sanayi başta olmak üzere tıp ve daha birçok alanda Schiff bazlarından yararlanılmakta ve bu bileşiklerin yenilerinin sentezlenmesi oldukça önem kazanmaktadır (Dığrak ve ark., 1997).

2.2. Benzotiyazoller

Benzotiyazoller, benzen ve tiyazol halkalarının biraraya gelmesi ile oluşan heterosiklik ve aromatik bileşiklerdendir. Bu özelliklerinden dolayı da geniş biyolojik aktiviteleri bulunmaktadır. Kapalı formülü C_7H_5NS olan benzotiyazol bileşiklerinin halka sistemleri DNA'daki azotlu bazlarla benzerdir (Şekil 2.2). Bu yüzden bu bileşikler baz analogu gibi davranarak herhangi bir mutasyon oluşumuna sebep olabilirler.



Şekil 2.2. Benzotiyazol bileşiğinin yapısı

Benzotiyazoller, organizmada bulunan biyomoleküller ile kolaylıkla etkileşebilmesinden dolayı oldukça önemli halka sistemleridir. Benzotiyazol halka sistemleri, antifungal ve antiviral birçok ilaçta olduğu gibi fizyolojik özellikleri bakımından oldukça aktif bileşiklerin iskelet yapılarında da bulunmaktadır (Küçükbay ve Durmaz, 1997; Sato ve ark., 2000).

Hücreler, metabolik faaliyetlerini gerçekleştirebilmek için halkasal yapılı heterosiklik yapıdaki bu bileşiklere ihtiyaç duyarlar. Kemoterapi, kanser hastalığı tedavilerinde uygulanan ve kullanılan ilaca ait etki mekanizmasını anlaşılır kıldığı için önemini korumaktadır. Kemoterapide kullanımı olan ilaçların etken maddeleri değerlendirildiğinde, önemli biyolojik aktivitelerinden dolayı benzotiyazol türevlerinde bu ilaçlar arasında yer aldığı görülmektedir (Sheng ve ark., 2007).

İlaç öncül maddeleri, hastalıkları tedavi etmek amacıyla sentetik olarak üretilmekte ve sentez aşamasında vücutta etkilemesi istenilen bölgenin hedef moleküler yapısının (reseptör, enzim vb.) veya mekanizmasının moleküler özellikleri de göz önünde bulundurularak ilaç tasarımına ve etkisi arasındaki ilişkiye (yapı-etki ilişkisi) önem verilmektedir. Tiyazol türevi bileşikler ilaç öncülü olarak araştırılması oldukça fazla yapılan bileşiklerdir (Kayaalp, 2005; Tomi ve ark., 2015).

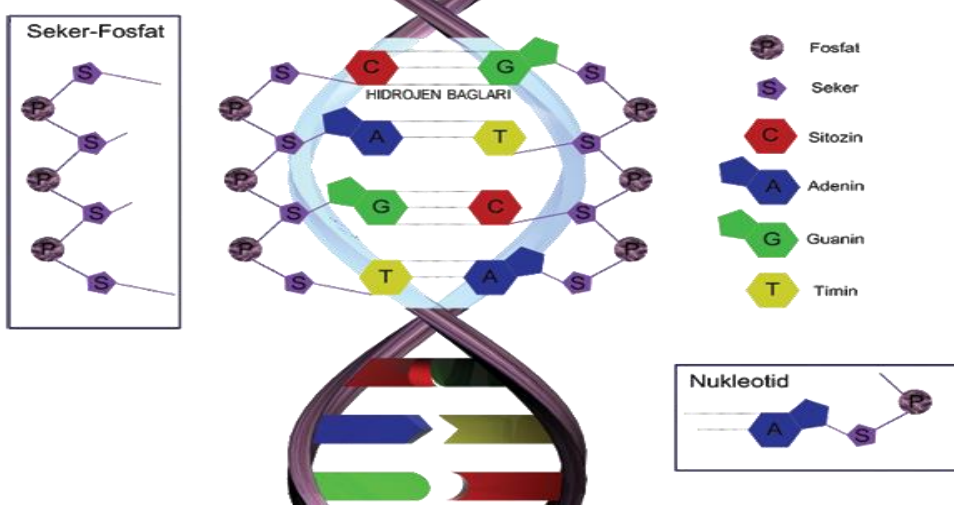
2.3. Deoksiribonükleik Asit (DNA)

DNA molekülü ilk olarak 19. yüzyılın sonunda A. F. Miescwer tarafından gözlemlenmiştir (Portugal ve Cohen, 1977). 1953'te Watson ve Crick, DNA'nın yapısını tanımlamak için çalışmalar yapmışlardır. DNA nükleotid zincirlerinden oluşan oldukça büyük bir polimerdir. İçeriğinde azotlu organik baz (nükleobaz), pentoz şeker (2'-deoksiriboz) ve fosfat grubu bulunmaktadır (Şekil 2.3).



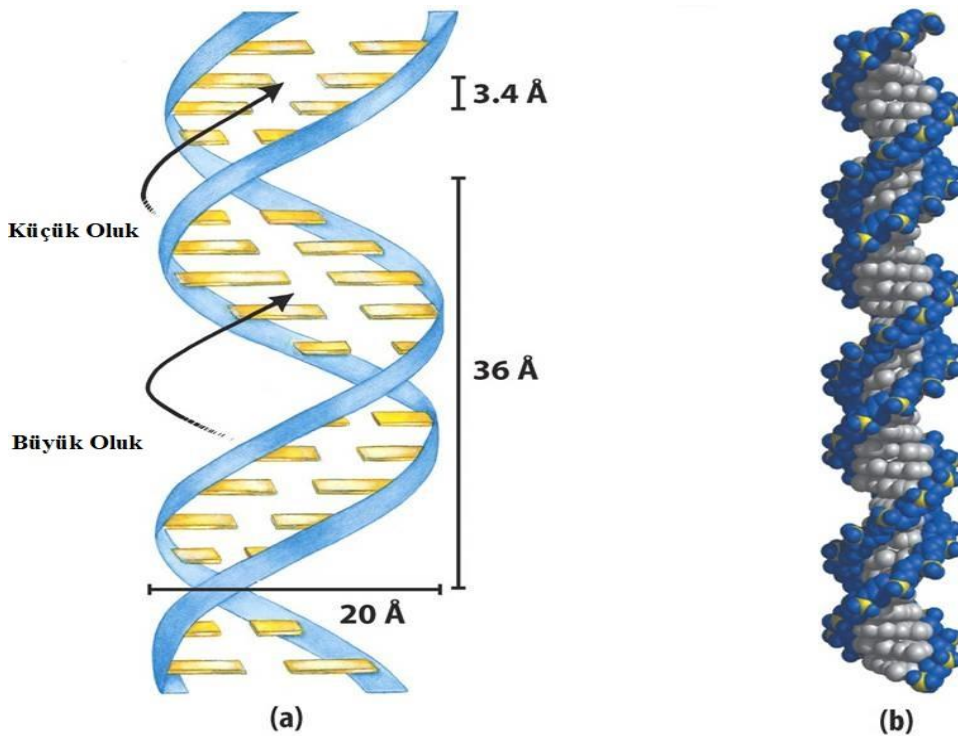
Şekil 2.3. DNA'nın yapısını oluşturan nükleotid

Watson ve Crick, 1950'lerde yaptıkları X-ray çalışmalarıyla DNA'nın bugünkü 3 boyutlu şeklini ortaya koymuşlardır ve DNA'nın antiparalel iki zincirinin birbirlerine, zincirde bulunan azotlu bazlar arasındaki hidrojen bağları sayesinde bağlandıklarını bildirmişlerdir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. DNA' daki bağların oluşumu

DNA birbirlerindeki bazlarla bağ kuran iki ayrı iplikten meydana gelmektedir. Baz çiftleri ikili ve üçlü hidrojen bağları ile birbirlerine bağlanır. Pürin bazı A (adenin) ve pirimidin bazı T (timin) arasında ikili, pirimidin bazı C (sitozin) ve pürin bazı G (guanin) arasında üçlü hidrojen bağı bulunmaktadır (Şekil 2.5.a,b). Bu etkileşim DNA'nın çift sarmallı yapısındaki kararlılığı korumaktaki en önemli etkileşimlerdenidir (Ponnuswamy ve Gromiha, 1994).



Şekil 2.5. a. DNA sarmalında oluşan küçük ve büyük oluklar b. DNA'nın sarmal yapısı (http://80.251.40.59/veterinary.ankara.edu.tr/fidanci/Ders_Notlari/Nukleik_Asitler.html)

Fizyolojik sistemleri veya patolojik durumları düzeltmek ve incelemek amacıyla kullanılan veya kullanılması önerilen birçok ilacın hedef molekülü DNA'dır. Tüm organizmalar yaşadıkları çevreden kaynaklanan hasarlara karşı hücrelerin korunması için DNA onarım mekanizmasına sahiptir. DNA onarım mekanizmalarının işlemleri sırasında herhangi bir anormallik oluştuğu takdirde kanser hastalığı ortaya çıkabilme olasılığı yükselmektedir (Alberts ve ark., 2002).

2.4. Mutasyonlar

Bir canlının genomunda (DNA ve RNA dizilimlerinde) meydana gelen kalıcı değişimler mutasyon olarak adlandırılmaktadır. Mutasyonu oluşturan organizmalar ise mutant olarak isimlendirilirler. Mutasyonlar hem somatik hücrelerde hem de germ hücrelerinde meydana gelebilir. Mutasyonlar oluşum şekilleri bakımından iki grupta incelenir. Bunlar gen mutasyonları ve kromozom mutasyonlarıdır.

2.4.1. Gen Mutasyonları

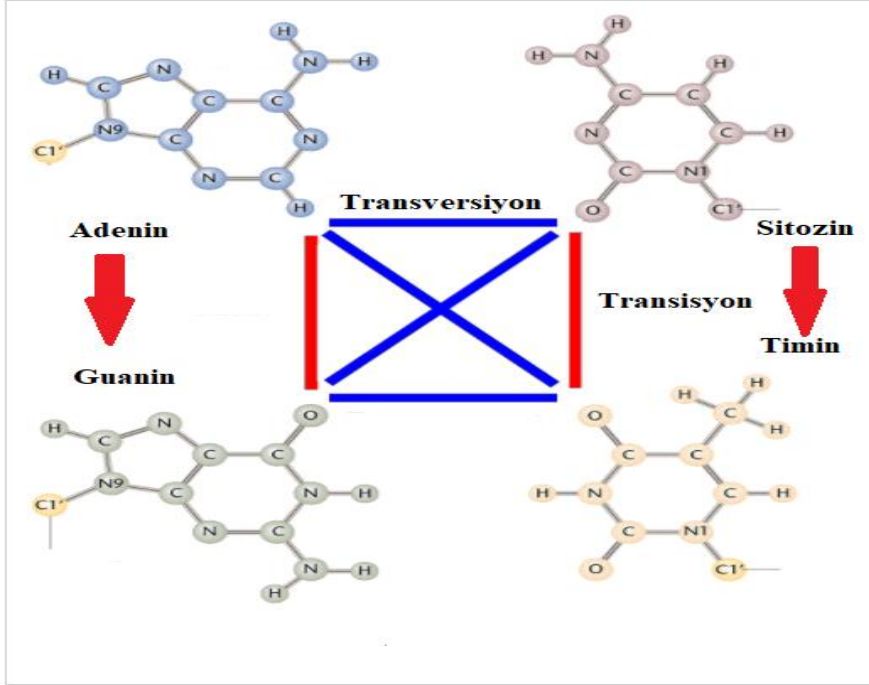
Gen içerisindeki bir bölgede bir veya birden fazla nükleotidin ilavesi veya eksilmesi ile ya da herhangi bir nükleotid başka bir nükleotid ile yer değiştirdiğinde ortaya çıkmaktadır (Kimko ve ark., 1999). Baz değişimi ve çerçeve kayması mutasyonları olarak ikiye ayrılmaktadır.

2.4.1.1. Baz Değişimi Mutasyonu

DNA'daki bir baz başka bir baz ile yer değiştirdiğinde oluşan ve transisyon ile transversiyon olarak ikiye ayrılan mutasyondur (Şekil 2.6).

Transisyonunda, pürin bazlarının pürin bazları ile yer değiştirmesiyle veya pirimidin bazlarının pirimidin bazları arasındaki yer değişiklikleri mutasyonu meydana getirir.

Transversiyon tipi mutasyonda ise, pürin-pirimidin bazları arasındaki yer değişikliği ile baz değişimi mutasyonu söz konusu olur.

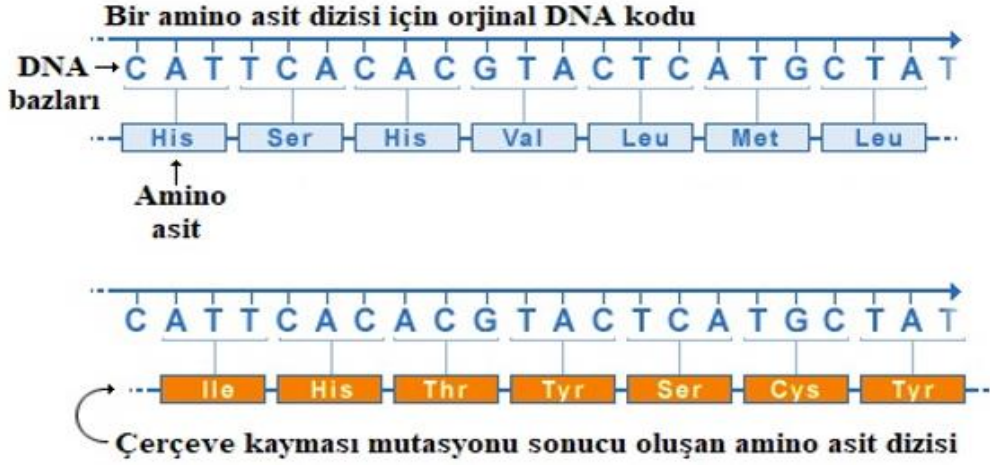


Şekil 2.6. Baz değışimi mutasyonları

2.4.1.2. Çerçeve Kayması Mutasyonu

DNA dizisindeki bir nükleotidin fazla ya da eksik olması, DNA’da oluşan üçlü kodun değışmesine sebep olur. Oluşan bu değışime çerçeve kayması mutasyonu denir (Şekil 2.7). İnsersiyon ve delesyon tipi mutasyonlar olarak gözlenmektedir.

DNA dizisine ekstra bir veya daha fazla nükleotid eklenirse insersiyon tipi mutasyon oluşmaktadır. DNA’daki bazların DNA zincirinden uzaklaşmasıyla; baz ve deoksiriboz şekeri arasındaki bağ engellenir ve bu engelleme ile bazların zincirle olan bağlantısı da kopmaktadır. Bağlantının koptuğu bu bölgeye de abazik bölge adı verilir. Oluşan bu abazik bölgeye dNTP havuzunda bulunan bazlardan uygun olanı gelerek hasar onarımı gerçekleşmektedir. Ancak onarılmadığında hasarın kalıcı olması ile o noktada delesyon tipi mutasyon meydana gelmektedir.



Şekil 2.7. Çerçeve kayması mutasyonu

(<https://fromthelabs.bcm.edu/2015/05/15/frame-shift-defines-molecular-diagnosis-in-rare-disease/>)

2.4.2. Kromozom Mutasyonları

2.4.2.1. Kromozomlarda Sayı Değişimleri

Kromozomların bölünme esnasında ayrılmayarak, bir veya birden fazla haploid ya da diploid kromozom takımının ilavesi ya da kaybolması ile kromozom sayısı bakımından farklılıkların ortaya çıkmasıyla oluşan mutasyonlardır. Bu mutasyon çeşidi de Anöploidi (Aneuploidi) ve Öploidi (Euploidi) olarak iki gruba ayrılmaktadır.

Anöploidi (Aneuploidi); diploid bir organizmada bulunan kromozom çiftlerinden birinin veya daha fazlasının sayısındaki değişim ile meydana gelen mutasyon çeşididir.

Bu mutasyon tipide kendi içinde 4'e ayrılır. Bunlar; organizmanın diploit kromozom takımındaki 1 kromozomun eksikliği ile ortaya çıkan ve $2n-1$ şeklinde ifade edilen Monosomi, kromozomlardan birinin iki kopya yerine üç kopya olarak bulunarak $2n+1$ şeklinde ifade edilmesiyle mutasyona sebep olan Trizomi, diploit kromozom takımının dışında fazladan bir kromozomun kendi homolog kromozomu ile birlikte bulunduğu durumda ortaya çıkan $2n+2$ şeklinde gösterilen Tetrasomi ve kromozom takımında homologu ile birlikte bir kromozomun eksikliği ile meydana gelen $2n-2$ olarak ifade edilen Nullisomidir.

Öploidi (Euploidi); organizmadaki kromozom sayısının takımlar halinde değişimidir. Monoploidi ve Poliploidi olarak ikiye ayrılır.

Tek bir kromozom setinin varlığı Monoploidi (n) olarak, en az üç ve daha fazla kromozom gruplarının ($3n$, $4n$, $5n$ gibi) varlığında ortaya çıkan Poliploidi olarak adlandırılmaktadır.

2.4.2.2. Kromozomlarda Yapı Değişimleri

Genetik materyalde herhangi bir yer değiştirme veya kayıp söz konusu olduğunda bunun sonucunda oluşan bir veya birden fazla kromozom kırıklarıyla meydana gelen mutasyondur. Kromozom yapısında oluşan bu değişiklikler 4 şekilde açıklanmaktadır.

Delesyon; kromozomun bir parçasının kopması ve kaybolması,

İnversiyon; kromozomdan kopan parçanın 180°'lik açıyla dönerek aynı kromozoma tekrar bağlanması,

Duplikasyon; kromozomda bulunan bir segmentin tekrarlanması,

Translokasyon; homolog olmayan kromozomlar arasındaki segmentlerin yer değiştirmesi olarak adlandırılmaktadır.

Mutasyon genetik materyallerin doğrudan etkilenmesiyle ortaya çıkar. Kansere ise karmaşık ve çok basamaklı biyolojik olayların sonucunda ortaya çıkmaktadır (Bağcı, 1985). Mutasyonların birikimi vücutta yaşlanmaya ve hücre zedelenmesi kaynaklı çeşitli rahatsızlıklar ile çoğu kanser türlerinin gelişiminde de oldukça etkilidir (Migliore ve Coppede, 2002). Günümüzde teknoloji ilerlemiş olmasına rağmen kanser hastalığı halen yaygın bir hastalık olarak görülmekte ve hastalığın ortadan kaldırılamaması kansere sebep olan maddelerin araştırılmasının gerekliliğini ortaya koymaktadır.

DNA'nın ilaç ile etkileşimlerinin çalışılmasının nedeni sadece çalışma mekanizmasının anlaşılması için gerekli değildir. Yeni ilaçların geliştirilebilmesi içinde bu mekanizmaları anlamak çok önemlidir.

2.5. DNA Kesme

DNA kesme prosesleri, tüm canlılar için önem taşıyan enzimatik reaksiyonlardır. Nükleazlar, DNA veya RNA'nın nükleotit alt birimleri arasındaki fosfat diester bağlarını parçalayabilen enzimler olarak tanımlanabilir (Sigman, 1986). Aynı zamanda kimyasal veya yapay bir nükleaz, oksidatif veya hidrolitik mekanizma yoluyla DNA veya RNA'yı geri döndürülemez şekilde parçalayan bir redoks-aktif organik molekül veya metal bileşiktir. Sağlıklı organizmalardaki oksidatif strese verilen hücre tepki, hasar gören nükleotidlerin çıkarılması ve orijinal DNA sarmalının restorasyonu, hücre döngüsünün durması ve apoptoz olmak üzere 3 şekilde gerçekleşir. DNA kimyasal nükleazların substratı olduğundan, bu bileşikler, özellikle DNA'ya zarar verir ve sonunda hücre ölümüne yol açar. Bu nükleazlar geri dönüşümsüz ve kanser hücresine spesifik olduğunda güçlü bir kanser önleyici madde olabilirler (Sigman, 1986).

DNA kesmenin başlaması için gerekli olan üç ana yol şu şekilde adlandırılabilir; (a) nükleobazların oksitlenmesi (Burrows ve Müller, 1998), (b) fosfat gruplarının hidrolizi (Sreedhara ve ark., 2000) ve (c) deoksiriboz biriminin oksidasyonu (Pogozelski ve Tullius, 1998).

Nükleobazların oksidasyonu DNA'nın kesilmesine doğrudan etki eder. Bazen de DNA'yı kesmek için; ısı kullanımı, baz eklenmesi veya enzim muamelesine ihtiyaç duyulur (Burrows, 1998). Fosfat diester gruplarının hidrolizide DNA'nın kesilmesine neden olur. Çünkü fosfat diesterleri oldukça kararlı fonksiyonel gruplardır (Westheimer, 1987). Bununla birlikte, bazı enzimler ve bazı sentetik model bileşiklerin DNA'yı bu tip hidrolitik yolla parçalayabileceği bilinmektedir (Sreedhara ve ark., 2000). Deoksiriboz ünitesinin oksidasyonu doğrudan DNA kırılmalarına neden olabilir. DNA kesme işlemleri, oksidatif ve hidrolitik olmak üzere iki ana yol ile oluşabilir.

2.5.1. Oksidatif Kesme

Foto nükleazlar, bir nükleik asit üreten zincir bölünmesi ile bir foton aracılığı ile uyarılan ve reaksiyona giren bileşiklerdir. Foto-nükleaz ajanları, nihai olarak nükleik asitin bölünmesini üreten bir dizi kimyasal reaksiyon başlatabilen bileşiklerdir. Genellikle DNA kesme işlemleri oksidatifdir (bazıları anaerobik koşullarda gerçekleşir) ve modüle edilebilir. Metal kaynaklı premutajenik DNA lezyonları, tek veya çift zincir kırıkları, şeker halkalarının veya bazların oksidatif bozunumuna neden olabilir. Bu kopmalar, ara zincir hasarları, DNA çapraz bağlarındaki hasarlar veya metallerin proteinlerle kompleks oluşturmasından kaynaklanabilir. DNA'da oksidatif kesme meydana gelirse, bir deoksiriboz hidrojeninin soyutlanmasından bahsedilir (Pitie ve ark., 2000; Mazzer ve ark., 2007).

2.5.2. Hidrolitik Kesme

Fosfodiester bağının hidrolizi, DNA onarımı, eksizyon, transkripsiyon, integrasyon, metabolizma ve sinyal iletimini içeren en temel hücresel fonksiyonda kritik öneme sahiptir (Liu ve ark., 2004). DNA'daki tipik bir fosfodiester bağının 25 °C'deki yarılanma ömrünün, onlarca ile yüzlerce milyar yıl civarında olduğu tahmin edilmektedir. Bununla birlikte, fosfodiester doğal metal aracılı enzimler tarafından hidrolizi birkaç saniye içinde gerçekleştirilir. Sonuç olarak, DNA'yı etkili bir şekilde hidrolize etmek için bu gibi reaktif katalizörlerin geliştirilmesi gereklidir. DNA hidrolizinde ana engel, DNA omurgasında nükleofillerin saldırısını engelleyen büyük negatif yüküdür ve bu nedenle yükü nötrleştirme,

doğal nükleaz molekülleri tarafından kullanılan birkaç mekanizmadan biridir. Bununla birlikte moleküler biyoloji, biyoteknoloji ve tıpta küçük metal iyon komplekslerinin aracılık ettiği DNA'nın hidrolitik olarak kesilmesi önem kazanmaktadır (Tan ve ark., 2009).

Bu nedenle, hidrolitik koşullar altında DNA'yı kesmek için uygun metal kompleksleri tasarlamak büyük önem taşımaktadır. Metal kompleksleri DNA'nın hidrolitik olarak kesilmesinde, ne katkı maddeleri ne de nkleozidleri bağlayan fosfodiester bağlarını hedefleyen bir mekanik yol izinden sonra foto-kaynaklı ışınlama gerektirmez. Bu, moleküler biyoloji ve biyoteknoloji alanlarında kullanımlarını kolaylaştırır. Sentetik hidrolazlar olarak kullanılan çeşitli geçiş metali kompleksleri arasında bakır (II) ve inko (II) kompleksleri, bu metal iyonlarının güçlü Lewis asidi özelliklerinden dolayı DNA'nın hidrolizi için daha uygundur. Yapay nükleazlar olarak geliştirilen polipiridaminden türetilen ligandları içeren geçiş metal komplekslerinin bir redoks ajanının yokluğunda veya varlığında çok yönlü DNA kesme özellikleri sergilediği bildirilmiştir (Li ve ark., 2005).

2.6. DNA Bağlanma

DNA bağlanma modları terapötik uygulamalar için yeni bir araştırma alanı sağlar. DNA bağlayıcı ajanlar arasındaki etkileşimler şu şekilde sınıflandırılabilir (Zou ve ark., 2001).

- Kovalent bağlanma,
- Kovalent olmayan bağlanma;
 - İnterkalatif etkileşim,
 - Elektrostatik etkileşim,
 - Oluğa bağlanma.

2.6.1. Kovalent Bağlanma

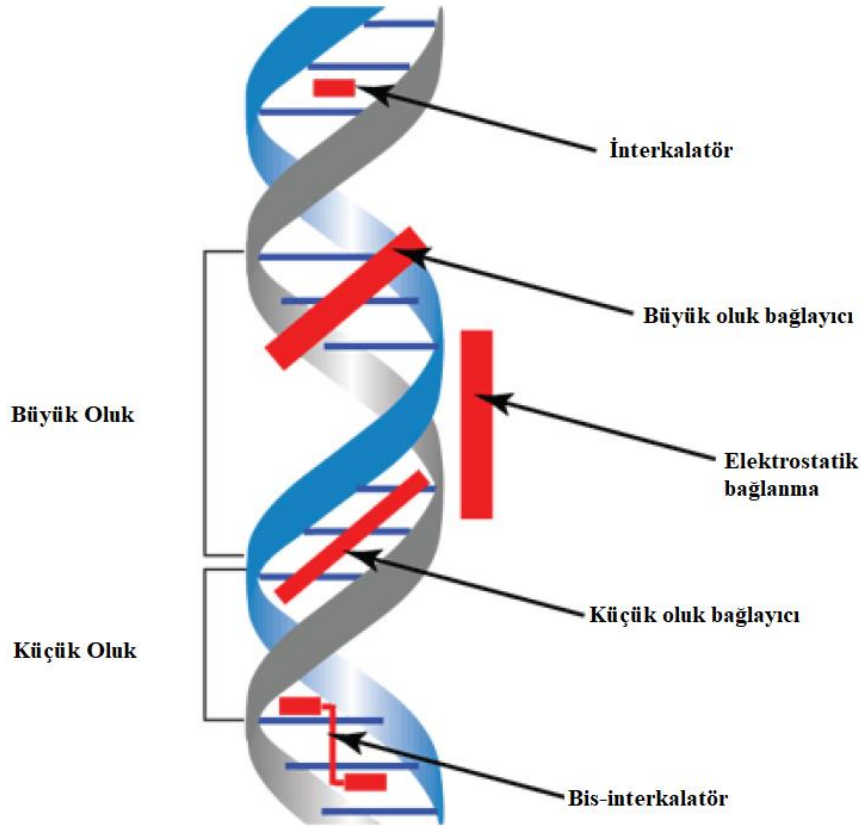
Bu bağlanma şekli DNA'daki bazlar ve ilaç olarak kullanımı olacağı düşünülen maddelerin bazlarında bulunan azot atomları arasında meydana gelir. Kovalent olarak DNA'ya bağlanan ilaçlar alkilleyici ajanlar olarak da adlandırılır. DNA ve ilacın birbirlerine kovalent olarak bağlanmaları geri dönüştürülemez bir süreçtir. Bu süreç DNA proseslerinin kalıcı olarak inhibe olmasına neden olarak hücrenin ölümüyle sonuşlanır.

Kovalent bağlanan ilaçların önemli bir avantajları da yüksek bağlanma gücüne sahip olmalarıdır (Liu ve ark., 2011).

2.6.2. Kovalent Olmayan Bağlanma

Bu bağlanma şekli geri döndürülebilir ve kovalent bağlanma şeklinde olan sitotoksik etkiye göre, bu bağlanma da sitotoksik etki daha düşüktür. İlaçların metabolizmaları ve doza bağlı olarak toksik yan etkileri göz önünde bulundurulduğunda non-kovalent bağlanma şekli, ilaç ve DNA etki çalışmalarında tercih edilen bir bağlanma şeklidir. Kovalent olmayan bağlanma ile DNA'yla etkileşime giren maddeler DNA'nın konformasyonunda ve DNA sarmalının geriliminde değişikliğe sebep olabilir. Bu olaylar sonucunda da gen anlatımı önemli ölçüde etkilenebilir (Silvestri ve Brodbelt, 2012).

Moleküllerin DNA'ya non-kovalent bir şekilde bağlanmaları üç şekilde gerçekleşir. Bunlar interkalasyon yoluyla bağlanma, elektrostatik etkileşimler ve oluğa bağlanmadır (Şekil 2.8).

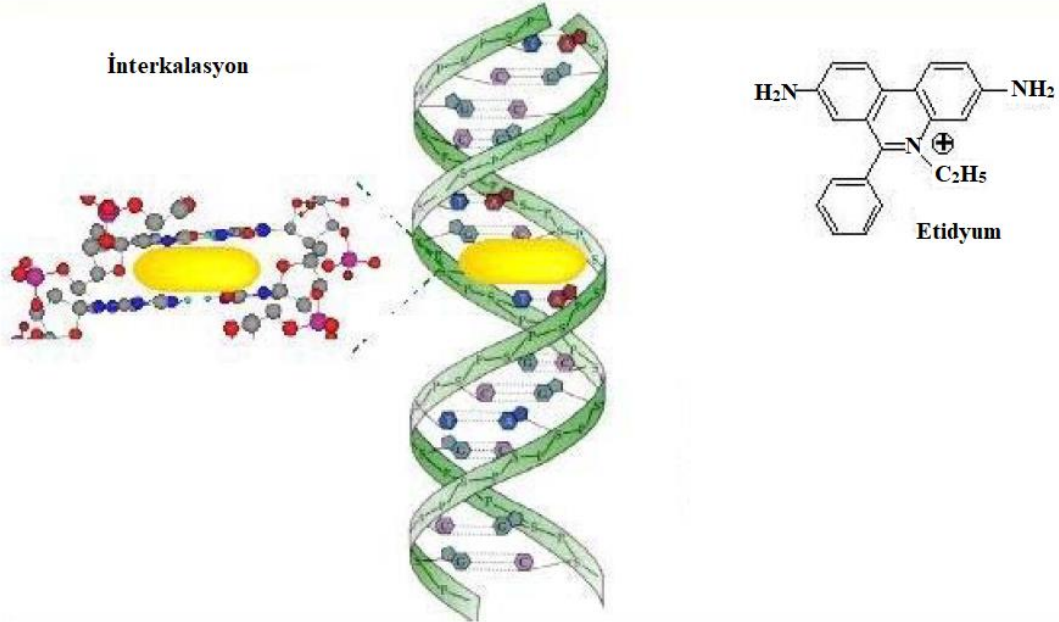


Şekil 2.8. DNA'daki farklı bağlanma şekillerinin şematik gösterimi (Jayaseelan, 2011)

2.6.2.1. İnterkalasyon Yoluyla Bağlanma

1960'ların başlarında Lerman, düzlemsel aromatik katyonlarla DNA'nın etkileşimleri üzerine bir takım çalışmalara imza atmıştır. Düzlemsel aromatik moleküllerin DNA'ya dik bir şekilde yerleşerek kovalent bağlar oluşturmadan bağlanabileceğini açıklamıştır. Bu da, interkalasyon yoluyla bağlanma olarak adlandırılır (Wang, 1992; Martinez ve Chacon-Garcia, 2005).

