

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

**ÇİNKO 2-FLOROBENZOATIN NİKOTİNAMİD İLE MİX LİGANT
KOMPLEKSİNİN ANTİBAKTERİYEL VE SİTOTOKSİK ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

Cem ÖZTÜRK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Giray Buğra AKBABA

TEMMUZ-2019

KARS



T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI



**ÇİNKO 2-FLOROBENZOATIN NİKOTİNAMİD İLE MİX LİGANT
KOMPLEKSİNİN ANTİBAKTERİYEL VE SİTOTOKSİK ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

Cem ÖZTÜRK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN


Dr. Öğr. Üyesi Giray Buğra AKBABA

TEMMUZ-2019

KARS

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Cem ÖZTÜRK'ün Dr. Öğr. Üyesi Giray Buğra AKBABA danışmanlığında yüksek lisans tezi olarak hazırladığı "**Çinko 2-Florobenzoatın Nikotinamid ile Mix Ligant Kompleksinin Antibakteriyel ve Sitotoksik Özelliklerinin İncelenmesi**" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy ..**birlik**..... ile kabul edilmiştir.

05/07/2019

	Adı ve Soyadı	İmza
Başkan	: Doç. Dr. Röşen GULİYEV	
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Giray Buğra AKBABA	
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Füreya Elif ÖZBEK	

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun . . / . . / 20. . gün ve / sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fikret AKDENİZ

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi.
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu.
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi.
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı.
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu.

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.


Cem ÖZTÜRK
05/06/2019

ÖZET

(Yüksek Lisans Tezi)

ÇİNKO 2-FLOROBENZOATIN NİKOTİNAMİD İLE MİX LİGANT KOMPLEKSİNİN ANTİBAKTERİYEL VE SİTOTOKSİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Cem ÖZTÜRK

Kafkas Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyomühendislik Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Giray Buğra AKBABA

Bu tez çalışmasında, daha önce sentezlenmiş olan çinko 2-florobenzoatın nikotinamid ile karışık ligant kompleksinin 1,17; 2,33; 4,67; 9,34; 18,67 mM konsantrasyonlarda antibakteriyel aktivitesi *Bacillus subtilis*, *Pseudomonasa eruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* ve *Klebsiella pneumoniae* bakterileri kullanılarak Agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile incelenmiştir. Kompleksin aynı konsantrasyonlarda insan periferik kan hücreleri üzerindeki sitotoksik özelliklerini belirlemek için MTT yöntemi kullanılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre 18,67 ve 9,34 mM konsantrasyonlarda kompleks, elde edilen inhibisyon zon çaplarına göre değerlendirildiğinde bütün bakteriler üzerinde iyi derecede antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir. Bileşiğin 2,33 mM konsantrasyonda yalnızca *S. aureus* bakterisi üzerinde baskılayıcı bir etkisi olduğu görülmektedir. 4,67 mM konsantrasyonda *B. cereus* ve *E. coli* hariç diğer bütün bakteriler üzerinde bileşiğin antibakteriyel olduğu gözlenmiştir. Bileşiğin 1,14 mM konsantrasyonda hiçbir bakteri üzerinde üremeyi durdurucu etki göstermediği tespit edilmiştir. MTT test yöntemi ile sitotoksitesite araştırılan kompleksin test sonuçlarına göre artan konsantrasyona bağlı olarak hücre canlılığının azalmasına neden olduğu belirlenmiştir. 1,17; 2,33; 4,67; 9,34; 18,67 mM konsantrasyonlarda hücre canlılığı sırasıyla % 86, % 86, % 73 ve % 65 ve % 6,42 olarak tespit belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Çinko Kompleksleri, Antibakteriyel, MTT, Sitotoksitesite

2019, 44 Sayfa

ABSTRACT

(M. Sc. Thesis)

INVESTIGATION OF ANTIBACTERIAL AND CYTOTOXIC PROPERTIES OF MIX LIGAND COMPLEX OF ZINC 2-FLUOROBENZOATE WITH NICOTINAMIDE

Cem ÖZTÜRK

Kafkas University

Graduate School of Applied and Natural Sciences

Department of Bioengineering

Supervisor: Asst. Prof. Giray Buğra AKBABA

In this thesis, 1,17; 2,33; 4,67; 9,34 and 18,67 mM concentrations of the previously synthesized zinc 2-fluorobenzoate with nicotinamide complex was investigated using by agar well diffusion diffusion method on *Bacillus subtilis*, *Pseudomonasa eruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* and *Klebsiella pneumoniae* bacterias. The MTT method was used to determine the cytotoxic properties of the complex on human peripheral blood cells at the same concentrations. According to the results of the antibacterial study, it was determined that the complex showed a good antibacterial effect on all bacteria at 18,67 and 9,34 mM concentrations. The compound exhibits to have a suppressive effect only on *S. aureus* bacteria at a concentration of 2,33 mM. It was observed that the compound was antibacterial on all bacteria except *B. cereus* and *E. coli* at a concentration of 4,67 mM. The compound was found to have no growth inhibiting effect on any bacteria at a concentration of 1,17 mM. The cytotoxicity of the complex was investigated by MTT test method and it was determined that the cell viability decreased due to increasing concentration according to the test results. Cell viability at 1,17; 2,33; 4,67; 9,34 and 18,67 mM was determined to be 86%, 86%, 73% and 65% ve 6,42% respectively.

Key Words: Zinc Complexes, Antibacterial, MTT, Cytotoxicity

2019, 44 pages

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezi olarak sunulan bu çalışmada Kafkas Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Biyomühendislik Anabilim Dalında Dr. Öğr. Üyesi Giray Buğra AKBABA danışmanlığında hazırlanmıştır.

Yüksek lisans tezimin hazırlanmasında bilgi ve emeği ile bana yardımcı olan, beni yönlendiren ve tecrübeleri ile karşılaştığım zorlukları kolayca aşmamı sağlayan, çalışmamın gerçekleştirilebilmesi için gerekli olanakların sağlanmasında her türlü desteği veren, hoşgörülü bir çalışma ortamı sunan değerli hocam ve danışmanım Sayın Dr.Öğr. Üyesi Giray Buğra AKBABA'ya en içten dileklerle teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Çalışmalarımın her aşamasında desteğini ve yardımını esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden her zaman yararlandığım, çalışmalarımın her aşamasını takip eden, bilimsel, yaratıcı, eğitici ve teşvik edici kişiliği ile daima örnek aldığım Sayın Dr.Öğr. Üyesi Füreya Elif ÖZBEK'e saygı ve teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Çalışmamın her aşamasında olumlu teşvikleri ile beni cesaretlendiren ve destekleyen Sayın Dr.Öğr. Üyesi Güven GÜLBAZ'a minnet ve şükranlarımı sunmayı her zaman için bir borç bilirim. Ayrıca Sayın Prof.Dr. Hacali NECEFOĞLU, Doç.Dr. Metin ÖĞÜN, Dr.Öğr. Üyesi Cem ÖZİÇ, Biyomühendislik Anabilim Dalında yüksek lisans öğrencisi Kader ARSLAN'a, deneylerim sırasında periferik kan örneklerini temin ettiğim gönüllü katılımcılara ve kan örneklerinin alınmasında yardımlarını esirgemeyen Kars Harakani Devlet Hastanesi çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu çalışmam sırasında ve tüm hayatım boyunca yanımda olan, bana güvenen, ilgi ve sevgilerini benden esirgemeyen çok değerli aileme, sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Cem ÖZTÜRK

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
1.1. İlaç Kimyasında Çinko ve Çinko Karboksilatlar	1
1.2. Antibiyotikler	5
1.3. Antimikrobiyal Aktivite ve Test Yöntemleri	7
1.3.1. Difüzyon Metodu	7
1.3.2. Dilüsyon Metodu.....	8
1.4. Sitotoksosite ve Sitotoksosite Belirleme Yöntemleri.....	9
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ	15
3. MATERYAL VE YÖNTEM	20
3.1. Materyal.....	20
3.1.1. Test Bileşiğinin Temini	20
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar.....	21
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Sarf Malzemeler	21
3.1.4. Çalışmada Kullanılan Bakteriler ve Özellikleri	22
3.2. Metot	25
3.2.1. Antibakteriyel Aktivitenin Belirlenmesi	25
3.2.2. MTT Analizi.....	25

3.2.2.1. Kùltür Medyumunun Hazırlanışı.....	25
3.2.2.2. Tam Kandan Lenfositlerin İzole Edilmesi	26
3.2.2.3. MTT Test Yöntemi.....	27
4. BULGULAR.....	29
4.1. Antibakteriyel Aktivite Sonuçları.....	29
4.2. MTT Test Sonuçları	31
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	33
KAYNAKLAR.....	36
ÖZGEÇMİŞ.....	44

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

cm	: Santimetre
g	: Gram
mL	: Mililitre
µm	: Mikrometre
ppm	: Milyonda bir
µg	: Mikrogram
mmol	: Milimol
mM	: Milimolar
MTT	: 3- (4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2-5-Difeniltetrazolyum Bromür
DMSO	: Dimetil sülfoksit
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonunu
MLK	: Minimum Letal Konsantrasyon
MTS	: 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sülfofenil)-2H-tetrazolyum
XTT	: 2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksianilid
WST	: 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)- 5-(2,4-disülfofenil)-2H- tetrazolyum
HeLa	: Servikal kanser hücre hattı
KB	: Karsinoma hücre hattı
A549	: İnsan akciğer epitelyal hücre hattı
HL-60	: Akut promiyeloblastik hücre hattı
K-562	: Kronik miyelojen hücre hattı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Antimikrobiyal Aktivite Difüzyon Test Yöntemleri.	9
Şekil 1.2. MTT, MTS, XTT ve WST testlerinde renk değişimleri.....	12
Şekil 3.1. Test edilen bileşiğin molekül yapısı.....	20
Şekil 3.2. Elektron mikroskobu altında çalışılan bakterilerin görünümü.	24
Şekil 3.3. Tam Kandan izole edilen mononükleer hücreler (PBMCs)	26
Şekil 3.4. MTT'nin (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2-5-difeniltetrazolyum bromür) Formazan'a (1-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-3,5-Difenilformazan) dönüşümü.....	28
Şekil 4.1. Konsantrasyonlara göre inhibisyon zonlarının karşılaştırılması.....	30
Şekil 4.2. Test edilen bileşiğin farklı konsantrasyonlarda oluşturduğu inhibisyon zonları.....	30
Şekil 4.3. 24 saatlik inkübasyon sonrası 96 kuyucuklu mikrop lakanın görüntüsü.....	31
Şekil 4.4. Hücre canlılığında meydana gelen azalma	32

TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan cihazların listesi.....	21
Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan kimyasallar ve sarf malzemeler.....	21
Tablo 4.1. Antibakteriyel aktivite sonuçları	29
Tablo 4.2. Hücre canlılığı ve yüzde inhibisyon değerleri	32



1. GİRİŞ

1.1. İlaç Kimyasında Çinko ve Çinko Karboksilatlar

Kristal mühendisliğinin amacı, çeşitli uygulama alanlarında kullanılacak dikkat çekici özelliklere sahip yeni materyalleri keşfetmektir. Kristal mühendisliğinde önemli bir yere sahip olan kompleks bileşikler; simetri merkezinde bir metal katyonu ve metal atomuna bağlanan ligand adı verilen anyonlar veya moleküllerden oluşmaktadır. Bu bileşiklerin yapılarının fiziksel ve kimyasal özelliklerinin incelendiği alan koordinasyon kimyasıdır. Kompleks bileşikler uzun yıllar yapılarının çeşitliliği ile ilgi konusu olmuştur. Bu bileşiklerin zamanla materyal kimyasının bir parçası olduğu kabul edilmiştir. Bu bağlamda, kompleks bileşiklerin yapıları ve biyolojik ve fiziksel özelliklerinin metal iyonu, koordinasyonda yer alan ligandlar ve moleküller arası etkileşimlerinden etkilendiği belirlenmiştir (Noro ve ark., 2005; Teo ve Hor, 2011; Gündüz, 2005; Yamada ve ark., 2004).

Malzeme biliminde önemli bir yere sahip olan tıbbi inorganik kimya, kimya, farmakoloji, toksikoloji ve biyokimyadan oluşan çok disiplinli bir alandır. Tıbbi kimyacılar, yan etkileri nedeniyle piyasada mevcut ilaçların klinik sorunlarının üstesinden gelmek için daha fazla geliştirilmiş biyolojik aktiviteye, daha iyi seçiciliğe, düşük toksisiteye ve mekanik etkilerin çoklu rolüne sahip yeni metal bazlı moleküllerin tasarımı ve sentezi üzerinde durmaktadırlar. Metal komplekslerin mikropların büyüme inhibitörleri olduğu yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar ile desteklenmektedir (Weiss ve Christian, 1993; Sathiyaraj ve ark., 2013).

Metallerin pozitif yüklü iyonlar oluşturmaları biyolojik sistemlerde redoks tepkimelerinde önemli rol oynamalarını sağlar. Metal iyonları, pozitif yüke sahip oldukları için negatif yüklü olan protein ve DNA gibi biyolojik moleküllerle bağlanma ve etkileşime girme eğilimindedir (Elango ve ark., 2017; da Silva ve Williams, 1953; Uçucu ve ark., 2001).

Karboksilik asitler ligand olarak kullanılmaktadır ve anti enflamatuar, antibakteriyel ve antifungal birçok biyolojik aktiviteye sahiptir. Dermatolojide, antifungal

olarak, benzoik asidin sodyum tuzu kullanılır. Karboksilik asitlerin antibakteriyel aktivitesi, metal iyonları ile kompleksler oluşturularak arttırılabilir. Metal komplekslerinin anti enflamatuar ve antibakteriyel aktivitesinin serbest asitten daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, bir metale şelatlandığında, bazı ilaçların antibakteriyel etkisi arttırılabilir. Bu nedenle, etkili anti-mikrobiyal türlerin hazırlanmasında komplekslerin yapı ve bağlanma ilişkileri hakkında bilgi edinmek çok önemlidir. Ancak, bazı benzer komplekslerde aktivitenin azaldığı da bilinmektedir. Son zamanlarda, steroid içermeyen anti enflamatuar ilaçların antimikrobiyal aktivitesi üzerine yapılan çalışmalarda geçiş metallerinin çeşitli azot içeren ligandlar ile komplekslerinin artan antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Uivarosi, 2013; Rizzotto, 2012). Çeşitli metal kompleksler, ilacın ve organik terapötik maddelerin etkisini hızlandırmaktadır, örneğin kobalt (II) mefenamik asit, naproksen veya tolfenamik asit (Dimiza ve ark., 2010; 2012; Tsiliou ve ark., 2012) ve mangan (II) tolfenamik asit kompleksleri anti enflamatuar ajanlar olarak incelenmiştir (Zampakou ve ark., 2014). Ayrıca, bakır (II) mefenamik asit, naproksen, diklofenak, diflünisal ve flufenamik asit komplekslerinin de biyolojik aktiviteleri incelenmiştir (Dimiza ve ark., 2011; Fountoulaki ve ark., 2011; Tolia ve ark., 2013). Biyolojik olarak aktif ligandlara sahip çinko komplekslerinin farmasötik etkileri vardır, çünkü biyolojik sistemlerde enzimatik süreçleri katalize edebilmektedirler; azot bazlı ligandlarla (valproik asit gibi) çinko (II) alifatik karboksilatlar ve azot bazlı ligandlarla (naproksen, ibuprofen, İndometasin gibi) aromatik karboksilatlar sentezlenmiş ve antibakteriyel ve antimalarial ajanlar olarak çalışılmıştır. N-, O-, S- verici ligandlarına sahip çinko karboksilatlar ayrıca anti-mikrobiyal aktiviteye sahiptir (Darawsheh ve ark., 2014; Abu Ali ve ark., 2013; 2015; 2016).

N-, O- ve S- verici içeren ligandlar tek başına anti-tümör, anti-fungal ve antibakteriyel aktivitelere sahiptir. Heterosiklik bileşiklerin birçok biyolojik sistemde, çeşitli vitamin ve ilaçların bileşeni olarak önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Yaygın olarak B3 vitamini olarak bilinen Nikotinamid koenzim nikotinamid adenin dinükleotidinin reaktif bir parçasıdır. Nikotinamid piridin türevidir ve heterosiklik azot donörlerindedirler. Tıpkı karboksilik asitler gibi N-donor ligadların komplekslerinin biyolojik aktifliğinin de serbest moleküllerden daha fazla olduğuna

dair birçok çalışma yapılmıştır (Rizzotto, 2012; Jabali ve Abu Ali, 2016; Zempleni ve ark., 2013; Spector ve Johanson, 2007; Dang ve ark., 2019).

