



**FERROSENİL SİKLOTETRAFOSFAZEN TÜREVLERİNİN
ANTİMİKROBİYAL, ANTİTÜBERKÜLOZ, ANTİOKSİDAN, SİTOTOKSİK
AKTİVİTELERİ VE DNA İLE ETKİLEŞİMLERİNİN İNCELENMESİ**

Betül AYDIN

**DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2018

Betül AYDIN tarafından hazırlanan “FERROSENİL SİKLOTETRAFOSFAZEN TÜREVLERİNİN ANTİMİKROBİYAL, ANTİTÜBERKÜLOZ, ANTİOKSİDAN, SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİ VE DNA İLE ETKİLEŞİMLERİNİN İNCELENMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Leyla AÇIK

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Başkan: Prof. Dr. Zeynel KILIÇ

Kimya Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Üye: Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Üye: Prof. Dr. Ayten ÇELEBİ KESKİN

Biyomühendislik Anabilim Dalı, Kırıkkale Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Üye: Doç. Dr. Hikmet KATIRCIOĞLU

Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Tez Savunma Tarihi: 31/01/2018

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi 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.

Betül AYDIN

31/01/2018

FERROSENİL SİKLOTETRAFOFSAZEN TÜREVLERİNİN ANTİMİKROBİYAL,
ANTİTÜBERKÜLOZ, ANTİOKSİDAN, SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİ VE DNA İLE
ETKİLEŞİMLERİNİN İNCELENMESİ

(Doktora Tezi)

Betül AYDIN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2018

ÖZET

Bu çalışma kapsamında oktaklorosiklotetrafosfazen ile *N*-alkil-*N*-mono-ferrosenildiaminlerin reaksiyonu sonucu oluşan monoferrosenil-spirosiklotetrafosfazenlerin pirolidin, morfolin ve 1,4-dioksa-8-azaspiro[4,5]dekan (DASD) ile reaksiyona sokulması sonucu elde edilmiş tam substitüe ferrosenil siklotetrafosfazen bileşiklerinin çeşitli patojen mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi, antitüberküloz aktivitesi, antioksidan aktivitesi, L929 fibroblast ve DLD-1 kolon kanser hücre hatlarındaki sitotoksik aktivitesi ve plazmit DNA ile olan etkileşimi incelenmiştir. Bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesi agar kuyu difüzyon yöntemi ile; antimikrobiyal etkisi görülen bileşiklerin minimal inhibitör konsantrasyon (MİK), minimal bakterisidal konsantrasyon (MBK) ve minimal fungisidal konsantrasyon (MFK) değerleri mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Bileşiklerin çalışmada kullanılan maya suşlarına olan antimikrobiyal etkisinin bakterilere oranla daha yüksek olduğu ve pirolidin süstitüenti taşıyan bileşiklerin daha etkili olduğu belirlenmiştir. Bileşiklerin *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv referans suşuna karşı olan *in vitro* antitüberküloz aktivitesi agar proporsiyon yöntemi ile incelenmiş; pirolidin bağlı 1a-3a bileşiklerinin pirazinamid ve etambütolden daha etkili oldukları (3 µg/ml); DASD bağlı 2c bileşiğinin ise pirazinamid ilacından daha etkili olduğu (70 µg/ml) tespit edilmiştir. Antioksidan aktivitenin tayini için bileşiklerin DPPH serbest radikalini süpürücü etkisi incelenmiş ve bileşiklerin kullanılan konsantrasyonlarda (5000-1000 µM) ve kullanılan yöntem ile herhangi bir antioksidan aktiviteye sahip olmadığı belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan fosfazenlerin L929 fibroblast ve DLD-1 kolon kanser hücre hatlarına konsantrasyona (200-12,5 µg/ml) bağlı olarak sitotoksik etki gösterdiği görülmüş; pirolidin süstitüenti taşıyan bileşiklerin diğerlerine göre DLD-1 hücreleri üzerinde daha etkili olduğu belirlenmiştir. Bileşiklerin plazmit DNA ile olan etkileşimleri agaroz jel elektroforez yöntemi ile incelenmiş; DNA'ya bağlanma ve kesme şeklinde etki gösterdiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak çalışmada kullanılan bileşiklerden pirolidin süstitüe bileşiklerin morfolin ve DASD süstitüe bileşiklerden daha yüksek biyolojik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Bilim Kodu : 20326

Anahtar Kelimeler : Ferrosenil siklotetrafosfazen, antimikrobiyal aktivite, sitotoksik aktivite, DNA etkileşimi

Sayfa Adedi : 148

Danışman : Prof. Dr. Leyla AÇIK

ANTIMICROBIAL, ANTITUBERCULOSIS, ANTIOXIDANT, CYTOTOXIC
ACTIVITIES AND DNA INTERACTIONS WITH FERROCENYL
CYCLOTETRAPHOSPHAZENE COMPOUNDS

(Ph. D. Thesis)

Betül AYDIN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

January 2018

ABSTRACT

In this study, the fully substituted ferrocenyl cyclotetraphosphazene compounds which were obtained from reactions of pyrrolidine, morpholine and 1,4-dioxo-8-azaspiro[4,5]decane (DASD) with monoferrocenyl-spirocyclotetraphosphazenes, which were synthesized by the reaction of octachlorocyclotetraphosphazene with *N*-alkyl-*N*-mono-ferrocenyldiamines, were evaluated for their antimicrobial activity against several pathogen microorganisms, antituberculosis activity, antioxidant activity, cytotoxic activity against L929 fibroblast and DLD-1 colon cancer cell lines and interactions with plasmid DNA. Antimicrobial activities of the compounds were determined by using agar well diffusion method. Also, minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC) and minimum fungicidal concentration (MFC) of the compounds which were shown antimicrobial activity, were established by using microdilution method. It is determined that antimicrobial effect of the compounds against fungal strains is higher than bacterial strains and pyrrolidine substituted compounds are more effective than the others. When *in vitro* antituberculosis activities of the compounds against reference strain *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv were investigated, pyrrolidine substituted compounds 1a-3a are more efficient than pyrazinamide and ethambutol (3 µg/ml); and DASD substituted compound 2c is more active than pyrazinamide (70 µg/ml) as well. DPPH free radical scavenging effect of the compounds was used to determine the antioxidant activity, and there is not any antioxidant activity of the compounds in the working concentrations (5000-1000 µM) and working method. Cytotoxic activities of the compounds (200-12.5 µg/ml) against L929 fibroblast and DLD-1 colon cancer cell lines are concentration dependent and the pyrrolidino-substituted phosphazenes are more cytotoxic than the others against DLD-1 cells. The interactions of the compounds with plasmid DNA were investigated by using the agarose gel electrophoresis method and the compounds were found to have DNA cleavage and binding activity. In conclusion, it was determined that pyrrolidine substituted compounds have higher biological activities than morpholine and DASD substituted compounds.

Science Code : 20326

Key Words : Ferrocenyl cyclotetraphosphazene, antimicrobial activity, cytotoxic activity, DNA interaction

Page Number : 148

Supervisor : Prof. Dr. Leyla AÇIK

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmalarım sırasında bana yol gösteren, desteğini ve güvenini her zaman yanımda hissettiğim, bilgisi, tecrübesi ve önerileri ile beni her zaman doğru yönlendiren, çok kıymetli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Leyla AÇIK'a;

Tez izleme komitesinde bulunarak bilgi ve deneyimlerini aktarıp tezin değerlendirilmesinde önemli katkıları olan Sayın Prof. Dr. Zeynel KILIÇ ve Sayın Prof. Dr. Şule COŞKUN CEVHER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	5
2.1. Fosfazenlerin Genel Özellikleri	5
2.2. Enfeksiyon Hastalıkları ve Etkenleri	7
2.2.1. Bakteriler.....	8
2.2.2. Mayalar	12
2.3. Antimikrobiyal Maddeler.....	13
2.3.1. Antibakteriyel ilaçlar.....	13
2.3.2. Antifungal ilaçlar	17
2.3.3. Antimikrobiyal direnç	19
2.4. Önemli Bazı Patojen Mikroorganizmalar ve Sebep Olduğu Enfeksiyonlar	24
2.4.1. Bakteriler.....	24
2.4.2. Funguslar.....	30
2.5. Tüberküloz	32
2.5.1. Epidemiyoloji.....	33
2.5.2. Patojenez	34

	Sayfa
2.5.3. Tedavi.....	35
2.6. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres.....	39
2.7. Antioksidanlar	41
2.8. Kanser	41
2.8.1. Kanser hücrelerinin özellikleri.....	43
2.8.2. Kanser oluşumu.....	44
2.8.3. Kolorektal kanser	52
2.8.4. Kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar	58
2.9. İlaç-DNA Etkileşim Mekanizmaları	63
2.9.1. DNA'nın genel yapısı	63
2.9.2. DNA ile etkileşime giren ilaçların etki mekanizmaları	67
3. MATERYAL VE YÖNTEM	75
3.1. Materyal	75
3.1.1. Kullanılan bileşikler.....	75
3.1.2. Kullanılan mikroorganizmalar ve gelişme ortamları	76
3.1.3. Kullanılan hücre hatları.....	77
3.1.4. Kullanılan kimyasal maddeler	77
3.1.5. Kullanılan sarf malzemeler, aletler ve cihazlar.....	78
3.1.6. Çalışmada kullanılan çözeltilerin hazırlanması	78
3.2. Yöntem.....	79
3.2.1. Bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi	79
3.2.2. Bileşiklerin antitüberküloz aktivitesinin belirlenmesi	80
3.2.3. Bileşiklerin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi	81
3.2.4. Bileşiklerin sitotoksik aktivitesinin belirlenmesi	81
3.2.5. Bileşiklerin DNA ile etkileşiminin belirlenmesi.....	82
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	83

	Sayfa
4.2. Antimikrobiyal Aktivite	83
4.2. Antitüberküloz Aktivite	93
4.3. Antioksidan Aktivite	95
4.4. Sitotoksik Aktivite	95
4.5. Bileşiklerin DNA ile Etkileşimi	97
5. TARTIŞMA	101
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	127
KAYNAKLAR	131
ÖZGEÇMİŞ	145

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. İnsanların normal florasında bulunan mikroorganizmalar	7
Çizelge 2.2. β -laktam grubu antibiyotiklerin sınıfları.....	16
Çizelge 2.3. Antifungal ilaç sınıfları	18
Çizelge 2.4. Dünya sağlık örgütünün 2014 yılı antimikrobiyal direnç raporunda yer alan mikroorganizmalar ve bu mikroorganizmaların direnç geliştirdiği antibakteriyel ilaçlar	20
Çizelge 2.5. Yeni antibakteriyel ilaçların geliştirilmesi ve keşfedilmesi için kullanılan stratejiler	21
Çizelge 2.6. Antifungal direnç mekanizmaları	22
Çizelge 2.7. Birinci ve ikinci basamak antitüberküloz ilaçların grupları	35
Çizelge 2.8. MDR-TB tedavisinde kullanılan ilaçlar ve bunlarla ilişkili toksik etkiler	36
Çizelge 2.9. Metabolizma sırasında oluşturulan ROT ve RNT listesi	40
Çizelge 2.10. Kanser tiplerine göre kırmızı et ve sebze/meyve tüketimi	58
Çizelge 2.11. Çeşitli biyosentez yolları ve enzimleri inhibe eden antimetabolit ilaç sınıfları	60
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar ve inkübasyon koşulları.....	77
Çizelge 4.1. Bileşiklerin bakteriler üzerine gösterdiği antimikrobiyal aktivite inhibisyon zon çapları (mm).....	86
Çizelge 4.2. Bileşiklerin mayalar üzerine gösterdiği antimikrobiyal aktivite inhibisyon zon çapları (mm).....	87
Çizelge 4.3. Bileşiklerin bakteriler üzerindeki minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri (μ M)	89
Çizelge 4.4. Bileşiklerin mayalar üzerindeki minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri (μ M)	90
Çizelge 4.5. Bileşiklerin minimal bakterisidal konsantrasyon (MBK) değerleri (μ M) ..	92
Çizelge 4.6. Bileşiklerin minimal fungusidal konsantrasyon (MFK) değerleri (μ M) ..	93
Çizelge 4.7. Bileşiklerin in vitro antitüberküloz aktivitesine ait duyarlılık test sonuçları ve MİK değerleri	94

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.8. Bileşiklerin DPPH serbest radikalini süpürücü etkisi (517 nm'deki absorbans değerleri).....	95



ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Siklo- ve polifosfazenlerin genel yapısı; (A) siklik trimer, (B) siklik tetramer, (C) siklik oligomer, (D) yüksek polimer	6
Şekil 2.2. Klorosiklotrifosfazen ve klorosiklotetrafosfazen [1].....	6
Şekil 2.3. Bakterilerde hücre duvarları. (a,b) Gram pozitif ve Gram negatif hücre duvarlarının çizimleri. Ortadaki şekilde Gram pozitif bir bakteri olan Staphylococcus aureus ve Gram negatif bir bakteri olan Escherichia coli'ye ait gram boyama fotoğrafı yer almaktadır. (c,d) Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere ait transmisyon elektron mikrografları (e,f) Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere ait taramalı elektron mikrografları	10
Şekil 2.4. Peptidoglikan yapısındaki tekrarlayan glikan tetrapeptid birimi.....	11
Şekil 2.5. Candida mayasının hücre duvar yapısının şematik görüntüsü (solda) ve elektron mikrografı	12
Şekil 2.6. Yenilik boşluğunun örneklemeşi	14
Şekil 2.7. Klinik kullanımda olan antibiyotik sınıfları ve hedefleri	14
Şekil 2.8. Çeşitli antibiyotiklerin etki ettiği hücre yapıları (THF, tetrahidrofolat; DHF, dihidrofolat)	15
Şekil 2.9. Bazı antifungal ilaçların etki bölgeleri	18
Şekil 2.10. Antibakteriyel direnç mekanizmaları	19
Şekil 2.11. Farklı coğrafik bölgelerde Nisan 2013'e kadar rapor edilen E. coli izolatlarının direnç oranları. 3-CG, 3. nesil sefalosporin; FQ, florokinolon	27
Şekil 2.12. C. albicans patojenite mekanizmaları	32
Şekil 2.13. Tahmini TB insidans oranları, 2015	34
Şekil 2.14. MDR ve RR-TB'li yeni TB vakalarının yüzdesi	34
Şekil 2.15. Kanser türlerinin cinsiyetlere göre ve her iki cinsiyette birlikte 2012 yılında tüm dünyadaki dağılımı	42
Şekil 2.16. Kanser hücrelerinin kazandığı özellikler	44
Şekil 2.17. Hücre döngüsü aşamaları ve bu aşamalarındaki CDK/siklin kompleksleri	45
Şekil 2.18. Hücre döngüsünün düzenlenmesi ve bu yolda görevli proteinler	47

Şekil	Sayfa
Şekil 2.19. Kolorektal kanserde tümör gelişimi boyunca kanser kök hücresi büyümesi.....	54
Şekil 2.20. 2012 yılı içerisinde her iki cinsiyette dünya üzerindeki bölgelerde kolorektal kanser için tahmini yeni vaka ve ölüm oranları.....	55
Şekil 2.21. Kolon ve rektum kanseri hastalarının bölgelere göre dağılımı.....	57
Şekil 2.22. DNA biyosentezine müdahale eden antikanser ilaç tipleri.....	59
Şekil 2.23. Bir steroid hormon tarafından gen transkripsiyonunun başlatılması.....	61
Şekil 2.24. Vinca alkaloidinin tübülün dimerlerine bağlanmasının bir sonucu olarak mikrotübüllerin depolimerizasyonu.....	62
Şekil 2.25. Deoksiriboz.....	63
Şekil 2.26. DNA'yı oluşturan nükleotitlerde bulunan azotlu bazlar.....	64
Şekil 2.27. Bir nükleik asit zincirinin kimyasal yapısı	65
Şekil 2.28. Watson ve Crick tarafından önerilen DNA çift sarmalı	66
Şekil 2.29. Adenin-timin ve guanin-timin baz eşleşmesi ve aradaki hidrojen bağları ...	67
Şekil 2.30. (A) Cis-platin'in DNA'ya kovalent bağlanması. B. (a) Cis-platin'in Guanin (G) ve Adenin'e (A) bağlanma mekanizması; (b) 1,2-iplik içi GpG (yapı a), 1,2-iplik içi ApG (yapı b), 1,3-iplik içi GpNpG (yapı c), 1,2-iplik arası GpG (yapı 4) [129]	68
Şekil 2.31. Guanindeki N3'ün (+)-CC1095 tarafından alkilenmesinin muhtemel mekanizmaları (a) G-C baz çiftinin enol-G-imino-C tautomeri vermek için tautomerizasyonu, (b) düzenlenmiş mekanizma.....	69
Şekil 2.32. DNA bazları üzerindeki alkilenme bölgeleri (a) Alkilleyici ajanlar kovalent alkil lezyonlarını oluşturmak üzere DNA bazlarının azot ve oksijen atomları ile tepkimeye girmektedir. DNA bazları üzerindeki alkilasyonun major bölgeleri ve alkilasyonun biyolojik etkileri kırmızı ve yeşil ile gösterilirken minor bölgeler gri ok ucu ile işaretlenmiştir. (b) kemoterapötik bir alkilleyici ajan olan temozolomidin metildiazonyum iyonu ile O ⁶ -metilguanin DNA lezyonununa dönüşen guaninin O ⁶ pozisyonu ile arasındaki DNA alkilasyon reaksiyonu alkilenmeye bir örnektir.....	70
Şekil 2.33. Çeşitli DNA interkalatör ajanlar	72

Şekil	Sayfa
Şekil 2.34. (A) DNA'nın bir küçük oluk bağlayıcı olan Netropsin ile oluşturduğu kompleks. (B) Akridin bis-imidazolidinonların küçük oluk tarafından bitişik guanin:sitozin baz çiftlerine muhtemel bağlanması. (C) $[Ru(TMP)_3]^{2+}$ molekülünün DNA oluklarına adsorbsiyonu. (D) N^1, N^5 -bis[piridin-2-metilen]-tiokarbohidrazon molekülünün Ni(II) ve Zn (II) metal komplekslerinin oluk bağlanması 4.....	73
Şekil 2.35. Transkripsiyon faktör aktivitesini inhibe eden küçük oluk bağlayıcı moleküller	74
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan bileşikler.....	76
Şekil 4.1. 1a-3c bileşikleri ve pozitif kontrol olarak kullanılan cisplatinin 12,5-200 $\mu g/mL$ konsantrasyonlarına 24 saat maruz bırakılan fibroblast hücrelerinin % canlılıkları	96
Şekil 4.2. 1a-3c bileşikleri ve pozitif kontrol olarak kullanılan cisplatinin 12,5-200 $\mu g/mL$ konsantrasyonlarına 24 saat maruz bırakılan DLD-1 hücrelerinin % canlılıkları	96

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Çeşitli bakteri morfolojileri	9
Resim 2.2. <i>B. cereus</i> 'un mikroskopik görüntüsü	24
Resim 2.3. <i>B. subtilis</i> 'in mikroskop görüntüsü (solda) ve nutrient agar üzerinde oluşturduğu koloniler (sağda)	25
Resim 2.4. <i>M. tuberculosis</i> 'a ait taramalı elektron mikrografı	30
Resim 2.5. Farklılaşmış kolon epitel hücreleri ile sonuçlanan aşağıdan yukarıya olgunlaşma süreci içerisindeki kolon epitel hücreleri	53
Resim 4.1. 2a bileşiğinin <i>B. subtilis</i> ATCC 6633 (sol üst); 1a bileşiğinin <i>B. cereus</i> NRRL B-3711 (sağ üst); 2a bileşiğinin <i>C. krusei</i> ATCC 6258 (sol alt) ve 1a bileşiğinin <i>C. albicans</i> ATCC 10231 (sağ alt) üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları	83
Resim 4.2. Antibakteriyal bir ilaç olan ampisilinin <i>E. coli</i> ATCC 25922 üzerinde (solda) ve antifungal bir ilaç olan ketokonazolun <i>C. krusei</i> ATCC 6258 üzerinde (sağda) oluşturduğu inhibisyon zonları	84
Resim 4.3. Çalışmada kullanılan bileşiklerin plazmit DNA üzerindeki etkisi. (P):Bileşiklerle muamele edilmemiş plazmit DNA; (1):100 µM; (2):50 µM; (3):25 µM; (4):12,5 µM; (5):6,25 µM; (6):3,125 µM. Form I: Kapalı halkasal plazmit DNA; Form II: Açık halkasal plazmit DNA; Form III: Doğrusal plazmit DNA	97
Resim 4.4. Bileşiklerle muamele edilmiş plazmit DNA'nın BamHI restriksiyon endonükleaz ile kesimi. (1):Bileşiklerle muamele edilmemiş pBR322 plazmit DNA; (2): BamHI ile kesilmiş plazmit DNA; (3):100 µM bileşik ile muamele edilmiş plazmit DNA'nın BamHI ile kesimi; (4): 3,125 µM bileşik ile muamele edilmiş plazmit DNA'nın BamHI ile kesimi	98
Resim 4.5. Bileşiklerle muamele edilmiş plazmit DNA'nın HindIII restriksiyon endonükleaz ile kesimi. (1):Bileşiklerle muamele edilmemiş pBR322 plazmit DNA; (2): HindIII ile kesilmiş plazmit DNA; (3):100 µM bileşik ile muamele edilmiş plazmit DNA'nın HindIII ile kesimi; (4): 3,125 µM bileşik ile muamele edilmiş plazmit DNA'nın HindIII ile kesimi	99

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklamalar

°C	Santigrat derece
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar
V	Volt
µg	Mikrogram
mm	Milimetre
µm	Mikrometre

Kısaltmalar

Açıklamalar

AİDS	Edinsel Bağışıklık Yetmezliği Sendromu
ATCC	Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
DAPI	4,6-diamidino-2-fenilindol
DiOC₆	3,3'-diheksiloksakarbosiyanin iodid
DMEM	Dulbecco Modifikasyonlu Eagle Besiyeri
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
FCS	Fetal sığır serumu
GC	Guanin-sitozin
İKH	İntestinal kök hücre
KK	Kolon kanseri
KKH	Kanser kök hücresi
MBK	Minimum bakterisidal konsantrasyon
MFK	Minimum fungusidal konsantrasyon
MİK	Minimum inhibitör konsantrasyon
NRRL	Northern Regional Research Laboratory

Kısaltmalar**Açıklamalar****PI**

Propidyum iodid

RK

Rektum kanseri

RNA

Ribonükleik asit

rRNA

Ribozomal ribonükleik asit

TB

Tüberküloz



1. GİRİŞ

Tekrarlayan fosfor ve azot atomları ($-P=N-$) ile karakterize bileşikler olan fosfazenler içerisinde yer alan siklofosfazenler tekrarlayan $[(N=PX_2)_n]$ ($X=I, Br, Cl$ ve organik gruplar) birimlerinden oluşan inorganik heterosiklik halkalardır. Siklofosfazenler içerisinde en dikkat çekici olanlar klorosiklofosfazenler olan heksaklorosiklotrifosfazen ($N_3P_3Cl_6$ -trimer) ve oktaklorosiklotetrafosfazendir ($N_4P_4Cl_8$ -tetramer) [1]. Trimerik ve tetramerik fosfazen halkasına ferrosen türevlerinin katılımı ile oluşturulan elektroaktif ferrosenil-fosfazenler ile ilgili literatürde kısıtlı bir bilgi bulunmaktadır [2, 3]. Literatürdeki bu açığın kapatılmasına faydalı olmak için çeşitli çalışmalar yapılmış; ferrosenildiaminler ve bunların siklofosfazen türevlerinin antitüberküloz aktivitesinin olduğu belirlenmiştir [4, 5]. Siklotri- ve tetrafosfazenlerin çeşitli patojen bakteri ve mayalar üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi çalışılmış olmasına rağmen [6, 7] siklotetrafosfazen türevlerinin antitüberküloz aktivitesi ile ilgili sınırlı çalışma bulunmaktadır [8]. Ayrıca oktapirolidinosiklotetrafosfazenin etkili bir antikanser ajan olduğu [9] ve tam-fenoksi-substitüe yıldız-dallı siklotetrafosfazenin $Cu(II)$ kompleksinin DNA'nın oksidatif kırılmasında etkili olduğu belirtilmiştir [10]. Ancak bu çalışmada kullanılan tam substitüe mono ferrosenil spirociklotetrafosfazenler ile ilgili yapılan herhangi bir biyolojik aktivite çalışması bulunmamaktadır.

Yapılan araştırmalara göre sadece 2015 yılı içerisinde ortalama 4 959 800 kişi enfeksiyon hastalıklarından hayatını kaybetmiştir [11]. Günümüzde ciddi bir sağlık problemi olan ve tüm dünyada her yıl oldukça fazla insanı etkileyen enfeksiyon hastalıklarının tedavisi için rutinde kullanılan birçok antimikrobiyal ilaç patojen mikroorganizmaların antibiyotik direnci yüzünden etkisiz kalmakta ve bu nedenle araştırmacılar yeni ve etkili antimikrobiyal ajan keşfi için çalışmalarını sürdürmektedir. İlk antibakteriyel ilacın keşfinden sonraki yıllar boyunca yeni antibiyotiklerin bulunmasıyla bu ilaçların kullanımı hızla yayılmış ancak son 25 yıldır yeni antibakteriyel ilaç sınıflarının keşfinde büyük bir kesinti yaşanmıştır [12, 13]. Dünya Sağlık Örgütü antimikrobiyal direnç ile ilgili 2014 yılında yayınladığı küresel raporda tüm dünya üzerinde sık karşılaşılan enfeksiyon hastalıklarının kaynağı olan mikroorganizmalar ve bunların çeşitli antibiyotiklere karşı geliştirmiş oldukları direnç ile ilgili bilgiler vermiş ve bu tür enfeksiyon hastalıklarının ileride büyük salgınlara sebep olabileceğini belirtmiştir [12]. Günümüzde birçok araştırmacı yeni antimikrobiyal ilaç araştırmalarına büyük bir hızla devam etmektedir [14]. Çeşitli yan grupların bağlanmasıyla farklı biyolojik aktiviteler kazandırılabilen fosfazen bileşiklerinin antimikrobiyal aktivitesi

ile ilgili çalışmalar yapılmış olmasına rağmen [6-8, 15-26] bu çalışmada kullanılan ferrosenil siklotetrafosfazen türevleri ile ilgili herhangi bir antimikrobiyal aktivite çalışması bulunmamaktadır.

Enfeksiyon hastalıkları içerisinde *Mycobacterium tuberculosis* bakterisinin sebep olduğu tüberküloz tüm dünyada yaygın olarak görülmesi ve ölüm oranının oldukça yüksek olması sebebiyle önemli bir sağlık problemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre sadece 2015 yılı içerisinde 10,4 milyon yeni vaka kaydedilmiş ve yaklaşık 1,4 milyon tüberküloza bağlı ölüm gerçekleşmiştir [27]. Özellikle çoklu ilaç direncine sahip tüberküloz vakalarındaki artış araştırmacıları yeni antiütüberküloz ilaç arayışına yönlendirmiştir. Bazı fosfazen türevlerinin antitüberküloz aktiviteleri ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmış olmasına rağmen bu çalışmada kullanılan fosfazen bileşikler ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır [8, 23].

Diğer bir yaygın sağlık sorunu ise kanserdir. Bir veya birkaç hücrede büyüme kontrolünün kaybolması ile başlayan; invazif nitelik taşıyan ve metastaz yapma özelliği ile kendini gösteren kanser tüm dünyada en sık görülen ve ölüm oranı en yüksek olan hastalıktır. Kanser tedavisinde standart olarak kemoterapi, radyoterapi, cerrahi yöntemler ve bunun yanında daha az sıklıkla gen tedavisi, aşılar, hormonal ve hedeflenmiş tedavi gibi uygulamalar kullanılmaktadır [28]. Kemoterapi için kullanılan ilaçlar tümör hücrelerine seçici olarak zarar vermekte veya bu hücrelerin proliferasyonunu kısıtlamaktadır ancak bu aktivitesini gösterirken sağlıklı hücrelere de zarar verebilir ve bunun sonucunda kemik iliği baskılanması, gastrointestinal sistem lezyonları, saç kaybı, bulantı ve klinik direnç gelişmesi gibi yan etkiler ortaya çıkabilir [29]. Bu sebeple son yıllarda araştırmacılar kanser hücrelerine seçici toksisite gösteren hedefe yönelik ilaçlar tasarlamak için yoğun çaba sarf etmektedir. Çeşitli kanser türleri vardır. Bunlardan en yaygın olanları akciğer ve meme kanseridir. Tüm kanser türleri içinde en sık görülen 3. kanser tipi olan kolorektal kanser tüm dünyada 2005 yılında 675 500 kişinin ölümüne sebep olmuşken 2015 yılında 832 000 ölüme sebep olarak %23,2 artış göstermiştir [11]. Çeşitli fosfazen türevlerinin farklı kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi ortaya konmuştur ancak bu çalışmada kullanılan fosfazen bileşiklerinin sitotoksik aktiviteleri ile ilgili yapılan bir çalışma bulunmamaktadır [30-34].

En önemli antikanser ilaç sınıflarından biri olan DNA-interaktif ajanların alkilleme, çapraz bağlama, topoizomeraaz inhibitörü ve DNA'ya bağlanma, DNA'yı kesme gibi özellikleri bulunmaktadır [29]. Bu yüzden sentezlenen moleküllerin hedeflerinden birisi DNA dır [17-20, 35].

Bu çalışma kapsamında oktaklorosiklotetrafosfazen ile N-alkil-N-mono-ferrosenildiaminlerin reaksiyonu sonucu oluşan monoferrosenil-spirosiklotetrafosfazenlerin pirolidin, morfolin ve 1,4-dioksa-8-azaspiro[4,5]dekan (DASD) ile reaksiyona sokulması sonucu elde edilmiş tam substitüe ferrosenil siklotetrafosfazen bileşiklerinin çeşitli patojen mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi, *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv referans suşu üzerindeki antitüberküloz aktivitesi, antioksidan aktivitesi, L929 fibroblast ve DLD-1 kolon kanser hücre hatlarındaki sitotoksik aktivitesi ve plazmit DNA ile olan etkileşimi incelenmiştir. Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü laboratuvarlarında sentezlenmiş olan fosfazen bileşiklerinin insan patojeni olan *Escherichia coli* ATCC 35218, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* NRRL B-3711, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 bakterileri ile *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida krusei* ATCC 6258 ve *Candida tropicalis* NRRL Y-12968 mayaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi kuyu difüzyon yöntemi ile incelenmiş; antimikrobiyal aktivite gösteren bileşiklerin minimal inhibitör konsantrasyon (MİK), minimal bakterisidal konsantrasyon (MBK) ve minimal fungisidal konsantrasyon (MFK) değerleri ise mikrodilüsyon yöntemi ile incelenmiştir. Bileşiklerin agar proporsiyon yöntemi ile antitüberküloz aktivitesini araştırmak için *M. tuberculosis* H37Rv suşu kullanılmıştır. Antioksidan aktivitenin tespiti için ise DPPH serbest radikalini süpürücü etkiye bakılmıştır. Bileşiklerin L929 fibroblast ve DLD-1 kolon kanser hücre hatlarındaki sitotoksik aktivitesini belirleyebilmek için WST-1 yöntemi kullanılmıştır. Bileşikler ile plazmit DNA arasındaki etkileşim agaroz jel elektroforezi ile incelenmiş; bileşiklerin DNA üzerinde hangi nükleotitlere bağlandığını tespit etmek için bileşikler ile muamele edilmiş plazmit DNA *Bam*HI ve *Hind*III restriksiyon endonükleaz enzimleri ile kesilmiştir. Bu çalışma tetramer ile ferrosenildiaminlerin reaksiyonu sonucu elde edilen yeni mono ferrosenil spiro siklotetrafosfazen türevleri ile yapılan ilk biyolojik aktivite çalışmasıdır. Yapılan bu çalışma sonucunda elde edilen verilerin önemli sağlık sorunlarından olan çeşitli enfeksiyon hastalıkları, tüberküloz ve kanser tedavisinde kullanılabilecek potansiyel antimikrobiyal,

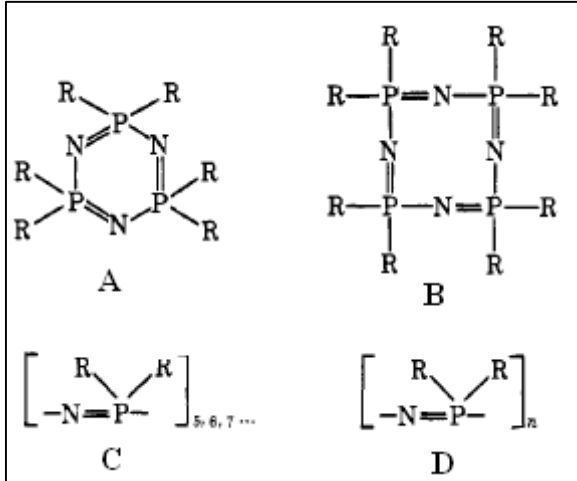
antitüberküloz ve antikanser ilaç tasarlama çalışmalarına önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir.



2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

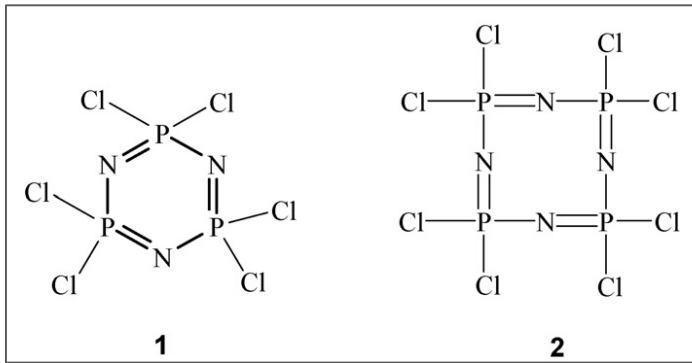
2.1. Fosfazenlerin Genel Özellikleri

Fosfazen bileşikler ile ilgili çalışmalar 19. yüzyılın sonlarında başlamış olsa da özellikle 1950'den itibaren bu bileşikler üzerinde kapsamlı çalışmalar yapılmıştır. Kimyasal yapılarında tekrarlayan $-P=N-$ birimleri taşıyan fosfazenler düşük moleküler ağırlıklı siklik türevlerden yüksek moleküler ağırlıklı polimerlere kadar değişen çeşitlilik göstermeleri sebebiyle ilgi çeken bir gruptur [36]. Kimya alanında en ilgi çekici bağlar arasında bulunan fosfor-azot bağı taşıyan fosfazenler bilinen inorganik makromoleküllerin en büyük sınıfını oluşturmaktadır [37]. Halkalı ya da düz zincirli yapıda olabilen fosfazenlerin halkalı yapıda olanları siklo ön eki ile isimlendirilirken polimerleşme derecesi tri, tetra, penta gibi ön eklerle ifade edilmektedir [38]. Organik çözücülerde çözünemeleri sebebiyle organik karakter taşıyan siklofosfazenler, yapılarındaki $P=N$ zincirinden dolayı anorganik karakter de taşımaktadırlar. Şekil 2.1'de genel yapıları gösterilmiş olan siklo- ve polifosfazenlerin polimerizasyon derecesi (n), 15,000'e kadar çıkabilmektedir. Yan grup (R), halojen veya pseudohalojenden organik birimlere kadar çeşitlilik gösterebilmektedir (örneğin alkil, aril, alkoksi, ariloksi, merkapt, alkilamino, arilamino gibi). Fosfazenler fosfor atomlarına bağlı bu yan grupların yapılarına göre farklı özellikler taşımaktadır. Fosfazenlerin P merkezinin yer değiştirme reaksiyonlarına açık yapısı P-N omurgasının kolay türevlendirilmesine izin vermekte ve bu durum fosfazenlerin kullanışlı materyal özelliklerinin manipülasyonunun önünü açmaktadır. Böylelikle fosfazenler birçok farklı alanda kullanılmaktadır [37]. Fosfazenlerin kullanım alanlarının bazıları; cam, seramik ve metal yapıştırıcısı, biyosit, kopolimer ve polimer [39], gelişmiş elastomerler [40], yanmaz fiberler ve yangın geciktiriciler, antimikrobiyal ve antikanser ilaç yapımıdır [33, 41].



Şekil 2.1. Siklo- ve polifosfazenlerin genel yapısı; (A) siklik trimer, (B) siklik tetramer, (C) siklik oligomer, (D) yüksek polimer [38]

Klorosiklofosfazenler $(NPCl_2)_n$ ($n=3, 4, 5, 6\dots$), örneğin $N_3P_3Cl_6$, $N_4P_4Cl_8$ ve $N_5P_5Cl_{10}$, küçük heterosiklik bileşiklerdir ve PN iskeletinin aşırı sağlamlığı ile bilinmektedir [1, 42]. Klorosiklotrifosfazen ve klorosiklotetrafosfazen Şekil 2.2’de gösterilmektedir. Klorosiklofosfazenler inorganik-organik pendant bileşikler [22], yeni multidentant ligandlar [43], poliorganofosfazenler [44, 45], dendrimerler [46], iyonik sıvılar [47], biyomedikal materyaller [48, 49] ve yağlayıcıların [50] üretiminde değerlendirilmektedir. Bu bileşiklerin en iyi bilinen üyelerinden biri oktaklorosiklotetrafosfazendir ($N_4P_4Cl_8$) ve başlangıç materyali olarak kullanılmaktadır. Oktaklorosiklotetrafosfazenlerde bulunan P-Cl bağlarının reaktivitesi ve eşsiz üç boyutlu yerleşimi onları mono ve multidentat ligandların düzenlenmesi ile işlevselleştirme çalışmaları için uygun bir molekül haline getirmektedir [51].



Şekil 2.2. Klorosiklotrifosfazen ve klorosiklotetrafosfazen [1]

2.2. Enfeksiyon Hastalıkları ve Etkenleri

İnsan vücudunun çeşitli bölgelerinde yaygın bir mikroorganizma popülasyonu bulunmaktadır. Vücudun normal florası olarak isimlendirilen bu mikroorganizmalar çoğunlukla insan sağlığına faydalıdır. Vücudun normal florasında yer alan bazı mikroorganizma cinsleri Çizelge 2.1’de gösterilmektedir. Bu mikroorganizmaların yanında patojen olarak isimlendirilen enfeksiyon hastalığı etkeni olan, bir konakçı organizma üzerinde veya içinde yaşayan mikroorganizmalar da bulunmaktadır [52].

Çizelge 2.1. İnsanların normal florasında bulunan mikroorganizmalar [52]

Anatomik Bölge	Cins
Deri	<i>Acinetobacter, Corynebacterium, Enterobacter, Klebsiella, Malassezia, Micrococcus, Pityrosporum, Propionibacterium, Proteus, Pseudomonas, Staphylococcus, Streptococcus</i>
Ağız	<i>Streptococcus, Lactobacillus, Fusobacterium, Veillonella, Corynebacterium, Neisseria, Actinomyces, Geotrichum, Candida, Capnocytophaga, Eikenella, Prevotella, spiroketler (pek çok cinsi)</i>
Solunum sistemi	<i>Streptococcus, Staphylococcus, Corynebacterium, Neisseria, Haemophilus</i>
Sindirim sistemi	<i>Lactobacillus, Streptococcus, Bacteroides, Bifidobacterium, Eubacterium, Peptococcus, Peptostreptococcus, Ruminococcus, Clostridium, Escherichia, Klebsiella, Proteus, Enterococcus, Staphylococcus, Methanobrevibacter, Proteobacteria, Actinobacteria, Fusobacteria</i>

Çizelge 2.1. (devam) İnsanların normal florasında bulunan mikroorganizmalar [52]

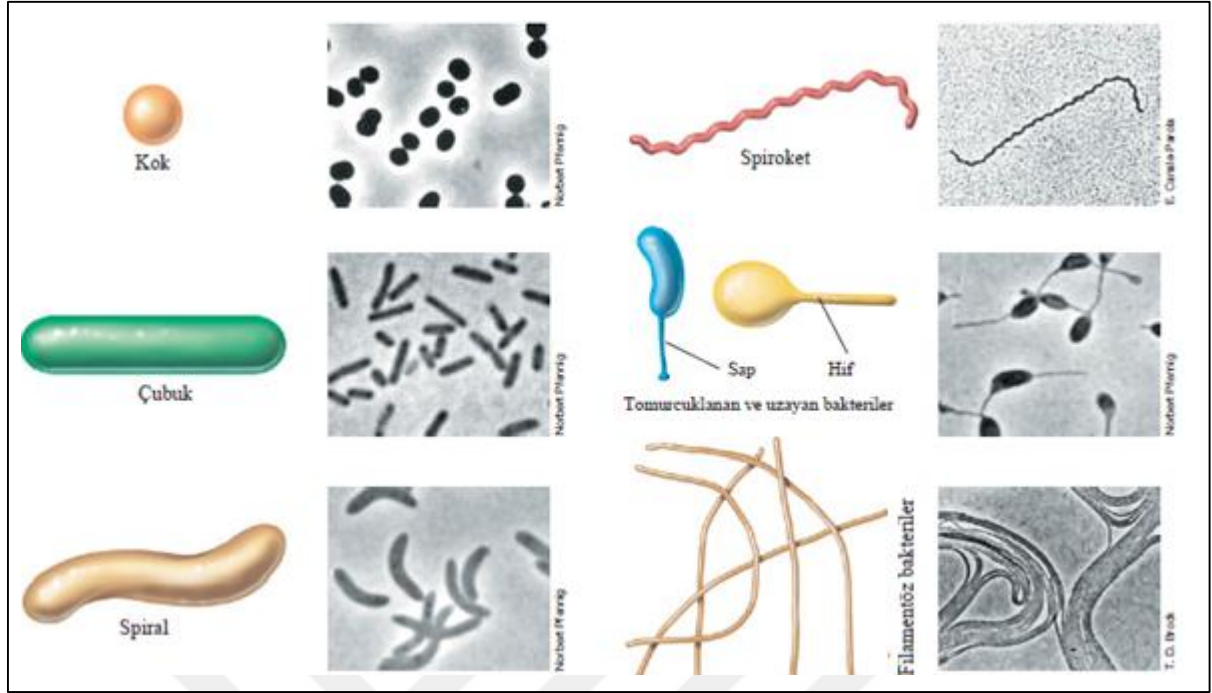
Anatomik Bölge	Cins
Ürogenital sistem	<i>Escherichia, Klebsiella, Proteus, Neisseria, Lactobacillus, Corynebacterium, Staphylococcus, Candida, Prevotella, Clostridium, Peptostreptococcus, Ureaplasma, Mycoplasma, Mycobacterium, Streptococcus, Torulopsis</i>

Enfeksiyon hastalıkları insanlığın en eski hastalığı olarak bilinmektedir. İnsanlık tarihi boyunca savaş ve kıtlıktan daha fazla insanın ölümüne sebep olmuştur. Bu yüzden hala insanların en çok korktuğu hastalıklardan biri olmaya devam etmektedir [53].

Enfeksiyon çeşitli etkenlerin vücuda girdikten sonra yayılması ve çoğalması; bu etkenlerin varlığına veya oluşturdukları toksinlere dokuların reaksiyon vermesi olarak tanımlanmaktadır. Enfeksiyon etkenleri bakteriler, virüsler, funguslar ve parazitler olmak üzere dört gruba ayrılmaktadır. Bu tez çalışması kapsamında çalışılan fosfazen bileşiklerinin hastalık etkeni olan bazı bakteri ve funguslar üzerindeki antimikrobiyal etkisi araştırıldığı için aşağıda bakteri ve fungusların genel özelliklerine değinilmiştir.

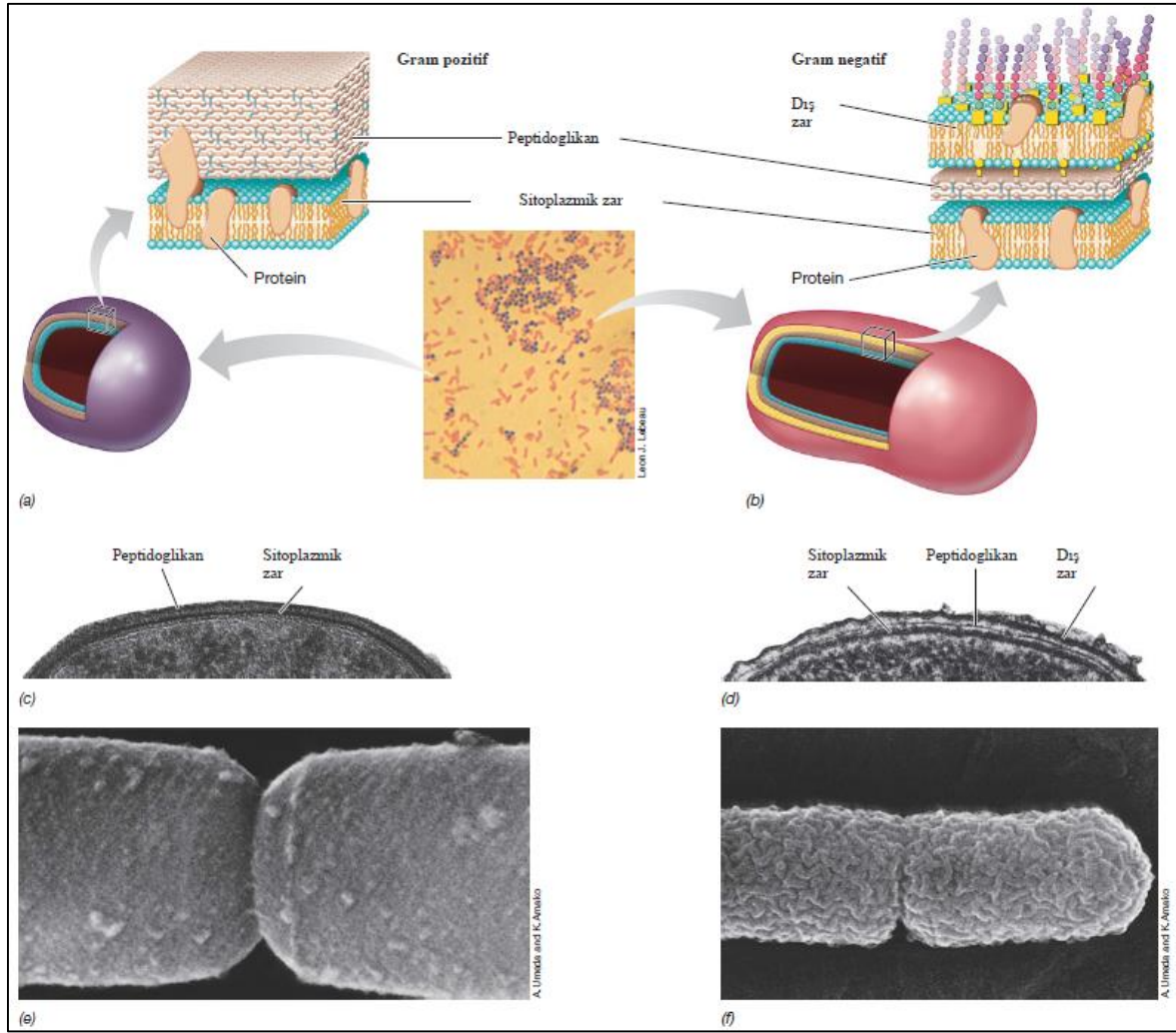
2.2.1. Bakteriler

Bakteriler prokaryotik hücre yapısına sahip mikroskobik tek hücreli canlılardır. Hücre morfolojilerine göre kok (küresel), çubuk, spiral, spiroket, tomurcuklanıp uzayan veya filamentöz yapıda bulunabilirler (Resim 2.1).

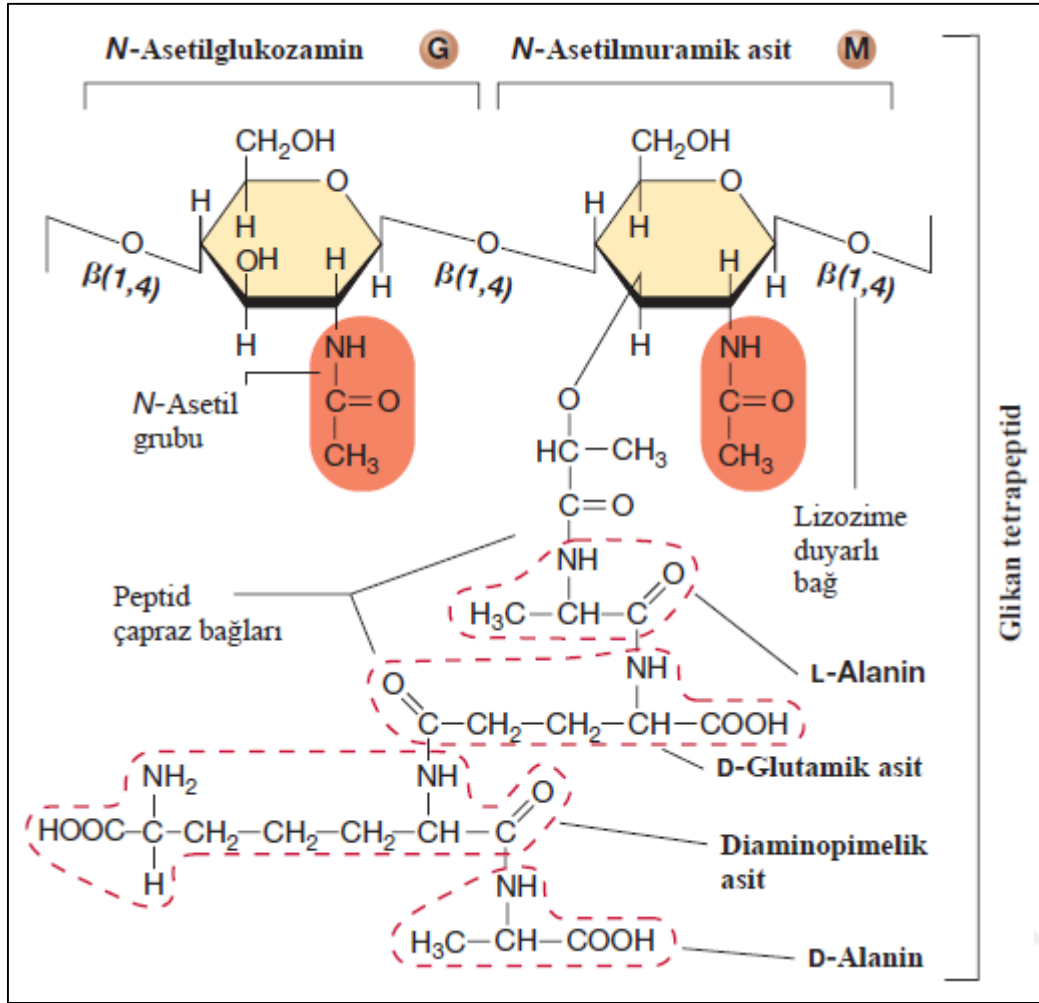


Resim 2.1. Çeşitli bakteri morfolojileri [52]

1884 yılında Danimarkalı bir bilim adamı olan Hans Christian Gram basit bir boyama tekniği geliştirmiş ve bakterileri Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler olmak üzere iki gruba ayırmıştır (Şekil 2.3). Gram pozitif bakteriler alkol veya aseton gibi organik bir çözücü varlığında bile kristal viyole boyasını tutmaktadır. Gram negatif bakterilerde ise bu çözücüler boyayı çözmekte ve safranin gibi ikinci bir boya ile boyanmaktadır. Bu fark bakterilerin hücre duvar yapısındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır [53]. Gram pozitif hücre duvarı daha kalın ve tek tip molekülden oluşurken Gram negatif hücre duvarı çok tabakalıdır ve daha karmaşık bir yapıya sahiptir. Her iki bakteri tipinde de bulunan peptidoglikan tabakasının glikan kısmındaki N-asetilglukozamin ve N-asetilmuramik asit şekerleri β -1,4 bağları ile bağlanmıştır. Tetrapeptid kısmında ise L-alanin, D-glutamik asit, diaminopimelik asit, D-alanin gibi amino asitler bulunmaktadır (Şekil 2.4) [52].



Şekil 2.3. Bakterilerde hücre duvarları. (a,b) Gram pozitif ve Gram negatif hücre duvarlarının çizimleri. Ortadaki şekilde Gram pozitif bir bakteri olan *Staphylococcus aureus* ve Gram negatif bir bakteri olan *Escherichia coli*'ye ait gram boyama fotoğrafı yer almaktadır. (c,d) Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere ait transmisyon elektron mikrografları (e,f) Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere ait taramalı elektron mikrografları [52]



Şekil 2.4. Peptidoglikan yapısındaki tekrarlayan glikan tetrapeptid birimi [52]

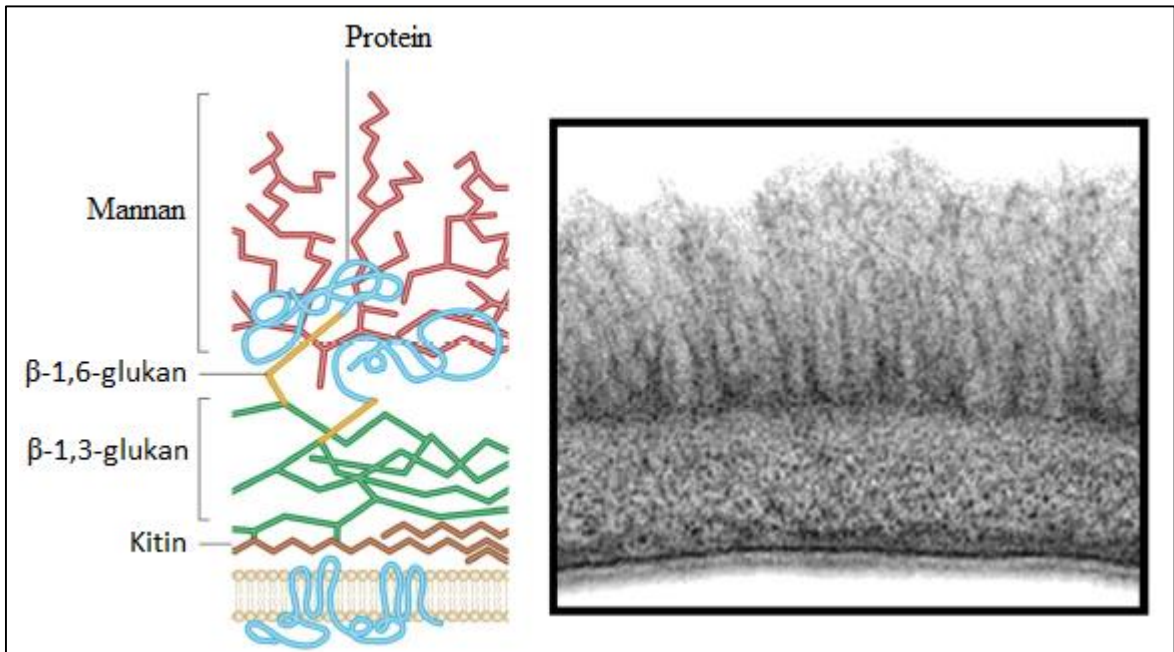
Gram pozitif bakterilerde hücre duvarına gömülü halde teikoik asit bileşiği bulunmaktadır. Bu bileşik hücre yüzeyinin negatif yüklü olmasını sağlamaktadır. Hücre zarındaki lipitlere bağlı halde bulunan teikoik asitlere lipoteikoik asit denilmektedir. Gram negatif bakterilerde peptidoglikan tabakasının dışında bir dış zar bulunmaktadır. Çift katlı lipidden oluşan bu dış zar polisakkarit içermektedir. Bu sebeple dış zara lipopolisakkarit tabakası denilmektedir. Bu lipopolisakkarit yapısı proteinlerle bir araya gelerek dış zar ile peptidoglikan arasında bulunan lipoprotein yapısını oluşturur [52].

Bakteri hücrelerinde DNA replikasyonu, transkripsiyon, translasyon, temel metabolik olaylar ve solunum sitoplazmada gerçekleşmektedir. Genetik bilgi tek bir halkasal kromozomda depolanmaktadır. Bakteri kromozomu yapısal olarak ökaryotik kromozomdan daha basit yapıda, daima çift iplikli tek bir DNA molekülünden oluşmuş ve genellikle halkasaldır. Bakteriyal kromozom bazen nükleoid olarak adlandırılan bir yapı içerisinde

sıkışmış olarak bulunur ve büyüklük olarak farklı türlerde çeşitlilik göstermektedir. Bakterilerde genetik varyasyon plazmitler, bakteriyofajlar ve transpozonlar aracılığıyla sağlanmaktadır [53].