İnterkalasyon yoluyla bağlanma sürecinde, aromatik bir bileşiğin bazlar arası boşluğa uygun hale gelmesi için şeker-fosfat bağlarına ait eğilme açılarında değişiklikler meydana gelir. DNA omurgasındaki bu eğilim bağların rotasyonunun bir sonucu olarak interkalasyon bölgesinin oluşumu, interkalasyon bölgesindeki helikal dönmenin azalması ve çift sarmalın uzaması ile baz çiftlerinin ayrılmasına neden olur (Branca ve ark., 2001). İnterkalasyonun olabilmesi için genellikle molekül ve DNA'nın aromatik heterosiklik bazları arasında π - π etkileşimi olması gerekir (Sirajuddin ve ark., 2013). Bu tür bağlayıcı reaktifler içinde etidyum en iyi örneklerden biridir (Şekil 2.9).

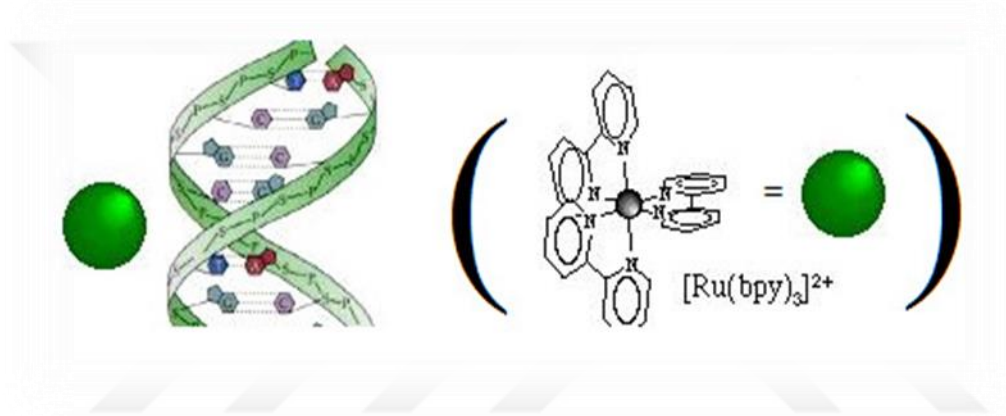


Şekil 2.9. Etidyumun interkalasyon ile baz çiftleri arasında bağlanması (Jayaseelan, 2011)

2.6.2.2. Elektrostatik Etkileşimler

Pozitif yüklü metal iyonları yüksek elektron yoğunluğu veya DNA'nın negatif yüklü kalıntıları olarak karakterize edilmiş bölgeleri ile doğrudan ya da dolaylı olarak etkileşirler. Baskın metal bağlanma modu guaninin N7 ve O6 ve adeninin N7 ve N1 ve de

pirimidinlerin N3 atomları üzerinden gerçekleşir. Metal iyonları ya kısmi dehidratize ya da tamamen hidratize olarak DNA'ya sıkıca bağlanabilirler ve bu bağlanma doğrudan ya da dolaylı olabilir. Metal iyonları vücutta ya bağlı ya da serbest halde bulunurlar. Geçiş metalleri genellikle bazlarla doğrudan etkileşirken fosfat gruplarına dolaylı olarak bağlanır. Geçiş metallerinin çoğu, pürin bazlarının N7 ile veya pirimidin bazlarının N3 atomu ile kimyasal olarak reaksiyona girerler ve çift sarmalı bozarlar. Geçiş metallerinin G-C bölgelerine bağlanmaları, H₂O₂ kaynaklı oksidasyonun sebep olduğu radikal oluşumu üzerinden DNA'da hasara sebep olur (Anastassopoulou, 2003). Şekil 2.10'da DNA'ya elektrostatik olarak bağlanma örneği verilmiştir.



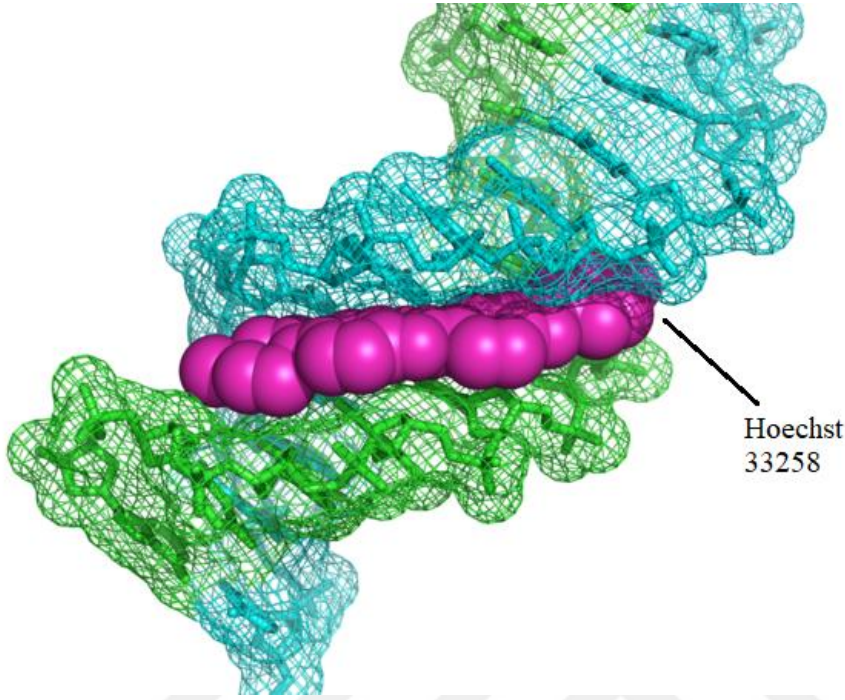
Şekil 2.10. DNA'ya Elektrostatik olarak bağlanma (Sirajuddin ve ark., 2013).

2.6.2.3. Oluklara Bağlanma

Oluk bağlayıcılar genel olarak AT (adenin, timin) seçiciliği gösteren moleküller olarak sınıflandırılırlar. Proteinler birincil olarak büyük oluk etkileşimlerini tercih ederler. Bir diğer etkileşim şekli ise küçük oluk bağlayıcılar ile DNA arasında gerçekleşir. Küçük oluk bağlayıcı maddeler genellikle DNA'nın oluk kısmını tamamlayan bir molekül yapısındadırlar. DNA'daki küçük oluk bağlayıcısı için antropotik netropsin iyi bilinen bir örnektir. Aynı şekilde distamisin A, CC-1065 ve Hoechst 33258'de küçük oluğa bağlanan bileşiklerdendir (Palchaudhuri ve Hergenrother, 2007). Bu bileşikler antibakteriyel, antifungal ve antiviral özelliktedirler. Bu bileşiklerin biyolojik etkisi transkripsiyon ve replikasyonu engellemeleri olarak bilinmektedir.

Hoechst 33258 ve 33342 adıyla bilinen benzimidazol grubu içeren bileşikler en çok çalışılan DNA bağlayıcı bileşiklerdendir (Şekil 2.11) (David-Cordonnier ve ark., 2007). İnterkalasyon yoluyla DNA'ya bağlanan yapılar DNA yapısında değişikliklere neden

olurken oluk bağlayıcılar DNA'ya özgü yapıda belirgin bir değişime neden olmazlar (Blacburn ve Gait, 1996).



Şekil 2.11. DNA'nın küçük oluğuna bağlanmış Hoechst 33258
(http://www.wikiwand.com/en/Hoechst_stain)

2.7. Schiff Bazlarının DNA ile Etkileşimlerinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

2.7.1. Agaroz Jel Elektroforez Yöntemi

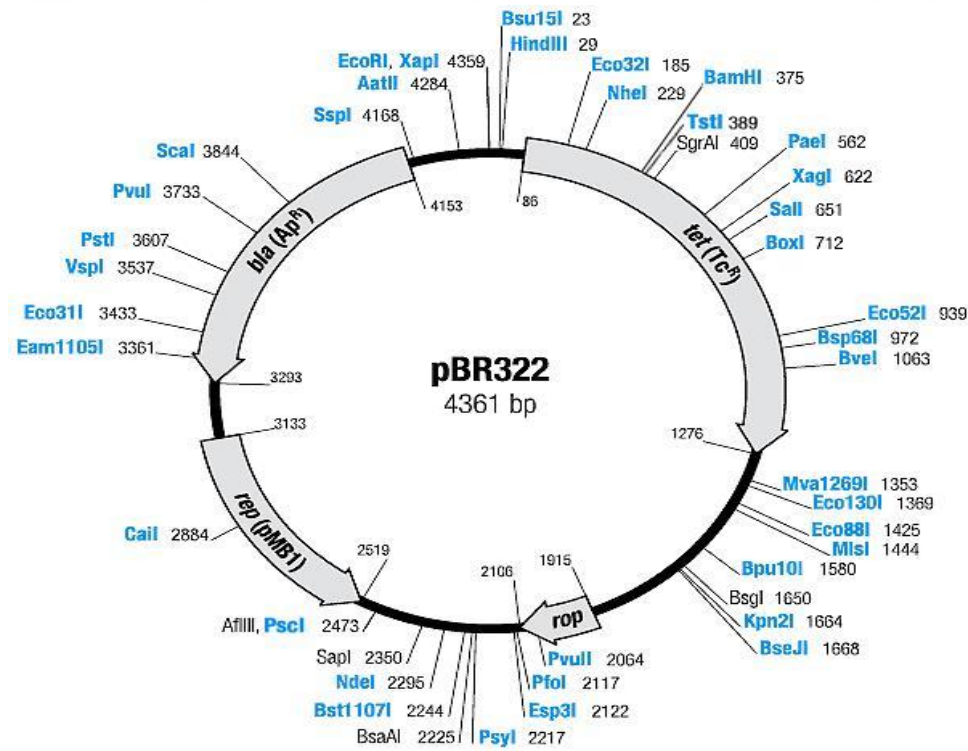
Bu yöntemde DNA'nın tanımlanabilmesi, sahip olduğu formun saptanması, büyüklüğü ve DNA yapısında meydana gelen değişikliklerden kaynaklı form değişimlerinin gözlemlenmesi esas alınır. Yapay nükleik asit parçalanma ajanları için üç tip kesme mekanizması vardır. Bunlar serbest radikal oluşumu, fosfodiester bağ hidrolizi ve eliminasyon mekanizmasıdır. Bu mekanizmalara özel 3 tip de bölünme ajanı bulunmaktadır. Bunlar; serbest radikal oluşturan ajanlar, hidrolitik kesme ajanları ve eliminasyon mekanizmasına özgü ajanlardır (Pogozelski ve Tullius, 1998).

Serbest radikal oluşturan ajanlar, nükleik asit üzerinde bulunan riboz, deoksiriboz veya bazlara saldırabilecek özelliklere sahip ajanlardır. Bu ajanlar reaksiyon sisteminde serbest radikaller oluşturarak ortamdaki hidrojen atomlarını uzaklaştırır ve bazların oksitlenmesine sebep olarak nükleik asit zincirlerini parçalarlar (Molenveld ve ark., 2000).

Hidrolik olarak kesme ajanları da nükleik asitleri fosfodiester bağ hidrolizi mekanizmasıyla parçalayan ajanlardır. Fosfor atomuna saldırabilmesi için bir nükleofil sağlar ve nükleofilik yer değiştirme reaksiyonunun gerçekleşmesi sayesinde DNA kesilmesine neden olabilir (Pogozelski ve Tullius, 1998).

Eliminasyon mekanizması ajanlarının ise, triptofanil tortusunun, stoklama etkileşimlerinin de yardımıyla bazlar ortamdaki uzaklaştırıldıktan sonra boş kalan alanı dolduracağı düşünülmektedir (Molenveld ve ark., 2000).

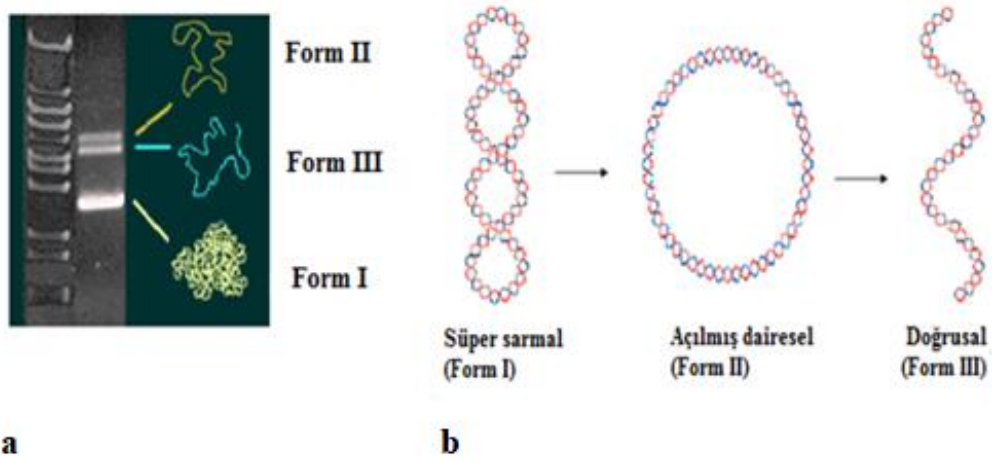
Agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılarak yapılan ilaç-DNA etkileşimleri çalışmalarında genellikle pBR322 plazmid DNA'sı kullanılır (Şekil 2.12). Bu plazmid DNA, çift sarmallı halkasal formda ve 4361 bp uzunluğundadır.



Şekil 2.12. pBR322 plazmid DNA (<http://www.bioxtal.com/mappbr.php>)

Plazmid DNA süper sarmal yapıdadır. DNA'nın bu formuna Form I, çift sarmalın bir iplikçiğinde kırık olursa Form II, sarmalda iki veya ikiden fazla sayıda kırık oluşur ise linear form olarak adlandırılan Form III oluşur (Şekil 2.13. b). DNA jel elektroforezde yürütüldükten sonra UV ışığı altında görüntüleme yapılırken Form I'in diğer formlara göre daha hızlı ilerlediği görülür. Bunun nedeni Form I'in yük yoğunluğunun diğer iki formun yük yoğunluğundan fazla, hacminin ise düşük olması ile açıklanabilir. Form I ve Form III'e oranla yoğunluğu daha düşük olan Form II jelde daha yavaş ilerler. Form II ile Form I

arasında Form III'ün ilerlediği gözlenir (Şekil 2.13. a).



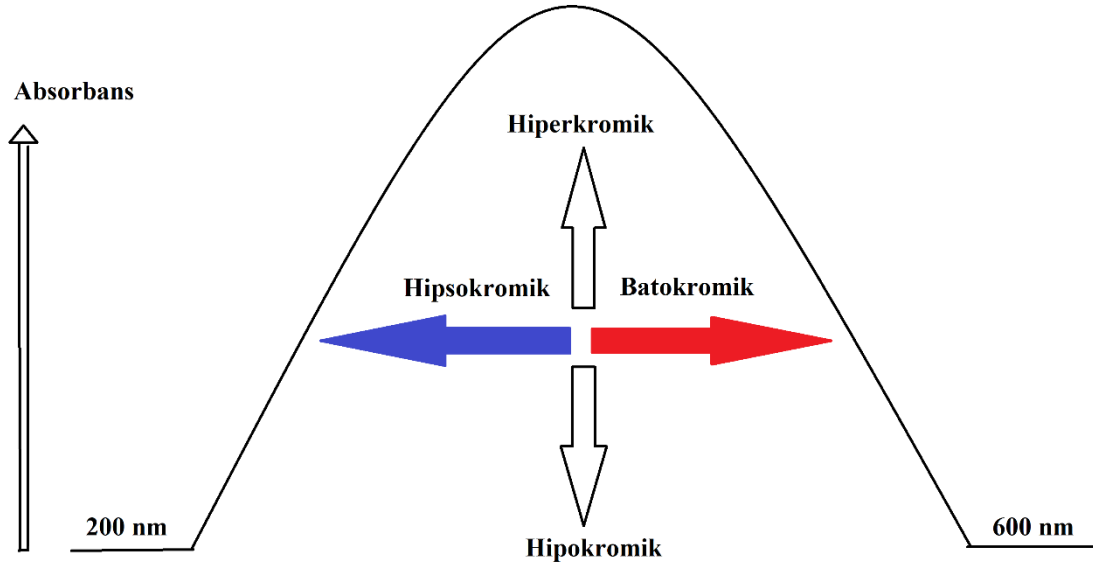
Şekil 2.13. a. Jel elektroforezinde plazmid DNA'nın üç formunun görünümü b. Plazmid DNA'nın üç formu

2.7.2. UV-Vis Absorpsiyon Yöntemi

DNA ve ilaç etkileşimlerinin belirlenmesi amacıyla yaygın bir şekilde kullanılan UV-Vis absorpsiyon yönteminde DNA'nın sahip olduğu π -elektron sistemleri ile ilacın sahip olduğu elektron sistemlerinin birbirleri ile etkileşerek DNA'nın ve ilacın UV-Vis absorpsiyonundaki meydana gelen değişiklikler belirlenir (Raman ve ark., 2014).

İlaç olduğu düşünülen bileşik miktarının sabit bir oranda tutularak üzerine düzenli bir şekilde artan miktarda DNA eklenmesiyle her bir DNA ekleme işleminden sonra ölçüm alınır. Ölçümler alındıktan sonra ilaca ait spektrumdaki absorpsiyon ve dalga boyundaki değişimler kaydedilerek DNA ve ilaç arasındaki etkileşim türü hakkında bilgi sahibi olunur (Raman ve ark., 2014).

DNA-ilaç etkileşiminde eğer absorpsiyonda herhangi bir artma gözlemlenirse bağlanmanın elektrostatik etkileşim aracılığıyla olduğu söylenir ve bu etkileşim şeklinde absorpsiyonun artması durumu hiperkromik etki olarak da adlandırılır. Ancak absorpsiyon şiddetinde azalma gözlemleniyor ise bağlanmanın interkalasyon yoluyla olduğu bu etkileşim şeklinin de hipokromik etki olduğu söylenir. DNA ve ilaç arasındaki etkileşimde düşük dalga boyuna doğru kayma gözlemlenir ise buna hipsokromik kayma (maviye kayma) eğer daha yüksek dalga boyuna kayma gözlemleniyorsa batokromik kayma (kırmızıya kayma) adı verilir (Zou ve ark., 2001) (Şekil 2.14).



Şekil 2.14. UV-Vis absorpsiyon titrasyonunda dalga boylarındaki kaymalar

2.8. Antimikrobiyal Aktivite

Bakterilerin veya mayaların yol açtığı bulaşıcı hastalıkların tedavisi, önemli ve zorlu bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir (Jones ve ark., 2008). Bu tür enfeksiyonlar genellikle bağışıklığı azalmış, neoplastik bozuklukları olan ve organ transplantasyonu gerçekleşmiş hastaları etkiler (Nathan, 2004). Bunun başlıca nedeni, medikal teknolojideki ilerlemelerin yavaşlığı ve insan immün yetmezlik virüsü pandemisinden dolayı bağışıklığı baskılanmış konak sayısının artmasıdır (Wills ve ark., 2000). Üstelik, ortak patojenler ve intrinsik birincil dirence sahip yeni patojen türleri, mevcut antimikrobiyal ajanlara karşı hızla sekonder direnç geliştirmektedir (White ve ark., 1998).

Hastalarda görülebilen enfeksiyonları önlemek veya tedavi etmek için kullanılan antibiyotikler milyonlarca insanın hayatını kurtarmış veya ömrünü uzatmaya yardımcı olmuştur. Antibiyotikler duyarlı bakterileri öldürür veya bastırır. Bununla birlikte bu baskılanma, bakterilerin antibiyotiğe karşı direnç geliştirmesine ve dolayısıyla antibiyotiğe dirençli bakterilerin gelişmesine izin verir. Ortaya çıkan antibiyotiğe dirençli mikroorganizmaların neden olduğu bulaşıcı hastalıklar ciddi bir sorundur ve dünya toplumuna ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Genel olarak hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakteri suşları önemli bir sağlık problemi oluşturmaktadır. Mevcut antimikrobiyal ajanlar için mikroorganizmaların artan direnci, yöntemleri belirlemek, ortaya çıkan enfeksiyonlarla mücadele etmek, büyümelerini engellemek ve mikroorganizmaları

öldürmek için yeni araştırma alanlarının ortaya çıkmasını gerektirmektedir (Lemire ve ark., 2013). Kimyasal maddelerin, mikroorganizmalar üzerindeki öldürücü ve üremelerini durdurucu etkileri dolayısıyla birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaları oldukça eskiye dayanmaktadır (Yılmaz, 2003).

Schiff bazlarının, antimikrobiyal aktivitelerinin olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Amin ve ark., 2010; Kumar ve ark., 2016). Bu çalışmalardan elde edilen bilgilere göre mikroorganizmaların duyarlılıklarının belirlenmesinde, sıkça kullanılan 2 yöntem vardır.

- **Disk Difüzyon Tekniği:** Uygulanmasının kolaylığı ve maliyetinin az olmasının yanı sıra, bir petri kabında birden fazla antibiyotiğe karşı mikroorganizmaların duyarlılığını belirleyerek, etkili ilacın saptanması esasına dayanan yöntemdir. Bu yüzden en fazla tercih edilen tekniklerden biridir.

- **Tüp Dilüsyon Tekniği:** Bu teknik antimikrobiyal ilaçların MİK (minimal inhibisyon konsantrasyonunu) ve MLK (minimal letal konsantrasyon) değerlerini belirlemek için sıkça kullanılır. MİK yönteminde mikropklardaki besiyeri içerisinde mikroorganizmaların, antibakteriyel ve antifungal ajanların seri dilüsyonları ile muamele edilmesi söz konusudur. Bu yöntemde, antimikrobiyal ajanların seri dilüsyonlarının bulunduğu mikropklardaki üremenin varlığı bulanıklığın oluşması ile belirlenir (Reller ve ark., 2009).

2.9. Mutajenik ve Antimutajenik Aktivite

2.9.1. Mutajenik Aktivite

Organizmaların hücrel bilgi yönetim merkezlerinin (DNA veya RNA) moleküler yapılarında meydana gelen değişikliklerle organizmanın mutasyona uğramasına sebep olan fiziksel veya kimyasal etmenler mutajen olarak adlandırılmaktadır. Mutajen olduğu düşünülen birçok maddenin kansere neden olabileceği yapılan çalışmalarla kanıtlanırsa da her mutajen karsinojen özelliğe sahip olmayabilir. Karsinojenitenin mutajenite ile ilişkisinin fazla olmasından dolayı karsinojen olduğu düşünülen maddelerin belirlenmesinde mutajenite esas alınmaktadır (Singer ve Grunberger, 2012).

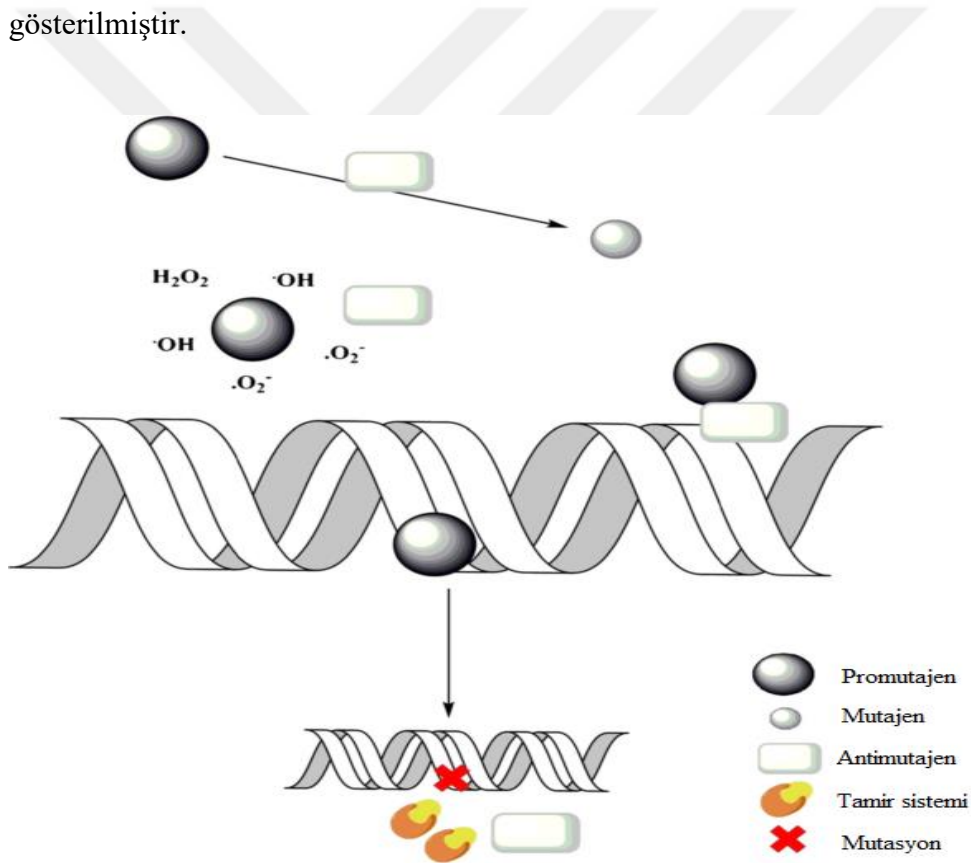
Mutajenlerin etki mekanizmalarının tam olarak aydınlatılması ile birlikte belirli çevresel mutajenlerin canlılar üzerinde kansere sebep olabileceği şüphesi ortaya çıkarılmıştır. Kimyasal maddelerin canlılar üzerindeki etkinliklerinin araştırılabilmesi için çeşitli test sistemleri geliştirilmiştir. Geliştirilen bu sistemler güvenli test sistemleridir. Bu güvenliği sağlayan basamaklar; kromozomlarda oluşan hataların belirlenmesi, revertant

mutasyon çalışmaları ve genotoksisite çalışmalarının *in vivo* olarak gerçekleştirilmesidir (Czyz ve ark., 2002).

2.9.2. Antimutajenik Aktivite

Mutajenik maddelerin etkilerini ya da bu maddelerin DNA ile olan etkileşimlerini engelleyen maddeler antimutajen olarak adlandırılmaktadır. Antimutajen bir madde, promutajen olarak adlandırılan bir bileşenin mutajene dönüşümünü engelleyerek, mutajeni inaktif hale getirebilir veya mutajenin DNA ile olan etkileşimini önleyebilmektedir. Bu özellikteki maddelere desmutajenler ismi verilir (Samejima ve ark., 1995).

Mutajenler, desmutajenler aracılığıyla tamamen veya kısmen inaktif hale getirilir (Bhattacharya, 2011). Şekil 2.15’de antimutajen etki mekanizmaları şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil. 2.15. Antimutajen etki mekanizmaları (Słoczyńska ve ark., 2014)

Özellikle mutasyon kaynaklı kanser vakalarının artışı ile antikarsinojen ve antimutajen maddelerin araştırılması artmıştır. Mutajen olan her ajan kanser hastalığına neden olmasa da, mutajenite ve karsinojenite arasındaki ilişkiden dolayı mutasyonu belirlemek ve onarımını yapmak kanser hastalığının araştırılmasında öncü çalışmalar arasına girmektedir. Her ne kadar mutajen ve kanserojen etkenlerin ortamdaki tamamen

uzaklaştırılması zor olsada antimutajenik ajanların yenilerinin sentezlenmesi ve tanımlanması araştırmacılar tarafından sıkça çalışılmaktadır (De Flora ve Ramel, 1988).

2.10. Ames Testi

Ames testi, *Salmonella typhimurium* bakterisine ait LT2 atasal suşunun *in vitro* mutasyonlar sonucunda oluşan ve üreme ortamında gelişemeyen hücre ya da hücre hatları olarak bilinen mutantlarının kullanıldığı bir test sistemidir (Ames ve ark., 1973).

Bu mutant suşlar çoğalmaları için gerekli olan histidin aminoasidini sentezleyemez ve buldukları ortamda histidin olmadığı sürece gelişmeleri ve koloni oluşturma yetenekleri yetersiz kalmaktadır. Bu testteki amaç da histidin sentezleme yeteneklerini kaybetmiş olan *Salmonella* suşlarının, dışarıdan herhangi bir kimyasal ajan aracılığıyla ikinci bir mutasyon oluşturularak histidin aminoasidini sentezleyebilme ve üreyebilme yeteneklerini geri kazanmalarını sağlamaktır. *Salmonella*/mikrozom testi olarak da bilinen Ames testi, ilaç hammaddesi olabileceği düşünülen ve sentezlenen bileşiklerin karsinojen, mutajen ve toksik etkilerinin olup olmadığını belirlemek amacıyla bakteriyel mutasyon testleri içerisindeki özelliklerinin ayrıntılı bir şekilde aydınlatılmış olması, uygulanmasının pratik olmasından dolayı araştırmacıların en çok tercih ettikleri test sistemidir (Maron ve Ames, 1983; Mortelmans ve Zeiger, 2000). Bu test sisteminde kullanılan çeşitli mutant suşlar ve genetik özellikleri Çizelge 2.1’de verilmiştir. Genellikle Ames test sisteminde bakteriyel mutajenlerin büyük çoğunluğunun belirlenmesinde önemli rol oynadıkları kabul gören TA98 ve TA100 mutant suşları kullanılmaktadır (Gatehouse ve ark., 1990).

Test suşlarında başka mutasyonlar da oluşturulmasıyla çeşitli kimyasallara karşı hassasiyetlerinin artırılması amaçlanmıştır (Mortelmans ve Zeiger, 2000). Bütün suşlar, hücre duvarlarında bulunan lipopolisakkarit tabakanın yapımından sorumlu olan genlerinde bir mutasyon (*rfa*) taşımaktadırlar. Bu yüzden hücre duvarları hasarlıdır. *Rfa* mutasyonuna sahip bakteriler büyük moleküllere karşı duyarlıdırlar. Bakteri duyarlılığından kaynaklı normalde hücre duvarından geçemeyecek kadar büyük moleküller hücreye girerek bakterinin ölmesine neden olmaktadır.

Bazı kimyasalların, metabolik aktiviteler sonucunda mutajenik özellik kazanmaları söz konusudur. Ames testinde kullanılan mutant suşların, memelilerdeki enzim sistemine sahip olmadıkları bilinmektedir. Bu yüzden test edilen maddenin memelilerdeki metabolizmasını taklit etmek amacıyla, sitokrom P-450 enzim sistemi ile beraber çeşitli metabolik enzimlerin karıştırılmasıyla elde edilen bir karışım kullanılır. Bu karışım kısaca S9 olarak adlandırılan ve genel olarak sıçan karaciğerinden elde edilerek dışarıdan

mikrozomal enzimleri bulunduran bir karışımdır. S9 karışımının eklenmesiyle, test edilen maddenin enzim aktivasyonunun sonucuna göre mutajenik bir etkisinin olup olmadığı hakkında bilgi sahibi olunmaktadır (Maron ve Ames, 1983; Mortelmans ve Zeiger, 2000).