Metal iyonlarının metabolizması, taşınımı ve kompleksleri incelendiğinde metallerin biyolojik aktivitelerinin, redoks aktivitesi, çeşitli koordinasyon modları ve organik maddelere karşı reaktivitesi gibi özelliklerinden kaynaklandığı belirlenmiştir. Temel kimyasal elementler için beş ana kategori vardır: **(a) kütle elementleri** (H, C, N, O, P, S), **(b) makroelementler ve iyonlar** (Na^+ , K^+ , Mg^{+2} , Ca^{+2} , Cl^- , PO_4^{-3} , SO_4^{-2}), **(c) eser elementler** (Fe, Zn, Cu), **(d) ametaller** (F, I, Se, Si, As, B) ve **(e) metaller** (Mn, Mo, Co, Cr, V, Ni, Cd, Sn, Pb, Li). Çinko nispeten daha bol miktarda bulunur ve birçok biyolojik aktivite için gereklidir ve optimum sağlık için diyetle dahil edilmelidir (Sigel ve Sigel, 1999; Frezza ve ark., 2010; Walsh ve ark., 1994).

Metal iyonunun ve ligandın doğası, bir kompleksin istenen uygulamalarına yönlendirilmesinde büyük öneme sahiptir, çünkü kompleksin özellikleri her iki bileşene de bağlıdır. Ligand, bir kompleksin geometri, kararlılık, çözünürlük, nükleerlik ve biyolojik aktiflik gibi özelliklerini belirler. Ek olarak ligand, kompleksin biyolojik hedef bölgesine/dokusuna ulaşmasında önemli bir rol oynar. Bu bağlamda, N-donör düzlemsel ligandlara sahip metal kompleksleri, düzlemsellikleri, biyoyumlulukları ve kolay bulunabilmesi nedeniyle büyük önem kazanmıştır. Üstelik, elektron verme yetenekleri, değişken Lewis asit kuvvetine sahip metal iyonları ile kararlı kompleksler oluşturmalarını sağlar (Mohamed ve ark., 2012; Rajendiran ve ark., 2007; Khorasani-Motlagh ve ark., 2010).

Bir metal iyonunun birçok özelliği arasında araştırmacıların birinci önceliği metal iyonlarının biyolojik uygulamalar için hedeflenen komplekslerdeki biyoyumluluğudur. Birçok biyolojik sistem esansiyel metallerin konsantrasyonundaki küçük değişikliklere uyum sağlayabildiğinden, komplekslerinin ilaç olarak kullanılması daha az zararlı olabilir. Ayrıca, mide ülseri, tüberküloz ve kanserler gibi çeşitli hastalıklara karşı bir dizi çinko kompleksinin aktif olduğu kanıtlanmıştır. Bu tür komplekslerin aktivitesinin, koordinasyon kompleksinin hibrit formunun önemini gösteren saf organik ligandlara veya inorganik bakır formlarına kıyasla gelişmiş olduğu bulunmuştur (Elango ve ark., 2017; da Silva ve ark., 1991). Bu bağlamda, heterosiklik ligandlara sahip çinko (II) kompleksleri ilginç kimyası ve

çok yönlü uygulamaları nedeniyle yoğun bir şekilde incelenmiştir. Neredeyse tüm biyoaktif ilaçların hedefi hücrel DNA olduğundan, yeni sentezlenen her kompleks, biyolojik alaka düzeyini ve DNA problama kabiliyetini belirlemek için DNA bağlama aktivitesi açısından taranır (Milunovic ve ark., 2012; Bravo-Gomez ve ark., 2009; Joseph ve ark., 2012; Singh ve ark., 2012). Çinko biyolojik sistemlerde en önemli metal katyonlarından biridir, çünkü yaklaşık 50 önemli biyokimyasal reaksiyonu katalize eden yaklaşık 300 enzimin aktivitesinde önemli bir rol oynar (Saxton ve Jacobson, 1997).

Çinko birçok canlının serum, plazma, kan hücrelerinde bulunmaktadır. Ayrıca birçok bileşik enzimin yapısında kofaktör olarak kullanılmaktadır. Hücrel biyolojide yapısal, katalitik ve düzenleyici rol oynaması, DNA ile etkileşimi, kemik ve kırıkta gelişimi için gerekli olması ve tüm organizmalar için gerekli temel bir mikrobesein maddesi oluşu gibi özellikleri nedeniyle de eşsiz bir metaldir. Bazı virüslere karşı antiviral etki gösteren ve redoks inert özelliği ile serbest radikal oluşumuna izin vermemesi nedeniyle de antioksidan özelliğe sahip olan çinko biyolojik aktif bir metaldir. Çok hücreli organizmalarda çinko hücre içinde bulunmaktadır. Çinko eksikliği veya fazlalığı bahsedilen özellikleri sergilemesinde en önemli parametredir (Dadook ve ark., 2014; Deng Z ve ark., 2009; Gonçalves ve ark., 2017; Rank ve Nielsen, 1998; Sabath ve Abraham, 1966; Suara ve Crowe, 2004; Xu ve ark., 2017; Faiz ve ark., 2015; Sagardoy ve ark., 2009).

Yüksek konsantrasyonlarda Zn (II), *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi bakteri türlerinin üremesini inhibe edici etki gösterir. Genel olarak Zn (II) antibakteriyel organik bileşiklerle etkileştiğinde kompleksin antibakteriyel aktivitesini artırabilir, fakat bazen anti-bakteriyel aktivitesini azaltabilir (örn. sefadroksilin Zn (II) kompleksi). Farmakolojik aktivitenin, metal iyonu ve kullanılan liganlara bağlı olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle tıbbi kimyacılar özellikle heterosiklik bileşiklerin geçiş metali komplekslerinin sentezi ve karakterizasyonuna büyük ilgi göstermektedir (da Silva ve ark., 1991; Uçucu ve ark., 2001; Khan ve ark., 2008; McCann ve ark., 2003).

Çinko eksikliği, hücrel bağışıklığın düşmesi, kemik dokuda büyüme ve gelişmenin gerilemesi ve daha birçok sağlık probleminin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır.

Çinko eksikliği uzun yıllardır bilinen bir problem olmakla birlikte çinko ve tuzlarının konsantrasyonunun fazla olması da son yıllarda ilgi çeken bir konudur. Çünkü çinko konsantrasyonunun artışı toprakta tuz dengesinin değişmesine, kireçli toprak miktarının ve toprağın pH'sının artmasına, toksik bazı metallerin birikmesine veya diğer metallerin konsantrasyonlarının azalması ile bazı hastalıkların görülmesine sebep olmaktadır. Bu mineral dengesinin değişim durumu bitkilerin birçok kısmında büyümenin gerilemesine, fotosentezin yavaşlamasına ve canlı organizmalarda kromozom hasarının artmasına sebep olmaktadır. ZnO, ZnSO₄, ZnCl₂ ve ZnCO₃, çinkonun toprakta ve suda toksik olduğu bilinen bileşiklerinden bazılarıdır. Aynı zamanda ZnO'nun akuatik ortamda ZnS ve ZnPO₄'e dönüşümü bilinmekte fakat bu iki tuzun toksisitesi hakkında literatürde herhangi bir veri bulunmamaktadır. ZnSO₄ DNA onarımında önemli rol oynayan bir bileşik olmasına rağmen toksisitesine ilişkin de birçok çalışma yapılmıştır. Ayrıca çinkonun antimikrobiyal özelliğinden dolayı, çinko sülfat biyomedikal uygulamalarda kullanılan kompozit biyomalzemelerin (Polivinil alkol/çinko sülfat polimerik filmler gibi) yapısında sıklıkla kullanılmaktadır (Santra ve ark., 2000; Wu ve ark., 2007; Banu ve ark., 2001; Gómez ve ark., 1998; Hasegawa ve ark., 2008; Hoang ve Tong, 2015; Sarasamma ve ark., 2018; Sedlarik ve ark., 2010; Sharma ve ark. 2010; Wang ve ark., 2017; Xiao ve ark., 2018).

1.2. Antibiyotikler

1928'de penisilin keşfi ile ilaç dünyasında devrim yaratan antibiyotikler yaşam kurtarıcı temel ilaçlardır. Özellikle 1941 yılından itibaren tıp ve bilim dünyasından bilim insanları, kemoterapötik ajan olarak penisilin tanıtılmasından sonra benzer antibakteriyel ve diğer antimikrobiyal özelliklere sahip olan ve sayıları hızla artan kimyasal bileşiklerin yeni bir isim ile anılması gerektiği kanısına varmışlardır. Modern tıbbın ortaya çıkmasından önce antibiyotikler uzun süre kullanıldı. Eski Mısır'da filamentli mantarların yara ve yanık tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Orta Çağ'da Çin ve Yunanistan'daki şifacılar, çeşitli rahatsızlıkları tedavi etmek için küflü dokular kullanmışlardır. "Antibiyotik" ve "antibiyotik ajan" terimleri, ilk kez Waksman ve çalışma arkadaşları tarafından 1942'de yayınlanan veya yazılmış birçok makalede kullanılmıştır. 1942'den itibaren bu terimler genel kullanıma girmiştir.

"Antibiyotik" kelimesi "bakteri ve diğerk mikro organizmaların büyümesini veya metabolik aktivitelerini mikrobik kökenli kimyasal bir madde ile inhibe etmek" olarak tanımlanmıştır. Antibiyotiklerin birçoğı Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerin neden olduğı enfeksiyonların tedavisinde etkili olan geniş bir aktivite yelpazesine sahiptir, diğerkleri sadece Gram-pozitif bakterilerin neden olduğı enfeksiyonların tedavisinde etkilidir. Bu ilaçların keşfedilmesinden bu yana, " İdeal bir antibiyotik nedir? " sorusuna cevap aranmaktadır. Bilimsel otoritelerin bu konuda dikkate değerk buldukları temel iki parametre bulunmaktadır: "Bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç kazanması" ve "Toksisite". Bu parametreleri tam anlamıyla sağlayan ideal bir ideal antibiyotik yoktur. Günümüzde klinik kullanımdaki çoğı antibiyotik, tüm Gram pozitif ve Gram negatif bakteriyel enfeksiyonların neden olduğı enfeksiyonları tedavi etmek için yeterince geniş bir spektruma sahip değildir. Bir antibiyotik, kaçınılmaz direnç gelişimi nedeniyle sonsuza dek etkili bir antibiyotik olmayacaktır. Antibiyotikler, diğerk ilaçlardan farklı olarak edinilmiş direnç nedeniyle nispeten kısa bir kullanım ömrüne sahiptir. Bu yüzden spesifik ideal bir antibiyotik her zaman geçici olacak ve yenileri ile değiştirilmesi gerekecektir. İlaç keşfi üzerine çalışan bilim insanları ideal bir antibiyotik geliştirmek istemektedir, bu nedenle de antibiyotik ilaçlar yönünden malzeme bilimi gelişimini sürdürecektir (Waksman, 1947; Singh ve ark., 2017). Penisilinlerin 1928'de Alexander Fleming tarafından tanımlanması 'antibiyotik çağı' tarihinin temel taşıdır. Paul Ehrlich ve çalışma arkadaşları "sihirli kurşun" olarak adlandırılan Salvarsan'ı keşfetmişlerdir. Salvarsan, 1941'de ilk penisilin kullanımına kadar frengi hastalığına karşı reçeteli ilaç olarak kullanılmıştır. Daha sonra aynı yaklaşımın kullanımıyla keşfedilen ve ardından tüberküloz tedavisinde kullanılan ilk antibiyotik olan streptomisin keşfedilmesiyle ilk sülfa ilacı olarak Prontosil keşfedilmiştir. 1945 yılında, *Cephalosporium acremonium* mantarının stafilokok, streptokok enfeksiyonları, tifo ateşi ve bruselloza karşı etkili bir antibiyotik özellik gösterdiği belirlenmiştir. Sefalosporin C'nin N-fenilasetil türevi *Staphylococcus aureus*'a karşı en etkili antibiyotik olduğu belirlenmiştir. Bu araştırmalar yeni nesil sefalosporin bileşiklerinin üretimine öncü olmuş ve daha önce keşfedilmiş olanlar da birçok hayat kurtarmıştır (Yılmaz ve Özcengiz, 2017; Fleming, 1980; Aminov, 2010; Abraham ve ark., 1941; Schatz ve Waksman, 1944; Abraham ve Newton, 1961).

Son 20 yılda Gram pozitif bakteriler üzerinde etkili yalnızca iki yeni antibiyotik sınıfı (lipopeptitler ve oksazolidinonlar) geliştirilmiştir ve her ikisi de uluslararası ilaç kuruluşları (ABD Gıda ve İlaç İdaresi ve Avrupa İlaç Ajansı) tarafından onaylanmıştır (Rolain ve ark., 2016).

Son 10 yılda, bilimsel dergilerde yayınlanan makalelerde antibiyotik direncinde bir artış olduğunu bildirilmiştir. Aynı makalelerde, Avrupa ve ABD'de antibiyotiğe dirençli bakterilerden kaynaklanan enfeksiyon nedeniyle ölümlü vakalar olduğu da belirtilmiştir. Antibiyotiğe dirençli bakterilerden kaynaklanan enfeksiyonların daha fazla önlenemediği ülkelerde yeni antibiyotiklere ilişkin daha fazla klinik çalışma yapılması gerektiği belirtilmiştir (Rolain ve ark., 2016). Antibiyotiğe dirençli bakterilerin yayılması dünya çapında önemli bir tehdit oluşturmasına rağmen, yeni antibiyotiklerin farmasötik olarak araştırma ve geliştirilme ihtiyacı karşılanamamıştır (Tacconelli ve ark., 2018). Her ne kadar bilim, daha dirençli bakterilerin ortaya çıkmasına ayak uydurmaya çalışsa da, mevcut antibiyotikleri korumak ve yenilerini geliştirmek için ek çaba sarf edilmesi gerekmektedir. Bu bağlamda antibiyotik özellikli maddelerin metal komplekslerinin antibakteriyel etkileri detaylı bir şekilde araştırılmalıdır (Gould, 2016).

1.3. Antimikrobiyal Aktivite ve Test Yöntemleri

Antimikrobiyal duyarlılık testleri, ilaç keşfi, epidemiyoloji ve tedavi sonucunun öngörülmesi için kullanılmaktadır. Test edilecek herhangi bir maddenin *in vitro* antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmek veya taramak için farklı test yöntemleri vardır. En bilinen ve temel yöntemler, difüzyon ve dilüsyon yöntemleridir (Balouiri ve ark., 2016).

1.3.1. Difüzyon Metodu

❖ Agar Disk Difüzyon Testi

1940 yılında geliştirilen Agar disk difüzyon testi, birçok klinik mikrobiyoloji laboratuvarında rutin olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu prosedürde agar plakaları, test mikroorganizmasının standart bir aşısı maddesi ile aşılır. Daha sonra, istenen bir

konsantrasyonda test bileşigi içeren diskler (yaklaşık 6 mm çapında) agar yüzeyine yerleştirilir. Petri kapları uygun koşullar altında inkübasyona bırakılır. Genel olarak, antimikrobiyal madde agarın içine yayılır ve test mikroorganizmasının üremesini inhibe eder ve daha sonra inhibisyon büyüme bölgelerinin çapları ölçülür. Agar disk difüzyon yöntemi, agar besiyerine yayılmış antimikrobiyal maddenin miktarını ölçmek mümkün olmadığından, Minimum İnhibisyon Konsantrasyonunu (MİK) belirlemek için uygun değildir (Balouiri ve ark., 2016).