2.2.2. Mayalar

Funguslar içerisinde yer alan mayalar tek hücreli ökaryotik mikroorganizmalardır. Fungal hücre duvarının %80-90'ı polisakkarit yapıda olmakla birlikte protein, lipid, polifosfat ve inorganik iyonları da içermektedir. Hücre duvarlarında polisakkarit olarak genellikle kitin bulunurken bunun yanısıra mannan, galaktozan ve kitozan da bulunmaktadır. Farklı fungal türlere göre hücre duvarının içeriği de değişmektedir. Genellikle tabakalaşmış bir yapıda bulunan hücre duvarının iç tabakasının merkez kısmında birçok türde dallanmış β -(1,3) glukan ve kitin bulunmaktadır. β -(1,3) glukan ve kitin hidrojen bağlarıyla birbirine tutunmuştur. Daha sonra bu yapıya bağlı halde β -(1,6) glukan, mannan ve çeşitli proteinler yer almaktadır [52, 54]. Mayalara ait bir cins olan *Candida*'nın hücre duvar yapısı Şekil 2.5'te gösterilmektedir. Birçok fungal hücre duvarı bileşeni insanlarda bulunmadığı için bu bileşenleri etkileyen ilaçlar antifungal tedavide sıklıkla kullanılmaktadır.



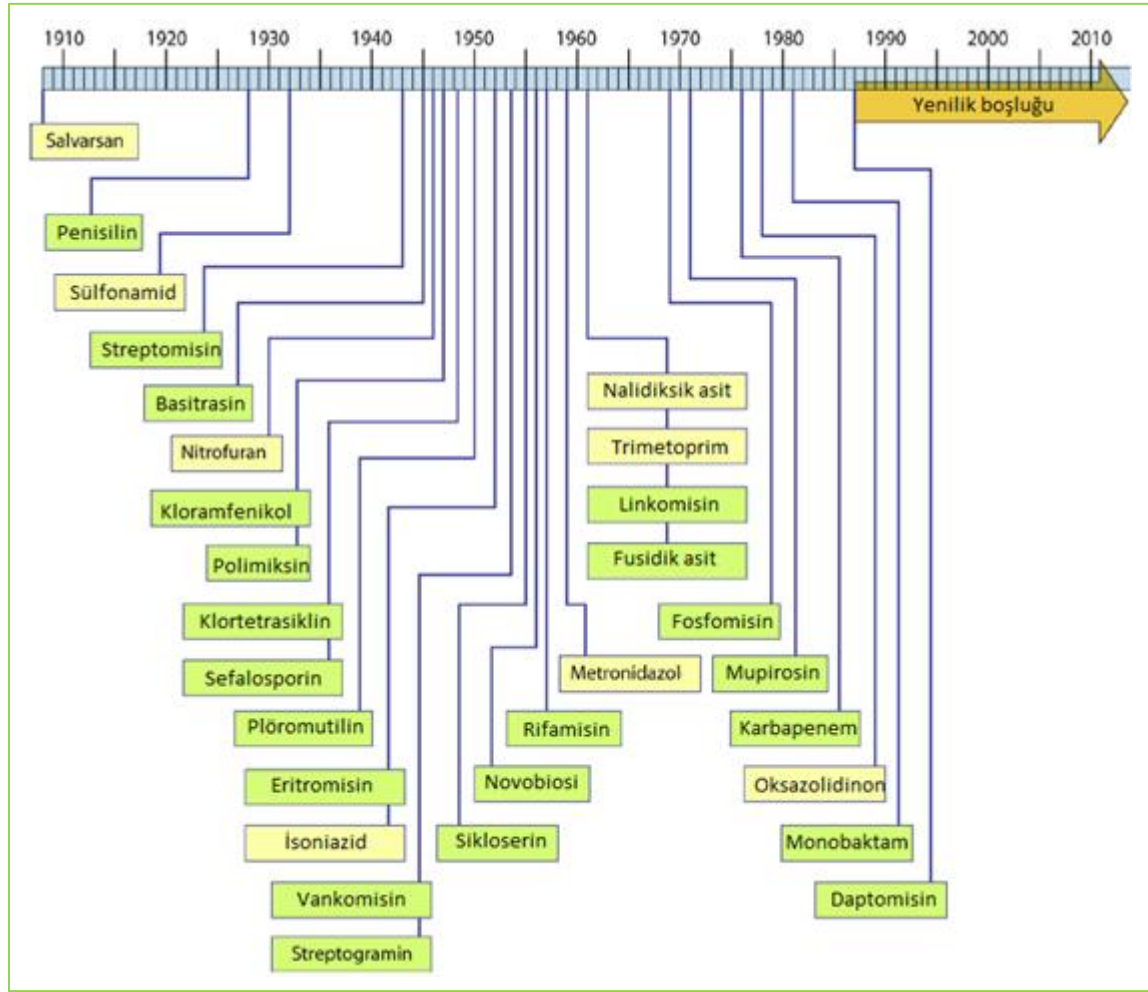
Şekil 2.5. *Candida* mayasının hücre duvar yapısının şematik görüntüsü (solda) ve elektron mikrofrafı [54]

2.3. Antimikrobiyal Maddeler

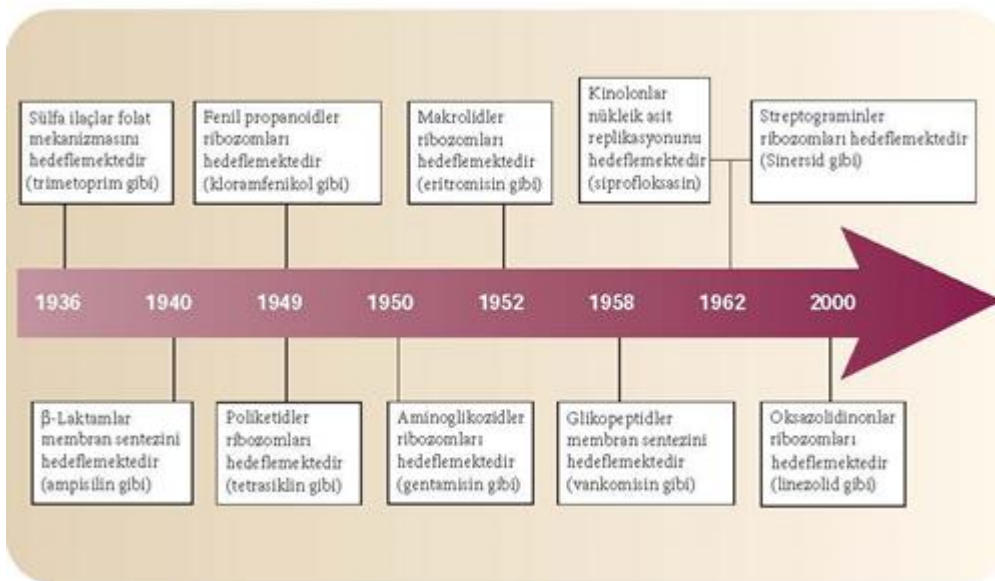
Mikroorganizmaların gelişimini önleyen veya inhibe eden bileşikler olarak adlandırılan antimikrobiyal maddeler yüzyıllardır insanlar tarafından enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Mikroorganizmalardan elde edilen antimikrobiyal ajanlar için geçmişte “antibiyotik” terimi kullanılmış olsa da günümüzde bu terim hem mikroorganizmaların üretmiş olduğu hem de sentetik yollardan elde edilen antimikrobiyal ajanlar için kullanılmaktadır [55]. Antimikrobiyal maddeler mikroorganizmalara iki şekilde etki göstermektedir. Antimikrobiyal maddelerin mikroorganizmaların üremesini durdurucu etkisine mikrobiyostatik etki; mikroorganizmaları öldürücü etkisine ise mikrobisit etki denilmektedir. Günümüzde antimikrobiyal ilaçların kullanıma açılması için baz alınan en önemli kriter seçici toksisiteye sahip olmasıdır. Bütün bu özellikleri dikkate alınarak piyasaya sürülen antimikrobiyal maddelere karşı mikroorganizmalar savunma mekanizması olarak zaman içinde direnç geliştirmektedir. Bu durum enfeksiyon hastalıklarının tedavisini zorlaştıran bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Penisilin antibiyotiğinin kâşifi olan Alexander Fleming 1945 yılındaki Nobel ödülü konuşmasında bakterilerin antibiyotiklere direnç geliştirebileceği konusunda uyarıda bulunmuştur [12]. Mevcut antibakteriyel ve antifungal ajanların patojen mikroorganizmalar üzerine etkisinin yetersiz kalması ve bu mikroorganizmaların giderek daha fazla direnç kazanması yeni ilaçların keşfini zorunlu hale getirmektedir. Yapılan çalışmalarda fosfazen türevlerinin bakteri ve mayalar üzerine antimikrobiyal aktivitesinin olduğu belirlenmiştir [15, 41, 56-58]. Antimikrobiyal maddeler etkilediği mikroorganizma grubuna göre antibakteriyel, antifungal, antiviral, ve antimikobakteriyel ilaçlar olarak ayrılmaktadır. Bu tez çalışmasında patojen bakteri ve maya suşları kullanıldığı için antibakteriyel ve antifungal ilaçların özellikleri aşağıda belirtilmiştir.

2.3.1. Antibakteriyel ilaçlar

İlk antibiyotiğin bulunmasından sonra hızla yeni antibiyotikler keşfedilmiş ancak 1962 ile 2000 yılları arasında yeni büyük antibiyotik sınıfı olarak bir giriş yapılmamış ve bu durum “yenilik boşluğu” olarak isimlendirilmiştir. Önemli antibiyotik sınıflarının keşfi ve oluşan yenilik boşluğu Şekil 2.6’da gösterilmektedir [13]. Yine bugüne kadar keşfedilmiş önemli antibiyotik gruplarının hedefleri Şekil 2.7’de gösterilmektedir [59].

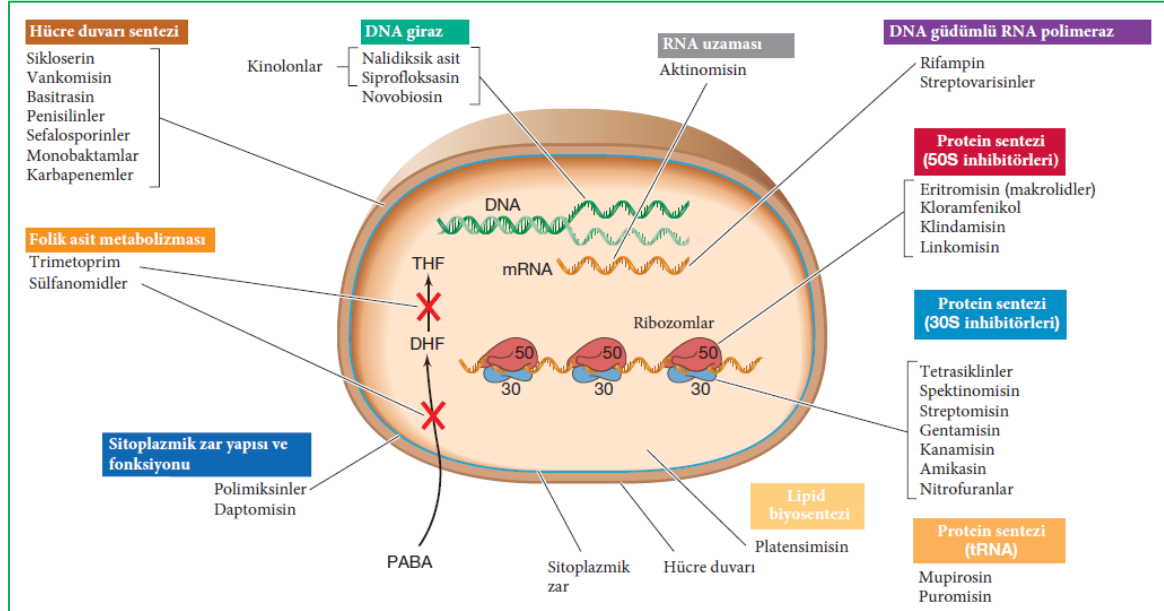


Şekil 2.6. Yenilik boşluğunun örnekleme [13]



Şekil 2.7. Klinik kullanımda olan antibiyotik sınıfları ve hedefleri [59]

Antibakteriyel ilaçlar bakteriyel hücre duvarı, bakteriyel protein biyosentezi, nükleik asitler, hücre zarı ve folat biyosentezi üzerinde etkilerini göstermektedir. Çeşitli antibiyotiklerin etkili olduğu hücre yapıları Şekil 2.8’de gösterilmiştir.

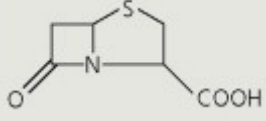
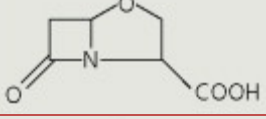
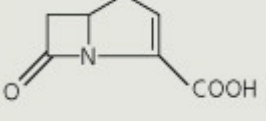
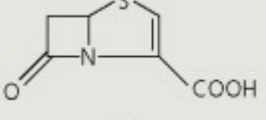
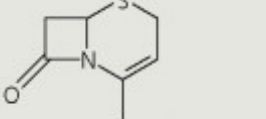
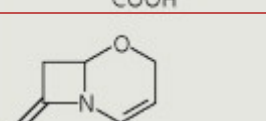
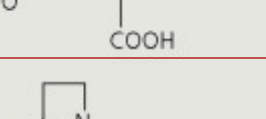


Şekil 2.8. Çeşitli antibiyotiklerin etki ettiği hücre yapıları (THF, tetrahidrofolat; DHF, dihidrofolat) [52]

Hücre duvarına etki eden antibiyotikler

Hücre duvarı üzerinde etkili olan antibiyotikler genellikle peptidoglikan sentezi için gerekli olan öncül molekülleri veya enzimleri inhibe ederek etkisini gösterir. Hücre duvarı biyosentezini inhibe eden antibiyotikler içerisinde en büyük grubu penisilin antibiyotiğinin de yer aldığı β -laktam grubu antibiyotikler oluşturmaktadır. Bu grupta yer alan antibiyotikler β -laktam adı verilen bir halkasal amid içermektedir. Bu halkasal yapı monobaktamlar haricinde 5 veya 6 üyelidir. β -laktam halkasının yapısına göre penamlar, klavamlar, karbapenemler, penemler, sefemler, okzasefemler ve monobaktamlar olarak alt gruplara ayrılmaktadır (Çizelge 2.2). β -laktamlar peptidoglikan sentezinde görev alan transpeptidaz enzimini inhibe ederek etkisini gösterir. β -laktam halkasındaki karbonil grubu transpeptidazdaki serin amino asiti ile etkileşime girerek inaktif açıl enziminin oluşmasına sebep olur. Şu an tüm dünya çapında kullanılmakta olan antibiyotiklerin yarıdan fazlasını β -laktam grubu antibiyotikler oluşturmaktadır [52, 53].

Çizelge 2.2. β -laktam grubu antibiyotiklerin sınıfları

Yapı	Sınıf	Örnek
	Penam	Penisilinler
	Klavam	B-laktamaz inhibitörleri (klavulanik asit)
	Karbapenem	Tienamisin, imipenem
	Penem	Faropenem
	Sefem	Sefalosporinler
	Okzasefem	Latamoksef
	Monobaktam	Aztreonam

Protein sentezine etki eden antibiyotikler

Bakteriyel ribozomlar rRNA'nın iki alt biriminden (30S ve 50S) ve proteinden oluşmaktadır. Protein sentezini inhibe eden antibiyotikler genellikle bu alt birimlere bağlanarak etkisini göstermektedir. Bu gruba giren antibiyotikler aminoglikozitler (ribozomun 30S alt birimine bağlanır), tetrasiklinler ve alkilaminosiklinler (aminoasıl tRNA'nın ribozomun A bölgesine bağlanmasını engeller), fusidik asit (peptidil tRNA'nın ribozomun P bölgesinden A bölgesine taşınmasını inhibe eder), mupirosin (bakteriyal izolösil tRNA sentetaza bağlanarak protein sentezini inhibe eder), makrolidler (ribozomun 50S alt birimini hedef alır), linkozamidler (ribozomun 50S alt birimini hedef alır), streptograminler (ribozomun 50S alt birimini hedef alır), kloramfenikol ve tiamfenikoldür (ribozomun 50S alt birimini hedef alır) [53].

Nükleik asitleri etkileyen antibiyotikler

Bu gruba giren florokinolonlar topoizomeraaz aktivitesini inhibe ederek etkisini gösterir. Ansamisinler ise RNA polimeraza etki ederek transkripsiyonun başlangıç aşamasını inhibe eder [53].

Antimetabolitler

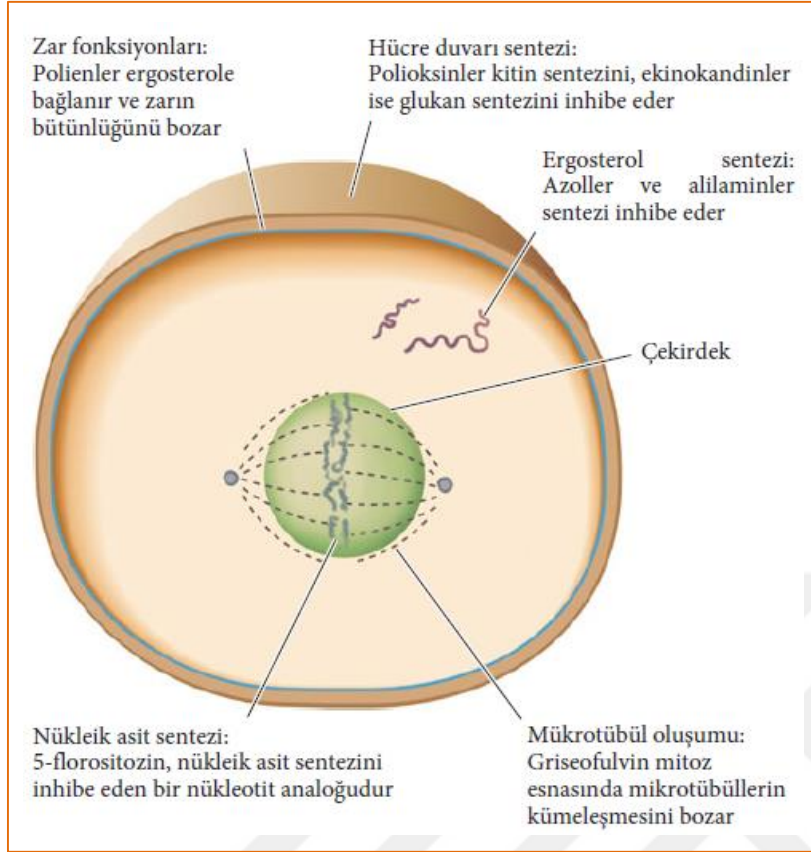
Bu grupta yer alan en önemli antibiyotik olan sülfonamidler bakterilerdeki folik asit sentezi için gerekli bir faktör olan *p*-aminobenzoik asidin yapısal analogu olan *p*-aminobenzenesülfonamidden türevlenmiştir. Bu sayede tetrahidrofolat sentezini inhibe ederek etkisini göstermektedir [53].

Hücre zarı sentezini etkileyen antibiyotikler

Bu grupta yer alan siklik polipeptidler (polimiksinler ve kolistinler) hem katyonik hem de hidrofobik amino asitleri içeren dallanmış polipeptidlerdir. Bu amfipatik özelliğinden dolayı polimiksin ve kolistinler hücre zarının geçirgenliğini değiştirir ve deterjan olarak görev yapar. Gram pozitif hücre duvarındaki kalın peptidoglikan tabakayı zor geçebildiği için Gram negatif bakteriler üzerinde daha etkilidir [53].

2.3.2. Antifungal ilaçlar

Funguslar insanlardaki gibi ökaryotik hücre yapısına sahiptir. Bu yüzden antifungal tedavide kullanılan ilaçlar genellikle seçici toksisite göstermeyip insan hücrelerine de zarar vermektedir. Ancak birkaç ilaç sadece funguslarda bulunan metabolik yolları inhibe ederek daha etkili bir şekilde bu canlılara seçici toksisite göstermektedir. Antifungal ilaçlar genel olarak hücre duvarı sentezi, ergosterol sentezi, nükleik asit sentezi, zar fonksiyonları ve mikrotübül oluşumunu inhibe ederek etkisini göstermektedir (Şekil 2.9). Antifungal ilaçların sınıfları, hedefleri ve bu sınıflara giren örnekler Çizelge 2.3'te gösterilmektedir.



Şekil 2.9. Bazı antifungal ilaçların etki bölgeleri [52]

Çizelge 2.3. Antifungal ilaç sınıfları [52]

Sınıf	Hedef	Örnekler
Alilaminler	Ergosterol sentezi	Terbenafin
Aromatik antibiyotik	Mitoz inhibitörü	Griseofulvin
Azoller	Ergosterol sentezi	Klortrimazol Flukanozol İtrakonazol Ketokonazol Mikonazol Posokonazol Ravukonazol Varikonazol
Kitin sentezi inhibitörü	Kitin sentezi	Nikomisin Z
Ekinokandinler	Hücre duvarı sentezi	Kaspofungin
Nükleik asit analogları	DNA sentezi	5-florositozin
Polienler	Ergosterol sentezi	Amfoterisin B Nistatin
Polioksinler	Kitin sentezi	Polioksin A Polioksin B

2.3.3. Antimikrobiyal direnç

Antibakteriyel direnç

Enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde karşılaşılan en büyük sıkıntı patojen mikroorganizmaların mevcut antibiyotiklere karşı geliştirmiş oldukları dirençtir. Antibakteriyel direnç patojenin içinde mutasyon ve seleksiyon yoluyla kendiliğinden (endojen) veya horizontal gen transferi (HGT) yoluyla çevredeki organizmalardan (antibiyotik üreticiler, kommensaller, insan dışı patojenler, vs) geçerek (ekzojen) oluşabilmektedir. Piyasadaki antibakteriyel ilaçlara karşı bakterilerin geliştirmiş oldukları endojen ve ekzojen kaynaklı antibiyotik direnci mekanizmaları Şekil 2.10'da gösterilmektedir [13].

Ekzojen	Cinse özgü efluks (dışa atım) (Tetrasiklin, makrolidler)
	Cinse özgü yıkım/modifikasyon (β -laktamlar, aminoglikozidler, kloramfenikol, streptogramin A, metronidazol, fosfomisin)
	Hedef koruma/modifikasyon (Tetrasiklin, makrolidler, linkosamidler, oksazolidinonlar, streptogramin B)
	İndirgenmiş-afinite hedefi ile yer değiştirme (β -Laktamlar, vankomisin, trimetoprim, mupirosin, sulfonamidler)
	Hedefin ayrılması (Florokinolonlar, fusidik asit)
Endojen	Hedef afinitesini azaltan basit mutasyonlar (Rifamisin, streptomisin, trimetoprim, fusidik asit)
	Hedefin yeniden modellenmesini veya afinitesini azaltan çok basamaklı mutasyonlar (Florokinolonlar, oksazolidinonlar, daptomisin, vankomisin, polimiksin, β -laktamlar)
	Genel efluks mekanizmaları (<i>Pseudomonas</i> için kullanılan birçok sınıf, diğer türler için kullanılan bazı sınıflar)
	Alımın azaltılması (porin veya permeaz kaybı) (Karbapenemler, fosfomisin)
	Aktivasyon kaybı (Metronidazol- <i>H. pylori</i> için)
	Hedefin artışı (Fosfomisin)

Şekil 2.10. Antibakteriyel direnç mekanizmaları [13]

Dünya sağlık örgütü 2014 yılında antimikrobiyal direnç için yayınlamış olduğu küresel raporda özellikle uluslararası sorun oluşturan dokuz bakterinin sebep olduğu enfeksiyonun tedavisinde yaygın olarak kullanılan antibakteriyel ilaçlara direnç ile ilgili bilgiler derlenip aktarılmıştır. Bu bakteriler ve ilgilenilen ilaç grupları Çizelge 2.4’de gösterilmektedir. Raporda bahsedilen mikroorganizmaların belirtilen antimikrobiyal ilaçlara karşı kazanmış oldukları direncin ciddi bir problem oluşturduğu belirtilmiş ve bu durum ile ilgili tüm dünya çapında ayrıntılı bir araştırma yapılmıştır [12].

Çizelge 2.4. Dünya sağlık örgütünün 2014 yılı antimikrobiyal direnç raporunda yer alan mikroorganizmalar ve bu mikroorganizmaların direnç geliştirdiği antibakteriyel ilaçlar [12]

<i>Escherichia coli</i>	•Üçüncü nesil sefalosporinler (genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar dahil) •Florokinolonlar
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	•Üçüncü nesil sefalosporinler (genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar dahil) •Karbapenemler
<i>Staphylococcus aureus</i>	•Beta laktam antibakteriyel ilaçlar (metisilin, metisilin dirençli <i>S. aureus</i> [MRSA])
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	•Penisilin
Non-Tifoidal <i>Salmonella</i> (NTS)	•Florokinolonlar
<i>Shigella</i> türleri	•Florokinolonlar
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	•Üçüncü nesil sefalosporinler

Antimikrobiyal direnç ve yeni ilaçların keşfi konusunda yaşanan sıkıntılardan dolayı günümüzde yeni antibakteriyel ilaçların geliştirilmesi ve keşfedilmesi için kullanılan farklı

stratejiler bulunmaktadır. Bu stratejiler arasında; mevcut ilaçların farklı türevlerinin sentezlenmesi, yeni antimikrobiyal ajanların keşfi, mikroorganizmalardaki virülans faktörlerini inhibe eden antivirülans ilaçların keşfi, nanopartiküller, bakteriyofajlar veya enzimiyotikler, ekoloji/evrimsel biyoloji yaklaşımı yer almaktadır (Çizelge 2.5) [14].

Çizelge 2.5. Yeni antibakteriyel ilaçların geliştirilmesi ve keşfedilmesi için kullanılan stratejiler [14]



Antifungal direnç

Antifungal direnç bir fungal enfeksiyonun antifungal tedaviye karşı olan cevabındaki başarısızlık olarak tanımlanmaktadır. Antifungal direnç klasik olarak primer (yapısal) ve sekonder (kazanılmış) direnç olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Primer direnç antifungal ilaçlara maruz kalmadan önce var olan direnç iken sekonder direnç antifungal ilaçlara maruz kaldıktan sonra gelişen dirençtir. Klinik direnç olarak isimlendirilen üçüncü bir tip direnç vardır. Bu tip dirençte bir fungal izolat tarafından oluşan enfeksiyonun giderek ilerlemesi ve tekrarlamasını kapsamaktadır. Fungusların genotiplerinde meydana gelen bazı mutasyonlar fenotiplerine yansımakta ve antifungal ilaçlara karşı dirençli olmasına sebep olmaktadır. Örneğin *C. albicans*'ın sekonder azol direnci için üç farklı mekanizma olduğu görülmüştür. Birinci mekanizmada aktif dışa atım yoluyla azol birikimi azalmaktadır. İkinci yolda bağlanma bölgesinin (14 α -sterol-demetilaz, *ERG11* tarafından kodlanır) değişmesi veya aşırı ifadesi görülmektedir. Üçüncü mekanizmada ise ergosterol yolağındaki mutasyonlar (*ERG3* tarafından kodlanan hasarlı Δ -5,6-desatüraz) sonucunda fonksiyon kaybı oluşmaktadır. Bu üç mekanizma azol varlığında daha az toksik sterol birikimine izin vermektedir [60]. Önemli bazı patojen fungusların antifungal direnç mekanizmaları Çizelge 2.6'da gösterilmektedir.

Çizelge 2.6. Antifungal direnç mekanizmaları [60]

	Mekanizma	Fenotipik değişiklik	Genotipik değişiklik
Flukonazol			
<i>Candida albicans</i>	İlacın dışa atımının artması	Çoklu ilaç direnci taşıyıcılarının artması	<i>CaMDR1</i> , <i>CDR1</i> , <i>CDR2</i> genlerinin transkripsiyonunun artması
	İlacın hedef bölgeye bağlanmasının azalması	Mutant P450-14 α demetilaz	<i>ERG11</i> genindeki nokta mutasyonları
	Hedef bölgenin aşırı ifade edilmesi	P450-14 α demetilaz artışı	<i>ERG11</i> transkripsiyonu artışı
	Alternatif sterollerin birikimi	Δ -5,6-desatüraz fonksiyon kaybı	<i>ERG3</i> genindeki mutasyonlar

Çizelge 2.6. (devam) Antifungal direnç mekanizmaları [60]

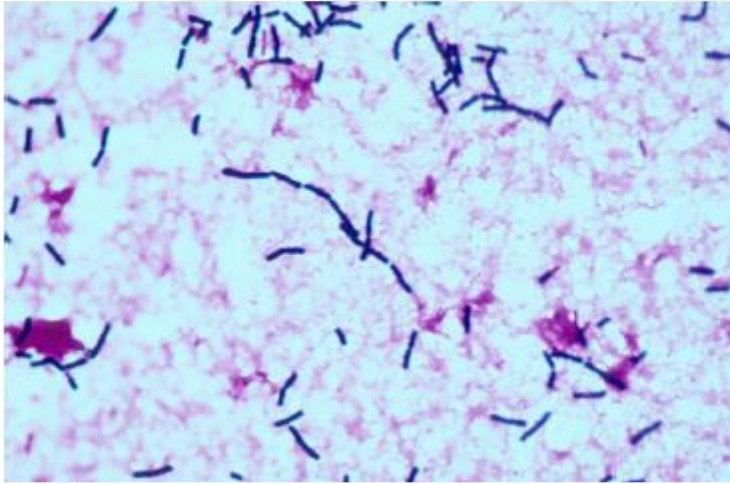
	Mekanizma	Fenotipik değişiklik	Genotipik değişiklik
<i>Candida glabrata</i>	İlacın dışa atımının artması	Çoklu ilaç direnci taşıyıcılarının artması	<i>CgDR1</i> transkripsiyonunun artışı
	Alternatif sterollerin birikimi	Δ -5,6-desatüraz fonksiyon kaybı	<i>ERG3</i> genindeki mutasyonlar
	Hedef bölgenin aşırı ifade edilmesi	P450-14 α demetilaz artışı	<i>ERG11</i> transkripsiyonu artışı veya duplikasyonu
<i>Candida tropicalis</i>	İlacın dışa atımının artması	Çoklu ilaç direnci taşıyıcılarının artması	<i>CDR1</i> ve <i>MDR1</i> genlerinin transkripsiyonunun artması
<i>Candida krusei</i>	İlacın hedef bölgeye bağlanmasının azalması		
	İlaç geçirgenliğinin azalması		
Amfoterisin B			
<i>Candida albicans</i>	İlaç ile zarın birleşmesinin azalması	Fungal zardaki fosfolipid ve sterollerin değişmesi	
	Oksidatif hasarın azalması	Katalaz aktivitesinin artması	
Flusitosin			
<i>Candida albicans</i>	Alımın azalması	Permeaz azalması	<i>FCY1</i> geninin dimorfizmi
Terbinafin			
<i>Candida albicans</i>	İlacın dışa atımının artması	Çoklu ilaç direnci taşıyıcılarının artması	

2.4. Önemli Bazı Patojen Mikroorganizmalar ve Sebep Olduğu Enfeksiyonlar

2.4.1. Bakteriler

Bacillus cereus

Bacillaceae familyasında yer alan *B. cereus*; Gram-pozitif, aerobik veya fakültatif, spor oluşturma yeteneği olan basil formunda ve genel olarak doğada yayılış gösteren bir mikroorganizma türüdür. Diğer *Bacillus* türleri (özellikle *B. anthracis*) ile yakın fenotipik ve genotipik ilişkisi bulunmaktadır. Çeşitli vücut sıvılarından alınan örneklerin Gram boyama yapılmış preparatlarda *B. cereus* tek veya kısa zincirler halinde kare şeklinde sonlanmış düz veya hafif kıvrılmış ince basil formunda gözükmektedir (Resim 2.2) [61].



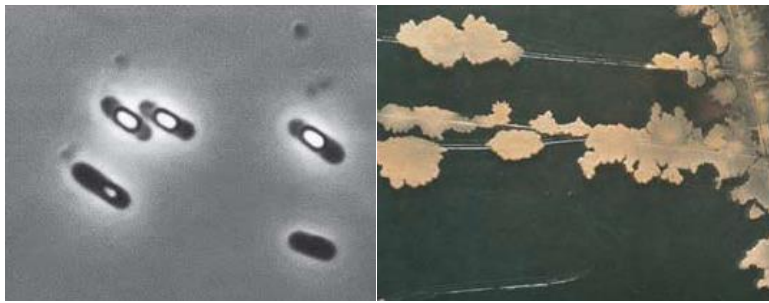
Resim 2.2. *B. cereus*'un mikroskopik görüntüsü [61]

B. cereus'un yaşama ortamları azalan organik maddesi olan deniz suları, sebzeler ve bulaşıcı hastalık etkeni taşıyan cisimler, omurgasızların intestinal alanı ve insan bağırsağıdır. Dışkılama veya konağın ölümü sonucunda hücreler ve sporlar toprağa salınır, vejetatif hücreler sporulasyona uğrayarak yeni konak bu sporları alana kadar canlılıklarını korur [62, 63]. Sıklıkla toprak veya bitkilerin üzerinde bulunan bu bakteriler insan vücuduna girdiğinde bağırsaklarda kolonize olabilir ve ciddi gıda zehirlenmelerine yol açabilir [64]. *B. cereus*'un sebep olduğu iki farklı gıda zehirlenmesi türü bulunmaktadır. Bunlardan kusturucu (emetik) tip, kızartılmış pirinç ile ilişkilendirilirken diyareik tip et tabakları ve soslardan kaynaklanmaktadır. Emetik tip bulantı, kusma, abdominal kramplar ve nadiren ishal ile kendini göstermektedir. Bu belirtiler genellikle pirinç tüketiminden 1-5 saat sonra kendini

göstermektedir. Toprak organizması olan *B. cereus* sporları ile kontamine olmuş pirinç pişirildikten sonra uzun süre soğumaya bırakıldığında bu sporlar tekrar gelişmeye başlar ve vejetatif hücreler logaritmik gelişme fazı veya sporulasyon sırasında toksin üretirler. Diyareik tip 1-24 saatlik bir inkübasyon periyoduna sahiptir ve abdominal ağrı ve krampların eşlik ettiği aşırı diyare ile kendini belli eden enfeksiyonda ateş ve kusma nadiren görülmektedir [65]. *B. cereus* patojenitesine bakıldığında intestinal veya intestinal olmayan enfeksiyonlar dokuya zarar veren reaktif ekzoenzim üretimi ile ilişkilidir. *B. cereus* gıda zehirlenmesinin yanı sıra bağışıklık sistemi çeşitli sebeplerden dolayı zayıflamış olan bireylerde bazı sistemik ve lokal enfeksiyonlara da sebep olmaktadır. Bu bireyler genelde yeni doğan, damar içi ilaç kullananlar, cerrahi veya travma sonrası yaraları bulunan hastalardır. *B. cereus*'un sebep olduğu diğer rahatsızlıklar arasında solunum yolu enfeksiyonları, nozokomiyal (hastane kaynaklı) enfeksiyonlar, endoftalmi (göz içi enfeksiyonu), merkezi sinir sistemi enfeksiyonları, gazlı kangren benzeri enfeksiyonlar, primer kutanöz enfeksiyonlar, endokardit, osteomyelit, üriner sistem enfeksiyonları bulunmaktadır [61, 65].

Bacillus subtilis

Bacillaceae familyasında yer alan, Gram pozitif, basil formunda, hareketli ve spor oluşturan bir bakteri türü olan *B. subtilis* genellikle toprakta ve bitki materyallerinin üzerinde bulunmakta olup orta derecede sıcaklık ve pH değerlerinde aerobik olarak gelişmektedir. Diğer birçok *Bacillus* türü gibi özellikle amilaz ve proteaz gibi hidrolitik enzimler salgılamaktadır [66, 67]. *B. subtilis*'e ait mikroskop görüntüsü ve nutrient agar üzerinde oluşturduğu koloni yapısı Resim 2.3'te gösterilmektedir.



Resim 2.3. *B. subtilis*'in mikroskop görüntüsü (solda) ve nutrient agar üzerinde oluşturduğu koloniler (sağda) [68]

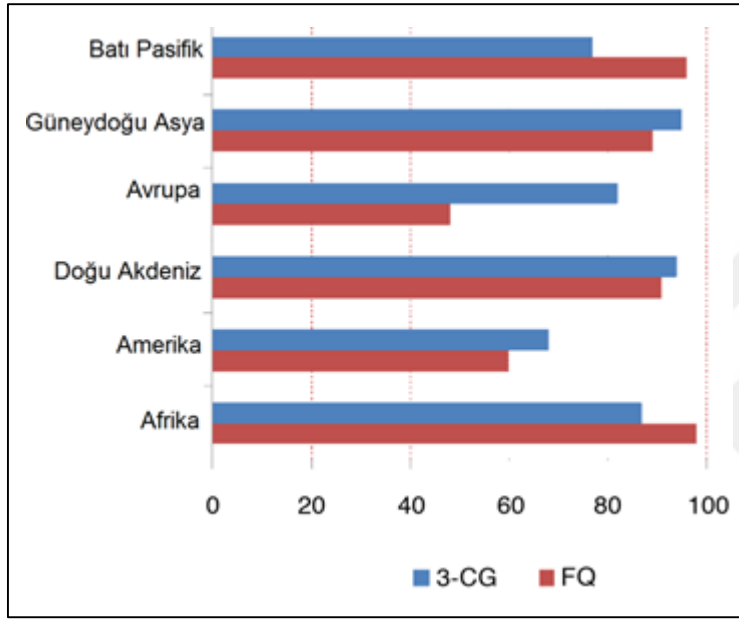
Enterococcus faecalis

Enterococcaceae familyasında yer alan enterokoklar düşük GC oranına sahip, Gram-pozitif, kok formunda, katalaz negatif, spor oluşturmeyen, fakültatif anaerob mikroorganizmalardır [69, 70]. Normal enterik floranın bir üyesi olan Enterokoklar genellikle non-hemolitik olmalarına rağmen bazen α -hemolitik olabilmektedirler. Penisilin G'ye karşı streptokoklardan daha dirençlidir ve nadiren β -laktamaz kodlayan plazmitlere sahiptir. En az 12 türü bulunan Enterokoklar içerisinde enterokokal enfeksiyonların %85-90'ından *Enterococcus faecalis* sorumludur [65]. Enterokoklar son yüzyılın özellikle son on yılında hastane enfeksiyonlarının kaynağı olan mikroorganizmalar arasında üçüncü sırayı alarak insan sağlığını tehdit etmektedir. Bu mikroorganizmalar endokardit, sepsis, cerrahi yara enfeksiyonu ve üriner sistem enfeksiyonuna sebep olmaktadır [69, 70]. Enterokoklar glikopeptidler, β -laktamlar, florokinolonlar, aminoglikozidler (gentamisin ve streptomisin) gibi önemli antibiyotik gruplarına direnç geliştirmekte ve bu yüzden kliniklerde çok büyük problemlere yol açmaktadırlar [70].

Escherichia coli

E. coli türünün de içinde bulunduğu *Enterobacteriaceae* familyası üyeleri Gram-negatif, kısa basil formunda bakterilerdir. Kendilerine kompleks bir antijenik yapı kazandıran çeşitli antijenlere sahiptir. Ayrıca bazı suşları aynı veya kendilerine yakın suşlara karşı aktif, yüksek moleküler ağırlıklı bakterisidal proteinler olan bakteriyosinleri üretmektedir. *E. coli* plazmit kontrolünde olan kolisin bakteriyosinini üretmektedir [65]. İnsan gastrointestinal florasının doğal bir üyesi olan *E. coli* aynı zamanda önemli bir patojen mikroorganizmadır [71]. Birçok patojen mikroorganizmanın enfeksiyon yapabilmesi için büyük miktarlarda alınması gerekirken enterohemarajik *E. coli* düşük pH'da canlı kalabilme özelliği sayesinde çok daha düşük dozlarda bile enfeksiyon yapabilmektedir [72]. Gram-negatif bakteriler içerisinde sepsis ve üriner sistem enfeksiyonuna en sık sebep olan bakteri *E. coli*'dir. Aynı zamanda kadınlarda genital bölgede de sıklıkla görülen enterik Gram-negatif kokobasillerden olan *E. coli* vajinal veya endoservikal kolonizasyonla birlikte hamile kadınlarda erken veya geç yenidoğan sepsisi, intra-amniyotik enfeksiyon, doğum enfeksiyonu gibi enfeksiyonlara sebep olmaktadır [71]. Diğer patojen mikroorganizmalarda olduğu gibi *E. coli* sebebiyle oluşan enfeksiyonlarda da en büyük problem antibiyotik direncidir. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2014 yılında yayınladığı raporda hastanelerde çeşitli

enfeksiyonların intravenöz tedavisinde sıklıkla kullanılan üçüncü-nesil sefalosporinler ve toplumda oral antibakteriyel ilaç olarak en sık kullanılan florokinolonlara karşı *E. coli*'nin geliştirmiş olduğu direnç rapor edilmiştir (Şekil 2.11) [71, 73]. Bu raporda Türkiye için 2011 yılında toplanan verilerin 2013 yılındaki sunulan ulusal raporuna göre *E. coli*'nin üçüncü nesil sefalosporinlere olan direnci % 43,3; florokinolonlara olan direnci ise %46,3 olarak bildirilmiştir [12].



Şekil 2.11. Farklı coğrafik bölgelerde Nisan 2013'e kadar rapor edilen *E. coli* izolatlarının direnç oranları. 3-CG, 3. nesil sefalosporin; FQ, florokinolon [71]

Klebsiella pneumoniae

1882 yılında pnömoniden ölen bir hastanın akciğerlerinden Friedlander tarafından izole edilen kapsülsüz bir basil olarak tanımlanan bu bakteri ilk olarak Friedlander'in basili olarak isimlendirilmiş ancak 1886 yılında ismi *Klebsiella* olarak değiştirilmiştir. Antibiyotiklerin keşfinden önce bu bakteri özellikle alkolik ve diyabetik hastalarda pnömونيye sebep olmaktaydı. *Enterobacteriaceae* familyasının bir üyesi olan Gram negatif basil formundaki bu bakteri hastane kaynaklı enfeksiyonlar ve yenidoğan sepsisine yol açan etkenlerin başında gelmektedir. *K. pneumoniae* aynı zamanda safra yolu hastalıkları, osteomyelit, bakteriyemi, idrar yolu enfeksiyonu, nosokomiyal pnömوني ve karıniçi enfeksiyonlarına da sebep olmaktadır [74-77]. *K. pneumoniae* dünya çapında karbapenem dirençli bakteriler tarafından oluşturulan enfeksiyonların ana etkenidir. Karbapenem direnci sağlayan genlerin tümü bu bakteride bulunmaktadır ve bu yüzden klinikte tedavi başarısız olmaktadır. Ayrıca geniş

spektrumlu beta laktam antibakteriyel ilaçlara (sefalosporinler gibi) olan direnç de bu bakteriler için son zamanlarda sıkıntılı bir durum olarak karşımıza çıkmaktadır. Dünya sağlık örgütünün 2014 yılında yayınladığı küresel antimikrobiyal direnç raporunda Türkiye için bu bakterinin üçüncü nesil sefalosporinlere olan direncinin ulusal verilerde %52,4 olarak kaydedildiği; karbapeneme olan direnç ile ilgili ulusal bir veri olmadığı bildirilmiştir [12].

Salmonella typhimurium

Salmonella enterica serovar *typhimurium* (*Salmonella typhimurium*) gastroenterit ile sonuçlanan intestinal mukozal epitelin inflamasyonuna sebep olan Gram negatif, basil formunda, fakültatif, hücre içi anaerob ve mezofilik bir bakteri türü olup *Enterobacteriaceae* familyası içinde yer almaktadır. Yüz yılı aşkın bir süredir birçok ülkede gıda zehirlenmelerinin başlıca nedenlerinden biri *Salmonella* cinsine ait bakterilerdir. Bu bakterinin sebep olduğu enfeksiyon salmonellozis adı ile anılmaktadır. Yenidoğanlar ve bağışıklık sistemi baskılanmış hastalar sağlıklı bireylere göre *Salmonella* enfeksiyonlarına karşı daha duyarlıdır. Bu enfeksiyon patojenin bulaştığı gıdalarla vücuda alınması ve gastrointestinal epitel istila etmesiyle başlamaktadır. Oluşan enfeksiyonun şiddeti suşa, konağın durumuna, gıdanın yapısına ve alınan doza göre değişiklik göstermektedir. Kontamine gıda veya su içerisindeki 50 000'den fazla bakterinin alınımından yaklaşık 6-72 saat sonra hastalığın ilk belirtileri başlamaktadır. Semptomlar arasında kramp, abdominal ağrı, kanlı veya normal ishal yer alırken bulantı ve kusma da görülebilmektedir. Sadece bağırsaklarda görülen enfeksiyonun tedavi edilmediği durumlarda semptomlar genellikle 5-7 gün içerisinde kendiliğinden geçmektedir ancak aşırı sıvı kaybının olduğu durumlarda oral veya intravenöz rehidrasyon yoluyla sıvı ve elektrolit dengesi düzeltilmektedir. Ancak istilacı enfeksiyon varlığında mutlaka antibiyotik tedavisi uygulanmakta ve semptomlar düzelene kadar bu tedaviye devam edilmektedir ancak klinikte karşılaşılan birçok izolatin çoklu ilaç direncine sahip olması tedaviyi zorlaştırmaktadır [78-81].

Staphylococcus aureus

Staphylococcaceae familyası içerisinde yer alan, Gram pozitif, kok formunda, insan vücudunda birçok bölgede kolonize olabilen veya birçok bölgeye yayılabilen ve sebep olduğu enfeksiyonlar az şiddetliden ölümcül boyuta kadar bir aralıkta olan *S. aureus* türü, geniş çapta klinik enfeksiyonlara sebep olan mikroorganizmalar arasında önemli bir yer

tutmaktadır. Aynı zamanda insan vücudunun normal flora üyesi olan *S. aureus* insan nüfusunun yaklaşık %30'unda özellikle integüment veya mukoz membranların herhangi bir kısmına, insan burnunun anterior bölgesine kolonize olabilmekle birlikte vücutta birçok değişik bölgeye de kolonize olabilmektedir. Bu bakterinin sebep olduğu bakteriyemi %10-30 ölüm oranıyla kan dolaşımı enfeksiyonlarının başında gelmekte ve aynı zamanda enfektif endokardite sebep olan etkenlere de liderlik etmektedir. Bunların haricinde *S. aureus* cilt ve yumuşak doku enfeksiyonu, osteoartikular enfeksiyonlar (osteomyelit, septik artritis, protez eklem enfeksiyonu gibi), diğer protez cihaz enfeksiyonları (kalp cihazı enfeksiyonları, damar içi katater enfeksiyonları, göğüs implantı enfeksiyonu, ventriküler şant enfeksiyonu gibi), plöropulmoner enfeksiyonlar, epidural abseler, menenjit, toksik şok sendromu ve üriner sistem enfeksiyonlarına da sebep olmaktadır [82-85]. Penisilin ilk keşfedildiği yıllarda *S. aureus* enfeksiyonlarının tedavisinde etkili bir ilaç olarak kullanılmış ancak 1940'lı yıllarda bakteri bu ilaca karşı direnç geliştirmiştir. Bu direncin kaynağı bakterinin penisilin, ampisilin ve amoksisilin gibi ilaçları ürettiği beta laktamaz enzimi ile inaktive etmesidir. Beta laktamaza dayanıklı ilaçlar (metisilin ve kloksasilin gibi) ile birlikte beta laktamaz inhibitörlerinin (klavunilik asit ve sülbaktam gibi) kullanımı ile bu sorun bir süreliğine aşılmış olsa da *S. aureus* yeni bir penisilin bağlayan proteini kodlayan gen (*mecA*) kazanarak bu antibiyotiklere de direnç kazanmış ve bu bakteriler metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) olarak isimlendirilmiştir. Dünya sağlık örgütünün 2014 yılında yayınladığı küresel antimikrobiyal direnç raporunda Türkiye için bu bakterinin metisiline olan direncinin ulusal verilerde %31,5 olarak kaydedildiği bildirilmiştir [12].

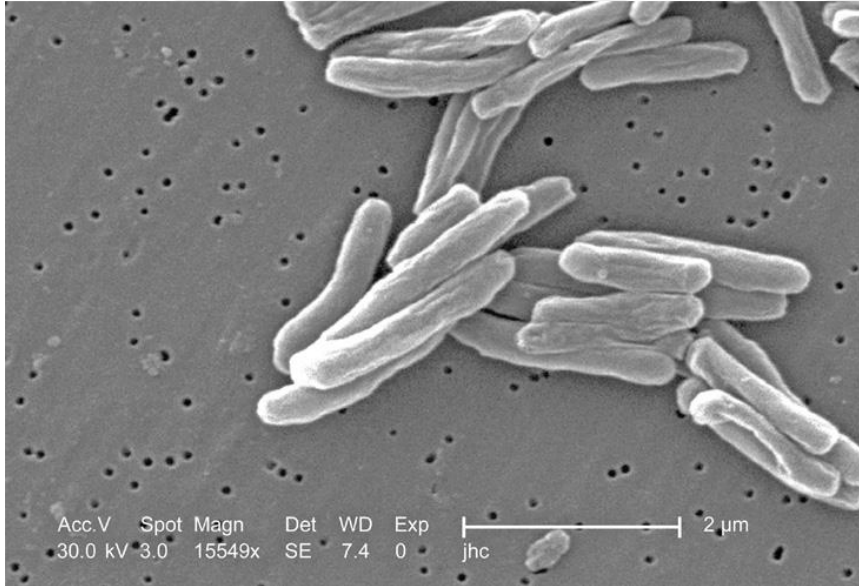
Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonadaceae familyası içerisinde yer alan ve Gram negatif, basil formunda bir bakteri olan *P. aeruginosa*; hastane kaynaklı enfeksiyonların başlıca kaynağı olup her yıl iki milyondan fazla hastayı etkilemekte, yıllık 90 000 civarında ölüme sebep olmakta ve ölüm oranı %60'ı geçebilmektedir. Ayrıca bu bakterinin akut pnömoni, kistik fibrozis, menenjit, abse, yumuşak doku enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları, katater bağlantılı enfeksiyonlar, kornea enfeksiyonları, konjunktival eriteme sebep olduğu bilinmekte ve akut enfeksiyonların yanı sıra bağışıklık yetmezliği, kistik fibrozis olan veya kemoterapi alan hastalarda kronik akciğer enfeksiyonlarına yol açmaktadır. Katater gibi kalıcı medikal cihazların üzerinde biyofilm oluşturabilmektedir. Antibiyotik direnci bu bakterilerin yol açtığı enfeksiyonların tedavisi konusunda sıkıntı olmakla birlikte ilaca dirençli *P.*

aeruginosa enfeksiyonlarını kontrol altına almak için fitokimyasallar, aşılar, nanopartiküller demir şelatörleri, efluks pompa inhibitörleri gibi maddeler kullanılsa da yeni antimikrobiyal ajanların geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır [86-88].

Mycobacterium tuberculosis

Mycobacteriaceae familyasında yer alan, basil formda ve basit dallanmış filamentlere sahip olan mikobakteriler teorik olarak Gram pozitif olmalarına rağmen hücrelerin dışı kalın bir lipid tabakasıyla kaplı olduğu için zor boyanan bakterilerdir (Resim 2.4). Aside dayanıklı boyama olarak da bilinen Ziehl-Nelsen boyama yöntemi ile boyanarak diğer mikroorganizmalardan ayrılmaktadır. Bu yöntemde preparatlar kaynamış karbol fuksin çözeltisi ile muamele edildikten sonra asit alkol ile renk giderilip malaşit yeşili ile boyanır. Bilinen yaklaşık 50 türü bulunan *Mycobacterium* cinsi içerisinde tüberküloz etkeni de olan en önemli tür *M. tuberculosis*'tir. *M. tuberculosis* türü düz koloni yapısına sahip, niasin ve nitrat indirgeyebilen, üreaz üretimi değişken ve pirozinamidaz üretebilen bakterilerden oluşmaktadır [89].



Resim 2.4. *M. tuberculosis*'a ait taramalı elektron mikrografı [89]

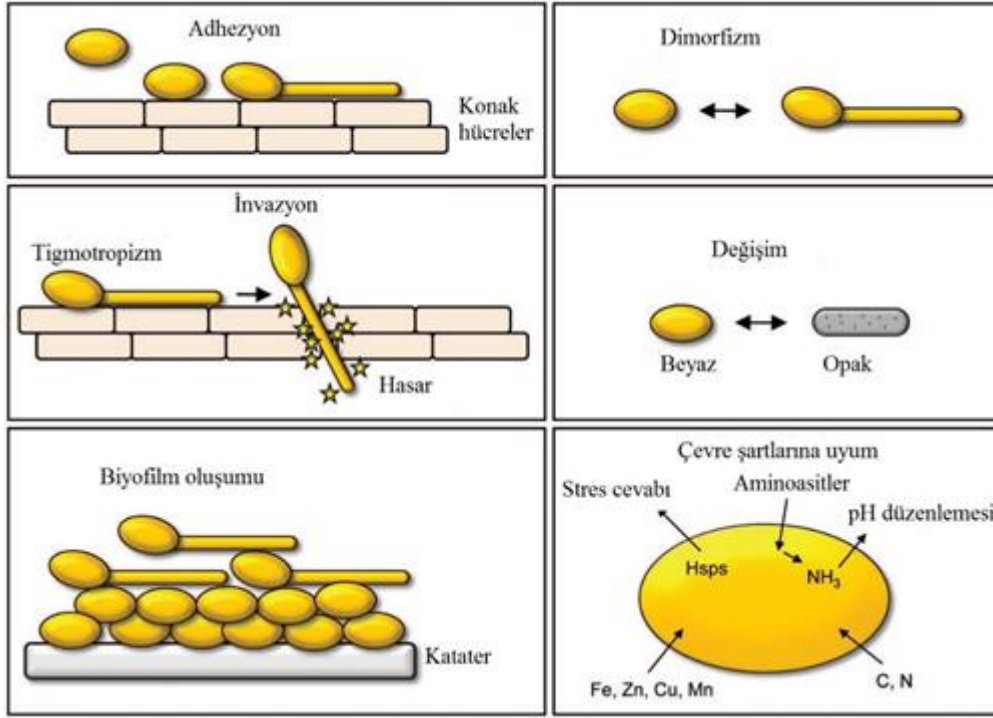
2.4.2. Funguslar

Funguslar maya veya filament oluşturan hif formunda gelişen mikroorganizma grubudur. Bu mikroorganizmalar oldukça yaygın olmasına rağmen farklı coğrafik bölgelerde fungal

enfeksiyonlar açısından büyük varyasyon bulunmaktadır. *Candida* mayası tarafından oluşturulan bir fungal enfeksiyon olan kandidiyazis dünya çapında en yaygın olarak görülen fungal enfeksiyondur. Özellikle bağışıklığı baskılayan tedavi veya yoğun bakım gibi yoğun antibakteriyal tedavi altında bulunan hastalarda kandidiyazis büyük bir problem yaratmaktadır. Antibiyotik kullanımının normal mikrofloranın dengesini etkilemesinden dolayı *Candida* enfeksiyonları için önemli bir risk faktörüdür. Enfeksiyona sebep olan yaklaşık 20 *Candida* türü bulunmaktadır. Genellikle *Candida* türleri en sık karşılaşılan tür olan *C. albicans* ve bu türün haricindeki *C. albicans* olmayan türler olmak üzere iki gruba ayrılarak değerlendirilmektedir [12]. Kandidemiye sebep olan en büyük etken *Candida albicans* olmasına rağmen son yıllarda diğer *Candida* türlerinden olan *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ve *C. krusei*'nin de kandidemi vakalarında görüldüğü tespit edilmiştir [90].

Candida albicans

İnsanlarda hastalık oluşturma yeteneği olan birkaç fungal türden biri olan *C. albicans* normalde insanlarda ve sıcakkanlı hayvanların vücudunda kommensal olarak yaşayan bir mikroorganizmadır. Sağlıklı bireylerin mukozal yüzeylerine kolonize olan bu fungus türü sindirim ve genitoüriner sistemin normal florasında yer almaktadır ancak konağın bağışıklık cevabının değişmesi (özellikle AIDS hastaları veya kanser tedavisi dolayısıyla bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde) veya lokal çevredeki varyasyonlar bu mikroorganizmanın kandidiyazis denilen enfeksiyon oluşturmaya sebebiyet vermektedir. Bulunduğu konakta birçok farklı bölgeyi enfekte edebilen *C. albicans* pamukçuk, vajinal maya enfeksiyonu, isilik, oral kandidiyazis, invazif kandidiyazis, vulvovajinal kandidiyazis gibi yüzeyden daha derin enfeksiyonlara kadar geniş bir yelpazede sağlık sorunlarına sebep olmaktadır [91-95]. Bu patojen maya ve hif formu arasında morfolojik geçiş, hücre yüzeyinde adhesin ve invasinlerin salınması, tigmotropizm, biyofilm oluşturma, fenotipik aktarım, hidrolitik enzimlerin salgılanması gibi virülans faktörlerine sahiptir (Şekil 2.12) [94]. Ayrıca çevre şartlarındaki dalgalanmalara hızlı bir şekilde adapte olabilmesi bu mikroorganizmaların hayatta kalma şansını artıran bir faktördür [96].