Çizelge 2.1. Ames testinde kullanılan çeşitli mutant suşlar ve genetik özellikleri

Suşlar	Histidin Mutasyonu	LPS	Onarım	R Faktör	Bileşik Sınıfları
TA97	<i>hisD 6610</i>	<i>Rfa</i>	<i>ΔuvrB</i>	pKM101	Çerçeve Kayması
TA98	<i>hisD 3052</i>	<i>Rfa</i>	<i>ΔuvrB</i>	pKM101	Çerçeve kayması
TA100	<i>hisG 46</i>	<i>Rfa</i>	<i>ΔuvrB</i>	pKM101	Baz çifti değişimi
TA102	<i>hisG4 28</i> <i>pAQ1_his</i>	<i>Rfa</i>	<i>ΔuvrB</i>	Plazmid yok	Oksidanlar, X-Işınları, U.V., Mitomisin C, Bleomisin ve Kinonlar
TA1535	<i>hisG 46</i>	<i>Rfa</i>	<i>ΔuvrB</i>	Plazmid yok	Baz çifti değişimi
TA1537	<i>hisC 3076</i>	<i>Rfa</i>	<i>ΔuvrB</i>	Plazmid yok	Çerçeve kayması
TA1538	<i>hisD 3052</i>	<i>Rfa</i>	<i>ΔuvrB</i>	Plazmid yok	Çerçeve kayması

TA98 mutant suşunda bulunan *HisD3052* mutasyonu, histidinol dehidrogenaz enzimini kodlayan *HisD* geninde oluşan bir mutasyondur. Bu mutasyon türü çerçeve kayması mutasyonudur. Çerçeve kayması mutasyonu *HisD* geni içinde 8 kere tekrarlanmış olan G-C dizisi yakınlarında bulunan bir bazdaki delesyon ile meydana gelmektedir.

TA100 mutant suşundaki *HisG46* mutasyonu ise, histidin sentezinde kullanılacak olan ilk enzimi kodlamakla görevli olan *HisG* geninde oluşan bir mutasyondur. TA100 suşundaki baz çifti değişimlerini tetikleyen mutajenik kimyasalların sayesinde geri dönüşümlü

olabilmektedir.

Rfa mutasyonu, *S. typhimurium* mutant suşlarına ait hücre duvarında lipopolisakkarit tabakanın üretiminden sorumlu olan genlerde ortaya çıkan mutasyon tipidir. Bu mutasyon sayesinde normal şartlarda hücre içine giremeyecek kadar büyük moleküller hücre içine girebilirler.

UvrB mutasyonu ise *UvrB* geninde meydana gelen delesyonun bir sonucudur. *UvrB* geni, DNA tamir mekanizmasındaki ekzisyonda görev alan enzimi kodlamaktadır. Bu mutasyon *S. typhimurium*'un TA102 mutant suşu dışındaki tüm mutant suşlarında bulunmaktadır. *UvrB* mutasyonu birçok mutajeni ortaya çıkarmakta hassasiyetin artmasına sebep olmaktadır.

pKM101 plazmidi, kendisinin hücredeki varlığını belirlemek ve de hata yapma olasılığı olan DNA tamir mekanizmasını uyarmak için uygun bir işaretleyici bulundurmaktadır (Mortelmans ve Zeiger, 2000).

2.11. Antioksidan Savunma Sistemlerinde Schiff Bazlarının Yeri

Canlı hücrelerdeki karbonhidrat, yağ, protein ve DNA moleküllerinin oksidasyonunu engelleyen veya inhibe eden bileşikler antioksidan olarak adlandırılır (Ertürk, 2006). Antioksidanlar siyanobakterilerin fotosentez yapmaya başlamasıyla ortaya çıkan oksijen zehirlenmesine karşı geliştirilmiş savunma mekanizmalarıdır (Nollet ve Todra, 2010). Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu önlemekle beraber aynı zamanda varolan serbest radikalleri de süpürme özelliklerine sahiptirler. Bu şekilde hücrenin zarar görmesinin önüne geçerler. Yapısında genellikle fenolik fonksiyon taşıyan moleküller bu özelliklere sahip antioksidanlardır (Diri, 2006).

Reaktif oksijen türlerinden kaynaklanan hasarların önlenmesi için vücudumuzda çeşitli savunma mekanizmaları oluşmuştur. Antioksidanlar, okside olabilen bir substrat ile kıyaslandığında substrata göre daha düşük konsantrasyonlara sahip oldukları gözlenmektedir. Aynı zamanda substrat oksidasyonunda geciktirici özellikte ya da oksidasyonu azaltıcı herhangi bir substrat olarak tanımlanmaktadır (Donnelly, 1996).

Moleküllerin yükseltgenme ve indirgenme özelliklerini içeren kimyasal reaksiyonlar her hücrede gerçekleşmektedir. Bu reaksiyonların sonucunda dış orbitalinde bir veya birden fazla eşleşmemiş elektron bulunduran, kararsız atom veya atom grupları olarak isimlendirilen serbest radikaller oluşmaktadır. Bu serbest radikaller biyolojik olarak bazı organik substratlar ile reaksiyona girebilecek elektronlara sahip olan kararsız moleküllerdir. Serbest radikaller gibi radikal olmadığı halde canlı sistemlerde yüksek

konsantrasyonda bulduklarında hücre organellerine zarar veren reaktif moleküller de bulunmaktadır.

Fizyolojik şartlarda serbest radikallerin, biyolojik membranlardaki etkileri oksidan ve antioksidan mekanizmalar ile bir denge halindedir. Serbest radikaller antimikrobiyal savunma sistemlerinde ve sinyal iletiminde de rol alırlar. Çeşitli antioksidan sistemler, canlıları serbest radikallerin oksidasyonundan korumaktadır (Joseph ve Knight, 1999).

Bileşiklerin antioksidan savunma sistemindeki aktivitelerini belirlemek için çeşitli tayin yöntemleri geliştirilmiştir. Antioksidan aktivite belirleme yöntemleri yedi başlık altında incelenir. Bunlar;

- Toplam antioksidan belirleme yöntemi
- Metal bağlama aktivitesini belirleme yöntemi
- Süperoksit anyon radikalini giderme aktivitesini belirleme yöntemi
- Oksijen radikal absorpsiyon uygulaması (ORAC)
- İndirgeme gücünü belirleme yöntemi
- ABTS katyon radikali giderme aktivitesini belirleme yöntemi
- DPPH Radikalini giderici aktivitesini belirleme yöntemi

DPPH radikalini giderici aktivite yöntemi diğer antioksidan tayin yöntemleri ile karşılaştırıldığında nispeten daha kısa sürede antioksidan aktiviteleri değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Antioksidanların DPPH radikali üzerindeki etkilerinin, hidrojen verici özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Berners-Price, 2007). DPPH kararlı bir serbest radikaldir ve bir elektron veya hidrojen radikalinin stabil bir dia manyetik molekül haline gelmesini sağlar (Corona-Bustamante ve ark., 2010). Etanol içerisindeki kararlı bir DPPH radikalinin absorpsiyonu azami 517 nm'dir. Bu yüzden DPPH radikallerinin redüksiyon kabiliyeti, antioksidanlar tarafından indüklenen 517 nm'de emilimindeki azalma ile belirlenir. DPPH radikalinin emilimindeki azalma, antioksidanların sebep olduğu antioksidan moleküller ile radikal arasındaki reaksiyon ilerledikçe radikalın hidrojen kaybederek temizlenmesine yol açar. Bu değişim mor renkten sarıya renk değişikliği olarak fark edilir. Bu nedenle DPPH genellikle antioksidanların antioksidatif aktivitesini değerlendirmek için bir substrat olarak kullanılır (Dharmaraj ve ark., 2001).

2.12. Schiff Bazlarının Biyolojik Aktiviteleri ve DNA'yla Etkileşimleri ile İlgili Yapılmış Çalışmalar

Schiff bazları geniş biyolojik aktivitelere sahip olmaları ve farmasötik alanda sıkça kullanılmaları dolayısıyla çok fazla ilgi gören ve geçmiş yıllardan beri oldukça fazla çalışılan bileşiklerdir.

Chittilappilly (2007), 3-hidroksi kinoksalin-2-aldehit ile o-fenilendiamin, O-aminofenol veya aminobenzimidazol yoğunlaştırılmasıyla oluşan Schiff bazlarının rutenyum ve neodimyum komplekslerinin ve o-fenilendiamin, o-aminofenol veya aminobenzimidazol ile salisilaldehitten türetilen Schiff bazlarının rutenyum komplekslerinin antibakteriyel ve antifungal aktivitelerini incelemiştir. Ligand ve komplekslerin antibakteriyel aktiviteleri *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarına, antifungal aktiviteleri ise *Aspergillus niger* suşuna karşı disk difüzyon yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Genel olarak kinoksalin esaslı Schiff bazlarından türetilen neodimyum komplekslerinin *Klebsiella pneumoniae*'ye karşı etkili olduğu belirlenmiş, ancak rutenyum komplekslerine kıyasla bu etkinin daha düşük olduğu bulunmuştur. Kinoksalin esaslı Schiff bazlarından türetilen rutenyum komplekslerinin *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı etkili olduğu fakat bu bakteri suşları üzerinde neodimyum komplekslerinin herhangi bir etkisinin bulunmadığı tespit edilmiştir. Neredeyse bütün ligandların *Aspergillus niger*'e karşı antifungal etkisinin olduğu görülmüştür. Ancak rutenyum komplekslerinin neodimyum komplekslerine göre daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Kulkarni ve ark. (2009), 8-formil-7-hidroksi-4-metilkumarin ve o-fenilendiamin/etilendiamin'den türetilen Schiff bazlarının ve La(III), Th(IV) ve Vo(IV) komplekslerinin *in vitro* antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. Schiff bazları ve metal komplekslerinin *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella typhi*'ye karşı oldukça etkili olduğunu belirlemişlerdir. Funguslardan *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* ve *Cladosporium*'a karşı da oldukça etkili olduklarını belirtmişlerdir.

Mariappan (2010), 2-aminobenzotiyazol, o-fenilendiamin ve o-vanillin Schiff bazları ile glisin, L-alanin, L-valin, L-fenilalanin ve 1,10-fenantrolin kullanarak ligandları, Ni(CH₃COO)₂.4H₂O, MnCl₂.4H₂O, CoCl₂.6H₂O, Cu(CH₃COO)₂.H₂O ve Zn(CH₃COO)₂.2H₂O kullanarak metal komplekslerini sentezlemiştir. Schiff bazları ve metal komplekslerinin antibakteriyel etkisi *Salmonella typhi*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarına, antifungal etkisi ise *Saccharomyces cerevisiae*,

Penicillium, *Trichoderma virida*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* ve *Mucour* suşlarına karşı disk difüzyon yöntemi kullanılarak çalışılmıştır. Ayrıca Schiff bazları ve ligand komplekslerinin DNA kesme aktivitesinin incelenmesi jel elektroforezi yöntemi kullanılarak H₂O₂ varlığında ve hidrolitik olarak gerçekleştirilmiştir. o-vanillin-2-aminobenzotiyazol Schiff bazı ile Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) kullanılarak sentezlenen metal kompleksler, Schiff bazına göre daha iyi biyolojik aktivite göstermiştir. o-vanillin-2-aminobenzotiyazol ve 1,10-fenantrolin ile Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) kullanılarak sentezlenen ligand kompleksleri mikroorganizmalara karşı daha güçlü antibakteriyel aktivite göstermiştir. Ayrıca komplekslerden Cu(II) kompleksi hem H₂O₂ varlığında hem de hidrolitik olarak DNA kesme aktivitesi göstermiştir.

El-Sherif ve Eldebss (2011), 2-Aminometiltiofenil-4-bromosalisilaldehit Schiff bazı ve metal komplekslerini sentezlemişlerdir. Gram pozitif ve Gram negatif bakteri suşlarına karşı disk difüzyon yöntemi kullanılarak antimikrobiyal aktiviteleri için taranmıştır. Çalışma sonuçları, metal komplekslerinin güçlü antimikrobiyal özellik sergilediğini ve deneysel koşullar altında ana ligand ile karşılaştırıldığında daha fazla inhibitör aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

Varghese (2011), kinoksalin-2-karboksaldehit ile hidrazin hidrat (qch), 1,2-diaminoetan (qce), 1,3-diaminopropan (qcp), 1,4-diaminobütan (qcb), 1,2-diaminosikloheksan (qcc) veya 1,2-diaminobenzen (qco) yoğunlaştırılmasıyla oluşturulan Schiff bazlarının, bakır tuzları (Cu(OAc)₂·4H₂O, CuCl₂·2H₂O, Cu(NO₃)₂·3H₂O ve Cu(ClO₄)₂·6H₂O.) ile hazırlanan Cu(II) komplekslerinin DNA kesme aktivitesi incelenmiştir. Cu(II) komplekslerinden (13-18)'in DNA kesme etkinliği pUC18 plazmid DNA kullanılarak jel elektroforezi yöntemi ile test edilmiştir. Cu(II) komplekslerinden (14) ve (16)'nın yüksek DNA kesme aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir.

Jayaseelan (2011), bir seri yeni iki çekirdekli Schiff bazı ligandları, 3,3'-diaminobenzidin ile ftalaldehid monoksim, 2,3-bütandion monoksim ve O-hidroksiasetofenon arasındaki yoğunlaşma ile hazırlanmıştır. Bu Schiff bazı ligandlarının, Cu(II), Ni(II), Co(II) ve Mn(II) kompleksleri de sentezlenmiştir. Bu komplekslerin DNA bağlama aktiviteleri CT-DNA kullanılarak UV-Vis absorpsiyon yöntemiyle belirlenmiştir. Sonuç olarak Cu(II) komplekslerinin interkalatif bağlanma moduyla DNA'ya bağlandığı görülmüştür. Ligandlar ve komplekslerinin DNA kesme aktiviteleri, H₂O₂ varlığında pBR322 plazmid DNA kullanılarak jel elektroforez yöntemiyle incelenmiştir. Tüm komplekslerin ligandlardan daha güçlü kesme aktivitesi sergilediği bildirilmiştir.

Mahalakshmi (2012), çalışmada kullandığı Schiff bazı ligandlarını, 3,3',4,4'-tetraminobifenil ile 2-aminobenzaldehid, pentan-2,4-dion ve 2-karboksibenzaldehid'in yoğunlaştırılmasıyla sentezlemiştir. Bu ligandların Bakır(II), Nikel(II) ve Oksovanadyum(IV) kompleksleri oluşturulmuştur. DNA kesme aktiviteleri, pUC18 plazmid DNA kullanılarak H₂O₂ varlığında jel elektroforez yöntemiyle gözlemlenmiştir. Sonuçlar, Bakır(II), Nikel(II) komplekslerinin Oksovanadyum(IV) kompleksine göre daha fazla DNA kesme aktivitesi sergilediğini ortaya koymuştur. Ayrıca Bakır(II), Nikel(II) ve Oksovanadyum(IV) komplekslerinin ligandlara göre artan nükleaz aktivitesi gösterdiğini ortaya koymuştur.

Arjmand ve ark. (2012), tetrapeptid ligandlarının Cu(II) ve Zn(II) komplekslerinin sentezini bildirmişlerdir. Komplekslerin DNA bağlanma ve DNA kesme aktivitelerini incelemişlerdir. Metal komplekslerinin *in vitro* DNA bağlanma çalışmaları, komplekslerin DNA'ya (serbest ligandlara kıyasla) tercihen oluk bağlanma yoluyla bağlandığını ortaya koymuşlardır. Bakır komplekslerinin plazmid DNA'yı oksidatif olarak, bunun yanısıra çinko komplekslerinin ise, DNA'yı hidrolitik olarak kestiğini belirlemişlerdir.

Ajlouni ve ark. (2012), 2-hidroksi-1-naftaldehid ve 1,6-heksandiaminden sentezlenen Schiff baz ligandının ve Ln(III) komplekslerinin antibakteriyel aktivitesini araştırmışlardır. Antibakteriyel aktivitelerini araştırmak için *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı çalışma yapmışlardır. Sentezlenen komplekslerin çoğunun bakterilere karşı iyi antibakteriyel aktiviteye sahip olduklarını ve komplekslerin antibakteriyel aktivitesinin ilgili ligandınkinden daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca ligand ve komplekslerin 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikal üzerindeki süpürücü etkisini değerlendirmişlerdir. Ln(III) komplekslerinin, serbest liganda kıyasla DPPH radikalini süpürmede son derece etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Pragathi (2012), aromatik karbonil bileşikler ve diaminler kullanarak monokondenze üç dişli Schiff baz ligandları, aromatik karbonil bileşikler ve uzun diaminler kullanarak dört dişli Schiff baz ligandları, iki farklı karbonil bileşiğini ve bir diamini eşit mol oranında yoğunlaştırarak asimetric dört dişli Schiff baz ligandları, aromatik karbonil bileşikleri ve 1,3-diamino 2-propanol kullanarak beş dişli Schiff baz ligandları sentezlemiştir. Bu ligandların Cu(II) ve Ni(II) komplekslerini oluşturmuştur. Ligandlar ve metal komplekslerinin DNA bağlanma aktivitesini ve DNA kesme aktivitesini incelemiştir. Ligandlar CT-DNA'ya herhangi bir bağlanma afinitesi göstermemiş ancak ilgili ligandlara metal iyonu eklenmesiyle oluşturulan metal komplekslerinde afinite büyük ölçüde artırılmıştır. Ligandlar önemli bir nükleaz aktivitesi göstermezken, metal kompleksleri

dikkate değer bir aktivite göstermiştir. Cu(II) komplekslerinin, oksidan madde (H₂O₂) varlığında daha fazla nükleaz aktivitesi gösterdiğini bildirmiştir. Ayrıca oksidan yokluğunda bile bazı komplekslerin kayda değer DNA kesme aktivitesi gösterdiklerini belirlemiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda Cu komplekslerinin Ni komplekslerinden daha fazla DNA kesme aktivitesi sergilediğini kanıtlamıştır.

Deshpande ve ark. (2013), Schiff bazlarını, 2-amino-4,6-dimetil benzotiyazol ile 2-Hidroksi-naftalen-1-karbaldehid, 3-metil-tiyofen-2-karbaldehid'in yoğunlaştırılmasıyla sentezlemişlerdir. Ligandların, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis* gibi çeşitli bakterilere karşı antibakteriyel aktivitelerine bakılmış ve yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca ligandların *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Fusarium moneliforme* ve *Aspergillus flavus* gibi çeşitli mayalara karşı antifungal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

Awale ve ark. (2013), antimikrobiyal ajanların yeni bir sınıfını bulmaya yönelik çalışmalar için bir benzotiyazol parçasını içeren benzilidin-2-imino-1,3-benzotiyazol bileşikleri sentezlemişlerdir. Yeni sentezlenen bileşikler, kontrol olarak Ampisilin kullanılarak agar difüzyon yöntemi ile Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin temsilcilerine (*Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis*) karşı test edilmiştir. Bileşiklerin test edilen bakterilere karşı geniş bir spektruma sahip olduğunu göstermişlerdir.

Parveen ve ark. (2013), dipeptid (Pro-Gly ve Pro-Leu) çinko komplekslerinin sentezini rapor etmişlerdir. Metalonükleaz aktivitesinin DNA tarafından tanınmasını sağlamak için, çinko iyonu peptid motifine bağlanmıştır. Zn(II) -Pro-Gly kompleksi, Zn(II) -Pro-Leu kompleksine kıyasla, CT DNA'ya daha büyük bir bağlanma afinitesi gösterdiğini ve DNA'nın küçük oluşuna bağlandığını gözlemlemişlerdir. Kompleksin jel elektroforezi ile pBR322 plazmid DNA kullanılarak DNA kesme aktivitesine bakmışlardır. Metal komplekslerinin DNA'yı hidrolitik yolla kestiğini belirlemişlerdir.

Sakthilatha (2013), 2-amino-5-nitrobenzaldehit ve p-fenilen diamin, benzidin, 4,4'-diaminodifenileter, 4,4'-diaminodifenilmetan ve 4,4'-diaminodifenilsülfon gibi çeşitli zincir uzunluğundaki aromatik diaminler ile beş yeni Schiff baz ligandı sentezlemiştir. Bu Schiff baz ligandlarının Cu(II), Ni(II) tuzu ve VOSO₄ ile reaksiyonu sonucunda metal kompleksleri oluşturulmuştur. Schiff baz ligandları ve metal kompleksleri CT-DNA ile etkileşime sokulmuş ve Cu(II) ve Ni(II) komplekslerinin, oksovanadyum(IV) kompleksleri ve Schiff baz ligandlarına kıyasla daha iyi bağlanma afinitesi gösterdiği belirlenmiştir. Tüm ligandların ve bunların komplekslerinin oksidatif ajan yokluğunda DNA'yı daha etkili

bir şekilde kestiği ortaya koyulmuştur. Schiff baz ligandlarının (L_1 - L_5) ve bunların metal komplekslerinin antioksidan aktiviteleri, DPPH radikaline karşı değerlendirilmiştir. Antioksidan aktivite üzerine yapılan deneyler, ligandların ve bunların komplekslerinin radikalleri yok etmek için yüksek potansiyel ilaçlar olarak yararlı olabileceğini göstermiştir.

Begum ve ark. (2014), Pramipeksol (N6-propil-4,5,6,7-Tetrahidro-,1,3-benzotiyazol-2,6-diamin) ile O-Vanilin (2-hidroksi-3-metoksi benzaldehit) yoğunlaştırılmasından elde edilen genel formülü ML2 ile Cu(II), Ru(II) olan komplekslerinin biyolojik aktiviteleri ve DNA ile etkileşimlerini araştırmışlardır. Bileşiklerin, çalışılan *Escherichia coli*, *Klebsiella* ve *Bacillus subtilis* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği bulunmuştur. DNA ile etkileşim çalışmaları için UV-Vis absorpsiyon spektroskopisi yöntemiyle DNA bağlanma modlarını belirlemeye çalışmışlardır. Çalışma sonucunda komplekslerin CT-DNA ile etkileşiminin hipokromisite yönünde olduğunu ve interkalatif bağlanma moduyla DNA'ya bağlandığını tespit etmişlerdir.

Alizadeh ve ark. (2014), kiral ilaçların DNA hedefine yönelik biyolojik tercihini değerlendirmek için, Cu(II) ve Zn(II), *L*-D-florobenzotiyazol Schiff baz valin kompleksleri 1 ve 2 (a ve b)'nin yeni metal bazlı kemoterapötik ajanlarını sentezlemişlerdir. Ligand ve 1-2 kompleksleri (a ve b) için *in vitro* DNA bağlanma çalışmaları, *L*-enantiyomerik Cu(II) kompleksi 1a tarafından daha büyük bağlanma eğilimi ve bunun bir kemoterapötik ajan olarak işlev görme potansiyelini ortaya çıkaran K_b , K ve K_{sv} değerleri ile nicel olarak tespit edilmiştir. pBR322 plazmid DNA'yla yapılan DNA kesme çalışmaları, hidrolitik kesme yoluyla 2a'ya kıyasla 1a'nın daha yüksek kesme aktivitesi ortaya koyduğunu göstermişlerdir. 1 ve 2 komplekslerinin (a ve b) ayrıca 2 Gram-negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) ve 2 Gram-pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* MTCC 121) bakterilere karşı antibakteriyel aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

Koçer ve ark. (2014), yeni çok fonksiyonlu hidroksifenilimino ligandlarını (L_1 , L_2 ve L_3), liken metaboliti olan usnik asit ile 2-aminofenol, 3-aminofenol ve 4-aminofenol yoğunlaştırarak sentezlemişlerdir. Tüm ligandların ve bunların metal komplekslerinin antimutajenik aktiviteleri Ames-*Salmonella* ve *Escherichia coli* WP2 mikrobiyal analiz sistemleri kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmalar sonucunda ligandların güçlü antimutajenik aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir. Genel olarak, ligandların Co ve Mn komplekslerinin güçlü antimutajenik aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Abu-Dief ve Nassr (2015), 5-bromosalisilaldehit ile amino asitler (L-alanin, L-fenilalanin, L-aspartik asit, L-histidin ve L-arginin) arasındaki yoğunlaştırmadan türetilen beş yeni Cu(II) kompleksi sentezlemişlerdir. Schiff bazlarını ve Cu(II) komplekslerini, iki Gram pozitif bakteri (*Micrococcus luteus* ve *Bacillus cereus*) ve bir Gram negatif bakteriye (*Pseudomonas aeruginosa*) karşı antibakteriyel etkinlikleri için *in vitro* olarak test etmişlerdir. Bütün komplekslerin, organizmalara karşı Schiff baz ligandlarından daha fazla aktivite gösterdiğini ve metal komplekslerinin, bakteri türlerine karşı Schiff baz ligandı ile karşılaştırıldığında daha güçlü bir aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Deshpande ve ark. (2015), seçilmiş heterosiklik α -hidroksi aldehit ve α -hidroksi ketonlar ile 2-amino-4,6-dimetil benzotiyazolün heterosiklik Schiff bazlarını sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin 2 Gram negatif (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*) ve iki Gram pozitif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) bakteriye karşı antibakteriyel etkinliklerini, antifungal etkinliklerini *Aspergillus niger*, *penicillium chrysogenum*, *Fusarium moneliforme* ve *Aspergillus flavus*'a karşı araştırmışlardır. Aktivite verileri Schiff bazı ligandlarının pozitif kontrollere kıyasla düşük antifungal ve antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu göstermişlerdir.

Crystal (2015), 2-hidroksi benzaldehid ve 2-amino-p-tolil asetik asitten türetilen Schiff bazları sentezlemiştir. Aynı zamanda bu Schiff bazlarının Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) ve Cd(II) geçiş metalleri kullanılarak sentezlenen kompleksler (1) ile 3(amino)-p-tolilpropanoik asit) ve 2-hidroksibenzaldehid'ten türetilen Schiff bazlarıyla bunların Fe, Co, Ni, Cu, Ni, Zn ve Cd geçiş metalleri kullanılarak sentezlenen komplekslerin (2) DPPH radikaline karşı antioksidan özellikleri incelenmiştir. 1. grupta yer alan kompleksler, Fe(II) kompleksi haricinde DPPH radikaline karşı iyi antioksidan özellik sergilediği gözlemlenmiştir. 2. grupta yer alan komplekslerin DPPH radikaline karşı antioksidan aktivitelerinin, kompleks konsantrasyonundaki artışla doğrusal olduğu gözlemlenmiş ancak Fe(II) kompleksinde hiçbir aktivite görülmemiştir.

Sani ve Dailami (2015), 2-hidroksi-1-naftaldehid ve hidrazin monohidratın reaksiyona sokulmasıyla türetilen Schiff baz ligandı (HL) ile Co(II) ve Ni(II) geçiş metal komplekslerini sentezlemişlerdir. Ligand ve komplekslerin *in vitro* antimikrobiyal aktivitelerine bakmışlardır. Ligand ve komplekslerin bakterilerin (*Escherichia coli*, *Klebsella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus*) yanı sıra maya suşlarının da çoğuna karşı (*Candida albicans*, *Fusarium solani*, *Aspergillus fumigates*) aktif olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikallerine karşı fenolik Schiff bazının antioksidan aktivitesini

araştırılmışlardır. Fenolik Schiff bazının güçlü bir antioksidan aktivitesinin olduğunu ortaya koymuşlardır.

Amnerkar ve ark. (2015), biyolojik aktif bileşikler, 4-(6-sübstitüe-1,3-benzotiyazol-2-il)amino-1,3-tiyazol-2-amin (9-12) ve 4-6-sübstitüe-1,3-benzotiyazol-2-il)amino-2-(4-sübstitüefenil-metiliden)amino-1,3-tiyazol (13-28) sentezlemişlerdir. Sentezledikleri bileşikleri antibakteriyel, antifungal ve antihelmintik aktiviteler için test etmişlerdir. Bu bileşiklerin neredeyse tamamı, iki Gram negatif bakteri (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), iki Gram pozitif bakteri (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) ve patojen fungal suşlar (*Candida albicans*, *Aspergillus niger*) için orta ile güçlü arası antibakteriyel aktivite ve solucan türüne (*Pontoscotex corethruses*) karşı iyi antihelmintik aktivite göstermişlerdir. Test edilen bileşikler arasında bileşik 23 ve 24 olarak adlandırılan bileşiklerin sırasıyla Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere karşı maksimum aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

Bhoi ve ark. (2015), 2-aminobenzotiyazol serisi sentezlemişlerdir. Sentezledikleri bileşikleri, 2 Gram pozitif (*Micrococcus luteus* MTCC 11948, *Bacillus cereus* MTCC 8557) ve 2 Gram negatif (*Enterobacter aerogens* MTCC 8558, *Escherichia coli* MTCC 1610) bakteriye karşı *in vitro* antibakteriyel aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir. Test edilen bileşiklerin hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakterilere karşı önemli bir aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

Shallangwa (2015) çalışmasında, bazı Schiff bazlarını (kodlanmış GAS1-5), 4-Aminobenzensülfonamid ve bazı seçilen karbonil moleküllerinin 385 watt gücünde 1 dakika boyunca MW ışınlanması ile yoğunlaştırılmasıyla sentezlemiştir. Bu Schiff bazlarını daha sonra, iki Gram pozitif ve iki Gram negatif bakteri (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) ve bir mantar (*Candida albicans*)'a karşı antimikrobiyal aktiviteleri bakımından değerlendirmiştir. Tüm sentezlenmiş bazların seçilen mikroorganizmalara karşı referans ilaçlardan daha iyi antimikrobiyal etki sergilediklerini bildirmiştir.

Altundas ve ark. (2016), bazı yeni 2-(2-hidroksibenzilidenamino)-5,7-dihidro-4H-tieno[2,3-c]piran-3-karbonitril serisi (4a-f) sentezlemişlerdir. Bu maddeler, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* H, *Pseudomonas putida*, *Brucella abortus*, *Staphylococcus epidermis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter aerogenes*, *Shigella dysenteriae* thype 7'ye karşı antibakteriyel ve *Candida albicans*'a karşı antifungal aktiviteleri açısından incelemişlerdir. Çalışılan bileşiklerin çoğu (4a, 4b, 4d, 4e) bakteri ve mayaya karşı etkili bulunmuştur.

Bileşik 4f, standart antibiyotiklere kıyasla *Pseudomonas putida*, *Brucella abortus*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ve 4c, *Brucella abortus* ve *Staphylococcus epidermis*'e karşı aktivite sergilediği görülmüştür.