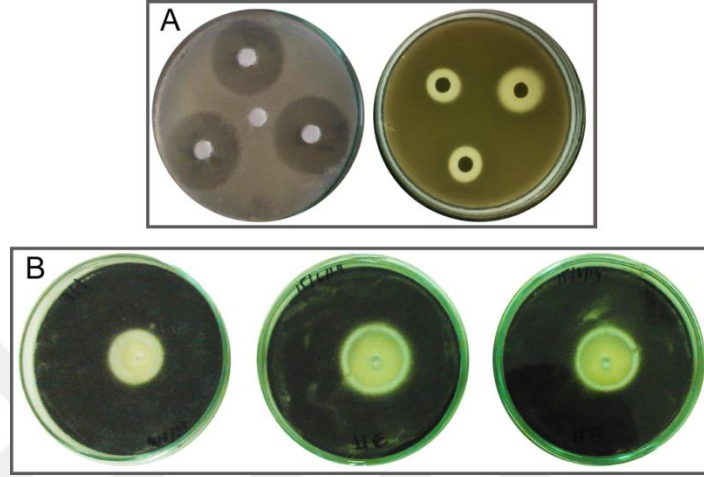
❖ Agar Kuyucuk Difüzyon Testi

Disk difüzyon yönteminde kullanılan prosedüre benzer şekilde, agar yüzeyine bakteri ekimi yapılır. Daha sonra, steril bir kanül ile 6 ila 8 mm çapında kuyucuklar açılır ve kuyucuklara test edilecek maddenin uygun konsantrasyondaki çözeltilisinden 20-100 µL eklenir. Daha sonra agar plakaları test mikroorganizmasına bağlı olarak uygun koşullar altında inkübe edilir. Antibakteriyel ajan, agar besiyerinde yayılır ve bakterinin üremesi inhibe eder. İnhibisyon büyüme bölgelerinin çapları ölçülür (Balouiri ve ark., 2016).

1.3.2. Dilüsyon Metodu

Dilüsyon yöntemleri, MİK değerlerinin belirlenmesi için en uygun yöntemlerdir. Çünkü test edilen maddenin agar (agar dilüsyonu) veya besiyerinde (makrodilüsyon veya mikrodilüsyon) MİK konsantrasyonunu tahmin etme imkânı sunarlar. Besiyeri veya agar dilüsyon yöntemi bakteri ve mantarlara karşı *in vitro* antimikrobiyal aktiviteyi nicel olarak ölçmek için kullanılabilir. Kaydedilen MİK değeri, test edilen mikroorganizmanın görünür büyümesini engelleyen test edilen antimikrobiyal ajanın en düşük konsantrasyonu olarak tanımlanır ve genellikle mg/mL veya mg/L olarak ifade edilir (Sedlarik ve ark., 2010). Bu teknikte antimikrobiyal özelliği araştırılan maddelerin MİK ve Minimum Letal Konsantrasyon (MLK) değerleri belirlenir. Mueller-Hinton besiyerinde test edilecek maddenin belli konsantrasyondaki çözeltisi hazırlanır ve hazırlanan bu çözeltiliden seyreltmek suretiyle çözeltiler elde edilir. Bu çözeltilerin üzerine izole edilmiş mikroorganizmanın 24-48 saat inkübe edilmiş sıvı besiyeri kültüründen 0,1 mL miktarda ekim yapılır ve karıştırılır. 24-48 saat süre ile 37 °C'de inkübe edilir. Tüplerdeki üreme göz ile takip edilir. Üremenin devam

etmediği son seyreltik çözelti MİK değeri olarak alınır. Deneyler iki veya üç paralel olarak yapılır. Göz ile takip edildiğinden inkübasyon süresi uzatılabilir veya kısaltılabilir. Üremenin devam etmediği çözülden alınan 0,1 mL miktar 10 mL sıvı besiyerine (veya agara) ekilerek inkübasyon başlatılır. MLK değeri ise tüpte üremenin olmadığı konsantrasyondur (Anonim 7, 2019).



Şekil 1.1: Antimikrobiyal Aktivite Difüzyon Test Yöntemleri (A: Disk Difüzyon Yöntemi; B: Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi) (Balouiri ve ark., 2016).

1.4. Sitotoksisite ve Sitotoksisite Belirleme Yöntemleri

Canlı hücrelerde meydana gelen hasar sitotoksisite olarak tanımlanmaktadır. *In vivo* veya *in vitro* şartlarda sitotoksisite testleri yapılabilmektedir. *In vitro* testlerde, sitotoksik etkisi incelenecek maddenin farklı konsantrasyonları hücrelere uygulanmaktadır (Anonim 8, 2019). *In vitro* koşullarda gerçekleştirilen sitotoksisite çalışmaları biyolojik değerlendirme için en önemli göstergelerden biridir. İlaçlar ve pestisidler gibi kimyasallar hücre zarlarının tahrip edilmesi, protein sentezinin önlenmesi, reseptörlere geri dönüşümsüz bağlanma vb. gibi farklı sitotoksisite mekanizmalarına sahiptir. Bu zararların neden olduğu hücre ölümünü belirlemek için ucuz, güvenilir ve kısa sürede tekrar edilebilir sitotoksisite ve hücre canlılığı testleri yapılmaktadır. Sitotoksisite ve hücre canlılığı analizleri, günümüzde toksikoloji ve farmakoloji alanlarında geniş ölçüde kullanılmaktadır. Bu analizler için farklı sınıflandırmalar vardır: (a) boya dışlama analizleri; (b) luminometrik analizler; (c) florometrik analizler; ve (d) kolorimetrik analizler. Sitotoksisite testleri ile hücre

hasarının tespiti, hücre çoğalmasının ve hücrelerin metabolik faaliyetlerinin belirlenmesi gibi parametreler kolaylıkla incelenebilmektedir (Tokur ve Aksoy, 2017; Walters ve ark., 2016).

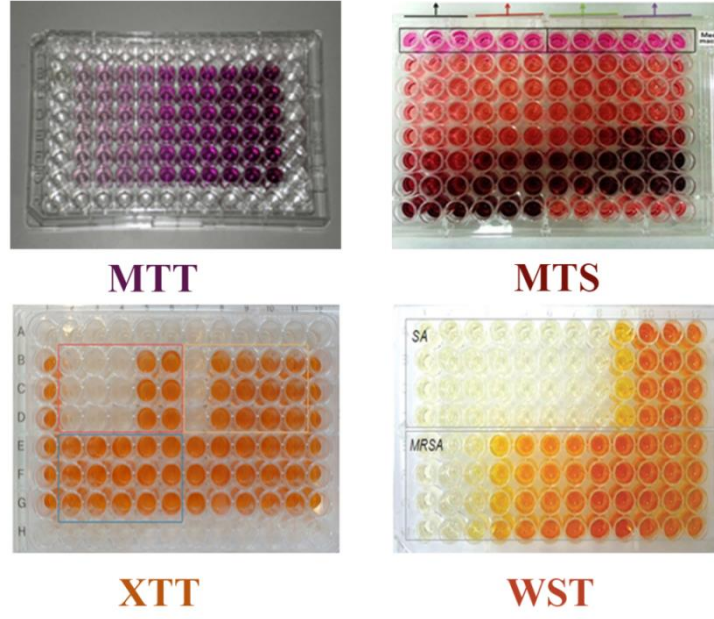
Bu tez çalışmasında sitotoksosite kolorimetrik olarak incelenmiş ve değerlendirilmiştir. Bu nedenle diğer yöntemler hakkında kısaca bilgi verilmiş ve kolorimetrik yöntemler daha detaylı tanıtılmıştır.

(a) Boya Dışlama Analizleri: Bir hücre popülasyonundaki canlı hücrelerin oranı, çeşitli yöntemlerle tahmin edilebilir. En basit ve yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biri boya dışlama yöntemidir. Boya dışlama yönteminde, canlı hücreler boyaları dışlar, fakat ölü hücreler onları dışlamaz ve boyanır. Bu yöntem basit ve ucuz olmasının yanı sıra bazı dezavantajlara sahiptir. Şöyle ki boya dışlama deneylerinde sitotoksik ajanların öldürücü hasar görmüş hücreleri, zar bütünlüğünü yitirmek için birkaç gün sürebilir, hayatta kalan hücreler bu süre boyunca çoğalmaya devam edebilir ve bazı ölümcül hasar görmüş hücrelerin, kültür periyodunun sonunda, boya ile lekelenmediği görülür, çünkü erken bir parçalanma geçirebilirler. Bu nedenle testin sonuçları yüzde canlılık ifadesine dayandığından hücre ölümünün tam anlamıyla değerlendirilemeyebilir. Ayrıca mikroskopik inceleme gerektirdiğinden bu test yöntemi zaman alıcıdır (Tokur ve Aksoy, 2017; Walters ve ark., 2016).

b) Luminometrik Analizler: Bu analizler memeli hücrelerinde hücre çoğalmasının ve sitotoksitenin hızlı ve basit bir şekilde belirlenmesini sağlar. Bu deneyler luminometrik mikropilaya okuyucu ile tespit edilebilir. Luminometrik analizlerin dikkat çekici bir özelliği, reaktif ilavesinden sonra üretilen kalıcı ve sabit yanma tipi sinyaldir. Bu özellik aynı kuyucuktan hem canlılık hem de sitotoksosite değerleri elde etmek için kullanılabilir. ATP ve gerçek zamanlı canlılık testleri luminometrik test yöntemleridir (Xiao ve ark., 2018). Bu metotlarda lusiferaz enzimleri ve bunların substratlarının kullanılarak canlı ve ölü hücreler tespit edilebilir. Daha ileri lüminesans metotlarda, hücrelerin sitotoksik madde ile maruziyet anlık değil maruziyet süresince değerlendirilebilmektedir (Tokur ve Aksoy, 2017).

c) Fluorimetrik Analizler: Alamar mavisi ve CFDA-AM test yöntemleri florimetrik yöntemlerdendir. Florometrik analizler yapışık veya asılı hücre hatları için de uygulanabilir ve kullanımı kolaydır. Kolorimetrik yöntemden daha hassas sonuçlar vermektedir. Bu analizlerde floresans maddeler kullanılarak, floresans mikroskobu, florometre, floresan mikroplaka okuyucu veya akış sitometresi kullanımıyla florometrik hücre canlılığı ve sitotoksite analizlerinin yapılması kolaydır (Walters ve ark., 2016).

d) Kolorimetrik Analizler: MTT, MTS, XTT, WST-1, WST-8, LDH, SRB, NRU ve Kristal Viyole yöntemleri bilinen kolorimetrik analizlerdir. Kolorimetrik deneylerde kullanılan reaktifler, hücrelerin yaşayabilirliğine tepki olarak bir renk geliştirerek, spektrofotometre ile hücre canlılığının kolorimetrik ölçümünü sağlar. Kolorimetrik deneyler, yapışık veya süspanse edilmiş hücre hatları için uygulanabilir, kolay uygulanabilir ve ekonomiktir. Bu testlerin bazılarında 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür (MTT), 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sülfofenil)-2H-tetrazolyum (MTS), 2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5- karboksianilid (XTT), 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)- 5-(2,4-disülfofenil)-2H-tetrazolyum (WST) tetrazolyum tuzları bazılarında ise kristal viyole ve nötral kırmızı gibi boyar maddeler kullanılmaktadır. Tetrazolyum tuzları, heterohalkalı organik bileşiklerdir. Tetrazolyum tuzları elektron alarak indirgenmekte ve formazana dönüşmektedir. Bu dönüşüm renk değişikliğine neden olmaktadır. Tetrazolyum halkaları yalnızca mitokondri ile kırılabilir ve canlı hücreler bu kırılmanın sonucu olarak bir renk reaksiyonu meydana getirirler. Ölü hücreler tetrazolyum tuzlarını indirgeyemez ve gözlenen bir renk değişimi söz konusu değildir (Tokur ve Aksoy, 2017; Walters ve ark., 2016).



Şekil 1.2: MTT (Anonim 9, 2019), MTS (Kaur ve ark., 2015), XTT (Anonim 10, 2019) ve WST (Anonim 11, 2019) testlerinde renk değişimleri

- ❖ MTT (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2-5-difeniltetrazolyum bromür) testi, sitotoksositeyi veya hücre canlılığını belirlemek amacıyla yaygın olarak kullanılan kolorimetrik analizlerden biridir. Bu yöntemde, mitokondriyal bir enzim olan süksinat dehidrogenaz enziminin aktivitesi ölçülerek mitokondriyal fonksiyon hücre canlılığı açısından değerlendirilmektedir. Pozitif yüklü bir bileşik olan MTT, ökaryot hücrelerin membranını geçer ve hücre içerisinde indirgenir. Bu yöntemde sarı-yeşil renkli MTT, NADH tarafından mor renkli formazana indirgenmektedir. Oluşan formazan suda çözünmez ve kristal şeklindedir ve bu kristalin en iyi çözücüsü DMSO'dur. Çözücü olarak izopropanol de kullanılmaktadır. Kolorimetrik yöntemlerin hepsi gibi, MTT yöntemi de daha önce belirtilen boya dışlama yöntemlerinden çok daha üstündür, çünkü kullanımı kolaydır, güvenlidir, tekrarlanabilirliği yüksektir ve hem hücre canlılığı hem de sitotoksositeyi belirlemek için yaygın olarak kullanılır. 4-18 saatlik (hücre yoğunluğuna göre değişen) inkübasyon işlemi sonrasında oluşan renk spektrofotometre ile 540-570 nm dalgaboyu aralığında ölçülebilmektedir.

MTS, XTT ve WST Yöntemleri: MTS (5-(3-karboksümetoksisfenil)-2-(4,5-dimetil tiyazol)-3-(4-sülfifenil) tetrazolyum) 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-5-(3-karboksümetoksisfenil)-2-(4-sülfifenil)-2H-tetrazolyum (MTS), 2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfifenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksianilid (XTT), 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disülfifenil)-2H-tetrazolyum (WST) kolorimetrik testlerdir. MTT'den farklı olarak bu üç bileşik negatif yüklüdür. XTT, MTS ve WST testlerinde oluşan formazan kristalleri suda çözündüğünden ek bir çözündürme işlemine gerek duyulmamaktadır.

- ❖ MTS yönteminde de MTT yönteminde olduğu gibi, canlı hücrelerin mitokondriyal aktivitesi ile bir tetrazolium tuzunun renkli formazana dönüştürülmesine dayanır. Elde edilen formazan miktarı kültürdeki canlı hücre sayısına bağlıdır ve 492 nm'de spektrofotometre ile ölçülebilmektedir.
- ❖ XTT test yönteminde, tetrazolyum tuzu XTT'nin metabolik aktif hücreler tarafından turuncu renkli formazan bileşiklerine indirgenmesine dayanır. MTT yöntemindekinden farklı olarak bu yöntemde elde edilen turuncu renkli formazan suda çözünür ve yoğunluğu bir spektrofotometre ile ölçülebilir. Formazanın yoğunluğu ile yaşayabilir hücre sayısı arasında doğrusal bir ilişki vardır. Çok bölmeli plakaların ve bir spektrofotometrenin (veya ELISA okuyucunun) kullanımı, çok sayıda örnekle çalışılmasını, kolayca ve hızlı bir şekilde sonuç alınmasını sağlar. Bu test yönteminde 2-24 saatlik inkübasyonun sonrasında turuncu bir renk oluşur ve rengin yoğunluğu bir spektrofotometre ile ölçülebilir.

WST Testleri WST-1 ve WST-8 olmak üzere iki şekilde uygulanır. Fenol Kırmızısı kullanılarak yapılan bu deneylerde boya, reaksiyon vermemektedir.

- ❖ WST-1 testinde, WST-1 (2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disülfifenil)-2H tetrazolium monosodyum tuzu), nispi proliferasyonu kültürdeki hücrelerin oranlarını ölçerek belirleyebilen basit, kolorimetrik bir deneydir. Bu yöntemin prensibi, tetrazolium tuzunun WST-1'in, mPMS (1-

metoksi-5-metil-fenaziniyummetilsülfat gibi) ara elektron alıcısı varlığında mitokondriyal dehidrojenaz enzimleri tarafından suda çözünür bir formazana dönüştürülmesine dayanır. İnkübasyon süresi içinde reaksiyon, hücre kültüründeki mitokondriyal dehidrojenaz miktarıyla doğrudan orantılı olarak bir renk değişikliği meydana gelir ve hücrelerin metabolik aktivitesi ölçülür. Testi gerçekleştirmek için, kullanıma hazır olan WST-1 reaktifi doğrudan çok hücreli plakalarda kültürlenmiş hücrelerin ortamına eklenir. Reaktif boyanın formuna indirgemek için 30 dakika ile 4 saat arasında değişen inkübasyon süresi gereklidir. Plaka spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okutulur.

- ❖ WST-8 yöntemi, canlı hücre sayısının belirlenmesi için kullanılan kolorimetrik yöntemlerden biridir ve sitotoksitenin yanı sıra hücre proliferasyonunun tespiti için de kullanılabilir. WST-8 (2-(2-metoksi-4-nitrofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disülfifenil)-2H tetrazolyum, monosodyum tuzu), oldukça kararlıdır ve suda çözünür. WST-1'den özellikle nötr pH'da daha hassastır. WST-8 testinde hücre tuza geçirgen değildir ve düşük sitotoksiteye sahiptir. Bu nedenle, testten sonra, aynı hücreleri kullanarak başka deneylere devam etmek mümkündür (Tokur ve Aksoy, 2017; Walters ve ark., 2016).