Şekil 2.12. *C. albicans* patojenite mekanizmaları

Candida krusei

Özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda fungemi, endoftalmi, artrit, endokardit gibi hastalıklara sebep olan *C. krusei*'nin epitel hücrelere yapışma, proteolitik potansiyel ve fosfolipaz üretimi açısından *C. albicans*'a göre daha az virülant olduğu bilinmektedir [97].

Candida tropicalis

Çeşitli klinik kandidiyazis tiplerinden izole edilen *albicans* harici *Candida* türlerinden en yaygın olanı *C. tropicalis*'tir [98]. Kan dolaşımında *C. tropicalis*'in bulunması ile ilişkili ölüm oranı %40-70 arasında iken bu oran lösemi, nötrofeni, parenteral beslenme, yoğun bakım ünitesinde kalma süresi gibi etkenlerle değişebilmektedir [99].

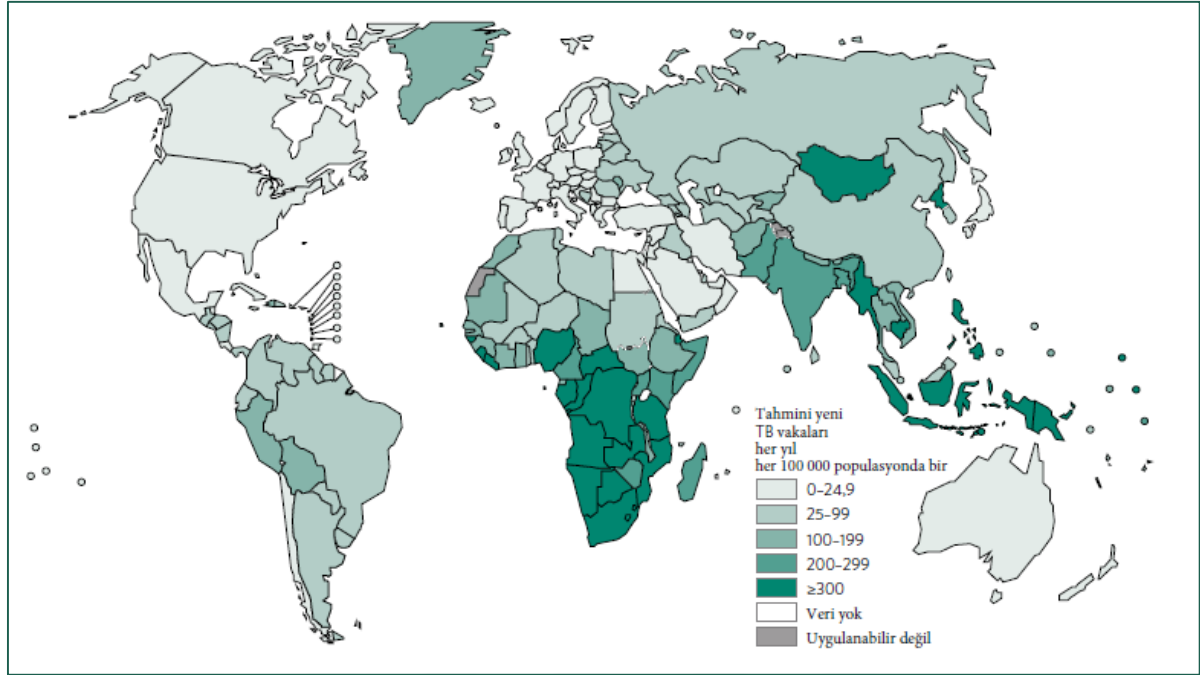
2.5. Tüberküloz

Tüberküloz (TB) tüm dünya üzerinde en eski ve ölümcül hastalıklardan biri olarak sağlık, sosyal ve ekonomik anlamda her yıl özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerde oldukça fazla sayıda insanı etkileyen bir hastalıktır. Etkili bir aşısının olmaması, uzun ve pahalı bir ilaç süreci, bazı bölgelerde sağlık sisteminin çökmük olması ve TB kontrolü için çok etkili

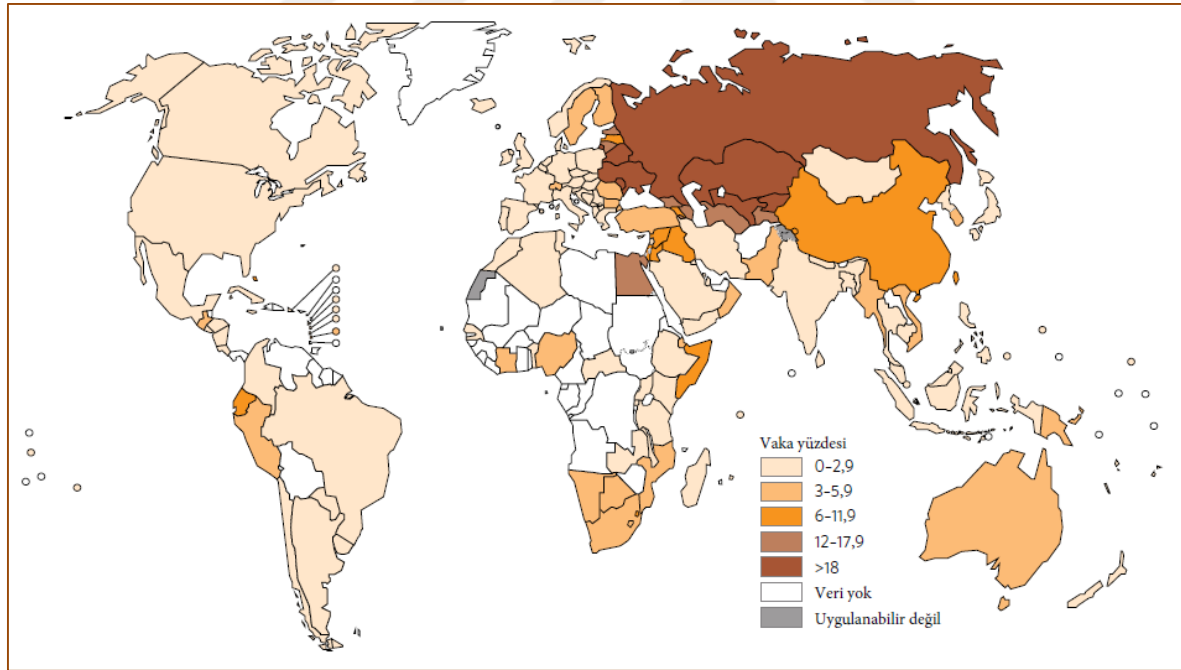
çözümlerin gerekliliği bu hastalığın küresel bir salgın oluşturma potansiyelini artırmaktadır. TB ilk ve en çok çalışılan enfeksiyon hastalığı olmasına rağmen (yaklaşık 100 yıldır üzerinde çalışılmaktadır) hala patogenez mekanizmaları ve immünolojik etkileri gibi bazı konularda çözülmesi gereken anahtar sorular bulunmaktadır [100].

2.5.1. Epidemiyoloji

Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2016 yılında hazırlamış olduğu küresel tüberküloz raporuna göre 2015 yılında dünya çapında 10,4 milyon yeni TB vakası kaydedilmiş olup bunların 5,9 milyonu (%56) erkek, 3,5 milyonu (%34) kadın ve 1,0 milyonu (%10) çocuk bireylerden oluşmakta ve 1,2 milyonu (%11) aynı zamanda HIV'li bireylerdir. Bu yeni vakaların %60'ı 6 ülkede kaydedilmiştir: Hindistan, Endonezya, Çin, Nijerya, Pakistan ve Güney Afrika. 2015 yılı içerisinde 1,4 milyon kişi TB dolayısıyla hayatını kaybederken 0,4 milyon ölüm HIV'li bireyler arasından TB yüzünden gerçekleşmiştir. 2000 ve 2015 yılları arasında TB ölümlerinin sayısında %22 azalma olmasına rağmen 2015 yılında dünya çapındaki ölüme yol açan ilk 10 neden arasında hala TB yer almaktadır. TB için bazı antibiyotiklere direnç ve HIV pozitif bireylerde TB görülmesi en büyük problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Yine 2015 yılı içerisinde 480 000 yeni çoklu ilaç dirençli TB (MDR-TB) vakası ve buna ek olarak 100 000 rifampisin dirençli TB (RR-TB) vakası kaydedilmiştir. Antiretroviral tedavideki HIV pozitif TB hastalarının oranı ise %78'dir. 2015 yılına ait dünya çapındaki tahmini TB insidans oranları Şekil 2.13'te gösterilmektedir. MDR ve RR-TB'li yeni TB vakalarının tüm dünyadaki yüzde oranları Şekil 2.14'te gösterilmektedir. Türkiyede'ki TB insidansına bakıldığında HIV'li hastalar ile birlikte insidansın her 100 000 kişide 14 000 bireyle %18; HIV pozitif olan 100 bireyle %0,12; MDR/RR-TB'li 710 bireyle %0,9 olduğu görülmektedir. Yine ülkemizde 2015 yılı içerisindeki mortalite oranlarına bakıldığında HIV negatif ve HIV pozitif bireylerdeki toplam oranın her 100 000 kişide 750 bireyle %0,96 olduğu belirlenmiştir. Ülkemizde 2015 yılı içerisinde 12 772 yeni TB vakasının kaydedildiği, MDR/RR-TB'li TB vakalarının oranının ise %3,6 olduğu bildirilmiştir [27, 101].



Şekil 2.13. Tahmini TB insidans oranları, 2015 [27]



Şekil 2.14. MDR ve RR-TB'li yeni TB vakalarının yüzdesi [27]

2.5.2. Patojenez

TB *Mycobacterium tuberculosis* basilinin yol açtığı bir enfeksiyon hastalığıdır. Çoğunlukla akciğerleri etkilemekle birlikte (pulmonar TB) diğer bölgeleri de etkileyebilmektedir

(ekstrapulmonar TB). Hastalık pulmonar TB hastalarının bakterileri havaya yayması ile diğer insanlara bulaşmaktadır. HIV ile enfekte insanların TB hastalığına yakalanma ihtimali diğer insanlara göre daha yüksektir. *M. tuberculosis* ile enfekte olmuş insanların %90'ından fazlasında patojen asemptomatik latent enfeksiyon olarak bulunmaktadır. Aktif hastalık riski enfeksiyon başlangıcından sonraki ilk 18 ay içerisinde yaklaşık %5 ve daha sonraki yaşam süresi içerisinde yine yaklaşık %5'tir. Dünya çapında yaklaşık iki milyar insan latent enfeksiyona sahiptir ve tekrar aktivasyon açısından risk altındadır. TB hastalığının tanısında klinikte genellikle üç yöntem kullanılmaktadır. Bunlar balgam yayması mikroskopisi, hızlı moleküler testler ve kültür yöntemleridir. Ayrıca birinci ve ikinci basamak anti-TB ilaçlara direnci tespit etmek amacıyla bazı testler yapılmaktadır. Bu testler rifampisine direnç (en etkili birinci basamak anti-TB ilaç) ve aynı anda TB varlığını tespit eden Xpert MTB/RIF, rifampisin ve isoniazide direnci tespit eden hızlı basamak prob analizi (LPA), enjekte edilebilen anti-TB ilaçlara (ikinci basamak LPA) ve florokinolonlara direnci tespit eden hızlı LPA testleri ve dizileme teknolojileridir. [27, 101]

2.5.3. Tedavi

TB için etkili ilaç tedavisi 1940'lı yıllarda kullanılmaya başlanmıştır. İlaça duyarlı TB'nin tedavisinde ilk 6 aylık süreçte kullanılan 4 birinci basamak ilacı isoniazid, rifampisin, etambutol ve pirazinamiddir ve bu tedavinin başarı oranı %85'tir. Birinci ve ikinci basamak antitüberküloz ilaçların grupları Çizelge 2.7'de gösterilmektedir.

Çizelge 2.7. Birinci ve ikinci basamak antitüberküloz ilaçların grupları [101]

Grup Adı	Antitüberküloz Ajan
Birinci basamak oral ajanlar	İsoniazid Rifampin/Rifampisin Etambütol Pirazinamid
İkinci basamak parenteral ajanlar (enjekte edilebilen antitüberküloz ilaçlar)	Kanamisin Amikasin Sapreomisin
Florokinolonlar	Levofloksasin Moksifloksasin Gatifloksasin Ofloksasin

Çizelge 2.7. (devam) Birinci ve ikinci basamak antitüberküloz ilaçların grupları [101]

Grup Adı	Antitüberküloz Ajan
Oral bakteriyostatik ikinci basamak antitüberküloz ilaçlar	Etionamid Protionamid Sikloserin Terizidon Para-aminosalisiklik asit
Grup 5 antitüberküloz ilaçlar	Klofazimin Linezolid Amoksisilin/Klavulanat İmipenem/Silastin Klaritromisin

Rifampisin dirençli TB (RR-TB) ve çoklu ilaç dirençli TB'nin (MDR-TB) tedavisi daha uzundur ve daha pahalı ve toksik ilaçları kullanmayı gerektirmektedir. MDR-TB tedavisinde kullanılan ilaçlar ve bunlarla ilişkili toksik etkiler Çizelge 2.8'de gösterilmektedir. Herhangi bir tedavi olmaz ise TB'den ölüm oranı çok yüksektir. Yeni TB ilaçları hala denenmekte ve bunların bir kısmı klinik deneme aşamasındadır. Çocuklarda görülen TB'un çeşitli formlarından korunmak için yaklaşık 100 yıl önce geliştirilen Bacille-Calmette-Guérin (BCG) aşısı günümüzde hala etkili bir şekilde kullanılmaktadır ancak yetişkinler için koruyuculuk sağlayan bir aşı henüz bulunmamaktadır. Bununla birlikte 13 TB aşısı faz I, faz II ve faz III aşamasında denenmektedir [27, 101].

Çizelge 2.8. MDR-TB tedavisinde kullanılan ilaçlar ve bunlarla ilişkili toksik etkiler [101]

Grup	İlaç	Toksisite
Grup 1 Birinci basamak ajanlar-genellikle iyi tolere edilir	Pirazinamid (Pza)	- Hepatoksisite (güncel tedavi ile <%1) - Hiperürisemi ve gut - Anoreksiya, kusma
	Etambütol (Emb)	- Merkezi veya periferik retrobulbar nevrit (<%1 vakada)

Çizelge 2.8. (devam) MDR-TB tedavisinde kullanılan ilaçlar ve bunlarla ilişkili toksik etkiler [101]

Grup	İlaç	Toksisite
Grup 2 Enjekte edilebilir ajanlar	Aminoglikozidler: • Kanamisin (Km) • Amikasin (Amk)	- Geri dönüşümsüz ototoksisite (%6-18) ve bazı vakalarda ilaç kesiminden aylar sonra başlayabilir - Nefrotoksisite riski yaşlı, renal bozukluğu olan ve diğer nefrotoksik ajanları kullanan bireylerde artmaktadır
	Siklik polipeptit: • Sapreomisin (Cm)	
Grup 3 Florokinolonlar	Moksifloksasin (Mfx) Levofloksasin (Lfx) Ofloksasin (Ofx)	- Genellikle iyi tolere edilir - Gastrointestinal sistem rahatsızlıkları-bulantı, kusma, ishal - Nörolojik rahatsızlıklar-uykusuzluk, huzursuzluk, %0,5'ten az ajitasyon, konfüzyon ve depresyon
Grup 4 Bakteriyostatik ikinci basamak ajanlar	Etionamid (Eto) Protionamid (Pto)	- Yaygın gastrointestinal sistem intoleransı-anoreksia, bulantı, kusma, metalik tat - Nörotoksisite: nöbet, psikoz, depresyon - Periferik ve optik nöropati - Hepatotoksisite (%2) - Hipotiroidizm
	Sikloserin (Cs) Terizidon (Trd)	- Yaygın merkezi sinir sistemi etkileri: ruh hali değişikliği, konfüzyon, psikoz, paranoya, agresyon, vertigo, titreme
	Para-aminosalisiklik asit	- Yaygın gastrointestinal sistem intoleransı-anoreksia, bulantı, kusma, ishal - Hepatotoksisite yaklaşık %0,5 - Hipotiroidizm

Çizelge 2.8. (devam) MDR-TB tedavisinde kullanılan ilaçlar ve bunlarla ilişkili toksik etkiler [101]

Grup	İlaç	Toksisite
Grup 5 MDR-TB tedavisindeki rolü tam net olmayan ajanlar	Yüksek doz isoniazid (Inh)	- Hepatotoksisite – yaş, karaciğer hastalığı ve diğer hepatotoksik ilaçlar ile risk artar (>50 yaş için %2) - Kurdeşen (%2) - Nörotoksisite riski yüksek doz ile artar, Merkezi sinir sistemi – nöbet, halüsinasyonlar, mental değişiklikler, depresyon - Periferik nöropati, nadiren optik nevrit
	Klofazimin (Cfz)	- Doz ve süreye bağlı yoğunlukta kırmızıdan kanverengiye varan cilt rengi bozulması - Doza bağlı gastrointestinal sistem rahatsızlıkları: bulantı, kusma ve kramplar
	Linezolid (Lzd)	- Bulantı, kusma ve baş ağrısı - Uzun süreli kullanım ile: periferik nöropati, trombositopeni, optik nöropati - Miyelosupresyon - Nadiren laktik asidoz ve pankreatit
	Amoksisilin/Klavulanat (Amx/Clv) İmipenam/Silastatin (Imp/Cln)	- Genellikle iyi tolere edilir - Clv dozuna bağlı gastrointestinal sistem rahatsızlıkları - Nadiren hipersensitivite ve anafilaksi
	Klaritromisin (Clr)	- Genellikle iyi tolere edilir - Genel gastrointestinal sistem rahatsızlıkları – bulantı, kramp, ishal, anormal tat

2.6. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Oksijen yaşam için zorunlu bir elementtir. Hücreler oksijeni enerji üretmek için kullandıkları zaman mitokondri tarafından ATP üretiminin bir sonucu olarak serbest radikaller oluşur [102]. Serbest radikaller dış orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron bulunduran atom veya moleküllerdir. Bu olağan dışı elektron sayısı serbest radikalleri kararsız, kısa ömürlü ve yüksek miktarda reaktif yapmaktadır. Bu yüksek reaktivitesinden dolayı serbest radikaller stabil hale gelebilmek için diğer bileşiklerden elektron alabilir. Böylece elektronunu kaybeden bileşik serbest radikal haline gelir ve en sonunda canlı hücrenin olumsuz etkileneceği zincirleme bir reaksiyon başlamış olur. Reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif nitrojen türleri (RNT) hem serbest radikalleri hem de radikal olmayan reaktif türleri içermektedir. ROT ve RNT canlı sistemler için olumlu ve olumsuz anlamda önem arz etmektedir. ROT/RNT miktarı düşük veya orta seviyede olduğunda bağışıklık sistemi, hücresel sinyal yolağı, mitojenik cevap ve redoks düzenlenmesi gibi fizyolojik görevler üstlenerek olumlu etkiler göstermektedir. Bunun aksine ROT/RNT oranı yüksek miktarda olursa oksidatif ve nitrosatif stres oluşmakta ve sonuç olarak biyomoleküllerde hasar meydana gelmektedir. Oksidatif ve nitrosatif stres bir tarafta aşırı ROT/RNT üretimi var iken diğer tarafta enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların eksikliği olduğunda ortaya çıkan bir durumdur. Bu yüzden iki tarafın mutlaka dengede olması gerekmektedir. Özellikle reaktif oksijen türlerinin aşırı birikmesi durumunda lipid, protein ve DNA gibi önemli biyomoleküller hasar görmekte ve bunun sonucu olarak diyabet, nörodejeneratif hastalıklar, romatoid artrit, katarakt, kardiyovasküler hastalıklar, solunum yolu hastalıkları gibi yaşlanma sürecinde ortaya çıkan hastalıklar görülmektedir. ROT ve RNT'ler radikaller ve radikal olmayanlar olmak üzere iki gruba ayrılarak sınıflandırılmaktadır. Bu sınıflandırma Çizelge 2.9'da gösterilmektedir. Radikaller atomik çekirdeğin kabuk kısmında en az bir adet eşleşmemiş elektron bulundurur. Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), oksijen radikali ($O_2^{\cdot\cdot}$), hidroksil ($OH^{\cdot}$), alkoksi radikali ($RO^{\cdot}$), peroksil radikali ($ROO^{\cdot}$), nitrik oksit ($NO^{\cdot}$) ve nitrojen dioksit ($NO_2^{\cdot}$) radikallere örnek olarak verilebilir. Radikal olmayan türler ise hidrojen peroksit (H_2O_2), hipokloröz asit ($HOCl$), hipobromöz asit ($HOBr$), ozon (O_3), tekli oksijen (1O_2), nitroz asit (HNO_2), nitrozil katyonu (NO^+), nitroksil anyonu (NO^-), dinitrojen trioksit (N_2O_3), dinitrojen tetraoksit (N_2O_4), nitronyum katyonu (NO_2^+), organik peroksitler ($ROOH$), aldehytler ($HCO^{\cdot}$) ve peroksinitrit ($ONOOH$). Bu radikal olmayan türler serbest radikal değildir ancak canlı organizmalarda serbest radikal reaksiyonlarını kolaylıkla başlatabilirler [102-104].

Çizelge 2.9. Metabolizma sırasında oluşturulan ROT ve RNT listesi [104]

Serbest Radikal	Sembol
Reaktif oksijen türleri-ROT	
Radikaller	
Süperoksit	$O_2^{\bullet -}$
Hidroksil	$OH^{\bullet}$
Alkoksil radikali	$RO^{\bullet}$
Peroksil radikali	$ROO^{\bullet}$
Radikal olmayanlar	
Hidrojen peroksit	H_2O_2
Tekli oksijen	1O_2
Ozon	O_3
Organik peroksit	$ROOH$
Hipokloröz asit	$HOCl$
Hipobromöz asit	$HOBr$
Reaktif nitrojen türleri-RNT	
Radikaller	
Nitrik oksit	$NO^{\bullet}$
Nitrojen dioksit	$NO_2^{\bullet}$
Radikal olmayanlar	
Peroksinitrit	$ONOO^-$
Nitrozil katyonu	NO^+
Nitroksil anyonu	NO^-
Dinitrojen trioksit	N_2O_3
Dinitrojen tetraoksit	N_2O_4
Nitröz asit	HNO_2
Peroksinitröz asit	$ONOOH$
Nitril klorid	NO_2Cl

2.7. Antioksidanlar

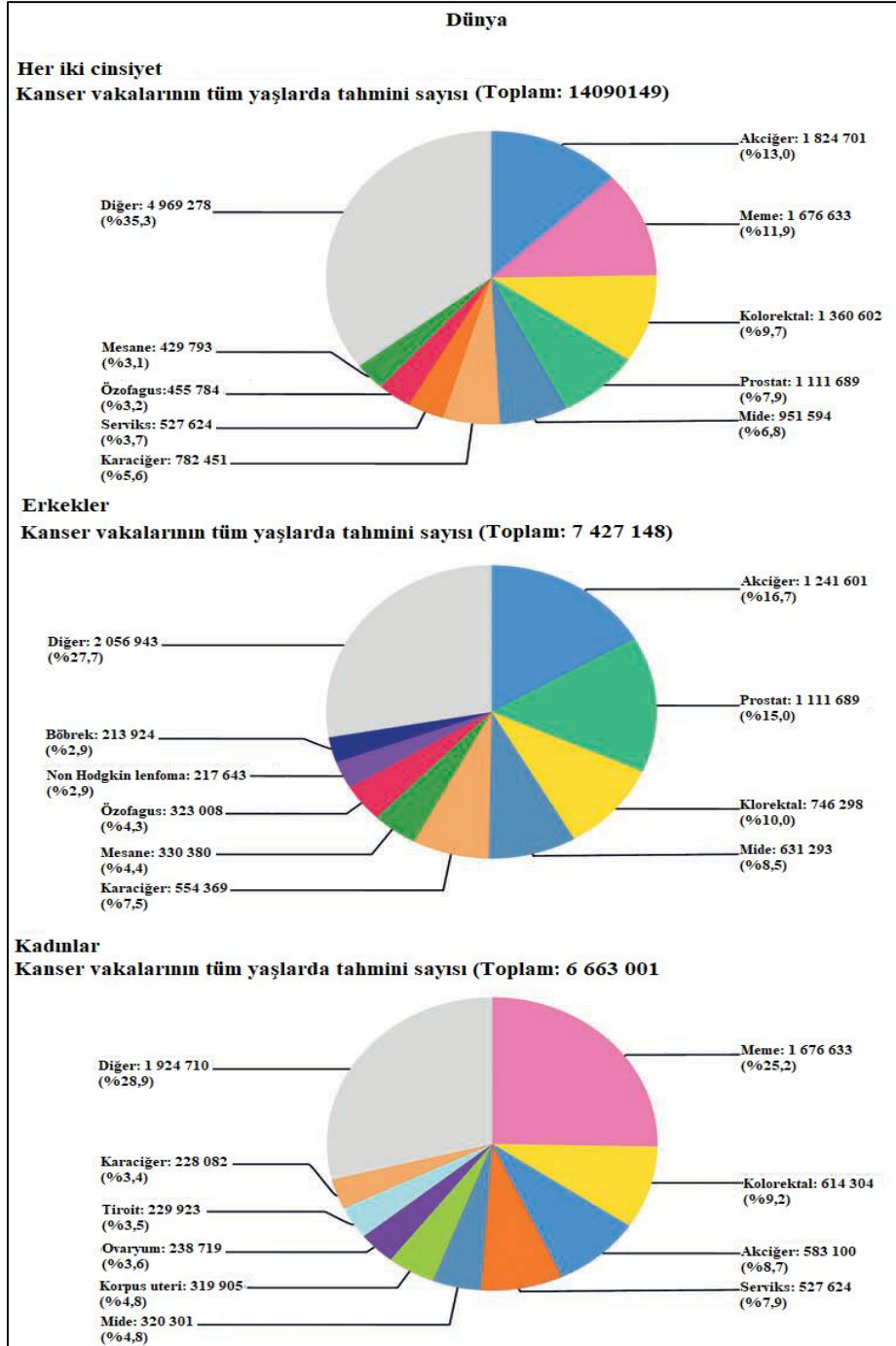
Antioksidanlar bulunduğu ortamdaki substratın oksidasyonunu geciktiren veya o substratı oksidasyona karşı koruyan bileşiklerdir. Antioksidanlar oksidatif stres, DNA mutasyonları ve diğer hücrel hasarları azaltmaktadır. Antioksidanlar genellikle reaktif oksijen türlerine etki etmekte ve böylece kanser ve diğer dejeneratif hastalıkların görülme sıklığını azaltmaktadır [103]. İnsan vücudu oksidatif stres ile baş edebilmek için antioksidan savunma sistemini kullanmaktadır. Antioksidan savunma sistemindeki antioksidanlar vücutta kendiliğinden oluşabileceği gibi (endojen antioksidanlar) çeşitli gıdalar vasıtasıyla vücuda dışarıdan da alınabilir (ekzojen antioksidanlar). Endojen antioksidanlar süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi enzim yapısında görülebilirken glutatyon, çeşitli proteinler (ferritin, transferrin, seruloplazmin, albümin gibi), ürik asit, lipoik asit, koenzim Q gibi enzim olmayan bileşikler olarak da karşımıza çıkmaktadır. Çeşitli meyve ve sebzelerde bulunan ekzojen antioksidanlar endojen antioksidatif savunma aktivitesine benzer şekilde etki gösterir. Vitamin C ve E, karotenoidler ve fenolikler ana ekzojen antioksidanları oluşturmaktadır. Diğer ekzojen antioksidan kaynakları ise vitaminler, mineraller, yağ asitleri, amino asitler gibi gıda takviyeleridir [103].

Bir antioksidan bir serbest radikale saldırdığı zaman antioksidanın kendisi okside olur. Bu yüzden vücuttaki antioksidan kaynakları sürekli yenilenmelidir. Antioksidanlar işlevini iki şekilde gerçekleştirmektedir: zincir reaksiyonlarını kırma veya koruma. Bir radikal oluştuğunda veya bir elektron aldığı anda ikinci bir radikal oluşmaktadır. Son oluşan radikal aynı aktivite ile diğer molekülü etkilemekte ve bu durum bir zincirleme reaksiyon şeklinde zararsız bir son ürüne parçalanana veya bir zincir kırıcı antioksidan (vitamin C, E, karotenoidler gibi) tarafından stabil hale getirilene kadar devam etmektedir. Bu zincir kırma reaksiyonunun klasik örneği lipit peroksidasyondur. Koruyucu yolda ise süperoksit dismutaz, katalaz veya glutatyon peroksidaz gibi bir antioksidan enzim zincir reaksiyonu başlamasını engelleyerek oksidasyona karşı korumaktadır [102].

2.8. Kanser

Kanser tüm ülke ve bölgelerdeki insanları etkileyen, sadece 2012 yılı içerisinde 14 milyon yeni vakanın ve 8 milyon kanserle ilişkili ölümün gerçekleşmesiyle en yaygın ve ölümcül hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü'nün yaptığı istatistikler bu hastalığın 2030 yılına kadar

korkunç boyutlara gelebileceğini göstermektedir [105]. Erkekler içerisinde 2012 yılı içerisinde en yaygın beş kanser türü akciğer, prostat, kolorektal, mide ve karaciğer kanseri iken kadınlarda ise meme, kolorektal, akciğer, serviks ve mide kanseridir. Tüm dünyada kanser türlerinin cinsiyetlere göre ve her iki cinsiyette birlikte dağılımı Şekil 2.15'te gösterilmiştir [106].



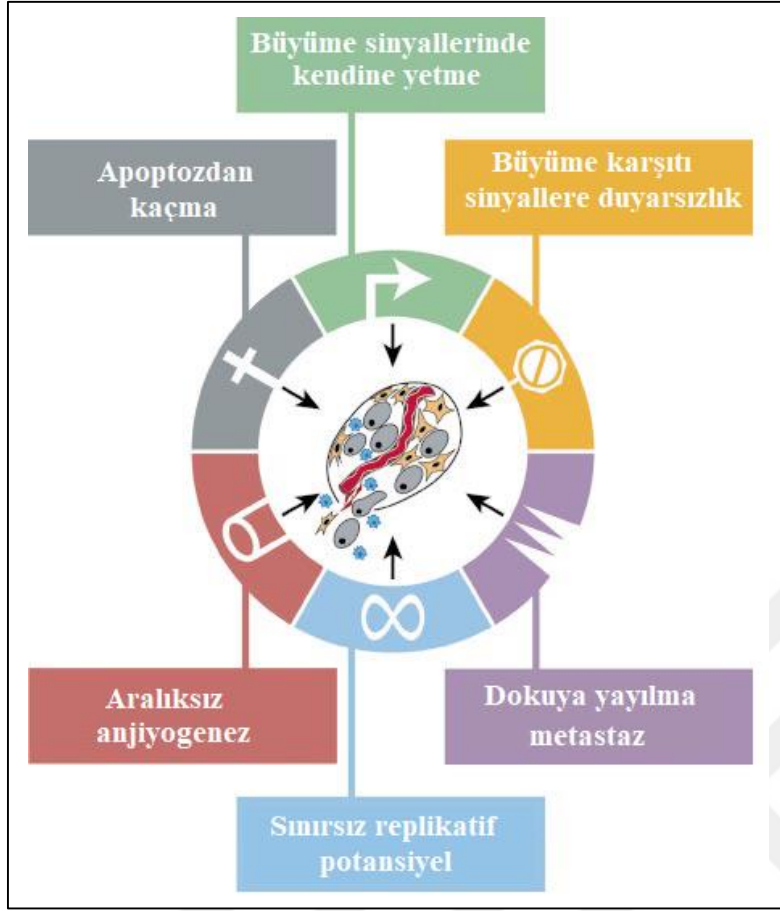
Şekil 2.15. Kanser türlerinin cinsiyetlere göre ve her iki cinsiyette birlikte 2012 yılında tüm dünyadaki dağılımı [106]

2.8.1. Kanser hücrelerinin özellikleri

Kanser hücrelerini sağlıklı hücrelerden ayıran bazı özellikler bulunmaktadır. Bu özellikler:

- Kanser hücreleri kontrolsüz bir şekilde bölünmelerini sağlayan kendi sinyal sistemlerine sahiptir.
- Kanser hücreleri telomeraz aktivitesine sahiptir ve böylece sonsuz bölünme özelliği kazanmıştır [107].
- Kanser hücreleri apoptozdan kaçır ve hücre ölümüne uğramaz.
- Kanser hücreleri yanındaki hücre ile temas sonrası büyüme inhibisyonu sistemini kaybetmiştir, bu yüzden temas sonrası büyüme durmaz ve bölünmeye devam eder [108].
- Sağlıklı hücreler mitokondriyal oksidatif fosforilasyondan gelen enerjiyi kullanırken kanser hücrelerinin beslenebilmesi için aerobik glikolizden gelen enerjiye kullanır. Sağlıklı hücrelerden 100 kat daha fazla şeker kullanırlar. Bu duruma Warburg etkisi denilmektedir [109].
- Kanser hücreleri besin ve oksijen sağlamak için yeni kan damarları oluşturabilirler. Bu duruma anjiyogenez denilmektedir [110].
- Kanser hücreleri kan dolaşımına sızarak yeni doku ve organlara yerleşip o bölgelerde de kanser oluşturabilir. Bu duruma metastaz denilmektedir [28, 111].

Özetle kanser hücrelerinin kazandığı özellikler; büyüme sinyallerinde kendine yetme, büyüme karşıtı sinyallere duyarsızlık, dokuya yayılma/metastaz, sınırsız replikatif potansiyel, aralıksız anjiyogenez ve apoptozdan kaçmadır (Şekil 2.16) [112].



Şekil 2.16. Kanser hücrelerinin kazandığı özellikler [112]

2.8.2. Kanser oluşumu

Anormal hücre döngüsü aktivitesi ile karakterize bir hastalık olan kanser sinyal yollarındaki mutasyonlar veya hücre döngü proteinlerini kodlayan genlerdeki genetik lezyonlar yüzünden oluşmaktadır [113].

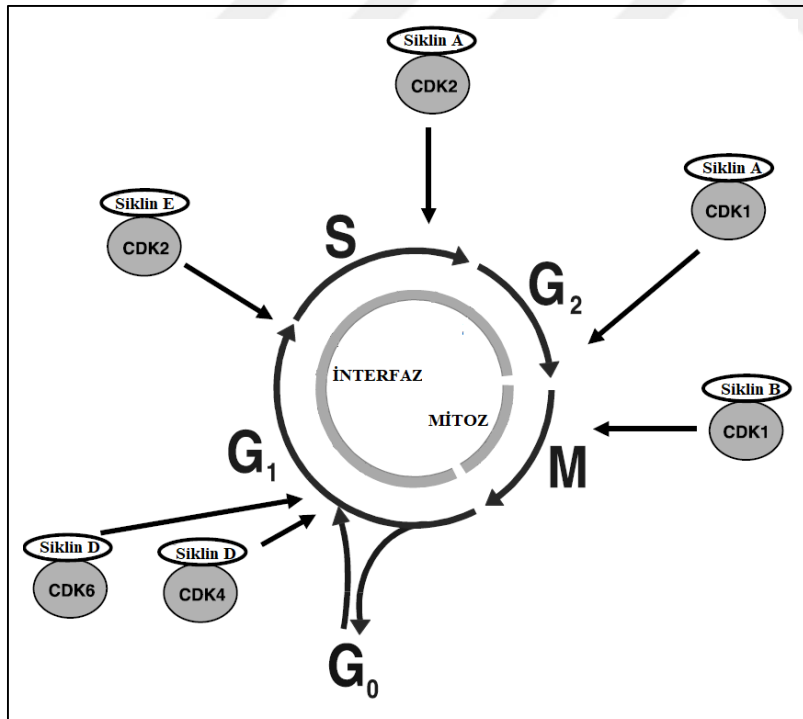
Hücre döngüsü

DNA replikasyonu ve çoğaltılan kromozomların iki farklı hücreye ayrılması olmak üzere birbirini izleyen iki işlem sonrası meydana gelen hücre bölünmesinde temel iki basamak bulunmaktadır. Bu aşamalardan mitoz çekirdek bölünmesini ifade ederken interfaz ise iki mitoz arasındaki olayları kapsamaktadır. Mitoz; profaz, metafaz, anafaz ve telofaz aşamalarından oluşmaktadır. Mikroskop altında interfazdaki hücreler boyut olarak basitçe büyüyen hücreler olarak gözükse de interfaz içerisinde G1, S ve G2 olmak üzere üç evre bulunmaktadır. DNA'nın replikasyonu interfazın S evresinde gerçekleşmektedir. S fazında

önce DNA replikasyonuna hazırlık olan G1 evresi yer alırken S fazı sonrasında ise mitoz hazırlık olan G2 evresi yer almaktadır. G1'deki hücreler DNA replikasyonu öncesi G0 olarak adlandırılan dinlenme fazına geçebilir. G0 evresindeki hücreler bölünmez ve büyümmez [114].

Hücre döngüsünün kontrolü

Memeli hücre döngüsü sırasındaki genetik materyalin eşlenmesi ve hücre bölünmesi olayları büyüme düzenleyici sinyaller ve herhangi bir genetik hasarın olmadığını denetleyen proteinlerden gelen sinyaller tarafından kontrol edilmektedir. Bunun için hücre döngüsünde dört farklı kontrol noktası bulunmaktadır. Bu kontrol noktalarındaki olaylar (G0/G1, S, G2 ve M) çeşitli siklin bağımlı kinazlar (CDK) ve bunların siklin eşleri tarafından düzenlenmektedir [113]. Hücre döngüsündeki kontrol noktaları genel hatlarıyla Şekil 2.17'de gösterilmektedir. Şimdiye kadar tanımlanmış önemli CDK/siklin kompleksleri ve bunların yer aldığı kontrol noktaları ise Çizelge 2.10'da gösterilmektedir.



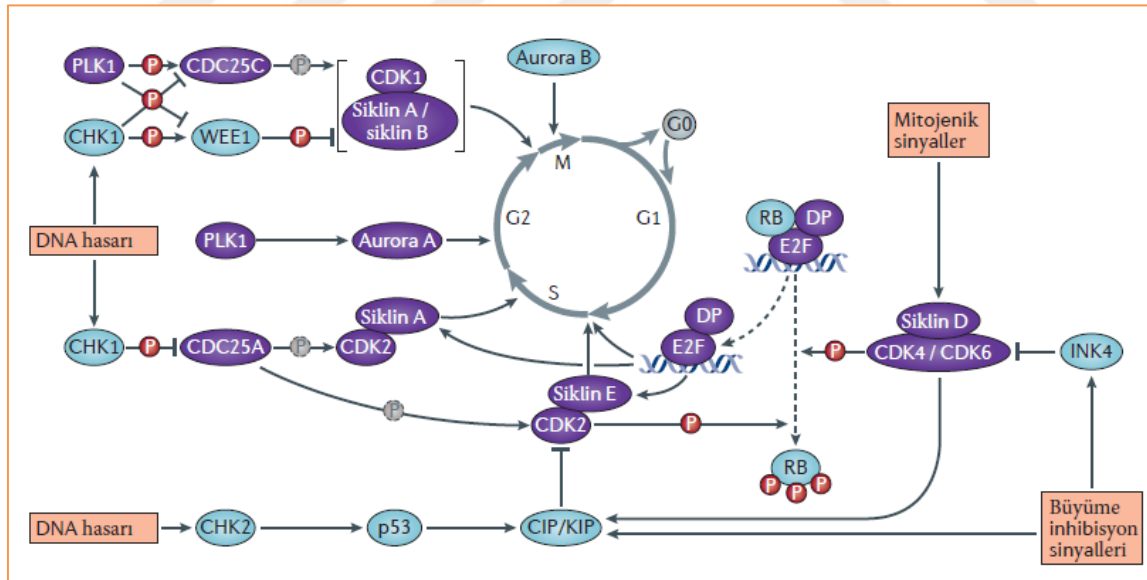
Şekil 2.17. Hücre döngüsü aşamaları ve bu aşamalarındaki CDK/siklin kompleksleri [114]

Çizelge 2.10. Önemli CDK/siklin kompleksleri [114]

CDK	Siklin	Aktivite gösterdiği hücre döngüsü basamağı
CDK4	Siklin D1, D2, D3	G1 fazı
CDK6	Siklin D1, D2, D3	G1 fazı
CDK2	Siklin E	G1/S faz geçişi
CDK2	Siklin A	S fazı
CDK1	Siklin A	G2/M faz geçişi
CDK1	Siklin B	Mitoz
CDK7	Siklin H	CAK (siklin aktive edici kinaz) tüm hücre döngüsü basamakları

CDK aktive edildiği zaman seçili proteinlerin fosforillenmesiyle işleyişi başlatır. CDK7 siklin H ile birleşerek CDK aktive edici kinaz (CAK) olarak işlev görür. Hücre döngüsü boyunca CDK proteini seviyesi onları aktive eden siklinlerin aksine stabil halde bulunur. Siklin proteini düzeyi hücre döngüsü boyunca artış ve azalış gösterir; bu yolda CDK'ları periyodik olarak aktive eder. Hücre döngüsünün farklı basamaklarında farklı siklinler gereklidir. Üç D tipi siklin (siklin D1, siklin D2 ve siklin D3) CDK4 ve CDK6'ya bağlanır. CDK-siklin D kompleksi G1 fazına giriş için gereklidir. Diğer G1 siklini olan siklin E CDK2 ile bağlantılıdır ve G1'den S fazına geçişi düzenler. Siklin A CDK2'ye bağlanır ve bu kompleks S fazı boyunca gereklidir. G2'nin sonu ve M'nin başında siklin A CDK1 ile birleşir ve M fazına geçişi düzenler. Mitoz siklin B ile CDK1'in kompleks yapmasıyla düzenlenir. Siklin A ve B bir yıkım kutusu içerirken siklin D ve E PEST [prolin (P), glutamik asit (E), serin (S) ve treonin (T) aminoasitleri bakımından zengin segmentler] dizisi içerir. Bu protein dizileri bir hücre döngüsü fazının sonundaki ubiquitin aracılı siklin proteolizinin etkili olması için gereklidir [114]. Hücre döngüsünün düzenlenmesinde yer alan siklin/CDK komplekslerinin işleyişi Şekil 2.18'de gösterilmektedir. Mitojenik sinyaller siklin ve CDK

komplekslerini aktive eder. Bu kompleks retinoblastoma proteinini (RB) de içeren çeşitli hücrel hedefleri fosforilleyerek (P) G1 fazında S fazına ilerlemesini teşvik eder. RB hiperfosforilasyonu onun büyüme baskılayıcı özelliğini zayıflatır ve E2F transkripsiyon faktör ailesi tarafından transkripsiyonun aktivasyonuna yol açar. Büyüme inhibe edici sinyaller INK4 ve CIP/KIP ailesinin CDK inhibitörlerini artırarak G1-S ilerleyişini antagonize eder. Siklin bağımlı kinaz inhibitörler (CKI) olan INK4 ailesi ve CIP/KIP ailesi üyeleri ve bunların görevleri Çizelge 2.11’de gösterilmektedir. S fazına ve G2 fazından mitoz (M) fazına ilerlerleyiş siklin/CDK kompleksleri ile birlikte Polo-benzer kinaz1 (PLK1), ve Aurora kinazlar (Aurora A ve Aurora B) gibi çeşitli diğer proteinler tarafından kontrol edilir. Ayrıca hücreler hücre döngüsünden çıkabilir ve kalıcı veya geçici olarak hücre döngüsü dinlenme fazı olan G0 fazına girebilir. DNA hasarı çeşitli özelleşmiş proteinler tarafından farkedilir ve G1 fazındaki kontrol noktası kinaz 2 (CHK2) ve p53 tarafından veya S veya G2 fazındaki CHK1 tarafından hücre döngüsü dinlenmesine yönlendirilir. Şekildeki mor halkalar hücre döngüsü ilerlemesindeki pozitif düzenleyicileri; mavi halkalar negatif düzenleyicileri ifade etmektedir. Kırmızı halka içindeki P defosforilasyonu göstermektedir. CDC25 hücre bölünme döngüsü 25’in kısaltmasıdır.



Şekil 2.18. Hücre döngüsünün düzenlenmesi ve bu yolda görevli proteinler [113]

Çizelge 2.11. Siklin bağımlı kinaz inhibitörleri (CKI) ve işlevleri [114]

CKI ailesi	İşlev	Aile üyeleri	
INK4 ailesi	G1 CDK'ları olan CDK4 ve CDK6'nın inaktivasyonu	p15	INK4b
		p16	INK4a
		p18	INK4c
		p19	INK4d
CIP/KIP ailesi	G1 siklin/CDK kompleksleri ve siklin B/CDK1'in inaktivasyonu	p21	Waf1, Cip1
		p27	Cip2
		p57	Kip2

Hücre döngüsü proteinlerinin görevleri

CDK4-CDK6-RB yolu

Birçok yetişkin dokuda hücreler G0 fazı olarak isimlendirilen, geçici (uyku hali) veya kalıcı olabilen dinlenme konumundadır. Uyku halindeki hücreler mitojenik faktörlerin uyarısı vasıtasıyla hücre döngüsüne tekrar girmek için tetiklenebilir. Bu faktörlerin birçoğu hücre döngüsünü G0 veya G1 fazından DNA replikasyonunun gerçekleşeceği S fazına ilerletmek için CDK4 ve CDK6'yı etkileyen hücre içi sinyal ağlarının kaskadlarını aktive eder. CDK4 ve CDK6 hedef proteinlerin örtüşen takımlarını fosforlar. CDK ve CDK 6'nın (bundan sonra CDK 4/6 olarak anılacak) aktivitesi çeşitli mekanizmalar tarafından kontrol edilir: D tipi siklinler (D1-3) ile birleşerek pozitif pozitif yönde; INK4 ailesinin (p16, p15, p18 ve p19) CDK inhibitörlerine bağlanarak negatif yönde. Siklin D-CDK4 ve siklin D-CDK6 kompleksleri (bundan sonra siklin D-CDK 4/6 olarak anılacak) hücre döngüsü ilerlemesi iki büyük mekanizma yoluyla düzenler. Birinci mekanizmada siklin E-CDK2 kinazın aktivitesini koruyan ve bağlanan iki CDK inhibitörü olan p21 ve p27'yi ayırır. İkinci olarak aktif siklin D-CDK 4/6 kompleksleri çeşitli hücre hedefleri fosforlar. Bunların içinde en önemli olanı retinoblastoma (RB) tümör baskılayıcı proteindir. Bu olay sonucunda E2F transkripsiyon faktörleri hücre döngüsünün G1'den S fazına ilerlemesi, DNA replikasyonu, kromatin yapısı, kromatin ayrılması ve iğ ipliği birleşme noktasıyla alakalı genlerin transkripsiyonunu aktive eder.

İnsan kanserlerinde genellikle CDK 4/6-RB yolundaki bileşenler mutasyona uğramıştır. Örneğin tüm insan kanser tiplerinde en sık çoğalan ikinci bölge siklin D1 genidir (*CCND1*). CDK4 glioblastomaların %50'sinde çoğaltılır ve melanomada nokta mutasyonla aktive edilmiştir. Buna benzer şekilde CDK6 dalak uç bölgesindeki lenfomalarda genomik translokasyon yoluyla aktive edilmiştir. *CDKN2A* geni (tümör baskılayıcılar olan p16 ve p14'ü kodlar) insan kanserlerinde en sık silinen bölgedir ve ifadesi sıklıkla promotor metilasyonu tarafından sessizleştirilir. Son olarak *RB1*'in silinmesi birçok tümör tipinde sıklıkla görülür ve bu olay sonucunda hücre çoğalması siklin D-CDK 4/6 aktivitesinden bağımsız hale gelir [113].

CDK2

CDK2 siklin A veya siklin E ile birleşerek aktive olur. Mitojenlerin yokluğunda CDK2 kompleksleri CDK inhibitörleri p27 ve p21 ile birleşerek inaktif durumda tutulur. Geç G1 fazı boyunca; siklin E genlerinin (*CCNE*) E2F aracılı transkripsiyonu, p27 ve p21'in siklin D-CDK 4/6 aracılı ayrılması ve p27 ve p21'in CDK tarafından fosforillenmesini takiben ubiquitin aracılı proteolizisinin sonucu olarak CDK aktivesi artar. CDK2 aktivitesi Tyr15'teki WEE-1 aracılı fosforilasyonla inhibe edilir. Bu inhibe edici fosforilasyon fosfatazların hücre bölünme döngüsü 25 (*CDC25*) ailesi tarafından kaldırılır. Siklin E-CDK2 kompleksleri hücre döngüsünün ilerlemesi, DNA replikasyonu ve sentrozom duplikasyonu için gerekli olan çeşitli proteinleri fosforlar. S fazı boyunca siklin E F-box/WD tekrarlarını içeren protein 7 (*FBXW7*) aracılı ubiquitilasyonu takiben hızla parçalanır ve CDK2 aktif siklin A-CDK2 kompleksini oluşturmak için yeniim sentezlenen siklin A2'ye bağlanır.

CDK2 mutasyonları nadiren insan kanserlerinde görülmektedir. *CCNE1* bölgesi yumurtalık kanseri ve meme kanseri gibi insan tümörlerinde sıklıkla çoğalmaktadır. Bazı tümör tiplerinde *FBXW7*'deki fonksiyon kaybı mutasyonlarının sonucu olarak siklin E aşırı ifade edilmektedir. Bazen genomik çoğalmanın sonucu olarak hepatoselüler karsinom, kolorektal ve meme kanseri gibi kanserlerde siklin A aşırı ifade edilmektedir. Bazı tümörlerde CDK inhibitör p27'nin ifadesinin indirgenmesini takiben CDK2 aktivitesi artmaktadır. Ayrıca çeşitli tümörlerde *CDC25A* ve *CDC25B* aşırı ifade edilmektedir [113].

CDK1

CDK1 hücre döngüsünün ilerlemesi için zorunlu olan tek CDK'dır. G2 fazı boyunca siklin A2 ve siklin B tarafından aktive edilir. Mitoza girerken siklin A2 parçalanır ve CDK1 aktivitesi B tipi siklinler ile kompleks yaparak korunur. CDK1 kinaz aktivitesi mitoz geçiş ve çeşitli mitotik olaylar için gereklidir. Mitozun sonlarında B tipi siklinler anafaz yükseltici kompleks/siklozom (APC/C) tarafından parçalanır. Bu durum CDK1 aktivitesini ortadan kaldırır ve kromozom ayrılması, mitozun tamamlanması ve sitokineze olanak verir. Siklin eşleri tarafından düzenlenmesine ek olarak CDK1 aktivitesi Thr14 ve Tyr15'teki fosforilasyon ile inhibe edilir.

CDK1 aktivitesinin değişmesi nadiren kanser oluşumuna sebep olur. Nöroendokrin prostat kanserinde *CCNB3* gen çoğalması buna örnek olarak verilebilir. *Ccnb1* ve *Ccnb2*'nin transgenik aşırı ifade edilmesi karsinojen ile uyarılmış deri ve akciğer tümörlerine duyarlılığı artırmakta ve CDK1 aktivitesindeki artışın tümör oluşumundaki rolünü açığa çıkarmaktadır. Dahası CDK1 tümörün ilerlemesi için gereklidir. Örneğin CDK1'in karaciğere özgü kaybolması NRAS-G12V teşvikli karaciğer tümör gelişimine karşı direnci sağlamaktadır. CDK1 inhibisyonu tümör hücrelerini öldürebilmektedir.

DNA hasarı kontrol noktası kinazları ve WEE1

Hücreler DNA hasarı olduğunda DNA tamirine zaman tanımak için hücre döngüsünün ilerlemesini durdurabilmek adına bazı kontrol noktalarına sahiptir. Birçok DNA hasarı kontrol noktası özel CDK komplekslerinin aktivitesini etkilemektedir. DNA hasarının tipine göre ataksi telenjektazi ve Rad3-ilişkili (ATR) veya mutasyona uğramış ataksi telenjektazi (ATM) protein kinazlar fosforlanır ve kontrol noktası kinaz1'i (CHK1, *CHEK1* geninin kodladığı) aktive eder. Benzer şekilde ATM ayrıca CHK2'yi (*CHEK2* tarafından kodlanır) aktive edebilir ve p53'ün aktivasyonuna katılabilir. P53'ün aktivasyonu siklin E-CDK2 komplekslerinin inhibisyonuna ve G1'i durdurmaya yol açan CDK inhibitör p21'in ifade edilmesini transkripsiyonel olarak indükler. Aktive edilen CHK1 CDC25A'yı fosforlayıp inaktive ederek S fazının geçici olarak durdurulmasına ve CDC25A, CDC25B ve CDC25C'yi fosforlayarak G2 kontrol noktasının durdurulmasına aracılık eder. Bu olaylar CDK2 ve CDK1 üzerindeki Tyr15'i defosforilasyondan korur. CHK1 ayrıca direkt fosforilasyon yolu ile CDK2 ve CDK1'in Tyr15 fosforilasyonunun artmış inhibisyonuna ve

G2 fazında sonraki hücre döngüsü durdurulmasına yol açan WEE1'i aktive eder. Özet olarak CHK1 özellikle inaktive p53 taşıyan kanser hücrelerinde S ve G2 fazında DNA hasarı teşvikli hücre döngüsünün durdurulmasının zorunlu aracıdır.

CHK1 ve WEE1'in kanser gelişimindeki rolü tartışmalıdır. CHK1 başlangıçta tümör baskılayıcı olarak kabul edilmekteydi. Aslında *CHEK1* bölgesinin fonksiyon kaybı mutasyonlarındaki heterozigotluk meme ve mide kanserlerinde tespit edilmişken fonksiyon kaybı mutasyonlarında homozigotluk durumu tanımlanmamıştır. Bu bulgulara uygun bir şekilde farelerde *Chk1*'in heterozigotluluğunun kaybı *Trp53*'ün (farelerde p53'ü kodlar) heterozigotluk kaybı veya Wnt1 onkogeni tarafından indüklenen meme tümörü oluşumunu artırır. Bu durumun tersine farelerde *Chk1*'in dokuya özgü homozigotluğunu kaybetmesi *Trp53* kaybıyla indüklenen meme tümörü oluşumunu inhibe eder ve karsinojenle uyarılmış deri tümörü oluşumunu önler. CHK1'in üçlü negatif meme kanseri, hepatoselüler karsinom ve rahim ağzı kanseri gibi bazı kanser türlerinde aşırı ifade edilen bir protein olması bu proteinin onkojenik rolünü göstermektedir. CHK1'in aksine CHK2'nin tümör baskılayıcı işlevinin olduğu düşünülmektedir. WEE1 kinazlar hepatoselüler karsinom, glioblastoma ve melanoma gibi çeşitli kanser tiplerinde aşırı ifade edilmektedir.

Polo-benzeri kinazlar (PLK)

Beş üyeden oluşan PLK ailesi içerisinde en detaylı olarak çalışılan PLK1'dir. G2 fazı boyunca PLK1 Aurora A'nın sentrozomal yerleşimini düzenleyerek sentrozomların olgunlaşmasına katılır. Ayrıca en az iki mekanizmayla siklin B-CDK1 komplekslerinin aktivasyonunda önemli rol oynar. PLK1 aynı zamanda DNA hasarının teşvik ettiği G2 fazının durdurulmasından kurtulmasını takiben mitoz giriş için zorunludur.

PLK1'in kanserdeki rolünün çok net olmamasına rağmen bu protein onkojenik olarak tanımlanmaktadır. Birkaç kanser türünde PLK1 kararlılığını düşüren mutasyonlar tespit edilmiştir.