Kumar ve ark. (2016), Mn(II), Fe(III), Co(II) ve Ni(II)'nin tetraazamakrosiklik komplekslerini şablon yöntemi ile sentezlemiştir. Komplekslerin DNA bağlanma etkinlikleri incelenmiş ve CT-DNA ile etkileşiminin interkalasyon yoluyla olduğunu göstermişlerdir. Makrosiklik komplekslerin, Gentamisin gibi standart ilaçlarla karşılaştırıldığında, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel ve *Candida albicans*'a karşı antifungal aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Guhathakurta ve ark. (2017), metanolde benzil ve 2-hidrazino benzotiyazolün 1:1 yoğunlaştırılması ile yeni bir Schiff baz ligandı olan 2-(benzotiyazol-2-il-hidrazono)-1,2-difenil-etanon (LH) sentezlemiştir. LH ve önceden aktive edilmiş $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 'nun reaksiyonu sonucunda bis(μ -kloro)bis(2-(benzotiyazol-2-il-hidrazono)-1,2-difenil-etanoat)-2Cu(II) ve $[\text{Cu}_2(\mu\text{-Cl})_2(\text{L})_2]$ (I) meydana gelmiştir. Hem LH hem de (I) yapılan DNA bağlanma çalışmalarında CT DNA'ya ligand ve kompleks için büyük oluk bağlama etkinliği göstermiştir.

Aziz ve Seda (2017), potasyum tetradentat Schiff baz ligandını içeren 2-aminofenolün 2,5-tiofendikarboksaldehit ile yoğunlaştırılmasıyla elde edilen yeni bir seri Co(II), Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) mononükleer komplekslerini sentezlemiştir. Ligand ve komplekslerin antibakteriyel aktiviteleri, agar disk difüzyon metodu kullanılarak araştırılmıştır. Antioksidan özellikleri DPPH yöntemiyle çalışılmış ve tüm komplekslerin iyi birer radikal süpürücü özelliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir. DPPH radikalini süpürücü etki çalışmalarında kontrol olarak kullanılan Trolox'a oranla komplekslerin daha güçlü bir antioksidan özelliğe sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Dahası, IC_{50} değerleri bileşiklerin 3 > 1 > 4 > 2 sırasına göre antioksidan kapasite gösterdiğini doğrulamıştır. Bağlanma çalışmaları, tüm komplekslerin interkalasyon modu ile CT-DNA ile etkileşime girdiğini ve bağlanma afinitesinin de sırasıyla Cu(II) > Co(II) > Zn(II) > Ni(II) olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, metal komplekslerinin DNA kesme özellikleri de pBR322 plazmid DNA kullanılarak agaroz jel elektroforez yöntemiyle araştırılmıştır. DNA kesme çalışmaları sonucunda da Cu(II) kompleksinin diğer komplekslere oranla DNA'da daha büyük hasara neden olduğunu bildirmişlerdir.

Ibrahim ve ark. (2017), çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğu düşünülen serbest radikallerin temizlenmesi ile alakalı özelliklerini belirlemek için iki konumlu Schiff bazı

içeren Ni(II), Co(II), Cu(II) ve Zn(II) metal komplekslerinin antioksidan ve somon balığı spermi DNA'sı ile bağlanma özelliklerini çalışmışlardır. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), demir iyon şelasyon (FIC), ferrik indirgeyici antioksidan gücü (FRAP), toplam antioksidan aktiviteler (fosfomolibden metodları) ve hidroksil radikal (OH) süpürme aktiviteleri gibi farklı yöntemlerle antioksidan aktivitelerine bakılmıştır. Metal komplekslerinin, klasik antioksidanlar olan askorbik asit, etilen diaminetetraasetik asit (EDTA) ile kıyaslandığında doza bağlı antioksidan aktiviteleri bulunmuştur. DNA bağlanma çalışmaları sonucunda komplekslerin DNA'ya interkalasyon yoluyla bağlandığını bildirmişlerdir. Bileşiklerin DPPH radikalleri, OH radikalleri ve Fe(II) iyonlarına karşı çok reaktif olduklarını belirlemişlerdir. Ayrıca bileşiklerin Fe(III) iyonunu Fe(II) ve Mo(VI) iyonunu da Mo(V) formuna aktif olarak indirgemekte olduğunu göstermişlerdir.

Anupama ve ark. (2017), üçlü Cu(II) kompleksleri [Cu(II)(L)(bpy)Cl] 1, [Cu(II)(L)(Fen)Cl] 2, [L =2,3-dimetil-1-fenil-4(2-hidroksi-5-metil benzilidenamino)-pirazol-5-on, bpy =2,2'bipiridin, fen =1,10 fenantrolin] sentezlemişlerdir. Cu(II)'nin CT-DNA ile etkileşimi absorpsiyon ve floresans spektroskopik yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. Sonuçlar, komplekslerin DNA için 10^4 M^{-1} 'lik bir afinite sabitine sahip olduğunu ve etkileşim modunun interkalatif mod olduğunu ortaya koymuştur. DNA kesme çalışmaları sonucunda, komplekslerin DNA'yı herhangi bir harici ajan olmadan kestğini belirlemişlerdir. Ayrıca, metal komplekslerinin DPPH radikaline karşı önemli bir radikal temizleme etkinliği olduğunu saptamışlardır.

Manjunath ve ark. (2017), oktahedral geometrili Co(II), Ni(II) ve Cu(II) kompleksleri ve ONO verici alanlardan koordine edilen 4-aminoantipirin (SBI) ve 8-formil-7-hidroksi-4-metilkumarin/5-formil-6-hidroksikumarin (SBII)'den türetilen Schiff bazları kullanılmıştır. Bileşiklerin antimikrobiyal özelliklerini MİK testi ile belirlemişlerdir. Antimikrobiyal çalışmaların sonuçları sırasıyla standart ilaçlar Gentamisin ve Flukanazol ile karşılaştırılmıştır. SB-I'in *Pseudomonas aeruginosa* 'ya ve *Aspergillus niger*'e karşı oldukça aktif olduğu, buna karşılık SB-II'nin *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus niger* mayalarına karşı etkinlik gösterdiği gözlenmiştir.

Kesavan ve ark. (2017), yeni bir doğal sitotoksik ve antiinflamatuvar alkaloid olan Luotonin A (L)'nin [Cu(L)H₂OCl]Cl (1) ve [Cu(L)₂]Cl₂ (2) komplekslerini sırasıyla 1:1 ve 2:1 ligand/metal mol oranı ile bakır (II) klorür ve L kullanarak sentezlemişlerdir. Komplekslerin DNA bağlanma etkinlikleri CT-DNA kullanılarak UV-Vis absorpsiyon titrasyonu yöntemi ile belirlenmiştir. Kompleks 1 DNA'ya elektrostatik bir şekilde

bağlanırken, kompleks 2'nin interkalasyon yoluyla DNA'ya bağlandığını göstermişlerdir. Komplekslerin antioksidan aktiviteleri DPPH radikal süpürme yöntemi ile değerlendirilmiş ve güçlü antioksidan aktivitelerinin olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca komplekslerin *E. coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcescens* ve *Proteus vulgaris*'e karşı antibakteriyel, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* ve *Penicillium chrysogenum*'a karşı da antifungal etkinliklerine bakmışlardır. Kompleks 1'in kompleks 2 ve L'den daha güçlü antibakteriyel etkinliğe sahip olduğunu belirlemişlerdir.



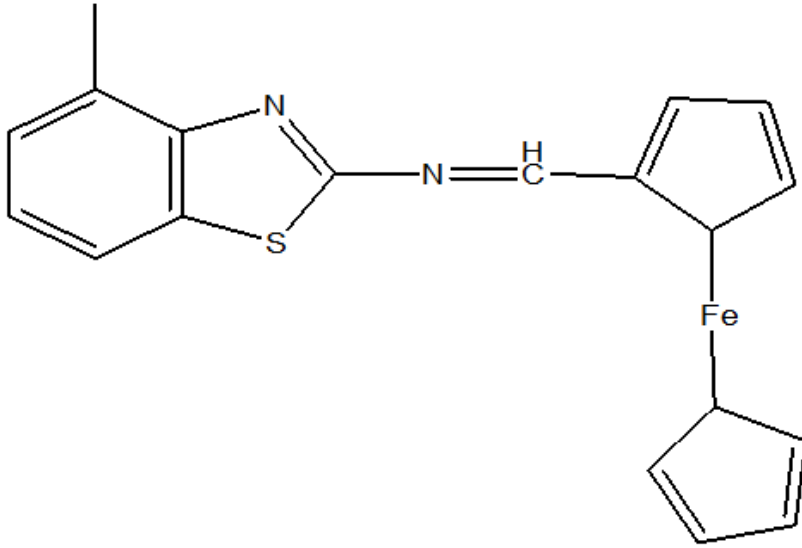
BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

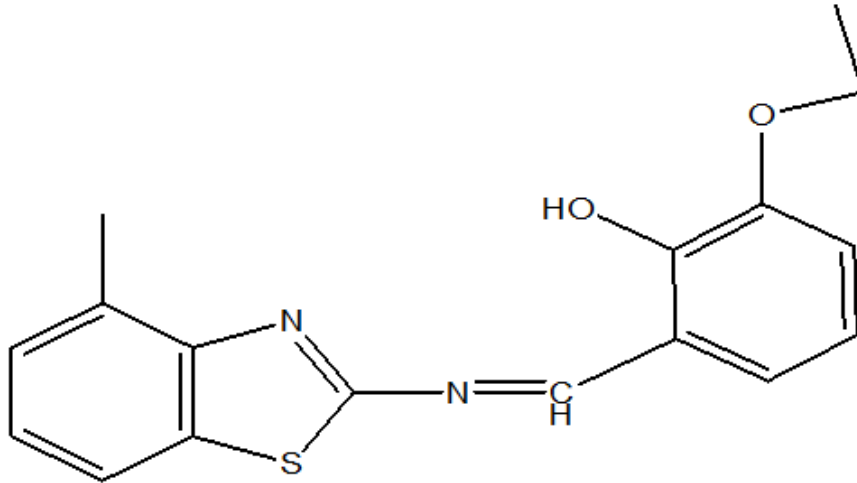
3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Schiff Bazları

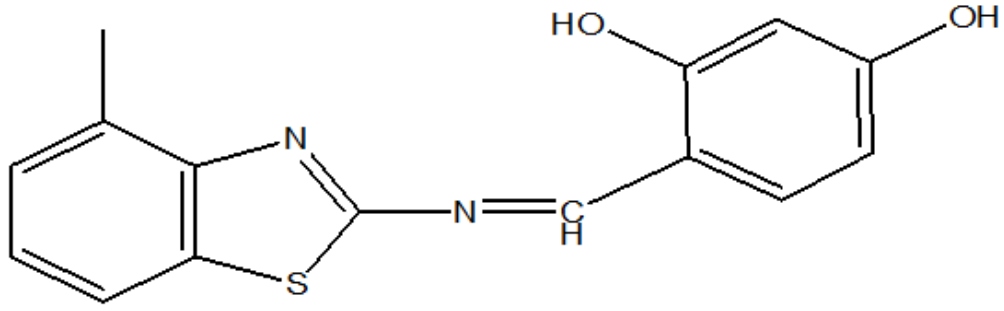
Çalışmada kullanılmış olan 4-metilbenzo[*d*]tiyazol-2-amin türevleri Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Anorganik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Mustafa YILDIZ tarafından sentezlenerek yapıları aydınlatılmıştır. Bileşiklerin kimyasal yapıları Şekil 3.1, 3.2 ve 3.3’de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. *N*- Ferrosenkarboxilidene-4-metilbenzo[*d*]tiyazol-2-amin (Bileşik 1)



Şekil 3.2. 2-Etoksi-6-((4-metilbenzo[*d*]tiyazol-2-yilimino)metil)phenol (Bileşik 2)



Şekil 3.3. 4-((4-Metilbenzo[d]tiyazol-2-yilimino)metil)benzene-1.3-diol (Bileşik 3)

3.2. DNA Kesme Aktivite Çalışmaları

DNA kesme aktivite çalışmaları için gerekli olan kimyasallar sodyum hidroksit (NaOH), potasyum klorür (KCl), potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄), glasiyal asetik asit (CH₃COOH) ve etilendiamintetraasetik asit (EDTA) Merck firmasından; pBR322 plazmid DNA Thermo Scientific firmasından; etidiyum bromür Sigma Aldrich'ten; tris bazı, sodyum klorür (NaCl) ve hidroklorik asit (HCl) Merck'ten satın alındı.

100 mM'lık Tris-HCl tamponu (pH: 7,6) hazırlanması için,

- 150 mL saf su ile 2,42 g Tris çözdürüldü.
- HCl ile pH'ı 7,6 olacak şekilde ayarlanarak saf su ile 200 mL'ye tamamlandı.
- 0,22 µm çaplı membran filtreler aracılığıyla steril hale getirilerek oda sıcaklığında saklandı.

6X Agaroz Jel Elektroforez yükleme tamponu hazırlanırken;

- 0,5 M EDTA, %30 gliserol, %0,3 ksilen siyanol ve %0,3 bromofenol mavisi 10 mL olacak şekilde hazırlandı ve kullanılacağı zamana kadar +4 °C'de saklandı.

10X TAE (Tris-Asetik asit-EDTA) tamponu (pH: 8,0);

- 48,4 g tris, 5,5 mL glasiyal asetik asit ve 0,5M'lık (20mL) EDTA karıştırılarak 800 mL'lik distile su ile çözdürüldü.

- pH'ı 8,0 ayarlanarak son hacmi 1000 mL olacak şekilde distile su ilave edildi.
- Oda sıcaklığında muhafaza edildi.

%1 Agaroz Jel hazırlamak için;

- 0,8 g Agaroz ve 80 mL Tris asetat tamponu ısıtmalı manyetik karıştırıcı da hazırlandı.
- Sıcaklığı 60 °C olacak şekilde soğutulduktan sonra 3 µl etidiyum bromür ilave edilip karıştırıldı.

3.2.1. Agaroz Jel Elektrophorez Yöntemi

DNA kesme çalışmalarında pBR322 plazmid DNA kullanıldı.

- Çalışma için öncelikle 4-metilbenzo[d]tiyazol-2-amin bileşiklerinin DMSO ile 5mM'lık stok çözeltileri hazırlandı.

- Bileşiklerin hazırlanan stok çözeltilerinden Tris-HCl tamponu (pH:7,6) ile 5 farklı konsantrasyonu hazırlandı.

Çalışma hem hidrolitik hem de oksidatif olarak gerçekleştirildi. Hidrolitik kesme aktivitesi için;

- 2 µL pBR322 plazmid DNA, 2 µL Tris-HCl tamponu ve sırası ile 25, 50, 100, 200 ve 400 µM konsantrasyonlarda bileşiklerden ilave edildi.

- Oksidatif kesim aktivitesi tayininde ekstra 2 µL H₂O₂ ilave edildi.

- Karışımın son hacmi 20 µL'ye tamamlandı.

- 3 saat süreyle karanlık bir ortamda 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.

- İnkübasyon işlemi bittikten sonra hazırlanan agaroz jel tankına alındı.

- Örnekler 4 µL 6X DNA yürütme tamponu ilave edildi.

- Örnekler jel üzerinde bulunan kuyucuklara yüklendi.

- Elektrodların üzeri tamamen kapanacak şekilde TAE tamponu eklendi.

- 1 saat süreyle 60 V'luk voltajda elektroforez edildi.

- Jelin görüntülenmesi UV (bio-imaging systems) altında yapıldı.

3.3. DNA Bağlanma Çalışmaları

DNA bağlanma çalışmalarında kullanılan Dana timusu DNA'sı (CT-DNA) ve etidyum bromür Sigma Aldrich'ten; tris bazı, hidroklorik asit (HCl) ve sodyum klorür (NaCl) Merck'ten satın alındı.

10 mM Tris-HCl, 50 mM NaCl, 1 mM EDTA (TNE) tamponu:

- 1,21 g tris, 2,92 g NaCl ve pH'ı 8,0 olan 0,5 M'lık EDTA'dan 2 mL alınarak 800 mL'lik distile suda çözdürüldü.

- Çözdürme işleminden sonra HCl ile pH'ı 7,4 ayarlanarak hacmi 1000 mL'ye tamamlandı.

- 0,22 µm çapındaki membran filtreler aracılığıyla steril hale getirilerek oda sıcaklığında saklandı.

3.3.1. UV-Vis Absorpsiyon Titrasyonu

- Test bileşiklerinin 0,05 M'lık konsantrasyonları DMSO ile hazırlandı.
- Son konsantrasyonları 10-30 mM olacak şekilde TNE tamponu ile seyreltildi.
- Seyreltme işleminde kullandığımız tampon (TNE) aynı zamanda kör olarak da kullanıldı.

- Uygulama sırasında bileşiklere ait konsantrasyon sabit tutularak CT-DNA konsantrasyonu kademeli bir şekilde artırılarak eklendi.

- Her CT-DNA eklenmesinden sonra, kuartz küvetteki karışım 5 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.

- İnkübasyon sonrasında küvetteki bileşiklerin spektrofotometrede (PG Instruments T+80 UV/Vis spectrophotometer) 200-600 nm arasında kör'e karşı okumaları gerçekleştirilerek DNA bağlanma modları belirlendi.

Spektrofotometre okumalarından elde edilen veriler test bileşiklerinin DNA'ya hangi modla bağlandığını göstermektedir. Absorbans şiddetindeki değişimlerin hesaplanmasında kullanılan formül aşağıda verilmiştir.

$$\%H = [(A_i - A_s) / (A_i)] \times 100 \quad (3.1.)$$

A_i: Serbest haldeki bileşiğin absorbans şiddeti

A_s: DNA ilavesinden sonra maksimum konsantrasyondaki bileşiğin absorbans şiddeti.

3.4. Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal aktivite çalışmaları Clinical Laboratory Standarts Institute (CLSI) tarafından belirtilen prosedür doğrultusunda mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi (Isenberg, 1998).

3.4.1. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Besiyerleri

Nutrient Agar: Antibakteriyel çalışma kültürlerinin hazırlanması için kullanıldı.

Hazırlanışı:

- 150 mL distile su içerisine 3 g nutrient agar eklendi ve otoklavda steril hale getirildi.

Mueller-Hinton Broth (MHB): Bakterilerin antimikrobiyal etkilerini belirlemekte kullanıldı.

Hazırlanışı:

- 100 mL distile suya 6,5 g MHB eklenerek çözdürüldü.
- pH'ı 7,4 e ayarlandı ve otoklavda sterilizasyon işlemi uygulandı.

Roswell Park Memorial Institute medyum (RPMI): Mayaların antimikrobiyal etkilerininin saptanmasında kullanıldı.

Hazırlanışı:

- 10,4 g RPMI, 6,5 g glukoz ve 34,53 g MOPS 900 mL distile su ile çözdürüldü.
- Çözünen karışımın pH'ı 7,4 e ayarlandı ve membran filtreden geçirilecek steril edildi.

Saboraud Dextroz Agar (SDA): Maya kültürlerinin hazırlanması için kullanıldı.

Hazırlanışı:

- 100 mL distile suya 6,5 g SDA eklenerek çözdürüldü ve daha sonra otoklavda steril hale getirildi.

3.4.2. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Mikroorganizmalar

Çalışmada kullanılan Gram pozitif bakteriler;

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923,
- *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ve
- *Bacillus subtilis* ATCC 6633'tür.

Gram negatif bakteriler;

- *Escherichia coli* ATCC 25922,
- *Escherichia coli* NRRL B-3704,
- *Proteus vulgaris* 13315 ve
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10142'dir.

Mayalar;

- *Candida albicans* ATCC 60193 ve
- *Candida tropicalis* ATCC 13803'tir.

3.4.3. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon Testi (MİK)

Bu çalışmada 96'lı U şeklinde kuyucuklara sahip steril mikropiplaklar kullanıldı.

- Bakteri kültürlerinin hazırlanmasında bakterilerin NA'ya; maya kültürlerinin ise SDA'ya ekimleri yapıldı ve kültürler 20 saat süre ile 37 °C'de inkübe edildi.

- İnkübasyon işlemi bittikten sonra çalışma sırasında üreme yoğunluğu fazla olan

kolonilerden öze yardımı ile örnek alınarak serum fizyolojik içerisine eklendi ve bakteri yoğunluğu 0,5 McFarland'a eşitlendi.

- 2 mL alınarak 38 mL'lik serum fizyolojiğe eklenerek 1:20 oranında seyreltme yapılmış oldu.

- Seyreltme işlemi bittikten sonra her bir kuyucuğa 0,1 mL MHB koyuldu.

- Mikroplaklardaki ilk kuyucuklara 0,1 mL olacak şekilde bileşiklerden eklendi.

- 10 µL 1:20 oranında seyreltilmiş olan bakteri kültürü ilave edildi.

- Kuyucuklarda bulunan karışım mikropipet yardımıyla karıştırıldı.

- Bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek amacıyla 512 µg/µL konsantrasyondan başlayarak seri dilüsyonları yapıldı.

- Hazırlanan mikroplaklar bakteriler için 24 mayalar için ise 48 saat süreyle 37 °C'de inkübe edildi.

3.5. Mutajenite ve Antimutajenite

Mutajenite ve Antimutajenite çalışmalarında kullanılan kimyasallar ve besiyerleri Sigma-Aldrich ve Merck firmalarından temin edilmiştir.

3.5.1. Mutajenite ve Antiutajenite Çalışmalarında Kullanılan Stok Çözeltiler ve Besiyerleri

50X VB tuz çözeltisi (Vogel-Bonner E ortamı) Mutajenite ve antimutajenite deneylerinde kullanılan histidin-biyotin-ampisilin agar, histidin-biyotin ve minimal glukoz agar plaklarının hazırlanmasında kullanıldı.

Hazırlanışı:

- 100 mL'lik 50X VB tuz çözeltisi hazırlamak için, 45 °C sıcaklıktaki 67 mL distile suya sırasıyla 1 g magnezyum sülfat, 10 g sitrik asit monohidrat, 50 g potasyum fosfat ve 17,5 g sodyum amonyum fosfat tetrahidrat eklendi ve çözdürüldü.

- Çözelti 100 mL'ye tamamlandı.

- Çözelti otoklavda steril hale getirildi ve oda sıcaklığında saklandı.

Nutrient Broth (NB): Ames testinde kullanılacak olan gecelik kültürdeki test suşlarının üretimi için kullanıldı.

Hazırlanışı:

- 40 mL distile su içerisine 1 g nutrient broth ilave edildi ve çözdürüldü.

- Çözünen karışım daha sonra 20'şer mL olarak ayrı ayrı şişelere alındı.

• Hazırlanan besiyerleri son olarak otoklavda steril hale getirilerek kullanılıncaya kadar +4 °C’de saklandı.

%20’lik Glukoz Çözeltisi: Deneydeki HB, HBA ve MGA plaklarının hazırlanması için kullanıldı.

Hazırlanışı:

- 10 mL’lik distile suya 2 g glukoz eklenerek çözdürüldü.
- Çözelti otoklavda steril edilerek kullanımına kadar +4 °C’de saklandı.

%0,5’lik Histidin Çözeltisi: Deneylerdeki HB ve HBA plaklarında kullanıldı.

Hazırlanışı:

• 5 mL’lik distile su içerisine 0,025 g L-Histidin eklendi ve manyetik karıştırıcı ile tamamen çözünmesi sağlandı.

- Karışım 0,22 µm çaplı membran filtreden geçirilerek steril hale getirildi.
- Kullanımına kadar +4 °C’de saklandı.

0,5 mM’lık Biotin Çözeltisi: HB ve HBA plaklarda kullanıldı.

Hazırlanışı:

• 0,015 g D-Biotin 150 mL’lik distile suya eklenerek ısıtıcı özellikteki manyetik karıştırıcı ile tamamen çözdürüldü.

- Karışım membran filtreden geçirilip steril hale getirildi.
- Daha sonra kullanılmak üzere +4 °C’de saklandı.

0,02 N NaOH Çözeltisi: Ampisilin çözeltisinin hazırlanmasında kullanıldı.

Hazırlanışı:

- 0,008 g NaOH 10 mL distile suya eklendi ve çözdürüldü.

%0,8-0,02 N NaOH Ampisilin Çözeltisi: Mutajenite ve Antimutajenite çalışmalarında HBA plaklarının hazırlanmasında ve pKM101 plazmidi taşıyan suşların kontrolünde kullanılır.

Hazırlanışı:

- 0,2 g ampisilin trihidrat 25 mL distile su ile çözdürüldü.
- Membran filtreden geçirilerek steril hale getirildi.
- Daha sonra kullanılmak üzere +4 °C’de muhafaza edildi.

Sodyum-Fosfat Tamponu (pH=7,4): Deneylerdeki top agara ilave edilmek için kullanıldı.

Hazırlanışı:

- Toplamda 250 mL sodyum fosfat tamponu hazırlamak için ilk önce 0,2 M’lık

sodyum dihidrojen monohidrat çözeltisi hazırlandı.

- Daha sonra yine 0,2 M'lık disodyum hidrojen fosfat dihidrat çözeltisi hazırlanarak bu iki çözelti birbiri ile karıştırıldı.

- pH'ı 7,4 olacak şekilde ayarlandı ve otoklavda steril hale getirildi.

%0,9 Tuz çözeltisi (Serum Fizyolojik): Deneylede çalışılacak olan bakteri kültürlerinin seyreltilmesinde kullanıldı.

Hazırlanışı:

- 0,45 g NaCl 50 mL dH₂O ile karıştırılarak otoklavda steril edildi.

0,5 mM Histidin/Biyotin Çözeltisi: Mutajenite ve Antimutajenite deneylerinde top agara ilave olarak kullanıldı.

Hazırlanışı:

- 500 mL distile suya 0,062 g D-biyotin ilave edilerek ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda tamamen çözdürüldü.

- Çözeltinin üzerine 0,048 g L-Histidin eklenerek tekrar çözdürüldü.

- Karışım membran filtreden geçirilerek steril hale getirildi ve kullanılıncaya kadar +4 °C'de saklandı.

Kristal Viyole Çözeltisi (%0,1): *Rfa* mutasyonunun kontrolünde kullanıldı.

Hazırlanışı:

- 0,01 g kristal viyole 10 mL distile su ile karıştırıldı.

- Çözelti cam şişeye alınıp karanlıkta ve +4 °C'de muhafaza edildi.

Histidin/Biyotin/Ampisilin (HBA) Agar: Deneylede kullanılacak olan master plakların hazırlanmasında ve ampisiline dirençliliğin kontrolünde kullanıldı.

Hazırlanışı:

- 0,75 g agar distile su ile karıştırıldı.

- Otoklav ile sterilizasyon gerçekleştirildi.

- 1 mL 50X VB, 5 mL %20'lik glukoz ve %0,5'lik histidin çözeltileri eklenerek tamamen çözdürüldü.

- 0,5 mM'lık biyotin ve ampisilin çözeltileri ilave edildi.

- Karışım steril haldeki petrilere eşit miktarlarda döküldü.

- Petrilere suşlar +4 °C'de muhafaza edildi.

Top (Üst) Agar: Mutajenite ve Antimutajenite deneylerinde kullanılır.

Hazırlanışı:

- 50 mL distile su içerisine 0,3 g agar ve 0,25 g sodyum klorür eklendi.

• Isıtıcıly manyetik karıştırıcıda çözdürülen karışım her biri 2 mL olacak şekilde deney tüplerine aktarıldı.

- Tüpler otoklavda steril hale getirildi.
- Çalışma sırasında 42 °C su banyosu içerisinde tutuldu.

4-Nitro-*o*-fenilendiamin (0,1 µg/µL): TA98 mutant suşu için pozitif kontrol ve mutajen olarak kullanıldı.

Hazırlanışı:

- 10 mL DMSO içerisinde 1 mg 4-Nitro-*o*-fenilendiamin çözdürüldü.
- Plak başına 10 µg kullanıldı.
- Oda sıcaklığında tutuldu.

Sodyum Azid (0,01 µg/µL): TA100 mutant suşu ile yapılan çalışmada hempozitif kontrol hem de mutajen olarak kullanıldı.

Hazırlanışı:

- 0,1 mg sodyum azid (NaN₃) 10 mL distile su içerisinde çözdürüldü.
- Membran filtreden geçirilerek steril hale getirildi.
- Çalışmalarda 1 µg/plak kullanıldı ve +4 °C'de saklandı.

Nutrient Agar (NA): Mutajenite ve antimutajenite çalışmaları için gecelik kültürün mL'sinde bulunan bakteri yoğunluğunun belirlenmesi ve UV ile kristal viyole hassasiyeti kontrolünde kullanıldı.

Hazırlanışı:

• 0,75 g agar ve 1,25 g nutrient broth 50 mL'lik dH₂O ile otoklav ile çözdürülüp steril edildi.

• Sıvı halde bulunan agar, steril petrilere her biri eşit hacimde olacak şekilde aktarıldı.

Histidin/Biyotin (HB) Agar: Mutajenite ve antimutajenite çalışmaları yapılırken histidin gereksiniminin kontrolünde kullanılır.

Hazırlanışı:

• 50 mL'lik agar hazırlamak için, 0,75 g agar 42 mL dH₂O ile karıştırıldı.

• Agar otoklavda steril edildi.

• Sterilizasyondan sonra karışıma sırasıyla; 1 mL 50X VB tuz çözeltisi, 5 mL glukoz ve 0,5 mL histidin çözeltisi ilave edilerek çözdürüldü.

• Çözeltiye 0,5 mM biyotin çözeltisi eklendi ve çözeltinin son hacmi 50 mL olacak şekilde dH₂O eklendi.

- Son olarak steril petrilere eşit miktarda olacak şekilde agar döküldü.

Minimal Glukoz Agar (MGA):

- 100 mL'lik MGA için, 1,5 g agar ile 83 mL distile su karıştırıldı.
- Otoklavda steril hale getirildi.
- Steril hale gelen çözeltiliye sırasıyla, 2 mL 50X VB tuz çözeltisi, 10 mL %20'lik glukoz çözeltisi eklendi.
- Son hacmi 100 mL olacak şekilde karışım üzerine distile su ilave edildi.
- Son olarak daha önceden steril hale getirilmiş olan petrilere eşit miktarlarda (yaklaşık 25 mL) agar döküldü.

Çalışmada kullanılan mutant suşlar ve bunlara ait olan genotipik özellikler Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmalarda kullanılan mutant suşlara ait genotipik özellikler

SUŞLAR	Histidin Mutasyonu	LPS	R Faktör	Onarım	Mutasyon türü
TA98	hisD3052	Rfa	pKM101	Δuvr B	Çerçeve kayması
TA100	hisG46	Rfa	pKM101	Δuvr B	Baz çifti değişimi

LPS: Lipopolisakkarit, Δ: Delesyon

3.5.2. Suşların Genetik Özelliklerinin Kontrolü

3.5.2.1. Suşların Histidin Gereksinimi

Suşların histidin gereksiniminin kontrolünde his⁻ bakteriler ile his⁺ bakterileri ayırt etmek için biyotin ve histidin içermeyen MGA agarlı plak kontrol plağı olarak kullanıldı. Suşların histidin sentezleme yetenekleri olmadığı için MGA'da üreyemezler ama histidin ve biyotin ortamında üreyebilirler. Suşların üremelerinin kontrolü için;

- NB'da hazırlanan gecelik kültürlerden taze HB ve MGA içeren petrilere çizgi ekim yapıldı.
- Ekim yapıldıktan sonra 37 °C'de 48 ile 72 saat aralığında inkübasyona bırakıldı.

3.5.2.2. *Rfa* Mutasyon Kontrolü

Rfa mutasyonu mutant suşların hücre duvarlarının yapısındaki lipopolisakkarit tabakasında meydana gelen bir mutasyon tipidir. Bu mutasyon hücre duvarının geçirgenliğini arttırmaktadır. *Rfa* mutasyonunun varlığı kristal viyoleye duyarlılık testi ile belirlendi.