2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

Zubair ve arkadaşları (2018) çinko 4-(2-metoksi-5-nitrofenilamino)-4-oksobutanoik asit) ve çinko 4-(2-nitro-4-metoksifenillamino)-4-oksobutanoik asitin 1,10-fenantrolin ve 2,2-bipiridin ligandlı komplekslerini sentezlenmiş ve yapılarını karakterize etmişlerdir. Sentezlenen komplekslerin antibakteriyel ve antifungal özellikleri değerlendirilmiştir. Komplekslerin 1 mg/mL konsantrasyonda hazırlanan çözeltileri *C. staphylococci*, *M. Staphylococcus* ve *S. aureus* gram pozitif bakterilerine ve *E. coli* ve *K. pneumoniae* gram negatif bakterilerine karşı agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile antibakteriyel özellikleri incelenmiş ve sentezlendikleri başlangıç maddelerine göre daha antibakteriyel oldukları belirlenmiştir.

Soayed ve araştırma ekibi [Zn(moksifloksasin)(imidazol)Cl].2H₂O kompleksini sentezlemişler ve spektroskopik analizler yardımı ile kompleksin karakterizasyonunu yapmışlardır. Kompleksin *S. Aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı antibakteriyel etkisini ve *Aspergillus flavus* ve *Candida albicans* mantarlarına karşı antifungal etkisini incelemişlerdir. Kompleksin 0,0001 M konsantrasyonda moksifloksasin ile kıyaslandığında önemli derecede antibakteriyel etki gösterdiği tespit edilmiştir (Soayed ve ark., 2013).

Onwudiwe ve arkadaşları Zn ditiyokarbamatların farklı N-donor ligandlar ile (piridin, 2,2- bipiridin ve 1,10-fenantrolin) karışık ligandlı komplekslerini sentezlemişlerdir. Komplekslerin antibakteriyel ve antifungal özellikleri 500 µg/mL konsantrasyondaki çözeltileri disk difüzyon ve 200, 100, 50 ve 10 µg/mL dilüsyon yöntemleri ile incelenmiştir. Streptomisin kontrol pozitif olarak kullanıldığı çalışmada [Zn(N-metil-N-fenil ditiyokarbamat) (N-metil-N-fenil ditiyokarbamat)] kompleksinin *S. aureus*, *B. cereus*, *K. oxytoca* ve *E. coli* bakterilerine karşı güçlü antibakteriyel etki gösterdiği belirtilmiştir. Benzer şekilde, [Zn(N-metil-N-fenil ditiyokarbamat) (N-metil-N-fenil ditiyokarbamat)(piridin)] *S. aureus* ve *K. oxytoca* bakterilerine karşı antibakteriyel etkisinin yüksek olduğu bildirilmiştir. Genel olarak bakıldığında, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı

antibakteriyel etkinin incelendiği bu çalışmada sentezlenen komplekslerin tamamının antibakteriyel etki gösterdiği bildirilmiştir (Onwudiwe ve ark., 2016).

[Zn(1,3-bis(4-piridil)propan)₂(Salisilat)₂] ve [(Zn(Sal)₂)₂(1,2-bis(4-piridil)etan)]₂ kompleksleri Chooset ve arkadaşları tarafından sentezlenmiştir. Metal salisilatların (benzoik asit türevi) önemli derecede antibakteriyel etkisi bilindiği baz alınarak yapılan bu çalışmada antibakteriyel etki agar disk difüzyon yöntemi ile *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerine karşı incelenmiştir. Penisilin ve gentamisin pozitif kontrol olarak kullanılmış ve 1 mg/mL konsantrasyonda komplekslerin orta derecede antibakteriyel etki gösterdiği bildirilmiştir (Chooset ve ark., 2018).

Çinkonun [Zn(5-Xsal)₂(H₂O)₂] (X: I ve Br) 5-iyodo ve 5-bromosalisilat kompleksleri Košická ve ekibi tarafından sentezlenmiştir. Komplekslerin 0,001-200 mmol.dm⁻³ konsantrasyon aralığında *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı antibakteriyel etkisi dilüsyon yöntemi ile incelenmiş ve MİK değerleri belirlenmiştir. Elde edilen bu komplekslerin aktivitesinin serbest ligand ve onun sodyum tuzu ile kıyaslandığında literatür ile uyumlu olarak daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Kosicka ve ark., 2018).

Çinko kumarin-3-karboksilatın 1,10-fenantrolin ile kompleksleri Islas ve arkadaşları tarafından sentezlenmiştir. Bu komplekslerin antibakteriyel etkileri 100-1000 µg/mL konsantrasyon aralığında difüzyon yöntemi ile *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis* bakterilerine karşı incelenmiştir. Çalışma sonuçları serbest ligandın belirtilen bakterilen üzerinde herhangi bir antibakteriyel etkiye neden olmadığını komplekslerin ise zayıf antibakteriyel etkiye neden olduğunu göstermiştir (Islas ve ark., 2018).

Çinkonun naproksenat 1,10-fenantrolin, 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin, 2-aminopiridin, imidazol ve 1,2-dimetil imidazol ligandları ile kompleksleri Abu Ali ve arkadaşları tarafından sentezlenmiş ve *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* ve *Escherichia coli* bakterileri kullanılarak antibakteriyel etkileri agar kuyucuk difüzyon metodu ile

incelenmiştir. 8,5 mmol/L konsantrasyonda tüm komplekslerin çok yüksek derecede olmamakla birlikte antibakteriyel etki gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca 1,10-fenantrolinli kompleksin *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı antibakteriyel etki gösteren tek bileşik olduğu; 2,9-dimetil-1,10-fenantrolinli kompleksin ise gram negatif (G-) bakteriler üzerinde daha etkili olduğu belirtilmiştir (Abu Ali ve ark., 2015).

Steroid olmayan ve anti enflamatuar özellikli ilaçlar olan naproksen ve ibuprofenin çinko kompleksleri sentezlenmiştir. *Escherichia coli* ve *Salmonella aureus* bakterilerine karşı antibakteriyel etkileri disk difüzyon metodu ile incelenmiştir. Her diskte 10 mg kompleksin bulunduğu çalışmada iki bakteri türüne karşı dikkate değer antibakteriyel etki gözlenmiştir (Chiniforoshan ve ark., 2014).

Potansiyel antiviral bir ilaç olan Ribavirinin organokalay (IV), Cu (II), Zn (II), Fe (III) ve Sb (III) ile metal kompleksleri Akhtar ve araştırma grubu tarafından sentezlenmiştir. *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı antibakteriyel etki agar kuyucuk difüzyon tekniği ile araştırılmıştır. 20 µg/disk Sefeksimin pozitif kontrol grubu olarak kullanıldığı çalışmada zon çapları ölçüldüğünde bu iki bakteri türüne karşı ribavirinin çinko kompleksinin orta derecede antibakteriyel etki gösterdiği bildirilmiştir (Akhtar ve ark., 2018).

Çinkonun bis(4-karboksifenilfenilfosfin)oksit ile kompleksi sentezlenmiş ve *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı etkisi 0,0625 ve 0,125 mg/mL konsantrasyonlarda disk difüzyon yöntemi ile değerlendirilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre kompleks uzun süreli antibakteriyel etkisinden dolayı potansiyel geniş spektrumlu bir antibakteriyel madde olarak önerilmiştir (Meng ve ark., 2017).

Krajníková ve araştırma grubu tarafından çinko 2-bromobenzoatın üre, nikotinamid, N-metilnikotinamid, N,N-dietilnikotinamid, izonikotinamid, fenazon ile kompleksleri sentezlenmiş ve komplekslerin 0,01-2,0 mmol.dm⁻³ konsantrasyon aralığında antibakteriyel etkisi *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı dilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır. Çinko 2-bromobenzoat kompleksinin yüksek antibakteriyel etki gösterdiği ve N-donor ligandlı

komplekslerinin ise düşük antibakteriyel etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Krajnikova ve ark., 2011).

Çinko ibuprofenin 4,4'-bipiridin, 1,10-fenantrolin, 2,9- dimetil-1,10-fenantrolin, 1,2-dimetilimidazol, 1,2-dmimidazol, 2-dimetilimidazol ve 2-amino-6-pikolin kompleksleri Omar ve Ali tarafından elde edilmiştir. Gram pozitif (*Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis*) ve Gram negatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* ve *Proteus mirabilis*) bakterilere karşı komplekslerin 6 g.L⁻¹ konsantrasyonunda *in vitro* antibakteriyel aktiviteleri agar kuyucuk difüzyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır. 4,4 '-bipiridin, 1,10-fenantrolin ve 2,9-dimetil-1,10-fenantrolinli kompleksler Gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel aktivite gösterirken, 1,2-dmimidazol, 2-amino-6-pikolin ve 2-dimetilimidazol kompleksleri antibakteriyel aktivite göstermemiştir (Omar ve Abu Ali, 2017).

Kamel ve araştırma grubu [Zn(fenilasetat)₂(2-aminopiridin)₂], [Zn(fenilasetat)₂(1,10-fenantrolin)]·H₂O ve [Zn(fenilasetat)₂(2,9-dimetil-1,10-fenantrolin)]·0.5H₂O komplekslerini sentezlemiş, yapılarını karakterize etmiş ve antibakteriyel etkilerini Gram pozitif (*S. epidermidis*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *M. luteus* ve *B. subtilis*) ve Gram negatif (*K. pneumonia*, *E. coli*, *P. mirabilis* ve *P. aeruginosa*) bakterilerine karşı agar kuyucuk metodu ile araştırmışlardır. Gentamisin ve eritromisin pozitif kontrol olarak kullanıldığı çalışmada [Zn(fenilasetat)₂(2-aminopiridin)₂] kompleksinin herhangi bir antibakteriyel etki göstermediği bildirilmiştir. [Zn(fenilasetat)₂(1,10-fenantrolin)]·H₂O kompleksi *P. aeruginosa* hariç Gram negatif bakterilere karşı yüksek antibakteriyel etki gösterirken, *E. ferabis* hariç Gram pozitif bakteriler üzerinde de etkili olduğu belirtilmiştir. [Zn(fenilasetat)₂(2,9-dimetil-1,10-fenantrolin)]·0.5H₂O kompleksinin Gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel etki göstermediği ancak *M. luteus* ve *B. subtilis* bakterileri üzerinde düşük, *S. epidemidis* bakterisi üzerinde ise yüksek antibakteriyel etki gösterdiği rapor edilmiştir (Kamel ve ark., 2017)

Ali ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada da çinko ibuprofenin N-donor ligandlar ile (2-aminopiridin, 2-aminometilpiridin, 2,2'-bipiridin ve 2-metilaminopiridin) kompleksleri sentezlenmiştir. *In vitro* antibakteriyel incelemeler agar kuyucuk difüzyon metodu ile gerçekleştirilmiştir. Gram pozitif (*Micrococcus*

luteus, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis*) ve Gram negatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Proteus mirabilis*) bakterilere karşı komplekslerin 6 mg/mL'lik konsantrasyonları kullanılmıştır. Çinko ibuprofen kompleksinin gram pozitif bakteriler üzerinde ve 2-aminopiridin ve 2-aminometilpiridinli komplekslerin gram pozitif ve gram negatif bakteriler üzerinde herhangi bir antibakteriyel etki göstermediği bildirilmiştir. 2,2'-bipiridinli kompleksin tüm bakteriler üzerinde etkili olması nedeniyle DMSO'da 1,5; 3 ve 6 mg/mL konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerinin antibakteriyel etkisi değerlendirilmiştir. Konsantrasyonun düşüşü ile tüm bakteriler üzerindeki etkinin azaldığı rapor edilmiştir (Abu Ali ve ark., 2016).

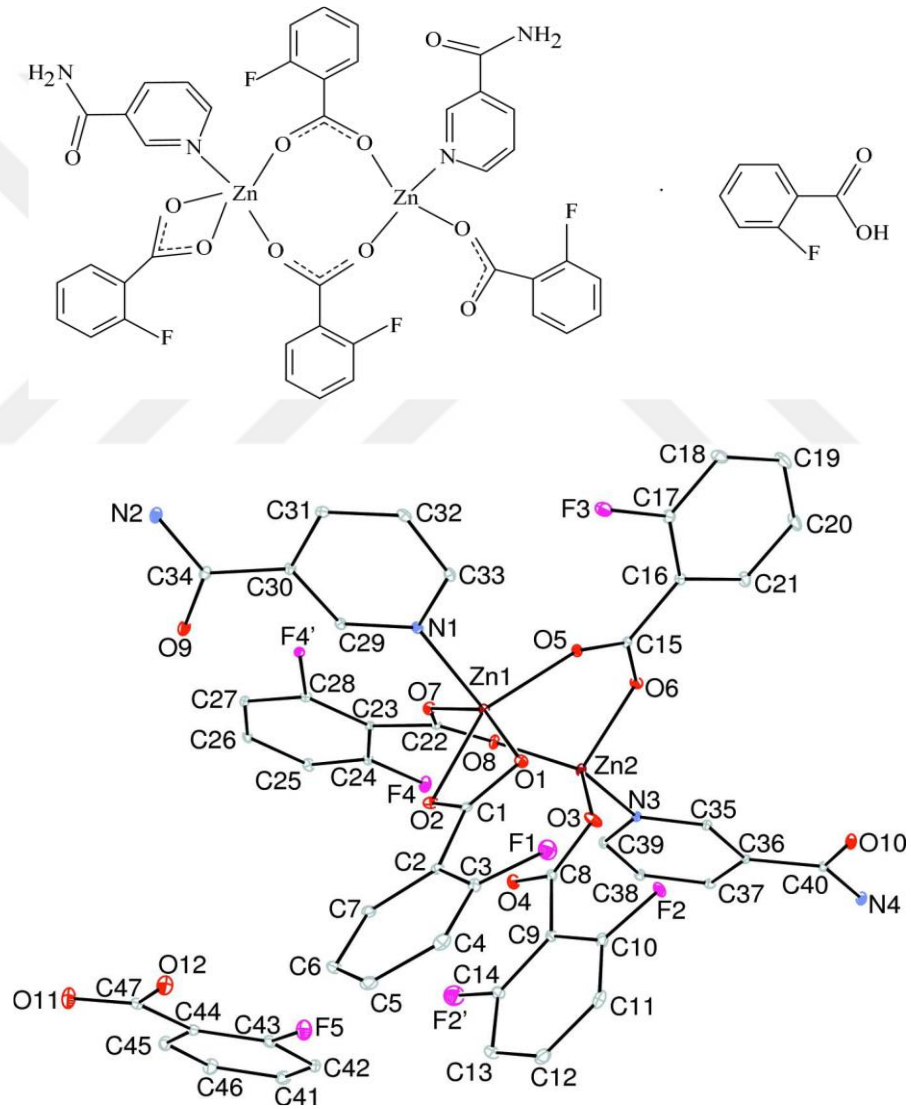


3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Test Bileşiğinin Temini

Çalışmada kullanılan test maddesi Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Anorganik Kimya Laboratuvarı'nda doktora tezi kapsamında Füreyra Elif Özbek tarafından sentezlenmiş ve yapısı aydınlatılmış bir bileşiktir. Bileşiğin tek kristal X-ışını kırınım metodu ile tespit edilen yapısı Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1: Test edilen bileşiğin molekül yapısı (Özbek, 2011).

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Çalışma kapsamında kullanılan cihazlar liste halinde Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan cihazların listesi

Cihaz Adı	Marka	Model
Otoklav Cihazı	Nüve Steamart	OT 40L
Saf Su Cihazı	Nüve (Türkiye)	ND 4
Su Banyosu	Nüve (Türkiye)	BM 101
Etüv	J.P. Selecta (İspanya)	Digiheat
Vorteks Cihazı	ISOLAB (Almanya)	622.01.001
Santrifüj Cihazı	HETTICH (Almanya)	EBA 200
Otomatik Pipet	GILSON	P2, P200, P10, P100, P1000
Otomatik Pipet	NICHIRYO	Nichipet EX II
CO ₂ 'li İnkübatör	Panasonic	MCO-170AICUVH-PE
Spektrofotometre	BioTEK	Epoch

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Sarf Malzemeler

Çalışmada kullanılan kimyasal ve sarf malzemelerin listesi Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2: Çalışmada kullanılan kimyasallar ve sarf malzemeler

Madde Adı	Firma Adı	Ürün Tanımlayıcı Kodlar
Mueller Hinton Agar	Oxoid	2320965(*)
Fosfat tamponlu tuz çözeltisi	Sigma-Aldrich	806552(*)
BIOAMF-1 medyum	Biological Industries	01-190-1A
BIOAMF-1 supplement	Biological Industries	01-192-1E
Antibiyotik Antimikotik çözelti	Sigma-Aldrich	A5955(*)
L-Glutamin çözeltisi	Sigma-Aldrich	56-85-9
Histopaque-1077	Sigma-Aldrich	10771(*)
DMSO	Sigma-Aldrich	67-68-5
MTT Test Kiti	Cayman Chemical	0524641(*)

(*)’ işaretleri ile belirtilenler ilgili markaya ait ürün kodlarıdır. İşaret bulunmayanlar ise CAS numaraları ile verilmiştir.