Aurora kinazlar

Sitokinez ve mitozda büyük rolleri olan aurora kinazlar serin/treonin kinaz ailesindendir. Sentrozomlara yerleşen Aurora A S fazında görev alır ve sentrozom olgunlaşması, iğ

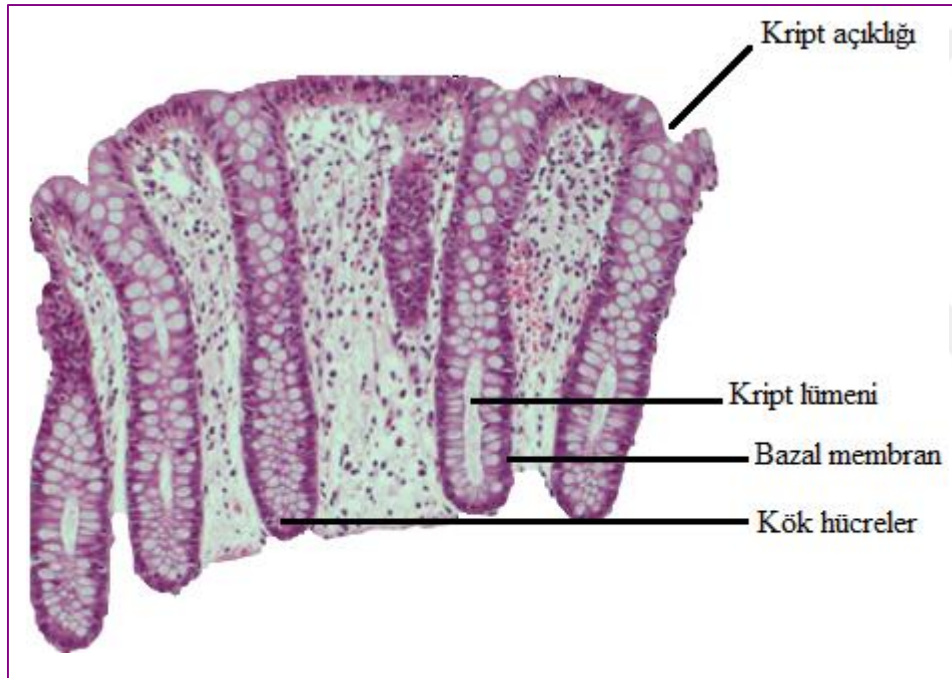
ipliklerinin toplanması ve yönelmesi için gereklidir. Ayrıca Aurora A PLK1'i fosforlar ve aktive eder; transkripsiyon faktör NMYC'nin (*MYCN* kodlar) proteozomal yıkımını önleyerek kararlı hale getirir ve böylece G1-S ilerleyişini düzenler. Mitoz boyunca Aurora B kromozomlarda ve kromozomal yolcu kompleksinin (CPC) parçası olan iğ ipliklerinde bulunur. Aurora B kromozom yoğunlaşması ve yönelmesi ile birlikte sitokinezin uygun gerçekleşmesini kontrol eder.

Aurora A'nın olması gereken yer dışında aşırı ifade edilmesi G2 fazı sırasında DNA hasarı kontrol noktalarının inaktivasyonuna ve tetraploidiye yol açan mitoz sırasında iğ ipliği toplanması kontrol noktasının inaktivasyonuna sebep olur. Aurora B'nin aşırı ifade edilmesi anöploidiye yol açan hasarlı kromozom ayılmasına neden olur. İnsan tümörleri üzerinde yapılan çalışmalar Aurora A ve Aurora B'nin onkojenik rolünü desteklemektedir. Aurora A'yı kodlayan gen (*AURKA*) prostat ve meme kanserinde sıklıkla çoğalmakta ve diğer bazı kanser tüplerinde Aurora A proteini yüksek düzeylerde oluşmaktadır. Aurora B miyelodisplastik sendrom gibi bazı kanser türlerinde aşırı ifade edilmektedir [113].

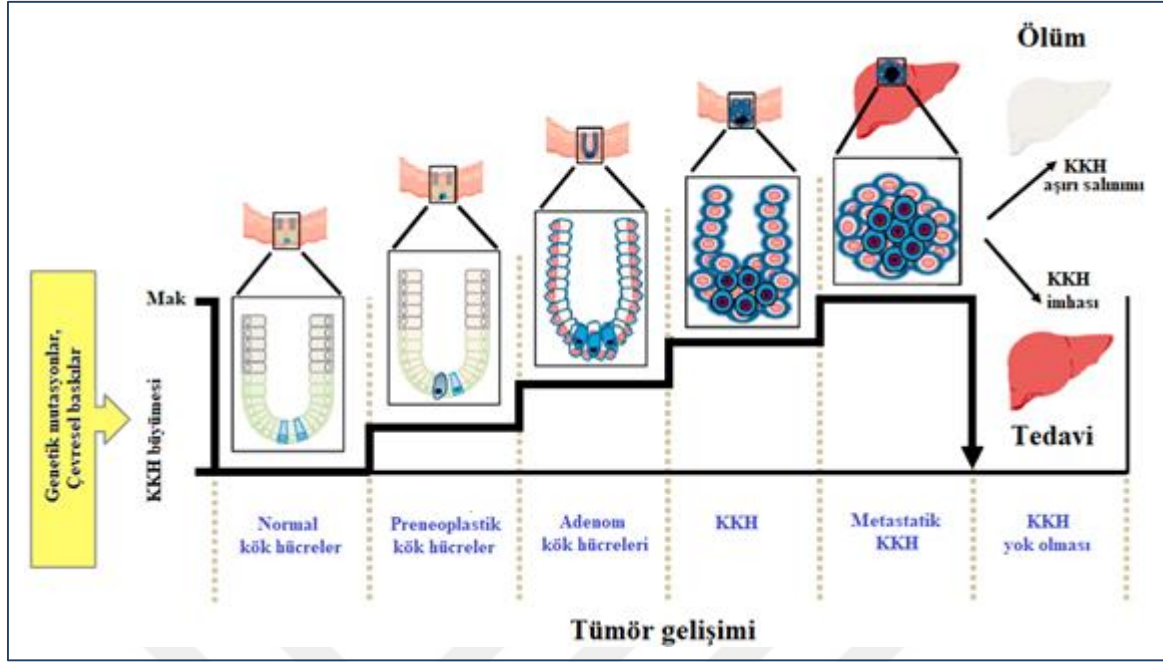
2.8.3. Kolorektal kanser

İntestinal alan; ince bağırsak (duodenum, jejunum, ileum) ve kolon veya kalın bağırsaktan oluşmaktadır. Kolon en son kısmındaki rektum bölgesi haricinde periton ile sarılmıştır ve kolonun uzunluğu yaklaşık olarak 100-150 cm'dir. Kolonun görevi su ve elektrolitlerin dışkıdan absorpsiyonu ve katı haldeki dışkının dışkılama öncesi rektuma iletilmesidir. Aynı zamanda kolondaki bakteriler tarafından besin kalıntıları, intestinal salgılar, sindirim sıvıları ve dökülen intestinal hücreler metabolize edilmektedir. Kalın bağırsak epitel tabakası parmak benzeri çıkıntı veya girintiler (kript) şeklinde katlanmış ve lamina propria tarafından sarılmış tek tabakalı silindirik epitel hücrelerinden (kolonosit/enterosit, goblet hücreleri, endokrin hücreleri) oluşmaktadır. Kriptin içinde veya yakınında bulunan kök hücreler yukarıya doğru göç ederken çeşitli farklılaşmış proliferatif olmayan epitel hücrelerine farklılaşan progenitör hücreleri oluşturmaktadır (Resim 2.5) [115-117]. Her kolonik girintinin taban kısmında kolonositleri oluşturacak olan 4-6 adet kök hücre bulunmaktadır. Sürekli ve hızlı proliferasyonun bir sonucu olarak kolonositler girintinin alt kısmından kolon lümenine doğru yaklaşık olarak saat başı bir hücre pozisyonu hızında hareket etmektedir. Böylece bir kolon girintisi 2-8 günde bir tamamen yenilenmektedir. Bu durum kolonu memelilerdeki tüm organlar içinde en yüksek proliferasyon oranlı organ yapmaktadır [116].

Kolonik kök hücreler $LGR5^+$ veya $EphB2^{high}$ olarak isimlendirilmiştir. Birkaç katı tümör tipinde olduğu gibi kolorektal kanser de farklılaşmamış kanser kök hücre topluluğunun kontrolsüz bölünmesi ile meydana gelmektedir. Kolorektal kanserin başlangıç aşamasındaki kanser hücreleri tümörler arası heterojeniteye sebep olmaktadır ve farklı fenotipik ve klinik özelliklere sahip olmasından dolayı tümör özelliklerinin tanımlanmasında önemli bir rol oynamaktadır. Çeşitli etkilerle kolorektal kanser kök hücrelerine (KKH) dönüşen intestinal kök hücreleri (İKH) metastatik özellik kazanmakta ve genellikle karaciğer dokusuna yerleşmektedir. Kolorektal kanserde tümör gelişiminin KKH ile ilişkisi Şekil 2.19'da gösterilmektedir [118].

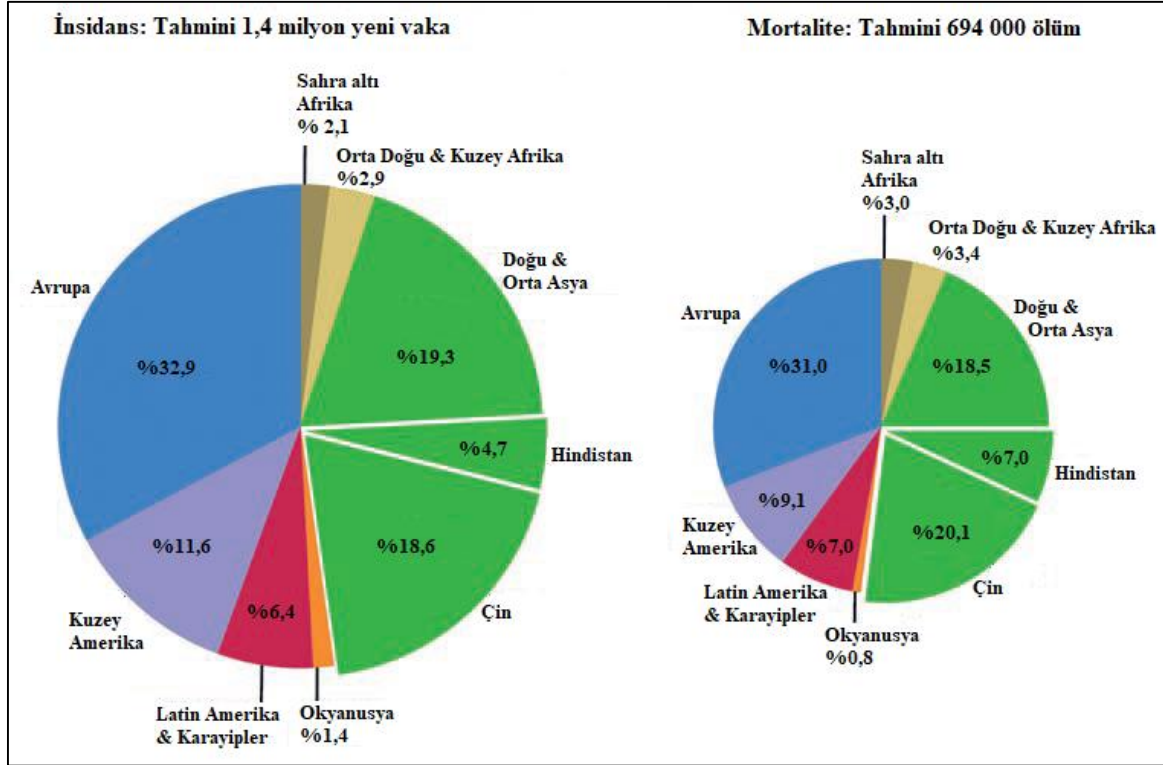


Resim 2.5. Farklılaşmış kolon epitel hücreleri ile sonuçlanan aşağıdan yukarıya olgunlaşma süreci içerisindeki kolon epitel hücreleri [115]



Şekil 2.19. Kolorektal kanserde tümör gelişimi boyunca kanser kök hücresi büyümesi [118]

Özellikle kırmızı et veya işlenmiş et gibi gıdaların tüketimi, alkol kullanımı, obezite ve özellikle abdominal bölgede yağlanma, hareketsizlik gibi faktörler kolorektal kanser oluşumuna zemin hazırlamaktadır. Bunun aksine süt, sarımsak ve kalsiyum alımı muhtemelen kolorektal kansere karşı koruyucu olmaktadır. Pişirilmiş ette bulunan iki önemli karsinojen olan heterosiklik aminler ve polisiklik aromatik hidrokarbonların risk faktörü olduğu düşünülmektedir [106]. Kolorektal kanserin tüm dünyada görülme sıklığı ve ölüm oranları Şekil 2.20’de gösterilmektedir.



Şekil 2.20. 2012 yılı içerisinde her iki cinsiyette dünya üzerindeki bölgelerde kolorektal kanser için tahmini yeni vaka ve ölüm oranları [106]

Aykan, N. F. ve arkadaşları 2015 yılında yaptıkları bir çalışmada 21 merkezdeki medikal onkoloji biriminden bir yıllık süreçte toplam 968 hasta üzerinden ülkemizdeki kolorektal kanser vakalarının istatistiğini çıkarmışlardır. Elde edilen verilere göre kolorektal kanser vakalarının ortalama $58,9 \pm 12,6$ yaşında görüldüğünü ve bu hastaların % 60,9'unun erkek bireylerden oluştuğunu tespit etmişlerdir. Hastaları kolon kanseri (KK) ve rektum kanseri (RK) olarak ayırmışlar ve kolon kanserinin %68,4'lük bir oranla rektum kanserinden (%31,6) daha sık görüldüğünü belirtmişlerdir. Yine aynı çalışmadan elde edilen verilere göre kolon kanseri Türkiye'deki coğrafi bölgeler içerisinde en çok Marmara Bölgesi'nde (%29,9) görülmekte iken rektum kanserine en sık İç Anadolu Bölgesi'nde (%26,5) rastlanmaktadır. KK ve RK vakalarının cinsiyet, yaş ve bölgelere göre dağılımı Çizelge 2.12'de gösterilmektedir. Hastalığın bölgelere göre görülme sıklığı Şekil 2.21'de verilmiştir. Bölgeler arasında KK ve RK'nin görülme sıklığının değişkenlik göstermesinin sebebi kırmızı et tüketimi gibi hayat tarzındaki farklılıklardan kaynaklanabilmektedir. İncelenen hastalar içerisinde sebze ve meyve tüketiminin düşük olması (%35,5) ve kırmızı et tüketiminin fazla olması (%47,4) bu hastalık için risk faktörleri açısından istatistiksel olarak anlamlı olmasa bile elde edilen veriler dikkat çekici olmuştur. KK ve RK'li hastaların kırmızı et ve sebze/meyve tüketim alışkanlıkları Çizelge 2.13'te gösterilmektedir. Hastalığın

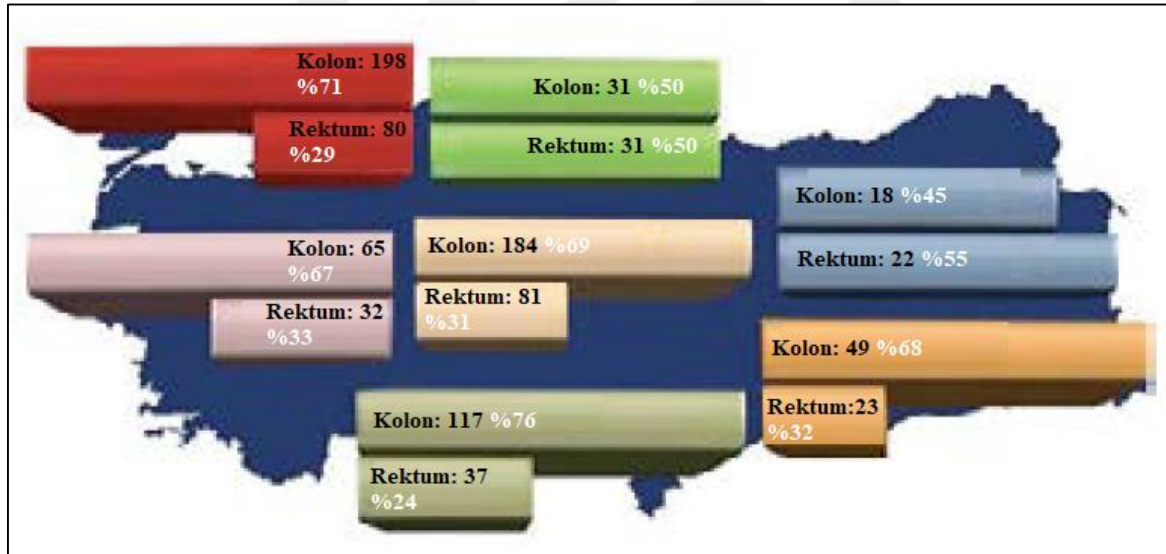
ilk semptomlarının ortaya çıkması ile tanı koyulması arasında geçen süre KK için 3 ay iken RK için 4 ay olarak belirtilmiştir. Hastaların büyük bir kısmında hastalık daha geç aşamalarda tespit edilmiştir (%35,9 hasta faz III'te, %29,7 hasta faz IV'te) ve çoğu vakada ameliyat gerekli olmuştur (%85,6). İncelenen vakaların %33,2'sinde metastaz görülmüş ve en sık metastatik bölge karaciğerdir (%57,7) [119].

Çizelge 2.12. Hastaların sosyo-demografik karakteristikleri [119]

		Kolon kanseri (KK) (n=662)	Rektum kanseri (RK) (n=306)
Cinsiyet	Kadın	260 (%39,3)	118 (%38,6)
	Erkek	402 (%60,7)	188 (%61,4)
Yaş ortalaması (yıl)		59,63 ± 12,47	57,43 ± 12,75
Yaş dağılımı	18-30	16 (%2,4)	6 (%1,9)
	31-40	37 (%5,6)	28 (%9,1)
	41-50	92 (%13,9)	53 (%17,3)
	51-60	188 (%28,4)	92 (%30,1)
	61-70	197 (%29,8)	82 (%26,8)
	71-80	113 (%17,1)	36 (%11,8)
	>81	19 (%2,9)	9 (%2,9)
Coğrafik bölgeler	Marmara	198 (%29,9)	80 (%26,1)
	Karadeniz	31 (%4,7)	31 (%10,1)
	Ege	65 (%9,8)	32 (%10,5)
	İç Anadolu	184 (%27,8)	81 (%26,5)
	Doğu Anadolu	18 (%2,7)	22 (%7,2)
	Akdeniz	117 (%17,7)	37 (%12,1)

Çizelge 2.12. (devam) Hastaların sosyo-demografik karakteristikleri [119]

		Kolon kanseri (KK) (n=662)	Rektum kanseri (RK) (n=306)
	Güneydoğu Anadolu	49 (%7,4)	23 (%7,5)
Yaşama alanı	Kasaba	92 (%13,9)	49 (%16)
	Köy	47 (%7,1)	27 (%8,8)
	Şehir	497 (%75,1)	225 (%73,5)
	Bilinmeyen	26 (%3,9)	5 (%1,6)



Şekil 2.21. Kolon ve rektum kanseri hastalarının bölgelere göre dağılımı [119]

Çizelge 2.10. Kanseri tiplerine göre kırmızı et ve sebze/meyve tüketimi [119]

	Kolon kanseri (n=662)	Rektum kanseri (n=306)
Kırmızı et tüketimi		
Yüksek (≥ 3 kez/hafta)	242 (%36,6)	121 (%39,5)
Düşük (< 3 kez/hafta)	350 (%52,9)	159 (%52,0)
Hiçbiri	70 (%10,6)	26 (%8,5)
Diyette meyve ve sebze bulunması		
Yüksek (≥ 3 kez/hafta)	411 (%62,1)	213 (%69,6)
Düşük (< 3 kez/hafta)	184 (%27,8)	72 (%23,5)
Hiçbiri	67 (%10,1)	21 (%6,9)

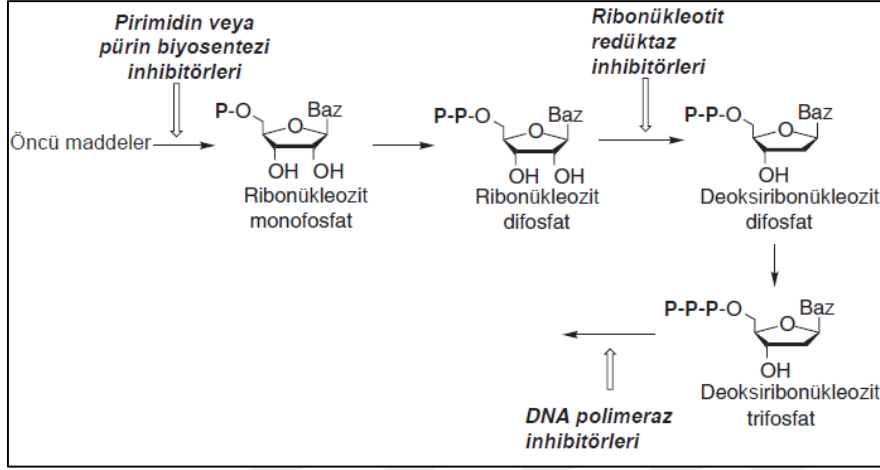
Tüm dünyadan elde edilen birçok epidemiyolojik veri göstermektedir ki beslenme alışkanlıkları ve hayat tarzı kolorektal kanserin gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. Bunun yanı sıra bağışıklık aracılı mekanizmaların ve inflamasyonun kolorektal kanser oluşumu üzerine etkisi çok net olmamakla birlikte inflamasyon ve kanser oluşumu arasında bir bağlantı bulunmaktadır. Bağışıklık hücreleri, sitokinler ve diğer bağışıklık elemanları kadar konak/mikrobiyom ilişkisinin bozulması da kolonda tümör oluşumunun tüm basamaklarında önemli rol oynamaktadır [116].

2.8.4. Kanseri tedavisinde kullanılan ilaçlar

Kanseri tedavisinde radyoterapi ve cerrahi temelli uygulamaların haricinde başarılı bir şekilde kullanılan yöntemlerden biri de kemoterapidir. Kemoterapide kullanılan ilaçların etkili olması kanserin tipine, hangi aşamada olduğuna ve bulunduğu dokuya bağlıdır. Klinik kullanımda olan birçok antikanser ilacın hedefi hücre bölünmesini inhibe eden bazı mekanizmalarla tümör hücrelerini öldürmektir [120]. Antikanser ilaçlar etki mekanizmasına göre DNA interaktif ajanlar, antimetabolitler, antitubulin ajanlar, moleküler hedefli ajanlar, hormonlar, monoklonal antikorlar ve diğer biyolojik ajanlar olarak sınıflandırılmaktadır [29].

Antimetabolitler

Antimetabolitler zorunlu biyosentez yolları ile etkileşime girerek etki gösteren en eski antikanser ilaç sınıfıdır. Birçok antimetabolit ilaç nükleik asit sentezine müdahale ederek işlevini gerçekleştirmektedir. DNA biyosentezine etki eden antimetabolitlerin yer aldığı basamaklar Şekil 2.22’de gösterilmektedir.



Şekil 2.22. DNA biyosentezine müdahale eden antikanser ilaç tipleri [120]

5-florourasil ve merkaptopürin gibi pirimidin ve pürin analogları; metotreksat gibi metabolizmadaki zorunlu enzimatik yollara müdahale eden antimetabolitler nükleik asit biyosentezini inhibe etmektedir. Antimetabolit ilaçların inhibe ettiği çeşitli biyosentez yolları ve enzimlerin listesi Çizelge 2.14’te gösterilmektedir [120].

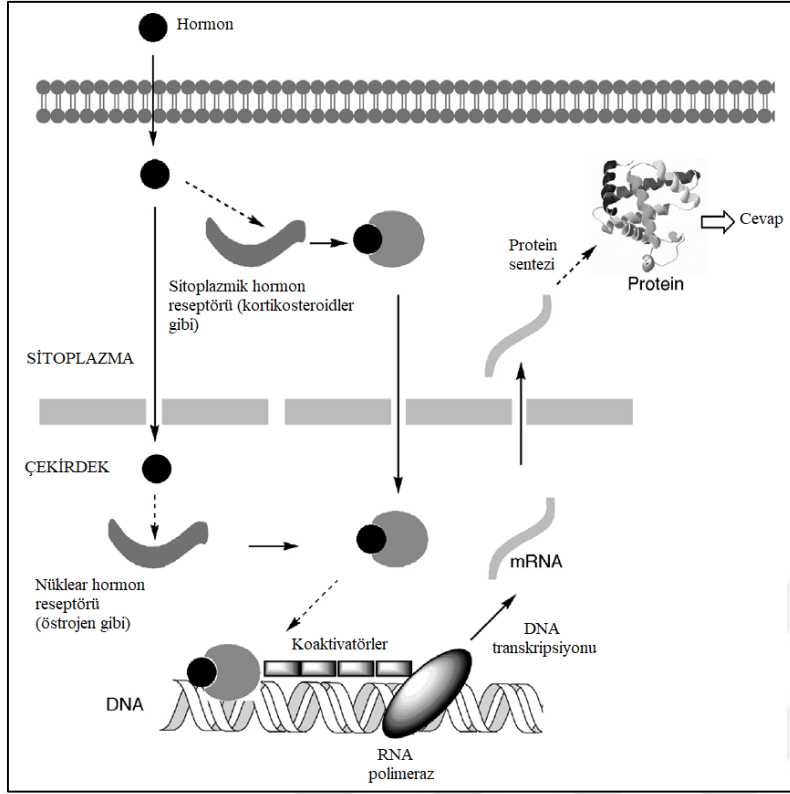
Çizelge 2.11. Çeşitli biyosentez yolları ve enzimleri inhibe eden antimetabolit ilaç sınıfları

Üridilik asit biyosentezi inhibitörleri
Ribonükleotit redüktaz aracılığıyla 2'-Deoksiribonükleotit biyosentezi inhibitörleri
Timidilik asit biyosentezi inhibitörleri
Dihidrofolat redüktaz inhibitörleri
<i>De novo</i> pürin biyosentezi inhibitörleri
Adenozin deaminaz inhibitörleri
DNA sentezindeki son basamakların inhibitörleri
Antimetabolit enzimler

Hormon aktivitesini inhibe eden antikanser ilaçlar

Hormonlar içerisinde yer alan steroid hormonlar çeşitli tümör tiplerinin gelişmesi ve tetiklenmesinde etkindir. Bu yüzden kanser tedavisinde antihormonlar önemli bir yer tutmaktadır. Östrojen ve androjen reseptörlerine etki eden bileşikler meme ve prostat kanserlerinin tedavisinde kullanılırken lenfoid dokular üzerindeki fonksiyonu sebebiyle kortikoidler miyeloma ve lenfoma tedavisinde kullanılmaktadır.

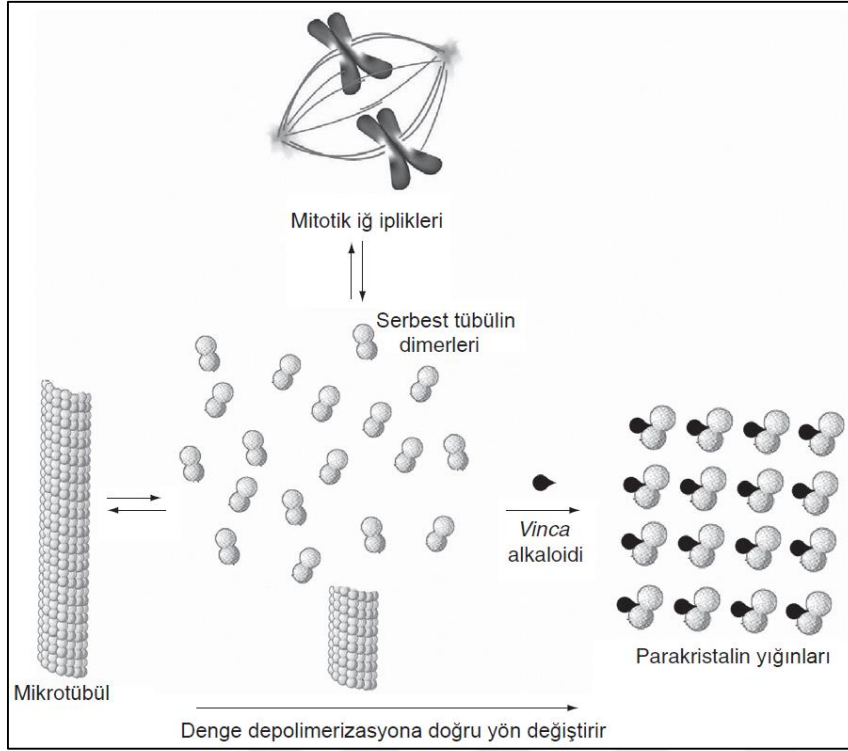
Steroid hormon reseptörleri özel bir steroid molekülü için bağlanma bölgesi bulunduran sitoplazmik veya nüklear proteinlerdir. Bu steroid moleküllerine yanıt veren elementler bir genin promotorunun parçası olan DNA dizilerine bağlanır. Bu bağlanma promotor tarafından kontrol edilen geni aktive eder veya baskılar. Bir steroid hormon tarafından gen transkripsiyonunun başlatılması için sırasıyla gerçekleşmesi gereken adımlar Şekil 2.23'te gösterilmektedir. Antikanser ilaçların bazıları bu steroid hormonların biyosentezini inhibe ederek, hormon reseptörlerine bağlanıp onları etkisiz hale getirerek veya steroid hormon sentezinde görev alan enzimleri inhibe ederek etkisini göstermektedir [120].



Şekil 2.23. Bir steroid hormon tarafından gen transkripsiyonunun başlatılması [120]

Antitübülin ajanlar

Mikrotübüller ökaryotik hücrelerde hücre iskeletinin oluşması ve hücre hareketinin sağlanması için gerekli olan ipliksi hücre içi yapılardır. 13 paralel protofilamente tübülün dimerlerinin bağlanması ile mikrotübüller oluşmaktadır. Tübülün α ve β olarak isimlendirilen iki alt birim içeren bir proteindir. Hücre bölünmesi sırasında kromozomların doğru bir şekilde ayrılması için ökaryotik hücreler tarafından kullanılan mitotik iğ iplikleri mikrotübüllerden oluşturulan çok önemli bir yapıdır. Birçok önemli antitümör ilaç tübülünlere bağlanıp onların polimerizasyonunu inhibe ederek veya mikrotübüllere bağlanıp depolimerizasyonunu inhibe ederek etkisini göstermektedir. Bu duruma örnek olarak *Vinca* alkaloidinin tübülün dimerlerine bağlanmasının bir sonucu olarak mikrotübüllerin depolimerizasyonu verilebilir (Şekil 2.24) [120].



Şekil 2.24. Vinca alkaloidinin tübülün dimerlerine bağlanmasının bir sonucu olarak mikrotübüllerin depolimerizasyonu [120]

DNA ile etkileşime girerek etki gösteren antikanser ilaçlar bir sonraki bölümde ele alınmıştır.

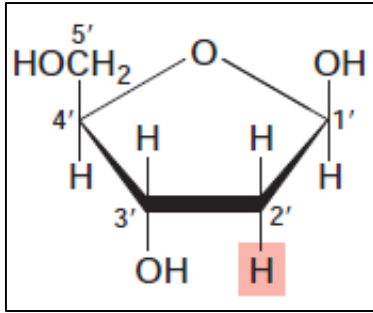
Bu kemoterapi ilaçları kanser hücrelerini öldürmede başarılı olsa da göstermiş olduğu yan etkiler hastaların yaşam kalitesini oldukça düşürmektedir. Antikanser ilaç olarak bugüne kadar birçok bileşik kullanılmakla birlikte daha etkili ve en az yan etkisi olan antikanser ilaç üretimi için hala çalışmalar devam etmektedir. Farklı yan gruplara sahip siklofosfazen türevleri antikanser ilaçlar için iyi bir potansiyel oluşturmaktadır [31-33]. Yapılan bazı çalışmalarda fosfazen türevlerinin çeşitli kanser hücre hatları üzerine sitotoksik etki göstermesi bu bileşiklerin antikanser ilaç olarak kullanılabileceğini göstermiştir [23]. Kullanılan bazı antikanser ilaçları kanser hücrelerinde DNA'ya bağlanıp bu hücrelerin bölünmesini durdurabilmektedir. Antikanser ilaç araştırmalarında üzerinde çalışılan maddenin DNA ile etkileşime girip girmediğinin belirlenmesi bu açıdan önem taşımaktadır. Yapılan araştırmalar fosfazen türevlerinin DNA ile etkileşime girip DNA'nın yapısını değiştirdiğini göstermektedir [10, 25, 57, 121-124]. Yeni sentezlenecek olan fosfazen bileşiklerinin hem kanser hücre hatları üzerine sitotoksik etkisinin hem de DNA ile

etkileşiminin belirlenmesi bu maddelerin antikanser ajan olarak değerlendirilmeleri konusunda ilerleme kaydedilmesini sağlayacaktır.

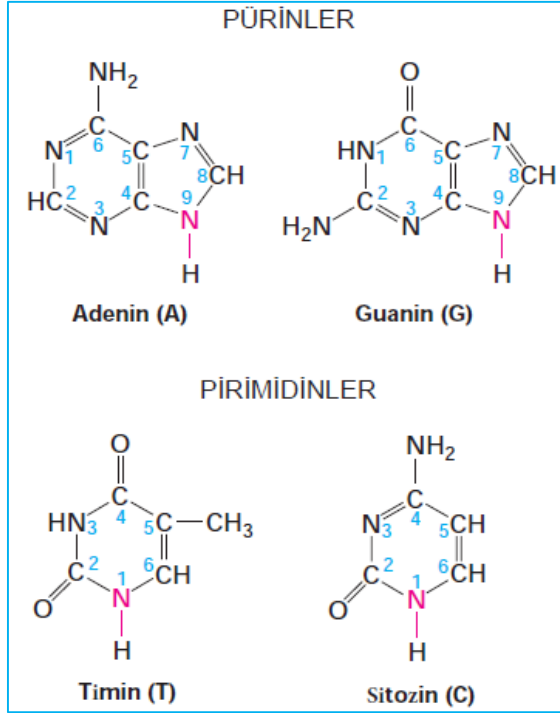
2.9. İlaç-DNA Etkileşim Mekanizmaları

2.9.1. DNA'nın genel yapısı

Canlı hücrelerde kalıtsal bilgiyi taşıması, genetik bilginin replikasyon ve transkripsiyon yoluyla protein ve enzim gibi hayati önem taşıyan moleküllerin sentezlenmesinde görevli olması sebebiyle DNA yaşamın devamı için en önemli moleküldür [125]. DNA'nın kimyasal yapısına bakıldığında zaman nükleotit monomerlerinin bir araya gelmesiyle oluşmuş doğrusal bir polimer olduğu görülmektedir. DNA'nın yapıtaşı olan nükleotitlerin yapısında bir adet 5 karbonlu deoksiriboz şekeri (Şekil 2.25), bu şekerin 5. karbonuna bağlı fosfat grubu ve bir adet organik baz bulunmaktadır. DNA'daki nükleotitlerin yapısına katılan azotlu bazlar adenin (A), guanin (G), sitozin (C) ve timindir (T). Bu bazlardan adenin ve guanin çift halkasal yapı içerip pürin bazları olarak isimlendirilirken sitozin ve timin tek halka içerip pirimidin bazları olarak isimlendirilir (Şekil 2.26).

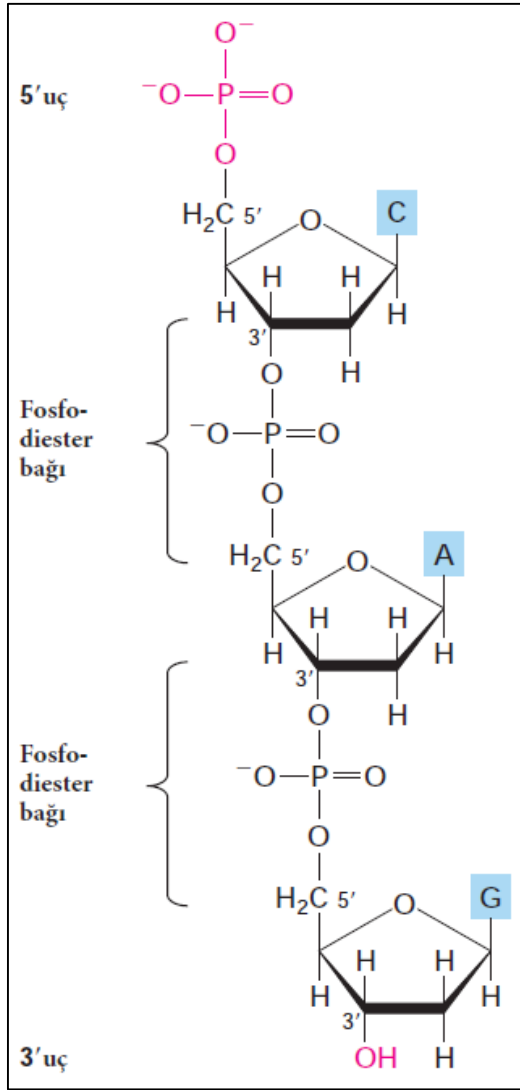


Şekil 2.25. Deoksiriboz [126]



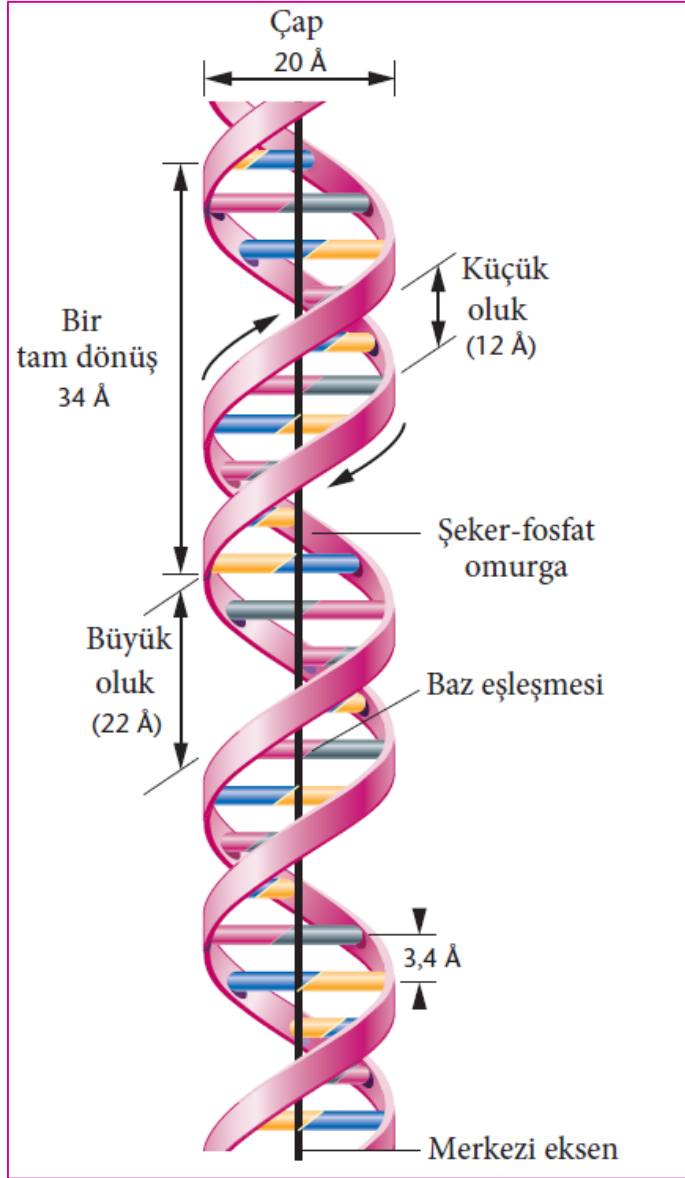
Şekil 2.26. DNA'yı oluşturan nükleotitlerde bulunan azotlu bazlar [126]

Bir nükleik asit zinciri oluşturulurken arka arkaya gelen iki nükleotit arasında fosfodiester bağı kurulur. Oluşan nükleik asit zincirinin sabit bir yönelimi vardır. Her zaman 5' uçta son şekerin 5' karbon atomuna bağlı bir hidroksil veya fosfat grubu bulunurken 3' uçta ise son şekerin 3' karbon atomuna bağlı bir adet hidroksil grubu bulunmaktadır (Şekil 2.27).

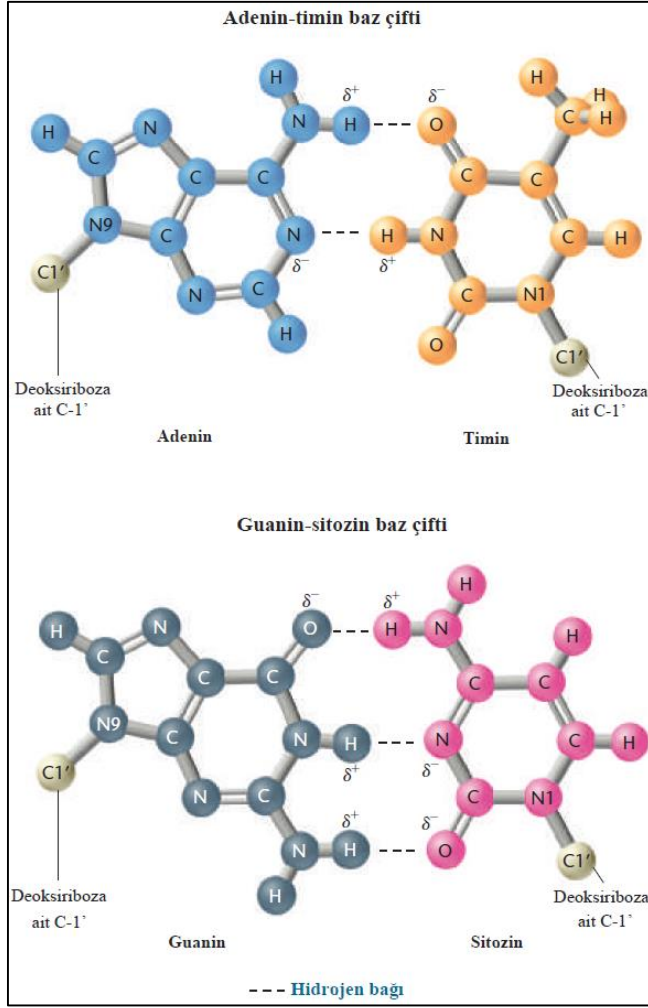


Şekil 2.27. Bir nükleik asit zincirinin kimyasal yapısı [126]

James Watson ve Francis Crick 1953 yılında yayınladıkları makalede DNA'nın ikili sarmal şeklinde bulunduğunu söylemişler ve önerdikleri bu DNA modeli bilim dünyasında kabul görmüştür [127]. Watson ve Crick tarafından önerilen DNA çift sarmalı modeli Şekil 2.28'de gösterilmektedir [128]. Bu modele göre baz eşleşmesi ve iki baz arasında oluşan hidrojen bağları Şekil 2.29'da gösterilmektedir.



Şekil 2.28. Watson ve Crick tarafından önerilen DNA çift sarmalı [128]



Şekil 2.29. Adenin-timin ve guanin-timin baz eşleşmesi ve aradaki hidrojen bağları [128]

2.9.2. DNA ile etkileşime giren ilaçların etki mekanizmaları

Halen kullanımda olan ve geliştirme aşamasında olan birçok ilacın farmakolojik hedefi DNA'dır. Transkripsiyon ve replikasyona müdahale ederek hücre fonksiyonunu düzenlemek için DNA'yı hedef olarak seçmek daha mantıklı ve kısa yoldan sonuca götürme potansiyeli yüksek olan bir yoldur [129]. DNA'ya bağlanma özelliği olan birçok molekül anti-kanser aktivitesini replikasyona müdahale edip tümör hücrelerinin gelişimini inhibe ederek göstermektedir [130]. Bu yüzden DNA'ya bağlanma aktivitesi yeni bir antikanser ajan tasarlama aşamasında en önemli faktördür [131].

Antikanser ilaçlar ile DNA arasında etkileşim temelde 3 farklı yol izlenerek gerçekleşmektedir. Birinci yolda ilaçlar DNA'ya bağlanan proteinler ile etkileşime girerek transkripsiyon faktörleri ve polimerazları kontrol ederler. İkinci yolda RNA'ya bağlanma

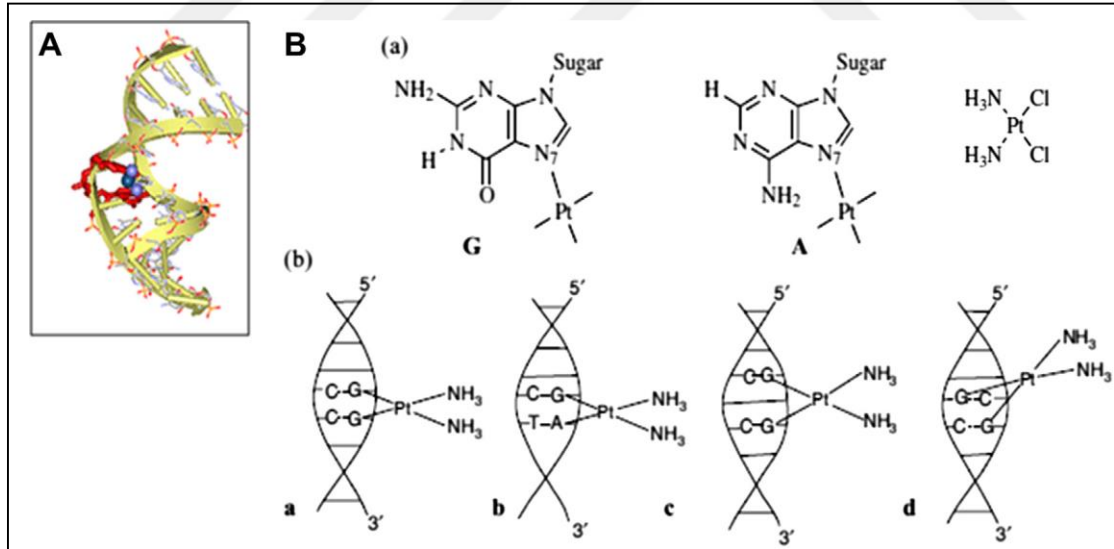
yoluyla transkripsiyonel aktiviteye müdahale ederler. Üçüncü yolda ise küçük aromatik ligand moleküllerinin DNA ikili sarmalına bağlanmasını içermektedir [125].

İlaç-DNA bağlanmasının kovalent ve kovalent olmayan bağlanma şeklinde iki mekanizması bulunmaktadır.

Kovalent bağlanma mekanizması

İlaç-DNA etkileşimini kovalent şekli geri dönüşümsüz bir yoldur ve her zaman DNA işleyiş sürecinin tümünün inhibisyonuna sebep olarak sonuçta hücreyi ölüme götürmektedir. Kovalent bağlayıcıların en büyük avantajı yüksek bağlanma kuvvetidir [132]. *Cis*-platin antikanser ilaç olarak kullanılan en bilinen kovalent bağlayıcıdır ve DNA bazlarındaki azot ile kloro grupları yoluyla iplik içi veya iplikler arası çapraz bağ yapar (Bkz. Şekil 2.30) [129].

Kovalent bağlayıcılar kanser tedavisinde DNA'ya bir alkil grubu (C_nH_{2n+1}) eklediği için alkilleyici ajanlar olarak da adlandırılmaktadır.



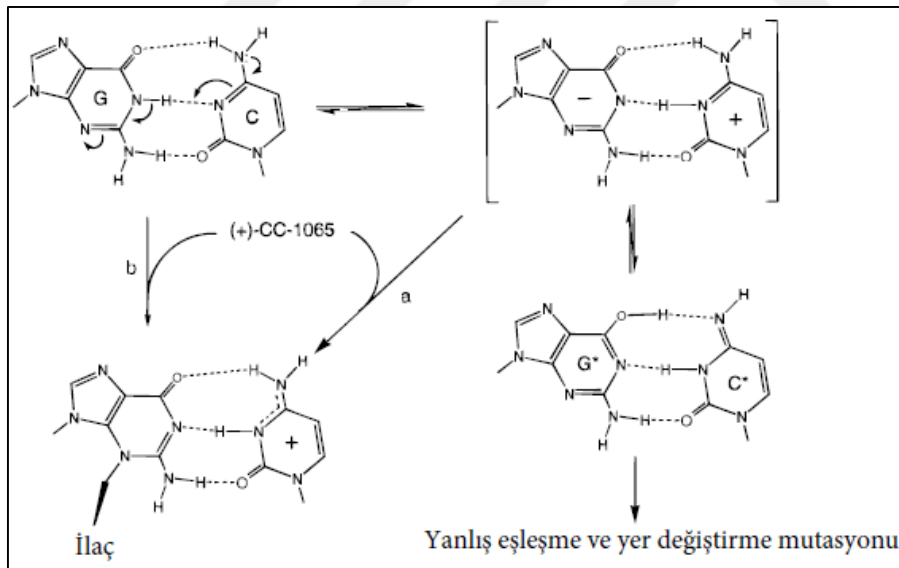
Şekil 2.30. (A) Cis-platin'in DNA'ya kovalent bağlanması. B. (a) Cis-platin'in Guanin (G) ve Adenin'e (A) bağlanma mekanizması; (b) 1,2-iplik içi GpG (yapı a), 1,2-iplik içi ApG (yapı b), 1,3-iplik içi GpNpG (yapı c), 1,2-iplik arası GpG (yapı 4) [129]

Alkilleyici ajanlar

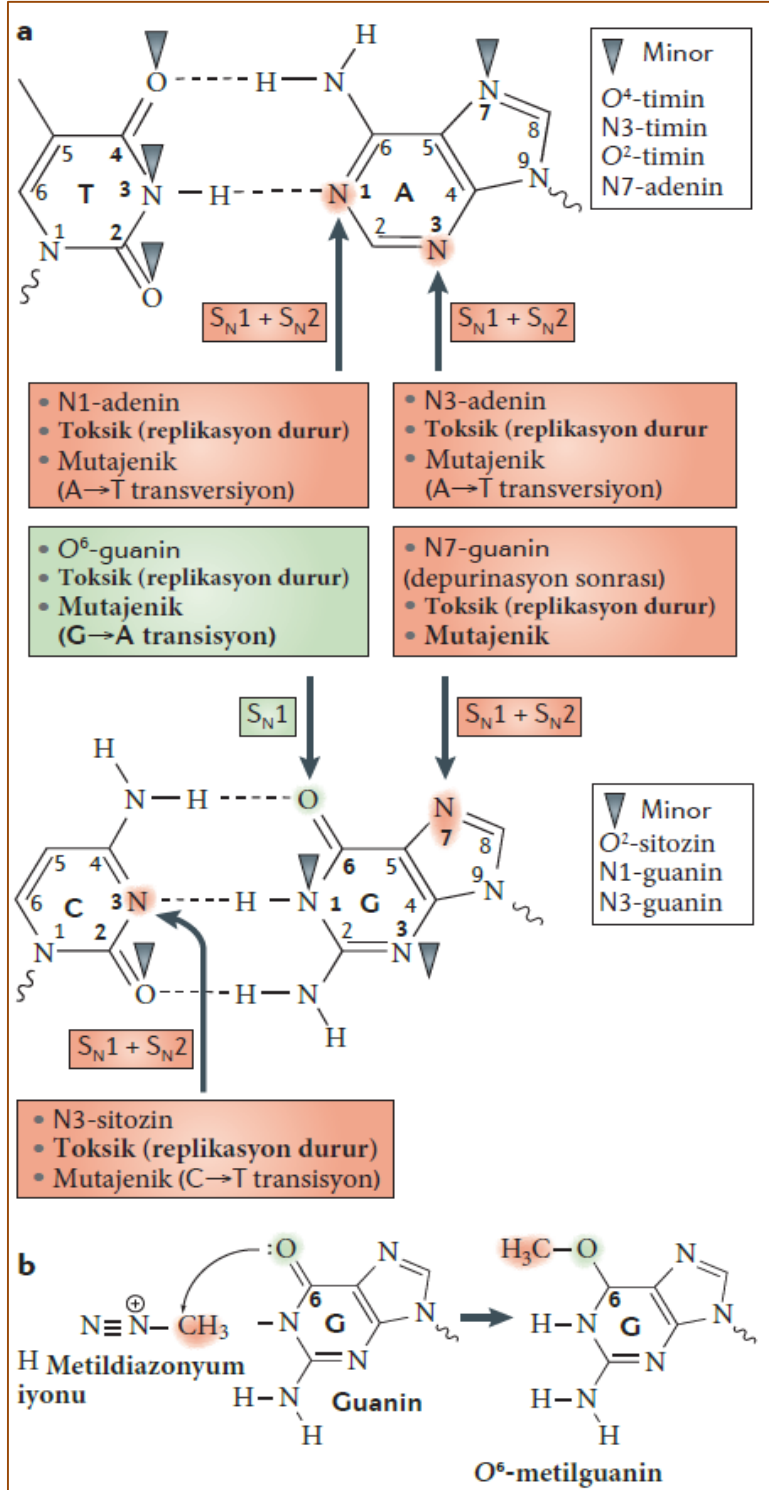
Reaktif kimyasalların yaygın bir ailesi olan alkilleyici ajanlar biyolojik moleküllerin birçok sınıfına alkil grubu eklemektedir. Dış kaynaklı alkilleyici ajanların başlıca kaynağı hava, su,

gıdalar ve tütün dumanı, yakıt artıkları gibi kirleticilerdir. Oksidatif hasar sonucu oluşan yan ürünler gibi içsel kaynakları da bulunabilmektedir. Alkilasyon hasarının sebep olduğu sitotoksik, teratojenik ve karsinojenik etkilerinin olması insan sağlığını tehdit etmektedir. Tüm bu etkilerine rağmen bazı toksik alkilleyici ajanlar kanser hücrelerini öldürmesi sebebiyle kanser hastalarında kemoterapötik ilaç olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [133]. Bu ilaçlar DNA molekülünde ait olmadığı bir yere metil veya başka bir alkil grubu eklemektedir. Bu dönüşüm yanlış baz eşleşmesine sebep olduğundan DNA'nın doğru kullanımını inhibe etmekte ve yanlış kodlanmasına sebep olmaktadır [129].

Alkilleyici ilaçlar halen sıklıkla kullanılan en eski antikanser ilaç sınıfıdır ve birçok tip kanserin tedavisinde önemli bir rol oynamaktadır. Alkilleyici ilaca örnek olarak guanindeki N3'ün (+)-CC1095 (antitümör antibiyotik) tarafından alkilenmesi Şekil 2.31'de gösterilmektedir [134]. DNA bazları üzerindeki alkilenme bölgeleri guanin bazının alkilleyici bir ajan ile alkilenerek O⁶-metilguanine dönüşümü Şekil 2.32'de gösterilmektedir [133].