- Mutasyonun varlığını belirlemek amacıyla, bir gece önceden NB’de üretilen taze bakteri kültüründen 0,1 mL alınarak NA’ya ekim yapıldı.
- 0,5 cm çaplı disk, plağın ortasına yerleştirilerek üzerine 0,01 mL kristal viyole çözeltisi (%0,1) diske emdirildi. Son olarak petri 37 °C’de 24 saat inkübe edildi.

3.5.2.3. *uvrB* Mutasyon Kontrolü

Mutasyonun kontrolü Ultraviyole (UV) duyarlılık testi kullanılarak gerçekleştirildi. Mutasyon kontrolü için;

- NB’de bir gece önceden üretilmiş olan bakteri kültürlerinden alınarak NA olan petrilere paralel ekim yapıldı.
- Petrinin yarısı UV ışığını almayacak şekilde plastik bir tabaka ile kapatıldı diğer yarısı ise 33 cm yükseklikten 8 sn boyunca 30 watt’lık germisidal UV ışınlarına maruz bırakıldı.
- Daha sonra petri 24 saat boyunca 37 °C’de inkübe edildi.

3.5.2.4. R Faktör Kontrolü

Ampisilin direnç faktörü olarak da bilinen R faktörü barındıran pKM101 plazmidinin kontrolü;

- TA98 ve TA100 mutant suşlarının HBA bulunan plaklara ekimleri yapılarak gerçekleştirildi.
- 24 saat 37 °C’de inkübe edildi.

3.5.2.5. Suşların Gecelik Kültürlerinin Hazırlanması

- Suşların gecelik kültürlerinin hazırlanması için önceden kullanıma hazır hale getirilmiş olan master plaklar kullanıldı.
- Master plaklardaki kolonilerden iyi bir şekilde izole olan koloni seçilerek öze yardımı ile alınarak 0,063 mL ampisilin bulunduran 20 mL NB’ye aktarıldı.
- 16 saat süre ile 37 °C’de inkübe edildi.

- Gecelik kültürden 500 µL alındı ve taze NB' ye aktarıldı.
- 3 saat süre ile 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.

3.5.2.6. Mutajenite ve Antimutajenite Çalışmalarının Yapılışı

Çalışmada 4-metilbenzo[*d*]tiyazol-2-amin türevi Schiff bazı bileşiklerinin potansiyel mutajenite ve antimutajenite özellikleri Ames testi ile çalışıldı.

- Bileşiklerin 4 farklı konsantrasyonu (0,5, 5, 50, ve 500 ppm) hazırlandı.
- Çalışmada donmamalarını sağlamak için 42 °C'lik su banyosunda tutulan histidin biyotinli top agar içerisine sırasıyla 500 µL sodyum/fosfat tamponu, 100 µL test edilen bileşikler ve 100 µL de bakteri kültürü eklendi.
 - Karışım MGA içeren plaklara aktarılarak homojen bir dağılıma sağlandı.
 - Son olarak petrilere donması beklenerek 48 saat 37 °C'de inkübe edildi.
 - Geri dönen bakteri kolonileri (his⁺) sayıldı.

Suşların pozitif kontrolü;

- TA98 mutant suşu için NPD mutajeni, TA100 mutant suşu için NaN₃ mutajeni kullanılarak gerçekleştirildi.
- Her iki suş içinde ayrı ayrı kontroller hazırlandı. 222 µL histidin biyotinli top agara önce 500 µL sodyum/fosfat tamponu, daha sonra TA98 için 100 µL NPD ve TA100 için NaN₃ eklendikten sonra 100 µL bakteri kültürü de eklenerek karışım MGA'lı petrilere döküldü.

- Homojen bir şekilde dağılımı gerçekleştirilerek petrilere donduruldu.
- 37 °C'de 48 saatlik inkübasyonları gerçekleştirildi.
- İnkübasyon işleminin ardından geri dönen bakteri kolonileri (his⁺) sayıldı.

Suşların negatif kontrolü; suşların negatif kontrolleri için DMSO kullanıldı.

- 42 °C'deki 222 µL histidin biyotin çözeltisi bulunan top agara sırasıyla 500 µL sodyum/fosfat tamponu, 100 µL DMSO ve 100 µL bakteri eklendi.
 - Karışım MGA içeren plaklara aktarılarak bakterilerin ve tamponların homojen bir şekilde dağılması sağlandı.
 - MGA plakların donması beklendi ve 48 saat süre ile 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.

- Son olarak geri dönen bakteri kolonileri (his⁺) sayıldı.

Suşların spontan kontrolü; TA98 ve TA100 mutant suşlarının kendiliğinden (spontan) his⁻ formdan his⁺ forma geçebildikleri bilinmektedir. TA98 ve TA100 suşlarına

ait spontan *his*⁺ formdaki bakteri sayıları, TA98 suşu için 20-50 revertant/plak, TA100 için ise 75-200 revertant/plak koloni sayısıdır. Kontrol için;

- 42 °C’de bekletilen 222 µL histidin biyotin çözeltisi ihtiva eden top agara önce 500 µL sodyum/fosfat tamponu daha sonra 100 µL bakteri kültürü eklendi.
- MGA’lı plaklara dökülerek homojen bir şekilde dağılması sağlandı.
- MGA petrilerin donması beklendi ve 37 °C’de 48 saat inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon işleminden sonra plaklardaki geri dönen bakteri kolonileri (*his*⁺) sayıldı.

3.6. Ames Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

3.6.1. Mutajenik Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Çalışmalar için kullanılan 4-metilbenzo[d]tiyazol-2-amin türevlerinin mutajenik özelliklerinin belirlenmesinde negatif kontrolde oluşan revertant/plak sayısı dikkate alındı. Test bileşiklerinin plaklarda oluşturduğu geri dönen koloni sayısının, negatif kontroldeki koloni sayısının iki katı veya daha üstü olduğu durumlarda mutajenitenin varlığı, konsantrasyona bağlı bir şekilde koloni sayısında herhangi bir artış gözlemlendiğinde ise zayıf mutajenik aktiviteden bahsedilir (Mortelmans ve Zeiger, 2000).

3.6.2. Antimutajenik Özelliklerin Değerlendirilmesi

Test edilen bileşiklerin antimutajenik aktivitelerinin değerlendirilmesinde inhibisyon oranları dikkate alınarak değerlendirme yapıldı (Hong ve Lyu, 2011).

$$\text{İnhibisyon Oranı (\%)} = \left[\frac{A-B}{A-C} \right] \times 100 \quad (3.2)$$

A: Pozitif kontroldeki plak başına geri dönen koloni sayısı

B: Test edilen bileşik ve mutajen varlığında plaktaki geri dönen koloni sayısı

C: Spontan koloni sayısı/plak

- Bileşiğin mutant suşları inhibe etme oranı eğer %25’ten az olursa bileşiğin antimutajenik özellikte olmadığından bahsedilir.
- İnkübasyon oranı %25-40 arasında bir değerde ise bileşiğin antimutajenik özelliğinin orta dereceli olduğu belirlenir.
- İnkübasyon oranları eğer %40 ve daha yüksek bir değerde olursa, bileşiklere ait

antimutajenik aktivitenin güçlü olduğu söylenir.

Çalışmalar sonucunda elde edilen verilerin ortalamaları alındı ve standart sapmaları hesaplandı.

3.7. Antioksidan Çalışmaları

Çalışmada kullanılan BHT ve DPPH kimyasalları Sigma-Aldrich firmasından, bileşiklere ait çözeltilerin hazırlanması için kullanılan etanol Merck'ten temin edildi.

3.7.1. DPPH Radikali Süpürücü Etkisi

Deney Brand-Williams ve ark. (1995) geliştirdiği yönteme göre yapılmıştır.

- 0,025 g DPPH, 100 mL etanolde manyetik karıştırıcı ile 6 saat süreyle çözdürüldü.
- Standart çözeltinin A_0 değeri UV spektrofotometresinde 517 nm'de ölçülüp kaydedildi.
- Her bir bileşik için 1 mg/mL'lik stok çözeltiler hazırlandı ve bu stok çözeltiler sırasıyla 20 µg/mL, 40 µg/mL ve 80 µg/mL olacak şekilde UV küvetlerine koyuldu.
- Bileşiklerin potansiyel antioksidan aktivitelerinin kıyaslanacağı pozitif kontrol olan BHT'de aynı konsantrasyonlarda küvetlere eklendi.
- Daha sonra sırasıyla; 1480 µL, 1460 µL ve 1420 µL DPPH ilave edildi.
- Tüm küvetlere 500 µL etanol koyularak 30 dakikalık bir inkübasyona bırakıldı.
- Reaksiyonun gerçekleşmesi için beklenen süre sonunda, tüplerdeki karışımın 517 nm'de UV spektrofotometresinde ölçümleri yapıldı. Absorbans değerleri kaydedildi.
- Bileşiklerin DPPH radikali ile reaksiyona girmesi sonucunda, radikalın oluşturduğu mor rengin şiddetindeki azalmaya bağlı olarak % inhibisyon değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplandı ve bu değerler standart BHT çözeltilerinden elde edilen verilerle karşılaştırıldı.

$$\text{İnhibisyon Değeri (\%)} = \left[\frac{A_K - A_0}{A_K} \right] \times 100 \quad (3.3)$$

A: Absorbans

A_k : Kontrole ait absorbans değeri

A_0 : Örneğe ait absorbans değeri

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Benzotiyazol Türevi Schiff Bazlarının DNA ile Etkileşimleri

4.1.1. Jel Elektroforez Yöntemi ile DNA Kesme Bulguları

Yapılan çalışmalar sonucunda tüm test bileşiklerinin pBR322 plazmid DNA'sını hem hidrolitik hem de oksidatif olarak kestiği belirlendi. Bileşik 1, Bileşik 2 ve Bileşik 3'ün hidrolitik kesme aktivitesi incelendiğinde tüm bileşiklerin 25 µM'lık konsantrasyonlarından başlayarak tüm konsantrasyonlarında Form I DNA'nın Form II DNA'ya dönüştüğü belirlendi.

Bileşiklere ait oksidatif kesme aktivitesine bakıldığında ise, bileşiklerin pBR322 plazmid DNA'sında kesme aktivitesine sahip oldukları ve DNA'nın III. formunun da oluştuğu tespit edildi.

Bileşik 1'in oksidatif kesme aktivitesinde, 25 µM, 50 µM ve 100 µM'lık konsantrasyonlarında Form I plazmid DNA'nın Form II'ye dönüştüğü, 200 µM ve 400 µM'luk konsantrasyonlarında ise plazmid DNA'nın üç formunda olduğu belirlendi.

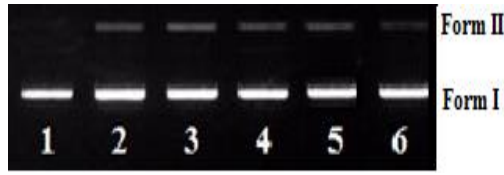
Bileşik 2'ye ait oksidatif kesme aktivitesi detaylı olarak ele alındığında, bileşiğin 25 µM'lık konsantrasyonunda Form I plazmid DNA'nın Form II'ye dönüştüğü, 50, 100, 200 ve 400 µM'lık konsantrasyonlarında ise Form I plazmid DNA'nın hem Form II'ye hem de Form III'e dönüştüğü gözlemlendi.

Bileşik 3'ün oksidatif kesme aktivitesinde bileşiğe ait 25, 50 ve 100 µM'lık konsantrasyonlarda Form I plazmid DNA'nın Form II'ye dönüştüğü belirlendi. 200 ve 400 µM'lık konsantrasyonlarında ise Form I' in yanında Form II ve Form III şekilleride görüldü (Şekil 4.1.a,b).

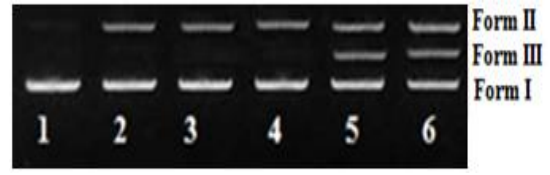
Genellikle yapısında etoksi bulunan bileşiklerin H₂O₂ varlığında anyon formunda olduğu ve bundan dolayı nükleofilik bir saldırıya neden olarak DNA'yı kestikleri bildirilmiştir (Hussein ve ark., 2016).

Buna bağlı olarak bileşiklerin oksidatif kesme aktivitelerinin konsantrasyona bağlı bir şekilde arttığı belirlendi. **Bileşik 2**'nin oksidatif DNA kesme aktivitesinin diğer bileşiklere kıyasla daha düşük konsantrasyonlarda başlamasının nedeninin yapısında bulunan etoksiden kaynaklı olduğu söylenebilir.

Bileşik 1

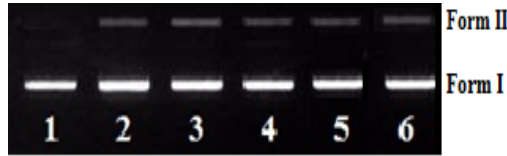


a

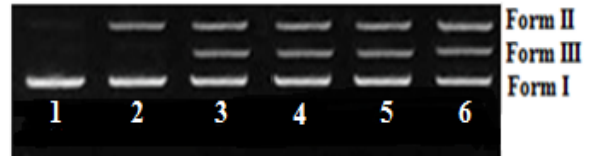


b

Bileşik 2

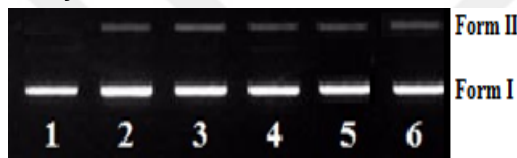


a



b

Bileşik 3



a



b

Şekil 4.1. a. Hidrolitik kesme (1. DNA, 2. DNA+ 25µM Bileşik, 3. DNA+ 50µM Bileşik 4. DNA+ 100 µM Bileşik, 5. DNA+200µM Bileşik, 6. DNA+400µM Bileşik), b. Oksidatif kesme (1. DNA, 2. DNA+ 25µM Bileşik+H₂O₂, 3. DNA+ 50µM Bileşik +H₂O₂, 4. DNA+ 100 µM Bileşik+H₂O₂, 5. DNA+ 200µM Bileşik+H₂O₂, 6. DNA+400µM Bileşik+H₂O₂)

Zeyrek ve ark. (2016), yaptıkları çalışmada, glisin-metil-ester-hidroklorid ve 2-hidroksi-1-naftaldehit'in reaksiyona sokulmasıyla bir amino asit bazlı ve iki noktalı Schiff bazı, (*E*)-metil2-((2-oksonaftalin(2*H*)-iliden)metilamino)asetat (ligand), sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin DNA kesme aktivitelerini agaroz jel elektroforez yöntemiyle pBR322 plazmid DNA'sı kullanarak belirlemişlerdir. Jel elektroforez çalışmaları sonucunda bileşiklerin plazmid DNA'yı harici bir ajana (H₂O₂ gibi) ihtiyaç duymadan kestiğini belirtmişlerdir.

Tejaswi ve ark. 2016 yılında yaptıkları çalışmada, yeni benzotiyazol Schiff bazları sentezlemişlerdir. Bileşiklerin DNA kesme aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda bileşiklerin DNA'yı hem oksidatif hem de hidrolitik olarak kestiğini gözlemlemişlerdir.

Hussein ve ark. (2016), (*E*)-2-(3-etoksi-2-hidroksibenziliden) hidrazinkarbotioamid ve (*E*)-*N*-etil-2-((2-hidroksinaftalen-1-il)metilen)hidrazinkarbotioamid sentezlemişlerdir. Bileşiklerin DNA kesme aktivitelerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda iki bileşiğinde

H₂O₂ varlığında önemli nükleaz aktivitesi gösterdiğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızı önceki çalışmalarla karşılaştırdığımızda elde edilen verilerin benzer sonuçlar verdiği görülmüştür.

4.1.2. DNA Bağlanma Sonuçları

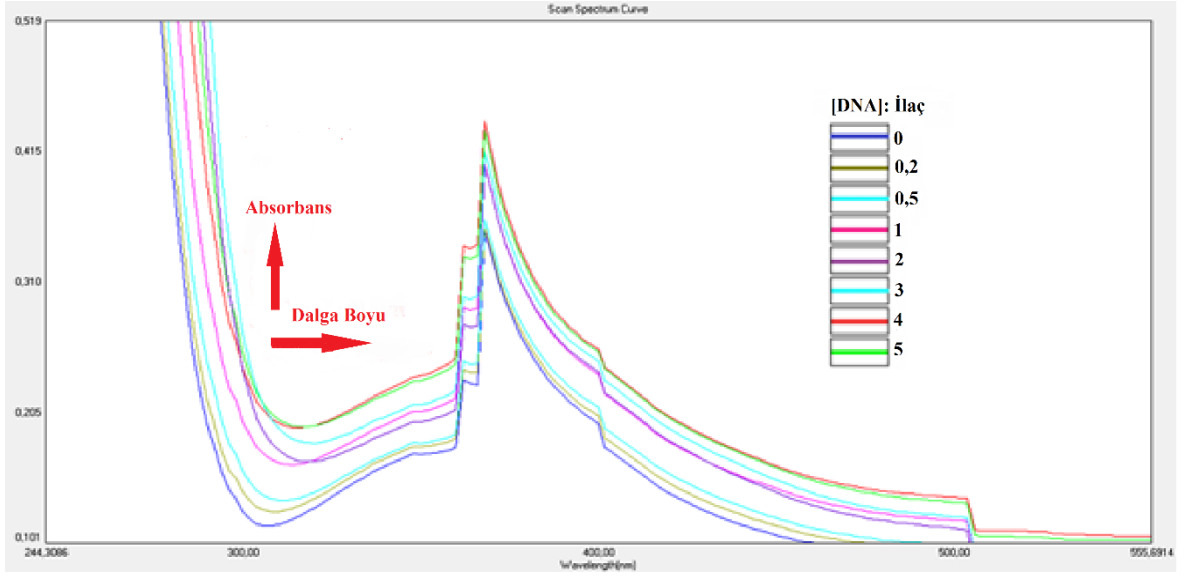
Çift sarmal yapıdaki DNA, hidrojen bağlarının komplementer bazlar ile arasındaki hidrofobik etkileşimler sayesinde birarada tutulur. Ancak DNA herhangi bir denatüre ajana maruz bırakıldığında DNA'yı birarada tutan hidrofobik etkileşim kuvvetinde azalma olur ve bu ajan çift sarmal yapının tek bir sarmala dönüşmesine sebep olur. Tüm bu olaylar sırasında baz-baz etkileşiminde azalma meydana gelir ve serbest haldeki bazların komplementer bazlar ile arasındaki hidrojen bağlarının oluşmaması, DNA çözeltisinin UV absorbansında artışa neden olur.

DNA bağlanma çalışmaları sonucunda **Bileşik 1**'in UV-Vis spektrumunda, kademeli bir şekilde artırılan CT-DNA konsantrasyonu ile absorbans şiddetindeki değişimin hiperkromizm yönünde olduğu ve **Bileşik 1**'de %43-69 hiperkromizm ve 297 nm'de ki absorpsiyonda 2 nm batokromik (kırmızıya) kayma görüldü.

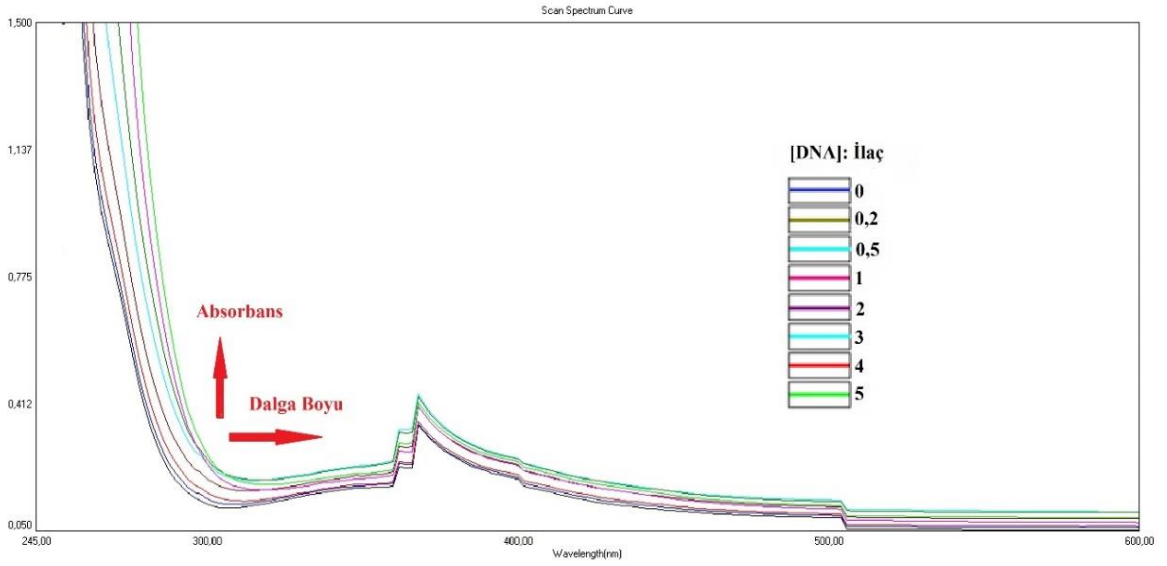
Bileşik 2'nin UV-Vis spektrumu incelendiğinde, kademeli olarak eklenen CT-DNA konsantrasyonu ile absorbans şiddetindeki değişimin **Bileşik 1**'deki gibi hiperkromizm yönünde olduğu belirlendi. **Bileşik 1**'in UV-Vis spektrumunda %6-58 oranlarında hiperkromizm ve 296 nm'de 3 nm batokromik kayma görüldü.

Bileşik 3'ün UV-Vis spektrum verilerine bakıldığında artan CT-DNA konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak absorbans şiddetinde de artış olduğu belirlendi. **Bileşik 3**'teki hiperkromizm %2-12 ve 294 ile 396 nm'lerde 2 nm batokromik kayma şeklinde olduğu saptandı.

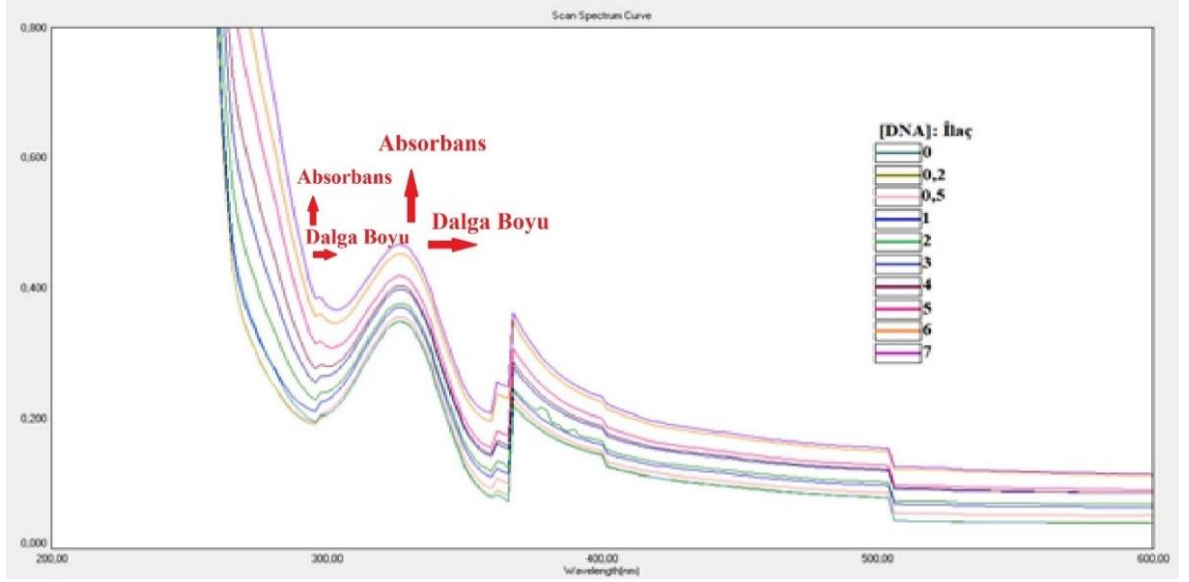
Bu veriler **Bileşik 1, 2 ve 3**'ün CT-DNA ile etkileşiminin elektrostatik olduğunu göstermektedir (Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4).



Şekil 4.2. Bileşik 1'in UV-Vis absorpsiyon titrasyonu



Şekil 4.3. Bileşik 2'nin UV-Vis absorpsiyon titrasyonu



Şekil 4.4. Bileşik 3'ün UV-Vis absorpsiyon titrasyonu

Hiperkromik etki, hidrofobik yüzeyeye sahip ligand içeren pozitif yüklü kompleksler ve bileşikler ile CT-DNA'nın negatif yüklü oksijen fosfat omurgası arasında kovalent olmayan bir şekilde elektrostatik etkileşime bağlı olarak ortaya çıkar. Bu etkileşim DNA'nın yapısında ikincil bir kontraksiyona ve genel hasara neden olur (An ve ark., 2006). Bununla birlikte hiperkromisite, DNA denatürasyonunda absorbanstaki artışla ilişkilidir.

Alizadeh ve ark. (2014), benzotiyazol Schiff baz valin Cu(II) ve Zn(II) komplekslerini sentezlemişlerdir (1a ve b, 2a ve b). Komplekslerin DNA bağlama etkinliklerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda komplekslerin CT-DNA ile elektrostatik olarak etkileşime girdiğini belirlemişlerdir.

Kalaivani ve ark. (2016), salisilaldehit-4(N)-feniltiyosemikarbazon ve naftaldehit-4(N)-metiltiyosemikarbazon sentezlemişlerdir. Sentezledikleri bileşiklerin DNA bağlanma etkinliklerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda bileşik 2'nin CT-DNA'ya elektrostatik olarak bağlandığını rapor etmişlerdir.

Zeyrek ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada, glisin-metil-ester-hidroklorid ve -2-hidroksi-1-naftaldehit'in reaksiyona sokulmasıyla bir amino asit bazlı ve iki noktalı Schiff bazı, (E)-metil2-((2-oksonaftalin(2H)-iliden)metilamino)asetat (ligand) sentezlemişlerdir. Sentezlenen ligandın UV-Vis spektroskopi çalışmaları ile ligandın CT-DNA'ya elektrostatik olarak bağlanabildiğini göstermişlerdir.

Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızı önceki çalışmalarla karşılaştırdığımızda DNA bağlanma etkileşimlerinin benzer sonuçlara sahip olduğunu söyleyebiliriz.

4.2. Antimikrobiyal Aktivite Bulguları

In vitro duyarlılık testlerinin yapılma amaçlarından biri de hastalık etkeni mikroorganizmaların, hastalık etkeninin kullanılan antibiyotiğe karşı direnç gösterme olasılıklarını değerlendirmektir. Bu yüzden duyarlılık testleri antibiyotiklerin kıyaslanmasında oldukça önemlidir (Reller ve ark., 2009).

4-Metilbenzo[d]tiyazol-2-amin türevi Schiff bazlarının antimikrobiyal aktivitelerini test etmek için broth mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı. Çalışmalarda mikroorganizmaların üremesinin olmadığı en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak saptandı.

Bileşik 1'e ait MİK sonuçları değerlendirildiğinde, antibakteriyel aktivitenin tüm bakteriler için 128-32 µg/mL konsantrasyon aralığında olduğu ve *Candida albicans* ve *Candida tropicalis*'e karşı antifungal aktivitesinin ise 16 µg/mL konsantrasyonda olduğu belirlendi.

Bileşik 2'nin antibakteriyel aktivitesi incelendiğinde aktivitenin 256-64 µg/mL konsantrasyon aralığında olduğu gözlemlendi. 32 µg/mL konsantrasyonda ise antifungal aktivite gösterdiği tespit edildi.

Bileşik 3'ün antibakteriyel aktivitesine bakıldığında aktivitenin 128-64 µg/mL ve antifungal aktiviteninde 32-16 µg/mL konsantrasyon aralığında olduğu görüldü (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. 4-Metilbenzo[d]tiyazol-2-amin türevlerinin MİK değerleri (µg/mL)

BİLEŞİKLER	Bakteriler							Mayalar	
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Escherichia coli</i> NRL B-3704	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	<i>Ccandida tropicalis</i> ATCC 13803
Bileşik 1	128	128	128	64	64	64	32	16	16
Bileşik 2	64	256	256	128	64	128	64	32	32
Bileşik 3	64	128	128	128	128	64	64	32	16

Çalışma sonucunda test bileşiklerinin Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerindeki etkinlikleri incelendiğinde Gram negatif bakterilerin üreme etkinlikleri üzerinde

inhibe edici özelliklerinden bahsedilebilir. Bu durumda bileşiklerin antibakteriyel etkisinin bakterilerin hücre duvar yapısı ile ilişkili olduğu düşünülebilir. Çünkü hücre duvarı, birçok bakterinin hayatta kalması için şarttır ve bazı antibiyotikler, peptidoglikanın sentezindeki herhangi bir basamağı inhibe ederek bakterileri öldürebilme potansiyeline sahiptirler (El-Sherif ve Eldebss, 2011).

Tüm bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri kendi aralarında kıyaslandıklarında en güçlü aktiviteye sahip olanın **Bileşik 1** olduğu görüldü. Bunun nedeninin **Bileşik 1**'in yapısındaki Ferrosen'den kaynaklı olduğu söylenebilir. Çünkü Ferrosen, demir ve iki adet siklopentadienil grubunun oluşturduğu bir bileşiktir. Literatürde yapılan çalışmalarda da Ferrosen ihtiva eden bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerinin daha güçlü olduğu bulunmuştur (Chohan ve ark., 2005). Dolayısıyla **Bileşik 1**, diğer bileşiklere göre daha güçlü bir antimikrobiyal aktiviteye sahiptir.

Patel ve Shaikh (2010), benzotiyazol türevi bileşikler sentezlemişlerdir. Bileşiklerin *in vitro* antimikrobiyal aktivitelerini, iki Gram pozitif (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*), iki Gram negatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) bakteri ve üç maya türü (*Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus clavatus*) üzerinde broth mikrodilüsyon metodu kullanarak belirlemişlerdir. Bileşiklerin standart ilaçlarla karşılaştırıldığında antimikrobiyal etkinliklerinin güçlü olduğunu göstermişlerdir.

Kumaravel ve Raman (2017) tarafından yapılan çalışmada, iki yeni imidazol türevi Schiff bazı, (Z)-1-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)-N-benzilidenmetanamin (L¹) ve 1-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)-N-(4-nitrobenziliden)metanamin sentezlemişlerdir. İmidazol türevi bileşiklerin antibakteriyel aktiviteleri agar difüzyon yöntemi ile *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium* bakteri türleri ve *Aspergillus niger*, *Fusarium solani*, *Curvularia lunata*, *Rhizoctonia bataticola*, *Candida albicans* fungus türleri kullanılarak yapılmıştır. Tüm bileşiklerin yüksek antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri olduğunu saptamışlardır.