3.1.4. Çalışmada Kullanılan Bakteriler ve Özellikleri

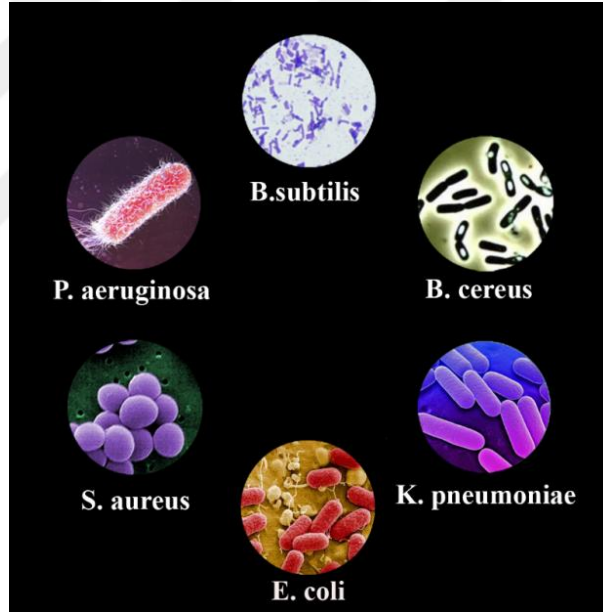
- ❖ ***Bacillus cereus***: Bacillaceas familyasına dahil olup, gram pozitif, aerobik veya fakültatif anaerobik, spor oluşturan, çubuk şeklinde bakterilerdir. Genellikle mezofilik olmakla birlikte psikrotrof ve termofilik türleri de vardır. Toprakta ve akuatik ortamlarda bol miktarda bulunmaktadır. 1,2-5 µm arasında hücre boyutuna sahiptir. Üreyebildiği sıcaklıklar suşlara göre farklılık gösterir. Optimum üreme koşulları 30 °C, maksimum ve minimum üreme sıcaklıkları sırasıyla 37-48 °C ve 10-18 °C arasındadır. Gelişebildiği pH aralığı 4,9-9,3 olup optimum pH 7'dir. *Bacillus cereus* ile kontamine olmuş gıdalar tüketildiğinde gıda zehirlenmesine bağlı olarak ishale neden olur. Ayrıca *B. cereus* immün sistemi baskılanmış insanlarda menenjit, endokardit, endoftalmitis, konjonktivit ve akut gastroenterit gibi hastalıklara yol açar (Brooks ve ark., 2012; Kalaylı ve Beyatlı, 2003; Altun ve ark., 2002; Kaleli ve Özkaya, 2000; Anonim 5, 2019).
- ❖ ***Bacillus subtilis***: Çubuk şeklide olan ve saprofit beslenen bu tür gram pozitif olup aerobik solunum yapar. Bu türün üyeleri toprakta, havada ve suda yaşarlar. 3-4 µm boyutlarda olan tipik hücreler kare uçlara sahip olup uzun zincirler halinde düzenlenmişler ve sporlar hareketli olmayan hücrelerin ortasında bulunur. Her ne kadar saprofit bir türde olsa özellikle deri ve göz de enfeksiyonlara neden olabilirler. Ayrıca bu tür, düşük toksik etkilere sahip olan fakat uzun süre maruz kalındığında alerjik durumların ortaya çıkmasına neden proteolitik bir enzim olan subtilisin üretmektedir (Brooks ve ark., 2012; Arslan ve ark., 2013)
- ❖ ***Staphylococcus aureus***: Gram pozitif boyanma özelliği gösteren bu tür tekli, ikili ve dörtlü hücreler halinde bulunabildikleri gibi üç veya dört hücreden oluşan kısa zincirler yapabilirler veya düzensiz üzüm salkımı benzeri şekiller oluştururlar. Hareketsiz, spor oluşturmayan, çoğunlukla katalaz pozitif, oksidaz negatif, kapsülsüz ve fakültatif anaerob bakterileridir. Stafilokokların çoğu % 7,5-10 NaCl içeren basit besiyerlerinde, 18-45 °C'de kolaylıkla ürerler. En hızlı üreme gösterdikleri sıcaklık 37 °C'dir. *S. aureus*'un

oluşturduğu hastalıklar deri enfeksiyonları, septisemi-endokardit ve organ enfeksiyonlarıdır. Hastane enfeksiyonlarının ikinci en sık etkeni olan *S. aureus* suşlarının büyük çoğunluğu metisiline dirençlidir. *S. aureus* enfeksiyonlarından korunmada en etkili yöntem el yıkamadır. Özellikle duyarlı hastaların bulunduğu yeni doğan, yoğun bakım, nöroloji, beyin cerrahi ve hemodiyaliz servislerinde hastaların *S. aureus* suşları ile enfekte olmasının önlenmesi önemlidir (Brooks ve ark., 2012; Bilgehan, 2000).

- ❖ ***Pseudomonas aeruginosa***: Doğada yaygın olarak bulunan ve hastanelerde özellikle nemli yerlerde yaşayabilen saprofit bir türdür. *P. aeruginosa* hareketli ve çubuk şeklinde olup, boyutları yaklaşık 0,6x2 µm'dir. Tek hücreli olabildikleri gibi koloni halinde de yaşayabilen Gram negatiftir bakteridir. En ideal büyüme ve üreme sıcaklık aralığı 37-42 °C'dir. İnsanlarda nozokomiyal pnömoni, yanık enfeksiyonu ve bakteriyemi hastalıklarına neden olur (Brooks ve ark., 2012).
- ❖ ***Klebsiella pneumoniae***: Kısa, silindirik, 0,5-2 µm boyutlarında spor oluşturmayan, hareketsiz bir bakteridir. Etrafında polisakkarit yapıda geniş bir kapsül bulunur. Bakteriyojik boyalarla iyi boyanan Gram negatif bir bakteri olup fakültatif anaerobtur. Optimal üreme sıcaklığı 37 °C'dir. 30-45 dakika 55 °C'de ısıtılarak sterilizasyonu sağlanır. *K. pneumoniae*, sefotaksim, seftriakson, sefepim veya seftazidim gibi güçlü antibiyotiklere oldukça dirençli bir bakteri türüdür. Hastane kaynaklı enfeksiyonlardan sorumlu ilk on bakteriyel patojen arasında yer almaktadır. Üst solunum yollarında enfeksiyona neden olur. *Klebsiella pneumoniae* menenjit, safra kesesi enfeksiyonu, çeşitli organlarda apse oluşumu gibi enfeksiyonlara yol açar ve organa özel klinik belirtiler verir (Brooks ve ark., 2012; Bilgehan, 2000; Arman, 2001).
- ❖ ***Escherichia coli***: *E. coli* 1885'de Theodor Escherich tarafından ishal olan süt çocuklarının dışkılarından izole edilip, *Bacterium coli commune* adı verilmiştir. 1919'da Castellani ve Chalmer tarafından *Escherichia* cins adı önerilene kadar *Bacterium coli* adı kullanılmıştır. *E. coli*, diğer *Enterobacteriaceae*

ailesindeki bakteriler gibi, gram negatif çomak şeklinde sporsuz bir bakteridir. Kapsül oluşturması nadir görülen bir durumdur. *E. coli* zenginleştirilmemiş besiyerlerinde fakültatif anaerob olarak ürer. Optimal üreme 37 °C'de ve nötral pH koşullarında gerçekleşir. Sıvı besiyerlerinde genellikle homojen bulanıklık meydana getirir. Bağırsaklarda oluşturduğu birçok hastalığın yanı sıra fırsatçı bir patojen gibi davranarak travma ve apandisit sonrası peritonit yapabilir ve kana yayılıp sepsise neden olabilir. Aynı zamanda septik artrit, endoftalmit, karaciğer absesi, osteomyelit, prostat ile ilgili enfeksiyonlar ve sinüzit gibi hastalıklara neden olabilir (Bilgehan, 2000).

Şekil 3.2'de bu tez çalışmasında kullanılan bakterilerin elektron mikroskobu altındaki görüntüleri verilmiştir.



Şekil 3.2: Elektron mikroskobu altında bakterilerin görünümü (Anonim 1, 2019; Anonim 2, 2019; Anonim 3, 2019; Anonim 4, 2019; Anonim 5, 2019; Anonim 6, 2019).

3.2. Metot

3.2.1. Antibakteriyel Aktivitenin Belirlenmesi

Test edilen bileşimin farklı konsantrasyonlarında antibakteriyel etkilerinin değerlendirilmesi için agar-kuyucuk difüzyon yöntemi kullanıldı. Çalışmada *B. subtilis* (ATCC 6633), *B. cereus* (ATCC 8035), *S. aureus* (ATCC 25923), *K. pneumoniae* (ATCC 33499), *P. aeruginosa* (ATCC 27852) ve *E. coli* (ATCC 25922) bakterileri kullanıldı. Bakteriler kullanılmaya kadar 4 °C'de saklandı. Kullanılacak agarın hazırlanması için 38 g Mueller Hinton (MH) agar 1 L distile su içerisinde tamamen çözünene kadar kaynatılarak karıştırıldı. Sterilizasyonu sağlamak amacıyla hazırlanan agar çözeltisi 121 °C'de 15 dakika süreyle otoklavda bekletildi. Petri kaplarına aktarılan agarın oda sıcaklığına kadar soğuması beklendi. Negatif kontrol grubu olarak dimetil sülfoksit (DMSO) kullanıldı. Hazırlanan agar üzerine mikroorganizmaların ekimi yapıldı. Agar yüzeyi üzerinde cam kanüller kullanılarak 5 mm çapında kuyucuklar oluşturuldu. Kuyucuklara test edilen bileşimin farklı konsantrasyonlarından 50 µL eklendi. Petri kapları 12 saat boyunca 37 °C'de inkübe edildi ve her bir kuyucuk etrafındaki inhibisyon bölgesinin çapı cetvel yardımı ile ölçüldü. Deneyle üç paralel olarak gerçekleştirildi.

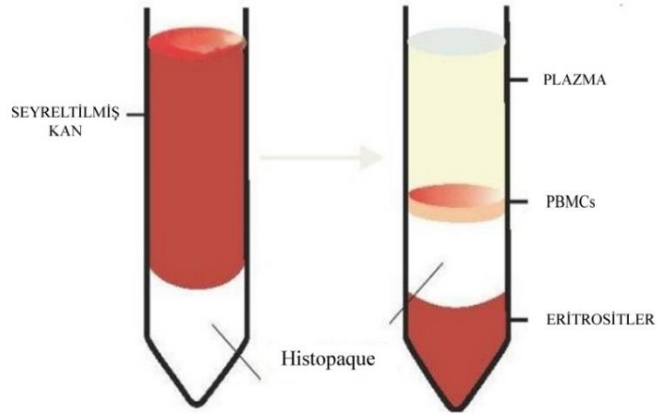
3.2.2 MTT Analizi

3.2.2.1. Kültür Medyumunun Hazırlanışı

Kültür medyumunun hazırlanması için; 75 mL hazır amniyon hücre kültürü medyumunu, 15 mL suplamant, 1.5 mL Penisilin+Streptomisin+Amfoterisin B ve 2 mL L-glutamin steril bir tüp içerisine eklenerek 37 °C'de bekletildi.

3.2.2.2 Tam Kandan Lenfositlerin İzole Edilmesi

1. 15 mL'lik steril tüpe oda sıcaklığına getirilen Histopaque-1077'den 6 mL eklendi.
2. 3 mL tam kan üzerine 3 mL PBS eklenerek 6 mL'lik seyreltilmiş kan numunesi hazırlandı. Hazırlanan numune ilk basamakta hazırlanan Histopaque-1077 üzerine eklendi. Oda sıcaklığında 400 g devirde 30 dakika boyunca santrifüj yapıldı.
3. Santrifüjleme işleminden sonra Şekil 3.3'de görülen mononükleer hücreler içeren opak ara yüz, pastör pipeti yardımı ile dikkatlice alındı ve steril bir tüpe aktarıldı.
4. Mononükleer hücreler içeren opak arayüzün bulunduğu steril tüpe üzerine, 5 mL PBS eklendi ve alt üst edilerek karıştırıldı.
5. Elde edilen lenfosit hücreleri Thoma lamı kullanılarak sayıldı.



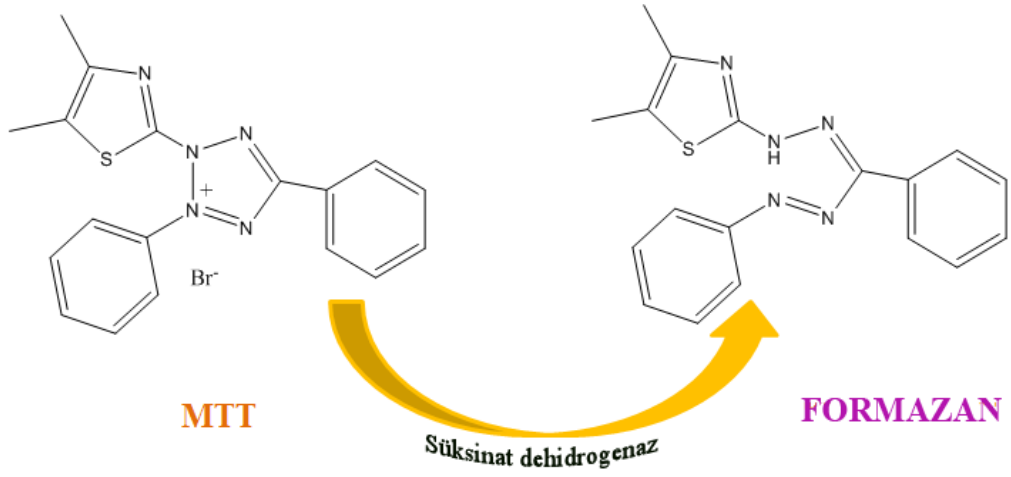
Şekil 3.3: Tam Kandan izole edilen mononükleer hücreler (PBMCs)

3.2.2.3. MTT Test Yöntemi

Lenfositlerin sayımı tamamlandıktan sonra steril kabin içerisinde aşağıda verilen işlem basamaklarına göre MTT test yöntemi kullanılarak sitotoksite belirlenmiştir.

- 1- 96 kuyucuklu mikrolakalara kültür medyumundan 100 µL eklendikten sonra her bir kuyucuk içerisine 100 µL (50000 hücre/kuyucuk) olacak şekilde hücre ekimi yapıldı.
- 2- Mikrolaka 24 saat 37 °C ve %5 CO₂ ayarlı inkübatörde bekletilerek hücrelerin yüzeye yapışmaları sağlandı.
- 3- İnkübasyon süresi tamamlandığında test edilecek maddenin farklı konsantrasyonlarda (1,17; 2,33; 4,67; 9,34 ve 18,67 mM) hazırlanmış çözeltilerinden 100 µL kültür ortamına eklendi. Ve hücreler 37 °C'de 24 saat %5 CO₂'li inkübatörde inkübe edildi.
- 4- İnkübasyon süresi tamamladığında her bir kuyucuğa daha önceden hazırlanmış MTT ayracından 10 µL eklendi.
- 5- 96-kuyucuklu plate çalkalayıcı üzerinde yavaşça karıştırıldı.
- 6- Hücreler 3-4 saat 37 °C sıcaklıkta %5 CO₂'li inkübatörde inkübe edildi.
- 7- İnkübasyondan sonra, hücrelerde oluşan formazan koyu renkli kristaller halinde kuyucukların dip kısmında görüldü.
- 8- Kuyucuklardaki medyum tamamen çekildikten sonra her bir kuyucuğa önceden hazırlanmış olan 200 µL DMSO eklendi.
- 9- Oluşan formazan kristallerinin çözülmesi için 24 saat süreyle 37 °C sıcaklıkta %5 CO₂'li inkübatörde bekletildi.