Şekil 2.31. Guanindeki N3'ün (+)-CC1095 tarafından alkilenmesinin muhtemel mekanizmaları (a) G-C baz çiftinin enol-G-imino-C tautomeri vermek için tautomerizasyonu, (b) düzenlenmiş mekanizma [134]



Şekil 2.32. DNA bazları üzerindeki alkillenme bölgeleri (a) Alkilleiyici ajanlar kovalent alkil lezyonlarını oluşturmak üzere DNA bazlarının azot ve oksijen atomları ile tepkimeye girmektedir. DNA bazları üzerindeki alkilasyonun major bölgeleri ve alkilasyonun biyolojik etkileri kırmızı ve yeşil ile gösterilirken minor bölgeler gri ok ucu ile işaretlenmiştir. (b) kemoterapötik bir alkilleiyici ajan olan temozolomidin metildiazonyum iyonu ile O⁶-metilguanin DNA lezyonununa dönüşen guaninin O⁶ pozisyonu ile arasındaki DNA alkilasyon reaksiyonu alkillenmeye bir örnektir [133]

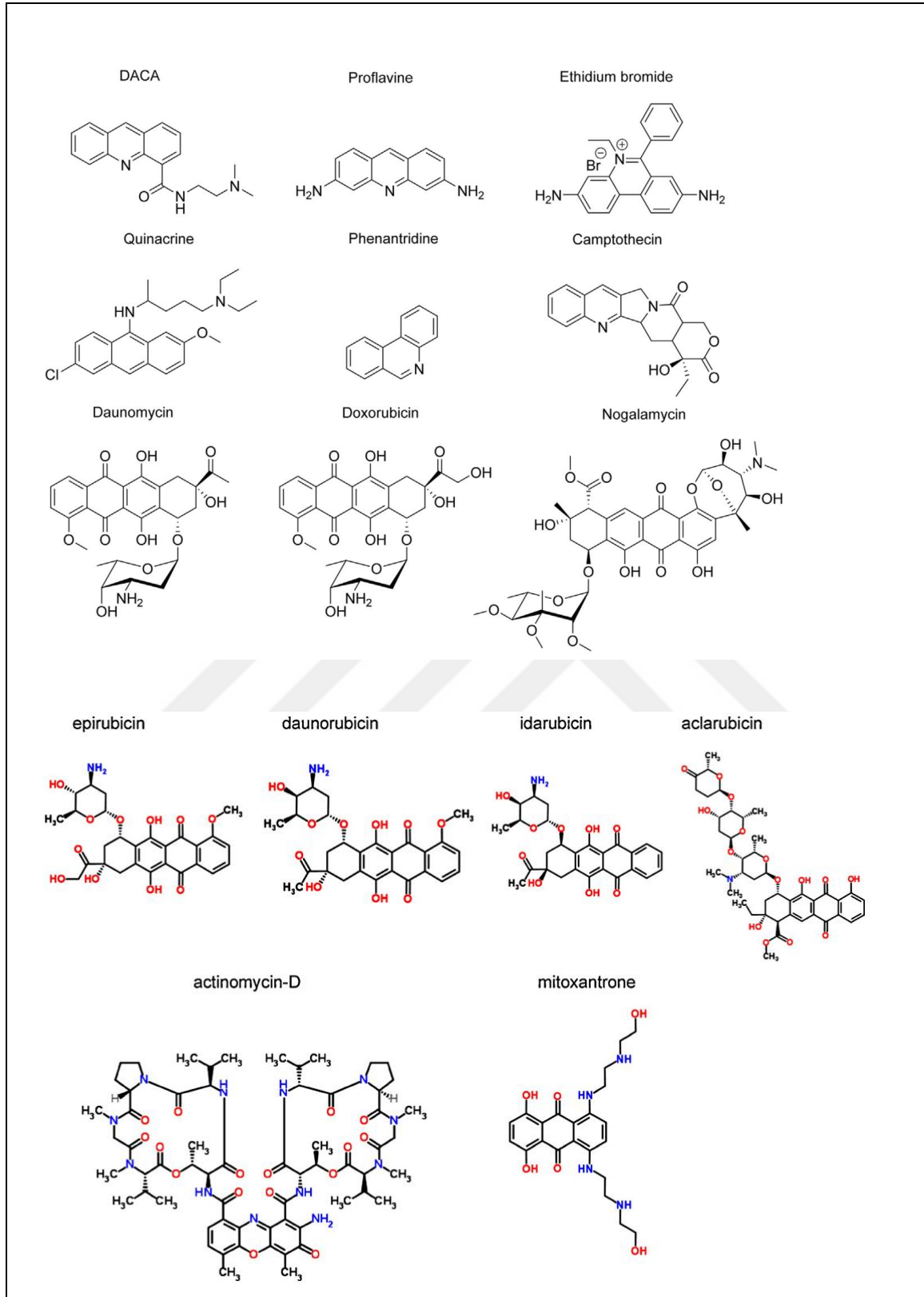
Kovalent olmayan bağlanma

Kovalent olmayan DNA etkileyen ajanlar, DNA-oluk bağlayıcılar ve DNA interkalatörleri kovalent olarak DNA'ya bağlanan ajanlar ve diğer DNA hasarlarına göre daha az sitotoksiktir. Kovalent olmayan bileşik-DNA etkileşiminin karmaşık moleküler ve biyokimyasal yollar üzerindeki etkisi henüz tam belirlenememesine rağmen DNA üzerinde konformasyonel ve yapısal karışıklıklar, topoizomerazlar gibi DNA protein ilişkilerine müdahale gibi önemli etkileri olmasının yanı sıra mitokondriyal DNA ve fonksiyonları üzerine de etkileri olduğu bilinmektedir. Kovalent olmayan bağlanma tersine çevrilebilir bir mekanizmadır. İlaç-DNA bağlanmasının kovalent olmayan bölümü interkalasyon, oluk bağlanma ve dış bağlanma (heliksin dış tarafı üzerinden) olmak üzere 3 ayrı tipte sınıflandırılmaktadır [129].

İnterkalasyon

Farmakolojik olarak aktif moleküllerin önemli bir kısmı DNA'daki baz çiftleri arasında interkalasyon yapıp bunun sonucunda DNA fonksiyonu ve replikasyonuna müdahale ederek ve topoizomeraz aktivitesini engelleyerek etki göstermektedir. Bazı interkalatörler çift topoizomeraz I/II gibi davranabilmektedir. Topoizomeraz inhibisyonu da DNA replikasyonunu durdurarak hücreleri ölüme götürmektedir [135]. Bu durum ayrıca interkalatörlerin transkripsiyonu düzenleyen ve kontrol eden çeşitli proteinlere bağlanmalarından kaynaklanmaktadır [136].

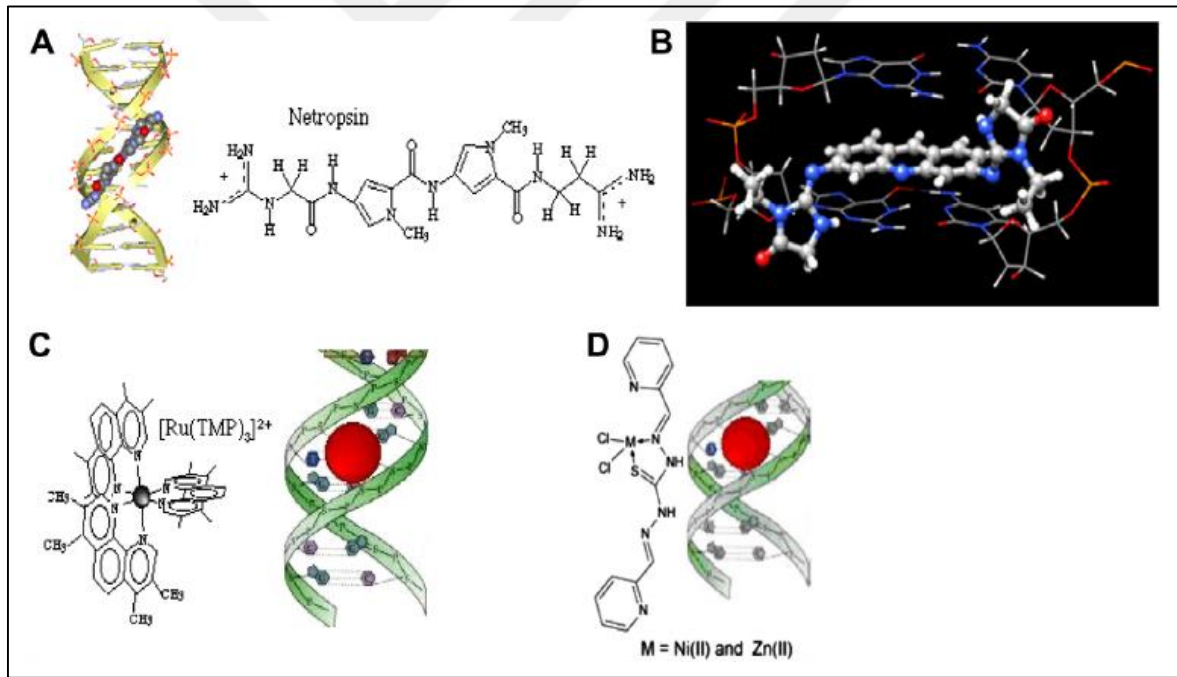
İnterkalasyon DNA uzamasında ve DNA sarmal dönüşünde azalma ile sonuçlanan; DNA baz çiftleri arasına düzlemsel ve yaklaşık bir baz çifti büyüklüğünde molekülün girmesini ifade etmektedir [137, 138]. DNA interkalatörleri hızlı gelişen kanser hücrelerindeki DNA replikasyonunu inhibe etmek için kemoterapötik tedavide kullanılmaktadır. İnterkalasyon DNA çift sarmalını çözer ve genellikle DNA üzerindeki baz diziliminden bağımsız olarak gerçekleşir [129, 139]. İnterkalatörlere ait birkaç örnek Şekil 2.33'te gösterilmektedir.



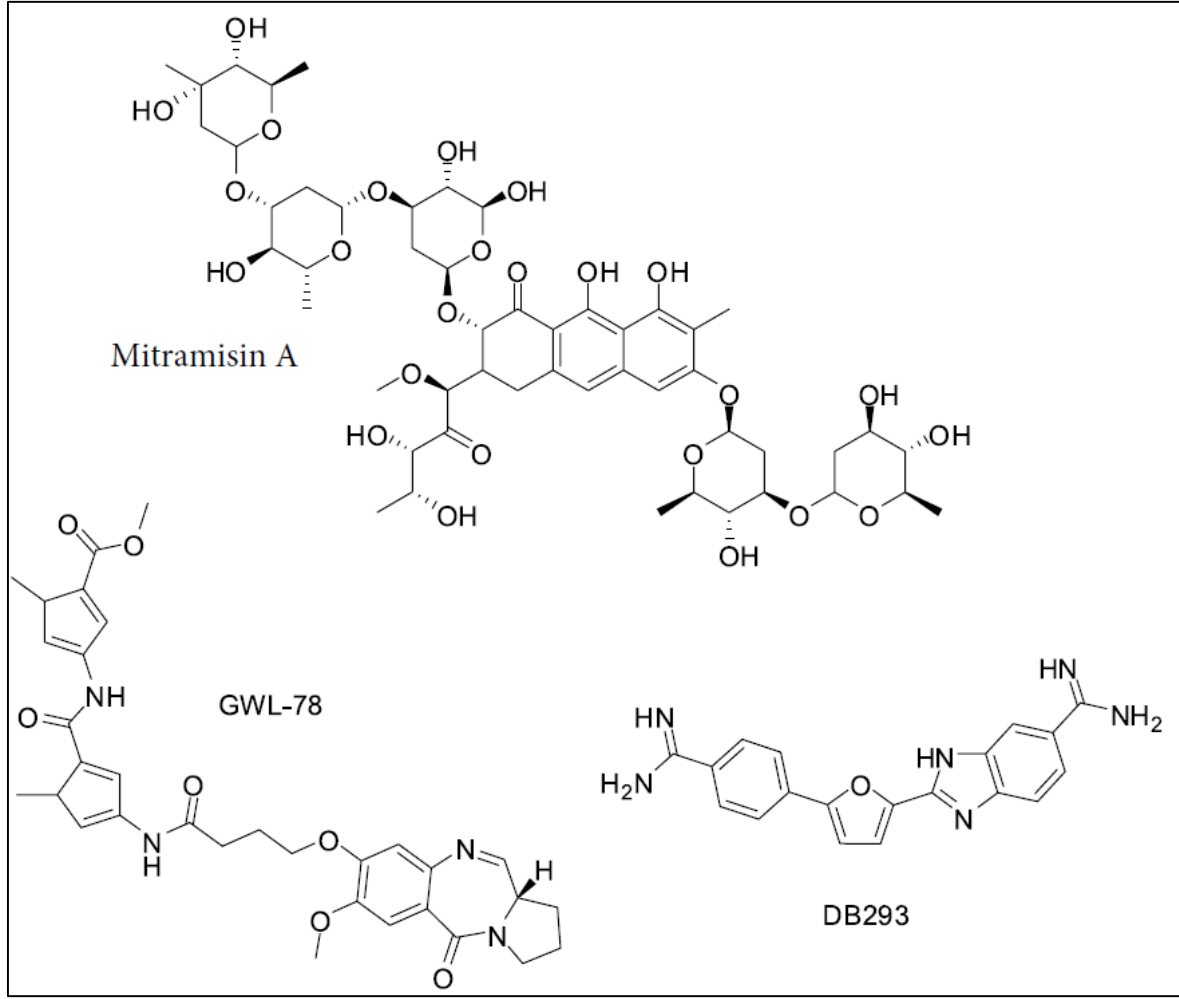
Şekil 2.33. Çeşitli DNA interkalatör ajanlar [29, 139]

Oluk Bağlanma

Bazı küçük moleküller DNA'daki küçük oluğa van der Waals etkileşimi ve hidrojen bağları ile bağlanabilmektedir. Küçük oluğa bağlanan ilaçlar genellikle pirol, furan veya benzen gibi aromatik bir halkaya sahiptirler. Oluk bağlayıcı moleküllerin genellikle adenin-timin (AT) bakımından zengin dizilere özgü olmasına rağmen bazıları guanin-sitozin (GC) bakımından zengin dizileri de tercih edebilmektedir [129, 138]. Oluk bağlayıcı bazı moleküller ve DNA'ya bağlanma şekilleri Şekil 2.34'te gösterilmektedir. Oluk bağlanma, interkalasyonun aksine DNA'da büyük konformasyonel değişikliklere sebep olmamaktadır. İnterkalatörler gibi oluk bağlayıcılar da antikanser ve antibakteriyel ajanlar olarak kanıtlanmış klinik faydalara sahiptir [137]. Şekil 2.35'te gösterilen moleküller gibi bazı küçük oluk bağlayıcı moleküller transkripsiyon faktör aktivitesini inhibe ederek etkisini göstermektedir [138].



Şekil 2.34. (A) DNA'nın bir küçük oluk bağlayıcı olan Netropsin ile oluşturduğu kompleks. (B) Akridin bis-imidazolidinonların küçük oluk tarafından bitişik guanin:sitozin baz çiftlerine muhtemel bağlanması. (C) $[Ru(TMP)_3]^{2+}$ molekülünün DNA oluklarına adsorbsiyonu. (D) N¹,N⁵-bis[piridin-2-metilen]-tiokarbhidrazon molekülünün Ni(II) ve Zn(II) metal komplekslerinin oluk bağlanması [129]



Şekil 2.35. Transkripsiyon faktör aktivitesini inhibe eden küçük oluk bağlayıcı moleküller [138]

Dış Bağlanma

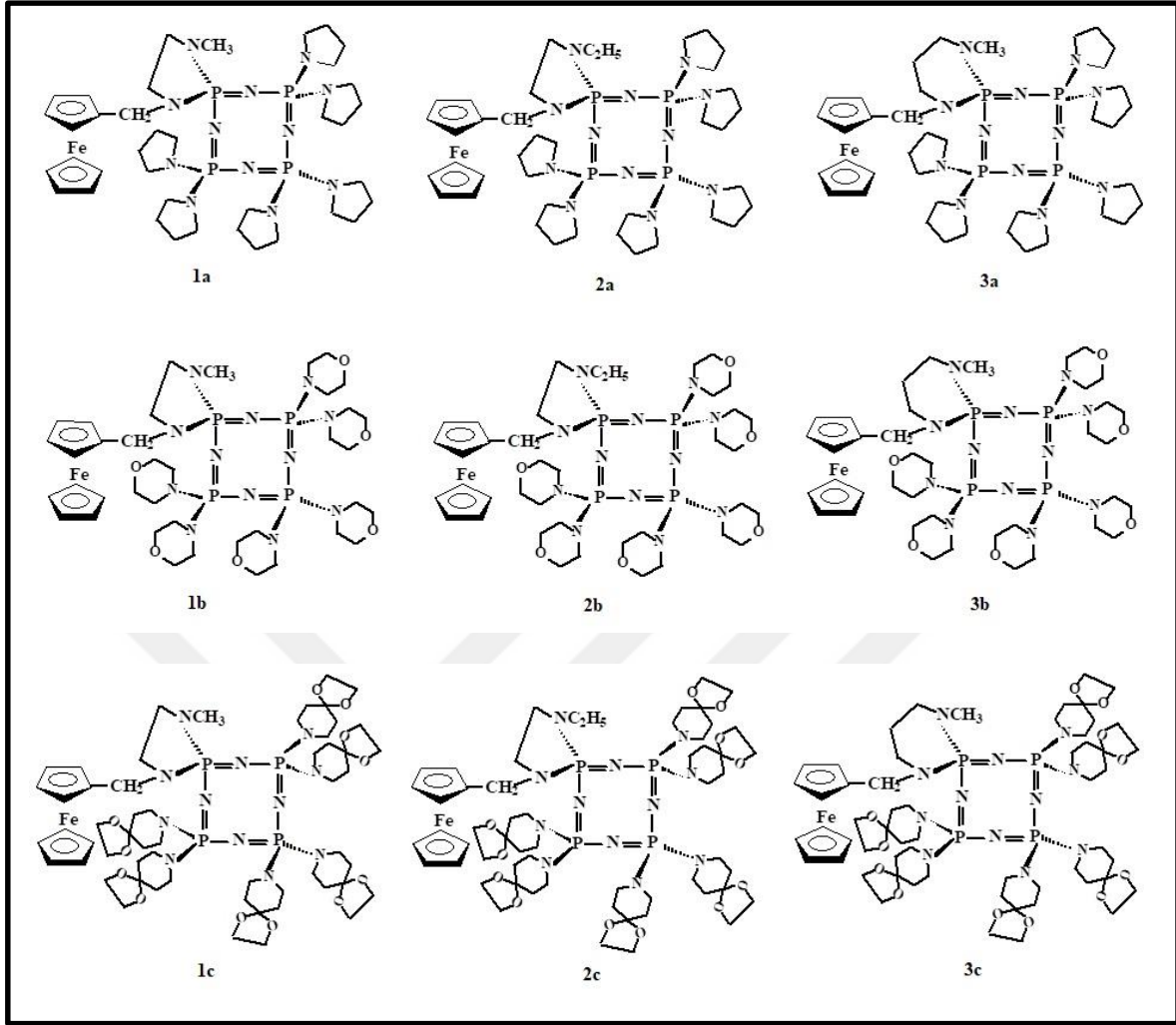
Bu tip bağlanma moleküllerin elektrostatik yapısı ile ilgilidir. Bazı moleküller özgül olmayan bir şekilde DNA fosfat omurgası ile dış köşelerde yığılma şeklinde etkileşim kurmaktadır. Bazı metal kompleksleri dış bağlanma yoluyla DNA ile etkileşime girmektedir. Örneğin $2+$ pozitif yüklü Ru(II) komplekslerinin negatif yüklü DNA fosfat-şeker omurgasına bağlanması bu durumu açıklamaktadır [129].

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan bileşikler

Çalışmada kullanılan tetramerik fosfazen bileşikleri Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünde Prof. Dr. Zeynel KILIÇ ve Arş. Gör. Dr. Aytuğ OKUMUŞ tarafından sentezlenmiş olup bileşiklerin molekül yapıları Şekil 3.1’de gösterilmiştir. Bu bileşiklerden 1a-3a pirolidin; 1b-2b morfolin; 1c-3c ise 1,4-dioksa-8-azaspiro[4,5]dekan sübstitüenti taşımaktadırlar. Bileşiklerin tam isimleri ise şu şekildedir: 1-Ferrosenilmetil-4-metil-7, 7, 9, 9, 11, 11-hekzapirolidin-1-il-1,4,6,8,10,12-hekzaaza-5 λ^5 , 7 λ^5 , 9 λ^5 , 11 λ^5 - tetrafosfaspiro[4.7]dodeka-5,7,9,11-tetraen(1a); 1-Ferrosenilmetil-4-etil-7, 7, 9, 9, 11, 11-hekzapirolidin-1-il-1,4,6,8,10,12-hekzaaza-5 λ^5 , 7 λ^5 , 9 λ^5 , 11 λ^5 - tetrafosfaspiro [4.7]-dodeka-5,7,9,11-tetraen (2a); 1-Ferrosenilmetil-5-metil-8,8,10,10,12,12-hekzapirolidin-1-il-1,5,7,9,11,13-hekzaaza-6 λ^5 , 8 λ^5 , 10 λ^5 , 12 λ^5 -tetrafosfaspiro[5.7]trideka-6,8,10,12-tetraen (3a); 1-Ferrosenilmetil-4-metil-7,7,9,9,11,11-hekzamorfolin-4-il-1,4,6,8,10,12-hekzaaza-5 λ^5 ,7 λ^5 ,9 λ^5 ,11 λ^5 -tetrafosfaspiro[4.7]dodeka-5,7,9,11-tetraen (1b); 1-Ferrosenilmetil-4-etil-7,7,9,9,11,11-hekzamorfolin-4-il-1,4,6,8,10,12-hekzaaza-5 λ^5 ,7 λ^5 ,9 λ^5 ,11 λ^5 -tetrafosfaspiro[4.7]dodeka-5,7,9,11-tetraen (2b); 1-Ferrosenilmetil-5-metil-8,8,10,10,12,12-hekzamorfolin-4-il-1,5,7,9,11,13-hekzaaza-6 λ^5 , 8 λ^5 , 10 λ^5 , 12 λ^5 -tetrafosfaspiro[5.7]trideka-6,8,10,12-tetraen (3b); 1-Ferrosenilmetil-4-metil-7,7,9,9,11,11-hekza-1,4-diokza-8-azaspiro[4.5]dek-8-il-1,4,6,8,10,12-hekzaaza-5 λ^5 , 7 λ^5 , 9 λ^5 , 11 λ^5 - tetrafosfaspiro[4.7]dodeka-5,7,9,11-tetraen (1c); 1-Ferrosenilmetil-4-etil-7,7,9,9,11,11-hekza-1,4-diokza-8-azaspiro[4.5]dek-8-il-1,4,6,8,10,12-hekzaaza-5 λ^5 , 7 λ^5 , 9 λ^5 , 11 λ^5 - tetrafosfaspiro[4.7]dodeka-5,7,9,11-tetraen (2c); 1-Ferrosenilmetil-5-metil-8,8,10,10,12,12-hekza-1,4-diokza-8-azaspiro[4.5]dek-8-il-1,5,7,9,11,13-hekzaaza-6 λ^5 , 8 λ^5 , 10 λ^5 , 12 λ^5 -tetrafosfaspiro[5.7]trideka-6,8,10,12-tetraen (3c). Bileşikler çalışmaya alınmadan önce 1,4-dioksan içerisinde çözölmüş ve 0,2 μ m por çaplı enjektör ucu filtreden geçirilerek steril edilmiştir.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan bileşikler

3.1.2. Kullanılan mikroorganizmalar ve gelişme ortamları

Bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerini tespit etmek amacıyla kullanılan 9 adet bakteri ve 3 adet maya suşu Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonundan temin edilmiştir (Bkz Çizelge 3.1). Tüm mikroorganizmalar çalışmaya alınmadan önce bakteriler için nutrient agar, mayalar için ise sabouraud dekstroza agar besiyerine stoktan alınarak uygun inkübasyon koşullarında aktifleştirilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar ve inkübasyon koşulları

Mikroorganizma Adı	İnkübasyon Sıcaklığı	İnkübasyon Süresi	Geliştiği Besi Ortamı
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	37 °C	24 saat	Nutrient agar
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	37 °C	24 saat	Nutrient agar
<i>Bacillus cereus</i> NRRL B-3711	37 °C	24 saat	Nutrient agar
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	37 °C	24 saat	Nutrient agar
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	37 °C	24 saat	Nutrient agar
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	37 °C	24 saat	Nutrient agar
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	37 °C	24 saat	Nutrient agar
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	37 °C	24 saat	Nutrient agar
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	37 °C	24 saat	Nutrient agar
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	30 °C	48 saat	Sabouraud dekstroz agar
<i>Candida krusei</i> ATCC 6258	30 °C	48 saat	Sabouraud dekstroz agar
<i>Candida tropicalis</i> NRRL Y-12968	30 °C	48 saat	Sabouraud dekstroz agar
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv	37 °C	4-5 gün	Middlebrook 7H10

3.1.3. Kullanılan hücre hatları

DLD-1 kolon kanser hücre hatları Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi; L929 fibroblast hücre hatları ise ŞAP Enstitüsü hücre kültürü bankasından temin edilmiştir.

3.1.4. Kullanılan kimyasal maddeler

Nutrient agar (Merck), Sabouraud dekstroz agar (Merck), Mueller hinton agar (Merck), Mueller hinton broth (Merck), Sabouraud dekstroz broth (Merck), NaCl (Merck), 1,4-

dioksan (Sigma), Middlebrook 7H10 agar (Sigma), Middlebrook OADC Enrichment (Sigma), 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) (Sigma), L-glutamin içermeyen fetal calf serum (FCS)'lu Dulbecco's Modification of Eagle's Medium (DMEM) (Biological Industries), trypsin-EDTA (Biological Industries) ve gelişme besiyeri (Biological Industries), 2-(4-Iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfo-phenyl)-2H-tetrazoliummonosodium salt (WST-1) (Roche), Tris (Merck), asetik asit (Merck), etilendiamintetraasetik asit (EDTA) (Merck), agaroz (Applichem), etidyum bromür (Sigma), etanol (Merck), süktroz (Sigma), bromfenol mavisi (Merck), ksilen siyanol (Merck).

3.1.5. Kullanılan sarf malzemeler, aletler ve cihazlar

Petri kapları (90x15 mm) (LP Italiana), mikropipet uçları (LP Italiana), mikrosantrifüj tüpleri (LP Italiana), şırınga ucu filtre (0,45 µm) (Sartorius), spektrofotometre küveti (LP Italiana), hücre kültür kapları (Corning), erlen, beher, mezür gibi çeşitli cam malzemeler, drigalski spatülü, halka uçlu öze, pamuk, 10 cc şırınga, 96 kuyucuklu mikrolaka, çeşitli hacimlerde mikropipetler, otoklav (Tomy SX-500), etüv, kit saklama dolabı (+4°C) (Sanyo), derin dondurucu (-30 ve -80°C) (Sanyo), jel görüntüleme cihazı (Biometra), güç kaynağı, spektrofotometre (Shimadzu), pH metre (Mettler Toledo), hassas terazi, steril kabin, soğutmalı santrifüj (Sigma), yatay elektroforez sistemi, vorteks, mikrolaka okuyucu (BIOTEK GEN5 Elisa Reader PowerWave XS2), karbondioksitli etüv (Binder CB150), lateks ve nitril eldiven, mikrodalga fırın (Vestel).

3.1.6. Çalışmada kullanılan çözeltilerin hazırlanması

Serum fizyolojik: %0,9 oranında NaCl distile su içerisinde çözülerek hazırlanmış ve 121 °C'de 1,5 atm basınçta 15 dakika otoklav kullanılarak steril edilmiştir.

Tüm besiyerleri: Üretici firmanın önerdiği miktarda distile su içerisinde çözülmüş ve 121 °C'de 1,5 atm basınçta 15 dakika otoklav kullanılarak steril edilmiştir. Otoklavdan çıkan katı besiyerleri 45°C'ye kadar soğutulduktan sonra aseptik koşullarda steril petri kaplarına 15-20 ml dökülmüştür. Besiyeri katılaştıktan sonra 1 gece etüvde bekletilip sterilite kontrolü yapıldıktan sonra kullanılmıştır.

DPPH çözeltisi: %0,004 oranında DPPH etanol içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.

TAE (Tris asetik asit EDTA) tamponu (50X): 242 g Tris base, 57,1 ml glasiyal asetik asit, 100 ml 0,5 M EDTA (pH 8,0) bir miktar distile suda çözüldükten sonra son hacim distile su ile 1 litreye tamamlanmıştır.

TAE tamponu (1X): 50X TAE tamponundan 20 ml alınıp distile su ile 1 litreye tamamlanmıştır.

Agaroz jel: %1 oranında agaroz 1X TAE içerisine alınarak ve mikrodalga fırında agaroz tamamen eriyene kadar kaynatılmıştır. Jel soğuması için bir süre bekletildikten sonra jel tabağına dökülmüş ve polimerleşmesi beklenmiştir.

Jel yükleme tamponu: % 40 sukroz, % 0,025 bromfenol mavisi, % 0,25 ksilen siyanol ile hazırlanmıştır.

Etidyum bromür: 10 mg/ml derişimde hazırlanmıştır. Koyu renkli şişelerde muhafaza edilmiştir.

Hücre hatlarının geliştirilmesi için besiyeri: %89 Dulbecco's Modified Eagles Medium/F-12, %10 Fetal bovin serum, %1 penisilin/streptomisin çözeltisi steril ortamda karıştırılarak hazırlanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi

Kuyu difüzyon yöntemi

Bileşiklerin çeşitli patojen mikroorganizmalara karşı göstermiş olduğu antimikrobiyal aktivite kuyu difüzyon yöntemiyle incelenmiştir. Bunun için uygun besi ortamında aktifleştirilmiş olan mikroorganizmalar steril serum fizyolojik içerisinde MacFarland 0,5 bulanıklılığına ayarlanmıştır. İçerisinde 20 ml besiyeri bulunan (bakteriler için Mueller Hinton agar, mayalar için sabouraud dekstrozu agar) petrilere 100 µl mikroorganizma eklenmiş ve yayma ekim yapılmıştır. Steril delgeç yardımıyla besiyerinde 6 mm çapında kuyular açılmış ve 5000 µM konsantrasyondaki bileşiklerden 50 µl eklenmiştir. Pozitif kontrol olarak bakteriler için ampisilin ve kloramfenikol, mayalar için ketokonazol

bileşiklerimizle aynı konsantrasyonda uygulanmıştır. Petriler bakteriler için 37 °C’de 24 saat; mayalar için 30 °C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında kuyular etrafında ölçülen inhibisyon zonları ölçülerek kaydedilmiştir.

Mikrodilüsyon yöntemi

Antimikrobiyal aktivite gösteren bileşiklerin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK), minimum bakterisidal (MBK) ve minimum fungusidal konsantrasyon (MFK) değerleri mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. 96 kuyulu mikroplakaların her bir kuyucuğuna ilk olarak 100 µl besiyeri (bakteriler için mueller hinton broth, mayalar için sabouraud dekstroz broth) ilave edilmiştir. İlk kuyucuğa 100 µL bileşik çözeltisi (5000 µM) ilave edilip diğer kuyucuklara doğru 8 seyreltme yapılmıştır. Daha sonra, MacFarland 0,5 bulanıklılığına ayarlanan mikroorganizmalar serum fizyolojik ile 1/10 oranında seyreltilip 5 µl alınarak kuyucuklara inölüke edilmiş ve inkübasyona bırakılmıştır. MİK, MBK ve MFK değerlerinin belirlenmesi için inkübasyon sonrasında mikroplakalar içerisindeki her bir kuyucuktan 10 µl örnek alınarak bakteriler için nutrient agar, mayalar için sabouraud dekstroz agar besiyerine ekim yapılmış ve inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında mikroorganizma üremesine bakılmıştır. Mikroorganizma üremesinin olmadığı en düşük konsantrasyon bakteriler için MBK, mayalar için MFK değeri olarak değerlendirilmiştir. İnkübasyon sonunda mikroorganizmaların üremesinin yavaşladığı ilk konsantrasyon MİK değeri olarak değerlendirilmiştir.

3.2.2. Bileşiklerin antitüberküloz aktivitesinin belirlenmesi

Çalışmada kullanılan fosfazen bileşiklerinin *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv referans suşu üzerindeki antitüberküloz aktiviteleri Middlebrook 7H10 agar kullanılarak uygulanan agar proporsiyon yöntemi ile belirlenmiştir. Bu yöntem CLSI tarafından *M. tuberculosis*’in duyarlılığını tespit etmek için önerilen referans bir yöntemdir. Çalışmada kullanılan *M. tuberculosis* suşu tüm antitüberküloz ilaçlara (isoniazid, rifampisin, pirazinamid ve etambutol ve ayrıca ikinci basamak ilaçlar) duyarlıdır. Her bir maddenin besiyeri içindeki konsantrasyonu 5, 10, 20, 40 ve 80 µg/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Bileşiklerin bu konsantrasyonlardaki etkileri tespit edildikten sonra minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerini belirleyebilmek için son konsantrasyon bakterinin duyarlılık gösterdiği ilk konsantrasyona göre tekrar ayarlanarak bakterinin duyarlılığına tekrar bakılmıştır. Çalışma

yapılmadan önce çözücü içerisinde çözölen bileşikler 0,2 µm por çaplı filtreden geçirilerek steril edilmiştir. Middlebrook 7H10 besiyeri hazırlandıktan sonra otoklavda steril edilmiştir. Otoklavdan çıkarılan besiyeri 45 °C'ye kadar soğutulduktan sonra Middlebrook OADC Enrichment ve çözölmüş bileşikler ile karıştırılmış ve petri kaplarına dökölerek katılşması beklenmiştir. Petri kapları içerisindeki besiyeri içerisinde H37Rv suşu inoküle edildikten sonra 37 °C'de 21 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında petrillerdeki bakteri üremesi kontrol edilerek bakterinin bileşiklere olan duyarlılığı tespit edilmiştir.

3.2.3. Bileşiklerin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi

Bileşiklerin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi için DPPH (1,1-difenil-2-pikril hidrazil) serbest radikalini süpürücü etkisine bakılmıştır. 5000, 4000, 3000, 2000 ve 1000 µM konsantrasyonlarda hazırlanan 1 ml bileşik çözeltisi üzerine 1 ml %0,004 DPPH çözeltisi eklenmiş ve 30 dakika karanlık ortamda inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol grubundaki tüplere bileşik çözeltisi yerine 1 ml çözücü eklenmiş ve aynı işlem uygulanmıştır. İnkübasyon sonrasında örneklerin absorbansı spektrofotometre kullanılarak 517 nm dalga boyunda ölçölmüştür [140]. Mor renkli DPPH serbest radikali bir antioksidan molekül ile reaksiyona girdiğinde renksiz radikal olmayan kararlı 1,1-difenil-2-pikril hidrazin molekülüne dönüşmektedir. Test tüplerinde oluşun bu renk değişimi spektrofotometrede 517 nm dalga boyunca ölçölebilmektedir. Kullanılan bileşik antioksidan aktivite gösterdiğinde absorbans değeri kontrol grubunun absorbans değeriine göre daha düşük çıkmaktadır.

3.2.4. Bileşiklerin sitotoksik aktivitesinin belirlenmesi

Ferrosenil siklotetrafosfazen bileşiklerinin sitotoksik aktiviteleri L929 fibroblast ve DLD-1 kolon kanser hücre hatlarına karşı incelenmiştir. Hücre hatları logaritmik üreme fazına kadar geliştirilmiş, sonra farklı konsantrasyonlardaki bileşikler ve bir antikanser ajan olan sisplatin ile muamele edilmiştir. Bileşikler ve sisplatinin 12,5-200 µg/ml arasında değişen seyreltimleri plaktaki her bir kuyucuğa eklenmiştir. Negatif kontrol olarak sadece besiyeri; pozitif kontrol olarak ise sisplatin kullanılmıştır. L929 fibroblast ve DLD-1 kolon kanser hücre hatlarına ait 5000 hücre 96 kuyucuklu plaklara ekilmiş ve 24 saat 37 °C'de %5 CO₂ içeren inkübatörde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında hücre canlılığı üretici firmanın (Roche) söylemiş olduğı kullanım talimatları doğrultusunda uygulanan WST-1 yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Bu yöntemin temelini canlı hücrelerde bulunan mitokondriyal

dehidrojenaz enziminin tetrazolyum tuzunu formazana dönüştürmesi ve bu dönüşüm sonucunda oluşan renk değişiminin belirlenmesine sayanmaktadır. Bileşikler ve sisplatin ile muamale edilmiş hücrelerin bulunduğu kuyucukların her birine 10 µl WST-1 çözeltisi eklenmiş ve 37 °C’de %5 CO₂’li ortamda 4 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında absorbans değerleri 420-480 nm dalga boyunda mikroparka okuyucu kullanılarak ölçülmüştür. Negatif kontrol grubu ile kıyaslama yapılarak hücre canlılığı % cinsinden belirlenmiştir.

3.2.5. Bileşiklerin DNA ile etkileşiminin belirlenmesi

1a-3a, 1b-3b, 1c-3c kodlu ferrosenil siklotetrafosfazen bileşiklerinin DNA etkileşimleri agaroz jel elektroforez yöntemi ile araştırılmıştır. Bu bileşiklerden 1a-3a pirolidin; 1b-3b morfolin; 1c-3c ise 1,4-dioksa-8-azaspiro[4,5]dekan sübstitüenti taşımaktadırlar. Bileşiklerin stok çözeltileri 1,4-dioksan içerisinde hazırlanmış ve 1 saat içerisinde kullanılmıştır. Son hacimdeki çözücü oranı %0,1’i geçmemiştir. Bileşikler 100 µM’dan başlayarak 6 konsantrasyon seyreltilmiş ve her bir seyreltim plazmit DNA ile 37 °C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda ilaç-DNA karışımı agaroz jele yüklenmiş ve elektroforez işlemi TAE içerisinde 70 V akım ile 3 saat gerçekleştirilmiştir. Elektroforez sonrasında jel etidyum bromür ile boyanarak BioDoc Analyze jel görüntüleme cihazı ile ultraviyole ışık altında görüntülenmiş ve görüntüler JPEG formatında kaydedilmiştir.

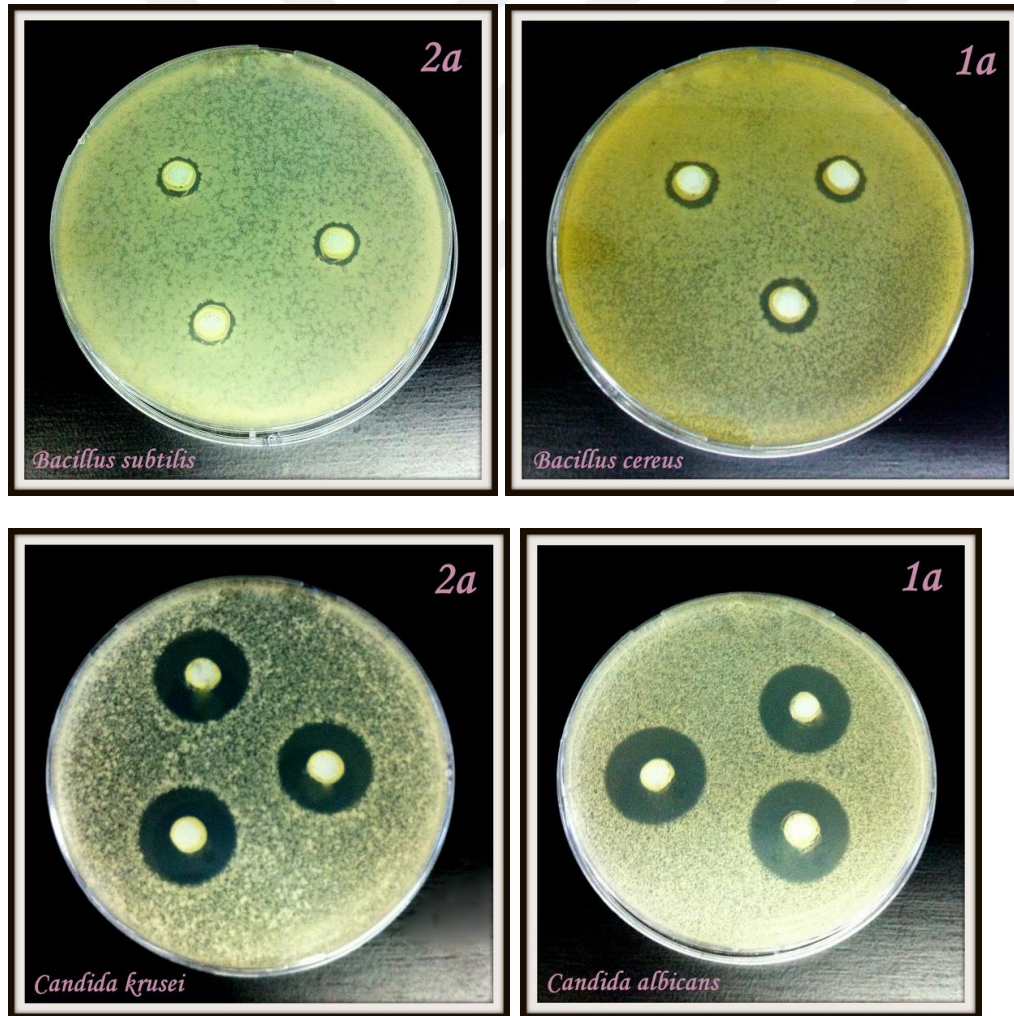
BamHI ve HindIII Enzimleri ile Restriksiyon Endonükleaz Reaksiyonu

*Bam*HI enzimi DNA üzerindeki 5’-G/GATCC-3’ bölgesini tanıırken; *Hind*III enzimi 5’-A/AGCTT-3’ bölgesini tanımaktadır. Bileşiklerin DNA üzerindeki bu nükleotitlere bağlanma durumunu belirlemek amacıyla bileşik-DNA karışımı 24 saat inkübe edildikten sonra *Bam*HI veya *Hind*III enzimleri ile kesim için 2 saat 37 °C’de bekletilmiştir. İnkübasyon sonunda kesilmiş DNA’lar %1’lik agaroz jele yüklenmiş ve elektroforez işlemi TAE içerisinde 70 V akım ile 3 saat gerçekleştirilmiştir. Elektroforez sonrasında jel etidyum bromür ile boyanarak BioDoc Analyze jel görüntüleme cihazı ile ultraviyole ışık altında görüntülenmiş ve görüntüler JPEG formatında kaydedilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.2. Antimikrobiyal Aktivite

5000 μ M derişimdeki 1a-3a, 1b-3b, 1c-3c bileşikleri ve pozitif kontrol olarak kullanılan antibakteriyel (ampisilin ve kloramfenikol) ve antifungal (ketakonazol) ilaçların antimikrobiyal aktivitesi kuyu difüzyon yöntemi ile incelenmiş ve inhibisyon zon çapları mm cinsinden ölçülmüştür. Bileşiklerin bazı mikroorganizmalara karşı oluşturdıkları inhibisyon zonları Resim 4.1’de; pozitif kontrol olarak kullanılan antibiyotiklerin *E. coli* ATCC 25922 ve *C. krusei* ATCC 6258 üzerinde oluşturdıkları inhibisyon zonları ise Resim 4.2’de gösterilmiştir.



Resim 4.1. 2a bileşiminin *B. subtilis* ATCC 6633 (sol üst); 1a bileşiminin *B. cereus* NRRL B-3711 (sağ üst); 2a bileşiminin *C. krusei* ATCC 6258 (sol alt) ve 1a bileşiminin *C. albicans* ATCC 10231 (sağ alt) üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonları



Resim 4.2. Antibakteriyal bir ilaç olan ampisilin *E. coli* ATCC 25922 üzerinde (solda) ve antifungal bir ilaç olan ketokonazolun *C. krusei* ATCC 6258 üzerinde (sağda) oluşturduğu inhibisyon zonları

Çalışmada kullanılan bakterilere karşı oluşan inhibisyon zon çapları Çizelge 4.1; mayalara karşı oluşan inhibisyon zon çapları ise Çizelge 4.2’de gösterilmiştir. Çalışmada kullanılan *B. cereus* NRRL B-3711, *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212 bakterileri Gram pozitif bakteriler iken; *S. typhimurium* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 35218, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *K. pneumoniae* ATCC 13883 bakterileri ise Gram negatif bakterilerdir. Elde edilen verilere göre bileşik 1b, 2b ve 3c hiçbir mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. 1a bileşiği *B. cereus* NRRL B-3711, *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212, *K. pneumoniae* ATCC 13883, *S. typhimurium* ATCC 14028 bakterileri ve *C. albicans* ATCC 10231, *C. tropicalis* NRRL Y-12968, *C. krusei* ATCC 6258 mayalarına karşı sırasıyla 12 ± 1 , 11 ± 0 , 10 ± 1 , 10 ± 0 , 8 ± 0 , 9 ± 0 , 24 ± 1 , 21 ± 0 ve 23 ± 1 mm’lik zon çapı oluşturmuştur. 1a bileşiğinin *B. cereus* NRRL B-3711’ye olan etkisi ampisilin ve kloramfenikolden; *K. pneumoniae* ATCC 13883’ye olan etkisi ampisilinden; *C. albicans* ATCC 10231 ve *C. krusei* ATCC 6258’ye olan etkisi ise ketokonazolden yüksek çıkmıştır. 2a bileşiği *B. cereus* NRRL B-3711, *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212 bakterileri ve *C. albicans* ATCC 10231, *C. tropicalis* NRRL Y-12968, *C. krusei* ATCC 6258 mayalarına karşı sırasıyla 11 ± 0 , 9 ± 1 , 9 ± 1 , 9 ± 1 , 9 ± 0 , 22 ± 1 , 19 ± 1 ve 22 ± 0 mm’lik zon çapı oluşturmuştur. 2a bileşiğinin *B. cereus* NRRL B-3711’ye olan etkisi ampisilin ve kloramfenikolden; *C. albicans* ATCC 10231 ve *C. krusei* ATCC 6258’ye olan etkisi ise ketokonazolden yüksek çıkmıştır. 3a bileşiği *B. cereus* NRRL B-3711, *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212 bakterileri ve *C. albicans*

ATCC 10231, *C. tropicalis* NRRL Y-12968, *C. krusei* ATCC 6258 mayalarına karşı sırasıyla 10 ± 1 , 11 ± 0 , 9 ± 0 , 9 ± 0 , 18 ± 0 , 15 ± 0 ve 16 ± 0 mm'lik zon çapı oluşturmuştur. 3a bileşiğinin *B. cereus* NRRL B-3711'ye olan etkisi ampisilin ve kloramfenikolden; *C. albicans* ATCC 10231'ye olan etkisi ise ketokanozolden yüksek çıkmıştır. 3b bileşiği *B. cereus* NRRL B-3711, *E. faecalis* ATCC 29212 bakterileri ve *C. albicans* ATCC 10231, *C. tropicalis* NRRL Y-12968, *C. krusei* ATCC 6258 mayalarına karşı sırasıyla 10 ± 1 , 8 ± 0 , 18 ± 2 , 18 ± 1 ve 25 ± 1 mm'lik zon çapı oluşturmuştur. 3b bileşiğinin *B. cereus* NRRL B-3711'ye olan etkisi ampisilin ve kloramfenikolden; *C. albicans* ATCC 10231 ve *C. krusei* ATCC 6258'ye olan etkisi ise ketokanozolden yüksek çıkmıştır. 1c bileşiği *B. cereus* NRRL B-3711 bakterisi ve *C. albicans* ATCC 10231, *C. tropicalis* NRRL Y-12968, *C. krusei* ATCC 6258 mayalarına karşı sırasıyla 8 ± 0 , 12 ± 1 , 9 ± 0 ve 9 ± 0 mm'lik zon çapı oluşturmuştur. 1c bileşiğinin *B. cereus* NRRL B-3711'ye olan etkisi ampisilin ve kloramfenikolden; *C. albicans* ATCC 10231'e olan etkisi ise ketokanozolden yüksek çıkmıştır. 2c bileşiği *E. faecalis* ATCC 29212 bakterisi ile ve *C. albicans* ATCC 10231 ve *C. tropicalis* NRRL Y-12968 mayalarına karşı sırasıyla 12 ± 2 , 11 ± 1 ve 8 ± 1 mm'lik zon çapı oluşturmuştur.

Pirolidin sübstitüenti taşıyan bileşiklerin (1a-3a) morfolin (1b-3b) ve 1,4-dioksa-8-azaspiro[4,5]dekan (1c-3c) sübstitüenti taşıyan bileşiklere göre mikroorganizmalara karşı daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Mayalarda en yüksek aktivite gösteren bileşik *C. krusei* ATCC 6258 üzerinde oluşturduğu 25 ± 1 mm zon çapı ile morfolin sübstitüe taşıyan tetramerik fosfazen bileşiği olan 3b olmuştur. Tüm mikroorganizmalar göz önüne alındığında en etkili maddeler pirolidin sübstitüenti taşıyan 1a ve 2a kodlu maddeler olarak tespit edilmiştir. Bileşiklerin hiçbirisi çalışılan konsantrasyonda *E. coli* ATCC 35218 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterileri üzerinde etkili olamamıştır. Tüm veriler değerlendirildiğinde bileşiklerin mayalar üzerinde bakterilere oranla daha etkili olduğu; ayrıca bakteriler içerisinde Gram pozitif bakteriler üzerinde Gram negatif bakterilere göre daha yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. Bileşiklerin mayalar üzerine gösterdiği antimikrobiyal aktivite inhibisyon zon çapları (mm)

	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	<i>C. tropicalis</i> NRRL Y-12968	<i>C. krusei</i> ATCC 6258
Ketokanazol	11 ± 1	34 ± 2	18 ± 1
1a	24 ± 1	21 ± 0	23 ± 1
2a	22 ± 1	19 ± 1	22 ± 0
3a	18 ± 0	15 ± 0	16 ± 0
1b	-	-	-
2b	-	-	-
3b	18 ± 2	18 ± 1	25 ± 1
1c	12 ± 1	9 ± 0	9 ± 0
2c	11 ± 1	8 ± 1	-
3c	-	-	-

1a-3a, 1b-3b, 1c-3c bileşikleri ve pozitif kontrol olarak kullanılan antibakteriyel (ampisilin ve kloramfenikol) ve antifungal (ketakonazol) ilaçların MİK değerleri mikrodilüsyon yöntemi ile incelenmiştir. Bakteriler üzerindeki MİK değerleri Çizelge 4.3, mayalar üzerindeki MİK değerleri Çizelge 4.4'te gösterilmiştir. MİK değerlerinin <19,5-312,5 µM arasında değiştiği tespit edilmiştir. 1a bileşiğinin *B. cereus* NRRL B-3711, *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212, *K. pneumoniae* ATCC 13883, *S. typhimurium* ATCC 14028 bakterileri ve *C. albicans* ATCC 10231, *C. tropicalis* NRRL Y-12968 mayalarına karşı gösterdiği MİK değerlerinin 156 µM; *C. krusei* ATCC 6258 mayasına karşı gösterdiği MİK değerinin ise 312,5 µM olduğu belirlenmiştir. 1a bileşiğinin *E. faecalis* ATCC 29212'e olan etkisi kloramfenikolden; *K. pneumoniae* ATCC 13883'e olan etkisi ampisilin ve kloramfenikolden; *C. albicans* ATCC 10231'e olan etkisi ketakonazolden yüksek çıkmıştır. 2a bileşiğinin *B. cereus* NRRL B-3711, *B. subtilis* ATCC

6633, *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212 bakterileri ve *C. albicans* ATCC 10231, *C. tropicalis* NRRL Y-12968, mayalarına karşı gösterdiği MİK değerlerinin 156 μ M; *C. krusei* ATCC 6258 mayasına karşı gösterdiği MİK değerinin ise 312,5 μ M olduğu belirlenmiştir. 2a bileşiğinin *E. faecalis* ATCC 29212'e olan etkisi kloramfenikolden; *C. albicans* ATCC 10231'e olan etkisi ketakonazolden yüksek çıkmıştır. 3a bileşiğinin *B. cereus* NRRL B-3711, *B. subtilis* ATCC 6633 bakterilerine karşı gösterdiği MİK değerinin <19,5 μ M; *S. aureus* ATCC 25923 bakterisine karşı gösterdiği MİK değerinin 156 μ M; *E. faecalis* ATCC 29212 bakterisine karşı gösterdiği MİK değerinin 19,5 μ M ve *C. albicans* ATCC 10231, *C. tropicalis* NRRL Y-12968, *C. krusei* ATCC 6258 mayalarına karşı gösterdiği MİK değerinin ise <19,5 μ M olduğu belirlenmiştir. 3a bileşiğinin *B. cereus* NRRL B-3711 bakterisine karşı gösterdiği MİK değeri ampisilin ve kloramfenikolden; *B. subtilis* ATCC 66333711 bakterisine karşı gösterdiği MİK değeri kloramfenikolden; *E. faecalis* ATCC 29212 bakterisine karşı gösterdiği MİK değeri kloramfenikolden; *C. albicans* ATCC 10231 ve *C. tropicalis* NRRL Y-12968'e olan etkisi ise ketakonazolden yüksek çıkmıştır. 3b bileşiğinin *B. cereus* NRRL B-3711 ve *E. faecalis* ATCC 29212 bakterilerine karşı gösterdiği MİK değerinin 312,5 μ M; *C. albicans* ATCC 10231'e karşı gösterdiği MİK değerinin 78 μ M; *C. tropicalis* NRRL Y-12968'e karşı gösterdiği MİK değerinin 19,5 μ M ve *C. krusei* ATCC 6258 'e karşı gösterdiği MİK değerinin ise <19,5 μ M olduğu tespit edilmiştir. 3b bileşiğinin *C. albicans* ATCC 10231 ve *C. tropicalis* NRRL Y-12968 mayalarına karşı olan etkisi ketakonazolden yüksek çıkmıştır. 1c bileşiğinin *B. cereus* NRRL B-3711 bakterisine karşı göstermiş olduğu MİK değerinin 156 μ M; *C. albicans* ATCC 10231 ve *C. krusei* ATCC 6258 mayalarına karşı göstermiş olduğu MİK değerinin 78 μ M ve *C. tropicalis* NRRL Y-12968 mayasına karşı göstermiş olduğu MİK değerinin ise 39 μ M olduğu tespit edilmiştir. 1c bileşiğinin *C. albicans* ATCC 10231 ve *C. tropicalis* NRRL Y-12968 mayalarına karşı olan etkisi ketakonazolden yüksek çıkmıştır. 2c bileşiğinin *E. faecalis* ATCC 29212 bakterisi ile ve *C. albicans* ATCC 10231 ve *C. tropicalis* NRRL Y-12968 mayalarına karşı göstermiş olduğu MİK değerlerinin 156 μ M olduğu tespit edilmiştir. 2c bileşiğinin *E. faecalis* ATCC 29212 bakterisine karşı olan etkisi kloramfenikolden; *C. albicans* ATCC 10231 mayasına karşı olan etkisi ise ketakonazolden yüksek çıkmıştır.

Çizelge 4.4. Bileşiklerin mayalar üzerindeki minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri (µM)

	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	<i>Candida krusei</i> ATCC 6258	<i>Candida tropicalis</i> NRRL Y-12968
Ketokanozol	312,5	<19,5	78
1a	156	312,5	156
2a	156	312,5	156
3a	<19,5	<19,5	<19,5
1b	-	-	-
2b	-	-	-
3b	78	<19,5	19,5
1c	78	78	39
2c	156	-	156
3c	-	-	-

1a-3a, 1b-3b, 1c-3c bileşikleri ve pozitif kontrol olarak kullanılan antibakteriyel (ampisilin ve kloramfenikol) ve antifungal (*ketakonazol*) ilaçların MBK ve MFK değerleri mikrodilüsyon yöntemi ile incelenmiştir. MBK değerleri Çizelge 4.5 ve MFK değerleri Çizelge 4.6'da gösterilmiştir. MBK ve MFK değerlerinin <19,5-312,5 µM arasında değiştiği tespit edilmiştir. 1a bileşiğinin *B. cereus* NRRL B-3711, *B. subtilis* ATCC 6633, *E. faecalis* ATCC 29212, *K. pneumoniae* ATCC 13883, *S. typhimurium* ATCC 14028 bakterilerine karşı gösterdiği MBK değerlerinin 156 µM; *S. aureus* ATCC 25923'e karşı gösterdiği MBK değerinin 312,5 µM ve *C. albicans* ATCC 10231, *C. krusei* ATCC 6258 mayalarına karşı gösterdiği MFK değerlerinin 312,5 µM; *C. tropicalis* NRRL Y-12968 mayasına karşı gösterdiği MFK değerinin ise 156 µM olduğu belirlenmiştir. 1a bileşiğinin *B. cereus* NRRL B-3711, *E. faecalis* ATCC 29212 ve *K. pneumoniae* ATCC 13883'e olan etkisi ampisilin ve kloramfenikolden; *S. typhimurium* ATCC 14028'e olan etkisi kloramfenikolden; *C. albicans* ATCC 10231 ve *C. tropicalis* NRRL Y-12968'e olan etkisi ketakonazolden yüksek çıkmıştır. 2a bileşiğinin *B. cereus* NRRL B-3711, *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 25922 bakterileri ile *C. albicans* ATCC 10231 ve *C. tropicalis* NRRL Y-12968 mayalarına karşı gösterdiği MBK ve MFK değerlerinin 156 µM; *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis*

ATCC 29212 bakterileri ve *C. krusei* ATCC 6258 mayasına karşı gösterdiği MBK ve MFK değerinin ise 312,5 µM olduğu belirlenmiştir. 2a bileşiğinin *B. cereus* NRRL B-3711'e olan etkisi ampisilin ve kloramfenikolden; *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 ve *E. faecalis* ATCC 29212'e olan etkisi kloramfenikolden; *C. albicans* ATCC 10231 ve *C. tropicalis* NRRL Y-12968'e olan etkisi ketakonazolden yüksek çıkmıştır. 3a bileşiğinin *B. cereus* NRRL B-3711, *B. subtilis* ATCC 6633 bakterileri ile *C. albicans* ATCC 10231, *C. tropicalis* NRRL Y-12968, *C. krusei* ATCC 6258 mayalarına karşı gösterdiği MBK ve MFK değerlerinin <19,5 µM; *S. aureus* ATCC 25923 bakterisine karşı gösterdiği MBK değerinin 156 µM; *E. faecalis* ATCC 29212 bakterisine karşı gösterdiği MBK değerinin ise 19,5 µM olduğu belirlenmiştir. 3a bileşiğinin *B. cereus* NRRL B-3711 ve *E. faecalis* ATCC 29212 bakterilerine karşı etkisi ampisilin ve kloramfenikolden; *B. subtilis* ATCC 66333 ve *S. aureus* ATCC 25923 bakterilerine karşı etkisi kloramfenikolden; *C. albicans* ATCC 10231, *C. krusei* ATCC 6258 ve *C. tropicalis* NRRL Y-12968'e olan etkisi ise ketakonazolden yüksek çıkmıştır. 3b bileşiğinin *B. cereus* NRRL B-3711 ve *E. faecalis* ATCC 29212 bakterilerine karşı gösterdiği MBK değerinin 312,5 µM; *C. albicans* ATCC 10231'e karşı gösterdiği MFK değerinin 78 µM; *C. tropicalis* NRRL Y-12968'e karşı gösterdiği MİK değerinin 19,5 µM ve *C. krusei* ATCC 6258 'e karşı gösterdiği MİK değerinin ise <19,5 µM olduğu tespit edilmiştir. 3b bileşiğinin *B. cereus* NRRL B-3711 bakterisine olan etkisi ampisilin ve kloramfenikolden; *C. albicans* ATCC 10231, *C. krusei* ATCC 6258 ve *C. tropicalis* NRRL Y-12968 mayalarına karşı olan etkisi ketakonazolden yüksek çıkmıştır. 1c bileşiğinin *B. cereus* NRRL B-3711 bakterisine karşı göstermiş olduğu MBK değerinin 156 µM; *C. albicans* ATCC 10231 ve *C. krusei* ATCC 6258 mayalarına karşı göstermiş olduğu MFK değerinin 78 µM ve *C. tropicalis* NRRL Y-12968 mayasına karşı göstermiş olduğu MFK değerinin ise 39 µM olduğu tespit edilmiştir. 1c bileşiğinin *B. cereus* NRRL B-3711'e olan etkisi ampisilin ve kloramfenikolden; *C. albicans* ATCC 10231, *C. krusei* ve *C. tropicalis* NRRL Y-12968 mayalarına karşı olan etkisi ketakonazolden yüksek çıkmıştır. 2c bileşiğinin *E. faecalis* ATCC 29212 bakterisine ve *C. albicans* ATCC 10231 mayasına karşı göstermiş olduğu MBK ve MFK değerleri 312,5 µM; *C. tropicalis* NRRL Y-12968 mayasına karşı göstermiş olduğu MFK değerinin 156 µM olduğu tespit edilmiştir. 2c bileşiğinin *C. albicans* ATCC 10231 ve *C. tropicalis* NRRL Y-12968 mayalarına karşı olan etkisi ketakonazolden yüksek çıkmıştır.