Yıldırım 2017, glisin metil ester salisiliden bileşiğinin antimikrobiyal aktivitesini incelemiştir. Antimikrobiyal aktivite çalışmalarını broth mikrodilüsyon metodu (MİK) ile Gram negatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*), Gram pozitif (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*) bakteriler ve mayalar (*Candida albicans*, *Candida tropicalis*) ile araştırmıştır. Çalışma sonucunda bileşiğin Gram pozitif, Gram negatif bakteriler ve mayalar üzerinde etkili olduğunu göstermiştir.

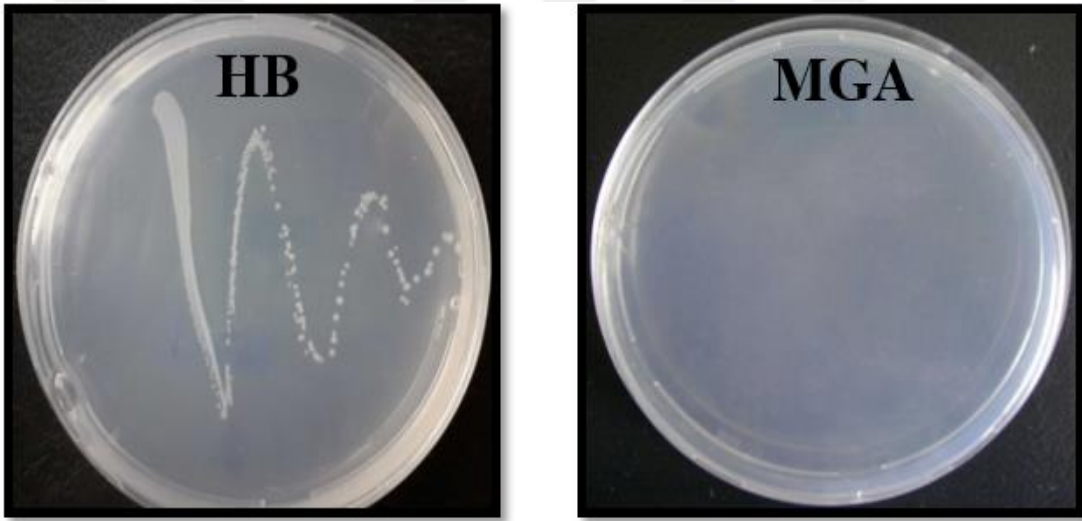
Literatür taramalarından elde edilen sonuçlara göre çalışmamızı değerlendirdiğimizde benzer sonuçlar verdiği gözlemlendi.

4.3 Mutajenik ve Antimutajenik Aktivite Bulguları

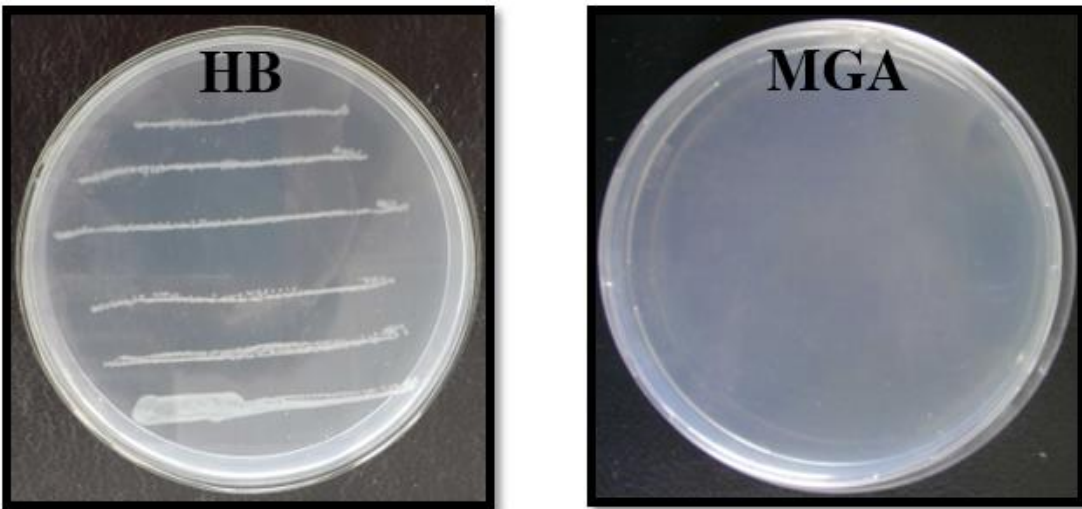
4.3.1. Suşlara Ait Genetik Özelliklerin Kontrolü

4.3.1.1. Histidin Gereksinimleri

Çalışmada kullanılan mutant suşlar MGA ve HB agar içeren plaklara ekim yapıldıktan sonra inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında plaklar incelendiğinde HB agarlı plaklarda üremenin olduğu ancak histidin aminoasitini içermeyen MGA agarlı plaklarda üremenin oluşmadığı görüldü. Bu sonuçlara göre, mutant suşların ikisinde his⁻ özelliği taşıdığı doğrulandı (Şekil 4.5 ve 4.6).



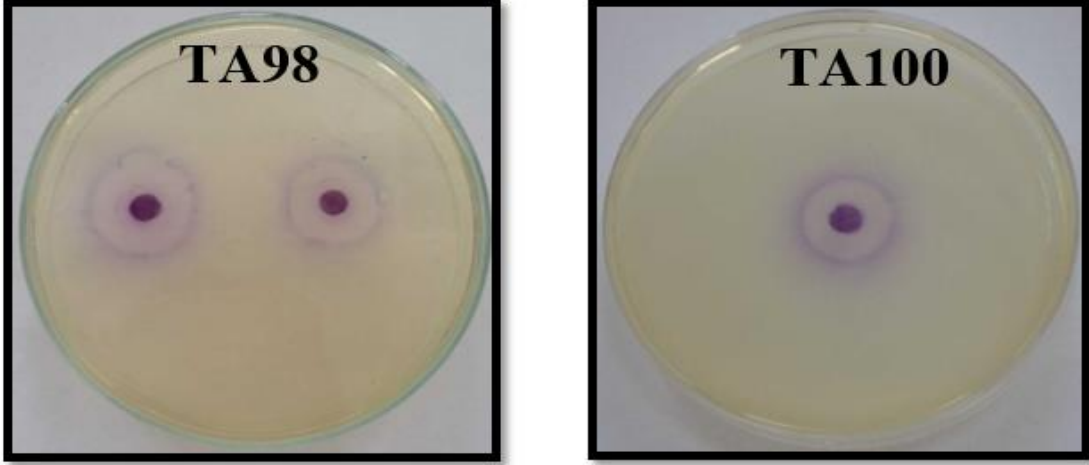
Şekil 4.5. *S. typhimurium* TA98 mutant suşunun HB ve MGA plaklarında üreme sıklığı



Şekil 4.6 TA100 mutant suşunun HB ve MGA plaklarında üreme sıklığı

4.3.1.2. *rfa* Mutasyonu Kontrolü

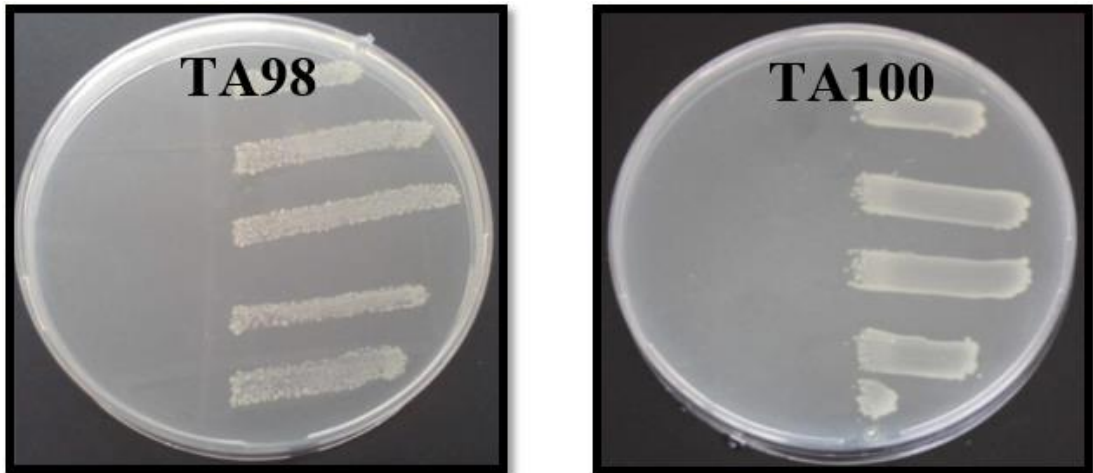
Bu mutasyon kontrolü gerçekleştirilirken mutant suşlara kristal viyole hassasiyet testi uygulandı. Uygulama sonucunda kristal viyole çözeltisi eklenen disklerin etrafında 14 mm çapta şeffaf bir zon oluştuğu gözlemlendi. Bu sonuçlara göre kullanılan mutant suşların ikisinde *rfa* mutasyonunu taşıdıkları doğrulandı (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. TA98 ve TA100 mutant suşlarındaki kristal viyole hassasiyeti

4.3.1.3. *uvrB* Mutasyonu Kontrolü

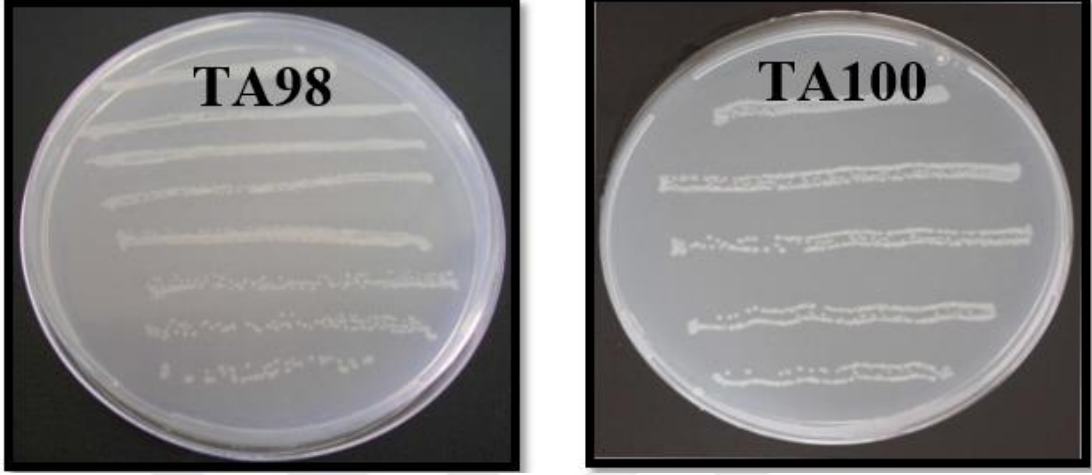
TA98 ve TA100 mutant suşlarının bu mutasyona sahip olup olmadıkları ultraviyole (UV) hassasiyeti testi belirlendi. Petri içerisinde UV'ye maruz bırakılan kısımda üreme olmadığı ama UV ile muamele edilmeyen bölgede üremenin gerçekleştiği görüldü. Uygulama sonuçlarına göre, kullanılan mutant suşların *uvrB* mutasyonunu taşıdıkları doğrulandı (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. TA98 ve TA100 mutant suşları *uvrB* delesyon kontrolü

4.3.1.4. R Faktörü Kontrolü

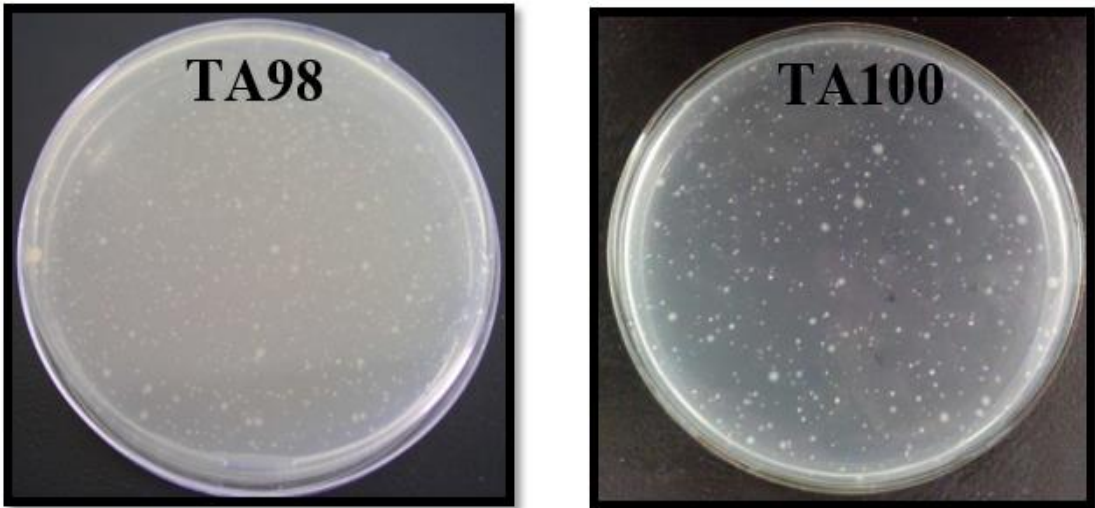
Çalışmalarda kullanılan mutant suşların pKM101 plazmidlerini taşıyıp taşımadıkları HBA plaklara ekim yapılarak üreme durumlarına göre belirlendi. HBA plaklarda üreme olduğu görüldü (Şekil 4.9). Üremenin varlığı suşların pKM101 plazmidini taşıdıklarını doğruladı.



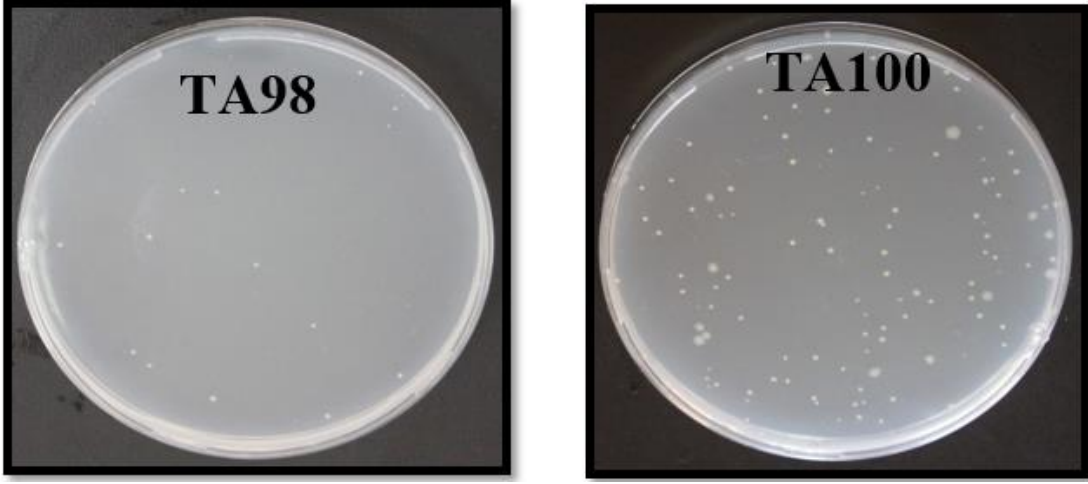
Şekil 4.9. TA98 ve TA100 mutant suşları R faktörü kontrolü

4.3.2. 4-Metilbenzo[d]tiyazol-2-amin Türevlerinin Mutajenik Aktivite Bulguları

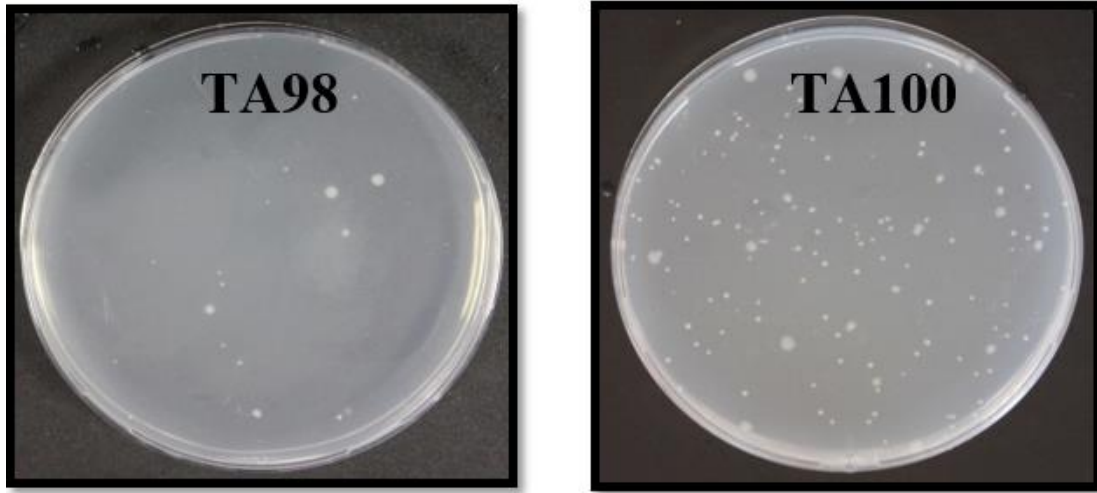
Bu çalışmada, 4-metilbenzo[d]tiyazol-2-amin türevlerinin mutajenik aktiviteleri Ames/*Salmonella* test sistemi ile çalışıldı. Çalışmada histidin sentezleme yeteneklerini kaybetmiş olan suşlar (TA98 ve TA100) kullanıldı. Bileşiklerin bu suşların histidini tekrar sentezleyebilir hale gelmesini sağlayıp sağlayamadıkları belirlenmeye çalışıldı. TA98 ve TA100 mutant suşlarına ait pozitif, negatif ve spontan kontroller Şekil 4.10, 4.11 ve 4.12’de verilmiştir.



Şekil 4.10. TA98 ve TA100 mutant suşlarının pozitif kontrolü



Şekil 4.11. TA98 ve TA100 mutant suşlarının negatif kontrolü



Şekil 4.12. TA98 ve TA100 mutant suşlarının spontan kontrolü

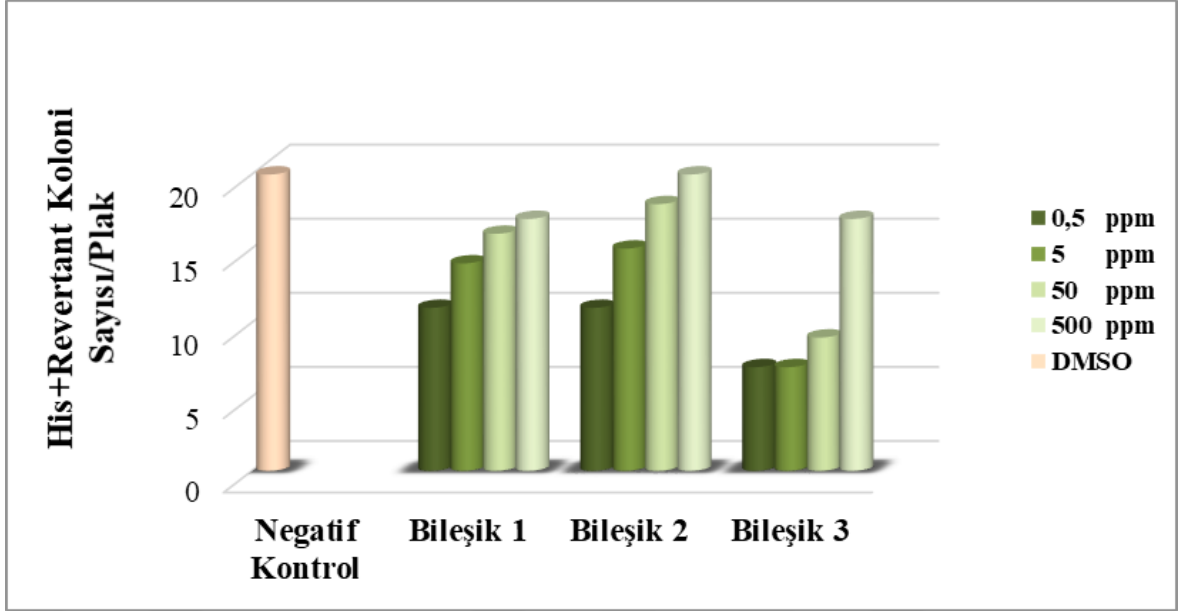
Bileşiklerin mutajenik özellikte olup olmadıklarını belirlemek için histidini yeniden sentezleyebilen (his^+ revertant) koloni sayısı ile negatif kontrol grubundaki koloni sayısı karşılaştırılır. Test bileşiklerinin koloni sayısının negatif kontroldeki koloni sayısının 2 veya daha fazla katında olması durumunda, bileşik mutajenik sayılır. Zayıf mutajenik etki ise, doza bağlı olarak geriye dönen bakteri sayısında bir artış olduğunda ortaya çıkar. (Mortelmans ve Zeiger, 2000).

Bileşik 1'in (*N*-Ferrosenkarboksilidene-4-metil[*d*]tiyazol-2-amin), **Bileşik 2** (2-Etoksi-6-((4-metilbenzo[*d*]tiyazol-2-yilimino)metil)fenol) ve **Bileşik 3**'ün (4-((4-metilbenzo[*d*]tiyazol-2-yilimino)metil)benzene-1.3-diol) tüm konsantrasyonlarının TA98 ve TA100 mutant suşları üzerindeki geri dönen (revertant) koloni sayısı negatif kontroldeki koloni sayısının iki katı kadar olmadığı için bileşiklerin mutajen aktivite göstermediği belirlendi (Çizelge 4.2, Şekil 4.13, Şekil 4.14).

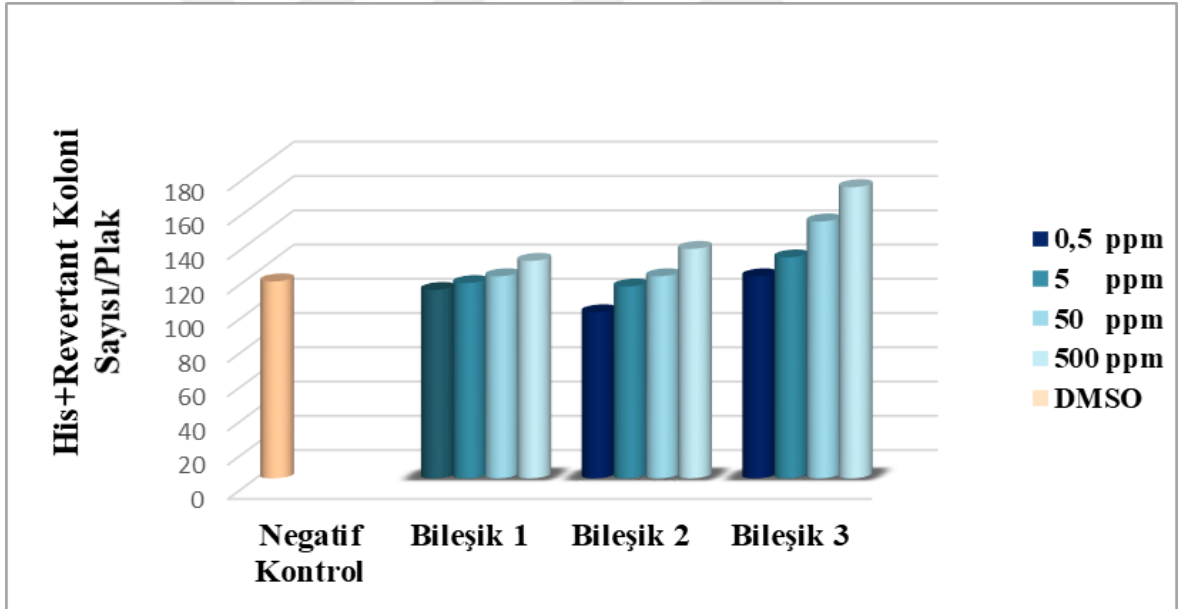
Çizelge 4.2. 4-Metilbenzo[*d*]tiyazol-2-amin türevi bileşiklerin farklı konsantrasyonlarının TA98 ve TA100 mutant suşları üzerindeki mutajenik etkileri

Uygulama	Konsantrasyon (ppm)	His ⁺ Revertant Koloni Sayısı/Plak	
		TA98	TA100
		Ort±SD	Ort±SD
Bileşik 1	0,5	11±2,65	110±1,00
	5	14±1,00	114±6,93
	50	16±1,00	118±3,00
	500	17±4,36	127±8,00
Bileşik 2	0,5	11±1,00	97±4,58
	5	15±1,00	112±3,61
	50	18±1,00	118±2,00
	500	20±1,00	134±4,58
Bileşik 3	0,5	7±1,00	118±3,61
	5	7±2,00	129±1,73
	50	9±4,00	150±3,61
	500	17±1,00	170±2,65
Pozitif Kontrol	NPD SA	10 ⁻² 10 ⁻³	698±8,19 805±11,36
Negatif Kontrol	DMSO		20±1,73 115±2,00
Spontan Kontrol			14±2,65 81±1,73

Ort±SD: Ortalama±Standart Sapma
NPD: 4-Nitro-*o*-fenilendiamin
SA: Sodyum Azid
DMSO: Dimetil sülfoksit



Şekil 4.13. Bileşik 1, Bileşik 2 ve Bileşik 3'ün farklı konsantrasyonlarının *S. typhimurium* TA98 mutant suşu üzerindeki mutajenik etkileri



Şekil 4.14. Bileşik 1, Bileşik 2 ve Bileşik 3'ün farklı konsantrasyonlarının *S. typhimurium*'un TA100 mutant suşu üzerindeki mutajenik etkileri

Tümer ve ark. (2008), üç Schiff bazı ligandı $H_2L^1-H_2L^3$ sentezlemişlerdir. $H_2L^1-H_2L^3$ ligandlarının, *S. typhimurium* TA98 suşunda S9 karışımının mevcudiyetinde ve yokluğunda mutajenik olduğunu belirlemişlerdir. H_2L^1 ve H_2L^2 ligandları, TA100 suşunda S9 karışımı varlığında ve yokluğunda mutajenik aktivite göstermiş, ancak ligand H_2L^3 'ün, TA100 için mutajenik olmadığını ortaya çıkarmışlardır.

Ispir ve ark. (2008), 2,6-diasetilpiridin ve 2-piridinkarboksialdehid ile 4-amino-2,3-dimetil-1-fenil-3-pirozolin-5-on'un reaksiyonundan iki yeni Schiff baz ligandı (L¹, L²) hazırlamışlardır. Ames mutajenite testine göre L1 ve L2 ligantları, S9 karışımının varlığında ve yokluğunda *S. typhimurium* TA98 suşu üzerinde mutajenik etki göstermiştir. TA100 suşunda L1 ligandı, S9 karışımı yokluğunda zayıf mutajen, S9 karışımı varlığında ise mutajenik etki göstermediğini, ayrıca L2 ligandının S9 karışımı varlığında veya yokluğunda TA100 için mutajenik olmadığını belirlemişlerdir.

Charehsaz ve ark. (2016), sentezlenmiş olan benzotiyazol-piperazin türevi Schiff bazlarının (1h ve 1j) mutajenik özelliklerini araştırmışlardır. Örnek 1j'nin, TA98 bakteri suşu üzerinde mutajenik olduğu bununla birlikte bileşik 1h'nin da TA98 ve TA100 üzerinde S9 aktivasyonu varlığında ve yokluğunda mutajenik aktivite göstermediğini tespit etmişlerdir.

Sonuç olarak, çalışmamızda test edilen üç bileşiğe ait tüm konsantrasyonlar negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin mutajenik bir aktivite göstermediği belirlendi. Ayrıca çalışmamız literatür ile karşılaştırıldığında benzer sonuçlar elde edildiği görüldü.

4.3.3. 4-Metilbenzo[d]tiyazol-2-amin Türevlerinin Antimutajenik Aktivite Bulguları

Çalışmada bileşiklerin antimutajenik aktiviteleri Ames/*Salmonella* test sistemi ile belirlenmeye çalışıldı. Antimutajenik aktivite bulguları değerlendirilirken, bileşiğin mutant suşları inhibe etme oranı %25'in altında bir değerde ise test bileşiğinin antimutajenik aktivitesinin olmadığı, inhibisyon oranı %25-40 arasında bir değerde ise bileşiğin antimutajenik aktivitesinin orta dereceli olduğu görülür. Eğer bileşiğin inhibisyon oranları %40'tan yüksek bir değerde olursa, test bileşiklerinin güçlü bir antimutajenik aktivitesi olduğu belirlenir. Bu bilgiler doğrultusunda bileşiklerin antimutajenik aktiviteleri belirlenmeye çalışıldı.

Bileşik 1'in 0,5, 5 ve 50 ppm'lik konsantrasyonları TA98 suşuna karşı antimutajenik aktivite göstermez iken 500 ppm'lik konsantrasyonunun TA98 suşuna karşı orta dereceli (%27,58) antimutajenik özelliğe sahip olduğu görüldü. **Bileşik 2**'nin 0,5 ve 5 ppm'lik konsantrasyonları TA98 suşuna karşı antimutajenik aktiviteye sahip değilken, 50 ve 500 ppm'lik konsantrasyonlarının TA98 suşuna karşı orta dereceli (%28,51 ve %33,38) antimutajenik aktivitelerinin olduğu tespit edildi. **Bileşik 3**'ün TA98 suşuna karşı 0,5 ppm'lik konsantrasyonu antimutajenik özelliği olmadığı görüldü. Ancak 5, 50 ve 500 ppm'lik konsantrasyonlarının orta dereceli (%29,68, %31,73 ve %37,18) antimutajenik

aktivitelerinin olduğu belirlendi (Çizelge 4.3, Şekil 4.15).

Bileşik 1'in TA100 mutant suşuna karşı 0,5 ve 5 ppm'lik konsantrasyonları orta dereceli (%25,38 ve %37,93), 50 ve 500 ppm'lik konsantrasyonlarının güçlü antimutajenik aktiviteye (%44,28 ve %48,97) sahip olduğu görüldü. **Bileşik 2**'nin TA100 suşuna karşı 0,5 ve 5 ppm'lik konsantrasyonları orta dereceli antimutajenik aktivite (%25,83 ve %33,01) gösterirken 50 ve 500 ppm'lik konsantrasyonlarının güçlü antimutajenik aktivite (%42,68 ve %49,31) gösterdikleri belirlendi. **Bileşik 3**'ün TA100 suşuna karşı 0,5 ppm'lik konsantrasyonunun antimutajenik aktiviteye sahip olmadığı ancak 5, 50 ve 500 ppm'lik dozlarının orta dereceli antimutajenik aktivite (%26,80, %31,49 ve %36,05) gösterdikleri belirlendi (Çizelge 4.3, Şekil 4.16).

Bileşiklere ait antimutajenik aktivite sonuçları birbirleriyle kıyaslandıklarında **Bileşik 1** ve **Bileşik 2**'nin antimutajenik aktivitelerinin TA100 suşu üzerinde **Bileşik 3**'e oranla yüksek konsantrasyonlarda daha güçlü olduğu görüldü. **Bileşik 1**'in yapısındaki ferrosenin kendisinden başka bileşiklerle bir araya geldiğinde daha etkili bir bileşik haline geldiği bilinmektedir (Meunier ve ark., 1991). **Bileşik 1**'in antimutajenik aktivitesinin güçlü olması bununla açıklanabilir. **Bileşik 2**'nin yapısındaki etoksinin de güçlü bir bileşik olduğu literatür taramalarından elde edilen bilgilerle desteklenmiştir (Hussein ve ark., 2016). **Bileşik 2**'nin antimutajenik aktivitesinin güçlü olmasının nedeni de yapısındaki etoksiden kaynaklanmış olabilir. TA98 suşu üzerinde 3 bileşiginde yüksek konsantrasyonlarda orta dereceli antimutajenik aktiviteye sahip olduğu görüldü.