İnkübasyon sonunda mikrolakalar spektrofotometre ile 570 nm'de absorbans değerleri ölçüldü.



Şekil 3.4: MTT'nin (3- (4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2-5-difeniltetrazolyum bromür) Formazan'a (1-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-3,5-Difenilformazan) dönüşümü

4. BULGULAR

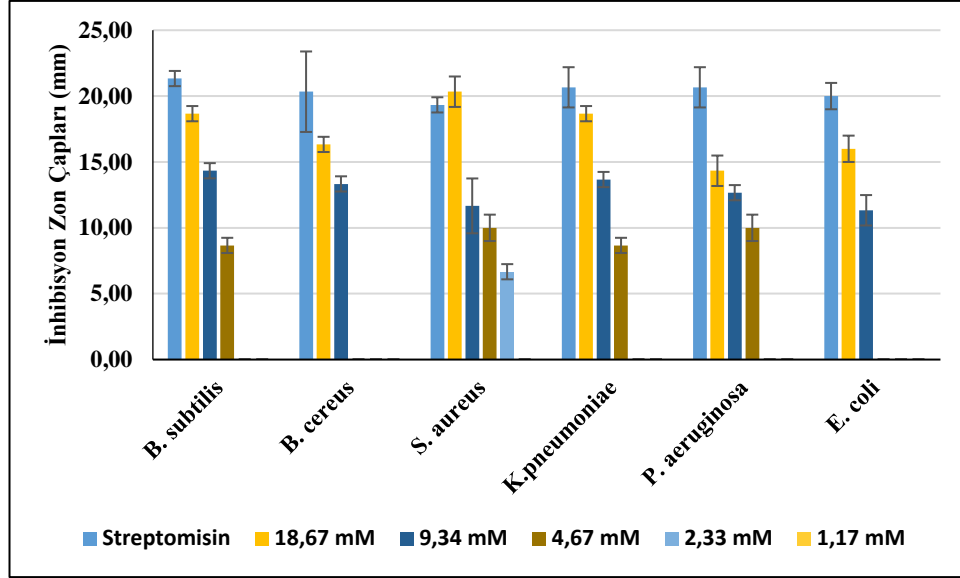
4.1. Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

Antibakteriyel aktivitenin belirlenmesinde agar kuyucuk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Gram pozitif (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* ve *Staphylococcus aureus*) ve Gram negatif (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli*) bakteri türleri üzerinde çinko kompleksinin antimikrobiyal etkileri değerlendirilmiş ve sonuçlar Tablo 4.1’de verilmiştir. 18,67 ve 9,34 mM konsantrasyonlarda kompleksin bütün bakteriler üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir. Bileşiğin 1,17 mM konsantrasyonda hiçbir bakteri üzerinde üremeyi durdurucu etki göstermediği yani bileşiğin bu konsantrasyonda antibakteriyel olmadığı tespit edilmiştir. Bileşiğin 2,33 mM konsantrasyonda ise sadece *S. aureus* bakterisi üzerinde üremeyi durdurma yönünden baskılayıcı bir etkisi olduğu görülmektedir. 4,67 mM’da *B. cereus* ve *E. coli* bakterileri hariç diğer bütün bakteri türlerinde bileşiğin antibakteriyel olduğu gözlenmiştir.

Tablo 4.1: Antibakteriyel aktivite sonuçları

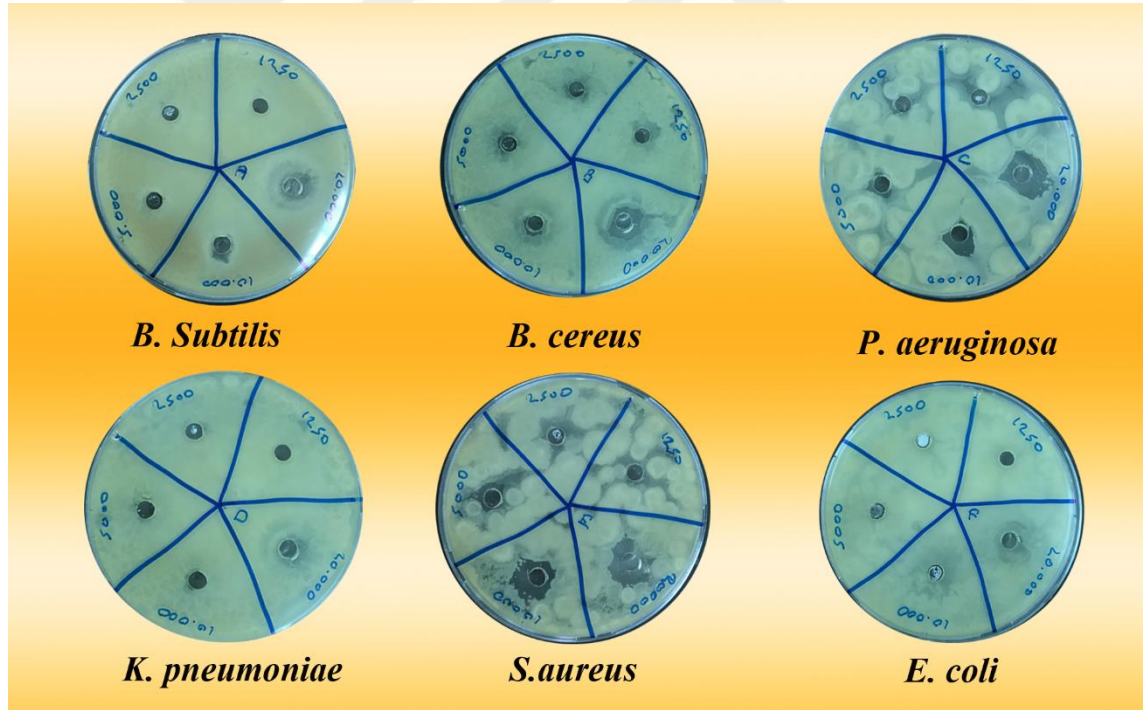
İnhibisyon Zon Çapları (mm)						
	Gram Pozitif			Gram Negatif		
Derişim	<i>B. subtilis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>
Streptomisin (5,16x10 ⁻⁴ mM)	21,33	20,33	19,33	20,67	20,67	20,00
18,67 mM	18,67	16,33	20,33	18,67	14,33	16,00
9,34 mM	14,33	13,33	11,67	13,67	12,67	11,33
4,67 mM	8,67	-	10,00	8,67	10,00	-
2,33 mM	-	-	6,67	-	-	-
1,17 mM	-	-	-	-	-	-
DMSO	-	-	-	-	-	-

* <6 mm antimikrobiyal aktivite yok; 6-15 mm zayıf antimikrobiyal aktivite; 15-20 mm güçlü antimikrobiyal aktivite; 20-25 mm çok güçlü antimikrobiyal aktivite (Bauer ve ark., 1966; Chohan ve Supuran, 2005; Al-Majidi, 2012)



Şekil 4.1: Konsantrasyonlara göre inhibisyon zonlarının karşılaştırılması

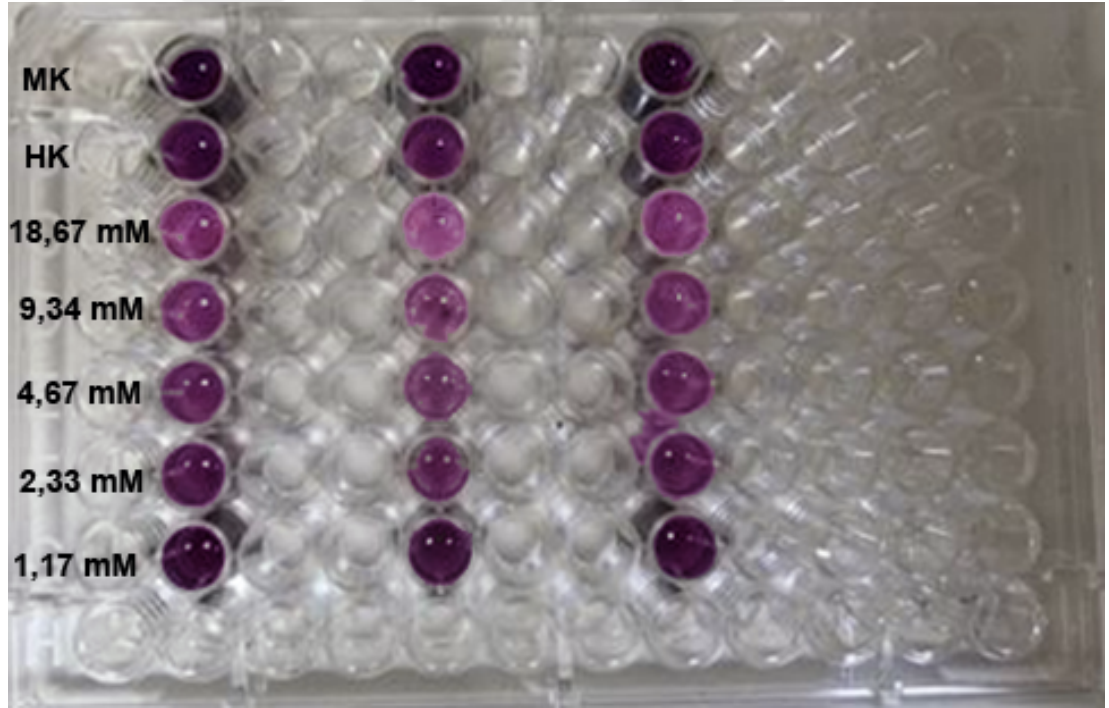
Agar kuyucuk yöntemi ile hazırlanan petri kaplarında Zn kompleksinin oluşturduğu inhibisyon zonlarının görüntüsü Şekil 4.2’de verilmiştir.



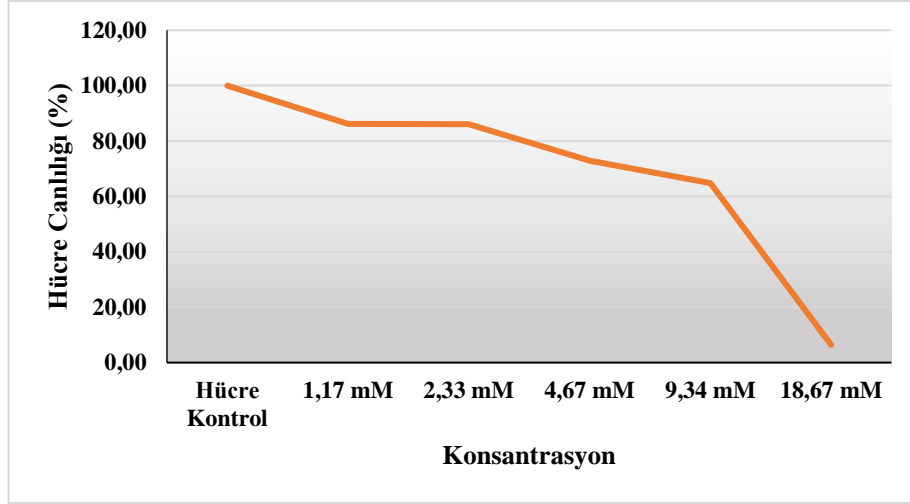
Şekil 4.2: Test edilen bileşiğin farklı konsantrasyonlarda oluşturduğu inhibisyon zonları

4.2. MTT Test Sonuçları

Yapılan deneysel çalışmalar sonucunda elde edilen MTT testi verileri değerlendirilmiştir. Üç paralel olarak yürütülen deneylere (Şekil 4.3) ait absorbans değerleri spektrofotometrik incelemeler ile ölçülmüş, yapılan hesaplamalarla hücre canlılığı tespit edilmiş ve Şekil 4.4’de verilmiştir. Çalışma konsantrasyonları olarak seçilen 1,17; 2,33; 4,67; 9,34 ve 18,67 mM konsantrasyonlardaki hücre canlılığı ile hücre kontrol grubuna ait hücre canlılığı verileri kıyaslanmıştır. Hücre canlılığı üzerine etkisi araştırılan Zn kompleksinin artan doza bağlı olarak bütün test konsantrasyonlarında hücre canlılığının azalmasına neden olduğu belirlenmiştir. 1,17 ve 2,33 mM konsantrasyonlarda hücre canlılığı % 14 oranında azalırken, 4,67 mM’da %27 ve 9,34 mM da ise yaklaşık %35 azaldığı tespit edilmiştir. Sitotoksik etkinin en bariz görüldüğü ve çalışmamızda belirlediğimiz en yüksek konsantrasyon olan 18,67 mM konsantrasyonda hücre ölümünün %93,58 olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.3: 24 saatlik inkübasyon sonrası 96 kuyucuklu mikropolanın görüntüsü



Şekil 4.4: Hücre canlılığında meydana gelen azalma

Hücre kontrol grubuna göre hücre canlılığındaki azalma yüzde (%) inhibisyon değerleri hesaplanarak elde edilmiştir. % inhibisyon değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanmış ve değerler Tablo 4.2’de verilmiştir. Bu değerler bize konsantrasyon arttıkça hücre canlılığının azaldığını göstermektedir. Hücre canlılığındaki en ciddi düşüş 18,67 mM konsantrasyonda meydana gelmiştir. Çünkü 9,34 mM’lık konsantrasyonda hücre ölümü % 35,23 iken, 18,67 mM konsantrasyonda % 93,58 hücre ölümü gerçekleştiği görülmektedir.

$$\text{Yüzde (\%)} \text{ inhibisyon} = \frac{HKHC - \text{ÇKHC}}{HKHC} \times 100$$

(HKHC= Hücre kontrol hücre canlılığı, ÇKHC= Çalışılan konsantrasyondaki hücre canlılığı)

Tablo 4.2: Hücre canlılığı ve yüzde inhibisyon değerleri

Konsantrasyon	Hücre Canlılığı (%)	İnhibisyon (%)
Hücre Kontrol	100,00	-
1,17 mM	86,20	13,80
2,33 mM	86,05	13,95
4,67 mM	72,87	27,13
9,34 mM	64,77	35,23
18,67 mM	6,42	93,58

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında kapsamında çinko 2-florobenzoatın nikotinamid kompleksinin 1,17; 2,33; 4,67; 9,34 ve 18,67 mM konsantrasyonlarda *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* bakterileri üzerinde antibakteriyel etkisi agar kuyucuk yöntemi ile incelenmiştir. Bileşiğin insan periferik kan lenfosit kültürleri üzerinde sitotoksik etkisi *in vitro* koşullarda MTT yöntemi ile belirlenmiştir. Bu bölümde literatür araştırması yapılmış ve çalışmada elde edilen bulgular ile kıyaslanmıştır.

İlaç sektörü AR-GE faaliyetleri içerisinde yeni bileşiklerin sentezi önemli yere sahiptir. Bakterilerin zamanla antibiyotiklere karşı direnç kazanması bunun en önemli nedenleri arasındadır. Her geçen gün literatüre farklı biyolojik aktif özellikli bileşikler kazandırılmaktadır. Fakat ileri klinik incelemelerin bütün bileşiklere yapılması zaman ve ekonomi gibi sebeplerle mümkün olamamaktadır. Bu nedenle de araştırmacılara da çok büyük görevler düşmektedir. Yeni sentezlenen bileşiklerin antibakteriyel aktivitelerinin yanında toksik özelliklerinin de belirlenmesi gerekmektedir. Çünkü iyi antibakteriyel aktivite ve düşük toksisite bileşiği daha önemli bir malzeme haline getirmektedir. Metal kompleksler ilaç kimyasında önemli bir yere sahiptir. Biyolojik aktif özellikli metallerin (Zn, Cu ve Co) kompleksleri sentezlenerek antibakteriyel özelliklerinin incelendiği birçok çalışma bulunmaktadır.