Çizelge 4.6. Bileşiklerin minimal fungusidal konsantrasyon (MFK) değerleri (µM)

	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	<i>Candida krusei</i> ATCC 6258	<i>Candida tropicalis</i> NRRL Y-12968
Ketokanozol	1250	156	1250
1a	312,5	312,5	156
2a	156	312,5	156
3a	<19,5	<19,5	<19,5
1b	-	-	-
2b	-	-	-
3b	78	<19,5	19,5
1c	78	78	39
2c	312,5	-	156
3c	-	-	-

Bu sonuçlar değerlendirildiğinde bileşiklerin mikroorganizmaları inhibe ettiği ve tamamen öldürdüğü konsantrasyonlar arasında çok büyük bir fark olmadığı görülmektedir.

4.2. Antitüberküloz Aktivite

80, 40, 20, 10 ve 5 µg/ml olmak üzere 5 farklı konsantrasyondaki 1a-3a, 1b-3b ve 1c-3c bileşiklerinin *M. tuberculosis* H37Rv referans suşuna karşı olan in vitro antitüberküloz aktivitesi agar proporsiyon yöntemi ile incelenmiştir. *M. tuberculosis* suşunun 1a, 2a ve 3a bileşiklerine çalışılan tüm konsantrasyonlarda; 2c bileşiğine ise sadece 80 µg/ml konsantrasyonda duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.7). 1a, 2a ve 3a bileşiklerinin MİK değerlerinin 3 µg/ml; 2c bileşiğinin MİK değerinin ise 70 µg/ml olduğu belirlenmiştir. Bu verilere göre pirolidin sübstitüe bileşiklerin (1a-3a) diğer bileşiklerden daha yüksek

antitüberküloz aktiviteye sahip olduğu; morfolin sübstitüe bileşiklerin (1b-3b) *M. tuberculosis* üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

CLSI'ya göre isoniazid (INH), rifampisin (RMP), pirazinamid (PZA) ve etambütolun (EMB) önerilen kritik konsantrasyonu sırasıyla 0,2 µg/ml, 1 µg/ml, 100 µg/ml ve 5 µg/ml'dir ve *M. tuberculosis* H37Rv referans suşu tüm bu ilaçlara duyarlıdır. Çalışmada kullanılan bileşiklerin MİK değerleri standart antitüberküloz ilaçların etkinliği ile karşılaştırıldığında 1a-3a bileşiklerinin pirazinamid ve etambütolden daha etkili oldukları; 2c bileşiğinin ise pirazinamid ilacından daha etkili olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.7. Bileşiklerin *in vitro* antitüberküloz aktivitesine ait duyarlılık test sonuçları ve MİK değerleri

Bileşikler	Konsantrasyon (µg/ml)					MİK (µg/ml)
1a	80 (S)	40 (S)	20 (S)	10 (S)	5 (S)	3
2a	80 (S)	40 (S)	20 (S)	10 (S)	5 (S)	3
3a	80 (S)	40 (S)	20 (S)	10 (S)	5 (S)	3
1b	80 (R)	40 (R)	20 (R)	10 (R)	5 (R)	-
2b	80 (R)	40 (R)	20 (R)	10 (R)	5 (R)	-
3b	80 (R)	40 (R)	20 (R)	10 (R)	5 (R)	-
1c	80 (R)	40 (R)	20 (R)	10 (R)	5 (R)	-
2c	80 (S)	40 (R)	20 (R)	10 (R)	5 (R)	70
3c	80 (R)	40 (R)	20 (R)	10 (R)	5 (R)	-

R: Dirençli, S: duyarlı

4.3. Antioksidan Aktivite

1a-3a, 1b-2b ve 1c-3c bileşiklerinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi için bileşiklerin DPPH serbest radikalini süpürücü etkisi incelenmiştir. Deney üç kez tekrarlanmıştır. Kontrol grubu ve 1000-5000 μM arasında değişen konsantrasyonlardaki bileşiklerin 517 nm’de ölçülen absorbans değerleri Çizelge 4.8’ de gösterilmiştir. Bileşiklerin hiçbirinin kullanılan konsantrasyonlarda ve kullanılan yöntemle serbest radikal süpürücü etkisinin olmadığı gözlenmiştir.

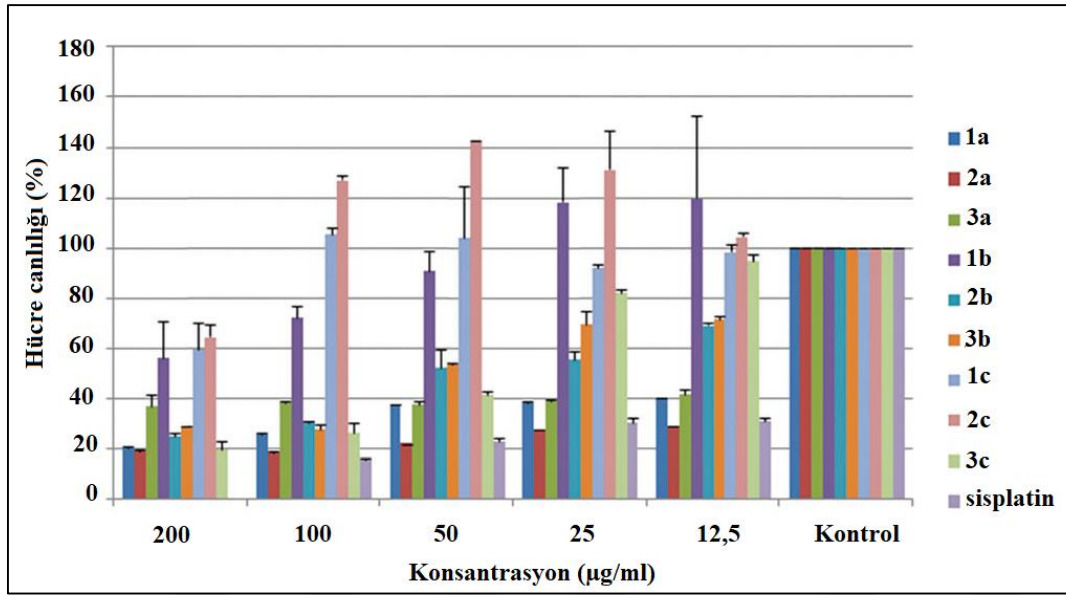
Çizelge 4.8. Bileşiklerin DPPH serbest radikalini süpürücü etkisi (517 nm’deki absorbans değerleri)

Bileşikler	Kontrol	Konsantrasyon				
		1000 μM	2000 μM	3000 μM	4000 μM	5000 μM
1a	0,548 $\pm$ 0,020	0,541 $\pm$ 0,020	0,543 $\pm$ 0,001	0,545 $\pm$ 0,002	0,545 $\pm$ 0,003	0,547 $\pm$ 0,001
2a	0,544 $\pm$ 0,006	0,548 $\pm$ 0,012	0,551 $\pm$ 0,007	0,545 $\pm$ 0,013	0,542 $\pm$ 0,008	0,541 $\pm$ 0,011
3a	0,538 $\pm$ 0,025	0,543 $\pm$ 0,009	0,541 $\pm$ 0,032	0,539 $\pm$ 0,008	0,540 $\pm$ 0,013	0,532 $\pm$ 0,024
1b	0,540 $\pm$ 0,029	0,538 $\pm$ 0,027	0,542 $\pm$ 0,015	0,543 $\pm$ 0,007	0,537 $\pm$ 0,006	0,549 $\pm$ 0,028
2b	0,548 $\pm$ 0,029	0,551 $\pm$ 0,016	0,548 $\pm$ 0,008	0,546 $\pm$ 0,014	0,554 $\pm$ 0,019	0,547 $\pm$ 0,021
3b	0,550 $\pm$ 0,015	0,554 $\pm$ 0,013	0,549 $\pm$ 0,002	0,553 $\pm$ 0,013	0,547 $\pm$ 0,023	0,551 $\pm$ 0,005
1c	0,549 $\pm$ 0,018	0,543 $\pm$ 0,013	0,551 $\pm$ 0,017	0,545 $\pm$ 0,009	0,547 $\pm$ 0,018	0,552 $\pm$ 0,006
2c	0,547 $\pm$ 0,027	0,541 $\pm$ 0,025	0,546 $\pm$ 0,005	0,547 $\pm$ 0,014	0,550 $\pm$ 0,029	0,544 $\pm$ 0,012
3c	0,550 $\pm$ 0,016	0,555 $\pm$ 0,019	0,547 $\pm$ 0,008	0,545 $\pm$ 0,013	0,552 $\pm$ 0,028	0,548 $\pm$ 0,016

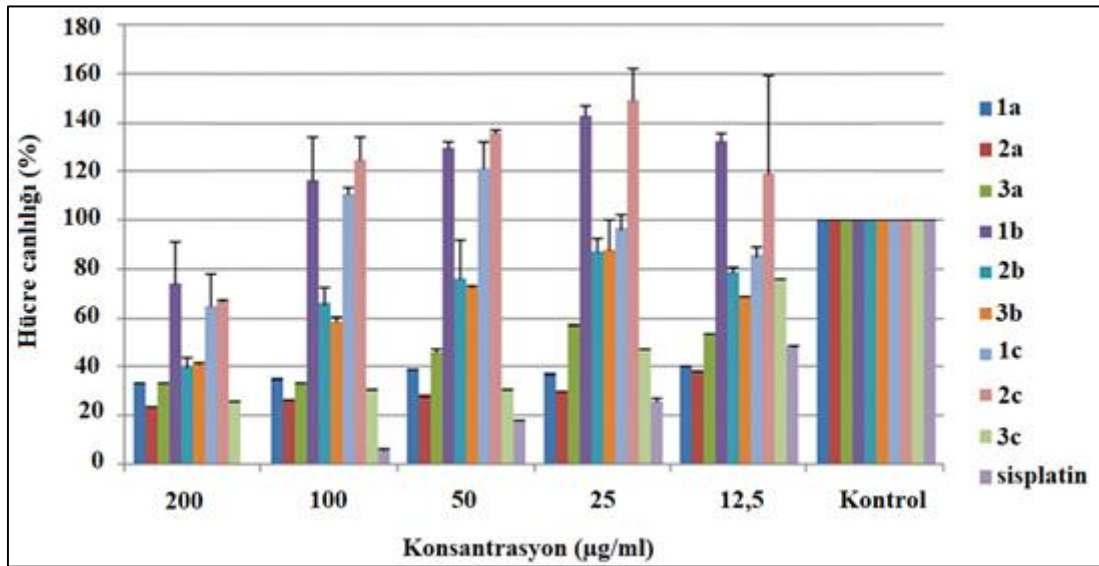
4.4. Sitotoksik Aktivite

200-12,5 $\mu\text{g/ml}$ arasında değişen konsantrasyonlardaki 1a-3a, 1b-2b ve 1c-3c bileşiklerinin L929 fibroblast ve DLD-1 kolon kanser hücre hatları üzerinde göstermiş olduğu sitotoksik aktivite WST-1 yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Bileşiklerin fibroblast hücrelerine karşı etkileri Şekil 4.1’de; DLD-1 hücrelerine olan etkileri ise Şekil 4.2’de gösterilmektedir. Elde edilen verilere göre tüm maddelerin konsantrasyona bağlı olarak her iki hücre hattında da sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir. DLD-1 kolon kanser hücre hattına karşı en yüksek sitotoksik aktiviteyi 2a göstermiştir. Pirolidin sübstitüenti taşıyan bileşikler (1a-3a) DLD-1 hücrelerine morfolin (1b-3b) ve 1,4-dioksa-8-azaspiro[4,5]dekan sübstitüentleri (1c-3c) taşıyan bileşiklerden daha yüksek sitotoksik aktivite göstermişlerdir. Morfolin (1b-3b) ve 1,4-dioksa-8-azaspiro[4,5]dekan sübstitüentleri (1c-3c) taşıyan bileşikler fibroblast hücrelerine düşük konsantrasyonlarda orta derecede sitotoksik aktivite göstermiştir. 2a

haricindeki tüm bileşiklerin L929 fibroblast hücrelerine karşı sisplatinden daha az toksik olduğu tespit edilmiştir. 2a bileşiği düşük konsantrasyonlarda DLD-1 kolon kanser hücrelerine karşı sisplatin kadar yüksek sitotoksik etki göstermiştir. 1a, 2a ve 3c bileşikler 25 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda sisplatin gibi kanser hücrelerinin %50'den fazlasını öldürmüştür.



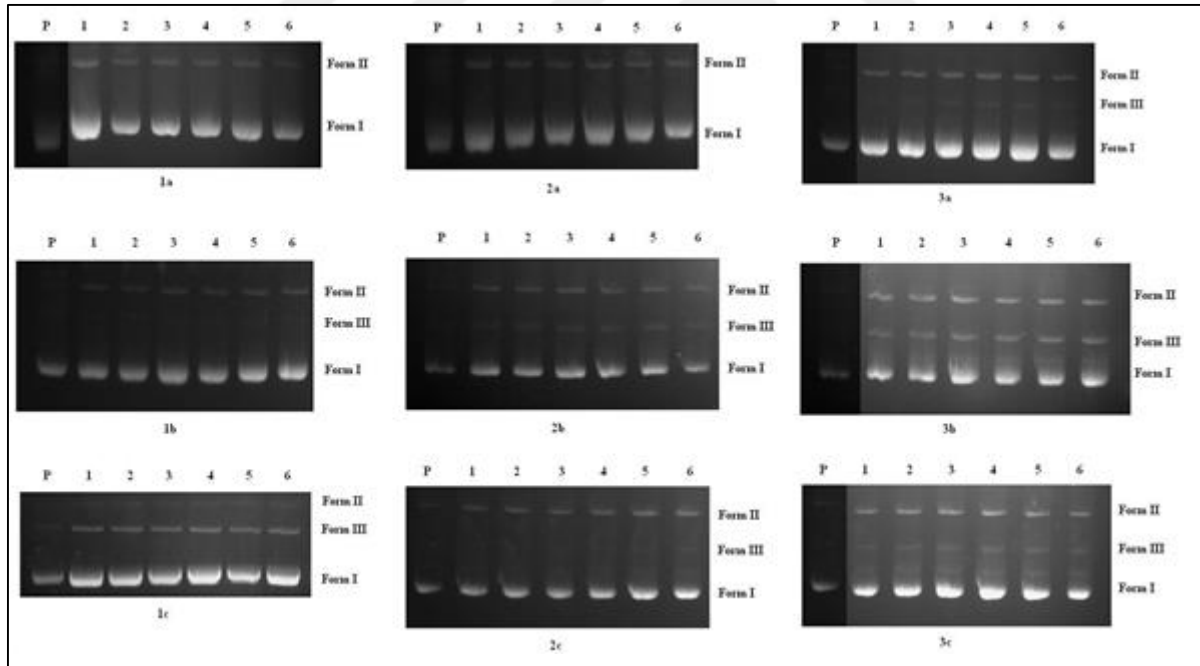
Şekil 4.1. 1a-3c bileşikler ve pozitif kontrol olarak kullanılan cisplatinin 12,5-200 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarına 24 saat maruz bırakılan fibroblast hücrelerinin % canlılıkları



Şekil 4.2. 1a-3c bileşikler ve pozitif kontrol olarak kullanılan cisplatinin 12,5-200 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarına 24 saat maruz bırakılan DLD-1 hücrelerinin % canlılıkları

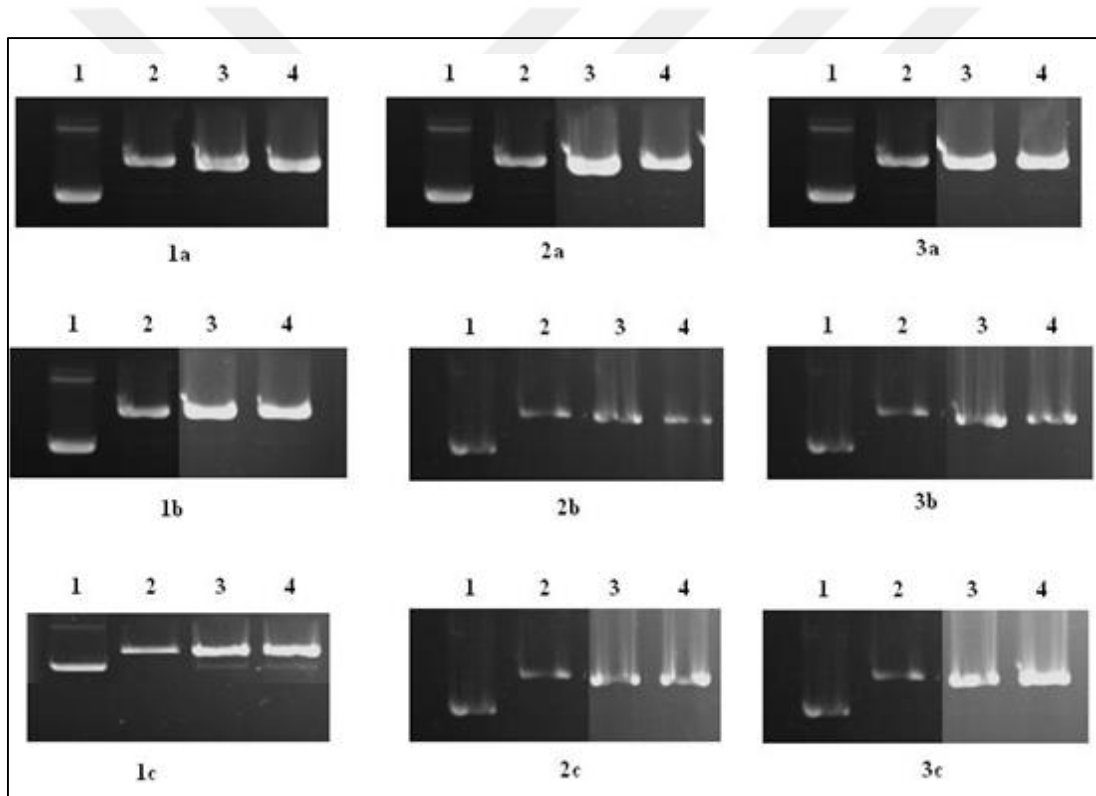
4.5. Bileşiklerin DNA ile Etkileşimi

Çalışmada kullanılan 1a-3a, 1b-2b ve 1c-3c bileşiklerinin plazmit DNA ile etkileşimleri agaroz jel elektroforezi ile araştırılmıştır. Pirolidin sübstitüe bileşiklerden 1a'nın çalışılan tüm konsantrasyonlarda kapalı halkasal yapıda olan Form I'in hareketini yavaşlattığı; 2a'nın konsantrasyon azaldıkça Form I'in hareketini yavaşlattığı; 3a'nın ise konsantrasyon azaldıkça tüm formların hareketini artırdığı belirlenmiştir. Morfolin sübstitüe bileşiklerden 1b'nin konsantrasyon azaldıkça tüm formların hareketini artırdığı; 2b'nin yüksek konsantrasyonlarda Form I'in hareketini artırdığı; 3b'nin ise konsantrasyon azaldıkça tüm formların hareketini artırdığı tespit edilmiştir. 1,4-dioksa-8-azaspiro[4,5]dekan sübstitüe bileşiklerden 1c'nin konsantrasyon azaldıkça doğrusal yapıda olan Form III'ün hareketini artırdığı; 2c ve 3c'nin DNA'nın hareketi üzerinde önemli bir değişikliğe sebep olmadığı belirlenmiştir. 3a, 2b, 3b, 1c ve 3c bileşiklerinin tüm konsantrasyonlarında DNA'nın kesilmiş olduğunu gösteren lineer form III yapısının oluştuğu görülmektedir (Resim 4.3).

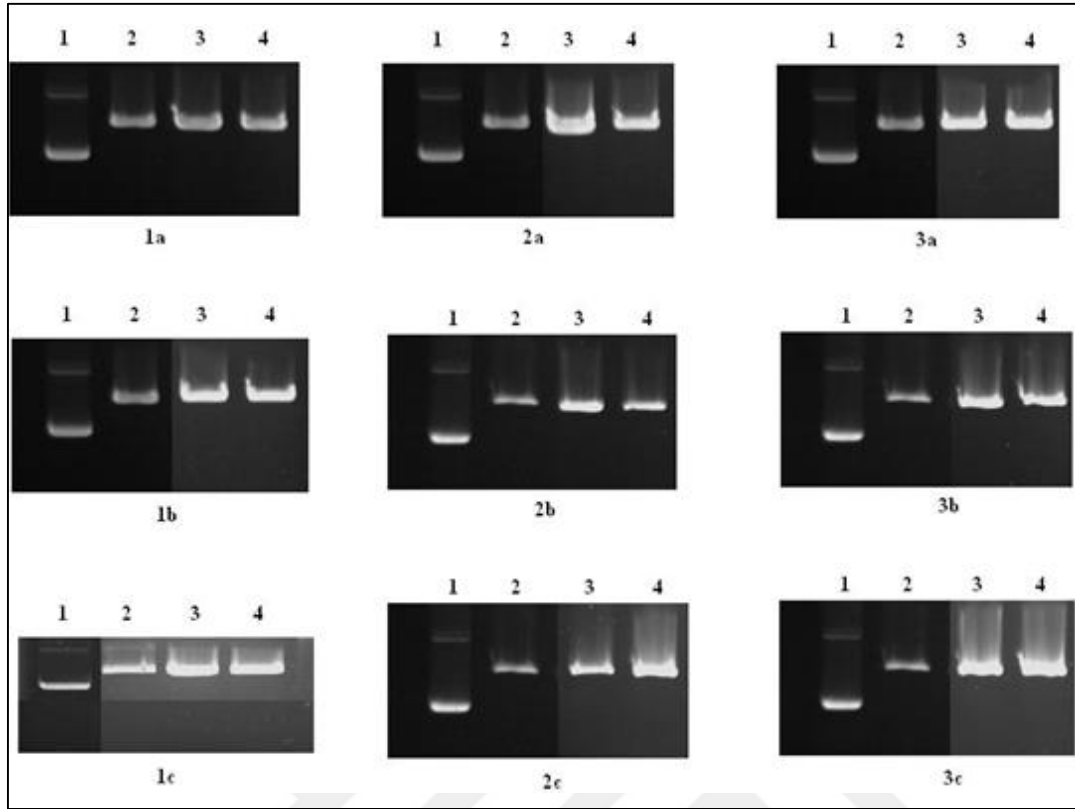


Resim 4.3. Çalışmada kullanılan bileşiklerin plazmit DNA üzerindeki etkisi. (P):Bileşiklerle muamele edilmemiş plazmit DNA; (1):100 μ M; (2):50 μ M; (3):25 μ M; (4):12,5 μ M; (5):6,25 μ M; (6):3,125 μ M. Form I: Kapalı halkasal plazmit DNA; Form II: Açık halkasal plazmit DNA; Form III: Doğrusal plazmit DNA

Bileşiklerin DNA'daki nükleotitlere bağlanma durumlarını belirlemek için en yüksek (100 μM) ve en düşük (3,125 μM) iki konsantrasyon ile muamele edilmiş plazmit DNA'nın *Bam*HI ve *Hind*III restriksiyon endonükleazlar ile enzim kesimleri yapılmıştır. *Bam*HI enzimi DNA üzerindeki 5'-G/GATCC-3' bölgesini tanıırken; *Hind*III enzimi 5'-A/AGCTT-3' bölgesini tanımaktadır. *Bam*HI ile muamele edilmiş bileşik-DNA karışımlarından yalnız 1c'nin kesilmediği; diğer tüm örneklerin enzim ile kesildiği görülmekte iken *Hind*III enziminin tüm örnekleri kestiği tespit edilmiştir (Resim 4.4-4.5). Bu durum 1c haricindeki bileşiklerin DNA'ya *Bam*HI ve *Hind*III enzimlerinin kesim bölgesindeki nükleotitlerden bağlanmadığını; 1c bileşiğinin ise *Bam*HI enziminin kesim bölgesi olan 5'-G/GATCC-3' dizisine bağlandığını göstermektedir.



Resim 4.4. Bileşiklerle muamele edilmiş plazmit DNA'nın *Bam*HI restriksiyon endonükleaz ile kesimi. (1):Bileşiklerle muamele edilmemiş pBR322 plazmit DNA; (2): *Bam*HI ile kesilmiş plazmit DNA; (3):100 μM bileşik ile muamele edilmiş plazmit DNA'nın *Bam*HI ile kesimi; (4): 3,125 μM bileşik ile muamele edilmiş plazmit DNA'nın *Bam*HI ile kesimi



Resim 4.5. Bileşiklerle muamele edilmiş plazmit DNA'nın *Hind*III restriksiyon endonükleaz ile kesimi. (1):Bileşikle muamele edilmemiş pBR322 plazmit DNA; (2): *Hind*III ile kesilmiş plazmit DNA; (3):100 µM bileşik ile muamele edilmiş plazmit DNA'nın *Hind*III ile kesimi; (4): 3,125 µM bileşik ile muamele edilmiş plazmit DNA'nın *Hind*III ile kesimi



5. TARTIŞMA

Okumuş ve diğerleri (2015) sentezlemiş oldukları mono(4-nitrobenzil)spirosiklotrifosfazen bileşiklerinin antimikrobiyal ve sitotoksik aktiviteleri ile DNA etkileşimlerini incelemişlerdir. 2500 µM konsantrasyondaki bileşiklerin çeşitli patojen mikroorganizmalara karşı zayıf antimikrobiyal etkisinin olduğunu tespit etmişlerdir. 5a ve 6a bileşikleri *B. subtilis*; 6a ise *B. cereus* bakterisine karşı bileşik 6 ise *S. typhimurium* ve *E. coli* ATCC 35218 bakterilerine karşı etki göstermiştir. Bileşik 5b ve 6b ise *C. tropicalis* fungusuna karşı etkili olmuştur. 4-nitrobenzil spiro fosfazen bileşiklerinin MİK değerlerinin 4-florobenil spiro fosfazen bileşiklerine göre daha düşük olduğu görülmüştür. Bileşik 4b, 5b ve 6b'nin plazmit DNA ile etkileşimlerinin benzer olduğu ve konsantrasyon azaldıkça Form 1 DNA'nın hareketliliğinde azalma olduğu; bileşik 4a, 5a, 6a, 4c, 5c ve 6c'nin DNA üzerinde çok az bir etkiye sahip olduğu; tetraklorofosfazen bileşiklerinin ise DNA'yı parçaladığı belirlenmiştir. Bileşikler ile muamele edilmiş plazmit DNA'nın *Bam*HI ve *Hind*III restriksiyon endonükleaz enzimleri ile kesilmesi sonucu elde edilen bantlaşmalara bakıldığında bu tez çalışmasından elde edilen sonuçların aksine bileşiklerin enzim kesimini engellediği ve bu bileşiklerin G/G ve A/A nükleotitlerinden DNA'ya bağlandığı söylenmiştir. 10 µg/ml 4a ve 4c bileşikleri ile 96 saat boyunca muamele edilmiş HeLa servikal kanser hücrelerinin canlılığı incelendiğinde 4-nitrobenzilspiro tetra(1,4-dioksa-8-azaspiro[4,5]dekan) siklotrifosfazen (4c) bileşiğinin daha etkili olduğunu belirlemişlerdir. Bileşik 4a ve 4c'nin MDA-MB-231 kanser hücre hattı ve L929 fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi WST yöntemi ile incelenmiştir. Bu tez çalışmasında kullanılan bileşiklerin sitotoksik aktivitesi ile paralel olarak bileşiklerin yüksek konsantrasyonlarda daha fazla hücre ölümüne sebep olduğu ve sitotoksik etkinin konsantrasyona bağlı olduğunu tespit etmişlerdir. Bileşik 4c'nin kanser hücre hattında bileşik 4a'ya göre yüksek konsantrasyonlarda daha toksik olduğu fakat bileşik 4c'nin fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin bileşik 4a'ya göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bileşik 4a ve 4c'nin MDA-MB-231 kanser hücre hattı ve fibroblast hücreleri üzerindeki apoptotik ve nekrotik etkilerini ikili boyama yaparak belirlemişlerdir. Bileşiklerin tüm konsantrasyonlarda kanser hücreleri üzerindeki apoptotik etkilerinin fibroblast hücrelerine göre daha düşük olduğunu; sisplatinin apoptotik etkisinin her iki hücre hattında da bileşiklere göre daha yüksek olduğunu görmüşlerdir. Ayrıca kanser hücreleri üzerindeki apoptotik etkinin fibroblast hücreleri üzerindeki etkiye göre %10 daha fazla olduğunu belirlemişlerdir. Her iki hücre hattında da nekrotik hücre oranının konsantrasyona bağlı

olarak arttığı gözlemlenmiştir. Nitro grubu redoks aktif merkez olduğu için 4-nitro benzil öncüsü fosfazen halkasına birleşmektedir ve redoks aktif merkez içeren bileşiklerin DNA ile etkileşimi başlattığı ve bu bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesini arttırdığı düşünülmektedir [17].

Elmas ve diğerleri (2016) sentezledikleri 4-florobenzilspiro(N/O)siklotrifosfazen bileşikleri ve bunların fosfazenyum tuzlarının (protik iyonik sıvılar-PILs) antimikrobiyal aktivitesi ve DNA ile etkileşimlerini incelemişlerdir. Bileşik 3c ve 4c'nin *E. faecalis*'e karşı diğer bileşiklere göre daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Serbest bazlar ve tuzlar karşılaştırıldığında tuzların serbest bazlara göre *C. albicans* mayası ve *K. pneumoniae* bakterisine karşı etkisinin daha yüksek olduğunu görmüşler ve tuz formunun antimikrobiyal aktiviteyi arttırdığını söylemişlerdir. Bu sonuca göre bu tez çalışmasında kullanılan bileşiklerin tuz formlarının sentezlenebilmesi durumunda antimikrobiyal aktivitede bir artış olabileceği öngörülmektedir. Serbest bazlar ve bunların tuzlarının plazmit DNA ile etkileşimlerini agaroz jel elektroforezi ile incelemişler ve bileşik 3d haricinde diğer tüm bileşiklerin benzer aktiviteye sahip olduğunu; madde konsantrasyonu azaldıkça Form I DNA'nın hareketinin az miktarda arttığını belirlemişlerdir. Bileşikler ile muamele edilmiş plazmit DNA'nın *Bam*HI ve *Hind*III restriksiyon enzimleri ile kesilmesi sonucu oluşan bantlar incelendiğinde bu tez çalışmasında kullanılan bileşiklerin aksine 3a, 3b, 3c, 4b ve 4c bileşiklerinin *Bam*HI enziminin tanıma bölgesi olan GG nükleotitlerine bağlandığını; 3b, 4a ve 4b bileşiklerinin ise *Hind*III enziminin tanıma bölgesi olan AA nükleotitlerine bağlandığını tespit etmişlerdir.

Berberoğlu ve diğerleri (2016) spiro-ansa-spiro ve spiro-bino-spiro tetramerik fosfazen türevlerinin antimikrobiyal ve sitotoksik aktiviteleri ile DNA ile etkileşimlerini incelemişlerdir. Bileşik 13 ve 16'nın fibroblast ve MDA-MB-231 meme kanser hücre hatları üzerinde yüksek oranda sitotoksik etkisinin olduğunu ve IC₅₀ değerlerinin bir kanser ilacı olan sis-platinden daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Bu iki bileşiğin sisplatin kadar etkili olduğunu söylemişlerdir. Benzer şekilde bu tez çalışmasında çalışılan fosfazen bileşiklerinin bir kısmı da kolon kanser hücreleri üzerinde sisplatin kadar etkili olmuştur. Bileşiklerin on bakteri ve 3 maya suşu üzerindeki antimikrobiyal etkisine bakmışlar ve bileşik 16 haricindeki diğer bileşiklerin çok düşük antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu; bileşik 16'nın bu tez çalışmasında kullanılan bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesine benzer şekilde özellikle gram pozitif bakteriler ve mayalar üzerinde etkili olduğunu bulmuşlardır.

Bileşiklerin plazmit DNA ile etkileşimleri incelendiğinde bileşik 12, 13, 14 ve 18'in DNA'nın hareket ve yoğunluğunu etkilediğini tespit etmişlerdir [19].

Asmafiliz ve diğerleri (2016) yaptıkları çalışmada spiro-bino-spiro trimerik fosfazen türevlerinin biyolojik aktivitesini incelemişlerdir. En yüksek antimikrobiyal etkiyi bileşik 9 *B. cereus*, *B. subtilis*, *P. vulgaris*, *E. faecalis* ve *C. tropicalis* mikroorganizmaları üzerinde göstermiştir. Bileşiklerin L929 fibroblast ve MDA-MB-231 meme kanser hücre hattı üzerindeki sitotoksik aktivitesine bakıldığında en yüksek etkiyi yine bileşik 9'un gösterdiğini; apoptotik hücrelerin DNA fragmentasyonu incelendiğinde MDA-MB-231 hücrelerindeki fragmentasyonun fibroblast hücrelerine göre daha yüksek olduğunu; fibroblast hücrelerinde en yüksek aktiviteyi bileşik 15'in oluşturduğunu ve MDA-MB-231 hücrelerinde ise en yüksek aktiviteyi bileşik 19'un oluşturduğunu belirlemişlerdir. Bileşiklerin DNA ile etkileşimlerine bakıldığında tüm bileşiklerin plazmit DNA'nın hareket ve yoğunluğunu az veya çok miktarda etkilediğini görmüşlerdir. Bileşikler ile muamele edilmiş plazmit DNA'nın *Bam*HI ve *Hind*III restriksiyon enzimleri ile kesim sonuçlarına bakıldığında 5-15 bileşikler ile muamele edilmiş plazmit DNA'nın bu enzimler tarafından kesildiğini; 16-20 bileşikler ile muamele edilmiş plazmit DNA'yı ise enzimlerin kesmediğini tespit etmişler ve 16-20 bileşiklerinin bu tez çalışmasında kullanılan bileşiklerin aksine DNA'ya G/G ve A/A nükleotitlerinden bağlandığını söylemişlerdir [20].

Akbaş ve diğerleri (2016) fosfazenyum tuzlarının antimikrobiyal ve sitotoksik aktivitelerini, DNA ile etkileşimlerini incelemişlerdir. DLD-1 kolon kanseri hücre hattı farklı konsantrasyonlarda bileşikler ile muamele edilmiş ve 125 µM konsantrasyonda 11a, 13a, 14a ve 15a bileşiklerinin hücre canlılığını %40'a kadar düşürdüğünü tespit etmişlerdir. En yüksek konsantrasyon olan 1259 µM'da ise tüm bileşiklerin yüksek sitotoksik aktiviteye sahip olduğunu görmüşlerdir. Bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerine bakıldığında tüm bileşiklerin Gram pozitif bir bakteri olan *B. subtilis*'e karşı etkili olduğunu; *E. coli* ATCC 35218, *E. faecalis* ve *S. typhimurium* bakterilerine karşı herhangi bir etkilerinin olmadığını belirlemişlerdir. Tetrapiperidino fosfazenyum tuzları olan 13a, 14a ve 15a bileşiklerinin bu tez çalışmasında kullanılan bileşiklerin de üzerinde etkili olduğu *C. albicans*, *C. krusei* ve *C. tropicalis* mayalarına karşı aktivite gösterdikleri tespit edilmiş ve bu tuzların fosfazen ligandlarının da aynı mayalar üzerinde etkili olduğu söylenmiştir [26]. Bileşiklerin MİK, MBK ve MFK değerlerinin bakteriler için 312,5 ile 1250 µM; mayalar için ise <19,5 ile 156 µM arasında olduğunu belirlemişlerdir. Bileşiklerin pBR322 plazmit DNA ile

etkileşimlerine bakıldığında 13a, 14a ve 15a bileşiklerinin plazmit DNA'nın hareket ve yoğunluğunda düşüşe sebep olduğu; bileşik 14a ve 15a'nın aynı zamanda DNA'yı parçaladığını tespit etmişlerdir. Plazmit/bileşik karışımları *Bam*HI ve *Hind*III restriksiyon enzimleri ile muamele edildiğinde enzimlerin DNA'yı kesebildiği görülmüş ve bu tez çalışmasında kullanılan bileşiklere benzer şekilde maddelerin DNA'daki nükleotitlere bağlanmadığını söylemişlerdir [21].

Tümer ve diğerleri (2015) NN (1-3) veya NO (4 ve 5) spirociklik monoferrosenil siklotrifosfazenlerin 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehit (potasyum vanillinat) ile kademeli Cl yer değiştirme reaksiyonları sonucunda mono (1a-5a), geminal (*gem*-1b-5b), non-geminal (*cis*-5b ve *trans*-1b-4b), tri (1c, 3c-5c) ve tetra-vanillinato-substitüe fosfazenleri (1d-5d) elde etmişler ve bu bileşiklerin antimikrobiyal ve sitotoksik aktivitelerini ve DNA ile etkileşimlerini incelemiştir. Bileşik 2d, 5d ve *cis*-5b, 5-50 µg/ml arasında değişen konsantrasyonlarda 24 saat boyunca HeLa kanser hücre hattı ile muamele edilmiş ve 2d bileşiğinin antikanser etkisinin olmadığı görülürken bileşik 5d ve *cis*-5b'nin sisplatin ve paklitaksel ile karşılaştırıldığında sınırlı bir etkisinin olduğunu belirlemişlerdir. 5d ve *cis*-5b bileşiklerinin HeLa kanser hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi 96 saat boyunca takip edilmiş ve hücre canlılığının zamana bağlı olarak hücre ölümüne sebep olduğunu tespit etmişlerdir. 5000 µM konsantrasyondaki 2a, 3a, 4a, *gem*-1b, *cis*-5b, 3c, 4c ve 1d-5d bileşiklerinin *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* NRRL-B-3711, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ve *Candida albicans* ATCC 10231 mikroorganizmalarına karşı göstermiş oldukları antimikrobiyal aktiviteye bakıldığında 3a, *gem*-1b, 3c, 4c, 3d ve 4d bileşiklerinin orta derecede etkili oldukları ve MİK değerlerinin 4,88 ile 625 µM arasında değiştiğini; *P. aeruginosa*, *E. faecalis* ve *Candida albicans* mikroorganizmalarının test bileşiklerine karşı herhangi bir duyarlılık göstermediğini belirlemişlerdir. Bileşik 3c'nin 3,88 µM MİK değeri ile özellikle *S. aureus* bakterisine karşı etkili olduğunu görmüşlerdir. Vanillinato ve pendant ferrosenil grupları içeren fosfazenlerin *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus* ve *B. subtilis* bakterilerine karşı aktif olmalarını P atomuna bağlanan substitüentlere (pirolidin, morfolin ve vanillinato grupları) göre ferrosenil siklotrifosfazenlerin antimikrobiyal aktivitesini değiştirmesi olarak yorumlamışlardır. Bu tez çalışmasında kullanılan tetrafosfazen bileşikleri de morfolin ve pirolidin grupları içermektedir. Bu grupların aynı etkiyi bu bileşikler üzerinde de göstermiş olduğu düşünülmektedir. 2a, 3a, 4a, *gem*-1b, *cis*-5b, 3c, 4c ve 1d-5d bileşiklerini pBR322

plazmit DNA ile 24 saat inkübasyona bırakmış ve plazmit DNA'da meydana gelen değişiklikleri agaroz jel elektroforezi yöntemi ile incelediklerinde 3a, 3c, 2d ve 4d bileşiklerinin DNA'nın hareketini az miktarda etkilediğini; 2a, 4a, gem-1b, 1d, 3d ve 5d bileşiklerinin süpersarmal DNA'nın hareketini kısıtladığını; 4a ve 4c maddelerinin en yüksek konsantrasyonlarının DNA'yı kestğini belirlemişlerdir. Bileşik/plazmit DNA karışımı *Bam*HI ve *Hind*III enzimleri ile kesilmek istendiğinde *Hind*III enziminin DNA'yı kesemediğini görmüşler ve bu tez çalışmasındaki bileşiklerin aktivitesinin aksine bileşiklerin plazmit DNA'ya *Hind*III enziminin bağlanma bölgesi olan A/A bölgesinden bağlandığını söylemişlerdir [22].

Başterzi ve diğerleri (2015) kısmi substitüe spiro-ansa-spiro-siklotrifosfazenlerdeki (bileşik 7 ve 8) Cl atomlarının pirolidin, 4-(2-aminoetil)morfolin (AEM) ve 1,4-dioksa-8-azaspiro[4,5]dekan (DASD) ile yer değiştirme reaksiyonu sonucu heterosiklik amin substitüe siklotrifosfazenleri (9a-c ve 10a-c) elde etmişler ve bu bileşiklerin biyolojik aktivitelerini incelemişlerdir. $N_3P_3Cl_6$, pirolidin, AEM, DASD, dibenzo-diaza podandlar (3 ve 4) ve fosfazen türevlerinin (5000 μ M) çeşitli patojen mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini incelemişler ve başlangıç bileşiği $N_3P_3Cl_6$, heterosiklik aminler ve dibenzo-diaza podandlar (3 ve 4) ve fosfazen türevlerinin (6, 8, 10a ve 10b) bu tez dahilinde çalışılan bileşiklerin aksine *E. coli* ATCC 35218 üzerinde antimikrobiyal aktivitesi olduğunu; MİK değerlerine bakıldığında fosfazen 7'nin *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. faecalis* ve *E. coli* 25922 bakterilerine karşı oldukça aktif olduğunu ve MİK değerlerinin 78 ile >1250 μ M arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Spiro-ansa-spiro (sas) 7, 8 ve onun analogu olan fosfazenin *E. coli* 35218 üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi karşılaştırıldığında sas 7'nin 8 üyeli halkasının 9 ve 7 üyeli ansa halkasına göre daha etkili olduğunu belirlemişlerdir. Heterosiklik amin substitüe sas 9a-c, 10a-c ve analog fosfazenin durumuna bakıldığında ise sırasıyla 9 üyeli ansa halkası, pirolidin ve AEM grubu içeren 10a ve 10b bileşiklerinin *E. coli* 35218 üzerinde etkili olduğunu görmüşlerdir. Bileşiklerin pBR322 plazmit DNA ile etkileşimleri incelendiğinde pirolidin, AEM ve spiro-bino-spiro (sbs) 6'nın plazmit DNA üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığını ve DASD'ın form I DNA'nın hareketliliğini artırdığını tespit etmişlerdir. $N_3P_3Cl_6$ 'nın plazmit DNA'nın zincirlerinde çentik oluşturarak hızlı hareket eden form I'i daha yavaş hareket eden form II'ye dönüştürdüğünü; fosfazen türevleri 5, 7, 8, 9b ve 9c'nin form I DNA'nın hareketini artırırken 9a'nın yavaşlamaya yol açtığını belirlemişlerdir. Siklotrifosfazenlerin L929 fibroblast hücreleri ve A549 akciğer kanser hücreleri üzerindeki toksik etkilerine bakıldığında sağlıklı hücreler olan fibroblast

hücrelerinde yalnızca 9'nin en yüksek konsantrasyonda toksik etki gösterdiğini, bu tez çalışmasında kullanılan bileşiklerin tersine diğer bileşiklerin fibroblast hücreleri üzerinde herhangi bir etkisinin bulunmadığını görmüşlerdir. A549 akciğer kanser hücrelerinin durumuna bakıldığında ise maddelerin artan konsantrasyona göre toksik etkisinin arttığını ve en yüksek toksik etkiyi 100 µg/ml konsantrasyonda 9c maddesinin gösterdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca maddelerin A549 akciğer kanser hücrelerine karşı toksik etkisinin L929 fibroblast hücrelerinden daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Fosfazen türevlerinin L929 fibroblast hücreleri ve A549 akciğer kanser hücreleri üzerindeki apoptotik ve nekrotik etkileri incelendiğinde L929 fibroblast hücrelerindeki apoptotik etkinin konsantrasyona bağlı olarak artış gösterdiğini; özellikle 10a'nın 100 µg/ml konsantrasyonda en yüksek oranda apoptoza yol açtığını; A549 akciğer kanser hücreleri üzerindeki apoptotik etkinin ise konsantrasyona bağlı olarak değişkenlik göstermesine rağmen çok yüksek oranda apoptotik etkinin oluşmadığını; 9b'nin en yüksek oranda apoptoza sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Bu bileşiklerin nekrotik etkisine bakıldığında ise fibroblast hücrelerindeki nekrotik etkinin konsantrasyona bağlı olmadığını; bileşik 9a'nın 100 µg/ml konsantrasyonda en yüksek oranda nekroza yol açtığını; A549 akciğer kanser hücrelerindeki nekroz etkisinin ise konsantrasyona bağlı olarak arttığını ve bu hücreler üzerindeki en yüksek nekroz etkisini bileşik 10b'nin gösterdiğini ve A549 akciğer kanser hücrelerindeki nekroz etkisinin fibroblast hücrelerindeki nekrotik etkiye göre daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir [141].

Elmas ve diğerleri (2014) $N_4P_4Cl_8$ başlangıç molekülündeki Cl atomlarının N_2O_2 verici tip ligandlar ve ferrosenil diaminler ile yer değiştirme reaksiyonları sonucunda geminal substitüe 2-trans-6-dikloro asa (ansa-spiro-ansa) (1b, 2b, 1c ve 2c) ve 2-trans-6-dikloro mono-ferrosenil-spiro-asa siklotetrafosfazen (3a, 3b, 4a, 4b, 5a ve 5c) bileşiklerini sentezlemişler ve bu bileşiklerin antimikrobiyal, antitüberküloz ve sitotoksik aktivitesi ve DNA ile etkileşimlerini incelemişlerdir. Bileşiklerin MCF-7 meme kanser hücre hattındaki sitotoksik aktivitesini incelediklerinde bileşik 1b ve 2b'nin 1 mg/ml konsantrasyonda hücre canlılığını %40 düşürürken aynı konsantrasyondaki sisplatinin %35 düşürdüğünü ancak diğer bileşiklerin önemli bir etki oluşturmadığını belirlemişlerdir. *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv referans suşu ve ilaca dirençli *M. tuberculosis* klinik suşu 1000-5000 µM arasında değişen konsantrasyonlarda 3a-5b bileşikleri ile muamele edilmiş ve bileşiklerin H37Rv suşuna karşı 1000 µM'ın üzerinde etkili olduğunu ancak klinik suşa karşı hiçbir bileşiğin aktivite göstermediğini belirlemişlerdir. Çalışmada elde edilen bileşiklerin ve ayrıca başlangıç bileşiği ($N_4P_4Cl_8$), piperidin, DASD (1,4-dioksa-8-azaspiro[4,5] dekan),

aminopodand 1 ve 2'nin *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 35218, *E. coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* NRRL-B-3711, *Enterococcus faecalis* ATCC 292112 bakterileri ile *Candida albicans* ATCC 10231 ve *Candida tropicalis* ATCC 13803 mayaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerini incelemişler; 2b, 2c ve 5a bileşiklerinin *B. subtilis*'e karşı etkili olduğunu; 3b, 4b ve 5b bileşiklerinin *B. cereus*'a karşı zayıf antimikrobiyal aktivite gösterdiğini; 5a bileşiğinin *E. coli* ATCC 35218 bakterisine karşı yine zayıf antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca bileşiklerin hiçbirinin bu tez çalışmasındaki maddelerin aksine antifungal etkiye sahip olmadığını tespit etmişlerdir. 5000- 312 μ M arasında değişen konsantrasyonlardaki bileşikler ile 24 saat inkübe edilmiş plazmit DNA'nın agaroz jel elektroforezinde yürütüldükten sonra elde edilen elektroforetogramları incelendiğinde 3a-5a ve 3b-5b bileşiklerinin DNA'yı kesme yeteneğinin olduğunu görmüşler ve bu etkiye bileşiklerdeki redoks aktif ferrosen biriminin sebep olabileceğini söylemişlerdir [8]. Aynı birim bu çalışma kapsamında kullanılan bileşiklerde de bulunduğu için bu bileşiklerin DNA üzerindeki etkisinin buradan gelmiş olabileceği düşünülmektedir.

Tümer ve diğerleri (2013) spirosiklik mono (1 ve 2) ve bisferrosenil siklotrifosfazenler (3–5) ile 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehidin (potasyum vanillinat) potasyum tuzunun Cl yer değiştirme reaksiyonları sonucunda mono (1a–5a), geminal (gem-1b–5b), non-geminal (cis-1b, cis-5b ve trans-2b–5b), tri (1c–5c) ve tetra-substitüe fosfazen (1d–5d) bileşiklerini elde etmişler ve bu bileşiklerin antimikrobiyal ve sitotoksik etkileri ve DNA ile etkileşimlerini araştırmışlardır. 1d, 2d ve 4d bileşiklerinin HeLa kanser hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi bir antikanser ajan olan sisplatin ve paklitaksel ile karşılaştırıldığında 2d bileşiğinin 1d ve 4d bileşiklerine göre daha aktif olduğunu; 2d bileşiğinin özellikle 5 ve 10 μ g/ml konsantrasyonlarında pozitif kontrol olarak kullanılan sisplatin ve paklitaksel kadar inhibisyon etkisinin olduğunu görmüşlerdir. 2d bileşiğinin potansiyel sitotoksik etkisini incelemek için bu bileşikler muamele edilmiş HeLa kanser hücrelerinin canlılığını 96 saat süre ile takip etmişler ve sonuçta bileşiğin ilk 48 saatte hücre canlılığını azalttığını ve 72 saat sonra tekrar bir hücre azalmasına sebep olduğunu belirlemişlerdir. Sonuç olarak pendant ferrosenil ve dört vanillin grubunun siklotrifosfazenlerin HeLa hücre hattına karşı antiproliferatif etkisini artırdığını söylemişlerdir. Bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesine bakıldığında 5a, cis-1b, 2c ve 1d bileşiklerinin patojen bakterilere karşı aktif olduğunu ancak bu etkinin standart antibiyotikler olan ampicilin ve kloramfenikol kadar yüksek olmadığını tespit etmişlerdir. Ferrosenil siklotrifosfazen türevlerinin antimikrobiyal aktivitesinin P

atomuna bağlanan substitüentlere (pirolidin, 1,4-dioksa-8-azaspiro[4,5]dekan, morfolin ve vanillinato grupları) bağlı olarak değişkenlik gösterdiğini söylemişlerdir. Bu tez çalışmasında kullanılan bileşiklerin de antimikrobiyal aktivitesi bu çalışmaya benzer şekilde P atomuna bağlanan gruplara göre değişkenlik göstermiştir. *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv referans suşunun test bileşiklerine olan duyarlılığına bakıldığında gem-1b ve gem-2b bileşiklerinin *M. tuberculosis* gelişimini inhibe ettiğini belirlemişlerdir. 312-5000 µM arasında değişen konsantrasyonlardaki test bileşikleriyle 24 saat muamele edilmiş plazmit DNA üzerindeki değişiklikler incelendiğinde bileşik 2d'nin en yüksek iki konsantrasyonunun aşırı sargılı DNA'nın yoğunluğunu önemli derecede artırdığını; madde konsantrasyonu azaldıkça form I'in hızında artış olurken form II'nin hızında azalma meydana geldiğini ve aşırı sargılı plazmit DNA'yı küçük parçalara kestiğini gözlemlemişlerdir. gem-1b ve cis-1b bileşiklerinin konsantrasyonu azaldıkça form I DNA'nın hız ve yoğunluğunda azalma olduğunu; 1d bileşiğinin konsantrasyonu arttıkça form I DNA'nın hız ve yoğunluğunda artış olduğunu ve aynı zamanda DNA'nın kesilmesinden kaynaklanan form III bandının varlığını tespit etmişler; diğer bileşiklerin de benzer aktiviteye sahip olduğunu görmüşlerdir. Bileşikler ile muamele edilmiş plazmit DNA *Bam*HI ve *Hind*III enzimleri ile kesilmek istendiğinde DNA'nın kesilmediği görülmüş ve bu tez çalışmasındaki bileşiklerin aksine bileşiklerin bu enzimlerin DNA'yı tanıma bölgesi olan G/G ve A/A nükleotitlerinden DNA'ya bağlandığını söylemişlerdir [23].

Koran ve diğerleri (2013) heksaklorosiklotrifosfazen (1) ile 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehitin reaksiyonu sonucunda heksakis[(4-formil-2-metoksi)fenoksi]siklotrifosfazen (2) bileşiğini elde etmişler; piridin içindeki hidroksilamin hidroklorid ile heksakis[(4-formil-2-metoksi)fenoksi]siklotrifosfazenin (2) reaksiyonuyla yeni bir oksim-fosfazen olan heksakis[(4-(hidroksiimino)2-metoksi)fenoksi]siklotrifosfazen (3) bileşiğini sentezlemişler ve 3 bileşiğinin farklı alkil ve açıl halojenler ile reaksiyonları sonucunda elde ettikleri bileşiklerin (4-13) iki gram-pozitif bakteri (*Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis*), iki gram-negatif bakteri (*Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumonia*) ve fungal suşlar (*Aspergillus niger* ve *Candida albicans*) üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. 3 numaralı bileşiğin benzil klorid ile reaksiyonuyla 4; asetil klorid ile reaksiyonuyla 5; alil bromid ile reaksiyonuyla 6; benzoil klorid ile reaksiyonuyla 7; propanoil klorid ile reaksiyonuyla 8; 4-metoksibenzoil klorid ile reaksiyonuyla 9; 2-klorobenzoil klorid ile reaksiyonuyla 10; kloroasetil klorid ile reaksiyonuyla 11; metil iodid ile reaksiyonuyla 12; tiofen-2-karbonil klorid ile reaksiyonuyla

13 bileşiğini sentezlemişlerdir. Bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri incelendiğinde bileşik 7 ve 13'ün 27-30 mm'lik zon çapıyla *E. coli* ve *E. faecalis* bakterilerine standart bir antibiyotik olan siprofloksasin kadar etkili olduğunu; 3, 6, 9 ve 12 bileşiklerinin 22-27 mm'lik zon çapıyla tüm bakterilere kayda değer bir antimikrobiyal aktivite gösterdiğini; 4, 5, 10 ve 11 bileşiklerinin 18 ile 23 mm arasında değişen zon çapıyla orta derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bileşik 2 ve 8'in 13-17 mm zon çağı oluşturarak en düşük antibakteriyal etkiye sahip olduğunu görmüşler ve bu çalışmadaki bileşiklerin antifungal aktivitesinin aksine bileşiklerin antifungal aktivitelerinin antibakteriyal etkilerine göre kıyaslandığında oldukça düşük olduğunu gözlemlemişlerdir [16].