Çizelge 4.3. 4-Metilbenzo[*d*]tiyazol-2-amin türevi bileşiklerin farklı konsantrasyonlarının TA98 ve TA100 mutant suşları üzerindeki antimitojenik etkileri

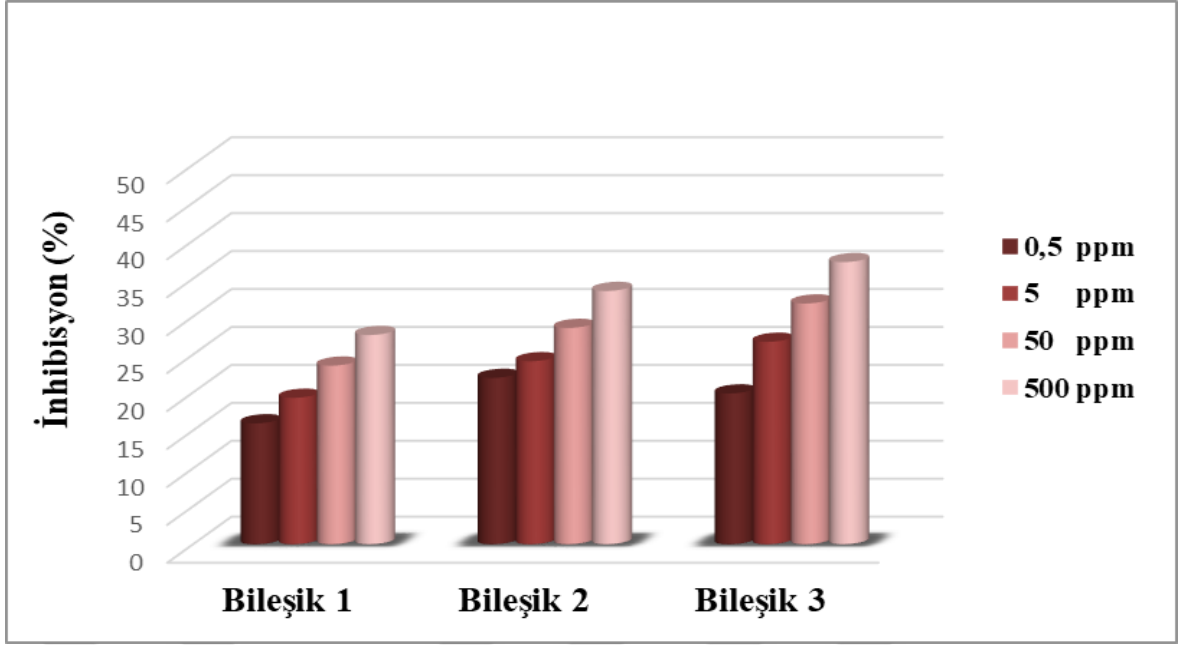
Uygulama	Konsantrasyon (ppm)		His ⁺ Revertant Koloni Sayısı/Plak			
			TA98		TA100	
			Ort±SD	% İnhibisyon	Ort±SD	% İnhibisyon
Bileşik 1	0,5		589±4,36	15,94	621±3,00	25,38
	5		566±5,29	19,30	30±10,54	37,93
	50		537±6,08	23,54	484±5,29	44,28
	500		509±2,52	27,58	450±10,54	48,97
Bileşik 2	0,5		548±5,29	21,93	618±7,55	25,83
	5		533±7,94	24,12	566±7,00	33,01
	50		503±6,24	28,51	496±4,58	42,68
	500		470±1,53	33,38	448±5,57	49,31
Bileşik 3	0,5		562±8,19	19,88	636±7,81	23,34
	5		495±2,65	29,68	611±13,45	26,80
	50		481±3,00	31,73	577±13,00	31,49
	500		444±6,43	37,18	544±7,21	36,05
Pozitif Kontrol	NPD	10 ⁻²	698±8,19			
	SA	10 ⁻³			805±11,36	
Negatif Kontrol	DMSO		20±1,73		115±2,00	
Spontan Kontrol			14±2,65		81±1,73	

Ort±SD: Ortalama±Standart Sapma

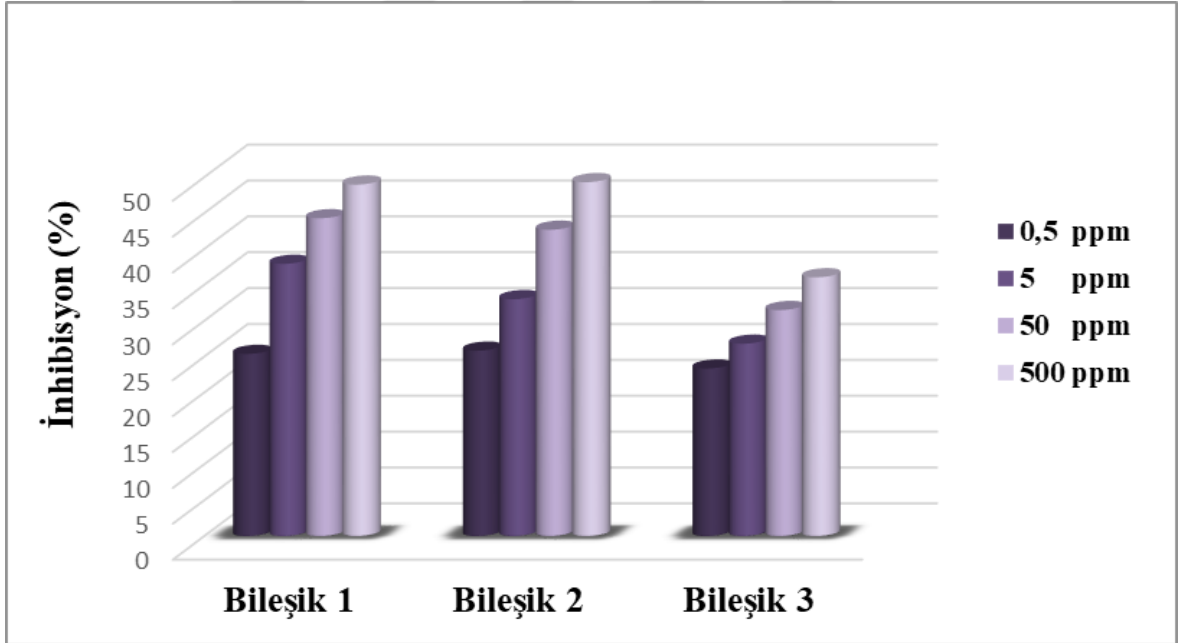
NPD: 4-Nitro-*o*-fenilendiamin

SA: Sodyum Azid

DMSO: Dimetil sülfoksit



Şekil 4.15. 4-Metilbenzo[d]tiyazol-2-amin türevi bileşiklerin *S. typhimurium* mutant suşu TA98 üzerindeki inhibisyon oranları



Şekil 4.16. 4-Metilbenzo[d]tiyazol-2-amin türevi bileşiklerin *S. typhimurium* mutant suşu TA100 üzerindeki inhibisyon oranları

Onuska ve ark. (1996), yaptıkları çalışma da, sentezledikleri aminoguanidin bakır (II) kompleksi içeren Schiff bazlı aminoguanidin bileşiklerini, *S. typhimurium* TA97, TA100 ve TA102 bakteri suşları kullanılarak Ames testiyle test ettiklerinde mutajenik olmayan özelliklere sahip olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca, bu bileşiklerin bazılarının

pozitif kontrol olarak kullanılan Nitrovine karşı güçlü antimutajenik aktivite sergilediği görülmüştür.

Tüylü 2001, 2-sübstitüe fenil benzotiyazolün BT-3, BT-10, BT-15, BT-18 ve BT-26 kodlarıyla isimlendirilen 5 türevinin Ames testi ile mutajenik özelliklerini belirlemeye çalışmıştır. Çalışma sonucunda BT-18 ve BT-26 kodlu benzotiyazol türevlerinin *S. typhimurium*'un TA98 mutant suşu ve TA100 mutant suşu üzerinde herhangi bir mutajenik aktivite göstermediklerini ve antimutajenik özellikte olduklarını gözlemlemiştir.

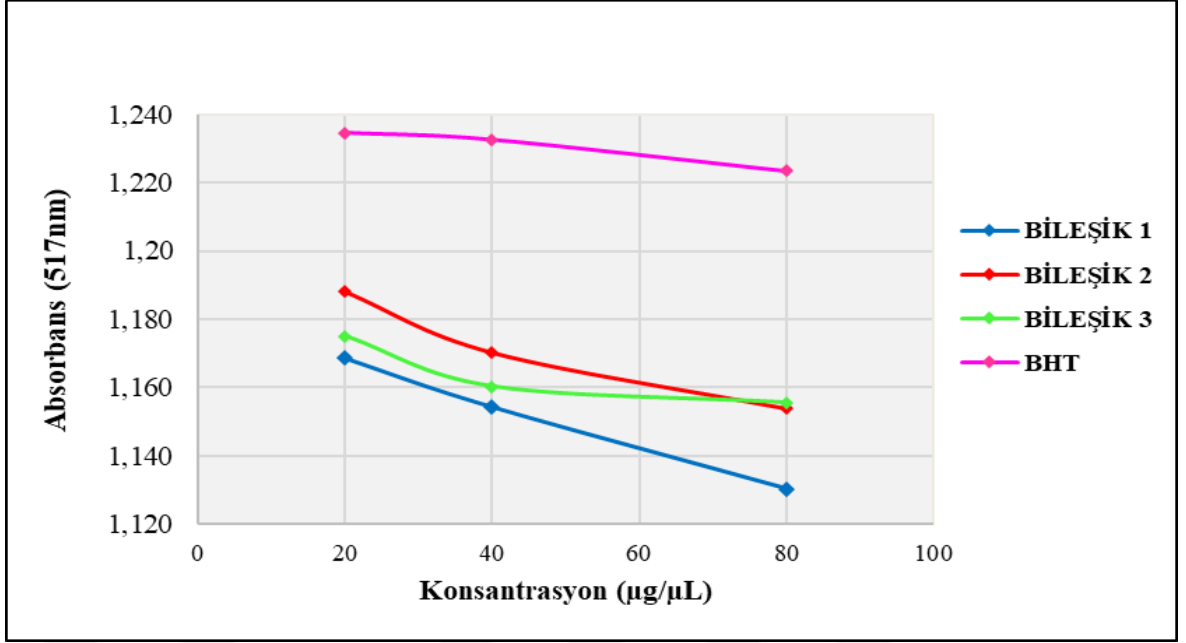
Ashram ve ark. (2009), bir dizi yeni azakrown eter Schiff bazı (1-3) sentezlemiştir. Tüm komplekslerin 1:1 stokiyometri ile kararlı olduğu bulunmuştur. Endüstride, tarımda ve tıpta potansiyel uygulamaları nedeniyle, spot testi ve Ames testi ile mutajenik ve antimutajenik etkilerini araştırmışlardır. *S. typhimurium*'un TA1535, TA100 ve TA97 suşlarını kullanarak gerçekleştirdikleri Ames testinde Bileşik 1, 2 ve 3'ün mutajenik olmadığını belirlemiştir. Bununla birlikte TA102 suşu kullanılarak yaptıkları çalışmada bileşik 3'ün mutajenik aktivite gösterdiğini ancak Bileşik 1 ve 2'nin antimutajenik özellikte olduğunu tespit etmişlerdir.

Yıldırım 2017, glisin metil ester salisiliden bileşiğinin antimutajenik etkisini araştırmıştır. Antimutajenite çalışmalarını Ames testi ile *S. typhimurium*'un TA98 ve TA100 mutant suşlarını kullanarak çalışmıştır. Çalışma sonucunda bileşiğin hem TA98 hem de TA100 mutant suşu için antimutajenik etkisinin bulunduğunu bildirmiştir.

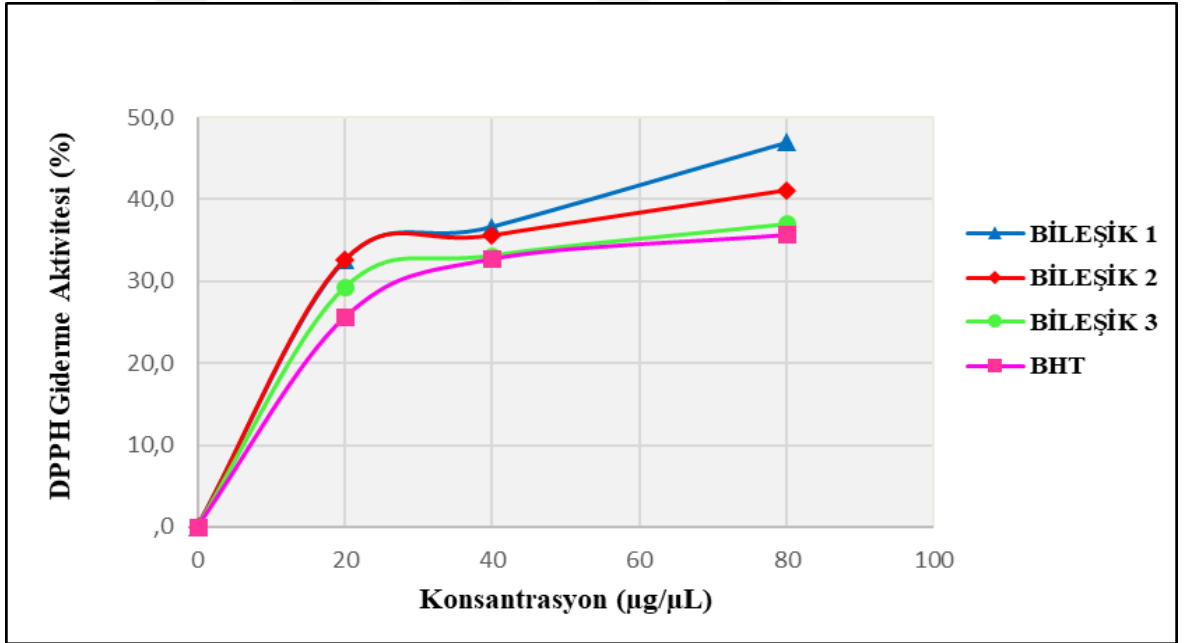
Litaratür taramalarından elde edilen veriler çalışmamızdan elde edilen verilerle karşılaştırıldığında benzer sonuçlar elde edildiği görülmüştür.

4.4. 4-Metilbenzo[d]tiyazol-2-amin Bileşiklerinin Antioksidan Özellikleri

Çalışma da bileşiklerin antioksidan özelliklerinin olup olmadığını anlamak için, 517 nm'de maksimum absorbans veren 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali kullanılmıştır. Bütillendirilmiş hidroksi tolüen (BHT) pozitif kontrol olarak test edilmiştir. Deney sonucunda test bileşiklerinin hepsinin BHT'den daha yüksek bir aktivite gösterdikleri görüldü. Bileşiklere ait absorbans değerleri ve DPPH giderici aktivitelerinin % grafikleri Şekil 4.17 ve Şekil 4.18'de verilmiştir.



Şekil 4.17. 4-Metilbenzo[d]tiyazol-2-amin türevlerinin ve BHT'nin absorbands değerleri



Şekil 4.18. 4-Metilbenzo[d]tiyazol-2-amin türevlerinin ve BHT'nin DPPH radikalini süpürücü etkisi

Bileşik 1'in 20 µg/mL konsantrasyonunda %32,57, 40 µg/mL konsantrasyonunda %36,67, en yüksek konsantrasyonunda (80 µg/mL) ise %46,97 oranında DPPH radikal giderme aktiviteleri gözlemlendi.

Bileşik 2'de de sırasıyla 20, 40 ve 80 µg/mL konsantrasyonlarda %32,63, %35,59 ve %41,11 oranında radikali giderme aktivitesi olduğu tespit edildi.

Bileşik 3'ün 20, 40 ve 80 µg/mL konsantrasyonlarda gösterdiği aktivite sırasıyla %29,27, %32,77 ve %37,01 olmuştur. Tüm test bileşikleri içinde en düşük aktiviteye sahip olanın ise **Bileşik 3** olduğu görüldü.

Bileşik 1, **Bileşik 2** ve **Bileşik 3**'ün tüm konsantrasyonları pozitif kontrol olan BHT'nin tüm konsantrasyonları ile karşılaştırıldığında absorbans değerlerinin düşük ve buna bağlı olarak DPPH radikali giderme aktivitelerinin de daha yüksek olduğu belirlendi.

Biyolojik sistemlerde hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak hem de yabancı maddelerin etkisiyle meydana gelen serbest radikaller hücre membranına zarar verirler ve çeşitli hastalıklarda etkilerini gösterirler. Bu bileşiklerin organizmadaki zararlı etkilerine karşı küçük molekül ağırlıklı radikal tutucular ve enzimlerden oluşan savunma sistemleri bulunmaktadır. Serbest radikallerin doğrudan tayinleri güçtür çünkü genellikle bir elektronunu kaybetmiş ve bir "O" atomu içeren kararsız ve çok kısa ömürlü bileşiklerdir. Bu nedenle serbest radikal reaksiyonlarının ürünleri ve savunma sistemlerinin incelenmesi pek çok araştırmacı tarafından tercih edilmektedir. Antioksidan olduğu düşünülen maddelerin antioksidan olduklarını gösteren özelliklerinden bir tanesi de, ortamda oluşan serbest radikalleri temizlemeleridir. Birçok antioksidan aynı zamanda anti-radikal özelliğindedir. Anti-radikaller, radikallerin eşleşmemiş elektronlarını eşler ve onların etkisiz hale gelmesini sağlar (Joseph ve Knight, 1999).

DPPH konsantrasyonu azaldıkça absorbans da azaldığı ve düşük absorbans antioksidan aktivitenin arttığı anlamına gelmektedir. Bu bilgiler doğrultusunda DPPH radikali giderme aktivitesi ile test bileşiklerinin hepsinin antioksidan özellikte oldukları gözlemlendi.

Sonuç olarak bileşiklerin antioksidan aktiviteleri birbirleriyle kıyaslandığında **Bileşik 1**'in antioksidan aktivitesinin diğer bileşiklere oranla daha yüksek olduğu görüldü. **Bileşik 1**'deki ferrosenin, sahip olduğu siklopentadienil halkaları sayesinde aromatik bir bileşik olduğu bilinmektedir. Ayrıca ferrosen Fe(II) iyonları ile elektron desteği alarak benzen halkasına oranla elektronca daha zengin bir bileşik haline gelir ve bundan dolayı da radikal temizleme özelliği yüksektir (Kealy ve Pauson, 1951). Yapısında ferrosen bulunan **Bileşik 1**'in antioksidan özelliği diğer iki bileşiğe oranla daha kuvvetlidir.

Prakash ve ark. (2010), yeni Schiff bazı olan imesatinler, izatin'in p-fenilendiamin ile reaksiyona sokulmasıyla sentezlemiştir (5a-5f). Sentelenen bu bileşikleri, DPPH, nitrik oksit ve hidrojen peroksit radikal süpürme aktivitesi ile antioksidan aktivite açısından taramışlardır. Tüm yöntemlerde, 3-(4-(3,4,5-trimetoksi benzilidenamino)fenilimino) indolin-2-one (5d) bileşimi, elektron verici grupların varlığı ve bileşik 3-[4-(4-

nitrobenzilidenamino)fenilimino)indolin-2-one (5f), elektron çeken bir grubun varlığı nedeniyle en az aktivite gösterdiğini diğer bileşiklerin işe güçlü aktivite gösterdiklerini belirlemişlerdir.

Selvam ve ark. (2010), bir dizi yeni thiazolo kinazolin türevlerini farklı aromatik aldehitlerin 4-nitro anilin ile yoğunlaştırılmasıyla sentezlemişlerdir (5a-5f). Sentezlenen tüm bileşiklerin (5a-5f) DPPH radikalini giderici etkilerinin ise pozitif kontrol olarak kullanılan Vitamin C'den daha düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Bhat ve ark. (2014), Bir dizi hidrazid Schiff bazlarını farklı hidrazid ve aldehit tiplerinden sentezlemiştir (S1-S6). Sentezlenen bileşikleri, antioksidan aktiviteler için DPPH ve ABTS test sistemleri ile taramışlardır. Bileşiklerden S4 ve S6 bileşiklerinin, DPPH ve ABTS antioksidan testine karşı belirgin bir aktivite gösterdiğini gözlemlemişlerdir.

Shanty ve ark. (2017), bazı yeni Schiff bazları (H1-H7), 2-aminofenol, 2-amino-4-nitrofenol, 2-amino-4-metilfenol, 2-amino benzimidazol ile tiyofen-2-karboksaldehit ve pirol-2-karboksaldehit'in yoğunlaştırılmasıyla sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin antioksidan aktivitesi DPPH metodu kullanılarak belirlenmiştir. Sentezlenen Schiff bazlarının IC₅₀ değeri hesaplanmış ve standart BHA ile karşılaştırıldığında BHA'ya oranla daha güçlü radikal temizleme özelliğine sahip olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızı önceki çalışmalarla karşılaştırdığımızda 4-metilbenzo[d]tiyazol-2-amin türevlerinin DPPH radikalini süpürücü etki sonuçlarının benzer sonuçlar verdiğini hatta çalışma bileşiklerinin literatürdeki birçok çalışmaya göre daha güçlü antioksidan özellikte olduğu görüldü.

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bisiklik heterosiklik bileşik olan benzotiyazol, önemli farmakolojik etkinliği nedeniyle sentetik tıbbi kimyada eşsiz bir materyaldir ve birçok ilacın biyoaktif farmakoforunu oluşturmaktadır ve bu nedenle geniş bir şekilde incelenmiştir (Dua ve ark., 2011). Antimikrobiyal, anti-inflamatuar, anti-HIV aktivitesi, analjezik, antikanser ve lipid peroksidasyon inhibitörleri gibi biyolojik aktiviteler için kullanılabilir (Pereira ve ark., 2012). Bu bileşikler, moleküler seviyede birçok potansiyel aktif bölgeyi hedefleyerek farklı etki mekanizmaları sergileyebilecek yeni ilaçların geliştirilmesi için benzersiz çok yönlü halka sistemleri olarak görev yapmaktadır (Burger ve Sawhey, 1968).

Günümüzde bir dizi Schiff-bazı metal kompleksi, antioksidan olarak etkili ROS temizleyiciler olarak araştırılmıştır. Glutamik asit salisilaldehit Schiff baz metal kompleksleri, BSA'ya bağlanan Schiff baz metal kompleksleri (BSA-SalGluM, M-Cu, Co, Ni, Zn) sığır serumu albuminine (BSA) bağlanır. Sonuçlar, Schiff baz metal komplekslerini bağladıktan sonra BSA'nın antioksidan kapasitesinin 10 kattan fazla arttığını göstermiştir (Wang ve ark., 2007). Ayrıca, bileşiklerin etki şekli, normal hücre prosesine müdahale ile sonuçlanan, hücre bileşenlerinin aktif merkezleri ile azometin grubu yoluyla bir hidrojen bağı oluşumunu içerebilir (Dharmaraj ve ark., 2001). Kimyasal maddeler, doğal olabilecekleri gibi, metabolik olaylar ile de oluşabilir veya laboratuvar ortamında sentezlenebilir. Bugün birçok ilaç ön maddesi hastalıkların tedavisi amaçlanarak sentezlenmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında bileşiklerin DNA kesme aktivitesi iki farklı (hidrolitik ve oksidatif) şekilde agaroz jel elektroforezi yöntemi kullanılarak çalışıldı. Yapılan çalışma sonucunda bileşiklerin 3'ünde artan konsantrasyonlarda hem hidrolitik hem de oksidatif olarak DNA'yı kestiği gözlemlendi.

Bileşiklerin mutajenik/antimutajenik aktivitesi Ames (*Salmonella*/mikrozom) testi ile incelendi. Çalışma sonucunda bileşiklerin herhangi bir mutajenik özellikte olmadıkları belirlendi. Ancak bileşiklerin doza bağlı olarak kullanılan mutant suşlar üzerinde antimutajenik aktivitelerinin olduğu ve hem baz çifti değişimi mutasyonunu hem de çerçeve kayması mutasyonunu engellediği gözlemlendi.

Bileşiklerin antioksidan özellikleri yapılan DPPH radikali süpürücü etki çalışmalarıyla belirlendi. Çalışma sonucunda bileşiklerin, DPPH üzerinde süpürücü etkisi

bilinen ve pozitif kontrol olarak kullanılan BHT'den daha yüksek antioksidan özelliğe olduğu tespit edildi.

Çalışmamızda kullanılan, 4-metilbenzo[d]tiyazol-2-amin türevi bileşiklerin DNA kesme ve DNA'ya bağlanma çalışmaları sonucundaki veriler, kanser hastalığının tedavisinde kullanılacak özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Bileşiklerin DNA ile etkileşim mekanizmalarının *in vitro* olarak kanser hücre hatları ve insan hücreleri ile çalışılması ve hastalıklar üzerindeki etkilerinin belirlenmesi önerilmektedir.

Medikal alanda kullanılan antimikrobiyal ilaçların geniş spektrumlu olanları daha çok tercih edilir. Çalışmadan elde edilen veriler ışığında test bileşiklerinin farklı yöntemler kullanılarak daha fazla bakteri ve maya suşu ile de çalışılması ve değerlendirilmesi gerekmektedir.

Mutajenite ve antimutajenite çalışmaları değerlendirildiğinde çalışmamızda kullanılan bileşiklerin, mutasyonların sebep olduğu bazı hastalıklar üzerinde (kanser, kronik inflamasyon, artrit, nörodejeneratif hastalıklar, karaciğer hastalıklarının gelişimi ve yaşlanma süreci gibi) önleyici ve tedavi edici çalışmalar için referans olabilecek nitelikte oldukları görüldü.

Bunun için, bileşiklerin mutajenik ve antimutajenik özelliklerini daha iyi anlamak amacıyla farklı tekniklerden yararlanılabilir. Örneğin; *in vivo* memeli test sistemleriyle çalışılabilir.

DPPH radikali süpürücü etki çalışmaları antioksidan özellik hakkında bize bilgi versede bileşiklerin diğer antioksidan tayin yöntemleri ile de test edilerek antioksidan aktivitelerinin ayrıntılı bir şekilde aydınlatılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abbaspour A., Esmailbeig A.R., Jarrahpour A.A., Khajeh B., Kia R., 2002. Aluminium(III)-selective Electrode Based on A Newly Synthesized Tetradentate Schiff Base. *Talanta*, 58 (2): 397-403.
- Abbo H.S., Titinchi S.J.J., Prasad R., Chand S., 2005. Synthesis, Characterization and Study of Polymeric Iron(III) Complexes with Bidentate Phydroxy Schiff Bases as Heterogeneous Catalysts. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 225 (2): 225-232.
- Abu-Dief A.M., Nassr L.A., 2015. Tailoring, Physicochemical Characterization, Antibacterial and DNA Binding Mode Studies of Cu (II) Schiff Bases Amino Acid Bioactive Agents Incorporating 5-bromo-2-hydroxybenzaldehyde. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 12 (6): 943-955.
- Agrawal Y.K., Talati J.D., Shah M.D., Desai M.N., Shah N.K., 2004. Schiff Bases of Ethylenediamine as Corrosion Inhibitors of Zinc in Sulphuric Acid. *Corrosion Science*, 46 (3): 633-651.
- Ajlouni A.M., Taha Z.A., Al Momani W., Hijazi A.K., Ebqa'ai M., 2012. Synthesis, Characterization, Biological Activities, and Luminescent Properties of Lanthanide Complexes with N, N'-bis (2-hydroxy-1-naphthylidene)-1, 6-hexadiimine. *Inorganica Chimica Acta*, 388: 120-126.
- Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P., 2002. *Molecular Biology of the Cell*. 4th edition. Garland Science, New York.
- Alizadeh R., Afzal M., Arjmand F., 2014. In Vitro DNA Binding, pBR322 Plasmid Cleavage and Molecular Modeling Study of Chiral Benzothiazole Schiff-Base-Valine Cu (II) and Zn (II) Complexes to Evaluate Their Enantiomeric Biological Disposition for Molecular Target DNA. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 131: 625-635.
- Altundas A., Erdogan, Y., Ogutcu H., Kizil H.E., Agar G., 2016. Synthesis and In-Vitro Antimicrobial and Anti-Mutagenic Activities of Some Novel 2-(2-Hydroxybenzylideneamino)-5, 7-Dihydro-4h-Thieno [2,3-C] Pyran-3-Carbonitrile Derivatives. *Feb-Fresenius Environmental Bulletin*, 25: 5411-5418.