Omar ve Abu Ali (2017) çinko ibuprofenin 4,4'-bipiridin, 1,10-fenantrolin, 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin, 1,2-dimetilimidazol, 1,2-dimimidazol, 2-dimetilimidazol, 2-amino-6-pikolin komplekslerinin ve Ali ve arkadaşları (2016) çinko ibuprofenin 2-aminopiridin, 2-aminometilpiridinli ve 2,2'-bipiridin ve 2-(metilamino)piridin komplekslerinin 6 g.L⁻¹ (6000 ppm) konsantrasyonda *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Proteus mirabilis* bakterileri üzerinde antibakteriyel etkisini incelemişlerdir. 4,4'-bipiridin, 1,10-fenantrolin, 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin ve 2,2'-bipiridinli komplekslerin gram pozitif bakteriler üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bu iki çalışma ana ligand olarak seçilen steroid olmayan enflamatuar özellikli ibuprofenin çinko metali piridin türevleri ile komplekslerinde değişen antibakteriyel etkisinin metal-ligand seçimine göre değişebileceğini belirtmişlerdir. Bileşiklerin

antibakteriyel etkileri konsantrasyon azaldıkça azalmaktadır. Çalışmalarda toksisiteye ilişkin herhangi bir bulgu bulunmamaktadır. Steroid olmayan ve anti enflamatuar özellikli ilaçlardan biri olan naproksenin de çinko kompleksleri sentezlenmiştir. Farklı piridin türevleri kullanılarak elde edilen komplekslerin antibakteriyel etkileri *Escherichia coli* ve *Salmonella aureus* bakterilerine karşı disk difüzyon metodu ile ve *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile incelenmiştir. Bu bakteri türlerine karşı piridin türevleri değişikçe farklı antibakteriyel etki gösteren kompleksler antibiyotik olarak önerilmiştir. Bu çalışmalar kapsamında bileşiklerin toksisitesi araştırılmamıştır (Abu Ali ve ark., 2015; Chiniforoshan ve ark., 2014).

Çinko kumarin-3-karboksilatın 100-1000 µg/mL konsantrasyon aralığında difüzyon yöntemi ile *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis* bakterilerine karşı (Islas ve ark., 2018), 5-iyodo ve 5-bromosalisilat komplekslerinin 0,001-200 mmol.dm⁻³ konsantrasyon aralığında *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı (Košícká ve ark., 2018), çinko 2-bromobenzoatın üre, nikotinamid, N-metilnikotinamid, N,N-dietilnikotinamid, izonikotinamid, fenazon komplekslerinin 0,01–2,0 mmol.dm⁻³ konsantrasyon aralığında *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı (Krajníková ve ark., 2010) ve çinko salisilatların 1 mg/mL konsantrasyonda *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerine karşı (Chooset ve ark., 2018) antibakteriyel etkileri incelenmiştir. Bu komplekslerde her ne kadar ana ligand antibakteriyel aktiviteye sahip olsa da yardımcı ligandın yapıya katılması ile bazı komplekslerde (özellikle piridin türevleri) antibakteriyel etkinin arttığı bildirilmiştir. Ancak bu bileşiklerin de toksisitelerine ilişkin ek bir çalışma yapılmamıştır. Karboksilat komplekslerinin öneminin vurgulandığı bu çalışmalarda genel olarak antibakteriyel özelliklere dayalı önermeler yapılmıştır. Bizim çalışmamızı bu çalışmalardan ayıran en belirgin özellik antibakteriyel aktivite testinin yanısıra kompleksin sitotoksitesini incelemek olmuştur. Bu tez çalışmasında 0,02 g/mL (18,67 mM) ve 0,01 g/mL (9,34 mM) konsantrasyonlarda inhibisyon zon çaplarına göre bileşiğin antibakteriyel özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Bileşiğin 0,02 g/mL (18,67 mM) konsantrasyonunun *B. cereus*, *B.*

subtilis, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *K. pneumoniae* bakterileri üzerinde iyi derecede antibakteriyel etki gösterdiği ancak sitotoksosite sonuçlarına göre % 93,58 oranında lenfosit hücrelerinin ölümüne yol açtığını belirlenmiştir. Benzer şekilde belirtilen tüm bakteriler üzerinde 0,01 g/mL konsantrasyonda orta derecede antibakteriyel etki meydana gelirken MTT test sonuçları % 35,23 hücre ölümü gerçekleştiği tespit edilmiştir. Literatürde çinko 2-florobenzoatın ve onun başka piridin türevleri ile herhangi bir kompleksinin antibakteriyel aktivitesine ilişkin bir çalışma bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasında ilk defa çinko 2-florobenzoatın antibakteriyel ve sitotoksik etkileri incelenmiştir.

Literatürde farklı çinko komplekslerinin sitotoksitesinin araştırıldığı bazı çalışmalar da mevcuttur. Örneğin; Zhu ve arkadaşları (2018) çinko 2,4,5-benzentetrakarboxilatın 1,3,5-tris(1-imidazolil)benzen kompleksini sentezlenmiş ve 4, 12, 36, 110, 330 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonlarda HeLa ve KB kanser hücre hatları üzerinde sitotoksik olduğu MTT yöntemi ile belirlemişlerdir (Zhu ve ark., 2018). Tez çalışmamızdaki konsantrasyonlara yakın konsantrasyon ile yapılan çalışmada, çinko vanilin schiff bazı kompleksinin % 1'lik konsantrasyonda A549, HeLa, HL-60 ve K562 kanser hücre hatları üzerinde sitotoksik olduğu rapor edilmiştir (Niu ve ark., 2015). Bu çalışmalarda sentezlenen kompleksler her ne kadar antikanserojen bir ajan olarak önerilse de çalışılan konsantrasyonlarda sağlıklı hücreler üzerine etkileri incelenmemiştir. Bizim çalışmamızın sonuçları test edilen bileşiğin insan lenfosit hücre hattı üzerinde sitotoksik olduğu belirtilerek olumsuz olarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, bu tez çalışmasından elde edilen bulgular değerlendirildiğinde çinko 2-florobenzoatın nikotinamid kompleksi antibakteriyel özellik sergilemesinin yanında aynı konsantrasyonlarda sitotoksik olması nedeniyle ilaç özellikli malzeme olarak önerilmemektedir.

KAYNAKLAR

- Abraham, E. P., Chain, E., Fletcher, C. M., Gardner, A. D., Heatley, N. G., Jennings, M. A. and Florey, H. W. (1941). Further observations on penicillin. *The Lancet*, 238(6155), 177-189.
- Abraham, E. P. and Newton, G. G. F. (1961). The structure of cephalosporin C. *Biochemical Journal*, 79(2), 377-393.
- Abu Ali, H., Darawsheh, M. D. and Rappocciolo, E. (2013). Synthesis, crystal structure, spectroscopic and biological properties of mixed ligand complexes of zinc(II) valproate with 1,10-phenanthroline and 2-aminomethylpyridine. *Polyhedron*, 61, 235-241.
- Abu Ali, H., Fares, H., Darawsheh, M., Rappocciolo, E., Akkawi, M. and Jaber, S. (2015). Synthesis, characterization and biological activity of new mixed ligand complexes of Zn(II) naproxen with nitrogen based ligands. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 89, 67-76.
- Abu Ali, H., Omar, S. N., Darawsheh, M. D. and Fares, H. (2016). Synthesis, characterization and antimicrobial activity of zinc(II) ibuprofen complexes with nitrogen-based ligands. *Journal of Coordination Chemistry*, 69(6), 1110-1122.
- Akhtar, S., Khan, M. A., Shahid, K. and Akhtar, H. (2018). Metal Complexes of Ribavirin; Synthesis, Characterization and In-vitro Biological Screening. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(4), 1666-1672.
- Altun, B., Besler, T. ve Ünal, S. (2002). Ankara'da Satılan Sütlerin Değerlendirilmesi, 11(2), 51.
- Aminov, R. I. (2010). A Brief History of the Antibiotic Era: Lessons Learned and Challenges for the Future. *Frontiers in Microbiology*, 1, 1-7.
- Anonim 1. <http://blog.microscopeworld.com/2015/06/bacillus-subtilis-under-microscope.html>, (23 Haziran 2019).
- Anonim 2. <https://www.eurekalert.org/multimedia/pub/89300.php>, (23 Haziran 2019).
- Anonim 3. <https://blog.frontiersin.org/2018/03/13/microbiology-bacteria-pseudomonas-aeruginosa-burn-wounds/>, (23 Haziran 2019).
- Anonim4. https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Klebsiella_pneumoniae_pathogenesis, (23 Haziran 2019).
- Anonim 5. https://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus, (23 Haziran 2019).
- Anonim 6. <https://wiki.epfl.ch/biodesign-realworld/background/coliform>, (23 Haziran 2019).
- Anonim7. <http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/BelgeKardes.aspx?F6E10F8892433CFFA79D6F5E6C1B43FF10CC3F7A155F5A36>, (23 Haziran 2019).
- Anonim8. https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/67480/mod_resource/content/0/Sitotoksisite.pdf, (23 Haziran 2019).
- Anonim 9. https://en.wikipedia.org/wiki/MTT_assay (23 Haziran 2019).
- Anonim 10. <https://www.accelerate.me/product/instacell-biocompatibility-assay-kits.html>, (23 Haziran 2019).
- Anonim 11. <https://www.dojindo.com/store/p/141-Microbial-Viability-Assay-Kit-WST.html>, (23 Haziran 2019).

- Arman, D. (2001). Gram negatif çomak infeksiyonlarında güncel tedavi yaklaşımları. *Ankem Dergisi*, 15, 421-4.
- Arslan, S., Erginkaya, Z., Özaslan, M., Kılıç, İ. H. ve Ünal, E. (2013). LactoBacillus rhamnosus'un sünme (rope) hastalığı etkeni olan Bacillus cinsi bakteriler üzerine inhibitör etkisinin unlarda araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 43(4), 155–64.
- Balouiri, M., Sadiki, M. and Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79.
- Banu, B. S., Devi, K. D., Mahboob, M. and Jamil, K. (2001). In Vivo Genotoxic Effect of Zinc Sulfate in Mouse Peripheral Blood Leukocytes Using Comet Assay. *Drug and Chemical Toxicology*, 24(1), 63-73.
- Bilgehan, H. (2000). Gram olumlu koklar: Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, İzmir, 704 sayfa.
- Bravo-Gómez, M. E., García-Ramos, J. C., Gracia-Mora, I. and Ruiz-Azuara, L. (2009). Antiproliferative activity and QSAR study of copper(II) mixed chelate [Cu(N–N)(acetylacetonato)]NO₃ and [Cu(N–N)(glycinato)]NO₃ complexes, (Casiopeínas®). *Journal of Inorganic Biochemistry*, 103(2), 299-309.
- Brooks, G., Carroll, K. C., Butel, J. and Morse, S. (2013). *Jawetz Melnick and Adelberg's Medical Microbiology*. McGraw-Hill Publishing, Blacklick, 864 pages.
- Chiniforoshan, H., Tabrizi, L., Hadizade, M., Sabzalian, M. R., Chermahini, A. N. and Rezapour, M. (2014). Anti-inflammatory drugs interacting with Zn (II) metal ion based on thiocyanate and azide ligands: Synthesis, spectroscopic studies, DFT calculations and antibacterial assays. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 128, 183-190.
- Chooset, S., Kantacha, A., Chainok, K. and Wongnawa, S. (2018). Synthesis, crystal structure, luminescent properties and antibacterial activities of zinc complexes with bipyridyl and salicylate ligands. *Inorganica Chimica Acta*, 471, 493-501.
- da Silva J. J. R. F. and Williams, R. J. P. (1991). *The inorganic chemistry of life*. Clarendon Press, Oxford, 600 pages.
- Dadook, M., Mehrabian, S., Salehi, M., and Irian, S. (2014). Morphological, Biochemical and Molecular Characterization of Twelve Nitrogen-Fixing Bacteria and Their Response to Various Zinc Concentration. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 7(4), e9415.
- Dang, T., Nizamov, I. S., Salikhov, R. Z., Sabirzyanova, L. R., Vorobev, V. V., Burganova, T. I., Shaidoullina, M. M., Batyeva, E. S., Cherkasov, R. A. and Abdullin, T. I. (2019). Synthesis and characterization of pyridoxine, nicotine and nicotinamide salts of dithiophosphoric acids as antibacterial agents against resistant wound infection. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 27(1), 100-109.
- Darawsheh, M., Abu Ali, H., Abuhijleh, A. L., Rappocciolo, E., Akkawi, M., Jaber, S., Maloul, S. and Hussein, Y. (2014). New mixed ligand zinc(II) complexes based on the antiepileptic drug sodium valproate and bioactive nitrogen-donor ligands. Synthesis, structure and biological properties. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 82, 152-163.

- Deng, Z., Dailey, L. A., Soukup, J., Stonehuerner, J., Richards, J. D., Callaghan, K. D., Yang, F. and Ghio, A. J. (2009). Zinc transport by respiratory epithelial cells and interaction with iron homeostasis. *BioMetals*, 22(5), 803-815.
- Dimiza, F., Fountoulaki, S., Papadopoulos, A. N., Kontogiorgis, C. A., Tangoulis, V., Raptopoulou, C. P., Psycharis, V., Terzis, A., Kessissoglou, D. P. and Psomas, G. (2011). Non-steroidal antiinflammatory drug–copper(ii) complexes: Structure and biological perspectives. *Dalton Transactions*, 40(34), 8555.
- Dimiza, F., Papadopoulos, A. N., Tangoulis, V., Psycharis, V., Raptopoulou, C. P., Kessissoglou, D. P. and Psomas, G. (2010). Biological evaluation of non-steroidal anti-inflammatory drugs-cobalt(ii) complexes. *Dalton Transactions*, 39(19), 4517.
- Dimiza, F., Papadopoulos, A. N., Tangoulis, V., Psycharis, V., Raptopoulou, C. P., Kessissoglou, D. P. and Psomas, G. (2012). Biological evaluation of cobalt(II) complexes with non-steroidal anti-inflammatory drug naproxen. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 107(1), 54-64.
- Elango, G., Ap, A. and S, G. (2017). Co (II), Ni (II) and Cu (II) Complexes with Schiff Base Ligand: Syntheses, Characterization, Antimicrobial Studies and Molecular Docking Studies. *SOJ Materials Science and Engineering*, 5(2), 1-12.
- Faiz, H., Zuberi, A., Nazir, S., Rauf, M. and Younus, N. (2015). Zinc Oxide, Zinc Sulfate and Zinc Oxide Nanoparticles as Source of Dietary Zinc: Comparative Effects on Growth and Hematological Indices of Juvenile Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*). *International Journal of Agriculture and Biology*, 17(3), 568-574.
- Fleming, A. (1980). On the Antibacterial Action of Cultures of a Penicillium, with Special Reference to Their Use in the Isolation of *B. influenzae*. *Clinical Infectious Diseases*, 2(1), 129-139.
- Fountoulaki, S., Perdih, F., Turel, I., Kessissoglou, D. P. and Psomas, G. (2011). Non-steroidal anti-inflammatory drug diflunisal interacting with Cu(II). Structure and biological features. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 105(12), 1645-1655.
- Frezza, M., Hindo, S., Chen, D., Davenport, A., Schmitt, S., Tomco, D. and Ping Dou, Q. (2010). Novel Metals and Metal Complexes as Platforms for Cancer Therapy. *Current Pharmaceutical Design*, 16(16), 1813-1825.
- Gómez, S., Villar, C. and Bonetto, C. (1998). Zinc toxicity in the fish *Cnesterodon decemmaculatus* in the Paraná River and Río de La Plata Estuary. *Environmental Pollution*, 99(2), 159-165.
- Gonçalves, R. C., da Silva, D. P., Signini, R., and Naves, P. L. F. (2017). Inhibition of bacterial biofilms by carboxymethyl chitosan combined with silver, zinc and copper salts. *International Journal of Biological Macromolecules*, 105, 385–392.
- Gould, K. (2016). Antibiotics: from prehistory to the present day. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(3), 572-575.
- Gündüz, T. (2005). *Koordinasyon Kimyası*. Gazi Kitabevi, Ankara, 323 sayfa.
- Hasegawa, D., Kobayashi, M., Kuwabara, T., Ohmura, T., Fujita, M. and Orima, H. (2008). Pharmacokinetics and toxicity of zonisamide in cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10(4), 418-421.