Koçak ve diğerleri (2013) kısmi substitüe spiro-ansa-spiro (sas) fosfazen (bileşik 3) ve spiro-bino-spiro (sbs) fosfazen (bileşik 4) bileşiklerini $N_3P_3Cl_6$ ve dibenzo-diaza-podandın (bileşik 2) reaksiyonundan elde etmişler; daha sonra bu bileşiklerden tam heterosiklik amin (pirolidin, piperidin, morfolin ve 1,4-dioksa-8-azaspiro[4,5]dekan -DASD) substitüe sas 5a-5d ve sbs 6a-6d siklotrifosfazen bileşiği sentezlemişler ve bu bileşiklerin çeşitli patojen mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri ve DNA ile etkileşimlerini incelemişlerdir. Başlangıç bileşiği ($N_3P_3Cl_6$), pirolidin, piperidin, morfolin, DASD ve dibenzo-diaza podandının (2) sentezlenen fosfazen türevleri (3, 4, 5a-5d ve 6a-6d) ile birlikte antimikrobiyal aktivitesine bakıldığında $N_3P_3Cl_6$ bileşiğinin *B. subtilis* ATCC 6633, *B. cereus* NRRL-B-3711 ve *E. coli* ATCC 25922 bakterilerine; piperidinin *B. cereus* NRRL-B-3711, morfolinin *P. aeruginosa* ATCC 27853, ve DASD'nin *B. subtilis* ATCC 6633 ve *B. cereus* NRRL-B-3711 bakterilerine karşı zayıf antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. 3, 4, 5a-5d ve 6a-6d fosfazen türevleri herhangi bir antimikrobiyal etki göstermezken heterosiklik aminler ve başlangıç bileşiğinin de antifungal etkiye sahip olmadığını; yalnızca 6a bileşiğinin *Candida tropicalis* mayasına karşı 15 mm'lik zon çapı ile oldukça iyi bir antifungal etkisinin olduğunu tespit etmişler ve bu etkinin bileşiğin sbs yapısı ve pirolidinil yan gruplarından meydana gelmiş olabileceğini söylemişlerdir. 5000 ile 625 μM arasında değişen konsantrasyonlardaki başlangıç bileşiği ($N_3P_3Cl_6$), pirolidin, piperidin, morfolin, DASD ve dibenzo-diaza podandı (2) ve sentezlenen fosfazen türevlerinin (3, 4, 5a-5d ve 6a-6d) pBR322 plazmit DNA ile etkileşimleri incelendiğinde pirolidin, morfolin ve 2 bileşiğinin plazmit DNA üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığını; piperidin ve DASD'nin yalnızca form I DNA'nın hareketliliği üzerinde küçük bir azalmaya sebep olduğunu; $N_3P_3Cl_6$ başlangıç bileşiğinin ise önemli bir konformasyonel değişime yol

açtığını görmüşlerdir. Diğer fosfazen türevlerinin DNA üzerinde çok az bir etkisinin bulunmasına rağmen kısmi substitüe fosfazen türevleri sas 3 ve sbs 4'ün form II DNA'nın hareketlilik ve yoğunluğunu artırdığını tespit etmişlerdir [24].

Asmafiliz ve diğerleri (2013) tetramorfolin mono- ve bisferrosenilmetilspirosiklotrifosfazen (8a–12a) bileşiklerini sentezlemiş ve bu bileşiklerin çeşitli patojen mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi ve DNA ile etkileşimlerini incelemişlerdir. 8a, 9a, 11a ve 12a bileşiklerinin *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) (G+), *Bacillus cereus* (NRLL B-3008) (G+), *Bacillus subtilis* (ATCC 29213) (G+), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) (G–), *Escherichia coli* (ATCC 35218) (G–), *Escherichia coli* (ATCC 25922) (G–), *Proteus vulgaris* (ATCC 8427) (G–) ve *Enterobacter faecalis* (ATCC 292112) (G+) bakterileri ile *Candida albicans* (ATCC 10231) ve *Candida tropicalis* (ATCC 13803) mayaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerini incelemiş ve standart antibiyotikler olan kloramfenikol, ampisilin (antibakteriyal) ve ketokanozol (antifungal) ile karşılaştırdıklarında bileşiklerin kullanılan test mikroorganizmaları üzerinde herhangi bir antimikrobiyal etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar bu tez çalışmasında kullanılan bileşiklerin antimikrobiyal etkisinin daha yüksek olduğunu göstermektedir. 8a, 9a, 11a ve 12a bileşiklerini plazmit DNA ile 24 saat boyunca inkübasyona bırakmış ve inkübasyon sonrasında agaroz jel elektroforezinde yürütüldükten sonra oluşan DNA bantlarını incelediklerinde 11a ve 12a bileşiklerinin DNA'nın hareketini etkilediğini ve DNA'yı kestiğini belirlemişlerdir. Bileşikler ile muamele edilmiş plazmit DNA *Bam*HI ve *Hind*III restriksiyon endonükleaz enzimleri ile kesilmek istenildiğinde bu tez çalışmasında kullanılan bileşiklerin aksine enzimlerin DNA'yı kesemediğini görmüşler ve test edilen tetramorfolin fosfazenlerin plazmit DNA'da konformasyonel değişime sebep olduğunu söylemişlerdir [7].

Asmafiliz ve diğerleri (2013b) tetrakloro mono (1 ve 2) ve bisferrosenilspirosiklotri fosfazenler (3–5) ile 1,4-dioksa- 8-azaspiro[4,5]dekanın (DASD) reaksiyonu sonucunda mono- (1a–5a), gem- (1b–5b), tri- (1c–4c) ve tetra-DASD-substitüe (1d–5d) ferrosenilsiklotrifosfazen bileşiklerini elde etmişler ve bu bileşiklerin antimikrobiyal, sitotoksik etkileri ve DNA ile etkileşimlerini incelemişlerdir. Bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesine bakıldığında 3a-5a 3c bileşiklerinin *B. subtilis* ATCC 6633 (G+) ve *S. aureus* ATCC 25923 (G+) bakterilerine zayıf antibakteriyal etki gösterirken 3a ve 4a bileşiklerinin *B. cereus* NRRL-B-3 711 (G+) bakterisine orta derecede antimikrobiyal etki gösterdiğini

belirlemişlerdir. Bu tez çalışmasında kullanılan bileşikler de aynı mikroorganizmalar üzerinde etki göstermiştir. 3a–5a, 2b, 4b, 3c, 4c ve 1d–5d bileşiklerinin plazmit DNA ile etkileşimleri incelendiğinde bu bileşiklerin DNA’da konformasyonel değişimlere sebep olduğu ve restriksiyon analizlerine bakıldığında fosfazen türevlerinin DNA’ya A/A nükleotitlerinden bağlandığını tespit etmişlerdir. 2b, 1d, 2d ve 4d bileşiklerinin HeLa servikal kanser hücre hattı üzerindeki etkisini standart antikanser ajanlar olan sisplatin ve paklitaksel ile karşılaştırarak incelemişler ve bileşik 4d’nin sisplatin ve paklitakselden daha güçlü antiproliferatif etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir [25].

Akbaş ve diğerleri (2013) 4-florobenzaldehid ile N-alkildiaminlerin kondensasyon reaksiyonu sonucunda başlangıç Schiff bazlarını sentezlemişler daha sonra bu bileşiklerin NaBH_4 ile redüksiyonuyla N-alkil-N’-mono(4-florobenzil)diaminleri elde etmişlerdir. (4-6). $\text{N}_3\text{P}_3\text{Cl}_6$ ile N-alkil-N’-mono(4-florobenzil)diaminlerin klorid yer değiştirme reaksiyonları sonucunda mono(4-florobenzil)spirosiklotrifosfazen (7-9) bileşiklerini; pirolidin, piperidin ve 1,4-dioksa-8-azaspiro[4,5] dekan (DASD) ile kısmi substitüe tetraklorospirosiklotrifosfazenlerin (4-6) klorid yer değiştirme reaksiyonları sonucunda tam substitüe tetrapirrolidin (10a-12a), tetrapiperidin (10b-12b) ve tetra-1,4-dioksa-8-azaspiro[4,5]dekafosfazen (10d-12d) bileşiklerini sentezlemişler ve tetramorfolinofosfazenleri (10c-12c) kaynayan tolüen içerisinde hazırlamışlardır. Sentezledikleri fosfazen bileşiklerinin antimikrobiyal, sitotoksik etkileri ve DNA ile etkileşimlerini incelemişlerdir. Bileşiklerin HeLa servikal kanser hücre hattı üzerindeki sitotoksik aktivitesini incelemek için hücreleri 5-50 $\mu\text{g/ml}$ arasında değişen konsantrasyonlardaki bileşikler ile 24 saat süre ile muamele etmişler ve bu süre sonundaki hücre canlılığını antikanser ajanlar olan sisplatin ve paklitaksel ile karşılaştırmışlardır. 12a bileşiğinin hücre canlılığını yaklaşık %50 azalttığını; 11a bileşiğinin de benzer bir etki gösterdiğini; 12b bileşiğinin daha yüksek konsantrasyonlarda canlılığı %50 kadar azalttığını tespit etmişler ve 11a, 12a ve 12b maddelerinin HeLa hücre hattında oldukça iyi bir aktivite gösterdiğini söylemişlerdir. 12d ve 12c bileşiklerinin %49 ve %58 oranında hücre canlılığını azaltırken 10c, 11c, 10d ve 11d bileşiklerinin önemli bir inhibisyon etkisinin olmadığını; ayrıca bazı bileşiklerin düşük konsantrasyonlarda daha etkili olduğunu belirlemişlerdir. 12d bileşiğinin antiproliferatif etkisinin sisplatin ve paklitaksel ile karşılaştırıldığında diğer bileşiklere göre daha yüksek olduğunu; 12c ve 12d maddelerinin düşük konsantrasyonlarda (5-10 $\mu\text{g/ml}$) sisplatin kadar etkili olduğunu ve 12c bileşiğinin sitotoksik aktivitesi en yüksek bileşik olduğunu tespit etmişlerdir. Sitotoksik etkileri birbirinden farklı olan 12c, 12d ve 10d

bileşiklerinin gösterdiği etki 96 saat boyunca gözlemlenmiş ve 12c bileşiğinin ilk 48 saat ve sonra 72 saatte canlı hücre sayısını azalttığını; 12d bileşiğinin en sitotoksik bileşik olduğunu ve 12d ve 10d bileşiklerinin 48 saat sonra HeLa hücrelerindeki hücre proliferasyonunu azalttığını belirlemişlerdir. HeLa hücreleri 12c, 12d ve 10d bileşikleriyle 24, 48 ve 72 saat süre boyunca muamele edildikten sonra hücre canlılığı ve apoptotik karakteristiklerini tespit etmek için hücreleri PI, DiOC₆ ve DAPI boyaları ile boyamışlar ve hücrelerdeki morfolojik değişiklikleri gözlemlemişlerdir. Bileşik muamelesinden sonra oluşan hücre ölümünü tespit etmek için kullanılan PI boyama sonucunda 12c, 12d ve 10d bileşiklerine maruz kalan hücrelerde anlamlı bir PI pozitif hücreye rastlamamışlardır. HeLa hücrelerindeki mitokondriyal membran potansiyeli kaybını gösteren DiOC₆ boyama işlemine tabi tutulmuş hücreler incelendiğinde 12c bileşiğinin mitokondriyal membran potansiyelini azalttığını; 10d ve 12d bileşiklerinin HeLa hücrelerine karşı daha az etkili olduğunu tespit etmişlerdir. DAPI boyama sonucunda ise hücrelerin 10d ve 12d bileşiklerine daha uzun süre maruz kaldığında potansiyel apoptotik etkilerinin oluştuğunu görmüşlerdir. 7-9, 10a-12a, 10b-12b, 10c-12c, 10d, 11d ve 12d bileşiklerinin *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* NRRLB-3711, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 bakterileri ve *Candida albicans* ATCC 10231 ve *Candida tropicalis* ATCC 13803 mayalarına karşı olan antimikrobiyal aktivitesini agar kuyu difüzyon yöntemiyle incelemişler ve elde ettikleri verileri standart antibiyotikler olan ampicilin, kloramfenikol ve ketokanazol ile karşılaştırmışlardır. 10a-12a, 10b, 11b ve 12b bileşiklerinin çalıştıkları bazı mikroorganizmalara karşı zayıftan orta dereceye kadar antimikrobiyal aktivite gösterdiğini; 10a ve 11a bileşiklerinin *B. subtilis* bakterisine karşı oldukça zayıf bir etki gösterdiğini; 12a bileşiğinin *B. cereus* ve *B. subtilis* bakterine karşı etkili olduğunu; 10b, 11b ve 12b bileşiklerinin *C. tropicalis* ve *C. albicans* maya suşlarına karşı iyi aktivite gösterdiğini tespit etmişler ve bu etkinin bu bileşiklerin yapısında bulunan tetrapiperidin grubundan kaynaklanabileceğini söylemişlerdir. Bu tez çalışmasında kullanılan bileşikler de aynı mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etki göstermiştir. 7-9, 10a-12a, 10b-12b, 10c-12c, 10d, 11d ve 12d bileşiklerinin plazmit DNA ile etkileşimlerini incelediklerinde 10a, 11a ve 12a bileşiklerinin benzer etki gösterdiğini ve madde konsantrasyonu azaldıkça form I DNA'nın hareketliliğinde az miktarda artış olduğunu gözlemlemişlerdir. Tam substitüe fozfazenlerin (10b-12d) elektroforetogramlarında çift zincir kesiminin göstergesi olan form I'den küçük birkaç bant daha belirlemişlerdir. Bileşik 7 ve 9'un yüksek konsantrasyonlarında DNA hasarından kaynaklandığı düşünülen form I ve II bantlarının net

olarak görülememesi durumunu tespit etmişler; ayrıca bileşik 8'in form I'in hareketliliğinde azalmaya sebep olduğunu belirlemişlerdir. 7-9, 10a-12a, 10b-12b, 10c-12c, 10d, 11d ve 12d bileşikleri ile muamele edilmiş pBR322 plazmit DNA *Bam*HI ve *Hind*III enzimleri ile kesilerek bileşiklerin DNA'ya bağlanma bölgeleri belirlenmek istenildiğinde 10a-12a, 10b-12b, 10d-12d, 9 ve 10c-12c bileşiklerinin bu çalışmada kullanılan bileşiklerin aksine DNA'ya G/G ve A/A nükleotitlerinden bağlandığını; bileşik 7'nin DNA'ya bağlanmadığını; bileşik 8'in ise sadece A/A nükleotitlerinden bağlandığını tespit etmişlerdir [26].

Elmas ve diğerleri (2012) oktaklorosiklotetrafosfazenler ($N_4P_4Cl_8$) ile N_2O_2 verici-tip aminopodandın (1a, 1b, 1g ve 1h) reaksiyonu sonucu spiro-ansa-spiro (sas) (2a, 2b, 2g ve 2h) ve ansa-spiro-ansa (asa) (3a ve 3b) fosfazenler olarak isimlendirilen iki tip bileşik elde etmişler; kısmi substitüe sas fosfazenlerin (2a ve 2b) tetrahidrofuran içindeki pirolidin ve morfolin ile reaksiyonuyla tetrapirolidino (2c ve 2d) ve morfolino (2e ve 2f) türevlerini; asa fosfazenler (3a ve 3b) ile içindeki pirolidin ve morfolin ile reaksiyonuyla ise gem-2-trans-6-dikloropirolidinofosfazenler (3c ve 3d) ve -morfolinofosfazenleri (3e ve 3f) sentezlemişler ve bu bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri ve DNA ile etkileşimlerini incelemişlerdir. Yapılan antimikrobiyal aktivite çalışması sonucunda tetrapirolidinosiklotetrafosfazen türevlerinin (2c ve 2d) Gram pozitif bakterilere karşı zayıf antimikrobiyal aktivite gösterdiğini; rasemik gem-2-trans-6-dikloropirolidinofosfazen türevlerinin (3c ve 3d) yalnız *Candida tropicalis*'e karşı orta derecede antifungal etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Başlangıç bileşiği ($N_4P_4Cl_8$), pirolidin, morfolin, 1a, 1b, 1g ve 1h bileşiklerinin de aynı mikroorganizmalara olan etkisine bakıldığında morfolin ve $N_4P_4Cl_8$ 'in *Pseudomonas aeruginosa*'ya; 1b ve $N_4P_4Cl_8$ 'in *Bacillus cereus*'a; 1b'nin *Escherichia coli*'ye; 1h'nin *Staphylococcus aureus*'a; 1g'nin *Bacillus subtilis*'e karşı etkili olduğunu ancak bu çalışmada kullanılan bileşiklerin aksine hiçbirinin antifungal etkiye sahip olmadığını görmüşlerdir. Başlangıç bileşiği ($N_4P_4Cl_8$), pirolidin, morfolin, 1a, 1b, 1g, 1h ve siklotetrafosfazen türevleri 2a-2f ve 3a-3f ile pBR322 plazmit DNA'nın etkileşimini incelediklerinde $N_4P_4Cl_8$ haricinde 1a, 1b, 1g ve 1h bileşiklerinin plazmit DNA üzerinde bir etkisinin olmadığını; 2e, 3c ve 3e bileşiklerinin ise DNA'yı kesme yeteneğinin olduğunu; restriksiyon analizi sonucuna göre 2b ve 2d haricindeki 2a-2f ve 3a-3f bileşiklerinin DNA'ya GG bölgesinden bağlandığını tespit etmişlerdir [6].

Çil ve diğerleri (2012) 2,2-dikloro-4,4,6,6-bis[spiro(2',2''-dioksi-1'-1''-bifenilil)]siklotrifosfazen (2) ile 2-hidroksibenzaldehidin reaksiyonu sonucu 2,2-bis(2-

formilfenoksi)-4,4,6,6-bis[spiro(2',2''-dioksi-1'-1''-bifenilil)] siklotrifosfazen (3) bileşiğini elde etmişler; 3 bileşiğinin 4-metoksibenzilamin, 2-klorobenzilamin, 4-klorobenzilamin, 2-naftiletilamin, 2-aminofenol, 4-aminofenol, 4-aminobenzonitril, bifenil-2-amin, 2-amino-4-klorofenol ve pirimidin-2-amin gibi aminlerle reaksiyonu sonucunda Schiff bazları içeren spirosiklofosfazenleri sentezlemişler ve bu fosfazen bileşiklerinin antimikrobiyal aktivitesi ile antikonvülsan, merkezi sinir sistemi (MSS) baskılayıcı, sedatif-hipnotik aktivitesini incelemişlerdir. Bileşiklerin *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* CIP 53153, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 bakterileri üzerindeki antimikrobiyal etkisine bakıldığında 6, 7 ve 11 bileşiklerinin sırasıyla 120, 250 ve 120 µg/ml MİK değeri ile *E. coli* ATCC 25922 bakterisine hafif derecede; 6 ve 7 bileşiklerinin *S. aureus* ATCC 25923 bakterisine 60 ve 90 µg/ml MİK değeri ile orta derecede; 10 bileşiğinin 15 µg/ml MİK değeri ile *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922 ve *S. aureus* ATCC 25923 bakterilerine karşı yüksek derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. En yüksek antimikrobiyal etkiyi 12 bileşiğinin standart antibiyotikler olan siprofloksasin (MİK 3,75 µg/mL) ve gatifloksasinden (MİK 1,875 mg/mL) bile daha düşük bir MİK değeri ile (0,9375 mg/mL) *S. aureus* ATCC 25923 bakterisine karşı gösterdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca bileşiklerin sedatif-hipnotik ve merkezi sinir sistemi (MSS) baskılayıcı etkisinin antikonvülsan etkisinden daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir [15].

Okumuş ve diğerleri (2011) $N_3P_3Cl_6$ bileşiğinin klorid yer değiştirme reaksiyonu yoluyla spirosiklik mono (1a ve 2a) ve bis(4-florobenzil) monospirosiklofosfazenleri (3a–5a); 1a-5a'nın pirolidin, morfolin ve 1,4-dioksa-8-azaspiro[4,5]dekan (DASD) ile reaksiyonu sonucunda tam substitüe mono(4-florobenzil) (1b–2d) ve bis(4-florobenzil) (4b,4d–5d) monospirosiklofosfazenleri; kaynayan THF içindeki morfolin ve DASD ile reaksiyonu sonucunda ise monoklorobis(4-florobenzil) monospirosiklofosfazenler 4e ve 4f'yi sentezlemişler ve bu fosfazen türevlerinin antimikrobiyal aktiviteleri ve DNA ile etkileşimlerini incelemişlerdir. 1b ve 4b bileşiklerinin gram pozitif bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkisinin olduğunu; 4b bileşiğinin aynı zamanda *Candida albicans* ve *Candida tropicalis* üzerinde güçlü bir antifungal etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar bu tez kapsamında çalışılan maddelerin antimikrobiyal etkisi ile paralellik göstermektedir. Bileşiklerin plazmit DNA ile olan etkileşimlerini incelediklerinde bileşiklerin plazmit DNA hareketi ve şeklini değiştirmede oldukça etkili olduğunu; 4a, 5a, 2a, 3a, 4e ve 4f bileşiklerinin DNA'yı diğer bileşiklere göre daha yüksek oranda kestiğini

belirlemişler ve restriksiyon analizi sonucunda bileşiklerin bu çalışmadaki maddelerin aksine DNA'ya A/A nükleotitlerinden bağlandığını gözlemlemişlerdir [142].

Işıklan ve diğerleri (2010) heksaklorosiklotrifosfazatrien ($N_3P_3Cl_6$) ile N/O-verici-tip N-alkil (veya aril)-o-hidroksibenzilaminlerin (1a-1e) reaksiyonu sonucu mono- (2a-2e), di- (3a-3d), and tri- (4a ve 4b) spirosiklik fosfazenleri; kısmi substitüe fosfazenlerin (2a-2d) pirolidin ile reaksiyonuyla tetrapirolidino monospirosiklik fosfazenleri (2f-2i); trans-dispirofosfazenler ile pirolidin ve sodyum (3-amino-1-propanoksid) ile reaksiyonuyla dispirodipirolidinofosfazenler (3e-3h) ve trispirofosfazenleri (3i-3k) sentezlemişler ve bu bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesi ve DNA ile etkileşimini incelemişlerdir. Bileşiklerin *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 35218), *E. coli* (ATCC 25922), *Bacillus subtilis* (ATCC 29213), *B. cereus* (NRLLB-3008), *Proteus vulgaris* (ATCC 8427) ve *Enterobacter fecalis* (ATCC 292112) bakterileri ve *Candida albicans* ve *C. tropicalis* mayaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerini incelediklerinde 2h bileşiğinin 9,76 mM MİK değeri ile en yüksek inhibisyon etkisine sahip olduğunu; 2f-2i, 3e, 3h ve 3k bileşiklerinin *S. aureus* üzerinde; 2g ve 2h bileşiklerinin *P. aeruginosa*; 2h ve 3k bileşiklerinin *P. vulgaris*; 2h, 2i ve 3g bileşiklerinin *E. coli* ATCC 35218; 2g, 2h, 2i, 3h ve 3i bileşiklerinin *E. coli* ATCC 25922; 2f-2i ve 3k bileşiklerinin *E. fecalis*; diğer bileşiklerin *B. subtilis* ve *B. cereus* üzerinde; 2f, 2g ve 2g bileşiklerinin *C. albicans* ve *C. tropicalis* üzerinde etkili olduğunu belirlemişler ve pirolidino-substitüe N/O spirosiklikfosfazenlerin (2f-2i, 3e-3i ve 3k) mono- ve bisferroseniltetrapirolidinofosfazenlere göre daha etkili olduğunu söylemişlerdir. 5000 ile 156 μ M arasında değişen konsantrasyonlardaki 2f-2i, 3e-3i ve 3k bileşiklerinin plazmit DNA ile olan etkileşimlerini incelediklerinde bileşiklerin konsantrasyonu azaldıkça form I DNA'nın hareketinde azalma olduğunu; bileşikler ile muamele edilmiş plazmit DNA'nın *Bam*HI ve *Hind*III enzimleri ile restriksiyon analizi yapıldığında 2g haricindeki tüm bileşiklerin DNA'yı kesimden koruduğunu ve dolayısıyla bu tez çalışmasındaki maddelerin aksine DNA'ya enzim kesim bölgelerinden bağlandığını tespit etmişlerdir [143].

İlter ve diğerleri (2010) heksaklorosiklotrifosfazatrien ($N_3P_3Cl_6$) ile N-alkil-N-ferrosenilmetiletilen diaminler ve sodyum [3-(N-ferrosenilmetilamino)-1-propanoksid] (3) ile reaksiyonu sonucunda spirosiklik monoferrosenil tetraklorofosfazenleri (1a-3a); 1a-3a bileşiklerinin pirolidin ile reaksiyonuyla tetrapirolidinofosfazenleri (1b-3b); 1a bileşiğinin morfolin ile reaksiyonuyla geminal-morfolino fosfazen (1c); 2a ve 3a bileşiklerinin morfolin

ile reaksiyonuyla dietilaminotrimorfolino (2c) ve tam substitüe morfolino (3c) bileşiklerini sentezlemişler ve bu bileşiklerin antimikrobiyal, antitüberküloz aktivitesi ve DNA ile etkileşimini incelemişlerdir. Bileşiklerin *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* NRRL-B-3711, *Enterobacter fecalis* ATCC 292112, *Candida albicans* ATCC 10231 ve *Candida tropicalis* ATCC 13803 mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesine bakıldığında tüm test bakterileri içinde fosfazen bileşiklerine karşı en duyarlı olanların *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* ve *B. cereus* olduğunu; 1b bileşiğinin *E. fecalis*, *S. aureus* ve *B. subtilis*; 2b bileşiğinin *S. aureus*, *C. albicans* ve *C. tropicalis*; 3c bileşiğinin *E. coli* ve *P. aeruginosa* üzerinde etkili iken 3b bileşiğinin test mikroorganizmalarının çoğunda en yüksek etki gösteren bileşik olduğunu tespit etmişlerdir. 10 000 ile 625 µM arasında değişen konsantrasyonlardaki 1b, 2b, 3b ve 3c bileşiklerinin *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv referans suşu ve çoklu ilaç dirençli klinik *M. tuberculosis* izolatu üzerindeki antitüberküloz aktivitesine baktıklarında referans suşun 1b, 3b ve 3c bileşiklerinin yüksek konsantrasyonlarına; 2b bileşiğinin ise tüm konsantrasyonlarına karşı duyarlı olduğunu; 1b ve 2b bileşiklerinin 10 000 ve 5 000 µM konsantrasyonlarında 6 farklı çoklu ilaç dirençli klinik *M. tuberculosis* izolatına karşı etkili olduğunu belirlemişlerdir. 1b, 2b, 3b ve 3c bileşiklerinin pUC18 plazmit DNA ile olan etkileşimini incelediklerinde bileşiklerin DNA'yı kesme aktivitesinin olduğunu ve plazmit DNA'nın hareketi üzerinde değişikliğe sebep olduğunu; 3b bileşiğinin ise form I ve II DNA üzerinde diğer bileşiklere göre daha güçlü etki gösterdiğini belirlemişler; restriksiyon analizine bakıldığında fosfazen türevlerinin bu tez çalışmasındaki bileşiklerin aksine DNA'ya G/G nükleotitlerinden bağlandığını tespit etmişlerdir [123].

Manzu ve diğerleri (2009) heksaklorosiklotrifosfazen ($N_3P_3Cl_6$) ile N,O-aminoetanolun (C_2H_7NO) aminolizisi yoluyla organo-substitüe siklotrifosfazen L'yi sentezlemişler; ligand L ve Cr(III), Fe(III), Cu(II), Mn(II) tuzlarından $[CrL_2(OH_2)_3(ClO_4)](ClO_4)_2$ 1, $[FeL_2(OH_2)_4](ClO_4)_3$ 2, $[CuL_2(OH_2)_2](ClO_4)_2$ 3, $[MnL_2(OH_2)_2](ClO_4)_2$ 4 bileşiklerini elde etmişler ve sentezlenen bu bileşiklerin *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ser. VI, *Escherichia coli* ve *Proteus mirabilis* bakterileri ile *Candida albicans* mayası üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. Sonuç olarak ligand L'nin *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* bakterilerine orta derecede; *Staphylococcus aureus* bakterisine düşük etki gösterdiğini; hiçbir bileşiğin *Proteus mirabilis* üzerinde etkili olmadığını; $[MnL_2(OH_2)_2](ClO_4)_2$ bileşiğinin kullanılan test bakterileri üzerinde bir

inhibisyon etkisinin olmadığını; $[\text{FeL}_2(\text{OH}_2)_4](\text{ClO}_4)_3$ bileşiğinin *Pseudomonas aeruginosa* ser. VI üzerinde kayda değer bir etkisinin olduğunu; sadece $[\text{CrL}_2(\text{OH}_2)_3(\text{ClO}_4)](\text{ClO}_4)_2$ ve $[\text{CuL}_2(\text{OH}_2)_2](\text{ClO}_4)_2$ bileşiklerinin antifungal aktiviteye sahip olduğunu belirlemişlerdir [144].

Asmafiliz ve diğerleri (2009) heksaklorosiklotrifosfazatrien ($\text{N}_3\text{P}_3\text{Cl}_6$) ile mono- (1 ve 2) ve bisferrosenildiaminlerin (3-5) reaksiyonuyla mono- (6 ve 7) ve spirosiklik bisferrosenilfosfazenleri (8-10) elde etmişler; kısmi substitüe fosfazenlerin (6-10) pirolidin ve $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{ONa}$ ile reaksiyonu sonucunda tam substitüe fosfazenleri (11-15 ve 18-21) bileşiklerini sentezlemişler ve elde ettikleri tam substitüe fosfazen bileşiklerinin antimikrobiyal ve antitüberküloz aktivitesi ile DNA ile etkileşimini incelemişlerdir. 11, 12, 14 ve 15 bileşiklerinin *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv referans suşu üzerindeki antitüberküloz aktivitesini incelemişler ve *M. tuberculosis* suşunun tüm bileşiklerin değişen konsantrasyonlarına (10 000-1 000 μM) karşı duyarlı olduğunu belirlemişlerdir. 11-15 bileşiklerinin antimikrobiyal aktivitesine bakıldığında tüm bileşiklerin *Bacillus cereus* üzerinde etkili olduğunu; ayrıca 11 bileşiğinin *Candida albicans* üzerinde güçlü bir antifungal etkisinin olduğunu tespit etmişlerdir. 11-15 bileşiklerinin plazmit DNA ile olan etkileşimi incelendiğinde tüm bileşiklerin plazmit DNA'nın hareketi üzerinde değişikliğe yol açtığını; 12 bileşiğinin form II plazmit DNA üzerinde daha güçlü bir etki gösterdiğini ve 13 bileşiğinin diğer maddelere göre farklı bir etki gösterdiğini belirlemişlerdir [5].

Yıldız ve diğerleri (2007) 2,4,4,6,6-pentakloro-2-(4-florofenilamino)-1,3,5,2 λ^5 ,4 λ^5 ,6 λ^5 -triazatrifosfinin (I), 2,4,4,6,6-pentakloro-2-(4-klorofenilamino)-1,3,5,2 λ^5 ,4 λ^5 ,6 λ^5 -triazatrifosfinin (II) ve poli[bis(4-florofenilamino)fosfazen] (IV) bileşiklerini sentezlemişler ve bu bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. Bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesine bakıldığında bu tez çalışmasındaki bileşiklerin etkisine benzer şekilde Gram pozitif bakteriler üzerine olan etkinin Gram negatif bakterilere olan etkiden daha yüksek olduğunu; polimer IV'ün tüm test bakterilerine karşı en yüksek etkiyi gösterdiğini; bileşiklerin *S. aureus*'a karşı standart antibiyotikler olan ofloksasin ve tetrasiklinden daha etkili olduğunu; I ve IV bileşiklerinin aside dayanıklı *Mycobacterium smegmatis* bakterisine sefotaksimden daha etkili olduğunu; ayrıca *Bacillus cereus* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı yüksek etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Antifungal etkiye bakıldığında ise polimer IV'ün ticari antifungal ajanlar olan nistatin, ketokonazol ve klotrimazolden *Candida albicans* ve *Kluyveromyces fragilis* üzerinde daha etkili olduğunu belirlemişlerdir [56].

Yılmaz ve diğerleri (2002) N-difenilfosforil-P-trifenilmonofosfazen-II ve N-di(o-tolil)fosforil-P-tri(o-tolil)monofosfazen-III bileşiklerinin 250, 500 ve 1000 µg konsantrasyonlarda *Listeria monocytogenes* SCOTT A, *Bacillus megaterium* DSM 32, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterobacter aeroginase* CCM 2531, *Bacillus brevis* FMC 3, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas vulgaris* ve *Staphylococcus aureus* COVAN 1 bakterileri ile *Saccharomyces cerevisiae* FMC 16 ve *Candida albicans* FMC 17 mayaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. Sonuç olarak N-difenilfosforil-P-trifenilmonofosfazen-II bileşiğinin çalışmada kullanılan tüm bakteri ve maya suşlarına etki göstermesine rağmen N-di(o-tolil)fosforil-P-tri(o-tolil)monofosfazen-III bileşiğinin yalnız bazı mikroorganizmalara etki gösterdiğini; trifenilmonofosfazen-II bileşiğinin konsantrasyonu arttıkça antimikrobiyal etkisinin de arttığını ancak tri(o-tolil)monofosfazen-III bileşiğinde böyle bir durum olmadığını; ayrıca 250 µg dozdaki tri(o-tolil)monofosfazen-III bileşiğinin mikroorganizmalar üzerinde herhangi bir etki oluşturmadığını tespit etmişlerdir [145].

Öztürk ve diğerleri (2000) 1,1-diklorofosfonil-2,2,2-triklorofosfazen (SM), 1,1-bis(2-isoproploksietoksi) fosfonil-2,2,2-tris(2-isoproploksi) fosfazen (IPEMPHOS) ve 1,1-bis(alliloksi) fosfonil-2,2,2-tris(alliloksi) fosfazen (AMPHOS) bileşiklerini sentezlemişler ve bu bileşiklerin *Listeria monocytogenes* SCOTT A, *Bacillus megaterium* DSM 21, *Escherichia coli* ATCC 14811, *Enterobacter aeroginase* CCM 1420, *Bacillus brevis* FMC 2, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas vulgaris* ve *Staphylococcus aureus* COWAN 1 bakterileri ile *Saccharomyces cerevisiae* FMC 05 ve *Candida albicans* FMC 06 mayaları üzerindeki antimikrobiyal etkilerini incelemişlerdir. Sonuç olarak klorin atomları içeren başlangıç materyalinin (SM) bakteri ve maya suşları üzerinde etkili olduğunu; ipemphos bileşiğinin ancak 1000 ve 1500 µg arasında kullanıldığında etkili olduğunu; amphos bileşiğinin mayalar üzerinde etkili olmadığını ancak bakteriler üzerinde 600 ile 1500 µg arasında kullanıldığında etkili olduğunu belirlemişlerdir [146].

Barboiu ve diğerleri (1996) 1,3,5-tris-(8-hidroksikinolin)-triklorosiklotrifosfazatrien içeren Co(II), Cu(II) ve Ni(II) komplekslerini sentezlemişler ve bu bileşiklerin *Aspergillus niger*, *A. flavum* ve *Candida albicans* funguslarına karşı olan fungitoksik etkisini incelemişler ve sonuçta tüm bileşiklerin *Aspergillus* türlerine karşı çok zayıf etki gösterdiğini; *C. albicans*'a karşı ise herhangi bir antifungal etkisinin olmadığını belirlemişlerdir [147].

Tüm dünya üzerinde özellikle az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler için önemli bir sağlık problemi olan enfeksiyon hastalıklarının tedavisi için kullanılan antimikrobiyal ilaçlar patojen mikroorganizmaların geliştirdikleri direnç sebebiyle artık yetersiz kalmaktadır. Uzun zamandır bilim adamları yeni antimikrobiyal ajanların keşfi için yoğun çalışmalar sürdürmektedir. Bu keşif sürecinde araştırmacılar fosfazen türevlerinin patojen mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiğini tespit etmiş ve sentezledikleri yeni fosfazen türevlerini bu yönden de incelemeye almışlardır. Bu bilgiden yola çıkılarak bu tez kapsamında yapılan çalışmada pirolidin, morfolin ve 1,4-dioksa-8-azaspiro[4,5]dekan sübstituentleri taşıyan 9 farklı tetramerik fosfazen bileşiğinin patojen 9 bakteri ve 3 maya suşu üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. Bileşiklerin mayalar üzerine bakterilere göre daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Antimikrobiyal aktivitesi bulunan tüm bileşiklerin bu etkiyi çok düşük konsantrasyonlarda gösterdikleri belirlenmiştir. Ayrıca pirolidin, morfolin ve 1,4-dioksa-8-azaspiro[4,5]dekan sübstituentlerin bulunmasına göre tetramerik fosfazen halkalarının etkinliğinin çok değiştiği bulunmuştur. Pirolidin sübstitüenti taşıyan bileşiklerin diğer bileşiklere göre yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Daha önce değişik fosfazen bileşikleriyle yapılan çalışmalarda da fosfazenlerin çeşitli mikroorganizmalar üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir [5-7, 15, 26, 41, 56, 143, 145, 148]. Ancak tetramerik fosfazen bileşikleriyle ilgili yapılan çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasında kullanılan bileşiklerin patojen *Candida* türleri üzerinde yüksek antimikrobiyal aktivite göstermesi özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış olan hastalarda enfeksiyon etkeni olarak görülen bu mikroorganizmaların yaratmış olduğu enfeksiyonlar için iyi bir antimikrobiyal ajan potansiyeli oluşturduğunu göstermektedir. Bu çalışmada elde edilen veriler mevcut bilgiyi desteklemekle birlikte daha önce bu bileşiklerle yapılan bir antimikrobiyal aktivite çalışması bulunmamaktadır.

Dünya çapında birçok insanı etkileyen ve tedavi edilmediğinde ölümcül bir enfeksiyon hastalığı olan tüberkülozun ana etkeni *Mycobacterium tuberculosis* bakterisidir. Bu mikroorganizma üzerinde etkili olan antibiyotiklere birçok suşun direnç kazanmış olması tüberküloz ile mücadelede büyük bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu problemi aşabilmek için birçok araştırmacı yeni sentezledikleri kimyasalların antitüberküloz etkisini incelemektedir. Çeşitli fosfazen türevleri üzerinde de benzer çalışmalar yapılmaktadır. Bu tez çalışması kapsamında kullanılan bileşiklerin antitüberküloz aktivitesi incelendiğinde *M. tuberculosis* bakterisinin özellikle pirolidin sübstitüenti taşıyan bileşiklere daha duyarlı

olduğu belirlenmiştir. Literatürde farklı fosfazen türevleri üzerinde yapılmış antitüberküloz aktivite çalışması bulunmaktadır ve fosfazen türevlerinin çeşidine göre farklı sonuçlar elde edildiği gözlenmiştir [5, 8, 23, 123]. Bu çalışmada kullanılan ferrosenil siklotetrafosfazen türevleri ile herhangi bir antitüberküloz aktivite çalışması yapılmamıştır. Bu tez çalışması kapsamında kullanılan bileşiklerden özellikle pirolidin süstitüe ferrosenil siklotetrafosfazen bileşiklerinin yüksek antitüberküloz aktivite göstermesi bu bileşiklerin antitüberküloz ajan olabileme potansiyelini ortaya koymuştur.

Canlı sistemlerde çeşitli metabolik süreçler ve çevresel etmenler sonucunda birçok serbest radikal türleri oluşmaktadır. Organizma bünyesinde bulunan enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri serbest radikalleri etkisiz hale getirmektedir. Oluşan serbest radikaller ve alınan antioksidanlar belirli bir denge içerisinde olmalıdır. Bu denge reaktif oksijen türlerini içeren serbest radikallerin artması yönünde bozulursa serbest radikaller biyomolekül yapılarında hasar oluşturmakta ve oluşan bu hasar sonucunda hücre fonksiyon kaybı ve hücre ölümü gerçekleşmektedir. Oksidatif stres olarak isimlendirilen bu süreç kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, Parkinson, Alzheimer, astım, katarakt, romatoid artrit gibi birçok hastalığın gelişmesine sebep olmaktadır. Sentetik veya doğal antioksidan bileşikler serbest radikallere bir elektron vererek etkisiz hale getirir ve biyolojik yapıları oksidasyondan korur. Bir bileşiğin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi için *in vitro* ve *in vivo* birçok farklı yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemler içerisinde en sık kullanılan *in vitro* yöntem DPPH yöntemidir [149-151]. DPPH molekülü yapısındaki nitrojen atomunda bir adet eşlenmemiş elektron bulunduran bir serbest radikaldir. Antioksidan özellik gösteren süpürücü molekül DPPH radikaline bir adet hidrojen atomu vererek DPPH'ın DPPH₂'ye dönüşmesini sağlar. Bu olay sonucunda mor renkli çözelti sarıya dönüşür ve bu renk değişimi 515-517 nm'de absorbans azalmasına sebep olur. Bu renk değişiminin spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile bir bileşiğin antioksidan özelliği tespit edilir. DPPH yöntemi basit bir yöntem olarak gözükmese de yapısındaki nitrojen radikalinden dolayı birçok antioksidan farklı kinetikler ile reaksiyona girmekte hatta bazen reaksiyon vermeyebilmektedir. Ayrıca bu reaksiyonun geri dönüşümlü bir reaksiyon olmasından dolayı birçok antioksidanın antioksidan kapasitesinin düşük okunmasına sebebiyet vermektedir. Birçok antioksidan ile yapılan karşılaştırmalı çalışma ile bu durum tartışılmış ve bu bilgi desteklenmiştir [149]. Yapılan çalışmalarda DPPH yönteminde ışık, oksijen, inkübasyon süresi, DPPH konsantrasyonu, kullanılan çözücü ve reaksiyon karışımının pH'ı gibi reaksiyon koşullarındaki farklılıkların sonuçlarda

çeşitliliğe sebep olduğu tespit edilmiştir. Literatürde fosfazen bileşiğine antioksidan moleküllerin bağlanarak yapıldığı bazı çalışmalar mevcut olmasına rağmen doğrudan antioksidan yan gruplar içeren fosfazen türevleri ile yapılan bir antioksidan aktivite çalışması bulunmamaktadır [152, 153]. Bu tez çalışması kapsamında kullanılan fosfazen türevlerinin antioksidan aktivitelerini incelemek için DPPH yöntemi kullanılmıştır. Bileşiklerin çalışılan konsantrasyonlarda herhangi bir antioksidan aktiviteye sahip olmadığı belirlenmiştir. Bu çalışmada kullanılan fosfazen bileşiklerinin hepsi ferrosen grubu içermektedir. Ferrosenin yapısındaki Fe^{+2} atomunun kolay elektron verebilme potansiyeline sahip redoks aktif merkez olmasından dolayı bu bileşiklerin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olması beklenilmektedir. Kullanılan konsantrasyonlarda DPPH yöntemi ile herhangi bir antioksidan aktivitenin tespit edilememiş olması bu yöntem için bahsedilen yanlış sonuç verebilme veya kullanılan bileşik konsantrasyonunun düşük olması ihtimalini akla getirmektedir. Bu sebeple bu tür bileşiklerin daha yüksek konsantrasyonlarda farklı antioksidan aktivite tayin yöntemleri kullanılarak antioksidan etkisinin değerlendirilmesi önerilmektedir.

Günümüzde insanlığın en büyük sağlık sorunu olan kanser hastalığı tüm dünyadaki insanları etkileyen ve oldukça ölümcül olan bir hastalıktır. Bu hastalığın tedavisi için kullanılan yöntemlerden biri olan kemoterapi sırasında kullanılan antikanser ilaçlar kanser hücrelerini öldürürken çoğu zaman sağlıklı hücrelere de hasar vermektedir. Bu yüzden tedavi süreci hastalar için oldukça yorucu ve sıkıntılı bir hal almaktadır. Seçici toksisitesi yüksek olan antikanser ilaçların keşfi için yoğun çalışmalar sürdürülmektedir. Fosfazen türevlerinin birçok farklı kanser hattı üzerindeki sitotoksik etkisini ortaya koymak için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Siwy ve ark. 2006 yılında yaptıkları çalışmada yeni sentezledikleri 1,3-(oksitetraetilenoksi)siklotrifosfazen bileşiklerinin insan ve fare kaynaklı 4 farklı lösemi hücre hattında antiproliferatif aktivitelerini incelemişler ve bu bileşiklerin büyük bir kısmının antilösemik aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir [33]. Yine aynı araştırmacılar 2007 yılında yaptıkları çalışmada aynı grup bileşiklerin A-549 (human non-small cell lung carcinoma), HCV-29T (human urinary bladder cancer) ve HL-60 (acute promyelocytic leukemia) hücre hatlarında antiproliferatif etkilerinin olduğunu tespit etmişlerdir [32]. Yıldırım ve ark. 2012 yılında yaptıkları çalışmada sentezledikleri dispirobino ve dispiroansa spermin türevi siklotrifosfazen bileşiklerinin HT-29 (human colon adenocarcinoma) ve Hep2 (Human epidermoid larynx carcinoma) hücre hatlarında sitotoksik aktive gösterdiklerini belirtmişlerdir [31]. Song ve ark. 2005 yılında yaptıkları çalışmada yeni sentezledikleri ampifilik poli(organofosfazen) bileşiğini bir antitümör platin bileşiği ile

konjuge ederek çeşitli kanser hücre hatlarındaki antitümör aktivitesi karboplatin ve sisplatin ile karşılaştırarak incelemişler ve polimer konjugatın sisplatine göre daha yüksek sitotoksik aktiviteye sahip olduğunu bulmuşlardır [154]. Jun ve ark. 2005 yılında yaptıkları araştırmada nanoboyutlu fosfazen-platin (II) konjugatının çeşitli kanser türlerindeki antitümör aktivitesini in vivo ve in vitro çalışmalarla göstermişlerdir [155]. Akbaş ve ark. 2013 yılında sentezledikleri kısmi ve tam substitüe mono(4-florobenzil)spiro siklotrifosfazen bileşiklerinin; Asmafiliz ve ark. ise 2013 yılında sentezledikleri mono ve bisferrosenilspirosiklotrifosfazen bileşiklerinin HeLa servikal kanser hücre hattı üzerindeki sitotoksik aktivitesini incelemişlerdir [26, 156]. Başterzi ve ark. 2015 yılında sentezledikleri spiro-ansa-spiro- siklotrifosfazen bileşiklerinin; Mutlu ve ark. 2015 yılında sentezledikleri iri yan gruplar içeren bisiklotetrafozfazen bileşiklerinin L929 fibroblast ve A549 akciğer kanser hücre hattı üzerindeki sitotoksik, apoptotik ve nekrotik etkilerini göstermişlerdir [157, 158].

Yapılan tüm bu çalışmalar çeşitli fosfazen türevlerinin kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitelerini ortaya koymakla birlikte tetrafosfazen türevleri üzerine yapılmış fazla çalışma bulunmamaktadır. Yapılan bu çalışma ferrosenil siklotetrafosfazen türevlerinin sitotoksik aktivitesi ile ilgili ilk çalışma özelliğini taşımaktadır. Çalışmada kullanılan bileşiklerin antikanser ajan olma potansiyelleri ortaya çıkarılmıştır. Bu tez kapsamında çalışılan maddelerin sağlıklı fibroblast ve DLD-1 kolon kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesine bakılmış ve etkisi rutinde kullanılan bir antikanser ilaç olan sisplatin ile karşılaştırılmıştır. Bileşiklerin konsantrasyona bağlı olarak sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir. Yine pirolidin süstitüe bileşiklerin diğerlerine göre her iki hücre hattında da daha etkili olduğu göze çarpmaktadır. 2a haricindeki tüm bileşiklerin fibroblast hücrelerine sisplatinden daha az toksik etki göstermesi bu maddelerin antikanser ilaç olarak düşünülmesi durumunda sağlıklı hücrelere bu ilaç kadar hasar vermeyeceğini göstermektedir. 1a, 2a ve 3c bileşiklerinin özellikle düşük dozlarda DLD-1 hücreleri üzerinde sisplatin kadar etkili olması bu bileşikleri antikanser ajan olma yolunda iyi birer aday yapmaktadır.

Kanser tedavisinde kullanılan birçok ilacın hedefi DNA olduğu için ilaç-DNA etkileşimi özellikle antikanser ilaç geliştirilmesinde dikkat çeken bir nokta olmuştur. Bu çalışmada kullanılan fosfazen bileşiklerinin plazmit DNA ile olan etkileşimleri incelendiğinde tüm bileşiklerin plazmit DNA'nın konformasyon ve hareketinde farklı miktarda değişikliklere sebep olduğu görülmüştür. Elde edilen veriler özellikle pirolidin ve morfolin süstitüenti

taşıyan fosfazen bileşiklerinin DNA üzerinde etkili olduklarını göstermektedir. 1c haricindeki maddelerin etkileşime girdiği DNA'ların hepsinin *Bam*HI enzimi ve tüm maddelerin *Hind*III enzimi ile kesilmiş olması maddelerin bu enzimlerin kesim bölgelerine bağlanmamış olduklarını göstermektedir. *Bam*HI G/GATCC dizisini tanıyan ve bitişik guanin bölgeleri arasındaki fosfodiester bağına hidroliz eden bir enzimdir. Plazmit DNA *Bam*HI için yalnız bir adet bağlanma bölgesi içermektedir ve enzim DNA'yı kestiğinde Form I ve Form II'yi doğrusal Form III haline dönüştürmektedir [159]. Daha önce değişik fosfazen bileşikleriyle yapılan çalışmalarda da fosfazenlerin DNA ile etkileşimleri belirlenmiş fosfazenlerin değişen oranlarda DNA üzerinde etkili oldukları gösterilmiştir [5-7, 26, 143, 148, 156, 160-164]. Ancak tetramerik fosfazen bileşikleriyle ilgili yapılan çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada elde edilen veriler mevcut bilgiyi desteklemekle birlikte daha önce bu bileşiklerle yapılan bir çalışma bulunmamaktadır. Elde edilen sonuçlar bu bileşiklerin sitotoksik etkisini birçok antikanser ilacın da hedefi olan DNA ile etkileşime girerek göstermiş olabileceğini düşündürmektedir.

Fosfazen türevlerinin biyolojik aktiviteleri üzerine uzun yıllardır yapılan çalışmalar bu bileşiklerin antimikrobiyal ve antikanser ajan olma potansiyellerinin olduğunu düşündürmektedir. Fosfazenlerin bu biyolojik etkileri fosfazen iskeletine bağlı bulunan yan gruplara göre değişkenlik göstermektedir. Bu tez çalışmasında kullanılan ferrosenil siklotetrafosfazen bileşikleride farklı oranda antimikrobiyal, antitüberküloz, sitotoksik aktivite göstermiş ve DNA ile etkileşime girmiştir. Bileşiklerin sahip olduğu bu biyolojik aktiviteye yapısında bulunan ferrosen ile birlikte pirolidin, morfolin ve DASD gruplarının sebep olduğu düşünülmektedir.

Demir (II) iyonunun iki siklopentadienil halka arasında yer aldığı bir bileşik olan ferrosen 1951 yılında keşfedilmiş ve bu yapının oldukça kararlı olduğu belirlenmiştir. Bu bileşik için kullanılan sandviç bileşiği terimi tüm dünyada kabul edilmiş ve bu keşif modern organometalik kimya için başlangıç noktası olmuştur. Ferrosenil grubunun sıvı ve aerobik ortamdaki kararlılığı, çok çeşitli türevlerinin hazırlanabilmesi ve olumlu elektrokimyasal özellikleri ferrosen ve türevlerini biyolojik uygulamalar için oldukça popüler bir molekül haline getirmiştir [165]. Bu çalışmada kullanılan tüm bileşiklerde birer adet ferrosenil grubu bulunmaktadır. Bileşiklerin antimikrobiyal, antitüberküloz, sitotoksik aktiviteleri ve DNA üzerindeki etkilerine ferrosen grubunun güçlü elektrokimyasal özelliğinin sebep olabileceği düşünülmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında kullanılan bileşikler dört adet tekrarlayan P=N birimi taşıyan halkasal bileşiklerdir (siklotetrafosfazen). Bileşiğin yapısında bulunan fosfor atomlarından biri tüm bileşiklerde ferrosen grubu içermektedir. Diğer fosfor atomlarının her birine ikişer adet pirolidin (1a-3a için); morfolin (1b-3b için) ve DASD (1c-3c için) bağlıdır. Bileşikler biyolojik aktivitelerini çoğunlukla fosfor atomlarına bağlı bu yan gruplar sayesinde gerçekleştirmektedir.

Yapılan çalışmalar neticesinde pirolidin bağlı fosfazen türevlerinin diğerlerine göre daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Pirolidin halkası morfolin ve DASD'a göre kolay açılan bir yapıya sahiptir. Pirolidin halkasının açıldığı noktadaki azot atomu negatif yüklenirken karbon atomu pozitif yüklenir ve bir elektrofil oluşturur; böylece bir alkilleme ajanı olarak görev yapar. Aynı zamanda biyolojik yapılar ile hidrojen bağı kurarak aktivite gösterir. Bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesine bakıldığında özellikle pirolidin bağlı olanların maya suşları üzerinde güçlü antifungal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Pirolidin bağlı bileşiklerin bu sayede maya hücre duvarındaki kitinin yapısında bulunan proteinlerle etkileşime girerek antifungal etki göstermiş olabileceği düşünülmektedir. Kullanılan bileşikler oldukça büyük yapıda olduğu ve düzlemsel yapıda olmadığı için bakteri ve maya hücre duvarını geçerek hücre içindeki yapılarla etkileşime girmiş olması çok mümkün değildir. Ayrıca bu bileşiklerin kullanılan mikroorganizmalar içerisinde özellikle mayalara karşı yüksek antimikrobiyal etki göstermesi bu maddelerin hedef seçiciliğinin de yüksek olduğunu göstermektedir. Morfolin ve DASD halkalarının ise alkilleme ajanı olabilme gibi bir özellikleri bulunmamaktadır. Bu gruptaki bileşiklerin göstermiş oldukları zayıf biyolojik etki morfolin ve DASD gruplarının hidrojen bağı yapabilme özelliklerinden kaynaklanmaktadır.

Yine pirolidin bağlı bileşiklerin diğerlerinden daha yüksek antitüberküloz etkiye sahip olması bu bileşiklerdeki ferrosen grubunun redoks aktif merkez olmasının yanı sıra pirolidin halkasının açılması sonucu kazanılan elektrofil olma özelliğinden kaynaklanmaktadır.

Kullanılan bileşikler oldukça büyük bir yapıya sahip olduğu için tüm bileşiğin DNA arasına girip interkalasyon yaparak DNA ile etkileşime girmesi çok muhtemel gözükmemektedir. Ancak fosfor atomlarından birine bağlı halde bulunan ferrosen grubu pozitif yüklü olduğu ve düzlemsel bir yapıda bulunduğu için negatif yüklü DNA arasına girerek etkileşime girmiş olabileceği; ayrıca ferrosen grubu ile DNA arasına giren bileşiklerin, bu bileşiklere bağlı

halde bulunan yan grupların DNA üzerinde etki göstermiş olabileceği düşünölmektedir. Bileşikler bu şekilde DNA'nın yapısını bozup replikasyonu engelleyerek kullanılan hücre hatları üzerinde sitotoksik etki göstermiş olabilirler.





6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu doktora tezi kapsamında yapılan araştırmalardan elde edilen sonuçlar ve öneriler aşağıdaki gibidir:

1. Bu çalışma oktaklorosiklotetrafosfazen ile N-alkil-N-mono-ferrosenildiaminlerin reaksiyonu sonucu oluşan monoferrosenil-spirosiklotetrafosfazenlerin pirolidin, morfolin ve 1,4-dioksa-8-azaspiro[4,5]dekan (DASD) ile reaksiyona sokulması sonucu elde edilmiş tam substitüe ferrosenil siklotetrafosfazen bileşikleri ile yapılan ilk biyolojik aktivite çalışmasıdır.
2. Çalışmada kullanılan ferrosenil siklotetrafosfazen bileşiklerinin çeşitli patojen bakteriler ve mayalar üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi kuyu difüzyon yöntemi ile incelenmiş ve bileşiklerin oluşturduğu inhibisyon zon çaplarına bakıldığında pirolidin sübstitüenti taşıyan bileşiklerin (1a-3a) bakteriler üzerinde daha etkili olduğu; tüm bileşiklerin mayalar üzerinde bakterilere göre ve bakteriler içerisinde Gram pozitif bakteriler üzerinde daha yüksek etki gösterdiği belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite gösteren bileşiklerin MİK, MBK ve MFK değerleri mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiş ve mikroorganizmaları oldukça düşük konsantrasyonlarda inhibe ettiği veya öldürdüğü (<19,5-312,5 µM arasında) tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar çalışmada kullanılan bileşiklerin antimikrobiyal ajan olma potansiyelini ortaya çıkarmakla birlikte bu fosfazenlerin antimikrobiyal etki mekanizmasının belirlenmesi için daha ileri araştırmalar yapılmalıdır.
3. Pirolidin sübstitüe bileşiklerin *Candida* mayaları üzerinde göstermiş olduğu yüksek antifungal etki ile özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalardaki en büyük enfeksiyon kaynağı olan bu mikroorganizmaların ortamdaki kaldırılması için iyi bir antifungal ajan olma yolunda ilk aşamayı geçebilmiştir. Bu bileşiklerin bu yönden daha ayrıntılı incelenmesi, antifungal etki mekanizmasının ve *in vivo* etkilerinin de ortaya çıkarılması önerilmektedir.
4. Ülkemizde ve tüm dünyada birçok insanı etkileyen ölümcül bir hastalık olan tüberküloz etkeni *M. tuberculosis* bakterisini ortamdaki uzaklaştırmak için çeşitli antitüberküloz aktivite çalışmaları yapılmaktadır. Bu çalışmadaki bileşiklerin *M. tuberculosis* H37Rv suşuna karşı antitüberküloz aktivitesi incelendiğinde özellikle pirolidin sübstitüe fosfazenlerin (1a-3a) bu mikroorganizma üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin klinikte kullanılan bazı antibiyotiklerden bile daha etkili olması

antitüberküloz ilaç olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Bu bileşiklerin antitüberküloz ajan olabilme potansiyellerini tamamen ortaya çıkarabilmek için daha kapsamlı araştırmaların yapılması tavsiye edilmektedir.