- Ames B.N., Durston W.E., Yamasaki E., Lee F.D., 1973. Carcinogens are Mutagens: A Simple Test System Combining Liver Homogenates for Activation and Bacteria for Detection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70 (8): 2281-2285.
- Amin R., Krammer B., Abdel-Kader N., Verwanger T., El-Ansary A., 2010. Antibacterial Effect of Some Benzopyrone Derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* 45 (1): 372-378.
- Amnerkar N.D., Bhongade B.A., Bhusari K.P., 2015. Synthesis and Biological Evaluation of Some 4-(6-substituted-1,3-benzothiazol-2-yl)amino-1,3-thiazole-2-amines and Their Schiff Bases. *Arabian Journal of Chemistry*, 8 (4): 545-552.
- An Y., Tong M.L., Ji L.N., Mao Z.W., 2006. Double-Strand DNA Cleavage by Copper Complexes of 2,2'-dipyridyl with Electropositive Pendants. *Dalton Transactions*, 17: 2066-2071.
- Anastassopoulou J., 2003. Metal–DNA Interactions. *Journal of Molecular Structure*, 651: 19-26.
- Anupama B., Aruna A., Manga V., Sivan S., Sagar M.V., Chandrashekar R., 2017. Synthesis, Spectral Characterization, DNA/Protein Binding, DNA Cleavage, Cytotoxicity, Antioxidative and Molecular Docking Studies of Cu(II) Complexes Containing Schiff Base-Bpy/Phen Ligands. *Journal of Fluorescence*, 27 (3): 953-965.
- Arjmand F., Parveen S., Mohapatra D.K., 2012. Synthesis, Characterization of Cu (II) and Zn (II) Complexes of Proline-Glycine and Proline-Leucine Tetrapeptides: In Vitro DNA Binding and Cleavage Studies. *Inorganica Chimica Acta*, 388: 1-10.
- Ashram M., Maslat A., Mizyed S., 2009. Synthesis and Biological Activities of New Azacrown Ether Schiff Bases and Spectrophotometric Studies of Their Complexation with [60] Fullerene. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 91 (6): 1095-1104.
- Awale A.G., Gholse S.B., Utale P.S., 2013. Synthesis and Antimicrobial Evaluation of Some Novel Schiff Bases Derived from Benzothiazole Derivative. *International Journal of Scientific and Engineering Research*, 4 (6): 1972-1979.
- Aziz A.A.A., Seda S.H., 2017. Synthesis, Spectral Characterization, SEM, Antimicrobial, Antioxidative Activity Evaluation, DNA Binding and DNA Cleavage Investigation

- of Transition Metal (II) Complexes Derived from A Tetradentate Schiff Base Bearing Thiophene Moiety. *Journal of Fluorescence*, 27 (3): 1051-1066.
- Bağcı H., 1985. Yaz Okulu Moleküler Biyoloji Ders Notları, Ortadoğu Teknik Üniversitesi, 25-55.
- Begum T.N., Raju A.J., Reddy G.N., Sreeramulu J., 2014. Spectroscopic Characterization and Biological Evolution of Ortho Vanillin Pramipexole Schiff Base Metal Complexes. *Der Pharma Chemica*, 6: 51-58.
- Berners-Price S.J., 2007. 1. The Mitochondrial Cell Death Pathway as A Target for Gold and Other Metal-based Antitumour Compounds. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 12 (1): 7.
- Bhat M., Belagali S.L., Murali M., Amruthesh K.N., 2014. Synthesis, Characterization and Biological activities of Hydrazone Schiff's Bases. *International Journal of Chemical and Physical Sciences*, 3 (6): 82-90.
- Bhattacharya S., 2011. Natural Antimutagens: A Review. *Research Journal of Medicinal Plant*, 5 (2): 116-126.
- Bhoi M.N., Borad M.A., Panchal N.K., Patel H.D., 2015. 2-Aminobenzothiazole Containing Novel Schiff Bases Derivatives: Search for New Antibacterial Agents. *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy*, 53: 106-113.
- Blackburn G.M., Gait M.J., 1996. *Nucleic Acids in Chemistry and Biology*. Oxford University Press. New York.
- Brana M. F., Cacho M., Gradillas A., Pascual-Teresa B.D., Ramos A., 2001. Intercalators as Anticancer Drugs. *Current Pharmaceutical Design*, 7 (17): 1745-1780.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C.L.W.T., 1995. Use of A Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28 (1): 25-30.
- Burger A., Sawhey S.N., 1968. Antimalarials. III. Benzothiazole Amino Alcohols. *Journal of Medicinal Chemistry*, 11: 270-273.
- Burrows C.J., Muller J.G., 1998. Oxidative Nucleobase Modifications Leading to Strand Scission. *Chemical Reviews*, 98 (3): 1109-1152.

- Charehsaz M., Gürdal E.E., Helvacioğlu S., Yarım M., 2017. Toxicological Evaluation of Benzothiazole Derivatives Carrying Piperazine Ring. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21 (2): 243-250.
- Chittilappilly P.S., 2007. Studies on Some New Schiff Base Complexes Ruthenium and Neodymium. PhD Dissertation (Doktora Tezi). Cochin University of Science and Technology, India.
- Chohan Z.H., Supuran C.T., Scozzafau A., 2005. Metal Binding and Antibacterial Activity of Ciprofloxacin Complexes. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 20 (3): 303-307.
- Clinical Laboratory Standards Institute, 2006. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard- Seventh Edition. CLSI Document M7-A7. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pensilvania. 49.
- Corona-Bustamante A., Viveros-Paredes J.M., Flores-Parra A., Peraza-Campos A.L., Martínez-Martínez F.J., Sumaya-Martínez M.T., Ramos-Organillo Á., 2010. Antioxidant Activity of Butyl-and Phenylstannoxanes Derived from 2-,3-and 4-Pyridinecarboxylic Acids. *Molecules*, 15(8): 5445-5459.
- Crystal Y.W., 2015. Schiff Base Metal Complexes Synthesis Characterisation and Biological Activity. PhD Dissertation (Doktora Tezi). Anna University, India.
- Czyz A., Szpilewska H., Dutkiewicz R., Kowalska W., Biniewska-Godlewska A., Wegrzyn G., 2002. Comparison of the Ames Test and A Newly Developed Assay for Detection of Mutagenic Pollution of Marine Environments. *Mutation Research*, 519: 67-74.
- David-Cordonnier M.H., Hildebrand M.P., Baldeyrou B., Lansiaux A., Keuser C., Benzschawel K., Lemster T., Pindur U., 2007. Design, Synthesis and Biological Evaluation of New Oligopyrrole Carboxamides Linked with Tricyclic DNA-intercalators as Potential DNA Ligands or Topoisomerase Inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 42 (6): 752-771.
- De Flora S., Ramel C., 1988. Mechanisms of Inhibitors of Mutagenesis and Carcinogenesis. Classification and Overview. *Mutation Research*, 202: 285-306.

- Debnath A.K., Compadre R.L., Debnath G., Shusterman A.J., Hansch G., 1991. Structure-Activity Relationship of Mutagenic Aromatic and Heteroaromatic Nitro Compounds Correlation with Molecular Orbital Energies and Hydrophobicity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 34 (2): 786-797.
- Desai M.N., Desai M.B., Shah C.B., Desai S.M., 1986. Schiff Bases as Corrosion Inhibitors for Mild Steel in Hydrochloric Acid Solutions. *Corrosion Science*, 26: 827-837.
- Deshpande V.G., Habib S.I., Kulkarni P.A., 2015. Cu (II) Metal Complexes of Schiff Bases, Preparation, Characterisation and Biological Activity. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6 (1): 321-326.
- Deshpande V.G., Shah N.N.S., Deshpande M.M., Habib S.I., Kulkarni P.A., 2013. Synthesis and Antimicrobial Evaluation of Schiff Bases Derived from 2-amino-4,6-dimethyl benzothiazole with 2-Hydroxy-naphthalene-1-carbaldehyde, 3-Methylthiophene-2-carbaldehyde and Their Metal Complexes. *International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences*, 2 (2): 801-807.
- Dharmaraj N., Viswanathamurthi P., Natarajan K., 2001. Ruthenium(II) Complexes Containing Bidentate Schiff Bases and Their Antifungal Activity. *Transition Metal Chemistry*, 26 (1-2): 105-109.
- Dığrak M., Selvi S., Ahmedov M.A., Bağcı E., 1997. 1,5-dien-3ol'lerin Antimikrobiyal Etkilerinin İncelenmesi. XII. Ulusal Kimya Kongresi, Y.Y Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Kongre Özetler Kitabı, 677 s.
- Diri M., 2006. *Coridothymus capitatus* (L.) Reichb. Uçucu Yağının Analizi, Su ve Etanol Ekstraktlarının Antioksidant Aktivitelerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Muğla Üniversitesi, Türkiye.
- Donnelly T.H., 1996. The Origins of Use of Antioxidants in Foods. *Journal of Chemical Education*, 73 (2): 158-162.
- Dua R., Shrivastava S., Sonwane S.K., Srivastava S.K., 2011. Pharmacological Significance of Synthetic Heterocycles Scaffold: A Review. *Advances in Biological Research*, 5 (3): 120-144.

- El-Sherif A.A., Eldebss T.M., 2011. Synthesis, Spectral Characterization, Solution Equilibria, In Vitro Antibacterial and Cytotoxic Activities of Cu (II), Ni (II), Mn (II), Co (II) and Zn (II) Complexes with Schiff Base Derived from 5-bromosalicylaldehyde and 2-aminomethylthiophene. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 79 (5): 1803-1814.
- Ertürk B., 2006. Akciğer Kanserli Hastalarda Malondialdehit (MDA) ve Total Antioksidan Kapasite (TAOK) Düzeyi Ölçümü ile Oksidan-antioksidan Dengenin Araştırılması. Uzmanlık Tezi. T.C. Sağlık Bakanlığı Süreyyapaşa Göğüs ve Kalp-Damar Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Türkiye.
- Gatehouse D.G., Rowland I.R., Wilcox P., Callander R.D., Foster R., 1990. Basic Mutagenicity Ukems Recommended Procedures. In: Kirkland, D.J., Ed. *Bacterial Mutation Assay*. The Bath Press, Avon, Great Britain, UK.
- Guhathakurta B., Basu P., Purohit C.S., Bandyopadhyay N., Kumar G.S., Chowdhury S., Naskar J.P., 2017. Synthesis, Characterization, Structure, DNA Binding Aspects and Molecular Docking Study of A Novel Schiff Base Ligand and Its Bis (μ -chloro) Bridged Cu(II) Dimer. *Polyhedron*, 126: 195-204.
- Hong C.E., Lyu S.Y., 2011. Genotoxicity Detection of Five Medicinal Plants in Nigeria. *The Journal of Toxicological Sciences*, 36 (1): 87-93.
- Hussein M.A., Guan T.S., 2016. Synthesis, Structural and Spectral Characterization, and In Vitro Nuclease Activity of New Thiosemicarbazone Derivatives. *European Journal of Chemistry*, 7(1): 1-7.
- Ibrahim M., Khan A., Faiz B., Ikram M., Nabi H., Shah M., Ahuchaogu A.A., 2017. In Vitro Antioxidant Evaluation and DNA Binding Ability of Ni(II), Co(II), Cu(II) and Zn(II) Metal Complexes Containing Bidentate Schiff Base. *IOSR Journal of Applied Chemistry*, 10 (3): 6-14.
- Isenberg H.D., 1998. *Essential Procedures for Clinical Microbiology*. American Society for Clinical Microbiology, Washington DC. 126-223.
- Ispir E., Toroğlu S., Kayraldız, A., 2008. Syntheses, Characterization, Antimicrobial and Genotoxic Activities of New Schiff Bases and Their Complexes. *Transition Metal Chemistry*, 33 (8): 953-960.

- Jayaseelan P., 2011. Synthesis, Characterization, Redox, DNA Binding, Cleavage and Antimicrobial Activities of Novel Schiff Base Binuclear Metal Complexes. PhD Dissertation (Doktora Tezi). Periyar University, India.
- Jones K.E., Patel N.G., Levy M.A., Storeygard A., Balk D., Gittleman J.L., Daszak P., 2008. Global Trends in Emerging Infectious Diseases. *Nature*, 451 (7181): 990-993.
- Joseph A., Knight M.D., 1999. Free Radicals, Antioxidants, Aging and Disease. Washington, 21-304.
- Kalaivani P., Prabhakaran R., Kaveri M.V., Huang R., Staples R.J., Natarajan K., 2013. Synthesis, Spectral, X-Ray Crystallography, Electrochemistry, DNA/Protein Binding and Radical Scavenging Activity of New Palladium (II) Complexes Containing Triphenylarsine. *Inorganica Chimica Acta*, 405: 415-426.
- Kayaalp S.O., 2005. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 11. Basım, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti., Ankara, Türkiye.
- Kealy T.J., Pauson P.L., 1951. A New Type of Organo-Iron Compound. *Nature*, 168: 1039-1040.
- Kesavan M.P., Kumar G.V., Raja J.D., Anitha K., Karthikeyan S., Rajesh J., 2017. DNA Interaction, Antimicrobial, Antioxidant and Anticancer Studies on Cu(II) Complexes of Luotonin A. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 167: 20-28.
- Kimko H.C., Cross J.T., Abernethy D.R., 1999. Pharmacokinetics and Clinical Effectiveness of Methylphenidate. *Clinical Pharmacokinetics*, 37 (6): 457-470.
- Koçer S., Uruş S., Çakır A., Güllüce M., Dığrak M., Alan Y., Aslan A., Tümer M., Karadayı M., Kavaz C., Dal H., 2014. The Synthesis, Characterization, Antimicrobial and Antimutagenic Activities of Hydroxyphenylimino Ligands and Their Metal Complexes of Usnic Acid Isolated from *Usnea longissima*. *Dalton Transactions*, 43 (16): 6148-6164.
- Kulkarni A., Patil S.A., Badami P.S., 2009. Synthesis, Characterization, DNA Cleavage and In Vitro Antimicrobial Studies of La (III), Th (IV) and VO (IV) Complexes with Schiff Bases of Coumarin Derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44 (7): 2904-2912.

- Kumar A., Vashistha V.K., Tevatia P., Singh R., 2016. Electrochemical Studies of DNA Interaction and Antimicrobial Activities of Mn II, Fe III, Co II and Ni II Schiff Base Tetraazamacrocyclic Complexes. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 176: 123-133.
- Kumaravel G., Raman N., 2017. A Treatise on Benzimidazole Based Schiff Base Metal(II) Complexes Accentuating Their Biological Efficacy: Spectroscopic Evaluation of DNA Interactions, DNA Cleavage and Antimicrobial Screening. *Materials Science and Engineering C*, 70 (1): 184-194.
- Küçükbay H., Durmaz B., 1997. Antifungal Activity of Organic and Organometallic Derivatives of Benzimidazole and Benzothiazole. *Arzneimittel-Forschung*, 47 (5): 667-670.
- Lemire J.A., Harrison J.J., Turner R.J., 2013. Antimicrobial Activity of Metals: Mechanisms, Molecular Targets and Applications. *Nature Reviews Microbiology*, 11 (6): 371-384.
- Lerman, L.S., 1961. Structural Considerations in The Interaction of DNA and Acridines. *Journal of Molecular Biology*, 3 (1): 18-30.
- Li L., Karlin K.D., Rokita S.E., 2005. Changing Selectivity of DNA Oxidation from Deoxyribose to Guanine by Ligand Design and A New Binuclear Copper Complex. *Journal of the American Chemical Society*, 127 (2): 520-521.
- Liu C., Wang M., Zhang T., Sun H., 2004. DNA Hydrolysis Promoted by Di- and Multi-Nuclear Metal Complexes. *Coordination Chemistry Reviews*, 248 (1): 147-168.
- Liu Z., Habtemariam A., Pizarro A.M., Clarkson G.J., Sadler P.J., 2011. Organometallic Iridium(III) Cyclopentadienyl Anticancer Complexes Containing C,N-Chelating Ligands. *Organometallics*, 30 (17): 1702-1710.
- Mahalakshmi N., 2012. Synthesis Spectroscopic Studies DNA Cleavage and Antibacterial Activity of Binuclear Copper (II), Nickel (II) and Oxovanadium (IV) Schiff Base Complexes. PhD Dissertation (Doktora Tezi). Periyar University, India.
- Manjunath M., Kulkarni A.D., Bagihalli G.B., Malladi S., Patil S.A., 2017. Bio-important Antipyrene Derived Schiff Bases and Their Transition Metal Complexes: Synthesis, Spectroscopic Characterization, Antimicrobial, Anthelmintic and DNA Cleavage

- Investigation. *Journal of Molecular Structure*, 1127: 314-321.
- March J., 1992. *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*. John Wiley & Sons.
- Mariappan S.S., 2010. *Studies on Mixed Ligand Complexes of Transition Metals*. PhD Dissertation (Doktora Tezi). Anna University, India.
- Maron D.R., Ames B.N., 1983. Revised Methods for the *Salmonella* Mutagenicity Test. *Mutation Research*, 113: 173-215.
- Martinez R., Chacon-Garcia L., 2005. The Search of DNA-intercalators as Antitumoral Drugs: What It Worked and What Did Not Work. *Current Medicinal Chemistry*, 12 (2): 127-151.
- Mazzer P.A., Maurmann L., Bose R.N., 2007. Mechanisms of DNA Damage and Insight into Mutations by Chromium (VI) in the Presence of Glutathione. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 101 (1): 44-55.
- Meunier P., Ouattara I., Gautheron B., Tirouflet J., Camboli D., Besancon J., 1991. Synthesis, Characterization and Cytotoxic Properties of the First 'Metallophenonucleosides'. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 26 (3): 351-362.
- Migliore L., Coppede F., 2002. Genetic and Environmental Factors in Cancer and Neurodegenerative Diseases. *Mutation Research*, 512: 135-153.
- Molenveld P., Engbersen J.F.J., Reinhoudt D.N., 2000. Dinuclear Metallophosphodiesterase Models: Application of Calix[4]arenes as Molecular Scaffolds. *Chemical Society Reviews*, 29 (2): 75-86.
- Mortelmans K., Zeiger E., 2000. The Ames *Salmonella*/Microsome Mutagenicity Assay. *Mutation Research*, 455: 29-60.
- Nathan C., 2004. Antibiotics at The Crossroads. *Nature*, 431 (7011): 899-902.
- Nollet L.M.L., Toldrá F., 2010. *Seafood and Seafood Products Analysis*. CRC Press, Boca Raton, USA. 910 p.

- Onuska K.D., Lahitová N., Cársky J., 1996. Antimutagenic and Bacteriostatic Activities of Schiff Base Compounds Derived from Aminoguanidine, Semicarbazone and Thiosemicarbazone and A Copper(II)-coordination Complex. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 57 (1-4): 163-170.
- Palchaudhuri R., Hergenrother P.J., 2007. DNA as A Target for Anticancer Compounds: Methods to Determine The Mode of Binding and The Mechanism of Action. *Current Opinion in Biotechnology*, 18 (6): 497-503.
- Parveen S., Arjmand F., Mohapatra D.K., 2013. Zinc (II) Complexes of Pro-Gly and Pro-Leu Dipeptides: Synthesis, Characterization, In Vitro DNA Binding and Cleavage Studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 126: 78-86.
- Patel N.B., Shaikh F.M., 2010. New 4-thiazolidinones of Nicotinic Acid with 2-amino-6-methylbenzothiazole and Their Biological Activity. *Scientia Pharmaceutica*, 78 (4): 753-766.
- Pereira G. A., Massabni A. C., Castellano E. E., Costa L. A. S., Leite C. Q. F., Pavan F. R., Cuin A. 2012. A Broad Study of Two New Promising Antimycobacterial Drugs: Ag (I) and Au (I) Complexes with 2-(2-thienyl)benzothiazole. *Polyhedron*, 38 (1): 291-296.
- Pitié M., Burrows C.J., Meunier B., 2000. Mechanisms of DNA Cleavage by Copper Complexes of 3-Clip-Phen and of Its Conjugate with A Distamycin Analogue. *Nucleic Acids Research*, 28 (24): 4856-4864.
- Pogozelski W. K., Tullius, T.D., 1998. Oxidative Strand Scission of Nucleic Acids: Routes Initiated by Hydrogen Abstraction from The Sugar Moiety. *Chemical Reviews*, 98 (3): 1089-1108.
- Ponnuswamy P.K., Gromiha M.M., 1994. On the Conformational Stability of Folded Proteins. *Journal of Theoretical Biology*, 166: 63-74.
- Portugal H.F., Cohen S.J., 1977. *A Century of DNA: A History of the Discovery of the Structure and Function of the Genetic Substance*. Cambridge, Massachusetts: MIT Press, 384 p.
- Pragathi M., 2012. Investigations on DNA Binding and Cleavage Activity of Mono & Dinuclear Transition Metal Complexes. PhD Dissertation (Doktora Tezi). Sri

Krishnadevaraya University, India.

- Prakash C.R., Panneerselvam T., Raja S., 2010. Synthesis and Evaluation of Antioxidant Activities of Some Indole-2,3-dione Derivatives and Analogs. *Toxicological and Environment Chemistry*, 92 (8): 1397-1407.
- Raman N., Mahalakshmi R., Arun T., Packianathan S., Rajkumar R., 2014. Metal Based Pharmacologically Active Complexes of Cu(II), Ni(II) and Zn(II): Synthesis, Spectral, XRD, Antimicrobial Screening, DNA Interaction and Cleavage Investigation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 138: 211-222.
- Reddy P.R., Shilpa A., 2010. Interaction of DNA with Small Molecules: Role of Copper Histidyl Peptide Complexes in DNA Binding and Hydrolytic Cleavage. *Indian Journal of Chemistry*, 49 (A): 1003-1015.
- Reller L.B., Weinstein M., Jorgensen J.H., Ferraro M.J., 2009. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. *Clinical Infectious Diseases*, 49 (11): 1749-1755.
- Sakthilatha D., 2013. Synthesis of Homobimetallic Copper (II), Nickel (II) and Oxovanadium (IV) Schiff Base Complexes: Evaluation of Dna Binding, Cleavage, Radical Scavenging and Antimicrobial Activity. PhD Dissertation (Doktora Tezi). Periyar University, India.
- Samejima K., Kanazawa K., Ashida H., Danno G.I., 1995. Luteolin: A Strong Antimutagen Against Dietary Carcinogen, Trp-P-2, in Peppermint, Sage and Thyme. *Journal of Agricultural and Food*, 43: 400-414.
- Sani U., Dailami S.A., 2015. Synthesis, Characterization, Antimicrobial Activity and Antioxidant Studies of Metal (II) Complexes of Schiff Base Derived from 2-Hydroxy-1-Naphthaldehyde and Hydrazine Monohydrate. *ChemSearch Journal*, 6 (2): 35-41.
- Sato G., Asakura S., Hakura A., Tsutsui-Hiyoshi Y., Kobayashi N., Tsukidate K., 2000. Assessment of Potential Mutagenic Activities of A Novel Benzothiazole MAO-A Inhibitor E2011 Using *Salmonella typhimurium* YG1029. *Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 472 (1): 163-169.

- Selvam T.P., Kumar P.V., Kumar A.S., 2010. Synthesis and Anti-Oxidant Activity of Novel 6, 7, 8, 9 Tetrahydro-5H-5-(2'-hydroxyphenyl)-2-(4'-substitutedbenzylidene)-3-(4-nitrophenylamino) Thiazolo Quinazoline Derivatives. *Research in Biotechnology*, 1 (1): 38-48.
- Shallangwa G.A., 2015. Design and Synthesis of New Series of One-Pot Schiff Base Ligands of 4-Aminobenzenesulfonamides as Potent Antibacterial and Antifungal Agents. *Journal of Progressive Research in Chemistry*, 1 (1): 14-21.
- Shanty A.A., Philip J.E., Sneha E.J., Kurup M.R.P., Balachandran S., Mohanan P.V., 2017. Synthesis, Characterization and Biological Studies of Schiff Bases Derived from Heterocyclic Moiety. *Bioorganic Chemistry*, 70: 67-73.
- Sheng C., Zhu J., Zhang W., Zhang M., Ji H., Song Y., Xu H., Yao J., Miao Z., Zhou Y., Zhu J., Lü J., 2007. 3D-QSAR and Molecular Docking Studies on Benzothiazole Derivatives as *Candida albicans* N-Myristoyltransferase Inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 42 (4): 477-486.
- Sigman D.S., 1986. Nuclease Activity of 1,10-phenanthroline-copper ion. *Accounts of Chemical Research*, 19 (6): 180-186.
- Silvestri C., Brodbelt J.S., 2012. Tandem Mass Spectrophotometry for Characterisation of Covalent Adducts of DNA With Anticancer Therapeutics. *Mass Spectrometry Reviews*, 2: 1-20.
- Singer B., Grunberger D., 1983. *Molecular Biology of Mutagens and Carcinogens*. Springer US, New York. 348 p.
- Sirajuddin M., Ali S., Badshah A., 2013. Drug-DNA Interactions and Their Study by UV-Visible Fluorescence Spectroscopies and Cyclic Voltametry. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 124: 1-19.
- Słoczyńska K., Powroźnik B., Pękala E., Waszkielewicz A.M., 2014. Antimutagenic Compounds and Their Possible Mechanisms of Action. *Journal of Applied Genetics*, 55: 273-285.
- Sreedhara A., Freed J.D., Cowan J.A., 2000. Efficient Inorganic Deoxyribonucleases. Greater than 50-Million-Fold Rate Enhancement in Enzyme-Like DNA Cleavage. *Journal of the American Chemical Society*, 122 (37): 8814-8824.

- Tan J., Wang B., Zhu L., 2009. DNA Binding and Oxidative DNA Damage Induced by A Quercetin Copper (II) Complex: Potential Mechanism of Its Antitumor Properties. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 14 (5): 727-739.
- Tejaswi S., Kumar M.P., Rambabu A., Vamsikrishna N., Shivaraj S., 2016. Synthesis, Structural, DNA Binding and Cleavage Studies of Cu(II) Complexes Containing Benzothiazole Cored Schiff Bases. *Journal of Fluorescence*, 26: 2151-2163.
- Tomi I.H., Tomma J.H., Al-Daraji A.H., Al-Dujaili A.H., 2015. Synthesis, Characterization and Comparative Study The Microbial Activity of Some Heterocyclic Compounds Containing Oxazole and Benzothiazole Moieties. *Journal of Saudi Chemical Society*, 19 (4): 392-398.
- Tümer M., Akgün E., Toroğlu S., Kayraldiz A., Dönbak L., 2008. Synthesis and Characterization of Schiff Base Metal Complexes: Their Antimicrobial, Genotoxicity and Electrochemical Properties. *Journal of Coordination Chemistry*, 61 (18): 2935-2949.
- Tüylü B.A., 2001. Bazı İlaç Öncül Maddelerinin Mutajenik Etkilerinin Bakteriyal ve Hücre Kültürü Testleri ile Araştırılması. PhD Dissertation (Doktora Tezi). Anadolu Üniversitesi, Türkiye.
- Varghese D., 2011. Simple and Encapsulated Transition Metal Complexes of Schiff Bases Derived from Quinoxaline-2-carboxaldehyde and Diamines: Biological and Catalytic Activity Studies. PhD Dissertation (Doktora Tezi). Cochin University of Science and Technology, India.
- Wang A.H., 1992. Intercalative Drug Binding to DNA. *Current Opinion in Structural Biology*, 2 (3): 361-368.
- Wang J.G., 1974. The Degree of Unwinding of The DNA Helix by Ethidium: I. Titration of Twisted PM2 DNA Molecules in Alkaline Cesium Chloride Density Gradients. *Journal of Molecular Biology*, 89 (4): 783-801.
- Wang R.M., Mao J.J., Song J.F., Huo C.X., He Y.F., 2007. Antioxidant Activity of Bovine Serum Albumin Binding Amino Acid Schiff-Bases Metal Complexes. *Chinese Chemical Letters*, 18 (11): 1416-1418.

- Weisburger J.H., 2001. Antimutagenesis and Anticarcinogenesis, from The Past to The Future. *Mutation Research*, 480-481: 23-35.
- Wenwu Q., Yanling Z., Weisheng L., Minyu T., 2000. Synthesis and Infrared and Fluorescence Spectral Properties of Luminescent Terbium and Europium Complexes with Open-chain Carboxylate Crown Ethers. *Spectrochimica Acta Part A*, 59: 3085-3092.
- Westheimer F.H., 1987. Why Nature Chose Phosphates. *Science*, 235 (4793): 1173-1178.
- White T.C., Marr K.A., Bowden R.A., 1998. Clinical, Cellular, and Molecular Factors That Contribute to Antifungal Drug Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 11 (2): 382-402.
- Wills E.A., Redinbo M.R., Perfect J.R., Poeta M.D., 2000. New Potential Targets for Antifungal Development. *Emerging Therapeutic Targets*, 4 (3): 265-296.
- Yıldırım M.A., 2017. Glisin Metil Ester Salisiliden Bileşiğinin Antimutajenik Aktivite ve DNA ile Etkileşimlerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Türkiye.
- Yılmaz İ., 2003. Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of The Schiff Bases Derived from 2,4-disubstituted thiazoles and 3-methoxysalicylaldehyde, and Their Cobalt(II), Copper(II), Nickel(II) and Zinc(II) Complexes. *Transition Metal Chemistry*, 28 (4): 399-404.
- Zeishen W., Zigi G., Zhenhuan Y., 1990. Synthesis, Characterization and Anticancer Activity of L-Alanine Schiff Base Complexes of Copper(II), Zinc(II), Nickel(II) and Cobalt(II). *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry*, 20 (3): 335-344.
- Zeyrek C.T., Boyacıoğlu B., Yıldız M., Ünver H., Yolal, D., Demir N., Elmali E., Tadesse S., Aslan K., 2016. Synthesis, Characterization, and Evaluation of (E)-methyl2-((2-oxonaphthalen-1(2H)-ylidene)methylamino) acetate as A Biological Agent and An Anion Sensor. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 24 (21): 5592-5601.
- Zou X.H., Ye B.H., Li H., Zhang Q.L., Chao H., Liu J.G., Li X.Y., 2001. The Design of New Molecular "Light Switches" for DNA. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 6 (2): 143-150.

<http://www.bioxtal.com/mappbr.php>

http://www.wikiwand.com/en/Hoechst_stain

<https://fromthelabs.bcm.edu/2015/05/15/frame-shift-defines-molecular-diagnosis-in-rare-disease/>

http://80.251.40.59/veterinary.ankara.edu.tr/fidanci/Ders_Notlari/Nukleik_Asitler.html



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Elif MERDAMERT

Doğum Yeri : KARTAL

Doğum Tarihi : 01.07.1986

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi,

Fen-Edebiyat Fakültesi,

Biyoloji Bölümü, 2011-2015

Yüksek Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi,

Fen Bilimleri Enstitüsü,

Biyoloji Anabilim Dalı, 2016-2018

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar -SCI -Diğer

b) Bildiriler -Uluslararası -Ulusal

Uluslararası kongre, sempozyum, panel gibi bilimsel toplantılarda sunularak, programda yer alan özet metin olarak yayımlanan bildiri ya da poster veya gösteri

Merdamert E., Bozyel M.E., Demir N., 2017. Antioxidant Activity and Protective Effect on DNA Cleavage of Extracts from *Inula viscosa* (L.) Aiton. 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies, April 26th-29th, 2017, İstanbul, Türkiye. Abstract Book, 485. (Poster).

Ballı M., Demir N., Yıldız M., **Merdamert E.**, Yıldırım M.A., 2017. Colorimetric Sensor, DNA Binding and DNA Cleavage Studies of 6-Methoxybenzo[d]thiazol-2-ylimino Derivate. 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies, April 26th-29th, 2017, İstanbul, Türkiye. Abstract Book, 583. (Poster).

Saraçoğlu M., **Merdamert E.**, Demir N., Erduğan H., 2017. Free Radical Scavenging Capacity and DNA Damage Protective Activity of *Sargassum vulgare* C. Agardh. 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies, April 26th-29th, 2017, İstanbul, Türkiye. Abstract Book, 702. (Poster).

Ulusal kongre, sempozyum, panel gibi bilimsel toplantılarda sunularak, programda yer alan özet metin olarak yayımlanan bildiri ya da poster veya gösteri

Merdamert E., Demir N., 2017. 2-etoksi-6-((4-metilbenzo[*d*]tiyazol-2-yilimino)metil)fenol Bileşiğinin DNA ile Etkileşiminin Araştırılması. 2. Yaşam Bilimleri Kongresi. 23-25 Şubat 2017, Abdullah Gül Üniversitesi, Kayseri, Türkiye. Bildiri Kitabı, 22. (Poster)

c) Katıldığı Projeler

Ulusal kuruluşlarca desteklenen projede görev alma

Çanakkale İli Gökçeada ve Bozcaada Doğal Yayılışlı Orkide (Orchidaceae) Taksonlarının Sistematik, Morfolojik ve Anatomik Özelliklerinin İncelenmesi. TÜBİTAK 2209/A (Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri). Yürütücü, Şubat 2014-Ocak, 2015.

4-Metilbenzo[*d*]Tiyazol-2-Amin Türevlerinin Biyolojik Aktivite ve DNA ile Etkileşimlerinin Araştırılması. ÇOMÜ BAP FYL-2017-1084 (Yüksek Lisans Tez Projesi). Araştırmacı, Şubat 2017-Ocak 2018.

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl :

İLETİŞİM

E-posta Adresi : eliffmerdamert@gmail.com