- Hoang, T. C. and Tong, X. (2015). Influence of water quality on zinc toxicity to the Florida apple snail (*Pomacea paludosa*) and sensitivity of freshwater snails to zinc. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 34(3), 545-553.
- Islas, M. S., Martínez Medina, J. J., Piro, O. E., Echeverría, G. A., Ferrer, E. G. and Williams, P. A. M. (2018). Comparisons of the spectroscopic and microbiological activities among coumarin-3-carboxylate, o-phenanthroline and zinc(II) complexes. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 198, 212-221.
- Jabali, B. and Abu Ali, H. (2016). New zinc(II) complexes of the Non-steroidal Anti-Inflammatory Drug (indomethacin) and various nitrogen donor ligands. Synthesis, characterization and biological activity. *Polyhedron*, 117, 249-258.
- Joseph, J., Nagashri, K. and Janaki, G. B. (2012). Novel metal based anti-tuberculosis agent: Synthesis, characterization, catalytic and pharmacological activities of copper complexes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 49, 151-163.
- Kalaylı, E. ve Beyatlı, Y. (2003). Bacillus cinsi bakterilerin antimikrobiyal aktiviteleri, PHB üretimleri ve plazmid DNA'ları. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1(12), 24-35.
- Kaleli, D. ve Özkaya, F. (2000). Bacillus cereus. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölüm Yayını, 395-401.
- Kamel, S., Abu Ali, H. and Abu Shamma, A. (2017). New Zn(II) complexes based on biologically active substituted acetic acid and nitrogen donor ligands: synthesis, crystal structure and biological applications. *Journal of Coordination Chemistry*, 70(11), 1910-1925.
- Kaur, G., Pickrell, G., Kimsawatde, G., Homa, D., Allbee, H. A. and Sriranganathan, N. (2015). Synthesis, cytotoxicity and hydroxyapatite formation in 27-Tris-SBF for sol-gel based CaO-P₂O₅-SiO₂-B₂O₃-ZnO bioactive glasses. *Scientific Reports*, 4, 4392.
- Khan, M. S., Siddiqui, S. A., Siddiqui, M. S. R. A., Goswami, U., Srinivasan, K. V. and Khan, M. I. (2008). Antibacterial Activity of Synthesized 2,4,5-Trisubstituted Imidazole Derivatives. *Chemical Biology and Drug Design*, 72(3), 197-204.
- Khorasani-Motlagh, M., Noroozifar, M. and Mirkazehi-Rigi, S. (2010). Fluorescence and DNA-binding spectral studies of neodymium(III) complex containing 2,2'-bipyridine, [Nd(bpy)₂Cl₃·OH₂]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 75(2), 598-603.
- Košická, P., Györyová, K., Smolko, L., Gyepes, R. and Hudecová, D. (2018). Synthesis, crystal structures, spectral, thermal and antimicrobial properties of new Zn(II) 5-iodo- and 5-bromosalicylates. *Journal of Molecular Structure*, 1155, 232-238.
- Krajníková, A., Györyová, K., Hudecová, D., Kovářová, J. and Vargová, Z. (2011). Thermal decomposition and antimicrobial activity of zinc(II) 2-bromobenzoates with organic ligands. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 105(2), 451-460.
- McCann, M., Coyle, B., Briody, J., Bass, F., O'Gorman, N., Devereux, M., Kavanagh, K. and McKee, V. (2003). Synthesis and antimicrobial activity of (Z)-3-(1H-imidazol-1-yl)-2-phenylpropenenitrile and its metal complexes: X-

- ray crystal structures of the Zn(II) and Ag(I) complexes. *Polyhedron*, 22(12), 1595-1601.
- Meng, Q., Wang, L., Wang, D., Yang, J., Yue, C. and Lu, J. (2017). Synthesis, Crystal Structure, Photoluminescence Properties and Antibacterial Activity of a Zn(II) Coordination Polymer Based on a Paddle-Wheel Cluster. *Crystals*, 7(4), 112.
- Milunovic, M. N. M., Enyedy, É. A., Nagy, N. V., Kiss, T., Trondl, R., Jakupec, M. A., Keppler, B. K., Krachler, R., Novitchi, G. and Arion, V. B. (2012). L- and D-Proline Thiosemicarbazone Conjugates: Coordination Behavior in Solution and the Effect of Copper(II) Coordination on Their Antiproliferative Activity. *Inorganic Chemistry*, 51(17), 9309-9321.
- Mohamed, M. S., Shoukry, A. A. and Ali, A. G. (2012). Synthesis and structural characterization of ternary Cu (II) complexes of glycine with 2,2'-bipyridine and 2,2'-dipyridylamine. The DNA-binding studies and biological activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 86, 562-570.
- Noro, S., Miyasaka, H., Kitagawa, S., Wada, T., Okubo, T., Yamashita, M. and Mitani, T. (2005). Framework Control by a Metalloligand Having Multicoordination Ability: New Synthetic Approach for Crystal Structures and Magnetic Properties. *Inorganic Chemistry*, 44(1), 133-146.
- Omar, S. N. and Abu Ali, H. (2017). New complexes of Zn(II) with the anti-inflammatory non-steroidal drug, ibuprofen and nitrogen donor ligands. Synthesis, characterization and biological activity. *Journal of Coordination Chemistry*, 70(14), 2436-2452.
- Onwudiwe, D. C., Nthwane, Y. B., Ekennia, A. C. and Hosten, E. (2016). Synthesis, characterization and antimicrobial properties of some mixed ligand complexes of Zn(II) dithiocarbamate with different N-donor ligands. *Inorganica Chimica Acta*, 447, 134-141.
- Özbek, F. E. (2011). 2-Halojenobenzoat Komplekslerinin Sentezi ve Özellikleri. Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Kimya ABD, Kars.
- Rajendiran, V., Karthik, R., Palaniandavar, M., Periasamy, V. S., Akbarsha, M. A., Srinag, B. S. and Krishnamurthy, H. (2007). Mixed-Ligand Copper(II)-phenolate Complexes: Effect of Coligand on Enhanced DNA and Protein Binding, DNA Cleavage, and Anticancer Activity. *Inorganic Chemistry*, 46(20), 8208-8221.
- Rank, J. and Nielsen, M. (1998). Genotoxicity testing of wastewater sludge using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 418(2-3), 113-119.
- Rizzotto, M. (2012). A search for antibacterial agents. In: *A Search For Antibacterial Agents*, Bobbarala, V. (eds). InTech, Croatia, 73-88.
- Rolain, J.M., Abat, C., Jimeno, M.T., Fournier, P.E. and Raoult, D. (2016). Do we need new antibiotics? *Clinical Microbiology and Infection*, 22(5), 408-415.
- Sabath, L. D. and Abraham, E. P. (1966). Zinc as a Cofactor for Cephalosporinase from *Bacillus cereus* 569. *Biochemical Journal*, 98(1), 11C-13C.
- Sagardoy, R., Morales, F., López-Millán, A.-F., Abadía, A. and Abadía, J. (2009). Effects of zinc toxicity on sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plants grown in hydroponics. *Plant Biology*, 11(3), 339-350.

- Santra, M., Talukder, G. and Sharma, A. (2000). Comparison of Chromosome Damage Induced by Three Zinc Compounds Using Human Leukocyte Culture. *Biological Trace Element Research*, 78(1-3), 113-120.
- Sarasamma, S., Audira, G., Juniardi, S., Sampurna, B., Liang, S. T., Hao, E., Lai, Y. H. and Hsiao, C. D. (2018). Zinc Chloride Exposure Inhibits Brain Acetylcholine Levels, Produces Neurotoxic Signatures, and Diminishes Memory and Motor Activities in Adult Zebrafish. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10), 3195.
- Sathiyaraj, S., Sampath, K., Butcher, R. J., Pallepogu, R. and Jayabalakrishnan, C. (2013). Designing, structural elucidation, comparison of DNA binding, cleavage, radical scavenging activity and anticancer activity of copper(I) complex with 5-dimethyl-2-phenyl-4-[(pyridin-2-ylmethylene)-amino]-1,2-dihydro-pyrazol-3-one Schiff base ligand. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 64, 81-89.
- Saxton, M. J. and Jacobson, K. (1997). Single Particle Tracking: Applications to Membrane Dynamics. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, 26(1), 373-399.
- Schatz, A. and Waksman, S. A. (1944). Effect of Streptomycin and Other Antibiotic Substances upon Mycobacterium tuberculosis and Related Organisms. *Experimental Biology and Medicine*, 57(2), 244-248.
- Sedlarik, V., Galya, T., Sedlarikova, J., Valasek, P. and Saha, P. (2010). The Effect of Hydrolysis Degree on the Properties of Antibacterial Polymeric Films Based on Poly(vinyl alcohol) and Zinc Sulphate for Biomedical Applications. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 21(11), 1421-1440.
- Sharma, S., Sharma, P., Datta, S. P. and Gupta, P. (2010). Morphological and biochemical response of Cicer arietinum L. var. pusa-256 towards an excess of zinc concentration. *Life Science Journal*, 7(1), 95-98.
- Sigel, A. and Sigel, H. (1999). Interrelations between free radicals and metal ions in life processes. In: *Metal ions in biological systems*, Marcel Dekker, New York, 33-56.
- Singh, R., Jadeja, R. N., Thounaojam, M. C., Patel, T., Devkar, R. V. and Chakraborty, D. (2012). Synthesis, DNA binding and antiproliferative activity of ternary copper complexes of moxifloxacin and gatifloxacin against lung cancer cells. *Inorganic Chemistry Communications*, 23, 78-84.
- Singh, S. B., Young, K. and Silver, L. L. (2017). What is an “ideal” antibiotic? Discovery challenges and path forward. *Biochemical Pharmacology*, 133, 63-73.
- Soayed, A. A., Refaat, H. M. and Noor El-Din, D. A. (2013). Metal complexes of moxifloxacin–imidazole mixed ligands: Characterization and biological studies. *Inorganica Chimica Acta*, 406, 230-240.
- Spector, R. and Johanson, C. E. (2007). Review: Vitamin transport and homeostasis in mammalian brain: focus on Vitamins B and E: Vitamin transport and homeostasis in mammalian brain. *Journal of Neurochemistry*, 103(2), 425-438.
- Suara, R. O. and Crowe, J. E. (2004). Effect of Zinc Salts on Respiratory Syncytial Virus Replication. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(3), 783-790.
- Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D. L., Pulcini, C., Kahlmeter, G., Kluytmans, J., Carmeli, Y., Ouellette, M., Outtersson, K., Patel, J., Cavalieri, M., Cox, E. M., Houchens, C. R., Grayson,

- M. L., Hansen, P., Singh, N., Theuretzbacher, U., Magrini, N., Aboderin, A. O., Al-Abri, S. S., Awang Jalil, N., Benzonana, N., Bhattacharya, S., Brink, A. J., Burkert, F. R., Cars, O., Cornaglia, G., Dyar, O. J., Friedrich, A. W., Gales, A. C., Gandra, S., Giske, C. G., Goff, D. A., Goossens, H., Gottlieb, T., Guzman Blanco, M., Hryniewicz, W., Kattula, D., Jinks, T., Kanj, S. S., Kerr, L., Kieny, M. P., Kim, Y. S., Kozlov, R. S., Labarca, J., Laxminarayan, R., Leder, K., Leibovici, L., Levy-Hara, G., Littman, J., Malhotra-Kumar, S., Manchanda, V., Moja, L., Ndoye, B., Pan, A., Paterson, D. L., Paul, M., Qiu, H., Ramon-Pardo, P., Rodríguez-Baño, J., Sanguinetti, M., Sengupta, S., Sharland, M., Si-Mehand, M., Silver, L. L., Song, W., Steinbakk, M., Thomsen, J., Thwaites, G. E., van der Meer, J. W., Van Kinh, N., Vega, S., Villegas, M. V., Wechsler-Fördös, A., Wertheim, H. F. L., Wesangula, E., Woodford, N., Yilmaz, F. O. and Zorzet, A. (2018). Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(3), 318-327.
- Teo, P. and Hor, T. S. A. (2011). Spacer directed metallo-supramolecular assemblies of pyridine carboxylates. *Coordination Chemistry Reviews*, 255(1-2), 273-289.
- Tokur, O. ve Aksoy, A. (2017). In Vitro Sitotoksisi Testleri. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 6(1), 112-118.
- Tolia, C., Papadopoulos, A. N., Raptopoulou, C. P., Psycharis, V., Garino, C., Salassa, L. and Psomas, G. (2013). Copper(II) interacting with the non-steroidal antiinflammatory drug flufenamic acid: Structure, antioxidant activity and binding to DNA and albumins. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 123, 53-65.
- Tsilou, S., Kefala, L. A., Perdih, F., Turel, I., Kessissoglou, D. P. and Psomas, G. (2012). Cobalt(II) complexes with non-steroidal anti-inflammatory drug tolfenamic acid: Structure and biological evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 48, 132-142.
- Uçucu, Ü., Karaburun, N. G. and Işikdağ, İ. (2001). Synthesis and analgesic activity of some 1-benzyl-2-substituted-4,5-diphenyl-1H-imidazole derivatives. *Il Farmaco*, 56(4), 285-290.
- Uivarosi, V. (2013). Metal Complexes of Quinolone Antibiotics and Their Applications: An Update. *Molecules*, 18(9), 11153-11197.
- Waksman, S. A. (1947). What is an Antibiotic or an Antibiotic Substance? *Mycologia*, 39(5), 565-569.
- Walsh, C. T., Sandstead, H. H., Prasad, A. S., Newberne, P. M. and Fraker, P. J. (1994). Zinc: health effects and research priorities for the 1990s. *Environmental Health Perspectives*, 102(2), 5-46.
- Walters, C., Pool, E. and Somerset, V. (2016). Nanotoxicology: a review. In: *Toxicology: New Aspects to This Scientific Conundrum*, Soloneski, S. and Larramendy M. L. (eds). InTech, Croatia, 45-64.
- Wang, Y.-M., Wang, P., Hao, X.-Z., Zhou, D.-M. and Li, J.-Z. (2017). Effect of different nitrogen forms on the toxicity of Zn in wheat seedling root: a modeling analysis. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(23), 18896-18906.
- Weiss, R. B. and Christian, M. C. (1993). New cisplatin analogues in development. *Drugs*, 46(3), 360-377.

- Williams, R. J. P. (1953). Metal ions in biological systems. *Biological Reviews*, 28(4), 381-412.
- Wu, J., Schat, H., Sun, R., Koornneef, M., Wang, X. and Aarts, M. G. M. (2007). Characterization of natural variation for zinc, iron and manganese accumulation and zinc exposure response in *Brassica rapa* L. *Plant and Soil*, 291(1-2), 167-180.
- Xiao, H., Liu, N., Tian, K., Liu, S. and Ge, F. (2018). Accelerated effects of nano-ZnO on phosphorus removal by *Chlorella vulgaris*: Formation of zinc phosphate crystallites. *Science of The Total Environment*, 635, 559-566.
- Xu, X., Liu, L., Long, S. F., Piao, X. S., Ward, T. L. and Ji, F. (2017). Effects of Chromium Methionine Supplementation with Different Sources of Zinc on Growth Performance, Carcass Traits, Meat Quality, Serum Metabolites, Endocrine Parameters, and the Antioxidant Status in Growing-Finishing Pigs. *Biological Trace Element Research*, 179(1), 70-78.
- Yamada, K., Yagishita, S., Tanaka, H., Tohyama, K., Adachi, K., Kaizaki, S., Kumagai, H., Inoue, K., Kitaura, R., Chang, H.-C., Kitagawa, S. and Kawata, S. (2004). Metal-Complex Assemblies Constructed from the Flexible Hinge-Like Ligand H₂bhnq: Structural Versatility and Dynamic Behavior in the Solid State. *Chemistry-A European Journal*, 10(11), 2647-2660.
- Yılmaz, Ç. and Özcengiz, G. (2017). Antibiotics: Pharmacokinetics, toxicity, resistance and multidrug efflux pumps. *Biochemical Pharmacology*, 133, 43-62.
- Zampakou, M., Rizeq, N., Tangoulis, V., Papadopoulos, A. N., Perdih, F., Turel, I. and Psomas, G. (2014). Manganese(II) Complexes with the Non-steroidal Anti-Inflammatory Drug Tolfenamic Acid: Structure and Biological Perspectives. *Inorganic Chemistry*, 53(4), 2040-2052.
- Zempleni, J., Suttie, J., Iii, J. and Stover, P. (2013). *Handbook of Vitamins*. CRC Press, Florida, 605 pages.
- Zubair, M., Sirajuddin, M., Haider, A., Ullah, K., Ullah, I., Munir, A., Ali, S. and Tahir, M.N. (2018). Synthesis, physicochemical characterizations and in vitro biological evaluations of amide based Zn(II) carboxylates. *Inorganica Chimica Acta*, 482, 567-578.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Cem ÖZTÜRK

Doğum Yeri ve Tarihi : Kars-1992

Yabancı Dili : İngilizce

İletişim (e-posta) : cemozturk1992@hotmail.com

Eğitim Durumu

Lisans : Atatürk Üniversitesi Mühendislik Fakültesi
Çevre Mühendisliği Bölümü
2011-2015

Yüksek Lisans : Kafkas Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi
Biyomühendislik Anabilim Dalı
2016 – Devam Ediyor.