5. Çalışmada kullanılan bileşiklerin antioksidan aktivitelerini tespit edebilmek için DPPH serbest radikalini süpürücü etkilerine bakılmıştır. Yapılan araştırma sonucunda bu bileşiklerin hiçbirinin antioksidan aktiviteye sahip olmadığı belirlenmiştir. Antimikrobiyal, antitüberküloz ve antikanser etkilerinin yanısıra bu bileşiklerin antioksidan aktiviteye de sahip olmaları için fosfazen iskeletine antioksidan moleküllerin bağlanması ve sentezlenecek bu bileşiklerin diğer biyolojik aktiviteleri ile birlikte antioksidan aktivitesinin de incelenmesi; ayrıca bu tür bileşiklerin daha yüksek konsantrasyonlarda farklı antioksidan aktivite tayin yöntemleri kullanılarak antioksidan etkisinin değerlendirilmesi önerilmektedir.
6. Çalışmada kullanılan ferrosenil siklotetrafosfazen türevlerinin L929 fibroblast ve DLD-1 kolon kanser hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkisi WST-1 yöntemi ile incelenmiş ve bu etki bir antikanser ilaç olan sisplatin ile karşılaştırılmıştır. Bileşiklerin sağlıklı hücreler olan fibroblastlar üzerindeki sitotoksik etkisinin sisplatinden daha düşük olduğu; pirolidin sübstitüe bileşiklerin DLD-1 kanser hücre hattı üzerinde daha etkili olduğu; özellikle 1a, 2a ve 3c bileşiklerinin kanser hücreleri üzerinde düşük konsantrasyonlarda sisplatin kadar etkili olduğu belirlenmiştir. Elde edilen veriler bu bileşiklerin antikanser ajan olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Bu etkinin özellikle *in vivo* çalışmalar ile desteklenmesi ve irdelenmesi; bunun için de uygulamanın kolaylaştırılması açısından bu bileşiklerin su içerisinde çözülebilen formlarının sentezlenmesi gerekmektedir.
7. Bu tez kapsamında kullanılan bileşiklerin plazmit DNA olan etkileşimi agaroz jel elektroforez yöntemi ile araştırılmış ve bileşiklerin farklı oranlarda DNA ile olan etkileşime girdiği tespit edilmiştir. Bileşikler ile muamele edilmiş plazmit DNA'nın *Bam*HI ve *Hind*III enzimleri ile kesildiği görülmüş ve bileşiklerin DNA'ya bu enzimlerin kesim bölgelerindeki nükleotitlerden bağlanmadığı belirlenmiştir. Başka restriksiyon enzimleri kullanılarak bileşiklerin farklı nükleotitlere bağlanıp bağlanmadığının belirlenmesi önerilmektedir.
8. Bileşiklerin çalışılan tüm biyolojik aktiviteleri ele alındığında özellikle pirolidin sübstitüe bileşiklerin diğerlerine göre daha etkili olduğu göze çarpmaktadır. Daha yüksek biyolojik aktiviteye sahip başka fosfazen türevleri sentezleneceği zaman bu bilginin dikkate alınması tavsiye edilmektedir.

Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde pirolidin, morfolin ve 1,4-dioksa-8-azaspiro[4,5]dekan (DASD) süstitüe ferrosenil siklotetrafosfazen bileşiklerinin iyi bir antimikrobiyal, antitüberküloz ve antikanser ajan olabileceği görülmüştür. Bu tez kapsamında yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen verilerin yapılacak yeni çalışmalara katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.





KAYNAKLAR

1. Chandrasekhar, V., Thilagar, P. and Pandian, B. M. (2007). Cyclophosphazene-based multi-site coordination ligands. *Coordination Chemistry Reviews*, 251(9), 1045-1074.
2. Chandrasekhar, V., Senthil Andavan, G. T., Nagendran, S., Krishnan, V., Azhakar, R. and Butcher, R. J. (2003). Cyclophosphazene hydrazides as scaffolds for multi-ferrocenyl assemblies: Synthesis, structure, and electrochemistry. *Organometallics*, 22(5), 976-986.
3. Biswas, R., Keshav, K., Kumar, D. and Elias, A. J. (2014). Reactions of allylzinc bromide with ethynylferrocene derived fluorinated cyclophosphazenes. *Journal of Organometallic Chemistry*, 768, 157-162.
4. Razafimahefa, D., Ralambomanana, D. A., Hammouche, L., Pélinski, L., Lauvagie, S., Bebear, C., Brocard, J. and Maugein, J. (2005). Synthesis and antimycobacterial activity of ferrocenyl ethambutol analogues and ferrocenyl diamines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 15(9), 2301-2303.
5. Asmafiliz, N., Kilic, Z., Ozturk, A., Hokelek, T., Koc, L. Y., Acik, L., Kisa, O., Albay, A., Ustundag, Z. and Solak, A. O. (2009). Phosphorus-Nitrogen Compounds. 18. Syntheses, Stereogenic Properties, Structural and Electrochemical Investigations, Biological Activities, and DNA Interactions of New Spirocyclic Mono- and Bisferrocenylphosphazene Derivatives. *Inorganic Chemistry*, 48(21), 10102-10116.
6. Elmas, G., Okumus, A., Kilic, Z., Hokelek, T., Acik, L., Dal, H., Ramazanoglu, N. and Koc, L. Y. (2012). Phosphorus-Nitrogen Compounds. Part 24. Syntheses, Crystal Structures, Spectroscopic and Stereogenic Properties, Biological Activities, and DNA Interactions of Novel Spiro-ansa-spiro- and Ansa-spiro-ansa-cyclotetraphosphazenes. *Inorganic Chemistry*, 51(23), 12841-12856.
7. Asmafiliz, N., Kilic, Z., Ozturk, A., Suzen, Y., Hokelek, T., Acik, L., Celik, Z. B., Koc, L. Y., Yola, M. L. and Ustundag, Z. (2013). Phosphorus-Nitrogen Compounds: Part 25. Syntheses, Spectroscopic, Structural and Electrochemical Investigations, Antimicrobial Activities, and DNA Interactions of Ferrocenyldiaminocyclotriphosphazenes. *Phosphorus Sulfur*, 188(12), 1723-1742.
8. Elmas, G., Okumuş, A., Koç, L. Y., Soltanzade, H., Kılıç, Z., Hökelek, T., Dal, H., Açık, L., Üstündağ, Z. and Dündar, D. (2014). Phosphorus–nitrogen compounds. Part 29. Syntheses, crystal structures, spectroscopic and stereogenic properties, electrochemical investigations, antituberculosis, antimicrobial and cytotoxic activities and DNA interactions of ansa-spiro-ansa cyclotetraphosphazenes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 87, 662-676.
9. Bovin, J. O., Galy, J., Labarre, J.-F. and Sournies, F. (1978). Cyclophosphazenes as novel potential antitumor agents: x-ray crystal structure of the octapyrrolidinocyclotetraphosphazene, $N_4P_4(NC_4H_8)_8$. *Journal of Molecular Structure*, 49(2), 421-423.

10. Zhu, X.-f., Liang, Y.-h., Zhang, D., Wang, L., Ye, Y. and Zhao, Y. (2011). Synthesis and characterization of side group-modified cyclotetraphosphazene derivatives. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon*, 186(2), 281-286.
11. Feigin, V. (2016). Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *The Lancet*, 388, 1459-1544.
12. World Health Organization. (2014). Antimicrobial resistance: global report on surveillance, *WHO Report*, France, 1-65.
13. Silver, L. L. (2011). Challenges of antibacterial discovery. *Clinical Microbiology Reviews*, 24(1), 71-109.
14. Roca, I., Akova, M., Baquero, F., Carlet, J., Cavaleri, M., Coenen, S., Cohen, J., Findlay, D., Gyssens, I. and Heure, O. (2015). The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention. *New Microbes and New Infections*, 6, 22-29.
15. Cil, E., Tanyildizi, M. A., Ozen, F., Boybay, M., Arslan, M. and Gorgulu, A. O. (2012). Synthesis, Characterization, and Biological-Pharmacological Evaluation of New Phosphazenes Bearing Dioxybiphenyl and Schiff Base Groups. *Archiv der Pharmazie*, 345(6), 476-485.
16. Koran, K., Ozkaya, A., Ozen, F., Cil, E. and Arslan, M. (2013). Synthesis, characterization, and biological evaluation of new oxime-phosphazenes. *Research on Chemical Intermediates*, 39(3), 1109-1124.
17. Okumuş, A., Akbaş, H., Kılıç, Z., Koç, L. Y., Açıık, L., Aydın, B., Türk, M., Hökelek, T. and Dal, H. (2016). Phosphorus-nitrogen compounds part 33: in vitro cytotoxic and antimicrobial activities, DNA interactions, syntheses, and structural investigations of new mono (4-nitrobenzyl) spirocyclotriphosphazenes. *Research on Chemical Intermediates*, 42(5), 4221-4251.
18. Elmas, G., Okumuş, A., Kılıç, Z., Gönder, L. Y., Açıık, L. and Hökelek, T. (2016). The syntheses and structural characterizations, antimicrobial activity and in vitro DNA binding of 4-fluorobenzylspiro (N/O) cyclotriphosphazenes and their phosphazanium salts. *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry*, 3(3), 25-46.
19. Berberoğlu, İ., Asmafiliz, N., Kılıç, Z., Hökelek, T., Koç, L. Y., Açıık, L., Türk, M., Soltanzade, H. and Dal, H. (2016). Phosphorus nitrogen compounds: Part 34. Syntheses, structural investigations, cytotoxic and biological activities of spiro-ansa-spiro and spiro-bino-spiro tetrameric phosphazene derivatives. *Inorganica Chimica Acta*, 446, 75-86.
20. Asmafiliz, N., Kılıç, Z., Civan, M., Avcı, O., Gönder, L. Y., Açıık, L., Aydın, B., Türk, M. and Hökelek, T. (2016). Phosphorus-nitrogen compounds. Part 36. Syntheses, Langmuir-Blodgett thin films and biological activities of spiro-bino-spiro trimeric phosphazenes. *New Journal of Chemistry*, 40(11), 9609-9626.
21. Akbaş, H., Okumuş, A., Karadağ, A., Kılıç, Z., Hökelek, T., Koç, L. Y., Açıık, L., Aydın, B. and Türk, M. (2016). Phosphorus-nitrogen compounds. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 123(2), 1627-1641.

22. Tümer, Y., Koç, L. Y., Asmafiliz, N., Kılıç, Z., Hökelek, T., Soltanzade, H., Açık, L., Yola, M. L. and Solak, A. O. (2015). Phosphorus–nitrogen compounds: part 30. syntheses and structural investigations, antimicrobial and cytotoxic activities and DNA interactions of vanillinato-substituted NN or NO spirocyclic monoferrocenyl cyclotriphosphazenes. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 20(1), 165-178.
23. Tümer, Y., Asmafiliz, N., Kılıç, Z., Hökelek, T., Koç, L. Y., Açık, L., Yola, M. L., Solak, A. O., Öner, Y. and Dündar, D. (2013). Phosphorus–nitrogen compounds: Part 28. Syntheses, structural characterizations, antimicrobial and cytotoxic activities, and DNA interactions of new phosphazenes bearing vanillinato and pendant ferrocenyl groups. *Journal of Molecular Structure*, 1049, 112-124.
24. Koçak, S. B., Koçoğlu, S., Okumuş, A., Kılıç, Z., Öztürk, A., Hökelek, T., Öner, Y. and Açık, L. (2013). Syntheses, spectroscopic properties, crystal structures, biological activities, and DNA interactions of heterocyclic amine substituted spiro-ansa-spiro- and spiro-bino-spiro-phosphazenes. *Inorganica Chimica Acta*, 406, 160-170.
25. Asmafiliz, N., Kılıç, Z., Hökelek, T., Koç, L. Y., Açık, L., Süzen, Y. and Öner, Y. (2013). Phosphorus–nitrogen compounds: Part 26. Syntheses, spectroscopic and structural investigations, biological and cytotoxic activities, and DNA interactions of mono and bisferrocenylspirocyclotriphosphazenes. *Inorganica Chimica Acta*, 400, 250-261.
26. Akbas, H., Okumus, A., Kilic, Z., Hokelek, T., Suzen, Y., Koc, L. Y., Acik, L. and Celik, Z. B. (2013). Phosphorus-nitrogen compounds part 27. Syntheses, structural characterizations, antimicrobial and cytotoxic activities, and DNA interactions of new phosphazenes bearing secondary amino and pendant (4-fluorobenzyl)spiro groups. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 70, 294-307.
27. World Health Organization. (2016). Global tuberculosis report, *WHO Report*, Switzerland, 1-54.
28. Baykara, O. (2016). Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(3), 154-165.
29. Nussbaumer, S., Bonnabry, P., Veuthey, J. L. and Fleury-Souverain, S. (2011). Analysis of anticancer drugs: A review. *Talanta*, 85(5), 2265-2289.
30. Işıklan, M., Sayın, L., Sonkaya, Ö., Hökelek, T., Türk, M. and Oğuztüzün, S. (2016). Synthesis, structural characterization, and cytotoxic activity of new spirocyclic octachlorocyclotetraphosphazenes. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 191(9), 1216-1222.
31. Yıldırım, T., Bilgin, K., Çiftçi, G. Y., Eçik, E. T., Şenkuytu, E., Uludağ, Y., Tomak, L. and Kılıç, A. (2012). Synthesis, cytotoxicity and apoptosis of cyclotriphosphazene compounds as anti-cancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 52, 213-220.
32. Siwy, M., Sek, D., Kaczmarczyk, B., Wietrzyk, J., Nasulewicz, A. and Opolski, A. (2007). Synthesis and in vitro antiproliferative activity of new 1, 3-(oxytetraethylenoxy)-cyclotriphosphazene derivatives. *Anticancer Research*, 27, 1553-1558.

33. Siwy, M., Sęk, D., Kaczmarczyk, B., Jaroszewicz, I., Nasulewicz, A., Pelczyńska, M., Nevozhay, D. and Opolski, A. (2006). Synthesis and in Vitro Antileukemic Activity of Some New 1, 3-(Oxytetraethylenoxy) cyclotriphosphazene Derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(2), 806-810.
34. Gümüşderelioğlu, M. and Gür, A. (2002). Synthesis, characterization, in vitro degradation and cytotoxicity of poly [bis (ethyl 4-aminobutyro) phosphazene]. *Reactive and Functional Polymers*, 52(2), 71-80.
35. Ding, P.-G., Zou, R., Yang, X., Zhang, D., Zhao, Y. and Ye, Y. (2015). Synthesis, Characterization, and Oxidative Cleavage Activities of Binaphthol-Modified Cyclotriphosphazene Bidentate Ligands. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 190(2), 240-250.
36. Gleria, M. and De Jaeger, R. (2001). Aspects of phosphazene research. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers*, 11(1), 1-45.
37. Chaplin, A. B., Harrison, J. A. and Dyson, P. J. (2005). Revisiting the electronic structure of phosphazenes. *Inorganic Chemistry*, 44(23), 8407-8417.
38. Allcock, H. (1972). Recent advances in phosphazene (phosphonitric) chemistry. *Chemical Reviews*, 72(4), 315-356.
39. Shaw, R. A., Fitzsimmons, B. and Smith, B. C. (1962). The Phosphazenes (Phosphonitric Compounds). *Chemical Reviews*, 62(3), 247-281.
40. Allcock, H. R. (2006). Recent developments in polyphosphazene materials science. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, 10(5), 231-240.
41. Allcock, H. R., Pucher, S. R., Fitzpatrick, R. J. and Rashid, K. (1992). Antibacterial activity and mutagenicity studies of water-soluble phosphazene high polymers. *Biomaterials*, 13(12), 857-862.
42. Chandrasekhar, V. and Murugesapandian, B. (2009). Phosphorus-supported ligands for the assembly of multimetal architectures. *Accounts of Chemical Research*, 42(8), 1047-1062.
43. Ainscough, E. W., Brodie, A. M., Chaplin, A. B., Derwahl, A., Harrison, J. A. and Otter, C. A. (2007). Conformational Flexibility in 2, 2'-Dioxybiphenyl-chloro-cyclotetraphosphazenes and its Relevance to Polyphosphazene Analogues. *Inorganic Chemistry*, 46(7), 2575-2583.
44. Nichol, J. L., Morozowich, N. L. and Allcock, H. R. (2013). Biodegradable alanine and phenylalanine alkyl ester polyphosphazenes as potential ligament and tendon tissue scaffolds. *Polymer Chemistry*, 4(3), 600-606.
45. Tian, Z., Zhang, Y., Liu, X., Chen, C., Guiltinan, M. J. and Allcock, H. R. (2013). Biodegradable polyphosphazenes containing antibiotics: synthesis, characterization, and hydrolytic release behavior. *Polymer Chemistry*, 4(6), 1826-1835.

46. Okutan, E., Çoşut, B., Kayıran, S. B., Durmuş, M., Kılıç, A. and Yeşilot, S. (2014). Synthesis of a dendrimeric phenoxy-substituted cyclotetraphosphazene and its non-covalent interactions with multiwalled carbon nanotubes. *Polyhedron*, 67, 344-350.
47. Omotowa, B. A., Phillips, B. S., Zabinski, J. S. and Shreeve, J. N. M. (2004). Phosphazene-based ionic liquids: synthesis, temperature-dependent viscosity, and effect as additives in water lubrication of silicon nitride ceramics. *Inorganic Chemistry*, 43(17), 5466-5471.
48. Tian, Z., Chen, C. and Allcock, H. R. (2013). Injectable and biodegradable supramolecular hydrogels by inclusion complexation between poly (organophosphazenes) and α -cyclodextrin. *Macromolecules*, 46(7), 2715-2724.
49. Ozay, H. and Ozay, O. (2014). Synthesis and characterization of drug microspheres containing phosphazene for biomedical applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 450, 99-105.
50. Keller, M. A. and Saba, C. S. (1996). Oxidative stability and degradation mechanism of a cyclotriphosphazene lubricant. *Analytical chemistry*, 68(19), 3489-3492.
51. Mutlu, G., Elmas, G., Kılıç, Z., Hökelek, T., Koç, L. Y., Türk, M., Açık, L., Aydın, B. and Dal, H. (2015). Phosphorus–nitrogen compounds: Part 31. Syntheses, structural and stereogenic properties, in vitro cytotoxic and antimicrobial activities, and DNA interactions of bicyclotetraphosphazenes containing bulky side group. *Inorganica Chimica Acta*, 436, 69-81.
52. Madigan, M. T., Martinko, J. M., Stahl, D. A. and Clark, D. P. (2012). *Brock Biology of microorganisms* (Thirteenth Edition). London: Pearson, 84-756.
53. Cohen, J. Powderly, W. and Opal, S. (2010). *Infectious Diseases* (Third Edition). China: Mosby, 1275-1287.
54. Gow, N. A., Latge, J.-P. and Munro, C. A. (2017). The fungal cell wall: structure, biosynthesis, and function. *Microbiology spectrum*, 5(3), 1-25.
55. Mishra, S. K. and Agrawal, D. (2012). *Concise Manual of Pathogenic Microbiology*. United States of America: Wiley, 17-24.
56. Yildiz, M., Yilmaz, S. and Dölger, B. (2007). Synthesis, spectral properties, and antimicrobial activity of 2-aryl-amino-2, 4, 4, 6, 6-pentachloro-1, 3, 5, 2 λ 5, 4 λ 5, 6 λ 5-triazatriphosphines and poly [bis (4-fluorophenylamino) phosphazene]. *Russian Journal of General Chemistry*, 7(12), 2117-2122.
57. Işıklan, M., Asmafiliz, N., Özalp, E. E., İlter, E. E., Kılıç, Z., Çoşut, B. n., Yeşilot, S., Kılıç, A., Öztürk, A. and Hökelek, T. (2010). Phosphorus– nitrogen compounds. 21. Syntheses, structural investigations, biological activities, and DNA interactions of new N/O spirocyclic phosphazene derivatives. The NMR behaviors of chiral phosphazenes with stereogenic centers upon the addition of chiral solvating agents. *Inorganic Chemistry*, 49(15), 7057-7071.

58. Asmafiliz, N., Kılıç, Z., Öztürk, A., Hökelek, T., Koç, L. Y., Açık, L., Kısa, O. z. l., Albay, A., Üstündağ, Z. and Solak, A. O. (2009). Phosphorus– Nitrogen Compounds. 18. Syntheses, Stereogenic Properties, Structural and Electrochemical Investigations, Biological Activities, and DNA Interactions of New Spirocyclic Mono-and Bisferrocenylphosphazene Derivatives. *Inorganic Chemistry*, 48(21), 10102-10116.
59. Walsh, C. (2003). Where will new antibiotics come from? *Nature Reviews Microbiology*, 1(1), 65-69.
60. Kontoyiannis, D. P. and Lewis, R. E. (2002). Antifungal drug resistance of pathogenic fungi. *The Lancet*, 359, 1135-1144.
61. Bottone, E. J. (2010). *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(2), 382-398.
62. Jensen, G., Hansen, B., Eilenberg, J. and Mahillon, J. (2003). The hidden lifestyles of *Bacillus cereus* and relatives. *Environmental Microbiology*, 5(8), 631-640.
63. Granum, P. E. (2013). *Bacillus cereus* Food. *Food Associated Pathogens*, 20-32.
64. Arnesen, L. P. S., Fagerlund, A. and Granum, P. E. (2008). From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiology Reviews*, 32(4), 579-606.
65. Brooks, G. F., Jawetz, E., Melnick, J. L. and Adelberg, E. A. (2010). *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology*. New York: McGraw-Hill, 175-178.
66. Sietske, A. and Diderichsen, B. (1991). On the safety of *Bacillus subtilis* and *B. amyloliquefaciens*: a review. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 36(1), 1-4.
67. Mielich-Süss, B. and Lopez, D. (2015). Molecular mechanisms involved in *Bacillus subtilis* biofilm formation. *Environmental Microbiology*, 17(3), 555-565.
68. Jorgensen, J. H. and Pfaller, M. A. (2015). *Manual of Clinical Microbiology*. United States of America: ASM Press, 403-421.
69. Van Tyne, D., Martin, M. J. and Gilmore, M. S. (2013). Structure, function, and biology of the *Enterococcus faecalis* cytolysin. *Toxins*, 5(5), 895-911.
70. Castillo-Rojas, G., Mazari-Hiriart, M., de León, S. P., Amieva-Fernández, R. I., Agis-Juárez, R. A., Huebner, J. and López-Vidal, Y. (2013). Comparison of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* strains isolated from water and clinical samples: Antimicrobial susceptibility and genetic relationships. *Plos One*, 8(4), e59491.
71. Vila, J., Sáez-López, E., Johnson, J., Römling, U., Dobrindt, U., Cantón, R., Giske, C., Naas, T., Carattoli, A. and Martínez-Medina, M. (2016). *Escherichia coli*: an old friend with new tidings. *FEMS Microbiology Reviews*, 40(4), 437-463.
72. Kanjee, U. and Houry, W. A. (2013). Mechanisms of acid resistance in *Escherichia coli*. *Annual Review of Microbiology*, 67, 65-81.
73. World Health Organization. (2014). Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance, *WHO Report*, France, 10-27.

74. Martin, R. M., Cao, J., Brisse, S., Passet, V., Wu, W., Zhao, L., Malani, P. N., Rao, K. and Bachman, M. A. (2016). Molecular Epidemiology of Colonizing and Infecting Isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *mSphere*, 1(5), e00261-00216.
75. Holt, K. E., Wertheim, H., Zadoks, R. N., Baker, S., Whitehouse, C. A., Dance, D., Jenney, A., Connor, T. R., Hsu, L. Y. and Severin, J. (2015). Genomic analysis of diversity, population structure, virulence, and antimicrobial resistance in *Klebsiella pneumoniae*, an urgent threat to public health. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(27), E3574-E3581.
76. Shon, A. S., Bajwa, R. P. and Russo, T. A. (2013). Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*: a new and dangerous breed. *Virulence*, 4(2), 107-118.
77. Ko, W.-C., Paterson, D. L., Sagnimeni, A. J., Hansen, D. S., Von Gottberg, A., Mohapatra, S., Casellas, J. M., Goossens, H., Mulazimoglu, L. and Trenholme, G. (2002). Community-acquired *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: global differences in clinical patterns. *Emerging Infectious Diseases*, 8(2), 160-166.
78. Lee, K.-M., Runyon, M., Herrman, T. J., Phillips, R. and Hsieh, J. (2015). Review of *Salmonella* detection and identification methods: aspects of rapid emergency response and food safety. *Food Control*, 47, 264-276.
79. Patel, S. and McCormick, B. A. (2014). Mucosal inflammatory response to *Salmonella* typhimurium infection. *Frontiers in Immunology*, 5, 311.
80. Alakomi, H. L. and Saarela, M. (2009). *Salmonella* importance and current status of detection and surveillance methods. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 1(3), 142-152.
81. Coburn, B., Grassl, G. A. and Finlay, B. (2007). *Salmonella*, the host and disease: a brief review. *Immunology and Cell Biology*, 85(2), 112-118.
82. Tong, S. Y., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L. and Fowler, V. G. (2015). *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 603-661.
83. Bai, A. D., Showler, A., Burry, L., Steinberg, M., Ricciuto, D. R., Fernandes, T., Chiu, A., Raybardhan, S., Fernando, E. and Tomlinson, G. (2015). Impact of infectious disease consultation on quality of care, mortality, and length of stay in *Staphylococcus aureus* bacteremia: results from a large multicenter cohort study. *Clinical Infectious Diseases*, 60(10), 1451-1461.
84. Gosbell, I. B. and van Hal, S. J. (2013). *Staphylococcus aureus* colonisation: some questions answered. *The Lancet Infectious Diseases*, 13(5), 380-381.
85. Jenkins, T. C., Price, C. S., Sabel, A. L., Mehler, P. S. and Burman, W. J. (2008). Impact of routine infectious diseases service consultation on the evaluation, management, and outcomes of *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clinical Infectious Diseases*, 46(7), 1000-1008.

86. Chatterjee, M., Anju, C., Biswas, L., Kumar, V. A., Mohan, C. G. and Biswas, R. (2016). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and alternative therapeutic options. *International Journal of Medical Microbiology*, 306(1), 48-58.
87. Lee, S. A., Gallagher, L. A., Thongdee, M., Staudinger, B. J., Lippman, S., Singh, P. K. and Manoel, C. (2015). General and condition-specific essential functions of *Pseudomonas aeruginosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(16), 5189-5194.
88. Mulcahy, L. R., Isabella, V. M. and Lewis, K. (2014). *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in disease. *Microbial Ecology*, 68(1), 1-12.
89. Mishra, S. K. and Agrawal, D. (2012). *A concise manual of pathogenic microbiology*. United States of America: John Wiley & Sons, 54-58.
90. Forastiero, A., Garcia-Gil, V., Rivero-Menendez, O., Garcia-Rubio, R., Monteiro, M., Alastruey-Izquierdo, A., Jordan, R., Agorio, I. and Mellado, E. (2015). Rapid development of *Candida krusei* echinocandin resistance during caspofungin therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(11), 6975-6982.
91. Nobile, C. J. and Johnson, A. D. (2015). *Candida albicans* biofilms and human disease. *Annual Review of Microbiology*, 69, 71-92.
92. Saghrouni, F., Ben Abdeljelil, J., Boukadida, J. and Ben Said, M. (2013). Molecular methods for strain typing of *Candida albicans*: a review. *Journal of Applied Microbiology*, 114(6), 1559-1574.
93. Ben Abdeljelil, J., Saghrouni, F., Emira, N., Valentin-Gomez, E., Chatti, N., Boukadida, J., Ben Saïd, M. and Del Castillo Agudo, L. (2011). Molecular typing of *Candida albicans* isolates from patients and health care workers in a neonatal intensive care unit. *Journal of Applied Microbiology*, 111(5), 1235-1249.
94. Calderone, R. A. and Fonzi, W. A. (2001). Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends in Microbiology*, 9(7), 327-335.
95. McCullough, M., Ross, B. and Reade, P. (1996). *Candida albicans*: a review of its history, taxonomy, epidemiology, virulence attributes, and methods of strain differentiation. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 25(2), 136-144.
96. Mayer, F. L., Wilson, D. and Hube, B. (2013). *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*, 4(2), 119-128.
97. García-Rodas, R., González-Camacho, F., Rodríguez-Tudela, J. L., Cuenca-Estrella, M. and Zaragoza, O. (2011). The interaction between *Candida krusei* and murine macrophages results in multiple outcomes, including intracellular survival and escape from killing. *Infection and Immunity*, 79(6), 2136-2144.
98. Deorukhkar, S. C., Saini, S. and Mathew, S. (2014). Virulence factors contributing to pathogenicity of *Candida tropicalis* and its antifungal susceptibility profile. *International Journal of Microbiology*, 2014, 1-6.

99. Chen, Y.-L., Yu, S.-J., Huang, H.-Y., Chang, Y.-L., Lehman, V. N., Silao, F. G. S., Bigol, U. G., Bungay, A. A. C., Averette, A. and Heitman, J. Calcineurin controls hyphal growth, virulence, and drug tolerance of *Candida tropicalis*. *Eukaryotic cell*, 13, 7 (2014), 844-854.
100. Delogu, G., Sali, M. and Fadda, G. (2013). The biology of mycobacterium tuberculosis infection. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*, 5(1), e2013070.
101. Zumla , A., Raviglione , M., Hafner , R. and Fordham von Reyn , C. (2013). Tuberculosis. *New England Journal of Medicine*, 368(8), 745-755.
102. Gupta, R. K., Patel, A. K., Shah, N., Chaudhary, A., Jha, U., Yadav, U. C., Gupta, P. K. and Pakuwal, U. (2014). Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15, 4405-4409.
103. Pisoschi, A. M. and Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55-74.
104. Phaniendra, A., Jestadi, D. B. and Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11-26.
105. Boyle, P. and Levin, B. (2008). World cancer report 2008, *WHO Report*, France, 189-246.
106. Stewart, B. and Wild, C. P. (2014). World cancer report 2014, *WHO Report*, France, 16-54.
107. Shay, J. W. (2016). Role of telomeres and telomerase in aging and cancer. *Cancer Discovery*, 6(6), 584-593.
108. Harvey, K. F., Zhang, X. and Thomas, D. M. The Hippo pathway and human cancer. *Nature Reviews Cancer*, 13, 4 (2013), 246-257.
109. Vander Heiden, M. G., Cantley, L. C. and Thompson, C. B. (2009). Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science*, 324(5930), 1029-1033.
110. Yadav, L., Puri, N., Rastogi, V., Satpute, P. and Sharma, V. (2015). Tumour angiogenesis and angiogenic inhibitors: A review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 9(6), XE01.
111. Su, Z., Yang, Z., Xu, Y., Chen, Y. and Yu, Q. (2015). Apoptosis, autophagy, necroptosis, and cancer metastasis. *Molecular Cancer*, 14(1), 48.
112. Hanahan, D. and Weinberg, R. A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100(1), 57-70.
113. Otto, T. and Sicinski, P. (2017). Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, 17(2), 93-115.

114. Vermeulen, K., Van Bockstaele, D. R. and Berneman, Z. N. (2003). The cell cycle: a review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer. *Cell Proliferation*, 36(3), 131-149.
115. Fredericks, E., Dealtry, G. and Roux, S. (2015). Molecular aspects of colorectal carcinogenesis: a review. *Journal of Cancer Biology and Research*, 3(1), 1057.
116. Raskov, H., Pommergaard, H.-C., Burcharth, J. and Rosenberg, J. (2014). Colorectal carcinogenesis-update and perspectives. *World Journal of Gastroenterology*, 20(48), 18151.
117. Tanaka, T. (2009). Colorectal carcinogenesis: review of human and experimental animal studies. *Journal of Carcinogenesis*, 8(5), 1-36.
118. Zeuner, A., Todaro, M., Stassi, G. and De Maria, R. (2014). Colorectal cancer stem cells: from the crypt to the clinic. *Cell Stem Cell*, 15(6), 692-705.
119. Aykan, N. F., Yalçın, S., Turhal, N. S., Özdoğan, M., Demir, G., Özkan, M., Yaren, A., Camcı, C., Akbulut, H. and Artaç, M. (2015). Epidemiology of colorectal cancer in Turkey: A cross-sectional disease registry study (A Turkish Oncology Group trial). *Turkish Journal of Gastroenterology*, 26(2), 145-153.
120. Avendaño, C. and Menendez, J. C. (2015). *Medicinal chemistry of anticancer drugs*. United States of America: Elsevier Science, 1-8.
121. Elmas, G., Okumuş, A., Kılıç, Z., Hökelek, T., Açık, L., Dal, H., Ramazanoğlu, N. and Koç, L. Y. (2012). Phosphorus–Nitrogen Compounds. Part 24. Syntheses, Crystal Structures, Spectroscopic and Stereogenic Properties, Biological Activities, and DNA Interactions of Novel Spiro-ansa-spiro-and Ansa-spiro-ansa-cyclotetraphosphazenes. *Inorganic Chemistry*, 51(23), 12841-12856.
122. Asmafiliz, N., Kılıç, Z., Hayvalı, Z., Açık, L., Hökelek, T., Dal, H. and Öner, Y. (2012). Phosphorus–nitrogen compounds. Part 23: Syntheses, structural investigations, biological activities, and DNA interactions of new N/O spirocyclotriphosphazenes. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 86, 214-223.
123. İlter, E. E., Asmafiliz, N., Kılıç, Z., Açık, L., Yavuz, M., Bali, E. B., Solak, A. O., Büyükkaya, F., Dal, H. and Hökelek, T. (2010). Phosphorus–nitrogen compounds: Part 19. Syntheses, structural and electrochemical investigations, biological activities, and DNA interactions of new spirocyclic monoferrocenylcyclotriphosphazenes. *Polyhedron*, 29(15), 2933-2944.
124. Wang, L., Ye, Y., Zhong, S. B. and Zhao, Y. F. (2009). Polydentate cyclotriphosphazene ligands: Design, synthesis and bioactivity. *Chinese Chemical Letters*, 20(1), 58-61.
125. Rauf, S., Gooding, J. J., Akhtar, K., Ghauri, M. A., Rahman, M., Anwar, M. A. and Khalid, A. M. (2005). Electrochemical approach of anticancer drugs--DNA interaction. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 37(2), 205-217.

126. Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C. A., Krieger, M., Bretscher, A., Ploegh, H., Amon, A. and Martin, K. C. (2016). *Molecular Cell Biology*. (Seventh Edition). United States of America: W. H. Freeman Company, 6-22.
127. Watson, J. D. and Crick, F. H. (1953). Molecular structure of nucleic acids. *Nature*, 171(4356), 737-738.
128. Klug, W. S., Cummings, M. R. and Spencer, C. A. (2016). *Concepts of genetics*. (Eleventh Edition). England: Pearson Education Limited, 265-294.
129. Sirajuddin, M., Ali, S. and Badshah, A. (2013). Drug-DNA interactions and their study by UV-Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, 124, 1-19.
130. Dehghan, G., Dolatabadi, J. E., Jouyban, A., Zeynali, K. A., Ahmadi, S. M. and Kashanian, S. (2011). Spectroscopic studies on the interaction of quercetin-terbium(III) complex with calf thymus DNA. *DNA and Cell Biology*, 30(3), 195-201.
131. Arjmand, F. and Parveen, S. (2012). Enantiomeric recognition of chiral L- and D-penicillamine Zinc(II) complexes: DNA binding behavior and cleavage studies. *RSC Advances*, 2(15), 6354-6362.
132. Liu, H. K. and Sadler, P. J. (2011). Metal Complexes as DNA Intercalators. *Accounts of Chemical Research*, 44(5), 349-359.
133. Fu, D., Calvo, J. A. and Samson, L. D. (2012). Balancing repair and tolerance of DNA damage caused by alkylating agents. *Nature Reviews Cancer*, 12(2), 104-120.
134. Park, H. J. and Hurley, L. H. (1997). Covalent modification of N3 of guanine by (+)-CC-1065 results in protonation of the cross-strand cytosine. *Journal of the American Chemical Society*, 119(3), 629-630.
135. Wilhelm, M., Mukherjee, A., Bouvier, B., Zakrzewska, K., Hynes, J. T. and Lavery, R. (2012). Multistep Drug Intercalation: Molecular Dynamics and Free Energy Studies of the Binding of Daunomycin to DNA. *Journal of American Chemical Society*, 134(20), 8588-8596.
136. Sasikala, W. D. and Mukherjee, A. (2012). Molecular Mechanism of Direct Proflavine-DNA Intercalation: Evidence for Drug-Induced Minimum Base-Stacking Penalty Pathway. *Journal of Physical Chemistry B*, 116(40), 12208-12212.
137. Palchaudhuri, R. and Hergenrother, P. J. (2007). DNA as a target for anticancer compounds: methods to determine the mode of binding and the mechanism of action. *Current Opinion in Biotechnology*, 18(6), 497-503.
138. Leung, C. H., Chan, D. S. H., Ma, V. P. Y. and Ma, D. L. (2013). DNA-Binding Small Molecules as Inhibitors of Transcription Factors. *Medicinal Research Reviews*, 33(4), 823-846.
139. Rescifina, A., Zagni, C., Varrica, M. G., Pistara, V. and Corsaro, A. (2014). Recent advances in small organic molecules as DNA intercalating agents: Synthesis, activity, and modeling. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 74, 95-115.

140. Braca, A., De Tommasi, N., Di Bari, L., Pizza, C., Politi, M. and Morelli, I. (2001). Antioxidant principles from *Bauhinia t. arapotensis*. *Journal of Natural Products*, 64(7), 892-895.
141. Baştırzi, N. S., Koçak, S. B., Okumuş, A., Kılıç, Z., Hökelek, T., Çelik, Ö., Türk, M., Koç, L. Y., Açıık, L. and Aydın, B. (2015). Syntheses, structural characterization and biological activities of spiro-ansa-spiro-cyclotriphosphazenes. *New Journal of Chemistry*, 39(11), 8825-8839.
142. Okumuş, A., Kılıç, Z., Hökelek, T., Dal, H., Açıık, L., Öner, Y. and Koç, L. Y. (2011). Phosphorus–nitrogen compounds part 22. Syntheses, structural investigations, biological activities and DNA interactions of new mono and bis (4-fluorobenzyl) spirocyclophosphazenes. *Polyhedron*, 30(17), 2896-2907.
143. Isiklan, M., Asmafiliz, N., Ozalp, E. E., Ilter, E. E., Kilic, Z., Cosut, B., Yesilot, S., Kilic, A., Ozturk, A., Hokelek, T., Bilir, L. Y. K., Acik, L. and Akyuz, E. (2010). Phosphorus-Nitrogen Compounds. 21. Syntheses, Structural Investigations, Biological Activities, and DNA Interactions of New N/O Spirocyclic Phosphazene Derivatives. The NMR Behaviors of Chiral Phosphazenes with Stereogenic Centers upon the Addition of Chiral Solvating Agents. *Inorganic Chemistry*, 49(15), 7057-7071.
144. Mânzu, D., Negreanu-Pîrjol, T., Dumitru, F., Alexie, M. and Guran, C. (2009) Synthesis, characterisation and biological activity of some Cr (III), Fe (III), Cu (II), Mn (II)-complexes of N, O-aminoethanol tetrachlorocyclotriphosphazene. *Bulletin Series B*, 71(2), 49-58.
145. Yilmaz, Ö., Aslan, F., Öztürk, A. I., Vanli, N. S., Kirbağ, S. and Arslan, M. (2002). Antimicrobial and biological effects of N-diphenylphosphoryl-P-triphenylmonophosphazene-II and di (o-tolyl) phosphoryl-P-tri (o-tolyl) monophosphazene-III on bacterial and yeast cells. *Bioorganic Chemistry*, 30(5), 303-314.
146. Yilmaz, Ö., Kirbağ, S. and Arslan, M. (2000). Antimicrobial and biological effects of ipemphos and amphos on bacterial and yeast strains. *Cell Biochemistry and Function*, 18(2), 117-126.
147. Barboiu, M., Guran, C., Jitaru, I., Cimpoesu, M. and Supuran, C. T. (1996). Complexes With Biologically Active Ligands. Part 71 Synthesis and Fungitoxic Activity of Metal Complexes Containing 1, 3, 5-tris-(8-Hydroxyquinolino)-Trichlorocyclo-Triphosphazatriene. *Metal-based Drugs*, 3(5), 233-240.
148. Tumer, Y., Asmafiliz, N., Kilic, Z., Hokelek, T., Koc, L. Y., Acik, L., Yola, M. L., Solak, A. O., Oner, Y., Dundar, D. and Yavuz, M. (2013). Phosphorus-nitrogen compounds: Part 28. Syntheses, structural characterizations, antimicrobial and cytotoxic activities, and DNA interactions of new phosphazenes bearing vanillinato and pendant ferrocenyl groups. *Journal of Molecular Structure*, 1049, 112-124.
149. Mishra, K., Ojha, H. and Chaudhury, N. K. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chemistry*, 130(4), 1036-1043.

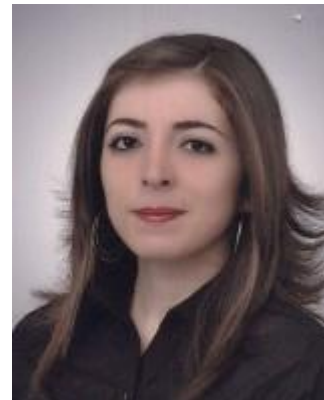
150. Sharma, O. P. and Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*, 113(4), 1202-1205.
151. Huang, D., Ou, B. and Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841-1856.
152. Morozowich, N. L., Nichol, J. L., Mondschein, R. J. and Allcock, H. R. (2012). Design and examination of an antioxidant-containing polyphosphazene scaffold for tissue engineering. *Polymer Chemistry*, 3(3), 778-786.
153. Morozowich, N. L., Nichol, J. L. and Allcock, H. R. (2012). Investigation of Apatite Mineralization on Antioxidant Polyphosphazenes for Bone Tissue Engineering. *Chemistry of Materials*, 24(17), 3500-3509.
154. Song, R., Jun, Y. J., Kim, J. I., Jin, C. and Sohn, Y. S. (2005). Synthesis, characterization, and tumor selectivity of a polyphosphazene–platinum (II) conjugate. *Journal of Controlled Release*, 105(1), 142-150.
155. Jun, Y. J., Kim, J. I., Jun, M. J. and Sohn, Y. S. (2005). Selective tumor targeting by enhanced permeability and retention effect. Synthesis and antitumor activity of polyphosphazene–platinum (II) conjugates. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 99(8), 1593-1601.
156. Asmafiliz, N., Kilic, Z., Hokelek, T., Koc, L. Y., Acik, L., Suzen, Y. and Oner, Y. (2013). Phosphorus-nitrogen compounds: Part 26. Syntheses, spectroscopic and structural investigations, biological and cytotoxic activities, and DNA interactions of mono and bisferrocenylspirocyclotripphosphazenes. *Inorganica Chimica Acta*, 400, 250-261.
157. Basterzi, N. S., Kocak, S. B., Okumus, A., Kilic, Z., Hokelek, T., Celik, O., Turk, M., Koc, L. Y., Acik, L. and Aydin, B. (2015). Syntheses, structural characterization and biological activities of spiro-ansa-spiro-cyclotripphosphazenes. *New Journal of Chemistry*, 39(11), 8825-8839.
158. Mutlu, G., Elmas, G., Kilic, Z., Hokelek, T., Koc, L. Y., Turk, M., Acik, L., Aydin, B. and Dal, H. (2015). Phosphorus-nitrogen compounds: Part 31. Syntheses, structural and stereogenic properties, in vitro cytotoxic and antimicrobial activities, and DNA interactions of bicyclopentaphosphazenes containing bulky side group. *Inorganica Chimica Acta*, 436, 69-81.
159. Utku, S., Gumus, F., Tezcan, S., Serin, M. S. and Ozkul, A. (2010). Synthesis, characterization, cytotoxicity, and DNA binding of some new platinum(II) and platinum(IV) complexes with benzimidazole ligands. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 25(4), 502-508.
160. Tumer, Y., Koc, L. Y., Asmafiliz, N., Kilic, Z., Hokelek, T., Soltanzade, H., Acik, L., Yola, M. L. and Solak, A. O. (2015). Phosphorus-nitrogen compounds: part 30. Syntheses and structural investigations, antimicrobial and cytotoxic activities and DNA interactions of vanillinato-substituted NN or NO spirocyclic monoferrocenyl cyclotripphosphazenes. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 20(1), 165-178.

161. Kocak, S. B., Kocoglu, S., Okumus, A., Kilic, Z., Ozturk, A., Hokelek, T., Oner, Y. and Acik, L. (2013). Syntheses, spectroscopic properties, crystal structures, biological activities, and DNA interactions of heterocyclic amine substituted spiro-ansa-spiro- and spiro-bino-spiro-phosphazenes. *Inorganica Chimica Acta*, 406, 160-170.
162. Asmafiliz, N., Kilic, Z., Hayvali, Z., Acik, L., Hokelek, T., Dal, H. and Oner, Y. (2012). Phosphorus-nitrogen compounds. Part 23: Syntheses, structural investigations, biological activities, and DNA interactions of new N/O spirocyclotriphosphazenes. *Spectrochim Acta A*, 86, 214-223.
163. Okumus, A., Kilic, Z., Hokelek, T., Dal, H., Acik, L., Oner, Y. and Koc, L. Y. (2011). Phosphorus-nitrogen compounds part 22. Syntheses, structural investigations, biological activities and DNA interactions of new mono and bis (4-fluorobenzyl) spirocyclophosphazenes. *Polyhedron*, 30(17), 2896-2907.
164. Ilter, E. E., Asmafiliz, N., Kilic, Z., Acik, L., Yavuz, M., Bali, E. B., Solak, A. O., Buyukkaya, F., Dal, H. and Hokelek, T. (2010). Phosphorus-nitrogen compounds: Part 19. Syntheses, structural and electrochemical investigations, biological activities, and DNA interactions of new spirocyclic monoferrocenylcyclotriphosphazenes. *Polyhedron*, 29(15), 2933-2944.
165. Van Staveren, D. R. and Metzler-Nolte, N. (2004). Bioorganometallic chemistry of ferrocene. *Chemical Reviews*, 104(12), 5931-5986.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : AYDIN, Betül
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 20.08.1986, Ankara
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 0 (505) 818 52 06
 e-mail : betulaydin12@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Biyoloji Anabilim Dalı	2016
Lisans	Gazi Üniversitesi / Fen Fakültesi / Biyoloji Bölümü	2011
Lise	Süleyman Demirel Anadolu Lisesi	2004

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2009-Halen	Gazi Üniversitesi	Araştırma Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce (YDS: 65; YÖKDİL:76,5)

Yayınlar

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

1. Tarı, Ö., Gümüş, F., Açık, L., Aydın, B. (2017). Synthesis, characterization and DNA binding studies of platinum(II) complexes with benzimidazole derivative ligands. *Bioorganic Chemistry*, 74, 272-283.
2. Sayık, A., Yusufoglu, A. S., Açık, L., Türker, G., Aydın, B., Arslan, L. (2017). DNA-Binding, Biological Activities and Chemical Composition of Wild Growing *Epilobium angustifolium* L. Extracts from Canakkale, Turkey. *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry*, 4, 811-840.

3. Okumuş, A., Akbaş, H., Kılıç, Z., Koç, L. Y., Açıık, L., Aydın, B., Türk, M., Hökelek, T., Dal, H. (2016). Phosphorus nitrogen compounds part 33 in vitro cytotoxic and antimicrobial activities, DNA interactions, syntheses, and structural investigations of new mono 4 nitrobenzyl spirocyclotriphosphazenes. *Research on Chemical Intermediates*, 42(5), 4221-4251.
4. Akbaş, H., Okumuş, A., Karadağ, A., Kılıç, Z., Hökelek, T., Koç, L. Y., Açıık, L., Aydın, B., Türk, M. (2016). Phosphorus nitrogen compounds. Part 36. Syntheses, Langmuir–Blodgett thin films and biological activities of spiro-bino-spiro trimeric phosphazenes. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 123(2), 1627-1641.
5. Küçük, H. B., Yusufoglu, A. S., Açıık, L., Aydın, B., Arslan, L. (2016). Synthesis (E)/(Z) isomerization and DNA binding, antibacterial and antifungal activities of novel oximes and O-substituted oxime ethers. *Turkish Journal of Chemistry*, 40, 816-829.
6. Okumuş, A., Elmas, G., Cemaloğlu, R., Aydın, B., Açıık, L., Türk, M., Hökelek, T., Kılıç, Z. (2016). Phosphorus nitrogen compounds Part 35. Syntheses, spectroscopic and electrochemical properties, and antituberculosis, antimicrobial and cytotoxic activities of mono ferrocenyl spirocyclotetraphosphazenes. *New Journal of Chemistry*, 40(6), 5588-5603.
7. Asmafiliz, N., Kılıç, Z., Civan, M., Avcı, O., Gönder, L. Y., Açıık, L., Aydın, B., Türk, M., Hökelek, T. (2016). Phosphorus nitrogen compounds Part 36. Syntheses, Langmuir Blodgett thin films and biological activities of spiro bino spiro trimeric phosphazenes. *New Journal of Chemistry*, 40(11), 9609-9626.
8. Mutlu, G., Elmas, G., Kılıç, Z., Hökelek, T., Koç, Yasemin, Türk Mustafa, Açıık Leyla, Aydın Betül, Dal Hakan (2015). Phosphorus nitrogen compounds Part 31. Syntheses, structural and stereogenic properties, in vitro cytotoxic and antimicrobial activities, and DNA interactions of bicyclotetraphosphazenes containing bulky side group. *Inorganica Chimica Acta*, 436, 69-81.
9. Baştırzi, N. S., Koçak, S. B., Okumuş, A., Kılıç, Z., Hökelek, T., Çelik, Ö., Türk, M., Koç, L. Y., Açıık, L., Aydın, B. (2015). Syntheses, structural characterization and biological activities of spiro ansa spiro cyclotriphosphazenes. *New Journal of Chemistry*, 39(11), 8825-8839.

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler

1. Asmafiliz, N., Kılıç, Z., Avcı, O., Gönder, L. Y., Açıık, L., Aydın, B., Türk, M. (2017, 17-20 April). *Cytotoxic and Biological Activities of Spiro-Bino-Spiro Trimeric Phosphazenes Consist of Symmetric Tetradentate Ligands*. Paper presented at the International Congress on Applied Science and Technology, Malaga, Spain.
2. Aydın, B., Açıık, L., Okumuş, A., Elmas, G., Kılıç, Z. (2014, 02-06 June). *DNA Interaction and Antimicrobial Activities of Ferrocenyl Cyclotetraphosphazenes*. Paper presented at the 3rd International Molecular Biology and Biotechnology Congress, Bosnia and Herzegovina.

3. Aydın, B., Karabacak, O. (2014, 02-06 June). *Antimicrobial, Antioxidant Activities and DNA Interactions of Salvia siirtica (Lamiaceae)*. Paper presented at the 3rd International Molecular Biology and Biotechnology Congress, Bosnia and Herzegovina.
4. Aydın, B., Aslım, B. (2011, 10-14 September). *Productions of propionic acid and exopolysaccharide by propionic acid bacteria isolated from traditional home made Turkish cheeses*. 1st International Symposium on Secondary Metabolites, Denizli.

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan Ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler

1. Ertan, S., Aydın, B., Şahin, B., Açık, L. (2016, 23-24 Şubat). *Bupleurum lycaonicum S. Türünün Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktiviteleri*. I. Yaşam Bilimleri Sempozyumunda sunuldu, Kayseri.
2. Okumuş, A., Akbaş, H., Koç, L. Y., Aydın, B., Kılıç, Z., Açık, L., Türk, M., Hökelek, T., Dal, H. (2015, 22-25 Nisan). *Amin Substitue Mono(4-Nitrobenzil) Siklotrifosfazenlerin Sentezi, Karakterizasyonları, İn Vitro Sitotoksik ve Antimikrobiyal Aktiviteleri ve DNA ile Etkileşimleri*. V. Ulusal Anorganik Kimya Kongresinde sunuldu, Mersin.
3. Okumuş, A., Elmas, G., Cemaloğlu, R., Aydın, B., Kılıç, Z., Hökelek, T., Açık, L., Türk, M., Güzel, R., Dünder, D. (2015, 23-28 Ağustos). *Mono-Ferrosenil-Spiro-Siklotetrafosfazenlerinin Sentezi, Karakterizasyonları, Elektrokimyasal Özellikleri, Antitüberküloz, Antimikrobiyal ve Sitotoksik Aktiviteleri ve DNA ile Etkileşimleri*. 27. Ulusal Kimya Kongresi, Çanakkale.
4. Koçak, S. B., Başterzi, N. S., Okumuş, A., Kılıç, Z., Hökelek, T., Çelik, Ö., Türk, M., Koç, L. Y., Açık, L., Aydın B. (2015, 23-28 Ağustos). *Spiro-ansa-spiro Fosfazenlerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Biyolojik Aktivitesi*. 27. Ulusal Kimya Kongresi, Çanakkale.
5. Sırcan, Ş., Aydın, B., Açık, L., Karabacak, O. (2015, 21-24 Ağustos). *Silene aegyptiaca subsp aegyptiaca nın Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitesi*. 4. Ulusal MolekülerBiyoloji ve Biyoteknoloji Kongresinde sunuldu, Afyon.
6. Aydın, B., Yılmaz, E., Aytar, E. C., Dirmenci, T., Açık, L. (2014, 25-28 Ekim). *Sideritis trojana ve Sideritis athoa (Lamiaceae) nın Biyolojik Aktivitelerinin Karşılaştırılması*. Ulusal Botanik Kongresinde sunuldu, Antalya.
7. Arslan, L., İnceoğlu, S., Erkoç, N., Aydın, B., Karabacak, O., Açık, L. (2014, 25-28 Ekim). *Phlomis kurdica (Lamiaceae) nın Biyolojik Aktivitesi*. Ulusal Botanik Kongresinde sunuldu, Antalya.
8. Aytar, E. C., Aydın, B., Açık, L. (2014, 25-28 Ekim). *Suillus luteus Yenilebilen Mantarın Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antikanser Etkilerinin Belirlenmesi*. Ulusal Botanik Kongresinde sunuldu, Antalya.
9. Aydın, B., Aslım, B. (2012, 03-07 Eylül). *Prebiyotiğe Alternatif Propiyonik Asit Bakterilerinden Elde Edilen Bifidobakterilerin Gelişimini Düzenleyici Moleküllerin Özelliklerinin Belirlenmesi*. 21. Ulusal Biyoloji Kongresinde sunuldu, İzmir.

10. Yoltay, N., Aydın, B., Aslım, B., Pulat, M. (2012, 05-08 Eylül). *Jelatin temelli hidrojele hapsedilen Pseudomonas aeruginosa 78 bakterisinin nitrat üretiminin takibi*. IV. Ulusal Polimer Bilim ve Teknolojisi Kongresinde sunuldu, Çanakkale.

Kurslar

1. 2. Moleküler Teknikler ve Fizyolojide Uygulama Alanları Fizyoloji Okulu, (PCR teorik ve uygulama eğitimi, Protein analizi (Western-Blott.) teorik ve uygulama eğitimi, Hücre kültürü teorik ve uygulama eğitimi). (2015, 01-03 Haziran). Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Eskişehir.
2. XIII. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu. (2013, 28 Mayıs-7 Haziran). Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi, Ankara.

Sempozyum ve Konferanslar

1. 9. Ankara Biyoteknoloji Günleri, Mikrobiyal Biyoteknoloji Konferansı. (2011). Ankara Üniversitesi.
2. Nanotıp/1 Sempozyumu. (2008). Gazi Üniversitesi.
3. 1.Ulusal Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar Sempozyumu. (2008). Orta Doğu Teknik Üniversitesi.

Proje

1. Peynirden izole edilmiş propiyonik asit bakterilerinin metabolit üretimi ile bifidobakterilerin gelişimini düzenleyici (BGD) etkisinin araştırılması. (2011). Gazi Üniversitesi BAP.

Ödüller

1. Gazi Üniversitesi Bilimsel Yayın Teşvik Ödülü (2016)
2. Gazi Üniversitesi Bilimsel Yayın Teşvik Ödülü (2015)

Hobiler

Kitap okumak



GAZİ GELECEKTİR..